

孔雀草与淡紫拟青霉协同作用防治烟草根结线虫效果

闫芳芳, 曾庆宾, 陈寿明, 杨军伟, 张瑞平* (四川省烟草公司攀枝花市公司, 四川攀枝花 617000)

摘要 [目的]明确孔雀草与淡紫拟青霉2种生防因子协同作用防治烟草根结线虫的效果,为烟草根结线虫病的生物防治提供参考。[方法]通过田间试验研究烤烟间作孔雀草同时联合使用淡紫拟青霉对烤烟生长特性以及对根结线虫病发病情况的影响。[结果]孔雀草与淡紫拟青霉联合使用不仅能显著提高淡紫拟青霉对烟草根结线虫防治效果的稳定性,还能明显提高烤烟的农艺性状。烤烟间作孔雀草能显著增加烟株的叶片宽度,施用淡紫拟青霉能显著增加烤烟的叶片长度;在株高、茎围、最大叶长和最大叶宽上,孔雀草与淡紫拟青霉联合使用时均明显优于单一处理。单一施用淡紫拟青霉对根结线虫的平均防效为67.2%,施用淡紫拟青霉的同时间作孔雀草,平均防效在73%以上。[结论]孔雀草与淡紫拟青霉协同作用防治根结线虫有显著的增效作用。

关键词 孔雀草;淡紫拟青霉;根结线虫;防治效果;协同作用

中图分类号 S435.72 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)30-0087-03

Synergism between *Tagetes patula* and *Paecilomyces lilacinus* against Tobacco Root-knot Nematode

YAN Fang-fang, ZENG Qing-bin, CHEN Shou-ming, ZHANG Rui-ping* et al (Panzhihua Branch of Sichuan Tobacco Corporation, Panzhihua, Sichuan 617000)

Abstract [Objective] To find the synergism between *Tagetes patula* and *Paecilomyces lilacinus* against tobacco root-knot nematode, and to provide references for the biological control of tobacco root-knot nematode. [Method] Field test was carried out to research the effects of combined utilization of *T. patula* and *P. lilacinus* on the growth characteristics of flue-cured tobacco and the incidence of tobacco root-knot nematode. [Result] Combined utilization of *T. patula* and *P. lilacinus* not only significantly improved the stability of *P. lilacinus* on tobacco root-knot nematode, but also promoted the agronomic characters of flue-cured tobacco. Intercropping *T. patula* significantly increased the maximum width of tobacco, while *P. lilacinus* obviously increased the maximum length of tobacco. Combined utilization was significantly superior to single treatments in increasing the plant height, stem girth, the maximum length and maximum width of tobacco. The average control efficiency of single application of *P. lilacinus* was 67.2%, while that of combined utilization of *T. patula* and *P. lilacinus* was more than 73%. [Conclusion] The synergism of *T. patula* and *P. lilacinus* shows obviously increase effects on tobacco root-knot nematode.

Key words *Tagetes patula*; *Paecilomyces lilacinus*; Tobacco root-knot nematode; Control efficiency; Synergism

根结线虫(*Meloidogyne* spp.)是一类专性内寄生于植物根系的生物,具有繁殖力强、寄主范围广、适应性强等特性,是危害农业生产与发展的主要病原物之一。同时,根结线虫病又加剧了枯萎病、根腐病等重要土传病害的发生^[1]。向土壤中施入化学杀线剂是目前防治根结线虫的重要措施之一,但传统的化学杀线剂不仅使用成本高而且易对环境造成污染^[2]。开发利用新的环境相容性好的杀线剂,已成为一种大家公认的有效环保的防治措施。

目前,利用植物中提取的天然活性物质防治根结线虫逐渐引起了人们的关注^[3],国内外已经开展了有关万寿菊等植物对根结线虫抑杀作用的研究^[4]。淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)作为一类重要的植物寄生线虫卵寄生真菌,其代谢产物具有很好的杀线虫活性,可在不同程度上控制多种幼虫及线虫卵的生长发育,对多种植物寄生线虫具有较好的防治效果,是一种具有较大潜能的生防菌剂。此外,淡紫拟青霉还能产生细胞分裂素及类似生长素等植物促生物质,具有促进植物生长和防治线虫的双重功能^[5]。杨秀娟等^[5]研究表明,万寿菊叶与淡紫拟青霉联合使用能显著提高其对番茄根结线虫的防治效果。孔雀草(*Tagetes patula*)是菊科万寿菊属的一种草本植物,其在国内杀线虫领域研究较少。鉴于此,笔者利用烤烟间作孔雀草同时联合使用淡紫拟青霉,探讨了2种生防因子协同作用防治烟草根结线虫的效果,旨在

为烟草根结线虫病的生物防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 试验于2015年4—9月在四川省攀枝花市仁和区进行,海拔1830 m,试验地前茬作物为冬小麦,试验地块往年根结线虫病发生较严重。供试烤烟品种为云烟87,由四川省攀枝花市烟草公司仁和区烟草公司提供;供试植物为孔雀草,由云南绿叶生防科技有限公司提供;30亿个孢子/g淡紫拟青霉购于苏柯汉(潍坊)生物工程有限公司。

1.2 试验方法 2015年4月28日移栽烤烟,行距为1.2 m,株距为0.5 m,各处理均不使用防治烟草根结线虫病的化学农药,其他栽培管理措施均按当地常规进行。试验设置4个处理:处理CK(空白对照,烤烟单作)、处理TP(烤烟间作孔雀草,于烤烟移栽时在烟株旁约5.0 cm处种植1行孔雀草,点种深度约为3.0 cm,间作方法参照薛超群等^[6]的方法)、处理PL(单独施用淡紫拟青霉,于烤烟移栽前当天以3 g/株的标准拌塘施用淡紫拟青霉)、处理FP(烤烟间作孔雀草同时施用淡紫拟青霉,间作孔雀草的方法及用量同处理TP,施用淡紫拟青霉的方法及用量同处理PL)。3次重复,共12个小区,每个小区植烟60株。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 烟株生长状况的调查。分别于烟株移栽后30、60、90 d在各小区定株测量5株烤烟的株高、茎围、最大叶长、最大叶宽,进行农艺性状对比,调查方法参照宋辉等^[7]的研究,略有改动。

1.3.2 根结线虫病发病情况的调查。分别于烤烟移栽后30、60、90 d在各小区采取10株烤烟,按照GB/T 23222—

作者简介 闫芳芳(1981—),女,山东荣成人,农艺师,硕士,从事烟草病虫害综合防治技术研究。*通讯作者,农艺师,从事烟草栽培、水肥管理及有害生物防治技术研究。

收稿日期 2016-09-14

2008 标准记载各处理烟株根部根结线虫病的发病情况,计算各处理小区的病情指数及防效。

病情指数 = $\sum[(\text{病级数} \times \text{该病级株数}) / (\text{调查总数} \times \text{最高级值})] \times 100$

防治效果 = $(\text{空白病情指数} - \text{处理病情指数}) / \text{空白病情指数} \times 100\%$

1.4 数据处理 应用 DPS 7.0 软件进行显著性检验,采用 Duncan's 新复极差法进行多重比较^[8]。

2 结果与分析

2.1 各处理烟株主要生长状况比较 由表 1 可知,烤烟移栽后 30~90 d,烤烟间作孔雀草能显著增加烟株的叶片宽度,施用淡紫拟青霉能显著增加烤烟的叶片长度;无论是在株高、茎围还是最大叶长、最大叶宽上,混合处理 FP 均明显

优于处理 TP、处理 PL,说明孔雀草与淡紫拟青霉联合使用能明显促进烤烟的生长。

烤烟移栽 30 d 后,处理 FP 在烤烟的株高、最大叶长、最大叶宽上均极显著优于其他 3 个处理。处理 TP 与 PL 在株高、茎围之间差异不显著。

烟株移栽 60 d 后,处理 FP 在烤烟的株高、最大叶长、最大叶宽上均显著优于其他 3 个处理。处理 FP 与处理 PL 之间在茎围上差异不明显。

烟株移栽 90 d 后,处理 FP 在烤烟的株高、最大叶长、最大叶宽上均显著优于其他 3 个处理。在农艺性状方面,试验处理均显著高于空白处理。处理 TP 与处理 PL 之间在烤烟茎围、最大叶长、最大叶宽上差异不显著。

表 1 各处理烤烟主要农艺性状

Table 1 Changes of the major agronomic characters of flue-cured tobacco in different treatments

cm

| 时间 Days//d | 处理 Treatment | 株高 Plant height | 茎围 Stem girth | 最大叶长 Maximum leaf length | 最大叶宽 Maximum leaf width |
|---------------|-----------------|--------------------|------------------|-----------------------------|----------------------------|
| 30 | TP | 25.5 ± 0.3 bB | 5.5 ± 0.2 cB | 23.1 ± 0.3 bB | 16.6 ± 0.4 bB |
| | PL | 25.2 ± 0.1 bB | 6.2 ± 0.1 bA | 22.8 ± 0.1 bBC | 16.6 ± 0.2 bB |
| | FP | 26.3 ± 0.1 aA | 6.5 ± 0.2 aA | 23.9 ± 0.1 aA | 17.8 ± 0.2 aA |
| | CK | 24.8 ± 0.1 cC | 5.1 ± 0.1 dC | 22.4 ± 0.2 cC | 15.5 ± 0.3 cC |
| 60 | TP | 56.7 ± 0.9 cC | 6.6 ± 0.2 bB | 43.5 ± 0.8 cC | 28.5 ± 0.9 bB |
| | PL | 63.8 ± 0.2 bB | 7.6 ± 0.2 aA | 47.0 ± 0.1 bB | 28.0 ± 0.5 bB |
| | FP | 72.9 ± 0.8 aA | 7.9 ± 0.2 aA | 50.7 ± 0.7 aA | 30.8 ± 1.1 aA |
| | CK | 47.5 ± 0.1 dD | 6.4 ± 0.1 bB | 42.8 ± 0.2 cC | 25.9 ± 0.3 cC |
| 90 | TP | 115.1 ± 1.1 cC | 8.4 ± 0.1 bB | 61.4 ± 1.7 bBC | 39.9 ± 1.0 bB |
| | PL | 120.4 ± 0.6 bB | 8.6 ± 0.1 bB | 62.2 ± 0.7 bB | 39.3 ± 0.5 bB |
| | FP | 125.8 ± 0.8 aA | 8.8 ± 0.2 aA | 64.7 ± 0.5 aA | 43.6 ± 0.9 aA |
| | CK | 108.3 ± 1.0 dD | 8.0 ± 0.1 cC | 59.5 ± 0.4 cC | 36.9 ± 0.3 cC |

注:相同时间同列数据后不同大、小写字母分别表示不同处理在 0.01、0.05 水平差异显著。

Note: Different capital letters and lowercases in the same column indicated significant differences at 0.01 and 0.05 levels, respectively.

2.2 各处理防治效果比较 由表 2 可知,随着烟株生长期的推进,烤烟根部烟草根结线虫病病情(根结)逐渐加重。

烤烟移栽 30 d 后,CK 病情指数最高,极显著高于其他各处理,处理 TP 病情指数次之,处理 PL 与 FP 差异不显著,病情指数为 2.4~2.5;防效最低的是处理 TP,处理 PL 与处理 FP 防效均在 88% 以上,但两者之间差异不显著。

烤烟移栽 60 d 后,CK 病情指数仍为最高,极显著高于

其他各处理,其次分别为处理 TP、处理 PL,处理 FP 病情指数最低;防效最高的为处理 FP,极显著高于处理 TP、处理 PL,处理 TP 防效最低,为 59.6%。

烤烟移栽 90 d 后,CK 病情指数仍为最高,极显著高于其他各处理,处理 FP 病情指数最低,为 14.7;防效最高的为处理 FP,极显著高于处理 TP,显著高于处理 PL;处理 FP 防效最高,为 73.1%,处理 PL 次之,防效为 67.2%。

表 2 各处理烤烟根部的病情指数及防效

Table 2 Disease index and control efficiency of tobacco roots in different treatments

| 处理 Treatment | 30 d | | 60 d | | 90 d | |
|-----------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|
| | 病情指数 Disease index | 防效 Control efficiency//% | 病情指数 Disease index | 防效 Control efficiency//% | 病情指数 Disease index | 防效 Control efficiency//% |
| TP | 7.3 ± 0.3 bB | 65.6 ± 2.2 bB | 18.7 ± 0.4 bB | 59.6 ± 1.1 cC | 29.8 ± 2.0 bB | 45.4 ± 4.9 cB |
| PL | 2.5 ± 0.3 cC | 88.1 ± 1.7 aA | 13.1 ± 0.4 cC | 71.8 ± 1.2 bB | 17.9 ± 1.9 cC | 67.2 ± 1.8 bA |
| FP | 2.4 ± 0.4 cC | 88.7 ± 2.1 aA | 9.5 ± 0.9 dD | 79.4 ± 2.1 aA | 14.7 ± 1.3 dC | 73.1 ± 3.0 aA |
| CK | 21.3 ± 0.9 aA | | 46.3 ± 0.7 aA | | 54.8 ± 2.6 aA | |

注:相同时间同列数据后不同大、小写字母分别表示不同处理在 0.01、0.05 水平差异显著。

Note: Different capital letters and lowercases in the same column indicated significant differences at 0.01 and 0.05 levels, respectively.

3 结论与讨论

该研究表明,在大田烟株生长的 90 d 中,间作孔雀草同时施用淡紫拟青霉的烤烟生长状况均明显优于单独间作孔

雀草及单独施用淡紫拟青霉,且在后期单独施用淡紫拟青霉的平均防效为 67.2%,施用淡紫拟青霉的同时间作孔雀草,平均防效在 73% 以上。杨秀娟等^[5]研究表明,利用万寿菊叶

的淡紫拟青霉培养物处理番茄根结线虫病土,不仅能很好地促进番茄生长,还能显著提高淡紫拟青霉的防治效果。该研究也证实了万寿菊属植物孔雀草与淡紫拟青霉协同作用防治根结线虫效果好于单用,但该研究利用的不是孔雀草的叶子,所以孔雀草与淡紫拟青霉之间的协同增效机制还有待进一步研究。

土壤对不同微生物均普遍存在着抑菌作用,是影响生防菌剂防治效果的一个重要因素^[9]。刘佳斌等^[10-11]研究发现万寿菊根部提取物对西瓜枯萎病和辣椒枯萎病原菌的菌丝均具有较好的抑制效果。笔者认为孔雀草与淡紫拟青霉联合使用能显著提高淡紫拟青霉对根结线虫防治效果的稳定性,这可能是因为孔雀草的根系分泌物通过抑制其他微生物的生长,解除了淡紫拟青霉在土壤中定殖的部分土壤抑菌作用,为淡紫拟青霉的占位提供了有利条件。孔雀草与淡紫拟青霉间的协同增效机制还可能与孔雀草的根系分泌物对淡紫拟青霉生防因子的促进作用有关,Kerry等^[12]认为衡量一株生防真菌生防潜质的重要标准包括菌株的产孢能力、对线虫卵的侵染能力以及菌株的定殖能力。杨秀娟等^[5]研究发现,万寿菊叶的水提液不仅能促进淡紫拟青霉孢子的萌发,而且经0.01 mg/mL万寿菊叶水提液加淡紫拟青霉孢子混合处理的番茄根结线虫卵囊,12 d后线虫卵的孵化率仅为1.23%。因此,要了解孔雀草与淡紫拟青霉之间的增效协同作用,必须从孔雀草的根系分泌物入手。后续试验将进一步

(上接第69页)

程中的浓白水含有的烟草蛋白应归为FII蛋白。该试验表明,可通过酸碱工艺从白水中提取出可溶性蛋白质,进行烟草蛋白的回收利用。当碱沉pH一定,酸溶pH > 3.5时,烟草蛋白沉淀量随着酸溶pH的减小而增大;当酸溶pH一定,碱沉pH < 8.0时,烟草蛋白沉淀量会随碱沉pH的增大而增大;在pH 3.5时进行酸溶,同时,pH 8.0时进行碱沉,烟草蛋白质沉淀量最大。中性偏碱可获得蛋白质质量最大,这一结果同Platis等试验结论一致。中性偏碱的环境下,蛋白质提取率较高,这可能与烟草蛋白的等电点pI > 7有关^[13]。

总之,烟草蛋白是一种极具利用潜力和发展前景的植物蛋白资源,深入研究开发这种资源不仅有助于提高烟草的综合利用价值,还可促进烟草行业的可持续发展。尤其对于造纸法再造烟叶生产企业而言,由生产废水中提取烟草蛋白既保护了自然环境,减轻了对周边环境的污染,又可促进产业结构调整,增加企业收入,有较好的应用前景。

参考文献

[1] 陈祖刚,蔡冰,王建新,等. 国内外造纸法薄片工艺与品质比较[J]. 烟草科技,2002(2):4-10.

探讨孔雀草的根系分泌物对淡紫拟青霉的产孢能力、对线虫卵的侵染能力以及菌株定殖能力的影响,为两者联合使用对根结线虫的增效协同作用在烤烟根结线虫防治上的应用(使用时间、使用方法、使用量)提供指导。

参考文献

- [1] 谷希树,白义川,胡学雄,等. 蔬菜根结线虫病的发生与防治[J]. 农家之友,2003(3):32-33.
- [2] 谷端银,王秀峰,魏琨,等. 设施蔬菜根结线虫病发生严重的原因探讨[J]. 中国农学通报,2005,21(8):333-335.
- [3] 徐汉虹. 杀虫植物与植物性杀虫剂[M]. 北京:中国农业出版社,2001:333-344.
- [4] 金桂梅,胡小东,杨艳鲜,等. 生态调控技术防治烟草根结线虫试验[J]. 云南农业科技,2013(5):11-12.
- [5] 杨秀娟,何玉仙,陈庆河,等. 淡紫拟青霉适生性及其与2种植物协同作用防治根结线虫[J]. 福建农林大学学报(自然科学版),2005,34(3):290-293.
- [6] 薛超群,牟文君,奚家勤,等. 烤烟不同间作对烟草黑胥病防控效果的影响[J]. 中国烟草科学,2015(3):77-79.
- [7] 宋辉,亚平,王明文,等. 烟草根结线虫病防治药剂的筛选研究[J]. 云南农业大学学报,2011,26(6):740-748.
- [8] 唐启义,冯明光. 实用计算机统计分析及其计算机处理平台[M]. 北京:中国农业出版社,1997.
- [9] 祝明亮,张克勤. 淡紫拟青霉 IPC 土壤抑菌作用影响因子分析[J]. 云南大学学报(自然科学版),2006,28(6):533-538.
- [10] 刘佳斌,苏炜,王金胜. 万寿菊根部生物碱类提取物抑菌活性成分的研究[J]. 安徽农业科学,2007,35(3):746-747.
- [11] 王文斌,郭春绒. 万寿菊根不同溶剂提取物对辣椒枯萎病菌的抑制作用[J]. 山西农业大学学报(自然科学版),2004,24(4):407-410.
- [12] KERRY B R, GRUMP D H. Observation on fungal parasites of females and eggs of the cereal cyst-nematodes, *Heterodera avenae*, and other cyst nematodes[J]. Nematological, 2011, 23(2):193-201.

- [2] 韩卿,张美云,吴养育,等. 造纸法烟草薄片制造工艺的研究[J]. 西北轻工业学院学报,2002,20(1):19-22.
- [3] 陈赛艳,李友明,雷利荣. 造纸法再造烟叶废水的臭氧氧化法预处理[J]. 烟草化学,2014(12):27-31.
- [4] 莫立焕,周志明,王玉峰. 造纸法烟草薄片废水深度处理研究[J]. 中国造纸,2012,31(10):37-40.
- [5] LI Q S, LAWRENCE C B, DAVIES H M, et al. A tridecapeptide possesses both antimicrobial and protease-inhibitory activities[J]. Peptides, 2002, 23(1):1-6.
- [6] 侯轶,李友明,郑振山. 造纸法烟草薄片废水中污染物的分析[J]. 华南理工大学学报(自然科学版),2008,36(3):95-98.
- [7] 邱晔,胡群,陈辉敏,等. 再造烟叶生产废水处理研究[J]. 工业水处理,2006,26(3):23-25.
- [8] 陈元彩,陈竹,肖仙英,等. 造纸法烟草薄片废水的研究[J]. 中国造纸,2006,25(9):20-22.
- [9] LOWE R H. Crystallization of Fraction I protein from tobacco by a simplified procedure[J]. FEBS Letters, 1977, 78(1):98-100.
- [10] CHAN P H, SAKANO K, SINGH S, et al. Crystalline Fraction I protein: Preparation in large yield[J]. Science, 1972, 176(4039):1145-1146.
- [11] KAWASHIMA N, WILDMAN S G. Fraction I protein[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1970, 21:325-358.
- [12] 陈明达,丁玉,鞠明里,等. 烟草蛋白研究进展[J]. 河北农业科学, 2009, 13(6):50-52.
- [13] PLATIS D, LABROU N E. Development of all aqueous two-phase partitioning system for fractionating therapeutic proteins from tobacco extract[J]. Journal of chromatography A, 2006, 1128(1/2):114-124.