

# 两种入侵植物水提液毒杀犬齿复活线虫效应研究

沈清清<sup>1</sup>, 刘芳<sup>2</sup>

(1. 文山学院 环境与资源学院, 云南 文山 663000; 2. 文山学院 化学与工程学院, 云南 文山 663000)

**摘要:**为实现对入侵植物的有效防治与转化利用,以云南地区常见的紫茎泽兰和牛膝菊 2 种入侵植物为试材,研究了 2 种植物的根、茎、叶、花各部位的组织浸泡后获得的水提液对犬齿复活线虫的毒杀活性。结果表明:紫茎泽兰和牛膝菊不同采集部位水提液均存在不同程度的毒杀线虫活性,且与水提液浓度和处理时间呈正相关;紫茎泽兰不同组织部位线虫毒杀活性强弱顺序依次为花>叶>茎>根,牛膝菊为茎>叶>花>根。

**关键词:**入侵植物;线虫;毒杀活性;防治;死亡率

**中图分类号:**S 432.4<sup>+</sup>5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)23-0097-04

线虫是一类世界性分布的重要病原物,危害严重,每年都会在农业和林业上造成严重的经济损失,目前主要应用化学方法进行防治,但因绝大多数化学杀线剂毒性大、成本高、难降解、易造成环境污染等原因,使其利用受到诸多限制,因此迫切需要研发出既经济又环保的天然的新型生物杀线剂<sup>[1-2]</sup>。

目前很多国家如美国、英国、墨西哥等已开始使用杀线植物资源防治植物寄生线虫,并取得较好的效果,而我国仅在杀线植物资源调查及活性筛选等方面进行了研究。值得注意的是,目前已经筛选出的具杀线虫活性的植物中有很大部分属外来入侵植物<sup>[2-5]</sup>。

外来入侵植物是外来种中归化的生物物种,会对新生态环境或其中的原生物种构成一定的威胁,外来入侵植物在我国普遍发生,目前已知的共有 107 种 75 属<sup>[6]</sup>,其危害巨大且难以彻底清除<sup>[7]</sup>,尽管已经采取了各种防治措施,但是其长势仍在发展和扩大。虽然入侵植物的危害性引起各界人士关注,且大量的科研人员开展了相关防治研究,但目前人们比较重视的是用何种手段除去它们,很少注意到其利用价值。入侵植物抗逆性强,生长繁殖快,且生长密度大,常规营养成分如粗蛋白、粗纤维、粗脂肪、粗灰分、无氮浸出物的含量较高,且各种营养成分含量全年较为稳定,与生长季节无明显相关性<sup>[8]</sup>。针对入侵植物的这些特点,若将其作为资源和产品源材料加以转化利用,使其成为绿色肥料与杀线虫剂 2 种性质兼具的双效制剂,潜在价值巨大。紫茎泽兰

(*Eupatorium adenophorum* Spreng.) 和牛膝菊 (*Galinsoga parviflora* Cav.) 是云南最常见的 2 类入侵植物,其造成的农业灾害非常严重,为验证其可开发性,首先对这 2 种入侵植物水提液的杀线虫活性进行研究,旨在为课题组提供支撑数据和理论依据,同时也为天然植物农药的研究与应用提供帮助。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试线虫:全齿复活线虫 (*Panagrellus redivivus*) 由云南大学微生物资源开发和利用重点实验室提供。线虫的培养:取 2~4 g 燕麦片用 10 mL 水润湿,混匀后分装于 25 mL 锥形瓶中,121℃ 高温灭菌 30 min,在超净工作台内按无菌操作方法接入全齿复活线虫,于 28℃ 培养箱中培养 7~10 d 左右,观察到锥形瓶壁上有线虫爬壁时,取出置于冰箱内 4℃ 保存备用。供试线虫的分离制备:参照贝曼氏漏斗法 (Bearmen)<sup>[3]</sup>,在无菌操作条件下,取 1 勺已培养好的线虫,用 3~4 层擦镜纸或滤纸包住,浸泡在已装好灭菌水的漏斗里(漏斗下方与橡皮胶管相连,橡皮管后端用弹簧夹夹紧),30 min 后打开弹簧夹,缓慢放出橡皮管内的水于小烧杯中,接出线虫。接好的线虫用灭菌的蒸馏水冲洗 3 次即可用接种针挑出使用。

### 1.2 试验方法

1.2.1 供试植物水提液的制备 采集新鲜紫茎泽兰 (*Eupatorium adenophorum*) 和牛膝菊 (*Galinsoga parviflora*),分别称取根、茎、叶、花各 100 g,自来水洗净,75% 的酒精消毒片刻,灭菌水漂洗,晾干,在无菌研钵中将各部分捣碎,加入 50 mL 灭菌水研磨成浆,浸提 24 h,然后用 6 层纱布过滤 2 次,再将过滤液用定性滤纸过滤,最后用无菌水定容至 100 mL,即得植物水提液母液,质量浓

**第一作者简介:**沈清清(1980-),女,硕士,讲师,研究方向为微生物资源与开发。E-mail:391291180@qq.com.

**基金项目:**云南省教育厅科学研究基金资助项目(2011Y067)。

**收稿日期:**2014-07-10

度均为 1.0 g/mL。植物浸提液不同稀释浓度的配制:采用倍数稀释法,分别将获得的植物根、茎、叶、花水浸提液母液用无菌水稀释 1、4、8 倍,配制出 3 个浓度梯度的稀释液。

1.2.2 抗线虫活性研究 室温下,分别取不同稀释倍数的浸提液 3 mL,放入已灭菌培养皿中,然后在每个培养皿中加入 100 条全齿复活线虫,放入 28℃ 培养箱中培养,相同条件下,以不含浸提液的无菌水加入线虫作空白对照。每隔 24 h,在解剖显微镜下观察记录 1 次全齿复活线虫的死亡率(针触法),72 h 后结束观察。统计线虫的存活数、死亡数,计算其死亡率和校正死亡率,每个处理设置 3 次重复。

1.3 数据分析

试验结果采用回归解析法,计算毒力回归方程以及半致死浓度  $LC_{50}$  值<sup>[4,6-7]</sup>;参照白厚义<sup>[9]</sup>方法对杀线虫活性强弱进行分级。

2 结果与分析

2.1 植物水提液对全齿复活线虫的毒杀活性

由表 1 可知,处理 72 h 后,2 种入侵植物的根、茎、叶、花 4 个部位的水提液对犬齿复活线虫均有毒杀作用,其活性与浓度呈正相关,水提液母液的活性最大,随

着浓度的降低,其毒杀活性逐渐减弱,但最低浓度时,所有采集部位水提液对线虫作用后的校正死亡率仍大于 1%紫茎泽兰根水浸提液母液稀释 8 倍除外,因此说明紫茎泽兰和牛膝菊的低浓度水提液对线虫的生长不存在促进作用,不能提供线虫生长所需要的营养物质。

2.2 采集部位及浓度对全齿复活线虫毒杀活性的影响

紫茎泽兰和牛膝菊 2 种供试植物不同部位及不同浓度水提液在 3 个处理时间下对全齿复活线虫的影响结果见图 1 和图 2,除了 2.1 表明的植物水提液毒杀活性与其浓度成正比外,数据也说明其作用效果与处理时间呈正相关,随着试验时间的延长,线虫抑制率也随之增加。

图 1 表明,同等浓度下紫茎泽兰的杀线虫活性最强烈,其次是叶,茎次之,而根对线虫的毒杀活性最弱;而且花的水提液母液作用较稳定,24 h 时校正死亡率达 65.74%,48 h 时为 78.05%,72 h 时为 89.12%,其活性强度均保持较强(++)或以上,稀释 8 倍后其水提液母液对线虫的校正死亡率为 36.49%,活性强度仍保持中等(++)活性,此时活性与茎、叶水提液母液的活性

表 1 不同浓度的植物水提液中  
对犬齿复活线虫的致死率

Table 1 Mortality of *Panagrellus redivivus* in  
plants extracts at the different concentrations

植物种名 Plants species	采集部位 Collect part	稀释倍数 Dilution multiple/倍	72 h	
			校正死亡率 Adjust mortality/%	活性强度 Activity degree
紫茎泽兰	根	1	27.37	+
		4	5.26	—
		8	0.35	—
	茎	1	40.00	++
		4	13.68	+
		8	3.51	—
	叶	1	54.39	+++
		4	16.49	+
		8	4.21	—
	花	1	89.12	++++
		4	56.49	+++
		8	36.49	++
牛膝菊	根	1	30.71	++
		4	17.50	+
		8	2.50	—
	茎	1	85.00	++++
		4	68.57	+++
		8	31.07	++
	叶	1	74.28	+++
		4	57.14	+++
		8	20.35	+
	花	1	36.07	++
		4	23.21	+
		8	1.07	—

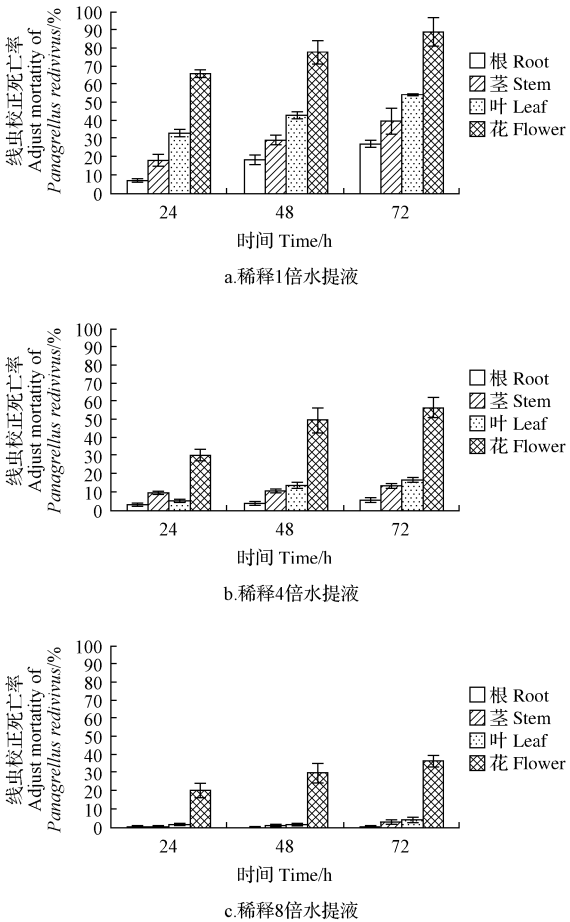


图 1 紫茎泽兰水提液对犬齿复活线虫生长的影响

Fig. 1 Effect of *Eupatorium adenophorum* extracts on  
growth of *Panagrellus redivivus*

相当。而其它部位的水提液母液在这一浓度下对犬齿复活线虫已没有毒杀活性。

牛膝菊与紫茎泽兰试验结果区别较大,从图 2 可以看出,同等浓度下是茎的毒杀活性最强,其次是叶,花次之,与紫茎泽兰相似的一点是根的活性也是最弱。且茎的水提液母液作用较稳定,24 h 时校正死亡率达 48.31%,48 h 时为 64.70%,72 h 时为 85.00%,其活性强度均保持中性强度(++)或以上,稀释 8 倍后其水提液母液对线虫的校正死亡率为 31.07%,仍保持中等(++)毒杀活性,此时活性与花、根水提液母液的活性相当。在稀释 8 倍下根与花水提液均无线虫活性。

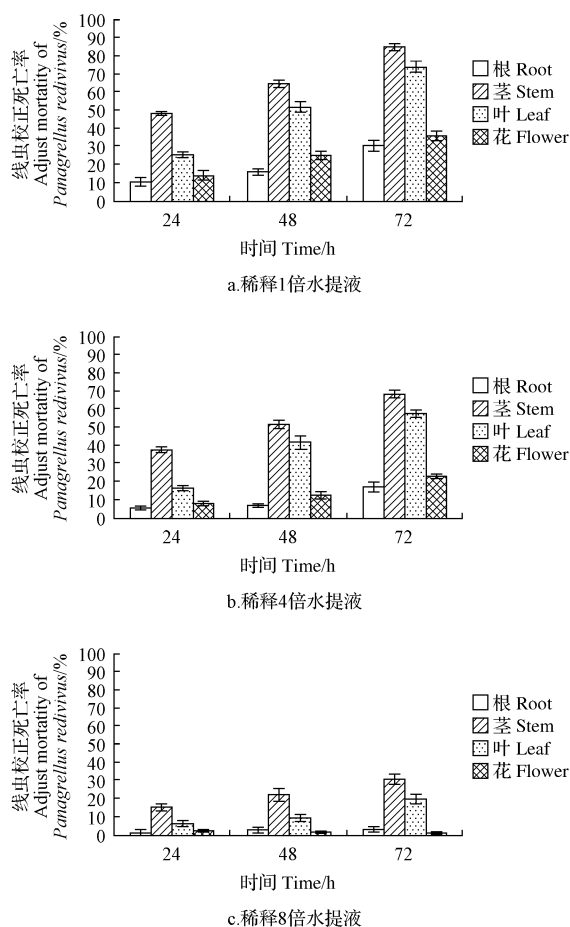


图 2 牛膝菊水提液对犬齿复活线虫生长的影响

Fig. 2 Effect of *Ealinsoga parviflora* extracts on growth of *Panagrellus redivivus*

### 2.3 植物水提液对全齿复活线虫的毒力

作用 72 h 后,由不同浓度下获得的线虫校正死亡率作毒力回归曲线,可得出紫茎泽兰和牛膝菊的不同部位母液浸提液抗线虫活性的毒力回归方程,结果见表 2。由回归方程进一步分析得出杀死 50%线虫所需要的浓度  $LC_{50}$ ,紫茎泽兰根、茎、叶、花的半致死质量浓度  $LC_{50}$  分别为 4.9485、3.4602、2.4432、0.5762 g/L,紫茎泽兰水浸提液对全齿复活线虫毒杀活性顺序强弱依次为花>

叶>茎>根。牛膝菊根、茎、叶、花的半致死质量浓度  $LC_{50}$  分别为 4.5217、1.4612、1.8349、3.8003 g/L,牛膝菊水浸提液对全齿复活线虫毒杀活性顺序强弱依次为茎>叶>花>根。2 种植物相比较表明紫茎泽兰的水提液母液毒杀效果最显著。

表 2 植物水提液对全齿复活线虫的毒力

Table 2 Toxicity of the plants extracts against *Panagrellus redivivus*

植物种名 Plant species	采集部位 Collected position	毒力回归方程 Toxicity regressive equation	相关系数 Correlation coefficient	$LC_{50}$ /(g · L <sup>-1</sup> )
紫茎泽兰	根	$y=0.3098x-1.1013$	0.9428	4.9485
	茎	$y=0.4023x+3.5987$	0.9263	3.4602
	叶	$y=0.5634x+4.1174$	0.9076	2.4432
	花	$y=0.5548x+39.344$	0.9097	0.5762
牛膝菊	根	$y=0.3577x-3.9143$	0.9829	4.5217
	茎	$y=0.8306x+9.545$	0.9308	1.4612
	叶	$y=0.8000x+1.0691$	0.9400	1.8349
	花	$y=0.4375x-5.4204$	0.9614	3.8003

### 3 讨论与结论

目前,国内外研究较多的是入侵植物毒杀线虫活性物质的提取,且研究结果表明大部分的入侵植物提取物均存在毒杀线虫的效应<sup>[5,10]</sup>,但因其研发周期长,需要对生态效应、是否会造成二次污染、作用机制等内容进行研究,因此将植物有效活性物质进行提取和分离,再继续研发为应用型生物农药产品的研究报道并不多见。大多数入侵植物常规营养成分含量较高,因此具有开发为农业肥料的潜在价值,有些品种甚至最初就是作为植物肥料引入中国的,如 20 世纪 60 年代起广东省雷州半岛将入侵植物飞机草作为绿肥植物引入栽植,可明显提高土壤肥力,作物增产效果显著<sup>[11]</sup>。目前许多发展中国家正在开展将入侵植物如凤眼莲、紫茎泽兰、薇甘菊等作为堆肥利用的试验研究<sup>[12]</sup>;国内也已经有科研人员开始在秋冬季人工挖除紫茎泽兰全株,晒干烧毁作农肥施用,对于经济价值高的农田、果园和草地均具有很好效果;并且把入侵植物通过农业措施如间作、轮作或作为基肥作物应用于农业线虫病害的防治,来有效降低有害线虫的密度<sup>[13]</sup>。

该研究对植株均采用了研磨后无菌水浸提的方法处理,此法有效活性物质的提取率较低,但能保证将紫茎泽兰和牛膝菊的开发为天然肥料这一前提,且试验结果表明用此法获得的植物水提液对线虫仍具有毒杀活性,说明如将这 2 种入侵植物直接机械碾压或粉碎后适量投入田间,对土壤中寄生线虫的存活均可能起到一定的抑制作用。下一步将研究这 2 种入侵植物不同比例浸泡液对接种寄生线虫后的盆栽植物生长的影响情况。

有人认为入侵植物能分泌化感物质干扰周围植物的正常生长<sup>[14-15]</sup>,因此否定其肥料价值,但入侵植物之所以成功入侵的因素诸多,不只是单方面的原因,其机

理比较复杂,如入侵植物不仅可以逃避原生地的病原体,还能和新土地中的真菌等微生物结盟,促进其根际土壤微生物群落结构的演替、强化微生物群落功能的发挥,进而创造更好的土壤微环境,反过来进一步加剧其入侵进程<sup>[16-17]</sup>。入侵植物在新的生境中往往对害虫有忌避作用和毒杀作用<sup>[18]</sup>;入侵植物还具备某些抗逆性或占绝对优势的生理特性如苗期可以在荫蔽的林间生长,能生长不定根,可无性繁殖等。因此笔者认为实际作业中不能一蹴而就,但应当注意选择适当组织部位作原材料并确定配制浓度。该试验结果表明,紫茎泽兰和牛膝菊的不同部位毒杀线虫活性存在显著差异,因此在下一步应用试验过程中应结合其采集部位的营养价值与毒杀活性选择适合的采集部位和浓度配比。

试验结果表明,紫茎泽兰和牛膝菊不同部位的水提液对犬齿复活线虫均有显著的毒杀活性,其活性与溶液浓度成正比,与作用时间呈正相关。紫茎泽兰根、茎、叶、花水提液的半致死质量浓度  $LC_{50}$  分别为 4.9485、3.4602、2.4432、0.5762 g/L,线虫毒杀活性顺序强弱依次为花>叶>茎>根;牛膝菊根、茎、叶、花水提液的半致死质量浓度  $LC_{50}$  分别为 4.5217、1.4612、1.8349、3.8003 g/L,线虫毒杀活性顺序强弱依次为茎>叶>花>根。

#### 参考文献

- [1] 毛小芳,李辉信,陈小云,等.土壤线虫三种分离方法效率比较[J].生态学杂志,2004,23(3):149-151.
- [2] 郑良.58种中(草)药对植物寄生线虫 *Meloidogyne javanica* 和 *Pratylenchus vulnus* 的药效研究[J].植物病理学报,2001,31(2):175-183.
- [3] 杨秀娟,何玉仙,卢学松,等.若干植物粗提物对根结线虫幼虫的杀线虫活性测定[J].福建农业学报,2005,20(1):19-22.
- [4] 周银丽,胡先奇,白建波,等.洋葱等6种植物提取液对水稻潜根线

虫的抑杀作用[J].江苏农业科学,2011(5):141-142.

- [5] Giannakou I O, Karpouzas D G, Prophetou-Athanasiadou D. A novel non-chemical nematicide for the control of root-knot nematodes[J]. Applied Soil Ecology, 2004, 26(1): 69-79.
- [6] 徐正浩,王一平.外来入侵植物成灾的机制及防除对策[J].生态学报,2004,23(3):124-127.
- [7] Tripathi R S, Yadav A S. Population regulation of *Eupatorium adenophorum* spreng. and *E. riparium* regel; Effect of population density, soil nitrogen and light intensity[J]. Plant and Soil, 1982, 65(1): 35-49.
- [8] 郑丽,冯玉龙.紫茎泽兰叶片化感作用对10种草本植物种子萌发和幼苗生长的影响[J].生态学报,2005,25(10):2782-2787.
- [9] 白厚义.试验研究及统计分析[M].西安:世界图书出版西安公司,1998.
- [10] 翁群芳,钟国华,王文祥,等.植物提取物对南方根结线虫的控制作用[J].华南农业大学学报,2006,27(1):55-60.
- [11] 全国明,章家恩,徐华勤,等.外来入侵植物飞机草的生物学特性及控制策略[J].中国农学通报,2009,25(9):236-243.
- [12] 高雷,李博.入侵植物凤眼莲研究现状及存在的问题[J].植物生态学报,2004,28(6):735-752.
- [13] 徐正浩,王一平.外来入侵植物成灾的机制及防除对策[J].生态学报,2004,23(3):124-127.
- [14] 笪璺,建维,冯志立,等.紫茎泽兰的化学互感潜力[J].植物生态学报,2000,34(3):360-365.
- [15] Kohmoto K, Itoh Y, Shimomura N, et al. Isolation and biological activities of two host-specific toxins from the tangerine pathotype of *Alternaria alternata* [J]. Phytopathology, 1993, 83(5): 495-502.
- [16] Te Beest M, Stevens N, Olf H, et al. Plant-soil feedback induces shifts in biomass allocation in the invasive plant *Chromolaena odorata* [J]. Journal of Ecology, 2009, 97: 1281-1290.
- [17] Jordan N R, Larson D L, Huerd S C. Soil modification by invasive plants: effects on native and invasive species of mixed-grass prairies [J]. Biological Invasions, 2008, 10(2): 177-190.
- [18] 周俗,谢永良.四川省毒害植物紫茎泽兰调查报告[J].四川草原, 1999(2): 39-42.

## Research on Resistance of Two Invasive Plants Extracts to *Panagrellus redivivus*

SHEN Qing-qing<sup>1</sup>, LIU Fang<sup>2</sup>

(1. College of Environment and Resources, Wenshan University, Wenshan, Yunnan 663000; 2. College of Chemistry and Engineering, Wenshan University, Wenshan, Yunnan 663000)

**Abstract:** Taking *Eupatorium adenophorum* and *Ealinsoga parviflora* as the source materials, the control and inversion utilization of invasive plants were studied. The extracts of roots, stems, leaves and flowers were tested to study the resistance of the two plants to *Panagrellus redivivus*. The results showed that the different extracted parts all had a nematicidal activity, and it was in direct proportion to the concentration and acting time. The nematicidal activity of *Eupatorium adenophorum* was followed by flowers>leaves>stems>roots. The nematicidal activity of *Galinsoga parviflora* was followed by stems>leaves>flowers>roots.

**Keywords:** invasive plants; nematode; toxicity; resistance; mortality