

不同生长期茵陈蒿提取液对根结线虫的抑制活力研究

江 春¹, 张 谨 华¹, 方 果²

(1. 山西省晋中学院 生物科学与技术学院, 山西 晋中 030600; 2. 山西省植保植检总站, 山西 太原 030001)

摘 要:以不同生长期茵陈蒿为试材,采用乙醇提取法和水提取法浸提苗期和成熟期茵陈蒿植株的全株、茎、叶和根,研究其醇提液和水提液对根结线虫的抑制活力。结果表明:苗期提取液抑制效果好于成熟期,全株好于茎、根,乙醇溶剂提取优于水溶剂。

关键词:茵陈蒿;根结线虫;抑制活力

中图分类号:S 647 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)09-0102-04

随着设施蔬菜种植面积的不断增加,设施蔬菜的连作和反季节蔬菜的大量种植,致使根结线虫病不断扩展蔓延。世界已知的根结线虫(*Meloidogyne* spp.)种类(有效种)约 99 种^[1]。其种类多、寄主范围广,对我国设施蔬菜的为害呈加重趋势,严重地影响了设施蔬菜的产量、品质,已成为制约农业生产发展的瓶颈。

目前,在农业生产上防治根结线虫主要以化学防治为主,但由于化学杀线剂具有高毒、高残留的特点,不仅引起根结线虫产生抗药性,同时,还对土壤、人和环境产生极大地危害^[2-4]。为此研究、开发、推广高效低毒、绿色环保的植物源农药成为当务之急。

植物源农药的主要成分是天然存在的化合物,这些活性物质主要由 C、H、O 元素组成。在长期的进化过程中已形成其固定的参与能量与物质循环代谢途径,所以,施用于环境中或农作物上,不易产生残留,不会引起生物富集现象^[5-6]。

茵陈蒿(*Artemisia capillaries* L.)属菊科(Compositae)蒿属(*Artemisia*)多年生草本植物,在我国分布广泛。张丽丽等^[7]用茵陈蒿 3 种不同溶剂提取物抑制赤拟谷盗效果明显,当地群众也有夏季用蒿属植物点燃驱蚊虫的习俗。而茵陈蒿应用于根结线虫的防治尚鲜见报道。该试验旨在寻求一种新型植物源农药,以期防治根结线虫危害提供参考和方法。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验在山西省晋中市乌金山镇南湖村的温室大棚进行,海拔 820 m,北纬 37°41.230',东经 112°52.238'。土壤肥力状况为:有机质含量 4.00 g/kg、全氮 0.395 g/kg、碱解氮 241.0 mg/kg、有效磷 233.2 mg/kg、速效钾 157.996 mg/kg,pH 6.3。

1.2 试验材料

供试茵陈蒿取苗期(4月初)和成熟期(8月初)植株,分成全株、茎、叶和根 4 部分,分别洗净烘干(烘箱 60℃烘干 24 h)和自然晾干(含水量在 10%~15%,手搓即碎),粉碎过 325 目筛,密封保存备用。

供试番茄品种为“伊美娜”。供试根结线虫根围土,由山西省晋中市榆次区东赵镇下戈村番茄种植户提供。

1.3 试验方法

1.3.1 茵陈蒿酒精提取液和水提取液制备 取苗期和成熟期的茵陈蒿各部分粉末各 2.18 g,分别溶于酒精(50%)4.36 mL,静置 24 h,滤去茵陈蒿渣,保留提取液,制成茵陈蒿酒精提取液,备用。用同样方法将茵陈蒿各部分粉末 2.18 g,分别溶于蒸馏水 4.36 mL,静置 24 h,制成茵陈蒿水提取液,备用。

1.3.2 培养根结线虫二龄幼虫(J2) 从番茄种植户提供的严重感染根结线虫病株根部,挑取根结线虫卵(直径>5 mm)于培养皿中,置 26℃培养箱中孵化,每 2 d 收集根结线虫二龄幼虫(J2)1 次,共收集 6 次^[8-11],将根结线虫调整到 100 条/mL 的根结线虫悬浮液,4℃保存,备用。

1.3.3 定植 将烘干和自然晾干的茵陈蒿全株、茎、叶和根粉末各 2.08 g/kg 与根结线虫根围土于 26 cm×21 cm 的花盆内拌匀,待幼苗长至 2 叶 1 心时定植。试验设定植后第 20 天、第 45 天破坏性取样分离根结线虫、测定根冠比。每个处理设 20 个重复,2×4×2×20=

第一作者简介:江春(1956-),女,重庆人,硕士,副教授,研究方向为农业昆虫与害虫防治。E-mail:jzsjch@163.com.

责任作者:方果(1957-),男,安徽桐城人,硕士,研究员,研究方向为植物防治和农业推广。E-mail:fg@sxzb.com.

基金项目:山西省教育厅科技开发资助项目(20111025);山西省自然科学基金资助项目(2013011039-2)。

收稿日期:2015-01-22

320 株,CK 组 20 株,共 340 株,每盆 5 株,共计 68 盆。随机排列,常规管理。

1.3.4 室内离体试验 在直径 35 mm 培养皿里加入茵陈蒿酒精提取液 2 mL,然后再加入 2 mL 100 条/mL 的 J2,以酒精(25%)为对照,重复 3 次。同样方法在直径 35 mm 培养皿里加入茵陈蒿水提取液 2 mL,然后再加入 2 mL 100 条/mL 的 J2,以蒸馏水为对照,重复 3 次。

1.4 项目测定

1.4.1 根结线虫数目测定 于定植后第 20 天、第 45 天对番茄进行破坏性取样,用改良贝曼法对根围土的线虫分离计数^[9]。取 100 g 土测定土壤含水量,根围土中根结线虫数量折算成 100 g 干土中的数量^[12]。

1.4.2 根结线虫活力测定 在加入茵陈蒿提取液和水提取液 12、24、36 h 后观察线虫活力^[13],置室温(23.5℃)镜检 J2 的死亡或存活数,重复 3 次。以酒精(50%)和蒸馏水作为对照,重复 3 次。防治效果(%)=(对照根结线虫数—处理根结线虫数)/对照根结线虫数×100。

1.4.3 测定根冠比 取第 20 天破坏性取样的植株根系并分离地上部与地下部,称量每株植株计算根冠比。

1.5 数据分析

试验数据采用 Excel 和 DPS 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 茵陈蒿不同处理方式对番茄根围土中根结线虫 J2 的抑制作用

在添加烘干、自然晾干处理的苗期、成熟期茵陈蒿不同部位粉末的土壤中,第 20 天、第 45 天对番茄根系进行破坏性取样,番茄根围土 J2 计数统计,分别计算茵陈蒿不同处理方式对番茄根围土中根结线虫(J2)的抑制作用。

由表 1 可知,在第 20 天时,苗期与成熟期茵陈蒿的全株、茎、叶、根的烘干处理方式均显著优于自然晾干处理方式;全株的处理方式均显著优于茎、叶、根。除第 20 天时成熟期茵陈蒿茎、叶、根部自然晾干与对照无显著差异外,其余处理均与对照有显著差异。第 20 天时苗期茵陈蒿烘干全株、茎、叶、根的抑制率分别为 89.1%、77.0%、76.1%、61.3%,表明茵陈蒿苗期全株对根结线虫抑制最好。

在第 45 天时,除苗期的茎秆烘干处理方式与自然晾干处理方式无显著差异外,成熟期的全株、茎、根烘干处理方式与自然晾干处理方式无显著差异外,其余苗期与成熟期茵陈蒿的烘干处理方式均与自然晾干处理方式有显著差异。

2.2 培养皿中茵陈蒿对根结线虫 J2 的活力试验

由表 2 可见,烘干茵陈蒿不同时期、不同部位、不同溶剂提取物对根结线虫 J2 的活力抑制效果均与对照差异显著。其中苗期、全株、乙醇溶剂提取物以 48 h 的效果最好,抑制率为 69.10%;叶次之,抑制率为 60.81%;成熟期根最次,抑制率为 37.11%。从采集茵陈蒿的时间看苗

表 1 茵陈蒿不同处理方式对番茄根结线虫(J2)的抑制作用

Table 1 Effect of different treatment methods of *Artemisia capillaris* on inhibition of tomato root-knot nematodes J2

		条/100g 干土	
		第 20 天 The 20 th day	第 45 天 The 45 th day
苗期茵陈蒿烘干 Dried <i>Artemisia capillaris</i> in seedling period	全株 Plant	18.8±2.5 f	98.7±2.03 e
	茎 Stem	39.6±1.0 e	183.3±12.7 cd
	叶 Leaf	41.2±3.5 e	176.7±22.6 cd
	根 Root	66.7±13.4 d	105.0±17.5 e
成熟期茵陈蒿烘干 Dried <i>Artemisia capillaris</i> in maturity period	CK	172.2±6.5 a	417.6±33.4 a
	全株 Plant	45.1±11.1 e	120.5±6.6 de
	茎 Stem	123.3±25.6 b	264.2±18.1 bc
	叶 Leaf	89.4±16.0 c	153.1±15.4 d
苗期茵陈蒿自然晾干 Nature dried <i>Artemisia capillaris</i> in seedling period	根 Root	82.2±7.4 c	208.9±33.0 c
	CK	172.2±6.5 a	417.6±33.4 a
	全株 Plant	33.7±16.0 e	67.9±23.1 f
	茎 Stem	58.2±7.7 d	140.0±36.8 d
成熟期茵陈蒿自然晾干 Nature dried <i>Artemisia capillaris</i> in maturity period	叶 Leaf	88.5±4.7 c	116.1±13.2 e
	根 Root	93.1±8.5 bc	155.1±22.6 d
	CK	172.2±6.5 a	417.6±33.4 a
	全株 Plant	107.3±22.0 b	81.4±7.9 ef
成熟期茵陈蒿自然晾干 Nature dried <i>Artemisia capillaris</i> in maturity period	茎 Stem	171.8±38.9 a	314.0±15.7 b
	叶 Leaf	156.4±5.8 ab	201.5±16.5 c
	根 Root	169.2±13.6 a	223.3±11.8 c
	CK	172.2±6.5 a	417.6±33.4 a

表 2 不同时期、不同部位烘干茵陈蒿乙醇、水提取物对番茄根结线虫 J2 活力的影响

Table 2 Different times and different parts of the ethanol and distilled water extract of dried *Artemisia capillaris* impact on tomato incognita J2 vitality

		活性抑制率 Activity inhibition/%		
		部位 Part	溶剂 Solvent	12 h 24 h 48 h
苗期茵陈蒿烘干 Dried <i>Artemisia capillaris</i> in seedling period	全株 Plant	乙醇 Ethanol	29.42 a	49.31 a 69.10 a
	茎 Stem	乙醇 Ethanol	10.22 cd	35.37 b 41.26 d
	叶 Leaf	乙醇 Ethanol	14.41 bc	45.68 ab 60.81 b
	根 Root	乙醇 Ethanol	7.39 e	30.04 c 39.92 de
成熟期茵陈蒿烘干 Dried <i>Artemisia capillaris</i> in maturity period	CK		1.52 g	5.19 e 10.74 g
	全株 Plant	乙醇 Ethanol	20.26 b	44.05 ab 57.98 bc
	茎 Stem	乙醇 Ethanol	10.01 cd	29.95 c 37.81 de
	叶 Leaf	乙醇 Ethanol	14.12 bc	34.26 b 55.45 c
苗期茵陈蒿自然晾干 Nature dried <i>Artemisia capillaris</i> in seedling period	根 Root	乙醇 Ethanol	9.00 cde	26.41 c 37.11 de
	CK		1.23 g	2.20 e 5.17 gh
	全株 Plant	水 Distilled water	21.54 b	37.00 b 42.15 d
	茎 Stem	水 Distilled water	8.58 cde	25.47 c 25.17 f
成熟期茵陈蒿自然晾干 Nature dried <i>Artemisia capillaris</i> in maturity period	叶 Leaf	水 Distilled water	11.13 c	34.26 b 37.09 de
	根 Root	水 Distilled water	5.91 ef	22.53 cd 24.35 f
	CK		1.21 g	3.89 e 6.55 g
	全株 Plant	水 Distilled water	16.21 bc	33.04 b 21.58 f
成熟期茵陈蒿烘干 Dried <i>Artemisia capillaris</i> in maturity period	茎 Stem	水 Distilled water	8.49 cde	22.46 cd 23.06 f
	叶 Leaf	水 Distilled water	11.30 cd	25.70 cd 23.82 f
	根 Root	水 Distilled water	7.21 e	19.81 d 19.87 f
	CK		1.26 g	2.71 e 2.39 h

注:溶剂乙醇浓度为 50%,水提物水为蒸馏水。每种溶剂 3 次重复。对照为蒸馏水。每列数据后的小写字母表示在 0.05 水平上的显著差异。

期抑制效果好于成熟期,全株好于茎、根,乙醇溶剂优于水溶剂。

2.3 茵陈蒿不同处理方式对番茄植株根冠比的影响

苗期烘干、自然晾干茵陈蒿不同部位对植株根冠比的影响与 CK 相比,添加烘干茵陈蒿全株处理的根冠比最大,显著于 CK 和自然晾干茵陈蒿茎处理的根冠比。说明第 20 天根结线虫侵入植株根系,对番茄植株根系生长已造成抑制。

表 3 苗期烘干、自然晾干茵陈蒿
不同部位第 20 天对植株根冠比的影响

Table 3 Different parts of seedling dry and
natural dry *Artemisia capillaris* 20 impact on the plant shoot ratio

组别 Group		地上部分 Shoot/g	地下部分 Root/g	根冠比 Root/shoot ratio
烘干茵陈蒿 Dried <i>Artemisia</i> <i>capillaries</i>	全株 Plant	15.9	3.80	0.239 a
	茎 Stem	18.4	3.71	0.202 ab
	叶 Leaf	18.6	3.3	0.177 b
自然晾干茵陈蒿 Natural dried <i>Artemisia capillaries</i>	根 Root	12.4	2.3	0.185 b
	全株 Plant	16.1	3.27	0.203 ab
	茎 Stem	17.6	2.10	0.119 c
CK	叶 Leaf	16.4	3.10	0.189 b
	根 Root	17.2	3.07	0.178 b
		18.7	2.13	0.114 c

注:根冠比是指植物地下部分与地上部分的鲜重或干重的比值。

3 结论与讨论

近年来中国的园艺事业、特别是设施园艺的发展基本上实现了周年均衡供应,达到了淡季不淡,周年有余的要求。2002 年中国的设施园艺面积总面积达世界第一^[14],而根结线虫的对设施蔬菜的为害已成为设施栽培的瓶颈。开发植物源农药防治根结线虫作为高效、低毒、少残留,向速效、持效、后效的多方位发展的首选,应考虑其易大量采集、易制取、实用性强、效果好等特点^[15-16]。

试验表明,单独使用茵陈蒿茎、叶和根与使用全株的抑制效果有显著性差异,烘干效果好于自然晾干。说明自然晾干茵陈蒿的过程中,已有一些挥发性物质(有效成分)对温度、光照、紫外线等外界因素很敏感,发生结构性变化或降解。但在温室大棚大量使用时自然晾干容易操作,使用时可综合考虑^[6]。根冠比的大小反映了植物地下部分与地上部分的相关性。在作物苗期,为了给作物创造良好的营养生长条件,保证促进根系生长,须增大根冠比。试验表明,第 20 天烘干茵陈蒿全株显著优于叶和根处理,显著优于自然晾干茵陈蒿的茎、叶和根。在第 20 天根结线虫侵入植株根系的同时,茵陈蒿对根结线虫的活力抑制作用已有体现。

茵陈蒿提取物曾被用作储粮害虫赤拟谷盗(*Tribolium ferrugineum* Fabricius)有较高的趋避作用^[7]。由于线虫

运动速度慢,所以茵陈蒿对根结线虫的抑制,可能主要表现在其对根系分泌物引诱二龄幼虫的干扰方面^[1,8],其次才是毒杀作用。茵陈蒿对仓储害虫有趋避作用,对根结线虫侵染植物根系有一定的干扰作用和毒杀作用。茵陈蒿不失为一种极具开发的潜力植物源农药^[17]。

随着人们对农药的重新评价和认识,农药的内涵从高效、高毒、高残留向高效、低毒、少残留;从广谱性向选择性;从短、平、快的单一效应向速效、持效、后效的多方位发展^[16]。生物农药市场的发展势头迅猛,对环境安全的生物农药均是天然存在的活体生物或化合物,故在环境中会自然代谢,参与能量与物质循环。施用于环境中或作物上,不易产生残留,不会引起生物富集现象。

参考文献

- [1] Perry R N, Moens M. 植物线虫学[M]. 简恒,译. 北京:中国农业出版社,2012:52-82.
- [2] 王莉,刘成,刘伟成,等. 几种生物杀线剂防治黄瓜根结线虫[J]. 北方园艺,2012(16):113-114.
- [3] 张成敏,武侠,才秀华,等. 厚垣孢菌 *Pochonia chlamydosporia* 产生的几丁质酶对南方根结线虫卵孵化的影响[J]. 中国农业科学,2009,42(10):3509-3515.
- [4] 董道峰,曹志平,王秀徽,等. Maria Lodovica Gullino 抗根结线虫砧木对番茄生长及产量的影响[J]. 园艺学报,2007,34(5):1305-1308.
- [5] 刘素琪,石建军,曹挥,等. 杀虫植物的研究现状及展望[C]//中国昆虫学会 2000 年学术年会论文集,2000:1092-1097.
- [6] 何军,马志卿,张兴. 植物源农药概述[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2006,34(9):79-85.
- [7] 张丽丽,杨长举. 茵陈蒿三种不同溶剂提取物赤拟谷盗作用方式和作用效果的研究[J]. 粮食储藏,2005(2):6-8.
- [8] 刘维志. 植物线虫学研究技术[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,1995:32-49.
- [9] 刘志典,张秀君. 土壤线虫培养方法研究[J]. 广东农业科学,2013(5):60-62.
- [10] 何元,潘沁桑. 南方根结线虫和爪哇根结线虫的发育[J]. 厦门大学学报(自然科学版),2000,39(4):537-546.
- [11] 王玉玲,刘奇志,周海鹰,等. 南方黄瓜根结线虫病的根结大小与线虫各虫态数量间的关系[J]. 中国蔬菜,2012(24):80-85.
- [12] 时立波,王振华,吴海燕,等. 连作年限对番茄根围土壤根结线虫二龄幼虫与自由生活线虫数量的影响[J]. 植物病理学报,2010,40(1):81-89.
- [13] 丁国春,付鹏,李红梅,等. 枯草芽孢杆菌 AR11 菌株对南方根结线虫的生物防治[J]. 南京农业大学学报,2005,28(2):46-49.
- [14] 李亚灵,温祥珍,李庆华. 山西省设施园艺发展现状[J]. 农村实用工程技术,2005(8):16-18.
- [15] 陈冀胜,郑硕. 中国有毒植物[M]. 北京:科学出版社,1987.
- [16] 马志卿,张兴. 植物源杀虫物质的作用特点[J]. 植物保护,2000,26(2):37-39.
- [17] 江春,方果,张谨华,等. 防治蔬菜根结线虫病的植物源农药及方法[P]. 中国:102960372B,2014-06-11.

Study on the *Artemisia capillaris* Inhibitory Activity of Meloidogyne Extraction in Different Growth Periods

JIANG Chun¹, ZHANG Jin-hua¹, FANG Guo²

(1. College of Biology and Technology, Jinzhong University, Jinzhong, Shanxi 030600; 2. Plant Protection Station of Shanxi Province, Taiyuan, Shanxi 030001)

番茄总黄酮两种提取工艺优化及比较研究

张恩平, 段瑜, 张淑红, 谭福雷

(沈阳农业大学 园艺学院, 辽宁 沈阳 110866)

摘要:以番茄果实为研究对象,用黄酮含量作为提取工艺的指标,采用传统加热法和超声辅助法提取番茄总黄酮,并比较2种提取工艺效果;通过单因素试验与正交实验相结合,研究提取时间、提取温度、料液比、提取次数等对番茄总黄酮含量的影响。结果表明:番茄总黄酮的最佳提取工艺为超声辅助法;50%乙醇,提取时间为20 min,提取温度60℃,料液比为1:40 mg/mL;在最佳提取条件下,番茄总黄酮的含量为576.95 mg/100g。

关键词:番茄;总黄酮;提取工艺

中图分类号:S 642.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)09-0105-04

番茄是全世界栽培最为普遍的果菜之一,在中国各地普遍种植,栽培面积仍有扩大趋势^[1]。番茄营养价值高,果实中含有丰富的糖类、有机酸、番茄红素、胡萝卜素以及维生素C等营养成分^[2]。在番茄果实营养成分的研究中,番茄果实的抗氧化特性在近年来逐渐受到关注。番茄中主要抗氧化物质包括番茄红素、总酚类物质、黄酮类物质。

天然产物中的多糖和黄酮由于具有显著的生物活性而成为目前研究的热点^[3]。黄酮类化合物具有清除自由基、抗氧化、抗突变、抗肿瘤、抗菌、抗病毒和调节免疫等功能^[4-5],目前国内外学者已从许多植物中提取出具有生物功能的黄酮类化合物^[6-10]。我国番茄资源丰富,加强番茄总黄酮的提取工艺研究,可为番茄资源的开发利用提供一定的理论依据。

第一作者简介:张恩平(1971-),男,博士,副教授,研究方向为蔬菜栽培与生态。E-mail:zhangep024@163.com。

责任作者:张淑红(1973-),女,博士,副教授,研究方向为蔬菜栽培与生态。E-mail:zhangsh024@163.com。

基金项目:国家星火计划课题资助项目(2012GA6500021);国家科技成果转化资助项目(2012GB2B000091);国家科技支撑计划资助项目(2013BAD20B08)。

收稿日期:2015-01-19

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试番茄2013年8月23日定植于沈阳农业大学蔬菜种植基地21号棚,常规变温管理成熟后采摘第2穗果。洗净后切片,真空冻干成粉末过60目筛备用。芦丁标准品购自上海源叶科技有限公司。乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠等均为分析纯。

真空浓缩冻干系统Power Dry II3000(丹麦Heto公司);Cary-100紫外可见分光光度计(美国瓦利安公司);万分之一电子天平(北京塞多利斯天平有限公司);DK-8D数显电热恒温水槽(上海森信实验仪器有限公司);KQ2500DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 芦丁标准曲线的绘制 参照郭育东等^[11]的方法,精确称取芦丁标准品10 mg,加入70%乙醇,配成0.1 mg/mL的芦丁标准品溶液。分别准确吸取标准品溶液于0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL的试管中,加入70%乙醇,后各加入0.1 mL 5%的NaNO₂溶液,摇匀后放置5 min,加入0.1 mL 10%的Al(NO₃)₃溶液,摇匀后放置7 min,继续加入1 mol/L的NaOH溶液3 mL,摇

Abstract: The *Artemisia capillaris* of different growth stage were used as material to study the inhibitory activity of artemisia to meloidogyne in different period, the method of ethanol extraction and water extraction were adopted to treat the whole plants, stem, leaf and root in seedling stage and mature stage of *Artemisia capillaries*. The results showed that the effect of seedling extration inhibition was better than the mature period, the whole plant extration was better than stem and root, ethanol solvent was better than water solvent.

Keywords: *Artemisia capillaris*; meloidogyne; inhibitory activity