

一种植物源复配剂对烟草黑胫病的抑制及土壤特性的影响

王传吉, 王树声*, 赵 阳, 杨银菊, 王若焱

(中国农业科学院烟草研究所, 农业部烟草生物学与加工重点实验室, 青岛 266101)

摘要: 为明确植物(青蒿、苦参、蕲艾、广藿香、金银花)复配剂水提取物对黑胫病的抑制及对土壤特性的作用, 采用平板培养和盆栽试验方法, 研究了不同浓度提取物对黑胫病菌的抑制率、烤烟黑胫病发病率及土壤特性的影响。结果表明, 2.5、5、10 mg/mL的提取物溶液均能抑制黑胫病病原物生长, 降低烤烟黑胫病的发病率和病情指数。结果还表明, 复配剂水提取物能够提高土壤中阳离子交换量和电导率, 增加土壤中脲酶、蔗糖酶和酸性磷酸酶活性, 使土壤中 NH_4^+ 、 NO_3^- 、有效磷、速效钾含量不同程度提高, 有机质含量降低。低浓度(2.5 mg/mL)处理提高了土壤中真菌及放线菌数量。可见, 植物提取物溶液对黑胫病的防治有较好效果, 同时能够改良土壤性状。浓度为 10 mg/mL 时作用效果较好。

关键词: 植物源复配剂; 水提取物; 黑胫病; 土壤养分; 土壤酶

中图分类号: S435.72

文章编号: 1007-5119(2015)06-0083-05

DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2015.06.015

Study on the Inhibitory Effect of the Aqueous Extract of a Botanical Mixture on Tobacco Black Shank and Its Influence on Soil Characteristics

WANG Chuanji, WANG Shusheng*, ZHAO Yang, YANG Yinju, WANG Ruoyan

(Tobacco Research Institute, Key Laboratory of Tobacco Biology and Processing, Ministry of Agriculture, CAAS, Qingdao 266101, China)

Abstract: Research was conducted to investigate the effects of an aqueous extract of a botanical mixture on soil characteristics and inhibition to black shank. The results showed that at the concentrations of 2.5, 5 and 10 mg/mL, the aqueous extract inhibited the growth of *Phytophthora nicotianac* and decreased disease incidence and disease index of black shank. The aqueous extract was able to improve cation exchange capacity and electrical conductivity of the soil, increase the contents of NH_4^+ , NO_3^- , available P and available K in the soil, while decreased the content of organic matter. At the concentration of 2.5, 5 and 10 mg/mL the aqueous extract increased activity of urease, sucrase, and acid phosphatase. At 2.5 mg/mL the aqueous extract increased amounts of fungus and actinomycetes in the soil. We thus concluded that the plant aqueous extract can inhibit growth of black shank, improve the transformation of available nutrients in soil and improve the soil environment eventually.

Keywords: botanical mixture; aqueous extract; black shank; soil nutrient; soil enzyme

化肥的过量和长期施用恶化了土壤的理化性质, 使得土壤板结, 肥力下降, 并且土壤微生物多样性下降, 土传病害发生严重, 同时也造成资源浪费和环境污染^[1], 最终引起土壤退化。目前应对土壤退化仍以使用土壤改良剂为主, 应用的土壤改良剂包括: 沸石、粉煤灰、污泥、绿肥、聚丙烯酰胺等, 但都不同程度的包含一些负面影响, 如成本太高, 易造成二次污染等^[2]。

黑胫病是烟草的主要病害之一, 化学防治仍然是防治烟草黑胫病最为有效的手段^[3], 但农药的施用可能造成药害、农药残留^[4], 虽然关于黑胫病的抗药性还未有报道, 但长期的农药施用使病害的抗药性增强的可能性提高。

以上因素直接导致了烟草产质量的不稳定。为解决此类难题, 研究人员将目光转向天然可降解植物提取物。植物提取物目前以中药提取物为

基金项目: 贵州省烟草公司遵义市公司项目“植物源复配剂对烤烟根际生态环境及其产质量的影响研究”(2013-6)

作者简介: 王传吉, 男, 在读硕士, 研究方向为烟草栽培。E-mail: wangchuanji20130@sina.com。*通信作者, E-mail: wangshusheng@caas.cn

收稿日期: 2015-08-31

修回日期: 2015-12-20

核心^[5]。相对于化学药剂所带来的系列问题^[6],植物提取物为天然产物,环境中易分解并且分解产物对环境无影响^[7]。不少学者已经对植物提取物进行了研究报道,但目前关于植物提取物在农业上的应用等方面的研究,仍以提取物本身对病虫害的抑制作用为主,其中包括,大蒜(*Allium sativum* L.)、银杏(*Ginkgo biloba* L.)对于烟草花叶病毒的抑制作用^[8-9],苦参(*Sophora flavescens*)、党参(*Codonopsis pilosula*)提取液对真菌的抑制作用^[10],骆驼蓬(*Peganum harmala* L.)、黄文江鱼藤(*Derris elliptica*)的提取物对盆栽番茄南方根结线虫病控制效果等^[11]。关于植物提取物对土壤特性影响的研究较少,因此,本研究在探明植物提取物对黑胫病的抑制作用的同时,研究植物提取物对土壤的作用。

1 材料与方法

1.1 供试材料

选用烟草品种 NC55,由中国农业科学院烟草研究所国家农作物种质资源平台烟草种质资源子平台提供。植物复配药材配方含有:青蒿(*Artemisia annua* L.)、苦参(*Sophora flavescens* Ait.)、蕲艾(*Artemisia argyi* Levl. et Van. var. *argyi* cv. *Qiai*)、广藿香(*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.)、金银花(*Lonicera japonica* Thunb.)。将植物复配材料 100 g 与 1 L 蒸馏水混合,超声提取 1 h,减压回流 30 min,过滤,旋转蒸发,制备的植物提取物可溶物中总氮含量 0.003%,总磷含量 0.011%、总钾含量 0.007%。分别配置该提取物的 2.5 mg/mL、5 mg/mL、10 mg/mL 溶液,无菌水为对照。黑胫病病原物(*Phytophthora nicotianac* var. *nicotianac*)由中国农业科学院烟草研究所植物保护研究中心提供。

1.2 试验方法

植物复配剂水提取物对黑胫病菌的抑制试验:采用平板试验法。将不同浓度提取物水溶液通过 0.25 μm 微孔滤膜除菌,与燕麦培养基按照

体积 1:9 混合,再在固体培养基上接菌,28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 3 d 后测量真菌菌落直径,每个处理重复 4 次。

盆栽试验:试验于 2014 年 7 月在中国农业科学院烟草研究所内进行。烟草种子经浸泡、灭菌、消毒后于 28 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗条件下催芽,50 d 后进行盆栽,盆栽土壤取自山东省青岛市,土壤类型为褐土,pH 6.3,有机质 18.88 g/kg,碱解氮 92.68 mg/kg,速效磷 27.32 mg/kg,速效钾 158.02 mg/kg。烟草长至 5 片真叶展开时,用 2.5、5、10 mg/mL 浓度提取物溶液对烟草进行灌根。根据前期摸索,每棵烟浇灌 20 mL 即可保证浸湿根系,对照浇灌等量蒸馏水,每个处理 12 盆烟。处理 16 d 后采集土壤,测定 pH、阳离子交换量(CEC), NO_3^- 、 NH_4^+ 、速效 K、速效 P 和有机质含量,脲酶、酸性磷酸酶、过氧化氢酶活性及可培养微生物数量。另于灌根后第 2 天接种黑胫病菌谷,每棵烟苗接种量 0.5 g,每个处理接种 5 株,30 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 5 d,观测发病率和病情指数。

1.3 测定指标与方法

黑胫病病情的调查参照 GB/T 23222—2008《烟草病虫害分级及调查方法》。土壤 pH 的检测参照 NY/T 1121.2—2006《土壤 pH 的测定》,土壤阳离子交换量(Cation Exchange Capacity, CEC)及有机质含量按照鲍士旦^[12]的方法,土壤电导率值(Electrical Conductivity, EC)测定采用上海雷磁 DDS-11A 电导率仪。

土壤理化指标的测定参考鲍士旦^[12]的方法。土壤脲酶采用苯酚钠-次氯酸钠比色法,酸性磷酸酶检测采用磷酸苯二钠比色法,过氧化氢酶检测采用高锰酸钾滴定法。土壤可培养微生物数量采用涂布平板法检测。

1.4 数据处理统计分析

数据采用 Excel 2003 进行整理,用数据分析软件 SAS 9.2,按单因素 3 重复完全随机设计 LSD 法进行统计分析和多重比较。

2 结 果

2.1 不同浓度提取物对黑胫病病原物的抑制作用

由表 1 可见，与对照相比，不同浓度提取物处理均能抑制病原物的生长。随提取物浓度增加抑菌效果提高，10 mg/mL 处理的抑菌率显著高于 2.5 和 5 mg/mL 处理。随着提取物浓度增大，菌落直径也呈缩小趋势，5 和 10 mg/mL 处理的菌落直径显著小于对照。

表 1 不同处理的抑菌率、菌落直径

Table 1 Bacteriostatic ratio, colonial diameter of different treatments

| 浓度/(mg·mL ⁻¹) | 抑菌率/% | 菌落直径/cm |
|---------------------------|--------|---------|
| 0 | | 3.34a |
| 2.5 | 8.61b | 3.05ab |
| 5 | 10.86b | 2.98bc |
| 10 | 18.72a | 2.71c |

注：同一列不同小写字母表示差异达显著水平 ($p < 0.05$)，下同。

2.2 不同浓度提取物对烤烟黑胫病发病率的影响

由表 2 可见，随着处理浓度增大，接种黑胫病菌的烤烟黑胫病发病率和病情指数均有所下降。说明植物提取物能够抑制黑胫病病原物对烤烟的侵染及其在株体内的增殖能力，降低黑胫病的发生。

表 2 不同处理烤烟黑胫病发病率和病情指数

Table 2 Disease incidence and disease index of different treatments

| 浓度/(mg·mL ⁻¹) | 发病率/% | 病情指数 |
|---------------------------|-------|--------|
| 0 | 100 | 100.00 |
| 2.5 | 60 | 48.57 |
| 5 | 40 | 34.28 |
| 10 | 20 | 20.00 |

2.3 不同浓度提取物对土壤 pH、CEC 及电导率的影响

在表 3 中可以看出，不同浓度的提取物处理土壤 pH 之间没有显著差异，并且 pH 的变化与提取物浓度之间也没有表现出规律性。提取物处理土壤的 CEC 均高于对照，5 mg/mL 和 10 mg/mL 处理 CEC 显著高于对照，但二者之间不存在显著性差异。EC 值随提取物浓度的增加而升高，提取

物处理的土壤 EC 值均显著高于对照，但不同处理之间没有显著差异。

表 3 不同处理的 pH、CEC 及电导率值

Table 3 pH, CEC and electric conductivity of different treatments

| 浓度/(mg·mL ⁻¹) | pH | CEC/(cmol·kg ⁻¹) | EC/(ms·cm ⁻¹) |
|---------------------------|-------|------------------------------|---------------------------|
| 0 | 6.18a | 10.56b | 1.64a |
| 2.5 | 6.27a | 10.62b | 1.70ab |
| 5 | 6.15a | 11.03a | 1.78b |
| 10 | 6.19a | 10.97a | 1.82b |

2.4 不同浓度提取物对植烟土壤酶活力的影响

由表 4 可见，5 和 10 mg/mL 处理的土壤脲酶活性与对照比较无显著差异，2.5 mg/mL 处理则显著高于对照，说明低浓度的处理在提高土壤脲酶活性上效果更加明显。随着处理浓度的增加，土壤蔗糖酶活性提高，2.5 mg/mL 和 5 mg/mL 处理分别比对照高 2.66% 和 4.39%，但均未达到显著性差异，10 mg/mL 处理则显著高于对照，比对照高 21.86%。5 mg/mL 处理的土壤酸性磷酸酶活性与对照没有显著性差异，而 2.5 mg/mL 和 10 mg/mL 处理则显著高于对照，同时也显著高于 5 mg/mL 处理。不同浓度处理的土壤过氧化氢酶活性与对照差异不显著。

表 4 不同处理对土壤酶活性的影响

Table 4 Effect of different treatments on soil enzyme activity

| 浓度/ (mg·mL ⁻¹) | 脲酶/ (mg·g ⁻¹) | 蔗糖酶/ (mg·g ⁻¹) | 酸性磷酸酶/ (mg·g ⁻¹) | 过氧化氢酶/ mL |
|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------|
| 0 | 19.01b | 67.65b | 0.45b | 7.27a |
| 2.5 | 21.78a | 69.45b | 0.65a | 7.25a |
| 5 | 18.35b | 70.62b | 0.46b | 7.28a |
| 10 | 19.74ab | 82.44a | 0.65a | 8.00a |

2.5 不同浓度提取物对土壤养分含量的影响

由表 5 看出，随着浓度增加，土壤 NO₃⁻含量呈增加趋势，2.5 mg/mL 处理的土壤 NO₃⁻含量与对照差异不显著，5 mg/mL 和 10 mg/mL 处理显著高于对照。土壤中 NH₄⁺含量的表现与 NO₃⁻类似，随处理浓度增大而增加，10 mg/mL 处理显著高于其他处理，比对照高 28.77%。土壤中有效磷含量，2.5 mg/mL 处理与对照没有显著性差异，5 mg/mL

及 10 mg/mL 则显著性高于 2.5 mg/mL 处理和对照, 分别比对照高 27.42% 和 40.58%。土壤中有效钾含量, 2.5 mg/mL 处理与对照无显著性差异, 5 mg/mL 与 10 mg/mL 显著高于 2.5 mg/mL 与对照, 分别比对照高 8.71% 和 12.33%。随着提取物处理浓度的增大, 土壤有机质含量逐渐降低, 2.5 mg/mL、5 mg/mL、10 mg/mL 处理比对照分别降低 8.94%、14.07%、16.40%。其中 5 mg/mL、10 mg/mL 处理显著低于对照。

表 5 不同处理土壤中 NO_3^- 、 NH_4^+ 、速效磷、速效钾及有机质含量 mg/kg

Table 5 Concentration of NO_3^- , NH_4^+ , available phosphorus, available potassium and organic material at different treatments

| 浓度/(mg·mL ⁻¹) | NO_3^- | NH_4^+ | 速效磷 | 速效钾 | 有机质 |
|---------------------------|-----------------|-----------------|--------|---------|---------|
| 0 | 20.77c | 11.35b | 17.35c | 113.01c | 12.86a |
| 2.5 | 18.26c | 12.04b | 13.08c | 117.74c | 11.71ab |
| 5 | 22.31b | 12.58b | 22.10b | 122.85b | 11.05b |
| 10 | 24.04a | 14.61a | 24.39a | 126.95a | 10.75b |

2.6 不同浓度提取物对土壤微生物数量的影响

由表 6 看出, 土壤细菌数量上, 不同浓度处理与对照相比较并没有显著差异。土壤真菌数量, 与对照相比较, 2.5 mg/mL 处理高出 21.96%, 但仍未达到显著性差异, 5 mg/mL 处理与对照也没有显著性差异, 而 10 mg/mL 处理则显著低于对照, 减少 34.72%。土壤放线菌数量, 2.5 mg/mL 处理与对照无显著性差异, 5 mg/mL 与 10 mg/mL 处理与对照无显著性差异, 但显著少于 2.5 mg/mL, 分别减少 49.54%、56.88%。说明低浓度处理条件下, 能够促进土壤中真菌和放线菌的繁殖。

表 6 不同处理下土壤可培养微生物的数量 cfu/g

Table 6 Effect of aqueous extracts to culturable microorganism

| 浓度/(mg·mL ⁻¹) | 细菌 | 真菌 | 放线菌 |
|---------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 0 | 0.93*10 ⁶ a | 3.37*10 ³ a | 0.93*10 ⁶ ab |
| 2.5 | 1.07*10 ⁶ a | 4.11*10 ³ a | 1.09*10 ⁶ a |
| 5 | 0.99*10 ⁶ a | 2.91*10 ³ ab | 0.55*10 ⁶ b |
| 10 | 1.10*10 ⁶ a | 2.20*10 ³ b | 0.47*10 ⁶ b |

3 讨论

商胜华等^[13]研究发现, 浓度大于 1.5% 的大蒜提取液对黑胫病菌具有显著的抑制效果, 但在土壤中表现出抑制效果则大蒜提取物浓度还要加大。Karegowda 等^[14]的研究中, 桉树 (*Euclyptus citriodora*)、兰香 (*Ocimum sanctum*) 和菱叶 (*Piper betle*) 的提取物的 10% 水溶液对烟草黑胫病菌均有较好抑制效果, 抑制率为均超过 80%。本试验中 2.5 mg/mL 的提取物水溶液即对黑胫病菌表现出抑制作用, 且随着浓度的增大抑制作用增强。试验中采用的植物配方中含有青蒿、金银花等, 已有研究证明青蒿、金银花等提取物具有抑菌效果^[15-16]。

土壤中的有机质含量减少, 说明提取物处理能够促进有机质的转化, 试验中土壤速效养分的增加则是有机质转化的结果。微生物的分解作用是土壤中有机质转化的原因之一, 在本试验中, 植物提取物溶液处理的土壤微生物数量发生了变化。已有研究证明青蒿、金银花等植物主要化学成分中含有有黄酮类、有机酸、萜类、苯丙酸类和挥发油^[17-18], 张恩平等^[19]发现土壤中苯甲酸、肉桂酸等含量为 100 mg/kg 时就可显著降低土壤中速效氮磷钾含量。苯甲酸等物质可能影响土壤微生物多样性。

土壤酶中非固定态酶及由微生物释放的部分易受环境的影响, 土壤微生物活性与蔗糖酶、脲酶、磷酸酶活性有直接相关关系^[20], 提取物水溶液处理的土壤中脲酶、蔗糖酶、酸性磷酸酶活性提高, 可能是对土壤中的非固定态酶产生作用, 或者通过作用于微生物而对胞外酶的分泌产生影响。吴万传等^[21]研究发现, 在温室黄瓜盛果期施用植物源药肥, 能显著提高土壤脲酶、磷酸酶、蔗糖酶。在本研究中, 土壤中细菌数量的变化与土壤脲酶及酸性磷酸酶活性变化不尽一致, 原因有待进一步研究。此外, 本试验中处理后的土壤中

NH_4^+ 、 NO_3^- 及有效磷含量都提高，且随着水提物溶液浓度增大而增大。土壤中脲酶能转化土壤中尿素为 NH_4^+ ，脲酶的活性与土壤中全氮及速效磷含量呈正相关，酸性磷酸酶能将有机磷中的磷基团转化为无机态磷^[22]，水提物溶液处理后，土壤中脲酶活性升高，促进了尿素向 NH_4^+ 的转化，提高了土壤中的 NH_4^+ 含量。酸性磷酸酶活性提高，促进有机磷基团转化为磷酸盐，提高了土壤中有效磷含量。

4 结 论

本试验使用的植物源复配剂水提取物对黑胥病抑制有很好效果，同时对土壤的改良也表现出了积极的作用，促进了有机质的分解，增加了土壤中 NH_4^+ 、 NO_3^- 、速效磷、速效钾含量，提高了土壤中脲酶、蔗糖酶、酸性磷酸酶活性。浓度为10 mg/mL的植物提取物溶液应用效果最好。本试验结果可为植物源复配剂在烟草农业生产上的应用提供参考。

参考文献

- [1] 王道中, 张成军, 郭熙盛. 减量施肥对水稻生长及氮素利用率的影响[J]. 土壤通报, 2012, 43(1): 161-165.
- [2] 陈义群, 董元华. 土壤改良剂的研究与应用进展[J]. 生态环境, 2008, 17(3): 1282-1289.
- [3] 汪汉成, 李文红, 冯勇刚, 等. 烟草黑胥病化学防治的历史与现状[J]. 中国烟草学报, 2011, 17(5): 96-102.
- [4] 牛柱峰, 杜永利, 崔丙慧, 等. 五莲植烟土壤及烟叶中重金属、农药残留状况研究[J]. 中国烟草科学, 2006, 27(1): 26-28.
- [5] 曾建国. 我国植物提取物行业科技发展现状、问题及建议[J]. 中草药, 2006, 37(1): 2-12.
- [6] 陈苏敏, 胡启山, 郭鹏程, 等. 农药污染及其危害的有效防控[J]. 现代农业科技, 2008(4): 94-95.
- [7] 吴钜文, 陈建峰. 植物源农药及其安全性[J]. 植物保护, 2002, 28(4): 39-41.
- [8] 耿召良, 商胜华, 陈兴江, 等. 植物源抗烟草花叶病毒天然产物研究进展[J]. 中国烟草科学, 2011, 32(1): 84-91.
- [9] 林中正, 谢娇枚, 李基光, 等. 抑制烟草花叶病毒活性植物的筛选[J]. 中国烟草科学, 2013, 34(6): 89-92.
- [10] 杨航宇, 刘艳梅, 邹亚利. 几种药用植物杀菌活性的初步研究[J]. 植物保护, 2009, 35(1): 149-151.
- [11] 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.
- [12] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [13] 商胜华, 陆宁, 陈庆园, 等. 大蒜提取液对烟草黑胥病和青枯病的防治效果初探[J]. 贵州农业科学, 2009, 37(10): 94-96.
- [14] Karegowda C, Gurumurthy B R, Naik R G. Evaluation of Plant Extracts and Trichoderma Harzianum Rifai Against Phytophthora Parasitica Var. Nicotinae[J]. Mysore Journal of Agricultural Sciences, 2009, 43(2): 231-233.
- [15] 宁睿, 李优琴, 王春梅, 等. 青蒿粗提物的抑菌活性研究[J]. 江苏农业科学, 2007(3): 61-63.
- [16] 毛春堂, 韩智强, 李忠环, 等. 有机种植模式下几种药剂对烤烟真菌性病害的防治研究[J]. 植物保护, 2012, 38(2): 175-177.
- [17] 张秋红, 朱子微, 李晋, 等. 中药青蒿化学成分与种植研究现状[J]. 中国医药导报, 2011, 8(19): 10-12.
- [18] 夏远, 李弟灶, 裴振昭, 等. 金银花化学成分的研究进展[J]. 中国现代中药, 2012, 14(4): 26-32.
- [19] 张恩平, 衣宁宁, 李亮亮, 等. 番茄自毒物质对土壤养分的影响[J]. 西南农业学报, 2010, 23(3): 820-823.
- [20] 汤树得. 土壤耕作对白浆土生物学活性的影响[J]. 土壤肥料, 1982(3): 13-15.
- [21] 吴传万, 杜小凤, 顾大路, 等. 植物源药肥对温室黄瓜生长发育和土壤环境的影响[J]. 江苏农业学报, 2014, 30(1): 92-99.
- [22] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.