

## 芸薹属植物提取液对烤烟黑胫病发生及烟株生理特性的影响

刘领<sup>1\*</sup>, 李继伟<sup>1\*</sup>, 常茜茜<sup>1</sup>, 周俊学<sup>2</sup>, 赵世民<sup>2</sup>, 陈明灿<sup>1</sup>, 李友军<sup>1,\*\*</sup>

<sup>1</sup>河南科技大学农学院, 河南洛阳471023; <sup>2</sup>洛阳市烟草公司, 河南洛阳471000

**摘要:** 采用平板试验和盆栽试验研究了3种芸薹属植物(芜菁、芥菜和油菜)提取液对烟草黑胫病菌丝生长、烟株黑胫病发生状况、烟株生长及生理特性的影响。结果表明: (1)与对照相比, 3种芸薹属植物提取液均显著地抑制烟草黑胫病菌丝的生长, 在最高浓度10 mg·mL<sup>-1</sup>的条件下, 芜菁、芥菜和油菜提取液对烟草黑胫病菌丝的抑制率分别为46.90%、52.41%和61.53%, 以油菜提取液的抑菌效果最好。(2)与对照相比, 不同芸薹属植物提取液均显著地降低烟草黑胫病的发病率和病情指数, 防治效果为32.59%~76.21%。(3)与对照相比, 3种芸薹属植物提取液均显著增加烟株的茎围、最大叶面积和株高, 显著提高烟株叶片的叶绿素含量及净光合速率( $P_n$ )、蒸腾速率( $T_r$ )和气孔导度( $G_s$ ), 显著增强烟株叶片中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性, 显著降低丙二醛(MDA)含量, 促进烟株的生长。(4)就3种芸薹属植物提取液对烤烟的抗病效应而言, 以油菜提取液对提高烤烟抗性和抑制烟草黑胫病发生的效果最好。

**关键词:** 芸薹属植物提取液; 烟草黑胫病; 抑制作用; 烤烟生长; 生理特性

烟草黑胫病是由烟草疫霉菌(*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*)侵染引起的一种烟草生产中毁灭性的土传病害(马国胜等2001)。我国于1950年在黄淮烟区首次报道该病。近年来, 由于我国连作烟田面积逐年扩大, 连作年限不断增加, 加重了烟草黑胫病的流行。目前烟草黑胫病除东北寒冷地区零星发生外, 全国其他烟区均有较大面积的发生(王静等2013)。在烤烟生产中, 长期施用化肥和农药等化学药剂致使植烟土壤肥力下降、土壤微生物区系和多样性失调是造成烟草黑胫病泛滥的根本原因(Ling等2010; 汪汉成等2011)。烟草黑胫病病原菌在土壤中能够长期存活, 持久传播, 防治难度大, 严重影响烟叶的产量和品质, 给烤烟生产带来巨大经济损失(王海波等2016; 谢永辉等2015)。

目前, 烟草黑胫病的防治措施主要有选用抗病品种、药剂防治和轮作等, 但这些措施均具有一定的局限性(平文丽等2013)。如抗病性品种更新缓慢, 加之在烤烟生产上连年连片的单一种植抗病品种极易导致烤烟抗性的丧失(张凯等2015); 防治烟草黑胫病的化学药剂多为甲霜灵、乙磷铝等同一种或几种作用机制相同的内吸性杀菌剂, 其容易导致烟草黑胫病病原菌产生抗药性、环境污染、农药残留等问题(肖艳松等2010; 战徊旭等2015); 而轮作是控制烟草黑胫病的有效手段之一。然而随着现代农业的推进, 烤烟生产上主要是以“规模化种植和集约化经营”为特点的现代烟

草农业, 实现烟草合理轮作倒茬的形势变得十分严峻(周喜新等2011; 耿坤等2002)。

已有研究表明, 芸薹属植物组织中含有大量的次生代谢物硫代葡萄糖苷, 当芸薹属植物细胞受到机械破碎后(如植物虫咬或腐烂), 植物组织中的黑芥子酶水解硫代葡萄糖苷而形成挥发性和杀生性很强的异硫氰酸脂类物质, 对作物在抵抗细菌、真菌、病毒和蚜虫等均具有很强的杀生作用(李锋和张春雷2006)。Larkin和Griffin (2007)用培养皿试验、温室试验和田间试验发现油菜、萝卜、芜菁和芥菜对辣椒丝核病菌、马铃薯疫霉、腐病菌、根腐病、菌核病的核盘菌有较好的抑制作用。乔世佳等(2010)的研究也表明, 芸薹属植物对黄瓜枯萎病、黄瓜灰霉病、黄瓜立枯病和水稻稻瘟病等4种病原菌具有较好的抑制作用。然而关于芸薹属植物对烟草黑胫病防治效应的研究鲜有报道。因此, 本研究采用平板试验和盆栽试验研究了3种芸薹属植物提取液对烟草黑胫病发生状况和烟株生理特性的影响, 以期从中选出具有较好生防作用的芸薹属植物, 为芸薹属植物在防治烟草黑胫病病害方面的应用提供理论依据。

收稿 2017-01-20 修定 2017-04-14

资助 国家自然科学基金项目(31200332)、河南省烟草公司项目(HYKJM201307)、洛阳市烟草公司项目(201407)和河南科技大学学科提升振兴A计划项目(13660002)。

\* 并列第一作者。

\*\* 通讯作者(E-mail: lyj@mail.haust.edu.cn)。

## 材料与方法

### 1 供试材料

供试烤烟(*Nicotiana tabacum* L.)品种为‘豫烟6号’,由洛阳市烟草公司统一育苗,培养至五叶期供盆栽试验使用。

烟草黑胫病病原物(*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*)由河南科技大学植保系植物病理实验室提供。烟草黑胫病病原菌供试菌种在牛肉膏蛋白胨斜面培养基接种和培养后,用血球计数板法与比浊法制得浓度为 $10^4$  cfu·mL<sup>-1</sup>的游动孢子菌悬液(吴秉奇等2013)。

### 2 试验方法

#### 2.1 芸薹属植物提取液制备

3种芸薹属(*Brassica*)植物分别为芜菁(*B. rapa* L.)品种‘菜籽芜菁’、芥菜(*B. juncea* L.)品种‘雪里蕻’和油菜(*B. campestris* L.)品种‘杂双6号’,于2014年11月播种于河南科技大学农场,次年4月初盛花期采集地上组织,烘干、粉碎、过筛备用。将植物材料与乙醇溶液按体积比1:9混合并浸泡12 h,过滤,再重复浸泡过滤2次,然后用90%乙醇溶剂冲洗植物残渣2次,用滤纸过滤后合并全部滤液,滤液经旋转蒸发浓缩,用90%乙醇定容至 $0.1$  g·mL<sup>-1</sup>的母液,根据前期的预备试验,配制成浓度为2.5、5、10 mg·mL<sup>-1</sup>,保存于4℃冰箱内备用(万年峰等2013)。

#### 2.2 平板培养

将预先配制的不同浓度的3种芸薹属植物提取液经过除菌过滤器过滤,与V8培养基(10% V8果汁100 mL、CaCO<sub>3</sub> 0.2 g、琼脂粉20 g和去离子水900 mL)按照体积比1:9混合,待平板冷却后,将直径0.5 cm的黑胫病病原菌菌片转移到平板上,25℃培养7 d后测量菌落直径。每个处理重复4次。

#### 2.3 盆栽试验

于2015年5月在河南科技大学周山校区进行。试验用土采集于河南科技大学试验农场,土壤质地为褐土,pH值7.4,有机质12.6 g·kg<sup>-1</sup>,总氮1.0 g·kg<sup>-1</sup>,碱解氮80.6 mg·kg<sup>-1</sup>,速效磷8.9 mg·kg<sup>-1</sup>,速效钾118.5 mg·kg<sup>-1</sup>。将五叶期的烟苗先用浓度为10 mg·mL<sup>-1</sup>的芸薹属植物提取液浸根处理1 h,对照使用无菌水。浸根处理后移栽于装有4 kg土的塑料盆中,每盆栽1株烟苗。烟株缓苗3 d后用移液枪分别将3种芸薹属植物提取液(10 mg·mL<sup>-1</sup>)灌入烟

株根际,每盆灌入提取液19 mL,同时取1 mL提取液淋于茎基部,对照浇灌等量无菌水,随机排列于隔雨棚中。每个处理重复4次。于芸薹属植物提取液灌根后1 d将配制好的黑胫病病原菌游动孢子菌悬液灌接于各处理烟苗根部,接种量为每盆5 mL孢子菌悬液。烟苗定期定量浇水,按当地烟叶栽培技术进行管理。

### 3 测定指标与方法

#### 3.1 菌落直径和抑制率

采用“十字交叉法”测定菌落直径,然后按下式计算不同处理对烟草黑胫病病原菌菌丝生长的抑制率(赖荣泉等2009)。菌落直径=测量菌落平均值-0.5;烟草黑胫病病原菌菌丝生长抑制率=(1-处理菌落直径/对照菌落直径)×100%。

#### 3.2 烟株生长与生理指标测定

##### 3.2.1 农艺性状调查

于烟株生长至接种处理30、45、60 d后,各分别测量烟株的最大叶长、最大叶宽、烟株茎围和株高,并计算烟株的最大叶面积:烟叶最大叶面积=最大叶长×最大叶宽×修正系数(0.6345)。

##### 3.2.2 叶绿素含量测定

于烟株生长至接种处理30、45、60 d后,采用SPAD-502叶绿素测定仪(日本Minolta公司)分别测定每烟株倒数第5位叶的叶绿素SPAD值。

##### 3.2.3 光合指标测定

于烟株生长到接种处理45 d后,利用Li-6400XT便携式光合测定系统(美国Li-COR公司),在9:00~11:00测定功能盛期叶(倒数第5位叶)的净光合速率( $P_n$ )、气孔导度( $G_s$ )和蒸腾速率( $T_r$ )。每张叶片测定4次,取其平均值。Li-6400TX仪器使用开放式气路,内置光源,光强为 $1500$   $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

##### 3.2.4 抗氧化相关指标测定

取0.5 g叶片组织,加液氮充分研磨后,用2 mL 10%三氯乙酸溶液提取丙二醛(malondialdehyde, MDA)。加入2 mL含1% PVP的0.1 mol·mL<sup>-1</sup>磷酸缓冲液(pH 5.5~8.8),于4℃下 $9300\times g$ 离心20 min,所得上清液即为酶粗提液(朱学明等2015)。

采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定MDA含量,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性分别采用氮蓝四唑还原法和紫外吸收法测定(陈建勋和王晓峰2006)。

过氧化物酶(peroxidase, POD)、多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)和苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)的活性采用李合生(2000)书中的方法测定。

### 3.3 烟株黑胫病病情调查

病情调查按单盆进行, 接种病原菌30 d后观察发病率和发病指数。病情分级标准及结果统计方法参照《GB/T23222-2008烟草病虫害分级及调查方法》。发病率=(发病株数/调查总株数)×100%; 病情指数=[Σ(各级病株或叶数×该病级值)/(调查总株或叶数×最高级值)]×100; 防治效果=[(对照病情指数-处理病情指数)/对照病情指数]×100%。

### 4 数据处理和分析

试验数据采用Excel 2007、DPS 6.55和Origin 9.0进行统计分析和作图。

## 实验结果

### 1 三种芸薹属植物提取液对烟草黑胫病病原菌菌丝生长的抑制效果

由表1和图1可知, 与对照相比, 3种芸薹属植物提取液均显著抑制烟草黑胫病病原菌菌丝的生长( $P<0.05$ )。随着3种芸薹属植物提取液的浓度提高, 其抑制效果也越明显。在最高浓度 $10\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的条件下, 芜菁、芥菜和油菜3种提取液的抑制率

表1 三种芸薹属植物提取液对烟草黑胫病病原菌菌丝生长的抑制效果

Table 1 Inhibitory effects of three *Brassica* extracts on the growth of mycelium of *P. parasitica* var. *nicotianae*

处理	处理浓度/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	菌落直径/cm	抑制率/%
芜菁提取液	对照	7.25±0.05	
	2.5	6.55±0.10	9.66 <sup>c</sup>
	5	5.45±0.08	24.83 <sup>b</sup>
	10	3.85±0.12	46.90 <sup>a</sup>
芥菜提取液	对照	7.25±0.04	
	2.5	5.25±0.06	27.59 <sup>c</sup>
	5	4.55±0.05	37.24 <sup>b</sup>
	10	3.45±0.11	52.41 <sup>a</sup>
油菜提取液	对照	7.15±0.02	
	2.5	5.15±0.03	31.58 <sup>c</sup>
	5	4.05±0.09	46.61 <sup>b</sup>
	10	2.75±0.08	61.53 <sup>a</sup>

同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ ), 下同。

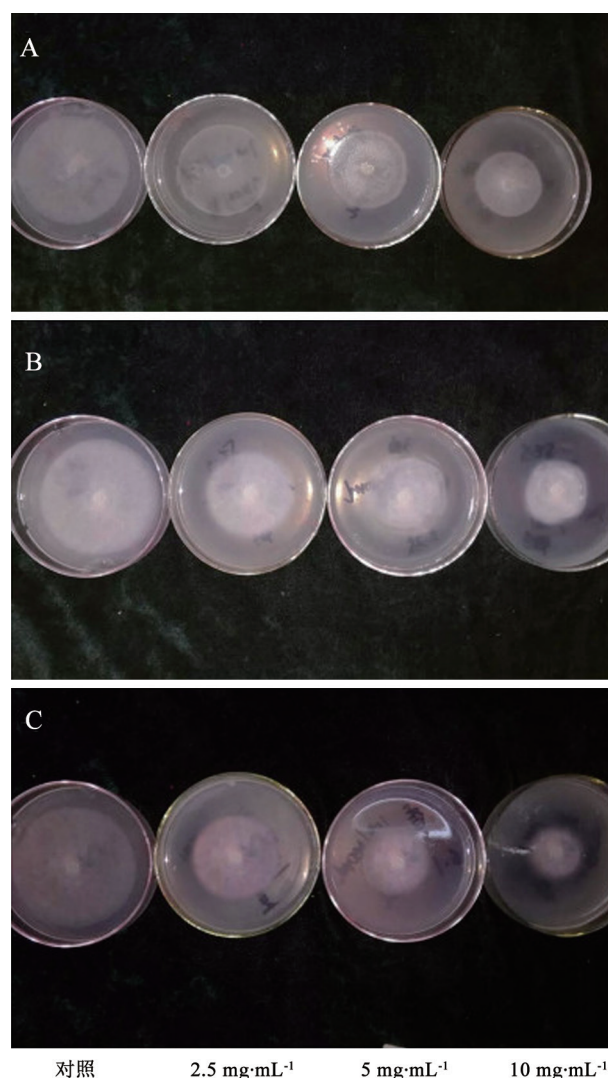


图1 三种芸薹属植物提取液对烟草黑胫病病原菌菌丝生长的影响

Fig.1 Effects of three *Brassica* extracts on the growth of mycelium of *P. parasitica* var. *nicotianae*

A: 芜菁提取液; B: 芥菜提取液; C: 油菜提取液。

分别为46.90%、52.41%和61.53%, 以油菜提取液的抑菌效果最好。

### 2 三种芸薹属植物提取液对烤烟抗黑胫病的防治效果

由表2可知, 接种黑胫病病菌后, 对照和3种芸薹属植物提取液处理的烟株均有黑胫病发生。与对照相比, 3种提取液均显著降低了烟草黑胫病的发病率和病情指数( $P<0.05$ ), 说明其能够有效防控烟草黑胫病的发生。其中油菜提取液对烟草黑胫病的发病率和病情指数抑制效应最好, 发病率降



表2 三种芸薹属植物提取液对烤烟黑胥病的防治效果

Table 2 Control effects of three *Brassica* extracts against *P. parasitica* var. *nicotianae*

处理	发病率/%	病情指数	防治效果/%
对照	100.00 <sup>a</sup>	28.75 <sup>a</sup>	
芜菁提取液	62.50 <sup>b</sup>	19.38 <sup>b</sup>	32.59 <sup>c</sup>
芥菜提取液	53.75 <sup>c</sup>	12.46 <sup>c</sup>	56.67 <sup>b</sup>
油菜提取液	45.00 <sup>d</sup>	6.84 <sup>c</sup>	76.21 <sup>a</sup>

低为45%，病情指数降低为6.84，防治效果达到76.21%。

### 3 三种芸薹属植物提取液对烤烟主要农艺学性状的影响

由图2可知，随着烤烟的发育进程，烤烟的茎围、最大叶面积和株高均逐渐增加，表现为：接种处理后60 d>45 d>30 d。与对照相比，3种芸薹属植物提取液处理均显著增加了不同时期烤烟的茎围、最大叶面积和株高( $P<0.05$ )，表明添加3种提取液能够有效缓解黑胥病对烤烟生长的抑制作用。就3种提取液添加对烟株茎围和株高影响的效应来看，3个生育时期均表现为：油菜>芥菜>芜菁，且接种处理后30 d添加3种提取液，烟株茎围和株高没有显著差异( $P>0.05$ )，接种处理后45和60 d油菜提取液和芥菜提取液对茎围和株高的效应没有显著差异( $P>0.05$ ) (图2-A和C)。另外，3种提取液对烟株最大叶面积的影响在3个生育期均表现为：油菜>芥菜>芜菁，且在接种处理后45和60 d达到显著差异( $P<0.05$ ) (图2-B)，表明油菜提取液和芥菜提取液可缓解烟草黑胥病对烟株的胁迫，从而有利于烟株的营养生长。相比于对照，接种处理后60 d，油菜提取液分别提高烤烟茎围、最大叶面积和株高达16.57%、16.03%和28.09%；芥菜提取液分别提高14.20%、15.08%和19.70%。

### 4 三种芸薹属植物提取液对烤烟叶绿素含量的影响

由图3可知，接种处理后30~60 d烤烟的叶绿素含量逐渐增加，表现为接种处理后60 d>45 d>30 d。与对照相比，添加3种芸薹属植物提取液处理均显著增加不同时期烤烟叶片中的叶绿素含量( $P<0.05$ )，表明3种提取液能够缓解黑胥病对烟株生长的胁迫，从而有利于叶片中叶绿素的合成。添加3种提取液对烟株叶绿素含量影响的效应不同，在3个时期均表现为：油菜>芥菜>芜菁，且油菜

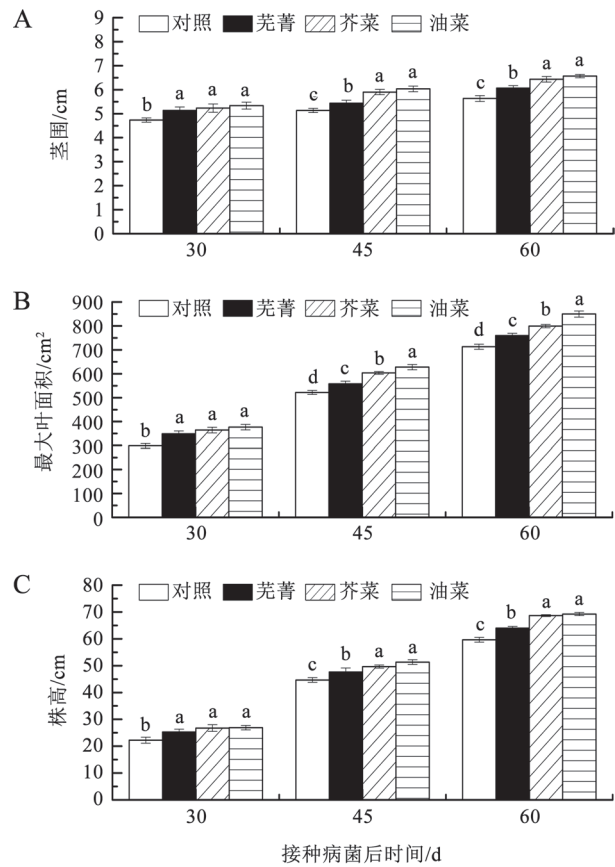


图2 三种芸薹属植物提取液对烤烟主要农艺学性状的影响  
Fig.2 Effects of three *Brassica* extracts on the agronomy traits of flue-cured tobacco

同一时期各柱形上不同小写字母表示不同处理之间差异显著 ( $P<0.05$ )，下同。

提取液在接种处理后60 d与其他处理达到显著差异，油菜提取液较对照在接种处理后60 d叶绿素含量提高了16.16%。表明油菜提取液更有利于减轻烟草黑胥病对烟株的胁迫，提高叶绿素含量。

### 5 三种芸薹属植物提取液对烤烟光合特性的影响

由图4可知，与对照相比，添加3种芸薹属植物提取液均显著增加了烤烟的 $P_n$ 、 $T_r$ 和 $G_s$  ( $P<0.05$ )，表明添加3种提取液可减缓烟草黑胥病对烤烟叶片光合能力的抑制，从而促进烟株的生长。添加3种提取液的处理之间对烤烟叶片的 $P_n$ 和 $T_r$ 的影响没有显著差异( $P>0.05$ )，但对 $G_s$ 而言，芥菜和油菜提取液处理与芜菁提取液处理的差异显著( $P<0.05$ )，表明油菜和芥菜提取液更有利于提高叶片的光合性能。与对照相比，油菜提取液处理分别提高烤烟 $P_n$ 、 $T_r$ 和 $G_s$ 为22.98%、20.31%和

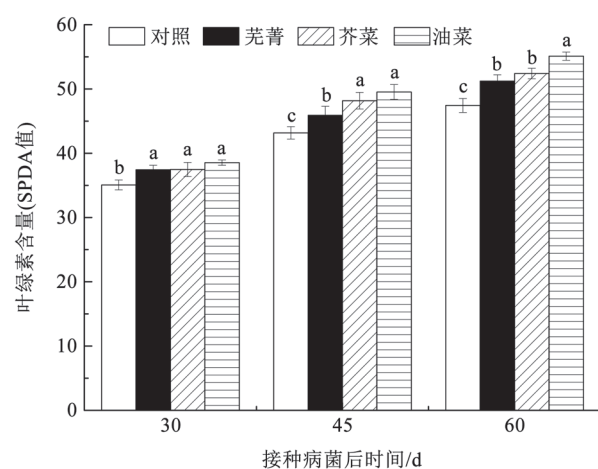


图3 三种芸薹属植物提取液对烤烟叶绿素含量的影响  
Fig.3 Effects of three *Brassica* extracts on chlorophyll content in flue-cured tobacco

28.97%, 芥菜提取液处理分别提高25.84%、16.62%和24.01%。

### 6 三种芸薹属植物提取液对烤烟叶片中MDA含量和抗氧化酶活性的影响

由图5可知, 随着烤烟的生育进程, MDA含量先升高后降低, 表现为: 接种处理后30 d<60 d<45 d; SOD、CAT、POD、PPO和PAL活性均逐渐升高, 表现为: 接种处理后60 d<45 d<30 d。与对照相比, 添加3种芸薹属植物提取液均显著降低烤烟叶片中MDA含量, 显著提高烤烟叶片中SOD、CAT、POD、PPO和PAL活性( $P<0.05$ ), 表明添加3种提取液能提高烤烟抗氧化酶活性, 减轻烟草黑胫病对烟株的胁迫伤害。接种处理后30 d, 3种芸薹属植物提取液对叶片中MDA含量的影响没有显著差异( $P>0.05$ ), 但接种处理后45和60 d油菜和芥菜提取液处理的叶片中MDA含量显著小于芜菁处理( $P<0.05$ ) (图5-A)。接种处理后30 d, 3种芸薹属植物提取液对叶片中SOD和CAT活性的影响没有显著差异( $P>0.05$ ), 但接种处理后45和60 d油菜提取液处理的叶片中SOD和CAT活性显著高于芥菜和芜菁提取液处理的( $P<0.05$ ) (图5-B和C); 接种处理后30、45和60 d, 3种提取液对烤烟叶片中POD、PPO和PAL活性的影响均表现为: 油菜>芥菜>芜菁, 且油菜提取液处理的叶片中POD、PPO和PAL活性显著高于芥菜和芜菁提取液处理( $P<0.05$ ) (图5-D~F)。可见, 经油菜提取液处理的

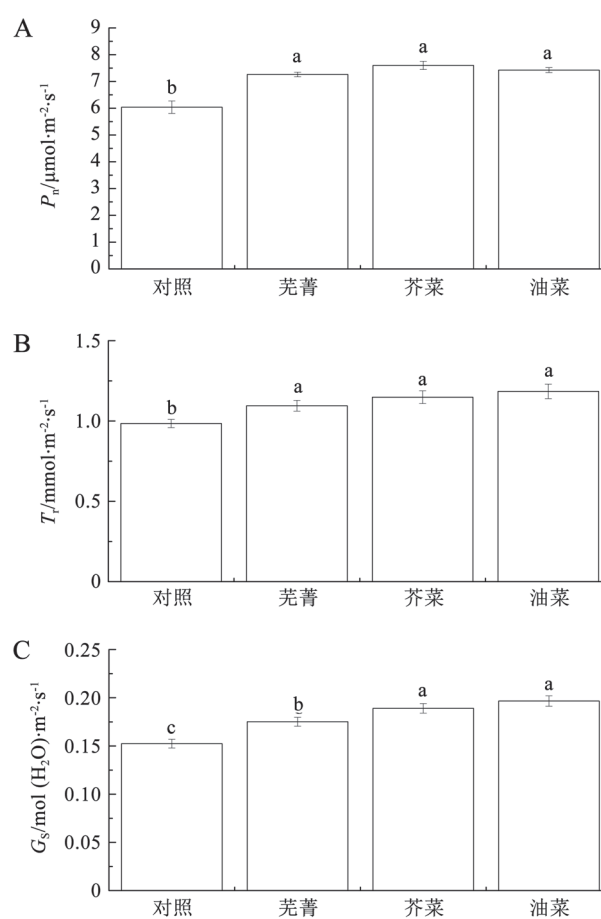


图4 三种芸薹属植物提取液对烤烟光合特性的影响  
Fig.4 Effects of three *Brassica* extracts on the photosynthetic characteristics of flue-cured tobacco

烤烟叶片中SOD、CAT、POD、PPO和PAL活性均最高, 表明油菜提取液对增强烤烟抗性、减轻烟草黑胫病对烟株胁迫的效果较好。

## 讨 论

芸薹属植物在防治土壤病害方面的显著效果已有许多报道。李明社等(2006)用芸薹属植物对土壤进行消毒, 其效果优于太阳能和土壤还原法消毒。Larkin等(2011)将芥菜和白芥混种作为绿肥与土豆轮作, 土豆黄萎病降低25%, 产量增加12%。钱丽丽等(2008)的研究表明, 西兰花中硫代葡萄糖苷水解产物异硫氰酸酯类对金黄色葡萄球菌、白葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和大肠杆菌具有明显的抑制作用。本研究的平板试验表明, 3种芸薹属植物提取液对烟草黑胫病病原菌菌丝生长具

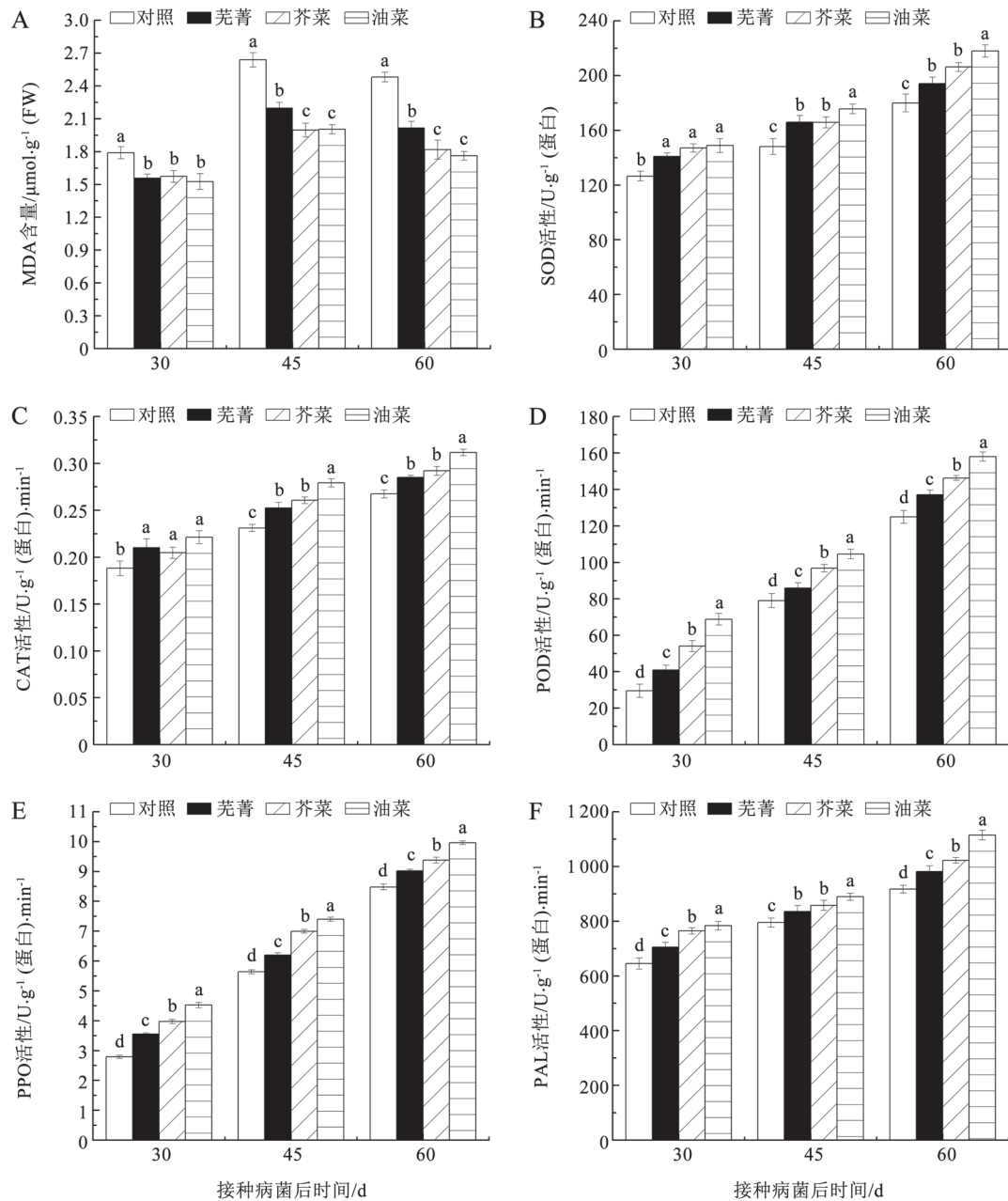


图5 三种芸薹属植物提取液对烤烟MDA含量和抗氧化酶活性的影响

Fig.5 Effects of three *Brassica* extracts on MDA content and activities of antioxidant enzymes in flue-cured tobacco

有显著的抑制效应, 在最高浓度 $10\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的条件下, 芜菁、芥菜和油菜提取液对烟草黑胫病原菌菌丝生长的抑制率分别达到46.90%、52.41%和61.53%; 盆栽试验也表明, 3种提取液能增强烟株对烟草黑胫病的抵抗力, 降低发病率和病情指数, 尤以油菜提取液的防治效果最好, 达到76.21%, 进一步证明了芸薹属植物在防治土壤病害方面的良好效果。这可能与芸薹属植物体内的硫代葡萄糖

苷水解产生的异硫氰酸酯类物质对烟草黑胫病菌具有较强的熏蒸和杀生作用有关(李锋等2006; 何洪巨等2002)。本研究结果还发现, 3种芸薹属植物在对烟草黑胫病的抑制效果和增强烟株抗性方面存在差异, 以油菜提取液处理最好, 芥菜提取液次之, 芜菁提取液处理最差。相似的研究也报道了不同芸薹属植物对病原菌抑制作用的强弱效果不同。王德江等(2016)发现小花叶芥菜对黄瓜枯

萎病的抑制效果优于红圆芜菁和春夏秋冬小白菜。Njoroge等(2008)在土壤中混入种植的甘蓝型油菜和芥菜,发现甘蓝型油菜使甜瓜枯萎病的病情指数比对照降低了26.5%,而芥菜对甜瓜枯萎病的抑制作用不明显,但是甜瓜产量比对照增加17.3%。不同芸薹属植物对病原菌抑制的强弱,主要取决于其所含硫代葡萄糖苷的种类和含量。油菜中主要含有3-丁烯基硫苷和4-戊烯基硫苷(两者占80%以上);芥菜中主要硫苷成分是2-丙稀基硫苷(占85%以上);芜菁中最主要硫苷为3-丁烯基硫苷,其次为苯乙基硫苷(陈新娟等2006;李培武等2005;孙文彦等2009;李锋等2006)。另外,我们之前的研究表明油菜组织中硫苷的含量高于芥菜和芜菁(李继伟等2016),这也可能与油菜对烟草黑胫病病原菌具有较强的抑制作用有关。

MDA是膜脂过氧化作用的产物,能够反映植物遭受伤害的程度。SOD、CAT、POD是植物内源活性氧清除剂,它们共同作用可以维持植物体内活性氧保持正常水平,且POD参与木质素的合成,其活性的提高可有效抵制病原菌的侵入和扩展(饶慧云等2015;郑文字等2013)。PPO可将植物体内的酚类化合物氧化为醌类,直接杀死或抑制病原菌的生长和繁殖,而且有利于木质素的积累和植保素的合成;PAL是苯丙烷类代谢途径的关键酶,在合成次生代谢物过程中具有重要的作用(朱学明等2015)。叶片的光合性能及其地上部分的生长状况直接影响烟叶产量和品质的形成(宋久洋等2014)。白海群(2009)的研究也表明,植物提取液(莲和白花蛇舌草)可以通过增加叶片叶绿素含量,提高SOD、CAT和POD活性,降低MDA含量来增强植物的抗病性。刘华山等(2006)认为,落葵提取液可以增加烤烟SOD、POD、PPO和PAL活性,对烟草花叶病毒(TMV)的预防有积极作用。本研究表明,3种芸薹属植物提取液显著降低MDA含量,提高SOD、CAT、POD、PPO和PAL活性,因此初步推断3种提取液增强烤烟抗病能力与防御酶体系的激活有关。

此外,王传吉等(2015)的研究表明,植物提取物能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 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、有效磷、速效钾含量有不同程度提

高。我们的研究结果也表明,3种芸薹属植物提取液能提高烤烟叶片中叶绿素含量,改善叶片的光合性能,促进烟株生长,但这些作用是否与土壤结构和组分的变化以及营养元素的有效性有关,还需要进一步研究和分析。

综上所述,本研究结果表明3种芸薹属植物提取液对烟草黑胫病具有明显的抑制作用,可增强烟株的光合性能和防御能力,显著提高烤烟对烟草黑胫病的抗性,从而促进烤烟生长,以油菜提取液效果最佳。然而,芸薹属植物对烟草黑胫病的作用机理,能否直接促进烤烟的生长以及芸薹属植物作为绿肥在烤烟田间生产中的效应,仍需要进一步探究。

### 参考文献

- Bai HQ (2009). Effects of the plant source extracts on physiological-biochemical index and ultrastructure of tobacco plants infected by TMV (Master's thesis). Zhengzhou: Henan Agricultural University (in Chinese with English abstract) [白海群(2009). 植物提取液对感染TMV烟叶生理生化特性及超微结构的影响(硕士论文). 郑州: 河南农业大学]
- Chen JX, Wang XF (2006). Experimental Guide of Physiology of Plant. 2nd ed. Guangzhou: South China Science and Technology University Press (in Chinese) [陈建勋, 王晓峰(2006). 第2版. 植物生理学实验指导. 广州: 华南理工大学出版社]
- Chen XJ, Zhu ZJ, Yang J, Liu YH (2006). Composition and content of glucosinolates in leaves and bolting stems of Chinese kale quantified by HPLC. Acta Horticult Sin, 33 (4): 741-744 (in Chinese with English abstract) [陈新娟, 朱祝军, 杨静, 刘永华(2006). 芥蓝叶和薹的硫代葡萄糖苷组分及含量. 园艺学报, 33 (4): 741-744]
- Geng K, Luo WF, Yang YL (2002). Population distribution of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* in soil of tobacco field. J Yunnan Agric Univ, 17 (4): 389-392 (in Chinese with English abstract) [耿坤, 罗文富, 杨艳丽(2002). 烟草黑胫病菌的田间群体分布规律. 云南农业大学学报, 17 (4): 389-392]
- He HJ, Chen H, Schnitzler WH (2002). Glucosinolate composition and contents in *Brassica* vegetables. Sci Agric Sin, 35 (2): 192-197 (in Chinese with English abstract) [何洪巨, 陈杭, Schnitzler WH (2002). 芸薹属蔬菜中硫代葡萄糖苷鉴定与含量分析. 中国农业科学, 35 (2): 192-197]
- Lai RQ, Jiang LC, Chen ZM, Zhou DX, Zhou DJ (2009). Inhibitory effects of garlic extract on *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* in laboratory. Tobac Sci Tech, (9): 62-64 (in Chinese with English abstract) [赖荣泉, 姜林灿, 陈志敏, 周东新, 周道金(2009). 大蒜粗提取物对烟草黑胫病菌的室内抑制作用. 烟草科技, (9): 62-64]
- Larkin RP, Griffin TS (2007). Control of soilborne potato diseases using *Brassica* green manures. Crop Prot, 26 (7): 1067-1077
- Larkin RP, Honeycutt CW, Olanya OM (2011). Management of *Ver-*



- ticillium* wilt of potato with disease-suppressive green manures and as affected by previous cropping history. *Plant Dis*, 95 (5): 568–576
- Li F, Zhang CL (2006). The bio-control function of *Brassica* species. *Chin J Oil Crop Sci*, 28 (1): 97–103 (in Chinese with English abstract) [李锋, 张春雷(2006). 芸薹属植物的生防作用. 中国油料作物学报, 28 (1): 97–103]
- Li F, Zhang CL, Li GM (2006). Composition and content of glucosinolates in rapeseed and *in vitro* inhibition of *Botrytis cinerea* persoon. *J Wuhan Bot Res*, 24 (4): 351–356 (in Chinese with English abstract) [李锋, 张春雷, 李光明(2006). 油菜硫苷组分含量及抑菌活性研究. 武汉植物学研究, 24 (4): 351–356]
- Li HS (2000). *Technology and Elements of Experimentation in Plant Physiology and Chemistry*. Beijing: Higher Education Press, 167–169 (in Chinese) [李合生(2000). 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 167–169]
- Li JW, Zhou JX, Zhang XW, Zhao SM, Wang H, Wang XD, Liu L (2016). Growth and glucosinolate content of five Cruciferae plants during idle time of flue-cured tobacco production. *Hubei Agric Sci*, 55 (19): 5056–5058, 5132 (in Chinese with English abstract) [李继伟, 周俊学, 张喜文, 赵世民, 王慧, 王小东, 刘领(2016). 烤烟田休闲期5种绿肥的生物量及硫苷含量比较. 湖北农业科学, 55 (19): 5056–5058, 5132]
- Li MS, Li SD, Miu ZQ, Guo RJ, Zhao ZY (2006). Biofumigation for management of soilborne plant diseases. *Chin J Biol Control*, 22 (4): 296–302 (in Chinese with English abstract) [李明社, 李世东, 缪作清, 郭荣君, 赵震宇(2006). 生物熏蒸用于植物土传病害治理的研究. 中国生物防治, 22 (4): 296–302]
- Li PW, Zhao YG, Zhang W, Ding XX, Yang M, Wang XF, Xie CH, Fu YD (2005). Analysis of glucosinolate components and profiles in *Brassica napus*. *Sci Agric Sin*, 38 (7): 1346–1352 (in Chinese with English abstract) [李培武, 赵永国, 张文, 丁小霞, 杨湄, 汪雪芳, 谢从华, 傅廷栋(2005). 中国甘蓝型油菜硫苷含量及组份分析. 中国农业科学, 38 (7): 1346–1352]
- Ling N, Xue C, Huang QW, Yang XM, Xu YC, Shen QR (2010). Development of a mode of application of bioorganic fertilizer for improving the biocontrol efficacy to *Fusarium* wilt. *BioControl*, 55: 673–683
- Liu HS, Han JF, Zhang YF, Meng FT, Wang F, Guo CB (2006). The inhibitory effects of extract from *Basella rubra* L. on tobacco mosaic virus. *Acta Agric Boreali Sin*, 22 (6): 184–187 (in Chinese with English abstract) [刘华山, 韩锦峰, 张玉丰, 孟凡庭, 王方, 郭传滨(2006). 落葵提取液抑制普通烟草花叶病毒病的生理效应研究. 华北农学报, 22 (6): 184–187]
- Ma GS, Gao ZM, Chen J (2001). Recent research advance on tobacco black shank. *Tobac Sci Tech*, (9): 44–48 (in Chinese with English abstract) [马国胜, 高智谋, 陈娟(2001). 烟草黑胫病研究进展. 烟草科技, (9): 44–48]
- Njoroge SMC, Riley MB, Keinath AP (2008). Effect of incorporation of *Brassica* spp. residues on population densities of soilborne microorganisms and on damping-off and *Fusarium* wilt of watermelon. *Plant Dis*, 92: 287–294
- Ping WL, Li XJ, Zhu JW, Guo KJ (2013). Research progress in integrated management strategies of tobacco black shank. *J Henan Agric Sci*, 42 (5): 12–16 (in Chinese with English abstract) [平文丽, 李雪君, 朱景伟, 郭凯君(2013). 烤烟黑胫病的防治策略研究进展. 河南农业科学, 42 (5): 12–16]
- Qian LL, Liu JL, Li Y, Zhang YY, Pei SC (2008). Study on distilled glucosinolates and antimicrobial from broccoli. *Chin Agric Sci Bull*, 24 (2): 335–338 (in Chinese with English abstract) [钱丽丽, 刘江丽, 李扬, 张园园, 裴世春(2008). 西兰花中硫代葡萄糖苷的提取及抑菌试验初报. 中国农学通报, 24 (2): 335–338]
- Qiao SJ, Li SM, Meng LB (2010). Effect of *Brassica* plants suppressing four soilborne pathogenic microbes by biofumigation. *J Northeast Agric Univ*, 41 (5): 19–24 (in Chinese with English abstract) [乔世佳, 李淑敏, 孟令波(2010). 芸薹属植物对四种土传病原微生物熏蒸效果的研究. 东北农业大学学报, 41 (5): 19–24]
- Rao HY, Shao ZC, Liu HN, Wu YY, Liu R, Li XF, Li MQ, Qian PX (2015). Effect of browning inhibitors on callus subculture of phenolic compounds, enzyme and gene expression of grape. *Plant Physiol J*, 51 (8): 1322–1330 (in Chinese with English abstract) [饶慧云, 邵祖超, 柳海宁, 吴月燕, 刘蓉, 李学孚, 李美芹, 钱萍仙(2015). 抗褐化剂对葡萄愈伤组织继代培养过程中酚类物质、相关酶及其基因表达的影响. 植物生理学报, 51 (8): 1322–1330]
- Song JY, Liu L, Chen MC, Li YJ, Bao XL (2014). Effects of biochar addition on growth and photosynthetic characteristics of flue-cured tobacco. *J Henan Univ Sci Tech (Nat Sci)*, 35 (4): 68–72, 8 (in Chinese with English abstract) [宋久洋, 刘领, 陈明灿, 李友军, 暴秀丽(2014). 生物质炭施用对烤烟生长及光合特性的影响. 河南科技大学学报(自然科学版), 35 (4): 68–72, 8]
- Sun WY, He HJ, Zhang HY, Zhang FS (2009). Components and concentration of glucosinolates in shoots and roots of different turnip cultivars. *China Veg*, (4): 35–39 (in Chinese with English abstract) [孙文彦, 何洪巨, 张宏彦, 张福锁(2009). 不同品种芜菁地上部和根部硫代葡萄糖苷组分及含量. 中国蔬菜, (4): 35–39]
- Wan NF, Chen XQ, Ji XY, Jiang JX (2013). Sublethal effects of *Angelica sinensis* and *Ricinus communis* extracts on the growth, development and fecundity of *Spodoptera exigua* Hübner. *Chin J Eco-Agric*, 21 (9): 1135–1141 (in Chinese with English abstract) [万年峰, 陈晓勤, 季香云, 蒋杰贤(2013). 当归和蓖麻乙醇提取液对甜菜夜蛾生长发育和繁殖的亚致死效应. 中国生态农业学报, 21 (9): 1135–1141]
- Wang CJ, Wang SS, Zhao Y, Yang YJ, Wang RY (2015). Study on the inhibitory effect of the aqueous extract of a botanical mixture on tobacco black shank and its influence on soil characteristics. *Chin Tobac Sci*, 36 (6): 83–87 (in Chinese with English abstract) [王传吉, 王树声, 赵阳, 杨银菊, 王若焱(2015). 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. 中国烟草科学, 36 (6): 83–87]
- Wang DJ, Yang ZC, Qiao SJ, Kang CS, Yuan R, Yao XT, Hu XX, Li SM (2016). Effects of biofumigation on inhibition of cucumber *Fusarium* wilt, quality and yield of cucumber. *Chin Agric Sci Bull*, 32 (28): 125–130 (in Chinese with English abstract) [王德江, 杨自超, 乔世佳, 康春生, 袁睿, 姚小桐, 胡小璇, 李淑敏(2016). 生物熏蒸对黄瓜枯萎病抑制及品质和产量的影响. 中



- 国农学报, 32 (28): 125-130]
- Wang HB, Shi J, Luo ZN, Hu YJ, Chen Q, Wang C (2016). Isolation and identification of *Penicillium strain* QMYCS-2 and its effect on tobacco black shank. *Tobac Sci Tech*, 49 (2): 14-20 (in Chinese with English abstract) [王海波, 时焦, 雒振宁, 胡亚杰, 陈强, 王聪(2016). 青霉菌QMYCS-2菌株的分离鉴定及其对烟草黑胫病的防治作用. *烟草科技*, 49 (2): 14-20]
- Wang HC, Li WH, Feng YG, Shi JX (2011). History and current status of chemical control of tobacco black shank. *Acta Tabacaria Sin*, 17 (5): 96-102 (in Chinese with English abstract) [汪汉成, 李文红, 冯勇刚, 石俊雄(2011). 烟草黑胫病化学防治的历史与现状. *中国烟草学报*, 17 (5): 96-102]
- Wang J, Kong FY, Zhang CS, Feng C (2013). Antagonism effect and enzyme producing comparison of *Actinomycetes* F8 against tobacco black shank. *Chin Tobac Sci*, 34 (2): 49-53 (in Chinese with English abstract) [王静, 孔凡玉, 张成省, 冯超(2013). 放线菌F8对烟草黑胫病的拮抗作用及其产酶活性. *中国烟草科学*, 34 (2): 49-53]
- Wu BQ, Liang YJ, Ding YQ, Chen XM, Wang YJ, Xu Z, Du BH (2013). Study on disease-preventing and growth-promoting effects of two antifungal bacteria from tobacco rhizosphere. *Chin Tobac Sci*, 34 (1): 66-71 (in Chinese with English abstract) [吴秉奇, 梁永江, 丁延芹, 陈晓明, 王玉军, 徐峥, 杜秉海(2013). 两株烟草根际拮抗菌的生防和促生效果研究. *中国烟草科学*, 34 (1): 66-71]
- Xiao YS, Zeng WA, Zeng GQ, Li SY, Chen RZ, Yang YJ (2010). Control effect experiment of pesticide against tobacco black shank. *Tobac Sci Tech*, (7): 62-64 (in Chinese with English abstract) [肖艳松, 曾维爱, 曾广庆, 李盛元, 陈瑞忠, 阳运即(2010). 防治烟草黑胫病的药效试验. *烟草科技*, (7): 62-64]
- Xie YH, Zhang YG, Zhu LQ, You DG, Lu Y (2015). Research advances in integrated management of tobacco black shank. *Curr Biotech*, 5 (1): 41-46 (in Chinese with English abstract) [谢永辉, 张永贵, 朱利全, 尤道贵, 鲁耀(2015). 烟草黑胫病综合防治研究进展. *生物技术进展*, 5 (1): 41-46]
- Zhan HX, Wen NN, Luo DQ, Xia JH, Xu CT, Zhang CS (2015). Races of *Phytophthora nicotianae* and their sensitivity to metalaxyl and dimethomorph in Luzhou, Sichuan. *Plant Prot*, 41 (6): 178-184, 190 (in Chinese with English abstract) [战徊旭, 温娜娜, 罗定棋, 夏建华, 徐传涛, 张成省(2015). 泸州烟草黑胫病病原生理小种组成及对甲霜灵和烯酰吗啉的敏感性. *植物保护*, 41 (6): 178-184, 190]
- Zhang K, Xie LL, Wu YJ, Zhang XQ, Yang TZ (2015). Research progress on occurrence of tobacco black shank and its integrated control. *J Agric Sci Tech China*, 17 (4): 62-70 (in Chinese with English abstract) [张凯, 谢利丽, 武云杰, 张小全, 杨铁钊(2015). 烟草黑胫病的发生及综合防治研究进展. *中国农业科技导报*, 17 (4): 62-70]
- Zheng WY, Ding ZH, Liu H, Deng C, Xiao ZR (2013). Effect of pathogens causing discoloration on defensive system in red pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Physiol J*, 49 (4): 357-361 (in Chinese with English abstract) [郑文字, 丁筑红, 刘海, 邓程, 肖治柔(2013). “花壳”病菌对辣椒防御系统的影响. *植物生理学报*, 49 (4): 357-361]
- Zhu XM, Shi XP, Yong DJ, Zhang Y, Li BH, Liang WX, Wang CX (2015). Induction of resistance against *Glomerella cingulata* in apple by endophytic actinomycetes strain A-1. *Plant Physiol J*, 51 (6): 949-954 (in Chinese with English abstract). [朱学明, 史祥鹏, 雍道敬, 张颖, 李保华, 梁文星, 王彩霞(2015). 内生放线菌A-1诱导苹果对炭疽叶枯病的抗性. *植物生理学报*, 51 (6): 949-954]
- Zhou XX, Zhou Q, Hu RS, Zhou JH (2011). Research advance in biological control of tobacco black shank. *Acta Agric Jiangxi*, 23 (7): 124-126 (in Chinese with English abstract) [周喜新, 周倩, 胡日生, 周冀衡(2011). 烟草黑胫病生物防治研究进展. *江西农业学报*, 23 (7): 124-126]

## Effects of *Brassica* extracts on occurrence of black shank disease and physiological characteristics of flue-cured tobacco

LIU Ling<sup>1\*</sup>, LI Ji-Wei<sup>1\*</sup>, CHANG Qian-Qian<sup>1</sup>, ZHOU Jun-Xue<sup>2</sup>, ZHAO Shi-Min<sup>2</sup>, CHEN Ming-Can<sup>1</sup>, LI You-Jun<sup>1\*\*</sup>

<sup>1</sup>College of Agriculture, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China; <sup>2</sup>Luoyang Tobacco Company, Luoyang, Henan 471000, China

**Abstract:** The effects of three *Brassica* [rappini (*B. rapa*), mustard (*B. juncea*) and rape (*B. campestris*)] extracts on the growth of mycelium of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*, occurrence of black shank disease, plant growth and physiological characteristics of flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* cv. 'Yuyan No.6') were investigated by petri-dish and pot experiments. The results showed that: (1) compared with the control, three *Brassica* extracts significantly inhibited the growth of mycelium of *P. parasitica* var. *nicotianae*, the inhibition rates at 10 mg·mL<sup>-1</sup> with rappini, mustard and rape extracts were 46.90%, 52.41% and 61.53%, respectively. The strongest inhibition effect was found in rape extract treatment. (2) Compared with the control, three *Brassica* extracts also significantly decreased disease incidence and disease index of tobacco black shank, the control effects were found from 32.59% to 76.21%. (3) Compared with the control, three *Brassica* extracts significantly increased plant height, stem thick and maximum leaf area, remarkably improved chlorophyll content and photosynthetic performance of tobacco leaves, notably enhanced the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), polyphenol oxidase (PPO), phenylalanine ammonia lyase (PAL), and significantly reduced malondialdehyde (MDA) content of tobacco leaves. (4) The rape extract played a better efficient role on inducing resistance of tobacco and controlling occurrence of tobacco black shank than rappini and mustard extracts.

**Key words:** *Brassica* extracts; tobacco black shank disease; inhibition effect; tobacco growth; physiological characteristics

Received 2017-01-20 Accepted 2017-04-14

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31200332), Project of Henan Tobacco Company (Grant No. HYKJM201307), Project of Luoyang Tobacco Company (Grant No. 201407) and HAUST (Henan University of Science and Technology) Discipline Improvement and Promotion Plan A (Grant No. 13660002).

\*Co-first authors.

\*\*Corresponding author (E-mail: lyj@mail.haust.edu.cn).