

土壤水分对烟草孢囊线虫侵染和烟碱含量的影响

董秋月, 郑玉华, 赵洪海*

(青岛农业大学农学与植物保护学院, 山东省植物病虫害防控重点实验室, 青岛 266109)

摘要: 为探究土壤水分对烟草孢囊线虫 (*Heterodera glycines*) 侵染的影响及其机制, 2014年6—9月采用3种不同水分处理的盆栽试验, 定期取样测定土壤和根系中线虫数量及根系和叶片中烟碱含量。结果表明, 常规浇水处理下烟草孢囊线虫明显发生3代, 繁殖系数 ($Rf=Pf/Pi$) 高达2.7; 烟草根系中烟碱含量均低于1.00%。8月过度浇水处理下孢囊线虫第3代发生不明显且向后推迟, Rf 为0.5; 根系中最高烟碱含量 (1.92%) 发生在过度浇水15 d后。7—8月过度浇水处理下孢囊线虫第3代发生不明显, 且第2代和第3代均向后推迟, Rf 仅为0.1; 根系中最高烟碱含量 (3.22%) 发生在过度浇水35 d后。常规浇水处理下, 烟草叶片中烟碱含量总体呈上升趋势, 而过度浇水处理下叶片中烟碱含量下降。过度浇水明显抑制烟草孢囊线虫的侵染, 且与烟草根系中烟碱的大量积累可能存在相关性。

关键词: 烟草; 大豆孢囊线虫; 过度浇水; 线虫侵染; 烟碱

中图分类号: S572.01

文章编号: 1007-5119(2015)05-0064-05

DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2015.05.012

Effect of Soil Moisture on Cyst Nematode Infection and Nicotine Content in Tobacco

DONG Qiuyue, ZHENG Yuhua, ZHAO Honghai*

(College of Agronomy and Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Key Laboratory of Integrated Crop Pest Management of Shandong Province, Qingdao 266109, China)

Abstract: In order to explore the effect of soil water content on the infection of tobacco cyst nematode (*Heterodera glycines*) and the possible mechanism, pot experiments with three water treatments were carried out from June to September of 2014, the number of different-staged nematodes in soil and root and the nicotine content of tobacco leaf and root were determined. The results showed that, under normal water treatment, cyst nematode obviously occurred 3 generations, with a high reproduction factor ($Rf=Pf/Pi$) of 2.7, and the nicotine content in tobacco roots was lower than 1.00%. In the overwatering treatment in August, the third generation of cyst nematode barely occurred and was retarded, with the Rf of 0.5, and nicotine content in tobacco roots reached the maximum (1.92%) 15 d after the overwatering treatment. In the overwatering treatment in July and August, the third generation of cyst nematode barely occurred and both the second generation and the third one were retarded, with a small Rf of 0.1, and the maximum nicotine content (3.22%) in tobacco roots was reached 35 d after the overwatering treatment. The nicotine content of tobacco leaf showed an overall rising trend under normal water treatment and decreased in both overwatering treatments. Overwatering obviously inhibited the infection of tobacco cyst nematode, which was somehow correlated with the accumulation of nicotine in tobacco roots.

Keywords: *Nicotiana tabacum*; *Heterodera glycines*; overwatering; nematode infection; nicotine

烟草孢囊线虫病, 在欧美由烟草球孢囊线虫 (*Globodera tabacum* 复合种) 引起^[1], 在我国是由大豆孢囊线虫 (*Heterodera glycines*, SCN) 引起^[2], 是烟草上的重要病害, 而明确其发病条件对该种病害的有效治理具有重要意义。国内烟草

孢囊线虫病发生在山东和河南两省, 在山东的潍坊、临沂和日照等主要植烟区均有发生^[3]。2012和2013年的田间侵染调查发现, 7月份之后烟草SCN侵染明显受到抑制, 可能与7月份大量降雨导致土壤长期持续高湿有关^[4-5]。烟碱是烟草重要

基金项目: 中国烟草总公司科技项目(110200902065); 国家公益性行业(农业)科研专项(201503114); 青岛农业大学大学生科技创新项目(2013-82)

作者简介: 董秋月(1990-), 女, 本科, 从事孢囊线虫研究。E-mail: 1241597952@qq.com。*通信作者, E-mail: hhzhao@qau.edu.cn

收稿日期: 2015-02-09

修回日期: 2015-06-25

的次生代谢产物,主要在烟草根系中合成,一般在叶片含量最高,在根、主脉、茎秆、花和种子中的含量依次递减^[6-7],对根结线虫、孢囊线虫等植物线虫具有不同程度的杀线活性^[8-9]。许多研究表明,在淹水条件下,烟株叶片烟碱含量显著降低^[10-12],而淹水对烟草根系中烟碱含量影响的报道不多。故而设计本试验,拟在探讨不同水分处理对烟草孢囊线虫侵染的影响及其与烟株烟碱含量的相关性,为烟草孢囊线虫的可持续治理提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

用于接种的线虫群体为侵染烟草的大豆孢囊线虫,采自诸城市辛兴镇烟叶农场。烟草品种为中烟 100,由中国农业科学院烟草研究所提供。烟草种植容器为聚乙烯塑料盆,塑料盆开口直径 25 cm、高 28 cm。

1.2 线虫接种和培育

2014 年 6 月 1 日,每盆装灭菌砂壤土 5 kg 后,移栽 8~9 片真叶烟苗。同时进行线虫接种:在烟株周围土壤上用玻璃棒打 10 个孔,孔深至烟草根系水平,每孔置入 20 个孢囊,用水淋冲后覆灭菌土封严,每盆共接种孢囊 200 个,即最初孢囊群体密度(P_i)为 4 个/100 g 土壤。将植烟盆置温室内在 22~32 °C 环境下培育。

1.3 水分处理设计

共设 3 个水分处理:处理 1:全程常规浇水,土壤含水量控制在 40%~70%;处理 2:6 月常规浇水,7—8 月过度浇水,土壤含水量控制在 85%以上;处理 3:6—7 月常规浇水,8 月过度浇水,土壤含水量控制在 85%以上。共设 4 个重复。

1.4 调查和检测方法

取样:从线虫接种后第 15 天开始,每隔 10 d 取样调查 1 次。利用取样钻在烟盆根围取样,取样深度 20 cm,每个样重约 125 g,为 1 小样。取样孔用灭菌砂壤土回填。将同一处理的 4 个小样

混合成重约 500 g、含部分烟草根系的混合样,用于线虫的分离、染色和根系烟碱含量测定。同时,剪取烟草叶片,用于叶片烟碱含量测定。9 月 5 日(部分过度浇水处理的烟株枯萎严重),进行最后 1 次取样。

土壤样本中线虫的分离和计数:采用淘洗-过筛法和淘洗-过筛-贝曼漏斗法对混合样中的孢囊和 2 龄幼虫(J2)进行定量分离^[13],在解剖镜下进行观察并计数。

根系样本中线虫的染色和计数:采用次氯酸钠-酸性品红染色法对混合样中根组织内的线虫进行定量染色^[13],在解剖镜和显微镜下对 J2、3 龄幼虫(J3)和 4 龄幼虫(J4)进行检查并计数。

孢囊线虫繁殖系数(R_f)=最终孢囊群体密度(P_f)/最初孢囊群体密度(P_i)。本试验中 P_f 为最后取样测得的孢囊群体密度,而 P_i 为接种的孢囊群体密度,即 4 个/100 g 土壤。

烟碱含量测定:利用萃取-滴定法测定烟草根系和叶片中的烟碱含量^[14]。

1.5 数据统计与分析

计算每 100 g 土壤和 1 g 根组织中各虫态数量,即群体密度。利用 Excel 2003 软件对不同调查期的线虫群体密度和烟碱含量进行统计分析。

2 结果

2.1 不同水分处理对孢囊线虫侵染的影响

不同水分处理后,烟草土壤中孢囊线虫 J2 和孢囊的群体密度变化情况见图 1 和图 2,烟草根系中 J2 和 J3+J4 的群体密度变化见图 3 和图 4。

由图 1 可见,常规浇水处理和 8 月过度浇水处理下,土壤中 J2 的出现高峰发生在 7 月 25 日;7—8 月过度浇水处理下,7 月 25 日 J2 没有发生出现高峰,其发生数量不到常规浇水处理的 50%。

由图 2 可见,3 种水分处理后土壤中孢囊的出现高峰均发生在 7 月 25 日,但 7—8 月过度浇水处理的孢囊发生数量仅约为其他 2 种处理的 50%。常规浇水处理下孢囊于 8 月 25 日又出现 1

个发生高峰,而7—8月和8月过度浇水的2个处理孢囊均无此发生高峰。最终孢囊群体密度(Pf)常规浇水处理的为10.6个/100g土壤、7—8月过度浇水处理的为0.4个/100g土壤、8月过度浇水处理的为1.8个/100g土壤。

由图3可见,3种水分处理后烟草根系中J2最大群体密度均出现在7月5日,三者相差不大;第2个高峰出现在8月5日,常规浇水处理的较大,8月过度浇水处理的略小,7—8月过度浇水处理的最小,仅为常规浇水处理的50%。

由图4可见,常规浇水处理下烟草根系中J3+J4出现2个发生高峰,发生在7月15日和8月15日。7—8月过度浇水处理下J3+J4虽有2个发生高峰,但峰期均向后推迟10d,且发生数量

均不到常规浇水处理的50%。8月过度浇水处理下J3+J4亦有2个发生高峰,第1个高峰与常规浇水的相似,但第2个高峰向后推迟10d,且数量不到常规浇水处理的50%。

实际上,3种水分处理在6月15日还有1个J3+J4发生高峰(图4),由此推测之前应该有1个J2根内侵入高峰。结合孢囊的群体变化动态基本上可以看出,从6月1日—9月5日,常规浇水处理下,烟草孢囊线虫明显发生3代,繁殖系数($Rf=Pf/Pi$)高,为2.7;8月过度浇水处理下,孢囊线虫第3代发生不明显且向后推迟, Rf 低,为0.5;7—8月过度浇水处理下,孢囊线虫第3代发生不明显,且第2代和第3代均向后推迟, Rf 极低,仅为0.1。

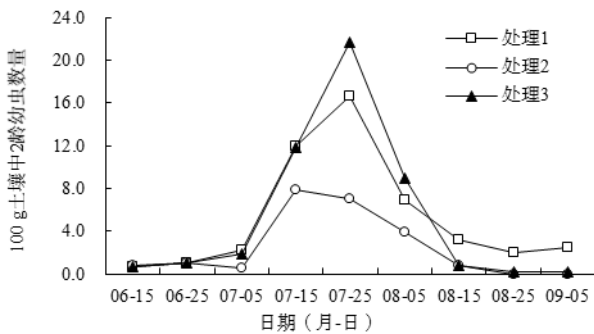


图1 不同水分处理后土壤中孢囊线虫2龄幼虫的群体变化
Fig. 1 J2 population dynamics of *H. glycines* in soil under different water treatments

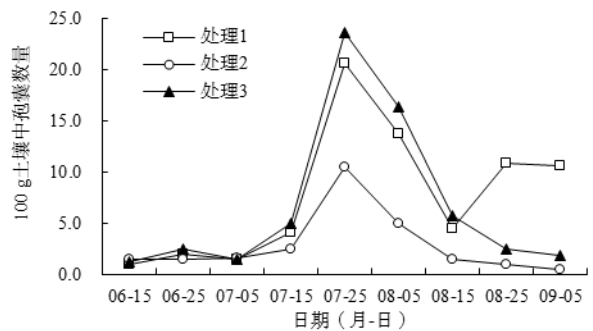


图2 不同水分处理后土壤中孢囊线虫孢囊的群体变化
Fig. 2 Cyst population dynamics of *H. glycines* in soil under different water treatments

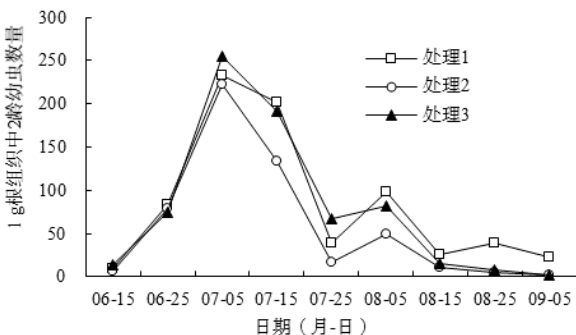


图3 不同水分处理后烟草根系中孢囊线虫2龄幼虫的群体变化

Fig. 3 J2 population dynamics of *H. glycines* in tobacco root under different water treatments

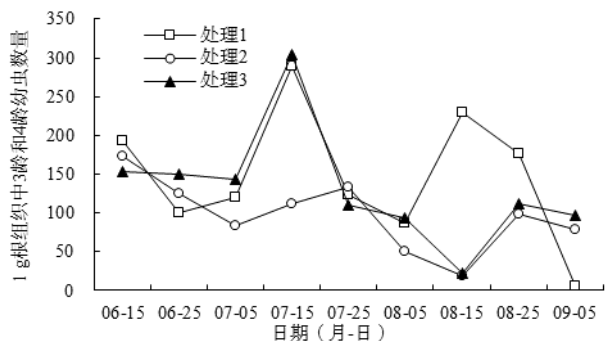


图4 不同水分处理后烟草根系中孢囊线虫3龄和4龄幼虫的群体变化

Fig. 4 J3+J4 population dynamics of *H. glycines* in tobacco root under different water treatments

2.2 不同水分处理对烟草烟碱含量的影响

由图 5 可见, 常规浇水处理下, 烟草叶片中烟碱含量总体上呈上升趋势, 而过度浇水导致叶片中烟碱含量下降。9 月 5 日, 常规浇水处理的叶片烟碱含量分别是 7—8 月和 8 月过度浇水处理的 2.5 倍和 2.3 倍。

由图 6 可见, 常规浇水处理下根系中烟碱含量整体水平低, 不到 1.00%, 变化趋势为前期先

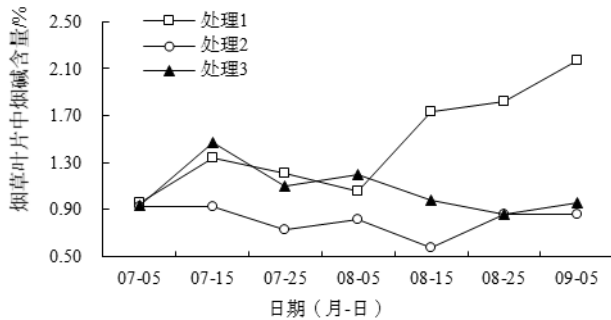


图 5 不同水分处理烟草叶片中烟碱含量变化

Fig. 5 Nicotine content dynamics of tobacco leaf under different water treatments

下降, 后期略有上升, 全期平均烟碱含量为 0.53%。7—8 月过度浇水处理下, 根系中烟碱含量在 8 月 5 日, 即过度浇水处理 35 d 后达到最大值 (3.22%), 该值分别是常规浇水和 8 月过度浇水处理的 9.3 倍和 3.7 倍, 全期平均烟碱含量为 1.13%。8 月过度浇水处理下, 根系中烟碱含量在 8 月 15 日, 即过度浇水处理 15 d 后达到最大值 (1.92%), 是常规浇水处理的 5.0 倍, 全期平均烟碱含量为 0.96%。

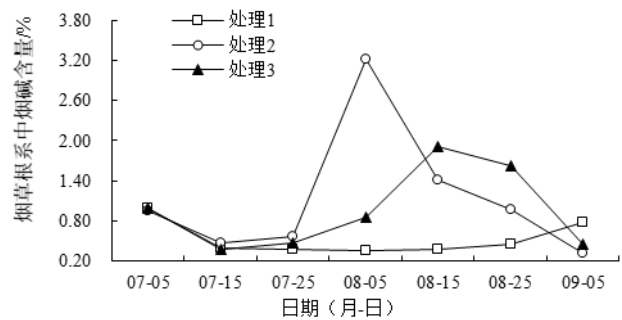


图 6 不同水分处理烟草根系中烟碱含量变化

Fig. 6 Nicotine content dynamics of tobacco root under different water treatments

3 讨论

在山东省诸城市, 自然条件下大豆孢囊线虫在感病烟草品种上可以发生 2—4 代, 具体代数主要受 7、8 月份降雨和气温状况的影响^[4-5]。在适宜条件下, 烟草孢囊线虫完成 1 代约需 30 d。本试验中在常规浇水处理下, 温湿度条件比较适宜, 6 月上旬—9 月上旬共计 3 个月内完成 3 代, 每代历时约 30 d, 符合其发生规律。

土壤水分对烟草孢囊线虫的发生和烟株烟碱含量均有明显的影响。一是长期淹水可导致孢囊线虫 2 龄幼虫缺氧窒息, 抑制其对寄主植物根系的侵入^[15-17]。二是土壤水分过多通常导致烟叶烟碱含量降低, 干旱则使烟叶烟碱含量增加^[10-12,17], 而土壤水分对烟草根系烟碱含量的影响报道不多。本试验中, 在过度浇水条件下, 根系中烟碱含量明显增多, 但叶片中烟碱含量大量减少。究其原因, 可能在淹水条件下烟草根系仍能合成部分烟碱, 但由于水分过饱和引起蒸腾速率下降,

导致烟碱由根系通过木质部向叶片的运转受阻, 结果烟碱在根系中大量积累, 并对孢囊线虫的侵入和根内发育产生抑制。

烟碱对多种植物线虫具有毒性。烟碱对大豆孢囊线虫大豆群体、甜菜孢囊线虫 (*H. schachtii*) 甘蓝群体、北方根结线虫 (*Meloidogyne hapla*) 番茄群体、南方根结线虫 (*M. incognita*) 番茄群体、落选短体线虫 (*Pratylenchus neglectus*) 甜玉米群体、穿刺短体线虫 (*P. penetrans*) 甜玉米群体、穿刺短体线虫烟草群体 2 龄幼虫的半数致死剂量 (LD₅₀) 分别为 4.5、37.3、3.3、51.6、4.9、12.4 和 1450.7 μg/mL, 即在离体条件下含量为 4.5 μg/mL 的烟碱便可使寄生大豆的大豆孢囊线虫幼虫半数死亡, 而穿刺短体线虫烟草群体的 LD₅₀ 是甜玉米群体的 117 倍^[9]。常规浇水下烟草根系中烟碱含量平均为 0.53%, 至少是含量 4.5 μg/mL 的 1000 倍, 孢囊线虫的侵入和根内发育似乎难以理解。究其原因, 一方面可能是寄生烟草的大豆

孢囊线虫对烟草烟碱有了一定程度适应,变得不敏感了^[9];另一方面可能与烟碱在烟草根系中的分布和存在形态有关。此外,南方根结线虫侵染烟草后,抗病和感病烟草品种根系中烟碱含量均增加,而抗病品种比感病品种增加的更多,表明烟碱与线虫抗性有关^[8]。

通过本试验可以看出,过度浇水明显抑制烟草孢囊线虫的侵染,而过度浇水后烟草孢囊线虫侵染受阻与根系中烟碱的大量积累可能存在相关性。这种相关性的进一步明确,以及烟草孢囊线虫等作物线虫病综合管理中水分管理防病措施的可行性和烟碱类杀线虫剂的开发利用价值,均需深入研究。

参考文献

- [1] Johnson C S, Way J, Barker K R. Nematode parasites of tobacco[C]//Luc M, Sikora R A, Bridge J. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture (2nd Edition). Wallingford: CABI Publishing, 2005: 675-708.
- [2] 程子超,赵洪海,李建立,等. 山东省寄生烟草的孢囊线虫种类鉴定及种内群体间 rDNA-ITS-RFLP 分析[J]. 植物病理学报, 2012, 42(4): 387-395.
- [3] 程子超,赵洪海,王凤龙. 孢囊线虫在我国烟区的分布及发生世代调查[C]//王凤龙,王刚. 烟草有害生物调查研究与防治实践. 北京:中国农业出版社, 2012: 24-29.
- [4] 赵洪海,程子超,王凤龙. 山东省烟草孢囊线虫的群体动态和世代发生特点[J]. 植物保护学报, 2013, 40(6): 527-532.
- [5] 赵洪海,丁海燕,王凤龙. 大豆和烟草上大豆孢囊线虫田间侵染特征比较分析[J]. 中国农业科学, 2014, 47(22): 4417-4425.
- [6] Andersson C, Wennstrom P, Gry J. Nicotine alkaloids in solanaceous food plants[M]. Copenhagen: TemaNord, 2003.
- [7] 徐宜民,王树声,赖禄祥,等. 烟草生物碱的研究现状[J]. 中国烟草科学, 2003, 24(2): 12-16.
- [8] Davis E L, Rich J R. Nicotine content of tobacco roots and toxicity to *Meloidogyne incognita*[J]. Journal of Nematology, 1987, 19(1): 23-29.
- [9] Yu Q, Potter J W. Selective nematicidal activity of nicotine[J]. Journal of Food, Agriculture & Environment, 2008, 6(3 & 4): 428-432.
- [10] 颜合洪. 水分条件对烤烟主要化学成分的影响研究[J]. 中国生态农业学报, 2005, 13(1): 101-103.
- [11] 李祖良,刘国顺,张庆明,等. 成熟期淹水对烤烟石油醚提取物、主要化学成分及致香物质含量的影响[J]. 核农学报, 2012, 26(2): 369-374.
- [12] 李玲燕,徐宜民,王树声. 气候因子对烤烟香气物质的影响研究进展[J]. 中国烟草科学, 2015, 36(1): 107-113.
- [13] 段玉玺. 植物线虫学[M]. 北京:科学出版社, 2011.
- [14] 黎植昌,李久慧,周洪梅,等. 萃取-滴定法快速测定烟草中的烟碱[J]. 中国烟草, 1984(4): 11-12.
- [15] Heatherly L G, Young L D, Epps J M, et al. Effect of upper-profile water potential on numbers of cysts of *Heterodera glycines* on soybean[J]. Crop Science, 1982, 22(4): 833-835.
- [16] Duan Y X, Zheng Y N, Chen L J, et al. Effects of abiotic environmental factors on soybean cyst nematode[J]. Agricultural Sciences in China, 2009, 8(3): 317-325.
- [17] 王益奎,李鸿莉,王军,等. 烟草水分胁迫研究进展[J]. 中国烟草科学, 2005, 26(4): 33-36.