

万寿菊拮抗线虫的研究进展*

董莹, 邓人可, 谢桂花, 李晓飞, 王扬**
(云南农业大学 植物保护学院, 云南 昆明 650201)

摘要: 线虫是一类重要的植物病原生物, 为寻找有效的控制植物线虫病害的方法并减少化学农药所带来的污染, 利用线虫的拮抗性植物来控制线虫危害已显得尤为重要, 其中万寿菊是应用最早的一种线虫拮抗植物。本文主要对万寿菊控制线虫的作用机理、提取物的杀线作用、主要成分以及万寿菊多样性种植控制线虫病害的研究概况进行综述, 为合理利用万寿菊的拮抗作用提供可靠的理论依据。

关键词: 万寿菊; 根结线虫; 作用机理; 多样性种植

中图分类号: S 476.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-390X (2016) S1-0063-05

Research Progress in the Antagonism Against Nematodes by Marigold

DONG Ying, DENG Renke, XIE Guihua, LI Xiaofei, WANG Yang
(College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: Nematode is a major plant pathogens, in order to find effective ways to control plant diseases resulted from nematodes and reduce the pollution caused by chemical pesticides, using antagonistic plants for nematodes to control nematodes harm has become particularly important and marigold is the first application of antagonistic plants to nematode. The mechanism of marigold controlling nematode, the main ingredient and the effect of killing nematodes of the extract, and the research survey of the application effect of the diverse planting of marigold in controlling nematode were summarized in this paper, and providing a reliable theoretical basis for future wider application and promotion of marigold.

Key words: marigold; root-knot nematode; control mechanism; application effect

植物寄生线虫是一类在世界作物中危害最为严重的寄生生物, 它在对作物造成严重危害的同时也会使单一种植作物的产量受到极大损失, 其造成的产量损失可达到 10% ~ 50%^[1]。长期的连作使土壤根结线虫累积危害尤为严重, 因此在未来相当长的时间内根结线虫病依然是农作物的主要病害之一。一方面寄生线虫通过直接破坏根组织的细胞来造成对植物的损伤; 另一方面是与细菌、病毒、真菌等共同作用阻碍营养的运输, 导致作物产量降低^[2]。因此, 随着土壤熏蒸剂和化

学杀线剂的使用受到限制, 人们对于研发和使用环境友好型的方法来控制根结线虫的方法越来越感兴趣^[3]。并且一旦植物感染线虫, 防治的方法是有限的, 而且效果也不理想, 因此, 大多数的线虫防治手段是在作物种植前, 其中最有效的一种方式就是种植覆盖作物, 既可以有效的降低线虫的种群密度, 同时也可以避免连作产生的障碍。现在控制线虫的方法主要有选用抗线虫的品种和与线虫的非寄主作物轮作。然而, 线虫的寄主范围太广泛以致在轮作中一些抗病品种的使用受到

收稿日期: 2016-06-24 修回日期: 2016-10-15

* 基金项目: 国家自然科学基金 (31160361)。

作者简介: 董莹 (1987—), 女, 山东东营人, 博士研究生, 主要从事植物线虫学研究。

E-mail: dongying_1234@yeah.net

** 通信作者 Corresponding author: 王扬 (1970—), 男, 云南昆明人, 副教授, 主要从事植物病理研究。

E-mail: wangyang626@sina.com

限制。因此,线虫的拮抗植物由于具有安全、有效、环境友好等优点而成为研究和开发的首选。在选用线虫的拮抗植物中,万寿菊是应用最早的植物之一,能控制包含内寄生、半内寄生和外寄生 14 个属的植物寄生线虫数量的增长^[4]。

万寿菊 (*Tagetes erecta* L.) 又名臭芙蓉,属菊科万寿菊属一年生草本花卉,20 世纪 80 年代引进中国,万寿菊属植物有 30 余种,中国常见栽培种有 2 种,另一种为孔雀草 (*T. patula*)。万寿菊的花中含有一种天然的生物色素——叶黄素。天然叶黄素是一种优异的抗氧化剂,具有无公害、性能好、价格低、用途广等优点,广泛应用于化妆品、食品、饲料、医药等食品工业和化学工业等领域,已经逐渐取代了人工合成的色素。万寿菊除了能产生重大的经济价值外,还具有杀虫、抑螨、控制微生物等功能。

到目前为止,线虫学家普遍认为万寿菊防治线虫不是由单一的因素决定的,而是由多个机制共同作用的结果。随着研究的深入,HOOKS 等^[5]提出万寿菊通过多个途径抑制线虫数量。主要为:(1) 万寿菊能分泌抑制线虫的化合物; (2) 作为线虫的弱寄主或非寄主植物; (3) 提高土壤中抗线虫微生物群体的数量; (4) 作为线虫的诱集植物。

1 万寿菊拮抗线虫的作用机理

1.1 万寿菊能分泌抑制线虫的化感物质

HALBRENDT^[6]认为,化感物质是释放进入微环境对其他生物体有毒的植物代谢物或其他的产品。万寿菊中作为抑制线虫的化感化合物的种类还没有得到充分的证明,但是 GOMMYES 和 BAKKER^[7]认为三联噻吩为主要的有效成分。EL - GENGAH 等^[8]用氯仿从万寿菊、孔雀草和印加孔雀草中分离出了 3 种杀线虫化合物,他们发现万寿菊中提取物比孔雀草和印加孔雀草中的提取物的杀线效果更有效。

在分泌的化感物质中, α -三联噻吩被认为是引起杀线作用的主要化合物。三联噻吩为杂环,含硫化合物,通常大量存在于万寿菊组织中^[9],报道称该物质具有杀线虫、杀昆虫、抗病毒以及对细胞有毒等作用^[10-11]。该化合物的活性是通过近紫外光激活并产生杀线的单线态氧而起作用的^[11]。而在没有光的土壤中,GOMMERS 和

BAKKER^[7]认为,三联噻吩的活性是由根过氧化物酶激活进而产生杀线作用的。他们认为当线虫不穿透根组织或不摄取被激活的三联噻吩时是不会被杀死的。因此将万寿菊作为覆盖作物的杀线效果比作为土壤改良剂的效果更好^[12-13]。这些结论也被后来的研究结果所支持,如 KAGAN 等^[14]、MARLES 等^[15]通过实验证明:当三联噻吩化合物被混合施入土壤时是完全不具有杀线虫活性的。JAGDALE 等^[16]报道杀线虫活性物质是万寿菊根根系分泌物,而不是万寿菊根或者叶子的粗提取物。目前线虫学家研究的结果普遍支持线虫是在进入根系或与含有万寿菊生物活性化合物的土壤接触后而被杀死的假设。

1.2 万寿菊作为线虫的弱寄主、非寄主

到目前为止,研究已发现万寿菊能抑制根结线虫属和根腐线虫属两种属的线虫,但其抑制机制还不是很清楚。有报道称万寿菊通过抑制根结线虫属二龄幼虫的生长来扮演陷阱作物的角色^[17-19]。万寿菊作为陷阱作物,其作用机制主要针对内寄生线虫。在对根结线虫有抗性的万寿菊品种中,没有发现除了二龄幼虫以外的其他虫态,也没有发现根系上长有根结及根组织中有巨型细胞^[20]。一些研究发现孔雀草对穿刺短体线虫有一定的抑制作用^[21-22]。这表明孔雀草可以作为穿刺短体线虫的陷阱作物,即在孔雀草存在的情况下,卵孵化后幼虫因为缺少取食的寄主植物而饥饿致死,从而达到显著降低田块里穿刺短体线虫虫口密度的作用^[22]。

1.3 万寿菊能增加土壤中的线虫拮抗微生物

有些研究者认为,万寿菊可以抑制植物内生细菌的活性或刺激增加线虫的拮抗微生物。例如,已有报道称孔雀草能增强线虫拮抗微生物的活性^[23]。WANG 等^[24]成功尝试在大田试验中将万寿菊施入土壤一个月后能增加土壤中捕食真菌的种群密度,但是这种由万寿菊引起的能增强线虫捕食真菌的作用是一个短期效应,在种植凤梨不久后就会失去该作用。已知淡紫拟青霉是重要的植物线虫卵寄生真菌,其代谢产物具有很强的杀线虫活性,可在不同程度上控制多种线虫卵及幼虫的生长发育,导致胚胎停止发育、畸形及幼虫麻痹致死。万寿菊的叶适合淡紫拟青霉生长、产孢和萌发,能对防治根结线虫产生协同作用^[25]。

1.4 万寿菊能作为部分线虫的诱集植物

万寿菊根系能分泌对线虫具有引诱效果的物质,从而将线虫诱集至其根系周围,达到降低其他区域虫口密度的作用^[26]。如采用万寿菊与黄瓜轮作,能够显著减少南方根结线虫的数量,种植万寿菊1周后,土壤中南方根结线虫的数量相比对照组减少了85%,并能够持续将其控制在较低水平下^[27]。

2 万寿菊提取物对杀线效果的影响

线虫研究人员在室内对万寿菊的提取物进行了杀线效果的测定。WALLA 和 GUPTA^[28]通过试验发现,万寿菊的根组织提取物比其他部位的提取物对爪哇根结线虫的孵化率抑制效果更显著。CAN-NAYANE 和 RAJENDRAN^[29]发现万寿菊的根组织在体外条件下对南方根结线虫有很高的毒杀性。也有研究者证明万寿菊花的提取物对线虫的毒杀效果最有效。如 SIDDQUI 和 ALAM^[30]证明万寿菊花的水提取物对南方根结线虫的卵孵化有很强的抑制性。杨秀娟等^[31]通过对比万寿菊根、茎、叶和花四部分的水提取物,证明花的水提取物杀线效果最好,且经过光照射6h后,其杀线活性能明显增强。SASANELLI^[32]通过对比非洲万寿菊叶子和根部水浸提液以及根部化学渗透物对剑线虫属和根结线虫属不同种线虫的杀线虫效果发现:叶片水浸提液对花生根结线虫和爪哇根结线虫有明显的毒杀效果。而 DAVIDEL 在大田试验中证明万寿菊根的提取物在不稀释的情况下能够有效抑制线虫卵的孵化。NATARAJAR 等^[33]研究表明:万寿菊植株破碎后的水提取物能抑制根结线虫对番茄根系的侵染,经处理过的番茄根结指数明显降低,并且植株高度、叶片数和果实产量都要优于未经处理的番茄。另外,万寿菊的根、茎和花各部分的粗提物对松材线虫都有一定的毒杀性,其中根的粗提物效果最为显著^[34]。

3 万寿菊中的杀线活性成分

万寿菊的化学成分包括噻吩类、精油成分、色素类和黄酮及其甙类等^[35]。一般认为万寿菊中的杀线虫活性成分是噻吩类物质,如 TADYKANO 等从孔雀草中分离出杀线虫活性成分 α -三噻吩,同时也发现,这些化合物在施入土壤后几乎没有杀线效果。而 BAKKER 通过在溶液中增添超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、色氨酸及叠氨酸钠等,证明 α -三噻吩

在光下杀死线虫是一个单线态氧参与的过程。RA-JVANSI 等却从孔雀草中发现杀线虫的活性物质为生物碱,但并没有有关该生物碱的详细情况。有关杀线虫活性成分的问题,目前尚存在一些疑问,如噻吩尤其是没有取代基的噻吩多为非极性化合物,而许多活性试验是用水提取物;另外,已知噻吩在根中含量最高,而在叶中几乎没有,但一些试验显示根的活性却不是很好,而叶的活性却很强^[36-37]。

4 万寿菊的多样性种植对土壤中线虫的影响

自20世纪50年代开始,国外就一直研究万寿菊属(*Tagetes*)植物在线虫生物源防治方面的应用。目前在国外,农业生产者采用万寿菊属的植物与农作物轮套作的种植方法,或者用其破碎组织改良土壤来防治植物寄生线虫,都取得了理想的效果。生产上番茄、辣椒和茄子等作物与万寿菊属植物间作或轮作可以减少土壤中植物寄生线虫的虫口密度,提高作物产量^[38]。有报道^[39]称:万寿菊(*T. patula*)降低短体线虫属(*Pratylenchus* spp.)种群数量的效果超过休闲地90%,而且土壤里的草地早熟禾短体线虫(*P. pratensis*)、穿刺短体线虫(*P. penetrans*)以及不定矮化线虫(*Tylenchorhynchus dubius*)等线虫的种群数量都被抑制。在寄主作物的行间或茎基周围种植万寿菊,可使植株根部和土壤里的短体线虫属的数量受到抑制。1977年,ALAM 等^[40]在印度亚利加地区的土壤中,使用非洲万寿菊同茄子和辣椒间作,结果其处理相比辣椒和茄子单独种植时能显著地减少6个属的线虫数量。也有报道称采用万寿菊与番茄间作,可以控制线虫数量,但番茄的产量不会增加。GMMERS 和 BAKKER^[41]发现:不同种类的万寿菊能抑制的线虫种类也不相同;HACKNEY 和 DICKERSON^[42]认为非洲万寿菊根对南方根结线抑制作用较强,能有效地控制其对番茄根的侵染。HOOKS 等^[43]指出:间作、地表覆盖或翻入土壤、处理后的间隔期长短、定植幼苗的大小及发育阶段、万寿菊的种类、靶线虫的种类以及环境因子等条件都会影响到万寿菊的杀线虫效果。

5 万寿菊未来的应用前景

到目前为止,使用化学药剂防治农业生产中的寄生线虫已有几十年的历史,但是由于化学药

剂不仅对病害产生一定的抗药性而且对环境及农产品会造成不良的影响,因此,利用植物直接或间接地杀死植物寄生线虫已经成为未来发展现代有机农业的主流。这种方法不仅能杀死线虫,提高作物的产量和品质,而且不会对环境及农产品产生不良影响,对培肥土壤实现农业可持续发展也有推动作用。

目前,国内对万寿菊的研究主要集中在万寿菊成分的测定、提取物的杀线和抑菌试验方面,而万寿菊在田间的应用效果鲜有深入研究,其田间土壤中的效果和活性尚不清楚。万寿菊抑制线虫的机制是不稳定的,其抑制效果会受到线虫种群、土壤温度、万寿菊种植密度或者是万寿菊种植年限差异的影响。例如 MARAHATTA 等^[44]曾通过大田试验发现,线虫的生命周期对万寿菊的控制影响很大,在休耕条件下,南方根结线虫可能进入休眠期,不受万寿菊分泌的有毒化合物的影响,表现为万寿菊对南方根结线虫无毒杀效果。因此未来的研究应致力于:寻求轮作周期和线虫活性阶段来确定种植万寿菊的最佳时间;结合生物学来了解对目标线虫的抑制机制;发展整合利用万寿菊的田地病虫害综合防治方案。在可行的情况下,应大力促进万寿菊作为线虫抑制覆盖作物的应用的推广措施。

[参考文献]

- [1] WINDHAM G L, BARKER K R, PEDERSON G A, et al. Plant and nematode interactions [J]. Plant & Nematode Interactions, 1998, 42 (24): 399.
- [2] INGELS C A, BUGG R L, MCGOURT G T. Cover Cropping in Vineyards; a grower's Handbook [M]. University of California, 1998: 113.
- [3] SCHNEIDER M S, ROSSKOPF E, LEESCH J, et al. Alternatives to methyl bromide: pre-plant and post-harvest [J]. Pest Management Science, 2003, 59 (6/7): 814.
- [4] SIDDIQUI M A, ALAM M M. Control of plant-parasitic nematodes by intercropping with *Tagetes minuta* [J]. Nematologia Mediterranea, 1987, 15 (2): 205.
- [5] HOOKS C R, WANG K H, PLOEG A, et al. Using marigold (*Tagetes* spp.) as a cover crop to protect crops from plant-parasitic nematodes [J]. Applied Soil Ecology, 2010, 46 (3): 307.
- [6] HALBRENDT J M. Allelopathy in the management of plant-parasitic nematodes [J]. Journal of Nematology, 1996, 28 (1): 8.
- [7] GOMMERS F J, BAKKER J, POINAR G O, et al. Physiological diseases induced by plant responses or products [J]. Diseases of Nematodes G, 1988, 1: 3.
- [8] EL-GENGAIHI S E, OSMAN H A, YOUSSEF M M A, et al. Efficacy of *tagetes* species extracts on the mortality of the reniform nematode, *rotylechus reniformis*, 26 [M]. Egypt: Bull NRC, 2001: 441.
- [9] MORALLOREJESUS B, DECENA A. The activity, isolation, purification and identification of the insecticidal principles from *Tagetes* [J]. Philippine Journal of Crop Science, 1982, 7: 31.
- [10] ARNASON J T B, PHILOGÉNE J R, MORAND P, et al. Naturally occurring and synthetic thiophenes as photoactivated insecticides [M] // Insecticides of Plant Origin [S. L]: ACS Publications, 1989: 164.
- [11] MARLES R J, HUDSON J B, GRAHAM E A, et al. Structure-activity studies of photoactivated antiviral and cytotoxic tricyclic thiophenes [J]. Photochemistry and Photobiology, 1992, 56 (4): 479.
- [12] BAKKER J, GOMMERS F J, NIEUWENHUIS I, et al. Photoactivation of the nematicidal compound alpha-terthienyl from roots of marigolds (*Tagetes* species). A possible singlet oxygen role [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1979, 254 (6): 1841.
- [13] GOMMERS F J. Increase of the nematicidal activity of alpha-terthienyl and related compounds by light [J]. Nematologica, 1972, 18 (4): 458.
- [14] KAGAN J, KAGAN E, PATEL S, et al. Light-dependent effects of alpha-terthienyl in eggs, larvae, and pupae of *Mosquitoedes aegypti* [J]. Journal of Chemical Ecology, 1987, 13 (3): 593.
- [15] MARLES R J, HUDSON J B, GRAHAM E A, et al. Structure-activity studies of photoactivated antiviral and cytotoxic tricyclic thiophenes [J]. Photochemistry and Photobiology, 1992, 56 (4): 479.
- [16] JAGDALE G P, REYNOLDS B, BALL-COELHO B, et al. Nematicidal activity of marigold plant parts against root-lesion nematodes (*Pratylenchus penetrans*) [J]. The Journal of Nematology, 1999, 31 (4): 546.
- [17] DAULTON R A C, CURTIS R F. The Effects of *Tagetes* spp. on *Meloidogyne Javanica* in Southern Rhodesia 1) [J]. Nematologica, 1963, 9 (3): 357.
- [18] RANGASWAMY S D, REDDY P P, JOSHI S. Histopathological and histochemical investigations on antagonistic trap crops (marigold and mustard) and susceptible tomato infested with *Meloidogyne incognita* [J].

- Current Nematology, 1993, 4: 203.
- [19] PLOEG A T, MARIS P C. Effect of temperature on suppression of *Meloidogyne incognita* by *Tagetes* cultivars [J]. Journal of Nematology, 1999, 31 (4S): 709.
- [20] SUATMADJI R W. Studies on the effect of *Tagetes* species on plant parasitic nematodes [J]. Japanese Journal of Applied Entomology & Zoology, 1968, 13: 141.
- [21] EVENHUIS A, KORTHALS G W, MOLENDIJK L. *Tagetes patula* as an effective catch crop for long-term control of *Pratylenchus penetrans* [J]. Nematology, 2004, 6 (2004): 877.
- [22] PUDASAINI M P, VIAENE N, MOENS M. Effect of marigold (*Tagetes patula*) on population dynamics of *Pratylenchus penetrans* in a field [J]. Nematology, 2006, 8 (4): 477.
- [23] KO M P, SCHMITT D P. Changes in plant-parasitic nematode populations in pineapple fields following inter-cycle cover crops [J]. The Journal of Nematology, 1996, 28 (4): 546.
- [24] WANG K H, SIPES B S, SCHMITT D P. Management of *Rotylenchulus reniformis* in pineapple, ananas comosus, by intercycle cover crops [J]. The Journal of Nematology, 2002, 34 (2): 106.
- [25] 杨秀娟,何玉仙,陈庆河,等. 淡紫拟青霉适生性及其与2种植物协同作用防治根结线虫[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2005, 34(3): 290.
- [26] PUDASAINI M P, VIAENE N, MOENS M. Hatching of the root-lesion nematode, *Pratylenchus penetrans*, under the influence of temperature and host [J]. Nematology, 2008, 10 (1): 47.
- [27] 李为. 防治根结线虫的溴甲烷替代技术筛选 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2011.
- [28] WALIA K K, GUPTA D C. Management of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* on vegetable crops with *Tagetes* sp. [J]. Indian Journal of Nematology, 1997, 27 (1): 18.
- [29] CANNAYANE I, RAJENDRAN G. Allelochemical action of certain plant extracts on eggs and juveniles of *Meloidogyne incognita* (race 3) [J]. Current Nematology, 2002, 13: 83.
- [30] SIDDIQUI M A, ALAM M M. Studies on the nematotoxicity of root exudates of certain species of *Tagetes* [J]. Indian Journal of Nematology, 1998, 18 (2): 335.
- [31] 杨秀娟,何玉仙,陈福如,等. 不同植物提取液的杀线活性评价 [J]. 江西农业大学学报(自然科学版), 2002, 24 (3): 386.
- [32] SASANELLI N. Perspectives for the use of nematocidal plants [J]. Revue Suisse d'Agriculture, 1997, 29 (3): 157.
- [33] NATARAJAN N, CORK A, BOOMATHI N, et al. Cold aqueous extracts of African marigold, *Tagetes erecta*, for control tomato root knot nematode, *Meloidogyne incognita* [J]. Crop Protection, 2006, 25 (11): 1210.
- [34] 巨云为,樊培峰,奚月明,等. 万寿菊提取物对松材线虫的毒杀作用 [J]. 浙江林学院学报, 2010, 27 (2): 316.
- [35] 王新国,徐汉虹,赵善欢. 杀虫植物万寿菊的研究进展 [J]. 西安联合大学学报, 2002, 5 (2): 5.
- [36] 安玉兴. 植物杀线虫活性成分及作用机理研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2003: 136.
- [37] PRAKASH A, RAO J. Botanical pesticides in agriculture [M]. CRC: Lewis, 1997.
- [38] GOOD J M, MINTON N A, JAWORSKI C A. Relative susceptibility of selected cover crops and coastal bermudagrass to plant nematodes [J]. Phytopathology, 1965, 55 (9): 1026.
- [39] OOSTENBRINK M, KUIPER K, S' JACOB J J. *Tagetes* als feindpflanzen von *Pratylenchus* - arten [J]. Nematologica, 1957, 2: 424.
- [40] ALAM M M, SAXENA S K, KHAN A M. Influence of interculture of marigold and margosa with some vegetable crops on plant growth and nematode population [J]. Acta Botanica Indica, 1977, 5: 33.
- [41] GORNEMERS F J, BAKKER J, POINAR G O, et al. Physiological diseases induced by plant responses or products [J]. Diseases of Nematodes G, 1988: 3.
- [42] HACKNEY R W, DICKERSON O J. Marigold, castor bean, and chrysanthemum as controls of *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus alleni* [J]. The Journal of Nematology, 1975, 7 (1): 84.
- [43] HOOKS C R R, WANG K H, PLOEG A, et al. Using marigold (*Tagetes* spp.) as a cover crop to protect crops from plant-parasitic nematodes [J]. Applied Soil Ecology, 2010, 46 (3): 307.
- [44] MARAHATTA S P, WANG K H, SIPES B S, et al. Strip-tilled cover cropping for managing nematodes, soil mesoarthropods, and weeds in a bitter melon agroecosystem [J]. Journal of Nematology, 2010, 42 (2): 111.