

DOI:10.13718/j.cnki.zwyx.2022.04.004

牡蛎粉对烟草根结线虫病的防控效果研究

王金峰¹, 江连强², 刘东阳², 陈树鸿³, 钟子松³,
文官富³, 江其朋¹, 丁伟¹

1. 西南大学植物保护学院, 重庆, 400715;
2. 中国烟草总公司四川省公司凉山州公司, 四川 西昌 615000;
3. 中国烟草总公司四川省公司凉山州公司会理县公司, 四川 会理 615100

摘 要: 根结线虫病是一种普遍发生的土传性病害, 严重制约我国烟草产质量的提升. 为明确天然活性物质牡蛎粉防控根结线虫病害的最佳浓度, 本研究通过室内盆栽试验, 探讨了不同浓度牡蛎粉拌土对烟草根结线虫病的控制效果及对烟草生长和根系活力的影响. 结果表明, 牡蛎粉施用量在 0.05%~0.5% 范围内, 随着牡蛎粉使用量的增加, 对根结线虫病的防控效果逐渐增加; 其中 0.5% 牡蛎粉拌土处理对根结线虫病的防控作用最好, 防效为 72.22%, 根系活力提升 11.79%, 促生效果较好; 0.3% 的牡蛎粉拌土处理对根结线虫病的防效较好, 防效为 66.67%, 显著提高根系活力 28.45%, 促生效果最好. 因此, 施用天然活性物质牡蛎粉可以缓解烟草根结线虫病的发生以及促进烟株生长.

关 键 词: 牡蛎粉; 根结线虫病; 根系活力

中图分类号: S435.72

文献标志码: A

文章编号: 2097-1354(2022)04-0031-07

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Study on the Control Effect of Oyster Shell Powder on Tobacco Root-knot Nematode Disease

WANG Jinfeng¹, JIANG Lianqiang², LIU Dongyang², CHEN Shuhong³,
ZHONG Zisong³, WEN Guanfu³, JIANG Qipeng¹, DING Wei¹

1. School of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China;
2. Liangshan Prefecture Branch of Sichuan Tobacco Company, Xichang Sichuan 615000, China;
3. Huili County Branch of Sichuan Tobacco Company, Huili Sichuan 615100, China

Abstract: Root-knot nematode disease is a common soil-transmitted disease, which seriously restricts the improvement of the production quality of Chinese tobacco. In order to determine the

收稿日期: 2022-06-23

基金项目: 中国烟草总公司四川省公司科技专项项目(202051340024416).

作者简介: 王金峰, 硕士, 主要从事烟草根结线虫病防控的研究.

optimal concentration of the natural active substance oyster shell powder on control of root-knot nematode disease, this study investigated the effect of different concentrations of oyster shell powder mixed soil on control of tobacco root-knot nematode disease and the effects on tobacco growth and root activity with pot experiment. The results showed that the control effect of oyster shell powder on root-knot nematode disease increased gradually with the increase of oyster shell powder dosage in the range of 0.05% to 0.5%. The treatment of 0.5% oyster shell powder mixed with soil had the best control effect on root-knot nematode disease, with 72.22% control effect and 11.79% increase in root activity, indicating a good growth promotion effect. The control effect of 0.3% oyster shell powder mixed soil on root-knot nematode disease was 66.67%, and the root activity was significantly increased by 28.45%, with the best growth promotion effect. Therefore, the application of natural active substance oyster shell powder can alleviate the occurrence of tobacco root knot nematode disease and promote the growth of flue-cured tobacco.

Key words: oyster shell powder; root nematode disease; root vitality

根结线虫(*Meloidogyne* spp.)隶属于线虫门(Nematodo)、侧尾腺口纲(Secernentea)、垫刃目(Tylenchida)、异皮线虫科(Heteroderidae)、根结线虫属(*Meloidogyne*)^[1], 是一种专化性寄生线虫, 分布广泛^[2], 种类繁多, 寄主种类也达数千种^[3]. 根结线虫在烟草各个时期都可以侵染, 其中在幼苗期为害较大. 烟草根结线虫主要寄生于烟草根部, 并引起韧皮部及邻近细胞变成巨型细胞, 造成根结(图 1), 其严重影响和制约了我国烟草种植和烟叶产质量提升.



图 1 田间根结线虫病症状

烟草根结线虫病是一种土传病害, 该病害的发生和流行与土壤理化性质密切相关. 我国植烟区土壤多以酸性为主, 其中四川省凉山州会理县土壤 pH 值在 5.0 左右^[4]. 有研究表明, 酸性土壤有利于根结线虫病的发生^[5-6]. 同时, 根系释放的 CO_2 和根结线虫侵染后导致流出的有机酸类根系分泌物会造成根系周围的 pH 值降低, 从而吸引更多的根结线虫^[5-8]. 土壤改良剂可有效改善土壤物理性质、提高土壤肥力、改善土壤生化特性, 有利于作物强根壮苗, 从而提高作物系统抗性^[9]. 牡蛎壳是一种由矿物质和有机质主要组成的天然活性物质, 其中微量元素丰

富^[10-13],可以提升土壤 pH 值和改善土壤微生物群落结构^[14-17].有研究表明牡蛎粉在酸性土壤中对烟草青枯病等病害具有较好的防效^[18-19],对花生^[20]、蜜柚^[21]、甜瓜^[22]、蔬菜^[23]等农作物具有明显的促生增产、提升品质的作用.本研究通过盆栽试验探索了不同用量的牡蛎粉对根结线虫病的控制效果,旨在明确牡蛎粉在盆栽试验时的最佳用量以及对根结线虫病的控制效果和对烟株生长的影响.

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所采集的土壤来自四川省凉山州会理县益门镇(北纬 46°49′45″、东经 102°16′51″),该地块为根结线虫病常发地.采集的线虫发病土在室内晾干、碾碎,过 10 目网筛,置于潮湿环境中,用于盆栽试验.烟草品种为“红花大金元”50 d 幼苗.

1.2 试验设计

试验在西南大学温室进行.试验共设置 5 个处理.处理 1:0.05%牡蛎粉拌土处理;处理 2:0.1%牡蛎粉拌土处理;处理 3:0.3%牡蛎粉拌土处理;处理 4:0.5%牡蛎粉拌土处理;处理 5:空白对照.每个处理 10 株烟,土壤含水量为 20%.将不同添加量的牡蛎粉与土壤混匀,装入高 18 cm、直径 24 cm 的育苗盆中,每 2 d 补充一次水分,保证土壤含水量为 20%~30%.

1.3 测定指标及方法

1.3.1 根系活力测定

1)标准曲线的测定

参照已有的试验方法^[24-25]并加以修改.将 0.4%TTC 溶液 0.2 mL 加入甲醇 9.8 mL 和少量保险粉,充分摇动,所产生的 TTF 溶液为母液,取 6 支试管,配制系列浓度(表 1),用分光光度计比色,波长 485 nm,记录 OD 值.以 OD 值为纵坐标,以 TTF 质量为横坐标,绘制标准曲线.

表 1 不同剂量 TTF 试剂溶液配制						μg
试剂/mL	0	20	40	80	120	160
母液	0	0.25	0.50	1.00	1.50	2.00
甲醇	10	9.75	9.50	9.00	8.50	8.00

2)根系活力的测定

参照 TTC 试验根系活力的试验方法^[24-25]对不同牡蛎粉浓度处理的烟株根系进行活力测定.选择第 60 d 的烟草根系 0.5 g,用流水洗涤干净,装入 50 mL 离心管中,随后依次加入 0.4%TTC 溶液和 0.1 mol/L 磷酸缓冲液各 5 mL,使根尖完全侵入反应液中,置于 37 ℃温箱中培养 3 h;随后及时拿出,向离心管中加入 1 mol/L H₂SO₄ 溶液 2 mL 终止反应;用滤纸将根尖及其表面的反应液吸干,转入另一只 50 mL 离心管中,加入 10 mL 甲醇,使根尖完全浸没于甲醇中,然后将根尖置于 30~40 ℃温箱中,使根尖完全变白,上述提取液用分光光度计在 485 nm 下比色测定,以甲醇为对照,记录 OD 值.

根系活力(μg·g⁻¹·h⁻¹)=四氮唑还原量×提取液稀释倍数/(根质量×时间)^[25].

1.3.2 植株生长调查方法

参照朱志豫^[26]的试验方法,于 60 d 用电子天平测量地下部分、地上部分的鲜质量以及用直尺测量根系长度.

1.3.3 根结线虫病害调查方法

调查时,将烟草根系冲洗干净,调查其根结数量并观察其发病情况,发病程度按 0~10 级的标准划分^[27]. 0 级:根系完好且不出根结;1 级:根结较小,且数量少很难被发现;2 级:出现清晰可见小根结,均在侧根;3 级:出现一些较大根结,均在侧根;4 级:出现较多根结,均在侧根;5 级:出现 50% 的根结,部分发生在主根;6 级:主根部分出现较明显的根结;7 级:大部分的主根出现根结;8 级:主根全部出现根结,很少的侧根没有产生根结;9 级:所有的根都受到侵染;10 级:所有的根都受到严重侵染.

根结指数及根结抑制率的计算方法如下:

根结抑制率(%)=(对照组根结数-处理组根结数)/对照组根结数 $\times$ 100%;

病情指数= Σ (各级植株数 $\times$ 级值)/(调查总株数 $\times$ 最高级值) $\times$ 100;

防效(%)=(对照组病情指数-处理组病情指数)/对照组病情指数 $\times$ 100%.

1.4 数据处理

所有数据均通过 Excel 2019 收集整理,使用 SPSS 23.0 统计软件 Duncan 法计算显著性差异分析($p<0.05$),用 Origin 2019b 进行绘图.

2 结果与分析

2.1 牡蛎粉对烟草根结线虫病的影响

对处理后 60 d 的烟株根系调查发现,牡蛎粉可有效减少烟草根系的根结数,降低根结线虫病的病情指数,且在 0%~0.5% 牡蛎粉使用量的范围内,根结数及病情指数随着牡蛎粉使用量的增加而降低(图 2). 空白对照烟株根结数平均为 84.33 个,根系呈鸡爪状(图 4);0.05% 牡蛎粉处理可减少 43.5% 的根结数($p<0.05$),0.1% 牡蛎粉处理可有效减少 62.45% 的根结数($p<0.05$),0.3% 牡蛎粉处理可有效减少 82.2% 的根结数($p<0.05$),0.5% 的牡蛎粉处理可有效减少 92.89% 的根结数($p<0.05$);且随着使用量的增加,根系形状逐渐由鸡爪状恢复正常(图 4). 另外,调查发现 0.3% 牡蛎粉处理对根结线虫的防效达 66.67%,0.5% 处理对根结线虫的防效达 72.22%,而 0.05% 和 0.1% 牡蛎粉拌土处理对根结线虫病的防效分别为 22.22% 和 50.00%. 综上所述,牡蛎粉添加量在 0.3%~0.5% 时,对烟草根结线虫病具有较好的控制效果.

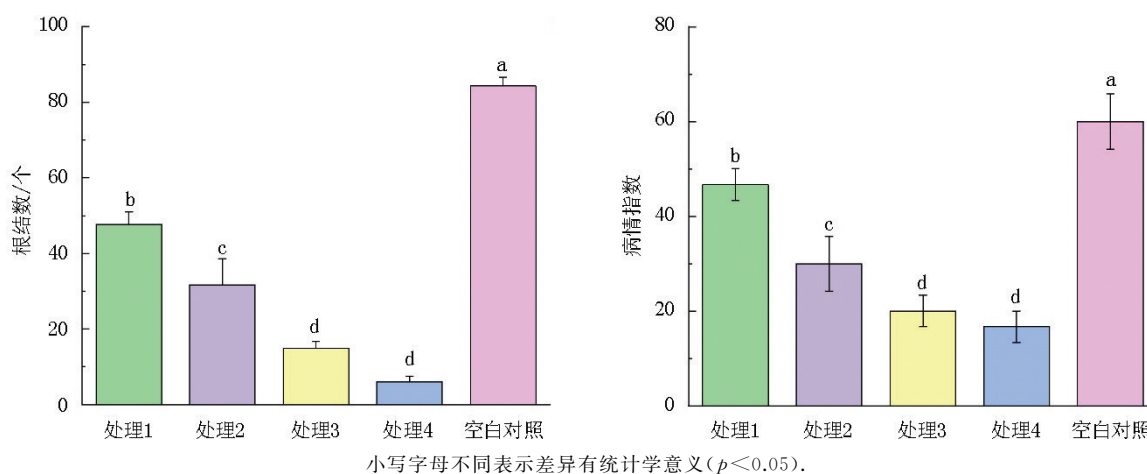


图 2 牡蛎粉对烟草根结线虫病的影响

2.2 牡蛎粉对烟草生长的影响

土壤经过牡蛎粉处理 60 d 后,对烟株生长的调查情况如图 3 和图 4 所示. 和空白对照相

比,牡蛎粉处理对烟草生长具有明显的促进作用,在 0.05%~0.3%时,随着浓度的增加,其对植株的生长作用促进越明显.当牡蛎粉使用浓度为 0.3%时,对烟株的促进作用最好,其可以使烟株地上部分鲜质量增加 18.6%,使地下部分鲜质量增加 38.3%,使根长增长 13.1%.

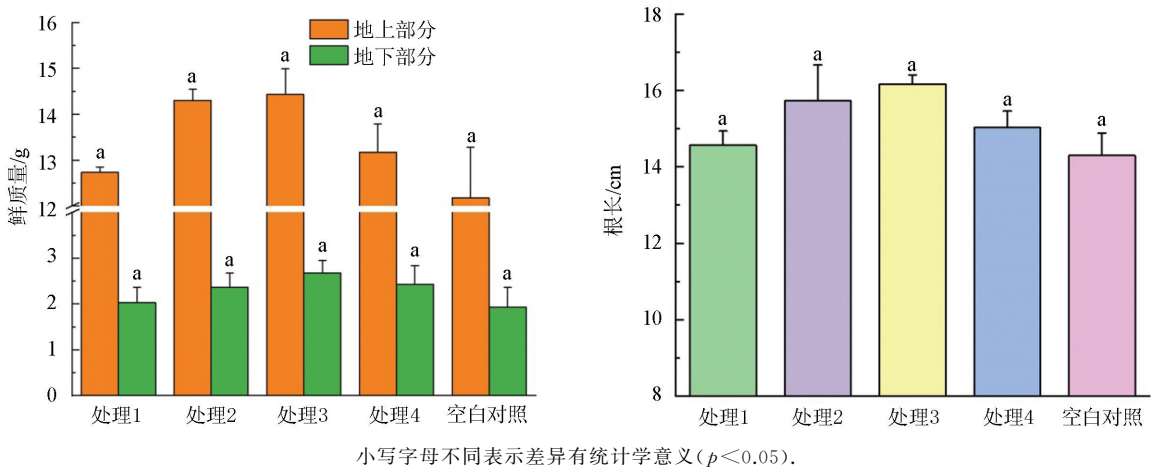


图 3 不同处理对烟草生长的影响



图 4 不同处理后烟株根系生长情况

2.3 牡蛎粉对根系活力的影响

根据 TTF 标准曲线绘制方法,得四氮唑还原量的计算公式为 $C=347.87\times\text{OD 值}-3.594\ 9$ ($r^2=0.998\ 7$).不同处理的根系活力如图 5 所示,牡蛎粉处理可以显著提高烟株根系活力,其中 0.1%的牡蛎粉可以提高烟株根系活力 29.75%,0.3%的牡蛎粉可以提高根系活力 28.45%,0.05%和 0.5%的牡蛎粉可以提高根系活力 2.22%和 11.79%.

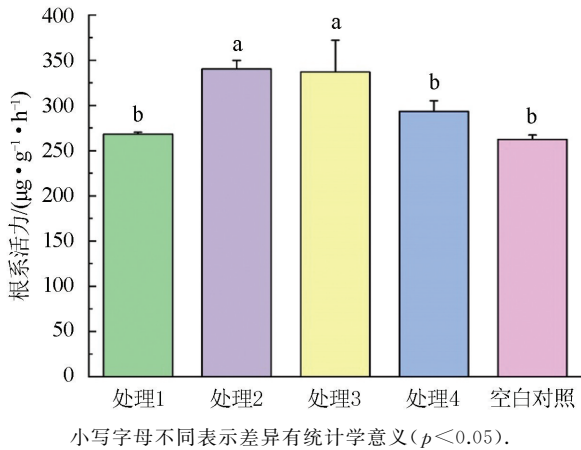


图 5 牡蛎粉对烟草根系活力的影响

3 结论与讨论

烟草根结线虫病是一种分布广泛的土传性病害^[2, 28-29], 在 1997 年的 16 个主栽烟区中便有 13 个暴发根结线虫病^[30], 近几年在四川省凉山州会理市等地频发. 大量研究表明根结线虫病与土壤状况密切相关^[6, 31]. 江其朋等^[6]研究表明, 烟草根结线虫病发病地区土壤 pH 值、交换性钙和交换性镁含量显著低于未发病地区.

土壤改良剂的使用对优化土壤结构、改善土壤微生物群落结构等具有重要意义^[32]. 随着环保概念的深入, 土壤改良剂在病害防控和土壤治理中越来越重要. 牡蛎粉是一种天然活性物质, 可以显著提升土壤 pH 值. 另外, 牡蛎粉中含有大量的钙镁元素, 其中钙含量约为 30.82%, 镁含量约为 14.92%, 使用后可以提升土壤中的钙镁含量^[15], 可以优化土壤结构, 提升土壤中硝化螺旋菌属、假单胞菌的相对丰度^[15]. 本研究通过采集四川省凉山州会理市植烟区发病烟田土壤进行盆栽试验, 明确了牡蛎粉对根结线虫病的控制效果及对烟草生长的影响. 研究发现, 0.3%~0.5%牡蛎粉拌土处理对根结线虫病具有较好的控制效果, 其防效达 60%以上; 牡蛎粉拌土浓度为 0.3%时, 对烟草生长有较为明显的促进效果, 可以增加地上部鲜质量 18.6%、增加地下部鲜质量 38.3%, 使烟根长增长 13.1%, 同时可以提升根系活力 28.45%, 这与姬佳旗^[15]的结果相一致. 因此, 牡蛎粉的使用可以有效控制烟草根结线虫病, 同时也有利于烟株生长. 本研究为牡蛎粉防控烟草根结线虫病提供了数据支撑, 为田间防控根结线虫病奠定了理论基础.

参考文献:

- [1] 赵洪海, 刘维志, 王东昌. 根结线虫分类手段的研究概况 [J]. 莱阳农学院学报, 2000, 17(4): 250-254, 261.
- [2] 赵鸿, 彭德良, 朱建兰. 根结线虫的研究现状 [J]. 植物保护, 2003, 29(6): 6-9.
- [3] 王金峰, 江连强, 刘东阳, 等. 烟草根结线虫病防治方法及发展趋势 [J]. 植物医生, 2021, 34(2): 9-12.
- [4] 陈玉蓝. 四川省植烟土壤酸度特征及其影响因素研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2014.
- [5] WANG C L, BRUENING G, WILLIAMSON V M. Determination of Preferred pH for Root-Knot Nematode Aggregation Using Pluronic F-127 Gel [J]. Journal of Chemical Ecology, 2009, 35(10): 1242-1251.
- [6] 江其朋, 江连强, 龚杰, 等. 影响四川凉山地区烟草根结线虫病发生的关键因子分析 [J]. 中国烟草学报, 2021, 27(6): 89-98.
- [7] 许华, 阮维斌, 高玉葆, 等. 根结线虫对黄瓜叶片氮磷含量、土壤 pH 和酶活性的影响 [J]. 应用生态学报, 2010, 21(8): 2038-2044.
- [8] HAASE S, RUESS L, NEUMANN G, et al. Low-Level Herbivory by Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne incognita*) Modifies Root Hair Morphology and Rhizodeposition in Host Plants (*Hordeum vulgare*) [J]. Plant and Soil, 2007, 301(1-2): 151-164.
- [9] 刘娇娴, 崔骏, 刘洪宝, 等. 土壤改良剂改良酸化土壤的研究进展 [J]. 环境工程技术学报, 2022, 12(1): 173-184.
- [10] 闫晓梅, 耿鑫, 杨翰楠, 等. ICP-MS 法测定牡蛎粉中镉含量不确定度的评定 [J]. 现代食品, 2021(1): 203-205, 209.
- [11] 陈玉枝, 林舒. 牡蛎壳与龙骨成分的分析 [J]. 福建医科大学学报, 1999, 33(4): 432-434.
- [12] KWON H B, LEE C W, JUN B S, et al. Recycling Waste Oyster Shells for Eutrophication Control [J]. Resources, Conservation and Recycling, 2004, 41(1): 75-82.
- [13] 周桂友, 侯艳芳, 赵芳, 等. 牡蛎粉中总汞测定的不确定度评定 [J]. 广州化工, 2012, 40(17): 101-103.
- [14] 刘烈花, 丁伟. 3 种土壤改良剂对榨菜根肿病的防治效果和根际微生物的影响 [J]. 植物医生, 2021, 34(3): 19-25.
- [15] 姬佳旗. 牡蛎壳粉调节土壤 pH 及控制烟草青枯病的效果研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2020.
- [16] 沈桂花, 刘晓姣, 张淑婷, 等. 牡蛎壳粉对烟草根际土壤微生物代谢多样性及青枯病发生的影响 [J]. 烟草科技, 2017, 50(12): 22-28.
- [17] YONG L, ZHONG X Y, YAO S. Effects of Oyster Shell Soil Amendment on Fruit Quality and Soil Chemical Properties in Greenhouse Tomato Acidic Soils [J]. 农业科学与技术(英文版), 2016, 17(9): 2096-2098, 2102.
- [18] 郑旭川, 曾宪立, 熊伟, 等. 土壤改良措施对烤烟产质量及青枯病发生的影响 [J]. 作物研究, 2019, 33(4):

- 302-305.
- [19] 单晓鹏, 张水翔, 张贺翠, 等. 土壤改良剂对烟草成熟期根茎病害发生和农艺性状的影响 [J]. 植物医生, 2020, 33(5): 60-64.
- [20] 柳开楼, 熊华荣, 胡惠文, 等. 特贝钙土壤调理剂对红壤旱地花生产量和阻控土壤酸化的影响 [J]. 广东农业科学, 2017, 44(5): 93-98.
- [21] 李雁乔. 牡蛎壳土壤改良剂对琯溪蜜柚品质影响的研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2019.
- [22] 许玲玲, 章骞, 王永明, 等. 煅烧牡蛎壳粉对土壤酸化及玉菇甜瓜品质的改良效果 [J]. 集美大学学报(自然科学版), 2020, 25(5): 336-343.
- [23] 陈勇红. 特贝钙土壤调理剂在南方红壤区蔬菜上的应用效果 [J]. 东南园艺, 2019, 7(4): 1-5.
- [24] 白宝璋, 金锦子, 白崧, 等. 玉米根系活力 TTC 测定法的改良 [J]. 玉米科学, 1994, 2(4): 44-47.
- [25] 郑坚, 陈秋夏, 金川, 等. 不同 TTC 法测定枫香等阔叶树容器苗根系活力探讨 [J]. 浙江农业科学, 2008, 49(1): 39-42.
- [26] 朱致豫. 烟草根结线虫生防菌的筛选及其技术体系的建立 [D]. 重庆: 西南大学, 2014.
- [27] 李晴晴. 三种药剂组配对番茄南方根结线虫的生物活性与防效 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2020.
- [28] TRUDGILL D L, BLOK V C. Apomictic, Polyphagous Root-Knot Nematodes: Exceptionally Successful and Damaging Biotrophic Root Pathogens [J]. Annual Review of Phytopathology, 2001, 39: 53-77.
- [29] CASTAGNONE-SERENO P, DANCHIN E G J, PERFUS-BARBEOCH L, et al. Diversity and Evolution of Root-Knot Nematodes, Genus *Meloidogyne*: New Insights from the Genomic Era [J]. Annual Review of Phytopathology, 2013, 51: 203-220.
- [30] 陈瑞泰, 朱贤朝, 王智发, 等. 全国 16 个主产烟省(区)烟草侵染性病害调研报告 [J]. 中国烟草科学, 1997, 18(4): 1-7.
- [31] 张仁军, 陈雅琼, 张洁梅, 等. 健康与根结线虫病烟田根际土壤微生物群落对比分析 [J]. 中国农学通报, 2021, 37(26): 124-132.
- [32] 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.

责任编辑 王新娟