

# 3种桉属植物乙醇抽提物 对爪哇根结线虫的毒杀活性\*

王惠惠 廖金铃 文艳华\*\*

华南农业大学资源与环境学院, 广州 510642

**摘要** 采用直接浸泡法,测定了桉属(*Eucalyptus*)植物柠檬桉(*E. citriodora*)、杂交桉(*E. urophylla* × *E. grand*)和尾叶桉(*E. urophylla*)小枝条乙醇抽提物对爪哇根结线虫(*Meloidogyne javanica*)卵孵化的抑制活性以及对2龄幼虫的毒杀活性。结果表明:柠檬桉、杂交桉和尾叶桉乙醇抽提物对爪哇根结线虫卵的孵化均有较强抑制活性,以20 mg/mL乙醇抽提物液处理24、48、72 h后,抑制孵化率均达94%以上;对爪哇根结线虫2龄幼虫也有较强的毒杀活性,3种桉属植物以20 mg/mL乙醇抽提物液处理2龄幼虫72 h后,线虫校正死亡率均达90%以上。将柠檬桉和杂交桉的茎、叶干粉分别拌土盆栽防治空心菜(*Ipomoea aquatica*)和黄瓜(*Cucumis sativus*)爪哇根结线虫病。结果表明:柠檬桉和杂交桉茎、叶干粉对爪哇根结线虫病均有较好的防治效果,植株根系的根结数、根结内雌虫数和雌虫产卵粒数均下降,植株地上部鲜质量增加,且均与对照差异显著。

**关键词** 桉属植物; 爪哇根结线虫; 毒杀活性

**中图分类号** S 482.3<sup>+9</sup>; S 482.5<sup>+1</sup> **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)06-0696-04

根结线虫(*Meloidogyne* spp.)是重要的植物病原线虫,其寄主植物十分广泛。在我国南方地区蔬菜地由根结线虫引发的线虫病发生非常普遍,对蔬菜生产造成严重影响。目前,化学杀线剂存在毒性大、残留高、易污染环境等诸多问题。20世纪80年代以来,利用植物源活性物质防治植物寄生线虫的研究逐渐受到重视并引起广泛关注<sup>[1-2]</sup>。

桉树是桃金娘科桉属(*Eucalyptus*)植物的总称。桉属的植物种类多、生长快、适应性强、用途广泛,现中国引种桉树约有300多种,其中10多种为南方人工造林主要树种。从桉属植物中找寻杀线虫活性物质的研究已有些报道<sup>[3-10]</sup>,但还未见利用桉属植物的活性成分防治空心菜(*Ipomoea aquatica*)和黄瓜(*Cucumis sativus*)上爪哇根结线虫(*Meloidogyne javanica*)病的研究报道。

笔者以3种桉属植物为材料,在室内测定了桉属植物乙醇抽提物对爪哇根结线虫卵的孵化抑制活性和2龄幼虫的毒杀活性,并选用2种桉属植物的茎和叶干粉分别拌土进行处理,分别观察了盆栽试验中对空心菜和黄瓜植株上爪哇根结线虫病的防治效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物抽提物及植物粉末的制备

柠檬桉(*E. citriodora*)、杂交桉(*E. urophylla* × *E. grand*)和尾叶桉(*E. urophylla*)枝条及茎秆采自广东省广州市郊龙洞,将小枝条晾干后粉碎,得到植物粉末;将植物粉末用95%乙醇抽提,抽提液经旋转蒸发仪低压浓缩并晾干后得到植物抽提物,用灭菌蒸馏水稀释至供试浓度备用;盆栽试验植物叶粉末采用小枝条的叶,茎粉末采用茎秆部分,分别晾干粉碎成粉末备用。

### 1.2 供试线虫

爪哇根结线虫(*Meloidogyne javanica*)由华南农业大学植物线虫研究室提供,接种于盆栽辣椒(*Capsicum annuum* Linn)植株上。

### 1.3 卵孵化抑制活性的观察

将辣椒植株上的爪哇根结线虫病根冲洗干净,在解剖镜下挑取色泽和大小较一致的卵囊,用1%次氯酸钠溶液消毒3 min,再用无菌水冲洗后置于直径3 cm的培养皿内,加入20 mg/mL植物抽提液。每处理重复4次,以灭菌蒸馏水为对照。将培

收稿日期:2010-04-23; 修回日期:2010-09-17

\* 公益性行业(农业)科研专项经费项目(nyhyzx07-050-4)和广东省农业攻关项目(2007B020709008)资助

\*\* 通讯作者. E-mail: yhw@scau.edu.cn

王惠惠,女,1984年生,硕士研究生,助理研究员. 研究方向:植物线虫学. E-mail: lyacwhh@163.com

养皿置于 25 ℃ 恒温箱培养, 分别于处理 24、48、72 h 后观察记录线虫卵孵化数量, 计算卵孵化抑制率。

$$\text{卵孵化抑制率} = \frac{\text{对照孵化卵数} - \text{处理孵化卵数}}{\text{对照孵化卵数}} \times 100\%$$

### 1.4 植物抽提物对幼虫毒杀活性的测定

将辣椒上的爪哇根结线虫病根冲洗干净, 在解剖镜下摘取卵囊, 置于 25 ℃ 恒温培养箱孵化 24 h, 得到大量纯根结线虫 2 龄幼虫。在直径 3 cm 的培养皿内, 加入 1 mL 20 mg/mL 的供试植物抽提物溶液, 放入供试线虫 30~50 条。每处理重复 4 次, 以灭菌蒸馏水为对照。将培养皿置于 25 ℃ 恒温箱培养, 分别于处理 24、48、72 h 后加清水复苏 12 h, 用针刺法检查并记录线虫的活虫数和死虫数, 计算校正死亡率。

$$\text{校正死亡率} = \frac{\text{处理线虫死亡率} - \text{对照线虫死亡率}}{1 - \text{对照线虫死亡率}} \times 100\%$$

### 1.5 盆栽试验

将空心菜和黄瓜种子播种于灭菌的盆土中, 待长至 3 片真叶时移栽。取沙壤土 ( $V_{\text{沙}}/V_{\text{土}} = 1/4$ ) 经 121 ℃ 消毒 1 h 后, 与柠檬桉和杂交桉的茎、叶干粉混合, 充分混匀后再分别分装于直径 16 cm、高 12 cm 的花盆内, 每盆移栽供试苗 3 棵。移苗后 7 d 接种爪哇根结 2 龄幼虫, 每株接虫 1 000 条。每处理重复 10 次, 以灭菌土接种线虫为对照。

各处理编号: A. 每 1 L 土加入 5 ( $A_1$ )、10 ( $A_2$ )、15 ( $A_3$ ) mL 柠檬桉茎干粉; B. 每 1 L 土加入 5 ( $B_1$ )、10 ( $B_2$ )、15 ( $B_3$ ) mL 柠檬桉叶干粉; C. 每 1 L 土加入 5 ( $C_1$ )、10 ( $C_2$ )、15 ( $C_3$ ) mL 杂交桉茎干粉; D. 每 1 L 土加入 5 ( $D_1$ )、10 ( $D_2$ )、15 ( $D_3$ ) mL 杂交桉叶干粉。

在空心菜和黄瓜生长期间只浇水, 接种线虫后 45 d 倒盆调查, 分别记录根结数、最大根结内雌虫数 (5~10 个根结的平均数), 土壤中 2 龄幼虫条数、产卵粒数、植株地上部鲜质量, 并按以下公式计算防治效果。

$$\text{防治效果} = \frac{\text{对照根结数} - \text{处理根结数}}{\text{对照根结数}} \times 100\%$$

## 2 结果与分析

### 2.1 抽提物对线虫卵孵化的抑制活性

试验结果表明, 用 20 mg/mL 尾叶桉、杂交桉和柠檬桉枝条的乙醇抽提物处理后, 抽提物对爪哇根结线虫卵的孵化均有较强的抑制活性, 处理 24、48、72 h 的卵孵化抑制率均达到 94% 以上 (表 1)。

表 1 桉属植物抽提物对爪哇根结线虫卵孵化的影响<sup>1)</sup>

Table 1 Effect of twig extraction of *Eucalyptus* plants on the egg hatching of *M. javanica*

处理 Treatment	抑制率/% Inhibition rate		
	24 h	48 h	72 h
尾叶桉 <i>E. urophylla</i>	100±0.00 a	98.50±0.61 a	98.40±0.58 a
杂交桉 <i>E. urophylla</i> × <i>E. grand</i>	100±0.00 a	96.63±0.37 b	96.80±0.59 a
柠檬桉 <i>E. citriodora</i>	100±0.00 a	95.51±0.61 b	94.05±0.59 b

1) 同列数值后相同字母表示在 0.05 水平差异不显著 (下表同)。

Data within a column followed by the same letter are not significantly different at 0.05 level (the same as following tables).

### 2.2 抽提物对线虫 2 龄幼虫的毒杀活性

试验结果表明, 用 20 mg/mL 尾叶桉、杂交桉和柠檬桉枝条的乙醇抽提物处理后, 抽提物对爪哇根结线虫 2 龄幼虫有较强的毒杀活性, 并随处理时间的延长, 毒杀活性逐步增强, 处理 48 h 的线虫校正死亡率均达到 84% 以上; 处理 72 h 的校正死亡率均达到 90% 以上 (表 2)。

表 2 桉属植物抽提物对线虫 2 龄幼虫的毒杀活性

Table 2 Nematicidal activity of twig extraction of *Eucalyptus* plants against second-stage juveniles of *M. javanica*

处理 Treatment	校正死亡率/% Adjust mortality		
	24 h	48 h	72 h
尾叶桉 <i>E. urophylla</i>	77.58±0.61 b	90.30±1.00 a	98.19±0.61 a
杂交桉 <i>E. urophylla</i> × <i>E. grand</i>	86.67±1.21 a	87.27±1.16 b	90.30±1.00 b
柠檬桉 <i>E. citriodora</i>	73.33±1.00 c	84.85±0.61 b	91.52±0.70 b

### 2.3 桉属植物干粉对空心菜线虫病的防效

盆栽试验结果表明, 柠檬桉和杂交桉的茎、叶干粉对空心菜上的爪哇根结线虫病均有较好的防治效果, 并随干粉处理浓度的增加, 防治效果逐渐增大。各处理组植株根结中的雌虫数和卵囊中的卵粒数均明显少于对照组, 地上部鲜质量明显高于对照组, 但对土壤中 2 龄幼虫的数量影响不大 (表 3)。

### 2.4 桉属植物干粉对黄瓜线虫病的防效

盆栽试验结果表明, 柠檬桉和杂交桉的茎、叶干粉对黄瓜上的爪哇根结线虫病均有较好的防治效果, 且防治效果随干粉含量的增加而增强 (表 4)。与对照相比, 各处理组植株根结中的雌虫、卵囊中的卵粒数和土壤中的 2 龄幼虫数量均明显减少, 但桉属植物干粉对植株地上部鲜质量的影响不大。

表 3 桉属植物干粉对空心菜上爪哇根结线虫病的防治效果

Table 3 Control effect of dried powder of *Eucalyptus* plants on water spinach root-knot disease caused by *M. javanica*

处理 Treatment	地上部鲜质量/g Fresh mass of shoot	每株根结数 Galls per plant	每根结雌虫数 Females per gall	每卵囊卵粒数 Eggs per egg mass	每 100 mL 土 中 2 龄幼虫数 Second-stage juveniles per 100 mL soil	防治效果/% Control effect
A <sub>1</sub>	34.59±0.24 h	248.56±3.22 b	10.89±0.20 b	757.89±3.30 b	535.89±5.83 a	25.46 i
A <sub>2</sub>	37.57±0.22 f	178.11±4.39 d	7.11±0.20 d	676.44±5.53 d	535.78±7.10 a	46.58 g
A <sub>3</sub>	42.30±0.26c	123.78±3.85 f	3.56±0.18 e	634.56±5.23 e	528.78±5.46 a	62.88 e
B <sub>1</sub>	37.70±0.20 f	120.44±4.18 fg	7.11±0.20 d	626.44±3.69 e	525.78±6.79 a	63.88 de
B <sub>2</sub>	45.82±0.12 b	78.44±3.26 i	3.44±0.18 e	573.78±3.77 g	525.56±5.40 a	76.47 b
B <sub>3</sub>	50.22±0.17 a	47.33±2.70 j	1.33±0.17 f	516.78±4.59 i	523.22±5.41 a	85.80 a
C <sub>1</sub>	32.04±0.23 i	235.33±4.26 c	10.00±0.24 c	735.22±3.82 c	536.56±3.94 a	29.42 h
C <sub>2</sub>	36.26±0.13 g	146.44±2.91 e	6.78±0.15 d	674.33±4.09 d	534.67±5.89 a	56.08 f
C <sub>3</sub>	40.46±0.34 d	113.00±3.77 g	3.67±0.17 e	621.89±3.48 e	532.00±5.66 a	66.11 d
D <sub>1</sub>	38.49±0.17 e	99.22±3.20 h	6.78±0.15 d	588.67±4.23 f	528.44±5.50 a	70.24 c
D <sub>2</sub>	46.04±0.20 b	72.00±1.99 i	3.44±0.18 e	536.67±2.94 h	525.33±5.00 a	78.41 b
D <sub>3</sub>	50.20±0.20 a	40.78±1.94 j	1.11±0.11 f	481.56±5.09 j	522.89±5.08 a	87.77 a
对照 CK	30.60±0.41 j	333.44±4.84 a	12.11±0.26 a	815.78±13.68 a	536.11±5.28 a	

表 4 桉属植物干粉末对黄瓜上爪哇根结线虫病的防治效果

Table 4 Control effect of dried powder of *Eucalyptus* plants on cucumber root-knot disease caused by *M. javanica*

处理 Treatment	地上部鲜质量/g Fresh mass of shoot	每株根结数 Galls per plant	每根结雌虫数 Females per gall	每卵囊卵粒数 Eggs per egg mass	每 100 mL 土 中 2 龄幼虫数 Second-stage juveniles per 100 mL soil	防治效果/% Control effect
A <sub>1</sub>	23.80±0.24 b	170.20±2.46 b	8.60±0.24 b	416.80±3.01 b	351.40±3.75 b	31.20 h
A <sub>2</sub>	24.22±0.29 ab	146.20±2.91 c	7.60±0.24 c	372.80±1.77 c	330.00±3.08 d	40.91 g
A <sub>3</sub>	24.46±0.37 ab	123.60±2.16 e	6.40±0.24 d	329.00±2.77 e	312.60±2.79 ef	50.04 e
B <sub>1</sub>	24.28±.32 ab	126.20±2.42 de	5.60±0.24 ef	256.80±3.28 f	339.80±2.15 c	49.39 ef
B <sub>2</sub>	24.86±.024 a	79.20±2.97 g	3.40±0.24 g	208.60±3.85 h	317.80±2.31 e	67.99 c
B <sub>3</sub>	24.84±0.34 a	59.20±2.85 h	1.80±0.20 h	149.80±2.29 i	296.40±2.71 g	76.07 b
C <sub>1</sub>	23.78±0.18 b	148.80±2.48 c	8.60±0.24 b	412.20±3.68 b	348.20±2.35 bc	39.85 g
C <sub>2</sub>	24.20±0.24 ab	113.60±2.84 d	7.40±0.24 c	356.60±2.38 d	325.80±2.96 d	46.81 f
C <sub>3</sub>	24.18±0.18 ab	95.20±2.85 f	6.20±0.20 de	325.00±2.12 e	306.20±3.76 f	61.52 d
D <sub>1</sub>	23.96±0.12 ab	92.80±2.92 f	5.20±0.20 f	247.20±2.35 g	321.60±3.56 de	62.49 d
D <sub>2</sub>	24.50±0.35 ab	72.60±2.58 g	3.20±0.20 g	202.80±2.85 h	308.40±3.79 f	70.65 c
D <sub>3</sub>	24.72±0.24 ab	48.00±1.48 i	1.60±2.24 h	145.00±2.28 i	286.60±2.79 h	80.60 a
对照 CK	24.30±0.28 ab	247.40±2.42 a	9.60±0.24 a	484.80±3.17 a	362.20±3.41 a	

### 3 讨论

室内生测试验结果表明,柠檬桉、杂交桉及尾叶桉小枝条乙醇抽提物,对爪哇根结线虫 2 龄幼虫表现出强杀虫活性,并能显著抑制卵的孵化,研究结果与 Shahnaz 等<sup>[3]</sup>的研究报道类似。Kanta 等<sup>[7]</sup>研究表明,0.5%桉树叶的甲醇提取物对南方根结线虫 2 龄幼虫的死亡率达到 100%。Pandey 等<sup>[9]</sup>也发现,柠檬桉精油对南方根结线虫 2 龄幼虫具有很强的杀虫活性,防治效果与克百威相仿。

盆栽试验结果表明,柠檬桉和杂交桉的茎、叶干粉拌土处理空心菜和黄瓜后,对其哇根结线虫病均

有很好的防治效果。Khan 等<sup>[5]</sup>发现柠檬桉乙醇抽提物可以有效控制木瓜上的南方根结线虫,明显减少土壤中的幼虫数量和根上的卵囊。Rather 等<sup>[10]</sup>还发现将剁碎的桉树叶拌入土中也可以降低南方根结线虫的根结指数。以桉属植物为材料,研究对空心菜及黄瓜爪哇根结线虫病的防治,目前国内外还未见报道。

本试验研究结果表明,桉属植物枝条及茎秆中存在杀线虫活性成分,而桉属植物在我国资源丰富,有望直接利用开发为杀线虫植物资源,因此进一步弄清楚杀线虫活性成分,明确该活性成分的杀线机理,为深入研究并开发该杀线虫植物资源,具有重要

的理论与现实意义。有关这方面的研究工作正在进行中。

### 参 考 文 献

- [1] 文艳华,冯志新,徐汉虹,等. 植物提取物对几种植物病原线虫的杀线活性筛选[J]. 华中农业大学学报, 2001, 20(3): 235-238.
- [2] CHITWOOD D J. Phytochemical based strategies for nematode control[J]. Annual Review of Phytopathology, 2002, 40: 221-249.
- [3] SHAHNAZ DAWAR YOUNUS S M, ZAKI M J. Use of *Eucalyptus* sp., in the control of *Meloidogyne javanica* root knot nematode[J]. Pakistan Journal of Botany, 2007, 39(6): 2209-2214.
- [4] KHAN A, SAVED M, SHAUKAT S S. Effect of four plant extracts on nematodes associated with mango and its yield[J]. Pakistan Journal of Nematology, 2010, 28(1): 123-127.
- [5] KHAN A, SAYED M, SHAUKATS S, et al. Efficacy of four plant extracts on nematodes associated with papaya in Sindh, Pakistan[J]. Nematologia Mediterranea, 2008, 36(1): 93-98.
- [6] JAYAKUMAR J, RAMAKRISHNAN S, RAJENDRAN G. Bioefficacy of botanical amendments for the management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* in tomato[J]. Indian Journal of Plant Protection, 2005, 33(2): 305-306.
- [7] KAMTA GILL MEHTA S K, MALIK M S, MALIK O P, et al. Toxicity of methanolic leaf extracts and essential oils from various plants to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* [J]. Nematologia Mediterranea, 2001, 29(2): 219-222.
- [8] PANDEY R C, DWIVEDI B K. Comparative study of different plant extracts for their nematocidal potential[J]. Current Nematology, 2000, 11(1/2): 39-43.
- [9] PAMDEY R, KALRA A, TAMDON S, et al. Essential oils as potent sources of nematocidal compounds[J]. Journal of Phytopathology, 2000, 148(7/8): 501-502.
- [10] RATHER M A, FAHEEM AHMAD SIDDIQUI M A. Nematocidal effect of chopped leaves of some selected plants against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato[J]. International Journal of Plant Sciences, 2008, 3(2): 339-341.

## Nematicidal Activity of Ethanol Extracts from *Eucalyptus* Plants against *Meloidogyne javanica*

WANG Hui-hui LIAO Jin-ling WEN Yan-hua

College of Resource and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

**Abstract** Ethanol extracts from twigs of *Eucalyptus* plants (*E. citriodora*, *E. urophylla* × *E. grand*, *E. urophylla*) were assessed for their nematocidal activity against *Meloidogyne javanica* by using dipping method. The results demonstrated that all 3 plant extracts showed strong nematocidal activity against the second stage juveniles of *Meloidogyne javanica* and inhibited its egg hatching; with 20 mg/mL concentration and 72 h treatment, the mortality of juveniles was about 90%. Cucumber and water spinach pot trial showed, when 15 mL *Eucalyptus* plants twigs powder was applied to 1 L soil, the root knot disease caused by *Meloidogyne javanica* could be effectively controlled, and the galls and the eggs of egg mass were reduced.

**Key words** *Eucalyptus* plants; *Meloidogyne javanica*; nematocidal activity

(责任编辑:陈红叶)