

DOI:10.13718/j.cnki.zwys.2021.06.006

荧光假单胞菌不同施用方式对田间烟草青枯病发生的影响^①

付品山¹, 杨磊¹, 张帅², 冉渝澳³, 代玉豪³, 丁伟³

1. 湖南中烟工业有限责任公司, 长沙 410007;
2. 中国烟草总公司重庆市公司酉阳分公司, 重庆 409800;
3. 西南大学 植物保护学院, 重庆 400715

摘要: 烟草青枯病在我国西南烟区普遍发生流行, 是影响烟叶品质和产量的主要病害。为减轻烟草青枯病的危害, 本研究以烤烟主栽品种“云烟 87”为试验对象, 通过田间小区试验探究荧光假单胞菌的不同施用方式对烟草青枯病发生以及对烟草生长发育的影响。结果表明, 移栽期窝施 5 g 菌肥、100 mL 微生物菌液灌根以及移栽期窝施 5 g 菌肥且灌根微生物菌液 100 mL 的最终防效分别为 31.70%, 27.35% 和 22.39%, 相互之间差异无统计学意义, 且微生物菌剂处理区烟株长势优于对照区。综上所述, 移栽时窝施菌肥或灌根菌液均对烟草青枯病具有一定的防效, 研究结果为单菌种微生物菌剂的科学施用, 推进烟草产业健康、绿色和可持续性发展提供理论基础。

关键词: 荧光假单胞菌; 微生物菌剂; 菌剂施用方式; 烟草青枯病

中图分类号: S435.72 文献标志码: A 文章编号: 1007-1067(2021)06-0028-05

Effects of Different Application Methods of *Pseudomonas fluorescens* on the Occurrence of Tobacco Bacterial Wilt in Field

FU Pinshan¹, YANG Lei¹, ZHANG Shuai²,
RAN Yuao³, DAI Yuhao³, DING Wei³

1. China Tobacco Hunan Industry Co., Ltd., Changsha 410007, China;
2. Youyang County Branch of Chongqing Tobacco Company, Chongqing 409800, China;
3. School of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Tobacco bacterial wilt is widespread in the tobacco-growing areas in southwestern China and is a main disease that affects the quality and yield of tobacco leaves. In order to reduce the harm imposed on tobacco crop by this disease and provide a theoretical basis for the scientific application of microbial agents and for the promotion of the healthy, green and sustainable development of the tobacco industry, a field experiment was made with Yunyan 87, the main variety of flue-cured tobacco, to explore the effects of different application methods of *Pseudomonas fluorescens* on the occurrence of tobacco bacterial wilt and the growth and development of tobacco. The results showed that application of the microbial (*P.*

① 收稿日期: 2021-11-01

基金项目: 重庆市科委重点项目(CSTC2018JSCX-MSZDX0047); 国家烟草专卖局重大专项(110201601025LS-05)。

作者简介: 付品山, 助理农艺师, 主要从事烟草栽培管理。Email: 954666845@qq.com

通信作者: 丁伟, 教授, 博士生导师, 主要从事天然产物农药和植物微生态过程与调控研究。E-mail: dingw@swu.edu.cn

fluorescens) fertilizer at 5 g/hill during transplanting had the highest control efficiency on tobacco bacterial wilt, with an ultimate control efficiency of 31.70%, and root irrigation with 100 mL of the microbial bacterial solution gave a control efficiency of 27.35%. The tobacco plants in the microbial inoculant treatment area grew more vigorously than those in the control area. In summary, hill application of bacterial fertilizer or root-dressing of bacterial liquid has certain control effects on tobacco bacterial wilt during transplanting.

Key words: *Pseudomonas fluorescens*; microbial inoculant; application method of inoculants; tobacco bacterial wilt

青枯雷尔氏菌 *Ralstonia solanacearum* 引起的烟草青枯病是一种细菌性土传病害,其寄主范围广、致病机理和发病条件复杂多样,防治困难,缺乏有效药剂^[1]。目前,施用化学药剂是农业生产中主要的防治措施,但是,长期、连续、大面积地使用化学药剂存在较多的弊端^[2]。随着病虫害防治技术的进步,利用有益菌剂进行生物防治被视为一种可持续的防控措施,日益引起农业科研人员的重视^[3-4]。

微生物菌剂是指目标微生物(有效菌)经过工业化生产扩繁后,利用多孔物质(如草炭、蛭石)作为吸附剂吸附菌体的发酵液加工制成的活菌制剂。目前,单菌种微生物菌剂施用方式应用于烟草青枯病防治的研究还较少^[5]。已有大量的研究证明了荧光假单胞菌与土壤病原菌的拮抗功能,但大多数研究都只基于室内试验得出的结论,荧光假单胞菌生物菌剂的田间防效受到很多因素影响,其中面临最大的一个问题便是其在土壤中的定殖能力^[6]。因此本研究以青枯菌的拮抗菌种荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens* 为微生物菌剂的活性成分,探究单菌种微生物菌剂的不同施用方式对其田间青枯病的防控效果,以筛选出减轻田间烟草青枯病发生的最佳施用方式,为田间病害的防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验地点

试验地安排在重庆市酉阳苍岭烟草种植单元,海拔 1 040~1 200 m,北纬 29°00′02″,东经 108°36′04″。

1.2 试验材料

1.2.1 供试菌剂

拮抗菌种:荧光假单胞菌;动物源有机肥:牛粪。

1.2.2 供试烟株

试验所用烤烟品种为“云烟 87”,烟苗采用漂浮育苗。示范区均按相关技术标准进行统一大田管理,中心花开放打顶,移栽时间为 5 月 8 日,用 12.5%氟节胺乳油控制腋芽。烟草种植密度为行距 115 cm、株距 55~60 cm,每 667 m² 种植 1 100 株左右。

1.3 试验设计

试验共设置 4 个处理,3 个重复,12 个小区,小区面积约 52 m²,设置保护行,试验地面积约为 0.1 hm²。各处理的菌肥施用方式如下。

处理 1:移栽期窝施微生物菌肥 5 g(2×10⁷ CFU/g);

处理 2:移栽期灌根微生物菌液 100 mL(菌液浓度:1×10⁷ CFU/mL);

处理 3:移栽期窝施微生物菌肥 5 g(2×10⁷ CFU/g)、灌根微生物菌液 100 mL(菌液浓度:1×10⁷ CFU/mL);

对照:清水。

1.4 调查内容

1.4.1 烟株农艺性状调查

各处理选择有代表性的 5~10 株烟株挂牌标记,按《烟草农艺性状调查方法》标准(YC/T142—2010),定点定株在烟草移栽期、团棵期、现蕾期、打顶后 7 d 测定烟株的农艺性状。其主要包括烟株的株高、茎围、有效叶片数、最大叶长、最大叶宽,并利用公式(1)(2)计算叶面积系数。

$$\text{叶面积}(\text{cm}^2) = 0.6345 \times \text{叶长}(\text{cm}) \times \text{叶宽}(\text{cm}) \quad (1)$$

$$\text{叶面积系数} = \frac{\text{平均叶面积}(\text{cm}^2) \times \text{有效叶数}}{\text{植株占地面积}(\text{cm}^2)} \quad (2)$$

1.4.2 病害调查

烟草病害发生情况按《烟草病虫害分级及调查方法》国家标准(GB/23222—2008)调查. 结合当地的病害发生特点, 主要对各种主要病害进行系统调查, 调查每个小区的发病株数及发病级数, 并按公式(3)和(4)分别计算病株率和病情指数, 病害调查可与测定烟草农艺性状同步进行. 根据不同病害的发生情况, 在发病初期开始调查, 每隔 5 d 调查一次, 连续调查 4 次以上. 重点调查根茎病害(青枯病和黑胫病). 按公式(5)计算各处理的防治效果.

$$\text{病株率}(\%) = \frac{\text{发病株数}}{\text{调查总株数}} \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{发病株数} \times \text{该病级代表值})}{\text{调查总株数} \times \text{最高级代表值}} \times 100 \quad (4)$$

$$\text{防治效果} = \frac{(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数})}{\text{对照病情指数}} \times 100\% \quad (5)$$

2 结果与分析

2.1 微生物菌剂不同施用方式对烟草农艺性状的影响

试验结果看出, 菌剂的不同施用方式对烟株团棵期、现蕾期、打顶期烟株的农艺性状均有一定的影响, 其中在烟株团棵期时, 处理组的农艺性状大多显著大于清水对照, 其中处理 2、处理 3 的影响更为明显; 而在烟株进入现蕾期后, 微生物菌剂处理对烟株茎围、最大叶长、最大叶宽、最大叶面积均有显著影响, 其中处理 1、处理 2 的调节作用更为明显; 在烟株进入打顶期后, 微生物菌剂处理仍在茎围、最大叶长、最大叶面积上有显著影响, 其中处理 1 的促进作用最为明显, 这表明灌根菌液能在烟苗团棵期和现蕾期有效调节烟株的生长发育, 仅窝施菌肥处理更有利于烟株后期的生长(表 1 至表 3).

表 1 微生物菌剂不同施用方式对烟株团棵期农艺性状的影响

处理	株高/cm	茎围/cm	有效叶数/片	最大叶长/cm	最大叶宽/cm	叶面积/cm ²
1	30.46±1.11b	6.73±0.13b	9.93±0.40a	53.6±1.07b	25.10±0.59ab	1 350.23±52.98b
2	29.89±1.76b	6.61±0.18b	10.00±0.39a	54.28±1.42b	26.47±0.82b	1 446.88±71.72b
3	32.28±1.43b	6.71±0.13b	11.07±0.35b	52.41±2.20ab	26.43±0.85b	1 401.49±92.19b
CK	25.19±0.88a	5.99±0.17a	9.40±0.29a	48.31±1.19a	23.25±0.68a	1 130.92±54.29a

注: 表中数据为防效均值与均值标准误(n=3). 处理 1 为移栽期窝施微生物菌肥 5 g/667 m²; 处理 2 为移栽期灌根微生物菌液 100 mL(菌液浓度: 1×10⁷ CFU/mL⁻²); 处理 3 为移栽期窝施微生物菌肥 5 g/667 m²、灌根微生物菌液 100 mL(菌液浓度为 1×10⁷ CFU/mL); CK 为清水对照. 表 2 至表 4、图 1 同. 同列不同小写字母间表示差异的统计学意义(p<0.05). 表 2 至表 4 同.

表 2 微生物菌剂不同施用方式对烟株现蕾期农艺性状的影响

处理	株高/cm	茎围/cm	有效叶数/片	最大叶长/cm	最大叶宽/cm	叶面积/cm ²
1	89.25±2.64a	8.76±0.11b	15.07±0.18a	64.62±1.50a	29.29±0.97b	1 906.72±97.27b
2	90.79±1.00a	8.93±0.15b	14.73±0.15a	70.91±1.06b	26.97±0.63ab	1 917.18±63.09b
3	89.68±1.20a	8.79±0.11b	14.27±0.21b	64.61±0.53ab	26.32±0.31ab	1 700.29±24.52b
CK	89.19±1.16a	8.72±0.15a	14.13±0.19a	64.47±1.22a	25.14±0.55a	1 623.43±54.78a

表 3 微生物菌剂不同施用方式对烟株打顶期农艺性状的影响

处理	株高/cm	茎围/cm	有效叶数/片	最大叶长/cm	最大叶宽/cm	叶面积/cm ²
1	100.69±2.79a	9.71±0.04b	15.40±0.13b	69.57±1.03b	27.68±0.62a	2 107.39±52.02b
2	104.49±2.39a	9.62±0.04ab	14.67±0.19a	69.55±0.59b	27.00±0.51a	1 919.29±46.47ab
3	102.24±1.73a	9.47±0.03ab	14.93±0.21ab	67.71±0.66ab	27.14±0.50a	1 840.68±47.00ab
CK	98.45±0.95a	9.44±0.05a	14.47±0.13a	65.78±0.62a	26.69±0.43a	1 754.82±28.16a

2.2 微生物菌剂不同施用方式对烟草青枯病的田间防效

微生物菌剂不同施用方式处理后对田间烟草青枯病的防治效果如图 1 和表 4 所示,结果表明,试验地烟草青枯病随烟株生长呈不断加重趋势,发病后期(7 月 16 日),对照组田间烟草青枯病发病率达到 80.73%,病情指数为 9.32,而处理 1、处理 2、处理 3 发病率仅达到 56.25%, 57.81%, 65.10%, 病情指数分别为6.37, 6.77, 7.23. 在发病初期(6 月 26 日),菌剂的 3 种施用方式均能在一定程度上减轻青枯病的发生,且相互间差异不显著. 随着病情的进展;在发病后期,3 种处理的防治效果差异性也不显著.

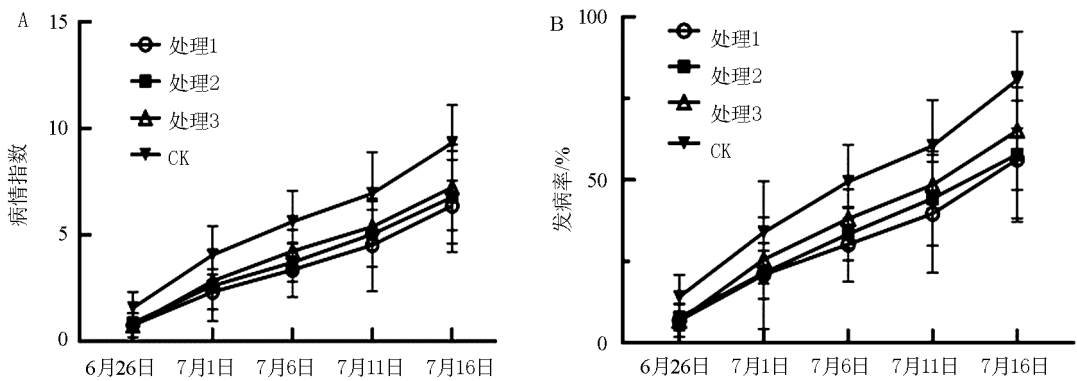


图 1 不同处理对烟草青枯病病情指数(A)和发病率(B)的影响

表 4 菌剂不同施用方式对烟草青枯病不同时期的相对防效 %

处理	6 月 26 日	7 月 1 日	7 月 6 日	7 月 11 日	7 月 16 日
1	51.77±35.77a	42.85±11.7a	40.17±13.17a	34.96±18.10a	31.70±13.45a
2	44.35±29.44a	35.7±23.61a	33.98±9.17a	27.45±12.84a	27.35±13.47a
3	51.77±24.95a	29.99±7.96a	24.70±10.31a	22.45±6.62a	22.39±12.46a

3 结论与讨论

本研究结果表明,微生物菌剂的不同施用方式处理对烟草青枯病均具有一定控制效果,且相互间差异无显著性. 其中,移栽时窝施菌肥 5 g 和灌根 100 mL 微生物菌液两个处理烟株长势优于空白对照,窝施菌肥加灌根菌液处理烟株长势略优于空白对照. 窝施菌肥加灌根菌液处理对青枯病的防效并未高于窝施菌肥或仅灌根菌液处理,甚至有下降趋势,其原因可能是由于加入过多的单菌系微生物导致土壤微生物平衡被破坏,从而导致其防效不佳^[7-8].

植物在生长过程中不断受到各种病原微生物的侵染,微生物之间的相互抵制、相互排斥作用,又称为生物拮抗作用,可用于预防植物患病,根际微生物的数量和种类与植物病害密切相关,通过调控土壤中的微生物群落组成可增强植物抗病能力,合理地施用微生物菌剂可调控根际土壤微生物多样性和群落结构^[9],今后的研究需聚焦发病过程中微生物区系的动态变化,挖掘有益微生物,重点探究有益微生物抵抗

青枯菌的作用机制, 致力于解决生防菌在土壤中的定殖难题^[10].

参考文献:

- [1] JIANG G, WEI Z, XU J, et al. Bacterial Wilt in China: History, Current Status, and Future Perspectives [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1549.
- [2] 陈 雪, 代园凤, 余祥文, 等. 烟草青枯病生物防治研究进展 [J]. *农业灾害研究*, 2016, 6(5): 10-12.
- [3] 姜乾坤, 彭 阁, 王 瑞, 等. 抗青枯内生细菌的筛选及其对烟草青枯病的防治效果 [J]. *中国烟草科学*, 2017, 38(5): 13-17, 31.
- [4] 孙广正, 姚 拓, 赵桂琴, 等. 荧光假单胞菌防治植物病害研究现状与展望 [J]. *草业学报*, 2015, 24(4): 174-190.
- [5] POUDEL R, JUMPPONEN A, SCHLATTERD C, et al. Microbiome Networks: a Systems Framework for Identifying Candidate Microbial Assemblages for Disease Management [J]. *Phytopathology*, 2016, 106(10): 1083-1096.
- [6] FRAVEL D R. Commercialization and Implementation of Biocontrol [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2005, 43(1): 337-359.
- [7] 齐爱勇, 赵绪生, 刘大群. 芽孢杆菌生物防治植物病害研究现状 [J]. *中国农学通报*, 2011, 27(12): 277-280.
- [8] 蔡燕飞, 廖宗文, 章家恩, 等. 生态有机肥对番茄青枯病及土壤微生物多样性的影响 [J]. *应用生态学报*, 2003, 14(3): 349-353.
- [9] 生物有机肥调控土壤微生物区系防控土传病害研究取得重要进展 [J]. *蔬菜*, 2020(11): 28.
- [10] 孙成成, 丁 伟, 潘兴兵, 等. 影响微生物菌剂应用稳定性的因素分析 [J]. *植物医生*, 2019, 32(4): 19-23.