

DOI:10.13718/j.cnki.zwyx.2022.01.006

荧光假单胞菌与有机肥复配 对黔江烟草青枯病防控效果研究

张玉霞¹, 王珍珍², 张水翔¹,
常腾腾¹, 张学杰³

1. 河南中烟工业有限责任公司, 郑州 450000;
2. 西南大学 植物保护学院, 重庆 400715;
3. 中国烟草总公司重庆市公司黔江分公司, 重庆 黔江 409000

摘要: 为探究不同浓度荧光假单胞菌与有机肥复配施用对烟草青枯病的影响, 明确能充分发挥和保障微生物防控烟草青枯病效果的最佳施用浓度, 提高防治效率和效果, 本研究通过室内盆栽试验和黔江基地单元小区试验, 以根茎康微生物菌剂作为阳性对照, 探究移栽时窝施不同浓度荧光假单胞菌与动物源有机肥牛粪对不同时期烟草农艺性状的影响及青枯病的防控效果。结果表明, 在团棵期和旺长期, 田间试验各处理之间烟草农艺性状指标差异无统计学意义, 表明移栽时窝施微生物菌肥对烟株的生长发育无明显影响。从控病效果来看, 微生物菌肥对烟草青枯病具有一定的控病效果, 其中低浓度微生物菌肥对烟草青枯病的防治效果优于高浓度, 浓度为 1×10^7 cfu/g 的生物菌肥在室内和田间对烟草青枯病的相对防效分别达 58.56% 和 55.21%。室内盆栽试验和田间试验的结果趋于一致。研究结果对烟草土传病害生物防治提供参考意义。

关键词: 烟草青枯病; 荧光假单胞杆菌;
生物防治

中图分类号: S435.72

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 2097-1354(2022)01-0041-07

Effect of *Pseudomonas fluorescens* Combined with Organic Fertilizer on Tobacco Bacterial Wilt in Qianjiang

ZHANG Yuxia¹, WANG Zhenzhen², ZHANG Shuixiang¹,
CHANG Tengting¹, ZHANG Xuejie³

收稿日期: 2021-11-19

基金项目: 重庆市烟草专卖局科技计划项目(B20211NY1311)。

作者简介: 张玉霞, 助理工程师, 主要从事天然产物农药和植物微生态过程与调控研究。

1. China Tobacco Henan Industrial Co. LTD, Zhengzhou 450000, China;
2. College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China;
3. China National Tobacco Corporation Chongqing Qianjiang Branch, Qianjiang Chongqing 409000, China

Abstract: In order to explore the effects of different concentrations of *Pseudomonas fluorescens* combined with organic fertilizer on tobacco bacterial wilt, determine the optimal concentration to guarantee the microbial control effect on tobacco bacterial wilt, and improve the control efficiency, in this study, the effects of different concentrations of *Pseudomonas fluorescens* and animal manure on agronomic traits of tobacco in different periods of growth, and the prevention and control effects on bacterial wilt were investigated by pot experiment and unit plot experiment in Qianjiang District, with Genjingkang microbial agent as positive control. The results showed that there was no significant difference in performance of agronomic traits between different treatments in the lumps and flourishing stages, indicating that nest application of microbial fertilizer had no significant effect on the growth and development of tobacco plants. In terms of effect of disease control, microbial fertilizer had certain effect on disease control of tobacco bacterial wilt, and the relative control efficiency of 10^7 cfu/g microbial fertilizer against tobacco bacterial wilt was 58.56% and 55.21% in greenhouse and field experiment, respectively. The results of indoor pot experiment and field experiment were similar. The results provided reference for biological control of soil-borne tobacco diseases.

Key words: tobacco bacterial wilt; *Pseudomonas fluorescens*; biological control

烟草青枯病是由青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的毁灭性土传病害。在土壤中,青枯雷尔氏菌首先接触并入侵到植物的根部,然后入侵植物的导管,在植物的导管中增殖,并分泌大量胞外多糖,严重阻碍植物水分和养分的运输,进而引起植物的萎蔫,甚至死亡,造成较高的经济损失^[1]。针对烟草青枯病的防治技术,国内外学者主要从化学、生物、农业防控措施等方面进行研究,虽然在一定程度上可以减轻烟草青枯病的发生,但是仍然存在一定的局限性^[2-3]。近几年,利用生防菌防治烟草青枯病是一种有效的防治措施,具有环境友好、长效等优点,有广阔的应用前景^[4]。目前对烟草青枯病具有防控作用的生防菌主要为枯草芽孢杆菌、丛枝菌根真菌、链霉菌、假单胞杆菌等^[5]。段燕平等^[6]在云贵等烟草种植地区易发生烟草青枯病的土地中采集了 600 份健康烟草的根际土壤,从中筛选出 1 株枯草芽孢杆菌,并通过平板拮抗方法验证了其对青枯菌具有较好的拮抗效果,盆栽试验相对防效达到了 66.0%。陆铮铮等^[7]通过对烟草根围土壤中的放线菌进行分离,共分离到了 97 株放线菌,筛选出 3 株对烟草青枯菌拮抗作用较强的链霉菌。西南大学张伏军^[8]通过对重庆黔江石郎烟区烟草根际土壤的拮抗细菌进行分离,分离到一株铜绿假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) SWU31-2,验证了其能够有效控制烟草青枯病的发生。荧光假单胞菌被称为是最具有价值的生防菌,研究表明,荧光假单胞菌的生防机制主要包括抗生素作用、竞争作用、诱导系统抗性作用等 3 个方面,能够通过定殖形成保护膜,以达到抑制病害的作用,是世界上最早被用作生防菌的细菌^[9-10]。荧光假单胞杆菌还可产生 2,4-二乙酰藤黄酚(2,4-diacetylphloroxylic, DAPG)、藤黄绿脓菌素(pyoluteorin, PLT)等具有广谱抑菌作用的 10 多种抗生素^[11-16],在生物防治和生防菌剂的开发及应用方面有巨大的潜力。但是由于荧光假单胞菌不耐受高温,在过酸过碱等环境条件,不能产生芽孢等休眠状态^[17],目前荧光假单胞菌制剂开发较少。本研究选择将不同浓度的发酵液与有机肥混合^[18],制成菌含量为 1×10^{10} cfu/g, 1×10^7 cfu/g, 1×10^4 cfu/g 的生物有机肥,在烟

苗移栽时每株烟窝施 5 g, 在烟株团棵期、旺长期进行农艺性状指标测定, 并从发病初期进行病害调查, 计算发病率和病情指数并比较不同浓度生物有机肥对烟草青枯病的防控效果, 明确能充分发挥和保障微生物防控烟草青枯病效果的最佳施用浓度, 以达到提高防治效率和效果的目的。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌剂

供试菌剂及材料有根茎康微生物菌剂(北京恩格兰环境技术有限责任公司)、动物源有机肥牛粪(漳州三炬生物技术有限公司)和荧光假单胞杆菌(*Pseudomonas fluorescens*)重庆西农植物保护科技开发有限公司提供。

1.1.2 供试烟株

试验所用烤烟品种为“云烟 87”, 烟苗采用漂浮育苗。按相关技术标准进行大田统一管理, 移栽时间为 2021 年 5 月 6 日。

1.2 试验地点

田间试验地点位于重庆市黔江区邻鄂镇艾坪村烟草基地种植单元。东经 108°88'E, 北纬 29°42'N, 海拔 1 048.4 m。试验地形为丘陵山地, 光照充足, 土壤均匀疏松, 多年种植烟草, 为烟草青枯病常年发生地块。

1.3 试验设计

1.3.1 室内盆栽试验

提前 30 d 在温室培育烟苗, 培育条件为每天光照 12 h, 黑暗 12 h, 温度 28 ℃, 湿度 85%。待烟苗生长至四叶一心(30 d)后, 选取长势均匀一致的烟苗作为试验材料。试验共设计 5 个处理(表 1), 每个处理 10 株烟苗, 移栽后 5 d 接种青枯菌 CQPS-1(10 mL, 1×10^7 cfu/mL), 每个处理重复 3 次。温室培养条件设置为光照 12 h, 温度 30 ℃, 湿度 85%。按照国家相关标准及室内分级标准对烟草青枯病的发生程度进行调查, 每 24 h 观察 1 次, 记录青枯病发生情况。

表 1 室内盆栽试验处理措施

处理	试验处理	具体措施
1	10^{10} cfu/g 荧光假单胞菌混合牛粪	移栽时窝施, 每株烟苗 5 g
2	10^7 cfu/g 荧光假单胞菌混合牛粪	
3	10^4 cfu/g 荧光假单胞菌混合牛粪	
4	牛粪	
5	对照(空白)	无

1.3.2 田间试验

试验共设 6 个处理(表 2), 田间划定研究小区, 按照每 667 m² 地约 1 100 株烟苗的种植密度随机排列各处理。每处理 3 个重复, 每个重复 40 株。

表 2 田间试验处理措施

处理	试验处理	具体措施
1	荧光假单胞菌 10^{10} cfu/g 混合牛粪	
2	荧光假单胞菌 10^7 cfu/g 混合牛粪	移栽时, 窝施于移栽孔底部 $5 \text{ kg}/667 \text{ m}^2$
3	荧光假单胞菌 10^4 cfu/g 混合牛粪	
4	牛粪	
5	根茎康微生物菌剂(阳性对照)	移栽时, 窝施于移栽孔底部 $2 \text{ kg}/667 \text{ m}^2$
6	对照(空白)	无

1.3.3 烟株农艺性状调查

各小区选择有代表性的烟株 5 株挂牌标记, 按《烟草农艺性状调查方法》标准(YC/T 142—2010), 分别在烟草移栽后 30, 60 d 测定烟株的农艺性状, 主要包括烟株的株高、茎围、有效叶片数、最大叶长、最大叶宽. 根据公式计算叶面积, 每小区测定烟株 5 株.

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

1.3.4 烟草根茎病害调查

结合当地根茎病害发生特点, 按《烟草病虫害分级及调查方法》国家标准(GB/23222—2008)对病害进行系统调查, 记录每个小区的发病株数及发病级数. 从发病初期开始, 每隔 5~7 d 调查 1 次, 连续调查 5 次以上. 按公式(1)计算发病率, 按公式(2)计算病情指数, 按公式(3)计算相对防效.

$$\text{病株率}(\%) = \frac{\text{发病株数}}{\text{调查总株数}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{发病株数} \times \text{该病级代表值})}{\text{调查总株数} \times \text{最高级代表值}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{相对防效}(\%) = \frac{\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}}{\text{对照病情指数}} \times 100\% \quad (3)$$

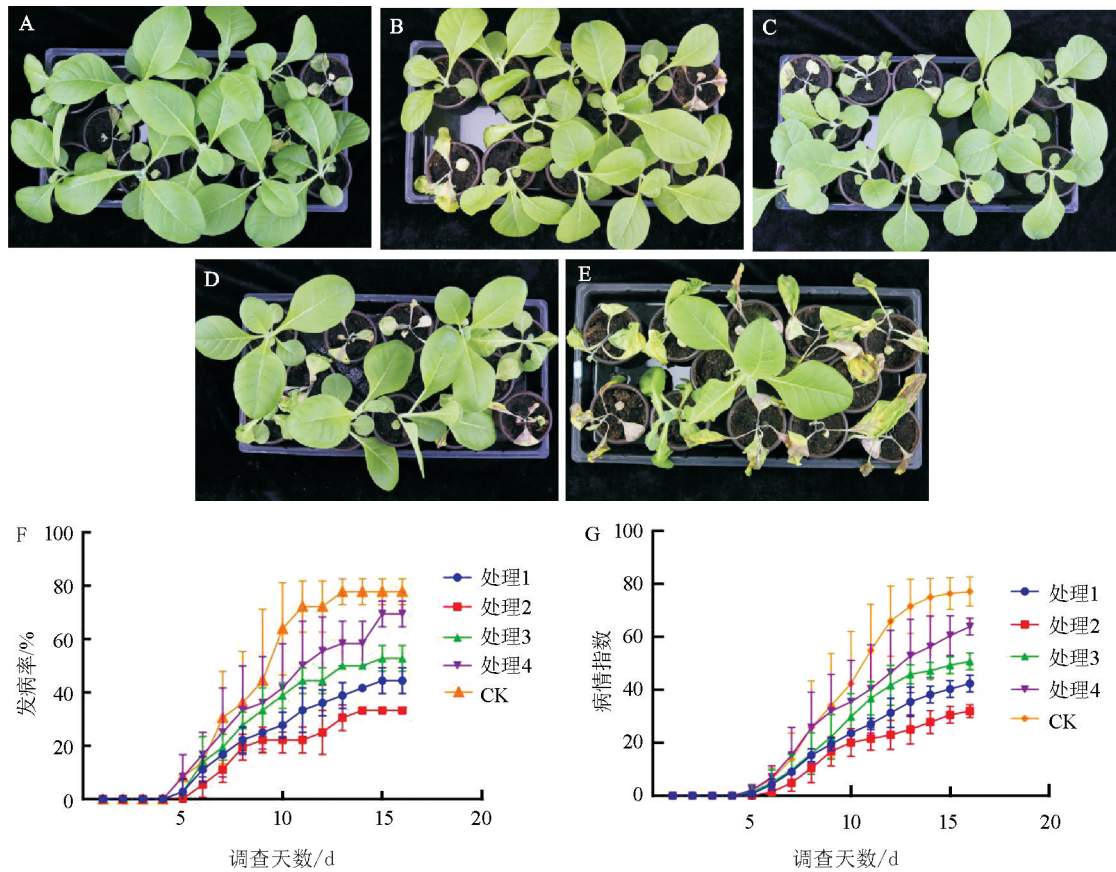
1.4 数据分析

采用 Excel 2013 对试验数据进行基本处理, 采用 SPSS 16.0 统计软件以单因素的方差分析进行差异分析, 采用 Origin 9.0 绘图.

2 结果与分析

2.1 不同处理对烟草青枯病的室内效果评价

从试验结果可以看出, 在室内盆栽的条件下, 不同浓度荧光假单胞菌与牛粪有机肥混合对烟草青枯病具有较好的防控作用. 当空白对照发病率为 77.78%、病情指数为 77.08 时, 菌浓度为 1×10^{10} cfu/g, 1×10^7 cfu/g, 1×10^4 cfu/g 处理的青枯病发病率分别为 44.45%, 33.33%, 52.78%, 病情指数分别为 42.36, 31.94, 50.70, 相对防效分别为 48.26%, 55.21%, 51.74%. 不同处理之间差异均有统计学意义(图 1).



A: 荧光假单胞菌浓度为 1×10^{10} cfu/g, B: 荧光假单胞菌浓度为 1×10^7 cfu/g, C: 荧光假单胞菌浓度为 1×10^4 cfu/g; D: 有机肥, E: 空白对照, F: 发病率, G: 病情指数.

图 1 不同浓度荧光假单胞菌与有机肥复配对烟草青枯病的影响

2.2 不同处理对田间烟草不同生育期农艺性状的影响

从试验结果可以看出不同浓度的微生物菌肥处理在团棵期对烟株的农艺性状的影响, 不同处理及空白对照在各个农艺性状指标上的差异均无统计学意义. 其中表现最好的是菌浓度为 10^4 cfu/g 的微生物菌肥, 最大叶长为 39.08 cm, 最大叶宽为 16.61 cm, 株高 13.63 cm, 茎围 5.20 cm(表 3).

表 3 不同处理对烟草团棵期农艺性状的影响

处理	最大叶长/cm	最大叶宽/cm	株高/cm	茎围/cm	有效叶片数	最大叶面积/cm ²
1	35.79±1.92a	15.49±0.87a	12.71±0.97a	4.88±0.27a	8.53±0.29a	365.06±40.18a
2	35.04±1.31a	15.21±1.02a	11.66±0.82a	4.67±0.12a	8.47±0.32a	346.68±35.76a
3	39.08±1.46a	16.61±0.74a	13.63±1.10a	5.20±0.21a	8.53±0.42a	418.88±33.38a
4	35.23±1.65a	15.24±0.95a	11.36±1.13a	4.83±0.17a	8.87±0.27a	353.77±39.57a
5	34.21±1.72a	15.07±0.92a	10.59±0.97a	4.51±0.15a	8.13±0.26a	339.48±35.87a
6	36.62±1.46a	15.65±0.81a	12.59±1.07a	4.80±0.23a	8.53±0.32a	372.42±31.47a

注: 表中数值为平均值±SE, 同列数字后小写字母不同表示在 5%水平差异有统计学意义, 表 4 同.

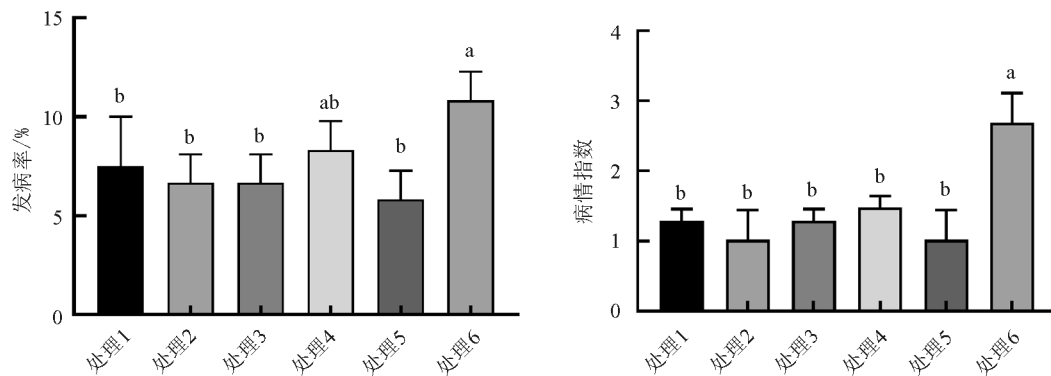
由表 4 可知不同浓度的微生物菌肥处理在旺长期对烟株的农艺性状的影响, 不同处理及空白对照在各个农艺性状指标上的差异均没有统计学意义.

表 4 不同处理对烟草旺长期农艺性状的影响

处理	最大叶长/cm	最大叶宽/cm	株高/cm	茎围/cm	有效叶片数	最大叶面积/cm ²
1	54.94±1.85a	19.88±0.79a	51.81±3.81a	6.29±0.28a	13.27±0.32a	703.82±48.26a
2	55.33±1.15a	20.06±0.84a	53.76±3.22a	6.73±0.22a	13.07±0.28a	709.49±39.51a
3	55.04±1.50a	20.49±0.95a	61.99±2.73a	6.68±0.18a	13.40±0.31a	716.63±44.90a
4	54.66±1.91a	20.19±1.09a	52.66±4.66a	6.36±0.26a	13.07±0.32a	723.03±61.98a
5	54.46±1.55a	21.02±0.75a	52.54±3.85a	6.25±0.19a	13.00±0.32a	734.20±42.73a
6	57.33±2.05a	21.15±0.85a	60.58±3.67a	6.78±0.25a	13.07±0.30a	783.23±55.62a

2.3 不同处理对烟草青枯病发生的影响

从试验结果可以看出不同浓度的微生物菌肥对田间烟草青枯病的影响,烟草青枯病的发病率及病情指数趋于一致.菌浓度为 1×10^{10} cfu/g, 1×10^7 cfu/g, 1×10^4 cfu/g 的微生物菌肥处理的发病率依次是 7.50%, 5.83%, 6.67%, 病情指数为 1.39, 1.20, 1.30. 根茎康处理的阳性对照发病率为 5.83%, 病情指数为 1.02; 空白对照的发病率为 10.83%, 病情指数为 2.69, 各处理之间差异均无统计学意义. 浓度为 1×10^7 cfu/g 的生物菌肥控病效果最好, 相对防效为 55.21% 高于浓度 1×10^{10} cfu/g 和 1×10^4 cfu/g 的微生物菌肥的相对防效 48.26%, 和 51.74%. 不同浓度微生物菌肥根际调控处理的发病率及病情指数均显著低于空白对照处理, 表明接荧光假单胞菌通过根际调控的方式能够在一定程度上影响烟株对烟草青枯病的抗性(图 2).



各处理柱形图上小写字母不同表示在 5% 水平差异有统计学意义。

图 2 不同浓度微生物菌肥对田间烟草青枯病的影响

3 结论与讨论

从烟株团棵期和旺长期的农艺性状来看,不同浓度的微生物菌肥与空白对照之间差异无统计学意义,说明移栽时每株烟草窝施 5 g 微生物菌肥对烟株的生长发育影响不大. 从不同浓度微生物菌肥处理对烟草青枯病的控病效果来看,室内盆栽试验与田间试验烟草青枯病的发病规律趋于一致,微生物与牛粪有机肥联合使用可以降低烟草青枯病的发病率,且中等菌浓度防控效果都比高浓度处理效果好,相对防效可达 55.21%. 姜海博等^[19-20]分离到的一株对番茄青枯病菌有很强抑制能力的生防菌 SN15-2,生防效果仅为 46.48%. 王艳辉等^[21]对荧光假单胞菌水剂防治辣椒青枯病进行了田间试验,结果表明,在未发病之前施用荧光假单胞菌相对防效可达 73.36%,显著降低了辣椒青枯病的发病率,提高了辣椒的产量. 柳辉林等^[22]对荧光假单胞菌 3 000 亿个/g 粉剂防治烟草青枯病进行田间试验,结果表明,在用量 512.5~662.5 g/667 m²

时防治效果达到54.1%以上.通过与以上研究对比,表明荧光假单胞杆菌在防治青枯病上要优于部分菌株,具有良好的开发前景.

试验结果发现室内盆栽试验中各处理之间差异均具有统计学意义,而田间试验各处理之间差异无统计学意义,可能的原因是田间试验受各种天气因素影响较大,且各试验小区之间保护行较少,雨水冲刷导致菌肥流失,影响防治效果.另外,田间试验各处理发病率和病情指数均较低,原因可能是试验地选择不合理.

参考文献:

- [1] 霍沁建,张深,王若焱.烟草青枯病研究进展[J].中国农学通报,2007,23(8):364-368.
- [2] 孔凡玉.烟草青枯病的综合防治[J].烟草科技,2003,36(4):42-43,48.
- [3] 赵同灵,曾德武,彭孟祥,等.烟草青枯病防治研究进展[J].湖南农业科学,2021(5):108-110,114.
- [4] 陈程,黎定军,陈武.烟草青枯病生物防治研究进展[J].作物研究,2011,25(6):639-642.
- [5] 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.
- [6] 段燕平,杨金广,杨继洪,等.抗烟草青枯病菌的枯草芽孢杆菌SH7的筛选与鉴定[J].吉林农业大学学报,2012,34(1):52-57.
- [7] 陆铮铮,彭丽娟,丁海霞,等.烟草青枯菌拮抗放线菌的筛选及鉴定[J].中国烟草科学,2013,34(2):54-58.
- [8] 张伏军.烟草青枯菌拮抗细菌swu31-2的分离及其生物防治效果的研究[D].重庆:西南大学,2008.
- [9] 胡军华,张伏军,蓝希钳,等.烟草根际细菌铜绿假单胞菌swu31-2的定殖能力及其对烟草青枯病的防治作用[J].植物保护,2009,35(5):89-94.
- [10] HASSEN W, NEIFAR M, CHERIF H, et al. *Pseudomonas rhizophila* S211, a New Plant Growth-Promoting Rhizobacterium with Potential in Pesticide-Bioremediation[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 34.
- [11] 张伟琼,聂明,肖明.荧光假单胞菌生防机理的研究进展[J].生物学杂志,2007,24(3):9-11,24.
- [12] 李姝,刘娜,郑丽博.荧光假单胞菌植物病害防治及研究进展[J].分子植物育种,2018,16(11):3693-3697.
- [13] 杨海君,谭周进,肖启明,等.假单胞菌的生物防治作用研究[J].中国生态农业学报,2004,12(3):158-161.
- [14] 吴琼,王东凯,王雷,等.荧光假单胞菌抗生素代谢产物的研究进展[J].黑龙江科学,2017,8(2):58-59.
- [15] 金颖,胡洪波,张雪洪,等.假单胞菌产生的抗生素研究[J].上海农业学报,2005,21(3):106-109.
- [16] 杨毅,李治,高玲霞,等.荧光假单胞菌抗生素代谢产物合成相关基因的研究现状[J].中国生物工程杂志,2012,32(8):100-106.
- [17] 董国菊.荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens* P-72-10 菌株对烟草黑胥病的生防机理研究[D].重庆:西南大学,2012.
- [18] 李红丽,郭夏丽,李清飞,等.抑制烟草青枯病生物有机肥的研制及其生防效果研究[J].土壤学报,2010,47(4):798-801.
- [19] 娄海博,王晓冰,陈俊,等.拮抗青枯劳尔氏菌的荧光假单胞菌SN15-2分离鉴定及其生防能力分析[J].中国植保导刊,2019,39(3):12-18.
- [20] 娄海博.荧光假单胞菌SN15-2抑制青枯劳尔氏菌的分子基础[D].上海:华东理工大学,2018.
- [21] 王艳辉,陈小燕,肖艳.荧光假单胞菌对辣椒青枯病防效田间试验初报[J].西北园艺(蔬菜),2013(4):52-53.
- [22] 柳辉林,张剑,徐隆根,等.荧光假单胞菌3000亿个/克粉剂防治烟草青枯病田间药效试验[J].农药科学与管理,2008,29(6):24-26.