

DOI:10.13718/j.cnki.zwyx.2022.06.007

几种生防菌剂对“云烟 87”抗病性及农艺性状的影响

李凤巍¹, 江龙¹, 胡丽涛², 王智³, 陈海涛⁴,
马啸², 朱晓伟⁵, 王晶⁵, 孙现超¹

1. 西南大学 植物保护学院, 重庆 400715;
2. 中国烟草总公司 重庆市公司 丰都分公司, 重庆 丰都 408200;
3. 中国烟草总公司 重庆市公司 石柱分公司, 重庆 石柱 409100;
4. 重庆烟草科学研究所, 重庆 400715;
5. 中国烟草总公司 重庆市公司, 重庆 400023

摘 要: 为明确生防菌剂对常见烟草病害的影响, 本研究选取了 5 种常见生防菌剂分析其对烟草病害及农艺性状的影响, 结果显示枯草芽孢杆菌和侧孢苏云金复合菌对烟草病毒病、烟草野火病和烟草赤星病有较好防效。进一步对比 2 种生防菌剂灌根和叶面喷施不同时期、不同施用方法对烟草病害发生以及农艺性状的影响, 发现枯草芽孢杆菌最佳施用时期以及最佳施用方式分别为旺长中期和叶面喷施处理; 侧孢苏云金复合菌最佳施用时期以及最佳施用方式为旺长中期和灌根处理, 在该时期二者能显著降低烟草病害的发生, 并提高烟草农艺性状, 该研究为生防菌防治烟草病害并提高烟草农艺性状提供了理论基础。

关 键 词: 生防菌剂; 烟草; 田间防效; 农艺性状

中图分类号: S572

文献标志码: A

文章编号: 2097-1354(2022)06-0060-11

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Effects of Several Biocontrol Agents on Disease Resistance and Agronomic Characters of ‘Yunyan 87’

LI Fengwei¹, JIANG Long¹, HU Litao², WANG Zhi³,
CHEN Haitao⁴, MA Xiao², ZHU Xiaowei⁵,
WANG Jing⁵, SUN Xianchao¹

收稿日期: 2022-10-28

基金项目: 国家自然科学基金(31870147); 中国烟草公司重庆市公司科技项目(A20201NY02-1306, B20212NY2312, B20221NY1307, B20211-NY1315).

作者简介: 李凤巍, 硕士研究生, 主要从事植物病毒学及植物病害控制研究。

通信作者: 王晶, 农艺师, 硕士。

共同通信作者: 孙现超, 教授, 博士。

1. College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China;
2. Chongqing Fengdu Branch, China National Tobacco Corporation, Fengdu Chongqing 408200, China;
3. Chongqing Shizhu Branch, China National Tobacco Corporation, Shizhu Chongqing 409100, China;
4. Chongqing Tobacco Research Institute, Chongqing 400715, China;
5. Chongqing Company of China Tobacco Corporation, Chongqing 400023, China

Abstract: In order to clarify the effects of biocontrol agents on common tobacco diseases, five biocontrol agents were selected in this study, and their effects on tobacco diseases and agronomic characters were analyzed. It was found that *Bacillus subtilis* and *Bacillus thuringiensis* had good control effects on tobacco virus disease, tobacco wildfire disease and tobacco brown spot disease. The effects of the two biocontrol agents on the occurrence of tobacco diseases and agronomic traits were further compared between root irrigation and foliar spraying in different periods and with different application methods. It was found that the best application period and the best application method for control of *Bacillus subtilis* were the middle growth stage and foliar spraying treatment, respectively. The best application time and the best application method for control of *Bacillus thuringiensis* were the middle growth stage and root irrigation treatment, respectively, which could significantly reduce the occurrence of tobacco diseases and improve the agronomic characteristics of tobacco. This study provides a theoretical basis for tobacco disease control and improvement of tobacco agronomic characters.

Key words: bio-control bacteria agent; tobacco; the field control effect; agronomic characters

烟草是我国重要的经济作物之一,其产质量却受到各种生物与非生物胁迫威胁.烟草病虫害是导致烟草产量和质量下降的重要原因之一,其中,烟草病害每年所造成的产量损失约占烟草总产量的8%^[1].重庆市烟区的主要病害有以下3类,即烟草普通花叶病毒(Tobacco Mosaic Virus, TMV)、烟草黄瓜花叶病毒(Cucumber Mosaic Virus, CMV)、烟草马铃薯Y病毒(Potato Virus Y, PVY)引起的烟草病毒病害;烟草野火病、青枯病和角斑病等细菌类病害;以及烟草赤星病、烟草炭疽病、烟草猝倒病、烟草立枯病和烟草黑胫病等真菌类病害^[2].近年来,由于依赖化学农药,产生了抗性和环境污染等问题,田间烟草病害日趋严重.因此,为提高烟草产量,促进和发展更安全有效的绿色防控措施非常有必要^[3-5].烟草病虫害绿色防控措施主要包括利用植物抗性防治技术、物理防治技术、生物防治技术3个方面^[6].其中,生物防治是一大重要措施.相比于化学防治,生物防治更不易产生抗药性、对环境更友好,具有广阔的发展和应用前景^[7].在烟草病害生物防治中,最主要是利用生防菌制成生防菌剂来进行病害防治.目前普遍认为生防菌主要通过病原菌竞争营养物质和空间位点^[8]、分泌抗菌次生代谢产物^[9]、溶菌作用、与植物和病原菌互作诱导植物抗病性等方面对病害进行防治^[10],并且生防菌还具有培养条件较简单、繁殖速度快和定殖能力强等优点^[11].

在植物病害的生防菌中,木霉属(*Trichoderma* spp.)^[12]、芽孢杆菌属(*Bacillus* spp.)^[13]以及假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)^[14]等属较为常见.木霉菌具有促进植物生长、提高营养利用率等方面的功能^[15];芽孢杆菌能够在寄主植物根、叶围定殖,与病原菌竞争营养和侵染位点,分泌抗菌物质,诱导植物产生系统抗病性,抵御病原菌入侵^[16];假单胞菌属细菌能在植物根际土壤中大量增殖,许多菌株对植物有抑制病害、促进生长的作用^[17].近年来,随着人们对生防菌的认识和研究不断加深,已经开发出越来越多的不同种类的生防菌剂并应用于田间病害防治^[18],其中不少生防菌剂的病害防治效果要优于化学农药.李锡宏等^[19]将5种生防菌剂和化学药剂菌核净对烟草赤星病防治效果进行了比较,结果表明生防菌剂的防效不同程度上优于

农药菌核净, 其中效果最好的为四霉素, 相对防效达到 63.99%。因此, 有必要筛选出防治效果好的生防菌剂进一步提高田间病害防治效果。

本研究从 5 种生防菌剂中筛选出 2 种对烟草田间主要病害防治效果较好的生防菌剂, 并分别对其在田间不同时期、不同施用方式情况下的烟草病害情况和农艺性状进行了统计调查, 初步明确这 2 种生防菌剂的最佳使用时期和使用方式, 进一步为烟草有关病害的绿色防控提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验地点

室内试验于 2021 年 6 月在西南大学植物保护学院植物免疫与病害生态防控研究室开展, “云烟 87”在光照培养室培养至 4 叶期备用, 温度 25℃, 相对湿度 75%。田间试验选择重庆市丰都县烟站基地作为试验区, 于 2021 年 7 月开始进行试验, 室外温度在 30℃左右。

1.2 试验材料

本试验供试烟株为“云烟 87”。

供试生防菌剂: 枯草芽孢杆菌可湿性粉剂(10 亿活芽孢/g)购自云南星耀生物制品有限公司, 侧孢苏云金复合菌(菌数含量: 100 亿/g)购自湖北中向生物工程有限公司, 木霉复合微生物菌剂(菌数含量 $\geq$ 100 亿/g)购自贵州益百亿生物科技有限公司, 多粘类芽孢杆菌(菌数含量 $\geq$ 100 亿/g)购自湖北中向生物工程有限公司, 娄彻氏链霉菌(菌数含量 $\geq$ 100 亿/g)购自湖北中向生物工程有限公司。

1.3 试验设计

1.3.1 最佳生防菌剂筛选

试验设置核心试验区 2 hm², 以喷施清水为对照。试验设置 6 个处理, 采用叶面喷施的方式, 采取随机区组试验。每个处理重复 3 次, 共 18 个小区, 小区面积约为 50 m², 并设置保护行。在烟苗旺长中期和打顶期进行叶面喷施处理, 共喷施 2 次。于最后一次施药后 7 d 对烟株农艺性状进行调查, 并结合当地病害发生特点, 开展相关病害发生情况调查工作。

处理 A: 枯草芽孢杆菌可湿性粉剂, 稀释 500 倍使用;

处理 B: 侧孢苏云金复合菌, 稀释 300 倍使用;

处理 C: 木霉复合微生物菌剂, 稀释 300 倍使用;

处理 D: 多粘类芽孢杆菌, 稀释 300 倍使用;

处理 E: 娄彻氏链霉菌, 稀释 300 倍使用;

处理 F: 清水对照。

1.3.2 生防菌剂的最佳使用生育期

试验设置 5 个处理, 采用叶面喷施的方式, 采取随机区组试验。每个处理重复 3 次, 共 15 个小区, 小区面积约为 50 m², 并设置保护行。通过在不同的“云烟 87”生长期用药, 团棵期用药 2 次, 每 10 d 一次; 旺长中期用药 2 次, 每 10 d 一次; 打顶期用药 2 次, 每 10 d 一次; 分别在每次施药后 7 d 对烟株农艺性状进行调查, 并结合当地病害发生特点, 开展相关病害发生情况调查工作。

处理 1: 枯草芽孢杆菌团棵期开始处理, 每隔 10 d 一次, 共用药 2 次;

处理 2: 枯草芽孢杆菌团棵期 15 d 后开始处理, 每隔 10 d 一次, 共用药 2 次;

处理 3: 侧孢苏云金复合菌团棵期开始处理, 每隔 10 d 一次, 共用药 2 次;

处理4:侧孢苏云金复合菌团棵期15 d后开始处理,每隔10 d一次,共用药2次;

处理5:清水对照.

1.3.3 田间最佳施药方式

为探讨药剂的田间最佳施药方式,将生防菌剂采用灌根和叶面喷施2种方式进行比较,将各试验分别设置5个处理,采取随机区组试验.每个处理重复3次,共15个小区,小区面积约为50 m²,并设置保护行.在“云烟87”团棵期、团棵期15 d、打顶期各施药1次,共施药3次.于每次施药后7 d对烟株农艺性状进行调查,并结合当地病害发生特点,开展相关病害发生情况调查工作.

处理1:枯草芽孢杆菌可湿性粉剂叶面喷施;

处理2:侧孢苏云金复合菌叶面喷施;

处理3:枯草芽孢杆菌灌根;

处理4:侧孢苏云金复合菌灌根;

处理5:清水对照.

1.4 测定方法

1.4.1 烟株发病情况调查

烟草病害发生情况按《烟草病虫害分级及调查方法》(GB/T 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,各小区采用对角线取样方法,每点固定调查10株,并按公式分别计算病株率、病情指数和防治效果.病害调查与测定烟草农艺性状同步进行.

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

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

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

1.4.2 烟株农艺性状调查

每次施药后7 d对烟株农艺性状进行调查,包括株高、叶长、叶宽和茎围等4项指标.

1.4.3 酶活性测定

经生防菌处理后5 d,分别对植株苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)的酶活性进行分析,试剂盒均购自上海优选生物有限公司^[20].

1.5 数据处理与统计学分析

试验数据采用IBM SPSS Statistics 25, OriginLab 进行分析,利用Duncan法进行多组样本间差异显著性分析.

2 结果与分析

2.1 生防菌剂的筛选

为了解生防菌对烟草病害的影响,分别在旺长中期和打顶期用药7 d后进行田间烟草叶部病害情况和农艺性状调查.

旺长中期,施用娄彻氏链霉菌对烟草野火病具有较好的防效,防治效果可达到42.86%;施用枯草芽孢杆菌和侧孢苏云金复合菌对烟草花叶病的防治效果较好,分别达到73.33%和

86.66%(表 1). 由于烟草赤星病为后期病害, 前期发病不规律, 因此在此阶段调查烟草赤星病并无实际意义.

表 1 旺长中期烟叶病害调查

处理 方法	烟草花叶病			烟草野火病			烟草赤星病		
	发病率/%	病情指数	防治效果/%	发病率/%	病情指数	防治效果/%	发病率/%	病情指数	防治效果/%
A	4.00	1.77±1.14bc	73.33±17.16ab	10.00	1.11±0.35a	28.57±22.58a	—	—	—
B	4.00	0.88±0.65c	86.66±9.71a	10.00	1.11±0.50a	28.57±31.94a	—	—	—
C	14.00	4.21±1.28c	36.78±19.29ab	10.00	1.11±0.35a	28.57±22.58a	—	—	—
D	22.00	5.10±0.44ab	23.42±6.66b	12.00	1.33±0.22a	14.29±14.28a	2.00	0.22±0.22	—
E	12.00	4.44±1.86ab	33.33±27.88ab	8.00	0.89±0.22a	42.86±14.28a	—	—	—
F	20.00	6.66±1.22a	—	14.00	1.55±0.27a	—	—	—	—

注: 处理 A 为枯草芽孢杆菌可湿性粉剂, 稀释 500 倍使用; 处理 B 为侧孢苏云金复合菌, 稀释 300 倍使用; 处理 C 为木霉复合微生物菌剂, 稀释 300 倍使用; 处理 D 为多粘类芽孢杆菌, 稀释 300 倍使用; 处理 E 为娄彻氏链霉菌, 稀释 300 倍使用; 处理 F 为清水对照; 小写字母不同表示组间数据比较差异具有统计学意义($p<0.05$).

打顶期各处理对烟草花叶病、烟草野火病和烟草赤星病都具有一定防效, 其中枯草芽孢杆菌可湿性粉剂的防治效果最好, 防治效果分别为 59.30%, 38.68% 和 87.50%(表 2); 侧孢苏云金复合菌对烟草花叶病的防治效果与枯草芽孢杆菌可湿性粉剂接近, 但对烟草野火病和赤星病的防治效与枯草芽孢杆菌可湿性粉剂较差, 防治效果分别为 15.50 %和 37.50%. 在农艺性状方面各处理之间差异无统计学意义(表 3). 综上所述, 枯草芽孢杆菌和侧孢苏云金复合菌对烟草病害具有较好防治效果, 用于后续筛选试验.

表 2 打顶期烟叶病害调查

处理 方法	烟草花叶病			烟草野火病			烟草赤星病		
	发病率/%	病情指数	防治效果/%	发病率/%	病情指数	防治效果/%	发病率/%	病情指数	防治效果/%
A	16.00	5.77±1.66c	59.30±11.72a	16.00	1.78±0.27b	38.68±9.49a	2.00	0.22±0.22b	87.50±12.50a
B	14.00	6.44±2.06c	54.68±14.49a	22.00	2.44±0.22ab	15.50±7.68ab	12.00	1.33±0.22a	37.50±0.00b
C	22.00	9.10±0.89bc	35.92±6.26ab	18.00	2.00±0.22ab	30.93±7.75ab	10.00	1.11±0.35a	53.13±15.62b
D	26.00	11.77±1.81ab	18.70±12.26b	26.00	2.89±0.27a	0.14±9.40b	16.00	1.55±0.27a	37.50±0.00b
E	20.00	11.55±0.83ab	18.71±5.58b	24.00	2.66±0.44ab	18.62±15.42ab	12.00	1.33±0.22a	37.50±0.00b
F	28.00	14.21±1.47b	—	26.00	2.89±0.44a	—	16.00	1.78±0.27a	—

注: 小写字母不同表示组间数据比较差异具有统计学意义($p<0.05$).

表 3 打顶期烟叶农艺性状调查

cm

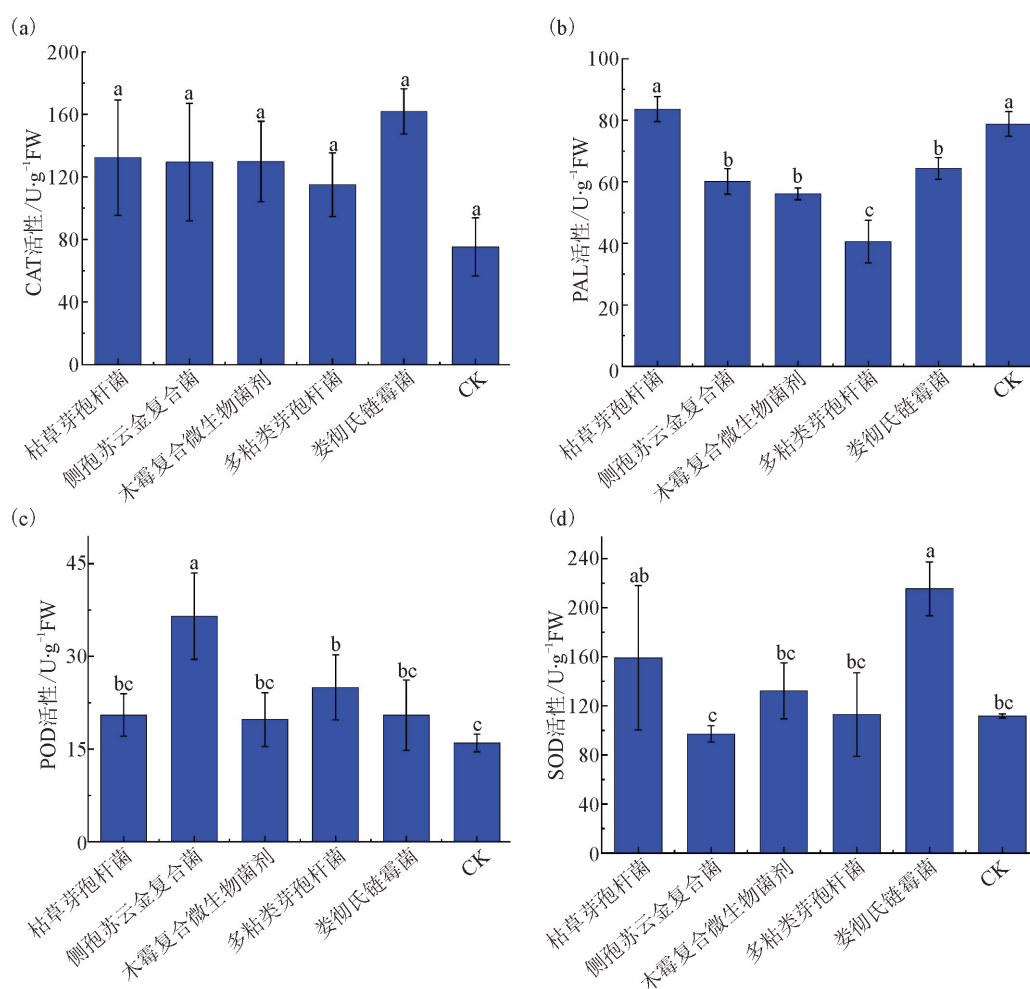
处理方法	株高	叶长	叶宽	茎围
A	88.47±3.49a	67.20±0.82a	24.77±0.98a	8.92±0.21a
B	90.73±1.17a	67.55±1.18a	24.50±0.48a	8.42±0.11a
C	91.47±0.94a	70.10±0.86a	25.00±0.35a	8.86±0.11a
D	90.86±0.53a	67.80±1.08a	24.27±0.34a	8.60±0.14a
E	92.28±1.49a	69.63±0.45a	25.48±0.61a	8.85±0.18a
F	89.34±2.57a	68.70±0.68a	24.27±1.05a	8.72±0.25a

注: 小写字母不同表示组间数据比较差异具有统计学意义($p<0.05$).

2.2 生防菌剂对烟草酶活性的影响

田间调查结果表明,外施不同生防菌剂对烟草病害具有不同的防控效果,为明确其防控机制,在生防菌处理 7 d 后对烟草叶片中 CAT, PAL, POD 和 SOD 4 种酶活性进行分析,以鉴定生防菌防治效果与酶活性相关性。

由结果可见,各生防菌剂在一定程度上提升了 CAT 活性,但与清水对照处理比较差异无统计学意义;枯草芽孢杆菌剂处理对 PAL 活性无明显影响,与清水对照比较差异无统计学意义,而其他药剂处理却显著降低了 PAL 活性,与清水对照比较差异具有统计学意义;侧孢苏云金复合菌和多粘类芽孢杆菌处理后显著上调 POD 活性,各生防菌剂处理与清水对照比较差异均具有统计学意义;娄侧氏链霉菌处理后对 SOD 有上调影响,枯草芽孢杆菌、侧孢苏云金复合菌、娄侧氏链霉菌处理后的 SOD 活性与清水对照比较,差异具有统计学意义,其他药剂处理与清水对照比较,差异无统计学意义(图 1)。综上所述,枯草芽孢杆菌和侧孢苏云金复合菌对田间烟草病害的防治可能跟其处理后烟草体内 PAL 和 SOD 活性变化有关。



小写字母不同表示组间数据比较差异具有统计学意义($p < 0.05$)。

图 1 不同生防菌剂对烟草叶片酶活性的影响

2.3 生防菌剂的不同施用方式对田间病害发生及烟草农艺性状的影响

生防菌对病害的防治机理主要是与病原菌竞争营养物质和空间位点^[16],不同生防菌处理

对烟草叶部病害的防治效果不同. 为探讨生防菌剂的田间最佳施药方式, 根据上述筛选出的枯草芽孢杆菌和侧孢苏云金复合菌, 对二者不同施用方式(灌根和叶面喷施)进行比较, 分别在团棵期、旺长中期和打顶期后 7d 进行病害统计.

由结果可见, 团棵期、旺长中期和打顶期枯草芽孢杆菌叶面喷施对烟草花叶病和野火病的防治效果更好, 对烟草花叶病的防治效果分别为 67.07%, 78.58% 和 75.35%, 对烟草野火病的防治效果分别为 70.80%, 65.53% 和 65.70%. 侧孢苏云金复合菌灌根处理在团棵期、旺长中期和打顶期对烟草花叶病和野火病具有更好的防效, 对烟草花叶病的防治效果分别为 89.56%, 75.47% 和 73.18%, 对烟草野火病的防治效果分别为 90.51%, 77.45% 和 70.76% (表 4、表 5、表 6). 因此, 对于枯草芽孢杆菌采用叶面喷施的方式效果较好, 对于侧孢苏云金复合菌采用灌根的方式效果较好.

表 4 团棵期生防菌剂不同施用方式烟叶病害情况比较

处理 方法	烟草花叶病			烟草野火病			烟草赤星病		
	发病率/%	病情指数	防治效果/%	发病率/%	病情指数	防治效果/%	发病率/%	病情指数	防治效果/%
1	0.83	0.27±0.21d	67.07±25.50ns	1.25	0.13±0.08c	70.80±17.07a	—	—	—
2	4.16	1.38±0.21b	—	2.08	0.22±0.09ab	51.09±20.44a	—	—	—
3	4.58	2.08±0.14a	—	1.66	0.18±0.04ab	60.58±19.71a	—	—	—
4	0.83	0.09±0.04d	89.56±9.04ns	0.41	0.04±0.12c	90.51±9.49a	—	—	—
5	1.66	0.83±0.08c	—	4.16	0.46±0.05a	—	—	—	—

注: 处理 1 为枯草芽孢杆菌可湿性粉剂叶面喷施; 处理 2 为侧孢苏云金复合菌叶面喷施; 处理 3 为枯草芽孢杆菌灌根; 处理 4 为侧孢苏云金复合菌灌根; 处理 5 为清水对照; 小写字母不同表示组间数据比较差异具有统计学意义 ($p < 0.05$).

表 5 旺长中期生防菌剂不同施用方式烟叶病害情况比较

处理 方法	烟草花叶病			烟草野火病			烟草赤星病		
	发病率/%	病情指数	防治效果/%	发病率/%	病情指数	防治效果/%	发病率/%	病情指数	防治效果/%
1	1.66	0.64±0.20c	78.58±6.77a	2.50	0.27±0.08c	65.53±10.31ab	—	—	—
2	5.00	2.22±0.14b	26.08±4.66b	4.58	0.50±0.09ab	35.74±11.91b	—	—	—
3	9.58	3.93±0.51a	1.78±1.33c	2.91	0.32±0.04c	59.57±5.96ab	—	—	—
4	1.66	0.74±0.12c	75.47±4.11a	1.66	0.18±0.17c	77.45±5.96a	—	—	—
5	6.25	3.00±0.09b	—	7.08	0.78±0.07a	—	—	—	—

注: 小写字母不同表示组间数据比较差异具有统计学意义 ($p < 0.05$).

表 6 打顶期生防菌剂不同施用方式烟叶病害情况比较

处理 方法	烟草花叶病			烟草野火病			烟草赤星病		
	发病率/%	病情指数	防治效果/%	发病率/%	病情指数	防治效果/%	发病率/%	病情指数	防治效果/%
1	2.08	1.06±0.16c	75.35±3.83a	2.91	0.32±0.05c	65.70±5.05a	0.41	0.04±0.04	—
2	6.66	4.26±0.65b	0.93±3.26b	5.83	0.64±0.05b	30.32±5.05b	—	—	—
3	12.91	6.66±0.48a	—	5.00	0.55±0.08b	40.43±8.75b	—	—	—
4	2.08	1.15±0.12c	73.18±2.80a	2.50	0.27±0.08c	70.76±8.75a	—	—	—
5	7.91	4.30±0.52b	—	7.91	0.92±0.09a	—	—	—	—

注: 小写字母不同表示组间数据比较差异具有统计学意义 ($p < 0.05$).

对 2 种生防菌在团棵期、旺长中期和打顶期分别采用灌根和叶面喷施 2 种施用方式处理, 7 d 后进行农艺性状统计, 包括株高、叶长、叶宽和茎围等 4 项指标.

结果表明, 团棵期枯草芽孢杆菌叶面喷施和灌根以及侧孢苏云金复合菌灌根处理对植株株

高并无显著影响,与清水对照比较差异无统计学意义(表 7). 旺长中期枯草芽孢杆菌叶面喷施对植株株高具有显著促进作用,与清水对照比较差异具有统计学意义,灌根处理叶长、叶宽与清水对照比较差异无统计学意义;侧孢苏云金复合菌叶面喷施对烟草叶长、叶宽没有显著促进作用,而灌根处理能显著提高茎围,与清水对照比较差异有统计学意义(表 8). 在打顶期,枯草芽孢杆菌叶面喷施处理对株高和茎围均有显著促进作用,侧孢苏云金复合菌叶面喷施对叶长和茎围也有显著促进作用,同时灌根处理的侧孢苏云金复合菌对茎围有一定的增效作用,与清水对照比较差异具有统计学意义(表 9). 综合比较,2 种生防菌的不同施用方式对烟草病害的防控及烟草农艺性状的影响,筛选出叶面喷施枯草芽孢杆菌和灌根处理侧孢苏云金复合菌.

表 7 团棵期不同施用方式烟株农艺性状比较 cm

处理方法	株高	叶长	叶宽	茎围
1	47.44±3.28a	56.77±0.20a	22.94±0.39a	6.63±0.03b
2	40.05±2.57a	52.22±1.02b	21.44±0.83a	6.52±0.12b
3	46.94±2.31a	56.77±0.20a	22.94±0.39a	6.63±0.03b
4	45.55±2.04a	56.55±1.15a	23.22±0.73a	7.11±0.22a
5	41.33±0.98a	57.16±0.84a	22.72±0.24a	6.77±0.06ab

注:小写字母不同表示组间数据比较差异具有统计学意义($p<0.05$).

表 8 旺长中期不同施用方式烟株农艺性状比较 cm

处理方法	株高	叶长	叶宽	茎围
1	62.27±0.35a	64.37±2.28a	25.04±0.90a	8.03±0.17abc
2	57.83±1.76b	60.19±1.54a	24.23±0.82a	7.67±0.04c
3	60.30±0.33ab	65.36±1.65a	25.44±0.96a	8.26±0.17ab
4	59.45±1.43ab	64.39±1.95a	25.36±1.00a	8.36±0.10a
5	57.04±1.52b	63.84±2.64a	24.63±0.44a	7.89±0.03bc

注:小写字母不同表示组间数据比较差异具有统计学意义($p<0.05$).

表 9 打顶期不同施用方式烟株农艺性状比较 cm

处理方法	株高	叶长	叶宽	茎围
1	78.00±0.70a	70.92±0.58b	26.83±1.09a	9.40±0.05a
2	72.70±1.66b	73.44±0.29a	27.23±0.82a	9.54±0.04a
3	71.19±0.61b	67.47±0.70c	25.36±0.70a	8.76±0.07b
4	72.41±0.68b	70.42±1.12b	26.80±0.31a	9.61±0.20a
5	71.58±1.60b	69.69±0.55b	26.52±0.82a	8.94±0.06b

注:小写字母不同表示组间数据比较差异具有统计学意义($p<0.05$).

2.4 生防菌剂不同使用时期对病害发生的影响

从结果可知,枯草芽孢杆菌在旺长中期使用对烟草花叶病和烟草野火病具有较好防效,防治效果分别为 45.57%和 63.88%;侧孢苏云金复合菌在团棵期使用的防效效果较好,烟草花叶病和烟草野火病. 防治效果达到 56.89%和 37.26%;烟草赤星病田间发病率较低,2 种生防菌剂在不同时期使用情况下对烟草赤星病的防治效果基本一致(表 10). 由此可见,旺长中期施用枯草芽孢杆菌对烟草病害具有较好防效,而团棵期施用侧孢苏云金复合菌对烟草病害具有较好防效.

表 10 不同时期施用生防菌剂病害调查

处理 方法	烟草花叶病			烟草野火病			烟草赤星病		
	发病率/%	病情指数	防治效果/%	发病率/%	病情指数	防治效果/%	发病率/%	病情指数	防治效果/%
1	4.58	2.17±0.38a	11.48±6.89b	7.08	0.78±0.05a	10.65±5.32b	0.41	0.04±0.04a	75.47±24.52a
2	1.66	1.11±0.14b	45.57±6.72a	2.91	0.32±0.05b	63.88±95.32a	0.41	0.04±0.04a	75.47±24.52a
3	2.08	0.88±0.09b	56.89±4.59a	3.33	0.69±0.16a	37.26±15.97ab	0.41	0.04±0.04a	75.47±24.52a
4	3.33	1.48±0.24ab	27.38±12.02ab	5.83	0.69±0.08a	21.59±9.22b	0.41	0.04±0.04a	71.00±29.00a
5	4.16	2.03±0.20a	—	7.91	0.88±0.12a	—	1.25	0.13±0.08a	—

注：处理 1 为枯草芽孢杆菌团棵期开始处理，每隔 10 d 一次，共用药 2 次；处理 2 为枯草芽孢杆菌团棵期 15 d 后开始处理，每隔 10 d 一次，共用药 2 次；处理 3 为侧孢苏云金复合菌团棵期开始处理，每隔 10 d 一次，共用药 2 次；处理 4 为侧孢苏云金复合菌团棵期 15 d 后开始处理，每隔 10 d 一次，共用药 2 次；处理 5 为清水对照；小写字母不同表示组间数据比较差异具有统计学意义 ($p<0.05$)。

同时，调查不同用药时期对烟草农艺性状的影响，在不同时期使用 2 种生防菌剂 7 d 后调查烟草的农艺性状，包括株高、叶长、叶宽和茎围等 4 项指标。

从结果可知，枯草芽孢杆菌旺长中期施药处理对植株的叶长、叶宽和茎围均有增效作用，同时侧孢苏云金复合菌旺长中期施药处理对叶宽也具有一定的促进作用，与清水对照比较差异有统计学意义(表 11)。由此可见，在旺长中期叶面喷施枯草芽孢杆菌能显著提高烟草抗病性及烟叶农艺性状，在团棵期灌根处理侧孢苏云金复合菌能显著提高烟草抗病性和改善农艺性状。

表 11 不同时期施用生防菌剂烟株农艺性状比较

cm

处理方法	株高	叶长	叶宽	茎围
1	71.05±0.36a	73.10±0.55ab	28.24±0.54ab	8.62±0.19bc
2	71.69±1.70a	74.33±1.26a	27.66±0.51ab	9.23±0.07a
3	70.72±1.77a	70.72±0.89b	27.69±0.79ab	8.38±0.19c
4	70.74±1.46a	72.75±1.28ab	29.70±0.35a	9.05±0.05ab
5	70.19±1.42a	73.24±0.84ab	27.52±0.76b	8.56±0.21bc

注：小写字母不同表示组间数据比较差异具有统计学意义 ($p<0.05$)。

3 结论与讨论

随着人们环境保护意识的逐渐加强，人们对于生物防治的重视程度也日益上升，特别是开发新型的生物菌剂从而利用其防治植物病害正成为备受关注的重点^[21]。本研究通过在烟草旺长中期和打顶期 2 个时期分别用药 7 d 后进行田间病害情况调查，结果表明“云烟 87”的旺长中期和打顶期，5 种生防菌剂中的枯草芽孢杆菌可湿性粉剂和侧孢苏云金复合菌相比于木霉复合菌、多粘类芽孢杆菌以及萎彻氏链霉菌等生防菌剂对烟草病害的防治效果较好，并且在这 2 个时期枯草芽孢杆菌可湿性粉剂对烟草花叶病的防治效果都达到 54% 以上，这与吴剑等^[22]得出枯草芽孢杆菌对烟草花叶病、烟草赤星病防控效果较好的结果基本一致。对于烟草野火病的防治效果，本研究中枯草芽孢杆菌可湿性粉剂在 2 个时期对烟草野火病的防治效果都达到 59% 以上，与孙宏伟等^[23]从烟叶中分离鉴定出的枯草芽孢杆菌对烟草野火病菌有显著抑制作用的

结果一致.此外,对于烟草花叶病、烟草野火病和烟草赤星病的防治,多粘类芽孢杆菌的防效相对其他4种生防菌剂较差.同时,根据农艺性状调查结果,在烟苗移栽后30 d开始每隔10 d施用一次生防菌剂对于田间烟草的株高、叶长、叶宽以及茎围无明显影响,并且各处理组之间无显著差异.因此,综合病害调查和农艺性状调查,筛选出枯草芽孢杆菌和侧孢苏云金复合菌2种效果较好的生防菌剂.

王炳豪^[24]采用农用硫酸链霉素和生石灰灌根法施药,发现移栽后10 d施药对于烟草青枯病的防治效果最好,而关于生防菌的最佳施用时期目前鲜有报道,有待进一步的探究.本研究通过分别在团棵期、旺长中期单独用药7 d后对烟草叶部病害发生情况和农艺性状进行调查,探究不同生育期施药对病害发生和农艺性状的影响.在病害防治方面,在旺长中期施用枯草芽孢杆菌可湿性粉剂对烟草花叶病和烟草野火病的防效要优于在团棵期施用;而在旺长中期施用侧孢苏云金复合菌虽然防治效果比在团棵期施用效果稍差,但是二者差距并不大.在农艺性状方面,总体上在旺长中期施用对烟株叶长、茎围有一定增效作用,但在株高、叶宽方面差异不大.因此,综合来看,在旺长中期施用这2种生防菌剂具有更好的效果.

在不同生育期经不同施药方式用药后对病害发生情况和农艺性状进行调查,发现枯草芽孢杆菌灌根施用在3个时期对烟草花叶病和烟草野火病的防治效果并不理想,而刘畅等^[25]将枯草芽孢杆菌和哈茨木霉1:1复配灌根处理,发现可以提高烟株对烟草根茎类病害的抗性以及改善烟株的农艺性状,方明等^[26]发现在高碳基肥料中同时添加哈茨木霉和枯草芽孢杆菌对根系生长的促进效果要好于单独添加其中一种菌剂,说明枯草芽孢杆菌和哈茨木霉复配灌根处理可以促进烟草根系生长以及提高烟草根部病害抗性.本研究中单独灌根施用枯草芽孢杆菌对于烟草叶部病害防治效果不佳;而侧孢苏云金复合菌灌根处理无论是对烟草花叶病的防治效果还是对烟草野火病的防治效果都明显高于叶面喷施处理.在农艺性状方面,在3个时期枯草芽孢杆菌叶面喷施处理的增效都高于枯草芽孢杆菌灌根处理;侧孢苏云金复合菌灌根处理在前2个时期的株高、叶长以及叶宽的增效高于叶面喷施处理,在3个时期灌根处理对茎围的增效都高于叶面喷施处理.因此,综合田间病害调查和农艺性状调查,得出枯草芽孢杆菌适合叶面喷施处理,而侧孢苏云金复合菌灌根处理的效果较好.

综上所述,枯草芽孢杆菌和侧孢苏云金复合菌是一种对田间烟草花叶病、烟草野火病以及烟草赤星病效果较好的生防菌剂.枯草芽孢杆菌最佳施用时期以及最佳施用方式为旺长中期和叶面喷施处理;侧孢苏云金复合菌最佳施用时期以及最佳施用方式为旺长中期和灌根处理.

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 陈海涛.重庆市烟区主要烟草病害及综防技术[J].植物医生,2007,20(5):28-29.
- [3] 王琳.植物病害综合防治技术[J].中国园艺文摘,2017,33(3):225-226.
- [4] 卜元卿,孔源,智勇,等.化学农药对环境的污染及其防控对策建议[J].中国农业科技导报,2014,16(2):19-25.
- [5] 张杰,董莎萌,王伟,等.植物免疫研究与抗病虫绿色防控:进展、机遇与挑战[J].中国科学:生命科学,2019,49(11):1479-1507.
- [6] 彭迎春,吴文信,李思军,等.桂阳县烟草病虫害绿色防控工作现状及建议[J].现代农业科技,2021(24):88-89,92.
- [7] 贺海滨.烟草病虫害发生规律与绿色防控措施[J].世界热带农业信息,2022(1):35-36.

- [8] 邱德文. 我国植物病害生物防治的现状与发展策略[J]. 植物保护, 2010, 36(4): 15-18, 35.
- [9] 张俊华. 微生物代谢产物作用于植物的研究探讨[J]. 生命科学研究, 2007, 11(S1): 44-47.
- [10] 陈志谊. 芽孢杆菌类生物杀菌剂的研发与应用[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(5): 723-732.
- [11] 朱玥妍, 刘姣, 杜春梅. 芽孢杆菌生物防治植物病害研究进展[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(34): 16635-16638.
- [12] 何亚登. 2种生防菌的发酵、土壤定殖及防治烟草土传病害的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2019.
- [13] 韩长志. 植物病害生防菌的研究现状及发展趋势[J]. 中国森林病虫, 2015, 34(1): 33-37, 25.
- [14] 赵荣艳, 杨靖华, 蒋士君. 烟草病害生物防治研究进展[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(22): 5918-5919, 5968.
- [15] HARMAN G E. Overview of Mechanisms and Uses of TrichodermaSpp[J]. Phytopathology, 2006, 96(2): 190-194.
- [16] 陈志谊. 芽孢杆菌类生物杀菌剂的研发与应用[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(5): 723-732.
- [17] 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.
- [18] 王星云, 宋卡魏, 张荣意. 枯草芽孢杆菌菌剂的开发应用[J]. 广西热带农业, 2007(2): 32-35.
- [19] 李锡宏, 余君, 陈守文, 等. 防治烟草赤星病的生防菌剂田间对比试验[J]. 湖北植保, 2018(2): 7-8.
- [20] LVX, YUANM T, PEIY H, et al. The Enhancement of Antiviral Activity of Chloroinconazole by Aglinate-Based Nanogel and Its Plant Growth Promotion Effect[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(17): 4992-5002.
- [21] 李俊喜, 刘润进. 菌根真菌菌剂防治作物土传病害潜力分析[J]. 植物病理学报, 2007, 37(1): 1-8.
- [22] 吴剑, 何军, 李祥军, 等. 诱导抗病剂与生防制剂在烟草上的防效研究[J]. 昆明学院学报, 2015, 37(6): 7-10, 17.
- [23] 孙宏伟, 元野, 杨晓敏, 等. 烟草野火病拮抗生防菌的筛选、鉴定与应用[J]. 烟草科技, 2012, 45(8): 84-88.
- [24] 王炳豪. 不同时期施药对烟草青枯病防治效果研究[J]. 农业科技通讯, 2009(3): 51-52.
- [25] 刘畅, 姚晨琥, 李小杰, 等. 复合生防菌剂对田间烟草根茎类病害的防治效果[J]. 烟草科技, 2021, 54(11): 18-24.
- [26] 方明, 殷全玉, 吴文信, 等. 高碳基肥料配施微生物菌剂对烟叶综合性状的影响[J]. 现代农业科技, 2021(12): 12-14, 18.

责任编辑 苏荣艳