

DOI:10.13718/j.cnki.zwyx.2025.06.006

三氯异氰尿酸与 DW8 联用对烟草青枯病防治效果的研究

张学杰¹, 周肖², 邢云飞³, 郑永锋⁴,
卿越², 范天宇², 刘师瑜¹, 杨亮²

1. 重庆市烟草公司黔江区分公司, 重庆 409000;
2. 西南大学 植物保护学院, 重庆 400715;
3. 湖南中烟工业有限责任公司, 长沙 410000;
4. 河南中烟工业有限责任公司, 郑州 450000

摘要: 为探究三氯异氰尿酸和微生物菌剂 DW8 联用对烟草青枯病的防治效果, 以云烟 121 为供试材料, 设置 4 个处理组进行田间小区试验, 调查青枯病的发病情况, 同步测定烟株农艺性状指标, 并于发病高峰期采集根际土样进行微生物结构与功能分析。结果表明, 联合施用三氯异氰尿酸和微生物菌剂 DW8 能有效防治烟草青枯病, 相对防效可达 66.57%。此外, 联合施用或单独施用 DW8 均能改变烤烟根际细菌群落结构, 其中, DW8 处理组能富集芽孢杆菌属(*Bacillus*)和链霉菌属(*Streptomyces*)等有益菌属, 同时抑制了与病害相关的镰刀菌属(*Fusarium*), 有益于构建促进烟草生长和抗病性的根际微生态环境。三氯异氰尿酸土壤消毒联合微生物菌剂 DW8 施用是一种有效的烟草青枯病防控策略, 为烟草根茎类病害的绿色防控提供了理论依据和技术支撑。

关键词: 青枯病; 土壤消毒剂;

微生物菌剂

中图分类号:S481.8

文献标识码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号:2097-1354(2025)06-0046-12

Control Effect of Trichloroisocyanuric Acid Combined with Microbial Agent DW8 on Tobacco Bacterial Wilt

ZHANG Xuejie¹, ZHOU Xiao², XING Yunfei³,

收稿日期: 2025-02-26

基金项目: 烟草根际健康与根茎病害精准调控技术研发与应用(2025JD0001)。

作者简介: 张学杰, 硕士, 助理农艺师。

ZHENG Yongfeng⁴, QINGYue², FAN Tianyu²,
LIU Shiyu¹, YANG Liang²

1. Chongqing Tobacco Company Qianjiang Branch, Chongqing 409000, China;

2. College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China;

3. Hunan Tobacco Industry Co. Ltd., Changsha 410000, China;

4. Henan Tobacco Industry Co., Ltd., Zhengzhou 450000, China

Abstract: To evaluate the efficacy of combined application of trichloroisocyanuric acid (TCCA) and microbial agent DW8 on control of tobacco bacterial wilt, field trials with tobacco cultivar Yunyan 121 as research material were conducted with four treatments: TCCA, DW8, TCCA+DW8 and control. We assessed the disease incidence, measured tobacco agronomic traits, and analyzed the rhizosphere microbiome structure and function during the peak period of disease. The results showed that TCCA+DW8 combination can effectively control the tobacco bacterial wilt disease, with relative control efficacy of 66.57%. Both TCCA+DW8 and DW8 alone significantly restructured the rhizobacterial communities, in which, DW8 treatment enriched the beneficial bacterial such as genera of *Bacillus* and *Streptomyces*, and suppressed pathogen-associated *Fusarium*. This shift established a disease-suppressive microbiome conducive to plant growth and resistance. In conclusion, soil disinfection with TCCA combined with the microbial agent DW8 is an effective strategy for the control of tobacco bacterial wilt. This integrated approach provides theoretical basis and technical support for the green control of soil-borne tobacco diseases.

Key words: bacterial wilt; soil disinfectants; microbial agent

烟草青枯病是由青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的严重土传病害^[1]，该病害突发性强、传播速度快、破坏力大，可对全球范围内的烟草、马铃薯、番茄、茄子、辣椒等茄科经济作物构成巨大威胁，严重影响农业生产与食品安全^[2-3]。青枯菌能在土壤中存活达数年，一旦遇到高温高湿、根表伤口等触发因子，能迅速完成侵染，可在几日内堵塞维管束，阻碍水分运输，导致植株快速萎蔫^[4-5]。由于气候条件适宜，该病害在热带和亚热带地区尤为猖獗^[6]。青枯病不仅影响作物生产，还能改变土壤微生物群落结构，影响生态平衡，对后茬作物造成连作障碍^[7]。

目前针对烟草青枯病的防治方法多样，其中，化学药剂因速效、易操作在烟叶生产过程中仍占主导地位，但单一长期使用化学药剂，容易造成农药残留和病原菌抗性增加等问题^[8]。近年来，生物防治凭借环境友好、不易产生抗性等优势成为研究热点^[9]，但复杂的田间环境制约了生物防治效果的稳定性，且其速效性不足难以满足紧急防控需求。因此，综合应用抗病品种选育、轮作制度优化、土壤消毒处理及生物防治等多维措施已成为主流防控策略^[10-11]。

生物—化学联合防治体系的构建为突破上述瓶颈提供了新思路。该策略既能实现病害的及时控制与持续管理，又可显著降低化学药剂用量及残留风险，同时弥补生制剂药效不稳定、起效缓慢的缺陷，并为植株根际微生态环境的健康构建创造有利条件^[12-13]。国内外学者已围绕此方向开展系列研究，证实化学杀菌剂与生防菌的组合应用具有协同增效潜力^[14-15]。鉴于青枯菌在土壤中的持久存留特性及其多样化的传播途径，土壤杀菌剂的研发已成为化学防治领域的重要研究方向^[16]。生防菌作为生物防治的重要组成部分，能够与作物的自然生态系统相协调，适应不同的种植环境和作物类型^[17]。已有研究表明，特定生防菌与低剂量化学杀菌剂的配伍应用可形成互补机制，化学药剂通过抑制病原菌活性创造有利生态位点，促进生防菌快

速定殖并发挥群体效应,从而提升整体防效^[18-22]。

三氯异氰尿酸(TCCA)是一种高效广谱杀菌剂,具有杀菌效果好、残留毒性低等特点,因而被广泛应用于多种作物的病害防治^[23]。研究发现,TCCA与短小芽孢杆菌、印度梨形孢等生防制剂具有良好的兼容性,二者联用可显著提升青枯病防控效果^[24-25]。通过优化组合比例,即可达到增效作用,进而减少单一化学药剂的使用量,降低对环境的影响。研究以团队前期分离获得的具有显著抗病促生功能的DW8土壤谷氨酸杆菌为核心生防菌,室内外评价证实该菌株能有效延缓青枯病发生进程并促进烟株生长。基于此,构建杀菌剂一生防菌联合防控体系,重点探究TCCA与DW8的联合应用对烟草青枯病的防控效果,旨在挖掘DW8的潜在防治效能,为建立高效、环保的烟草青枯病综合防控技术体系提供理论依据与实践指导。

1 材料方法

1.1 研究材料

供试品种为云烟121。供试制剂为三氯异氰尿酸。供试菌剂为青枯菌CQPS-1(GenBank登录号为NZ_CP016914.1),由西南大学天然产物农药研究室从重庆市烟草青枯病发病区(重庆市彭水县润溪乡)病株中分离,经室内鉴定为致病性较强的*Ralstonia solanacearum*菌株,于实验室-80℃冰箱中保存^[26]。DW8(*Glutamicibacter soli*)为课题组前期从发病烟区健康植株根际土壤中分离获得,对烟草青枯病具有显著防控效果。

1.2 调查内容

1.2.1 田间防效验证

试验采用随机区组设计,设置4个处理,每个处理重复3次,共12个小区,详见表1。小区面积约67 m²,设置保护行,试验地面积约800 m²。三氯异氰尿酸具体稀释倍数根据土壤湿度调整,不低于1500倍液,每667 m²施用500 g;菌剂DW8每株烟灌根300 mL。在烟草团棵期进行灌根处理,其中T3处理先灌根三氯异氰尿酸,14 d后开展DW8菌液灌根,旨在消除消毒剂对微生物菌剂的干扰。

表1 田间小区试验设计

处理	材料	施用浓度	施用方式
T1	三氯异氰尿酸(TCCA)	500 g/667 m ²	灌根
T2	DW8	10 ⁶ CFU/mL	灌根
T3	三氯异氰尿酸(TCCA)+DW8	500 g/667 m ² +10 ⁶ CFU/mL	灌根
CK	水	—	—

1.2.2 生育期调查

参照《烟草农艺性状调查测量方法》(YC/T 142—2010),对试验区各处理组烟草生育期(主要包括移栽期、团棵期、旺长期、现蕾期、打顶期、采收期)进行调查记录。

1.2.3 烟株农艺性状调查

各处理组选择有代表性的5株烟株挂牌标记,参照《烟草农艺性状调查测量方法》,在烟草伸根期、团棵期、现蕾期、打顶期后7 d及采收后期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,并计算最大单叶面积。

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

1.2.4 病害调查

烟草病害发生情况参照《烟草病虫害分级及调查方法》(GB/T 23222—2008)调查。结合当地的根茎病害发生特点,主要对各种病害进行系统调查,调查每个小区的发病株数及发病级数,计算发病率,病害调查可与烟草农艺性状的测定同步进行。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。病株率及病情指数计算公式如下:

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

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

烟草青枯病病害调查以株为单位分级调查,分级标准如下:

- 0级:全株无病;
- 1级:茎部病斑不超过茎围的1/3,或1/3以下叶片凋萎;
- 3级:茎部病斑环绕茎围1/3至1/2,或1/3至1/2叶轻度凋萎,或下部少数叶片出现病斑;
- 5级:茎部病斑超过茎围的1/2,但未全部环绕茎围,或1/2至2/3叶片凋萎;
- 7级:茎部病斑全部环绕茎围,或2/3以上叶片凋萎;
- 9级:病株全部叶片凋萎或枯死。

1.3 烟草根际土壤微生物结构与功能分析

1.3.1 烟草根际土壤取样

参照沈宗专等^[27]的方法,本试验采取5点取样法,在每个小区随机选择烟株5株,拔出烟株,抖落块土,用毛刷刷下根际0~5 mm处的土壤,每2株混合均匀后用采样袋装好,置于冰盒,−80 °C冰箱保存备用。

1.3.2 根际微生物群落分析

委托上海美吉生物医药科技有限公司进行 Illumina MiSeq 测序、质控、拼接和优化数据,获得 ASV(AmpliCon Sequence Variant)代表序列和丰度信息。基于 ASV 代表序列及丰度信息,进行群落组成分析、群落多样性分析、物种差异分析和相关性分析。

1.3.3 烟草根际土壤微生物 DNA 提取和文库构建

采用 Excel 2013 对试验数据进行整理,计算出发病率、病情指数和防病效果;采用 SPSS 17.0 统计软件比较分析相关数据在 $p < 0.05$ 时的差异性。

2 结果与分析

2.1 不同处理对烟草生育期的影响

不同处理对烤烟生育期的影响如表2所示,不同处理烟株生育期基本一致,在防治青枯病的技术体系中,采用消毒剂联合有益菌的防治方法可在不影响生育进程的前提下达到预期效果,这为生产实践提供了重要参考。

表2 不同处理对烤烟生育期的影响

处理	移栽期	团棵期	旺长期	现蕾期	打顶期	采收期
TCCA	4月25日	5月10日	5月25日	6月28日	7月2日	7月14日
DW8	4月25日	5月10日	5月25日	6月28日	7月2日	7月14日
TCCA+DW8	4月25日	5月10日	5月25日	6月28日	7月2日	7月14日
CK	4月25日	5月10日	5月25日	6月28日	7月2日	7月14日

2.2 不同处理对烟草农艺性状的影响

不同处理对烟草不同时期农艺性状的影响如表3至表5所示。消毒剂提前灌根处理后烟株对团棵期前期长势有一定的抑制作用,但不影响后期烟株长势,通过数据分析发现,不同处理与对照组在株高、最大叶长、最大叶宽、茎围及叶面积均未呈现显著差异。但现蕾期和打顶期TCCA+DW8处理组在最大叶面积和茎围方面显著优于对照组,比对照高出8.91%和16.58%(现蕾期)、12.76%和7.30%(打顶期)。

表3 不同处理对烤烟团棵期农艺性状的影响

时期	处理	株高/cm	茎围/cm	有效叶片数/片	最大叶长/cm	最大叶宽/cm	最大叶面积/cm ²
团棵期	TCCA	15.04±0.29a	6.99±0.45a	7.87±0.64a	42.30±1.53a	26.23±0.96a	704.09±3.15a
	DW8	15.38±0.82a	7.51±0.13a	7.73±0.23a	43.55±1.54a	25.77±1.32a	712.05±12.13a
	TCCA+DW8	15.76±1.09a	7.35±0.44a	7.73±0.31a	43.43±1.17a	25.84±0.68a	712.11±4.98a
	CK	15.15±0.43a	7.65±0.58a	7.47±0.12a	42.86±0.87a	26.29±0.26a	715.04±9.12a

注:表中数据为均值±标准误差,不同小写字母表示差异有统计学意义,下同。

表4 不同处理对烤烟现蕾期农艺性状的影响

时期	处理	株高/cm	茎围/cm	有效叶片数/片	最大叶长/cm	最大叶宽/cm	最大叶面积/cm ²
现蕾期	TCCA	128.69±1.44b	9.18±0.19a	17.93±0.23a	68.66±0.29a	33.89±0.38b	1 476.56±21.25b
	DW8	131.73±1.13a	9.01±0.23a	17.73±0.12a	67.25±0.22b	35.21±0.76a	1 502.63±37.4b
	TCCA+DW8	133.97±1.17a	9.37±0.34a	17.67±0.31a	67.61±0.39ab	36.21±0.65a	1 553.58±22.13a
	CK	124.63±1.75c	8.31±0.12b	17.60±0.53a	67.13±1.27b	33.49±0.42b	1 426.54±8.92c

表5 不同消毒剂处理对烤烟打顶期农艺性状的影响

时期	处理	株高/cm	茎围/cm	有效叶片数/片	最大叶长/cm	最大叶宽/cm	最大叶面积/cm ²
打顶期	TCCA	97.87±1.14c	11.51±0.08b	13.27±0.42b	75.85±0.92b	35.25±0.25b	1 696.71±31.85c
	DW8	107.63±2.04b	11.52±0.35b	13.20±0.20b	78.87±0.90a	35.78±0.65b	1 790.61±53.77b
	TCCA+DW8	111.3±0.48a	12.50±0.66a	13.53±0.12ab	79.34±1.24a	37.16±0.45a	1 870.68±40.68a
	CK	97.32±0.37c	11.65±0.12b	13.93±0.42a	74.25±1.21b	34.06±0.13c	1 604.69±22.97d

2.3 不同处理对烟草青枯病的防治效果

试验区内6月下旬开始发生根茎类病害,系统调查结果如图1所示,随时间变化,试验区各处理的青枯病的发病率及病情指数逐渐上升。如表6所示,各处理对烟草青枯病均有一定的相对防效,其中TCCA+DW8对青枯病防治效果最佳,发病高峰期相对防效达到66.57%。

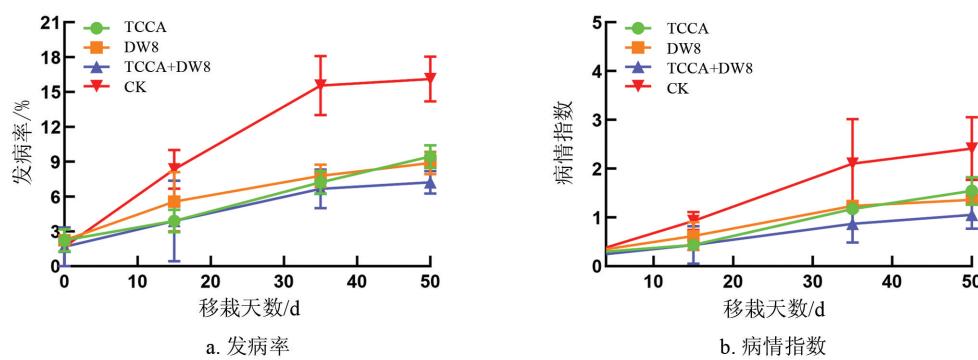


图1 不同时期各处理青枯病发病率及病情指数

表 6 发病高峰期各处理组青枯病相对防效

处理	6月24日	7月16日	7月30日
TCCA	53.33 %	39.05 %	32.80 %
DW8	33.89 %	34.89 %	40.82 %
TCCA+DW8	66.57 %	58.50 %	55.97 %
CK	—	—	—

2.4 不同处理对烟株根际微生物群落的影响

2.4.1 不同处理根际土壤细菌、真菌群落 α 多样性分析

对不同处理根际土壤微生物测序数据进行 α 多样性分析, 结果如表 7 所示, 不同处理的覆盖度指数均大于 0.99, 表明该群落结构的测序数据可以充分合理反映微生物群落的多样性和丰富度。表中 Ace 指数和 Chao 指数反映群落的丰富度, Shannon 指数和 Simpson 指数反映群落的多样性。处理 TCCA、DW8、TCCA+DW8 和对照组的细菌、真菌 Ace 指数、Chao 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数均无显著差异(表 7), 表明处理未显著改变土壤微生物群落的物种丰富度或均匀度($p < 0.05$)。

表 7 不同处理根际土壤细菌、真菌群落 α 多样性指数

界	处理	Ace	Chao	Shannon	Simpson	Coverage
细菌	TCCA	2 805.09 \pm 104.33a	2 800.93 \pm 105.11a	7.11 \pm 0.16a	0.003 \pm 0.001a	1.00
	DW8	2 741.89 \pm 133.18a	2 737.59 \pm 128.88a	7.02 \pm 0.09a	0.003 \pm 0.001a	1.00
	TCCA+DW8	2 900.33 \pm 392.39a	2 894.27 \pm 387.84a	7.06 \pm 0.3a	0.004 \pm 0.003a	1.00
	CK	2 839.88 \pm 100.66a	2 833.01 \pm 100.65a	7.10 \pm 0.17a	0.002 \pm 0.001a	1.00
真菌	TCCA	379.31 \pm 114.79a	377.55 \pm 113.93a	3.70 \pm 0.41a	0.070 \pm 0.030a	1.00
	DW8	316.41 \pm 73.31a	316.60 \pm 73.53a	3.15 \pm 1.14a	0.190 \pm 0.250a	1.00
	TCCA+DW8	391.59 \pm 28.30a	389.86 \pm 29.15a	3.85 \pm 0.35a	0.070 \pm 0.040a	1.00
	CK	288.08 \pm 45.37a	287.42 \pm 44.87a	2.92 \pm 0.51a	0.190 \pm 0.120a	1.00

注: 不同小写字母表示差异具有统计学意义($p < 0.05$)。

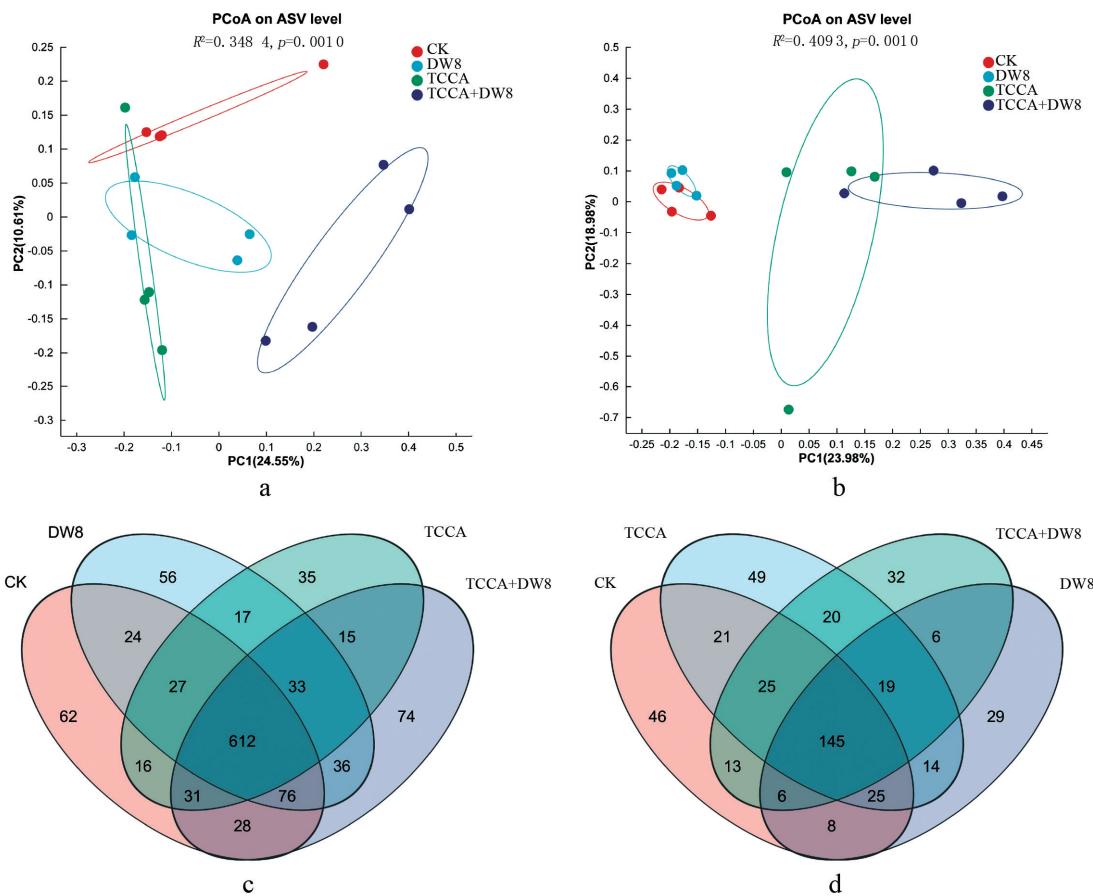
2.4.2 不同处理根际土壤微生物 β 多样性分析

在 ASV 水平, 利用基于 Bray-Curtis 的 PCoA 分析, 不同处理后根际土壤细菌群落组成的差异如图 2a 所示。第一主坐标(PC1)贡献率为 24.55%, 第二主坐标(PC2)贡献率为 10.61%, DW8 处理组、TCCA+DW8 处理组和对照组明显分离, 且 DW8 处理与对照组分离距离最远, 各处理样品间的细菌群落组间差异大于组内差异, 细菌群落差异显著($R^2 = 0.3484$, $p = 0.0010$), 表明生防菌(DW8)的添加会显著改变土壤中细菌群落结构。

真菌群落的 PCoA 分析结果表明(图 2b), 第一主坐标(PC1)贡献率为 23.98%, 第二主坐标(PC2)贡献率为 18.98 %, ANOSIM 组间差异检验的 R 值为 0.4093, p 值为 0.0010。同时, 各处理在 PC1 轴上分离, 其中 TCCA+DW8、DW8 处理样本点与空白对照距离较远, 表明经 TCCA+DW8、DW8 处理的根际土壤真菌群落结构组成与空白对照相比差异较大。

通过物种 VENN 图分析统计了不同处理后烟草根际土壤中共有和特有的微生物属的数量(图 2c、d), 不同处理后烟草根际土壤中共有的细菌属为 302 个、真菌属 915 个, TCCA、DW8、TCCA+DW8 和对照处理组特有的细菌属分别为 35、56、74 和 62 个; TCCA、DW8、TCCA+DW8 和对照处理组特有的真菌属分别为 49、29、32 和 46 个, 表明各处理间微生物群落结构的显著差异, 同时反映出消毒剂 TCCA 与菌剂 DW8 联合处理对根际微生态系统的协同调控效应。尤为值得注意的是, TCCA+DW8 组在细菌特有属的数量上有显著提升(74 个), 两种处理的联合应用可能通过功能互

补机制创造了新的生态位,促进了特异功能菌群的定殖。



注:a、b 为不同处理 ASV 水平下烟草根际细菌、真菌群落的 PCoA 分析, 样本点的颜色代表不同的处理; c、d 为细菌、真菌群落在属水平下的 VENN 分析结果, 各颜色框内重合区域表示处理之间共有的微生物属。

图 2 不同处理对土壤微生物 β 多样性的影响

2.4.3 不同处理根际土壤细菌群落组成分析

TCCA、DW8、TCCA+DW8 和对照组土壤细菌群落在门水平的组成情况如图 3a 所示, 各处理组细菌群落均以变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteriota)、芽单胞菌门(Gemmatimonadota)、拟杆菌门(Bacteroidota)、厚壁菌门(Firmicutes)、浮霉菌门(Planctomycetota)为优势菌门, 其中变形菌门的相对丰度最大, 对照组变形菌门相对丰度最高, 为 27.92%; DW8 处理组放线菌门相对丰度为 16.31%, 绿弯菌门相对丰度为 15.27%, 厚壁菌门相对丰度为 10.05%; TCCA 处理组酸杆菌门相对丰度为 16.82%、单胞菌门相对丰度为 6.21%, 浮霉菌门相对丰度为 5.24%; 拟杆菌门在 TCCA+DW8 处理组中相对丰度最高, 为 9.38%。上述结果表明不同处理通过选择性调控特定细菌类群的丰度, 显著重塑了根际土壤微生物群落结构, 其中联合处理(TCCA+DW8)导致拟杆菌门的特异性富集, 反映了两种处理的协同增效机制: TCCA 消毒剂缓解病原胁迫后, DW8 菌剂进一步通过营养竞争或代谢互作激活了具有有机物降解功能的拟杆菌类群, 从而优化根际微环境。

TCCA、DW8、TCCA+DW8 处理组和对照组土壤真菌群落在门水平的组成情况发现(图 3b), 真菌群落主要以子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、被孢霉门(Mor-

tierellomycota)为主,其中处理DW8能够显著提高子囊菌门(Ascomycota)相对丰度,相较于对照上升了25.9%;同时,TCCA和DW8处理组均降低了担子菌门(Basidiomycota)的相对丰度,分别降低了11.0%和11.1%。这些结果为解析TCCA消毒剂与DW8菌剂在调控真菌群落、抑制土传病害中的作用机制提供了重要依据,同时也为优化真菌群落结构以增强土壤健康提供了理论支持。

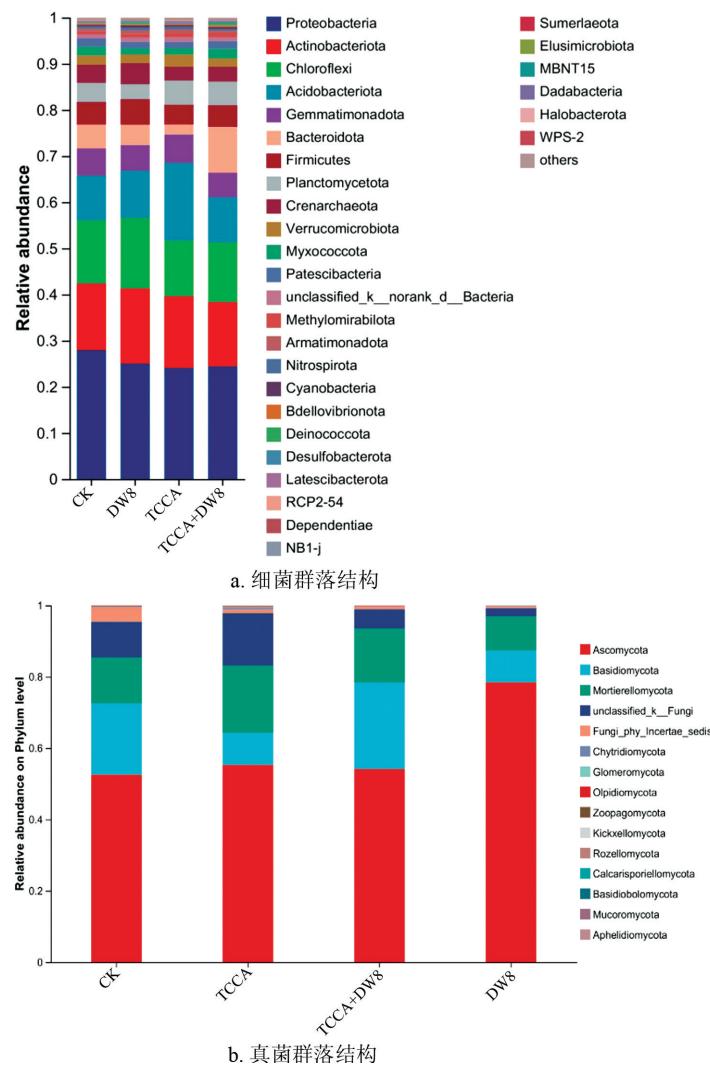


图3 不同处理烟草根际微生物群落在门水平的结构特征

消毒剂TCCA和菌剂DW8处理后土壤细菌群落在属水平下组成如图4a所示,与对照相比,TCCA处理后鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、*Chryseolinea*相对丰度降低;TCCA+DW8处理后鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、链霉菌属(*Streptomyces*)相对丰度降低;DW8处理后鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、*Chryseolinea*相对丰度降低,而芽孢杆菌属(*Bacillus*)、链霉菌属(*Streptomyces*)相对丰度升高,该结论进一步验证了其通过功能菌定殖增强土壤抗病能力的机制。

消毒剂TCCA和菌剂DW8处理后土壤真菌群落在属水平下组成如图4b所示,TCCA、DW8、TCCA+DW8处理均降低了空白菌属的优势菌属为白环蘑属(*Leucoagaricus*)、*Phialemonium*相对丰度,提高了毛葡萄属(*Botryotrichum*)、丝核菌属(*Papulaspora*)相对丰度。值

值得注意的是,相对于CK,处理DW8降低了镰刀菌属(*Fusarium*)的相对丰度,镰刀菌属通常与多种植物病害相关。总之,不同的处理会通过调节土壤真菌群落的组成,增强了土壤的抑病能力,从而为植物生长提供了更有利的微生物环境。

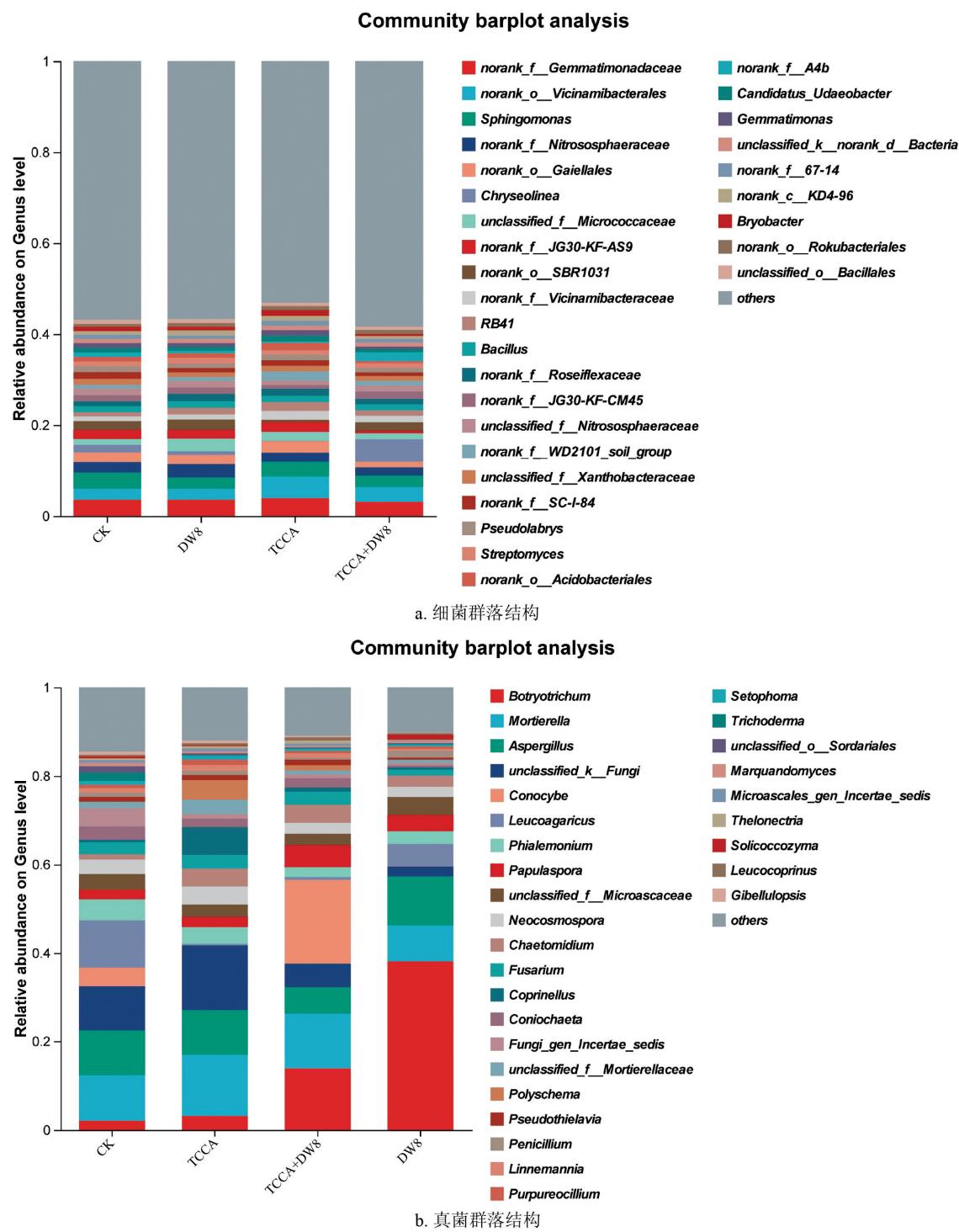


图4 不同处理烟草根际微生物群落在属水平的结构特征

3 讨论与结论

3.1 讨论

青枯病是全球性重要植物病害, 严重影响了包括烟草、番茄、茄子等在内的多种茄科经济作物的产量与品质, 因此其防治一直是农业科研领域的热点之一。近年来, 化学—生物联合防治在青枯病方面取得了显著进展, 尤以消毒剂与生防菌的联合应用最具潜力^[28]。研究表明, 二者协同可在降低病原体初始侵染源的同时, 强化作物自身抗病能力, 从而实现对青枯病更加持久且高效的控制^[29]。低剂量氯基或季铵盐类消毒剂预先处理土壤, 可迅速减少病原青枯菌数量; 随后引入特定生防菌株。例如, 通过使用低浓度的氯基或季铵盐类消毒剂处理土壤, 可以有效减少土壤中病原细菌的数量, 之后接种特定的生防菌株(如芽孢杆菌属或假单胞菌属)。这些有益微生物不仅能够占据病原菌生存的空间位点, 还能分泌抗菌物质抑制病原菌生长, 甚至激活植物的系统获得抗性机制, 从而达到协同增效的目的^[30]。贾喜霞等^[31]的研究表明, 土壤消毒剂联合微生物有机肥及生防菌剂可有效提升连作茄子的根系吸收功能, 增强叶片的光合作用性能, 促进植株生长并增加产量。周登博等^[32]发现, 在降低土壤中病原菌的基础上, 将拮抗菌饼肥发酵液与土壤消毒剂配合施用, 不仅可以增加土壤中拮抗微生物的种类, 还能提高土壤微生物多样性, 进而改善土壤微生物生态结构。

本研究通过整合三氯异氰尿酸化学消毒与 DW8 有益菌拮抗的协同策略, 揭示了二者在青枯病防控体系中的互补关系。从作用时序来看, TCCA 作为广谱氧化性消毒剂, 通过释放次氯酸分子直接灭杀根际土壤中的青枯菌, 快速降低病原基数至阈值以下, 为后续生防菌定殖创造低竞争的压力环境。而 DW8 在消毒剂处理后的微生态位中快速增殖, 占据病原菌的潜在定殖位点, 构建利于植物抗病的微生物屏障。其次 DW8 还可能分泌抗菌物质, 从而激活烟草系统抗性相关基因, 具体机制尚待进一步研究。从系统调控角度来看, 联合处理通过“化学消杀—生物占位”的级联效应, 不仅能够降低病原体基数, 还能促进土壤中有益微生物群落的发展, 从而构建更加健康稳定的土壤微生物生态系统, 强化植物的自然防御能力, 实现青枯病的高效防控。该协同策略突破了传统化学防治的耐药性困境, 同时规避了单一生物防治响应滞后的缺陷, 其揭示的“消毒—定殖—拮抗”动态互作规律为土传病害的生态调控提供了新范式, 也为微生态定向调控技术的开发奠定了理论基础。

3.2 结论

田间试验结果表明, 各处理对烤烟生育期无影响, 现蕾期和打顶期 TCCA+DW8 处理在最大叶面积和茎围上显著优于对照组, 其中最大叶面积较对照分别提高 8.91% 和 16.58% (有效叶面积)、茎围较对照分别提高 12.76% 和 7.30%, 说明 TCCA+DW8 协同处理能够有效提高烤烟打顶后的叶面积及抗倒伏能力。病害调查结果表明, 所有处理均对青枯病有一定防效, 前期消毒剂 TCCA 单独处理能够有效防治青枯病, 但后期其相对防效降低。而生防菌 DW8 单独处理在后期表现出较好的防效, 体现了生物防治的持续性和稳定性。总的来说, TCCA+DW8 联合处理对青枯病的防效可达 66.57%, 显著优于二者单用, 说明三氯异氰尿酸 50 g/667 m² 增施 DW8 300 mL/株可有效控制烟草青枯病。上述结果为生物—化学联合防治提供了实践基础, 充分验证了其高效性、稳定性和可行性。因此, 消毒剂和生防菌联合防治青枯病值得进一步深入研究和开发利用。

在对烟草根际土壤微生物结构与功能的分析中, 基于 Bray-Curtis 距离的 PCoA 分析显示, DW8 处理、TCCA+DW8 处理和对照组在主坐标空间内呈现明显的空间分离趋势(图 2a, 2b),

且 DW8 处理与对照组的分离距离最大, ANOSIM 检验进一步证实, 各处理样品间的细菌群落组间差异大于组内差异, 细菌群落差异显著($R^2=0.3484, p=0.0010$), 表明 DW8 的引入显著改变了土壤细菌和真菌的群落结构。门水平上, 不同处理组的烟草根际土壤微生物群落组成基本一致(图 3), 但各处理间优势菌门占比存在差异; 在属水平, 不同处理组的烟草根际土壤微生物的群落组成部分一致(图 4), 但各处理群落组成发生了一定的变化。综合而言, 对照组的烟草根际土壤微生物结构与其余处理有较大差异, 并且与 DW8 和 TCCA+DW8 处理差异最大, 该结果与病害调查结果一致, 说明使用三氯异氰尿酸消毒剂增施拮抗菌 DW8 或单独施用拮抗菌 DW8 能够改变烟草根际土壤微生物群落结构, 从而有效防控烟草根茎病害。

参考文献:

- [1] 祖庆学, 聂忠扬, 林松, 等. 新形势下烟草青枯病发生特点与防治技术措施 [J]. 植物医学, 2022, 1(1): 90-96.
- [2] GENIN S, DENNY T P. Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* Species Complex [J]. Annual Review of Phytopathology, 2012, 50: 67-89.
- [3] YANG L, WU L T, YAO X Y, et al. Hydroxycoumarins: New, Effective Plant-Derived Compounds Reduce *Ralstonia pseudosolanacearum* Populations and Control Tobacco Bacterial Wilt [J]. Microbiological Research, 2018, 215: 15-21.
- [4] LOWE-POWER T M, KHOKHANI D, ALLEN C. How *Ralstonia solanacearum* Exploits and Thrives in the Flowing Plant Xylem Environment [J]. Trends in Microbiology, 2018, 26(11): 929-942.
- [5] MA X Z, XIANG S Y, XIE H J, et al. Fabrication of pH-Sensitive Tetramycin Releasing Gel and Its Antibacterial Bioactivity Against *Ralstonia solanacearum* [J]. Molecules, 2019, 24(19): 3606.
- [6] 丁伟, 刘颖, 李石力, 等. 烟草青枯病的病原特性及流行预警 [J]. 植物医生, 2020(2): 1-10.
- [7] 侯金凤, 申民翀, 孙菲菲, 等. 番茄连作青枯病不同发病时期的非根际土壤细菌群落变化特征 [J]. 微生物学报, 2022, 62(9): 3464-3477.
- [8] 单晓鹏. 烟草青枯病的防治研究进展 [J]. 现代农业科技, 2021(11): 111-113.
- [9] 何洪令, 李钠钾, 孙成成, 等. 烟草青枯病的生物防治研究进展 [J]. 植物医生, 2021(2): 4-8.
- [10] 肖田, 姚廷山. 烟草青枯病的发生特点与综合防治技术 [J]. 云南农业科技, 2008(1): 56-57.
- [11] 刘帅康, 黎听, 丰慧, 等. 青枯病生物防治研究进展 [J]. 植物医学, 2023, 2(4): 39-46.
- [12] LIU J P, TANG Y J, BAO J S, et al. A Stronger Rhizosphere Impact on the Fungal Communities Compared to the Bacterial Communities in Pecan Plantations [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 899801.
- [13] ZHOU H, REN Z H, ZU X, et al. Efficacy of Plant Growth-Promoting Bacteria *Bacillus cereus* YN917 for Biocontrol of Rice Blast [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 684888.
- [14] ASIF R, SIDDIQUE M H, AHMAD ZAKKI S, et al. *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137 Potentiates Chemical Fungicide Carbendazim in Treating *Fusarium oxysporum* f. sp. *Vasinfestum*-Induced Cotton Wilt Disease [J]. Dose-response, 2020, 18(3): 1559325820960346.
- [15] D'ERRICO G, MARRA R, CRESCENZI A, et al. Integrated Management Strategies of *Meloidogyne incognita* and *Pseudopyrenophaeta lycopersici* on Tomato Using a *Bacillus firmus*-Based Product and Two Synthetic Nematicides in Two Consecutive Crop Cycles in Greenhouse [J]. Crop Protection, 2019, 122: 159-164.
- [16] DELA CRUZ J A, CAMENZIND T, XU B L, et al. Limited Role of Fungal Diversity in Maintaining Soil Processes in Grassland Soil under Concurrent Fungicide Stress [J]. Environmental Sciences Europe, 2024, 36(1): 156.
- [17] DU C J, YANG D, JIANG S B, et al. Biocontrol Agents Inhibit Banana *Fusarium* Wilt and Alter the Rooted Soil Bacterial Community in the Field [J]. Journal of Fungi, 2024, 10(11): 771.

- [18] ONS L, BYLEMANS D, THEVISSEN K, et al. Combining Biocontrol Agents with Chemical Fungicides for Integrated Plant Fungal Disease Control [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(12): 1930.
- [19] BHATNAGAR H. Integrated Use of Biocontrol Agents with Fungicides to Control Wilt Incidence in Pigeon-Pea [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1995, 11(5): 564-566.
- [20] WANG J B, YUE T, HE C, et al. Biocontrol of Tomato Bacterial Wilt by a Combination of *Bacillus subtilis* GSJB-1210 and Ningnanmycin [J]. *Scientia Horticulturae*, 2023, 321: 112296.
- [21] OLOWE O M, OLAWUYI O J, SOBOWALE A A, et al. Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi as Biocontrol Agents Against *Fusarium verticillioides* Causing Ear Rot of *Zea mays* L. (Maize) [J]. *Current Plant Biology*, 2018, 15: 30-37.
- [22] PACHECO-MORENO A, STEFANATO F L, FORD J J, et al. Pan-Genome Analysis Identifies Intersecting Roles for *Pseudomonas* Specialized Metabolites in Potato Pathogen Inhibition [J]. *ELife*, 2021, 10: e71900.
- [23] 宋晓兵, 彭埃天, 凌金锋, 等. 三氯异氰尿酸对香蕉叶鞘腐烂病的抑制效果 [J]. *植物保护*, 2016, 42(1): 235-237.
- [24] 冯永新, 关辉, 斯彦峰, 等. 短小芽孢杆菌与化学杀细菌剂协同防治烟草青枯病研究 [J]. *中国烟草科学*, 2021, 42(4): 44-49.
- [25] 苏珍珠, 楼兵干, 王洪凯, 等. 一种利用印度梨形孢和三氯异氰尿酸联合防治烟草青枯病的方法: CN105766493B [P]. 2019-01-15.
- [26] LIU Y, TANG Y M, QIN X Y, et al. Genome Sequencing of *Ralstonia solanacearum* CQPS-1, a Phylotype I Strain Collected from a Highland Area with Continuous Cropping of Tobacco [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 974.
- [27] 沈宗专, 黄炎, 操一凡, 等. 健康与罹患青枯病的番茄土壤细菌群落特征比较 [J]. *土壤*, 2021, 53(1): 5-12.
- [28] 吴佳佳. 土壤消毒后添加木霉对黄瓜病害防控及土壤微生物群落变化的影响 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2022.
- [29] ACOSTA-GONZÁLEZ U, SILVA-ROJAS H V, FUENTES-ARAGÓN N D, et al. Comparative Performance of Fungicides and Biocontrol Products in the Management of *Fusarium* Wilt of Blackberry [J]. *Plant Disease*, 2022, 106(5): 1419-1427.
- [30] BORRERO C, TRILLAS M I, DELGADO A, et al. Effect of Ammonium/Nitrate Ratio in Nutrient Solution on Control of *Fusarium* Wilt of Tomato by *Trichoderma asperellum* T34 [J]. *Plant Pathology*, 2012, 61(1): 132-139.
- [31] 贾喜霞, 师桂英, 黄炜, 等. 土壤消毒剂配施微生物有机肥及生防菌剂缓解设施茄子连作障碍的作用效应微生物菌剂 [J]. *分子植物育种*, 2020, 18(13): 4492-4498.
- [32] 周登博, 井涛, 谭昕, 等. 施用拮抗菌饼肥发酵液和土壤消毒剂对香蕉枯萎病病区土壤细菌群落的影响 [J]. *微生物学报*, 2013, 53(8): 842-851.

责任编辑 孙文静 崔玉洁