

## 诱导抗病剂与生防制剂在烟草上的防效研究

吴 剑<sup>1</sup>, 何 军<sup>1</sup>, 李祥军<sup>1</sup>, 王继明<sup>1</sup>, 郑元仙<sup>1</sup>, 张廷金<sup>2</sup>, 尹忠仁<sup>2</sup>, 闫春丽<sup>2\*</sup>

(1. 云南省烟草公司 临沧市公司, 云南 临沧 677000; 2. 昆明保腾生化技术有限公司, 云南 昆明 650106)

**摘要:**针对临沧新烟区烟草花叶病、赤星病等病害普遍发生的生产实际问题,开展了青霉菌灭活菌丝体、枯草芽孢杆菌和哈慈木霉菌在烤烟上的抗性比较研究,选取这3种药剂在烤烟大田期进行施药,观察各药剂的防治效果。结果表明,4个采用生物防治措施的处理均对烟草花叶病、赤星病具有显著的防控效果,其中“青霉菌灭活菌丝体+枯草芽孢杆菌+哈慈木霉菌”组合处理对烟草花叶病、赤星病防控效果最好,相对于空白对照防效分别为92.35%和55.12%,相对于化学药剂防效分别为13.0%和4.7%。

**关键词:**烤烟;青霉菌灭活菌丝体;枯草芽孢杆菌;哈慈木霉菌

**中图分类号:**S572 **文献标识码:**A **文章编号:**1674-5639(2015)06-0007-04

**DOI:**10.14091/j.cnki.kmxyxb.2015.06.002

### Study Control Effect of Induced-resistance Activator and Bio-control Agents on Tobacco

WU Jian<sup>1</sup>, HE Jun<sup>1</sup>, LI Xiang-jun<sup>1</sup>, WANG Ji-ming<sup>1</sup>, ZHENG Yuan-xian<sup>1</sup>,

ZHANG Ting-jin<sup>2</sup>, YIN Zhong-ren<sup>2</sup>, YAN Chun-li<sup>2\*</sup>

(1. Lincang Unicipal Company of Yunnan Tobacco, Yunnan Lincang 677000, China;

2. Kunming Baoteng Biochemical Technology Limited Company, Yunnan Kunming 650106, China)

**Abstract:** Considering the tobacco mosaic virus (TMV) and brown spot disease prevailing in Lincang new tobacco-growing area, organic induced resistant agent (DMP), *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* were studied comparatively on flue-cured tobacco resistance. Three kinds of selected organic induced resistant agent (DMP), *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* are used in flue-cured tobacco fields to observe the control effect. The result shows that four methods all have significant effect on the tobacco mosaic virus (TMV) and brown spot disease. Among which DMP + *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* performed best on TMV and brown spot disease with a control effect of 55.12% comparing with blank control effect for brown spot disease and 92.35% for (TMV), with a control effect of 4.7% comparing with chemical control effect for brown spot disease and 13.0% for (TMV).

**Key words:** flue-cure tobacco; *Penicillium chrysogenum*; *Bacillus subtilis*; *Trichoderma harzianum*

植物病害生物防治是利用生物物种间的相互关系,通过一种或一类有益生物周围的微生物群落和环境因素之间的相互关系,抑制植物病原物数量或降低其致病能力,从而达到防控植物病害的一类措施<sup>[1-3]</sup>。目前用于植物病害生物防治的有益微生物主要有细菌、真菌、放线菌等多生物种群。其中,用于植物病害生物防治的细菌主要有 *Bacillus*, *Agrobacterium*<sup>[4]</sup>, *Pseudomonas*<sup>[5-6]</sup>, *Xanthomonas*, *Erwinia*<sup>[7-8]</sup>

等属的菌株。木霉菌 (*Trichoderma* spp.) 属菌株具有抗病谱广、适应性强和多机制性等特点,一直是科研工作者们研究的热点生防因子,是未来最有潜力的生防因子之一<sup>[9]</sup>。

植物诱导抗病剂是指能够诱导植物产生系统抗性使其具有一定抗病能力的生物制剂。青霉菌灭活菌丝体 (dry mycelium of *Penicillium chrysogenum*, 本文均简称 DMP) 是由生产青霉素的残渣经高温灭活

收稿日期:2015-08-02

基金项目:云南省烟草公司科技计划资助项目(2013YN36)。

作者简介:吴剑(1973—),男,云南宣威人,农艺师,在职硕士研究生,主要从事烟草栽培研究。

\* 通讯作者:闫春丽(1986—),女,云南昆明人,助理农艺师,硕士,主要从事植物病害生防技术研究, E-mail:654197802@qq.com.

而制得,能够诱导植株产生系统获得性抗病性,还能促进植株生长,显著降低烟草两黑病、花叶病(TMV)、赤星病的发病率<sup>[10-14]</sup>,现已在云南省烤烟生产上推广应用 13 万  $\text{hm}^2$  以上,是近年来在云南省内烟草上应用范围最广的植物免疫技术,已取得了显著的经济效益和社会效益。

随着国家“一控、两减、三基本”战略的提出,生态、环保、安全的病虫害防治方法的研究与应用正受到社会的广泛关注和重视。为此,本试验在前人研究的基础上开展青霉菌灭活菌丝体和微生物菌剂在临沧新烟区的适应性研究,旨在针对临沧新烟区黑胫病、花叶病、赤星病等烟草病害普遍存在且防控难的生产实际问题,寻求主要病害的绿色防控新技术,为指导当地烤烟生产提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

以烤烟品种 MSK326 为试验材料,试验地点设在云南省临沧市临翔区华叶庄园试验区内(海拔 1 700 m,年平均气温 17  $^{\circ}\text{C}$ )。青霉菌灭活菌丝体(DMP)、哈慈木霉菌(*Trichoderma harzianum*, 本文均简称为木霉菌)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, 本文均简称为芽孢杆菌)由昆明保腾生化技术有限公司提供。160 孔泡沫塑料漂浮育苗盘和基质由云南省临沧市烟草公司提供。

### 1.2 大田试验设计

试验共设 6 个处理,每个处理 3 次重复,小区面积为 20  $\text{m}^2$ ,随机区组排列。各处理具体如下:

处理 A. 栽时将 DMP 按 7.5  $\text{kg}/\text{hm}^2$  与细土或农家肥拌匀施于塘内;

处理 B. 移栽时将 DMP 按 7.5  $\text{kg}/\text{hm}^2$  与细土或农家肥拌匀施于塘内,分别于团棵期、打顶前将木霉菌兑水喷淋茎基部和叶面;

处理 C. 移栽时将 DMP 按 7.5  $\text{kg}/\text{hm}^2$  与细土或农家肥拌匀施于塘内,旺长期用芽孢杆菌菌剂灌根 1 次;

处理 D. 移栽时将 DMP 按 7.5  $\text{kg}/\text{hm}^2$  与细土或农家肥拌匀施于塘内,分别于团棵期、打顶前将木霉菌兑水喷淋茎基部和叶面,旺长期用芽孢杆菌菌剂灌根 1 次;

处理 E. 为常规药剂对照处理(烟草花叶病用宁南霉素、氨基寡糖素交替施用进行防控,赤星病用碱

式硫酸铜钙进行防控);

处理 F. 为空白对照处理,不施用防烟草花叶病和赤星病的任何药剂。

### 1.3 环境选择

选择种植 MSK326 烟草品种历年病害发生较严重的烟田(地)作为试验地,2014 年 5 月 1 日~5 月 2 日移栽,施纯 N 量根据当地优质烟栽培施肥水平, $m(\text{N}):m(\text{P}_2\text{O}_5):m(\text{K}_2\text{O})=1:1:(2.5\sim3.5)$ 。田间管理按照优质烟栽培措施要求执行。

### 1.4 数据来源及分析

病害分级标准:执行 GB/T 23222—2008,计算公式如下:

发病率 = [发病株(叶)数/调查总株(叶)数]  $\times$  100%;

病情指数 = [  $\sum$  (各级病叶数  $\times$  该病级值) / (调查总叶数  $\times$  最高级值) ]  $\times$  100;

防控效果 = [ (空白对照区病指 - 处理区病指) / 空白对照区病指 ]  $\times$  100%。

使用 Excel 进行数据统计及分析,并采用 Duncan 法对大田期农艺性状、田间自然发病情况等 进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理对烟株生物学性状的影响

#### 2.1.1 对主要农艺性状的影响

由下表 1 可知,现蕾期和成熟期均是处理 D 株高极显著高于常规防治处理 E 和空白对照处理 F,而处理 A、C、E 株高均是高于空白对照处理 F,但差异无统计学意义。处理 B 株高在现蕾期和成熟期都显著高于空白对照处理 F,其中现蕾期处理 B 株高极显著高于空白对照处理 F。

在现蕾期和成熟期,处理 B 和处理 D 的茎围均极显著高于空白对照处理 F,而处理 A、C、E 的茎围均是略高于空白对照处理 F。叶片数方面,现蕾期处理 A、B、C、D、E 叶片数均与空白对照处理 F 差异无统计学意义。成熟期处理 A、D 叶片数显著高于空白对照处理 F,其中处理 A 的叶片数极显著高于空白对照处理 F。综合现蕾期和成熟期结果可知,在大田期使用“DMP + 木霉菌”能显著提高烟株的株高和茎围,使用“DMP + 木霉菌 + 芽孢杆菌”能极显著提高烟株的株高和茎围,促进烟株健壮生长。

表 1 大田主要生育期农艺性状调查结果

处理	现蕾期			成熟期		
	株高/cm	茎围/cm	叶数/片	株高/cm	茎围/cm	叶数/片
A	112.9 bcABC	8.2 bBC	23.1 aA	110.9 bcAB	8.8 bABC	22.8 aA
B	116.6 abAB	8.4 aAB	22.1 aA	114.6 abAB	9.0 aAB	21.8 abAB
C	113.5 bcABC	8.1 bcCD	22.3 aA	111.5 bcAB	8.7 bBC	22.0 abAB
D	119.0 aA	8.6 aA	22.7 aA	117.0 aA	9.1 aA	22.4 aAB
E	111.9 cBC	7.9 cD	21.9 aA	109.9 bcB	8.6 bBC	21.6 abAB
F	109.8 cC	8.0 bcCD	21.1 aA	108.3 cB	8.5 bC	20.7 bB

注:在同一测定项目中不同字母表示不同显著水平(小写字母表示  $p < 0.05$ , 大写字母表示  $p < 0.01$ )。

2.1.2 对叶长的影响

由下图 1 可知,在烟株的团棵期、现蕾期和成熟期采用生物防治措施的 4 个处理(处理 A、处理 B、处理 C 和处理 D)的平均最大叶长均显著高于常规防治处理 E 和空白对照处理 F。其中处理 C 团棵期平均最大叶长最高,处理 D 现蕾期和成熟期平均最大叶长最高,表明大田期使用 DMP、木霉菌和芽孢杆菌能够显著提高烟株最大叶长,促进烟叶的纵向生长。

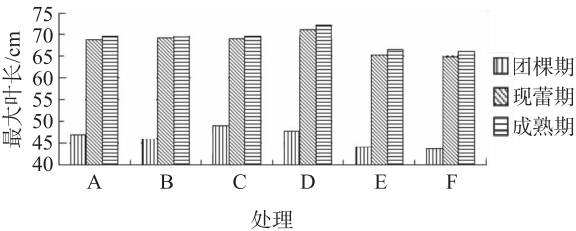


图1 大田主要生育期平均最大叶长调查统计

2.1.3 对叶宽的影响

由下图 2 可知,在烟株的团棵期、现蕾期和成熟期采用生物防治措施的 4 个处理(处理 A、处理 B、处理 C 和处理 D)的平均最大叶宽均显著高于常规防治处理 E 和空白对照处理 F。其中处理 C 团棵期平均最大叶宽最高,处理 D 现蕾期和成熟期平均最大叶宽最

高,表明大田期使用 DMP、木霉菌和芽孢杆菌菌剂能极显著提高烟株最大叶宽,促进烟叶的横向生长。

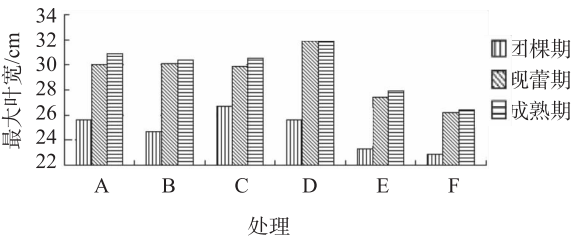


图2 大田主要生育期平均最大叶宽调查统计

2.2 不同处理对烟草花叶病和赤星病的防控效果

从下表 2 可知,各处理对烟草花叶病(TMV)、赤星病的防控效果高低顺序依次为:处理 D > 处理 E(化学防治处理) > 处理 A > 处理 B > 处理 C > 处理 F(空白对照处理),其中处理 D(DMP + 芽孢杆菌 + 木霉菌)对烟草花叶病、赤星病的防控效果最好,相对于空白对照防效分别为 92.35% 和 55.12%,且防控效果均高于化学防治处理,这表明在烤烟大田期配合使用青霉菌灭活菌丝体、木霉菌、芽孢杆菌菌剂对烟草花叶病、赤星病具有显著的防控效果。

表 2 田间自然发病情况调查统计结果

处理	花叶病(TMV)			赤星病		
	发病率/%	病指	防效/%	发病率/%	病指	防效/%
A	0.83	0.092 6	87.04	4.82	0.612 0	44.72
B	0.83	0.185 2	74.09	5.05	0.716 2	35.31
C	0.88	0.293 7	58.91	5.59	0.740 7	33.10
D	0.49	0.054 7	92.35	4.11	0.496 9	55.12
E	0.51	0.062 9	91.20	4.25	0.521 4	52.90
F	1.75	0.714 7	—	7.79	1.107 1	—

### 3 小结与讨论

#### 3.1 小结

采用生物防治措施的 4 个处理都对烟株的生长产生积极影响,其中“DMP + 芽孢杆菌 + 木霉菌”组合对烟株的促生效果最好,能够极显著提高烟株的茎围、株高、最大叶长、最大叶宽。

大田期病害调查结果表明,采用生物防治措施的 4 个处理(处理 A、处理 B、处理 C 和处理 D)均对烟草花叶病(TMV)和烟草赤星病具有显著的防控效果,其中,“DMP + 芽孢杆菌 + 木霉菌”组合对烟草花叶病、赤星病防控效果最好,相对于空白对照防效分别为 92.35% 和 55.12%,这表明青霉菌灭活菌丝体(DMP)、芽孢杆菌和木霉菌在临沧烟区烟株大田生长期适应性较好,能够很好地发挥其促生和降低烟草花叶病、赤星病等两种病害发生率的功效,可在临沧新烟区应用推广,成为一种有效的生防防治方法。

#### 3.2 讨论

DMP 富含多肽、多糖,能为烟株的生长提供营养。杨新成等<sup>[13]</sup>研究表明,DMP 处理的烟苗在大田期烟草花叶病病情指数明显降低,防治效果达 50% ~ 77%。端永明等<sup>[14]</sup>研究发现,当 DMP 用量相同时,5 kg/hm<sup>2</sup> 每株烟额外浇水 9 L 的处理对烟草花叶病、赤星病和白粉病的相对防效分别提高 10.9%,3.4% 和 16.8%,对黑胫病的相对防效降低 26.6 个百分点。此外,端永明等<sup>[15]</sup>通过研究表明,在烤烟移栽期和中耕期使用 DMP,对烟草赤星病的防效达到 71.23% ~ 78.83%。木霉菌是一种高效广谱生防因子,其防病机制包括竞争作用、重寄生作用、抗生作用和诱导植物抗性作用等多种,且不同作用方式之间往往具有协同作用,哈茨木霉制剂能够提高烟株对土壤营养吸收率,从而促进烟株的生长<sup>[16]</sup>。龙春瑞等<sup>[11]</sup>开展了“DMP + 绿色木霉菌”组合在烤烟育苗上的应用研究,结果表明,“DMP + 绿色木霉菌”组合与单独使用“DMP”处理相比,能显著的提高烟苗的出苗率、提高烟苗素质、有效防控烟株苗期黑胫病。枯草芽孢杆菌具有广谱抗菌活性和极强的抗逆能力,以及促生作用明显、不易产生抗药性等特点,其作用机理主要包括:营养竞争、空间位点竞争和诱导植物抗性<sup>[17]</sup>。张成省等<sup>[18]</sup>开展了枯草芽孢杆菌 Tpb55 抗烟草普通花叶病毒(TMV)活

性研究,结果表明,Tpb55 菌悬液对 TMV 具有较好的钝化、预防和治疗效果,枯斑抑制率分别为 96.15%,79.72% 和 65.71%。赵秀香等<sup>[19]</sup>通过研究心叶烟上的抗病毒活性结果表明,枯草芽孢杆菌 SN-02 的发酵滤液与 TMV 混合接种,枯斑抑制率达 98.54%,接种前喷施的预防效果为 92.05%,高于接种后喷施的治疗效果(66.2%)。

本试验首次将 DMP 与枯草芽孢杆菌、哈慈木霉菌技术集成在烤烟大田期进行应用研究,而“DMP + 芽孢杆菌 + 木霉菌”组合处理在以往文献中未见报道,因此具有独创性,是本文的创新点,该组合对烟株的促生效果、对烟草花叶病(TMV)、赤星病的防控效果均高于“DMP”“DMP + 芽孢杆菌”和“DMP + 木霉菌”等 3 个处理,这可能是由于“DMP + 芽孢杆菌 + 木霉菌”组合使用产生了协同作用。

#### [参考文献]

- [1] COOK R J. Making greater use of introduced microorganisms for biological control pathogens[J]. Annual Review of Phytopathology, 1993, 31(1): 53 - 80.
- [2] COOK R J, THOMASHOW L S, Weller D M, et al. Molecular mechanisms for biological control pathogens[J]. Phytopathology, 1995, 31: 53 - 80.
- [3] ECHANDI E. Production properties and morphology of bacteriocin from *Erwinia chrysanthemi* [J]. Phytopathol, 1979, 69(10): 1204 - 1207.
- [4] KERR A. Biological control of crown gall through production of agrocin 84[J]. Plant Disease, 1980, 64: 25 - 30.
- [5] SCHIPPERS B, BAKKER A W, BAKKER P H. Interactions of deleterious and beneficial Rhizosphere microorganisms and the effects of cropping practice[J]. Ann Rev Phytopathology, 1987, 25: 339 - 358.
- [6] WELLER D M, COOK R J. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria[J]. Ann Rev Phytopathology, 1988, 26: 379 - 407.
- [7] CHUNG D Y, KYEREMEN A G, GUNJI Y, et al. Identification and cloning of an *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* bacteriocin regulator gene by insertional mutagenesis[J]. J Bacteriol, 1999, 181: 1953 - 1957.
- [8] 陈龙瑛, 吴印青, 范林华, 等. 桃树根癌病的生物防治[J]. 中国果树, 1995(1): 8 - 10.
- [9] 杨合同. 木霉分类与鉴定[M]. 北京: 中国大地出版社, 2009.

(下转第 17 页)

天气条件的影响,调制方法和调制设备有待优化和改善.为此,本试验通过研究晒棚不同进风出风开设方式对晒烟在晒制过程中烟叶失水、变色、干燥规律及烟叶品质的影响.因不同通风方式与烟叶失水、变色、干燥速率不一致,会影响到烟叶的外观质量、化学成分及风格特点<sup>[1,5]</sup>.因此,适宜的通风方式对优质晒烟的生产至关重要.本试验的研究结果表明:以晒棚四进风、屋脊排湿烟叶外观质量好,单叶质量较大,化学成分协调性好,综合表现较优;晒棚两头通风排湿四周封闭烟叶外观质量较好,单叶质量适中,化学成分较协调,综合表现尚好;晒棚两侧通风排湿两头封闭烟叶外观质量稍次,单叶质量较轻,化学成分欠协调,综合表现较差.不同部位各处理间晒制期温、湿度虽有差异,但均适应烟叶晒制.此外,随晒制进程的推进,烟叶失水率也随之增大,而失水速度和失水率分配总体呈现递减变慢趋势.

#### [参考文献]

- [1] 柴家荣,谢丽华,张晨东,等.不同晒制方法与晒黄烟质量关系的研究[J].西南农业学报,2014,27(6):2654-2660.
- [2] 王毅,兰应海,杨光辉,等.两种调制方法对晒黄烟质量影响的研究[J].农业科学与技术:英文版,2012,13(10):2097-2100.
- [3] 张卓,周冀衡,聂铭,等.大棚调制对宁乡晒黄烟烟叶质量的影响[J].江苏农业科学,2013,41(1):273-274.
- [4] 许清孝,覃潇,徐双红,等.晒黄烟大棚调制技术研究[J].作物研究,2013,27(2):143-147.
- [5] 王晖,首安发,黄瑾,等.不同棚内调制方法对晒黄烟等级及外观质量的影响[J].西南农业学报,2013,26(6):2527-2531.
- [6] 国家烟草质量监督检验中心.YC/T 159—2002 烟草及烟草制品水溶性糖的测定连续流动法[S].北京:中国标准出版社,2002.
- [7] 国家烟草质量监督检验中心.YC/T 217—2007 烟草及烟草制品钾的测定连续流动法[S].北京:中国标准出版社,2007.
- [8] 国家烟草质量监督检验中心.YC/T 160—2002 烟草及烟草制品总植物碱的测定连续流动法[S].北京:中国标准出版社,2002.
- [9] 国家烟草质量监督检验中心.YC/T 161—2002 烟草及烟草制品总氮的测定连续流动法[S].北京:中国标准出版社,2002.
- [10] 国家烟草质量监督检验中心.YC/T 162—2002 烟草及烟草制品氯的测定连续流动法[S].北京:中国标准出版社,2002.
- [11] 国家烟草质量监督检验中心.YC/T 249—2008 烟草及烟草制品蛋白质的测定连续流动法[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [10] 徐兴阳,端永明,董家红,等.植物有机诱导抗病剂“多肽保”对TMV的防控效果[J].昆明学院学报,2010,32(6):6-9.
- [11] 龙春瑞,张拯研,王建光,等.青霉菌灭活菌丝体与一株木霉菌组合在烤烟苗上的应用效果[J].贵州农业科学,2013,41(6):106-109.
- [12] 董家红,徐兴阳,张廷金,等.“AHO+多肽保”组合剂诱导不同烤烟品种抗TMV的效果[J].昆明学院学报,2012,34(3):1-3.
- [13] 杨新成,端永明,王晓霞,等.青霉菌灭活菌丝体对烤烟漂浮育苗生长和抵抗烟草花叶病的影响[J].云南农业大学学报,2013,28(2):169-174.
- [14] 端永明,张廷金,徐兴阳,等.水分对青霉菌灭活菌丝体制剂诱导抗病效果的影响[J].昆明学院学报,2014,36(3):24-26.
- [15] 端永明,徐兴阳,尹平,等.“多肽保”对烟草赤星病的防治效果探索[J].昆明学院学报,2011,33(6):21-22.
- [16] 宋晓研,孙彩云,陈秀兰,等.木霉生防作用机制的研究进展[J].中国农业科技导报,2006,8(6):20-25.
- [17] 李晶,杨谦.生防枯草芽孢杆菌的研究进展[J].安徽农业科学,2008,36(1):106-111,132.
- [18] 张成省,孙凡玉,刘朝科,等.枯草芽孢杆菌 Tph55 抗烟草普通花叶病毒(TMV)活性研究[J].中国烟草学报,2009,15(4):48-51.
- [19] 赵秀香,吴元华.枯草芽孢杆菌 SN-02 代谢物的抗病毒活性、表面活性剂特性及其化学成分分析[J].农业生物技术学报,2007,15(1):124-128.

(上接第10页)