

绿色木霉菌和抗生素溶杆菌对苗期及大田烟草影响的研究

端永明¹, 龙春瑞², 陈树林³, 王建光², 李秀军⁴, 陈穗云^{2*}, 尹忠仁⁴, 杨发⁴

(1. 云南省烟草公司 昆明市公司, 云南 昆明 650051;

2. 云南大学 生命科学学院, 云南 昆明 650091;

3. 云南省烟草公司昆明市公司 嵩明分公司, 云南 嵩明 651700;

4. 昆明保腾生化技术有限公司, 云南 昆明 650106)

摘要:采用绿色木霉菌和抗生素溶杆菌菌剂对苗期和大田烟草进行喷施处理, 研究它们对烟草农艺性状及黑胫病、野火病发病情况的影响. 结果表明: 苗期喷施质量浓度为 2.50 g/L 的绿色木霉菌菌剂, 对提升烟草素质效果好; 大田期喷施质量浓度为 2.50 g/L 的抗生素溶杆菌菌剂, 对提高大田烟草农艺性状的各指标效果好; 抗生素溶杆菌菌剂对大田烟草野火病防治效果较好, 而绿色木霉菌菌剂对大田烟草黑胫病的防治效果较好, 它们的最佳喷施质量浓度都是 2.50 g/L.

关键词:绿色木霉菌; 抗生素溶杆菌; 烟草农艺性状; 野火病; 黑胫病

中图分类号:S572 **文献标识码:**A **文章编号:**1674-5639(2012)06-0025-04

Study on Effect of *Trichoderma Viride* and *Lysobacter Antibioticus* Microbial Inoculum on Flue-cured Tobacco during Seedling and Field Period

DUAN Yong-ming¹, LONG Chun-ru², CHEN Shu-lin³, WANG Jian-guang²,

LI Xiu-jun⁴, CHEN Sui-yun^{2*}, YIN Zhong-ren⁴, YANG Fa⁴

(1. Kunming Municipal Tobacco Company of Yunnan Provincial Tobacco Company, Yunnan Kunming 650051, China;

2. College of Life Science, Yunnan University, Yunnan Kunming 650091, China;

3. Songming Branch of Kunming Municipal Tobacco Company, Yunnan Songming 651700, China;

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

Abstract: Spraying the seedling-stage and field period tobacco with *Trichoderma viride* and *Lysobacter antibioticus* microbial inoculum studies the effects of *Lysobacter antibioticus* and *Trichoderma viride* on agronomic trait, the incidence of black shank and wildfire diseases. The results suggested that 2.50 g/L *Trichoderma viride* microbial inoculum significantly increased the agronomic characters index in seedling-stage. The *Lysobacter antibioticus* microbial inoculum concentration of 2.50 g/L significantly increased the agronomic characters index in field period. The *Lysobacter antibioticus* had better control effect on tobacco wildfire disease, and the *Trichoderma viride* had better control effect on tobacco black shank, equally, optimal concentration of 2.50 g/L.

Key words: *Trichoderma viride*; *Lysobacter antibioticus*; agronomic trait; wildfire disease; black shank

烟草是我国重要的经济作物, 其产量、质量的好坏与生产效益密切相关^[1], 把握生产上的每一个重要环节, 是提高烟草产量和质量的基本措施. 从而, 人们使用大量的化学药剂和肥料来达到预期的效果, 这使得病虫害抗性越来越强, 防治效果逐年降低; 同时也使得大量有害物质积累, 危害人们的健康. 近年来, 绿色、环保、安全的烟草产品成为人们的

最终追求^[2-3], 这使得生物调节和防治手段成为目前重要的生产手段.

抗生素溶杆菌 (*Lysobacter antibioticus*) 和绿色木霉菌 (*Trichoderma viride*) 是大田生产重要的病虫害生防菌. 溶杆菌发现于土壤、水体中, Christensen 等^[4]研究发现溶杆菌属细菌对真菌、革兰氏阴性细菌、革兰氏阳性细菌和线虫都有突出的拮抗作用. 据

收稿日期: 2012-11-21

基金项目: 云南省烟草公司昆明市公司资助项目 (2012YN36); 云南省烟草公司曲靖市公司资助项目 (2011YN60, 2012YN10)

作者简介: 端永明 (1963—), 男, 云南昆明人, 农艺师, 主要从事烟草生产和病害研究.

*通讯作者: 陈穗云 (1970—), 女, 云南昆明人, 教授, 博士生导师, 博士, 主要从事植物诱导抗病及生理研究. E-mail: chensuiyun@ynu.edu.cn.

报道, 抗生素溶杆菌对水稻白叶枯病菌^[5]、甜菜猝倒病^[6-7]和辣椒疫霉病^[7]等有显著的控制效果, 同时能促进辣椒的生长^[8]。绿色木霉是自然界中普遍存在并有丰富资源的拮抗微生物, 它具有广谱性、适应性强和多机制性的特点^[9-10]。有研究显示, 绿色木霉对棉花枯萎病^[11]、番茄灰霉病^[12]、玉米丝黑穗病^[13]、西瓜枯萎病和香蕉枯萎病^[14]都有显著的防治效果。也有研究表明, 绿色木霉菌不仅对病原微生物有拮抗作用, 而且能直接作用于植物, 促进其萌发、生长和开花, 且它本身受外界干扰影响小^[10, 15-16], 能明显促进玉米^[13]、番茄^[17]、黄瓜^[18]、花生^[19]等作物的生长。

前期对抗生素溶杆菌和绿色木霉菌的研究主要集中在作物病害防治的研究, 而它们对经济作物—烟草生长及病害影响的研究却很少。本文拟研究抗生素溶杆菌和绿色木霉菌对烟草苗期和大田生产及病害的影响, 旨在为烟草大田生物调节及防治技术提供科学参数与实用方案。

1 材料和方法

1.1 材料

试验用烟草品种为红花大金元, 种子由玉溪中烟种子有限责任公司提供。育苗采用标准化大棚漂浮育苗, 设于昆明市宜良县竹山烟叶站育苗点, 烟草漂浮育苗使用专用基质和烤烟漂浮育苗专用盘(每盘162孔); 大田期试验用地为土壤肥力均一、灌溉条件良好、历年黑胫病和野火病发病较严重地块, 按当地生产规范化技术管理。供试抗生素溶杆菌菌剂(3×10^8 cfu/mL)、绿色木霉菌菌剂(2×10^8 个/g)由昆明保腾生化技术有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 苗期喷施试验

苗期采用菌剂叶面喷施, 分别在播种后45、60 d各喷施1次。试验设7个处理, 每个处理3个重复, 共21个小区, 每小区设4盘, 区组间随机排列。处理

为: M1, 2.50 g/L 抗生素溶杆菌菌剂; M2, 1.25 g/L 抗生素溶杆菌菌剂; M3, 0.83 g/L 抗生素溶杆菌菌剂; M4, 2.50 g/L 绿色木霉菌菌剂; M5, 1.25 g/L 绿色木霉菌菌剂; M6, 0.83 g/L 绿色木霉菌菌剂; CK 清水。

调查采用随机采样法, 每个小区取20株, 播种70 d后对烟草的株高、茎粗、鲜质量、地上和地下部分干质量等指标进行观测, 并进行统计分析。

1.2.2 大田喷施试验

大田期采用菌剂叶面及茎秆喷施, 分别在移栽后30、45 d各喷施1次。试验设7个处理, 每个处理3个重复, 共21个小区, 每个小区60株, 区组间随机排列。处理为: D1, 2.50 g/L 抗生素溶杆菌菌剂; D2, 1.25 g/L 抗生素溶杆菌菌剂; D3, 0.83 g/L 抗生素溶杆菌菌剂; D4, 2.50 g/L 绿色木霉菌菌剂; D5, 1.25 g/L 绿色木霉菌菌剂; D6, 0.83 g/L 绿色木霉菌菌剂; CK 清水。

调查采用随机采样, 移栽60 d后(即第2次喷施15 d后)对烟草的株高、茎粗、最大叶面积等指标及黑胫病和野火病发病情况进行观测, 并进行统计分析。病害调查标准依据“GB/T 23222—2008 烟草病虫害分级及调查方法”实施。

2 结果与分析

2.1 抗生素溶杆菌和绿色木霉菌对苗期烟草的影响

由表1可知, 与对照(CK)相比, 处理M4, M1, M2能够显著增加烟苗的株高, 其中处理M4为最高, 比对照(CK)增加了12.9%, 说明高质量浓度(2.50 g/L)绿色木霉菌和中(1.25 g/L)、高(2.50 g/L)质量浓度的抗生素溶杆菌菌剂能有效促进烟苗株高的增长; 而对于茎直径而言, 高质量浓度(2.50 g/L)的抗生素溶杆菌和中(1.25 g/L)、高(2.50 g/L)质量浓度的绿色木霉菌菌剂能够显著增加烟苗茎直径。

表1 抗生素溶杆菌和绿色木霉菌菌剂对苗期烟草农艺性状的影响

处理	株高/cm	茎直径/cm	鲜质量/g	地上部分干质量/g	地下部分干质量/g
M1	(7.540 ± 0.080) b	(0.512 ± 0.014) a	(2.790 ± 0.020) bc	(0.247 ± 0.006) c	(0.078 ± 0.001) b
M2	(7.330 ± 0.020) c	(0.494 ± 0.009) bcd	(2.860 ± 0.020) a	(0.314 ± 0.002) a	(0.077 ± 0.002) b
M3	(6.980 ± 0.100) d	(0.476 ± 0.007) e	(2.750 ± 0.010) d	(0.250 ± 0.004) c	(0.070 ± 0.001) c
M4	(7.870 ± 0.040) a	(0.498 ± 0.003) abc	(2.870 ± 0.020) a	(0.305 ± 0.019) a	(0.081 ± 0.001) a
M5	(7.030 ± 0.170) d	(0.500 ± 0.006) ab	(2.820 ± 0.020) b	(0.303 ± 0.003) a	(0.080 ± 0.002) a
M6	(7.000 ± 0.100) d	(0.482 ± 0.002) de	(2.660 ± 0.010) e	(0.284 ± 0.014) b	(0.076 ± 0.001) b
CK	(6.970 ± 0.130) d	(0.484 ± 0.010) cde	(2.770 ± 0.010) cd	(0.271 ± 0.003) b	(0.076 ± 0.001) b

注: 同列数据后不同小写字母表示各处理间差异性显著($P < 0.05$)。

物质积累是衡量烟株生长状态和产量的重要指标.与对照(CK)相比,除处理 M1, M3 和 M6 外,其他各处理均能有效的促进烟苗鲜质量的积累,其中高质量浓度(2.50 g/L)绿色木霉菌和中质量浓度(1.25 g/L)的抗生素溶杆菌菌剂为最佳,而低质量浓度(0.83 g/L)绿色木霉菌剂对烟苗鲜质量的积累有一定抑制效果;干物质的积累相比对照,高质量浓度(2.50 g/L)或低质量浓度(0.83 g/L)的抗生素溶杆菌菌剂都不利于苗期烟草地上部分和地下部分干物质的积累,相比之下,高(2.50 g/L)、中(1.25 g/L)质量浓度的绿色木霉菌剂却能有效的促进烟苗地上和地下干物质的积累.

表2 抗生素溶杆菌和绿色木霉菌菌剂对大田期烟草农艺性状的影响

处理	株高/cm	茎直径/cm	最大叶面积/cm ²	叶片数/片
D1	(78.30 ± 0.50) ab	(3.26 ± 0.12) a	(1175.90 ± 65.30) a	(20.70 ± 0.60) a
D2	(70.30 ± 2.00) d	(2.85 ± 0.01) cd	(943.20 ± 5.90) b	(18.50 ± 0.30) c
D3	(68.80 ± 1.20) d	(2.73 ± 0.01) d	(962.30 ± 41.80) b	(18.90 ± 0.30) c
D4	(78.20 ± 0.40) ab	(3.03 ± 0.11) b	(939.70 ± 30.80) bc	(19.80 ± 0.40) b
D5	(79.00 ± 1.40) a	(2.96 ± 0.03) bc	(967.60 ± 16.40) b	(20.30 ± 0.40) ab
D6	(75.90 ± 1.70) bc	(2.82 ± 0.02) d	(847.10 ± 44.20) c	(19.90 ± 0.80) ab
CK	(73.60 ± 1.20) c	(2.74 ± 0.03) d	(890.60 ± 93.30) bc	(18.90 ± 0.30) c

注:同列数据后不同小写字母表示各处理间差异性显著($P < 0.05$).

叶面积及叶片数直接关系到烟叶的产量.从最大叶面积来看,只有处理 D1 与对照(CK)相比差异有统计学意义,说明高质量浓度(2.50 g/L)的抗生素溶杆菌菌剂能够较有效地提高大田烟草叶面积的增长,平均能增加约 24.3% 的最大叶面积;而两种菌剂对叶片数的影响却显示:相比对照(CK),除处理 D2, D3 外,其他各处理均能显著增加大田烟草叶片数,最佳为处理 D1, D5, D6, 分别增加了 1.8, 1.4, 1.0 片叶,说明绿色木霉菌及高质量浓度(2.50 g/L)抗生素溶杆菌菌剂都能够显著促进大田烟草叶片数的增加.

2.2.2 抗生素溶杆菌和绿色木霉菌对大田烟草野火病发病率及其相对防治效果的影响

由表 3 和图 1(a) 可知,各处理与对照(CK) 相比都能显著降低黑胫病和野火病的发病率,随着两种菌剂质量浓度的增加,对两种病害发病率的控制也趋于增强.然而,从图 1 中也可以发现,两种菌剂对不同病害的控制也有区别:抗生素溶杆菌菌剂对野火病的控制效果明显高于绿色木霉菌菌剂,而对黑胫病的控制效果则是绿色木霉菌菌剂明显高于抗生素溶杆菌菌剂.

由表 3 和图 1(b) 可知,随着两种菌剂质量浓度的增加,其相对防效也呈增加趋势.但同时随菌剂质量浓度的增加,其防效增幅也逐渐减小.同发病率一

2.2 抗生素溶杆菌和绿色木霉菌对大田烟草的影响

2.2.1 抗生素溶杆菌和绿色木霉菌对大田烟草农艺性状的影响

由表 2 可知,处理 D5, D4, D1 与对照(CK) 相比,能显著促进大田烟草株高的增长;而处理 D2, D3 则显著低于对照.说明高质量浓度(2.50 g/L)的抗生素溶杆菌菌剂对大田烟草的株高有显著促进作用,另一方面,绿色木霉菌菌剂也表现出高质量浓度促进作用;两种菌剂对茎直径促进作用与株高基本吻合,不同的是,处理 D1 对茎直径的促进作用显著高于其他处理,说明高质量浓度的抗生素溶杆菌菌剂能最大程度的促进大田烟草茎部的横向增粗.

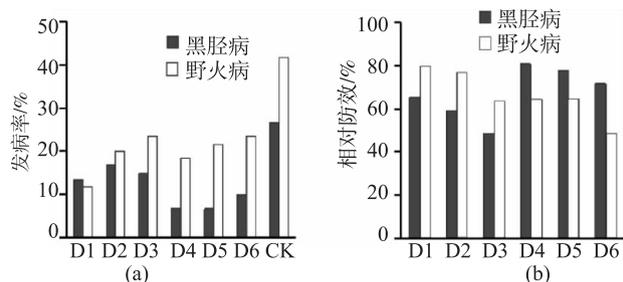


图1 抗生素溶杆菌和绿色木霉菌对大田烟草黑胫病、野火病发病率及相对防效的影响

样,各菌剂的防效也表现出:抗生素溶杆菌菌剂对野火病的防效明显高于绿色木霉菌菌剂,而绿色木霉菌菌剂对黑胫病的防效明显高于抗生素溶杆菌菌剂.

表3 抗生素溶杆菌和绿色木霉菌对烟草黑胫病、野火病的防效

处理	黑胫病		野火病		防效/%	
	发病率/%	病指	发病率/%	病指	黑胫病	野火病
D1	13.3	4.1	11.7	3.9	65.6	80.0
D2	16.7	4.8	20.0	4.4	59.4	77.1
D3	15.0	6.1	23.3	7.0	48.4	63.8
D4	6.7	2.2	18.3	6.9	81.3	64.8
D5	6.7	2.6	21.7	6.9	78.1	64.8
D6	10.0	3.3	23.3	10.0	71.9	48.6
CK	26.7	11.9	41.7	19.4		

3 结果与讨论

溶杆菌属被广泛用于小麦、辣椒、甜菜等作物病害的生物防治,并取得理想的防治效果.有报道^[20]表明,抗生素溶杆菌能有效控制魔芋软腐病.木霉菌是一类普遍存在并具有重要经济意义的生防菌^[21],已用于棉花、番茄、玉米等病害的生物防治,同时也发现,其对棉花、花生、玉米等作物的生长也有一定的促进作用.

对烟草的研究结果发现,在烟草播种后45,60 d时,用质量浓度为2.50 g/L的绿色木霉菌菌剂各喷施1次烟苗,能够最有效的提高烟苗素质、提升壮苗率,为大田移栽提供可靠保障,而随着喷施浓度的降低,对烟苗素质促进作用明显减弱.不同的是,过高(2.50 g/L)或者过低质量浓度(0.83 g/L)的抗生素溶杆菌菌剂都会对烟苗地上部分干物质的积累有一定抑制作用,这可能是由于不同密度菌落产生的代谢产物异同所致,亦可能是其和环境互作产生的结果.比较两种菌剂,苗期施用效果为:喷施质量浓度为2.50 g/L绿色木霉菌剂 > 喷施质量浓度为1.25 g/L绿色木霉菌剂 > 喷施质量浓度为2.50 g/L抗生素溶杆菌.

烟草进入大田之后,由于大田环境各种因子的变化,不同菌剂的作用也产生了变化.通过试验发现,质量浓度为2.50 g/L的抗生素溶杆菌菌剂对大田烟草素质的提高最佳,而质量浓度为1.25 g/L和0.83 g/L时对烟苗素质没有明显的效果.另一方面,质量浓度为2.50 g/L和1.25 g/L的绿色木霉菌菌剂也能显著提高大田烟草的农艺性状指标.综合两种菌剂,对大田烟苗素质的促进作用为:质量浓度为2.50 g/L抗生素溶杆菌菌剂 > 质量浓度为2.50 g/L和1.25 g/L的绿色木霉菌菌剂.与此同时,其对大田中易发病害—黑胫病和野火病的防治效果也有所不同.抗生素溶杆菌菌剂对野火病的防效明显高于绿色木霉菌菌剂,而绿色木霉菌菌剂对黑胫病的防效明显高于抗生素溶杆菌菌剂,它们的最佳喷施质量浓度都为2.50 g/L,防控黑胫病最高防效为81.3%,防控野火病最高防效为80.0%.

通过研究,确定了绿色木霉和抗生素溶杆菌苗期的最佳施用质量浓度,为烟草绿色生产提供了可靠的方法.然而,生产环境对生防菌的影响也比较大,同时,生防菌与生防菌、生防菌与其他环境因子的互作了解尚少,仍需要不断探索,建立和完善生防体系.

【参考文献】

[1] 黄红军. 不同种类饼肥配施对烟草生长和抗病性的影响[J]. 湖南农业科学, 2011(17): 83-85.
 [2] 魏忠芬, 王军, 李德文, 等. 不同生态条件下黔黄油21号的产量及品质特性[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(11): 110-113.

[3] 端永明, 徐兴阳, 尹平, 等. “多肽保”防控烟草病害的有效技术探究[J]. 昆明学院学报, 2012, 34(3): 4-7.
 [4] 姜英华, 胡白石, 刘凤权. 重要土传病原菌拮抗细菌的筛选与鉴定[J]. 中国生物防治, 2005, 21(4): 260-264.
 [5] JI G H, WEI L F, HE Y Q, et al. Biological control of rice bacterial blight by *Lysobacter antibioticus* strain 13-1[J]. Biological Control, 2008, 45(3): 288-296.
 [6] YU F G, ZALETA R, ZHU X C H, et al. Structure and biosynthesis of heat-table antifungal factor(HSAF), a broad-spectrum antimycotic with a novel mode of action[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2007, 51(1): 64-72.
 [7] HASHIDOKO Y, NAKAYAMA T, HOMMA Y, et al. Structure elucidation of xanthobaccin A, a new antibiotic produced from *Stenotrophomonas* sp. strain SB-K88[J]. Tetrahedron Letters, 1999, 40(12): 2957-2960.
 [8] KOBAYASHI D Y, YUEN G Y. The role of clp-regulated factors in antagonism against Magnaporthe poae and biological control of summer patch disease of Kentucky bluegrass by *Lysobacter enzymogenes* C3[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2005, 51(8): 719-723.
 [9] WOOS L, SCALA F, RUOCCO M, et al. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp. phytopathogenic fungi, and plants[J]. Phytopathol. 2006, 96: 181-185.
 [10] 彭可为, 李婵. 木霉菌的生物防治研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(2): 780-782.
 [11] 张海军, 李泽方. 绿色木霉 GY20 对棉花枯萎病菌的抑菌作用[J]. 西北农业学报, 2012, 21(3): 193-197.
 [12] 胡启国. 5种木霉对番茄灰霉病拮抗作用的测定[J]. 吉林农业, 2012(4): 66-67.
 [13] 杨春平, 刘露, 杜鹏, 等. 绿色木霉 L24 对玉米幼苗生长的影响[J]. 四川农业大学学报, 2009, 27(4): 419-422.
 [14] 张新春, 刘菲菲, 蒋盛军, 等. 生防菌绿色木霉对几种枯萎病菌的抑制作用[J]. 中国瓜菜, 2010(1): 11-13.
 [15] DJONVIC S, PPZO M, DANGOTT L J, et al. Sml a proteinaceous elicitor secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma virens* induces plant defense responses and systemic resistance[J]. Mol Plant Microbe Interact, 2006, 19(8): 838-853.
 [16] HANHONG B, DANIEL P R, HYOUN S L. Endophytic *Trichoderma* isolates from tropical environments delay disease onset and induce resistance against phytophthora capsici in hot pepper using multiple mechanisms[J]. Mol Plant Microbe Interact, 2011, 24(3): 336-351.
 [17] 陆宁海, 吴利民, 徐瑞富. 哈茨木霉 RT-12 对番茄幼苗生长的影响[J]. 湖南农业科学, 2006(6): 53-54.
 [18] 杨春林, 席业东, 刘波微, 等. 哈茨木霉 T-H-30 对几种蔬菜的促进作用及病害防治初探[J]. 西南农业学报, 2008, 21(6): 1603-1607.
 [19] 曾华兰, 叶鹏盛. 哈茨木霉 T23 对花生的促生增产作用[J]. 云南农业大学学报, 2005, 20(1): 145-146.
 [20] 姬广海, 吴亚鹏, 白学慧, 等. 抗生素溶杆菌对魔芋软腐病和根际微生物多样性的影响[J]. 江西农业大学学报, 2009, 31(3): 499-503.
 [21] 龚航莲, 龚朝辉. 萍乡市水稻螟虫的消长与演替[J]. 江西植保, 2009, 32(4): 150-154.