

哈茨木霉菌 LTR-2 对烟草黑胫病的田间防治效果

饶清琳¹, 钱发聪², 张廷金³, 闫春丽⁴, 付玲芳⁴, 李秀军⁴, 李梦娇^{1*}

(1. 云南省烟草公司昆明市公司 寻甸分公司, 云南 寻甸 655299;

2. 云南省烟草公司昆明市公司 嵩明分公司, 云南 嵩明 651700;

3. 云南绿戎生物产业开发股份有限公司, 云南 昆明 650000; 4. 昆明保腾生化技术有限公司, 云南 昆明 650106)

摘要: 为验证哈茨木霉菌 LTR-2 对烟草黑胫病的防效, 在有病史的烟田开展田间药效比较试验. 结果表明: 栽后 20~60 d, 2 亿孢子/克哈茨木霉菌 WP、72% 甲霜·锰锌 WP、10 亿/g 枯草芽孢杆菌 DP 对烟草黑胫病的相对防效分别从 80.41% 降至 54.77%、90.21% 降至 61.62%、80.93% 降至 42.70%; 3 个药剂处理的烟叶产量、均价、产值差异无统计学意义, 两个生物药剂的中上等烟比例显著提高. 说明哈茨木霉菌 LTR-2 对烟草黑胫病防效较好, 能提高中上等烟比例, 是一种较好的烟草黑胫病生物防治药剂.

关键词: 哈茨木霉菌; 烟草黑胫病; 田间试验; 防效

中图分类号: S572 文献标识码: A 文章编号: 1674-5639 (2021) 03-0016-04

DOI: 10.14091/j.cnki.kmxyxb.2021.03.004

Field Control Effect on Tobacco Black Shank by *Trichoderma harzianum* LTR-2

RAO Qinglin¹, QIAN Facong², ZHANG Tingjin³, YAN Chunli⁴, FU Lingfang⁴, LI Xiujun⁴, LI Mengjiao^{1*}

(1. Yunnan Kunming Tobacco Company Xundian Branch, Xundian, Yunnan, China 655299;

2. Yunnan Kunming Tobacco Company Songming Branch, Songming, Yunnan, China 651700;

3. Yunnan Lurong Biological Industrial Development Co., Ltd., Kunming, Yunnan, China 650000;

4. Kunming Baoteng Biochemical Technology Co., Ltd., Kunming, Yunnan, China 650106)

Abstract: To verify the field control effect of *Trichoderma harzianum* LTR-2 on tobacco black shank, the control effect comparison in field trial was conducted with the amount of 2.25 kg/hm² applied 3 times every 10 days in tobacco fields with a history of tobacco black shank. The test results showed that 20 to 60 days after planting, the relative control effects of 200 million spores per gram *Trichoderma harzianum* wettable powder, 72% Metalaxyl mancozeb wettable powder, and 1 billion spores per gram *Bacillus subtilis* powder on tobacco black shank decreased respectively from 80.41% to 54.77%, 90.21% to 61.62%, and 80.93% to 42.70%. There were no statistically significant differences in tobacco yield, average price, and output value among the treatments, but the proportion of middle and upper-grade tobacco leaves treated with two biopharmaceuticals increased significantly. It proved that the *Trichoderma harzianum* LTR-2 acquires better control effect on tobacco black shank, increases the proportion of middle and upper-grade tobacco leaves, and will be an ideal biological control agent for tobacco black shank.

Key words: *Trichoderma harzianum*; tobacco black shank; field trial; control effect

烟草黑胫病 (Tobacco black shank) 是由土传性病原真菌烟草疫霉菌 (*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*) 引起的毁灭性根茎部病害^[1], 1896 年, 文献 [2] 报道发现该病原菌并命名. 由于烟草在整个生育期均会受烟草疫霉菌的侵害, 其中, 苗期受害

较轻, 大田期受害较严重^[3-4]. 田间发病株率通常为 15%~30%, 严重田块可达 80% 以上, 甚至绝收^[5].

木霉菌通过空间竞争、营养竞争、重寄生、分泌抗菌物质等途径抑制或杀灭病原菌^[3,6-7], 现已成为烟草黑胫病主要的生防真菌^[8-15], 而哈茨木

收稿日期: 2021-04-02

作者简介: 饶清琳 (1978—), 男, 云南鹤庆人, 助理农艺师, 主要从事烟叶生产技术研究.

* 通讯作者: 李梦娇 (1992—), 女, 云南昆明人, 农艺师, 主要从事烟草栽培与病虫害防治研究, E-mail: 554996245@qq.com.

霉 (*Trichoderma harzianum*) 是报道^[3]最多的一种生防真菌, 其中哈茨木霉 LTR-2 具有较高的酶活性, 可用于植物抗生素的制备及土传植物病害的生物防治制剂的配制, 该菌株起初命名为绿色木霉 LTR-2, 由山东省科学院中日友好生物技术研究中心杨合同等人从济南蔬菜田植物根系土壤中筛选获得, 经 PDA 培养基培养, 可快速生长, 形成较厚的菌丝层, 初期为白色, 后期产生分生孢子而呈深绿色, 产孢区常排列成同心轮纹状^[16]。

为验证哈茨木霉菌 LTR-2 对烟草黑胫病的田间防治效果, 拟在有烟草黑胫病病史的烟田开展田间药效试验, 旨在为烟草黑胫病的防治提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试品种为红花大金元。供试药剂为 2 亿孢子/克哈茨木霉菌 (LTR-2) 可湿性粉剂 (昆明农药有限公司); 化学对照药剂为 72% 甲霜·锰锌可湿性

粉剂 (利民化工股份有限公司); 生物对照药剂为 10 亿/g 枯草芽孢杆菌粉剂 (云南星耀生物制品有限公司)。试验地块位于云南省昆明市寻甸县倘甸镇海子村, 东经 102.91°, 北纬 25.78°, 海拔 2 120 m。

1.2 方 法

1.2.1 试 验 设 计

试验设 4 个处理, 包括哈茨木霉菌处理 (A)、化学对照药剂处理 (CK1)、生物对照药剂处理 (CK2) 和清水对照 (CK0)。各处理均设 4 次重复, 随机区组排列, 各小区面积 50 m², 四周保护行面积 50 m²。其他栽培措施按照当地烤烟生产管理规范进行。

1.2.2 施 药 方 法

各药剂均施用 3 次, 第 1 次于移栽时施用, 第 2 次于移栽后 10 d 施用, 第 3 次于移栽后 20 d 施用, 各药剂施用量见表 1。施药时按小区用药量将药剂稀释成 4 L, 对烟株全株进行喷雾, 重点喷淋茎基部, 使药液沿茎基部流渗到根际周围的表土里。

表 1 各处理药剂施用量

处理	药剂名称	用药量/(kg·hm ⁻²)	小区用药量/g	小区药液用量/L
A	2 亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂	2.25	11.25	4.00
CK1	72% 甲霜·锰锌可湿性粉剂	1.50	7.50	4.00
CK2	10 亿/g 枯草芽孢杆菌粉剂	1.88	9.40	4.00
CK0	清水对照		每次施药时喷施 4 L 清水	

1.2.3 调 查 项 目

每次施药后观察各药剂处理是否出现药害, 并分别调查各小区黑胫病发病率、病情指数, 记录烤烟采烤后的烟叶产量、等级和价格。

1.2.4 药 害 调 查 方 法

分别于施药后第 1, 3, 5 d 观察各药剂处理是否出现药害。并采取各药剂处理与清水对照相比较来评价药害程度, 药害轻重程度分为 5 级: 1) 无药害; 2) 轻度药害; 3) 明显药害; 4) 高度药害; 5) 重度药害。

1.2.5 黑 胫 病 调 查 方 法

分别于第 2、第 3 次用药前和第 3 次用药后 10, 20 d 调查黑胫病发病率和病情指数。每个小区所有烟株都进行调查, 同时记录小区总株数及各级病株数, 黑胫病病株分级按照《烟草病虫害分级及调查方法》(GB/T 23222—2008) 进行。黑胫病病株分级标准为 (以株为单位): 全株无病记为 0 级; 基部病斑不超过茎围的 1/3, 或 1/3 以下叶

片凋萎记为 1 级; 茎部病斑环绕茎围的 1/3 ~ 1/2, 或 1/3 ~ 1/2 叶片轻度凋萎, 或下部少数叶片出现病斑记为 3 级; 茎部病斑超过茎围的 1/2, 但未全部环绕茎围, 或 1/2 ~ 2/3 叶片凋萎记为 5 级; 茎部病斑全部环绕茎围, 或 2/3 以上叶片凋萎记为 7 级; 病株基本枯死记为 9 级。

1.2.6 黑 胫 病 田 间 鉴 别 方 法

黑胫病田间鉴别方法^[17]为: 1) 下部叶片突然萎蔫下垂, 几天后叶片变黄枯萎, 或在叶片上形成“黑膏药”圆形大病斑; 2) 茎基部出现黑色凹陷的病斑, 随后向上和横向扩展, 导致茎基部逐渐变黑腐烂; 3) 当黑色病斑扩展到烟株茎秆 1/3 以上时, 烟叶已无经济价值, 可纵向剖开茎基部, 若髓部干缩成褐色碟片状可确定为黑胫病侵染。

1.2.7 相 对 防 效 计 算

病情指数用 (1) 式计算, 施药前有病情指数基数的防治效果用 (2) 式计算, 无病情指数基数的用 (3) 式计算。用 Duncan 新复极差法进行统计检验。

病情指数 = $[\sum(\text{各级病株数} \times \text{相对级数值}) / \text{调查总株数} \times 9] \times 100$; (1)

相对防效 = $[1 - (\text{CK0} \times \text{PT1}) / (\text{CK1} \times \text{PT0})] \times 100\%$; (2)

相对防效 = $[(\text{对照区病情指数} - \text{处理区病情指数}) / \text{对照区病情指数}] \times 100\%$. (3)

(2) 式中: CK0 和 CK1 分别为对照区药前、药后病情指数; PT0 和 PT1 分别为药剂处理区药前、药后病情指数.

2 结果分析

2.1 药害观察结果

试验过程中各小区均未发现药害, 说明各药剂对烟草安全.

2.2 各处理黑胫病病情比较

由表2可见, 各处理移栽10 d后均未发现黑胫病病株, 移栽20 d后开始零星出现黑胫病病株, 各处理的黑胫病病情指数均随时间推移而增长, 移栽60 d后, 各处理黑胫病病情从低到高依次为:

表2 各处理黑胫病病情指数

处理	栽后 10 d	栽后 20 d	栽后 30 d	栽后 40 d	栽后 50 d	栽后 60 d
A	0	0.38	1.30	2.76	5.28	9.30
CK1	0	0.19	0.57	1.26	4.18	7.89
CK2	0	0.37	1.37	2.65	6.03	11.78
CK0	0	1.94	4.58	7.92	14.58	20.56

表3 各处理对黑胫病的相对防效

处理	栽后 20 d	栽后 30 d	栽后 40 d	栽后 50 d	栽后 60 d	%
A	80.41 bB	71.62 bB	65.15 bB	63.79 bB	54.77 bA	
CK1	90.21 aA	87.55 aA	84.09 aA	71.33 aA	61.62 aA	
CK2	80.93 bB	70.09 bB	66.54 bB	58.64 cB	42.70 cB	

注: 表中同列不同小写字母 ($p \leq 0.05$) 和不同大写字母 ($P \leq 0.01$) 表示差异有统计学意义, 下表同.

2.4 各处理烟叶主要经济性状比较

从表4可以看出, 3个药剂处理烟叶产量、均价、产值、中上等烟比例均极显著高于清水对照. 其中: 3个药剂处理的产量从高到低顺序为: 72%甲霜·锰锌可湿性粉剂 > 10亿/g枯草芽孢杆菌粉剂 > 2亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂, 且差异无统计学意义; 3个药剂处理均价、产值和中上等

72%甲霜·锰锌可湿性粉剂 (7.89) < 2亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂 (9.30) < 10亿/g枯草芽孢杆菌粉剂 (11.78) < 清水对照 (20.56).

2.3 各处理对黑胫病的相对防效比较

从表3可以看出, 各药剂处理移栽50, 60 d后, 对黑胫病的相对防效差异均有统计学意义, 相对防效均随时间推移而下降. 移栽20, 30, 40 d后, 72%甲霜·锰锌可湿性粉剂对黑胫病的相对防效均极显著高于2亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂和10亿/g枯草芽孢杆菌粉剂, 而这两个生物药剂对黑胫病的相对防效差异无统计学意义; 移栽50 d后, 72%甲霜·锰锌可湿性粉剂对黑胫病的相对防效极显著高于两个生物药剂, 2亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂对黑胫病的相对防效显著高于10亿/g枯草芽孢杆菌粉剂; 移栽60 d后, 72%甲霜·锰锌可湿性粉剂对黑胫病的相对防效极显著高于10亿/g枯草芽孢杆菌粉剂, 以及显著高于2亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂; 2亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂极显著高于10亿/g枯草芽孢杆菌粉剂.

烟比例从高到低的顺序均为: 2亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂 > 10亿/g枯草芽孢杆菌粉剂 > 72%甲霜·锰锌可湿性粉剂; 2亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂和10亿/g枯草芽孢杆菌粉剂中上等烟比例均极显著高于72%甲霜·锰锌可湿性粉剂, 但是, 这两个生物药剂处理的中上等烟比例差异无统计学意义.

表4 各处理烟叶主要经济性状比较

处理	产量/(kg·hm ⁻²)	均价/(元·kg ⁻¹)	产值/(元·hm ⁻²)	中上等烟比例/%
A	2 242.85 aA	32.43 aA	72 735.63 aA	68.33 aA
CK1	2 292.92 aA	31.25 aA	71 653.75 aA	62.58 bB
CK2	2 253.36 aA	32.16 aA	72 468.06 aA	66.94 aA
CK0	2 027.14 bB	27.61 bB	55 969.34 bB	58.21 cC

3 结论与讨论

两个生物药剂对烟草黑胫病的相对防效在移栽 20, 30, 40 d 后, 差异无统计学意义; 移栽 50 d 后, 2 亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂对烟草黑胫病的相对防效显著高于 10 亿/g 枯草芽孢杆菌粉剂; 移栽 60 d 后, 2 亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂对烟草黑胫病的相对防效极显著高于 10 亿/g 枯草芽孢杆菌粉剂. 说明 2 亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂前期对烟草黑胫病的防效与生物对照药剂 10 亿/g 枯草芽孢杆菌粉剂接近, 后期的持续防效显著优于生物对照药剂, 但是, 在栽后 60 d 内其相对防效均不如化学对照药剂 72% 甲霜·锰锌可湿性粉剂.

72% 甲霜·锰锌可湿性粉剂处理的烟叶产量略高于两个生物药剂, 说明在较好的烟草黑胫病相对防效下, 该处理烟株、烟叶的损失低于两个生物药剂. 化学对照药剂处理的烟叶均价、产值均略低于两个生物药剂, 中上等烟比例极显著低于两个生物药剂, 说明施用生物药剂不仅具有防治烟草黑胫病的良好效果, 还能在一定程度上提高中上等烟比例. 此外, 2 亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂提高中上等烟比例的作用略优于 10 亿/g 枯草芽孢杆菌粉剂.

综上所述, 2 亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂前期对烟草黑胫病的防治效果与生物对照药剂 10 亿/g 枯草芽孢杆菌粉剂接近, 而后期的持续防效显著优于后者. 此外, 该处理提高中上等烟比例的作用略优于 10 亿/g 枯草芽孢杆菌粉剂, 极显著优于化学对照药剂 72% 甲霜·锰锌可湿性粉剂, 因此, 2 亿孢子/克哈茨木霉菌可湿性粉剂是一种较为理想的烟草黑胫病生物防治药剂.

[参考文献]

- [1] 方中达, 陆家云, 叶钟音, 等. 中国农业百科全书: 植物病理学卷 [M]. 北京: 农业出版社, 1996: 534-535.
- [2] VAN B J, DE H. De Bibitziekte in de Deli-tabak: veroorzaakt door *Phytophthora nicotianae* [M]. Motana: Mded Slands Plentuum, 1896.
- [3] 易龙, 邱妙文, 陈永明, 等. 烟草黑胫病的生物防治研究进展 [J]. 中国农学通报, 2017, 33 (25): 146-151.
- [4] 黄大跃. 烟草黑胫病菌拮抗菌的筛选及生防机制研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2018.
- [5] 曾华兰, 雷强, 覃克炳, 等. 木霉菌防治烟草黑胫病研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39 (31): 19164-19165.
- [6] 杨合同. 木霉分类与鉴定 [M]. 北京: 中国大地出版社, 2009: 3-17.
- [7] 王革, 李美云, 段玉琪, 等. 木霉菌对烟草黑胫病菌的拮抗机制及其生物防治研究 [J]. 云南农业大学学报, 2001, 23 (3): 222-226.
- [8] 张良, 刘好宝, 顾金刚, 等. 长柄木霉和泾阳链霉菌复配对烟苗生长及其抗病性的影响 [J]. 应用生态学报, 2013, 24 (10): 43-45.
- [9] 陈小均, 何海永, 喻会平, 等. 木霉生防菌 T150 对烟草主要土传真菌病害的防治效果 [J]. 贵州农业科学, 2011, 39 (12): 129-132.
- [10] KAREGOWDA C, GURUMURTHY B R, NAIK R G. Evaluation of plant extracts and *Trichoderma harzianum* rifai against *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* [J]. Tobacco Research, 1999, 25 (1): 4-8.
- [11] ENGLISH J T, MITCHELL D J. Relationships between the development of root systems of tobacco and infection by *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* [J]. Phytopathology, 1988, 78 (1): 471-478.
- [12] 端永明, 龙春瑞, 陈树林, 等. 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 [J]. 昆明学院学报, 2012, 34 (6): 25-28.
- [13] 李梅云, 李天飞, 王革, 等. 烟草黑胫病木霉菌生防菌株的筛选 [J]. 中国烟草科学, 2001 (2): 43-46.
- [14] 李梅云, 王革, 李天飞, 等. 烟草主要真菌病害生防木霉的筛选 [J]. 西南农业大学学报, 2001, 23 (1): 10-12.
- [15] 陈志敏, 顾钢, 陈顺辉, 等. 木霉菌对烟草疫霉的拮抗作用 [J]. 福建农林大学学报 (自然科学版), 2009, 38 (3): 234-237.
- [16] 杨合同, 李继顺, 陈凯, 等. 绿色木霉 LTR-2 菌株及其制剂: ZL200510104385.7 [P]. 2007-10-03.
- [17] 吕利华, 陈元生. 无公害烟草病虫害诊断与防治 [M]. 广州: 广东科技出版社, 2004.