

刘加红, 盘文政, 吕亚琼, 等. 具有烟草根结线虫防效的万寿菊秸秆生物有机肥配方及田间防控研究[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(6): 92–98.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.06.015

具有烟草根结线虫防效的万寿菊秸秆生物有机肥配方及田间防控研究

刘加红¹, 盘文政², 吕亚琼¹, 张若璟¹, 方国海¹, 王靓贤², 武红波¹

(1. 云南省烟草公司曲靖市公司, 云南曲靖 655000; 2. 云南省微生物发酵工程研究中心有限公司, 云南昆明 650217)

摘要:根结线虫病是一种重要的烟草土传病害, 在局部烟区发生严重, 造成过巨大经济损失。采集受根结线虫危害的植烟区土壤, 分离出线虫后, 利用已有菌种库资源, 通过室内菌株发酵液灭杀线虫活性试验, 筛选出了 4 株具有防治根结线虫的生防菌株, 菌株发酵液原液室内杀线效果良好, 均达到 80% 以上, 随着稀释倍数增加灭杀活性不断降低, 320 倍时灭杀活性完全丧失。将筛选出的功能菌与腐熟的万寿菊秸秆有机肥复配后形成功能型生物有机肥, 在植烟区通过田间小区试验验证其功能, 结果表明, 施用功能型生物有机肥后, 能够促进烟株的早生快发, 在后期能够促进叶片开片, 改善烤烟农艺性状, 但根结线虫危害情况并无改善, 说明在根结线虫危害极为严重的地块, 生防功能有机肥对根结线虫的防治效果有限。

关键词:烟草; 根结线虫; 生防菌株; 万寿菊秸秆; 农艺性状

中图分类号: S435.72 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)06-0092-07

烟草(*Nicotiana tabacum* L.) 是茄科烟草属, 一年生或有限多年生草本植物, 原产于南美洲。目前在我国云南、贵州等地大面积种植, 是我国重要的

经济作物之一, 其成熟叶片主要用于卷烟生产, 具有极高的经济价值。因此在烤烟生产过程中, 提高烟叶产量和品质极为重要, 而烟草病害是影响烟叶产量和品质的重要因素^[1-3]。

其中, 根结线虫病是烟草种植的主要病害之一, 严重影响烟草的高质高产^[4-5], 在我国各大烟草种植区均有发生, 且危害严重, 每年因根结线虫危害造成的损失巨大。据统计, 全国根结线虫直接危害所造成的烟叶经济损失占侵染性病害造成损失的 5.7%^[6], 严重制约烟叶的生产发展。但是由于

收稿日期: 2020-06-24

基金项目: 云南省烟草公司科技项目(编号: 2019530000241032)。

作者简介: 刘加红(1970—), 男, 云南陆良人, 高级农艺师, 从事烟草科研与推广工作, E-mail: 1015333785@qq.com; 共同第一作者: 盘文政(1984—), 男, 湖南永州人, 硕士, 工程师, 主要从事烟草技术和微生物肥料技术研究, E-mail: 2456801755@qq.com。

通信作者: 王靓贤, 硕士, 助理农艺师, 从事微生物肥料研发等工作。E-mail: 1711499690@qq.com。

[3] 李季李. 黑龙江省西部地区杂粮生产情况及市场竞争力调查分析[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2015.

[4] Guo L D, Hyde K D, Liew E Y. Identification of endophytic fungi from *Livistona chinensis* based on morphology and rDNA sequences [J]. New Phytologist, 2010, 147(3): 617–630.

[5] Kirkpatrick M T, Rothrock C S, Rupe J C, et al. The effect of *Pythium ultimum* and soil flooding on two soybean cultivars [J]. Plant Disease, 2006, 90(5): 597–602.

[6] Klepadlo M, Balk C S, Vuong T D, et al. Molecular characterization of genomic regions for resistance to *Pythium ultimum* var. *ultimum* in the soybean cultivar Magellan [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2019, 132(2): 405–417.

[7] 孙菲菲. 三种绿豆土传病害病原菌鉴定[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.

[8] Kamoun S, Furzer O, Jones J D, et al. The top 10 oomycete pathogens in molecular plant pathology [J]. Molecular Plant Pathology, 2015,

16(4): 413–434.

[9] Rossman D R, Rojas A, Jacobs J L, et al. Pathogenicity and virulence of soilborne oomycetes on *Phaseolus vulgaris* [J]. Plant Disease, 2017, 101(11): 1851–1859.

[10] 于静, 吴菊香, 许曼琳, 等. 防治花生腐果腐病的化学药剂筛选[J]. 中国油料作物学报, 2020, 42(1): 121–126.

[11] 龙艳艳, 刘增亮, 汪茜, 等. 广西东南沿海生姜茎腐病病原菌鉴定[J]. 西南农业学报, 2017, 30(3): 584–589.

[12] Tchameni S N, Cotaârleţ M, Ghinea I O, et al. Involvement of lytic enzymes and secondary metabolites produced by *Trichoderma* spp. in the biological control of *Pythium myriotylum* [J]. International Microbiology, 2020, 23(2): 179–188.

[13] Tambong J T, Höfte M. Phenazines are involved in biocontrol of *Pythium myriotylum* on cocoyam by *Pseudomonas aeruginosa* PNA1 [J]. European Journal of Plant Pathology, 2001, 107(5): 511–521.

该病侵染的特殊性、为害的隐蔽性而对防治工作造成了极大的困扰^[7]。并且受环境和经济水平所限,我国大部分缺水旱作烟区无法开展水旱轮作,因此多采用化学手段防治^[8-10],虽取得了一些成效,但因其选择性差、高残留和不易降解,也造成了烟叶农药残留增加、农作物生态环境被破坏、烟叶品质下降、环境污染加重、抗药性问题日益突出等后果^[11-13]。

随着国家烟草专卖局提倡绿色防控理念,减少化学农药使用,采用微生物菌剂或其他绿色防控措施替代化学农药,已经成为烟草病虫害防控的主要思路。因此,筛选出具有生防功能的微生物,将其应用到烟草生产中,并评价其针对烟草根结线虫的防控效果,对烟草根结线虫的防控、生态环境的保护以及人们生命健康具有重大意义^[14]。

万寿菊别称臭芙蓉,一年生草本花卉,其花朵提取的色素被广泛用于食品、化妆品、烟草、医药及禽类饲料中^[15-17]。由于其用途广泛以及具备的经济价值,在曲靖地区大面积种植。万寿菊主要经济器官是花朵,采收后会产生大量秸秆,但由于万寿菊秸秆中木质素、纤维素的含量较高,直接还田难以自然降解,而且含有多种挥发性化学成分,不能作为饲料使用。目前万寿菊秸秆大部分就地焚烧或晒干后作农家燃料,均未能得到有效利用,造成了资源的极大浪费,且对环境造成一定污染^[18]。国内多个学者均针对此问题进行研究,并且有研究表明,万寿菊秸秆提取物对根结线虫具有较好的抑杀作用^[19]。

本研究第 1 阶段利用已有菌种库资源,筛选能够防治烟草根结线虫的生防菌株,探究其对烟草根结线虫的灭杀效果,同时研究具有杀线潜力菌株与完全腐熟万寿菊秸秆有机肥的复配机制。第 2 阶段采用田间小区试验的方式,开展以万寿菊秸秆为原料开发的生防功能有机肥对烤烟生产和线虫危害的影响研究,通过对施肥前后植烟土壤养分、烟株的田间长势长相和农艺性状、线虫的发生状况、经济性状和烟叶品质等数据的综合分析,客观评价生防功能有机肥在曲靖烟区的应用效果,整个研究对曲靖植烟区烟草根结线虫及土壤保育具有重要意义,并且为后期的推广应用提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株为云南省微生物发酵工程研究中心

有限公司自主筛选研发的具有杀线作用的生防菌株。

供试根结线虫采自曲靖市沾益区大坡乡植烟区受根结线虫侵染的烟株,烟草品种为云烟 97,取受侵染烟株根际土,采用蔗糖离心浮选法分离根结线虫。

供试地为曲靖市沾益区大坡乡。试验时间为 2019 年 5—12 月。供试作物为烟草品种(云烟 97)。

供试肥料:烟草专用复合肥(氮、 P_2O_5 、 K_2O 含量分别为 15%、8%、25%)、普通过磷酸钙(P_2O_5 含量 $\geq 17\%$)、硝酸钾(氮、 P_2O_5 、 K_2O 含量分别为 13.5%、0%、44.5%)、硫酸钾(K_2O 含量 $\geq 50\%$)、钙镁磷肥(P_2O_5 含量 $\geq 18\%$)、生防功能有机肥 5 号(万寿菊秸秆有机肥中添加功能菌 Q1、Q2、WSWFJ5)、生防功能有机肥 9 号(万寿菊秸秆有机肥中添加功能菌 Q1、Q2、WSWFJ9)、生防功能有机肥 11 号(万寿菊秸秆有机肥中添加功能菌 Q1、Q2、WSWFJ11)、生防功能有机肥 12 号(万寿菊秸秆有机肥中添加功能菌 Q1、Q2、WSWFJ12)。

蔗糖溶液的配制:1 000 mL 纯净水 + 454 g 蔗糖(白糖)。

1.2 试验方法

1.2.1 蔗糖离心悬浮法分离根结线虫 按李美芹等的专利中提及的蔗糖离心悬浮法进行根结线虫的分离^[20]。分离完成后,取试管下部带有线虫的液体,取 1 mL 置于培养皿中,于体式显微镜下计数。

1.2.2 具有拮抗烟草根结线虫的功能菌株筛选

1.2.2.1 不同生防菌株对根结线虫灭杀活性测定

将菌种库保存的具有杀线功能的菌株分别接种于 Luria - Bertani (LB) 液体培养基中进行活化,即 37 °C、180 r/min 培养 48 h,后将菌液浓度稀释至 1 亿 CFU/mL,取 1 mL 置于 48 孔细胞培养板中,再加入线虫悬浮液 100 μ L(约 100 头)混匀,25 °C 静置 12 h 后,于光学显微镜下观察,记录线虫存活情况,计算校正死亡率(僵直不动为死体,弯曲蠕动为活体)。设无菌 LB 液体培养基及万寿菊秸秆有机肥浸出液处理作为对照,每个处理设置 5 个重复。

根据以下公式计算线虫的校正致死率:致死率 = 死亡线虫数/供试线虫数 $\times 100\%$;

校正致死率 = (处理致死率 - 对照致死率)/(1 - 对照致死率) $\times 100\%$ 。

选取上述试验中对线虫校正死亡率在 80% 以上的菌株分别进行处理时间及处理浓度的测定,即

利用其发酵原液分别处理线虫 30、60、90、120、150、180 min;利用其发酵原液以及 10、20、40、80、160、320、640 倍的稀释液分别处理线虫,观察记录线虫的活性情况,计算校正死亡率,每个处理设置 5 次重复。

1.2.2.2 不同生防菌株在温室大棚内对根结线虫防效的测定 试验于云南省微生物发酵工程研究中心有限公司试验基地温室大棚内进行,将健康且长势一致的烟苗移栽至装有从受危害严重地区(曲靖市沾益区大坡乡)采集的根际土壤的花盆中,制备供试菌株发酵液,在烟苗移栽后 3 d,每盆分别灌根 300 mL,同时设清水、LB 液体培养基、万寿菊秸秆有机肥浸出液 3 个处理作为对照。90 d 后取烟株根系调查病情指数,分级并记录结果,调查方法采用 GB/T 23222—2008《烟草病虫害分级及调查方法》。

1.2.3 功能微生物与完全腐熟的万寿菊秸秆有机肥复配 利用能够防治烟草青枯病的生防菌 1 号(Q1)、能够防治烟草黑胫病的生防菌 2 号(Q2)与上述试验中防效较好的菌株分别复配后添加到完全腐熟的万寿菊秸秆有机肥中,添加量为肥料总质

量的 1%,添加结束后按仓库正常堆贮条件堆放,定期检测各生防功能菌的有效活菌数,同时每天定时检测堆体上、中、下层的温度,连续检测 10 d,并记录分析。

1.2.4 植烟地区田间效果验证 试验安排在曲靖市沾益区大坡乡,试验地块往年发病较为严重,试验前对土壤中线虫的虫口密度进行了统计,得出土壤中线虫的虫口密度为 56 头/100 g。

1.2.4.1 试验设计 试验采用随机区组设计,6 个处理,3 次重复,共 18 个小区。

处理 1:空白对照,不施用任何有机肥料;处理 2:施用万寿菊秸秆有机肥 200 g/株;处理 3:施用生防功能有机肥 5 号 200 g/株;处理 4:施用生防功能有机肥 9 号 200 g/株;处理 5:施用生防功能有机肥 11 号 200 g/株;处理 6:施用生防功能有机肥 12 号 200 g/株。

每个小区植烟 60 株,株行距为 120 cm×60 cm,植烟 13 890 株/hm²。每个处理施纯氮 97.5 kg/hm²,氮、磷、钾质量比为 1:1.5:3,各处理肥料具体用量详见表 1。

表 1 沾益大坡点各处理肥料用量

处理	肥料种类及用量
1	烟草专用复合肥 514.5 kg/hm ² + 普钙 618 kg/hm ² + 硫酸钾 195 kg/hm ² + 硝酸钾 150 kg/hm ²
2	万寿菊秸秆有机肥 2 778 kg/hm ² + 烟草专用复合肥 514.5 kg/hm ² + 普钙 618 kg/hm ² + 硫酸钾 195 kg/hm ² + 硝酸钾 150 kg/hm ²
3	生防功能有机肥 5 号 2 778 kg/hm ² + 烟草专用复合肥 514.5 kg/hm ² + 普钙 618 kg/hm ² + 硫酸钾 195 kg/hm ² + 硝酸钾 150 kg/hm ²
4	生防功能有机肥 9 号 2 778 kg/hm ² + 烟草专用复合肥 514.5 kg/hm ² + 普钙 618 kg/hm ² + 硫酸钾 195 kg/hm ² + 硝酸钾 150 kg/hm ²
5	生防功能有机肥 11 号 2 778 kg/hm ² + 烟草专用复合肥 514.5 kg/hm ² + 普钙 618 kg/hm ² + 硫酸钾 195 kg/hm ² + 硝酸钾 150 kg/hm ²
6	生防功能有机肥 12 号 2 778 kg/hm ² + 烟草专用复合肥 514.5 kg/hm ² + 普钙 618 kg/hm ² + 硫酸钾 195 kg/hm ² + 硝酸钾 150 kg/hm ²

施肥方法:烟草专用复合肥、普钙、硫酸钾、万寿菊秸秆有机肥和生防功能有机肥作基肥,其中万寿菊秸秆有机肥和生防功能有机肥在移栽前塘施,烟草专用复合肥、普钙和硫酸钾在移栽时中层环施;硝酸钾作追肥,在移栽后 30 d 左右兑水浇施。

植烟株数按 13 890 株/hm² 计,单株肥料用量见表 2。

1.2.4.2 土壤养分调查 在施肥前取一个基础土样,烤烟采烤后每个处理各取 1 个土样,合计 7 个土样(每个土样 1 kg),对每个样品的土壤 pH 值、有机质、全氮、全磷、全钾、水解性氮、有效磷、速效钾的含量进行检测分析。

1.2.4.3 生育期调查 分别观察记录每个处理 50% 烟株达到团棵、旺长、现蕾、封顶、采烤等生育期的时间。

1.2.4.4 农艺性状调查 在移栽后 50 d 和采烤前,每个小区试验选择 5 株有代表性的烟株测量其株高、茎围、叶片数、最大叶长和最大叶宽等农艺性状。

1.2.4.5 病害发生情况调查 在整个大田生育期对其他主要病害的发生情况以及采烤后取根系调查各处理根结线虫的发生情况及病情指数进行调查分级并记录结果,调查方法采用 GB/T 23222—2008《烟草病虫害分级及调查方法》。

1.2.4.6 产质量调查统计 每个处理单独挂牌烘烤,依据 GB 2635—1992《烤烟》中 42 级国家烤烟分级标准分级,并统计产量和产值。各处理分别选取 X₂F、C₃F、B₂F(X₂F 表示下部叶橘黄色 2 级烟、C₃F 表示中部叶橘黄色 3 级烟、B₂F 表示上部叶橘黄色 2 级烟)各 1 kg 统一送检,进行烟叶内在化学成分分析。

表 2 沾益大坡点单株肥料用量

处理	基肥		追肥	
	肥料种类	用量 (g/株)	肥料种类	用量 (g/株)
1	烟草专用复合肥	37	硝酸钾	10.8
	普钙	44.5		
	硫酸钾	14		
2	万寿菊秸秆有机肥	200	硝酸钾	10.8
	烟草专用复合肥	37		
	普钙	44.5		
	硫酸钾	14		
3	生防功能有机肥 5 号	200	硝酸钾	10.8
	烟草专用复合肥	37		
	普钙	44.5		
	硫酸钾	14		
4	生防功能有机肥 9 号	200	硝酸钾	10.8
	烟草专用复合肥	37		
	普钙	44.5		
	硫酸钾	14		
5	生防功能有机肥 11 号	200	硝酸钾	10.8
	烟草专用复合肥	37		
	普钙	44.5		
	硫酸钾	14		
6	生防功能有机肥 12 号	200	硝酸钾	10.8
	烟草专用复合肥	37		
	普钙	44.5		
	硫酸钾	14		

2 结果与分析

2.1 具有拮抗烟草根结线虫的菌株筛选

2.1.1 具有灭杀根结线虫的功能生防菌筛选 由表 3 可知,利用试验前期筛选得到的对线虫具有灭杀活性的 7 株生防菌再次进行烟草根结线虫灭杀活性的筛选发现,各菌株发酵液均有灭杀活性,其中 5、9、11、12 号菌对线虫的校正致死率都在 80% 以上,分别达 81.12%、84.28%、85.91%、82.36%,后续试验将选取以上 4 个菌株进一步开展。

2.1.2 不同稀释倍数发酵液对线虫活性的影响 由图 1 可知,不同稀释倍数发酵液对根结线虫的校正死亡率随着发酵倍数的增加而降低。稀释 40 倍后,各生防功能菌的抑杀活性大幅降低,稀释 160 倍后,生防菌的校正致死率均低于 10%,稀释 320 倍后,各生防菌已基本丧失抑杀活性。

2.1.3 不同处理时间发酵液对线虫活性的影响 由图 2 可知,随着各菌株发酵液对线虫的处理时间

表 3 生防菌发酵液对根结线虫灭杀活性测定

编号	名称	致死率 (%)	校正死亡率 (%)
WSWFJ2	枯草芽孢杆菌	63.0	62.40
WSWFJ5	枯草芽孢杆菌	81.5	81.12
WSWFJ7	地衣芽孢杆菌	66.5	65.81
WSWFJ9	解淀粉芽孢杆菌	84.6	84.28
WSWFJ10	解淀粉芽孢杆菌	70.3	69.69
WSWFJ11	解淀粉芽孢杆菌	86.2	85.91
WSWFJ12	解淀粉芽孢杆菌	88.6	82.36

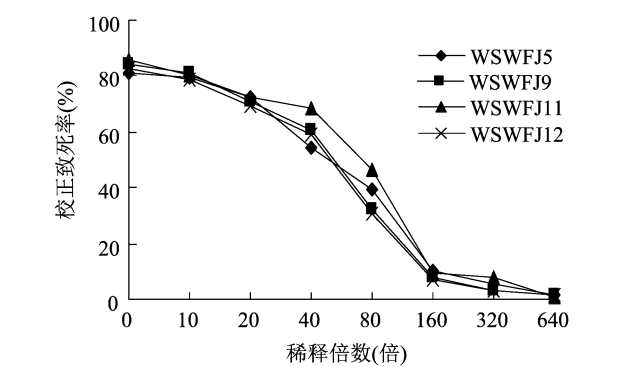


图1 不同稀释倍数发酵液对线虫活性的影响

增长,对线虫的抑杀活性越强,处理时间为 2 h 时,9 号、11 号菌株发酵液校正死亡率大幅高于 5 号、12 号菌株发酵液,且较为相近,分别为 81.69% 和 81.59%;处理时间为 3 h 时,9 号、11 号菌株发酵液依然极为相近,且均高于其余 2 株菌株发酵液。整体而言,9 号与 11 号菌株发酵液对线虫抑杀活性较高,且 2 h 后随着时间的延长抑杀活性增幅较小。

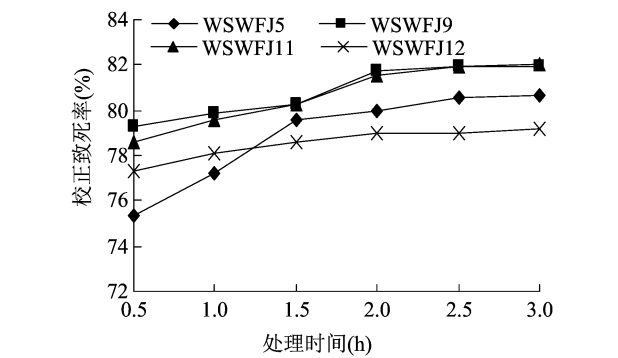


图2 不同处理时间下发酵液对线虫活性的影响

2.1.4 不同生防菌株对根结线虫温室烟草盆栽防效的测定 由表 4 的生防结果可知,4 株生防功能菌对烟草根结线虫均具有一定的防效,生防功能菌的病情指数均低于对照,生防效果依次为 WSWFJ11 > WSWFJ5 > WSWFJ12 > WSWFJ9,但本

试验的结果相较于图 1、图 2 的结果而言,并未呈现出一致性。

表 4 不同生防菌株对根结线虫温室防效的测定

处理	发病率 (%)	病情指数	生物防效 (%)
清水	100.00	58.92	
无菌 LB 液体培养基	100.00	57.68	
万寿菊秸秆浸出液	95.65	55.26	
WSWFJ5	89.68	49.71	44.32
WSWFJ9	84.32	55.18	38.46
WSWFJ11	84.86	43.28	46.84
WSWFJ12	90.26	48.23	42.53

2.2 功能微生物与腐熟万寿菊秸秆复配

由表 5 可知,功能微生物与万寿菊秸秆有机肥复配后,功能微生物有效活菌数虽呈下降趋势,但参照 NY 884—2012《生物有机肥执行标准》中有效活菌数 ≥ 0.2 亿 CFU/g 的要求,该肥料远超生物有机肥标准。生防功能微生物加入时采用的是离心孢子的形式,其加入的初始量均大于 2.0 亿 CFU/g,由于功能菌种均为芽孢杆菌,加之其存活形态均为芽

孢,故其可在有机肥中长久存活,且保持活性。各处理中有效活菌数在 180 d 内均出现下降现象,但其有效活菌数均维持在 1.2 亿 CFU/g 以上。

表 5 生防功能菌与万寿菊秸秆有机肥复配后的有效活菌数的变化情况

处理	有效活菌数(亿 CFU/g)		
	初始	90 d	180 d
万寿菊秸秆有机肥 + Q1 + Q2 + WSWFJ5	2.15	1.63	1.20
万寿菊秸秆有机肥 + Q1 + Q2 + WSWFJ9	2.23	1.93	1.65
万寿菊秸秆有机肥 + Q1 + Q2 + WSWFJ11	2.65	1.82	1.47
万寿菊秸秆有机肥 + Q1 + Q2 + WSWFJ12	2.76	1.86	1.58

2.3 植烟地区田间效果验证

2.3.1 生防功能有机肥对烤烟大田生育期的影响

由表 6 可知,不同处理的大田生育期从移栽至封顶的时间基本一致,说明施用生防功能有机肥对烤烟前、中期的生育期影响不大,也可能是由于试验区域前期降水量过低,导致烟株生长缓慢,未出现生育期差异,后期由于根结线虫危害较为严重,已失去采烤价值,因此烟叶的成熟期未统计。

表 6 沾益大坡点大田生育期调查

生育期	处理 1		处理 2		处理 3		处理 4		处理 5		处理 6	
	日期 (月-日)	移栽后 天数(d)	日期 (月-日)	移栽后 天数(d)	日期 (月-日)	移栽后 天数(d)	日期 (月-日)	移栽后 天数(d)	日期 (月-日)	移栽后 天数(d)	日期 (月-日)	移栽后 天数(d)
移栽期	04-15		04-15		04-15		04-15		04-15		04-15	
团棵期	06-12	58	06-12	58	06-12	58	06-12	58	06-12	58	06-12	58
旺长期	06-26	72	06-26	72	06-26	72	06-26	72	06-26	72	06-26	72
现蕾期	07-09	85	07-09	85	07-09	85	07-09	85	07-09	85	07-09	85
封顶时间	07-15	91	07-15	91	07-15	91	07-15	91	07-15	91	07-15	91

2.3.2 生防功能有机肥对植烟土壤养分的影响

由表 7 可知,烟叶采收后各处理的土壤 pH 值均下降,以处理 1 的降幅最大;各处理有机质、全氮、全磷、全钾和速效钾含量差别不大;处理 1、处理 2、处

理 6 的水解性氮含量增加,处理 3、处理 4、处理 5 降低;处理 1、处理 2、处理 4、处理 6 的有效磷含量增加,处理 3、处理 5 降低。

表 7 沾益大坡点土壤养分情况

检测指标	计量单位	移栽前	采烤后					
			处理 1	处理 2	处理 3	处理 4	处理 5	处理 6
pH 值	水土比 = 2.5 : 1	5.72	5.15	5.35	5.23	5.22	5.41	5.29
有机质含量	g/kg	20.17	22.14	20.77	19.51	21.46	19.53	23.99
全氮含量	g/kg	1.14	1.14	1.06	0.98	1.07	1.01	1.23
全磷含量	g/kg	0.51	0.66	0.56	0.51	0.60	0.56	0.67
全钾含量	g/kg	25.63	27.34	26.37	25.37	26.31	27.71	27.45
水解性氮含量	mg/kg	71.09	85.25	73.41	61.57	57.78	53.05	100.41
有效磷含量	mg/kg	6.69	10.80	6.70	4.90	7.40	4.50	21.50
速效钾含量	mg/kg	199.38	699.00	633.00	717.00	700.00	719.00	608.00

2.3.3 生防功能有机肥对烤烟农艺性状的影响
移栽后 55 d 和采烤前各处理烟株农艺性状调查结果见表 8。移栽后 55 d,处理 4 的农艺性状优于其他处理,其株高与其他处理均差异显著($P<0.05$),茎围与处理 1、处理 3 差异显著,单株叶数与处理 1、

处理 2、处理 3 差异显著,中部叶最大叶面积与处理 1、处理 2、处理 3、处理 6 差异显著。采烤前,以处理 4 的农艺性状整体表现最优,其单株叶数与处理 1、处理 2、处理 3 差异显著,中部叶最大叶面积与处理 2、处理 5、处理 6 差异显著。

表 8 沾益大坡点烟株农艺性状调查

时期	处理	株高 (cm)	茎围 (cm)	单株叶数 (张)	最大叶面积(cm^2)	
					中部	上部
移栽后 55 d	1	14.44b	4.67b	8.00b	349.28b	
	2	13.44b	4.69ab	8.33b	336.93b	
	3	13.24b	4.60b	8.11b	322.12b	
	4	17.44a	5.01a	9.56a	430.22a	
	5	14.51b	4.89ab	8.78ab	380.80ab	
	6	13.60b	4.84ab	8.56ab	355.17b	
采烤前	1	116.56ab	7.91a	18.21b	1032.11ab	697.65a
	2	104.61b	7.84a	18.56b	956.91b	667.03a
	3	108.89ab	8.17a	18.22b	1235.63ab	630.74a
	4	111.33ab	8.22a	19.05a	1319.22a	730.77a
	5	111.28ab	7.94a	18.87ab	936.04b	609.63a
	6	121.00a	8.11a	18.29ab	905.58b	701.96a

注:同一生育期同列数据后标有不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

综合来看,处理 4 在前期能够促进烟株的早生快发,在后期能够促进叶片开片,改善烤烟农艺性状。

2.3.4 生防功能有机肥对烤烟病害发生情况的影响

2.3.4.1 生防功能有机肥对根结线虫发生情况的影响
由表 9 可知,各处理的根结线虫病情指数均在 97.00 以上,根系干质量差别也不大。说明在根结线虫危害极为严重的地块,生防功能有机肥对根结线虫的防治效果不理想。

表 9 烟株根系干质量与线虫病情指数

处理	根系干质量 (g)	病情指数
1	178.60	98.52
2	181.20	100.00
3	161.25	97.04
4	173.84	100.00
5	176.11	100.00
6	182.28	100.00

2.3.4.2 生防功能有机肥对烤烟其他主要病害的发生情况的影响
由表 10 可知,该地块其他主要病害为青枯病,主要出现在烤烟生育前期,处理 4、处

理 5、处理 6 的发病率低于处理 1,说明生防功能有机肥 9 号、11 号及 12 号对青枯病发生有抑制作用,其中处理 4 的病情指数最低,说明生防功能有机肥 9 号对青枯病预防效果最明显。

表 10 沾益大坡点其他主要病害发生情况调查

处理	青枯病	
	发病率(%)	病情指数
1	17.56	3.45
2	19.78	4.14
3	18.44	3.71
4	10.00	1.56
5	12.22	2.47
6	10.78	2.16

2.3.5 生防功能生物有机肥料对烟株产值及产量的影响
由于前期干旱,后期整块试验地根结线虫病危害极为严重,烤烟失去采烤价值,烤烟经济性状未统计。

2.3.6 生防功能有机肥对烟叶化学成分的影响
由于前期干旱,后期整块试验地根结线虫病危害极为严重,烤烟失去采烤价值,烤烟未采烤,因此未分析烟叶化学成分。

3 结论与讨论

本研究利用云南省微生物发酵工程研究中心有限公司菌种库中 7 株具有杀线虫功能的生防功能菌筛选出的发酵液研究发现,对烟草根结线虫的校正致死率在 80% 以上的生防菌株包括 WSWFJ5、WSWFJ9、WSWFJ11、WSWFJ12 共计 4 株,且均为芽孢杆菌,对根结线虫的校正致死率分别达 81.12%、84.28%、85.91%、82.36%,其发酵液随着稀释倍数的增加对线虫灭杀活性逐渐下降,稀释至 320 倍后灭杀活性完全丧失。同时,这 4 株生防功能菌发酵液对根结线虫的校正致死率随着处理时间的延长而升高,与谭可菲等的研究结果^[21]一致,均在 2 h 以后效果最优,对烟草根结线虫的校正致死率分别为 79.94%、81.69%、81.59%、78.94%。将 4 株生防功能菌株直接用于发生烟草根结线虫病烟株,其防效分别为 44.32%、38.46%、46.84%、42.53%,与发酵液实验室灭杀活性试验结果未呈现出一致性,推测是因为在土壤中微生物环境较为复杂,各生防菌株生存能力及代谢物分泌的能力受到一定影响,但整体而言,4 株生防功能菌对烟草根结线虫均具有一定的抑杀作用,在温室盆栽试验中也表现出了一定防效。

将以上 4 株生防功能菌与另 2 株生防菌以及腐熟完全的万寿菊秸秆有机肥按一定添加比例复配,在正常包装堆放后,有机肥本身并不会出现再次升温发酵的情况,同时,万寿菊生防功能有机肥中功能菌有效活菌数达到生物有机肥标准且高于标准,证明该方案可行。

然后本研究采用田间小区试验的方式,客观评价以万寿菊秸秆为原料开发的生防功能有机肥在曲靖烟区的应用效果。结果表明:不同处理间烟株的生育期表现一致,推测可能是由于试验区域在烟株移栽后至团棵期间未有降雨,导致烟株前期的生育期增长;生防功能有机肥 9 号在前期能够促进烟株的早生快发,在后期能够促进叶片开片,改善烤烟农艺性状,同时能够提高烤烟对根结线虫和青枯病的抗病性,减少病害的发生。

总而言之,在丰富的微生物资源中,可筛选出对烟草根结线虫具有灭杀功能的菌株,并且可与腐熟的万寿菊秸秆复配形成稳定且具有生防功能的有机肥。但在田间试验中,由于气候原因及试验地选取不当而造成田间小区试验效果不理想。针对

此情况,本研究团队将重新选取多个试验地块继续进行生防功能有机肥的田间效果验证,为生防功能有机肥在烟草根结线虫防控方面提供理论基础及技术支撑。

参考文献:

- [1]唐晓敏,李 丹,程轩轩,等. 我国烟草规范化生产(GAP)研究进展[J]. 现代农业科技,2016(22):13-15.
- [2]张 翔,毛家伟,黄元炯,等. 不同施肥处理烤烟氮磷钾吸收分配规律研究[J]. 中国烟草学报,2012,18(1):53-57,63.
- [3]刘光辉,李迪秦,陈一凡,等. 烤烟生长发育特性及产质量对施肥技术的响应[J]. 核农学报,2017,31(10):2032-2038.
- [4]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.
- [5]朱贤朝,王彦亭,王智发,等. 中国烟草病害[M]. 北京:中国农业出版社,2002.
- [6]张 涵,焦永吉,赵世民,等. 利用生态炭肥修复土壤防治烟草根结线虫病与黑胫病[J]. 烟草科技,2016,49(6):30-35.
- [7]Williamson V M, Hussey R S. Nematode pathogenesis and resistance in plants[J]. Plant Cell,1996,8(10):1735-1745.
- [8]Stirling G R. Biological control of plant parasitic nematodes: progress, problems and prospects[M]. Wallingford: CABI,1991.
- [9]田 培,李晓辉,贺文俊,等. 南方根结线虫侵染烟草抗感品种前后的代谢组学分析[J]. 中国烟草学报,2019,25(4):81-92.
- [10]李熙全,代 飞,周 波,等. 缓释长效施药技术对烟草根结线虫病的防控效果[J]. 贵州农业科学,2018,46(12):52-54.
- [11]Sharon E, BarEyal M, Chet I, et al. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum* [J]. Phytopathology,2001,40(8):2016-2020.
- [12]金 娜,刘 倩,简 恒. 植物寄生线虫生物防治研究新进展[J]. 中国生物防治学报,2015,31(5):789-800.
- [13]郑云峰,李建生,邱美强. 根结线虫生防菌研究进展[J]. 中国农村小康科技,2006(11):62-65.
- [14]黄金玲,刘志明,刘纪霜,等. 植物寄生线虫生防细菌的研究进展[J]. 广西农业生物科学,2008,27(3):288-293.
- [15]周良娟,计 成,李玉欣,等. 几种天然叶黄素对三黄肉鸡着色效果的研究[J]. 饲料工业,2003,24(4):36-40.
- [16]李文英,刘贤谦,戴建青. 万寿菊粗提物的抑菌作用初探[J]. 农药,2002(10):43-44.
- [17]吴思琳,孔丛玉,王利芬. 不同配方营养液对万寿菊生长的影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(22):167-169.
- [18]秦 冲,高建民. 万寿菊秸秆活性炭的制备及其表征[C]//2013 年“木(竹)材低碳加工与绿色保障”研讨会论文集. 福州:中国工程院农业学部,2013:650-654.
- [19]许 华,宋晓艳,蒋梦娇. 万寿菊秸秆的杀线作用及其对黄瓜植株生长的影响[J]. 北京师范大学学报(自然科学版),2012,48(2):164-168.
- [20]李美芹,张 涛,付春鹏,等. 一种作物全生育期微波灭杀根结线虫的方法:CN201110438123.X[P]. 2012-06-13.
- [21]谭可菲,段玉玺,陈立杰,等. 根结线虫生防菌 *SneF8* 发酵代谢产物稳定性研究[J]. 江苏农业科学,2009,37(3):130-132.