

新农药 105 亿 CFU/g 多粘菌·枯草菌 WP 对烟草赤星病的防治效果

马欣¹, 刘倩雯², 孙铭钺³, 寇宝实¹, 李颖⁴, 李鑫淳³, 高欣然³, 张崇³, 姜军^{3*}

(1. 中国烟草总公司辽宁省公司, 辽宁沈阳 110013; 2. 沈阳红旗林药有限公司, 辽宁沈阳 110141; 3. 沈阳农业大学植物保护学院, 辽宁沈阳 110866; 4. 辽宁省抚顺市现代农业及扶贫开发促进中心, 辽宁抚顺 113001)

摘要 针对新登记生物农药 105 亿 CFU/g 多粘菌·枯草菌 WP 防治烟草赤星病进行了室内抑菌试验及连续 2 年开展了田间试验。结果表明, 与其他药剂相比, 105 亿 CFU/g 多粘菌·枯草菌 WP 对赤星病菌有较好的抑制作用, 能更有效防控烟草赤星病的发生, 975 g/hm² 防治效果可达 82.58%, 发病前喷施, 间隔 7~10 d, 连续喷施 3 次, 可取得理想的效果。

关键词 105 亿 CFU/g 多粘菌·枯草菌 WP; 烟草赤星病; 田间防控

中图分类号 S435.72 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)23-0117-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.23.031



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

The Control Effect of the New Pesticide 10.5 Billion CFU/g *Paenibacillus polymyza* & *Bacillus subtilis* WP on Tobacco Brown Spot Disease

MA Xin¹, LIU Qian-wen², SUN Ming-fan³ et al (1. Liaoning Province Company of China Tobacco Corporation, Shenyang, Liaoning 110013; 2. Shenyang Hongqi Forest Pesticide Co., Ltd., Shenyang, Liaoning 110141; 3. Plant Protection College of Shenyang Agriculture University, Shenyang, Liaoning 110866)

Abstract The antibacterial activity and the control effect of 10.5 billion CFU/g *Paenibacillus polymyza* & *Bacillus subtilis* WP, the newly registered biopesticide, against *Alternaria alternata* from tobacco brown spot disease was carried out in laboratory and in field for two years. The results showed that this new biocontrol pesticide had a better antibacterial effect on the pathogen than other agents, and it could control tobacco brown spot disease more effectively in field, the control effect reached 82.58% with the dosage of 975 g/hm². Spraying three times before on the onset of the disease at an interval of 7-10 days could achieve ideal result.

Key words 10.5 billion CFU/g of *P. polymyza* & *B. subtilis* WP; Tobacco brown spot disease; Control effect in field

烟草赤星病(*Alternaria alternata*)作为烟草的重要叶部病害在我国各烟区普遍而严重发生。赤星病造成的病斑常常连片、出现枯焦,导致叶片脱落,整片叶破碎无法使用^[1-2]。目前,生产上防治烟草赤星病仍以化学药剂为主,朱宇航^[3]比较 95% 苯醚甲环唑等多种化学药剂在四川烟草田间防治效果,陈玉国等^[4]研究了 30% 氟醚·吡啶啉菌酯水剂等化学药剂的防控作用,化学药剂在有效控制烟草赤星病的同时,也易促使产生抗药性并造成环境污染。农用抗生素如多抗霉素系列产品在烟草上有许多登记,但已经使用多年,目前已有抗药性产生。微生物杀菌剂因其具有提高农产品产量、改善农产品品质、减少农药用量、降低成本、保护生态环境等特点,正日益受到青睐^[4-9]。近年来,登记防治烟草赤星病的微生物杀菌剂如哈茨木霉、枯草芽孢杆菌等已进入市场,但混合菌制剂尚未见有获得农药登记。多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyza*)是已被证实的一类具有广泛宿主的促生菌和生防菌;枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)是一种可以在需氧或厌氧条件下存活,具有多种生理活性的一类细菌。2 种芽孢杆菌抑制病原菌的种类和参与诱导寄主系统抗性的基因种类有所差异,但 2 种芽孢杆菌混合后制成的稳定菌剂可扩大抑菌谱,互补诱导抗性基因种类,从而更好地提高控制效果,节约成本^[10]。近年,混合制剂 105 亿 CFU/g 多粘菌·枯草芽孢杆菌 WP 获得正式登记(PD20200380),登记

作物和防治对象为烟草赤星病。笔者对该产品室内抑菌效果进行比较,并对田间防治烟草赤星病效果和应用技术进行了探究,旨在为防控烟草赤星病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 室内抑菌试验

1.1.1 供试菌株及药剂。供试菌株:烟草赤星病菌(*Alternaria alternata*),由沈阳农业大学植物保护学院保存。供试培养基:PDA 培养基。供试药剂及浓度:105 亿 CFU/g 多粘菌·枯草菌 WP(沈阳红旗林药有限公司),稀释 600 倍(A);10 亿 CFU/g 多粘类芽孢杆菌 WP(市售),稀释 500 倍(B);100 亿 CFU/g 枯草芽孢杆菌 WP(市售),稀释 600 倍(C);10% 多抗霉素 WP(市售),稀释 800 倍(D);40% 菌核净 WP(市售),稀释 400 倍(E);清水处理(空白对照)(F)。

1.1.2 试验方法。将实验室保存的病原菌进行活化,用直径 5 mm 无菌打孔器在赤星病菌菌落边缘打孔,用接种针挑取菌块倒置于 PDA 培养皿的中央,并在 28 °C 恒温箱内培养 48 h 备用。

将牛津杯(内直径 6 mm)和 PDA 培养基在 121 °C 下灭菌 30 min,随后将已灭菌的 PDA 培养基进行倒板,待平板完全凝固后,将牛津杯分别置于距平板中心 2 cm 处,摆放完成后轻轻按压牛津杯,确保后续加入药液无渗出。将准备好的赤星病菌放置于 PDA 平板的中心;在每个牛津杯内用移液枪添加 100 μL 药液,以加入清水为对照,每个处理 3 次重复;待对照病原菌长满 PDA 平板时,观察供试药剂对烟草赤星病菌的抑菌效果并计算抑菌率。

1.1.3 结果测定及数据分析。将处理组与对照组(CK)进行

基金项目 辽宁省烟草公司科技项目(2021210000200014)。

作者简介 马欣(1972—),男,黑龙江宁安人,高级农艺师,从事烟草栽培研究。* 通信作者,硕士研究生,研究方向:植物病理学。

收稿日期 2022-03-30;修回日期 2022-08-11

比较,利用游标卡尺进行测量,按以下公式求出抑菌率:

对照组菌落直径=对照菌落直径-菌饼直径

抑菌率=(对照组抑菌圈直径-处理组抑菌圈直径)/
对照组抑菌圈直径×100%

1.2 田间防治试验

1.2.1 试验地概况。试验地块选在辽宁省丹东市凤城市武庄烟站和铁岭市开原市八棵树烟站。试验地块土壤平整,肥料均匀,栽培条件一致,烟株长势较好,赤星病常年严重发生,试验前未施用任何防治烟草病虫害的药剂,符合试验要求。试验分别在2020和2021年烟草生育期进行。

1.2.2 试验材料。试验药剂及用量:105亿CFU/g多粘菌·枯草菌WP(沈阳红旗林药有限公司),975g/hm²(A)。其他药剂及用量:10亿CFU/g多粘类芽孢杆菌WP,1200g/hm²(B);100亿CFU/g枯草芽孢杆菌WP,1200g/hm²(C);10%多抗霉素WP,225g/hm²(D);40%菌核净WP,3750g/hm²(E),均为市售;以等量清水处理为空白对照(F)。

1.2.3 试验设计。试验共设6个处理,每个药剂处理重复4次,每小区面积为60m²,小区分布随机排列。

采用均匀喷雾法,使用卫士-16型背负式手动喷雾器,工作压力0.2~0.4MPa。于烟草打顶期开始施药,每隔7d施药1次,共施药3次。

1.2.4 调查方法。2个试验区分别于第2次施药后7d、第3次施药后7d调查病情分级;每小区对角线5点取样调查,每点调查10株,共调查50株全部叶片发病情况。

病情分级标准:0级,无病;1级,病斑面积占叶面积的1%以下;3级,病斑面积占叶面积的2%~5%;5级,病斑面积占叶面积的6%~10%;7级,病斑面积占叶面积的11%~20%;9级,病斑面积占叶面积的21%以上。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{发病叶数} \times \text{该病级值})}{\text{调查总叶数} \times \text{病级最高值}} \times 100$$

$$\text{防治效果} = \frac{\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}}{\text{对照病情指数}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 生防菌及其他药剂对烟草赤星病菌抑制作用 通过室

内抑菌试验,5种供试药剂均对赤星病菌有抑制作用,但抑菌率差别较大,表现为40%菌核净WP(93.22%)>10%多抗霉素WP(88.32%)>105亿CFU/g多粘菌·枯草菌WP(76.67%)>10亿CFU/g多粘类芽孢杆菌WP(67.43%)>100亿CFU/g枯草芽孢杆菌WP(65.65%)。由此可知,40%菌核净WP对烟草赤星病菌(*A. alternata*)菌丝生长抑制效果最好。

2.2 105亿CFU/g多粘菌·枯草菌WP对烟草赤星病的田间防治效果 2020—2021年在辽宁省2个市2个县(市)的烟田开展了105亿CFU/g多粘菌·枯草菌WP对烟草赤星病防治试验。由表1可知,各药剂处理结果均较理想,病情指数均远低于对照组,但防效存在差异。其中辽宁省丹东市凤城市武庄烟站调查结果显示,105亿CFU/g多粘菌·枯草菌WP(975g/hm²)末次施药后防效最高,为82.58%,10亿CFU/g多粘类芽孢杆菌WP(1200g/hm²)防效最低,为62.25%,两者防效差异显著;其中105亿CFU/g多粘菌·枯草菌WP在第2次和第3次施药后防治效果分别为83.80%和82.58%,防治效果最佳且均显著高于其他对照药剂($P<0.05$)。

辽宁省开原市八棵树烟站调查结果显示,试验药剂105亿CFU/g多粘菌·枯草菌WP处理对烟草赤星病的末次施药后防治效果为79.10%,其他药剂10亿CFU/g多粘类芽孢杆菌WP、100亿CFU/g枯草芽孢杆菌WP、10%多抗霉素WP和40%菌核净WP处理区的防治效果分别为75.45%、71.82%、62.72%和70.00%;其中105亿CFU/g多粘菌·枯草菌WP 2次防效分别为77.51%和79.10%,相较于其他药剂,105亿CFU/g多粘菌·枯草菌WP防效更加稳定,且与其他药剂差异显著($P<0.05$)。

根据2020—2021年在辽宁2地开展的105亿CFU/g多粘菌·枯草菌WP与多种药剂对烟草赤星病的田间防效调查结果可知,105亿CFU/g多粘菌·枯草菌WP可有效防治烟草赤星病,且防治效果显著。同时根据不同地区的持效性比较,105亿CFU/g多粘菌·枯草菌WP的防治效果更加稳定,施用975g/hm²为最佳用药剂量。

表1 105亿CFU/g多粘菌·枯草菌WP对烟草赤星病的防治效果(2020—2021年)

Table 1 Control effect of 10.5 billion CFU/g polymyxomycetes · subtilis WP on tobacco brown spot

地区 Region	药剂处理 Reagent treatment	第2次施药后 After the second application		第3次施药后 After the third application	
		病情指数 Disease index	防治效果 Control effect//%	病情指数 Disease index	防治效果 Control effect//%
武庄烟站 Wuzhuang tobacco station	A	4.34	83.80 a	4.80	82.58 a
	B	9.05	66.22 e	10.40	62.25 d
	C	7.46	72.18 d	7.75	71.87 cd
	D	5.96	77.76 b	6.10	77.86 bc
	E	6.63	75.25 c	9.95	63.89 d
	F	26.80		27.55	
八棵树烟站 Bakeshu tobacco station	A	2.13	77.51 bc	2.30	79.10 a
	B	1.13	88.07 a	2.70	75.45 b
	C	2.47	73.92 c	3.10	71.82 bc
	D	3.67	61.25 e	4.10	62.72 d
	E	2.87	69.69 d	3.30	70.00 cd
	F	9.47		11.00	

注:同列不同小写字母表示不同处理间差异达显著水平($P<0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant difference between different treatments ($P<0.05$)

2.3 105 亿 CFU/g 多粘菌·枯草菌 WP 对烟草安全性 经田间观察,试验期间,各处理区烟草株高、叶色正常,没有畸形、生长不良等明显药害症状,也没有发现该药剂对其他生物有明显致害性影响。

3 结论与讨论

通过室内抑菌试验,发现 105 亿 CFU/g 多粘菌·枯草菌 WP 抑菌率(76.67%)比 40% 菌核净 WP(93.22%)和 10% 多抗霉素 WP(88.32%)低,但仍达 76% 以上,对赤星病菌有显著的抑制作用。

辽宁省丹东市凤城地区多年连续种植烟草,赤星病年发生较重,如不及时防治会造成明显的产量损失。该研究田间试验结果表明,试验药剂 105 亿 CFU/g 多粘菌·枯草菌 WP 对烟草赤星病有很好的防治效果,当制剂用量为 975 g/hm² 时,2 次防效分别为 83.80% 和 82.58%,显著优于其他药剂 10 亿 CFU/g 多粘类芽孢杆菌 WP(66.22% 和 62.25%)、100 亿 CFU/g 枯草芽孢杆菌 WP(72.18% 和 71.87%)、10% 多抗霉素 WP(72.18% 和 71.87%) 和 40% 菌核净 WP 的防治效果(75.25% 和 63.89%),且存在显著差异($P < 0.05$)。

根据辽宁省铁岭市开原市田间试验,105 亿 CFU/g 多粘菌·枯草菌 WP 药剂防治烟草赤星病效果最为突出,2020 和 2021 年 2 次防效分别达 77.51% 和 79.10%,相较于其他药剂的防治效果更佳且更稳定,在存在显著差异($P < 0.05$)。

多粘类芽孢杆菌和枯草类芽孢杆菌的混合制剂已被证

明可有效防控烟草赤星病,同时不会对烟草产生不良反应^[10]。通过该试验,进一步证明新药剂 105 亿 CFU/g 多粘菌·枯草菌 WP 对烟草赤星病有很好的防治效果。但由于赤星病是一种烟草生长后期的病害,只有烟叶进入成熟采收期才表现感病,因此,此类活体微生物农药使用时有一定的技术要求,应在发病前喷施在叶片上,连续施用 2~3 次,使生防菌能大量繁殖起来,才能发挥更好的预防和治疗效果。

参考文献

- [1] 中国烟叶生产购销公司.中国烟叶生产实用技术指南[M].北京:中国农业出版社,2020.
- [2] 朱贤朝,王彦亭,王智发.中国烟草病害[M].北京:中国农业出版社,2002.
- [3] 朱宇航.四川烟草赤星病病原种类、流行动态与药剂防治初步研究[D].雅安:四川农业大学,2019.
- [4] 陈玉国,董宁禹,霍正威,等.几种农药对烟草赤星病的防治效果[J].浙江农业科学,2021,62(12):2490-2492.
- [5] 易龙,肖崇刚,马冠华,等.防治烟草赤星病有益内生细菌的筛选及抑菌作用[J].微生物学报,2004,44(1):19-22.
- [6] RAZA W, YANG W, SHEN Q R. Paenibacillus polymyxa; Antibiotics, hydrolytic enzymes and hazard assessment[J]. Journal of plant pathology, 2008, 90(3):419-430.
- [7] 张霞,唐文华,张力群.枯草芽孢杆菌 B931 防治植物病害和促进植物生长的作用[J].作物学报,2007,33(2):236-241.
- [8] 姜莉莉,陈彦闯,辛明秀.枯草芽孢杆菌在防治植物病害上的应用及研究进展[J].安徽农学通报,2009,15(7):37-39,110.
- [9] 原小迪,张思颖,李钰,等.玉米病害生防菌剂研究现状[J].安徽农业科学,2022,50(5):1-4.
- [10] 孙铭凯.105 亿 CFU/g 多粘·枯草芽孢杆菌可湿性粉剂的研制[D].沈阳:沈阳农业大学,2019.

(上接第 80 页)

3 讨论与小结

(1) 本研究对 5 份疑似 H9 亚型禽流感病料进行分离、鉴定,确定所分离的 5 份毒株均为 H9N2 亚型禽流感,并对 5 个毒株进行测序,与从美国国家生物信息中心(NCBI)下载的序列进行比对分析,并绘制进化树,通过分析显示,所分离的 5 个毒株均属于欧亚系 I 群 h9.4.2.5 分支,5 个毒株的 H9 亚型禽流感病毒 HA 基因核苷酸同源率为 93.3%~97.2%,分离株与参考株 A/chicken/Henan/G19/2011(H9N2)的同源性在 89.2%~89.8%,与其亲缘关系最近的疫苗株 A/chicken/Jiangsu/WJ57/2012(H9N2)的同源性在 92.1%~93.5%,说明分离株与参考株和传统的疫苗株产生了一定的遗传距离,出现了抗原差异。

(2) 对于 H9 亚型禽流感病毒的防控,免疫接种仍是有效的防控措施,然而随着疫苗的长期使用,免疫压力的出现,使 H9N2 亚型禽流感毒株发生变异和重组^[9-10],如果疫苗株与流行株匹配度不高,就会导致疫苗株的保护率下降。因此,对于 H9N2 亚型禽流感的流行、变异情况的持续跟踪和监测,对筛选疫苗候选株有重要意义,今后可继续推进疫苗的研发,使 H9N2 亚型禽流感得到更有效的防控,这对了解

该地区的 H9 亚型禽流感流行的变异情况及疫情防控对策具有重要意义。

参考文献

- [1] PERRONCITO E. Epizootia tifoide nei gallinacci[J]. Annali Accad Agri Torino, 1978, 21:87-126.
- [2] SCHÄFER W. Vergleichende sero-immunologische Untersuchungen über die Viren der Influenza und klassischen Geflügelpest[J]. Z Naturforsch B, 1955, 10(2):81-91.
- [3] 叶柱德,胡江锋.H9N2 亚型禽流感病毒疫苗研究进展[J].动物医学进展,2008,29(2):89-92.
- [4] 陈一兵,刘岳龙,霍金富.禽流感病毒血凝素糖蛋白(HA)的结构及其生物学功能[J].动物医学进展,2004,25(6):4-6.
- [5] 李晓峰,秦鄂德.禽流感病毒的传播、致病机制及其防治[J].解放军医学杂志,2009,34(2):125-130.
- [6] KAWAMURA H, SHIMIZU F, TSUBAHARA H. Avian adenovirus: Its properties and serological classification[J]. Natl Inst Anim Health Q (Tokyo), 1964, 4:183-193.
- [7] VAN REGENMORTEL M H V, FAUQUET C M, BISHOP D H, et al. Virus taxonomy. Seventh report of the international committee on taxonomy of viruses academic[M]. San Diego: Academic Press, 2002.
- [8] 王金良,沈志强,李峰,等.3 株 H9N2 亚型禽流感病毒 HA 基因变异分析[J].中国家禽,2009,31(10):19-22.
- [9] 孟芳,徐怀英,张伟,等.近 20 年中国部分地区鸡源 H9N2 亚型禽流感病毒 HA 基因遗传演化及其变异频率[J].微生物学报,2016,56(1):35-43.
- [10] 孙文琪.2014~2016 年华东地区 H9N2 亚型禽流感病毒遗传进化分析及气溶胶传播特性研究[D].扬州:扬州大学,2017.