

复合土壤微生态制剂在连作花生上的应用效果

张根伟, 张丽萍, 李书生*, 黄亚丽, 程辉彩

(河北省科学院 生物研究所, 河北 石家庄 050081)

摘要: 为防治花生连作病害, 应用微生态平衡原理, 研制了由具有良好亲和性的 BSD-2、T42、Bm-7 和 Br-5 菌株组成的复合生物制剂, 并进行田间应用效果试验。结果表明, 施入巨大芽孢杆菌 Bm-7 和根瘤菌 Br-5 混合制剂(T₁)、木霉 T42 制剂(T₂)、枯草芽孢杆菌 BSD-2 制剂(T₃)和由上述 4 种菌株组成的复合生物制剂(T₄)对花生连作病害均有较好的防治作用, 均能显著促进连作花生的营养生长和生殖生长。其中复合生物制剂(T₄)应用效果最好, 不同菌株间表现出相互增效作用, 荚果产量增加 15.6%~19.1%, 提高了田间应用效果的稳定性。

关键词: 花生; 连作; 病害; 复合生物制剂

中图分类号: S431.2 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2012)09-0047-04

Control Effects of Complex Bio-agent on Peanut Replant Disease

ZHANG Gen-wei, ZHANG Li-ping, LI Shu-sheng*, HUANG Ya-li, CHENG Hui-cai

(Biology Institute of Hebei Academy of Sciences, Shijiazhuang 050081, China)

Abstract: The complex bio-agent for prevention and treatment of peanut replant diseases was developed according to the theory of micro-ecological balance, which was composed of *Bacillus subtilis* BSD-2, *Trichoderma* sp. T42, *Bacillus mucilaginosus* Bm-7 and *Bradyrhizobium* sp. *Arachis* Br-5. Four bio-agents, including Bm-7 and Br-5 mixed bio-agent (T₁), T42 bio-agent (T₂), BSD-2 bio-agent (T₃) and complex bio-agent (T₄), played an effective role in the control of peanut replanting problem in field and significantly promoted the peanut growth. Among them the complex bio-agent was best, which showed a synergistic effect on strains and increased the yield by 15.6% to 19.1%. And it also increased the stability of utilization in field compared with any single one.

Key words: peanut; continuous cropping; disease; complex bio-agent

近年来, 由于种植结构的调整和耕地资源的限制, 花生连作面积越来越大, 导致病害频发, 严重影响花生的生产。连作引起的土壤微生物区系发生变化是花生减产的主要原因, 已成为花生产业可持续发展的主要障碍^[1-2]。由于连作病害具有土传性和内生性, 对其进行化学防治效果较差且易使病原菌产生抗性, 造成土壤生态失衡和环境污染等问题。有益微生物能够拮抗病原微生物, 调节土壤微生态平衡, 促进植物营养吸收。利用有益微生物防治植物病害以及进行土壤环境修复已成为研究热点。然而, 由于作物

根际的土壤微生态环境复杂、微生物种类丰富, 单一菌剂或生物因子难以改变土壤微生态环境失衡的问题, 且田间防病效果并不稳定。借助多种因素创造有利寄主和不利病原生存的生物环境来防治植物病害, 被认为是一种更实际、更有效的防治策略^[3-6]。依据土壤微生态平衡理论, 制备具有良好亲和性菌株的复合微生物制剂, 包括对花生连作主要病原菌尖孢镰刀菌、立枯丝核具有强拮抗作用的内生枯草芽孢杆菌 BSD-2 (*Bacillus subtilis*) 和木霉 T42 (*Trichoderma* sp.)^[7-8], 以及具有固氮作用的巨大芽孢杆菌 Bm-7

收稿日期: 2012-04-26

基金项目: 国家农业科技成果转化基金项目(2010GB2A200041); 河北省自然科学基金项目(C2009001280, C2010001565)

作者简介: 张根伟(1976-), 男, 河北博野人, 助理研究员, 本科, 主要从事农业有益微生物方面的研究。E-mail: 889io@sina.com

* 通讯作者: 李书生(1960-), 男, 河北灵寿人, 研究员, 本科, 主要从事生物防治研究。E-mail: lizzle-69@163.com

(*Bacillus magaterium*) 和根瘤菌 Br-5 (*Rhizobium* Frank), 研究了不同菌株组合的土壤微生物制剂对花生连作病害的防治作用, 以为生物防治花生连作病害提供参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试花生品种为海花花生。

供试微生物: 枯草芽孢杆菌 BSD-2、木霉 T42, 以及巨大芽孢杆菌 Bm-7、根瘤菌 Br-5, 均为河北省科学院生物研究所保存。

1.2 研究方法

1.2.1 微生物制剂的制备 木霉 T42 以玉米秸秆为主要原料, 采用液固两相法发酵、制备, BSD-2、Bm-7 和 Br-5 用摇瓶或 20 L 发酵罐制备。制剂以草炭吸附, 制剂 1 由巨大芽孢杆菌 Bm-7、根瘤菌 Br-5 等比例组成, 含量为 8.0×10^9 cfu/g; 制剂 2 为木霉 T42, 含量为 8.0×10^9 cfu/g; 制剂 3 为枯草芽孢杆菌 BSD-2, 含量为 2.5×10^9 cfu/g; 制剂 4 为复合微生物制剂, 组成为 30% 制剂 1 + 30% 制剂 2 + 40% 制剂 3。

1.2.2 微生物制剂对花生连作病害的田间防治效果

田间试验于 2009—2011 年在 1 年连茬花生地块进行, 设置 4 个处理, 处理 1 (T_1) 施入制剂 1, 处理 2 (T_2) 施入制剂 2, 处理 3 (T_3) 施入制剂 3, 处理 4 (T_4) 施入复合生物制剂 4。以稀释 200 倍草炭水为对照 (CK), 菌剂用井水稀释 200 倍穴施。用量为 150 kg/hm^2 , 每处理重复 3 次, 随机排列, 田间小区面积 40 m^2 , 栽培管理相同。

2010 年测定各生育时期株高、分枝数、花数、果数、整株生物量及荚果产量、苗期成苗率、采摘期病情指数; 2009、2011 年测定荚果产量。

病情指数统计方法: 花生连作病害由多种根部病菌引起, 均可引起烂根而影响营养吸收, 为了简化病情调查方法, 将病情分为 5 级。0 级——健株, 无倒伏现象; 1 级——茎尖中午时萎蔫, 根部有部分变褐色; 2 级——地上部分中午时萎蔫, 根部有部分发黑腐烂现象; 3 级——植株矮小、叶片发黄, 有萎蔫、倒伏现象, 根部短小、变褐腐烂; 4 级——全株倒伏、逐渐枯死, 主根皱缩、腐烂, 有明显黄白色至淡红色霉层。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级病株数} \times \text{各级代表级值})}{(\text{植株总数} \times \text{最高代表级值})} \times 100,$$

$$\text{防效} = \frac{\text{对照级病情指数} - \text{处理组病情指数}}{\text{对照级病情指数}} \times 100\%.$$

1.3 数据处理

采用 SAS 软件进行数据处理和统计分析。

2 结果与分析

2.1 微生物制剂对重茬花生株高的影响

主径高度是衡量花生生育性状的一项重要指标, 研究表明, 花生连作使主径高度降低^[9-10]。由表 1 可见, 4 种微生物制剂处理对花生生长均具有一定的促进作用。苗期, 4 个处理的花生株高与 CK 没有明显差异; 开花下针期, T_3 和 T_4 处理的株高显著高于其他处理; 结荚期, 4 个处理花生株高均显著高于 CK, 表现为 $T_4 > T_3 > T_2 > T_1$; 收获期, 花生株高差异有所缩小, T_4 和 T_3 显著高于其他处理。4 个处理中以复合菌制剂 (T_4) 促生长作用最为明显, 开花下针期和结荚期株高分别达到 24.0、32.9 cm, 表现出增效作用。

表 1 不同处理对花生株高的影响 cm

处理	苗期	开花下针期	结荚期	收获期
CK	14.0±0.32Aa	21.5±0.44Bb	25.6±0.38Cd	39.3±0.42Ab
T_1	13.8±0.43Aa	22.0±0.31Bb	27.3±0.41Cc	39.9±0.32Ab
T_2	14.0±0.38Aa	21.5±0.28Bb	30.0±0.57Bb	38.3±0.51Ab
T_3	14.2±0.25Aa	23.0±0.49ABa	31.2±0.46ABb	40.6±0.39Aa
T_4	13.9±0.29Aa	24.0±0.26Aa	32.9±0.43Aa	41.6±0.36Aa

注: 同列数据后不同大、小写字母分别表示在 0.01、0.05 水平上差异显著, 表 2、3 同。

2.2 微生物制剂对重茬花生产量指标的影响

从表 2 可以看出, 不同处理对花生产量性状的影响与对株高的影响一致。比较各处理对分枝数、果数、单株果质量、单株质量及产量的影响可知, 以 T_4 施用复合生物制剂对各产量因素的促进作用最好, 其次分别为 T_3 、 T_2 和 T_1 。就荚果产量而言, 分别比 CK 增产 17.4%、11.2%、8.7% 和 3.8%, 显著性分析表明, T_4 、 T_3 分别与 CK 存在极显著差异, T_2 与 CK 存在显著差异。这表明, 花生连作中添加具有防病作用的枯草芽孢杆菌 BSD-2 和木霉 T42 制剂, 较单纯添加具有固氮作用的 Bm-7 和 Br-5 制剂有更强的促进生殖生长的作用, 进而增加了产量, 而且以复合菌制剂 (T_4) 效果最佳。

2.3 微生物制剂对花生连作病害的防治作用

花生连作病害主要由镰刀菌、立枯丝核菌引起, 初期引起维管束阻塞, 后期导致烂根、毒素累积, 使植株枯萎、倒伏。从表 3 可以看出, 4 种处理均可明显降低连作病害的发病程度, 以 T_4 效果最佳, 其成苗率比 CK 提高了 10.70 个百分点, 其收获期病情指数极显著降低, 防效达到 52.60%; 其次为 T_3 、 T_2 , 成苗率分别提高 10.00、8.90 个百分点, 收获期防效分别为 34.30%、33.50%, T_1 也可提高成苗率

和防病效果。防效好的处理均含有拮抗微生物的枯草芽孢杆菌 BSD-2 或木霉 T42,二者与巨大芽孢杆

菌 Bm-7、根瘤菌 Br-5(T₄)联用体现出显著的增效作用。

表 2 不同处理对花生产量指标的影响(2010 年)

处理	分枝数/(个/株)		荚果数/(个/株)	单株质量/(g/株)	单株果质量/(g/株)	荚果产量/(kg/hm ²)	生物量/(kg/hm ²)
	开花期	收获期					
CK	4.8±0.25b	6.8±0.36b	7.7±0.65Bc	74.2±2.39Bc	24.1±0.85Bd	3 148.5±135.00Bd	9 691.5±334.50Bd
T ₁	5.0±0.31b	7.0±0.27b	7.8±0.71Bc	75.5±2.57Bc	25.0±1.23Bd	3 267.0±123.75Bd	9 867.0±423.00Bd
T ₂	5.3±0.33ab	7.1±0.45b	8.1±0.36Bb	76.0±3.11Bc	26.1±1.42Bc	3 423.0±145.05Bc	9 921.0±471.75Bc
T ₃	5.7±0.48a	7.5±0.52a	8.2±0.47Bb	80.1±2.82Bb	26.8±0.67Ab	3 501.0±109.95Ab	10 450.5±445.05Ab
T ₄	5.8±0.34a	7.5±0.31a	8.5±0.52Aa	82.6±3.20Aa	28.3±0.97Aa	3 696.0±98.70Aa	10 789.5±489.60Aa

表 3 不同处理对连作病害的防治作用

处理	苗期		收获期		
	出苗率/%	成苗率/%	发病率/%	病情指数	防效/%
CK	87.60	74.80%	33.60	14.25Aa	—
T ₁	88.90	77.50	30.40	13.65Aa	4.20
T ₂	88.00	84.70	27.50	9.48Bb	33.50
T ₃	88.50	84.80	25.80	9.36Bb	34.30
T ₄	89.70	85.50	19.30	6.75Cc	52.60

2.4 微生物制剂对不同连作年限花生荚果产量的影响

3 a 的田间试验结果表明(表 4),施用微生物菌剂可以提高连作地花生产量。与 CK 相比,不同连作

年限下各处理均以 T₄ 处理增产幅度最大。2009、2010、2011 年 T₄ 处理花生产量分别比 CK 增加 15.6%、17.4%、19.1%,T₃ 处理分别比 CK 增加 9.1%、11.2%、4.9%,T₂ 处理分别比 CK 增加 10.3%、8.7%、8.6%;T₁ 处理对产量的提高作用在 2 a 连作田(2009 年)中差异不明显,随连作年限的增加,T₁ 处理下产量的增幅加大,分别为 1.0%、3.8%、3.4%。3 个连作年度相比,复合生物菌剂对多年连作花生病害的防治作用大于对 2 a 连作花生病害的防治作用,单一菌剂处理规律不明显,可见,复合制剂的田间防治效果较单一制剂具有更好的稳定性。

表 4 不同处理对不同连作年限花生荚果产量的影响

kg/hm²

年份	CK	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
2009 年(连 2)	2 952.0 ± 127.80c	2 982.0 ± 104.25c	3 256.5 ± 152.10b	3 220.5 ± 100.35b	3 412.5 ± 109.88a
2010 年(连 3)	3 148.5 ± 135.00d	3 267.0 ± 123.75d	3 423.0 ± 145.05c	3 501.0 ± 109.95b	3 696.0 ± 98.70a
2011 年(连 4)	2 779.5 ± 81.30e	2 872.5 ± 99.60d	3 019.5 ± 106.8b	2 916.0 ± 81.45c	3 309.0 ± 106.65a

注:同行数据后不同大、小写字母分别表示在 0.01、0.05 水平上差异显著;连 2、连 3、连 4 分别表示 2、3、4 a 花生连作田。

3 结论与讨论

土壤不同栽培方式能够引起土壤微生物总量和种群发生变化。作物连作种植后,土壤中真菌数量增加、细菌数量减少,破坏了土壤中微生物种群的平衡,土壤呈现真菌化趋势^[11-12],这些变化是由于重茬土壤含有上茬作物的代谢产物及残留根茎叶等物质,有利于特定土壤真菌的繁殖,而该真菌大量繁殖抑制了细菌的生长,导致土壤的菌群动态失衡,从而引起重茬病害。近年来,人们开始考虑将多个生物因子混合组成多功能菌群,以达到稳定功效的目的^[13-14],而利用 2 个以上生物因素协同防治花生连作病害的研究未见报道。

平板拮抗试验表明^[7-8],枯草芽孢杆菌 BSD-2 和木霉 T42 对花生重茬病原真菌有明显拮抗作用。徐瑞富等^[2]报道,土壤中速效钾和速效磷含量与土壤中细菌变化呈正相关。本研究中,由 BSD-2、T42

及与它们亲和性强的巨大芽孢杆菌 Bm-7、根瘤菌 Br-5 菌株组成的复合微生态制剂,一方面利用拮抗微生物与有害微生物之间自然存在的互作关系,显著降低连作病害的发生;另一方面,利用微生物可以降解土壤中矿物质的特性,改变土壤营养失衡的状况及其物理性状;同时,有益微生物在生长、繁殖过程中能分泌多种酶、维生素和生长素等活性物质,可有效刺激和促进作物生长发育,提高其抗病性。

本试验表明,该制剂处理土壤可显著促进连作花生的营养生长与生殖生长,对花生连作病害的田间防效良好,荚果产量增加 15.6%~19.1%。较单一制剂相比,复合微生物制剂菌株间表现出增效作用,对连作病害的防治效果得到提高,且田间应用效果的稳定性也较单一制剂有所提高。有关制剂在土壤中的定殖、根际微生物在土壤中的变化动态及菌株间的增效机制还需进一步研究。

(下转第 62 页)

8 栽培和调制技术要点

烤烟新品种豫烟 8 号田间生长整齐、抗逆性强、产量品质较好,适宜在黄淮烟区种植。豫烟 8 号耐肥性略强,施氮量与 NC89 相比多 10%,在驻马店烟区种植,一般施纯氮 90 kg/hm²,N : P₂O₅ : K₂O = 1 : 1 : 2.5;种植密度以 15 000 株/hm² 为宜;现蕾打顶,单株有效留叶数 22~23 片;烟叶烘烤以“三段式烘烤原理”为基准,适当提高变黄起始温度,及时把握定色,稳温干叶、干筋,确保烟叶烤黄烤香。

参考文献:

- [1] 佟道儒. 烟草育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 392-395.
- [2] 中国农业科学院烟草研究所. 中国烟草栽培学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.
- [3] 张翔, 范艺宽, 毛家伟, 等. 不同种植制度和施肥措施对烟田土壤养分及微生物的影响[J]. 华北农学报, 2008, 23(4): 208-212.
- [4] 王欣英, 李文庆, 张兴海, 等. 前茬作物营养对烟草生长和品质的影响[J]. 河南农业科学, 2006(2): 41-45.

(上接第 49 页)

参考文献:

- [1] 徐瑞富, 任永信. 连作花生田土壤微生物群落动态与减产因素分析[J]. 农业系统科学与综合研究, 2003, 19(1): 33-38.
- [2] 徐瑞富, 王小龙. 花生连作田土壤微生物群落动态与土壤养分关系研究[J]. 花生学报, 2003, 32(3): 19-24.
- [3] 柳春燕, 郭敏, 林学政, 等. 拟康氏木霉和枯草芽孢杆菌对黄瓜枯萎病的协同防治作用[J]. 中国生物防治, 2005, 21(8): 206-208.
- [4] 陶光灿, 王素英, 郭兴强. 以固氮菌和解磷菌筛选拮抗作物病害的细菌组合[J]. 应用生态学报, 2006, 17(3): 462-467.
- [5] 颜艳伟, 张红, 刘露, 等. 连作花生田根际土壤优势细菌的分离和鉴定[J]. 河南农业科学, 2011, 40(6): 74-78.
- [6] Kokalis-Burelle N, Klopper J W, Reddy M S. Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms[J]. Applied Soil Ecology, 2006, 31: 91-100.
- [7] 张铎, 谢莉, 张蕾, 等. 棉花黄萎病拮抗内生菌的筛选鉴定及抗菌物质研究[J]. 河北师范大学学报, 2008, 32

- [5] 刘建军, 符云鹏, 张常兴, 等. 氮肥基追比对烤烟生长及产量和品质的影响[J]. 河南农业科学, 2011, 40(4): 74-77.
- [6] 武丽, 徐晓燕, 朱小茜, 等. 我国不同生态烟区烤烟的部分化学成分和多酚类物质含量的比较[J]. 华北农学报, 2008, 23(B06): 153-156.
- [7] 杜铮, 魏庆华, 刘卫群. 河南省不同地区烤烟碳氮代谢与衰老启动关系的分析[J]. 河南农业科学, 2011, 40(6): 52-55.
- [8] 黄昌祥, 田景先, 吴峰, 等. 生态栽培因素对特色烟叶的影响[J]. 天津农业科学, 2009, 15(6): 39-40.
- [9] 龙秋蓉, 杨通隆. 烤烟品质特征与生态条件和栽培条件关系的研究[J]. 天津农业科学, 2010, 16(4): 99-101.
- [10] 陈荣平, 杨铁钊. 我国烟草品种工作的分析与思考[J]. 中国烟草学报, 2007, 13(6): 47-50.
- [11] 汤朝起, 王平, 窦玉青, 等. 河南烤烟主要化学成分与吸食品质的关系[J]. 中国烟草科学, 2009, 30(5): 41-45.
- [12] 杨义良, 吴峰, 杨通隆, 等. 不同品种对特色烟叶形成的影响研究[J]. 天津农业科学, 2010, 16(6): 28-31.
- [13] 巢进, 张建中, 田茂成, 等. 湘西烤烟新品种适应性研究[J]. 天津农业科学, 2011, 17(5): 87-90.

(5): 673-676.

- [8] 黄亚丽, 张丽萍, 李书生, 等. 绿色木霉菌剂对花生重茬病害的防治效果研究[J]. 现代农药, 2006, 5(6): 35-37.
- [9] 曹爱东, 秦庆红. 花生连作重茬减产原因及增产措施[J]. 现代农业科技, 2007(21): 137-138.
- [10] 乔宏萍, 黄丽丽, 康振生. 小麦内生细菌及其对根茎部主要病原真菌的抑制作用[J]. 应用生态学报, 2006, 17(4): 690-694.
- [11] 戴传超, 谢慧, 王兴祥. 间作药材与接种内生真菌对连作花生土壤微生物区系及产量的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(8): 2105-2111.
- [12] 张晓舟, 徐剑宏, 李顺鹏. 植病生防芽孢杆菌的分离筛选与初步鉴定[J]. 土壤, 2005, 37(1): 85-88.
- [13] Harman G E, Petzoldt R, Comis A, et al. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on disease caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graninicola* [J]. Phytopathology, 2004, 94: 147-153.
- [14] 周启星, 宋玉芳, 孙铁珩. 生物修复研究及应用进展[J]. 自然科学进展, 2004, 14(7): 721-728.