

冬荪绿霉病病原鉴定及药剂筛选

刘忠玄¹, 王万坤¹, 吴阳², 黄静¹, 王晶¹, 王芳¹, 马丁³, 康超^{1*}

(1. 贵州科学院贵州省生物研究所, 贵州贵阳 550025; 2. 贵州科学院贵州省分析测试院, 贵州贵阳 550002; 3. 铜仁职业技术学院, 贵州铜仁 554300)

摘要 以采自贵州省大方县、织金县种植基地的冬荪(*Phallus dongsun*)绿霉病样品为试材, 经病原分离和致病性测定, 结合病原真菌形态特征并基于 *ITS*、*tef1*、*rpb2* 这 3 个基因片段进行系统发育分析, 并测定该病原菌对 4 种杀菌剂及其 2 种混配药剂的敏感性, 以期揭示病原种类并寻找有效药剂, 为病害的综合防治研究提供借鉴。结果表明, 病原真菌为绒毛木霉(*Trichoderma tomentosum*); 4 种原药中苯醚甲环唑对该菌株抑制最强, EC_{50} 为 1.93 mg/L, 其次为吡唑醚菌酯和咪鲜胺锰盐, EC_{50} 分别为 4.02 和 4.96 mg/L; 混配组合中, 咪鲜胺锰盐和苯醚甲环唑 1:2 时, EC_{50} 为 2.18 mg/L, 共毒系数 CTC 值为 150.88, 具有显著的协同增效作用。

关键词 真菌病害; 多位点系统发育分析; 半最大效应浓度; 药剂混配

中图分类号 S435.6 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2023)04-0144-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.04.034



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Pathogen Identification of Mold Disease of *Phallus dongsun* and Fungicides Selection

LIU Zhong-xuan¹, WANG Wan-kun¹, WU Yang² et al (1. Guizhou Institute of Biology, Guizhou Academy of Sciences, Guiyang, Guizhou 550025; 2. Guizhou Analysis and Testing Institute, Guizhou Academy of Sciences, Guiyang, Guizhou 550002)

Abstract To identify the pathogen, *Phallus dongsun* samples with green mold were collected from Dafang County and Zhijin County, Guizhou Province. The pathogen was isolated and then identified based on pathogenicity test, morphological characteristics and multi-locus phylogenetic analysis (*ITS*, *tef1* and *rpb2*). The sensitivities of the pathogen to 4 fungicides and 2 mixing were evaluated. This study provides references for further integrated control of the disease. The results showed that pathogen was identified as *Trichoderma tomentosum*. The results of the sensitivities evaluation showed that all fungicides had inhibition effect on the pathogen, of which, difenoconazole had the best inhibition effect, EC_{50} = 1.93 mg/L. The EC_{50} of pyraclostrobin and prochloraz-manganese were 4.02 and 4.96 mg/L, respectively. The mixing of prochloraz-manganese and difenoconazole (1:2) had the best inhibition effect, EC_{50} = 2.18 mg/L, CTC = 150.88.

Key words Fungal disease; Multi-locus phylogenetic analysis; Concentration for 50% of maximal effect; Fungicide mixing

冬荪(*Phallus dongsun*), 常寄生于枯竹根部, 属于鬼笔目(Phallales)鬼笔科(Phallaceae)鬼笔属(*Phallus*)^[1], 是一种营养丰富、味道鲜美、肉质松脆的食药两用的林下真菌。自然条件下, 冬荪单生或簇生于林下腐殖质层中, 主要分布于贵州、四川、云南、广东、安徽等地^[2-4]。冬荪子实体未开伞前呈球形或卵圆形, 俗称菌蕾或菌蛋, 半埋土生, 灰色至白色, 野生菌蛋直径 5~7 cm, 人工种植菌蛋可达 20 cm, 基部有白色或浅黄色菌索, 后期表面有皱纹, 有弹性, 待菌蛋硬化成熟后, 菌托层由上部裂开开伞, 形成白色子实体。冬荪富含邻苯二甲酸二丁酯、多糖、紫苏烯、异山梨醇、麦甾醇、甲基硫醇、氨基酸、糖醛酸聚糖等成分, 提取物能抑制腐败菌生长, 可开发为短期的生物性防腐剂, 子实体、菌柄和菌托具有一定的治风湿、活血祛瘀、镇痛、抗氧化甚至抗癌的药用活性^[5-7], 适当的食用可增强免疫力、防病保健^[8], 随着食药价值和资源开发利用研发不断突破, 冬荪日益成为人们关注的珍稀食用菌焦点。

冬荪是贵州省大方县的地方特色, 也是中国国家地理标志产品, 更是贵州省最主要林下经济产业之一。2015 年前大方县、织金县及周边已种植超过 133.33 hm²^[9], 至 2016 年达 400 hm², 净产量约 60 t。十三五期间, 贵州省规划人工种植

冬荪约 666.67 hm², 产量达 5 万 t[贵州省“十三五”食用菌产业发展规划(2016—2020 年)]。近年来, 随着贵州省农业产业结构调整以及脱贫攻坚和乡村振兴发展战略, 助推食用菌产业迅速发展, 冬荪种植规模不断扩大, 尤其是国家地理标志产品认证后, 冬荪产业在贵州形成裂变式发展, 产品数量和质量不断提升, 相关的科研成果也不断涌现, 但国内外对冬荪的研究集中于资源分类、组织分离、良种选育、栽培技术、农药及重金属残留、生化药理特性等方面^[10-12]。冬荪病虫害研究极少, 主要是其抗病虫害能力较强, 一是冬荪子实体由菌蛋生长破壳形成, 自身具备较好的物理防御系统; 二是冬荪特殊的气味和分泌物能有效趋避部分病虫害侵袭, 因此, 关于冬荪病虫害的研究极少。

2020 和 2021 年秋季, 正直冬荪收获期, 笔者所在课题组成员分别从贵州省毕节市大方、织金 2 个县采集 65 份冬荪菌蛋绿霉病样本, 并对 5 个种植基地(约 20 hm²)进行初步调查, 其发病率达 9%, 发病程度为轻度。经鉴定为绒毛木霉(*T. tomentosum*)引起的冬荪新病害, 严重制约当地冬荪产业高质量发展, 急需阐明该病害的病原学并提出科学的防控方案。然而, 截至 2020 年末, 中国农药信息网(<http://www.chinapesticide.org.cn/>)登记的食用菌可用农药产品 13 个、有效成分 6 种, 3 种类型(植物生长调节剂、杀菌剂、杀虫剂), 仅咪鲜胺锰盐为杀菌剂^[13], 但均未提及冬荪病害, 关于该病害的防治仍是空白, 防治药剂急需筛选论证。因此, 明确冬荪绿霉病病原种类、筛选具有针对性的高效杀菌剂并进行药剂混配试验, 选出共毒系数较高的混配方案为生产实践提供理论参考, 对当地冬荪绿霉病的防控和延缓病原抗药性具有十

基金项目 贵州科学院博士科研启动经费(黔科院 R 字[2021]4 号); 黔科合支撑([2022]一般 114); 贵州省生物研究所青年基金(黔生所字[2021]04 号)。

作者简介 刘忠玄(1991—), 男, 贵州平塘人, 副研究员, 博士, 从事作物病害研究。*通信作者, 高级工程师, 硕士, 从事食用菌育种与栽培研究。

收稿日期 2022-04-06; **修回日期** 2022-05-07

分重要的指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料 2020 和 2021 年秋季,从贵州省毕节市大方县、织金县采集冬荪绿霉病菌蛋共 65 份,用无菌袋密封包装带回实验室进行病害诊断、病原分离。

4 种杀菌剂原药分别为 95% 咪鲜胺锰盐(常州天择化工有限公司)、96% 吡唑醚菌酯(湖北康宝泰精细化工有限公司)、96% 苯醚甲环唑(常熟恒耀新材料有限公司)、95% 唑菌酯(沈阳化工研究院有限公司)。

1.2 冬荪绿霉病原菌分离培养 组织分离法:选择轻、中度感病菌蛋样品,以 75% 无水乙醇消毒 10 s,再用 1% NaClO 消毒 1 min,无菌水冲洗 3 次并用无菌滤纸吸干水分,切取病健交界处组织块(0.5 cm × 0.5 cm × 0.5 cm)于 PDA 培养基中 25 °C 黑暗培养 3 d,挑取纯净的菌丝进一步纯化,分离物保存于 4 °C 的 PDA 斜面。

菌丝分离法:在超净工作台用无菌针挑取中、重度感病菌蛋样品表面病原菌菌丝尖端,置于 PDA 培养基中 25 °C 黑暗培养 3 d,进一步纯化得到纯分离物保存于 4 °C 的 PDA 斜面。

观察记录 PDA 培养基上病原菌落形态、培养特征,显微镜下观察分生孢子、产孢结构形态和大小并拍照。

1.3 病原物致病性验证 2021 年 10 月,在大方县 2 个冬荪基地(105°41'45"E,27°10'16"N),采用注射法将孢子悬浮液(10^6 conidia/mL)接种至无症状的冬荪菌蛋(直径 8~12 cm)表皮层,每个菌蛋 2 个接种点,各 50 μL,从分离纯化获得培养特征相似的菌株 15 株中随机选择 3 个代表菌株(GZDS1101、GZDS1102、GZDS1103)进行接种,各 10 个重复,以 10 个无菌水接种为对照。

1.4 病原物分子鉴定 参照擎科生物提供试剂盒[T₃ Direct PCR Kit(TSE011)(TsingKe, Beijing, China)]说明提取病原 DNA,并参照各引物特性进行 PCR 扩增。3 个致病代表菌株 GZDS1101、GZDS1102、GZDS1103 的 *ITS*、*tef1*、*rpb2* 基因片段分别采用引物:(*ITS*) ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'),(*ITS*) ITS4(5'-TCCGCTTATTGATATGC-3');(*tef1*) EF1-728F(5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3'),(*tef1*) TEF1LLErev(5'-AACTTGCAGGCAATGTGG-3')^[14];(*rpb2*) fRPB2-5F(5'-GGAGATACTTCATCATCAATGG-3'),(*rpb2*) fRPB2-7cR(5'-CCCATGGCTTGCTTGCCCAT-3')^[15]。

PCR 反应体系(50 μL),DNA 模板 1 μL,引物 1 μL,2 × T₃ Direct PCR Mix 25 μL,ddH₂O 补足 50 μL。反应条件:94 °C 预热 5 min,94 °C 变性 30 s,55~60 °C(各引物不同)退火 30 s,72 °C 延伸 1 min,72 °C 补平 10 min,40 个循环。PCR 产物电泳检测并纯化后送至擎科生物上海分公司进行测序并用 Chromas 软件分析序列,上传至 NCBI 数据库,通过 BLAST 同源比对,采用 MEGA 5.0 构建系统发育树。

1.5 防治药剂筛选 采用菌丝生长速率法筛选药剂^[16]。以 GZDS1101 为供试病原菌,将 4 种原药配制成母液再稀释至少 5 个浓度梯度,按体积 1:9 加入 PDA 并制成平板,取直径

5 mm 菌饼接种于 5 个浓度的 PDA 带毒平板中心,等量无菌水代替农药作为对照,重复 3 次,28 °C 培养 2~3 d 后采用十字交叉法测量菌落直径,运用 DPS 13.0 系统计算各药剂对绒毛木霉菌丝生长抑制回归方程和 EC₅₀。

菌丝生长抑制率=(对照菌落直径-处理菌落直径)/(对照菌落直径-菌饼直径)×100%

将咪鲜胺锰和苯醚甲环唑进行组合配比,按质量浓度 8:1,4:1,2:1,1:1,1:2,1:4,1:8 混合并稀释至试验浓度进行测试,以单剂作为对照,以无菌水替代为空白对照,各重复 3 次,求得各配比的毒力回归方程和 EC₅₀,再根据共毒系数法求得独立指数、理论毒力指数、实际毒力指数和混合剂的共毒系数 CTC,CTC>120 为增效作用,80<CTC≤120 为相加作用,CTC<80 为拮抗作用。

实测药剂毒力指数(ATI)=标准药剂的 EC₅₀/供试药剂的 EC₅₀×100%

混剂理论毒力指数(TTI)=(药剂 A 毒力指数×Ax)+(药剂 B 毒力指数×Bx)(Ax、Bx 为药剂 A、B 在混剂中的百分比)

共毒系数(CTC)=ATI/TTI×100%

2 结果与分析

2.1 冬荪绿霉病害症状 该病害发生于冬荪菌蛋上,成熟子实体未见发生。病害的早期,菌蛋表面出现不规则的、褐色至黑色斑点,呈水渍状,病斑不断扩大,2~3 d 后产生白霉状物(病原的菌丝体),菌蛋表皮出现腐烂症状并软化,灰白色的表皮变为明显水渍状,开裂,内部肉质层裸露,软腐的表皮褶皱状塌陷,白色菌丝转色为绿色粉状霉层(图 1b、c、d),嗅之有闷人的芳香,无恶臭味,很快全蛋腐烂、干瘪,中重度感病菌蛋将无法发育为成熟的子实体,影响冬荪产量和质量,严重时甚至绝收。

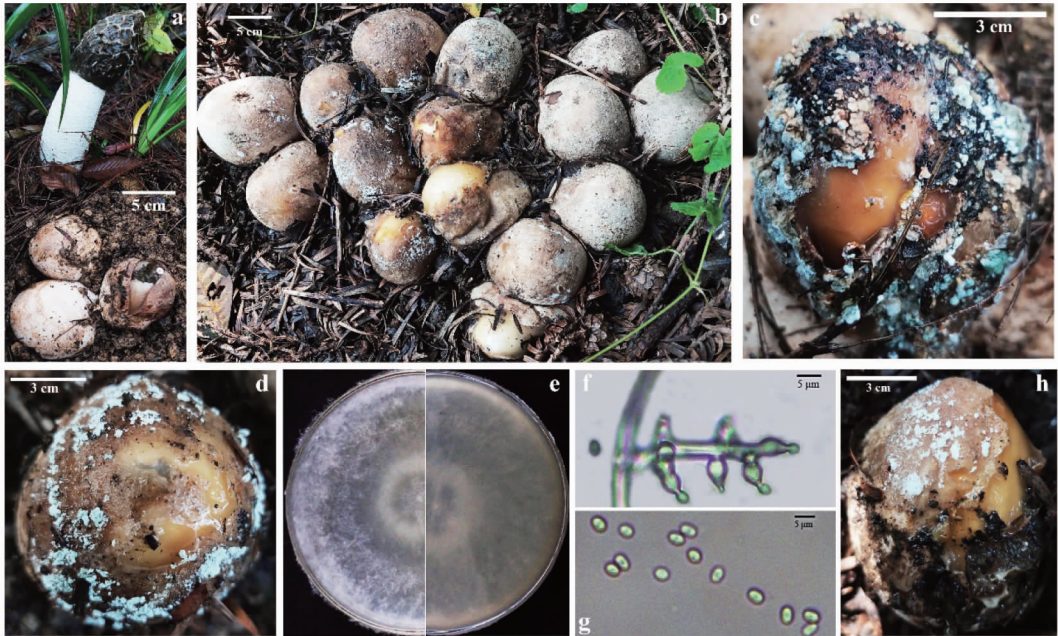
2.2 致病性测定结果 3 个菌株接种 3 d 后,处理组均观察到白霉状菌丝,明显的表皮软腐症状与野外发病症状相一致,7 d 后出现浅绿色菌落(图 1h),对照组无感病症状,再分离发病组病原与接种病原形态特征一致,完成柯赫氏法则验证。

2.3 冬荪绿霉病原形态鉴定结果 3 个致病菌株在 PDA 平板上生长迅速,菌丝稀疏棉絮状,白色,中心浅黄色,背面浅灰黄色;菌丝无隔;分生孢子梗从菌丝交错生出,直立单生,具有明显的颈部,多数向上弯曲,长(4.0-)4.2~5.6(-5.9) μm,最宽(2.9-)3.1~3.8(-4.3) μm,底部宽(1.7-)2.1~2.7(-3.1) μm($n=50$,图 1f);分生孢子光滑、宽椭圆形,大小为(2.7-)3~3.3(-3.6)×2.2~2.7 μm($n=50$,图 1g),病原形态特征与绒毛木霉 *T.tomentosum* 一致^[17-19]。

2.4 冬荪绿霉病原分子鉴定结果 根据 NCBI-BLAST 和系统发育树分析,3 个菌株为同种,*ITS* 基因与 *T.tomentosum* (KX343119.1、KX343120.1、KX343120.1 等)、*T.cerinum* (KP009282.1、KP009288.1) 2 个种同源性>98%,与其他种同源性<97%(图 2),初步确认为木霉属 *Trichoderma*; *tef1* 和

rbp2 基因与 *T. tomentosum* (CBS 120637, S23, S33, 等; 图 3、图 4) 同源性均为 99%~100%, 与其他种 <96%, 种水平将 3 株病

原鉴定为绒毛木霉 *T. tomentosum*^[14]。



注: a. 无症状的冬荪子实体和菌蛋, b、c、d. 感病菌蛋软腐、绿霉和开裂症状, e. 绒毛木霉在 PDA 平板生长 5 d 后菌落正面和背面, f. 分生孢子梗结构, g. 分生孢子, h. 病原 GZDS1101 接种 7 d 后发病症状。

Note: a. Asymptomatic mature fruit body and immature “egg” of stinkhorn, b, c, d. Symptoms of rot, green mold and cracking on immature “egg”, respectively, e. *T. tomentosum* on PDA medium 5 days (front and back), f. Conidiophore, g. Conidia, h. Symptoms at seven days after inoculation, pathogenic bacteria GZDS1101 in the treatment (GZDS1101).

图 1 冬荪绿霉病

Fig.1 Green mold of *P. dongsun*

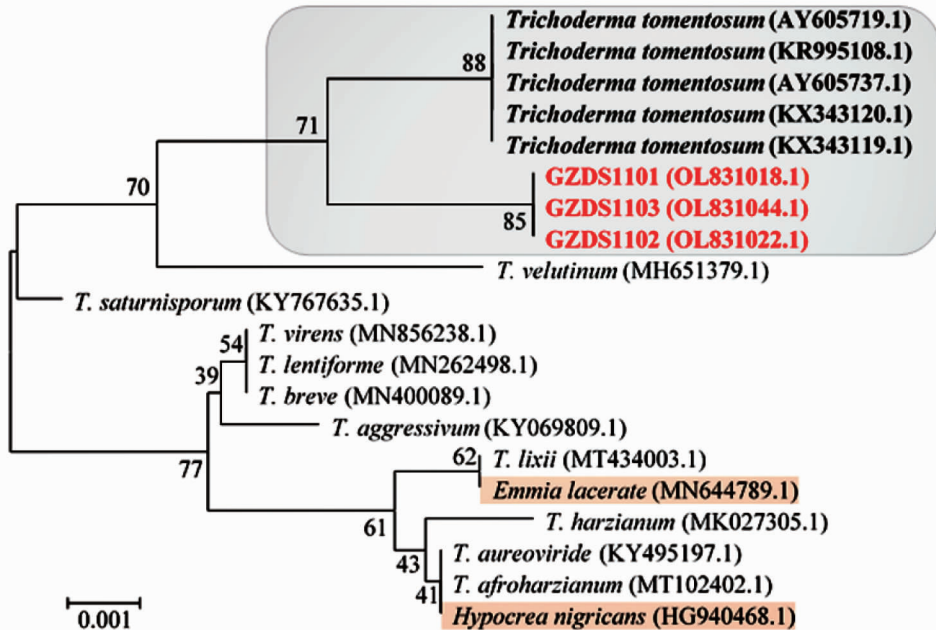


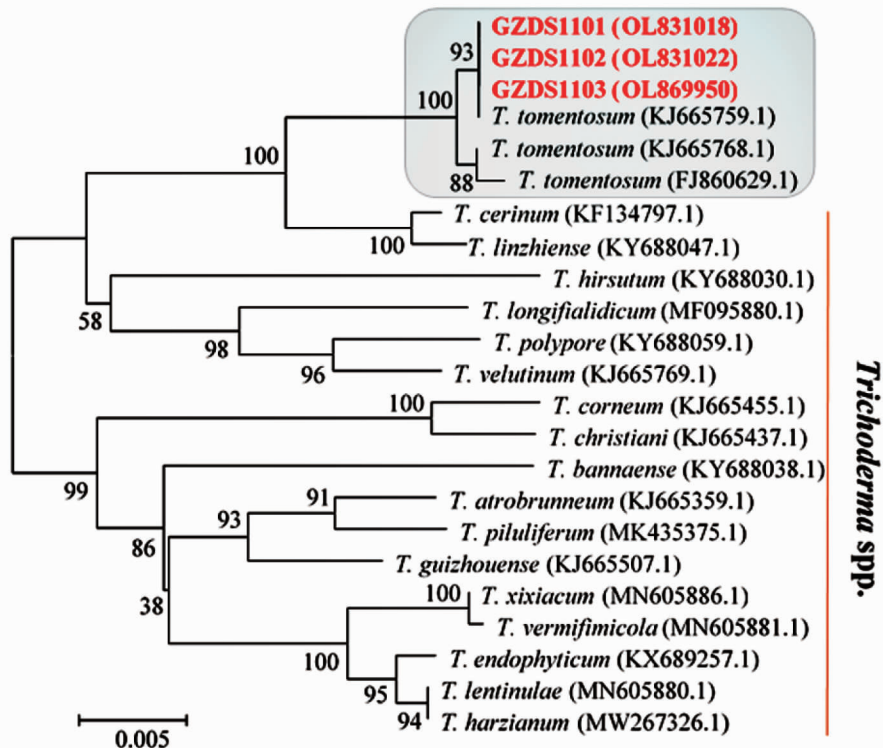
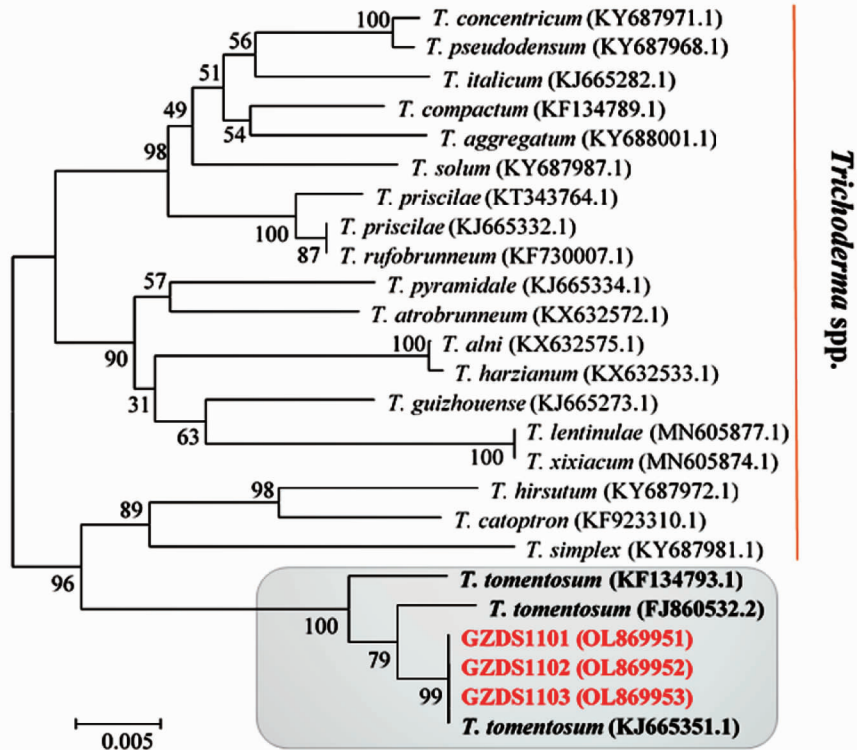
图 2 基于 rDNA-ITS 序列的病原菌系统发育进化树

Fig.2 The phylogenetic tree of pathogens based on rDNA-ITS sequence

2.5 防治冬荪绿霉病药剂筛选结果 4 种供试药剂对病原菌生长均有一定的抑制效果, 但敏感性存在显著差异 (表 1)。苯醚甲环唑抑菌作用最强, EC_{50} 为 1.93 mg/L; 其次是吡

唑醚菌酯, EC_{50} 为 4.02 mg/L, 咪鲜胺锰盐 EC_{50} 为 4.96 mg/L, 而啉菌酯敏感性较低, EC_{50} 为 23.89 mg/L。

选用咪鲜胺锰盐 (食用菌合法登记) 与敏感性最强的苯

图 3 基于 *tef1* 序列的病原菌系统发育进化树Fig.3 The phylogenetic tree of pathogens based on *tef1* sequence图 4 基于 *rpb2* 序列的病原菌系统发育进化树Fig.4 The phylogenetic tree of pathogens based on *rpb2* sequence

醚甲环唑进行混配试验,结果显示不同比例混配抑菌效果差异显著。咪鲜胺锰盐与苯醚甲环唑的质量比为 1:2 时 CTC > 120, 为 150.88, 表现增效作用, 增效显著。质量比为 1:1 和 1:4 时, CTC 值分别为 104.25 和 117.56, 为相加作用, 其他混配质量比的 CTC 值均 < 80, 在试验中表现一定的拮抗作用

(表 2)。

3 讨论

该研究对采自贵州省大方和织金 2 县的冬荪绿霉病进行病原分离、致病性测定及鉴定发现, 病原菌株具有较强的致病性, 经形态和多基因分子生物学鉴定为绒毛木霉

表1 不同杀菌剂对病原菌丝生长抑制情况

Table 1 Inhibition of different fungicides on pathogen growth

杀菌剂 Fungicide	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数(R^2) Correlation coefficient	EC ₅₀ mg/L
95%咪鲜胺锰盐 95% prochloraz manganese salt	$y = 1.702x + 3.645$	0.989 3	4.96 bB
96%吡唑醚菌酯 96% pyrazolyl methyl ester	$y = 1.612x + 4.023$	0.993 1	4.02 cC
96%苯醚甲环唑 96% difenoconazole	$y = 1.571x + 4.874$	0.992 3	1.93 dD
95%唑菌酯 95% azoxystrobin	$y = 2.352x + 1.751$	0.991 2	23.89 aA

注:同列不同大、小写字母分别表示在0.01和0.05水平差异显著。

Note: Different capital letters and lowercases indicated significant difference at the levels of 0.01 and 0.05, respectively.

表2 咪鲜胺锰盐与苯醚甲环唑混配抑菌效果

Table 2 Inhibition of the mixture of prochloraz manganese salt and difenoconazole

杀菌剂 Fungicide	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数(R^2) Correlation coefficient	EC ₅₀ mg/L	共毒系数 (CTC)
95%咪鲜胺锰盐 95% prochloraz manganese salt	$y = 1.689x + 3.712$	0.991 1	5.03 aA	—
96%苯醚甲环唑 96% difenoconazole	$y = 1.573x + 4.671$	0.995 7	1.90 eEF	—
咪:苯(8:1)	$y = 0.695x + 4.591$	0.998 9	4.19 bB	48.72 dD
咪:苯(4:1)	$y = 0.845 6x + 4.841$	0.989 2	4.08 bcBC	69.56 cC
咪:苯(2:1)	$y = 0.682 3x + 4.612$	0.992 5	3.56 cC	47.65 dD
咪:苯(1:1)	$y = 0.856 1x + 4.657$	0.991 2	2.87 dD	104.25 eE
咪:苯(1:2)	$y = 0.918 1x + 4.672$	0.992 1	2.18 eE	150.88 aA
咪:苯(1:4)	$y = 1.438 7x + 4.897 4$	0.990 4	1.52 fF	117.56 bB
咪:苯(1:8)	$y = 0.786 5x + 4.632 0$	0.992 2	3.31 cdCD	39.32 eE

注:同列不同大、小写字母分别表示在0.01和0.05水平差异显著。

Note: Different capital letters and lowercases indicated significant difference at the levels of 0.01 and 0.05, respectively.

T.tomentosum。采用菌丝生长速率法测定4种杀菌剂原药对病原菌的毒力,结果表明,病原菌对4种药剂均有一定的敏感性,其中苯醚甲环唑抑菌作用最强,EC₅₀为1.93 mg/L;其次是吡唑醚菌酯和咪鲜胺锰盐也较敏感,EC₅₀分别为4.02和4.96 mg/L,而唑菌酯敏感性相对较低,EC₅₀为23.89 mg/L。咪鲜胺锰盐与苯醚甲环唑混质量比为1:2时,EC₅₀为2.18 mg/L,CTC值为150.88,大于120,表现增效作用,在该试验中抑菌效果最强,质量比为1:1和1:4时,为相加作用,其他混配质量比表现一定的拮抗作用。

目前,关于冬苕的研究主要在中国,并集中在种源选育、栽培技术和产品加工等方面,关于病害的研究极少,随着贵州地区规模化种植及食用菌连作障碍的影响,冬苕病害日益严重,该研究的冬苕绿霉病一般在低海拔(800 m以下)区域的高温天气(28℃以上)大发生,传播速度较快,具有较强的传染性,尤其是蚊虫叮咬或受伤的冬苕菌蛋上发病率更高,伤口有助于病原菌入侵定殖,该病害已成为制约该地区冬苕产业发展的重要因素之一,该研究鉴定冬苕绿霉病原为绒毛霉,该菌在有益和有害菌方面均少有记载,急需科学的防控策略和方法。

在药剂筛选试验中,仅咪鲜胺锰盐为已登记的食用菌可用药,在供试药剂中单剂药效中等;而苯醚甲环唑单剂作用效果最佳,将二者进行混配测试,结果显示二者并不是简单的相加增效作用,当咪:苯为1:2时增效最显著,不合适的混配甚至出现一定的拮抗作用,通过药剂混配,不仅能提升协同增效杀菌谱,还能延缓病原菌抗药性产生,提升药剂适用期限。药剂筛选结果表明,4种供试药剂对病原菌均有较强的抑制作用,该结果可为冬苕绿霉病的田间药剂防治提供一

定的理论依据。

参考文献

- LI T, LI T H, DENG W Q, et al. *Phallus dongsun* and *P. lutescens*, two new species of *Phallaceae* (Basidiomycota) from China [J]. *Phytotaxa*, 2020, 443 (1): 19–37.
- SHAO L P, XIANG C T. *Forest Mushrooms of China* [M]. Harbin: Northeast Forest University Press, 1997: 1–590.
- KIRK P M, CANNON P F, DAVID J C, et al. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi* [M]. 9th Edition. Wallingford (UK): CAB International, 2001: 1–650.
- 邓旺秋, 宋斌, 林群英, 等. 短褶竹荪和白鬼笔 18SrDNA 部分序列及其系统学意义 [J]. *菌物研究*, 2004, 2(1): 35–39.
- 朱国胜, 桂阳, 刘鹏, 等. 白鬼笔仿野生栽培技术 [J]. *农技服务*, 2018, 35 (3): 36–40.
- 首坤秀, 王山立, 林灵, 等. 冬苕及其蛋托的成分分析和抗氧化活性研究 [J]. *食品科技*, 2020, 45(2): 264–271.
- 国家中医药管理局. 《中华本草》编委会. 中华本草: 第1册: 第2卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 602–604.
- KIM B K, CHOI E C, CHUNG K S, et al. Studies on constituents of Korean basidiomycetes (L) [J]. *Archives of pharmacal research*, 1983, 6(2): 141–142.
- 朱国胜. 大方及周边地区冬苕产业发展情况调查报告 [C] // 2016 第4届全国天麻会议暨中国(大方)天麻产业发展高峰论坛资料汇编. 北京: 中国菌物学会, 2016: 47–50.
- 首坤秀. 冬苕成分分析、活性评价及其多糖分离纯化和结构性质 [D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2020: 1–73.
- ZHAO S H, NONG G Z, MENG L L, et al. Study on enzymatic extraction process of polysaccharide from *Urena lobata* L. and investigation on its antioxidant activity [J]. *Chinese journal of pharmacology and toxicology*, 2018, 32(4): 341.
- 王彩云, 侯俊, 王永, 等. 白鬼笔研究进展 [J]. *贵州农业科学*, 2019, 47 (9): 44–48.
- 贾春虹, 简秋, 赵尔成, 等. 我国食用菌中农药限量标准及农药登记现状浅析 [J]. *农药科学与管理*, 2020, 41(8): 11–15.
- JAKLITSCH W M, VOGLMAYR H. Biodiversity of *Trichoderma* (*Hypocreaceae*) in Southern Europe and Macaronesia [J]. *Studies in mycology*, 2015, 80: 1–87.

(下转第155页)

3 结论与讨论

深翻 70~80 cm 后烟株生育期延长,株高、节距、茎围、腰叶叶长、腰叶叶宽均明显低于对照,成熟落黄差,贪青晚熟,进而造成经济性状偏低。深翻 50~60 cm 同时配施有机肥 3 000 kg/hm²+发酵饼肥 750 kg/hm² 生育期适宜,促进地上部分生长,抗病性整齐提高,烟株发育更均衡,烤后烟叶产质量得到明显提升。深翻 30~40 cm 翻耕深度太浅,未有效降低土传性病害发病率,引起后期抢采。表明翻耕深度要适宜,并不是越深越好,也不是越浅越好。王娜等^[8]研究表明,深耕到耕作层以下,心土层的生土就会被翻到表土层,不利于烟株的生长。同时,在确定适宜的翻耕深度情况下,要配施生物有机肥,才能达到更加明显的作用效果。

表 5 不同处理烤烟经济性状

Table 5 Economic character of tobacco with various treatments

处理 Treatment	产量 Yield kg/hm ²	产值 Economic value 元/hm ²	上等烟比例 Proportion of superior tobacco %	中上等烟 比例 Proportion of medium- superior tobacco %	均价 Average price 元/kg
A ₁ -1	1 651.50	45 086.40	55.02	88.43	27.30
A ₁ -2	1 707.00	46 746.15	61.78	88.33	27.38
A ₁ -3	1 809.00	48 538.05	65.35	90.24	26.83
A ₂ -1	1 821.00	52 225.20	66.32	94.81	28.68
A ₂ -2	1 911.00	56 734.20	73.04	100.00	29.69
A ₂ -3	1 927.50	56 000.25	72.36	98.67	29.05
A ₃ -1	1 726.50	45 304.80	51.84	78.96	26.24
A ₃ -2	1 839.00	49 902.30	58.45	83.63	27.14
A ₃ -3	1 611.00	41 183.10	53.23	78.35	25.56
CK	1 834.50	53 664.45	69.43	98.88	29.25

该研究结果表明,通过深翻配施有机肥后,根际土壤细菌群落发生明显变化,翻耕 50~60 cm 配施有机肥 3 000 kg/hm²+发酵饼肥 750 kg/hm² 处理土壤中所特有的细菌 OTUs 数量明显高于对照,通过细菌群落 α 多样性分析表明,翻耕 50~60 cm 配施有机肥 3 000 kg/hm²+发酵饼肥 750 kg/hm² 处理 Chao1 指数、Shannon 指数显著高于对照。施河丽等^[16]研究表明施用有机肥显著影响了土壤细菌的群落结构,促进了土壤中细菌的增殖。同时,施娟等^[24]研究表明,施用有机肥可提高植烟土壤细菌物种丰富度,改变了土壤细菌菌群结构和土壤优势细菌种类和比例。这与该研究结果一致,由此可知,通过深翻配施生物有机肥可提高植烟土壤微生物多样性,这也是降低田间土传性病害原因之一。

因此,结合病害防控效果及生产投入成本情况,综合考虑在土层较厚的区域,实施翻耕 50~60 cm 配施有机肥 3 000 kg/hm²+发酵饼肥 750 kg/hm² 整体效果较好。若土层较浅或土传病害发病率较低区域,实施翻耕 30~40 cm 配施有机肥 2 250 kg/hm²+发酵饼肥 750 kg/hm² 整体效果较好。

参考文献

- [1] 邓阳春,黄建国.长期连作对烤烟产量和土壤养分的影响[J].植物营养与肥料学报,2010,16(4):840-845.
- [2] 晋艳,杨宇虹,段玉琪,等.烤烟连作对烟叶产量和质量的影响研究初报[J].烟草科技,2002,35(1):41-45.
- [3] 晋艳,杨宇虹,段玉琪,等.烤烟轮作、连作对烟叶产量质量的影响[J].西南农业学报,2004,17(S1):267-271.
- [4] 刘巧真,郭芳阳,吴照辉,等.烤烟连作土壤障碍因子及防治措施[J].中国农学通报,2012,28(10):87-90.
- [5] 赵凯,姜翼来,王玲莉,等.烤烟连作对烟叶产量和质量的影响[J].现代农业科技,2008(8):118-119.
- [6] 童文杰,邓小鹏,徐照丽,等.不同耕作深度对土壤物理性状及烤烟根系空间分布特征的影响[J].中国生态农业学报,2016,24(11):1464-1472.
- [7] 童文杰,杨敏,王皓,等.耕作方式对山地烟田烤烟根际土壤真菌群落结构的影响[J].中国烟草学报,2021,27(1):56-63.
- [8] 王娜,兰建强,王定伟,等.不同耕作深度对烤烟生长及产、质量的影响[J].西南农业学报,2014,27(4):1737-1740.
- [9] 徐天养,赵正雄,李忠环,等.耕作深度对烤烟生长、养分吸收及产量、质量的影响[J].作物学报,2009,35(7):1364-1368.
- [10] 高建爽,邵焱,钱壮壮,等.土壤耕作深度对烤烟生长及产质量的影响[J].贵州农业科学,2020,48(5):37-40.
- [11] 查宏波,赵芳,陈旭,等.翻耕深度对连作烟地土壤物理特性、烤烟生长发育及产质量的影响[J].华北农学报,2019,34(S1):250-254.
- [12] 孙敬国,王昌军,陈振国,等.不同耕作方式对土壤及烤烟的影响[J].湖北大学学报(自然科学版),2017,39(3):299-304.
- [13] 张启明,陈仁霄,管成伟,等.不同有机物料对土壤改良和烤烟产质量的影响[J].土壤,2018,50(5):929-933.
- [14] 钟泽林,冯文龙,余伟,等.生物有机肥对烟株根系及土壤理化性质的影响[J].安徽农业科学,2021,49(2):138-142,146.
- [15] 刘国顺,彭华伟.生物有机肥对植烟土壤肥力及烤烟干物质积累的影响[J].河南农业科学,2005,34(1):46-49.
- [16] 施河丽,孙立广,谭军,等.生物有机肥对烟草青枯病的防效及对土壤细菌群落的影响[J].中国烟草学报,2018,39(2):54-62.
- [17] 杨永奎,李奇,陈莹,等.不同菌剂发酵菌渣有机肥对烤烟产量及抗病性的影响[J].贵州农业科学,2018,46(6):56-59.
- [18] 徐文兵,吴峰,邓小华,等.根区施用不同生物有机肥对烤烟根系生长发育的影响[J].中国烟草科学,2017,38(5):45-49.
- [19] 杨德廉,李祥英,赵文超,等.有机肥施用对烟草光合特性的影响[J].中国农学通报,2016,32(28):47-51.
- [20] 赵会纳,雷波,潘文杰,等.有机肥施用种类和时间对烤烟生长发育和品质的影响[J].河南农业科学,2012,41(10):53-57.
- [21] 马二登,李军营,马俊红,等.不同种类有机肥施用对初烤烟叶化学品质的影响[J].西南农业学报,2013,26(5):1935-1940.
- [22] 李佳,李璐,杨胜男,等.生物有机肥对植烟土壤微生物及烤后烟叶质量的影响[J].江西农业学报,2019,31(6):63-67.
- [23] 耿明明,赵建,贾瑞莹,等.烟梗(未)有机肥对烟田土壤养分、病害发生及烟叶产质量的影响[J].烟草科技,2016,49(12):28-34.
- [24] 施娟,刘艳红,王田涛,等.有机肥与烟草专用肥配施对植烟土壤微生物和土壤酶活性的动态变化[J].土壤通报,2017,48(5):1126-1131.

(上接第 148 页)

- [15] LIU Y J, WHELEN S, HALL B D. Phylogenetic relationships among ascomycetes: Evidence from an RNA polymerase II subunit [J]. Molecular biology and evolution, 1999, 16(12): 1799-1808.
- [16] 慕立义. 植物化学保护研究方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 1-247.
- [17] LABUDA R. Notes to the identification of *Trichoderma tomentosum* and its

- close relatives within the section *Pachybasium* [M]//NOVÁKOVÁ A. Proceedings of the workshop MICROMYCO. [s.l.]: [s.n.], 2007: 64-73.
- [18] YANG H T. Classification and identification of *Trichoderma* [M]. Beijing: China Land Press, 2009: 165-170.
- [19] JANG S, JANG Y, KIM C W, et al. Five new records of soil-derived *Trichoderma* in Korea: *T. albolutescens*, *T. asperelloides*, *T. orientale*, *T. spirale*, and *T. tomentosum* [J]. Mycobiology, 2017, 45(1): 1-8.