网络出版时间:2026-05-11 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.11.015

防治烟草根腐病的菌药协同复配剂构建

张昊天[1],孙平平[1],武子渊[1],罗朝鹏[2],李正男[1]
(1 内蒙古农业大学 园艺与植物保护学院,内蒙古 呼和浩特 010018;2 中国烟草总公司 郑州烟草研究院,河南 郑州 450001)

[摘 要] 【目的】筛选高效防控烟草根腐病的化学药剂与拮抗菌,构建菌药协同复配剂,以实现对烟草根腐病的绿色高效防控。【方法】以烟草根腐病菌(*Fusarium oxysporum*)JL003为靶标,采用菌丝生长速率法筛选能高效抑制烟草根腐病JL003的化学药剂;利用逐级稀释法从盐爪爪根际土壤中分离菌株,采用皿内拮抗结合活体接种法筛选生防菌并进行耐盐性测定,采用形态观察和分子手段鉴定筛选的生防菌株;通过相融性测定构建菌药复配剂,并利用活体接种法筛选能够高效抑制烟草根腐病的菌药复配剂。【结果】50% 多菌灵可湿性粉剂、43% 戊唑醇悬浮剂和45% 咪鲜胺水乳剂对烟草根腐病菌JL003菌丝生长的EC_{50}分别为0.095 5,0.841 3和0.235 9 mg/L,能显著抑制烟草根腐病菌的生长。从盐爪爪根际土壤中筛选出的菌株YZZ-5对烟草根腐病菌JL003的皿内抑制率为45.60%,活体抑制率为61.92%,在含质量分数1%,10% 和12% NaCl的LBA培养基上均能正常生长,形态学结合16S rDNA和GyrA序列鉴定其为贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)。菌药相融性测定结果显示,50% 多菌灵可湿性粉剂与43% 戊唑醇悬浮剂在稀释4 000倍浓度下对YZZ-5的抑菌圈直径均为0.15 mm,与YZZ-5具有一定的相融性。43% 戊唑醇悬浮剂和50% 多菌灵可湿性粉剂与YZZ-5等量复配后对烟草根腐病的抑制率分别为96.37% 和85.47%,显著高于单个药剂处理。【结论】50% 多菌灵可湿性粉剂、43% 戊唑醇悬浮剂与耐盐生防菌贝莱斯芽孢杆菌YZZ-5复配能够显著提高化学药剂和生防菌对烟草根腐病的防治效果,达到在减药的同时提升防控效果,为烟草根腐病的综合防控提供参考。

[关键词] 烟草根腐病;尖孢镰刀菌;化学药剂;生防菌;菌药复配剂
[中图分类号] S435.72 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)11-0160-10

Construction of a fungicide-biocontrol agent combination for controlling root rot in tobacco

ZHANG Haotian[1], SUN Pingping[1], WU Ziyuan[1], LUO Chaopeng[2], LI Zhengnan[1]
(1 *College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia* 010018, *China*; 2 *Zhengzhou Tobacco Research Institute of CNTC, Zhengzhou, Henan* 450001, *China*)

Abstract: 【Objective】 The study aims to screen highly effective chemical fungicides and antagonistic microorganisms against tobacco root rot, and construct a synergistic combination for green and efficient control of the disease. 【Method】 Chemical agents that effectively inhibit *Fusarium oxysporum* JL003 were screened using the mycelial growth rate method. The serial dilution method was used to isolate strains from the rhizosphere soil of *Kalidium scoparium*. Subsequntly, the biocontrol agents were screened by a combination of *in vitro* antagonism tests and *in vivo* inoculation assays. The salt tolerance of antagonistic strains was determined, and they were identified through morphological observation and molecular analysis. Based on compatibility tests, combined bacterial-agent formulations were constructed. and these formulations were screened for efficient agents

[收稿日期] 2025-10-31 [修回日期] 2025-12-17
[基金项目] 内蒙古自治区自然科学基金项目(2024MS03056);湖南中烟工业有限责任公司科研计划项目(KY2024YC0019);内蒙古农业大学高层次人才科研启动项目(NDYB2018-3,NDYB2019-1,NDYB2018-14)
[作者简介] 张昊天(2002—)女,内蒙古呼伦贝尔人,在读硕士,主要从事园艺病理学研究。E-mail:zht65481074051@qq.com
[通信作者] 罗朝鹏(1981—),男,陕西礼泉人,高级工程师,硕士,主要从事烟草抗病和抗除草剂研究。E-mail:zhiwubingdu@sohu.com
李正男(1983—),男,吉林白城人,教授,博士,博士生导师,主要从事园艺病理学研究。E-mail:lizhengnan@imau.edu.cn

against tobacco root rot using live plant inoculation.【Result】The EC_{50} values of 50% carbendazim wettable powder, 43% tebuconazole suspension concentrate, and 45% prochloraz emulsion in water against the mycelial growth of *F. oxysporum* JL003 were 0.095 5, 0.841 3, and 0.235 9 mg/L, respectively. These agents significantly inhibited the pathogen's growth. Strain YZZ-5, isolated from the rhizosphere of *K scoparium*, exhibited inhibition rates of 45.60% *in vitro* and 61.92% *in vivo*. It grew normally on LBA medium containing 1%, 10%, and 12% NaCl, and was identified as *Bacillus velezensis* based on morphological characteristics combined with 16S rDNA and GyrA rDNA sequence analysis. The compatibility tests showed that at a concentration of 4 000 times dilution, 50% carbendazim WP and 43% tebuconazole SC formed an inhibition zone of only 0.15 mm against strain YZZ-5, indicating a certain degree of compatibility. The inhibition rates of the equal-volume combinations of YZZ-5 with 43% tebuconazole SC and 50% carbendazim WP against tobacco root rot were 96.37% and 85.47%, respectively, which were both significantly higher than those of the individual agents.【Conclusion】Combining 50% carbendazim WP and 43% tebuconazole SC with the salt-tolerant biocontrol agent *B. velezensis* YZZ-5 significantly enhanced the control efficacy against tobacco root rot. This strategy achieves effective disease management while reducing chemical usage, thereby providing a foundation for the integrated control of tobacco root rot.

Key words: tobacco root rot; *Fusarium oxysporum*; chemical fungicides; biocontrol agent; microbial and pharmaceutical compound agent

作为重要的经济作物，烤烟（*Nicotiana tabacum*）在我国云南、贵州、河南、湖南、四川、福建、黑龙江等地广泛种植，成为当地烟农重要的经济来源[1]。随着烟草的多年种植，烟草根腐病等土传病害在烤烟种植区普遍发生，严重区域的病害发病率达到30%[2]。烟草根腐病又称烟草根黑腐，是一种主要由镰刀菌（*Fusarium* sp.）侵染引起的土传病害[3-7]，感病烟草表现为叶片萎蔫失绿、根部维管束变黑、堵塞和变形，严重时整株植物萎蔫，甚至死亡，给烟草生长造成严重影响[8]。

目前针对烟草根腐病主要采取种植抗病品种、化学药剂结合田间管理等措施综合防控[3]，其中化学药剂仍是控制烟草根腐病最有效的手段。已有研究表明，43% 戊唑醇悬浮剂[4]、40% 咪鲜胺水乳剂[5]、98% 吡唑醚菌酯技术浓缩剂[6]、38.6% 恶霉灵·噁唑菌酮水剂和50% 氯溴异氰尿酸可溶性粉剂[7]等对由镰刀菌侵染引起的烟草根腐病具有显著防效。施用化学药剂的作用周期短、效果显著，但长期使用容易导致病原菌产生抗药性，同时对土壤和环境造成污染。

植物病害的生物防治具有安全、无污染和持效性等特点，成为化学防控的有效补充手段。前期研究发现，解淀粉芽孢杆菌（*Bacillus amyloliquefaciens*）、枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）[9]、棘孢木霉（*Trichoderma asperellum*）[10]、贝莱斯芽孢杆菌（*Bacillus velezensis*）[11]、液化沙雷氏菌（*Serratia liquefaciens*）[12]等可通过溶解尖孢镰刀菌（*Fusarium oxysporum*）的菌丝等多种作用机制对烟草青枯病和根腐病的防效均达到70% 以上。生物防治虽具有安全性和持效性，但与化学防控相比，其防治效果相对较慢，并易受到环境等多种因素的影响，造成防效不稳定，从而限制其在田间的应用[13]。

生物防治与化学药剂相结合防控病原菌，既可以利用生防菌的安全、持效性特点，又能结合化学药剂的快速、高效等特点，在达到高效防控植物病害的同时能有效减少化学药剂的施用，实现高效、安全的目的，成为植物病害防控领域研究的热点。王文肖等[14]采用贝莱斯芽孢杆菌EA19与50% 多菌灵可湿性粉剂复配对小麦赤霉病的防效达到53.76%；高翔宇等[15]利用放线菌KF-5-1与80% 乙蒜素乳油复配对棉花黄萎病的防效达67.42%；高强等[10]研究发现，多粘类芽孢杆菌（*Paenibacillus polymyxa*）CY2发酵液与10% 氟噻唑吡乙酮悬浮剂复配对烟草黑胫病的防效超过78%；黄小琴等[16]研究发现，72% 硫酸链霉素可溶粉剂与解淀粉芽孢杆菌Bs2-4复配对烟草青枯病的防控效果显著；张世杰等[17]研究发现，40% 菌核净可湿性粉剂与解淀粉芽孢杆菌复配能有效防控烟草赤星病。但截至目前对烟草根腐病的菌药复配剂研究甚少，仅见刘畅等[18]利用棘孢木霉与30% 霜霉·嘧菌酯悬浮剂复配对烟草根腐病进行防控，因此筛选高效的菌药协同复配剂成为烟草根腐病防控的有效措施。

我国气候、植被条件多样,微生物资源丰富,筛选更多高效的菌药复配剂将为烟草根腐病的可持续防控提供资源。本研究以从盐爪爪(*Kalidium foliatum*)根际采集的土壤样品为材料,采用逐级稀释法以烟草根腐病菌(*Fusarium oxysporum*)JL003为靶标,筛选抗逆性强、防效良好的生防菌,并采用菌丝生长速率法[2]筛选防效较好的化学药剂,通过相融性测定构建化学杀菌剂与拮抗菌复配剂,并通过活体接种法评价其对烟草根腐病的防控效果,以期为烟草根腐病的绿色、高效防控提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试植物及土壤 烤烟种子为中烟100,为本实验室自留种质,在4 ℃冰箱中干燥保存。2023年8月,使用手持式土壤采样器,采集内蒙古自治区包头市盐爪爪根际土壤20 g,备用。

1.1.2 供试病原菌 烟草根腐病原菌*Fusarium oxysporum* JL003,由河南农业大学藏睿副教授提供,接种该菌株的烟草根部出现根黑腐的典型症状。

1.1.3 供试药剂 试验所用10种杀菌剂分别为:43%戊唑醇悬浮剂,山东麒麟农化有限公司;50%多菌灵可湿性粉剂,山东省泗水丰田农药有限公司;45%咪鲜胺水乳剂,江苏剑牌农化股份有限公司;300倍蛇床子素水剂,山西德威本草生物科技有限公司;50%异菌脲悬浮剂,苏州富美实植物保护剂有限公司;70%甲基硫菌灵可湿性粉剂,江苏蓝丰生物化工股份有限公司;3%甲霜·噁霉灵水剂,天津市绿亨化工有限公司;43%氟菌·肟菌酯悬浮剂,拜耳作物科学(中国)有限公司北京分公司;50%氯溴异氰尿酸可湿性粉剂,河北上瑞生物科技有限公司;300倍苦参碱乳油,杨凌馥稷生物科技有限公司。

1.1.4 培养基 马铃薯葡萄糖培养基(PDA),LBA培养基,LB液体培养基,其具体配方见参考文献[11]。

1.2 试验方法

1.2.1 化学药剂对尖孢镰刀菌JL003的毒力测定 采用菌丝生长速率法[2]测定10种杀菌剂对烟草根腐病菌*F. oxysporum* JL003的抑制作用。将供试药剂用无菌水配置成母液,制成质量浓度为50 mg/L的PDA带药平板。取*F. oxysporum* JL003菌饼,接种于含药PDA平板中央,在25 ℃恒温培养箱中培养7 d。以不加药的PDA平板为对照,每处理3次重复。采用十字交叉法测定菌落直径,计算抑制率。筛选在该质量浓度下对*F. oxysporum* JL003抑制率在60%以上的药剂,利用菌丝生长速率法分别测定其在不同质量浓度梯度(0.1,0.5,1,5,25 mg/L)下对病原菌*F. oxysporum* JL003的抑制率。以处理质量浓度(mg/L)的对数值为横坐标(x),以相应抑制率几率值为纵坐标(y)建立毒力回归方程($y=ax+b$,其中a,b为系数),然后利用回归方程计算各供试药剂对病原菌*F. oxysporum* JL003病菌丝生长的抑制有效中浓度(EC_{50}),比较不同杀菌剂对烟草根腐病菌*F. oxysporum* JL003的抑制作用。

抑制率=(对照病斑直径-处理病斑直径)/对照病斑直径×100%。

1.2.2 拮抗生防菌的筛选 利用逐级稀释法分离盐爪爪根际土壤中的菌株,分离纯化后的菌株转入LBA培养基上培养24 h,采用皿内拮抗法和活体法筛选拮抗菌株。

皿内拮抗法:将在PDA培养基中培养5 d的病原菌*F. oxysporum* JL003菌饼(直径4 mm)接种在PDA培养基平板中心,生防菌接种在平板两侧,每组3次重复,以只在平板中央接种病原菌的处理作为对照,28 ℃恒温培养。待对照菌落长满平板时,记录菌落半径、抑菌圈直径,计算抑菌率。

抑菌率=(对照病斑半径-处理病斑半径)/(对照病斑半径)×100%。

活体接种法:参考ZHANG等[19]的方法对烟草进行活体接种,具体为:将筛选的生防菌株转入LB培养液中,28 ℃、180 r/min培养2 d,无菌水调整OD_{600}为0.8,选择四叶期的烤烟植株,拔出后自来水清洗,然后利用质量分数1%的次氯酸钠消毒3 min,无菌水冲洗3次,在茎基部用无菌针刺伤,先在植株茎秆处均匀喷施生防菌菌液,静置晾干30 min后,再在伤口处接种*F. oxysporum* JL003菌饼,用浸湿的无菌脱脂棉包裹,保鲜膜密封,以喷施LB培养基后接种病原菌的处理作为对照,每组重复6棵。处理烟草植株放入顶置LED人工气候箱(型号:RDN-1000D)25 ℃、16 h光照/8 h黑暗保湿培养6 d后,测量植株病斑长度,并拍照记录,计算抑制率和发病率。

抑制率=(对照病斑长度-处理病斑长度)/对照病斑长度×100%;

发病率＝发病植株数/对照植株数×100%。

1.2.3　生防菌株 YZZ-5 的鉴定　(1)形态观察及耐盐性测定。将菌株 YZZ-5 接种于 LBA 培养基中，观察其皿内菌落形态特征，挑取菌体，扫描电镜观察菌体形态。同时用含盐平板培养评价 YZZ-5 的耐盐性：将菌株 YZZ-5 分别划线涂布于含质量分数 1%，10%，12% 和 15% NaCl 的 LBA 培养基中，28 ℃恒温培养 6～7 d，观察其生长特性。

(2)分子鉴定。利用细菌基因组 DNA 提取试剂盒(生工生物工程(上海)股份有限公司)提取菌株 YZZ-5 的 DNA，分别用 27F/1492R 与 GyrAF/GyrAR 扩增 YZZ-5 的 16S rDNA 和 DNA 回旋酶 A 亚基(DNA gyrase subunit A，GyrA)序列[20-21]。利用 1% 琼脂糖凝胶电泳对 PCR 产物进行检测，利用胶回收试剂盒(北京聚合美生物科技有限公司)对扩增的目的片段进行回收，并送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。将测序获得的 2 组序列在 NCBI 中进行比对，选择同源性较高的 16S rDNA 和 GyrA rDNA 基因序列，利用 MEGA 12 构建系统进化树。

1.2.4　菌药相融性测定　利用牛津杯法测定生防菌株 YZZ-5 和杀菌剂 43% 戊唑醇悬浮剂、50% 多菌灵可湿性粉剂和 45% 咪鲜胺水乳剂的相融性。将杀菌剂配置成推荐浓度(稀释 4 000 倍液)待用，将生防菌 YZZ-5 在 LB 液体培养基中 28 ℃、180 r/min 培养 2 d，调整 OD_{600} 为 1.0，取 200 μL YZZ-5 菌液加入 200 mL 55 ℃的 LBA 培养基中制成含菌平板。在平板上放置牛津杯，每个杯中加入 200 μL 筛选药剂，28 ℃培养 2 d 后测定透明圈的半径并拍照记录。

1.2.5　菌药复配剂的活性测定　根据上述筛选结果，将 YZZ-5 分别与化学药剂 43% 戊唑醇悬浮剂和 50% 多菌灵可湿性粉剂等量复配，利用活体刺伤法测定菌药复配剂对烟草根腐病的防控效果。分别将 43% 戊唑醇悬浮剂和 50% 多菌灵可湿性粉剂稀释 4 000 倍液(有效成分质量浓度分别为 107.5 和 125 mg/L)，YZZ-5 菌液利用无菌水调整 OD_{600} 为 0.8。试验设置对照组(喷施无菌水，CK)、菌液处理(YZZ-5 菌液)、药剂(43% 戊唑醇悬浮剂 4 000 倍液、50% 多菌灵可湿性粉剂 4 000 倍液)、菌药等比复配剂(50% 多菌灵可湿性粉剂＋YZZ-5、43% 戊唑醇悬浮剂＋YZZ-5)共 6 个处理。参照 1.2.2 节的活体测定方法，将烤烟植株茎秆消毒、刺伤，每个处理重复 6 次，各处理用上述相应无菌水或药剂分别喷施，并在刺伤口处接入病原菌菌饼，以喷施无菌水后再接种病原菌处理作为对照，放入顶置 LED 人工气候箱(型号：RDN-1000D)25 ℃、16 h 光照/8 h 黑暗培养 6 d，观察记录病斑长度，计算抑制率。

2　结果与分析

2.1　化学药剂对烟草根腐病菌 JL003 的毒力测定

在质量浓度为 50 mg/L 时，供试 10 种药剂对烟草根腐病菌 JL003 的抑制作用测定结果表明，50% 多菌灵可湿性粉剂和 45% 咪鲜胺水乳剂对烟草根腐病菌 JL003 的抑制作用最强，抑制率为 100%；43% 戊唑醇悬浮剂对烟草根腐病菌 JL003 的抑制作用较强，抑制率在 90% 以上；43% 氟菌·肟菌酯悬浮剂和 50% 异菌脲悬浮剂对烟草根腐病菌 JL003 菌丝生长的抑制率在 60% 以上；其余 5 种药剂(3% 甲霜·恶霉灵水剂、70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂、50% 氯溴异氰尿酸可湿性粉剂、300 倍蛇床素水剂、300 倍苦参碱乳油)对烟草根腐病菌 JL003 的抑制作用较差，抑制率在 50% 以下。

选取质量浓度为 50 mg/L 时对烟草根腐病菌 JL003 抑制率 60% 以上的药剂，采用生长速率法进一步测定其对烟草根腐病菌 JL003 的毒力曲线，结果如表 1 所示。

表 1　5 种药剂对烟草根腐病菌 JL003 的抑制作用

Table 1　Inhibitory effects of five agents on *Fusarium oxysporum* JL003

供试药剂 Tested fungicides	毒力回归方程 Virulence regression equation	R^2	EC_{50}/(mg·L^{-1})
45% 咪鲜胺水乳剂 45% prochloraz emulsion	y=0.257 5x+0.661 5	0.942 4	0.235 9
43% 戊唑醇悬浮剂 43% tebuconazole suspension concentrate	y=0.389 0x+0.529 2	0.992 5	0.841 3
50% 多菌灵可湿性粉剂 50% carbendazim wettable powder	y=0.193 1x+0.696 9	0.957 0	0.095 5
43% 氟菌·肟菌酯悬浮剂 43% fluopyram•trifloxystrobin suspension concentrate	y=0.065 4x+0.453 4	0.952 7	5.158 7
50% 异菌脲悬浮剂 50% iprodione suspension concentrate	y=0.414 4x+0.068 1	0.924 0	11.021 2

由表1可知,50%多菌灵可湿性粉剂、43%戊唑醇悬浮剂和45%咪鲜胺水乳剂对烟草根腐病菌JL003的EC_{50}值分别为0.095 5,0.841 3和0.235 9 mg/L;43%氟菌·肟菌酯悬浮剂、50%异菌脲悬浮剂对烟草根腐病菌JL003的EC_{50}均大于5 mg/L。因此筛选43%戊唑醇悬浮剂、50%多菌灵可湿性粉剂和45%咪鲜胺水乳剂3种药剂进行后续菌药相融和复配试验。

2.2 拮抗生防菌筛选

从盐爪爪根际土壤中分离出12株形态不同的细菌,命名为YZZ-1~YZZ-12。利用皿内拮抗法和活体接种法测定其对烟草根腐病菌*F. oxysporum* JL003的抑菌作用。结果(表2和图1)表明,分离的12株菌中只有YZZ-5对*F. oxysporum* JL003表现出一定的拮抗活性,其对病原菌JL003的皿内抑制率为45.60%,活体抑制率为61.92%。

表2 YZZ-5对*F. oxysporum* JL003的皿内和活体抑制作用

Table 2 *In vitro* and *in vivo* inhibitory effects of YZZ-5 on *F. oxysporum* JL003

菌株 Strain	皿内 *In vitro*			活体 *In vivo*		
	抑菌圈直径/mm Inhibition zone diameter	菌落半径/mm Colony radius	抑菌率/% Inhibition rate	病斑长度/mm Length of the lesion	抑制率/% Inhibition rate	发病率/% Disease incidence
CK	—	36.14±0.98	—	18.91	—	75.00
YZZ-5	3.54±0.51	17.48±1.25	45.60	7.20	61.92±10.73	33.33



A. 只接种*F. oxysporum* JL003的对照处理;B. 中间接种*F. oxysporum* JL003,两侧接种YZZ-5;C. 喷施LB后接种*F. oxysporum* JL003的烟草;D. 喷施YZZ-5液体发酵液后接种*F. oxysporum* JL003的烟草。

A. The control group inoculated only with *F. oxysporum* JL003;B. The treatment plates with *F. oxysporum* JL003 inoculated in the center, and YZZ-5 inoculated on both sides;C. Tobacco plantes sprayed with LB prior to inoculation with *F. oxysporum* JLO03;D. Tobacco plants sprayed with the fermentation broth of strain YZZ-5 prior to inoculation with *F. oxysporum* JL003.

图1 菌株YZZ-5对烟草根腐病菌JL003的拮抗活性

Fig. 1 Antagonistic activity of strain YZZ-5 against tobacco root rot JL003

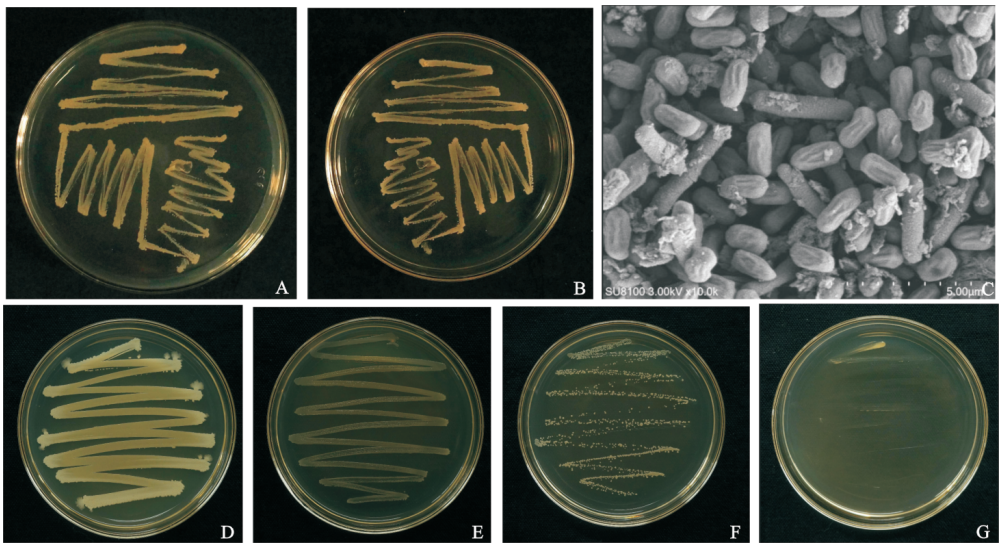
2.3 生防菌株YZZ-5的鉴定

2.3.1 形态鉴定及耐盐性测定 由图2可知,菌株YZZ-5在LBA培养基中着色均匀,菌落表面光滑不透明,整体呈现浅黄色,细胞呈柱状或短棒状,大小为1.15~3.85 μm(长)×0.55~0.85 μm(宽)。耐盐性测定结果(图2)表明,生防菌株YZZ-5在含有1%,10%和12% NaCl的LBA培养基上均能正常生长,但在含15%NaCl的LBA培养基中生长受到显著抑制。

2.3.2 分子鉴定 利用PCR扩增菌株YZZ-5的16S rDNA(NCBI登录号:PV490676)和GyrA序列(NCBI登录号:PX701690),并选择同源性较高的16S rDNA和GyrA rDNA基因序列,利用MEGR 12构建系统进化树。结果(图3)表明,菌株YZZ-5的16S rDNA序列与芽孢杆菌属的暹罗芽孢杆菌(*Bacillus siamensis*) KCTC 13613(KY643639)、贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) FZB42(CP000560)以及解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) NBRC 15535(AB325583)聚到一支;菌株YZZ-5的GyrA rDNA与贝莱斯芽孢杆菌模式种*Bacillus velezensis* FZB42聚到一支。基于形态观察以及基因序列测定结果,确定菌株YZZ-5为贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)。

2.4 菌药相融性测定

采用牛津杯法测定杀菌剂43%戊唑醇悬浮剂、50%多菌灵可湿性粉剂和45%咪鲜胺水乳剂对YZZ-5的相融性,结果如图4所示。由图4可知,50%多菌灵可湿性粉剂和43%戊唑醇悬浮剂对YZZ-5的抑菌圈最小,抑菌圈直径均为0.15 mm;而45%咪鲜胺水乳剂对YZZ-5的抑菌圈直径达到0.44 mm。表明50%多菌灵可湿性粉剂和43%戊唑醇悬浮剂对生防菌YZZ-5的影响最小,与YZZ-5的相融性好,可进行复配。



A. YZZ-5正面菌落形态；B. YZZ-5背面菌落形态；C. YZZ-5菌体扫描电镜图；D～G. 依次为YZZ-5在含1%，10%，12%和15% NaCl的LBA培养基上的生长情况。

A. Frontal colony morphology of YZZ-5; B. Reverse colony morphology of YZZ-5; C. Scanning electron micrograph of YZZ-5 cells; D－G. Growth of YZZ-5 in LBA medium containing 1%, 10%, 12% and 15% NaCl, respectively.

图2　菌株YZZ-5的培养特征及其在不同NaCl水平下的生长情况

Fig. 2　Cultivation characteristics of strain YZZ-5 and its growth under different salinity levels

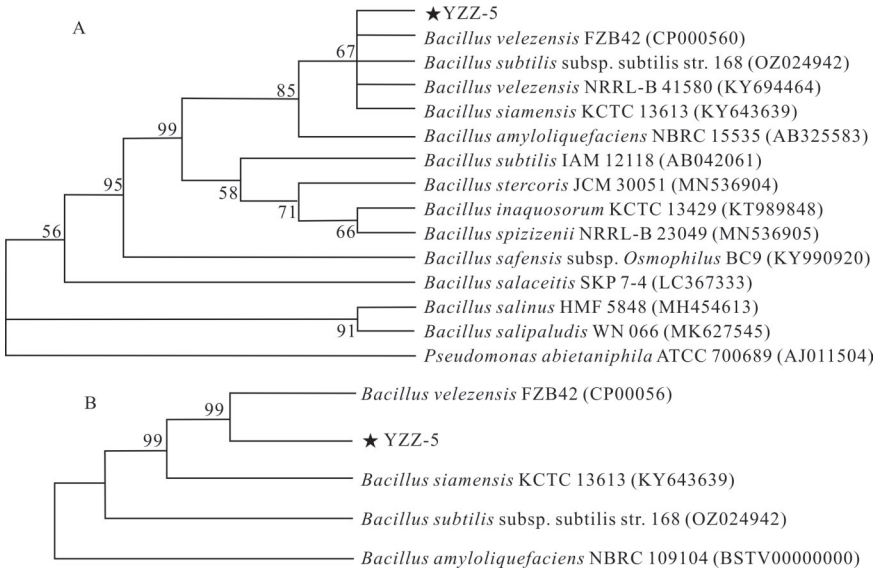
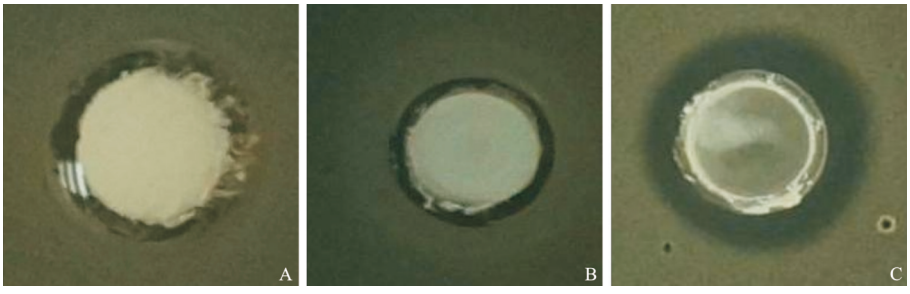


图3　基于16S rDNA（A）和GyrA rDNA（B）序列构建的YZZ-5系统发育进化树

Fig. 3　Phylogenetic trees of YZZ-5 based on the 16S rDNA (A) and GyrA rDNA (B) sequences



A. 50%多菌灵可湿性粉剂；B. 43%戊唑醇悬浮剂；C. 45%咪鲜胺水乳剂。

A. 50% carbendazim wettable powder; B. 43% tebuconazole suspension concentrate; C. 45% prochloraz emulsion.

图4　3种杀菌剂与拮抗菌YZZ-5的相融性

Fig. 4　Compatibility of the three fungicides with the antagonistic strain YZZ-5

2.5 菌药复配剂对烟草根腐病的抑制活性

采用刺伤接种法测定菌药复配剂对烟草根腐病的防治效果,结果如图5和表3所示。由图5可知,与无菌水对照相比,50%多菌灵可湿性粉剂、43%戊唑醇悬浮剂、YZZ-5处理烟草植株仍存在明显发病萎蔫症状;而两种药剂分别与YZZ-5复配后,烟草植株长势健壮、发病症状显著减轻,表明YZZ-5与化学药剂复配可产生显著协同增效作用。由表3可知,43%戊唑醇悬浮剂与YZZ-5等量复配处理对烟草根腐病的抑制效果最好,抑制率达到96.37%;50%多菌灵可湿性粉剂与YZZ-5复配处理对烟草根腐病的抑制率达到85.47%,显著高于对应的化学药剂处理(43%戊唑醇悬浮剂为57.18%,50%多菌灵可湿性粉剂为64.02%)。上述结果表明,2种菌药复配剂在化学药剂用量减半的条件下仍能有效防控烟草根腐病,具有一定的应用前景。



A~F. 依次为烟草经无菌水(CK)、50%多菌灵可湿性粉剂、43%戊唑醇悬浮剂、YZZ-5、50%多菌灵可湿性粉剂+YZZ-5、43%戊唑醇悬浮剂+YZZ-5处理后接种病原菌JL003。

A-F. Tobacco plants inoculated with *F. oxysporum* JL003 after treatment with sterile water (CK), 50% carbendazim wettable powder, 43% tebuconazole suspension concentrate, strain YZZ-5, 50% carbendazim wettable powder+YZZ-5, and 43% tebuconazole suspension concentrate+YZZ-5, in turn.

图5 菌药复配剂对烟草根腐病的活体防效

Fig. 5 *In vivo* control effects of combined agents on tobacco root rot

表3 YZZ-5与药剂协同施用对烟草根腐病的防控效果

Table 3 Control effects of YZZ-5 and constructed combinations on tobacco root rot

处理 Treatment	病斑长度/cm Length of the lesion	抑制率/% Inhibition rate	处理 Treatment	病斑长度/cm Length of the lesion	抑制率/% Inhibition rate
CK	2.96±2.68 a	—	43%戊唑醇悬浮剂+YZZ-5 43% tebuconazole suspension concentrate+YZZ-5	0.11±0.22 d	96.37 a
YZZ-5	1.64±0.75 b	44.68 d	50%多菌灵可湿性粉剂 50% carbendazim wettable powder	1.07±1.30 b	64.02 c
43%戊唑醇悬浮剂 43% tebuconazole suspension concentrate	1.27±0.95 b	57.18 c	50%多菌灵可湿性粉剂+YZZ-5 50% carbendazim wettable powder+YZZ-5	0.43±0.29 c	85.47 b

注:CK. 相同条件下喷施无菌水后接种*F. oxysporum* JL003菌饼。同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: CK. Plants were sprayed with sterile water prior to inoculation with *F. oxysporum* JL003. Different lowercase letters after data in the same column indicate significant differences among treatments ($P<0.05$).

3　讨　论

尖孢镰刀菌可引起多种植物根腐病，化学药剂是该类病害防治的关键。已有研究表明，45% 咪鲜胺水乳剂对尖孢镰刀菌具有一定的抑制活性，其对蓝莓根腐病[22]、豇豆枯萎病[23]及建兰茎腐病[24]的 EC_{50} 值分别为 0.071 6，0.086 0 和 0.063 0 mg/L，能够高效抑制尖孢镰刀菌的生长。同样，43% 戊唑醇悬浮剂也被证明是抑制该病原菌的有效药剂，何海涛等[25]与李雪萍等[26]利用室内毒力测定评价了 43% 戊唑醇悬浮剂对根腐病的抑制效果，结果表明 43% 戊唑醇悬浮剂对大豆与三七根腐病的 EC_{50} 值分别为 0.444 0 和 0.345 0 mg/L。此外，李哲等[27]研究发现，50% 多菌灵可湿性粉剂稀释 2 500 倍即可直接杀灭尖孢镰刀菌；而陈艳等[28]则发现，50% 多菌灵可湿性粉剂在 30 万倍的超高稀释倍数下，对香荚兰根腐病的抑菌率仍高达 91.9%，凸显了其高效性与持效性。45% 咪鲜胺可湿性粉剂、43% 戊唑醇悬浮剂和 50% 多菌灵可湿性粉剂均为广谱类杀菌剂，对已报道的由尖孢镰刀菌引发的各类植物根腐病均有较好的防治效果，但目前这 3 种化学药剂对于烟草根腐病防效的报道相对较少，因此本研究通过皿内毒力测定，发现 50% 多菌灵可湿性粉剂、43% 戊唑醇悬浮剂和 45% 咪鲜胺水乳剂对尖孢镰刀菌引发的烟草根腐病具有较高的防效，其 EC_{50} 值均较低，分别为 0.095 5，0.841 3 和 0.235 9 mg/L。

生防菌在植物病害防治中展现出一定的潜力，比如，解淀粉芽孢杆菌与枯草芽孢杆菌对烟草青枯病和根黑腐病的防效均超过 70%[9]；贝莱斯芽孢杆菌[11]与液化沙雷氏菌[12]可有效抑制尖孢镰刀菌的生长。然而，在盐碱地区推广生防菌却面临巨大挑战：盐碱环境的高 pH 与高盐分不仅会抑制有益菌的活性，还可能为耐盐致病菌创造生存优势，DEL ROSARIO CAPPELLARI 等[29]研究发现，盐胁迫加剧了根腐病的发生；张晓尘等[30]也观察到引起黄芪根腐病的斜隔孢镰孢在盐碱条件下的菌落扩展速度反而高于正常条件。因此本研究从盐爪爪根际土壤中筛选出既耐盐又能显著抑制烟草根黑腐的生防菌 *B. velenzensis* YZZ-5，其在皿内对根腐病的防治效果为 45.60%，活体发病率仅为 33.33%，虽然其对 *F. oxysporum* JL003 的活体抑制活性结果表现出一定的变异性，这可能是由宿主植物状态、病原菌活性及微环境差异所致，然而 3 次重复试验均证实了菌株 YZZ-5 具有显著的拮抗潜力。此外 YZZ-5 能够在含盐量为 12% 的 LBA 培养基中生长，表明该菌株的较强耐盐性，为将其开发为适用于盐碱地的微生物菌剂奠定了坚实基础。

菌药协同施用可弥补因单一使用化学药剂易产生抗药性和生防菌不稳定性的不足，有效减少化学药剂的使用量，同时显著提高防治效果。已有研究表明，多粘类芽孢杆菌 CY2 发酵液与 10% 氟噻唑吡乙酮悬浮剂按质量比 1∶2 复配对烟草黑胫病的防效超过 78%[10]；贝莱斯芽孢杆菌与 50% 多菌灵可湿性粉剂复配对小麦赤霉病的防效为 53.76%[14]；放线菌 KF-5-1 与 80% 乙蒜素乳油复配对棉花黄萎病的防效达 67.42%[15]。而本研究利用皿内筛选、相融性测定及活体接种法筛选得出，43% 戊唑醇悬浮剂与 YZZ-5、50% 多菌灵可湿性粉剂与 YZZ-5 等量复配对烟草根腐病的防效分别高达 96.37% 和 85.47%，显著高于单一使用化学药剂和生防菌剂的防效，而且还能够显著减少化学药剂的施用量，同时实现了高效防控和相对安全的目的。该研究结果为烟草根腐病的有效防控提供参考。

4　结　论

50% 多菌灵可湿性粉剂和 43% 戊唑醇悬浮剂对尖孢镰刀菌具有较高的抑菌作用，且其与生防菌 *B. velenzensis* YZZ-5 菌株复配后，对烟草根腐病的抑制效果显著增强，抑制率分别达到 96.37% 和 85.47%，达到高效、安全防控烟草根腐病的效果。未来将对筛选出的菌药复配剂的剂型进行优化，同时对其田间应用情况进行研究，以期为烟草根腐病的绿色高效防控提供依据。

[参考文献]

[1] 王红桃，钟自．我国烤烟主要种植区域比较优势分析：基于全国 22 省 1996－2021 年数据测算 [J]．现代农业研究，2024，30(1)：93-100.
WANG H T，ZHONG Z. Comparative advantage analysis of main planting areas of flue cured tobacco in China-calculation based on the data of 22 provinces in China from 1996 to 2021 [J]. Modern Agriculture Research，2024，30(1)：93-100.

[2] 吴安忠，程崖芝，巫升鑫，等．烟草镰刀菌根腐病的病原鉴定 [J]．中国烟草学报，2018，24(2)：135-140.
WU A Z，CHENG Y Z，WU S X，et al. Pathogen identification of tobacco *Fusarium mycorrhizal* rot [J]. Acta Tabacaria Sinica，2018，24(2)：135-140.

[3] 付宏喆，杨盟权，彭智良，等．烟草根腐病生防木霉菌筛选及防病作用研究 [J]．中国烟草学报，2025，31(2)：122-131.

FU H Z, YANG M Q, PENG Z L, et al. Screening and study on the biocontrol effects of *Trichoderma atroviride* against tobacco root rot[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2025, 31(2): 122-131.

[4] 姚晨虓,刘畅,李小杰,等. 烟草镰刀菌根腐病防治药剂的筛选[J]. 河南农业科学,2022,51(4):87-94.
YAO C X, LIU C, LI X J, et al. Screening of fungicides for controlling tobacco *Fusarium mycorrhizal* rot[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2022, 51(4): 87-94.

[5] 钟杰,邱泽澜,刘仕达,等. 湖南烟草镰刀菌根腐病病原鉴定及防治药剂筛选[J]. 中国烟草科学,2024,45(3):51-59,67.
ZHONG J, QIU Z L, LIU S D, et al. Pathogen identification of tobacco root rot disease in Hunan Province and screening of control fungicides[J]. Chinese Tobacco Science, 2024, 45(3): 51-59, 67.

[6] 黄玉凤. 烟草镰刀菌根腐病病原及防控药剂筛选[D]. 贵阳:贵州师范大学,2024.
HUANG Y F. Screening of pathogens and control agents for tobacco *Fusarium* root rot disease[D]. Guiyang: Guizhou Normal University, 2024.

[7] 常栋,孟颢光,周博,等. 药剂灌根防治隐性感染烟苗根腐病田间效果[J]. 中国植保导刊,2021,41(7):88-91.
CHANG D, MENG H G, ZHOU B, et al. Field effect of chemical root irrigation on controlling root rot of recessive infected tobacco seedlings[J]. China Plant Protection, 2021, 41(7): 88-91.

[8] 刘丹,李爱华,杨继龙,等. 鄂西北烟草根腐病病原菌的分离及鉴定[J]. 陕西农业科学,2024,70(4):78-84.
LIU D, LI A H, YANG J L, et al. Isolation and identification of *Fusarium* root rot pathogenic fungi in northwest Hubei[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2024, 70(4): 78-84.

[9] 蔡毅,鄢敏,胡万波,等. 3种烟草根茎病害防治药剂的筛选[J]. 湖南农业科学,2022(6):53-56.
CAI Y, YAN M, HU W B, et al. Biocides screening for three kinds of tobacco root and stem diseases[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2022(6): 53-56.

[10] 高强,张晓阳,张渐隆,等. 生防菌CY2的筛选鉴定及其与氟噻唑吡乙酮复配防治烟草黑胫病的效果[J]. 烟草科技,2025,58(3):70-79.
GAO Q, ZHANG X Y, ZHANG J L, et al. Screening and identification of bacterium CY2 and its biocontrol effect on tobacco black shank in combination with oxathiapiprolin[J]. Tobacco Science & Technology, 2025, 58(3): 70-79.

[11] 沈会芳,杨祁云,张景欣,等. 烟草镰刀菌根腐病生防菌GDND-2的鉴定及防病效果[J]. 中国农学通报,2024,40(23):126-134.
SHEN H F, YANG Q Y, ZHANG J X, et al. The biocontrol strain GDND-2 of tobacco *Fusarium* root rot: identification and control effect[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2024, 40(23): 126-134.

[12] 贾方方,许跃奇,阎海涛,等. 烟草镰刀菌根腐病(*Fusarium* spp.)拮抗菌L210的鉴定及生防潜力评价[J]. 烟草科技,2023,56(10):40-48.
JIA F F, XU Y Q, YAN H T, et al. Identification and biocontrol potential evaluation of antagonistic bacterial strain L210 against *Fusarium* spp. of tobacco root rot[J]. Tobacco Science & Technology, 2023, 56(10): 40-48.

[13] 赵亚南,黎妍妍,曹春霞,等. 烟草镰刀菌根腐病研究进展[J]. 中国植保导刊,2023,43(11):20-25,59.
ZHAO Y N, LI Y Y, CAO C X, et al. Research progress of tobacco *Fusarium mycorrhizal* rot[J]. China Plant Protection, 2023, 43(11): 20-25, 59.

[14] 王文肖,刘美玲,阙亚伟,等. 贝莱斯芽孢杆菌EA19与多菌灵复配防治小麦赤霉病研究[J]. 河南农业科学,2024,53(10):117-126.
WANG W X, LIU M L, QUE Y W, et al. Combination of *Bacillus velezensis* EA19 and carbendazim to control *Fusarium* head blight on wheat[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2024, 53(10): 117-126.

[15] 高翔宇,赵莹莹,顾爱星. 拮抗放线菌KF-5-1与化学药剂复配制作种衣剂对棉花的防病促生效果评价[J]. 新疆农业科技,2022(4):34-37.
GAO X Y, ZHAO Y Y, GU A X. Evaluation on the effect of antagonistic actinomycetes KF-5-1 combined with chemicals to make seed coating agent on cotton disease prevention and growth promotion[J]. Xinjiang Agricultural Science and Technology, 2022(4): 34-37.

[16] 黄小琴,刘勇,张蕾,等. 烟草青枯病生防芽孢杆菌协同防治药剂的筛选和复配[J]. 农药,2015,54(11):848-851.
HUANG X Q, LIU Y, ZHANG L, et al. Screening synergistic bactericide combined with *Bacillus* against tobacco bacterial wilt[J]. Agrochemicals, 2015, 54(11): 848-851.

[17] 张世杰,刘云,陈勇华,等. 解淀粉芽孢杆菌Cas02与菌核净复配协同防治烟草赤星病[J]. 中国烟草科学,2024,45(4):52-57.
ZHANG S J, LIU Y, CHEN Y H, et al. Synergistic effect of *Bacillus amyloliquefaciens* Cas02 and dimetachlone for control of tobacco brown spot disease[J]. Chinese Tobacco Science, 2024, 45(4): 52-57.

[18] 刘畅,李小杰,张梦丹,等. 棘孢木霉与30%霜霉·嘧菌酯协同防治烟草镰刀菌根腐病[J]. 中国烟草科学,2024,45(1):48-53.
LIU C, LI X J, ZHANG M D, et al. Synergistic control of tobacco *Fusarium mycorrhizal* rot by *Trichoderma acanthoides* and 30% Peronospora azoxystrobin[J]. Chinese Tobacco Science, 2024, 45(1): 48-53.

[19] ZHANG L, FU C, ZHANG H, et al. *Acrostalagmus luteoalbus* as the novel causing agent of root rot on strawberry and in vitro screening of effective fungicides[J]. Horticulturae, 2025, 11(8): 940.

[20] REVA O N, DIXELIUS C, MEIJER J, et al. Taxonomic characterization and plant colonizing abilities of some bacteria related to *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis*[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2004, 48(2): 249-259.

[21] CHUN J, BAE K S. Phylogenetic analysis of *Bacillus subtilis* and related taxa based on partial gyrA gene sequences[J].

Antonie Van Leeuwenhoek，2000，78(2)：123-127.

[22] 周鑫钰，刘双，李昌欣，等. 蓝莓根腐病病原菌的分离鉴定与室内药剂毒力测定[J]. 分子植物育种，2020，18(14)：4687-4691.
ZHOU X Y，LIU S，LI C X，et al. Isolation and identification of the pathogens causing blueberry root rot and toxicity measurement[J]. Molecular Plant Breeding，2020，18(14)：4687-4691.

[23] 张馨予，洪丹露，冯婉珍，等. 豇豆枯萎病病原种类鉴定及防控药剂筛选[J]. 福建农业学报，2025，40(1)：71-80.
ZHANG X Y，HONG D L，FENG W Z，et al. Pathogen identification and effective fungicide for cowpea wilt disease[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences，2025，40(1)：71-80.

[24] 黄鹏，陈峰，姚锦爱，等. 6种杀菌剂对建兰茎腐病原菌尖孢镰刀菌的毒力及联合作用[J]. 福建农业学报，2018，33(4)：396-400.
HUANG P，CHEN F，YAO J A，et al. Individual and in-combination toxicities of six fungicides for controlling *Fusarium oxysporum* on *Cymbidium ensifolium*[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences，2018，33(4)：396-400.

[25] 何海涛，唐雅楠，顾学虎，等. 防治大豆根腐病的药剂筛选及田间应用[J]. 农药，2023，62(1)：55-58.
HE H T，TANG Y N，GU X H，et al. Screening and field application of pesticides for controlling soybean root rot[J]. Agrochemicals，2023，62(1)：55-58.

[26] 李雪萍，杨云，农全东，等. 17种杀菌剂对两种三七根腐病菌的室内毒力测定研究[J]. 农药科学与管理，2025，46(9)：40-47.
LI X P，YANG Y，NONG Q D，et al. Study on indoor toxicity test of 17 fungicides to two root rot pathogens of *Panax notoginseng*[J]. Pesticide Science and Management，2025，46(9)：40-47.

[27] 李哲，张煜琳，刘亚亚，等. 5种柴胡根腐病病原菌的拮抗药剂筛选[J]. 农业科技与信息，2024(6)：78-81，85.
LI Z，ZHANG Y L，LIU Y Y，et al. Screening of antagonists against five pathogens of *Bupleurum* root rot[J]. Agricultural Science-Technology and Information，2024(6)：78-81，85.

[28] 陈艳，杨雄飞. 香荚兰镰刀菌根腐病药剂毒力测定及幼根接种防治试验[J]. 云南热作科技，1999，22(1)：4-7.
CHEN Y，YANG X F. Determine of virulence on fungicide on *Fusarium oxysporum* in *Vanilla* and controlling trial[J]. Tropical Agricultural Science & Technology，1999，22(1)：4-7.

[29] DEL ROSARIO CAPPELLARI L，BOGINO P C，NIEVAS F，et al. Exploring the differential impact of salt stress on root colonization adaptation mechanisms in plant growth-promoting rhizobacteria[J]. Plants，2023，12(23)：4059.

[30] 张晓尘，张红杰，李生兵，等. 哈茨木霉EMF910对宁夏盐碱地区黄芪根腐病致病菌的防治作用[J]. 微生物学通报，2024，51(10)：4162-4180.
ZHANG X C，ZHANG H J，LI S B，et al. The control effect of *Trichoderma harzianum* EMF910 on the root rot pathogens of *Astragalus membranaceus* in Ningxia saline-alkali regions[J]. Microbiology China，2024，51(10)：4162-4180.

（责任编辑：陈丽）

（上接第 159 页）

[20] GUERBER J C，LIU B，CORRELL J C，et al. Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns，mtDNA and intron RFLPs，and mating compatibility[J]. Mycologia，2003，95(5)：872-895.

[21] 周黛媛，张正海，曹亚从，等. 辣椒炭疽病的发生规律及综合防治技术[J]. 辣椒杂志，2024，22(4)：31-33.
ZHOU D Y，ZHANG Z H，CAO Y C，et al. The occurrence pattern and comprehensive control technology of anthracnose in pepper[J]. Journal of China Capsicum，2024，22(4)：31-33.

[22] 孙平平，范博文，付崇毅，等. 吉林白城与内蒙古开鲁辣椒白皮病病原鉴定及生防菌筛选[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版)，2023，51(12)：60-71.
SUN P P，FAN B W，FU C Y，et al. Isolation of pathogens causing chilli white skin disease in Baicheng，Jilin and Kailu，Inner Mongolia and screening of effective biocontrol agent[J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition)，2023，51(12)：60-71.

[23] 陈鹏宇. 吉林省及内蒙古东部地区辣椒炭疽病的病原鉴定及*Colletotrichum scovillei*对3种杀菌剂的抗性风险评估[D]. 长春：吉林农业大学，2023.
CHEN P Y. Pathogen identification of capsicum anthracnose and risk assessment of resistance of *Colletotrichum scovillei* to three fungicides in Jilin province and eastern Inner Mongolia(in Chinese)[D]. Changchun：Jilin Agricultural University，2023.

[24] 吕玲玲，李威，谷会，等. 辣椒资源对炭疽病的抗性比较研究[J]. 种子，2014，33(2)：60-62.
LÜ L L，LI W，GU H，et al. Studies on the resistance to anthracnose of *Capsicum germplasms*[J]. Seed，2014，33(2)：60-62.

[25] 易兰. 辣椒炭疽病病原菌的分离鉴定和辣椒抗炭疽病材料的筛选[D]. 四川雅安：四川农业大学，2019.
YI L. Isolation and identification of pathogens of *Capsicum anthracnose* and screening of *Capsicum anthracnose* resistant strains[D]. Ya'an，Sichuan：Sichuan Agricultural University，2019.

（责任编辑：屈李纯）