

抗生素肥对植烟土壤和烤烟生产的影响^①

吴风光¹, 王豹祥¹, 汪健¹, 张朝辉², 席淑雅², 邱立友²

(1 湖北中烟工业有限责任公司, 武汉 430051; 2 河南农业大学生命科学学院, 郑州 450002)

摘要: 烤烟移栽时施入抗生素芽孢杆菌 A03 菌肥, 研究抗生素肥对植烟土壤和烤烟生产的影响。小区实验结果表明: 施用抗生素芽孢杆菌 A03 菌肥可明显提高烤烟根际细菌的数量, 显著降低放线菌的数量, 而对真菌没有影响。施用抗生素肥能够提高烤烟对病毒病的抗性, 圆顶期根际土壤中除 Ca 和 Mg 元素的有效性略有降低外, P、K、Cu、Zn、Fe 和 Mn 6 种元素的有效性均有不同程度的提高, 提高幅度在 16.57% ~ 56.39%; 烤烟杀青样和烤后烟中 N 和 P 的平均含量高于对照处理; 烤烟亩产量比对照处理提高 10.45%, 产值提高 11.22%, 上等烟率、均价也高于对照和商品菌肥处理。

关键词: 烤烟; 抗生素; 微生物; 矿质元素; 诱导系统抗性

中图分类号: S144.2

抗生素是植物根际促生菌 (PGPR) 的重要组成部分。抗生素, 如假单胞菌、芽孢杆菌、链霉菌等^[1-2], 通过定殖于植物根系, 优先占领根际, 产生抗生素、Fe 载体、诱导植物的诱导系统抗性 (ISR)、产生 HCN 等, 拮抗根际的病原菌和与非寄生性根际有害微生物, 从而保护和促进植物生长发育。抗生素菌肥在玉米、小麦和水稻等农作物及蔬菜生产中应用较多^[3-4], 但在烤烟生产中应用较少。

本研究在湖北环神农架烟区烤烟根际分离得到 1 株芽孢杆菌 A03 (*Bacillus sp. A03*), 该菌对 3 种烟草病害烟草角斑病、青枯病和赤星病的病原菌有较强的拮抗作用, 具有 1-氨基环丙烷-1-羧酸盐 (1-aminocyclopropane-1-carboxylate, ACC) 脱氨酶活性, 在烤烟漂浮育苗中应用取得了良好的抗病促生效果^[5]。本文报道在烤烟大田生产中应用芽孢杆菌 A03 菌肥的试验结果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 抗生素芽孢杆菌 A03 (*Bacillus sp. A03*), 河南农业大学生命科学学院微生物实验室从神农架烟区烤烟根际筛选得到, 中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心保藏编号为 CGMCC No. 2778。

1.1.2 商品菌肥 “百花山”生物多抗菌肥, 北京中农新科生物科技有限公司产品。

1.1.3 烤烟品种 K326, 由湖北省烟草科学研究所提供。

1.1.4 实验小区 实验在湖北省房县湖北中烟工业有限责任公司实验基地进行, 每个小区面积为 39.6 m²。移栽前土壤理化性质分析结果见表 1。

表 1 实验地移栽前土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical characters of experimental soil before tobacco cultivated

有机质 (g/kg)	全 N (g/kg)	有效 P (mg/kg)	速效 K (mg/kg)	全 P (g/kg)	全 K (g/kg)	全 Ca (g/kg)	全 Mg (g/kg)	全 Cu (mg/kg)	全 Zn (mg/kg)	全 Fe (mg/kg)	全 Mn (mg/kg)	全 B (mg/kg)	pH
25.69	0.23	24.98	150.78	0.92	18.00	2.38	7.94	44.90	200.19	30009.27	784.18	52.34	4.40

①基金项目：湖北中烟工业有限责任公司“环神农架区域生态烟叶技术与开发”项目（2007YL0366-1）资助。

* 通讯作者（qliyou@henau.edu.cn）

作者简介：吴风光（1976—），男，湖北襄樊人，学士，主要从事优质烟研究与开发。

1.2 方法

1.2.1 抗生素菌肥制备 筛选得到的高效抗生素芽孢杆菌 A03 经牛肉膏蛋白胨液体培养基摇瓶扩大培养，28℃下 200 r/min 培养 28~48 h。草炭凉干到含水量 10%~20%，粉碎至 60~80 目，0.5 kg 装一塑料袋，0.1 MPa 高压灭菌 2 h，取出冷却备用。将

菌悬液注入草炭中，0.5 kg 草炭注入 100 ml，揉搓塑料袋使菌悬液和草炭混合均匀，置于 30℃培养 2~7 天。经牛肉膏蛋白胨培养基平板稀释计数，每克菌肥含菌数不低于 1 亿个。

1.2.2 实验设计 实验设 3 个处理（表 2），菌肥用量 30 kg/hm²，每个处理重复 3 次，按随机区组排列。

表 2 抗生素菌肥应用实验处理 (kg/区)

Table 2 Treatments for antibiotic bacterium applied experiment

处理	菌肥	饼肥	专用肥	硫酸钾	过磷酸钙	硝酸钾
CK (常规施肥)	0	2.969	2.96912	1.247	4.038	1.7815
抗生素菌肥 (常规施肥+抗生素菌肥)	0.120	2.969	2.96912	1.247	4.038	1.7815
商品菌肥 (常规施肥+商品菌肥)	0.120	2.969	2.96912	1.247	4.038	1.7815

分别于团棵期、旺长期、现蕾期和圆顶期进行烤烟农艺性状和发病情况调查，取烟株最大叶杀青后测定 N、P 和 K 的含量；取烤烟根际土壤测定微生物数量和微生物生物量 C，对圆顶期土壤进行相关理化性质分析。取样均采用随机 5 点取样法。烤后烟分别取 4~6、8~11 和 14~17 叶位的烟叶测定常规化学成分。

1.2.3 测定方法 (1) 微生物数量测定：采用稀释平板计数法，细菌计数采用牛肉膏蛋白胨培养基，放线菌计数采用高氏一号合成培养基，真菌计数采用马丁氏培养基^[6]。

(2) 烤烟农艺性状和发病情况调查：参考烟草行业标准烟草农艺性状调查方法和国家烟草行业标准烟草病害分级及调查方法。

(3) 烟叶和土壤化学成分的测定：烟叶杀青样和烤后样中 N、P 和 K 含量的测定，以及土壤中 P、K、Ca、Mg、Cu、Zn、Fe 和 Mn 全量和有效态含量的测定，采用常规方法。

2 结果

2.1 抗生素菌肥对烤烟根际微生物的影响

分别于团棵期、旺长期、现蕾期和圆顶期取烤烟根际土壤测定土样中细菌、放线菌和真菌的数量，结果分别列于图 1~3。从图 1 可见，施用抗生素菌肥和商品菌肥在烤烟生长的 4 个时期均可明显提高根际细菌的数量。施用抗生素菌肥处理与对照处理相比，4 个时期根际细菌的数量分别提高 117.44%、57.79%、63.70% 和 28.71%，平均提高

61.83%；施用商品菌肥处理与对照处理相比，4 个

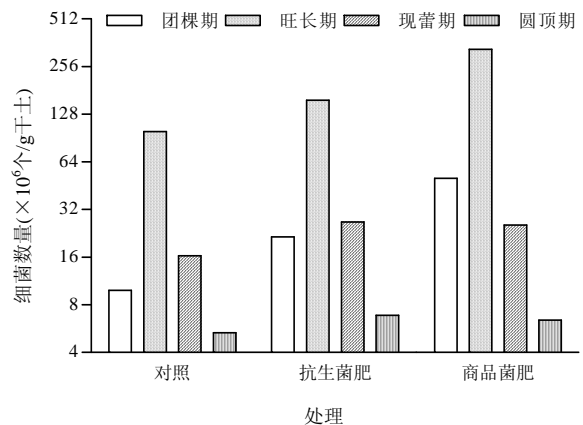


图 1 抗生素菌肥对烤烟不同生长期根际细菌数量的影响
Fig. 1 Effects of antibiotic bacterium on rhizobacterial amount during different growth stages of tobacco

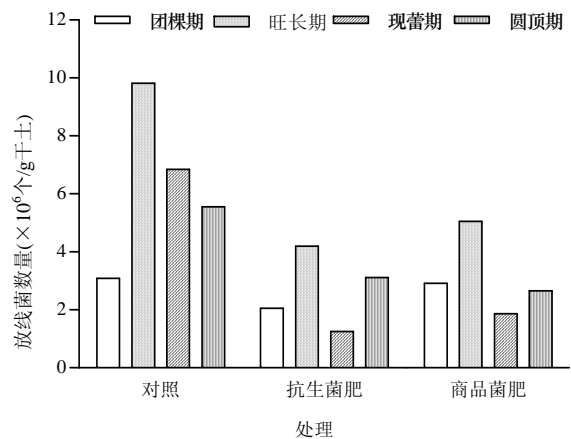


图 2 抗生素菌肥对烤烟不同生长期根际放线菌数量的影响
Fig. 2 Effects of antibiotic bacterium on rhizo-actinomycetic amount during different growth stages of tobacco

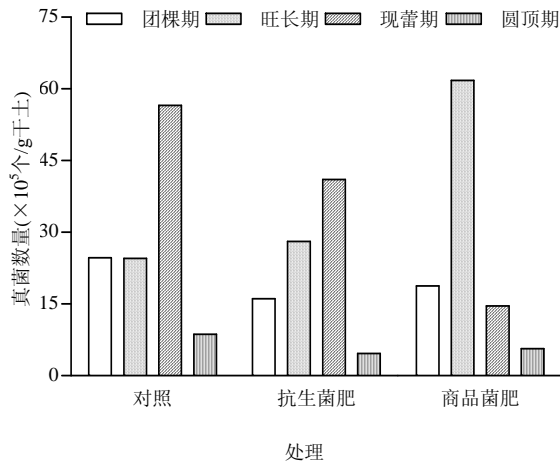


图 3 烤烟不同生长时期抗生素肥对根际真菌数量的影响

Fig. 3 Effects of antibiotic bacterium on rhizo-fungic amount during different growth stages of tobacco

时期根际细菌的数量分别提高 411.87%、230.65%、56.35% 和 20.08%，平均提高 214.02% (图 1)。施用商品菌肥对烤烟 4 个生长时期根际细菌数量增加的幅度高于抗生素肥，可能是商品菌肥往往是由多种细菌组成且添加有微量元素和其他有机肥及无机肥，而自制的抗生素肥仅含有一种菌和基质。

与对照处理相比，施用抗生素肥和商品菌肥处理，4 个不同生长时期烤烟根际放线菌的数量显著低于对照处理 ($p < 0.05$)。施用抗生素肥处理，4 个生长时期烤烟根际放线菌的数量分别比对照处理降低 33.16%、57.23%、81.73% 和 43.88%，平均降低 57.99%；施用商品菌肥处理，4 个生长时期烤烟根际放线菌的数量分别比对照处理降低 5.39%、48.47%、72.81% 和 52.34%，平均降低 50.65% (图 2)。施

用抗生素肥和商品菌肥使烤烟根际放线菌的数量显著下降的原因可能是根际土壤接入的菌肥中的细菌对土壤中放线菌进行营养和空间的竞争并取得优势。施用抗生素肥和商品菌肥对烤烟根际真菌的数量影响较小 (图 3)。

2.2 抗生素肥对烤烟抗病性的影响

烤烟生长圆顶期调查各处理烤烟的发病率，结果列于表 3。从表 3 可见，施用抗生素肥和商品菌肥可明显降低烟草病毒病的发生，但对烟草角斑病则抗病效果较差，发病率与对照处理基本相同。角斑病高发病率与试验期间连续阴雨有关。

表 3 施用抗生素肥烤烟圆顶期发病率 (%)

Table 3 Tobacco incidence of diseases at topping stage in antibiotic bacterium applied experiment

处理	烟草花叶病	马铃薯 Y 病毒病	黄瓜花叶病	角斑病
对照	0.61	1.23	0	14.19
抗生素肥	0	0	0.59	16.76
商品菌肥	0	0	0	14.61

2.3 抗生素肥对烤烟根际土壤矿质元素有效性的影响

施用菌肥接入的细菌通过其生长繁殖和代谢活动会影响到土壤中矿质元素的有效性。烤烟生长圆顶期测定烤烟根际土壤中 8 种重要矿质元素的含量。结果表明，施用抗生素肥除使 Ca 和 Mg 元素的有效性略有降低外，P、K、Cu、Zn、Fe 和 Mn 6 种元素的有效性均有不同程度的提高，提高幅度在 16.57% ~ 56.39%。施用商品菌肥除使 Mg 和 Mn 元素的有效性略有降低外，对其他元素的有效性均有不同程度的提高，提高幅度在 10.24% ~ 109.63% (表 4)。

表 4 施用抗生素肥对圆顶期烤烟根际土壤中几种重要矿质元素有效性的影响

Table 4 Effects of antibiotic bacterium on mineral element availability in tobacco rhizosphere soil at topping stage

处理	有效 P			有效 K			有效 Ca			有效 Mg		
	含量 (mg/kg)	有效性 (%)	有效性提高 (%)	含量 (mg/kg)	有效性 (%)	有效性提高 (%)	含量 (μg/g)	有效性 (%)	有效性提高 (%)	含量 (μg/g)	有效性 (%)	有效性提高 (%)
对照	9.47	1.28		59.65	0.31		1258.06	54.46		78.14	0.87	
抗生素肥	15.40	2.00	56.39	68.46	0.36	16.57	1122.88	52.97	-2.75	69.53	0.80	-7.83
商品菌肥	18.66	2.07	62.08	60.64	0.37	20.89	1164.72	60.04	10.24	72.35	0.77	-11.93
处理	有效 Cu			有效 Zn			有效 Fe			有效 Mn		
	含量 (μg/g)	有效性 (%)	有效性提高 (%)	含量 (μg/g)	有效性 (%)	有效性提高 (%)	含量 (μg/g)	有效性 (%)	有效性提高 (%)	含量 (μg/g)	有效性 (%)	有效性提高 (%)
对照	2.99	5.18		1.48	0.96		74.31	0.25		45.86	5.82	
抗生素肥	3.14	7.91	52.58	1.94	1.38	44.81	98.54	0.33	31.70	63.35	7.62	30.82

商品菌肥	4.28	10.87	109.63	2.51	1.28	34.10	88.75	0.30	18.49	48.29	5.66	-2.75
------	------	-------	--------	------	------	-------	-------	------	-------	-------	------	-------

2.4 抗生素肥对烤烟化学性质的影响

烤烟不同生长时期烟叶杀青样和烤后烟 N、P 和 K 含量的测定结果分别见表 5~7。施用抗生素肥和商品菌肥处理烤烟杀青样和烤后烟中 N 和 P 的平均含量高于对照处理，而 K 的平均含量低于对照。施用商品菌肥处理烟叶的 N、P 和 K 的含量均高于抗生素肥处理。

2.5 抗生素肥对烤烟产量和质量的影响

施用抗生素肥处理，亩产量比对照处理提高 10.45%，比商品菌肥处理提高 4.06%；产值比对照处理提高 11.22%，比商品菌肥处理提高 4.16%；上等烟率比对照处理提高 5.42 个百分点，比商品菌肥处理提高 5.27 个百分点；均价比对照处理和商品菌肥处理也有提高（表 8）。

表 5 施用抗生素肥不同生长时期烟叶杀青样和烤后样中的含 N 量 (mg/g)

Table 5 N contents in de-enzymed tobacco leaves at different growth stages and flue-cured tobacco leaves by antibiotic bacterium applied

处理	杀青样				烤后样			平均值
	团棵期	旺长期	现蕾期	圆顶期	4~6 叶位	8~11 叶位	14~17 叶位	
对照	52.6	43.6	36.8	39.0	20.0	16.5	18.9	32.5
抗生素肥	53.3	42.9	39.9	38.6	21.8	18.4	18.7	33.4
商品菌肥	55.4	44.4	44.2	34.5	22.1	18.1	25.1	34.8

表 6 施用抗生素肥不同生长时期烟叶杀青样中的含 P 量 (mg/g)

Table 6 P contents in de-enzymed tobacco leaves at different growth stages by antibiotic bacterium applied

处理	团棵期	旺长期	现蕾期	圆顶期	平均值
对照	3.3	2.2	2.0	2.1	2.4
抗生素肥	3.7	2.3	2.0	2.0	2.5
商品菌肥	4.0	2.2	2.1	1.9	2.5

表 7 施用抗生素肥不同生长时期烟叶杀青样和烤后样中的含 K 量 (mg/g)

Table 7 K contents in de-enzymed tobacco leaves at different growth stages and flue-cured tobacco leaves by antibiotic bacterium applied

处理	杀青样				烤后样			平均值
	团棵期	旺长期	现蕾期	圆顶期	4~6 叶位	8~11 叶位	14~17 叶位	
对照	50.1	32.6	29.2	23.4	23.3	17.2	15.3	27.3
抗生素肥	49.3	31.9	23.9	19.2	22.2	19.1	14.4	25.7
商品菌肥	46.7	39.6	24.2	18.7	22.2	17.2	17.2	26.5

表 8 抗生素肥对烤烟产质量的影响

Table 8 Effects of antibiotic bacterium on flue-cured tobacco yield and quality

处理	产量		产值		上等	中等	下等	均价	
	0.067hm ² 产量	比对照	0.067 hm ² 产值	比对照	烟率	烟率	烟率	价格	比对照
	(kg)	提高 (%)	(元)	提高 (%)	(%)	(%)	(%)	(元/kg)	提高 (%)
对照	136.99		1837.67		40.78	45.49	13.73	13.41	
抗生素肥	151.31	10.45	2043.84	11.22	46.20	41.00	12.80	13.51	0.75
商品菌肥	145.41	6.15	1962.18	6.78	40.93	47.1	11.97	13.49	0.60

3 讨论

施用 PGPR 菌肥对根际细菌可产生较大的影响，某些细菌类群的数量可能提高，有些则可能降低^[7-8]，并能促进植物对营养的吸收，尤其是对 N、P 和 K 的

吸收, 促进植物的生长, 提高产量^[9]。我们的试验也得到了类似的结果。施用抗生素芽孢杆菌 A03 菌肥可明显提高烤烟根际细菌的数量。施用抗生素肥除 Ca 和 Mg 元素的有效性略有降低外, 对 P、K、Cu、Zn、Fe 和 Mn 6 种元素的有效性均有不同程度的提高。相应地, 烤烟杀青样和烤后烟中 N 和 P 的平均含量高于对照处理。施用抗生素肥烤烟产量、产值、上等烟率比和均价比与对照和施用商品菌肥处理相比, 均有所提高。

施用 PGPR 菌肥对根际放线菌和真菌的影响尚未见报道。我们的研究表明, 施用抗生素芽孢杆菌 A03 菌肥, 烤烟根际放线菌的数量显著降低(图 2), 而对真菌没有影响(图 3)。其机理可能是施用抗生素肥增加了根际的细菌数量, 在与放线菌进行的营养和空间的竞争中取得优势, 而以不易利用的物质为主要营养的真菌则没有受到竞争压力。

烟草能够被 PGPR 诱导产生 ISR^[10]。施用绿针假单胞菌 (*Pseudomonas chlororaphis*) 可使珊西烟 (*Nicotiana tabacum* c.v. Xanthi-nc) 和三生烟 (*Nicotiana tabacum* c.v. Samsun-NN) 获得对野火病的抗性^[11]及三生烟对黄瓜花叶病的抗性^[12]。我们的实验表明, 施用芽孢杆菌 A03 菌肥可提高烤烟对病毒病的抗性, 但对角斑病的抗性则没有提高(表 4), 没有表现出平板培养对角斑病原菌较强的抑制作用, 有待进一步研究。

综上所述, 在烤烟生产中应用抗生素芽孢杆菌 A03 菌肥可明显提高根际细菌数量, 显著降低放线菌的数量, 诱导烤烟对病毒的抗性, 提高土壤中绝大多数矿质元素的有效性和烤烟产量和质量, 有利于减少农药和化肥的使用量, 是可持续生产优质烤烟的有效途径。

参考文献:

- [1] Van Wees SCM, Van der Ent S, Pieterse CMJ. Plant immune responses triggered by beneficial microbes. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2008, 11(4): 443-448
- [2] Bloemberg GV, Lugtenberg BJ. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2001, 4(4): 343-350
- [3] Meziane H, Van der Sluis I, Van Loon LC, Hofte M, Bakker PAHM. Determinants of *Pseudomonas putida* WCS358 involved in inducing systemic resistance in plants. *Mol. Plant Pathol.*, 2005, 6(2): 177-185
- [4] 吴建峰, 林先贵. 我国微生物肥料研究现状及发展趋势. *土壤*, 2002, 34(2): 68-73
- [5] 席淑雅, 毕庆文, 王豹祥, 杨林波, 章新军, 汪健, 邱立友. PGPR 菌肥在烤烟漂浮育苗中的应用. *中国烟草学报*, 2009, 15(6): 53-57
- [6] 姚占芳, 吴云汉, 赵柏叶. *微生物学实验技术*. 北京: 气象出版社, 1998
- [7] Castro-Sowinski S, Herschkovitz Y, Okon Y, Jurkevitch E. Effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on resident rhizosphere microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2007, 276(1): 1-11
- [8] Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okon Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.*, 2003, 22(2): 107-149
- [9] Adesemoye AO, Torbert HA, Kloepper JW. Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system. *Can. J. Microbiol.*, 2008, 54(10): 876-886
- [10] Van Loon LC, Bakker PAHM, Pieterse CMJ. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 1998, 36: 453-483
- [11] Spencer M, Kim YC, Ryu C-M, Kloepper JW, Yang KY, Anderson AJ. Induced defence in tobacco by *Pseudomonas chlororaphis* strain O6 involves at least the ethylene pathway. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 2003, 63(1): 27-34
- [12] Ryu C-M, Kang B, Han S, Cho S, Kloepper J, Anderson A, Kim Y. Tobacco cultivars vary in induction of systemic resistance against *Cucumber mosaic virus* and growth promotion by *Pseudomonas chlororaphis* O6 and its *gacS* mutant. *Eur. J. Plant Pathol.*, 2007, 119(4): 383-390

Effects of Antibiotic Bacterial Fertilizer on Soil and Production of Flue-Cured Tobacco

WU Feng-guang¹, WANG Bao-xiang¹, WANG Jian¹, ZHANG Chao-hui², XI Shu-ya², QIU Li-you²

(1 *China Tobacco Hubei Industrial Company Ltd., Wuhan 430051, China;*

2 *College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China*)

Abstract: Antibiotic bacterial fertilizer of *Bacillus* sp. A03 was employed when flue-cured tobacco transplanted in plots. Rhizobacterial amount considerably increased, while rhizo-actinomycetic amount significantly reduced, rhizo-fungic amount did not alter with antibiotic bacterial fertilizer compared to the control. In addition the resistance of tobacco against tobacco virus enhanced; the availability of 6 mineral elements in soil at tobacco toping stage increased by 16.57% - 56.39% except Ca and Mg, whose availability slightly decreased; the contents of N and P in de-enzyme and tobacco leaves at different growth stages and flue-cured tobacco leaves were higher; the yield and production value per 0.067ha with antibiotic bacterial fertilizer were 10.45% and 11.22% higher respectively compared to control. Furthermore first-class tobacco leaves proportion and mean price with antibiotic bacterial fertilizer were higher than those of control and commercial bacterial fertilizer.

Key words: Flue-cured tobacco, Antibiotic bacteria, Microbe, Mineral element, Induced systemic resistance