

褚德朋, 许永幸, 丁蓬勃, 等. 浒苔多糖协同解淀粉芽孢杆菌 CAS02 促进烤烟生长的研究[J]. 中国烟草学报, 2023, 29(4). CHU Depeng, XU Yongxing, DING Pengbo, et al. Study on the promotion of flue-cured tobacco growth by *Enteromorpha prolifera* polysaccharide cooperating with *Bacillus amyloliquefaciens* CAS02[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2023,29(4). doi:10.16472/j.chinatobacco.2022.184

浒苔多糖协同解淀粉芽孢杆菌 CAS02 促进烤烟生长的研究

褚德朋¹, 许永幸², 丁蓬勃², 杜秀春², 王世建², 袁源¹, 陈芊如¹,
张鑫¹, 杨伟², 穆青³, 李振¹, 韩佩良³, 高贵^{3*}, 李义强¹

1 中国农业科学院烟草研究所, 山东青岛崂山区科苑经四路 11 号 266100;

2 山东青岛烟草有限公司, 山东青岛市北区延吉路 150 号 266000;

3 贵州省烟草公司黔西南州公司, 贵州省黔西南州兴义市桔山新区瑞金南路 60 号 562400

摘要:【目的】探究浒苔多糖协同解淀粉芽孢杆菌 CAS02 对烤烟生长的影响, 为海藻废弃物的有效利用及糖菌协同促生提供科学依据。【方法】以浒苔多糖和解淀粉芽孢杆菌 CAS02 菌剂为试验材料, 通过田间试验和高通量测序, 比较分析 CAS02 菌剂单独施用以及浒苔多糖与 CAS02 菌剂联合施用对烟株农艺性状、土壤化学性质和微生物群落的影响。【结果】浒苔多糖与 CAS02 菌剂联合施用明显促进了旺长期烟株的生长, 其中株高、茎围和最大叶面积分别较 CK 增加 14.07%、18.52%以及 18.99%; 此外, 还增加了速效钾等土壤养分含量, 提高了土壤养分有效性。分析土壤微生物群落组成结构发现, 浒苔多糖与 CAS02 菌剂施用后, 土壤微生物群落 shannon、chao 和 ace 指数的增幅分别达到 1.98%~2.69%、0.90%~16.07%和 0.77%~15.39%, 且卡巴列罗尼伯克霍尔德氏菌属 (*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*)、微杆菌属 (*Microbacterium*) 和马杜拉放线菌属 (*Actinomadura*) 分别较 CK 升高 209.76%、352.60%和 362.03%。速效磷和速效钾是影响土壤细菌群落的显著环境因子, *P* 分别为 0.0410 和 0.0440; 链霉菌属 (*Streptomyces*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 分别与铵态氮和土壤有机质呈显著正相关。【结论】浒苔多糖与解淀粉芽孢杆菌 CAS02 联合施用, 能改善土壤化学性质, 提高土壤微生物丰富度和多样性, 促进烟株生长发育。

关键词: 浒苔多糖; 解淀粉芽孢杆菌; 烤烟生长; 土壤细菌群落

植物根际促生菌 (plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR) 是生活在土壤或植物根际的可促进植物生长且抑制有害微生物的一类有益菌的统称^[1], 是微生物肥料和微生物农药的主要菌种来源, 在促进化肥减施增效和农业绿色发展中具有巨大应用潜力。目前已发现的 PGPR 主要包括假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*) 和伯克霍尔德氏菌属 (*Burkholderia*) 等^[2]。解淀粉芽孢杆菌属

于植物根际促生菌, 现有大量研究证明其对植物生长具有促进作用并且可抑制多种植物病原菌^[3-6], CHU 等^[7]研究证明解淀粉芽孢杆菌 CAS02 具有产铁载体、纤维素酶、蛋白酶、氨以及过氧化氢酶等活性, 从而达到促进植物生长和防治植物病害的目的。

浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 属于绿藻, 分布于世界各地, 尤其在中国、波罗的海和智利等地较为常见^[8]。2008 年以来, 我国黄渤海海域多次发生浒苔

基金项目: 贵州省烟草公司黔西南州公司科技项目“基于海洋生物多糖-微生物协同效应的生防菌剂创制与应用”(110202101057(LS-17)); 山东青岛烟草有限公司科技计划项目“基于土壤碳氮平衡的烟草土传病害防控技术研究与示范推广”(2022370200270186)

作者简介: 褚德朋 (1995—), 博士研究生, 主要从事植物病害检疫与防治研究, Tel: 0532-66715597, Email: chudepeng86@163.com

通讯作者: 高贵 (1980—), Tel: 19108599911, Email: gwufe@163.com

收稿日期: 2022-10-26; **网络出版日期:** 2023-05-05

大规模暴发,面积超过 2 万平方公里,收获浒苔高达 16550 吨。浒苔多糖占浒苔干物质的 30%~50%,研究利用浒苔多糖,对“绿潮”藻类的综合利用及改善生态环境具有重要意义^[9]。浒苔多糖 (*Enteromorpha prolifera* polysaccharides, EPP) 的基本骨架结构为 $\text{D-GlcUA}p\text{-}\alpha\text{-(1}\rightarrow\text{4)-3-sulfate-L-Rha } p\text{-}\beta\text{-(1}\rightarrow\text{4)-D-Xyl } p\text{-}\beta\text{-(1}\rightarrow\text{4)-3-sulfate-L-Rha } p$, 具有抗氧化、抗病毒及免疫调节等作用^[10], 其研究应用主要集中在食品及医药保健等领域,在农业生产方面的应用报道较少。由于浒苔多糖包含丰富的活性官能团^[11],因此将浒苔多糖作为农作物促生抗病的辅助因子引起了人们的研究兴趣。

研究发现,微波 150℃ 条件下提取的浒苔多糖对解淀粉芽孢杆菌 CAS02 的培养效率优于其他微波条件 (120℃ 和 180℃)^[12]。此外,还证明浒苔多糖可以增强解淀粉芽孢杆菌 CAS02 在烟苗根际的定殖^[13]。然而自然条件下,面对复杂的土壤环境及土著微生物的竞争,二者是否对烟株生长有协同增效的作用有待进一步研究。本试验以浒苔多糖和解淀粉芽孢杆菌 CAS02 为试验材料进行田间试验,比较分析了处理后土壤化学性质以及土壤微生物群落的变化情况,并进一步探究了二者对烤烟生长的影响,为海藻废弃物的有效利用和糖菌协同促生提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2021 年在山东省青岛市胶州市张应镇西张应村 (东经 120°2'0"、北纬 36°15'53") 进行,该地区属温带季风气候,光照充足,雨热同季。土壤类型为棕壤, pH 4.87, 有机质 22.05 g/kg, 速效磷 33.24 mg/kg, 速效钾 147.61 mg/kg, 铵态氮 9.96 mg/kg; 供试作物为烤烟,品种为中烟 100。依据烟草肥料需求,施用烟草专用肥 330 kg/hm², 硫酸钾 300 kg/hm², 发酵豆饼 330 kg/hm², ETS 微生物菌肥 1500 kg/hm²。解淀粉芽孢杆菌 CAS02 菌剂 (有效活菌数 $\geq 500 \times 10^8$ cfu/g) 由中国农业科学院烟草研究所植物保护研究中心提供; 浒苔多糖 (有效含量 $\geq 45\%$) 由青岛海大生物集团有限公司提供。

1.2 试验设计

试验采用单因素随机区组设计,每小区 3 垄 $\times$ 50

株,重复 3 次,行距 120 cm,株距 50 cm。试验共设置 3 个处理:CK (常规施肥)、CAS02 (常规施肥+CAS02 菌剂)、EPPC (常规施肥+浒苔多糖+CAS02 菌剂)。所用基肥混合均匀,条施后起垄。CAS02 菌剂与浒苔多糖于团棵期分别稀释 300 和 200 倍后穴施,全水溶,100 mL/株。田间管理参照优质烤烟生产技术规范执行。烟苗于 2021 年 5 月 10 日移栽。

1.3 调查测定内容及方法

1.3.1 农艺性状调查

旺长期每处理选择代表性烟株 10 株,按照《烟草农艺性状调查测量方法》(YC/T 142—2010)^[14]测量烟株农艺性状。

1.3.2 土壤样品采集及测定

旺长期运用 5 点取样法采集 15 株烟 0~20 cm 土层,采用抖根法收集根际土壤,混合均匀。按四分法分为 2 份,1 份用于土壤微生物分析,-80℃ 保存;另 1 份进行土壤化学性质检测,风干后研磨过 0.25 mm 筛。土壤化学性质测定方法参照土壤农化分析^[15]标准检测方法: pH、有机质含量、铵态氮、速效磷和速效钾分别采用电位测定法 ($m_{\text{水}}:m_{\text{土}}=2.5:1$)、重铬酸钾容量法、连续流动分析仪、碳酸氢钠法和醋酸铵-火焰光度计法测定。

1.3.3 高通量测序分析微生物群落

按照文献[16]中的方法进行土壤 DNA 提取、PCR 扩增以及高通量测序分析。称取 0.50 g 土壤,用 DNeasy® PowerSoil® Kit (100) 试剂盒按照提取流程说明书提取 DNA,后续作为 16S rRNA 基因扩增的模板。以细菌 16S rRNA 基因的 V3-V4 区域为靶点,使用引物 341F (5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACNNGGTATCTAAT-3') 并利用热循环 PCR 系统进行 DNA 扩增,扩增所用条件为 98℃ 预变性 1 min; 30 个循环包括 (98℃ 变性 10 s; 50℃ 退火 30 s; 72℃ 延伸 30 s); 72℃ 后延伸 5 min。高通量测序文库的构建和基于 Illumina MiSeq 平台的测序由上海美吉生物医药科技有限公司完成。

1.4 数据处理与统计分析

使用 Trimmomatic 软件对原始测序序列进行质控,FLASH 软件通过对 Reads 拼接过滤得到优质序列,UPARSE 软件根据 97% 的相似性对序列进行 OTU 聚

类并剔除嵌合体, 然后用于微生物多样性分析^[17]。试验数据采用 WPS 2019 进行整理, 并完成图表制作; 使用 SPSS 18.0 统计软件进行数据方差分析; 各处理间差异比较采用 Duncan 法 ($P < 0.05$)。

2 结果

2.1 不同处理对烤烟生长的影响

在移栽 65 d 左右 (旺长期), 通过对农艺性状的调查, 判断各处理对烤烟生长的影响。由表 1 可以看

出, EPPC 与 CAS02 两处理明显促进了烤烟的生长发育。其中 EPPC 处理显著提高了烤烟株高、茎围以及最大叶面积 ($P < 0.05$, 下同), 分别较 CK 提高了 14.07%、18.52%和 18.99%, 其余各指标与 CK 相比均有提高但都差异不显著 ($P > 0.05$, 下同); 而 CAS02 处理仅对烤烟茎围表现出了显著的提高, 增幅为 12.70%。总体来说, 浒苔多糖与 CAS02 菌剂联合施用对烤烟生长的促进效果好于单独施用 CAS02 菌剂。

表 1 不同试验处理旺长期烟叶农艺性状

Tab. 1 Agronomic traits of tobacco leaves at the vigorous growing stages under different experimental treatments

处理 (Treatment)	株高 (Plant height)/ cm	茎围 (Stem circumference)/cm	有效叶数 (Effective number of leaves)/片	最大叶长 (Max. leaf length)/cm	最大叶宽 (Max. leaf width) /cm	节距 (Pitch distance)/cm	最大叶面积 (Max. leaf area)/cm ²
CK	135.00±1.15b	9.45±0.19b	23.00±0.76a	70.00±1.24ab	38.20±1.09ab	5.92±0.19ab	1700.84±68.30b
CAS02	136.50±1.55b	10.65±0.20a	24.50±0.65a	66.45±1.99b	36.55±2.21b	5.60±0.15b	1561.12±120.70b
EPPC	154.00±2.92a	11.20±0.33a	24.90±0.59a	73.80±1.84a	43.15±1.75a	6.21±0.18a	2023.77±102.73a

注: 每列不同小写字母表示处理间差异有统计学意义 ($P \leq 0.05$)。字体加粗代表具有显著性差异。下同。

Note: Different lowercase letters in each column indicate statistically significant differences between treatments ($P \leq 0.05$). Bold fonts represent significant differences. The same below.

2.2 不同处理对土壤化学性质的影响

由表 2 可知, 与 CK 相比, EPPC 和 CAS02 两个处理显著增加了土壤速效钾含量, 增幅分别为 145.72%和 71.79%; 处理间的土壤 pH、土壤有机质、

速效磷和铵态氮含量均与 CK 差异不显著。由此可见, 无论 CAS02 菌剂单独施用还是浒苔多糖与 CAS02 菌剂联合施用都有助于提高土壤养分含量, 增加土壤养分有效性。

表 2 不同试验处理旺长期土壤化学性质

Tab. 2 Soil chemical properties at the vigorous growing stages under different experimental treatments

处理 (Treatment)	pH	有机质 (Organic matter)/ (g·kg ⁻¹)	速效磷 (Available phosphorus)/ (mg·kg ⁻¹)	速效钾 (Available potassium)/ (mg·kg ⁻¹)	铵态氮 (Ammonium nitrogen)/ (mg·kg ⁻¹)
CK	5.58±0.02a	23.16±0.51a	44.11±3.70a	160.55±5.94c	10.89±0.94a
CAS02	5.86±0.08a	27.57±1.19a	31.96±5.17a	275.81±36.43b	12.19±0.48a
EPPC	5.69±0.12a	28.23±2.38a	42.19±9.69a	394.51±5.64a	11.67±0.83a

2.3 不同处理对土壤细菌群落多样性和结构的影响

Alpha 多样性是指一个特定区域或者生态系统内的多样性, 常用的度量指数有 coverage、shannon、chao、ace 等。其中 coverage 指数反映群落覆盖度, shannon 指数反映群落多样性, chao 和 ace 指数则反映群落丰富度。通过 Illumina MiSeq 平台对不同试验处理根际土壤测序可知各处理覆盖率均大于 97%, 说明该结果可以反映样本的真实情况, 存在遗漏的可能性较小。

由图 1 可知, shannon 指数各处理无显著差异, 但 EPPC 和 CAS02 两处理分别较 CK 小幅升高 1.98%和 2.69%, 说明两处理可以提高土壤微生物群落多样性; 与 CK 相比, chao 和 ace 指数在 EPPC 和 CAS02 两处理中增幅分别为 0.90%~16.07%和 0.77%~15.39%, 且 CAS02 处理显著高于 CK, 说明两处理可以增加土壤微生物群落丰富度。

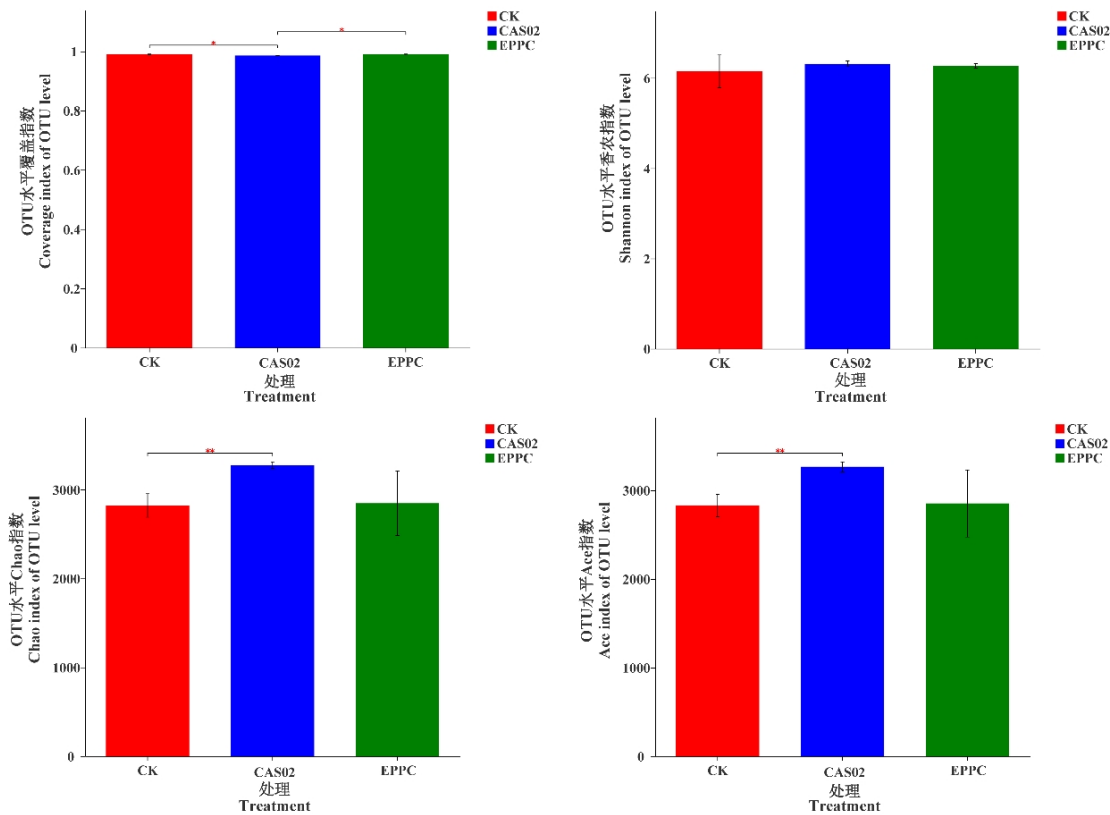


图 1 不同试验处理根际土壤细菌群落 Alpha 多样性指数分析

Fig. 1 Alpha diversity index analysis of bacterial communities in rhizosphere soil under different experimental treatments

PCoA 分析 (Principal co-ordinates analysis, 主坐标分析)是在 OTU 水平对不同试验处理根际土壤进行分析, 结果如图 2 所示。EPPC、CAS02 以及 CK 三处理均可明显分开, 说明无论 CAS02 菌剂单独施用还是

浒苔多糖与 CAS02 菌剂联合施用都对烤烟根际土壤细菌群落影响明显。PC1 和 PC2 对样品差异性的解释贡献率分别为 36.50%和 21.55%, 其总贡献率达 58.05%。

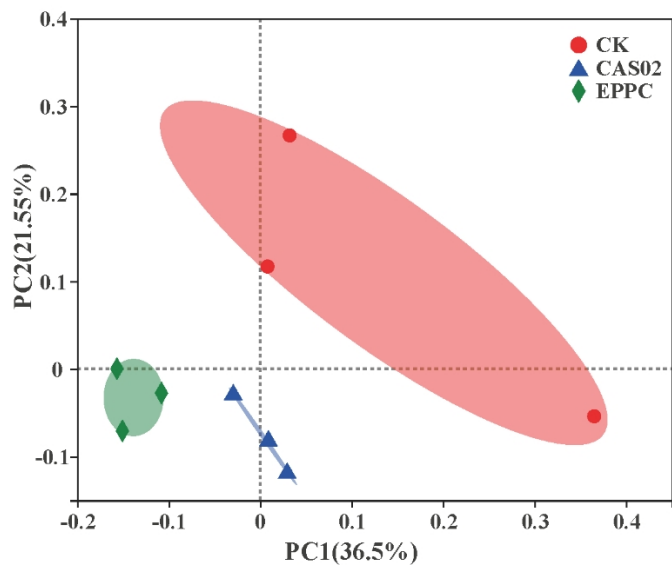


图 2 不同试验处理根际土壤细菌群落主坐标分析 (PCoA)

Fig. 2 Principal co-ordinates analysis (PCoA) of bacterial communities in the rhizosphere soil under different experimental treatments

Venn 图显示 EPPC、CAS02 和 CK 三处理共有属为 655 个, 且分别含有 26、28 以及 26 个特有的属 (图 3A)。烤烟根际土壤样品中共检测出细菌 41 门 128 纲 300 目 468 科 900 属 1765 种, 不同试验处理细菌门 (Phylum) 水平的群落组成如图 3B 所示。各处理主要优势菌门为放线菌门 (Actinobacteriota)、变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteriota)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、厚壁菌门 (Firmicutes) 和芽单胞菌门 (Gemmatimonadota)。与 CK 相比, Proteobacteria 在 CAS02 处理中的增幅为 12.68%, Firmicutes 在 EPPC 处理中的增幅为 76.60%; Actinobacteriota 和

Chloroflexi 的丰度则出现了不同程度的降低, 在 EPPC 处理中分别下降 2.39% 和 25.62%, CAS02 处理中分别下降 3.17% 和 16.90%。Acidobacteriota 的丰度则在 EPPC 处理中升高, CAS02 处理中降低; 而 Gemmatimonadota 的丰度呈现出与前者相反的变化趋势。属水平组间差异显著性检验 (图 3C) 发现浒苔多糖与 CAS02 菌剂联合施用后 *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*、*Microbacterium* 和 *Actinomadura* 显著高于其他处理, 分别较 CK 升高 209.76%、352.60% 和 362.03%。

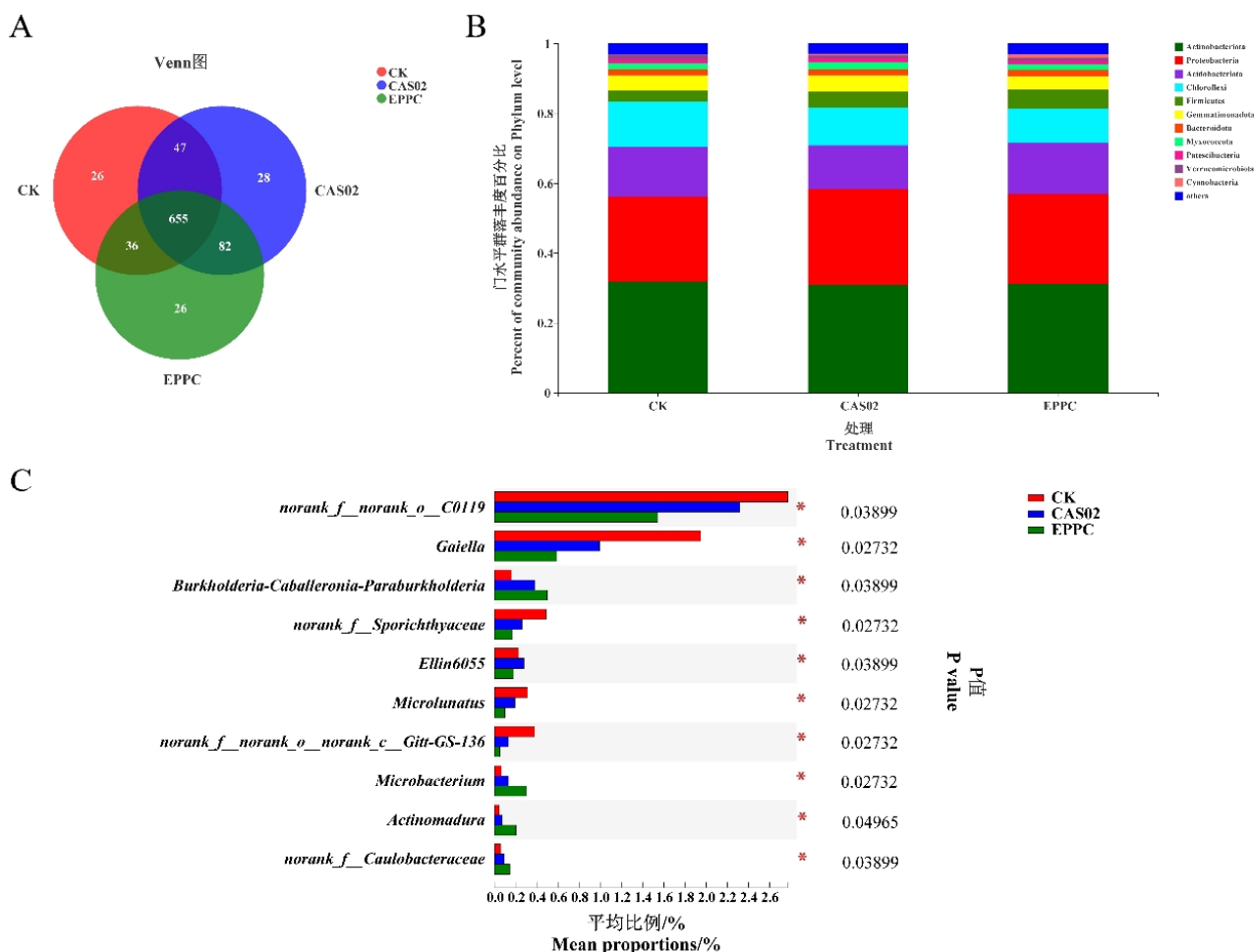


图 3 不同试验处理根际土壤细菌群落属水平 (A) 和门水平 (B) 群落组成以及属水平组间差异显著性检验 (C)

Fig. 3 Differences in rhizosphere soil bacterial community composition at the genus (A) and phylum (B) levels among different experimental treatments, and significance test of inter-group differences at the genus level (C)

2.4 不同试验处理土壤化学性质与土壤细菌群落的关系

烤烟根际土壤细菌群落属水平与土壤化学性质的分析结果 (图 4) 显示, RDA1 轴和 RDA2 轴共解释

总变异的 46.13%, CK 与 CAS02 处理和 EPPC 处理可在 RDA2 轴上分开。结合表 3 可知, AP 和 AK 是显著影响土壤细菌群落的环境因子, P 分别为 0.0410 和 0.0440, 然而受其他环境因子的影响较小。

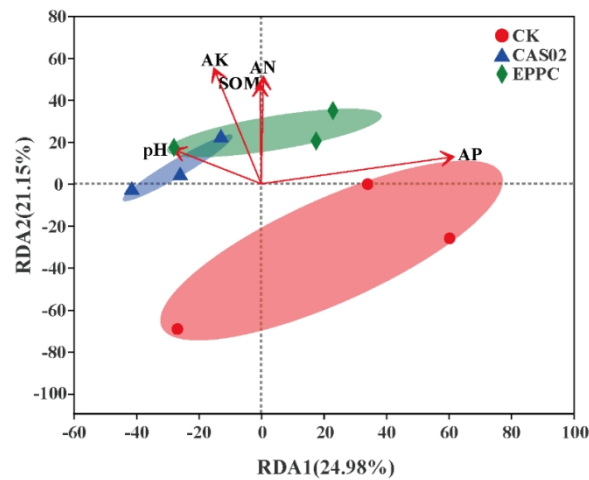


图 4 不同试验处理根际土壤化学性质与土壤细菌群落属水平的冗余分析 (RDA)

Fig. 4 Redundancy analysis (RDA) of chemical properties and bacterial communities at genus level in rhizosphere soil under different treatments

表 3 不同试验处理根际土壤化学性质与土壤细菌群落属水平的冗余分析

Tab. 3 Redundancy analysis of chemical properties and bacterial communities at genus level in rhizosphere soil under different treatments

土壤化学性质 (Chemical properties of soil)	RDA1	RDA2	R^2	P
pH	-0.7945	0.6072	0.1931	0.5540
SOM (土壤有机质)	-0.0780	0.9970	0.4477	0.1780
AP (速效磷)	0.9858	0.1678	0.6448	0.0410
AK (速效钾)	-0.2795	0.9601	0.6650	0.0440
AN (铵态氮)	-0.0609	0.9981	0.5143	0.0980

烤烟根际土壤化学性质与细菌群落属水平的相关性分析结果如图 5 所示，不同土壤指标的相关性分析呈现出明显的差别。土壤细菌群落在属水平上被分为两个簇，簇 1 与土壤化学性质呈负相关，其中 *Gaiella*

(盖伊氏菌属)与 AK 含量呈极显著负相关($P<0.01$)。簇 2 与土壤化学性质呈正相关，其中 *Streptomyces* 与 AN 含量呈显著正相关($P<0.05$)；*Bacillus* 与 SOM 含量呈极显著正相关 ($P<0.01$)。

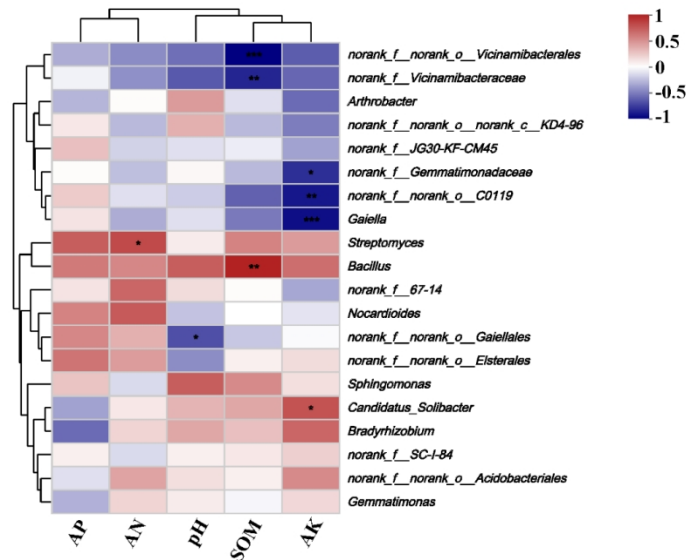


图 5 根际土壤化学性质与细菌群落属水平的相关性分析热图

Fig. 5 Correlation analysis heatmap of chemical properties and bacterial communities at genus level in rhizosphere soil

3 讨论

本研究发现浒苔多糖与解淀粉芽孢杆菌 CAS02 联合施用可以显著促进旺长期烤烟的生长。YUAN 等^[12]研究表明,海藻水解液与 PGPR 菌株联合施用对辣椒的促生作用优于单独使用海藻水解液或 PGPR 菌株,其中解淀粉芽孢杆菌 CAS02 与浒苔水解液的组合促生效果最好。土壤养分是土壤肥力的重要指标,合理的养分含量对植物生长至关重要^[18-19]。本研究中浒苔多糖和 CAS02 菌剂的施用显著增加了土壤速效钾含量。前期研究发现菌株 CAS02 具有解钾活性,可活化土壤中的难溶性钾,从而满足烟株生长发育对钾元素的需求^[2],这与前人研究一致,崔文艳等^[20]研究表明解淀粉芽孢杆菌 Y2 具有解钾活性,施入土壤后可显著增加植株根际土壤速效钾的含量和比例。此外,由于浒苔多糖可以增强菌株 CAS02 的根际定殖,有效提高 CAS02 在烟草根际的种群数量和存活时间^[13],从而有效发挥其解钾功能,增加土壤中的钾含量。本课题组利用傅立叶变换近红外光谱仪测定烟株下部烤后烟叶钾含量发现,EPPC、CAS02 和 CK 处理钾含量分别为 2.17%、2.09%和 1.77%,EPPC 和 CAS02 的烤后烟叶钾含量高于 CK。这是由于浒苔多糖和 CAS02 可以协同促进烟株的生长发育,进而增强烟株对土壤速效钾的吸收利用^[13]。申鸿等^[21]研究发现生姜接种牛粪-复合菌剂 (*B. amyloliquefaciens* GN03: *Bacillus pumilus* RP01: *Bacillus circulans* JK02=1:1:1) 后解钾菌在土壤中有有效定殖,其数量提高了 225.2%,形成了强烈的微生态环境竞争优势,从而使土壤速效钾和生姜地上部钾含量也分别提高了 23.0%和 28.6%,改善了土壤养分状况和生姜种苗对养分的吸收利用。因此,浒苔多糖通过促进 CAS02 在烟草根际的有效定殖,实现菌株在土壤中的长期存活并稳定发挥其生物学活性是二者提高根际土壤有效养分含量的主要原因。

土壤微生物是土壤质量的重要评价指标,同时也是土壤养分循环的主要驱动力,对土壤生态功能的影响至关重要^[22]。研究结果表明,EPPC 和 CAS02 联合处理可以提高土壤微生物群落多样性和丰富度,且浒苔多糖与 CAS02 菌剂联合施用后 *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*、*Microbacterium* 和 *Actinomadura* 显著升高。伯克霍尔德氏菌具有促生、防病以及土壤修复的功能^[23],孙雨晨等^[24]研究发现伯克霍尔德氏菌 Fjb-2 不仅对多种病原菌具有较高的拮抗活性,还具有产 IAA、溶磷、产铁载体等生理活性,具备促进植物生长的巨大潜力。微杆菌属在促生方面

的研究较多,王越洋等^[25]研究表明分离自丹凤根际土壤的微杆菌 MB-12 可产生较多的吲哚乙酸,且兼具溶磷、解钾和产纤维素酶等活性,以上结果预示着 MB-12 表现出较强的促生能力。此外,已有大量文献证明放线菌是一类有益微生物,也是土壤养分供给的主要来源,它可以调节植物生长并通过产生次级代谢产物来预防一些土传病害^[26]。进而分析土壤化学性质与属水平细菌群落的相关性发现,*Streptomyces* 和 *Bacillus* 分别与 AN 和 SOM 含量呈显著正相关,*Gaiella* 与 AK 含量呈显著负相关。浒苔多糖与 CAS02 菌剂施用后,土壤中 AN、AK 和 SOM 含量升高,与之呈正相关的 *Streptomyces* 和 *Bacillus* 的丰度增加,而 *Gaiella* 丰度减少。*Streptomyces* 是主要的有益微生物菌群之一,其可产生链霉素,既可对病原菌产生直接抗性,也可诱导植物产生抗性^[27]。王震^[28]研究发现内生放线菌链霉菌 (*Streptomyces*) 具有很好的固氮能力,可与植物形成共生固氮系统,此外,还具有分泌吲哚乙酸 (IAA)、细胞分裂素等能力,以此来促进植物生长。芽孢杆菌作为一种植物根际促生菌受到广泛青睐,且芽孢杆菌具有生物固氮能力^[13]。袁军^[29]研究表明,*Bacillus* 不仅可以通过产生抗生素类物质对多种病原菌展现出广谱抗性,还可以通过分泌植物激素促进宿主作物的生长发育。杨东亚等^[30]发现芽孢杆菌无论单独施用还是在病原菌侵染条件下施用均可促进黄瓜幼苗的生长,其原因为芽孢杆菌可在植物根际有效定殖,占据有利生态位点,从而为促进幼苗生长提供有利条件。因此,烤烟根际土壤有效养分和有益微生物种群丰度的增加可能是浒苔多糖协同解淀粉芽孢杆菌 CAS02 促进烟草生长的机制之一。

4 结论

浒苔多糖与解淀粉芽孢杆菌 CAS02 联合施用后,增加了土壤有效养分含量,速效钾含量较 CK 增加 145.72%,与此同时,提高了土壤微生物丰富度和多样性并影响了细菌群落的组成结构,*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*、*Microbacterium* 和 *Actinomadura* 分别较 CK 升高 209.76%、352.60%和 362.03%,从而显著促进了烟株的生长,株高、茎围等农艺性状增幅为 4%~19%。

参考文献

- [1] 靳磊. 根际促生菌促进胁迫环境植物生长的研究进展[J]. 安徽农业通报, 2022, 28 (2): 40-42.
JIN Lei. Advances in research on factors affecting plant growth under stress in rhizosphere-promoting bacteria[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2022, 28 (2): 40-42.

- [2] 穆文强, 康慎敏, 李平兰. 根际促生菌对植物的生长促进作用及机制研究进展[J]. 生命科学, 2022, 34 (2): 118-127.
MU Wenqiang, KANG Shenmin, LI Pinglan. Advances in rhizosphere growth-promoting bacteria function on plant growth facilitation and their mechanisms[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2022, 34 (2): 118-127.
- [3] 柳慧静. 两种微生物菌种处理对盆栽辣椒的促生作用研究[J]. 南方农业, 2022, 16 (3): 48-50+56.
LIU Huijing. Study on the growth promoting effect of two microbial strains on potted pepper [J]. South China Agriculture, 2022, 16 (3): 48-50+56.
- [4] 赵月盈. 解淀粉芽孢杆菌抗病机制研究进展[J]. 亚热带农业研究, 2021, 17 (3): 205-210.
ZHAO Yueying. Research progress on the disease inhibition mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens*[J]. Subtropical Agriculture Research, 2021, 17 (3): 205-210.
- [5] 陆景倩, 郎剑锋, 杨秋侠, 等. 解淀粉芽孢杆菌对植物土传病害的作用机制[J]. 湖北农业科学, 2021, 60 (12): 5-10.
LU Jingqian, LANG Jianfeng, YANG Qiuxia, et al. Mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens* on plant soil-borne disease [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2021, 60 (12): 5-10.
- [6] 申莉莉, 王凤龙, 钱玉梅, 等. 解淀粉芽孢杆菌 Ba33 对烟草的促生及抗 TMV 作用[J]. 吉林农业大学学报, 2010, 32 (4): 383-386.
SHEN Lili, WANG Fenglong, QIAN Yumei, et al. Tobacco growth-promotion effect and TMV resistance of *Bacillus amyloliquefaciens* Ba33 [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2010, 32 (4): 383-386.
- [7] CHU Depeng, ILYAS Naila, PENG Lijuan, et al. Genomic insights on fighting bacterial wilt by a novel *Bacillus amyloliquefaciens* strain Cas02[J]. Microbial Biotechnology, 2022, 15 (4): 1152-1167.
- [8] 耿玉慧. 藻类附生菌多样性、多相分类鉴定及浒苔多糖降解酶的研究[D]. 济南: 山东大学, 2021.
GENG Yuhui. Studies on diversity and polyphasic identification of macroalgal epiphytic bacteria and *Enteromorpha prolifera* polysaccharide degrading enzymes[D]. Jinan: Shandong University, 2021.
- [9] 王盼, 孙占一, 申培丽. 浒苔多糖的制备及应用研究进展[J]. 现代食品, 2020 (21): 70-72.
WANG Pan, SUN Zhanyi, SHEN Peili. The study of the preparation and application of *Enteromorpha* polysaccharides[J]. Modern food, 2020 (21): 70-72.
- [10] 陈晖. 基于肠道菌群及代谢组学探讨浒苔多糖改善小鼠高胆固醇血症作用机制[D]. 福州: 福建医科大学, 2021.
CHEN Hui. The regulatory mechanism of *Enteromorpha* polysaccharides on hypercholesterolemia mice based on gut microbiota and metabolomics[D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2021.
- [11] 文雨桐. 浒苔多糖基水凝胶的制备及其在重金属水污染处理方面的应用[D]. 济南: 山东大学, 2021.
WEN Yutong. Preparation of *Enteromorpha* polysaccharide-based hydrogel and its application in the treatment of heavy metal water pollution[D]. Jinan: Shandong University, 2021.
- [12] YUAN Yuan, CHU Depeng, FAN Jiajun, et al. Ecofriendly conversion of algal waste into valuable plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) biomass[J]. Waste Management, 2021, 120: 576-584.
- [13] CHU Depeng, WANG Xiaoqiang, FAN Jiajun, et al. *Ulva prolifera* polysaccharide enhances the root colonisation by *Bacillus amyloliquefaciens* strain Cas02 [J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 299: 120171.
- [14] YC/T 142—2010, 烟草农艺性状调查测量方法[S].
YC/T 142-2010, survey and measurement method of tobacco agronomic traits[S].
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 25-271.
BAO Shidan. Soil agrochemical analysis[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2000: 25-271.
- [16] 褚德朋, 陈芊如, 邵振益, 等. 大豆与海藻有机肥对烤烟生长和土壤细菌群落的影响[J]. 中国烟草学报, 2021, 27 (6): 43-51.
CHU Depeng, CHEN Qianru, TAI Zhenyi, et al. Effects of soybean-seaweed organic fertilizer on flue-cured tobacco growth and soil bacterial community[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2021, 27 (6): 43-51.
- [17] ZHENG Yanfen, HAN Xiaobin, ZHAO Donglin, et al. Exploring biocontrol agents from microbial keystone taxa associated to suppressive soil: a new attempt for a biocontrol strategy[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 655673.
- [18] 洗康华, 苏江, 付传明, 等. 不同菌肥对重楼根际土壤微生物多样性及理化性质的影响[J]. 广西科学, 2021, 28 (6): 616-625.
XIAN Kanghua, SU Jiang, FU Chuanming, et al. Effects of different bacterial fertilizers on microbial diversity, physical and chemical properties of rhizosphere soil of *Paris polyphylla* var. *chinensis*[J]. Guangxi Sciences, 2021, 28 (6): 616-625.
- [19] 桂意云, 李海碧, 韦金菊, 等. 生物炭对旱地宿根甘蔗土壤养分、酶活性及微生物多样性的影响[J]. 南方农业学报, 2022, 53 (3): 776-784.
GUI Yiyun, LI Haibi, WEI Jinju, et al. Effects of biochar on soil nutrients, enzyme activities and microbial diversity of ratoon sugarcane in dry slope land[J]. Journal of Southern Agriculture, 2022, 53 (3): 776-784.
- [20] 崔文艳, 何朋杰, 杨丽娟, 等. B9601-Y2 溶磷解钾固氮能力及促玉米生长效果研究[J]. 玉米科学, 2019, 27 (3): 155-160+168.
CUI Wenyang, HE Pengjie, YANG Lijuan, et al. Phosphorus- and potassium-dissolving and nitrogen-fixing capabilities and growth-promotion effect of B9601-Y2 on maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2019, 27 (3): 155-160+168.
- [21] 申鸿, 吴波, 李洪海, 等. 紫色土植物促生菌筛选及其复合菌剂对生姜种苗的促生效应[J]. 中国蔬菜, 2018, 352 (6): 54-59.
SHEN Hong, WU Bo, LI Honghai, et al. Screening of plant growth-promoting bacteria from purple soil and growth promoting effects of its complex microbial inoculant on ginger germchit[J]. China Vegetables, 2018, 352 (6): 54-59.
- [22] 周永学, 陈静, 李远, 等. 棉秆还田对咸水滴灌棉田土壤酶活性和细菌群落结构多样性的影响[J]. 环境科学, 2022, 43 (4): 2192-2203.
ZHOU Yongxue, CHEN Jing, LI Yuan, et al. Effects of cotton stalk returning on soil enzyme activity and bacterial community structure diversity in cotton field with long-term saline water irrigation[J]. Environmental Science, 2022, 43 (4): 2192-2203.
- [23] 章嘉会, 魏艳丽, 李红梅, 等. 两株西洋参根际拮抗细菌的鉴定及其抑菌促生效果[J]. 山东农业科学, 2022, 54 (7): 143-148.
ZHANG Jiahui, WEI Yanli, LI Hongmei, et al. Identification and growth-promoting effect of two antagonistic bacteria from rhizosphere of *Panax quinquefolium*[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2022, 54 (7): 143-148.
- [24] 孙雨晨, 易欣欣, 王丽伟, 等. 一株百合内生细菌 *Burkholderia* sp.FJb-2 的分离鉴定及其体外抑菌促生效应[J]. 中国土壤与肥料, 2022, 300 (4): 229-236.
SUN Yuchen, YI Xinxin, WANG Liwei, et al. Isolation and identification of an endophytic bacterium *Burkholderia* sp. FJb-2 from lily and its *in vitro* antibacterial and growth-promoting effect [J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2022, 300 (4): 229-236.
- [25] 王越洋, 贾孟媛, 吕欢欢, 等. 牡丹丛枝菌根孢子内生菌 MB-12 的筛选及其生物活性[J/OL]. 基因组学与应用生物学: 1-18. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1369.Q.20221111.1411.004.html>

- WANG Yueyang, JIA Mengyuan, LV Huanhuan, et al. Screening and biological activity of arbuscular mycorrhizal endophyte MB-12 from *Paeonia suffruticosa*[J/OL]. Genomics and Applied Biology, 1-18. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1369.Q.20221111.1411.004.html>
- [26] 邹毅辉, 徐婧君, 陈育青, 等. 连作对百香果根际土壤微生物群落的影响[J]. 中国南方果树, 2022, 51 (1): 47-53.
- ZOU Yihui, XU Jingjun, CHEN Yuqing, et al. Effects of continuous cropping on soil microbial communities in the rhizosphere of passion fruit[J]. Fruit trees in southern China, 2022, 51 (1): 47-53.
- [27] 邵美琪, 赵卫松, 苏振贺, 等. 盐胁迫下枯草芽孢杆菌 NCD-2 对番茄促生作用及对土壤微生物群落结构的影响[J]. 中国农业科学, 2021, 54 (21): 4573-4584.
- SHAO Meiqi, ZHAO Weisong, SU Zhenhe, et al. Effect of *Bacillus subtilis* NCD-2 on the growth of tomato and the microbial community structure of rhizosphere soil under salt stress [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2021, 54 (21): 4573-4584.
- [28] 王震. 甘蔗根际放线菌资源筛选及促生机制研究[D]. 南宁: 广西大学, 2020.
- WANG Zhen. Screening of actinobacterial resources in sugarcane rhizosphere and study on plant growth promoting mechanism [D]. Nanning: Guangxi University, 2020.
- [29] 袁军. 解淀粉芽孢杆菌 NJN-6 拮抗物质的分离鉴定及对土壤微生物区系的影响研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- YUAN Jun. Isolation of antimicrobial compounds from *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 and their effects on soil microbial community [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016.
- [30] 杨东亚, 祁瑞雪, 李昭轩, 等. 黄瓜茄病镰刀菌拮抗芽孢杆菌的筛选、鉴定及促生效果[J]. 生物技术通报, 2023, 39 (2), 211-220.
- YANG Dongya, QI Ruixue, LI Shaoxuan, et al. Screening, identification and growth-promoting effect of antagonistic *Bacillus* spp. against cucumber *Fusarium solani* [J]. Biotechnology Bulletin, 2023, 39 (2), 211-220.

Study on the promotion of flue-cured tobacco growth by *Enteromorpha prolifera* polysaccharide cooperating with *Bacillus amyloliquefaciens* CAS02

CHU Depeng¹, XU Yongxing², DING Pengbo², DU Xiuchun², WANG Shijian², YUAN Yuan¹, CHEN Qianru¹,

ZHANG Xin¹, YANG Wei², MU Qing³, LI Zhen¹, HAN Peiliang³, GAO Gui^{3*}, LI Yiqiang¹

1 Institute of tobacco, Chinese Academy of Agricultural Sciences, No. 11, Keyuan Jingsi Road, Laoshan District, Qingdao 266100, Shandong;

2 Shandong Qingdao Tobacco Co., Ltd., No. 150, Yanji Road, North District, Qingdao 266000, Shandong;

3 Guizhou tobacco company, Qianxinan Prefecture company, No. 60, Ruijin South Road, Jushan New District, Xingyi City, Qianxinan Prefecture 562400, Guizhou

Abstract: [Objective] The objective of this study is to explore the promoting effect of flue-cured tobacco by *Enteromorpha prolifera* polysaccharide cooperating with *Bacillus amyloliquefaciens* CAS02, so as to provide scientific basis for the effective utilization of algae waste and for the study on synergetic growth promotion effect of polysaccharide and bacteria. [Methods] Using *Enteromorpha prolifera* polysaccharide and *B. amyloliquefaciens* CAS02 as experimental materials, field experiments and high-throughput sequencing were conducted to comparatively investigate the effects of single application of CAS02 and combined application of *Enteromorpha prolifera* polysaccharide with CAS02 on the agronomic properties of tobacco plants, soil chemical properties and microbial community. [Results] The combined application of *Enteromorpha prolifera* polysaccharide and CAS02 bacterial agent significantly promoted the growth of tobacco plants in the vigorous growing stages, with the plant height, stem circumference and maximum leaf area increased by 14.07%, 18.52% and 18.99% compared with control, respectively. In addition, it also increased the content of soil nutrients such as available potassium, and improved the availability of soil nutrients. Analyzing the composition structure of soil microbial community, it was found that after the application of *Enteromorpha prolifera* polysaccharide and CAS02 bacterial agent, the shannon, chao and ace indexes of soil microbial community increased by 1.98% to 2.69%, 0.90% to 16.07% and 0.77% to 15.39%, *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, *Microbacterium* and *Actinomadura* increased by 209.76%, 352.60% and 362.03%, respectively. Available phosphorus and available potassium were significant environmental factors affecting soil bacterial community, with *P* of 0.0410 and 0.0440, respectively. *Streptomyces* and *Bacillus* were positively correlated with ammonium nitrogen and soil organic matter, respectively. [Conclusion] The combined application of *Enteromorpha prolifera* polysaccharide and *B. amyloliquefaciens* CAS02 can ameliorate the chemical properties of soil, improve the richness and diversity of soil microorganisms and promote the growth of tobacco.

Keywords: *Enteromorpha prolifera* polysaccharide; *B. amyloliquefaciens*; flue-cured tobacco growth; soil bacterial community

*Corresponding author. Email: gwufei@163.com