

γ -聚谷氨酸高产菌株的筛选及改良酸化植烟土壤效果研究

施河丽¹, 彭五星¹, 向修志¹, 舒照鹤¹, 向必坤¹, 王雪松¹, 上官力¹,
尹忠春¹, 祁高富^{2*}, 谭军^{1*}

(1.湖北省烟草公司恩施州公司, 湖北 恩施 445000; 2.华中农业大学生命科学技术学院, 武汉 430070)

摘要:为挖掘具有缓解植烟土壤酸化能力的微生物菌株,采用盆栽试验和大田试验相结合的方法,应用生物形态学和分子生物学筛选鉴定了 γ -聚谷氨酸(γ -PGA)高产菌株并研究其对酸化植烟土壤的改良效果。结果表明:(1)从黄土高原干旱土壤中筛选得到一株谷氨酸非依赖型 γ -PGA高产菌株副地衣芽孢杆菌 285-3(*Bacillus paralicheniformis*);(2)菌株 285-3 可有效缓解根系分泌物和复合肥料导致的土壤酸化,土壤 pH 平均提高 0.3 个单位以上;(3)菌株 285-3 配施有机肥,可显著降低酸化植烟土壤可交换酸度,对烟草青枯病的防效达到 47.05%,同时提高烟叶产质量。综上所述,副地衣芽孢杆菌 285-3 对酸化植烟土壤有较好的改良效果,与有机肥合用具有控病和提高烟叶产质量的作用。

关键词:酸化植烟土壤;副地衣芽孢杆菌; γ -聚谷氨酸;烟草青枯病;烟叶产质量

中图分类号:S572.01

文献标识码:A

文章编号:1007-5119(2022)04-0015-07

Screening of Poly- γ -glutamic Acid Producer and its Effect on Improving Acidified Tobacco Planting Soil

SHI Heli¹, PENG Wuxing¹, XIANG Xiuzhi¹, SHU Zhaohe¹, XIANG Bikun¹, WANG Xuesong¹, SHANG Guanli¹,
YIN Zhongchun¹, QI Gaofu^{2*}, TAN Jun^{1*}

(1. Enshi Prefecture Company of Hubei Provincial Tobacco Corporation, Enshi, Hubei 445000, China; 2. College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: In order to explore the microbial strains with the ability to alleviate the acidification of tobacco planting soil, a combination of biomorphology and molecular biology, pot experiment and field experiment were used to screen and identify high-yielding γ -PGA strains and study their improvement effects on acidified tobacco planting soil. The results showed that: (1) Aglutamate-independent γ -PGA producing strain *Bacillus paralicheniformis* 285-3 was screened from the arid soil of the Loess Plateau. (2) Strain 285-3 effectively alleviated soil acidification caused by root exudates and compound fertilizers, and increased soil pH by more than 0.3 units on average. (3) The combination of strain 285-3 and organic fertilizer significantly reduced the exchangeable acidity of acidified tobacco planting soil, and the control effect of tobacco bacterial wilt reached 47.05%, while improved the yield and quality of tobacco. In conclusion, *Bacillus paralicheniformis* 285-3 has a good improvement effect on acidified tobacco plating soil, and can control disease and improve yield and quality of tobacco when combined with organic fertilizer.

Keywords: acidified tobacco planting soil; *Bacillus paralicheniformis*; γ -PGA; tobacco bacterial wilt; tobacco yield and quality

土壤酸化进程的加速,既受外源氮沉降、酸沉降的影响,又受化学肥料施用、植物选择性吸收、根系呼吸及根系分泌物等影响^[1]。近年来我国烟区土壤酸化日趋严重^[2],导致青枯病等土传病害的发生及流行加重^[3-4],对烟草生长和优质烟叶生产产生严重影响。目前对酸化土壤的改良主要是改变施肥方式以及使用土壤改良剂,如传统的土壤改良剂生石灰(或石灰粉)、沸石、白云石、粉煤灰等,以

及新型的土壤改良剂如牡蛎壳粉、生物质炭、腐殖酸等。随着研究的不断深入,化学改良剂的弊端逐渐显现,如长期施用生石灰导致土壤板结、肥力下降^[5-6],不利于烟叶生产的长远发展。因此,有学者提出利用生物技术改良酸化土壤的方法,特别是利用微生物对酸化土壤进行修复^[7-8]。芽孢杆菌具有适应性广、成本低、货架期长、使用方便等优点,因而受到广泛关注。芽孢杆菌还能产生多种有益次生

基金项目:中国烟草总公司湖北省公司科技项目(027Y2019-011)

作者简介:施河丽(1984-),女,硕士研究生,主要从事烟草栽培与微生物工程研究。E-mail: shiheli2022@163.com

*通信作者, E-mail: qigaofu@mail.hzau.edu.cn; 谭军, tanjun20713@163.com

收稿日期:2022-03-07

修回日期:2022-08-09

代谢产物,如多肽、环肽、氨基酸、蛋白酶及香豆素等,其中 γ -聚谷氨酸(γ -PGA)就是枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌等产生的高聚物^[9]。 γ -PGA主链上具有大量游离羧基,有很强的吸水保湿功能,可以改善土壤团粒结构,起到保水保肥作用^[10-12];还可以直接中和土壤中的氢离子以及为金属阳离子的吸附提供位点,减少碱性阳离子的淋失,提高土壤的缓冲能力,从而维持土壤pH的稳定^[13-14]。

本文从山西吕梁地区黄土高原干旱土壤中筛选获得一株谷氨酸非依赖型 γ -PGA高产菌株副地衣芽孢杆菌285-3(*Bacillus paralicheniformis*),并研究其对酸化植烟土壤的改良效果。首先利用盆栽试验研究该菌株对根系分泌物和复合肥料导致的土壤酸化的影响,然后利用大田试验研究该菌株与有机肥合用对酸化植烟土壤、烟草青枯病以及烟叶产质量的影响,为利用 γ -PGA高产菌株改良酸化植烟土壤和防治烟草青枯病建立研究基础。

1 材料与方法

1.1 γ -PGA高产菌株的筛选和鉴定

2019年1月从山西吕梁交城地区黄土高原采集土壤,称取10g,加入90mL ddH₂O悬浮土壤,置沸水浴5min。冷却后将土壤悬液进行梯度稀释,于LB固体平板上进行涂布,37℃培养24h,挑选形态大、表面光滑、湿润、粘度高的单菌落。

将挑选的单菌落接入到发酵培养基(葡萄糖30.0g/L,柠檬酸钠10.0g/L,氯化铵8.0g/L,磷酸氢二钾0.5g/L,七水合硫酸镁0.5g/L,六水合三氯化铁0.04g/L,无水氯化钙0.15g/L,一水合硫酸锰0.1g/L,pH7.4)中,37℃、180r/min培养36h,所得发酵液经12000r/min离心10min后收集上清液,然后采用CTAB比浊法定量测定各菌株发酵上清液中 γ -PGA产量^[15]。

选取 γ -PGA产量最高的菌株,将其在LB固体平板上划线分离单菌落,37℃培养24h后观察菌落形态,并利用结晶紫染色后观察细胞形状和芽孢。采用细菌基因组DNA提取试剂盒(Tiagen)并参照说明书方法提取菌株DNA,以16S通用引物(16SF:AAGGAGGTGATCCAGCCGCA;16SR:AGAGTTTGATCCTGGCTCAG)进行PCR扩增。PCR反应体系为:正反引物各1 μ L,模板2 μ L,

2 \times Taq Master super Mix 25 μ L, ddH₂O 21 μ L。PCR扩增条件为:94℃ 5min;94℃ 45s,57℃ 1min,72℃ 2min,30个循环;72℃ 10min。PCR产物纯化后由生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。将测序结果在NCBI上进行Blast比对,然后利用MEGA 5.2软件的邻接法(Neighbor-joining)构建系统发育树。

1.2 菌株缓解土壤酸化盆栽试验

盆栽试验于2021年5—7月在湖北省武汉市华中农业大学微生物农药国家工程研究中心进行。供试烤烟品种为云烟87。盆栽试验土壤采集于湖北省恩施土家族苗族自治州宣恩县椒园镇锣圈岩村,土壤类型为山地黄棕壤,土壤质地为壤土,土壤pH为5.50~5.90。将试验土壤装于高10cm、直径12cm的圆形塑料花盆,移栽6片真叶烟苗,每盆1株,移栽成活后备用。有机酸溶液为苯甲酸180mg/L,3-苯丙酸180mg/L,延胡索酸180mg/L,琥珀酸84mg/L。

1.2.1 有机酸溶液模拟根系分泌物导致的土壤酸化 对照组(CK)和处理组(285-3)烟苗分别于第0天、第14天和第28天灌施有机酸溶液20mL/株,模拟烟株根系分泌物导致的土壤酸化。第1次有机酸处理后,处理组烟苗灌施菌株285-3发酵液(稀释5倍)20mL/株,对照组烟苗灌施空白发酵培养基(稀释5倍)20mL/株。

1.2.2 复合肥料导致的土壤酸化 对照组(CK)和处理组(285-3)烟苗分别于第0天、第14天和第28天施用烟草专用复合肥9.75g/株,模拟复合肥料导致的土壤酸化。第1次复合肥处理后,处理组烟苗灌施菌株285-3发酵液(稀释5倍)20mL/株,对照组烟苗灌施空白发酵培养基(稀释5倍)20mL/株。

1.3 菌株改良酸化植烟土壤大田试验

田间试验于2021年4—9月在湖北省恩施土家族苗族自治州宣恩县椒园镇锣圈岩村四组进行。供试烤烟品种和土壤类型同上述盆栽试验。试验开始前耕层(0~20cm)土壤的基本理化性质为:土壤pH4.47,有机质21.90g/kg,碱解氮136.00mg/kg,有效磷243.10mg/kg,速效钾302.00mg/kg。

试验设置4个处理,分别为:T1(CK),不施菌株285-3发酵液和菜籽饼肥;T2,单施菌株285-3发酵液2250L/hm²;T3,单施菜籽饼肥1500kg/hm²;

T4, 菌株 285-3 发酵液 2250 L/hm²+菜籽饼肥 1500 kg/hm²。每个处理 3 次重复, 随机区组设计。2021 年 5 月 1 日移栽, 每小区 3 行, 每行 20 株, 行距 1.20 m, 株距 0.55 m。施肥配比为 $m(N)$

$m(P_2O_5)$ $m(K_2O)=1$ 1.5 3, 各处理具体施肥量见表 1。烟草专用复合肥、磷肥和菜籽饼肥作为底肥, 硝铵磷肥作为提苗肥, 硫酸钾作为追肥。菌株 285-3 发酵液(稀释 5 倍)在烟苗移栽 15 d 后灌施。

表 1 各处理基本情况

Table 1 Basic information of each treatment

处理 Treatments	烟草专用复合肥 Special fertilizer/ (kg·hm ⁻²) (8-12-24)	过磷酸钙 CaP ₂ H ₄ O ₈ / (kg·hm ⁻²) (0-12-0)	硝铵磷肥 Ammonium nitrate phosphate fertilizer/(kg·hm ⁻²) (30-6-0)	硫酸钾 K ₂ SO ₄ /(kg·hm ⁻²) (0-0-50)	菌株发酵液 Strain fermented broth/(L·hm ⁻²)	菜籽饼肥 Rapeseed cake fertilizer/(kg·hm ⁻²) (4.3-2.8-2.1)	氮素总投入 Total N input/ (kg·hm ⁻²)
T1	975.0	211.5	65.0	117.0	0	0	97.5
T2	975.0	211.5	65.0	117.0	2250.0	0	97.5
T3	412.5	456	0	324.0	0	1500.0	97.5
T4	412.5	456	0	324.0	2250.0	1500.0	97.5

1.4 样品采集与分析方法

盆栽试验第 1 次处理后, 每隔 7 d 用五点法从花盆 10~20 cm 土层中采集土样; 大田试验在烟叶成熟采收结束后, 用五点法采集每个小区 0~20 cm 耕层土壤。将采集的土壤样品混匀后自然风干、去杂、研磨和过筛, 然后用于测定土壤基本化学性质。土壤 pH 采用电位法(水土比 2.5 : 1)^[16], 阳离子交换量采用三氯化六氨合钴浸提-分光光度法^[17], 可交换酸度、可交换氢和可交换铝采用氯化钾提取-滴定法^[18]。

依据 GB/T 23222—2008 调查各处理在旺长期和成熟期烟草青枯病的发生情况, 计算发病率、病情指数和防治效果。依据 GB 2635—1992 进行烟叶分级, 计算烟叶产量、产值、均价等经济指标。

1.5 数据分析

试验数据采用 Microsoft Excel 2010 软件进行处理, DPS 15.10 统计软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 γ -PGA 高产菌株的筛选和鉴定

2.1.1 γ -PGA 高产菌株的筛选 将采集的土壤经高温煮沸后杀死不能形成芽孢的微生物, 然后适当稀释后涂布 LB 平板, 发现稀释度为 10⁻⁵ 涂布后生长出来的菌落能够较好分开, 每个平板约 31~56 个菌落。根据文献报道, γ -PGA 生产菌株的菌落多为粘稠扩散形态, 据此初筛得到 11 株菌落形态较为粘稠扩散的菌株。将各菌株的单菌落接种于发酵培养基中进行培养, 然后采用 CTAB 比浊法定量测定各

菌株发酵液中 γ -PGA 产量。由表 2 可知, 筛选得到的 11 株菌均能生产 γ -PGA, 产量在 7.18~20.70 g/L 之间, 其中以菌株 285-3 的产量最高。

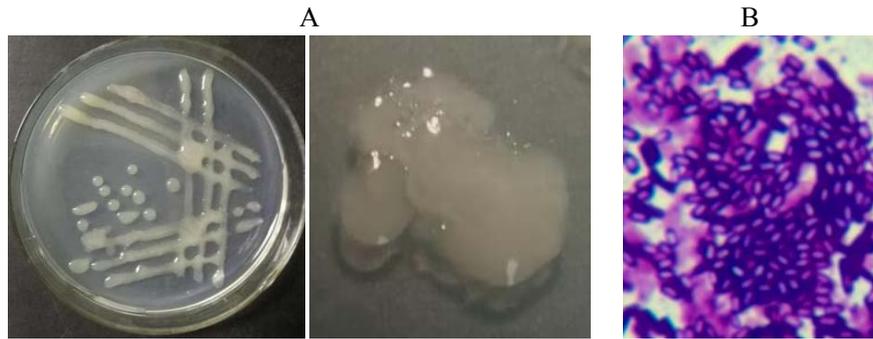
表 2 各菌株 γ -PGA 的产量

Table 2 γ -PGA production of each strain

菌株 Strains	γ -聚谷氨酸 γ -PGA/(g·L ⁻¹)
GJ2	7.29 ± 0.16
GJ4	7.18 ± 0.35
A32	8.76 ± 0.80
ST1	14.46 ± 0.20
L22	13.30 ± 0.03
285	14.59 ± 0.08
285-1	19.38 ± 0.73
285-3	20.70 ± 0.93
W-42	10.78 ± 0.34
W-43	10.90 ± 0.28
W-151	13.29 ± 0.22

2.1.2 γ -PGA 高产菌株的鉴定 首先利用解剖镜对菌株 285-3 的单菌落进行形态学观察, 发现该菌株菌落光滑湿润, 边缘规整, 中部凸状隆起不透明; 菌落颜色为淡黄色、有光泽、呈球形乳液状; 粘液挑起有明显的拔丝效果(图 1A)。表明菌株 285-3 的菌落表面覆盖大量 γ -PGA 分子, 从而导致菌落形态粘稠, 符合 γ -PGA 生产菌株的特征。结晶紫染色后, 在显微镜下可见菌体为短杆状, 有芽孢(图 1B), 结合该菌株分离时的沸水浴处理, 推测菌株 285-3 为芽孢杆菌。

为了进一步确定菌株 285-3 的分类, 利用相近芽孢杆菌的 16S rDNA 基因序列构建系统发育树, 发现菌株 285-3 与 *Bacillus paralicheniformis* Bac48 的遗传



注：A，菌落形态；B，芽孢。Note: A, Colony; B, Spore.

图1 菌株 285-3 的形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of strain 285-3

距离最近，聚于同一个分支（图 2），且同源性为 100%。因此，结合上述形态特征及分子生物学鉴定结果，将菌株 285-3 鉴定为副地衣芽孢杆菌（*Bacillus paralicheniformis*）。

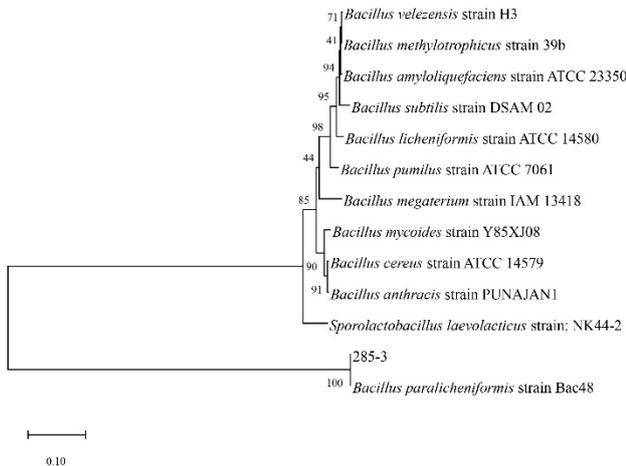
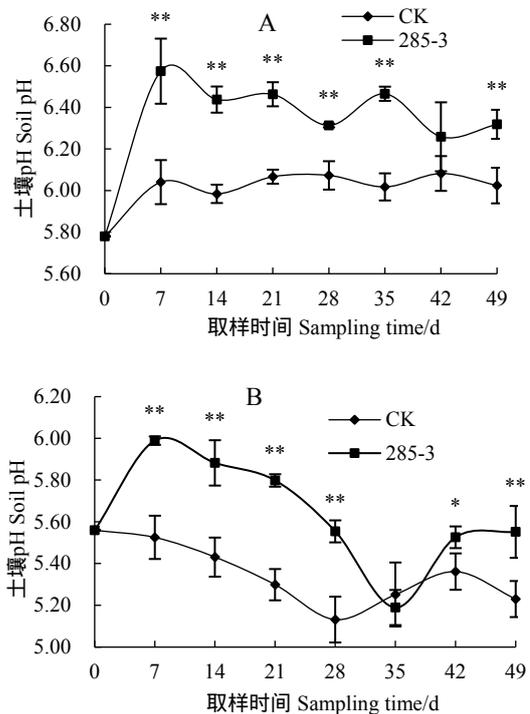


图2 基于 16S rDNA 序列构建的菌株 285-3 的系统发育树
Fig. 2 Phylogenetic tree of strain 285-3 constructed based on 16S rDNA sequence

2.2 菌株 285-3 缓解土壤酸化盆栽试验效果

通过添加有机酸模拟根系分泌物对土壤的酸化作用，发现处理组和对照组的土壤 pH 随时间的变化曲线较为平缓，但处理组土壤 pH 在多个时间点显著高于对照组，较对照组平均提高了 0.31 个单位（图 3A）。通过添加烟草专用复合肥模拟复合肥料对土壤的酸化作用，发现处理组和对照组的土壤 pH 随时间的变化曲线呈持续下降趋势，处理组土壤 pH 在多个时间点也显著高于对照组，较对照组平均提高了 0.36 个单位（图 3B）。盆栽试验结果表明，菌株 285-3 具有缓解根系分泌物和复合肥料导致的土壤酸化的能力。



注：A，根系分泌物导致的土壤酸化；B，复合肥料导致的土壤酸化；**表示在 0.01 概率水平上差异显著，*表示在 0.05 概率水平上差异显著。
Note: A, soil acidification caused by root exudates; B, soil acidification induced by compound fertilizer; ** is significantly at the 0.01 probability levels; * is significantly at the 0.05 probability levels.

图3 菌株 285-3 发酵液对盆栽土壤 pH 的影响

Fig. 3 Effect of strain 285-3 fermentation broth on pH of potted soil

2.3 菌株 285-3 改良酸化植烟土壤的大田试验效果

2.3.1 对酸化植烟土壤化学性质的影响 由表 3 可知，部分处理在土壤可交换酸度、可交换铝和可交换氢等指标间差异达到显著水平。T3 处理和 T4 处理的土壤可交换酸度显著低于 T1 处理（CK），T1 处理（CK）、T3 处理和 T4 处理的土壤可交换铝显著低于 T2 处理，T2 处理的土壤可交换氢显著低于 T1 处理（CK）。说明单施菌株 285-3、单施菜籽饼

肥、菌株 285-3 与菜籽饼肥合用都对酸化植烟土壤具有一定的改良效果。

2.3.2 对烟草青枯病发生的影响 由表 4 可知,旺长期各处理烟草青枯病发病率和病情指数都较低。成熟期各处理烟草青枯病发生明显加重,但 T4 处理的发病率和病情指数均显著低于 T3 处理。与 T1 处理(CK)相比, T4 处理对烟草青枯病的防效为 47.05%,说明菌株 285-3 与菜籽饼肥合用对烟草青枯病具有较好的防控效果。

2.3.3 对烟叶经济性状的影响 表 5 表明,不同处理在烟叶产量和产值间差异达到显著水平,其中 T1 处理(CK)和 T3 处理的产量均显著低于 T4 处理, T3 处理的产值显著低于 T4 处理。与 T1 处理(CK)相比, T4 处理的增产率和增值率均为最高,分别为 15.20%和 8.57%; T2 处理的增产率和增值率次之,分别为 3.51%和 0.85%; T3 处理的产量和产值均低于 T1 处理(CK)。以上结果表明,菌株 285-3 与菜籽饼肥合用有利于增加烤后烟叶经济性状。

表 3 不同处理的土壤化学性质

Table 3 Soil chemical properties of different treatments

处理 Treatments	pH	可交换酸度 Exchangeable acidity/ (mmol·kg ⁻¹)	可交换铝 Exchangeable aluminum/(mmol·kg ⁻¹)	可交换氢 Exchangeable hydrogen/(mmol·kg ⁻¹)	阳离子交换量 Cation exchange capacity/(cmol·kg ⁻¹)
T1 (CK)	5.09±1.51a	8.56±1.51a	0.57±0.29b	7.99±1.24a	9.57±3.66a
T2	4.95±0.07a	7.40±1.95ab	3.86±0.73a	3.54±1.80b	10.63±2.58a
T3	4.82±0.27a	6.83±1.84b	1.59±0.22b	5.24±1.99ab	11.97±1.39a
T4	5.18±0.47a	6.76±2.98b	1.38±0.69b	5.38±2.67ab	10.43±2.26a

注:同一列中小写字母不同表示处理间差异显著($p<0.05$),下同。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between treatments($p<0.05$), the same below.

表 4 不同处理烟草青枯病的发生情况

Table 4 Occurrence of tobacco bacterial wilt in different treatments

处理 Treatments	旺长期 Vigorous growing period			成熟期 Maturity period		
	发病率 Incidence/%	病情指数 Disease index	防效 Control effect/%	发病率 Incidence/%	病情指数 Disease index	防效 Control effect/%
T1 (CK)	7.41±3.21a	2.33±1.54a	—	31.48±4.9ab	12.69±1.87ab	—
T2	9.88±2.83a	1.51±0.66a	-33.33	29.01±15.42ab	11.32±6.62ab	7.85
T3	14.20±5.95a	3.22±1.13a	-60.80	50.62±9.5a	20.44±6.99a	-60.80
T4	7.41±6.42a	1.23±1.09a	0.00	16.67±8.49b	7.06±2.88b	47.05

表 5 不同处理的经济性状

Table 5 Economic characters of different treatments

处理 Treatments	产量 Yield/(kg·hm ⁻²)	增产率 Yield increase rate/%	产值 Output value/(yuan·hm ⁻²)	增值率 Value added rate/%	均价 Average price/(yuan·kg ⁻¹)
T1 (CK)	1 583.33±77.53b	—	44 772.22±1 183.37ab	—	28.20±1.17a
T2	1 638.89±110.97ab	3.51	45 151.85±812.18ab	0.85	27.66±1.46a
T3	1 453.70±57.82b	-8.19	41 633.33±2 192.09b	-7.01	28.64±1.00a
T4	1 824.07±80.19a	15.20	48 609.26±2 701.24a	8.57	26.64±0.56a

3 讨论

γ -PGA 是一种可由多种微生物合成的,具有生物降解性的水溶性生物高分子材料,在农业上可用作土壤改良剂^[19-20]。目前报道的 γ -PGA 生产菌株大多是芽孢杆菌属,根据发酵过程中是否添加谷氨酸,可将 γ -PGA 生产菌株分为谷氨酸依赖型菌株和谷氨酸非依赖型菌株。许多微生物高产 γ -PGA 的时候需要外源添加谷氨酸作为底物,而土壤中往往匮乏谷氨酸,如果可以不依赖于外源添加谷氨酸就能生产较高产量的 γ -PGA,能够从葡萄糖开始经糖酵解(EMP)途径和三羧酸(TCA)循环自己合成谷氨

酸,则理论上更有利于菌株在土壤中发挥缓解酸化的作用^[21]。本研究从黄土高原干旱土壤中筛选获得一株谷氨酸非依赖型菌株,并将该菌株鉴定为副地衣芽孢杆菌,其 γ -PGA 产量达到 20.70 g/L,而谷氨酸非依赖型菌株 γ -PGA 产量达到 20 g/L 以上的少见报道^[22-23]。

通过盆栽试验发现,菌株 285-3 对根系分泌物和复合肥料导致的土壤酸化都具有明显的缓解和改善作用,处理组土壤 pH 较对照组平均提高 0.30 个单位以上,且在多个时间点显著高于对照组。用有机酸模拟根系分泌物处理土壤后,对照组土壤 pH

并没有明显下降,可能是施加的有机酸被土壤中的细菌作为碳源所利用,实际上许多微生物都可以利用有机酸作为碳源^[24]。用烟草专用复合肥处理土壤后,对照组土壤 pH 持续下降,而菌株 285-3 处理组土壤 pH 在多个时间点高于初始 pH,一方面可能是因为施用的复合肥料被菌株 285-3 作为氮源所利用,另一方面菌株 285-3 生产的 γ -PGA 对酸、碱具有极佳的缓冲能力,可有效平衡土壤酸碱值,缓解因长期使用化学肥料引起的土壤酸化现象^[25]。虽然 γ -PGA 在农业中有多种应用,如土壤保墒、重金属治理、肥料增效等,但作为酸化土壤改良剂则报道较少。

进一步将菌株 285-3 用于大田酸化植烟土壤的改良发现,单施菌株 285-3、单施菜籽饼肥以及菌株 285-3 与菜籽饼肥合用对于酸化植烟土壤改良都有一定的效果,而菌株 285-3 与菜籽饼肥合用对烟草青枯病防治和烟叶产质量提升的田间效果更佳。单施 285-3 发酵液可能因菌株不能在土壤中有效定殖而无法充分发挥其效果^[26]。由于饼肥在土壤微氧的环境中发酵产生有机酸^[27],而这些酸类物质会对烟株根系的生长发育产生抑制作用,因此单施菜籽饼肥对于烟草青枯病防治和烟叶产质量提升的效果较差。菜籽饼肥与菌株 285-3 合用田间效果最佳。菜籽饼肥既可以起到疏松土壤、改善土壤微生物群落、增加营养元素等作用^[28],又可以为菌株 285-3 在土壤中的扩繁与根际定殖提供必要的营养以及为合成 γ -PGA 提供所需的原料^[29-30]。此外, γ -PGA 在改善土壤特性^[31]、增强土壤持水能力、减少养分流失^[32]、促进根区微生物群的生长^[33]等方面都具有良好的效果,能使作物更有效的吸收土壤中的水分和养分,促进根系生长发育,提高作物对土传病害的抵抗能力。前人已将 γ -PGA 作用于多种作物,并表现出明显的促生长和增产作用^[34]。

4 结 论

本研究从黄土高原干旱土壤中筛选得到一株谷氨酸非依赖型 γ -PGA 高产菌株,将其鉴定为副地衣芽孢杆菌 285-3 (*Bacillus paralicheniformis*)。该菌株具有缓解根系分泌物和复合肥料导致的土壤酸化的作用;在大田与有机肥合用不仅对酸化植烟土壤有较好的改良效果,而且能防控烟草青枯病和提高烟叶产质量。本研究为今后利用微生物及

γ -PGA 对酸化土壤进行修复提供了技术支持和借鉴指导。

参考文献

- [1] 汪吉东,许仙菊,宁运旺,等. 土壤加速酸化的主要农业驱动因素研究进展[J]. 土壤, 2015, 47(4): 627-633.
WANG J D, XU X J, NING Y W, et al. Progresses in agricultural driving factors on accelerated acidification of soils[J]. Soils, 2015, 47(4): 627-633.
- [2] ZHANG Y, HE X, LIANG H, et al. Long-term tobacco plantation induces soil acidification and soil base cation loss[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(6): 5442-5450.
- [3] 汪汉成,余婧,蔡刘体,等. 温度、湿度、接菌量及 pH 对烟草青枯病致病力的影响[J]. 中国烟草科学, 2017, 38(5): 8-12.
WANG H C, YU J, CAI L T, et al. Effect of temperature, relative humidity, inoculum amount and pH on pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* on tobacco[J]. Chinese Tobacco Science, 2017, 38(5): 8-12.
- [4] 樊俊,谭军,王瑞,等. 烟草青枯病发病土壤理化性状及细菌群落结构分析[J]. 中国烟草科学, 2021, 42(6): 15-21.
FAN J, TAN J, WANG R, et al. Analysis of soil physical and chemical properties and bacterial community structure with tobacco bacterial wilt infection[J]. Chinese Tobacco Science, 2021, 42(6): 15-21.
- [5] 索琳娜,马杰,刘宝存,等. 土壤调理剂应用现状及施用风险研究[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(6): 1141-1149.
SUO L N, MA J, LIU B C, et al. Soil conditioner application status and application of risk research[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2021, 40(6): 1141-1149.
- [6] 刘娇娴,崔骏,刘洪宝,等. 土壤改良剂改良酸化土壤的研究进展[J]. 环境工程技术学报, 2022, 12(1): 173-184.
LIU J X, CUI J, LIU H B, et al. Research progress of soil amelioration of acidified soil by soil ameliorator[J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2022, 12(1): 173-184.
- [7] 黄秋良,袁宗胜,蒋天雨,等. 4 种微生物菌剂对土壤理化性质影响[J]. 绿色科技, 2019(24): 1-4.
HUANG Q L, YUAN Z S, JIANG T Y, et al. Effects of four microbial agents on soil physical and chemical properties[J]. Journal of Green Science and Technology, 2019(24): 1-4.
- [8] 罗玉兰,田龚,张冬梅,等. 微生物菌剂对连栋大棚土壤养分及硝态氮累积的影响[J]. 中国农学通报, 2015, 31(13): 224-228.
LUO Y L, TIAN G, ZHANG D M, et al. Effects of biological bacterial manure on soil nutrient and nitrate-N accumulation in greenhouse[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(13): 224-228.
- [9] LI Y Z, WANG J H, LIU N, et al. Microbial synthesis of poly- γ -glutamic acid (γ -PGA) with fulvic acid powder, the waste from yeast molasses fermentation[J]. Biotechnology for Biofuels, 2020, 13: 180.
- [10] 曾健,费良军,陈琳,等. 添加 γ -聚谷氨酸对土壤结构及持水特性的影响[J]. 水土保持学报, 2018, 32(1): 217-224.
ZENG J, FEI L J, CHEN L, et al. Effects of γ -PGA on soil structure and water-holding characteristics[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2018, 32(1): 217-224.
- [11] 付文杰,万亚珍,张文辉,等. γ -聚谷氨酸磷肥增效剂对石灰性土壤有效磷的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2021(2): 17-22.
FU W J, WAN Y Z, ZHANG W H, et al. Effect of polyglutamic acid phosphate fertilizer synergist on available phosphorus in calcareous soil[J]. Soils and Fertilizers Sciences in China, 2021(2): 17-22.
- [12] MA H Z, LI P P, LIU X W, et al. Poly- γ -glutamic acid enhanced the drought resistance of maize by improving photosynthesis and affecting the rhizosphere microbial community[J]. BMC Plant Biology, 2022, 22(1): 1-15.
- [13] NKOH J N, YAN J, XU R K, et al. The mechanism for inhibiting acidification of variable charge soils by adhered *Pseudomonas fluorescens*[J]. Environmental Pollution, 2020, 260: 114049.

- [14] CAPUTO J, BEIER C M, SULLIVAN T J, et al. Modeled effects of soil acidification on long-term ecological and economic outcomes for managed forests in the Adirondack region (USA)[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 565: 401-411.
- [15] 张庆庆, 金鑫强, 陈剑翔, 等. 发酵液中 γ -聚谷氨酸含量快速测定方法研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(19): 294-296, 300.
- ZHANG Q Q, JIN X Q, CHEN J X, et al. Study on efficient determination method of poly- γ -glutamic acid in fermentation broth[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 33(19): 294-296, 300.
- [16] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- LU R K. Soil agricultural chemistry analysis method[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000.
- [17] 环境保护部. HJ 649—2013: 土壤可交换酸度的测定氯化钾提取-滴定法[S]. 北京: 中国环境出版社, 2013.
- Ministry of Environmental Protection. HJ 649—2013: Soil-determination of exchangeable acidity by potassium chloride extraction-titration method[S]. Beijing: China Environmental Press, 2013.
- [18] 环境保护部. HJ 889—2017 土壤阳离子交换量的测定三氯化六氨合钴浸提-分光光度法[S]. 北京: 中国环境出版集团, 2018.
- Ministry of Environmental Protection. HJ 889—2017: Soil quality-determination of cation exchange capacity (CEC)-hexamminecobalt trichloride solution-spectrophotometric method[S]. Beijing: China Environment Publishing Group, 2018.
- [19] GUO J Z, SHI W J, LI J K, et al. Effects of poly- γ -glutamic acid and poly- γ -glutamic acid super absorbent polymer on the sandy loam soil hydro-physical properties[J]. *PLoS One*, 2021, 16(1): e0245365.
- [20] MU Y, TANG D, MAO L, et al. Phytoremediation of secondary saline soil by halophytes with the enhancement of γ -polyglutamic acid[J]. *Chemosphere*, 2021, 285: 131450.
- [21] 疏秀林, 施庆珊, 冯静, 等. 一株非谷氨酸依赖型聚-谷氨酸高产菌株的鉴定与诱变育种[J]. *微生物学通报*, 2009, 36(5): 705-710.
- SHU X L, SHI Q S, FENG J, et al. Identification and simulation mutation of a high-productive strain of poly(γ -glutamic acid) independent of glutamic acid[J]. *Microbiology*, 2009, 36(5): 705-710.
- [22] 彭美云, 张涛, 缪铭, 等. 一株非谷氨酸依赖型聚谷氨酸产生菌的筛选和鉴定[J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(7): 38-42.
- PENG M Y, ZHANG T, MIAO M, et al. Screening and identification of a glutamate-independent poly γ -glutamate produced strain[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2012, 38(7): 38-42.
- [23] SIRISANSANEYAKUL S, CAO M F, KONGKLOM N, et al. Microbial production of poly- γ -glutamic acid[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2017, 33(9): 173.
- [24] SHARMA M, SALEH D, CHARRON J B, et al. A crosstalk between *Brachypodium* root exudates, organic acids, and *Bacillus velezensis* B26, a growth promoting bacterium[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 575578.
- [25] 张宸. 聚谷氨酸生物的合成及其在修复和改良土壤中的应用[J]. *水土保持通报*, 2018, 38(2): 323-328.
- ZHANG C. Biosynthesis of poly- γ -glutamic acid and its application to soil remediation and improvement[J]. *Bulletin of Soil and Water Conservation*, 2018, 38(2): 323-328.
- [26] CHEN L H, SU W X, XIAO J Y, et al. Poly- γ -glutamic acid bioproduct improves the coastal saline soil mainly by assisting nitrogen conservation during salt-leaching process[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2021, 28(7): 8606-8614.
- [27] 刘兰, 丁效东, 王军, 等. 有机肥发酵过程中有机营养物质的变化[J]. *中国农学通报*, 2020, 36(14): 88-92.
- LIU L, DING X D, WANG J, et al. Changes of organic nutrients during fermentation of organic fertilizer[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(14): 88-92.
- [28] 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]. *中国烟草科学*, 2018, 39(2): 54-62.
- SHI H L, SUN L G, TAN J, et al. Control efficiency of bio-organic fertilizers on tobacco bacterial wilt and their effects on soil bacterial community[J]. *Chinese Tobacco Science*, 2018, 39(2): 54-62.
- [29] JIAN K, TANG B, WANG Q, et al. The bio-processing of soybean dregs by solid state fermentation using a poly γ -glutamic acid producing strain and its effect as feed additive[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 291: 121841.
- [30] FANG J N, HUAN C C, LIU Y, et al. Bioconversion of agricultural waste into poly- γ -glutamic acid in solid-state bioreactors at different scales[J]. *Waste Management*, 2020, 102: 939-948.
- [31] 何宇, 吕卫光, 张娟琴, 等. -聚谷氨酸的研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2020, 48(18): 18-22.
- HE Y, LYU W G, ZHANG J Q, et al. Research progress of γ -polyglutamic acid[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2020, 48(18): 18-22.
- [32] 史文娟, 王培华, 林凤妹, 等. -聚谷氨酸在农田系统应用的研究进展及展望[J]. *灌溉排水学报*, 2022, 41(5): 1-7.
- SHI W J, WANG P H, LIN F M, et al. The application of poly- γ -glutamic acid in agriculture: a review[J]. *Journal of Irrigation and Drainage*, 2022, 41(5): 1-7.
- [33] YIN A M, JIA Y P, QIU T L, et al. Poly- γ -glutamic acid improves the drought resistance of maize seedlings by adjusting the soil moisture and microbial community structure[J]. *Applied Soil Ecology*, 2018, 129: 128-135.
- [34] ZHANG L, YANG X M, GAO D C, et al. Effects of poly- γ -glutamic acid (γ -PGA) on plant growth and its distribution in a controlled plant-soil system[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 6090.