

光合细菌对烟草与药用植物科间远缘杂种后代农艺性状及品质的影响^{*}

魏克强¹, 宋欣², 杨俊仙³, 魏治中⁴
(1. 山西大学生命科学与技术学院, 山西 太原 030006
2. 河北保定师范专科学校涿州分校, 河北 涿州 072750;
3. 山西大学经济与工商管理学院, 山西 太原 030006
4. 山西农业大学农学院, 山西 太谷 030801)

摘 要: 为扩大烟草种质资源的范围以及缓解吸烟与健康的矛盾, 利用普通烟草品种沙姆逊与药用植物罗勒和紫苏进行科间远缘杂交育种, 选育出新型烟草品系香料型罗勒烟和香料型紫苏烟, 研究了喷施光合细菌菌液对其农艺性状及品质的影响。光合细菌菌液由 *Rhodospirillum* *Rhodopseudomonas* *Rhodobacter* *Chromatium* 和 *Chlorobium* 等菌株发酵培养, 菌液含菌数达 5×10^9 个 $\cdot$ mL⁻¹。在苗期和大田以 1:200 的比例对烟叶叶面喷施光合细菌菌液, 能够促进新型烟草的生长, 提高烟叶的产量; 对外观质量的改善不显著, 但对烟叶内在化学成分的含量及其协调性具有显著的影响, 能够同时降低烟碱并增加钾的含量。评吸结果显示, 光合细菌处理后的新型烟草香味独特, 余味纯净, 劲头适中。

关键词: 光合细菌; 新型烟草; 农艺性状; 化学成分; 烟碱; 钾

中图分类号: S72 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2007) S2-0248-05

随着消费者对自身健康和环保意识的增强, 自 20 世纪 50 年代以来, 世界烟草行业一直致力于研制对人类健康危害相对较小的卷烟产品。为缓解吸烟与健康的矛盾, 从育种的角度提高烟叶的品质, 卷制出低毒少害的成品是有效的途径之一。由于目前我国烟草种质的遗传多样性水平比较低、遗传基础相对狭窄, 限制了烟叶品质的进一步提高^[1]。通过远缘杂交引进外源基因以改良品种、创造变异、形成新物种和新类型, 已成为烟草育种的发展趋势。我国拥有丰富的药用植物资源和历史悠久的中草药“燃、熏、吸疗法”的理论和实践, 如能实现药用植物与烟草基因间的渐渗、交流以及重组, 培育出含有医药成分的新型烟草, 对增添烟草新的种质资源和降低卷烟产品的危害性均具有重要的意义。

利用砧木影响接穗的营养代谢条件、促进雌蕊接受花粉的代谢作用, 通过无性嫁接和有性杂交相结合的方法, 将罗勒 (*Ocimum basilicum* L.)、紫苏 (*Perilla frutescens* L.)、毛曼陀罗 (*Datura innoxia* Mill.) 等药用植物与普通烟草 (*Nicotiana glauca* L.) 进行科、属间远缘杂交, 克服了不亲和的难题, 选育出罗勒烟、紫苏烟、曼陀罗烟等 6 个类型

的新型烟草品系^[2-4]。新型烟草的外部形态与普通烟草相似, 且具有双亲的特征特性, 但必须通过栽培技术进行调控才能达到生产优质烟叶的目的^[4]。利用微生物技术来提高产量、改善品质和降解有害成分是目前烟草行业的热点研究课题。研究发现, 光合细菌 (Photosynthetic Bacteria, PSB) 是一类特殊的微生物菌群, 在蔬菜、粮食作物以及烟草等经济作物的生产上均具有一定应用价值^[5-6]。本实验研究了喷施光合细菌菌液对香料型紫苏烟和罗勒烟农艺性状及品质的影响, 旨在为新型烟草的合理利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 PSB 菌液 含 *Rhodospirillum* *Rhodopseudomonas* *Rhodobacter* *Chromatium* 和 *Chlorobium* 等菌株, 由山西大学光合细菌研究室分离鉴定保藏, 经培养后菌液含菌数达 5×10^9 个 $\cdot$ mL⁻¹。

1.1.2 药用植物 (父本) 紫苏 (*Perilla frutescens* (L.) Britt, 唇形科)、罗勒 (*Ocimum basilicum* L., 唇形科), 种子由中国医学科学院药用植物研究所提供; 母本普通烟草 (*Nicotiana glauca* L.)

^{*} 收稿日期: 2007-09-03
基金项目: 国家烟草专卖局重点科技项目 (110199901005); 山西省科技产业化环境建设项目 (2006071033); 山西大学引进博士科研启动基金项目 (2005)
作者简介: 魏克强 (1970年生), 男, 博士, 讲师; E-mail: kqwe88@sohu.com kqwe@sxu.edu.cn

L, 茄科) 的品种为沙姆逊 (Samsun)。通过远缘杂交育种^[2-3]选育出双亲杂交后代稳定品系香料型紫苏烟 [(Samsun X 紫苏) X 紫苏] 和香料型罗勒烟 [(Samsun X 罗勒) X 罗勒], 种子均由山西农业大学药烟育种研究室提供。试验材料栽培于山西农业大学试验田。

1.2 试验设计

实验设每个品系 2 个处理, 各品系处理间水肥条件和栽培管理措施一致: (1) 试验组, 均匀喷施 1:200 稀释的 PSB 菌液; (2) 对照组 (CK), 未喷施 PSB 菌液。试验土壤为沙质粘壤土, 其理化性状为: pH 为 7.9~8.1, 有机质含量 21.6 g kg⁻¹, 全氮 1.68 g kg⁻¹, 全磷 0.78 g kg⁻¹, 碱解氮 49.88 mg kg⁻¹, 速效磷 18.84 mg kg⁻¹, 速效钾 168.66 mg kg⁻¹。试验从烟苗假植开始, 首先进行营养钵的处理, 将筛好的细生土、腐熟的农家肥、尿素以 5:1:0.25 配制营养土, 假植缓苗 1 周后, 在苗床内先对所有烟苗喷施尿素, 3 d 后试验组喷施菌液, 每隔 1 周喷施 1 次, 共喷 3 次。烟苗成苗后移栽大田, 烟田追施底肥, 以牛粪、腐熟的叶肥、尿素、过磷酸钙、硫酸钾混合施用。试验采用随机区组排列, 小区面积为 66.7 m², 行距 1.2 m, 株距 0.5 m, 每小区栽烟 110 株, 外设保护行, 每个处理重复 3 次, 共 12 个小区。缓苗后在处理组烟叶的正反面均匀喷施菌液, 每隔 10 d 喷施 1 次, 共 5 次。

1.3 同工酶分析

待实验材料在苗畦中长到 6~10 片幼叶时, 取样进行垂直平板不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳。紫苏烟及其双亲参考庾正平等的方法^[7]。罗勒烟及其双亲参考何中效的方法^[8]。

1.4 农艺性状及品质的测定

1.4.1 农艺性状的测定 在烟株第一青果完全形成后, 各处理每个重复随机取样 10 株, 测量叶数、株高、茎围、节距、叶长和叶宽等农艺性状。成熟期采收烘烤后, 测量平均单叶质量, 统计出单株重和产量, 产质性状按魏治中的分级标准^[4]以感官鉴定进行检验。

1.4.2 化学成分的测定^[9] 烘烤后取各处理中部叶 (2 级) 0.5 kg 分析烟叶化学成分: 总糖采用蒽酮比色法、还原糖采用苦味酸比色法、烟碱采用紫外分光光度法、总氮采用凯氏定氮法、氯离子采用

莫尔法, 钾离子采用火焰光度计法, 并计算出了蛋白质含量、糖碱比、还原糖碱比、钾氯比、氮碱比和施木克值等指标。

1.4.3 内在质量评吸 另取各处理中部叶 (2 级) 2.5 kg, 烟丝均衡水分后, 用手工卷烟器卷制成单料烟, 按 GB5606 的方法由漯河卷烟厂进行评吸。烟叶的感官评吸包含 6 项指标: 光泽、香气、谐调、杂气、刺激性和余味等。

1.5 统计方法

用 SPSS11.5 统计软件对数据进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 同工酶谱测定结果

酯酶同工酶谱条带显示 (图 1), 紫苏烟与父本紫苏有 1 条共同带而母本 Samsun 没有 (箭头所示), 与母本有 2 条共同带, 共有 13 条带; 罗勒烟与父本罗勒有 1 条共同带而母本 Samsun 没有 (箭头所示), 与母本有 3 条共同带, 共有 16 条带。结果表明, 杂种后代含有双亲的遗传物质, 实验材料新型烟草品系真实可靠。

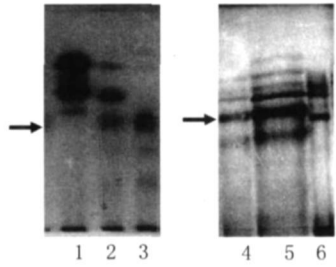


图 1 酯酶同工酶电泳图谱
Fig 1 Esterase isozyme electrophoresis patterns

1. 沙姆逊; 2. 紫苏烟; 3. 紫苏; 4. 罗勒
5. 罗勒烟; 6. 沙姆逊

2.2 光合细菌对新型烟草农艺性状的影响

香料型罗勒烟在喷施光合细菌后, 株高、叶数、茎围和节距等农艺性状比对照组分别提高了 5.92%、3.18%、5.6% 和 15.09%。试验组香料型紫苏烟与对照组比较, 叶数、叶长、叶宽、茎围和节距分别提高了 3.82%、8.55%、4.63%、8.06% 和 20.58% (见表 1)。可见, 光合细菌对不同品系的农艺性状均有一定的影响, 但仅对节距的影响达到显著水平 (P<0.05)。

表 1 光合细菌对新型烟草大田农艺性状的影响
Tab 1 Effects of Photosynthetic bacteria on agronomic properties of new type tobacco during the field growth phase

处理	株高 (cm)	叶数 (片)	叶长 (cm)	叶宽 (cm)	茎围 (cm)	节距 (cm)
罗勒烟	150.40±5.59	28.20±1.30	34.66±1.53	18.44±1.02	5.28±0.29	6.10±0.38*
CK	142.00±2.00	27.33±0.58	35.37±3.27	19.27±0.70	5.00±0.17	5.30±0.44
紫苏烟	152.25±3.77	29.33±1.53	38.83±3.13	20.23±1.27	6.30±0.43	6.27±0.25*
CK	152.67±4.62	28.25±1.5	35.77±1.17	19.43±1.91	5.83±0.21	5.20±0.47

* 表示 0.05 水平显著性差异 (下同)

2.3 光合细菌对新型烟草产量和品质的影响

喷施光合细菌对香料型紫苏烟的单叶重、单株质量和产量影响显著 ($P<0.05$), 分别比对照组提高了 31.82%、36.01% 和 36%, 而香料型罗勒

烟的产量没有显著地变化。各试验组烟叶的光泽稍亮于对照组、油分弹性略高于对照组、厚度也略厚于对照组, 光合细菌对烟叶外观品质的改善不显著 (见表 2)。

表 2 光合细菌对新型烟草产量和品质的影响
Tab 2 Effects of Photosynthetic bacteria on the yield and quality of new type tobacco

处理	单叶质量 (g)	单株质量 (g)	产量 (kg/hm ²)	颜色	色度	油分	身份	叶片结构
罗勒烟	2.27	64.13	1236.6	橘黄	强	油润	适中	疏
CK	2.28	66.87	1289.4	橘黄	强	油润	适中	疏
紫苏烟	2.90*	81.78*	1576.95*	浅黄	强	油润	适中	稍疏
CK	2.20	60.13	1159.50	浅黄	强	油润	适中	稍疏

2.4 光合细菌对新型烟草化学成分的影响

分析结果表明, 喷施光合细菌对新型烟草内在化学成分的含量均有一定影响 (见表 3)。罗勒烟总糖、还原糖、氯和钾的含量分别提高了 35.82% ($P<0.05$)、25.49% ($P<0.05$)、0.86% 和 6.11%, 蛋白质、总氮和烟碱的含量分别降低了 11.44% ($P<0.05$)、11.98% ($P<0.05$) 和 1.82%。试验组紫苏烟与对照组比较, 总糖、还原糖、蛋白质、总氮、氯和钾的含量分别提高了 17.39% ($P<0.05$)、19.23% ($P<0.05$)、5.92%、5.0%、1.98% 和 19.05% ($P<0.05$), 而烟碱的含量降低了 40.96% ($P<0.05$)。

喷施光合细菌可以影响烟叶内在化学成分的含量,

从而对各种化学成分之间的协调比例关系也产生了一定的影响。结果显示 (见表 4), 试验组香料型罗勒烟与对照组比较, 糖碱比、还原糖碱比、施木克值和钾氯比值分别提高了 40% ($P<0.05$)、30.43% ($P<0.05$)、66.67% ($P<0.05$) 和 4%, 而氮碱比降低了 8.93%。喷施光合细菌后香料型紫苏烟的糖碱比、还原糖碱比值升高了 1 倍, 氮碱比、钾氯比值分别升高了 77.37% 和 17%, 差异均显著 ($P<0.05$)。不同品系的新型烟草可能对菌液的吸收能力不同, 导致光合细菌对烟叶的产量、品质、内在化学成分及其协调性等方面的作用效果存在一定差异, 对紫苏烟的影响尤为显著。

表 3 光合细菌对新型烟草化学成分的影响
Tab 3 Effects of Photosynthetic bacteria on chemical components in new type tobacco

处理	总糖 (%)	还原糖 (%)	蛋白质 (%)	总氮 (%)	烟碱 (%)	氯 (%)	钾 (%)
罗勒烟	0.91±0.02*	0.64±0.04*	19.51±0.30	3.16±0.05	2.16±0.03	2.34±0.06	2.43±0.06
CK	0.67±0.13	0.51±0.06	22.03±0.54	3.59±0.09	2.20±0.06	2.32±0.05	2.29±0.05
紫苏烟	0.81±0.12*	0.62±0.03*	22.02±0.28	3.57±0.05	1.47±0.03*	2.57±0.13	3.00±0.05*
CK	0.69±0.11	0.52±0.08	20.79±0.27	3.40±0.04	2.49±0.03	2.52±0.04	2.52±0.04

表 4 喷施光合细菌新型烟草内在化学成分综合分析结果

Tab 4 Analysis of the results from chemical components in new-type tobacco after spraying photosynthetic bacteria liquid

处理	糖 /碱	还原糖 /碱	施木克值	氮 /碱	钾 /氯
罗勒烟	0.42±0.00 *	0.30±0.02 *	0.05±0.00*	1.48±0.04	1.04±0.04
CK	0.30±0.07	0.23±0.02	0.03±0.01	1.63±0.07	1.00±0.04
紫苏烟	0.55±0.08 *	0.42±0.01 *	0.03±0.01	2.43±0.02 *	1.17±0.08 *
CK	0.28±0.04	0.21±0.03	0.03±0.01	1.37±0.02	1.00±0.02

2.5 新型烟草烟丝的评吸结果

评吸结果显示, 喷施光合细菌后新型烟草在香气、谐调、余味、杂气及刺激性等方面与对照相比均发生了变化, 处理组的烟叶香气提高, 杂气减少, 刺激性降低, 余味更加舒适, 表现出各种成分

比较协调, 使烟叶品质得到进一步的改善, 更加呈现出新型烟草所具有的香气细腻柔和、口感纯正舒适、余味甜润丰满、药物香气流畅的品质特征 (见表 5)。

表 5 喷施光合细菌新型烟草烟丝的评吸结果

Tab 5 Smoking results of new-type tobacco after spraying photosynthetic bacteria liquid

处理	光泽	香气	谐调	杂气	刺激性	余味	总得分
	6	36	6	16	16	20	100
罗勒烟	5.50	32.63	5.11	13.62	14.21	16.73	87.80
CK	5.00	32.39	4.90	13.45	14.00	16.26	86.00
紫苏烟	5.50	32.51	5.20	13.68	14.17	16.84	87.90
CK	5.10	32.29	4.93	13.36	14.00	16.30	85.98

3 讨 论

烟叶的品质取决于在其成熟过程中所形成和积累的主要化学物质的含量与比例, 其中, 烟碱和钾含量的高低直接影响烟叶的可用性。烟碱既是一种精神药品也是一种环境有毒物质, 含量过高会增加烟气的刺激性, 影响卷烟吸味, 安全性差。目前发现的具有降解烟碱作用的微生物相当少, 仅在烟株、土壤和陈化烟叶中存在一些具有特异酶系统的细菌、酵母菌和真菌, 能以烟碱作为唯一碳氮源进行生长, 有效地代谢降解烟碱^[10-11], 但微生物代谢烟碱的机理非常复杂, 只有噬烟碱节杆菌 (*Aerobacter nicotinovorans*) 和球形节杆菌 (*Aerobacter globiformis*) 降烟碱的代谢过程研究的比较清楚^[12-13]。钾素能够有效地提高烟叶的香气质和香气量, 改善烟叶的燃烧性, 减少烟气中有害物质和焦油的释放量, 提高烟制品的安全性^[14-15]。烟草是对钾素的需求量较大的经济作物, 但烟叶含钾量受土壤供钾水平、烟株对钾的吸收、运输和积累能力等多种因素的影响。本研究表明, 含有 *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodobacter Chromatium*和 *Chlorobium*等菌株的光合细菌菌液对新型烟草同时具有降碱并增钾的效应。

研究发现, 光合细菌具有的独特的生理学特

性, 能产生许多促生长因子、维生素、辅酶 Q和光合色素等, 以及一些未知的生理活性物质, 可以激活植物细胞的活性, 提高光合作用的能力, 增进土壤的肥力, 改善植物的营养条件, 是一种优质的微生物肥料资源^[5-6]。烟草叶面的微生物类群具有多样性, 主要包括细菌、霉菌、放线菌和酵母菌, 通过喷施光合细菌可能会改变烟叶表面的微生物群落结构, 减少有害微生物, 增加有益微生物, 微生物通过分泌酶或其他代谢物并以烟叶内的蛋白质、糖等化学物质为底物来改善烟叶品质^[16-17]。

总之, 光合细菌菌液可能是通过直接或间接的方式对紫苏烟和罗勒烟具有改善农艺性状、提高烟叶品质等作用, 并且可能由于不同品系对菌液的吸收能力不同, 导致光合细菌的作用效果存在一定的差异, 对普通烟草以及其他新型烟草品系的效果和作用机理还需要进一步地研究。

参考文献:

[1] 杜传印, 刘洪祥, 田纪春. 部分烟草种质亲缘关系的 AFLP分析 [J]. 作物学报, 2006, 32(10): 1592—1596
[2] 魏治中, 南建福, 李润植. 药用植物与烟草诱变育种的研究 [Q] // 国家烟草专卖局科技教育司. 跨世纪烟草农业科技展望和持续发展战略研讨会论文集. 北京: 中国商业出版社, 1998. 181—187.
[3] 魏治中, 闰新甫, 邓志峰, 等. 烟草与曼陀罗属间杂交

育种研究[J]. 中国烟草科学, 2005, 1: 1—5

[4] 魏治中. 药烟栽培技术[M]. 北京: 金盾出版社, 2002
1—5

[5] 吴小平. 光合细菌在烟草上的应用[J]. 福建农业大学
学报, 1999, 28(4): 471—473

[6] 熊琦, 冯安吉, 刘继彪, 等. 光合细菌促菠菜生长机理
初探[J]. 应用与环境生物学报, 1999, 5 (5): 194—
196

[7] 庾正平, 王富德, 徐丽华, 等. 中国高粱芽期酯酶同工
酶研究报告[J]. 作物学报, 1989, 15(1): 36—45

[8] 何忠效. 电泳[M]. 北京: 科技出版社, 1997: 124—125

[9] 肖协忠. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997:
47—52 162—205

[10] 王书宁, 杜毅, 陈洪, 等. 微生物代谢尼古丁研究进展
[J]. 中国生物工程杂志, 2004, 24(7): 50—54

[11] 袁勇军, 陆兆新, 黄丽金, 等. 烟碱降解细菌的分离、
鉴定及其降解性能的初步研究[J]. 微生物学报,
2005, 45(2): 181—184

[12] BRANDSCH R, BAITSCH D, SANDU C et al. Igloi
gene cluster on PAOI of arthrobacter nicotinovorans in-
volved in degradation of the plant alkaloid nicotine: clo-
ning, purification and characterization of 2, 6— di-
hydroxypyridine-3— hydroxylase[J]. Journal of Bacteri-
ology, 2001, 183: 5262— 5267.

[13] KASAKI MAEDA UCHIDA. Microbial degradation of
nicotine—1' —N— oxide degradation products[J]. Agri-
cultural and Biological Chemistry, 1977, 42 (8): 1445
—1460

[14] 李梅云. 烟碱的微生物降解研究进展[J]. 微生物学
杂志, 2006, 26(3): 94—97.

[15] 王闯, 符云鹏, 艾永峰. 土壤特性与烟叶品质的关系
[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(5): 862—866

[16] 徐洁, 张修国, 张天宇, 等. 微生物真菌菌剂对烟叶品
质的影响[J]. 西南农业大学学报: 自然科学版,
2005, 27(2): 163—169

[17] 郑小嘎, 张修国, 张天宇, 等. 真菌菌剂改善烟叶品质
的初步研究[J]. 微生物学通报, 2003, 30(6): 10—
13

Effects of Photosynthetic Bacteria on Agronomic Properties and Quality of the Hybrid of families between Tobacco and Medicinal Plants

WEI Ke-qiang¹, SONG Xi², YANG Jun-xian³, WEI Zhi-hong⁴

(1. School of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. Zhuozhou Branch School of Baoding Teachers College, Zhuozhou 072750, China

3. School of Economics and Business Administration, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

4. College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030801, China)

Abstract In order to extend the range of tobacco germplasm resources and release the contradiction between smoking and smokers health, the distant hybridization between tobacco and medical plants was expected to incubate the new-type tobacco which included medical ingredients. The new-type tobacco strains such as Zisu and Luole were the hybrids of families between Sansun (a variety of *Nicotiana glauca* L.) and medicinal plants *Perilla frutescens* (L.) Britt and *Ocimum basilicum* L., respectively. The effects of photosynthetic bacteria (PSB) on agronomic properties and quality of new-type tobacco were studied. Photosynthetic bacterial strains including *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodobacter*, *Chromatium* and *Chlorobium* were cultivated, and the number of bacteria was 5×10^9 CFU mL⁻¹. Results show that it can promote the growing and improve the agronomic properties of Zisu and Luole, but the appearance quality is not improved markedly when PSB liquid is sprayed to the tobacco leaves at the ratio of 1:200 dilution during the seeding stage and field growth phase. Moreover, analysis results indicate that PSB notably impact chemical component contents in leaves, such as total sugar, reducing sugar, nicotine and potassium, and make them more harmonious. Especially, it can decrease the content of nicotine in leaves of Zisu by 40.96%, while can increase the potassium content by 19.05%. And the smoking quality of leaves in PBS treatment is much better than those in the untreated control.

Key words photosynthetic bacteria; new-type tobacco; agronomic properties; chemical components; nicotine; potassium