

促生内生细菌对毛竹叶片叶绿素荧光参数的影响

袁宗胜 (福建农林大学生命科学学院, 福建福州 350002)

摘要 [目的]研究促生内生细菌对毛竹叶片叶绿素荧光参数的影响。[方法]通过竹腔注射的方法,将促生内生细菌菌株 CT-B09-2、JL-B06、WYS-A01-1 接种至 II 度毛竹,测定毛竹叶片叶绿素荧光参数的变化。[结果]促生内生细菌能够提高毛竹叶片最小初始荧光(F_0),增加毛竹叶片叶绿素含量,提高毛竹的光合作用速率、暗适应叶片最大荧光(F_m)、传递给 PS II 的电子数量、可变荧光(F_v)、PS II 潜在活性(F_v/F_0)、PS II 反应活性、原初光能转化效率(F_v/F_m)、叶片的光能转换效率。[结论]该研究可为促生微生物菌剂的开发提供理论基础。

关键词 毛竹;促生;内生细菌;叶绿素荧光

中图分类号 S 795 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)25-0103-03

Effects of the Growth-promoting Entophytic Bacteria on Chlorophyll Fluorescence Parameters of Moso Bamboo Leaves

YUAN Zong-sheng (College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002)

Abstract [Objective] To study the effects of growth-promoting endophytic bacteria on chlorophyll fluorescence parameters of moso bamboo leaves. [Method] By using the method of bamboo cavity injection, the endophytic bacteria CT-B09-2, JL-B06 and WYS-A01-1 were inoculated to II-degree bamboo to measure the changes of chlorophyll fluorescence parameters. [Result] The endophytic bacteria could improve minimum initial fluorescence (F_0) of bamboo leaves, increase the chlorophyll content of bamboo leaves and improve the photosynthetic rate of bamboo, they could improve the dark adaptation blade maximum fluorescence (F_m), increase the number of electrons passed to PS II, they could improve variable fluorescence (F_v), improve PS II potential activity (F_v/F_0), and improve PS II reaction activity of bamboo leaves. They also improve the initial light energy conversion efficiency (F_v/F_m), improve the efficiency of light energy conversion of bamboo leaves. [Conclusion] The study provides a theoretical basis for the development of growth-promoting microbial inoculants.

Key words Moso bamboo; Growth-promoting; Entophytic bacteria; Chlorophyll fluorescence

毛竹是我国南方重要的森林资源,根据第 6 次森林资源清查统计,我国毛竹林面积约为 337.20 万 hm^2 ,约占世界竹林面积的 47%。对毛竹的研究多集中在丰产理论、土壤理化性质、物种多样性等方面^[1-3]。内生细菌能在植物体内长期定殖、传导,且不易受环境条件的影响,对植物生长发育、抵抗疾病及不良环境具有广泛的生物学作用^[4]。人们从番茄、黄瓜、玉米、水稻、棉花等多种植物中分离出的内生细菌已超过 54 属 129 种,其分布在植物所有组织中^[5-8],是非常难得的天然生物资源。加强植物内生细菌资源研究,建立各种功能内生细菌的资源库具有重要的意义^[9-11]。笔者选用从毛竹体内分离并筛选出的具有高效解磷解钾固氮功能的促生内生细菌菌株 CT-B09-2、JL-B06、WYS-A01-1^[12],通过竹腔注射的方式接种 II 度毛竹,初步探讨促生内生细菌对毛竹叶片叶绿素荧光参数的影响,为微生物菌剂的开发利用奠定基础。

1 材料与与方法

1.1 供试菌株 促生内生细菌菌株 CT-B09-2、JL-B06、WYS-A01-1,是由福建农林大学菌物研究中心实验室从毛竹体内分离并筛选出的,具有高效解磷解钾固氮功能^[12]。

1.2 培养基 内生菌培养采用 NA 培养基:牛肉膏 3 g、蛋白胨 10 g、NaCl 5 g、琼脂 18 g、水 1 000 mL, pH 7.0~7.2(液体培养基则不加琼脂)。

1.3 促生内生细菌悬浮液制备 将筛选出的促生内生细菌菌株 CT-B09-2、JL-B06、WYS-A01-1 分别接种于 NA 液体培养基中,28 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 条件下振荡培养 72 h,用无菌水

稀释制成浓度为 1×10^8 CFU/mL 的悬浮液。

1.4 竹腔注射法接种 II 度毛竹 在福建省毛竹林中心产区^[13]将乐县龙栖山自然保护区毛竹林基地,选择立地条件、毛竹林分等相对一致的成片毛竹林地,选取 II 度毛竹,先用电钻在距土表 30 cm 左右的竹秆部位钻孔,然后取上述内生细菌悬浮液 50 mL 用无菌注射器注射至毛竹竹腔内部,第 2 天重复接种 50 mL,用泥土封住竹腔孔洞并做好标记。每处理 100 株,以清水为对照。并于 15、30、60、90 d 对 II 度毛竹叶片叶绿素荧光参数进行测定。

1.5 毛竹叶片叶绿素荧光参数测定 叶绿素荧光参数用于描述光合作用和光合生理状况或常量的机制,反映植物“内在”的特征变量,叶绿素荧光参数的分析在测定叶片光合作用中光系统对光能的吸收、传递、耗散、分配等方面具有独特的作用。采用捷克 PSI 公司生产的 Handy FluorCam 荧光成像仪进行叶绿素荧光参数的测定,先调整好成像仪摄像头的位置,再调整聚焦使其能够拍摄到清晰的图像,所选模式为 Quenching,测定前需预热 20 min。将完整毛竹叶片暗适应 30 min 后测定叶绿素荧光参数。

1.5.1 F_0 。 F_0 表示最小初始荧光,是指经过充分暗适应的光合机构光系统 II (PS II) 反应中心全部开放时叶绿素荧光发射强度。多数研究人员认为,该值与叶片叶绿素含量有关, F_0 越高表明叶片中叶绿素含量越高,光合作用越强^[14]。

1.5.2 F_m 。 F_m 表示暗适应叶片最大荧光,是指经过充分暗适应的光合机构光系统 II (PS II) 反应中心全部关闭时叶绿素荧光发射强度^[14],可以反映出通过 PS II 的电子传递情况, F_m 越大表明传递给 PS II 的电子越多,最终导致光合产物越多。

1.5.3 F_v 。 F_v 为可变荧光,指的是黑暗中最大可变荧光强度,反映了 Q_a ,即 PS II 原初电子受体的还原情况^[14]。

作者简介 袁宗胜(1976—),男,山东高唐人,高级工程师,博士,从事微生物学研究。

收稿日期 2018-05-21

1.5.4 F_v/F_0 。 F_v/F_0 代表 PS II 的潜在活性^[14], 其值越大表明 PS II 反应活性越高, 光合作用越强。

1.5.5 F_v/F_m 。 F_v/F_m 表示 PS II 原初光能转换效率^[14], 该值越高表明其发生光抑制的程度越低, 具有较高的光能转换效率。

1.6 数据统计与分析 数据统计用 Excel, 数据统计分析采用 DPS(V7.05) 的相应分析功能进行。

2 结果与分析

2.1 促生内生细菌对毛竹叶片叶绿素荧光参数 (F_0) 的影响 促生内生细菌菌株 CT-B09-2、JL-B06、WYS-A01-1 竹腔注射接种处理 II 度毛竹 15、30、60、90 d 后其叶片叶绿素荧光参数 F_0 均呈上升的趋势, 其中促生内生细菌菌株 JL-B06 接种处理 15 d 时叶绿素荧光参数 F_0 值显著高于对照, 促生内生细菌菌株 CT-B09-2 接种处理 60 d 时叶绿素荧光参数 F_0 值显著高于对照 (表 1)。促生内生细菌接种处理后毛竹叶片叶绿素荧光参数 F_0 值的提高初步表明毛竹叶片中叶绿素含量增加。

表 1 促生内生细菌对毛竹叶片叶绿素荧光参数 (F_0) 的影响

Table 1 Effect of growth-promoting entophytic bacteria on chlorophyll fluorescence parameters (F_0) of moso bamboo leaves

处理 Treatment	F_0			
	15 d	30 d	60 d	90 d
CK	28.41±3.75 b	27.03±3.57	28.58±2.30 b	23.83±6.43
CT-B09-2	29.11±4.14 ab	28.58±3.20	33.43±5.08 a	25.81±1.96
JL-B06	31.51±3.53 a	29.71±2.74	29.53±3.23 b	25.96±4.26
WYS-A01-1	30.83±4.48 ab	29.09±4.63	29.36±0.95 b	24.76±4.08

注: 同列数据后小写字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)

Note: Different small letters within the same column mean significant differences ($P<0.05$)

2.2 促生内生细菌对毛竹叶片叶绿素荧光参数 (F_m) 的影响 促生内生细菌菌株 CT-B09-2、JL-B06、WYS-A01-1 竹腔注射接种处理 II 度毛竹后其叶片叶绿素荧光参数 F_m 均呈上升的趋势, 其中促生内生细菌菌株 JL-B06 接种处理 15 d 时叶绿素荧光参数 F_m 值显著高于对照, 促生内生细菌菌株接种处理 30、60、90 d 时毛竹叶片叶绿素荧光参数 F_m 均有所提高 (表 2), 但差异不显著。促生内生细菌菌株接种处理后毛竹叶片叶绿素荧光参数 F_m 值的提高表明传递给 PS II 的电子增多。

表 2 促生内生细菌对毛竹叶片叶绿素荧光参数 (F_m) 的影响

Table 2 Effect of growth-promoting entophytic bacteria on chlorophyll fluorescence parameters (F_m) of moso bamboo leaves

处理 Treatment	F_m			
	15 d	30 d	60 d	90 d
CK	200.87±18.56 b	192.60±15.21	212.40±15.07	188.57±37.53
CT-B09-2	206.17±13.56 b	204.29±19.79	225.78±9.95	205.40±22.24
JL-B06	222.75±17.51 a	203.23±11.98	224.05±19.10	195.63±20.18
WYS-A01-1	204.56±18.30 b	196.71±13.22	216.13±15.24	199.71±23.26

注: 同列数据后小写字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)

Note: Different small letters within the same column mean significant differences ($P<0.05$)

2.3 促生内生细菌对毛竹叶片叶绿素荧光参数 (F_v) 的影响 经促生内生细菌菌株 CT-B09-2、JL-B06、WYS-A01-1 竹腔注射接种处理 II 度毛竹后其叶片叶绿素荧光参数 F_v 值有所提高, 其中促生内生细菌菌株 JL-B06 接种处理 15 d 时叶绿素荧光参数 F_v 值显著高于对照 (表 3)。促生内生细菌菌株接种处理 30、60、90 d 时毛竹叶片叶绿素荧光参数 F_v 均有所提高。

表 3 促生内生细菌对毛竹叶片叶绿素荧光参数 (F_v) 的影响

Table 3 Effect of growth-promoting entophytic bacteria on chlorophyll fluorescence parameters (F_v) of moso bamboo leaves

处理 Treatment	F_v			
	15 d	30 d	60 d	90 d
CK	166.67±29.55 b	163.93±12.34	186.22±12.34	167.31±13.48
CT-B09-2	177.74±11.63 ab	175.71±17.09	192.35±7.80	176.04±14.38
JL-B06	191.24±16.29 a	173.61±11.78	194.51±16.23	169.67±17.72
WYS-A01-1	173.74±17.46 b	170.88±9.08	192.32±11.32	175.51±24.15

注: 同列数据后小写字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)

Note: Different small letters within the same column mean significant differences ($P<0.05$)

2.4 促生内生细菌对毛竹叶片叶绿素荧光参数 (F_v/F_0) 的影响 经促生内生细菌 CT-B09-2、JL-B06 及 WYS-A01-1 处理 II 度毛竹后其叶片叶绿素荧光参数 F_v/F_0 的变化与对照处理变化相似, 呈现平稳上升的趋势, 内生细菌 CT-B09-2、JL-B06 及 WYS-A01-1 处理 15、30、60 和 90 d 后的毛竹叶片叶绿素荧光参数 F_v/F_0 均高于对照 (表 4), 其中促生内生细菌 CT-B09-2、JL-B06 及 WYS-A01-1 接种处理 60 d 时 F_v/F_0 均高于对照。研究结果表明促生内生细菌菌株接种后可以提高毛竹叶片 PS II 反应活性, 从而提高光合作用强度。

表 4 促生内生细菌对毛竹叶片叶绿素荧光参数 (F_v/F_0) 的影响

Table 4 Effect of growth-promoting entophytic bacteria on chlorophyll fluorescence parameters (F_v/F_0) of moso bamboo leaves

处理 Treatment	F_v/F_0			
	15 d	30 d	60 d	90 d
CK	5.59±1.17	5.77±0.77	5.86±0.82 b	7.54±1.94
CT-B09-2	6.22±0.66	6.48±0.75	6.54±0.61 a	6.84±0.82
JL-B06	6.13±0.74	6.29±0.52	6.61±0.36 a	6.66±1.04
WYS-A01-1	5.75±0.98	6.18±0.68	6.55±0.32 a	7.41±2.87

注: 同列数据后小写字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)

Note: Different small letters within the same column mean significant differences ($P<0.05$)

2.5 促生内生细菌对毛竹叶片叶绿素荧光参数 (F_v/F_m) 的影响 经促生内生细菌 CT-B09-2、JL-B06 及 WYS-A01-1 处理 II 度毛竹后其叶片叶绿素荧光参数 F_v/F_m 的变化与对照变化相似, 呈现平稳上升的趋势, 内生细菌 CT-B09-2、JL-B06 及 WYS-A01-1 处理 15、30、60 和 90 d 后毛竹叶片叶绿素荧光参数 F_v/F_m 均略高于对照 (表 5), 但差异不显著。研究结果表明, 促生内生细菌菌株接种后可以进一步提高毛竹叶片的光能转换效率。

3 结论与讨论

促生内生细菌菌株能够提高毛竹叶片叶绿素荧光参数

F_0 、 F_m 、 F_v 、 F_v/F_0 、 F_v/F_m ,初步表明促生内生细菌可以增加毛竹叶片叶绿素含量,提高暗适应叶片最大荧光、传递给 PS II 的电子数量、可变荧光、PS II 潜在活性、毛竹叶片 PS II 反应活性、原初光能转化效率、叶片的光能转换效率。

表 5 促生内生细菌对毛竹叶片叶绿素荧光参数 (F_v/F_m) 的影响

Table 5 Effect of growth-promoting endophytic bacteria on chlorophyll fluorescence parameters (F_v/F_m) of moso bamboo leaves

处理 Treatment	F_v/F_m			
	15 d	30 d	60 d	90 d
CK	0.83±0.13	0.85±0.02	0.86±0.03	0.88±0.22
CT-B09-2	0.86±0.01	0.87±0.11	0.86±0.02	0.89±0.17
JL-B06	0.86±0.02	0.86±0.02	0.87±0.01	0.92±0.04
WYS-A01-1	0.85±0.02	0.88±0.05	0.89±0.04	0.88±0.03

笔者通过竹腔注射的方式分别接种 3 种促生内生细菌发酵菌液,研究了单个内生细菌菌株对毛竹叶片叶绿素荧光参数的影响,下一步应对微生物菌液的其他接种方式、复合微生物菌液的协同作用机理等进行研究,从而使内生细菌在农业丰产增收中发挥重要的作用。目前越来越受到人们重视的生物有机肥或生物菌肥等的目标菌种多从土壤中筛选而来,而内生菌可以主动从植物体表进入植物体内,并能够长期在植物体内定殖^[15],因此内生细菌作为重要的微生物资源在农业生产中具有良好的研究和开发潜力。加强植物内生细菌资源的研究,建立各种功能内生细菌的资源库具有重要的意义。

参考文献

[1] 黄启堂,陈爱玲,贺军.不同毛竹林林地土壤理化性质特征比较[J].福建林学院学报,2006,26(4):299-302.

[2] 高志勤,傅懋毅.不同毛竹林土壤碳氮养分的季节变化特征[J].浙江林学院学报,2006,23(3):248-254.

[3] 张刚华,萧江华,聂洁珠,等.不同类型毛竹林植物物种多样性研究[J].林业科学研究,2007,20(5):615-621.

[4] RYAN R P, GERMAINE K, FRANKS A, et al. Bacterial endophytes: Recent developments and application[J]. FEMS Microbiol Lett, 2008, 278(1):1-9.

[5] BERG G, KRECHEL A, DITZ M, et al. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2005, 51(2):215-229.

[6] MANO H, TANAKA F, WATANABE A, et al. Culturable surface and endophytic bacterial flora of the maturing seeds of rice plants (*Oryza sativa*) cultivated in a paddy field[J]. Microb Environ, 2006, 21(2):86-100.

[7] GARDNER J M, FELDMAN A W, ZABLOTOWICZ R M. Identity and behavior of xylem-residing bacterium in rough lemon roots of florida citrus trees[J]. Applied and environmental microbiology, 1982, 43(6):1335-1342.

[8] 徐亚军.植物内生菌资源多样性研究进展[J].广东农业科学,2011,38(24):149-152.

[9] 王纪杰,徐秋芳,姜培坤.毛竹凋落物对阔叶林土壤微生物群落功能多样性的影响[J].林业科学,2008,44(9):146-151.

[10] MITTLER R, HERR E H, ORVAR B L, et al. Transgenic tobacco plants with reduced capability to detoxify reactive oxygen intermediates are hyperresponsive to pathogen infection[J]. Proc Natl Acad Sci, 1999, 96(24):14165-14170.

[11] MELNICK R L, ZIDACK N K, BAILEY B A, et al. Bacterial endophytes: *Bacillus* spp. from annual crops as potential biological control agents of black pod rot of cacao[J]. Biol Cont, 2008, 46(1):46-56.

[12] YUAN Z S, LIU F, ZHANG G F. Characteristics and biodiversity of endophytic phosphorus- and potassium-solubilizing bacteria in Moso Bamboo (*Phyllostachys edulis*) [J]. Acta biologica of hungaria, 2015, 66(4):465-475.

[13] 福建省质量技术监督局.毛竹林丰产培育技术规程:DB 35/T 1194-2011[S].福建省质量技术监督局,2011.

[14] 张守仁.叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J].植物学通报,1999,16(4):444-448.

[15] 卢镇岳,杨新芳,冯永君.植物内生细菌的分离、分类、定殖与应用[J].生命科学,2006,18(1):90-94.

(上接第 102 页)

表 3 千年桐林和杉木林凋落物现存量

Table 3 *Aleurites mnntana* and *Cunninghamia lanceolata* litters of tung forest stand

kg/hm²

林分类型 Forest type	未分解 Undecomposed	半分解 Semi decomposition	完全分解 Complete decomposition	分解速率 Decomposition rate
千年桐林 <i>Aleurites mnntana</i> forest	5 328.5	12 725.0	16 017.2	5.39
杉木林 <i>Cunninghamia lanceolata</i> forest	5 307.8	129.7	374.2	0.09

参考文献

[1] 胡芳名,谭晓风,刘惠民,等.经济林栽培与育种[M].北京:中国林业出版社,2006.

[2] 何方,胡芳名.经济林栽培学[M].北京:中国林业出版社,2004.

[3] 凌麓山,段幼童,任永谟,等.油桐栽培[M].北京:中国林业出版社,1981.

[4] 覃仁安,覃文韬.油桐资源肥料化探讨[J].吉首大学学报(社会科学版),2015,36(S1):175-179.

[5] 张琴,范秀华.红松阔叶林 4 种凋落物分解速率及其营养动态(1)[J].

东北林业大学学报,2014,42(12):59-62,88.

[6] 章俊霞,刘苑秋,吴春生,等.枫香人工林凋落物的产量与分解动态[J].江西农业大学学报,2013,35(6):1187-1192.

[7] 陈莉莎,张金池,庄家尧,等.苏南丘陵区 3 种林分凋落叶客量分解特征[J].浙江农林大学学报,2013,30(5):681-688.

[8] 黄张婷,张艳,宋照亮,等.雷竹覆盖物分解速率及其硅含量的变化[J].生态学报,2013,33(23):7373-7381.

[9] 项文华,闫文德,田大伦,等.外加氮源及与林下植物叶混合对杉木林针叶分解和氧分释放的影响[J].林业科学,2005,41(6):1-6.

本刊提示 来稿请用国家统一的法定计量单位的名称和符号,不要使用国家已废除了的单位。如面积用 hm²(公顷)、m²(平方米),不用亩、尺²等;质量用 t(吨)、kg(千克)、mg(毫克),不再用担等;表示浓度的 ppm 一律改用 mg/kg, mg/L 或 μL/L。