

内生细菌对毛竹促生效果研究

袁宗胜^{1,2}

(1. 闽江学院海洋研究院, 福建福州 350108; 2. 人工林可持续经营福建省高校工程研究中心, 福建福州 350002)

摘要 在毛竹中心产区, 通过竹腔注射的方式接种复合微生物菌液, 研究内生细菌对毛竹的促生效果。结果表明, 促生内生细菌可以增加毛竹林立株数, 提高毛竹冬笋营养品质, 其中, 施用复合微生物菌液的毛竹冬笋总糖含量与对照相比提高了 25%, 差异显著。施用复合微生物菌液的毛竹林地出笋数量提高, 发笋期提早和延长, 进一步提高了毛竹林成竹率, 新生毛竹眉径与对照相比提高了 3.85%。

关键词 毛竹; 内生细菌; 促生

中图分类号 S 795.7 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2019)17-0120-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.17.034

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Study on the Growth-promoting Effects of Entophytic Bacteria on Moso Bamboo

YUAN Zong-sheng^{1,2} (1. Institute of Oceanography, Minjiang University, Fuzhou, Fujian 350108; 2. Fujian Provincial Colleges and University Engineering Research Center of Plantation Sustainable Management, Fuzhou, Fujian 350002)

Abstract In the main producing areas of Moso bamboo, the compound bacterial suspensions were injected into the bamboo cavity, and the effect of entophytic bacteria on the growth-promoting bamboo was studied. The results showed that the entophytic bacteria could increase the number of bamboo shoots and improve the nutritional quality of winter bamboo shoots. Among them, the total sugar content of winter bamboo shoots which used the compound bacterial suspensions was increased by 25% compared with that of the control group, the difference was very significant. The number of bamboo shoots in bamboo forest which used the compound bacterial suspensions was increased, the time of bamboo shoots was earlier and prolonged, it also further improved the bamboo growth rate of bamboo forest, the eyebrow diameter of newborn bamboo was increased by 3.85% compared with that of the control.

Key words Moso bamboo; Entophytic bacteria; Growth-promoting

毛竹(*Phyllostachys edulis*)属禾本科刚竹属, 为散生型竹种, 其生长快, 适应性强, 用途广, 经济价值高, 是我国南方地区重要的森林资源。根据第 6 次森林资源清查统计, 我国的毛竹林面积约为 337.2 万 hm^2 , 约占世界毛竹林总面积的 47%。毛竹笋高蛋白、低淀粉, 含有多种氨基酸、矿物质及维生素, 素称“寒土山珍”^[1-2]。

植物内生细菌生活史的一定阶段或全部阶段均生活在健康植物的各种组织和器官内部, 并且与植物建立了和谐联合关系, 因此内生细菌不易受环境条件影响而在植物体内长期定殖、传导, 其对植物生长发育、抵抗疾病以及不良环境具有广泛的生物学作用^[3-9]。笔者利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^[10], 通过竹腔注射接种的方式初步探讨内生细菌对毛竹促生的效果, 以期为促进功能复合微生物菌剂的开发和利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试菌株、培养基与试验毛竹林地基地

1.1.1 供试菌株。菌株 CT-B09-2、JL-B06、WYS-A01-1 是由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的促生内生细菌^[10]。

1.1.2 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, pH7.0~7.2 (液体培养基则不加琼脂)。

1.1.3 试验毛竹林地基地。在福建省毛竹林中心产区^[11]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, 采取随机区组法设置试验区组和对照区组。117°15'53.6"~117°16'0.4"E, 26°31'32.2"~26°31'38.8"N, 海拔为 891 m。年平均气温为 16 °C, 1 月平均气温 6.2 °C, 7 月平均气温 25.3 °C, 绝对最低气温 -8.3 °C, 绝对最高气温 32.0 °C, 年平均降雨量 1 797 mm, 雨季主要在春夏, 秋冬降雨量较少。年平均相对湿度 84%, 年平均气压 996.7 mPa, 年日照时数 1 701.5 h。无霜期长 297 d, 霜期约 68 d。

1.2 复合微生物菌液的制备及接种

1.2.1 复合微生物菌液的制备。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 °C, 180 r/min 条件下振荡培养 72 h, 用无菌水稀释制成含 1×10^8 CFU/mL 的菌悬液, 然后按照等比例混合, 即制备好复合微生物菌液, 待用。

1.2.2 竹腔注射法接种林间毛竹。在福建省将乐县龙栖山自然保护区毛竹林基地试验林地, 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, 然后取上述复合微生物菌液 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, 3 次重复, 以清水为对照。试验年份的 4、10 月各接种 1 次。分别于试验年份冬笋采收季节、第 2 年春笋采收季节及毛竹新竹长成季节采样或进行林间调查。

1.3 试验毛竹林的保护与管理 试验毛竹林地设专人管理, 遇有露根、露鞭, 及时培土填盖。出笋前后, 禁止人畜进入林地。试验年份毛竹林地内严禁放牧, 不准砍竹, 不准挖笋, 让笋和竹自然生长。

1.4 毛竹冬笋样品采集与处理

1.4.1 冬笋样品的采集。在冬笋发笋盛期(1 月左右)选取

基金项目 人工林可持续经营福建省高校工程研究中心开放课题。

作者简介 袁宗胜(1976—), 男, 山东高唐人, 高级工程师, 博士, 从事微生物相关领域研究。

收稿日期 2019-04-04

大小均匀(200~300 g)、未出土、无破损、无病虫害、笋身结实、不空洞、无畸形、不干缩的毛竹冬笋,试验处理及对照区域各设3个采集区域,每个采集区域采集冬笋5~8个,并形成混合样品。

1.4.2 冬笋样品的处理。采集的毛竹冬笋剥去笋箨、切除笋壳等,然后将可食部分的笋切成小方块,各处理冬笋样品充分混合并选取鲜样置于105℃烘箱杀青,60~70℃恒温干燥,然后过0.5 mm筛粉碎处理后,保存于干燥器中,用于冬笋营养成分测定。

1.4.3 冬笋营养成分的测定。总糖的测定采用GB/T 5009.8《食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定》方法;粗纤维的测定采用GB/T 5009.10《植物类食品中粗纤维的测定》方法;脂肪的测定采用GB/T 5009.6《食品中脂肪的测定》方法;蛋白质的测定采用GB 5009.5《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》方法;氨基酸的测定采用GB/T 5009.124《食品中氨基酸的测定》方法。

1.5 林间调查

1.5.1 笋期调查。在毛竹发笋期(3—5月),即从试验地少量发笋开始至新竹全部展枝放叶结束,派专人对试验毛竹林地进行笋期调查,调查发笋时间、出笋率、成竹率及新竹眉径。

$$\text{出笋率} = \text{出笋数} / \text{总立竹数} \times 100\%$$

$$\text{成竹率} = \text{新竹数} / \text{总立竹数} \times 100\%$$

1.5.2 立竹调查。对试验和对照毛竹林地内毛竹进行每竹调查,测定其立株数、年龄(度)、眉径等指标,统计出各毛竹林地内单位面积立株数、平均眉径等指标^[12-13]。

2 结果与分析

2.1 促生内生细菌对毛竹冬笋营养品质的影响

2.1.1 总糖、粗纤维、脂肪及蛋白质含量。毛竹笋中的糖分

是呈味物质,即甘甜味;毛竹笋中蛋白质含量是毛竹笋品质的一个重要指标,同时也是竹笋干物质含量较高的组成部分;粗纤维可以衡量毛竹笋的脆嫩程度,一般情况下粗纤维含量高则质地较为粗糙,含量低则质地较为脆嫩^[14-15];粗脂肪含量也是评价竹笋品质的重要指标之一,竹笋的脂肪含量会随着毛竹笋不断生长而呈逐步下降趋势。

从表1可以看出,与对照相比,施用复合微生物菌液的试验毛竹林地,冬笋的营养成分中蛋白质、总糖、粗纤维等指标均有不同程度的提高,其中总糖含量提高了25%,表明施用复合微生物菌液能够明显改善竹笋的营养品质和口味,提高其经济价值。试验毛竹林地冬笋样品粗纤维、蛋白质含量略有提高,但差异不显著。

表1 冬笋营养成分比较

林地 Forest land	总糖 Total sugar	粗纤维 Crude fiber	脂肪 Fat	蛋白质 Protein
试验 Test	25	7	3	37
对照 Control	20	6	3	36

2.1.2 氨基酸含量。采用氨基酸自动分析仪进行毛竹冬笋氨基酸含量的测定,结果表明,毛竹冬笋含有17种氨基酸,种类较为齐全。其中,天冬氨酸含量最高,谷氨酸、脯氨酸次之,蛋氨酸、胱氨酸含量最低。

毛竹冬笋样品中必需氨基酸的平均含量高低依次是赖氨酸、亮氨酸、缬氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸。施用复合微生物菌液的试验毛竹林地冬笋样品中氨基酸总含量为28.4 g/kg,与对照相比提高4.80%;人体所必需的氨基酸与对照相比提高2.63%,差异不显著(表2)。

表2 冬笋氨基酸成分比较

Table 2 Comparison of amino acids of winter bamboo shoots

林地 Forest land	Asp g/kg	* Thr g/kg	Ser g/kg	Glu g/kg	Gly g/kg	Ala g/kg	Cys g/kg	* Val g/kg	* Met g/kg	* Ile g/kg
试验 Test	5.3	1.2	2.4	3.0	1.0	1.9	0.1	1.3	0.3	0.8
对照 Control	4.9	1.0	2.0	2.7	1.1	1.6	0.1	1.3	0.3	0.9

林地 Forest land	* Leu g/kg	Tyr g/kg	* Phe g/kg	* Lys g/kg	His g/kg	Arg g/kg	Pro g/kg	合计 Total g/kg	必需氨基酸 Essential amino acid//g/kg	占总氨基 酸的比例 Percentage in total amino acid//%
试验 Test	1.5	2.0	1.0	1.7	0.7	1.2	3.0	28.4	7.8	27.46
对照 Control	1.6	2.5	1.0	1.5	0.7	1.2	2.7	27.1	7.6	28.04

注:“*”为人体必需氨基酸

Note:“*” stands for essential amino acids

2.2 促生内生细菌对毛竹生长的影响以第1株笋破土为起始时间,定期记录,至无笋出土为终止时间。统计试验林地和对照林地出笋数、出笋率、成竹数、成竹率等。从表3可以看出,施用复合微生物菌液的毛竹林地出笋数量提高,比对照增长34.06%;出笋率比对照提高7.84个百分点,发笋期提早和延长,证明施用复合微生物菌液对毛竹促生效果明显。施用复合微生物菌液的毛竹林成竹数高于对照20%,成竹率提高2.42个百分点。施用复合微生物菌液对笋高增长速

度有一定控制作用,生长速度较均匀。

施用复合微生物菌液后第2年10月,对试验和对照林地内毛竹林资源进行调查,包括单位面积立株数、各度毛竹数、平均眉径等指标。

从表4可以看出,施用复合微生物菌液的毛竹林总立株数高于对照5.58%,毛竹眉径是构成毛竹产量和质量等级的重要指标之一。由表3、4可知施用复合微生物菌液新竹眉径增大,竹子增粗,对新竹生长有促进作用,新竹眉径由

10.4 cm 增至 10.8 cm,提高 3.85%,这对提高竹材质量和增加竹林收入非常有利。

表 3 促生内生细菌对毛竹生长的影响

Table 3 The effect of growth-promoting entophytic bacteria on the growth of Moso bamboo

林地 Forest land	总立株数 Total number of plants 株/hm ²	出笋量 Bamboo shoot yield 个/hm ²	出笋率 Bamboo shoot rate//%	成竹数 Number of bamboo 株/hm ²	成竹率 Bamboo rate %	新竹眉径 Eyebrow-diameter of new bamboo cm
对照 Control	2 955	858.75	29.06	525	17.77	10.4
试验 Test	3 120	1 151.25	36.90	630	20.19	10.8

表 4 毛竹林地立竹调查

Table 4 Investigation of Moso bamboo growth in bamboo forest

林地 Forest land	取样 点数 Sampling Points	树种 组成 Tree species composition	平均 眉径 Average eyebrow- diameter cm	单位面 积株数 Number of trees per hectare 株/hm ²	I 度竹 比例 Bamboo ratio of grade I %	I 度竹平 均眉径 Average eyebrow- diameter of grade I//cm	II 度竹 比例 Bamboo ratio of grade II %	II 度竹平 均眉径 Average eyebrow- diameter of grade II//cm	III 度竹 比例 Bamboo ratio of grade III %	III 度竹平 均眉径 Average eyebrow- diameter of grade III//cm	IV 度竹以 上比例 Bamboo ratio above grade IV//%	IV 度竹以 上平均眉径 Average eyebrow- diameter above grade IV//cm
对照 Control	9	10 竹	10.0	2 955	18.6	10.4	33.3	10.5	39.0	9.6	9.1	9.8
试验 Test	9	10 竹	10.2	3 120	20.2	10.8	34.2	10.1	36.4	10.3	9.2	9.0

3 结论与讨论

通过竹腔注射接种 3 种促生内生细菌的复合微生物菌液对毛竹生长具有促进作用。促生内生细菌可以增加毛竹林立株数,增大新生毛竹眉径,提高毛竹冬笋营养品质,特别是施用复合微生物菌液的毛竹冬笋总糖含量显著高于对照;施用复合微生物菌液的毛竹林地出笋数量提高,提早和延长了发笋期,进一步提高了毛竹林成竹率,同时对笋高增长速度有一定控制作用,生长速度较均匀。

该研究仅用 3 种促生内生细菌的发酵液等比例混合制成复合微生物菌液,下一步应继续深度探讨每种促生内生细菌发酵条件、不同菌剂的复配比例等工艺条件,以达到最佳的促生效果;对微生物菌液的其他接种方式也应进一步探讨。

参考文献

- [1] 王立勋. 福建省竹产业现状与发展对策[J]. 竹子研究汇刊, 2002, 21(4): 28-32.
- [2] 刘明池. 竹笋的营养价值与食用方法[J]. 蔬菜, 2002(2): 40.
- [3] 胡桂萍, 郑雪芳, 尤民生, 等. 植物内生菌的研究进展[J]. 福建农业学报, 2010, 25(2): 226-234.
- [4] 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

(24): 149-152.

- [5] 国辉, 毛志泉, 刘训理. 植物与微生物互作研究进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(9): 28-33.
- [6] 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.
- [7] 何红, 邱思鑫, 胡方平, 等. 植物内生细菌生物学作用研究进展[J]. 微生物学杂志, 2004, 24(3): 40-45.
- [8] RYAN R P, GERMAINE K, FRANKS A, et al. Bacterial endophytes: Recent developments and application[J]. FEMS Microbiol Lett, 2008, 278(1): 1-9.
- [9] 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.
- [10] 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): 449-459.
- [11] 福建省质量技术监督局. 毛竹林丰产培育技术规程: DB35/T 1194—2011[S]. 福建省质量技术监督局, 2011.
- [12] 何东进, 洪伟, 吴承祯. 毛竹林林分平均胸径模拟预测模型的研究[J]. 林业科学, 2000, 36(Z1): 148-153.
- [13] 胡春水, 余祥威, 骆琴娅, 等. 毛竹笋的笋体剖析及营养成分的测定[J]. 竹子研究汇刊, 1998, 17(2): 14-17.
- [14] 刘耀荣. 毛竹笋期的营养动态[J]. 林业科学研究, 1990, 3(4): 363-367.
- [15] 王裕霞, 张光楚, 李兴伟. 优良丛生笋用竹及杂种竹竹笋品质评价的研究[J]. 竹子研究汇刊, 2005, 24(4): 39-44.