

# 紫外辐射对灯盏花附生、内生细菌数量的影响及机理

宣灵, 何永美, 湛方栋, 张丽梅, 祖艳群, 李元\*

云南农业大学资源与环境学院, 云南 昆明 650201

**摘要:** 采用大田研究方法, 模拟  $5.0 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$  紫外辐射 (UV-B, 280~315 nm) 增强对灯盏花 *Erigeron breviscapus* 附生、内生细菌数量、优势种群以及类黄酮、游离氨基酸、可溶性蛋白、淀粉和可溶性糖含量的影响。UV-B 辐射极显著减少灯盏花苗期叶和花期根与叶附生细菌数量 ( $p < 0.01$ ), 显著减少灯盏花果熟期根与叶附生细菌数量 ( $p < 0.05$ )。极显著减少灯盏花苗期根与叶和花期叶与茎及果熟期茎内生细菌的数量, 果熟期根内生细菌数量显著增加。灯盏花附生细菌优势种群为芽孢杆菌 *Bacillus* 和欧文氏菌 *Erwinia*, 内生细菌优势种群为芽孢杆菌; UV-B 辐射可导致灯盏花附生和内生细菌优势种群数目减少。UV-B 辐射还会使灯盏花生理指标发生变化, 直接导致灯盏花附生细菌数量的减少, 可溶性糖、游离氨基酸和可溶性蛋白含量与附生细菌数量呈显著正相关 ( $p < 0.05$ )。UV-B 辐射增加灯盏花各部位类黄酮含量, 间接影响灯盏花内生细菌数量, 根类黄酮含量与内生细菌数量呈极显著正相关 ( $p < 0.01$ )。

**关键词:** 紫外辐射; 灯盏花; 附生细菌; 内生细菌; 生理指标

**中图分类号:** Q945.79

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1674-5906 (2009) 06-2211-05

UV-B 辐射增强对微生物数量与群落结构产生明显影响<sup>[1]</sup>。长时期的 UV-B 辐射会抑制植物碳氮代谢, 直接影响附生细菌的数量和种群数目, 并间接影响与宿主植物协同进化的内生细菌数量和种群数目<sup>[2,3]</sup>。UV-B 辐射可诱导植物次生代谢产物类黄酮等积累的增加, 有效减少 UV-B 辐射在表皮层的透过率, 从而减轻 UV-B 对植物内生微生物生长的抑制作用<sup>[4,6]</sup>。目前不同的 UV-B 辐射对植物土壤微生物种群影响及对植物生理代谢影响等方面开始有报道<sup>[7,8]</sup>, 但 UV-B 辐射对植物附生、内生细菌影响机理尚未明确。

灯盏花又名灯盏细辛 *Erigeron breviscapus*, 属菊科多年生草本植物, 盛产于云南。含有黄酮、吡喃酮、倍半萜等五十多种化学成分, 具有活血舒筋、止痛消积功效<sup>[9]</sup>。已有研究表明 UV-B 辐射增强可以增加灯盏花生物量以及总黄酮含量, 促进灯盏花的生长<sup>[10]</sup>。本研究以灯盏花为材料, 探讨 UV-B 辐射增强对灯盏花附生、内生细菌数量和优势种群及生理代谢的影响, 进一步阐明 UV-B 辐射对植物附生、内生细菌影响的机理, 为灯盏花附生、内生细菌对 UV-B 辐射的响应提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 田间试验与紫外辐射处理

试验在云南农业大学作物标本园进行, 灯盏花品种为昆明小河 K01 种。土壤背景值为: 有机质  $4.56\%$ (w)、碱解氮  $150 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、速效磷  $36.58 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、

速效钾  $185.89 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、全氮  $1.36 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、全磷  $8.3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、全钾  $5.43 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  和  $\text{pH}7.28$ 。播种前深耕翻土, 以氮肥  $0.3 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$  ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )、磷肥  $0.3 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$  ( $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 、 $\text{CaSO}_4$ )、钾肥  $0.3 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$  ( $\text{KCl}$ ) 作为底肥。采用种子撒播 ( $0.5 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ) 的方式播种。出苗后, 以  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度混合喷施复合肥和尿素。

模拟 UV-B 增强用李元等 (2000) 建立的方法, 上海顾村电光仪器厂生产的 40W 紫外灯管提供实验设计的 UV-B 辐射强度。灯管悬于植株上方, 用紫外辐射仪 (北京师范大学仪器厂) 测 297 nm 波长处辐射强度, 设  $0 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$  (CK) 和  $5.0 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$  (UV-B 处理) 两个辐射水平, 相当于昆明地区 0% 和 20% 臭氧衰减, 每处理共设 3 个重复。苗长至 10~15 片基生叶开始增强 UV-B 辐射, 每天光照 7 h (10:00—17:00), 阴雨天除外, 直到成熟收获。

### 1.2 测定方法

以苗期、花期和果熟期灯盏花作为试验材料。各时期采集对照与 UV-B 处理灯盏花各 8 株, 将鲜样直接带回实验室进行分析测定。

附生与内生细菌分离: 参照沈萍等 (2007) 方法并稍做修改。细菌数量分析: 平板稀释法, 用牛肉膏蛋白胨培养基进行分离计数, 设置 4 次重复。细菌鉴定: 参照东秀珠等 (2001) 建立的方法, 通过常规生理生化反应、形态和染色反应, 鉴定到属。

类黄酮含量测定: 按 Mireck 等 (1984) 方法, 在 722 分光光度计 305 nm 处测定吸光值。可溶性

基金项目: 国家自然科学基金项目(30660040); 云南省教育厅青年教师科研项目(A3003106)

作者简介: 宣灵(1985年生), 女, 硕士研究生, 研究方向: 紫外辐射生态学。E-mail: xuanling\_106@sina.com

\*通讯作者: 李元。E-mail: liyuan03@yahoo.com.cn

收稿日期: 2009-09-07



### 2.3 紫外辐射对灯盏花叶片内生细菌优势种群的影响

对照和 UV-B 辐射增强处理下，从苗期、花期和果熟期灯盏花根、叶与茎共分离得到 106 株内生细菌。鉴定结果为芽孢杆菌、欧文氏菌、黄杆菌属、

黄单胞菌、假单胞菌、产碱杆菌、沙雷氏菌、噬纤维菌、哈夫尼肠细菌、埃希氏菌属 *Escherichia* 和沙门氏菌属 *Salmonella*。其中芽孢杆菌为灯盏花内生细菌的优势菌种，占总分离内生细菌菌株的 48%。

从表 2 可知，UV-B 辐射增强增加灯盏花苗期

表 2 紫外辐射对灯盏花内生细菌优势种群的影响

Table 2 Effects of enhanced UV-B radiation on the Endophytic bacteria dominant population of *Erigeron breviscapus*

菌群/株	苗期			花期						果熟期						
	根 CK	根 UV-B	叶 CK	叶 UV-B	根 CK	根 UV-B	叶 CK	叶 UV-B	茎 CK	茎 UV-B	根 CK	根 UV-B	叶 CK	叶 UV-B	茎 CK	茎 UV-B
欧文氏菌属	3	3	1				1	1	2	1	1			1	2	1
黄杆菌属					1						1	2				
黄单胞菌属				1									1	1		
芽孢杆菌属	5	8	5	2	2	5	2	2	3	5	3	2	3	2	2	
假单胞菌属			1					1			2		2	2	3	
噬纤维菌属	1	3		1												
沙雷氏菌属			1											1		
产碱杆菌属	1	1			1	2					1		1			
哈夫尼肠菌							1									
埃希氏菌属	1															
沙门氏菌属				1									1			

根和茎，花期根内生细菌种群数目，并导致灯盏花叶内生细菌种群数目减少。UV-B 辐射增强也会改变灯盏花叶内生细菌种群，各部位有差异。

### 2.4 紫外辐射对灯盏花生理代谢的影响

UV-B 辐射增强会促使灯盏花各部位类黄酮的合成和积累，增幅在 15%~43% 范围内。灯盏花不同部位类黄酮含量高低表现为叶>茎>根。UV-B 辐射增强条件下，灯盏花类黄酮积累的增幅状况，随着灯盏花生育进程呈现先上升再下降的趋势，如表 3 所示。

表 3 UV-B 辐射对灯盏花类黄酮含量的影响

Table 3 Effects of enhanced UV-B radiation on the contents of flavonoid of *Erigeron breviscapus*

类黄酮含量 /A 305 nm	苗期		花期			果熟期		
	根	叶	根	叶	茎	根	叶	茎
CK	2.12	2.28	1.90	2.14	2.25	2.05	2.29	2.26
UV-B	2.72	2.81	2.71	2.99	2.72	2.83	3.00	2.60
增幅 (UV-B-CK)/CK	28%	22%	43%	38%	21%	38%	31%	15%

从图 2A 可知，UV-B 辐射增强处理下，灯盏花根游离氨基酸总量与对照相比，呈现减少趋势，各时期差异均达到极显著水平 ( $p<0.01$ )。灯盏花叶游离氨基酸总量经 UV-B 辐射处理后，苗期与对照比为极显著减少，花期呈增加趋势，差异不显著 ( $p>0.05$ )，果熟期又呈现增加趋势，并达到极显著水平。灯盏花茎游离氨基酸总量与叶片变化相似，花期为极显著减少，果熟期达到极显著增加。

UV-B 辐射增强处理下，灯盏花根与茎可溶性

蛋白含量与对照相比较均呈现减少趋势。灯盏花根可溶性蛋白含量各时期减少差异均达到显著水平 ( $p<0.05$ )，茎可溶性蛋白含量果熟期减少差异达到极显著水平 ( $p<0.01$ )。灯盏花叶可溶性蛋白含量在 UV-B 辐射增强处理下，各时期则呈增加趋势，花期含量增加差异为显著水平 (图 2B)。

图 2C 表明，UV-B 辐射增强使灯盏花各部位淀粉含量总体呈增加趋势，仅花期茎淀粉含量为减少。与对照相比，灯盏花根与叶淀粉含量各时期均为增加，差异达到极显著水平 ( $p<0.01$ )。花期茎淀粉含量减少差异达到显著水平 ( $p<0.05$ )，果熟期茎淀粉含量增加差异达到显著水平。

UV-B 辐射增强对灯盏花可溶性糖含量不同部位影响有差异。UV-B 辐射增强处理下，灯盏花叶与茎可溶性糖含量均呈现极显著减少趋势 ( $p<0.01$ )。而灯盏花根可溶性糖含量经 UV-B 辐射增强处理呈现增加趋势，且各时期含量增加差异均达极显著水平 (图 2D)。

## 3 讨论

### 3.1 灯盏花附生细菌数量与生理指标之间的相关性

由于植物叶片是对 UV-B 辐射响应最为敏感的器官，叶片上可利用的碳源等营养条件直接受 UV-B 辐射增强的影响<sup>[11-12]</sup>。UV-B 辐射促使灯盏花叶可溶性糖合成为淀粉<sup>[13]</sup>，导致极显著降低叶可溶性糖含量，叶淀粉含量极显著增加，但灯盏花叶片上可利用碳源经 UV-B 辐射总量仍为减少。由于微生物对碳的需求较其他营养元素而言最大，叶片碳源含量的减少直接影响附生细菌的生长。附生细菌

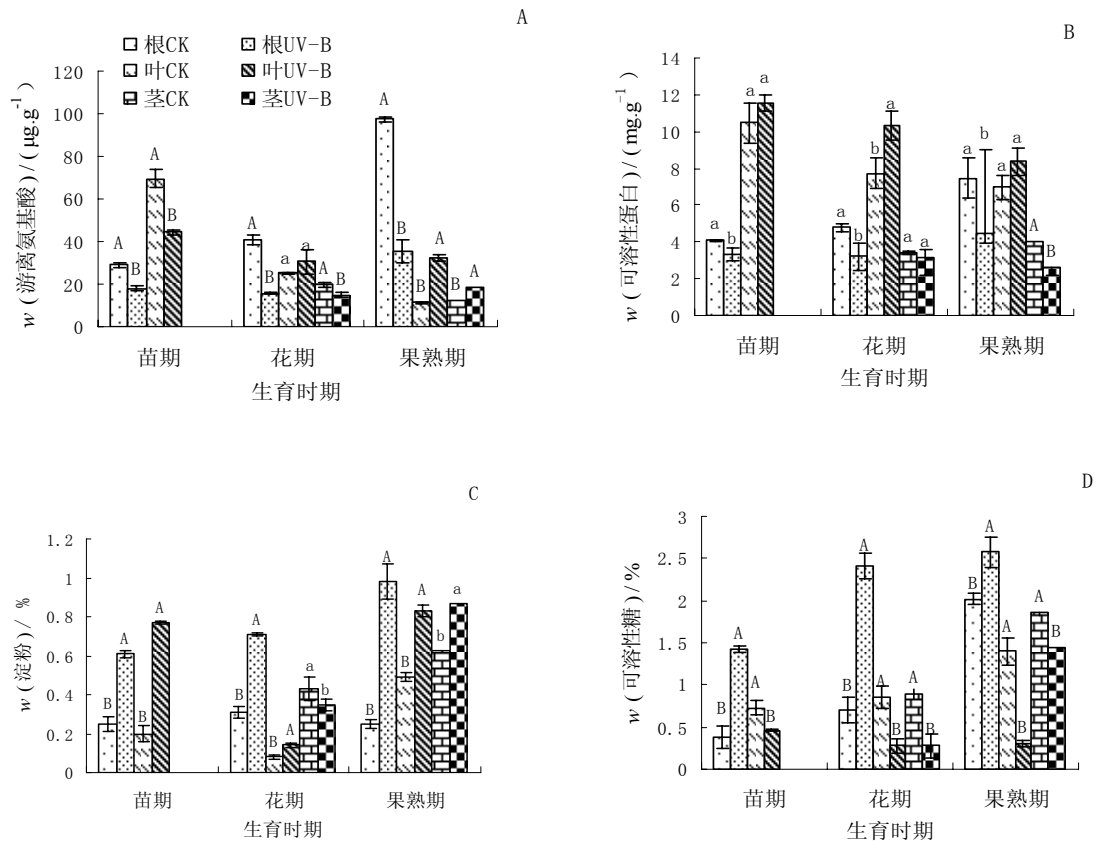


图2 紫外辐射对灯盏花生理指标的影响

Fig.2 Effects of enhanced UV-B radiation on the physiological indexes of *Erigeron breviscapus*

通过机体自身调节,导致部分生长停止或死亡<sup>[14]</sup>,从而降低附生细菌的数量。叶可溶性糖含量与附生细菌数量呈显著正相关(相关系数 0.780,  $p < 0.05$ )。

灯盏花根附生细菌受 UV-B 辐射的影响,显著降低灯盏花根可溶性蛋白,游离氨基酸总量也极显著减少。蛋白质在蛋白酶的催化下分解为游离氨基酸<sup>[15]</sup>,可溶性蛋白减少的同时,游离氨基酸也不断降低,从而影响灯盏花的氮代谢。灯盏花根可溶性蛋白和游离氨基酸与根附生细菌数量呈正相关(相关系数 0.990 和 0.982,  $p > 0.05$ )。此外,UV-B 辐射增强还会对土壤营养元素有效态含量有显著的影响<sup>[16]</sup>,这种响应对根附生细菌亦有一定的影响作用。

### 3.2 灯盏花内生细菌数量与生理指标之间的相关性

灯盏花叶与茎内生细菌数量的下降,可能由于 UV-B 辐射后,叶与茎可溶性糖含量及茎可溶性蛋白的极显著降低导致。灯盏花内生细菌不能直接接受 UV-B 辐射,UV-B 辐射增强只能间接影响灯盏花内生细菌的数量与种群。有关 UV-B 辐射后导致灯盏花根内生细菌花期和果熟期数量的增加,可能是 UV-B 辐射增强使灯盏花类黄酮合成的增加,增强防护屏障,起到吸收 UV-B 的作用<sup>[17]</sup>,减少 UV-B 辐射对细菌数量的胁迫。灯盏花根类黄酮与根内生

细菌数量呈显著正相关(相关系数 0.911,  $p < 0.05$ )。也可能内生细菌自身通过产生具有 UV-B 吸收作用的代谢产物,提高对 UV-B 辐射的抗性<sup>[18]</sup>,进而间接影响内生细菌的数量与优势种比例。

## 4 结论

(1)UV-B 辐射增强条件下,减少灯盏花叶片碳源的总含量,直接导致灯盏花叶片附生细菌的数量下降。灯盏花根受 UV-B 辐射后导致可溶性蛋白与游离氨基酸含量的不断降低,以及土壤营养元素有效态含量的变化,从而导致灯盏花根附生细菌的减少。

(2)UV-B 辐射通过减少灯盏花可溶性糖和可溶性蛋白的含量,间接导致灯盏花叶与茎内生细菌数量的下降。UV-B 辐射增强还会使灯盏花类黄酮合成的增加,促使灯盏花根内生细菌数量的增加。

## 参考文献:

- [1] 李能章,彭远义.植物内生菌研究进展[J].生物技术,2004,14(2):69-71. LI Nengzhang, PENG Yuanyi. Research about endophytic bacteria on plants [J]. Biotechnology, 2004, 14(2): 69-71.
- [2] 薛慧君,岳明. UV-B辐射增强对陆地植物次生代谢的影响[J]. 西北植物学报, 2004, 24(6): 1131-1137. XUE Huijun, YUE Ming. Effects of enhanced UV-B radiation on terrestrial plant secondary metabolite [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2004, 24(6): 1131-1137.

- [3] 李元, 张翠萍, 祖艳群. 紫外辐射增强对植物糖代谢的影响[J]. 生态学杂志, 2006, 25(10): 1265-1268.  
LI Yuan, ZHANG Cuiping, ZU Yanqun. Effects of enhanced UV-B radiation on plant sugar metabolism [J]. Chinese Journal of Ecology, 2006, 25(10): 1265-1268.
- [4] SANTOS I, FIDALGO F, ALMEIDA J M, et al. Biochemical and ultra structural changes in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation [J]. Plant Science, 2004, 167(4): 921-925.
- [5] VERMA S C, SINGH A, CHOWDHURY S P, et al. Endophytic colonization ability of two deep-water rice endophytes, *Pantoea sp.* and *Ochrobactrum sp.* Using green fluorescent protein reporter [J]. Biotechnol Lett, 2004, 26(1): 425-429.
- [6] 梁滨, 周青. UV-B辐射对植物类黄酮影响的研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2007, 15(3): 191-194.  
LIANG Bin, ZHOU Qing. Effect of enhanced UV-B radiation on plant flavonoids[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2007, 15(3): 191-194.
- [7] 祖艳群, 魏兰芳, 杨济龙, 等. 紫外辐射增强对40个割手密无性系土壤微生物种群数量动态和多样性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(1): 6-11.  
ZU Yanqun, WEI Lanfang, YANG Jilong, et al. Effects of UV-B radiation on population dynamic and diversity of 40 wild sugarcane (*Saccharum spontaneum* L.) clones rhizosphere microorganisms [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2005, 24(1): 6-11.
- [8] 湛方栋, 李元, 祖艳群, 等. 紫外辐射增强对4个割手密无性系根际真菌数量和优势种群的影响[J]. 微生物学通报, 2008, 35(11): 1721-1726.  
ZHAN Fangdong, LI Yuan, ZU Yanqun, et al. Effects of UV-B radiation on rhizosphere fungi quantity and dominant populations of 4 wild sugarcane (*Saccharum spontaneum* L.) clones [J]. Microbiology, 2008, 35(11): 1721-1726.
- [9] 邱璐, 瞿礼嘉, 虞泓, 等. 灯盏花的研究进展[J]. 中草药, 2005, 36(1): 141-144.  
QIU Lu, QU Lijia, YU Hong, et al. Advances in studies on *Erigeron breviscapus*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2005, 36(1): 141-144.
- [10] FENG Y, ZU Y Q, ZHU Y, et al. Responses of Total Flavonoid Yield in *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz. Enhanced UV-B Radiation[M]//LI S C, WANG Y J, CAO F X, et al, eds. Progress in Environ Sci Technol Vol II. Beijing: Science Press, 2009, 2(4): 26-243.
- [11] KAKANI V, GREDDY K R, ZHAO D, et al. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review[J]. Agricultural and Forest Meteorology, 2003, 18(2): 191-120.
- [12] 吴永波, 薛建辉. UV-B辐射增强对植物影响的研究进展[J]. 世界林业研究, 2004, 17(3): 29-31.  
WU Yongbo, XUE Jianhui. Research advances about effects of enhanced UV-B radiation on plants[J]. World Forestry Research, 2004, 17(3): 29-31.
- [13] 熊福生, 高煜珠, 詹勇昌. 植物叶片蔗糖、淀粉积累与其降解酶活性关系研究[J]. 作物学报, 1994, 20(1): 52-58.  
XIONG Fusheng, GAO Yuzhu, ZHAN Yongchang. Relationship between leaf sucrose and starch content and their degradative enzymes activities in crop plants[J]. Acta Agronomica Sinica, 1994, 20(1): 52-58.
- [14] 施雯, 张汉波. 叶面微环境和微生物群落[J]. 微生物学通报, 2007, 34(4): 761-764.  
SHI Wen, ZHANG Hanbo. Characteristics of phyllosphere and epiphyte[J]. Microbiology, 2007, 34(4): 761-764.
- [15] 梁艳荣, 胡晓红, 姜伟, 等. 大葱生长发育过程中可溶性糖、可溶性蛋白质及游离氨基酸含量变化规律的研究[J]. 华北农学报, 2007, 22(6): 119-122.  
LIANG Yanrong, HU Xiaohong, JIANG Wei, et al. Studies on the dynamic changes of soluble sugar, soluble protein and free amino acid during growth and development of welsh onion (*Allium fistulosum* L.) [J]. Acta Agriculture Boreali-Sinica, 2007, 22(6): 119-122.
- [16] 李元, 杨济龙, 王勋陵, 等. 紫外辐射增加对春小麦根际土壤微生物种群数量的影响[J]. 中国环境科学, 1999, 19(2): 157-160.  
LI Yuan, YANG Jilong, WAN Xunling, et al. The effect of UV-B radiation on the population quantity of spring wheat rhizosphere microorganism[J]. China Environmental Science, 1999, 19(2): 157-160.
- [17] STAPLETON A E, WALBOT V. Flavonoids can protect maize DNA from the inducing of UV radiation damage [J]. Plant Physiology, 1994, 105: 881-889.
- [18] 王洪媛, 江晓路, 任虹, 等. 抗UV-B辐射菌紫外吸收代谢产物分析及其抗紫外辐射活性研究[J]. 中国海洋药物杂志, 2006, 25(4): 1-5.  
WANG Hongyuan, JIAN Xiaolu, REN Hong, et al. Analysis of the UV absorbing constituents of the metabolites from UV-B tolerance bacteria and study on its anti-ultraviolet mechanism[J]. China Journal Mar Drugs, 2006, 25(4): 1-5.

## Effects of UV-B radiation on quantity of epiphytic bacteria, endophytic bacteria and physiological mechanism of *Erigeron breviscapus*

XUAN Ling, HE Yongmei, ZHAN Fangdong, ZHANG Limei, ZU Yanqun, LI Yuan\*

College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

**Abstract:** Field studies were conducted for analyzing dominant populations, quantities of epiphytic bacteria and endophytic bacteria, and the contents of flavonoid, free amino acid, soluble portion, soluble sugar and starch of *Erigeron breviscapus* with enhanced ultraviolet-B radiation ( $5.0 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ ). The quantities of the epiphytic bacteria in leaf of seedling, root and leaf in flowering stages were decreased significantly with UV-B radiation ( $p < 0.01$ ), as well as in root and leaf of maturity stage ( $p < 0.05$ ). UV-B radiation significantly reduced the quantities of the endophytic bacteria in root and leaf of seedling, leaf and stem in flowering stages, whilst significantly increased in root of maturity stage. The dominant populations of epiphytic bacteria were *Bacillus* and *Erwinia*. The dominant population of endophytic bacteria was *Bacillus*. UV-B radiation decreased the amount of the dominant populations of epiphytic and endophytic bacteria. The quantities of epiphytic bacteria decreased due to changes of physiological metabolites with UV-B radiation. Significantly positive relationships were observed between the contents of free amino acid, soluble portion, soluble sugar and the quantity of epiphytic bacteria ( $p < 0.05$ ). UV-B radiation increased flavonoid contents in each parts of *Erigeron breviscapus*. Significant positive correlation was observed between flavonoid contents and the quantity of endophytic ( $p < 0.01$ ).

**Key words:** UV-B radiation; *Erigeron breviscapus*; epiphytic bacteria; endophytic bacteria; physiological indexes