

李孝凯, 沙 伟, 国春晖, 等. 低温胁迫对毛尖紫萼藓、东亚砂藓生理生化及光合特性的影响[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(10): 355–359.

# 低温胁迫对毛尖紫萼藓、东亚砂藓生理生化及光合特性的影响

李孝凯, 沙 伟, 国春晖, 张梅娟

(齐齐哈尔大学生命科学与农林学院, 黑龙江齐齐哈尔 161006)

**摘要:**研究低温胁迫对毛尖紫萼藓、东亚砂藓生理生化特性, 以及解除胁迫后生理生化和光合特性的影响。结果表明, 低温胁迫下, 2 种藓游离脯氨酸、可溶性糖含量显著上升;  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  处理下, 2 种藓可溶性蛋白含量显著下降, 其他低温胁迫下可溶性蛋白含量显著上升; 解除胁迫后, 随恢复时间的延长, 2 种藓可溶性糖、可溶性蛋白含量显著高于对照, 实际光化学量子产额、电子传递效率显著上升, 非光化学淬灭系数显著下降; 低温胁迫下, 2 种藓能通过渗透调节物质的积累来提高植物抗逆性从而适应低温; 在解除胁迫恢复过程中, 2 种藓类植物渗透调节物质及光合特性能够迅速恢复到正常生长状态, 说明极端低温并没有对 2 种藓造成不可恢复的伤害, 2 种藓类植物均能够适应极端低温。

**关键词:**毛尖紫萼藓; 东亚砂藓; 低温胁迫; 渗透调节; 光合特性

**中图分类号:** Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)10-0355-04

春旱、秋霜冻为我国北方地区的主要自然灾害, 这些灾害对植物生长、产量、分布起决定性作用, 因此低温已成为限制植物地理分布和植物产量的重要环境因素之一。植物抗寒性研究表明, 低温环境下植物的生理生化和光合特性最先受到影响, 植物在适应低温的过程中会积累渗透调节物质和调节光合特性<sup>[1]</sup>。植物生理生化及光合特性通常被作为衡量植物抗寒性的重要指标, 因此研究低温对植物生理生化及光合特性影响具有重要意义。苔藓植物隶属于高等植物中较为低等的类群, 是自然界的拓荒者之一, 是种数仅次于种子植物的高等植物, 全世界约有 23 000 多种苔藓植物, 我国已发现 2 200 多种, 占全世界的 9.1%<sup>[2]</sup>。在中国, 从年均气温低于  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  的极地到年均气温超过  $53\text{ }^{\circ}\text{C}$  的温泉都有苔藓植物分布, 由此可见, 苔藓植物在我国分布范围极其广泛, 由于很多种类的苔藓植物能够在极度低温和阳光直射的逆境环境下正常生长, 甚至寒温带仍有苔藓植物生长, 很多种类的苔藓植物往往被作为抗寒性研究材料<sup>[3]</sup>。黑龙江省五大连池风景区冬季严寒漫长, 夏季凉爽短暂, 年均气温  $-0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 最低气温为  $-42\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 毛尖紫萼藓 (*Grimmia pilifera*)、东亚砂藓 (*Racomitrium japonicum*) 2 种藓类植物在该条件下均能够正常生长, 因此其抗寒机制具有重要探索价值。目前, 植物抗寒性相关报道很多, 但鲜有这 2 种藓抗寒性相关研究。因此, 本研究通过人工模拟低温条件, 从渗透调节物质及光合特性等方面综合分析 2 种藓类植物的抗寒机制, 旨在为苔藓植物抗寒性研究提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

将采自黑龙江省五大连池风景区的已干燥毛尖紫萼藓、东亚砂藓清洗干净, 自然复水,  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  培养至材料达到自然生长状态。

### 1.2 处理

将正常生长的植物分别放在  $-80$ 、 $-40$ 、 $-20$ 、 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱中进行低温胁迫, 胁迫时间分别为 5、10、15、20、25、30 d, 取其茎尖部分, 每个处理 3 次重复, 测定相应生理指标。将不同温度胁迫 30 d 后的 2 种藓分别进行解冻恢复 5 d(R) 处理, 分别测定其生理指标及恢复过程中的光合特性变化, 以  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  正常生长植物作为对照(CK)。

### 1.3 方法

1.3.1 生理指标测定 脯氨酸含量的测定采用磺基水杨酸法<sup>[4]</sup>; 可溶性糖含量的测定采用蒽酮法<sup>[4]</sup>; 可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝 G250 染色法<sup>[4]</sup>。

1.3.2 光合指标测定 采用美国 Li-COR 公司生产的 Li-6400 便携式光合系统分析仪于 08:00 测定 2 种藓的实际光化学量子产额(Yield)、电子传递效率(ETR)、非光化学淬灭系数( $q_N$ )。每株植物测定 10 次。测定条件: 叶室温度控制在  $20\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 光强  $1\text{ mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ,  $\text{CO}_2$  浓度  $400\text{ }\mu\text{mol}/\text{mol}$ , 流速  $500\text{ }\mu\text{mol}/\text{s}$ 。

1.3.3 数据分析与处理 采用 Excel 2003 软件作图, 采用 SPSS 20.0 软件分析数据, 使用单因素方差分析检验试验处理对各项参数的影响。使用多重检验方法比较不同温度条件下的情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温胁迫下毛尖紫萼藓、东亚砂藓脯氨酸含量的变化

植物体内脯氨酸作为最重要的渗透调节物质之一, 在外界环境因子(如干旱、高盐、高温、低温等)胁迫时, 脯氨酸含

收稿日期: 2013-11-14

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31070180、31270254)。

作者简介: 李孝凯(1986—), 男, 黑龙江佳木斯人, 硕士研究生, 研究方向为植物遗传学。E-mail: 0751xx@163.com。

通信作者: 沙 伟, 教授, 研究方向为苔藓植物分子生物学和遗传学。E-mail: shw1129@263.net。

量均会升高,并积累在植物器官里<sup>[5-6]</sup>。由图 1 可以看出, -80~-4℃胁迫 30 d 后 2 种藓脯氨酸含量极显著高于对照 ( $P<0.01$ ), -80、-40、-20、4℃处理下,毛尖紫萼藓脯氨酸含量分别是对照的 288%、188%、195%、154%,东亚砂藓脯氨酸含量分别是对照的 419%、326%、292%、230%。随着胁迫温度下降,2 种藓脯氨酸含量急剧上升,并且东亚砂藓脯氨酸含量增幅较毛尖紫萼藓更大。2 种藓解除胁迫恢复 5 d 后脯氨酸含量下降,此时其含量仍显著高于对照 ( $P<0.05$ )。

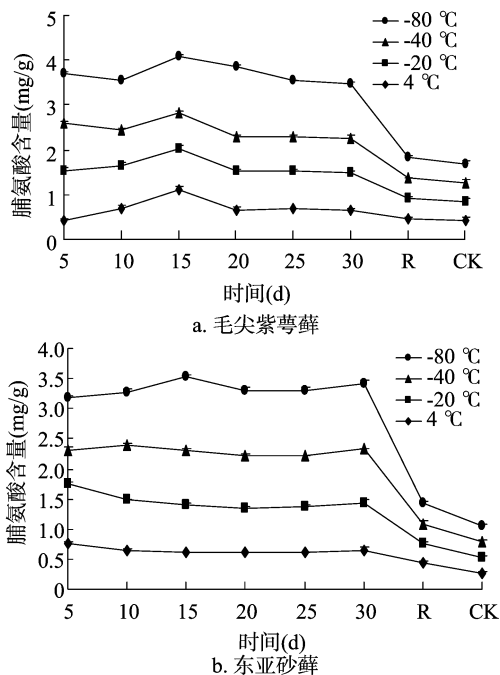


图1 低温胁迫对脯氨酸含量的影响

## 2.2 低温胁迫下毛尖紫萼藓、东亚砂藓可溶性糖含量变化

由图 2 可以看出,4、-20、-80℃胁迫下,毛尖紫萼藓、东亚砂藓可溶性糖含量极显著上升 ( $P<0.01$ ),胁迫 30 d 后,毛尖紫萼藓可溶性糖含量分别是对照的 118%、107%、153%,东亚砂藓可溶性糖含量分别是对照的 116%、141%、145%。-40℃胁迫下,2 种藓可溶性糖含量与对照差异不显著,可能是该温度能够激发 2 种藓其他渗透调节物质的积累,与可溶性糖产生协同作用抵御寒冷,使得该温度下 2 种藓可溶性糖含量与对照差异不显著。2 种藓在解除胁迫恢复过程中可溶性糖含量与对照差异不显著。

## 2.3 低温胁迫下毛尖紫萼藓、东亚砂藓可溶性蛋白含量变化

由图 3 可以看出,低温胁迫下,毛尖紫萼藓、东亚砂藓可溶性蛋白含量显著上升 ( $P<0.05$ )。4、-40、-80℃胁迫 30 d 后,毛尖紫萼藓可溶性蛋白含量分别是对照的 198%、107%、117%,东亚砂藓可溶性蛋白含量分别是对照的 122%、103%、105%。-20℃胁迫 30 d 后,2 种藓可溶性蛋白含量显著低于对照 ( $P<0.01$ ),毛尖紫萼藓、东亚砂藓可溶性蛋白含量分别是对照的 42%、47%,说明该温度下 2 种藓可溶性蛋白大量降解。解除胁迫恢复后,2 种藓可溶性蛋白含量显著高于对照 ( $P<0.05$ )。

## 2.4 低温复苏下毛尖紫萼藓、东亚砂藓实际光化学量子产额变化

正常生长植物在光合作用下 PS II 总的光化学量子产额

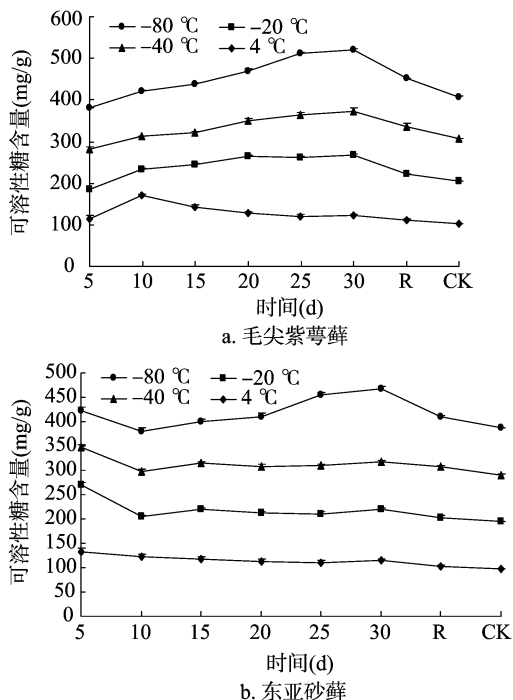


图2 低温胁迫对2种藓植物可溶性糖含量的影响

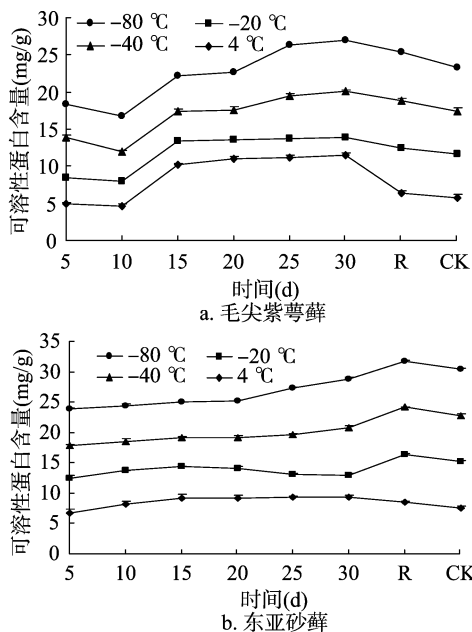


图3 低温胁迫对2种藓植物可溶性蛋白含量变化

被称为实际光化学量子产额 (Yield),它反映 PS II 反应中心在部分关闭情况下的实际原初光能捕获效率,Yield 数值大小能够反映植物光能转化效率<sup>[7]</sup>。由图 4 可以看出,随着胁迫处理时间延长,低温胁迫下 2 种藓在分别解除胁迫后 Yield 呈逐渐上升趋势,各处理间差异显著 ( $P<0.05$ ),在恢复 4 d 后与对照相比显著回升 ( $P<0.05$ )。-80、-40、-20、4℃处理下,解除胁迫恢复 4 d 后毛尖紫萼藓 Yield 分别是对照的 113%、114%、111%、117%;东亚砂藓 Yield 分别是对照的 103%、116%、108%、111%。2 种藓 Yield 在恢复过程中呈缓

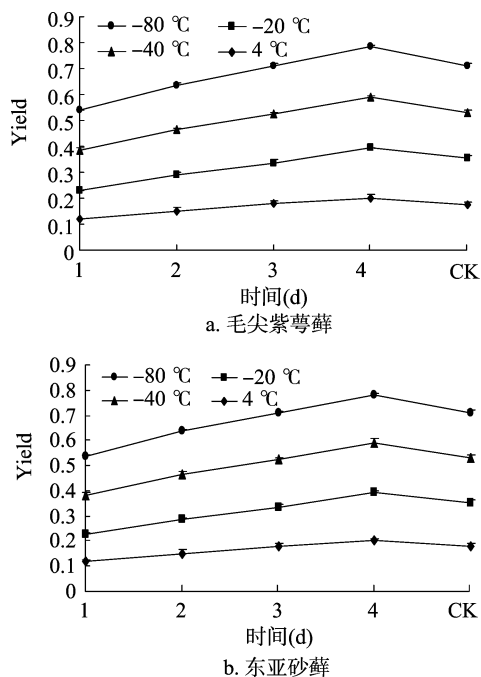


图4 低温复苏对2种藓类植物光化学量子产额的影响

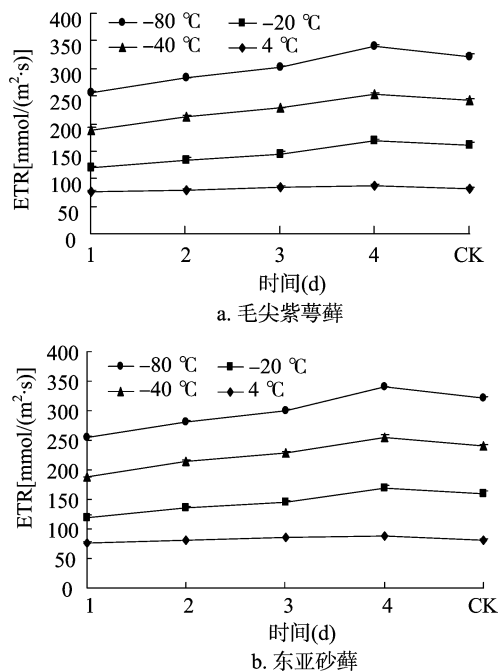


图5 低温复苏下对2种藓类植物光合电子传递效率的影响

慢上升,说明恢复过程中其光能转换能力逐渐提高。

#### 2.5 低温复苏下毛尖紫萼藓、东亚砂藓电子传递速率(ETR)变化

植物进行光合作用时其光合机构吸收光能,电荷分离产生的电子会沿着电子传递链向下传递,电子传递速率能够反映 PS II 反应中心的电子捕获效率<sup>[8]</sup>。由图 5 可以看出,解除低温胁迫后毛尖紫萼藓、东亚砂藓 ETR 与 Yield 变化规律基本一致,都随胁迫处理时间延长呈逐渐上升趋势,各处理间差异显著( $P < 0.05$ )。-80、-40、-20、4 °C 处理下,解除胁迫于室温 25 °C 下恢复 4 d 后毛尖紫萼藓 ETR 分别是对照的 106%、106%、102%、108%;东亚砂藓 ETR 分别是对照的 117%、118%、111%、117%。表明 2 种植物 PS II 反应中心的电子捕获效率在恢复过程中逐渐提高。

#### 2.6 低温复苏下毛尖紫萼藓、东亚砂藓非光化学淬灭系数( $q_N$ )变化

$q_N$  反映植物天然色素在光合作用下吸收的光能不能用于光合电子传递而以热形式耗散掉的部分光能,是 PS II 中重要的保护机制<sup>[9]</sup>。由图 6 可以看出,解除低温胁迫后毛尖紫萼藓、东亚砂藓  $q_N$  显著下降,各处理间差异显著( $P < 0.05$ )。-80、-40、-20、4 °C 处理下,解除胁迫于室温 25 °C 下恢复 4 d 后毛尖紫萼藓  $q_N$  分别是对照的 0.96%、0.41%、0.38%、0.90%;东亚砂藓  $q_N$  分别是对照的 0.26%、0.34%、0.91%、0.89%。说明 2 种藓随 PS II 中 ETR 的提高,能将更多吸收的光用于光合作用,使  $q_N$  逐渐下降。

### 3 结论与讨论

脯氨酸是植物体内重要的渗透调节物质之一,在低温环境下能提高胞内溶质浓度,降低细胞冰点,防止细胞过度脱水,降低低温对植物细胞造成的损伤。大量研究表明,脯氨酸与植物的抗寒性有一定相关性,且脯氨酸还是活性氧的清除

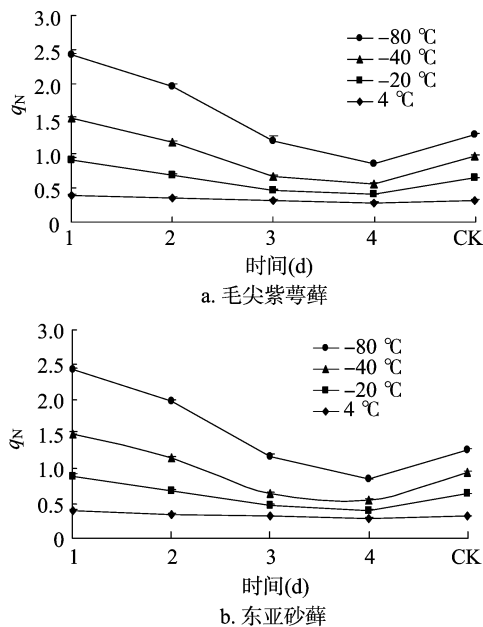


图6 低温复苏对2种藓类植物非光化学淬灭的影响

剂,能保护膜结构,防止膜脂过氧化<sup>[10-12]</sup>。本研究表明,2 种藓在不同温度胁迫下脯氨酸含量变化规律基本一致,随着胁迫时间延长,其含量呈急剧上升趋势,可见随着胁迫时间延长,2 种藓能够诱导脯氨酸合成,这可以说明脯氨酸参与了 2 种藓的生理代谢和能量代谢,其含量增加正是 2 种藓应对低温的生理响应。在低温胁迫的 15 d 内,2 种藓类植物脯氨酸含量出现了一些波动,这和一般植物在低温胁迫过程中的变化规律基本相似,说明在胁迫初期脯氨酸积极参与调节植物细胞之间渗透压平衡,防止细胞过度失水,减少低温对植物体的伤害,这与史玉炜等的研究结果<sup>[10]</sup>一致。胁迫后期,毛尖紫萼藓脯氨酸含量略有下降,但整个胁迫过程其含量均显著

高于对照,经分析发现随胁迫时间延长,2 种藓的抗氧化系统受到一定损伤,导致脯氨酸氧化分解。

可溶性糖、可溶性蛋白作为重要的渗透调节物质,在植物抗寒方面起重要调节作用<sup>[13-15]</sup>。植物体内可溶性糖含量的增加可以提高细胞液浓度,增强细胞保水能力,降低冰点,保持细胞液水溶状态,防止细胞受到低温损伤。同时在低温下,增加糖代谢能够为渗透调节提供碳骨架,以维持细胞结构和膜系统稳定,防止细胞溶解结晶<sup>[16-18]</sup>。植物体内的可溶性蛋白具有很强的亲水性,在低温下能够束缚大量水分,从而降低细胞结冰程度,但其结构和功能对外界环境变化很敏感<sup>[19]</sup>。本研究从可溶性糖和可溶性蛋白含量变化规律可以发现,4℃处理下,随着时间延长,2 种藓可溶性糖含量呈先上升后下降趋势,可溶性蛋白含量显著上升,说明该温度能激发 2 种藓的抗寒保护机制,但并没有对植物组织造成大的伤害。当温度降至 -20℃时,2 种藓可溶性糖含量急剧上升,而可溶性蛋白含量急剧下降且极显著低于对照,经分析发现,该温度下细胞内物质代谢可能发生紊乱,蛋白酶系统受到损伤,导致可溶性蛋白水解量大于合成量。当胁迫温度降至 -40℃时,2 种藓可溶性糖含量显著上升,可溶性蛋白含量呈先下降后上升的趋势,但在胁迫后期可溶性糖含量与对照基本持平,可溶性蛋白含量极显著高于对照,说明 2 种藓在大量积累可溶性糖的同时可能还诱导新的抗冻蛋白合成。当温度继续下降至 -80℃时,2 种藓可溶性糖、可溶性蛋白含量均急剧上升。说明该极端低温通过大量积累可溶性糖、可溶性蛋白来共同抵御寒冷。综上可知,不同低温胁迫下,2 种藓可溶性糖积极参与生理代谢,通过可溶性糖的大量积累防止极端温度下细胞内部结冰,维持细胞组织的水溶性,这与吴娜对卫矛科 3 种常绿阔叶植物的研究结论<sup>[20]</sup>一致。-20℃低温会造成 2 种藓可溶性蛋白降解,但当温度降至 -40、-80℃时,2 种藓可溶性蛋白含量极显著提高,说明极端低温能诱导新的抗冻蛋白的合成,极端低温下 2 种藓通过可溶性糖、可溶性蛋白的协同作用来抵御寒冷,-40℃很可能是这些抗冻蛋白合成的临界温度,其中 -80℃下可溶性蛋白大量积累,说明随温度的降低,这些抗冻蛋白合成量变大。笔者认为,可溶性蛋白含量变化对毛尖紫萼藓、东亚砂藓抗寒机制研究具有指导意义,也为以后苔藓植物抗寒性研究提供了理论基础。

目前,叶绿素荧光技术已成为研究非生物胁迫对植物光合作用影响的重要方法<sup>[21]</sup>。Yield、ETR、 $q_N$  等叶绿素荧光技术参数。如果植物不受非生物因素影响,Yield、ETR、 $q_N$  等叶绿素荧光技术参数一般不会发生大的波动。本研究表明,2 种藓在解除胁迫后 1 d,Yield、ETR 很低,说明在胁迫过程中光合机构受到一定破坏,造成 PS II 反应中心活性减弱。 $q_N$  则反映 PS II 天线色素吸收的光能没有被用于光合电子传递,而以热的形式被耗散掉,此时  $q_N$  极显著升高,以热的形式耗散掉过剩光能,从而保护光合电子传递链不被过剩光能破坏,维持相对较高的电子传递速率。而在解除胁迫 1~4 d,2 种藓的 Yield、ETR 变化规律整体保持一致,都呈显著上升趋势, $q_N$  极显著下降,说明 PS II 反应中心活性逐渐增强,这可能是 2 种藓在解除胁迫过程中脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白的大量积累保持了类囊体膜与细胞质膜的结构完整性与功能稳定性<sup>[22-23]</sup>,从而使 PS II 蛋白复合体能迅速恢复到正常功能,

PS II 反应中心受体侧的电子传递链以及反应中心均能得到快速而有效的恢复,提高实际光化学效率,减少过剩光的积累,其相应反应中心  $q_N$  逐渐下降<sup>[24]</sup>。

综上所述,2 种藓脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白含量的变化与抗寒性具有一定的相关性。在不同低温胁迫过程中,2 种藓均能通过渗透调节物质的积累来防止细胞膜脂的过氧化,维持细胞膜的完整性,保证细胞膜脂各项生理生化反应能够正常进行。低温胁迫过程中,这 3 种渗透调节物质含量的峰值出现在不同时间点,分析认为 3 种渗透调节物质在抵御寒冷过程中有一定的先后顺序,相互间通过协同作用来增强 2 种藓的抗寒保护机制。解除胁迫后,2 种藓渗透调节物质以及光合特性能够维持在可恢复状态。因此,毛尖紫萼藓、东亚砂藓能够通过渗透调节物质及光合特性调节来适应寒冷。

#### 参考文献:

- [1] 谢晓金. 南京地区引种常绿阔叶树种的抗寒性研究[D]. 南京: 南京农业大学,2005:28-46.
- [2] 吴玉环,程佳强,冯虎元,等. 耐旱藓类的抗旱生理及其机理研究[J]. 中国沙漠,2004,24(1):23-29.
- [3] 张 晗,高永超,沙 伟,等. 低温胁迫下紫萼藓科植物保护酶活性的变化[J]. 山东农业科学,2009(2):23-26.
- [4] 高峻风. 植物生理学实验技术[M]. 西安:世界图书出版社,2000:11-26.
- [5] Yancey P H, Clark M E, Hand S C, et al. Living with water stress: evolution of osmolyte systems[J]. Science,1982,217(4566):1214-1222.
- [6] Kuznetsov V V, Shevyakova N I. Stress responses of tobacco cells to high temperature and salinity: proline accumulation and phosphorylation of polypeptides[J]. Physiologia Plantarum,1997,100(2):320-326.
- [7] 李春霞,曹 慧. 干旱对苹果属植物叶绿素荧光参数的影响[J]. 安徽农业科学,2008,36(31):13536-13538.
- [8] 孙景宽,张文辉,陆兆华,等. 干旱胁迫下沙枣和孩儿拳头叶绿素荧光特性研究[J]. 植物研究,2009,29(2):216-223.
- [9] 周秀杰,赵红波,马成仓. 硅对严重干旱胁迫下黄瓜幼苗叶绿素荧光参数的影响[J]. 华北农学报,2007,22(5):79-81.
- [10] 史玉炜,王燕凌,李文兵,等. 水分胁迫对刚毛怪柳可溶性蛋白、可溶性糖和脯氨酸含量变化的影响[J]. 新疆农业大学学报,2007,30(2):5-8.
- [11] 陈 璇,李金耀,马 纪,等. 低温胁迫对春小麦和冬小麦叶片游离脯氨酸含量变化的影响[J]. 新疆农业科学,2007,44(5):553-556,封2.
- [12] Xin Z G, Li P H. Relationship between proline and ABA in the induction of chilling tolerance in maize suspension-cultured cells[J]. Plant Physiology,1993,103(2):603-617.
- [13] 曲昭琪,满秀玲,段亮亮. 低温胁迫对约书亚树幼苗叶片生理生化指标的影响[J]. 东北林业大学学报,2013,41(2):1-5.
- [14] 刘 彤,祝佳媛,李 鹏,等. 秋冬季自然降温过程中东北红豆杉幼苗的生理生化特性[J]. 北京林业大学学报,2013,35(2):51-56.
- [15] 杨凤翔,金 芳,颜 霞. 不同草莓品种抗寒性综合评价[J]. 果树学报,2010,27(3):368-372.
- [16] 陈 虎,何新华,李晓强,等. 低温胁迫对龙眼幼树抗寒性的影响[J]. 广西农业科学,2010,41(1):7-10.

司云龙,任丽丽,李玉玺,等.一株巨大芽孢杆菌 J1 的生胞培养及优化[J].江苏农业科学,2014,42(10):359-361.

# 一株巨大芽孢杆菌 J1 的生胞培养及优化

司云龙<sup>1</sup>,任丽丽<sup>1,2</sup>,李玉玺<sup>1,2</sup>,陈阳<sup>1</sup>

(1. 滨州学院生命科学系,山东滨州 256603; 2. 山东省黄河三角洲野生植物资源开发利用工程技术研究中心/滨州学院,山东滨州 256603)

**摘要:**以巨大芽孢杆菌 J1 为材料,利用溶磷圈法测定了菌株的解磷能力,优化了菌株的最佳发酵条件、最适培养基。结果表明,此菌株溶磷效果明显;此菌株生长的最适培养时间为 28 h,最适接种量为 6.7%,最适 pH 值为 8.5;最佳碳源为玉米粉与葡萄糖的复合碳源,最佳氮源为大豆粉与硫酸铵的复合氮源。摇瓶培养的接种量为 6.7%,pH 值为 8.5,250 mL 三角瓶中 最适装液体积为 30 mL,培养温度为 30 ℃,培养时间为 28 h,最适宜转速为 180 r/min 的摇瓶培养条件下,巨大芽孢杆菌活菌数各影响因素最佳组合为:玉米粉 20 g/L,葡萄糖 5 g/L,大豆粉 7.5 g/L,硫酸铵 0.33 g/L,各因子对巨大芽孢杆菌活菌数的影响由大到小依次为:硫酸铵浓度 > 玉米粉浓度 > 葡萄糖浓度 > 大豆粉浓度。

**关键词:**巨大芽孢杆菌;培养基;芽孢率;氮源;碳源;培养条件

**中图分类号:** S144.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)10-0359-03

植物生长发育过程中,磷元素以多种方式参与生物体内的代谢过程,是植物不可缺少的大量元素之一<sup>[1-2]</sup>。土壤中的磷元素主要以难溶磷酸盐的形式存在,可溶性磷含量很少。据统计,世界土壤的平均含磷量约为 0.04%,我国土壤的平均含磷量为 0.02%~0.1%,南方酸性土壤含磷量低于 0.04%<sup>[3-4]</sup>。研究发现,土壤中存在解磷微生物,它们能够将磷酸盐转化为可溶性磷供植物吸收利用,解磷菌还可以产生有机酸、生长素、抗生素等物质,刺激作物生长,抑制病原菌生长,改善土壤微环境,从而更有利于植物生长发育<sup>[5-9]</sup>。目前对磷细菌的研究仅局限于菌种分离选育及作用效果比较方面,对于影响磷细菌生长的因素研究较少<sup>[10-13]</sup>。微生物种类多样,发酵过程中受各种因素的影响,导致菌株发酵水平相对较低<sup>[14]</sup>。本试验探讨环境因素对巨大芽孢杆菌生长的影响,并在此基础上探讨该菌的最佳发酵条件,旨在为扩大巨大芽孢杆菌生产规模提供理论依据。

## 1 材料与方 法

收稿日期:2013-12-11

基金项目:国家级大学生创新创业训练计划(编号:201210449130)。

作者简介:司云龙(1990—),男,从事微生物肥料研究。E-mail: xiaosiwuqing@163.com。

通信作者:任丽丽,讲师,从事微生物肥料研究。E-mail: tutuya\_001g@163.com。

### 1.1 材 料

巨大芽孢杆菌 J1 由山东京博控股股份有限公司技术中心生物化工研究所提供。

### 1.2 培 养 基

摇瓶基础培养基:玉米粉 30 g,大豆粉 15 g,  $K_2HPO_4$  2.0 g,  $MgSO_4$  2.0 g,  $CaCO_3$  1.5 g,  $MnSO_4$  0.05 g,  $H_2O$  1 000 mL, pH 值为 7。平板培养基:蛋白胨 10 g,氯化钠 5.0 g,牛肉膏粉 3.0 g,琼脂 15 g,  $H_2O$  1 000 mL。蛋黄培养基:将 50% 的蛋黄液按照 6% 的比例加入平板培养基中。

### 1.3 方 法

1.3.1 巨大芽孢杆菌 J1 解磷效能测定 根据巨大芽孢杆菌 J1 在蛋黄培养基上形成的透明圈直径判断其解磷效能。

1.3.2 培养条件对巨大芽孢杆菌 J1 生长的影响

1.3.2.1 pH 值对巨大芽孢杆菌 J1 生长的影响 采用摇瓶基础培养基培养,分别于 pH 值为 5.5、6.5、7.5、8.5 情况下 180 r/min、30 ℃ 振荡培养 28 h 后进行平板计数。

1.3.2.2 培养时间对巨大芽孢杆菌 J1 生长的影响 采用摇瓶基础培养基培养,在 pH 值为 8.5、转速为 175 r/min、30 ℃ 下分别振荡培养 24、28、32、36 h 后进行计数。

1.3.2.3 接种量对巨大芽孢杆菌 J1 生长的影响 采用摇瓶基础培养基,在 pH 值为 8.5、转速为 180 r/min 条件下将接种量分别为 3.3%、6.7%、10.0% 的摇瓶置于振荡培养箱中 30 ℃ 培养 28 h 后进行计数。

[17] 邵文鹏. 几种常绿阔叶植物抗寒性研究[D]. 泰安:山东农业大学,2009:9-12.

[18] Wang X N, Chen S X, Heng Z, et al. Desiccation tolerance mechanism in resurrection fern - ally *Selaginella tamariscina* revealed by physiological and proteomic analysis[J]. American Chemical Society, 2010, 9(12): 6561-6577.

[19] 何云,李贤伟,李西,等. 2 种野生岩生植物叶片可溶性蛋白含量对低温胁迫的响应[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(18): 7552-7553.

[20] 吴娜. 卫矛属 3 种常绿阔叶树木抗寒性研究[D]. 保定:河北农业大学,2006:12-20.

[21] 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.

[22] Rhodes D, Hanson A D. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1993, 44(1): 357-384.

[23] Saneoka H, Nagasaka C, Hahn D T, et al. Salt tolerance of glycine-betaine - deficient and - containing maize lines[J]. Plant Physiology, 1995, 107(2): 631-638.

[24] 尹海龙,田长彦. 氮调控对盐环境下甜菜功能叶光系统 II 荧光特性的影响[J]. 植物生态学报, 2013, 37(2): 122-131.