

任建国,王 益,刘红美,等. 菌肥拌种对太子参生长及品质的影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(7):116-120.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.07.029

菌肥拌种对太子参生长及品质的影响

任建国¹,王 益²,刘红美¹,蔡 静¹,王俊丽²

(1. 贵州医科大学生物与工程学院/医药生物技术工程研究中心,贵州贵阳 550025;

2. 贵州医科大学公共卫生学院/环境污染与疾病监控教育部重点实验室,贵州贵阳 550025)

摘要:种植经多功能菌肥拌种处理的太子参种根,收获后分析太子参块根长度、生物量及主要品质指标,以研究其对太子参生长发育和品质的影响。结果表明,与未经菌肥处理的对照相比,菌肥处理过的太子参块根生物量明显增加;块根的氨基酸、皂苷含量及微量元素 Mn、Fe 含量分别增加 243.3%、119.8%、2.1% 和 13.1%,而多糖、环肽含量及微量元素 Cu、Zn 含量差异不大。多功能菌肥的施用能改善太子参块根的品质,提高其药用价值。

关键词:太子参;菌肥;品质;生物量

中图分类号:S567.5⁺30.6 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)07-0116-04

太子参 [*Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax] 为一种药食两用的中药材,含有多糖、环肽、氨基酸、皂苷、微量元素、挥发性成分等^[1],临床上用于治疗脾虚体倦、食欲不振、病后虚弱等症,而作为保健食品的有复方太子参颗粒、太子参口服液(太子宝)、什锦太子参酥脆和姜汁太子参酥等^[2]。菌肥是利用微生物的生命活动及代谢产物,为农作物提供营养元素、生长物质,以达到调控生长、提高产量、改善品质、减少化肥使用量及提高土壤肥力的目的。菌肥在作物上的应用较多,尤其是禾谷类作物,如水稻^[3]、小麦^[4-6]、玉米^[7]等,而在经济作物烟草、茶及中草药等^[8]上应用较少。左群等采用 L₉(3⁴) 正交试验研究不同菌肥[恩益碧(NEB)母液、重茬一号和形娇菌肥]、不同施用量和不同施用方式(拌种、拌肥和直接施肥)对连作太子参产量的影响,结果发现,菌肥的施用方式对太子参产量影响最明显,其次为施肥量^[9]。陆志平用由巴西固氮螺菌(*Azospirillum brasilense*)、解磷细菌(*Bacillus megaterium*)、钾细菌(*Bacillus mucilaginosus*)组成的复合菌剂增施于太子参种植中,结果发现,菌剂能够提高太子参产量,但因不同剂量基肥和追肥的施用其增产效果有所不同^[10]。上述所有文献都没有关于菌肥对太子参品质影响的相关研究报道,为此本试验就自制菌肥对太子参生长、品质的影响进行相关研究,以期对菌肥在太子参种植中的推广施用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料和试剂 自制太子参菌肥(未进行菌株鉴定):

收稿日期:2018-01-16

基金项目:国家自然科学基金(编号:31760604);贵州省自然科学基金[编号:黔科合J字(2013)2057号];贵州省中医药管理局基金(编号:QZY-2015-124);贵阳市科技局基金[编号:筑科合同(20151001)社20号]。

作者简介:任建国(1973—),男,内蒙古乌兰察布人,博士,副教授,主要从事应用微生物学研究。E-mail:jianguoren2002@126.com。

通信作者:王俊丽,博士,副教授,硕士生导师,主要从事环境科学研究。E-mail:wjlrg@126.com。

由促生菌 KTS-1-1(具有抗根腐病、解钾功能,用字母 A 代表)、TR-10J(具有溶磷功能)、ATS-1-1(具有固氮功能)、ATR-2-3(具有固氮功能)、PTS-2-1(具有溶磷功能)组成的菌液^[11];普通复合肥:西洋复合肥(贵州西洋肥业有限公司,总养分含量≥45%,氮:磷:钾=13:17:15);磷肥:钙镁磷(江西江磷磷肥有限公司,养分含量≥12%);钾肥:硫酸钾(江苏邳州苏北肥料有限公司,氧化钾含量≥50%);

试剂:人参皂苷 Rb₁,购自北京世纪奥科生物技术有限公司;L-亮氨酸、D-葡萄糖标准品,购自中国药品生物制品检定所;其他试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器 contrAA700 型火焰原子吸收光谱仪,德国耶拿公司;R-3 型旋转蒸发器,瑞士步琦公司;721 分光光度计,上海第三分析仪器厂。

1.2 方 法

1.2.1 菌肥施用及太子参生物性状测定 选取大小一致的健康种根作为种子进行种植,试验设置菌肥拌种(处理)和非拌种(对照)2种处理,于2016年1月在贵州省施秉县牛大场镇中药材种植基地进行。用 3 × 10⁸ CFU/mL 菌肥液喷湿种根表面,风干后再排种。每处理3次重复,小区面积为 10 m² (10 m × 1 m),共6个小区。种植条件与常规生产模式相同,施用基肥量为 300 kg/hm² 普通复合肥、750 kg/hm² 磷肥、150 kg/hm² 钾肥。各处理用 450 kg/hm² 复合肥按 1 kg:75 L 兑水成稀肥液浇施,作为追肥。试验期间其他管理条件相同。太子参收获后,测量太子参块根长度;将块根烘干至恒质量后测其干质量。

1.2.2 块根氨基酸含量测定 太子参收获后采取不同处理小区的块根样品混合后,用重蒸水冲洗干净,室温晾干后置于 60 °C 恒温干燥箱烘干至恒质量,研磨成粗粉后储存于干燥器内备用。块根氨基酸含量的测定参考文献[12]。取 1.0 g 块根粗粉置于 25 mL 大试管中,加入 20 mL 95% 的乙醇,密塞;将试管置于 70 °C 水浴锅中保温 30 min,随后取出 25 mL 大试管静置冷却至室温,最后定容至 25 mL;将上层清液用滤纸过滤,滤液即可用于测定氨基酸含量。每个处理重复 3 次。

取质量浓度为 0、1.5、10、15、20、25 μg/mL 的亮氨酸(选

取人体必须氨基酸之一的亮氨酸来表征块根中总氨基酸的相对含量)溶液 1 mL,分别加入 3 mL 0.1% 茚三酮试剂(0.1 g 茚三酮溶于 100 mL 95% 乙醇溶液)及 0.1 mL 0.1% 抗坏血酸,于沸水中保持 15 min,用 95% 乙醇补足失去的体积,于 580 nm 处测定吸光度后绘制标准曲线。

吸取样品滤液 1 mL,加入 3 mL 0.1% 茚三酮试剂及 0.1 mL 0.1% 抗坏血酸,于沸水中保持 15 min,用 95% 乙醇补足失去的体积,于 580 nm 处测定吸光度。根据样品的吸光度,从标准曲线上查得样品液氨基酸含量,然后根据下式计算块根氨基酸含量。

每克粗粉样品中氨基酸含量 = $(\rho \times V_1) / (m \times D_1)$ 。其中, ρ 为样品液中测得的氨基酸质量浓度, $\mu\text{g/mL}$; V_1 为提取液的体积,本试验为 25 mL; m 为粗粉质量, g; D_1 为粗粉中干物质含量, %。

1.2.3 块根多糖含量测定 块根多糖含量的测定参考文献[13],稍有改动。取 10 g 块根粗粉,置于 100 mL 圆底烧瓶中,加入 80 mL 80% 乙醇在 90 °C 下回流提取 5 次。药渣中加入 80 mL 蒸馏水在 90 °C 水浴锅中提取 1 h,趁热过滤,药渣加蒸馏水洗涤数次,洗液并入滤液,冷却后移入 100 mL 容量瓶中,最后用蒸馏水定容备用。每个处理重复 3 次。

取 2 mL 质量浓度分别为 0、8、16、24、32、40 $\mu\text{g/mL}$ 的葡萄糖溶液于各试管中,加入 1.0 mL 6% 苯酚试液摇匀,再迅速滴加浓硫酸 5.0 mL,摇匀后放置 5 min,再在沸水浴中加热 15 min,取出冷却至室温,于 490 nm 处测吸光度,绘制标准曲线。

吸取供试液 0.5 mL 置于具塞试管中,加入蒸馏水至 2.5 mL,另取 2.5 mL 蒸馏水作空白对照,各管均加入 1.0 mL 6% 苯酚试液摇匀,迅速滴加浓硫酸 5.0 mL,摇匀后静置 5 min,再置于沸水浴中加热 15 min,冷却至室温,于 490 nm 处测定吸光度,根据标准曲线可计算得供试液中葡萄糖的浓度,样品中多糖含量计算公式:多糖的含量 = $C \times D_2 \times f \times V_2 \div m_1 \times 100\%$ 。其中, m_1 为供试块根质量, μg ; C 为多糖稀释液中葡萄糖的浓度, $\mu\text{g/mL}$; D_2 为多糖的稀释因素(常数), V_2 为定容体积, mL; f 为换算因素,常数。

1.2.4 块根皂苷含量测定 块根皂苷提取及含量测定参考文献[14],稍有改动。精密称取太子参粗粉 2.0 g,加 20 mL 蒸馏水稀释,超声提取 30 min,缓缓加入乙醇,使含醇量达 70%;静置过夜,抽滤,减压浓缩至干,以 30 mL 蒸馏水溶解残渣,以 60 mL 水饱和的正丁醇分 3 次萃取,萃取液合并后再以 50 mL 正丁醇饱和的蒸馏水洗涤 1 次,减压浓缩至干,残渣以甲醇溶解并定容至 10 mL,即得待测的总皂苷甲醇溶液。每个处理重复 3 次。

取 100 °C 干燥至恒质量的人参皂苷 Rb_1 对照品 10 mg,置于 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度配成标准溶液。精密吸取标准液 10、20、40、80、160 μL ,分别置于 10 mL 具塞试管中,用微热风吹去溶剂,加 5% 香草醛冰醋酸溶液 0.2 mL、高氯酸(70% ~ 72%) 0.8 mL,混匀后密塞。置 60 °C 水浴中加热 15 min 后立即用流水冷却,加冰醋酸 5 mL,摇匀,与空白对照均于 560 nm 波长处测定吸光度,绘制标准曲线。

精密移取所得皂苷的甲醇溶液 50 μL ,置于 10 mL 具塞

试管中,用水浴锅加热除去溶剂,加 5% 香草醛冰醋酸溶液 0.2 mL、高氯酸(70% ~ 72%) 0.8 mL,混匀并密塞。置 60 °C 水浴中加热 15 min 后立即用流水冷却,加冰醋酸 5 mL,摇匀,与空白对照均于 560 nm 波长处测定吸光度,由标准曲线可得试液中总皂苷的浓度,再计算样品中皂苷的含量。

1.2.5 块根环肽含量测定 块根环肽提取参考文献[15],稍有改动。称取 1.0 g 干燥粉末样品,用 50 mL 甲醇超声提取 45 min,过滤,滤液经旋转蒸发仪浓缩至干,用甲醇溶解定容至 10 mL 容量瓶中,使用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取滤液作为供试样品溶液。

分别取浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 的亮氨酸标准品 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 25 mL 的具塞比色管中,加入 1 mL pH 值为 6.8 的磷酸缓冲液和 1 mL 茚三酮显色剂(0.02 g/mL),于沸水中水浴 15 min,取出置冷水中水浴 15 min,加入 5 mL 的碘酸钾(2 g/L),用蒸馏水定容至 10 mL,摇匀。在 576 nm 波长下测定吸光度,得到标准曲线。

环肽含量的测定参考文献[16],稍有改动。分别吸取 6 个 250 μL 的供试样品溶液,向其中 3 个样品溶液中加入 4 mL 1.2 mol/L 的 HCl,另 3 个中加入等量的蒸馏水,于 90 °C 水解 2 h,取出后用 2 mol/L 的 NaOH 中和加 HCl 的溶液至 pH 值在 5 ~ 7 之间,然后用蒸馏水定容至 10 mL,摇匀后取 1 mL 于 25 mL 的比色管中,加入 1 mL pH 值为 6.8 的磷缓冲酸液和 1 mL 茚三酮显色剂(0.02 g/mL),于沸水中水浴 15 min,取出置冷水中水浴 15 min,加入 5 mL 的碘酸钾(2 g/L),用蒸馏水定容至 10 mL,在 576 nm 波长下测定吸光度,通过标准曲线得酸解后样品溶液中亮氨酸浓度,减去未经酸解(蒸馏水)亮氨酸浓度即可得经环肽水解释放出亮氨酸的量(间接反应环肽含量),再通过换算获得块根中环肽(亮氨酸)含量的大小。

1.2.6 块根微量元素含量测定 块根中 Zn、Fe、Cu、Mn 含量测定参考文献[17],稍有改动。称取 4 份样品各 0.100 0 g,置于 50 mL 烧杯中,加 6 mL HNO_3 和 2 mL H_2O_2 放置过夜,于微波消解仪中消解,用蒸馏水清洗消解管,待冷却至室温后用蒸馏水定容至 10 mL 待分析用。采用标准曲线法分别测定 Zn、Fe、Cu、Mn 元素含量,在优化工作条件^[17]下对样品进行测定。由标准曲线可得分析液中微量元素的浓度,再换算出样品中微量元素的含量。

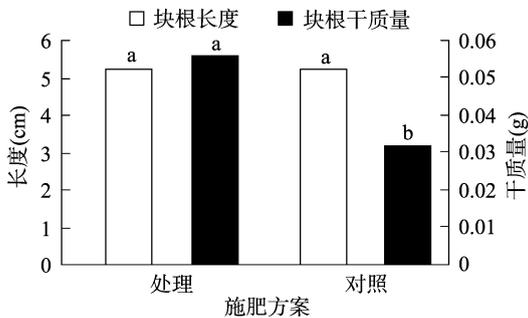
1.3 数据统计方法

采用 Excel 2007、SAS 8.1 软件对本试验数据进行分析统计。

2 结果与分析

2.1 菌肥对太子参生物性状的影响

由图 1 可知,经菌肥拌种处理(处理)的块根平均长度与未经菌肥处理(对照)的块根平均长度差异不显著,但在单个块根干质量方面,处理显著高于对照表明,菌肥与化肥配施能增加单个块根产量,有明显的增产作用,这与张礼维等的研究结果^[18-19]相似。另外,本试验结果也表明,处理与对照在单个块根质量上的差异与菌肥拌种所起的作用相关。本试验结果可为降低化学肥料污染、保证农业可持续生产提供实践方案。



柱上不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同

图1 不同施肥方案对太子参块根生物性状的影响

2.2 菌肥对块根氨基酸含量的影响

由图2可知,处理和对照块根中氨基酸含量分别为18.24、5.31 mg/g,处理氨基酸含量约是对照的3.4倍,显著高于对照;表明菌肥拌种处理能提高太子参块根氨基酸含量。张桂华等用988生物菌肥拌种处理玉米鲁原单22和登海11,与未经拌种处理的玉米相比,其产量以及赖氨酸、粗蛋白、粗淀粉、粗脂肪含量均有增加^[20]。左焯研究发现,菌肥与化肥配施对大棚辣椒产量和品质[氨基酸、维生素C含量]提高效果明显^[21]。本试验与上述试验均表明,菌肥能改善作物产量和品质。

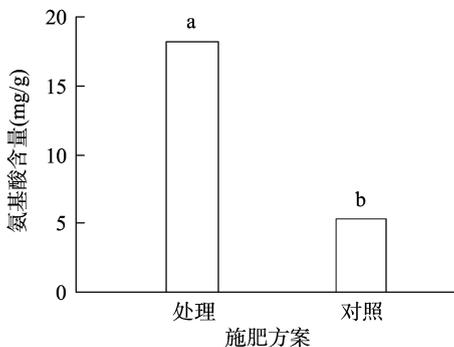


图2 不同施肥方案对太子参块根氨基酸含量的影响

2.3 菌肥对块根多糖含量的影响

由图3可知,处理和对照块根的多糖含量分别为8.31%、8.01%,处理的含量稍高于对照。田雪莲等的研究表明,与使用化肥相比,微生物菌肥+化肥混施能提高番茄产量以及果实总糖含量,而株高、开展度、茎粗、维生素C含量、可溶性固性物含量、番茄红素含量等指标基本没有改变^[22],本试验在太子参块根产量、糖含量方面的试验结果与之相似,进而说明微生物菌肥在改善植物产量和品质方面有正向的作用。

2.4 菌肥对块根皂苷含量影响

由图4可知,处理和对照块根中皂苷含量分别为2.22%、1.01%,两者含量间存在显著差异。前人的研究表明,耕作制度、施肥类型^[23]、氮磷钾(NPK)肥料用量^[24]等都会影响植物体内皂苷的含量,而本试验则发现,菌肥的施用有助于提高常规施肥水平下太子参块根皂苷的含量,这可为太子参优质生产提供合理的栽培管理技术。

2.5 菌肥对块根环肽含量的影响

由图5可知,处理和对照块根中环肽(亮氨酸)含量分别

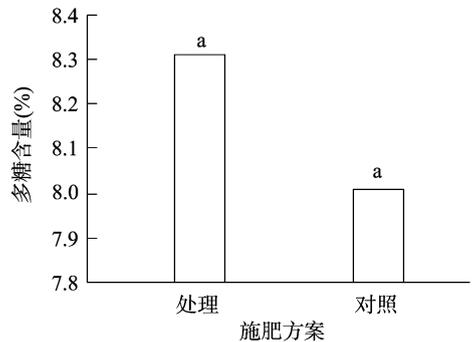


图3 不同施肥方案对太子参块根多糖含量的影响

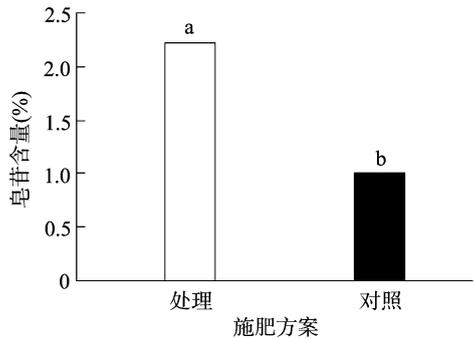


图4 不同施肥方案对太子参块根皂苷含量的影响

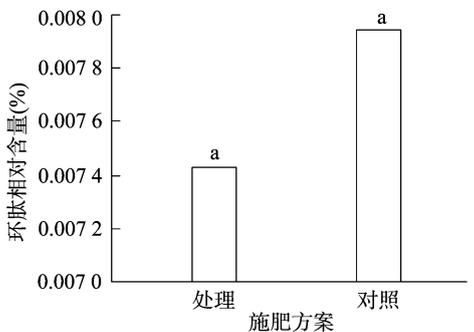


图5 不同施肥方案对太子参块根环肽相对含量的影响

为0.00743%、0.00795%,处理的环肽(亮氨酸)含量略低于对照。表明微生物菌肥的施用并不一定有助于植物特定化学成分含量的提高,这与Kandeel等的研究结果^[25]相似。

2.6 菌肥对块根微量元素含量的影响

表1表明,处理的微量元素Mn、Fe含量显著高于对照,而二者Cu、Zn的含量差异不显著,说明菌肥处理对太子参块根中微量元素Mn、Fe的含量有提升作用。Yildirim等联合应用根际促生菌和氮肥来研究其对结球甘蓝(*Brassica oleracea* var. *capitata* L.)生长、产量和化学组分的影响,结果表明,与未施用微生物的对照相比,促生菌的施用(浸种或幼苗沾根)对植株生长、产量以及体内营养元素N、Na、K、Ca、Mg、P、Fe、Cu、M、Zn的含量增加均有促进作用,这种促进作用因营养元素和促生菌施用方法的不同而有所不同,一般来说,通过促生菌幼苗沾根处理的植株叶片营养元素含量大于浸种处理,而Cu、Zn则通过浸种处理获得最大含量,Mn含量则表现为由于促生菌的处理而下降^[26]。本试验所得到的太子参块根Mn、Cu、Zn含量变动情况与之不同,其原因可能与施用的促生菌种类、植物种类、化学肥料等多个因素有关。

表1 不同施肥方案对太子参块根微量元素含量的影响

施肥方案	微量元素含量($\mu\text{g/g}$)			
	Mn	Fe	Cu	Zn
对照	51.04 ± 0.30	781.15 ± 0.36	62.95 ± 0.33	46.86 ± 0.26
处理	52.10 ± 0.51*	883.81 ± 0.09*	62.58 ± 0.57	46.87 ± 0.29

注: *表示差异显著($P < 0.05$)。

3 结论与讨论

本试验结果表明,在太子参常规种植中(施用化学肥料),增加菌肥拌种处理措施不仅能提高太子参生物量,还对太子参品质(氨基酸、皂苷、多糖含量及微量元素 Mn、Fe 含量)有改善作用,这与黄冬寿在太子参上施用菌肥的研究结果^[27]相似。除此之外,菌肥的拌种增产效果在其他作物,如小麦^[28]、青稞以及豌豆等^[29]上均有报道。在所有这些研究报告中,菌肥拌种对植物产生的促生作用与菌肥功能微生物在土壤地力和肥料养分利用率方面的改善是分不开的^[30]。而本试验结果显示的菌肥促生功能,与菌肥中不同功能微生物的固氮、溶磷、解钾、抑制太子参根腐病原菌的作用^[11]密不可分。

菌肥的增施不但能稳定植物产量,且对植物品质也产生一定的影响。如木霉属(*Trichoderma*)菌肥与适当比例的 N、P、K 复合肥配合施用能获得高于单施 N、P、K 复合肥的番茄产量,且使果实品质(全糖、维生素 C、 β -胡萝卜素、番茄红素等含量)有所改善^[31]。而范新翔等的研究表明,菌肥拌种不仅能促进辣椒和小白菜植株生长、根系发达、根茎加粗、分枝数增加、开花提前和花蕾数增多等,而且对提高产量和改善品质也有明显效果^[32]。Su 等对经过印度梨形孢(*Piriformospora indica*)处理的欧洲油菜(*Brassica napus* L.)植株的品质相关指标进行测定,结果表明,印度梨形孢能增加 N、Ca、Mg、P、K、S、B、Fe、Zn 元素的含量,但降低芥子酸、芥子油甙的含量,进一步的实时定量 PCR 分析结果表明,与芥子酸合成相关的 2 个代谢酶基因 *Bn-FAEI* 和 *BnECR* 的表达量下调^[33]。在本试验中,菌肥拌种对太子参品质有改善作用,可提高太子参块根氨基酸、多糖、皂苷、Mn、Fe 含量,但其具体的作用机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 马迎莉,王晓容,邹慧超,等. 药用植物太子参化学成分研究进展[J]. 安徽农业大学学报,2016,43(5):827-833.
- [2] 陈家从. 太子参食用开发研究与展望[J]. 中国食物与营养,2011,17(3):72-74.
- [3] 鲁杰,刘宝忠,周传远,等. 生物有机菌肥对水稻产量及稻米品质的影响[J]. 中国农学通报,2009,25(6):146-150.
- [4] 魏峰,侯祥保,魏琳娜. 几种微生物肥料在小麦上的施用效果[J]. 安徽农业科学,2002,30(1):90,112.
- [5] Öğüt M, Er F, Neumann G. Increased proton extrusion of wheat roots by inoculation with phosphorus solubilising microorganisms[J]. Plant and Soil,2011,339(1/2):285-297.
- [6] 刘生战. 艾力特生物菌肥与氮磷化肥配施对春小麦产量的影响[J]. 甘肃农业科技,2003,41(5):41.
- [7] 陈爱梅,李世民,阎兴泉,等. 几种微生物肥料在玉米上应用效果对比试验[J]. 现代化农业,2005,27(5):133-135.
- [8] 邵秀丽. 复合微生物菌剂制备及在大蒜生产中的应用[D]. 郑州:河南农业大学,2010:8-11.
- [9] 左群,李琳琪,郑桂云,等. 微生物菌肥对贵州黔东南连作太子参产量的影响[J]. 安徽农业科学,2013,41(19):8145,8222.
- [10] 陆志平. 太子参施用生物菌肥效果初探[J]. 亚热带农业研究,2009,5(1):26-30.
- [11] 欧阳桂炉,任建国,王俊丽,等. 太子参根际促生菌组合对间作玉米种子活力及幼苗生长的影响[J]. 种子,2015,34(2):46-51.
- [12] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 2版. 北京:高等教育出版社,1990:172-175.
- [13] 闫亮,秦民坚,贺定翔,等. 太子参多糖及皂苷的积累动态研究[J]. 现代中药研究与实践,2005,19(6):10-13.
- [14] 许茜,王红芳,周小羽. 太子参皂苷提取工艺优选[J]. 中草药,2001,32(9):799-800.
- [15] 王晓阁,龙全江,赵悦,等. 产地不同加工方法对太子参药材中太子参环肽 B 含量的影响[J]. 甘肃中医药大学学报,2016,33(3):45-49.
- [16] 刘彩霞,呼亚旭,李明静,等. 怀山药中总环肽含量的测定[C]. 《中国中药杂志》第九届编委会暨中药新药研发理论与技术创新论坛论文集,2009:363-364.
- [17] 胡彩虹,唐思群,刘茜,等. 4 种解表类中药材中微量元素含量的测定[J]. 园艺与种苗,2013,33(6):23-25.
- [18] 张礼维,韦鑫,王秀云,等. 不同施肥处理对太子参生长、根腐病发生及产量的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):236-238.
- [19] Soleymanifard A, Sidat S A. Effect of inoculation with bio-fertilizer in different nitrogen levels on yield and yields components of safflower under dry land conditions [J]. American - Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science,2011,11(4):473-477.
- [20] 张桂华,赵中亭,樊廷安. 988 生物菌肥对夏玉米生长、产量及品质的影响[J]. 山东农业科学,2010,48(7):68-69.
- [21] 左焯. 不同生物菌肥对大棚辣椒产量及品质的影响[J]. 农业科技与信息,2016,33(7):84-86.
- [22] 田雪莲,尹显慧,龙友华,等. 不同肥料处理对番茄产量、品质及经济效益的影响[J]. 北方园艺,2015,39(23):178-181.
- [23] Bilalis D, Kakabouki I, Karkanis A, et al. Seed and saponin production of organic quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) for different tillage and fertilization [J]. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj - Napoca,2012,40(1):42-46.
- [24] Rivai R R, Wardani F F, Zukarnaen R N. The effect of NPK fertilizer and planting media on plant growth and saponin content of the medicinal plant *Anchomanes difformis* [J]. Nusantara Bioscience,2017,9(2):141-145.
- [25] Kandeel A, Naglaa S, Sadek A. Effect of bio-fertilizers on the growth, volatile oil yield and chemical composition of *Ocimum Basilicum* L. plant[J]. Annals of Agricultural Science,2002,47

赵贇鑫,张欢,张颜青,等. 生长调节剂对红豆杉内生真菌产紫杉醇的影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(7):120-123.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.07.030

生长调节剂对红豆杉内生真菌产紫杉醇的影响

赵贇鑫¹, 张欢², 张颜青¹, 吴永波¹, 刘婷¹, 陈旺³

(1. 汉中植物研究所, 陕西汉中 723000; 2. 陕西省汉中市环境监测中心站, 陕西汉中 723000;

3. 陕西理工大学生物科学与工程学院, 陕西汉中 723000)

摘要:根据紫杉醇的结构特点和红豆杉中紫杉醇的合成机制,选取4种生长调节剂,研究其对红豆杉内生真菌合成紫杉醇的影响。结果表明,在发酵过程的第10天,补加下列任一生长调节剂,使发酵液中初始浓度分别达到水杨酸20.0 mg/L,茉莉酸甲酯100.0 μmol/L,赤霉素2.0 mg/L,矮壮素2.0 mg/L,均能提高紫杉醇产量。同时,在发酵过程的第10天补加蔗糖,在含量不高于15 g/L时,对紫杉醇的积累和菌丝体生长具有促进作用,但是高于此浓度时,菌丝体生长受抑制,紫杉醇含量降低。

关键词:红豆杉;紫杉醇;内生真菌;生长调节剂

中图分类号: Q939.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)07-0120-04

近年来,红豆杉产紫杉醇的研究进展很快,国内外利用内生真菌产紫杉醇的研究报道逐渐增多,目前内生真菌产紫杉醇的含量普遍偏低,国内外学者也正在不断探索能够提高内生真菌产紫杉醇产量的途径^[1-2]。

诱导子是一种能诱导植物细胞中一种或多种反应并形成特征性自身防御反应的分子,是能够引起植物过敏反应的物质,其在与植物的相互作用中,能够快速、高度专一和选择性地活化植物次级代谢途径中特定酶的基因或改变次级代谢途径中催化酶的酶活力,诱导植物形成新酶,进而活化特定次级代谢途径,引起反应速率和次级代谢途径通量的改变,从而积累特定目的次级的代谢物,因此可以利用诱导子来提高植物次级代谢产物的产量^[3]。

紫杉醇是红豆杉属植物及其内生真菌产生的次级代谢产物,非生物或生物诱导子可诱导细胞产生抗逆反应,启动次级

代谢途径,进而合成大量的紫杉醇。通常,诱导子对红豆杉细胞的生长均有抑制作用,因而添加时间、添加浓度对诱导子作用的最终效果非常关键^[4]。添加代谢抑制剂,以抑制一些与紫杉醇生物合成无关的次级代谢途径为目的,通过添加某些代谢旁路抑制剂,将细胞的物质和能量导向紫杉醇生物合成途径,从而提高紫杉醇的产量。当然,代谢抑制剂也存在一个最佳添加浓度和最佳添加时间^[5]。

大量研究表明,在对数生长末期添加前体物质、诱导子及代谢抑制剂的效果最好,因为此时细胞已得到较好的增殖,而且在此阶段,植物细胞接受生长调节物质的信号能力最强^[6]。

作者采用课题组自行分离的紫杉醇高产菌株绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*) LB-10^[7],在对其培养基组成和配比^[8]、发酵条件研究^[9]的基础上,根据紫杉醇的结构特点和红豆杉中紫杉醇的合成机制,选取4种生长调节剂,研究其对红豆杉内生真菌合成紫杉醇的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 红豆杉内生真菌 *Metarhizium anisopliae* LB-10 是分离自陕西省汉中市留坝县野生红豆杉的高产紫杉醇内生真菌。

(1):351-371.

[26] Yildirim E, Turan M, Dursun A, et al. Integrated use of nitrogen fertilization and microbial inoculation: change in the growth and chemical composition of white cabbage[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2016, 47(19):2245-2260.

[27] 黄冬寿. 太子参施用生物菌肥的效果[J]. 农技服务, 2009, 26(6):36, 42.

[28] 张睿, 刘党校, 刘新伦. 不同肥力水平下小麦用生物菌肥拌种效果研究[J]. 西北农业学报, 2002, 11(1):109-111.

[29] 贺诚, 李娟萍, 谢冬梅. 复合菌肥拌种效果试验[J]. 青海农技推广, 2001, 16(1):58.

[30] Vessey J K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer [J]. Plant and Soil, 2003, 255(2):571-586.

[31] Molla A H, Haque M M, Haque M A, et al. Trichoderma-enriched biofertilizer enhances production and nutritional quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and minimizes NPK fertilizer use [J]. Agricultural Research, 2012, 1(3):265-272.

[32] 范新翔, 杨健. 菌肥拌种对蔬菜幼苗素质影响的比较[J]. 安徽农学通报, 2005, 11(4):124.

[33] Su Z Z, Wang T, Shrivastava N, et al. *Piriformospora indica* promotes growth, seed yield and quality of *Brassica napus* L. [J]. Microbiological Research, 2017, 199(2):29-39.