

基于生物量和活性成分的滇重楼幼苗优良菌根真菌筛选

张杰¹, 周浓^{1,2}, 潘兴娇², 郭冬琴¹, 丁博¹, 王琳², 杨敏², 朱利¹, 张华^{1*}

1. 重庆三峡学院生物与食品工程学院, 三峡库区道地药材绿色种植与深加工重庆市工程实验室, 重庆 404120

2. 大理大学药学与化学学院, 云南 大理 671000

摘要:目的 以菌根生活力、根茎生物量和活性成分为指标, 筛选适宜滇重楼幼苗生长发育的优良丛枝菌根(arbuscular mycorrhizal, AM)真菌。方法 以灭菌土壤为生长基质, 采用室温盆栽试验, 研究接种28种外源性AM真菌对滇重楼幼苗菌根生活力、根茎生物量和重楼皂苷产量(单株幼苗所含的重楼皂苷量、重楼皂苷含量与幼苗生物量的乘积)、根茎重楼皂苷与核苷含量的影响。结果 接种的28种AM真菌与滇重楼幼苗均形成了共生体系并且发育良好, 并能提高滇重楼幼苗菌根生活力, 但具有偏好性。大多数AM真菌处理组能提高滇重楼根茎生物量, 促进了滇重楼幼苗重楼皂苷和重楼核苷的积累, 表现为重楼皂苷含量和产量的提高。菌根形成对滇重楼幼苗次生代谢的影响还表现在重楼皂苷和重楼核苷的器官分配上, 菌根化滇重楼幼苗须根中4种重楼皂苷总量具有高于根茎的趋势, 而根茎中9种核苷总量明显高于须根。结论 本研究中不同AM菌株的表现, 对进一步提高滇重楼幼苗生物量和品质的菌株筛选具有重要的借鉴作用, 巨大巨孢囊霉 *Gigaspora gigantea*、美丽盾巨孢囊霉 *Scutellospora calospora*、沾屑多孢囊霉 *Diversispora spurca*、异配盾孢囊霉 *Dentiscutata heterogama*、沙荒球囊霉 *Septoglomus deserticola*、薄壁两性囊霉 *Ambispora leptoticha* 可望能作为培育滇重楼菌根化苗的理想菌株。

关键词: 滇重楼; AM真菌; 生物量; 次生代谢; 重楼皂苷; 核苷

中图分类号: R282.21

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2018)08-1897-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.08.025

Screening of preponderant arbuscular mycorrhizal fungi species from *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings based on biomass and active components

ZHANG Jie¹, ZHOU Nong^{1,2}, PAN Xing-jiao², GUO Dong-qin¹, DING Bo¹, WANG Lin², YANG Min², ZHU Li¹, ZHANG Hua¹

1. College of Biology and Food Engineering, Chongqing Engineering Laboratory for Green Cultivation and Deep Processing of Three Gorges Reservoir Area's Medicinal Herbs, Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404120, China

2. College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali 671000, China

Abstract: Objective To screen preponderant arbuscular mycorrhizal (AM) fungi species from *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings based on mycorrhiza viability, rhizome biomass, and active components. **Methods** After 28 exogenous species of AM fungi were inoculated in sterilized soil, the effects of the mycorrhiza viability of seedling, the biomass in rhizome, the total amount of polyphyllins in single whole seedling, the amount of polyphyllins in rhizome, and the amount of nucleosides in rhizome of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* were observed by inoculation test in pot at room temperature. **Results** All the 28 AM groups formed well mycorrhizal structure, the mycorrhiza viability of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedling was enhanced, but it showed preference. Most of the AM treatment groups could improve the biomass in rhizome, the contents and yields of polyphyllins increased, which implied that the accumulation of polyphyllins and nucleosides in *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedling were enhanced after inoculation. AM also changed polyphyllins and nucleosides allocation in different organs of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedling in the secondary metabolism, the total amount of four kinds of polyphyllins in rootlet were higher than those in rhizome, but the total amount of nine kinds of nucleosides in rhizome were higher than rootlet. **Conclusion** The performance of different AM strains in this study is of great reference for further improving the biological quantity and quality of the screening of preponderant AM fungi species from *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings. *Gigaspora gigantea*, *Scutellospora calospora*, *Diversispora spurca*, *Dentiscutata heterogama*, *Septoglomus deserticola*, and *Ambispora leptoticha* can use as the preponderant AM fungi species for the cultivation of mycorrhizal seedlings of *P. polyphylla* var. *yunnanensis*.

Key words: *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz.; AM fungi; biomass; secondary metabolism; polyphyllins; nucleosides

收稿日期: 2017-08-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81260622); 重庆市教委科学技术研究资助项目(KJ1601007); 重庆市基础与前沿研究计划项目(cstc2016jcyjA0555)

作者简介: 张杰(1991—), 女, 在读硕士生, 研究方向为药用植物栽培与生态环境调控。Tel: (023)58102522 E-mail: 806202815@qq.com

*通信作者 张华, 女, 讲师, 主要从事药用植物功能研究与开发。Tel: (023)58102522 E-mail: zhanghua03129@163.com

滇重楼 *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz. 是百合科 (Liliaceae) 重楼属 *Paris* L. 多年生草本药用植物, 是我国西部地区药用植物中占据产业化利用主导地位 and 全局影响力的二级濒危药材^[1-2]。滇重楼以根茎入药, 具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊之功效^[2], 是云南白药、宫血宁、热毒清、季德胜蛇药等众多著名中成药的主要原料^[3]。以往研究者对滇重楼种苗繁育多集中在不同温度、播种方式、激素和超声波处理等非生物因子方面^[4-5], 对生物因子的关注相对薄弱^[6]。

丛枝菌根 (arbuscular mycorrhizal, AM) 是普遍存在的一种重要的药用植物根系与土壤菌根真菌的互惠共生体, 对提高药用植物产量^[7]和改善品质 (次生代谢产物)^[8-9]的作用显著。已有研究表明, 多种 AM 真菌均可以促进滇重楼成年植株根茎次生代谢产物的形成, 且不同 AM 真菌对滇重楼根茎中不同甾体皂苷的影响不尽相同^[8-9]。以上研究均为菌根真菌对滇重楼成年植株活性成分影响的研究, 目前未见幼苗共生培养的相关报道。本研究在前期工作^[8-9]的基础上, 利用已分离获得的 28 株菌根真菌, 通过与滇重楼无菌播种幼苗进行共生培养, 比较不同 AM 真菌对滇重楼种子萌发及幼苗化学成分影响的差异, 以期筛选出能促进滇重楼幼苗生长的有效共生真菌, 为滇重楼开发利用及菌根化栽培提供理论依据和技术支撑。

1 材料

1.1 AM 真菌

Gigaspora albida (Ga)、*G. decipiens* (Gd)、*G. gigantea* (Gg)、*G. margarita* (Gm)、*G. rosea* (Gr)、*Scutellospora calospora* (Sca)、*S. dipurpurascens* (Sdi)、*S. pellucida* (Spe)、*Dentiscutata heterogama* (Dh)、*Racocetra coralloidea* (Rco)、*R. fulgida* (Rfu)、*Septoglomus deserticola* (Sde)、*S. viscosum* (Svi)、*Funneliformis mosseae* (Fm)、*Claroideoglomus claroideum* (Cc)、*Rhizophagus clarus* (Rcl)、*R. intraradices* (Rin)、*Acaulospora foreata* (Afo)、*A. koskei* (Ako)、*A. scrobiculata* (Asc)、*A. spinosa* (Asp)、*Diversispora eburnea* (De)、*D. spurca* (Ds)、*Entrophospora colombiana* (Ec)、*Paraglomus brasilianum* (Pb)、*P. occultum* (Po)、*Ambispora leptoticha* (Ale)、*Archaeospora trappei* (Atr)、空白组 (CK) 均为美国国际丛枝菌根真菌种质资源保藏中心 (INVAM) 提供的 AM 真菌纯净菌剂。

1.2 滇重楼种子

滇重楼的新鲜种子于 2012 年 10 月 18 日采自大理州农业科学推广研究院种植基地的滇重楼健壮植株, 常温下河沙贮存 4 个月, 并经大理大学药学与化学学院生药学教研室周浓教授鉴定为百合科植物滇重楼 *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz. 的成熟种子, 种子采用单株保存、保证种质资源的稳定性和均一性。

1.3 试药

对照品重楼皂苷 I、重楼皂苷 II、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 VII、尿嘧啶、鸟嘌呤、尿苷、腺嘌呤、胸苷和腺苷购自中国食品药品检定研究院, 批号分别为 111590-201103、111591-201103、111592-201203、111593-200402、100469-200401、140631-201205、110887-200202、886-200001、101215-201401、110879-200202, 质量分数大于 98%, 供含量测定用; 对照品胞苷、鸟苷、2'-脱氧腺苷 (南京都莱生物技术有限公司, 质量分数经 HPLC 峰面积归一化法计算大于 98%); 色谱用乙腈、甲醇购自德国默克公司; 甲醛、冰醋酸、蔗糖、氢氧化钾、双氧水、盐酸、曲利苯蓝、乳酸、甘油、苯酚、三羟甲基氨基甲烷、柠檬酸、果胶酶、纤维素酶、山梨醇、琥珀酸钠、氮蓝四唑、氯化镁、次氯酸钠溶液、1-萘基磷酸酯、固蓝 RR 盐、氯化锰·4H₂O、95%乙醇、甲醇均为分析纯。水为娃哈哈纯净水。

1.4 仪器

LC-20A 型高效液相色谱仪 (日本岛津制作所); SB-5200DTN 型超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); TDZ5-WS 型多管架自动平衡离心机 (湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司); ML204 型分析天平 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司); BX-53F 型荧光生物照相显微镜 (日本奥林巴斯集团); SZX2-FOF 型体视显微镜 (日本奥林巴斯集团)。

2 方法

2.1 滇重楼幼苗培养及接种处理

滇重楼种子的前处理采用河沙磨破并去掉残留的外果皮, 先用蒸馏水洗净, 再用 10%次氯酸钠溶液浸泡 15 min, 最后用蒸馏水冲洗干净; 紫云英种子的前处理先用蒸馏水洗净, 再用 10%次氯酸钠溶液浸泡 15 min, 最后用蒸馏水冲洗干净, 备用。

栽培基质为重庆三峡学院百安校区的菜园土

与河沙的混合物(体积比 3:1, 过 2 mm 筛, 121 °C 高压灭菌锅内灭菌 2 h)。采用室温盆栽方法, 设 AM (接种 28 种 AM 真菌) 组和对照 (CK) 组共 29 种处理。每处理 5 个重复, 每重复 3 盆, 每盆播种滇重楼种子 50 粒, 出苗后间苗 20 株。将栽培袋用 10% 次氯酸钠溶液消毒 15 min 后, 并用蒸馏水清洗干净。

2013 年 2 月 24 日, 选择子粒饱满、质地均匀、无病虫害的滇重楼新鲜种子, 菌土均匀层施于滇重楼种子的表土下, 接种剂量为每盆 5 mL (接种菌剂为带有孢子、菌丝及侵染后根段的栽培基质混合样品, 每毫升约含 60 个孢子), 同时播种紫云英混合培养, 待滇重楼幼苗出土后除去紫云英植株。接种培养后室温 (自然光照) 中培养。生长期间按滇重楼植株的常规管理, 定期浇 Hoagland 营养液。

2.2 样品采集

不同 AM 真菌处理组滇重楼幼苗倒苗后, 于 2014 年 10 月 12 日收获滇重楼幼苗的根茎、须根、根系和土壤, 根茎和须根洗净后测定新鲜生物量, 置于 35 °C 烘箱烘干至恒定质量, 称定质量, 用于品质分析; 在冰水浴中洗净根系, 剪成 1.0~1.5 cm 长的根段, 一部分置于 FAA 固定液中固定后用于菌根侵染率的测定, 一部分保存在液氮中用于根内菌丝琥珀酸脱氢酶 (SDH) 和碱性磷酸酶 (ALP) 活性的测定; 收获根系的同时取根际土样品, 风干后

装入塑料袋中用于孢子密度的测定。

2.3 AM 真菌的分析与评价

随机选取浸泡于 FAA 固定液中的滇重楼根系 30 条, 采用 Philips 等^[10]的方法染色、制片、镜检, 根据 Trouvelot 等^[11]的方法统计菌根侵染率、根系的菌根侵染强度。采用湿筛倾注蔗糖离心法进行孢子数测定^[12]。采用组织化学染色法进行根内菌丝 SDH 活性^[13]和 ALP 活性^[14]的测定。

2.4 滇重楼幼苗生物量的测定

2014 年 10 月份收获滇重楼后, 测定不同处理组根茎生物量, 每个处理组 5 个重复。分别置 35 °C 烘箱中干燥至恒定质量, 计算折干率 (折干率=根茎干质量/新鲜根茎质量)。

2.5 重楼根茎和须根的品质分析

分别取粉碎样品适量, 采用《中国药典》2015 年版重楼药材项下方法测定 4 种重楼皂苷^[1]。采用 HPLC 法测定核苷^[15]的含量。

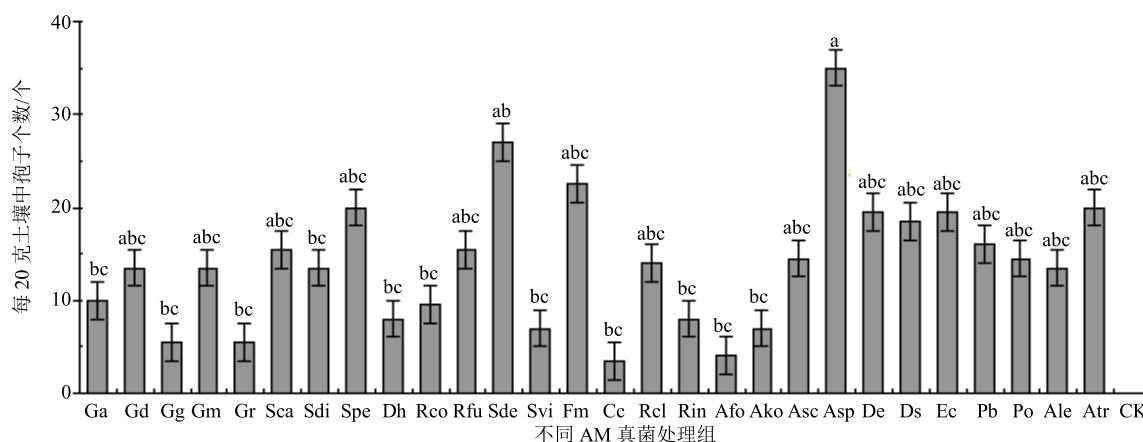
2.6 数据分析

采用 SPSS 18.0 软件进行数据的统计分析。

3 结果与分析

3.1 AM 真菌对滇重楼幼苗根际土壤中孢子密度的影响

由图 1 可知, 不同 AM 真菌处理对滇重楼幼苗根际土壤中孢子密度影响不尽相同, 部分之间存在显著性差异, 而 CK 组滇重楼幼苗根际土壤均无孢子。



不同的小写字母代表 0.05 水平上显著性差异, 下同

The different small letters in the same column represent significant differences on the 0.05 significance level, same as below

图 1 AM 真菌对滇重楼幼苗根际土壤中孢子密度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 1 Effect of spore density in rhizosphere soil of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings inoculated by different foreign AM fungi species ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

3.2 AM 真菌对滇重楼幼苗根系菌根真菌侵染的影响

不同 AM 真菌处理滇重楼幼苗根系均被 AM 真菌侵染, 且侵染率均较高, 侵染率在 75.12%~99.86%, 侵染强度在 4.28%~65.51%, 侵染率不存在显著性差异, 侵染强度部分存在显著性差异, 而 CK 组滇重楼幼苗根系均无 AM 真菌侵染, 未形成 AM, 见图 2。

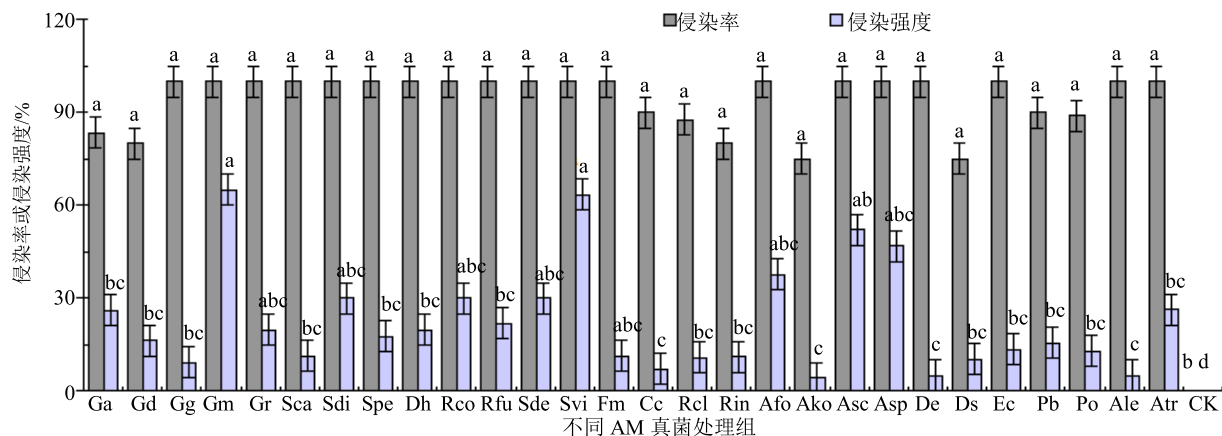


图 2 AM 真菌对滇重楼幼苗根系菌根真菌侵染的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 2 Effect of colonization of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings inoculated by different foreign AM fungi species ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

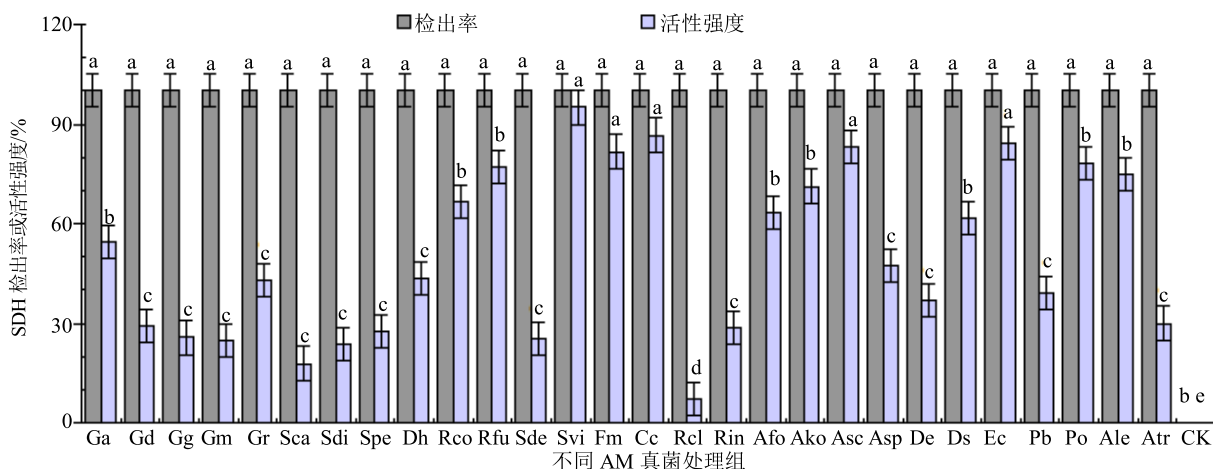


图 3 AM 真菌对滇重楼幼苗根内 SDH 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 3 Effect of SDH activity in internal hyphae of AM fungi in *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings inoculated by different foreign AM fungi species ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

3.4 AM 真菌对滇重楼幼苗根内 ALP 活性的影响

由侵染率和侵染强度 2 个参数可知, 不同 AM 真菌处理滇重楼幼苗根系的 ALP 检出率在 15.48%~100.00%, 部分之间存在显著性差异, 具有 ALP 活性的真菌结构在整个根系的发生强度不尽相同 (活性强度 1.62%~10.17%), 无显著性差异, 而 CK 组滇重楼幼苗根系均无 ALP 活性 (图 4)。

3.3 AM 真菌对滇重楼幼苗根内 SDH 活性的影响

由检出率和活性 2 个参数可知, 不同 AM 真菌处理滇重楼幼苗根系的检出率均为 100%, 表明所有根系均具有 SDH 活性, 具有 SDH 活性的真菌结构在整个根系的发生强度不尽相同 (SDH 活性强度 7.08%~95.01%), 部分之间存在显著性差异, 而 CK 组滇重楼幼苗根系均无 SDH 活性 (图 3)。

3.5 AM 真菌对滇重楼幼苗根茎生物量和折干率影响

由图 5 可知, 不同 AM 真菌处理对滇重楼幼苗的根茎生物量和折干率影响不尽相同, 除 Ga、Spe、Cc、Afo、Ako、De 处理组的根茎生物量略低于 CK 组外, 其余均高于 CK 组, 但均未达到显著性差异。除 De 处理组的折干率高于 CK 组外, 其余均低于 CK 组, 但均未达到显著性差异。

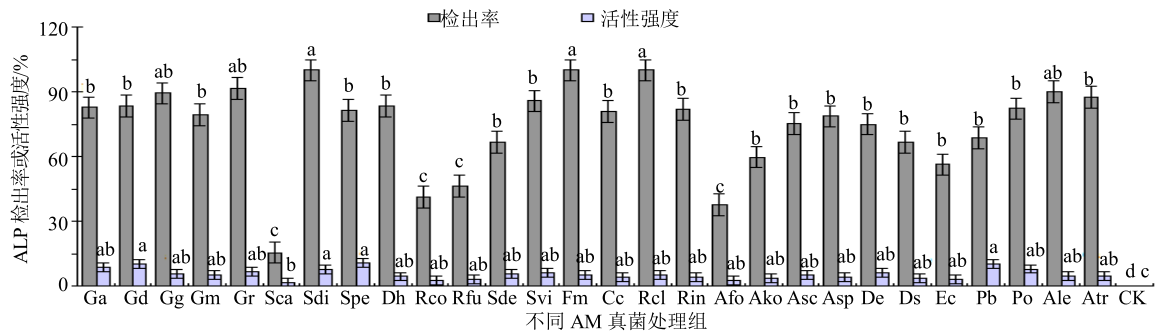


图 4 AM 真菌对滇重楼幼苗根内 ALP 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 4 Effect of alkaline phosphatase activity in internal hyphae of AM fungi in *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings inoculated by different foreign AM fungi species ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

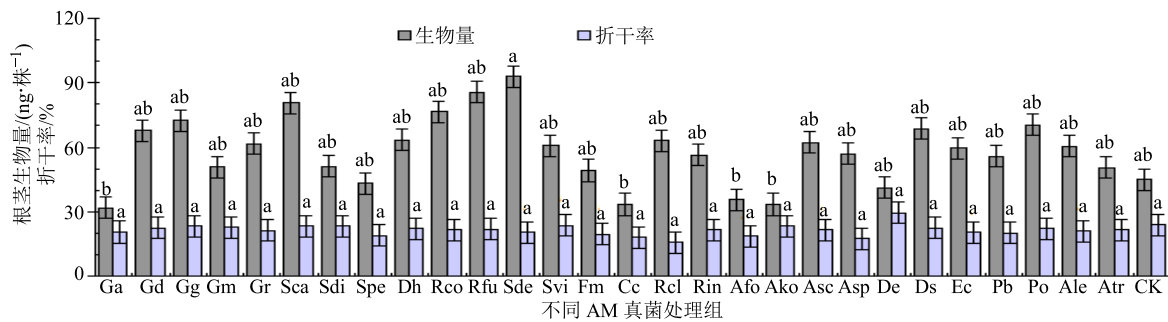


图 5 AM 真菌对滇重楼幼苗根茎生物量和折干率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 5 Effect of biomass in rhizome and drying rate of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings inoculated by different foreign AM fungi species ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

3.6 AM 真菌对滇重楼幼苗根茎重楼皂苷产量的影响

重楼皂苷产量(单株幼苗根茎所含重楼皂苷含量与其根茎生物量的乘积)可以从另外一个方面反映菌根真菌对滇重楼幼苗根茎重楼皂苷代谢影响情况。从图 6 可知,除 Ga、Fm、Cc、Rcl、Rin、Asc 处理组以外,其余重楼皂苷产量均超过 CK 组,部分达显著性差异。结果表明,AM 的形成明显提高了滇重楼幼苗根茎重楼皂苷的产量,属于根茎生

物量和重楼皂苷含量综合效应的增加。

3.7 AM 真菌对滇重楼幼苗根茎与须根中重楼皂苷含量的影响

由表 1 可以看出,接种菌根真菌不同程度地影响了滇重楼幼苗根茎与须根中 4 种重楼皂苷的代谢过程,滇重楼幼苗根茎中重楼皂苷 I 除 Ako、Asc 处理组外均低于 CK 组并未达到显著性差异($P > 0.05$),Gd、Gg、Gr、Sca、Spe、Dh、Rco、Sde、Afo、Ako、De、Ds、Ec 处理组重楼皂苷 II 含量高

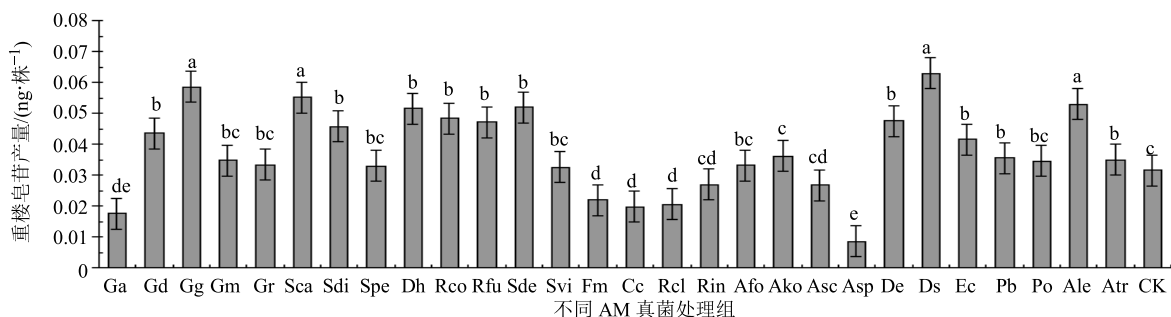


图 6 AM 真菌对滇重楼幼苗根茎重楼皂苷产量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 6 Effect of yields of polyphyllins in rhizome of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings inoculated by different foreign AM fungi species ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

表 1 AM 真菌对滇重楼幼苗根茎与须根中重楼皂苷含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)Table 1 Effect of contents of polyphyllins in rhizome and rootlet of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings inoculated by different foreign AM fungi species ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

处理	部位	质量分数/(mg·g ⁻¹)					总量：重楼皂苷 I：重楼皂苷 II：重楼皂苷 VI：重楼皂苷 VII
		重楼皂苷 I	重楼皂苷 II	重楼皂苷 VI	重楼皂苷 VII	合计	
Ga	根茎	0.007±0.001 a	0.090±0.004 c	0.540±0.036 ab	2.053±0.141 ab	2.690±0.181 ab	1.000：0.003：0.033：0.201：0.763
	须根	8.410±0.071 b	0.178±0.221 c	0.469±0.516 e	2.367±0.299 f	11.576±0.146 ef	1.000：0.727：0.015：0.054：0.204
Gd	根茎	0.020±0.001 a	0.592±0.155 ab	0.436±0.004 ab	1.794±0.029 ab	2.843±0.121 ab	1.000：0.007：0.208：0.153：0.631
	须根	—	0.157±0.244 c	4.554±0.096 c	16.430±0.055 de	21.140±0.076 de	1.000：0.000：0.007：0.215：0.777
Gg	根茎	0.012±0.003 a	0.701±0.180 a	0.707±0.035 ab	2.210±0.064 ab	3.511±0.153 ab	1.000：0.003：0.149：0.201：0.648
	须根	—	—	5.931±0.076 bc	21.553±0.043 c	27.486±0.066 cde	1.000：0.000：0.000：0.216：0.784
Gm	根茎	0.008±0.002 a	0.205±0.073 bc	0.655±0.106 ab	2.102±0.086 ab	2.969±0.268 ab	1.000：0.003：0.069：0.221：0.708
	须根	—	—	7.912±0.058 a	28.870±0.032 b	36.783±0.050 bc	1.000：0.000：0.000：0.215：0.785
Gr	根茎	0.015±0.002 a	0.332±0.013 abc	0.675±0.022 ab	2.874±0.339 ab	2.541±0.376 ab	1.000：0.005：0.125：0.266：0.604
	须根	—	0.240±0.174 c	4.465±0.098 c	15.746±0.057 de	20.452±0.069 de	1.000：0.000：0.012：0.218：0.770
Sca	根茎	0.017±0.002 a	0.314±0.039 abc	0.572±0.085 ab	2.491±0.385 ab	2.968±0.511 ab	1.000：0.005：0.093：0.193：0.710
	须根	—	0.167±0.231 c	7.513±0.062 ab	27.907±0.033 b	35.419±0.052 bc	1.000：0.000：0.000：0.212：0.788
Sdi	根茎	0.007±0.001 a	0.200±0.020 bc	0.749±0.031 ab	2.859±0.179 ab	3.815±0.230 ab	1.000：0.002：0.053：0.196：0.749
	须根	—	0.318±0.136 c	6.666±0.078 bc	23.368±0.041 c	30.035±0.048 cd	1.000：0.000：0.000：0.222：0.778
Spe	根茎	0.014±0.001 a	0.356±0.020 abc	0.721±0.009 ab	2.931±0.046 ab	4.022±0.035 ab	1.000：0.004：0.089：0.179：0.729
	须根	—	0.182±0.216 c	2.079±0.194 de	7.430±0.115 e	9.508±0.150 fg	1.000：0.000：0.000：0.219：0.781
Dh	根茎	0.018±0.001 a	0.315±0.053 abc	0.942±0.333 ab	2.626±0.619 ab	3.901±1.006 ab	1.000：0.005：0.081：0.242：0.673
	须根	—	0.079±0.392 d	5.123±0.086 c	16.511±0.055 de	21.712±0.077 de	1.000：0.000：0.004：0.236：0.760
Rco	根茎	0.021±0.003 a	0.315±0.154 abc	0.476±0.003 ab	2.173±0.008 ab	2.985±0.153 ab	1.000：0.007：0.106：0.160：0.728
	须根	—	4.396±0.011 a	1.170±0.300 de	4.205±0.187 ef	9.771±0.147 fg	1.000：0.000：0.450：0.120：0.430
Rfu	根茎	0.010±0.001 a	0.219±0.014 bc	0.423±0.006 ab	1.951±0.066 ab	2.602±0.086 ab	1.000：0.004：0.084：0.163：0.750
	须根	—	0.030±0.631 d	3.170±0.132 d	10.088±0.087 de	13.288±0.102 ef	1.000：0.000：0.002：0.239：0.759
Sde	根茎	0.017±0.003 a	0.305±0.020 abc	0.581±0.108 ab	1.868±0.058 ab	2.771±0.188 ab	1.000：0.006：0.110：0.210：0.674
	须根	5.342±0.106 b	0.968±0.050 b	8.266±0.055 a	17.119±0.053 de	31.695±0.058 bcd	1.000：0.169：0.031：0.261：0.540
Svi	根茎	0.020±0.004 a	0.168±0.007 c	0.523±0.048 ab	1.527±0.032 ab	2.237±0.019 ab	1.000：0.009：0.075：0.234：0.683
	须根	—	—	2.486±0.181 de	8.223±0.107 e	10.709±0.048 ef	1.000：0.000：0.000：0.232：0.768
Fm	根茎	0.012±0.005 a	0.136±0.003 c	0.460±0.034 ab	1.647±0.018 ab	2.255±0.553 ab	1.000：0.005：0.060：0.204：0.730
	须根	—	—	3.392±0.125 cd	11.529±0.077 de	14.922±0.105 ef	1.000：0.000：0.000：0.227：0.773
Cc	根茎	0.015±0.001 a	0.174±0.024 c	0.622±0.107 ab	2.945±0.452 ab	3.280±0.581 ab	1.000：0.005：0.046：0.190：0.760
	须根	—	—	0.698±0.442 de	5.769±0.144 e	6.467±0.047 g	1.000：0.000：0.000：0.108：0.892
Rcl	根茎	0.009±0.002 a	0.149±0.012 c	0.317±0.022 ab	1.552±0.153 ab	2.027±0.185 ab	1.000：0.004：0.074：0.156：0.766
	须根	1.250±0.302 c	1.334±0.037 b	2.949±0.141 d	8.902±0.097 de	14.435±0.120 ef	1.000：0.087：0.092：0.204：0.617
Rin	根茎	0.013±0.001 a	0.107±0.009 c	0.308±0.001 ab	1.710±0.033 ab	2.138±0.042 ab	1.000：0.006：0.050：0.144：0.800
	须根	—	—	2.653±0.156 d	9.140±0.095 de	11.793±0.108 ef	1.000：0.000：0.000：0.225：0.775
Afo	根茎	0.027±0.013 a	0.274±0.107 abc	1.326±0.916 a	3.456±0.088 ab	5.083±3.124 a	1.000：0.005：0.054：0.261：0.680
	须根	25.122±0.025 a	—	3.378±0.162 d	11.984±0.078 de	40.484±0.046 b	1.000：0.621：0.000：0.083：0.296
Ako	根茎	0.033±0.006 a	0.305±0.048 abc	1.037±0.060 ab	3.870±0.213 a	5.244±0.219 a	1.000：0.006：0.058：0.198：0.738
	须根	—	—	3.751±0.118 cd	57.494±0.016 a	61.245±0.025 a	1.000：0.000：0.000：0.061：0.939
Asc	根茎	0.056±0.038 a	0.180±0.051 bc	0.352±0.001 ab	1.383±0.067 ab	1.971±0.024 ab	1.000：0.028：0.091：0.179：0.702
	须根	—	—	2.318±0.178 de	7.692±0.112 cde	10.010±0.132 fg	1.000：0.000：0.000：0.232：0.768
Asp	根茎	0.009±0.001 a	0.086±0.021 c	0.215±0.043 b	0.581±0.013 b	0.892±0.011 b	1.000：0.010：0.097：0.241：0.652
	须根	—	0.022±0.694 d	3.677±0.116 cd	11.682±0.076 de	15.382±0.090 ef	1.000：0.000：0.001：0.239：0.759

续表 1

处理	部位	质量分数/(mg·g ⁻¹)					总量：重楼皂苷 I：重楼皂苷 II： 重楼皂苷 VI：重楼皂苷 VII
		重楼皂苷 I	重楼皂苷 II	重楼皂苷 VI	重楼皂苷 VII	合计	
De	根茎	0.014±0.001 a	0.271±0.003	1.323±0.147 a	2.868±0.198 ab	4.475±0.348 ab	1.000：0.003：0.061：0.296：0.641
	须根	0.082±0.050 d	—	6.206±0.073 bc	22.272±0.041 c	28.559±0.051 cde	1.000：0.003：0.000：0.217：0.780
Ds	根茎	0.025±0.003 a	0.513±0.092	1.158±0.112 ab	2.714±0.205 ab	4.109±0.412 ab	1.000：0.005：0.102：0.282：0.611
	须根	1.073±0.040 c	—	5.057±0.088 c	17.801±0.051 d	23.931±0.060 cde	1.000：0.045：0.000：0.211：0.744
Ec	根茎	0.017±0.001 a	0.260±0.019 bc	0.555±0.046 ab	2.900±0.227 ab	3.485±0.293 ab	1.000：0.005：0.069：0.159：0.767
	须根	—	0.029±0.637 d	4.047±0.106 cd	13.459±0.066 de	17.534±0.079 de	1.000：0.000：0.002：0.231：0.768
Pb	根茎	0.011±0.002 a	0.178±0.017 c	0.502±0.012 ab	2.730±0.171 ab	3.231±0.201 ab	1.000：0.003：0.050：0.155：0.792
	须根	—	—	2.794±0.150 d	9.226±0.094 de	12.021±0.108 ef	1.000：0.000：0.000：0.233：0.768
Po	根茎	0.010±0.003 a	0.111±0.007 c	0.344±0.057 ab	1.755±0.110 ab	2.221±0.163 ab	1.000：0.005：0.050：0.155：0.791
	须根	—	—	3.666±0.119 cd	12.343±0.072 de	16.008±0.085 ef	1.000：0.000：0.000：0.229：0.771
Ale	根茎	0.013±0.001 a	0.253±0.030 bc	0.705±0.075 ab	3.192±0.340 ab	4.162±0.446 ab	1.000：0.003：0.057：0.170：0.770
	须根	—	0.037±0.581 d	4.275±0.101 cd	13.971±0.064 de	18.283±0.074 de	1.000：0.000：0.002：0.234：0.764
Atr	根茎	0.015±0.001 a	0.149±0.009 c	0.486±0.034 ab	2.557±0.163 ab	3.204±0.205 ab	1.000：0.005：0.046：0.152：0.798
	须根	0.479±0.007 d	0.024±0.680 d	3.772±0.114 cd	11.774±0.075 de	16.049±0.087 ef	1.000：0.030：0.001：0.235：0.734
CK	根茎	0.028±0.022 a	0.253±0.014 bc	0.530±0.056 ab	2.689±0.002 ab	3.500±0.050 ab	1.000：0.008：0.072：0.151：0.768
	须根	0.103±0.005 d	0.251±0.168 c	2.441±0.165 d	7.823±0.109 e	10.619±0.126 fg	1.000：0.010：0.024：0.230：0.737

“—”表示未检出

“—” indicates no detection

于 CK 组并部分达到显著性差异 ($P<0.05$)，Ga、Gg、Gm、Gr、Sca、Sdi、Spe、Dh、Sde、Cc、Afo、Ako、De、Ds、Ec、Ale 处理组重楼皂苷 VI 含量高于 CK 组并部分达到显著性差异 ($P<0.05$)，Gr、Sdi、Spe、Cc、Afo、Ako、De、Ds、Ec、Ale 处理组重楼皂苷 VII 含量高于 CK 组并部分达到显著性差异 ($P<0.05$)，4 种重楼皂苷除 Gg、Sdi、Spe、Dh、Afo、Ako、De、Ds、Ale 外均低于 CK 组并部分达到显著性差异 ($P<0.05$)，均不符合《中国药典》2015 年版重楼药材项下的限量标准^[2]。

而滇重楼幼苗须根中除 Ga、Sde、Rcl、Afo、De、Ds、Atr 外其余均不含重楼皂苷 I，De 处理组含量低于 CK 组外其余各组均高于 CK 组并部分达到显著性差异 ($P<0.05$)，Gg、Gm、Svi、Fm、Cc、Rin、Afo、Ako、Asc、De、Ds、Pb、Po 处理组不含有重楼皂苷 II，除 Sdi、Sde、Rco、Sde、Rcl 含量高于 CK 组外其余各组均低于 CK 组并部分达到显著性差异 ($P<0.05$)，重楼皂苷 VI 和重楼皂苷 VII 除 Ga、Spe、Rco、Cc、Asc 处理组外均高于 CK 组并部分达到显著性差异 ($P<0.05$)，4 种重楼皂苷除 Spe、Rco、Cc、Asc 处理组外均高于 CK 组并部分达到显著性差异 ($P<0.05$)。同时，4 种重楼皂苷在滇重楼幼苗各器官中分布是不均匀的，表现出根茎中重楼

皂苷含量多数不同程度地低于须根。

滇重楼幼苗根茎和须根甾体皂苷的 4 种主要成分中，以重楼皂苷 VII 含量最高，其次是重楼皂苷 VI 和重楼皂苷 II，重楼皂苷 I 的含量最低，不同处理组滇重楼幼苗根茎和须根中重楼皂苷结构比也存在较大的差异。与 CK 组相比，多数菌根化幼苗的重楼皂苷明显提高，也有部分处理组差异不明显或降低的，菌根的形成对滇重楼幼苗重楼皂苷含量的影响也有器官差异。此结果说明滇重楼接种不同 AM 真菌处理其重楼皂苷类成分量及结构比均存在较大的差异。

3.8 AM 对滇重楼幼苗根茎和须根中核苷含量的影响

由表 2 可以看出，接种 AM 真菌不同程度的影响了滇重楼幼苗根茎与须根中 9 种重楼核苷的代谢过程。与 CK 组相比，总体上大多数处理组菌根化滇重楼幼苗根茎中重楼核苷含量显著增加，也有部分处理组差异不明显或降低的；根茎以 9 种核苷类物质总含量为评价标准，Gm 处理组最高、Ga 处理组次之，Pb、Po 处理组略低于 CK 组并无显著性差异，其余处理组均高于 CK 组并部分达到显著性差异 ($P<0.05$)；须根以 9 种核苷类物质总含量为评价标准，Ga、Gr、Rco、Ako、Asc、Ds、Ec、Ale、

表 2 AM 真菌对滇重楼幼苗根茎与须根中核苷含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)Table 2 Effect of contents of nucleosides in rhizome and rootlet of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings inoculated by different foreign AM fungi species ($\bar{x} \pm s, n=5$)

处理 部位	质量分数(mg·g ⁻¹)									合计
	尿嘧啶	胞苷	鸟嘌呤	尿苷	腺嘌呤	鸟苷	胸苷	腺苷	2'-脱氧腺苷	
Ga 根茎	78.386±0.026 abc	161.850±0.018 a	947.488±0.001 a	307.392±0.007 a	43.045±0.049 c	78.217±0.026 abc	514.185±0.004 a	160.416±0.013 e	391.564±0.005 bc	2 604.192±0.006 a
须根	3.416±0.047 d	12.640±0.202 g	20.620±0.011 f	89.173±0.018 cd	13.690±0.171 cde	56.248±0.074 c	36.029±0.206 d	134.487±0.018 abc	29.631±0.081 efg	395.934±0.031 cde
Gd 根茎	32.908±0.127 c	69.441±0.004 bc	536.604±0.137 cd	262.291±0.028 bc	64.410±0.182 ab	94.431±0.458 abc	303.066±0.005 c	258.930±0.068 c	343.999±0.065 c	1 933.172±0.026 cd
须根	6.482±0.301 cd	20.957±0.200 ef	46.039±0.443 ef	64.424±0.190 ef	39.461±0.723 abc	24.955±0.002 de	125.840±0.532 ab	207.100±0.222 a	119.190±0.630 bcd	654.448±0.353 cde
Gg 根茎	39.661±0.030 bc	131.330±0.020 ab	666.323±0.029 bc	273.177±0.029 b	43.952±0.188 c	68.219±0.081 abc	355.915±0.043 bc	280.740±0.062 bc	368.279±0.088 c	2 187.936±0.042 bc
须根	8.628±0.049 abcd	40.112±0.069 d	58.708±0.023 cde	102.228±0.002 bc	20.436±0.046 bc	17.187±0.092 ef	70.290±0.095 abc	105.098±0.015 bc	56.319±0.012 def	479.007±0.011 cde
Gm 根茎	55.322±0.230 abc	154.568±0.284 ab	778.148±0.045 b	310.204±0.041 a	54.889±0.135 bc	95.128±0.084 abc	424.739±0.096 ab	325.963±0.032 abc	499.330±0.001 b	2 642.968±0.032 a
须根	15.687±0.042 abc	30.605±0.059 de	25.755±0.016 f	88.989±0.001 cd	24.653±0.013 abc	86.729±0.015 a	74.580±0.089 abc	123.017±0.036 abc	73.457±0.026 bcd	543.471±0.012 bc
Gr 根茎	119.786±0.017 abc	62.363±0.045 bc	368.400±0.008 de	182.581±0.011 fg	51.867±0.040 bc	110.954±0.018 abc	310.556±0.007 c	216.890±0.009 c	383.952±0.005 c	1 687.563±0.010 cd
须根	12.308±0.207 abcd	28.049±0.119 e	53.292±0.001 cde	110.498±0.014 bc	25.231±0.039 abc	5.905±0.061 gh	68.013±0.054 bc	91.032±0.039 c	57.918±0.038 def	452.246±0.036 cde
Sca 根茎	192.499±0.658 a	82.517±0.230 b	388.962±0.018 de	262.490±0.054 bc	59.141±0.052 bc	159.634±0.116 a	372.185±0.058 bc	312.140±0.117 bc	427.843±0.055 b	2 064.911±0.048 bc
须根	10.787±0.002 abcd	36.985±0.156 de	88.680±0.029 bcd	91.117±0.061 cd	41.438±0.084 abc	67.338±0.055 b	75.794±0.126 abc	115.366±0.028 bc	94.978±0.051 bc	622.483±0.044 abc
Sdi 根茎	65.629±0.198 abc	88.650±0.614 bc	475.012±0.789 d	214.425±0.103 efg	60.545±0.206 bc	148.087±0.713 ab	251.514±0.250 d	240.054±0.358 c	295.779±0.270 d	1 735.612±1.208 cd
须根	20.784±0.001 c	63.533±0.023 c	61.422±0.004 cde	136.412±0.021 ab	33.835±0.027 abc	16.285±0.012 ef	101.901±0.074 abc	94.035±0.072 bc	79.807±0.091 bcd	608.014±0.035 abc
Spe 根茎	57.449±0.035 abc	89.057±0.033 b	594.047±0.005 cd	207.265±0.010 efg	17.392±0.130 d	140.166±0.015 ab	432.049±0.005 ab	254.613±0.008 c	521.071±0.004 ab	2 255.660±0.007 b
须根	16.864±0.002 abc	39.359±0.092 de	95.560±0.027 bc	92.545±0.060 cd	29.849±0.015 abc	66.495±0.010 b	98.627±0.025 ab	120.492±0.048 abc	70.223±0.031 bcd	630.014±0.003 abc
Dh 根茎	48.998±0.041 abc	106.208±0.027 ab	525.727±0.005 cd	271.586±0.007 b	52.448±0.040 bc	72.021±0.029 abc	267.473±0.008 d	287.184±0.007 bc	28.365±0.076 e	1 611.011±0.010 cd
须根	14.158±0.023 abcd	37.591±0.021 de	41.088±0.085 de	102.168±0.055 bc	30.362±0.030 abc	29.292±0.020 d	80.707±0.017 ab	83.431±0.013 c	54.874±0.051 def	473.671±0.016 cde
Rco 根茎	55.405±0.036 abc	131.888±0.022 ab	644.601±0.004 bc	218.485±0.009 def	58.989±0.035 bc	28.917±0.074 d	354.095±0.006 bc	194.425±0.010 de	304.570±0.007 cd	1 935.975±0.008 cd
须根	49.268±0.015 b	23.240±0.075 ef	110.438±0.017 b	103.612±0.017 bc	1.982±0.125 e	11.163±0.018 fgh	70.253±0.014 abc	5.354±0.037 d	4.289±0.001 g	379.599±0.009 e
Rfu 根茎	29.745±0.060 c	62.557±0.207 bc	286.797±0.109 ef	201.544±0.022 efg	40.762±0.017 c	39.499±0.179 cd	253.623±0.026 d	261.041±0.027 c	304.732±0.013 cd	1 450.554±0.023 d
须根	4.459±0.084 cd	24.496±0.054 e	78.153±0.035 bcd	125.896±0.051 abc	14.791±0.018 cde	9.694±0.024 fgh	61.107±0.113 bc	122.820±0.022 abc	60.885±0.104 cde	502.301±0.052 bcd
Sde 根茎	33.937±0.348 c	86.882±0.270 b	361.468±0.025 de	201.984±0.019 efg	46.538±0.146 bc	55.695±0.066 bcd	275.537±0.001 cd	315.380±0.017 bc	359.512±0.013 c	1 702.995±0.018 cd
须根	10.059±0.110 abcd	109.388±0.103 a	52.044±0.114 cde	145.495±0.151 a	41.812±0.090 ab	22.187±0.013 def	115.992±0.096 a	104.973±0.006 bc	88.734±0.102 bc	690.683±0.092 abc
Svi 根茎	37.658±0.146 c	87.973±0.115 b	430.196±0.097 d	224.170±0.026 def	40.921±0.082 c	50.374±0.166 bcd	300.293±0.041 cd	333.402±0.008 ab	389.261±0.034 bc	1 856.591±0.035 cd
须根	6.737±0.200 bcd	24.792±0.069 e	43.422±0.039 de	144.511±0.002 a	23.466±0.020 abc	25.205±0.023 de	76.041±0.102 abc	125.432±0.004 abc	55.495±0.077 def	525.103±0.023 bc
Fm 根茎	20.066±0.125 c	73.202±0.040 b	316.329±0.009 de	219.065±0.009 def	51.168±0.041 bc	64.193±0.032 bcd	327.846±0.006 c	292.612±0.007 bc	421.584±0.005 b	1 765.998±0.009 cd
须根	8.841±0.002 abcd	37.255±0.037 de	41.718±0.059 de	120.189±0.021 abc	30.730±0.039 abc	23.039±0.057 de	72.572±0.035 abc	92.198±0.002 c	61.525±0.046 cde	488.066±0.024 cde
Cc 根茎	91.824±0.027 abc	71.272±0.041 bc	290.108±0.010 ef	131.417±0.016 i	49.957±0.042 bc	119.308±0.017 abc	242.388±0.009 d	263.766±0.008 c	387.017±0.005 c	1 555.233±0.010 cd
须根	123.882±0.007 a	2.224±0.116 h	180.338±0.002 a	47.208±0.112 f	5.357±0.207 de	8.188±0.048 fgh	92.974±0.064 ab	42.900±0.003 d	17.160±0.009 ffg	520.230±0.088 de
Rcl 根茎	66.728±0.556 abc	77.633±0.516 b	322.738±0.297 de	200.636±0.030 efg	39.727±0.213 c	38.146±0.274 cd	245.130±0.225 d	274.664±0.001 c	302.317±0.174 cd	1 500.992±0.139 cd
须根	3.494±0.194 d	18.352±0.110 fg	63.290±0.028 ef	117.292±0.048 bc	10.111±0.136 cde	21.823±0.092 def	43.867±0.141 cd	134.090±0.018 abc	53.852±0.044 def	466.171±0.104 cde
Rin 根茎	64.088±0.558 abc	75.358±0.259 b	330.053±0.029 de	222.605±0.034 def	46.641±0.034 bc	56.461±0.372 bcd	273.952±0.012 cd	290.283±0.038 bc	362.090±0.086 c	1 657.445±0.022 cd
须根	2.970±0.133 d	28.843±0.137 e	65.970±0.523 de	101.802±0.321 bc	23.302±0.023 abc	25.118±0.098 de	79.949±0.060 abc	117.533±0.073 bc	65.694±0.081 cd	488.533±0.118 cde
Afo 根茎	33.330±0.075 c	125.901±0.023 ab	411.957±0.007 d	263.217±0.008 bc	77.043±0.027 ab	78.628±0.026 abc	455.117±0.004 ab	336.974±0.006 ab	567.199±0.004 a	2 316.036±0.007 b
须根	5.435±0.114 cd	22.495±0.037 ef	80.180±0.028 bcd	120.565±0.021 abc	17.769±0.040 bc	20.923±0.054 def	61.956±0.008 bc	109.665±0.020 bc	44.037±0.034 def	483.025±0.002 cde
Ako 根茎	191.401±0.013 ab	112.026±0.026 ab	414.228±0.007 d	239.615±0.008 bcd	74.450±0.028 ab	43.582±0.048 cd	461.688±0.004 ab	223.434±0.009 c	458.414±0.004 b	2 027.438±0.008 bc
须根	18.966±0.007 ab	18.362±0.290 f	55.480±0.047 cde	98.963±0.016 bcd	16.946±0.013 bc	11.943±0.056 efg	61.234±0.004 bc	91.034±0.021 c	58.668±0.005 def	431.597±0.010 cde

续表 2

处理	部位	质量分数/(mg·g ⁻¹)									
		尿嘧啶	胞苷	鸟嘌呤	尿苷	腺嘌呤	鸟苷	胸苷	腺苷	2'-脱氧腺苷	合计
Asc	根茎	34.359±0.318 c	129.948±0.319 ab	499.021±0.239 d	242.028±0.017 bcd	71.056±0.055 ab	49.177±0.350 bcd	418.084±0.153 ab	279.489±0.108 bc	469.926±0.041 b	2 158.729±0.073 bc
	须根	9.105±0.032 abcd	25.153±0.146 e	53.664±0.216 cde	81.197±0.003 de	25.588±0.018 abc	2.471±0.010 h	40.538±0.025 cd	73.813±0.001 c	30.962±0.060 def	342.491±0.073 e
Asp	根茎	16.201±0.154 c	91.034±0.032 b	405.990±0.007 d	252.116±0.008 bcd	82.837±0.028 a	84.892±0.024 abc	420.481±0.005 ab	210.306±0.010 cd	386.932±0.005 c	1 934.588±0.008 cd
	须根	2.667±0.005 d	19.012±0.004 f	58.870±0.004 cde	115.566±0.009 bc	16.693±0.049 bc	17.154±0.147 ef	49.893±0.056 bcd	137.051±0.059 abc	52.539±0.097 def	469.446±0.022 cde
De	根茎	48.869±0.036 abc	122.356±0.046 ab	593.961±0.036 cd	328.173±0.050 a	48.797±0.122 bc	119.745±0.352 abc	253.427±0.082 d	373.500±0.059 a	336.355±0.095 cd	2 176.314±0.002 bc
	须根	23.051±0.500 abcd	44.308±0.109 b	20.832±0.904 f	38.148±0.109 ef	43.741±0.025 a	89.831±0.016 a	107.366±0.448 ab	154.625±0.849 ab	148.735±0.620 a	670.637±0.044 ab
Ds	根茎	107.732±0.023 abc	75.023±0.038 b	229.373±0.012 ef	268.557±0.008 b	70.846±0.029 ab	160.794±0.013 a	208.021±0.001 d	301.643±0.007 bc	303.324±0.007 cd	1 617.582±0.010 cd
	须根	9.438±0.086 abcd	21.931±0.060 ef	63.288±0.032 de	83.712±0.015 de	16.490±0.033 bc	29.606±0.155 d	73.294±0.091 abc	110.378±0.071 bc	67.587±0.096 cd	447.350±0.911 cde
Ec	根茎	66.855±0.452 abc	62.350±0.388 bc	268.169±0.022 ef	190.935±0.046 efg	39.741±0.003 c	59.525±0.010 bcd	250.964±0.136 d	283.672±0.017 bc	358.554±0.091 c	1 513.910±0.039 cd
	须根	8.728±0.258 abcd	20.586±0.032 ef	83.619±0.020 bcd	105.266±0.023 bc	26.082±0.001 cde	25.123±0.048 de	54.749±0.025 bcd	74.654±0.031 c	45.770±0.224 def	444.578±0.069 cde
Pb	根茎	72.903±0.464 abc	38.647±0.376 cd	199.263±0.021 f	150.611±0.072 hi	31.444±0.063 cd	57.612±0.098 bcd	138.270±0.128 e	274.703±0.051 bc	221.857±0.162 d	1 112.406±0.095 e
	须根	3.715±0.035 d	27.250±0.017 e	84.761±0.028 bcd	130.438±0.011 abc	17.932±0.050 bd	21.182±0.013 def	68.970±0.081 bc	134.925±0.011 abc	57.315±0.097 def	546.486±0.004 bc
Po	根茎	95.968±0.128 abc	34.593±0.123 cd	235.423±0.102 ef	170.296±0.086 fgh	31.561±0.062 cd	54.478±0.002 bcd	160.311±0.177 de	278.838±0.037 bc	226.826±0.162 d	1 192.326±0.094 de
	须根	12.308±0.035 abcd	59.658±0.003 c	51.038±0.050 cde	136.015±0.029 ab	32.708±0.046 abc	84.926±0.052 a	103.573±0.002 abc	163.148±0.099 ab	116.066±0.118 b	759.439±0.031 a
Ale	根茎	95.970±0.022 abc	73.462±0.234 b	395.800±0.120 de	229.771±0.051 cde	54.555±0.028 bc	57.024±0.062 bcd	288.945±0.003 cd	280.128±0.024 bc	341.248±0.026 c	1 720.933±0.031 cd
	须根	3.027±0.063 d	22.195±0.004 ef	60.735±0.005 cde	104.360±0.007 bc	13.095±0.032 cde	7.398±0.004 fgh	32.467±0.0353 d	116.242±0.001 bc	26.737±0.022 efg	386.254±0.034 de
Atr	根茎	59.415±0.042 abc	77.857±0.037 b	486.817±0.006 d	267.266±0.008 b	65.017±0.032 ab	82.233±0.025 abc	338.328±0.006 bc	291.273±0.007 bc	419.899±0.005 b	2 028.689±0.008 bc
	须根	3.836±0.265 d	15.011±0.123 fg	37.976±0.078 de	107.738±0.029 bc	10.658±0.094 cde	23.523±0.191 de	46.028±0.210 cd	132.728±0.020 abc	44.636±0.174 def	422.135±0.008 cde
CK	根茎	73.357±0.004 abc	32.940±0.068 d	218.191±0.133 ef	159.500±0.059 gh	46.959±0.011 bc	52.964±0.107 bcd	164.737±0.007 de	320.308±0.05 abc	254.297±0.065 d	1 249.896±0.029 de
	须根	5.147±0.411 bcd	27.110±0.097 e	42.508±0.034 de	116.939±0.010 abc	20.455±0.019 abc	12.961±0.160 ef	64.856±0.016 bc	91.319±0.102 bc	45.024±0.119 def	463.808±0.032 cde

Atr 处理组略低于 CK 组并无显著性差异, 其余处理组均高于 CK 组并部分达到显著性差异 ($P<0.05$)。

同时, 9 种重楼核苷类物质在滇重楼幼苗各器官中分布是不均匀的, 表现出除 Cc 处理组尿嘧啶、Sde 和 Po 处理组胞苷、Spe 和 Po 处理组腺嘌呤、Po 处理组鸟苷外根茎中重楼核苷含量均不同程度的高于须根, 部分达到显著性差异 ($P<0.05$)。

4 讨论

本实验研究表明, 供试土壤中接种不同外源性 AM 真菌对滇重楼幼苗根系均有不同程度的侵染并形成菌根, 不同 AM 真菌对滇重楼根际土壤中孢子数、根系的菌根侵染率与侵染强度、根内 SDH 活性和 ALP 活性的影响不同, 部分处理组之间达到显著性差异, 以上各指标均反映出菌根形成状态良好, 表明加入外源性 AM 真菌对滇重楼幼苗菌根生活力具有调控 (增减) 作用, 与周浓等^[8-9]对滇重楼成年植株的研究结果相似。与滇重楼成年植株相比, 滇重楼幼苗根际土壤中孢子数和根内侵染强度有所降低, 可能与随着 AM 真菌与喜树^[16]、

滇重楼^[8-9]等药用植物共培养时间的增加, 菌根侵染强度等随之增加有关, 也可能与滇重楼成年植株根部存在大量功能未知的菌根真菌的原因有关^[3], 从而影响根际土壤的微环境。

从本实验结果可以看出, 人工栽培条件下接种外源性 AM 真菌提高了滇重楼幼苗根茎生物量、降低了根茎折干率, 但表现出不同 AM 真菌对滇重楼生长发育的影响差异较大, 这与张雯等^[17]的研究结论一致, AM 真菌通过促进滇重楼根茎对水分的吸收而增加鲜质量 (生物量) 和降低根茎的折干率, 进一步说明接种外源性 AM 真菌可与滇重楼幼苗根系形成良好的共生互惠关系, 发挥了菌根效应, 促进了幼苗的生长发育。

前期研究表明, AM 真菌通过侵染形成菌根对滇重楼根茎次生代谢产物的影响, 具有显著的种属差异^[8-9]。本实验所使用的 28 种 AM 真菌对滇重楼幼苗根茎和须根重楼皂苷和核苷积累及重楼皂苷产量的影响也表现出一定的差异, 与 CK 组相比, 绝大部分处理组与 AM 真菌共生培养后对滇重楼幼苗根茎和须根重楼皂苷和重楼核苷含量有所增加,

部分达到显著性差异 ($P < 0.05$)。重楼皂苷和重楼核苷被认为是滇重楼中的 2 类活性成分,与滇重楼抗肿瘤、抗病毒、免疫调节、抗菌等生物活性具有一定的关联性^[15],与 AM 真菌共生培养后能提高滇重楼幼苗中重楼皂苷和重楼核苷的含量,提示可通过该方法来提高滇重楼幼苗的品质,以达到滇重楼幼苗栽培过程中目标产物的人为调控,从而解决目标产物含量过低的问题。

同时,与根茎相比,须根中重楼皂苷种类较少但多数含量不同程度的提高,与邹亮等^[18]对不同产地滇重楼的研究结果类似,可能与甾体皂苷类成分在须根中合成后转移至根茎中贮存有关^[19]。而根茎中核苷类物质含量高于须根,可能与 AM 真菌在滇重楼根茎和须根内合成次生代谢产物时发挥的功能不同有关,其原因将在后续的研究中进一步探讨。

综上所述,接种不同外源性 AM 真菌滇重楼幼苗后发生了化学成分的明显变化,较未接种菌株活性成分有明显改善,其活性成分变化与生物活性的相关性有待继续深入研究。综合考虑接种不同外源性 AM 真菌对滇重楼幼苗菌根生活力、根茎生物量和重楼皂苷产量及甾体皂苷、核苷类含量等各项指标,建议滇重楼种子共生萌发时接种巨大巨孢囊霉 *Gigaspora gigantea*、美丽盾巨孢囊霉 *Scutellospora calospora*、沾屑多孢囊霉 *Diversispora spurca*、异配盾孢囊霉 *Dentiscutata heterogama*、沙荒球囊霉 *Septoglomus deserticola*、薄壁两性囊霉 *Ambispora leptoticha* 较为适宜。下一步将利用优势菌株的协同作用,将具有不同促生作用的菌根真菌进行组合回接,若能将 AM 真菌应用于珍稀濒危药用植物滇重楼育苗生产栽培上,可能会带来更大的经济效益与社会效益。

参考文献

- [1] 张朝阳,赵庭周. 重楼资源再生策略及其关键技术环节探讨 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 319-323.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 周 浓,夏从龙,姜 北,等. 滇重楼丛枝菌根的研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 34(14): 1768-1772.
- [4] 朱艳霞,黄燕芬,潘春柳. 云南重楼种子生物学特性研究进展 [J]. 中药材, 2015, 38(3): 632-635.
- [5] 罗 敏,李 娟,章文伟,等. 重楼种苗繁育研究进展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(1): 120-124.
- [6] 宋发军,于鹏飞,刘 佳,等. 促进种子萌发的重楼内生菌的筛选 [J]. 中南民族大学学报: 自然科学版, 2015, 34(3): 29-32.
- [7] 郭巧生,程俐陶,刘作易. 丛枝菌根真菌对半夏产量及化学成分的影响 [J]. 中国中药杂志, 2010, 34(3): 333-338.
- [8] 周 浓,张德全,孙 琴,等. 真菌诱导子对滇重楼中次生代谢产物甾体皂苷的影响研究 [J]. 药科学报, 2012, 47(9): 1237-1242.
- [9] 周 浓,丁 博,冯 源,等. 接种不同 AM 真菌对滇重楼菌根侵染率和入药品质的影响 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(16): 3158-3167.
- [10] Philips J M, Hayman D S. Improved procedures for clearing and attaining parasitic and vesicular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection [J]. *Trans Br Mycol Soc*, 1970, 55: 158-163.
- [11] Trouvelot A, Kough J L, Gianinazzi-Pearson V. Mesure du taux demycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche deméthods d'estimation ayant une signification fonctionnelle. [A] // Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S. *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae* [M]. Paris: INRA Press, 1986.
- [12] Gerdemann J W. Relation of a large soil-borne spore to phytomycetous mycorrhizal infections [J]. *Mycologia*, 1955, 47: 619-632.
- [13] 郭辉娟,王 薇,贺学礼. 宿主植物对黄芩根际土著丛枝菌根真菌生长发育的影响 [J]. 河南农业科学, 2011, 40(12): 98-101.
- [14] 冯海艳,冯 固,王敬国,等. 植酸钠对菌根真菌根内菌丝碱性磷酸酶活性及根外菌丝生长的影响 [J]. 应用生态学报, 2004, 15(6): 1009-1013.
- [15] 潘兴娇,张 杰,沈昱翔,等. HPLC 法同时测定云南重楼根茎中 9 种核苷类成分的含量 [J]. 中药材, 2016, 39(4): 813-818.
- [16] 于 洋,于 涛,王 洋,等. 接种后共培养时间对丛枝菌根喜树幼苗喜树碱含量的影响 [J]. 生态学报, 2012, 32(5): 1370-1377.
- [17] 张 雯,刘大会,郭兰萍,等. 4 种 AM 真菌对苍术根茎生长及其挥发油成分的影响 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2010, 12(5): 779-782.
- [18] 邹 亮,周 浓,张海珠,等. HPLC 测定不同产地滇重楼中的 4 种重楼皂苷 [J]. 华西药学杂志, 2009, 24(5): 521-523.
- [19] 叶 方,胡 培,杨光义,等. 重楼根茎与须根中四种重楼皂苷含量比较 [J]. 中国药师, 2015, 18(12): 2073-2076.