

混合丛枝菌根真菌接种时期对滇重楼幼苗内源激素含量的影响

杨玲¹, 杨敏², 郭冬琴¹, 潘兴娇², 张杰¹, 张蓝月¹, 周浓^{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 研究混合丛枝菌根(AM)真菌不同接种时期对滇重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* 幼苗内源激素含量的影响。方法 室内盆栽法, 分别将滇重楼种子、1年生苗、2年生苗接种混合AM真菌, 于灭菌土壤基质中进行共生培养, 采用高效液相色谱法测定内源激素玉米素核苷(ZR)、赤霉素(GA)、吲哚乙酸(IAA)和脱落酸(ABA)含量。结果 混合AM真菌对不同时期, 不同种源的滇重楼根状茎和根中内源激素 ZR、GA、IAA、ABA 含量变化的影响不尽相同。整体上, 与对照组比较, 野生种源和栽培种源滇重楼根状茎和根的 ZR 和 GA 内源激素含量均呈增加趋势, ABA 含量均呈减少趋势。滇重楼根状茎和根中 IAA/ABA、GA/ABA、ZR/ABA 增大。结论 1年生苗期接种 S2、S6 型混合AM真菌, 对促进滇重楼幼苗根状茎和根生长的综合效果最佳。

关键词: 滇重楼; 丛枝菌根真菌; 玉米素核苷; 赤霉素; 吲哚乙酸; 脱落酸

中图分类号: R282.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)13-3535-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.13.023

Effect of inoculation time of arbuscular mycorrhizal fungi on endogenous hormone content in *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings

YANG Ling¹, YANG Min², GUO Dong-qin¹, PAN Xing-jiao², ZHANG Jie¹, ZHANG Lan-yue¹, ZHOU Nong¹

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

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

Abstract: Objective To study the effect of the inoculation time of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on endogenous hormone content in *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings. **Methods** The indoor pot test was applied. The seeds, one-year-old seedlings, and two-year-old seedlings of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* were inoculated by different mixed AM fungi and cultivated in the sterilized soil matrix respectively. The contents of endogenous hormone zeatin riboside (ZR), gibberellin (GA), indole acetic acid (IAA) and abscisic acid (ABA) were determined by HPLC. **Results** The results showed that the endogenous hormone (ZR, GA, IAA and ABA) contents in rhizome and fibrous roots of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* from different regions or different time inoculated by mixed AM fungi were various. As a whole, the contents of endogenous hormone ZR and GA increased obviously in the rhizome and fibrous roots of the wild and cultivated *P. polyphylla* var. *yunnanensis* compared with the control group (CK), while the content of ABA reduced. The IAA/ABA value, GA/ABA value and ZR/ABA value increased obviously in the rhizome and fibrous roots of *P. polyphylla* var. *yunnanensis*. **Conclusion** The one-year-old of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* inoculated with S2 and S6 mixed AM fungi showed the best comprehensive effect for promoting growth of the rhizome and fibrous roots of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings.

Key words: *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz.; arbuscular mycorrhizal fungi; zeatin riboside; gibberellin; indole acetic acid; abscisic acid

滇重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz. 为云南白药、宫血宁和季

德胜蛇药等中成药的重要原料药之一^[1]。重楼药材多年来完全依赖野生采挖, 野生资源日益枯竭,

收稿日期: 2019-10-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(81260622); 重庆市自然科学基金项目资助(CSTC2018jcyjAX0267, CSTC2015jcyjA10110)

作者简介: 杨玲(1989—), 女, 硕士, 助教, 研究方向为药用植物栽培与质量控制。E-mail: woaisheji2011@163.com

*通信作者 周浓, 教授, 硕士生导师, 研究方向为药用植物栽培与质量控制。Tel: (023)58576130 E-mail: erhaizn@126.com

滇重楼已经被列为国家重点保护野生药材濒危物种^[2-3]，找到合适的滇重楼人工栽培的方法非常必要。滇重楼种子为双重休眠，休眠程度高，萌发速率慢，萌发率低等问题限制了滇重楼的人工栽培^[4-5]。因此，提高滇重楼种子的育苗迫在眉睫。

丛枝菌根 (Arbuscular mycorrhizal, AM) 真菌是自然界分布最广泛、最普通的一类菌根，地球上 80% 以上的陆地植物具有菌根，AM 真菌可与不同植物共生而形成菌根^[6-8]。AM 真菌能改善植物养分吸收、生长状况、提高植物的产量和品质^[9]。同时，AM 真菌能改变植物内源激素平衡状况^[10]。研究表明，AM 真菌能侵染滇重楼根系并形成典型的丛枝菌根^[11]，且接种 AM 真菌不会造成滇重楼甾体皂苷质量变异^[12]。接种 AM 真菌，能够通过提高滇重楼叶肉细胞的光合作用强度和叶片可溶性蛋白和可溶性糖含量及保护酶活性，从而促进了滇重楼的生长^[9]。在人工栽培滇重楼过程中施用 AM 真菌能提高根际土壤微生物多样性和酶活性，有助于维持滇重楼根际微生态系统的稳定性与和谐性^[13]。但菌根化的滇重楼其内源激素在不同时期和种源中是如何变化的有待研究。本课题组前期使用 28 种 AM 真菌对滇重楼幼苗根茎和根中的玉米素核苷 (ZR)、赤霉素 (GA₃)、生长素 (IAA)、脱落酸 (ABA) 4 种激素量的影响进行了考察，并发现整体上接种 AM 真菌，滇重楼根茎中 ZR、GA 含量增加，须根中呈现相反规律；且不同 AM 真菌菌株影响滇重楼内源激素量^[14]。因此，本研究选取其中较优良的单株 AM 真菌进行菌剂混合，在不同时期和种源的情况下接种 AM 真菌，以测定菌根化的滇重楼中根状茎和根内源激素 ZR、GA₃、IAA、ABA 含量为基础，探究 AM 真菌对滇重楼内源激素的调节机制作用，为以后滇重楼的产量和质量控制提供依据。

1 材料

1.1 AM 真菌

供试 AM 真菌玫瑰红巨孢囊霉 *Gigaspora*

rosea、微白巨孢囊霉 *Gigaspora albida*、球状巨孢囊霉 *Gigaspora margarita* 和巨大巨孢囊霉 *Gigaspora gigantea*、美丽盾巨孢囊霉 *Scutellospora calospora*、透明盾巨孢囊霉 *Scutellospora pellucida*、珊瑚状盾巨孢囊霉 *Racocetra coralloidea*、亮色盾巨孢囊霉 *Racocetra fulgida*、根内球囊霉 *Rhizophagus intraradices*、沙荒球囊霉 *Septoglomus deserticola*、近明球囊霉 *Claroideoglomus claroideum*、明球囊霉 *Rhizophagus clarus*，购自美国国际丛枝菌根真菌种质资源保藏中心 (INVAM)，由三峡库区道地药材绿色种植与深加工重庆市工程实验室 (重庆三峡学院) 扩繁、保存。

1.2 试药

玉米素核苷 (ZR)、赤霉素 (GA)、吲哚乙酸 (IAA) 和脱落酸 (ABA) 对照品均购自 Sigma 公司，质量分数均大于 98%。甲醇为色谱纯，德国默克公司；其余试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 实验设计

此次实验种源选择、育苗时间、AM 真菌添加时间及样品采集时间如表 1 所示。采收种子经重庆三峡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周浓教授鉴定为百合科植物滇重楼 *P. polyphylla* var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz. 的成熟种子，种子采后常温下河沙贮存 4 个月，采用单株保存、保证种质资源的稳定性和均一性。

接种 AM 真菌时均设置 9 个处理组 (AM 真菌组) 和 1 个对照组 (CK 组) 共 10 种处理组 (表 2)，每处理组 10 个重复。

其中，每盆接种含 180 个孢子的混合菌剂 (均分)。滇重楼幼苗生长期间定期浇 Hoagland 营养液。所有滇重楼种子的前处理均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。育苗

表 1 实验设计

Table 1 Design of experiments

处理	栽培类型	育苗时间	种子来源	接种真菌时间	取样时间
T1	栽培种源种子共生苗	2014-01	贵州安顺栽培品	2014-01	2015-08
T2	栽培种源种子共生苗	2014-01	贵州安顺栽培品	2014-01	2016-08
T3	野生种源种子共生苗	2014-01	贵州安顺野生品	2014-01	2015-08
T4	栽培种源 2 年生苗	2013-01	云南大理栽培品	2015-01	2015-08
T5	栽培种源 1 年生苗	2014-01	贵州安顺栽培品	2015-01	2015-08

表 2 不同处理组及其接种 AM 真菌

Table 2 Different treatment groups and inoculation of AM fungi

处理组	AM 真菌
S1	玫瑰红巨孢囊霉、微白巨孢囊霉、球状巨孢囊霉、巨大巨孢囊霉
S2	美丽盾巨孢囊霉、透明盾巨孢囊霉、瑚状盾巨孢囊霉、亮色盾巨孢囊霉
S3	根内球囊霉、沙荒球囊霉、近明球囊霉、明球囊霉
S4	玫瑰红巨孢囊霉、微白巨孢囊霉、透明盾巨孢囊霉、瑚状盾巨孢囊霉、近明球囊霉、明球囊霉
S5	微白巨孢囊霉、球状巨孢囊霉、瑚状盾巨孢囊霉、亮色盾巨孢囊霉、根内球囊霉、沙荒球囊霉
S6	球状巨孢囊霉、巨大巨孢囊霉、美丽盾巨孢囊霉、透明盾巨孢囊霉、沙荒球囊霉、近明球囊霉
S7	玫瑰红巨孢囊霉、球状巨孢囊霉、透明盾巨孢囊霉、亮色盾巨孢囊霉、根内球囊霉、明球囊霉
S8	微白巨孢囊霉、巨大巨孢囊霉、美丽盾巨孢囊霉、亮色盾巨孢囊霉、根内球囊霉、近明球囊霉
S9	玫瑰红巨孢囊霉、巨大巨孢囊霉、美丽盾巨孢囊霉、瑚状盾巨孢囊霉、沙荒球囊霉、明球囊霉
CK	空白对照组

栽培基质均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），并将栽培基质装入经 10% 的次氯酸钠溶液消毒 15 min，且用蒸馏水洗净的栽培袋中用于栽培滇重楼。于 2015 年 08 月，分别收获栽培种源种子共生苗（T1）、野生种源种子共生苗（T3）、栽培种源 2 年生苗（T4）、栽培种源 1 年生苗（T5）待测滇重楼样品；于 2016 年 08 月，收获种子栽培种源种子共生苗（T2）待测滇重楼样品。

2.2 AM 真菌的分析与评价

菌根化滇重楼侵染率的测定采用曲利苯蓝染色法^[1]。

2.3 内源激素的提取与测定

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取 ZR、GA₃、IAA、ABA 对照品适量，用甲醇溶解并定容于 10 mL 量瓶中，配制质量浓度分别为 0.054、0.449、0.005、0.005 mg/mL 的对照品储备溶液，按一定梯度稀释，即得。

2.3.2 供试品溶液的制备 在 10 个处理组中，每组以随机选取滇重楼幼苗 10 株为 1 个平行，各 3 份，迅速将根状茎和根分离后，用液氮进行冷冻，保存至冰箱（-80 °C）。滇重楼内源激素的提取参照于玉梅等^[15]的方法。

取 1.0 g 样品，依次加 80% 甲醇 8 mL，30 mg/mL 避光浸提过夜，抽滤，残渣分别用 8、4 mL 80% 甲醇冲洗 2 次，合并提取液，40 °C 左右减压蒸干，分别用石油醚（60~90 °C）和 0.02 mol/L 的磷酸缓冲液（pH 值为 8.0）各 10 mL 分 2 次冲洗蒸馏瓶，将冲洗液过 0.45 nm 滤膜，用等体积石油醚（60~90 °C）脱色 3 次后，调节 pH 值为 8.0，用等体积醋酸乙酯萃取 3 次后，再将水相用 0.1 mol/L 盐酸

调到 pH 值为 3.0，用等体积醋酸乙酯再萃取 3 次，合并萃取液，于旋转蒸发仪上 40 °C 减压蒸干，用 1 mL 50% 甲醇溶解，过 0.45 μm 滤膜，即得。

2.3.3 色谱条件^[15] 利用 LC-20A 高效液相色谱仪，Venusil ASB 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱，将流动相设为甲醇-0.8 冰醋酸溶液（40:60），检测波长 254 nm，进样量 20 μL，柱温 25 °C，体积流量 1.0 mL/min 进行测定。

2.4 数据分析

采用 Microsoft Excel 2003 软件作图，运用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。

3 结果与分析

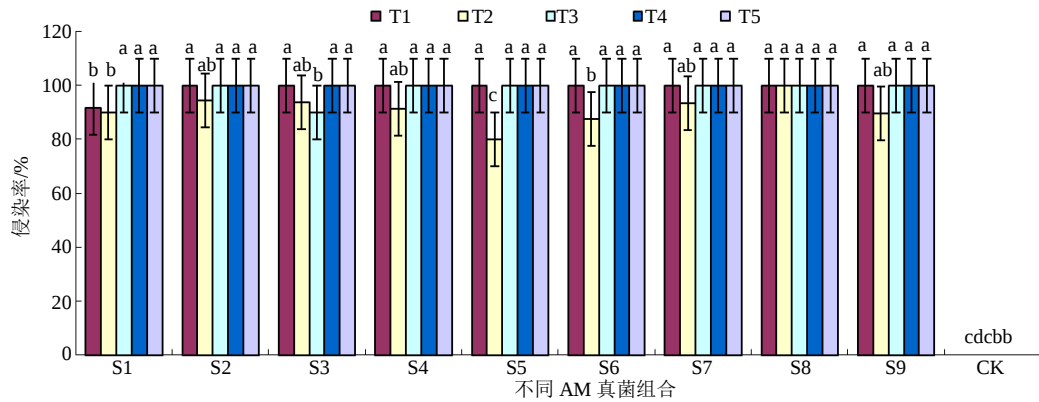
3.1 接种时期对滇重楼幼苗根侵染率的影响

如图 1 所示，CK 组未被侵染，其余各处理组滇重楼幼苗根均在一定程度上受到了 AM 真菌的侵染，类型为典型的 Paris 型菌根，侵染率在 80.00%~100.00%。结果显示，不同时期接种不同 AM 真菌，侵染率均未有显著性差异，与周浓等^[12]的研究结果一致。但侵染 1.5 年后采收的 T2，除 S8 处理组外，其余组滇重楼幼苗根侵染率略低于其他时期，但各组间无显著性差异。由此表明，接种外源 AM 真菌对滇重楼根系菌根侵染率具有促进作用，且不受接种时期和不同种源影响。

3.2 AM 真菌处理对滇重楼幼苗根状茎内源激素含量的影响

不同 AM 真菌处理后，不同种源和接种时期滇重楼幼苗根状茎内源激素含量如表 3 所示。

3.2.1 AM 真菌对不同种源滇重楼幼苗根状茎中内源激素含量的影响 AM 真菌对不同种源滇重楼幼苗根状茎中内源激素含量的影响如图 2 所示。



同列不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著, 下同

Different letters in the same column show significant difference at $P < 0.05$ level, the same as the following figures

图 1 不同接种时期滇重楼幼苗根根根侵染率的变化 ($n = 6$)

Fig. 1 Changes of mycorrhizal infection rate in fibrous roots of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings infected with AM fungi in different time ($n = 6$)

表 3 AM 真菌处理后滇重楼幼苗根状茎内源激素含量 ($n = 6$)

Table 3 Endogenous hormone content in rhizome of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings infected by AM fungi ($n = 6$)

处理	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	ZR	GA	IAA	ABA
T1	9.680~1.563	147.112~22.426	1.031~0.414	0.222~0.000
T2	5.349~0.981	60.079~26.431	1.155~0.210	2.329~0.000
T3	10.712~1.543	44.492~14.443	1.370~0.258	2.997~0.000
T4	11.617~3.174	87.905~38.337	3.422~0.230	2.025~0.000
T5	53.340~2.262	448.705~20.420	4.476~0.562	2.214~0.236
CK	4.280~0.640	47.156~ 8.163	2.238~0.240	4.728~0.000

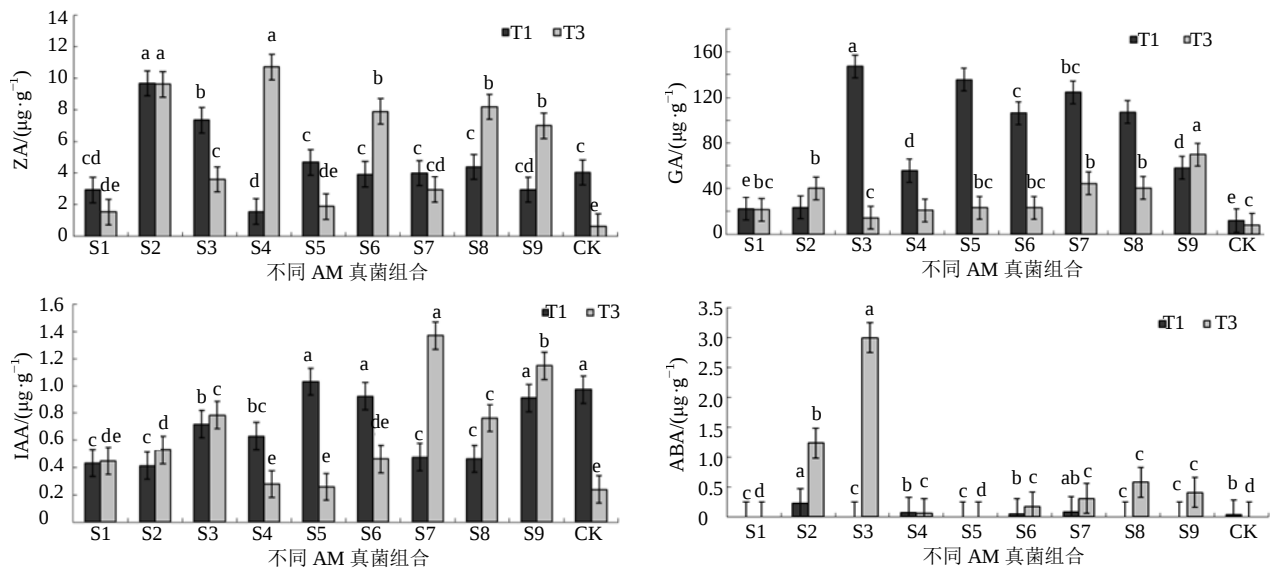


图 2 AM 真菌处理对不同种源滇重楼幼苗根状茎中内源激素含量的影响 ($n = 6$)

Fig. 2 Changes of endogenous hormone content in rhizome of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings infected by AM fungi from different provenances ($n = 6$)

滇重楼幼苗根状茎中 ZR、GA、IAA、ABA 的量对接种不同 AM 真菌差异较显著。其中处理组 S1、S3、S5、S8、S9 的 ABA 在 T1 (栽培) 种源中未测出,

处理组 S1、S5、CK 的 ABA 在 T3 (野生) 种源中未测出。结合表 3 结果可以看出, 整体上, 与 CK 组比较, 内源激素 ZR、GA 含量呈增加趋势。其中,

S2 型对 T1 和 T3 中 ZR 促进作用最显著, S4 型对 T3 中 ZR 促进效果也较显著, 但对 T1 促进作用不显著。S3 型、S9 型分别对 T1 和 T3 中 GA 促进作用最显著。与 CK 组比较, T1 中 IAA 含量呈减少趋势, 其中 S5、S6、S9 型差异不显著。T3 中 IAA 含量呈增加趋势, 其中 S7 型促进作用最显著。无论是 T1 还是 T3 中接种不同 AM 真菌后, ABA 含量变化与 CK 组相比都不规律。除 S2、S3 型对 T3 中 ABA 量增加显著外, 其余组与 CK 组无明显差异。综上所述, 接种 AM 真菌对内源激素 ZR、GA 有促进作用。且接种 S2 型对 ZR 的促进作用最大, 且不受种源影响。接种 S3 型对栽培种源中 GA 促进作用最大, 接种 S9 型对野生种源 GA 促进作用最大。接种 S5 型对栽培种源 IAA 含量的影响最小, 接种 S7 型对野生种源 IAA 的促进作用最大。接种 S3 型对野生种源 ABA 含量影响最大。

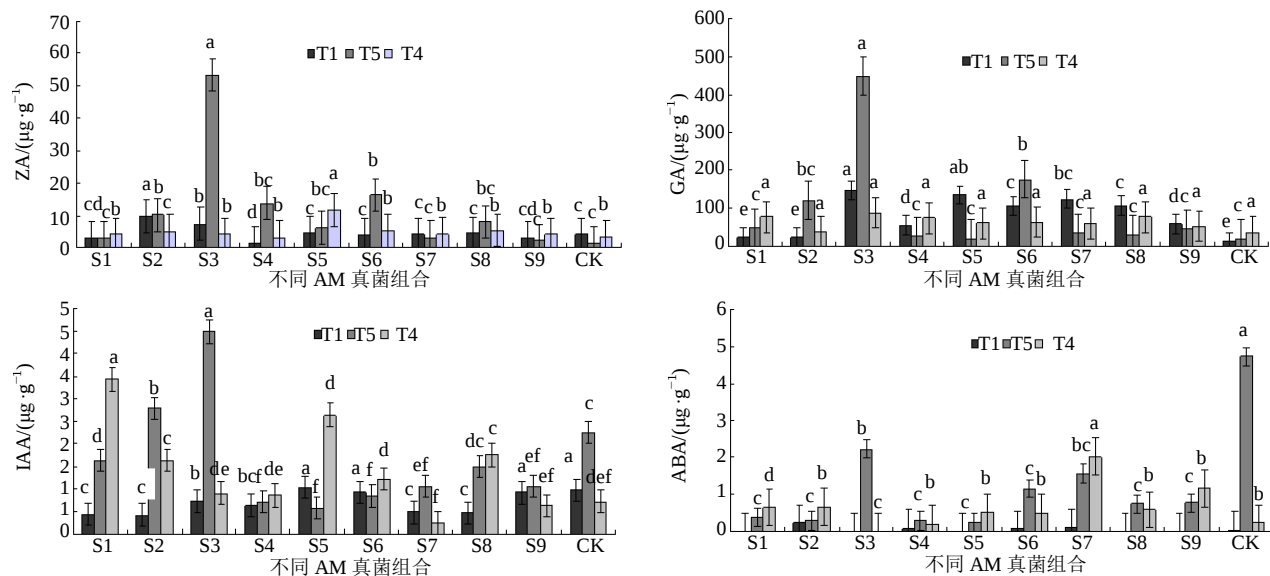


图 3 AM 真菌接种时期不同对滇重楼幼苗根状茎中内源激素含量的影响 ($n = 6$)

Fig. 3 Changes of endogenous hormone content in rhizome of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings infected by AM fungi in different time ($n = 6$)

表 3 显示, T5 时期接种 AM 真菌内源激素明显高于 T1、T4 时期。说明, T5 时期接种 AM 真菌对滇重楼根状茎内源激素促进效果最好。且接种 S3 型效果最佳。

3.3 AM 真菌处理对滇重楼幼苗根内源激素含量的影响

不同 AM 真菌处理后, 不同种源和接种时期滇重楼幼苗根内源激素含量如表 4 所示。

3.3.1 AM 真菌对不同种源滇重楼幼苗根中内源激

3.2.2 AM 真菌接种时期不同对滇重楼幼苗根状茎中内源激素含量的影响 AM 真菌接种时期不同对滇重楼幼苗根状茎中内源激素含量的影响如图 3 和表 3 所示。接种不同 AM 真菌对滇重楼幼苗根状茎中 ZR、GA、IAA、ABA 的量影响较明显。其中 T1 (种子) 时期时, 处理组 S1、S3、S5、S8、S9 未测出含有 ABA, T5 (1 年生) 时期时处理组 S3 未测出含有 ABA。图 3 显示, 整体上, 与 CK 组相比较, T1 和 T5 中内源激素 ZR、GA 含量呈增加趋势, 其中 S3 型对两者促进效果显著。除 S2, S3 型对 T5 中 IAA 含量有促进作用外, T1 和 T5 中其余处理组中内源激素 IAA 含量呈减少趋势, 且未达显著水平。T4 (2 年生) 中内源激素 ZR、GA、IAA 含量呈增加趋势, 但未达到显著水平。其中, 接种 S1 型对 T4 中 IAA 含量增加显著。与 CK 组相比, T5 各处理组中 ABA 含量明显减少, T1 和 T4 中变化不明显。

素含量的影响 如图 4 所示, AM 真菌对不同种源滇重楼幼苗根中内源激素含量的影响差异显著。处理组 S3、CK 没有测出 IAA、ABA 在 T1 (栽培) 种源中; 处理组 S10 没有测出 IAA 在 T3 (野生) 种源中。处理组 S4、CK 没有测出 ABA 在 T3 种源中。整体上, 与 CK 组相比, 不同 AM 真菌处理后, T1 和 T3 滇重楼根中内源激素 ZR、GA、IAA 含量呈增加趋势, 不受种源影响。其中, S5 型对 T1 和 T3 中 ZR 含量促进作用最显著。S8 型和 S3 型分别

对 T1 和 T3 中 GA 含量促进作用最显著。S1 型和 S5 型分别对 T1 和 T3 中 IAA 含量促进作用最显著。S2 型和 S3 型分别对 T1 和 T3 中 ABA 含量影响最

显著。

3.3.2 AM 真菌接种时期不同对滇重楼幼苗根中内源激素含量的影响 如图 5 所示, AM 真菌接种时

表 4 AM 真菌处理后滇重楼幼苗根内源激素含量 ($n = 6$)

处理	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	ZR	GA	IAA	ABA
T1	16.021~0.371	212.959~6.856	2.639~0.000	6.024~0.000
T2	10.509~1.061	113.356~22.564	2.065~0.000	9.693~0.056
T3	8.795~1.095	325.210~23.185	2.805~0.139	7.116~0.000
T4	10.956~4.493	86.236~52.823	2.362~0.492	7.857~0.000
T5	13.613~2.878	105.383~25.396	2.899~0.669	11.047~0.000
CK	3.586~0.351	48.003~5.111	2.722~0.000	34.170~0.000

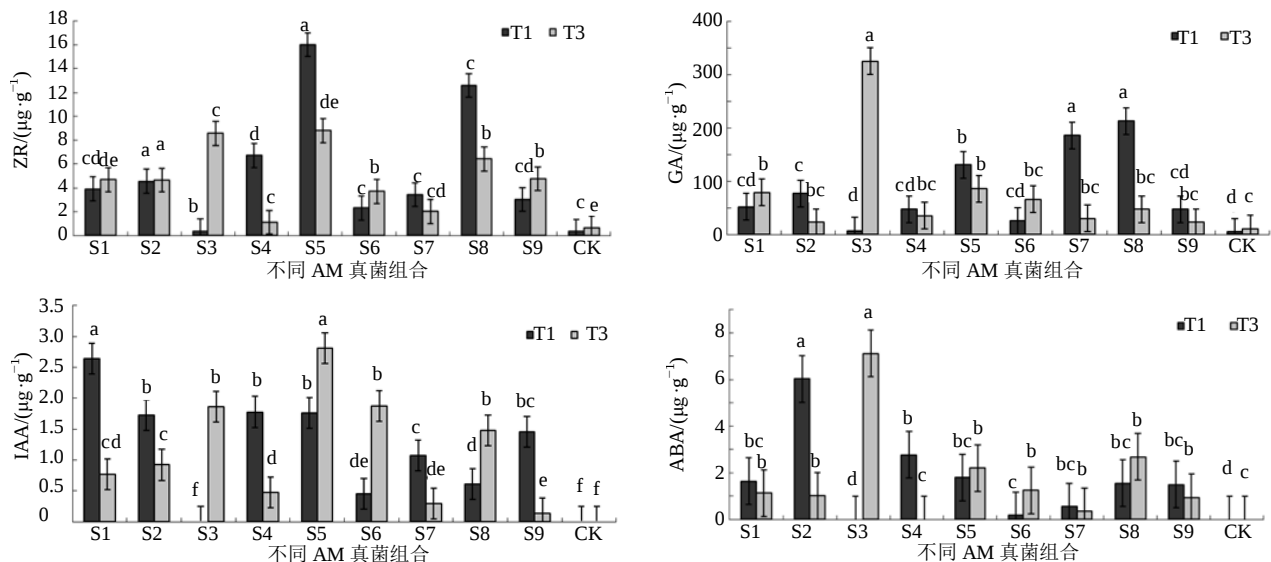


图 4 AM 真菌处理对不同种源滇重楼幼苗根中内源激素含量的影响 ($n = 6$)

Fig. 4 Changes of endogenous hormone content in fibrous roots of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings infected by AM fungi from different provenances ($n = 6$)

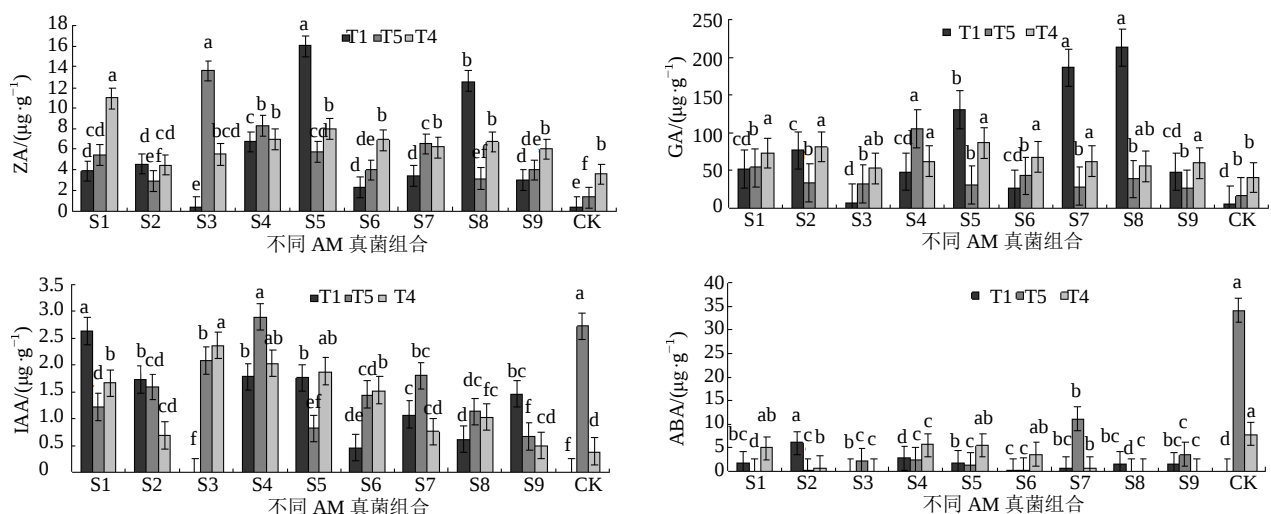


图 5 AM 真菌对不同接种时期滇重楼幼苗根中内源激素含量的影响 ($n = 6$)

Fig. 5 Changes of endogenous hormone content in fibrous roots of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings infected by AM fungi in different time ($n = 6$)

期不同对滇重楼幼苗根中内源激素含量的影响差异显著。处理组 S3 没有测出 IAA、ABA 在 T1（种子）时期中；处理组 S3、S8、S9 没有测出 ABA 在 T4（2 年生）种源中，处理组 S1、S8 没有测出 ABA 在 T5（1 年生）时期中。整体上，与 CK 组相比，不同 AM 真菌处理后，T1、T5、T4 滇重楼根中内源激素 ZR、GA 含量呈增加趋势，不受接种时期影响。其中，S5、S3 和 S1 型 AM 真菌分别对 T1、T5 和 T4 中 ZR 含量促进作用最显著。S8、S43 和 S5 型 AM 真菌分别对 T1、T5 和 T4 中 GA 含量促进作用最显著。与 CK 组相比，T1 和 T4 时期接种 AM 真菌，滇重楼根中内源激素 IAA 含量呈增加趋势，T5 则相反，呈减少趋势。其中，S1 型、S3 型 AM 真菌分别对 T1 和 T4 中 IAA 含量促进作用最显著，S4 型 AM 真菌对 T5 中 IAA 含量减少不显著，影响最小。与 CK 组对比，T4 和 T5 时期接种 AM 真菌，滇重楼根中 ABA 含量明显呈减少趋势，T1 时期接种与对照组无显著性差异。

3.4 AM 真菌处理滇重楼幼苗根状茎内源激素含量比值的变化

3.4.1 AM 真菌处理不同种源滇重楼根状茎内源激素含量比值的变化 AM 真菌对不同种源滇重楼幼苗根状茎中内源激素比值的影响如图 6 所示。不同的 AM 真菌处理组对 ZR/ABA、GA/ABA、IAA/ABA 的值影响差异显著。种源 T1（栽培）种源中，所有处理组的 ZR/ABA、IAA/ABA 均小于 CK 组；种源 T1 中，处理组 S4、S6、S7 的 GA/ABA 大于 CK 组，其余组都小于 CK 组；种源 T3（野生）种源中，所有处理组的 ZR/ABA、IAA/ABA、GA/ABA 均大于 CK 组，说明 AM 真菌能促进野生种源滇重楼幼苗根状茎的生长，且整体来说，S4 型 AM 真菌处理综合效果最佳。由此可以看出，整体来说，内源激素 ZR、GA、IAA 含量的升高，ABA 含量的降低，有助于促进滇重楼幼苗根状茎的生长。

3.4.2 AM 真菌处理不同接种时期滇重楼根状茎内源激素含量比值的变化 如图 7 所示，不同的 AM 真菌处理组对不同接种时期滇重楼根状茎中 ZR/ABA、GA/ABA、IAA/ABA 的值影响显著。时期 T1 中，所有处理组的 ZR/ABA、IAA/ABA 均小于 CK 组，处理组 S4、S6、S7 的 GA/ABA 大于 CK 组，且达到显著性差异。时期 T5 中，所有处理组的 ZR/ABA、IAA/ABA、GA/ABA 均大于 CK 组。

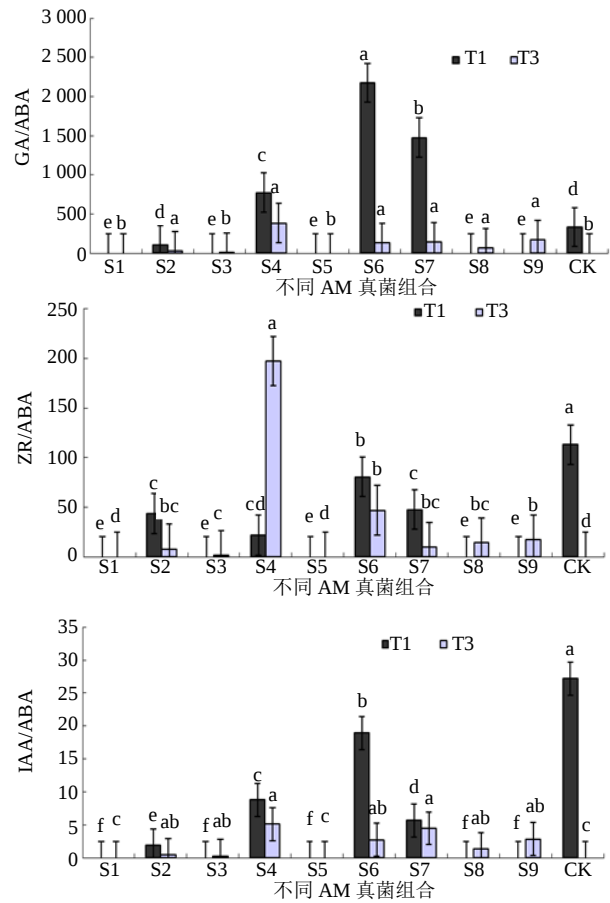


图 6 AM 真菌处理不同种源滇重楼幼苗根状茎中内源激素比值的影响

Fig. 6 Changes of endogenous hormone ratio in rhizome of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings infected by AM fungi from different provenances and

时期 T4 中，除处理组 S5 的 ZR/ABA 大于 CK 组外，其余处理组均小于 CK 组，但未达到显著性差异；同时，除处理组 S3 的 GA/ABA 大于 CK 组外，其余处理组均小于 CK 组，且未达到显著性差异；除处理组 S1、S4、S5 的 IAA/ABA 大于 CK 组外，其余处理组均小于 CK 组，且未达到显著性差异。综上所述，接种 AM 真菌能促进滇重楼幼苗根状茎的生长，且总体来说，在 T5 时期（1 年生）接种 S2 型 AM 真菌综合效果最佳。

3.5 AM 真菌处理滇重楼幼苗根内源激素含量比值的变化

3.5.1 AM 真菌处理不同种源滇重楼根内源激素含量比值的变化 AM 真菌对不同种源滇重楼幼苗根中 ZR/ABA、GA/ABA、IAA/ABA 比值的影响如图 8 所示。不同的菌根真菌处理组对根中内源激素的比值影响明显。T1 种源中，与 CK 组的 ZR/ABA、

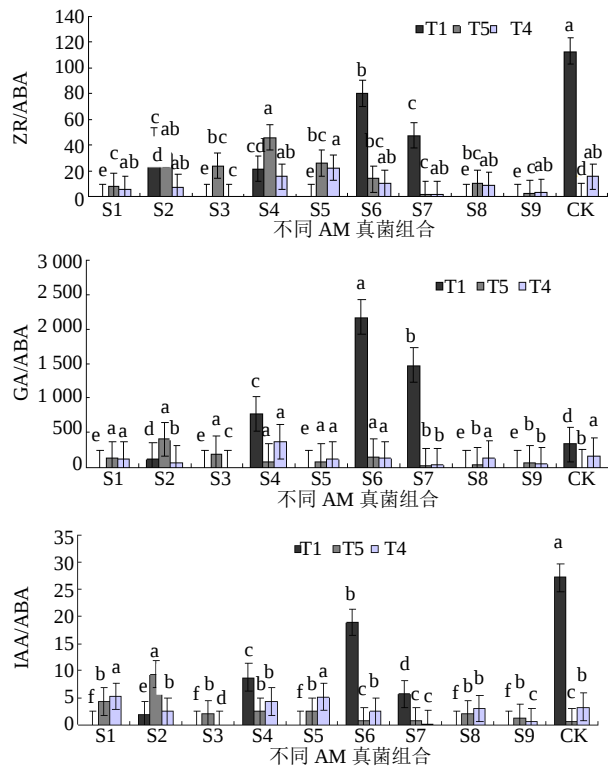


图 7 AM 真菌对不同接种时期滇重楼幼苗根状茎中内源激素比值的影响

Fig. 7 Changes of endogenous hormone ratio in rhizome of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings infected with AM fungi in different time

GA/ABA、IAA/ABA 相比，除 S3 处理组未达到显著性差异外，其余处理组均大于 CK 组，且部分达到显著性差异。T3 种源中，与 CK 组的 ZR/ABA、GA/ABA、IAA/ABA 相比，除 S4 处理组同对照组未达到显著性差异外，其余处理组都大于 CK 组，且部分达到显著性差异。由此可见，大部分 AM 真菌处理组能促进滇重楼幼苗根的生长，且对栽培种源的促进作用稍大于野生种源，接种 S6、S7 型综合效果最佳。

3.5.2 AM 真菌处理不同接种时期滇重楼根内源激素含量比值的变化 AM 真菌对不同接种时期滇重楼幼苗根中 ZR/ABA、GA/ABA、IAA/ABA 的比值影响如图 9 所示。不同的 AM 真菌处理组对根中内源激素的比值影响明显。T1 时期中，与 CK 组的 ZR/ABA、GA/ABA、IAA/ABA 相比，除 S3 处理组同对照组未达到显著性差异外，其余处理组都大于 CK 组，且部分达到显著性差异。T5 时期中，除 S1、S8 处理组的 ZR/ABA、GA/ABA、IAA/ABA 与 CK 组无显著性差异，其余组均大于 CK 组，且

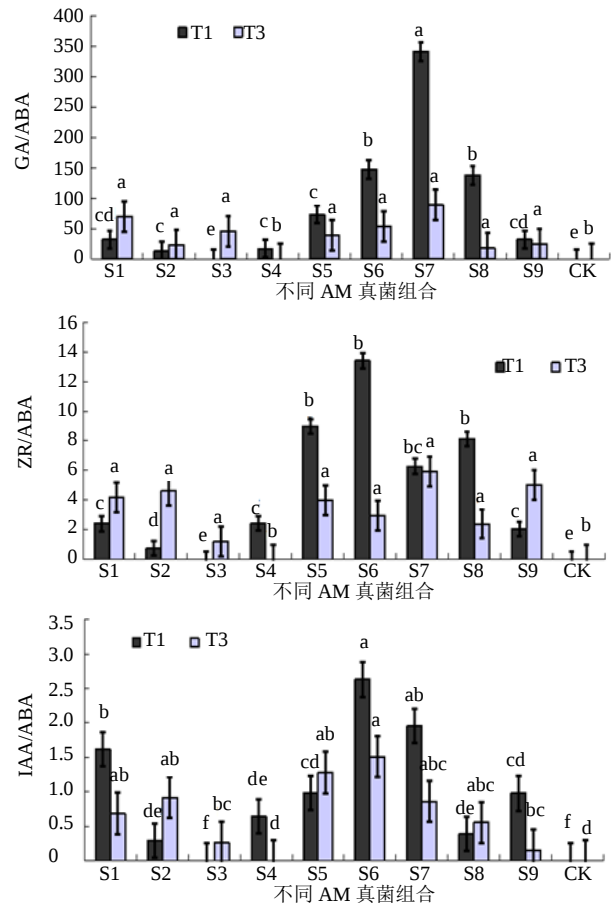


图 8 AM 真菌对不同种源滇重楼幼苗根中内源激素比值的影响

Fig. 8 Changes of endogenous hormone ratio in fibrous roots of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings infected by AM fungi from different provenances

S2、S6 型均达到显著性差异。T4 时期中，除 S3、S8、S9 处理组的 ZR/ABA、GA/ABA、IAA/ABA 与 CK 组无显著性差异，其余组均大于 CK 组，且 S7 型达显著性差异。综上所述，大部分 AM 真菌处理组能促进滇重楼幼苗根的生长，且在 T5 (1 年生) 时期接种 S2、S6 型综合效果最佳。

4 讨论

本实验研究结果表明，滇重楼能与 AM 真菌共生关系良好，但滇重楼对不同 AM 真菌选择性不同，侵染差异较大，与杨光等^[16]通过对药用植物与丛枝菌根真菌的选择性侵染研究结果相同。AM 真菌能促进滇重楼生长，与宋成军等^[17]对小马羊蹄甲幼苗生长研究结果一致。且不同侵染时期影响内源激素含量，与周修腾等^[6]对丹参的研究结果相同。

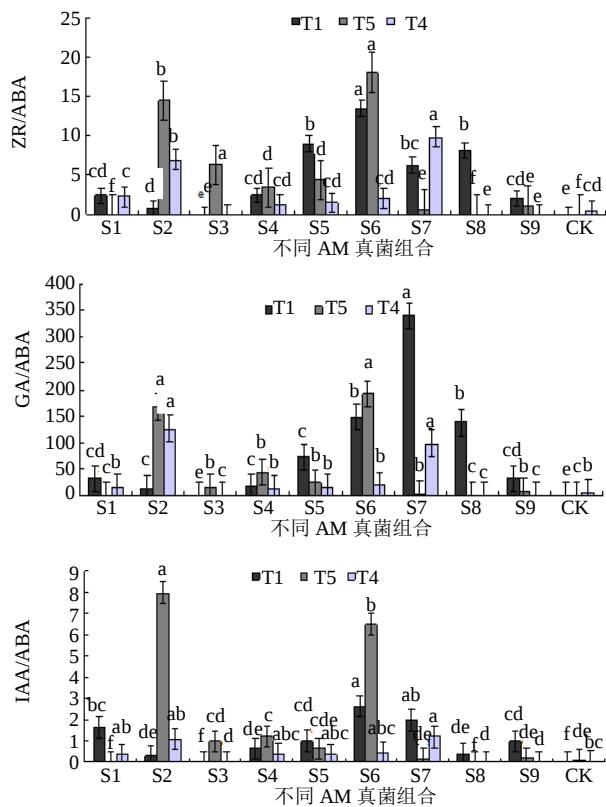


图9 AM真菌对不同接种时期滇重楼幼苗根中内源激素比值的影响

Fig. 9 Changes of endogenous hormone ratio in fibrous roots of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seedlings infected by AM fungi in different time

种子萌发的重要条件之一就是内源激素的变化,种子萌发过程受ZR、GA、IAA、ABA内源激素含量的影响^[18]。据证实,接种AM真菌增加了植物体内一些内源激素含量^[19]。齐国辉等^[20]研究苹果组培苗接种AM真菌后各个生长期菌根化苗茎叶和根内的GA、ZA和ABA含量均高于未接种植株。本实验以不同时期和不同种源的菌根化滇重楼为研究材料,测定了滇重楼根状茎和根中的内源激素,不同种源和时期其内源激素变化不同,整体上与CK组相比,野生种源和栽培种源、种子苗、1年生和2年生苗滇重楼根状茎的ZR、GA内源激素含量均呈增加趋势,ABA含量整体呈减少趋势,IAA含量变化不规律。其中栽培种源1年生时期滇重楼根状茎的ZR、GA、IAA内源激素含量增加趋势最显著。与浦梅^[21]关于滇重楼种子萌发过程中ABA、ZR、GA、IAA等含量变化的研究结果基本一致。根中的ZR、GA内源激素含量也呈增加趋势,ABA呈减少趋势明显,但不同种源和不同时期差异

规律性不强。与单株AM真菌侵染结果不同^[14],由此可以说明,优选的混合AM真菌菌剂比单株真菌侵染,在增加滇重楼根中内源激素ZR、GA含量的效果更好。

GA和ABA是影响种子休眠与萌发的主要因素,在种子休眠或解除的过程中关键因子是GA和ABA,两者之间存在着一定的拮抗作用,GA在促进种子发育和调控种子发芽中起着十分重要的作用,ABA可诱导发育种子的休眠^[22-24]。整体上,与CK组相比,栽培种源和野生种源滇重楼根状茎和根的ZR/ABA、IAA/ABA、GA/ABA值均呈现增加的趋势,间接说明GA/ABA值增加对滇重楼生长有一定促进作用,与陈疏影等^[25]对变温层积对解除滇重楼种子休眠及其内源激素变化的研究结果和苏海兰等^[26]关于云南重楼种子萌发过程中内源激素含量变化的研究结果一致。

综上所述,滇重楼的繁殖生长受到多重因素的影响,选择适宜的种源,在适宜的种植时期接种AM真菌菌株能一定程度促使其繁殖力强,生命力旺盛,以达到滇重楼种植技术和生产的可持续发展。

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2015.
- [2] 张琳,李海峰,张德全,等.层积和赤霉素协同作用对解除滇重楼种子休眠的影响[J].中国药理学杂志,2013,48(20):1719-1723.
- [3] 赵俊凌,罗承彬,李戈.不同层积处理滇重楼种子内源激素变化的研究[J].云南中医学院学报,2014,37(3):28-29.
- [4] 付长珍,郭宝林.药用植物种子休眠研究概述[J].中国现代中药,2013,15(9):776-782.
- [5] 李戈,唐玲,王艳芳,等.不同层积条件下滇重楼种子的生理变化[J].中国农学通报,2015,31(7):149-153.
- [6] 周修腾,王雪,杨光,等.丛枝菌根真菌对丹参内源激素的影响[J].中国中药杂志,2016,41(20):3761-3766.
- [7] Miransari M, Abrishamchi A, Khoshbakht K, et al. Plant hormones as signals in arbuscular mycorrhizal symbiosis[J]. Crit Rev Biotechnol, 2014, 34(2): 123-133.
- [8] 贺忠群,李焕秀,汤浩茹,等.丛枝菌根真菌对NaCl胁迫下番茄内源激素的影响[J].核农学报,2010,24(5):1099-1104.
- [9] 韦正鑫,郭冬琴,李海峰,等.AM真菌对滇重楼光合参数及生理指标的影响[J].中国中药杂志,2015,

- 40(20): 3945-3952.
- [10] Liu R J, Li M, Meng X X, *et al.* Effects of AM fungi on endogenous hormones in corn and cotton plants [J]. *Mycosystema*, 2000, 19(1): 91-96.
- [11] 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, 2009, 34(14): 1768-1772.
- [12] 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.
- [13] 欧 洪, 郭冬琴, 林俊杰, 等. AM 真菌对滇重楼根际土壤微生物数量及酶活性的影响 [J]. 中药材, 2016, 39(5): 948-955.
- [14] 周 浓, 张 杰, 潘兴娇, 等. 丛枝菌根真菌对滇重楼内源激素的影响 [J]. 中草药, 2017, 48(23): 4970-4978.
- [15] 于玉梅, 刘春香, 朱妍妍, 等. 高效液相色谱法在黄瓜果实内源激素测定上的应用及改进 [J]. 山东农业科学, 2008, 40(7): 97-99.
- [16] 杨 光, 郭兰萍, 郭晓恒, 等. 药用植物与丛枝菌根真菌的选择性侵染研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(1): 53-55.
- [17] 宋成军, 曲来叶, 马克明, 等. AM 真菌和磷对小马安羊蹄甲幼苗生长的影响 [J]. 生态学报, 2013, 33(19): 6121-6128.
- [18] 郭少玲, 高 健, 徐有明, 等. $^{60}\text{Co}\gamma$ 辐射对毛竹种子萌发过程中内源激素含量的影响 [J]. 中国农学通报, 2013, 29(25): 26-31.
- [19] 于建新, 李 辉, 郭绍霞, 等. 丛枝菌根真菌对番茄植株内源激素含量的影响 [J]. 青岛农业大学学报: 自然科学版, 2010, 27(2): 100-104.
- [20] 齐国辉, 郝荣庭. VA 菌根菌对苹果组培苗内源激素含量的影响 [J]. 河北农业大学学报, 1997, 20(4): 51-54.
- [21] 浦 梅. 滇重楼种子发芽过程中生理生化特征研究 [D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2016.
- [22] 徐文娟, 李先恩, 孙 鹏, 等. 滇重楼种子层积后脱落酸和赤霉素相关基因表达水平的研究 [J]. 中草药, 2013, 44(3): 338-343.
- [23] Brady S M, Mccourt P. Hormone cross-talk in seed dormancy [J]. *J Plant Grow Regulat*, 2003, 22: 25-31.
- [24] Kermode A R. Role of abscisic acid in seed dormancy [J]. *J Plant Grow Regulat*, 2005, 24: 319-344.
- [25] 陈疏影, 尹品训, 杨艳琼, 等. 变温层积对解除滇重楼种子休眠及其内源激素变化的研究 [J]. 中草药, 2011, 42(4): 793-795.
- [26] 苏海兰, 周先治, 李 希, 等. 云南重楼种子萌发过程中内源激素含量及酶活性变化研究 [J]. 核农学报, 2018, 32(1): 141-149.