

4 种 AM 真菌对苍术根茎生长 及其挥发油成分的影响*

□张 霁** 刘大会 (中国中医科学院中药研究所 北京 100700)
(云南省农业科学院药用植物研究所 昆明 650223)

郭兰萍** (中国中医科学院中药研究所 北京 100700)

金 航 (云南省农业科学院药用植物研究所 昆明 650223)

周 洁 杨 光 (中国中医科学院中药研究所 北京 100700)

摘 要:目的:研究 4 种 AM 真菌对苍术根茎生长及其挥发油成分的影响。方法:采用盆栽试验,接种 AM 菌剂,测定苍术地下部分生长状况和根茎挥发油成分的含量。结果:不同 AM 真菌对苍术根茎的侵染率不同,接种 AM 真菌能显著降低苍术根茎的折干率,而对根茎挥发油中 5 种主要成分含量均无明显影响。结论:AM 真菌与植物之间具有选择性。不同 AM 真菌对苍术地下部分的营养生长存在差异,但对苍术挥发油的品质无显著性影响($P>0.05$)。

关键词:丛枝菌根 苍术 生物量 挥发油

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2010.05.020

自然界中真菌与植物根系形成共生体称为菌根,丛枝菌根(Arbuscular mycorrhizal, AM)是其中的一类^[1]。据统计和预测,世界上绝大多数显花植物都是菌根植物,其中 AM 真菌约占 90%^[2]。AM 真菌能够通过菌丝更为有效地获取宿主植物根际的矿质元素,特别是 P 元素,促进植物对土壤水分的吸收,促进植物生长发育,提高植物抗逆性^[1]。

苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 为菊科多年生草本植物^[3-4],其根茎为中药苍术的主要来源之一,具有燥湿健脾,祛风散寒,明目之功效^[5],可用于治疗消化不良,胃痛等疾病^[6]。目前,栽培苍术随栽培年限增加,发病率、死亡率急速升高,生产中存在明显的连作障碍^[7]。对苍术栽培中根际土壤微生物数量和群落结构的变化规律的研究发现,多年栽培苍术病虫害的发生,可能与其根际区土壤微生物数量和

收稿日期: 2010-02-01

修回日期: 2010-03-15

* 国家自然科学基金面上项目(81072989):低剂量镉影响青蒿中青蒿素积累的 Hormesis 机理研究,负责人:郭兰萍;科学技术部国家科技重大专项(2009ZX09502-026):中药材重金属安全限量标准研究,负责人:郭兰萍;科学技术部国家科技重大专项(2009ZX09301-005):综合性中药新药研究开发技术大平台,负责人:郭兰萍;云南省科学技术厅科技计划项目重点产业创新工程(2008IF025-4):三七连作障碍种植土壤生态种植技术研究,负责人:郭兰萍;国家中医药管理局行业科研专项(201107009):20 种道地药材特色栽培及加工技术整理、规范及应用,负责人:黄璐琦。

** 联系人:张霁,研究实习员,硕士,主要研究方向:药用植物资源与育种, Tel: 0871-8060004, E-mail: zjyaas@hotmail.com; 郭兰萍,研究员,主要研究方向:中药资源生态学及道地药材形成的环境机制研究, Tel: 010-64011944, E-mail: glp01@126.com。

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 779

群落结构的改变有关,提示可通过发挥土壤微生物作用,改变栽培苍术土壤环境恶化问题^[9]。近年来,郭兰萍等^[9-10]研究发现对苍术种子和栽培土壤灭菌处理之后,接种 AM 真菌 *Glomus mosseae* 可以促进苍术根系对土壤养分的吸收,提高苍术根际土壤微生物的功能多样性及代谢活性,影响苍术根际区有机质组成,从而显著促进苍术的营养生长,提高产量。但在苍术实际生产中,经常会采用根茎繁殖,苍术种苗无法实现有效灭菌,这种情况下接种 AM 真菌对苍术生长和品质的影响至今未见报道。

本研究采用可控实验,模拟大田生产,研究了苍术根茎不灭菌时,接种 4 种 AM 真菌对苍术地下生物量和挥发油成分的影响,从而为 AM 菌剂在苍术实际生产中的应用,提供理论依据。

一、材料和方法

1. 材料

AM 真菌来自北京市农林科学院植物营养与资源研究所国家基金资助“中国丛枝菌根真菌种质资源库(BGC),其中摩西球囊霉 *Glomus mosseae* (编号: BGC-XZ01),从西藏当雄黄芪根际分离,用高粱扩繁;聚丛球囊霉 *Glomus aggregatum* (编号: BGC-BJ07),从北京灵山黄花蒿根际分离,用高粱扩繁;地表球囊霉 *Glomus versiforme* (编号: BGC-NM04B),从内蒙伊金霍洛旗神东煤矿沙打旺根际分离,用高粱扩繁;根内球囊霉 *Glomus intraradices* (编号: BGC-USA04),来自美国,用高粱扩繁。

苍术根茎为同一批样品,来源于湖北。

2. 接种方法及栽培管理

土壤取自中国医学科学院药用植物研究所田间试验基地耕作层(1~20cm)土壤,风干过筛,在 121℃ 高压灭菌锅内灭菌 2h。采用温室盆栽方法,分别设接种 *G. mosseae*, *G. aggregatum*, *G. versiforme*, *G. intraradices* 和不接种(CK)5 种处理。每处理 4 个重复,每重复 1 盆,栽种苍术 9 株。每盆装土 7.0kg,1kg 土加 0.10g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.15g KH_2PO_4 , 0.15g K_2SO_4 和 0.7mL Arnon 微量元素营养液。于 2008 年 3 月 10 日,选择大小一致苍术根茎定植,每盆层施 AM 菌剂 60g。并于 3 月 25 日第 1 次施肥,每盆施入 1.77g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.72g KH_2PO_4 和 49mL Arnon 微量元素营养液。5 月 25 日第 2 次施肥,每盆施入 1.53g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1.45g KH_2PO_4 和 49mL Arnon 微量元素营养液。温室温度为 25~34℃。

生长期常规管理,定期浇水、护理。11 月 25 日收获,植株于室内风干。

3. 植株与土壤样品的测定

(1) AM 真菌侵染率测定。

AM 真菌侵染率采用曲利本蓝染色法进行测定^[11]。

(2) 生物量测定。

测定每重复全部苍术根茎的总鲜重,风干后分别测定每重复苍术根茎及根总干重,并用以上相关数据计算个体平均根茎鲜重、根茎干重、根干重和地下总干重,并用平均干重/平均鲜重计算苍术个体根茎平均折干率。需要说明的是,部分重复存在个别苍术个体死亡的现象,计算平均值时以实际存活个体数进行计算。

(3) GC-MS 分析根茎挥发油含量。

研究采用 2005 版《中国药典》一部附录 XD 挥发油测定甲法^[9]分单株提取苍术挥发油,每处理取 6 株。

用 GC 内标法测定 β -桉叶醇含量^[12]。 β -桉叶醇对照品由中国中医科学院中药研究所傅梅红老师提供(纯度大于 99%)。

用 GC-MS 测定苍术挥发油组分归一化百分含量。GC-MS 实验条件,柱箱程序:初始 60℃,以 5℃·min⁻¹ 升温至 160℃,保持 10min,后以 5℃·min⁻¹ 升温至 280℃,保持 4min。进样口:气化室 280℃,分流比 20:1 传输线温度:280℃。色谱柱:HP-5 30m×250 μm ×0.5 μm 。MS 信息:溶剂延迟:5min。全扫描模式,扫描范围:29.0~500.0amu。离子源温度:230℃,MS 四级杆温度:150℃。根据 GC 测得 β -桉叶醇含量,及各组分含量百分比,计算其他组分含量。

4. 数据处理

用 SPSS 13.0 进行方差分析,用 LSD 法多重比较。

二、结果与分析

1. 不同 AM 真菌对苍术根系的侵染(见表 1)

表 1 接种 AM 真菌对苍术侵染率(%)的影响

处理	侵染率
CK	21.00±11.02d
<i>G. mosseae</i>	66.00±8.16b
<i>G. aggregatum</i>	89.00±3.46a
<i>G. versiforme</i>	40.00±17.51c
<i>G. intraradices</i>	89.50±4.43a

注:字母不同表示同一列数值之间有显著差异(P<0.05)。下同。

对照组侵染率平均值为 21%，说明苍术根茎在实验前已经具有侵染。接种 4 种 AM 真菌与对照相比，均可显著提高对苍术根系的侵染率 ($P < 0.05$)。不同 AM 真菌对苍术根系的侵染能力不同，其中 *G. aggregatum*, *G. intraradices* 对苍术根系的侵染率显著高于其他 2 种 AM 真菌 ($P < 0.05$)，*G. mosseae* 对苍术根系的侵染率居中，*G. versiforme* 对苍术根系的侵染率最低。

2. 不同 AM 真菌对苍术生物量的影响(见表 2)

由表 2 可知，与对照相比，接种 4 种 AM 真菌，苍术根茎折干率均显著降低 ($P < 0.05$)，根茎鲜重(接种 *G. mosseae* 除外)、根干重均有一定提高，但未达到显著水平。接种 *G. mosseae* 后，苍术根茎鲜重显著提高 ($P < 0.05$)，根茎干重、根干重和地下总干重均有所提高，但未达到显著水平。

3. 不同 AM 真菌对苍术根茎总挥发油含量的影响(见表 3)

与对照相比，接种 4 种 AM 真菌对根茎总挥发油含量无显著影响，其中接种 *G. aggregatum* 和 *G. versiforme* 提高了总挥发油含量，但未达到显著水平 ($P > 0.05$)，平均含量在 5.31~6.66mL/100g 之间。

4. 不同 AM 真菌对苍术根茎总挥发油中主要组分含量 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 影响(见表 4)

苍术根茎总挥发油中，茅术醇与 β -桉叶醇含量最高。与对照相比，接种 4 种 AM 真菌对根茎挥发油中 5 种主要成分含量均无显著影响，其中接种 *G. aggregatum* 组苍术根茎挥发油各项指标均高于对照，但未达到显著水平 ($P > 0.05$)。

三、讨论

AM 真菌与植物之间具有选择性。Andrea Copetta 等^[13]对 *Ocimum basilicum* L. var. *Genovese* 接种 3 种 AM 真菌，结果表明不同 AM 真菌对该植物根系的侵染能力存在差异。本研究中，4 种 AM 真菌对苍术根系的侵染率为：*G. intraradices* > *G. aggregatum* > *G. mosseae* > *G. versiforme*。提示在大田施加

AM 菌剂的实际应用中，需要考虑不同种 AM 真菌与植物之间的选择性。

AM 真菌提高了苍术根茎的鲜重，主要是 4 种 AM 真菌均可以促进苍术根茎对水分吸收，显著降低了苍术根茎的折干率。对于 AM 改善植物水分代谢的作用机制，一般认为是 AM 真菌通过菌根菌丝吸收的直接作用和通过改善植物矿质营养状况及内源激素平衡状况来间接影响寄主植物的水分代谢^[4]。

实验期间未发现 AM 真菌对苍术挥发油总量和主要成分含量造成显著影响，虽然部分 AM 真菌处理提高了总挥发油含量，但未达到显著水平。这是由于栽培时间较短(8 个月)，未能体现不同处理下苍术的挥发油积累的差异，还是说明接种 AM 真菌不会改变苍术的品质，尚有待进一步研究。

不同 AM 真菌对苍术地下部分的营养生长存在差异。如杨晓红等^[14]研究了 AM 真菌种间差异对对枳壳生长的影响，发现不同 AM 真菌对枳壳苗营养生长的促进效应存在着显著差异。本研究中，*G. mosseae* 显著提高了苍术根茎的鲜重，较之其他 3 种 AM 真

表 2 接种 AM 真菌对苍术个体地下生物量的影响

处理	根茎鲜重/g	根茎干重/g	根茎折干率/%	根干重/g	地下总干重/g
CK	3.71±0.63b	2.65±0.46a	71.32±2.19a	2.05±0.62a	4.70±0.99a
<i>G. mosseae</i>	5.72±1.33a	2.83±0.60a	55.80±10.47c	2.48±0.19a	5.31±0.67a
<i>G. aggregatum</i>	4.72±1.36ab	2.32±0.36a	50.43±6.58c	2.15±0.39a	4.47±0.66a
<i>G. versiforme</i>	4.19±0.61b	2.50±0.21a	60.22±3.95b	2.15±0.18a	4.65±0.39a
<i>G. intraradices</i>	4.85±0.57ab	2.46±0.31a	50.72±2.86c	2.28±0.19a	4.74±0.47a

表 3 接种 AM 真菌对苍术根茎总挥发油含量和影响

处理	根茎总挥发油含量 mL/100g
CK	5.68±1.67a
<i>G. mosseae</i>	5.31±2.43a
<i>G. aggregatum</i>	6.66±1.92a
<i>G. versiforme</i>	6.42±2.88a
<i>G. intraradices</i>	5.51±1.27a

表 4 苍术根茎挥发油主要组分含量 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

接种	榄香醇	愈创醇	茅术醇	β -桉叶醇	α -桉叶醇
CK	0.459±0.233a	0.771±0.555a	4.807±3.030a	6.900±4.559a	0.585±0.461a
<i>G. mosseae</i>	0.409±0.343a	0.718±0.675a	4.166±3.075a	4.719±2.379a	0.454±0.299a
<i>G. aggregatum</i>	0.882±0.761a	1.193±0.846a	6.061±2.731a	7.413±3.421a	0.903±1.153a
<i>G. versiforme</i>	0.617±0.553a	0.810±0.499a	4.368±2.360a	5.719±2.934a	0.436±0.341a
<i>G. intraradices</i>	0.658±0.377a	0.959±0.307a	5.117±0.889a	5.860±1.659a	0.406±0.153a

菌,更适于作为大田菌剂使用。

参考文献

- 1 曾燕,郭兰萍,孙宇章,等. 丛枝菌根及其在中药材栽培中的应用. 世界科学技术-中医药现代化, 2007, 9(7):83-87.
- 2 杨光,郭兰萍,黄璐琦,等. 药用植物的丛枝菌根接种方法研究. 资源科学, 2008, 30(5):778-785.
- 3 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 第二十七卷. 北京:科学出版社,1979.
- 4 傅舜谟,方洪钜,刘国声,等. 苍术属药用植物的研究. 植物分类学报, 1981, 19(2):195-202.
- 5 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典一部. 北京:化学工业出版社,2005.
- 6 Gerard Bodeker Chair, K.K.S.Bhat, Jeffrey Burley. Medicinal plants for forest conservation and health care. Delhi: Daya Publishing House, 1997.
- 7 郭兰萍,黄璐琦,蒋有绪,等. 苍术根茎及其根际土水提取物生物活性研究及化感物质的鉴定. 生态学报, 2006, 26(2):528-535.
- 8 郭兰萍,黄璐琦,蒋有绪,等. 栽培苍术根际土壤微生物变化. 中国中药杂志, 2007, 32(12):1131-1133.
- 9 郭兰萍,汪洪钢,黄璐琦,等. 泡囊丛枝菌根(AM)对苍术生长发育及挥发油成分的影响. 中国中药杂志, 2006, 31(18):1491-1496.
- 10 吴志刚,郭兰萍,黄璐琦,等. 接种 VA 菌根对苍术生长发育影响初步观测. 中药研究与信息, 2005, 7(11):27-28,53.
- 11 Phillips J.M., Haymann D. S. Improved procedures for cleaning and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 1970, 55:158-160.
- 12 Yuan Y., Liu Y. J., Huang L. Q., et al. Soil Acidity Elevates Some Phytohormone and β -Eudesmol Contents in Roots of *Atractylodes lancea*. Russian Journal of Plant Physiology, 2009, 56(1):133-137.
- 13 Andrea Copetta, Guido Lingua, Graziella Berta. Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. Mycorrhiza, 2006 16: 485-494.
- 14 吴强盛,夏仁学. VA 菌根与植物水分代谢的关系. 中国农学通报, 2004, 20(1):188-192.
- 15 杨晓红,曾斌,李新国,等. AM 真菌种间差异对枳壳生长及耐热性效应的研究. 菌物学报, 2005, 24(4):582-589.
- 16 郭兰萍,刘俊英,吉力,等. 茅苍术道地药材的挥发油组成特征分析. 中国中药杂志, 2002, 27(11):814-819.
- 17 赵青红,郭兰萍,黄璐琦,等. 苍术挥发油成分变异及其与遗传变异的关系. 资源科学, 2008, 30(5):765-769.

Effects of Four AM Fungi on Growth and Essential Oil Composition in Rhizome of *Atractylodes lancea*

Zhang Ji^{1,2}, Liu Dahui^{1,2}, Guo Lanping¹, Jin Hang², Zhou Jie¹, Yang Guang¹

(1. Institute of Chinese Materia Medica, Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China;

2. Medicinal Plants Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China)

Abstract: The effects of four AM fungi on the growth and essential oil composition in rhizome of *Atractylodes lancea* were studied by pot experiments with or without AM fungi. The fresh weight and dry weight of underground parts and the content of essential oil composition of *A. lancea* were determined. The results showed that the infection rate of different AM fungi differed greatly. The drying rate in rhizome of *A. lancea* was significantly reduced in AM treatments, although the contents of main essential oil compounds were unchanged. In conclusion, there are selective interactions between AM fungi and *A. lancea*. AM fungi have significant impact on vegetative growth of the underground parts of *A. lancea*, whereas the quality of essential oil does not change significantly.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal, *Atractylodes lancea*, Biomass, Essential oil

(责任编辑:李沙沙,责任译审:张立崑)