

## 两类根际复配促生菌剂对当归生长、生理特征及药效成分的影响

姚阳阳<sup>1</sup>, 杨涛<sup>2\*</sup>, 王引权<sup>1,3\*</sup>, 彭桐<sup>1</sup>, 王治业<sup>2</sup>, 杨晖<sup>2</sup>

(1. 甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000;

2. 甘肃省科学院生物研究所, 甘肃省微生物资源开发利用重点实验室, 兰州 730000;

3. 西北中藏药协同创新中心, 甘肃省中药质量与标准研究重点实验室培育基地, 兰州 730000)

**[摘要]** 目的:研究叶面喷施两类根际复配促生菌剂对当归生长与生理特征、药效成分的影响,以期为当归生态种植提供功能性微生物菌剂奠定基础。方法:在田间叶面喷施浓度为 $1 \times 10^8$  CFU·mL<sup>-1</sup>的复配促生菌剂T1(假单胞菌属CBS5、CBS7和CBSB)和T2(芽孢杆菌属5C1、5C5和5C7),以喷施无菌马铃薯葡萄糖肉汤培养基为对照(CK)。常规方法测定当归植株生长指标,利用便携式光合测量系统测定当归植株光合生理指标,试剂盒法测定植物和微生物相关酶活性,超高效液相色谱串联质谱法分析植物内源激素水平,高效液相色谱法测定阿魏酸、洋川芎内酯I、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯A、Z-藁本内酯含量。结果:与CK比较,2种复合菌剂能促进当归植株生长,增加生物量;提高叶片净光合速率、气孔导度、胞间CO<sub>2</sub>浓度、蒸腾速率,增加过氧化氢酶、过氧化物酶、超氧化物歧化酶、多胺氧化酶、二胺氧化酶和多酚氧化酶的活性,增加植株中内源茉莉酸、细胞分裂素及赤霉素水平,提高当归药材阿魏酸、洋川芎内酯A、Z-藁本内酯含量;降低膜脂过氧化产物丙二醛和衰老因子脱落酸的含量;减少根腐发病率。结论:叶面喷施两类根际复配促生菌剂对当归生长、光合作用和抗胁迫能力均有促进作用,对当归药材品质形成有不同程度的提升。综合分析,当归叶面喷施复合菌剂T1处理的促生增质作用优于T2处理。

**[关键词]** 当归; 促生菌; 假单胞菌属; 芽孢杆菌属; 光合作用; 内源激素; 药效成分

**[中图分类号]** R931;R28;Q93;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)08-0131-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20211856 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210812.1033.003.html>

**[网络出版日期]** 2021-08-12 14:22

## Effect of Two Kinds of Compound Rhizosphere Growth-promoting Bacteria on Growth, Physiological Characteristics and Pharmacodynamic Components of Angelicae Sinensis Radix

YAO Yang-yang<sup>1</sup>, YANG Tao<sup>2\*</sup>, WANG Yin-quan<sup>1,3\*</sup>, PENG Tong<sup>1</sup>, WANG Zhi-ye<sup>2</sup>, YANG Hui<sup>2</sup>

(1. College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;

2. Gansu Key Laboratory of Microbial Resources Development and Utilization, Institute of Biology, Gansu Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; 3. Northwest Collaborative Innovation Center of Traditional Chinese Medicine (TCM) and Tibetan Medicine,

Gansu Key Laboratory Breeding Base for TCM Quality and Standard Research, Lanzhou 730000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of foliar spraying of two kinds of compound rhizosphere growth-promoting agents on the growth and physiological characteristics of Angelicae Sinensis Radix (ASR), as well as the pharmacodynamic components, in order to lay a foundation for providing functional microbial agents

**[收稿日期]** 2021-07-03

**[基金项目]** 国家重点研发计划项目(2017YFC1700705);甘肃省教育厅双一流重大科研项目(GSSYLXM-05);甘肃省重点研发计划项目(21YF1FA353);甘肃省科学院产业化基金项目(CY02);甘肃中医药大学扶贫科技专项(2019FPZX-1)

**[第一作者]** 姚阳阳,在读硕士,从事药用植物资源保护与利用研究,E-mail:yyy510508@163.com

**[通信作者]** \*杨涛,硕士,副研究员,从事中药材微生态及生物技术研究,Tel:0931-4563768,E-mail:yangtao8383@163.com;

\*王引权,博士,教授,博士生导师,从事中药质量综合评价研究,Tel:0931-4613982,E-mail:kjfkfp@163.com

for ecological cultivation of ASR. **Method:** The compound growth-promoting agents T1 (*Pseudomonas* CBS5, CBS7 and CBSB) and T2 (*Bacillus* 5C1, 5C5 and 5C7) with the concentration of  $1 \times 10^8$  CFU·mL<sup>-1</sup> were sprayed on the leaf surface of the field, and the sterile potato glucose broth medium was used as the control (CK). The plant growth indexes of ASR were measured by conventional methods, the photosynthetic physiological indexes of ASR were measured by portable photosynthetic measurement system, the enzyme activities of plants and microorganisms were measured by kit method, and the endogenous hormone levels were analyzed by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. The contents of ferulic acid, senkyunolide I, coniferyl ferulate, senkyunolide A and Z-ligustilide were determined by high performance liquid chromatography. **Result:** Compared with CK, the two compound inoculants could promote the growth of ASR and increase the biomass, increase the leaf net photosynthetic rate, stomatal conductance, intercellular CO<sub>2</sub> concentration, transpiration rate, increase catalase, peroxidase, superoxide dismutase, polyamine oxidase, diamine oxidase and polyphenol oxidase enzyme activities, increase endogenous jasmonic acid, cytokinin and gibberellin levels in plants, increase the contents of ferulic acid, senkyunolide A and Z-ligustilide, reduce the contents of malondialdehyde and abscisic acid, and reduce the incidence of root rot. **Conclusion:** Foliar spraying of two kinds of rhizosphere compound growth-promoting agents can promote the growth, photosynthesis and stress resistance of ASR, and can improve the quality of ASR in different degrees. Comprehensive analysis shows that T1 treatment is better than T2 treatment in the growth-promoting and quality-enhancing of ASR.

**[Keywords]** Angelicae Sinensis Radix; plant growth-promoting rhizobacteria; *Pseudomonas*; *Bacillus*; photosynthesis; endogenous hormones; pharmacodynamic composition

当归为伞形科植物当归的干燥根<sup>[1]</sup>,是全国规模化、集约化栽培的大宗药材之一,现已被列入药食同源目录。甘肃为当归道地产区,全省种植面积达400 km<sup>2</sup>,产量 $1.2 \times 10^5$  kg,占全国市场总供应量的80%以上,对全国当归市场价格起决定性作用<sup>[2]</sup>。受当归生态适应区域所限,以及种植面积扩大、种植年限加长,当归单一栽培现象普遍,导致连作障碍频发。肥料是重要的农业生产资料,当归质量的形成与其密切相关,但长期大量施用化肥会造成药材抗逆性下降、生态系统稳定性变差、土壤微生物多样性降低、养分失衡<sup>[3]</sup>,不仅直接影响道地药材生态安全,同时也影响药材品质形成及用药安全性。

广泛生存于植物根际范围中且对植物生长有促进或对病原菌有拮抗作用的有益细菌,被称为植物根际促生菌(PGPR)<sup>[4]</sup>。常见的PGPR主要分属于放线菌门 Actinobacteria、厚壁菌门 Firmicutes 和变形菌门 Proteobacteria 等不同门菌种。厚壁菌门的芽孢杆菌属 *Bacillus* 和变形菌门的假单胞菌属 *Pseudomonas* 为近年来研究报道较多的代表性优势 PGPR<sup>[5]</sup>,如芽孢杆菌属的 *Bacillus* sp. KTS-1-1 能促进太子参抗氧化酶系活性增强、激素含量增加,从而促进生长<sup>[6]</sup>;假单胞菌属的 *Pseudomonas* NF1-17 和芽孢杆菌属的 *B. brevivacterium* NF2-4 的复合菌

剂对苦参促生作用显著<sup>[7]</sup>;假单胞菌属的 *P. fluorescens* N21.4 接种于黑莓上,增强了类黄酮代谢,果实中儿茶素的含量提高了1.1~1.8倍<sup>[8]</sup>。类芽孢杆菌属的 *Paenibacillus polymyxa* G 菌剂在人参上应用,有降低根腐病发病率、提高产量和质量的作用<sup>[9]</sup>。芽孢杆菌属 *B. subtilis* XG-2 和 *B. velezensis* XG-3 能促进当归生长生物量积累,增加丁烯基苯酚含量<sup>[10]</sup>。目前有关 PGPR 对药用植物影响的研究多数基于单一或2种 PGPR 的复合而进行,而有关系统进化关系较远的同属微生物组合对药用植物生长发育和药材品质影响的研究不多。本研究从前期分离的芽孢杆菌属和假单胞菌属菌株各选择3株,在测定菌株固氮、解磷、产酶特性后制备成复合菌剂,在田间条件下研究2种 PGPR 复合菌剂对当归植株生长状况、光合特征、抗氧化酶系、内源激素水平及药效成分等的影响,以期对当归生态种植的特异性微生物菌剂开发提供有益借鉴。

## 1 材料

AL204型1/1万电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],H-2050R型高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司),TU-1950型紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),LI-6400XT型便携式光合测量系统(北京力高泰科技

有限公司), QTrap6500型超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪(美国应用生物系统公司), 1260 Infinity II型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)。

过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、多酚氧化酶(PPO)、过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、丙二醛(MDA)、叶绿素生化试剂盒(北京索莱宝科技有限公司, 批号分别为20190419、20190517、20190618、20190507、20190428、20190623), 漆酶、几丁质酶、中性木聚糖酶(NEX)、二胺氧化酶(DAO)、多胺氧化酶(PAO)、过氧化物酶(POD)生化试剂盒(苏州科铭生物技术有限公司, 批号分别为20190411、20190319、20190306、20190718、20190722、20190713), 水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)、脱落酸(ABA)、赤霉素3(GA3)、赤霉素4(GA4)、赤霉素7(GA7)、反玉米素(tZ)、反玉米素核苷(tZR)、玉米素(cZ)、6-糠氨基嘌呤(6-KT)、N6-异戊烯基腺嘌呤(2-iP)、利波腺苷(2-iPA)、吲哚乙酸(IAA)、4-氯-吲哚乙酸(4-Cl-IAA)、吲哚丙酸(IPA)、吲哚丁酸(IBA)对照品(北京中科质检生物技术有限公司, 批号分别为B20191128、B0013K0503113、B3499D0532、B928142305、B927342306、B94192335、B29173542、B29178942、B29152142、B4718364、B35890K35、B4689K2438、B0012M0924、B0019M0672、B0056M0805、B0023M0698, 纯度均≥98.0%), 阿魏酸、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A、Z-藁本内酯、阿魏酸松柏酯对照品(上海源叶生物技术有限公司, 批号分别为B20007、B21463、B21462、B20492、B20009, 纯度均≥98.0%), 水为超纯水, 乙腈、甲醇、冰乙酸、三氯甲烷为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。供试植株为1年生当归苗, 品种为岷归1号, 由岷县中药材生产技术指导站提供, 经甘肃中医药大学药学院王引权教授鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* 的幼苗。供试菌株由本课题组成员前期从当归和生境相似的甘肃贝母土壤中分离获得, 鉴定后保存于甘肃省科学院生物研究所菌种保藏中心, 见表1。

## 2 方法

**2.1 试验设计** 采用单因素完全随机设计, 设T1(假单胞菌属 CBS5、CBS7、CBSB 共3株菌复配)、T2(芽孢杆菌属 5C1、5C5、5C7 共3株菌复配)和CK[无菌马铃薯葡萄糖肉汤(PDB培养基)]处理。不同菌株在28℃、200 r·min<sup>-1</sup>下用PDB培养基震荡培养2 d, 等比例等吸光度复配浓度为1×10<sup>8</sup> CFU·mL<sup>-1</sup>, 不同处理喷施量体积相等, 均为5 L。每个处理3次重复, 小区面积30 m<sup>2</sup>(4 m×7.5 m)。试验于2019年

表1 不同处理供试菌株信息

Table 1 Information of tested strains in different treatments

| 编号   | 中文名     | 拉丁学名                           | NCBI号      |
|------|---------|--------------------------------|------------|
| CBS5 | 荧光假单胞菌  | <i>Pseudomonas fluorescens</i> | MW981369.1 |
| CBS7 | 产碱假单胞菌  | <i>P. alcaligenes</i>          | MW981370.1 |
| CBSB | 适冷假单胞菌  | <i>P. extremaustralis</i>      | MW981371.1 |
| 5C1  | 枯草芽孢杆菌  | <i>B. subtilis</i>             | MW981361.1 |
| 5C5  | 解淀粉芽孢杆菌 | <i>B. amyloliquefaciens</i>    | MW981362.1 |
| 5C7  | 贝莱斯芽孢杆菌 | <i>B. velezensis</i>           | MW989745.1 |

4—10月在甘肃天祝中药材生态种植示范基地进行。土壤类型为栗钙土, 其速效钾137.86 mg·kg<sup>-1</sup>, 速效磷16.48 mg·kg<sup>-1</sup>, 碱解氮84.22 mg·kg<sup>-1</sup>, 有机质22.35 g·kg<sup>-1</sup>, pH 7.85, 前茬作物为油菜。施有机肥[有机质≥45%, 总养分(氮+五氧化二磷+氧化钾)≥5%]3 000 kg·hm<sup>-2</sup>。2019年7—8月, 每2周叶面喷施1次, 共4次。田间管理按常规措施进行。每小区随机选取当归30株, 剪下第3~5位同样位置功能叶, 混样装入样品袋中, 液氮速冻, -80℃保存。当归收获期采挖根部, 清洗, 阴干保存。

**2.2 菌株固氮、解磷及酶活指标测定** 固氮、解磷定性检测方法及其酶活测定前处理方法参考文献[11], 氨基环丙烷羧酸(ACC)脱氨酶酶活性通过分光光度法测定<sup>[12]</sup>; SOD、POD、NEX、漆酶和几丁质酶酶活性按试剂盒说明书操作进行测定, 计算结果除以相应的待测菌液蛋白浊度, 标准化为单位浊度待测菌液酶活。

**2.3 当归光合作用参数测定** 利用便携式光合作用系统测定当归植株中部健康叶片的净光合速率(P<sub>n</sub>)、气孔导度(G<sub>s</sub>)、胞间CO<sub>2</sub>浓度(C<sub>i</sub>)和蒸腾速率(T<sub>r</sub>)。各样品重复10次, 取平均值。

**2.4 当归生理生化指标测定** 按试剂盒所述方法测定当归叶片MDA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和叶绿素含量, SOD、POD、CAT、PAO、DAO和PPO活性(n=3)。

**2.5 当归叶片内源激素含量测定** 运用超高效液相色谱串联质谱法(UPLC-MS)测定当归叶片不同内源激素SA、JA、ABA、GA、生长素和细胞分裂素(CTK)含量<sup>[13]</sup>。每个样品重复3次, 取平均值。

**2.6 当归生长及产量指标测定** 使用常规方法游标卡尺、卷尺在生长期处理后测定当归茎粗、株高、冠幅; 采收后使用游标卡尺测定芦头直径、芦头长、主根长, 电子秤称定单株鲜重; 统计茎数、不定根数、根腐病数。每小区选30株, 取平均值。

**2.7 当归药效成分测定** 采用高效液相色谱法

(HPLC)测定当归根中阿魏酸、洋川芎内酯I、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯A、Z-藁本内酯的含量<sup>[14]</sup>。重复3次,取平均值。

**2.8 数据处理** 实验数据采用GraphPad Prism 8和Origin 9进行整理作图,通过SPSS 22.0进行差异显著性、相关性和主成分分析(PCA)处理。

### 3 结果与分析

**3.1 菌株固氮、解磷及酶活性测定** 由表2可见,除CBS7外,其余菌株都有固氮活性;CBS5、CBSB

和5C7无解磷能力,其余菌株则具备;各菌株都具有ACC脱氨酶、SOD、POD、NEX、几丁质酶和漆酶活性,其中SOD、POD和漆酶活性绝对值较大,表明清除活性氧、多酚等抑制生长物质和促进植物生长的作用较强。T1和T2处理总酶活性见表3,种处理不同酶活性差异显著;除ACC脱氨酶外,SOD、POD、NEX、几丁质酶和漆酶活性,T1处理均高于T2处理,这些酶活性T1较T2分别提高了21.77%、27.83%、74.84%、56.70%和125.11%。

表2 不同菌株的固氮、解磷及产酶特性( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 2 Nitrogen fixation, phosphorus solubilization and enzyme activities of different strains ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

| 菌株   | 固氮 | 解磷 | ACC脱氨酶/ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ | SOD/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ | POD/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ | NEX/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ | 几丁质酶/ $\text{mg}\cdot\text{h}^{-2}\cdot\text{mg}^{-1}$ | 漆酶/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ |
|------|----|----|---|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--|-----------------------------------|
| CBS5 | ++ | -  | 0.131±0.002 <sup>c</sup>                    | 12.180±0.134 <sup>b</sup>          | 68.154±1.249 <sup>a</sup>          | 0.229±0.007 <sup>a</sup>           | 2.921±0.107 <sup>a</sup>                               | 30.145±0.801 <sup>a</sup>         |
| CBS7 | -  | +  | 0.029±0.001 <sup>d</sup>                    | 9.839±0.156 <sup>c</sup>           | 25.861±2.878 <sup>f</sup>          | 0.106±0.003 <sup>d</sup>           | 2.061±0.101 <sup>b</sup>                               | 20.315±0.654 <sup>b</sup>         |
| CBSB | +  | -  | 0.574±0.007 <sup>a</sup>                    | 13.863±0.221 <sup>a</sup>          | 48.268±2.750 <sup>b</sup>          | 0.200±0.007 <sup>b</sup>           | 1.554±0.065 <sup>c</sup>                               | 29.797±1.103 <sup>a</sup>         |
| 5C1  | ++ | +  | 0.587±0.006 <sup>a</sup>                    | 13.778±0.142 <sup>a</sup>          | 32.024±2.908 <sup>e</sup>          | 0.066±0.004 <sup>c</sup>           | 1.568±0.065 <sup>c</sup>                               | 16.103±0.302 <sup>c</sup>         |
| 5C5  | ++ | +  | 0.524±0.004 <sup>b</sup>                    | 8.882±0.089 <sup>c,d</sup>         | 43.744±1.991 <sup>c</sup>          | 0.137±0.008 <sup>c</sup>           | 1.367±0.059 <sup>c,d</sup>                             | 9.227±0.645 <sup>d</sup>          |
| 5C7  | +  | -  | 0.035±0.002 <sup>d</sup>                    | 6.806±0.023 <sup>d</sup>           | 35.542±2.721 <sup>d</sup>          | 0.103±0.007 <sup>d</sup>           | 1.236±0.088 <sup>d</sup>                               | 10.322±0.669 <sup>d</sup>         |

注:+.有此功能;++.功能较强;-.无此功能;每列数据比较不同小写字母表示相应指标多重比较 $P<0.05$ (表3-表8同);空白组数据已在计算中减去(表3同)

表3 不同复配菌剂的相关酶活性( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 3 Enzyme activity of different compound microbial agents ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

| 处理 | ACC脱氨酶/ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ | SOD/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ | POD/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ | NEX/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ | 几丁质酶/ $\text{mg}\cdot\text{h}^{-2}\cdot\text{mg}^{-1}$ | 漆酶/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ |
|----|---|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--|-----------------------------------|
| T1 | 0.734±0.011 <sup>b</sup>                    | 35.882±1.162 <sup>a</sup>          | 142.283±8.756 <sup>a</sup>         | 0.535±0.018 <sup>a</sup>           | 6.536±0.058 <sup>a</sup>                               | 80.257±1.936 <sup>a</sup>         |
| T2 | 1.146±0.014 <sup>a</sup>                    | 29.466±1.009 <sup>b</sup>          | 111.310±7.284 <sup>b</sup>         | 0.306±0.013 <sup>b</sup>           | 4.171±0.062 <sup>b</sup>                               | 35.652±0.614 <sup>b</sup>         |

**3.2 不同处理对当归叶片光合特性的影响** 与CK比较,T1、T2处理的当归叶片光合参数 $P_n$ 、 $G_s$ 、 $C_i$ 和 $T_r$ 均明显升高( $P<0.05$ ),说明菌剂处理提高了光合作用,为当归生长和物质积累奠定了基础,见表4。T1与T2比较, $C_i$ 差异不具有统计学意义, $P_n$ 、 $G_s$ 和 $T_r$ 差异则具有统计学意义,但差异幅度不大。

表4 不同处理对当归叶片光合特性的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 4 Effect of different treatments on photosynthetic parameters of *Angelicae Sinensis Radix* ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

| 处理 | $P_n$<br>/ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ | $G_s$<br>/ $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ | $C_i$<br>/ $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ | $T_r$<br>/ $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ |
|----|--|---|--|--|
| T1 | 15.384±0.265 <sup>b</sup>                                      | 0.243±0.006 <sup>b</sup>                                    | 230.841±7.306 <sup>a</sup>                     | 2.619±0.028 <sup>b</sup>                                     |
| T2 | 17.051±0.655 <sup>a</sup>                                      | 0.264±0.008 <sup>a</sup>                                    | 231.460±4.691 <sup>a</sup>                     | 2.962±0.078 <sup>a</sup>                                     |
| CK | 12.890±0.796 <sup>c</sup>                                      | 0.215±1.006 <sup>c</sup>                                    | 216.738±3.549 <sup>b</sup>                     | 2.123±0.039 <sup>c</sup>                                     |

**3.3 不同处理对当归叶片特性的影响** T1、T2较CK都明显提高了当归叶片CAT、SOD、POD、PAO、DAO、PPO活性及 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、叶绿素含量( $P<0.05$ ),降低

MDA含量( $P<0.05$ ),见表5。T1较T2在CAT、POD、PAO活性和叶绿素质量分数上分别增加7.36%、11.33%、6.38%、5.74%,在SOD、PPO上分别减少7.16%、11.76%。这2种处理的SOD、POD和漆酶总活性为T1大于T2,而叶片酶活则是T1较T2的SOD、PPO活性减小,表明T1的胁迫保护作用更强。比较T1、T2的POD/SOD、CAT/SOD和POD/CAT比值,且T1较T2均提高,表明T1较T2显著激活植物自身POD、CAT活性,且POD的表达强于CAT。

**3.4 不同处理对当归植株内源激素的影响** T1、T2较CK,除SA、生长素和GA外,其他激素两者均表现出一致的变化趋势。T1、T2较CK明显提高JA、CTK含量( $P<0.05$ ),明显降低ABA含量( $P<0.05$ )。ABA含量降低和JA、CTK含量增加是T1、T2促进当归产量和品质提高的共同因素。T1较CK在SA、JA含量上分别提高30.59%、257.91%,生长素含量降低42.85%;T2较CK在JA、生长素、GA

表5 不同处理对当归叶片生理生化特性的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 5 Effect of different treatments on physiological and biochemical characteristics of *Angelicae Sinensis Radix* ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

| 处理 | CAT/U·g <sup>-1</sup>   | SOD/U·g <sup>-1</sup>    | POD/U·g <sup>-1</sup>    | PPO/U·g <sup>-1</sup>   | PAO/U·g <sup>-1</sup>    | DAO/U·g <sup>-1</sup>    | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /μmol·g <sup>-1</sup> | MDA/nmol·g <sup>-1</sup> | 叶绿素/mg·g <sup>-1</sup> |
|----|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|---|--------------------------|------------------------|
| T1 | 18.25±0.15 <sup>a</sup> | 154.41±3.91 <sup>b</sup> | 190.00±7.21 <sup>a</sup> | 81.00±3.34 <sup>b</sup> | 222.23±6.74 <sup>a</sup> | 179.58±1.80 <sup>a</sup> | 10.01±0.18 <sup>a</sup>                             | 30.90±0.51 <sup>c</sup>  | 2.34±0.15 <sup>a</sup> |
| T2 | 17.00±0.34 <sup>b</sup> | 166.33±3.58 <sup>a</sup> | 170.67±6.11 <sup>b</sup> | 91.80±2.16 <sup>a</sup> | 208.89±5.09 <sup>b</sup> | 177.48±2.34 <sup>a</sup> | 9.76±0.08 <sup>a</sup>                              | 33.02±0.68 <sup>b</sup>  | 2.21±0.12 <sup>b</sup> |
| CK | 10.31±0.21 <sup>c</sup> | 98.06±1.75 <sup>c</sup>  | 90.67±8.08 <sup>c</sup>  | 57.00±1.72 <sup>c</sup> | 91.11±7.52 <sup>c</sup>  | 148.14±2.25 <sup>b</sup> | 5.44±0.13 <sup>b</sup>                              | 39.65±0.83 <sup>a</sup>  | 1.69±0.10 <sup>c</sup> |

含量上分别提高99.94%、102.61%、15.37%，SA含量降低5.94%。T1、T2对当归SA、生长素、GA影响的

差异导致其根生长、产量、品质相关指标产生差异。见表6和增强出版附加材料。

表6 不同处理对当归叶片内源激素质量分数的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 6 Effect of different treatments on endogenous hormones in leaves of *Angelicae Sinensis Radix* ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

| 处理 | SA                        | JA                         | ABA                       | GA                        | 生长素                       | CTK                       |
|----|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| T1 | 31.427±0.091 <sup>a</sup> | 296.369±1.347 <sup>a</sup> | 12.988±0.076 <sup>b</sup> | 17.383±0.103 <sup>b</sup> | 15.004±0.118 <sup>c</sup> | 16.275±0.076 <sup>a</sup> |
| T2 | 22.635±0.045 <sup>c</sup> | 165.558±1.038 <sup>b</sup> | 12.172±0.045 <sup>b</sup> | 19.595±0.075 <sup>a</sup> | 53.192±0.211 <sup>a</sup> | 16.911±0.061 <sup>a</sup> |
| CK | 24.065±0.084 <sup>b</sup> | 82.805±0.272 <sup>c</sup>  | 36.780±0.102 <sup>a</sup> | 16.985±0.066 <sup>c</sup> | 26.254±0.124 <sup>b</sup> | 11.856±0.017 <sup>b</sup> |

3.5 对当归植株生长及产量的影响 T1、T2较CK可增加当归植株的茎粗、株高和冠幅，降低根腐病发生率，但T1与T2间这些参数差异不具有统计学意义。T1的不定根数、芦头直径、芦头长、主根长和

单株鲜重较CK分别增加13.40%、18.64%、11.21%、11.43%和41.43%；T2的不定根数、芦头直径、主根长、单株鲜重较CK分别增加28.35%、12.39%、7.29%和20.29%，见表7和增强出版附加材料。

表7 当归地上部分相关指标统计( $n=30$ )

Table 7 Statistics of relevant indicators in aboveground parts of *Angelicae Sinensis Radix* ( $n=30$ )

| 处理 | 茎数<br>( $\bar{x}\pm s$ )/个 | 茎粗<br>( $\bar{x}\pm s$ )/mm | 株高<br>( $\bar{x}\pm s$ )/cm | 冠幅<br>( $\bar{x}\pm s$ )/cm | 根腐病发<br>生率/%       | 不定根数<br>( $\bar{x}\pm s$ )/个 | 芦头直径<br>( $\bar{x}\pm s$ )/mm | 芦头长<br>( $\bar{x}\pm s$ )/mm | 主根长<br>( $\bar{x}\pm s$ )/mm | 单株鲜重<br>( $\bar{x}\pm s$ )/g |
|----|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| T1 | 5.93±0.83 <sup>a</sup>     | 9.86±0.72 <sup>a</sup>      | 44.90±5.13 <sup>a</sup>     | 65.37±8.26 <sup>a</sup>     | 3.93 <sup>b</sup>  | 16.08±3.06 <sup>b</sup>      | 30.74±3.16 <sup>a</sup>       | 48.60±8.91 <sup>a</sup>      | 260.58±21.66 <sup>a</sup>    | 115.73±19.37 <sup>a</sup>    |
| T2 | 6.13±0.97 <sup>a</sup>     | 9.95±0.89 <sup>a</sup>      | 44.63±5.58 <sup>a</sup>     | 66.84±7.35 <sup>a</sup>     | 4.08 <sup>b</sup>  | 18.20±4.57 <sup>a</sup>      | 29.12±3.42 <sup>a</sup>       | 44.13±10.20 <sup>b</sup>     | 250.90±31.42 <sup>b</sup>    | 98.43±20.06 <sup>b</sup>     |
| CK | 5.93±0.91 <sup>a</sup>     | 9.14±0.58 <sup>b</sup>      | 40.40±4.72 <sup>b</sup>     | 61.69±4.17 <sup>b</sup>     | 19.62 <sup>a</sup> | 14.18±2.89 <sup>c</sup>      | 25.91±3.34 <sup>b</sup>       | 43.70±8.71 <sup>b</sup>      | 233.86±23.24 <sup>c</sup>    | 81.83±15.12 <sup>c</sup>     |

3.6 对当归品质的影响 与CK比较，T1的阿魏酸、Z-藁本内酯、洋川芎内酯A分别增加72.82%、10.32%、49.47%，T2则分别增加38.64%、21.78%、40.00%。见表8和增强出版附加材料。刘妍如等<sup>[15]</sup>

构建了当归药效成分群-活性-功效关联网络，提出当归药效整体质量评价指标为阿魏酸、Z-藁本内酯。T1、T2处理后这2个质控指标水平都显著高于CK，但不同处理对具体物质的含量存在不同影响。

表8 不同处理当归品质的比较( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 8 Comparison on quality of *Angelicae Sinensis Radix* with different treatments ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

| 处理 | 阿魏酸                      | 洋川芎内酯I                   | 阿魏酸松柏酯                   | 洋川芎内酯A                   | Z-藁本内酯                    |
|----|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| T1 | 0.890±0.078 <sup>a</sup> | 0.016±0.003 <sup>b</sup> | 1.306±0.094 <sup>c</sup> | 0.142±0.004 <sup>a</sup> | 14.109±0.146 <sup>b</sup> |
| T2 | 0.714±0.056 <sup>b</sup> | 0.018±0.004 <sup>a</sup> | 1.892±0.111 <sup>a</sup> | 0.133±0.009 <sup>b</sup> | 15.574±0.178 <sup>a</sup> |
| CK | 0.515±0.112 <sup>c</sup> | 0.018±0.002 <sup>a</sup> | 1.453±0.065 <sup>b</sup> | 0.095±0.003 <sup>c</sup> | 12.789±0.082 <sup>c</sup> |

3.7 PCA和相关性分析 当归品质相关指标PCA处理见图1。结果显示，主成分(PC)1和PC2的载荷分别为54.06%、44.25%，累计方差贡献率98.31%。洋川芎内酯A、阿魏酸、JA、CTK和ABA对PC1的贡献较大，阿魏酸松柏酯、生长素、GA和SA对PC2的贡献较大，洋川芎内酯I和Z-藁本内酯对PC1和PC2

的贡献相当。不同处理影响当归品质的指标成分可以明显区分开，T1处理较CK主要影响PC1上阿魏酸、洋川芎内酯A，T2处理较CK主要影响PC2上Z-藁本内酯、阿魏酸松柏酯。T1与T2相比，T1促进阿魏酸积累作用更强，T2促进Z-藁本内酯积累作用更强。



CAT/SOD、POD/SOD、芦头直径、芦头长、主根长、单株鲜重呈明显正相关;CAT/SOD与POD/SOD、芦头长、单株鲜重呈明显正相关;POD/SOD与芦头直径、

芦头长、主根长、单株鲜重呈显著正相关。说明T1较T2主要通过促进SA、JA含量和CAT/SOD、POD/SOD比值升高,增加了芦头直径、芦头长、主根长。

表10 当归及其产量相关指标 Pearson 相关分析

Table 10 Pearson correlation analysis of root growth and yield related indexes of *Angelicae Sinensis Radix*

| 指标      | SA                   | JA                  | 生长素                  | GA                  | CAT/SOD             | POD/SOD             | 不定根数  | 芦头直径                | 芦头长                 | 主根长                 | 单株鲜重  |
|---------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|
| SA      | 1.000                |                     |                      |                     |                     |                     |       |                     |                     |                     |       |
| JA      | 0.854 <sup>2)</sup>  | 1.000               |                      |                     |                     |                     |       |                     |                     |                     |       |
| 生长素     | -0.823 <sup>2)</sup> | -0.408              | 1.000                |                     |                     |                     |       |                     |                     |                     |       |
| GA      | -0.507               | 0.015               | 0.907 <sup>2)</sup>  | 1.000               |                     |                     |       |                     |                     |                     |       |
| CAT/SOD | 0.912 <sup>2)</sup>  | 0.777 <sup>1)</sup> | -0.752 <sup>1)</sup> | -0.466              | 1.000               |                     |       |                     |                     |                     |       |
| POD/SOD | 0.829 <sup>2)</sup>  | 0.933 <sup>2)</sup> | -0.436               | -0.047              | 0.795 <sup>1)</sup> | 1.000               |       |                     |                     |                     |       |
| 不定根数    | -0.232               | 0.299               | 0.735 <sup>1)</sup>  | 0.943 <sup>2)</sup> | -0.175              | 0.220               | 1.000 |                     |                     |                     |       |
| 芦头直径    | 0.645                | 0.921 <sup>2)</sup> | -0.125               | 0.288               | 0.571               | 0.870 <sup>2)</sup> | 0.513 | 1.000               |                     |                     |       |
| 芦头长     | 0.938 <sup>2)</sup>  | 0.922 <sup>2)</sup> | -0.641               | -0.276              | 0.853 <sup>2)</sup> | 0.875 <sup>2)</sup> | 0.035 | 0.726 <sup>1)</sup> | 1.000               |                     |       |
| 主根长     | 0.652                | 0.928 <sup>2)</sup> | -0.130               | 0.285               | 0.590               | 0.817 <sup>2)</sup> | 0.513 | 0.895 <sup>2)</sup> | 0.754 <sup>1)</sup> | 1.000               |       |
| 单株鲜重    | 0.780 <sup>1)</sup>  | 0.988 <sup>2)</sup> | -0.291               | 0.137               | 0.730 <sup>1)</sup> | 0.919 <sup>2)</sup> | 0.407 | 0.939 <sup>2)</sup> | 0.866 <sup>2)</sup> | 0.965 <sup>2)</sup> | 1.000 |

#### 4 结论与讨论

本文研究了不同复配菌剂对当归生理特征、生长、药效成分的影响,结果表明假单胞菌属复合菌剂T1、芽孢杆菌属复合菌剂T2较CK都提高当归根腐病抗病性,促进生长,提质增产。2种菌剂因作用机制不同,导致生长、产量、品质相关指标存在差异。T1较T2主要通过提高SA、JA含量,CAT/SOD、POD/SOD比值达到增产提质的作用,具体表现为芦头直径、芦头长、主根长、单株重显著增加,阿魏酸含量显著提高;T2较T1主要区别在于提高生长素、GA含量,不定根数增多,Z-藁本内酯和阿魏酸松柏酯含量显著提高。总体而言,T1处理优于T2。

植物体内SA和JA存在拮抗关系<sup>[16]</sup>,而本研究中,T1较CK处理SA、JA含量均增加,SA、JA表现为正相关关系;T2较CK处理SA含量减少、JA含量增加,SA、JA表现为负相关关系。这种独特的现象可能与T1处理复配菌剂中ACC脱氨酶活性低、NEX活性高、与植物产生强烈互作有关。ACC脱氨酶涉及乙烯合成,与乙烯含量呈负相关关系,乙烯与JA信号通路上游、下游存在交叉,表现出正相关性<sup>[17]</sup>,木聚糖是植物细胞壁半纤维素的主要组成成分,微生物可以产生NEX分解木聚糖,帮助其感染,激发植物JA信号,增强诱导系统抗性<sup>[18]</sup>。本研究发现T1处理复配菌剂中ACC脱氨酶活性较T2低、NEX活性较T2高,最终表现为当归叶片JA含量较T2显著升高。

据报道,*Pseudomonas* NF1-17和*B. brevivacterium* NF2-4复合菌剂接种于苦参后,株高、主根长、叶片数、不定根数显著增加,产量显著提高<sup>[7]</sup>;与本研究中2种菌剂增加主根长、不定根数、提高产量的结论一致。木香<sup>[19]</sup>、滇重楼<sup>[20]</sup>接种混合丛植菌根真菌,均能提高叶片抗氧化酶CAT、POD、SOD活性和次生代谢物质积累,与本研究2种菌剂对当归促生提质结论相符。PGPR可诱导植物产生2种不同抗性,即系统获得性抗性(SAR)和诱导系统抗性(ISR),SAR依赖于SA信号,而ISR依赖于JA、乙烯或JA-乙烯的响应<sup>[21]</sup>。研究表明颠茄中SA、JA的增加,能够提升胁迫条件下SOD、POD、CAT活性,叶绿素含量,次生代谢产物莨菪碱和东莨菪碱含量<sup>[22]</sup>;SA诱导后可以促进艾纳香叶片中活性成分L-龙脑的积累<sup>[23]</sup>;接种复合菌剂较对照组和单一菌接种,能促进茅苍术SA的积累,进而促进植株地上、地下生物量的增长,提高产量,并显著提高倍半萜的含量<sup>[24]</sup>;喷施浓度为200 μmol·L<sup>-1</sup>的外源茉莉酸甲酯,可促进钩藤苗鲜重、干重增长,生物碱积累,而喷施浓度为1 mmol·L<sup>-1</sup>时则会抑制干鲜重和生物碱含量,表明适宜浓度的外源茉莉酸甲酯能提高钩藤产量和品质<sup>[25]</sup>;以多种芽孢杆菌属PGPR组成的菌剂处理丹参,较对照组的总丹参酮含量提高了40.45%<sup>[26]</sup>。本研究假单胞菌属菌剂T1与T2比较,增加了SA、JA含量,从而提高当归产量和阿魏酸含量,与上述报道提质增产的作用效果一致。

本研究主要从激素的含量对比、相互作用方面初步阐明了不同根际复配促生菌提质增产作用的差异,为当归功能性菌剂微生物菌种选择及合理复配奠定了基础,亦可为其他作物相关菌剂的研发提供参考。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:139.

[2] 康天兰,刘学周,曹占凤,等. 甘肃中药材生产形势分析及发展对策[J]. 甘肃农业科技,2019(1):90-94.

[3] 王红阳,康传志,张文晋,等. 中药生态农业发展的土地利用策略[J]. 中国中药杂志,2020,45(9):1990-1995.

[4] EGAMBERDIEVA D, SHRIVASTAVA S, VARMA A. Plant-growth-promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants [M]. Berlin: Springer International Publishing,2015.

[5] YADAV A N, KUMAR R, KUMAR S, et al. Beneficial microbiomes: Biodiversity and potential biotechnological applications for sustainable agriculture and human health [J]. J Appl Biol Biotechnol,2017,5(6):45-57.

[6] 欧阳湖,任建国,焦松林,等. 促生菌 *Bacillus* sp. KTS-1-1 和/或氮磷钾复合肥对太子参生长及代谢的影响[J]. 中国土壤与肥料,2020(6):262-271.

[7] 雷海英,赵青松,杨潇,等. 苦参根际高效固氮菌的分离及复合菌肥对幼苗的促生效应[J]. 生物技术通报,2020,36(9):157-166.

[8] MARTIN R H, GARCIA V A, RAMOS S B, et al. Metabolic elicitors of *Pseudomonas fluorescens* N 21.4 elicit flavonoid metabolism in blackberry fruit [J]. J Sci Food Agr,2021,101(1):205-214.

[9] GAO Y G, LIU Q, ZANG P, et al. An endophytic bacterium isolated from *Panax ginseng* C. A. Meyer enhances growth, reduces morbidity, and stimulates ginsenoside biosynthesis [J]. Phytochem Lett, 2015, 11:132-138.

[10] FENG W M, LIU P, YAN H, et al. Impact of *Bacillus* on phthalides accumulation in *Angelica sinensis* (Oliv.) by stoichiometry and microbial diversity analysis[J]. Front Microbiol,2021,11:611143.

[11] 杨涛,赵疆,方彦昊,等. 甘肃贝母生防菌分离及其对腐烂病防治的研究[J]. 中药材,2021,44(1):1-6.

[12] BARNAWAL D, MAJI D, BHARTI N, et al. ACC deaminase-containing *Bacillus subtilis* reduces stress ethylene-induced damage and improves mycorrhizal colonization and rhizobial nodulation in *Trigonella*

*foenum-graecum* under drought stress [J]. J Plant Growth Regul,2013,32(4):809-822.

[13] 杨涛,赵疆,闫鹏勋,等. 纳米铁和褪黑素对驯化栽培条件下甘肃贝母产量和品质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(7):144-150.

[14] 杨涛,姚阳阳,张永涛,等. 不同植物激素和微生物对重茬地当归产量和品质的影响[J]. 中药材,2021,44(5):1063-1068.

[15] 刘妍如,唐志书,宋忠兴,等. 以药效成分群-活性-功效关联作用筛选当归质量标志物[J]. 中草药,2021,52(9):2626-2637.

[16] 代宇佳,罗晓峰,周文冠,等. 生物和非生物逆境胁迫下的植物系统信号[J]. 植物学报,2019,54(2):255-264.

[17] TAO X Y, WU Q, LI J Y, et al. Ethylene biosynthesis and signal transduction are enhanced during accelerated ripening of postharvest tomato treated with exogenous methyl jasmonate [J]. Sci Hortic, 2021, 281:109965.

[18] GUO R T, JI S D, WANG Z Y, et al. *Trichoderma asperellum* xylanases promote growth and induce resistance in poplar[J]. Microbiol Res, 2021, 248:126726.

[19] 谷文超,阳文武,张杰,等. 混合接种丛枝菌根真菌对木香幼苗生长及化学成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(14):173-181.

[20] 黎海灵,郭冬琴,杨敏,等. 不同丛枝菌根真菌组合对滇重楼光合生理和化学成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(7):134-143.

[21] MEENA M, SWAPNIL P, DIVYANSHUK, et al. PGPR-mediated induction of systemic resistance and physiochemical alterations in plants against the pathogens: Current perspectives [J]. J Basic Microb, 2020,60(10):828-861.

[22] 山雨思,代欢欢,何潇,等. 外源茉莉酸甲酯和水杨酸对盐胁迫下颠茄生理特性和次生代谢的影响[J]. 植物生理学报,2019,55(9):1335-1346.

[23] 官玲亮,白琳,庞玉新,等. 外源水杨酸对艾纳香活性成分、抗氧化酶活力及内源激素含量的影响[J]. 中药材,2019,42(3):490-494.

[24] 陈飘雪,陈飞,袁洁,等. 内生菌复合接种对茅苍术生长和倍半萜积累的影响[J]. 生态学杂志,2020,39(9):2944-2952.

[25] 路星星,强玮,付维,等. 茉莉酸甲酯对钩藤生物碱合成的影响[J]. 分子植物育种,2021,19(12):3612-3618.

[26] WEI X M, CAO P, WANG G, et al. Microbial inoculant and garbage enzyme reduced cadmium (Cd) uptake in *Salvia miltiorrhiza* (Bge.) under Cd stress [J]. Ecotoxicol Environ Saf,2020,192:110311.

[责任编辑 刘德文]