

细菌肥料 Agr、PfPt 和 Mic 对曼地亚红豆杉幼苗生长和次生代谢物含量的影响

邵国栋, 艾娟娟, 孙启武^①

(中国林业科学研究院林业研究所 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091)

摘要: 运用单因素随机区组设计, 在田间栽培条件下, 对曼地亚红豆杉 (*Taxus media* Rehder) 1 年生幼苗施用 3 种细菌肥料 [放射性土壤杆菌肥料 (Agr)、荧光假单胞菌肥料 (PfPt) 和微球菌肥料 (Mic), 浓度为 2×10^7 CFU · mL⁻¹, 施肥 2 次], 对翌年生长期幼苗株高和冠幅的增长量变化以及枝叶中 4 种次生代谢物 [紫杉醇、三尖杉宁碱、10-去乙酰紫杉醇和 10-去乙酰基巴卡亭 III (10-DAB III)] 含量进行比较分析。结果表明: 施用 Agr、Mic 和 PfPt 后的翌年 11 月份, 曼地亚红豆杉幼苗株高和冠幅的增长量均大于 CK (不施肥, 对照) 组, 其中, 施用 PfPt 后幼苗株高增长量最大, 且显著高于 CK 组 ($P < 0.05$); 施用 Mic 后幼苗的冠幅增长量最大, 但与 CK 组间无显著差异 ($P > 0.05$)。施用 Agr、Mic 和 PfPt 后枝叶中紫杉醇、三尖杉宁碱和 10-DAB III 含量均显著高于 CK 组, 其中, 施用 Mic 后紫杉醇含量最高, 施用 PfPt 后三尖杉宁碱和 10-DAB III 含量最高, 且总体上显著高于其他处理组; 施用 Mic 后 10-去乙酰紫杉醇含量最高, 且显著高于 CK 组及其他处理组, 而施用 Agr 和 PfPt 后 10-去乙酰紫杉醇含量与 CK 组无显著差异。研究结果显示: 施用 Agr、Mic 和 PfPt 均对曼地亚红豆杉幼苗生长以及枝叶中次生代谢物积累有一定的促进作用, 但不同细菌肥料的促进效应存在差异, 因此, 在曼地亚红豆杉的栽培过程中应根据不同需求选择适宜的细菌肥料。

关键词: 细菌肥料; 曼地亚红豆杉; 生长; 次生代谢物; 紫杉醇

中图分类号: S144.9; S791.49; R282.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2016)04-0062-06
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2016.04.08

Effect of bacterial fertilizer Agr, PfPt and Mic on growth and secondary metabolites content in *Taxus media* seedling SHAO Guodong, AI Juanjuan, SUN Qiwu^① (Key Laboratory of Forestry Cultivation, State Forestry Administration, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2016, 25(4): 62-67

Abstract: Using single factor randomized block design and applying three kinds of bacterial fertilizers [*Agrobacterium radiobacter* fertilizer (Agr), *Pseudomonas fluorescence* fertilizer (PfPt) and *Micrococcus* fertilizer (Mic) with concentration of 2×10^7 CFU · mL⁻¹, and fertilizing two times] on one-year-old seedling of *Taxus media* Rehder under field cultivation condition, changes in increments of height and crown width of seedling in growth period of next year and contents of four secondary metabolites [including taxol, cephalomannine, 10-deacetyl taxol and 10-deacetyl baccatin III (10-DAB III)] in branch and leaf were compared and analyzed. The results show that in November of next year after applied Agr, Mic and PfPt, increments of height and crown width of *T. media* seedling is higher than those of CK (no fertilizing, the control) group, in which, after applied PfPt, increment of height is the largest, and is significantly higher than that of CK group ($P < 0.05$); after applied Mic, increment of crown width is the largest, but there is no significant difference with that of CK group ($P > 0.05$). After applied Agr, Mic and PfPt, contents of taxol, cephalomannine and 10-DAB III in branch and leaf all are significantly higher than those of CK group, in which, content of taxol is the highest after applied Mic, contents of cephalomannine and 10-DAB III are the highest after applied PfPt, and those are generally

收稿日期: 2016-04-25

基金项目: 国家林业局珍稀濒危物种野外救护与人工繁育项目(2130211)

作者简介: 邵国栋(1990—), 男, 山东菏泽人, 硕士研究生, 主要从事土壤与植物利用相关方面的研究。

^① 通信作者 E-mail: sqw@caf.ac.cn

significantly higher than those of other treatment groups; after applied Mic, content of 10-deacetyl taxol is the highest, and is significantly higher than that of CK group and other treatment groups, while after applied Agr and PfPt, there is no significant difference in content of 10-deacetyl taxol with that of CK group. It is suggested that applying Agr, Mic and PfPt have a certain promotion effect on seedling growth and accumulation of secondary metabolites in branch and leaf of *T. media*, while there is difference in promotion effect among different bacterial fertilizers. Therefore, appropriate bacterial fertilizer should be selected for different requirements during cultivation process of *T. media*.

Key words: bacterial fertilizer; *Taxus media* Rehder; growth; secondary metabolites; taxol

曼地亚红豆杉(*Taxus media* Rehder)为红豆杉属(*Taxus* Linn.)植物,是以东北红豆杉(*T. cuspidata* Sieb. et Zucc.)为母本、欧洲红豆杉(*T. baccata* Linn.)为父本的自然杂交种^[1]。曼地亚红豆杉多为常绿灌木,根系发达、枝叶茂盛、生长迅速,具有耐寒和耐修剪等特点,在中国大部分地区均可种植^[2]。曼地亚红豆杉全株均可提取紫杉醇^[3],且紫杉醇含量高并稳定^[4],从其植株中提取的紫杉醇对于治疗乳腺癌、卵巢癌和非小叶肺癌等多种癌症有显著疗效^[5-8],近年来关于其次生代谢物 10-去乙酰紫杉醇、10-去乙酰基巴卡亭Ⅲ(10-DAB Ⅲ)和三尖杉宁碱的潜在药用价值已有一定的研究^[9-10],因此,采取合理的栽培措施以提高曼地亚红豆杉植株中紫杉醇等次生代谢物的含量与产量,对于曼地亚红豆杉植物资源的高效利用具有重要意义。

目前,有关曼地亚红豆杉的研究主要集中在栽培措施和繁育技术^[1,11-14]、紫杉醇提取方法及测定^[15-16]等方面,对影响其植株中紫杉醇等次生代谢物含量因素的研究也仅限于产地^[17]、林龄与采收季节^[18-19]、营养胁迫^[20]等方面。李乃伟等^[21]认为,合理施肥可以促进曼地亚红豆杉生长,提高紫杉醇含量。大面积使用化学肥料不仅导致环境污染,也不利于土壤性质的改良^[22]。细菌肥料作为一种使用方便、用量少、无污染且能培肥地力的新型肥料^[23],近些年在恢复地力、增加林木产量以及提高林产品质量^[24-27]等方面已有较多的研究报道。

作者以曼地亚红豆杉幼苗为研究对象,采用大田栽培的方式,研究放射性土壤杆菌肥料(Agr)、荧光假单胞菌肥料(PfPt)和微球菌肥料(Mic)3种细菌肥料对曼地亚红豆杉幼苗生长以及紫杉醇、三尖杉宁碱、10-去乙酰紫杉醇和 10-DAB Ⅲ含量的影响,以期为曼地亚红豆杉药用原料林的培育及合理栽培措施的制定提供基础研究数据。

1 材料和方法

1.1 实验地概况

实验地位于广东省韶关市乳源瑶族自治县洛阳镇,地理坐标为北纬 24°24'36"、东经 113°03'19",海拔 700~1 200 m,平均海拔 800 m;为亚热带季风气候,气候特点为冬暖夏凉、空气相对湿度大,年平均气温 16.5℃,月平均最高气温 29.9℃(7月份),月平均最低气温 9.4℃(1月份),平均年降雨量约 2 800 mm。土壤湿润肥沃,主要为山地红壤;全镇林地总面积 28 666.69 hm²,森林覆盖率 85%;地带性植被为亚热带常绿阔叶林。

1.2 材料

供试材料为曼地亚红豆杉品种‘Hickii’的 1 年生扦插苗,均来自广东省韶关市乳源瑶族自治县红豆杉种植基地。供试细菌肥料分别为放射性土壤杆菌肥料(Agr)、荧光假单胞菌肥料(PfPt)和微球菌肥料(Mic),浓度均为 2×10⁹ CFU·mL⁻¹,由中国林业科学研究院林业研究所森林土壤研究室自行研制。

主要仪器:DFY-250A 摇摆式多功能高速粉碎机(上海谷宁仪器有限公司),KQ-250E 昆山舒美超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),SENCO-R206B 旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司),Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),FA1204C 自动校准分析天平(上海越平科学仪器仪器公司),Milli-Q 超纯水系统(密理博中国有限公司)。

主要试剂:超纯水,甲醇和乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,紫杉醇标准品(桂林晖昂生化药业有限责任公司,产品编号:JF20090301),三尖杉宁碱、10-去乙酰紫杉醇和 10-DAB Ⅲ标准品均由中国林业科学研究院林业研究所森林土壤研究室提供。

1.3 方法

1.3.1 实验设置和处理方法 采用单因素随机区组

实验设计,4种施肥处理分别为 Agr、Mic 和 PfPt 3种细菌肥料以及不施肥(对照),各3次重复,每处理幼苗50株。于2007年10月选取长势一致的幼苗进行定植,株距和行距均为0.5 m,穴栽;将细菌肥料稀释100倍,即浓度为 2×10^7 CFU · mL⁻¹,施于植株根部周围,每株施用1 L;15 d后进行第2次施肥,施用量与第1次相同(阳光照射强烈时覆土)。

1.3.2 幼苗生长指标测定 分别于2008年5月、6月、7月和11月的月末用钢卷尺(精度0.1 cm)测量幼苗的株高和冠幅。株高为幼苗基部至主茎顶部的高度,冠幅为东西、南北冠幅的平均值;株高和冠幅增长量为当次测量值与上次测量值差值的平均值。在2008年11月末生长指标测定完毕后,每个处理随机选择20株幼苗,采集当年生新鲜枝叶200 g,混合后带回实验室,于40℃烘箱中烘干至恒质量,粉碎后备用。

1.3.3 次生代谢物的提取和测定

1.3.3.1 HPLC 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相为V(甲醇):V(乙腈):V(水)=20:35:45混合液,流速1.0 mL · min⁻¹,检测波长227 nm,柱温30℃,进样量10 μL,保留时间30 min。

1.3.3.2 标准品溶液制备 分别精密称取紫杉醇、三尖杉宁碱、10-去乙酰紫杉醇和10-DAB III标准品10.0 mg,分别用甲醇配制成质量浓度1.0 mg · mL⁻¹对照品母液,并用甲醇稀释至质量浓度0.025、0.050、0.100、0.200和0.400 μg · mL⁻¹系列标准品溶液,按照上述HPLC色谱条件进行测定。

1.3.3.3 样品溶液制备及提取 参照于少帅等^[28]和高银祥等^[29]的方法制备待测液,略有改动。准确称取样品粉末2.0 mg,加入丙酮-乙酸乙酯混合液(体积比1:1)30 mL,超声波提取1 h,过滤;滤渣按上述方法重复提取1次,合并2次滤液,于40℃减压蒸干;残渣用10 mL甲醇溶解,4 000 r · min⁻¹离心5 min,上清液用0.45 μm滤膜过滤;滤液按上述方法进行HPLC分析,并根据各标准曲线,采用峰面积归一化法计算样品中各成分的含量。

1.4 数据统计和分析

采用EXCEL 2007和SPSS 20.0软件进行数据分析和处理,采用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行方差分析,用Duncan's新复极差法进行差异显著性检验($P < 0.05$)。

2 结果和分析

2.1 不同细菌肥料对曼地亚红豆杉幼苗生长的影响

分别用细菌肥料 Agr、PfPt 和 Mic 施肥2次,翌年生长期曼地亚红豆杉幼苗株高和冠幅增长量的变化见表1。

2.1.1 株高增长量的变化 由表1可以看出:6月份,Agr处理对曼地亚红豆杉幼苗株高的促进作用最明显,株高增长量最大,达到2.54 cm,较CK(不施肥,对照)组增加117.09%,差异显著($P < 0.05$);其次为Mic处理组,幼苗株高增长量也达到1.37 cm,较CK组增加17.09%,但无显著差异($P > 0.05$);PfPt处理组的幼苗株高增长量最小,仅为0.17 cm,并显著低于CK组。方差分析结果显示:使用不同细菌肥料对曼地亚红豆杉幼苗株高增长量的影响有显著差异,其中,Agr处理组的株高增长量显著大于其他处理组,PfPt处理组的株高增长量显著小于其他处理组。

7月份,Agr、Mic和PfPt处理组的曼地亚红豆杉幼苗株高增长量均大于6月份,分别为3.57、2.50和0.47 cm,其中Agr处理组的株高增长量较CK组增加21.02%,而Mic和PfPt处理组的株高增长量均小于CK组。方差分析结果显示:各处理组间的幼苗株高增长量均差异显著,其中,仅Agr处理组的株高增长量显著高于CK组,另2个处理组的株高增长量均显著小于CK组,以PfPt处理组的株高增长量最小。

11月份,各处理组的幼苗株高增长量均较7月份明显增大,其中,PfPt处理组的株高增长量最大,Mic和Agr处理组的株高增长量次之,3个处理组幼苗株高的平均增长量分别为10.92、10.16和8.69 cm,较CK组分别增加27.42%、18.55%和1.40%。方差分析结果显示:PFpt处理组的幼苗株高增长量与Mic处理组无显著差异,但显著高于CK组和Agr处理组,Mic、Agr和CK3个处理组间的株高增长量则无显著差异。

2.1.2 冠幅增长量的变化 由表1还可以看出:6月份,CK组曼地亚红豆杉幼苗的冠幅增长量最大,为1.67 cm;其次为Mic处理组,冠幅增长量为1.48 cm;Agr处理组的冠幅增长量最小,仅为0.64 cm。方差分析结果显示:mic处理组和CK组间幼苗的冠幅增长量无显著差异;Agr和PfPt处理组间的冠幅增长量也无显著差异,但均显著低于Mic处理组和CK组。

表1 施用3种细菌肥料后翌年生长期曼地亚红豆杉幼苗株高和冠幅增长量的变化($\bar{X}\pm SD$)¹⁾Table 1 Change in increments of height and crown width of *Taxus media* Rehder in growth period of next year after applied three bacterial fertilizers ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

处理 ²⁾ Treatment ²⁾	不同月份的株高增长量/cm Increment of height in different months			不同月份的冠幅增长量/cm Increment of crown width in different months		
	6月 June	7月 July	11月 November	6月 June	7月 July	11月 November
	CK	1.17±0.04b	2.95±0.15b	8.57±0.24b	1.67±0.24a	2.59±0.45a
Agr	2.54±0.25a	3.57±0.19a	8.69±0.25b	0.64±0.37b	2.77±1.11a	5.74±0.67a
PfPt	0.17±0.08c	0.48±0.29d	10.92±0.64a	0.82±0.07b	1.50±0.36b	6.86±1.75a
Mic	1.37±0.25b	2.50±0.20c	10.16±2.49ab	1.48±0.22a	2.57±0.14a	7.20±1.05a

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著($P<0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference ($P<0.05$).

²⁾ CK: 不施肥(对照) No fertilizing (the control); Agr: 放射性土壤杆菌肥料 *Agrobacterium radiobacter* fertilizer; PfPt: 荧光假单胞菌肥料 *Pseudomonas fluorescense* fertilizer; Mic: 微球菌肥料 *Micrococcus* fertilizer. 3种细菌肥料浓度均为 2×10^7 CFU·mL⁻¹,施肥2次 Concentrations of three bacterial fertilizers all are 2×10^7 CFU·mL⁻¹, fertilizing two times.

7月份,各处理组的幼苗冠幅增长量均明显大于6月份。其中, Agr 处理组的冠幅增长量最大,达到2.77 cm,较 CK 组增加6.95%; PfPt 和 Mic 处理组的冠幅增长量分别为1.50和2.57 cm,均低于 CK 组。方差分析结果显示: Agr 和 Mic 处理组与 CK 组间的冠幅增长量均无显著差异,仅 PfPt 处理组的冠幅增长量显著小于 CK 组及 Agr 和 Mic 处理组。

11月份,各处理组的幼苗冠幅增长量均较7月份大幅提高。其中, Mic 处理组的冠幅增长量最大,为7.20 cm,较 CK 组增加32.35%; PfPt 和 Agr 处理组的冠幅增长量分别为6.86和5.74 cm,分别较 CK 组增加26.10%和5.51%。方差分析结果显示:4个处理组间的幼苗冠幅增长量无显著差异。

2.2 不同细菌肥料对曼地亚红豆杉幼苗枝叶中4种次生代谢物含量的影响

分别用细菌肥料 Agr、PfPt 和 Mic 施肥2次,翌年11月份曼地亚红豆杉幼苗枝叶中紫杉醇、三尖杉宁碱、10-去乙酰紫杉醇和10-DAB III 的含量见表2。

2.2.1 对紫杉醇含量的影响 由表2可以看出: Mic

和 PfPt 处理组的幼苗枝叶中紫杉醇含量较高,分别为0.031 7%和0.031 6%; Agr 处理组的紫杉醇含量也较高,为0.030 7%; Mic、PfPt 和 Agr 处理组的紫杉醇含量分别较 CK(不施肥,对照)组提高5.67%、5.33%和2.33%。方差分析结果显示: Mic 和 PfPt 处理组的紫杉醇含量显著高于 Agr 处理组和 CK 组($P<0.05$),但 Mic 和 PfPt 处理组间无显著差异。

2.2.2 对三尖杉宁碱含量的影响 由表2还可以看出: PfPt、Agr 和 Mic 处理组的幼苗枝叶中三尖杉宁碱含量分别为0.024 3%、0.022 7%和0.020 4%,分别较 CK 组提高24.62%、16.41%和4.62%。方差分析结果显示:不同处理间三尖杉宁碱含量均存在显著差异,其中, Agr、PfPt 和 Mic 处理组的三尖杉宁碱含量均显著高于 CK 组。

2.2.3 对10-去乙酰紫杉醇含量的影响 由表2还可以看出: Mic 处理组的幼苗枝叶中10-去乙酰紫杉醇含量最高,达到0.015 6%,较 CK 组提高6.85%; PfPt 处理组、CK 组和 Agr 处理组的10-去乙酰紫杉醇含量较低,分别为0.014 9%、0.014 6%和0.014 4%。

表2 施用3种细菌肥料后翌年11月份曼地亚红豆杉幼苗枝叶中4种次生代谢物的含量($\bar{X}\pm SD$)¹⁾Table 2 Contents of four secondary metabolites in branch and leaf of *Taxus media* Rehder in November of next year after applied three bacterial fertilizers ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

处理 ²⁾ Treatment ²⁾	紫杉醇含量/% Content of taxol	三尖杉宁碱含量/% Content of cephalomannine	10-去乙酰紫杉醇含量/% Content of 10-deacetyl taxol	10-去乙酰基巴卡亭 III 含量/% Content of 10-deacetyl baccatin III
CK	0.030 0±0.000 4c	0.019 5±0.001 3d	0.014 6±0.000 2b	0.015 3±0.001 3d
Agr	0.030 7±0.000 3b	0.022 7±0.001 9b	0.014 4±0.000 1b	0.018 3±0.002 5b
PfPt	0.031 6±0.000 5a	0.024 3±0.002 3a	0.014 9±0.000 1b	0.024 1±0.002 1a
Mic	0.031 7±0.000 1a	0.020 4±0.000 4c	0.015 6±0.000 6a	0.016 4±0.002 1c

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著($P<0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference ($P<0.05$).

²⁾ CK: 不施肥(对照) No fertilizing (the control); Agr: 放射性土壤杆菌肥料 *Agrobacterium radiobacter* fertilizer; PfPt: 荧光假单胞菌肥料 *Pseudomonas fluorescense* fertilizer; Mic: 微球菌肥料 *Micrococcus* fertilizer. 3种细菌肥料浓度均为 2×10^7 CFU·mL⁻¹,施肥2次 Concentrations of three bacterial fertilizers all are 2×10^7 CFU·mL⁻¹, fertilizing two times.

方差分析结果显示: Mic 处理组的 10-去乙酰紫杉醇含量显著高于 CK 组及 PfPt 和 Agr 处理组, 而后 3 组间的 10-去乙酰紫杉醇含量无显著差异。

2.2.4 对 10-DAB III 含量的影响 由表 2 还可以看出: 3 个细菌肥料处理组的幼苗枝叶中 10-DAB III 含量均高于 CK 组。其中, PfPt 处理组的 10-DAB III 含量最高, 达 0.024 1%; Agr 和 Mic 处理组的 10-DAB III 含量也较高, 分别为 0.018 3% 和 0.016 4%, 分别较 CK 组提高 57.52%、19.61% 和 7.19%。方差分析结果显示: 各处理间的 10-DAB III 含量存在显著差异; 其中, PfPt 处理组的 10-DAB III 含量显著高于 CK 组及 Agr 和 Mic 处理组, CK 组的 10-DAB III 含量显著低于 3 个细菌肥料处理组。

3 讨论和结论

细菌肥料是把从自然界中筛选出的优良微生物菌种扩大生产, 用于农林业生产, 并能产生特定肥效的新型肥料^[30]。杨承栋等^[23]认为, 细菌肥料具有改良土壤性质、促进林木生长、提高林木抗逆性及维持土壤生态平衡等作用。本研究中, 施用细菌肥料 (Agr、PfPt 和 Mic) 后翌年 11 月份, 3 个细菌肥料处理组的曼地亚红豆杉幼苗的株高和冠幅的增幅均大于 CK (不施肥, 对照) 组, 表明施用细菌肥料对曼地亚红豆杉幼苗生长均有一定的促进作用。与 CK 组相比, 施用 PfPt 能够显著增加曼地亚红豆杉幼苗株高增长量, 这一现象在刘辉等^[31]和李守萍等^[32]对其他树种的研究中也存在。唐菁^[33]认为, 细菌肥料可以提高土壤有机质含量, 改善土壤内部微环境, 增加土壤通透性, 细菌肥料中的活菌株可以分泌一些次生代谢物, 活化植物根基细胞的新陈代谢, 从而促进植物的生长。因而, PfPt 能够显著提高曼地亚红豆杉幼苗株高生长的原因可能有 3 个: 一是 PfPt 施入土壤后, 通过增强曼地亚红豆杉幼苗对矿质营养的吸收利用能力而促进其植株的生长^[34]; 二是通过促进植株产生吲哚乙酸 (IAA) 等内源激素, 进而促进植株生长^[35]; 三是通过产生某些抗菌物质抑制土壤中病原微生物, 间接促进植株生长^[36]。此外, 本研究中, 虽然施用 Agr 和 Mic 后曼地亚红豆杉幼苗株高和冠幅的增长量均高于 CK 组, 但并无显著差异, 说明不同细菌肥料对曼地亚红豆杉幼苗生长的影响不一致。

次生代谢物是植物在长期进化过程中产生的一

类具有抗逆性的物质, 当环境发生变化并影响植物生长时, 植物体内会产生相应的次生代谢物以维持其正常的生理代谢^[37]。Wheeler 等^[38]认为, 土壤肥沃程度显著影响紫杉醇及其衍生物的含量。本研究使用的细菌肥料来源于马尾松 (*Pinus massoniana* Lamb.)、杉木 [*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.] 和杨树 (*Populus* sp.) 等林分的土壤, 且为具有溶磷能力的细菌菌株。孙华等^[39]认为, 溶磷细菌肥料可以促进土壤中无机磷的转化, 从而提高土壤中有效磷含量。焦如珍等^[26]认为, *Pseudomonas fluorescense*、*Micrococcus* 和 *Agrobacterium radiobacter* 等菌株可以增强培养基中无机磷向有效磷的转化。刘智等^[40]研究认为, 磷元素参与红豆杉 (*Taxus chinensis* (Pilger) Rehder) 植株中某些物质的合成, 这些物质在调控红豆杉体内紫杉醇等次生代谢物合成的过程中起重要作用。本研究结果表明: 虽然 Agr 和 PfPt 处理对提高曼地亚红豆杉幼苗枝叶中 10-去乙酰紫杉醇含量无显著作用, 但施用 Agr、PfPt 和 Mic 均可以显著提高其枝叶中紫杉醇、三尖杉宁碱和 10-DAB III 的含量, 施用 Mic 还可以显著提高其枝叶中 10-去乙酰紫杉醇含量。推测 Agr、PfPt 和 Mic 细菌肥料在溶磷过程中通过对土壤中无机磷的转化, 使土壤中的有效磷含量增加, 从而利于曼地亚红豆杉植株体内紫杉醇等次生代谢物的合成和积累。

综上所述, 不同细菌肥料对曼地亚红豆杉幼苗生长及次生代谢物合成和积累均有一定的促进作用, 但不同细菌肥料的促进作用有所不同, 因此, 适宜曼地亚红豆杉的细菌肥料仍需深入研究。另外, 本研究只针对 Agr、PfPt 和 Mic 对曼地亚红豆杉生长和次生代谢物含量影响进行了单因子实验, 对不同细菌肥料配施及施用其他细菌肥料对其生长和次生代谢物代谢的影响仍未知, 因此, 后续将开展其他细菌肥料或者细菌肥料配施等一系列研究, 筛选出适于曼地亚红豆杉生长及活性成分积累的最优施肥配方。

致谢: 广东省韶关市金山地红豆杉科技有限公司赵世君和肖慧协助测定生长指标, 谨此致谢!

参考文献:

- [1] 马均, 马明东. 曼地亚红豆杉的组织培养快繁技术[J]. 林业科学, 2007, 43(7): 30-34.
- [2] 王呈伟, 郑玉红, 李莹, 等. 曼地亚红豆杉 'Hicksii' 花粉活力检测条件优化和适宜储藏温度分析[J]. 植物资源与环境学报, 2012, 21(2): 13-18.

- [3] ONRUBIA M, CUSIDÓ R M, RAMIREZ K, et al. Bioprocessing of plant *in vitro* systems for the mass production of pharmaceutically important metabolites: paclitaxel and its derivatives [J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2013, 20: 880–891.
- [4] 王占和. 曼地亚红豆杉及其市场前景[J]. *特种经济动植物*, 2005, 8(3): 32.
- [5] SHELUDKO Y V. Recent advances in plant biotechnology and genetic engineering for production of secondary metabolites[J]. *Cytology and Genetics*, 2010, 44: 52–60.
- [6] 邱德有, 吴小红, 黄璐琦. 木本药用植物红豆杉研究的新进展[J]. *林业科学研究*, 2009, 22(3): 439–445.
- [7] 肖颖, 赵玉斌. 红豆杉中紫杉醇抗癌研究进展[J]. *现代中西医结合杂志*, 2008, 17(35): 5557–5558.
- [8] SANDERCOCK J, PARMAR M K B, TORRI V, et al. First-line treatment for advanced ovarian cancer: paclitaxel, platinum and the evidence[J]. *British Journal of Cancer*, 2002, 87: 815–824.
- [9] 刘同祥, 张艳平, 徐羽, 等. 紫杉醇联合三尖杉宁碱诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(9): 115–118, 122.
- [10] 张衡, 甘慧, 吴卓娜, 等. 7-木糖紫杉烷类化合物生物转化[J]. *中国新药杂志*, 2013, 22(9): 1029–1033.
- [11] 刘柿良, 杨秀利, 马明东, 等. 曼地亚红豆杉(*Taxus media cv "Hicksii"*)栽培基质中适宜的锰、锌、铜浓度及采收时期研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2015, 21(2): 439–448.
- [12] 付顺华, 邵若玄, 庄毅伟, 等. 曼地亚红豆杉营养液栽培技术初探[J]. *分子植物育种*, 2015, 13(12): 2889–2893.
- [13] 王义存, 乔旭, 王振坤, 等. 曼地亚红豆杉全光照喷雾扦插技术研究[J]. *经济林研究*, 2013, 31(3): 165–168.
- [14] 殷勇. 曼地亚红豆杉扦插苗成活率对比研究[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(22): 9487, 9491.
- [15] 乔亮杰, 满瑞林, 倪网东, 等. 曼地亚红豆杉枝条中紫杉醇的提取纯化研究[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(8): 973–976.
- [16] 满瑞林, 乔亮杰, 倪网东. 曼地亚红豆杉枝条中紫杉醇的超声提取研究[J]. *化学研究与应用*, 2008, 20(12): 1637–1640.
- [17] 付顺华, 史小娟, 苗国丽, 等. 曼地亚红豆杉中紫杉醇等与产地因子的相关性[J]. *浙江农林大学学报*, 2011, 28(2): 227–233.
- [18] 史小娟, 徐志明, 付顺华, 等. 采收季节与年龄对曼地亚红豆杉主要活性成分的影响[J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(19): 2538–2540.
- [19] 蔡玉梅, 李清兰, 林茂帆, 等. HPLC 法测定不同年龄曼地亚红豆杉根中紫杉醇的含量[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(28): 15600–15601.
- [20] 李乃伟, 汪庆, 束晓春, 等. 营养胁迫对曼地亚红豆杉生长与生理指标及紫杉醇含量的影响[J]. *江苏农业科学*, 2010(4): 193–195.
- [21] 李乃伟, 彭峰, 冯煦, 等. 不同施肥处理对曼地亚红豆杉 'Hicksii' 生长和紫杉醇含量的影响[J]. *植物资源与环境学报*, 2008, 17(2): 28–33.
- [22] 沈兴亮, 焦如珍. 细菌肥料对油茶幼林生长的影响[J]. *林业科学研究*, 2014, 27(4): 570–574.
- [23] 杨承栋, 焦如珍, 孙启武, 等. 细菌肥料促进马尾松生长效应的研究[J]. *林业科学研究*, 2002, 15(3): 361–363.
- [24] 原芩, 孙崇凤, 李华, 等. 微生物肥料对铅矿废弃地复垦区土壤有机碳的影响[J]. *土壤*, 2013, 45(3): 419–425.
- [25] 付学琴, 龙中儿, 魏赛金, 等. 硅酸盐细菌肥料对水稻土壤微生物及肥力的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2009(5): 69–71.
- [26] 焦如珍, 杨承栋, 孙启武. 细菌肥料菌株对无效磷的转化利用[J]. *林业科学*, 2005, 41(4): 194–198.
- [27] 王守宗, 杨承栋, 谢应先, 等. 细菌肥料对杨树生长效应的研究[J]. *林业科学研究*, 1996, 9(6): 654–657.
- [28] 于少帅, 孙启武, 田胜尼, 等. 不同生境及采样部位对南方红豆杉活性成分含量的影响[J]. *植物资源与环境学报*, 2013, 22(1): 50–56.
- [29] 高银祥, 杨逢建, 张玉红, 等. 南方红豆杉枝叶中6种紫杉烷类化合物含量季节变化[J]. *植物研究*, 2014, 34(2): 266–270.
- [30] 杨承栋, 余进, 焦如珍, 等. 细菌肥料的研究与应用[J]. *世界林业研究*, 2008, 21(6): 41–44.
- [31] 刘辉, 吴小芹, 任嘉红, 等. 一株荧光假单胞菌的溶磷特性及其对杨树的促生效果[J]. *林业科学*, 2013, 49(9): 112–118.
- [32] 李守萍, 程玉娥, 唐明, 等. 油松菌根促生细菌: 荧光假单胞菌的分离与鉴定[J]. *西北植物学报*, 2009, 29(10): 2103–2108.
- [33] 唐菁. 杨树施用细菌肥料的增长效应及作用机理研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院林业研究所, 2006.
- [34] 陈应龙, 弓明钦, 王凤珍, 等. 混合接种 *Glomus* 与 *Pisolithus* 菌株对尾叶桉矿质营养吸收的影响[J]. *林业科学研究*, 1999, 12(3): 262–267.
- [35] DEY R, PAL K K, BHATT D M, et al. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria [J]. *Microbiological Research*, 2004, 159: 371–394.
- [36] UPADHYAY A, SRIVASTAVA S. Evaluation of multiple plant growth promoting traits of an isolate of *Pseudomonas fluorescens* strain Psd[J]. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2010, 48: 601–609.
- [37] 阎秀峰, 王洋, 李一蒙. 植物次生代谢及其与环境的关系[J]. *生态学报*, 2007, 27(6): 2554–2562.
- [38] WHEELER N C, JECH K, MASTERS S, et al. Effects of genetic, epigenetic, and environmental factors on taxol content in *Taxus brevifolia* and related species [J]. *Journal of Natural Products*, 1992, 55: 432–440.
- [39] 孙华, 熊德祥. 施用有机肥和溶磷细菌肥料对砂姜黑土磷素形态转化的影响[J]. *土壤通报*, 2002, 33(3): 194–196.
- [40] 刘智, 余龙江, 李春艳, 等. 磷甘霉素和洛伐它汀处理对中国红豆杉悬浮培养细胞生物合成紫杉醇的影响[J]. *植物生理与分子生物学报*, 2005, 31(2): 199–204.