

研究报告

不同种植年限银柴胡根际土壤微生物群落结构变化

冯璐¹, 李振凯^{1,2}, 王红^{1,3}, 李海珊¹, 李彦青⁴, 彭励^{*1}

1 宁夏大学 生命科学学院, 宁夏 银川 750021

2 华南农业大学 生命科学学院, 广东 广州 510642

3 宁夏师范学院 资源环境与生命科学学院, 宁夏 固原 756000

4 宁夏大学 动物科技学院, 宁夏 银川 750021

冯璐, 李振凯, 王红, 李海珊, 李彦青, 彭励. 不同种植年限银柴胡根际土壤微生物群落结构变化[J]. 微生物学通报, 2024, 51(10): 4132-4148.

FENG Lu, LI Zhenkai, WANG Hong, LI Haishan, LI Yanqing, PENG Li. Changes of rhizosphere soil microbial community structure of *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. planted for different years[J]. Microbiology China, 2024, 51(10): 4132-4148.

摘要:【背景】银柴胡(*Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge.)为石竹科繁缕属多年生草本植物,以干燥根入药。【目的】探究道地产区不同种植年限银柴胡根际土壤微生物群落结构变化,以及微生物群落与土壤理化因子、药材有效成分的相关性。【方法】利用 Illumina 高通量测序技术对 1、2、3、7 年生银柴胡根际土壤细菌 16S rRNA 基因和真菌 ITS 序列进行测序分析,采用常规分析方法测定土壤性质、药材总黄酮和总甾醇含量。【结果】随着银柴胡种植年限延长,细菌丰富度变化较小,多样性升高,而真菌的丰富度和多样性均升高。细菌中主要优势菌群均为放线菌门(*Actinobacteriota*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*),在根际土壤真菌中子囊菌门(*Ascomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*)为优势菌群;不同种植年限银柴胡优势菌属差别较大。3 年生银柴胡中总甾醇和总黄酮含量显著高于其他年限。相关性分析表明,pH、碱解氮(alkali-hydrolyzable nitrogen, AN)与银柴胡根际土壤微生物群落具有很大相关性。拟无枝酸菌属(*Amycolatopsis*)、被孢霉属(*Mortierella*)、光黑壳属(*Preussia*)、青霉属(*Penicillium*)等类群与银柴胡主要活性成分呈显著正相关。【结论】该研究初步揭示了与银柴胡有效成分有关的标志根际土壤微生物,为实现银柴胡的优质生产提供了理论依据。

关键词: 银柴胡; 种植年限; 根际土壤微生物; 土壤性质; 有效成分

资助项目: 宁夏回族自治区重点研发计划(2021BEG02042); 宁夏回族自治区自然科学基金(2021AAC03103)

This work was supported by the Key Research and Development Program of Ningxia Hui Autonomous Region (2021BEG02042) and the Natural Science Foundation of Ningxia Hui Autonomous Region (2021AAC03103).

*Corresponding author. E-mail: pengli1124@nxu.edu.cn

Received: 2024-01-18; Accepted: 2024-03-29; Published online: 2024-04-28

Changes of rhizosphere soil microbial community structure of *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. planted for different years

FENG Lu¹, LI Zhenkai^{1,2}, WANG Hong^{1,3}, LI Haishan¹, LI Yanqing⁴, PENG Li^{*1}

1 School of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021, Ningxia, China

2 School of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China

3 School of Resources Environment and Life Science, Ningxia Normal University, Guyuan 756000, Ningxia, China

4 School of Animal Science and Technology, Ningxia University, Yinchuan 750021, Ningxia, China

Abstract: [Background] *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. is a perennial herb of *Caryophyllaceae*, with dried roots (*Stellariae Radix*) as the medicinal part. [Objective] To explore the changes of rhizosphere soil microbial community structure of *S. dichotoma* var. *lanceolata* planted for different years in genuine production area and the correlations of microbial community with soil physical and chemical factors and active components in *Stellariae Radix*. [Methods] Illumina high-throughput sequencing of bacterial 16S rRNA gene and fungal ITS sequences were performed to reveal the microbial community structures in the rhizosphere soil samples of *S. dichotoma* var. *lanceolata* planted for 1, 2, 3, and 7 years. The soil properties and the content of total flavonoids and total sterols in *Stellariae Radix* were determined by conventional methods. [Results] As the planting years of *S. dichotoma* var. *lanceolata* increased, the bacteria showed little change in the richness and increased diversity, while the fungi presented increased richness and diversity. The dominant bacteria were *Actinobacteriota*, *Proteobacteria*, and *Chloroflexi*, and the dominant fungi were *Ascomycota* and *Basidiomycota* in the rhizosphere soil. The dominant microbial genera varied significantly in the rhizosphere soil samples of *S. dichotoma* var. *lanceolata* planted for different years. In addition, the content of total sterols and total flavonoids in 3-year-old *Stellariae Radix* were significantly higher than those in the samples of other planting years. The correlation analysis showed that pH and alkali-hydrolyzable nitrogen had strong correlations with the microbial community in the rhizosphere soil. *Amycolatopsis*, *Mortierella*, *Preussia*, and *Penicillium* had significantly positive correlations with the main active components in *Stellariae Radix*. [Conclusion] The study preliminarily revealed the rhizosphere soil microorganisms related to the active components in *Stellariae Radix*, which provided a theoretical basis for the high-quality production of this herbal medicine.

Keywords: *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge.; planting years; rhizosphere soil microbial; soil properties; active components

银柴胡(*Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge.)为石竹科繁缕属多年生草本植物,以干燥根入药,是宁夏特色道地药材,常用于治疗阴虚发热、骨蒸劳热和小儿疳热等症状^[1]。野生银柴胡资源主要分布于我国宁夏、内蒙古、陕西、甘肃的干旱、半干旱荒漠草原区,是一种喜阳、耐寒、耐旱且耐瘠薄的植物^[2]。目前人工栽培银柴胡已取代了野生银柴胡,成为了市场主流产品,不仅对脆弱的干旱、半干旱草原生态环境起到保护作用,而且成为宁夏贫困地区脱贫、振兴乡村的重要途径之一。然而,随着种植技术进步和规模的扩大,药材质量及其稳定性引起了各方面的高度重视,已有研究表明,银柴胡质量与种植年限有关^[3],3年生银柴胡中总甾醇、黄酮等生物活性成分含量最高,通常超过3年后上述活性成分积累量下降^[4]。

近年来,在中药道地性形成机制研究中逐步产生了一个新兴交叉学科,即中药微生态学(Traditional Chinese Medical Microecology, TCMM),从植物-微生物-土壤的层面深入阐释药用植物内生菌^[5]、根际土壤微生物^[6]等中药微生态的因素影响药材生长、性状、代谢和化学成分等,揭示中药微生态结构的形成及其变化规律与药材品质、效用之间的关系^[7]。关于道地药材银柴胡的相关研究刚刚起步,刘王锁等^[8]最近研究表明,存在于银柴胡根中的内生菌群落影响了药材的质量和产量,与药材有效成分及产量呈显著正相关的内生菌较多,但关于不同栽培年限银柴胡根际土壤微生物群落结构变化及其微生物群落与土壤理化性质、药材质量之间的关系少见研究报道。为此本研究以宁夏道地产区人工栽培银柴胡为研究对象,采用高通量测序技术对不同种植年限的银柴胡根际土壤微

生物群落特征进行分析,并探究不同种植年限银柴胡根际土壤微生物与土壤性质、药材有效成分的关系,为银柴胡人工栽培及种植基地的规范化建设提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况和样品采集

研究区域位于宁夏回族自治区吴忠市同心县预旺镇青羊泉村(106°31′-116°33′E, 36°81′-36°83′N),该区域海拔1 572-1 590 m,年均气温8.78 °C,年均降水量311.15 mm,区域内土壤质地为壤土。于2023年3月上旬采集银柴胡1年生根际土(Y1)、2年生根际土(Y2)、3年生根际土(Y3)及7年生根际土(Y7),以同一地区未种植银柴胡的土壤作为对照(CK)。根际土样采集根据随机多点混合的原则^[9],每个采集地选取10株生长健康的银柴胡,用抖落法收集根际土,将10个土样混合均匀作为1个重复,每个采样点5次重复,共计25个样本。将采集的银柴胡根样及根际土壤样品带回实验室。收集的根际土样,一部分用于土壤DNA提取及后续细菌16S rRNA基因和真菌ITS测序;另一部分土样自然风干,用于土壤理化性质的测定。将银柴胡根样放在通风干燥环境下,自然阴干后粉碎,过40目筛,保存备用。

1.2 主要试剂和仪器

芦丁对照品,北京索莱宝科技有限公司; α -萘甾醇对照品,宝鸡市辰光生物科技有限公司;DNeasy[®] PowerSoil[®] Pro Kit, Qiagen公司。数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;NanoDrop 2000超微量分光光度计和Qubit 4.0荧光定量仪, Thermo Fisher Scientific公司。

1.3 银柴胡总黄酮和总甾醇含量的测定

总黄酮(total flavonoids)含量的测定: 参照李振凯等^[10]方法, 即称取银柴胡粉末 2 g 至 50 mL 离心管中, 加入 95%的乙醇 25 mL, 常温 250 W 超声提取 0.5 h, 取上清液后将剩余残渣再加入 95%的乙醇 25 mL, 再继续超声 15 min 后取上清液, 将 2 次取得的上清液混合均匀后静置至澄清作为供试样品溶液, 根据亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠比色法, 以芦丁作为对照品, 在 496 nm 处测定样品的吸光度值, 计算各样品中总黄酮的含量。

总甾醇(total sterols)含量的测定: 称取银柴胡粉末 0.5 g 置于 25 mL 容量瓶中, 加入氯仿 20 mL, 常温 250 W 超声 20 min 后加入氯仿至刻度线, 摇匀后用滤纸过滤。以 α -蒎甾醇为对照品, 在 546 nm 处测定样品的吸光度值, 计算各样品中总甾醇含量^[11]。

1.4 土壤理化性质的测定

土壤理化性质的测定参照鲍士旦^[12]的方法, pH 采用 pH 计法(水土比为 2.5:1)、可溶性盐(soluble salt, SS)含量采用质量法(水土比为 5:1)、有机质(organic matter, OM)含量采用重铬酸钾容量法-外加热法、全氮(total nitrogen, TN)采用凯氏定氮法、全磷(total phosphorus, TP)采用 NaOH 熔融-钼锑抗比色法、全钾(total potassium, TK)采用 NaOH 熔融-原子吸收分光光度法、碱解氮(alkali-hydrolyzable nitrogen, AN)采用碱解扩散法、速效磷(available phosphorus, AP)采用 0.5 mol/L NaHCO₃ 浸提-钼锑抗比色法、速效钾(available potassium, AK)采用 NH₄OAc 浸提-火焰光度法。

1.5 土壤 DNA 抽提、PCR 扩增和测序

采用 DNeasy[®] PowerSoil[®] Pro Kit 抽提土壤样品的总 DNA, DNA 完整性经 1%琼脂糖凝胶电泳检测合格后, 使用 NanoDrop 2000 超微量

分光光度计测定 DNA 的浓度和纯度。细菌 16S rRNA 基因的 PCR 扩增引物^[13]为 338F (5'-ACT CCTACGGGAGGCAGCAG-3')和 806R (5'-GGA CTACHVGGGTWTCTAAT-3'), 平均长度为 468 bp。真菌 ITS 的 PCR 扩增引物^[14]为 ITS1F (5'-CTTG GTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS2R (5'-GC TGC GTTCTTCATCGATGC-3'), 平均长度为 350 bp。PCR 反应体系: 5×TransStart *FastPfu* 缓冲液 4 μ L, dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μ L, 上、下游引物(5 μ mol/L)各 0.8 μ L, TransStart *FastPfu* DNA 聚合酶 0.4 μ L, 基因组 DNA 10 ng, ddH₂O 补足 20 μ L。PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s, 细菌 27 个循环/真菌 35 个循环; 72 °C 10 min。对 PCR 产物进行回收和纯化, 并用 Qubit 4.0 对回收产物进行检测定量, 随后送上海美吉生物医药科技有限公司进行测序。

1.6 序列分析和数据处理

对原始数据质控拼接后进行聚类, 将序列相似度大于 97%的有效序列定义为一个 OTU, 将所有样本序列数进行抽平。计算 α 多样性指数并采用 Welch *T* 检验进行组间差异分析; 微生物群落组成由 Bar 图和 Heatmap 图展示; 基于 bray_curtis 距离算法进行主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA), 并采用相似性分析对不同种植年限银柴胡根际土壤微生物群落结构的差异进行显著性分析; 使用 Excel 2019、Origin 2018、IBM SPSS 26 软件对土壤理化性质和银柴胡有效成分进行数据整理和显著性检验分析, 利用方差膨胀因子(variance inflation factor, VIF)分析, 剔除土壤理化性质中共线性较大的变量(VIF>10), 对剩余土壤理化性质与门水平上微生物群落组成进行冗余分析(redundancy analysis, RDA)。最后对不同种植年限银柴胡根际土壤微生物群落与土壤理化性质进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 银柴胡根际土壤细菌群落结构变化

2.1.1 细菌群落 α 多样性

α 多样性反映群落的物种丰富度和多样性, ACE 和 Chao1 指数反映群落丰富度, Shannon 和 Simpson 指数反映群落多样性。根际土壤细菌群落的 ACE 指数、Chao1 指数均表现为 CK 显著高于各种植年限,而各种植年限之间无显著性差异; Shannon 指数为 CK>Y3>Y7>Y2>Y1, Simpson 指数为 Y1>Y2>CK>Y7>Y3 (表 1)。结果表明,相较于 CK 组,种植银柴胡后细菌群落丰富度和多样性显著下降。随着种植年限的增加,细菌丰富度无显著性差异,但多样性呈增加的趋势。

2.1.2 细菌群落组成分析

从 25 个不同种植年限银柴胡根际土壤样本中共获得 10 442 个细菌 OTU,分别隶属于 38 门 113 纲 276 目 444 科 853 属。进一步对不同年限银柴胡根际土壤中细菌相对丰度排名前 10 的优势菌门进行了分析,结果见图 1A。从图 1A 中可见不同种植年限银柴胡根际土壤中优势细菌均为放线菌门(*Actinobacteriota*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、酸杆菌门(*Acidobacteriota*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*),

相对丰度之和占细菌总序列的 80%以上。相较于 CK 组,种植银柴胡 1 年后放线菌门、变形菌门和拟杆菌门的相对丰度显著增加,增幅分别为 29.79%、20.67%和 52.73%;而绿弯菌门和酸杆菌门的相对丰度显著降低,降幅分别为 42.25%和 46.45%。2 年生银柴胡优势细菌门的相对丰度无显著变化。在种植 3 年时,绿弯菌门的相对丰度显著增加,增幅达 46.94%,而拟杆菌门显著降低,降幅达 14.03%。在银柴胡种植 7 年时,放线菌门丰度显著降低,而变形菌门的相对丰度显著增加。

相对丰度排名前 15 的细菌属如图 1B 所示,在 CK 中,优势细菌属为节杆菌属(*Arthrobacter*)、*Vicinamibacteraceae* 科未分类属(Norank_f_*Vicinamibacteraceae*)、JG30-KF-CM45 科未分类属(Norank_f_JG30-KF-CM45)、芽单胞菌科未分类属(Norank_f_*Gemmatimonadaceae*)、*Vicinamibacterales* 目未分类属(Norank_f_norank_o_*Vicinamibacterales*)、红色杆菌属(*Rubrobacter*)、*Gaiellales* 目未分类属(Norank_f_norank_o_*Gaiellales*),相对丰度之和占总序列的 24.76%。在种植银柴胡后,优势细菌属及相对丰度随种植年限增加发生了不同改变,其中 1 年生和 2 年生银柴胡根际土壤中节杆菌属、列舍瓦列氏菌属(*Lechevalieria*)、克里贝拉属(*Kribbella*)、类诺

表 1 不同种植年限银柴胡根际土壤细菌群落的 α 多样性指数

Table 1 Alpha diversity index of bacterial community in rhizosphere soil of *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. planted for different years

Item	ACE index	Chao1 index	Shannon index	Simpson index
CK	4 055.35±199.04a	3 919.23±123.94a	6.54±0.07a	0.007 2±0.002 5b
Y1	3 064.89±78.35b	2 899.29±67.62b	6.13±0.04c	0.010 1±0.000 9a
Y2	3 130.63±88.96b	2 954.85±79.28b	6.17±0.09c	0.009 7±0.001 9a
Y3	3 079.88±110.08b	2 952.22±125.09b	6.28±0.02b	0.006 8±0.000 4b
Y7	2 968.74±32.72b	2 849.76±32.49b	6.27±0.06b	0.006 9±0.001 6b

同列数值后的不同小写字母表示差异显著。下同

The different lowercase letters after the same column value indicate significant difference. The same below.

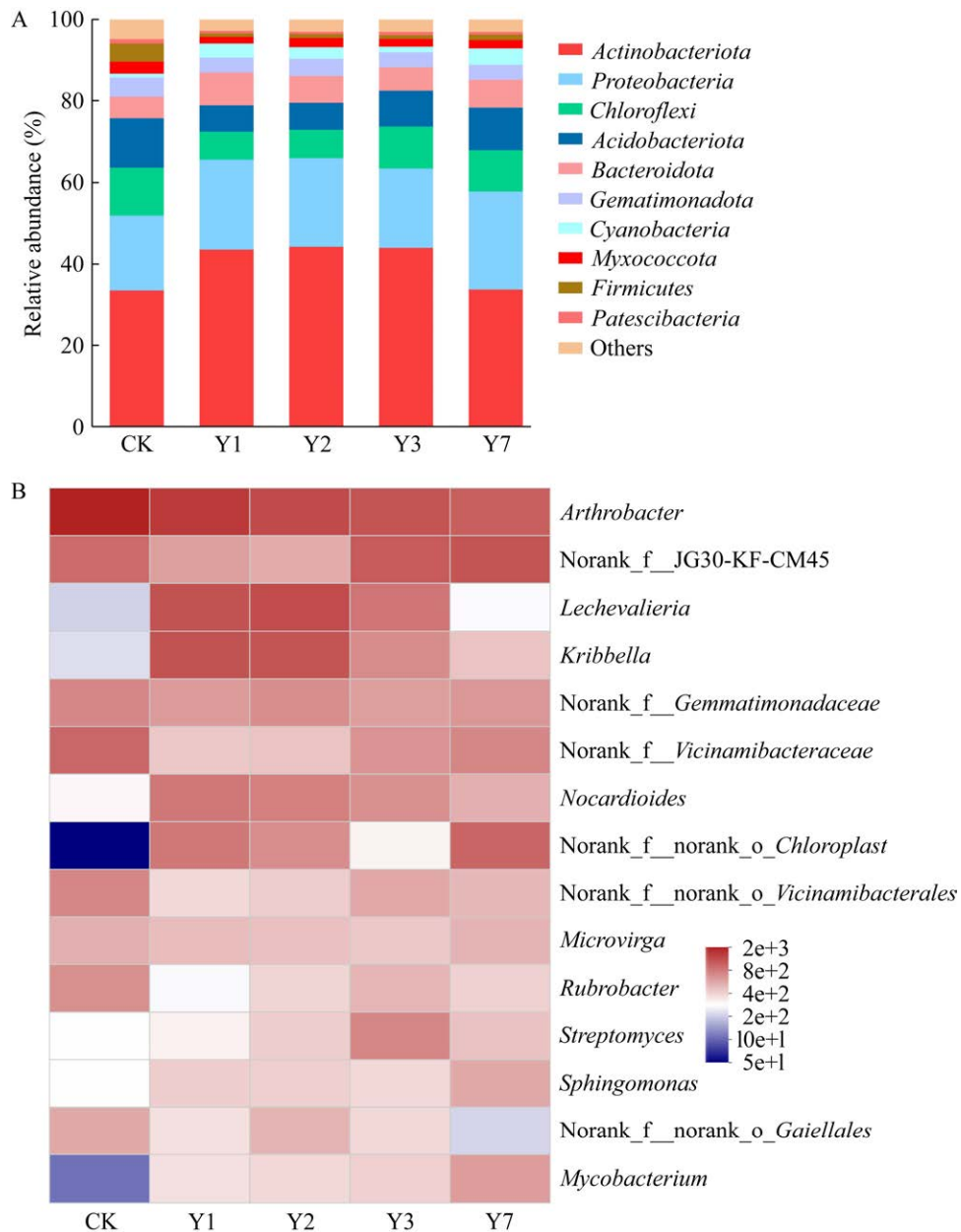


图 1 银柴胡根际土壤细菌在门(A)和属(B)水平上的相对丰度

Figure 1 The relative abundance of bacteria in rhizosphere soil of *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. at the level of phylum (A) and genus (B).

卡氏菌属(*Nocardioiodes*)和 *Chloroplast* 目未分类属(*Norank_f_norank_o_Chloroplast*)等菌属为优势细菌属;而在3年生银柴胡根际土壤中, *Norank_f_JG30-KF-CM45*、链霉菌属(*Streptomyces*)的相对丰度显著升高并成为优势菌属;在7年

生银柴胡根际土壤中,列舍瓦列氏菌属、克里贝拉属和 *Norank_f_norank_o_Gaiellales* 的相对丰度显著降低,而 *Norank_f_norank_o_Chloroplast*、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和分枝杆菌属(*Mycobacterium*)成为优势菌属。

2.1.3 细菌群落主坐标分析

采用 bray_curtis 距离算法进行主坐标分析, 并采用相似性分析进行组间差异检验。主坐标分析揭示了微生物群落的组间和组内差异, 如图 2 所示, Y1、Y2、Y3 聚集, 与 Y7 均在 PC1 轴左侧但距离较远, 而 CK 与各年限沿 PC1 轴明显分开。说明种植银柴胡后土壤细菌群落结构变化较大, 并且种植 7 年与 1、2、3 年银柴胡根际土壤细菌群落结构不同。

2.2 银柴胡根际土壤真菌群落结构变化

2.2.1 真菌群落 α 多样性

如表 2 所示, 相较于 CK 组, 种植银柴胡后根际土壤真菌的丰富度增加, 种植 7 年时多样性水平与 CK 相近; 随种植年限的增加, 真菌的丰富度和多样性均呈增加的趋势, 7 年生显著高于其他种植年限。

2.2.2 真菌群落组成分析

从 25 个银柴胡根际土壤中一共获得 2 274 个真菌 OTU, 分别隶属于 13 门 39 纲 95 目 217 科 479 属。如图 3A 所示, 对 CK 及 4 个不同种植年限银柴胡根际土壤中真菌丰度排名前 10 的优势菌门进行分析。不同种植年限银柴胡根际土壤中优势真菌均为子囊菌门(*Ascomycota*)、担子菌门(*Basidiomycota*)、被孢霉门(*Mortierellomycota*)、Unclassified_k_fungi 和壶菌门(*Chytridiomycota*), 相对丰度之和占真菌总序列的 90%以上。其中, 子囊菌门的相对丰度无显著性变化。担子菌门

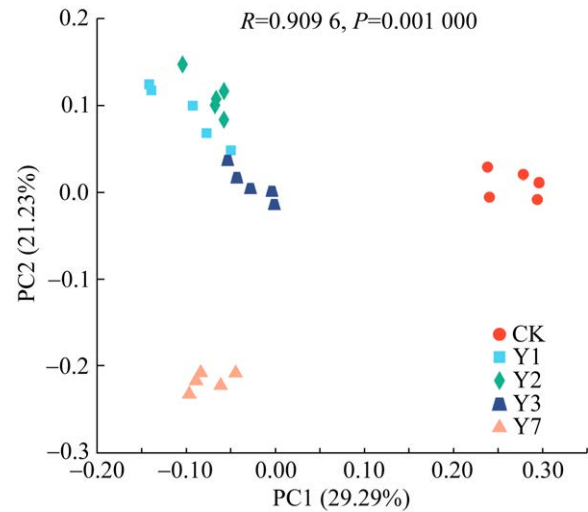


图 2 不同种植年限银柴胡根际土壤细菌群落主坐标分析

Figure 2 Principal co-ordinates analysis of bacterial community in rhizosphere soil of *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. planted for different years.

变化幅度较大, 相较于 CK 组, 担子菌门在种植银柴胡 1 年后显著升高, 在种植 2 年和 3 年后显著降低, 而在 7 年后又显著升高。被孢霉门的相对丰度在第 3 年显著高于其他年限。Unclassified_k_fungi 和壶菌门在 CK 中显著高于其他种植年限。

相对丰度排名前 15 的真菌属如图 3B 所示, 优势真菌为赤霉属(*Gibberella*)、链格孢属(*Alternaria*)、枝顶孢属(*Acremonium*)、镰刀菌属(*Fusarium*)、毛壳菌属(*Chaetomium*)、刺孢属

表 2 不同种植年限银柴胡根际土壤真菌群落 α 多样性指数

Table 2 Alpha diversity index of fungi community in rhizosphere soil of *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. planted for different years

Item	ACE index	Chao1 index	Shannon index	Simpson index
CK	562.25±78.71c	532.09±57.63c	4.30±0.11a	0.037 2±0.007 2c
Y1	666.14±28.19b	667.45±39.19b	3.97±0.13b	0.048 2±0.005 8bc
Y2	644.39±31.56b	632.98±27.93b	3.84±0.16b	0.079 8±0.019 6a
Y3	626.44±36.83b	616.48±33.12b	3.91±0.14b	0.057 3±0.007 0b
Y7	730.66±25.44a	730.64±28.00a	4.17±0.03a	0.035 8±0.001 1c

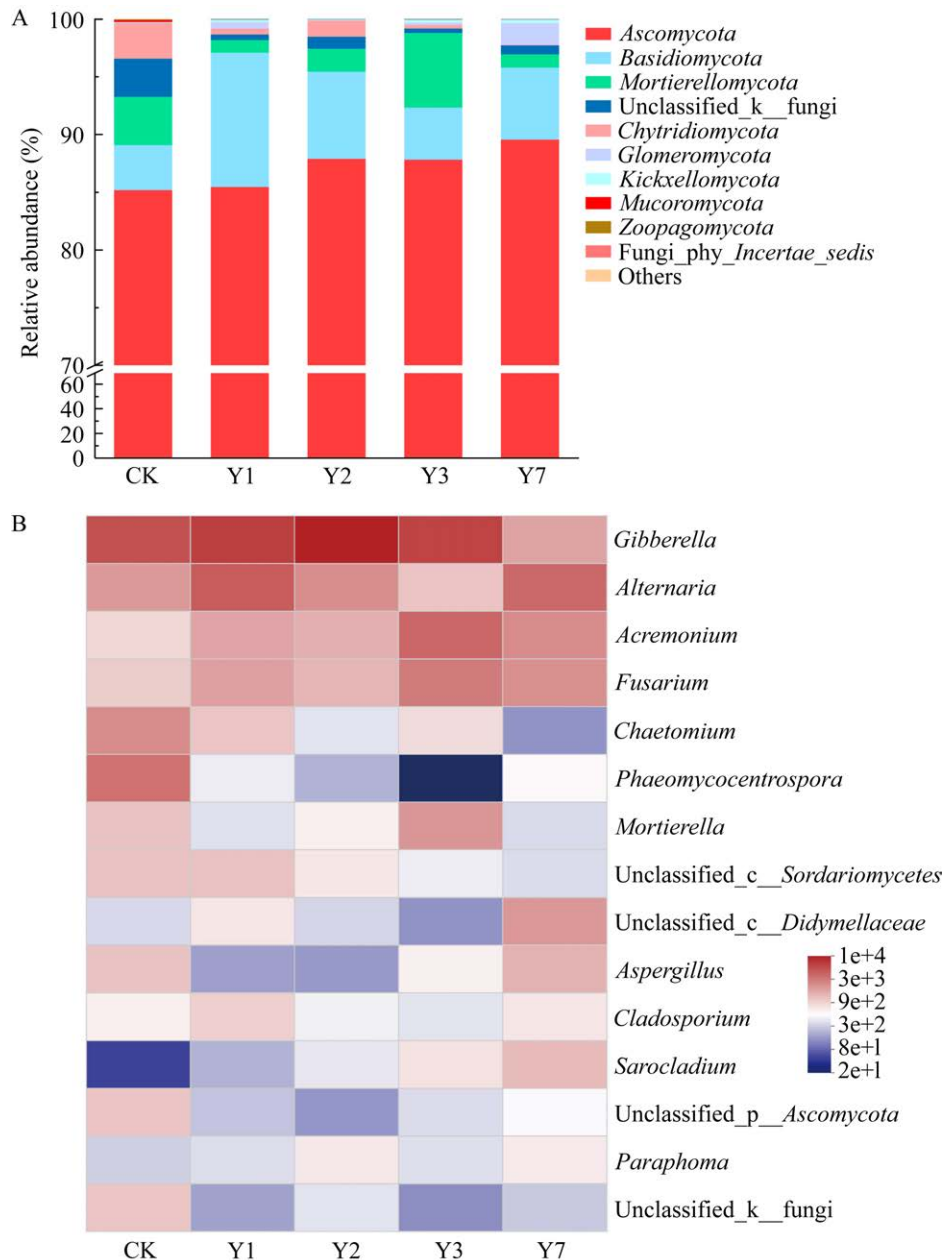


图3 银柴胡根际土壤真菌在门(A)和属(B)水平上的相对丰度

Figure 3 The relative abundance of fungi in rhizosphere soil of *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. at the level of phylum (A) and genus (B).

(*Phaeomycoentrospora*)和被孢霉属(*Mortierella*)等菌属,在各年限中,相对丰度差异较大。1年生和2年生优势真菌属变化趋势相近,在第3年时,链格孢属和刺孢属等真菌属的相对丰度下降,而被孢霉属在第3年时显著高于其他年限,成为优

势菌属。相较于第3年,第7年毛壳菌属、被孢霉属的相对丰度下降,而链格孢属、刺孢属、亚隔孢壳科未分类属(*Unclassified_f_Didymellaceae*)、曲霉菌属(*Aspergillus*)、帚枝霉属(*Sarocladium*)、异茎点霉属(*Paraphoma*)和 *Unclassified_k_fungi*

的相对丰度升高。

2.2.3 真菌群落主坐标分析

如图 4 所示,同一种植年限的 5 个重复在真菌群落中较好地聚合,表明分析结果较好。7 年生银柴胡根际土壤中真菌群落与其他年限能明显区分开,1、2、3 年生银柴胡根际土壤中真菌群落距离较近,说明随种植年限的增加,在第 7 年时真菌群落结构变化较大。

2.3 银柴胡根际土壤微生物群落与土壤理化性质的相关性分析

2.3.1 银柴胡根际土壤的理化性质

由表 3 可知,采样地的土壤均呈碱性($\text{pH} \geq 8.0$),在 CK 组中 pH 值显著高于种植银柴胡组,并且随种植年限的延长呈增加趋势。但有机质、全氮、全磷、碱解氮、速效磷及速效钾的含量随种植年限呈波动性变化,种植 7 年时上述各项指标含量均低于对照和其他年限;可溶性盐和全钾含量在各组间无显著性差异。

2.3.2 银柴胡根际土壤细菌群落与土壤理化性质之间的关系

对细菌 RDA 分析结果如图 5A 显示,前 2 个排序轴共解释了变异的 60.15% (RDA1: 48.63%, RDA2: 11.52%),能较好地反映银柴胡土壤理化

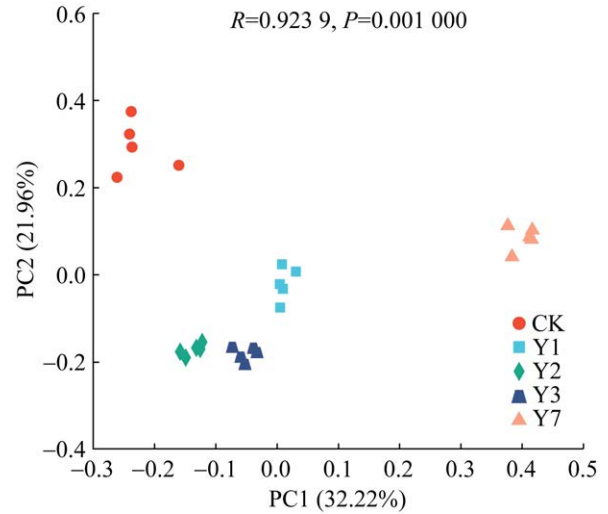


图 4 不同种植年限银柴胡真菌群落主坐标分析
Figure 4 Principal co-ordinates analysis of fungi community in rhizosphere soil of *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. planted for different years.

因子与细菌门水平的相互关系。结果表明 pH ($R^2=0.674$, $P=0.001$)、AN ($R^2=0.490$, $P=0.001$)、TP ($R^2=0.275$, $P=0.031$)与土壤细菌落群结构有显著相关性, pH 与放线菌门、变形菌门、拟杆菌门呈负相关,与绿弯菌门、酸杆菌门呈正相关, AN、TP 与变形菌门、拟杆菌门呈负相关,与放线菌门呈正相关。

表 3 不同种植年限银柴胡土壤理化性质

Table 3 Soil physicochemical properties of rhizosphere of *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. planted for different years

Item	CK	Y1	Y2	Y3	Y7
pH	8.52±0.07a	7.99±0.06d	8.03±0.01cd	8.07±0.02c	8.19±0.01b
Soluble salt (g/kg)	0.61±0.21a	0.84±0.21a	0.75±0.14a	0.93±0.13a	0.89±0.28a
Organic matter (g/kg)	9.67±0.62b	8.54±0.17c	10.98±0.34a	9.15±0.36bc	5.39±0.27d
Total nitrogen (g/kg)	0.42±0.01ab	0.38±0.01c	0.43±0.01a	0.41±0.01bc	0.24±0.01d
Total phosphorus (g/kg)	0.75±0.02ab	0.70±0.01cd	0.78±0.02a	0.73±0.01bc	0.68±0.03d
Total potassium (g/kg)	19.59±3.17a	20.92±1.19a	19.77±1.88a	20.38±0.55a	19.22±0.18a
Alkali-hydrolyzable nitrogen (mg/kg)	32.42±5.29a	27.87±3.36a	30.19±2.00a	27.82±3.53a	16.23±2.02b
Available phosphorus (mg/kg)	19.86±0.59a	11.75±0.12b	12.32±0.39b	11.99±0.50b	8.11±0.29c
Available potassium (mg/kg)	208.75±1.54b	143.10±3.09c	239.06±3.82a	128.28±3.50d	120.54±2.54e

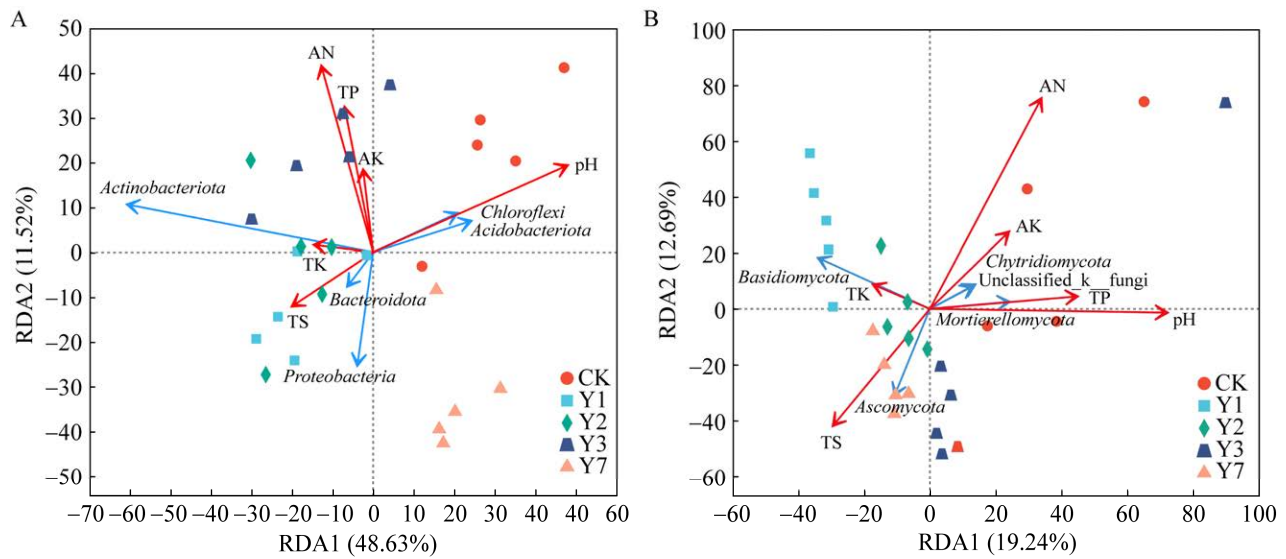


图 5 门水平上细菌(A)、真菌(B)群落与土壤理化因子的相关性分析

Figure 5 Correlation analysis of bacterial (A), fungi (B) communities at the phylum level and soil physical and chemical factors.

2.3.3 银柴胡根际土壤真菌群落与土壤理化性质之间的关系

对真菌 RDA 分析结果(图 5B)显示,前 2 个排序轴共解释了变异的 31.93% (RDA1: 19.24%, RDA2: 12.69%)。结果表明 pH ($R^2=0.333, P=0.01$)、AN ($R^2=0.240, P=0.042$)与土壤真菌落群结构呈显著正相关或负相关, pH、AN 与被孢霉门、壶菌门、Unclassified_k_fungi 均呈正相关。pH 与担子菌门呈负相关, AN 与子囊菌门呈负相关。

2.4 银柴胡根际土壤微生物群落与药材有效成分的相关性分析

2.4.1 银柴胡有效成分的含量

对不同种植年限银柴胡的总黄酮和总甾醇进行测定,结果表明(图 6),银柴胡中总黄酮和总甾醇含量随种植年限的延长均呈先升高后降低的趋势。其中,3 年生银柴胡总黄酮含量最高,为 2.39 mg/g,7 年生药材总黄酮含量最低,显著

低于 1 年生和 2 年生样品。此外,3 年生银柴胡总甾醇的含量为 3.40 mg/g,显著高于其他种植年限的银柴胡,1 年生样品总甾醇含量最低,为 2.98 mg/g。

2.4.2 银柴胡根际土壤细菌与药材有效成分的相关性

对不同种植年限银柴胡根际土壤细菌属与药材有效成分(总黄酮和总甾醇含量)做相关性分析,结果如图 7 所示,大部分细菌属与银柴胡有效成分呈正相关关系。与总黄酮含量呈显著正相关的细菌有拟无枝酸菌属(*Amycolatopsis*)、芽生球菌属(*Blastococcus*)和 *Norank_f_norank_o_Gaiellales*;与总甾醇含量呈显著正相关的细菌有拟无枝酸菌属、红色杆菌属(*Rubrobacter*)、链霉菌属和 TK10 纲的未分类属(*Norank_f_norank_o_norank_c_TK10*)。与总黄酮和总甾醇含量都显著呈正相关的是拟无枝酸菌属。这些细菌类群可能会影响药材有效成分。

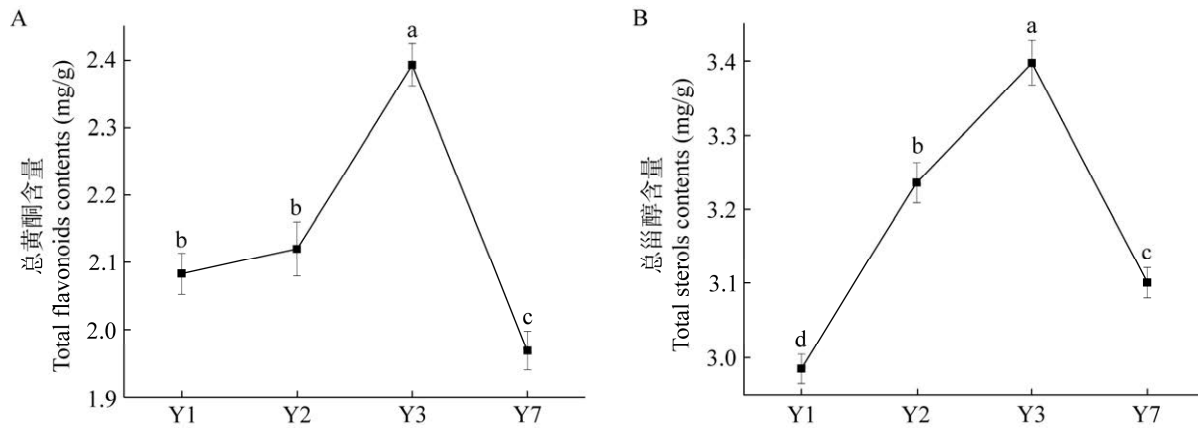


图6 不同种植年限银柴胡总黄酮(A)和总甾醇(B)含量 图中不同小写字母表示不同组间差异显著($P < 0.05$)

Figure 6 Contents of total flavonoids (A) and total sterols (B) of *Stellaria Radix* planted for different years. Different lowercase letters in the figure indicate significant differences between different groups ($P < 0.05$).

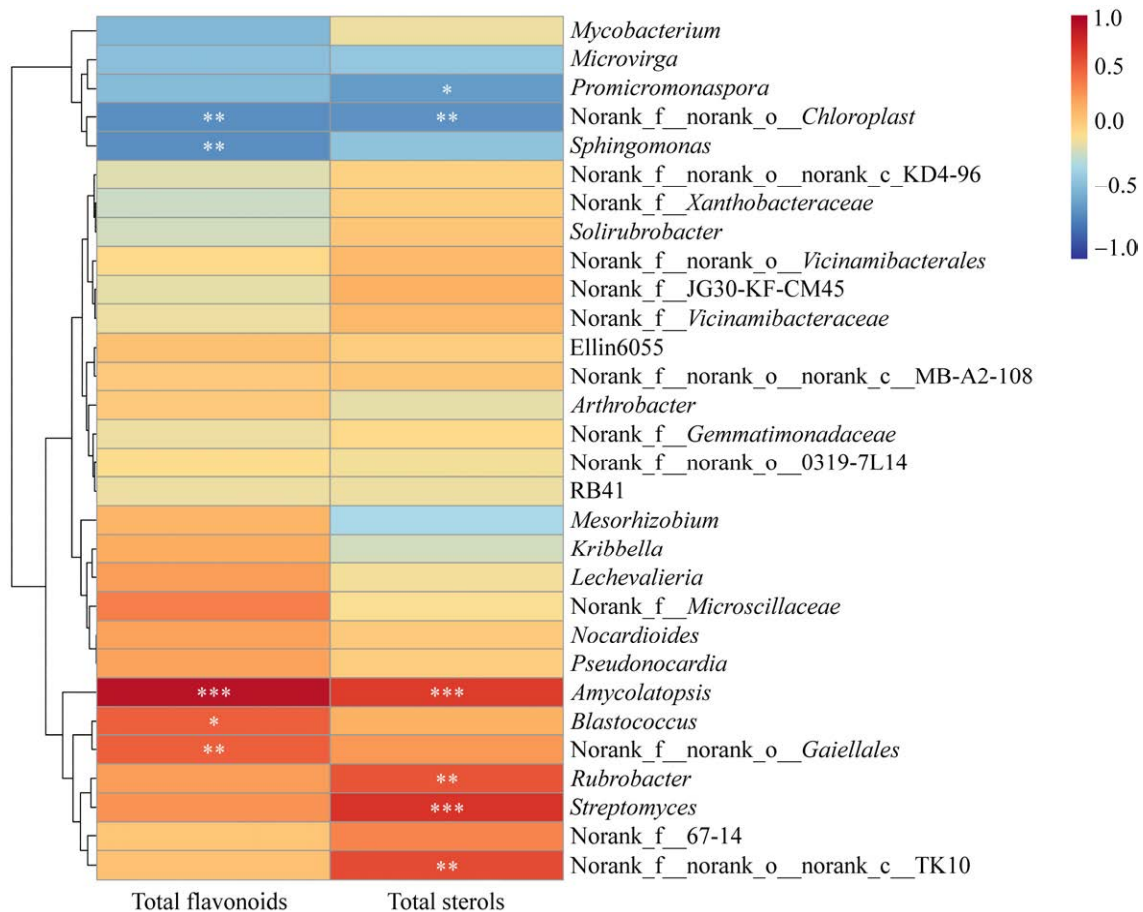


图7 银柴胡根际土壤属水平细菌与药材有效成分的相关性

Figure 7 Correlation of rhizosphere bacteria in genus-level of *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. with active components of medicinal materials. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

2.4.3 银柴胡根际土壤真菌与药材有效成分的相关性

如图 8 所示,与银柴胡总黄酮和总甾醇含量都呈显著正相关的真菌属包括光黑壳属(*Preussia*)、单孢囊菌属(*Monosporascus*)、被孢霉属、青霉属(*Penicillium*)、和毛球壳科未定义的属(*Unclassified_f_Lasiosphaeriaceae*); 只与总黄酮含量呈显著

正相关的真菌属是毛壳属(*Chaetomium*), 只与总甾醇含量呈显著正相关的真菌属为小荚孢腔菌(*Sporormiella*)。此外, 链格孢属、亚隔孢壳科未分类属(*Unclassified_f_Didymellaceae*)、丛赤壳科未定义的属(*Unclassified_f_Nectriaceae*)、刺孢属(*Phaeomycoentrospora*)等真菌属类群与银柴胡有效成分呈显著负相关。

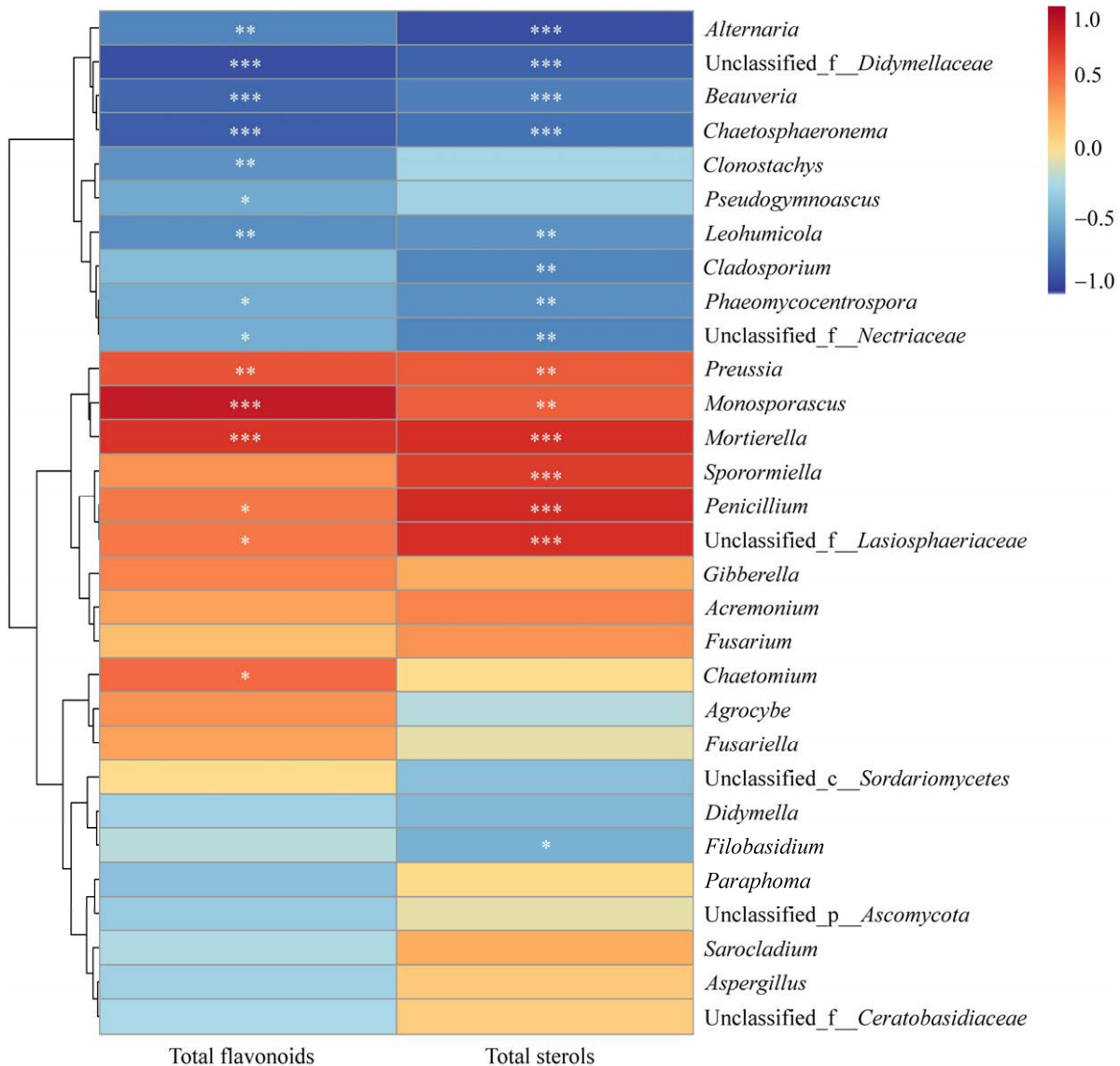


图 8 银柴胡根际土壤属水平真菌与药材有效成分的相关性

Figure 8 Correlation of rhizosphere fungi in genus-level of *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. with active components of medicinal materials. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

3 讨论与结论

根际土壤微生物是一类生活在植物根系附近土壤中的微生物群体,包括细菌、真菌、放线菌等,它们可以通过直接或间接机制刺激植物生长,改善植物生长环境,有“植物的第二基因组”之称^[15]。微生物群落多样性是评价土壤微生物结构稳定性和生态功能的重要指标之一^[16]。从本研究结果看,相较于未种植银柴胡的土壤,种植银柴胡后土壤微生物群落丰富度和多样性发生了改变,这可能由于植株根系对根际土壤微生物具有选择性^[17],长期人工种植银柴胡后根际土壤中细菌和真菌生物种类更加丰富。目前,16S rRNA 基因已被广泛用作分子标记来分析微生物组成,但基因组内异质性、分类水平较低等因素在估计微生物多样性时会造成一定的偏差。16S rRNA 基因 V3-V4 区因其总体覆盖率高等优点,常作为微生物研究中的测序靶标,但 Pan 等^[18]研究发现基于 V3-V4 区域的扩增子分析可能会导致微生物多样性被高估 51.7%。本研究中土壤细菌测序片段为 16S rRNA 基因 V3-V4 区,这可能会高估土壤细菌多样性,从而使观测到的 OTU 数量偏多。

本研究发现不同种植年限银柴胡根际土壤微生物群落中优势菌群较稳定,但相对丰度占比不同,高通量测序与分析结果显示,各种种植年限根际土壤细菌均以放线菌门的相对丰度最高,其次是变形菌门、绿弯菌门和酸杆菌门等;子囊菌门和担子菌门是根际土壤中真菌的相对丰度占比最大的两个门,这些根际土壤微生物群落中优势菌群群落组成特征无疑为银柴胡道地性形成机制研究及道地药材产区选择提供了借鉴的依据。此外,与刘王锁等^[8]报道的银柴胡内生优势菌组成特征对比发现,银柴胡根际土壤优势菌群群落与内生菌优势菌一致,由此

推测银柴胡根内生菌可能也来自根际土壤。Ling 等^[19]也曾报道了当归根际土壤中定殖的细菌可能是内生细菌的主要来源,是否根类药材都存在这样的规律还有待进一步验证。

土壤理化性质能反映土壤健康状况及土壤养分含量,也是导致根际土壤细菌和真菌群落变化的主要因素^[20]。有研究者认为土壤 pH 值可通过改变酶活性、碳含量和养分有效性等方式间接影响土壤特性,从而影响土壤微生物的多样性和组成^[21]。本研究对银柴胡土壤根际土壤微生物群落与土壤理化性质进行相关性分析发现,土壤 pH 值和解碱氮与微生物群落组成有很大的相关性。在调查区域内,土壤理化测定结果表明,种植区土壤为贫瘠的碱性土壤,在种植银柴胡后,由于人工扰动程度、土壤质地、降雨量和气温等因素的变化,pH 值、有机质、全氮、全磷及速效养分等指标均呈现波动性变化,这些改变进一步引起了根际土壤微生物群落组成的变化,形成了银柴胡特有的稳定的优势菌群分布特征。在研究中发现随着银柴胡种植年限的延长,优势菌群落中变形菌门、拟杆菌门的相对丰度随着碱解氮、全磷含量的增加而降低,这与前人的研究结果相反^[22]。有研究者认为土壤中碱解氮含量也影响着真菌的生存和繁殖,当碱解氮含量逐渐增加时,真菌数量呈下降趋势^[23]。本研究中碱解氮与相对丰度占比最高的子囊菌门呈负相关,进一步说明碱解氮是影响土壤真菌群落的重要因素。

已有研究证实根际土壤微生物可以通过多种机制提高药用植物有效成分的积累^[24]。李振凯等^[25]报道,银柴胡中发现的主要活性成分包括甾醇类、黄酮类、生物碱类、酚酸类等物质,其中甾醇和黄酮类次生代谢产物被认为是银柴胡的主要活性成分。在本研究中,银柴胡总黄酮和总甾醇含量随着生长年限的增加呈先升高

后降低的趋势,其中3年生药材主要有效成分含量高于其他年限,这与前人研究结果^[4]一致。2020年版《中国药典》^[1]中明确规定:银柴胡栽培品应在种植后3、4年采收。本课题组在前期调查时发现7年生样品种植地块中有些银柴胡出现烂根现象,这可能对银柴胡中总黄酮和总甾醇的积累具有不利影响。而且随着种植年限延长,银柴胡根部木质化程度增加,银柴胡主要成分可能发生了变化。此外,在黄芪^[26]、甘草^[27]等根类药材中也发现采收时间晚于药材采收期时黄酮含量下降的现象。

与总黄酮含量呈显著正相关的细菌有拟无枝酸菌属、放线菌门 *Gaiellales* 科的未分类属 (Norank_f_norank_o_Gaiellales) 和芽生球菌属 (*Blastococcus*)。有研究者^[28-29]认为 Norank_f_norank_o_Gaiellales 菌可以促进枸杞果实中黄酮类化合物、糖类的积累并抑制烟草成熟期根腐病的发生。7年生样品中 Norank_f_norank_o_Gaiellales 的降低可能不利于银柴胡中黄酮等物质的积累。芽生球菌属 (*Blastococcus*) 作为稀有放线菌属,对植物病害也有一定的抑制作用^[30]。与总甾醇含量呈显著正相关的有拟无枝酸菌属、链霉菌属 (*Streptomyces*) 和红色杆菌属等细菌类群。He 等^[31]研究表明链霉菌属 *Streptomyces* sp. RerS4 具有产生多种生物活性化合物的潜力。红色杆菌属 (*Rubrobacter*) 对高辐射、高热等极端环境具有一定的抗性^[32],而逆境胁迫对药材中某些活性成分的积累有积极作用,从而提高药材质量^[33]。链霉菌属和红色杆菌属在3年生银柴胡的根际土壤中积累,并且链霉菌属成为优势菌属,说明这2类菌群很可能对3年生药材中甾醇等次生代谢物质的积累有积极作用。与总黄酮和甾醇都具有正相关的细菌为拟无枝酸菌属 (*Amycolatopsis*), 这与刘王锁等已报道的结果相似^[8],说明此菌群可能

是影响银柴胡活性成分的主要类群,但还需对此菌中的关键类群进一步研究。

与银柴胡主要活性成分呈正相关的真菌属较多,包括被孢霉属、光黑壳属 (*Preussia*)、青霉属 (*Penicillium*) 等真菌类群。被孢霉属对人参根茎生长和药用成分人参皂苷的积累有促进作用,从而提高人参的产量和品质^[34],也能抑制由镰刀菌引起的病害^[35]。3年生银柴胡根际土壤中被孢霉属类群可能对药材中黄酮和甾醇的积累具有积极影响。据报道,光黑壳属具有抗菌活性,从内生真菌 *Preussia* sp. 中分离得到的 *spiropreussione* A 具有抑制肿瘤细胞和抗微生物活性^[36],是一种具有潜在开发利用价值的真菌。青霉属能够产生生物碱类、萜类和聚酮类等多种具有生物活性的次生代谢产物^[37]。毛壳属 (*Chaetomium*) CBL9 已被证实是一种来自金龙胆草 (*Conyza blinii* H. Lév.) 的能产生类黄酮的内生真菌,体外实验表明,大孔树脂提取的黄酮具有优异的抗氧化作用^[38],李艳军等^[39]从小莪孢腔菌属 (*Sporormiella*) 真菌中分离得到9个甾类化合物。我们的研究表明只与总黄酮呈显著正相关的真菌属是毛壳属,只与总甾醇呈显著正相关的真菌属为小莪孢腔菌属,说明这两个真菌类群可能会促进银柴胡黄酮和甾醇类的合成。

尽管这些结果需要进一步的实验去验证,但我们从银柴胡根际土壤细菌和真菌中初步筛选了拟无枝酸菌属、被孢霉属等影响银柴胡品质的关键菌属,这对今后银柴胡的土壤微生物环境改良具有一定的借鉴意义。

REFERENCES

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典-二部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
Chinese Pharmacopoeia Commission. People's Republic of China (PRC) Pharmacopoeia-Part II[M]. Beijing: The Medicine Science and Technology Press of China, 2020 (in Chinese).

- [2] 邢世瑞. 宁夏中药志-下卷[M]. 2版. 银川: 宁夏人民出版社, 2006.
XING SR. Ningxia Traditional Chinese Medicine Annals-Volume II[M]. 2nd ed. Yinchuan: Ningxia People's Publishing House, 2006 (in Chinese).
- [3] 王秀芬, 李静, 方光明, 马学琴, 吴曦. 宁夏地产银柴胡的生长年限与质量的相关性研究[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(8): 1992-1995.
WANG XF, LI J, FANG GM, MA XQ, WU J. A study on the correlation between the growth age and quality of *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge medicinal herbs in Ningxia[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2021, 32(8): 1992-1995 (in Chinese).
- [4] LI ZK, FENG L, WANG H, ZHANG L, LI HS, LI YQ, NIU PL, TIAN GG, YANG Y, MEI XG, PENG L. The impact of growth years on the medicinal material characteristics and metabolites of *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. reveals the optimal harvest age[J]. Plants, 2023, 12(12): 2286.
- [5] 黄雪珍, 赵龙飞. 药用植物内生菌对宿主植物促生作用机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(4): 1653-1665.
HUANG XZ, ZHAO LF. Mechanism of endophytes of medicinal plants in promoting the growth of host plants[J]. Microbiology China, 2023, 50(4): 1653-1665 (in Chinese).
- [6] 祝蕾, 严辉, 刘培, 张振宇, 张森, 郭盛, 江曙, 段金殿. 药用植物根际微生物对其品质形成的影响及其作用机制的研究进展[J]. 中草药, 2021, 52(13): 4064-4073.
ZHU L, YAN H, LIU P, ZHANG ZY, ZHANG S, GUO S, JIANG S, DUAN JA. Research progress on effects of rhizosphere microorganisms on quality formation of medicinal plants and their interaction mechanisms[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(13): 4064-4073 (in Chinese).
- [7] 何冬梅, 王海, 陈金龙, 赖长江生, 严铸云, 黄璐琦. 中药微生态与中药道地性[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(2): 290-302.
HE DM, WANG H, CHEN JL, LAI CJS, YAN ZY, HUANG LQ. Microecology and geoherbalism of traditional Chinese medicine[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(2): 290-302 (in Chinese).
- [8] 刘王锁, 李振凯, 高敏, 高学花, 韩新宁, 杨智明, 张芳, 董文飞. 不同生境银柴胡根内生菌群落特征及其与药材主要有效成分、产量的相关性分析[J]. 微生物学通报, 2024, 51(1): 262-278.
LIU WS, LI ZK, GAO M, GAO XH, HAN XN, YANG ZM, ZHANG F, DONG WF. Correlations of endophytic microbial community with main active components and yield of *Stellaria dichotoma* var. *lanceolata* in different habitats[J]. Microbiology China, 2024, 51(1): 262-278 (in Chinese).
- [9] 洗康华, 苏江, 付传明, 何文, 刘宝骏, 谢东斌, 黄宁珍, 何金祥. 不同生长年限华重楼根际土壤微生物多样性研究[J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2087-2098.
XIAN KH, SU J, FU CM, HE W, LIU BJ, XIE DB, HUANG NZ, HE JX. Microbial diversity in rhizosphere soil of *Paris polyphylla* var. *chinensis* in different growth years[J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2087-2098 (in Chinese).
- [10] 李振凯, 王红, 宋乐, 冯璐, 李彦青, 杨燕, 彭励. 基于无机元素、有效成分银柴胡产地特征及关联分析[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(7): 894-902.
LI ZK, WANG H, SONG L, FENG L, LI YQ, YANG Y, PENG L. Origin characteristics and correlation analysis of *Stellariae Radix* based on inorganic elements and effective components[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2023, 40(7): 894-902 (in Chinese).
- [11] 张学良, 赵德华, 张文懿, 王英华. 银柴胡中总甾醇含量测定的方法学研究[J]. 宁夏医学杂志, 2012, 34(2): 126-127.
ZHANG XL, ZHAO DH, ZHANG WY, WANG YH. Methodology study on qualification of total sterol in *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge by ultraviolet spectrophotometry[J]. Ningxia Medical Journal, 2012, 34(2): 126-127 (in Chinese).
- [12] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
BAO SD. Soil and Agricultural Chemistry Analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese).
- [13] LIU CS, ZHAO DF, MA WJ, GUO YD, WANG AJ, WANG QL, LEE DJ. Denitrifying sulfide removal process on high-salinity wastewaters in the presence of *Halomonas* sp.[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(3): 1421-1426.
- [14] ADAMS RI, MILETTO M, TAYLOR JW, BRUNS TD. Dispersal in microbes: fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances[J]. The ISME Journal, 2013, 7(7): 1262-1273.
- [15] 张瑞福. 根际微生物: 农业绿色发展中大有所为的植物第二基因组[J]. 生物技术通报, 2020, 36(9): 1-2.
ZHANG RF. Rhizosphere microorganism: the second

- genome of plants with great potential in agricultural green development[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2020, 36(9): 1-2 (in Chinese).
- [16] 刘诗蓉, 王红兰, 孙辉, 杨萍, 蒋舜媛, 蒋桂华. 半夏连作对根际土壤微生物群落的影响研究[J]. *中草药*, 2022, 53(4): 1148-1155.
- LIU SR, WANG HL, SUN H, YANG P, JIANG SY, JIANG GH. Effects of continuous cropping of *Pinellia ternata* on rhizospheric microbial community[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2022, 53(4): 1148-1155 (in Chinese).
- [17] 于春雷, 高嵩, 孙文松. 连作对辽细辛土壤理化性质和根际微生物群落特征的影响[J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(14): 250-258.
- YU CL, GAO S, SONG WS. Impacts of continuous cropping on soil physicochemical properties and rhizosphere microbial community characteristics of *Asarum heterotropoides*[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2022, 50(14): 250-258 (in Chinese).
- [18] PAN PP, GU YC, SUN DL, WU QL, ZHOU NY. Microbial diversity biased estimation caused by intragenomic heterogeneity and interspecific conservation of 16S rRNA genes[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2023, 89(5): e0210822.
- [19] LING LJ, MA WX, LI ZB, JIAO ZL, XU XY, LU L, ZHANG X, FENG JJ, ZHANG J. Comparative study of the endophytic and rhizospheric bacterial diversity of *Angelica sinensis* in three main producing areas in Gansu, China[J]. *South African Journal of Botany*, 2020, 134: 36-42.
- [20] XIE P, HUANG KR, DENG AH, MO P, XIAO F, WU F, XIAO DW, WANG Y. The diversity and abundance of bacterial and fungal communities in the rhizosphere of *Cathaya argyrophylla* are affected by soil physicochemical properties[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1111087.
- [21] WAHOME CN, MAINGI JM, OMBORI O, NJERU EM, MUTHINI M, KIMITI JM. Diversity and abundance of bacterial and fungal communities in rhizospheric soil from smallholder banana producing agroecosystems in Kenya[J]. *Frontiers in Horticulture*, 2023, 2: 1061456.
- [22] HE WY, ZHANG MM, JIN GZ, SUI X, ZHANG T, SONG FQ. Effects of nitrogen deposition on nitrogen-mineralizing enzyme activity and soil microbial community structure in a Korean pine plantation[J]. *Microbial Ecology*, 2021, 81(2): 410-424.
- [23] 史文字. 绿肥-秸秆协同还田对连作棉田土壤微生物群落和功能多样性的影响[D]. 邯郸: 河北工程大学硕士学位论文, 2021.
- SHI WY. Effects of returning of green manure-straw cooperative on soil microbial community and functional diversity in continuous cropping cotton field[D]. Handan: Master's Thesis of Hebei University of Engineering, 2021 (in Chinese).
- [24] ZHOU N, MEI CM, ZHU XY, ZHAO JJ, MA MG, LI WD. Research progress of rhizosphere microorganisms in *Fritillaria* L. medicinal plants[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10: 1054757.
- [25] 李振凯, 宋乐, 雷燕, 梁旺利, 王红, 彭励. 银柴胡生物学、化学成分及药理作用研究进展[J]. *南京中医药大学学报*, 2020, 36(1): 136-140.
- LI ZK, SONG L, LEI Y, LIANG WL, WANG H, PENG L. Advances in biology, chemical constituents and pharmacological activities of *Stellaria dichotoma* var. *Lanceolata*[J]. *Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine*, 2020, 36(1): 136-140 (in Chinese).
- [26] 王强雄, 郭盛, 李会伟, 谢逸俊, 尚尔鑫, 段金殿. 不同产地蒙古黄芪茎叶 UPLC 指纹图谱建立及化学模式识别研究[J]. *中草药*, 2023, 54(13): 4312-4320.
- WANG QX, GUO S, LI HW, XIE YJ, SHANG EX, DUAN JA. Study on establishment of UPLC fingerprints and chemical pattern recognition of the stems and leaves of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao from different regions[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2023, 54(13): 4312-4320 (in Chinese).
- [27] 冯薇, 王文全, 赵平然. 栽培年限和采收期对甘草总皂苷、总黄酮含量的影响[J]. *中药材*, 2008, 31(2): 184-186.
- FENG W, WANG WQ, ZHAO PR. Content variation of saponins and flavonoids from growing and harvesting time of *Glycyrrhiza uralensis*[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2008, 31(2): 184-186 (in Chinese).
- [28] LIU SY, WANG QQ, LEI YH, WANG SS, CHEN KL, LI Y, XIONG J, LIANG XJ, ZHOU X, LI YK, SUN YF. Elucidating the interaction of rhizosphere bacteria and environmental factors in influencing active ingredient content of *Lycium barbarum* fruit in China[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 132(5): 3783-3796.
- [29] DING YR, CHEN YL, LIN ZQ, TUO YY, LI HL, WANG Y. Differences in soil microbial community composition between suppressive and root rot-conducive in tobacco fields[J]. *Current*

- Microbiology, 2021, 78(2): 624-633.
- [30] ZEB A, LIU WT, ALI N, SHI RY, LIAN YH, WANG Q, WANG JL, LI JT, ZHENG ZQ, LIU JZ, YU M, LIU JN. Integrating metabolomics and high-throughput sequencing to investigate the effects of tire wear particles on mung bean plants and soil microbial communities[J]. Environmental Pollution, 2024, 340(Pt 1): 122872.
- [31] HE HR, HUANG JR, ZHAO ZZ, DU PQ, LI JS, XIN JL, XU HF, FENG WS, ZHENG XK. Whole genome analysis of *Streptomyces* sp. RerS4, a *Rehmannia glutinosa* rhizosphere microbe producing a new lipopeptide[J]. Heliyon, 2023, 9(9): e19543.
- [32] KOUŘILOVÁ X, SCHWARZEROVÁ J, PERNICOVÁ I, SEDLÁŘ K, MRÁZOVÁ K, KRZYŽÁNEK V, NEBESÁŘOVÁ J, OBRUČA S. The first insight into polyhydroxyalkanoates accumulation in multi-extremophilic *Rubrobacter xylanophilus* and *Rubrobacter spartanus*[J]. Microorganisms, 2021, 9(5): 909.
- [33] 孟祥才, 邓代千, 杜虹韦, 关瑜. 高品质道地药材的科学内涵[J]. 中草药, 2023, 54(3): 939-947.
MENG XC, DENG DQ, DU HW, GUAN Y. Scientific connotation of high-quality genuine medicinal materials[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2023, 54(3): 939-947 (in Chinese).
- [34] SUN J, YANG J, ZHAO SY, YU Q, WENG LL, XIAO CP. Root exudates influence rhizosphere fungi and thereby synergistically regulate *Panax ginseng* yield and quality[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1194224.
- [35] WANG Y, WANG LW, SUO M, QIU ZJ, WU H, ZHAO M, YANG HY. Regulating root fungal community using *Mortierella alpina* for *Fusarium oxysporum* resistance in *Panax ginseng*[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 850917.
- [36] LI B, WANG CL, CHEN XM, LYU J, GUO SX. Highly specific separation for antitumor spiropreussione A from endophytic fungal [*Preussia* sp.] fermentation broth by one-step macroporous resins AB-8 treatment[J]. Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2013, 938: 1-7.
- [37] 李观丽. 三株链霉菌和一株真菌次级代谢产物及其活性研究[D]. 昆明: 昆明医科大学硕士学位论文, 2023.
LI GL. Studies on the secondary metabolites and their activities about three strains of *Streptomyces* and one strain of fungi[D]. Kunming: Master's Thesis of Kunming Medical University, 2023 (in Chinese).
- [38] ZHAO SH, WU XL, DUAN XY, ZHOU CX, ZHAO ZQ, CHEN H, TANG ZZ, WAN YJ, XIAO YR, CHEN H. Optimal extraction, purification and antioxidant activity of total flavonoids from endophytic fungi of *Conyza blinii* H. Lév[J]. PeerJ, 2021, 9: e11223.
- [39] 李艳军, 李小霞, 陈国栋, 高昊, 郭良栋, 姚新生. 内生真菌 *Sporormiella irregularis* (No. 71-11-4-1) 中一个新的二裂甾体[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(9): 678-684, 701.
LI YJ, LI XX, CHEN GD, GAO H, GUO LD, YAO XS. A new disecosteroid from an endolichenic fungal stain *Sporormiella irregularis* (No. 71-11-4-1)[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2012, 29(9): 678-684, 701 (in Chinese).