

## 箭叶淫羊藿不同时期根际微生物群落组成及其与有效成分累积的相关性分

李巧玲<sup>1</sup>, 韩 凤<sup>1,2</sup>, 曹 然<sup>1</sup>, 谭秋生<sup>1</sup>, 任明波<sup>1</sup>

1. 重庆市药物种植研究所, 重庆 408435

2. 重庆市道地药材规范化生产工程技术研究中心, 重庆 408435

**摘要:** **目的** 通过分析箭叶淫羊藿 *Epimedium sagittatum* 不同生育期根际微生物群落结构及其与主要药用有效成分累积之间的相关性, 探讨箭叶淫羊藿根际土壤微生物对其药材有效成分的影响, 为箭叶淫羊藿的优质高产栽培提供科学依据。 **方法** 以三年生箭叶淫羊藿的根际土为研究对象, 采用高通量测序技术对根际细菌和真菌群落结构进行分析, 同时测定根际土壤理化性质、酶活性及不同生育期药材总黄酮、淫羊藿苷等有效成分含量, 通过皮尔逊相关性分析探究土壤生态因子与有效成分之间的关系。 **结果** 高通量测序结果显示, 箭叶淫羊藿根际细菌优势菌属包括 *Candidatus\_Solibacter*、苔藓杆菌属、嗜酸栖热菌属、芽单胞菌属等, 其中, *Candidatus\_Solibacter* 属在5个生长时期的平均丰度值最高。根际真菌优势菌属中被孢霉属相对丰度占比最大, 在花蕾期样品中的丰度值高达44.27%。UPGMA 聚类和非度量多维标度法(NMDS)分析表明, 花蕾期、盛花期、果实膨大期和盛果期的根际土壤细菌和真菌结构相似, 而药材质量稳定期与前4个时期的根际微生物群落结构存在明显差异。同时, 皮尔逊相关性分析结果显示: 总黄酮含量与有效磷呈显著正相关, 与 *Candidatus\_Solibacter* 属、藓杆菌属呈极显著正相关; 淫羊藿苷与有机质、苔藓杆菌属呈显著正相关, 与碱解氮、有效磷、*Candidatus\_Solibacter* 属呈极显著正相关, 而与过氧化氢酶、硝化螺菌属呈显著负相关; 朝藿定 A 和朝藿定 B 与碱解氮、蔗糖酶显著正相关, 与有效磷、*Candidatus\_Solibacter* 属、嗜酸栖热菌属、慢生根瘤菌属及显著正相关, 而与脲酶、酸杆菌属显著负相关, 与 pH、过氧化氢酶、硝化螺菌属呈极显著负相关。朝藿定 C 与有机质、碱解氮、苔藓杆菌属呈正相关, 与有效磷、*Candidatus\_Solibacter* 属相对丰度呈极显著正相关, 与硝化螺菌属呈显著负相关。 **结论** 通过分析箭叶淫羊藿不同生育期根际微生物群落结构及其多样性, 掌握了其根际微生物资源状况, 研究发现根际微生物与土壤理化性质及酶活性一起参与有效成分的合成与积累, 为箭叶淫羊藿栽培过程中土壤根际微生物的群落分布提供了研究资料, 并为箭叶淫羊藿根际微生物资源的挖掘及其优质高产栽培提供参考依据。

**关键词:** 箭叶淫羊藿; 高通量测序; 生育期; 根际微生物; 朝藿定 A; 朝藿定 B

**中图分类号:** R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2023)02-0641-11

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.02.032

## Community and diversity of rhizosphere microorganisms and its correlation with active ingredients of *Epimedium sagittatum* in different growth stages

LI Qiao-ling<sup>1</sup>, HAN Feng<sup>1,2</sup>, CAO Ran<sup>1</sup>, TAN Qiu-sheng<sup>1</sup>, REN Ming-bo<sup>1</sup>

1. Chongqing Institute of Medicinal Plant Cultivation, Chongqing 408435, China

2. Chongqing Engineering Research Center for Genuine Medicinal Material Standard Production, Chongqing 408435, China

**Abstract: Objective** To explore the effect of rhizosphere microbial on the quality of *Epimedium sagittatum* in different growth stages by analyzing the correlation between community and diversity of rhizosphere microbial and the content of active ingredients, so as to provide the reference for its high-quality and high-yield cultivation. **Methods** Taking the rhizosphere soil of three-year-old *E. sagittatum* in different growth stages as the object, high-throughput sequencing technology was used to analyze the community structure and diversity of rhizosphere bacteria and fungi. At the same time, the physicochemical properties and enzyme activities of rhizosphere soil and the contents of active ingredients such as total flavonoids and icariin were determined. Pearson correlation analysis was used to explore the relationship between soil ecological factors and effective ingredients. **Results** High-throughput sequencing results showed that *Candidatus\_Solibacter*, *Bryobacter*, *Acidothermus* and *Gemmatimonas* were the dominant bacterial

收稿日期: 2022-08-09

基金项目: 重庆市科技兴林项目(榆林科研 2020-1); 重庆市科卫联合中医药科技创新与应用发展项目(2020ZY3884); 重庆市基本科研业务费项目(cstc2021jxjl130028)

作者简介: 李巧玲(1988—), 女, 重庆市人, 硕士, 助理研究员, 主要从事中药材栽培学研究。Tel: 18983581785 E-mail: 15123303794@163.com

genus in the rhizosphere of *E. sagittatum*. *Candidatus\_Solibacter* had the highest average abundance in the five growth periods. Among the dominant rhizosphere fungi, *Mortierella* accounted for the largest proportion of relative abundance, which was as high as 44.27% in the flowering stage samples. UPGMA cluster analysis and NMDS analysis showed that the structures of rhizosphere soil bacteria and fungi were similar in flowering, full-bloom, fruit expansion and full productive stage, while there were significant differences in rhizosphere microorganism community structure between the stable quality stage and the first four stages. Pearson correlation analysis showed that the content of total flavonoids was significantly positively correlated with available phosphorus, and was extremely significantly positively correlated with *Candidatus\_Solibacter* and *Bryobacter*. Icarin was significantly positively correlated with organic matter and *Bryobacter*, extremely significantly positively correlated with alkali hydrolyzable nitrogen, available phosphorus, *Candidatus\_Solibacter*, and significantly negatively correlated with catalase and *Nitrospira*; Epimedin A and B were positively correlated with alkali-hydrolyzed nitrogen and sucrose, and significantly positively correlated with available phosphorus, *Candidatus\_Solibacter*, *Acidothamus*, and chronic rhizobia, while significantly negatively correlated with urease and *Acidobacteria*, and extremely significantly negatively correlated with pH, catalase and *Nitrospira*. Epimedin C was positively correlated with organic matter, alkali-hydrolyzed nitrogen and *Bryobacter*, significantly positively correlated with available phosphorus and relative abundance of *Candidatus\_Solibacter*, and negatively correlated with *Nitrospira*. **Conclusion** Through the analysis of the rhizosphere microbial community structure and diversity of *E. sagittatum* at different growth periods, the status of its rhizosphere microbial resources was mastered. The study found that rhizosphere microbes, together with soil physical and chemical properties and enzyme activities, participate in the synthesis and accumulation of effective ingredients. This study provides research data for the community distribution of soil rhizosphere microorganisms during the cultivation of *E. sagittatum*, and provides a reference for the excavation of rhizosphere microbial resources and its high-quality and high-yield cultivation.

**Key words:** *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.; high-throughput sequencing; growing period; rhizosphere microorganisms; epimedin A; epimedin B

箭叶淫羊藿 *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim. 为小檗科淫羊藿属 *Epimedium* Linn. 多年生草本植物，是中药淫羊藿的四大基原植物之一，以干燥叶入药，始载于《神农本草经》<sup>[1]</sup>，列为中品，是传统的补肾壮阳药，药用历史悠久，有“中药伟哥”之称<sup>[2]</sup>。淫羊藿中含有黄酮类化合物、多糖、生物碱、木脂素、萜类化合物、绿原酸、必需脂肪酸、苯类化合物、维生素C和微量元素等营养成分和多种活性物质<sup>[3]</sup>。其中，黄酮类化合物为其主要有效成分，具有补肾壮阳、强筋健骨、祛风除湿、止咳平喘之功效，临床上常用于治疗骨质疏松、更年期综合症、乳房肿块、高血压、冠心病、增强免疫、抗衰老、抗肿瘤、抗艾滋病等，是肾宝片<sup>[4]</sup>、抗骨增生片<sup>[5]</sup>、阳春口服液、玛卡淫羊藿胶囊等多种中成药的重要原料。除药用外，其提取物在化妆品、保健品及化工用品等方面的应用也极为广泛<sup>[6-7]</sup>。长期以来，淫羊藿的市场供应几乎全部依靠野生资源，人们采挖时往往连根拔起，这种涸泽而渔式的采挖方式导致淫羊藿野生资源面临枯竭<sup>[8]</sup>。同时，国家和企业正在大力推进中医药的现代化，淫羊藿及其中成药的开发与利用也受到广泛重视<sup>[9]</sup>。因此，随着淫羊藿需求量的逐年增加，人工栽培显得很有必要。但人工栽培怎样保证药材的质量和产量，成

了当今淫羊藿人工栽培方面研究的热点。

目前关于药材品质形成的研究主要集中在光照、温度、湿度、空气等气候条件以及土壤、水质的影响<sup>[10-11]</sup>。而对于土壤与药材品质相关性的研究则侧重于土壤理化因子等方面，关于植物根际微生物对药材品质的形成还缺乏足够认识和系统研究。在以土壤为载体，植物根系与微生物相互作用而形成的微生态系统中，根际微生物在物质循环和能量转换中扮演着十分重要的角色，可改变药用植物根际土壤酸碱度和氧化还原状况等理化特性<sup>[12]</sup>，加快根际土壤有效养分的转化与储存，促进植物根系对养分的吸收，控制药用植物的土传病害，从而影响药材品质的形成<sup>[13]</sup>。母茂君等<sup>[14]</sup>以不同生长年限太白贝母鳞茎及其根际土壤为研究对象，探讨了根际土壤微生物数量与太白贝母品质的关系。结果表明太白贝母根际土壤中微生物资源丰富，但随着太白贝母生长年限的增加，根际土壤微生物多样性降低，进而引发太白贝母连作障碍，导致太白贝母药用品质下降。陈冉等<sup>[15]</sup>研究发现银杏不同产地的根际土壤微生物中优势菌群较为相似，但又存在差异，这种差异可以加深对药材道地性产生和维持机制的理解。可见，根际微生物在药用植物的生长发育及品质形成中发挥着重要作用。

近年来,前人对淫羊藿属植物的研究主要集中在化学成分和药理作用等方面<sup>[16-17]</sup>,但针对根际微生物群落与淫羊藿药材品质形成的相关性研究鲜有报道。为此,本研究以箭叶淫羊藿不同生育期的根际土壤为研究对象,探讨其根际土壤微生物群落的变化规律,同时与淫羊藿有效成分相比较,以期揭示箭叶淫羊藿根际微生态与有效成分的动态变化趋势,以期为淫羊藿根际微生物资源的挖掘及淫羊藿的优质高产栽培提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

样品采集于重庆市南川区三泉镇华尔寺三年生淫羊藿种植基地(29°7'58.82"N, 107°11'30.21"E),海拔 580 m。分别于当年淫羊藿花蕾期(2月20日, A1)、盛花期(3月16日, A2)、果实膨大期(4月7日, A3)、盛果期(5月20日, A4)及药材质量稳定期(8月24日, A5),随机选取生长势均匀并具有代表性的 10 株淫羊藿,采用抖根法,抖去附着在根系的颗粒状土壤以及杂质,用毛刷轻轻刷取须根上的根际土壤混匀作为一个样品。所有样品置于低温冷藏箱,并迅速带回实验室,一部分保存于 4 °C 冰箱用于根际细菌的高通量测序,一部分自然风干后过 2 mm 筛,用于土壤理化性质及酶活性的测定。同时采集叶片,自然风干打粉过筛后,用于有效成分含量的测定,叶片样品和土壤样品编号一一对应。

### 1.2 根际土壤理化及酶活性的测定

土壤理化性质指标包括 pH、有机质、碱解氮、有效磷和速效钾,土壤酶活性指标包括土壤蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶、酸性磷酸酶及酸性蛋白酶,参考宋旭红等<sup>[18-19]</sup>描述的方法进行测定。

### 1.3 根际土壤微生物的高通量测序及分析

**1.3.1 DNA 提取和 PCR 扩增** 利用土壤 DNA 提取试剂盒(Fast DNA SPIN Kit for Soil)提取土壤细菌总 DNA,具体操作参照使用说明书。DNA 经 0.8% 琼脂糖凝胶电泳和超微量核酸分光光度计检测其浓度和纯度。采用细菌通用引物 338F(5'-ACTCCT-ACGGGAGGCAGCA-3')和 806R(5'-GGAC-TACH-VGGGTWTCTAAT-3')扩增 16S rRNA 基因序列的 V3~V4 高变区;真菌引物 ITS1F:(5'-CTTGG-TCATTTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS2R:(5'-GCT-GCGTTCTTCATCGATGC-3')扩增真菌核糖体 RNA 基因 ITS1 区。采用 Trans Start Fastpfu DNA

Polymerase, 20 uL 反应体系进行 PCR 扩增。扩增产物经电泳检测后,利用胶回收试剂盒对目标片段进行回收。

**1.3.2 上机测序** 样品 DNA 委托北京百迈克生物科技有限公司完成测序,测序平台为美国 Illumina 公司的 Illumina Hiseq 2500 高通量测序仪。

**1.3.3 序列处理与分析** 原始测序序列经过双端拼接、过滤和去除嵌合体后,得到优化序列(Clean Tags)。然后使用 Usearch 软件对优化序列在 97% 的相似度水平下进行聚类、获得运筹分类单位(operational taxonomic units, OTUs),利用 Venn 图和 QIIME 软件对物种丰度分布等分析结果进行展示。以上分析均在北京百迈克生物科技有限公司 BMKCloud 云平台网站(<http://console.biocloud.net/>)完成。

### 1.4 箭叶淫羊藿不同生育期叶片有效成分含量的测定

叶片经烘箱 40 °C 干燥后,打粉过 50 目筛。采用紫外分光光度法测定总黄酮的含量,采用高效液相色谱法测定淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B 及朝藿定 C 的含量,具体参考《中国药典》2020 年版“淫羊藿”标准项下“含量测定”的方法测定<sup>[3]</sup>。

### 1.5 数据处理

应用 EXCEL 2003 软件和 SPSS 20.0 软件对土壤养分和酶活性等数据进行处理和统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同生育期箭叶淫羊藿根际土壤理化性质及酶活性

箭叶淫羊藿不同生长时期根际土壤 pH 值及养分含量的测定结果见表 1,由表 1 可以看出,箭叶淫羊藿根际土壤变化由偏酸性向中性过渡, pH 值为 5.11~7.00,药材质量稳定期与前 4 个时期的 pH 值达到显著性差异。从 A1~A5 期,箭叶淫羊藿根际土壤碱解氮和有效磷含量均先增加后降低,于 A2 期达到最高。有机质和速效钾含量呈先增加后降低之后又增加的趋势,在 A5 期达到最大值。纵观箭叶淫羊藿的 5 个生长时期,从盛花期至药材质量稳定期,根际土壤碱解氮和有效磷的迅速降低,这可能与淫羊藿根际微生物的快速繁殖、干物质的快速积累、营养生长与生殖生长的同时并进有关,随着代谢速度的加快,造成土壤养分的大量消耗。而土壤有机质与速效钾的含量在药材质量稳定期达到最高,可能与外界环境温度的升高,土壤中微生物

表1 箭叶淫羊藿不同时期根际土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of rhizosphere soil of *E. sagittatum* in different growth stages

不同时期	pH(水土比=2.5:1)	有机质/(g·kg <sup>-1</sup> )	碱解氮/(mg·kg <sup>-1</sup> )	有效磷/(mg·kg <sup>-1</sup> )	速效钾/(mg·kg <sup>-1</sup> )
A1	5.22±0.13 <sup>b</sup>	70.460±1.190 <sup>c</sup>	205.47±7.94 <sup>c</sup>	10.17±0.81 <sup>b</sup>	198.40±2.29 <sup>c</sup>
A2	5.11±0.23 <sup>b</sup>	82.846±2.760 <sup>a</sup>	226.87±6.06 <sup>a</sup>	12.10±0.53 <sup>a</sup>	242.62±41.31 <sup>ab</sup>
A3	5.21±0.09 <sup>b</sup>	81.366±1.560 <sup>ab</sup>	226.00±7.29 <sup>a</sup>	11.83±0.12 <sup>a</sup>	256.53±8.99 <sup>ab</sup>
A4	5.38±0.22 <sup>b</sup>	78.016±2.860 <sup>b</sup>	222.53±3.91 <sup>ab</sup>	9.00±0.61 <sup>c</sup>	225.47±22.54 <sup>bc</sup>
A5	7.00±0.11 <sup>a</sup>	84.520±1.150 <sup>a</sup>	213.30±4.59 <sup>bc</sup>	9.53±0.71 <sup>bc</sup>	282.27±7.54 <sup>a</sup>

同列不同小写字母表示不同样品之间差异显著 (P<0.05), 下同

Different lowercase letters in the same column indicated that there was a significant difference among the samples (P<0.05), same as below

表2 箭叶淫羊藿不同时期根际土壤酶活性

Table 2 Enzyme activity of rhizosphere soil of *E. sagittatum* in different growth stages

不同时期	脲酶/(μg·g <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	蔗糖酶/(mg·g <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	酸性磷酸酶/(nmol·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	过氧化氢/(μmol·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	酸性蛋白酶/(μg·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )
A1	240.14±8.98 <sup>e</sup>	17.59±0.37 <sup>d</sup>	1 474.63±91.98 <sup>d</sup>	309.54±9.44 <sup>c</sup>	21.18±1.25 <sup>a</sup>
A2	344.87±1.41 <sup>d</sup>	19.87±0.05 <sup>c</sup>	2 675.72±61.86 <sup>c</sup>	277.42±1.86 <sup>d</sup>	15.21±0.69 <sup>b</sup>
A3	369.78±2.60 <sup>c</sup>	26.64±0.18 <sup>a</sup>	3 138.04±89.34 <sup>a</sup>	250.30±2.56 <sup>e</sup>	12.09±0.83 <sup>c</sup>
A4	414.26±3.95 <sup>b</sup>	21.59±0.15 <sup>b</sup>	3 036.72±200.52 <sup>ab</sup>	326.96±1.43 <sup>b</sup>	20.15±1.02 <sup>a</sup>
A5	1 041.90±15.18 <sup>a</sup>	16.44±0.22 <sup>e</sup>	2 843.92±172.26 <sup>bc</sup>	373.10±1.64 <sup>a</sup>	15.21±0.96 <sup>b</sup>

物代谢活性增强有关。

由表2可知,随着生育期的推进,箭叶淫羊藿根际土壤酶活性变化趋势各不相同。从A1~A5期,脲酶活性逐渐升高,在A5期酶活性均达到最大值,与其他时期差异显著,说明在淫羊藿药材质量稳定期土壤氮素的供应充足。在箭叶淫羊藿的整个生长周期内,蔗糖酶和酸性磷酸酶活性均呈现先升高后降低的变化趋势,在A3期活性最高,说明在箭叶淫羊藿果实膨大期土壤碳和磷转化速率最高。而过氧化氢酶活性先降低后升高,在A5期达酶活性最强且与其他4个时期差异显著,反映了药材质量稳定期土壤中的腐殖质含量最高。从A1~A3期,酸性蛋白酶活性逐渐降低,于A3期活性降到最低,随后到A4期又逐渐升高,之后又降低。不同时期箭叶淫羊藿根际土壤酶活性变化明显,这些变化可能来自于植物的根系呼吸作用,也可能受土壤环境与微生物的影

响。土壤酶通过直接影响土壤中的生化反应速率和方向,进而影响植株的生长发育。

## 2.2 根际微生物的高通量测序分析

### 2.2.1 α多样性指数及 OTU 丰度

对箭叶淫羊藿5个生长时期(15组)根际土壤样品进行高通量测序,质控后共获得有效序列3 810 990条。其中细菌2 173 603条,平均长度在400~420 nt,与细菌16 S rDNA V3~V4区序列长度吻合。获得真菌序列1 637 387条,平均长度在200~360 nt,与ITS rDNA序列长度吻合。所有序列在97%的相似度水平下进行OTU分类,统计各样品在不同OTU中的丰度信息(表3)。15组样品DNA文库的覆盖率均在95%以上,说明测序数据量基本合理,能较客观真实地反映样品中微生物的组成情况。

Chao1指数反映样品中群落的丰富度,即简单指群落中物种的数量,而不考虑群落中每个物种的丰度

表3 各组样品 OTU 数目及 α多样性指数

Table 3 Comparison of estimated operational taxonomic unit (OTU) and diversity indices of test samples

时期	细菌					真菌				
	OTU 数目	Shannon	PD_whole tree	Chao 1	覆盖度/%	OTU 数目	Shannon	PD_whole tree	Chao 1	覆盖度/%
A1	4114±203 <sup>a</sup>	10.18±0.19 <sup>ab</sup>	344±16 <sup>a</sup>	5859±108 <sup>a</sup>	95.1	1140±36 <sup>ab</sup>	6.07±0.29 <sup>b</sup>	216±4 <sup>ab</sup>	1690±44 <sup>ab</sup>	98.4
A2	3451±272 <sup>b</sup>	9.71±0.21 <sup>c</sup>	295±23 <sup>b</sup>	5094±265 <sup>bc</sup>	95.7	899±277 <sup>b</sup>	6.62±0.21 <sup>ab</sup>	180±35 <sup>b</sup>	1235±515 <sup>b</sup>	99.1
A3	3848±265 <sup>ab</sup>	9.95±0.22 <sup>bc</sup>	333±15 <sup>a</sup>	5496±255 <sup>ab</sup>	95.4	1229±140 <sup>a</sup>	6.81±0.29 <sup>a</sup>	228±15 <sup>a</sup>	1790±174 <sup>a</sup>	98.4
A4	3470±266 <sup>b</sup>	9.85±0.09 <sup>bc</sup>	298±18 <sup>b</sup>	4903±411 <sup>c</sup>	96.1	1087±78 <sup>ab</sup>	6.41±0.21 <sup>ab</sup>	211±9 <sup>ab</sup>	1532±95 <sup>ab</sup>	98.6
A5	3891±205 <sup>ab</sup>	10.31±0.14 <sup>a</sup>	327±9 <sup>ab</sup>	5266±350 <sup>bc</sup>	95.9	1316±139 <sup>a</sup>	6.61±0.59 <sup>ab</sup>	242±21 <sup>a</sup>	1877±218 <sup>a</sup>	98.3

情况，数值越大，说明样品中物种越丰富；Shannon 指数及 PD whole tree 反映群落的多样性，受样品群落中物种丰富度和物种均匀度的影响，Shannon、PD whole tree 的值越大，说明样品群落多样性越高。由表 3 可知，就根际细菌而言，在供试的各组样品中，A5 期样品具有相对较高的 Shanon 指数，说明这个时期具有相对较高的细菌多样性。A1 期样品具有较高的丰富 Chao 1 指数，表明该样品中的细菌丰度高于其他时期的土壤样品。就真菌而言，A3 期的物种多样性最高，A3 和 A5 期的物种丰度最高。

在 OTU 水平构建 Venn 图可以直观展示样品中独有和共有的 OTU 数量，从而反映样品间 OTU 组

成情况及相似情况。从图 1 可以看出，A1 期根际土壤微生物 OTU 数量最多，A2 期 OTU 数量最少。从 A1~A5 期，每个时期特有的细菌 OTU 数目分别为 412、293、581、236、880 个，特有真菌 OTU 数量分别为 319、409、460、367、731 个。其中，A5 期中特有的 OTU 数目最多，预示着较多的特有微生物种类。此外，箭叶淫羊藿不同生长时期根际微生物共有 OTU 占比较高，根际细菌共有 OTU 占比为 56.27%~67.79%，根际真菌为 35.18%~51.50%，说明箭叶淫羊藿不同生长时期根际土壤微生物组成较为相似，这可能是由于植物与微生物在长期协同进化过程中形成的偏好性。

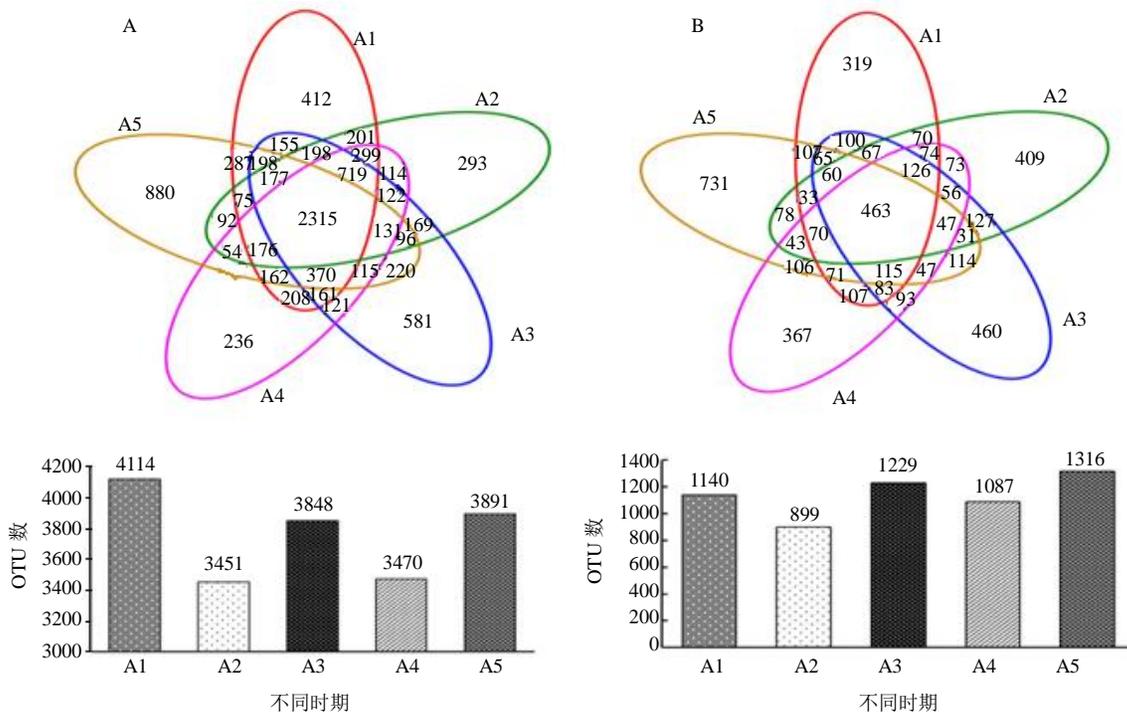


图 1 不同土壤样品细菌 (A) 和真菌 (B) OTU 韦恩图

Fig. 1 Venn diagrams of soil bacterial (A) and fungi (B) in different treatments

**2.2.2 箭叶淫羊藿不同生长时期根际土壤微生物  $\beta$  多样性分析** 应用非度量多维标立法 (non-metric multi-dimensional scaling, NMDS) 和基于 Weighted Unifrac 距离算法的 UPGMA 聚类分析比较箭叶淫羊藿不同生长时期根际土壤微生物群落结构的差异 (图 2)。各样品细菌和真菌在属水平上的 NMDS 分析和聚类分析结果展示在图 2 中，前 4 个时期的样品分布于坐标图上的左边象限内，A5 期样品位于右上侧的象限格内。同时，A1、A2、A3、A4 期的土壤样品聚为一类，A5 期的样品聚为另一类，结果说明，在箭叶淫羊藿的生长过程中，

花蕾期、盛花期、果实膨大期及盛果期的根际土壤细菌和真菌结构相似，而药材质量稳定期与前 4 个时期的根际细菌群落结构存在明显差异。Stress 胁迫值分别为 0.025 5、0.065 4，小于 0.2，表明 NMDS 分析具有一定的可靠性。

**2.2.3 箭叶淫羊藿不同生长时期根际土壤微生物群落的物种组成比较** 对不同生长时期箭叶淫羊藿根际土壤优势细菌和真菌在门水平的物种组成分析发现，5 组土壤样品中微生物群落在门水平上具有较高的多样性，均达到 10 个门以上 (图 3)。其中细菌优势菌门包括变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆

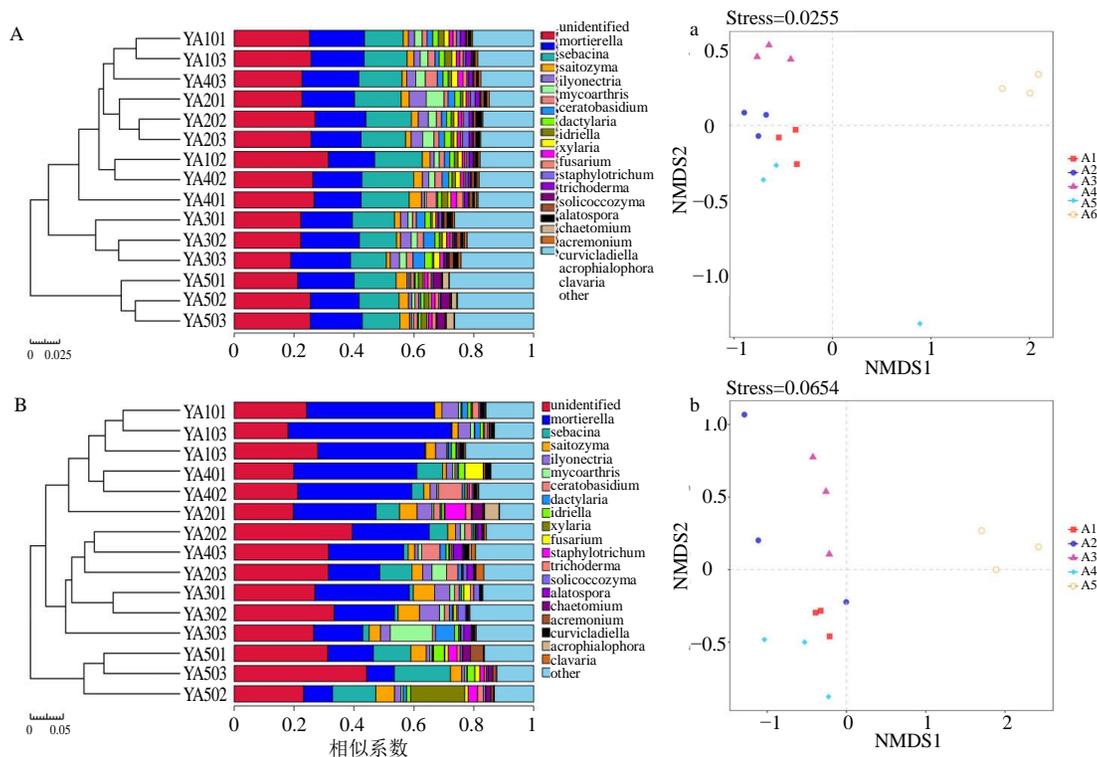


图2 箭叶淫羊藿根际细菌 (A) 和真菌 (B) 群落的非度量多维尺度 NMDS 分析和 UPGMA 聚类分析  
 Fig. 2 Analysis of NMDS and UPGMA cluster in rhizosphere bacterial (A) and fungi (B) community

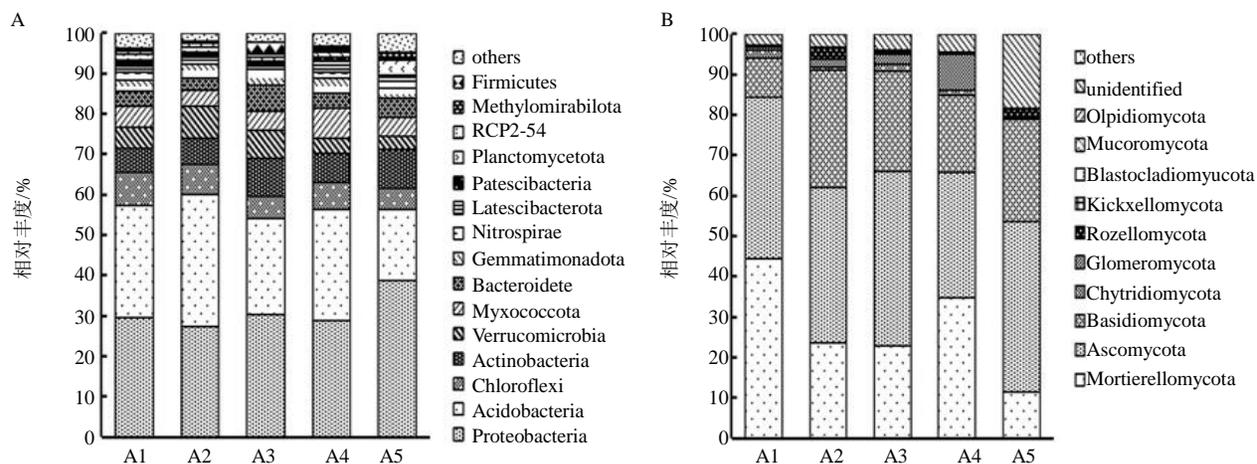


图3 门水平箭叶淫羊藿不同生长时期根际土壤细菌 (A) 和真菌 (B) 的群落结构及分布

Fig. 3 Structure and distribution of soil bacterial (A) and fungi (B) community at phylum level at different growth stages of *E. sagittatum*

菌门 (Acidobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、疣微菌门 (Verrucomicrobiota)、粘球菌门 (Myxococcota)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 及芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes), 这 8 类菌占细菌总数的 85% 以上。5 组样品中细菌门类组成基本一致, 仅所占的比例存在一定的差异, 其中变形菌门相对丰度最

高, 占 27.21%~38.66%, 其次为酸杆菌门, 占 17.66%~32.86%。真菌优势菌门包括被孢霉门 (Mortierellomycota)、子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota)、球囊菌门 (Glomeromycota)、隐菌门 (Rozellomycota)、梳霉门 (Kickxellomycota)、芽枝霉门 (Blastocladiomycota)

及毛霉门 (Mucoromycota)。其中, 子囊菌门的相对丰度最高, 占 31.15%~42.10%, 其次为被孢霉门, 占 11.19%~44.34%。可见子囊菌门和被孢霉门是所有土样中的主要真菌类群。

箭叶淫羊藿不同生长期根际优势细菌和真菌 (至少在 1 个样品中的相对丰度 > 1%) 在属水平的物种组成如图 4 所示。5 个时期样品中优势细菌属包括 *Candidatus\_Solibacter*、苔藓杆菌属 *Bryobacter*、嗜酸栖热菌属 *Acidothermus*、硝化螺菌属 *Nitrospira*、芽单胞菌属 *Gemmatimonas*、uncultured\_ *Acidobacteria*、MND1 等 16 个细菌属的相对丰度之和占土壤细菌总丰度的 20% 以上, 在淫羊藿的整个生长周期中占有绝对优势。其中, *Candidatus\_Solibacter* 属在 5 个生长时期的丰度值最高, 在 A2 期样品中的丰度最高, 为 4.29%, A5 期样品中占比最低, 为 0.89%。根际优势真菌主要有被

孢霉属 *Mortierella*、蜡壳耳属 *Sebacina*、*Saitozyma* 属、*Ilyonectria* 属、角菌根菌属 *Ceratobasidium*、梨形指环菌属 *Dactylaria*、*Xylaria* 属和镰刀菌属 *Fusarium* 等 19 个属。其中, 被孢霉属 *Mortierella* 的占比最大, 在 A1 期样品中的丰度值达 44.27%。无论是根际细菌还是根际真菌, 从图 4 中可以看出, 还有许多 OTU 序列未在数据库中归类, 说明箭叶淫羊藿根际环境中还存在大量的未知菌属。从图 5 对比分析可以看出, 箭叶淫羊藿各生长时期根际细菌比根际真菌在群落丰富度程度要高, 从各样本中看, 细菌优势菌群占比没有真菌占比大。

### 2.3 箭叶淫羊藿不同生长时期有效成分含量测定

测定箭叶淫羊藿不同生长时期叶片中的总黄酮、淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 含量如图 6 所示。《中国药典》2020 年版规定, 淫羊藿药材中总黄酮含量不得低于 5.0%, 淫羊藿苷

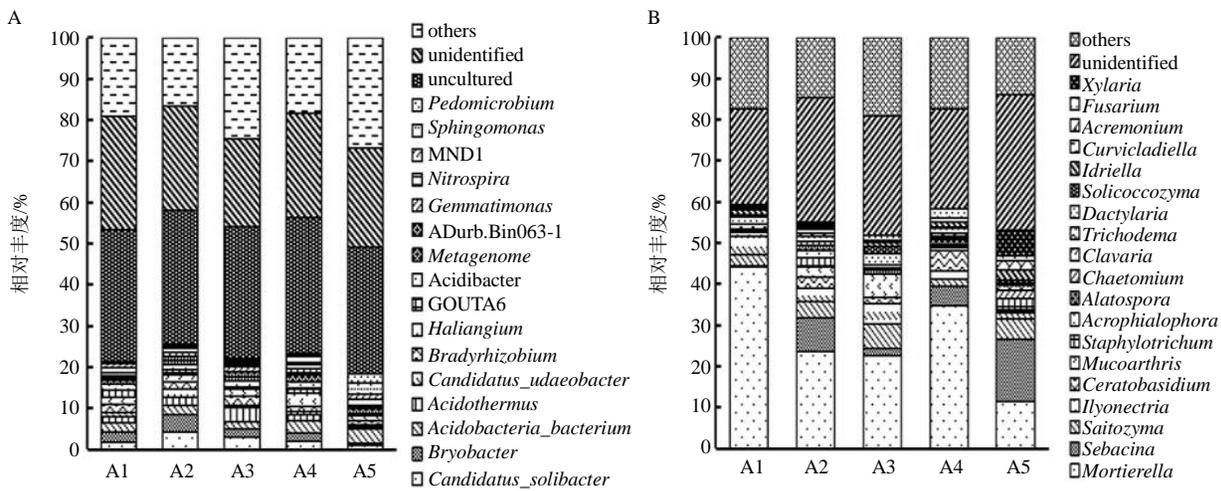


图 4 箭叶淫羊藿不同生长时期根际细菌 (A) 和真菌 (B) 优势属组成

Fig. 4 Dominant bacterial (A) and fungi genus (B) detected from rhizosphere communities of *E. sagittatum* in different growth stages

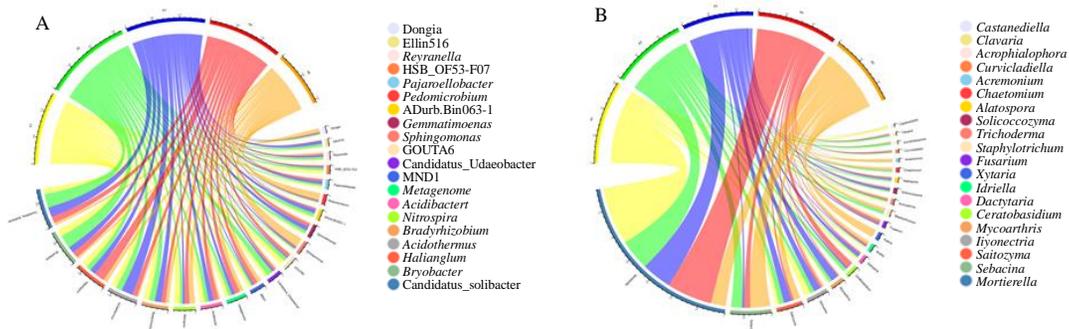
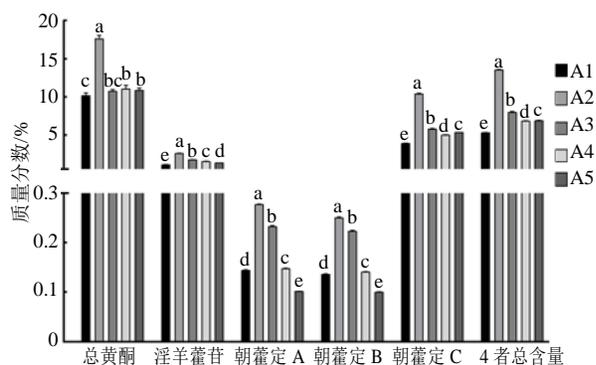


图 5 箭叶淫羊藿不同生长时期根际细菌 (A) 和真菌 (B) 优势物种分布比例图

Fig. 5 Circos plot of dominant bacterial (A) and fungi (B) genus detected from rhizosphere communities of *E. sagittatum* in different growth stages



不同小写字母表示同类成分在不同样品之间差异显著 ( $P < 0.05$ )  
Different lowercase letters indicate that there is a significant difference between different samples in the same composition ( $P < 0.05$ )

图 6 箭叶淫羊藿不同生长时期干燥叶片有效成分含量

Fig. 6 Active ingredient content of *E. sagittatum* in dry leaves at different growth stages

( $C_{33}H_{40}O_{15}$ )、朝藿定 A ( $C_{39}H_{50}O_{20}$ )、朝藿定 B ( $C_{38}H_{48}O_{19}$ ) 和朝藿定 C ( $C_{39}H_{50}O_{19}$ ) 4 者的总量不得少于 1.5%。就总黄酮含量而言,  $A2 > A4 > A5 > A3 > A1$ , 不同时期淫羊藿总黄酮质量分数均超过了 5%, 达到了药典标准。其中 A2 期含量极显著高于其他时期 ( $P < 0.05$ ), 平均质量分数达到了 17.65%。淫羊藿苷质量分数,  $A2 > A3 > A4 > A5 > A1$ , A1 质量分数最低, 平均质量分数为 1.11%。朝藿定 A 和朝藿定 B 的质量分数均为  $A2 > A3 > A4 > A1 > A5$ 。朝藿定 C 质量分数为  $A2 > A3 > A5 > A4 > A1$ 。淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B 和朝藿定 C 4 者的总量为  $A2 > A3 > A4 > A5 > A1$ , 质量分数变化范围在 1.5%~2.0%, A2 期含量最高。综合以上结果, 箭叶淫羊藿 A2 期的总黄酮及淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B 和朝藿定 C 4 者的总量均最高。

#### 2.4 箭叶淫羊藿叶片有效成分与根际土壤生态因子的相关性分析

为了进一步分析与箭叶淫羊藿有效成分含量相关的土壤环境因子, 此处利用皮尔森相关性分析建立箭叶淫羊藿不同生长时期叶片有效成分与土壤生态因子 (包括土壤理化性质、土壤酶活性及属水平相对丰度排名前 10 的细菌和真菌) 的关系, 得到它们之间的相关性和显著性  $P$  值。由表 4 分析可知, 总黄酮含量与有效磷呈显著正相关, 与 *Candidatus\_Solibacter* 属、苔藓杆菌属呈极显著正相关; 淫羊藿苷与有机质、苔藓杆菌属呈显著正相关, 与碱解氮、有效磷及 *Candidatus\_Solibacter* 属

呈极显著正相关, 而与过氧化氢酶、硝化螺菌属呈显著负相关; 朝藿定 A 和朝藿定 B 与碱解氮、蔗糖酶显著正相关, 与有效磷、*Candidatus\_Solibacter* 属、嗜酸栖热菌属、慢生根瘤菌属 *Bradyrhizobium* 及显著正相关, 而与脲酶、酸杆菌属显著负相关, 与 pH、过氧化氢酶、硝化螺菌属呈极显著负相关。朝藿定 C 与有机质、碱解氮、苔藓杆菌属呈正相关, 与有效磷、*Candidatus\_Solibacter* 属相对丰度呈极显著正相关, 与硝化螺菌属呈显著负相关。综上所述, 箭叶淫羊藿有效成分主要受土壤 pH、有机质、碱解氮、有效磷、有效磷、脲酶、蔗糖酶、过氧化氢酶、酸杆菌属、*Candidatus\_Solibacter* 属、嗜酸栖热菌属、慢生根瘤菌属以及硝化螺菌属的影响。

### 3 讨论

药用植物在长期的选择进化过程中, 其品质不仅受遗传因素的影响, 还受到外界生态因子的影响<sup>[20]</sup>。土壤因子与药用成分密切相关<sup>[21-22]</sup>, 其中, 土壤微生物在土壤中最具活力, 土壤微生物群落的组成结构及其变化必定影响到药用植物的生长及其有效成分的积累。根际作为植物与土壤及微生物之间的桥梁, 是其相互作用最为密切的区域。因此研究箭叶淫羊藿根际微生物与其有效成分积累之间的关系, 不仅可以开发利用微生物资源, 还可以改良土壤, 对提高淫羊藿产量及质量具有重要的理论意义和实践价值。目前, 有关箭叶淫羊藿有效成分含量与根际微生物群落结构组成及多样性之间的相关性等鲜有报道。

根际微生物群落在植物和土壤之间发挥着重要作用, 良好的根际微生物能够维持土壤微生态的平衡, 保证植株正常生长, 而植物在不同的生长阶段也可以对其根际微生物种类及丰度产生显著影响<sup>[23]</sup>。李冰圳等<sup>[24]</sup>研究发现, 蒙古黄芪不同生育期内根际微生物群落组成差异较大, 其中细菌在 9 月份多样性最高, 真菌在整个生育期变化不显著。仝利红等<sup>[25]</sup>研究表明, 根际微生物随草莓生育期的变化而显著变化, 现蕾期时微生物群落丰富度和多样性最高。土壤微生物作为评估土壤生态系统的重要指标, 对植物生长也具有重要意义。本研究利用 Illumina Miseq 高通量测序技术, 对箭叶淫羊藿不同生育期根际细菌和真菌的群落组成及多样性进行了分析。就 Shannon 多样性指数而言, 根际细菌总体呈现先降低后升高的趋势, 在 A5 期达到

表 4 箭叶淫羊藿叶片有效成分与根际土壤生态因子之间的相关性

Table 4 Pearson correlation coefficient between active components and rhizosphere soil environmental factors

生态因子	总黄酮		淫羊藿苷		朝藿定 A		朝藿定 B		朝藿定 C	
	相关系数	P 值	相关系数	P 值	相关系数	P 值	相关系数	P 值	相关系数	P 值
理化性质										
pH	-0.288	0.298	-0.367	0.179	-0.672**	0.006	-0.669**	0.006	-0.241	0.387
有机质	0.404	0.135	0.523*	0.045	0.239	0.391	0.249	0.371	0.536*	0.040
碱解氮	0.445	0.096	0.685**	0.005	0.628*	0.012	0.641*	0.01	0.571*	0.026
有效磷	0.561*	0.029	0.672**	0.006	0.846**	0	0.854**	0	0.645**	0.009
速效钾	0.075	0.791	0.183	0.513	-0.023	0.936	-0.008	0.979	0.215	0.442
土壤酶										
脲酶	-0.190	0.497	-0.229	0.412	-0.569*	0.027	-0.565*	0.028	-0.118	0.676
蔗糖酶	-0.048	0.864	0.295	0.286	0.562*	0.029	0.611*	0.015	0.092	0.745
酸性磷酸酶	0.138	0.623	0.396	0.144	0.216	0.440	0.245	0.378	0.286	0.302
过氧化氢酶	-0.327	0.234	-0.526*	0.044	-0.866**	0	-0.888**	0	-0.397	0.143
酸性蛋白酶	-0.260	0.350	-0.480	0.070	-0.485	0.067	-0.519*	0.047	-0.449	0.093
细菌										
酸杆菌属 (uncultured)	-0.048	0.865	-0.207	0.459	-0.527*	0.043	-0.547*	0.035	-0.119	0.672
<i>Candidatus_Solibacter</i> 属	0.681**	0.005	0.783**	0.001	0.864**	0	0.851**	0	0.721**	0.002
苔藓杆菌属	0.655**	0.008	0.638*	0.011	0.679**	0.005	0.646**	0.009	0.626*	0.013
<i>Haliangium</i> 属	-0.221	0.428	-0.142	0.614	-0.114	0.685	-0.109	0.699	-0.276	0.320
嗜酸栖热菌属	0.022	0.939	0.287	0.299	0.641**	0.01	0.676**	0.006	0.136	0.629
慢生根瘤菌属	0.257	0.355	0.355	0.194	0.654**	0.008	0.663**	0.007	0.278	0.315
硝化螺菌属	-0.377	0.166	-0.623*	0.013	-0.707**	0.003	-0.723**	0.002	-0.522*	0.046
酸杆菌属	-0.093	0.742	0.012	0.965	0.297	0.282	0.307	0.266	-0.123	0.663
Metagenome	-0.144	0.609	-0.184	0.511	-0.369	0.177	-0.371	0.173	-0.224	0.422
MND1	-0.314	0.254	-0.462	0.083	-0.647**	0.009	-0.654**	0.008	-0.422	0.117
被孢霉属	-0.190	0.498	-0.288	0.298	-0.048	0.864	-0.060	0.831	-0.335	0.222
蜡壳菌属	0.247	0.375	0.155	0.581	-0.266	0.337	-0.284	0.304	0.282	0.309
<i>Saitozyma</i> 属	0.022	0.939	0.186	0.506	0.240	0.390	0.269	0.332	0.190	0.497
真菌										
<i>Ilyonectria</i> 属	-0.047	0.867	0.049	0.863	0.432	0.108	0.454	0.089	-0.010	0.971
<i>Mycosarthis</i> 属	0.040	0.886	0.203	0.468	0.371	0.173	0.400	0.139	0.128	0.650
角菌根菌属	0.200	0.475	0.328	0.232	0.218	0.436	0.205	0.464	0.219	0.433
梨形指环菌属	-0.197	0.481	-0.075	0.789	0.164	0.558	0.192	0.492	-0.155	0.580
<i>Idriella</i> 属	-0.405	0.135	-0.504	0.055	-0.672**	0.006	-0.666**	0.007	-0.414	0.125
<i>Xylaria</i> 属	-0.094	0.740	-0.167	0.553	-0.333	0.226	-0.333	0.225	-0.091	0.747
镰刀菌属	-0.214	0.443	-0.181	0.520	-0.249	0.371	-0.229	0.412	-0.236	0.397

\*相关达显著水平 ( $P < 0.05$ ) \*\*相关达极显著水平 ( $P < 0.01$ )

\*significant correlation ( $P < 0.05$ ) \*\*extremely significant correlation ( $P < 0.01$ )

最高，根际真菌总体呈现逐渐增高的变化趋势，A3~A5 期维持较高的物种多样性水平，变化不显著，说明根际菌群结构在箭叶淫羊藿不同生长阶段都处于动态变化中的，药材质量稳定期根际土壤具有相对较高的细菌多样性，根际真菌从果实膨大期到药材质量稳定期物种多样性菌较高，这可能是由于盛花期过后，植株开始旺盛的营养生长，根际分泌物和代谢物较多，这种条件有利于各种微生物的生长，这一结果与以往报道一致<sup>[26]</sup>。丰度指数 Chao 1 随着淫羊藿生育期的延长，根际细菌丰度降低，根际真菌先降低后升高，这可能是由于淫羊藿生长后期，外界的气候条件属于高温多雨，此时更

适宜某些真菌的生长繁殖。同时，也说明说明箭叶淫羊藿根际定殖较为丰富的微生物，这些微生物不仅数量众多，而且种类也很丰富。箭叶淫羊藿不同生长期根际微生物群落组成结果显示，不同生长时期的箭叶淫羊藿根际土壤微生物群落结构在门水平和属水平上发生了显著改变。根际细菌优势菌门包括变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 等，其中变形菌门相对丰度最高，占 27.21%~38.66%，其次为酸杆菌门，占 17.66%~32.86%。细菌优势菌属包括 *Candidatus\_Solibacter*、苔藓杆菌属 *Bryobacter*、嗜

酸栖热菌属 *Acidothermus*、硝化螺菌属 *Nitrospira*、芽单胞菌属 *Gemmatimonas*、uncultured *Acidobacteria*、MND1 等 16 个细菌属的相对丰度之和占土壤细菌总丰度的 20% 以上，其中，*Candidatus\_Solibacter* 属在 5 个生长时期的平均丰度值最高，在 A2 期样品中的丰度最高达 4.29%，A5 期样品中占比最低，为 0.89%。*Candidatus\_Solibacter* 在植物根际土壤中广泛存在，具有分解碳源，促进土壤有机质转化<sup>[27]</sup>等作用。根际真菌优势菌门包括被孢霉门 (*Mortierellomycota*)、子囊菌门 (*Ascomycota*)、担子菌门 (*Basidiomycota*)、壶菌门 (*Chytridiomycota*)、球囊菌门 (*Glomeromycota*)、隐菌门 (*Rozellomycota*) 等。其中，子囊菌门的相对丰度最高，占 31.15%~42.10%，其次为被孢霉门，占 11.19%~44.34%。5 组样品中细菌门类组成基本一致，仅所占的比例存在一定的差异。优势真菌属被孢霉属 *Mortierella* 相对丰度占比最大，在 A1 期样品中的丰度值高达 44.27%。被孢霉属作为一种普遍的菌根真菌，对甾族化合物有生物转化作用，常用于植物组织培养<sup>[28]</sup>。此外，有些被孢霉菌的菌丝体因含较丰富的  $\gamma$ -亚麻酸，正在开发作为药物来源<sup>[29]</sup>。本研究中相对丰度较高的内生真菌菌属还有蜡壳耳属 *Sebacina*、*Saitozyma* 属、*Ilyonectria* 属、角菌根菌属 *Ceratobasidium*、梨形指环菌属 *Dactylaria*、*Xylaria* 属和镰刀菌属 *Fusarium* 等。益生真菌在土壤中的碳、氮和硫循环中起着关键作用，但同时也含有一些致病菌，如镰刀菌属。镰刀菌属是一类重要的植物病原真菌，会引起植物腐烂、枯萎和严重坏死等病害症状<sup>[30]</sup>，因此箭叶淫羊藿根际土壤中镰刀菌属相对丰度的显著增加可能会对其生长发育产生负面影响。这些结果说明淫羊藿对其根际定殖的土壤细菌具有选择性，每个生育期的根际细菌群落都是动态的，多样性在一定程度上受作物生育期的影响。UPGMA 聚类分析和 NMDS 分析结果显示，在箭叶淫羊藿的生长过程中，花蕾期、盛花期、果实膨大期及盛果期的根际土壤细菌和真菌结构相似，而药材质量稳定期与前 4 个时期的根际细菌群落结构存在明显差异。这也印证了根际微生物群落结构组成受作物生长时期的影响，这些微生物在根际能够大量定殖可能与该类微生物的生态功能、作物生长状态、次生代谢产物等有关<sup>[31]</sup>。

药用植物的有效成分含量直接对应中药材的品质及其在临床的疗效，是评价药材品质的主要标准。对药材而言，其产地生态环境因子与中药材质量及其道地性等紧密相关。本研究采用皮尔森相关分析方法，将箭叶淫羊藿叶片有效成分与根际土壤生态因子进行相关性研究。研究表明，总黄酮含量与有效磷呈显著正相关，与 *Candidatus\_Solibacter* 属、苔藓杆菌属呈极显著正相关；淫羊藿苷与有机质、苔藓杆菌属呈显著正相关，与碱解氮、有效磷及 *Candidatus\_Solibacter* 属呈极显著正相关，而与过氧化氢酶、硝化螺菌属呈显著负相关；朝藿定 A 和朝藿定 B 与碱解氮、蔗糖酶显著正相关，与有效磷、*Candidatus\_Solibacter* 属、嗜酸栖热菌属、慢生根瘤菌属及显著正相关，而与脲酶、酸杆菌属显著负相关，与 pH、过氧化氢酶、硝化螺菌属呈极显著负相关。朝藿定 C 与有机质、碱解氮、苔藓杆菌属呈正相关，与有效磷、*Candidatus\_Solibacter* 属相对丰度呈极显著正相关，与硝化螺菌属呈显著负相关。土壤养分是土壤生态系统的重要组成部分，其含量直接影响作物的生长发育。土壤酶参与土壤的许多重要的生物化学过程和物质循环，可以客观反映土壤肥力状况。两者作为评价土壤肥力的重要因素，与药用植物生长及有效成分累积息息相关。孔璐等<sup>[32]</sup>研究了柔毛淫羊藿总黄酮和淫羊藿苷的含量与土壤因子的关系，表明土壤的氮含量和 pH 对其影响最大，较低的氮水平和较高的酸碱度可以提高黄酮和淫羊藿苷的含量。钱一凡等<sup>[33]</sup>研究了施肥对柔毛淫羊藿产量的影响，表明施用有机肥和适当比例的氮、磷、钾有助于提高产量。除了土壤理化性质可以影响作物生长，根际土壤微生物作为土壤中的生物因子，参与土壤生态系统的能量流动和物质循环，对药用植物有效成分的形成和累积密切相关。近几年，关于药用植物与其根际微生物群落之间的相互作用的研究越来越多，尤其是能够提高诸如太子参<sup>[34]</sup>、秦艽<sup>[35]</sup>等药用植物活性成分的产量和质量，以及一些抗病菌株的筛选，已经受到了广泛关注。因此，在实际生产过程中，要综合考虑土壤各生态因子的相互作用及其对药用植物有效成分含量的影响，调整农艺措施改善根际土壤微环境，从而提高箭叶淫羊藿的品质。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 房凌云. 淫羊藿的药理作用及临床应用进展 [J]. 智慧

- 健康, 2017, 3(21): 25-27.
- [2] 胡献国. “中药伟哥”淫羊藿 [J]. 家庭医学, 2019(2): 52-53.
- [3] 中国药典 [S] 一部. 2020: 340.
- [4] 杨加城, 谭旭霞. 反相高效液相色谱法分析中药复方制剂肾宝片中淫羊藿的含量 [J]. 国际医药卫生导报, 2006, 12(15): 99-100.
- [5] 邓曦. 中成药抗骨增生丸标准提高研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2018.
- [6] Ma H P, He X R, Yang Y, *et al.* The genus *Epimedium*: An ethnopharmacological and phytochemical review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 134(3): 519-541.
- [7] 王可可, 龚其海. 淫羊藿化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 中国民族民间医药, 2015, 24(19): 16-18.
- [8] 殷涛, 李云峰, 徐宁, 等. 淫羊藿人工种植现状及思考 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(6): 1468-1471.
- [9] 张华峰. 淫羊藿药材的质量控制及其在保健食品中的应用 [A] // 全国生药质量控制技术与资源开发利用交流研讨会论文集 [C]. 西宁: 中华中医药学会, 2014: 26.
- [10] 张甜, 程林, 杨林林, 等. 生态因子及关键酶基因表达对秋季黄芩采收期主要药效成分合成的影响 [J]. 中草药, 2019, 50(4): 936-944.
- [11] 栾鹏肖, 王孜挺. 关于对中药材品质的影响因素研究 [J]. 健康前沿, 2018, 27(4): 225.
- [12] 李冬洁. 植物根系分泌物与根际微生物的相互作用 [J]. 广东蚕业, 2018, 52(4): 21.
- [13] 郭凤仙, 刘越, 唐丽, 等. 药用植物根际微生物研究现状与展望 [J]. 中国农业科技导报, 2017, 19(5): 12-21.
- [14] 母茂君, 张弟桂, 张华, 等. 太白贝母根际微生物分布与生物碱含量的相关性 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(11): 2231-2235.
- [15] 陈冉, 刘志强, 王丹丹. 基于高通量测序比较不同产地药用银杏根际土壤微生物多样性 [J]. 药物生物技术, 2021, 28(2): 117-122.
- [16] 何丽君, 江金井, 陈豪, 等. 淫羊藿药理作用和临床应用的研究进展 [J]. 中医临床研究, 2020, 12(2): 17-20.
- [17] 房凌云. 淫羊藿的药理作用及临床应用进展 [J]. 智慧健康, 2017, 3(21): 25-27.
- [18] 宋旭红, 王钰, 李隆云, 等. 石柱黄连根腐病根际土壤细菌微生态研究 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7): 1304-1311.
- [19] 宋旭红, 谭均, 李隆云, 等. Illumina 高通量测序揭示黄连根腐病根际土壤真菌群落组成及多样性 [J]. 中草药, 2018, 49(22): 5396-5403.
- [20] Liu J Y. Determination of the active ingredients and biopotency in *Polygala tenuifolia* Willd. and the ecological factors that influence them [J]. *Ind Crops Prod*, 2019, 134: 113-123.
- [21] Zhang W, Wang T, Guo Q, *et al.* Effect of soil moisture regimes in the early flowering stage on inflorescence morphology and medicinal ingredients of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. Cv. ‘Hangju’ [J]. *Sci Hortic*, 2020, 260: 108849.
- [22] 童炳丽, 刘济明, 陈敬忠, 等. 米槁根际土壤真菌多样性及其与果实药用活性成分含量的相关性分析 [J]. 菌物学报, 2019, 38(7): 1058-1070.
- [23] 连文慧, 董雷, 李文均. 土壤环境下的根际微生物和植物互作关系研究进展 [J]. 微生物学杂志, 2021, 41(4): 74-83.
- [24] 李冰圳, 李国斌, 苏优拉, 等. 蒙古黄芪不同生育期黄酮类成分积累及其根际微生物多样性研究 [J]. 西北植物学报, 2020, 40(5): 828-837.
- [25] 仝利红, 高洁, 靳永胜. 草莓不同生育期根际微生物的动态变化 [J]. 北京农学院学报, 2019, 34(4): 10-15.
- [26] 李睿玉, 王煜, 王亚男, 等. 土荆芥不同发育期根际土壤养分、酶活及微生物数量的变化 [J]. 生态环境学报, 2014, 23(9): 1526-1530.
- [27] 杜思瑶, 于淼, 刘芳华, 等. 设施种植模式对土壤细菌多样性及群落结构的影响 [J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(11): 1615-1625.
- [28] 崔永一, 王芬, 钱仁卷. 一种被孢霉属菌根真菌在铁皮石斛组培苗培养中的应用: 中国, CN201410091263. [P]. 8. 2014-06-25.
- [29] 王永华, 杨博, 杨继国, 林炜铁, 姚汝华. 被孢霉中脂肪酶对  $\gamma$ -亚麻酸油脂的影响 [J]. 中国油脂, 2004, 29(11): 51-53.
- [30] 伍晓丽, 王钰, 刘飞, 等. 黄连根腐病镰刀菌属病原真菌鉴定 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(6): 1323-1328.
- [31] 张炳欣, 张平, 陈晓斌. 影响引入微生物根部定殖的因素 [J]. 应用生态学报, 2000, 11(6): 951-953.
- [32] 孔璐, 黎云祥, 权秋梅, 等. 不同群落类型柔毛淫羊藿总黄酮和淫羊藿苷含量及其与土壤因子的关系 [J]. 应用生态学报, 2010, 21(10): 2517-2522.
- [33] 钱一凡, 黎云祥, 陈兰英, 等. 施肥对巫山淫羊藿和柔毛淫羊藿产量的影响 [J]. 西华师范大学学报: 自然科学版, 2014, 35(1): 57-62.
- [34] 吴红淼, 张晟恺, 焦艳阳, 等. 微生物菌肥对太子参连作障碍和药理作用的改良效应 [J]. 中国生态农业学报: 中英文, 2021, 29(8): 1315-1326.
- [35] 王静, 梁健, 安毅, 等. 秦艽地上和地下生物量与其根际微生物群落结构关系的研究 [J]. 中草药, 2011, 42(12): 2535-2540.

[责任编辑 时圣明]