

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.200966

吴红淼, 张晟恺, 焦艳阳, 林煜, 吴蕙明, 秦贤金, 刘亚洲, 陈军, 林文雄. 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

WU H M, ZHANG S K, JIAO Y Y, LIN Y, WU H M, QIN X J, LIU Y Z, CHEN J, LIN W X. Effects of microbial fertilizer application on the quality and pharmacological activities of radix pseudostellariae under continuous monoculture regimes[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2021, 29(8): 1315–1326

微生物菌肥对太子参连作障碍和药理作用的改良效应^{*}

吴红淼^{1,2}, 张晟恺², 焦艳阳², 林煜², 吴蕙明², 秦贤金²,
刘亚洲², 陈军², 林文雄^{2**}

(1. 安徽农业大学资源与环境学院 合肥 230031; 2. 福建农林大学农业生态研究所/福建省农业生态过程与风险监控重点实验室 福州 350002)

摘 要: 连作障碍的发生与发展对药用植物的产量和品质构成了严重威胁, 探寻有效的连作障碍消减策略尤为重要。本研究经连续 4 年的田间定位试验, 分析了微生物菌肥在减缓太子参连作障碍中的作用; 并采用 qRT-PCR 和 HPLC-MS 技术分析菌肥改良对太子参根际关键微生物和太子参主效成分的影响; 结合药理试验评估了不同处理太子参的功效差异。结果表明, 田间菌肥改良重茬太子参效果连续 4 年均较为显著, 重茬地经菌肥改良后较不改良重茬产量分别增长 68.28%、111.58%、257.54% 和 133.23%。菌肥改良能显著增加重茬太子参根际土壤中有益假单胞菌属丰度、减少致病尖孢镰刀菌丰度, 也增加太子参中总多糖和环肽 B 含量; 菌肥改良后太子参中氨基酸种类和含量与重茬 1 年和标准品组无显著差异, 且 8 种氨基酸含量与正茬无显著差异。药理试验结果表明, 太子参可以缓解环磷酰胺对小鼠造成的伤害, 菌肥改良太子参对小鼠脾脏指数、肝脏重量、附睾脂肪重量、全血白细胞和红细胞含量的影响与正茬太子参无显著差异, 且在血小板恢复上与标准品太子参一致。此外, 菌肥改良太子参组总抗氧化能力(T-AOC)最强, 超氧化物歧化酶(SOD)活性也显著高于正茬和标准品太子参; 且与正茬太子参相比, 菌肥处理组能显著提高小鼠肝脏组织中免疫因子 IL-2 和 IFN- γ mRNA 表达水平; 而在免疫因子 TNF- α 表达水平上, 菌肥处理组与正茬无显著差异。总体而言, 功能微生物菌肥能有效减缓太子参连作障碍问题, 改善重茬太子参质量和药理作用。

关键词: 太子参; 连作障碍; 菌肥; 根际调控; 药理作用

中图分类号: S181

开放科学码(资源服务)标识码(OSID):



Effects of microbial fertilizer application on the quality and pharmacological activities of radix pseudostellariae under continuous monoculture regimes^{*}

WU Hongmiao^{1,2}, ZHANG Shengkai², JIAO Yanyang², LIN Yu², WU Huiming²,
QIN Xianjin², LIU Yazhou², CHEN Jun², LIN Wenxiong^{2**}

(1. College of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230031, China; 2. Institute of Agroecology, Fujian

^{*} 国家自然科学基金项目(U1205021, 82003884, 81573530)和中国博士后科学基金项目(2019M650150)资助

^{**} 通信作者: 林文雄, 主要研究方向为植物生理与分子生态学、农业生态学。E-mail: lwx@fafu.edu.cn

吴红淼, 主要研究方向为根际生态学过程与调控。E-mail: wuhongmiao@ahau.edu.cn

收稿日期: 2020-12-06 接受日期: 2021-02-17

^{*} This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (U1205021, 82003884, 81573530) and the China Postdoctoral Science Foundation (2019M650150).

^{**} Corresponding author, E-mail: lwx@fafu.edu.cn

Received Dec. 6, 2020; accepted Feb. 17, 2021

Agriculture and Forestry University / Fujian Provincial Key Laboratory of Agroecological Processing and Safety Monitoring,
Fuzhou 350002, China)

Abstract: The continuous monoculture problem commonly causes huge economic losses in modern agricultural production. The occurrence and development of continuous cropping obstacles pose a serious threat to the yield and quality of Chinese medicinal plants; therefore, it is important to explore effective strategies to alleviate the continuous cropping obstacles. In this study, we evaluated the effects of microbial fertilizer application on the continuous cropping obstacles and pharmacological activities of radix pseudostellariae (*Pseudostellaria heterophylla*). The effects of microbial fertilizer application on the yields of continuous monocultured radix pseudostellariae for 4 years under field localization experiments were investigated. Quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) and high-performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS) were used to analyze the effects on the rhizosphere soil microorganisms and the main effective components of radix pseudostellariae. We also used pharmacological tests to analyze the efficiency of radix pseudostellariae under different treatments. Our results showed that microbial fertilizer significantly improved the growth of continuous monocultured radix pseudostellariae, and the yield increased by 68.28%, 111.58%, 257.54%, and 133.23% in 4 years, respectively. Microbial fertilizer application significantly increased the abundance of beneficial *Pseudomonas* spp., decreased pathogenic *Fusarium oxysporum* in the rhizosphere soil, and increased the contents of total polysaccharides and heterophyllin B in radix pseudostellariae as compared with those of the consecutive monoculture treatments. The types and contents of amino acids in radix pseudostellariae under microbial fertilizer application were similar to those in the 1-year monoculture and standard radix pseudostellariae. Eight types of amino acids in the microbial fertilizer amendment and the newly planted radix pseudostellariae were not significantly different. Pharmacological tests showed that radix pseudostellariae alleviated the damage caused by cyclophosphamide in mice. There were no significant differences in the spleen index, liver weight, epididymal fat weight, and white or red blood cell content of mice treated with plants of the microbial fertilizer amended and newly planted radix pseudostellariae. The effect of radix pseudostellariae on platelet recovery of mice under microbial fertilizer amendment was consistent with that of standard radix pseudostellariae. Moreover, the total antioxidant capacity of radix pseudostellariae under microbial fertilizer amendment was stronger, and the superoxide dismutase content was significantly higher than that of newly planted and standard radix pseudostellariae. Compared with newly planted radix pseudostellariae, the microbial fertilizer amendment significantly increased the expression of immune factors IL-2 and IFN- γ in the liver tissue of mice. There was no significant difference in the expression of TNF- α between the microbial fertilizer amendment and newly planted radix pseudostellariae. In conclusion, microbial fertilizer amendment effectively alleviated the continuous cropping obstacle and improved the quality and pharmacological activities of radix pseudostellariae. Our results provide guidance for studying alleviation strategies in other Chinese medicinal plants under consecutive monoculture regimes and for evaluating the quality and pharmacological activities of modified medicinal plants.

Keywords: Radix pseudostellariae; Continuous cropping obstacle; Microbial fertilizer; Rhizosphere management; Pharmacological activities

太子参为石竹科(Caryophyllaceae Juss.)植物异叶假繁缕[*Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax et Hoffm.]的干燥块根, 又名童参、孩儿参、米参, 具有益气健脾、生津润肺等功效^[1], 其用药历史悠久, 临床疗效确切, 目前已被卫生部确定列入“可用于保健食品的中药材名单”。太子参主产于福建柘荣、贵州施秉、安徽宣城等地, 主产区及其周边种植面积占太子参总种植面积 90%以上, 2017 年三大主产区总种植面积高达 4000 hm²。然而, 太子参在栽培过程中存在严重的连作障碍问题, 连作导致太子参植株生长发育不良、地下部块根不能正常膨大、产量和品质逐年下降^[2-3]。同时, 连作障碍还导致一系列的下游不良问题, 如太子参道地产业区和规模正逐年缩小, 甚至出现产区外移、道地性失真等现象。作为福建省最具特色的大宗道地药材之一, 太子参

药材资源的可持续利用及相关产业的健康发展对福建现代大中药产业链发展及推动区域经济发展有着极其重要的作用。因此, 探究有效的连作障碍消减策略对深化和拓展中药资源生态学研究, 有效保护和利用药用植物资源, 均具有极其重要的意义。

连作障碍的形成是一个复杂的生物学过程, 可能与土壤理化性质变化、土壤养分失衡、根系分泌物的自毒作用和根际微生物群落的变化有关^[4-6]。已有大量研究表明, 根系分泌物介导的根际响应减少有益微生物丰度, 促进了病原菌的积累, 从而改变了根际土壤微生物群落结构, 而这些微生物的变化在连作病害中起着至关重要的作用^[5-9]。目前, 对于连作障碍的消减策略主要基于根际调控的原理, 对植物-土壤-微生物之间的根际过程进行调控, 进而改善根际微环境、减少土传病害、提高作物产量, 主

要措施包含土壤灭菌法、生物质炭改良、作物多样性栽培和功能微生物菌肥调控^[10]。近年来, 功能微生物菌肥的运用在农业生产中发挥着重要作用, 其在改善植物生长的同时又能达到减肥减药的效果。已有研究表明利用微生物发酵床制备的微生物组菌剂对番茄青枯病的防治效果可高达 79.41%^[11]。本课题组前期研究也表明功能微生物菌肥在田间能有效提高重茬太子参产量, 菌肥能有效增加重茬土壤中有益菌丰度、减少致病菌丰度, 重构重茬太子参根际微生物群落结构和组成^[12-13]。

功能微生物调控可作为一种有效的土壤改良模式, 但由于不同微生物菌肥中菌种类和稳定性、微生物有效定植、发酵底物选择和发酵工艺等存在较大差异, 其对不同作物的改良效果也存在较大差异。因此, 功能微生物菌肥的改良效果需要长期的田间定位观察验证。与此同时, 对药用植物而言, 减缓连作障碍所带来的药用植物高产与药效、品质是否等价也是值得考量的重要问题。本研究通过连续多年田间定位观察, 评估了功能微生物菌肥对重茬太子参的改良效果; 并比较分析了菌肥改良太子参与正茬、重茬、标准品太子参间的主效成分和药理作用差异, 以期为进一步功能微生物菌肥的运用和太子参的质量评价体系及药理性研究提供方法和思路。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验在福建省柘荣县福建农林大学农业生态研究所太子参定位观察站实施(119°48'E, 27°15'N), 该地平均海拔 620 m, 年平均气温 16.3℃, 多年平均降水量 2095.2 mm, 土壤主要为黄壤, 质地中壤为主, 土壤 pH 呈酸性, 有机质含量中等。试验区种植太子参品种为‘柘参 2 号’。

试验于 2015—2018 年在定位观察站进行, 设置正茬[前茬作物为水稻(*Oryza sativa*)]、重茬 1 年和菌肥改良重茬 3 种处理。其中菌肥改良是从重茬 1 年开始且连续 4 年在同一地块上实施, 菌肥处理时间为太子参种植前 1 个月, 菌肥施用量为 7500 kg·hm⁻²。试验中每个处理设置 1 个小区, 每个小区设置 3 个重复, 每个小区面积为 667 m²。播种前一次性施用基肥钙镁磷肥为 1167~2333 kg·hm⁻²、尿素 134~200 kg·hm⁻² 和硫酸钾 72 kg·hm⁻²。种植后, 当田间土壤干燥时, 可适量浇水 1~2 次。在太子参膨大中期, 追施尿素 534~802 kg·hm⁻² 和硫酸钾 288 kg·hm⁻²。太子参采用传统单沟双排密植, 种植密

度为 375~450 kg·hm⁻² 太子参种参。

试验菌肥是由本课题组前期研制的功能微生物菌肥(专利号: ZL201610208743.7), 主要包含假单胞菌属、芽孢杆菌属。太子参种植时间为每年的 11—12 月, 收获时间为次年的 6 月中下旬。每年收获期测定每个小区内所有太子参产量, 并于 2018 年在太子参收获期采集正茬、重茬 1 年、重茬 2 年和重茬 3 年+菌肥处理的太子参根际土壤用于土壤微生物群落分析; 以及收获的太子参用于品质和药效分析, 主要包含正茬(FY)、重茬 1 年(SY)、菌肥改良(BIO)和标准品太子参(ST, 购于北京同仁堂药店), 各处理太子参自然晒干后, 经超细粉碎机打磨成粉, 过 0.2 mm 筛子, 密封好放入-20℃ 冷冻。

1.2 根际土壤微生物群落的 qRT-PCR 分析

采用土壤总 DNA 提取试剂盒(BioFlux, 杭州)分别提取正茬、重茬和菌肥改良组的根际土壤总 DNA, 经 1%琼脂糖凝胶电泳检测合格和 Nanodrop 2000C 分光光度计(Thermo Scientific, USA)测定浓度后, 再使用荧光定量 PCR 技术分析参与太子参连作障碍的关键假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)和尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)丰度, 引物序列和反应退火温度见表 1。

1.3 太子参品质分析

1.3.1 总多糖含量测定

采用水提醇析法提取总多糖^[18], 配制葡萄糖标准液, 采用苯酚-硫酸法绘制标准曲线。将不同处理下太子参样品按上述方法提取总多糖后, 经苯酚-硫酸法显色反应后测定吸光度, 按回归方程计算样品中总多糖含量。

1.3.2 环肽 B 提取与检测

环肽 B 提取参照已有报道方法^[19], 采用 HPLC-MS (型号: Thermo LTQ XL)对不同样品中太子参环肽 B 含量进行检测。质谱参数分别为: Ion Source: APCI; Scan Mode: 负离子模式; Vaporizer Temp: 400℃; Sheath Gas Flow Rate: 50 arb; Aux Gas Flow Rate: 20 arb; Sweep Gas Flow Rate: 0 arb; Capillary Temp: 350℃; Capillary Voltage: -3 V。液相洗脱条件参考表 2。

1.3.3 氨基酸含量测定

样品处理^[20]: 精密称取太子参粉末 0.25 g 于消解罐中, 加入含 0.1%苯酚的 6 mol·L⁻¹ 盐酸 10 mL, 迅速充入氮气, 以 10℃·min⁻¹ 的升温速度至 140℃, 恒温消解 30 min, 取出过滤。取适量滤液于真空冷冻干燥机中干燥至粉末, 再加蒸馏水溶解, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后, 置于 4℃ 冰箱中备用。

表 1 土壤特异微生物菌群和小鼠肝脏免疫因子 qRT-PCR 分析引物序列及退火温度
Table 1 Taxon-specific and liver immune factors primer sets and their annealing temperatures for quantitative PCR

微生物类群/基因名称 Target group/Gene name	引物名称 Primer name	序列(5'-3') Sequence (5'-3')	退火温度 Annealing temperature ()
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i> spp.	Ps-for ^[14]	TTAGCTCCACCTCGCGGC	64.0
	Ps-rev	GGTCTGAGAGGATGATCAGT	
尖孢镰刀菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	ITS1F ^[15]	CTTGGTCATTTAGAGGA AGTAA	60.4
	AFP308R	CGAATTAACGCGAGTCCCAA	
ACTB	ACTB F ^[16-17]	GAAGATCAAGATCATTGCTCTCT	60.8
	ACTB R	TACTCTGCTTGCTGATCCA	
IL-2	IL-2 F ^[16-17]	CTGCGGCATGTTCTGGATTG	60.5
	IL-2 R	TTGAGGGCTTGTTGAGATGATGC	
IFN- γ	IFN- γ F ^[16-17]	AATGMCCTACACACTGCA	58.3
	IFN- γ R	TGAAGAAGGTAGTMTCCAGG	
TNF- α	TNF- α F ^[16-17]	ATGAGCACAGAAAGCATGATCCGC	63.0
	TNF- α R	AAAGTAGACCTGCCCGACTC	

表 2 太子参环肽 B 检测液相洗脱条件
Table 2 Elution conditions of the HPLC used to detect the heterophyllin B of radix pseudostellariae

时间 Time (min)	A 相 Mobile phase A (%)	B 相 Mobile phase B (%)	流速 Rate ($\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)
0	95	5	300
2	70	30	300
12	60	40	300
15	55	45	300
16	50	50	300
20	40	60	300
22	30	70	300
22.1	95	5	300
26	95	5	300

流动相 A: 水; 流动相 B: 乙腈。Mobile phase A: water; mobile phase B: acetonitrile.

衍生化反应^[20]: 分别取氨基酸标准品溶液及样品溶液 200 μL , 加入 100 μL 三乙胺溶液和 100 μL 异硫氰酸苯酯溶液, 混匀, 于室温下反应 1 h 后, 加入 400 μL 正己烷, 涡旋振荡 10 min。将澄清的下层液稀释 3 倍, 用 0.22 μm 滤膜过滤后进行 HPLC 分析。

HPLC 分析条件: 色谱柱: ACE Excel SuperC18 (5 μm 250 mm $\times$ 4.6 mm); 流动相 A: 0.1 mol $\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸钠溶液(pH 6.5)-乙腈(93 : 7); 流动相 B: 乙腈-水(80 : 20); 流速: 1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$; 进样体积: 5 μL ; 检测波长: 254 nm; 柱温: 36 $^{\circ}\text{C}$; HPLC 洗脱梯度: 0~15 min (0~15% B), 15~18 min (15%~24% B), 18~25 min (24%~40% B), 25~30 min (40% B), 30~30.1 min (40%~100% B), 30.1~50 min (100% B), 50~50.1 min (100%~0 B), 50.1~70 min (0 B)。

1.4 太子参药理作用分析

1.4.1 小鼠灌胃处理

分别将正荏、重荏组、菌肥改良和标准品太子

参超细粉末与 0.5% 的无菌羧甲基纤维素钠溶液均匀混合, 制备成能均匀分布的太子参悬浮液。小鼠灌胃剂量依据许文生氏公式 [$S(\text{m}^2)=0.0061H(\text{cm})+0.0128W(\text{kg})-0.1529$], 其中 H 为人平均身高、 W 为人平均体重]换算, 以药典推荐太子参口服剂量 15~30 g 为例, 计算出小鼠的灌胃剂量为 3188.3~6375.5 mg $\cdot\text{kg}^{-1}$ 。为保证太子参混悬液均匀度, 本研究选取 4505 mg $\cdot\text{kg}^{-1}$ 作为小鼠的日灌胃量, 其中空白组用等浓度的鼠粮混悬液进行灌胃, 连续灌胃 47 d。试验小鼠为 BALB/c 雄性幼鼠, 空白组包含 14 只小鼠, 其余每个处理 7 只小鼠。

1.4.2 小鼠造模处理

在连续灌胃 45 d 后, 正荏、重荏、菌肥改良、标准品太子参组全部小鼠和空白组 7 只小鼠腹腔注射 150 mg $\cdot\text{kg}^{-1}$ 的环磷酰胺(环磷酰胺作为一种免疫抑制剂, 可以抑制动物的免疫应答)进行动物造模, 空白组其余 7 只小鼠注射对应体积的生理盐水, 小鼠造模后 48 h 内解剖。

1.4.3 鼠理化指标分析

小鼠眼球取血后, 立即吸取 40 μL 全血于预先制备好的血常规专用稀释液中, 1 h 内送往福州空军医院进行血常规检测。剩余全血室温静置 2 h, 3500 r $\cdot\text{min}^{-1}$ 离心, 取上清用于测定血清抗氧化活性。血清抗氧化活性测定参照南京建成生物工程试剂盒步骤操作。同时, 将脾脏、肝脏、附睾脂肪等取出后, 置于万分之一天平称重。

1.4.4 肝脏组织免疫因子相对定量分析

将小鼠肝脏组织置于液氮中研磨成粉末, 准确称取 0.5 g 组织粉末, 并采用总 RNA 提取试剂盒提取总 RNA, 再将提取的 RNA 进行逆转录。采用

qRT-PCR 对免疫因子表达量进行定量分析, 引物序列和 PCR 程序见表 1。

1.5 数据处理

采用 GraphPad Prism 7 分析数据与作图, 方差分析采用 DPS 7.05 软件, 利用 LSD 进行差异显著性测验, $P < 0.05$ 被视为差异显著。

2 结果与分析

2.1 菌肥改良对太子参产量的影响

在太子参连作障碍消减技术试验示范区进行菌肥施用后, 太子参生育期延长、发病率降低、增产效果显著, 连续 4 年田间测产结果表明, 重茬比正茬对照太子参产量减产分别为 44.12%、55.30%、72.41%和 59.56%, 差异显著。田间菌肥改良重茬太子参效果较为显著, 重茬地经菌肥改良后较重茬太子参产量分别增长 68.28%、111.58%、257.54%和 133.23%; 且菌肥改良后, 除 2016 年外, 其他年份太子参产量与正茬太子参无显著差异(图 1)。

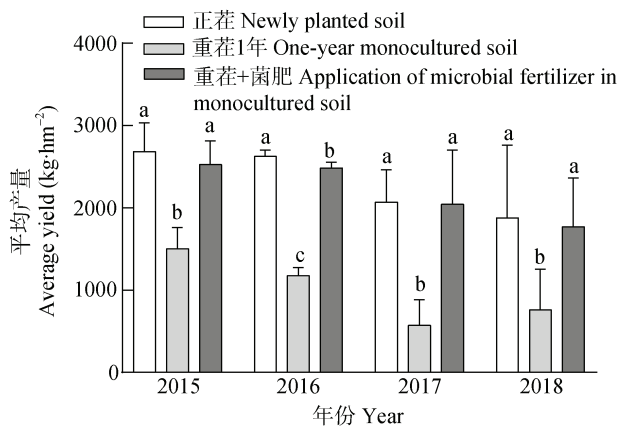


图 1 菌肥改良后太子参产量变化

Fig. 1 Effects of microbial fertilizer on the yields of radix pseudostellariae

不同小写字母表示同一年份不同处理间差异显著($P < 0.05$)。Different lowercase letters mean significant differences among treatments in the same year at $P < 0.05$ level.

2.2 菌肥改良对太子参根际微生物群落的影响

采用 qRT-PCR 分析不同连作年限和菌肥改良下太子参根际关键微生物, 结果表明根际土壤中致病尖孢镰刀菌会随着种植年限增加而显著增加, 根际有益假单胞菌属丰度呈现相反趋势。同时, 与重茬相比, 菌肥处理会增加假单胞菌属丰度、减少尖孢镰刀菌丰度, 也会减少尖孢镰刀菌与假单胞菌属的比值(图 2)。

2.3 菌肥改良对太子参总多糖和总环肽 B 含量的影响

太子参中主效成分分析表明, 重茬太子参中总

多糖含量显著低于其他处理组($P < 0.05$); 菌肥改良太子参组与正茬、标准品中多糖含量无显著性差异。太子参环肽 B 含量检测结果表明, 重茬太子参环肽 B 含量最低、正茬中最高; 正茬太子参中环肽 B 含量是重茬的 2.75 倍、是标准品的 1.52 倍; 菌肥改良太子参虽显著低于正茬太子参, 但与标准品太子参中的环肽 B 含量无显著差异(图 3)。

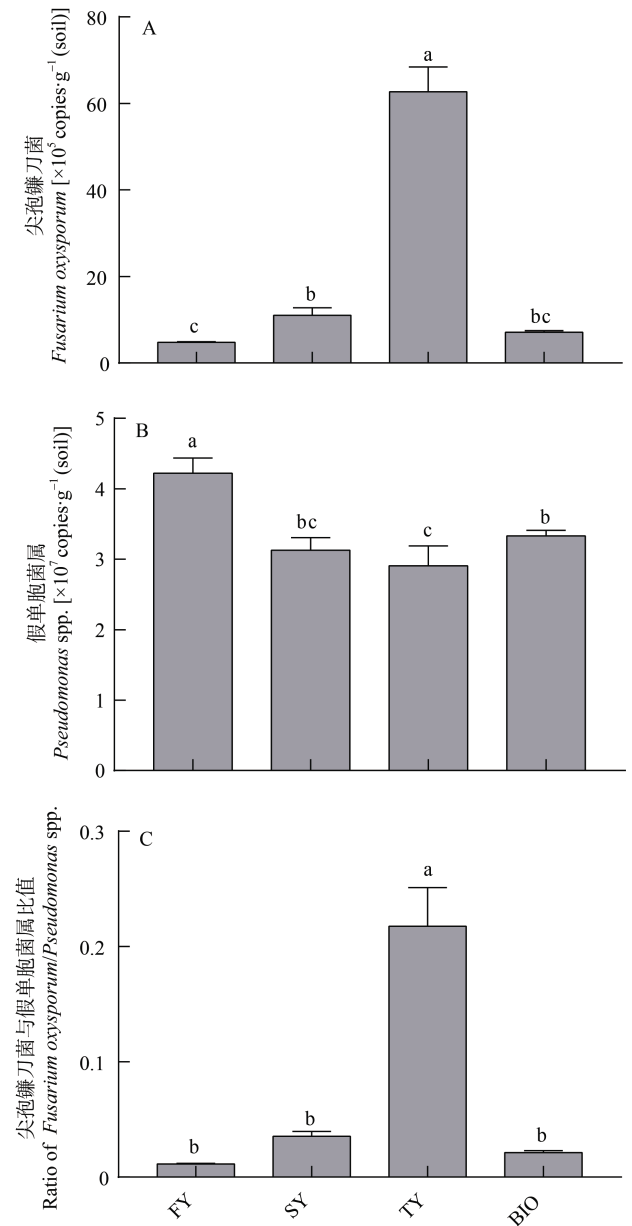


图 2 菌肥改良后太子参根际微生物丰度变化

Fig. 2 Effects of microbial fertilizer on populations of microorganisms in radix pseudostellariae rhizosphere soil

FY: 正茬; SY: 重茬 1 年; TY: 重茬 2 年; BIO: 重茬+菌肥改良。不同小写字母表示不同处理间差异显著($P < 0.05$)。FY, SY and TY indicate treatments of newly planted soil, one-year monocultured soil and two-year monocultured soil, respectively. BIO indicates the treatment of application of microbial fertilizer on three-year monocultured soil. Different lowercase letters mean significant differences among treatments at $P < 0.05$ level.

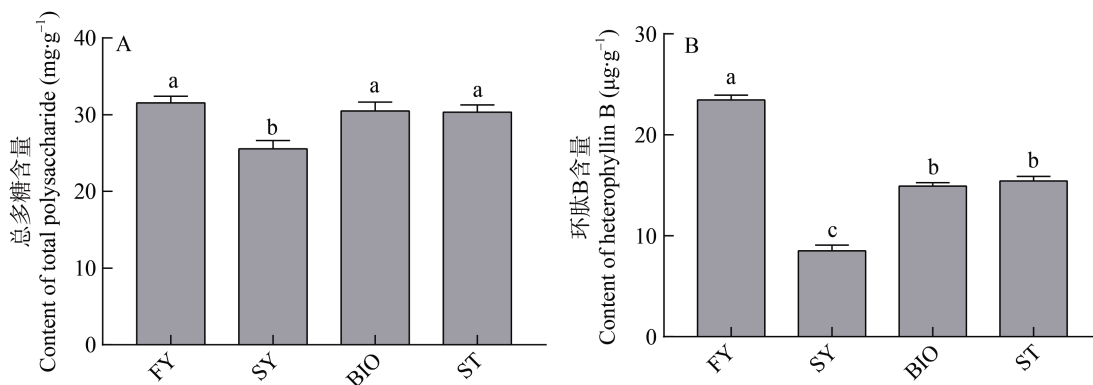


图 3 菌肥改良后太子参中总多糖和环肽 B 含量变化

Fig. 3 Effects of microbial fertilizer on contents of total polysaccharide and heterophyllin B in radix pseudostellariae

FY: 正茬; SY: 重茬 1 年; BIO: 重茬+菌肥改良; ST: 太子参标准品。不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P<0.05$)。FY and SY indicate the treatments of newly planted soil and one-year monocultured soil, respectively. BIO indicates the treatment of application of microbial fertilizer on three-year monocultured soil. ST indicates the standard radix pseudostellariae. Different lowercase letters mean significant differences among treatments at $P<0.05$ level.

2.4 菌肥改良对太子参中氨基酸含量的影响

采用 HPLC 技术构建了 17 种常见氨基酸的检测体系, 结果表明, 太子参中主要包含 13 种氨基酸(表 3), 分别为谷氨酸、丝氨酸、组氨酸、甘氨酸、精氨酸、苏氨酸、酪氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸; 其中谷氨酸和精氨酸是太子参的主要氨基酸, 其含量均超过 $10 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。谷氨酸、丝氨酸、组氨酸、甘氨酸、精氨酸、苏氨酸、蛋氨酸含量在各处理中均无显著差异。正茬中酪氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸含量

均显著高于其他各组(其中, 菌肥组苯丙氨酸与正茬组无显著差异)。菌肥改良组中的精氨酸与蛋氨酸水平最高, 但与正茬组差异不显著, 其他各氨基酸含量均以正茬太子参中为最高, 其次为菌肥处理组。

2.5 菌肥改良处理的太子参对小鼠生理生化的影响

2.5.1 小鼠体重变化

本研究中所有小鼠在灌胃太子参期间, 小鼠毛色、粪便、饮食饮水量、行为均无明显差异。如图 4 所示, 各组小鼠首次与末次体重无显著性差异, 长期太子参灌胃对小鼠体重没有显著性影响。

表 3 菌肥改良后太子参中氨基酸各组分含量变化

Table 3 Effects of microbial fertilizer on contents of amino acids in radix pseudostellariae

氨基酸 Amino acid	FY	SY	BIO	ST
谷氨酸 Glutamic acid	13.27±2.36aA	10.42±2.13aB	12.61±3.75aA	10.30±3.17aA
丝氨酸 Serine	3.93±1.75aDE	2.28±0.44aD	2.91±1.31aBC	2.25±0.91aC
组氨酸 Histidine	5.99±0.83aC	4.31±0.89aC	5.57±1.45aB	4.67±1.13aB
甘氨酸 Glycine	0.29±0.08aG	0.17±0.05aF	0.23±0.09aC	0.17±0.06aC
精氨酸 Arginine	11.44±2.52aB	12.35±2.02aA	13.58±4.16aA	11.61±2.67aA
苏氨酸 Threonine	3.70±1.32aDE	2.00±0.53aDE	2.32±0.75aC	2.03±0.50aC
酪氨酸 Tyrosine	2.20±0.63aF	0.90±0.28bDEF	1.30±0.35bC	1.15±0.30bC
缬氨酸 Valine	2.00±1.18aF	0.24±0.20bF	0.69±0.46bC	0.41±0.25bC
蛋氨酸 Methionine	0.58±0.17aG	0.47±0.16aEF	0.64±0.14aC	0.56±0.13aC
异亮氨酸 Isoleucine	2.27±1.32aF	0.47±0.18bEF	0.81±0.32bC	0.62±0.23bC
亮氨酸 Leucine	3.95±1.09aDE	1.64±0.45bDEF	2.39±0.71bC	2.00±0.53bC
苯丙氨酸 Phenylalanine	3.07±0.94aEF	1.28±0.35bDEF	2.06±0.59abC	1.73±0.39bC
赖氨酸 Lysine	4.47±0.77aD	1.86±0.56bDE	2.89±0.93bBC	2.23±0.63bC

FY: 正茬; SY: 重茬 1 年; BIO: 重茬+菌肥改良; ST: 太子参标准品。同行不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P<0.05$), 同列不同大写字母表示同一处理不同组间差异显著 ($P<0.01$)。FY and SY indicate the treatments of newly planted soil and one-year monocultured soil, respectively. BIO indicates the treatments of application of microbial fertilizer on three-year monocultured soil. ST indicates the standard radix pseudostellariae. Different lowercase letters in the same line mean significant differences among treatments at $P<0.05$ level. Different capital letters in the same column mean significant differences among amino acids at $P<0.01$ level.

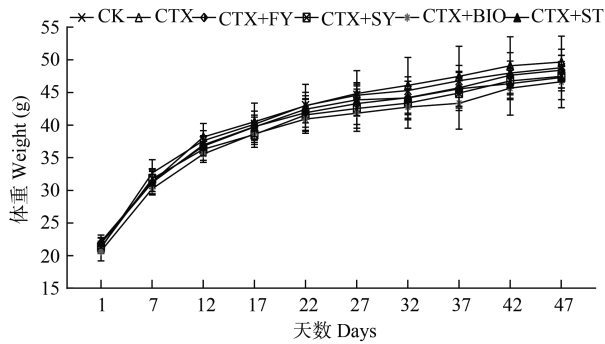


图 4 菌肥改良的太子参对小鼠体重的动态影响

Fig. 4 Effect of radix pseudostellariae under different treatments of application of microbial fertilizer on weight of mice

CK: 未灌胃太子参和注射生理盐水; CTX: 未灌胃太子参和注射环磷酰胺; CTX+FY: 灌胃正茬太子参和注射环磷酰胺; CTX+SY: 灌胃重茬太子参和注射环磷酰胺; CTX+BIO: 灌胃菌肥改良太子参和注射环磷酰胺; CTX+ST: 灌胃标准品太子参和注射环磷酰胺。CK: no-radix pseudostellariae treatment and physiological saline injection; CTX: no-radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection; CTX+FY: newly planted radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection; CTX+SY: one-year monoculture radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection; CTX+BIO: microbial fertilizer amendment radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection; CTX+ST: standard radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection.

2.5.2 小鼠脏器指数变化

脾脏是重要的免疫器官, 具有丰富的淋巴细胞和巨噬细胞。脾脏指数=脾脏重量(g)/体重(g), 其指数大小可以粗略地反映机体免疫功能的强弱。解剖发现, 注射浓度为 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 环磷酰胺后, 小鼠的脾脏剧烈萎缩(图 5A), 其中空白组脾脏指数最高, 正茬组(1.49%)次之, 环磷酰胺组最低(1.3%); 太子参灌胃组脾脏指数均高于环磷酰胺组。然而, 不同处理小鼠间肝脏重量和附睾脂肪重量均无显著差异(图 5B 和 5C)。综上所述表明: 一次性腹腔注射 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 环磷酰胺造模成功, 且灌胃太子参小鼠可以缓解环磷酰胺对小鼠造成的伤害。除此之外, 并未发现小鼠其他组织发生病变, 如肝脏、附睾脂肪等。

2.5.3 小鼠全血常规指标变化

本研究表明空白组中白细胞浓度最($4.826 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$), 而环磷酰胺组最低(图 5D)。正茬组白细胞含量虽然不及空白组, 但可缓解环磷酰胺造成的白细胞损伤, 其白细胞浓度为 $2.182 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$, 显著高于环磷酰胺组($P < 0.05$)。然而, 环磷酰胺组血小板浓度最高($659.2 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$), 重茬组次之, 而正茬组与空白组浓度接近(图 5E)。不同处理小鼠红细胞浓度结果表明, 正茬组与标准品组中红细胞含量均高于环磷酰胺组, 而重茬组和菌肥组均低于环磷酰胺组($P > 0.05$)(图 5F)。综上所述, 正茬组与标准品组在提高小鼠全血

白细胞和红细胞含量上效果较好, 重茬与菌肥改良太子参组效果次之; 在恢复血小板水平上, 太子参具有一定的效果。

2.5.4 小鼠血清抗氧化活性变化

抗氧化结果表明, 菌肥改良太子参组总抗氧化能力(T-AOC)最强, 为 $0.712 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 其次是空白组, 为 $0.706 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。超氧化物歧化酶(SOD)含量显示, 重茬组最高($149.67 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$), 其次为菌肥处理组, 二者无显著性差异, 但均显著高于正茬和标准品组(5G 和 5H)。综上所述表明, 菌肥改良组在血清抗氧化活性方面整体水平最佳。

2.5.5 各组小鼠肝脏组织细胞因子表达量比较

IL-2 即白细胞介素-2, 又名 T 细胞生长因子, 主要活化 CD4+T 和 CD+8T 细胞产生具有生物活性的细胞因子。IFN- γ 即干扰素- γ , 不仅可以增强机体免疫功能, 当机体免疫反应过度时, 还可以调节其恢复正常水平。TNF- α 即肿瘤坏死因子, 由于其在体内能杀死肿瘤细胞得名。如图 6 所示, 与 CTX 组相比, 各组太子参在提高 IL-2、IFN- γ 、TNF- α 水平均有一定的效果。其中菌肥处理组在提高肝脏组织 IL-2 水平和 IFN- γ 水平上均具有良好的表现; 在提高 TNF- α 水平能力上, 菌肥处理组与正茬接近, 显著低于标准品组。重茬处理组中 IL-2 和 TNF- α 表达水平均显著低于标准品, 而 IFN- γ 水平与标准品无显著差异。

3 讨论

3.1 微生物菌肥在缓解太子参连作障碍中的作用

连作障碍作为一种特殊的植物化感作用现象, 在现代农业生产中会造成作物生长发育不良、病虫害发生加剧、品质变劣、产量降低, 是农作物、经济作物、园艺作物、药用植物和林木等栽培中的一种常见现象。生产实践中连作障碍问题, 轻者减产减收, 重者绝收, 如瓜果蔬菜[黄瓜(*Cucumis sativus* L.)、辣椒(*Capsicum annuum* L.)、番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.)、茄子(*Solanum melongena* L.)]和块根类药用植物[地黄(*Rehmannia glutinosa* Libosch.)、太子参、三七(*Panax notoginseng* Burkill.)、西洋参(*Panax quiquefolium* L.)、当归(*Angelica sinensis* Oliv.)、人参(*Panax ginseng* C. A. Mey)]等连作后, 都存在不同程度的连作障碍问题^[10]。已有大量研究表明, 连作会显著改变根际土壤微生物群落结构, 造成根际土壤中致病菌丰度增多、有益菌丰度减少, 土壤微生物类型由“细菌型”向“真菌型”过渡^[2-3,9,21]。

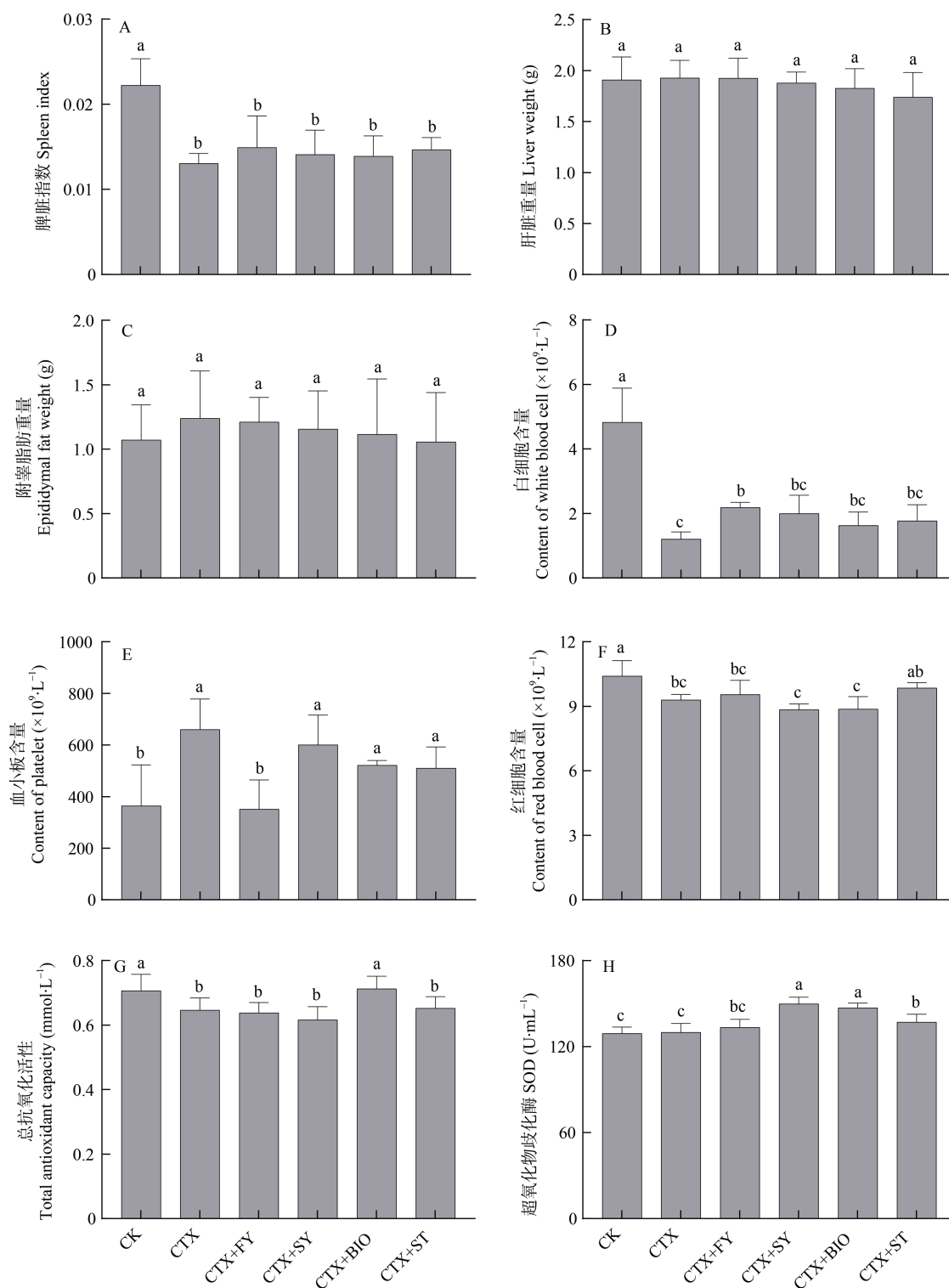


图 5 菌肥改良的太子参对小鼠生理生化指标的影响

Fig. 5 Effect of radix pseudostellariae under different treatments of application of microbial fertilizer on physiological and biochemical indexes of mice

CK: 未灌胃太子参和注射生理盐水; CTX: 未灌胃太子参和注射环磷酰胺; CTX+FY: 灌胃正茬太子参和注射环磷酰胺; CTX+SY: 灌胃重茬太子参和注射环磷酰胺; CTX+BIO: 灌胃菌肥改良太子参和注射环磷酰胺; CTX+ST: 灌胃标准品太子参和注射环磷酰胺。不同小写字母表示不同处理间差异显著($P < 0.05$)。CK: no-radix pseudostellariae treatment and physiological saline injection; CTX: no-radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection; CTX+FY: newly planted radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection; CTX+SY: one-year monoculture radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection; CTX+BIO: microbial fertilizer amendment radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection; CTX+ST: standard radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection. Different lowercase letters mean significant differences among treatments at $P < 0.05$ level.

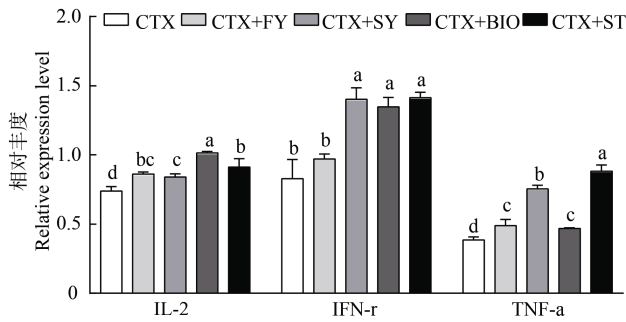


图 6 菌肥改良的太子参对小鼠肝脏免疫因子表达量的影响

Fig. 6 Effect of radix pseudostellariae under different treatments of application of microbial fertilizer on the expression of liver immune factors in mice

CTX: 未灌胃太子参和注射环磷酰胺; CTX+FY: 灌胃正茬太子参和注射环磷酰胺; CTX+SY: 灌胃重茬太子参和注射环磷酰胺; CTX+BIO: 灌胃菌肥改良太子参和注射环磷酰胺; CTX+ST: 灌胃标准品太子参和注射环磷酰胺。不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。CTX: no-radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection; CTX+FY: newly planted radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection; CTX+SY: one-year monoculture radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection; CTX+BIO: microbial fertilizer amendment radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection; CTX+ST: standard radix pseudostellariae treatment and cyclophosphamide injection. Different lowercase letters mean significant differences among treatments at $P < 0.05$ level.

本课题组前期研究也表明, 太子参根际土壤中致病尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)随着连作年限的增加呈上升趋势, 而有益菌假单胞菌属(*Pseudomonas*)在连作土壤中逐年减少^[5,22]。因此, 从根际调控的角度改变根际微环境, 改善根际土壤中微生物分布, 有助于减缓严重的连作障碍问题。在此背景下, 根际促生微生物菌剂和菌肥在现代农业生产上的应用也逐渐受到人们的青睐。本研究表明施用功能微生物菌肥能有效增加重茬土壤中有益菌丰度、减少致病菌丰度, 进而减缓了连作病害的发生。这与已有研究报道外源添加根际促生菌降低土壤中青枯菌(*Ralstonia*)和致病镰刀菌(*Fusarium*)的含量, 增加土壤中细菌丰度、减少真菌丰度结论一致^[23-24]。本研究经长期田间定位试验发现功能微生物菌肥能有效增加重茬太子参产量, 但每年的增产率却存在较大差异, 这可能是由于功能微生物菌肥在生产实践中的功效受到菌种种类和稳定性、微生物有效定植、发酵工艺、底物选择、发酵成本和安全性等问题的限制。因此, 微生物菌剂和菌肥在田间如何施肥以及如何配套农艺措施才能保证微生物有效抑制病害、稳定增产等问题还需长期的田间定位试验研究。

3.2 微生物菌肥改良对太子参主效成分的影响

太子参含有多种生物活性成分, 主要包括糖

类、环肽类、皂苷类、氨基酸类、挥发油类、微量元素、磷脂类、油脂类、脂肪酸类和甾醇类等^[25-27]。现代药理学研究表明, 太子参多糖具有降血脂、降血压, 增加免疫后血液中溶血素含量, 治疗糖尿病及其并发症等功效^[28]; 从太子参中提取和鉴定到的太子参环肽 B, 可以通过抑制酪氨酸酶的合成减少皮肤中的黑色素^[29]; 而太子参块根中还含有多多种氨基酸, 主要包括 18 种蛋白质氨基酸和非蛋白质氨基酸 γ -氨基丁酸^[26], 其中江苏产区太子参又以精氨酸、谷氨酸和天冬氨酸含量较高^[30]; 但不同产区太子参的主栽品种及其药用成分却存在着明显的差异^[20]。药用植物在栽培过程中, 连作会导致其代谢紊乱, 对药用植物中的主效成分有着重要影响, 进而影响药用植物的品质。然而, 连作对药用植物品质影响的研究相对较少, 已有研究^[21]表明地黄连作导致不同产区地黄水分含量、浸出物总量、总还原糖、灰分水平以及梓醇含量等药用品质显著下降, 而连作当归中挥发油成分中藁本内酯的相对含量均明显低于正茬^[31]。本研究也发现连作会显著减少太子参总多糖、环肽 B 和部分氨基酸(酪氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸)含量, 这也表明连作会严重干扰太子参的代谢过程, 影响其主效成分的累积。与此同时, 菌肥修复能显著增加重茬太子参总多糖和环肽 B 含量, 也能提高太子参中氨基酸含量, 这表明菌肥修复能有效改善重茬太子参品质。

3.3 微生物菌肥改良对太子参药理作用的影响

已有研究表明, 中草药具有补中益气、清热解毒、抗炎、抗感染等多种功能, 其中具有提高免疫能力的常见中草药有人参、党参、何首乌、黄芪、白术、柴胡等^[32]。太子参在我国临床用药已近数百年, 是药食两用常见中草药, 具有心肌保护、免疫调节等多种药理作用^[1]。机体中发挥免疫作用的器官主要由骨髓、胸腺、法氏囊(鸟类特有)、脾脏、淋巴结组成。免疫器官的正常发育是机体免疫功能变化的粗略指标^[33], 而血常规检测是临床化验检测最基础的手段之一, 可以通过半自动化或全自动化完成, 其中白细胞、红细胞、血小板是全血三大系统, 其含量在血常规检验中具有重要的意义。

魏庄等^[34]研究表明太子参辅助抗感染治疗, 可以提高患儿免疫球蛋白(IgG、IgA)水平, 从而提高患儿免疫力, 降低疾病复发率。严胜泽等^[35]研究发现, 太子参多糖可以显著提高免疫抑制小鼠模型回肠和

十二指肠的分泌型免疫球蛋白 A(SIgA)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-6(IL-6)等免疫因子水平。龚祝南等^[36]发现不同产地的太子参 75%醇提取物均可增加脾虚小鼠脾脏和胸腺指数,改善小鼠的脾虚症状。蔡旭滨等^[37]发现,太子参茎叶多糖可提高断奶仔猪血清抗氧化指标,改善机体抗氧化性能。结合太子参提高机体免疫力以及抗氧化能力的药理性质,本次试验通过构建环磷酰胺免疫抑制模型,围绕不同处理太子参对小鼠免疫功能和生理生化指标的影响,从而比较不同处理组太子参的药用效果。结果表明,不同处理太子参对提高小鼠细胞免疫水平和肝脏免疫因子的表达均有一定的效果,不同处理太子参均可提高小鼠的白细胞和红细胞含量,降低血小板含量,同时一定程度上恢复了脾脏指数。结合肝脏组织细胞因子表达量和小鼠血清抗氧化能力,正茬组和标准品组在提高小鼠免疫能力方面效果稳定且较好;重茬和菌肥改良太子参同样具有提高小鼠免疫能力的效果,且菌肥改良太子参在提高小鼠抗氧化能力方面较好。因此,同一品种太子参在不同田间管理方式下,其药用效果基本上是相似的,其药用效果差异可能来自个体差异和试验误差。动物实验表明,经菌肥改良后,各处理太子参依然保持良好的药用效果。

4 结论

本研究经连续 4 年的长期定位试验,表明功能微生物菌肥能有效缓解太子参严重的连作障碍问题,增加重茬太子参中多糖、环肽 B 和氨基酸含量,减少重茬根际土壤中致病真菌的丰度。药理试验结果表明,菌肥改良太子参的总抗氧化能力、超氧化物歧化酶含量和对小鼠肝脏组织中免疫因子 IL-2 mRNA 表达水平均显著高于正茬和标准品太子参,而微生物菌肥改良重茬太子参对小鼠脾脏指数、肝脏重量、附睾脂肪重量、全血白细胞、红细胞含量和免疫因子 TNF- α mRNA 表达水平的影响与正茬太子参无显著差异,且在血小板恢复上与标准品太子参一致。综上,功能微生物菌肥能改善重茬太子参产量和品质,且改良后太子参药理作用与正茬太子参一致。本研究可为其他药用植物连作障碍的消减策略研究以及改良后药用植物品质和药效的评估提供指导。

参考文献 References

- [1] 宋叶, 林东, 梅全喜, 等. 太子参化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国药师, 2019, 22(8): 1506–1510
- [2] SONG Y, LIN D, MEI Q X, et al. Study advances in chemical constituents and pharmacological activities of *Radix pseudostellariae*[J]. China Pharmacist, 2019, 22(8): 1506–1510
- [3] WU H M, WU L K, ZHU Q, et al. The role of organic acids on microbial deterioration in the *Radix pseudostellariae* rhizosphere under continuous monoculture regimes[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 3497
- [4] WU H M, WU L K, WANG J Y, et al. Mixed phenolic acids mediated proliferation of pathogens *Talaromyces helicus* and *Kosakonia sacchari* in continuously monocultured *Radix pseudostellariae* rhizosphere soil[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 335
- [5] ZHANG B, WESTON P A, GU L, et al. Identification of phytotoxic metabolites released from *Rehmannia glutinosa* suggest their importance in the formation of its replant problem[J]. Plant and Soil, 2019, 441(1/2): 439–454
- [6] WU H M, QIN X J, WANG J Y, et al. Rhizosphere responses to environmental conditions in *Radix pseudostellariae* under continuous monoculture regimes[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2019, 270/271: 19–31
- [7] LI X G, DING C F, HUA K, et al. Soil sickness of peanuts is attributable to modifications in soil microbes induced by peanut root exudates rather than to direct allelopathy[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 78: 149–159
- [8] LI X G, DING C F, ZHANG T L, et al. Fungal pathogen accumulation at the expense of plant-beneficial fungi as a consequence of consecutive peanut monoculturing[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 72: 11–18
- [9] WU H M, XU J J, WANG J Y, et al. Insights into the mechanism of proliferation on the special microbes mediated by phenolic acids in the *Radix pseudostellariae* rhizosphere under continuous monoculture regimes[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 659
- [10] WU L K, WANG J Y, HUANG W M, et al. Plant-microbe rhizosphere interactions mediated by *Rehmannia glutinosa* root exudates under consecutive monoculture[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 15871
- [11] 吴红森, 林文雄. 药用植物连作障碍研究评述和发展透视[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2020, 28(6): 775–793
- [12] WU H M, LIN W X. A commentary and development perspective on the consecutive monoculture problems of medicinal plants[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2020, 28(6): 775–793
- [13] 刘波, 陈倩倩, 王阶平, 等. 整合微生物组菌剂的提出、研发与应用[J]. 中国农业科学, 2019, 52(14): 2450–2467, 95
- [14] LIU B, CHEN Q Q, WANG J P, et al. Proposition, development and application of the integrated microbiome agent[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2019, 52(14): 2450–2467, 95
- [15] WU L K, YANG B, LI M L, et al. Modification of rhizosphere bacterial community structure and functional potentials to control *Pseudostellaria heterophylla* replant

[1] 宋叶, 林东, 梅全喜, 等. 太子参化学成分及药理作用研究

- disease[J]. *Plant Disease*, 2020, 104(1): 25–34
- [13] WU L K, CHEN J, WU H M, et al. Insights into the regulation of rhizosphere bacterial communities by application of bio-organic fertilizer in *Pseudostellaria heterophylla* monoculture regime[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1788
- [14] FIERER N, JACKSON J A, VILGALYS R, et al. Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(7): 4117–4120
- [15] LIEVENS B, BROUWER M, VANACHTER A C R C, et al. Quantitative assessment of phytopathogenic fungi in various substrates using a DNA macroarray[J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(11): 1698–1710
- [16] 付越. 紫薯花色苷对小鼠脾淋巴细胞免疫调节活性的研究[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2017
- FU Y. Study on the immunomodulatory activity of purple sweet potato anthocyanins to mice spleen lymphocytes[D]. Jinzhou: Jinzhou Medical University, 2017
- [17] 郝璐. 银杏叶提取物对小鼠体内免疫调节活性的研究[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2017
- HAO L. Study on the immunoregulatory activity of *Ginkgo biloba* extract in mice vivo and vitro[D]. Jinzhou: Jinzhou Medical University, 2017
- [18] 吴红森, 王晓鹏, 王磊, 等. 鱼腥草多糖的抑菌作用[J]. *中国野生植物资源*, 2012, 31(5): 24–26
- WU H M, WANG X P, WANG L, et al. The antibiotic activity of polysaccharide from *Houttuynia cordata* thunb[J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2012, 31(5): 24–26
- [19] 王媚, 宋建平, 韩乐, 等. 太子参环肽 B 含量分析及其动态研究[J]. *中药材*, 2010, 33(8): 1225–1227
- WANG M, SONG J P, HAN L, et al. Content analysis and dynamic research of heterophyllin B in the *R. pseudostellariae*[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2010, 33(8): 1225–1227
- [20] 杨昌贵, 江维克, 周涛, 等. 不同种源太子参中多糖和氨基酸含量的比较研究[J]. *中国现代中药*, 2014, 16(1): 32–37
- YANG C G, JIANG W K, ZHOU T, et al. Comparative analysis of polysaccharide and amino acid content in different provenances of *Pseudostellaria heterophylla* from Guizhou Province[J]. *Modern Chinese Medicine*, 2014, 16(1): 32–37
- [21] 李振方, 杨燕秋, 谢冬凤, 等. 连作条件下地黄药用品质及土壤微生态特性分析[J]. *中国生态农业学报*, 2012, 20(2): 217–224
- LI Z F, YANG Y Q, XIE D F, et al. Effects of continuous cropping on the quality of *Rehmannia glutinosa* L. and soil micro-ecology[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2012, 20(2): 217–224
- [22] CHEN J, WU L K, XIAO Z G, et al. Assessment of the diversity of *Pseudomonas* spp. and *Fusarium* spp. in *Radix pseudostellariae* rhizosphere under monoculture by combining DGGE and quantitative PCR[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1748 DOI:10.3389/fmicb.2017.01748
- [23] FU L, PENTON C R, RUAN Y Z, et al. Inducing the rhizosphere microbiome by biofertilizer application to suppress banana *Fusarium* wilt disease[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 104: 39–48
- [24] XIONG W, GUO S, JOUSSET A, et al. Bio-fertilizer application induces soil suppressiveness against *Fusarium* wilt disease by reshaping the soil microbiome[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 114: 238–247
- [25] 侯娜. 基于植物代谢组学技术的太子参品质评价研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2016
- HOU Y. Study on the quality evaluation of pseudostellariae radix by plant metabolomics[D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2016
- [26] 白少伟. 基于指纹图谱太子参成分的研究[D]. 福州: 福建中医药大学, 2014
- BAI S W. Research of components in radix pseudostellariae based on fingerprint[D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2014
- [27] 吴锦忠, 陈体强, 秦路平. 太子参挥发油化学成分研究 () [J]. *天然产物研究与开发*, 2008, 20(3): 458–460
- WU J Z, CHEN T Q, QIN L P. Chemical constituents of the essential oil from radix pseudostellariae (I) [J]. *Natural Product Research and Development*, 2008, 20(3): 458–460
- [28] HU J, PANG W S, CHEN J L, et al. Hypoglycemic effect of polysaccharides with different molecular weight of *Pseudostellaria heterophylla* [J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 13: 267
- [29] MORITA H, KAYASHITA T, TAKEYA K, et al. Conformational analysis of a tyrosinase inhibitory cyclic pentapeptide, pseudostellarin A, from *Pseudostellaria heterophylla* [J]. *Tetrahedron*, 1994, 50(44): 12599–12608
- [30] 李仕海, 刘训红. 江苏地产太子参中氨基酸及微量元素的分析[J]. *时珍国医国药*, 2001, 12(3): 199–200
- LI S H, LIU X H. Analysis of amino acid and trace element in radix pseudostellariae grown in Jiangsu Province[J]. *LiShiZhen Medicine and Materia Medica Research*, 2001, 12(3): 199–200
- [31] 张新慧, 张恩和, 王惠珍. 连作对当归药材挥发油含量的影响[J]. *天然产物研究与开发*, 2009, 21(2): 274–277
- ZHANG X H, ZHANG E H, WANG H Z. Effect of continuous cropping on the essential oils of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels[J]. *Natural Product Research and Development*, 2009, 21(2): 274–277
- [32] 刘春发, 胡建新, 屈新辉. 中药制剂对免疫功能促进作用的研究进展[J]. *中国医药导报*, 2013, 10(28): 27–33
- LIU C F, HU J X, QU X H. Research progress of Chinese medicine for promoting immune function[J]. *China Medical Herald*, 2013, 10(28): 27–33
- [33] 程志斌, 葛长荣, 韩剑众. 中草药有效成分对动物免疫功能的影响及其应用[J]. *动物科学与动物医学*, 2002, 19(1): 65–67
- CHENG Z B, GE C R, HAN J Z. Effects of active components of Chinese herbal medicine on animal immune function and its application[J]. *Animal Science and Veterinary Medi-*

- cine, 2002, 19(1): 65–67
- [34] 魏庄, 梁爱民, 纪文静. 复方太子参颗粒联合西医常规治疗用于儿童反复呼吸道感染的疗效及对患儿免疫功能的影响[J]. 中国医院用药评价与分析, 2020, 20(2): 169–170, 175
WEI Z, LIANG A M, JI W J. Efficacy of compound Taizishen granule combined with conventional western medicine in treatment of recurrent respiratory tract infection in children and its effect on immune function[J]. Evaluation and Analysis of Drug-Use in Hospitals of China, 2020, 20(2): 169–170, 175
- [35] 严胜泽, 马玉芳, 廖吕燕, 等. 太子参多糖对环磷酰胺所致肠道黏膜损伤小鼠 SIgA、IL-2、IL-6 含量的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2015, 42(5): 1187–1192
YAN S Z, MA Y F, LIAO L Y, et al. Effect of *Pseudostellaria* polysaccharides on SIgA, IL-2 and IL-6 contents of intestinal mucosal injured mice caused by cyclophosphamide[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2015, 42(5): 1187–1192
- [36] 龚祝南, 戴岳, 马辉, 等. 8 个不同产地太子参对脾虚及免疫功能的影响[J]. 中药材, 2001, 24(4): 281–282
GONG Z N, DAI Y, MA H, et al. The effect of radix pseudostellariae from 8 habitats on spleen-deficiency and immunologic function[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2001, 24(4): 281–282
- [37] 蔡旭滨, 陈凌锋, 檀新珠, 等. 太子参茎叶多糖对断奶仔猪生长性能和血清抗氧化指标、免疫指标及生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(12): 3867–3874
CAI X B, CHEN L F, TAN X Z, et al. Effects of *radix pseudostellariae* stem and leaf polysaccharide on growth performance, antioxidant indexes, immune indexes and biochemical indexes in serum of weaned piglets[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(12): 3867–3874