

不同附生基质金钗石斛根际微生物的比较研究

王 鹏,刘宇瑶,陈 林,陈鸿平,王 福,胡 媛*,刘友平*

成都中医药大学药学院 西南特色中药资源国家重点实验室,成都 611137

摘要:对同一栽培环境下不同附生基质金钗石斛根际微生物的多样性和差异性进行了研究,以明确基质对其根际微生物的影响。运用高通量测序技术对石质和木质两类5种附生基质的金钗石斛根际微生物进行16S和ITS测序,结合OTU分析、Alpha多样性分析和主成分分析对金钗石斛根际微生物的多样性和差异性进行比较研究。共鉴定了细菌56个门,112个纲,275个目,377个科,621个属;真菌13个门,47个纲,123个目,273个科,503个属。石质基质金钗石斛真菌优势菌属为unidentified_Cantharellales_sp菌属,细菌优势菌属为鞘氨醇单胞菌属、粪杆菌属、unidentified_Chloroplast菌属;木质基质金钗石斛真菌优势菌属为unidentified_Cantharellales_sp菌属、粉褶菌属,细菌优势菌属为粪杆菌属。石质基质较木质基质真菌物种相对丰度差异较大,优势菌属种类不同。功能预测分析表明,附生基质与金钗石斛根际微生物群落功能密切相关。本研究为金钗石斛“基质-根际微生物-菌根真菌”的相关性及其生长发育、次生代谢产物积累规律提供了实验依据,为石斛“生石上者胜”、金钗石斛栽培基质的合理选择提供依据。

关键词:金钗石斛;根际微生物;附生基质;优势菌

中图分类号:R932

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023)11-1939-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.11.012

Comparative study on rhizosphere microorganisms of *Dendrobium nobile* with different epiphytic substrates

WANG Peng, LIU Yu-yao, CHEN Lin, CHEN Hong-ping, WANG Fu, HU Yuan*, LIU You-ping*

State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, School of Pharmacy,
Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: To study the diversity and difference of rhizosphere microorganisms of *Dendrobium nobile* with different epiphytic substrates under the same cultivation environment, in order to clarify the influence of substrates on its rhizosphere microorganisms. The 16S and ITS sequencing of rhizosphere microorganisms of *D. nobile* in five epiphytic substrates, including stone and wood, using high flux sequencing technology. The diversity and difference of *D. nobile* rhizosphere microorganisms were compared by combining OTU analysis, Alpha diversity analysis and principal component analysis. A total of 56 phyla, 112 classes, 275 orders, 377 families, and 621 genera of bacteria have been identified; Fungi: 13 phyla, 47 classes, 123 orders, 273 families, 503 species. The dominant genus of *D. nobile* fungi in the stone matrix is unidentified_Cantharellales_Sp bacteria; the dominant bacteria are *Sphingomonas*, *Fecal bacilli*, and unidentified_Chloroplast; The dominant fungus genus of *D. nobile* in wood matrix is unidentified_Cantharellales_Sp bacteria, *Entoloma*, the dominant bacteria is *Faecalibacterium*. The relative abundance of *D. nobile* in the stone stroma was significantly different from that in the wood stroma, and the dominant genres were different. The function prediction analysis showed that the epiphytic matrix was closely related to the function of *D. nobile* rhizosphere microbial community. The difference of rhizosphere microorganisms in different epiphytic substrates of *D. nobile* may affect the composition of its mycorrhizal fungi, thereby affecting the formation of quality differences in *D. nobile*. This study provides an experimental basis for the correlation of "substrate-rhizosphere microorganisms-mycorrhizal fungi" of *D. nobile*, its growth and development, and the accumulation of secondary metabolites, as well as the basis for "the *Dendrobium* grown on the stone has the superior quality" of *D. nobile* and the reasonable selection of cultivation substrate of *D. nobile*.

Key words: *Dendrobium nobile*; rhizosphere microorganisms; epiphytic matrix; dominant genus

收稿日期:2023-02-08

接受日期:2023-04-13

基金项目:国家自然科学基金(81973436)

*通信作者 E-mail:huyuan@cdutcm.edu.cn, youpingliu@cdutcm.edu.cn

石斛始载于《神农本草经》^[1], 药用历史悠久。金钗石斛(*Dendrobium nobile* Lindl.) 始载于《本草衍义》^[2], 现今使用的金钗石斛为《本草纲目》^[3] 所载“石斛丛生石上。其根纠结甚繁, 干则白软。其茎叶生皆青色, 干则黄色, 开红花……石斛短而中实, 木斛长而中虚, 甚易分别。处处有之, 以蜀中者为胜”。为《中国药典》2020 年版石斛来源之一, 以新鲜或干燥茎入药, 具益胃生津, 滋阴清热之功效。《新修本草》^[4] 载:“(石斛)生石上者为胜”。《本草图经》^[5] 载“亦有生栎木上者, 名木斛, 不堪用”。可见历代本草所载石斛的附生基质主要有石质基质和木质基质两种, 且以茎粗壮、节短、石上生者为质优。

金钗石斛主要含生物碱类、多糖类、酚类、黄酮类等化合物^[6-8], 具有抗氧化、抗肿瘤、抗白内障等药理作用^[6,9,10]。金钗石斛在自然条件下繁殖能力低, 生长缓慢及野生石斛的过度开发破坏, 其自然资源几乎枯竭。近年来随着人工栽培技术推广, 大棚栽培(附生基质为段木、粗沙石、粗木屑等)和林下仿野生栽培(附生基质为林下石块、树木)^[11] 已成为石斛药材主要栽培模式, 对不同附生基质金钗石斛研究表明附石品质优于附树^[12,13]。本课题组报道了两种附生基质金钗石斛代谢产物及抗氧化活性差异^[14], 附石栽培金钗石斛代谢产物数量和相对含量显著高于附木栽培; 附石栽培金钗石斛抗氧化能力高于附木栽培。但由于附生基质与药材品质相关性研究不深入, 且木质基质金钗石斛花、茎等外观性状较好, 观赏性强, 致使大量“木斛”流通于市场, 影响临床疗效发挥。

微生物与中药栽培、品质等密切相关^[15]。根际微生物是定殖于植物根部周围的微生物群落, 是植物与环境进行物质交换的重要媒介^[16], 根际微生物的多样性与植物生长环境存在一定相关性。如北京

无喙兰所在种群的乔木多样性与其根际微生物多样性存在一定的相关性^[17]。对毛唇芋兰根际和根内真菌的研究发现, 不同部位及不同区域之间真菌组成、结构及相对丰度存在差异, 与生长环境如湿度、营养条件等密切相关^[18]。已有研究表明, 兰科根系微生物(根际微生物和菌根真菌)与兰科植物生长密切相关(如种子萌发, 成分积累、抗病和抗逆性等)^[19,20]。对霍山石斛、铁皮石斛、金钗石斛等中药石斛品种的菌根真菌研究发现^[21-23], 其根中广泛分布子囊菌门, 担子菌门真菌等; 不同石斛属植物菌根真菌的组成与宿主栽培环境存在一定的相关性^[24]。对铁皮石斛、金钗石斛等石斛属药用植物的内生细菌研究表明^[20,25], 内生细菌的数量和种类因生境而异, 与菌根真菌的定植程度等密切相关。但尚未见到不同附生基质金钗石斛根际微生物多样性和差异性比较研究的报道, 亦未见金钗石斛根际微生物与其菌根真菌相关性的研究报道。

本文运用高通量测序技术, 对 2 类(石质和木质)5 种附生基质金钗石斛的根际微生物多样性和差异性进行了比较研究, 以明确不同附生基质金钗石斛根际微生物的分布特点, 为金钗石斛为基质-根际微生物-菌根真菌的相关性及其生长发育、次生代谢产物积累规律研究奠定基础, 为石斛“生石上者胜”、金钗石斛附生基质的合理选择提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验以 2 年生金钗石斛的根际微生物为研究对象(选择不同附生基质上生长正常且无病害的植株(见图 1), 挖取根系, 置于无菌管中, 液氮速冻后转移至-20 °C 冰箱保存)。所有样品均采集于贵州省遵义市赤水市天台镇赤水信天斛满堂有限公司实验大棚, 采集时间为 2021 年 4 月 15 日。方法为 Z



图 1 不同栽培基质金钗石斛

Fig. 1 *D. nobile* cultivated in different substrates

注:左:丹霞石块栽培;右:段木栽培。Note:Left:Danxia stone cultivation;Right:Segment wood cultivation

字形采样,样品经成都中医药大学中药资源与鉴定系严铸云教授鉴定为金钗石斛(*Dendrobium nobile*

Lindl.),样品基本信息见表1。

表1 样品信息表

Table 1 The table of sample information

基质 Substrate	编号 Identifier	产地 Producing area	采集时间 Collection time
丹霞石块 Danxia stone block	DXSK	贵州赤水	2021.04.15
粗沙石 Coarse sandstone	CSS	贵州赤水	2021.04.15
树皮块 Bark block	SPK	贵州赤水	2021.04.15
段木 A piece of wood	DMZP	贵州赤水	2021.04.15
锯木屑 Powder sawdust	JMX	贵州赤水	2021.04.15

注:金钗石斛栽培用锯木屑为腐化的粉末状木屑。

Note:The sawdust used for cultivation of *D. nobile* is decomposed powder sawdust.

1.2 实验仪器与试剂

Bio-rad T100 梯度 PCR 仪(美国 BIO-Rad 公司);NovaSeq 6000(美国 Illumina 公司);CTAB, Nobilexder(北京诺博莱德科技有限公司);Phusion[®] High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer (M0531S, New England Biolabs, 美国);产物纯化试剂盒 Universal DNA(天根生化科技有限公司);建库试剂盒 NEB Next[®] Ultra DNA Library Prep Kit(北京 NEB 公司)。

1.3 实验方法

使用无菌棉签擦拭样品表面,剪下棉签部分,采用 CTAB 法提取样品总 DNA,脂糖凝胶电泳检测提取出的 DNA 纯度和浓度(无准确数值),随后取适量 DNA 于离心管中,用无菌水稀释至 1 ng/ μ L,用于 PCR 扩增并对产物浓度进行等量混样和纯化。使用文库构建试剂盒构建文库进行安捷伦 5400 检测和 Q-PCR 定量,文库合格后,使用 NovaSeq 6000 进行上机测序。

1.4 数据处理

对 Illumina NovaSeq 测序得到的下机数据(Raw PE)进行拼接和质控,得到 Clean Tags,再进行嵌合体过滤,得到用于分析的有效数据(Effective Tags)。对所有样本的 Effective Tags,以 97% 的一致性(identity)进行 OTUs(Operational Taxonomic Units)聚类,然后对 OTUs 进行物种注释;并对 OTUs 进行物种相对丰富、Alpha Diversity 以及主成分分析。

2 结果与分析

2.1 OTU 分析结果

为研究各样本的物种组成,对 Illumina NovaSeq 测序得到的下机数据(Raw PE)进行拼接和质控,得到 Clean Tags,再进行嵌合体过滤,得到可用于后续分析的有效数据(Effective Tags)。对所有样本的 Effective Tags,以 97% 的一致性(identity)进行 OTU (operational taxonomic units)聚类,然后对 OTUs 的序列进行物种注释。不同附生基质金钗石斛根际微生物“属”水平物种分布见图 2、图 3。

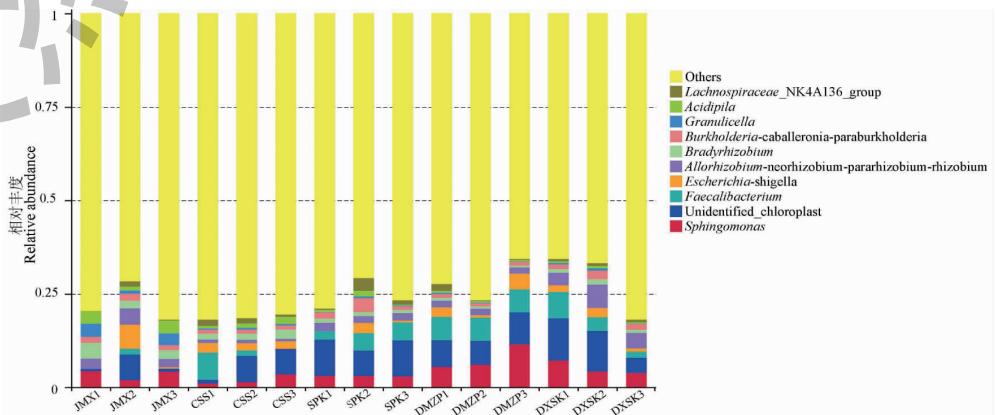


图2 细菌属水平物种分布图

Fig. 2 Distribution map of horizontal genus of bacteria

由图 2 可知,在属水平,不同附生基质金钗石斛细菌种类相同,总体丰度前十的细菌属有鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、粪杆菌属 (*Faecalibacterium*)、埃希菌属 (*Escherichia*)、根瘤菌属 (*Rhizobium*)、蔓生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*)、变形菌属 (*Proteobacteria*)、颗粒菌属 (*Granulicella*)、毛螺菌属 (*Lachnospira*)、*Acidipila* 菌属以及 *unidentified_Chloroplast* 菌属。其中,粪大肠杆菌在 JMK 中丰度最

低,仅占 0.56%,在 DMZP 中丰富最高,达到 6.2%。CSS 中前十细菌属的相对丰度占比最低,DMZP 与 DXSK 中前十细菌属的相对丰度占比相近(DMZP: 28.7%;DXSK:28.8%)。除 JMK 组外,其余各组均有 1 至 3 个显著的优势菌属;与其余 4 组相比,CSS 优势菌属并未显示出突出的优势。此外,各组内前十细菌属的相对丰度占比亦存在差异,可能为样本采集误差。

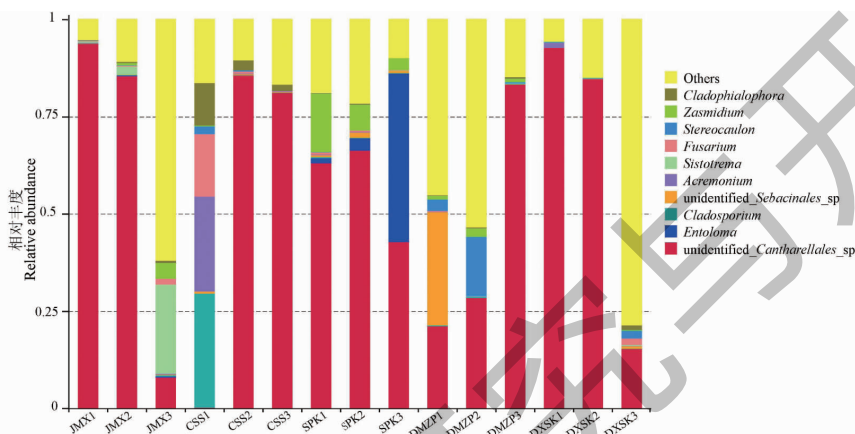


图 3 真菌属水平物种分布图

Fig. 3 Distribution map of horizontal genus of bacteria fungi

注:一种颜色代表一个物种,色块长度表示物种所占相对丰度比例;为使视图效果最佳,只显示丰度水平前 10 的物种,其他物种合并为 Others 在图中显示,Unclassified 前缀表示未分类注释的物种。Note: A color represents a species, and the color block length represents the relative abundance ratio of the species; For the best view effect, only the species with the top 10 abundance levels are displayed, while other species are combined as Others and shown in the figure. The Unclassified prefix indicates species that are not classified and annotated.

由图 3 可知,在属水平,不同附生基质金钗石斛的真菌种类存在差异,总体相对丰度前十的真菌属为粉褶菌属 (*Entoloma*)、枝孢属 (*Cladosporium*)、枝顶孢属 (*Acremonium*)、镰刀菌属 (*Fusarium*)、子囊菌属 (*Ascomycetes*),以及 *unidentified_Cantharellales_sp* 菌属、*unidentified_Sebacinales_sp* 菌属、*Sistotrema* 菌属、*Stereocaulon* 菌属、*Zasmidium* 菌属。其中, *unidentified_Cantharellales_sp* 菌属(担子菌门)在五种不同栽培基质上相对丰度占比均是最高,为最显著的优势菌属。除 DXSK、CSS 组外,其余三组均有除 *unidentified_Cantharellales_sp* 菌属的 1 至 2 个优势菌属;DXSK、CSS 组除 *unidentified_Cantharellales_sp* 菌属外各菌属相对丰度占比较平衡。SPK 组中粉褶菌属相对丰度占比达 15.9%,其余四组相对丰度占比极低。DXSK 组中, *unidentified_Cantharellales_sp* 菌属(担子菌门)相对丰度占比达 64.4%,较其余菌属为极显著的优势菌属(总相对丰度占比为

2.7%)。各组内前十真菌属的相对丰度占比亦存在差异,考虑个体差异所致。

2.2 Alpha 多样性分析结果

五组样品的 Alpha 多样性 (Alpha diversity) 指数如表 2 所示。Alpha 多样性分析可以反映样本内微生物群落的丰富度和多样性。由表 2 和表 3 可知,五组样品的真菌与细菌的 OUT 覆盖率均在 0.992 以上,表明本次测序结果能较准确地反映样本中微生物的真实情况。以 Chao1 指数评估物种丰富度,各组物种丰富度大小顺序为:DXSK > SPK > DMZP > CSS > JMX (细菌); SPK > JMX > CSS > DMZP > DXSK (真菌)。以 ACE 指数评价物种丰富度,各组物种丰富度大小顺序为:DXSK > SPK > DMZP > CSS > JMX (细菌); JMX > SPK > DMZP > CSS > DXSK (真菌)。综合上述两个指标,细菌物种类型丰富度在 DXSK、SPK、DMZP 基质中较高;真菌物种类型丰富度在 JMX 和 SPK 基质中较高;DXSK 基质中细菌

物种丰富度最高而真菌物种丰富度最低。

以 Simpson 指数为指标评价物种多样性,各组的多样性大小顺序为:CSS > SPK > DXSK > DMZP = JMX(细菌);DMZP > SPK > CSS > JMX > DXSK(真菌)。以 Shannon 指数为指标,各组的多样性大小顺序为:SPK > CSS > DXSK > DMZP > JMX(细菌);DMZP > SPK > JMX > CSS > DXSK(真菌)。综合

Simpson 和 Shannon 两个指标,SPK、CSS 细菌多样性较大;DMZP、SPK 真菌多样性较大。DXSK 基质真菌物种多样性较差,即物种均一性较差,说明 DXSK 基质上优势菌群更为突出。不同基质细菌物种多样性较好,物种均一性较好,说明不同附生基质金钗石斛根系细菌趋向一种相互制约平衡的状态,这与真菌形成显著优势菌群的情况存在差异。

表 2 细菌 Alpha 多样性指数表

Table 2 The table of the bacterial Alpha diversity index

组别 Group	OTU	Shannon	Simpson	Chao1	ACE	覆盖范围 Coverage
JMX	1 371	7.772	0.985	1 474.046	1 485.903	0.996
CSS	1 917	8.523	0.990	2 078.466	2 106.064	0.994
SPK	2 084	8.616	0.989	2 254.984	2 293.445	0.993
DMZP	2 015	8.153	0.985	2 222.758	2 259.667	0.992
DXSK	2 197	8.461	0.987	2 402.197	2 461.080	0.992

表 3 真菌 Alpha 多样性指数表

Table 3 The table of the fungi Alpha diversity index

组别 Group	OTU	Shannon	Simpson	Chao1	ACE	覆盖范围 Coverage
JMX	441	2.309	0.432	494.838	510.127	0.998
CSS	328	2.150	0.478	375.278	378.913	0.999
SPK	467	2.473	0.583	497.070	508.813	0.999
DMZP	345	3.081	0.671	372.000	382.219	0.999
DXSK	232	1.811	0.417	254.882	260.351	0.999

2.3 主成分分析结果

应用主成分分析(principal component analysis, PCA)方法基于不同样品 OTU 水平的 PCA 分析结果见图 4。由细菌的主成分分析图(见图 4A)可知,两大主成分之和大于 30%,PC1 和 PC2 分别解释不同细菌群落 16.35% 和 14.25% 的信息,占比相似。基于两大主成分的结果,不同附生基质金钗石斛样品可分为四类:DMZP 为一类,SPK 为一类,CSS 和 DXSK 为一类,JMX 为一类。

由真菌的主成分分析图(见图 4B)可知,两大主成分之和大于 33%,PC1 和 PC2 分别解释不同真菌 20.21% 和 13.25% 的信息。根据分析结果,可将不同样品分为 3 组:CSS 为一组,JMX 为一组,DXSK、SPK、DMZP 为一组。

2.4 细菌群落分布特征

通过 16S rRNA 高通量测序得到序列数据,运用 OUT 分析、Alpha 多样性分析与主成分分析可知细菌在不同附生基质中的分布规律。基于 OUTs 分析结果,共得到 56 个门,112 个纲,275 个目,377 个科,621 个属。在门水平,主要为变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidota)、放线菌门(Actinobacteriota),占金钗石斛根系细菌 50% 以上。在属水平,细菌优势菌属为鞘氨醇单胞菌属、粪杆菌属,分别为 DXSK、DMZP 与 SPK、DXSK、DMZP 的优势菌属;以及各组相对占比较高的 unidentified_Chloroplast 菌属。由于优势菌属的制约,导致 DXSK、DMZP、SPK 中虽物种丰富度较高,但均一性相对较差。

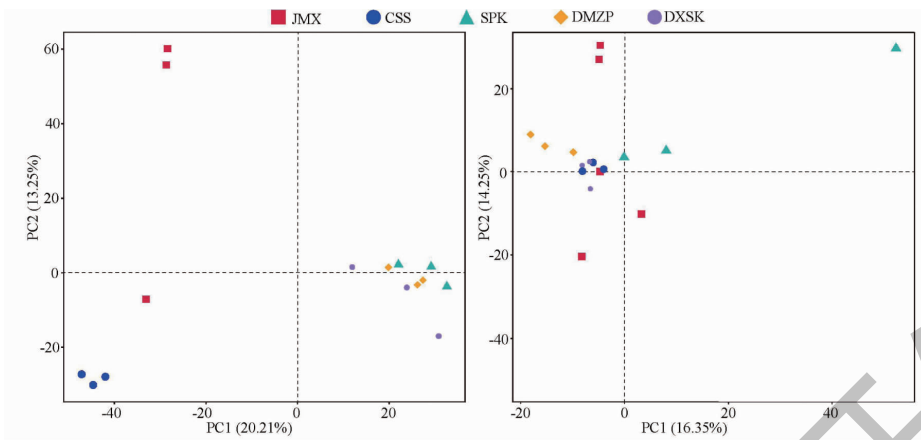


图4 细菌和真菌的主成分分析图

Fig. 4 The PCA plot of bacteria and fungi

注: 每种颜色代表一组样品, 点代表各个样品。横、纵坐标分别表示第一主成分、第二主成分, 百分比表示对样品差异的贡献值; 左: 细菌; 右: 真菌。Note: Each color represents a set of samples, and dots represent each sample. The horizontal and vertical coordinates represent the first principal component and the second principal component, respectively, and the percentage represents the contribution value to the sample difference; Left: Bacteria; Right: Fungi.

2.5 真菌群落分布特征

通过 ITS 高通量测序得到序列数据, 结合 OUT 分析、Alpha 多样性分析与主成分分析结果, 共得到 13 个门, 47 个纲, 123 个目, 273 个科, 503 个属。在门水平, 主要为担子菌门 (Basidiomycota) 和子囊菌门 (Ascomycota), 相对丰度占比 70% 以上。在属水平, 各组 *unidentified_Cantharellales_sp* 菌属相对占比较高; 粉褶菌属、枝孢菌属分别为 SPK、CSS 中的优势菌属。 *unidentified_Cantharellales_sp* 菌属为 DXSK 中的绝对优势菌属, 这可能与 DXSK 为石质基质, 真菌生长所需的营养含量少, 生存条件恶劣导

致抗逆性强的真菌相对丰度逐渐增加, 成为绝对的优势菌属。优势菌属的制约, 导致真菌物种均一性较差, 与细菌物种趋向一种相互制约平衡的状态存在差异。

2.6 细菌及真菌功能预测分析

使用 FAPROTAX 和 FunGuild 软件分别推测细菌和真菌的功能。并对 5 组不同附生基质金钗石斛样本中丰度排名前 25 的子功能注释构建聚类热图, 结果见图 5。5 组样本功能注释结果类似, 但相对丰度存在差异。细菌方面主要为化学异养型、参与硝酸盐呼吸、亚硝酸盐呼吸等; 真菌方面主要为动植物

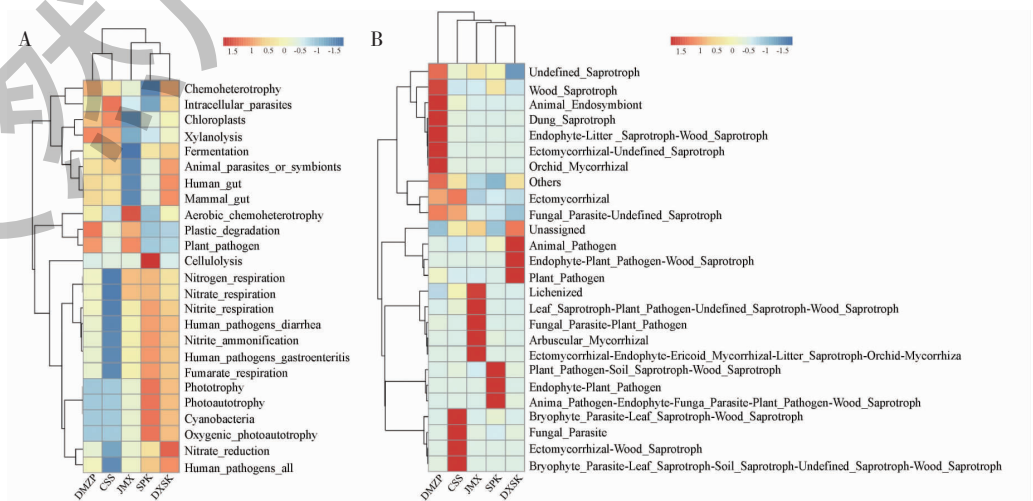


图5 细菌 (A) 和真菌 (B) 的功能预测分析图

Fig. 5 Functional prediction analysis diagram of bacteria (A) and fungi (B)

病原体、腐生生物和寄生或共生真菌等。在细菌方面木质基质(SPK、JMX、DMZP)中,化学异养型及参与硝酸盐呼吸、亚硝酸盐呼吸的相对丰度较高;而在石质基质(CSS、DXSK)中光能自养型的相对丰度较高。在真菌方面,木质基质中腐生生物、动植物病原体的相对丰度较高,而石质基质中的寄生或共生真菌相对丰度较高。

3 讨论与结论

本研究发现,不同附生基质根际微生物群落组成不同,说明附生基质是影响金钗石斛根际微生物物种多样性和相对丰度的因素。在门水平,优势细菌为变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门;优势真菌主要为担子菌门和子囊菌门,这与李和刘等^[21,22]菌根真菌的研究结果一致,说明担子菌门和子囊菌门与石斛属植物生长发育密切相关。在属水平,石质基质真菌优势菌属为 *unidentified_Cantharellales_sp* 菌属,细菌优势菌属为鞘氨醇单胞菌属、粪杆菌属、*unidentified_Chloroplast* 菌属;木质基质真菌优势菌属为 *unidentified_Cantha-rellales_sp* 菌属、粉褶菌属,细菌优势菌属为粪杆菌属。

本研究首次报道金钗石斛根际真菌在石质基质(CSS、DXSK)上优势菌属更为明显,这可能与环境胁迫有关。附生基质是附生植物根系吸收营养和水分的重要介质,其生长发育受附生基质理化性质如营养条件、水分、pH 等影响^[26];石质基质较木质基质在营养条件、水分等更为恶劣,导致石质基质上抗逆性强或能光能自养或能与寄主共生的菌属相对丰度逐渐增加,形成优势菌属。植物生长环境与微生物组成相关,如在干旱环境下的沙漠玫瑰、醉蝶花、芦荟等 3 种植物的根际微生物组成表现出高度的一致性^[27],与本文研究结果相似;对水稻的根际、根表面和根内部的微生物组研究发现在根际未定殖的微生物在根内部也未定殖^[28];表明根际微生物组成会影响植物内生菌的种类和丰度。不同附生基质根际真菌差异可能会影响其菌根真菌的形成,进而影响金钗石斛生长发育、次生代谢产物的积累,导致金钗石斛品质差异,但三者之间的关联性有待进一步研究。功能预测分析结果表明,不同附生基质细菌和真菌功能基因相对丰度存在差异,木质基质上富集了更多对植物有害的致病及寄生功能基因,石质基质则富集了更多光能自养和共生功能基因。表明附生基质是影响金钗石斛根际微生物群落功能的关键因素。研究结果表明,附生基质对根际真菌的影响

更为明显。

本研究基于高通量测序技术,比较了不同附生基质的金钗石斛根际微生物的组成、分布等特点,从菌根真菌以外的一个方面来研究不同附生基质金钗石斛品质存在差异的原因,证明了根际真菌在不同附生基质上相对丰度存在差异,填补了金钗石斛根际微生物研究的空白,为本草所载石斛“生石上者胜”、进一步研究根际真菌与菌根真菌的关联性奠定基础,为金钗石斛品质差异形成机制研究以及实际生产中附生基质的合理选择提供依据。

参考文献

- 1 Anonymous. Sheng Nong's Herbal Classic (神农本草经) [M]. Beijing: Academy Press, 2008: 45.
- 2 Kou ZS. Amplification on Materia Medica (本草衍义) [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 1990: 48.
- 3 Li SZ. Compendium of Materia Medica (本草纲目) [M]. Beijing: Huaxia Publishing House, 2008: 937-938.
- 4 Su J. Newly Revised Materia Medica (新修本草) [M]. Hefei: Anhui Science and Technology Publishing House, 1981: 162-263.
- 5 Su S. Atlas of Meteria Medica (本草图经) [M]. Hefei: Anhui Science and Technology Publishing House, 1994: 93-94.
- 6 Ling HC, Gu RH, Qin LK. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Dendrobium nobile* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2021, 52: 7693-7708.
- 7 Li ZJ, Wang YC, Han B, et al. Research progress on alkaloid constituents of *Dendrobium* plants [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2019, 50: 3246-3254.
- 8 Dai GN, Shang MY, Wang JL, et al. Research progress in extraction, isolation, structural analysis, and biological activity of polysaccharide from *Dendrobium nobile* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2022, 53: 3821-3830.
- 9 Bai JL, Wen SX. Experimental study on anti cataract effect of *Dendrobium nobile* extract *in vitro* [J]. Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med (云南中医药杂志), 2009, 30: 57-59.
- 10 Xie MM, X L, Yang L, et al. Isolation and purification of polysaccharides from *Dendrobium nobile* and their anti aging activity [J]. Mod Chin Med (中国现代中药), 2018, 20: 1489-1493.
- 11 Tan DP, He YQ. Overview of the development of artificial cultivation of *Dendrobium* medicinal materials [J]. J Zunyi Med Univ (遵义医科大学学报), 2020, 43: 791-795.
- 12 Shi XL. Chemical constituents and immunomodulatory activities of three medicinal plants, including *Dendrobium nobile*

- [D]. Kunming: Yunnan University(云南大学), 2021.
- 13 Zhong K, Yang TT, Luo ZQ, et al. Study on the quality of *Dendrobium nobile* under different cultivation methods[J]. Anhui Agric Sci(安徽农业科学), 2022, 50:180-182.
- 14 Hu Y, Liu YY, Yi D, et al. Comparative study on metabolites and antioxidant activity of *Dendrobium nobile* with different epiphytic substrates[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2022, 38:116-121.
- 15 Zhang GZ, Chen SL, Dong LL. Microbiomics of traditional chinese medicine and its research strategies[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2023, 48:596-607.
- 16 Liu Q, Cheng L, Nian H, et al. Linking plant functional genes to rhizosphere microbes: a review[J]. Plant Biotechnol J, 2022. DOI:10.1111/pbi.13950.
- 17 Tong L, Lei FW, Wu MY, et al. Study on microbial diversity in the rhizosphere soil of *Holopogon pekinensis*, a saprophytic orchid plant endemic to north China[J]. Plant Sci J(植物科学学报), 2022, 40:324-333.
- 18 Tan XM, Yang XF, Sun XP, et al. Analysis of fungal communities in roots and root-associated soil of *Nervilia fordii* from karst areas of Guangxi[J]. Guihaia(广西植物), 2023, 43:405-414.
- 19 Xie TX, Zheng DQ, Wang Y, et al. Research progress on the interaction between orchid plants and symbiotic fungi [J/OL]. Mol Plant Breed(分子植物育种):1-9[2023-04-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210716.1720.016.html>.
- 20 Wu QS, Lei X, Lei YM, et al. Composition and diversity analysis of endophytic bacteria in *Dendrobium nobile*[J]. J Plant Resour Environ(植物资源与环境学报), 2018, 27:79-90.
- 21 Li JH, Zhang LH, Zhong J, et al. Effects of different mycorrhizal fungi on the growth and rooting of *Dendrobium candidum* hole seedlings[J]. Acta Agric Bor Sin(华北农学报), 2022, 37:172-S177.
- 22 Liu L, Chen ST, Zhang T, et al. Diversity and difference of mycorrhizal fungi in *Dendrobium huoshanense* [J]. Nat Prot Res Dev(天然产物研究与开发) 2021, 33:1894-1900.
- 23 Liu YM, Huang YL, Li T, et al. Comparison of biodiversity of endophytic fungi from wild and cultivated *Dendrobium candidum* and screening of active anthracnose resistant strains [J]. J South China Agric Univ(华南农业大学学报), 2020, 41:47-55.
- 24 Ma XT. Study on the correlation between the geographical distribution of mycorrhizal fungi and *Dendrobium* medicinal plants[D]. Beijing: Peking Union Medical College(北京协和医学院), 2015.
- 25 Wang MY, Tao Q, Li KY, et al. Analysis on the community structure of endophytic bacteria in *Dendrobium candidum* [J]. J West China For Sci(西部林业科学), 2014, 43:106-111.
- 26 Xu LL, Wang H, Gao PP, et al. Effects of environmental stress on plant root morphology[J]. Anhui Agric Sci(安徽农业科学), 2020, 48:16-19.
- 27 Khan A L, Asaf S, Abed R, et al. Rhizosphere microbiome of arid land medicinal plants and extra cellular enzymes contribute to their abundance[J]. Microorganisms, 2020, 8:213.
- 28 Edwards J, Johnson C, Santos-Medellin C, et al. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112:E911-E920.