

·道地药材“优形优质”的调控研究专题·

人参的“优形”及其遗传与环境互作机制研究进展

焦红红, 黄璐琦, 袁媛*

(中国中医科学院 中药资源中心 道地药材国家重点实验室培育基地, 北京 100700)

[摘要] 道地药材是在特定生态环境地域内所产的药材, 表现为药材具有“优形优质”特征, 由于野山参具有公认的、独特的品相, 被作为道地药材“优形”研究的范式材料。该文系统总结了人参“优形”特征及影响其形成的遗传因素、环境因素研究进展, 以期为人参药材品质提升、中药道地性科学内涵等相关研究提供参考。野山参以“横灵体、腿八字分开、五形俱全者”为优, 栽培人参野生人参的根形明显不同, 但二者群体遗传多样性无显著差异。根形变化与细胞壁修饰、植物激素转导相关基因转录调控、DNA 甲基化调控、miRNA 调控有关。人参根际土壤微生物镰刀菌属 *Fusarium*、交链孢属 *Alternaria* 及人参内生菌钩状木霉 *Trichoderma hamatum*、鞭毛藻丛赤壳菌 *Nectria haematococca* 等可能是影响人参生长发育的关键微生物。种植模式、品种、根系分泌物可能是维持人参根际微生物群落稳定的主要因素。人参皂苷也可能参与调控人参“优形”的形成。但目前已有研究多聚焦于局部或者单一的因素对道地药材形成的影响, 忽略复杂的生态系统之间的关系, 导致研究结果所揭示的中药道地性形成规律存在一定的局限性。建议未来通过建立遗传因素、环境因素研究的实验模型并构建突变体材料, 研究各因素之间的内在联系, 为揭示道地药材形成机制提供科学支撑。

[关键词] 人参; 优形; 遗传多样性; 表观遗传; 根际; 分泌物; 人参皂苷

Excellent appearance of Dao-di Ginseng Radix et Rhizoma and interaction mechanism between genetic and environmental factors: a review

JIAO Hong-hong, HUANG Lu-qi, YUAN Yuan*

(State Key Laboratory Breeding Base of Dao-di Herbs, National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] Dao-di medicinal materials produced in a specific environment always present excellent appearance and high quality. Because of the unique appearance, Ginseng Radix et Rhizoma is regarded as a paradigm in the research on excellent appearance. This paper systematically summarized the research progress in the genetic and environmental factors influencing the formation of the excellent appearance of Ginseng Radix et Rhizoma, aiming to provide reference for the quality improvement of Ginseng Radix et Rhizoma and the scientific connotation of Dao-di Chinese medicinal materials. The Ginseng Radix et Rhizoma with high quality generally has a robust and long rhizome, a large angle between branch roots, and the simultaneous presence of a robust basal part of rhizome, adventitious roots, rhizome bark with circular wrinkles, and fibrous roots with pearl points. The cultivated and wild Ginseng Radix et Rhizoma have significant differences in the appearance and no significant difference in the population genetic diversity. The differences in the appearance are associated with cell wall modification, transcriptional regulation of genes involved in plant hormone transduction, DNA methylation, and miRNA regulation. The rhizosphere soil microorganisms including *Fusarium* and *Alternaria*, as well as the endophytes *Trichoderma hamatum* and *Nectria haematococca*, may be the key microorganisms affecting the growth and development of *Panax ginseng*. Cultivation mode, variety, and root exudates may be the main factors influencing the stability of rhizosphere microbial community. Ginsenosides may be involved in the formation of the excellent appearance. However, most of the available studies focus on the partial or single factors in the formation of Dao-di medicinal materials, ignoring the relationship within the complex ecosystems,

[收稿日期] 2023-03-26

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82173926, 81891013); 中国中医科学院科技创新工程重大攻关项目(CI2021A041, CI2021B014); 中央本级重大增减支项目(2060302); 国家中医药管理局中医药创新团队及人才支持计划项目(ZYYCXTD-D-202005); 国家中医药管理局青年岐黄学者项目

[通信作者] *袁媛, 研究员, 博士生导师, 主要从事中药鉴定与分子生药学研究, Tel: (010) 64087649, E-mail: y_yuan0732@163.com

[作者简介] 焦红红, 博士研究生, 主要从事分子生药学研究, E-mail: jhh211411@163.com

which limits the research on the formation mechanism of Dao-di medicinal materials. In the future, the experimental models for the research involving genetic and environmental factors should be established and mutant materials should be developed to clarify the internal relationship between factors and provide scientific support for the research on Dao-di medicinal materials.

[Key words] Ginseng Radix et Rhizoma; excellent appearance; genetic diversity; epigenetic inheritance; rhizosphere; exudates; ginsenosides

DOI:10.19540/j.cnki.cjcm.20230414.102

“辨状论质”是基于对历代医药学家长期用药经验的一种具有中医药特色的质量评价体系,即通过看、摸、闻、尝等方法对药材的形、色、气、味进行品质的辨别^[1]。在此基础上,在长期的中药道地性研究过程中,进一步提出了中药道地性可表现为药材的“优形”和“优质”,并体现为药材临床上的“优效”。狭义上,“优形”指道地药材具有公认的性状特征,“优质”指其具有独特的化学成分组成,“优效”指其在临床功效上优于非道地药材^[2]。道地药材“优形、优质、优效”反映了药材外观性状、品质与药效的统一性规律。从生物学上,道地药材的形成与遗传因素、环境因素及其相互作用有关,即“表型=基因型+环境修饰”^[3]。其中遗传因素主要包括物种群体间遗传变异^[4]、表观遗传修饰^[5]等;环境因素主要包括土壤理化性质、微生物群落组成及动态变化^[6-7]等。

人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 被誉为“百草之王”,是一种珍稀名贵中草药,因野山参具有独特的品相,被认为是道地药材“优形”研究的范式材料,本文系统总结了人参“优形”特征及影响其形成的遗传因素、环境因素研究进展,以期为人参药材品质提升、中药道地性科学内涵等相关研究提供参考。

1 人参的栽培驯化与“优形”特征

野生人参又称为野山参,种子随风雨、昆虫进行传播,在自然环境下完成其整个生长周期,不受人工干扰,一般生长在腐殖质含量高、土壤结构疏松、呈弱酸性的针阔叶混交林下的山地^[8]。野山参具有独特的“品相”,以“横灵体、腿八字分开、五形(芦、芋、体、须、纹)俱全者”为优^[9]。《GB/T 18765-2015 野山参鉴定及分等质量》标准中规定:生长年限大于 15 年,且具有“三节芦、枣核芋、横灵体、腿分裆自然、主体上环纹紧密、紧皮细纹、须细而长、珍珠点明显”为特等野山参。由于森林面积锐减、过度采挖、生长及发育周期漫长、繁殖力低等原因,野山参已被列为国家珍稀濒危植物^[10]。

从野生人参驯化为栽培品系已经历约 1 600 年,但人参大规模栽培种植时间仅有 300 年,目前栽培人参主要为处于驯化状态野生人参的混杂群体^[11]。在自然环境和人工选择作用下,栽培人参根系出现了表型分化,可分为普通人参、边条参及石柱参。其中普通人参主要以大马牙及二马牙品系为主,在《GB/T 22533-2018 鲜园参分等质量》标准中将“支根多为丛状、具有支根多、须根多及不定根多的人参”定义为普通人参,且“主根呈圆柱形、有分支、须芦齐全、单支质量 100~150 g”为特等普通人参;边条参为“具有主根长、支根长

及芦长的人参”,以圆膀圆芦和长脖型品系为主,又以“主根呈长圆柱形,人参芦长、主根长、支根长,无分支,单支质量大于 167 g,支根长大于 12 cm”为特等边条人参。石柱参包括圆膀圆芦、长脖品系,表现为芦较长、主根形状各异,支根呈八字形分开,芦、芋、体、纹和须相衬。

2 影响人参“优形”形成的遗传因素

2.1 栽培人参群体遗传多样性分析 在野生植物驯化为栽培品种的过程中,会受到强烈的选择压力,包括自然环境选择和人为选择,导致植物形态和生理生化状态发生变化。栽培人参与野生人参之间的差异主要表现在根的形态学性状与生长周期上^[12],但两者的群体遗传结构并未出现明显变异。如通过选取 24 个叶绿体基因对栽培和野生人参进行 DNA 测序及序列比对,发现这些叶绿体基因在栽培与野生人参之间存在变异位点;进一步利用 *matK-trnK*、*rps16*、*psbI-psbK* 和 *psbA-trnH* 基因构建系统发育树,结果表明栽培与野生人参居群在系统进化树上可以聚为一类,即在分子水平证实栽培人参的亲本为野生人参^[11]。利用单拷贝核基因对石柱参、边条参及普通参等栽培人参和野生人参群体的遗传多样性进行比较,结果表明栽培人参和野生人参之间的遗传多样性水平相似($\pi_{栽培}=0.007\ 81$; $\pi_{野生}=0.007\ 54$)^[11];通过对 92 个高分辨率微卫星标记 (high-resolution microsatellite markers) 进行分析也获得相似的结果^[13]。野生人参在驯化过程中,主要是通过收获种子进行繁育,此方法在一定程度上保存了野生群体的遗传多样性^[14],使得栽培人参群体仍具有较高的遗传多样性,为“优形”研究提供了丰富的种质材料。

栽培人参品系间的群体遗传多样性可能发生变异,表现为普通人参的同义突变和非同义突变位点数高于边条人参及石柱参^[11]。利用随机扩增多态性 DNA (random amplification polymorphism DNA, RAPD) 对五年生大马牙、二马牙、长脖、圆膀圆芦 4 个栽培品系进行 DNA 特征指纹分析,结果表明二马牙型与长脖型的亲缘关系较远,且长脖品系具有较高的多态性,其群体内部可能包含更多的杂合态个体,更接近野山参,这一结果与形态学分类结果基本一致^[15-16]。对 41 个农家栽培品系含有简单重复序列 (simple sequence repeats, SSR) 位点的基因数量进行比较,结果表明每个品种中含有 SSR 位点基因的个数均不相同,进一步通过 Kyoto Encyclopaedia of Genes and Genomes (KEGG) 富集分析发现这些基因多与苯丙氨酸代谢、木质素生物合成、戊糖和葡萄糖醛酸酯转化、果糖和甘露糖代谢、半乳糖代谢及糖胺聚糖降解等细胞

壁组成有关,也与细胞分裂素、生长素、萜类生物合成有关^[17]。植物细胞壁多糖的合成、沉积和重塑在植物生长及形态发育中维持重要的作用^[18],而细胞分裂素、生长素及三萜化合物是植物根系发育的重要调控因子^[19-20],因此栽培人参各品系之间根型的差异也可能受到细胞壁发育、生长素及萜类生物合成的影响。

2.2 转录调控对“优形”形成的影响 转录组(RNA-Seq)测序可以高通量分析植物组织在特定状态下转录出来的所有RNA表达水平,是关键基因挖掘、分子育种及种质资源保护的关键技术。利用RNA-Seq对同一林下环境中十三年生的二马牙型和长脖型栽培品系间差异表达基因进行筛选,发现23.75%的芦头特异性表达基因与苯丙素生物合成、戊糖和葡萄糖醛酸的相互转化、半乳糖代谢、倍半萜和三萜类化合物生物合成、植物激素信号转导有关。由于AUX1基因主要参与拟南芥生长素向顶部的运输^[21],其表达水平降低后会改变生长素浓度的分布,从而抑制主根、刺激侧根的生长^[22],且AUX1基因表达水平在二马牙芦头中显著下调,因此推测AUX1可能是调控二马牙品系芦头短、须根发达的关键基因。与长脖型相比,马牙品系的多个细胞壁多糖及木质素的生物合成基因表达水平显著增高,也说明2个品系间根系表型差异也可能与细胞壁有关^[23]。

利用RNA-Seq分析筛选栽培及野生人参之间的差异表达基因,结果表明这些基因主要与对生物刺激响应、三萜皂苷生物合成有关^[24],其中野生人参的抗病相关基因、三萜皂苷碳骨架合成酶基因、*pNRT2*的表达水平显著高于栽培人参。硝态氮是土壤中主要的氮源,可以调控植物的根系结构^[25],*pNRT2*是硝酸盐转运蛋白,可能是调控野生人参根系结构的关键基因^[26]。

2.3 表观遗传修饰对“优形”形成的影响 表观遗传修饰是指不涉及DNA序列的改变,通过有丝分裂和减数分裂进行遗传的生物现象,包括DNA甲基化(DNA methylation)、组蛋白修饰(histone modification)、染色质重塑(chromatin remodeling)、非编码RNA(non-coding RNA)及小RNA(microRNAs)等。表观修饰主要在转录和转录后水平上调控基因表达及转座子活性,进而影响植物的生长及发育^[27]。目前研究较多的是DNA甲基化、miRNA调控人参的生长,而组蛋白修饰、染色质重塑调控相关研究未见报道。多倍体化过程中胞嘧啶甲基化与转座子/反转座子的活动对基因表达有重要调控作用^[28],人参中的Ty1/copia-like类反转座子序列被高度甲基化^[29]。通过比较野生和栽培群体17个单株的甲基化敏感多态性(methylation sensitive amplification polymorphism, MSAP),表明CG和CNG位点甲基化水平存在显著差异,且长脖型和石柱人参的甲基化水平显著低于野生人参^[30]。低温可通过诱导人参DNA甲基化水平发生变化,进而影响与人参皂苷生物合成、生长发育相关基因表达水平^[31]。

microRNAs是一类小的内源性非编码RNA,具有茎环结

构,通过转录本的直接切割、抑制转录后水平的翻译、或通过转录水平的甲基化来调控靶基因,在植物发育中起重要的调控作用^[32]。人参multiple function associated MlncRNA(MAR)的靶标基因为果胶酯酶抑制剂(pectinesterase inhibitor)^[33],其参与细胞壁多糖的生物合成及代谢,可调节果胶的硬度、细胞壁松动及生长^[34],对根系的发育具有重要作用^[35]。筛选不同生长年限石柱参和园参的差异表达miRNA及靶标基因,发现其主要与生长素信号转导有关,其中auxin response factor 17(*ARF17*)、auxin signaling F-box 2(*AFB2*)分别为*miR160*及*miR393*的靶基因^[36]。*miR160*可通过负调控*ARF17*而影响根尖的生长^[37],*miR393*可通过调控水稻*OsTIR1*和*OsAFB2*基因表达影响生长素信号,从而参与根系的发育^[38]。

3 影响人参“优形”形成的环境因素

环境因素对人参形态变化的影响可能大于遗传因素,如栽培人参在特定环境下生长后,也会有与野生人参相似的形态^[11]。人参根际土壤微生物优势群落可能参与人参“优形”的形成。通过比较野生、林下及农田栽培参^[39]、不同品种人参^[40]、不同栽培年限和不同生长季节^[41-43]人参的根际土壤微生物,发现变形菌门Proteobacteria、放线菌门Actinobacteria、厚壁菌门Firmicutes、酸杆菌门Acidobacteria、子囊菌门Ascomycota、担子菌门Basidiomycota与接合菌门Zygomycota等组成了优势群落,其中镰刀菌属*Fusarium*、交链孢属*Alternaria*可能是影响人参生长发育的关键微生物。品种^[44]、根系分泌物^[45]可能是维持人参根际微生物群落稳定的主要驱动因子。

3.1 种植模式对根际土壤微生物群落组成和丰度变化的影响 野生人参不受人为影响,可以在林下自然环境下生长30年或者更久,土壤pH为中性到酸性,通气良好,多年生导致人参根系庞大,可以从根系分泌物及落叶中吸收养分,保持相对稳定的根际环境。农田栽培人参在种植过程中需要人工遮荫、化肥、农药及除草剂的使用等农业管理措施。林下栽培人参是指在自然森林条件下种植多年,几乎没有人干扰的种植方式,其根系形态和内在品质特征与野生人参相似^[46]。人工干预可能干扰根际微生物群落平衡,导致微生物多样性降低,影响人参的生长及发育。利用16S rRNA及ITS区分别比较野生和栽培人参根际土壤细菌及真菌微生物群落组成,表明林下参根际微生物群落组成与野生人参相似,野生人参根际土壤细菌多样性显著高于农田栽培参,但真菌多样性低于农田栽培参;野生和栽培人参共有的细菌操作性分类单元(operational taxonomic units, OTUs)多于真菌OTUs,说明真菌群落比细菌群落更容易受农业管理措施影响^[39]。农田地种植人参1年后,农田真菌丰富度和多样性下降,第2~3年上升,第4~5年再次下降;林地种植人参5年后,土壤真菌群落丰富度和多样性没有明显变化^[47]。交链孢属为林地土壤中的优势真菌菌属,其相对丰度显著高于

农田土壤,而镰孢菌属、链格孢属为农田土壤中的优势真菌^[39]。此外,土壤pH、氮、磷和有机质含量对林地、农田地微生物群落结构均有影响,但与真菌群落相关性更强^[7]。增施氮肥可以显著增加人参根际真菌群落的多样性,其丰度受氮、磷、钾的用量及比例的双向调控^[48]。杀菌剂处理农田栽培参地后,子囊菌门真菌丰度从66.09%增加到88.21%,而担子菌门真菌丰度从21.13%减少至3.23%^[49]。因此,大量农药、化肥使用可能影响优势真菌的丰度,且随着栽培时间的延长,人参根际细菌群落丰度逐渐稳定,而致病性真菌如镰刀菌属的丰度逐渐增加^[47]。因此,如何维持真菌菌群的稳定可能是合理选择人参种植模式关注的重点。

3.2 人参根际分泌物对根际土壤微生物群落组成和丰度变化的影响 植物生长过程中,会通过根系向周围环境释放糖类、黄酮类、有机酸、酚类等化合物,作为营养物质和信号分子招募土壤的有益微生物到植物根际部位,改善土壤结构及有机质分解^[50],增加植物对养分的可利用性,触发免疫防御^[51]。此外,被招募的根际微生物还可以通过分泌植物激素类化合物促进植物生长^[52]。目前,已在人参根系分泌物中鉴定到30多种化合物,包括23%的碳氢化合物、64%的有机酸/酯、13%的酚酸类和萜类化合物^[53],其中酚酸类化合物主要包括苯甲酸、邻苯二甲酸二异丁酯、没食子酸、水杨酸和肉桂酸等^[54],萜类主要包括人参皂苷Rb₁、Rb₂、Rc、Rd、Re、Rg₁等^[55-56]。人参的基因型^[44]、栽培年限^[57]、土壤大量元素(如氮、磷、钾)^[58]及微量元素(如硼、锰、锌、铁)^[59]等也可影响根系分泌物成分种类和含量的变化,且营养元素缺乏时会造成有机酸和酚酸类化合物种类增多、含量增加。

人参根系分泌物也可以影响根际微生物群落的种类及丰度。如在土壤中施用酚酸类化合物可降低真菌多样性,而增加镰孢菌属、赤霉菌属等相对丰度^[60],进而影响人参的根系生长和人参皂苷的含量^[61]。在培养基中添加阿魏酸、丁香酸、对羟基苯甲酸或香草酸可降低镰孢菌菌丝生长和产孢量^[62]。人参皂苷在土壤中具有较好的抗菌活性,在未种植过人参的新林地土壤中添加人参总皂苷,可以改变根际微生物群落的组成和丰度^[63],也可以改变土壤微生物的代谢活性^[64]。变形菌门、酸杆菌门、放线菌门及绿弯菌门为黑龙江、吉林及辽宁等地人参根际土壤优势细菌,其丰度与人参皂苷Rg₁、Re、Rb₁的含量呈正相关,说明优势细菌可能影响人参皂苷的积累^[65]。此外,当人参皂苷积累到一定程度时,对根际土壤真菌多样性及丰度也具有反馈调节作用。在种植人参的土壤中添加人参皂苷Rg₁、Rb₁、Rh₁或人参皂苷混合物可减少枝顶孢菌属 *Acremonium*、毛霉菌 *Mucor* 等有益真菌的数量,同时增加链孢菌、柱面菌 *Spiridocarpion*、赤霉素 *Gibberella*、镰刀菌等致病真菌的数量^[66],其作用机制可能是人参皂苷选择性地利用碳源,影响招募或排斥特殊菌群,修饰土壤根际微生物群落^[56]。

3.3 人参基因型对根际土壤微生物群落组成和丰度变化的影响

基因型对人参根际细菌群落结构影响较大,即不同基因型人参的根际细菌在特定门、属水平上的丰度存在显著差异^[40]。通过比较美国、韩国及中国栽培人参品种的根际土壤微生物群落特性,发现放线菌门、拟杆菌门、变形菌门等优势菌群在不同品种中的丰度存在显著差异。我国栽培品系普通人参、石柱和边条人参根际土壤微生物的丰度也存在显著差异,不同栽培品种可能导致微生物群落中某些类群的优势度发生变化,即某些品种对一些微生物具有特殊的亲和力,如变形菌门在石柱人参中显著富集,而酸杆菌门在普通人参中丰度较高;边条人参子囊菌门的丰度显著高于石柱人参,担子菌门伞菌纲丰度也高于普通人参和石柱人参。子囊菌属和担子菌属可促进植物对生物和非生物胁迫的抵抗力、耐受力^[67],其在人参不同品系的丰度不同,可能导致不同品系人参的生长及防御不同。不同人参品种根际微生物群落的共有真菌 OTUs 比例远小于细菌 OTUs,说明真菌群落比细菌群落更容易受到品种的影响^[44]。由于细菌和真菌的繁殖方式不同,细菌通常比真菌生长得快,可能导致其群落相对稳定而不易受到影响^[68]。

人参不同品种根际微生物含有的潜在致病微生物组成和丰度可能不同。石柱人参中芽孢杆菌 *Bacillus* 丰度高于边条人参、普通人参,芽孢杆菌具有抗真菌作用,可以促进植物生长^[69]。交链孢属是植物病原体的拮抗剂之一^[70],其在边条人参中丰度最高;链格孢属和枝孢霉可能引起植物根腐病的发生,在边条人参中其相对丰度低于普通人参、石柱人参,可能导致边条人参具有较强的抗逆性。

普通人参、边条人参、石柱人参的根系生长速度不同,也可能导致其根系分泌物的组成不一致。与其他品种相比,硬粒小麦 *Triticum turgidum* ssp. *durum* 生长较快,其根系分泌物含量最低,可能是导致微生物多样性最高的主要原因^[71]。因此,调控人参根系分泌物含量可能是通过促进或抑制特定的根际微生物类群,从而影响根际微生物的多样性和产量的一种方式^[44]。

3.4 人参根部内生菌对根系生长的影响 内生菌与其宿主植物在长期共进过程中,形成了密切的互惠共生关系^[72],在植物的发育、生长及抗逆性方面起重要作用。生境变化可影响人参根内生菌的多样性,伐林后栽培人参根部的内生细菌和真菌的群落指数低于林下栽培人参,但高于农田栽培人参;不同栽培模式人参中,子囊菌门的相对丰度最高,约占内生真菌的80%^[73];其中钩状木霉 *Trichoderma hamatum* 为农田栽培参内生真菌的优势种,其可以促进番茄、可可的根系生长^[74-75];鞭毛藻丛赤壳菌 *Nectria haematococca* 为林下参内生真菌的优势种^[76],其显著影响干旱胁迫下番茄的根长和须根个数^[77],因此推测钩状木霉、鞭毛藻丛赤壳菌可能也影响栽培人参根系性状的形成。

4 人参皂苷对“优形”特征形成的影响

人参皂苷Rb₁、Rg₁、Re、Rf等被作为人参“优质”评价和

控制的主要指标^[78],其含量容易受到栽培方法、根际微生物环境及生长年限的影响^[79-81],分子机制方面可能与植物激素及转录因子调控有关^[82-85]。人參的形态特征与内在固有品质之间具有显著的相关性,生长年限为3~4年的人參,主根较细,根茎较长,侧根较多,人參总皂苷含量较高^[86]。林下山參与野生人參形态相近,均具有“人字形”的根型,较长的芦头及须根^[87],其人參皂苷 R_g/Re 含量比值存在显著特征^[80]。一方面,人參皂苷作为根系分泌物可释放到根际土壤中,通过影响微生物的多样性及丰度,间接影响人參的生长及防御;另一方面,低浓度的人參皂苷也可通过直接或者间接调控干细胞关键基因的表达影响人參根系的生长^[88],如二醇型人參皂苷 Rb_1 和三醇型人參皂苷 Re 通过 $Pg-WOW11-PgCLE45$ 调控环^[89],齐墩果型人參皂苷 Ro 通过 $Pg-SOC1-PgEXP3$ 环调控人參不定根的生长^[90]。

5 展望

人參的“优形优质”特征受复杂的遗传因素、环境因素及其相互作用的影响,目前已有的研究多聚焦于局部的或者单一的因素对道地药材形成的影响,忽略了复杂的生态系统之间的关系,导致研究结果所揭示的中药道地性形成规律存在一定的局限性,如在研究不同栽培模式影响人參根际微生物多样性变化的过程中,需要考虑人參品系、栽培年限、土壤理化性质、气候等多变量因素对分析结果的综合影响。此外,尽管目前有关土壤理化性质、人參生长年限、栽培模式等对农田、林地栽培人參根际土壤微生物菌群的研究报道较多,但也存在未将各因素的影响进行整合分析的问题,且这些微生物菌群参与道地药材“优形优质”形成的调控机制尚不清楚。因此,道地药材形成机制研究过程中,首先需要建立遗传因素、环境因素研究的实验模型^[91],明确各因素之间的内在联系,逐步构建表型组、代谢组、微生物组互作网络。在此基础上,通过建立室内无菌苗培养体系、遗传转化体系、突变体材料库及功能性人工重组菌群库,在室内受控平台验证互作网络,最后通过种质资源圃,回接人工重组优势菌群,并借助分子辅助育种,提供并创建“优形优质”形成的特定生态区域环境,以期未来能够系统解析道地药材“优形优质”形成机制。

参考文献

- [1] 王皓南,田滢琦,刘大会,等. 中药“辨状论质”的历史、发展与应用[J]. 中药材, 2021, 44(3):513.
- [2] 袁媛,黄璐琦. 道地药材分子生物学研究进展和发展趋势[J]. 科学通报, 2020, 65(12):1093.
- [3] 黄璐琦,张瑞贤. “道地药材”的生物学探讨[J]. 中国药理学杂志, 1997, 32(9):4.
- [4] 李文秀,李进良,贺军军,等. 基于 SSR 标记的砂仁种质资源遗传多样性与群体结构分析[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(17):4618.
- [5] 袁媛,魏渊,于军,等. 表观遗传与药材道地性研究探讨[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(13):2679.
- [6] 马文琪,王红阳,张文晋,等. 生态因子对人參外形和皂苷类成分的影响[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(8):1920.
- [7] 刘紫祺,王仪,王秀,等. 不同光照强度对西洋參生长、皂苷含量及基因表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(18):4877.
- [8] 肖培根. 我国东北地区野生人參的初步调查[J]. 药学报, 1962, 9(6):340.
- [9] ZHAO Z, LIANG Z, PING G. Macroscopic identification of Chinese medicinal materials: traditional experiences and modern understanding[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 134(3):556.
- [10] 马小军,汪小全,肖培根,等. 国产人參种质资源研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(5):289.
- [11] 李明睿. 栽培人參的起源与驯化[D]. 长春:东北师范大学, 2017.
- [12] 丛佩远. 中国栽培人參之出现与兴起[J]. 农业考古, 1985, (1):262.
- [13] JANG W, JANG Y, KIM N H, et al. Genetic diversity among cultivated and wild *Panax ginseng* populations revealed by high-resolution microsatellite markers[J]. J Ginseng Res, 2020, 44(4):637.
- [14] YUN T K. Brief introduction of *Panax ginseng* C. A. Meyer[J]. J Korean Med Sci, 2001, 16 (Suppl):3.
- [15] 马小军,汪小全,肖培根. 人參农家类型的 AFLP 指纹研究[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(12):707.
- [16] 马小军. 人參种质资源及其 DNA 指纹的研究[D]. 北京:中国协和医科大学, 1998.
- [17] 徐晓腾. 吉林人參 41 个农家品种含有 SSR 位点功能基因的系统分析[D]. 长春:吉林农业大学, 2016.
- [18] OGDEN M, HOEFGEN R, ROESSNER U, et al. Feeding the walls: how does nutrient availability regulate cell wall composition? [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(9):2691.
- [19] KEMEN A C, HONKANEN S, MELTON R E, et al. Investigation of triterpene synthesis and regulation in oats reveals a role for β -amyrin in determining root epidermal cell patterning[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(23):8679.
- [20] KUREPA J, SHULL T E, SMALLE J A. Friends in arms: flavonoids and the auxin/cytokinin balance in terrestrialization[J]. Plants (Basel), 2023, 12(3):517.
- [21] YANG Y, HAMMES U Z, TAYLOR C G, et al. High-affinity auxin transport by the AUX1 influx carrier protein[J]. Curr Biol, 2006, 16(11):1123.
- [22] 何静,丁兰,李芑,等. Leukamenin E 调节拟南芥幼苗根部生长素极性运输及根系生长发育[J]. 生态学杂志, 2019, 38(10):2959.
- [23] 李舒欣,张浩,郑厚胜,等. 转录组分析二马牙和长脖类型林下參表型差异[J]. 中国农业科技导报, 2021, 23(9):56.
- [24] ZHEN G, ZHANG L, DU Y, et al. De novo assembly and comparative analysis of root transcriptomes from different varieties of *Panax ginseng* C. A. Meyer grown in different environments[J]. Sci China Life Sci, 2015, 58(11):1099.
- [25] ZHANG H, FORDE B G. Regulation of *Arabidopsis* root develop-

- ment by nitrate availability[J]. J Exp Bot, 2000, 51(342):51.
- [26] KWON K R, PARK W P, KANG W M, et al. Identification and analysis of differentially expressed genes in mountain cultivated ginseng and mountain wild ginseng[J]. Acupunct Meridian Stud, 2011, 4(2):123.
- [27] 宋显伟, 唐善杰, 曹晓凤. 表观遗传调控与作物育种[J]. 中国农业科技导报, 2022, 24(12):33.
- [28] LAW J A, JACOBSEN S E. Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals[J]. Nat Rev Genet, 2010, 11(3):204.
- [29] 刘晓冬. 人参(*Panax ginseng*)和西洋参(*Panax quinquefolius*) copia-like 反转录转座子反转座酶序列的克隆和分析[D]. 长春:东北师范大学, 2005.
- [30] NGEZAHAYO F. 中国人参(*Panax ginseng* C. A. Meyer)野生和栽培类型的遗传多样性和 DNA 甲基化多态性研究[D]. 长春:东北师范大学, 2009.
- [31] HAO M, ZHOU Y, ZHOU J, et al. Cold-induced ginsenosides accumulation is associated with the alteration in DNA methylation and relative gene expression in perennial American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) along with its plant growth and development process[J]. J Ginseng Res, 2020, 44(5):747.
- [32] YU Y, ZHANG Y, CHEN X, et al. Plant noncoding RNAs: hidden players in development and stress responses[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2019, 35(1):407.
- [33] WANG M, WU B, CHEN C, et al. Identification of mRNA-like non-coding RNAs and validation of a mighty one named MAR in *Panax ginseng*[J]. J Integr Plant Biol, 2015, 57(3):256.
- [34] MICHELI F. Pectin methylesterases: cell wall enzymes with important roles in plant physiology[J]. Trends Plant Sci, 2001, 6(9):414.
- [35] YANG X Y, ZENG Z H, YAN J Y, et al. Association of specific pectin methylesterases with Al-induced root elongation inhibition in rice[J]. Physiol Plant, 2013, 148(4):502.
- [36] 陈艳琳. 长白山人参 microRNA 鉴定及靶基因分析研究[D]. 广州:广东药学院, 2017.
- [37] WANG J W, WANG L J, MAO Y B, et al. Control of root cap formation by MicroRNA-targeted auxin response factors in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 2005, 17(8):2204.
- [38] BIAN H, XIE Y, GUO F, et al. Distinctive expression patterns and roles of the miRNA393/TIR1 homolog module in regulating flag leaf inclination and primary and crown root growth in rice (*Oryza sativa*) [J]. New Phytol, 2012, 196(1):149.
- [39] FANG X, WANG H, ZHAO L, et al. Diversity and structure of the rhizosphere microbial communities of wild and cultivated ginseng[J]. BMC Microbiol, 2022, 22(1):2.
- [40] ZHANG J, LIU P, NIE B, et al. Effects of genotype and ecological environment on the community structure and function of symbiotic bacteria in rhizosphere of ginseng[J]. BMC Microbiol, 2022, 22(1):235.
- [41] JIANG J, YU M, HOU R, et al. Changes in the soil microbial community are associated with the occurrence of *Panax quinquefolius* L. root rot diseases[J]. Plant Soil, 2019, 438:143.
- [42] LIU N, SHAO C, SUN H, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi biofertilizer improves American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) growth under the continuous cropping regime [J]. Geoderma, 2020, 363:114155.
- [43] XIAO C, YANG L, ZHANG L, et al. Effects of cultivation ages and modes on microbial diversity in the rhizosphere soil of *Panax ginseng*[J]. J Ginseng Res, 2016, 40(1):28.
- [44] WANG H, FANG X, WU H, et al. Effects of plant cultivars on the structure of bacterial and fungal communities associated with ginseng[J]. Plant Soil, 2021, 465(1):143.
- [45] IVANOV D A, GEORGAKOPOULOS J R C, BERNARDS M A. The chemoattractant potential of ginsenosides in the ginseng-*Pythium irregulare* pathosystem[J]. Phytochemistry, 2016, 122:56.
- [46] 孙海, 王秋霞, 张亚玉, 等. 不同生产模式下人参土壤肥力评价[J]. 吉林农业大学学报, 2015, 37(3):323.
- [47] TONG A Z, LIU W, LIU Q, et al. Diversity and composition of the *Panax ginseng* rhizosphere microbiome in various cultivation modes and ages[J]. BMC Microbiol, 2021, 21(1):18.
- [48] SUN J, LUO H, YU Q, et al. Optimal NPK fertilizer combination increases *Panax ginseng* yield and quality and affects diversity and structure of rhizosphere fungal communities[J]. Front Microbiol, 2022, 13:919434.
- [49] MA G, GAO X, NAN J, et al. Fungicides alter the distribution and diversity of bacterial and fungal communities in ginseng fields [J]. Bioengineered, 2021, 12(1):8043.
- [50] 刘重喜, 宋佳, 王相晶, 等. 植物招募防御微生物与植物保护[J]. 中国科学:生命科学, 2016, 46(5):491.
- [51] MORGAN J A, BENDING G D, WHITE P J. Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere[J]. J Exp Bot, 2005, 56(417):729.
- [52] GLICK B, CHENG I, JENNIFER C, et al. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria[J]. Eur J Plant Pathology, 2007, 119(3):329.
- [53] 张爱华, 彭洪利, 雷锋杰, 等. 人参根系分泌物的提取及鉴定[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2014, 42(7):191.
- [54] 李自博, 周如军, 解宇娇, 等. 人参连作根际土壤中酚酸物质对人参锈腐病菌的化感效应[J]. 应用生态学报, 2016, 27(11):3616.
- [55] NICOL R W, YOUSEF L, TRAQUAIR J A, et al. Ginsenosides stimulate the growth of soilborne pathogens of American ginseng [J]. Phytochemistry, 2003, 64(1):257.
- [56] LUO L F, YANG L, YAN Z X, et al. Ginsenosides in root exudates of *Panax notoginseng* drive the change of soil microbiota through carbon source different utilization[J]. Plant Soil, 2020, 455(1/2):139.
- [57] 肖春萍, 杨利民, 马锋敏. 栽培年限对人参根际土壤微生物活性及微生物量的影响[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(24):4740.
- [58] 李勇, 黄小芳, 丁万隆. 营养元素亏缺对人参根分泌物主成

- 分的影响[J]. 应用生态学报, 2008, 19(8):1688.
- [59] 李勇, 黄小芳, 丁万隆. 微量元素亏缺对人參根系分泌物组成的影响[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(1):64.
- [60] LI Z, FU J, ZHOU R, et al. Effects of phenolic acids from ginseng rhizosphere on soil fungi structure, richness and diversity in consecutive monoculturing of ginseng [J]. Saudi J Biol Sci, 2018, 25(8):1788.
- [61] 李翟. 镰刀菌和木霉菌与人參的互作及其对生长发育的影响研究[D]. 长春:长春中医药大学, 2021.
- [62] ZHAO Y M, CHENG Y X, MA Y N, et al. Role of phenolic acids from the rhizosphere soils of *Panax notoginseng* as a double-edge sword in the occurrence of root-rot disease[J]. Molecules, 2018, 23(4):819.
- [63] BAIS H P, WEIR T L, PERRY L G, et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms [J]. Annu Rev Plant Biol, 2006, 57(1):233.
- [64] 张爱华, 雷锋杰, 傅俊范, 等. 外源人參三萜皂苷对新林土中土壤微生物群落的影响[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(24):4756.
- [65] 左湘熙. 主产区农田栽培人參土壤特性及其人參品质影响的研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2020.
- [66] LI Y, DAI S, WANG B, et al. Autotoxic ginsenoside disrupts soil fungal microbiomes by stimulating potentially pathogenic microbes[J]. Appl Environ Microbiol, 2020, 86(9):e00130.
- [67] MARDANOVA A, LUTFULLIN M, HADIEVA G, et al. Structure and variation of root-associated microbiomes of potato grown in alfisol[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2019, 35(12):181.
- [68] ZHENG H, BAI Y, JIANG M, et al. General quantitative relations linking cell growth and the cell cycle in *Escherichia coli* [J]. Nat Microbiol, 2020, 5(8):995.
- [69] ARAÚJO F F, HENNING A, HUNGRIA M J, et al. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development [J]. World J Microb Biot, 2005, 21(8/9):1639.
- [70] SOMERS E, VANDERLEYDEN J, SRINIVASAN M. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet [J]. Crit Rev Microbiol, 2004, 30(4):205.
- [71] IANNUCCI A, CANFORA L, NIGRO F, et al. Relationships between root morphology, root exudate compounds and rhizosphere microbial community in durum wheat [J]. Appl Soil Ecol, 2021, 158(1):10.
- [72] 江曙, 钱大玮, 段金庾, 等. 植物内生菌与道地药材的相关性研究[J]. 中草药, 2008, 39(8):1268.
- [73] 雷锋杰, 才丽, 张爱华, 等. 不同栽培模式人參根内生菌群落多样性分析[J]. 吉林农业大学学报, 2019, 41(4):426.
- [74] ABDELKHALEK A, AL-ASKAR A A, ARISHI A A, et al. *Trichoderma hamatum* strain Th23 promotes tomato growth and induces systemic resistance against tobacco mosaic virus [J]. J Fungi, 2022, 8(3):228.
- [75] BAE H, SICHER R C, KIM M S, et al. The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao* [J]. J Exp Bot, 2009, 60(11):3279.
- [76] 明乾良, 徐丽莉, 韩婷, 等. 人參内生真菌多样性的初步研究[J]. 人參研究, 2010, 22(2):2.
- [77] MUTHUKUMAR V T. Dark septate root endophytic fungus *Nectria haematococca* improves tomato growth under water limiting conditions[J]. Indian J Microbiol, 2018, 58(4):489.
- [78] KIM I W, SUN W S, YUN B S, et al. Characterizing a full spectrum of physico-chemical properties of (20S)- and (20R)-ginsenoside Rg₃ to be proposed as standard reference materials [J]. J Ginseng Res, 2013, 37(1):124.
- [79] CHEN C F, CHIOU W F, ZHANG J T. Comparison of the pharmacological effects of *Panax ginseng* and *Panax quinquefolium* [J]. Acta Pharmacol Sin, 2008, 29(9):1103.
- [80] ZHU L, LUAN X, YUAN Y, et al. The characteristics of ginsenosides and oligosaccharides in mountain- and garden-cultivated ginseng [J]. J Sci Food Agric, 2021, 101(4):1491.
- [81] 王正鹏, 刘天睿, 赵玉洋, 等. 西洋参根部内生微生物多样性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(7):160.
- [82] 张杰, 刘娟, 蒋超, 等. 人參转录因子 ERF 基因家族的表达分析[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(11):2515.
- [83] 吕齐, 焦红红, 余祺瑞, 等. 人參 TCP 转录因子家族生物信息学分析与功能预测[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(15):3838.
- [84] 陈康, 刘娟, 周修腾, 等. UPLC-MS/MS 测定人參花中 5 种内源植物激素含量[J]. 中国现代中药, 2018, 20(6):705.
- [85] 胡进, 焦红红, 南铁贵, 等. 二甲基亚砷和乙醇处理对西洋参不定根表型和人參皂苷含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(12):141.
- [86] CHEN Y, ZHAO Z, CHEN H, et al. Determination of ginsenosides in Asian and American ginsengs by liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight MS: assessing variations based on morphological characteristics [J]. J Ginseng Res, 2017, 41(1):10.
- [87] ZHANG H, ABID S, AHN J C, et al. Characteristics of *Panax ginseng* cultivars in Korea and China [J]. Molecules, 2020, 25(11):2635.
- [88] 王腾腾, 胡进, 焦红红, 等. *BBM* 基因对西洋参愈伤组织生长及人參皂苷含量的影响[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(11):3156.
- [89] LIU J, CHEN T, ZHANG J, et al. Ginsenosides regulate adventitious root formation in *Panax ginseng* via a *CLE45-WOX11* regulatory module [J]. J Exp Bot, 2020, 71(20):6396.
- [90] JIAO H, HUA Z, ZHOU J, et al. Genome-wide analysis of *Panax* MADS-box genes reveals role of *PgMADS41* and *PgMADS44* in modulation of root development and ginsenoside synthesis [J]. Int J Biol Macromol, 2023, 233:123648.
- [91] 袁媛, 陈妮颖, 黄璐琦, 等. 对照道地药材的研究策略与应用探讨[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(13):2623.

[责任编辑 吕冬梅]