

引用格式:

冯健豪, 刘怀瑾, 唐梓宁, 王水莲, 杨闯. 铁皮石斛提取物对小鼠睾丸间质细胞生长和睾酮合成的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2025, 51(6): 118–123.

FENG J H, LIU H J, TANG Z N, WANG S L, YANG C. Effects of *Dendrobium officinale* extract on the proliferation and testosterone synthesis of mouse Leydig cells[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2025, 51(6): 118–123.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



铁皮石斛提取物对小鼠睾丸间质细胞生长和睾酮合成的影响

冯健豪¹, 刘怀瑾¹, 唐梓宁¹, 王水莲¹, 杨闯^{2*}

(1. 湖南农业大学动物医学院, 湖南 长沙 410128; 2. 长沙牛羊荟农业科技有限公司, 湖南 长沙 410125)

摘要: 分别用质量浓度为20、40、60、80、100 $\mu\text{g/mL}$ 的铁皮石斛提取物处理小鼠睾丸间质细胞(TM3细胞)24 h, 采用细胞增殖检测试剂盒(MTS)检测细胞增殖活力, qRT-PCR检测增殖与凋亡相关基因、睾酮合成酶基因、睾酮合成酶相关转录因子及其上游调控因子基因的mRNA表达水平, Western blot检测凋亡相关基因、睾酮合成酶的蛋白表达水平, ELISA法检测TM3细胞睾酮分泌水平。结果表明: 与不加铁皮石斛提取物的对照组比较, 用40 $\mu\text{g/mL}$ 铁皮石斛提取物处理TM3细胞, 显著提高了其增殖活力; 细胞增殖相关基因*Ki-67*和*PCNA*, 抗凋亡基因*Bcl-2*, 睾酮合成酶基因*STAR*、*P450scc*、*3 β -HSD*、*CYP17a1*和*17 β -HSD*, 睾酮合成酶相关转录因子基因*Nur77*和*SF-1*与其上游调控因子基因*CREB*的mRNA相对表达水平及*Bcl-2*、*P450scc*、*CYP17a1*和*17 β -HSD*蛋白相对表达水平均极显著高于对照组的; *Bax*和*Caspase-3*蛋白相对表达水平、*NF- κ B*的mRNA和蛋白的相对表达水平均极显著低于对照组的; TM3细胞分泌的睾酮质量浓度为(0.042 \pm 0.002) ng/mL, 极显著高于对照组的。这些结果说明, 40 $\mu\text{g/mL}$ 铁皮石斛提取物可通过调控睾酮合成酶基因及其相关转录因子的表达促进睾酮的合成。

关键词: 铁皮石斛提取物; 小鼠睾丸间质细胞; 细胞增殖活力; 睾酮合成

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007–1032(2025)06–0118–06

Effects of *Dendrobium officinale* extract on the proliferation and testosterone synthesis of mouse Leydig cells

FENG Jianhao¹, LIU Huaijin¹, TANG Zining¹, WANG Shuilian¹, YANG Chuang^{2*}

(1. School of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2. Changsha Niu-Yang Aggregated Agricultural Science and Technology Co. Ltd., Changsha, Hunan 410125, China)

Abstract: Mouse Leydig cells(TM3 cells) were treated with *Dendrobium officinale* extract at mass concentration of 20, 40, 60, 80 and 100 $\mu\text{g/mL}$ for 24 h. The cell proliferation activity was detected by MTS method. The mRNA expression levels of proliferation and apoptosis-related genes, testosterone synthase genes, as well as transcription factor genes and upstream regulatory factor genes relevant to testosterone synthase were detected by qRT-PCR in TM3 cells. The expression of apoptosis-related proteins and testosterone synthases was analyzed by Western blot. And the testosterone secretion levels were detected by ELISA. The results showed that treatment with 40 $\mu\text{g/mL}$ *Dendrobium officinale* extract significantly increased TM3 cells proliferation activity compared to the untreated control. The relative mRNA expression levels of the cell proliferation-related genes *Ki-67* and *PCNA*, anti-apoptotic gene *Bcl-2*, testosterone synthase genes *STAR*, *P450scc*, *3 β -HSD*, *CYP17a1*, and *17 β -HSD*, their relevant transcription factors genes *Nur77* and *SF-1*, and upstream regulator gene *CREB*; as well as the relative protein expression levels of *Bcl-2*, *P450scc*, *CYP17a1*, and *17 β -HSD* were extremely significantly higher in *Dendrobium officinale* extract treated cells than those in the untreated

收稿日期: 2023–03–16

修回日期: 2024–04–01

基金项目: 国家自然科学基金项目(31101774); 湖南省大学生创新创业项目(xcx19046)

作者简介: 冯健豪(1997—), 男, 广东中山人, 硕士研究生, 主要从事动物生殖调控研究, ahao0379@163.com; *通信作者, 杨闯, 硕士, 主要从事绿色低碳与生物学研究, shine_cyang@163.com

control. The relative protein expression levels of Bax and Caspase-3, as well as the relative mRNA and protein expression levels of *NF- κ B* were extremely significantly lower in *Dendrobium officinale* extract treated cells than those in the untreated control. The mass concentration of testosterone secreted by TM3 cells treated with *Dendrobium officinale* extract was (0.042 \pm 0.002) ng/mL, which was extremely significantly higher than that in the untreated control. In conclusion, 40 μ g/mL *Dendrobium officinale* extract could enhance the synthesis of testosterone by regulating the expression of testosterone synthesis genes and their related transcription factors.

Keywords: *Dendrobium officinale* extract; mouse Leydig cell; cell proliferation activity; testosterone synthesis

睾丸间质细胞位于曲细精管之间, 具有合成与分泌睾酮的功能, 对雄性动物生殖器官发育、精子发生和性功能维持等有重要作用^[1]。睾丸间质细胞以胆固醇为原料, 通过多种睾酮合成酶(*StAR*、*P450_{scc}*、 3β -HSD、*CYP17a1*、 17β -HSD)共同催化合成睾酮^[2]; 睾酮合成酶转录因子*Nur77*和*SF-1*可直接结合到靶基因的启动子区域调节其转录, 睾酮合成酶转录因子的上游调控因子*CREB*和*NF- κ B*可通过调节睾酮合成酶转录因子间接调控睾酮合成酶的表达, 进而促进睾酮合成^[3]。

铁皮石斛对雄性动物生殖活动具有调控作用。芦春斌等^[4]通过腹腔注射顺铂构建雄性小鼠生殖系统损伤模型(顺铂模型), 小鼠连续灌胃铁皮石斛多糖35 d后, 其精子数量与活力显著提高, 超氧化物歧化酶水平上升, 顺铂引起的睾丸组织结构损伤有明显恢复。仇平乐^[5]研究发现, 铁皮石斛多糖对丙酸睾酮和乙醇造成的小鼠良性前列腺增生和睾丸组织结构损伤有治疗作用, 可提高睾丸组织的抗氧化能力, 增加精子的数量与活力; 丙酸睾酮和乙醇的联合作用降低了睾酮合成酶基因*StAR*和*P450_{scc}*的mRNA相对表达量, 而铁皮石斛多糖能部分恢复*StAR*和*P450_{scc}*的mRNA相对表达量, 这说明铁皮石斛多糖调控睾酮合成酶基因的表达, 推测其能恢复睾丸损伤模型小鼠的睾酮合成能力。

基于铁皮石斛的药理学作用^[6], 笔者将铁皮石斛提取物添加至体外培养的小鼠睾丸间质细胞系(TM3细胞)中, 用质量浓度分别为20、40、60、80、100 μ g/mL的铁皮石斛提取物处理TM3细胞, 采用MTS检测细胞增殖活力; 采用qRT-PCR检测增殖与凋亡相关基因、睾酮合成酶基因、睾酮合成酶相关转录因子及其上游调控因子基因的mRNA表达水平; 采用Western blot检测凋亡相关蛋白及睾酮合成酶表达水平; 采用ELISA法检测睾酮分泌水

平, 探究铁皮石斛提取物对雄性小鼠睾丸间质细胞生长与睾酮合成的影响, 以期揭示铁皮石斛对雄性动物生殖调控的机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

参照王明月等^[7]的方法, 制备铁皮石斛提取物, 获得的深棕色粉末为铁皮石斛样品(含水量小于5%)。取0.01 g铁皮石斛提取物样品, 用100 mL双蒸水混悬定容为0.1 mg/mL的铁皮石斛提取物溶液。TM3细胞购于上海安为生物科技有限公司, 并参照汤亚茹^[8]的方法, 对其进行细胞培养、传代以及冻存, 冻存细胞株置于液氮中保存。

1.2 方法

1.2.1 MTS法测定TM3细胞增殖活力

取对数生长期的TM3细胞, 按 1×10^4 /孔的密度接种至96孔板中, 对照组加入200 μ L培养基(含1%双抗的DMEM/F-12), 铁皮石斛处理组加入200 μ L铁皮石斛提取物质量浓度分别为20、40、60、80、100 μ g/mL的培养基(含1%双抗的DMEM/F-12), 处理24 h。处理完成后在避光条件下, 向96孔板每孔加入20 μ L MTS溶液, 继续在37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 条件下培养3 h, 用酶标仪在490 nm波长处测定吸光度, 计算TM3细胞增殖活力。

1.2.2 qRT-PCR检测基因表达水平

取对数生长期的TM3细胞, 按 50×10^4 /孔的密度接种至6孔板中, 当细胞贴壁密度达到70%时, 对照组每孔加入2 mL含1%双抗的DMEM/F-12; 铁皮石斛处理组每孔加入2 mL 40 μ g/mL的铁皮石斛提取物培养基(含1%双抗的DMEM/F-12), 处理细胞24 h, 参照汤亚茹^[8]的方法提取RNA、反转录并通过qRT-PCR检测细胞增殖基因(*Ki-67*和*PCNA*), 细胞凋亡相关基因(*Bax*、*Caspase-3*和*Caspase-8*),

甾酮合成酶基因(*StAR*、*P450scc*、*3 β -HSD*、*CYP17a1*和*17 β -HSD*), 甾酮合成酶转录因子基因(*Nur77*和*SF-1*)及其上游调控因子基因(*CREB*和*NF- κ B*)的mRNA相对表达水平。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成。 *β -actin*作为内参基因, 每组设置3个重复。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算各基因的相对表达水平。

1.2.3 Western blot检测蛋白表达水平

用40 μ g/mL铁皮石斛提取物处理TM3细胞48 h后, 参照汤亚茹^[8]的方法, 检测细胞凋亡相关基因(*Bax*、*Caspase-3*和*Bcl-2*), 甾酮合成酶基因(*P450scc*、*CYP17a1*和*17 β -HSD*)和甾酮合成酶转录因子的上游调控因子基因*NF- κ B*的蛋白表达水平。

1.2.4 ELISA法测定TM3细胞培养基上清的甾酮浓度

采用Elabscience[®]甾酮(T)酶联免疫吸附测定试剂盒, 检测对照组和铁皮石斛处理组细胞处理48 h后培养基上清液中的甾酮浓度, 使用酶标仪在450 nm波长处测定各孔吸光度。

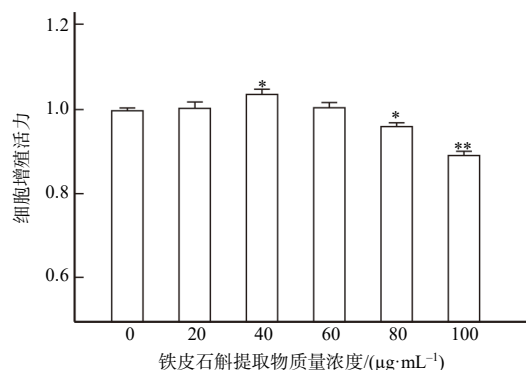
1.3 数据统计与分析

采用IBM SPSS 21.0统计分析试验数据。选用独立样本*t*检验分析组间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 铁皮石斛提取物对TM3细胞增殖活力的影响

研究结果(图1)表明, 铁皮石斛提取物处理TM3细胞24 h后, 40 μ g/mL处理组细胞增殖活力显著高



*, **分别表示处理组与对照组的差异有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。

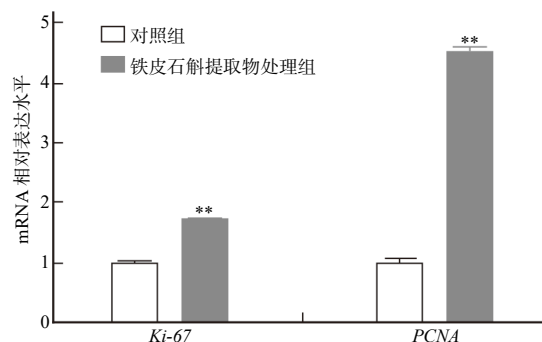
图1 不同浓度铁皮石斛提取物处理的TM3细胞增殖活力

Fig.1 The proliferation activity of TM3 cells treated with different mass concentrations of *Dendrobium officinale* extract

于对照组的; 80 μ g/mL处理组细胞增殖活力显著低于对照组的; 100 μ g/mL处理组细胞增殖活力极显著低于对照组的, 这说明40 μ g/mL铁皮石斛提取物处理TM3细胞能显著促进TM3细胞增殖, 而80、100 μ g/mL铁皮石斛提取物处理TM3细胞能显著抑制TM3细胞增殖。因此, 后续选取40 μ g/mL铁皮石斛提取物进行试验。

2.2 铁皮石斛提取物对TM3细胞增殖与凋亡相关基因表达的影响

用40 μ g/mL铁皮石斛提取物处理TM3细胞24 h后, 收集细胞, 通过qRT-PCR检测铁皮石斛处理组与对照组细胞增殖基因*Ki-67*和*PCNA*的mRNA相对表达水平。结果(图2)显示, 铁皮石斛处理组的*Ki-67*和*PCNA*的mRNA相对表达水平极显著高于对照组的。这表明40 μ g/mL铁皮石斛提取物可促进TM3细胞增殖。



**表示处理组与对照组的差异有统计学意义($P<0.01$)。

图2 铁皮石斛提取物处理的TM3细胞增殖基因的mRNA相对表达水平

Fig.2 The relative mRNA expression levels of proliferation-related genes in TM3 cells treated with *Dendrobium officinale* extract

采用qRT-PCR和Western blot检测各组细胞凋亡基因*Bax*、*Caspase-3*、*Caspase-8*以及抗凋亡基因*Bcl-2*的mRNA和蛋白相对表达水平。结果(图3)表明, 处理组*Bax*、*Caspase-3*和*Caspase-8*的mRNA相对表达水平极显著低于对照组的, *Bcl-2*的mRNA相对表达水平显著高于对照组的; 处理组*Bax*和*Caspase-3*蛋白相对表达水平极显著低于对照组的, *Bcl-2*蛋白相对表达水平极显著高于对照组的。这提示40 μ g/mL铁皮石斛提取物可抑制TM3细胞凋亡。

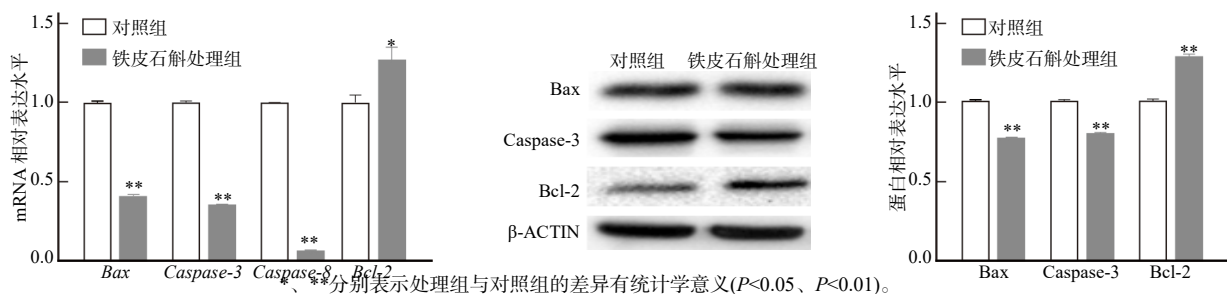


图3 铁皮石斛提取物处理的TM3细胞凋亡相关基因的mRNA和蛋白相对表达水平

Fig.3 The relative mRNA and protein expression levels of apoptosis-related genes in TM3 cells treated with *Dendrobium officinale* extract

2.3 铁皮石斛提取物对TM3细胞睾酮合成酶及相关转录因子表达的影响

通过qRT-PCR检测细胞睾酮合成酶基因 $StAR$ 、 $P450scc$ 、 3β -HSD、 $CYP17a1$ 和 17β -HSD与睾酮合成酶转录因子基因($Nur77$ 和 $SF-1$)及其上游调控因子基因($CREB$ 和 $NF-\kappa B$)的mRNA相对表达水平;通过Western blot检测各组细胞 $P450scc$ 、 $CYP17a1$ 、 17β -HSD和 $NF-\kappa B$ 蛋白相对表达水平。结果(图4)表明,处理组 $StAR$ 的mRNA相对表达水平显著高于对照组的, $P450scc$ 、 3β -HSD、 $CYP17a1$ 和 17β -HSD的mRNA相对表达水平极显著高于对照组的。处理

组睾酮合成酶转录因子基因 $Nur77$ 和 $SF-1$ 的相对mRNA表达水平极显著高于对照组的, 睾酮合成酶转录因子的上游调控因子基因 $CREB$ 的mRNA相对表达水平极显著高于对照组的, $NF-\kappa B$ 的mRNA相对表达水平极显著低于对照组的。处理组 $P450scc$ 、 $CYP17a1$ 和 17β -HSD蛋白相对表达水平极显著高于对照组的, $NF-\kappa B$ 蛋白相对表达水平极显著低于对照组的。结果提示, 40 μ g/mL铁皮石斛提取物可能通过调控TM3细胞睾酮合成酶及相关转录因子的表达水平, 进而促进其睾酮合成。

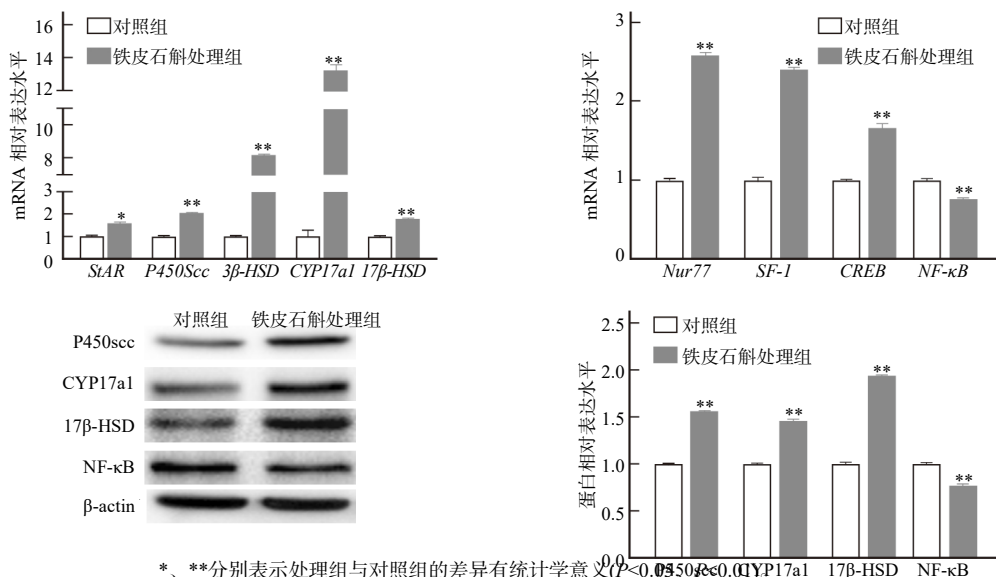


图4 铁皮石斛提取物处理的TM3细胞睾酮合成酶基因及相关转录因子基因的mRNA和蛋白相对表达水平

Fig.4 The relative mRNA and protein expression levels of testosterone synthase genes and their related transcription factors genes in TM3 cells treated with *Dendrobium officinale* extract

2.4 铁皮石斛提取物对TM3细胞睾酮分泌的影响

用40 μ g/mL铁皮石斛提取物处理TM3细胞24 h后,收集培养基上清液,采用ELISA法检测培养基中睾酮浓度。结果表明,处理组细胞培养基上清液

中睾酮质量浓度为(0.042 \pm 0.002) ng/mL,显著高于对照组的(0.018 \pm 0.001) ng/mL,这说明添加40 μ g/mL铁皮石斛提取物可促进TM3细胞睾酮分泌。

3 结论与讨论

用不同质量浓度的铁皮石斛提取物处理TM3细胞24 h后发现, 40 $\mu\text{g/mL}$ 铁皮石斛提取物可显著提高TM3细胞增殖活力。*Ki-67*和*PCNA*作为增殖标志基因, 可评价不同功能状态下细胞或组织的增殖活性^[9]。用40 $\mu\text{g/mL}$ 铁皮石斛提取物处理TM3细胞24 h后, *Ki-67*和*PCNA*的mRNA相对表达水平极显著升高, 这表明40 $\mu\text{g/mL}$ 铁皮石斛提取物可促进TM3细胞增殖。

在铁皮石斛多糖对大鼠缺氧缺血性脑损伤的研究中发现, 铁皮石斛多糖可增强神经营养因子的表达, 并抑制神经细胞凋亡^[10]。韩宏等^[11]研究发现, 铁皮石斛多糖对缺氧/复氧诱导的星形胶质细胞自噬具有抑制作用。沈鸿涛等^[12]证实, 铁皮石斛多糖可抑制由肿瘤坏死因子TNF- α 引起的神经细胞凋亡。李利娟等^[13]研究表明, 细胞凋亡受*Bcl-2*家族和*Caspase*家族等多个基因的调控, 其中*Caspase*通路在睾丸间质细胞凋亡中起到重要作用。本研究中, 40 $\mu\text{g/mL}$ 铁皮石斛提取物处理TM3细胞24 h后, *Bax*、*Caspase-3*和*Caspase-8*的mRNA相对表达水平极显著降低, *Bcl-2*的mRNA相对表达水平显著升高; *Bax*和*Caspase-3*蛋白相对表达水平极显著降低, 而*Bcl-2*蛋白相对表达水平极显著升高, 这提示适宜浓度的铁皮石斛提取物可抑制TM3细胞的凋亡。

睾酮的合成主要在睾酮合成酶(*StAR*、*P450scc*、*CYP17a1*、 3β -HSD和 17β -HSD)的催化作用下完成^[14]。40 $\mu\text{g/mL}$ 铁皮石斛提取物可显著提高TM3细胞的睾酮含量, 显著或极显著提高TM3细胞中睾酮合成酶基因(*StAR*、*P450scc*、 3β -HSD、*CYP17a1*、 17β -HSD)的mRNA相对表达水平, 极显著提高TM3细胞中睾酮合成酶基因(*P450scc*、*CYP17a1*、 17β -HSD)的蛋白相对表达水平, 这说明适宜浓度的铁皮石斛提取物可通过上调睾酮合成相关酶基因的表达来促进睾酮合成。

作为核受体, Nur77和SF-1可通过特异性结合反应元件来激活*StAR*、 3β -HSD和*CYP17a1*的启动子, 直接参与调控睾酮合成酶的表达^[15]。谷亚龙等^[14]研究发现, 用Nur77干扰腺病毒阻断Nur77后, *StAR*和 3β -HSD的表达量明显下降。JEYASURIA等^[16]认为, 在*SF-1*基因缺陷小鼠的睾丸间质细胞中, *StAR*和*P450scc*的表达均显著降

低。*CREB*作为一种转录因子, 其被激活后, 可与*SF-1*共同调节睾酮合成酶的表达^[17]。*NF- κ B*是重要的转录因子, 包括p65和p50两种亚基, *NF- κ B*被激活后, 可抑制SF-1和Nur77的转录活性^[18]。本研究表明, 40 $\mu\text{g/mL}$ 铁皮石斛提取物可极显著提高TM3细胞中睾酮合成酶相关转录因子基因(*Nur77*、*SF-1*)的mRNA表达水平, 可极显著提高睾酮合成酶相关转录因子上游调控因子基因*CREB*的mRNA表达水平, 极显著降低*NF- κ B*的mRNA和蛋白表达水平。这些结果说明, 适宜浓度的铁皮石斛提取物可通过调控睾酮合成酶相关转录因子基因的表达水平, 影响睾酮合成酶基因的表达, 进而促进睾酮合成。

总之, 40 $\mu\text{g/mL}$ 铁皮石斛提取物能促进体外培养的小鼠睾丸间质细胞增殖, 抑制细胞凋亡, 通过影响睾酮合成酶及其相关转录因子的表达来促进睾酮的合成。

参考文献:

- [1] KAPRARA A, HUHTANIEMI I T. The hypothalamus-pituitary-gonad axis: tales of mice and men[J]. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 2018, 86: 3–17.
- [2] PAPADOPOULOS V, MILLER W L. Role of mitochondria in steroidogenesis[J]. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2012, 26(6): 771–790.
- [3] TREMBLAY J J. Molecular regulation of steroidogenesis in endocrine Leydig cells[J]. *Steroids*, 2015, 103: 3–10.
- [4] 芦春斌, 张裕明, 朱倍倍, 等. 铁皮石斛多糖对顺铂引起的雄鼠生殖系统损伤的影响[J]. *中国药理学杂志*, 2019, 54(1): 28–35.
- [5] 仇平乐. 铁皮石斛多糖对良性前列腺增生模型小鼠的作用[D]. 广州: 暨南大学, 2018.
- [6] 肖开心, 朱滢嘉, 陈瑞, 等. 铁皮石斛药理作用研究进展[J]. *河南中医*, 2020, 40(5): 788–792.
- [7] 王明月, 胡财江, 安孟飞, 等. 铁皮石斛提取物改善切除卵巢致骨质疏松小鼠骨组织形态[J]. *江西农业学报*, 2021, 33(4): 98–102.
- [8] 汤亚茹. RFRP-3对小鼠睾丸间质细胞睾酮合成的作用及其机理初探[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2021.
- [9] ZHONG C F, TIAN W N, CHEN H Z, et al. Structural characterization and immunoregulatory activity of polysaccharides from *Dendrobium officinale* leaves[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2022, 46(1): e14023.
- [10] LI X L, HONG M. Aqueous extract of *Dendrobium*

- officinale* confers neuroprotection against hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats[J]. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 2020, 36(1): 43–53.
- [11] 韩宏, 刘文洁, 陈芳, 等. 铁皮石斛多糖对缺氧/复氧诱导星形胶质细胞AMPK/ULK1通路相关自噬的影响[J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38(17): 2110–2115.
- [12] 沈鸿涛, 刘雪, 吴婷婷, 等. 铁皮石斛多糖对神经细胞凋亡抑制作用的研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(8): 1214–1220.
- [13] 李利娟, 刘文涛, 罗欢欢, 等. 菟丝子总黄酮对小鼠睾丸间质细胞凋亡相关蛋白Bax、Bcl-2和caspase-3的影响[J]. *解放军医学院学报*: 2022, 43(2): 199–204.
- [14] 谷亚龙, 张新东, 金保方. Nur77在不同发育阶段小鼠睾丸的表达及其功能[J]. *中国男科学杂志*, 2015, 29(4): 9–13.
- [15] MARTIN L J, TREMBLAY J J. Nuclear receptors in Leydig cell gene expression and function[J]. *Biology of Reproduction*, 2010, 83(1): 3–14.
- [16] JEYASURIA P, IKEDA Y, JAMIN S P, et al. Cell-specific knockout of steroidogenic factor 1 reveals its essential roles in gonadal function[J]. *Molecular Endocrinology*, 2004, 18(7): 1610–1619.
- [17] 孙佳音, 应锋, 韩晓冬. 睾丸间质细胞中睾酮合成酶及蛋白表达的调控因子[J]. *生殖与避孕*, 2009, 29(1): 42–47.
- [18] SCHIMMER B P, CORDOVA M, CHENG H, et al. Global profiles of gene expression induced by adrenocorticotropin in Y1 mouse adrenal cells[J]. *Endocrinology*, 2006, 147(5): 2357–2367.
- 责任编辑: 邹慧玲
英文编辑: 罗 维

(上接第95页)

- [29] 王伟鹏, 张华. 长期施肥对华北农田褐土团聚体微结构与稳定性的影响[J]. *农业工程学报*, 2022, 38(10): 68–74.
- [30] 甘佳伟, 韩晓增, 邹文秀. 球囊霉素及其在土壤生态系统中的作用[J]. *土壤与作物*, 2022, 11(1): 41–53.
- [31] 吴梦瑶, 陈林, 庞丹波, 等. 贺兰山不同海拔植被下土壤团聚体分布及其稳定性研究[J]. *水土保持学报*, 2021, 35(2): 210–216.
- [32] ZHANG Z L, KAYE J P, BRADLEY B A, et al. Cover crop functional types differentially alter the content and composition of soil organic carbon in particulate and mineral-associated fractions[J]. *Global Change Biology*, 2022, 28(19): 5831–5848.
- [33] ZHANG X, SHEN S W, XUE S Q, et al. Long-term tillage and cropping systems affect soil organic carbon components and mineralization in aggregates in semiarid regions[J]. *Soil and Tillage Research*, 2023, 231: 105742.
- [34] 王国禧, 王萍, 刘亚龙, 等. 球囊霉素在土壤团聚体中的分布特征及影响因素的Meta分析[J]. *土壤学报*, 2024, 61(4): 1147–1155.
- [35] 吕奕彤, 于爱忠, 吕汉强, 等. 绿洲灌区玉米农田土壤团聚体组成及其稳定性对绿肥还田方式的响应[J]. *中国生态农业学报(中英文)*, 2021, 29(7): 1194–1204.
- [36] 李倩倩, 许晨阳, 耿增超, 等. 生物炭对壤土土壤容重和团聚体的影响[J]. *环境科学*, 2019, 40(7): 3388–3396.
- [37] 焦锦堂, 孙万仓, 方彦, 等. 冬油菜覆盖对土壤理化性状及微生物的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2023, 41(6): 128–139.
- [38] STANEK-TARKOWSKA J, CZYŻ E A, PASTUSZCZAK M, et al. The impact of using different doses of biomass ash on some physical properties of podzolic soil under the cultivation of winter oilseed rape[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2022, 19(11): 6693.
- [39] 鲁泽让, 陈佳钰, 李智贤, 等. 冬绿肥覆盖对土壤团聚体及有机碳和AMF多样性的影响[J]. *环境科学*, 2024, 45(4): 2363–2372.
- [40] 冯浩亮, 韩晓增, 陆欣春, 等. 有机培肥影响土壤团聚体形成与稳定的研究进展[J]. *土壤与作物*, 2023, 12(4): 393–400.
- 责任编辑: 邹慧玲
英文编辑: 柳 正