

# 基于微生物组学评估不同有机肥对暗紫贝母核苷类活性成分和产量的影响

张浩博<sup>1,2</sup>, 高旦<sup>2</sup>, 吴宇涵<sup>1,2</sup>, 杨泽敏<sup>2</sup>, 高旭升<sup>1</sup>, 霍慧敏<sup>1</sup>, 李西文<sup>1,2\*</sup>, 包海鹰<sup>1\*</sup>

1. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118

2. 中国中医科学院中药研究所, 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室, 北京 100700

**摘要:** **目的** 阐明不同有机肥处理对暗紫贝母 *Fritillaria unibracteata* 出苗率、产量和核苷类活性成分的影响, 并初步揭示其作用机制。**方法** 通过对三年生的暗紫贝母施加不同浓度的猪粪肥和鸡粪肥, 比较有机肥添加对暗紫贝母出苗率、产量和品质的差异, 并对其根际微生物进行高通量测序分析, 解析不同施肥处理下暗紫贝母根际土壤微生物群落组成差异与品质和产量间的内在关系。**结果** 猪粪肥 (1.35 kg/m<sup>2</sup>) 和鸡粪肥 (1.35 kg/m<sup>2</sup>) 的施用显著改善了土壤酸化情况, 增加了土壤中有效磷和总磷的含量, 使暗紫贝母出苗率分别提升至 (95.06 ± 4.58)% 和 (95.86 ± 0.94)%, 产量分别提升 58.71% 和 20.07%, 核苷类活性成分明显增加, 如胞苷分别提升 17.33% 和 19.56%、鸟苷分别提升 140.09% 和 11.28%。微生物组学结果显示施加有机肥后不会影响川贝母根际微生物群落多样性, *Pirellula*、*Pyrinomonas* 和 *Stenotrophobacter* 等有益微生物丰度显著提升; 共线性网络分析证明施肥后川贝母根际微生物群落之间的模块化程度明显加强; 鲁棒性分析表明鸡粪肥的施加使细菌和真菌群落结构更加稳定; 冗余分析和结构方程建模表明有效磷含量与土壤微生物群落多样性、暗紫贝母产量和质量之间存在显著关联。**结论** 施加适度的猪粪肥和鸡粪肥能改善暗紫贝母土壤生长环境, 优化土壤环境因子, 并增强根际土壤微生物结构稳定性和紧密性, 进而使暗紫贝母产量和品质得到显著提升。可为暗紫贝母的品质提升从营养调控角度提供新的策略, 并为其规范化栽培奠定基础。

**关键词:** 暗紫贝母; 核苷; 品质; 微生物组学; 结构方程

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)11-4043-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.11.024

## Microbiome-based of effects of different organic fertilisers on growth and nucleoside active compounds of *Fritillaria unibracteata*

ZHANG Haobo<sup>1,2</sup>, GAO Dan<sup>2</sup>, WU Yuhan<sup>1,2</sup>, YANG Zemin<sup>2</sup>, GAO Xusheng<sup>1</sup>, HUO Huimin<sup>1</sup>, LI Xiwen<sup>1,2</sup>, BAO Haiying<sup>1</sup>

1. School of Traditional Chinese Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

**Abstract: Objective** The aim of this study was to elucidate the effects of different organic fertiliser treatments on seedling emergence rate, yield and nucleoside active compounds of *Fritillaria unibracteata* and to preliminarily elucidate their mechanism of action.

**Methods** By applying different concentrations of pig manure and chicken manure to the three-year-old *F. unibracteata*, we compared the differences in seedling emergence rate, yield and quality of *F. unibracteata* by organic fertiliser additions, and carried out high-throughput sequencing analysis of its inter-root microorganisms to analyse the intrinsic relationship between differences in the composition of soil microbial communities in the inter-root of *F. unibracteata* and its quality and yield under different fertiliser application treatments.

**Results** The application of pig manure (1.35 kg/m<sup>2</sup>) and chicken manure (1.35 kg/m<sup>2</sup>) significantly improved soil acidification, increased soil effective phosphorus and total phosphorus contents, and increased the seedling emergence rate of *F. unibracteata* to (95.06 ± 4.58)% and (95.86 ± 0.94)%, respectively, and the yield by 58.71% and 20.07%, respectively. There was a significant increase in nucleoside agents

收稿日期: 2024-12-02

基金项目: 中国中医科学院科技创新工程项目 (CI2024C003YN); 北京市自然科学基金资助项目 (7254508); 国家重大新药创制科技重大专项 (2019ZX09201005-006-001); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金 (ZXKT22061, ZZ18-YQ-036)

作者简介: 张浩博 (1998—), 男, 硕士研究生, 从事分子辅助育种。E-mail: zzzhb942@163.com。

\*通信作者: 包海鹰 (1965—), 女, 教授, 博士生导师, 主要从事天然药物研究。E-mail: baohaiying2008@126.com

李西文 (1978—), 男, 研究员, 博士生导师, 从事品质中药材栽培及育种研究。E-mail: xwli@implad.ac.cn

such as cytidine by 17.33% and 19.56% and guanosine by 140.09% and 11.28% respectively. Microbiomics results showed that organic manure application did not affect the diversity of microbial communities in the inter-root area of *F. unibracteata*, and the abundance of beneficial microorganisms such as *Pirellula*, *Pyrinomonas* and *Stenotrophobacter* was significantly increased, co-occurrence network analysis showed that the modularity between microbial communities in the inter-root area of *F. unibracteata* was significantly enhanced by the application of organic manure, and robustness analysis showed that the application of chicken manure made the bacterial and fungal communities more diverse. Redundancy analysis and structural equation modelling revealed significant associations between effective phosphorus content and soil microbial community diversity, yield and quality of *F. unibracteata*. **Conclusion** The application of moderate swine manure and chicken manure fertilizers can ameliorate the soil microenvironment for *F. unibracteata* growth, optimize critical soil environmental factors, and enhance the structural stability and compactness of rhizosphere soil microbial communities. These improvements consequently lead to significant enhancements in both yield and quality of *F. unibracteata*. This study provides novel strategies for quality improvement of *F. unibracteata* from the perspective of nutritional regulation, while establishing a scientific foundation for its standardized cultivation practices.

**Key words:** *Fritillaria unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia; nucleoside; quality; microbiomics; structural equation model

川贝母药用历史悠久,具有清热润肺、化痰止咳、消痈散结的功效<sup>[1]</sup>,是中国传统的珍贵濒危中药材之一。暗紫贝母 *Fritillaria unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia 作为“松贝”主要的基源物种,其品质上乘,每千克价格已超 4 000 元<sup>[2-3]</sup>。川贝母的主要药效成分为总生物碱和核苷类成分,其核苷类成分具有增强免疫、预防心血管疾病等药理作用<sup>[4-5]</sup>。然而,野生川贝母资源正面临严峻挑战。由于过度采挖以及自然条件下种子休眠时间长、繁殖系数低、育苗困难等诸多问题,野生川贝母的资源日益匮乏。尽管人工栽培川贝母已有一定规模,但由于栽培历史较短,施肥管理经验不足,这极大地制约了川贝母的繁殖和培育。因此,深入研究川贝母的规范化施肥技术,对于解决出苗率低、品质下降以及资源匮乏等问题具有极其重要的现实意义。

目前市场上肥料种类繁多,但大多数肥料主要针对粮食蔬菜等经济作物。化肥能在短时间内显著提升土壤肥力,但长期施用会导致土壤理化性质发生明显变异,进而对土壤环境造成潜在危害<sup>[6]</sup>。许多研究表明,施用有机肥是提高中药材产量和质量的有效方法,如李玉斌等<sup>[7-8]</sup>栽培人参和苦蕒施加有机粪肥,改善了农艺效率和生态系统。有机肥作为一种有机碳源,对土壤微生物的数量和活性有积极影响<sup>[9-11]</sup>,并且对植物根际细菌多样性的影响较小,其中猪粪肥和鸡粪肥通过腐熟发酵不仅有效提供植物所需氮源,而且能够有效改善土壤环境肥力。尽管近年来川贝母根际微生物研究已有所进展,但主要集中在生长过程中的动态变化以及对川贝表型性状的影响等方面<sup>[12]</sup>。关于施加有机肥对川贝母根际微生物和内因代谢物变化的研究相对较少,尤其是

微生物群落结构变化与川贝母核苷类物质的相互关系仍不明确。此外,关于在栽培川贝母过程中施用猪粪肥和鸡粪肥的研究报道也较为罕见,有机肥对川贝母根际微生物的功能机制仍需深入探索。

本研究运用先进的微生物组学技术和指纹图谱技术,旨在系统研究青海地区施加不同有机肥处理的暗紫贝母根际微生物群落。通过比较有机肥添加对暗紫贝母出苗率、产量和品质的影响,深入探讨暗紫贝母根际土壤微生物群落组成差异与品质和产量之间的关系。这一研究不仅有助于更深入地理解有机肥对暗紫贝母根际微生物群落的调控机制,更为后续的科学研究和栽培实践提供了有力的理论依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 材料

本研究在青海省海东市互助土族自治县川贝母规范化种植基地,开展暗紫贝母收集(青海绿康生物开发有限公司,东经 36°59',北纬 101°59'),基地海拔 3 050 m,属大陆寒温带气候,年平均气温 5.8 °C,年累计降水量 477.4 mm。经中国中医科学院中药研究所李西文研究员鉴定,所有植株均为 3 年生百合科植物暗紫贝母 *F. unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia。本研究的试验地点位于中国青海省海东市互助县的川贝母标准化示范种植基地。

### 1.2 仪器与试剂

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); DHG-9070 型烘箱(上海一恒科学仪器有限公司); BO-1000S1 型多功能粉碎机(永康市铂欧五金制品有限公司); HH-8 型水浴锅(北京华港通科技有限公司); FA1004E 型万分之一电子天平(常州市

幸运电子设备有限公司), 752 型紫外-可见分光光度计(上海舜宇恒平科学仪器有限公司), UPTC-10 型纯水机(杭州亿捷科技有限公司)。对照品尿苷(批号 CFS202101)、鸟苷(批号 CFS202101)、胸苷(批号 CFS202102)、腺苷(批号 CFS202201)、胞苷(批号 CFN92490)、鸟嘌呤(批号 CFS202101)均购自武汉中标科技有限公司, 质量分数均≥98%, 脱氧腺苷(质量分数>98%, 伊势久生物科技有限责任公司, 货号 958-09-8), 甲醇为色谱纯; 水为超纯水; 其他化学试剂均为分析纯。

## 2 方法

### 2.1 土壤取样

田间试验共设 3 个处理, 空白对照组(CK), 不施肥; PF(1~5)组为猪粪肥; CF(1~5)组为鸡粪肥。其中 PF1~5 为不同浓度(0.75、1.35、2.43、4.37、7.87 kg/m<sup>2</sup>)的猪粪肥处理组, CF1~5 为不同浓度(0.75、1.35、2.43、4.37、7.87 kg/m<sup>2</sup>)的鸡粪肥处理组。每个处理组设 3 个平行小区(1 m×1 m, 共 11 个小区)。采用随机完全区组设计分配试验小区。

在地上部分枯萎后, 收获鳞茎, 称取鳞茎鲜质量, 以估算每个小区的产量。从每个小区的鳞茎表面采集根圈土壤样本。总共 12 份(3 个处理×4 个重复)土壤样本被立即冷冻并送往实验室。每个土壤样本分成 2 份, 分别保存在-80 °C 和 4 °C 下, 用于分析微生物群落, 土壤酶活和土壤理化。

### 2.2 土壤理化分析

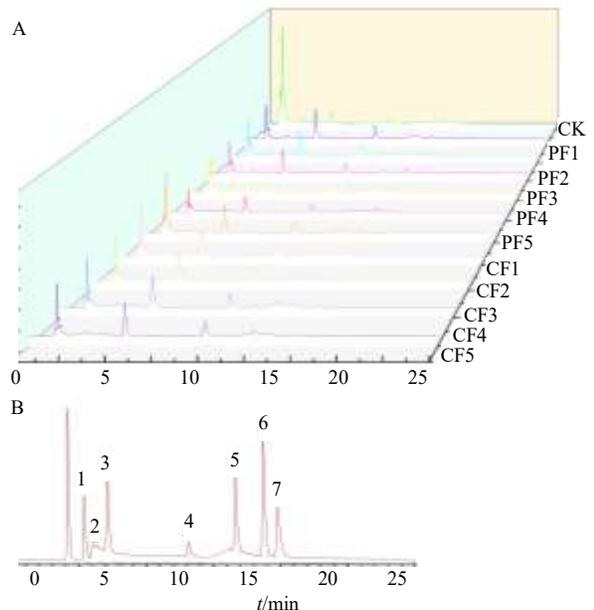
土壤 pH 值通过水土比为 2.5 : 1 的振动泥浆进行分析, 并使用 pH 计测定<sup>[13]</sup>。土壤总有机碳(TOC)和总氮(TN)用元素分析仪测定; 总磷(TP)和总钾(TK)采用氢氧化钠熔焰分光光度法测定; 有效磷(AP)采用 NaHCO<sub>3</sub>法测定, 有效钾(AK)采用醋酸铵萃取-火焰分光光度法测定。有效氮(AN)的测定采用扩散盘法<sup>[14]</sup>。

### 2.3 核苷类成分含量的测定

**2.3.1 供试品溶液的制备** 精密称取各批次暗紫贝母干燥鳞茎粉末各 1 g, 10 mL 蒸馏水超声提取 1 h, 离心 10 min, 用蒸馏水稀释至 25 mL, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

**2.3.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取减压干燥至恒定质量的胞苷、鸟嘌呤、尿苷、鸟苷、胸苷、腺苷和脱氧腺苷对照品适量, 加纯净水溶解并制成质量浓度分别为 2.0、2.0、3.0、2.0、2.0、3.0、3.0、2.0 mg/ml 的混合对照品溶液。

**2.3.3 色谱条件** 色谱采用色谱柱: ZORBAXA SB-C<sub>18</sub>, 250 mm×4.6 mm, 5 μm; 柱温 30 °C, 体积流量 1.0 mL/min, 进样量 10 μL。流动相为甲醇(A)-水(B), 梯度洗脱: 0~10 min, 1%~5%A; 10~15 min, 5%~15%A; 15~20 min, 15%~20%A; 20~30 min, 20%~30%A; 检测波长 260 nm。体积流量 1.0 mL/min, 进样量 20 μL。



1-胞苷; 2-鸟嘌呤; 3-尿苷; 4-鸟苷; 5-胸苷; 6-腺苷; 7-脱氧腺苷。  
1-cytidine; 2-guanine; 3-uridine; 4-guanosine; 5-thymidine; 6-adenosine; 7-deoxyadenosine.

图 1 不同施氮处理的暗紫贝母鳞茎 (A) 和混合对照品 (B) 溶的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of bulbs of *F. unibracteata* under different nitrogen application treatments (A) and mixed reference standards (B)

**2.3.4 线性方程的绘制** 参考本课题组杨泽敏等<sup>[15]</sup>方法, 以峰面积(Y)对进样量(X)进行线性回归, 建立 7 种核苷类成分标准曲线的回归方程, 峰面积与核苷含量之间具有显著的线性相关性(表 1)。

表 1 7 种核苷成分标准曲线方程及线性范围

Table 1 Standard curve equations and linear ranges of seven nucleoside components

成分	回归方程	线性范围/(μg·mL <sup>-1</sup> )	r
胞苷	Y=194.46 X-30.804	0.1563~2.500	0.994 9
鸟嘌呤	Y=167.86 X-83.11	0.2343~3.750	0.999 4
尿苷	Y=493.99 X-181.71	0.1563~2.500	0.999 3
鸟苷	Y=48.975 X-11.754	0.1563~2.500	0.996 0
胸苷	Y=386.15 X-93.044	0.2343~3.750	0.994 9
腺苷	Y=336.44 X-81.106	0.2343~3.750	0.994 5
脱氧腺苷	Y=331.13 X-59.188	0.1563~2.500	0.993 1

**2.3.5 方法学考察** 参考本课题组 Wang 等<sup>[16]</sup>对该方法的方法学考察, 精密度、稳定性、重复性及加样回收率均符合实验要求。

**2.4 根际土壤酶活的测定**

土壤酶活参考黎海灵等<sup>[5, 17]</sup>的方法分别进行测定: 土壤过氧化氢酶 (S-CAT) 采用高锰酸钾滴定法测定, 土壤中性磷酸酶 (S-NP) 采用硝基苯磷酸盐法测定, 土壤脱氢酶 (S-DHA) 采用 TTC 比色法测定, 土壤蔗糖酶 (S-SC) 采用硝基水杨酸法测定, 土壤 β-葡萄糖苷酶 (S-β-GC) 采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定。

**2.5 生物信息学分析**

使用 QIIME 软件对原始 OTU 序列进行质量筛选, 从而获得操作分类单元 (OTU) 代表序列。这包括去除低质量和模糊的 OTU 序列, 以 97% 的相似度对非重复序列 (不包括单一序列) 进行聚类, 并在聚类过程中去除嵌合体。然后将优化后的序列映射到 OTU 代表序列上, 选出相似度超过 97% 的序列。使用 Mothur (v.1.30.1) 分析了 α-多样性, 包括 Chao1、Shannon 和 ACE 指数。使用 R 软件包 “ggplot2” 对结果进行了可视化处理。研究使用 Mantel 检验和 R 软件包 “ggcor” 的相关性分析, 检验了微生物群落、土壤酶和生物活性化合物之间的关系。利用 R 软件包 “ggClusterNet” 分析了真菌和细菌共生网络。拓扑特性由 Pipeline 计算得出, 结果使用 Gephi (0.10) 软件可视化。为了研究有机肥添加量对土壤和植物变量以及微生物多样性之间的相关性, 使用 R 软件包 “lavaan” 进行了结构方程建模 (SEM) 分析。该分析旨在更好地理解施用有机肥对鳞茎产量和质量的影响。

**2.6 数据分析**

数据处理、分析和绘图使用 IBM SPSS、Excel 和 GraphPad Prism 软件进行。采用单因子方差分析确定样本间的显著差异。土壤微生物组的分析图谱和功能富集在凌恩生物云平台 (<http://www.cloud.biomicroclass.com/>) 上进行。使用非计量多维标度 non-metric multidimensional scaling, NMDS) 对各种有机肥样本之间的微生物结构差异进行分类。方差分析 (variance partitioning analysis, VPA) 和冗余分析 (redundancy analysis, RDA) 用于确定土壤理化性质与微生物群落之间的相关程度。

**3 结果与分析**

**3.1 施用不同有机肥对暗紫贝母出苗率、叶面积、产量和核苷类物质含量的影响**

在出苗期, 通过对施用不同浓度的有机肥下出

苗率的统计发现猪粪肥 (1.35 kg/m<sup>2</sup>) 组的出苗率为 (95.06±4.27)%, 鸡粪肥 (1.35 kg/m<sup>2</sup>) 组的出苗率为 (95.86±0.94)%, 明显高于其他浓度处理组 (P<0.05); 在展叶期通过暗紫贝母的叶面积的比较发现, 猪粪肥 (1.35 kg/m<sup>2</sup>) 和鸡粪肥 (1.35 kg/m<sup>2</sup>) 处理组的叶面积分别为 (9.685±2.314) cm<sup>2</sup> 和 (9.342±2.142) cm<sup>2</sup>, 显著高于其他处理组 (P<0.05); 在成熟期, 对暗紫贝母产量分析表明, 猪粪肥 (1.35 kg/m<sup>2</sup>) 和鸡粪肥 (2.43 kg/m<sup>2</sup>) 可以促进暗紫贝母药用部位的发育, 促使其产量分别提高了 58.71% 和 52.43%, 但当猪粪肥浓度超过 7.87 kg/m<sup>2</sup> 或鸡粪肥浓度低于 0.75 kg/m<sup>2</sup> 时, 会对暗紫贝母产量产生负面影响, 其他浓度下的有机肥对暗紫贝母的产量均呈现增加趋势 (P<0.05), 见图 2。

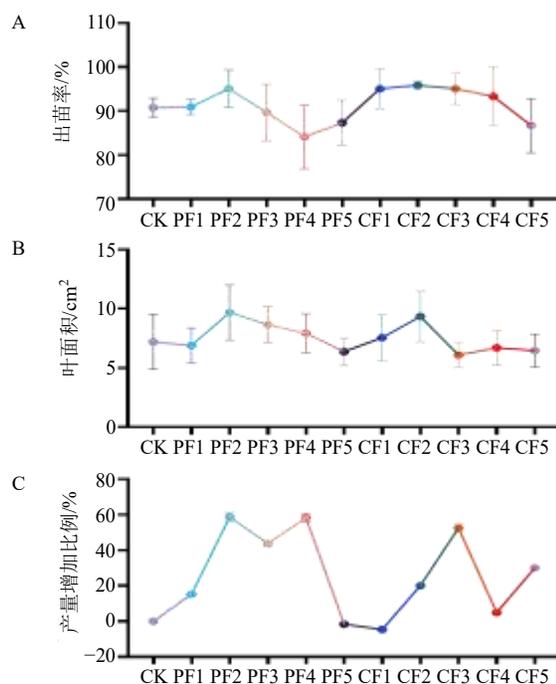


图 2 不同有机肥处理下暗紫贝母の出苗率 (A)、叶面积 (B) 和产量 (C)

Fig. 2 Emergence rate (A), leaf area (B) and yield (C) of *F. unibracteata* under different fertilizer treatments

对暗紫贝母的核苷类物质进行测定, 结果表明不同施肥处理下鳞茎中核苷类成分的种类相似, 但含量差异较大。随着有机肥含量的增加, 尿苷、尿嘧啶和腺苷等活性成分的含量呈先降后升的趋势, 猪粪肥 (1.35 kg/m<sup>2</sup>) 施用提高了 27.75% 的胞苷含量、提高了 11.96% 的鸟嘌呤含量、提高了 101.61% 的尿苷含量、提高了 94.49% 鸟苷含量、提高了 6.09% 的胸苷含量、提高了 5.40% 的腺苷含量, 鸡粪肥 (1.35

kg/m<sup>2</sup>)施用提高了 57.09%的胞苷含量、提高了 3.55%的鸟嘌呤含量、提高了 61.44%的尿苷含量、提高了 78.38%鸟苷含量、提高了 41.75%的腺苷含量。

总之,不同施肥浓度下暗紫贝母叶面积、产量、出苗率和核苷类物质含量的分析表明,有机肥有助于提高暗紫贝母的品质和产量(图2和图3)。

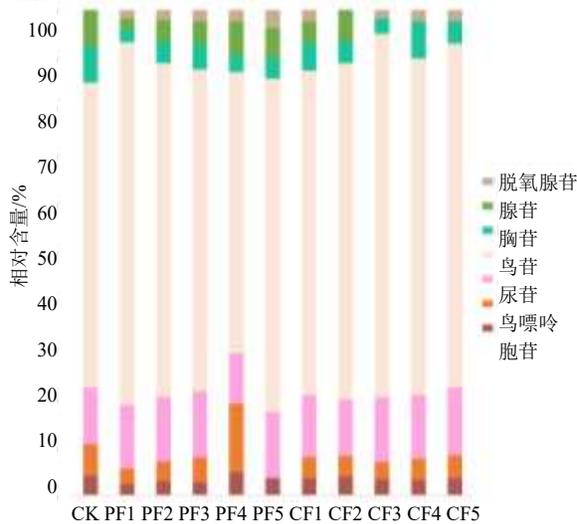


图3 核苷成分的相对含量

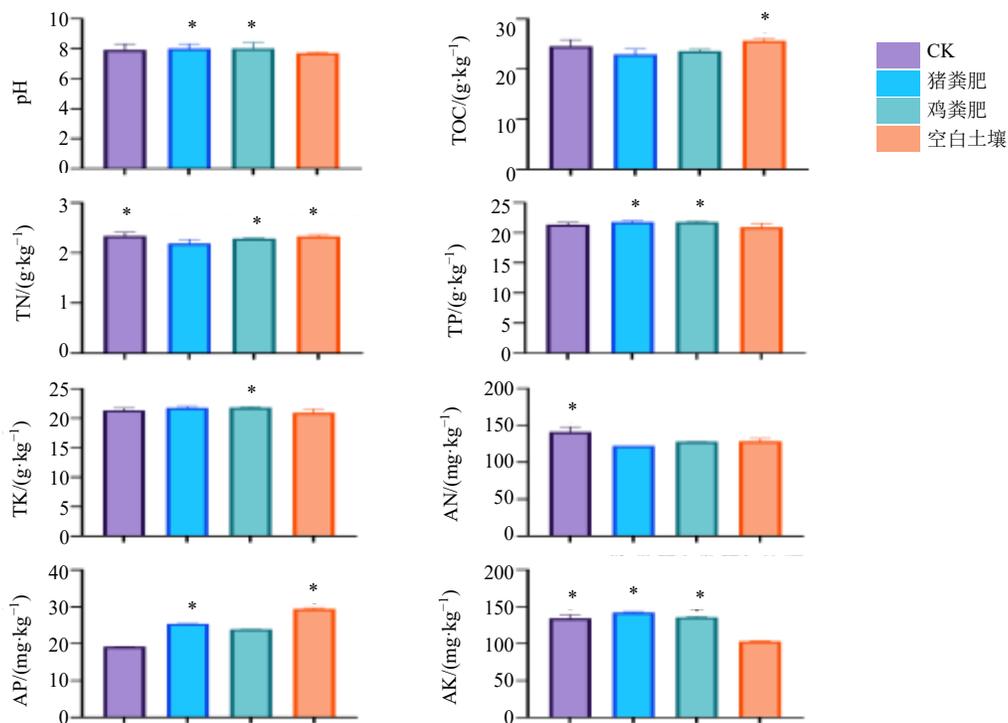
Fig. 3 Relative content of nucleoside components

### 3.2 施用有机肥对暗紫贝母土壤理化性质的影响

对空白土壤和不同施肥处理的暗紫贝母土壤环境的性质进行测定和分析,结果表明暗紫贝母土壤施用有机肥(1.35 kg/m<sup>2</sup>)提高了土壤酸碱度(pH)显著改善了土壤酸化情况( $P < 0.05$ ),增加了土壤中TK和TP的含量( $P < 0.05$ ),间接的增加了暗紫贝母土壤中AK和AP的含量,见图4。

### 3.3 施用有机肥处理对暗紫贝母根际微生物群落组成的影响

通过分析Chao1、ACE和Shannon指数来评估不同有机肥处理下暗紫贝母土壤微生物群落的 $\alpha$ -多样性(图5)。研究发现,根据不同施肥处理对土壤细菌和真菌群落的丰富度和多样性无显著影响,说明施加猪粪肥和鸡粪肥并不会显著影响暗紫贝母土壤微生物群落的多样性,可以安全地用于暗紫贝母的栽培过程。主坐标分析显示,不同处理组的样品在不同象限能明显区分出不同的群落(图6-A和B),这表明不同有机粪肥处理组和CK组的土壤细菌群落组成和真菌群落结构是不同的。施肥管理使得细菌门的组成产生显著差异( $P < 0.01$ ),但并不影响真菌门的组成( $P > 0.05$ ),不同施肥处理间暗

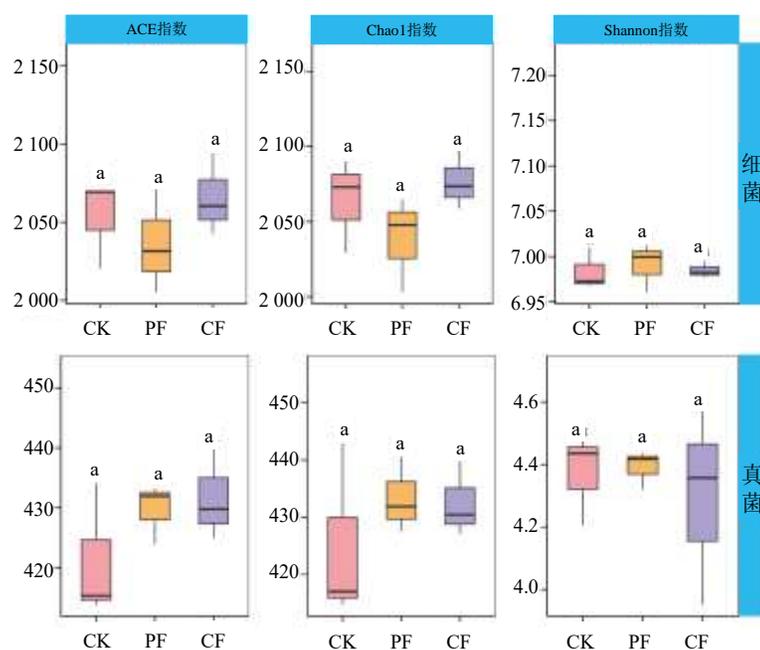


与CK比较: \* $P < 0.05$ 。

\* $P < 0.05$  vs CK.

图4 不同施肥处理下的土壤化学特性

Fig.4 Soil chemical properties under different fertilizer treatments



小写字母不同的处理组表示差异显著,  $P < 0.05$ , 下同。

The treatment groups with different lowercase letters showed significant differences,  $P < 0.05$ , same as below.

图5 不同处理组土壤微生物群落的 Alpha 多样性指数

Fig. 5 Alpha diversity index of soil microbial communities in different treatment groups

紫贝母土壤微生物群落结构存在显著差异, 表明通过施用有机肥可以改变暗紫贝母土壤微生物群落的结构及组成。置换多变量方差分析验证了细菌 ( $df=2$ ,  $R^2=0.2964$ ,  $P=0.005$ ) 和真菌 ( $df=2$ ,  $R^2=0.3191$ ,  $P=0.019$ ) 的主坐标分析结果, 表明主坐标分析数据的可信度较高 (图 6-A 和 B)。

施用不同有机肥处理组暗紫贝母根际土壤微生物的主要优势细菌门 (相对序列丰度  $> 1\%$ ) 为 Proteobacteria (35.05%)、Acidobacteria (29.31%)、Bacteroidetes (10.86%)、Planctomycetes (6.08%)、Gemmatimonadetes (5.34%)、Actinobacteria (4.14%)、Firmicutes (2.38%)、Verrucomicrobia (1.71%) 和 Cyanobacteria (1.09%), 占细菌微生物序列的 98.07% (图 6-C)。施用不同有机肥处理组暗紫贝母根际土壤微生物的主要优势真菌门 (相对序列丰度  $> 1\%$ ) 为 Ascomycota (63.76%)、Mucoromycota (25.84%)、Basidiomycota (7.12%) 和 Chytridiomycota (3.05%), 占真菌微生物序列的 99.78% (图 6-D)。

对门水平的细菌群落相对丰度前 10 的差异物种进行分析显示, 施用猪粪肥和鸡粪肥增加了 Terrimonas 和 Pirollula 的相对丰度, 降低了 Luteitalea 和 Stenotrophobacter 的相对丰度 (图 7-A)。对门水平的真菌群落相对丰度排名前 10 的差异物种进行

分析后发现, 施用有机粪肥增加了 Mortierella 和 Sobicocozyma 的相对丰度。此外, 施用猪粪肥和鸡粪肥降低了 Fusarium、Heydenia 和 Podospora 的相对丰度 (图 7-B)。

### 3.4 暗紫贝母根际微生物群落的共线性网络分析

通过分析细菌群落共线性网络分析的拓扑指标, 发现与其他组相比, 猪粪肥处理组的网络边数和平均度最高 (表 2)。猪粪肥处理组的模块化指数最高, 其次是鸡粪肥处理组。这一结果表明由于猪粪和鸡粪处理组的模块化程度较高, 因此施用有机肥可以增强土壤细菌群落的相关性。鲁棒性分析结果显示, 鸡粪肥处理组的稳健性明显高于 CK 和猪粪处理组 (图 7-C)。根据真菌群落的网络拓扑指数分析, 结果表明有机肥处理后网络总边数、平均聚类系数、图密度和平均度均有所增加 (表 2)。其中猪粪处理组的模块化指数最高, 证明猪粪肥能提高真菌群落的相关性, 能使真菌群落结构更模块化、更稳定。鲁棒性分析结果表明鸡粪处理组的稳健性高于 CK 组, 猪粪处理组最低, 但猪粪处理组与 CK 组的稳健性无显著差异 (图 7-D)。通过分析前 3 个模块在各组中的比例, 发现真菌群落的前 3 个模块在鸡粪处理组中所占比例最大, 其次是 CK 组 (图 7-B), 这说明施用鸡粪肥可以提高真菌群落结构稳

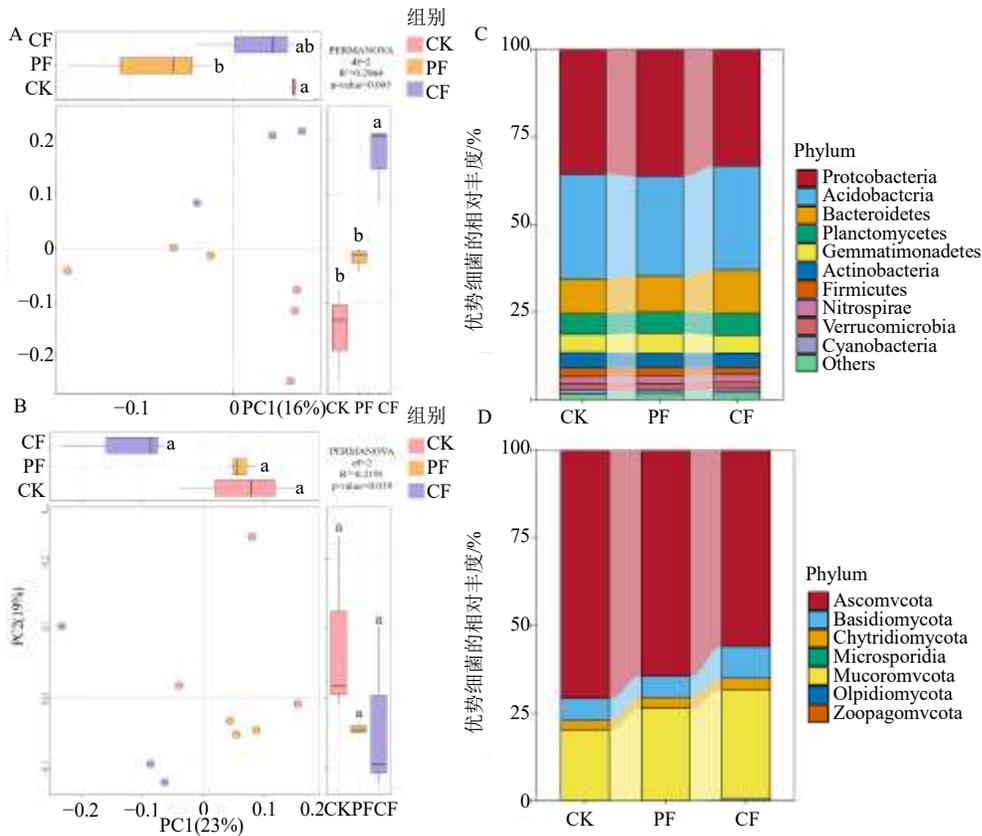


图 6 不同施肥组细菌 (A) 和真菌 (B) 的加权-Unifrac 距离矩阵主坐标分析和不同组有机肥细菌 (C) 和真菌 (D) 相对丰度的柱状图

Fig. 6 Principal coordinate analysis of weighted-Unifrac distance matrix for bacteria (A), and fungi (B) in different fertilizer treatment groups, and histograms of relative abundances of bacteria (C) and fungi (D) in organic fertilizer treatment groups

定性。

### 3.5 不同有机肥处理对暗紫贝母根际微生物群落生态功能的影响

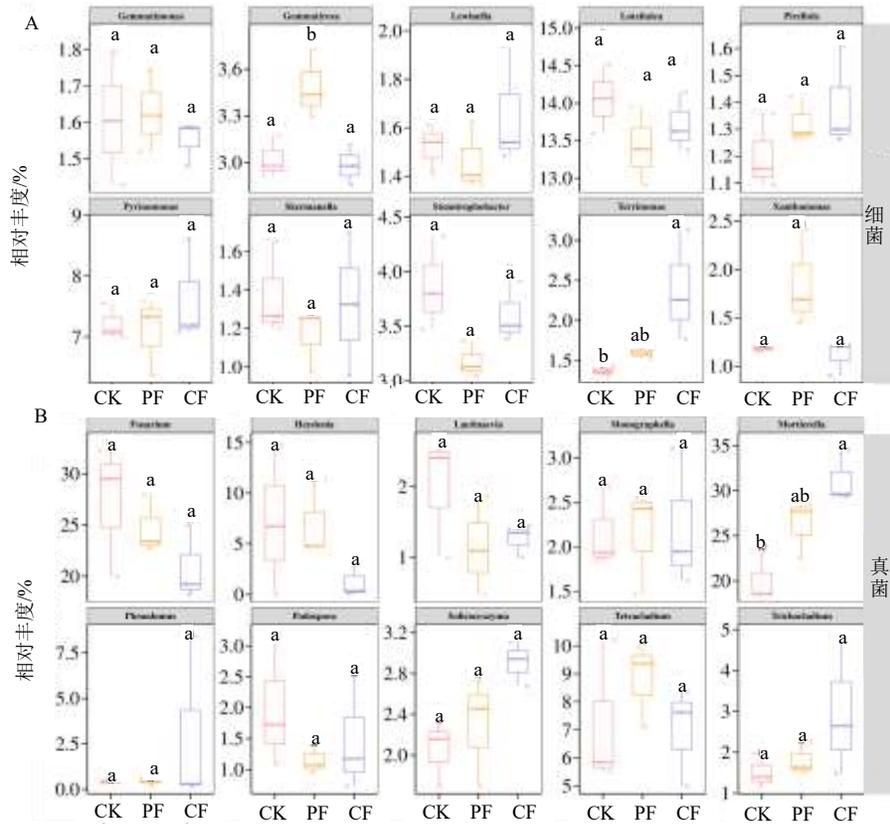
根据 FAPROTAX 功能分析, 化合营养、需氧化合营养、尿素分解、木聚糖分解和硝酸盐还原是各施肥处理组细菌群落功能的前 5 位 (图 8-A)。猪粪处理组和鸡粪处理组的好氧化合营养、脲解和木聚糖分解的功能丰度明显提高, 表明施用猪粪肥或鸡粪肥能提高土壤中化能异养菌和好氧异养细菌的相对丰度, 促进土壤中有机质的分解和转化。

对暗紫贝母根际土壤真菌群落进行 PICRUST2 功能分析, 结果表明糖代谢是各处理组真菌群落的第 1 个功能分类。在前 30 项功能中, 与其他处理组相比, 鸡粪处理组能明显改善氨基酸代谢、能量代谢、辅因子和维生素代谢、脂质代谢等功能比率; 此外, 鸡粪处理组也能明显改善碳水化合物代谢、膜运输、细胞生长和死亡以及传染病。同时, 鸡粪处理组和猪粪处理组还能明显降低土壤中感染性疾病: 细菌、细胞群

落原核生物和免疫系统的比例 (图 8-B)。

### 3.6 土壤环境因素对暗紫贝母根际微生物群落组成和多样性的影响

利用线性回归对土壤环境因子与土壤微生物的相关性进行评估 (图 10-A 和 B), 结果表明土壤环境因子与土壤微生物群落变化呈显著正相关, 土壤微生物群落的变化随着土壤环境因子差异的增加而增加。RDA 表明, 所选环境因子解释了细菌群落总变化的 40.35% (图 10-A) 和真菌群落总变化的 31.86% (图 10-B)。RDA 图结果显示, 有 AK (ANOVA,  $P=0.322$ )、TK (ANOVA,  $P=0.066$ ) 和 TOC (ANOVA,  $P=0.059$ ) 是影响土壤细菌群落组成的主要因素, 而 TOC (ANOVA,  $P=0.638$ )、AK (ANOVA,  $P=0.359$ ) 和 S-CAT (ANOVA,  $P=0.358$ ) 是影响土壤真菌群落组成的主要因素。方差分区分析表明了环境因素对微生物群落变异的贡献, 与其他土壤酶相比, TK 和 OC 对细菌和真菌群落变异的解释比例分别最高分别为 15.24% 和 14.86%



小写字母不同的处理组表示差异显著,  $P < 0.05$ 。

The treatment groups with different lowercase letters showed significant differences,  $P < 0.05$ .

图7 不同施肥处理下土壤细菌 (A) 和真菌 (B) 系统水平比较研究中土壤样本中前 10 个物种相对丰度的组间差异方框图  
 Fig. 7 Box plots of intergroup differences in relative abundances of top 10 species in soil samples from comparative studies on soil bacteria (A) and fungi (B) at the phylum level under different fertilization treatments

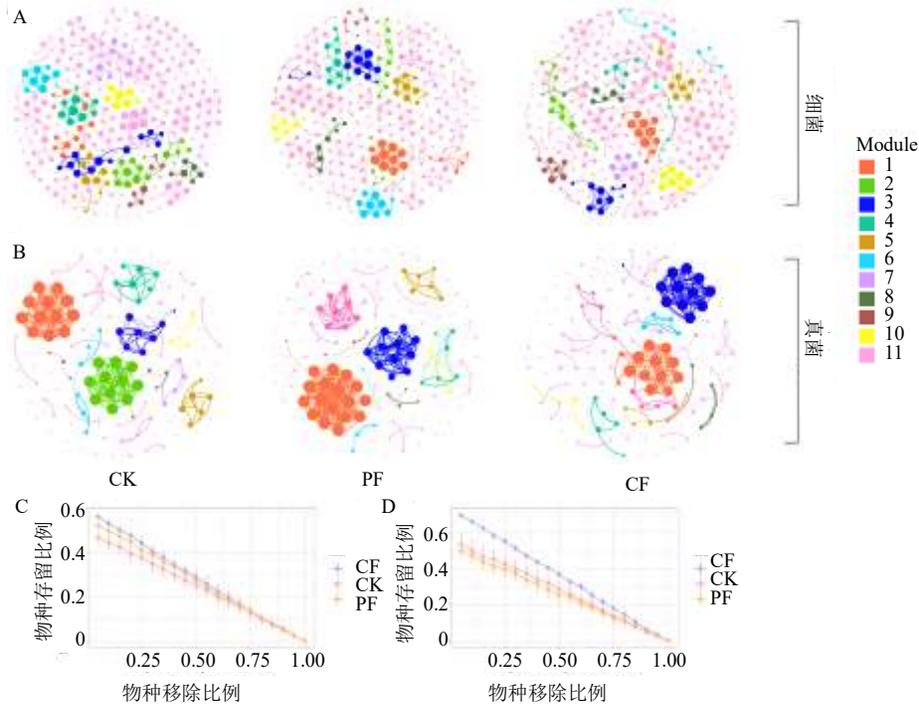
表 2 不同处理组共现网络的拓扑指数

Table 2 Topological indices of each co-occurrence network

指标	细菌			真菌		
	CK	PF	CF	CK	PF	CF
边 <sup>1</sup>	426	455	424	211	280	189
节点 <sup>2</sup>	-17.740	6.642	3.744	0.856	1.117	0.927
图密度 <sup>3</sup>	0.009	0.010	0.009	0.024	0.028	0.019
平均加权度 <sup>4</sup>	2.840	3.033	2.827	3.149	3.944	2.662
平均路径长度 <sup>5</sup>	2.254	2.308	2.685	2.373	1.437	1.704
平均聚类系数 <sup>6</sup>	0.751	0.737	0.743	0.884	1.121	0.856

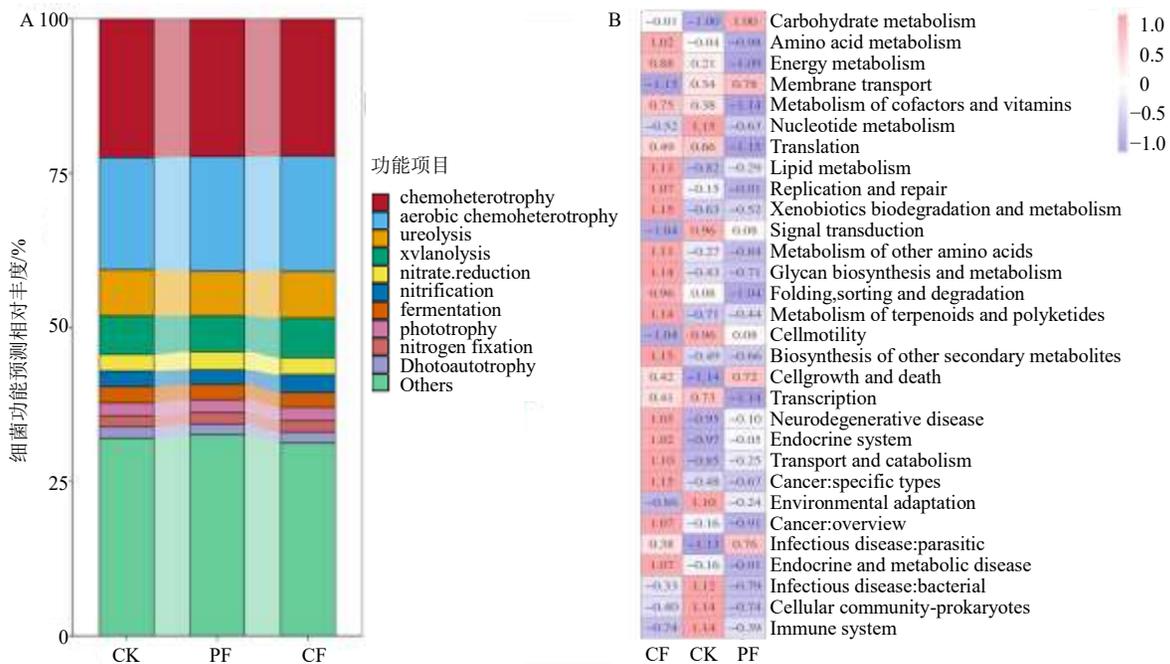
<sup>1</sup> 由 Gephi 软件获得的连接数/相关性; <sup>2</sup> 节点形成高连接群落的能力, 即节点间连接密度高的结构; <sup>3</sup> 测量网络的完整性。具有所有可能边的完整图, 即任何 2 个节点都有边连接, 其密度为 1; <sup>4</sup> 网络中每个节点的平均连接数, 即节点连通性; <sup>5</sup> 所有节点对之间的平均网络距离或网络中所有边的平均长度; <sup>6</sup> 节点在其邻域中的嵌入程度以及它们趋向于聚集在一起的程度。

<sup>1</sup>The number of connections/correlations obtained by the Gephi software; <sup>2</sup>the ability of nodes to form highly connected clusters, i.e., a structure with a high density of connections between nodes; <sup>3</sup>a measure of the completeness of the network. A complete graph with all possible edges, i.e., any two nodes are connected by edges with a density of 1; <sup>4</sup>the average number of connections per node in the network, i.e., node connectivity; <sup>5</sup>the average network distance between all pairs of nodes or the average length of all edges in the network; <sup>6</sup>the degree to which the nodes are embedded in their neighborhoods and the degree to which they tend to clustered together.



节点大小与类群丰度成正比，节点代表属水平的细菌或真菌类群（相对丰度大于0.1%的属）。节点的颜色代表不同的细菌和真菌门。The node size is proportional to the taxon abundance, and the nodes represent bacterial or fungi taxa at the genus level (genera with relative abundances greater than 0.1%). The node colors represent different bacterial and fungal phyla.

图8 不同施肥处理组属水平土壤微生物群落共生网络 (A, B)、细菌网络 (C) 和真菌网络 (D) 的稳健性  
Fig. 8 Robustness of soil microbial community co-occurrence networks at genus level (A, B), bacterial network (C), and fungal network (D) in different fertilization treatment groups



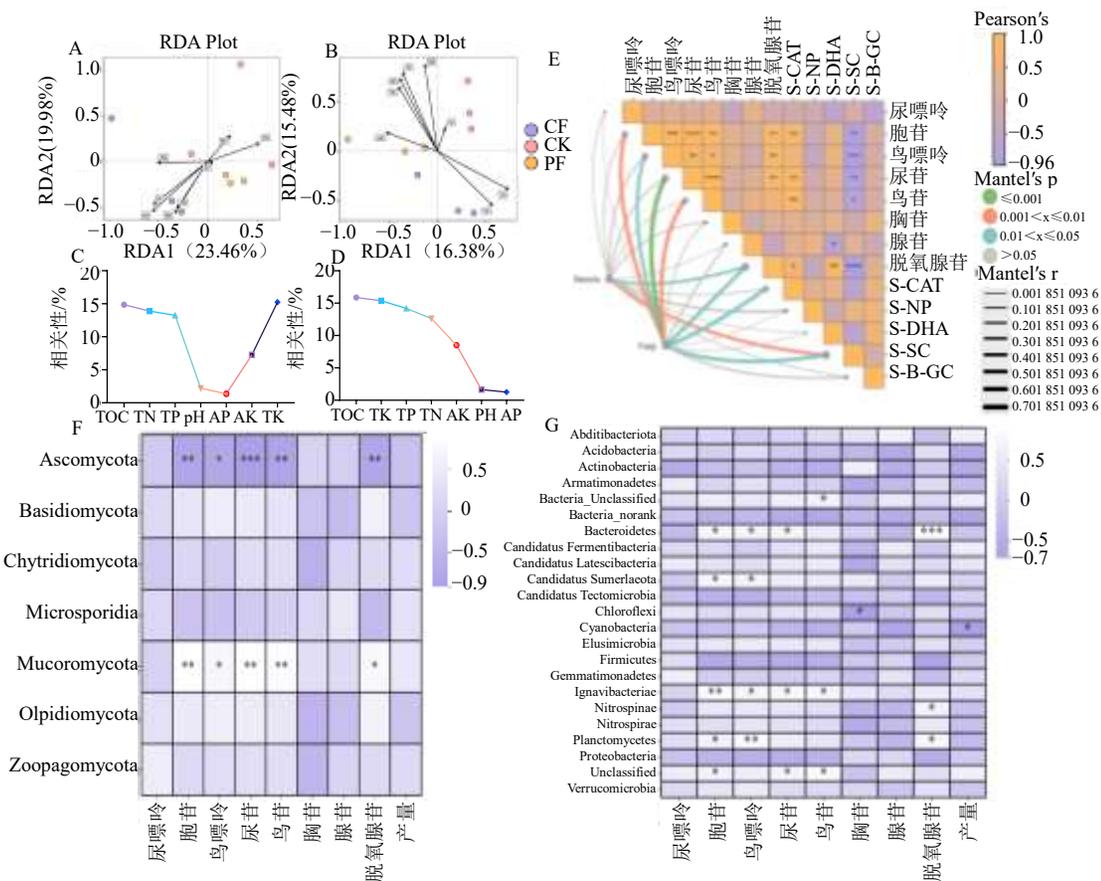
A-细菌群落功能分析 FAPROTAX 的丰度柱状图；B-真菌群落功能分析 PICRUST2 的热图。

A-histogram of abundances from FAPROTAX functional analysis of bacterial communities; B-heatmap from PICRUST2 functional analysis of fungal communities.

图9 不同处理组的土壤微生物群落功能分析  
Fig. 9 Analysis of soil microbial community function in different treatment groups

(图 10-C 和 D)。使用 Mantel 检验评估了土壤变量、生物活性化合物和微生物群落之间的相关性, 结果表明 S-SC 对细菌群落有明显的影响 ( $P < 0.05$ ), 而鸟苷 ( $P < 0.05$ ) 和尿苷 ( $P < 0.05$ ) 与真菌群落显著相关 (图 10-E)。具体表明真菌中

Mucoromycota 和 Ascomycota 对核苷类物质呈显著性相关 ( $P < 0.05$ ) (图 10-F), 而细菌中 Bacteroidetes 和 Ignavibacteriae 对核苷类物质呈显著性相关 ( $P < 0.05$ ), Cyanobacteria 对产量呈显著性相关 ( $P < 0.05$ ) (图 10-G)。



A-细菌群落的 RDA, B-真菌群落的 RDA, C-环境因素对细菌群落变化的贡献, D-环境因素对真菌群落变化的贡献, E-环境因素、核苷和微生物群落之间的 Mantel 检验分析, F-细菌与产量和质量的相关性分析, G-真菌与产量和质量的相关性分析。\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$

A-Redundancy analysis (RDA) of environmental factors and bacterial communities.B-Redundancy analysis (RDA) of environmental factors and Fungal communities.C-The contribution of environmental factors to bacteria community variations.D-The contribution of environmental factors to fungal community variations. E-Mantel test analysis among environmental factors, nucleosides, and microbial communities. F-Correlation analysis between bacterial and the yield and quality. G-Correlation analysis between fungal and the yield and quality. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

图 10 微生物群落、土壤变量、产量和质量之间的相关性

Fig. 10 Correlations among microbial communities, soil variables, yield and quality

#### 4 讨论

有机肥是人工栽培暗紫贝母并保证其产量以及品质的重要措施, 是影响土壤微生物群落的重要因素, 与不施肥相比, 施用适宜有机肥有提高土壤肥力的趋势, 且随着有机肥浓度的升高, 暗紫贝母的产量、叶面积和出苗率均呈现先增加后降低的趋势, 高添等<sup>[18-20]</sup>在研究黄芪、地黄和延胡索等药用植物的处理结果与本研究结果一致。暗紫贝母收获时的产量试验结果表明中等浓度的猪粪肥 ( $1.45 \text{ kg/m}^2$ )

处理和较高浓度的鸡粪肥 ( $2.43 \text{ kg/m}^2$ ) 处理比其他处理组增产显著 (图 2), 证明有机肥处理可以明显提高暗紫贝母的产量。多年生川贝母出苗率、死苗现象频发是目前生产上亟待解决的问题, 本研究发现适宜浓度的鸡粪肥可以使其出苗率提升至 ( $95.86 \pm 0.94$ )%, 为生产上保障川贝母出苗率提供了切实可行的途径。暗紫贝母中核苷类活性成分分析表明, 鸡粪肥 ( $1.45 \text{ kg/m}^2$ ) 的施加提高了 66.85%的尿苷含量、66.04%的鸟苷含量和 61.31%的腺苷含量 (图

3)。因此,合理施用有机肥有助于是目前解决暗紫贝母品质差和产量低的有效措施。

土壤微生物是农业生态系统的重要组成部分,它们通过分解有机质和固氮作用提高土壤肥力,它们也是土壤质量的重要指标<sup>[21]</sup>。据报道土壤微生物 $\alpha$ -多样性是稳定的,不易受到农业管理措施的影响<sup>[22-23]</sup>,在本研究中,施用有机肥并未显著影响暗紫贝母的土壤微生物多样性(图5)。施肥管理如何影响土壤微生物多样性取决于土壤特性<sup>[6]</sup>,如土壤pH值,一般认为pH值是影响微生物多样性的决定性因素。本研究中优势细菌门有Proteobacteria、Acidobacteria、Bacteroidetes、Planctomycetes、Gemmatimonadetes、Actinobacteria、Firmicutes、Nitrospirae、Verrucomicrobia和Cyanobacteria。Proteobacteria在氮循环中起着重要作用,有利于植物生长、产量和品质<sup>[24]</sup>;同样的Acidobacteria和Bacteroidetes等菌属<sup>[25]</sup>均与植物建立有益的关系;而Actinobacteria等通常被认为是对植物有益的微生物<sup>[21]</sup>,Actinobacteria可通过产生各种抗生素、分泌细胞壁降解酶和诱导宿主抗性来控制植物细菌性病害<sup>[26]</sup>。本研究中优势真菌有Ascomycota、Basidiomycota、Chytridiomycota、Microsporidia、Mucoromycota、Olpidiomycota Zoopagomycota。Ascomycota会引起植物的腐烂分解<sup>[27]</sup>,通过施加有机肥降低该真菌的丰度,而Mucoromycota等真菌则与植物建立有益的共生关系<sup>[28]</sup>,施加有机肥提高该真菌的丰度(图7)。这些有益微生物的增加和有害微生物的下降可能与施肥后暗紫贝母品质和产量提升有关。

土壤微生物群落之间存在着复杂的关联网,它们并不是单独存在的。当施肥管理导致土壤微生物群落组成发生变化时,微生物共生网络也会发生变化<sup>[29]</sup>。本研究结果显示有机肥处理组的模块化指数较空白组明显提升,这表明有机肥处理可以改善暗紫贝母土壤微生物群落的连通性,使群落联系更加紧密(表2和图8),从而促使其产量和品质的提升。这一结果与其他施用猪粪肥的研究结论一致<sup>[30-31]</sup>。Yang等<sup>[21, 29]</sup>的研究表明土壤抵抗环境干扰能力会随着网络连通性复杂程度的增加而增加,本研究发现有机肥处理组中暗紫贝母的根际细菌和真菌群落的网络连通性明显提升(表2),这表明有机肥处理后土壤微生物的抗干扰能力更强,这也与实际生成中有机肥的施加可以明显提升暗紫贝母的抗逆性相符。此外,Kang等<sup>[29]</sup>的研究也表明细菌和真菌作为

土壤有机质降解的核心成分,通常会因为对有机养分和无机养分的分解或利用而形成不同的功能群,并改变其生态网络之间的相互作用,它们往往保持着复杂的网络结构。稳健性分析亦表明,施用有机肥,尤其是猪粪肥组可提高细菌和真菌网络结构的稳定性(图9-C和D)。

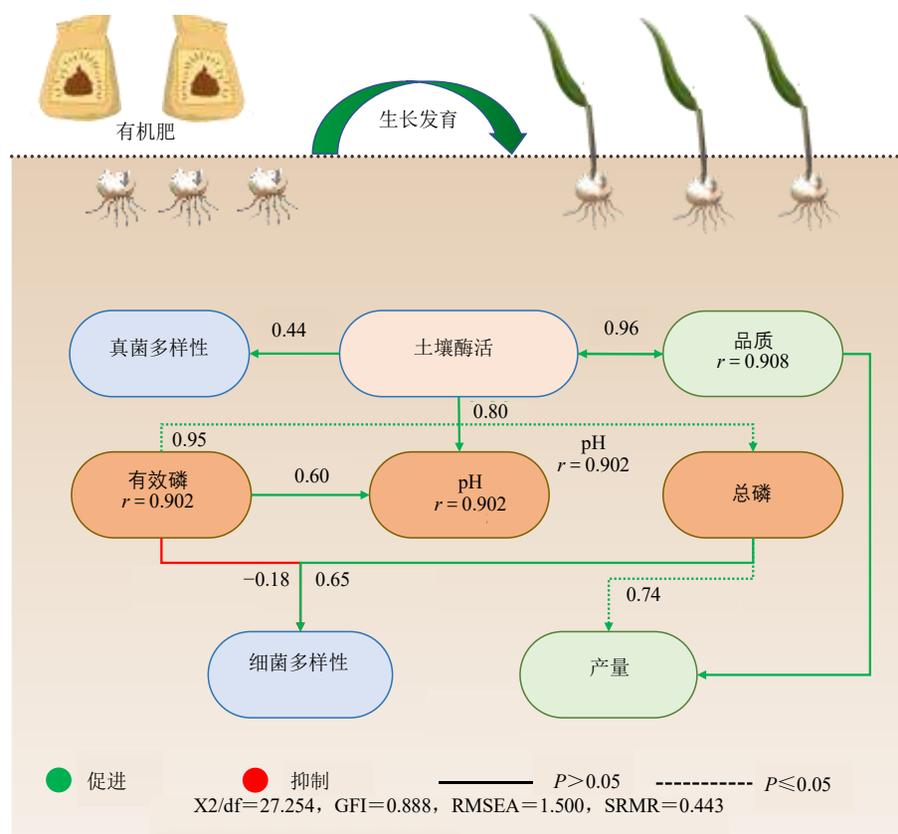
关键微生物群在维持生态系统平衡中发挥着重要作用<sup>[31]</sup>。根据网络节点的度值发现,节点中的关键细菌门和真菌门在各处理组间无显著差异(图9),这与群落中优势物种的组成和分布一致(图7-C和D)。在门水平,微生物具有很强的稳定性,不易受到施肥管理的影响。总之,施用有机肥,尤其是猪粪,不仅能增强微生物群落网络结构的连通性、凝聚力和稳定性,还能提高有益微生物的丰度<sup>[33-34]</sup>,如Terrimonas具有通过促进植物根系发育和增加叶面积来改善植物农艺性状的功能<sup>[35]</sup>,Pirellula能够降解多种复杂的多糖<sup>[36]</sup>从而促进植物对糖类有机物质的吸收,Stenotrophobacter通过有机化能营养的代谢利用特定的生长底物如原儿茶酸和蛋白质进行有氧生长<sup>[37]</sup>,Stenotrophobacter的富集表明,在有机肥降解途径中存在特定的代谢物。

冗余分析结果显示,土壤pH值是影响细菌和真菌群落的最重要因素(图10),这一结果与前人研究一致<sup>[38]</sup>。土壤pH值的变化会改变土壤结构、肥力和植被群落,从而直接或间接影响土壤微生物群落组成<sup>[39-40]</sup>。在本研究中,有效氮、有效钾和有效磷是影响真菌群落的主要因素(图10)。施加有机粪肥,对富集到的真菌和细菌进行分析,在门水平的真菌中Ascomycota可以促进木质纤维素等大分子物质的降解<sup>[27]</sup>,Mucoromycota则利用有效氮和有效钾对土壤养分的充分利用从而提升暗紫贝母的核苷类物质含量,与前人研究一致<sup>[41-42]</sup>。而门水平的细菌中Bacteroidetes和Ignavibacteriae均可以提高土壤肥力<sup>[41, 43]</sup>使得暗紫贝母的核苷类物质含量提高,Cyanobacteria的富集提高土壤稳定性和肥力<sup>[44]</sup>,显著提高暗紫贝母的产量(图10-F和G)。

结构方程结果表明,土壤中有有效磷和总磷的含量与暗紫贝母的品质(核苷类物质含量)呈正相关,表明提高总磷和有效磷的含量可提高暗紫贝母的品质。暗紫贝母产量与土壤中有有效磷呈显著正相关,表明暗紫贝母产量主要受土壤中有有效磷含量的影响,提高有效磷含量可提高暗紫贝母产量。土壤细菌多样性与土壤总磷呈显著正相关,

真菌多样性与土壤 pH 和总磷呈显著负相关(图 11)。研究表明,土壤细菌和真菌对施肥处理的响应表现出不同的模式<sup>[41-42]</sup>,这与本课题组的研究结果一致。研究发现,土壤细菌多样性与有效磷呈负相关,而真菌多样性与有效磷呈间接正相关。这一结果与许多长期施肥研究的结果一致。在本研究中,短期施用有机肥能显著提高暗紫贝母的产量(单株生物量),但

细菌多样性(用 Shannon 指数衡量)却呈下降趋势(图 6)。施用有机肥可能会在短时间内刺激土壤中一些优势菌和有益菌的快速生长,而一些不适应有机肥存在的微生物的丰度会下降,从而导致细菌多样性减少。相关分析表明,施用有机肥可显著改善土壤理化性质,特别是有效磷、总磷含量和土壤酶活性,从而促进暗紫贝母的品质和产量。



实线:  $P < 0.05$ ; 点划线:  $P \geq 0.05$ 。箭头上方的数字表示相关强度,  $r$  值表示每个变量解释的方差比例。 $\chi^2$ , 卡方;  $df$ , 自由度; RMSEA, 各模型的拟合优度统计量; SRMR, 标准化均方根残差。

full line:  $P < 0.05$ ; dotted line:  $P \geq 0.05$ . The numbers above the arrows indicate correlation strength.  $r$  values indicate the proportion of variance explained for each variable.  $\chi^2$ , chi-square;  $df$ , degrees of freedom; RMSEA, goodness-of-fit statistics for each model; SRMR, standardized root mean square residual

图 11 描述土壤养分、微生物多样性与暗紫贝母产量和质量之间关系的结构方程模型结果

Fig. 11 Results of structural equation modeling describing relationship among soil nutrients, microbial diversity, yield and quality of *F. unibracteata*

#### 4 讨论

本研究表明施用有机粪肥提高了土壤中的 AP 和 TP 含量,从而提高了暗紫贝母的产量和核苷类物质的含量。此外,由于有机粪肥的施用,土壤中有益微生物群落的数量也明显增加。共线性网络分析也显示,有机粪肥提高了土壤微生物群落的连通性和稳定性。施用有机肥(尤其是鸡粪肥)可提高栽培暗紫贝母的质量,是塑造土壤中有益细菌群落组成、提高青海地区土壤肥力的有效策略。本研究不仅为川贝母的

科学施肥研究奠定了基础,同时为高原濒危药用植物暗紫贝母的产量和品质提供了切实可行的途径。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 236.
- [2] 马艳珠, 崔治家, 张小荣, 等. 中药川贝母资源学与商品鉴别研究进展 [J]. 世界中医药, 2022, 17(13): 1944-1950.
- [3] 谢俊杰, 谭鹏, 郝露, 等. 基于广义中药学探讨川贝母

- 产业发展现状、策略与方法 [J]. 中草药, 2022, 53(7): 2150-2163.
- [4] 梅春梅, 陈富贵, 赵雨薇, 等. 不同产地太白贝母中 11 种核苷与碱基类成分分析及产地差异研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(3): 411-418.
- [5] 黎海灵, 谷文超, 母茂君, 等. 太白贝母不同部位生物碱类和核苷类化合物含量的比较研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(10): 4042-4050.
- [6] Mendes L W, de Lima Brossi M J, Kuramae E E, *et al.* Land-use system shapes soil bacterial communities in Southeastern Amazon region [J]. *Appl Soil Ecol*, 2015, 95: 151-160.
- [7] 李玉斌, 潘艳花, 薛亮, 等. 畜禽粪便生态肥对灌漠土肥力质量及人参品质 and 效益的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 2022, 40(1): 221-229.
- [8] Rachmawatie S J, Rahayu T, Hadi P, *et al.* Effectiveness of using chicken manure and organic liquid fertilizer in ciplukan plant cultivation (*Physalis angulata* L.) [J]. *Fst*, 2021, 9(4): 69-76.
- [9] Hawrot-Paw M, Mikiciuk M, Koniuszy A, *et al.* Influence of organomineral fertiliser from sewage sludge on soil microbiome and physiological parameters of maize (*Zea mays* L.) [J]. *Agronomy*, 2022, 12(5): 1114.
- [10] 黄科程, 孔凡磊, 张亮, 等. 化肥减量配施有机肥及微生物菌肥对丹参生长和产量的影响 [J]. 四川农业科技, 2023(7): 58-61.
- [11] 马正政, 戴昂勤, 侯佳. 有机肥对 2 年生蒙古黄芪生物量的影响 [J]. 园艺与种苗, 2023, 43(12): 15-18.
- [12] Lasisi A A, Akinremi O O, Tenuta M, *et al.* Below-ground plant biomass and nitrogen uptake of perennial forage grasses and annual crops fertilized with pig manures [J]. *Agric Ecosyst Environ*, 2018, 268: 1-7.
- [13] Chen J, Li J J, Shen W J, *et al.* The structure and species co-occurrence networks of soil denitrifying bacterial communities differ between A coniferous and A broadleaved forests [J]. *Microorganisms*, 2019, 7(9): 361.
- [14] Wu C C, Tu C Y, Wang Z Y, *et al.* The effect of clearing diseased wood on the soil's physicochemical properties in black pine forests [J]. *Sustainability*, 2023, 15(22): 15980.
- [15] 杨泽敏, 王业, 吴宇涵, 等. 川贝母种质资源的表型多样性及综合评价 [J]. 中草药, 2025, 56(2): 635-646.
- [16] Wang Y, Yang Z, Li X, *et al.* Integrated microbiology and target metabolomics analysis reveal the interaction of plant-microbe-soil interactions leading to the phenotypic plasticity of *Fritillaria cirrhosa*. [J]. *Indu Crop Prod*, 2024, 219: 118999.
- [17] 孟彤彤, 崔兴帅, 朱宁, 等. 不同生长年限党参根系微生物群落结构和多样性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(15): 4992-5002.
- [18] 高添, 王琰, 孙凯, 等. 生物有机肥用量对地黄生长和土壤养分的影响 [J]. 中国土壤与肥料, 2021(1): 143-150.
- [19] 王文丽, 李娟, 赵旭. 生物有机肥对黄芪品质和根际土壤细菌群落的影响 [J]. 中国土壤与肥料, 2022(11): 83-92.
- [20] 杨青山. 蚕沙有机肥对连作延胡索产量和品质的影响 [D]. 重庆: 重庆三峡学院, 2023.
- [21] Yang H W, Li J, Xiao Y H, *et al.* An integrated insight into the relationship between soil microbial community and tobacco bacterial wilt disease [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 2179.
- [22] Coller E, Cestaro A, Zanzotti R, *et al.* Microbiome of vineyard soils is shaped by geography and management [J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 140.
- [23] Gui H, Fan L C, Wang D H, *et al.* Organic management practices shape the structure and associations of soil bacterial communities in tea plantations [J]. *Appl Soil Ecol*, 2021, 163: 103975.
- [24] Zhang H, Ullah F, Ahmad R, *et al.* Response of Soil Proteobacteria to biochar amendment in sustainable agriculture—a mini review [J]. *J Soil Plant Environ*, 2022, 1(2): 16-30.
- [25] Kalam S, Basu A, Ahmad I, *et al.* Recent understanding of soil acidobacteria and their ecological significance: A critical review [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 580024.
- [26] Conn V M, Walker A R, Franco C M M. Endophytic Actinobacteria induce defense pathways in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2008, 21(2): 208-218.
- [27] Ma A Z, Zhuang X L, Wu J M, *et al.* Ascomycota members dominate fungal communities during straw residue decomposition in arable soil [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66146.
- [28] Bonfante P, Venice F. Mucoromycota: Going to the roots of plant-interacting fungi [J]. *Fungal Biol Rev*, 2020, 34(2): 100-113.
- [29] Kang Y L, Ma Y W, Wu W L, *et al.* Bioorganic and silicon amendments alleviate early defoliation of pear trees by improving the soil nutrient bioavailability, microbial activity, and reshaping the soil microbiome network [J]. *Appl Soil Ecol*, 2022, 173: 104383.
- [30] Ling N, Zhu C, Xue C, *et al.* Insight into how organic amendments can shape the soil microbiome in long-term field experiments as revealed by network analysis [J]. *Soil Biol Biochem*, 2016, 99: 137-149.

- [31] Wang T Y, Liu J J, Luo X L, *et al.* Functional metabolomics innovates therapeutic discovery of traditional Chinese medicine derived functional compounds [J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 224: 107824.
- [32] Fan K K, Delgado-Baquerizo M, Guo X S, *et al.* Biodiversity of key-stone phylotypes determines crop production in a 4-decade fertilization experiment [J]. *ISME J*, 2021, 15(2): 550-561.
- [33] González-Pérez E, Ortega-Amaro M A, Bautista E, *et al.* The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* enhances *Arabidopsis*, tomato, and maize plant growth [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2022, 176: 34-43.
- [34] Riguetti Zanardo Botelho A B, Alves-Pereira A, Colonhez Prado R, *et al.* *Metarhizium* species in soil from Brazilian biomes: A study of diversity, distribution, and association with natural and agricultural environments [J]. *Fungal Ecol*, 2019, 41: 289-300.
- [35] Ran T S, Li J, Liao H K, *et al.* Effects of biochar amendment on bacterial communities and their function predictions in a microplastic-contaminated *Capsicum annuum* L. soil [J]. *Environ Technol Innov*, 2023, 31: 103174.
- [36] Mondal H K, Maji U J, Mohanty S, *et al.* Alteration of gut microbiota composition and function of Indian major carp, rohu (*Labeo rohita*) infected with *Argulus siamensis* [J]. *Microb Pathog*, 2022, 164: 105420.
- [37] Ryu J, Jung J, Park K, *et al.* Humic acid removal and microbial community function in membrane bioreactor [J]. *J Hazard Mater*, 2021, 417: 126088.
- [38] Gu S S, Hu Q L, Cheng Y Q, *et al.* Application of organic fertilizer improves microbial community diversity and alters microbial network structure in tea (*Camellia sinensis*) plantation soils [J]. *Soil Tillage Res*, 2019, 195: 104356.
- [39] Lauber C L, Hamady M, Knight R, *et al.* Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(15): 5111-5120.
- [40] Qi D H, Wieneke X, Tao J P, *et al.* Soil pH is the primary factor correlating with soil microbiome in Karst rocky desertification regions in the Wushan County, Chongqing, China [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1027.
- [41] McKee L S, Martínez-Abad A, Ruthes A C, *et al.* Focused metabolism of  $\beta$ -glucans by the soil *Bacteroidetes* species *Chitinophaga pinensis* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2019, 85(2): e02231-e02218.
- [42] Zhang M M, Wang N, Hu Y B, *et al.* Changes in soil physicochemical properties and soil bacterial community in mulberry (*Morus alba* L.)/alfalfa (*Medicago sativa* L.) intercropping system [J]. *Microbiologyopen*, 2018, 7(2): e00555.
- [43] Li W T, Chen X F, Liu M, *et al.* Shifts in microbial communities with increasing soil fertility across a chronosequence of paddy cultivation in subtropical China [J]. *Appl Soil Ecol*, 2017, 120: 153-159.
- [44] Chamizo S, Mugnai G, Rossi F, *et al.* Cyanobacteria inoculation improves soil stability and fertility on different textured soils: gaining insights for applicability in soil restoration [J]. *Front Environment Sci*, 2018, 6: 25.

[责任编辑 时圣明]