

研究报告

辣椒秸秆对滇黄精及其根际微生物群落的影响

王灿¹, 彭翠仙¹, 杨清松¹, 杨玉玲¹, 辛文锋^{*2}, 陶永宏^{*1}

1 文山州农业科学院, 云南 文山 663000

2 文山学院三七医药学院, 云南 文山 663000

王灿, 彭翠仙, 杨清松, 杨玉玲, 辛文锋, 陶永宏. 辣椒秸秆对滇黄精及其根际微生物群落的影响[J]. 微生物学通报, 2023, 50(2): 486-502.

WANG Can, PENG Cuixian, YANG Qingsong, YANG Yuling, XIN Wenfeng, TAO Yonghong. Effects of hot pepper stalks on rhizosphere microflora structure of *Polygonatum kingianum*[J]. Microbiology China, 2023, 50(2): 486-502.

摘要:【背景】根际微生物直接或间接影响药用植物的生长发育和品质形成, 通过改善土壤理化性质来提高益生菌多样性, 促进植物病虫害的生物防治和提高植物产量、品质。【目的】探究栽培土壤中添加辣椒秸秆对滇黄精生长质量和根际细菌群落结构的影响。【方法】收集种植滇黄精无处理土壤(CK)、添加腐熟辣椒秸秆改良肥土壤(X)、添加商品复合肥土壤(Y)的根际附着土样, 测量滇黄精生长质量, 并通过高通量测序对其根际细菌群落进行功能和结构解析。【结果】X处理的滇黄精生长质量显著优于CK处理, 而且与Y处理无显著差异, 其中多糖含量和根系活力明显提高, 分别较Y处理提高了24.48%和56.98%。同时显著增加了种植土壤的有机质和孔隙度。在根际细菌群落分析中, 相对丰度最高的是变形菌门(*Proteobacteria*), 占比分别为CK的34.8%、X的34.6%、Y的41.3%, 其中Y处理显著高于其他处理。其次是绿弯菌门(*Chloroflexi*), X处理为10.2%, 高于CK处理(8.7%)和Y处理(5.8%)。t检验中秸秆处理蓝细菌门(*Cyanobacteria*)丰度显著高于对照, 芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)和脱硫杆菌门(*Desulfobacteria*)显著高于化肥处理。三元相图(属水平)表明, CK处理中以 *Verrucomicrobium* 和 *Lysobacter* 丰度最高。X处理中以 JG30-KF-AS9 丰度最高。Y处理中是 *Pseudomonas* 和 *Mitochondria* 丰度最高。各处理间 α 多样性指数无显著差异。冗余分析表明, 有机质和总孔隙度是影响秸秆处理细菌群落变化的主要驱动力, clusters of orthologous groups of proteins (COG)功能预测表明秸秆处理显著提高了COG功能数目, 其特有COG数目为81, 显著高于CK处理(3个)和Y处理(7个)。【结论】秸秆处理提高了滇黄精生长质量, 改变了根际微生物群落, 使相关有益微生物显著富集。这为特定环境因子下发掘新的功能类群微生物和有益微生物介导植物对环境的响应与微生物协同机制研究起到积极作用, 同时也为生产中滇黄精优质栽培提供新的见解。

资助项目: 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目(202105AC160003); 云南省科技厅 2021 重大专项(生物医药)(202102AA310045)

This work was supported by the Yunnan Young and Middle-Aged Academic and Technical Leaders Reserve Talent Project (202105AC160003) and the Yunnan Science and Technology Department 2021 Major Project (Biomedicine) (202102AA310045).

*Corresponding authors. E-mail: XIN Wenfeng, b09093@bnu.edu.cn; TAO Yonghong, taoyhcaas@sina.cn

Received: 2022-04-28; Accepted: 2022-07-03; Published online: 2022-08-17

关键词: 滇黄精; 生长质量; 根际微生物; 秸秆

Effects of hot pepper stalks on rhizosphere microflora structure of *Polygonatum kingianum*

WANG Can¹, PENG Cuixian¹, YANG Qingsong¹, YANG Yuling¹, XIN Wenfeng^{*2},
TAO Yonghong^{*1}

¹ Wenshan Academy of Agricultural Sciences, Wenshan 663000, Yunnan, China

² College of Notoginseng Medicine and Pharmacy, Wenshan University, Wenshan 663000, Yunnan, China

Abstract: [Background] Rhizosphere microorganisms directly or indirectly affect the growth, development, and quality of medicinal plants. They improve the physical and chemical properties of soil to increase the diversity of probiotics, promote the biocontrol of plant diseases and insect pests, and improve the plant yield and quality. [Objective] To explore the effects of soil supplementation with hot pepper stalks on the growth quality and rhizosphere bacterial community structure of *Polygonatum kingianum*. [Methods] The rhizosphere soil samples of *P. kingianum* were collected from the control field (CK, without any treatment), the field fertilized with decomposed hot pepper stalks (X treatment), and the field fertilized with commercial compound fertilizer (Y treatment). The growth quality of *P. kingianum* was evaluated, and the bacterial community structure in rhizosphere soil was studied by high-throughput sequencing. [Results] The growth quality of *P. kingianum* in X treatment was significantly better than that in CK and had no significant difference from that in Y treatment. The polysaccharide content and root activity in X treatment were 24.48% and 56.98%, respectively, higher than those in Y treatment. In addition, the organic matter and soil porosity were also higher in X treatment than in Y treatment. In the rhizosphere bacterial community, *Proteobacteria* had the highest relative abundance, which was 34.8% in CK, 34.6% in X treatment, and 41.3% in Y treatment, and its relative abundance in Y treatment was significantly higher than that in other treatments. *Chloroflexi* had the second highest relative abundance, being higher in X treatment (10.2%) than in CK (8.7%) and Y treatment (5.8%). X treatment had significantly higher relative abundance of *Cyanobacteria* than CK and significantly higher relative abundance of *Gemmatimonadetes* and *Desulfobacteria* than Y treatment. The ternary phase diagram (at the genus level) indicated that the genera with the highest relative abundance were *Verrucomicrobium* and *Lysobacter* in CK, JG30-KF-AS9 in X treatment, and *Pseudomonas* and *Mitochondria* in Y treatment. The α diversity indexes showed no significant difference among treatments. The redundancy analysis showed that organic matter and total porosity were the main factors affecting the changes of bacterial community in X treatment. The cluster of orthologous group (COG) annotation showed that X treatment significantly increased the COGs, with the number of specific COGs (81) significantly higher than that of CK (3) and Y treatment (7). [Conclusion] X treatment

improved the growth quality of *P. kingianum*, changed the structure of rhizosphere bacterial community, and enriched beneficial microorganisms. This study is conducive to the exploration of new functional groups of microorganisms and the research on microorganism-mediated plant response to the environment and microbial synergy under specific environmental conditions. Meanwhile, it gives new insights into the cultivation of *P. kingianum*.

Keywords: *Polygonatum kingianum*; growth quality; rhizosphere microorganism; stalks

中草药资源作为我国重要的战略性资源,普遍应用于药物、保健品、食品、其他卫生产品及出口贸易^[1]。中药材的品质受到药用植物品种、土壤、当地环境气候、农艺栽培措施、采收加工贮藏方式等因素的影响^[2]。黄精是常用补益类中药,同时也是久负盛名的保健食品,《本草纲目》言其补气益肾,除风湿,安五脏;补五劳七伤,助筋骨,耐寒暑,润心肺;无毒,久服轻身延年不饥^[2]。《中国药典》确定百合科(*Liliaceae*)多年生草本植物黄精(*Polygonatum sibiricum*)、多花黄精(*Polygonatum cyrtoneura*)和滇黄精(*Polygonatum kingianum*)为中药黄精的基原品种^[3]。滇黄精(*Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl.)是云南道地药材,多分布于云南、四川、贵州、广西等地,其多糖作为主要活性成分,对人体具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎抗菌、调节血糖血脂、抗病毒、增强免疫力、改善记忆力等作用^[4-5]。

微生物作为植物的“第二基因组”在“植物生长-土壤生态”中起着举足轻重的作用。研究表明,药用植物根际中优势菌群主要是细菌中的变形菌门,尤其是假单胞菌科(*Pseudomonadaceae*)和伯克氏菌科(*Burkholderiaceae*)^[6]。木霉属(*Trichoderma*)等则是根际促生真菌,是生防微生物筛选的重要菌种来源^[6]。Mojicevic 等^[7]从虞美人(*Papaver rhoeas* L.)、母菊(*Matricaria chamomilla* L.)和异株荨麻(*Urtica dioica* L.)这3种民族药用植物的根际土壤中分离出103株产孢菌,鉴定属于链霉菌属,其中有43个链霉

菌菌株具有产生抗真菌化合物的能力。根际土壤微生物的丰度、多样性、代谢活性及微生物间的相互作用决定着植物的健康状况和品质形成^[8]。Zhai 等^[9]研究发现棘孢木霉(*Trichoderma asperellum*) ACCC30536 参与了青蒿素生物合成关键酶基因 *HMGR1*、*FPS*、*ADS*、*CYP71AV1*、*CPR* 等的上调表达,从而提高了黄花蒿叶片中青蒿素的浓度。唐彬彬等^[10]研究发现,在1年生、2年生、3年生三七根际微生物群落中有益细菌 *Flavobacterium* 和有益真菌 *Myxocephala*、*Aspergillus* 的丰富度随着种植年限的增加呈下降趋势。此外,云南省作为辣椒种植大省,具有丰富的辣椒秸秆资源,研究表明适量的腐熟辣椒秸秆对辣椒幼苗^[11]、番茄^[12]等有促进作用。秦涛^[13]研究表明将适量辣椒秸秆还田后可显著提高西瓜根际土壤细菌、放线菌、真菌数量及根际微生物总量和土壤酶活性,同时提高了单瓜质量,改善了西瓜品质风味。

目前,关于滇黄精的研究主要集中在成分提取工艺、栽培环境(遮阴、光照)对滇黄精生长的影响等。对于从根际微生物角度研究土壤环境因子对滇黄精生长质量的影响尚未见报道。因此,本研究以2年生滇黄精为研究对象,通过对滇黄精种植土壤添加腐熟秸秆,以探究对滇黄精生长质量、根际细菌群落响应变化及指示物种分布特征,以期对滇黄精健康生长、促进有效成分合成、新功能微生物类群挖掘、微生物介导道地滇黄精品质形成、解决连作障碍、提高辣椒秸秆利用率等提供新的见解。

1 材料与方 法

1.1 材 料

种植材料为 2 年生滇黄精, 购买自文山广南地区种植户。化肥为商品复合肥(氮、磷、钾有效含量比为 15:15:15)。自制腐熟辣椒秸秆改良肥主要材料为经 EM 菌发酵液(一种混合菌, 主要包括光合菌、酵母菌、乳酸菌等有益菌类)腐熟发酵的辣椒秸秆。种植土为大棚红土: pH 值 5.23, 全氮 1.27 g/kg, 全磷 0.991 g/kg, 全钾 8.33 g/kg, 有机质 20.084 g/kg。

1.2 盆栽实验及样品采集

实验于 2021 年 2 月–2022 年 2 月在文山州农科院中草药种植大棚进行。选取无病虫害、无机械损伤、大小基本一致、带完整顶芽的当年生滇黄精根茎移植到花盆中(实验用花盆内径 25 cm, 高 30 cm)。实验设 3 个处理, 分别是 CK 处理(空白对照)、X 处理(添加腐熟辣椒秸秆改良肥土壤:红土体积比为 1:1)和 Y 处理(每盆添加 12 g 商品复合肥^[14])。每个处理 5 次重复, 1 盆为 1 次重复。实验结束时随机取样 3 株, 将植株整株拔出抖落附着土壤后, 用单独无菌刷刷取黏附在根表面的土壤基质放入 50 mL 无菌离心管中, 迅速置于干冰中保存运输, 后放–80 °C 冰箱保存备用。

1.3 主要试剂和仪器

Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer, New England Biolabs 公司; QIAquick Gel Extraction Kit, Qiagen 公司; NEBNext® Ultra™ II DNA Library Prep Kit, NEB 公司。超微量紫外分光光度计, Implen 公司; 手持叶绿素检测仪, 浙江托普云农科技股份有限公司; 凝胶电泳系统、离心机, Bio-Rad 公司; NovaSeq6000 仪器, Illumina 公司。

1.4 测定方法

茎叶长和茎秆粗采用直尺和游标卡尺测

量, 叶绿素及 N 含量采用手持叶绿素检测仪, 多糖采用苯酚-硫酸法^[15], 根活力采用 TTC 法^[16], 根际附着土壤理化性质由昆明亚晶公司代为检测。细菌 DNA 提取采用 CTAB 法, 使用琼脂糖凝胶电泳检测提取出的 DNA 纯度和浓度, 抽提适量样品用无菌水稀释至 1 ng/μL, 以稀释后的基因组 DNA 为模板根据扩增区域选择使用带 barcode 的特异性引物对 V4 区进行扩增(表 1)。PCR 反应体系: Phusion Master Mix 15 μL, 引物 515F 和 806R (2 μmol/L)各 3 μL, ddH₂O 2 μL, DNA (1 ng/μL) 7 μL。PCR 反应条件: 98 °C 1 min; 98 °C 10 s, 50 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30 个循环; 72 °C 5 min^[17]。将经 TruSeq DNA PCR-Free Library Preparation Kit 构建好的 DNA 文库通过 Qubit 定量和文库检测合格后, 使用 NovaSeq6000 进行上机测序, 由北京诺禾致源科技股份有限公司完成。

1.5 数据质控与分析

采用 GraphPad Prism 9.3 分析滇黄精生长质量和根际土壤理化性质数据的差异性。利用 FLASH V1.2.11 软件对样本的 reads 进行拼接, 使用 Fastp 软件对 Raw Tags 进行质控, 使用 USEARCH 将 Clean Tags 与数据库进行比对最终得到 effective tags。使用 QIIME2 中的 DADA2 进行降噪, 过滤掉丰度小于 5 的序列, 测序质量如表 2 所示, 从而获得最终的 amplicon sequence variants (ASVs) 及特征表。使用 QIIME2 feature-table rarefy 工具以低样本序列量的 97%进行抽平处理(图 1)。随后使用 QIIME2

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

Primer name	Primers sequence (5'→3')
515F	CTGCCAGCMGCCGCGGTAA
806R	GGACTACHVGGGTWTCTAAT

表 2 测序数据质量

Table 2 Sequencing data quality

Sample name	Raw PE	Combined	Base (nt)	AvgLen (nt)	GC (%)	Effective (%)
CK1	84 983	84 098	1.64×10^7	253	56.52	76.25
CK1	83 745	82 964	1.77×10^7	253	55.59	83.48
CK1	78 138	77 346	1.61×10^7	253	56.19	81.36
X1	78 748	78 262	1.50×10^7	253	55.89	75.45
X1	81 733	80 980	1.75×10^7	253	55.54	84.72
X1	84 864	84 513	1.73×10^7	253	56.32	80.54
Y1	81 155	80 967	1.58×10^7	252	55.40	77.28
Y1	83 302	83 285	1.58×10^7	252	55.07	75.11
Y1	82 178	82 003	1.60×10^7	251	54.04	77.72

Raw PE 表示原始下机的 PE reads; Combined 是拼接得到的 tags 序列; Base 是最终 effective tags 的碱基数目; AvgLen 为 effective tags 的平均长度; GC (%) 表示 effective tags 中 GC 碱基的含量; Effective (%) 表示 effective tags 的数目与 Raw PE 数目的百分比

Raw PE means PE reads of the original off-plane; Combined is the tags sequence obtained by splicing; Base is the base number of the final effective tags; AvgLen is the average length of effective tags; GC (%) indicates the content of GC bases in effective tags; Effective (%) indicates the percentage of the number of effective tags to the number of Raw PE.

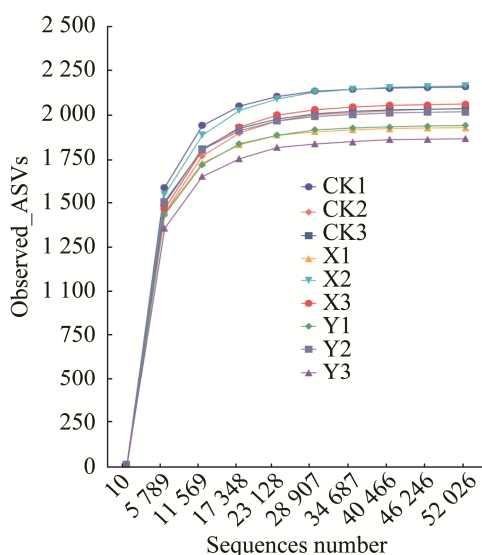


图 1 Observed ASVs 稀释曲线 横坐标为抽平深度, 纵坐标为 10 次计算的 ASV 箱线图。随抽平深度不断增加, 曲线趋于稳定、平缓, 说明测序结果可基本覆盖到样品中所有的物种, 再增加测序深度无法检测到大量的未知新 ASV

Figure 1 Observed ASVs rarefaction curve. The abscissa is the sequencing data depth, and the ordinate is the ASV boxplot calculated 10 times. As the sequencing depth increased, the curve tended to be stable and gentle, indicating that the sequencing results could basically cover all species in the sample, and a large number of unknown new ASV could not be detected with further sequencing depth.

软件中的 classify-sklearn 模块将得到的 ASVs 与数据库比对, 从而得到每个 ASV 的物种信息。使用 Canoco 5 进行环境因子关联分析。使用 phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved stats 2 (PICRUST2) 进行代谢功能预测。

2 结果与分析

2.1 不同处理对滇黄精质量和土壤的影响

不同处理对滇黄精生长质量及土壤性状有显著影响。生长质量比较见表 3, X 处理多糖最高为 56.59 mg/g, 显著高于 CK 处理(31.10 mg/g); X 处理多糖含量与 Y 处理(45.46 mg/g)无显著差异, 但 X 处理比 Y 处理提高了 24.48%。另外, 根活力中, X 处理最高为 6.86 $\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{g})$, 显著高于 CK 处理 3.28 $\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{g})$ 和 Y 处理 4.37 $\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{g})$, X 处理根活力比 Y 处理提高了 56.98%。此外, 各处理茎叶长无显著差异, 在茎秆粗比较中 Y 处理最粗为 2.69 mm, 显著高于 CK 处理 (1.78 mm), 但与 X 处理无显著差异。在叶绿素和 N 含量比较中各处理无显著差异, 但 X 处理较高, 表明使用辣椒秸秆处理后生长质量较 CK

处理显著提高, 与使用化肥无显著差异, 而且提高了其多糖含量和根系活力。

如表 4 所示, 在土壤性状比较中, X 处理总孔隙度最高达 74.75%, 显著高于 CK 处理(45.30%)和 Y 处理(46.62%); 有机质比较中, X 处理为 11.98%, 显著高于 CK 处理(5.73%)和 Y 处理(5.85%); 各处理 pH 无显著差异, Y 处理电导率(electrical conductivity, EC)值最高达 1.08 mS/cm, 显著高于 CK 处理和 X 处理; 在有效 N、P、K 比较中, 均以 Y 处理显著最高。结果表明, 相较于 CK 处理和 Y 处理, 添加秸秆处理提高了土壤有机质含量和土壤总孔隙度。

2.2 根际细菌群落结构分析

共对 9 个样本进行扩增子测序, 将 DADA2 降噪后产生的每个去重的序列 ASVs 进行韦恩图绘制(图 2A), 共同的 ASVs 数目为 1 426 个, X 处理特有 1 223 个, Y 处理特有 1 586 个, CK 处理特有 1 385 个。门水平下 3 个种植滇黄精

土壤样本中丰度最高的是变形菌门(*Proteobacteria*), 占比分别为 CK 的 34.8%、X 的 34.6%和 Y 的 41.3%, 其中 Y 处理高于其他处理; 其次是绿弯菌门(*Chloroflexi*), X 处理最高为 10.2%, 高于 CK 处理(8.7%)和 Y 处理(5.8%); 在放线菌门(*Actinobacteria*)中则是 Y 处理最高为 10.1%, CK 和 X 处理分别为 6.2%和 6.9% (图 2B)。属水平下(图 2C)丰度最高的是 *Mitochondria*, 占比分别为 0.66%、2.59%和 5.88%, 其中 Y 处理最高; 其次是 *Lysobacter*, 占比分别为 2.73%、0.90%和 0.97%, 其中 CK 处理最高; 在 *Pseudomonas* 中, Y 处理(4.83%)高于 CK 处理(1.05%)和 X 处理(1.16%); 此外, 在 JG30-KF-AS9 中则是 X 处理为 2.41%, 高于 CK 处理(0.49%)和 Y 处理(0.81%)。t 检验中门水平下, X 处理蓝细菌门(*Cyanobacteria*)丰度显著($P<0.05$)高于 CK 处理(图 2D)。X 处理的芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)和脱硫杆菌门(*Desulfobacteria*)显著($P<0.05$)高于 Y 处理(图 2E)。

表 3 生长质量比较

Table 3 Comparison of growth quality

Treatment	Stem length (cm)	Stem diameter (mm)	Chlorophyll (SPAD)	Nitrogen content (mg/g)	Polysaccharide (mg/g)	Root activity ($\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{g})$)
CK	11.22 \pm 2.88a	1.78 \pm 0.3b	30.40 \pm 3.56a	10.37 \pm 1.17a	31.10 \pm 11.57b	3.28 \pm 0.26b
X	12.01 \pm 0.49a	2.13 \pm 0.35ab	35.77 \pm 3.98a	11.27 \pm 1.19a	56.59 \pm 8.03a	6.86 \pm 1.05a
Y	12.21 \pm 1.66a	2.69 \pm 0.24a	34.90 \pm 1.31a	10.30 \pm 0.1a	45.46 \pm 6.9ab	4.37 \pm 0.53b

表中同列数据后不同小写字母表示 0.05 水平差异显著($P<0.05$)。下同

Different lowercase letters after the data in the same column in the table indicate significant differences in the level of 0.05 ($P<0.05$). The same below.

表 4 土壤性状比较

Table 4 Comparison of soil properties

Treatment	pH	EC (mS/cm)	Organic substance (%)	Available nitrogen (mg/kg)	Available phosphorus (mg/kg)	Available potassium (mg/kg)	Total porosity (%)
CK	5.68 \pm 0.12a	0.28 \pm 0.09b	5.73 \pm 0.26b	231.18 \pm 16.18c	52.38 \pm 3.62b	603.86 \pm 19.44c	45.30 \pm 2.64b
X	5.66 \pm 0.19a	0.52 \pm 0.15b	11.98 \pm 1.19a	281.67 \pm 10.25b	58.66 \pm 13.75ab	872.72 \pm 91.82b	74.75 \pm 3.78a
Y	5.74 \pm 0.25a	1.08 \pm 0.19a	5.85 \pm 0.62b	323.56 \pm 29.84a	73.16 \pm 2.87a	1239.35 \pm 84.98a	46.62 \pm 0.98b

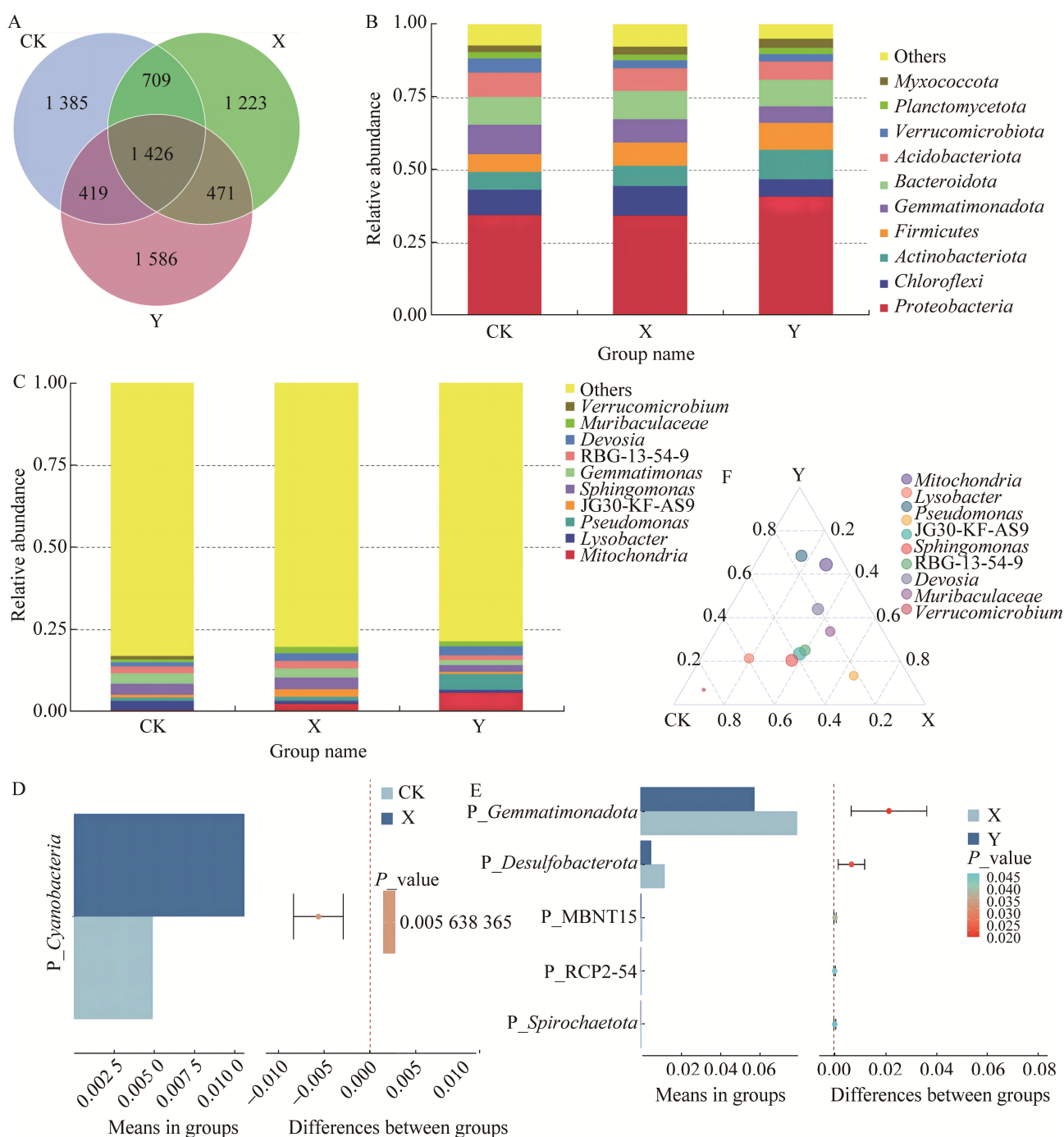


图 2 细菌群落结构分析 A: OTU 花瓣图. B: 门水平下细菌种类相对丰柱形图. C: 属水平下细菌种类相对丰度柱形图(Top 10). D: CK 处理 vs. X 处理 t -test (门水平). E: X 处理 vs. Y 处理 t -test (门水平). F: 细菌种类三元相图(属水平)

Figure 2 Analysis of bacterial community structure. A: OTU petal diagram. B: Column diagram of relative abundance of bacterial species at the door level. C: The column diagram of bacterial species at genus level (Top 10). D: CK processing vs. X processing t -test (phylum level); E: X treatment vs. Y treatment t -test (phylum level). F: Ternary phase diagram of bacterial species (genus level).

三元相图(属水平)直观展示了不同处理中含量较高的群类,代表物种的圆圈离某个顶点越接近,表示此物种在该组中含量越高。从图 2F 可以看出,CK 处理中以 *Verrucomicrobium* 丰度最高,其次是 *Lysobacter*; X 处理中以 JG30-KF-AS9 丰度最高; Y 处理中 *Pseudomonas* 最高,其次是 *Mitochondria*,表明秸秆处理和化肥处理显著改变了滇黄精根际细菌的群落结构,使某些特有的相关微生物出现显著富集,其中,秸秆处理较化肥处理显著提高了相关微生物的丰度。

2.3 不同处理细菌群落多样性分析

Chao1 指数是反映菌群丰度的指标,CK 处理最高(2 078.22),Y 处理最低(1 945.34),但处理间无显著差异。Shannon 指数和 Simpson 指数是表征群落内物种分布的多样性和均匀度,群落多样性越高则物种分布越均匀、指数越大。不同处理中 Shannon 指数和 Simpson 指数均无显著差异。表明不同处理对滇黄精根际土壤细菌群落结构 α 多样性无显著影响(表 5)。

β 多样性中基于主坐标分析表明(图 3),PCoA1 和 PCoA2 可分别解释所有变量的 57.32%和 13.87%,样本点间距离的远近表明样本间差异的大小。可以看出 3 个处理中有一定差异(Adonis: $R^2=0.600\ 06$, $P=0.005$),PCoA2 将 CK 处理和 X 处理分开,而 PCoA1 则将 Y 处理和 CK、X 处理分离。表明 Y 处理与 CK 处理、X 处理有较大差异。

表 5 α 多样性差异分析

Table 5 Alpha diversity difference analysis

Treatment	Chao1	Shannon	Simpson
CK	2078.22±71.43a	9.90±0.29a	0.996±0.03a
X	2054.23±117.33a	9.92±0.08a	0.998±0.01a
Y	1945.34±76.17a	9.63±0.29a	0.994±0.03a

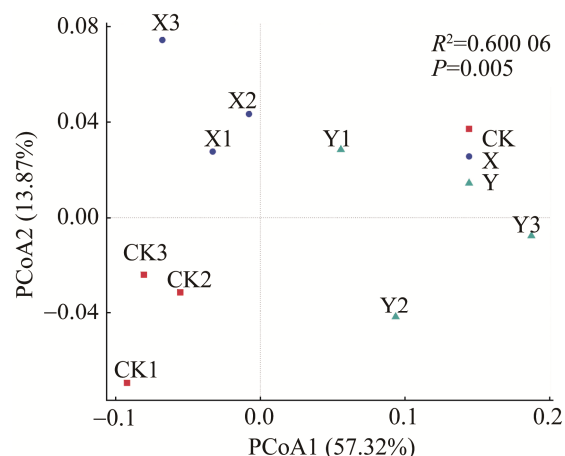


图 3 细菌群落多样性分析

Figure 3 Analysis of bacterial community diversity.

2.4 环境因子关联分析

RDA 分析前 2 个轴总共解释了 85.53%,样本点到环境因子向量的投影点在箭头方向上表明正相关,反之负相关。物种与环境因子间的夹角为锐角表示正相关,钝角为负相关,夹角越小相关性越高。其中有机质和总孔隙度对 X 处理细菌群落结构有正相关性,而有效氮、磷、钾及 pH 则与 Y 处理细菌群落结构有正相关性(图 4A)。在 Spearman 分析中(图 4B),X 处理中丰度最高的菌属 JG30-KF-AS9 与有效磷为显著负相关($P<0.05$);Y 处理中主要菌属 *Mitochondria* 和 *Pseudomonas* 与有效氮、磷、钾显著正相关($P<0.05$);CK 处理中丰度最高的菌属 *Lysobacter* 则与各环境因子无显著关联。此外,CK 和 X 处理中占比较高的物种 *Phingomonas* 和 *Gemmatimonas* 与有效磷为显著负相关($P<0.05$);RBG-13-54-9 则与 pH 显著负相关($P<0.05$),表明有效氮、磷、钾对化肥处理中的主要细菌群落有正相关性,而在秸秆处理中主要细菌群落则与有机质和总孔隙度有较强正相关。

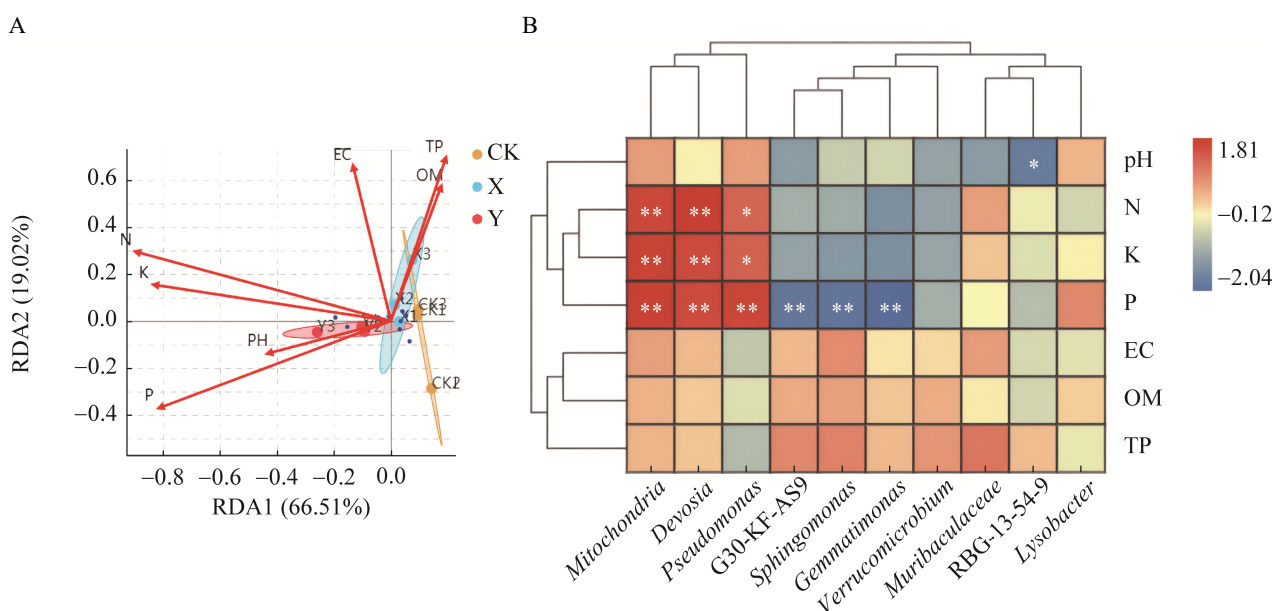


图4 环境因子关联分析 A: RDA 分析图. B: Spearman 相关性分析(Top 10). TP: 总孔隙度; OM: 有机质含量; N: 有效氮; P: 有效磷; K: 有效钾. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$

Figure 4 Correlation analysis of environmental factors. A: Redundancy analysis. B: Spearman correlation analysis (Top 10). TP: Total porosity; OM: Organic matter content; N: Available nitrogen; P: Available phosphorus; K: Available potassium. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

2.5 基因功能差异分析

基于同源蛋白簇(clusters of orthologous groups of proteins, COG)数据库功能基因预测表明(图 5), 23 个功能基因家族中相对丰度较高的前 5 个基因家族是 S 类(未知功能)、E 类(氨基酸运输和代谢)、C 类(能量产生和转换)、J 类(翻译、核糖体结构和生物合成)和 M 类(细胞壁、细胞膜和膜结构的生物合成), 但均以 CK 丰度最高。在韦恩图比较中共有的 COG 功能数目为 4 322 个(图 6), 其中 CK 处理独有 3 个, Y 处理独有 7 个, X 处理独有的最高为 81 个, 主要包括 A 类(RNA 加工和修饰)、B 类(染色质结构和动力学)、K 类(转录)、G 类(碳水化合物的运输和代谢)和 Z 类(细胞骨架)等。表明施用秸秆处理增加了滇黄精根际细菌 COG 功能数

目。对丰度前 15 的菌属和前 25 的 COG 功能进行 Spearman 分析(图 7), CK 处理中与主要菌属 *Verrucomicrobium* 和 *Lysobacter* 显著正相关的有 COG0745、COG1309 和 COG2207; 在 Y 处理中与主要菌属 *Pseudomonas* 和 *Mitochondria* 显著正相关的有 COG0583 和 COG1846。而在 X 中主要菌属, 仅 JG30-KF-AS9 与 COG0438、COG0642、COG2814、COG0596、COG0451、COG0845、COG0841 显著正相关。说明 X 处理中特有菌属具有较多 COG 功能数目, 合成代谢、运输等功能旺盛。

2.6 细菌群落与生长质量相关性分析

对属水平下根际微生物(Top 30)与滇黄精生长质量 Spearman 相关性分析(图 8), 与多糖含量显著正相关($P \leq 0.05$)的细菌有 *Pedobacter*、

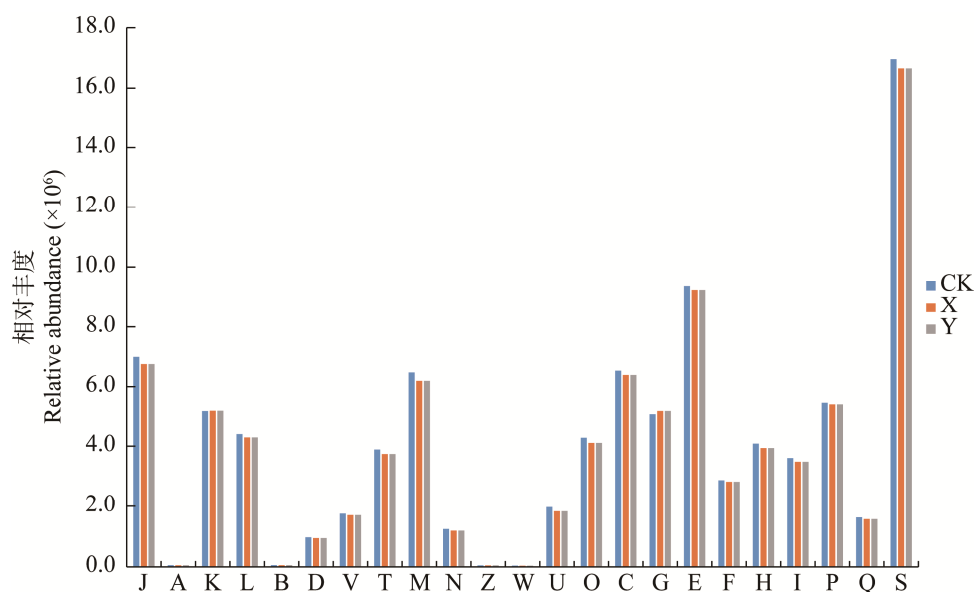


图 5 COG 功能柱形图 J: 翻译、核糖体结构和生物发生; A: RNA 加工和修饰; K: 转录; L: 复制、重组和修复; B: 染色质结构和动力学; D: 细胞周期控制、细胞分裂、染色体分割; V: 防御机制; T: 信号转导机制; M: 细胞壁/细胞膜/包膜生物发生; N: 细胞能动性; Z: 细胞骨架; W: 细胞外结构; U: 细胞内运输、分泌和囊泡运输; O: 翻译后修饰, 蛋白质周转, 伴侣蛋白; C: 能源生产和转换; G: 碳水化合物的运输和代谢; E: 氨基酸运输和代谢; F: 核苷酸转运和代谢; H: 辅酶转运和代谢; I: 脂质运输和代谢; P: 无机离子转运和代谢; Q: 次生代谢物的生物合成、运输和分解代谢; S: 未知功能

Figure 5 COG function bar chart. J: Translation, ribosome structure and biogenesis; A: RNA processing and modification; K: Transcription; L: Reproduction, reorganization and repair; B: Chromatin structure and dynamics; D: Cell cycle control, cell division and chromosome division; V: Defense mechanism; T: Signal transduction mechanism; M: Cell wall/cell membrane/envelope biogenesis; N: Cell motility; Z: Cytoskeleton; W: Extracellular structure; U: Intracellular transport, secretion and vesicle transport; O: Post-translational modification, protein turnover, chaperone protein; C: Energy production and conversion; G: Transportation and metabolism of carbohydrates; E: Transport and metabolism of amino acids; F: Nucleotide transport and metabolism; H: Coenzyme transport and metabolism; I: Lipid transport and metabolism; P: Inorganic ion transport and metabolism; Q: Biosynthesis, transportation and catabolism of secondary metabolites; S: Unknown function.

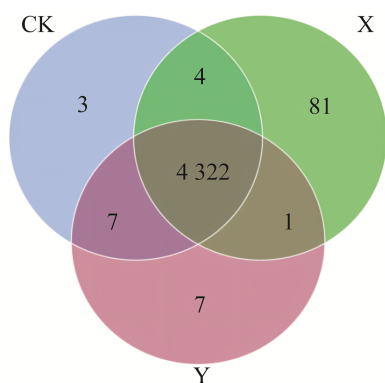


图 6 COG 韦恩图

Figure 6 COG venn diagram.

WPS-2 和 *Chloroplast*。与根系活力显著正相关的细菌有 *Chloroplast* 和 *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*。此外, 与氮含量显著正相关的细菌属为 *WD2101_soil_group*。与叶绿素含量正相关的有 *Pseudomonas* 和 *Cellulomonas*。与茎粗显著正相关的有 *Mitochondria*、*Myxococcus*、*Cellulomonas*、*Devosia*、*Pseudomonas* 和 *Bacillus*, 显著负相关的有 *Sphingomonas* 和 *Gemmatimonas*。与茎长显著正相关的是 *Muribaculaceae* 和 *Clostridia_UCG-014*。

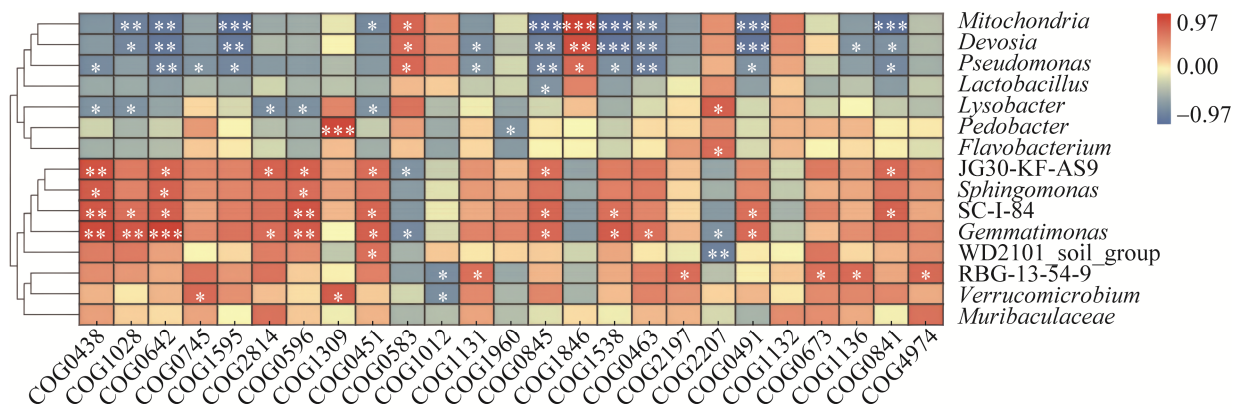


图 7 Spearman 分析 COG0438: 参与细胞壁双合成的糖基转移酶; COG1028: NAD(P)-依赖性脱氢酶, 短链醇脱氢酶家族; COG0642: 信号转导组氨酸激酶; COG0745: DNA 结合反应调节剂, OmpR 家族, 含有 REC 和翼螺旋(wHTH)结构域; COG1595: DNA 导向的 RNA 聚合酶特异性 σ 亚单位, sigma24 家族; COG2814: 预测的阿拉伯糖外排渗透酶, MFS 家族; COG0596: 庚烯酰-ACP 甲酯羧酸酯酶; COG1309: DNA 结合转录调节因子, AcrR 家族; COG0451: 核苷二磷酸糖差异构酶; COG0583: DNA 结合转录调节因子, LysR 家族; COG1012: 酰基辅酶 a 还原酶或其他 NAD 依赖性醛脱氢酶; COG1131: ABC 型多药转运系统, ATP 酶组分; COG1960: 与烷基化反应蛋白 AidB 相关的酰基辅酶 a 脱氢酶; COG0845: 多药外排泵亚单位 AcrA (膜融合蛋白); COG1846: DNA 结合转录调节因子, MarR 家族; COG1538: 外膜蛋白 TolC; COG0463: 参与细胞壁双合成的糖基转移酶; COG2197: DNA 结合反应调节剂, NarL/FixJ 家族, 含有 REC 和 HTH 结构域; COG2207: AraC 型 DNA 结合结构域和含 AraC 蛋白; COG0491: 乙二醛酶或相关的金属依赖性水解酶, β -内酰胺酶超家族 II; COG1132: ABC 型多药转运系统、ATP 酶和渗透酶组分; COG0673: 预测脱氢酶; COG1136: ABC 型脂蛋白输出系统, ATP 酶组分; COG0841: 多药外排泵亚单位 AcrB; COG4974: 位点特异性重组酶 XerD

Figure 7 Spearman analyse. COG0438: Glycosyltransferase involved in cell wall bisynthesis; COG1028: NAD(P)-dependent dehydrogenase, short-chain alcohol dehydrogenase family; COG0642: Signal transduction histidine kinase; COG0745: DNA-binding response regulator, OmpR family, contains REC and winged-helix (wHTH) domain; COG1595: DNA-directed RNA polymerase specialized sigma subunit, sigma24 family; COG2814: Predicted arabinose efflux permease, MFS family; COG0596: Pimeloyl-ACP methyl ester carboxylesterase; COG1309: DNA-binding transcriptional regulator, AcrR family; COG0451: Nucleoside-diphosphate-sugar epimerase; COG0583: DNA-binding transcriptional regulator, LysR family; COG1012: Acyl-CoA reductase or other NAD-dependent aldehyde dehydrogenase; COG1131: ABC-type multidrug transport system, ATPase component; COG1960: Acyl-CoA dehydrogenase related to the alkylation response protein AidB; COG0845: Multidrug efflux pump subunit AcrA (membrane-fusion protein); COG1846: DNA-binding transcriptional regulator, MarR family; COG1538: Outer membrane protein TolC; COG0463: Glycosyltransferase involved in cell wall bisynthesis; COG2197: DNA-binding response regulator, NarL/FixJ family, contains REC and HTH domains; COG2207: AraC-type DNA-binding domain and AraC-containing proteins; COG0491: Glyoxylase or a related metal-dependent hydrolase, beta-lactamase superfamily II; COG1132: ABC-type multidrug transport system, ATPase and permease component; COG0673: Predicted dehydrogenase; COG1136: ABC-type lipoprotein export system, ATPase component; COG0841: Multidrug efflux pump subunit AcrB; COG4974: Site-specific recombinase XerD.

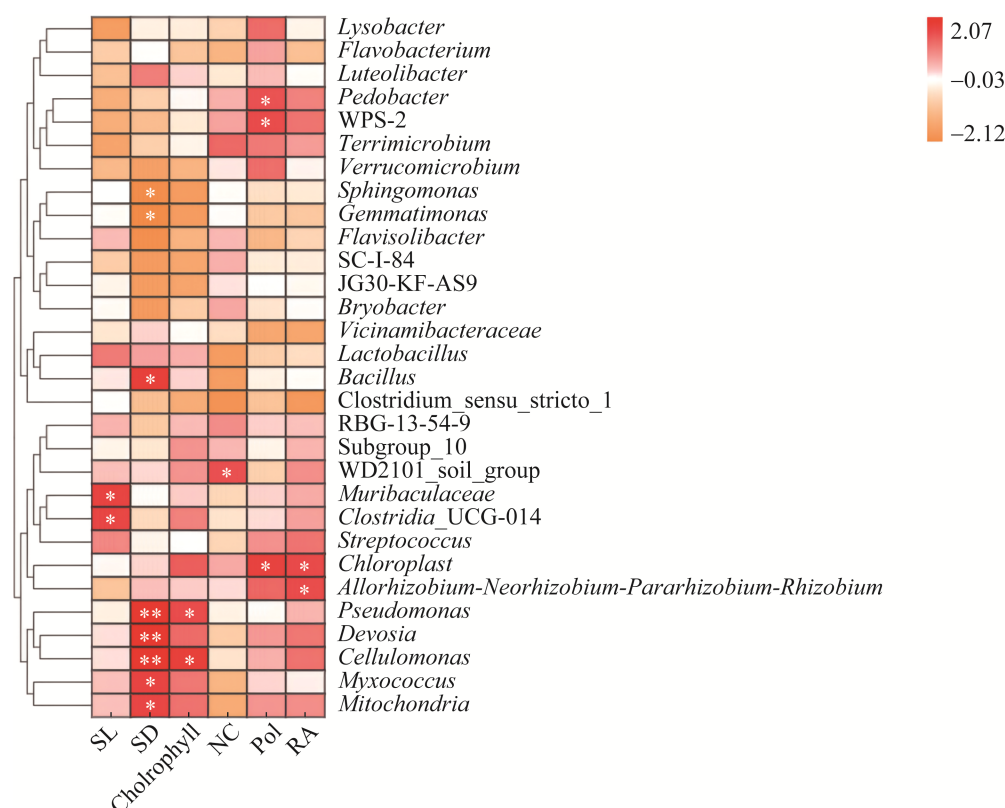


图 8 Spearman 相关性分析 SL: 茎长; SD: 茎粗; Chlorophyll: 叶绿素; NC: 氮含量; Pol: 多糖含量; RA: 根系活力

Figure 8 Spearman correlation analysis. SL: Stem length; SD: Stem diameter; Chlorophyll: Chlorophyll; NC: Nitrogen content; Pol: Polysaccharide; RA: Root activity.

3 讨论

有研究表明, 秸秆还田主要是通过影响土壤含水量、孔隙度等, 进而影响作物生长和微生物多样性^[18]。有德宝^[19]通过静态箱法研究秸秆还田对土壤及玉米生长的影响表明, 施加秸秆可增加土壤养分含量、空气孔隙度和土壤呼吸。本实验表明, 通过向栽培滇黄精的红土中施加腐熟的辣椒秸秆, 可显著提高土壤中有机质含量和孔隙度。与 CK 和 Y 处理相比添加辣椒秸秆后可显著提高滇黄精多糖含量和根系活力。此结果与前人研究一致, 适量辣椒秸秆提高根系活力, 促进作物生长^[20-21]。这可能是通

过提高土壤孔隙度和有机质, 促进了根系生理活动如提高有氧呼吸等, 使其能更好地吸收土壤养分^[22-23]。同时也改变了微生物生存环境, 使某些特有的相关有益微生物出现富集, 分泌特定激素或分解养分来促进滇黄精相关代谢物合成和生长^[24-25]。这为中草药种植产业中提高农业有机废弃物利用率、降低化肥使用量、促进滇黄精优质生长等工作奠定基础。

微生物对植物根系分泌物有明显的选择效应, 依赖根系分泌的化合物进行生长繁殖^[26]。植物在其生长过程中根据自身所处环境(逆境/非逆境)不断地向根际分泌包括糖类、氨基酸、有机酸、脂肪酸、酚酸、甾醇、蛋白质及生长

因子在内的各种物质,使某些有益微生物富集,协助植物生长和促进药用植物有效成分的合成^[27-28]。例如,Zeng等^[29]研究发现,板蓝根系富集的伯克霍尔德菌(*Burkholderia* sp.)参与了板蓝根功效物质靛蓝的合成。通过对不同处理下滇黄精根际土壤细菌群落的测序结果分析表明,不同处理对其根际细菌群落结构有显著的影响。门水平下 *t*-test 中秸秆处理较对照显著提高了滇黄精根际蓝细菌门(*Cyanobacteria*)丰度,蓝细菌门是一类能进行产氧光合作用获取能量的细菌,其很多种属还能够生物固氮,在地球演化及碳氮元素循环过程中一直发挥着重要作用^[30]。另外,秸秆处理较化肥处理显著提高了芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)和脱硫杆菌门(*Desulfobacteria*)的丰度。研究表明,芽单胞菌门和脱硫杆菌门在植物生态系统中发挥着关键的作用,与植物丰富度、土壤养分(碳、氮、磷、硫)循环相关^[31-32]。这表明秸秆处理显著提高了滇黄精根际相关益生菌的群落丰度,使某些特定微生物出现显著富集,改善根际生态环境,通过相关益生菌提高养分分解,以促进植物生长。

通过改变根际环境因子来调控作物根际微生物,促进相关微生物的富集,从而促进作物自身生长。 α 多样性比较中不同处理对滇黄精根际土壤细菌群落 Chao1、Shannon 和 Simpson 无显著影响,这与前人研究结果^[33]不一致。 β 多样性中 PCoA1 (57.32%)则将 Y 处理和 CK 处理、X 处理分离,表明化肥处理与对照、秸秆处理在细菌群落组成相似度上有较大差异。通过冗余分析发现,有效 N、P、K 及 pH 是影响化肥处理细菌群落结构的主要驱动力,而秸秆处理中则是有机质和总孔隙度对群落有较大影响。前人研究表明,不同土壤处理对作物生长有显著的影响,同时对作物根际微生物也有显

著调控作用^[34]。Dombrowski 等^[35]研究多年生黄花荸荠在自然和控制条件下根际细菌群落组成的因素实验中,通过主坐标典范分析和单因素方差分析指出,土壤性质能够解释根内细菌 15%的群落变异性,而环境条件和植物基因型最多解释了 11%的群落变异性,而且土壤类型对根内细菌门分类水平上的影响更加显著。

在 COG 功能注释中,相对丰度较高的前 5 个基因家族是 S 类(未知功能)、E 类(氨基酸运输和代谢)、C 类(能量产生和转换)、J 类(翻译、核糖体结构和生物合成)和 M 类(细胞壁、细胞膜和膜结构的生物合成),但均以 CK 丰度最高。其中共有的 COG 功能数目为 4 322 个,对照处理特有的为 3 个,化肥处理特有的为 7 个,秸秆处理特有的最高为 81 个,主要包括 A 类(RNA 加工和修饰)、B 类(染色质结构和动力学)、K 类(转录)等。其中主要菌属 JG30-KF-AS9 与 COG0438、COG0642、COG2814、COG0596、COG0451、COG0845、COG0841 显著正相关,主要与参与细胞壁双合成的糖基转移酶、信号转导组氨酸激酶、MFS 家族(转运蛋白家族之一)、膜融合蛋白 AcrA、AcrB 等功能相关。然而在 CK 处理和 Y 处理中有 COG0745、COG1309、COG2207、COG0583 和 COG1846。表明施用秸秆处理增加了滇黄精根际细菌 COG 功能数目,促进相关微生物功能表达。

此外,与滇黄精生长质量相关的细菌群落中多糖含量与根系活力作为各处理间具有显著差异的评价指标,与 *Pedobacter*、WPS-2、*Chloroplast* 和 *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* 显著正相关。前人研究表明,这些细菌具有解磷、固氮功能^[36-37],其中 WPS-2 以需氧、有机异养方式生存,其具有消解氨基酸、核苷酸和复杂的寡肽能力^[38]。但总的丰度值均较低为低丰度微生物,其中 X

处理中丰度稍高于 CK 处理和 Y 处理。表明添加了发酵腐熟的秸秆可能对滇黄精根系中一些有益的、低丰度稀有微生物提供适宜的生存环境, 提高其丰度。这为改变有益微生物生存环境, 提高稀有微生物丰度促进滇黄精生长质量, 以及挖掘潜在有益微生物功能供了巨大的潜力。同时也为中草药根系微生物研究提供了新的思路, 虽然不是主导微生物, 但低丰度稀有微生物可能同样存在对植物营养生长、养分供应的潜在能力。下一步可从添加辣椒秸秆处理下的滇黄精根际微生物群落切入, 通过与代谢组结合重点挖掘显著富集的特有微生物和稀有功能微生物群, 为滇黄精生长中起关键作用的有益微生物发掘利用、微生物群落变化驱动力研究提供基础, 同时也为栽培生产中调控微生物群落缓解连作障碍策略, 以及微生物介导道地滇黄精品质形成等研究提供新的见解和研究潜力。

4 结论

通过比较不同处理下滇黄精生长质量和根系土壤细菌群落结构, 发现添加腐熟辣椒秸秆可显著提高生长质量和根系活力, 改善根际生态环境, 促进如蓝细菌门、芽单胞菌门、脱硫杆菌门等相关有益微生物的显著富集。此外, 有机质和总孔隙度是影响秸秆处理细菌群落的主要驱动力, COG 功能预测表明秸秆处理显著提高了 COG 功能数目。这为特定环境因子下发掘新的稀有功能类群微生物和微生物介导植物对环境的响应与微生物协同机制研究起到积极作用。同时也为道地滇黄精品质形成和优质高的栽培措施提供了新的思路, 具有实际意义。

REFERENCES

- [1] 马晓晶, 郭娟, 唐金富, 马晓惠, 马莹, 戴住波, 郭兰萍, 黄璐琦. 论中药资源可持续发展的现状与未来[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(10): 1887-1892.
- MA XJ, GUO J, TANG JF, MA XH, MA Y, DAI ZB, GUO LP, HUANG LQ. Status and future of natural resource for Chinese materia medica[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(10): 1887-1892 (in Chinese).
- [2] 杨毅, 田侃, 倪新兴, 白庚亮. 中药材品质影响因素实证研究[J]. 中药材, 2016, 39(6): 1251-1256.
- YANG Y, TIAN K, NI XX, BAI GL. Empirical study on factors affecting the quality of Chinese herbal medicine[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2016, 39(6): 1251-1256 (in Chinese).
- [3] 柳威, 林懋怡, 刘晋杰, 赵晓冰, 刘忠. 滇黄精研究进展及黄精研究现状[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 226-234.
- LIU W, LIN MY, LIU JJ, ZHAO XB, LIU Z. Progress in study of *Polygonatum kingianum* and research status of polygonati rhizoma[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2017, 23(14): 226-234 (in Chinese).
- [4] 夏从龙. 云南道地药材: 滇黄精[J]. 大理大学学报, 2022, 7(2): 102.
- XIA CL. Yunnan genuine medicinal material-*Polygonatum sibiricum*[J]. Journal of Dali University, 2022, 7(2): 102 (in Chinese).
- [5] 张磊, 李彦莹, 朱新焰, 王家金, 徐哲, 钱华丽, 季鹏章. 三种滇黄精资源多糖及代谢相关酶活性的关系[J]. 西南农业学报, 2022, 35(5): 1095-1100.
- ZHANG L, LI YY, ZHU XY, WANG JJ, XU Z, QIAN HL, JI PZ. Relationships between polysaccharide and metabolism-related enzyme activities in three *Polygonatum kingianum* germplasms[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2022, 35(5): 1095-1100 (in Chinese).
- [6] SCHLAEPI K, BULGARELLI D. The plant microbiome at work[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI, 2015, 28(3): 212-217.
- [7] MOJICEVIC M, D'AGOSTINO PM, NIKODINOVIC-RUNIC J, VASILJEVIC B, GULDER TAM, VOJNOVIC S. Antifungal potential of bacterial rhizosphere isolates associated with three ethno-medicinal plants (poppy, chamomile, and nettle)[J]. International Microbiology, 2019, 22(3): 343-353.
- [8] 孙兰平. 芍药根际微生物多样性及具 ACC 脱氢酶活性的促生菌研究[D]. 扬州: 扬州大学硕士学位论文,

2021.
SUN LP. Study on microbial diversity growth promoting bacteria with ACC deaminase activity in rhizosphere of *Paeonia lactiflora* Pall.[D]. Yangzhou: Master's Thesis of Yangzhou University, 2021 (in Chinese).
- [9] ZHAI TT, WANG YF, LIU CL, LIU ZY, ZHAO M, CHANG Y, ZHANG RS. *Trichoderma asperellum* ACCC30536 inoculation improves soil nutrition and leaf artemisinin production in *Artemisia annua*[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2019, 41(4): 1-11.
- [10] 唐彬彬, 董姚君, 贺密密, 刘健峰, 吴凯, 官会林, 赵立兴, 尹芳, 张无敌, 龚明. 云南文山健康三七种植年限对根际微生物群落的影响[J]. 微生物学通报, 2020, 47(9): 2857-2866.
TANG BB, DONG YJ, HE MM, LIU JF, WU K, GUAN HL, ZHAO LX, YIN F, ZHANG WD, GONG M. Effects of different planting years of healthy *Panax notoginseng* on the rhizosphere microbial community in Wenshan of Yunnan Province[J]. Microbiology China, 2020, 47(9): 2857-2866 (in Chinese).
- [11] 王高飞, 刘鸿雁, 邢丹, 王洪亮, 牟玉梅, 王永平, 王岩, 周鹏. 育苗基质添加辣椒秆生物炭对辣椒幼苗生长与养分的影响[J]. 西南农业学报, 2022, 35(3): 543-549.
WANG GF, LIU HY, XING D, WANG HL, MOU YM, WANG YP, WANG Y, ZHOU P. Effect of pepper straw biochar added in seedling substrate on growth and nutrient of pepper seedlings[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2022, 35(3): 543-549 (in Chinese).
- [12] 杨冬艳, 冯海萍, 赵云霞, 桑婷. 番茄、辣椒秸秆堆肥与化肥配施对日光温室番茄产量和品质的影响[J]. 农业工程技术, 2019, 39(28): 17-21.
YANG DY, FENG HP, ZHAO YX, SANG T. Effect of tomato and pepper straw compost combined with chemical fertilizer on tomato yield and quality in solar greenhouse[J]. Agricultural Engineering Technology, 2019, 39(28): 17-21 (in Chinese).
- [13] 秦涛. 辣椒秸秆还田量对西瓜根际土壤微环境及西瓜品质的影响[J]. 河南农业科学, 2021, 50(9): 79-86.
QIN T. Effects of pepper straw returning amount on rhizosphere soil microenvironment and quality of watermelon[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2021, 50(9): 79-86 (in Chinese).
- [14] 鲁存仁. 滇黄精栽培要点[J]. 云南农业, 2022(2): 81-82.
LU CR. Cultivation points of *Polygonatum sibiricum*[J]. Yunnan Agriculture, 2022(2): 81-82 (in Chinese).
- [15] 张媛媛, 张彬. 苯酚-硫酸法与蒽酮-硫酸法测定绿茶茶多糖的比较研究[J]. 食品科学, 2016, 37(4): 158-163.
ZHANG YY, ZHANG B. Comparison of phenol-sulfuric acid and anthrone-sulfuric methods for determination of polysaccharide in green tea[J]. Food Science, 2016, 37(4): 158-163 (in Chinese).
- [16] 王灿, 倪云江, 杨婷玉, 许俊强, 张应华. 稻壳生物炭基质中添加壳聚糖对辣椒、番茄生长质量的影响[J]. 湖南生态科学学报, 2019, 6(4): 26-32.
WANG C, NI YJ, YANG TY, XU JQ, ZHANG YH. Effect of chitosan addition on the growth quality of pepper and tomato in rice husk biochar substrate[J]. Journal of Hunan Ecological Science, 2019, 6(4): 26-32 (in Chinese).
- [17] 赵祥, 刘红玲, 杨盼, 翟亚萍, 王绍明, 张霞. 滴灌对苜蓿根际土壤细菌多样性和群落结构的影响[J]. 微生物学通报, 2019, 46(10): 2579-2590.
ZHAO X, LIU HL, YANG P, ZHAI YP, WANG SM, ZHANG X. Effects of drip irrigation on bacterial diversity and community structure in rhizosphere soil of alfalfa[J]. Microbiology China, 2019, 46(10): 2579-2590 (in Chinese).
- [18] 王娟娟, 马云, 狄霖, 杨艳菊, 徐福蕾, 钱晓晴. 秸秆还田及配施氮肥对土壤微生物群落结构及铁氧化菌丰度的影响[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2022, 43(1): 97-104.
WANG JJ, MA Y, DI L, YANG YJ, XU FL, QIAN XQ. Microbial community structure and abundance of iron oxidizing bacteria as a result of straw retuning in paddy soil[J]. Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition), 2022, 43(1): 97-104 (in Chinese).
- [19] 有德宝. 土壤耕作及秸秆还田对耕层环境和玉米产量形成的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学博士学位论文, 2018.
YOU DB. Effects of tillage and residue on topsoil environment and yield formation of maize[D]. Shenyang: Doctoral Dissertation of Shenyang Agricultural University, 2018 (in Chinese).
- [20] 王小慧. 不同秸秆施加方式及容重对黑土水分特性的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2021.
WANG XH. Effects of different straw application methods and bulk density on water content

- characteristics of black soil[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2021 (in Chinese).
- [21] 杨冬艳, 桑婷, 冯海萍, 赵云霞. 番茄和辣椒秸秆还田对自身蔬菜幼苗生长及根系酶活性的影响[J]. 上海农业学报, 2020, 36(5): 23-28.
- YANG DY, SANG T, FENG HP, ZHAO YX. Effects of tomato and pepper straw returning to field on growth and root enzyme activity of self vegetable seedlings[J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2020, 36(5): 23-28 (in Chinese).
- [22] 吴昊. 施加基质与秸秆促腐剂对滨海麦玉轮作黄土培肥效果的研究[D]. 南京: 南京师范大学硕士学位论文, 2020.
- WU H. Study on fertilization effect of applying substrate and straw corruptor on wheat-jade rotation loess in coastal area[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Normal University, 2020 (in Chinese).
- [23] 林少颖, 赖清志, 刘旭阳, 金强, 阳祥, 尹晓雷, 曾瑜, 王维奇. 秸秆及配施生物炭对福州茉莉园土壤碳、氮、磷、铁含量及其生态化学计量学特征影响[J]. 环境科学学报, 2021, 41(9): 3777-3791.
- LIN SY, LAI QZ, LIU XY, JIN Q, YANG X, YIN XL, ZENG Y, WANG WQ. Effects of straw and biochar on soil carbon, nitrogen, phosphorus and iron contents and ecological stoichiometric characteristics of jasmine garden in Fuzhou[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2021, 41(9): 3777-3791 (in Chinese).
- [24] 张海珠, 李杨, 张彦如, 张杰, 黄琴, 周浓. 菌根真菌处理下滇重楼对营养元素的吸收和积累[J]. 环境化学, 2019, 38(3): 615-625.
- ZHANG HZ, LI Y, ZHANG YR, ZHANG J, HUANG Q, ZHOU N. Absorption and accumulation of mineral elements by *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* with different arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Environmental Chemistry, 2019, 38(3): 615-625 (in Chinese).
- [25] 韩丽珍, 周静, 王欢. 两株对花生促生的芽孢杆菌的鉴定及溶磷特性研究[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(9): 4066-4076.
- HAN LZ, ZHOU J, WANG H. Identification and phosphorus-dissolving characteristics of two *Bacillus* strains promoted on peanut growth[J]. Genomics and Applied Biology, 2019, 38(9): 4066-4076 (in Chinese).
- [26] 王灿, 罗贞媛, 孟凡来, 许俊强, 何鸿源, 张应华, 叶欢, 王艳芳. 基于 ITS rDNA 分析辣椒幼苗根际真菌群落结构差异[J]. 湖南生态科学学报, 2021, 8(4): 15-21.
- WANG C, LUO ZY, MENG FL, XU JQ, HE HY, ZHANG YH, YE H, WANG YF. Analysis of differences of the fungal community structure in the rhizosphere of pepper seedlings based on ITS rDNA sequences[J]. Journal of Hunan Ecological Science, 2021, 8(4): 15-21 (in Chinese).
- [27] 吴林坤, 林向民, 林文雄. 根系分泌物介导下植物-土壤-微生物互作关系研究进展与展望[J]. 植物生态学报, 2014, 38(3): 298-310.
- WU LK, LIN XM, LIN WX. Advances and perspective in research on plant-soil-microbe interactions mediated by root exudates[J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2014, 38(3): 298-310 (in Chinese).
- [28] 祝蕾, 严辉, 刘培, 张振宇, 张森, 郭盛, 江曙, 段金厥. 药用植物根际微生物对其品质形成的影响及其作用机制的研究进展[J]. 中草药, 2021, 52(13): 4064-4073.
- ZHU L, YAN H, LIU P, ZHANG ZY, ZHANG S, GUO S, JIANG S, DUAN JN. Research progress on effects of rhizosphere microorganisms on quality formation of medicinal plants and their interaction mechanisms[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(13): 4064-4073 (in Chinese).
- [29] ZENG MJ, ZHONG YJ, CAI SJ, DIAO Y. Deciphering the bacterial composition in the rhizosphere of *Baphicacanthus cusia* (Nees) Bremek[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 15831.
- [30] ZHANG JY, HESS WR, ZHANG CC. "Life is short, and art is long": RNA degradation in cyanobacteria and model bacteria[J]. mLife, 2022, 1(1): 21-39.
- [31] MUJAKIĆ I, PIWOSZ K, KOBLÍŽEK M. Phylum *Gemmatimonadota* and its role in the environment[J]. Microorganisms, 2022, 10(1): 151.
- [32] MURPHY CL, BIGGERSTAFF J, EICHHORN A, EWING E, SHAHAN R, SORIANO D, STEWART S, van MOL K, WALKER R, WALTERS P, ELSHAHED MS, YOUSSEF NH. Genomic characterization of three novel *Desulfobacterota* classes expand the metabolic and phylogenetic diversity of the phylum[J]. Environmental Microbiology, 2021, 23(8): 4326-4343.
- [33] 邓艳婷. 多花黄精微生物、矿质元素调控影响研究[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2020.
- DENG YT. Study on the regulation and control of microorganism and mineral elements of *Polygonatum cyrtonema* Hua[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [34] 向羽, 唐韵, 陈文杰, 丁易金, 牟毅. 有机无机肥配施

- 对烤烟根际微生物代谢功能多样性以及产质量的影响[J]. 安徽农业科学, 2022, 50(3): 147-150.
- XIANG Y, TANG Y, CHEN WJ, DING YJ, MOU Y. Effects of combined application of organic and inorganic fertilizers on the metabolic function diversity of rhizosphere microorganisms and yield of flue-cured tobacco[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2022, 50(3): 147-150 (in Chinese).
- [35] DOMBROWSKI N, SCHLAEPPI K, AGLER MT, HACQUARD S, KEMEN E, GARRIDO-OTER R, WUNDER J, COUPLAND G, SCHULZE-LEFERT P. Root microbiota dynamics of perennial *Arabis alpina* are dependent on soil residence time but independent of flowering time[J]. The ISME Journal, 2017, 11(1): 43-55.
- [36] 覃仁柳, 庞师婵, 唐小付, 黄子粤, 肖健, 杨尚东. 番茄嫁接植株根系内生细菌和真菌群落的组成特征[J]. 西南农业学报, 2021, 34(5): 1062-1072.
- QIN RL, PANG SC, TANG XF, HUANG ZY, XIAO J, YANG SD. Characteristics of endophytic microbial diversity and community structure in roots of grafted tomatoes[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2021, 34(5): 1062-1072 (in Chinese).
- [37] 陈丹阳, 李汉全, 张炳火, 查代明, 杨建远. 两株解磷细菌的解磷活性及作用机制研究[J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(3): 410-418.
- CHEN DY, LI HQ, ZHANG BH, ZHA DM, YANG JY. Phosphate solubilization activities and action mechanisms of two phosphate-solubilizing bacteria[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2017, 25(3): 410-418 (in Chinese).
- [38] SHEREMET A, JONES GM, JARETT J, BOWERS RM, BEDARD I, CULHAM C, ELOE-FADROSH EA, IVANOVA N, MALMSTROM RR, GRASBY SE, WOYKE T, DUNFIELD PF. Ecological and genomic analyses of candidate phylum WPS-2 bacteria in an unvegetated soil[J]. Environmental Microbiology, 2020, 22(8): 3143-3157.