

外源水杨酸对暗紫贝母连作土壤根际微生物群落及生物碱合成的调控效应

杨文玺^{1,2,3#}, 王麒权^{1#}, 康生福⁴, 邵晶^{1,2,3}, 晋玲^{1,2,3*}, 崔治家^{1,2,3*}

1 甘肃中医药大学 药学院, 甘肃 兰州

2 教育部西北中藏药省部共建协同创新中心, 甘肃 兰州

3 甘肃省中医药研究中心, 甘肃 兰州

4 甘南百草生物科技开发有限公司, 甘肃 甘南

杨文玺, 王麒权, 康生福, 邵晶, 晋玲, 崔治家. 外源水杨酸对暗紫贝母连作土壤根际微生物群落及生物碱合成的调控效应[J]. 微生物学报, 2026, 66(7): 3558-3579.

YANG Wenxi, WANG Qiquan, KANG Shengfu, SHAO Jing, JIN Ling, CUI Zhijia. Regulatory effects of exogenous salicylic acid on rhizospheric microbial community and alkaloid biosynthesis in continuous cropping soil of *Fritillaria unibracteata*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2026, 66(7): 3558-3579.

摘要:【目的】针对暗紫贝母连作障碍引发的根际微环境劣化、药用品质下降问题, 探究不同浓度水杨酸(salicylic acid, SA)在连作与非连作模式下的调控效应, 明确缓解连作障碍的关键 SA 浓度及作用机制, 为优化栽培技术提供理论支撑。【方法】设置连作、非连作 2 种栽培模式及 6 个 SA 浓度梯度(0、20、50、100、200、500 $\mu\text{mol/L}$), 通过盆栽试验测定根系分泌物、土壤理化因子、土壤酶活性、生物碱含量与微生物群落结构变化, 并结合相关性分析、冗余分析(redundancy analysis, RDA)解析调控机制。【结果】SA 对暗紫贝母根际微环境及生物碱合成的调控具有显著浓度特异性, 且与栽培模式存在交互作用: 根系分泌物中总酚酸在 20 $\mu\text{mol/L}$ 和 500 $\mu\text{mol/L}$ SA 处理下显著升高($P<0.05$), 有机酸在 200 $\mu\text{mol/L}$ SA 处理下达峰值; 非连作组土壤有机碳、有机质含量显著高于连作组, 50 $\mu\text{mol/L}$ SA 可优化土壤 pH 及速效磷、铵态氮供应, 提升脲酶、酸性磷酸酶活性; 假单胞菌门、子囊菌门为优势类群, 500 $\mu\text{mol/L}$ SA 可富集链霉菌属等有益菌、抑制病原菌, 特异性提升贝母辛、西贝母碱含量; RDA 分析表明, SA 通过调控根系

资助项目: 甘肃省现代寒旱特色农业药产业技术体系建设专项资金(GSARS-06); 甘肃省药品监管科学研究项目(2023GSMPA024); 中央引导地方科技发展资金项目(24ZYQP001); 道地中药材保护利用及药食同源产品研发项目(甘中医药函[2026]1号)

This work was supported by the Earmarked Fund for Gansu Agriculture Research System (GSARS-06), the Drug Regulatory Science Research Project of Gansu Province (2023GSMPA024), the Central Government-guided Local Science and Technology Development Fund Project (24ZYQP001), and the Project on the Protection and Utilization of Authentic Chinese Medicinal Materials and Research and Development of Medicinal and Edible Products (Ganzhongyiyao Han[2026]No.1).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding authors. E-mail: CUI Zhijia, zhijiacui@126.com; JIN Ling, jinl@gszy.edu.cn

Received: 2026-01-05; Accepted: 2026-03-23; Published online: 2026-04-09

分泌物组成重塑微生物群落, 进而介导生物碱合成。【结论】50 $\mu\text{mol/L}$ SA 为优化根际养分供应与酶活性的适宜浓度, 500 $\mu\text{mol/L}$ SA 为有效缓解连作障碍、促进药用生物碱积累的关键浓度; SA 通过“调控根系分泌物组成-重塑微生物群落结构-修复根际互作网络”的协同途径实现根际生态修复与药用品质提升, 为暗紫贝母连作障碍治理提供新路径。

关键词: 暗紫贝母; 水杨酸; 连作障碍; 根际微生物; 生物碱合成

Regulatory effects of exogenous salicylic acid on rhizospheric microbial community and alkaloid biosynthesis in continuous cropping soil of *Fritillaria unibracteata*

YANG Wenxi^{1,2,3#}, WANG Qiquan^{1#}, KANG Shengfu⁴, SHAO Jing^{1,2,3}, JIN Ling^{1,2,3*}, CUI Zhijia^{1,2,3*}

1 College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu, China

2 Northwest Collaborative Innovation Center for Traditional Chinese Medicine Co-constructed by Gansu Province & MOE of PRC, Lanzhou, Gansu, China

3 Gansu Chinese Medicine Research Center, Lanzhou, Gansu, China

4 Gannan Baicao Biotechnology Development Co., Ltd., Gannan, Gansu, China

Abstract: [Objective] To address the problems of rhizospheric microenvironment deterioration and medicinal quality decline caused by continuous cropping obstacles of *Fritillaria unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia, this study explored the regulatory effects of different concentrations of salicylic acid (SA) under continuous and non-continuous cropping patterns and clarified the optimal SA concentration and underlying mechanism for alleviating continuous cropping obstacles, aiming to provide a theoretical basis for optimizing cultivation techniques. **[Methods]** A pot experiment was conducted with two cultivation patterns (continuous cropping and non-continuous cropping) and six SA concentration gradients (0, 20, 50, 100, 200, and 500 $\mu\text{mol/L}$). The changes in root exudates, soil physicochemical properties, soil enzyme activities, alkaloid content, and microbial community structure were determined. Correlation analysis and redundancy analysis (RDA) were performed to elucidate the regulation mechanism. **[Results]** SA exerted significant concentration-specific regulatory effects on the rhizospheric microenvironment and alkaloid biosynthesis of *F. unibracteata*, showcasing a significant interaction effect with cultivation patterns. Total phenolic acids in root exudates increased under 20 $\mu\text{mol/L}$ and 500 $\mu\text{mol/L}$ SA treatments ($P < 0.05$), and organic acids reached the peak under 200 $\mu\text{mol/L}$ SA treatment. The soil organic carbon and soil organic matter in the non-continuous cropping group were significantly higher than those in the continuous cropping group. SA at 50 $\mu\text{mol/L}$ optimized soil pH, increased the supply of available phosphorus and ammonium nitrogen, and enhanced the activities of urease and acid phosphatase. *Pseudomonadota* and *Ascomycota* were the dominant phyla in bacterial and fungal communities, respectively. SA at 500 $\mu\text{mol/L}$ enriched beneficial microorganisms such as *Streptomyces*, inhibited pathogens, and specifically increased the content of peimisine and

sipeimine. RDA results showed that SA remodeled the microbial community by regulating the composition of root exudates, thereby mediating alkaloid biosynthesis. **[Conclusion]** SA at 50 $\mu\text{mol/L}$ is suitable for optimizing rhizosphere nutrient supply and enzyme activities, and that at 500 $\mu\text{mol/L}$ is suitable for effectively alleviating continuous cropping obstacles and promoting the accumulation of medicinal alkaloids. SA achieves rhizospheric ecological restoration and medicinal quality improvement through a synergistic pathway of regulating root exudate composition, remodeling microbial community structure, and repairing rhizospheric interaction network. This study provides a new approach for the management of continuous cropping obstacles for *F. unibracteata*.

Keywords: *Fritillaria unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia; salicylic acid; continuous cropping obstacles; rhizospheric microorganisms; alkaloid biosynthesis

暗紫贝母(*Fritillaria unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia)作为我国名贵药用植物,其鳞茎含有贝母辛、西贝母碱苷等多种生物碱,是临床常用的止咳平喘中药,具有显著的药用与经济价值^[1]。近年来,随着市场需求激增,暗紫贝母人工栽培规模逐步扩大,但连作障碍已成为制约其优质稳产的核心瓶颈,长期连作易引发根际土壤理化性质劣变、养分失衡及酶活性异常,破坏微生物群落稳态(有害菌群富集、有益菌群衰减),进而抑制植株生长、阻碍药用生物碱合成,导致鳞茎产量与品质显著下降,亟需探索高效的连作障碍缓解技术^[2-4]。

水杨酸(salicylic acid, SA)作为植物关键信号分子,兼具调控次生代谢、优化土壤微环境、重塑根际微生物群落等多重功能,其可通过提升植株抗氧化能力、改善土壤肥力缓解连作障碍,该效应已在马铃薯、桃树等作物上得到证实^[5-6];同时,SA作为植物防御性激素可参与生长发育调控与病原菌抵御,通过信号传导介导抗性表达,定向调节根系分泌物成分、激活土壤酶系活性,改善根际养分供应,筛选有益微生物并抑制病原菌增殖,实现土壤微环境优化与微生物群落修复的协同^[5]。此外,SA已被证实可通过调控次生代谢通路促进药用植物活性成分积累,但其作用效果受植物种类与栽培模式的调控^[7]。目前,SA对药用植物的调控研究

多聚焦于单一指标或单一效应,其对暗紫贝母根际微环境、微生物群落及生物碱合成的协同调控机制,尤其是三者间的互作关系尚缺乏系统研究^[8]。根际微环境、微生物群落与生物碱合成三者的互作关系是解析暗紫贝母连作障碍发生与品质劣变核心机制的关键靶点:一方面,根际微环境是微生物群落定殖的物质基础,微生物群落的结构与功能又会反向调控土壤养分转化、酶活性等微环境特征,二者的协同稳态是暗紫贝母正常生长发育的核心前提;另一方面,根际微环境与微生物群落可通过信号分子传导、次生代谢前体供给、合成通路关键酶激活等途径直接介导植株次生代谢通路的响应与生物碱的合成积累,这也是中药材区别于普通农作物、实现产量与药用品质协同提升的核心环节。厘清三者的协同互作机制可打破现有研究仅关注单一环节的局限,为暗紫贝母连作障碍的多靶点协同治理提供理论依据,同时为药用植物根际微生态调控与品质定向提升研究提供新思路。

已有研究表明,暗紫贝母连作与非连作根际微生物群落存在显著分异特征:连作栽培导致根际土壤中假单胞菌门、放线菌门等有益菌门丰度显著降低,假单胞菌属、镰刀菌属等潜在病原菌大量富集,群落多样性与共生网络稳态被显著破坏。SA作为植物源信号分子,可通

过调控根系分泌物组分定向调节根际优势菌种的定殖与功能表达, 具备修复连作紊乱微生物群落的潜力, 但其对暗紫贝母连作与非连作土壤中差异优势菌种的定向调控效应, 以及该调控与生物碱合成的关联机制尚不明确。本研究以暗紫贝母为供试材料, 设置连作与非连作2种栽培模式, 探究不同浓度SA对其根系分泌物成分、根际土壤理化因子、酶活性、微生物群落结构及生物碱含量的影响, 明确SA调控暗紫贝母根际微环境稳态、微生物群落结构及生物碱合成的关键浓度与作用机制, 以期缓解暗紫贝母连作障碍、优化栽培技术体系、提升药用品质提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

连作土(5年生暗紫贝母种植田)和非连作土(相邻空白田)均采自甘肃中医药大学和政药用植物园, 腐殖土采自甘南百草生物科技开发有限公司栽培大棚。4年生暗紫贝母(*Fritillaria unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia)栽培苗源于该公司种植基地, 经甘肃中医药大学崔治家教授鉴定。试验于甘南藏族自治州合作市循环经济产业园区试验基地(海拔2 960 m, 35°1'31.995"N、102°58'37.541"E)开展。连作组和非连作组各取对应土壤1.0 kg, 分别与1.0 kg腐殖土混匀装盆, 选取根系完好的鳞茎移栽并覆土8–10 cm。设置SA 6个浓度梯度(0、20、50、100、200、500 $\mu\text{mol/L}$), 连作组分别记为CL、SL1、SL2、SL3、SL4、SL5, 非连作组分别记为CC、SC1、SC2、SC3、SC4、SC5, 共12组处理, 每组3盆重复, 每盆10株。2024年6月9–18日采用“Z”字形取样法完成盆栽移栽, 平衡10 d后每7 d灌根1次, 共4次, 2024年8月取样。根际土壤用无菌刷收集根系表面附着土壤, 混合后干冰运输、-80 °C冻存, 用于高通量测序; 根周土壤混合取样后去除杂物, 过2 mm筛, 阴凉处

自然风干, 用于土壤化学性质测定。本研究以每盆混合样品为1个生物学重复, 3盆重复结合混合取样可有效消除单株间微环境差异。数据采用SPSS 26.0进行单因素方差分析(one-way analysis of variance, one-way ANOVA)和Duncan多重比较($P<0.05$), 确保结果的统计学可信度。

1.2 根系分泌物的收集、提取及测定方法

选取长势一致的健康暗紫贝母幼苗, 经自来水冲洗根际土壤后, 用75%乙醇快速冲洗根系2–3 s, 再用无菌蒸馏水洗净, 移栽至含无菌MS培养基的玻璃培养瓶中, 通风条件下适应培养3 d(光照周期为12 h光照/12 h避光, 8:00–20:00光照)。精确称取SA, 用适宜溶剂溶解并配制20、50、100、200、500 $\mu\text{mol/L}$ 系列浓度溶液备用。取上述适应培养后的幼苗移栽至含无菌培养基的培养瓶中, 每瓶加入5 mL对应浓度SA溶液(4个生物学重复), 分别记为S1、S2、S3、S4、S5; 空白组(CK)加入等量溶剂。培养48 h后倒出培养基, 用无菌蒸馏水冲洗瓶壁及根系残留基质, 再加入50 mL无菌蒸馏水, 铝箔纸避光培养48 h, 收集上清液作为根系分泌物提取液, 于4 °C冷藏备用^[9]。总酚酸(total phenolic acids, TPA)含量采用福林-酚法测定^[10]; 氨基酸含量采用水合茚三酮可见分光光度法测定^[11]; 可溶性糖含量采用蒽酮-硫酸比色法测定^[12]; 有机酸含量采用酸碱滴定法测定^[13]。

1.3 土壤理化性质及土壤酶活性测定

土壤基本理化性质测定包括: pH值、有机碳(soil organic carbon, SOC)、有机质(soil organic matter, SOM)、速效磷(available phosphorus, AP)、铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$), 均采用常规方法测定^[14–17]。土壤酶活性测定包括: 土壤脲酶(soil urease, S-UE)、土壤酸性磷酸酶(soil acid phosphatase, S-ACP)、土壤过氧化氢酶(soil catalase, S-CAT)和土壤蔗糖酶(soil sucrase, S-SC), 均采用对应试剂盒测定。

1.4 暗紫贝母鳞茎生物碱类成分测定

暗紫贝母鳞茎生物碱指标包括贝母辛、西贝母碱苷、西贝母碱、贝母素甲及贝母素乙,采用高效液相色谱-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD)对上述5种生物碱含量进行同时测定。实验方法参考车朋^[18]的报道并适当优化,具体色谱条件如下:采用HC-C18色谱柱(Agilent公司, 250 mm×4.6 mm, 5.0 μm),流动相为0.03%二乙胺溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱程序:0–2 min 45% A, 2–5 min 45%–25% A, 5–7 min 25% A, 7–17 min 25%–10% A, 17–20 min 10% A;流速为1.0 mL/min,柱温为35 °C,进样量为20 μL。蒸发光散射检测器参数:增益200,漂移管温度90 °C,加热喷雾模式,动力级别40%,气体压力40 psi^[18]。

贝母辛、西贝母碱苷、西贝母碱、贝母素甲、贝母素乙标准品用甲醇溶解制成混合对照品溶液。精密称取样品粉末1.0 g,置于锥形瓶中,加入浓氨水4 mL,密塞,浸渍1 h;再加入三氯甲烷-甲醇(4:1)混合溶液25 mL,75 °C水浴回流提取2 h,放冷,滤过。滤渣用三氯甲烷-甲醇(4:1)混合溶液10 mL洗涤3次,洗涤液并入滤液,旋转蒸发至干。残渣加甲醇5 mL溶解,经0.45 μm微孔滤膜过滤,取过滤液即得供试品溶液,进样检测。

表1 不同浓度SA处理下暗紫贝母根系分泌物成分含量

Table 1 Content of components in root exudates of *Fritillaria unibracteata* treated with different concentrations of salicylic acid (SA)

Sample code	Total phenolic acids/(μg/mL)	Organic acids/(μg/mL)	Amino acids/(μg/mL)	Soluble sugars/(μg/mL)
CK	0.263 0±0.001 2e	0.145 3±0.001 3b	0.117 4±0.001 5c	0.457 3±0.002 0c
S1	0.455 8±0.004 7b	0.013 7±0.000 8d	0.198 7±0.004 2a	3.201 4±0.092 0a
S2	0.365 1±0.003 6c	0.089 4±0.001 6c	0.193 6±0.003 8a	0.472 7±0.004 5c
S3	0.376 4±0.003 1c	0.086 2±0.001 5c	0.006 6±0.000 3e	0.152 6±0.003 1e
S4	0.314 1±0.002 4d	2.560 3±0.085 0a	0.076 7±0.002 1d	0.242 1±0.003 8d
S5	0.603 2±0.008 2a	0.104 0±0.001 9c	0.158 0±0.003 6b	1.141 4±0.045 0b

Values are presented as mean±standard deviation (SD), $n=4$ (four biological replicates). Different lowercase letters within the same column indicate significant differences at $P<0.05$. The same below.

1.5 根际土壤微生物测定

采用E.Z.N.A.TM Mag-Bind Soil DNA试剂盒(Omega Bio-tek, Inc. 公司)提取根际土壤总DNA,经琼脂糖凝胶电泳和Qubit dsDNA HS试剂盒(Thermo Fisher Scientific Inc. 公司)验证完整性与浓度。细菌16S rRNA基因V3–V4区(引物341F/805R)、真菌ITS1–ITS2区(引物ITS1F/ITS2R)进行PCR扩增,PCR反应由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。原始序列经质量过滤、去嵌合及拼接后,以97%相似性聚类为OTU,基于Greengenes数据库完成分类学注释(置信度0.8)^[19–22]。借助R语言(vegan等包)、mothur、Origin及Gephi软件完成多样性分析、物种丰度可视化及共生网络构建。

2 结果与分析

2.1 不同浓度SA对暗紫贝母根系分泌物各成分含量的影响

不同浓度SA对暗紫贝母根系分泌物各成分含量影响显著(表1)。总酚酸方面,所有SA处理均显著促进其分泌,其中S5和S1处理组含量最高,差异显著($P<0.05$)。有机酸含量仅S4处理组显著最高,其余处理组有机酸分泌均受显著抑制,S1处理组含量显著最低($P<0.05$)。氨基酸分泌表现为低浓度促进、中高浓度抑制,S1与S2组含量无显著差异且均为最高($P<0.05$),S3

处理组分泌显著受抑。可溶性糖分泌呈“两端促进、中间抑制”规律, S1 组含量最高, 较 CK 提升 599.98%, S5 组次之, S3 与 S4 组含量显著低于 CK, 抑制效应明显。

2.2 不同处理对暗紫贝母根际土壤理化因子的影响

不同处理对暗紫贝母根际土壤理化因子的调控作用显著(表 2)。土壤 pH 整体呈弱碱性, SC2、SL2 处理组土壤 pH 值显著最低, SC5、SL4 处理组显著最高, 说明低浓度 SA 可加速土壤酸化, 且对 AP 积累有显著促进作用。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 差异极显著, SC1 处理组 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量显著高于其他处理, 表明低浓度 SA 非连作处理可显著促进 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 富集。SOC 与 SOM 变化趋势一致, 非连作组整体显著高于连作组, SA 处理对二者含量影响不显著, 推测连作易削弱土壤碳库储备。

2.3 不同处理对暗紫贝母根际土壤酶活性的影响

由表 3 可知, 各处理组间 4 种酶活性均存

在显著差异。S-UE、S-ACP 平均活性整体高于连作组, 表明连作对土壤氮磷活化关键酶存在显著抑制。SC2 处理组 S-UE 活性最高, CL 组活性最低, 说明 SA 可在一定程度上提升氮素转化效率。SC2 处理组 S-ACP 活性最优, SL5 处理组活性最低, 表明连作显著抑制磷素活化, 低浓度 SA 可缓解该抑制效应。S-CAT 活性在连作与非连作间无显著规律性差异, SL4 处理组 S-CAT 活性最高, CC 与 SL2 处理组活性最低。S-SC 活性在两组中均有高活性处理, 但非连作组中高活性处理占比更高。SC2、SL2 处理组 S-SC 活性最高, 碳源转化效率最优, SC1 处理组活性最低。

2.4 不同实验处理对暗紫贝母鳞茎生物碱成分的影响

不同实验处理对暗紫贝母鳞茎 5 种生物碱含量的调控作用显著(表 4)。贝母素乙仅在非连作全处理组及连作 SL2 处理组中检出, 其余连作处理组均未检出, 且以 SC5 处理组含量最高、SL2 处理组最低。贝母辛受栽培条件影响较小, 含量以 SL3 处理组显著最高($P<0.05$), SC2、

表2 不同实验处理下暗紫贝母根际土壤理化因子

Table 2 Physicochemical factors of rhizosphere soil of *Fritillaria unibracteata* under different experimental treatments

Sample code	pH	AP/(g/kg)	$\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{g/kg})$	SOC/(g/kg)	SOM/(g/kg)
CC	8.16±0.12ab	1.21±0.06b	5.06±0.18d	12.67±1.14a	21.84±1.97a
CL	8.08±0.09bc	1.10±0.04de	4.99±0.09d	8.72±0.79cd	15.03±1.36cd
SC1	8.01±0.08de	1.13±0.05cd	16.99±0.27a	11.18±1.20bc	19.28±2.07bc
SC2	7.85±0.10f	1.30±0.03a	0.86±0.36g	8.92±0.90cd	15.38±1.55cd
SC3	8.04±0.07cd	1.14±0.06cd	6.40±0.27b	7.74±0.60ef	13.34±1.03ef
SC4	8.01±0.11de	1.22±0.04b	5.67±0.27c	8.31±1.00de	14.32±1.72de
SC5	8.20±0.06a	1.18±0.07bc	6.34±0.18b	11.63±1.10b	20.05±1.90b
SL1	8.00±0.09de	1.09±0.02de	1.95±0.36f	8.48±0.80de	14.63±1.38de
SL2	7.84±0.12f	1.24±0.08ab	3.23±0.18e	5.98±0.70h	10.31±1.21h
SL3	7.93±0.05ef	1.17±0.03cd	2.26±0.27f	7.08±0.50fg	12.21±0.86fg
SL4	8.18±0.13a	1.10±0.05de	4.81±0.27d	6.41±1.30g	11.05±2.24g
SL5	8.00±0.04de	1.06±0.04e	0.37±0.09h	8.27±0.85de	14.26±1.47de

Values are presented as mean±standard deviation, $n=3$ (three pots as biological replicates, mixed sampling per pot). Different lowercase letters within the same column indicate significant differences at $P<0.05$. The same below.

表3 不同实验处理下暗紫贝母根际土壤酶活性

Table 3 Enzyme activities of rhizosphere soil of *Fritillaria unibracteata* under different experimental treatments

Sample code	S-UE/(U/g)	S-ACP/(U/g)	S-CAT/(U/g)	S-SC/(U/g)
CC	311 5.77±343.13c	13 848.31±1 453.01b	1.12±0.12i	103.14±11.34ef
CL	235 9.44±260.53g	581 0.86±610.14gh	3.90±0.43de	114.80±12.63de
SC1	256 1.83±123.56ef	972 0.97±812.56cd	3.12±0.18fg	75.67±6.12f
SC2	400 1.83±245.67a	16 237.83±1 347.29a	4.91±0.35bc	255.90±22.34a
SC3	245 4.08±145.67fg	830 8.99±701.23ef	2.89±0.22g	150.92±13.78c
SC4	360 8.87±287.34b	874 3.45±743.21de	3.59±0.28ef	156.19±14.23c
SC5	361 5.21±198.76b	100 46.82±897.34bc	3.59±0.31ef	212.63±18.90b
SL1	365 9.58±312.45b	678 8.39±589.12fg	4.13±0.29cd	132.86±11.45cd
SL2	285 6.55±134.23de	591 9.48±512.34gh	1.09±0.07i	255.90±23.12a
SL3	300 0.42±156.78cd	776 5.92±654.78ef	1.48±0.11h	225.05±19.87b
SL4	365 3.24±221.89b	570 2.25±487.89hi	6.47±0.52a	146.78±12.34c
SL5	269 8.10±189.12ef	483 3.33±421.67i	4.05±0.33cd	150.17±13.45c

表4 不同实验处理下暗紫贝母鳞茎生物碱类成分含量

Table 4 Content of alkaloid components in bulbs of *Fritillaria unibracteata* under different experimental treatments

Sample code	Peimisine/(mg/g)	Sipeimine glycoside/(mg/g)	Sipeimine/(mg/g)	Peiminine/(mg/g)	Peimine/(mg/g)
CC	0.065 0±0.009 8e	0.016 8±0.002 5g	0.032 2±0.004 8e	0.063 4±0.009 5f	0.035 9±0.005 4a
CL	0.067 5±0.010 1e	0.046 2±0.006 9d	0.043 0±0.006 5d	—	0.017 3±0.002 6cd
SC1	0.082 5±0.008 6c	0.038 0±0.005 6e	0.032 2±0.004 8b	0.099 4±0.012 3e	0.020 6±0.003 8b
SC2	0.123 9±0.009 7a	0.083 0±0.006 7a	0.043 0±0.006 5e	0.170 7±0.009 1b	0.015 0±0.002 2d
SC3	0.077 5±0.009 4d	0.023 7±0.002 4f	0.076 6±0.004 8f	0.111 7±0.008 5d	0.015 3±0.003 0d
SC4	0.094 7±0.011 2c	0.037 5±0.004 3e	0.033 4±0.004 2e	0.149 0±0.011 7c	0.015 8±0.002 4d
SC5	0.122 4±0.012 0a	0.063 5±0.005 2b	0.029 0±0.004 3e	0.183 7±0.010 2a	0.019 9±0.004 1bc
SL1	0.061 9±0.008 9e	0.022 3±0.002 1f	0.035 7±0.005 4a	—	0.015 3±0.002 3d
SL2	0.076 9±0.010 5d	0.051 5±0.004 1c	0.037 4±0.004 6c	0.031 6±0.004 7g	0.019 3±0.002 9bc
SL3	0.137 1±0.011 9a	0.023 4±0.003 3f	0.122 4±0.005 9a	—	0.016 4±0.003 2cd
SL4	0.107 3±0.008 3b	0.041 0±0.002 8d	0.058 8±0.005 1a	—	0.019 1±0.002 7bc
SL5	0.127 0±0.010 8a	0.050 2±0.003 9c	0.118 5±0.006 2a	—	0.019 1±0.003 5bc

— indicates that the component is not detected in the sample or its content is below the limit of quantification (LOQ). Values are presented as mean±SD, $n=3$.

SC5 及 SL5 处理组均达较高水平, CC、SC3 及 SL1 处理组含量最低。西贝母碱苷含量 CL 组显著高于 CC 组, 且 SC2 处理组含量最高($P<0.05$), SC5、SL2、SL5 处理组次之, CC、SC3 及 SL1、SL3 处理组最低。西贝母碱含量以 SL3、

SL5 处理组最高且无显著差异, SC3 处理组次之, SC1、SC5 处理组及 CL 组最低。贝母素甲与其他生物碱积累规律不同, 以 CC 组含量最高, 其余处理组均显著较低($P<0.05$), 且无明显的栽培条件与浓度优势。

2.5 不同实验处理对暗紫贝母根际土壤微生物多样性的影响

2.5.1 根际土壤测序结果分析

12 份不同处理组的暗紫贝母根际土壤样品经 97% 序列相似度聚类, 共获得 8 798 个细菌 OTUs 和 2 291 个真菌 OTUs。以随机抽取的测序数据量为横坐标, 以观测到的物种数量(Sobs)为纵坐标, 构建样本细菌和真菌稀释曲线。如图 1 所示, 曲线均趋于平缓, 表明采样量充足, 可覆盖土壤中绝大多数细菌与真菌种类, 测序结果可靠。

2.5.2 根际土壤微生物 α 多样性分析

通过 Shannon、Simpson、Chao1 等指数评估群落 α 多样性。细菌群落: Shannon、Simpson、Richness 等指数组间差异不显著, 物种多样性、均匀度及实际观测物种数受分组影响较小; Chao1、ACE 等指数显示多数处理组物种数量相近, 仅低浓度 SL1、SL2 处理组差异显著(图 2A), 推测其可能影响稀有物种生存或优势物种繁殖, 导致潜在丰富度升高、覆盖率下降。真菌群落: Shannon、Simpson 指数组间无显著差异, 群落多样性相似; 非连作空白组

Richness、Chao1、ACE 及观测物种数均显著高于其他组, 物种组成更丰富(图 2B)。

2.5.3 根际土壤微生物 β 多样性分析

基于 OTU 水平构建 β 多样性可视化图谱, 分析不同处理对根际土壤微生物群落结构差异的影响。结果显示, 细菌群落层面, 多数实验处理组根际土壤微生物群落结构多样性显著高于空白对照组, 仅 SL1、SL4 处理组微生物群落结构及多样性与 CL 组无显著差异; 非连作处理组根际土壤细菌群落结构多样性均高于空白对照组, 其中 SC4 处理组提升效果最为显著($P < 0.05$, 图 3A)。真菌群落层面, 多数实验处理组根际土壤微生物群落结构多样性与空白对照组无显著差异, 仅 SC4 处理组根际土壤真菌群落结构多样性显著高于其余各处理组($P < 0.05$, 图 3B)。

2.6 不同实验处理对土壤细菌群落组成及结构的影响

2.6.1 细菌群落的组成

门水平细菌群落组成分析结果如图 4A 所示, 假单胞菌门(*Pseudomonadota*)为各处理组根际土壤细菌群落的核心优势门, 其中 SC4 组、

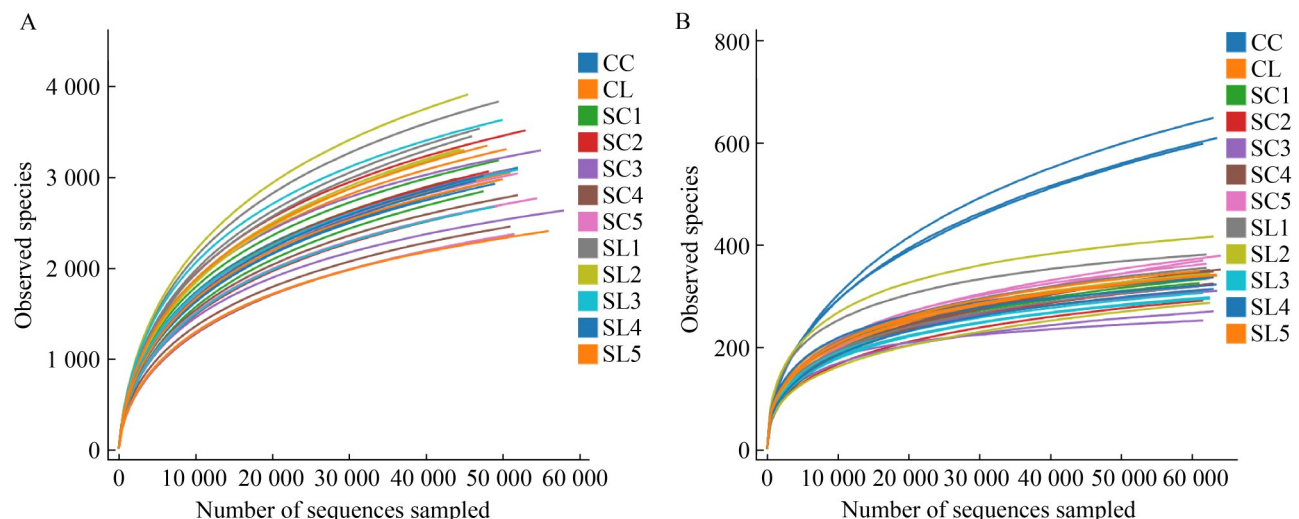
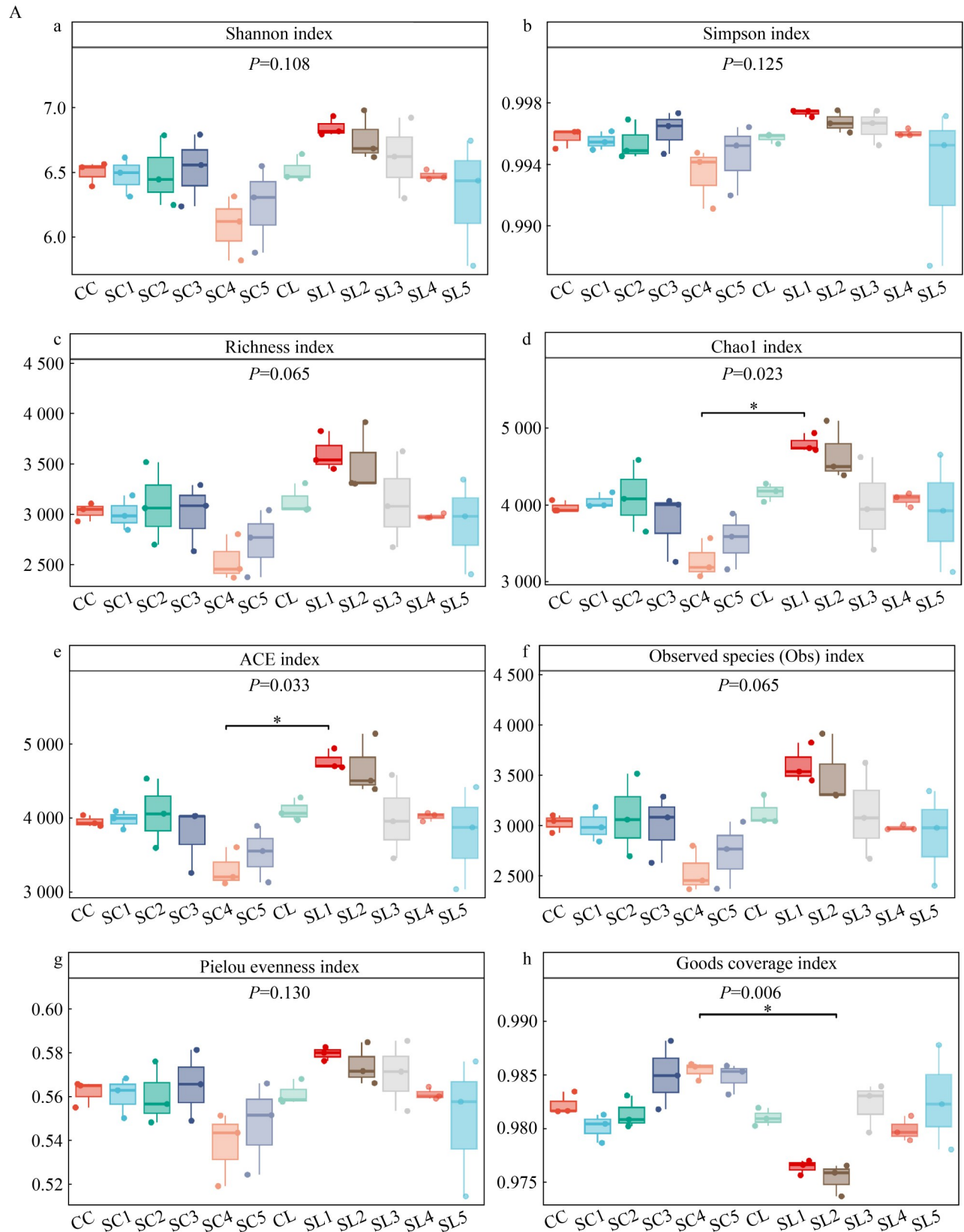


图1 不同实验处理暗紫贝母根际土壤细菌群落(A)和真菌群落(B)的稀释曲线

Figure 1 Rarefaction curves of bacterial (A) and fungal (B) communities in rhizosphere soil of *Fritillaria unibracteata* under different experimental treatments.



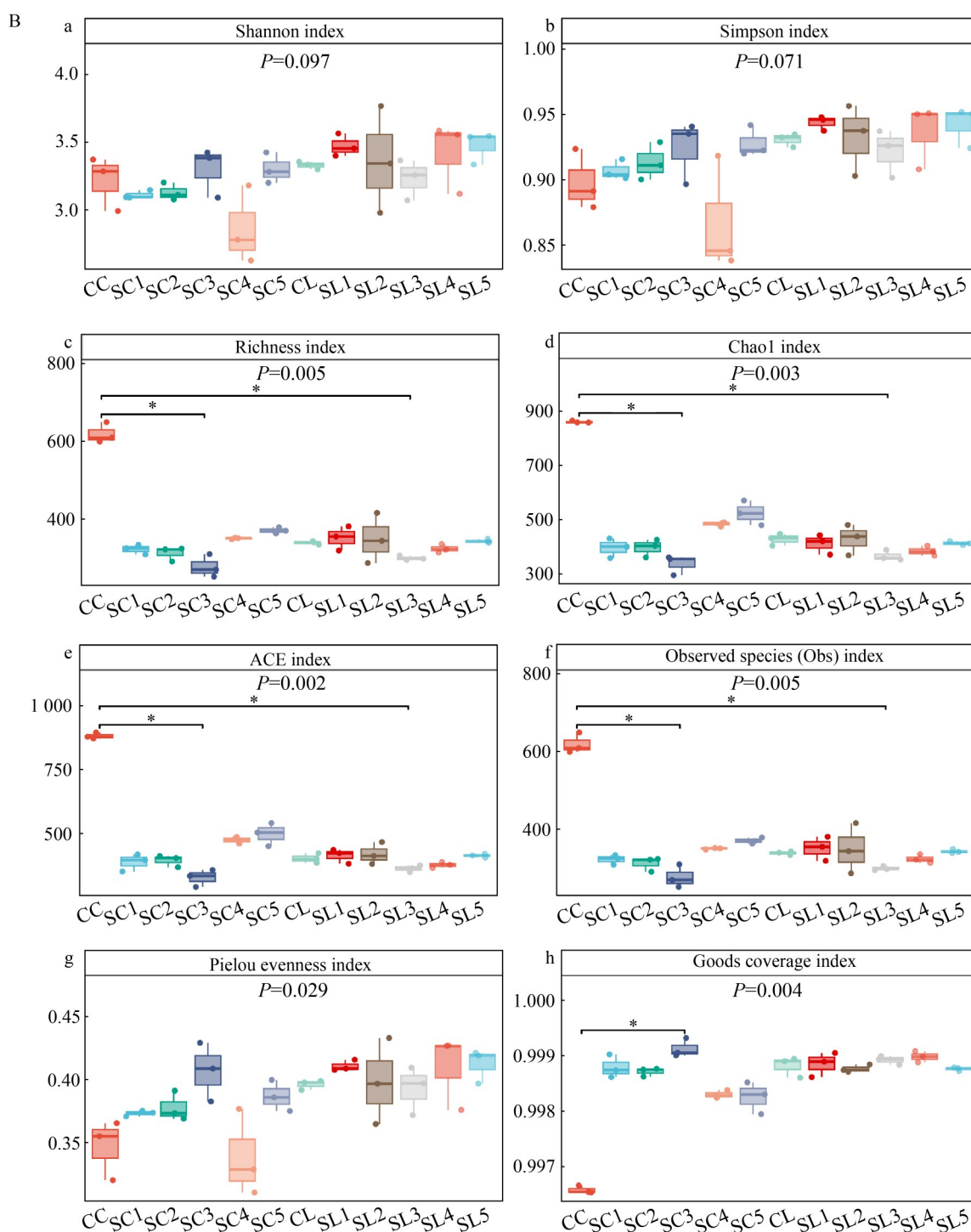


图2 不同处理下暗紫贝母根际细菌(A)及真菌(B)群落的 α 多样性

Figure 2 Alpha diversity of rhizospheric bacteria (A) and fungi (B) communities of *Fritillaria unibracteata* under different treatments. a: Shannon index; b: Simpson index; c: Richness index; d: Chao1 index; e: ACE index; f: Observed species (Obs) index; g: Pielou evenness index; h: Goods coverage index. Significant differences: * $P<0.05$.

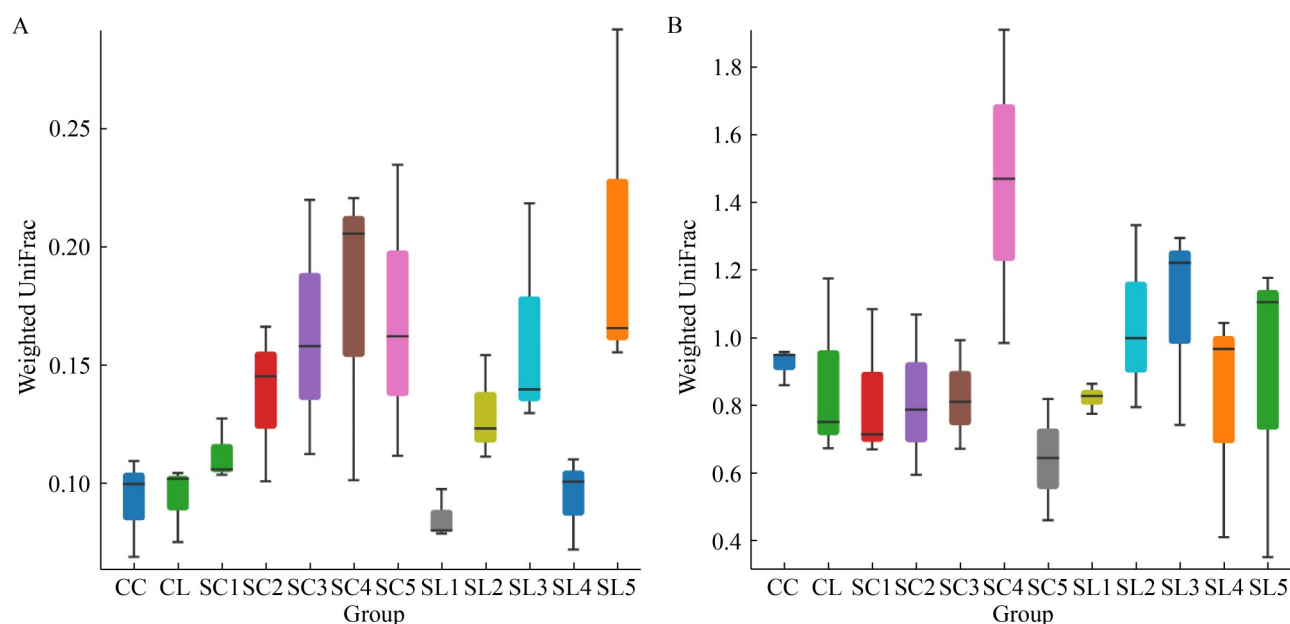


图3 不同处理下暗紫贝母根际细菌(A)与真菌(B)群落的 β 多样性分析

Figure 3 Beta diversity analysis of bacterial (A) and fungal (B) communities in the rhizosphere of *Fritillaria unibracteata* under different experimental treatments.

SL4 组及 SC5 组假单胞菌门相对丰度均超过 40%，在细菌群落中占据绝对优势地位；酸杆菌门 (*Acidobacteriota*)、放线菌门 (*Actinobacteria*)、拟杆菌门 (*Bacteroidota*) 及绿屈挠菌门 (*Chloroflexota*) 为次要优势门，相对丰度较高，均为群落核心组成类群。其中，拟杆菌门在高浓度非连作处理组的相对丰度均高于对应连作处理组；放线菌门在低浓度连作处理组的相对丰度与非连作处理组无显著差异，高浓度连作处理组放线菌门相对丰度显著高于连作空白对照组；螺旋体门 (*Spirochaetota*)、梭杆菌门 (*Fusobacteriota*) 等类群相对丰度较低，但仍为暗紫贝母根际土壤细菌群落的重要组成部分，参与群落功能稳态维持。

属水平细菌群落热图分析(图 4B)显示，鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*) 在 CC 组的相对丰度最高，CL 组显著下降，SC4 组、SC5 组等高浓度非连作处理组其相对丰度进一步显著降低；假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 在 CL 组的相对丰度高于 CC 组，连作处理组中该属相对丰度随 SA

施加浓度的升高呈逐渐下降趋势，SC3 组非连作处理组假单胞菌属相对丰度最低；地杆菌属 (*Geobacter*) 相对丰度表现为 CC 组高于 CL 组，其中 SC5 组相对丰度最高，SL5 组最低；溶杆菌属 (*Lysobacter*) 在 CL 组的相对丰度高于 CC 组，连作处理组中该属相对丰度随 SA 浓度升高而降低，SC3 组非连作处理组溶杆菌属相对丰度最高；链霉菌属 (*Streptomyces*) 在 SL5 组的相对丰度显著高于其他处理组，提示高浓度 SA 对连作土壤中链霉菌属的生长具有特异性促进作用。

2.6.2 细菌关键类群差异及功能细菌预测

选取属水平相对丰度排名前 10 的细菌类群，分析各组平均相对丰度及组间差异显著性，细菌关键类群差异分析结果如图 5A 所示。地杆菌属 (*Geobacter*) 的相对丰度受 SA 施加浓度影响显著，其中 SC5 组相对丰度最高(3.0%)，SC2 组最低(0.6%)；鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*) 在 CC 组相对丰度最高(4.1%)，低浓度 SC1、SC2 处理组该属相对丰度显著低于 SL1、SL2 组，表

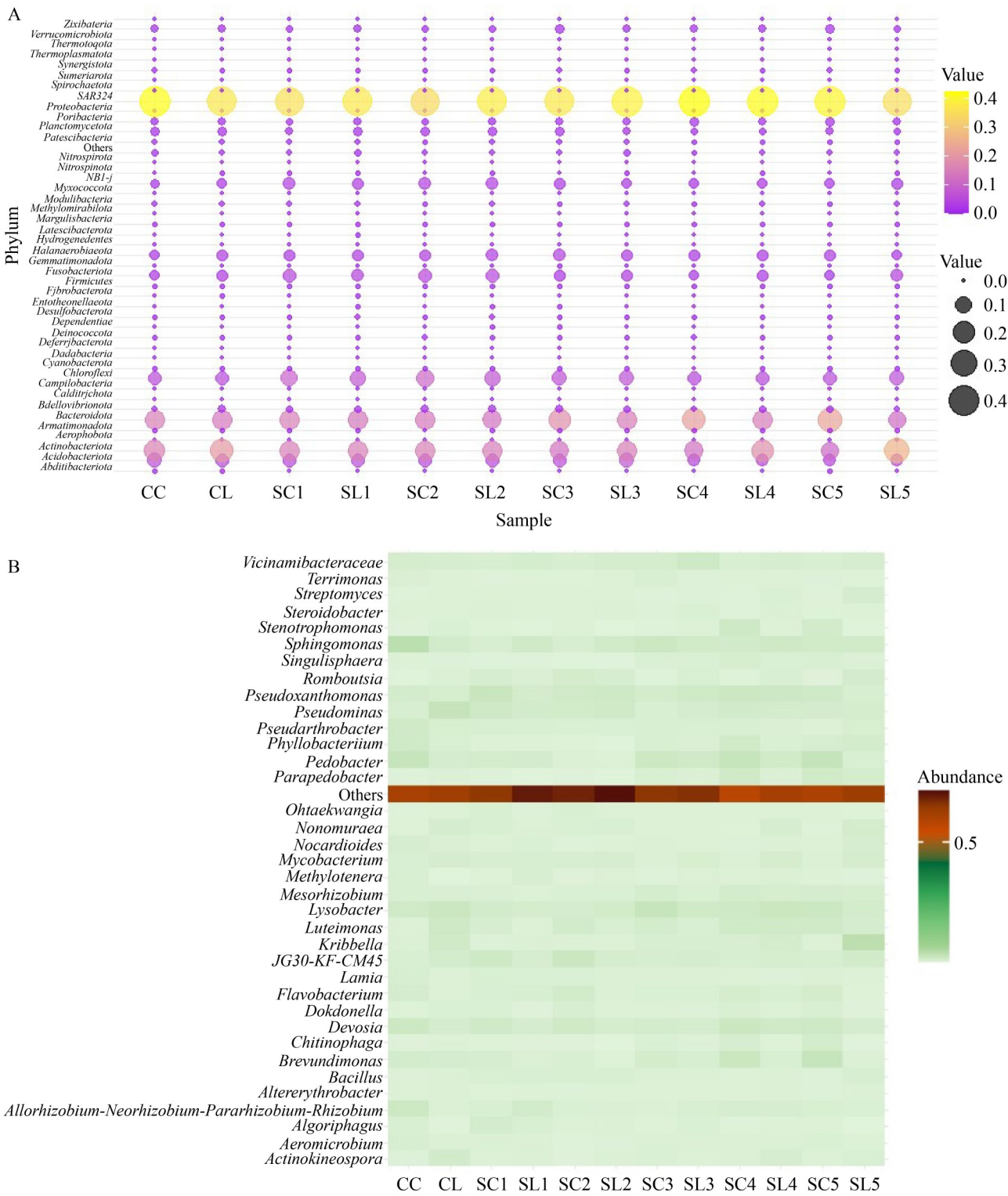


图4 不同处理下暗紫贝母根际土壤细菌群落在门(A)和属(B)水平相对丰度变化
Figure 4 Changes in relative abundance of bacterial communities in rhizosphere soil of *Fritillaria unibracteata* at phylum (A) and genus (B) levels under different experimental treatments.

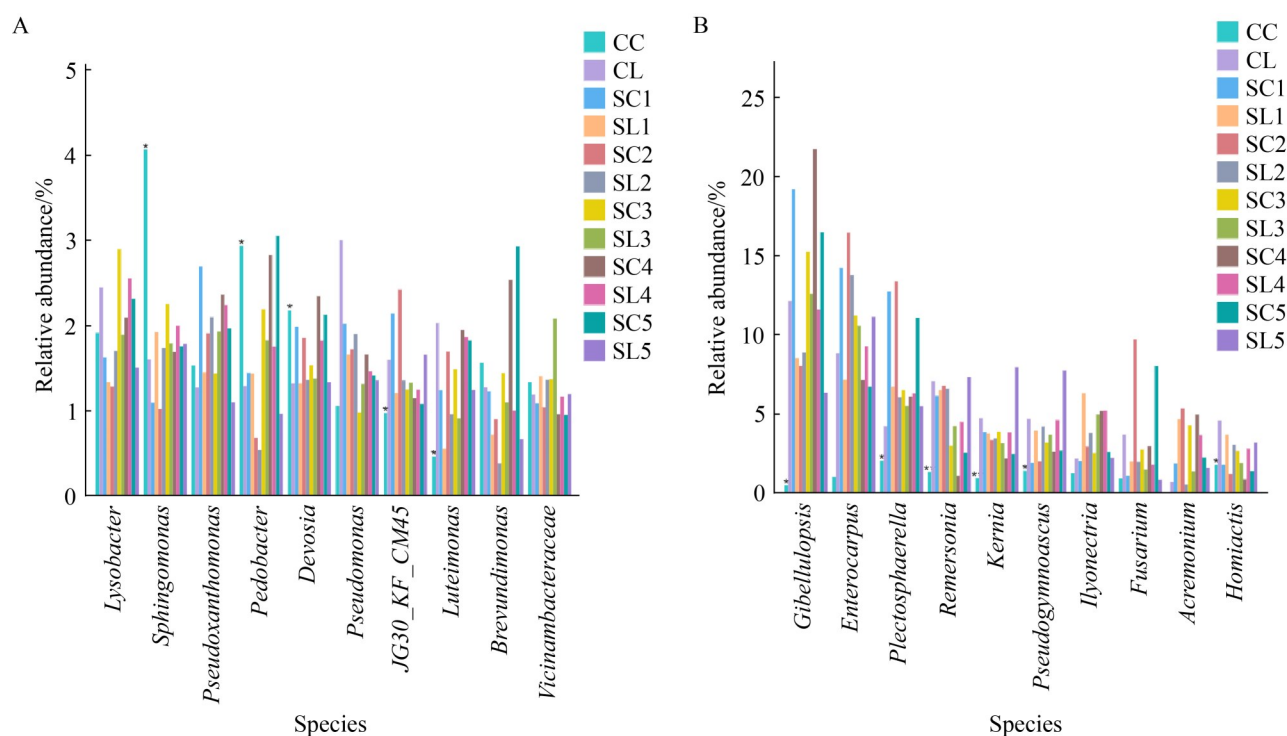


图5 不同处理下暗紫贝母根际细菌(A)和真菌(B)关键类群差异

Figure 5 Differences in key taxa of bacterial (A) and fungal (B) communities in the rhizosphere of *Fritillaria unibracteata* under different experimental treatments. Significant differences: * $P < 0.05$.

明低浓度连作与非连作处理对鞘氨醇单胞菌属的相对丰度存在显著协同调控效应；德沃斯氏菌属(*Devosia*)相对丰度较为稳定，非连作处理组其占比维持在 2.0%–2.3% 之间，且显著高于对应连作处理组；假单胞菌属(*Pseudomonas*)在连作处理组的相对丰度显著高于非连作处理组，CL 组相对丰度达 2.9%；JG30-KF-CM45 类群在 SC2 组相对丰度最高(2.4%)，SL2 组相对丰度低于 1.4%，组间差异显著。

基于 KEGG 功能数据库对暗紫贝母根际功能细菌相对丰度的预测结果如图 6 所示，氨基酸代谢、碳水化合物代谢、脂质代谢等核心代谢通路的功能细菌相对丰度在连作处理组中普遍低于非连作处理组，而次生代谢物合成相关通路的功能细菌相对丰度在连作处理组中显著升高，推测与连作胁迫下土壤微环境诱导微生物代谢途径重构相关。非连作处理组中，低浓

度 SA 处理下能量代谢、膜运输等部分代谢通路功能活性略有增强，但未对核心代谢过程产生显著影响；高浓度 SA 处理下，氨基酸代谢与碳水化合物代谢通路功能活性显著提升，且免疫相关通路功能活性在 SC5 组显著升高，表明高浓度 SA 可显著提升暗紫贝母根际土壤细菌的抗逆相关功能活性，进而有利于缓解连作障碍对土壤微生物代谢的抑制效应。连作处理组中，低浓度 SA 处理使核心代谢通路功能活性进一步受到抑制，推测由连作胁迫与低浓度 SA 的双重胁迫作用所致；中高浓度 SA 处理下，脂质代谢与萜类代谢通路功能活性显著激活，推测可通过协助清除土壤中的活性氧以缓解胁迫损伤；同时病原体响应通路功能活性显著降低，表明中高浓度 SA 可通过调控细菌功能代谢通路活性，降低土壤病原体胁迫响应强度，进而发挥缓解连作病害的作用。

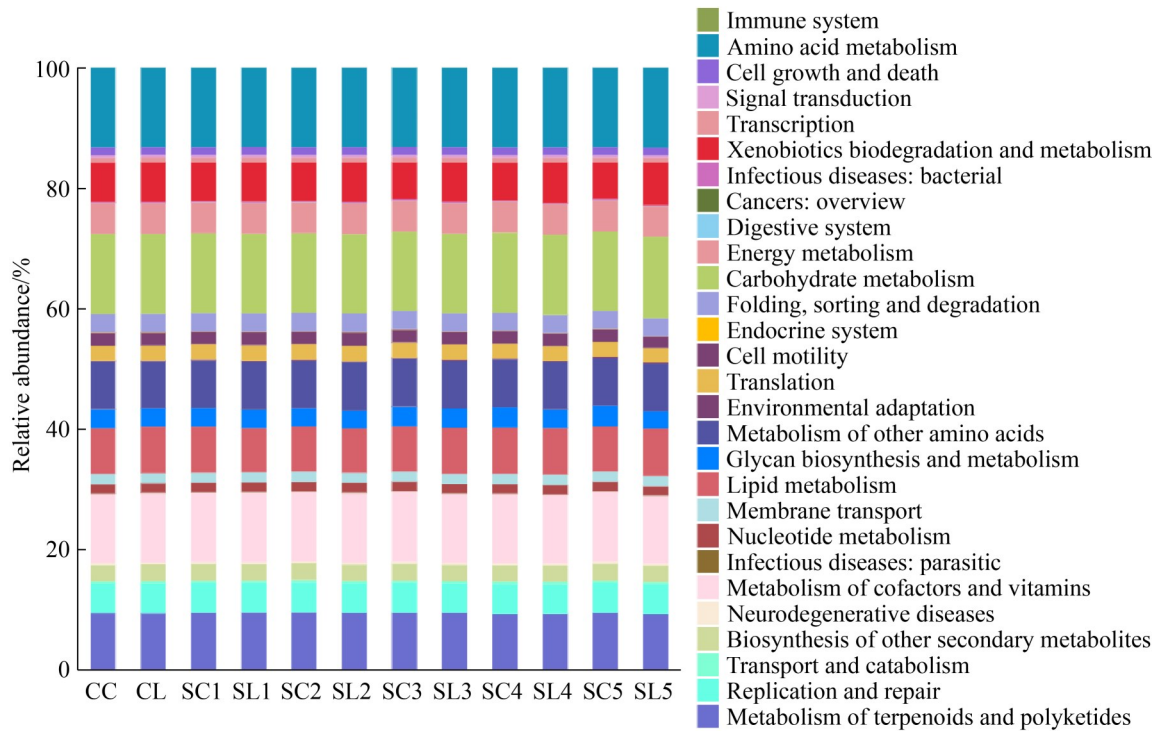


图6 不同处理下暗紫贝母根际功能细菌类群的相对丰度

Figure 6 Relative abundance of functional bacterial taxa in the rhizosphere of *Fritillaria unibracteata* under different experimental treatments.

2.7 不同实验处理对土壤真菌群落组成及结构的影响

2.7.1 真菌群落组成

门水平真菌群落组成分析结果如图 7A 所示, 子囊菌门(*Ascomycota*)为各处理组根际土壤真菌群落的绝对优势门, 所有处理组该门相对丰度均超过 97.0%, 在真菌群落中占据核心主导地位; 被孢霉门(*Mortierellomycota*)为次要优势门, 相对丰度范围为 1.4%–2.0%, 是真菌群落结构的重要补充类群。担子菌门(*Basidiomycota*)相对丰度在连作高浓度处理组中显著升高, 其中 SL1 组相对丰度达 10.7%, 推测连作环境可特异性促进担子菌门真菌的增殖; 壶菌门(*Chytridiomycota*)相对丰度在 CL 组中高于 CC 组, SL5 组可显著抑制壶菌门真菌生长; 球囊菌门(*Glomeromycota*)相对丰度在 SL4 组中显著高于其他所有处理组, 表明特定浓度 SA 对球囊菌

门真菌的生长具有选择性刺激效应。

属水平真菌群落热图分析结果如图 7B 所示, 赤霉菌属(*Gibellulopsis*)相对丰度在非连作处理组中整体较高, 但 CC 组显著低于 CL 组, 提示该属真菌生长受连作环境与 SA 浓度的协同调控; 肠果菌属(*Enterocarpus*)、雷默森菌属(*Remersonia*)相对丰度在连作处理组中显著高于非连作处理组, 推测连作条件可促进上述两属真菌的生长繁殖; 假裸囊菌属(*Pseudogymnoascus*)相对丰度在非连作高浓度处理组中低于连作处理组, 核盘菌属(*Kernia*)在连作高浓度处理组中表现出明显的丰度优势, 表明 SA 与连作环境可协同调控特定真菌属的群落分布特征。

2.7.2 真菌关键类群差异

选取属水平相对丰度排名前 10 的真菌类群, 分析各组平均相对丰度及组间差异显著性, 真菌关键类群差异分析结果如图 5B 所示。

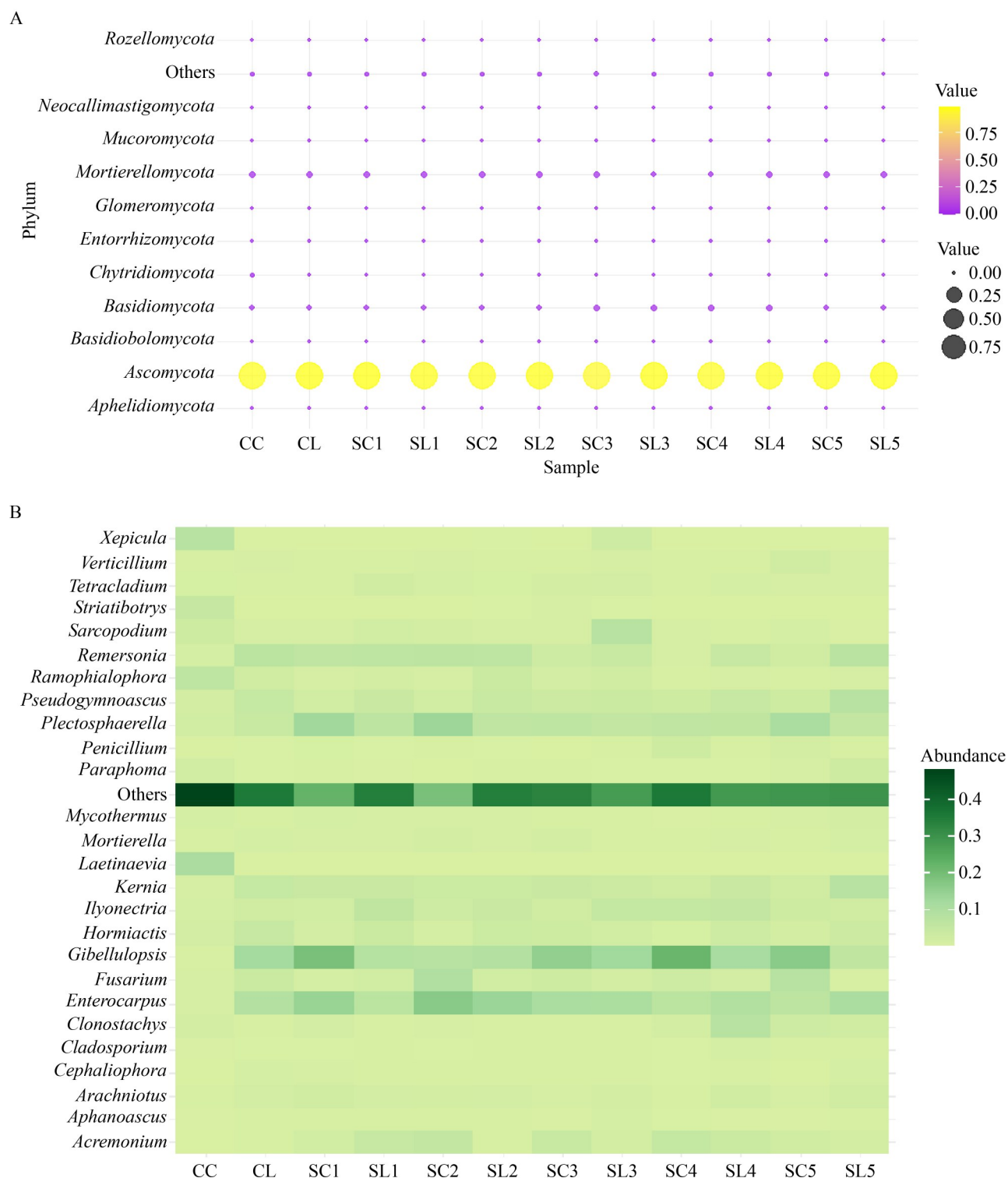


图7 不同处理下暗紫贝母根际土壤真菌群落在门(A)和属(B)水平相对丰度变化

Figure 7 Changes in relative abundance of fungal communities in rhizosphere soil of *Fritillaria unibracteata* at phylum (A) and genus (B) levels under different experimental treatments.

Gibellulopsis 相对丰度在 CC 组中仅为 0.5%，在 SC1 组、SC4 组及 SL3 组中显著升高，表明 SA 处理组该属丰度呈现与 CL 组相似的聚集特征；帚枝霉属(*Plectosphaerella*)相对丰度在各 SA 处理组中均高于空白对照组，且 SA 对该属的促进效应随施加浓度升高呈减弱趋势；镰刀菌属(*Fusarium*)相对丰度在 CC 组中显著低于 CL 组，在非连作处理组中显著提升，而在连作处理组中显著降低，表明该属丰度受 SA 与连作环境的协同调控，且二者的调控关系较为复杂。

2.8 暗紫贝母鳞茎生物碱类成分与根际微生物及土壤微环境的相关性分析

在属水平筛选相对丰度排名前 10 的优势细菌属与真菌属，分别探究非连作组、连作组中优势微生物属与土壤环境因子及暗紫贝母鳞茎生物碱类成分的相关性，结果如图 8A、8B 所示。非连作组中，*Sphingomonas*、*Pedobacter* 与有机酸呈正相关，*JG30-KF-CM45*、*Enterocarpus* 与有机酸呈显著负相关；*Brevundimonas* 与土壤有机碳呈显著负相关，*Hormiactis* 与有效磷呈显著负相关，*Devosia* 与有机酸呈显著正相关，*Pseudomonas* 与氨基酸呈显著正相关；多数优势真菌属与贝母辛、西贝母碱苷及贝母素乙呈正相关，其中 *Fusarium* 与贝母辛、西贝母碱及贝母素乙呈显著正相关。连作组中，*Devosia* 与土壤有机碳、有机质呈显著负相关，*Lysobacter* 与总酚酸、氨基酸及可溶性糖呈显著负相关；有机酸与 *Luteimonas* 呈显著正相关，而与 *Vicinamibacteraceae* 呈显著负相关；连作条件下，优势微生物属与暗紫贝母鳞茎有效成分(生物碱类)的相关性显著减弱，仅 *Pseudomonas*、*Fusarium* 与贝母辛呈显著负相关，*Pedobacter* 与西贝母碱苷呈显著负相关。

为明确不同实验处理对暗紫贝母根际微生物群落结构的调控机制，基于 OTU 水平，采用冗余分析(RDA)探究土壤环境因子、鳞茎生物碱类成分与根际微生物群落结构的关联，结果如

图 9A、9B 所示。细菌群落 RDA 分析显示，连作显著加剧了不同处理组根际细菌群落结构的差异，SA 处理后不同栽培模式的实验组沿 RDA1 轴呈双侧分布；中、高浓度 SA 处理的非连作组与 CC 组群落分布差异更为显著(分散度更高)，且与土壤 pH、贝母辛密切相关；连作处理组与 CL 组群落分布更为集中，且与西贝母碱、西贝母碱苷及可溶性糖高度相关。真菌群落 RDA 分析显示，SA 处理下，低浓度非连作组与总酚酸、西贝母碱苷及贝母辛高度相关，高浓度非连作组多与有机酸、贝母素甲含量呈密切相关；CC 组与其余各实验处理组群落结构显著分离，且与贝母素乙呈高度相关；SA 处理的非连作组与连作组群落分布距离较近，且与 CL 组相似度较高，推测 SA 添加与连作条件对真菌群落结构的影响存在一定相似性，高浓度 SA 可显著加剧连作组内真菌群落结构的差异。

3 讨论

3.1 SA 对暗紫贝母根系分泌物的浓度依赖性调控

根系分泌物是植物与根际环境进行物质交换及信号传递的关键载体。本研究证实，SA 对根系分泌物的调控具有显著浓度特异性，且不同组分的响应存在差异。总酚酸作为抗逆标志性代谢产物，在 20 $\mu\text{mol/L}$ 低浓度与 500 $\mu\text{mol/L}$ 高浓度 SA 处理下均显著高于空白组，表明特异浓度 SA 可激活酚酸合成途径，增强暗紫贝母的环境适应性^[23]。本研究发现，低浓度与高浓度 SA 促酚酸分泌的酚酸种类存在本质差异，20 $\mu\text{mol/L}$ SA 仅诱导基础型酚酸(没食子酸、咖啡酸)合成，该类酚酸仅能提升植株基础抗逆性，不具备微生物介导的次生代谢转化能力；而 500 $\mu\text{mol/L}$ SA 可诱导功能性酚酸(阿魏酸、香豆酸、绿原酸)合成，该类酚酸可作为根际微生物的信号分子与营养底物，驱动链霉菌属、镰刀菌属等功能微生物的富集与代谢转化，这也是

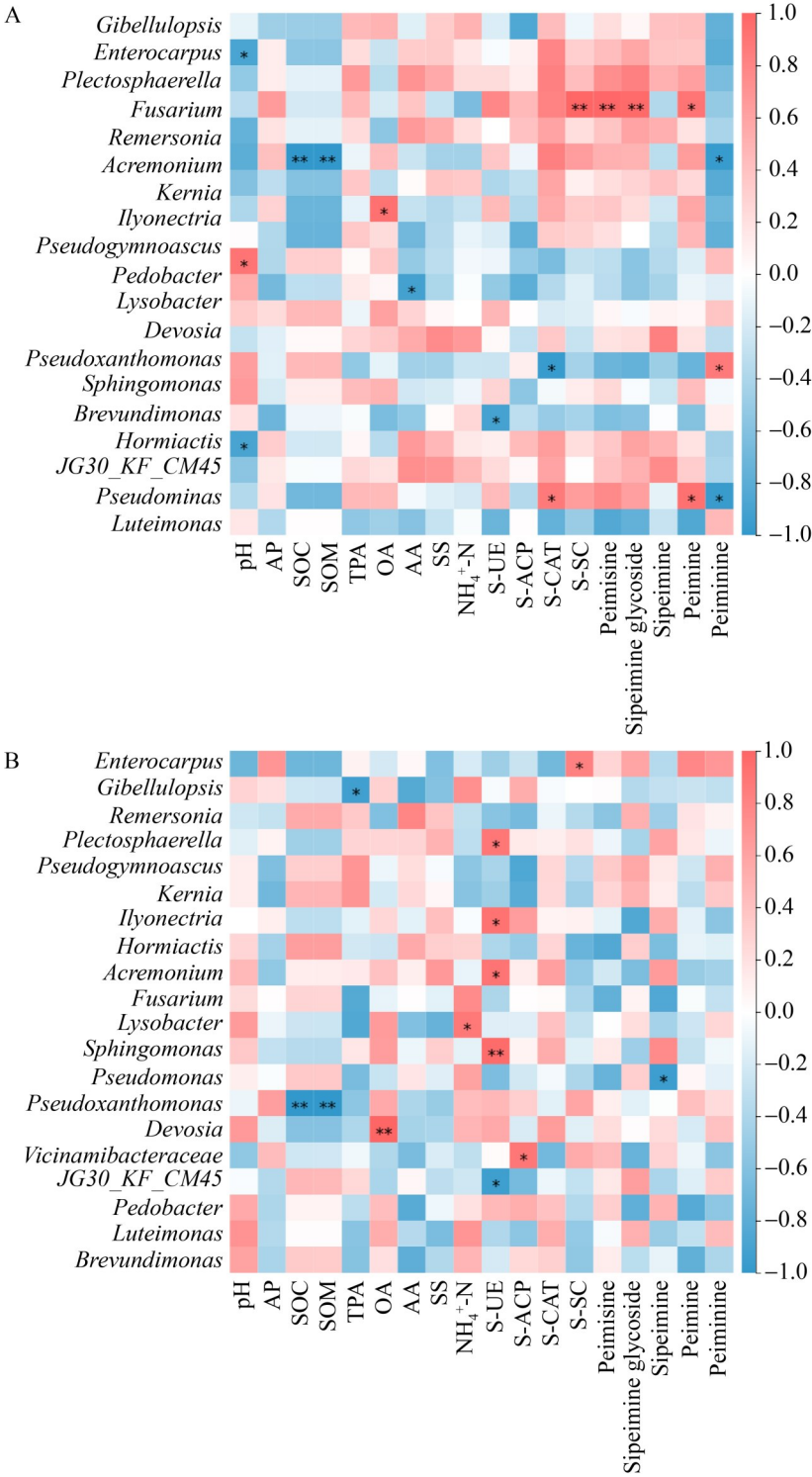


图8 非连作组(A)、连作组(B)中优势微生物属与土壤环境因子及暗紫贝母鳞茎生物碱类成分的相关性
Figure 8 Correlation between dominant microbial genera, soil environmental factors and alkaloid components in *Fritillaria unibracteata* bulbs in the non-continuous cropping group (A) and continuous cropping group (B). Significant differences: * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

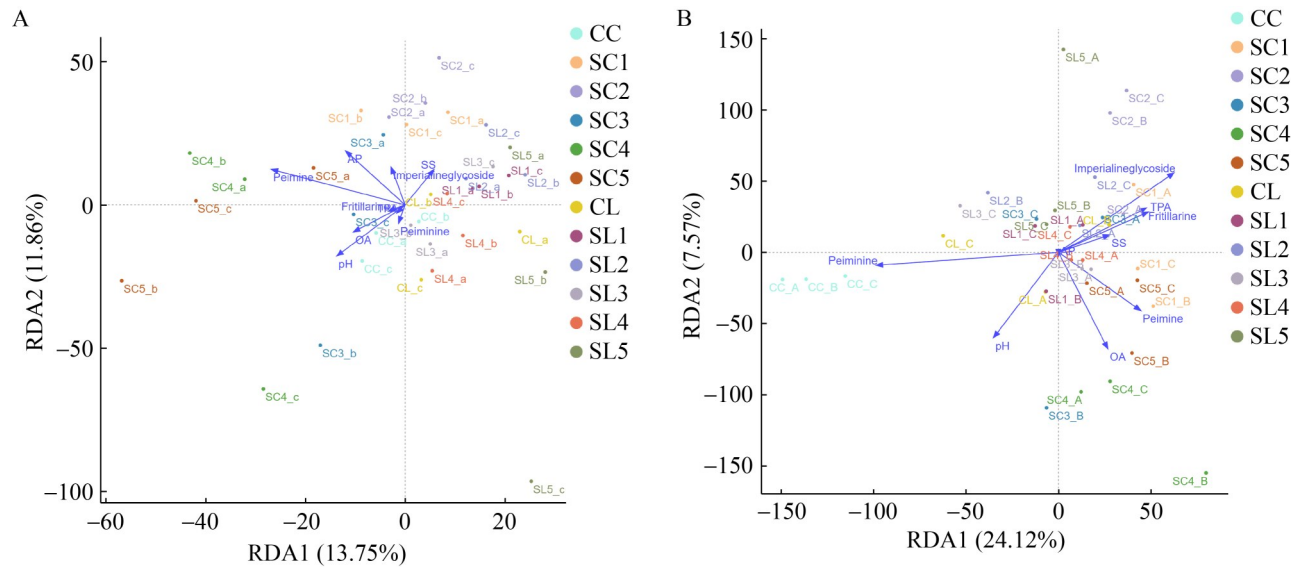


图9 土壤环境因子、鳞茎生物碱类成分与根际细菌(A)、真菌(B)群落结构的相关性

Figure 9 Correlation of soil environmental factors and bulb alkaloid components with the community structure of bacteria (A) and fungi (B) in the rhizosphere of *Fritillaria unibracteata*.

仅高浓度 SA 能促进生物碱积累的核心原因。同时, 功能性酚酸可通过调控根际微生物的萜类代谢通路, 为暗紫贝母生物碱合成提供前体物质(异戊烯焦磷酸), 实现酚酸分泌与生物碱合成的微生物介导偶联。有机酸对 SA 浓度响应敏感, 呈 20 $\mu\text{mol/L}$ 抑制、200 $\mu\text{mol/L}$ 促进的双向调控特征, 推测其通过靶向调控合成关键酶活性维持碳代谢稳态^[24]。氨基酸与可溶性糖的分泌规律一致, 均表现为 20、50 $\mu\text{mol/L}$ 低浓度促进、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 中浓度抑制的特征: 低浓度 SA 可优化碳氮分配、补充根际碳氮源, 中浓度 SA 则破坏植物与根际微生物的营养互作^[25-26]; 而 500 $\mu\text{mol/L}$ SA 可恢复可溶性糖分泌至显著高于空白组的水平, 与功能性酚酸协同构建适宜的根际碳源环境, 为微生物群落重塑与生物碱合成提供物质基础。

3.2 SA 与栽培模式的交互调控效应

本研究表明, SA 与栽培模式对暗紫贝母根际土壤理化因子及酶活性存在显著交互调控作用, 其中栽培模式主导土壤碳库功能, SA 呈浓度特异性调控速效养分与酶活性。连作与非连

作模式下 SA 的作用主要体现为“优化调控”, 即通过 50 $\mu\text{mol/L}$ SA 降低土壤 pH、提升速效磷含量及脲酶等关键酶活性, 进一步强化土壤养分转化效率^[27]; 而连作土壤中假单胞菌属等寡营养型微生物富集、病原菌占比升高、养分失衡严重, SA 的作用则转为“修复缓解”, 即通过 200 $\mu\text{mol/L}$ SA 激活过氧化氢酶活性以缓解氧化胁迫, 通过 500 $\mu\text{mol/L}$ SA 富集有益菌并抑制病原菌, 弥补连作引发的根际微生态缺陷。非连作组土壤有机碳、有机质含量显著高于连作组, 连作易导致土壤碳库退化, 而 SA 仅能弥补速效养分亏缺, 无法逆转碳库衰退, 这也提示暗紫贝母连作障碍治理需结合 SA 调控与有机培肥。200 $\mu\text{mol/L}$ SA 可激活过氧化氢酶活性, 缓解连作氧化胁迫; 但连作条件下高浓度 SA 会抑制土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量及酸性磷酸酶活性, 加剧养分失衡, 表明连作条件下 SA 浓度需精准把控。本研究结果与 SA 在马铃薯、桃树、草莓等作物连作障碍中的研究形成呼应^[5-6,17], 上述研究均证实 SA 可通过改善土壤酶活性、优化养分供应缓解连作障碍, 但本研究发现 SA 对药用植物的调控

存在“养分优化-微生物修复-生物碱合成”的协同效应，区别于粮食、果树作物仅聚焦生长与抗逆的调控目标，这也是药用植物连作障碍治理的特殊性所在。SA 可通过调控根系分泌物组成间接优化土壤环境，二者合理搭配可有效修复连作退化土壤^[28]。

3.3 SA 对根际微生物群落的定向调控

根际微生物群落稳定性直接影响暗紫贝母生长及药用品质。本研究明确 SA 可定向重塑群落结构与功能，改善根际微生态并间接调控生物碱合成。SA 作为小分子信号物质，高浓度下可直接作用于土壤微生物的细胞膜与代谢通路，抑制尖孢镰刀菌、疫霉菌等病原菌的呼吸作用与增殖，同时激活链霉菌属、地杆菌属等有益菌的次生代谢；而低浓度 SA 对微生物无直接调控效应，仅通过根系分泌物间接影响，这也解释了高浓度 SA 微生物修复效应更为显著的原因。细菌为根际群落核心，假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、子囊菌门(*Ascomycota*)分别为细菌、真菌的绝对优势类群，适配暗紫贝母高海拔栽培的根际环境特性。非连作组鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)丰度较高且与贝母辛含量呈正相关，推测其参与贝母辛合成调控^[29]；连作组假单胞菌属(*Pseudomonas*)富集以弥补养分不足，500 $\mu\text{mol/L}$ SA 可提升连作组链霉菌属(*Streptomyces*)丰度，抑制土传病原菌以实现连作微生物修复^[30]。连作显著降低真菌群落多样性，SA 仅能局部改善；200 $\mu\text{mol/L}$ SA 的群落重塑效应最为显著，高浓度 SA 可修复连作紊乱的细菌群落，达成结构与功能的协同优化^[27]。非连作组镰刀菌属(*Fusarium*)与生物碱合成呈正相关的发现，打破了“镰刀菌属为植物病原菌”的传统认知^[31]。该发现的核心意义体现在三方面：(1) 证实镰刀菌属存在“功能分化”，非连作根际微环境下的镰刀菌为有益共生菌，可分泌萜类合成酶参与暗紫贝母生物碱前体的生物合

成，而连作下的镰刀菌为致病性类群，这与根际养分及其他微生物的协同调控密切相关；(2) 为药用植物次生代谢的“微生物定向调控”提供了新靶点，可通过人工富集该类有益镰刀菌，结合 SA 调控构建根际功能微生物群落提升药用生物碱含量；(3) 为解析“植物-微生物”互作调控药用品质的机制提供了新视角，证实根际真菌不仅参与土壤养分循环，还可直接介导药用植物活性成分的合成。该发现与 Zhu 等^[8]在党参中的研究结论一致，均证实根际微生物可定向调控药用植物次生代谢，进一步丰富了药用植物根际微生态调控的理论体系。

3.4 SA 与连作的交互对生物碱合成的影响

SA 与连作条件对暗紫贝母生物碱合成具有组分特异性的交互调控效应，该调控效应是根系分泌物、土壤微环境、根际微生物三者协同作用的结果。西贝母碱昔在 50 $\mu\text{mol/L}$ 、500 $\mu\text{mol/L}$ SA 处理下显著积累，非连作条件下积累效果更优，推测 SA 通过激活萜类合成途径促进其合成^[32]，而非连作下充足的碳氮养分与有益菌群落为萜类合成提供了物质与酶促条件。贝母辛在中高浓度 SA 处理下富集，连作+500 $\mu\text{mol/L}$ SA 组积累量最高，表明连作胁迫与高浓度 SA 可协同激活其防御性合成^[30]。贝母辛作为暗紫贝母的主要抗逆性生物碱，其高积累是植株对连作胁迫的适应性响应，而高浓度 SA 通过强化该响应实现药用品质的提升，这也是连作下高浓度 SA 的核心调控价值。连作促进西贝母碱、贝母素乙合成，非连作下 SA 抑制贝母素甲合成，体现了栽培模式对生物碱合成通路的特异性调控差异：连作胁迫下植株优先激活防御性生物碱(西贝母碱、贝母辛)合成通路，而非连作下植株生长代谢更为旺盛，基础型生物碱(贝母素甲)合成占比更高，SA 的介入则进一步加剧了这种通路分化。本研究与现有

SA 调控药用植物生物碱合成的研究相比, 首次揭示了“栽培模式-SA 浓度-根际微生物”的三元交互调控机制, 以往研究仅聚焦 SA 单一因子对生物碱的调控^[7], 而本研究证实 SA 的调控效应需结合栽培模式与微生物群落综合分析。这为暗紫贝母人工栽培中 SA 的精准施用提供了关键依据: 非连作栽培中可施用 50 $\mu\text{mol/L}$ SA 以优化养分供应, 兼顾生长与生物碱合成; 连作栽培中需施用 500 $\mu\text{mol/L}$ SA, 以微生物修复为核心, 促进防御性药用生物碱的积累。

4 结论

SA 对暗紫贝母根系分泌物、根际土壤理化因子及酶活性、根际微生物群落结构与鳞茎生物碱合成的调控均具有显著的“浓度特异性”, 栽培模式主导土壤碳库功能与初始微生物结构, 且与 SA 存在显著交互作用。50 $\mu\text{mol/L}$ SA 为优化根际土壤速效养分供应与养分转化相关酶活性的适宜浓度, 可显著提升暗紫贝母根际氮磷活化效率; 500 $\mu\text{mol/L}$ SA 为缓解连作障碍、促进药用生物碱积累的关键浓度, 可有效富集链霉菌属等有益菌、抑制病原菌增殖, 显著提升贝母辛、西贝母碱等核心药用生物碱含量。SA 通过“调控根系分泌物组成-重塑微生物群落结构-修复根际互作网络”的协同途径实现根际生态环境优化与药用品质提升的双重目标: 高浓度 SA 可诱导功能性酚酸分泌, 驱动根际功能微生物富集, 通过微生物介导的代谢转化激活生物碱合成的萜类通路; 低浓度 SA 可优化根际碳氮供应, 为植株生长与微生物代谢提供物质基础。本研究明确了 SA 缓解暗紫贝母连作障碍的关键浓度与作用机制, 为暗紫贝母优质高效栽培中连作障碍的治理提供了新路径, 也为水杨酸在药用植物根际微生态调控中的应用提供了理论支撑。同时, 本研究发现了根际有益镰刀菌与生物碱合成的正相关关系, 为药用植物次生代谢的微生物定向调控开辟了新方向。

作者贡献声明

杨文玺: 实验数据分析, 讨论, 论文撰写; 王麒权: 样品处理和实验操作, 论文初稿; 康生福: 协助采样; 邵晶: 数据核查; 晋玲: 研究构思和实验设计; 崔治家: 研究构思和实验设计并修改讨论论文。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] 陈泓竹, 张世洋, 黄雅彬, 李生茂, 陈金凤, 敖慧. 平贝母和川贝母总生物碱含量及其镇咳、抗炎作用比较研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(15): 63-67.
Chen HZ, Zhang SY, Huang YB, Li SM, Chen JF, Ao H. Comparative study on the content determination and the anti-tussive and anti-inflammatory effects of the total alkaloids of Pingbeimu and Chuanbeimu[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(15): 63-67 (in Chinese).
- [2] 刘成成. 暗紫贝母栽培期间根际土壤微生物组与代谢组研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2024.
Liu CC. Study on the microbiome and metabolome of rhizosphere soil during *Fritillaria unibracteata* cultivation[D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2024 (in Chinese).
- [3] Liu ZX, Ying JZ, Liu CC. Changes in rhizosphere soil microorganisms and metabolites during the cultivation of *Fritillaria cirrhosa*[J]. Biology, 2024, 13(5): 334.
- [4] 张浩博, 高旦, 吴宇涵, 杨泽敏, 高旭升, 霍慧敏, 李西文, 包海鹰. 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[J]. 中草药, 2025, 56(11): 4043-4056.
Zhang HB, Gao D, Wu YH, Yang ZM, Gao XS, Huo HM, Li XW, Bao HY. Microbiome-based effects of different organic fertilisers on growth and nucleoside active compounds of *Fritillaria unibracteata*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2025, 56(11): 4043-4056 (in Chinese).
- [5] 回振龙, 王蒂, 李宗国, 李朝周, 李旭鹏, 张俊莲. 外源水杨酸对连作马铃薯生长发育及抗性生理的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2014, 32(4): 1-8.
Hui ZL, Wang D, Li ZG, Li CZ, Li XP, Zhang JL. Influences of exogenous salicylic acid on growth and resistance physiology of continuous cropping potato[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2014, 32(4): 1-8 (in Chinese).
- [6] 沈亚鑫, 周鹏羽, 倪照君, 侍婷, 高志红. 外源水杨酸和褪黑素提高桃树连作障碍抗性的研究[J]. 中国果树, 2023(9): 21-26, 38.
Shen YX, Zhou PY, Ni ZJ, Shi T, Gao ZH. Improving the stress tolerance of continuous cropping with exogenous

- salicylic acid and melatonin in peach[J]. *China Fruits*, 2023(9): 21-26, 38 (in Chinese).
- [7] 刘玉婷, 郭静, 张重义, 吴红森. 根际生态视角下的中药材道地性研究进展[J]. *中国现代中药*, 2025, 27(8): 1594-1602.
- Liu YT, Guo J, Zhang ZY, Wu HM. Research progress in the geo-herbalism of Chinese medicinal materials from rhizosphere microecology[J]. *Modern Chinese Medicine*, 2025, 27(8): 1594-1602 (in Chinese).
- [8] Zhu N, Cui XS, Leng FF, Lv XX, Wang XJ, Guo XP, Luo W, Wang YG. Volatile organic compounds from medicinal plant *Codonopsis radix*: unraveling rhizoplane microbiome interactions for accumulation of active components[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2025, 222: 109688.
- [9] Tan SY, Yang CL, Mei XL, Shen SY, Raza W, Shen QR, Xu YC. The effect of organic acids from tomato root exudates on rhizosphere colonization of *Bacillus amyloliquefaciens* T-5[J]. *Applied Soil Ecology*, 2013, 64: 15-22.
- [10] 钱绍祥, 何林燕, 王艳, 陈秀勤, 罗秉俊, 万庆家. Folin-Ciocalteu 比色法测定库拉索芦荟花中多酚[J]. *化学分析计量*, 2023, 32(5): 29-32.
- Qian SX, He LY, Wang Y, Chen XQ, Luo BJ, Wan QJ. Determination of polyphenols in *Aloe vera* flower by Folin-Ciocalteu colorimetric[J]. *Chemical Analysis and Meterage*, 2023, 32(5): 29-32 (in Chinese).
- [11] 温秀萍, 于虹敏, 蔡杏栗, 范世明, 刘蔚雯, 杨成梓, 林羽. 基于茚三酮比色法测定闽产细叶石仙桃总氨基酸含量[J]. *蚌埠医学院学报*, 2024, 49(2): 238-243.
- Wen XP, Yu HM, Cai DL, Fan SM, Liu WW, Yang CZ, Lin Y. Detection of total amino acids of *Pholidota cantonensis* Rolfe. from Fujian Province by ninhydrin colorimetric method[J]. *Journal of Bengbu Medical College*, 2024, 49(2): 238-243 (in Chinese).
- [12] 冯永辉, 曹东凯, 郭耀武. 蒽酮-硫酸比色法测定盘龙七中多糖的含量[J]. *西北大学学报(自然科学版)*, 2013, 43(6): 921-923.
- Feng YH, Cao DK, Guo YW. Determination of polysaccharides in *Rhizoma Bergeniae Scopulosae* by anthrone-sulfuric acid colorimetric method[J]. *Journal of Northwest University (Natural Science Edition)*, 2013, 43(6): 921-923 (in Chinese).
- [13] 王小永, 马丽, 周维维, 张征, 赵丽娜. 酸碱滴定法测定山楂炭中枸橼酸的含量[J]. *食品安全导刊*, 2023(10): 90-93.
- Wang XY, Ma L, Zhou WW, Zhang Z, Zhao LN. Determination of citric acid in *Crataegus pinnatifida* charcoal by acid-base titration[J]. *China Food Safety Magazine*, 2023(10): 90-93 (in Chinese).
- [14] 任璐. 土壤-水稻系统中镉生物有效性预测模型[D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
- Ren L. Models to predict Cd bioavailability to rice (*Oryza sativa* L.) in different soils[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2020 (in Chinese).
- [15] 刘树梁. 中药材北沙参不同发育阶段根际微生物群落动态研究[D]. 烟台: 鲁东大学, 2023.
- Liu SL. Study on the dynamics of rhizosphere microbial community in different development stages of the Chinese medicinal herb "beishashen"[D]. Yantai: Ludong University, 2023 (in Chinese).
- [16] 杨小秋, 高峰. 纳氏比色分光光度法测定土壤中的速效氮和总氮含量[J]. *分析仪器*, 2014(4): 29-32.
- Yang XQ, Gao F. Determination of available nitrogen and total nitrogen in soil by Nessler's colorimetry spectrophotometry[J]. *Analytical Instrumentation*, 2014(4): 29-32 (in Chinese).
- [17] 张瑞, 徐胜光, 林丽, 范志伟, 刘小林. 茉莉酸甲酯对连作草莓土壤理化性质和微生物群落的影响[J]. *江苏农业科学*, 2025, 53(6): 254-263.
- Zhang R, Xu SG, Lin L, Fan ZW, Liu XL. Effects of methyl jasmonate on soil physicochemical properties and microbial communities of continuous cropping strawberry[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2025, 53(6): 254-263 (in Chinese).
- [18] 车朋. 青藏高原及其毗邻地区贝母类药材资源学研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2020.
- Che P. Study on *Fritillaria* medicinal resources in Qinghai-Xizang Plateau and its adjacent areas[D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2020 (in Chinese).
- [19] De Smet W, de Loof K, de Vos P, Dawyndt P, de Baets B. Filtering and ranking techniques for automated selection of high-quality 16S rRNA gene sequences[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2013, 36(8): 549-559.
- [20] Delseny M, Han B, Hsing YI. High throughput DNA sequencing: the new sequencing revolution[J]. *Plant Science*, 2010, 179(5): 407-422.
- [21] Edgar RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [22] Magoč T, Salzberg SL. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [23] Hacquard S, Garrido-Oter R, González A, Spaepen S, Ackermann G, Lebeis S, McHardy AC, Dangl JL, Knight R, Ley R, Schulze-Lefert P. Microbiota and host nutrition across plant and animal kingdoms[J]. *Cell Host & Microbe*, 2015, 17(5): 603-616.
- [24] 周莹, 寿森炎, 贾承国, 汪俏梅. 水杨酸信号转导及其在植物抵御生物胁迫中的作用[J]. *自然科学进展*, 2007, 17(3): 305-312.
- [25] 沙汉景. 水杨酸、脯氨酸和 γ -氨基丁酸对盐胁迫下水稻氮代谢及产量的调控效应[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018.
- Sha HJ. Effects of SA, proline, and GABA on nitrogen metabolism, yield, and quality of rice under salt stress[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018 (in Chinese).
- [26] 李安. 外源水杨酸缓解铜胁迫苧麻的生长发育机理[D]. 武汉: 华中农业大学, 2024.
- Li A. Mechanism of exogenous salicylic acid alleviating

- the growth and development of ramie under copper stress[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2024 (in Chinese).
- [27] Shi A, Liu J, Zou S, Rensing C, Zhao Y, Zhang LM, Xing SH, Yang WH. Enhancement of cadmium uptake in *Sedum alfredii* through interactions between salicylic acid/jasmonic acid and rhizosphere microbial communities[J]. Science of the Total Environment, 2024, 947: 174585.
- [28] 吕柏辰, 孙海, 钱佳奇, 梁浩, 朱家鹏, 张强胜, 邵财, 张亚玉. 药用植物根系分泌物与根际微生物相互作用及其在中药材生态种植中的应用[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(8): 2128-2137.
- LÜ BC, Sun H, Qian JQ, Liang H, Zhu JP, Zhang QS, Shao C, Zhang YY. Interaction between root exudates of medicinal plants and rhizosphere microorganisms and its application in ecological planting of Chinese medicinal materials[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2024, 49(8): 2128-2137 (in Chinese).
- [29] 王安汶, 刘玉明. 异甾体生物碱类化合物及药理活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(1): 164-175.
- Wang AW, Liu YM. Research progress of isosteroidal alkaloids and their pharmacological activities[J]. Natural Product Research and Development, 2022, 34(1): 164-175 (in Chinese).
- [30] 侯慧, 董坤, 杨智仙, 董艳, 汤利, 郑毅. 连作障碍发生机理研究进展[J]. 土壤, 2016, 48(6): 1068-1076.
- Hou H, Dong K, Yang ZX, Dong Y, Tang L, Zheng Y. Advance in mechanism of continuous cropping obstacle[J]. Soils, 2016, 48(6): 1068-1076 (in Chinese).
- [31] 李怡文, 李桂香, 黄中乔, 苗建强, 刘西莉. 假禾谷镰孢引起的小麦茎基腐病发生危害与防控研究进展[J]. 农药学报, 2022, 24(5): 949-961.
- Li YW, Li GX, Huang ZQ, Miao JQ, Liu XL. Research progress on the occurrence, damage and prevention of *Fusarium* crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum*[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2022, 24(5): 949-961 (in Chinese).
- [32] 陆云梅, 黄仁华. 水分胁迫下水杨酸对植物活性氧代谢调控的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(5): 1912-1913, 1964.
- Lu YM, Huang RH. Research progresses on the metabolic regulation of active oxygen in plants by salicylic acid under water stress[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(5): 1912-1913, 1964 (in Chinese).