

## 研究报告

## 三七连作土壤细菌、真菌和原生生物群落的差异及驱动因素分析

刘志丹<sup>1</sup>, 刘雨艳<sup>1</sup>, 陈金苗<sup>1</sup>, 魏云林<sup>2</sup>, 字富庭<sup>1</sup>, 谭勇<sup>\*1</sup>

1 昆明理工大学 理学院, 云南 昆明 650500

2 昆明理工大学 生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500

刘志丹, 刘雨艳, 陈金苗, 魏云林, 字富庭, 谭勇. 三七连作土壤细菌、真菌和原生生物群落的差异及驱动因素分析[J]. 微生物学通报, 2025, 52(3): 1148-1165.

LIU Zhidan, LIU Yuyan, CHEN Jinmiao, WEI Yunlin, ZI Futing, TAN Yong. Variation trends and drivers of bacterial, fungal, and protist communities in the soil with continuous cultivation of *Panax notoginseng*[J]. Microbiology China, 2025, 52(3): 1148-1165.

**摘要:** 【背景】连作障碍是一种存在于农业生产中的常见现象, 连作促使植株根际土壤中的养分比例失衡及微生物群落结构失衡, 导致植株遭受病虫害等侵袭。【目的】揭示三七(*Panax notoginseng*)连作及根腐病发生过程中根际土壤的多元生物群落差异变化规律及驱动因素。【方法】对不同生长年限的健康与患病三七根际土壤细菌、真菌、原生生物群落差异, 以及与土壤因子的相互关系进行研究。【结果】种植三七土样 pH 值均小于 7.0, 土样中重金属镉(Cd)、砷(As)含量超标, 镉在 3 年生样品中表现出显著富集的特征。 $\alpha$ 多样性结果显示, 2 年生患病三七显著降低了细菌、真菌群落的多样性, 而 1 年和 3 年生患病三七显著降低了原生生物群落的多样性。主坐标分析(principal coordinate analysis, PCoA)表明三七连作中细菌、真菌和原生生物群落的 $\beta$ 多样性均表现出显著性差异, 其中真菌群落在患病前后的差异性最为明显。原生生物群落功能分类分析表明, 相对于寄生虫和光养生物, 消费者在土壤样本中的类群最多。方差分析表明 3 年生患病三七土壤样品中消费者的丰度显著降低。真菌病原菌、细菌和原生生物群落的共现网络分析显示, 真菌病原菌与原生生物类群间有更多的种间联系, 其中占主导的原生生物类群是消费者。相关分析表明速效钾(available potassium, AK)对细菌和真菌的影响最大, 镉对细菌、真菌和原生生物群落的影响均大于砷。【结论】土壤根际多元生物群落差异和土壤理化性质相互作用导致了三七连作根腐病的发生。

**关键词:** 三七; 根际土壤微生物; 重金属; 原生生物; 土壤理化性质

资助项目: 国家自然科学基金(31960630)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31960630).

\*Corresponding author. E-mail: tanyong551@163.com

Received: 2024-05-26; Accepted: 2024-07-10; Published online: 2024-08-08

## Variation trends and drivers of bacterial, fungal, and protist communities in the soil with continuous cultivation of *Panax notoginseng*

LIU Zhidan<sup>1</sup>, LIU Yuyan<sup>1</sup>, CHEN Jinmiao<sup>1</sup>, WEI Yunlin<sup>2</sup>, ZI Futing<sup>1</sup>, TAN Yong<sup>\*1</sup>

1 Faculty of Science, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, Yunnan, China

2 Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, Yunnan, China

**Abstract:** [Background] Continuous cropping is a common phenomenon in agricultural production. Continuous cropping causes an imbalance of micronutrients and disturbs the microbial community structure in the rhizosphere soil of plants. Accordingly, plants are susceptible to pests and diseases. [Objective] To expose the variation trends and drivers of distinct biological communities in the rhizosphere soil of *Panax notoginseng* during continuous cropping and the occurrence of root rot. [Methods] We compared the bacterial, fungal, and protist communities in the rhizosphere soil samples of healthy and diseased *P. notoginseng* growing for different years and the relationships between soil microbial communities with soil factors. [Results] The soil samples presented pH<7.0, with the content of cadmium (Cd) and arsenic (As) exceeding the standard limits. Cadmium was significantly enriched in the soil samples of 3-year-old *P. notoginseng*. The results of  $\alpha$ -diversity analysis showed that the disease of 2-year-old *P. notoginseng* significantly reduced the diversity of bacteria and fungi, and the disease of 1- and 3-year-old *P. notoginseng* significantly reduced the diversity of protist. The principal coordinate analysis showed that the  $\beta$ -diversity of bacterial, fungal, and protist communities in the rhizosphere soil of *P. notoginseng* exhibited significant differences before and after the infection with root rot, with the fungal community showing the most apparent differences. In the protist community, consumers were richer than parasites and phototrophs in the soil samples. The analysis of variance showed a considerable decrease in the abundance of consumers in the soil samples of diseased 3-year-old *P. notoginseng*. The co-occurrence network of fungal pathogens with bacteria and protist showed more interspecific associations between fungal pathogens and protist, with consumers being dominant in the protist community. The correlation analysis showed that available potassium had larger effects on bacteria and fungi. Cd, had more significant effects than As on the bacterial, fungal, and protist communities. [Conclusion] The differences in bacterial, fungal, and protist communities in rhizosphere soil and the interactions between microorganisms and physicochemical properties of soil result in the occurrence of root rot in the field with continuous cropping of *P. notoginseng*.

**Keywords:** *Panax notoginseng*; microbial communities in rhizosphere soil; heavy metals; protist; physicochemical properties of soil

三七(*Panax notoginseng*)是一种隶属于五加科人参属的阴生植物,在中国被视为特有珍稀中药,并因其极高的药用价值而被尊称为“金不换”及“南国神草”<sup>[1-2]</sup>。受到品种和生长环境特殊性的限制,国外研究报道甚少,其具有活血、散瘀、消肿定痛、抗氧化、抗衰老等功效<sup>[3]</sup>,还有研究发现三七含有 50 余种单体皂苷、三七黄酮、三七多糖等多种生理活性成分,这些成分对血液系统、中枢神经系统及免疫系统等均显示出显著的药理效果<sup>[4]</sup>。然而,三七种植面临一个严重的问题,即连作障碍,通常情况下,在同一块土地上再次种植三七前需间隔至少 8 年的时间<sup>[5]</sup>。三七栽培过程中遇到连作障碍这一瓶颈直接影响了三七的药材产量和品质,不利于发展规模化种植模式,所以克服连作障碍问题对于三七产业的健康发展尤为重要。

引起三七发生连作障碍的主要因素包括:

(1) 土壤物理化学性质的变化;(2) 根际土壤微生物群落结构发生变化,表现为病原微生物数量增多而有益微生物数量减少;(3) 化感自毒效应<sup>[6]</sup>。土壤理化性质的改变是造成三七连作障碍的重要原因之一,涉及的因素包括土壤 pH 值、土壤质地、土壤养分含量(如氮、磷、钾等)、阳离子交换量及土壤重金属污染物含量等。尤其是在全球工业化、现代农业绿色发展和城市化进程的影响下,重金属污染导致的土壤问题日益严重<sup>[7]</sup>。化感自毒作用是指植物通过自然挥发和根系分泌等多种途径,向土壤环境中释放次生代谢产物(即化感物质),进而对自身或其他同种植物的生长产生抑制作用,并引发连作障碍的现象<sup>[8]</sup>。根腐病是连作障碍的一种主要表现形式。现有的研究主要聚焦于对三七根际土壤中的细菌和真菌群落的研究。研究结果表明,三七根际土壤中病原真菌的丰度增加通常是导致根腐病发生的关键因素<sup>[9]</sup>。然而,作为

土壤生物群重要组成的原生生物,仍然知之甚少<sup>[10]</sup>。原生生物在根际微生物群落的构建中发挥着关键作用,它们广泛分布于土壤和各种环境中,数量庞大且种类繁多。然而,在微生物生态学的研究中,它们的作用常常被忽略<sup>[11]</sup>。鉴于原生生物对土壤管理实践的动态响应及其在连接土壤微生物网络中的核心地位,它们能够在土壤管理与细菌和真菌微生物群之间起到杠杆作用,从而有助于改善土壤健康状况。因此,本研究一方面以不同连作时间的健康与患病三七的根际土壤为材料,表征细菌、真菌和原生生物群落在根际土壤中的多样性和组成,探索土壤多元生物群落对连作的响应区别与特征;另一方面探讨土壤理化性质与土壤多元生物之间的作用关系和驱动原理,揭示连作对三七土壤生物群及其与土壤理化性质的关系。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 野外场地和土壤采集

本研究所用土壤样品采自云南省昆明市石林县的某三七种植农场(24°39'50"N, 103°28'54"E)。所有土样均采用五点采样法采集,用小刷将与根系紧密结合的土壤刷下来,作为根际土<sup>[12]</sup>。在三七种植基地,我们采集了种植 1 年的健康三七根际土(标记为 H\_1)、2 年的健康三七根际土(H\_2)和 3 年的健康三七根际土(H\_3),以及种植 1 年的患病三七根际土(D\_1)、2 年的患病三七根际土(D\_2)和 3 年的患病三七根际土(D\_3)。此外,还收集了未种植任何植物的地表下 3-5 cm 的土作为对照组(CK)。每个处理均选取了 3 个三七种植大棚重复开展后续实验,即共有 21 个样品进行理化性质测定和测序分析。所有土壤样品均在冰上运输至实验室,过筛至样品直径 < 2 mm,分别储存在 -80 °C 用于 DNA 提取,以及储存在 4 °C 用于土壤理化性质的测定。

## 1.2 主要试剂和仪器

E.Z.N.A.<sup>®</sup> Soil DNA Kit, Omega Bio-Tek 公司; AxyPrep DNA Gel Extraction Kit, Axygen 公司; Quantus<sup>™</sup> Fluorometer, Promega 公司。pH 计, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; PCR 仪, ABI 公司; 元素分析仪, Elementar 公司; 微型荧光计, Promega 公司; 火焰光度计, 上海元析仪器有限公司; 电感耦合等离子体质谱仪, 杭州谱育科技发展有限公司。

## 1.3 土壤理化性质的测定

用 pH 计测定土壤 pH 值; 采用重铬酸钾容量法测定土壤有机质(organic matter, OM)含量; 使用元素分析仪测定全氮(total nitrogen, TN)含量; 采用钼锑抗比色法测定全磷(total phosphorus, TP)含量和速效磷(available phosphorus, AP)含量; 采用火焰光度计法测定全钾(total potassium, TK)含量和速效钾(available potassium, AK)含量; 采用碱解扩散法测定水解性氮(hydrolyzable nitrogen, HN)含量; 用电感耦合等离子体质谱仪(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)测定铅、铬、镉、汞、砷各金属的含量<sup>[13]</sup>。

## 1.4 DNA 的提取和扩增测序

使用 E.Z.N.A.<sup>®</sup> Soil DNA Kit 提取土壤 DNA。采用 16S rRNA 基因引物 314F (5'-CC TAYGGGRBGCASCAG-3')和 806R (5'-GGAC TACNNGGGTATCTAAT-3')<sup>[14]</sup>、ITS 引物 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS2R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')<sup>[15]</sup>、18S rRNA 基因引物 TAReuk454FWD1 (5'-CCAGCASCYGC GGTAATTCC-3')和 TAReukREV3 (5'-ACTTT CGTTCTTGATYRA-3')<sup>[16]</sup>分别对细菌 V3-V4 区、真菌 ITS1 区、原生生物 V4 区进行 PCR 扩增。PCR 反应体系: 5×FastPfu Buffer 4.0 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 2.0 μL, 上、下游引物(5 μmol/L)

各 0.8 μL, FastPfu Polymerase (2.5 units/μL) 0.4 μL, 0.1% (W/V) BSA 0.2 μL, 模板 DNA 10 ng, ddH<sub>2</sub>O 补足 20.0 μL。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 58 °C 30 s, 72 °C 45 s, 细菌和真菌 28 个循环, 原生生物 33 个循环; 72 °C 10 min; 10 °C 至结束。将同一样本的 PCR 产物混合后用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 使用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit 纯化 PCR 产物, 并用 Quantus<sup>™</sup> Fluorometer 对 PCR 产物进行检测定量。产物的测序由上海凌恩生物科技有限公司完成。

## 1.5 数据统计

对原始测序数据进行质量控制和序列拼接后使用软件 UPARSE v7.1, 基于 97%<sup>[17]</sup>的相似度对序列进行 OTU 聚类。与 Silva 16S rRNA 数据库 v138 进行比对, 进行细菌的分类学分析; 针对真菌的分类学分析, 通过比对 Nucleotide Sequence Database (NT)数据库进行; 而对于原生生物, 则依据 Protist Ribosomal Reference Database (PR2)数据库进行分类学比对<sup>[18]</sup>, 并根据 Zhao 等<sup>[19]</sup>的方法, 将门水平中的红藻门(Rhodophyta)、链形植物(Streptophyta)及后鞭毛生物(Opisthokonta)等群体从数据中剔除, 然后再进行后续的数据分析。根据原生生物的摄食习惯鉴定原生生物功能群, 包括消费者、寄生虫和光养生物<sup>[20]</sup>。通过计算 Chao1 指数和 Shannon 指数来量化群落的 α 多样性。用 R 软件包 ape v5.6-1 进行主坐标分析(principal coordinate analysis, PCoA), 并通过“vegan”包计算 Bray-Curtis 距离。此外, 使用斯皮尔曼相关性[相关系数 (R)>0.8 或<-0.8, P 值<0.01]构建真菌病原体、原生生物和细菌分类群的共现网络<sup>[21]</sup>。为了进一步评估环境变量对微生物群落的影响, 我们构建了一个网络, 该网络涵盖了细菌、真菌、原生生物属水平上丰度排名前 30 的物种

与相关环境因子之间的相互作用<sup>[22]</sup>。运用 SPSS 26.0、Origin 2017 和 Microsoft Excel 2010 进行数据处理。原始序列已上传至 NCBI 数据库(16S: PRJNA1114929; 18S: PRJNA1114934; ITS: PRJNA1114936)。

## 2 结果与分析

### 2.1 理化性质分析

整体的土壤理化性质数据如表 1 所示。结果表明种植过三七的根际土中 pH 值的变化范围为 5.80–6.81, pH 值均小于 7.0, 呈弱酸性。

在种植了 3 年的患病三七的根际土中的 pH 值最高, 并发现在种植过三七的土壤中 OM、HN、AP、AK、TN、TP 含量均显著高于对照土壤; 对于 AK, 在患病土中的含量显著高于健康土。

### 2.2 各土壤样品中重金属污染分析

对各土样中含量进行测定, 通过所得数据与国家土壤标准<sup>[23]</sup>进行比较, 结果见表 2 所示。我们发现镉(Cd)和砷(As)的含量均超过了国家规定的限值。具体而言, 镉的含量普遍超过了国家二级标准的限值(0.3 mg/kg), 表明这些土壤样本已经受到镉的污染。另外, 随着种植年

表 1 不同种植年限三七根际土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of rhizosphere soil of *Panax notoginseng* at different planting years

样品 Sample	pH	有机质 Organic matter (g/kg)	水解性氮 Hydrolyzable nitrogen (mg/kg)	速效磷 Available phosphorus (mg/kg)	速效钾 Available potassium (mg/kg)	全氮 Total nitrogen (g/kg)	全磷 Total phosphorus (g/kg)	全钾 Total potassium (g/kg)
CK	5.17±0.40c	5.67±1.47b	27.01±7.52c	7.72±3.06c	191.49±59.01c	0.57±0.10d	0.62±0.30c	10.60±1.08a
H_1	6.20±0.42ab	22.59±3.00a	111.26±6.32b	121.64±16.45ab	348.07±78.90b	1.66±0.03c	1.59±0.20ab	8.72±0.60ab
H_2	6.10±0.40ab	26.21±4.27a	121.77±1.85ab	127.15±4.71a	389.09±45.04b	2.11±0.35ab	2.04±0.40a	8.48±1.78ab
H_3	6.53±0.54ab	24.41±3.48a	121.58±17.14ab	103.43±6.67b	359.15±42.19b	1.71±0.19bc	1.59±0.18ab	7.94±1.12b
D_1	6.36±0.24ab	26.14±2.44a	127.20±7.15ab	100.41±6.36b	760.17±42.89a	1.94±0.15abc	1.48±0.37b	9.22±1.96ab
D_2	5.80±0.32bc	26.96±4.62a	142.43±13.43a	128.50±22.46a	774.94±102.65a	2.29±0.26a	1.97±0.31ab	8.44±0.82ab
D_3	6.81±0.34a	22.53±7.75a	109.08±25.85b	126.76±7.13a	745.47±103.43a	1.52±0.35c	1.46±0.16b	8.31±0.35ab

同列数据不同小写字母表示各分组间存在显著差异( $P<0.05$ )。

Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among the groups ( $P<0.05$ ).

表 2 不同种植年限三七根际土壤重金属含量

Table 2 Heavy metal content in rhizosphere soil of *Panax notoginseng* at different planting years

样品 Sample	镉 Cd (mg/kg)	铬 Cr (mg/kg)	汞 Hg (mg/kg)	砷 As (mg/kg)	铅 Pb (mg/kg)
CK	0.31±0.04b	98.10±10.53b	0.14±0.03a	60.90±10.27a	30.17±6.57a
H_1	0.37±0.02b	117.32±9.89a	0.18±0.08a	66.63±20.96a	29.34±5.35a
H_2	0.53±0.11b	111.04±4.94ab	0.23±0.11a	54.78±8.12a	29.52±8.62a
H_3	0.94±0.10a	104.49±7.94ab	0.14±0.01a	71.30±9.83a	29.48±4.84a
D_1	0.44±0.08b	108.38±8.42ab	0.22±0.14a	63.67±15.09a	32.90±8.41a
D_2	0.45±0.15b	105.45±6.33ab	0.26±0.03a	52.88±7.80a	28.74±6.05a
D_3	0.98±0.21a	103.53±1.21ab	0.20±0.02a	69.82±6.84a	38.28±11.71a

同列数据不同小写字母表示各分组间存在显著差异( $P<0.05$ )。

Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among the groups ( $P<0.05$ ).

限的增加,土壤中的镉含量呈现出逐渐累积的趋势,说明镉在土壤中的累积效应较强,并且其中3年生健康和患病植株根际土壤中的镉达到0.94 mg/kg和0.98 mg/kg,呈现出与1年生和2年生土壤差异显著的特征;铬(Cr)仅1年生健康样品中表现为显著增加,并且在所有样品中的含量均小于国家二级标准(150 mg/kg),均未超标;汞(Hg)在土壤中的含量变化与生长年限无明显规律,均小于国家二级标准(0.3 mg/kg),未超标;砷(As)与生长年限无明显规律,但所有样本中含量均高于国家二级标准值(40 mg/kg),均超标;铅(Pb)在土壤中的含量变化与年限变化也无明显规律,均小于国家二级标准(250 mg/kg),均未超标。

### 2.3 三七根际土壤微生物群落 $\alpha$ 多样性变化

在大棚种植条件下,对于细菌群落(图1A),除种植2年患病三七的根际土和3年健康三七的根际土之外,种植过三七的根际土中细菌Chao1指数显著高于对照土。1年和2年的健康三七的根际土中细菌Shannon指数也高于对照土壤。患病前后比较显示,2年患病三七的根际土中Chao1指数与Shannon指数均显著低于相应健康的根际土样。在真菌群落中(图1B),相较于空白对照组,健康三七的根际土中真菌的Chao1指数显著升高,1年健康三七的根际土中Shannon指数显著升高,而2年患病三七的根际土中Shannon指数显著降低。患病前后比较,3年患病三七的根际土中真菌Chao1指数显著低于3年健康根际土,2年患病三七的根际土中Shannon指数显著低于2年健康三七的根际土。对于原生物群落(图1C),所有样本间的Chao1指数均无显著性差异,患病前后对比发现,种植1年和3年患病三七的根际土壤的Shannon指数显著低于1年和3年健康三七根

际土壤,同时表现出显著低于对照土壤的特征。

### 2.4 三七根际土壤微生物群落 $\beta$ 多样性变化

为了直观地显示三七种植前后和患病三七前后的根际土壤中细菌、真菌、原生物的总体结构变化,我们采用基于Bray-Curtis距离的PCoA方法,提供了带统计学检验的细菌、真菌、原生物的主坐标分析图,如图2所示。结果显示,细菌、真菌、原生物群落在不同样品中的 $\beta$ 多样性存在显著差异,这表明样品间在群落组成和多样性方面存在明显区别。土壤中3种生物群落比较发现,细菌的主坐标分析表现出在第2主成分中,种植三七的根际土壤样品与对照之间存在显著性的差异。真菌的主坐标分析显示,在第1主成分中,种植三七的根际土样与对照之间表现出显著差异。此外,在第1和第2主成分中,患病三七与健康三七的根际土之间也表现出显著差异,这表明了真菌群落对患病响应敏感的特征。原生物的主坐标分析表现在第1主成分中,3年健康与3年患病的三七根际土之间存在显著差异。而在第2主成分中,种植三七的土壤与对照土之间存在显著差异,同时1年和3年健康根际土与相应的患病土样之间也存在显著差异。

### 2.5 三七根际土壤微生物群落门、属水平物种相对丰度分析

通过对细菌门水平物种的丰度堆积冲击图(图3A)分析发现,三七连作的优势细菌门包括变形菌门(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteriota*)和绿弯菌门(*Chloroflexi*)。变形菌门和拟杆菌门(*Bacteroidota*)在2年患病三七的根际土中的相对丰度最高;酸杆菌门在1年健康三七的根际土中相对丰度最高;绿弯菌门和放线菌门(*Actinobacteriota*)在3年健康三七的根际土中相

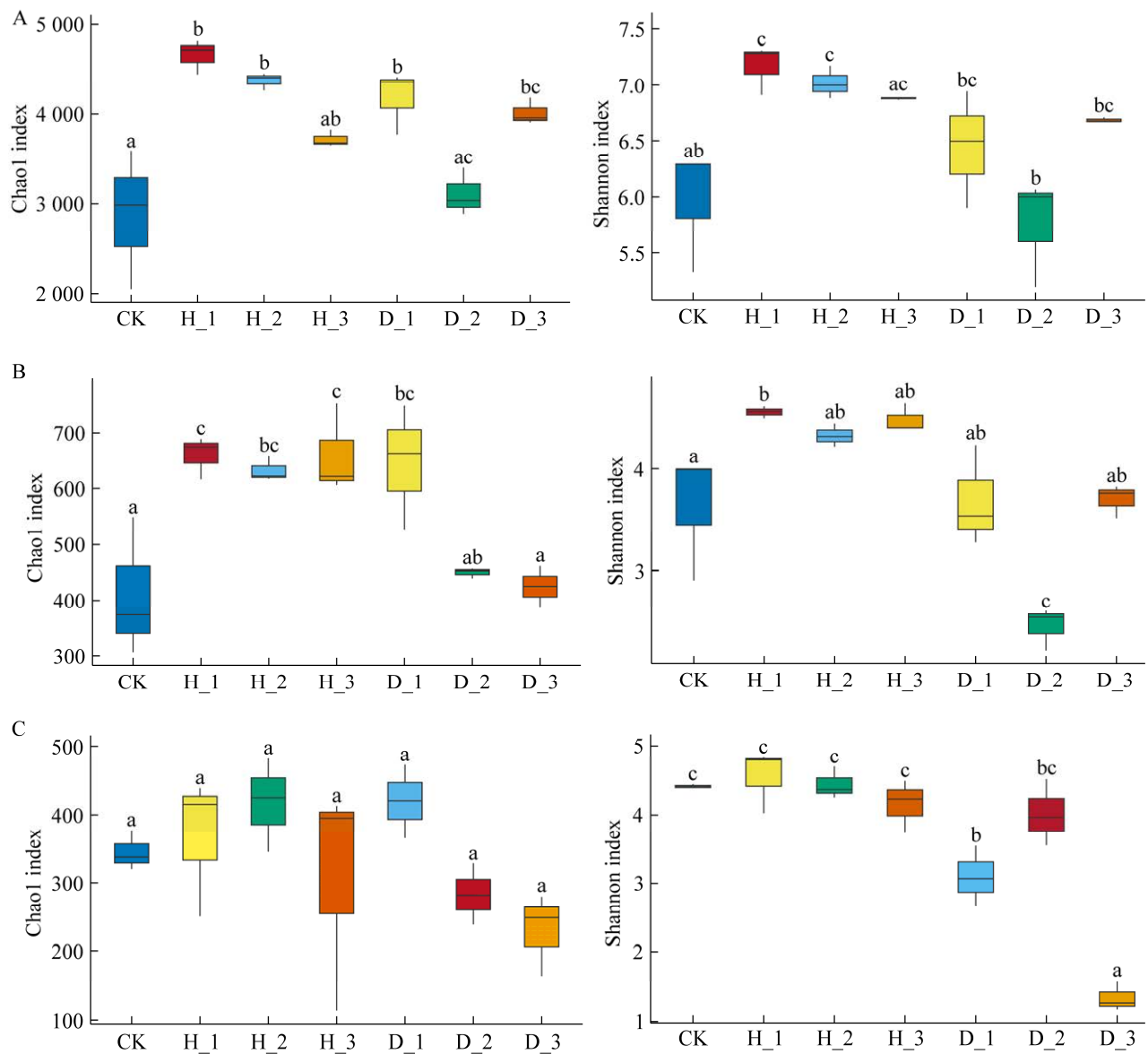


图 1 不同种植年限三七根际土壤微生物群落  $\alpha$  多样性图 A: 细菌 Chao1 指数与 Shannon 指数; B: 真菌 Chao1 指数与 Shannon 指数; C: 原生生物 Chao1 指数与 Shannon 指数。CK: 空白对照土样; H\_1: 种植 1 年的健康三七的根际土; H\_2: 种植 2 年健康三七的根际土; H\_3: 种植 3 年健康三七的根际土; D\_1: 种植 1 年患病三七的根际土; D\_2: 种植 2 年患病三七的根际土; D\_3: 种植 3 年患病三七的根际土。

Figure 1 Alpha diversity of microbial communities in rhizosphere soil of *Panax notoginseng* at different planting years. A: The Chao1 index and Shannon index of bacteria; B: The Chao1 index and Shannon index of fungi; C: The Chao1 index and Shannon index of protist. CK: Blank control soil sample; H\_1: 1-year cultivated healthy *P. notoginseng* inter-root soil; H\_2: 2-year cultivated healthy *P. notoginseng* inter-root soil; H\_3: 3-year cultivated healthy *P. notoginseng* inter-root soil; D\_1: 1-year cultivated sick *P. notoginseng* inter-root soil; D\_2: 2-year cultivated sick *P. notoginseng* inter-root soil; D\_3: 3-year cultivated sick *P. notoginseng* inter-root soil.

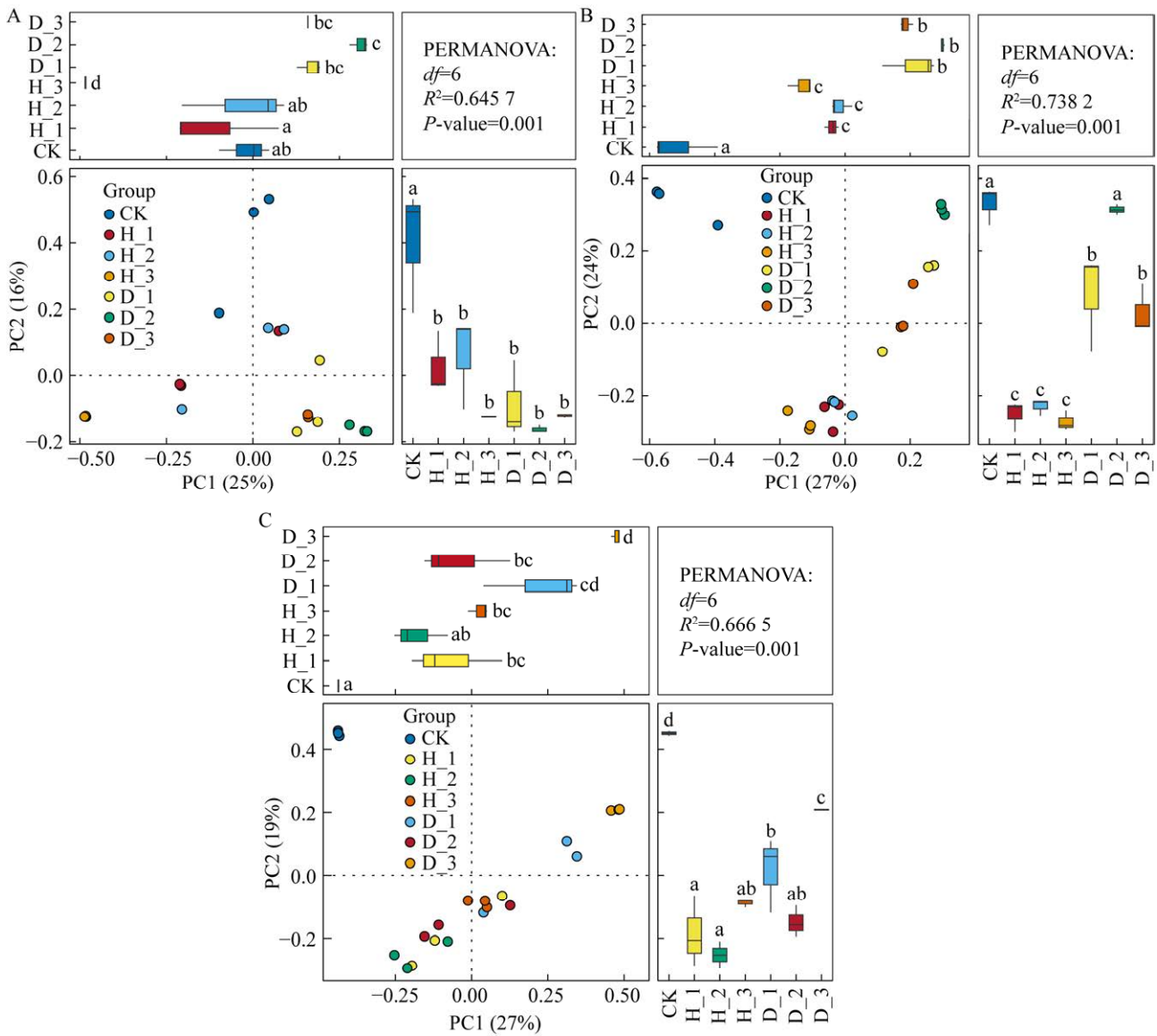


图 2 不同种植年限三七根际土壤微生物群落主坐标分析图 A: 细菌; B: 真菌; C: 原生生物。

Figure 2 The principal coordinate analysis (PCoA) of microbial communities in the rhizosphere soil of *Panax notoginseng* at different planting years. A: Bacteria; B: Fungi; C: Protist.

对丰度最高。对真菌门水平物种而言(图 3B), 子囊菌门(*Ascomycota*)是三七连作的优势真菌门, 在种植 2 年的患病三七的根际土中相对丰度最高。担子菌门(*Basidiomycota*)在空白对照中相对丰度最高, 毛霉菌门(*Mucoromycota*)在 3 年健康三七的根际土中相对丰度最高。在原生生物门中(图 3C), 三七连作的优势门是囊泡虫门(*Alveolata*),

其在 3 年患病三七的根际土中的相对丰度最高。有孔虫门(*Rhizaria*)在 3 年健康三七的根际土中相对丰度最高, 不等鞭毛生物门(*Stramenopiles*)在空白对照土样中相对丰度最高, *Evosea* 门和绿藻门(*Chlorophyta*)在种植了 2 年的健康三七的根际土中相对丰度最高, 核变形虫门(*Tubulinea*)在 2 年患病三七根际土中相对丰度最高。



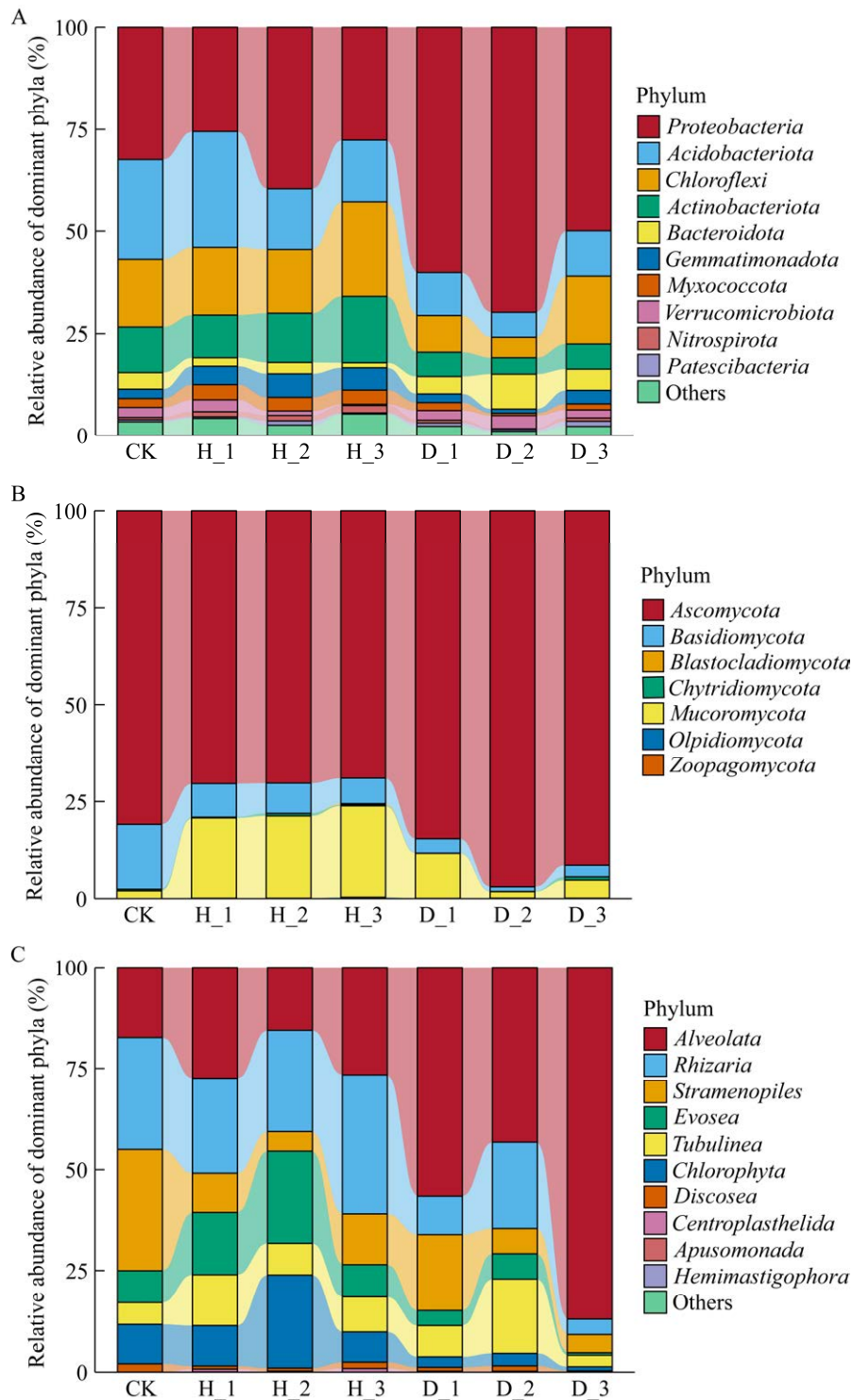


图3 不同种植年限三七根际土壤微生物群落门水平物种丰度堆积冲击图 A: 细菌; B: 真菌; C: 原生生物。

Figure 3 Accumulation impact map of species abundance accumulation at the level of microbial community phylum in rhizosphere soil of *Panax notoginseng* at different planting years. A: Bacteria; B: Fungi; C: Protist.

此外，我们还重点讨论了各个群落中相对丰度前 10 的属水平物种(图 4)。细菌群落中(图 4A)，慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)在空白土样中的相对丰度最高。新鞘氨醇菌属(*Novosphingobium*)在患病三七的根际土中的相

对丰度均高于健康三七根际土，并且在种植 2 年的患病三七土样中的相对丰度最高。*HSB OF53-F07* 和伯克霍尔德氏菌属-卡瓦列罗菌属-副伯克霍尔德氏菌属(*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*)在 3 年患病根际土中的相对

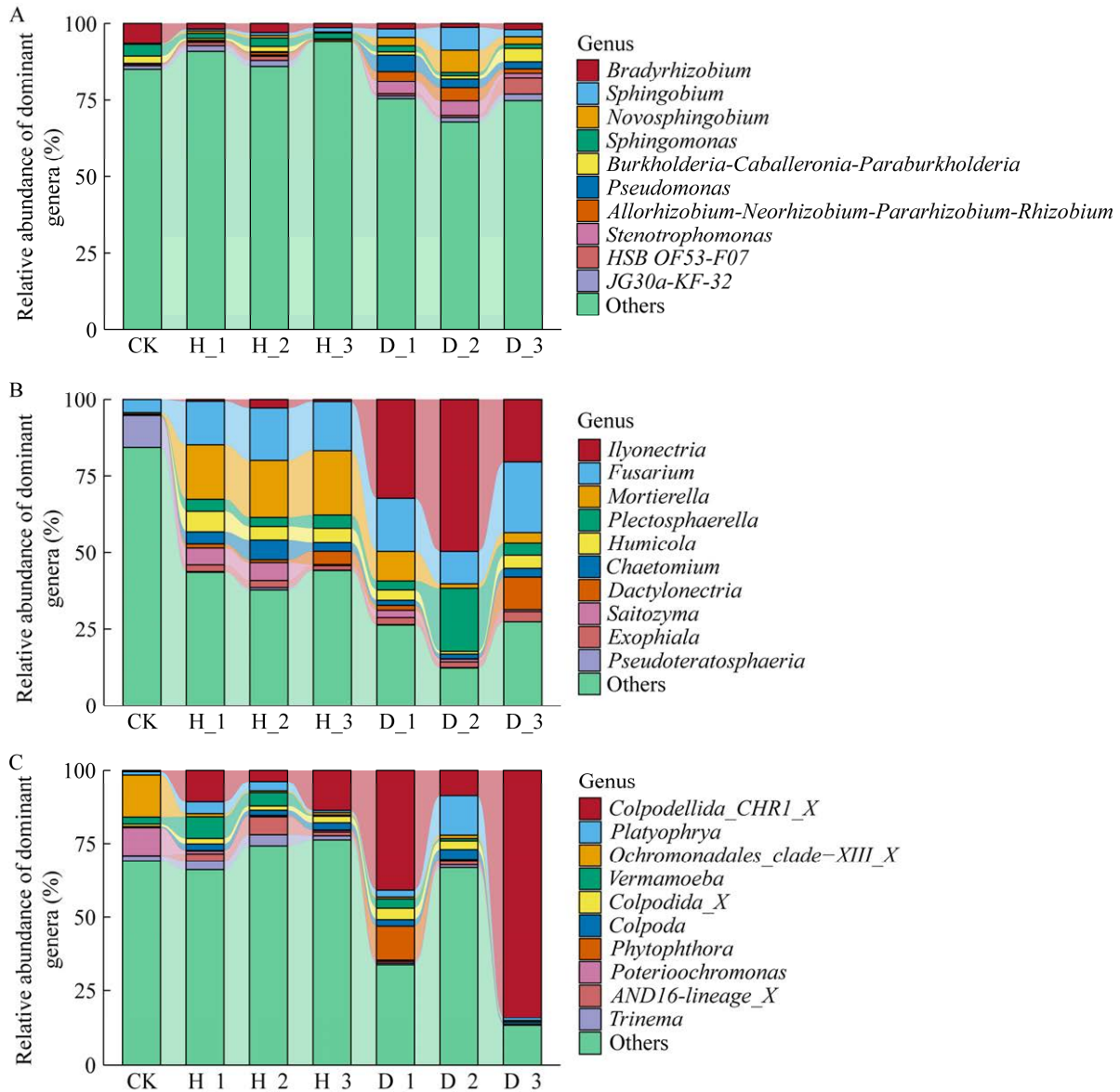


图 4 不同种植年限三七根际土壤微生物群落属水平物种丰度堆积冲击图 A: 细菌; B: 真菌; C: 原生生物。

Figure 4 Accumulation impact map of species abundance accumulation at the level of microbial community genus in rhizosphere soil of *Panax notoginseng* at different planting years. A: Bacteria; B: Fungi; C: Protist.

丰度最高。在真菌群落中(图 4B), 土赤壳属(*Ilyonectria*)在患病三七的根际土样中的相对丰度比健康三七根际土中高, 并且在 2 年患病中的相对丰度最高。而被孢霉属(*Mortierella*)在健康三七根际土中的相对丰度高于患病三七根际土, 尤其在 3 年健康根际土中的相对丰度最高。而镰刀菌属(*Fusarium*)和 *Dactylonectria* 在 3 年患病三七根际土中的相对丰度最高, 假畸胎球属(*Pseudoteratosphaeria*) 在空白土样中的相对丰度最高。对于原生生物群落(图 4C), 结果显示, *Colpodellida\_CHR1\_X* 在 3 年患病三七根际土中的相对丰度最高, 匙口虫属(*Platyophrya*) 在 2 年患病三七根际土中的相对丰度最高, 杯棕鞭藻属(*Poterioochromonas*) 和 *Ochromonadales\_clade-XIII\_X* 在空白土中的相对丰度最高, 韦尔马莫巴属(*Vermamoeba*) 在 1 年健康三七根际土中的相对丰度最高。

## 2.6 原生生物群落组成和潜在功能

据功能分类特征, 本研究将不同土样中的原生生物划分为消费者(图 5A)、寄生虫(图 5B)、光养生物(图 5C)和未知生物(图 5D)。我们发现, 相对于寄生虫和光养生物, 消费者在土壤样本中类群更多。对于原生生物消费者, 3 年生患病前后比较发现, 患病三七显著降低了其消费者的相对丰度, 并且内黏体门(*Endomyxa*)的相对丰度在空白样中的值最大, 显著高于其他组。对于原生生物寄生虫枝黏菌纲(*Endomyxa-Phytomyxea*), 3 年生患病前后比较发现, 患病三七显著降低了其寄生虫的相对丰度。在原生生物光养生物中, 所有土样间未表现出显著性差异。

## 2.7 三七根际土壤多元生物群落的关系分析

本研究通过构建共现网络了解真菌病原菌、原生生物群落和细菌群落之间的跨组联系(图 6)。其中真菌病原菌与原生生物类群之间有 115 个

种间联系(73 个种间联系正相关, 42 个种间联系负相关), 真菌病原菌与细菌类群之间有 94 个种间联系(50 个种间联系正相关, 44 个种间联系负相关)。细菌与原生生物之间有 106 个种间联系(65 个种间联系正相关, 41 个种间联系负相关)。另外, 原生生物-真菌病原菌的相互作用中占主导地位的是原生生物消费者, 有 38 个连接(25 个正连接, 13 个负连接)。其次是光养生物有 4 个连接(2 个正连接, 2 个负连接)和寄生虫有 1 个连接(正连接)。

原生生物消费者有孔虫门中的阿波罗鲨属(*Trinema*)与真菌病原菌子囊菌门中的大多数属物种呈显著正相关。但原生生物消费者有孔虫门中的 *Group-Te* 与真菌病原菌中子囊菌门的镰刀菌属呈显著负相关性。原生生物光养生物中不等鞭毛生物门中的杯棕鞭藻属与真菌病原菌中担子菌门中的阿太菌属(*Amphinema*)呈显著正相关。细菌变形菌门中的苯基杆菌属(*Phenyllobacterium*)与真菌病原菌中子囊菌门的大多数属呈显著负相关性。细菌的变形菌门中的苯基杆菌属与原生生物光养生物不等鞭毛生物门中的杯棕鞭藻属呈显著负相关, 并且苯基杆菌属与原生生物消费者孔虫门中的属呈显著负相关。

## 2.8 环境因子与土壤微生物群落的相关性分析

环境因子对微生物相关性影响结果见图 7 所示。图 7 中发现, AK (15 条相关联系)、HN (8 条)、TN (7 条)对细菌群落的影响最大。在细菌中, AK 对变形菌门产生最强的正向影响, 相关系数为 0.871。而 AK (12 条相关联系)、pH (10 条)、Cd (9 条)、AP (9 条)对真菌群落的影响最大, 并且三者对子囊菌门的正向影响均较大, 其中 AK 的相关影响系数达 0.902。HN、OM、TN 及 pH 值对原生生物群落的影响最显著, 各自的相关联系均为 11 条。而且, HN、OM、TN、

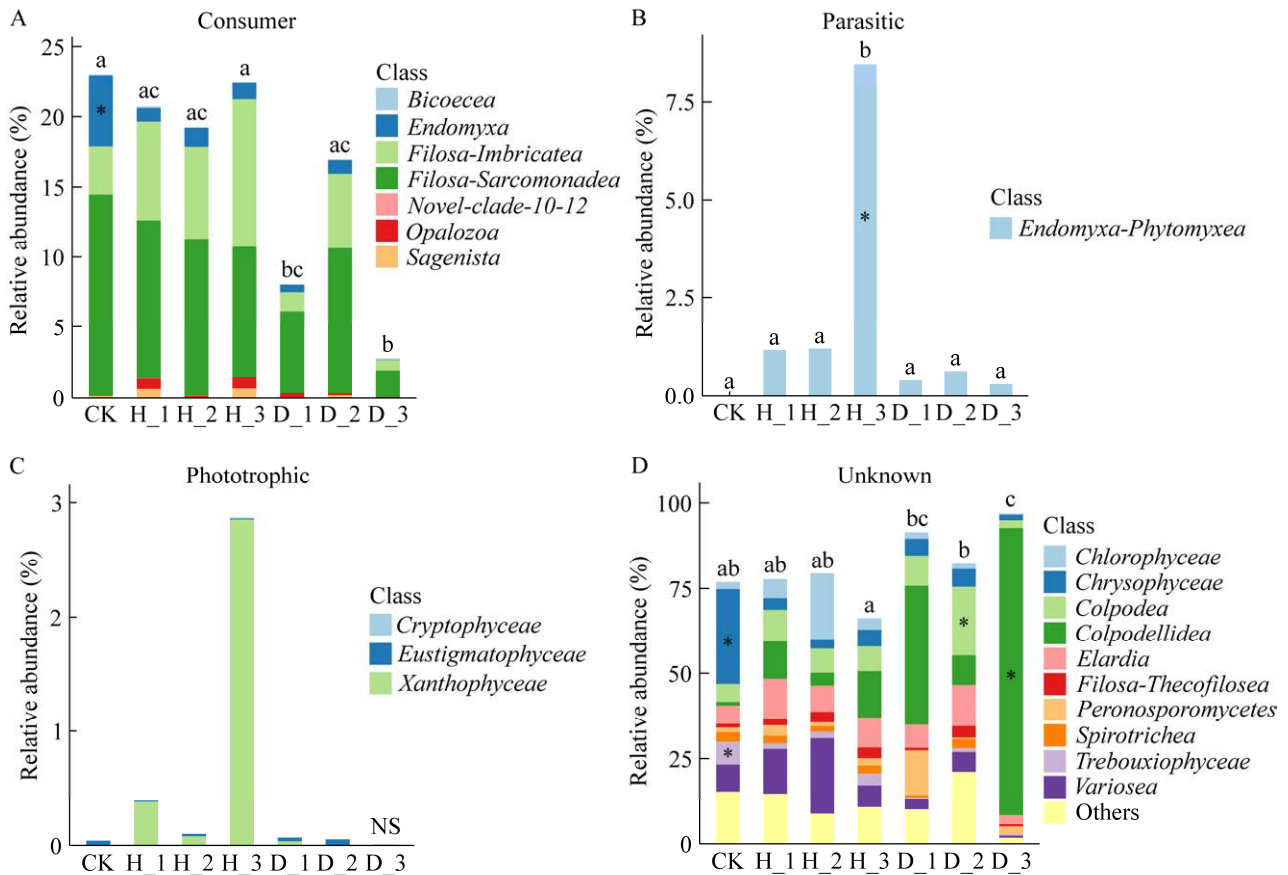


图 5 原生生物纲水平功能群相对丰度变化图 A: 消费者; B: 寄生虫; C: 光养生物; D: 未知生物。不同小写字母代表组间差异显著性检验结果。NS: 表示无显著差异。

Figure 5 Relative abundance of functional groups at the level of protest. A: Consumer, B: Parasitic; C: Phototrophic; D: Unknown. The different lowercase letters represent the significance test results of the difference between groups. NS: No significant differences; \*:  $P < 0.05$ .

pH 均对原生生物群落中的不等鞭毛生物门产生较强负相关影响，其中 HN 的相关系数达 0.907。因此，AK 对细菌和真菌的影响最大，HN 对原生生物群落影响最大。

对于本文着重分析的 2 种超标重金属，我们发现，Cd 对细菌群落(2 条相关联系)的影响大于 As (0 条)，其中 Cd 对变形菌门中的慢生根瘤菌属产生负相关影响，相关系数达 0.631，对 *MND1* 属产生正相关影响，相关系数 0.619。Cd 对真菌群落(9 条相关联系)的影响大于 As (0 条)，

其中 Cd 对真菌群落中子囊菌门的 *Dactylonectria* 属产生了最高正相关影响，相关系数 0.809，而对子囊菌门中的 *Aphanophora* 属产生了最高负相关影响，相关系数 0.672。Cd 对原生生物群落(9 条相关联系)的影响大于 As (1 条)，其中 Cd 对不等鞭毛生物门中的 *Pythium* 属和囊泡虫门中的 *Colpodellida\_CHR1\_X* 属产生较强正向影响，相关系数分别为 0.698 和 0.635。As 对不等鞭毛生物门中的腐霉属(*Pythium*)产生正向影响(相关系数 0.436)。

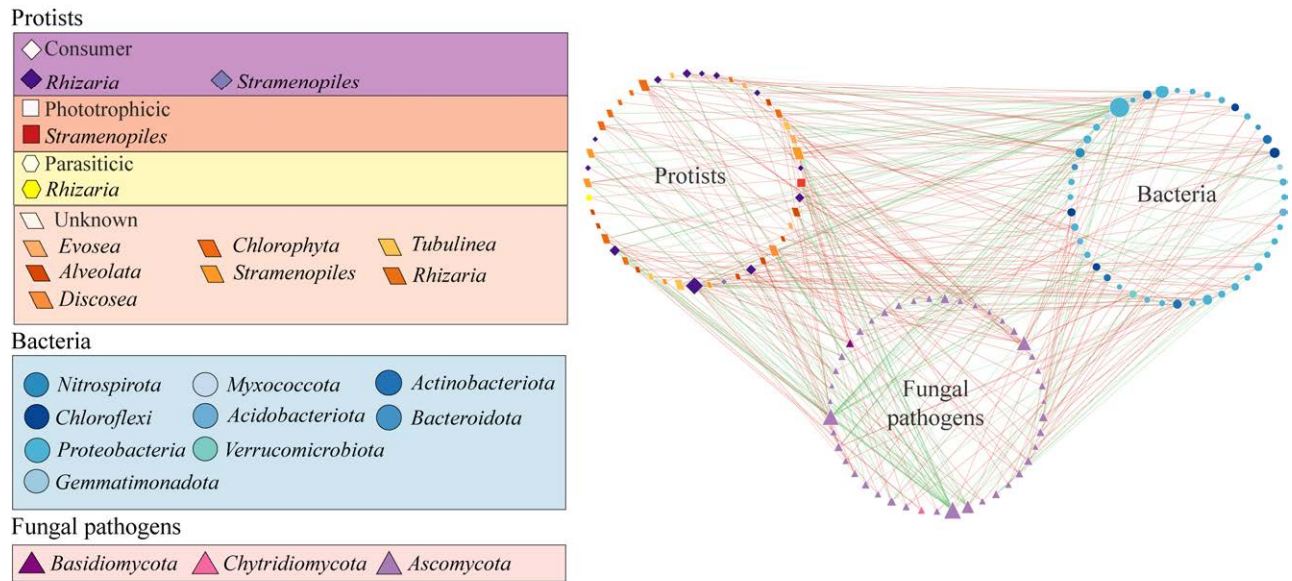


图 6 真菌病原菌与原生生物和细菌分类群的共现网络 图例标识为门水平物种名称，颜色代表不同水平的门，图中的节点是门下不同属水平的物种。节点大小与跨组连接的数量成比例，红色线条表示正向相互作用，绿色线条表示负向相互作用。

Figure 6 Co-occurrence network of fungi pathogens with protists and bacteria taxa. The legend is identified as the name of the phylum-level species, the colors represent the different levels of the phylum, and the nodes in the diagram are the species at the different genus levels under the phylum. The node size is proportional to the number of connections across the group, with the red line indicating positive interactions and the green line representing negative interactions.

### 3 讨论

在农业生产中，连作障碍是一种常见现象。连作引起植株根际土壤中养分比例失衡、微生物群落结构失衡，导致植株遭受虫害侵袭等<sup>[4]</sup>。先前的研究表明，长期连作会导致土壤中微生物群落的多样性改变，并破坏群落的结构平衡<sup>[24]</sup>。本研究观察到细菌群落在 2 年患病三七根际土中的 Chao1 指数和 Shannon 指数显著低于对应种植年限的健康土样。真菌群落中，3 年患病的三七根际土中 Chao1 指数显著低于相应年限健康根际土，并且在 2 年患病三七根际土中的 Shannon 指数与同年限的健康三七土相比也显著降低。在原生生物群落中，1 年和 3 年患病三七的根际土中 Shannon 指数显著低于同

种植年限健康土。这表明 2 年生三七植株患病显著减少了根际土壤中细菌和真菌群落的多样性，而种植 1 和 3 年的患病三七则显著降低了其土样中的原生生物群落多样性。主坐标分析结果显示，细菌、真菌、原生生物群落的  $\beta$  多样性变化均表现出显著性的差异，说明样品间的群落组成和多样性方面的区别，表明连作使得根际土壤微生物类群发生变化。本文研究发现，三七连作的优势细菌门包括变形菌门、酸杆菌门和绿弯菌门，这一结果与先前的研究结果相似<sup>[25]</sup>。本研究中的三七连作的优势真菌门是子囊菌门，并且前人对三七及西洋参等进行的研究显示，此类植株连作下的优势真菌门呈现出子囊菌门占比最大的特征<sup>[26]</sup>。本文中三七连作的原生生物优势门为囊泡虫门，该结果与

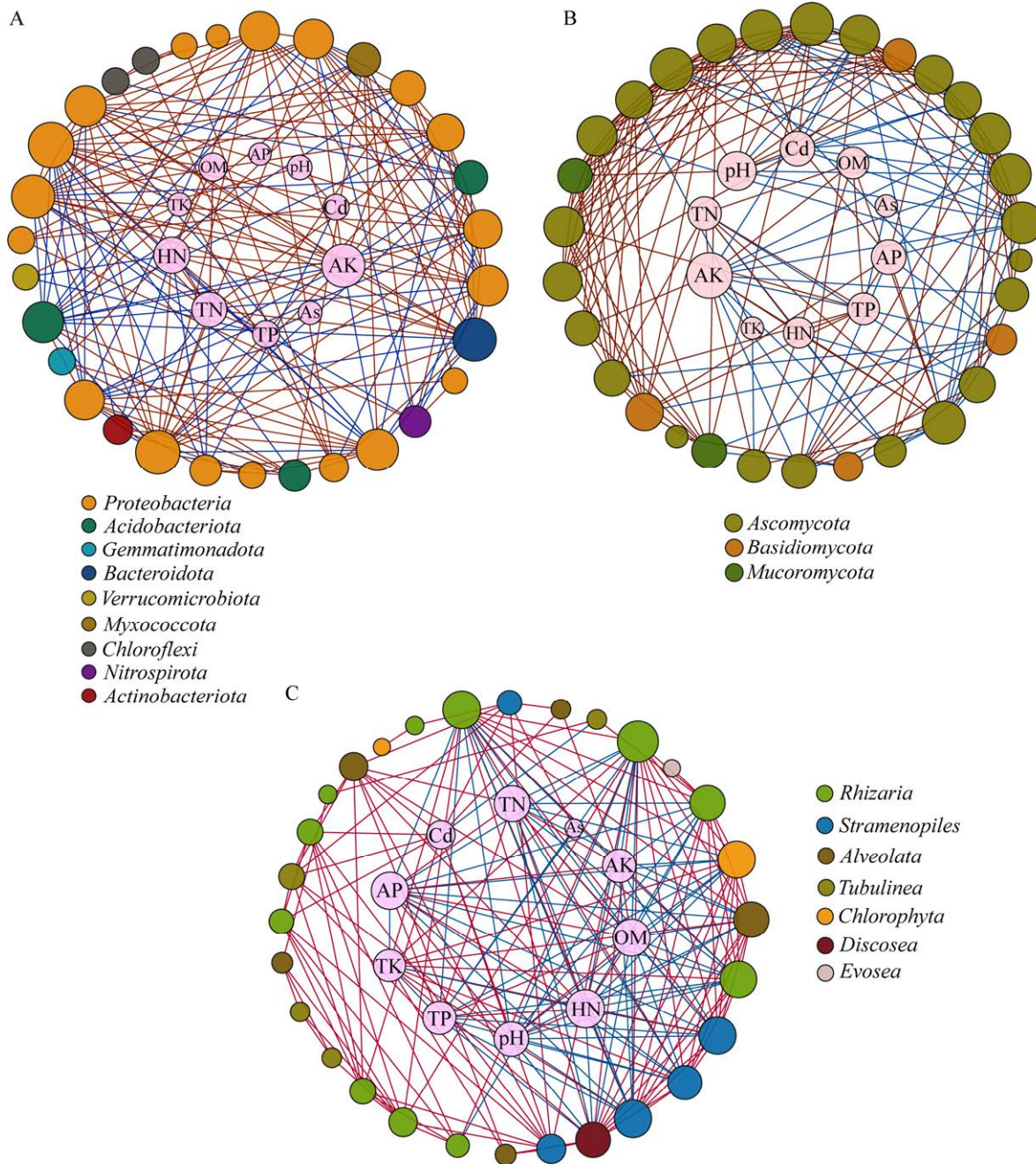


图 7 环境因子对微生物群落影响网络图 A: 细菌; B: 真菌; C: 原生生物。图例标识为门水平物种名称, 颜色代表不同水平的门。图中的外环节点是门下不同属水平的物种, 内环的节点代表不同的环境变量, 节点大小与相关性成正比。红线表示正向相互作用, 蓝线表示负向相互作用。

Figure 7 The influence network of environmental factors on microbial communities. A: Bacteria; B: Fungi; C: Protist. The legend specifies the phylum-level species names, with colors representing the different phyla. The outer link points in the diagrams indicate species at various genus levels within each phylum, the nodes in the inner ring represent different environmental variables, and node sizes are proportional to the degree of relevance. Red lines denote positive interactions, whereas blue lines signify negative interactions.

罗正明等<sup>[27]</sup>研究不一致, 这表明土壤原生生物群落不同地区及种植不同植物的土壤中, 其群落组成和相对丰度有较大差异。罗文富等<sup>[28]</sup>报道茄腐镰刀菌(*Fusarium solnai*)可引起三七根腐病。本实验中三七连作的优势真菌属包括土赤壳属、镰刀菌属和被孢霉属。镰刀菌属在种植 3 年的患病三七的根际土中相对丰度最高。汪静等<sup>[29]</sup>分离并验证了 3 株三七根腐病原真菌, 它们分别是尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、茄病镰刀菌(*Fusarium solani*)及链格孢菌(*Alternaria alternata*)。因此, 三七根腐病的发生不是单因素决定的, 其与多种因素都有关。

一直以来, 人们热衷研究土壤微生物包括细菌、真菌群落的组成变化对三七连作障碍的影响。然而, 作为群落稳定性的关键组分, 原生生物在先前的大多数作物微生物研究中未被提及<sup>[30]</sup>。土壤中原生生物种类众多, 它们可以促进动植物残体分解、土壤有机物矿化及营养元素的释放, 广泛参与着土壤中的物质能量循环, 对提高土壤代谢活性有着积极的作用<sup>[31]</sup>。将分类学概述与功能群落联系起来可以为阐明生态系统功能提供有用的知识<sup>[32]</sup>。我们将核心原生生物群落分为 4 个主要功能组: 消费者、寄生虫、光养生物和未知生物<sup>[33]</sup>。原生生物消费者是指以细菌、真菌、藻类及线虫等为食的原生生物。光养生物是通过光合作用合成能量的原生生物。寄生虫是寄生在各种宿主(动物、植物或其他器官寄生物)上的原生生物。其他未分类的原生生物分类群为“未知”<sup>[31]</sup>。在本研究中, 相对于寄生虫和光养生物, 消费者在土壤样本中的类群更多, 这可能意味着其在调节作物微生物群落中的细菌和真菌群落方面发挥着更多的潜在作用, 诸如影响营养循环和病原菌控制等<sup>[34]</sup>。我们发现, 对于原生生物消费者,

3 年生患病前后比较发现, 患病三七显著降低了其相对丰度, 表明连作下患病三七使土壤中原生生物消费者的相对丰度下降。

在生态系统研究中, 网络是调查微生物组中共生模式和识别关键类群的主要工具<sup>[35]</sup>。我们通过构建一个包含细菌、真菌病原菌和原生生物功能群的组合共现网络, 进一步发现, 相较于真菌病原菌与细菌类群之间, 真菌病原菌与原生生物类群之间有更多的种间联系。这可能是因为原生生物和真菌一般比细菌大, 因此原生生物和真菌在土壤基质中可能占据相似的土壤孔隙空间, 经常相遇。并且, 原生生物-真菌病原菌的相互作用中占主导地位的是原生生物群落中的消费者, 其次是光养生物和寄生虫。

连作障碍导致三七大量减产甚至绝收, 其严重制约了三七产业的发展<sup>[36]</sup>。土壤理化性质的改变是三七连作障碍的原因之一<sup>[37]</sup>。有研究表明, 土壤连续种植三七后, 引起氮、磷等营养元素逐年增加积累, 土壤酸化及盐渍化水平加重<sup>[38]</sup>。而施肥不合理、长期连作则会引起土壤钾素水平的明显下降, 从而影响三七的正常生长, 造成三七减产<sup>[39]</sup>。本研究通过对土壤理化性质测定发现, 所有土壤样本均呈弱酸性, 并且所有样本中重金属 Cd、As 含量超标。先前的相关研究表明, 不同种植年限的三七土壤中的全氮和全磷含量随年限显著增加, 而全钾含量反而呈现出下降趋势<sup>[40]</sup>, 该结果与我们的研究结果相一致。还有研究显示, 土壤微生物活动与有机质含量紧密相关, 钾含量升高而有机质含量降低, 可能会破坏土壤微生物群落的多样性, 并使土壤板结及肥力下降等, 这可能会加剧作物连作障碍发生<sup>[41-42]</sup>。土壤微生物能感知氮肥引起的土壤性质的改变从而做出不同的响应<sup>[43]</sup>。石灰氮的施用导致烤烟植株根际土壤微生物数量减少, 还降低了其群落多样性与

丰富度<sup>[44]</sup>。相关研究表明,全氮和有机质对细菌群落有显著影响,过量使用氮肥会导致土壤盐分积累,改变植物根际土壤细菌群落<sup>[45-46]</sup>。本研究中速效钾、水解性氮及全氮对细菌群落的影响最大,并且速效钾对变形菌门正向影响最强。另外,速效钾对细菌和真菌的影响最大,这可能是因为当地土壤中缺失速效钾肥。此外,对于本文着重分析的2种超标重金属,我们发现,重金属Cd对细菌、真菌和原生生物群落的影响均大于As。其中Cd对真菌群落中子囊菌门的*Dactylonectria*属产生了最高正相关影响,也表明了该重金属对根腐病的发生具有一定的促进作用。

## 4 结论

基于对三七不同生长年限的健康与患病三七根际土壤细菌、真菌、原生生物群落差异和与土壤因子的相互关系进行研究,得到如下结果。

(1) 种植过三七的根际土中pH值范围是5.80-6.81,均小于7.0,土样中重金属镉和砷含量超过标准值,镉在3年生样品中表现出显著富集的特征。速效钾对细菌和真菌的影响最大,超标重金属镉对细菌、真菌和原生生物群落的影响均大于砷。

(2) 2年生的患病三七显著减少了根际土壤中细菌和真菌群落的多样性,而1年和3年生的患病三七则显著降低了原生生物群落的多样性。并且在连作下,三七根际土壤中的细菌、真菌和原生生物群落的 $\beta$ 多样性均表现出显著性差异,真菌群落在患病前后的差异性最为明显。

(3) 相对于寄生虫和光养生物,消费者在土壤样本中的类群最多,3年生患病三七土壤样品中消费者的相对丰度显著降低。

(4) 真菌病原菌与原生生物类群间有更多

的种间联系,并且占主导的原生生物类群是消费者类群。

## REFERENCES

- [1] 拱健婷, 张子龙, 王雄飞, 刘凤波, 赵志刚. 三七自毒与化感作用初步研究[J]. 广西植物, 2014, 34(3): 362-368.  
GONG JT, ZHANG ZL, WANG XF, LIU FB, ZHAO ZG. Preliminary study on autointoxication and allelopathy of *Panax notoginseng*[J]. Guihaia, 2014, 34(3): 362-368 (in Chinese).
- [2] 杨敏, 梅馨月, 郑建芬, 尹兆波, 赵芝, 张潇丹, 何霞红, 朱书生. 三七主要病原菌对皂苷的敏感性分析[J]. 植物保护, 2014, 40(3): 76-81.  
YANG M, MEI XY, ZHENG JF, YIN ZB, ZHAO Z, ZHANG XD, HE XH, ZHU SS. Sensitivity of the pathogens of *Panax notoginseng* to ginsenosides[J]. Plant Protection, 2014, 40(3): 76-81 (in Chinese).
- [3] GUO HB, CUI XM, AN N, CAI GP. Sanchi ginseng (*Panax notoginseng* (Burkill) F.H. Chen) in China: distribution, cultivation and variations[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2010, 57(3): 453-460.
- [4] MENG S, LI-QIN YE, ZI-LONG Z. Progress on the Cause of Continuous Cropping Obstacle of *Panax notoginseng* and its Countermeasures[J]. Journal of Mountain Agriculture and Biology, 2015, 34(3): 63-67.
- [5] 郑冬梅, 李佳, 欧小宏, 王家金, 张智慧, 郭兰萍, 刘大会. 三七种植地土壤养分动态变化研究[J]. 西南农业学报, 2015, 28(1): 279-285.  
ZHENG DM, LI J, OU XH, WANG JJ, ZHANG ZH, GUO LP, LIU DH. Nutrients dynamic changes in cultivation soil of *Panax notoginseng*[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2015, 28: 279-285 (in Chinese).
- [6] 官会林, 陈昱君, 刘士清, 张无敌, 夏朝凤. 三七种植土壤微生物类群动态与根腐病的关系[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2006, 28(5): 706-709.  
GUAN HL, CHEN YJ, LIU SQ, ZHANG WD, XIA CF. On the relationship between root rot in *Panax notoginseng* and soil microbes[J]. Journal of Southwest Agricultural University, 2006, 28(5): 706-709 (in Chinese).
- [7] OLADIPO OG, AWOTOYE OO, OLAYINKA A, EZEOKOLI OT, MABOETA MS, BEZUIDENHOUT CC. Heavy metal tolerance potential of *Aspergillus* strains isolated from mining sites[J]. Bioremediation Journal, 2016, 20(4): 287-297.
- [8] 张重义, 林文雄. 药用植物的化感自毒作用与连作障碍[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(1): 189-196.  
ZHANG ZY, LIN WX. Continuous cropping obstacle and allelopathic autotoxicity of medicinal plants[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2009, 17(1): 189-196 (in Chinese).
- [9] TAN Y, CUI YS, LI HY, KUANG AX, LI XR, WEI YL, JI XL. Diversity and composition of rhizospheric soil and root endogenous bacteria in *Panax notoginseng* during continuous cropping practices[J]. Journal of Basic Microbiology, 2017, 57(4): 337-344.
- [10] XIONG W, JOUSSET A, GUO S, KARLSSON I,



- ZHAO QY, WU HS, KOWALCHUK GA, SHEN QR, LI R, GEISEN S. Soil protist communities form a dynamic hub in the soil microbiome[J]. *The ISME Journal*, 2018, 12(2): 634-638.
- [11] GUO S, XIONG W, XU H, HANG XN, LIU HJ, XUN WB, LI R, SHEN QR. Continuous application of different fertilizers induces distinct bulk and rhizosphere soil protist communities[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2018, 88: 8-14.
- [12] 向维, 韦小兰, 曹科鑫, 李亮波, 黄荣韶. 三七皂苷类自毒物质降解细菌分离及其降解特性[J]. *广西植物*, 2023, 43(7):1173-1181.
- XIANG W, WEI XL, CAO KX, LI LB, HUANG RS. Isolation and characterization of autotoxic saponins-degrading bacterial strains from *Panax notoginseng*[J]. *Guihaia*, 2023, 43(7): 1173-1181 (in Chinese).
- [13] 唐碧玉, 施意华, 邱丽, 阳兆鸿, 古行乾, 唐荣盛. 电感耦合等离子体质谱法测定土壤中 6 种重金属可提取态的含量[J]. *理化检验(化学分册)*, 2019, 55(7): 846-852.
- TANG BY, SHI YH, QIU L, GU XQ, TANG RS. Determination of Six Extractable Heavy Metals in Soil by ICP-MS[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis*, 55(7): 846-852 (in Chinese).
- [14] LIANG YT, JIANG YJ, WANG F, WEN CQ, DENG Y, XUE K, QIN YJ, YANG YF, WU LY, ZHOU JZ, SUN B. Long-term soil transplant simulating climate change with latitude significantly alters microbial temporal turnover[J]. *The ISME Journal*, 2015, 9(12): 2561-2572.
- [15] MUELLER RC, PAULA FS, MIRZA BS, RODRIGUES JLM, NÜSSLEIN K, BOHANNAN BJM. Links between plant and fungal communities across a deforestation chronosequence in the Amazon rainforest[J]. *The ISME Journal*, 2014, 8(7): 1548-1550.
- [16] LOGARES R, AUDIC S, SANTINI S, PERNICE MC, de VARGAS C, MASSANA R. Diversity patterns and activity of uncultured marine heterotrophic flagellates unveiled with pyrosequencing[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(10): 1823-1833.
- [17] ZHAO PF, HONG S, LI YK, CHEN HM, GAO HC, WANG CS. From phyllosphere to insect cuticles: silkworms gather antifungal bacteria from mulberry leaves to battle fungal parasite attacks[J]. *Microbiome*, 2024, 12(1): 1.
- [18] GUILLOU L, BACHAR D, AUDIC S, BASS D, BERNEY C, BITTNER L, BOUTTE C, BURGAUD G, de VARGAS C, DECELLE J, del CAMPO J, DOLAN JR, DUNTHORN M, EDVARDSEN B, HOLZMANN M, KOOISTRA WHCF, LARA E, Le BESCOT N, LOGARES R, MAHÉ F, et al. The Protist Ribosomal Reference database (PR2): a catalog of unicellular eukaryote small sub-unit rRNA sequences with curated taxonomy[J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(database issue): D597-D604.
- [19] ZHAO ZB, HE JZ, GEISEN S, HAN LL, WANG JT, SHEN JP, WEI WX, FANG YT, LI PP, ZHANG LM. Protist communities are more sensitive to nitrogen fertilization than other microorganisms in diverse agricultural soils[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 33.
- [20] NGUYEN BA T, CHEN QL, YAN ZZ, LI CY, HE JZ, HU HW. Distinct factors drive the diversity and composition of protistan consumers and phototrophs in natural soil ecosystems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 160: 108317.
- [21] BARBERÁN A, BATES ST, CASAMAYOR EO, FIERER N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(2): 343-351.
- [22] POCOCK MJO, EVANS DM, MEMMOTT J. The robustness and restoration of a network of ecological networks[J]. *Science*, 2012, 335(6071): 973-977.
- [23] 袁国军, 卢绍辉, 梅象信, 庞荣丽. 农用地土壤污染风险管控标准延伸理解及其评价标准现状分析[J]. *中国农学通报*, 2020, 36(2): 84-89.
- YUAN GJ, LU SH, MEI XX, PANG RL. Extended Understanding of Soil Pollution Risk Management Standards for Agricultural Lands and the Status of Evaluation Standards[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(2): 84-89 (in Chinese).
- [24] SUN J, ZHANG Q, ZHOU J, WEI QP. Illumina amplicon sequencing of 16S rRNA tag reveals bacterial community development in the rhizosphere of apple nurseries at a replant disease site and a new planting site[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e111744.
- [25] 谭勇, 崔尹瞻, 季秀玲, 李晓然, 崔秀明, 魏云林. 三七种植前后土壤细菌群落结构与多样性分析[J]. *昆明理工大学学报(自然科学版)*, 2016, 41(6): 92-99.
- TAN Y, CUI YS, JI XL, LI XR, CUI XM, WEI YL. Soil bacterial community structure and diversity of *Panax notoginseng* during cropping practices[J]. *Journal of Kunming University of Science and Technology (Natural Sciences Edition)*, 2016, 41(6): 92-99 (in Chinese).
- [26] 余妙, 蒋景龙, 任绪明, 李丽, 焦成瑾, 杨玲娟, 徐皓. 西洋参根腐病发生与根际真菌群落变化关系研究[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(10): 2038-2047.
- YU M, JIANG JL, REN XM, LI L, JIAO CJ, YANG LJ, XU H. Research on relationship between occurrence of root rot and changes of fungal communities in rhizosphere of *Panax quinquefolius*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2018, 43(10): 2038-2047 (in Chinese).
- [27] 罗正明, 刘晋仙, 周妍英, 杜京旗, 吴强, 柴宝峰. 亚高山草地土壤原生生物群落结构和多样性海拔分布格局[J]. *生态学报*, 2021, 41(7): 2783-2793.
- LUO ZM, LIU JX, ZHOU YY, DU JQ, WU Q, CHAI BF. Community structures and diversity patterns of the soil protist communities along an altitudinal gradient in a subalpine grassland[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(7): 2783-2793 (in Chinese).
- [28] 罗文富, 喻盛甫, 贺承福, 李忠义, 王朝梁, 崔秀明. 三七根腐病病原及复合侵染的研究[J]. *植物病理学报*, 1997, 27(1): 86-92.
- LUO WF, YU SF, HE CF, LI ZY, WANG CL, CUI XM. On the combined infection of root rot pathogens on *Panax notoginseng*[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1997, 27(1): 86-92 (in Chinese).
- [29] 汪静, 梁宗锁, 康冰, 罗美佳. 文山三七根腐病病原真菌的鉴定与药剂防治[J]. *西北林学院学报*, 2015, 30(1): 158-163.
- WANG J, LIANG ZS, KANG B, LUO MJ. Identification of root rot pathogen of *Panax notoginseng* from Wenshan[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2015, 30(1): 158-163 (in Chinese).

- [30] SAPP M, PLOCH S, FIORE-DONNO AM, BONKOWSKI M, ROSE LE. Protists are an integral part of the *Arabidopsis thaliana* microbiome[J]. Environmental Microbiology, 2018, 20(1): 30-43.
- [31] GEISEN S, MITCHELL EAD, ADL S, BONKOWSKI M, DUNTHORN M, EKELUND F, FERNÁNDEZ LD, JOUSSET A, KRASHEVSKA V, SINGER D, SPIEGEL FW, WALOCHNIK J, LARA E. Soil protists: a fertile frontier in soil biology research[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2018, 42(3): 293-323.
- [32] LANGILLE MGI, ZANEVELD J, CAPORASO JG, McDONALD D, KNIGHTS D, REYES JA, CLEMENTE JC, BURKEPILE DE, VEGA THURBER RL, KNIGHT R, BEIKO RG, HUTTENHOWER C. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences[J]. Nature Biotechnology, 2013, 31: 814-821.
- [33] OLIVERIO AM, GEISEN S, DELGADO-BAQUERIZO M, MAESTRE FT, TURNER BL, FIERER N. The global-scale distributions of soil protists and their contributions to belowground systems[J]. Science Advances, 2020, 6(4): eaax8787.
- [34] HILTUNEN T, FRIMAN VP, KAITALA V, MAPPES J, LAAKSO J. Predation and resource fluctuations drive eco-evolutionary dynamics of a bacterial community[J]. Acta Oecologica, 2012, 38: 77-83.
- [35] LIU HW, BRETTELL LE, SINGH B. Linking the phyllosphere microbiome to plant health[J]. Trends in Plant Science, 2020, 25(9): 841-844.
- [36] 吴照祥, 郝志鹏, 陈永亮, 曾燕, 郭兰萍, 黄璐琦, 王勇, 陈保冬. 三七根腐病株根际土壤真菌群落组成与碳源利用特征研究[J]. 菌物学报, 2015, 34(1): 65-74. WU ZX, HAO ZP, CHEN YL, ZENG Y, HUANG LQ, WANG Y, CHEN BD. Characterization of fungal community composition and carbon source utilization in the rhizosphere soil of *Panax notoginseng* suffering from root-rot disease[J]. Mycosystema, 2015, 34(1): 65-74 (in Chinese).
- [37] 刘彤彤, 卢巧芳, 王男麒, 王天琪, 刘环环, 左元梅. 根系分泌物抑制连作障碍线虫病的根际调控机制及其应用[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25(6): 1038-1046. LIU TT, LU QF, WANG NQ, WANG TQ, LIU HH, ZUO YM. The rhizosphere regulation mechanism and use of root exudates to inhibit continuous monocropping barrier by nematode disease[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2019, 25(6): 1038-1046 (in Chinese).
- [38] 袁可能. 植物营养元素的土壤化学[M]. 北京: 科学出版社, 1983. YUAN KN. Soil Chemistry of Plant Nutrients[M]. Beijing: Science Press, 1983 (in Chinese).
- [39] 刘莉, 刘大会, 金航, 冯光泉, 张金渝, 韦美丽, 赵振玲. 三七连作障碍的研究进展[J]. 山地农业生物学报, 2011, 30(1): 70-75. LIU L, LIU DH, JIN H, FENG GQ, ZHANG JY, WEI ML, ZHAO ZL. Overview on the mechanisms and control methods of sequential cropping obstacle of *Panax notoginseng* F.H. Chen[J]. Journal of Mountain Agriculture and Biology, 2011, 30(1): 70-75 (in Chinese).
- [40] 刘莉, 赵安洁, 杨雁, 金航, 崔秀明, 欧小宏, 刘大会. 三七不同间隔年限种植土壤的理化性状比较分析[J]. 西南农业学报, 2013, 26(5): 1946-1952. LIU L, ZHAO AJ, YANG Y, JIN H, CUI XM, OU XH, LIU DH. Comparative analysis of physical and chemical properties of *Panax notoginseng* replant soils in different intervals[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2013, 26(5): 1946-1952 (in Chinese).
- [41] WEI XR, HAO MD, SHAO MG, GALE WJ. Changes in soil properties and the availability of soil micronutrients after 18 years of cropping and fertilization[J]. Soil and Tillage Research, 2006, 91(1/2): 120-130.
- [42] MARSCHNER P, CROWLEY D, YANG CH. Development of specific rhizosphere bacterial communities in relation to plant species, nutrition and soil type[J]. Plant and Soil, 2004, 261(1): 199-208.
- [43] ZHAO J, NI T, LI Y, XIONG W, RAN W, SHEN B, SHEN QR, ZHANG RF. Responses of bacterial communities in arable soils in a rice-wheat cropping system to different fertilizer regimes and sampling times[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e85301.
- [44] 沈建平, 张明宇, 刘高峰, 李小龙, 石德兴, 王岩. 施用石灰氮对烟株根际土壤微生物区系的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2021(1): 75-82. SHEN JP, ZHANG MY, LIU GF, LI XL, SHI DX, WANG Y. Effects of lime nitrogen application on microbial flora of tobacco rhizosphere soil[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2021(1): 75-82 (in Chinese).
- [45] TAYYAB M, ISLAM W, LEE CG, PANG ZQ, KHALIL F, LIN S, LIN WX, ZHANG H. Short-term effects of different organic amendments on soil fungal composition[J]. Sustainability, 2019, 11(1): 198.
- [46] PATERSON E, GEBBING T, ABEL C, SIM A, TELFER G. Rhizodeposition shapes rhizosphere microbial community structure in organic soil[J]. The New Phytologist, 2007, 173(3): 600-610.