

研究报告

自然林下与田间根腐三七根际微生物群落特征及比较分析

王豪吉¹, 官会林¹, 王勇², 魏富刚³, 杨绍周³, 向萍⁴, 陈鹏崙¹, 赵林艳¹, 徐武美^{*1}

1 云南师范大学高原特色中药材种植土壤质量演变退化与修复云南省野外科学观测研究站,

云南 昆明 650500

2 文山学院文山三七研究院, 云南 文山 663099

3 文山苗乡三七科技有限公司, 云南 文山 663099

4 西南林业大学环境修复与健康研究院, 云南 昆明 650224

王豪吉, 官会林, 王勇, 魏富刚, 杨绍周, 向萍, 陈鹏崙, 赵林艳, 徐武美. 自然林下与田间根腐三七根际微生物群落特征及比较分析[J]. 微生物学通报, 2023, 50(5): 1988-2001.

WANG Haoji, GUAN Huilin, WANG Yong, WEI Fugang, YANG Shaozhou, XIANG Ping, CHEN Pengyin, ZHAO Linyan, XU Wumei. Comparison of rhizosphere microbial community of *Panax notoginseng* with root rot under natural forest and in the field[J]. Microbiology China, 2023, 50(5): 1988-2001.

摘要: 【背景】三七根际微生物群落特征与其土传根腐病害密切相关, 而针对自然林下根腐三七的相关研究鲜见报道。【目的】比较分析自然林下与田间根腐三七根际土壤微生物群落的组成特征, 结合土壤理化性质与酶活性分析, 为三七根腐病害防治与仿野生栽培提供科学依据。【方法】采集自然林下与田间根腐三七根际土壤, 利用高通量测序技术, 分析土壤细菌与真菌群落的物种组成与多样性, 并测定土壤理化性质和酶活性。【结果】自然林下与田间根腐三七根际土壤中细菌和真菌群落组成具有明显差异, 自然林下根腐三七根际土壤中担子菌门(*Basidiomycota*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)和疣微菌门(*Verrucomicrobia*)的相对丰度较高, 而田间根腐三七根际土壤中子囊菌门(*Ascomycota*)、变形菌门(*Proteobacteria*)和绿弯菌门(*Chloroflexi*)的相对丰度较高。在属分类水平, 镰刀菌属(*Fusarium*)是自然林下根腐三七根际土壤中的优势菌群, 相对丰度为 17.30%, 而瘿囊腔菌属(*Plectosphaerella*)是田间根腐三七根际土壤中的优势菌群, 相对丰度为 22.55%; *Candidatus Bacilloplasma* 在自然林下非三七根际土壤中的相对丰度达 8.05%, 而在三七根际土壤中

资助项目: 国家自然科学基金(31901126); 云南省应用基础研究计划(202001AT070078); 国家林业和草原局林草科技创新青年拔尖人才项目(2020132613); 云南(昆明)院士专家工作站(YSZJGZZ-2021062)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31901126), the Applied Basic Research Foundation of Yunnan Province (202001AT070078), the Top Young Talents Project of National Forestry and Grassland Administration (2020132613), and the Yunnan (Kunming) Academician and Expert Station (YSZJGZZ-2021062).

*Corresponding author. E-mail: xuwumei@ynnu.edu.cn

Received: 2022-08-02; Accepted: 2022-08-31; Published online: 2022-10-17

的相对丰度大幅降低(0–1.25%)。与自然林下三七根际土壤相比较, 田间根腐三七根际土壤有机质含量、酶活性与微生物多样性均显著降低($P<0.05$)。冗余分析(redundancy analysis, RDA)表明, 自然林下与田间根腐三七根际土壤细菌和真菌群落存在明显分化, 与土壤有机质含量和酶活性密切相关。【结论】自然林下与田间根腐三七根际微生物群落组成存在明显差异; 针对田间种植三七需要采取有效措施提高土壤有机质含量、酶活性与微生物多样性, 除镰刀菌属外, 还需特别关注癭囊腔菌属真菌对三七的侵害。

关键词: 三七; 自然林下; 根腐病; 根际微生物; 土壤养分

Comparison of rhizosphere microbial community of *Panax notoginseng* with root rot under natural forest and in the field

WANG Haoji¹, GUAN Huilin¹, WANG Yong², WEI Fugang³, YANG Shaozhou³,
XIANG Ping⁴, CHEN Pengyin¹, ZHAO Linyan¹, XU Wumei^{*1}

1 Yunnan Provincial Observation and Research Station of Soil Degradation and Restoration for Cultivating Plateau Traditional Chinese Medicinal Plants, Yunnan Normal University, Kunming 650500, Yunnan, China

2 Wenshan Sanqi Institute of Science and Technology, Wenshan University, Wenshan 663099, Yunnan, China

3 Wenshan Miaoxiang Sanqi Technology Limited Company, Wenshan 663099, Yunnan, China

4 Institute of Environmental Remediation and Human Health, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China

Abstract: [Background] Rhizosphere microbial community is closely related to the root rot of *Panax notoginseng* (PN). However, PN with root rot under natural forest is rarely reported. **[Objective]** To compare rhizosphere microbial community of PN with root rot under natural forest and in the field and to lay a basis for the control of root rot and wild cultivation of PN. **[Methods]** Rhizosphere soil of PN with root rot under the natural forest and in the field was respectively collected, and species composition and diversity of soil bacterial and fungal communities were analyzed based on high-throughput sequencing. Moreover, we determined soil physicochemical properties and enzyme activity. **[Results]** The composition of bacterial and fungal communities in the rhizosphere soil was different between PN with root rot under natural forest and that in the field. The rhizosphere soil of PN under natural forest had abundant *Basidiomycota*, *Acidobacteria*, and *Verrucomicrobia* species, while that of PN in the field boasted abundant *Ascomycota*, *Proteobacteria*, and *Chloroflexi* species. At the genus level, *Fusarium* was dominant in the rhizosphere soil of PN under natural forest, with relative abundance of 17.30%, and *Plectosphaerella* dominated the rhizosphere soil of PN in the field, with relative abundance standing at 22.55%. The relative abundance of *Candidatus* *Bacilloplasma* in non-PN rhizosphere soil under natural forest was 8.05%, while the figure was quite low for rhizosphere soil of PN (0–1.25%). The organic matter content, enzyme activity, and microbial diversity in the rhizosphere soil of PN with root rot in the field were lower than those under natural forest ($P<0.05$). Redundancy analysis (RDA) suggested significant differentiation of soil bacterial and fungal communities in the rhizosphere soil of PN under

natural forest and in the field, which was closely related to the soil organic matter content and enzyme activity. [Conclusion] The rhizosphere microbial composition of PN with root rot under natural forest was significantly different from that in the field. For the cultivation of PN in the field, efforts should be made to improve soil organic matter content, enzyme activity, and microbial diversity. In addition to pathogenic *Fusarium*, *Plectosphaerella* should be emphasized in the cultivation of PN.

Keywords: *Panax notoginseng*; natural forest; root rot; rhizosphere microorganism; soil nutrients

三七(*Panax notoginseng*)是五加科人参属植物,为多年生名贵中药材,具有活血散瘀、消肿和降血压等功效^[1]。由于三七连作障碍严重,导致云南文山等地三七种植土地资源紧缺^[2]。三七种植过程中土壤微生物群落变化、病原微生物积累、土壤板结酸化与酶活性降低等,是导致三七土传根腐病害的重要因素^[2-3]。Tan 等^[4]研究表明,连作地健康三七根际土壤微生物以假单胞菌属(*Pseudomonas*)、红游动菌属(*Rhodoplane*)和链霉菌属(*Streptomyces*)等菌群为主,且根腐三七根际细菌多样性较低。陆晓菊等^[5]研究发现,连作地健康三七与根腐三七根际土壤优势菌群存在显著差异,且有益微生物伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)和链霉菌属的相对丰度与三七土传病害密切相关。此外,三七连作年限延长会引起三七根际微生物区系演替变化,群落特征由“细菌主导型”向“真菌主导型”转变^[6-7]。作物轮作和土壤熏蒸消毒是应对三七连作障碍的有效措施,但三七轮作时间较长,往往需要间隔 10 年以上^[8];土壤熏蒸对防控三七土传病害效果较好,但多数化学熏蒸剂对环境影响较大,限制了其大规模应用^[9]。

利用林地种植三七可缓减三七种植与粮食生产用地之间的冲突,同时,自然森林生态系统具有较高的生物多样性,有利于三七病害的生态防控^[10],从而减少农药使用量,实现三七生态种植。与大田种植模式相比,林下三七种

植尚处于起步阶段,仅有少量研究围绕不同海拔、坡向与透光率等生境特征以及不同除草和避雨管理模式等进行探索^[11-15]。三七根际微生物群落组成特征与其土传根腐病害密切相关,而针对自然林下三七根际微生物群落的研究还未见报道。此外,由于自然与人工生境下土壤理化特征和微生物群落存在较大差异,可能导致自然林下三七的病害机理有别于田间三七。因此,本研究以自然林下健康三七为对照,探索林下和田间根腐三七根际微生物群落变化特征,结合土壤理化性质与酶活性的比较分析,以期三七仿野生栽培、生态种植及土传根腐病害防治提供新的科学依据。

1 材料与方法

1.1 土样采集

本研究的自然林下三七种植试验在文山马关县林下三七种植基地(22°47'28"N, 103°58'48"E)进行,田间根腐三七采自文山三七科技示范园(23°31'40"N, 104°19'28"E)。于 2018 年 1 月开展自然林下三七种植试验,清理地表凋落物后点播三七种子,覆土后待其自然萌发、生长,期间不施用化肥与农药;田间三七种植于 2020 年 1 月,移栽一年生三七籽条并进行常规水肥管理。于 2021 年 7 月进行采样分析,包括:自然林下健康与根腐三七根际土样,标记为 L-H、LGF (图 1A、1B);自然林下非三七根际土样,标记为 L-S;田间根腐三七根际土样,标记为

GF (图 1C); 每组随机采集 3 份样品, 共计 12 个土样。土壤微生物样品采集后立即置于冰盒中, 带回实验室并置于 -80°C 冰箱中保存待测, 其他土样自然风干后研磨过筛, 用于土壤理化性质和酶活性分析。

1.2 土样分析

1.2.1 主要试剂和仪器

PowerSoil DNA Isolation Kit, MOBIO 公司; Agencourt AMPure XP Kit, Cube 公司; MinElute PCR Purification Kit, Qiagen 公司。pH 计, 上海虹益仪器仪表有限公司; EC 计, STEP Systems GmbH 公司; 流动分析仪与火焰光度

计, SEAL Analytical Limited 公司; 紫外可见分光光度计, 上海元析仪器有限公司; PCR 仪, Bio-Rad 公司; QuantiFluor-ST 荧光定量系统, Promega 公司; MiSeq PE250 高通量测序平台, Illumina 公司。

1.2.2 土壤 DNA 提取、扩增和高通量测序

准确称取 1 g 土壤样品提取土壤总 DNA, 使用引物 338-F (5'-ACTCCTACGGGAGGAGCA-3')和 806-R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')对细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 区进行扩增^[16]; 使用引物 ITS1-F (5'-TCCGTAGGTGAACTCGCGG-3')和 ITS2-R (5'-GCTGCGTTCTTCACTCGATGC-3')对真菌 ITS 基因序列进行扩增^[17-18]。将 PCR 扩增片段纯化和定量分析后进行高通量测序, 由北京百迈客生物科技有限公司完成。

1.2.3 土壤理化特征与酶活性分析

风干土样研磨后, 分别过 20 目和 100 目筛, 用于测定土壤理化特征与酶活性。土壤理化指标的测定根据《土壤农化分析》^[19]进行, 土壤 pH 用 pH 计测定, 水土比为 2.5:1; 电导率 (electrical conductivity, EC) 用 EC 计测定, 水土比为 5:1; 铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)和硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)用 1.0 mol/L 氯化钾溶液浸提, 用流动分析仪进行测定; 有效磷 (available phosphorus, AP) 用 0.03 mol/L 氟化铵溶液浸提, 用钼锑抗比色法测定; 速效钾 (available potassium, AK) 用 0.5 mol/L 乙酸铵溶液浸提, 用火焰光度计进行测定; 土壤有机质 (organic matter, OM) 用重铬酸钾-硫酸消解液消解, 用 0.1 mol/L 硫酸亚铁溶液进行滴定。土壤酶活性的测定与表示方法参照王豪吉等^[20]的报道, 以邻苯二甲酸氢钾为基质测定土壤酸性磷酸酶 (soil acid phosphatase enzyme, SAPE) 活性, 以尿素为基质测定土壤脲酶 (soil urease enzyme, SUE) 活性, 以蔗糖为基质测定土壤蔗糖酶 (soil sucrose enzyme, SSE) 活性, 以酪素为基质测定

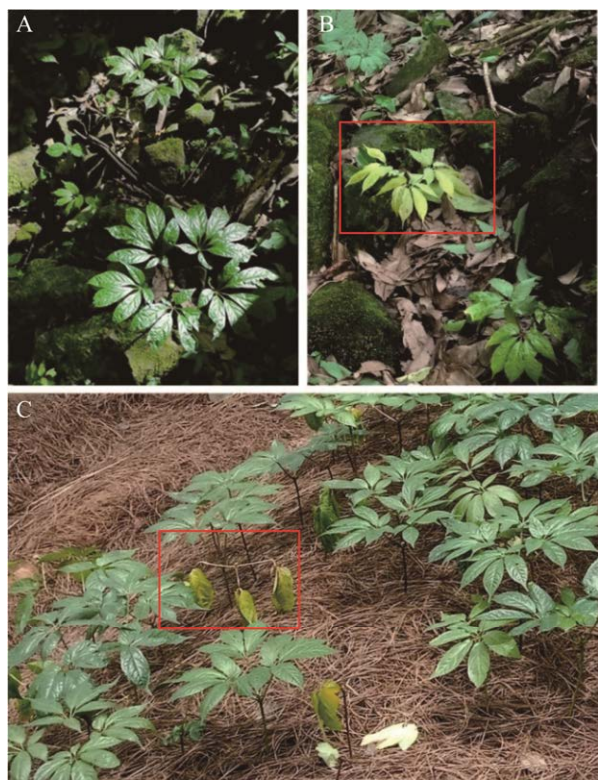


图 1 自然林下和田间种植三七 A: 自然林下健康三七. B: 自然林下根腐三七. C: 田间根腐三七
Figure 1 The *Panax notoginseng* under natural forest and in the field. A: Health *P. notoginseng* in the forest environment. B: Root rot *P. notoginseng* in the forest environment. C: Root rot *P. notoginseng* in the field.

土壤蛋白酶(soil protease enzyme, SPE)活性。

1.2.4 数据分析

利用 FLASH V1.2.7^[21]和 Trimmomatic 软件^[22]对 Illumina HiSeq 双端测序数据进行拼接与过滤,使用 UCHIME V4.2^[23]去除嵌合体,并用 UPARSE 软件^[24]按 97%的序列相似性获得 OTU。使用 RDP 软件以细菌 16S rRNA 基因 Silva 数据库(<http://www.arb-silva.de>)和真菌 ITS UNITE 数据库(<https://unite.ut.ee/>)为参照,对不同 OTU 的代表性序列进行分类注释。使用 MOTHUR 软件^[25]计算各土样微生物 OTU 丰富度、ACE、Chao1 与系统发育多样性(phylogenetic diversity, PD)指数。利用冗余分析(redundancy analysis, RDA)与相似性分析(analysis of similarities, ANOSIM)探索不同土壤微生物群落分化特征,以及环境因子与微生物群落之间的关联性。利用单因素方差分析检验不同土

壤因子的差异显著性。以上分析均利用 R 软件包“vegan”^[26]与 SPSS 16.0 统计软件进行。

2 结果与分析

2.1 不同生境中土壤微生物群落组成

在门分类水平上,子囊菌门(*Ascomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*)是三七根际土壤优势真菌类群(图 2A),其在林下健康三七根际土壤(L-H)中的相对丰度分别为 56.42%与 23.01%,在林下根腐三七根际土壤(LGF)中的相对丰度分别为 69.08%与 11.62%,而在田间根腐三七根际土壤(GF)中的相对丰度分别为 85.47%与 5.62%。变形菌门(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)和绿弯菌门(*Chloroflexi*)为三七根际土壤优势细菌类群(图 2B),其在 L-H 组的相对丰度分别为 30.93%、27.36%、6.73%和 4.90%,在 LGF 组的

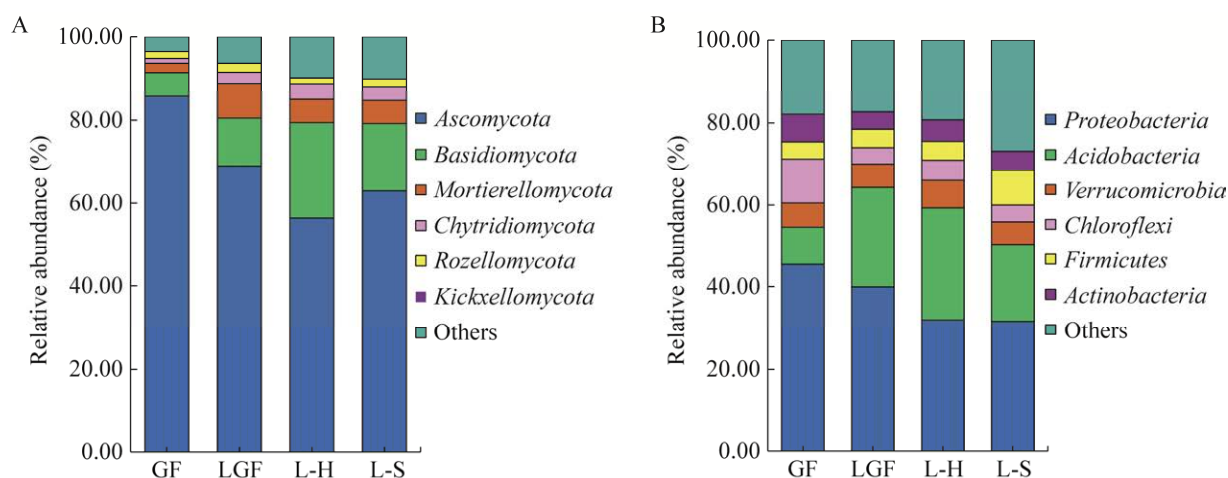


图 2 不同生境中三七根际土壤真菌和细菌门分类水平的相对丰度 A: 真菌群落. B: 细菌群落. GF: 田间根腐三七根际土壤; LGF: 自然林下根腐三七根际土壤; L-H: 自然林下健康三七根际土壤; L-S: 自然林下非三七根际土壤. 下同

Figure 2 Relative abundance of fungi and bacteria at the phylum level in the rhizosphere soil of *Panax notoginseng* under different environment. A: Fungal community. B: Bacterial community. GF: Rhizosphere soil of root rot *P. notoginseng* in the field; LGF: Rhizosphere soil of root rot *P. notoginseng* in the natural forest; L-H: Rhizosphere soil of health *P. notoginseng* in the natural forest; L-S: Non-*P. notoginseng* rhizosphere soil in the natural forest. The same below.

相对丰度分别为 39.97%、24.30%、5.77%和 3.97%，而在 GF 组的相对丰度分别为 45.36%、9.17%、5.93%和 10.77%。在属分类水平上，被孢霉属(*Mortierella*)、癭囊腔菌属(*Plectosphaerella*)、镰刀菌属(*Fusarium*)和曲霉属(*Aspergillus*)是三七根际土壤优势真菌类群，其在 L-H 组的相对丰度分别为 5.64%、0.22%、2.05%和 10.11%，在 LGF 组的相对丰度分别为 6.82%、0.21%、17.30%和 7.27%，而在 GF 组的相对丰度分别为 2.16%、22.55%、1.25%和 2.20%。*Candidatus Bacilloplasma* 是自然林下非三七根际土壤中的主要细菌类群，其相对丰度为 8.05%；而在 GF

组相对丰度为 0，在 LGF 与 L-H 的相对丰度为 0.76%与 1.25%。单因素方差分析和 Duncan 多重比较表明，种植三七导致土壤曲霉属和拟青霉属(*Paecilomyces*)的相对丰度降低，且 LGF、GF 组相对丰度显著低于 L-H 和 L-S 组($P<0.05$)；GF 组被孢霉属相对丰度较低($P<0.05$)，但癭囊腔菌属(22.55%)和 *Tetracladium* (8.30%)的相对丰度较高($P<0.05$)；LGF 组镰刀菌属(17.30%)的相对丰度显著高于 L-H、L-S 与 GF 组($P<0.05$) (图 3)。此外，GF 组 *Bryobacter* 相对丰度显著低于 L-H、LGF 与 L-S 组，而鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)相对丰度较高($P<0.05$) (图 3)。

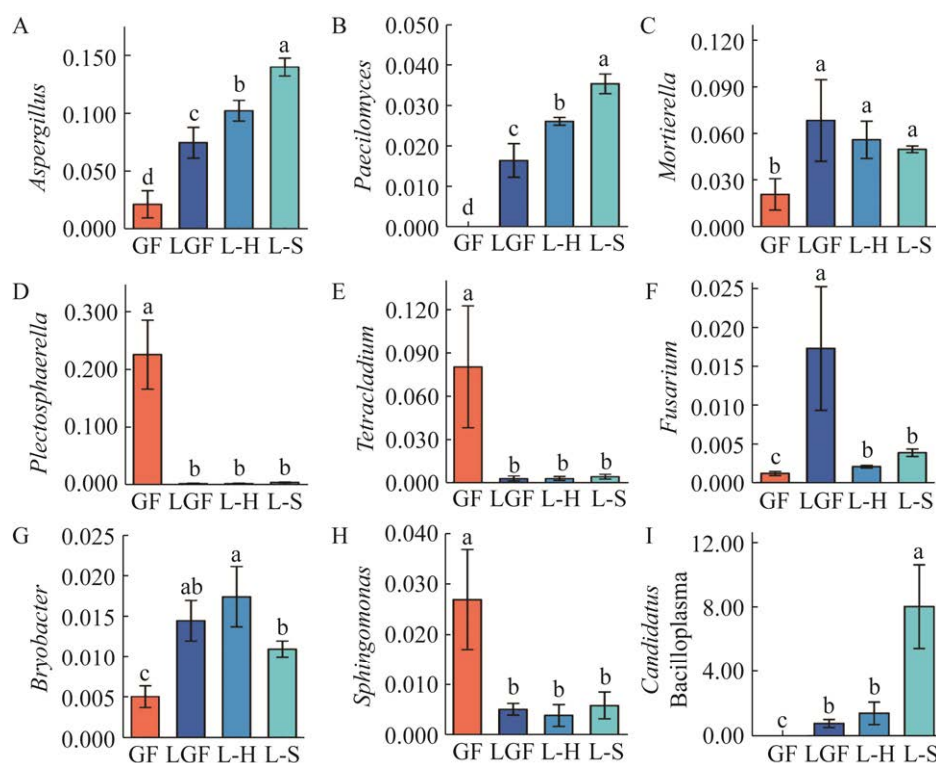


图 3 不同生境中三七根际土壤代表性真菌和细菌在属分类水平的相对丰度 A: 曲霉属. B: 拟青霉属. C: 被孢霉属. D: 癭囊腔菌属. E: *Tetracladium*. F: 镰刀菌属. G: *Bryobacter*. H: 鞘脂单胞菌属. I: *Candidatus Bacilloplasma*. 不同小写字母表示具有显著差异(Duncan 多重比较, $P<0.05$). 下同

Figure 3 Relative abundance of representative fungi and bacteria at the genus level in the rhizosphere soil of *Panax notoginseng* under different environment. A: *Aspergillus*. B: *Paecilomyces*. C: *Mortierella*. D: *Plectosphaerella*. E: *Tetracladium*. F: *Fusarium*. G: *Bryobacter*. H: *Sphingomonas*. I: *Candidatus Bacilloplasma*. Different lowercase letters indicate significant differences under Duncan's multiple comparisons at $P<0.05$. The same below.

2.2 不同生境中真菌和细菌群落 α 多样性

将原始测序数据经拼接、过滤和去除嵌合体后,基于 97% 的序列相似性划分 OTU,得到真菌 OTU 共 1 872 个,隶属于 10 门 31 纲 77 目 177 科 365 属 425 种;得到细菌 OTU 共 1 985 个,隶属于 31 门 81 纲 172 目 295 科 540 属与 591 种。不同生境中土壤真菌与细菌群落 OTU 丰富度稀疏曲线如图 4 所示,随着样本量的增加,OTU

丰富度趋于稳定。田间与自然林下生境中真菌和细菌特有 OTU 数目差异较大,其中 GF 组特有的真菌和细菌 OTU 数目为 220 个和 104 个, LGF 组特有的真菌和细菌 OTU 数目为 124 个和 3 个, L-H 和 L-S 组均无特有细菌 OTU,而特有的真菌 OTU 数目为 228 个和 193 个(图 5,表 1)。自然林下三七根际土壤具有更高的微生物多样性($P<0.05$) (图 6)。

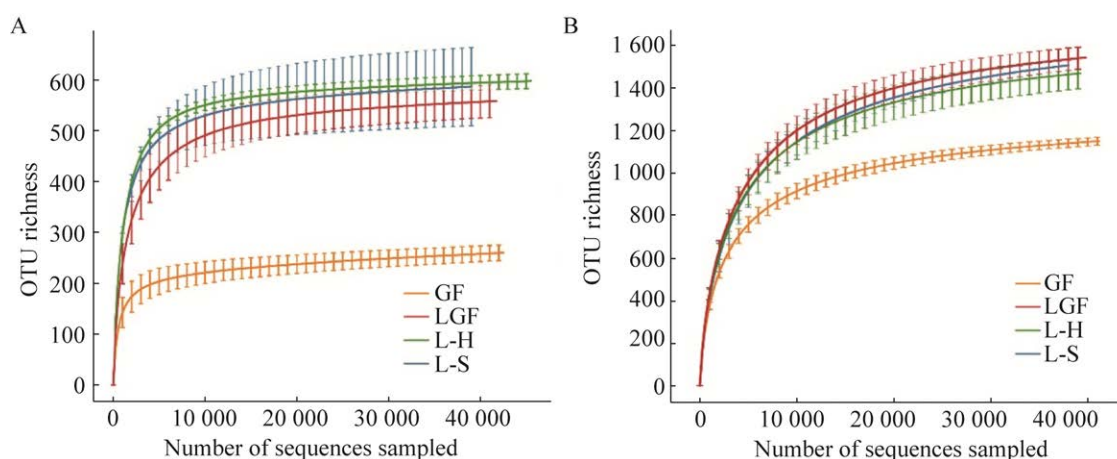


图 4 不同生境中土壤真菌(A)与细菌(B)群落 OTU 丰富度稀疏曲线

Figure 4 Rarefaction curves of OTU richness of soil fungal (A) and bacterial (B) communities under different environment.

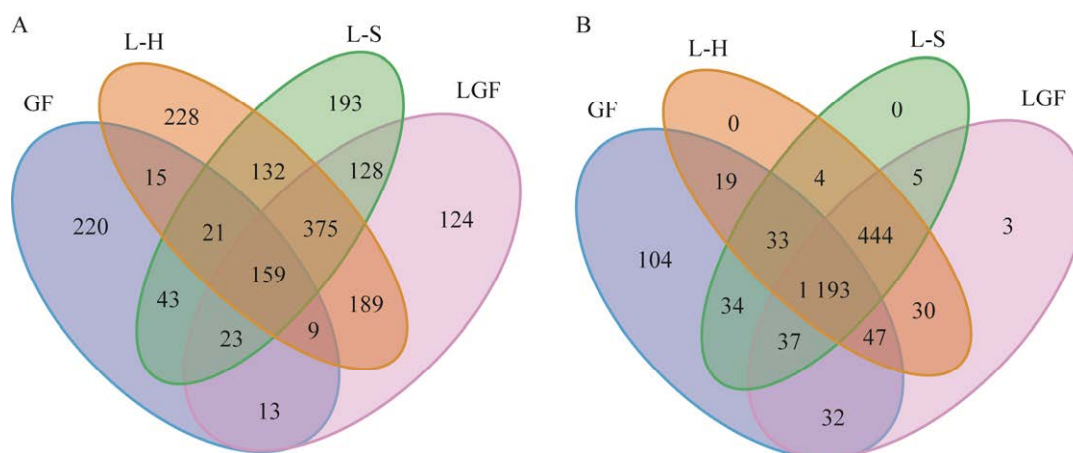


图 5 不同生境中三七根际土壤真菌(A)和细菌(B)特有 OTU 数量

Figure 5 Unique fungal (A) and bacterial (B) OTUs in the rhizosphere soil of *Panax notoginseng* under different environment.

表 1 不同生境中特有 OTU 在属分类水平的分布特征

Table 1 The distribution of unique OTUs in different habitats at genus level

分类	分组	特有 OTU 数目	包含特有 OTU 的菌属
Classification	Groups	Number of unique OTUs	Unique OTUs in different genera
真菌 Fungi	GF	220	<i>Pseudocamaropycnis</i> , <i>Xenopolyscytalum</i> , <i>Gamsylella</i> , <i>Grifola</i> , <i>Achroceratosphaeria</i>
	LGF	124	<i>Exophiala</i> , <i>Subulicystidium</i> , <i>Cyphellophora</i> , <i>Mortierella</i> , <i>Pseudosigmoidea</i>
	L-H	228	<i>Entoloma</i> , <i>Chaetosphaeria</i> , <i>Hirsutella</i> , <i>Pyrenochaeta</i> , <i>Isaria</i>
	L-S	193	<i>Pluteus</i> , <i>Hygrocybe</i> , <i>Entrophospora</i> , <i>Rotiferophthora</i> , <i>Oidiodendron</i>
细菌 Bacteria	GF	104	<i>Methylotenera</i> , <i>Methylotenera</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Arenimonas</i>
	LGF	3	<i>Flavobacterium</i> , <i>Azospirillum</i>

只列出了包含特有 OTU 数目较大的前 5 个属

Only 5 genera with a higher unique OTU number are listed.

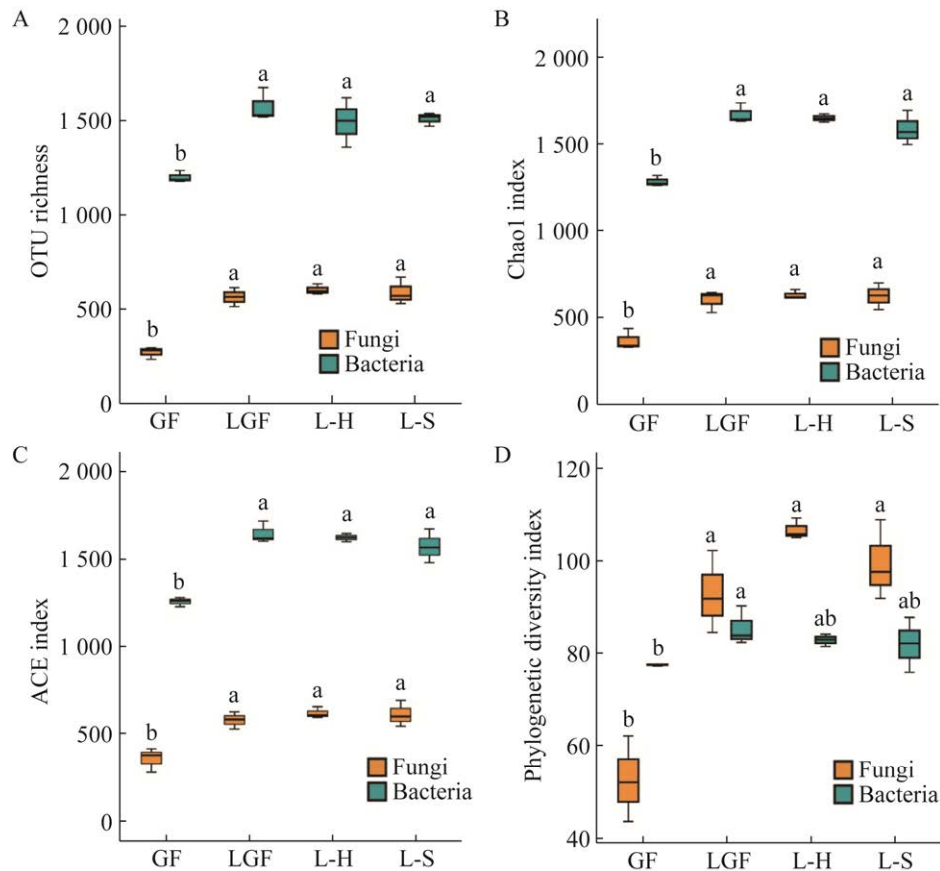


图 6 不同生境中三七根际土壤真菌和细菌群落 α 多样性指数 A: OTU 丰富度指数. B: Chao1 指数. C: ACE 指数. D: 系统发育多样性指数

Figure 6 Alpha diversity of fungal and bacterial community in the rhizosphere soil of *Panax notoginseng* under different environment. A: OTU richness. B: Chao1 index. C: ACE index. D: Phylogenetic diversity index.

2.3 不同生境中真菌和细菌群落分化特征

RDA 表明, GF 组与自然林下三七根际真菌和细菌群落存在明显分化, 且 LGF、L-H 与 L-S 组之间也存在明显差异(图 7A、7B)。ANOSIM 表明, 真菌与细菌群落的组间距离均显著大于组内距离(真菌: $R=0.494$, $P<0.001$; 细菌: $R=0.626$, $P<0.001$)(图 7C、7D)。

2.4 不同生境中土壤理化性质与酶活性

单因素方差分析表明, 田间与自然林下三七种植土壤理化性质和酶活性具有显著差异

($P<0.05$)(表 2)。GF 组土壤 pH、EC、AP 与 AK 含量均显著高于 LGF、L-H 与 L-S 组, 而 OM、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量则相反。自然森林土壤种植三七后 EC 值升高, 而 OM 含量降低, 且 LGF 组硝态氮含量显著高于 L-S 组($P<0.05$)。与自然森林土壤相比, 田间三七种植土壤磷酸酶、脲酶、蔗糖酶与蛋白酶活性均显著降低($P<0.05$)。RDA 表明, 土壤铵态氮、有机质含量与蔗糖酶、蛋白酶活性是影响自然林下三七根际微生物群落组成的重要土壤因子(图 7)。

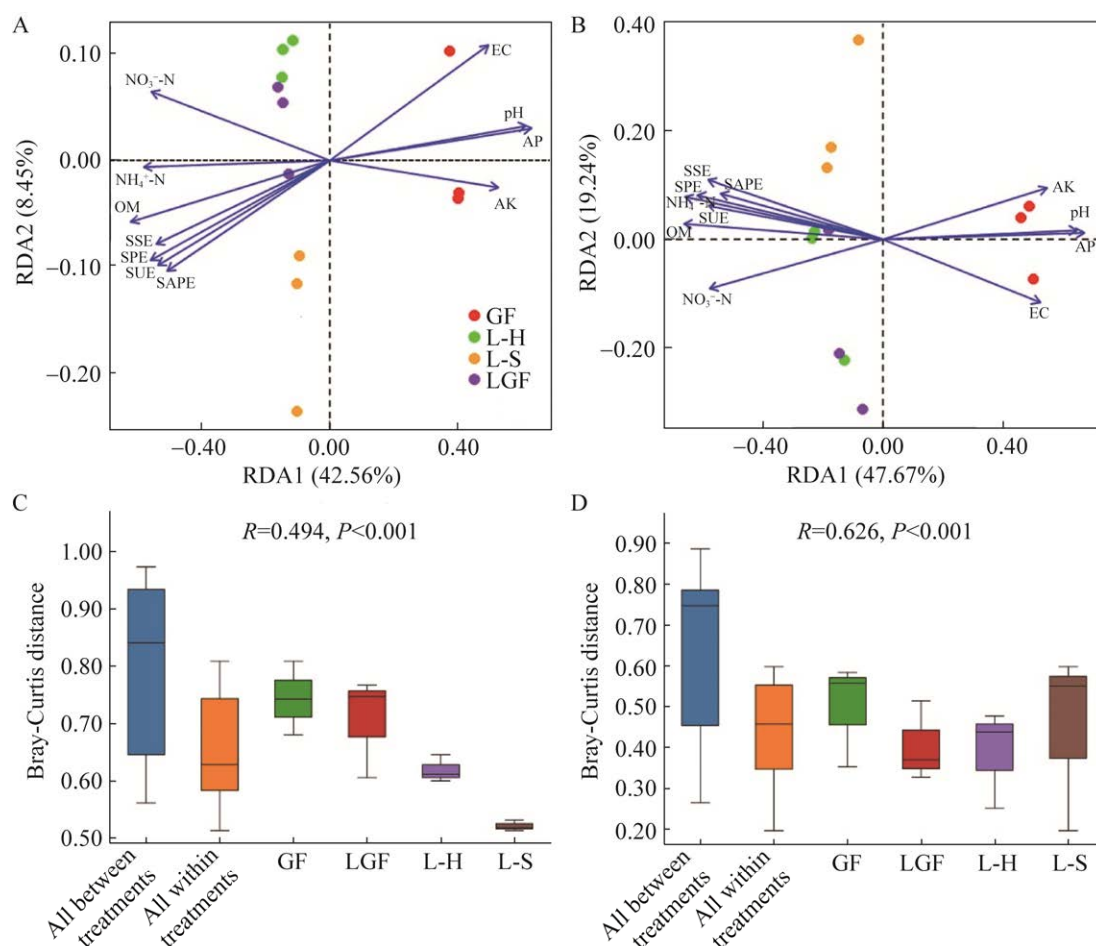


图 7 不同生境中三七根际土壤真菌和细菌群落 RDA 与 ANOSIM 结果 A 和 C: 真菌群落的 RDA 和 ANOSIM 结果. B 和 D: 细菌群落的 RDA 和 ANOSIM 结果

Figure 7 RDA and ANOSIM analyses of fungal and bacterial communities in the rhizosphere soil of *Panax notoginseng* under different environment. A and C: The results of the RDA and ANOSIM of fungal community. B and D: The results of the RDA and ANOSIM of bacterial community.

表 2 不同生境中三七种植土壤理化性质与酶活性

Table 2 Soil physicochemical properties and enzyme activities under different environment

Soil factors	GF	LGF	L-H	L-S
pH	5.73±0.08a	4.27±0.13b	4.50±0.11b	4.44±0.06b
EC (mS/cm)	0.11±0.01a	0.08±0.01bc	0.09±0.01b	0.07±0.01c
OM (%)	3.20±0.24c	15.49±0.34b	15.47±0.68b	17.51±0.09a
NH ₄ ⁺ -N (mg/kg)	9.57±0.57b	27.58±3.51a	31.19±3.58a	30.06±0.82a
NO ₃ ⁻ -N (mg/kg)	10.29±1.10c	56.85±8.17a	46.08±5.32ab	35.58±2.09b
AP (mg/kg)	21.34±1.77a	12.95±1.62b	13.11±1.19b	12.95±1.49b
AK (g/kg)	0.25±0.02a	0.17±0.01b	0.15±0.01b	0.19±0.01b
SAPE (mg/g)	0.26±0.01c	0.70±0.10ab	0.94±0.12a	0.65±0.10b
SUE (mg/g)	0.64±0.06b	1.72±0.15a	1.71±0.18a	1.54±0.08a
SSE (mg/g)	1.27±0.20b	2.77±0.27a	2.87±0.13a	3.36±0.37a
SPE (mg/g)	0.21±0.08b	0.31±0.16a	0.32±0.14a	0.36±0.11a

同一行不同字母标记表示具有显著差异(Duncan 多重比较, $P<0.05$)

Different letters marked in the same row indicate the significant difference under Duncan's multiple comparisons at $P<0.05$.

3 讨论

微生物群落特征是影响土壤质量和植物病害的关键因素,而不同生境中微生物的群落组成差异较大^[27]。本研究发现,与田间三七相比,自然林下三七根际土壤真菌和细菌多样性均显著升高。一方面,森林土壤有机质含量较高(表 2),有机物的分解为不同种类微生物的生长和繁殖提供了养分来源^[28];另一方面,由于田间土壤环境受耕种、施肥、农药等人为因素干扰,导致土壤生态系统退化,微生物多样性降低^[29-30]。此外,土壤微生物群落受植物根系的影响较大,森林中植物多样性较高,也可能导致土壤微生物多样性增加^[31]。三七属多年生免耕连作作物,长期高密度单一化种植可能使土壤微生物多样性降低、病原菌积累,从而引发严重的土传根腐病害问题^[32]。本研究发现,林下三七根际真菌群落 ACE 多样性指数与 *Fusarium* 相对丰度呈显著负相关(Spearman's $\rho = -0.829$, $P<0.05$),说明土壤中较高的微生物多样性可能使病原菌难以成为优势菌群,从而有利于防控三七土传病害^[33]。

本研究发现,自然林下和田间三七根际土壤真菌和细菌群落均存在明显分化,可能是林下与田间环境差异所致(图 7);此外, *Fusarium* 是林下根腐三七根际优势菌群,相对丰度为 17.30%,可能是导致林下三七根腐病害的重要病原菌群,而田间根腐三七根际优势菌群为 *Plectosphaerella*, 相对丰度为 22.55%,可能是导致田间三七根腐病害的重要病原菌群。镰刀菌是多种作物的主要致病菌^[34-35],如腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)、串珠镰刀菌(*Fusarium monilliforme* var. *intermedium*)、柔毛镰刀菌(*Fusarium flocciferum*)与尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)是三七根腐病的主要致病菌^[36];此外,高鑫媛等^[37]研究表明,镰刀菌属在北苍术(*Atractylodes chinensis*)根腐病株根际微生物群落中的相对丰度达 9.50%。因此,抑制镰刀菌的生长,降低其在群落中的相对丰度可有效降低三七根腐发病率^[38]。此外有研究表明, *Plectosphaerella cucumerina*、*Plectosphaerella pauciseptata*、*Plectosphaerella endophytica*、*Plectosphaerella sichuanensis* 与植物病害密切相关,且在陆生和水生生境中均有广泛分布^[39-40],

如 *P. pauciseptata* 是生菜、香菜和山萝卜根腐病的主要致病菌^[41]。本研究发现,在田间根腐三七根际微生物群落中 *Plectosphaerella* 的相对丰度较高(22.55%),可能是由于根腐三七根际微生物群落失衡导致病原菌大量繁殖。因此,通过采取有效措施降低 *Plectosphaerella* 在根际的相对丰度可有效防治三七根腐病害。*Tetracladium* 在田间根腐三七根际土壤中的相对丰度达 8.30%, Shao 等^[42]研究发现, *Tetracladium* 影响三七皂苷合成,但该菌群是否与三七根腐病害有关还有待进一步探究。此外,不同生境中细菌群落组成也存在较大差异(图 3),与自然林下三七相比,田间根腐三七根际土壤 *Bryobacter* 相对丰度显著降低。张媚等^[43]研究发现,山核桃林套种三七后土壤 *Bryobacter* 相对丰度降低,说明该菌群与三七种植有关。

本研究发现,田间与森林土壤理化性质与酶活性差异较大,田间土壤 pH、电导率与有效磷、速效钾含量较高(表 2),与施肥等密切相关^[43]。前期研究表明,速效养分含量过高可能导致土壤养分失衡,引发三七根腐病害^[3]。土壤酶活性影响着有机质的分解与养分循环过程,对作物生长具有重要影响^[20]。本研究发现,与田间三七种植土壤相比,林下土壤酶活性较高,可能与森林土壤有机质丰富(表 2)、微生物活性较高有关^[44]。Xu 等^[7]研究表明,连作三七存活率与土壤酶活性呈显著正相关。因此,田间三七种植过程中应注重调节土壤养分、提高有机质含量与酶活性,以缓解三七土传病害,促进作物生长。

4 结论

自然林下与田间根腐三七根际土壤中细菌和真菌群落组成具有明显差异,自然林下根腐三七根际土壤中担子菌门、酸杆菌门和疣微菌

门的相对丰度较高,而田间根腐三七根际土壤中子囊菌门、变形菌门和绿弯菌门的相对丰度较高。在属分类水平上,癣囊腔菌属是田间根腐三七根际土壤中的优势菌群,相对丰度达 22.55%,而镰刀菌属是自然林下根腐三七根际土壤中的优势菌群,相对丰度达 17.30%;自然林下三七根际微生物多样性显著高于田间根腐三七($P<0.05$),且不同生境中细菌和真菌群落存在明显分化。自然林下三七种植土壤具有更高的有机质含量与酶活性,可能更有利于三七的生长。本研究为三七仿野生栽培、生态种植与土传根腐病害防治提供了新的科学依据。

REFERENCES

- [1] 庞会婷, 罗朵生, 郭姣. 三七化学成分分析及其抗炎机制的网络药理学探讨[J]. 中草药, 2020, 51(21): 5538-5547.
PANG HT, LUO DS, GUO J. Study on chemical constituents of *Notoginseng Radix et Rhizoma* and network pharmacology of its anti-inflammatory mechanism[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2020, 51(21): 5538-5547 (in Chinese).
- [2] 孙雪婷, 李磊, 龙光强, 张广辉, 孟珍贵, 杨生超, 陈军文. 三七连作障碍研究进展[J]. 生态学杂志, 2015, 34(3): 885-893.
SUN XT, LI L, LONG GQ, ZHANG GH, MENG ZG, YANG SC, CHEN JW. The progress and prospect on consecutive monoculture problems of *Panax notoginseng*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2015, 34(3): 885-893 (in Chinese).
- [3] 王豪吉, 王昆艳, 李双丽, 宋鑫, 徐武美, 官会林. 影响连作地三七存活率的相关土壤因子研究[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(12): 2982-2984.
WANG HJ, WANG KY, LI SL, SONG X, XU WM, GUAN HL. Effects of different soil factors on the survival rate of *Panax notoginseng* in continuous cropping land[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2019, 30(12): 2982-2984 (in Chinese).
- [4] 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.
- [5] 陆晓菊, 官会林, 张正芸, 马永存, 唐蜀昆. 三七连作根际土壤微生物区系的 16S rRNA 系统遗传多样性[J]. 微生物学报, 2015, 55(2): 205-213.
- LU XJ, GUAN HL, ZHANG ZY, MA YC, TANG SK. Microbial distribution and 16S rRNA diversity in the rhizosphere soil of *Panax notoginseng*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2015, 55(2): 205-213 (in Chinese).
- [6] 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).
- [7] XU WM, WU FY, WANG HJ, ZHAO LY, LIU X, XIANG P, GUAN HL, MA LQ. Key soil parameters affecting the survival of *Panax notoginseng* under continuous cropping[J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 5656.
- [8] LIU HJ, YANG M, ZHU SS. Strategies to solve the problem of soil sickness of *Panax notoginseng* (Family: *Araliaceae*)[J]. Allelopathy Journal, 2019, 47(1): 37-56.
- [9] 吴声敢, 吴长兴, 陈丽萍, 苍涛, 俞瑞鲜, 王彦华, 赵学平. 氯化苦对环境生物的急性毒性与风险评价[J]. 农药学学报, 2011, 13(1): 47-52.
- WU SG, WU CX, CHEN LP, CANG T, YU RX, WANG YH, ZHAO XP. Acute toxicity and risk assessment of chloropicrin to environmental organism[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2011, 13(1): 47-52 (in Chinese).
- [10] 付丽娜, 汪娅婷, 王星, 姬广海, 魏兰芳. 三七连作根际微生物多样性研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2018, 33(2): 198-207.
- FU LN, WANG YT, WANG X, JI GH, WEI LF. The study on microbial diversity of rhizosphere in continuous cropping system of *Panax notoginseng*[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science Edition), 2018, 33(2): 198-207 (in Chinese).
- [11] 吴灿, 叶辰, 张俊星, 龚加寿, 李天尧, 杨敏, 王海宁, 朱书生. 思茅松林下生境差异对三七生长和品质的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2021, 36(4): 691-699.
- WU C, YE C, ZHANG JX, GONG JS, LI TY, YANG M, WANG HN, ZHU SS. Effect of habitat differences under the forest of *Pinus kesiya* var. *langbianensis* on the growth and quality of *Panax notoginseng*[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science Edition), 2021, 36(4): 691-699 (in Chinese).
- [12] 王柱华, 王文鹏, 刘以斌, 蒋春和, 杨宽, 朱有勇, 王扬, 何霞红. 云南省澜沧县林下三七根结线虫病害调查与侵染来源分析[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2021, 36(1): 60-68.
- WANG ZH, WANG WP, LIU YB, JIANG CH, YANG K, ZHU YY, WANG Y, HE XH. Investigation and infection source analysis of root knot nematode disease of *Panax notoginseng* in Lancang County, Yunnan Province[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science Edition), 2021, 36(1): 60-68 (in Chinese).
- [13] 杨宽, 张帅, 郭力维, 蒋春和, 王柱华, 朱有勇, 何霞红. 澜沧县林下三七圆斑病的发生及避雨栽培的控制效果[J]. 中药材, 2020, 43(12): 2857-2863.
- YANG K, ZHANG S, GUO LW, JIANG CH, WANG ZH, ZHU YY, HE XH. Occurrence of understory planted *Panax notoginseng* round spot in Lancang County and its control effect of rain-sheltered cultivation[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2020, 43(12): 2857-2863 (in Chinese).
- [14] GONG Z, LUO XQ, PENG J, GONG FW. Cultivation techniques of *Panax notoginseng* F. H. Chen under different forests[J]. Agricultural Science & Technology, 2016, 17(12): 2818-2822.
- [15] SHI R, GU HY, HE S, XIONG BJ, HUANG YG, HOROWITZ AR, HE XH. Comparative metagenomic and metabolomic profiling of rhizospheres of *Panax notoginseng* grown under forest and field conditions[J]. Agronomy, 2021, 11(12): 2488.
- [16] LUNDBERG DS, YOURSTONE S, MIECZKOWSKI P, JONES CD, DANGL JL. Practical innovations for high-throughput amplicon sequencing[J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 999-1002.
- [17] GARDES M, BRUNS TD. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes: application to the identification of mycorrhizae and rusts[J]. Molecular Ecology, 1993, 2(2): 113-118.
- [18] CHATTERTON NJ, HSIAO C, ASAY KH, JENSEN KB, WANG RRC. Nucleotide sequence of the internal transcribed spacer region of rDNA in the primitive oat species, *Avena longiglumis* Durieu (*Gramineae*)[J]. Plant Molecular Biology, 1992, 20(1): 163-164.

- [19] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- LU RK. Agricultural Chemical Analysis Method of Soil[M]. Beijing: China Agriculture Science and Technology Press, 2000 (in Chinese).
- [20] 王豪吉, 施梦馨, 徐应珪, 卢鸿铃, 徐武美, 官会林. 生物炭与有机肥配施对耕地红壤酶活性及作物产量的影响[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2021, 41(1): 56-63.
- WANG HJ, SHI MX, XU YY, LU HL, XU WM, GUAN HL. Effects of the combined application of biochar and organic fertilizer on the soil enzyme activity and crop yield of cultivated red soil[J]. Journal of Yunnan Normal University (Natural Sciences Edition), 2021, 41(1): 56-63 (in Chinese).
- [21] MAGOČ T, SALZBERG SL. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. Bioinformatics, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [22] BOLGER AM, LOHSE M, USADEL B. Trimmomatic: a flexible trimmer for illumina sequence data[J]. Bioinformatics, 2014, 30(15): 2114-2120.
- [23] EDGAR RC, HAAS BJ, CLEMENTE JC, QUINCE C, KNIGHT R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection[J]. Bioinformatics, 2011, 27(16): 2194-2200.
- [24] EDGAR RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998.
- [25] SCHLOSS PD, WESTCOTT SL, RYABIN T, HALL JR, HARTMANN M, HOLLISTER EB, LESNIEWSKI RA, OAKLEY BB, PARKS DH, ROBINSON CJ, SAHL JW, STRES B, THALLINGER GG, van HORN DJ, WEBER CF. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(23): 7537-7541.
- [26] DIXON P. VEGAN, a package of R functions for community ecology[J]. Journal of Vegetation Science, 2003, 14(6): 927-930.
- [27] STRUNNIKOVA OK, VISHNEVSKAYA NA, RUCHIY AS, SHAKHNAZAROVA VY, VOROBYOV NI, CHEBOTAR VK. The influence of soils with different textures on development, colonization capacity and interactions between *Fusarium culmorum* and *Pseudomonas fluorescens* in soil and on barley roots[J]. Plant and Soil, 2015, 389(1): 131-144.
- [28] VELMURUGAN A, SWARNAM TP, JAISANKAR I, SWAIN S, SUBRAMANI T. Vegetation-soil-microbial diversity influences ecosystem multifunctionality across different tropical coastal ecosystem types[J]. Tropical Ecology, 2022, 63(2): 273-285.
- [29] MOMOH D, EZE CL, OGBONNA DN. Impact of drifts resulting from pesticide application on soil microorganisms around waste receptacles in Port Harcourt city, Nigeria[J]. Biotechnology Journal International, 2020: 1-8.
- [30] 刘恩科, 赵秉强, 李秀英, 姜瑞波, 李燕婷, SO H. 长期施肥对土壤微生物量及土壤酶活性的影响[J]. 植物生态学报, 2008, 32(1): 176-182.
- LIU EK, ZHAO BQ, LI XY, JIANG RB, LI YT, SO H. Biological properties and enzymatic activity of arable soils affected by long-term different fertilization systems[J]. Journal of Plant Ecology, 2008, 32(1): 176-182 (in Chinese).
- [31] OBERHOLSTER T, VIKRAM S, COWAN D, VALVERDE A. Key microbial taxa in the rhizosphere of sorghum and sunflower grown in crop rotation[J]. Science of the Total Environment, 2018, 624: 530-539.
- [32] NING K, LI MZ, WEI GF, ZHOU YX, ZHANG GZ, HUAI H, WEI FG, CHEN ZJ, WANG Y, DONG LL, CHEN, SL. Genomic and transcriptomic analysis provide insights into root rot resistance in *Panax notoginseng*[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 775019.
- [33] ZHAO LY, XU WM, GUAN HL, WANG KY, XIANG P, WEI FG, YANG SZ, MIAO CP, MA LQ. Biochar increases *Panax notoginseng*'s survival under continuous cropping by improving soil properties and microbial diversity[J]. Science of the Total Environment, 2022, 850: 157990.
- [34] NA XF, MA SL, MA CX, LIU ZY, XU PX, ZHU HB, LIANG WY, KARDOL P. *Lycium barbarum* L. (goji berry) monocropping causes microbial diversity loss and induces *Fusarium* spp. enrichment at distinct soil layers[J]. Applied Soil Ecology, 2021, 168: 104107.
- [35] 郑立伟, 赵阳阳, 王一冰, 黄亚丽, 范凤翠, 刘胜尧. 不同连作年限甜瓜种植土壤性质和微生物多样性[J]. 微生物学通报, 2022, 49(1): 101-114.
- ZHENG LW, ZHAO YY, WANG YB, HUANG YL, FAN FC, LIU SY. Soil properties and microbial diversity in the muskmelon fields after continuous cropping for different years[J]. Microbiology China, 2022, 49(1): 101-114 (in Chinese).
- [36] 李宏伟, 郭富贵, 刘洋, 石富云, 董志祥, 张棋麟,

- 林连兵, 崔秀明, 袁明龙. 三七病虫害研究现状与展望[J]. 草业科学, 2019, 36(5): 1415-1427.
- LI HW, GUO FG, LIU Y, SHI FY, DONG ZX, ZHANG QL, LIN LB, CUI XM, YUAN ML. Research status and prospect on diseases and pests of *Panax notoginseng*[J]. Pratacultural Science, 2019, 36(5): 1415-1427 (in Chinese).
- [37] 高鑫媛, 赵红玲, 白茹玥, 李哲, 魏金月, 赵蓝青青, 赵春颖. 北苍术根腐病植株根际土壤真菌群落多样性分析[J]. 西南农业学报, 2022, 35(4): 812-821.
- GAO XY, ZHAO HL, BAI RY, LI Z, WEI JY, ZHAO LQQ, ZHAO CY. Diversity analysis of soil fungal communities in the inter-rhizosphere of *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. root rot plants[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2022, 35(4): 812-821 (in Chinese).
- [38] FAN ZY, MIAO CP, QIAO XG, ZHENG YK, CHEN HH, CHEN YW, XU LH, ZHAO LX, GUAN HL. Diversity, distribution, and antagonistic activities of rhizobacteria of *Panax notoginseng*[J]. Journal of Ginseng Research, 2016, 40(2): 97-104.
- [39] YANG XQ, MA SY, PENG ZX, WANG ZQ, QIAO M, YU ZF. Diversity of *Plectosphaerella* within aquatic plants from southwest China, with *P. endophytica* and *P. sichuanensis* spp. nov.[J]. MycoKeys, 2021, 80: 57-75.
- [40] CARLUCCI A, RAIMONDO ML, SANTOS J, PHILLIPS AJL. *Plectosphaerella* species associated with root and collar rots of horticultural crops in southern Italy[J]. Persoonia, 2012, 28: 34-48.
- [41] USAMI T, MORII S, MATSUBARA C, AMEMIYA Y. *Plectosphaerella* rot of lettuce, coriander, and chervil caused by *Plectosphaerella pauciseptata*[J]. Journal of General Plant Pathology, 2012, 78(5): 368-371.
- [42] SHAO H, ZHANG G, LIU G, ZHANG KM, PANG XY, ZHANG ZL. Correlation analysis of soil microorganisms and saponins from different origins of *Panax notoginseng*[J]. Allelopathy Journal, 2021, 53(2): 189-210.
- [43] 张媚, 林马水, 曹秀秀, 赵树民, 蒋达青, 王冰璇, 汪石莹, 樊炎迪, 郭明, 林海萍. 不同经营模式山核桃林地土壤 pH 值、养分与细菌多样性的差异[J]. 生物多样性, 2018, 26(6): 611-619.
- ZHANG M, LIN MS, CAO XX, ZHAO SM, JIANG DQ, WANG BX, WANG SY, FAN YD, GUO M, LIN HP. Difference in pH value and nutrient and bacterial diversity in the *Carya cathayensis* forest soil under different management models[J]. Biodiversity Science, 2018, 26(6): 611-619 (in Chinese).
- [44] 王凤娟, 秦绍龙, 张鸿雁, 刘娜. 不同森林类型土壤酶活性和微生物数量特征研究[J]. 陕西农业科学, 2021, 67(10): 75-80, 111.
- WANG FJ, QIN SL, ZHANG HY, LIU N. Characteristics of soil enzyme activity and microbial quantity of different forest types[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2021, 67(10): 75-80, 111 (in Chinese).