



连作对马铃薯酚酸类自毒物质及根际真菌群落的影响

龚 静¹, 马海艳¹, 郑顺林^{1,2}, 向竹清¹,
熊 湖¹, 黄 强¹, 方小婷¹

(1. 四川农业大学, 农业部西南作物生理生态与耕作重点实验室, 成都 611130;

2. 农业部薯类作物遗传育种重点实验室, 成都久森农业科技有限公司, 四川新都 610500)

摘 要 为研究连作对马铃薯根际土壤中酚酸类自毒物质及真菌群落的影响, 通过收集不同连作季(1季、3季、5季)马铃薯根际土壤, 利用高效液相色谱法测定酚酸类物质及 Illumina 高通量测序技术测定真菌 ITS 序列, 结果表明: (1) 连作土壤中检测出丁香酸、香豆酸、对羟基苯甲酸、阿魏酸, 连作增强后, pH 不断下降, 对羟基苯甲酸、阿魏酸含量不断增加, 丁香酸、香豆酸在连作 3 季后含量最高。 (2) 连作 3 季及 5 季根际土壤中真菌多样性及丰度均显著高于连作 1 季, 子囊菌门为连作土壤的优势菌门; 节丛孢属为连作 3 季的优势菌属, 盘菌属为连作 5 季的优势菌种; 对连作土壤进行主成分分析, 连作 1 季与连作 3 季真菌群落及数量相似, 与连作 5 季差异较大。 (3) 自毒物质与根际真菌群落存在相关性, 丁香酸与链格霉属, 香草酸与盘菌属丰度达极显著正相关; 阿魏酸与盘菌属丰度间为显著负相关。因此, 连作后根际土壤中自毒物质不断积累, 真菌群落结构发生改变, 链格孢霉、镰刀菌等有害真菌富集。

关键词 马铃薯; 连作; 酚酸物质; 高通量测序; 真菌群落

中图分类号 S154.37

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2021)03-0431-08

马铃薯成为中国第四大主粮后, 需求量增加, 与可选倒茬作物低效益间的矛盾导致连作障碍越发明显^[1]。自毒物质积累和根际微生物群落结构的改变是导致连作障碍发生的两个重要因素^[2-3]。目前, 烤烟^[4]、花生^[5]、甜茶^[6]、三七^[7]等作物中证实对羟基苯甲酸、香草酸、丁香酸、阿魏酸等化合物为主要的自毒物质, 连作后土壤中细菌数量下降, 真菌数量增加^[8], 包括青霉、曲霉、镰霉、粉孢霉等非病原性腐生菌及寄生性菌^[9]。土壤中自毒物质与微生物存在一定相关性^[10], 研究表明, 酚酸积累促进了人参锈腐病菌菌丝生长, 使人参爆发锈腐病^[11], 其通过改变微生物数量和种群的结构间接影响植物生长^[12], 造成经济损失。目前连作条件下马铃薯根际土壤中酚酸类物质及真菌群落间的相关性还有待进一步研究。本研究采用 HPLC 法和高通量测序技术, 研究了不同连作季马铃薯根际土壤中化感物质与真菌群落的变化以及分析二者的相关性, 旨在对马铃薯连作下根际

土壤中化感类物质及微生物群落变化有更深刻的认识, 为西南地区马铃薯生产及农田生态系统可持续性发展提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试材为‘费乌瑞它’, 选取 30~45 g 均匀一致的原种做种薯。

1.2 试验设计

于 2017 年 8 月下旬至 2019 年 8 月上旬在四川农业大学三教楼顶温棚开展盆栽试验, 土壤以蛭石与珍珠岩 3:1(体积比)进行配比, 试验盆规格为 37 cm×37 cm×24 cm, 每盆 4 kg 基质土。采用单因素随机区组试验设计, 在连作 1 季的土壤上继续种植第 2 季, 连作 2 季的基础上继续种植第 3 季(LZ3), 以此类推, 连续种植 5 季, 每季重复 12 次, 共计 60 盆, 具体试验设计见表 1。每季马铃薯收获后清理盆内土壤中残体、残根, 待出

收稿日期:2020-04-07 修回日期:2020-06-14

基金项目:国家重点研发计划(2018YFD0200808);四川省育种攻关及配套项目(2016NYZ0051-5, 2016NYZ0032);国家现代农业产业技术体系四川薯类创新团队(川财教[2019]59号)。

第一作者:龚 静, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为马铃薯高产栽培。E-mail:316012853@qq.com

通信作者:郑顺林, 男, 博士, 教授, 研究方向为薯类栽培理论与技术。E-mail:248977311@qq.com

苗约 1 cm 施加改良赫格兰德营养液提供植株营 理同当地大田管理。
 养,每 4 d 一次,直到马铃薯块茎形成期,期间管

表 1 试验设计

Table 1 Experimental design

| 时间 Time | 连作 5 季 LZ5 | 连作 3 季 LZ3 | 连作 1 季(CK) LZ1(CK) |
|------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 2017-08 | 播种第 1 季 Sowing 1 season | 待播种 To be sown | 待播种 To be sown |
| 2017-12 | 播种第 2 季 Sowing 2 seasons | 待播种 To be sown | 待播种 To be sown |
| 2018-03 | 播种第 3 季 Sowing 3 seasons | 播种第 1 季 Sowing 1 season | 待播种 To be sown |
| 2018-05 | 播种第 4 季 Sowing 4 seasons | 播种第 2 季 Sowing 2 seasons | 待播种 To be sown |
| 2018-08 | 播种第 5 季 Sowing 5 seasons | 播种第 3 季 Sowing 3 seasons | 播种第 1 季 Sowing 1 season |
| 2018-08 | 收获,共 5 季 Total 5 seasons | 收获,共 3 季 Total 3 seasons | 收获,共 1 季 Total 1 season |

1.3 采样方法及测定指标

于连作 5 季时马铃薯块茎成熟期采用抖根法收集种植 1、3、5 季根际土壤(0~20 cm),将根系完整取出后,抖落并弃去与根系联系较松的土壤,再用小刷子轻轻将与根系密切接触的土壤刷入到采样袋中,混合均匀后用无菌塑封袋分装为 2 份,一份保存于-80 °C 冰箱,用于高通量测序;一份风干后用于酚酸测定。

采用高效液相色谱法(HPLC)测定土壤中酚酸含量及种类,具体参考熊湖等^[13]的测定方法,略有改进;总酚含量采用福林酚比色法^[14]测定;土壤 pH 采用电位法^[15];真菌群落测定由上海微分基因公司完成测序。

1.4 数据处理与分析

真菌群落分析参考上海微分基因公司数据处

理方法,其他采用 Excel 2007 进行数据分析,DPS 5.0 进行方差分析(LSD 法)。

2 结果与分析

2.1 连作对马铃薯根际土壤中酚酸类物质的影响

表 2 可知,对羟基苯甲酸与阿魏酸含量呈上升趋势,丁香酸、香豆酸和总酚含量呈先上升后下降趋势,土壤 pH 不断下降。其中 LZ5 处理下对羟基苯甲酸与阿魏酸含量显著($P < 0.05$)高于 LZ1 和 LZ3;丁香酸与香豆酸含量在 LZ3 时显著($P < 0.05$)高于 LZ1 和 LZ5;LZ3 和 LZ1 间总酚含量达显著差异;LZ5 土壤 pH 显著低于 LZ1 和 LZ3。因此,连作对马铃薯根际土壤中酚酸和土壤 pH 有较为显著的影响。

表 2 马铃薯根际土壤中酚酸类物质含量及 pH($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Content and pH of phenolic acids in potato rhizosphere soil

| 处理 Treatment | 对羟基苯甲酸 Hydroxybenzoic acid | 丁香酸 Syringic acid | 香豆酸 Coumaric acid | 阿魏酸 Ferulic acid | 总酚 Total phenol | pH |
|-----------------|-------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------|--------------------|--------------|
| LZ1(CK) | 0.95±0.07 bB | 0.54±0.21 bB | 1.11±0.16 cC | 3.76±0.51 cC | 59.03±6.28 bB | 7.73±0.05 aA |
| LZ3 | 1.43±0.44 bB | 1.77±0.23 aA | 6.77±0.25 aA | 13.15±0.70 bB | 222.39±5.35 aA | 7.60±0.00 aA |
| LZ5 | 6.69±0.84 aA | 0.86±0.03 bB | 4.49±0.10 bB | 23.79±2.04 aA | 209.34±19.10 aA | 7.07±0.09 bB |

注:同列数据后标不同大写字母表示差异达极显著水平($P < 0.01$),不同小写字母表示差异达显著水平($P < 0.05$),下同。

Note: Different uppercase and lowercase letters within the same columns indicate significant differences at levels of 0.05 and 0.01, respectively, the same below.

2.2 马铃薯连作对根际土壤中真菌群落的影响

2.2.1 测序结果分析 对 9 个连作根际土壤进行质控后得到 408 251 个优质序列,在 97% 相似度下进行 OTU 聚类后得到 1 584 个 OTUs。

由图 1 可以看出,3 个处理中 OTU 总数分别为 251 个、310 个、219 个,共 780 个。其中 LZ1 和 LZ3 共有 OTU 种类 151 种,与 LZ5 共有 114 种,LZ3 和 LZ5 共 138 种,3 个根际土壤中共同

OTU 种类为 93 个,表明不同连作处理间的组成和结构存在着差异。

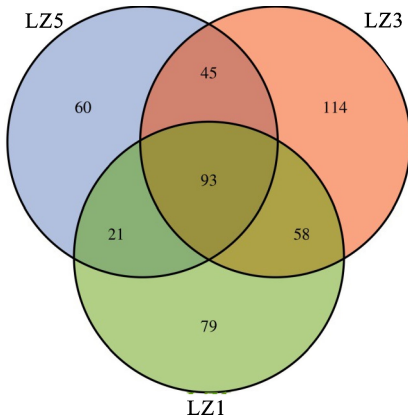
2.2.2 土壤真菌多样性 由表 3 可知,Chao1 指数、Shannon 指数、Simpson 指数趋势一致,均为先增加后下降,Observed Species 指数呈现先下降后升高的趋势。LZ3 处理下 Chao1 指数、Shannon 指数、Simpson 指数与 LZ5 差异不显著,显著高于 LZ1;LZ3 时 Observed Species 指数显

著($P < 0.05$)低于其他两季。因此,不同连作下 真菌多样性差异较大。

表 3 马铃薯根际土壤中真菌多样性

Table 3 Fungi diversity in potato rhizosphere soil

| 处理 Treatment | Chao1 指数 Chao1-index | 香农指数 Shannon-index | 辛普森指数 Simpson-index | 物种种类指数 Species-index |
|-----------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| LZ1(CK) | 143.52±14.92 bB | 2.95±0.47 bB | 0.73±0.09 bB | 209.33±12.47 aA |
| LZ3 | 221.89±14.78 aA | 4.97±0.40 aA | 0.93±0.02 aA | 131.67±10.34 bB |
| LZ5 | 192.31±12.81 aAB | 4.72±0.16 aA | 0.89±0.02 aAB | 184.33±8.50 aA |



不同颜色图形代表不同样品;不同颜色重叠交替部分数字为两个样品间共有 OTU 个数

Different color graphics represent different samples; the number of overlapping parts of different colors is total number of OTU between two samples

图 1 马铃薯根际土壤中真菌群落种类的 OTU 统计

Fig. 1 OTU statistics of fungal community species in potato rhizosphere soil

2.2.3 土壤真菌群落结构 筛选出丰度排名前 20 真菌进行统计分析,连作土壤中共检出 6 个真菌门群落(表 4),包括子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、丝孢菌门(Mortierellomycota)、小孢子菌门(Calcarisporiellomycota)、毛霉门(Mucoromycota)、球囊菌门(Glomeromycota),子囊菌门不同连作处理占比均高于 80%, LZ1 检测出小孢子菌门, LZ5 中未检测出球囊菌门。

LZ1 的优势菌为节丛孢属,占比为 62.68%,其次为被孢霉属、枝孢霉属、镰刀菌属;节丛孢属、枝孢霉属、被孢霉属、镰刀菌属、曲霉属为 LZ3 的优势菌属,分别占比 19.49%、17.89%、17.64%、14.60%、9.41%; LZ5 时盘菌属为优势真菌,占比达 69.37%,其次为链格孢属、枝孢霉属、其他未知菌,表明 LZ1 和 LZ3 间真菌群落组成类型相似,但比例差异较大,而 LZ3 与 LZ5 间组成差异

较大。

2.2.4 土壤真菌群落的主成分(PCoA)分析

采用主成分法分析不同连作处理土壤真菌群落组成结构及距离差异(图 2)。结果显示,2 个主成分的方差累积贡献率为 88.41%,第一轴(PC1)解释样品中 63.83%的变量,第二轴(PC2)解释了 24.58%的变量。LZ1、LZ3、LZ5 分别分布在第三、二、四象限, LZ3 和 LZ1 间横坐标间距离较短,进一步证明这两季间差异较小,群落结构相似,与 LZ5 分布较远,群落结构差异较大,说明不同连作条件对土壤中真菌群落结构组成的影响差异明显,连作 3 季可能是连作障碍发生的临界点。

2.3 相关性分析

通过对属水平下优势菌种丰度与根际土壤中酚酸及 pH 进行相关关系分析(表 5),丁香酸与被孢霉属之间存在显著($P < 0.05$)正相关关系,与链格霉属之间存在极显著($P < 0.01$)正相关关系;香草酸与盘菌属之间存在极显著($P < 0.01$)正相关关系,与被孢霉属之间存在显著($P < 0.05$)正相关关系;阿魏酸与节丛孢属之间存在显著($P < 0.05$)正相关关系,与盘菌属之间存在显著($P < 0.05$)负相关关系。

3 讨论

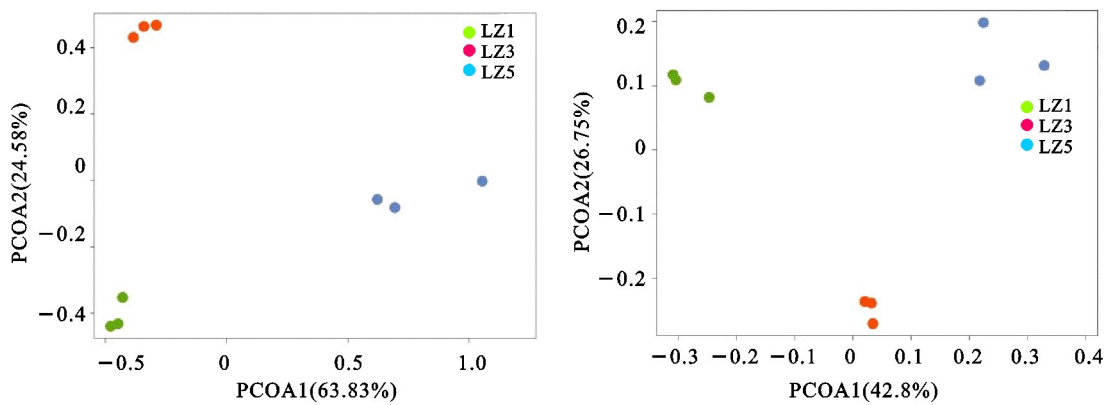
3.1 连作对马铃薯根际酚酸类物质的影响

前人在西瓜^[16]、西洋参^[17]连作土壤中证明棕榈酸、香豆酸等多种酚类化合物的积累是作物连作障碍产生的重要原因之一^[18]。本研究中,连作根际土壤检测出对羟基苯甲酸、丁香酸、香豆酸、阿魏酸等 4 种酚酸,连作后对羟基苯甲酸、阿魏酸不断增加,丁香酸、香豆酸在连作 3 季达到最大值,总酚含量反应一致,说明引起马铃薯连作障碍的酚酸不一定含量高,可能是丁香酸或其他未发现的酚酸,还有待进一步研究,连作后根际土壤 pH 下降,土壤酸化,病原菌滋生,植物抵御病虫害的能力下降^[19]。

表 4 马铃薯根际土壤中真菌群落结构及丰度

Table 4 Community structure and abundance of fungi in potato rhizosphere soil

| 分类 Classification | 真菌优势门及属名称 Phylum and genus | LZ1(CK) | LZ3 | LZ5 |
|----------------------|-------------------------------|---------|-------|-------|
| 门水平 Phylum | 子囊菌门 Ascomycota | 91.11 | 84.40 | 99.29 |
| | 丝孢菌门 Mortierellomycota | 6.78 | 11.22 | 0.01 |
| | 担子菌门 Basidiomycota | 0.75 | 1.96 | 0.67 |
| | 毛霉亚门 Mucoromycota | 0.1 | 2.37 | 0.02 |
| | 球囊菌门 Glomeromycota | 1.1 | 0.05 | 0 |
| | 小孢子菌门 Calcarisporiellomycota | 0.16 | 0 | 0 |
| 属水平 Genus | 节丛孢属 <i>Arthrotrrys</i> | 62.68 | 19.49 | 0.01 |
| | 盘菌属 <i>Peziza</i> | 0.01 | 0.27 | 69.37 |
| | 枝孢霉属 <i>Cladosporium</i> | 8.59 | 17.89 | 6.24 |
| | 被孢霉属 <i>Mortierella</i> | 8.7 | 17.64 | 0.02 |
| | 镰刀菌属 <i>Fusarium</i> | 4.58 | 14.60 | 0.21 |
| | 链格孢属 <i>Alternaria</i> | 5 | 2.61 | 10.38 |
| | 曲霉属 <i>Aspergillus</i> | 0.68 | 9.41 | 1.52 |
| | 球壳属 <i>Plectosphaerella</i> | 2.25 | 2.57 | 0.84 |
| | 葡萄穗霉属 <i>Stachybotrys</i> | 2 | 1.98 | 0 |
| | 根霉菌属 <i>Rhizopus</i> | 0 | 3.86 | 0.04 |
| | 色串孢属 <i>Torula</i> | 0.01 | 0 | 3.37 |
| | 青霉属 <i>Penicillium</i> | 0.09 | 1.16 | 1.03 |
| | 毛壳菌属 <i>Chaetomium</i> | 0.06 | 1.08 | 0.95 |
| | 黑孢壳属 <i>Melanospora</i> | 0 | 1.79 | 0 |
| | 圆盘菌属 <i>Orbilia</i> | 0 | 0 | 1.17 |
| | <i>Eupenidiella</i> | 0.27 | 0.51 | 0.03 |
| | 刚毛四枝孢菌属 <i>Tetracladium</i> | 0.82 | 0.01 | 0 |
| | 枝顶孢霉属 <i>Acremonium</i> | 0.03 | 0.79 | 0.01 |
| | 凯氏腔菌属 <i>Keissleriella</i> | 0 | 0 | 0.69 |
| | 球腔菌属 <i>Phaeosphaeria</i> | 0.02 | 0.09 | 0.53 |
| 其他 Other | 4.23 | 4.26 | 3.59 | |



纵横坐标表示第一、二主成分, 括号中数据表示第一、二主成分对样品的贡献率

Horizontal and vertical coordinates denote first and second principal components, and data in parentheses denote contribution rate of first and second principal components to samples

图 2 根际土壤中真菌群落主成分(PCoA)分析

Fig. 2 Analysis of main components of fungal communities (PCoA) in continuous cropping soil

表 5 属水平下优势菌种丰度与土壤酚酸含量及 pH 的相关性

Table 5 Correlation between abundance of dominant strains and content and pH of soil phenolic acid at genus level

| 属水平下优势菌种 Dominant genus | 对羟基苯甲酸 Hydroxybenzoic acid | 丁香酸 Syringic acid | 香豆酸 Coumaric acid | 阿魏酸 Ferulic acid | 总酚 Total phenol | pH |
|----------------------------|-------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------|--------------------|-------|
| 节丛孢属 <i>Arthrotrichys</i> | -0.74 | -0.65 | 0.95 | 0.98 * | -0.90 | -0.68 |
| 盘菌属 <i>Peziza</i> | -0.02 | -0.86 | 0.99 ** | -0.97 * | 0.93 | 0.93 |
| 枝孢霉属 <i>Cladosporium</i> | 0.30 | -0.73 | -0.85 | 0.82 | -0.68 | -0.54 |
| 被孢霉属 <i>Mortierella</i> | 0.09 | 0.95 * | 0.96 * | -0.82 | 0.85 | -0.19 |
| 镰刀菌属 <i>Fusarium</i> | -0.50 | -0.42 | -0.60 | 0.72 | 0.59 | 0.70 |
| 链格孢属 <i>Alternaria</i> | -0.30 | 1.00 ** | 0.90 | 0.41 | -0.33 | 0.15 |
| 曲霉属 <i>Aspergillus</i> | -0.79 | -0.26 | 0.68 | -0.52 | 0.29 | -0.88 |

注 Note: * $P < 0.01$, ** $P < 0.05$.

3.2 连作对马铃薯根际土壤中真菌群落的影响

土壤微生物多样性是土壤环境的健康状况的重要指标^[20]。本研究显示,土壤中真菌多样性随连作加深呈先增加后下降的趋势,这与在丹参、花生、烟草等连作土壤中真菌多样性研究一致^[21-23],与大豆^[24]不一致,但与丁香酸、香豆酸趋势相同,推测可能和这些根际分泌物积累变化有关。

某些特定植物病原微生物富集会引作物感病,如镰刀菌富集后引起花生的根腐病^[25]。本研究表明,连作土壤中子囊菌门为优势种群。节丛孢属同为连作 1 季与连作 3 季优势菌群,两季的真菌结构类似,连作 5 季的优势真菌主要为盘菌属,也包括引起马铃薯块茎腐病的镰刀霉属和早疫病的珧格孢霉属,说明连作改变了土壤真菌群落结构,连作 3 季可能是一个临界点,在此之后有害真菌丰度增加,真菌群落结构的失衡后有害真菌富集也是连作障碍产生的重要因素。

自毒物质的积累与土壤微生物存在密切的联系^[26]。根际微生物对根际分泌的自毒物质代谢和降解使其发生改变,进一步影响土壤微生物的种类和分布^[27]。本研究中酚酸类物质与真菌群落结构关系密切,不同类型真菌丰度群落对不同酚酸的反映不一致,丁香酸、香豆酸、阿魏酸对链格孢属、被孢霉属等真菌丰度表现为正相关性,可能是这几种酚酸为微生物提供了能源,加快了新陈代谢,增加了微生物数量^[28],如苯甲酸、肉桂酸增加了枯萎病的发病几率^[29]。阿魏酸与盘菌属间表现为负相关,可能是因为阿魏酸不是盘菌属的主要碳源,因此不利于该类真菌的繁殖。综上,马铃薯根际分泌物改变了根际真菌群落结构。

4 结论

马铃薯连作后根际土壤中 4 种酚酸类物质趋

势不同,阿魏酸、对羟基苯甲酸在连作 5 季含量最高,丁香酸、香豆酸含量在连作 3 季最高。

连作改变根际微生物群落,使真菌多样性增加,连作 3 季后具有最高多样性,连作增加了病菌的数量和丰度,连作 5 季的优势菌包括盘菌属、镰刀菌属和珧格孢霉属,而连作 1 季和 3 季间真菌结构更相似。

综上所述,连作 3 季为连作障碍发生的临界点,而根际自毒物质和土壤微生物群落的改变存在关联性,为今后缓解马铃薯连作障碍提供了理论依据。

参考文献 Reference:

- [1] 王静怡,陈珏颖,刘合光. 中国马铃薯贸易现状和出口影响因素分析[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(11): 610-613.
WANG J Y, CHEN Y Y, LIU G H. Analysis of China's potato trade status and influencing factors[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2015, 43(11): 610-613.
- [2] 田给林,毕艳孟,孙振钧,等. 酚酸类物质在作物连作障碍中的化感效应及其调控研究进展[J]. 中国科技论文, 2016, 11(6): 699-705.
TIAN J L, BI Y M, SUN ZH J, et al. Progress in allelopathic effect and regulation of phenolic acids for continuous cropping obstacle system[J]. *China Sciencepaper*, 2016, 11(6): 699-705.
- [3] 孙文庆,康亚龙,刘建国,等. 加工番茄连作对土壤微生物群落多样性的影响[J]. 西北农业学报, 2017, 26(7): 1099-1110.
SUN W Q, KANG Y L, LIU J G, et al. Influence of continuous of processing tomato on diversity of microflora in the rhizosphere soil[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2017, 26(7): 1099-1110.
- [4] 蔡秋华,左进香. 抗性烤烟品种根际微生物数量及功能多样性差异[J]. 应用生态学报, 2015, 26(12): 3766-3772.
CAI Q H, ZUO J X. Difference of rhizosphere microbe quantity and functional diversity among three flue-cured to-

- bacco cultivars with different resistance[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(12): 3766-3772.
- [5] 滕应,任文杰,李振高,等.花生连作障碍发生机理研究进展[J]. *土壤*, 2015, 47(2): 259-265.
TENG Y, REN W J, LI ZH G, *et al.* Advance in mechanism of peanut continuous cropping obstacle[J]. *Soils*, 2015, 47(2): 259-265.
- [6] 王晓芳,徐少卓,王玫,等.万寿菊生物熏蒸对连作苹果幼苗和土壤微生物的影响[J]. *土壤学报*, 2018, 55(1): 213-224.
WANG X F, XU SH ZH, WANG M, *et al.* Effects of soil biofumigation using *tages erecta* powder on growth of *Malus hupehensis* Rehd. seedlings and soil microorganisms in old apple orchard soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2018, 55(1): 213-224.
- [7] 张金燕,孙雪婷.连作三七根际土壤化感物质检测及其提取液对3种作物种子萌发的影响[J]. *南方农业学报*, 2017, 48(7): 1178-1184.
ZHANG J Y, SUN X T. Allelochemical detection from rhizosphere soil of continuous cropping *Panax notoginseng* and effects of the extracts on seed germination of three crops[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2017, 48(7): 1178-1184.
- [8] 马宁宁,李天来.设施番茄长期连作土壤微生物群落结构及多样性分析[J]. *园艺学报*, 2013, 40(2): 255-264.
MA N N, LI T L. Effect of long-term continuous cropping of protected tomato on soil microbial community structure and diversity[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2013, 40(2): 255-264.
- [9] 曲波,祝明炜,杨红,等.辽宁省刺萼龙葵入侵区和未入侵区土壤真菌多样性研究[J]. *草业学报*, 2011, 20(3): 298-303.
QU B, ZHU M W, YANG H, *et al.* Study on soil fungal diversity of solanum rostratum-invaded and non-invaded areas in Liaoning province[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2011, 20(3): 298-303.
- [10] 安志刚,郭凤霞,陈垣,等.连作自毒物质与根际微生物互作研究进展[J]. *土壤通报*, 2018, 49(3): 750-756.
AN ZH G, GUO F X, CHEN Y, *et al.* Advances in interactions between autotoxic compounds and rhizosphere microbes in continuous cropping obstacles[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2018, 49(3): 750-756.
- [11] 李自博,周如军,解宇娇,等.人参连作根际土壤中酚酸物质对人参锈腐病菌的化感效应[J]. *应用生态学报*, 2016, 27(11): 3616-3622.
LI Z B, ZHOU R J, XIE Y J, *et al.* Allelopathic effects of phenolic compounds of ginseng root rhizosphere on *Cylindrocarpon destructans* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27(11): 3616-3622.
- [12] 田给林,毕艳孟,孙振钧.酚酸类物质在作物连作障碍中的化感效应及其调控研究进展[J]. *中国科技论文*, 2016, 11(6): 699-705.
TIAN G L, BI Y M, SUN ZH J. Progress in allelopathic effect and regulation of phenolic acids for continuous cropping obstacle system [J]. *China Sciencepaper*, 2016, 11(6): 699-705.
- [13] 熊湖,郑顺林,黄强,等.不同连作方式马铃薯土壤中3种酚酸测定方法研究[J]. *广东农业科学*, 2019, 46(4): 7-13.
XIONG H, ZHENG SH L, HUANG Q, *et al.* Study on the determination method of three kinds of phenolic acids in potato soil under different continuous cropping patterns [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2019, 46(4): 7-13.
- [14] 李娟,麻晓雪,李顺祥,等.铁皮石斛中总酚的含量测定[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(24): 60-62.
LI J, MA X X, LI SH X, *et al.* Determination of total phenols in *dendrobii officinalis* caulis[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formula*, 2013, 19(24): 60-62.
- [15] 高飞,李昌伟,于跃跃,等.改进电位法测定土壤pH方法的探讨[J]. *中国农技推广*, 2014, 30(7): 43-47.
GAO F, LI CH W, YU Y Y, *et al.* Discussion on improved potential method for measuring soil pH[J]. *China Agricultural Technology Extension*, 2014, 30(7): 43-47.
- [16] HAO W Y, REN L X, *et al.* Allelopathic effects of root exudates from watermelon and rice plants on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* [J]. *Plant & Soil*, 2010, 336(1/2): 485-497.
- [17] 王玉萍,赵杨景,邵迪,等.西洋参根系分泌物的初步研究[J]. *中国中药杂志*, 2005, 30(3): 229-231.
WANG Y P, ZHAO Y J, SHAO D, *et al.* A Preliminary study of american ginseng root exudates[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2005, 30(3): 229-231.
- [18] 白羽祥,杨焕文,徐照丽,等.连作植烟土壤中酚酸物质与土壤因子的关系分析[J]. *浙江农业学报*, 2018, 30(11): 1907-1914.
BAI Y X, YANG H W, XU ZH L, *et al.* Relationship within phenolic acids and soil properties in continuous cropping tobacco soil[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2018, 30(11): 1907-1914.
- [19] 孙雪婷,龙光强,张广辉,等.基于三七连作障碍的土壤理化性状及酶活性研究[J]. *生态环境学报*, 2015, 24(3): 409-417.
SUN X T, LONG G Q, ZHANG G H, *et al.* Properties of soil physical-chemistry and activities of soil enzymes in context of continuous cropping obstacles for *Panax notoginseng* [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2015, 24(3): 409-417.
- [20] JONES D L, HINSINGER P. The rhizosphere: complex by design[J]. *Plant and Soil*, 2008, 312(1-2): 1-6.
- [21] 刘伟,周冰谦,王晓,等.基于ITS序列的丹参连作根际土壤真菌群落组成及多样性分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(9): 130-135.
LIU W, ZHOU B Q, WANG X, *et al.* Analysis of rhizo-

- sphere soil fungal community composition and diversity of *Salvia miltiorrhiza* based on ITS sequences[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2019, 25(9): 130-135.
- [22] 李 婧, 陈广波, 张 坤, 等. 花生连作红壤芽孢杆菌的群落多样性及其生防效果研究[J]. 土壤, 2012, 44(5): 776-781.
LI J, CHEN G B, ZHANG K, *et al.* Research on diversity of *Bacillus* species in peanut continuous cropping red soils and bio-preparation effect of *Bacillus* [J]. *Soils*, 2012, 44(5): 776-781.
- [23] 张艺洁, 邵惠芳, 张 珂, 等. 基于高通量测序研究施肥对连作植烟土壤环境及微生物的影响[J]. 中国农业科技导报, 2018, 20(5): 16-25.
ZHANG Y J, SHAO H F, ZHANG K, *et al.* Influences of fertilization on soil environment and microorganism in continuous cropping based on high-throughput sequencing [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2018, 20(5): 16-25.
- [24] 殷继忠, 李 亮, 接伟光, 等. 连作对大豆根际土壤细菌菌群结构的影响[J]. 生物技术通报, 2018, 34(1): 230-238.
YIN J ZH, LI L, JIE W G, *et al.* Effects of continuous cropping on bacterial flora structure in soybean rhizosphere soil[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(1): 230-238.
- [25] 尹 睿, 张华勇, 黄锦法, 等. 保护地菜田与稻麦轮作田土壤微生物学特征的比较[J]. 植物营养与肥料学报, 2004, 10(1): 57.
YIN R, ZHANG H Y, HUANG J F, *et al.* Comparison of microbiological properties between soils of rice-wheat rotation and vegetable cultivation [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2004, 10(1): 57.
- [26] QU X H, WANG J G. Effect of amendments with different phenolic acids on soil microbial biomass, activity, and community diversity[J]. *Applied Soil Ecology*, 2008, 39(2): 172-179.
- [27] LOU Y, DAVIS A S, YANNARELL A C. Interactions between allelochemicals and the microbial community affect weed suppression following cover crop residue incorporation into soil[J]. *Plant and Soil*, 2016, 399(1/2): 357-371.
- [28] 刘艳霞, 李 雨, 李 想, 等. 烤烟根际土壤微生物对根系酚酸类物质的响应[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25(8): 1373-1382.
LIU Y X, LI Y, LI X, *et al.* Responses of soil microbiome to phenolic acid secreted from tobacco rhizosphere [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2019, 25(8): 1373-1382.
- [29] 王 倩, 李晓林. 苯甲酸和肉桂酸对西瓜幼苗生长及枯萎病发生的作用[J]. 中国农业大学学报, 2003(1): 83-86.
WANG Q, LI X L. Effects of benzoic and cinnamic acids on watermelon seedling growth and *Fusarium* wilt occurrence [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2003(1): 83-86.

Effect of Continuous Cropping on Autotoxic Substances and Rhizosphere Fungi Communities in Potato

GONG Jing¹, MA Haiyan¹, ZHENG Shunlin^{1,2}, XIANG Zhuqing¹,
XIONG Hu¹, HUANG Qiang¹ and FANG Xiaoting¹

(1. Sichuan Agricultural University, Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Cultivation in Southwest China, Chinese Ministry of Agriculture, Chengdu 611130, China; 2. Key Laboratory of Potato Crop Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture, Chengdu Jiuse Agricultural Technology Co., Ltd, Xindu Sichuan 610500, China)

Abstract By collecting the potato rhizosphere soil from different continuous seasons, which include 1-season (CK), 3-season, and 5-season periods. The HPLC method was used to determine phenolic acids, the Illumina high-throughput sequencing technology was used to determine ITS sequences, the effect of continuous cropping on potato autotoxins and rhizosphere fungi communities was studied for providing theoretical basis to eliminate the obstacles for potato continuous cropping. The results revealed that (1) The contents of 4 phenolic acids, including syringic acid, coumaric acid, p-hydroxybenzoic acid and ferulic acid, were detected in the continuous cropping soil. The contents of p-hydroxybenzoic acid and ferulic acid increased continuously while the pH declined constantly. The contents of syringic acid and coumaric acid were the highest in the 3-season continuous cropping soil. (2) The diversity and abundance of fungi in the 3-season and 5-season continuous cropping rhizosphere soil were significantly higher than that of the CK. There were 6 main phyla in the fungal community while the most dominant fungi phylum was *Ascomycete* in the 3-season and 5-season continuous cropping soil. *Arthrotyrys* was dominant in 3-season continuous cropping soil while *Peziza* was dominant in that of 5-season continuous cropping. The principle component analysis of continuous cropping soil revealed that there were similar Mycoflora communities and quantities between the soil of CK and 3-season continuous cropping, which was significantly different from that of the 5-season continuous cropping. (3) There was a correlation between potato autotoxins and rhizosphere fungi communities and quantities. The abundances of syringic acid and *Alternaria*, vanillic acid and *Peziza* had significantly positive relation, the abundances of ferulic acid and *Peziza* had significantly negative relation. Therefore, autotoxins accumulated constantly after continuous cropping of potatoes in the rhizosphere soil, it altered the structure of fungal communities and amassed the harmful fungi such as *Alternaria* and *Fusarium*.

Key words *Solanum tuberosum* L.; Continuous cropping; Phenolic acid; High-throughput sequencing; Fungal communities

Received 2020-04-07

Returned 2020-06-14

Foundation item National Key R&D Plan (No. 2018YFD0200808); Sichuan Key Breeding and Support Projects (2016NYZ0051-5, No. 2016NYZ0032); Sichuan Potato Innovation Team of National Modern Agricultural Industry Technology System (No. [2019]59).

First author GONG Jing, female, master student. Research area: high yield cultivation of potato. E-mail: 316012853@qq.com

Corresponding author ZHENG Shunlin, male, Ph. D, professor. Research area: functional components. E-mail: 248977311@qq.com