中国生态农业学报(中英文)
Chinese Journal of Eco-Agriculture
中文核心期刊
中国科技核心期刊
中国精品科技期刊
百种中国杰出学术期刊
中国科学引文数据库源刊

马铃薯与玉米复合种植对土壤化感物质及土壤细菌群落结构的影响

刘贤文，郭华春

引用本文:
刘贤文, 郭华春. 马铃薯与玉米复合种植对土壤化感物质及土壤细菌群落结构的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2020, 28(6): 794–802.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.190780

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

马铃薯连作栽培对土壤微生物多样性的影响

Effect of potato continuous cropping on genetic diversity of soil microorganisms

中国生态农业学报. 2015(2): 225–232 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.140755

设施种植模式对土壤细菌多样性及群落结构的影响

Effect of facility management regimes on soil bacterial diversity and community structure

中国生态农业学报. 2017, 25(11): 1615–1625 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.170291

黄瓜与西芹间作土壤细菌多样性及其对黄瓜枯萎病发生的影响

Analysis of soil bacterial diversity under cucumber–celery intercropping and its influence on cucumberFusarium wilt

中国生态农业学报. 2018, 26(8): 1180–1189 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.180097

硒砂瓜连作对土壤真菌群落结构的影响

The effect of continuous cropping of selenium melon on soil fungal community structure

中国生态农业学报(中英文). 2019, 27(4): 537–544 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.180746

茄子与香蕉轮作配施生物有机肥对连作蕉园土壤微生物区系的影响

Effect of eggplant–banana rotation with bioorganic fertilizer treatment on soil microflora in banana continuous cropping orchard

中国生态农业学报. 2017, 25(1): 78–85 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.160609

中国生态农业学报(中英文) 2020 年 6 月 第 28 卷 第 6 期
Chinese Journal of Eco-Agriculture, Jun. 2020, 28(6): 794−802

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.190780

刘贤文, 郭华春. 马铃薯与玉米复合种植对土壤化感物质及土壤细菌群落结构的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2020, 28(6): 794−802
LIU X W, GUO H C. Effects of potato and maize compound planting on soil allelochemicals and soil bacterial community structure[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2020, 28(6): 794−802

马铃薯与玉米复合种植对土壤化感物质及土壤细菌群落结构的影响*

刘贤文, 郭华春**

(云南农业大学薯类作物研究所 昆明 650201)

摘 要: 为探究马铃薯与玉米复合种植对化感物质积累与细菌群落结构的影响, 分析轮作、间作缓解连作障碍的机制, 本研究以马铃薯连作、玉米连作、马铃薯||玉米间作、马铃薯-玉米轮作第 8 年的土壤为对象, 利用 GC-MS 测定土壤中化感物质含量, 并采用 Illumina Miseq 高通量测序技术对土壤细菌 16Sr DNA V4-V5 区域进行测序, 分析土壤中细菌多样性和群落结构的变化, 并对化感物质和优势菌属进行相关性分析。结果表明: 玉米连作和马铃薯连作会导致化感物质的积累, 玉米连作土壤积累了更多的油酸、亚油酸、花生酸、木焦油酸等脂肪酸, 马铃薯连作土壤积累了更多的硬脂醇、二十烷醇等脂肪醇类物质。轮作降低了大部分化感物质的积累, 间作降低的化感物质种类相对轮作较少。不同种植方式下土壤细菌群落结构发生了显著变化, 相对于连作, 间作和轮作 Ace 指数和 Chao 指数显著升高。在门水平上, 轮作土壤放线菌丰度显著高于马铃薯连作土壤, 间作土壤拟杆菌门丰度显著低于玉米连作土壤, 两种连作土壤中酸杆菌门丰度都较轮作显著升高。在属水平上, 一些有益细菌如节杆菌属、溶杆菌属等在复合种植土壤中相对丰度更高。通过相关性分析发现土微菌属、小梨形菌属与脂肪醇类物质呈显著正相关, 黄杆菌属、溶杆菌属、微杆菌属等与脂肪酸类物质呈显著负相关。马铃薯与玉米复合种植降低了化感物质在土壤中的积累, 从而抑制了土壤细菌丰度的降低, 提高了有益菌属丰度, 消减了连作障碍。

关键词: 马铃薯; 玉米; 连作障碍; 轮作; 间作; 化感物质; 土壤细菌

中图分类号: S154.3; S512.11 开放科学码(资源服务)标识码(OSID):

Effects of potato and maize compound planting on soil allelochemicals and soil bacterial community structure*

LIU Xianwen, GUO Huachun**

(Root & Tuber Crops Research Institute, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: To investigate the effects of potato and maize compound planting on allelochemicals accumulation and bacterial community structure, soil samples from continuous potato cropping, continuous maize cropping, potato and maize intercropping, and potato-maize rotation were collected in the eighth year of the experiment. Allelochemicals extracted from the soil were determined by GC-MS. Then, Illumina Miseq high-throughput sequencing technology was used to sequence the 16Sr DNA V4-V5 regions of

* 国家马铃薯产业体系(CARS-09-P15)和云岭学者专项资助
** 通信作者: 郭华春, 主要研究方向为薯类作物栽培生理与育种。E-mail: ynghc@126.com
刘贤文, 主要研究方向为作物生理与调控。E-mail: 459645090@qq.com
收稿日期: 2019-11-05 接受日期: 2020-03-13
* This study was supported by the National Potato Industry Technology System of China (CARS-09-P15) and Yunling Scholar Project.
** Corresponding author, E-mail: ynghc@126.com
Received Nov. 5, 2019; accepted Mar. 13, 2020

soil bacteria to analyze changes in soil bacterial diversity and community structure. The results showed that: 1) continuous cropping of maize and potatoes led to the accumulation of allelochemicals, 2) continuous maize cropping caused soil to accumulate more fatty acids such as oleic acid, linoleic acid, eicosanoic acid, and lignoceric acid, and 3) potato continuous cropping produced soil with more accumulated fatty alcohols such as 1-octadecanol and 1-eicosanol. Rotation reduced the accumulation of most allelochemicals, and the number of allelochemicals that were reduced by intercropping was smaller than that by rotation. The soil bacteria community structure changed significantly among different planting patterns. Compared with continuous cropping, intercropping and rotation had higher Ace and Chao indices. At the phylum level, the abundance of Actinobacteria was significantly higher under rotation than under continuous cropping of potato, the abundance of Bacteroides was significantly lower under intercropping than under continuous cropping of maize, and the abundance of Acidobacteria was significantly higher under both potato and maize continuous cropping than under rotation cropping. At the genus level, some beneficial bacteria such as *Arthrobacter* and *Lysobacteria* were relatively more abundant in compound planting soils. Through correlation analysis, it was found that the abundances of *Pedomicrobium* and *Pirellula* genera were significantly positively correlated with fatty alcohols, and that of *Flavobacterium*, *Lysobacteria*, and *Microbacteria* genera were significantly negatively correlated with fatty acids. Compound planting of potato and maize reduced the accumulation of allelochemicals in the soil, thus inhibiting reduction in soil bacterial abundance, increasing the abundance of beneficial bacteria, and ameliorating the issues associated with continuous cropping.

Keywords: Potato; Maize; Continuous cropping obstacle; Rotation; Intercropping; Allelochemical; Soil bacteria

土壤是农业生产的基础，而近 50 年来我国耕地面积不断缩小，人口压力下对粮食需求不断扩大。由于地方条件差异，作物栽培种类表现出区域化，出现了由轮作向单一化连作栽培的趋势[1]。而连作导致了十分严重的土壤问题并造成了粮食产量的下降。在马铃薯(*Solanum tuberosum*)的生产试验中，一般在连作 6 年后表现出强烈的连作障碍。目前对于连作障碍的研究表明，连作导致的化感物质积累和土壤细菌多样性下降及群落结构的改变是产生连作障碍的原因之一[2]。

土壤化感物质与土壤细菌是互相影响的。化感物质既可以影响植物也可以影响细菌，同时又兼具正面和反面作用[3]。比如在一定浓度下脂肪酸类物质会抑制植物的生长[4-5]，同时脂肪醇也可以抑制某些细菌的生长[6]。土壤细菌不仅是土壤养分循环的一个重要因子[7]，可以通过分泌生长激素来促进植物的生长和发育[8-9]，甚至帮助植株抵御病害[10]，并且细菌也是土壤有机物主要的分解者。在 Li 等[11]的研究中发现灭菌土壤几乎丧失了分解酚酸类物质的能力。

目前轮作[12]、间作[13]等复合种植方式是缓解连作障碍的主要手段，并且有研究表明长期间作可以保持土壤的化学性状[14]，轮作可以减少连作土壤中的酚酸类物质等[15]。但采用多组学手段探究间作和轮作土壤变化的研究较少，对于玉米(*Zea mays*)与马铃薯轮作、间作条件下土壤化感物质与细菌变化的研究尚少见报道。

本研究室前期进行了 8 年的马铃薯与玉米轮作、间作、连作试验，在最近两年中，连作马铃薯单株产量分别为 610.5 g、657.6 g，比间作下降 12.8%、13.1%，比轮作下降 19.8%；连作玉米单株产量为 191.0 g、201.7 g，比间作分别下降 7.2%、7.7%，比轮作下降 13.8%。由于收获与播种中间间隔有 1 个月以上，易分解的化感物质在这个时间内会分解一部分，所以本研究以马铃薯连作、玉米连作、玉米||马铃薯间作、马铃薯-玉米轮作 8 年后播种前的土壤为对象，研究了化感物质积累情况及土壤细菌多样性和群落结构，及化感物质和细菌的相关性，分析轮作、间作缓解连作障碍的机制，为克服连作障碍的研究提供进一步的理论依据。

1　材料与方法

1.1　土壤背景与采集

试验地点位于云南农业大学试验田(25°22′N, 102°44′E)，于 2011 年 3 月开始进行马铃薯||玉米间作(J)、马铃薯-玉米轮作(L)、马铃薯连作(M)、玉米连作(Y)试验。供试马铃薯为‘青薯 9 号’，玉米为‘云瑞 8 号’。每年 3 月中旬播种，8 月收获。轮作处理第 1 年种植马铃薯，第 2 年种植玉米；间作为两行马铃薯间作两行玉米。每个处理间隔 1 m，面积 5 m×9 m，不设重复。马铃薯株距 30 cm、行距 60 cm，玉米株距 60 cm、行距 40 cm，所有处理每次播种前施 NPK 复合肥 750 kg·hm^{-2}(N∶P_2O_5∶K_2O=15∶15∶15)和有机肥 12 000 kg·hm^{-2}。于 2019 年 3 月 20 日每个处理随机布点 20 个采集 5~15 cm 的土壤，立即保存在 −80 ℃冰箱。

1.2　潜在化感物质提取

从各个处理收集的土壤中取 1/2 过 100 目筛，准

确称取 5 g 土壤放入 50 mL 离心管中, 加入 20 mL 甲醇, 混匀后超声萃取 1 h, 4 000 r·min^{-1} 离心 5 min 后取上清液 10 mL, 0.45 μm 微孔滤膜过滤后在通风橱挥发干燥, 使用 2 mL 氯仿进行萃取, 并保存于 4 ℃冰箱, 8 个重复。

1.3 GC-MS 分析条件

在 150 μL 衬管中加入 30 μL 氯仿萃取液及 5 μL 内标物质十九烷酸甲酯(0.02 μg·μL^{-1}), 干燥后加入 30 μL BSTFA, 70 ℃烘箱放置 1 h 进行衍生化作为待测样品[16]。从各处理中分别吸取 10 μL 氯仿萃取液和 5 μL 十九烷酸甲酯, 加入 150 μL 衬管, 后续步骤与待测样本一致, 作为 QC(Quality Control)样本, 插入进样序列中, 每测定 8 个样本中间插入 1 个 QC 样本。

GC-MS 型号(Agilent 7890B/5977A), 自动进样器 Agilent G4513A, 色谱柱 Agilent HP-5MS (30 m×205 μm×0.25 μm)进样口温度为 270 ℃。升温程序: 起始温度 60 ℃, 以 10 ℃·min^{-1} 速率升至 280 ℃保持 7 min。离子源温度为 230 ℃, 四级杆温度 150 ℃, 扫描模式为全扫描。溶剂延迟 5 min, 后运行 3 min, 载气为 He, MS 扫描速度 1 562 u·s^{-1}, 扫描起点 20, 扫描终点 700, 阈值 150, 步长 0.1 m·z^{-1}, 不分流进样, 流速 1 mL·min^{-1}。

1.4 土壤化感物质定性与定量测定

对 GC-MS 检测结果使用 Masshunter 未知物分析和 AMDIS(Automated Mass Spectral Deconvolution & Identification System)进行解卷积和未知物定性, 使用 NIST 数据库进行检索, 保留最大匹配度大于 800 且保留指数差异小于 3%的物质[17], 并选择干扰最小的定性离子峰计算峰面积。使用 C7~C30 混合正构烷烃按相同条件运行 GC-MS 来计算保留指数, 利用十九烷酸甲酯内标物质对鉴定出来的化感物质进行定量, 计算公式[18]为:

$$C(\mu g\cdot g^{-1})=C_i\times P/P_i\times 2\times 2\times 1\ 000/m \quad (1)$$

式中: C 为被测物质含量; C_i 为内标物质浓度(0.033 3 μg·μL^{-1}); P 为样本中被测物质峰面积; P_i 为该样本中内标物质峰面积; 第 1 个 2 为计算 2 mL 氯仿中该物质含量, 第 2 个 2 为 20 mL 甲醇中该物质含量; m 为土壤质量, 5 g。

1.5 DNA 提取及 16SrDNA 测序

使用 FastDNA Spin Kit for Soil 试剂盒完成总 DNA 提取, PCR 扩增区域为 16S V4-V5 区, 上游引物 515F, 下游引物 907R, 使用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit 进行 PCR 产物纯化, 将 PCR 产物用 Quantus Fluorometer 进行检测定量。使用 NEXT FLEX Rapid DNA-Seq Kit 进行建库, 利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司), 然后使用 UPARSE 软件, 根据 97%的相似度对序列进行 OTU 聚类, 使用 UCHIME 软件剔除嵌合体, 利用 RDP classifier 对每条序列进行物种分类注释, 比对 Silva 数据库(SSU128), 每个处理 3 个重复。

1.6 数据处理与分析

使用美吉云平台(www.i-sanger.com)进行细菌注释及多样性指数计算, Excel 2016 进行数据整理, SPSS 23.0 进行显著性比较, SIMCA-P14.1 进行 PCA 和 OPLS-DA 分析, 使用 Origin 2018 绘制柱状图和堆积图, 使用 R pheatmap 包制作聚类热图。

2 结果与分析

2.1 不同种植方式下土壤化感物质成分及其含量差异

从图 1 可以看出, 各处理保留时间未出现漂移, 表明通过保留时间结合定性离子进行定量分析具有可靠性。利用 NIST 数据库进行定性, 利用 QC 样本测定各峰变异系数, 剔除变异系数大于 30%的物质后共鉴定出 43 种化合物。其中有机酸类物质 14 种, 分别是苯甲酸、壬酸、癸酸、月桂酸、肉豆蔻酸、十五烷酸、棕榈酸、十七烷酸、亚油酸、油酸、硬脂酸、松香酸、花生酸、木焦油酸; 醇类物质 12 种, 分别是月桂醇、肉豆蔻醇、棕榈醇、硬脂醇、叶绿醇、二十烷醇、二十二烷醇、二十三烷醇、二十四烷醇、蜡醇、二十八烷醇、胆固醇; 酯类物质 10 种, 分别是邻苯二甲酸二异丁酯、3-(3,5-二叔丁基-4-羟基苯基)丙酸甲酯、邻苯二甲酸二丁酯、十六烷酸二

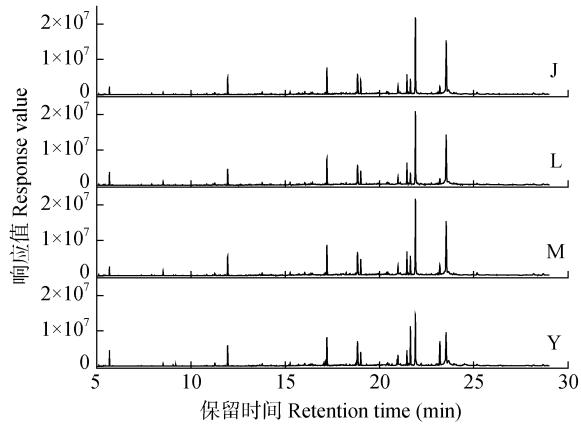


图 1 马铃薯和玉米不同种植方式下土壤化感物质总离子色谱

Fig. 1 Total ion chromatogram (TIC) of soil allelochemicals in different planting patterns of potato and maize

J: 马铃薯||玉米间作; L: 马铃薯-玉米轮作; M: 马铃薯连作; Y: 玉米连作。J: potato intercropped with maize; L: potato-maize rotation; M: continuous cropping of potato; Y: continuous cropping of maize.

羟乙基酯、豆蔻酸甘油酯、邻苯二甲酸双(2-乙基己基)酯、2-棕榈酸甘油酯、单棕榈酸甘油酯、2-硬脂酸甘油酯、单硬脂酸甘油酯; 酚类物质 5 种, 分别是2,4-二叔丁基苯酚、2,6-二叔丁基苯酚、2,6-二甲氧基对苯二酚、双酚 A、γ-生育酚; 醛类 1 种, 对羟基苯甲醛; 杂环类 1 种, 7,9-二叔丁基-1-氧杂环[4.5]十一烷-6,9 二烯-2,8 二酮。

对各处理化感物质含量*Z*-score标准化后进行主成分分析(图2), 各处理组内差异较小, 可以较好地聚集在一起, 各处理组间可以显著分开, 说明各处理存在成分上的差异。

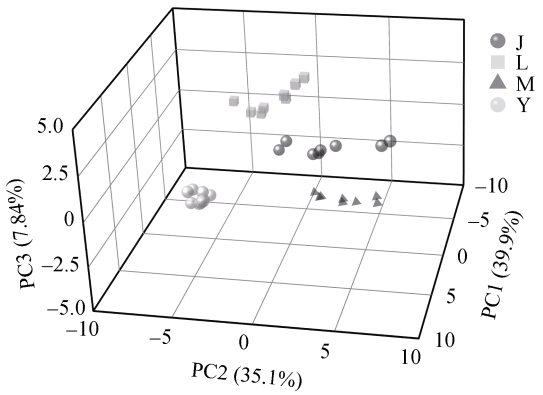


图 2　马铃薯和玉米不同种植方式下土壤化感物质含量的主成分分析

Fig. 2　Principal components analysis (PCA) of soil allelochemicals contents under different planting patterns of potato and maize

J: 马铃薯||玉米间作; L: 马铃薯-玉米轮作; M: 马铃薯连作; Y: 玉米连作。J: potato intercropped with maize; L: potato-maize rotation; M: continuous cropping of potato; Y: continuous cropping of maize.

通过正交偏最小二乘法共筛选出30种投影重要度(variable importance for the projection)大于1的化感物质并进行了显著性检验(图3)。马铃薯连作土壤硬脂醇、邻苯二甲酸双(2-乙基己基)酯、叶绿醇、γ-生育酚含量极显著高于马铃薯-玉米轮作、马铃薯||玉米间作、玉米连作土壤, 且除了上述物质外二十烷醇、邻苯二甲酸二异丁酯、十六烷酸二羟乙基酯、胆固醇、对羟基苯甲醛也与间作土壤差异极显著。玉米连作土壤2-棕榈酸甘油酯、2-硬脂酸甘油酯、油酸、亚油酸、十五烷酸、花生酸、木焦油酸、松香酸、十七烷酸、对羟基苯甲醛、2,6-二甲氧基对苯二酚含量极显著高于马铃薯||玉米间作、马铃薯-玉米轮作、马铃薯连作土壤, 并且玉米连作土壤单棕榈酸甘油酯、单硬脂酸甘油酯、豆蔻酸甘油酯、邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二异丁酯、γ-生育酚含量极显著低于马铃薯||玉米间作、马铃薯-玉米轮作、马铃薯连作土壤。

2.2　不同种植方式下土壤细菌多样性及群落结构变化

利用Illumina公司的Miseq PE300平台对不同种植模式土壤细菌进行测序, 数据优化后12个样本共获得330 245条序列, 平均序列数在22 619~30 940, 平均碱基数在15 648 672~19 059 916, 各样本平均长度在376 bp, 且差异较小, 总体样本序列长度在211~475 bp(表1)。Sobs是细菌群落丰富度的实际观测值, Ace指数和Chao指数是两种常用的对细菌群落丰富度的估计值。Shannon指数和Simpson指数是两种反映群落多样性的指数。由表2可知, 间作和轮作的Sobs指数、Ace指数及Chao指数显著高于马铃薯连作和玉米连作, 表明间作和轮作土壤细菌丰富度更高; 而4个处理间Shannon指数和Simpson指数差异较小, 表明不同种植方式下土壤细菌群落多样性差异较小。各样本物种覆盖率均大于0.99, 说明本次测序结果可以反映土壤细菌群落结构的真实情况。

按 97%的相似度对样本非重复序列进行 OTU 分类, 共鉴定出 18 门、48 纲、121 目、201 科、354 属、664 种, 1 235 个 OTUs。在样本中占优势地位, 相对丰度大于 1%的门分别是变形菌门(Proteobacteria, 25.2%~27.66%)、放线菌门(Actinobacteria, 21.68%~30.39%)、酸杆菌门(Acidobacteria, 14.58%~18.86%)、绿弯菌门(Chloroflexi, 11.67%~13.37%)、浮霉菌门(Planctomycetes, 4.69%~6.07%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 3.45%~4.64%)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes, 2.49%~3.21%)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae, 1.05%~1.36%), 另有一门尚未归类(图 4)。轮作土壤中放线菌门所占比例较马铃薯连作土壤高 8.54% ($P<0.01$), 间作土壤中拟杆菌门所占比例分别较轮作和玉米连作低1.14%($P<0.05$)、1.19%($P<0.05$), 玉米连作和马铃薯连作土壤中酸杆菌门所占比例分别较轮作高2.68%($P<0.05$)和 4.22%($P<0.01$)。

由图5可知相对丰度大于0.5%的菌属共有33个, 其中有20个菌属存在显著性差异。在轮作土壤中溶杆菌属(*Lysobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)丰度显著高于其他所有处理。在马铃薯连作土壤中硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)、*Bryobacter*、小梨形菌属(*Pirellula*)、红游动菌属(*Rhodoplanes*)显著高于其他所有处理, *Gaiella* 显著低于其他所有处理。在玉米连作中壤霉菌属(*Agromyces*)相对丰度显著低于其他处理。在间作中, 小梨形菌属与所有处理均差异显著。马铃薯连作与玉米连作在 *Bryobacter*、小梨形菌属显著差异, 间作与两者均差异显著, 且丰度在两者之间。

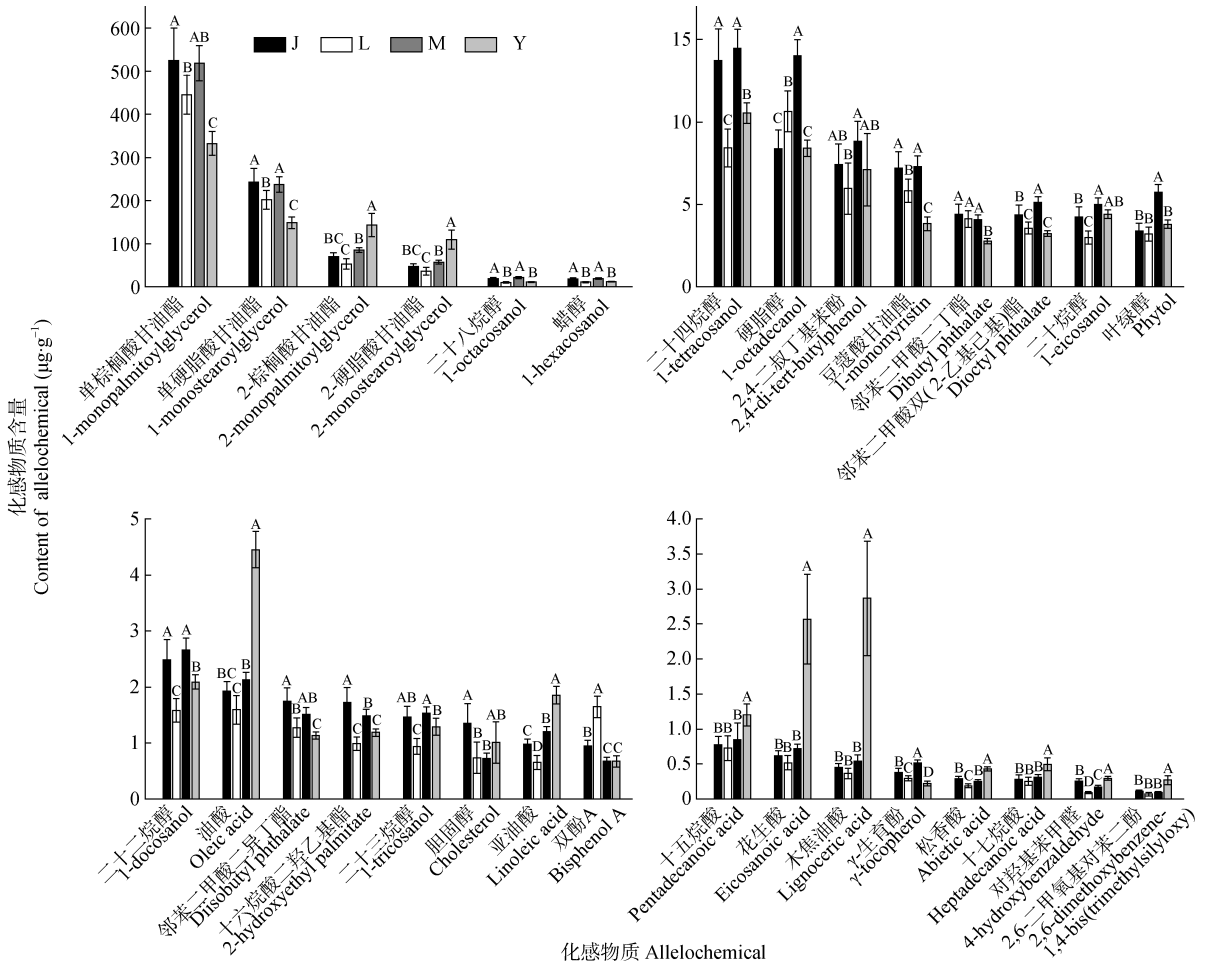


图 3 马铃薯和玉米不同种植方式下土壤化感物质含量比较

Fig. 3 Comparison of allelochemicals contents in different planting patterns of potato and maize

J: 马铃薯||玉米间作; L: 马铃薯-玉米轮作; M: 马铃薯连作; Y: 玉米连作。不同大写字母表示差异显著(P<0.01)。J: potato intercropped with maize; L: potato-maize rotation; M: continuous cropping of potato; Y: continuous cropping of maize. Different capital letters indicate significant differences (P < 0.01).

表 1 马铃薯和玉米不同种植方式样本测序信息

Table 1 Sequencing information for different planting patterns of potato and maize

种植方式 Planting pattern	序列数 Sequence number	碱基数 Base number	平均长度 Mean length (bp)	最短序列长度 Min. length (bp)	最长序列长度 Max. length (bp)
J	30 327±4 013ab	17 569 068±2 179 033ab	376.81±0.01a	252±36a	470±17a
L	30 940±1 451a	19 059 916±761 099a	376.78±0.07a	228±21a	467±21a
M	26 195±1 757ab	16 822 169±406 624ab	376.75±0.04a	211±15a	475±29a
Y	22 619±946b	15 648 672±545 995b	376.82±0.04a	229±21a	460±32a

J: 马铃薯||玉米间作; L: 马铃薯-玉米轮作; M: 马铃薯连作; Y: 玉米连作。不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。J: potato intercropped with maize; L: potato-maize rotation; M: continuous cropping of potato; Y: continuous cropping of maize. Different lowercase letters indicate significant differences (P < 0.05).

表 2 不同种植方式下土壤细菌 Alpha 多样性指数

Table 2 Soil bacterial Alpha diversity index under different planting patterns of potato and maize

种植方式 Planting pattern	Sobs 指数 Sobs index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	Ace 指数 Ace index	Chao 指数 Chao index	物种覆盖度 Coverage
J	1 212.7±7.1a	6.23±0.03a	0.004 0±0.000 2a	1 226.1±2.4a	1 233.1±2.8a	0.998±0.001
L	1 198.0±3.3b	6.09±0.07b	0.006 2±0.001 8a	1 218.7±2.8a	1 226.1±2.4a	0.998±0.000
M	1 177.3±9.2c	6.19±0.04ab	0.004 2±0.000 2a	1 198.8±5.1b	1 205.8±4.5b	0.997±0.001
Y	1 167.0±2.2c	6.15±0.00ab	0.004 4±0.000 1a	1 202.6±7.5b	1 212.2±13.9b	0.996±0.001

J: 马铃薯||玉米间作; L: 马铃薯-玉米轮作; M: 马铃薯连作; Y: 玉米连作。不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。J: potato intercropped with maize; L: potato-maize rotation; M: continuous cropping of potato; Y: continuous cropping of maize. Different lowercase letters indicate significant differences (P < 0.05).

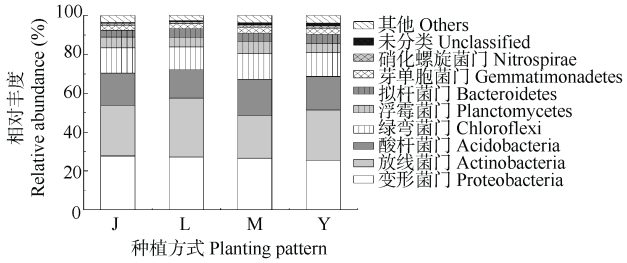


图 4　马铃薯和玉米不同种植方式对土壤细菌群落门水平相对丰度的影响

Fig. 4　Effect of planting pattern of potato and maize on the relative abundance of soil bacterial community at phylum level of bacteria

J: 马铃薯||玉米间作; L: 马铃薯-玉米轮作; M: 马铃薯连作; Y: 玉米连作。J: potato intercropped with maize; L: potato-maize rotation; M: continuous cropping of potato; Y: continuous cropping of maize.

2.3　化感物质含量与细菌丰度相关性分析

对土壤中化感物质和土壤中细菌丰度进行Spearman相关性分析后进行了Average聚类(图6), 可以看出化感物质大致分为两类: 一类以脂肪酸类物质为代表, 一类以脂肪醇和酯类物质为代表。其中棕榈酸、油酸、花生酸、亚油酸等脂肪酸与间孢囊菌属(*Intrasporangium*)、溶杆菌属、微枝形杆菌属(*Microvirga*)、芽球菌属(*Blastococcus*)、壤霉菌属、红游动菌属、大理石雕菌属(*Marmoricola*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、微杆菌属(*Microbacterium*)等几乎一半的优势菌属呈显著的负相关, 不与任何菌属呈显著的正相关。棕榈酸单甘油酯、硬脂酸单甘油酯类物质和二十三烷醇、二十八烷醇等醇类物质与土微菌属(*Pedomicrobium*)、小梨形菌属呈显著的正相关。

3　讨论

根据 Rice 对化感物质的分类[3], 本次试验鉴定出的脂肪醇、脂肪酸、酚类、醛类都属于化感物质的范畴; 甘油脂类物质尚未见对其化感效应的报道,

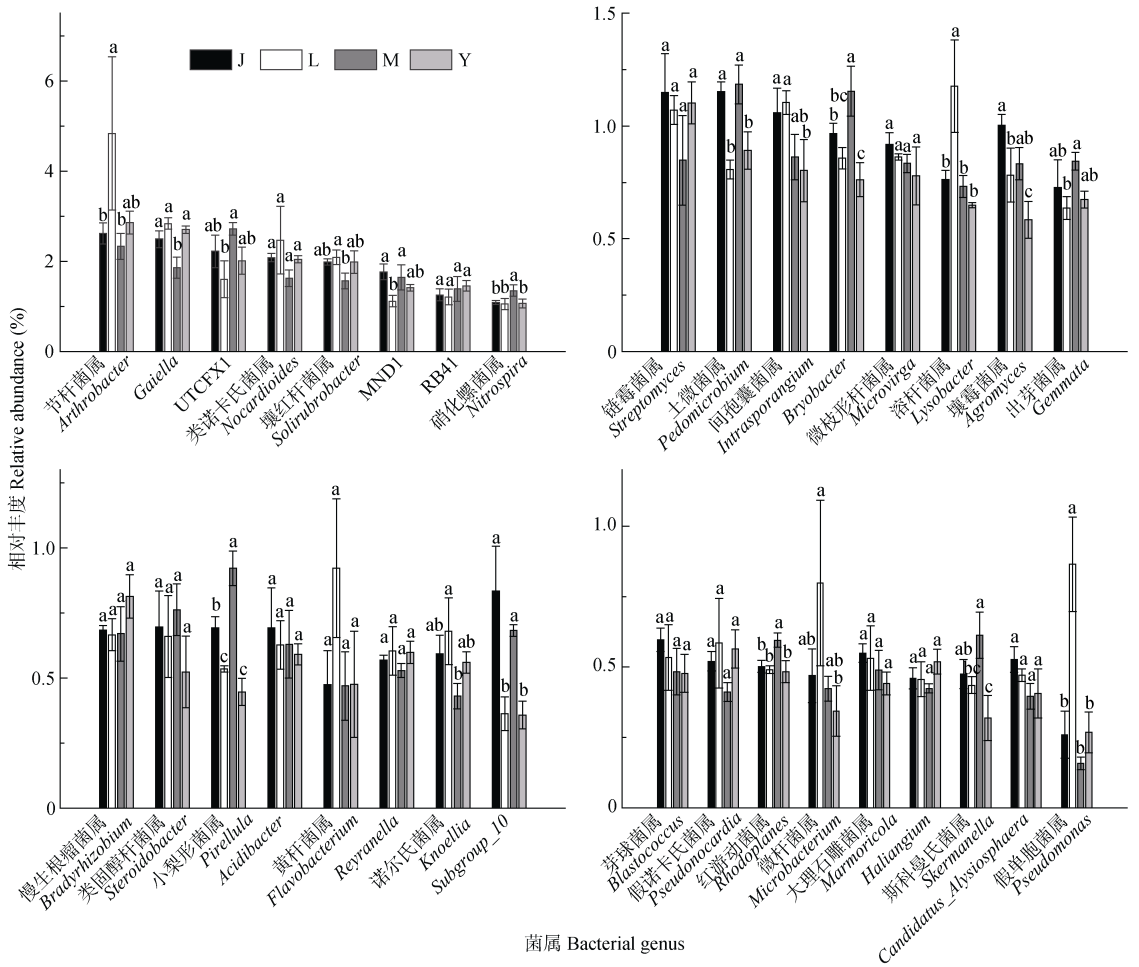
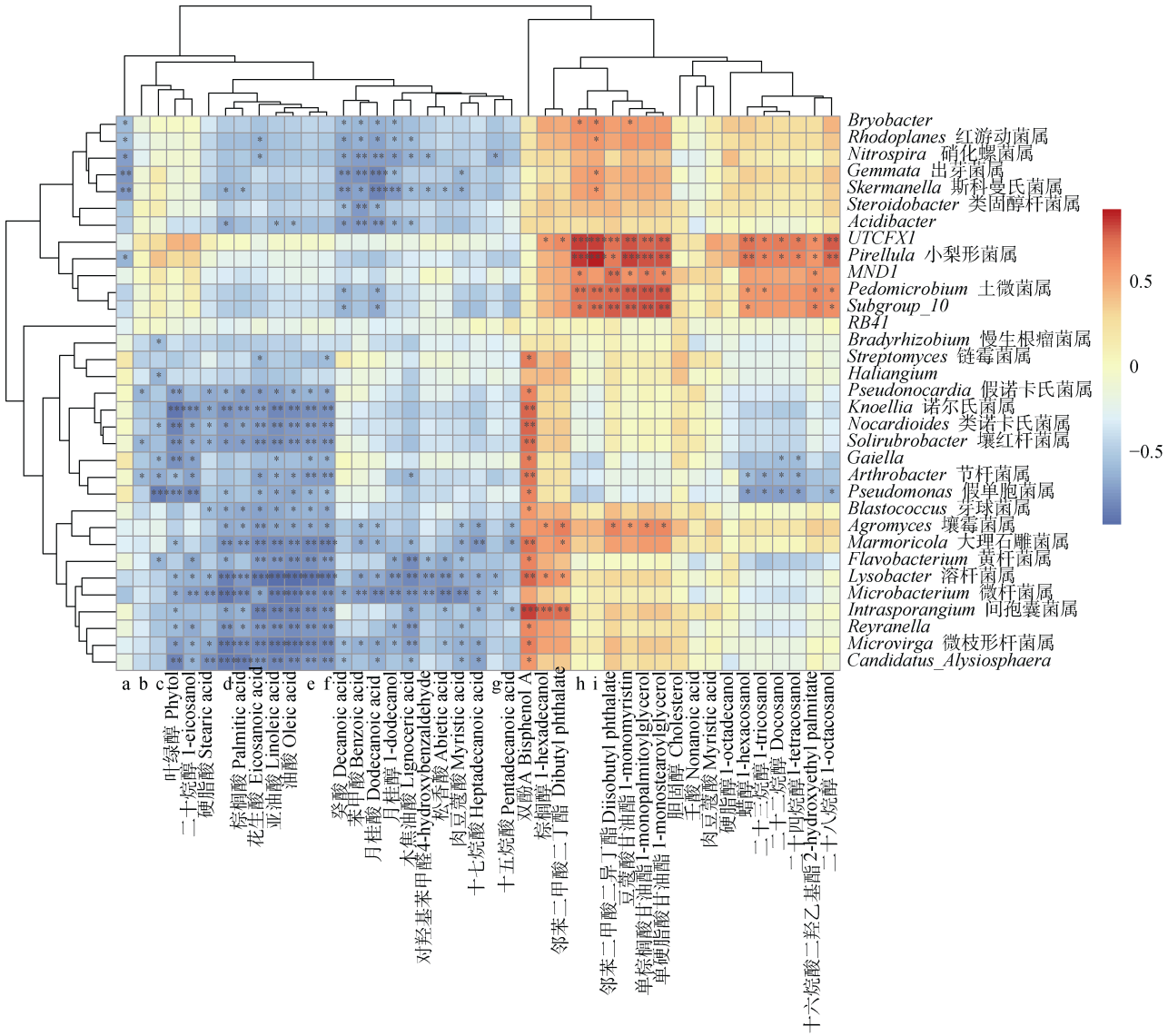


图 5　马铃薯和玉米不同种植方式对优势菌属(相对丰度>0.5%)相对丰度的影响

Fig. 5　Effect of planting pattern of potato and maize on the relative abundance of dominant genus (relative abundance > 0.5%) of bacteria

J: 马铃薯||玉米间作; L: 马铃薯-玉米轮作; M: 马铃薯连作; Y: 玉米连作。不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。J: potato intercropped with maize; L: potato-maize rotation; M: continuous cropping of potato; Y: continuous cropping of maize. Different lowercase letters indicate significant differences (P < 0.05).



a: 7, 9-二叔丁基-1-氧杂环[4.5]十一烷-6, 9二烯-2, 8二酮
7, 9-ditert-butyl-1-oxaspiro[4.5]deca-6, 9-diene-2, 8-dione

b: 3-(3, 5-二叔丁基-4-羟基苯基)丙酸甲酯
Methyl 3-(3, 5-di-Tert-Butyl-4-Hydroxyphenyl) Propionate

c: 2, 4-二叔丁基苯酚
2, 4-di-tert-butylphenol

d: 2, 6-二叔丁基苯酚
2, 6-bis(tert-butyl)phenol

e: 2- 棕榈酸甘油酯
2- monopalmitoylglycerol

f: 2- 硬脂酸甘油酯
2- monostearoylglycerol

g: 2, 6-二甲氧基对苯二酚
2, 6-dimethoxybenzene-1, 4-bis(trimethylsilyloxy)

h: 邻苯二甲酸双(2-乙基己基)酯
Dioctyl phthalate

i: γ-生育酚
γ-tocopherol

图 6 马铃薯和玉米土壤化感物质与优势菌属 Spearman 相关性分析

Fig. 6 Spearman correlation analysis between allelochemical and bacterial dominant genus in soils of potato and maize

*、**和***分别表示 0.01<P≤0.05、0.001<P≤0.01 和 P≤0.001 水平显著相关。*, ** and *** indicate significant correlations at 0.01 < P ≤ 0.05, 0.001 < P ≤ 0.01 and P ≤ 0.001, respectively.

但由于甘油酯类物质在有水的情况下会分解为甘油和脂肪酸，所以也是潜在的化感物质储藏库。短链脂肪酸在有氧情况下可以分解[19]，所以本次研究测定出的主要差异脂肪酸是长链脂肪酸。已有研究表明以棕榈酸为代表的长链脂肪酸对植物具有抑制作用[20]。另外双酚 A 和邻苯二甲酸酯类可能不是由植物产生而是由环境污染产生的富集[21]，但其依然对植物具有负面效应[22]。由图 3 可知相对于轮作土壤，马铃薯连作土壤中不是个别化感物质含量升高，而是整体升高，其中二十八烷醇和对羟基苯甲醛大幅度升高；而玉米连作土壤与轮作土壤差异物质较少，但存在几种主要物质差异极大，包括花生酸、木焦油酸、对羟基苯甲醛、2,6-二甲氧基对苯二酚。马铃薯连作土壤除硬脂醇、邻苯二甲酸双(2-乙基己基)酯、二十烷醇、叶绿醇、亚油酸、γ-生育酚含量显著高于间作土壤外，其余成分含量相似；玉米连作土壤与间作土壤在大多数化感物质含量上有显著差异，且花生酸和木焦油酸较间作增加 3 倍多和 5 倍

多。说明间作和轮作可以降低化感物质在土壤中的积累, 并且从整体上看轮作效果更好。

李国庆等[2]和谭雪莲[16]研究表明, 马铃薯等作物连作会导致土壤细菌丰度降低, 在本研究中马铃薯连作和玉米连作降低了土壤细菌群落丰度, 不同种植方式下土壤细菌的成分没有较大的差异, 差异主要出现在不同菌属的丰度上。细菌在土壤中扮演着一个非常重要的角色, 具有复杂多样的生态功能。溶杆菌属是一类拥有生防作用的菌属, 可以通过定殖在马铃薯根际分泌抗生素、胞外水解酶等活性物质提高马铃薯对病原菌的抵抗能力[23]。微杆菌属(*Microbacterium*)也可以诱导植物对病害的抗性[24], 并通过分泌挥发性物质促进植物生长[25]。节杆菌属(*Arthrobacter*)具有多种正向作用, 比如可以分泌吲哚乙酸来促进作物生长[9], 同时还有很强的有机物降解能力[26], 并有报道节杆菌降解邻苯二甲酸二丁酯和邻苯二甲酸双(2-乙基己基)酯[27]。红球菌属(*Rhodococcus*)可以通过分泌有机酸溶解土壤中的磷酸钙, 从而增强土壤中磷的有效性[28]。在本研究中节杆菌属、溶杆菌属、微杆菌属在轮作土壤中拥有更高的丰度。轮作中红球菌属与马铃薯连作和玉米连作土壤差异显著。所以轮作提高了土壤中一些有益菌属丰度。间作降低了不同连作中差异菌属, 如小梨形菌属等的丰度。有研究表明小梨形菌属与大豆(*Glycine max*)生物量呈负相关[29], 说明间作可以降低有害菌属在土壤中的富集。

土壤优势菌属与土壤化感物质含量存在显著的相关关系。在连作土壤中出现了脂肪酸和脂肪醇类物质的积累, 而脂肪酸与黄杆菌属、溶杆菌属、微杆菌属等大多数优势菌属呈显著的负相关; 脂肪醇与土微菌属、小梨形菌属呈显著的正相关、与节杆菌属呈显著的负相关。已有报道油酸、亚油酸在较低浓度即对革兰氏阳性菌有抑制效果[30]。在本次研究中溶杆菌属、节杆菌属、微杆菌属都属于革兰氏阳性菌。虽然黄杆菌属是革兰氏阴性菌, 但是Wolińska 等[31]的研究认为黄杆菌属对农业活动敏感。表明溶杆菌属、微杆菌属等对脂肪酸类物质敏感, 而小梨形菌属、土微菌属对脂肪酸类物质具有抗性并且脂肪醇类物质有助于其丰度的升高。

4　结论

马铃薯连作和玉米连作产生了多种化感物质的积累, 并且存在作物种类的差异, 马铃薯连作相对玉米连作积累了更多的二十八烷醇、蜡醇、二十四烷醇、硬脂醇脂等脂肪醇类物质, 而玉米连作积累了更多的油酸、亚油酸、花生酸、木焦油酸等脂肪酸类物质。

连作还导致了土壤中细菌多样性的降低和群落结构的改变, 其中对化感物质敏感型细菌如黄杆菌属、微杆菌属等减少, 小梨形菌属等耐受型细菌增加。玉米与马铃薯复合种植可以减少化感物质在土壤中的积累, 从而抑制了土壤细菌多样性的减少, 有利于克服连作障碍, 且轮作的效果好于间作。

参考文献 References

[1] 李立军. 中国耕作制度近 50 年演变规律及未来 20 年发展趋势研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2004: 149–150
LI L J. Involving regularities in recent 50 years and future trends in 2020 on farming system in China[D]. Beijing: China Agricultural University, 2004: 149–150

[2] 李国庆, 郭华春. 连作对马铃薯根际土壤细菌群落结构的影响[J]. 分子植物育种, 2014, 12(5): 914–928
LI G Q, GUO H C. Effect of *Potato continuous cropping* on the rhizosphere soil bacteria community structure[J]. Molecular Plant Breeding, 2014, 12(5): 914–928

[3] RICE E L. Allelopathy[M]. 2nd ed. New York: Academic Press, 1984

[4] TSUZUKI E, YAMAMOTO Y, SHIMIZU T. Fatty acids in buckwheat are growth inhibitors[J]. Annals of Botany, 1987, 60(1): 69–70

[5] 刘苹, 赵海军, 仲子文, 等. 三种根系分泌脂肪酸对花生生长和土壤酶活性的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(11): 3332–3339
LIU P, ZHAO H J, ZHONG Z W, et al. The effects of three root exudated fatty acids on peanut (*Arachis hypogaea* L.) growth and soil enzymes activities[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(11): 3332–3339

[6] 吴庆利, 陈庆文, 黄文静, 等. 蜂巢中长链脂肪醇的提取及抑菌作用研究[J]. 淮海工学院学报: 自然科学版, 2017, 26(3): 30–33
WU Q L, CHEN Q W, HUANG W J, et al. Study on extraction and antibacterial activity of long chain fat alcohol in honeycomb[J]. Journal of Huaihai Institute of Technology: Natural Science Edition, 2017, 26(3): 30–33

[7] CASTRILLO G, TEIXEIRA P J P L, PAREDES S H, et al. Root microbiota drive direct integration of phosphate stress and immunity[J]. Nature, 2017, 543(7646): 513–518

[8] BULGARELLI D, SCHLAEPPI K, SPAEPEN S, et al. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2013, 64(1): 807–838

[9] LI M S, GUO R, YU F, et al. Indole-3-acetic acid biosynthesis pathways in the plant-beneficial bacterium *Arthrobacter pascens* ZZ21[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(2): 443

[10] KWAK M J, KONG H G, CHOI K, et al. Author correction: Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato[J]. Nature Biotechnology, 2018, 36(11): 1117

[11] LI X G, DING C F, HUA K, et al. Soil sickness of peanuts is attributable to modifications in soil microbes induced by peanut root exudates rather than to direct allelopathy[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 78: 149–159

[12] 何天久, 吴巧玉, 曾宪浩, 等. 马铃薯连作障碍形成机制与调控措施研究进展[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(4): 1–4
HE T J, WU Q Y, ZENG X H, et al. Research progress on formation mechanism and control measures of potato continuous cropping obstacles[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44(4): 1–4

[13] 陈玲, 董坤, 杨智仙, 等. 连作障碍中化感自毒效应及间作缓解机理[J]. 中国农学通报, 2017, 33(8): 91–98
CHEN L, DONG K, YANG Z X, et al. Allelopathy autotoxcity effect of successive cropping obstacle and its alleviate mechanism by intercropping[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2017, 33(8): 91–98

[14] WANG Z G, BAO X G, LI X F, et al. Intercropping maintains soil fertility in terms of chemical properties and enzyme activities on a timescale of one decade[J]. Plant and Soil, 2015, 391(1/2): 265–282

[15] 何志贵. 半夏连作障碍发生机制与轮作修复研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019: 38–50
HE Z G. Mechanism of continuous cropping obstacles and crop rotation restoration in *Pinellia ternate*[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2019: 38–50

[16] 谭雪莲. 轮作模式下马铃薯土壤微生物多样性、酶活性及根系分泌物的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016: 20–25
TAN X L. Study on soil microbial diversity, metabolic enzyme activity and root exudate accumulated features of potato under different rotation cropping patterns[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2016: 20–25

[17] 徐杨斌, 冒德寿, 王德懿, 等. 基于保留指数的 GC-TOF/MS 法分析缬草油中挥发性成分[J]. 香料香精化妆品, 2018, (5): 1–5
XU Y B, MAO D S, WANG D Y, et al. Analysis of volatile components in valerian oil by GC-TOF/MS based on retention index[J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2018, (5): 1–5

[18] 何小燕, 田洪磊, 詹萍, 等. 鸡肉香精最适风味前体 PLSR 分析与研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(10): 268–275
HE X Y, TIAN H L, ZHAN P, et al. Analysis and study of the desirable precursor of the chicken flavor based on PLSR[J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(10): 268–275

[19] MANDAVA N B. Chemistry and biology of allelopathic agents[C]//American Chemical Society. The Chemistry of Allelopathy. Washington: ACS Publications, 1985: 33–54

[20] 张文明, 邱慧珍, 张春红, 等. 不同连作年限马铃薯根系分泌物的成分鉴定及其生物效应[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(12): 1811–1818
ZHANG W M, QIU H Z, ZHANG C H, et al. Identification of chemicals in potato root exudates under different years of continuous cropping and their biologic effects[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(12): 1811–1818

[21] STAPLES C A, PETERSON D R, PARKERTON T F, et al. The environmental fate of phthalate esters: A literature review[J]. Chemosphere, 1997, 35(4): 667–749

[22] 王庆庆, 聂丽军, 王湜曼, 等. 双酚 A 对植物影响的研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2014, 22(9): 1002–1009
WANG Q Q, NIE L J, WANG S M, et al. Advances in the effects of bisphenol A on plants[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2014, 22(9): 1002–1009

[23] 姬广海. 溶杆菌属及其在植物病害防治中的研究进展[J]. 云南农业大学学报, 2011, 26(1): 124–130
JI G H. Advances in the study on *Lysobacter* spp. bacteria and their effects on biological control of plant diseases[J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2011, 26(1): 124–130

[24] YUAN J, ZHAO J, WEN T, et al. Root exudates drive the soil-borne legacy of aboveground pathogen infection[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 156

[25] CORDOVEZ V, SCHOP S, HORDIJK K, et al. Priming of plant growth promotion by volatiles of root-associated *Microbacterium* spp.[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2018, 84(22): e01865-18

[26] 李娟, UWAREMWE C, 冷艳, 等. 节杆菌属细菌处理有机物和重金属污染物的研究进展[J]. 环境科学与技术, 2017, 40(10): 89–97
LI J, UWAREMWE C, LENG Y, et al. Progress on the study of biodegradation of organic pollutants and adsorption of heavy metals with *Arthrobacter* strains[J]. Environmental Science & Technology, 2017, 40(10): 89–97

[27] 梁浩花, 陶红, 王亚娟, 等. 一株邻苯二甲酸二丁酯和邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯降解菌的筛选鉴定与降解特性[J]. 浙江农业学报, 2019, 31(7): 1145–1153
LIANG H H, TAO H, WANG Y J, et al. Isolation, identification and degradation characteristics of a dibutyl phthalate and di-(2-ethylhexyl) phthalate degrading bacterium[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2019, 31(7): 1145–1153

[28] CHEN Y P, REKHA P D, ARUN A B, et al. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities[J]. Applied Soil Ecology, 2006, 34(1): 33–41

[29] 肖潇. 豆科植物根际和根瘤内生细菌群落结构、变化规律及其影响因素研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017: 26
XIAO X. The structure, variation and influence factors of leguminous plant rhizosphere and nodule endosphere microbiome[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2017: 26

[30] DILIKA F, BREMNER P D, MEYER J J M. Antibacterial activity of linoleic and oleic acids isolated from *Helichrysum pedunculatum*: A plant used during circumcision rites[J]. Fitoterapia, 2000, 71(4): 450–452

[31] WOLIŃSKA A, KUŹNIAR A, ZIELENKIEWICZ U, et al. Indicators of arable soils fatigue–Bacterial families and genera: A metagenomic approach[J]. Ecological Indicators, 2018, 93: 490–500