

杨统一, 张莉, 王秀杰, 董小娜, 贾欠欠. 草莓连作土壤中酚酸积累与微生物群落响应研究[J]. 土壤学报, 2026,
YANG Tongyi, ZHANG Li, WANG Xiujie, DONG Xiaona, JIA Qianqian. Effect of Phenolic Acid Accumulation and Microbial Community
Response in Strawberry Continuous Cropping Soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2026,

草莓连作土壤中酚酸积累与微生物群落响应研究*

杨统一, 张莉, 王秀杰, 董小娜, 贾欠欠[†]

(江苏科技大学环境与化学工程学院, 江苏镇江 212003)

摘要: 连作障碍是制约草莓产业可持续发展的关键问题。通过高通量测序等技术分析草莓连作土壤中酚酸动态、酶活性变化及微生物群落的演变, 深入揭示了酚酸-微生物互作的关联特征。结果表明, 长期连作导致土壤酸化 (pH 从 7.35 降至 6.20), 酚酸总量在连作 18 a 时高达 247.3 mg·kg⁻¹, 远超草莓自毒阈值。土壤酶活性在连作 5 a 时达到峰值后显著下降。细菌香农 (Shannon) 多样性降低, 细菌/真菌比率下降 43.3%, 病原真菌 (*Fusarium*) 相对丰度明显增加。冗余分析表明, 对香豆酸和阿魏酸是解释土壤细菌和真菌群落变异的主要因子 (解释率分别达 18.9% 和 21.2%)。结构方程模型揭示, 酚酸对细菌群落变化有显著的直接影响, 而 pH 与真菌群落结构变化直接相关。本研究明确了草莓连作 “5 a” 为生态功能转折的关键窗口期, 为连作障碍的微生态调控提供了理论依据。

关键词: 草莓连作; 酚酸; 土壤微生物群落; 酶活性; 结构方程模型

中图分类号: S154 文献标志码: A

Effect of Phenolic Acid Accumulation and Microbial Community Response in Strawberry Continuous Cropping Soil

YANG Tongyi, ZHANG Li, WANG Xiujie, DONG Xiaona, JIA Qianqian[†]

(School of Environmental and Chemical Engineering, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang, Jiangsu 212003, China)

Abstract: 【Objective】Continuous cropping obstacles (CCOs) represent a critical constraint on the sustainable development of the strawberry industry, with core mechanisms involving soil phenolic acid accumulation, microbial community imbalance, and functional degradation. Although existing studies have demonstrated close correlations between phenolic acid autotoxic substances and microbial community changes, the dynamic evolution patterns and causal relationships of phenolic acid-microbiome interactions at the field scale remain unclear. Thus, this study aims to reveal the dynamic changes of phenolic acids, enzyme activity responses, and microbial community structure evolution in strawberry soil under long-term continuous cropping conditions. Also, the results will clarify the driving mechanisms of phenolic acid-microbiome interactions in CCO formation, and provide theoretical basis for developing precise regulation strategies. 【Methods】Greenhouse strawberry continuous cropping soils (0, 2, 5, 15, and 18 years) were selected as research objects to measure soil physicochemical properties, enzyme activities (urease, catalase, acid phosphatase, and sucrase), and phenolic acid contents (p-hydroxybenzoic acid, ferulic acid, and p-coumaric acid). Illumina MiSeq high-throughput sequencing technology was employed to analyze bacterial and fungal community structures, and redundancy analysis (RDA) was innovatively combined with structural equation

*国家自然科学基金项目 (32571895) 和江苏省自然科学基金项目 (BK20251010) 共同资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 32571895) and the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, China (No. BK20251010).

[†]通讯作者 Corresponding author, E-mail: qqj320@just.edu.cn

作者简介: 杨统一 (1980—), 男, 河南商丘人, 博士, 主要土壤微生物生态研究. E-mail: tongyi@just.edu.cn

收稿日期: 2025-09-29; 收到修改稿日期: 2025-11-29

model to construct causal networks of phenolic acid-microbiome-soil function interactions. 【Results】 The results revealed that long-term continuous cropping resulted in significant soil acidification (pH decreased from 7.35 to 6.20), with continuous accumulation of phenolic acids reaching 247.3 mg·kg⁻¹ at 18 years. Soil enzyme activities exhibited “increase-then-decrease” nonlinear dynamics, peaking at 5 years of continuous cropping (urease activity reached 1 527 U·g⁻¹·h⁻¹), followed by a significant decline at 15 and 18 years. In addition, microbial community analysis revealed that continuous cropping led to a 23.6% reduction in bacterial Shannon diversity, a 43.3% decrease in the bacteria/fungi ratio, and an increase in the relative abundance of pathogenic fungi (e.g., *Fusarium*). Redundancy analysis first confirmed that p-coumaric acid (p-CA) was the dominant factor explaining bacterial community variation (18.9%), while ferulic acid (FA) was the key factor explaining fungal community variation (21.2%). Structural equation model further revealed that phenolic acids affected microbial communities through dual pathways of direct inhibition (path coefficient = -0.85) and indirect regulation (via soil acidification), with phenolic acids serving as the direct dominant factor inhibiting bacterial communities, while fungal community structure was primarily directly regulated by soil acidification. 【Conclusion】 This study elucidated the formation mechanism of CCOs through the “phenolic acid accumulation-soil acidification-microbial imbalance” cascade, revealing the specific effects of phenolic acid as key factors at the field scale. These findings provide a theoretical foundation for developing green prevention and control strategies for CCOs based on microbiome regulation, offering technical support for the sustainable development of the strawberry industry.

Key words: Strawberry continuous cropping; Phenolic acids; Soil microbial community; Enzyme activity; Structural equation model

连作障碍作为制约全球设施农业可持续发展的关键瓶颈, 已引起学术界和产业界的广泛关注^[1-2]。据统计, 全球设施草莓种植面积中约 70% 受到连作障碍影响, 导致平均减产 25%~40%, 严重的地区甚至绝收^[3]。在中国, 草莓作为重要的经济作物, 年种植面积超过 15 万 hm², 但连作障碍问题导致的年均经济损失高达数十亿元, 严重制约了产业的可持续发展^[4]。

连作障碍的本质是土壤生态系统的功能退化, 其形成机制普遍认为涉及“自毒物质积累-土壤理化性质劣化-微生物区系失衡”的级联效应^[5]。近年来, 研究者逐渐认识到酚酸类物质在连作障碍形成中的核心作用, 这些次生代谢产物不仅通过氧化应激直接抑制植物根系发育和养分吸收^[6], 更通过重塑土壤微生物组结构, 破坏土壤生态平衡^[7]。2023 年 *Nature Plants* 报道了酚酸通过 RBP47B 蛋白感知信号抑制种间生长的作用机理^[8]。此外, 连作诱导的土壤酶活性变化改变了碳和氮矿化动力学, 损害生物地球化学循环效率^[9-10]。虽然微生物群落在维持土壤稳态中发挥关键作用, 但其功能恢复能力在持续自体毒素暴露下受损, 导致土壤生态失调。在草莓连作土壤中发现, 对香豆酸和阿魏酸的积累与病原菌丰度呈显著正相关^[7]。

尽管已有大量关于连作障碍的研究, 但多数基于短期试验, 难以反映真实田间长期连作 (>10 a) 的动态演变过程^[11]。本研究拟达成以下目标: (1) 阐明长期连作过程中土壤理化性质、酶活性及酚酸积累的动态演变规律; (2) 解析连作年限对土壤细菌和真菌群落结构及多样性的特异性影响, 揭示微生物群落演替的影响机制; (3) 量化酚酸、土壤理化性质与微生物群落间的互作关系, 构建连作障碍形成的概念模型, 明确关键影响因子及其潜在作用路径。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验地位于江苏省镇江市白兔镇 (31°58′23″N, 119°20′57″E), 该区域是草莓主产区之一。土壤类型为黄棕壤, 成土母质为下蜀黄土。在试验区域内选取连续种植 2 年 (2 a)、5 年 (5 a)、15 年 (15 a) 和 18 年 (18 a) 的“红颜”草莓温室 (666 m²) 为研究对象, 所有温室均采用标准化管理, 包括

相同的灌溉措施、施肥方案（有机肥 $15\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ ，复合肥 $150\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ，N: P_2O_5 : K_2O =15: 15: 15）。对照(CK)样本取自未种植草莓的设施农业用地，土壤的可溶性有机碳 $17.9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，碱解氮 $56.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，有效磷 $10.3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，速效钾 $47.9\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。为消除季节性变异影响，所有样品均在草莓盛花期（4月中旬）采集。在试验温室随机设置 3 个样方（ $10\text{ m}\times 10\text{ m}$ ），随机选取每个样方内 5 株草莓，以草莓植株根部为中心，沿半径 10 cm 范围采集 $0\sim 20\text{ cm}$ 耕层土壤，采用五点混合取样法，共获得 5 个处理 $\times$ 4 个重复计 20 个样品。现场去除植物残体和石块后，样品立即置于冰袋中保存，运回实验室后分为两份：一份保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱，用于后续 DNA 提取和微生物组分析；另一份保存于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，24 h 内完成理化性质等的测定。

1.2 土壤理化性质及酶活性测定

采用 pH 计（土水质量比 1: 2.5）测定土壤 pH。土壤有机碳（SOC）采用元素分析仪（TOC-L CPN, Shimadzu, 日本）测定；碱解氮(AN)采用碱性水解法测定；有效磷(AP)采用钼锑抗比色法测定；速效钾(AK)采用火焰光度法测定^[12]。土壤脲酶（UR）、过氧化氢酶（CA）、蔗糖酶（SU）和酸性磷酸酶（AC）活性均采用北京索莱宝科技有限公司的试剂盒进行测定^[13]。所有酶活性测定均设置 3 个技术重复，结果以单位质量土壤单位时间内底物转化量表示（ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ）。

1.3 土壤酚酸含量测定

本研究选取对羟基苯甲酸(p-HBA)、阿魏酸(FA)和对香豆酸(p-CA)作为目标酚酸，主要依据 Chen 等^[14]的研究，该研究证实这三种酚酸是草莓根系分泌物的主要自毒物质，且在连作土壤中积累最为显著，其浓度与草莓生长抑制呈显著正相关。酚酸测定方法具体如下：取 20 g 风干土壤与 20 mL $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 溶液在 50 mL 离心管中混合。将离心管置于振荡器上并且在 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $120\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下振荡 12 h 。然后将上清液以 $8\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min ，并用 $5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 将 pH 调整为 2.5。静置 2 h 后，再次以 $8\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min 。分离上清液，经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 膜过滤，高效液相色谱仪（HPLC, LC-20A, 岛津，日本）测定酚酸含量。色谱柱为 Symmetry®C18（ $2.1\text{ mm}\times 10\text{ cm}\times 3.5\text{ }\mu\text{m}$ ），检测波长为 245 nm 。以甲醇溶液和醋酸水溶液（pH 2.8）为流动相。流速 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ，进样量 $20\text{ }\mu\text{L}$ 。通过与酚酸标准品（麦克林，99%纯度）的保留时间和保留面积的比较，对酚酸进行鉴定和定量。

1.4 高通量测序与生物信息学分析

土壤 DNA 提取和 Illumina 测序由谷禾信息科技有限公司（杭州）完成。使用 OMEGA 土壤 DNA 试剂盒（OMEGA Inc., 美国），按照试剂盒说明书从 0.5 g 土壤中提取 DNA。采用 Nanodrop 2000c（Thermo, 美国）进行土壤 DNA 定量。

利用引物 515F/806R 检测细菌 16S rRNA 基因的 V4 区，利用引物 ITS1F/ITS2 检测真菌 ITS1 区 ITS 基因^[15]。使用 Illumina HiSeq4000 进行高通量测序。使用微生物生态定量分析平台 2 (QIIME2)、基于局部普遍性率降噪算法 (Deblur) 和嵌合体检测工具 (UCHIME) 对序列进行过滤，以去除嵌合体和有效序列^[16]。使用操作分类单元聚类工具 (UPARSE V.7.1) 以 97% 的相似度聚类，操作分类单元 (OTUs) 注释使用 SILVA 核糖体 RNA 数据库和真菌分子鉴定 UNITE 数据库。序列数据已保存于美国国立生物技术信息中心序列读取档案库 (NCBI SRA 数据库) (登录号: SRR7851395)。

1.5 数据分析

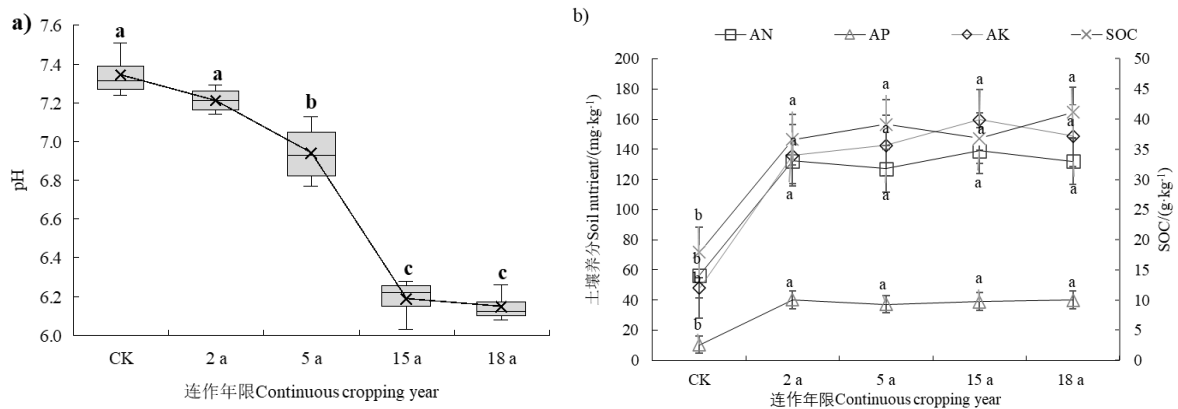
土壤理化性质和酶活性数据采用 Origin 2021 进行单因素方差分析 (One-way ANOVA) 和邓肯 (Duncan) 多重比较 ($P<0.05$)。微生物 α 多样性差异采用非参数克鲁斯卡尔 - 沃利斯检验 (Kruskal-Wallis)。微生物群落结构差异通过置换多元方差分析 (PERMANOVA) (基于 Bray-Curtis 距离, 999 次置换) 评估。采用 MeV 软件对种群进行热图分析。冗余分析 (RDA) 和方差分解分析在 Canoco 5.0 中完成，用于解析环境因子对微生物群落变异的解释率。通过构建结构方程模型 (SEM)，旨在检验本文提出的“酚酸积累-土壤酸化-微生物失衡”概念模型的合理性与数据拟合程度。SEM 分析能够量化变量之间假设的路径关系的强度，但其结果仅表明变量间的统计关联和协变模式，并不能直接证明因果关系，确切的因果机制需通过控制性实验进一步验证。模型构建和评估遵循既往研究

的方法^[17]。使用 Bray-Curtis 方法获得细菌、真菌和土壤因子的数据矩阵，并导入 SPSS 26。通过最大似然法评估酚酸、土壤理化性质与微生物群落之间的直接和间接效应。

2 结果

2.1 土壤理化性质与酶活性变化

长期连作导致土壤 pH 呈现持续下降趋势，从 CK 的 7.35 降至 18 a 的 6.20，降幅达 15.7% ($P < 0.05$) (图 1)。土壤有机碳、碱解氮、有效磷和速效钾含量在连作初期 (2 a) 即显著高于 CK，并在后续连作过程中保持相对稳定。与土壤理化性质恶化相对应，田间观察显示，草莓植株长势随连作年限增加呈现明显的阶段性衰退，连作 15 a 和 18 a 时出现植株矮化、叶片黄化等典型障碍症状。

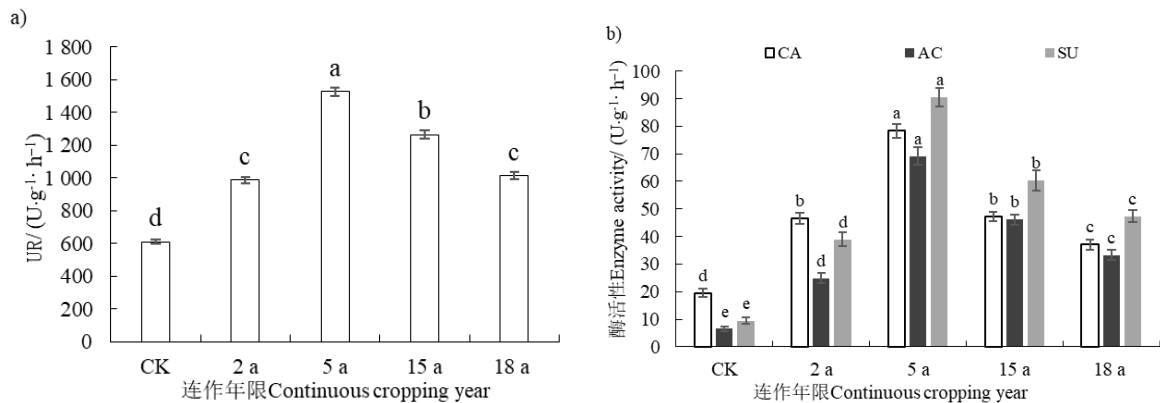


注：CK 表示对照，不同字母表示不同连作年份之间差异显著 ($P < 0.05$) ($n = 4$)。SOC、AN、AP、AK 分别表示土壤有机碳、碱解氮、有效磷、速效钾。下同。Note: CK indicates the Control. Different letters indicate statistical significance at $P < 0.05$ among different years of continuous cropping ($n = 4$). SOC, AN, AP, and AK, respectively represent soil organic carbon, alkali-hydrolyzable nitrogen, available phosphorus, and available potassium, respectively. The same below.

图 1 不同连作年限土壤 pH (a) 和土壤养分 (b)

Fig. 1 Soil pH (a) and soil nutrients (b) in different continuous cropping years

土壤酶活性对连作表现出非线性响应 (图 2)。土壤酶活性在连作 5 a 时达到峰值，其中，脲酶活性 ($1527 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) 和过氧化氢酶活性 ($69.1 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) 分别为 CK 的 2.5 倍和 4 倍。酸性磷酸酶和蔗糖酶活性在 5 a 时达到最高，分别是 CK 的 10.6 倍和 9.6 倍。连作年限超过 10 a 后，酶活性急剧下降，至 18 a 时，各酶活性分别较 5 a 时降低 33.6%~52.6% ($P < 0.05$)。



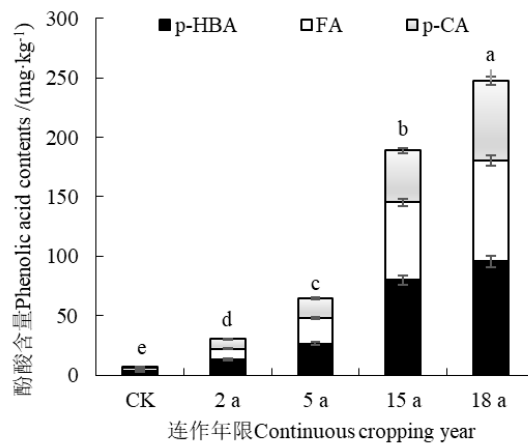
注：UR、CA、AC、SU 分别表示脲酶、过氧化氢酶、酸性磷酸酶、蔗糖酶。下同。Note: UR, CA, AC, and SU denote urease, catalase, acid phosphatase, and sucrose, respectively. The same below.

图 2 不同连作年限土壤酶活性变化

Fig. 2 Changes in soil enzyme activity in different continuous cropping years

2.2 酚酸积累的临界点特征

三种主要酚酸 (p-HBA、FA、p-CA) 的积累呈现非线性增长模式 (图 3)。连作前 5 年, 酚酸含量缓慢增加, 年均增幅 (以干土计) 为 p-HBA $4.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、FA $3.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、p-CA $3.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 连作 5~18 a 间, 积累速率加快, 年均增幅 (以干土计) 分别达到 $5.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $4.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $3.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。至 15 a 时, 酚酸 (以干土计) 总量达到 $189.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 至 18 a 时增至 $247.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。



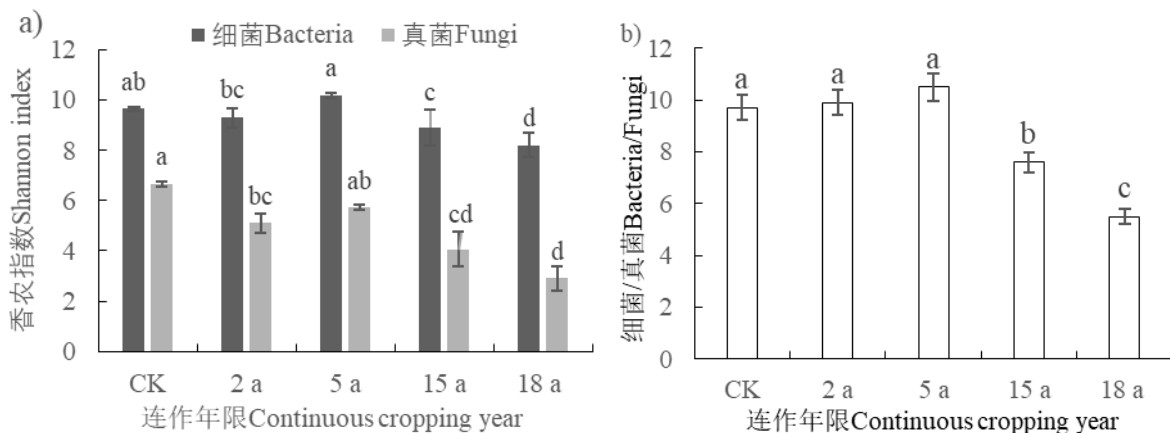
注: p-HBA 表示对羟基苯甲酸, FA 表示阿魏酸, p-CA 表示对香豆酸。下同。Note: p-HBA stands for *p*-Hydroxybenzoic acid, FA for Ferulic Acid, and p-CA for *p*-Coumaric Acid. The same below.

图 3 不同连作年限土壤酚酸的变化

Fig. 3 Variations of soil phenolic acids in different continuous cropping years

2.3 微生物群落多样性及结构变化

长期连作导致土壤微生物结构发生阶段性演变 (图 4)。在连作土壤检测到 2 333~7 235 条细菌 OTUs 和 425~689 条真菌 OTUs。细菌 Shannon 指数在连作前 5 年保持相对稳定 ($9.7 \sim 10.2$), 但在连作 15 a 后显著下降, 至 18 a 时降至 8.2, 较 CK 降低 15.5% ($P < 0.05$)。相比之下, 真菌 Shannon 指数在连作 2 a 后即显著下降, 至 18 a 时较 CK 降低 56.1%。细菌/真菌 (B/F) 比率是反映土壤生态健康的敏感指标, 该比率在连作前 5 年无明显变化, 但在连作 15 a 后急剧下降, 至 18 a 时较 CK 下降 43.3%。



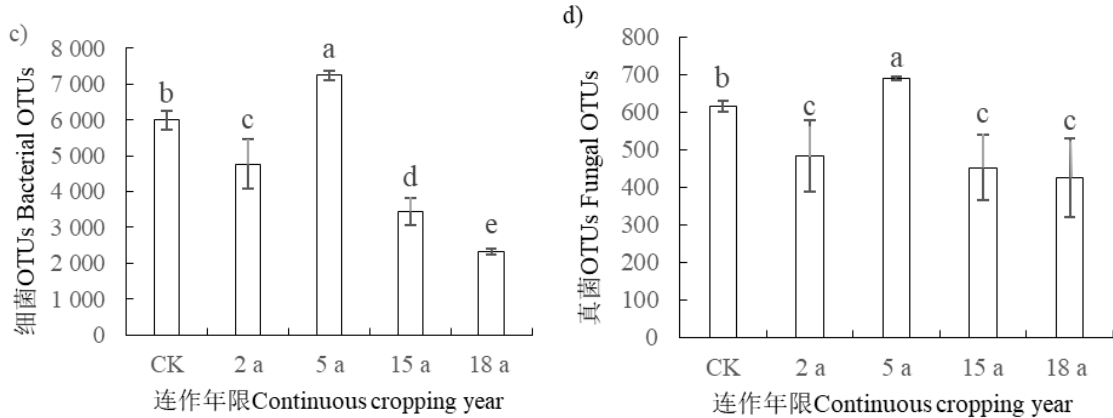
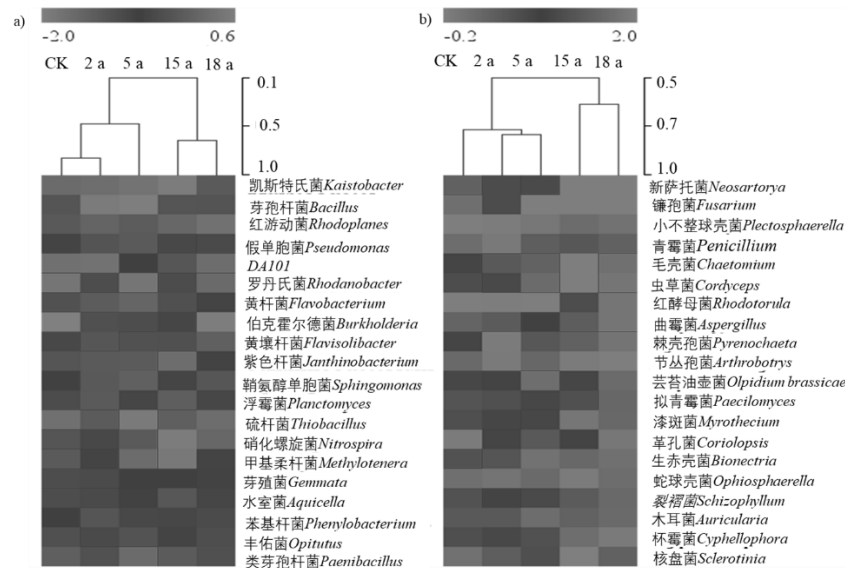


图 4 连作对土壤微生物群落结构的影响 (a. 香农指数, b. 细菌与真菌的相对丰度比, c. 细菌的操作分类单元 (OTUs), d. 真菌的 OTUs)

Fig. 4 Impacts of continuous cropping on microbial community structure in the soil (a. Shannon index, b. Ratio of relative abundance of bacteria to fungi, c. Operational taxonomic units (OTUs) of bacterial, d. Fungal OTUs)

微生物群落的热图分析揭示了明显的阶段性特征 (图 5 a, 图 5b)。在 2 a 和 5 a, 芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 的相对丰度超过其他年份, 但在 15 a 和 18 a 显著下降。此外, 两种主要真菌属的相对丰度也发生了显著变化。镰刀菌属 (*Fusarium*) 的相对丰度随连作年限呈增加趋势, 在 15 a 达到最高点, 但在 18 a 有所下降。在第 15 年和第 18 年, *Arthrotrrys* 属的比例显著下降, 而 *Neosartoria* 属的比例则有所上升。



注: 基于相对丰度的 lg 归一化。Note: lg normalization based on relative abundance.

图 5 相对丰度前 20 的细菌(a)和真菌(b)属

Fig. 5 The top 20 relative abundance of bacteria (a) and fungi (b) at the genus level

2.4 土壤因子-微生物互作的关联机制

RDA 分析显示, 土壤理化因子与微生物群落结构存在显著统计关联 (图 6, 表 1)。细菌群落 RDA 模型解释了总变异的 32.6%, 其中 p-CA ($R^2=0.189$, $P<0.01$)、蔗糖酶 ($R^2=0.097$, $P<0.05$) 和 p-HBA (8.5%, $P<0.05$) 与细菌群落结构变化显著相关。有趣的是, 细菌群落结构随连作年限呈现明显的阶段性变化: 在 CK-5 a 阶段, 细菌群落与土壤酶活性呈正相关; 而在 15 a~18 a 阶段, 细菌群落与酚酸含量呈显著正相关。真菌群落 RDA 模型解释了总变异的 37.7%, 其中 FA ($R^2=0.212$, $P=0.01$) 和 p-CA ($R^2=0.079$, $P=0.05$) 与真菌群落结构变化显著相关。与细菌类似, 真菌群落在连作后期与酚酸含量保持正相关, 但与 pH 的关系从正相关 (CK-5 a) 转变为负相关 (15 a~18 a)。

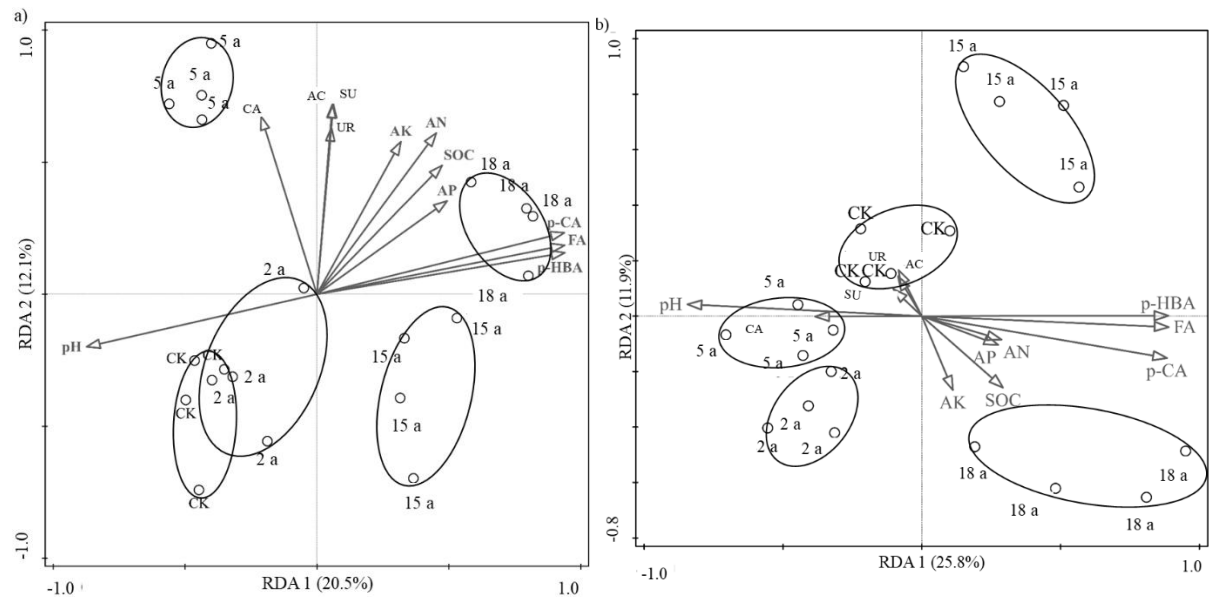


图 6 连作土壤中细菌 (a) 和真菌 (b) 群落冗余分析 (RDA)

Fig. 6 Bacterial (a) and fungal (b) redundancy analysis (RDA) in different continuous cropping soil

表 1 基于 RDA 的土壤环境因子对细菌和真菌群落变化的解释率

Table 1 Explanation rate of soil environmental factors for bacterial and fungal community variation based on RDA/%

环境因子 Environmental factor	细菌 Bacterial R ²	真菌 Fungal R ²
p-CA	18.9**	7.9*
SU	9.7*	6.2
p-HBA	8.5*	5.1
AP	4.4*	4.8
FA	3.8*	21.2**
pH	2.5*	3.3*

注: **表示 $P < 0.01$, *表示 $P < 0.05$ 。下同。Note: ** indicates $P < 0.01$, * indicates $P < 0.05$. The same below.

Spearman 相关分析显示了关键细菌属 (相对丰度前 15)、真菌属 (相对丰度前 10) 与环境因子的关联模式 (表 2)。芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 等有益菌与脲酶、过氧化氢酶活性呈显著正相关, 而镰刀菌属 (*Fusarium*) 与 p-CA、FA 含量呈显著正相关。特别值得注意的是, p-CA 与 8 个细菌属 (包括 *Pseudomonas*、*Janthinobacterium* 等) 呈显著负相关, 而 FA 与镰刀菌属呈显著正相关。

表 2 土壤性质和微生物属相对丰度的斯皮尔曼相关系数

表 2 Spearman correlation coefficient of soil properties and the relative abundance of microbial genera

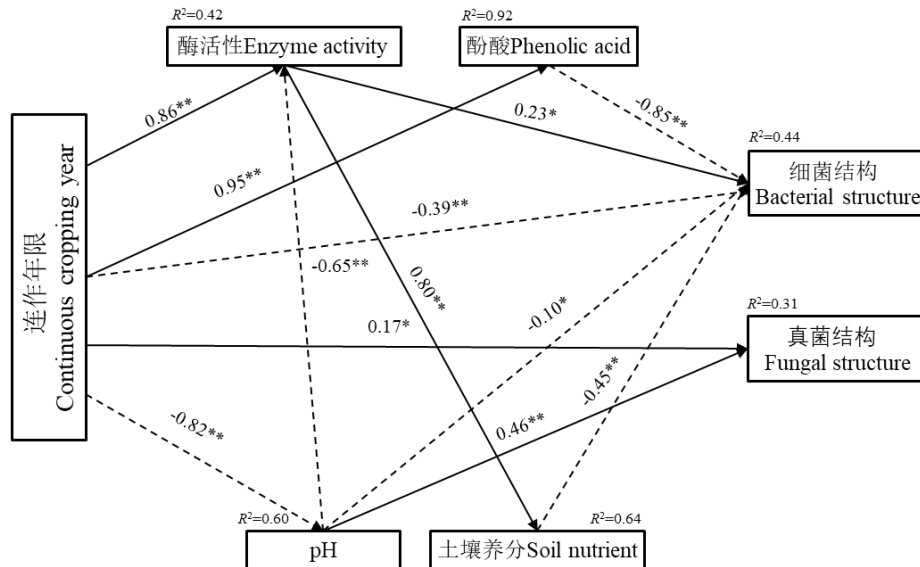
微生物属 Microbial genus	pH	SOC	AN	AP	AK	p-HBA	FA	p-CA	UR	CA	AC	SU
凯斯特氏菌属 <i>Kaistobacter</i>	0.43	-0.49*	-0.26	-0.41	-0.22	-0.50*	-0.50*	-0.49*	-0.07	-0.11	-0.07	-0.09
苯基杆菌属 <i>Phenylobacterium</i>	0.21	0.18	0.13	0.20	-0.13	-0.02	-0.06	-0.01	-0.13	-0.03	-0.21	-0.16

土壤学报
Acta Pedologica Sinica

芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	0.23	0.31	-0.18	0.24	0.00	-0.19	-0.23	-0.18	0.50*	0.60*	0.37	0.42
DA101	0.87*	-0.53*	-0.37	-0.35	-0.58*	-0.89*	-0.88*	-0.89*	-0.42	-0.06	-0.53*	-0.47*
中慢生根瘤菌属 <i>Mesorhizobium</i>	-0.56*	0.52*	0.65*	0.61*	0.47*	0.64*	0.66*	0.64*	0.04	0.06	0.11	0.08
类芽孢杆菌属 <i>Paenibacillus</i>	-0.64*	0.22	0.35	0.21	0.65*	0.64*	0.61*	0.62*	0.01	-0.23	0.02	0.01
甲基杆菌属 <i>Methylibium</i>	0.77*	-0.25	-0.56*	-0.36	-0.62*	-0.77*	-0.77*	-0.81*	-0.17	0.06	-0.24	-0.22
罗丹氏菌属 <i>Rhodanobacter</i>	-0.54*	0.18	0.52*	0.40	0.47*	0.60*	0.61*	0.59*	-0.28	-0.38	-0.15	-0.18
紫色杆菌属 <i>Janthinobacterium</i>	0.82*	-0.61*	-0.56*	-0.57*	-0.78*	-0.86*	-0.85*	-0.87*	-0.28	-0.06	-0.36	-0.31
嗜铜菌属 <i>Cupriavidus</i>	0.00	0.04	0.27	0.38	-0.03	0.11	0.13	0.12	-0.48*	-0.37	-0.43	-0.42
沉积物杆菌属 <i>Sediminibacterium</i>	-0.21	0.05	0.72*	0.23	0.31	0.24	0.28	0.26	-0.22	-0.10	-0.18	-0.21
粪杆菌属 <i>Faecalibacterium</i>	-0.52*	-0.14	0.40	0.10	0.26	0.49*	0.49*	0.52*	-0.18	-0.46*	-0.12	-0.12
水栖菌属 <i>Aquicella</i>	-0.72*	0.45*	0.65*	0.43	0.75*	0.74*	0.73*	0.70*	0.57*	0.38	0.68*	0.63*
黄杆菌属 <i>Flavobacterium</i>	0.18	0.17	0.14	0.17	0.06	-0.18	-0.17	-0.18	0.58*	0.79*	0.49*	0.52*
温泉单胞菌属 <i>Balneimonas</i>	0.58*	-0.41	-0.49*	-0.39	-0.47*	-0.67*	-0.67*	-0.66*	-0.26	-0.20	-0.17	-0.22
小梨形菌属 <i>Pirellula</i>	0.71*	-0.39	-0.29	-0.28	-0.51*	-0.76*	-0.71*	-0.71*	-0.15	0.18	-0.23	-0.20
甾体杆菌属 <i>Steroidobacter</i>	-0.02	0.23	0.16	0.11	0.16	0.01	0.00	-0.01	0.53*	0.53*	0.64*	0.57*
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	0.59*	-0.09	-0.05	0.02	-0.39	-0.56*	-0.62*	-0.62*	0.03	0.34	-0.14	-0.05
砂单胞菌属 <i>Arenimonas</i>	0.46*	0.11	-0.11	0.04	-0.17	-0.42	-0.44	-0.44	0.43	0.69*	0.35	0.36
甲基营养菌属 <i>Methylotenera</i>	0.42	0.12	-0.47*	-0.10	-0.31	-0.38	-0.36	-0.39	0.21	0.42	0.12	0.19
镰孢属 <i>Fusarium</i>	-0.80*	0.42	0.38	0.44	0.69*	0.76	0.76*	0.76*	0.51*	0.23	0.66*	0.57*
青霉属 <i>Penicillium</i>	0.78*	-0.53*	-0.44	-0.51*	-0.53*	-0.73*	-0.76*	-0.71*	-0.58*	-0.34	-0.71*	-0.61*
虫草属 <i>Cordyceps</i>	-0.05	-0.15	0.41	0.17	0.36	0.04	0.04	0.01	0.05	0.09	0.03	0.00
毛壳属 <i>Chaetomium</i>	-0.30	-0.04	0.14	-0.15	0.40	0.15	0.19	0.19	0.44	0.26	0.42	0.44
新萨托菌属 <i>Neosartorya</i>	-0.63*	0.09	0.34	0.20	0.48*	0.67*	0.69*	0.71*	-0.06	-0.39	0.08	0.02

2.5 连作障碍形成的级联效应机制

结构方程模型解释了细菌群落结构 44.0%的变异和真菌群落结构 31.0%的变异（图 7）。需特别说明的是，本研究中的路径系数仅表示变量间的统计关联强度，其生物学意义需通过实验验证。模型分析表明：（1）连作年限与细菌群落结构表现出直接的负向关联（路径系数为-0.39），而与真菌群落结构的直接关联较弱（路径系数为 0.17）；（2）连作年限通过促进酚酸积累（路径系数为-0.95），进而与细菌群落结构变化相关联；（3）土壤酸化分别与细菌群落（路径系数为-0.10）和真菌群落（路径系数为 0.46）的变化存在关联。



注：实线箭头表示正关联，虚线箭头表示负关联，箭头旁边的数字表示标准化回归系数。SEM 模型参数：CFI=0.91；TLI=0.78；SRMR=0.03。CFI、TLI 和 SRMR 分别表示比较拟合指数、塔克-刘易斯指数和标准化均方根残差。 Note: The solid arrowheads represent positive associations, and the dashed arrowheads represent negative associations. The numbers next to the arrows represent the standardized regression coefficient. SEM model parameters: CFI=0.91; TLI=0.78; SRMR=0.03. CFI, TLI, and SRMR denote the comparative fit index, Tucker-Lewis index, and standardized root mean square residual, respectively.

图 7 连作效应的结构方程模型 (SEM)

Fig. 7 Structural equation model (SEM) depicting the effects of continuous cropping

3 讨论

3.1 酚酸积累的动态特征与临界阈值

本研究发现草莓连作土壤中酚酸积累呈现非线性动态特征和阈值效应 (图 3)，与以往盆栽试验^[14]不同，该发现与前人^[18]提出的“酚酸积累阈值效应”理论高度吻合。浓度超过 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的酚酸诱导氧化应激和膜通透性破坏，选择性地抑制对营养循环至关重要的关键细菌属 (如假单胞菌属和芽孢杆菌属)^[9]。当酚酸总量超过 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (15 a 连作) 时，微生物群落结构发生明显变化，该阈值与草莓自毒作用阈值^[14]一致，但低于黄瓜的 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 阈值^[19]，表明不同作物对酚酸的敏感性存在物种特异性。

本研究还发现 p-CA 和 FA 在总酚酸中的比例随连作年限增加而上升，至 18 a 时达到 61.0%，而 p-HBA 比例则相应下降 (图 3)。该发现与 Xie 等^[8]报道的分子机制相呼应——p-CA 能特异性结合细菌膜蛋白，干扰细胞膜完整性，而 FA 则可能作为真菌的碳源促进病原菌增殖。这种酚酸组成的动态变化可能是导致微生物群落阶段性演变的关键影响因素。尽管体外实验表明 p-CA 对黑轮斑霉具有抑制作用^[20]，但在田间条件下，p-CA 反而与镰刀菌丰度呈显著正相关^[14]，这种差异可能源于土壤酸化增强了真菌对酚酸的耐受性，如 Yin 等^[7]通过转录组学证实的镰刀菌 ABC 转运蛋白上调机制。这种底物特异性促进作用与三七连作系统中的发现^[21]一致。

3.2 酚酸-微生物互作的级联效应机制

本研究发现 p-CA 和 FA 虽同属羟基肉桂酸类，却分别主导了细菌和真菌群落的变异 (表 1)。这种特异性机制可能源于二者化学结构的细微差异 (如 FA 的甲氧基结构) 及其对应的微生物生态位分化。p-CA 作为简单的苯丙素类前体，更易被多种土壤细菌通过原儿茶酸途径降解，其过程可能产生醌类等中间产物，对细菌群落产生选择性压力^[20]。而 FA 的甲氧基结构，可能使其成为特定真菌更

具优势的碳源,某些镰刀菌属真菌能够分泌特异性酯酶从而高效利用 FA^[7]。因此,酚酸不仅是生长抑制物,更是通过微生物代谢偏好来重塑群落结构的“生态杠杆”。本研究初步构建了“连作年限→酚酸积累/土壤酸化→微生物群落重构”的作用路径。当酚酸总量低于 100 mg·kg⁻¹时,土壤微生物生态系统具有缓冲能力;超过该阈值,微生物多样性和细菌/真菌比值急剧下降(图 4b)。

3.3 微生物群落结构失衡的生态后果与连作障碍防控启示

长期连作(>15 a)驱动土壤微生物区系发生了根本性演变,其特征为细菌/真菌丰度比下降 43.3% (图 4b),生态系统由“细菌主导”的养分循环类型向“真菌主导”的病原抑制类型转化。此结构失衡伴随关键有益菌(如 *Bacillus*、*Pseudomonas*)的衰减与病原真菌(如 *Fusarium*)的持续富集,标志着土壤微生态系统服务功能的严重退化。

综合 Chen 等^[14]提出的“三阶段模型”,15~18 a 连作土壤已进入第三阶段(>8 a),即“自毒物质积累与功能微生物缺失共同导致系统不可逆退化”的阶段。在此阶段,单纯依赖土壤自我修复已难以逆转连作障碍。因此,亟需通过外源干预重建有益微生物网络,例如施用 *Bacillus subtilis*、*Trichoderma harzianum* 等功能菌剂,或结合有机改良剂(如生物质炭、腐殖酸和腐熟有机肥)以降解除酚酸,提升 pH,从而恢复土壤生态平衡^[22]。

3.4 连作障碍的级联效应概念模型整合

本研究构建的结构方程模型整合了草莓连作障碍形成过程中的关键要素,揭示了其源于“连作年限驱动—酚酸积累与土壤酸化—微生物区系失衡”的级联效应。模型结果表明,土壤酸化主要由连作年限直接驱动,并与酚酸积累显著关联(图 7)。这一方面可能源于植物与微生物代谢持续释放的有机酸(包括酚酸)^[11],另一方面,长期连作下即使施肥量不变,土壤缓冲能力的持续下降也可能加剧了酸化进程。必须指出,本模型所揭示的是基于田间数据的强统计关联,为上述级联效应假说提供了有力支持;然而,这些路径中可能蕴含双向作用(如微生物群落演变同样反作用于酚酸降解与 pH 动态)。

本研究在田间尺度上明确了草莓连作存在一个约 5 a 的关键生态转折点(图 2,图 4),该发现为连作障碍的精准防控提供了关键的时间窗口。尽管不同作物系统的具体转折年限因物种特性、土壤环境与管理模式而异^[23],但“生态系统功能由量变累积至质变”的临界现象,在谷子、烟草等作物的连作系统中已被观察到^[24-25]。这提示,识别并界定特定作物-土壤系统的关键窗口期,可能是实现连作障碍从被动治理向主动预警转变的一个普适性策略。

4 结 论

长期草莓连作驱动土壤环境发生定向演变,其核心特征为土壤酸化与酚酸类自毒物质(尤其是对香豆酸和阿魏酸)的持续积累。土壤酶活性与微生物群落结构对此胁迫的响应呈现明显的阶段性特征,并在连作约 5 a 时出现关键转折:酶活性达到峰值后转而衰减,细菌多样性下降、细菌/真菌比率降低及病原真菌(如镰刀菌属)富集。统计分析验证,对香豆酸和阿魏酸是解释微生物群落变异的主导因子,而结构方程模型则揭示了“连作年限→酚酸积累/土壤酸化→微生物区系失衡”这一级联路径。本研究确立连作前 5 年为阻控草莓连作障碍生态恶化的关键窗口期,为实施基于微生态调控的早期预警和精准防控提供了明确的理论依据与实践靶点。

参考文献(References)

- [1] Zheng X Q, Wei L, Lv W G, et al. Long-term bioorganic and organic fertilization improved soil quality and multifunctionality under continuous cropping in watermelon[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2024, 359: 108721.
- [2] You C, Yang T J, Zhou X G, et al. Research advances on mechanisms and preventions of soil-borne diseases exacerbated by root exudates in continuous cropping systems[J]. Acta Pedologica Sinica, 2024, 61(5): 1201-1211.[游川, 杨天杰, 周新刚, 等. 连作根系分泌物加剧土传病害的

- 机制和缓解措施研究进展[J]. 土壤学报, 2024, 61(5): 1201-1211.]
- [3] Chen Y D, Yang L, Zhang L M, et al. Autotoxins in continuous tobacco cropping soils and their management[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1106033.
- [4] Zhang Q R, Liu X L, Xu S G, et al. Effects of exogenous methyl jasmonate on soil nutrients and enzyme activities of continuous cropping strawberry[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 35(8): 1764-1769.[张奇瑞, 刘小林, 徐胜光, 等. 外源茉莉酸甲酯对连作草莓土壤养分和酶活性的影响[J]. 西南农业学报, 2022, 35(8): 1764-1769.]
- [5] Xuan P X, Ma H K, Deng X P, et al. Microbiome-mediated alleviation of tobacco replant problem *via* autotoxin degradation after long-term continuous cropping[J]. *iMeta*, 2024, 3(2): e189.
- [6] Hu H J, Meng J, Zheng H, et al. Relief effect of biochar on continuous cropping of tobacco through the reduction of p-hydroxybenzoic acid in soil[J]. *Heliyon*, 2024, 10(12): e33011.
- [7] Yin Q, Chen Z, He P X, et al. Allelopathic effects of phenolic acid extracts on *Morchella* mushrooms, pathogenic fungus, and soil-dominant fungus uncover the mechanism of more continuous cropping obstacle[J]. *Archives of Microbiology*, 2024, 206(1): 55.
- [8] Xie Z L, Zhao S, Li Y, et al. Phenolic acid-induced phase separation and translation inhibition mediate plant interspecific competition[J]. *Nature Plants*, 2023, 9(9): 1481-1499.
- [9] Ding M J, Dai H X, He Y, et al. Continuous cropping system altered soil microbial communities and nutrient cycles[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1374550.
- [10] Yu T Y, Sun Q Q, Liu Z G, et al. The application of *Orychophragmus violaceus* as a green manure relieves continuous cropping obstacles in peanut cultivation by altering the soil microbial community and functional gene abundance[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2024, 24(3): 4727-4742.
- [11] Bai Y X, Wang G, Cheng Y D, et al. Soil acidification in continuously cropped tobacco alters bacterial community structure and diversity *via* the accumulation of phenolic acids[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 12499.
- [12] Liu S L, Khan M H, Yuan Z Y, et al. Response of soil microbiome structure and its network profiles to four soil amendments in monocropping strawberry greenhouse[J]. *PLoS One*, 2021, 16(9): e0245180.
- [13] Ma H Y, Xie C, Zheng S L, et al. Potato tillage method is associated with soil microbial communities, soil chemical properties, and potato yield[J]. *Journal of Microbiology*, 2022, 60(2): 156-166.
- [14] Chen P, Wang Y Z, Liu Q Z, et al. Phase changes of continuous cropping obstacles in strawberry (*Fragaria* × *Ananassa* Duch.) production[J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 155: 103626.
- [15] Huang Y, Xiao X, Huang H Y, et al. Contrasting beneficial and pathogenic microbial communities across consecutive cropping fields of greenhouse strawberry[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(13): 5717-5729.
- [16] Robinson K, Yang Q, Stewart S, et al. Biogeography, succession, and origin of the chicken intestinal mycobiome[J]. *Microbiome*, 2022, 10(1): 55.
- [17] Yang T Y, Tang G T, Li L, et al. Interactions between bacteria and eukaryotic microorganisms and their response to soil properties and heavy metal exchangeability nearby a coal-fired power plant[J]. *Chemosphere*, 2022, 302: 134829.
- [18] Liao J M, Xia P G. Continuous cropping obstacles of medicinal plants: Focus on the plant-soil-microbe interaction system in the rhizosphere[J]. *Scientia Horticulturae*, 2024, 328: 112927.
- [19] Hu Y S, Wu K, Li C X, et al. Effects of phenolic compounds on the growth of *Cucumis sativus* seedlings and *Fusarium oxysporum* hypha[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2007, 26(11): 1738-1742.[胡元森, 吴坤, 李翠香, 等. 酚酸物质对黄瓜幼苗及枯萎病菌菌丝生长的影响[J]. 生态学杂志, 2007, 26(11): 1738-1742.]
- [20] Yuan S Z, Li W S, Li Q Q, et al. Defense responses, induced by *p*-coumaric acid and methyl *p*-coumarate, of jujube (*Ziziphus jujuba* mill.) fruit against black spot rot caused by *Alternaria alternata*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(10): 2801-2810.
- [21] Wang C X, Zhao X L, Li Q M, et al. Alleviation of root rot pathogenicity in the continuous cropping soil of *Panax notoginseng* by biogas slurry flooding and infiltration treatments[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2024, 24(1): 337-348.
- [22] Wei S P, Wu M, Li P F, et al. Effects of humic acid on fungal community structure in a peanut-continuous cropping soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2023, 60(3): 846-856.[魏世平, 吴萌, 李朋发, 等. 腐殖酸对花生连作地土壤真菌群落结构的影响[J]. 土壤学报, 2023, 60(3): 846-856.]
- [23] Liu S Y, Jin J S, Li H L, et al. Effects of different cropping patterns on diversity of microbial communities, enzyme activities and physicochemical properties of flue-cured tobacco rhizosphere soil[J]. *Soils*, 2025, 57(4): 806-814.[刘士瑶, 金江山, 李虎林, 等. 不同种植模式对烤烟根际土壤微生物群落多样性、酶活性及理化性质的影响[J]. 土壤, 2025, 57(4): 806-814.]

- [24] Ao J C, Qin S G, Qiu X L, et al. Responses of rhizosphere soil fungal community structure and function to continuous cropping of different resistant varieties of tobacco root rot[J]. *Soils*, 2025, 57(1): 107-113.[敖金成, 秦树刚, 邱学礼, 等. 烟草根腐病不同抗性品种根际土壤真菌群落结构及功能对连作的响应[J]. *土壤*, 2025, 57(1): 107-113.]
- [25] Zhang P P, Xia L H, Sun Y T, et al. Soil nutrients and enzyme activities based on millet continuous cropping obstacles[J]. *Scientific Reports*, 2024, 14(1): 17329.

(责任编辑: 陈荣府)