

不同种植方式下大豆田土壤微生物磷脂脂肪酸特征

姚 钦^{1,2},许艳丽¹,宋 洁^{1,3},魏 巍¹

(1. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所/黑土区农业生态院重点实验室,黑龙江 哈尔滨 150081; 2. 中国科学院大学 研究生院,北京 100049; 3. 东北农业大学 农学院,黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:磷脂脂肪酸方法(PLFA)可较准确地表达土壤微生物的类群及其生物量,是一种快速、重现性好的分析土壤微生物群落结构多样性方法。以中国科学院海伦农业生态试验站定位试验区大豆 20 年连作、轮作、迎茬和裸地的耕层土壤为对象,采用 PLFA 方法在大豆盛花期、鼓粒期和成熟期对不同轮作方式下土壤微生物群落结构进行研究。结果表明:20 年连作使土壤微生物总磷脂脂肪酸含量有所增加,尤其是在盛花期,20 年连作微生物总磷脂脂肪酸(PLFA)含量为10 327 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,显著高于其它轮作方式,20 年轮作和迎茬土壤微生物总磷脂脂肪酸含量在大豆 3 个生育时期变化并不显著。土壤中真菌、细菌和放线菌 PLFA 含量与总 PLFA 含量变化基本一致。但是轮作条件下细菌/真菌磷脂脂肪酸比值显著高于其它轮作方式,说明轮作增加了土壤细菌 PLFA 含量,降低了真菌 PLFA 含量。对主要 PLFAs 进行主成分分析,主成分一(PC1)解释了 45.5% 的变异,主成分二(PC2)解释了 20.6% 的变异,而且从主成分得分图上可明显将轮作和迎茬与连作和裸地区分开。结果说明 20 年连作在一定程度上改变了土壤微生物群落结构,但 20 年轮作土壤生态系统仍然相对较稳定。

关键词:大豆;轮作;磷脂脂肪酸;土壤微生物
中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2015.03.0442

Characteristics of Phospholipid Fatty Acids of Soil Microorganism under Different Plant Patterns of Soybean

YAO Qin^{1,2}, XU Yan-li¹, SONG Jie^{1,3}, WEI Wei¹

(1. Key Laboratory of Mollisols Agroecology/Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Phospholipid fatty acid (PLFA) method can accurately express soil microbial groups and biomass. It is a rapid and reproducible analysis method of soil microbial community structure diversity. Based on the long term experimental field at Hailun Agro-ecosystem Experimental Station of Chinese Academy of Sciences, soil microorganism community structure was studied at the flowering stage, seed-filling stage and maturing stage of soybean using the PLFA method under 20 years soybean continuous cropping, rotational cropping, normal rotation and bare land. The results showed that total PLFAs of soil microorganism increased under 20 years soybean continuous cropping. It was significantly higher than other rotation systems, especially at the flowering stage (10 327 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). There were no significant differences in total PLFAs at the flowering stage, seed-filling stage and maturing stage of soybean between rotational cropping and normal rotation. Soil fungal PLFAs, bacterial PLFAs and Actinomycetic PLFAs had the similar trend compared with total PLFAs in the whole growth period of soybean. But bacterial PLFAs/fungal PLFAs under 20 years rotational cropping was significantly higher than other rotation systems. It indicated that rotational cropping could induce the increase of bacterial PLFAs and decrease of fungal PLFAs. Principal component analysis (PCA) was adopted to investigate the main soil microorganism PLFAs. PC1 explained 45.5% of the variation, PC2 explained 20.6% of the variation, which helped successfully distinguish rotational cropping and normal rotation from 20 years soybean continuous cropping and bare land in the principal components scores charts. It indicated that 20 years soybean continuous cropping could change soil microorganism community structure. However, soil ecosystem kept relatively stable under 20 years rotational cropping.

Keywords: Soybean; Rotation; Phospholipid fatty acid; Soil microorganism

土壤微生物对土壤功能、生态系统的稳定和自然界元素循环等具有重要的作用^[1],它可以发挥分解土壤中的有机物质、促进土壤养分释放、推动能量顺利转移等重要作用以支持生物地化循环的最

终完成。保持微生物的多样性对于土壤质量和安全及农业生产都具有重要意义。作物连作会打破土壤微生物生态平衡,引起微生物区系组成发生变化,导致土壤中微生物选择性富集,造成作物的连

收稿日期:2014-07-04
基金项目:中国科学院知识创新工程重要方向项目(kzcx2-yw-408-3)。
第一作者简介:姚钦(1987-),男,博士,主要从事土壤微生态研究。E-mail: invite734506@163.com。
通讯作者:许艳丽(1958-),女,研究员,博导,主要从事植物线虫病害、作物病虫害生物生态控制和土壤生态研究。E-mail: xyll@iga.ac.cn。

作障碍^[2]。曾有报道认为大豆^[3]、温室黄瓜^[4]、草莓^[5]等作物连作后会引引起土壤次生盐渍化,自毒物质不断积累,并且对土壤微生物生长产生抑制作用。作物轮作能减轻连作障碍,有利于作物生长和提高产量,并对土壤微生物具有重要影响。轮作能够改善土壤通气性,对自生固氮菌、硝化细菌和氨化细菌等多种微生物数量的增加具有一定的促进作用^[6]。有研究认为,大豆或小麦与黄瓜进行轮作后,土壤中微生物多样性指数明显增高,轮作更有利于维持土壤微生物的多样性及活性^[7]。

近年来,随着土壤微生物测定方法的不断改进,土壤微生物分析已由传统的培养计数法等发展到根据碳源利用程度来描述微生物动态变化的微平板法(BIOLOG)和利用不同的 DNA 碱基序列指示微生物群落组成差异的变性梯度凝胶电泳法(DGGE)等。但传统分离方法鉴定的微生物只占环境微生物总数的 0.1%~1%,BIOLOG 和 DGGE 等技术在对土壤微生物群落结构进行精细解析上也有一定的限制性^[8]。磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFA)图谱分析技术是近年来发展起来的一种新的土壤微生物分析方法,可以定量描述土壤微生物群落结构。磷脂脂肪酸(PLFA)是活体微生物细胞膜的重要组分,不同类群的微生物可通过不同的生化途径合成不同的 PLFA。细胞中的磷脂含量在自然条件下恒定,但细胞死亡后数分钟到数小时内细胞酶水解和释放磷脂,PLFA 被迅速降解,极脂(磷脂)和中性脂类(甘油二酯)可分别作为活性和非活性生物量的标记物,所以 PLFA 可用来评价活体微生物的生物量和微生物群落结构变化,该方法的应用也将对上述技术予以补充。姚槐应等^[9]用 PLFA 法研究了 8 种红壤微生物群落,所有土壤均含有各种饱和的、不饱和的、分枝的及环状的脂肪酸,其中试验鉴定了 C12~C35 的 35 种脂肪酸。目前,已有研究采用传统平板计数法调查大豆不同轮作方式下土壤微生物数量发现连作使土壤微生物总量和细菌数量减少,真菌数量增加^[10-11]。也有报道利用 DGGE 方法和 BIOLOG 技术研究大豆轮作土壤微生物多样性发现轮作提高了土壤细菌多样性^[12]和代谢活性,土壤微生物功能多样性较稳定^[13],但采用磷脂脂肪酸方法研究不同轮作方式下大豆田土壤微生物变化未见报道。

本文以东北黑土区长期定位试验区大豆田为研究对象,采用磷脂脂肪酸方法研究了大豆不同轮作体系中土壤微生物生物量和群落结构多样性变化,进一步分析黑土区大豆田轮作系统土壤微生物结构的磷脂脂肪酸特征,以期评价大豆轮作效应及

在改善土壤微生态中的作用。

1 材料与方法

1.1 试验地点

试验设置在黑龙江省海伦市中国科学院海伦农业生态试验站,位于东北典型黑土带中部, N47°26', E126°38', 海拔高度为 240 m, 属寒温带大陆性季风气候区。冬季寒冷干燥,夏季高温多雨,雨热同季。年均气温 1.5℃, 极端最高温度为 37℃, 极端最低温度为 -39.5℃, 多年平均降水量 530 mm, 70% 集中在 7~9 月份。年均有效积温 2 450℃, 年均日照时数为 2 600~2 800 h, 无霜期为 125 d, 地下水水位埋深 20~40 m。

1.2 试验处理及样品采集

试验始于 1991 年,为大豆不同轮作系统定位试验,采集大豆连作 20 年、轮作 20 年(小麦-玉米-大豆)、迎茬 20 年(玉米-大豆-玉米-大豆)以及裸地 20 年(定期人工除草,保持无植被状态)的土样。设置 3 个随机排列的重复小区,小区面积 77 m², 垄长 10 m, 宽 0.7 m。大豆供试品种为黑农 35, 试验区人工播种种植,施用磷酸二铵 150 kg·hm⁻²。采样时间为大豆盛花期(R2)、鼓粒期(R5)和成熟期(R8)。各轮作系统均按五点取样法在大豆苗间进行土样采集,去除 0~5 cm 表土,采集根围 5~20 cm 土壤样品,混合均匀后用无菌封口袋密封,置于冰盒中带回实验室测定磷脂脂肪酸。

1.3 PLFA 测定

磷脂脂肪酸分析主要参照 Bossio^[14]的方法。主要步骤为:新鲜土壤通过提取液(氯仿:甲醇:磷酸缓冲液体积比为 1:2:0.8)提取,再分别用氯仿、丙酮和甲醇洗提,分离和萃取出磷脂,之后与甲醇进行酯化反应形成脂肪酸甲酯,再用气相色谱测定各种脂肪酸的含量,采用 MIDI 软件系统进行分析,估算土壤微生物生物量及其群落结构。

脂肪酸分子式以“X:YωZ(c/t)”表示,其中“X”代表脂肪酸分子的碳原子总数,“Y”代表不饱和烯键的数目,“ω”代表烯键距离羧基的位置,“Z”为烯键或环丙烷链的位置,后缀“c”和“t”分别代表顺式和反式同分异构体^[15]。

1.4 数据分析

采用 Excel 2003 及 SPSS 15.0 进行数据处理。

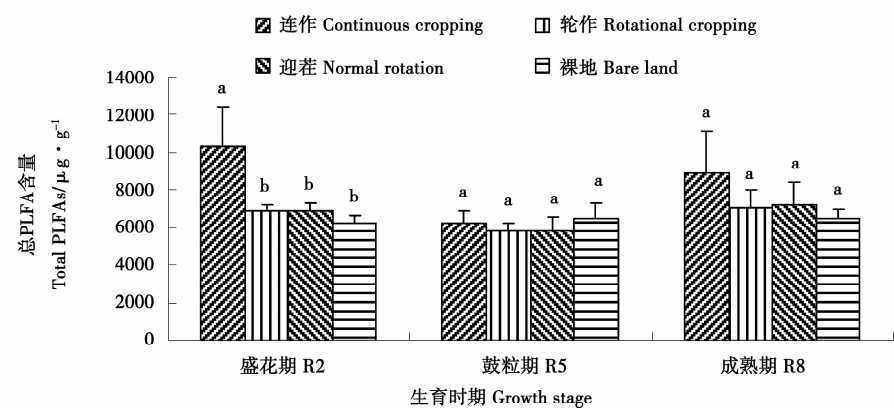
2 结果与分析

2.1 轮作方式对土壤微生物生物量的影响

2.1.1 土壤微生物 PLFA 总量 土壤微生物磷脂

脂肪酸总量表示土壤微生物总的生物量。根据磷脂脂肪酸测试过程中加入的内标质量和浓度,计算不同轮作方式下大豆盛花期、鼓粒期和成熟期的土壤微生物磷脂脂肪酸总量(图1)。不同轮作方式在大豆3个生育时期磷脂脂肪酸总量总体相近,没有大幅变化,但轮作方式间差异明显,连作20年的土壤微生物总磷脂脂肪酸含量在3个时期均高于其它种植方式,尤其在盛花期总磷脂脂肪酸含量为10 327 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,比轮作、迎茬和裸地分别高49.4%、

50.5%和66.8%,差异均达到显著水平。轮作和迎茬在3个时期总PLFA含量基本一致,没有显著差异。而裸地的总PLFA含量在盛花期和成熟期与其它3个种植方式相比最低,最低含量为6 193 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,说明植被覆盖会增加土壤微生物的总PLFA含量。轮作方式影响土壤微生物总PLFA含量,连作20年后使土壤微生物磷脂脂肪酸总量升高,尤以盛花期表现明显。



不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$), 下图同。
Different letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$), the same below.

图1 不同种植方式下土壤微生物总 PLFA 含量
Fig. 1 Total PLFAs of soil microbes under different plant patterns

2.1.2 土壤细菌 PLFA 含量 土壤中细菌磷脂脂肪酸含量表示土壤细菌的生物量,种植方式对土壤中细菌磷脂脂肪酸含量产生了一定的影响(图2)。除裸地外其它3种方式下细菌 PLFA 含量随大豆的生长发育变化趋势基本相近,即在大豆盛花期较高,到大豆鼓粒期细菌 PLFA 含量降低,成熟期细菌 PLFA 含量又升高。不同种植方式相比较看,在大豆盛花期连作20年细菌磷脂脂肪酸含量最高,每克干土中含量为6 333 μg ,显著高于其他种植方式;鼓

粒期时各种种植方式细菌 PLFA 含量为3 555 ~ 3 892 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 干土,四者之间差异不显著;成熟期轮作的细菌 PLFA 含量为6 698 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,高于其它3种种种植方式。总体来看,不同种植方式下细菌磷脂脂肪酸总量与土壤微生物磷脂脂肪酸总量趋势相似,20年连作使土壤细菌磷脂脂肪酸总量升高,尤以盛花期表现明显。说明细菌在土壤微生物中占有主要成分,且不同方式对土壤细菌结构多样性有一定影响,但差异不显著。

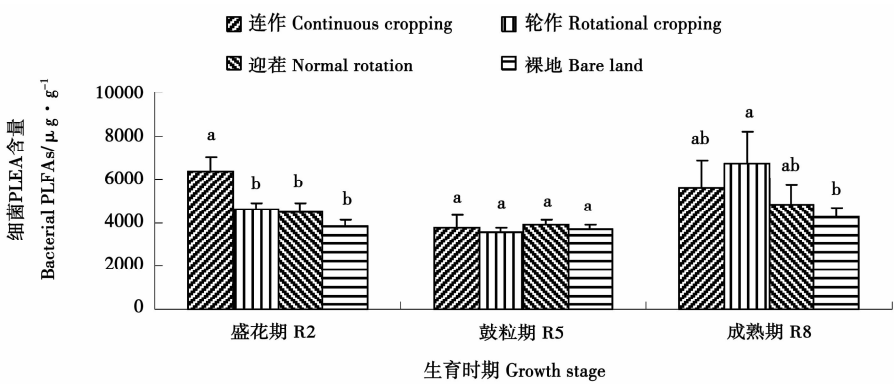


图2 不同种植方式下土壤细菌 PLFA 含量
Fig. 2 Bacterial PLFAs under different plant patterns

2.1.3 土壤真菌 PLFA 含量 土壤真菌磷脂脂肪酸含量表示土壤中真菌的生物量,研究结果看出,种植方式也影响土壤真菌的磷脂脂肪酸含量变化(图 3)。在盛花期 20 年连作土壤真菌磷脂脂肪酸含量为 $539\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,明显高于其它种植方式,差异显著。除盛花期的连作外,其它方式真菌 PLFA 含量

在大豆不同生育时期含量变化不大。轮作条件下的真菌磷脂脂肪酸含量在大豆的 3 个生育期基本较低,说明与其它种植方式相比,轮作对土壤中的真菌影响较大。裸地的真菌 PLFA 含量在大豆鼓粒期明显高于、成熟期略高于其它 3 个方式,说明植被对土壤中真菌含量影响很有限。

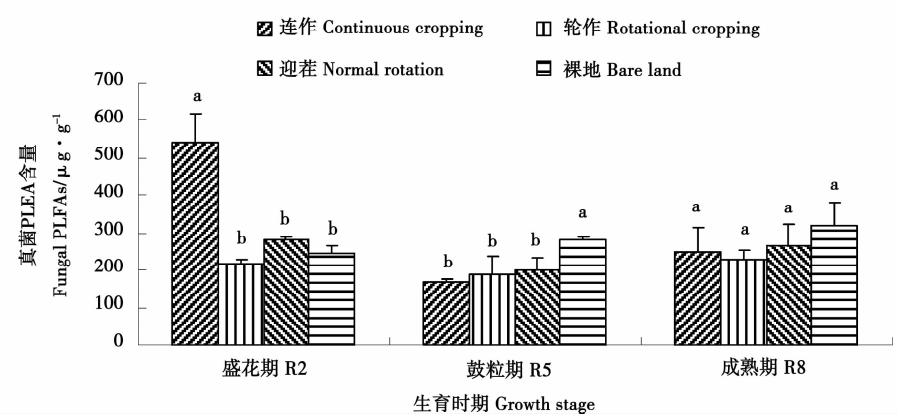


图 3 不同种植方式下土壤真菌 PLFA 含量
Fig. 3 Fungal PLFAs under different plant patterns

2.1.4 土壤放线菌 PLFA 含量 土壤放线菌的磷脂脂肪酸含量表示土壤放线菌的生物量。由图 4 可知,不同种植方式下 3 个时期的土壤放线菌磷脂脂肪酸含量总体差别不大,但在盛花期 20 年连作放线菌 PLFA 含量最高,高达 $343\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,显著高于其它

方式,而后明显下降。而鼓粒期连作的放线菌 PLFA 含量为 $57\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,显著低于轮作和迎茬。轮作和迎茬在 3 个大豆生育时期的放线菌 PLFA 含量都几乎一致,差异不显著,说明土壤放线菌在轮作和迎茬两种轮作方式之间变化不大。

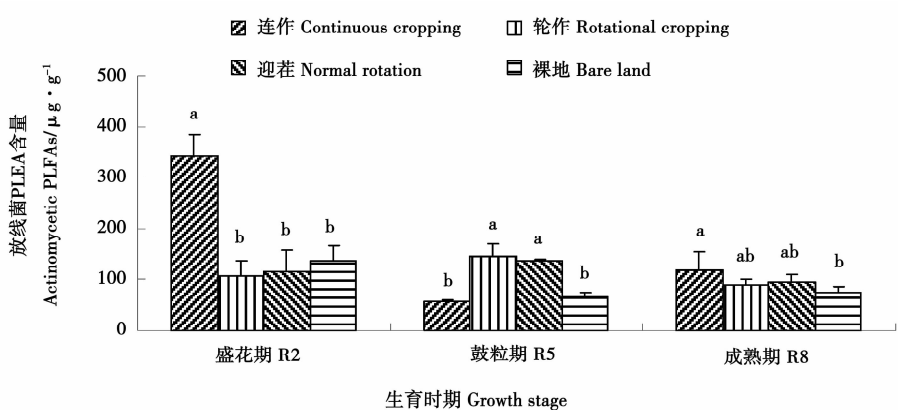


图 4 不同种植方式下土壤放线菌 PLFA 含量
Fig. 4 Actinomycetic PLFAs under different plant patterns

2.2 种植方式对土壤细菌/真菌比值的影响

细菌/真菌通常用来表征土壤中真菌和细菌生物量的变化和两个种群的相对丰富程度及土壤生态系统的稳定性,比值越大,表示土壤生态系统越持续稳定。由图 5 可知,各种种植方式下细菌 PLFA/

真菌 PLFA 含量在大豆不同生育时期的变化趋势基本一致,在盛花期最低,鼓粒期时比值升高,成熟期时又降低。20 年轮作细菌/真菌比值在大豆 3 个生育时期一直处于最高,表明与其他种植方式相比,轮作条件下土壤肥力较高。

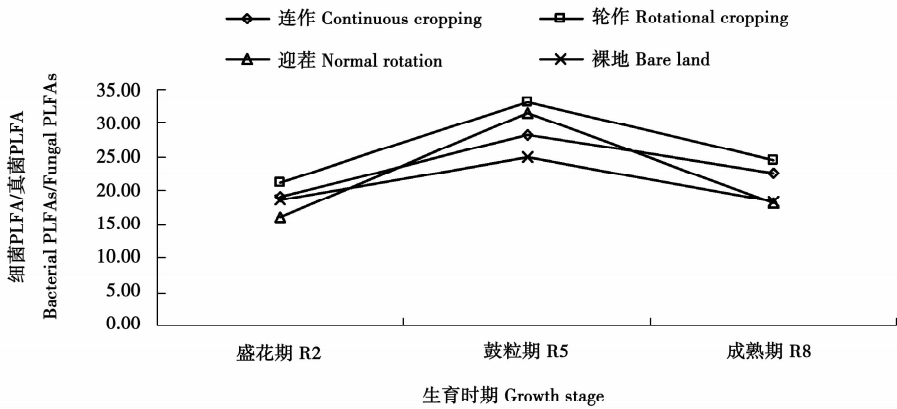


图5 不同种植方式下土壤细菌 PLFAs/真菌 PLFAs 动态变化

Fig. 5 Dynamic change of soil bacterial PLFAs/fungal PLFAs under different plant patterns

2.3 不同种植方式下总 PLFA 主成分分析

对不同种植方式下土壤微生物群落主要 PLFA 进行主成分分析(图 6)。结果表明,主成分 1(PC1)对总 PLFA 数据变异的贡献率为 45.5%,主成分 2 (PC2)对总 PLFA 数据变异的贡献率为 20.6%,累

计贡献率为 66.1%。轮作和迎茬聚集在第二象限,并且相聚很近,说明轮作和迎茬的 PLFA 含量没有显著差异。连作和裸地分散在第一、二和四象限,并且连作距轮作较远,说明不同的种植方式对土壤微生物 PLFA 影响较大。

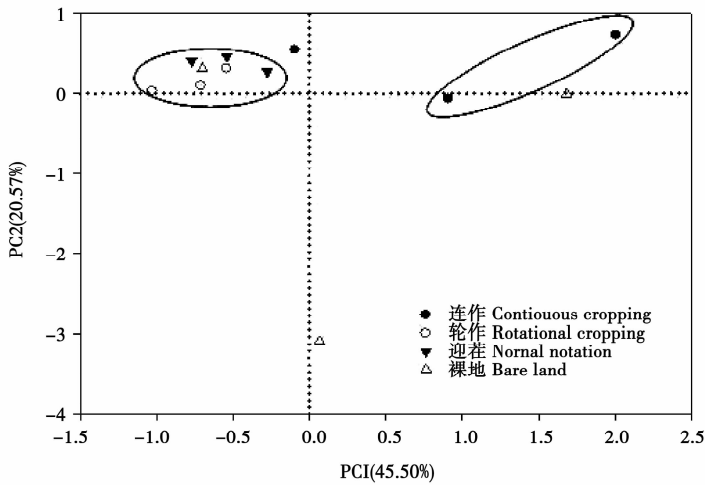


图6 不同种植方式下总 PLFA 主成分分析

Fig. 6 The PCA analysis of total PLFA under different plant patterns

3 结论与讨论

通过利用 PLFA 方法分析不同种植方式下大豆田土壤微生物变化及结构多样性,结果表明经过 20 年大豆连作以后,土壤中微生物总 PLFA、细菌、真菌和放线菌 PLFA 含量有一定的增加趋势,并且,轮作细菌/真菌比值最大,说明轮作增加了细菌磷脂脂肪酸含量,而降低了土壤真菌的磷脂脂肪酸含量,轮作促进了细菌的增殖,长期连作可能会改变土壤微生物群落结构。

土壤微生物多样性是反映生态系统受干扰后细小变化的重点监测因子,它可以描述微生物群落变化、微生物群落生态学机理以及自然或人为干扰对群落的影响^[16]。作物连作会导致土壤微生物种

类与数量变化,影响土壤中微生物种群的平衡。有研究认为大豆连作 1~6 年土壤中三大主要微生物类群变化呈现细菌总量减少、真菌总量增多和放线菌变化不规律的现象^[17]。但是近年来有报道称葡萄连作 30 年后土壤中的细菌和真菌多样性均大于 3 年葡萄连作^[18]。还有研究认为番茄长期连作增加了土壤真菌和细菌的多样性和丰富度^[19]。本研究中大豆经过 20 年连作以后土壤中细菌、真菌和放线菌 PLFA 含量出现增加的趋势,花期表现尤为明显,且花期细菌/真菌比值高于迎茬。但是 1995 年许艳丽等在同一定位区调查发现,与轮作相比 3 年大豆连作土壤中细菌减少真菌增多^[20],这说明大豆经过长期连作后土壤中微生物生态环境可能发生改变,使土壤中微生物群落结构和数量产生变化,

土壤健康状况较短期连作有所改善^[11,21]。

真菌对环境不利因素的抗逆能力较强,细菌相对就较弱,意味着细菌更适合在环境质量较高的土壤中生长,因此细菌/真菌 PLFA 比值可作为衡量土壤健康情况以及是否适合作物良好生长的重要指标。细菌/真菌的比值越大,表示土壤生态系统越持续稳定^[12]。本研究结果表明轮作细菌 PLFA/真菌 PLFA 比值高于其它种植方式,说明轮作条件下土壤肥力和农田土壤环境质量较高。谷岩等^[22]利用 PLFA 方法研究连作大豆根际微生物群落结构微生物变化后,也发现轮作大豆根际土壤细菌和真菌 PLFA 含量比值比连作高。由此说明作物轮作后,土壤转变成更为健康的“细菌型”土壤,土壤生态系统更加稳定。

在土壤微生物多样性研究中,人们采用多种方法分别研究了微生物的功能多样性、结构多样性和遗传多样性等。刘素慧等^[23]采用传统平板计数法单从数量关系上研究连作对大蒜根际土壤微生物的影响,表明连作 15 年后土壤细菌数量下降,真菌数量增加,但是能够进行纯培养的土壤微生物数量只占微生物总数的 0.1%~1%,很难准确提供有关微生物群落结构的信息。在群落结构多样性方面,有研究者采用 PCR-RFLP 方法研究烤烟土壤细菌群落多样性后发现轮作可提高植烟土壤细菌群落的结构多样性,连作使烟草土壤细菌群落结构趋于简单^[24],然而该技术所能获得的信息量相对较少,难以用来评估物种的丰富度和均匀度。而时鹏等^[25]从微生物功能多样性方向出发,利用 BIOLOG 技术研究了玉米连作对土壤微生物群落功能多样性的影响,结果表明玉米连作使土壤微生物活性和功能多样性下降,可是 BIOLOG 微平板孔中的底物类型有限,并且数据库中的菌种资料不够完善^[26],因此可能会低估了土壤微生物的实际情况。本研究采用磷脂脂肪酸方法定量研究轮作方式对大豆田土壤微生物的影响发现轮作促进了土壤细菌数量的增加。土壤微生物研究内容繁复杂,应该结合不同的技术方法综合评价土壤微生物群落结构,为微生物群落结构的研究提供更好的支撑。

致谢:感谢中国科学院华南植物园傅声雷研究员团队协助磷脂脂肪酸的测定。

参考文献

[1] 郑良永,胡剑非,林昌华,等. 作物连作障碍的产生及防治[J]. 热带农业科学,2005,25(2):58-62. (Zheng L Y, Hu J F, Lin C H, et al. The production of succession cropping obstacles and its prevention and cure steps[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture,2005,25(2):58-62.)

[2] 华菊玲,刘光荣,黄劲松. 连作对芝麻根际土壤微生物群落的影响[J]. 生态学报,2012,32(9):2936-2942. (Hua J L, Liu G R, Huang J S. Effect of continuous cropping of sesame on rhizospheric microbial communities[J]. Acta Ecologica Sinica,2012,32(9):2936-2942.)

[3] 王震宇,王英祥,陈祖仁. 重茬大豆生长发育障碍机制初探[J]. 大豆科学,1991,10(1):31-36. (Wang Z Y, Wang Y X, Chen Z R. The nature of soybean-soybean cropping[J]. Soybean Science,1991,10(1):31-36.)

[4] 马云华,魏珉,王秀峰. 日光温室连作黄瓜根区微生物区系及酶活性的变化[J]. 应用生态学报,2004,15(6):1005-1008. (Ma Y H, Wei M, Wang X F. Variation of microflora and enzyme activity in continuous cropping cucumber soil in solar greenhouse[J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2004,15(6):1005-1008.)

[5] 甄文超,曹克强,代丽,等. 连作草莓根系分泌物自毒作用的模拟研究[J]. 植物生态学报,2004,28(6):828-832. (Zhen W C, Cao K Q, Dai L, et al. Simulation of autotoxicity of strawberry root exudates under continuous cropping[J]. Acta Phytocologica Sinica,2004,28(6):828-832.)

[6] 王淑彬,黄国勤. 稻田水旱轮作(第3年度)的土壤微生物效应[J]. 江西农业大学学报(自然科学版),2002,24(3):320-323. (Wang S B, Huang G Q. The effects of paddy-upland rotation on microorganisms of soil(the third year)[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis,2002,24(3):320-323.)

[7] 钟文辉,蔡祖聪. 土壤管理措施及环境因素对土壤微生物多样性影响研究进展[J]. 生物多样性,2004,12(4):456-465. (Zhong W H, Cai Z C. Effect of soil management practices and environmental factors on soil microbial diversity;a review[J]. Biodiversity Science,2004,12(4):456-465.)

[8] Gelsomino A, Keijzer-Wblters A C, Cacco G, et al. Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis[J]. Journal of Microbiological, 1999, 38:1-15.

[9] 姚槐应,何振立,黄昌勇,等. 不同土地利用方式对红壤微生物多样性的影响[J]. 水土保持学报,2003,17(2):51-54. (Yao H Y, He Z L, Huang C Y, et al. Effect of land use history on microbial diversity in red soils[J]. Journal of Soil and Water Conservation,2003,17(2):51-54.)

[10] 许艳丽,王光华,韩晓增. 连、轮作大豆土壤微生物生态分布特征与大豆根部病虫害关系的研究[J]. 农业系统科学与综合研究,1995,11(4):311-314. (Xu Y L, Wang G H, Han X Z. Relation of continuous and rotation soybean soil microorganism distribution character and diseases and insect pests of soybean root[J]. System Sciences and Comprehensive Studies in Agriculture, 1995,11(4):311-314.)

[11] 刘金波,许艳丽,李春杰. 长期连作对大豆根际真菌主要类群的影响[J]. 农业系统科学与综合研究,2009,25(1):105-108. (Liu J B, Xu Y L, Li C J. Effect of soybean long term continual cropping on main groups of rhizosphere fungi[J]. System Sciences and Comprehensive Studies in Agriculture, 2009,25(1):105-108.)

[12] 孟庆杰,许艳丽,李春杰,等. 不同施肥/土地利用方式对黑土细菌多样性的影响[J]. 大豆科学,2008,27(3):480-486. (Meng Q J, Xu Y L, Li C J, et al. Effects of different fertilization

and land use history on the bacterial diversity in black soil [J]. Soybean Science, 2008, 27(3):480-486.)

[13] 孟庆杰,许艳丽,李春杰,等. 不同植被覆盖对黑土微生物功能多样性的影响[J]. 生态学杂志, 2008, 27(7):1134-1140. (Meng Q J, Xu Y L, Li C J, et al. Effects of different vegetation coverage on microbial functional diversity in black soil [J]. Chinese Journal of Ecology, 2008, 27(7):1134-1140.)

[14] Bossio D A, Scow K M. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: Phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns [J]. Microbial Ecology, 1998, 35:265-278.

[15] 毕明丽, 宇万太, 姜子绍, 等. 利用 PLFA 方法研究不同土地利用方式对潮棕壤微生物群落结构的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(9):1834-1842. (Bi M L, Yu W T, Jiang Z S, et al. Study on the effects of different land use patterns on microbial community structure in aquic brown soil by utilizing PLFA method [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(9):1834-1842.)

[16] Gladys L M, Laure B, Alexandra G, et al. Rapid effects of plant species diversity and identity on soil microbial communities in experimental grassland ecosystems [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38: 2336-2343.

[17] 台莲梅, 张红梅, 闫风云, 等. 重迎茬对大豆根际土壤微生物数量的影响[J]. 土壤肥料, 2003(6):41-42. (Tai L M, Zhang H M, Yan F Y, et al. Effect of the amount of soil microbe in soybean hizosphere under the condition of soybean continons or companion cropping [J]. Soils and Fertilizers, 2003(6):41-42.)

[18] 李坤, 郭修武, 孙英妮, 等. 葡萄连作对土壤细菌和真菌种群的影响[J]. 应用生态学报, 2009, 20(12):3109-3114. (Li K, Guo X W, Sun Y N, et al. Effect of grape-replanting on soil bacterial and fungal populations [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, 20(12):3109-3114.)

[19] 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 Horticul-

turae Sinica, 2013, 40(2):255-264.)

[20] 许艳丽, 韩晓增, 王光华. 大豆重迎茬研究 [M]. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社, 1995: 57-66 (Xu Y L, Han X Z, Wang G H. Research of alternate-year and continuous-cropping on soybean [M]. Harbin: Harbin Engineering University Press, 1995: 57-66)

[21] 魏巍. 大豆长期连作土壤对根腐病病原微生物的抑制作用 [D]. 北京: 中国科学院, 2012. (Wei W. The suppressiveness caused by long-term continuous cropping of soybean on the root rot and pathogens [D]. Beijing: Chinese Academy of Sciences, 2012.)

[22] 谷岩, 邱强, 王振民. 连作大豆根际微生物群落结构及土壤酶活性[J]. 中国农业科学, 2012, 45(19):3955-3964. (Gu Y, Qiu Q, Wang Z M. Effects of soybean continuous cropping on microbial and soil enzymes in soybean rhizosphere [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(19):3955-3964.)

[23] 刘素慧, 刘世琦, 张自坤, 等. 大蒜连作对其根际土壤微生物和酶活性的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(5):1000-1006. (Liu S H, Liu S Q, Zhang Z K, et al. Influence of garlic continuous cropping on rhizosphere soil microorganisms and enzyme activities [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(5):1000-1006.)

[24] 段玉琪, 晋艳, 陈泽斌, 等. 烤烟轮作与连作土壤细菌群落多样性比较[J]. 中国烟草学报, 2012, 18(6):53-59. (Duan Y Q, Jin Y, Chen Z B, et al. Comparison of bacteria diversity between tobacco plantation soils of rotational cropping and continuous cropping [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2012, 18(6):53-59.)

[25] 时鹏, 高强, 王淑平, 等. 玉米连作及其施肥对土壤微生物群落功能多样性影响[J]. 生态学报, 2010, 30(22):6173-6182. (Shi P, Gao Q, Wang S P, et al. Effect of continuous cropping of corn and fertilization on soil microbial community functional diversity [J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(22):6173-6182.)

[26] Smalla K, Wachtendorf U, Heuer H. Analysis of BIOLOG GN substrate utilization patterns by microbial communities [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(4):1220-1225.

(上接第 441 页)

[14] 李淑敏, 李隆, 张福锁. 蚕豆/玉米间作接种 AM 真菌与根瘤菌对其吸磷量的影响[J]. 中国生态农业学报, 2005, 13(3):136-139. (Li S M, Li L, Zhang F S. Effect of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and Rhizobium on the P uptake in faba bean/maize intercropping system [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2005, 13(3):136-139.)

[15] 余常兵, 孙建好, 李隆. 种间相互作用对作物生长及养分吸收的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2009, 15(1):1-8. (Yu C B, Sun J H, Li L. Effect of interspecific interaction on crop growth and nutrition accumulation [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2009, 15(1):1-8.)

[16] 郝艳如, 劳秀荣, 赵秉强, 等. 隔根对小麦/玉米间套种植生长特性的影响[J]. 麦类作物学报, 2003, 23(1):71-74. (Hao Y R, Lao X R, Zhao B Q, et al. Effect of separating root method on wheat and corn intercropping system [J]. Journal of Triticeae Crops, 2003, 23(1):71-74.)

[17] 宋亚娜, Marschner P, 张福锁, 等. 小麦/蚕豆, 玉米/蚕豆和小麦/玉米间作对根际细菌群落结构的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(7):2268-2274. (Song Y N, Marschner P, Zhang F S, et al. Effect of intercropping on bacterial community composition in rhizosphere of wheat (*Triticum aestivum* L.), maize (*Zea mays* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.) [J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(7):2268-2274.)

[18] He Y, Ding N, Shi J C, et al. Profiling of microbial PLFAs: Implications for interspecific interactions due to intercropping which increase phosphorus uptake in phosphorus limited acidic soils [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 57:625-634.

[19] Betencourt E, Duputel M, Colomb B, et al. Intercropping promotes the ability of durum wheat and chickpea to increase rhizosphere phosphorus availability in a low P soil [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 46:181-190.