

大豆连作对土体和根际微生物群落功能的影响

李春格¹, 李晓鸣², 王敬国^{1,*}

(1. 中国农业大学资源环境学院, 北京 100094; 2. 黑龙江省农业科学院土壤肥料研究所, 哈尔滨 150086)

摘要: 试验采用 Biolog 方法在大田试验条件下研究了不同连作年限大豆在结荚期和收获期根际和土体微生物群落功能多样性的变化。试验结果表明, 在结荚期和收获期根际微生物群落功能多样性、均匀度指数和 AWCD 均显著高于土体。在结荚期迎茬和连作 8a 的土体微生物多样性、AWCD 均高于正茬和连作 4a 土体; 在收获期正茬和迎茬处理的土体微生物多样性、AWCD 高于连作 4a 和 8a。结荚期迎茬、连作 4a 和 8a 处理的根际微生物群落 AWCD 均显著高于收获期, 说明在大豆植株生长旺盛的结荚期微生物群落的根际效应比收获期更明显。在这两个生长期降解氨基酸、糖类和羧酸类碳源的微生物可能是连作影响的主要土体微生物类群。

关键词: 大豆; 土壤; 微生物群落; 连作障碍; Biolog

文章编号: 1000-0933(2006)04-1144-06 **中图分类号:** S154.37 **文献标识码:** A

Effect of soybean continuous cropping on bulk and rhizosphere soil microbial community function

LI Chun-Ge¹, LI Xiao-Ming², WANG Jing-Guo^{1,*} (1. College of Resources and Environment, China Agricultural University, Beijing, 100094; 2. Institute of Soil and Fertilizer Sciences, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(4): 1144 ~ 1150.

Abstract: Soybean is a main crop in northeast China, but a reduction in crop production occurred widely as a result of continuous soybean cropping on the same soil. This phenomenon is called continuous cropping obstacles. When soybean is cropped continuously in the same field for years, the yield would be reduced by 10% ~ 30% or even more. The area with continuous cropping problem is about 700 000 hm² in parts of northeast China alone. Much work on the problem has been done, however, the origin of replant disease remains unexplained.

Some researchers considered the problem as a disturbance of soil fertility due to the facts that soil enzyme activities and pH decreased and soil structure degraded after continuous soybean cropping. Another hypothesis for the soil problem concerns the phytotoxic or allelopathic effects of shoot or root residues. The latest hypothesis for the decline in soil health focuses on the shift of soil microbial community in continuous cropping system, but it is not yet proved. Therefore, this study aimed to determine the effects of soybean replant disease in the field on rhizosphere and bulk soil microbial community functions. The bacterial community function was characterized for 4 cropping systems, namely, normal rotation with corn (corn-corn-corn-soybean, CCCS), alternation of soybean with other crops (soybean-corn-soybean, SCS), continuous soybean for 4 years (CS4) and continuous soybean for 8 years (CS8) at podding and harvest stages using Biolog method. Our results showed that functional diversity, evenness indices and AWCD from rhizosphere microbial community were significantly higher than those from bulk soil microbial community at both growth stages. Functional diversity and AWCD of bulk microbial community from SCS and CS8 were higher than those from CCCS and CS4 treatments at podding stage; At harvest stage functional diversity and AWCD from CCCS and SCS were

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270768)

收稿日期: 2006-01-16; **修订日期:** 2006-02-10

作者简介: 李春格(1977~), 女, 河北省邢台市人, 博士生, 主要从事微生物分子生态学研究. E-mail: chungeli@sohu.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wangjg@cau.edu.cn

Foundation item: The project was supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30270768)

Received date: 2006-01-16; **Accepted date:** 2006-02-10

Biography: LI Chun-Ge, Ph. D. candidate, mainly engaged in molecular ecology for environmental microbiology. E-mail: chungeli@sohu.com

higher than those from CS4 and CS8. AWCD of rhizosphere microbial community from the treatments of SCS, CS4 and CS8 at podding was higher than that at harvest stage, suggesting that soybean root might excrete larger amounts of organic carbon at first stage than at latter stage. The microbes degrading amino acid, carbohydrate and carboxylic acid were mainly affected by soybean continuous cropping in bulk soil.

Key words: soybean; soil; microbial community; continuous cropping; Biolog

大豆生产中连作栽培是非常普遍的。据 1993 年资料,黑龙江省大豆重迎茬面积占大豆总面积的 36.2% 以上,1996 年黑龙江省东部、北部大豆重迎茬面积已达 70% 以上。大豆连作使产量降低,品质变劣,减产程度与连作年限之间呈正相关^[1]。据 1998 年阮维斌等调查发现黑龙江哈尔滨市双城县约有 133 hm² 大豆由于连作障碍而颗粒无收。从 20 世纪 80 年代至今,关于大豆连作障碍减产的研究已经开展了很多,许多学者在土壤-病原菌-植物的相关方向做了大量研究,如大量及微量养分变化^[2,3],土壤酶活性降低^[4]以及土壤 pH 下降^[5],有害物质如化感物质积累^[6-8],土壤有害生物^[9]如紫青霉菌^[10],大豆胞囊线虫^[11]和根腐病菌^[12]增加等原因。随着研究的不断深入,已有学者指出,土壤微生物群落变化是连作障碍的主要原因之一^[13]。本文利用 Biolog 方法研究了大豆连作不同年限对土体和根际微生物群落功能的影响,为深入理解大豆连作障碍与土体/根际微生物群落之间的关系提供理论和实践依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

试验地位于黑龙江省农科院大豆连作长期试验站,不同处理分别为大豆正茬(玉米-玉米-玉米-大豆),迎茬(大豆-玉米-大豆),大豆连作 4a 和连作 8a 处理。施肥、施药、灌溉等田间常规管理,分别于 2004 年大豆结荚期初和大豆收获期取样,按五点取样法选取大豆植株,先去掉 0~5 cm 的表土,轻轻抖掉根系外围土作为土体土,用毛刷轻轻刷粘附在根表面的土壤作为根际土,用无菌的封口袋包扎密封,置于冰盒中带回实验,研磨过 2 mm 筛后,马上进行 Biolog 试验测定。

1.2 Biolog 试验测定

参考孔维栋等^[14]的方法。称取相当于 10 g 烘干土壤的新鲜土壤加入到装有 100 ml 灭菌的生理盐水(0.85%)的 250 ml 三角瓶中,摇匀。依次稀释至 10⁻³ 倍,向 Biolog 微平板每孔中加入 150 μ l 稀释液。25℃ 培养 168h,每 24h 读数。

1.3 仪器设备

Biolog GN2 微平板和 Biolog Reader 购自美国 BIOLOG 公司(BIOLOG, Hayward, USA)。

1.4 数据分析方法

采用 Biolog 微平板培养 72h 的数据进行数据统计,采用 Shannon 多样性指数和 Shannon 均匀度指数来表征土壤微生物群落代谢功能多样性^[15];将 Biolog GN2 微平板中 95 种碳源进行主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)。BIOLOG 微平板中各孔碳源分类如下,胺类:6 种, F2-F4, H5-H7, 氨基酸类:20 种, F5-G12, 糖类:28 种, A7-C10, 羧酸类, 24 种, D1-E12, 聚合物类:5 种, A2-A6, 其他类:12 种, C11-C12, F1, H1-H4, H8-H12。应用 SAS Release6.12 进行多样性指数差异显著及主成分分析。

2 结果

2.1 连作对土壤微生物群落功能多样性和均匀度指数分析

结荚期根际微生物群落功能多样性和均匀度指数显著高于土体,正茬和连作 4a 的土体微生物多样性较其它处理低,各处理的土体微生物均匀度指数差异不大。收获期各处理根际微生物多样性和均匀度指数显著高于土体,连作 4a 和 8a 处理的土体微生物多样性低于正茬和迎茬。

2.2 连作对每孔颜色平均变化率(Average Well Color Development, AWCD)的影响

在结荚期,土体微生物群落 AWCD 在整个培养期内均显著低于根际微生物,且在培养后期这种根际效应

更显著;迎茬和连作 8a 的土体微生物群落 AWCD 稍高于正茬和连作 4a,迎茬的根际微生物 AWCD 稍低于其他 3 个处理。在收获期,各处理根际及正茬、迎茬土体微生物群落 AWCD 显著高于连作 4a 和 8a 土体。对比大豆不同生长期的根际和土壤微生物群落 AWCD 发现,除正茬土体微生物 AWCD 在这两个生长期无差异外,培养第 168 小时时其他各处理的土体和根际微生物 AWCD 在结荚期均高于收获期,其中连作 8a 处理土体结荚期高于收获期 64.5%,各处理的根际在结荚期高于收获期 20.9%~41.7%。

表 1 结荚期各处理土体/根际微生物群落功能多样性与均匀度

项目 Item		结荚期 podding stage		收获期 Harvest stage	
		Shannon 多样性 Shannon diversity	Shannon 均匀度 Shannon evenness	Shannon 多样性 Shannon diversity	Shannon 均匀度 Shannon evenness
土体 Bulk soil	正茬	3.982 ± 0.052c	0.898 ± 0.009b	4.021 ± 0.078ab	0.903 ± 0.007ab
	迎茬	4.110 ± 0.041b	0.908 ± 0.007b	4.115 ± 0.066ab	0.908 ± 0.016ab
	连作 4a	4.051 ± 0.062bc	0.901 ± 0.011b	3.781 ± 0.248b	0.856 ± 0.031b
	连作 8a	4.111 ± 0.035b	0.912 ± 0.008b	3.803 ± 0.182b	0.855 ± 0.031b
根际 Rhizosphere soil	正茬	4.323 ± 0.011a	0.950 ± 0.003a	4.212 ± 0.041a	0.930 ± 0.009a
	迎茬	4.248 ± 0.027a	0.938 ± 0.006a	4.256 ± 0.020a	0.940 ± 0.002a
	连作 4a	4.248 ± 0.037a	0.938 ± 0.006a	4.182 ± 0.009a	0.922 ± 0.003a
	连作 8a	4.254 ± 0.006a	0.937 ± 0.002a	4.268 ± 0.019a	0.940 ± 0.003a

用 Duncan 法统计,表中同列字母表示为 5% 差异显著水平 (n = 4) Tested by Duncan method, the letter in the same column means significant difference at $p < 0.05$ (n = 4); 正茬 Corn-corn-corn-soybean (CCCS); 迎茬 Soybean-corn-soybean (SCS); 连作 4a Continuous soybean for 4 years (CS4); 连作 8a Continuous soybean for 8 years (CS8);下同 the same below

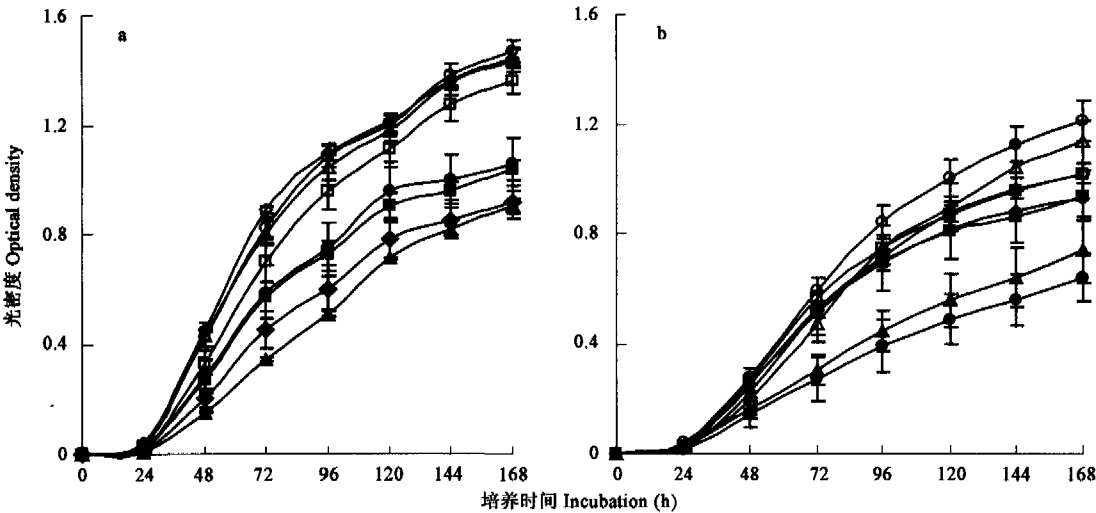


图 1 结荚期(a)和收获期(b)土体/根际微生物群落 AWCD 变化

Fig. 1 AWCD of bulk and rhizosphere microbial community at podding stage (a) and at harvest stage (b)

—◆—土体正茬 Bulk soil of CCCS; —■—土体迎茬 Bulk soil of SCS; —▲—土体连作 4a Bulk soil of CS4; —●—土体连作 8a Bulk soil of CS8; —◇—根限正茬 Rhizosphere soil of CCCS; —□—根际迎茬 Rhizosphere soil of SCS; —△—根际连作 4a Rhizosphere soil of CS4; —○—根际连作 8a Rhizosphere soil of CS8

2.3 连作对 6 类碳源利用率的影响

在结荚期,迎茬和连作 8a 的土体微生物对 6 类碳源利用率高于正茬和连作 4a 处理,各处理根际微生物无差异。正茬和连作 4a 处理的根际效应最明显,正茬根际对氨基酸,糖类,羧酸类,聚合物类,胺类和其他类碳源的利用率比土体分别高 136.0%,104.8%,56.8%,121.5%,292.4%和 89.5%,连作 4a 根际对上面六类碳源的利用率比土体分别高 70.1%,291.5%,63.3%,106.9%,55.3%和 198.1%。在收获期,正茬和迎茬的土体

微生物对六类碳源利用率高于连作 4a 和 8a 处理,各处理根际微生物差异不大,连作 4a 和 8a 根际微生物对糖类和聚合物类碳源利用率分别高于土体 104.4%,174.7%和 58.7%,78.0%,其他处理根际与土体微生物对各类碳源的利用率差异不大。

对比结荚期和收获期的土体和根际微生物对六类碳源的利用率发现,同一处理在两个时期的土体微生物对各碳源利用率差异不大。结荚期根际对六类碳源的利用率比收获期根际分别高 60.6%,50.3%,41.6%,17.2%,103.4%和 52.6%。

从表 2 可以看出,在这两个生长期氨基酸,糖类和羧酸类碳源是各处理土体微生物的主要碳源,除胺类外的其他五类碳源是根际微生物的主要碳源。

表 2 连作对土壤微生物群落六类碳源利用率的影响
Table 2 Effects of soybean replant on substrate utilization by soil microbial community in soil

项目 Item		氨基酸 Amino acid	糖类 Carbohydrate	羧酸类 Carboxylic acid	聚合物类 Polymer	胺类 Amine	其他类 Miscellaneous
结荚期 podding stage							
土体	正茬	0.37 ± 0.04c	0.55 ± 0.13cd	0.56 ± 0.07cd	0.30 ± 0.06c	0.12 ± 0.03d	0.36 ± 0.04cd
	迎茬	0.59 ± 0.09bc	0.61 ± 0.04bc	0.66 ± 0.06bc	0.48 ± 0.03b	0.35 ± 0.04abc	0.43 ± 0.08bc
	连作 4a	0.40 ± 0.02c	0.29 ± 0.02d	0.48 ± 0.01d	0.26 ± 0.01d	0.22 ± 0.01cd	0.21 ± 0.01d
	连作 8a	0.50 ± 0.10bc	0.74 ± 0.17bc	0.62 ± 0.06c	0.41 ± 0.07bc	0.25 ± 0.07bcd	0.56 ± 0.08ab
根际	正茬	0.88 ± 0.04a	1.12 ± 0.04a	0.88 ± 0.01a	0.66 ± 0.04a	0.47 ± 0.03a	0.69 ± 0.00a
	迎茬	0.53 ± 0.06bc	0.90 ± 0.14ab	0.79 ± 0.04ab	0.51 ± 0.06b	0.31 ± 0.04bc	0.59 ± 0.07ab
	连作 4a	0.68 ± 0.08ab	1.13 ± 0.09a	0.78 ± 0.02ab	0.54 ± 0.04ab	0.34 ± 0.05abc	0.63 ± 0.07a
	连作 8a	0.70 ± 0.08ab	1.14 ± 0.06a	0.82 ± 0.02a	0.53 ± 0.01b	0.39 ± 0.05ab	0.64 ± 0.03a
收获期 Harvest stage							
土体	正茬	0.51 ± 0.03a	0.51 ± 0.03a	0.56 ± 0.04abc	0.41 ± 0.09ab	0.32 ± 0.04a	0.34 ± 0.05ab
	迎茬	0.46 ± 0.06a	0.61 ± 0.16ab	0.56 ± 0.04abc	0.44 ± 0.02a	0.26 ± 0.09ab	0.41 ± 0.09ab
	连作 4a	0.40 ± 0.03ab	0.29 ± 0.07b	0.47 ± 0.04bc	0.27 ± 0.05b	0.24 ± 0.01ab	0.29 ± 0.02b
	连作 8a	0.31 ± 0.08ab	0.30 ± 0.11b	0.43 ± 0.08c	0.27 ± 0.05ab	0.22 ± 0.01ab	0.33 ± 0.08ab
根际	正茬	0.41 ± 0.04b	0.68 ± 0.03a	0.57 ± 0.05abc	0.51 ± 0.04a	0.20 ± 0.05ab	0.39 ± 0.04ab
	迎茬	0.48 ± 0.06a	0.76 ± 0.11a	0.58 ± 0.03ab	0.51 ± 0.04a	0.21 ± 0.03ab	0.41 ± 0.04ab
	连作 4a	0.39 ± 0.03ab	0.59 ± 0.14ab	0.54 ± 0.05abc	0.43 ± 0.03a	0.15 ± 0.01b	0.37 ± 0.09ab
	连作 8a	0.46 ± 0.03a	0.82 ± 0.07a	0.62 ± 0.05a	0.47 ± 0.04a	0.19 ± 0.02ab	0.50 ± 0.04a

用 Duncan 法统计,表中同列字母表示为 5% 差异显著水平 (n = 4); Tested by Duncan method, the letter in the same column means significant difference at $\rho < 0.05$ (n = 4); 土体 Bulk soil; 根际 Rhizosphere soil; 正茬 Corn-corn-corn-soybean; 迎茬 Soybean-corn-soybean; 连作 4a Continuous soybean for 4 years; 连作 8a Continuous soybean for 8 years

2.4 土壤微生物群落功能主成分分析(PCA)

从 PCA 图可以看出,结荚期根际与土体的微生物群落差别较大(图 2),根际聚在第 4 象限,土体微生物群落分别在第 2、3 象限。土体正茬聚在第 2 象限,土体连作 4a 聚在第 3 象限。

在收获期根际微生物群落仍然与土体微生物存在很大差异,根际微生物群落聚在第 4 象限,土体微生物群落分布在第 1、2 象限。正茬土体微生物群落落在 PC1 轴正方向,连作 4a 和 8a 处理的土体微生物群落特征相似,聚在 PC1 轴左面。

3 讨论

在本田间试验中发现,连作 6a 后大豆生长逐渐得到改善,连作 8a 处理的生长状况明显好于连作 4a 的大豆。因此按照现在的大豆连作障碍理论,随着连作年限的增加,大豆生长状况越来越差,这些理论不能圆满地解释本试验中的结果。大豆连作障碍是土壤-微生物-植物-气候综合相互作用的结果,单一因素的研究很难对田间试验情况作出较合理的解释。本试验尝试从土壤微生物群落生态的角度研究连作障碍的机理,以期找出连作障碍与土壤微生物群落之间的联系。

本实验结果表明在结荚期和收获期,根际微生物群落功能多样性和均匀度相似。这说明尽管连作年限不同,但大豆根际分泌物的种类和数量并未影响根际微生物群落的多样性。这可能由于一方面根系分泌物的种

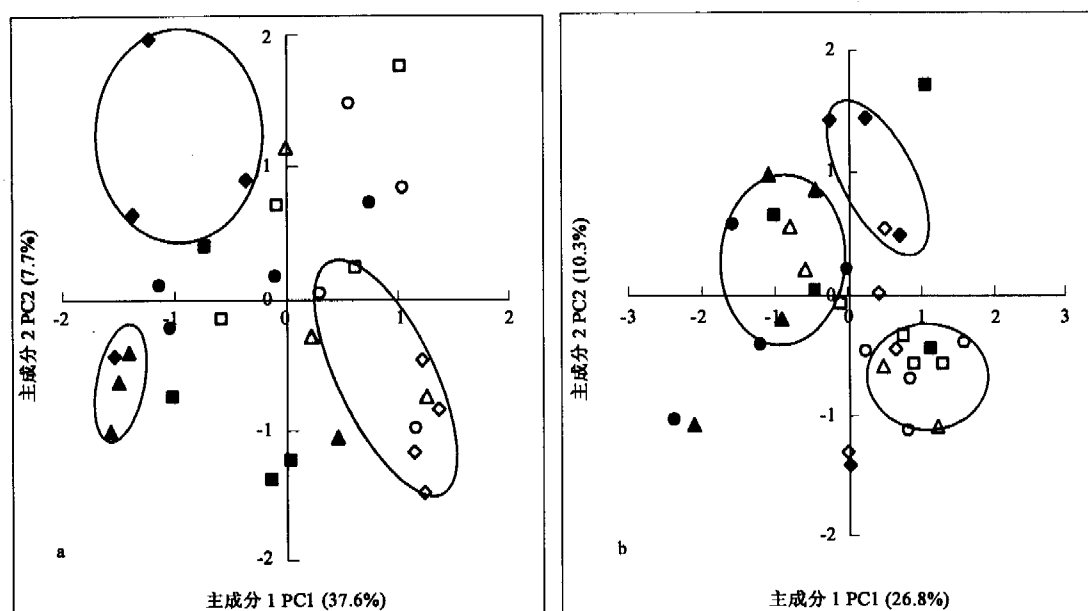


图2 微生物群落主成分分析结荚期(a)和收获期(b)

Fig.2 Principal component analysis of bulk and rhizosphere microbial community at podding stage(a) and harvest stage (b)

—◆—土体正茬 Bulk soil of CCCS; —■—土体迎茬 Bulk soil of SCS; —▲—土体连作 4a Bulk soil of CS4; —●—土体连作 8a Bulk soil of CS8; —◇—根际正茬 Rhizosphere soil of CCCS; —□—根际迎茬 Rhizosphere soil of SCS; —△—根际连作 4a Rhizosphere soil of CS4; —○—根际连作 8a Rhizosphere soil of CS8

类和数量相似,另一方面根际微生物群落功能多样性是一个相对较稳定的参数,不易受外界环境变化的影响。对土体微生物群落功能多样性而言,仅结荚期正茬处理显著低于迎茬和连作 8a 处理,其他各处理之间无显著差异,这是由于正茬处理连续 3a 种植玉米后大量消耗了土壤养分,土壤中有效养分显著下降而导致正茬处理的土体微生物群落功能多样性显著低于迎茬。

微生物群落多样性反映了群落总体的变化,但未能反映微生物群落组成的详细信息^[16]。研究微生物群落对不同碳源利用能力的差异,可深入了解微生物群落的功能。本研究结果表明,大豆同一处理在不同生长期的土体和根际群落 AWCD 及对各类碳源的利用率差异很大,这说明微生物群落功能受根系分泌物影响很大;同时,在这两个生长期根际微生物群落 AWCD 和各类碳源利用率显著高于土体微生物群落,尤其在结荚期这种根际效应更明显,说明大豆根系在生长期分泌大量糖类,氨基酸类等低分子量有机物刺激根际微生物群落的生长。因此大豆连作必定对土壤微生物群落功能产生影响,诱导具有某些特定生理特征的微生物群落的发展。邹莉等^[13]发现大豆连作显著降低了土壤中细菌数量,提高了真菌数量,但哪些生理类群的细菌和真菌发生了变化并无报道。因此,应进一步研究随连作年限增加,追踪发生显著变化的微生物类群,才能从根本上阐明微生物群落与连作障碍之间的关系。

由于 Biolog 方法本身的局限性,本研究并未能很好地阐明微生物群落功能变化与大豆连作障碍之间的关系。Biolog 方法表征的只是土壤中快速生长或富营养微生物的活性,而不能反映土壤中生长缓慢的微生物的活性^[17],包括 Biolog 方法在内的微生物培养方法测定的土壤微生物数量不到 16SrDNA 方法测定的微生物数量的 1%^[18, 19],因此采用 Biolog 方法来研究土壤微生物群落可能存在一些偏差,采用土壤微生物功能多样性来反映物种多样性的差异会导致低估物种上的差异^[20]。

尽管 Biolog 方法存在一定的局限性,但本研究结果仍表明不同连作年限的大豆土体微生物群落功能存在差异。大豆结荚期和收获期土体微生物群落主成分分析表明,氨基酸,糖类,羧酸类,聚合物类和其他类五类碳源均与主成分 PC1 存在显著相关,说明在大豆连作条件下土体微生物群落变化是这五类碳源综合作用的结果。根际微生物群落主成分分析表明,结荚期六类碳源均与主成分 PC1 呈显著相关,在收获期糖类,氨基

酸类和羧酸类与 PC1 呈显著相关。土体微生物群落主成分分析表明,从对各类碳源的利用情况看,在这两个生长期氨基酸,糖类和羧酸类碳源是各处理土体微生物的主要碳源,除胺类外的其他 5 类碳源是根际微生物的主要碳源。因此,对土体微生物群落变化而言,在这两个生长期降解氨基酸,糖类和羧酸类碳源的微生物可能是连作影响的主要土体微生物类群;对根际微生物群落变化而言,在结荚期降解氨基酸,糖类,羧酸类,聚合物类和其他类五类碳源的微生物是大豆连作影响根际微生物的主要类群,在收获期降解糖类,氨基酸类和羧酸类碳源的微生物是大豆连作影响根际微生物的主要类群。

References:

- [1] Wang J L, Xu R, Chen C L. General review in the study of barrier mechanism caused by continuous soybean cropping. *Soybean Science*, 2000, 19(4): 367 ~ 371.
- [2] Ruan W B, Wang J G, Zhang F S. The effect of continuous cropping factors on soybean seedling growth and nitrogen fixation. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(1): 22 ~ 29.
- [3] Yu Y, Liu Y Y, Luo G S. Effects of selenium on soybean chloroplast ultra-structure and microelement content of soybean leaves under continuous cropping stress. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(4): 429 ~ 434.
- [4] Fu H L, Zou Y J, Zhang Z M, *et al.* Soil pH of continuous cropping soybean and soil enzyme activity. *Soybean Science*, 1997, 16(2): 157 ~ 161.
- [5] Wang G H, Jin J, Pan X W, *et al.* Effect of different rotation systems on soil pH and N nutrition distribution across soybean rhizosphere. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2004, 26(1): 55 ~ 59.
- [6] Zhang S X, Gao Z Q, Liu H L. Continuous cropping obstacle and rhizosphere microbiology III. Soil phenolic acids and their biological effect. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2000, 11(5): 741 ~ 744.
- [7] Han L M, Shen Q R, Ju H Y, *et al.* Allelopathy of the aqueous extracts of above ground parts of soybean and the identification of the allelochemicals. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(9): 1425 ~ 1432.
- [8] Han L M, Shen Q R, Wang S Q, *et al.* Identification on decomposing products of soybean stubs by *Trichoderma koningii* and their allelopathy. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(10): 1295 ~ 1299.
- [9] Han X Z, Xu Y L. Main factors reducing yield in continuous soybean cropping systems: Effects of harmful organisms on the yield of continuous cropping soybean. *Soybean Science*, 1999, 18(1): 47 ~ 51.
- [10] Hu J C, Xue D L, Wang S J. obstacles of soybean continuous cropping II. Mechanism of soybean yield decline and control strategies for toxin of *Penicillium purporegenum* in soils. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1998, 9(4): 429 ~ 434.
- [11] Xu Y L, Chen Y L, Si Z S, *et al.* The effects of the root diffusate of different crops from different rotation systems on the egg hatch of soybean cyst nematode *Heterodera glycines*. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2004, 34(6): 481 ~ 486.
- [12] Han L M, Ju H Y, Yang Z M. Allelopathy of root exudates from two genotypes soybeans on root rot pathogenic fungi. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 16(1): 137 ~ 141.
- [13] Zou L, Yuan X Y, Wang X Y. Effects of continuous cropping on soil microbes on soybean root. *J. Microbiol.*, 2005, 25(2): 27 ~ 30.
- [14] Kong W D, Liu K X, Liao Z W. Effects of different matters and their composting levels on soil microbial community. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(3): 487 ~ 492.
- [15] Schutter M E, Dick R P. Shifts in substrate utilization potential and structure of soil microbial communities in response to carbon substrates. *Soil Biol. Biochem.*, 2001, 33(11): 1481 ~ 1491.
- [16] Kennedy A C, Smith K L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant Soil*, 1995, 170: 75 ~ 86.
- [17] Konopka A, Oliver L, Turco R F. The use of carbon substrate utilization patterns in environmental and ecological microbiology. *Microbiol. Ecol.*, 1998, 35(2): 103 ~ 115.
- [18] Torsvik J, Goksoyr J, Daas F L. High diversity in DNA of soil bacteria. *Appl. Environ. Microb.*, 1990, 56: 782 ~ 787.
- [19] Ward D M, Weller R, Bareson M M. 16SrRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature*, 1990, 345: 63 ~ 65.
- [20] Yang Y H, Yao J, Hua X M. Effect of pesticide pollution against functional microbial diversity in soil. *J. Microbiol.*, 2000, 20(2): 56 ~ 63.

参考文献:

- [1] 王金龙,徐冉,陈存来.大豆连作下土壤环境条件变化的概述.大豆科学,2000,19(4):367~371.
- [2] 阮维斌,王敬国,张福锁.连作障碍因素对大豆养分吸收和固氮作用的影响.生态学报,2003,23(1):22~29.

- [3] 于颖,刘元英,罗盛国.重茬胁迫下硒对大豆叶绿体超微结构和叶片微量元素含量的影响.应用生态学报,2003,14(4):573~576.
- [4] 付慧兰,邹永久,杨振明,等.大豆连作土壤 pH 与土壤酶活性.大豆科学,1997,16(2):157~161.
- [5] 王光华,金剑,潘相文,等.不同茬口大豆根圈土壤 pH 值和氮营养分布的变化.中国油料作物学报,2004,26(1):55~59.
- [6] 张淑香,高子勤,刘海玲.连作障碍与根际微生态研究 III.土壤酚酸物质及其生物学效应.应用生态学报,2000,11(5):741~744.
- [7] 韩丽梅,沈其荣,鞠会艳,等.大豆地上部水浸液的化感作用及化感物质的鉴定.生态学报,2002,22(9):1425~1432.
- [8] 韩丽梅,沈其荣,王树起,等.大豆根茬木霉腐解产物的鉴定及其化感作用的研究.应用生态学报,2002,13(10):1295~1299.
- [9] 韩晓增,许艳丽.大豆连作减产主要障碍因素的研究 II.连作大豆土壤有害生物的障碍效应.大豆科学,1999,18(1):47~51.
- [10] 胡江春,薛德林,王书锦.大豆连作障碍研究 II.大豆连作减产机理及对土壤紫青霉菌毒素的调控对策.应用生态学报,1998,9(4):429~434.
- [11] 许艳丽,陈伊里,司兆胜,等.不同茬口条件下的作物根渗出物对大豆胞囊线虫 (*Heterodera glycines*) 卵孵化影响.植物病理学报,2004,34(6):481~486.
- [12] 韩丽梅,鞠会艳,杨振明.两种基因型大豆根分泌物对大豆根腐病菌的化感作用.应用生态学报,2005,16(1):137~141.
- [13] 邹莉,袁晓颖,李玲,等.连作对大豆根部土壤微生物的影响研究.微生物学杂志,2005,25(2):27~30.
- [14] 孔维栋,刘可星,廖宗文.有机物料种类及腐熟水平对土壤微生物群落的影响.应用生态学报,2004,15(3):487~492.
- [20] 杨永华,姚健,华晓梅.农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响.微生物学报,2000,20(2):56~63.