

ISSN 1000-0933

CN 11-2031/Q

# 生态学报

## Acta Ecologica Sinica



第34卷 第4期 Vol.34 No.4 **2014**

中国生态学学会  
中国科学院生态环境研究中心  
科学出版社

主办  
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

# 生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 34 卷 第 4 期      2014 年 2 月      (半月刊)

## 目 次

### 前沿理论与学科综述

- 富营养化湖泊溶解性有机碳生物可利用性研究进展 ..... 叶琳琳,孔繁翔,史小丽,等 (779)
- 黄河下游平原农业景观中非农生境植物多样性 ..... 卢训令,梁国付,汤 茜,等 (789)

### 个体与基础生态

- 锰胁迫对杠板归细胞超微结构的影响 ..... 王 钧,邬 卉,薛生国,等 (798)
- 不同渗氧能力水稻品种对砷的耐性和积累 ..... 吴 川,莫竞瑜,薛生国,等 (807)
- 弱光下水分胁迫对不同产地披针叶茴香幼苗生理特性的影响 ..... 曹永慧,周本智,陈双林 (814)
- 不同分枝数对桑树幼苗生长发育的影响 ..... 郇慧慧,胥 晓,刘 刚,等 (823)
- 斑膜合垫盲蝽若虫在国槐上的空间分布型及抽样技术 ..... 朱惠英,沈 平,吴建华,等 (832)
- 连作苹果园土壤真菌的 T-RFLP 分析 ..... 尹承苗,王功帅,李园园,等 (837)
- 棉隆对苹果连作土壤微生物及平邑甜茶幼苗生长的影响 ..... 刘恩太,李园园,胡艳丽,等 (847)
- 两株具有芫降解功能的植物内生细菌的分离筛选及其特性 ..... 孙 凯,刘 娟,李 欣,等 (853)

### 种群、群落和生态系统

- 温度对柑橘始叶螨实验种群生长发育繁殖的影响 ..... 李迎洁,王梓英,张国豪,等 (862)
- 高原鼠兔有效洞穴密度对青藏高原高寒草甸群落植物生态位的影响 ..... 贾婷婷,毛 亮,郭正刚 (869)
- 三工河流域琵琶柴群落特征与土壤因子的相关分析 ..... 赵学春,来利明,朱林海,等 (878)
- 岷江干旱河谷造林对土壤微生物群落结构的影响 ..... 王卫霞,罗 达,史作民,等 (890)
- 滩涂围垦和土地利用对土壤微生物群落的影响 ..... 林 黎,崔 军,陈学萍,等 (899)
- 福寿螺对稻田水生植物群落结构的影响 ..... 赵本良,章家恩,戴晓燕,等 (907)
- 4 种木本植物在潜流人工湿地环境下的适应性与去污效果 ..... 陈永华,吴晓芙,郝 君,等 (916)
- 基于静态箱式法和生物量评估海北金露梅灌丛草甸碳收支 ..... 李红琴,李英年,张法伟,等 (925)
- 初始 pH 值对碱性和酸性水稻土微生物铁还原过程的影响 ..... 吴 超,曲 东,刘 浩 (933)

### 景观、区域和全球生态

- 库姆塔格柽柳沙包年层稳定碳同位素与气候环境变化 ..... 张锦春,姚 拓,刘长仲,等 (943)

### 资源与产业生态

- 大棚甜瓜蒸腾规律及其影响因子 ..... 张大龙,常毅博,李建明,等 (953)
- 盐胁迫下荒漠共生植物红砂与珍珠的根茎叶中离子吸收与分配特征 ..... 赵 昕,杨小菊,石 勇,等 (963)
- 普通鹿蹄草品质与根际和非根际土壤的关系 ..... 耿增超,孟令军,刘建军 (973)

作物种植前后土壤有机质及养分因子的空间变异分析 ..... 方 斌,吴金凤 (983)

### 城乡与社会生态

城市河流健康评价指标体系构建及其应用 ..... 邓晓军,许有鹏,翟禄新,等 (993)

西藏生态足迹与承载力动态分析..... 安宝晟,程国栋 (1002)

### 研究简报

三峡库区岸坡消落带草地、弃耕地和耕地土壤微生物及酶活性特征 ..... 马 朋,李昌晓,雷 明,等 (1010)

盐胁迫对2种栎树苗期生长和根系生长发育的影响..... 王树凤,胡韵雪,孙海菁,等 (1021)

恒温和变温驯化对大蟾蜍蝌蚪热耐受性的影响 ..... 王立志 (1030)

### 学术信息与动态

国际生物土壤结皮研究发展态势文献计量分析..... 贺郝钰,侯春梅,迟秀丽,等 (1035)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q \* 1981 \* m \* 16 \* 264 \* zh \* P \* ¥90.00 \* 1510 \* 30 \* 2014-02



**封面图说:** 大蟾蜍蝌蚪群——大蟾蜍别名癞蛤蟆,体长达 10cm 以上,身体肥胖,四肢短,步态及齐足跳的姿势具特征性。其背部皮肤厚而干燥,通常有疣,呈黑绿色,常有褐色花斑,趾间具蹼。毒腺在背部的疣内,受惊后毒腺分泌或射出毒液。大蟾蜍早春在水中繁殖,可迁移至 1.5km 外或更远的适合繁殖的池塘,产卵量很大,产卵数天后蝌蚪即可孵出,1—3 个月后发育为蟾。大蟾蜍常作为实验动物或药用动物,其耳后腺和皮肤腺的白色分泌物可制成“蟾酥”,可治疗多种疾病。研究表明,大蟾蜍蝌蚪最高逃避温度和最高致死温度比最适温度产生的影响要大。

彩图及图说提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201306241765

尹承苗, 王功帅, 李园园, 陈学森, 吴树敬, 毛志泉. 连作苹果园土壤真菌的 T-RFLP 分析. 生态学报, 2014, 34(4): 837-846.

Yin C M, Wang G S, Li Y Y, Chen X S, Wu S J, Mao Z Q. Assessment of fungal diversity in apple replanted orchard soils by T-RFLP analysis. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(4): 837-846.

## 连作苹果园土壤真菌的 T-RFLP 分析

尹承苗<sup>1</sup>, 王功帅<sup>1</sup>, 李园园<sup>2</sup>, 陈学森<sup>1</sup>, 吴树敬<sup>1</sup>, 毛志泉<sup>1,\*</sup>

(1. 山东农业大学园艺科学与工程学院/作物生物学国家重点实验室, 泰安 271018;

2. 青岛明月蓝海生物科技有限公司, 青岛 266400)

**摘要:**为探讨连作苹果园不同土壤空间真菌群落结构,应用 T-RFLP(Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism)技术,比较了 3 个连作园不同取样位置(行间、原穴、株间)和不同土层(0—30 cm、30—60 cm)的土壤真菌多样性,并结合不同样品 T-RFLP 图谱的差异,采用多样性指数分析、聚类分析和主成分分析(PCA),分析了 3 个连作园土壤真菌群落结构特征。结果表明,磁窑、道朗和金城连作园的土壤真菌多样性存在差异,各采样地区的 Shannon 多样性指数在 0.43—2.47 之间, Pielou 均匀度指数在 0.17—0.85 之间, Simpson 优势度指数在 0.12—0.81 之间, Margalef 丰富度指数最高的是金城树穴 0—30 cm 土层 ( $R=4.55$ ), 最低的是磁窑行间 30—60 cm 土层 ( $R=0.77$ )。在调查的不同取样位置、不同土层中, 原树穴具有最高的多样性指数、均匀度指数、丰富度指数和最低的优势度指数; 0—30 cm 土层的土壤真菌多样性指数、均匀度指数、丰富度指数均高于 30—60 cm 土层, 而优势度指数的趋势正好相反; PCA 和聚类分析结果显示磁窑、道朗和金城连作园的土壤真菌群落结构均有明显差异, 3 个连作园的土壤真菌各自构成一个独立的群落结构, 这些群落能够适应各自的土壤环境并成为环境的优势群落。

**关键词:**连作果园; 土壤真菌; T-RFLP

## Assessment of fungal diversity in apple replanted orchard soils by T-RFLP analysis

YIN Chengmiao<sup>1</sup>, WANG Gongshuai<sup>1</sup>, LI Yuanyuan<sup>2</sup>, CHEN Xuesen<sup>1</sup>, WU Shujing<sup>1</sup>, MAO Zhiquan<sup>1,\*</sup>

1 State Key Laboratory of Crop Biology, College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China

2 Qingdao Bright Moon Blusea Bio-Tech Co., LTD, Qingdao, Shandong 266400, China

**Abstract:** Apple replant disease (ARD) has been reported from all major fruit-growing regions of the world. ARD is a serious problem in about half of old orchard sites surveyed, with typical symptoms including stunted above- and below-ground tree growth, necrosis of feeder roots, water stress and nutrient deficiencies. The etiology of ARD is complex and causal agents vary among different sites and regions. In most sites, biotic factors seem to be prevalent, including nematodes, bacteria, actinomycete, oomycetes and fungi species thought that *Pratylenchus penetrans* was the primary nematode species involved in ARD. Although several bacterial genera and species have been associated and suggested as being involved in ARD, most bacteria likely impaired plant at inordinately high densities. Evidence for the involvement of actinomycetes in ARD is circumstantial. However, most researches demonstrated fungal and oomycete genera were the main reason for apple replant disease, i. e. fungal genera: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Cylindrocarpon*; oomycete genera: *Phytophthora*, *Pythium*. To investigate the spatial structure of soil fungal community structure in replanted orchards, three replanted orchards in Ciyao, Daolang and Jincheng town were used to take soil samples, which were collected from 0—30

**基金项目:**现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-28);山东省农业重大应用技术创新课题资助项目;教育部长江学者和创新团队发展计划资助项目(IRT1155)

收稿日期:2013-06-24; 修订日期:2013-11-08

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: mzhiquan@sdau.edu.cn

cm and 30—60 cm depth of the row, inter-row and tree hole, respectively. T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) was applied in the analysis of soil fungal diversity. Based on the T-RFLP pattern differences, diversity index analysis, cluster analysis and principal component analysis (PCA) were combined to do the further analysis of soil fungal diversity from different orchards. The results indicated that soil fungal diversity differed in three orchards, Shannon diversity index, Pielou evenness index and Simpson index in all samples were between 0.43—2.47, 0.17—0.85 and 0.12—0.81, respectively. The highest Margalef richness index ( $R=4.55$ ) was observed at 0—30 cm soil layer of tree hole in Jincheng and the lowest value ( $R=0.77$ ) was obtained at 30—60 cm soil layer of tree inter-row in Ciyao. In all investigated sites and soil layers, original tree hole showed the highest diversity index, evenness index, richness index and the lowest Simpson index. Soil fungal diversity index, evenness index, richness index of 0—30 cm soil layer were higher than those of 30—60 cm soil layer; however, Simpson index expressed a reverse trend. PCA and cluster analysis indicated that soil fungi of Ciyao, Daolang and Jincheng formed independent community structure, respectively, and these communities could adapt to their own specific soil environment and became the dominant population.

**Key Words:** apple replanted orchards; soil fungi; T-RFLP

苹果是我国栽培面积最大的果树树种,受土地资源限制,老果园更新时面临连作障碍现象较为普遍,即病虫害严重、产量下降、品质变劣等,给果农造成巨大的经济损失。如何有效缓解或克服连作障碍已成为苹果产业可持续发展的一项重要工作<sup>[1-2]</sup>。

苹果连作障碍由来已久,病因复杂。在多数地区,与土传真菌有关的生物因素是造成连作障碍的主要原因<sup>[3-5]</sup>。Urashima 等<sup>[6]</sup>研究发现芦荟连作障碍与真菌群落结构的变化有关。李延茂等<sup>[7]</sup>研究结果显示,杉木连作引起土壤真菌种群发生较大变化。李坤等<sup>[8]</sup>采用 PCR-DGGE 技术,对连作的葡萄种植园进行研究表明,葡萄连作对土壤细菌与真菌的群落组成产生了显著的影响。因此,探究苹果连作对土壤真菌群落多样性及群落结构的影响,特别是不同连作果园真菌群落结构特征,对于进一步了解和防控苹果连作障碍具有重要意义。

末端限制性片段长度多态性(Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism, T-RFLP)技术是研究微生物多样性的一种新兴的分子生物学方法<sup>[9-10]</sup>,不依赖于培养即可进行群落分析<sup>[11]</sup>。这种技术可有效地用于微生物菌种鉴定、群落的对比和多样性分析<sup>[12]</sup>。本文将 T-RFLP 技术用于连作苹果园土壤真菌群落结构的研究中,基于 T-RFLP 图谱,运用多样性指数、聚类分析和主成分分析比较了不同连作苹果园不同取样位置、不同土层的土壤真菌多样性及其群落结构特征,以期掌握连作苹果园土壤真菌分布状况及群落结构特征变化,为防控苹果连作障

碍提供一定的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

2012 年 3 月分别在山东省泰安市宁阳县磁窑镇大磨庄村、岱岳区道朗镇玄庄村和烟台莱州市金城镇大沙岭村选取一片 20 年生的老果园,去除老树后,重新栽植两年生富士/平邑甜茶苹果幼苗,新建三片连作园。不同园片按原树穴、原行间和原株间三处分别采样,采样在幼树周围半径 0.5 m 范围内进行,挖直径 40 cm,深 60 cm 的土坑,分 0—30 cm 和 30—60 cm 采集土样,将土样过筛、装入封口袋,避光储存,带回室内分析,3 次重复。

### 1.2 样品理化指标的测定

参照鲍士旦《土壤农化分析》第三版<sup>[13]</sup>的方法,对土壤氮磷钾和有机质进行测定。速效磷( $P_2O_5$ )-钼锑抗比色法;速效钾( $K_2O$ )-火焰光度法;有机质的测定-重铬酸钾容量法(稀释热法);铵态氮和硝态氮( $NH-H$  和  $NO-N$ )- $CaCl_2$  浸提流动注射分析法<sup>[14]</sup>。

### 1.3 总 DNA 的提取及纯化

样品基因组总 DNA 的提取及纯化按照 E.Z.N. A. Soil DNA Kit 说明书进行操作。

### 1.4 T-RFLP 分析

#### 1.4.1 ITS-PCR 扩增

用于 ITS 片段扩增的引物采用带 FAM 荧光标记的真菌通用引物 ITS1-F-FAM 和 ITS4,由上海生工生物工程技术有限公司合成。

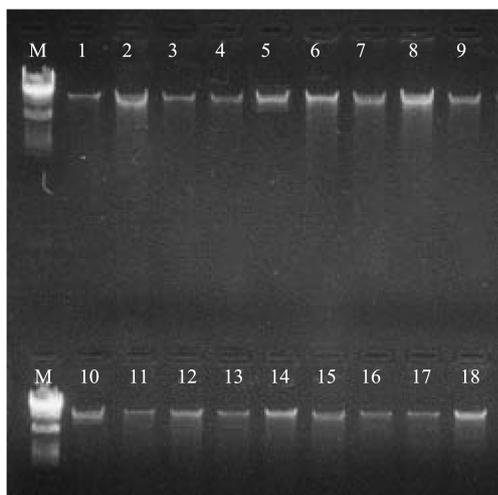


图1 磁窑、道朗和金城连作园土壤样品总 DNA

Fig.1 Total DNA of apple replanted orchard soil of Ciyao, Daolang and Jincheng

1: 磁窑行间 0—30 cm; 2: 磁窑树穴 0—30 cm; 3: 磁窑行间 30—60 cm; 4: 磁窑株间 30—60 cm; 5: 磁窑树穴 30—60 cm; 6: 磁窑株间 0—30 cm; 7: 道朗行间 0—30 cm; 8: 道朗树穴 0—30 cm; 9: 道朗株间 0—30 cm; 10: 道朗行间 30—60 cm; 11: 道朗树穴 30—60 cm; 12: 道朗株间 30—60 cm; 13: 金城行间 0—30 cm; 14: 金城树穴 0—30 cm; 15: 金城株间 0—30 cm; 16: 金城行间 30—60 cm; 17: 金城树穴 30—60 cm; 18: 金城株间 30—60 cm

ITS1-F-FAM (5' → 3'): CTTGGTCATTTAGAG GAAGTAA;

ITS4(5' → 3'): TCCTCCGCTTATTGATAGC

ITS 扩增反应体系为: 12.5 μL 2×Taq Master Mix, 1 μL DNA 模板, ITS1-F 和 ITS4 (10 μmol/L) 各 1.5 μL, 加 ddH<sub>2</sub>O 至 25 μL。PCR 反应条件: 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 60 s, 51 °C 退火 60 s, 72 °C 延伸 60 s, 共 34 个循环; 最后 72 °C 延伸 10min。取 5 μL ITS-PCR 扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 按照 PCR 产物纯化试剂盒说明书进行 PCR 产物纯化, -20 °C 保存备用。

#### 1.4.2 酶切

用限制性内切酶 Hha I 对上述 PCR 纯化产物进行酶切。酶切反应体系为 30 μL: 含 10 μL ITS-PCR 纯化产物、2 μL Hha I (10 U/μL)、2 μL 10×Buffer、加 ddH<sub>2</sub>O 至 30 μL。置于 37 °C 水浴中温育 4 h, 酶切完毕后 65 °C 水浴 20 min 终止反应。将酶切产物送至上海生工生物技术有限公司进行测序。

### 1.5 数据分析

#### 1.5.1 真菌群落多样性分析和相似度分析

用 Peak Scanner 软件分析各样品的 T-RFLP 图

谱, 去掉引物峰及杂峰, 其中 T-RF 小于 50 bp 为引物峰, 相对峰面积 (每个限制性片段的峰面积除以累计峰面积) 小于 0.5% 为杂峰<sup>[15-16]</sup>。单个 T-RF (Terminal Restriction Fragment) 的相对峰面积 ( $A_p$ ) 按照公式  $A_p = n_i / N \times 100$  计算, 式中  $n_i$  代表每个可分辨的 T-RF 的峰面积,  $N$  代表所有 T-RF 峰面积的总和<sup>[17]</sup>。以图谱中每一个可统计的 T-RF, 视为一个 OTU (Operational Taxonomic Unit)。根据图谱中 OTU 的数目及其丰度通过 BIO-DAP 程序 (<http://nhsbig.inhs.uiuc.edu/wes/populations.html>) 计算样品的多样性指数 ( $H$ )、优势度指数 ( $D$ )、丰富度指数 ( $SR$ ) 和均匀度指数 ( $E$ )<sup>[18-19]</sup>。同时, 计算 18 个样品两两之间的 Sorenson 相似指数:  $C_s = 2N_{AB} / (N_A + N_B)$ , 式中  $N_{AB}$  指 A、B 两个样品共有的条带数目 (相差 ±1 bp 内算同一条带),  $N_A$ 、 $N_B$  指 A、B 两样品各自的条带数。

#### 1.5.2 聚类分析和主成分分析

根据 T-RFs 在不同样品图谱中的分布及丰度, 采用 SPSS 软件对 18 个样品进行主成分分析 (PCA) 和聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 连作果园土壤样品的理化性状

由表 1 数据可以看出, 磁窑、道朗和金城连作园的土壤样品间理化指标差异显著, 各采样地行间、树穴和株间处理间的土壤样品间理化指标差异显著, 且 0—30 cm 和 30—60 cm 土层的理化指标也差异显著 ( $P \leq 0.05$ )。除个别样品外, 0—30 cm 土层的铵态氮 (NH-N)、硝态氮 (NO-N)、速效磷 (P)、速效钾 (K) 和有机质 (TOC) 的含量要高于 30—60 cm 土层, 且达显著性差异; 金城连作园各处理的硝态氮、速效磷、速效钾和有机质含量均高于磁窑、道朗连作园, 且达显著性差异; 而磁窑和金城连作园 0—30 cm 土层各处理的铵态氮含量均高于道朗连作园, 且达显著性差异, 在 30—60 cm 土层各处理的铵态氮含量道朗、金城连作园均高于磁窑连作园。

### 2.2 不同样品的土壤真菌 T-RFLP 分析结果

限制性内切酶的种类是影响 T-RFLP 结果的关键因素<sup>[20]</sup>。不同限制性内切酶的酶切所获 T-RFs 数量不同, 段魏魏<sup>[21]</sup>等研究发现酶 Hha I 相对于 Hae III 更适合分析真菌的群落多样性, 本实验利用限制性内切酶 Hha I 对磁窑、道朗和金城连作园样

品的土壤真菌 ITS 区进行酶切, T-RFLP 分析结果见图 1。从图 1 可以看出, 酶切谱带清晰, T-RFs 比较

明显, 酶切片段在 50—600 bp 之间, 不同样品间真菌群落存在明显差异。

表 1 样品的理化性状

Table 1 Geochemical and physical characteristics of eighteen samples

处理 Treatments	NO-N/(mg/kg)	NH-N/(mg/kg)	P/(mg/kg)	K/(mg/kg)	有机质/(g/kg)
1	24.97±3.80ijkl	2.48±0.19ab	24.53±0.58g	98.52±2.41g	7.68±0.36d
3	21.32±1.84jkl	2.16±0.43abcd	19.67±0.64i	55.45±1.18m	6.77±0.14f
2	28.19±1.34ghijk	1.87±0.16abcd	24.92±0.32g	104.97±0.86f	7.41±0.23de
5	19.89±3.06kl	1.53±0.11cd	16.89±0.88k	55.74±0.43m	6.28±0.19g
6	32.49±1.53efghi	2.01±0.44abcd	27.57±0.55f	107.09±1.89f	7.39±0.43de
4	16.43±1.87l	1.44±0.19d	17.92±0.17j	63.95±0.44l	6.38±0.19g
7	42.85±0.76bcd	1.36±0.20d	29.79±0.89d	119.38±0.40e	8.79±0.23ab
10	15.55±1.03l	1.70±0.45bcd	18.69±0.35j	83.43±0.34j	7.00±0.22ef
8	51.31±1.90ab	1.59±0.16bcd	44.32±0.20b	122.77±0.41d	8.29±0.17c
11	34.98±1.86defgh	2.70±0.21a	21.86±0.11h	80.30±0.40k	7.16±0.43ef
9	30.56±1.75fghij	1.86±0.10abcd	29.10±0.25d	163.13±1.12b	8.12±0.10c
12	15.91±2.73l	1.76±0.09bcd	22.44±0.35h	83.77±0.68j	7.17±0.44ef
13	40.62±1.10cde	1.59±0.14bcd	39.71±0.28c	123.41±1.44d	8.27±0.18c
16	38.99±1.55def	2.46±0.35abc	24.53±0.15g	97.57±0.56gh	7.29±0.29de
14	37.14±1.18defg	2.19±0.22abcd	28.96±0.11d	141.19±1.44c	9.14±0.19a
17	27.18±1.06hijkl	1.93±0.11abcd	22.50±0.23h	95.43±0.90h	8.09±0.12c
15	52.02±2.22a	1.97±0.18abcd	50.16±0.41a	208.31±1.43a	8.46±0.23bc
18	49.03±1.40abc	1.40±0.12d	24.92±0.14g	88.11±1.04i	7.37±0.11de

Duncan's 检测, 同列不同小写字母表示 0.05 水平上差异显著; 1. 磁窑行间 0—30 cm (Ciyao inter-row top soil); 2. 磁窑树穴 0—30 cm (Ciyao tree hole top soil); 3. 磁窑行间 30—60 cm (Ciyao inter-row subsoil); 4. 磁窑株间 30—60 cm (Ciyao between the trees subsoil); 5. 磁窑树穴 30—60 cm (Ciyao tree hole subsoil); 6. 磁窑株间 0—30 cm (Ciyao between the trees top soil); 7. 道朗行间 0—30 cm (Daolang inter-row top soil); 8. 道朗树穴 0—30 cm (Daolang tree hole top soil); 9. 道朗株间 0—30 cm (Daolang between the trees top soil); 10. 道朗行间 30—60 cm (Daolang inter-row subsoil); 11. 道朗树穴 30—60 cm (Daolang tree hole subsoil); 12. 道朗株间 30—60 cm (Daolang between the trees subsoil); 13. 金城行间 0—30 cm (Jincheng inter-row top soil); 14. 金城树穴 0—30 cm (Jincheng tree hole top soil); 15. 金城株间 0—30 cm (Jincheng between the trees top soil); 16. 金城行间 30—60 cm (Jincheng inter-row subsoil); 17. 金城树穴 30—60 cm (Jincheng tree hole subsoil); 18. 金城株间 30—60 cm (Jincheng between the trees subsoil)

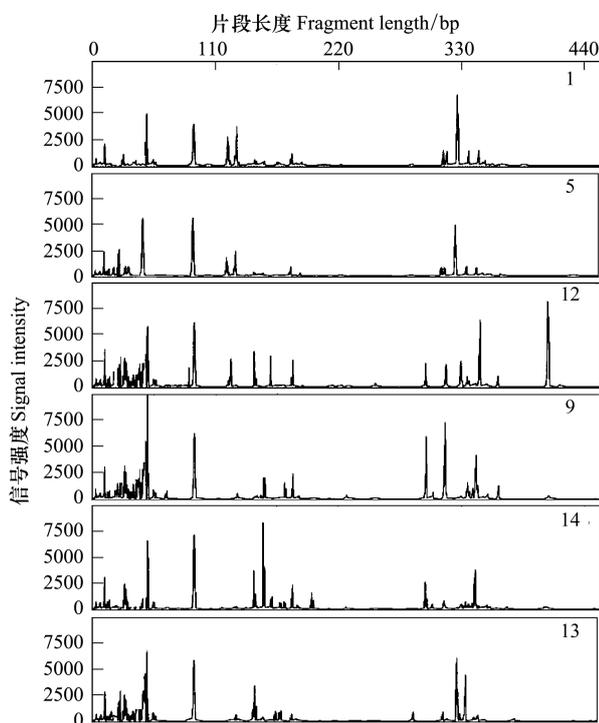


图 2 连作果园的土壤样品的 T-RFLP 图谱

Fig. 2 T-RFLP profiles of soil samples in apple replanted orchard

### 2.3 不同样品的土壤真菌多样性分析

根据 T-RFLP 图谱中 OTU 的数量、种类及丰度, 分别计算了 3 个地区 18 个土壤样品的真菌多样性指数(表 2)。在 0—30 cm 土层, 金城连作园树穴处理具有最高的多样性指数、均匀度指数、丰富度指数和最低的优势度指数; 磁窑、道朗连作园的树穴处理也具有较高的多样性指数、均匀度指数、丰富度指数和较低的优势度指数。在 30—60 cm 土层, 磁窑连作园的行间、树穴和株间处理均具有最低的多样性指数、均匀度指数、丰富度指数和最高的优势度指数, 而除金城行间外, 道朗、金城连作园的行间、树穴和株间处理均具有较高的多样性指数、均匀度指数、丰富度指数和较低的优势度指数。总体来说, 除道朗株间处理外, 0—30 cm 土层的土壤真菌的多样性指数、均匀度指数、丰富度指数均高于 30—60 cm 土层, 优势度指数的趋势正好相反。

### 2.4 不同样品间相似性分析

根据 18 个样品间相同的 T-RFs 计算出相似系数(表 3), 根据 T-RFs 及其相对峰面积对各样品进

行了聚类分析(图 3)。

表 2 土壤真菌多样性分析  
Table 2 Species diversity of soil fungi

处理 Treatments	多样性指数 Shannon index	优势度指数 Simpson index	均匀度指数 Pielou index	丰富度指数 Margalef index
3	0.53±0.03f	0.75±0.13b	0.25±0.03i	0.77±0.07j
2	2.41±0.14ab	0.12±0.03jk	0.84±0.08ab	4.29±0.27b
5	0.43±0.02f	0.82±0.12a	0.17±0.03j	0.89±0.09j
6	1.62±0.07cd	0.48±0.07d	0.49±0.05f	1.55±0.15h
4	0.47±0.11f	0.81±0.04a	0.18±0.02f	0.88±0.05j
7	2.30±0.29ab	0.15±0.06ij	0.81±0.04bc	3.75±0.49cde
10	2.20±0.11ab	0.17±0.06hi	0.76±0.05de	3.56±0.36e
8	2.32±0.09ab	0.12±0.01k	0.82±0.19ab	3.96±0.15c
11	2.15±0.05b	0.19±0.03h	0.74±0.05ef	3.92±0.20cd
9	1.27±0.12e	0.33±0.09e	0.79±0.07cd	0.90±0.04j
12	1.85±0.08c	0.24±0.01g	0.72±0.11e	2.49±0.14f
13	2.35±0.07ab	0.12±0.02jk	0.82±0.06bc	3.85±0.23cd
16	0.68±0.09f	0.71±0.19c	0.28±0.04h	1.25±0.11i
14	2.47±0.16a	0.12±0.03k	0.85±0.11a	4.55±0.32a
17	2.36±0.06ab	0.12±0.03k	0.83±0.08ab	3.79±0.09cd
15	2.25±0.05ab	0.16±0.05i	0.78±0.13d	3.70±0.19de
18	1.57±0.12cd	0.28±0.04f	0.71±0.15e	1.65±0.17h

Duncan's 检测, 同列不同小写字母表示 0.05 水平上差异显著

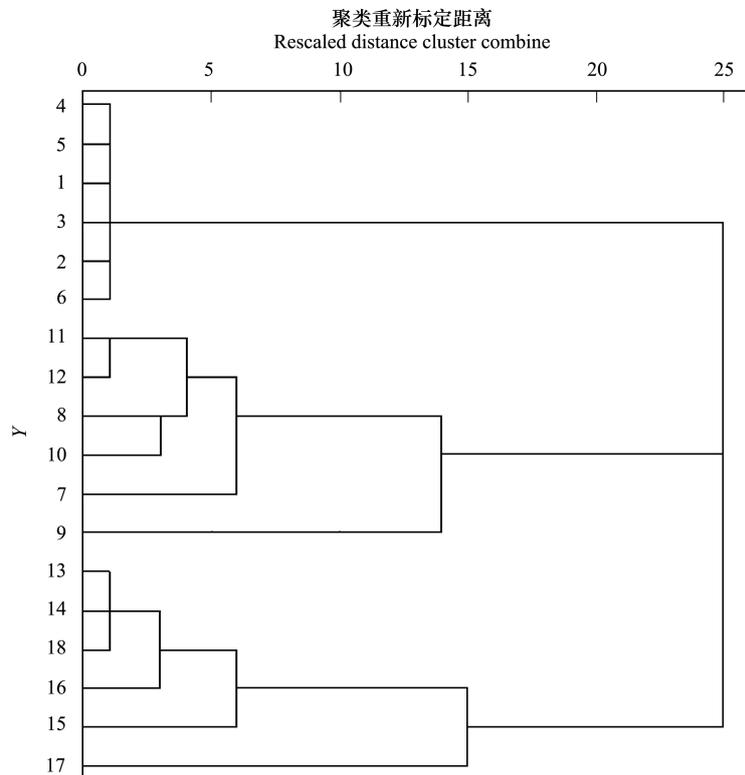


图 3 不同样品间 T-RFLP 图谱的聚类分析

Fig.3 Cluster analysis of T-RFLP patterns of different samples

表 3 各样品间相似系数  
Table 3 The similarity coefficient between eighteen samples

样本 Sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
1	1																		
2	0.615	1																	
3	0.667	0.600	1																
4	0.615	0.600	0.727	1															
5	0.615	0.600	0.727	0.800	1														
6	0.750	0.586	0.625	0.522	0.588	1													
7	0.364	0.370	0.316	0.211	0.222	0.400	1												
8	0.444	0.421	0.333	0.174	0.174	0.385	0.615	1											
9	0.429	0.316	0.364	0.333	0.333	0.333	0.485	0.333	1										
10	0.385	0.276	0.261	0.182	0.182	0.429	0.629	0.710	0.583	1									
11	0.333	0.345	0.381	0.300	0.300	0.455	0.545	0.615	0.261	0.545	1								
12	0.400	0.320	0.353	0.375	0.375	0.333	0.560	0.625	0.286	0.615	0.714	1							
13	0.400	0.300	0.273	0.320	0.438	0.308	0.211	0.167	0.364	0.174	0.190	0.235	1						
14	0.421	0.455	0.452	0.444	0.421	0.400	0.190	0.231	0.308	0.240	0.261	0.316	0.800	1					
15	0.261	0.429	0.300	0.211	0.211	0.190	0.444	0.455	0.211	0.452	0.414	0.320	0.500	0.556	1				
16	0.296	0.188	0.250	0.174	0.174	0.240	0.258	0.278	0.174	0.286	0.303	0.276	0.522	0.615	0.523	1			
17	0.333	0.273	0.400	0.286	0.286	0.375	0.182	0.222	0.286	0.308	0.250	0.300	0.500	0.500	0.516	0.457	1		
18	0.154	0.258	0.174	0.273	0.182	0.250	0.333	0.400	0.273	0.294	0.375	0.286	0.706	0.769	0.500	0.588	0.435	1	

根据 Jaccard<sup>[22]</sup> 相似性系数原理,当  $C_s$  值为 0.00—0.25 时,为极不相似;当  $C_s$  值为 0.25—0.75 时,为中等相似;当  $C_s$  值为 0.75—1.00 时,为极相似。由各样品间的相似系数和聚类分析可知,磁窑连作园各样品之间土壤真菌相似性系数很高,在 0.522—0.800 之间,根据 Jaccard 相似性原理,处于极相似与中等相似之间,以 4 号(磁窑株间 30—60 cm)与 5 号(磁窑树穴 30—60 cm)样品之间的相似度最高,相似系数达到 0.800;道朗连作园各样品之间土壤真菌相似性系数在 0.261—0.714 之间,处于中等相似与中等不相似之间,以 11 号(道朗树穴 30—60 cm)与 12 号(道朗株间 30—60 cm)样品之间的相似度最高,相似系数达到 0.714;金城连作园各样品之间土壤真菌相似性系数在 0.435—0.800 之间,金城 30—60 cm 土层行间、树穴、株间各样品之间处于中等相似与中等不相似之间,其他各样品之间处于极相似与中等相似之间。磁窑、道朗和金城连作园各样品之间土壤真菌群落结构的相似性则处于极不相似与中等不相似之间。

### 2.5 基于 T-RFLP 的主成分分析

根据主成分的提取原则,被选的主成分所代表的主轴总长度占有所有主轴长度之和的大约 85% 即可,本文对各样品获得的所有数据进行主成分分析,前 3 个主成分特征值的贡献率总和为 83.8%,后面的特征值的贡献越来越少,所以本文选取 3 个主成分来进行分析(图 4)。由图 4 可以看出,磁窑、道朗和金城连作园的所有样品可以分为 3 个相对独立的群,磁窑连作园的所有样品具有最高的第一主成分得分和较低的第二、第三主成分得分;道朗连作园的所有样品仅具有最高的第二主成分得分;金城连作园的所有样品仅具有最高的第三主成分得分。磁窑、道朗和金城连作园的土壤真菌群落结构均有明显差异,各自构成 1 个独立的群落结构。

### 3 讨论

连作障碍的发生与根际生态系统的失衡密切相关,长期连作可导致根际微生物群落结构和功能多样性改变,降低有益微生物数量,增加土传病害菌数量,从而导致作物减产<sup>[23-24]</sup>。果树连作障碍不仅导致病原菌如疫霉、腐霉和丝核菌等种群数量的明显增加,而且还影响土壤微生物的种群结构,在未栽

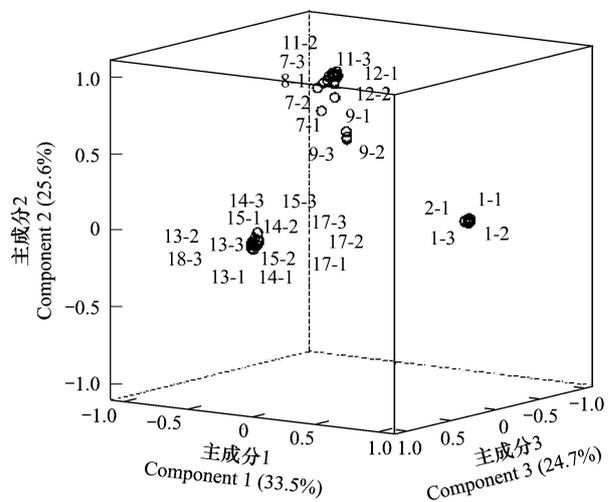


图 4 不同样品间 T-RFLP 图谱的主成分分析

Fig.4 PCA for T-RFLP patterns of different samples

图中阿拉伯数字 1,2,3 代表每个样品进行的 3 次平行重复

培果树土壤中以腐生真菌、巨大芽孢杆菌和洋葱伯克霍尔德菌等细菌为主,而连作土壤则以病原真菌为主<sup>[25]</sup>。已报道与苹果连作障碍有关的主要致病真菌属有柱孢属、镰刀属、丝核属、疫霉属和腐霉属等<sup>[26-27]</sup>。Tewoldemedhin<sup>[5]</sup>从连作果园苹果腐烂的根中分离到了大量的尖孢镰刀菌。Van Schoor<sup>[4]</sup>研究发现在南非所有连作苹果园中土壤有害真菌镰刀属、柱孢属以及腐霉属是引起连作障碍的主要原因,真菌是某些地区导致苹果连作障碍的主要原因,病原菌往往是许多真菌组成的真菌复合体。

多样性分析结果显示连作苹果园不同取样位置的真菌多样性存在差异,磁窑、道朗和金城三片连作园中均表现为树穴处理具有最高的多样性指数、均匀度指数、丰富度指数和最低的优势度指数,可能是因为树穴中残留许多老果树根系向土壤环境释放的代谢产物,其主要包括糖类、蛋白质、氨基酸、维生素以及有机酸、酚类等化合物<sup>[28]</sup>,其中很多低分子量的化合物可作为化感物质影响植物根际土壤中微生物群落<sup>[29-30]</sup>。当根系分泌物中自毒物质积累较少时,根系分泌物给病原菌提供丰富的营养,从而使病原菌数量和种类较丰富,多样性指数较高<sup>[31]</sup>。张淑香等<sup>[32]</sup>和刘金波等<sup>[33]</sup>证明连作后根系分泌物的数量增多会诱导土壤真菌数量的增加。众多研究也表明,连作导致致病真菌的增加绝不是偶然现象,而是与连作及连作产生分泌物密切相关<sup>[34]</sup>。这些物质对微生物和植株具有自毒作用,连续种植可导致其

积累,进而发生连作障碍<sup>[35]</sup>。

微生物是土壤生态系统中最具活力的组成部分。根际是植物与土壤环境接触的重要界面,植物根系以多种形式向周围的土壤释放有机物质,并以其自身的活动影响这部分土壤的理化及生物学性状,特别是影响微生物区系的发育<sup>[36]</sup>。自然条件下,不同的植物根系有不同的分泌物、不同的根部碎片和其它有机成分,形成根际独特而稳定的微生物区系<sup>[37]</sup>。砧木、树势及季节变化等因子对土壤微生物的种群结构、分布和数量均有显著影响<sup>[38]</sup>。马宁宁等<sup>[39]</sup>研究发现对于土壤土著微生物来说,土著真菌的群落结构稳定性优于土著细菌,优势种群没有因为受到温度、湿度、人为耕作措施等的影响而消失。PCA 和聚类分析结果显示磁窑、道朗和金城连作园的土壤真菌群落结构均有明显差异,且磁窑、道朗和金城连作园的土壤真菌群落结构处于极不相似与中等不相似之间,说明磁窑、道朗和金城连作园土壤中已经形成了稳定的土著真菌群落,这些群落能够适应磁窑、道朗和金城连作园各自土壤环境中的变化并成为环境的优势群落,各自构成 1 个独立的群落结构。

苹果连作障碍的病因复杂,土壤真菌对重茬再植植株的影响起着重要的作用,不同地区病因不同,即使同一地区,主要病因也存在细微差别<sup>[3]</sup>。导致连作障碍发生的原因很多,如植物种类、土壤类型、栽培措施、连作年限等,果树的长期定植引起了土壤理化性质及土壤微生物数量、活性、多样性及种群结构的改变,果园土壤有机质含量降低、土壤酸化、微生物数量减少、活性及多样性改变是土壤质量退化的标志<sup>[40]</sup>,但最重要的是连作改变了土壤微生物的种群结构和数量,一些依赖于植物及其代谢产物的微生物种群(尤其是病原菌)数量逐渐转变为优势种群,相反,一些受植物代谢产物抑制的微生物种群(一些有益微生物)数量将逐渐降低。连作后的这种有益与有害微生物种群结构和数量的失衡,土壤真菌群落结构变化可能是导致连作障碍严重发生的重要原因之一。

#### References:

- [ 1 ] Tewoldemedhin T Y, Mazzola M, Mostert L, McLeod A. *Cylindrocarpus* species associated with apple tree roots in South Africa and their quantification using real-time PCR. *European Journal of Plant Pathology*, 2011, 129(4): 637-651.
- [ 2 ] Sun H B, Mao Z Q, Zhu S H. Changes of phenolic acids in the soil of replanted apple orchards surrounding Bohai Gulf. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(1): 90-97.
- [ 3 ] Manici L M, Ciavatta C, Kelderer M, Erschbaumer G. Replant problems in South Tyrol: Role of fungal pathogens and microbial population in conventional and organic apple orchards. *Plant and Soil*, 2003, 256(2): 315-324.
- [ 4 ] van Schoor L, Denman S, Cook N C. Characterisation of apple replant disease under South African conditions and potential biological management strategies. *Scientia Horticulturae*, 2009, 119(2): 153-162.
- [ 5 ] Tewoldemedhin Y T, Mazzola M, Botha W J, Spies C F J, McLeod A. Characterization of fungi (*Fusarium* and *Rhizoctonia*) and oomycetes (*Phytophthora* and *Pythium*) associated with apple orchards in South Africa. *European Journal of Plant Pathology*, 2011, 130(2): 215-229.
- [ 6 ] Urashima Y, Sonoda T, Fujita Y, Uragami A. Application of PCR-Denaturing-Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) method to examine microbial community structure in asparagus fields with growth inhibition due to continuous cropping. *Microbes and Environments*, 2012, 27(1): 43-48.
- [ 7 ] Li Y M, Hu J C, Zhang J, Wang S L, Wang S J. Microbial diversity in continuously planted Chinese fir soil. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(7): 1275-1278.
- [ 8 ] Li K, Guo X W, Sun Y N, Zhang L H, Hu X X. Effects of grape-replanting on soil bacterial and fungal populations. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(12): 3109-3114.
- [ 9 ] Horton T R, Bruns T D. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: Peeking into the black-box. *Molecular Ecology*, 2001, 10(8): 1855-1871.
- [ 10 ] Bridge P, Spooner B. Soil fungi: Diversity and detection. *Plant and Soil*, 2001, 232(1/2): 147-154.
- [ 11 ] Yu S L, Wu X L, Qian Y. Application and optimization of T-RFLP method for microbial community analysis. *Journal of Chinese Applied and Environmental Biology*, 2006, 12(6): 861-868.
- [ 12 ] Wang H Y, Guan H S, Jiang X L. Molecular approaches studying on microbial ecology and T-RFLP technique. *Journal of Chinese Biotechnology*, 2004, 24(8): 42-47.
- [ 13 ] Bao S D. *Soil Chemical Analysis*. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 34-35, 81-83, 106-107.
- [ 14 ] Shao L, Wang L X, Zhang M, Sun Z J. Effects of different controlled-release fertilizers and nitrogen level on N, P, K use efficiency. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2009, 23(4): 170-175.
- [ 15 ] Fierer N, Schimel J P, Holden P A. Influence of drying-rewetting frequency on soil bacterial community structure. *Microbial Ecology*, 2003, 45(1): 63-71.
- [ 16 ] Manzano M, Morán A C, Tesser B, Gonzalez B. Role of

- eukaryotic microbiota in soil survival and catabolic Performance of the 2, 4-D herbicide degrading bacteria *Cupriavidus necator* JMP134. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2007, 91(2): 115-126.
- [17] Lukow T, Dunfield P F, Liesack W. Use of the T-RFLP technique to assess spatial and temporal changes in the bacterial community structure within an agricultural soil planted with transgenic and non-transgenic potato plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 32(3): 241-247.
- [18] Sun J, Liu D Y. The application of diversity indices in marine phytoplankton studies. *Acta Oceanologica Sinica*, 2004, 26(1): 62-75.
- [19] Yuan S Q, Xue Y F, Gao P, Wang W D, Ma Y H. Microbial diversity in Shengli petroleum reservoirs analyzed by T-RFLP. *Acta Microbiologica Sinica*, 2007, 47(2): 290-294.
- [20] Jia J T, Song L S, Li J. T-RFLP technique and its application in research on microbial community structure. *Marine Science*, 2004, 28(3): 64-68.
- [21] Duan W W, Lou K, Zeng J, Hu R, Shi Y W, He Q, Liu X C, Sun J, Chao Q F. Analysis on fungal diversity of air microbial communities from sandstorm source areas of the Taklamakan desert in Xinjiang. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2011, 48(4): 769-775.
- [22] Jaccard P. étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura. *Bulletin del la Société vaudoise des Sciences Naturelles*, 1901, 37: 547-579.
- [23] Zhang Z Y, Chen H, Yang Y H, Chen T, Lin R Y, Chen X J, Lin W X. Effects of continuous cropping on bacterial community diversity in rhizosphere soil of *Rehmannia glutinosa*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(11): 2843-2848.
- [24] Liu J G, Zhang W, Li Y B, Sun Y Y, Bian X M. Effects of long-term continuous cropping system of cotton on soil physical-chemical properties and activities of soil enzyme in oasis in Xinjiang. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(2): 725-733.
- [25] Mazzola M. Transformation of soil microbial community structure and *Rhizoctonia*-suppressive potential in response to apple roots. *Phytopathology*, 1999, 89(10): 920-927.
- [26] Dullahide S R, Stirling G R, Nikulin A, Stirling A M. The role of nematodes, fungi, bacteria, and abiotic factors in the etiology of apple replant problems in the Granite Belt of Queensland. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 1994, 34(8): 1177-1182.
- [27] Mazzola M. Elucidation of the microbial complex having a causal role in the development of apple replant disease in Washington. *Phytopathology*, 1998, 88(9): 930-938.
- [28] Kong C H, Wang P, Zhao H, Xu X H, Zhu Y D. Impact of allelochemical exuded from allelopathic rice on soil microbial community. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(7): 1862-1869.
- [29] Landi L, Valori F, Ascher J, Renella G, Falchini L, Nannipieri P. Root exudate effects on the bacterial communities, CO<sub>2</sub> evolution, nitrogen transformations and ATP content of rhizosphere and bulk soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(3): 509-516.
- [30] Broeckling C D, Broz A K, Bergelson J, Manter D K, Vivanco J M. Root exudates regulate soil fungal community composition and diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(3): 738-744.
- [31] Zhao X L, Liu X H, He J Z, Wan C X, Gong M F, Zhang L L. Effects of cotton root exudates on available soil nutrition, enzyme activity and microorganism quantity. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2009, 29(7): 1426-1431.
- [32] Zhang S X, Gao Z Q, Liu H L. Continuous cropping obstacle and rhizospheric microecology III. Soil phenolic acids and their biological effect. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2000, 11(5): 741-744.
- [33] Liu J B, Xu Y L, Lü G Z, Li C J, Zhao Z H, Wei W. Black soil region *Fusarium* population structure and quantity in soybean rhizosphere of different rotation system. *Soybean Science*, 2009, 28(1): 97-102.
- [34] Wang S Q, Han X Z, Qiao Y F. Allelopathy of root exudates and their effects on rhizosphere microorganism. *Chinese Journal of Soil Science*, 2007, 38(6): 1219-1225.
- [35] Qiu L Y, Qi Y C, Wang M D, Jia X C. Relationship between secondary metabolite autotoxic to plant and continuous cropping obstacles. *Soils*, 2010, 42(1): 1-7.
- [36] Nihorimbere V, Ongena M, Smargiassi M, Thonart P. Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 2011, 15(2): 327-337.
- [37] Xu Y X, Wang G H, Jin J, Liu J J, Zhang Q Y, Liu X B. Bacterial communities in soybean rhizosphere in response to soil type, soybean genotype, and their growth stage. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(5): 919-925.
- [38] Xu H, Yang H S, Xu Y, Mao Z Q, Shu H R. Research progress on rhizosphere environment of fruit trees. *Journal of Shandong Agricultural University: Natural Science Edition*, 2004, 35(3): 476-480.
- [39] Ma N N, Li T L. Effect of long-term continuous cropping of protected tomato on soil microbial community structure and diversity. *Acta Horticulturae Sinica*, 2013, 40(2): 255-264.
- [40] Li Z W, Wang C, Chen W, Shu H R. Biological characteristics of soil microorganisms in apple orchards with different ages. *Chinese Journal of Soil Science*, 2011, 42(2): 302-306.

#### 参考文献:

- [2] 孙海兵, 毛志泉, 朱树华. 环渤海湾地区连作苹果园土壤中酚酸类物质变化. *生态学报*, 2011, 31(1): 90-97.
- [7] 李延茂, 胡江春, 张晶, 汪思龙, 王书锦. 杉木连栽土壤微生物

- 物多样性的比较研究. 应用生态学报, 2005, 16(7): 1275-1278.
- [ 8 ] 李坤, 郭修武, 孙英妮, 张立恒, 胡禧熙. 葡萄连作对土壤细菌和真菌种群的影响. 应用生态学报, 2009, 20(12): 3109-3114.
- [ 11 ] 余素林, 吴晓磊, 钱易. 环境微生物群落分析的 T-RFLP 技术及其优化措施. 应用与环境生物学报, 2006, 12(6): 861-868.
- [ 12 ] 王洪媛, 管华诗, 江晓路. 微生物生态学中分子生物学方法及 T-RFLP 技术研究. 中国生物工程杂志, 2004, 24(8): 42-47.
- [ 13 ] 鲍士旦. 土壤农化分析 (第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000: 34-35, 81-83, 106-107.
- [ 14 ] 邵蕾, 王丽霞, 张民, 孙治军. 控释肥类型及氮素水平对氮磷钾利用率的影响. 水土保持学报, 2009, 23(4): 170-175.
- [ 18 ] 孙军, 刘东艳. 多样性指数在海洋浮游植物研究中的应用. 海洋学报, 2004, 26(1): 62-75.
- [ 19 ] 袁三青, 薛燕芬, 高鹏, 汪卫东, 马延和. T-RFLP 技术分析油藏微生物多样性. 微生物学报, 2007, 47(2): 290-294.
- [ 20 ] 贾俊涛, 宋林生, 李筠. T-RFLP 技术及其在微生物群落结构研究中的应用. 海洋科学, 2004, 28(3): 64-68.
- [ 21 ] 段魏魏, 娄恺, 曾军, 胡蓉, 史应武, 何清, 刘新春, 孙建, 晁群芳. 新疆沙尘暴源区塔克拉玛干空气真菌群落的 T-RFLP 分析. 新疆农业科学, 2011, 48(4): 769-775.
- [ 23 ] 张重义, 陈慧, 杨艳会, 陈婷, 林瑞余, 陈新建, 林文雄. 连作对地黄根际土壤细菌群落多样性的影响. 应用生态学报, 2010, 21(11): 2843-2848.
- [ 24 ] 刘建国, 张伟, 李彦斌, 孙艳艳, 卞新民. 新疆绿洲棉花长期连作对土壤理化性状与土壤酶活性的影响. 中国农业科学, 2009, 42(2): 725-733.
- [ 31 ] 赵小亮, 刘新虎, 贺江舟, 万传星, 龚明福, 张利莉. 棉花根系分泌物对土壤速效养分和酶活性及微生物数量的影响. 西北植物学报, 2009, 29(7): 1426-1431.
- [ 32 ] 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.
- [ 33 ] 刘金波, 许艳丽, 吕国忠, 李春杰, 赵志慧, 魏巍. 黑土区不同轮作系统大豆根际镰孢菌种群结构和数量. 大豆科学, 2009, 28(1): 97-102.
- [ 34 ] 王树起, 韩晓增, 乔云发. 根系分泌物的化感作用及其对土壤微生物的影响. 土壤通报, 2007, 38(6): 1219-1225.
- [ 35 ] 邱立友, 戚元成, 王明道, 贾新成. 植物次生代谢物的自毒作用及其与连作障碍的关系. 土壤, 2010, 42(1): 1-7.
- [ 38 ] 许衡, 杨和生, 徐英, 毛志泉, 束怀瑞. 果树根际微域环境的研究进展. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2004, 35(3): 476-480.
- [ 39 ] 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. 园艺学报, 2013, 40(2): 255-264.
- [ 40 ] 李智卫, 王超, 陈伟, 束怀瑞. 不同树龄苹果园土壤微生物生态特征研究. 土壤通报, 2011, 42(2): 302-306.

# ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.34, No.4 Feb., 2014 (Semimonthly)

## CONTENTS

### Frontiers and Comprehensive Review

The bioavailability of dissolved organic carbon in the eutrophic lakes ..... YE Linlin, KONG Fanxiang, SHI Xiaoli, et al (779)

Plant species of the non-agricultural habitats in the lower reaches of the Yellow River plain agro-landscape .....  
..... LU Xunling, LIANG Guofu, TANG Qian, et al (789)

### Autecology & Fundamentals

Manganese stress on the ultrastructures of a manganese tolerant plant, *Polygonum perfoliatum* L. ....  
..... WANG Jun, WU Hui, XUE Shengguo, et al (798)

Characteristics of arsenic (As) tolerance and accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with different radial oxygen loss .....  
..... WU Chuan, MO Jingyu, XUE Shengguo, et al (807)

Effects of water stress on physiological characteristics of different *Illicium lanceolatum* ecotypes under low light intensity .....  
..... CAO Yonghui, ZHOU Benzhi, CHEN Shuanglin (814)

Effect of branch number on the growth and development of *Morus alba* saplings ... HUAN Huihui, XU Xiao, LIU Gang, et al (823)

Spatial distribution pattern and sampling technique for *Orthotylus (O.) sophorae* nymphs on *Sophora japonica* .....  
..... ZHU Huiying, SHEN Ping, WU Jianhua, et al (832)

Assessment of fungal diversity in apple replanted orchard soils by T-RFLP analysis .....  
..... YIN Chengmiao, WANG Gongshuai, LI Yuanyuan, et al (837)

Effects of dazomet on edaphon and growth of *Malus hupehensis* rehd. under continuous apple cropping .....  
..... LIU Entai, LI Yuanyuan, HU Yanli, et al (847)

Isolation, identification, and performance of two pyrene-degrading endophytic bacteria ..... SUN Kai, LIU Juan, LI Xin, et al (853)

### Population, Community and Ecosystem

Effects of different temperatures on the growth and development of *Eotetranychus Kankitus* (Ehara) .....  
..... LI Yingjie, WANG Ziyang, ZHANG Guohao, et al (862)

Effect of available burrow densities of plateau pika (*Ochotona curzoniae*) on plant niche of alpine meadow communities in the  
Qinghai-Tibet Plateau ..... JIA Tingting, MAO Liang, GUO Zhenggang (869)

Correlation between characteristics of *Reaumuria soongarica* communities and soil factors in the Sangong River basin .....  
..... ZHAO Xuechun, LAI Liming, ZHU Linhai, et al (878)

Effects of afforestation on soil microbial community structure in the arid valley of Minjiang River .....  
..... WANG Weixia, LUO Da, SHI Zuomin, et al (890)

Effects of reclamation on tidal flat and land use on soil microbial community .....  
..... LIN Li, CUI Jun, CHEN Xueping, FANG Changming (899)

Effects of *Pomacea canaliculata* on aquatic macrophyte community structure in paddy fields .....  
..... ZHAO Benliang, ZHANG Jiaen, DAI Xiaoyan, et al (907)

The adaptability and decontamination effect of four kinds of woody plants in constructed wetland environment .....  
..... CHEN Yonghua, WU Xiaofu, HAO Jun, et al (916)

Carbon budget of alpine *Potentilla fruticosa* shrubland based on comprehensive techniques of static chamber and biomass harvesting ...  
..... LI Hongqin, LI Yingnian, ZHANG Fawei, et al (925)

Effect of initial pH value on microbial Fe (III) reduction in alkaline and acidic paddy soils ... WU Chao, QU Dong, LIU Hao (933)

### Landscape, Regional and Global Ecology

Climate environmental change and stable carbon isotopes in age layers of *Tamarix* sand-hillocks in Kumtag desert .....  
..... ZHANG Jinchun, YAO Tuo, LIU Changzhong, et al (943)

## Resource and Industrial Ecology

The critical factors of transpiration on muskmelon in plastic greenhouse ..... ZHANG Dalong, CHANG Yibo, LI Jianming, et al (953)

Ion absorption and distribution of symbiotic *Reaumuria soongorica* and *Salsola passerina* seedlings under NaCl stress .....  
..... ZHAO Xin, YANG Xiaojun, SHI Yong, et al (963)

The relationship between selected rhizosphere and non-rhizosphere soil properties and the quality of *Pyrola decorata* .....  
..... GENG Zengchao, MENG Lingjun, LIU Jianjun (973)

Spatial variation analysis of soil organic matter and nutrient factor for before and after planting crops .....  
..... FANG Bin, WU Jinfeng (983)

**Urban, Rural and Social Ecology**

Establishment and application of the index system for urban river health assessment .....  
..... DENG Xiaojun, XU Youpeng, ZHAI Luxin, et al (993)

Dynamic analysis of the ecological footprint and carrying capacity of tibet ..... AN Baosheng, CHENG Guodong (1002)

**Research Notes**

Responses of soil microorganisms and soil enzyme activities to different land use patterns in the water-level-fluctuating zone of  
the Three Gorges Reservoir region ..... MA Peng, LI Changxiao, LEI Ming, et al (1010)

Effects of salt stress on growth and root development of two oak seedlings .....  
..... WANG Shufeng, HU Yunxue, SUN Haijing, et al (1021)

The effects of constant and variable thermal acclimation on thermal tolerance of the common giant toad tadpoles (*Bufo gargarizans*) ...  
..... WANG Lizhi (1030)

# 《生态学报》2014 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索生态学奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

本期责任副主编 董 鸣 编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 34 卷 第 4 期 (2014 年 2 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 34 No. 4 (February, 2014)

编 辑 《生态学报》编辑部  
地址:北京海淀区双清路 18 号  
邮政编码:100085  
电话:(010)62941099  
www.ecologica.cn  
shengtaixuebao@rcees.ac.cn

主 编 王如松  
主 管 中国科学技术协会  
主 办 中国生态学学会  
中国科学院生态环境研究中心  
地址:北京海淀区双清路 18 号  
邮政编码:100085

出 版 科 学 出 版 社  
地址:北京东黄城根北街 16 号  
邮政编码:100717

印 刷 北京北林印刷厂  
发 行 科 学 出 版 社  
地址:东黄城根北街 16 号  
邮政编码:100717  
电话:(010)64034563  
E-mail: journal@cspg.net

订 购 全国各地邮局  
国外发行 中国国际图书贸易总公司  
地址:北京 399 信箱  
邮政编码:100044

广告经营 京海工商广字第 8013 号  
许 可 证

Edited by Editorial board of  
ACTA ECOLOGICA SINICA  
Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China  
Tel: (010)62941099  
www.ecologica.cn  
shengtaixuebao@rcees.ac.cn

Editor-in-chief WANG Rusong  
Supervised by China Association for Science and Technology  
Sponsored by Ecological Society of China  
Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS  
Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China

Published by Science Press  
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,  
Beijing 100717, China

Printed by Beijing Bei Lin Printing House,  
Beijing 100083, China

Distributed by Science Press  
Add: 16 Donghuangchenggen North  
Street, Beijing 100717, China  
Tel: (010)64034563  
E-mail: journal@cspg.net

Domestic All Local Post Offices in China  
Foreign China International Book Trading  
Corporation  
Add: P.O.Box 399 Beijing 100044, China



ISSN 1000-0933  
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 90.00 元