

植物化感作用类型及其在农业中的应用*

王建花[†] 陈婷[†] 林文雄^{**}

(福建农林大学生命科学院 福州 350002)

摘要 本文总结前人研究成果的基础上,对不同植物化感作用类型及其作用机制和在农业中的应用进行了探讨。植物化感作用包括化感偏害作用、自毒作用、自促作用和互惠作用。植物化感偏害作用是由植物根系分泌物介导下的植物与特异微生物共同作用的结果。利用植物化感偏害作用控制田间杂草是一项环境友好型的可持续农业技术,并已在水稻化感抑草研究方面取得了较突出的成果。植物化感自毒作用(作物连作障碍)是造成作物产量降低、生长状况变差、品质变差、病虫害频发的现象。药用植物,特别是以根部入药的药用植物中,连作障碍表现更为突出。近年来研究结果认为根系分泌物生态效应的间接作用及土壤微生物区系功能紊乱是导致植物连作障碍的主要因素。因此,改善土壤生长环境,恢复和修复根际土壤微生物结构平衡,增强生态系统机能是克服作物连作障碍的关键。植物化感自促作用(连作促进作用)是在植物根系分泌物促进下,根际土壤微生物之间此消彼长,有益微生物之间互利协作,土壤肥力和营养补给能力明显改善,从而增强植物根系抗性,促进植物生长发育,提高产量和品质的结果。牛膝的连作促进作用明显,有学者试图通过牛膝与其他不耐连作药用植物间作套种或轮作,实现药用植物生产的可持续发展。植物间的正相互作用(互惠作用)是作物间套种系统超产和养分等资源高效利用的重要机制,根系分泌物在介导根际微生物与植物的有利互作中起到重要作用。最后作者强调指出,存在于根际土壤的微生物群落的宏基因组组成是决定植物能否健康生长的关键。深入研究存在于土壤生态系统中的植物体外基因组的组成与演化机制,将成为借用现代合成生物学原理与技术,定向控制植物根际生物学过程,促进作物生产可持续发展的优先研究领域。

关键词 植物化感作用类型 化感作用方式与机制 植物与微生物互作 生态农业技术

中图分类号: Q946; S181 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2013)10-1173-11

Plant allelopathy types and their application in agriculture

WANG Jian-Hua, CHEN Ting, LIN Wen-Xiong

(School of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract Since allelopathy was defined by Rice in 1984, important research progress has been made on the plant allelopathy. Previous studies demonstrated that plant allelopathy has four types (or action modes), amensalism, autotoxicity, stimulation and facilitation. Plant allelopathy was widely understood as the harmful effects (amensalism) of one plant on another plant due to chemicals that were released into the environment, especially into the soil environment. Increasing studies showed that plant allelopathy was the result of the comprehensive effect of plant-microbe interactions mediated by root exudates. Amensalism has been applied in weeds control, and great achievements have been made in the practice. Allelopathic autotoxicity, also known as consecutive monoculture problems, was shown as serious soil disease in plants, consequently resulting in decreased biomass and quality of plant under consecutive monoculture. The allelopathic autotoxicity of medical herbs, especially those with tuberous roots for medicinal use, was just the case with much more sensitive reaction. Recent researches has displayed that the ecological effects of soil microbial functional disorder mediated by root exudates were the main reasons for the consecutive monoculture problems. The findings suggested that the improvement of disease-conducive soil environment was crucial to the remediation of unbalanced microbial community consturcture, and increase of ecosystem functions to overcome the problems. Positive allelopathic stimulation

* 国家自然科学基金项目(31271670, U1205021)和国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2012CB126309)资助

** 通讯作者: 林文雄(1957—), 男, 博士, 教授, 主要从事农业生态学研究, E-mail: wenxiong181@163.com

† 同等贡献者: 王建花(1966—), 女, 博士研究生, 主要从事农业生态学研究, E-mail: npsljwzh@163.com; 陈婷(1981—), 女, 研究实习员, 主要从事循环农业研究, E-mail: iamchenting@126.com

收稿日期: 2013-08-28 接受日期: 2013-09-09

referred to that the monocultured plants grow well, showing higher biomass and better quality with the increasing years of consecutive cropping. Although the mechanism for positive allelopathic stimulation was not deeply understood, it suggested that the ecological phenomena mainly resulted from the improvement of soil microbial community structure and their interaction mediated by root exudates, including positive and negative facilitation among microorganisms in rhizosphere soil, and hence increased soil fertility and nutrient supply ability, thereby, enforced root resistance to disease, consequently resulted in enhanced plant yield and quality. *Achyranthes bidentata* Blume was found to be a typical medicinal plant with positive allelopathic effects after continuously monocultured, and had been used as a rotation/intercropping crop with other medicinal plants sensitive to consecutive cropping to keep sustainable production of medicinal herbs. Positive interspecific interactions (facilitation) including commensalism, mutualism and protooperation, have become a hotspot at home and abroad. Many scholars found that the mutually beneficial relationships in rhizosphere between plant species, especially the plant-microbe interactions mediated by root exudates, played important roles in the yield increase of intercropping system and efficient utilization of soil nutrients. Finally, the authors emphasized that the composition of metagenome of the complex plant-associated microbial community existing in rhizosphere was the key to the crop plants whether they can healthily grow in the monoculture system. More in-depth studies in the second genome and oriented control of rhizospheric biological processes based on the principle and technology of modern synthetic biology would become the priority research areas to promote the sustainable development of agricultural production.

Key words Plant allelopathy type, Action mode and mechanism of allelopathy, Plant-microbe interaction, Ecoagricultural technology

(Received Aug. 28, 2013; accepted Sep. 9, 2013)

早在公元 77 年, 罗马自然科学作者 Pliny the Elder 在他的著作中就描述过黑胡桃(*Juglans nigra* L., black walnut)对邻近植物的毒害作用现象, 德国科学家 Molisch(1937)首次把这种现象称为化感作用(allelopathy)^[1]。Rice(1984)将其定义为植物(包括微生物)通过向周围环境中释放化学物质影响邻近植物(包括微生物)生长发育的化学生态学现象^[2]。随着研究的不断深入, 化感作用的概念也不断扩充, 提出了植物化感作用是植物-土壤-微生物相互作用的结果, 包括了化感偏害作用(amensalism)、自毒作用(autotoxicity)、自促作用(stimulation)和互惠作用(facilitation)^[3-9]。植物化感作用是一个极其复杂的化学生态学过程。近年来研究认为靶标植物(target plant)的存在, 诱导了供体植物(donor plant)体内化感物质合成相关基因的表达, 并在供体内积累化感物质(allelochemical), 最后由根系等途径源源不断地释放到环境, 特别是土壤环境中, 从而引发化感效应。在农业生态系统中充分利用化感物质的正效应(positive effect), 避免负效应(negative effect), 对于建立可持续农业体系具有重要作用, 因而被认为是一项重要的生态农业技术^[7]。近年来国内外许多学者在通过利用植物对邻近其他植物的抑制作用进行田间杂草防治; 通过利用不同植物间的正相互作用, 进行混作、间作、套作, 建立植物有益组合; 通过改进栽培耕作制度, 实施作物轮作, 科学作物布局, 保护生物多样性, 减少作物化感作用的负面影响等方面, 进行了深入研究并取得了重要进展。本文综述了这方面的研究成果, 并讨论了当前研究存在

的问题和主攻方向。

1 植物化感偏害作用及其作用机制

农田杂草危害是一个世界性的难题。化学除草剂具有用量少、见效快、省成本、省工时等优点, 是世界各国农业生产中防除杂草的主要措施。2012 年, 我国除草剂生产总量 164.8 万 t, 占农药总产的 46.4%, 并达到历史的新高, 可见农业生产过程中化学除草剂的使用量不断增加^[10]。然而, 除草剂的大量和长期使用带来了环境污染、除草剂残留、产品质量安全、杂草抗性等负面效果。特别是抗除草剂杂草的快速出现, 导致大量使用毒性更强的除草剂或使用高剂量的除草剂, 导致恶性循环; 再者, 大量除草剂造成土壤、水体、大气污染, 进而造成食品污染及生物多样性减少, 危害人类健康^[11-12]。此外, 除草剂的使用量增加与粮食增产之间严重失衡, 21 世纪以来全球每年除草剂使用量由 65 万 t 上升至 200 万 t, 增幅高达 207.69%, 而粮食产量仅由 18.89 亿 t 增加至 21.21 亿 t, 增幅只有 12.28%^[8]。这些负面作用引起各国政府和科学家们深层次地思考化学除草剂所带来的问题, 世界各国科学家都在寻找安全除草的替代方式。

利用植物化感偏害作用控制田间杂草被认为是一项环境友好型的可持续农业技术, 已成为当代农业生态学研究热点问题^[1,9]。植物化感偏害作用亦称植物化感抑制作用, 是指一种供体植物通过挥发、分泌、淋溶和降解等方式释放次生化合物并进入环境(特别是土壤环境)中, 从而抑制邻近受体植物(如田间杂草等)生长发育的化学生态学现象^[1,9]。

早期开展植物化感抑制作用主要集中于植物化感种质资源的收集、评价与利用, 化感作用性状的遗传与基因定位, 化感物质的分离与鉴定, 化感作用方式与作用机制等方面。研究结果认为化感作用是植物(作物)可遗传的性状之一, 不同植物(作物)种质资源中大约有 3%~4% 的种质具有不同程度的化感作用潜力^[7], 这是由于在人工选择压力的影响下, 大量化感作用性状在育种选择中丢失, 因此收集、评价具有化感作用潜力的植物种质资源是植物化感作用研究的重要前提, 也是作物遗传改良与抗草育种的首要任务, 因此受到世界各国的普遍重视, 并取得重要研究进展。

与其他作物相比, 水稻化感抑制杂草作用研究相对较早, 成果也较突出。水稻化感作用研究始于 20 世纪 80 年代, 美国遗传育种学家 Dilday 在田间试验中首次发现了对水生杂草 Ducksalad [*Heteranthera Limosa* (Sw) Wild] 具有明显化感抑制作用的水稻品种^[13]。其后, 他对来自多个国家的 12 000 份水稻品种进行抑草潜力评价, 获得约 5 000 份水稻品种对杂草 Redstem (*Ammannia coccinea* Rottb.) 存在化感作用。之后, 世界各国研究人员开始广泛开展水稻化感作用的相关研究, 并取得了重要进展^[6, 11~22]。研究成果已进入田间试验评价阶段, 也取得了一定的成效。王海斌等^[23]连续 3 年的田间试验结果表明, 不同化感水稻田间抑草效果达 85%~92%, 化感水稻在不除草条件下比化学除草下产量虽有所下降, 但由于不用化学除草剂, 生产成本明显降低, 产品质量显著提高。对非化感水稻而言, 不除草条件下, 田间杂草侵染严重, 产量比化学除草处理减少 50% 左右, 显示了利用水稻化感作用控制田间杂草的可行性。然而, 实践表明水稻化感作用是个复杂的化学生态学现象, 其遗传表现受环境条件的强烈调控, 特别是栽培管理得当与否, 可导致水稻化感抑草能力相差高达 20%~30%, 产量高低相差 30%~40%, 严重影响其推广应用速度。因此, 深入研究水稻化感抑草作用的遗传生态学特性与分子生态学机制, 分离鉴定水稻化感物质并揭示其抑草作用的根际生物学过程与机制, 对于有效进行遗传改良与栽培调控, 促进化感水稻尽快应用于生产实际具有极其重要的理论与实际意义^[1, 8, 24]。

水稻化感物质是水稻化感作用研究的重点也是难点, 前人在此方面也做了大量的研究, 但结果不尽相同。一种观点认为萜类和黄酮类是水稻化感物质。日本学者 Kato-Noguchi 等^[15, 25]最早在日本水稻品种“Koshihikari”的植株及其培养液中分离鉴定到

二萜类物质稻壳酮(momilactone B), 并发现其对靶标植物水芹 Cress (*Lepidium sativum* L.) 和稗草 [*Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv.] 具有抑制作用; 此外还发现, 供试水稻在低氮, UV-B 辐射, 高稗草密度和外源茉莉酸(JA)处理下, momilactone B 浓度显著增加, 对稗草生长的抑制率也提高^[26~27], 因而认为 momilactone B 是一类重要的水稻化感物质。我国学者孔垂华教授及其团队也支持其部分观点, 并认为除 momilactone B 是水稻化感物质外, 还认为一些黄酮类及其糖配基类物质如 5,7,4'-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone 和 flavone O-glycoside 也是化感物质^[28~29], 并在水稻各主要生育期的根际土壤中均检测到这类物质^[30]; 同时认为, 这类物质的生物合成受 JA 和水杨酸(SA)信号分子以及杂草密度的调控^[31]。Sakamoto 等^[32]发现水稻 momilactone B 的生物合成是由一组位于第 4 染色体上的编码二萜类环化酶(diterpene cyclases)等相关基因的基因簇完成的, 其功能表达能被各种信号分子或诱导物质(elicitor)所调控。然而, 也有研究结果表明, 无论是化感水稻还是非化感水稻, 编码萜类, 特别是二萜类环化酶相关基因的功能表达, 均能被外界环境条件所调节, 而且上下调程度和性质表现趋势一致, 因此这种基因的表达模式并不是化感水稻特有的遗传生态特性, 且该类基因上调表达的强度并不与稗草生长抑制率提高相一致, 暗示着萜类化合物不一定是化感物质^[33]。近年来, Kato-Noguchi^[26]研究还发现并不是只有水稻才能合成 momilactone B, 如苔藓(*Bryophyta* spp.) 也可以自身合成这类物质。所以, 在农田条件下, 检测到的这类物质, 并不一定就是水稻自身合成、并由根系分泌释放到根际土壤中的萜类化感物质。因此, 萜类尽管是一类作用浓度较低的化感物质, 但认为萜类就是化感水稻在自然条件下对杂草呈抑制作用的化合物, 还缺乏充分的实验证据^[34]。因此, 迄今仍有很多学者持第二种观点, 即认为植物酚酸类物质是化感作用物质。持这种观点的化感作用奠基人 Rice^[2]和亚洲较早研究水稻等作物化感作用的台湾学者 Chou^[3]研究认为, 由作物残体分解产生的或通过作物根系分泌而进入土壤的酚酸类物质, 能够被土壤团粒结构物质(micelles)或腐植酸所固定, 并存留在根际土壤中, 从而对作物和杂草生长发育产生重要影响。之后, 一些学者也相继提供试验证据支持酚酸类物质是一类化感物质的观点^[35~37]。Einhellig 和何华勤等^[4-5, 38]的研究表明, 水稻酚酸类化感物质的产生与释放均受外部环境条件的影响, 且逆境胁迫能调节基因表达, 加快化感

物质的合成, 促进化感物质从作物内部释放到外部土壤环境中, 从而提高化感作用效果。

随着研究的不断深入, 许多研究结果表明, 在田间条件下水稻化感抑草作用是由化感水稻释放的物质与根际土壤微生物相互作用的结果。因为无论是植物分泌的作用浓度较低的萜类和黄酮类物质, 还是作用浓度较高的酚酸类物质, 都不可能一成不变地存留在根际土壤中, 因而认为在田间条件下, 植物化感作用能力并不与土壤中实际化感物质浓度呈正相关^[39]。前人研究结果表明, 高粱的化感物质 *Sorgoleone* 在所有的土壤中均被矿化, 其中来自美国的土壤矿化速率最快^[40]; 葱芥 [*Alliaria petiolata* (M. Bieb.) Cavara et Grande] 的类黄酮类化感物质在非灭菌的土壤中半衰期少于 12 h, 在灭菌土壤中也仅存在 45.5 h^[41]; Zhang 及 Lin 等^[42-43] 的研究也发现添加一定浓度且具有作用效果的萜类和酚酸类化感物质在土壤中 3~7 d 就被降解了 50%~90%, 认为这与土壤存在降解该类物质的微生物有关。这些研究均说明在自然环境或农田生态系统中, 不管是何种化感物质, 尽管其起始浓度有高有低, 均能被环境微生物所降解、固定或转化。因此, 化感作用的形成涉及供体植物与受体植物(如化感水稻与靶标杂草)以及供受体植物与微生物相互作用的复杂过程。

近年来, 研究发现化感供体植物与受体靶标植物存在复杂的化学通讯关系。Kim 等^[6] 研究结果发现, 在稻/稗种植体系中, 稗草数量越多, 化感水稻 *Kouketumochi* 叶片水浸提物对稗草的抑制率越高, 暗示着受体稗草可能对供体化感水稻功能基因表达有诱导作用。Fang 等^[44] 和 He 等^[45-46] 曾系统研究了不同密度稗草胁迫下水稻化感潜力变化及其分子机制, 结果也发现化感水稻“PI312777”对共培稗草的抑制能力随稗草密度增大而增大, SSH 检测结果表明化感水稻“PI312777”中酚酸类代谢途径相关基因上调表达显著; 同时, 水稻叶片、根系及种植溶液中的酚酸浓度显著上升; 竞争指数分析表明, 稗草胁迫下化感水稻“PI312777”的种间竞争能力增强, 表现为稗草对化感水稻具有竞争促进作用。Kato-Noguchi^[27] 用稗草种植液浓缩后(约为 200 mg·L⁻¹) 添加到水稻种植液后, 发现供试水稻对杂草的抑制率分别提高到 74% 和 76%, 并认为稗草根分泌物中的化学物质可以诱导水稻抑草活性和 momilactone B 的生成。Junaedi 等^[47] 发现水稻“Sathi”与稗草共培下的差异表达基因中 6 个上调表达, 3 个下调表达。此外, 采用水杨酸、茉莉酸系列化合物也可以诱导化感水稻抑草能力增强^[44,48-49]。上述研究结果均表明供体化感植物与受体靶标植物存在化学通讯关系,

但研究未涉及该过程中深层次基因表达调控的分子生态学机制。尽管如此, 经过多年不断的研究探索, 化感水稻抑制田间杂草生长的化学生态学行为, 从室内试验效果到大田种植结果都充分肯定其是一种环境友好的生态除草方式, 从而促使研究人员致力于对其化感互作机理的研究。

从上述分析可知, 水稻化感作用的最终效果即表现为对受体杂草的抑制作用。在这一过程中, 化感水稻能影响杂草体内功能基因的表达强度, 导致杂草生理生化防御能力发生变化, 最终影响其生长; 与之相对, 化感水稻可能存在着接受靶标杂草释放的化学信号的分子机制, 并通过其特有方式调节功能基因的表达水平, 促进相关生化防御机制的启动, 进而产生化感抑草作用。因此, 揭示这一化学生态学现象中供、受体各自的基因表达调控方式, 对于深入揭示水稻化感抑制杂草生长的作用机制, 从而实现通过基因工程技术调控化感水稻功能基因的表达强度以增强其化感作用, 乃至开发有效地抑制受体稗草生长的生物农药, 促进低碳循环农业的发展均具有十分重要的意义。

2 植物化感自毒作用及其机制

植物化感自毒作用也称为作物连作障碍(conservative monoculture problems), 指在正常栽培管理下, 同一田块连续多年种植同种或亲缘相近的作物, 造成该作物生长状况变差、病虫害频发、产量逐年下降、品质变差的现象。连作障碍在我国亦称之为“重茬问题”, 在欧美国家被称作土存病害(soil disease) 或再植病害(replant disease), 日本称为“忌地现象”或“连作障碍”^[50]。

生产实践中连作障碍是一种很普遍的现象, 轻者减产减收, 重者绝收。如花生连作后, 主茎变矮, 结实率低, 荚果变小, 产量降低, 连作 3 年后, 产量减少 10%~40%, 且随连作年限增加, 病虫害加剧, 减产幅度加大^[51-52]; 许多瓜果蔬菜, 如黄瓜、番茄、辣椒、茄子等连作后, 病虫害严重, 导致产量降低^[53-56]。

药用植物, 特别是以根部入药的药用植物中, 连作障碍表现的更为突出, 约 70% 的根类药材存在不同程度的连作障碍^[57]。如丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge) 连作后产量降低, 有效成分含量降低, 根系外观畸形^[58]。地黄(*Rehmannia glutinosa* Libosch)、人参(*Panax ginseng* C. A. Meyer) 和西洋参(*Panax quinquefolium* L.) 栽种过一茬后的土壤, 几年内, 甚至几十年内不能再栽种^[59-60]。用重茬地继续栽种人参一般在第 2 年以后, 出苗率降至 30% 以下, 大约 70% 土地上的人参须根脱落、生长受阻。栽种地黄

后的土壤再种植地黄导致其植株矮小, 不能正常生长, 地下块根不能正常膨大, 根冠比失调, 药材产量与品质下降, 商品性差, 效益低^[60]。总之, 连作障碍在农业生产中随处可见。随着经济的发展及土地资源的减少, 连作障碍已经严重影响了我们的生活, 因此连作障碍是一个亟待解决的农业问题。

前人研究认为, 引起药用植物连作障碍的原因大致有以下 4 个方面: (1) 植物体内基因、蛋白质表达异常、表达调控紊乱(如 miRNA)、生理不良响应等^[42-43]; (2) 土壤理化性质恶化、营养状况衰竭^[61]; (3) 药用植物根系分泌物的化感自毒作用^[61]; (4) 微生物生态环境恶化, 如微生物多样性水平下降、病原微生物增加、病虫害加重^[62-63]。针对土壤肥力下降, 人们普遍采取增施肥料, 加大打药防病的措施, 但缓解连作障碍的效果并不显著, 如北方的主要粮食作物小麦, 若连作则产量会下降一半以上, 虽施足化肥也无济于事^[64]。同样, 梁银丽等^[65]通过增加施肥进行防治黄瓜连作障碍的研究, 发现土壤养分下降不是造成连作障碍的主要原因, 说明关于土壤养分下降是引起连作障碍的原因尚有不同观点。而对于植物根系分泌物的自我毒害方面, 国内外同行也逐渐认为自毒(化感)物质并非在供体与受体植物之间或前、后茬植物之间直接发挥作用, 自毒(化感)物质只是诱因, 释放到土壤后势必受到微生物的加工、分解、转化等, 并同时影响根际微生物区系产生影响, 最后共同影响受体植物的生长发育^[39]。所以, 目前越来越多的学者认为, 根系分泌物生态效应的间接作用及土壤微生物区系紊乱是导致植物连作障碍的主要因素^[61,66]。

根际微生物群落的宏基因组(metagenome)被认为是植物的第二基因组, 广义上讲根际是植物的一个组成部分, 土壤微生物群落多样性与植物生长发育密切相关^[67]。近年来, 国内外同行研究的焦点都集中于根际这一特殊土壤区域, 探索植物-土壤-微生物三者相互作用的根际过程及其调控机制, 研究土壤微生物与植物生长发育的互作关系^[68-70]。植物体在整个生长周期中会释放大量的根系分泌物, 它们是介导植物与土壤进行物质交换和能量流动的重要载体物质, 是植物响应外界胁迫的重要途径, 也是构成植物不同根际微生态特征的关键因素, 是植物-微生物互作关系建立的基础。越来越多的学者研究发现, 根系分泌物对根际微生物群落结构有选择塑造作用, 不同的植物体其根际微生物群落结构具有其独特性与代表性^[71-73], 反过来, 根际微生物群落结构变化对土壤物质循环、能量流动、信息传递有

重要影响, 进而影响植物生长发育过程^[74-75]。

陈慧等^[76]研究发现, 连作造成土壤微生物多样性水平下降, 微生物种类减少, 尤其是有益微生物的种类和数量显著降低, 病原菌大量增加, 破坏了土壤微生物群落结构。李振方等^[77]通过对地黄道地产区河南省焦作地区和主产区山西省临汾地区连作地黄的根际微生态特性及土壤酶进行分析也发现类似结果, 研究表明连作造成根际土壤细菌数量减少, 土壤真菌和放线菌数量增多, 土壤微生物类型由“细菌型”向“真菌型”过渡, 同时连作根际土壤中土壤脲酶、蔗糖酶和过氧化氢酶的活性显著下降。Qu 等^[71]通过外源添加两种酚酸物质: 香草酸(VA)和 2,4-二叔丁基苯酚(PEDT), 并运用 DGGE 技术来分析自毒物质对根际微生物群落结构的影响, 发现 VA 和 PEDT 对根际微生物量、微生物活性都有重要影响, 尤其是 VA 对细菌、真菌群落结构及多样性水平有显著影响, 能够选择性诱导某些微生物(*Hymenogregaricus* sp., *Cyathus striatus* 等)成为优势种群。吴林坤等^[78]运用末端限制性片段长度多态性(T-RFLP)技术分析不同连作年限下地黄根际微生物区系变化, 发现随着连作年限的增加, 土壤微生物种群的丰富性指数、均匀度指数、香农多样性指数都明显降低, 可见随着种植年限的增加细菌种类大量减少, 结构更加单一; 同时, 发现具有广谱抑菌活性的有益菌(如假单胞菌属)急剧减少, 但某些病原菌数量却不断增多, 进一步通过设计特异引物建立 qRT-PCR 定量平台对假单胞菌属进行定量分析, 发现随着种植年限的增加, 假单胞菌属数量显著下降, 验证了 T-RFLP 结果。林茂兹等^[79-80]运用传统微生物培养方法研究太子参(*Radix pseudostellariae*)根际微生物区系, 也发现连作导致根际土壤细菌和好气性自生固氮菌数量极显著下降, 相反, 真菌、放线菌、厌气性纤维素分解菌数量极显著增加。而且, 连作导致土壤中尖孢镰刀菌数量极显著增多, 是对照土壤的 13 倍。同时发现, 与太子参-水稻轮作的土壤相比, 太子参连作土壤中细菌种(属)略有减少, 而其中致病菌和病原菌种(属)增多, 真菌种(属)则表现出上升的趋势。可见, 药用植物连作下土壤微生物群落结构发生明显变化, 并且趋于恶化。所以, 深入探索太子参连作下根际微生物群落结构恶变的根际生物学过程, 对于彻底揭示药用植物和其他作物连作障碍形成的分子机理及消减策略具有重要指导意义。作者研究认为造成连作障碍的主要因素是土壤微生态系统综合功能的失调, 有关连作障碍机理的研究必须建立在系统功能的水平上, 若仅从根系分泌物、土

壤微生物、太子参植株自身等任一个侧面单独探讨,很难真正阐明连作障碍形成的分子机理,也就无法获得重大的突破。与此同时,造成药用植物(作物)连作障碍研究进展缓慢,另一个重要因素是研究手段的滞后,揭示太子参连作障碍机理还必须在研究方法上有所突破。

随着多聚酶链反应(PCR)、核酸测序等现代生物学、分子生物学技术的迅速发展,人们对土壤微生物多样性有了更多的了解。宏基因组学研究极大地扩展了人们对于环境微生物群落的基因组成以及遗传变异性等方面的认识。高通量测序技术的发展更是为研究土壤宏基因组提供了大量数据,带来了契机,使人们能够对环境微生物进行深度测序,灵敏地探测出环境微生物群落结构随外界环境的改变而发生的极其微弱的变化。目前, Roche 454 GS FLX Titanium 每次运行能产生 100 万条序列,平均读长能达到 400 nt,且第 400 个碱基的准确率能达到 99%。一次运行所需时间仅为 10 h,能获得 4 亿~6 亿个碱基的序列信息,具有测序通量高、测序数据便于进行生物信息分析等优点。Mendes 等^[81]应用上述基于基因芯片的宏基因组学技术在甜菜(*Beta vulgaris* L.)苗不易感染立枯丝核菌病的抑病土壤(disease-suppressive soil)中检测到 33 000 个细菌和古细菌菌种,进一步分析表明,与感病土壤(disease-conducive soil)相比,抑病土壤中含有与抑病相关的变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和放线菌(Actinobacteria)等有益菌,其中 γ -proteobacteria 是受非核糖体肽合成酶(nonribosomal peptide synthetases)控制的具有抑病活性的有益菌。他们还采用人工分离、培养、功能鉴定等方法证明了宏基因组学分析的准确性,并进一步采用土壤灭菌和人工回接目的菌株进行功能验证,结果充分说明了在抑病土壤中生长的甜菜根系一旦受到真菌病原菌的攻击,它会集结和联盟根际土壤中的有益微生物以抵抗和保护根系免受侵染。可见,如何通过合理的耕作措施,恢复和保护根际土壤微生物多样性,是避免盲目打药防虫治病,消减作物连作障碍,促进土壤生态系统自我抵抗能力和自适应机制的恢复,实现作物生产可持续发展的技术关键。

3 植物化感自促作用及其机制

植物化感自促作用亦称连作促进作用,指耐连作植物(作物)随着重茬年限的延长,其生长势增强,生物产量、外观品质和品质明显提高。如上述,约 70% 的药用植物均匀连作障碍问题,然而,牛膝(*Achyranthes bidentata* Blume)却是一种非常适宜连

作的道地性中药材,连作下牛膝产量和药用品质均有显著提高。根据对河南省焦作市武陟县大封镇驾部村实地调查研究发现,有的地块已经连续种植怀牛膝达 20 年以上,且连作 20 年以上怀牛膝地块中牛膝干货产量(约 3 000 kg·hm⁻²)比头茬种植的牛膝干货产量(1 875 kg·hm⁻²)高 1 125 kg·hm⁻²^[57]。有关研究也指出,连续种植怀牛膝年限越久的地块,怀牛膝地下部分长势变好,牛膝的外观品质具有明显优势,主要表现在主根明显粗长且须根和侧根较少,根皮光滑,同时牛膝的生长品质(包括块根的长度和干重等)及其药用品质也越来越好。李娟等^[82]运用 HPLC 等技术测定牛膝主要药用活性成分甾酮和皂苷含量,结果显示麦茬地中首次种植的牛膝中甾酮含量(0.540 1 mg·g⁻¹)和皂苷含量(1.046 2 mg·g⁻¹)均低于多年怀牛膝-小麦复种连作地中牛膝甾酮(0.749 3 mg·g⁻¹)和皂苷含量(2.438 1 mg·g⁻¹),与怀牛膝连作后外观品质变化规律一致,说明随着怀牛膝种植年限的增加,牛膝中甾酮和皂苷含量上升,即连作提高了牛膝的外观品质与药效成分。

为了探讨怀牛膝连作促进的作用机理,李振芳和李吉等(未发表)以不同连作年限的怀牛膝根际土壤(和空白对照土壤)为试验材料,测定了土壤的基本理化性质,并联合运用 Biolog 微平板技术、磷脂脂肪酸(PLFA)技术和末端限制性片段长度多态性(T-RFLP)技术对根际土壤微生物群落结构和功能多样性做进一步研究,发现怀牛膝连作对土壤基本理化性质产生显著影响:与连作 2 年土壤相比,连作 20 年土壤有机质、全氮、全磷、全钾、速效氮(铵态氮)和速效磷均有所增加,尤其以全磷、速效氮(铵态氮)和速效磷增加较为显著;连作 20 年土壤有机质、全氮、全磷、全钾、速效氮(铵态氮)和速效磷含量分别是对照土壤的 1.05 倍、1.59 倍、1.99 倍、1.10 倍、1.85 倍和 1.88 倍,说明怀牛膝连作一定程度上改善根际土壤环境,提高土壤的保肥能力和补给能力,不仅有利于植株的生长,还为根际微生物活动提供营养和能源。进一步的 Biolog、PLFA 和 T-RFLP 等分析表明,连作使怀牛膝根际土壤微生物群落结构发生显著变化,而微生物多样性差异不显著:Biolog 分析表明,不同连作年限的 3 种土壤样品微生物群落对碳源底物的代谢活性存在明显差异,其中 20 年土壤微生物对氨基酸类的代谢活性较高,对多聚物、酚酸类、羧酸类的代谢活性较低;通过 PLFA 分析从土壤中提取到 28 种 PLFAs 生物标记,发现连作 2 年和 20 年土壤中,细菌 PLFA 相对总量占绝对优势,占有率分别为 51.12%和 48.54%,真菌次之,PLFA 相对含量占有率分别为 26.6%和 28.54%,原生

动物和放线菌依次减少,但在连作 20 年土壤中,真菌、放线菌和原生动物的 PLFA 相对含量比连作 2 年分别高出 19.4%、1.4%和 2.3%; T-RFLP 分析发现,一些有益菌(以芽孢杆菌属和类芽孢杆菌属为主),包括枯草芽孢杆菌、浸麻类芽孢杆菌、环状芽孢杆菌、球形芽孢杆菌、假单胞菌属等和一些改善土壤质地、防治植物病害的功能菌(如链霉菌属等)随着连作年限的增加而不断增加,而以支原体属为主的病原菌则不断减少。因而认为,连作使得怀牛膝根际土壤微生物群落结构发生变化,但微生物多样性差异较不显著;随着怀牛膝种植年限的增加,一些有益菌和功能菌(有益真菌、放线菌、原始动物和芽孢杆菌属、类芽孢杆菌属和链霉菌属等)不断富集,而一些病原菌(利用酚酸类代谢的有害菌、支原体属等)的数量则不断减少,这可能与长期连作下,怀牛膝根系分泌物的不断释放与累积有关。在根系分泌物的介导下,根际土壤微生物之间此消彼长,有益微生物之间互利协作,提高了根系的抗性水平,改善土壤肥力和补给能力,土壤微生物群落在不断的竞争中趋于一种动态平衡,调节着土壤微生态环境,促进土壤养分转化与植物吸收,从而促进怀牛膝的生长,提高牛膝的产量和品质。近年来,有学者试图通过牛膝与其他不耐连作的药用植物间作套种或轮作,以改良土壤肥力,改善或恢复土壤微生物结构,提高其多样性水平,实现药用植物生产的可持续发展^[83]。

4 植物互惠作用及其机理

植物间的相互作用方式有多种多样,但长期以来,由于受达尔文进化论的影响,强调生存竞争是物种进化的根本动力,所以生态学自诞生起,其研究重点主要集中在竞争、捕食及非生物胁迫等负的种间相互作用类型上。负相互作用的重要性是毋庸置疑的,但在真实群落中,植物在竞争光、养分、空间和水分等限制资源之外,亦通过直接正相互作用的方式来提供额外的资源及改善微环境,或者利用间接的正相互作用来保护彼此。但是,对此以往我们未能给予足够的重视。随着对正相互作用研究的不断深入,人们才逐渐认识到,正相互作用至少和负相互作用类型一样对于生物群落而言是非常重要的。近 20 年以来,对正相互作用的研究趋于主流,不同生境下的试验表明,正相互作用对个体适合度、种群的分布、增长速率、物种组成和多样性,甚至景观尺度上的群落动态都有重大影响。植物间的正相互作用(positive interaction)也称互惠作用(facilitation),是指生物体之间的对一方有利而对另

一方无害的相互作用,通常发生于当一个物种增强了其邻体的增长、存活、繁殖时,包括偏利共生(commensalism)、互利共生(mutualism)和原始协作(proto-cooperation)。

植物间正相互作用发生的直接机理有:(1)水力提升说(hydraulic lift),水分顺水势梯度通过植物根系由深层向表层干土的向上传输,使相当多的植物土壤水分通过根系得到再分配,包括根系相对较浅的植物。(2)林冠截流说(canopy interception),即降水被林冠拦截,使土壤湿度在植物林冠周围较高,为植物创造更加湿润的环境。(3)遮蔽保护说,遮蔽的作用包括保护植物的组织,使其低于致死温度,降低呼吸消耗,减少紫外线照射,通过降低空气和叶片间的蒸气压力来减少蒸腾并同时增加土壤含水量。(4)养分补给说(nutrient supply),植物通过从土壤中吸收养分并以落叶等方式使养分回归土壤,从而改善土壤的物理化学性质,由此使其周围的相邻植株受益。(5)环境胁迫梯度说(stress gradient hypothesis, SGH),即当环境条件较好时,物种间的负相互作用占据主导地位;而在恶劣的环境条件下,正相互作用的重要性上升,并且其作用强度随着环境的恶劣程度而增加(图 1)^[84]。大量关于正相互作用的研究,支持了这一假说^[85-86],但也有部分研究并不支持 SGH 假说,如 Maestre 和 Cortina^[87]研究结果表明,在半干旱欧亚草原的降雨梯度上,出现了从竞争到正相互作用又再回到竞争的转变,即植物之间相互作用的类型及强度与环境的胁迫程度呈二次曲线型,环境梯度变化的两个极端(环境优越端和环境极端恶劣端)均被负相互作用所占据(图 1 中的模式 2)。(6)植物-微生物互作说,近几年来,许多学者研究揭示出作物种间根际互惠是作物间套种系统超产和养分等资源高效利用的重要机制^[88-89]。然而,越来越多的研究结果表明植物的互惠作用主要是根系分泌物介导下,根际微生物有利互作的结果^[78,90]。

总之,随着生物间互惠作用研究的不断深入,促进了现实生态位(realized niche)理论的发展。生态位理论是生态学的核心,其概念最初是由 Grinnell(1917)和 Elton(1927)所定义,后来 Hutchinson(1957)又对其进行了重新定义,将基础生态位(fundamental niche)与现实生态位区分开来。所谓基础生态位是指某个物种在不受任何负的相互作用(竞争、捕食、寄生)情况下能够生存的环境条件范围;而实现生态位(realized niche)是在负相互作用存在的情况下,某一物种所能存活的实际空间。因此实

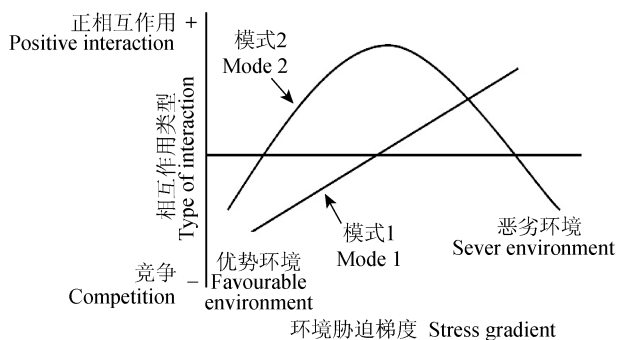


图 1 植物间相互作用类型随着环境梯度变化的两种主要模式

Fig. 1 Two modes of plants interaction types under environment stress gradient

模式 1: 当环境条件较优越时, 物种间的相互作用类型以竞争为主; 而当环境条件较恶劣时, 正相互作用占据优势, 并且其作用强度随着环境的恶劣程度而增加。模式 2: 物种间相互作用的类型及强度与环境的胁迫程度成二次曲线型, 即环境梯度变化的两个极端(环境优越端和环境极端恶劣端)竞争均占据主导地位。In mode 1, interaction between plants is primarily competition under favourable environment, and positive action is predominant under harsh environment, which is strengthened with enhanced severity degree of environment. In mode 2, relationship between type and intensity of plants interaction and stress gradient follows quadratic curve, under both favourable and sever environments, competition is dominant.

现生态位的范围比基础生态位窄。生态位的概念实际上假定了邻近物种之间存在着负的相互作用, 正如竞争排除法则一样, 不同物种是不能占有同一生态位的。然而, 当我们将正相互作用的概念引入到生态位理论时则会得到一个惊人的结果: 物种实现生态位的范围将比其基础生态位所预测的范围大, 即实现生态位会比基础生态位宽。如玉米与豆科作物间套作可以提高其在缺磷土壤的生存能力^[88-89]。演替早期的植物特别是乔木对土壤条件的改善可以对演替进程产生积极的影响, 为后来植物物种的生存提供较好的土壤环境^[84]。

实际上, 利用植物互惠作用原理来提高现实生态位技术已在低碳循环农业的实践中得到很好地应用。世界各国尤其是发展中国家在农业生产中广泛采用两个或多个作物间套混合种植。在南美, 估计有 70%~90%的豆类和 60%的玉米是与其他作物间作的; 在印度, 90%的木豆也是以间作形式种植; 在尼日利亚, 许多作物如豇豆、花生、谷类、粟类、棉花和玉米等均普遍以间作形式种植。在中国, 间套种植模式也十分丰富, 且历史悠久, 如华北的玉米/花生间作, 黄淮海平原的小麦/玉米间作, 东北的玉米/大豆间作, 西北地区的小麦/玉米、小麦/大豆和蚕豆/玉米间套作, 西南地区的小麦/玉米、玉米/甘薯、玉米/花生、玉米/大豆, 长江中下游地区的小麦/豌豆、小麦/蚕豆、大麦/蚕豆和油菜/蚕豆间套作, 南

方的多熟种植制等; 在甘肃省河西走廊地区和蒙古、宁夏沿黄灌区, 小麦/玉米间作较流行, 在云南省小麦/蚕豆、大麦/蚕豆、油菜/蚕豆等小春作物和玉米/马铃薯、玉米/魔芋、玉米/花生等夏粮作物多样性种植技术盛行^[8]。

5 结语

总之, 植物化感作用现象在远古时代就被先人所认识。我国古代提出的相生相克思想实际上要比现在的化感作用概念更加精辟。但是进入科学研究还是近几十年的事。特别是随着现代生物学理论与技术的发展, 植物化感作用研究才走向深入, 并取得突破性进展。已如上述, 植物化感作用的各种类型及其作用方式, 都是植物根系分泌物介导下, 植物-土壤-微生物相互作用的结果。可见, 存在于根际土壤的微生物群落的宏基因组(metagenome)组成是决定植物能否健康生长的关键。因此, 只有深入研究这个存在于土壤生态系统中的植物体外基因组组成与演化机制, 才能促进人们自觉借用现代合成生物学原理与技术, 实现人工定向控制植物根际生物学过程, 促进作物生产可持续发展的目的。

参考文献

- [1] Lin W X, Fang C X, Chen T, et al. Rice allelopathy and its properties of molecular ecology[J]. *Frontiers in Biology*, 2010, 5(3): 255-262
- [2] Rice E L. *Allelopathy* (2nd edn)[M]. New York: Academic Press, 1984: 421
- [3] Chou C H. The role of allelopathy in phytochemical ecology[M]//Chou C H, Waller G R. *Allelochemicals and pheromones*. Taipei: Institute of Botany, Academia Sinica, Monograph Series, No. 5. Taipei, 1989: 19-38
- [4] Einhellig F A. *Allelopathy: Current status and future goals*[M]. Washington DC: American Chemical Society, 1995: 1-24
- [5] Einhellig F A. Interactions involving allelopathy in cropping systems[J]. *Agronomy Journal*, 1996, 88(6): 886-893
- [6] Kim K U, Shin D H, Lee I J, et al. Rice allelopathy in Korea[M]//Kim K U, Shi D H. *Rice Allelopathy*. Proceedings of the Workshop in Rice Allelopathy. Taegu (Korea): Kyungpook National University, 2000: 57-82
- [7] 林文雄, 熊君, 周军建, 等. 化感植物根际生物学特性研究现状与展望[J]. *中国生态农业学报*, 2007, 15(4): 1-8
Lin W X, Xiong J, Zhou J J, et al. Research status and its perspective on the properties of rhizosphere biology mediated by allelopathic plants[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2007, 15(4): 1-8
- [8] 林文雄, 陈婷, 周明明. 农业生态学的新视野[J]. *中国生态农业学报*, 2012, 20(3): 253-264
Lin W X, Chen T, Zhou M M. New dimensions in agroecology[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2012, 20(3): 253-264
- [9] Duke S O. Allelopathy: Current status of research and future of the discipline: A Commentary[J]. *Allelopathy Journal*, 2010, 25(1): 17-30

- [10] Fang C X, Zhuang Y E, Xu T C, et al. Changes in rice allelopathy and rhizosphere microflora by inhibiting rice phenylalanine ammonia-lyase gene expression[J]. Journal of Chemical Ecology, 2013, 39(2): 204–212
- [11] 徐正浩, 郭得平, 余柳青, 等. 水稻化感物质抑草作用机理的分子生物学研究[J]. 应用生态学报, 2003, 14(5): 829–833
Xu Z H, Guo D P, Yu L Q, et al. Molecular biological study on the action mechanism of rice allelochemicals against weeds[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 14(5): 829–833
- [12] 林文雄, 何华勤, 董章杭, 等. 不同环境下水稻对受体植物化感作用的动态遗传研究[J]. 作物学报, 2004, 30(4): 348–353
Lin W X, He H Q, Dong Z H, et al. Study on developmental inheritance of allelopathy in rice (*Oryza sativa* L.) under different environment[J]. Acta Agronomica Sinica, 2004, 30(4): 348–353
- [13] Dilday R H, Nastasi P, Smith R J Jr. Allelopathic observation in rice (*Oryza sativa* L.) to ducksalad (*Heteranthera limosa*)[J]. Proceedings Arkansas Academy of Science, 1989, 43: 21–22
- [14] Gealy D, Moldenhauer K, Duke S. Root distribution and potential interactions between allelopathic rice, Sprangletop (*Leptochloa* spp.), and Barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) based on ¹³C isotope discrimination analysis[J]. Journal of Chemical Ecology, 2013, 39(2): 186–203
- [15] Kato-Noguchi H, Ino T, Sata N, et al. Isolation and identification of a potent allelopathic substance in rice root exudates[J]. Physiologia Plantarum, 2002, 115(3): 401–405
- [16] Olofsdotter M. Weed suppressing rice cultivars — Does allelopathy play a role?[J]. Weed Research, 1999, 39(6): 441–454
- [17] Olofsdotter M. Rice: A step toward use of allelopathy[J]. Agronomy Journal, 2001, 93(1): 3–8
- [18] Hassan S M, Aidi I R, Bastawisi A O. Weed management using allelopathic rice varieties in Egypt[M]//Olofsdotter M. Allelopathy in Rice. Proceedings of Workshop on Allelopathy in Rice. Manila (Philippines): IRRI, 1998: 27–37
- [19] Navarez D, Olofsdotter M. Relay seeding technique for screening for allelopathic rice (*Oryza sativa* L.)[C]//Brown H, Cussans G W, Devine M D, et al. Proceedings of the Second International Weed Control Congress. Copenhagen, Denmark, 1996: 1285–1290
- [20] 沈荔花, 梁义元, 何华勤, 等. 水稻化感生物测试方法的比较及应用[J]. 应用生态学报, 2004, 15(9): 1575–1579
Shen L H, Liang Y Y, He H Q, et al. Evaluation efficiency of different bioassay methods on allelopathic potential of *Oryza sativa*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2004, 15(9): 1575–1579
- [21] 徐正浩, 余柳青. 不同株型水稻对无芒稗的生态控制研究[J]. 中国水稻科学, 2000, 14(3): 125–128
Xu Z H, Yu L Q. Ecological control of barnyardgrass by different morphological type rice[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2000, 14(3): 125–128
- [22] 王大力, 马瑞霞, 刘秀芬. 水稻化感抗草种质资源的初步研究[J]. 中国农业科学, 2000, 33(3): 94–96
Wang D L, Ma R X, Liu X F. A preliminary study on the allelopathic activity of rice germplasm[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2000, 33(3): 94–96
- [23] 王海斌, 俞振明, 何海斌, 等. 不同化感潜力水稻化感效应与产量的关系[J]. 中国生态农业学报, 2012, 20(1): 75–79
Wang H B, Yu Z M, He H B, et al. Relationship between allelopathic potential and grain yield of different allelopathic rice accessions[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2012, 20(1): 75–79
- [24] Mallik A U. Challenges and opportunities in allelopathy research: a brief overview[J]. Journal of Chemical Ecology, 2000, 26(9): 2007–2009
- [25] Kato-Noguchi H, Ino T. Rice seedlings release momilactone B into the environment[J]. Phytochemistry, 2003, 63(5): 551–554
- [26] Kato-Noguchi H. Barnyard grass-induced rice allelopathy and momilactone B[J]. Journal of Plant Physiology, 2011, 168(10): 1016–1020
- [27] Kato-Noguchi H. Allelopathic substance in rice root exudates: rediscovery of momilactone B as an allelochemical[J]. Journal of Plant Physiology, 2004, 161(3): 271–276
- [28] Kong C H, Zhao H, Xu X H, et al. Activity and allelopathy of soil of flavone O-Glycosides from rice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(15): 6007–6012
- [29] Kong C H, Wang P, Gu Y, et al. Fate and impact on microorganisms of rice allelochemicals in paddy soil[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(13): 5043–5049
- [30] Kong C H, Li H B, Hu F, et al. Allelochemicals released by rice roots and residues in soil[J]. Plant and Soil, 2006, 288(1/2): 47–56
- [31] You L X, Wang P, Kong C H. The levels of jasmonic acid and salicylic acid in a rice-barnyardgrass coexistence system and their relation to rice allelochemicals[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2011, 39(4/6): 491–497
- [32] Sakamoto T, Miura K, Itoh H, et al. An overview of gibberellin metabolism enzyme genes and their related mutants in rice[J]. Plant Physiology, 2004, 134(4): 1642–1653
- [33] 王海斌, 熊君, 方长旬, 等. 氮素胁迫下强、弱化感水稻蒴类代谢途径中关键酶基因差异表达的 FQ-PCR 分析[J]. 作物学报, 2007, 33(8): 1329–1334
Wang H B, Xiong J, Fang C X, et al. FQ-PCR Analysis on the differential expression of the key enzyme genes involved in isoprenoid metabolic pathway in allelopathic and weak allelopathic rice accessions (*Oryza sativa* L.) under nitrogen stress condition[J]. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(8): 1329–1334
- [34] Seal A N, Pratley J E, Haig T, et al. Identification and quantitation of compounds in a series of allelopathic and non-allelopathic rice root exudates[J]. Journal of Chemical Ecology, 2004, 30(8): 1647–1662
- [35] Blum U. Allelopathic interactions involving phenolic acids[J]. Journal of Nematology, 1996, 28(3): 259–267
- [36] Blum U, Shafer S R, Lehman M E. Evidence for inhibitory allelopathic interactions involving phenolic acids in field soils: Concepts vs. an experimental model[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 1999, 18(5): 673–693
- [37] Ohno T. Oxidation of phenolic acid derivatives by soil and its relevance to allelopathic activity[J]. Journal of Environment Quality, 2001, 30(5): 1631–1635
- [38] 何华勤, 林文雄, 梁义元, 等. 应用差异蛋白质组学方法分析作物化感作用的分子机理[J]. 生态学报, 2005, 25(12): 3141–3145
He H Q, Lin W X, Liang Y Y, et al. Analyzing the molecular mechanism of crop allelopathy by using differential proteomics[J]. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(12): 3141–3145
- [39] Kaur H, Kaur R, Kaur S, et al. Taking ecological function seri-

- ously: Soil microbial communities can obviate allelopathic effects of released metabolites[J]. *PLoS ONE*, 2009, 4(3): e4700
- [40] Gimsing A L, Baelum J, Dayan F E, et al. Mineralization of the allelochemical sorgoleone in soil[J]. *Chemosphere*, 2009, 76(8): 1041–1047
- [41] Barto E K, Cipollini D. Half-lives and field soil concentrations of *Alliaria petiolata* secondary metabolites[J]. *Chemosphere*, 2009, 76(1): 71–75
- [42] Zhang Z Y, Pan L P, Li H H. Isolation, identification and characterization of soil microbes which degrade phenolic allelochemicals[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 108(5): 1839–1849
- [43] Lin R Y, Wang H B, Guo X K, et al. Impact of applied phenolic acids on the microbes, enzymes and available nutrients in paddy soils[J]. *Allelopathy Journal*, 2011, 28(2): 225–236
- [44] Fang C X, Xiong J, Qiu L, et al. Analysis of gene expressions associated with increased allelopathy in rice (*Oryza sativa* L.) induced by exogenous salicylic acid[J]. *Plant Growth Regulation*, 2009, 57(2): 163–172
- [45] He H B, Wang H B, Fang C X, et al. Separation of allelopathy from resource competition using rice/barnyardgrass mixed-cultures[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(5): e37201
- [46] He H B, Wang H B, Fang C X, et al. Barnyard grass stress up regulates the biosynthesis of phenolic compounds in allelopathic rice[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2012, 169(17): 1747–1753
- [47] Junaedi A, Jung W S, Chung I M, et al. Differentially expressed genes of potentially allelopathic rice in response against barnyardgrass[J]. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 2007, 10(4): 231–236
- [48] Bi H H, Zeng R S, Su L M, et al. Rice allelopathy induced by methyl jasmonate and methyl salicylate[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2007, 33(5): 1089–1103
- [49] Xu G F, Zhang F D, Li T L, et al. Induced effects of exogenous phenolic acids on allelopathy of a wild rice accession (*Oryza longistaminata*, S37)[J]. *Rice Science*, 2010, 17(2): 135–140
- [50] 阮维斌, 王敬国, 张福锁, 等. 根际微生态系统理论在连作障碍中的应用[J]. *中国农业科技导报*, 1999, 1(4): 53–58
- Ruan W B, Wang J G, Zhang F S, et al. The application of rhizosphere micro-ecosystem theory to continuous cropping problem[J]. *Review of China Agricultural Science and Technology*, 1999, 1(4): 53–58
- [51] 孙秀山, 封海胜, 万书波, 等. 连作花生田主要微生物类群与土壤酶活性变化及其交互作用[J]. *作物学报*, 2001, 27(5): 617–621
- Sun X S, Feng H S, Wan S B, et al. Changes of main microbial strains and enzymes activities in peanut continuous cropping soil and their interactions[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2001, 27(5): 617–621
- [52] 徐瑞富, 王小龙. 花生连作田土壤微生物群落动态与土壤养分关系研究[J]. *花生学报*, 2003, 32(3): 19–24
- Xu R F, Wang X L. Relation of microbial population dynamics and nutrient in soil of continuous cropping with peanut[J]. *Journal of Peanut Science*, 2003, 32(3): 19–24
- [53] 胡元森. 黄瓜连作障碍因子分析及其生物修复措施探讨[D]. 南京: 南京农业大学, 2005
- Hu Y S. Factors analysis of continuous cucumber cropping obstacle and its preparatory bioremediation[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2005
- [54] 王茹华, 周宝利, 张启发, 等. 茄子根系分泌物中香草醛和肉桂酸对黄萎菌的化感效应[J]. *生态学报*, 2006, 26(9): 3152–3155
- Wang R H, Zhou B L, Zhang Q F, et al. Effects of vanillin and cinnamic acid in root exudates of eggplants on *Verticillium dahlia-etc*[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(9): 3152–3155
- [55] 吴晓玲, 周宝利, 侯永侠. 连作、轮作对辣椒不同品种生育和土壤肥力、微生物种群的影响[J]. *辽宁农业科学*, 2006(2): 1–4
- Wu X L, Zhou B L, Hou Y X. Effect of monoculture, rotation on growth of different capsicum varieties, soil fertility and microbiological population[J]. *Liaoning Agricultural Sciences*, 2006(2): 1–4
- [56] 孙艳艳, 蒋桂英, 刘建国, 等. 加工番茄连作对农田土壤酶活性及微生物区系的影响[J]. *生态学报*, 2010, 30(13): 3599–3607
- Sun Y Y, Jiang G Y, Liu J G, et al. Effects of continuous cropping tomato for processing on soil enzyme activities and microbial flora[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(13): 3599–3607
- [57] 张重义, 林文雄. 药用植物的化感自毒作用与连作障碍[J]. *中国生态农业学报*, 2009, 17(1): 189–196
- Zhang Z Y, Lin W X. Continuous cropping obstacle and allelopathic autotoxicity of medicinal plants[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2009, 17(1): 189–196
- [58] 张辰露, 孙群, 叶青. 连作对丹参生长的障碍效应[J]. *西北植物学报*, 2005, 25(5): 1029–1034
- Zhang C L, Sun Q, Ye Q. Obstacle effect of continuous cropping on *Salvia miltiorrhiza* growth[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2005, 25(5): 1029–1034
- [59] 张重义, 尹文佳, 李娟, 等. 地黄连作的生理生态特性[J]. *植物生态学报*, 2010, 34(5): 547–554
- Zhang Z Y, Yin W J, Li J, et al. Physio-ecological properties of continuous cropping *Rehmannia glutinosa*[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2010, 34(5): 547–554
- [60] 简在友, 王文全, 孟丽, 等. 人参属药用植物连作障碍研究进展[J]. *中国现代中药*, 2008, 10(6): 3–5
- Jian Z Y, Wang W Q, Meng L, et al. Research progress in continuous cropping obstacles of medicinal plants of *Panax* genus[J]. *Modern Chinese Medicine*, 2008, 10(6): 3–5
- [61] Li Z F, Yang Y Q, Xie D F, et al. Identification of autotoxic compounds in fibrous roots of *Rehmannia glutinosa* (Libosch.)[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(1): e28806
- [62] Qi J J, Yao H Y, Ma X J, et al. Soil microbial community composition and diversity in the rhizosphere of a Chinese medicinal plant[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2009, 40(9/10): 1462–1482
- [63] Latz E, Eisenhauer N, Rall B C, et al. Plant diversity improves protection against soil-borne pathogens by fostering antagonistic bacterial communities[J]. *Journal of Ecology*, 2012, 100(3): 597–604
- [64] 张晓玲, 潘振刚, 周晓锋, 等. 自毒作用与连作障碍[J]. *土壤通报*, 2007, 38(4): 781–784
- Zhang X L, Pan Z G, Zhou X F, et al. Autotoxicity and continuous cropping obstacles: A review[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2007, 38(4): 781–784
- [65] 梁银丽, 陈志杰, 徐福利, 等. 黄土高原设施农业中的土壤连作障碍[J]. *水土保持学报*, 2004, 18(4): 134–136

- Liang Y L, Chen Z J, Xu F L, et al. Soil continuous cropping obstacles in facility agriculture on Loess Plateau[J]. Journal of Soil Water Conservation, 2004, 18(4): 134–136
- [66] 吴宗伟, 王明道, 刘新育, 等. 重茬地黄土壤酚酸的动态积累及其对地黄生长的影响[J]. 生态学杂志, 2009, 28(4): 660–664
- Wu Z W, Wang M D, Liu X Y, et al. Phenolic compounds accumulation in continuously cropped *Rehmannia glutinosa* soil and their effects on *R. glutinosa* growth[J]. Chinese Journal of Ecology, 2009, 28(4): 660–664
- [67] Berendsen R L, Pieterse C M J, Bakker P A H M. The rhizosphere microbiome and plant health[J]. Trends in Plant Science, 2012, 17(8): 478–486
- [68] Wardle D A, Bardgett R D, Klironomos J N, et al. Ecological linkages between aboveground and belowground biota[J]. Science, 2004, 304(5677): 1629–1633
- [69] Bais H P, Weir T L, Perry L G, et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms[J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57: 233–266
- [70] Badri D V, Weir T L, van der Lelie D, et al. Rhizosphere chemical dialogues: plant-microbe interactions[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2009, 20(6): 642–650
- [71] Qu X H, Wang J G. Effect of amendments with different phenolic acids on soil microbial biomass, activity, and community diversity[J]. Applied Soil Ecology, 2008, 39(2): 172–179
- [72] Wu F Z, Wang X Z, Xue C Y. Effect of cinnamic acid on soil microbial characteristics in the cucumber rhizosphere[J]. European Journal of Soil Biology, 2009, 45(4): 356–362
- [73] Paterson E, Gebbing T, Abel C, et al. Rhizodeposition shapes rhizosphere microbial community structure in organic soil[J]. New Phytologist, 2007, 173(3): 600–610
- [74] Sturz A V, Christie B R. Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria[J]. Soil & Tillage Research, 2003, 72(2): 107–123
- [75] Eisenhauer N, Scheu S, Jousset A, et al. Bacterial diversity stabilizes community productivity[J]. PLoS ONE, 2012, 7(3): e34517
- [76] 陈慧, 郝慧荣, 熊君, 等. 地黄连作对根际微生物区系及土壤酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(12): 2755–2759
- Chen H, Hao H R, Xiong J, et al. Effects of successive cropping *Rehmannia glutinosa* on rhizosphere soil microbial flora and enzyme activities[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2007, 18(12): 2755–2759
- [77] 李振方, 杨燕秋, 谢冬凤, 等. 连作条件下地黄药用品质及土壤微生态特性分析[J]. 中国生态农业学报, 2012, 20(2): 217–224
- Li Z F, Yang Y Q, Xie D F, et al. Effects of continuous cropping on the quality of *Rehmannia glutinosa* L. and soil micro-ecology[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2012, 20(2): 217–224
- [78] 吴林坤, 李吉, 李振方, 等. 地黄连作对根际微生态特性的影响[C]//中国生态学会 2012 年学术年会. 长春, 2012: 153–154
- Wu L K, Li J, Li Z F, et al. Effects of continuous cropping of *Rehmannia glutinosa* Libosch on rhizosphere micro-ecology[C]// Academic Annual Conference of Ecological Society of China. Changchun, 2012: 153–154
- [79] 林茂兹, 王海斌, 林辉锋. 太子参连作对根际土壤微生物的影响[J]. 生态学杂志, 2012, 31(1): 106–111
- Lin M Z, Wang H B, Lin H F. Effects of *Pseudostellariae heterophylla* continuous cropping on rhizosphere soil microorganisms[J]. Chinese Journal of Ecology, 2012, 31(1): 106–111
- [80] 林茂兹, 黄少华, 陈巧巧, 等. 太子参连作障碍及其根际土壤尖孢镰刀菌数量变化[J]. 云南农业大学学报, 2012, 27(5): 716–721
- Lin M Z, Huang S H, Chen Q Q, et al. Studies on continuous cropping obstacle of *Pseudostellariae heterophylla* and the change of *Fusarium oxysporum* numbers in its rhizosphere[J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2012, 27(5): 716–721
- [81] Mendes R, Kruijt M, de Bruijn I, et al. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria[J]. Science, 2011, 332(6033): 1097–1100
- [82] 李娟, 黄剑, 李萍, 等. 连作对牛膝中甾酮及三萜类物质含量的影响[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10): 2433–2434
- Li J, Huang J, Li P, et al. Effects of continuous cropping on sterone and triterpenes contents in *Achyranthes bidentata*[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2010, 21(10): 2433–2434
- [83] 李娟, 黄剑, 张重义, 等. 地黄化感自毒作用消减技术研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(4): 405–408
- Li J, Huang J, Zhang Z Y, et al. Research on abatement measures of allelopathic autotoxicity of *Rehmannia glutinosa*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2011, 36(4): 405–408
- [84] 徐瑾, 王刚, 肖洒. 植物群落中正相互作用的研究进展[OL]. 中国科技论文在线, 2008, <http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/200806-355>
- Xu J, Wang G, Xiao S. The progress of development for facilitation in plant community[OL]. 2008, <http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/200806-355>
- [85] Callaway R M, Brooker R W, Choler P, et al. Positive interactions among alpine plants increase with stress[J]. Nature, 2002, 417(6891): 844–848
- [86] Choler P, Michalet R, Callaway R M. Facilitation and competition on gradients in alpine plant communities[J]. Ecology, 2001, 82(12): 3295–3308
- [87] Maestre F T, Cortina J. Do positive interactions increase with abiotic stress? A test from a semi-arid steppe[J]. Proceedings: Biological Sciences, 2004, 271(S5): S331–S333
- [88] Li S M, Li L, Zhang F S, et al. Acid phosphatase role in chickpea/maize intercropping[J]. Annals of Botany, 2004, 94(2): 297–303
- [89] Li L, Li S M, Sun J H, et al. Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus-deficient soils[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(27): 11192–11196
- [90] 吴林坤, 王海斌, 尤垂淮, 等. 地黄块根总蛋白质提取及双向电泳条件优化[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(8): 984–987
- Wu L K, Wang H B, You C H, et al. Establishment of extraction method and 2-dimensional electrophoresis conditions for root tuber proteome analysis of *Rehmannia glutinosa*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2011, 36(8): 984–987