

不同苹果砧木对连作土壤微生物及酶活性的影响

尹承苗¹, 相立¹, 孙传香¹, 沈向¹, 陈学森¹, 周慧², 毛志泉^{1,*}

(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试验室, 山东泰安 271018; ² 蓬莱市果树工作总站, 山东蓬莱 265600)

摘 要: 为了更好地利用砧木抗性来综合防控苹果连作障碍, 以平邑甜茶 (*Malus hupehensis* Rehd.)、富平秋子 [*M. prunifolia* (Willd) Borkh.]、八棱海棠 (*M. micromalus* Makino)、新疆野苹果 [*M. sieversii* (Le deb.) Roem.]、山荆子 [*M. baccata* (Linn.) Borkh.] 为试材, 探讨了不同苹果砧木对连作土壤中的酶活性、微生物以及酚酸类物质的影响。结果表明: 以平邑甜茶为砧木的土壤磷酸酶活性最高, 八棱海棠为砧木的土壤蔗糖酶活性最高, 富平秋子为砧木的土壤脲酶活性最高; 平邑甜茶为砧木的土壤真菌数量最低, 富平秋子和平邑甜茶为砧木的土壤细菌数量较高, 平邑甜茶为砧木的土壤细菌/真菌比值最高。从总酚酸含量来看, 平邑甜茶为砧木的土壤酚酸含量最低, 八棱海棠为砧木的土壤酚酸含量最高。综上, 平邑甜茶为砧木的土壤真菌数量最少, 土壤总酚酸含量最低, 且相关土壤酶活性较高, 说明其对连作土壤环境的改善效果最佳, 更适合作为砧木综合防控苹果连作障碍。

关键词: 苹果; 砧木; 酚酸; 微生物数量; 土壤酶活性

中图分类号: S 661.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2016) 12-2423-08

Effects of Different Apple Rootstocks on the Soil Microbial Quantity and Enzyme Activity of Apple Replanted Orchard Soil

YIN Cheng-miao¹, XIANG Li¹, SUN Chuan-xiang¹, SHEN Xiang¹, CHEN Xue-sen¹, ZHOU Hui², and MAO Zhi-quan^{1,*}

(¹ College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an, Shandong 271018, China; ² Fruit Trees Work Station of Penglai City, Penglai, Shandong 265600, China)

Abstract: In order to better use of resistant rootstock to comprehensively prevent and control apple replant disease, the soil enzyme activity, microbial quantity and phenolic acids of 5 kinds of apple rootstocks, i.e. *Malus hupehensis* Rehd., *M. prunifolia* (Willd) Borkh., *M. micromalus* Makino., *M. sieversii* (Ledeb.) Roem. and *M. baccata* (Linn.) Borkh. were analyzed in a short-term pot experiment. The results showed that soil phosphatase activity of *M. hupehensis* was the highest. Soil invertase activity of *M. micromalus* was the highest, and soil urease activity of *M. prunifolia* was the highest. The number of soil fungi of *M. hupehensis* was the lowest, and the number of bacteria of *M. hupehensis* and *M. prunifolia* was higher. *M. hupehensis* had the highest of bacteria/fungi ratio. From the aspect of total phenolic acid content, *M. hupehensis* had the lowest of total phenolic acid content, while *M. micromalus* had the highest

收稿日期: 2016-05-23; **修回日期:** 2016-12-05

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-28); 国家自然科学基金项目 (31501720, 31672104); 山东省自然科学基金项目 (ZR2014CL024); 山东省水果创新团队项目 (SDAIT-06-07)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: mzhiquan@sdaa.edu.cn)

of total phenolic acid content. In summary, *M. hupehensis* had the least number of soil fungi, and had the lowest of soil total phenolic acid content, and the related soil enzyme activities were higher. It showed that it was the best to improve the soil environment, and it was more suitable for the comprehensive prevention and control of apple replant disease.

Key words: apple; rootstock; phenolic acid; microbial number; soil enzyme activity

山东省大多数苹果园都是在 20 世纪 80 年代和 90 年代栽植的, 果园老龄化程度比较突出。调查结果显示, 16 年生以上苹果园在全省占了 42.86%, 烟台栖霞市占 76.55%, 老果园更新时普遍面临着连作障碍问题 (王金政 等, 2009)。

生产上克服连作障碍的方法主要有合理的轮作、间作和套种, 土壤消毒, 添加有机物料, 抗性育种和生物防治等方法。利用砧木抗性防治苹果连作障碍, 从 20 世纪 90 年代中期才引起人们的重视。Isutsa 和 Merwin (2000) 从总生物量、根坏死、根部真菌和根腐线虫 4 个标准评价苹果种内或种间杂交种的抗病、耐病作用, 发现无性繁殖的砧木 G65、CG6210、G30 对苹果再植病有较好的耐性。Leinfelder 和 Merwin (2006) 研究发现, 砧木 G30 和 CG6210 在苹果连作土壤种植 4 年后, 与砧木 M26、M7 相比, 植株生长量显著稳定增加; 且再植园中 CG6210 根系平均寿命为 M7 的 5 倍, 30 cm 以下深层土根系多, 树体大, 产量高 (Yao et al., 2006)。Mazzola 等 (2009) 研究发现, 在华盛顿州再植园中, Geneva 砧木系列根霉腐菌感染率显著低于 M26、MM111 和 MMI66 砧木。美国康奈尔大学研究的 CG 系列中的部分砧木能够抗苹果连作障碍, 其中 CG6210 和 G30 耐重茬效果最好 (Rumberger et al., 2004), Laurent 等 (2010) 研究发现再植相同或相近砧木没有加重再植病的危害程度。目前中国尚未正式引进 CG 系列砧木。因此, 研究中国本土的砧木对连作土的反应显得尤为重要。王元征等 (2011) 比较了不同苹果砧木在连作条件下光合、抗氧化酶和生长指标方面的差异性。本研究中以 5 种砧木为对象, 研究了连作条件下对连作土壤中酶、微生物和酚酸类物质的影响, 为更好地利用砧木抗性综合防控苹果连作障碍提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

试验于 2012 年 3—10 月在山东农业大学园艺科学与工程学院国家苹果工程技术研究中心试验基地进行。连作土取自山东省泰安市宁阳县磁窑镇 20 年生红富士苹果园, 砧木为八棱海棠 (*Malus micromalus*), 土壤类型为褐土, pH 7.4, 硝态氮含量 $11.39 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 铵态氮含量 $2.32 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效钾含量 $70.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效磷含量 $25.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 有机质含量 $5.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。连作土收集于距树干 1 m, 深 5~40 cm 范围内的土壤, 多点取样, 混匀使用。

供试砧木材料为平邑甜茶 (*M. hupehensis* Rehd.)、富平楸子 [*M. prunifolia* (Willd) Borkh.]、八棱海棠 (*M. micromalus* Makino.)、新疆野苹果 [*M. sieversii* (Ledeb.) Roem.]、山荆子 [*M. baccata* (Linn.) Borkh.]。根据 5 种苹果砧木种子层积时间长短不同调整层积开始时间, 使其萌芽时间基本保持一致。种子 4°C 层积, 露白后在育苗盘播种育苗。于 4 月 27 日幼苗长至 6 片真叶分别将其移至装有 7.5 kg 苹果连作土的外径 29 cm、内径 25 cm、深 20 cm 的泥瓦盆中。

5 种砧木为 5 个处理, 每个处理 20 盆, 每盆定植幼苗 2 株。于 8 月 20 日取土样, 每个处理取 3 盆, 去掉表层土和盆周围的土, 分别过筛装入封口袋, 用于土壤酶、酚酸类物质和微生物的测定。

1.2 指标的测定

土壤酶活性: 脲酶用苯酚钠比色法测定, 以 24 h 后 1 g 土壤中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的质量 (mg) 表示脲酶活性, 用 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 表示。过氧化氢酶测定采用容量法, 以 1 g 土壤的 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高锰酸钾的毫升数表示过氧化氢酶活性, 用 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 表示。磷酸酶活性测定采用磷酸苯二钠比色法, 以 1 g 土壤的酚毫克数表示磷酸酶活性, 用 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 表示。蔗糖酶活性测定采用比色法, 以 24 h 后 1 g 土壤中葡萄糖的质量 (mg) 表示蔗糖酶活性, 用 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 表示 (关松荫, 1986)。

土壤微生物数量: 细菌采用土壤浸出液牛肉膏蛋白胨培养基培养, 真菌采用 PDA 选择性培养基进行培养, 放线菌采用改良高氏培养基培养。微生物数量测定采用稀释平板计数法 (王慧等, 2010; 华菊玲等, 2012)。

土壤酚酸类物质: 准确称取过 12 目筛的风干土壤 85 g, 加入适量硅藻土 10 g, 于烧杯中混合均匀。在 100 mL 萃取池底部垫上 1 片纤维素膜, 将混合均匀的样品装入萃取池中。按优化好的 ASE (Accelerated Solvent Extraction, 加速溶剂萃取) 条件萃取: 先以无水乙醇为萃取溶剂, 温度 120°C , 压强 10.3 MPa, 静态萃取时间 5 min, 循环 2 次, 吹扫体积 60%, 吹扫时间 90 s; 然后以甲醇为萃取溶剂对同一样品在相同条件下再次萃取。萃取完成后, 将两种萃取溶剂的收集液混合, 34°C 减压浓缩蒸干, 加入 1 mL 甲醇复溶, 过 $0.22 \mu\text{m}$ 有机相滤膜, 待 HPLC 分析。色谱柱: Acclaim 120 C_{18} ($3 \mu\text{m}$, $150 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$), 柱温 30°C (美国 Dionex 公司)。流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 水 (乙酸调 pH 至 2.6), 流速: $0.50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样方式及进样体积: 自动进样, $5 \mu\text{L}$; 检测波长 280 nm (尹承苗等, 2013)。

对试验数据进行方差分析, 邓肯氏新复极差法进行差异显著性检测。

2 结果与分析

2.1 不同砧木对连作土壤酶活性的影响

在八棱海棠砧木连作土壤中分别栽植 5 种砧木幼苗, 移栽 4 个月后测定土壤酶活性。富平楸子与八棱海棠和山荆子的脲酶活性达显著性差异。以栽植富平楸子处理的脲酶活性最高, 平邑甜茶和新疆野苹果处理次之, 栽植八棱海棠和山荆子处理较低 (图 1, A)。栽植 5 种苹果砧木处理的过氧化氢酶活性相近 (图 1, B)。土壤蔗糖酶活性以八棱海棠处理最高, 平邑甜茶、新疆野苹果和山荆子处理次之, 富平楸子处理最低 (图 1, C)。土壤磷酸酶活性以平邑甜茶处理最高, 富平楸子和八棱海棠处理次之, 最低的是新疆野苹果和山荆子处理 (图 1, D)。

2.2 不同砧木对连作土壤微生物的影响

不同处理连作土壤中细菌数量不同。富平楸子和平邑甜茶处理最高, 八棱海棠、新疆野苹果和山荆子处理较低 (图 2, A)。不同处理连作土壤真菌数量具有差异性。新疆野苹果处理最高, 平邑甜茶处理最低, 新疆野苹果处理是平邑甜茶处理的 1.85 倍。真菌数量从大到小依次为: 新疆野苹果 > 山荆子 > 富平楸子 > 八棱海棠 > 平邑甜茶 (图 2, B)。土壤的放线菌数量, 以栽植平邑甜茶的处理最高, 其他 4 种砧木处理的略低, 且之间差异不显著 (图 2, C)。土壤中细菌与真菌的比值, 以栽植平邑甜茶的处理最高 (221.57), 新疆野苹果处理最低 (128.31), 两者相差接近 1 倍; 从大到小依次为: 平邑甜茶、富平楸子、八棱海棠、山荆子、新疆野苹果 (图 2, D)。

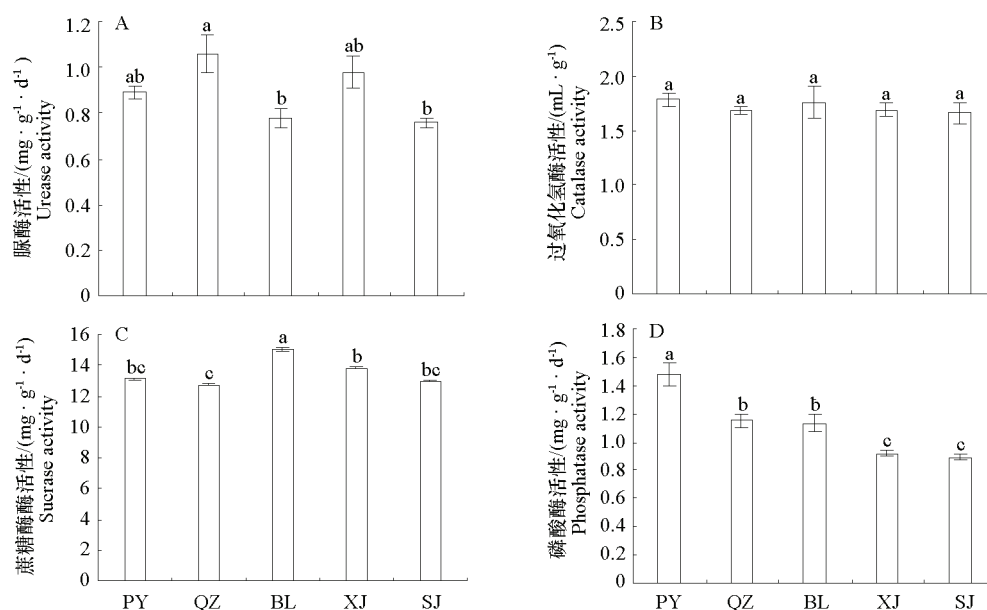


图 1 不同砧木连作土壤酶活性的影响

PY: 平邑甜茶; QZ: 富平楸子; BL: 八棱海棠; XJ: 新疆野苹果; SJ: 山荆子。下同。

Fig. 1 Effects of different root stocks on the replanted soil enzyme activities

PY: *Malus hupehensis*; QZ: *M. prunifolia*; BL: *M. micromalus*; XJ: *M. sieversii*; SJ: *M. baccata*. The same below.

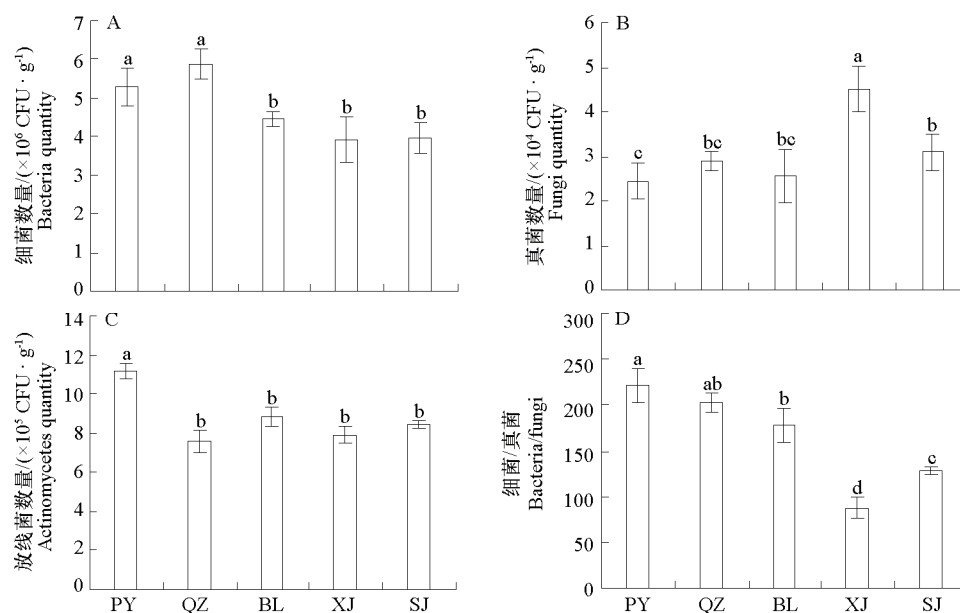


图 2 不同砧木连作土壤微生物的影响

Fig. 2 Effects of different root stocks on the replanted soil microorganism

2.3 不同砧木对连作土壤酚酸类物质的影响

由表 1 可以看出, 不同砧木土壤酚类物质的总含量不同, 从高到低依次为八棱海棠、富平椒子、山荆子、新疆野苹果、平邑甜茶。平邑甜茶和八棱海棠之间酚类物质总含量相差达 $8.823\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。根皮苷在土壤酚酸类物质中是最高的, 丁香酸的含量最低, 5 种砧木的土壤中表现一致。苯甲酸、阿魏酸、肉桂酸和丁香酸含量差异不显著。根皮苷含量以平邑甜茶处理最低, 八棱海棠处理最高, 两者相差接近 7 倍。根皮素含量从低到高依次为山荆子、平邑甜茶、富平椒子、新疆野苹果、八棱海棠。富平椒子处理的土壤中没有检测到对羟基苯甲酸。而绿原酸仅在富平椒子土壤中检测出, 其余 4 种砧木中没有检测到。

表 1 不同苹果砧木对连作土壤酚酸类物质含量的影响

Table 1 Effects of different root stocks on the content of phenolic acids of replanted soil											$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
砧木 Rootstock	对羟基苯甲酸 <i>p</i> -hydroxybenzoic acid	绿原酸 Chlorogenic acid	丁香酸 Syringic acid	香草醛 Vanillin	香豆酸 Coumalic acid	阿魏酸 Ferulic acid	苯甲酸 Benzoic acid	根皮苷 Phloridzin	肉桂酸 Cinnamic acid	根皮素 Phloretin	总含量 Total phenolic acids
平邑甜茶 <i>Malus hupehensis</i>	0.497 a	—	0.036 a	0.816 ab	0.123 c	0.078 a	1.022 a	1.700 d	0.179 a	0.453 bc	4.904 d
富平椒子 <i>M. prunifolia</i>	—	0.531	0.039 a	0.874 a	0.200 a	0.121 a	0.852 a	7.410 b	0.208 a	0.655 ab	10.890 b
八棱海棠 <i>M. micromalus</i>	0.229 b	—	0.035 a	0.794 ab	0.183 ab	0.089 a	0.911 a	10.338 a	0.304 a	1.074 a	13.727 a
新疆野苹果 <i>M. sieversii</i>	0.224 b	—	0.031 a	0.719 b	0.118 c	0.055 a	0.897 a	2.227 d	0.136 a	0.688 ab	5.095 d
山荆子 <i>M. baccata</i>	0.221 b	—	0.037 a	0.796 ab	0.145 bc	0.090 a	0.929 a	4.042 c	0.163 a	0.102 c	6.524 c

注: —: 未检测到; 不同字母表示同一酚酸不同砧木在 $P < 0.05$ 水平差异显著。
Note: —: Not detected. Different letters indicate the same phenolic acids of significant differences between the root stock ($P < 0.05$).

2.4 酚酸总量与土壤酶活性、微生物数量相关性分析

由表 2 可以看出, 仅土壤酶中的过氧化氢酶与磷酸酶显著相关, 土壤中的酚酸总量、酶活性、微生物之间则相关性不显著。

表 2 酚酸总量与土壤酶活性、微生物之间的相关系数

Table 2 Correlation coefficient between total phenolic acids and soil enzyme activities and microorganism								
相关性分析 Correlation analysis	酚酸总量 Total phenolic acids	脲酶 Urease activity	过氧化氢酶 Catalase activity	磷酸酶 Phosphatase activity	蔗糖酶 Sucrase activity	细菌 Bacteria	真菌 Fungi	放线菌 Actinomycetes
酚酸总量 Total phenolic acids	1	- 0.106	0.134	- 0.012	0.510	0.260	- 0.436	- 0.347
脲酶 Urease activity		1	- 0.221	0.132	- 0.425	0.574	0.359	- 0.339
过氧化氢酶 Catalase activity			1	0.811*	0.478	0.246	- 0.539	0.798
磷酸酶 Phosphatase activity				1	- 0.092	0.699	- 0.674	0.801
蔗糖酶 Sucrase activity					1	- 0.438	0.018	0.002
细菌 Bacteria						1	- 0.558	0.180
真菌 Fungi							1	- 0.550
放线菌 Actinomycetes								1

* 表示在 0.01 水平显著相关。
* Correlation is significant at the 0.01 level.

3 讨论

苹果连作障碍是一个世界性的难题, 在世界主要苹果产区普遍存在 (Bai et al., 2009)。在中国,

苹果园面临着大面积更新换代问题,同时受土地资源的限制,连作现象普遍存在,苹果连作障碍已成为制约苹果产业发展的重要因素(尹承苗等,2014)。因此,如何有效缓解连作障碍现象成为中国苹果生产中的一重要课题(孙海兵等,2011;王艳芳等,2015)。

不同砧木在连作条件下土壤酶活性不同。土壤酶是由土壤中微生物、动植物活体分泌等释放于土壤中的一类具有催化能力的生物活性物质,其活性是表征土壤肥力的重要指标(张咏梅等,2004;黄玉茜等,2012)。连作条件下,土壤脲酶、磷酸酶、过氧化氢酶、蔗糖酶(转化酶)等活性下降(吴凤芝等,2006;肖宏和于明革,2006;杨凤娟等,2009),这可能是在连作条件下土壤环境恶化的一个表现。本试验条件下,连作土壤中的4种土壤酶活性差异明显。平邑甜茶为砧木的土壤磷酸酶活性最高,富平楸子为砧木的土壤脲酶活性最高,八棱海棠为砧木的土壤蔗糖酶活性最高。同一种酶活性最高的砧木不同,可能是因为根系不同造成根系分泌物及微生物活动的不同,间接导致土壤酶活性的不同。

研究表明,连作可导致土壤中微生物生态系统失衡,有益微生物减少,而病原微生物大量富集,土壤微生物从细菌主导型向真菌主导型转化,有害微生物的大量积累增加了土传病害的发生率,从而影响幼树的生长(苏世鸣等,2008;刘恩太等,2014)。前人研究发现与苹果连作障碍有关的主要致病真菌有镰刀属、柱孢属、疫霉属、丝核属和腐霉属等(van Schoor et al., 2009; Tewoldemedhin et al., 2011; Kelderer et al., 2012; Ju et al., 2014; Manici et al., 2013)。刘勇等(2014)对苹果连作土壤病原微生物的分离鉴定结果表明,土壤中镰刀菌在苹果连作障碍中起到非常重要的作用。本试验中,5种砧木连作土壤中都以细菌占优势、放线菌次之,真菌最少,连作土壤中真菌数量最多的是新疆野苹果,最少的是平邑甜茶。细菌/真菌比值越高,土壤地力越好,反之越差(孙秀山等,2001;薛超等,2011)。5种砧木中,平邑甜茶的真菌数量最少,细菌/真菌比值最高。说明在平邑甜茶为砧木的土壤中微生物环境相对较好。

张江红等(2009)在酚类物质对苹果的化感作用及重茬障碍影响机理的研究中,对不同苹果砧木根系分泌的酚类物质进行测定后提出,不同苹果砧木根系分泌的酚类物质种类和数量有差异。本试验结果表明,八棱海棠为砧木的土壤中根皮苷含量最高,平邑甜茶为砧木的土壤中根皮苷含量最低。平邑甜茶为砧木的土壤中总酚酸含量最低,八棱海棠为砧木的土壤中总酚酸含量最高。

4 结论

本试验中,以平邑甜茶为砧木的土壤真菌数量最少,土壤总酚酸含量最低,且相关土壤酶活性较高,说明其对连作土壤环境的改善效果最佳,更适合作为砧木综合防控苹果连作障碍。

References

- Bai R, Ma F, Liang D, Zhao X. 2009. Phthalic acid induces oxidative stress and alters the activity of some antioxidant enzymes in roots of *Malus prunifolia*. *Journal of Chemical Ecology*, 35 (4): 488 - 494.
- Guan Song-yin. 1986. Soil enzymes and their research. Beijing: Agriculture Press: 274 - 340. (in Chinese)
- 关松荫. 1986. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社: 274 - 340.
- Hua Ju-ling, Liu Guang-rong, Huang Jin-song. 2012. Effect of continuous cropping of sesame on rhizospheric microbial communities. *Acta Ecologica Sinica*, 32 (9): 2936 - 2942. (in Chinese)
- 华菊玲, 刘光荣, 黄劲松. 2012. 连作对芝麻根际土壤微生物群落的影响. *生态学报*, 32 (9): 2936 - 2942.
- Huang Yu-qian, Han Li-si, Han Mei, Xiao Yi-nong, Yang Jin-feng, Han Xiao-ri. 2012. Influence of continuous cropping years on soil enzyme activities of peanuts. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 34 (1): 96 - 100. (in Chinese)

- 黄玉茜, 韩立思, 韩梅, 肖亦农, 杨劲峰, 韩晓日. 2012. 花生连作对土壤酶活性的影响. 中国油料作物学报, 34 (1): 96 – 100.
- Isutsa D K, Merwin I A. 2000. *Malus* germless varies in resistance or tolerance to apple replant disease in a mixture of New York orchard soils. HortScience, 35 (2): 262 – 268.
- Ju R, Zhao Y, Li J, Jiang H, Liu P, Yang T, Bao Z, Zhou B, Zhou X, Liu X. 2014. Identification and evaluation of a potential biocontrol agent, *Bacillus subtilis*, against *Fusarium* sp. in apple seedlings. Annals of Microbiology, 64 (1): 377 – 383.
- Kelderer M, Manici L M, Caputo F, Thalheimer M. 2012. Planting in the ‘inter-row’ to overcome replant disease in apple orchards: a study on the effectiveness of the practice based on microbial indicators. Plant and Soil, 357: 381 – 393.
- Laurent A S, Merwin I A, Fazio G, Thies J E, Brown M G. 2010. Rootstock genotype succession influences apple replant disease and root-zone microbial community composition in an orchard soil. Plant and Soil, 337: 259 – 272.
- Leinfelder M M, Merwin I A. 2006. Rootstock selection, preplant soil treatments, and tree planting positions as factors in managing apple replant disease. HortScience, 41 (2): 394 – 401.
- Liu En-tai, Li Yuan-yuan, Hu Yan-li, Sun Chuan-xiang, Mao Zhi-quan. 2014. Effects of dazomet on edaphon and growth of *Malus hupehensis* Rehd. under continuous apple cropping. Acta Ecologica Sinica, 34 (4): 847 – 852. (in Chinese)
- 刘恩太, 李园园, 胡艳丽, 孙传香, 毛志泉. 2014. 棉隆对苹果连作土壤微生物及平邑甜茶幼苗生长的影响. 生态学报, 34 (4): 847 – 852.
- Liu Yong, Jiang Xing-yin, Xu Qing-qing, Zhang Rui, Zhang Feng-wen, Mao Zhi-quan. 2014. Effects of three fungicides on *Fusarium oxysporum* population and enzymes activity in replant apple orchard soil. Journal of Fruit Science, 31 (2): 276 – 281. (in Chinese)
- 刘勇, 姜兴印, 许青青, 张锐, 张凤文, 毛志泉. 2014. 3种杀菌剂连续两年施用对连作苹果园土壤镰刀菌及土壤酶活性的影响. 果树学报, 31 (2): 276 – 281.
- Manici L M, Kelderer M, Franke-Whittle I H, Rühmer T, Baab G, Nicoletti F, Caputo F, Topp A, Insam H, Naef A. 2013. Relationship between root-endophytic microbial communities and replant disease in specialized apple growing areas in Europe. Applied Soil Ecology, 72: 207 – 214.
- Mazzola M, Brown J, Zhao X, Izzo A D, Fazio G. 2009. Interaction of Brassicaceous seed meal and apple rootstock on recovery of *Vitythium* spp. and *Pratylenchus penetrans* from roots grown in replant soils. Plant Disease, 93 (1): 51 – 57.
- Rumberger A, Yao S R, Merwin I A, Nelsom E B, Thies J E. 2004. Rootstock genotype and orchard replant position rather than soil fumigation or compost amendment determine tree growth and rhizosphere bacterial community composition in an apple replant soil. Plant and Soil, 264 (1/2): 247 – 260.
- Su Shi-ming, Ren L i-xuan, Huo Zhen-hua, Yang Xing-ming, Huang Qi-wei, Xu Yang-chun, Zhou Jun, Shen Qi-rong. 2008. Effects of intercropping watermelon with rain fed rice on *Fusarium* Wilt and the microflora in the rhizosphere soil. Scientia Agricultura Sinica, 41 (3): 704 – 712. (in Chinese)
- 苏世鸣, 任丽轩, 霍振华, 杨兴明, 黄启为, 徐阳春, 周俊, 沈其荣. 2008. 西瓜与旱作水稻间作改善西瓜连作障碍及对土壤微生物区系的影响. 中国农业科学, 41 (3): 704 – 712.
- Sun Hai-bing, Mao Zhi-quan, Zhu Shu-hua. 2011. Changes of phenolic acids in the soil of replanted apple orchards surrounding Bohai Gulf. Acta Ecologica Sinica, 31 (1): 90 – 97. (in Chinese)
- 孙海兵, 毛志泉, 朱树华. 2011. 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, 31 (1): 90 – 97.
- Sun Xiu-shan, Feng Hai-sheng, Wan Shu-bo, Zuo Xue-qing. 2001. Changes of main microbial strains and enzymes activities in peanut continuous cropping soil and their interactions. Acta Agronomica Sinica, 27 (5): 617 – 621. (in Chinese)
- 孙秀山, 封海胜, 万书波, 左学青. 2001. 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. 作物学报, 27 (5): 617 – 621.
- Tewoldemedhin T Y, Mazzola M, Mostert L, McLeod A. 2011. *Cylindrocarpum* species associated with apple tree roots in South Africa and their quantification using real-time PCR. European Journal of Plant Pathology, 129 (4): 637 – 651.
- van Schoor L, Denman S, Cook N C. 2009. Characterisation of apple replant disease under South African conditions and potential biological management strategies. Scientia Horticulturae, 119 (2): 153 – 162.
- Wang Hui, Liu Wei, Chen Xiao-jun, Liu Zi-kui, Xiao Hong-bo, Sun Zhi-liang. 2010. The *in vitro* antibacterial activities and post-antibiotic effects of the Ceftiofur suspension. Scientia Agricultura Sinica, 43 (7): 1493 – 1499. (in Chinese)
- 王慧, 刘伟, 陈小军, 刘自逵, 肖红波, 孙志良. 2010. 头孢噻吩混悬剂体外抗菌活性及抗生素后效应研究. 中国农业科学, 43 (7):

- 1493 – 1499.
- Wang Jin-zheng, Xue Xiao-min, Lu Chao, An Guo-ning. 2009. Investigation on the development of apple industry in Shandong Province. *China Fruits*, (3): 61 – 64. (in Chinese)
- 王金政, 薛晓敏, 路超, 安国宁. 2009. 山东省苹果产业发展现状调查. *中国果树*, (3): 61 – 64.
- Wang Yan-fang, Pan Feng-bing, Zhang Xian-fu, Wang Peng, Chen Xue-sen, Shen Xiang, Mao Zhi-quan. 2015. Effects of phenolic acids on growth and photosynthetic characteristics of seedlings of *Malus hupehensis*. *Scientia Silvae Sinicae*, 51 (2): 52 – 59. (in Chinese)
- 王艳芳, 潘凤兵, 张先富, 王鹏, 陈学森, 沈向, 毛志泉. 2015. 土壤中不同酚酸类物质对平邑甜茶幼苗光合及生理特性的影响. *林业科学*, 51 (2): 52 – 59.
- Wang Yuan-zheng, Yin Cheng-miao, Chen Qiang, Shen Xiang, Jiang Zhao-tao, Mao Zhi-quan. 2011. Study on the difference of adaptability to replant soil in five apple rootstock seedlings. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (10): 1955 – 1962. (in Chinese)
- 王元征, 尹承苗, 陈强, 沈向, 姜召涛, 毛志泉. 2011. 苹果 5 种砧木幼苗对连作土壤的适应性差异研究. *园艺学报*, 38 (10): 1955 – 1962.
- Wu Feng-zhi, Meng Li-jun, Wang Xue-zheng. 2006. Soil enzyme activities in vegetable rotation and continuous cropping system of under shed protection. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 12 (4): 554 – 558. (in Chinese)
- 吴凤芝, 孟立君, 王学征. 2006. 设施蔬菜轮作和连作土壤酶活性的研究. *植物营养与肥料学报*, 12 (4): 554 – 558.
- Xiao Hong, Yu Ming-ge. 2006. Investigation of soil enzymatic activity and soil microorganism in different replant apple orchards. *Shanxi Fruits*, 112 (4): 5 – 6. (in Chinese)
- 肖宏, 于明革. 2006. 不同连作苹果园土壤酶活性及微生物状况的调查研究. *山西果树*, 112 (4): 5 – 6.
- Xue Chao, Huang Qi-wei, Ling Ning, Gao Xue-lian, Cao Yun, Zhao Qing-yun, He Xin, Shen Qi-rong. 2011. Analysis, regulation and high-throughput sequencing of soil microflora in mono-cropping system. *Acta Pedologica Sinica*, 48 (3): 612 – 618. (in Chinese)
- 薛超, 黄启为, 凌宁, 高雪莲, 曹云, 赵青云, 何欣, 沈其荣. 2011. 连作土壤微生物区系分析、调控及高通量研究方法. *土壤学报*, 48 (3): 612 – 618.
- Yang Feng-juan, Wu Huan-tao, Wei Min, Wang Xiu-feng, Shi Qing-hua. 2009. Effects of rotation and fallowing on the microbial communities and enzyme activities in a solar greenhouse soil under continuous cucumber cropping. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 20 (12): 2983 – 2988. (in Chinese)
- 杨凤娟, 吴焕涛, 魏珉, 王秀峰, 史庆华. 2009. 轮作与休闲对日光温室黄瓜连作土壤微生物和酶活性的影响. *应用生态学报*, 20 (12): 2983 – 2988.
- Yao S, Merwin I A, Abawi G S, Thies J E. 2006. Soil fumigation and compost amendment alter soil microbial community composition but do not improve tree growth or yield in an apple replant site. *Soil Biology and Biochemistry*, 38 (3): 587 – 599.
- Yin Cheng-miao, Wang Gong-shuai, Li Yuan-yuan, Che Jin-shui, Shen Xiang, Chen Xue-sen, Mao Zhi-quan, Wu Shu-jing. 2013. A new method for analysis of phenolic acids in the soil-soil from replanted apple orchards was investigated. *Scientia Agricultura Sinica*, 46 (21): 4612 – 4619. (in Chinese)
- 尹承苗, 王功帅, 李园园, 车金水, 沈向, 陈学森, 毛志泉, 吴树敬. 2013. 一种分析土壤中酚酸类物质含量的新方法——以连作苹果园土壤为试材. *中国农业科学*, 46 (21): 4612 – 4619.
- Yin Cheng-miao, Zhang Xian-fu, Hu Yan-li, Shen Xiang, Chen Xue-sen, Wu Shu-jing, Mao Zhi-quan. 2014. Effect of different concentrations of organic matter fermentation fluid on the young apple tree leaf photosynthesis fluorescent parameters and root antioxidant activity under replant conditions. *Scientia Agricultura Sinica*, 47 (9): 1847 – 1857. (in Chinese)
- 尹承苗, 张先富, 胡艳丽, 沈向, 陈学森, 吴树敬, 毛志泉. 2014. 不同浓度有机物料发酵流体对连作苹果幼树叶片光合荧光参数和根系抗氧化酶活性的影响. *中国农业科学*, 47 (9): 1847 – 1857.
- Zhang Jiang-hong, Zhang Dian-sheng, Mao Zhi-quan, Li Zhong-yong, Zhao Ming-xin. 2009. Isolation and identification of root exudates in different kinds of apple rootstock seedlings. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 32 (4): 29 – 32. (in Chinese)
- 张江红, 张殿生, 毛志泉, 李忠勇, 赵明新. 2009. 苹果砧木幼苗根系分泌物的分离与鉴定. *河北农业大学学报*, 32 (4): 29 – 32.
- Zhang Yong-mei, Zhou Guo-yi, Wu Ning. 2004. A review of studies on soil enzymology. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 12 (1): 83 – 90. (in Chinese)
- 张咏梅, 周国逸, 吴宁. 2004. 土壤酶学的研究进展. *热带亚热带植物学报*, 12 (1): 83 – 90.