

大棚蔬菜轮/连作系统土壤肥力与 微生物因子综合评价

闵红* 张丹 绳金房 唐娜 韩纯洁

(陕西省药品食品检验所 陕西 西安 710061)

摘要: 从土壤肥力与微生物因子探索连茬障碍机理, 以期为其提供科学依据。研究草莓番茄轮作(RST)、番茄连作4年(CT4)和番茄连作10年(CT10)3种蔬菜种植模式根际与非根际土壤微生物区系及生理菌群, 并对土壤肥力与微生物生物因子进行主成分分析。结果表明根际土壤微生物三大类群和生理菌群数量均高于非根际, 根际效应显著。番茄连作根际与非根际土壤细菌和放线菌数量呈现先增加后减少趋势; 真菌数量呈线型增加趋势, CT4和CT10在根际与非根际较RST分别增加9.09%和2.11%、75.48%和57.72%。番茄连作根际土壤硝化细菌和好气性自生固氮菌数量的减少, 氨化细菌与好气性纤维素分解菌在短期连作表现为增加长期减少的变化趋势; 解钾菌、无机磷和有机磷细菌数量在根际与非根际土壤均减少。在6种研究的种植模式中, RST根际土壤状况最好, 其次为CT4的根际与RST非根际土壤, CT10的根际土壤、CT4与CT10非根际土壤状况最差。结论是蔬菜连作造成土壤质量下降, 连作年限越长下降越显著。

关键词: 连作障碍, 土壤微生物, 综合评价

Comprehensive evaluation of soil fertility and microorganisms factors for vegetables rotation and continuous systems in greenhouse

MIN Hong* ZHANG Dan SHENG Jin-Fang TANG Na HAN Chun-Jie

(Shaanxi Provincial Institute for Food and Drug Control, Xi'an, Shaanxi 710061, China)

Abstract: In this study, we analyzed the affect of soil fertility and microorganism on continuous cropping obstacles and these results may provided scientific evidence for mechanism of continuous cropping obstacles. Soil fertility, soil micro flora and microbial physiologic flora from the rhizosphere and bulk soil of strawberry and tomatoes rotation (RST), 4 years continuous tomatoes cropping (CT4) and 10 years continuous tomato cropping (CT10) were analyzed respectively. Several main factors were ana-

基金项目: 国家环保总局财建项目“杨凌灌区土壤污染修复研究”(No. CJ 859 2006)

*通讯作者: Tel: 86-29-88083946; 信箱: hong-min518@163.com

收稿日期: 2011-04-28; 接受日期: 2011-08-13

lyzed by the principal component analysis (PCA). The results showed that the number of micro flora and microbial physiologic flora in rhizosphere were higher than bulk soils, which showed a significantly rhizosphere effect. The number of bacteria and actinomycetes decreased firstly and then increased as continuous cropping years increasing, while the number of fungi showed a linear increase tendency. Compare with RST, the CT4 and CT10 increased by 9.09% and 2.11%, 74.58% and 57.72% in rhizosphere and bulk soils respectively. The number of nitrobacteria and aerobic nitrogen-fixing bacteria decreased as continuous cropping years increasing, while the ammonifying bacteria and aerobic cellulose degrading bacteria increased firstly and then decreased. Solution potassium bacterium, inorganic phosphor-bacteria and organic phosphor-bacteria decreased in rhizosphere and bulk soil. Among the three planting systems, RST in the rhizosphere soil is best, follow by CT4 in rhizosphere soil and RST in bulk soil, CT10 in rhizosphere and CT4, CT10 in bulk soils were the worst. Continuous vegetable cropping can cause reduction of the soil quality, the longer the continuous cropping is and the more reduction of soil quality.

Keywords: Continuous cropping obstacles, Soil microorganisms, Comprehensive evaluation

作物连作常导致作物生长发育不良、品质及产量下降、抗病能力降低^[1]。研究发现连作障碍与土壤微生物活性变化有密切的联系,作物连作会导致土壤微生物种群减少以及有害微生物数量增加^[2-3]。土壤微生物可作为植物病原菌或生长促进因子直接影响植物生长,也可通过与其他微生物的相互作用间接对植物起到促进和抑制作用^[4-5]。

目前,关于连作障碍问题中土壤养分、微生物区系或主要细菌生理菌群因素研究较多^[6-13],但是结果不一,并且缺乏综合性评价。本文针对连作障碍日趋严重的问题,对蔬菜连作系统的土壤微生物区系与主要细菌生理菌群数量进行研究,并对土壤肥力^[6]与微生物因子进行综合性分析,探讨连作障碍的主要因素,以期对连作障碍机理研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

研究区域位于陕西杨凌区南庄大棚基地(E108°, N 34°),该区属暖温带半干旱季风气候。海拔 500 m,年均气温 12.9 °C,年均降水量 637.6 mm,年际变化大且年内分配不均,其中 50%以上降水量集中于 7-8 月;土壤类型为土垫旱耕人为土。草莓、番茄等作物在当地大棚具有典型代表性,连作病害发生严重。

1.2 样品采集

2007 年 7 月,本试验选取草莓、番茄轮作(RST),

番茄连作 4 年(CT4)和番茄连作 10 年(CT10)温室大棚为研究对象。在试验各处理小区按 S 型选取 5 点,每个样点按随机多点混合取样法选取处于结果期的 30 株番茄植株,用采样铲挖出番茄根系,尽量不影响根系的完整性,采用抖根法将根际土壤(R)与非根际土壤(Nr)分开,其中抖落土为非根际土壤。对附着在根系表面、厚度 2 mm 左右的土壤,用毛刷轻轻刷下收集,作为根际土壤。将根际和非根际土壤采集后立即放入便携式冰箱,一份土样风干、过筛后按常规方法测定土壤理化性质,另一份带回实验室 4 °C 保存,用于微生物区系与微生物生理菌群检测。

1.3 测定项目及方法^[14-15]

除土壤硝化细菌数量测定采用 MPN 法,其它微生物均采用稀释平板法,每一处理设 3 个重复,以 3 次测定的平均值表示实验结果。细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基,28 °C 培养 2 d;放线菌采用高氏一号培养基(每 300 mL 培养基中加 3%重铬酸钾 1 mL,以抑制细菌和霉菌生长),28 °C 培养 7 d;真菌采用 PDA 培养基(临用前 PDA 加 3%的灭菌乳酸),28 °C 培养 2 d;好气性固氮菌采用改良阿须贝无氮培养基,28 °C 培养 7 d;氨化细菌采用蛋白胨琼脂培养基,28 °C 培养 3 d;好气性纤维素分解菌采用赫奇逊氏培养基,28 °C 培养 14 d;无机磷细菌和有机磷细菌分别采用无机磷培养基和卵黄培养基,28 °C 分别培养 7 d 和 2 d,具有透明圈的菌落视为具有解磷

活性的菌落; 解钾菌采用硅酸盐培养基, 28 °C 培养 7 d。

1.4 数据分析方法

用 SPASS 软件对试验数据进行描述性统计、相关分析、主成分分析。

2 结果

2.1 蔬菜连作对土壤微生物 3 大类群数量的影响

细菌、放线菌和真菌是土壤微生物的 3 大类群, 其区系组成和数量变化常能反映出土壤生物活性水平。从表 1 可以看出, 在微生物 3 大类群中细菌数量最多, 分别占微生物总比例的 94.63%–98.41%; 其次为放线菌; 真菌含量最少。尽管放线菌只占总菌数的 1.28%–5.00%, 但因其生物量较大, 在土壤物质转化中的作用仍不可忽视。

番茄连作系统土壤细菌与放线菌数量均呈现倒鞍马形变化趋势。与 RST 相比, 在根际, CT4 与 CT10 中细菌分别增加了 191.78%和 80.69%; CT4 放线菌数量增加了 4.61%, 而 CT10 减少了 43.75%, 其中 CT10 较 CT4 的根际土壤细菌与放线菌数量均呈下降趋势, 降低率分别为 38.50%和 46.23%; 在非根际, CT4 和 CT10 分别增加了 90.63%与 78.13%, CT4 放线菌数量增加了 25.64%, 而 CT10 减少了 20.91%, 其中, CT10 较 CT4 的非根际土壤细菌与放线菌数量分别下降了 6.56%和 37.05%。由于细菌数量占微生物数量的绝大多数, 因此, 总微生物数量的变化规律与细菌保持一致(表 1)。

番茄连作系统土壤真菌数量较轮作均呈直线型

增加趋势。与 RST 相比, 在根际, CT4 和 CT10 分别增加了 9.09%和 75.48%, CT10 较 CT4 增加了 61.17%; 在非根际, CT4 与 CT10 分别增加了 2.11%和 57.72%, CT10 较 CT4 增加了 61.47%(表 1)。

2.2 蔬菜连作对土壤主要细菌生理菌群数量的影响

不同生理菌群数量在番茄连作种植系统的表现出不同的变化规律。由表 2 可以看出: 在根际, 土壤氨化细菌与好气性纤维素分解菌数量的变化规律相似, 与 RST 相比, CT4 和 CT10 氨化细菌数量分别增加了 43.05%和 17.65%, 好气性纤维素分解菌数量增加了 195.09%和 109.20%, CT10 较 CT4 的氨化细菌与好气性纤维素分解菌数量均有所下降, 下降率分别为 17.76%和 29.11%; 在非根际, 与 RST 相比, CT4 和 CT10 氨化细菌数量分别增加了 109.35%和 91.46%, CT10 较 CT4 减少了 8.54%, 而 CT4 和 CT10 中好气性纤维素分解菌数量较 RST 有所下降, 其降幅分别为 61.34%和 82.58%。

番茄连作种植系统的硝化细菌与好气性自生固氮菌数量的变化规律一致。在根际, 番茄连作系统硝化细菌与好气性自生固氮菌数量较轮作系统呈显著性降低: 与 RST 相比, CT4 和 CT10 中硝化细菌数量分别降低了 41.80%和 34.74%, CT4 与 CT10 中好气性自生固氮菌数量分别降低了 51.71%和 15.04%, 其中 CT10 较 CT4 的硝化细菌与好气性自生固氮菌数量分别下降了 14.06%和 75.95%。非根际与根际变化趋势相反, 连作系统的硝化细菌数量较轮作增加, 好气性固氮菌呈显著性增加: 与 RST 相比, CT4 和

表 1 蔬菜轮/连作系统对主要微生物数量的影响
Table 1 Effect of vegetables rotation and continuous systems on main microbe groups

处理 Treatment		细菌 Bacteria		真菌 Fungi		放线菌 Actinomycete		微生物总数 Total ($\times 10^7$)
		($\times 10^7$)	Percentage of the total (%)	($\times 10^4$)	Percentage of the total (%)	($\times 10^5$)	Percentage of the total (%)	
根际 R	RST	1.45±0.07	95.68	4.73±0.07	0.31	6.08±0.23	4.01	1.51
	CT4	4.26±0.23	98.41	5.16±0.05	0.12	6.36±0.15	1.47	4.33
	CT10	2.62±0.29	98.40	8.30±0.07	0.31	3.42±0.10	1.28	2.66
非根际 Nr	RST	0.96±0.12	94.63	3.78±0.02	0.37	5.07±0.61	5.00	1.01
	CT4	1.83±0.19	96.41	4.62±0.08	0.24	6.37±0.41	3.35	1.90
	CT10	1.71±0.05	97.29	7.46±0.12	0.42	4.01±0.40	2.28	1.75

CT10 中硝化细菌数量分别增加了 3.62%和 48.03%; CT4 与 CT10 好气性自生固氮菌数量分别增加了 158.65%和 474.04%, CT10 较 CT4 的硝化细菌与好气性自生固氮菌数量分别增加了 40.63%和 121.93% (表 2)。

在根际与非根际, 番茄连作系统的解钾菌、无机磷和有机磷细菌数量均低于轮作系统, 有机磷细菌数量高于无机磷细菌: 在根际, CT4 和 CT10 中解钾菌、无机磷和有机磷细菌数量较 RST 分别降低了 47.01%和 57.70%、47.03%和 73.16%和 45.21%和 68.84%, 其中 CT10 较 CT4 的解钾菌、无机磷和有机磷细菌数量均有所增加, 增长率分别为 14.52%、49.33%和 43.13%; 在非根际, CT4 和 CT10 中解钾菌、无机磷和有机磷细菌数量较 RST 分别降低了 41.18%和 73.53%、40.00%和 63.33%和 35.42%和 37.50%, 其中 CT10 较 CT4 的解钾菌、无机磷和有机磷细菌数量分别增加了 3.23%、55.00%和 38.89%。根际土壤的无机磷与有机磷细菌数量显著性高于非根际: RST、CT4 和 CT10 处理根际土壤的无机磷和有机磷细菌较非根际分别增高 91.92%和 89.73%、91.03%和 88.75%、92.03%和 87.91%(表 2)。

2.3 蔬菜连作土壤理化性状与微生物数量的主成分分析

根据主成分分析法的具体步骤, 首先对原始数据进行标准化消除量纲的影响, 得到标准化数后求出相关系数矩阵, 用 SPSS 软件分别对 18 个评价指标(有机质、硝酸盐、速效磷、速效钾、DTPA-Cu²⁺、

DTPA-Zn²⁺、DTPA-Mn²⁺、DTPA-Fe²⁺、细菌、真菌、放线菌、氨化细菌、好气性自生固氮菌、好气性纤维素分解菌、硝化细菌、无机磷、有机磷细菌和解钾菌)的相关系数矩阵和特征值进行计算, 以确定评价的主因子数, 据特征值方差累计贡献率确定选取主成分的个数。

结果显示: 第一、二、三主成分的特征值分别为 7.485、5.247、3.898, 均大于 1, 方差贡献率分别为 41.585%、29.148%、21.654%, 其累计贡献率达到了 92.386%, 大于主成分法中规定的 85%, 依据主成分的方差贡献率的多少来选择评价指标^[16], 认为它们基本包含了以上 18 个指标的所有信息。

从主成分载荷值分析得出: 第一主成分与速效磷、氨化细菌、无机磷、有机磷细菌和解钾菌数量成正相关, 与硝酸盐和真菌数量成负相关; 与第二主成分密切正相关的指标是 DTPA-Mn²⁺、放线菌、好气性自生固氮菌、好气性纤维素分解菌; 与第三主成分密切正相关的指标是速效钾、DTPA-Cu²⁺、DTPA-Fe²⁺、细菌数量。根据主成分的步骤得到相应的主成分表达式及综合评价函数:

$$\sum_a^d F = \sum F_n \frac{\lambda_n}{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 + \lambda_4}$$

式中, F 代表主成分值。 $F_n = Z_1 + Z_2 + Z_3 + Z_4 \dots + Z_{11} + Z_{12}$ (n 代表主成分数 1、2、3、4、……11、12)。

根据综合评价函数, 计算蔬菜轮作与连作养分指标与微生物指标综合得分(表 3), 给予各种植系统土壤状况的定量化描述, 得分越大, 表明土壤状况越好, 反之越差, 根据综合评判结果可对其进行分级^[16]。

表 2 蔬菜轮/连作系统对主要细菌生理群数量的影响

Table 2 Effect of vegetables rotation and continuous systems on main bacteria physiological groups

处理 Treatment		氨化细菌	好气性	好气性	硝化细菌	无机磷细菌	有机磷细菌	解钾菌
		Ammonifying bacteria ($\times 10^6$)	自生固氮菌 Aerobic nitrogen fixing bacteria ($\times 10^6$)	纤维素分解菌 Aerobic cellulose degrading bacteria ($\times 10^5$)	Nitro bacteria ($\times 10^4$)	Inorganic phosphor- bacteria ($\times 10^6$)	Organic phosphor- bacteria ($\times 10^6$)	Solution potas- sium bacterium ($\times 10^7$)
根 际 R	RST	3.74±0.69	8.18±0.63	1.63±0.07	5.95±0.11	4.21±0.09	5.84±0.11	2.34±0.07
	CT4	5.35±1.51	3.95±0.42	4.81±0.08	3.77±0.01	2.23±0.10	3.20±0.02	1.24±0.05
	CT10	4.40±0.09	6.95±0.59	3.41±0.09	4.30±0.01	1.13±0.03	1.82±0.04	1.06±0.05
非 根 际 Nr	RST	2.46±0.69	1.04±0.12	5.67±0.19	3.06±0.01	0.34±0.03	0.60±0.04	0.96±0.04
	CT4	5.15±0.35	2.69±0.30	1.26±0.04	3.15±0.01	0.20±0.01	0.36±0.05	0.62±0.07
	CT10	4.71±0.25	5.97±0.28	2.64±0.07	4.43±0.03	0.09±0.00	0.22±0.03	0.60±0.10

表3 蔬菜轮/连作土壤质量综合评判结果
Table 3 Composite evaluation of soil condition in vegetables rotation and continuous systems

处理 Treatment		第一主 成分得 分 F1 PC1	F1 排 名 Scores	第二主 成分得 分 F2 PC2	F2 排 名 scores	第三主 成分得 分 F3 PC3	F3 排 名 Scores	综合 得分 F Composite	F 排 名 Scores	土壤 状况 Soil condition
根际 R	RST	3.485	1	3.421	1	1.881	1	3.089	1	好
	CT4	1.187	3	-2.694	5	1.879	2	0.125	2	良
	CT10	-3.591	5	1.314	2	0.387	3	-1.111	5	差
非根际 Nr	RST	2.092	2	0.327	4	-4.011	6	0.105	3	良
	CT4	0.540	4	-3.170	6	0.116	4	-0.730	4	差
	CT10	-3.714	6	0.801	3	-0.252	5	-1.478	6	差

通过分析各种植系统土壤状况主成分得分, 可得到以下评价结果: 在 3 种植植模式的根际与非根际土壤中, RST 根际土壤状况最好, 其次为 CT4 的根际与 RST 非根际土壤, CT10 的根际土壤、CT4 与 CT10 非根际土壤状况最差。表明番茄连作能造成土壤质量下降, 随连作年限延长, 质量下降显著, 并且根际较非根际土壤状况好。

3 讨论

土壤微生物几乎参与土壤中一切生物和生物化学反应, 其主要生理菌群则直接参与土壤中 C、N 等营养元素的循环和能量流动, 其数量和活性直接关系到土壤生态系统的维持和改善^[3,7]。不同作物连作后, 土壤主要生理菌群的变化趋势不尽相同: 大豆、冬小麦连作使土壤微生物主要生理菌群数量明显下降^[8-9]。黄瓜连作导致根际自生固氮菌和好气性纤维素分解菌数量显著下降, 硝化细菌数量大幅增加, 而氨化细菌数量变幅不大^[10]。地黄连作能促进土壤中氨化细菌、好气性固氮菌、嫌气性纤维素分解菌、反硝化细菌和硫化细菌数量的增加, 而好气性纤维素分解菌受到明显抑制^[11]。棉花连作固氮细菌、无机磷细菌、解钾细菌数量减少^[12]。刘新晶研究表明, 轮作可以改善土壤的通气性, 使有益微生物菌群数量增加^[13]。

本研究结果表明: 番茄连作系统细菌和放线菌数量在短期内高于轮作, 而随连作年限的延长, 其数量显著性低于轮作。揭示蔬菜连作在短期内对细菌与放线菌影响作用较小, 随时间延长影响作用增

加。而真菌数量呈直线型增加趋势, 与一些学者研究结果^[8-9]一致。番茄连作系统的氨化细菌与好气性纤维素分解菌数量表现为短期增加长期减少的变化规律; 硝化细菌、好气性自生固氮菌、在根际显著性低于轮作。

好气性自生固氮菌数量的降低会导致土壤自生固氮作用降低, 降低土壤中的有效氮肥; 纤维素分解菌数量的降低直接影响到植物残体的转化速度, 使土壤中难分解植物残体的积累量增加。氨化细菌数量降低可能与连作土壤含氮有机质的减少密切相关, 氨化细菌数量的降低引起土壤氨态氮减少, 导致土壤硝化细菌大幅度减少。硝化作用减少可能导致因土壤铵态氮积累而引起蔬菜铵中毒。溶磷菌数量减少可造成土壤中难溶性和不溶性磷素积累, 不利于植物对磷素的吸收, 其与土壤有机磷含量无一定相关性^[17]。

轮作与连作系统的微生物区系和生理菌群数量都表现在根际土壤数量都高于非根际, 其中无机磷与有机磷细菌已达到显著性水平, 表明蔬菜连作仍然存在着一定的根际效应。这与一些学者的研究结果一致^[18], 可能由于作物在根际分泌较多的碳水化合物、氨基酸、维生素和促进生长物质, 使之成为微生物活动旺盛的区域^[19]。

通过对蔬菜轮作与连作种植系统土壤肥力、微生物区系和生理菌群数量进行主成分分析得出: RST 根际土壤状况最好, 其次为 CT4 的根际与 RST 非根际土壤, CT10 的根际土壤、CT4 与 CT10 非根际土壤状况最差。表明蔬菜连作能造成土壤质量下

降, 随连作年限延长, 质量下降显著, 这与本研究关于重茬障碍得出研究结果一致。

参 考 文 献

- [1] 吴凤芝, 赵凤艳, 刘元英. 设施蔬菜连作障碍原因综合分析与防治措施[J]. 东北农业大学学报, 2000, 31(3): 241-247.
- [2] Yoshitaka S, Masaya N, Tomoko O, et al. 1999. Comparison of bacterial community structures in the rhizosphere of tomato plants grown in soils suppressive and conducive towards bacterial wilt. *Appl Environ Microbiol*, 65: 3996-4001.
- [3] 刘玮琦, 茆振川, 杨宇红, 等. 应用 16S rRNA 基因文库技术分析土壤细菌群落的多样性[J]. 微生物学报, 2008, 48(10): 1344-1350.
- [4] Benizri E, Baudin E, Guckert A. Root colonization by plant growth promoting Rhizobacteria[J]. *Biocontrol Sci Technol*, 2001, 5: 557-574.
- [5] Compant S, Duffy B, Nowak J, et al. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(9): 4951-4959.
- [6] 闵红, 陈磊, 呼世斌, 等. 大棚果蔬连作土壤肥力限制性因子研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2010, 38(8): 160-166.
- [7] Yao H, He Z, Wilson MJ, et al. Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use[J]. *Microbial Ecol*, 2000, 40(3): 223-237.
- [8] 李琼芳. 不同连作年限麦冬根际微生物区系动态研究[J]. 土壤通报, 2006, 37(3): 563-565.
- [9] 邹莉, 袁晓颖, 李玲, 等. 连作对大豆根部土壤微生物的影响研究[J]. 微生物学杂志, 2005, 25(2): 27-30.
- [10] 刘亚锋, 孙富林, 周毅, 等. 黄瓜连作对土壤微生物区系的影响 I - 基于可培养微生物种群的数量分析[J]. 中国蔬菜, 2006(7): 4-7.
- [11] 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.
- [12] 范君华, 龚明福, 刘明, 等. 棉花连作对土壤养分、微生物及酶活性的影响[J]. 塔里木大学学报, 2008, 20(3): 72-76.
- [13] 刘新晶, 许艳丽, 李春杰, 等. 大豆轮作系统对土壤细菌生理菌群的影响[J]. 大豆科学, 2007, 26(5): 723-727.
- [14] 许光辉, 郑宏元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 214.
- [15] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 263-275.
- [16] 王晓鹏. 河流水质综合评价之主成分分析方法[J]. 数理统计与管理, 2000, 31(3): 49-52.
- [17] 林启美, 赵小蓉, 孙焱鑫, 等. 四种不同生态系统的土壤解磷细菌数量与种群分布[J]. 土壤与环境, 2000, 9(1): 34-37.
- [18] Katznelson H, Peterson EA, Rouatt JW. Phosphate-dissolving microorganisms on seed and in the root zone of plants[J]. *Canadian Journal of Botany*, 1962, 40(9): 1181-1186.
- [19] Liao M, Xie XM. Effects of combination of plant and microorganism on degradation of simazine in soil[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, 20(2): 195-198.