

马铃薯连作栽培对土壤微生物多样性的影响*

马玲 马琨** 杨桂丽 牛红霞 代晓华

(宁夏大学农学院 银川 750021)

摘要 为阐明马铃薯连作对土壤微生物群落结构和功能多样性的影响,揭示马铃薯连作障碍机制,本试验采用 BIOLOG 技术结合丛枝菌根真菌(AMF)形态学鉴定方法,就连作 0(迎茬)、2 a、4 a、6 a、10 a 的马铃薯田块土壤进行研究。结果表明:土壤养分含量随马铃薯连作年限增加有一定程度下降,其中,连作 10 a 马铃薯根际土壤的全磷、速效磷、速效钾和碱解氮与连作 4 a 相比分别下降 61.32%、26.86%、26.87%和 17.24%,但没有明显的养分亏缺和不均衡现象。土壤微生物群落结构发生了较大变化,放线菌、真菌数量显著随连作年限的延长先增加后减少,呈单峰型变化趋势;细菌数量随连作年限的延长呈逐步减少趋势,但差异不显著。连作 4~6 a 土壤微生物群落依然有较强的功能多样性,培养 120 h 后,连作 6 a 较迎茬 AWCD 值提高 3.89%;群落组成中随连作年限的延长以碳水化合物、氨基酸类为碳源的微生物类群代谢能力明显下降,但代谢功能多样性趋于一致。连作马铃薯土壤 AM 真菌优势种发生改变,迎茬土壤为沙漠球囊霉(*Glomus deserticola*),连作 2 a 土壤为扭形球囊霉(*Glomus delhiense*)和福摩萨球囊霉(*Glomus formosanum*),连作 10 a 土壤为球泡球囊霉(*Glomus globiferum*)。多元分析结果表明,土壤微生物结构与功能多样性、AM 真菌多样性变化受土壤 pH、全磷含量、放线菌数量、细菌数量及土壤中以碳水化合物、氨基酸类等为碳源基质的微生物类群影响。说明长期连作栽培会影响土壤真菌、放线菌的数量,使真菌群落中 AM 真菌种的多样性显著下降,优势种发生改变,打破了微生物群落结构与功能平衡,引起土壤微生物群落结构与功能的失调。

关键词 马铃薯 连作 根际土壤微生物 丛枝菌根真菌 微生物群落 群落结构与功能
中图分类号: S154.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2015)05-0589-08

Effects of continuous potato cropping on the diversity of soil microorganisms

MA Ling, MA Kun, YANG Guili, NIU Hongxia, DAI Xiaohua

(School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract Alternative cropping (0 year of potato cultivation), and 2, 4, 6, 10 years of continuous monoculture of potato were studied to explain the mechanism of continuous cropping obstacles by using combined BIOLOG and morphological identification techniques of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). The results showed that soil nutrients contents decreased with increasing number of continuous potato cropping years after 4 years continuous cropping. Compared with 4 years continuous potato cropping, 10 years continuous potato cropping decreased soil total phosphorus, available phosphorus, available potassium and available nitrogen respectively by 61.32%, 26.86%, 26.87% and 17.24%. However, no obvious nutrient deficiency or imbalance was noted in the experiment. Soil microbial community structure also changed significantly. The amounts of actinomyces and fungi increased in the first few years and later dropped significantly. The amount of bacteria gradually decreased with increasing number of years of continuous potato cropping, but no significantly changed. Microbial functional diversity of soil microbial community was still strong under 4–6 years of continuous potato cropping. Compared with alternative cropping (0 years), average well color development (AWCD) increased by 3.89% under 6 years of continuous potato cropping. The metabolism ability of soil microbial community using carbohydrate and amino acids as sources of carbon obviously decreased, but metabolism ability diversity tended to unanimous with the extension of continuous potato cropping years. The dominant AMF species changed from *Glomus deserticola* under alternative

* 国家自然科学基金项目(31160104)和国家“十二五”科技支撑计划课题(2011BAD29B07)资助

** 通讯作者: 马琨, 研究方向为农业生态。E-mail: makun0411@163.com

马玲, 研究方向为植物营养与环境生态。E-mail: hilary89@163.com

收稿日期: 2014-10-25 接受日期: 2015-02-28

cropping (0 years) to *G. delhiense* and *G. formosanum* under 2 years of continuous potato cropping, and to *G. globiferum* under 10 years of continuous potato cropping. Multivariate analysis showed that the diversity of soil microbial structure and function, and AMF diversity were affected by soil pH, total phosphorus, amounts of actinomycetes and bacteria, and soil microbial groups using carbohydrate and amino acids as sources of carbon substrate. It was therefore concluded that continuous potato cropping decreased not only fungi and actinomycetes population but also AMF diversity. The dominant AMF species also changed and soil microbial structure diversity performance was inconsistent with function diversity. There was functional and structural disorder of soil microbial communities under continuous potato cropping.

Keywords Potato; Continuous monoculture cropping; Rhizospheric microorganism; Arbuscular mycorrhizal fungi; Microbial community; Community structure and function

(Received Oct. 25, 2014; accepted Feb. 28, 2015)

近年来, 由于马铃薯产量高、效益好, 宁夏回族自治区(简称宁夏)马铃薯种植面积以年均26.4%的速度递增, 总面积达27.4万 hm^2 , 已成为宁夏第一大农作物。作为传统的优势粮菜兼用作物, 90%以上马铃薯种植集中在宁夏南部山区, 仅宁南山区西吉县一县马铃薯年播种面积就占到农作物总播种面积(15.3万 hm^2)的50%以上, 轮作倒茬困难^[1]。大面积的扩种栽培改变了宁夏南部山区冬小麦-冬小麦-马铃薯(豆类)的轮作制度, 马铃薯轮作倒茬难度日益增大, 连作导致马铃薯病虫害加重、品质下降、产量低而不稳, 由此带来的连作障碍效应显而易见。

土壤微生物活性是影响植物吸收土壤有效养分的主要因素, 其对植物的健康生长以及作物生产力有显著影响^[2]。相关研究证明连作障碍的出现不仅与土壤理化性质有关, 还与土壤微生物种类和数量有关^[3]; 连作会损耗土壤养分、打破土壤微生物代谢平衡、影响植物根系分泌物的种类与数量, 进而抑制植物的生长发育, 导致作物品质、产量下降^[4-5]。同时, 也会使土壤微生物类型从细菌型向真菌型转化, 使土壤微生物群落结构和功能多样性发生较大变化^[6]。而AM真菌可缓解玉米连作根系残茬分解释放的水溶性化学物质对玉米幼苗产生的化感自毒作用^[7], 也可通过与其他土壤微生物之间的相互竞争和相互协调, 调节植物群落结构、植物多样性以及

植物生态系统的生产力, AM真菌是联结地上生态系统和地下生态系统物质传输的桥梁^[8-12]。Yao等^[13]认为黄瓜(*Cucumis sativus*)连作与轮作相比显著降低了微生物群落多样性, 主要是由于土壤有机质的数量、质量和分布差异影响导致的结果。

目前, 从微生物角度来阐述马铃薯连作栽培对根际土壤主要微生物类群结构与功能的影响, 及各影响因素之间内在联系的系统报道不多。因此, 本研究试图通过分析不同连作年限下土壤养分和微生物结构与功能参数的变化, 来阐明持续连作马铃薯影响下土壤微生物类群与土壤环境因子间的关系, 以了解土壤微生物变化及其在土壤生态系统中所起的功能和扮演的角色, 探明微生物对持续连作的响应, 揭示马铃薯连作障碍机制。本研究结果可为缓解宁南山区马铃薯连作栽培障碍, 促进作物健康生长和稳定土壤生产力提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

试验地点位于宁夏固原市张易镇马场村(106°05'37.8"~106°06'16.3"E, 35°54'45.3"~35°55'17.0"N), 海拔2 132~2 277 m, 年均降水量410 mm, 年均蒸发量1 370 mm, 年均气温6℃。供试土壤为黑垆土, 其中, 连作0(迎茬)、2 a、6 a、10 a的土壤基础理化性状如表1所示。

表1 供试土壤基础化学性状
Table 1 Basic chemical properties of the tested soil

连作年限 Continuous cropping years (a)	全氮 Total N ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	全磷 Total P ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	碱解氮 Available N ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	速效磷 Available P ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	速效钾 Available K ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	有机质 Organic matter ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	pH
0	2.16±0.02	30.04±0.39	0.52±0.01	147.87±2.34	437.07±0.00	42.69±0.38	8.11±0.01
2	1.64±0.02	45.92±2.59	0.88±0.07	57.11±1.00	134.45±0.00	16.01±0.78	7.93±0.01
4	1.06±0.01	48.45±2.60	0.89±0.06	149.50±1.00	286.30±0.00	49.92±4.11	8.35±0.02
6	1.52±0.08	29.25±2.57	0.84±0.02	150.61±2.01	251.97±0.00	43.85±4.29	8.12±0.03
10	1.69±0.01	35.79±1.17	1.12±0.08	138.49±2.00	234.97±0.00	40.97±0.16	8.29±0.02

1.2 试验设计

2010 年开始, 在固原市张易镇马场村进行定位试验, 以不同马铃薯连作年限为处理, 迎茬种植为对照。设 5 个处理: 连作 0 a(迎茬种植, 前茬作物为冬小麦)、连作 2 a、连作 4 a、连作 6 a、连作 10 a。种植马铃薯品种均为‘庄薯 3 号’, 小区面积 9 m×25 m, 3 次重复, 各处理试验田块马铃薯株行距为 35 cm×60 cm。

从 2010 年开始, 每年每块田播种前基施农家肥 37.5 t·hm⁻², 磷酸二铵 600 kg·hm⁻², 全生育期不追肥。在 2013 年马铃薯盛花期, 去除每个处理表层 5 cm 土壤, 把 5~8 株马铃薯连同周围的土体取出, 抖掉根系外围土, 取根系附近的土壤。土壤样品分为 2 份, 1 份放置于 4 °C 冷藏箱保存用于土壤微生物分析, 另外 1 份用于土壤理化性状及 AM 真菌鉴定。

1.3 土壤基本性质的测定

土壤全氮、有机质、碱解氮、全磷、速效磷、速效钾、pH 测定分别采用半微量开氏法、重铬酸钾容量法、碱解扩散法、硫酸-高氯酸消煮-钼锑抗比色法、Olsen 法、NH₄OAc 浸提-火焰光度法测定, pH 值水土比为 5:1^[14]。

1.4 土壤微生物群落结构与功能的测定

土壤微生物结构组成的测定采用平板计数法。细菌、放线菌、真菌培养分别采用牛肉膏蛋白胨培养基、高氏一号培养基和 PDA 培养基制备。土壤微生物功能多样性采用 Biolog Eco 板培养技术测定。具体操作步骤: 称取相当于 10 g 干土重的新鲜土样, 加入预先准备好的无菌生理盐水中振荡 30 min 后于 4 °C 下静置 10 min, 然后吸取 1 mL 原液于 99 mL 无菌生理盐水中, 摇匀后吸取 125 μL 样品接种于 ECO 板的 96 孔中板中。28 °C 培养, 590 nm 连续读数 7 d^[15]。

1.5 AM 真菌孢子密度及其形态结构的鉴定

AM 真菌根据孢子形态特征进行分类鉴定。相

对多度(relative abundance, RA)计算公式为:

$$RA = n/N \times 100\% \quad (1)$$

式中: n 为某属或种的孢子数, N 为该地区 AM 真菌孢子总数。

出现频度(frequency, F)参照张美庆等^[16]的方法计算, 出现频率>20%的种为该地区的优势种, 10%<出现频率<20%为常见种, 出现频率<10%为稀有种。

1.6 数据处理与分析

利用 Microsoft Excel 进行数据处理, DPS 7.05 进行方差分析(LSD 法), Canoco 4.5 进行多元分析。

2 结果与分析

2.1 连作栽培下马铃薯根际养分的变化

马铃薯迎茬种植下土壤养分整体优于其他处理(表 2)。马铃薯连作 4 a 后, 土壤养分随连作年限增加呈逐步下降趋势。其中, 连作 10 a 马铃薯根际土壤的全磷、速效磷、速效钾和碱解氮与连作 4 a 相比分别下降 61.32%、26.86%、26.87%和 17.24%, 有机质含量虽然有一定程度下降, 但总体仍维持在较高水平, 各处理有显著差异。同其他处理相比较, 连作 2 a 各种土壤养分含量均较低, 这可能与其本身基础土壤养分含量较低有关。但马铃薯生长栽培观察发现, 在土壤养分含量较低的情况下, 连作 2 a 的马铃薯生长并没有表现出明显的连作栽培障碍。此外, 连作 4~6 a 后土壤养分含量除了与迎茬有一定差距外, 并未表现出明显的土壤养分损耗和养分不平衡。有研究认为在宁夏南部山区, 由于施肥总量普遍偏低、偏重化肥, 重氮轻磷不施钾, 肥料配比不合理、有机肥用量小导致农田肥力下降是引起连作障碍的主要原因^[17]。但试验结果表明, 持续连作并未造成明显的土壤“养分损耗”, 可见养分亏损并不是抑制马铃薯生长发育、产量和品质持续下降的主要障碍因子。

表 2 不同连作年限对马铃薯根际土壤养分的影响

Table 2 Effects of different continuous cropping years on nutrients contents of potato rhizosphere soil

连作年限 Continuous cropping years (a)	全氮 Total N (g·kg ⁻¹)	全磷 Total P (g·kg ⁻¹)	碱解氮 Available N (mg·kg ⁻¹)	速效磷 Available P (mg·kg ⁻¹)	速效钾 Available K (mg·kg ⁻¹)	有机质 Organic matter (g·kg ⁻¹)	pH
0	2.16±0.02a	30.04±0.39ab	0.52±0.01a	147.87±2.34a	437.07±0.00a	42.69±0.38a	8.11±0.01b
2	0.59±0.03c	14.16±0.20cd	0.43±0.02a	53.20±2.42e	80.58±0.00d	13.61±3.32d	8.11±0.01b
4	1.64±0.01b	37.69±0.89a	0.58±0.01a	144.20±4.85ab	303.66±0.00ab	35.42±3.58b	8.05±0.01c
6	1.68±0.01b	31.16±0.35ab	0.54±0.01a	113.87±4.04c	243.57±0.00b	39.11±3.58ab	8.05±0.01c
10	1.67±0.01ab	14.58±0.67c	0.48±0.01a	105.47±12.55d	222.07±0.00c	32.45±2.82bc	8.16±0.01a

不同小写字母表示处理间 0.05 水平上差异显著, 表 3 同。Different small letters indicate significant difference among treatments at 0.05 level. The same as the table 3.

2.2 连作栽培下土壤微生物群落结构与功能多样性的变化

2.2.1 连作栽培对土壤微生物群落结构的影响

由表3可见, 迎茬种植马铃薯土壤明显具有较高的总菌落数, 而连作10 a后土壤微生物总数仅相当于迎茬种植马铃薯的61.0%。各处理细菌数量表现为随连作年限升高而下降的趋势。迎茬处理细菌群落总数比其他处理高出49.6%~88.2%; 而连作栽培6 a和10 a土壤细菌数量较之迎茬, 下降幅度达88.2%和71.57%, 但这两个处理间差异不显著。放线菌、真菌的数量在微生物群落中所占比例不大, 但也表现出与细菌数量一致的变化趋势。放线菌数量

峰值出现在连作4 a; 迎茬种植放线菌占微生物总数的比例仅为1.35%, 连作10 a时为5.64%, 连作4 a时达到最大为10.06%。真菌数量在连作4 a时真菌达到峰值 2.02×10^2 CFU·g⁻¹, 随后逐步下降; 连作10 a时真菌数量仅相当于迎茬种植的30.43%, 这与连作10 a时依然有较高的放线菌数量不同。可见, 随连作年限的延长, 连作明显改变了马铃薯根际微生物群落结构组成, 且真菌、放线菌数量的变化程度更大。推测认为, 马铃薯长期连作易形成单一化的根际土壤环境, 有利于土壤真菌、放线菌的积累。真菌、放线菌的大量积累会产生相关的化学物质, 抑制细菌的繁殖而导致细菌菌落数下降。

表 3 不同连作年限对马铃薯根际土壤微生物数量的影响

Table 3 Effect of different continuous cropping years on microbial amounts in potato rhizosphere soil CFU·g⁻¹(soil)

连作年限 Continuous cropping years (a)	真菌 Fungus ($\times 10^2$)	放线菌 Actinomycetes ($\times 10^4$)	细菌 Bacteria ($\times 10^6$)	微生物总数 Total amount of microorganism ($\times 10^6$)
0	1.38±0.24c	2.37±0.01c	1.75±0.02a	1.77±0.16a
2	1.56±0.04b	3.03±0.01c	1.17±0.02a	1.20±0.04b
4	2.02±0.01a	12.28±0.06a	1.10±0.07a	1.22±0.13ab
6	1.47±0.00b	7.09±0.02a	0.93±0.05a	1.00±0.02b
10	0.42±0.02d	6.09±0.00b	1.02±0.10a	1.08±0.08b

2.2.2 连作栽培对土壤微生物群落功能多样性及碳源利用的影响

平均颜色变化率(AWCD)反映了微生物群落总的代谢活性, AWCD 值增加越快, 表明微生物的代谢活性越强^[18]。由图 1 可见, 随培养时间延长, 各处理 AWCD 值表现出 S 型增长趋势。培养 24 h 后不同处理就表现出明显差距, 连作栽培 4 a、6 a 和迎茬处理表现出较强的代谢活性; 培养 96 h 后, 连作 6 a

较之迎茬 AWCD 值提高 3.89%, 其他处理的 AWCD 值基本都低于迎茬处理; 微生物代谢活性整体表现为连作 6 a>迎茬>连作 4 a>连作 2 a>连作 10 a。方差分析表明, 除连作 2 a、10 a 与迎茬处理间 AWCD 达到显著差异外, 其他连作年限下与之无显著差异, 说明在连作 4~6 a 时, 马铃薯土壤微生物依然能够保持较强的功能多样性, 但功能多样性的变化在连作初期(2 a)和后期(10 a)对土壤环境的变化更敏感。

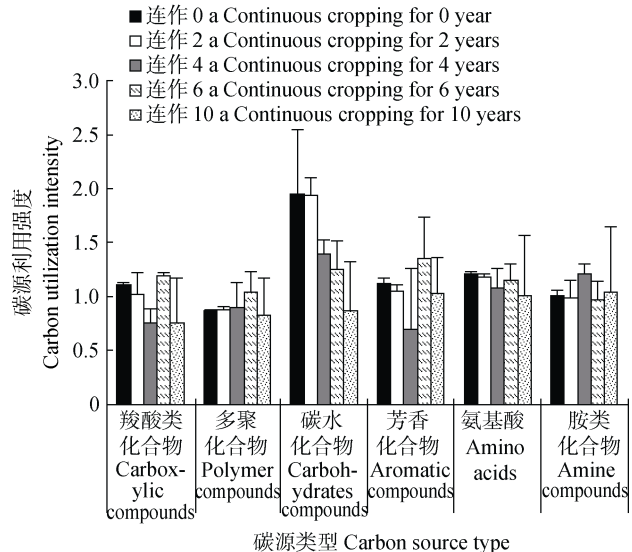
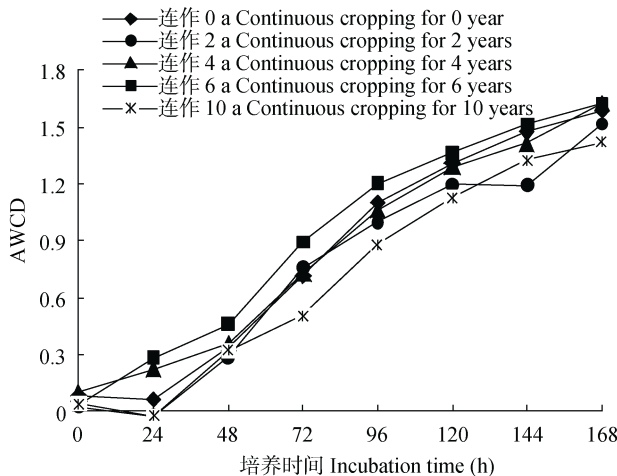


图 1 不同连作年限对马铃薯根际土壤微生物 AWCD 值和微生物碳源利用能力的影响

Fig. 1 Effects of different continuous cropping years on average well color development (AWCD) and the ability of carbon source utilization of microorganism in potato rhizosphere soil

整体来看, 随连作年限增加, 微生物群落对土壤中碳水化合物、氨基酸类的利用强度呈逐步下降趋势(图1)。其中, 土壤微生物对碳水化合物的利用强度下降趋势最为明显, 与迎茬相比, 连作栽培下降幅度达0.52%~124.14%, 连作10 a土壤微生物对碳水化合物的利用强度仅相当于连作2 a的44.84%。而对其他碳源的利用强度随连作年限的延长, 利用强度变化波动不大。可见, 持续连作降低了以碳水化合物为碳源的微生物类群功能多样性, 而以羧酸类化合物、氨基酸类、多聚化合物为碳源的微生物类群受连作时间影响不大。研究结果表明, 随连作时间延长, 土壤微生物各群落碳源代谢功能多样性趋于均一。

2.3 连作栽培下 AM 真菌多样性的变化

试验共分离鉴定出 AM 真菌 4 属 54 种。其中, 球囊霉属(*Glomus*)39 种, 占鉴定总种数的 72.22%, 为优势属; 无梗囊霉属(*Acoulospor*)12 种, 占 22.2%,

为常见属; 巨孢囊霉属(*Giglomus*)2 种, 内养囊霉属(*Endospora*)1 种, 分别占总菌数 3.70%和 1.85%。连作 10 a 后, AM 真菌由 35 种减少到 27 种。对 AM 真菌进行相对多度以及出现频率统计, 发现其随连作年限的增加呈现先上升后下降的趋势, 连作 4 a 时达到最高(表 4)。其中球囊霉属相对多度表现为: 连作 4 a>连作 6 a>连作 2 a>连作 10 a>迎茬, 连作 4 a 的相对多度较连作 2 a 提高 163.2%; 其他属也表现出相似规律。各处理的优势种也随连作年限的增加而变化, 迎茬时为沙漠球囊霉(*G. deserticola*), 连作 2 a 时为扭形球囊霉(*G. delhiense*)和福摩萨球囊霉(*G. formosanum*), 连作 10 a 时, 优势种表现为球泡球囊霉(*G. globiferum*)。可见, 连作影响了 AM 真菌多样性, 真菌种的多样性随着连作年限增加而减少, AM 真菌优势种的改变与土壤微生物群落结构组成的变化有紧密关系。

表 4 不同连作年限下马铃薯根际土壤 AM 真菌属相对多度和出现频度及优势种

Table 4 Genus relative abundance (RA), frequency (F) and dominant species of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in potato rhizosphere soil after different continuous cropping years

连作年限 Continuous cropping years (a)	球囊霉属 <i>Glomus</i>		无梗囊霉属 <i>Acoulospor</i>		巨孢囊霉属 <i>Giglomus</i>		内养囊霉属 <i>Endospora</i>		优势种 Dominant species
	RA (%)	F (%)	RA (%)	F (%)	RA (%)	F (%)	RA (%)	F (%)	
0	13.6	2.3	0.2	0.0	1.6	1.5	—	—	沙漠球囊霉 <i>Glomus deserticola</i>
2	37.0	0.7	0.4	0.7	6.5	0.2	—	—	扭形球囊霉、福摩萨球囊 <i>Glomus delhiense, Glomus formosanum</i>
4	97.4	0.7	41.1	0.3	—	—	—	—	沙漠球囊霉、地球囊霉 <i>Glomus deserticola, Glomus geosporum</i>
6	42.8	0.7	11.4	0.2	—	—	—	—	福摩萨球囊、地球囊霉 <i>Glomus formosanum, Glomus geosporum</i>
10	30.8	0.9	0.3	0.0	—	—	2.6	0.1	球泡球囊霉 <i>Glomus globiferum</i>

2.4 AM 真菌多样性、土壤微生物结构及功能与环境因子之间的多元分析

多元分析(RDA)显示, 各排轴都能在接近 90% 的累计贡献率上解释 AM 真菌多样性变化与环境要素间的关系。各处理样点空间明显分散, 说明不同连作处理形成了不同的土壤微生态环境, 各处理间有差异。综合比较处理样方与标志所选参数箭头的位置(图 2a、b), 发现连作 4 a(样方 7、8、9)、连作 6 a(10、11、12)在各参数箭头的投影距离最大, 说明在连作 4 a 和 6 a 时, AM 真菌多样性指数受土壤环境要素影响最明显。其中, 图 2a 孢子密度箭头几乎与排序轴重合, AM 真菌孢子密度、多样性指数(H)与多聚化合物箭头呈锐角, 两者间有较好正相关关系; 其与放线菌数量箭头夹角为钝角, 表现出负相关关系。说明 AM 真菌多样性受土壤放线菌和能够利用多聚化合物、碳水化合物、胺类化合物和酚类化合物为碳源的微生物群落制约。图 2b 显示, AM 真菌

多样性明显受土壤 pH、全磷、碱解氮含量的影响; 土壤 pH、全磷含量与放线菌数量、细菌菌落数和以氨基酸类化合物、碳水化合物含量、多聚化合物为碳源的土壤微生物群落之间有良好的相关关系(图 2c)。综合分析说明, 随着连作年限增加, 微生物结构与功能多样性、AM 真菌多样性在连作 4 a 和 6 a 的变化最显著, 此后会有逐步下降趋势; AM 真菌多样性受土壤 pH、全磷、放线菌、细菌数量, 土壤中能够利用碳水化合物、多聚化合物和胺类化合物的微生物类群等环境因子的综合制约; 刘润进等^[19]的相关报导中也发现有类似规律。

3 讨论与结论

3.1 讨论

土壤微生物很大程度上会影响土壤与植物相互作用的过程, 对土壤的形成发育、物质循环和肥力演变都具有重要意义^[20]。本试验发现, 持续连作会

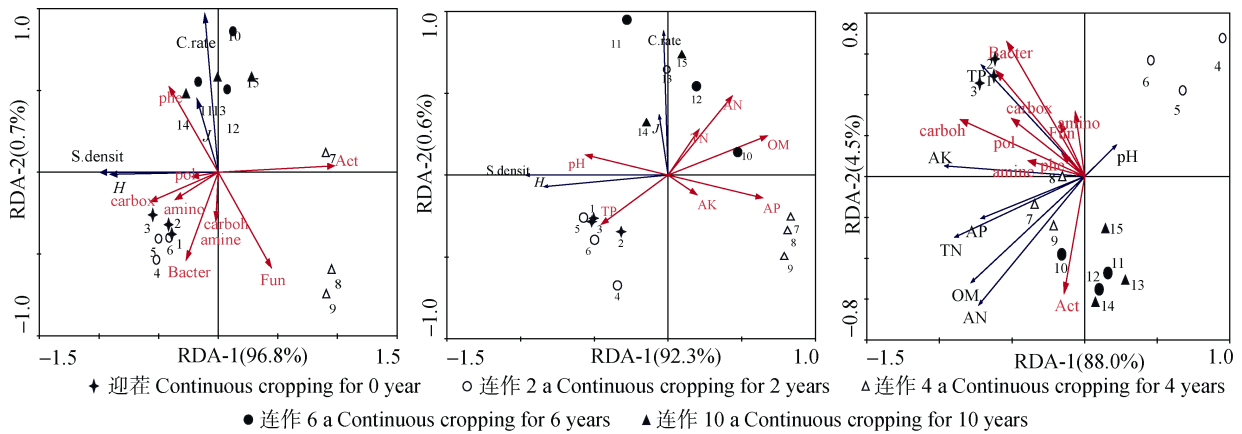


图 2 不同连作年限下马铃薯根际土壤 AM 真菌多样性与环境因子之间的多元分析

Fig. 2 Multivariate analysis between AMF diversity and environmental factors in potato rhizosphere soil under different continuous cropping years

图 a 为 AM 真菌多样性指标与微生物群落结构和功能多样性参数之间的 RDA 分析; 图 b 为 AM 真菌多样性与土壤因子间的 RDA 分析; 图 c 为土壤因子与微生物群落结构与功能多样性参数之间的 RDA 分析。TN、TP、AP、AN、AK 和 OM 分别指土壤全氮、全磷、有效磷、有效氮、有效钾和有机质; Bacter、Fun 和 Act 指细菌、真菌和放线菌; 多元分析 carboh、pol、carbox、phe、amino、amine 分别指碳水化合物、多聚化合物、羧酸类化合物、芳香化合物、氨基酸和胺类化合物。C.rate 和 S.densit 指 AM 真菌菌根侵染率和孢子密度。H、J 指 AM 真菌多样性指数和均匀度指数。Figure a is the RDA between diversity of AMF and the structural and functional diversity of soil microorganism community. Figure b is the RDA between diversity of AMF and soil fertility factors. Figure c is the RDA between the soil fertility and the structural and functional diversity of microorganism community. TN, TP, AP, AN, AK and OM refer to total nitrogen, total phosphorus, available phosphorus, available nitrogen, available potassium and organic matter, respectively. Bacter, Fun and Act refer to bacteria, fungus and actinomycetes. Carboh, pol, carbox, phe, amino, amine refers to carbohydrates, polymer compounds, carboxylic acid compounds, aromatic compounds, amino acid and amine compounds. C.rate and S.densit refer to mycorrhizal colony rate and spore density. H and J are the diversity index and the evenness index, respectively.

导致细菌群落数量下降, 这与王茹华等^[21]得出的结论有一定相似性。随连作栽培时间的变化, 马铃薯根际土壤微生态环境也会发生变化, 微生物群落结构组成失调, 土壤类型有从“细菌型”土壤向“真菌型”土壤转化的趋势, 土壤肥力会有所下降。分析认为, 虽然某些土壤养分较为丰富, 但仅适合于某一类或几类微生物生长, 而不适宜其他类微生物类群的生存, 结果造成土壤中微生物总数可能很高, 但微生物多样性指数不一定高的现象^[22]。曾有研究证明大豆(*Glycine max*)持续连作后土壤细菌、放线菌的丰富度下降, 而真菌丰富度增加, 主要是因为大豆根际沉积、根系和叶枯落物以及多年完全相同的田间管理措施导致了一种特殊的有利于病原真菌积累的土壤微生态环境^[23], 这就解释了本试验中马铃薯持续连作多年后, 土壤养分依然较丰富, 并没有出现养分偏耗现象, 各处理间微生物群落总数虽然没有明显差异, 但在功能多样性上有差别的现象。此外, 雷娟利等^[24]也认为连作会对蔬菜土壤细菌的群落组成产生影响, 这种群落组成上的变化可能与蔬菜种类及连作年限、根系分泌物在根部累积有关。

微生物群落是土壤生态系统的重要组成部分, 结构复杂^[20]。Biolog Eco 板技术是基于代谢生理剖面分析来研究微生物群落变动的方法, 通过分析微生物群落对微平板上单一碳底物利用的能力而获得

其功能多样性信息^[25]。岳冰冰等^[26]指出连作会降低微生物 AWCD 值, 降低土壤微生物的碳源代谢能力。本试验中, 马铃薯连作栽培 4 a 和 6 a 后表现出较高 AWCD 值, 和迎茬相比, 连作 4 a、6 a 后虽然降低了微生物群落数量, 但此时细菌群落仍然有较高的代谢功能多样性, 微生物群落功能多样性的高低与微生物群落总数量并没有表现正相关关系。说明代谢功能的强弱可能与微生物主要类群的组成有关, 功能的变化是由特定微生物类群决定的。试验还发现土壤微生物对碳水化合物的代谢强度随连作年限的延长而降低, 但是其他类型的碳源代谢强度变化波动幅度不大, 说明不同处理下土壤微生物群落对碳源利用有较大差别, 土壤微生物群落结构的变化导致以特定碳源为代谢基质的微生物类群发生了显著变化, 是微生物代谢功能多样性变化的主要原因。迎茬和连作后羧酸类、芳香类化合物的利用能力一直较低, 说明土壤缺少分解利用羧酸的土壤微生物类群, 土壤容易积累酚酸类化合物。杨宇虹等^[27]认为与酚酸类、糖类利用相关的土壤微生物的碳源利用效率变化对连作烟草土壤化感自毒潜力的影响起着关键作用。连作烟草(*Nicotiana tabacum* L.) 土壤, 酚酸类物质的积累可能是导致烟草连作障碍产生的原因之一。Ying 等^[28]在研究人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)连作栽培对土壤微生物群落代谢

功能时,也指出连作的影响是与连作栽培年限以及根系分泌物数量显著相关的。此外,我们的后续研究也发现连作马铃薯根际土壤乙酸乙酯浸提液中的酸、中、碱性部分中都检测出了邻苯二甲酸二丁酯和顺式-14-二十九烯,邻苯二甲酸二丁酯在各类组分中含量都较高,可达50%以上。综合分析认为,随连作栽培年限的增加,马铃薯根际环境的变化应该与根系分泌物的化感作用有关,根系分泌物的变化与积累是影响马铃薯根际土壤微生物群落功能和结构的一个重要因素。

本试验中,多元分析(RDA)发现环境变量能在累积方差贡献率94.3%的情况下解释AM真菌与环境变量间的关系,累积方差贡献率97.5%的情况下解释AM真菌与土壤微生物群落功能多样性之间的关系。总体而言,AM真菌多样性受土壤pH、全磷、放线菌、细菌数量,土壤中能够利用碳水化合物、多聚化合物和胺类化合物的微生物类群数量这些环境因子的综合制约。Alguacil等^[29]发现,环境变量、土壤性质有关的生物指标(总碳水化合物的量)和AM群落分布有显著的相关关系。王淼焱等^[30]在马铃薯试验中研究发现pH对AM真菌侵染影响较小,但却明显改变了侵染的菌种;土壤速效磷含量过高会抑制AM真菌生长、发育和功能^[30]。在一定范围内有机质含量越高,AM真菌种类越多^[31]。此外,与群落生物的活动相关的所有土壤特性与AM真菌的香农多样性指数都有正相关关系,AM真菌种的丰富度和土壤微生物生物量碳也显著正相关^[32]。可见,土壤环境条件的改变导致的土壤养分、微生物结构和功能多样性变化在很大程度上影响了AM真菌多样性。

3.2 结论

持续连作影响了土壤根际真菌、放线菌的数量;减少了土壤中以羧酸、芳香类化合物为碳源微生物的微生物类群;真菌群落中AM真菌种的多样性受连作影响显著下降,优势种发生改变。长期连作栽培导致马铃薯根际土壤微生态环境发生变化,造成了土壤微生物群落结构与功能的失调。

参考文献

- [1] 王淑兰,丁虎银,柴忠良. 马铃薯连作障碍机理与防治措施试验研究[J]. 内蒙古农业科技, 2010(5): 38-39
Wang S L, Ding H Y, Chai Z L. Mechanism of potato continuous cropping obstacles and its preventive measures[J]. Inner Mongolia Agricultural Science and Technology, 2010(5): 38-39
- [2] Ling N, Deng K Y, Song Y, et al. Variation of rhizosphere bacterial community in watermelon continuous mono-cropping soil by long-term application of a novel bioorganic fertilizer[J]. Microbiological Research, 2014, 169(7/8): 570-578
- [3] 夏品华,刘燕. 太子参连作障碍效应研究[J]. 西北植物学报, 2010, 30(11): 2240-2246
Xia P H, Liu Y. Study on obstacle effect of succession cropping on *Pseudostellaria heterophylla*[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2010, 30(11): 2240-2246
- [4] 何川,刘国顺,蒋士君. 连作对植烟土壤微生物群落多样性的影响[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(4): 658-663
He C, Liu G S, Jiang S J. Effect of continuous cropping on tobacco soil microorganisms community diversity[J]. Acta Agricultural Universities Jiangxiensis, 2012, 34(4): 658-663
- [5] 孙磊. 不同连作年限对大豆根际土壤养分的影响[J]. 中国农学通报, 2008, 24(12): 266-269
Sun L. Effect of soybean continuous cropping on the rhizosphere soil nutrition[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008, 24(12): 266-269
- [6] 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
Li Q F. Dynamics of the microbial flora in the liriope rhizosphere and outrhizosphere in continuous cropping years[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2006, 37(3): 563-565
- [7] Džafić E, Pongrac P, Likar M, et al. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* alleviates autotoxic effects in maize (*Zea mays* L.)[J]. European Journal of Soil Biology, 2013, 58: 59-65
- [8] Yusuf A A, Abaidoo R C, Iwuafor E N O, et al. Rotation effects of grain legumes and fallow on maize yield, microbial biomass and chemical properties of an alfisol in the Nigerian savanna[J]. Agriculture Ecosystems and Environment, 2009, 299(1/3): 325-331
- [9] Chen S C, Jin W J, Liu A R, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) increase growth and secondary metabolism in cucumber subjected to low temperature stress[J]. Scientia Horticulturae, 2013, 160: 222-229
- [10] Zarea M J, Karimi N, Goltapeh E M, et al. Effect of cropping systems and arbuscular mycorrhizal fungi on soil microbial activity and root nodule nitrogenase[J]. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 2011, 10(2): 109-120
- [11] Ehrenfeld J G, Ravit B, Elgersma K. Feedback in the plant-soil system[J]. Annual Review of Environment and Resources, 2005, 30: 75-115
- [12] Van der Heijden M G A, Klironomos J N, Ursic M, et al. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity[J]. Nature, 1998, 396(6706): 69-72
- [13] Yao H Y, Jiao X D, Wu F Z. Effects of continuous cucumber cropping and alternative rotations under protected cultivation on soil microbial community diversity[J]. Plant and Soil, 2006, 284(1/2): 195-203
- [14] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 1999: 25-109
Bao S D. Analysis of Soil Agro-Chemistry[M]. 3rd ed.

- Beijing: China Agriculture Press, 1999: 25–109
- [15] 马琨, 张丽, 杜茜, 等. 马铃薯连作栽培对土壤微生物群落的影响[J]. 水土保持学报, 2010, 21(4): 229–233
Ma K, Zhang L, Du Q, et al. Effect of potato continuous cropping on soil microorganism community structure and function[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2010, 21(4): 229–233
- [16] 张美庆, 王幼珊, 邢礼军. 我国东、南沿海地区 AM 真菌群落生态分布研究[J]. 菌物系统, 1998, 17(3): 274–277
Zhang M Q, Wang Y S, Xing L J. The ecological distribution of AM fungi community in south and east coast of China[J]. Mycosystema, 1998, 17(3): 274–277
- [17] 刘秉义, 董凤林, 靳军良, 等. 固原市马铃薯连作减产原因分析及应采取的措施[J]. 中国马铃薯, 2009, 23(5): 303–304
Liu B Y, Dong F L, Jin J L, et al. Analysis of potato continuous cropping production and measure in Guyuan[J]. Chinese Potato Journal, 2009, 23(5): 303–304
- [18] 孟庆杰, 许艳丽, 李春杰, 等. 不同植被覆盖对黑土微生物功能多样性的影响[J]. 生态学杂志, 2008, 27(7): 1134–1140
Meng Q J, Xu Y L, Li C J, et al. Effects of different vegetation coverage on microbial functional diversity in black soil[J]. Chinese Journal of Ecology, 2008, 27(7): 1134–1140
- [19] 刘润进, 陈应龙. 菌根学[M]. 北京: 科学出版社, 2007
Liu R J, Chen Y L. Mycorrhizology[M]. Beijing: Science Press, 2007
- [20] Larkin R P. Characterization of soil microbial communities under different potato cropping systems by microbial population dynamics, substrate utilization, and fatty acid profiles[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35(11): 1451–1466
- [21] 王茹华, 周宝利, 张启发, 等. 嫁接对茄子根际微生物种群数量的影响[J]. 园艺学报, 2005, 32(1): 124–126
Wang R H, Zhou B L, Zhang Q F, et al. Effects of grafting on rhizosphere microbial populations of eggplants[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2005, 32(1): 124–126
- [22] Wang G M, Stribley D P, Tinker P B, et al. Effects of pH on arbuscular mycorrhiza 1. Field observations on the long-term liming experiments at Rothamsted and Woburn[J]. New Phytologist, 1993, 124(3): 465–472
- [23] Li X G, Ding C F, Zhang T L, et al. Fungal pathogen accumulation at the expense of plant-beneficial fungi as a consequence of consecutive peanut monoculturing[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2014, 72: 11–18
- [24] 雷娟利, 周艳虹, 丁桔, 等. 不同蔬菜连作对土壤细菌 DNA 分子水平多态性影响的研究[J]. 中国农业科学, 2005, 38(10): 2076–2083
Lei J L, Zhou Y H, Ding J, et al. Effect of continuous cropping of different vegetables on DNA polymorphism of soil bacterial[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(10): 2076–2083
- [25] Lupwayi N Z, Harker K N, O'Donovan J T, et al. Relating soil microbial properties to yields of no-till canola on the Canadian prairies[J]. European Journal of Agronomy, 2015, 62: 110–119
- [26] 岳冰冰, 李鑫, 张会慧, 等. 连作对黑龙江烤烟土壤微生物功能多样性的影响[J]. 土壤, 2013, 45(1): 116–119
Yue B B, Li X, Zhang H H, et al. The effect of continuous cropping on soil microbial functional diversity of flue-cured tobacco in Heilongjiang[J]. Soils, 2013, 45(1): 116–119
- [27] 杨宇虹, 陈冬梅, 晋艳, 等. 不同肥料种类对连作烟草根际土壤微生物功能多样性的影响[J]. 作物学报, 2011, 37(1): 105–111
Yang Y H, Chen D M, Jin Y, et al. Effects of different fertilizers on functional diversities of microbial flora in rhizosphere soil of monoculture tobacco[J]. Acta Agronomica Sinica, 2011, 37(1): 105–111
- [28] Ying Y X, Ding W L, Zhou Y Q, et al. Influence of *Panax ginseng* continuous cropping on metabolic function of soil microbial communities[J]. Chinese Herbal Medicines, 2012, 4(4): 329–334
- [29] Alguacil M M, Torrecillas E, Lozano Z, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi communities in a coral cay system (Morrocoy, Venezuela) and their relationships with environmental variables[J]. Science of the Total Environment, 2015, 505: 805–813
- [30] 王森焱, 丛蕾, 李敏, 等. 丛枝菌根真菌的三个我国新纪录种[J]. 菌物学报, 2006, 25(2): 244–246
Wang M Y, Cong L, Li M, et al. Three new records of arbuscular mycorrhizal fungi in China[J]. Mycosystema, 2006, 25(2): 244–246
- [31] 刘润进, 刘鹏起, 徐坤, 等. 中国盐碱土壤中 AM 菌的生态分布[J]. 应用生态学报, 1999, 10(6): 721–724
Liu R J, Liu P Q, Xu K, et al. Ecological distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in saline alkaline soils of China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 1999, 10(6): 721–724
- [32] Alguacil M M, Torrecillas E, García-Orenes F, et al. Changes in the composition and diversity of AMF communities mediated by management practices in a Mediterranean soil are related with increases in soil biological activity[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2014, 76: 34–44