

# 大豆轮作系统对土壤细菌生理菌群的影响

刘新晶<sup>1,2</sup>, 许艳丽<sup>1</sup>, 李春杰<sup>1</sup>, 孟庆杰<sup>1,3</sup>

(1. 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 哈尔滨 150081; 2. 东北农业大学, 哈尔滨 150030; 3. 东北林业  
大学, 哈尔滨 150081)

**摘要** 大豆连作引起土壤微生态变化, 导致大豆产量和品质下降, 试验研究了连作和轮作条件下, 大豆根际土壤氨氧化细菌、好气性自生固氮菌、好气性纤维素分解菌和反硝化细菌4种细菌生理菌群差异。结果表明: 大豆轮作系统条件下, 麦-米-豆轮作和休闲区氨氧化细菌、好气性自生固氮菌和好气性纤维素分解菌数量高于大豆15年连作; 轮作大豆反硝化细菌数量稍低于大豆连作。

**关键词** 大豆; 氨氧化细菌; 好气性自生固氮菌; 好气性纤维素分解菌; 反硝化细菌

中图分类号 S565.1 S344.1 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2007)05-0723-05

## EFFECT OF SOYBEAN ROTATION SYSTEM ON THE BACTERIAL PHYSIOLOGICAL GROUPS

LIU Xin-jing<sup>1,2</sup>, XU Yan-li<sup>1</sup>, LI Chun-jie<sup>1</sup>, MENG Qing-jie<sup>1,3</sup>

(1. *Northeast Institute of Geography and Agroecology, CAS, Harbin 150081*; 2. *Northeast Agricultural University, Harbin 150030*; 3. *Northeast Forestry University, Harbin 150081*)

**Abstract** The phenomenon of continuous cropping soybean was severity in the past few years, the yield and quality of soybean had declined year after year. The difference of ammonia-oxidizing bacteria, aerobic nitrogens-fixing bacteria, aerobic cellulose-decomposing bacteria and denitrifying bacteria of continuous cropping and rotation were investigated in this paper. The number of ammonia-oxidizing bacteria, aerobic nitrogens-fixing bacteria, aerobic cellulose-decomposing bacteria of soybean rotation was higher than continuous cropping soybean, and the number of denitrifying bacteria was lower.

**Key words** Soybean; Ammonia-oxidizing bacteria; Aerobic nitrogens-fixing bacteria; Aerobic cellulose-decomposing bacteria; Denitrifying bacteria

连作导致作物生长不良、产量降低。大豆是不耐连作的作物, 因连作障碍引起的减产幅度高达11%~35%<sup>[1]</sup>, 关于大豆连作障碍的研究已经得到广泛重视, 目前主要集中在土壤生态研究。其中土壤微生物在大豆障碍中的作用越来越引起重视<sup>[2]</sup>。微生物是土壤环境质量的主要指标之一<sup>[3]</sup>, 在根际

环境中微生物具有重要的作用, 其数量、种类和多样性对土壤表现出来的生物活性有着重要的影响。

关于土壤微生物在连作障碍和轮作系统研究多集中在真菌, 细菌和放线菌这三大土壤类群方面<sup>[4]</sup>, 针对于生理菌群的研究还很少涉及。生理菌群在生物物质循环过程中完成对有机物质的分解,

收稿日期: 2007-04-09

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目(kzcx2-yw-408); 教育部大豆生物学重点实验室开放基金资助项目(SB06B45); 国家“十一五”科技支撑计划(2006BAD21B01)

作者简介: 刘新晶(1981-), 女, 硕士研究生, 主要从事土壤微生物多样性研究。E-mail: lxj365@163.com

通讯作者: 许艳丽, 研究员, 博士生导师。E-mail: xuy12002@yahoo.com

体现出代谢的多样性,对于维持土壤肥力,改善土壤质量具有很大的作用,对于生理菌群的分析可以反映出不同条件下土壤的质量状况。研究者们利用生理菌群的作用来分析植被对于土壤的影响以及土壤与植被的相互关系。耿玉清等<sup>[5]</sup>认为北京低山区森林土壤有较强的硝化活性,且表层土较底层土强烈;在根际微环境中,有较强的硝化作用,可能与林木根系及根系分泌物的刺激作用有关,其刺激作用的机理可能是根系及根系分泌物激活了硝化作用过程中的酶。王淑彬等<sup>[6]</sup>对稻田水旱轮作的土壤微生物效应研究认为,稻田水旱轮作改善了土壤的通气性,有利于氨化细菌、自生固氮菌、硝化细菌、好气性纤维素分解菌、磷细菌等数量的增加,但关于大豆轮作系统根际细菌生理菌群的影响还少有报道。

为了评价土壤根际细菌生理菌群对大豆连作和轮作的响应,本试验针对大豆不同轮作条件下根际土壤中氨氧化细菌、反硝化菌、好气性自生固氮菌以及好气性纤维素分解菌4种细菌生理菌群进行了研究。从土壤微生物功能角度分析大豆连作障碍产生的原因及不同轮作系统对土壤中细菌生理菌群的影响,以期揭示大豆连作障碍提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 轮作系统定位区设置

作物长期定位试验区设置于中国科学院海伦农业生态实验站,该站位于北纬 $47^{\circ}26'$ ,东经 $126^{\circ}38'$ ,土壤类型为黑土,固定场圃,小区设置为长10 m,宽7.7 m,面积 $77\text{ m}^2$ 。该试验区于1991年开始设计茬口,每年均有豆茬小区,每个处理在一定年限都循环自成轮作系统,大豆品种为黑农35。田间管理采用常规方法:人工播种,三铲三趟。施肥量:大豆:磷酸二铵 $150\text{ kg hm}^{-2}$ ;玉米:磷酸二铵 $150\text{ kg hm}^{-2}$ ,尿素 $225\text{ kg hm}^{-2}$ (一半基肥,一半追肥);小麦:磷酸二铵 $84\text{ kg hm}^{-2}$ ,尿素 $168\text{ kg hm}^{-2}$ 。供试茬口:大豆连作15年(S...SS);大豆轮作15年(麦-米-豆;W-C-S);休闲(Fallow):15年未种植任何作物,为自然撂荒地,只进行农事翻耕。

### 1.2 土壤样品的采集

棋盘式取样法,在各区取8~10点,铲去表土,取各供试茬口根际土壤样品和休闲区耕层(0~15 cm)土壤样品。各处理3次重复,用冰盒将土样带

回实验室待用。

### 1.3 培养基的选择

试验中培养基的选择参照文献[7]。氨化细菌测定选择蛋白胨氨化培养基;好气性自生固氮菌测定选择阿须贝(Ashby)无氮培养基;好气性纤维素分解菌测定选择赫奇逊纤维(Hutchinson)培养基;反硝化细菌测定选择铵盐培养基。

### 1.4 测定方法

土壤稀释法制备土壤悬浮液。 $25^{\circ}\text{C}$ 培养箱黑暗培养,根据不同稀释度接种后微生物生长的情况,氨氧化细菌培养7 d、好气性自生固氮菌培养10 d、好气性纤维素分解菌培养14 d、反硝化细菌培养15 d后,用最大或然数(MPN)法求得每克土壤中该生理菌群微生物的数量。

## 2 结果与分析

### 2.1 大豆轮作系统对土壤根际氨氧化细菌的影响

硝化作用是自然界N素循环中的关键步骤,对土壤N素养分的转化具有重要意义。氨氧化细菌在硝化作用过程中负责将铵氧化为反硝酸盐<sup>[8]</sup>,实现亚硝化作用,是硝化过程中必不可少的步骤。氨氧化为硝酸以及大量的硝态氮化肥为作物生长提供氮素营养,对土壤肥力及植物营养有重要的意义<sup>[9,10]</sup>,有利于作物产量的提高。

试验结果显示(图1),氨氧化细菌在麦-米-豆轮作区根际土壤中最高,是休闲区的3倍,是大豆15年连作的9倍左右。由此可以看出大豆连作15年后,抑制了土壤中的氨氧化细菌,可能是大豆连作处理N素循环不良,氨氧化细菌数量较低。大豆轮作改善作物循环系统,使土壤环境适宜氨氧化细菌的生长,数量较高。休闲处理无作物生长,土壤条件没有受到外界的影响,氨氧化细菌数量居中。

### 2.2 大豆轮作系统对土壤根际好气性自生固氮菌的影响

大气中的分子态氮( $\text{N}_2$ )在生物体内由固氮酶催化还原为( $\text{NH}_3$ )的过程为生物固氮作用<sup>[8]</sup>。自然界中一部分细菌具有这一功能,它们同化分子态氮作为获得氮素营养的途径之一。固氮细菌具有固定大气中氮素的能力,使气态氮素转化为植物可以利用的形式。生物固氮作用是氮素循环的重要环节,据估计全球每年由生物固定的分子态氮达1.22~1.75万t,相当于工业固氮量,对农业生产具有重

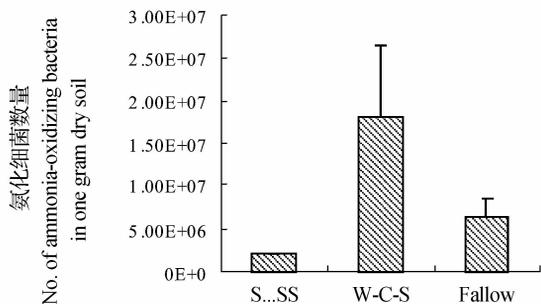


图1 大豆轮作系统对氨化细菌影响

Fig. 1 Effect of soybean rotation system on the number of ammonia-oxidizing bacteria

大意。

试验结果显示(图2),好气性自生固氮菌数量在休闲区根际土壤中最高,为21964个/g干土,约为大豆15年连作处理4.8倍;其次是麦-米-豆轮作区17169个/g干土;大豆连作区最低,与轮作区差异显著( $P < 0.05$ )。氧气对于土壤中生理菌群有很大的影响,休闲区土壤较有作物覆盖的处理表现为低氧分条件,而这种条件更有利于好气性固氮微生物生长和进行固氮作用<sup>[8]</sup>,故数量最多;大豆轮作系统良好的作物循环,利于好气性自生固氮菌的积累和发挥作用,数量较高;大豆连作导致好气性自生固氮菌减少,可能是由于土壤环境及大豆残体引诱所致<sup>[11]</sup>。随着大豆地水分含量减少<sup>[11]</sup>、根系趋碱、土壤趋酸,大豆茬残体难分解物增多,在这种情况下,限制了细菌和固氮菌的繁殖。

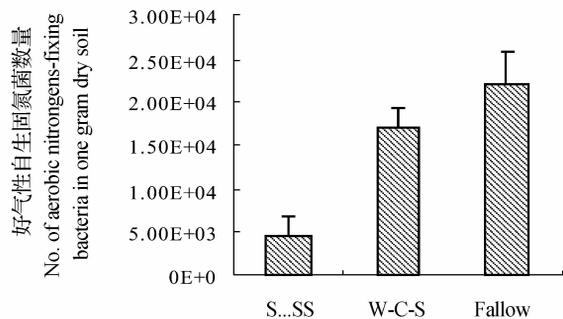


图2 大豆轮作系统对好气性自生固氮菌的影响

Fig. 2 Effect of soybean rotation system on the number of aerobic nitrogens -fixing bacteria

### 2.3 大豆轮作系统对土壤根际好气性纤维素分解菌的影响

纤维素是植物细胞壁的组分,植物残体中存在较多,自然界中许多微生物都能分解纤维素,纤维素

分解菌在土壤的碳素循环中起着重要的作用<sup>[8]</sup>,纤维素的分解对于维持土壤生物活性、提高土壤肥力、改善植物营养和提高作物产量等方面有着重要意义。试验结果显示,好气性纤维素分解菌在休闲区中最高(图3),为94315个/g干土;其次是麦-米-豆轮作区根际土壤,为43551个/g干土;大豆15年连作最低为4172个/g干土,仅是休闲处理的5%,是大豆15年轮作处理的10%,2个茬口和休闲3个区之间相比差异显著( $P < 0.05$ ),三者之间相差与好气性自生固氮菌结果相似。此结果表明大豆连作处理相比轮作和休闲处理对于好气性纤维素分解菌产生抑制作用,其数量最低。说明种植作物后,减少细菌生理菌群,尤以连作减少幅度大。

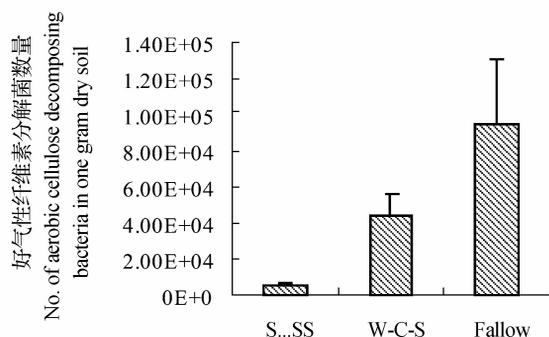


图3 大豆轮作系统对好气性纤维素分解菌的影响

Fig. 3 Effect of soybean rotation system on the number of aerobic cellulose -decomposing bacteria

### 2.4 大豆轮作系统对土壤根际反硝化细菌的影响

反硝化细菌的反硝化作用容易造成土壤和化肥氮素损失<sup>[8]</sup>,进而影响土壤质量及作物营养的吸收,加重病虫害的发生,降低作物品质和产量。测定结果显示,反硝化细菌在3种处理中数量比较接近,每克干土9000个左右,大豆15年连处理数量最高(图4)。反硝化细菌的结果与以上3种生理菌群的结果相反,大豆连作处理表现为较高的数量,而轮作和休闲则要少于连作,这说明了在连作处理中反硝化的作用比较明显,土壤N素损失较大,这也是连作障碍的表现之一。

### 2.5 大豆轮作系统对土壤有益细菌生理群总量的影响

氨化细菌、好气性纤维素分解菌和好气性自生固氮菌属有益菌,在改善土壤环境、保持土壤质量方面有很大的作用。对有益细菌生理菌群总数计数显示(图5),在大豆不同轮作条件下生理菌群数量存在着差异,大豆轮作 > 休闲 > 大豆连作。可能是

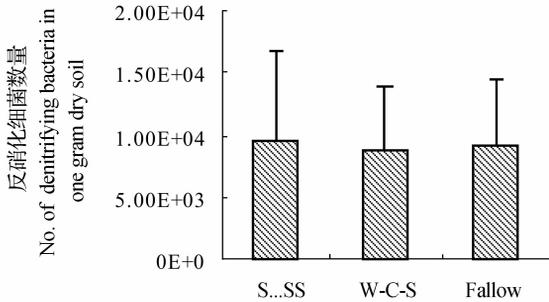


图4 大豆轮作系统对反硝化细菌的影响

Fig. 4 Effect of soybean rotation system on the number of denitrifying bacteria

轮作条件下大豆根分泌物较旺盛,微生物可利用的营养较多,和氨氧化细菌,好气性纤维素分解菌和好气性自生固氮菌竞争的有害微生物较少,可能更有利于有益细菌生理菌群的生长和繁殖。

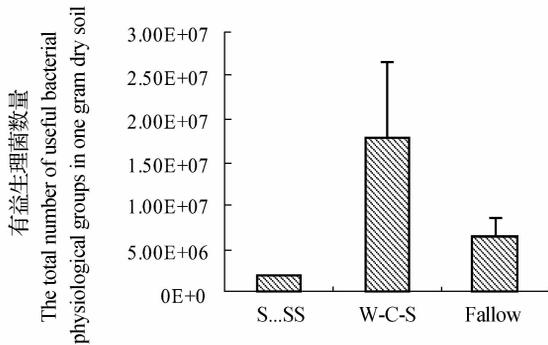


图5 大豆轮作系统对有益生理菌群总量的影响

Fig. 5 Effect of soybean rotation system on the total number of useful bacterial physiological groups

连作因为连年种植同一种作物,土壤中根际微生物可能较为单一,多样性较差,进而影响到连作区内细菌生理菌群数量相对较少。麦-米-豆轮作处理形成一个较好的作物循环系统,适时调节土壤微生物的动态变化,使得土壤中微生物种群保持在相对平衡的状态,其中的微生物生理菌群可以较好的发挥其作用。轮作可能比采用单一栽培的保护性耕作更有利于维持土壤微生物的多样性及活性<sup>[12]</sup>,为土壤微生物提供良好的生长条件,有益细菌生理菌群数量多于连作处理。

## 4 结论和讨论

大豆不同轮作系统对氨氧化细菌、好气性自生固氮菌数量、好气性纤维素分解菌和反硝化细菌产生的影响不同。对于有益生理菌群数量大豆15年轮作和休闲显著高于大豆15年连作,反硝化细菌数量则是大豆15年连作高于大豆轮作和休闲。氨氧化细菌大豆15年轮作高于休闲和大豆连作,好气性自生固氮菌和好气性纤维素分解菌休闲处理最高,大豆15年轮作高于大豆15年连作。反硝化细菌大豆15年连作稍高于休闲处理和大豆15年轮作。总之,大豆连作较轮作引起土壤有益细菌生理菌群数量下降,反硝化细菌数量有所增加。

从以往的研究中可知,连作会使作物生长及土壤改良方面受到限制,进而影响土壤质量,加剧病虫害的发生,降低土壤肥力,造成土壤环境的恶性循环,而实行轮作是避免产生这些结果的一个有效手段。张华勇等对太仓水稻土微生物功能多样性研究认为氨氧化细菌、好气性纤维素分解菌和好气性自生固氮菌在改善土壤环境,提高土壤肥力等方面起着重要作用<sup>[13]</sup>。本试验的结果也显示轮作区和休闲区土壤这三类细菌生理菌群数量均高于大豆连作根际土壤,轮作土壤比连作土壤中有益功能菌数量多,土壤环境和质量较好。这与王超等报道生理菌群数量与土壤肥力之间存在着正相关的关系,其数量的多少在某种程度上也反映了土壤的营养情况的结论相一致<sup>[14]</sup>。

许艳丽等<sup>[2]</sup>对连作大豆根际土壤微生物区系变化研究表明,连作使细菌数量减少,并认为是土壤肥力下降的趋势。李琼芳<sup>[15]</sup>对连作麦冬研究认为随着连作年限的增加,土壤中有益生理菌群数量减少。本试验结果显示连作处理细菌生理菌群数量要少于轮作和休闲,结论与以往研究相符。宋亚娜等<sup>[16]</sup>应用 DGGE 技术研究间、轮作对根际氨氧化细菌和固氮菌群落结构的影响表明:小麦/蚕豆间作明显改变小麦根际氨氧化细菌群落结构组成,与小麦轮作或间作和与蚕豆间作都改变了玉米根际氨氧化细菌群落结构组成。本试验也证明了轮作会对生理菌群的数量和分布产生一定的影响。

## 参 考 文 献

[1] 汪立刚,沈阿林,孙克刚,等. 大豆连作障碍及调控技术研究

- 进展[J]. 土壤肥料,2001,(5):3-8.
- [2] 许艳丽,王光华,韩晓增. 重迎茬大豆土壤微生物生态分布特征研究. 大豆重迎茬研究[M]. 哈尔滨:哈尔滨工程大学出版社,1995:12-16.
- [3] Visser S, Parkinson D. Soil biological criteria as indicators of soil quality: soil microorganisms [J]. Amer J Altern Agric, 1992, 7 (1):33-37.
- [4] 于贵瑞,陆欣来,韩静淑,等. 连作与轮作体系中土壤微生物区系的动态分析[J]. 辽宁农业科学,1989,(3):18-23.
- [5] 耿玉清,孙向阳. 北京低山区森林土壤硝化和反硝化作用的研究[J]. 北京林业大学学报,1999,2(1):38-43.
- [6] 王淑彬,黄国勤. 稻田水旱轮作(第3年度)的土壤微生物效应[J]. 江西农业大学学报(自然科学版),2002,24(3):320-323.
- [7] 许光辉,郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京:农业出版社,1986:35-39.
- [8] 李阜棣. 土壤生物学[M]. 北京:中国农业出版社,1996:89-125.
- [9] Bilal R. Associative of nitrogen-fixing plant growth promoting rhizobacteria (PGFPR) with kallar grass rice [J]. Plant and Soil, 1997,194:37-44.
- [10] Bilal R M, Rasul G, Malik K A. Nitrogenase activity and nitrogen-fixing bacteria associated with the roots of atriplex spp growing in asline soil of Pakistan [J]. Biology and Fertile Soils,1991,9:315-320.
- [11] 姚斌,钱晓刚,于成志,等. 土壤微生物多样性的表征方法[J]. 贵州农业科学,2005,33(3):91-92.
- [12] 钟文辉,蔡祖聪. 土壤管理措施及环境因素对土壤微生物多样性影响研究进展[J]. 生物多样性,2004,12(4):456-465.
- [13] 张华勇,林先贵,李忠佩,等. 单季不施氮肥对太仓水稻土的微生物功能多样性的影响[J]. 土壤,2005,37(6):655-658.
- [14] 王超,吴凡,刘训理,等. 不同肥力条件下烟草根际微生物的初步研究[J]. 中国烟草科学,2005,(2):12-14
- [15] 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.
- [16] 宋亚娜,李隆,张福锁,等. 应用 DGGE 技术研究间、轮作对根际氨氧化细菌和固氮菌群落结构的影响[J]. 江西农业大学学报,2006,(8)4:506-511.
- [15] Aebi H. Catalase in Vitro [J]. Methods Enzymology. 1984,105:121-126.
- [16] 欧阳光察. 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定[M]. 植物生理学实验手册. 上海:上海科学技术出版社,1989:136-145.
- [17] Van L C. Induced resistance in plants and role of pathogenesis-related proteins [J]. European Journal of Plant Pathology, 1997, 103:753-765.
- [18] Krishna P. Brassinosteroid-mediated stress responses [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2003,22:289-297.
- [19] Joohyun L, Terry M B, Michael L, et al. Proteomic and genetic approaches to identifying defence-related proteins in rice challenged with the fungal pathogen *Rhizoctonia Solani* [J]. Molecular Plant Pathology, 2006, 7(5):405-416.
- [20] 王成菊,李学峰,李常平,等. 油菜素内酯与杀菌剂互作对棉花苗期病害的影响[J]. 中国棉花,2003,30(12):5-7.
- [21] Hideo N, Michiko Y, Takako N, et al. Brassinosteroid functions in a broad range of disease resistance in tobacco and rice [J]. The Plant Journal, 2003,33(5):887-898.
- [22] 荆家海,王韶唐. 渗透胁迫对水稻幼苗膜脂过氧化及体内保护系统的影响[J]. 植物生理学报,1991,17:80-85.
- [23] 宾金华. 茉莉酸甲酯诱导烟草幼苗抗病与过氧化物酶活性和木质素含量的关系[J]. 应用与环境生物学报,1999,5(2):160-164.

(上接 717 页)

### 《种子科技》2008 年征订启事

《种子科技》由中国种子协会和山西省种子协会共同主办,是理论与实践结合、普及与提高并重的农作物种子方面的综合性刊物。本刊探讨种业发展大计,开展种子学术研究;宣传种业政策法规,交流种子工作经验;推广种业科研成果,普及种子科技知识;刊登主要农作物国审品种介绍。

《种子科技》国内外公开发行人,双月刊,大 16 开本,内文 80 页,彩色四封内带数十页彩插。国内期定价 8 元,年定价 48 元。全国各地邮政局(所)均可订阅,邮发代号:22-104。也可直接汇款到编辑部订阅。邮局汇款:(030006)山西省太原市高新区创业街 35 号。银行汇款:工行太原市高新区支行;账号:0502121609024924896。收款人:种子科技编辑部。

咨询电话:0351-7032916(传真) 7023241

电子信箱:zzkjbjb@126.com 或 zzkjbjb@yahoo.com.cn