

姚慧敏,张孙燕,郑磊,等. 2 种不同种植方式下葡萄园土壤微生物的多样性[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):372-374.

2 种不同种植方式下葡萄园土壤微生物的多样性

姚慧敏,张孙燕,郑磊,于建兴,李加友

(嘉兴学院生物与化学工程学院,浙江嘉兴 314001)

摘要:为了探明不同土地利用方式对土壤微生物多样性的影响,实现土地资源合理利用与可持续发展,对 2 种不同种植方式下葡萄园土壤微生物多样性进行了研究。结果表明,大棚种植的葡萄园土壤中生物量碳和可培养微生物均高于露天种植下的葡萄园土壤;其中放线菌最多,细菌次之,真菌较少。2 种不同的利用方式下,微生物含量与种类的变化都表现出与土壤的理化性质高度相关。

关键词:土地利用方式;大棚种植;露天种植;葡萄园;微生物多样性

中图分类号: S154.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)08-0372-03

土地利用的变化可以引起许多自然要素和生态过程的变化,是影响土壤变化最直接、最普遍、最深刻的因素^[1],如土地利用方式的变化能够改变土壤容重、土壤孔隙度、团聚体组成、土壤有机碳等理化性状,从而对土壤微生物产生影响^[2];而土壤微生物量碳是衡量土壤微生物量的直接指标,代表了土壤微生物种群的大小^[3-5],还能反映参与调控土壤中能量和养分循环以及有机物质转化的对应微生物数量,被认为是土壤活性养分的储库,是植物生长可利用养分的重要来源^[6],但一般情况下耕作会减少土壤中的微生物总量^[7],所以研究不同土地利用方式下土壤微生物特征的差异对于提高土壤肥力、合理和可持续利用土壤资源具有重要意义。本研究以大棚种植葡萄园土壤与露天种植葡萄园土壤为研究对象,通过对土壤理化性质、土壤微生物多样性等指标的检测,从而建立起不同土地利用方式与土壤微生物多样性之间的相关性,为土地合理利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究地区概况

本试验在浙江省嘉兴市某葡萄园(30°80'N,120°80'E)进行,该葡萄园地处亚热带南缘,属东亚季风区,冬夏季风交替,四季分明,气温适中,雨水充沛,日照充足,具有春湿、夏热、秋燥、冬冷的特点;年平均气温 15.9℃,年降水量 1 168.6 mm,年平均日照时数 2 017 h。试验始于 2011 年 8 月初,土壤为红壤,管理方式概况如表 1。

1.2 样品采集

2011 年 8 月 1 日于葡萄成熟之际在葡萄园采集大棚与露天土样,采样深度为 20 cm,采样方式为棋盘式九点采样,每个样品均为多点混合。采集的样品剔除大的石砾、作物残

表 1 供试土壤利用方式概况

种植方式	灌溉方式	施肥方式	耕作年限(年)	种植环境	肥料
大棚种植	膜下灌溉	滴灌	3	避雨	有机肥为主、无机肥为辅
露天种植	引渠灌溉	浇灌	2	不避雨	无机肥为主、有机肥为辅

留根和其他废弃物后,混匀土样于 4℃ 冰箱保藏。

1.3 试验方法

土壤微生物量碳采用三氯甲烷熏蒸-K₂SO₄ 提取法测定^[8];土壤全氮含量采用凯氏定氮法测定;土壤有机质含量采用重铬酸钾容量法测定;土壤含水量采用烘干法测定;土壤 pH 值采用 pH 计测定。

土壤微生物鉴定:细菌分离采用加制霉菌素的牛肉膏蛋白胨培养基(1 L 培养基中加入 0.01 g 制霉菌素),放线菌分离采用加有重铬酸钾的高氏 I 号培养基(1 L 培养基加入 3 mL 3% 重铬酸钾溶液),真菌分离采用孟加拉红培养基。真菌鉴定采用形态分类法,具体过程参照文献[9];放线菌鉴定采用牛奶、马铃薯、淀粉琼胶培养基培养,结合显微形态与菌落形态特征,参照文献进行分类鉴定。

1.4 数据处理

数据采用 Excel 2007 软件整理,结合土壤理化性质,对比分析 2 种土样中的微生物种类与含量。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质测定

由表 2 可知,大棚种植下的土壤全氮含量、含水量、有机质含量都高于露天种植下的土壤,但露天土壤的 pH 值高于大棚土壤。大棚土壤的含水量略高,这是由大棚土壤膜下灌溉而引起的,而土壤持水供水能力是土壤孔隙度及结构性能的综合反映,是土壤养分的载体^[10],所以经常了解土壤水分状况,有利于适时灌排。

土壤有机质是土壤质量状况的重要指标之一,其含量和质量直接影响土壤的耐肥性、缓冲性、通气状况和土壤温度,氮是植物的必需营养元素,是土壤肥力的重要基础^[11],不同土地利用方式下的有机质含量和全氮含量变化是土壤养分变

收稿日期:2013-01-04

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(12)1002];嘉兴学院生物与化学工程学院生物工程专业教学团队项目。

作者简介:姚慧敏(1992—),女,浙江湖州人,从事生物多样性方面研究。E-mail:747078624@qq.com。

通信作者:李加友,博士,副教授,从事木质纤维生物降解及其利用方面的研究。E-mail:lijiayou@mail.zjxu.edu.cn。

表 2 供试土壤基本理化性质

种植方式	全氮含量 (%)	含水量 (%)	有机质含量 (g/kg)	pH 值
大棚种植	0.56	24.65	25.65	5.08
露天种植	0.32	23.58	6.94	6.08

化的重要指标。2 种植方式下的施肥状况如表 3 所示,大棚种植下的施肥强度高于露天种植,且大棚采用滴灌的方式进行施肥,所以肥料吸收力度强于浇灌,这是造成大棚土壤有机质与全氮含量高于露天土壤的主要原因。而施用肥料的种类、力度和方式同样也会影响土壤的 pH 值,大棚施用的氮肥

和生理酸性化肥较多,并且采用了滴灌的方式进行化肥的施用,从而使得土壤对氮肥等的吸收更全面,致使土壤偏酸。同时采样的大棚土壤种植面积大于露天土壤,并且种植密度也相对较大,所以凋落物也较多,这将造成有机酸增多、盐基减少,最终导致大棚土壤的 pH 值低于露天土壤。而一般情况下,葡萄在 pH 值为 6.0~6.5 的微酸性环境中生长较好,在酸性过大(pH 值接近 4)的土壤中生长显著不良,在比较强的碱性土壤(pH 值为 8.3~8.7)上会出现黄叶病。所以从酸碱度的角度出发,露天土壤更适合葡萄种植;但从土壤肥力角度出发,大棚的种植方式更适宜。

表 3 供试土壤的施肥状况

种植方式	基肥	催芽肥	膨果肥	催熟肥	产后肥
大棚种植	施用方式:配合基肥施用翻耕入土;肥料种类:纯鸭粪、微生物菌肥、大粒硼、大粒锌、硫酸镁、绿原贝、金元素。	施用方式:分 2 次滴灌;肥料种类:S-诱抗素、乌金绿、海藻素、施达旺、高氮高钾百里佳。	施用方式:分 3 次滴灌;肥料种类:S-诱抗素、乌金绿、高氮高钾百里佳、高钙高钾百里佳、精英。	施用方式:分 2 次滴灌;肥料种类:精英、硫酸钾、诱抗素。	施用方式:滴 1 次;肥料种类:乌金绿、百里佳。
露天种植	施用方式:翻耕入土;肥料种类:鸡粪、葡萄园、凋落物。	施用方式:浇灌 2 次;肥料种类:施达旺、高氮高钾百里佳。	施用方式:浇灌 3 次;肥料种类:高氮高钾百里佳、高钙高钾百里佳、精英。	施用方式:浇灌 2 次;肥料种类:精英、硫酸钾。	施用方式:浇灌 1 次;肥料种类:百里佳。

2.2 土壤微生物多样性结果分析

2.2.1 土壤微生物量碳含量的测定 大棚土壤中的土壤微生物量碳含量为 74.94 mg/kg,露天土壤为 60.03 mg/kg,相比而言,大棚土壤的微生物量碳要高出很多,这一方面是由于大棚葡萄园每年地表凋落物多于露天葡萄园,并且大棚葡萄园施用了乌金绿、海藻素、绿原贝、S-诱抗素等一类新型有机类生物制品,这些为微生物提供丰富的碳源,更有利于土壤微生物的生长;另一方面是由于地表土层扰动少,土壤结构适宜,且大棚具有较适宜的温度与充足的水分,为土壤微生物提供了较好的生境。这些因素使得大棚土壤的微生物量碳含量高于露天土壤。

2.2.2 土壤微生物多样性测定 土壤微生物系统作为稳定生态系统,是保证动植物生存、农业健康、持续发展的基础^[12],同时,土壤微生物对维持土壤系统稳定性和受损土壤系统的恢复有重要作用,与土壤系统的健康紧密相关。不同土地利用方式对其中的微生物多样性有显著影响^[13-14]。研究结果表明,在有机质含量较低的露天土壤中,微生物种类较少;而在有机质含量较高的大棚土壤中,微生物种类较丰富。

对大棚土壤和露天土壤中微生物种类的研究表明,2 种植土革兰氏阴性细菌均较革兰氏阳性多(图 1),同时对从大棚土壤与露天土壤中分离出来的真菌进行纯培养,经鉴定发现大棚土壤中以丛梗孢科(主要有短柄梨孢带霉、链孢粘带霉、微紫青霉、白曲霉、立枯丝核菌、拟串珠孢霉、龙爪霉、大孢黑葱花霉、面包串珠霉、大孢亚轮枝霉)的真菌为主,还包括暗梗孢科的明串孢霉属菌、酵母、螺旋孢霉科的立枯丝核菌、瘤座孢科的多枝瘤座霉属菌、球壳孢科的多枝瘤座霉属、球壳孢科的禾谷小壳色单隔孢菌、黑盘孢科的暗色多孢族菌和果腐盘长孢菌。而露天土壤中的真菌主要是丛梗孢科的曲霉属和青霉属、暗梗孢科的刺葡萄孢霉族和节串孢子族、酵母、线

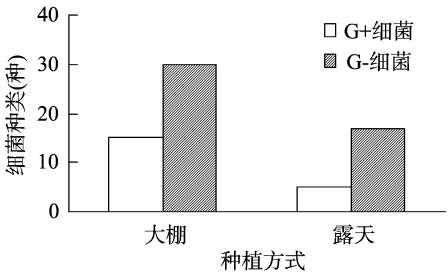


图1 不同利用方式下土壤中革兰氏阴性与阳性细菌种数

孢盘菌科的柳线孢盘霉。

从大棚土壤与露天土壤中分别分离出 76、54 个放线菌的纯培养,经鉴定,大棚土壤中可培养的放线菌有 50 种,露天土壤中有 33 种。进一步的鉴定结果表明,2 种植土壤中的放线菌均以链霉菌属为主,同时在链霉菌属系列中都是以白色、黄色系列占多数的,在鉴定中还发现 2 种植土壤里都含有少量诺卡氏菌属与小单孢菌属的放线菌(表 4)。

通过对 2 种植土壤的对比分析得出,大棚土壤中的微生物数量和种类都高于露天土壤,但 2 种植不同利用方式下的土壤都是放线菌为优势菌,细菌次之,而真菌的数量与种类都相对偏少。

蔡艳等在对土壤放线菌的拮抗作用研究中发现,放线菌中有许多菌株能产生抗生素,它们在调节土壤微生物区系、控制植物病害中起重要作用^[15]。本研究分离鉴定出的大棚土壤放线菌中有 78.0% 的都能产抗生素,具有拮抗性。其中有 28.0% 的放线菌对真菌具有拮抗作用,如杀真菌链霉菌、天蓝色链霉菌、中杀菌素链霉菌等,而对细菌具有拮抗作用的放线菌达到 26.0%,其中有 12.0% 的放线菌对革兰氏阳性细菌有较强的拮抗性。同时,在对露天土壤的鉴定中发现有 75.8% 的放线菌具有拮抗作用,其中有 15.2% 的对真菌有拮抗作用,

表 4 不同利用方式下放线菌种群组成

属名	不同系列	大棚种植		露天种植	
		菌株数 (株)	百分比 (%)	菌株数 (株)	百分比 (%)
链霉菌属	白色系列	11	22	8	24.24
	黄色系列	12	24	7	21.21
	红色系列	4	8	1	3.03
	绿色系列	1	2	1	3.03
	紫红系列	6	12	1	3.03
	灰色系列	3	6	1	3.03
	吸水系列	0	0	1	3.03
	疮痂病系列	1	2	0	0
	网状系列	2	4	1	3.03
	其他	1	2	8	24.24
	合计	41	82	29	87.87
小单孢菌属		2	4	1	3.03
诺卡氏菌属		7	14	3	9.09

15.2%的对细菌有拮抗作用,而对革兰氏阳性细菌有拮抗作用的达到9.1%。放线菌的拮抗作用也许是导致2种土壤中真菌与细菌种类较少、革兰氏阴性细菌多于阳性的主要原因。

3 结论与讨论

土壤微生物生物量碳含量是衡量土壤微生物量的直接指标,大棚土壤施用有机肥,且其土样的微生物生物量碳高于露天土样。这与洪坚平等的“施用有机肥的土壤微生物生物量高出施无机肥的土壤”研究^[16]一致。

微生物生物量的微小变化会影响到养分的循环和有效性,而结构良好、有机质和水分含量较高的土壤能为土壤微生物活动提供优良的生境,有利于土壤微生物的生长^[17]。在本试验研究的大棚土壤中微生物量碳含量、有机质含量、全氮含量、水分含量都高于露天土壤,同样其微生物的种类与数量也远远多于露天,这在某种程度上说明大棚土壤的环境有利于微生物生长,同时有利于微生物多样性。

在对研究区的走访中发现,在大棚土壤与露天土壤这2种土壤中都存在着霜霉病、炭疽病、灰霉病、溃疡病、白腐病、黑痘病、酸腐病、白粉病等,这些病多是由真菌引起的,在雨季暴发,但大棚土壤中的发病情况比露天土壤中的情况轻一些,这可能是因为大棚在避雨、膜下灌溉的栽培条件下阻断了雨水对树体、枝叶及花果的直接淋洗,而膜下灌溉又降低了空气湿度,并且隔绝了土壤中的病原微生物,使得病菌传播和繁殖得到了有效抑制,同时农药喷洒后不会被雨水直接冲刷,药效得到大大提高,各种病原性葡萄病害普遍减轻。

本研究对微生物的鉴定主要是建立在传统培养的基础之上,而传统培养法只能培养大约1%的微生物,这在对微生物的分离鉴定上存在一定的缺陷性,同时在对细菌的分类上只进行了革兰氏染色,并未对细菌进行鉴定,因此在对细菌的多样性分析上存在欠缺。但总体而言,在对放线菌与真菌的鉴定上,结合了生理生化反应与镜检,虽然增大了工作量,但也

在一定程度上弥补了传统培养法带来的缺陷。结果表明,施用有机肥、避雨栽培、膜下灌溉,有利于保持土壤肥力,降低病虫害发生率,维持土壤微生物多样性,这为土壤资源管理和合理利用提供了有力的依据。

参考文献:

[1] 侯鹏程,徐向东,潘根兴. 不同利用方式下吴江市耕地土壤环境质量变化[J]. 生态环境,2007,16(1):152-157.

[2] 张明园,黄光辉,孔凡磊,等. 耕作方式对华北冬小麦田土壤微生物生物量碳分布特征的影响[J]. 生态环境学报,2011,20(3):409-414.

[3] Pimental D, Stachow U, Takacs D A, et al. Conserving biological diversity in agricultural/forest systems[J]. Biosphere,1992,42(5):354-362.

[4] 赵庚星,李秀娟,李 涛,等. 耕地不同利用方式下的土壤养分状况分析[J]. 农业工程学报,2005,21(10):55-58.

[5] 马 琨,何宪平,马 斌,等. 宁南黄土高原不同土地利用模式对土壤的影响研究[J]. 生态环境,2006,15(6):1231-1236.

[6] 周瑞华,王宜伦,汪 强,等. 不同施肥措施对豫中小麦-玉米轮作体系土壤微生物生物量碳、氮的影响[J]. 江苏农业科学,2011,39(1):396-399.

[7] 张 娣,陈玉鹏,王继华,等. 不同土地利用方式对微生物特性及土壤理化性质的影响[J]. 哈尔滨师范大学:自然科学学报,2010,26(5):83-87.

[8] Joergensen R G. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass:calibration of the k_{EC} value[J]. Soil Biol and Biochem,1996,28(1):25-31.

[9] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1979.

[10] 伊存华,孟广涛,李品荣,等. 珠江源不同土地利用方式下土壤肥力分析——以三道箐林场为例[J]. 昆明理工大学学报:理工版,2010,35(5):100-106.

[11] 赵瑞芬,张一弓,张 强,等. 不同土地利用方式对土壤养分状况的影响——以太原市为例[J]. 中国农学通报,2011,27(14):262-266.

[12] 王 芸,韩 宾,史忠强,等. 保护性耕作对土壤微生物特性及酶活性的影响[J]. 水土保持学报,2006,20(4):120-122.

[13] 姚槐应,何振立,黄昌勇. 不同土地利用方式对红壤微生物多样性的影响[J]. 水土保持学报,2003,17(2):51-54.

[14] Lupwayi N Z, Arshad M A, Rice W A, et al. Bacterial diversity in water-stable aggregates of soils under conventional and zero tillage managements[J]. Applied Soil Ecology,2001,16(3):251-261.

[15] 蔡 艳,薛泉宏,陈占全,等. 青海省保护地辣椒根际土壤和根表放线菌研究[J]. 应用与环境生物学报,2003,9(1):92-96.

[16] 洪坚平,谢英荷. 不同施肥条件下土壤微生物生物量的研究[J]. 山西农业大学报:自然科学版,1996,16(1):19-21.

[17] Zeller V, Bardgett R D, Tappeiner U. Site and management effects on soil microbial properties of sub-alpine meadows:a study of land abandonment along a north-south gradient in the European Alps[J]. Soil Biology and Biochemistry,2001,33(4/5):639-650.