

海南橡胶林下种植长裙竹荪连作障碍分析

吴红萍, 金映虹, 张雅倩, 左林芝

海南师范大学生命科学学院, 热带岛屿生态学教育部重点实验室, 海南省热带动植物生态学重点实验室, 海南 海口

收稿日期: 2022年11月7日; 录用日期: 2022年12月12日; 发布日期: 2022年12月21日

摘要

为探究海南橡胶林下种植长裙竹荪连作障碍的原因, 应用微生物纯培养技术和BIOLOG-ECO微平板等方法对不同连作年限的长裙竹荪覆土层土壤可培养微生物、功能微生物、微生物群落功能多样性、土壤理化性质和酶活性进行分析。结果显示, 随着长裙竹荪连作年限的增加, 土壤pH减少, 有机质和全钾含量显著降低, 全氮和全磷含量显著升高; 土壤中可培养微生物总数和固氮菌、好氧纤维素分解菌、亚硝化细菌以及反硝化细菌4种功能微生物数量先升高后减少, 并且均在连作第一年达到峰值, 整体呈现从“细菌性”向“真菌性”转变的趋势; 土壤蔗糖酶活性先降低后升高, 脲酶和脱氢酶活性则先升高后降低; 不同连作年限下的长裙竹荪土壤微生物的AWCD值不同, 对不同碳源的利用程度和利用特征也不同, 土壤微生物群落的Shannon指数、Simpson指数和Pielou指数差异不显著, 连作第一年的土壤微生物群落的McIntosh指数显著最低。综上所述, 橡胶林下连作长裙竹荪影响土壤理化性质和土壤酶活性, 长裙竹荪“自溶”产生的“毒副”物质的积累影响土壤中可培养微生物和功能微生物的数量和功能, 同时影响土壤微生物群落功能特征。由此可见, 土壤“微环境”的变化可能是造成橡胶林下长裙竹荪连作障碍的主要原因。因此, 为提高橡胶林下连作长裙竹荪的产量和品质, 有效调节连作土壤的质量, 提供适宜的林下环境条件尤为重要。

关键词

橡胶林, 长裙竹荪, 连作障碍, 微生物多样性

Analysis on Continuous Cropping Obstacles of *Dicyophora indusiata* under Rubber Forest in Hainan

Hongping Wu, Yinghong Jin, Yaqian Zhang, Linzhi Zuo

Key Laboratory of Tropical Animal and Plant Ecology of Hainan Province, Ministry of Education Key Laboratory for Ecology of Tropical Islands, College of Life Sciences, Hainan Normal University, Haikou Hainan

Received: Nov. 7th, 2022; accepted: Dec. 12th, 2022; published: Dec. 21st, 2022

文章引用: 吴红萍, 金映虹, 张雅倩, 左林芝. 海南橡胶林下种植长裙竹荪连作障碍分析[J]. 微生物前沿, 2022, 11(4): 211-222. DOI: 10.12677/amb.2022.114027

Abstract

In order to explore the reasons for continuous cropping obstacles of *Dictyophora indusiata* under rubber forest in Hainan province, pure microbial culture technology and BIOLLO-ECO microplate were used to analyze the culturable microorganisms, functional microorganisms, functional diversity of microbial communities, physical and chemical properties of soil and enzyme activities in the soil covered by *Dictyophora indusiata* for different continuous cropping years. The results showed that with the increase of continuous cropping years, soil pH decreased, organic matter and total potassium content decreased significantly, and total nitrogen and total phosphorus content increased significantly; The total number of culturable microorganisms and the number of nitrogen fixing bacteria, aerobic cellulose decomposing bacteria, nitrite bacteria and denitrifying bacteria in the soil increased first and then decreased, reaching the peak in the first year of continuous cropping, showing a trend of transformation from "bacterial" to "fungal" as a whole. Soil sucrose activity decreased first and then increased, while urease and dehydrogenase activity increased first and then decreased. The AWCD values of soil microorganisms of *Dictyophora indusiata* under different continuous cropping years were different, and the utilization degree and characteristics of different carbon sources were different. The Shannon index, Simpson index and Pielou index of soil microbial community were not significantly different, and the McIntosh index of soil microbial community in the first year of continuous cropping was significantly lowest. To sum up, the continuous cropping of *Dictyophora indusiata* under rubber forest affects the physical and chemical properties of the soil and the activity of soil enzyme, and the accumulation of "toxic and by-product" substances produced by the "autolysis" of *Dictyophora indusiata* affects the number and function of culturable microorganisms and functional microorganisms in the soil, as well as the functional characteristics of the soil microbial community. It can be seen that the change of soil "Micro-environment" may be the main reason for the continuous cropping obstacle of *Dictyophora indusiata* under rubber forest. Therefore, in order to improve the yield and quality of the continuous cropping *Dictyophora indusiata* under rubber forest, effectively regulate the quality of continuous cropping soil, it is particularly important to provide suitable understory environmental conditions.

Keywords

Rubber Forest, *Dictyophora indusiata*, Continuous Cropping Obstacles, Microbial Diversity

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

竹荪(*Dictyophora*), 是一类营养丰富的大型野生食用菌, 属担子菌亚门、腹菌纲、鬼笔目、鬼笔科、竹荪属, 长裙竹荪是竹荪的主要栽培种之一[1]。竹荪具有高蛋白、低脂肪、多氨基酸成分的特点, 素有“菌中皇后”的美誉, 经常食用对人类疾病的预防具有良好的效果[2]。竹荪是名贵的食用菌, 经济价值高, 适合在荫蔽林下栽培, 在我国福建、广西、云南等省区的林下栽培效益多有研究及报道[3]。

目前, 国内外有关竹荪栽培的研究主要集中在生长环境、栽培基质和连作障碍等方面的研究。相关研究表明, 土壤环境影响竹荪的产量和品质[4], 栽培基质的成份及处理方式影响竹荪的菌丝生长[5], 连作影响竹荪栽培土壤微生物数量和质量, 不同连作年限下的土壤酶活性差异显著[6]。自 2007 年以来, 海

南省农垦系统和海南林业科学研究所等单位陆续开展了橡胶林下种植的长裙竹荪的试种和推广工作,增加了胶农收入,提高了橡胶林的综合经济效益[7]。橡胶林下种植长裙竹荪产业既充分利用橡胶林木加工过程产生的“边脚料”资源,又充分利用橡胶林下“空闲”空间资源,实现生态环境和经济效益的双丰收[8][9]。但是,随着橡胶林下长裙竹荪种植年限的延长,相继出现产量降低、品质下降等连作障碍带来的典型现象。我省有关橡胶林下种植长裙竹荪的相关研究主要集中在竹荪间作对橡胶园土壤肥力、土壤微生物区系与群落功能多样性的影响,竹荪栽培种覆土层土壤微生物群落功能多样性等研究[10][11]。目前,有关海南橡胶林下种植长裙竹荪连作障碍成因的相关研究未见报道。本研究以橡胶林下不同连作年限长裙竹荪覆土层土壤为研究对象,分析土壤微生物、土壤酶活性及其土壤微生物功能多样性等指标特征,旨在探究海南橡胶林下种植长裙竹荪连作障碍的原因,为橡胶林下种植长裙竹荪连作障碍的解决提供基础,助力海南橡胶林下经济竹荪产业的健康发展。

2. 材料与方法

2.1. 样地概况及土壤样品采集

本研究样地位于海南省林业科学研究院(海南省红树林研究院)定安龙州基地内的橡胶林,该橡胶林林龄为15~20年,正常水肥管理和割胶。样地阳光充足,雨量充沛,年平均气温24℃,年平均降水量1953 mm。

以长裙竹荪“出菇”期作为采样时间,采集同一橡胶林地下长裙竹荪种植第一年、第二年(连作第1年)和第三年(连作第2年)的土壤,根据样地地形地貌,按“S”形随机选取5点,去除土壤表面凋落物,采集覆土层(0 cm~20 cm)土壤样品,除去大的石粒等杂物,混合均匀后装入无菌自封袋,放入恒温采样箱内并及时转运至实验室置4℃冰箱中保存。自样品采集24 h内完成样品的预处理、制备及分析工作。

2.2. 土壤微生物

2.2.1. 样品的预处理

取10 g土壤置于装有90 mL 0.85%无菌生理盐水的三角烧瓶中(内置5~10颗玻璃珠),120 r/min、37℃振荡30 min后备用。

2.2.2. 样品的梯度稀释

取样品悬浊液1 mL于9 mL无菌水中,充分混匀,梯度稀释至适宜的稀释度,取合适的三个梯度稀释液100 ul分别涂布于培养细菌、真菌、放线菌和固氮菌的培养基平板上,于对应的温度下培养,其中细菌35℃,真菌26℃,放线菌28℃,24 h~72 h后计数,采用最可能数法(MPN: most probable number)测定土壤样品中氨化细菌、好氧性纤维素分解细菌、亚硝化细菌、反硝化细菌等土壤中功能微生物的数量。

2.3. 土壤酶活性测定

按《土壤农业化学分析》相关方法分析橡胶林下长裙竹荪不同种植年限的覆土层土壤理化性质和酶活性,其中土壤有机质采用 $K_2Cr_2O_7-H_2SO_4$ 氧化外加加热法,土壤全氮采用半微量凯氏法,土壤全磷采用 $HClO_4-H_2SO_4$ 法,土壤全钾采用 $HF-HClO_4$ 法,土壤pH值采用原位pH计测定;土壤蔗糖酶采用3,5-二硝基水杨酸比色法,土壤脲酶采用苯酚钠-次氯酸钠比色法,土壤脱氢酶采用容量法,土壤磷酸酶采用磷酸苯二钠比色法[12]。

2.4. Biolog-ECO 分析

2.4.1. 样品的与处理

另取10 g土壤于装有90 mL 0.85%无菌生理盐水的三角烧瓶中(内置5~10颗玻璃珠),120 r/min、37℃

振荡 30 min 后, 冰浴静置 3 min~5 min。取静置的上清液梯度稀释至 1:100 作为样品测试液。

2.4.2. 样品的测定

取制备好的样品测试液加至 Biolog-ECO 板微孔板 96 孔中, 150 ul/孔。28℃ 恒温避光培养 9 d, 每隔 24 h 用 Biolog 酶标仪测定样品在 590 nm 和 750 nm 的吸光值[13]。

平均吸光值(AWCD 值)来评估土壤微生物群落对碳源利用的整体情况及利用活性, 其计算公式为: $AWCD = \sum(C_i - R)/n$ 。式中: C_i 为所测定的 31 个碳源孔吸光值; R 为对照孔的吸光值; n 为培养基碳源总数, 本研究为 31。

Shannon-Wiener 指数(H'值)来评估微生物物种的丰富度, Shannon-Wiener 指数: $H' = -\sum(P_i \cdot \log P_i)$, 其中 $P_i = (C_i - R) / \sum(C_i - R)$ 为有培养基的孔和对照孔的光密度值差与整板总差的比值[14]。

Simpson 指数(D 值), 又称优势度指数, 用来评估物种的优势度。Simpson 指数: $D = 1 / \sum P_i^2$ 。

Pielou 指数(E 值), 又称均匀度指数, 是微生物群落实测多样性与最大多样性的比率。Pielou 指数: $E = H' / \ln S$, 式中 S 为被利用的碳源总数。

2.5. 数据处理及分析

本研究数据采用 Excel 2010 和 SPSS 22.0 进行统计分析, 通过单因素方差分析(Analysis of Variance, ANOVA)来确定不同连作年限下长裙竹荪覆土层土壤理化性质、土壤酶活性、土壤可培养微生物总数、功能微生物及微生物群落功能多样性指数的显著水平。

3. 结果

3.1. 土壤理化性质及酶活性

3.1.1. 土壤理化性质

Table 1. Main physical and chemical properties of soil in different continuous cropping periods

表 1. 不同连作时期土壤主要理化性质

采样时间 (Sampling time)	pH 值 (pH value)	有机质(g/kg) (Organic matter)	全氮(g/kg) (Total N)	全磷(g/kg) (Total P)	全钾(g/kg) (Total K)
种植前期 (Pre-planting)	6.96 ± 0.05 Aa	27.32 ± 0.21 Aa	1.17 ± 0.05 Dd	0.51 ± 0.005 Dd	10.15 ± 0.06 Aa
种植第一年 (The first year of planting)	6.69 ± 0.03 Bb	27.23 ± 0.19 Bb	1.47 ± 0.05 Cc	0.55 ± 0.002 Cc	9.98 ± 0.06 Bb
种植第二年 (The second year of planting)	6.61 ± 0.04 Bc	25.37 ± 0.24 Bc	1.75 ± 0.03 Aa	0.58 ± 0.003 Bb	9.78 ± 0.07 Cc
种植第三年 (The third year of planting)	6.40 ± 0.02 Cd	21.68 ± 0.45 Cd	1.61 ± 0.02 Bb	0.61 ± 0.002 Aa	9.47 ± 0.03 Dd

注: 同一列中, 小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$), 大写字母不同表示差异极显著($P < 0.01$)。

从表 1 可知, 橡胶林下种植长裙栽培竹荪土壤属于酸性土壤, pH 值随长裙竹荪连作年限的增加而降低。不同连作期, 各化学元素的含量有所变化。全氮(TN)和全磷(TP)的含量在种植第一年和种植第二年(连

作第1年)有所增加,可能与长裙竹荪生长过程中对培养料的快速分解以及连作过程的养分积累有关。种植第二年(连作第1年)土壤的全N、全P含量与种植第三年(连作第2年)、种植前期均存在显著性差异。与种植前期比较,种植第三年(连作第2年)土壤中全N、全P的含量有所增加,可能与种植第二年(连作第1年)残存在土壤中的各类营养物质有关。种植前期至种植第三年(连作第2年),土壤中钾(K)的含量降低了0.67 g/kg。土壤有机质含量在不同种植期有所不同,总体呈现出减少的趋势,部分连作年限间差异显著。

3.1.2. 土壤酶活性

从表2可以看出,种植长裙竹荪的橡胶林地土壤蔗糖酶、脲酶含量随长裙竹荪连作年限的增长而下降,种植前期显著高于其他种植期;土壤蔗糖酶含量,除种植第二年(连作第1年)和种植第三年(连作第2年)间差异不显著外,其他种植年限间差异均极显著;土壤脲酶含量,除种植第二年(连作第1年)和种植第1年间差异不显著外,其他种植年限间差异均极显著。

土壤磷酸酶含量随长裙竹荪连作年限的增长持续升高,种植第二年(连作第1年)最高,并且显著高于种植前期和种植第一年;种植第二年(连作第1年)和种植第三年(连作第2年)间差异不显著外,其他种植期间差异均极显著。土壤脱氢酶含量随长裙竹荪连作年限的增长呈现先降低后升高再降低的规律,种植第三年(连作第2年)显著高于其他种植期,各种植期之间差异均极显著。

Table 2. Enzyme activity of soil

表 2. 土样酶活性

采样时间 (Sampling time)	蔗糖酶(Sucrase) (mg/g)	脲酶(Urease) (mg·g ⁻¹ ·24 h ⁻¹)	磷酸酶(Phosphatase) (mg·g ⁻¹ ·2 h ⁻¹)	脱氢酶 (Dehydrogenase) (mg·g ⁻¹ ·20 min ⁻¹)
种植前期 (Pre-planting)	29.32 ± 0.02 Aa	5.3 ± 0.05 Aa	0.38 ± 0.03 Aa	0.47 ± 0.02 Aa
种植第一年 (The first year of planting)	17.52 ± 0.02 Bb	3.37 ± 0.02 Bb	0.65 ± 0.11 Bb	0.26 ± 0.02 Bb
种植第二年 (The second year of planting)	11.3 ± 0.01 Cc	3.4 ± 0.03 Bb	1.19 ± 0.03 Cc	4.56 ± 0.06 Cc
种植第三年 (The third year of planting)	11.64 ± 0.02 Cc	2.63 ± 0.02 Cc	1.38 ± 0.02 Cc	2.68 ± 0.02 Dd

注:同一列中,小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$),大写字母不同表示差异极显著($P < 0.01$)。

3.2. 土壤中可培养微生物数量及功能微生物

3.2.1. 可培养微生物数量

从表3可以看出,橡胶林下长裙竹荪覆土层土壤中可培养的细菌、真菌和放线菌总数均随长裙竹荪连作年限的增长先升高后降低,并且在种植第二年(连作第1年)达到峰值。橡胶林下长裙竹荪种植第一年和种植第二年(连作第1年)土壤中可培养细菌和放线菌总数均差异不显著,但均极显著高于种植前期和种植第三年(连作第2年);橡胶林下长裙竹荪种植前期与种植第三年(连作第2年)间的土壤中可培养细菌和放线菌总数差异不显著。橡胶林下长裙竹荪种植第二年(连作第1年)与种植第三年(连作第2年)土壤中可培养真菌总数均差异不显著,但均极显著高于种植前期和种植第1年;种植前期与种植第一年土壤中可

培养真菌总数差异不显著。

另外,从表 3 还可以在连作期内,看出橡胶林下种植长裙竹荪覆土层土壤可培养微生物总数(细菌、真菌和放线菌)在连作期内整体呈现先升高后降低,在种植的前 2 年中,长裙竹荪覆土层土壤可培养微生物以细菌总数最多,放线菌总数次之,真菌总数最少;在种植的第 3 年,以真菌总数最多,细菌总数次之,放线菌总数最少。

Table 3. Number of culturable microorganisms in soil
表 3. 土壤中可培养微生物数量

采样时间 Sampling time	细菌(Bacterial) ($\times 10^6$ cfu/g)	真菌(Fungus) ($\times 10^6$ cfu/g)	放线菌(Actinomycetes) ($\times 10^6$ cfu/g)
种植前期(Pre-planting)	0.91 \pm 0.38 Aa	0.04 \pm 0.03 Ab	0.14 \pm 0.05 Aa
种植第一年 (The first year of planting)	5.82 \pm 2.7 Bb	0.22 \pm 0.13 Ab	1.62 \pm 1.02 Bb
种植第二年 (The second year of planting)	8.68 \pm 5.09 Bb	1.19 \pm 0.69 Ba	1.93 \pm 1.00 Bb
种植第三年 (The third year of planting)	0.67 \pm 0.67 Aa	0.69 \pm 0.12 Ba	0.04 \pm 0.02 Aa

注:同一列中,小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$),大写字母不同表示差异极显著($P < 0.01$)。

3.2.2. 土壤功能微生物

Table 4. Number of soil functional microorganisms
表 4. 土壤功能微生物数量

采样时间 (Sampling time)	功能微生物种类 (Types of functional microorganisms)				
	固氮菌 (Azotobacter) ($\times 10^5$ cfu/g)	氨化细菌 (Ammonifying bacteria) ($\times 10^5$ cfu/g)	好氧纤维素分解细菌 (Aerobic cellulose decomposing bacteria) ($\times 10^2$ cfu/g)	亚硝化细菌 (Nitrosating bacteria) ($\times 10^2$ cfu/g)	亚硝化细菌 (Nitrosating bacteria) ($\times 10^2$ cfu/g)
种植前期 (Pre-planting)	7.99 \pm 0.55 Aa	3.67 \pm 0.23 Aa	0.75 \pm 0.06 Aa	0.40 \pm 0.02 A	1.50 \pm 0.11 Aa
种植第一年 (The first year of planting)	22.14 \pm 0.46 Bb	2.04 \pm 0.15 Bb	25.00 \pm 1.13 Bb	2.50 \pm 0.11 B	4.50 \pm 0.13 Bb
种植第二年 (The second year of planting)	23.53 \pm 0.86 Bb	73.60 \pm 0.17 Cc	150.00 \pm 5.26 Cc	9.50 \pm 0.65 C	4.60 \pm 0.16 Bb
种植第三年 (The third year of planting)	0.42 \pm 0.00 Cc	4.46 \pm 0.00 Aa	0.2 \pm 0.01 Aa	0.15 \pm 0.01 D	0.25 \pm 0.03 Cc

注:同一列中,小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$),大写字母不同表示差异极显著($P < 0.01$)。

从表 4 可以看出,橡胶林下种植长裙竹荪的土壤固氮菌、好氧纤维素分解菌、亚硝化细菌和反硝化细菌数量随长裙竹荪连作年限的增长先升高后降低,并且在种植第二年(连作第 1 年)最高,其中好氧纤维素分解菌和亚硝化细菌数量在种植第二年(连作第 1 年)极显著最高;氨化细菌数量随长裙竹荪连作年限的

增长先降低后升高再降低的规律, 在种植第二年(连作第 1 年)显著最高。

土壤固氮菌和反硝化细菌数量, 除种植第一年和种植第二年(连作第 1 年)间差异不显著外, 其他种植期间差异均极显著; 土壤氨化细菌数量和好氧纤维素分解细菌数量, 除种植前期与种植第三年(连作第 2 年)间差异不显著外, 其他种植期间差异均极显著; 土壤亚硝化细菌数量在各种植期差异均极显著; 种植第已年和种植第二年(连作第 1 年)间的土壤反硝化细菌数量差异不显著, 但与种植前期和种植第三年(连作第 2 年)之间差异及显著。

3.3. 土壤微生物群落功能多样性

3.3.1. 土壤微生物的 AWCD 值变化特征

从图 1 可以看出, AWCD 值随着培养时间的延长而提高, 各种植期样地土壤微生物的 AWCD 值均在培养的前 24 h 内变化不大, 说明该阶段土壤微生物活性较低; 在 48 h~168 h 内快速升高, 说明该阶段土壤微生物对不同碳源的利用加快。

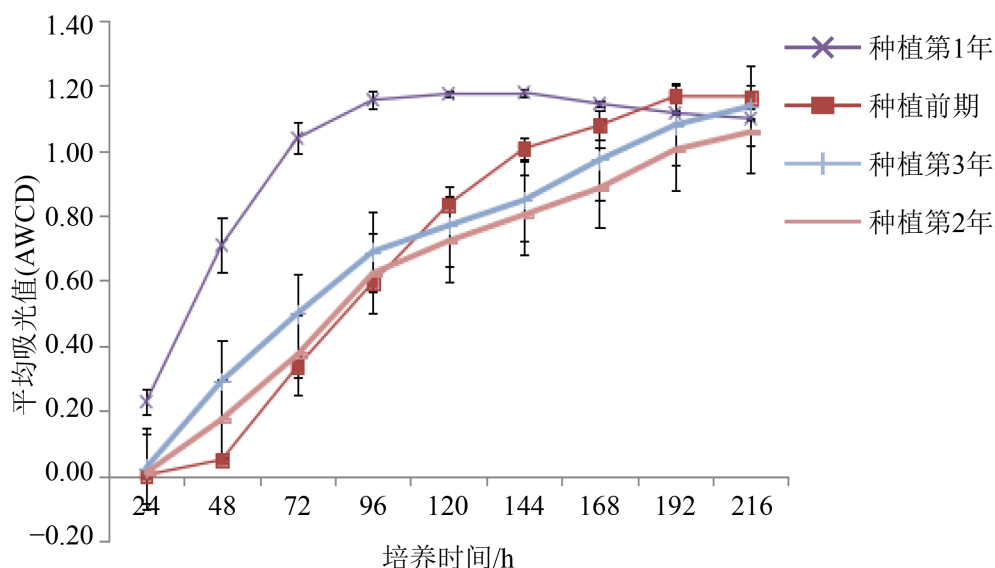


Figure 1. Changes of average light absorption value of soil microorganism with time in different planting years of *Dictyophora indusiata*.

图 1. 长裙竹荪不同种植年限土壤微生物平均吸光值随时间的变化

96 h 处的平均吸光值(AWCD)为种植第一年 > 种植第三年(连作第 2 年) > 种植第二年(连作第 1 年) > 种植前期, 种植第一年的土壤微生物的平均吸光值显著高于其他种植期(表 5)。

Table 5. Average light absorption value of soil microorganisms in different planting years of *Dictyophora indusiata*

表 5. 长裙竹荪不同种植年限土壤微生物的平均吸光值

采样时期(Sampling time)	AWCD 值(AWCD value)
种植前期(Pre-planting)	0.59 ± 0.03 Aa
种植第一年(The first year of planting)	1.16 ± 0.03 Bb
种植第二年(The second year of planting)	0.62 ± 0.05 Aa
种植第三年(The third year of planting)	0.78 ± 0.07 Aa

注: 同一列中, 小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$), 大写字母不同表示差异极显著($P < 0.01$)。

3.3.2. 土壤微生物对碳源的利用情况

从图2可以看出,土壤微生物对各类碳源的利用均随时间的延长而增加,并基本在120 h达到峰值,土壤微生物对六大类碳源的利用情况随长裙竹荪连作年限发生变化。

对碳水化合物类碳源的利用情况:前48 h内,种植第一年 > 种植第三年(连作第2年) > 种植第二年(连作第1年) > 种植前期; 48 h~96 h内,种植第一年 > 种植第三年(连作第2年) > 种植前期 > 种植第二年(连作第1年); 96 h~168 h内,种植第一年 > 种植前期 > 种植第三年(连作第2年) > 种植第二年(连作第1年),且种植第三年和种植第二年基本一致; 168 h后,种植前期 > 种植第一年 > 种植第二年(连作第1年) > 种植第三年(连作第2年),且种植第三年和种植第二年基本一致。

对氨基酸类碳源的利用情况:前96 h内,种植第一年 > 种植第三年(连作第2年) > 种植第二年(连作第1年) > 种植前期; 96 h~192 h内,种植第一年 > 种植前期 > 种植第三年(连作第2年) > 种植第二年(连作第1年); 192 h后,种植第三年(连作第2年) > 种植前期 > 种植第一年 > 种植第二年(连作第1年)。

对多聚物类碳源的利用情况:前96 h内,种植第一年 > 种植第三年(连作第2年) > 种植第二年(连作第1年) > 种植前期; 96 h~192 h内,种植第一年 > 种植第三年(连作第2年) > 种植前期 > 种植第二年(连作第1年); 192 h后,种植第三年(连作第2年) > 种植第一年 > 种植前期 > 种植第二年(连作第1年)。

对酚酸类碳源的利用情况:前48 h内,种植第一年 > 种植第三年(连作第2年) > 种植第二年(连作第1年) > 种植前期; 48 h~96 h内,种植第一年 > 种植第二年(连作第1年) > 种植第三年(连作第2年) > 种植前期; 96 h~120 h内,种植第一年 > 种植第二年(连作第1年) > 种植前期 > 种植第三年(连作第2年); 120 h以后,种植前期 > 种植第一年 > 种植第二年(连作第1年) > 种植第三年(连作第2年)。

对胺类碳源的利用情况:前48 h内,种植第一年 > 种植第三年(连作第2年) > 种植第二年(连作第1年) > 种植前期; 48 h~72 h内,种植第一年 > 种植前期 > 种植第三年(连作第2年) > 种植第二年(连作第1年); 72 h~120 h内,种植第一年 > 种植前期 > 种植第二年(连作第1年) > 种植第三年(连作第2年); 120 h以后,种植前期 > 种植第一年 > 种植第二年(连作第1年) > 种植第三年(连作第2年)。

对羧酸类碳源的利用情况:前120 h内,种植第一年 > 种植第三年(连作第2年) > 种植第二年(连作第1年) > 种植前期; 120 h~168 h内,种植第三年(连作第2年) > 种植第一年 > 种植第二年(连作第1年) > 种植前期; 168 h后,种植第三年(连作第2年) > 种植第二年(连作第1年) > 种植第一年 > 种植前期。

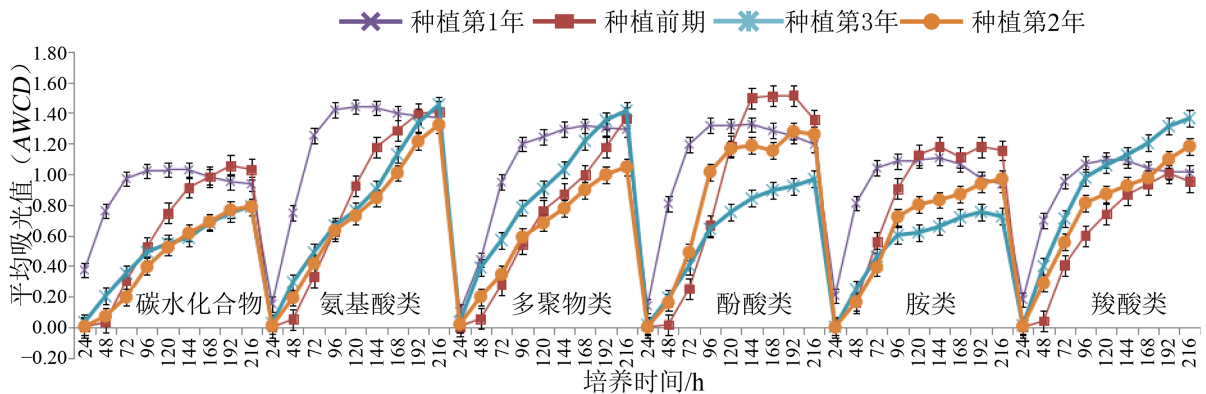


Figure 2. Soil microbiological utilization of carbon sources by *Dictyophora indusiata* in different planting years
图2. 长裙竹荪不同种植年限土壤微生物利用碳源情况

3.3.3. 土壤微生物群落功能多样性指数

橡胶林下种植长裙竹荪的土壤微生物群落功能的 McIntosh 指数(U 值)前 96 h 内总体趋势上呈现种植第 1 年最高, 种植第三年(连作第 2 年)其次, 种植前期和种植第二年(连作第 1 年)的变化情况基本一致(图 3(a))。96 h 内的 Shannon 指数(H'值)、Pielou 指数(E 值)、Simpson 指数(D 值)整体趋势均为种植第一年 > 种植第二年(连作第 1 年) > 种植第三年(连作第 2 年) > 种植前期, 96 h 后各种植期的土壤群落微生物功能多样性指数基本相同(图 3(b)、图 3(c)和图 3(d))。

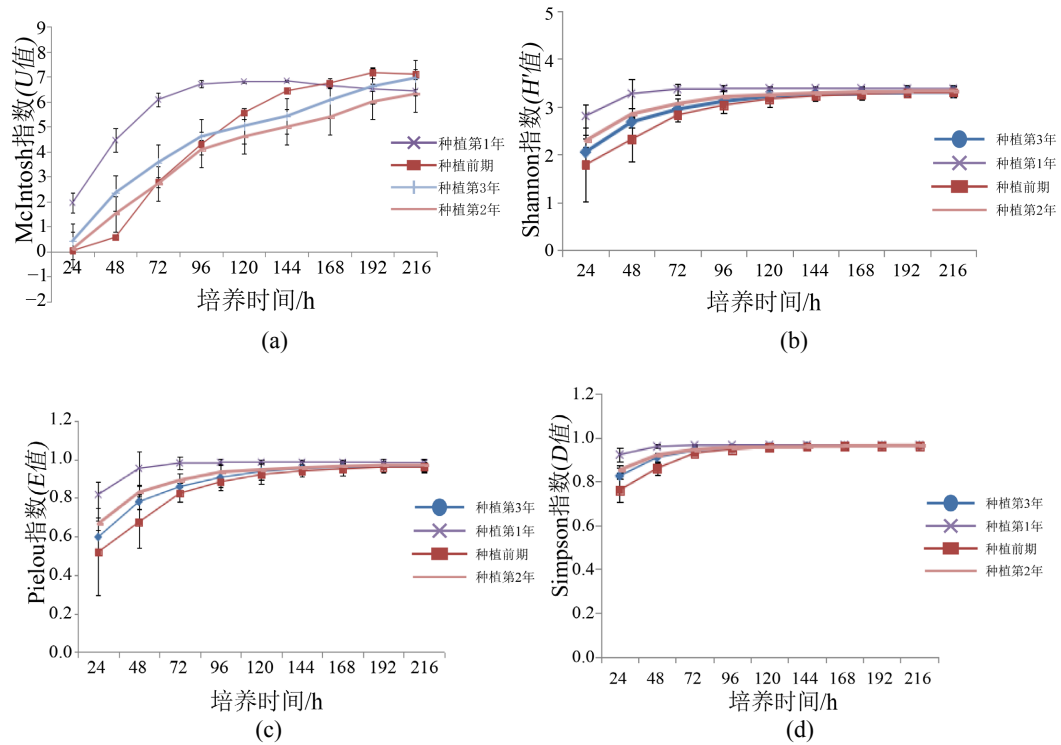


Figure 3. Functional diversity index characteristics of soil microbial community in different planting years of *Dictyophora indusiata* ((a): McIntosh index; (b): Shannon index; (c): Pielou index; (d): Simpson index)
图 3. 长裙竹荪不同种植年限土壤微生物群落功能多样性指数特征((a): McIntosh 指数; (b): Shannon 指数; (c): Pielou 均匀度指数; (d): Simpson 指数)

Table 6. Functional diversity index of soil microbial community in different planting years of *Dictyophora indusiata*
表 6. 长裙竹荪不同种植年限土壤微生物群落功能多样性指数

多样性指数 (Diversity index)	种植前期 (Pre-planting)	种植第一年 (The first year of planting)	种植第二年 (The second year of planting)	种植第三年 (The third year of planting)
McIntosh 指数(U)	4.28 ± 0.19 Aa	6.70 ± 0.14 Bb	4.07 ± 0.22 Aa	5.36 ± 0.44 Ab
Shannon 指数(H') (Shannon index)	3.03 ± 0.08 a	3.38 ± 0.05 a	3.2 ± 0.24 a	3.11 ± 0.23 a
Simpson 指数(D) (Simpson index)	0.94 ± 0.04 b	0.96 ± 0.00 a	0.95 ± 0.00 a	0.95 ± 0.04 a
Pielou 指数(E) (Pielou index)	0.88 ± 0.02 a	0.98 ± 0.01 b	0.93 ± 0.07 b	0.91 ± 0.06 b

注: 同一行中, 小写字母不同表示差异显著(P < 0.05), 大写字母不同表示差异极显著(P < 0.01)。

从表 6 可以看出, 土壤微生物群落功能 McIntosh 指数(U 值)整体随种植年限的延长呈现先降低后升高的变化规律, 种植第一年最高, 且显著高于种植前期和种植第二年(连作第 1 年), 但与种植第三年(连作第 2 年)差异不显著。土壤微生物群落功能的 Shananon-Wiener 指数(H'值)和 Pielou 指数(E)随种植年限的延长持续下降, 各种植年限间差异均不显著; 种植前期土壤微生物群落功能的 Simpson 指数(D 值)和 Pielou 指数(E)均显著低于其他种植期。

4. 讨论与结论

4.1 讨论

众所周知, 细菌是土壤微生物类群中数量最多的, 其次为真菌和放线菌, 它们在土壤有机碳、氮等物质循环和转化过程中起着十分重要的作用。本研究中, 细菌、真菌和放线菌总数整体均随长裙竹荪连作年限的增加呈现先升高后降低的变化趋势, 且在种植第三年(连作第 2 年)显著最低。植物连作影响土壤有机碳、氮的转化, 并导致土壤肥力的下降。土壤微生物作为驱动土壤营养成分转化最主要的因子之一, 影响橡胶林下长裙竹荪的生长及品质。另外, 放线菌作为抗生素的主要来源, 其生长代谢产物中可能存在部分影响长裙竹荪生长的物质。吕杨兰等研究发现连作地土壤竹荪菌的拮抗菌 - 巨大芽孢杆菌所产蛋白代谢产物, 能显著抑制竹荪菌的生长[6]。另外, 江惠华等人研究发现有害微生物潜伏对土壤中原有的有益微生物形成拮抗作用, 使有益微生物活性降低, 病虫害逐年增长, 导致产地土壤环境恶化, 竹荪菌丝降解吸收养分能力降低, 从而引起产量降低, 产品质量变劣, 等级下降, 效益受损[15]。本研究中, 橡胶林下不同连作年限的长裙竹荪覆土层土壤三大类微生物(细菌、真菌、放线菌)数量发生了的变化, 既影响了橡胶林下长裙竹荪种植的“微生境”, 又影响了土壤养分, 两者共同响长裙竹荪的产量和品质, 该结果与刘亚峰、胡元森等人的研究结果一致[16] [17]。众多研究发现土壤从细菌主导型转变为真菌主导型是土壤肥力下降的一种表现形式, 并最终表现为连作障碍。本研究存在种植长裙竹荪第三年(连作第 2 年)的橡胶林土壤从“细菌型”转变为“真菌型”的类似现象, 而土壤有机质和全钾含量随种植年限的增长而下降, 由此可见土壤肥力存在下降的现状。

固氮细菌是一类能固定空气中氮素的细菌, 氨化细菌是一类分解含氮有机化合物释放氨的细菌, 好氧性纤维素分解细菌是一类能分解纤维素的细菌, 亚硝化细菌是一类将氨氮转化为亚硝酸盐的细菌, 反硝化细菌是一类将亚硝酸盐氮、硝酸盐氮还原成气态氮的细菌[18] [19]。本研究中, 固氮细菌和氨化细菌随着长裙竹荪连作年限的增加呈现先升高后降低的变化规律, 土壤中固氮细菌和氨化细菌数量的增减影响土壤中氮元素的循环, 间接影响长裙竹荪的生长。好氧性纤维素分解细菌可分解橡胶树的枯枝落叶等凋落物, 有利于营养物质的循环和供给, 为固氮菌的生长提供氮源, 同时提高土壤肥力, 有助于林下长裙竹荪的生长[20]。但是, 随着连作时间的增长, 土壤透水、通气性下降, 好氧性纤维素分解细菌的数量会随之下降, 如大豆、马铃薯、太子参和烤烟等[21]。本研究发现种植长裙竹荪第三年(连作第 2 年)的橡胶林土壤中的好氧性纤维素分解细菌数量急剧下降的现象。

土壤中含有的各种酶是土壤发挥功能的重要组成部分, 土壤酶活性大小表征土壤中各种生化反应的强度, 是评估土壤中物质循环、能量代谢强度及土壤质量水平的重要指标。土壤酶活性随种植作物种类、作物生长过程及作物种植方式的变化而变化, 同时受土壤内外环境的影响[22]。土壤酶活性间接地表明土壤腐质化的程度和土壤肥力演变的趋势, 马云华等人在黄瓜连作的研究中发现随着种植年限的增加, 大多数土壤酶活性呈倒“马鞍形” [23]。本研究中, 土壤蔗糖酶活性随长裙竹荪连作年限的增加先降低后升高, 呈“马鞍形”; 土壤脲酶和脱氢酶活性随长裙竹荪连作年限的增加先升高后降低, 呈倒“马鞍形”。

平均吸光值(AWCD 值)反映了土壤微生物利用碳源的整体能力和微生物活性, 可作为土壤微生物活

性的评价指标之一。本研究中, 种植第一年的长裙竹荪覆土层土壤微生物的总碳源利用能力最强。McIntosh 指数, 是基于群落物种的多维空间上的 Euclidian 距离的多样性指数, Shananon-Wiener 指数用来评估物种丰富度, Simpson 指数用来评估样品中常见物种的优势度, Pielou 指数用来评估物种的均一性 [24]。常颖萃等人对竹荪不同生长期土壤微生物动态变化的研究表明, 进入出菇期, 代谢物积累加快, 影响土壤微生物的数量、种类及其多样性 [25]。本研究中, 长裙竹荪的不同种植年限的橡胶林下土壤微生物的物种丰富度、优势度和均匀性差异不显著, 种植第二年(连作第 1 年)的 McIntosh 指数显著低于种植第一年和种植第三年(连作第 2 年)。土壤物种丰富度指数随种植年限的增加持续下降, 说明橡胶林下长裙竹荪的连作影响了土壤物种的丰富度, 其原因可能是长裙竹荪自身的生长代谢及其连作共同影响土壤中部分微生物种类的生长, 降低了土壤微生物的物种丰富度, 导致微生物物种多样性趋向单一。相关研究表明长裙竹荪种植过程中, 其自身的代谢产物具有一定的抑菌性 [26] [27] [28], 未及时采摘的长裙竹荪自身发生“自溶”现象, 长裙竹荪“自溶”物以及释放的化学自毒物质在环境中的不断积累对土壤中的微生物具有一定的“毒副”作用, 导致土壤微生态系统失衡, 影响长裙竹荪的正常生长与发育, 病原微生物富集, 进而影响长裙竹荪的产量和品质。

4.2. 结论

橡胶林下长裙竹荪的连作导致土壤肥力下降、影响土壤微生物群落结构和组成并降低微生物群落功能多样性, 长裙竹荪“自溶”产生的毒副物质的积累, 影响土壤微生物的种类、功能微生物数量、土壤酶活性以及土壤微生物对碳源的利用能力不同和碳源利用的“偏好性”。橡胶林下种植长裙竹荪连作障碍的产生是土壤肥力状态、土壤微生物、长裙竹荪菌体及其代谢产物共同作用的微生态环境引起的, 是一个多因素协同调控下相互作用和影响的复杂过程, 并最终影响长裙竹荪的产量和品质。因此, 要解决橡胶林下长裙竹荪种植的连作障碍问题, 可以通过轮作、间作、套作等不同种植方式, 维持或改善土壤肥力及酶活性, 土壤微生物的活性及多样性, 抑制有害土壤微生物的繁衍, 提高土壤微生物群落的结构、组成和功能的稳定性, 协调橡胶林-长裙竹荪-土壤生态系统的持续平衡与稳定, 是海南发展橡胶林下长裙竹荪种植可持续发展的重要保障。

致 谢

本研究受海南省高等学校科学研究项目(Hnky2019-35): 海南橡胶林下种植长裙竹荪连作障碍成因初探资助。

参考文献

- [1] 黄年来. 中国食用菌百科[M]. 北京: 中国农业出版社, 1993.
- [2] Chen, S.C. (1992) Proceeding of Kellogg, International Symposium on Dietary. Center for Academic Publications Japan, Tokyo, 58-75.
- [3] 黄惠芳, 覃婵. 露天料栽培竹荪技术及其产量分析[J]. 广西热带农业, 2007(1): 28-29.
- [4] 苏德伟, 林辉, 林春梅, 等. 不同生长时期竹荪覆土层土壤微生物、理化性质及其酶活性的变化研究[J]. 西南农业学报, 2014, 27(3): 1170-1174.
- [5] 张发备. 竹荪发酵料栽培技术[J]. 福建农业科技, 2011(2): 45, 46.
- [6] 吕杨兰. 竹荪连作障碍成因分析[D]: [硕士学位论文]. 福州: 福建农林大学, 2012.
- [7] 邓静飞, 汪秀华. 海南天然橡胶林下经济发展模式及对策研究[J]. 中国热带农业, 2013(5): 28-31.
- [8] 冀春花, 吴振忠, 陈兵, 等. 橡胶林胶菌复合生态系统工程的建设与实践[J]. 热带农业工程, 2010(4): 44-46.
- [9] 林芳能, 董晓娜, 陈喜蓉, 钟剑峰. 竹荪栽培基质筛选研究[J]. 热带林业, 2012, 40(1): 46-48.

- [10] 陈喜蓉, 金映虹, 欧滨, 钟剑峰, 林芳能, 吴红萍. 基于 BIOLOG-ECO 分析不同林下种植竹荪地土壤微生物功能多样性[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(1): 370-375.
- [11] 吴红萍, 陈喜蓉, 甫秋燕, 陈华巧, 龙涛, 邱海芳, 金映虹. Biolog-ECO 解析长裙竹荪栽培中覆土层土壤微生物群落功能多样性特征[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(10): 4223-4228.
- [12] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
- [13] 章家恩, 蔡燕飞, 高爱霞, 等. 土壤微生物多样性实验研究方法概述[J]. 土壤, 2004, 36(4): 346-350.
- [14] Dobranic, J.K. and Zak, J.C. (1999) A Microtiter Plate Procedure for Evaluating Fungal Functional Diversity. *Mycologia*, **91**, 756-765. <https://doi.org/10.1080/00275514.1999.12061081>
- [15] 江惠华. 竹荪产地连作低产劣质的原因及其对应措施[J]. 食药菌, 2011, 19(4): 44-46.
- [16] 刘亚峰, 孙富林, 等. 黄瓜连作对微生物区系的影响——基于可培养微生物种群的数量分析[J]. 中国蔬菜, 2006(7): 4-7.
- [17] 胡元森, 刘亚峰, 等. 黄瓜连作微生物区系的变化研究[J]. 土壤通报, 2007, 37(1): 126-129.
- [18] 耿莉. 科尔沁沙地固沙群落土壤可培养微生物生理类群组成及优势细菌鉴定[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 东北大学, 2010.
- [19] 李彩华, 靳学慧, 台莲梅. 不同农业措施对土壤微生物的影响[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2015(4): 31-34.
- [20] 李艳宾, 张超, 张磊, 魏世清, 张琴. 接种固氮菌对纤维素分解过程的影响[J]. 纤维素科学与技术, 2007(1): 16-21.
- [21] 谷岩, 邱强, 王振民, 等. 连作大豆根据微生物群落结构及土壤酶活性[J]. 中国农业科学, 2012, 45(19): 3955-3964.
- [22] 高兴武, 史淑芝. 谈甜菜连坐障碍[J]. 中国甜菜糖业, 2008, 90(2): 19-22.
- [23] 马云华, 王秀峰, 等. 黄瓜连作土壤酚酸类物质积累对土壤微生物和酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 11(16): 2149-2153.
- [24] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法[M]. 北京: 高等教育出版社, 2010: 170-172.
- [25] 常颖萃, 蒋文静, 石妍, 林世强, 叶舟. 竹荪不同生育期土壤微生物动态变化[J]. 热带作物学报, 2013, 34(7): 1228-1231.
- [26] 郝景雯, 张刚, 韩慧, 等. 长裙竹荪乙醚提取工艺及抑菌作用研究[J]. 食品工业科技, 2008(10): 123-127.
- [27] 檀东飞, 黄儒珠, 卢真, 等. 刺托竹荪菌的化学成分及抑菌活性研究(I) [J]. 菌物学报, 2006, 25(4): 603-610.
- [28] 庄永亮, 孙丽平, 尚小丽. 红托竹荪菌盖多糖的提取及抗氧化能力的研究[J]. 林产化学与工业, 2011, 31(3): 45-49.