

三七连作障碍发生机理及消减技术研究

杨建忠¹, 官会林², 刘大会³, 孙玉琴¹, 韦美丽¹, 王 勇¹

(1. 文山学院 文山三七研究院, 云南 文山 663000; 2. 云南师范大学 能源与环境科学学院, 云南 昆明 650021;

3. 云南省农科院 药用植物研究所, 云南 昆明 650021)

摘 要:连作障碍是三七产业发展的关键问题。以不同间隔年限土壤种植的三七和根际土壤为试材, 开展了土壤微生物培养、土壤酶活性检测、土壤理化性状分析和三七根际化合物分析, 研究三七连作障碍的影响因素。结果表明: 导致三七连作障碍的原因在于土壤理化性状恶化、土壤微生物群落演变、土壤酶活性下降和三七根际自毒物质积累 4 个方面; 土壤细菌与真菌数量比、土壤细菌与放线菌数量比、土壤好氧性细菌与厌氧性细菌数量比均随三七根腐病加重而降低, 其比值可作为三七栽培土壤健康状况评价的生物学诊断参数; 优化集成了调酸、减肥、通气和微生物修复的三七连作障碍消减技术。

关键词:三七; 连作障碍; 土壤微生物; 土壤酶活性; 土壤养分; 化感作用

中图分类号:S 567.23⁺6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)14-0160-04

三七(*Panax notoginseng* F. H. Chen)属五加科人参属多年生药用植物, 由于三七生长环境的特殊性和品种的单一性, 造成三七连作障碍十分突出。目前文山州最适宜种植三七的土地资源匮乏, 导致三七种植区域向周边地区乃至更远的区域种植, 严重影响三七产量和质量。课题组从土壤微生物及酶活性、三七种植土壤自毒物质和三七种植土壤理化性状变化等方面开展研究, 以期尽快解决三七连作障碍提供指导和借鉴。

1 三七连作障碍发生的因素

1.1 三七种植不同间隔年限土壤与微生物群落变化的关系

1.1.1 气候因素与发病率的关系 气候因素除有效积温与三七根腐病间存在明显的直线相关外, 三七根腐发病率与各气候因素(地温、湿度、日照数/月)间均不存在统计学上的直线相关性($P > 0.05$), 说明气候因素对三七根腐病的影响不是直接作用。但曲线回归分析则显示气候因素与三七根腐病率存在显著相关性, 说明气候因素是通过影响土壤微生物种群变化, 进一步影响三七根腐病的发病率^[1]; 不同季节(月)土壤微生物种群数量的消涨变化与三七根腐病率的消涨期基本吻合^[1], 酵母

菌、放线菌、真菌及厌氧菌与根腐病发病率之间有显著的线性相关性($P < 0.05$), 微生物总数与根腐病发病率之间也有显著的正相关性($P < 0.05$)。

1.1.2 不同间隔年限土壤与微生物群落结构的关系

不同监测区土壤微生物总量、细菌总量、好氧细菌均随间隔年限的延长呈递增趋势, 而厌氧细菌则随间隔年限的延长呈下降趋势, 说明间隔年限长有利于土壤微生物系统的自然恢复与重建; 连作土壤中微生物总量虽然低于不同间隔年限的土壤, 但真菌数量和厌氧细菌量表现为增加, 而细菌总量和好氧细菌量表现为减少。说明导致三七连作土传病害的发生, 并非完全决定于土壤中微生物总量的丰度, 而与土壤中微生物的菌群比例具有一定的关联性。

1.1.3 健康植株与根腐病株土壤微生物群落变化 发病株根区土壤细菌总数、厌氧细菌数、真菌及放线菌数均高于健康植株土壤, 而好氧细菌数及酵母菌数则是健康植株土壤高于病植株土壤^[1], 健康与病株的根区土壤微生物均存在差异, 其中细菌总数达差异显著水平($P < 0.05$), 真菌、酵母菌、放线菌、好氧细菌及厌氧细菌达差异极显著水平($P < 0.01$)。而且, 病株根区土壤细菌总数的增加主要是厌氧细菌数增加引起, 在相同土壤类型的植株发病前后的细菌数量之间差异不显著($P = 0.646 > 0.05$), 而真菌和放线菌数量之间达差异极显著水平($P < 0.01$)^[1]。但土壤真菌数量高并非全是连作土壤或间隔年限短的土壤, 所以土壤真菌量的高低在三七

第一作者简介:杨建忠(1960-), 男, 本科, 研究员, 现主要从事三七连作障碍等研究工作。E-mail: wsswyjzh@163.com.

基金项目:云南省重点产业创新计划资助项目(2008IF025); 云南省应用基础研究计划重大资助项目(2013FC008)。

收稿日期:2016-02-14

土壤上并不能全面表征土壤的健康状况。

1.1.4 植株健康与根腐病害土壤微生物种群特征 基于 16S rRNA 基因序列的微生物多样性分析,健康植株土壤微生物种群很丰富,而病害植株土壤微生物种群相对比较单一,种群达差异极显著水平($P<0.01$);在健康植株组土壤中细菌以肠杆菌属(*Enterobacter*)、芽孢杆菌(*Bacillus*)和类芽孢杆菌(*Paenibacillus*)为优势种群,真菌主要是枝孢芽孢菌(*Cladosporium cladosporioides*),种群相对少而且菌种单一;健康植株土壤中放线菌种类丰富,其中以链霉菌(*Streptomyces*)为优势菌群,类诺卡氏菌(*Nocardioide*)为主要菌群^[2]。

1.1.5 连作障碍土壤微生物学诊断参数 土壤中厌氧细菌、真菌及放线菌数量的增加是导致三七根腐病害发生的主要因素,特别是厌氧细菌和真菌与三七根腐病害的发生具有密切的关联性,而放线菌与三七根腐病害的关联性低于真菌。分析发现土壤细菌与真菌比值、土壤细菌与放线菌比值、土壤好氧性细菌与厌氧性细菌的比值均随着三七根腐病的加重而降低,说明三七根腐病的发生及发病程度与根际土壤微生物类群比例密切相关。因此,根际土壤细菌与真菌比值、细菌与放线菌比值及好氧性细菌与厌氧性细菌的比值可作为三七栽培土壤质量评价的生物学诊断参数。

1.2 三七种植不同间隔年限土壤主要酶活类型变化

1.2.1 不同季节(月)土壤酶活性变化 土壤中多酚氧化酶、淀粉酶、磷酸酶、无机焦磷酸酶活性随季节变化的趋势不明显($P>0.05$),而脱氢酶、纤维素酶、木聚糖酶、蔗糖酶、蛋白酶、脲酶的变化较大,差异性显著($P<0.05$)。

1.2.2 不同间隔年限土壤酶活性变化 种植三七后导致土壤酶活性降低,随间隔年限的延长土壤酶活性呈递增趋势(除多酚氧化酶外),新地土壤的脲酶活性普遍高于连作地土壤;磷酸酶的活性曲线变化较平缓,说明磷酸酶在土壤中稳定性较好;而多酚氧化酶、纤维素酶、脲酶及脱氢酶曲线波动性较大,说明这 4 种酶活性在土壤中的稳定性较差;蔗糖酶则是连作土壤普遍低于新地土壤,并随间隔年限延长呈递增趋势;多酚氧化酶活性以连作土壤最低,并随着间隔年限延长呈递增趋势;纤维素酶、脱氢酶、磷酸酶及脲酶均反映出连作土壤最低,并随着间隔年限的延长呈递增趋势。

1.2.3 健康三七植株土壤与根腐病株土壤酶活变化 总体表现出健康植株土壤的纤维素酶、蔗糖酶、磷酸酶、脲酶活性均高于病株土壤,二者间的土壤酶活达差异极显著水平($P<0.01$)。而病株土壤中多酚氧化酶总体高于健康植株土壤,健康株与发病株土壤中的磷酸酶、脲酶及多酚氧化酶变化均达差异极显著水平($P<0.01$)。

土壤磷酸酶、脲酶及多酚氧化酶的消涨与三七根腐病的发生具有一定的关联性。

1.3 三七种植土壤自毒物质种类及效应

1.3.1 三七种植土壤化合物分离 从三七根水浸液和定位监测区三七根际土壤分离获得 β -谷甾醇、阿魏酸、人参皂苷 R_{h1} 、人参皂苷 R_{h4} 、胡萝卜苷、人参皂苷 R_{g1} 、三七皂苷 R_1 共 7 种三七根际土壤化合物。

1.3.2 三七根际土壤化合物的生理效应 通过生理效应测定,进一步验证三七根际土壤化合物的自毒作用。

1)对三七种子发芽的影响。三七水培收集液对三七种子发芽有抑制作用;三七总皂苷水溶液在低浓度时对三七种子发芽表现一定的促进作用,但随浓度升高,则表现为抑制作用^[3];三七鲜根水浸提液对三七种子发芽表现抑制作用,且随浓度升高,抑制作用逐渐增大;三七根际土壤化合物 β -谷甾醇、阿魏酸、 R_{h1} 、胡萝卜、 R_{g1} 和 R_1 对三七种子发芽均有抑制作用,其抑制程度均随溶液浓度升高而增强。由此说明,三七水培收集液、三七总皂苷水溶液和三七鲜根水浸提液中存在三七化感物质^[3]。而 β -谷甾醇、阿魏酸、 R_{h1} 、胡萝卜、 R_{g1} 和 R_1 是三七的化感物质^[3];2)对三七生长的影响。阿魏酸对三七种苗根生长有抑制作用,抑制强度随浓度增加而呈增强趋势;三七总皂苷对三七种苗根生长有抑制作用,抑制强度随浓度提高而呈减弱趋势;三七鲜根水浸提液在低浓度时对三七种苗根生长有抑制作用,抑制强度与浓度的关系不明显;当浓度达 $400\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 则表现为促进作用;三七水培液对三七种苗根的生长有抑制作用,2 年生三七水培液的抑制作用强于 1 年生三七水培液;所有参试物质对三七株高及块根的生长均表现抑制作用,其抑制强度与浓度的关系不明显^[4];3)对三七病原菌的抑制作用。三七水培收集液、三七总皂苷及三七鲜根提取液对毁灭性根腐病菌生长表现促进作用,对腐皮镰刀菌和三七黑斑病菌表现抑制作用。胡萝卜素在低浓度时对镰刀菌生长有抑制作用,随着浓度升高,抑制作用减弱,高浓度时转为促进作用;低浓度的阿魏酸、谷甾醇、 R_{h1} 、 R_{g1} 、 R_1 等物质对镰刀菌生长表现抑制作用。因此,新地或间隔年限越长的地块三七根腐病发病率低;4)营养胁迫液对三七尖孢镰刀菌的抑制作用。用不同营养液种植三七收获的营养胁迫液,对尖孢镰刀菌进行抑菌试验得出,氮胁迫液对尖孢镰刀菌的生长总体呈促进生长的趋势,其促进程度随浓度升高呈增强趋势;三七种植地磷减量胁迫液对尖孢镰刀菌有抑制作用,而磷加量胁迫液对尖孢镰刀菌表现促进作用;钾肥胁迫液对尖孢镰刀菌的作用总体呈现抑制作用;5)三七残体腐解物化感作用。三七各部位残体随腐解时间的延长,腐解程度越高,对三七化

感影响越大。根、茎、叶腐解液处理的三七种子发芽率比正常对照分别低 75.6、53.3、66.7 个百分点。对三七根的生长也表现抑制作用,随腐解液浓度提高,抑制作用增强。进一步说明三七采收残留在土壤中的三七残体是造成三七化感作用的重要因素之一。

1.4 三七种植土壤化学性状变化

1.4.1 土壤物理结构变化 随间隔年限延长,土壤粉粒、粘粒和胶粒呈先下降后逐步增加趋势,主要表现为土壤颗粒 $<0.075\text{ mm}$ 级的团粒减少,而土壤颗粒 $>0.500\text{ mm}$ 级的团粒增加,土壤团粒从微团粒向大团粒转化的趋势,对土壤物理性质的恢复和稳定有积极作用^[4]。

1.4.2 土壤化学性状变化 1)土壤 pH 变化。种植三七后土壤 pH 呈下降趋势,随间隔年限延长,pH 呈逐步升高趋势。4 个监测点的连作土壤 pH 平均 4.78,较新土的 5.05 低 0.27。说明三七连作导致土壤出现不同程度的酸化,土壤酸化会抑制三七对 P、Ca、Mg 等元素的吸收,磷在 pH 小于 6 时溶解度降低;2)土壤阳离子交换量变化。随三七种植间隔年限延长,土壤阳离子交换量、有机质和腐殖质也呈升高趋势。种植三七后由于土壤粉粒、粘粒和胶粒下降,大的粉砂、细砂等增加,从而导致土壤胶体表面下降,土壤酸化和土壤缓冲性能下降,土壤有机质和腐殖质含量也有一定程度的降低,从而导致土壤阳离子交换量下降^[4];3)土壤有机质含量变化。种植三七后土壤有机质含量相对较低,随间隔年限的延长,土壤有机质呈逐步升高趋势。而土壤有机质含量与土壤缓冲性呈正相关,长期连作有机质含量减少,土壤缓冲性下降,不利于三七生长。随间隔年限的增加,土壤有机质又逐步回升,甚至高于新土的有机质含量。

1.4.3 土壤养分的变化 种植三七后,土壤中各营养元素呈上升趋势,导致土壤富营养化。1)大量元素变化。种植三七的土壤全氮含量均表现小幅上升趋势,而土壤碱解氮含量呈大幅下降趋势。说明随着三七种植时间的延长,种植户为促进三七快速生长而投入较多氮肥,导致土壤中全氮含量增加和积累,随三七生长吸收了土壤中的速效氮,以致土壤中短期内的速效氮下降;种植三七的土壤全磷和速效磷含量均表现随种植时间延长而显著上升,其中以间隔 5 年土壤全磷含量最高,连作次之,新土最低。在时间变化趋势上也表现为随时间延长而增加;三七种植土壤全钾含量均表现为随种植时间延长而呈显著下降趋势,而土壤速效钾含量也表现为小幅下降趋势,土壤全钾和速效钾在时间变化趋势上呈现一致性^[6];2)中量元素变化。有效钙呈大幅上升趋势;而

有效镁呈缓慢上升趋势;有效硫呈缓慢下降趋势^[7]。3)微量元素变化。种植三七后,有效铜、有效锌、有效铁呈先上升后降低趋势;而有效锰一直呈上升趋势;有效硼没有明显变化^[7]。

2 三七连作障碍消减技术途径

根据定位监测调查和土壤检测分析看出,三七连作障碍最终表现形式是三七发生根腐病死亡,但在三七根腐病发生之前,土壤养分过剩、土壤微生物群落变化、土壤酶活性下降、土壤自毒物质富集等因素都起到推波助澜的作用。因此,要消减三七连作障碍,必须采用“调酸、减肥、通气和补微”等综合配套技术。

2.1 降低土壤 pH

三七生长最适宜的 pH 为 6~7,大量施用化肥及根际分泌物大量积累,导致土壤 pH 下降,不仅不利于三七生长,还影响土壤营养元素的有效性,加剧连作障碍的产生。因此,在三七种植前,每公顷施用石灰 1 500 kg 或施用硅钙肥 750 kg 或施用草木灰 7 500 kg,均能有效提高土壤的 pH,提高土壤养分的有效性,减轻三七连作障碍。

2.2 科学施肥

大量施用化肥,导致土壤养分过剩和失衡,不利于三七生长而利于病原菌的繁殖危害。

2.2.1 减少氮肥施用 定点监测和试验结果表明,土壤氮素水平随三七种植间隔年限越短而上升,三七存苗率则随氮肥量的增加而下降,根腐病率上升。不同平衡配方施肥处理均显著提高了三七在不同生育时期的存苗率,以低氮+钙镁磷+高钾+石灰+微肥处理的效果最好,三七地下生物量比不施肥对照增长 57.5%。因此,减少氮肥用量是减缓三七连作障碍的有效途径。而土壤钾含量则随三七种植间隔年限越短而降低,所以,增加土壤钾含量,有利于减轻三七连作障碍^[5]。

2.2.2 平衡施用中、微量元素 由于三七地大量施用钙镁磷肥,导致有效钙、有效镁和有效锰含量增加,而有效硫、有效铜、有效锌、有效铁含量下降。因此,要通过土壤养分检测,适时增施有效硫、有效铜、有效锌、有效铁等中微量元素,促进土壤养分的平衡,增强三七的抗病性。

2.3 提高土壤通透性

三七种植期大量施用化肥,致使土壤结构被破坏,通透性下降,有利于有害厌氧菌生长而不利于有益好氧菌繁殖,促进了三七根腐病的发生^[1]。在平衡施肥的基础上配施甘蔗渣、粉煤灰、腐熟农作物桔杆等改良剂,对提高三七出苗率和存苗率有明显作用,以施用甘蔗渣的效果最好,采收时存苗率比平衡施肥对照处理提高了

31.6%。因此,在三七种植前或生长前期增施腐熟农家肥、商品有机肥、草木灰、甘蔗渣、腐熟农作物桔杆等改良剂,可提高土壤通透性,促进有益好氧菌的繁殖,提高土壤酶的活性,对消减三七连作障碍有显著效果。

2.4 补充有益微生物

健康三七土壤中细菌以芽孢杆菌(*Bacillus*)和类芽孢杆菌(*Paenibacillus*)为优势种群;真菌以枝孢芽枝菌(*Cladosporium cladosporioides*),放线菌以链霉菌(*Streptomyces*)为优势菌群。因此,在三七种植前或生长期施用有益的芽孢杆菌、木霉菌素、链霉菌、光合菌、放线菌等微生物菌剂,可促进土壤微生物的修复和平衡,增强三七根系的健壮生长,提高三七的抗病性,减轻三七连作障碍。

3 结论

三七连作障碍是土壤生态系统中各种因子综合作用,导致土壤生态系统遭受严重破坏,其中土壤理化性状恶化特别是土壤养分过剩、土壤微生物群落改变、土壤酶活性下降、土壤自毒物质的积累等因素发挥了重要作用。因此,要消减三七连作障碍,首先要实施土壤消毒处理,即采用土壤薰蒸、高温消毒或高效低毒药剂处理等措施,尽量减少土壤中有害微生物数量;其次,要施

用石灰、草木灰调节土壤 pH;第三,配套施用蔗渣、有机肥、腐熟农作物桔杆,提高土壤通透性,激活土壤有益微生物和土壤酶活性;第四,减少氮肥用量,增施中微量元素肥料,促进土壤养分平衡。第五,要增补有益微生物菌剂,促进土壤微生物平衡。总之,要综合应用调酸、减肥、通气和补充有益微生物等综合集成消减技术,才能使三七连作障碍得到明显控制。

参考文献

- [1] 官会林,杨建忠,陈煜君,等.三七设施栽培根际微生物菌群变化及其与三七根腐病的相关性研究[J].土壤,2010,42(3):378-384.
- [2] 陆晓菊,官会林,张正芸,等.三七连作根际土壤微生物区系的 16S rRNA 系统遗传多样性分析[J].微生物学报,2015,55(2):205-213.
- [3] 孙玉琴,韦美丽,陈中坚,等.化感物质对三七种子发芽影响的初步研究[J].特产研究,2008(3):44-46.
- [4] 朱艳,杨莉,崔秀明,等.三七植株残体降解物对三七种子发芽的影响[J].特产研究,2013,35(2):40-43.
- [5] 刘莉,赵安洁,杨雁,等.三七不同间隔年限种植的土壤理化性状比较分析[J].西南农业学报,2013,26(5):1946-1952.
- [6] 刘大会,王丽,崔秀明,等.三七不同间隔年限种植土壤氮、磷、钾含量动态变化规律研究[J].中国中药杂志,2014,39(4):572-579.
- [7] 杨野,王丽,郭兰萍,等.三七不同间隔年限种植土壤中、微量元素动态变化规律研究[J].中国中药杂志,2014,39(4):580-587.

Study on Mechanism of Sanqi (*Panax notoginseng* F. H. Chen) Replant Failure and Its Alleviation Technology

YANG Jianzhong¹, GUAN Huilin², LIU Dahui³, SUN Yuqin¹, WEI Meili¹, WANG Yong¹

(1. Sanqi Research Institute of Wenshan, Wenshan University, Wenshan, Yunnan 663000; 2. College of Energy and Environmental Science, Yunnan Normal University, Kunming, Yunnan 650021; 3. Medicinal Plant Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan 650021)

Abstract: Replant failure of Sanqi (*Panax notoginseng* F. H. Chen) is a key issue for the development of its industrial. For years, our project team has conducted soil borne microbe cultivation, activities of soil enzymes test, analyses of physical and chemical traits of soil, and analyses of Sanqi rhizospheric compounds with Sanqi plants cultivated in soil of different year intervals and rhizosphere soil. The results showed that, the replant failure of Sanqi lied in four aspects, change of physical and chemical traits, evolution of microbe communities, decrease of enzyme activity, and accumulation of autotoxin in the soil; the ratios of amount of bacteria to fungi, bacteria to actinomycetes, and aerobic bacteria to anaerobic bacteria decreased with the aggravation of Sanqi root rot, and the ratios could be biological diagnosis indexes of fitness of a soil planting Sanqi; and a replant failure alleviation technology was optimized with the integration of acidity regulation, chemical fertilizer reduction, aeration increasing, and microbes rehabilitation of the soil.

Keywords: Sanqi (*Panax notoginseng* F. H. Chen); replant failure; soil microbe; activity of soil enzyme; soil nutrient; allylopathy