

高效稳定纤维素分解菌复合系 MC1 的酶活特性

朴哲 崔宗均 苏宝琳 路鹏 王伟东

(中国农业大学 农学与生物技术学院,北京 100094)

摘要 用羧甲基纤维素钠(CMC)糖化力法测定了一组高效稳定的纤维素分解菌复合系 MC1 纤维素酶活性表达特性。结果表明,显色反应产物的最大吸收波长在 490 nm 处,最适酶促反应温度为 60 ℃,最适反应 pH 6.0,较理想的酶促反应时间为 10 min;用不同温度和 pH 处理,MC1 的纤维素酶在 65 ℃ 以下和 pH 4.5~10.5 之间表现出很高的稳定性,但超出此范围,酶活性急剧下降直至丧失。

关键词 纤维素分解;菌;复合系;酶活

中图分类号 S 154.39; X 712

文章编号 1007-4333(2003)01-0059-03

文献标识码 A

Characteristics of cellulase activity of a composite microbial system-MC1 with efficient and stable cellulose degradation

Piao Zhe, Cui Zongjun, Su Baolin, Lu Peng, Wang Weidong

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract The expressing characteristics of cellulase activity of a stable and efficient composite microbial system was analyzed by measuring CMC (carboxymethyl cellulose) saccharogenic power. The results showed that the optimal measuring wavelength was at 490 nm, the optimal reacting temperature was at 60 ℃, The optimal pH was at 6.0 and the ideal reaction time was about 10 minutes if the activity of cellulase was measured using CMC saccharogenic power. The cellulase activity kept stable under the conditions that the temperature was below 65 ℃ and pH from 4.5 to 10.5. However, the cellulase activity lost quickly when the temperature and pH were out of the above ranges.

Key words cellulose degradation; microbe; composite microbial system; enzyme activity

纤维素是地球上最丰富的生物资源,约占植物总干重的 1/3~1/2^[1]。纤维素的生物降解对开辟新能源和防止其污染环境有重要意义,因此一直是生物技术领域研究重点^[2,3]。CMC 糖化力法是目前较常用的纤维素酶活测定手段,但纤维素复合酶的酶成分不同^[4],其酶活和分解能力也不相同。

史玉英等分离筛选纤维素分解菌群^[5],证实了多种菌混合物分解活性显著高于单一菌种,但未见那些菌群稳定性的报道。笔者等曾从 4 种高温堆肥中,分离了 4 组纤维素分解菌群,又将其组合后用多种限制性培养技术分离构建一组分解能力强而稳定的纤维素分解菌复合系 MC1^[6]。该复合菌系在 50 ℃ 静止液体培养下,48 h 把 0.5 g·100 mL⁻¹滤纸

崩解溶化,8 d 把 2 g·100 mL⁻¹稻草分解成糊状,其分解能力在连续继代培养下已维持 2 年以上。MC1 把自然界多种微生物的协同作用再现于人工培养物中,并可能成为比自然界的更稳定分解效率更高的群体。本研究以 CMC 糖化力法探讨 MC1 纤维素酶活特性及测定条件。

1 材料与方法

1.1 菌种

为本研究室分离构建的纤维素分解菌复合系 MC1^[6]。

1.2 培养条件

蛋白胨纤维素培养液 (PCS):0.5% 蛋白胨,

收稿日期:2002-07-02

基金项目:教育部留学基金资助项目

作者简介:朴哲,博士研究生(现深圳企业博士后芭田复合肥有限公司分站);崔宗均,副教授,联系作者,主要从事有机物微生物降解及有机废弃物资源再利用研究,E-mail:acuizj@cau.edu.cn

0.5%纤维素(新华滤纸),0.5% NaCl,0.2% CaCO₃,0.1%酵母粉。在50℃静止培养,使处于DO(溶氧量)为0.02~0.4 mg L⁻¹的微好氧条件。

1.3 纤维素粗酶液的制备

200 mL三角瓶中配制180 mL PCS,接入20 mL经活化的液体菌种,在55℃恒温下静置培养3 d,将培养物在3 500 r·min⁻¹条件下离心10 min,上清液即为粗酶液。

1.4 纤维素酶测定方法(CMC糖化力法)

1.4.1 底物溶液 准确配制的0.625%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)磷酸钠缓冲液(0.2 mol L⁻¹,pH 6.0)加热搅拌使之溶解。

1.4.2 3,5-二硝基水杨酸显色剂(DNS显色剂) 称取10 g 3,5-二硝基水杨酸溶于蒸馏水中,加入20 g氢氧化钠、200 g酒石酸钾钠和500 mL水,加热溶解后加入重蒸酚2 g、无水亚硫酸钠0.5 g,全部溶解后冷却,定溶至1 000 mL,贮于棕色瓶中,放置1周后过滤使用。

1.4.3 葡萄糖标准曲线制备 见文献[7]。

1.4.4 纤维素酶活性测定 取3支20 mL刻度试管,2支作平行样品,1支作空白对照。样品管各加1 mL粗酶液,及4 mL预热至60℃的底物溶液置60℃水浴,准确计时10 min取出,每管立即分别加入1 mL 2 mol L⁻¹氢氧化钠溶液和2 mL DNS显色液,摇匀后对照试管中加入1 mL粗酶液。将3支试管放入沸水中煮沸5 min,立即冷却,用蒸馏水定容至20 mL,用Varian公司产CARY 100 Bio紫外-可见分光光度仪测OD值。从标准曲线中计算产生的葡萄糖量,以每毫升粗酶液反应1 min释放1 μg葡萄糖的量为1个酶活力单位(U)。

1.5 MC1纤维素酶的CMC糖化力适宜测定条件

1.5.1 适宜测定波长 为确定MC1纤维素酶活性的最适测定波长,用紫外可见分光光度仪,在400~750 nm范围内对DNS与还原糖反应产物的吸光特性进行了扫描分析。

1.5.2 酶促反应最适pH 利用磷酸钠缓冲液把纤维素酶活测定中CMC底物溶液的pH调成3~11的不同值,其他条件同本文1.1~1.4节方法,分别测定酶活。

1.5.3 酶促反应最适温度 在本文1.4.4节中,酶促反应温度分别设为30、40、50、60、70、80℃,其他条件同本文1.1~1.4,分别测定酶活。

1.5.4 适宜酶促反应时间 在1.4.4节中,准备5

组样品,酶促反应时间分别控制为5、10、20、30、40 min,然后分别测定酶活,同时测定各反应体系的还原糖产生量。

1.6 在不同pH及温度处理下的MC1纤维素酶活稳定性

1.6.1 不同pH处理实验 用0.2 mol L⁻¹磷酸钠配制pH 2.5~12.5之间的7组缓冲液,分别加入25%粗酶液,在30℃下放置1 h后,按方法1.4测定剩余酶活力,以没用磷酸钠缓冲液处理的粗酶液(pH 6)的酶活力为100%评价酶活酸碱稳定性。

1.6.2 不同温度处理实验 将MC1粗酶液置于30~90℃的不同温度下处理30 min,按方法1.4测定剩余酶活力,以未做特殊处理的粗酶液作为对照(100%)评价酶活热稳定性。

2 结果与讨论

2.1 MC1纤维素酶的CMC糖化力适宜测定条件

2.1.1 适宜测定波长 对MC1粗酶液与DNS反应物的吸光特性用400~750 nm波长扫描结果,该棕色反应产物在520~460 nm间有较大的吸收值,最大吸收峰在490 nm处(图1),且在此波长下测定的OD值波动小,重复性较好。目前,不同研究者用DNS法测定还原糖中所采用的波长差异较大^[7-9],常见的有550 nm、540 nm(朱俭,1981)、520 nm、490 nm等。因此在特定条件下确定适合该条件的波长极其重要。结果证明490 nm的测定波长适合本研究条件。

2.1.2 酶促反应最适pH MC1纤维素酶在pH 4.0~7.0之间均有较高活性(图2),在pH 6.0处纤维素酶活性出现最高峰。目前报道的不同来源纤维素酶pH值适应范围相对较广,在4.0~8.0,而大多数真菌的纤维素酶最适pH值范围较为集中在4.4~4.6^[10]。可见MC1纤维素酶最适pH值相对接近中性,而且高活性、范围宽。这对适应变化较大的堆肥发酵过程,并在其中高效率分解纤维素意义重大。

2.1.3 酶促反应最适温度 MC1纤维素酶活遵循单峰曲线变化,峰值在60℃处,50℃时的活性仍很高,60℃以下的低温区的活性比高温区高(图3)。不同来源的纤维素酶最适酶促反应温度差别也较大(40~60℃之间),一般来说细菌纤维素酶反应最适温度高于真菌纤维素酶。可见MC1的酶促反应最适温度体现高温菌的特点,该温度略高于该菌最适培养温度50℃^[6]。

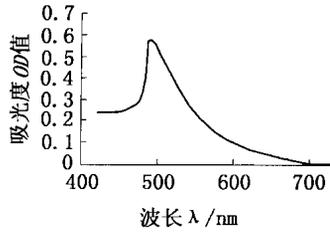


图 1 MC1 粗酶液与 DNS 反应物吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectrum of crude cellulase extract produced by microbial community MC1 reacting to chromogenic reagent DNS

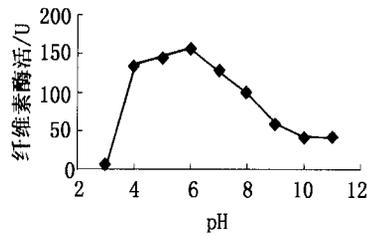


图 2 酶促反应 pH 对酶活的影响

Fig. 2 Effect of cellulase activity with different reacting pH value

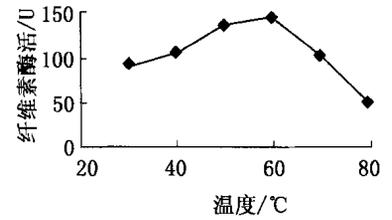


图 3 酶促反应温度对酶活的影响

Fig. 3 Effect of cellulase activity at different temperature

2.1.4 适宜酶促反应时间 从图 4 可见,在 5 ~ 15 min 之间,总还原糖产生量随时间的延长有明显增加,15 min 之后变化缓慢,但纤维素酶比活性随着时间延长而逐渐降低,在反应 5 min 时酶活性最高,但此时所产生的总还原糖绝对量太少,测定值对周围环境影响很敏感,其结果很不稳定,重复性较差。继而反应 10 min 时,还原糖产生量处在对数增长中期阶段,还原糖产生量已有明显的增加,而且,此时酶活性远高于反应 15 min 以上的处理。因此认为 MC1 纤维素酶促反应时间以 10 min 较理想。

以单位时间内产生的总还原糖量来表示酶活性大小是目前较为常用的纤维素酶活表示方法,酶促反应时间直接影响酶的比活力大小,时间过长或过短都不能准确反映纤维素分解菌的酶活性强度。由于,不同学者所采用的酶促反应时间不等(如 10, 20, 30 min),不同来源的纤维素酶活性大小很难在

同一水平上进行比较,因此确定适宜时间尤为重要。

2.2 在不同 pH 及温度处理下的 MC1 纤维素酶活稳定性

2.2.1 不同 pH 处理实验 用不同 pH 条件处理 MC1 酶液结果,在 pH 4.5 ~ 10.5 之间 MC1 的纤维素酶活性均达到 90 % 以上(图 5),在此 pH 范围内表现出很高的稳定性。MC1 对不同 pH 的培养基接种培养实验结果也表明在 pH 4 ~ 10 范围内经 24 h 均能把培养物 pH 缓冲到 7 左右。这种对 pH 的缓冲能力和稳定性,在以往的纯培养物中未见报道。

2.2.2 不同温度处理实验 将 MC1 粗酶液置于 30 ~ 90 的不同温度下处理 30 min,结果如图 6 所示,在 35 ~ 65 之间酶活性基本很稳定,有的处理甚至反比对照还高,但温度超过 65 ,酶活性开始迅速下降,到 75 时则完全丧失活性。

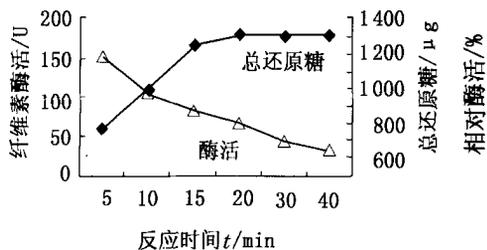


图 4 酶促反应时间对酶活的影响

Fig. 4 Effect of cellulase activity with different reacting time

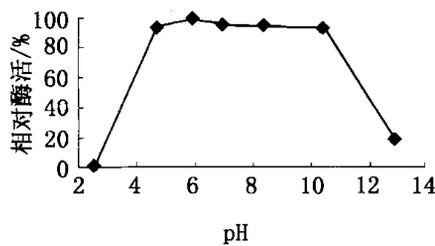


图 5 pH 处理对纤维素酶稳定性的影响

Fig. 5 Effect of cellulase stability under different pH treatment

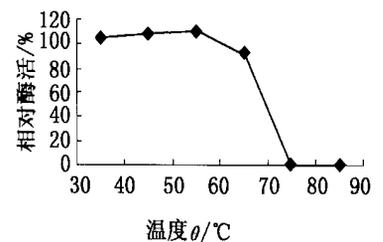


图 6 热处理对纤维素酶稳定性的影响

Fig. 6 Effect of cellulase stability at high temperature treatment

3 结 论

1) 用 CMC 糖化力法测定 MC1 系统的纤维素酶活性时,显色反应产物的最大吸收波长在 490 nm 处,最适酶促反应温度为 60 ,最适反应 pH 值为 6.0,较理想的酶促反应时间为 10 min。

2) MC1 的纤维素酶在 65 以下的温度和 pH 值 4.5 ~ 10.5 之间表现出很高的稳定性,但一旦超出此范围,酶的活性急剧下降直至丧失。

参 考 文 献

- [1] 张粉群,舒远才,郝军,等. 康氏木霉、纤维素酶转化蔗糖髓纤维素成糖及生产 SCP [J]. 微生物学通报, 1991, 18 (4): 214 ~ 220
- [2] M, Mandels, Sternberg D. Recent advances in cellulose technology [J]. J Ferment Technol, 1976, 54 (4): 267 ~ 286

(下转第 66 页)

京郊日光温室土壤养分特征的研究

王柳 张福墁 高丽红

(中国农业大学 农学与生物技术学院,北京 100094)

摘要 本试验旨在摸清目前京郊日光温室土壤养分特征,为合理施肥提供依据以保持温室土壤环境优化和蔬菜高产优质。对京郊日光温室土壤取样研究表明:土壤中有有机质和速效磷、钾含量分别为 $18.46 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 59.38 和 $178.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,处于中等偏低水平;而微量元素含量除硼外均处于高水平。随着种植年限的增加,日光温室土壤养分表现出增加的趋势。土壤有机质、全氮与日光温室种植年限呈极显著正相关,相关系数分别为 0.675 和 0.690 ;速效磷、有效锌含量与日光温室种植年限呈显著正相关,相关系数分别为 0.523 和 0.528 。经过一茬长季节果菜的种植,0~20 cm 土层中有有机质、全氮、碱解氮、速效磷和钾、有效铁、锰、铜含量均有极显著提高,增加幅度分别为 45.6% 、 22.5% 、 56.9% 、 75.4% 、 105.1% 、 102.5% 、 149.1% 和 31.4% 。它们在 20~40 cm 土层的增加幅度分别为 125.9% 、 47.9% 、 76.6% 、 90.5% 、 139.3% 、 174.3% 、 178.8% 和 61.4% ,比 0~20 cm 土层的增加幅度大。但 0~20 cm 土层有效硼却比种植前显著减少了 36.2% 。

关键词 北京郊区;日光温室;土壤养分

中图分类号 S 625.54

文章编号 1007-4333(2003)01-0062-05

文献标识码 A

Characteristics of soil nutrients in solar greenhouse in Beijing suburb

Wang Liu, Zhang Fuman, Gao Lihong

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract The experiment aimed to find out the characteristics of soil nutrients in solar greenhouse in Beijing suburb in order to maintain the soil environment and improve the quality and high yield vegetables. The results indicated that soil organic matter(SOM), available phosphorus and potassium were $18.46 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $59.38 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $178.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively, which were at a middle or low level of soil fertility. All micronutrients measured, except boron, were at the high level. The soil nutrients content in solar greenhouse increased with the number of cultivation years. Soil organic matter, total nitrogen, available phosphorus and zinc were closely related to the number of greenhouse cultivation years, with related coefficients of 0.675 , 0.690 , 0.523 and 0.528 , respectively. After fruit vegetables were cultivated for a long season, the soil organic matter, total nitrogen, available nitrogen phosphorus, potassium, iron, manganese, and copper in 0~20 cm layer of the soil increased by 45.6% , 22.5% , 56.9% , 75.4% , 105.1% , 102.5% , 149.1% and 31.4% , respectively. These increases in 20~40 cm layer of the soil were 125.9% , 47.9% , 76.6% , 90.5% , 139.3% , 174.3% , 178.8% and 61.4% , higher than in 0~20 cm soil layer. However, soil available boron in 0~20 cm soil layer significantly decreased by 36.2% .

Key words Beijing suburb; solar greenhouse; soil nutrients

目前北京的菜田面积已达 4.3 万 hm^2 以上,其中设施栽培面积占 27%,人均占有蔬菜设施栽培面积 10 m^2 ,居全国前列,而且发展势头强劲,预计北京设施蔬菜的面积将增加到占菜地总面积的 40%左右^[1]。但如何获得蔬菜设施栽培的优质高产,仍是

急需研究解决的重要课题。

日光温室是北京地区主要的设施类型,其土壤环境因子与露地蔬菜生产有很大的不同^[2],因此对京郊日光温室土壤养分特征进行研究,对合理施肥以保持温室土壤环境优化及蔬菜优质高产是非常必

收稿日期:2002-10-18

基金项目:北京市自然科学基金重点资助项目(6011002)

作者简介:王柳,博士研究生;张福墁,教授,博士生导师,主要从事设施园艺栽培生理研究, Tel: 010-62891879

要的。

目前对蔬菜设施土壤养分特征研究较少,只有山东、沈阳、山西等有关单位^[3~14]有些研究。绝大多数研究表明蔬菜设施土壤养分含量高于露地,存在养分累积情况,但这多是针对老菜地而言。北京市土肥站于 1997 年对北京市菜田土壤养分状况有过调查,但从近几年的发展来看,原来城市近郊的老菜田随城市建设与发展而被占用,现在 4 万多 hm^2 的菜田多为新开菜田^[1],设施栽培也不例外。无论从土壤肥力及理化性状都与老菜地有很大差别。本研究拟对京郊设施土壤养分特征及其与蔬菜高产优质的关系进行阐述,为发展的形势提供必要基础数据。

1 材料和方法

1.1 取样方法

2001-09 长季节栽培果菜定植前,在顺义、平谷、密云、通县、昌平、海淀 6 个蔬菜种植代表区县,各选择老、中、新 3 种不同使用年限的日光温室(老温室使用时间 > 5 年,6 个;中等年限温室 3~5 年,7 个;新温室 1~2 年,6 个),共 19 个点。定植前测定土壤肥力状况,每个温室按 S 形采样法,多点混合样,取样深度为 0~20 cm 和 20~40 cm。于 2002-05 果菜拉秧前,第 2 次取样测定。

1.2 测试方法

全氮用半微量凯氏法;有机质用重铬酸钾滴定法;碱解氮用碱解扩散法;速效磷、速效钾用 2% 碳酸铵浸提,ICP 法;有效铁、锰、铜、锌用 DTPA 浸提,ICP 法;有效硼用沸水浸提,ICP 法。

1.3 参照标准

参照京郊菜田土壤肥力评级标准(表 1),对土壤养分含量水平进行评估。

2 结果与分析

2.1 京郊日光温室土壤养分现状与分析

京郊 6 个代表区县的 19 个日光温室土壤平均养分含量见表 2。

参照“京郊菜田土壤肥力评级标准”进行比较,可以看出这些日光温室土壤养分含量平均水平为:有机质和有效磷处于低水平;有效钾处于中等水平;微量元素中的有效铁、铜、锌、锰处于高水平,而有效

硼处于低水平。总之,土壤的大量元素都处于中等偏低水平,而微量元素除硼外则处于高水平。

表 1 京郊菜田土壤肥力评级标准
Table 1 Standard for grading the soil fertility in vegetable cropland in Beijing $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

测定项目	肥力分级标准				
	高	较高	中	低	极低
有效磷(P_2O_5)	>130	130~90	90~60	60~30	<30
有效钾(K_2O)	>250	250~200	200~150	150~125	<125
有效铁	>12	9.0~12	6.0~9.0	4.5~6.0	<4.5
有效铜	>3.0	3.0~2.0	2.0~1.0	0.5~1.0	<0.5
有效锌	>4.0	2.0~4.0	1.0~2.0	0.5~1.0	<0.5
有效锰	>12	9.0~12	6.0~9.0	4.0~6.0	<4.0
有效硼	>2.1	1.3~2.0	0.8~1.2	0.4~0.7	<0.3
有机质/ %	>3.0	3.0~2.5	2.5~2.0	2.0~1.5	<1.5

注:引自《北京土壤》,北京市农业区划办公室编,1980;有效硼标准来源于肖千明(1997)

对数据进一步分析可以看出不同土壤肥力水平的日光温室所占比例也不相同,其中有机质,有效磷和有效钾含量在低水平以下的样本分别占总样本量的 78.9%、36.8% 和 52.6%。微量元素的状况较好,有效铁、铜、锌、锰的含量在较高水平以上的样本分别占总样本量的 79%、79%、84.2% 和 79%;但有效硼的含量在低水平以下的占总样本量的 52.7%。

2.2 京郊日光温室土壤养分状况与历史状况的比较

北京市土肥站曾于 1997 年对京郊保护地土壤养分状况进行过调查。以本次 2001 年京郊 19 个日光温室土壤肥力状况的测试数据与之进行比较(表 2),可以看出如下趋势:当前日光温室土壤的有机质、速效磷比 1997 年有大幅度降低,分别下降 20.2% 和 73.6%,速效钾变化不大。因为新建日光温室土壤大多是原来的粮田,有机质含量水平较低,所以为提高其肥力水平符合蔬菜作物的要求,必需增加有机肥的施用。但土壤速效氮水平却比 1997 年有大幅度的增加,增加了 89.9%,全氮增加了 14%。微量元素铜、锌、锰也比 1997 年有大幅度提高,在调查中发现有农民一季黄瓜使用微肥达每栋 (466.7 m^2) 28 kg,此微肥为优质铁锰铜锌复合肥,不含硼。所有调查点的日光温室中各微量元素(硼除外)均处于中等以上和较高水平,有些已达到了很高的水平,在此基础上再盲目大量施用微肥,会引起微量元素的超量毒害。但绝大多数调查点的土壤有效硼含量却处于中等偏下的水平,21% 达到极低水平,所以适量补充有效硼是必要的。

表2 京郊日光温室2001年土壤养分与1997年的比较

Table 2 Differences of soil nutrients in solar greenhouse between 2001 and 1997 in Beijing

年份	有机质	全氮	碱解氮	有效磷	有效钾	有效铜	有效锌	有效锰	有效铁	有效硼
	%	%	mg kg ⁻¹							
2001	1.846	0.138	201.263	59.38	178.10	3.351	8.666	12.30	17.822	0.667
1997	2.31	0.121	106	223.4	176.1	2.91	5.75	7.70	27.5	—
增幅/%	-20.2	14	89.9	-73.6	1.1	15.2	50.7	59.7	-35.3	—

2.3 不同种植年限对日光温室土壤养分的影响

19个点的结果表明,随着种植年限的增加,日光温室土壤养分平均含量也随之增加。不同种植年限的温室土壤大量元素除碱解氮外,各元素及有机质含量均有显著差异(表3)。其中5年以上的老温室比1~2年的新温室土壤有机质增加1.106%,增幅达83.8%。全氮含量增加0.089%,增幅达96.7%。此外,速效磷、速效钾也比新温室分别增加58.41和146.15 mg·kg⁻¹,增幅分别达305.4%和153.8%。微量元素除锰以外其他各种元素含量也有显著差异(表3)其中5年以上的老温室比1~2年的新温室土壤速效铜、锌、铁、硼的含量分别增加2.562、16.969、13.319和0.535 mg·kg⁻¹;增幅分别达到108.8%、827.4%、102.8%和156.0%。

将19个日光温室0~20 cm土壤养分含量与温室的种植年限进行相关性分析可以看出,二者之间

呈很好的线性关系。其中全氮、有机质、与温室种植年限呈极显著正相关的关系,相关系数分别达到0.690和0.675,速效磷也与温室种植年限呈显著正相关的关系,相关系数为0.523。微量元素中有效锌也与温室种植年限呈显著正相关,相关系数为0.528。

从19个点的数据来看,京郊日光温室20~40 cm的亚表层土壤的平均养分含量比0~20 cm耕层低,也表现出随日光温室种植年限的增加而增加的趋势(表3)。但其有机质与温室种植年限的线性关系不强,速效磷与温室种植年限呈极显著正相关,相关系数为0.625。微量元素有效锌也与温室种植年限呈极显著正相关,相关系数为0.719,有效硼与温室种植年限呈显著正相关,相关系数为0.519。这说明人为的耕作有利于耕层土壤有机质的积累而对亚表层土壤的有机质影响相对较小。

表3 京郊不同种植年限日光温室土壤养分状况比较

Table 3 Variances compare of soil nutrient in different cultivation years solar greenhouse in Beijing mg kg⁻¹

测定项目	>5年老温室		3~5年中温室		1~2年新温室	
	0~20 cm	20~40 cm	0~20 cm	20~40 cm	0~20 cm	20~40 cm
有机质/%	2.426	0.926	1.800	0.950	1.320	0.831
全氮/%	0.181	0.085	0.141	0.081	0.092	0.071
碱解氮	205.0	113.04	238.53	140.17	154.05	90.21
有效磷(P ₂ O ₅)	77.53	54.25	78.32	40.25	19.12	14.66
有效钾(K ₂ O)	241.19	171.06	195.21	116.35	95.04	74.58
有效铜	4.917	2.299	2.863	1.727	2.355	1.706
有效锌	19.027	4.931	5.455	2.939	2.051	1.260
有效锰	15.313	9.992	12.156	8.443	9.455	7.165
有效铁	26.273	14.949	14.75	9.843	12.95	8.801
有效硼	0.878	0.458	0.763	0.348	0.343	0.195

2.4 定点监测日光温室果菜长季节栽培种植后土壤养分变化

京郊大多数日光温室用于黄瓜、番茄的越冬栽培,一般于当年9—10月定植到第2年5—6月拉秧,种植期长达8~9个月。本试验共计调查了14

栋温室,对种植前后土壤养分的变化进行了定点测试。试验结果表明土壤大量元素的变化为极显著,0~20 cm土层全氮、有机质、碱解氮、速效氮、速效磷、速效钾分别比种植前增加了0.032%、0.862%、126.185 mg·kg⁻¹、41.396 mg·kg⁻¹、182.943 mg·

kg^{-1} , 增加幅度为 22.5%、45.6%、56.9%、75.4% 和 105.1%; 20~40 cm 土层全氮、有机质、碱解氮、速效氮、速效磷、速效钾分别比种植前增加了 0.038%、1.104%、94.704 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、27.394 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、165.532 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 增幅为 47.9%、125.9%、76.6%、90.5% 和 139.3%。由于 20~40 cm 的土壤各种元素的基础含量值低, 所以各元素的增加幅度大于 0~20 cm 表层土壤。经过一茬种植以后日光温室土壤中微量元素有效铜、锰、铁也有了极显著的变化, 0~20 cm 土层中比种植前增加了 0.987、18.086 和 17.844 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 增幅为 31.4%、149.1% 和 102.5%; 20~40 cm 土层比种植前增加了 1.092、14.989 和 18.022 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 增幅为 61.4%、178.8% 和 174.3%, 增幅同样大于 0~20 cm 土层。但 0~20 cm 土层中的有效硼比种植前降低了 0.253 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 且差异显著, 降低幅度为 36.2%。

本试验已证明京郊日光温室土壤中的硼处于低

水平, 经过一季的种植以后又显著降低。蔬菜需硼量高, 是禾本科作物的几倍、十几倍, 对土壤缺硼敏感, 表现出叶变暗绿色或黄褐色、萎缩、叶柄木栓化、根部变黑褐色、花器官形成受阻碍等缺硼症状^[15]。因此今后应该特别注意微量元素硼的施用。试验结果还表明, 经过一季种植后, 土壤有机质增加了 45.6%, 差异极显著, 与前人在大田种植中得出的经过一季种植土壤有机质不会有显著变化的结论不同, 这可能与京郊日光温室土壤有机质基础含量低, 菜农为提高土壤肥力大量施用有机肥有关。经调查, 京郊日光温室有机肥的施用量非常大, 平均施用鸡粪 195 $\text{m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$ 或膨化鸡粪 12 495 $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ (表 4) 是山东寿光日光温室有机肥施用量的 4 倍左右。施用的有机肥以鸡粪为主, 对土壤各种速效养分包括微量元素的影响显著, 再加上无机肥的施用, 这可能也是造成京郊日光温室经一季果菜的长季节栽培后, 各种速效养分极显著增加的原因。

表 4 京郊日光温室一季果菜种植肥料施用量

Table 4 Fertilizer dosage for fruit vegetable cultivation in solar greenhouse in Beijing

温室编号	温室面积/ m^2	基肥量/kg	追肥量/kg
1,2 同	333.4	鸡粪 10 方, 二铵 50, 硫酸钾 50, 复合肥 50	二铵 50, 尿素 15, 硫酸钾 15, 硫酸铵 50, 复合肥 25, 微肥 28
3	600.0	鸡粪 7 方, 复合肥 50, 硫酸钾 25	尿素 150, 碳酸铵 150, 硫酸钾 150
4,5 同	400.0	鸡粪 6 方, 硫酸钾 50	碳酸铵 200
6	400.0	鸡粪 4 方, 二铵 25, 硫酸钾 25	碳酸铵 250
8	533.4	膨化鸡粪 700, 复合肥 50	未统计
10	300.0	膨化鸡粪 500, 复合肥 50	未统计
11	200.0	膨化鸡粪 150, 二铵 10	未统计
12	466.7	鸡粪 2 000, 二铵 50, 尿素 50, 硫酸钾 50	复合肥 480
15	600	膨化鸡粪 200, 牛粪 3 000, 麻渣 50, 尿素 25	沼液 1 600, 尿素 20
16	600	膨化鸡粪 200, 牛粪 3 000, 麻渣 50	沼液 1 600
17	600	膨化鸡粪 200 kg, 牛粪 3 000 kg, 麻渣 50 kg	沼液 1 600 kg
18	799.9	鸡粪 20 方, 牛粪 20 方	二铵 30, 尿素 30

3 结论与讨论

3.1 结论

1) 京郊 19 个点日光温室土壤调查与测试数据表明, 大量元素及有机质含量与一般蔬菜保护地肥力水平比较, 都处于中等偏低水平, 而微量元素含量除硼外均处于高水平。

2) 随着种植年限的增加, 京郊 19 个点日光温室土壤养分状况表现出增加的趋势, 有机质、全氮与日光温室种植年限呈极显著的正相关, 相关系数分

别为 0.675 和 0.690, 速效磷、有效锌含量也与日光温室种植年限呈显著的正相关, 相关系数分别为 0.523 和 0.528。

3) 经过一茬黄瓜或番茄的长季节栽培, 京郊日光温室土壤中全氮、有机质、碱解氮、速效磷和钾、有效铁、锰、铜含量均有极显著提高, 20~40 cm 土层增加幅度大于 0~20 cm, 但 0~20 cm 土层有效硼却比种植前有显著的减少。

3.2 讨论

目前, 京郊日光温室多为新建温室, 是在原有粮

田基础上建起来的,因而土壤有机质含量低,肥力水平比老温室菜田差,对京郊日光温室土壤养分特征的研究证实了这一点。因此应重视有机肥的施用,以大力提高土壤有机质含量,这不仅为了提高土壤肥力,更重要的是为改善土壤的理化性状,有利蔬菜根系的发育,也是保持土壤可持续利用的一条重要措施。在施足有机肥的基础上还应注意速效氮、磷、钾肥的配合施用,不应偏施氮肥,忽视了其他元素的施用。超量不平衡施肥不但对蔬菜的生育没有好处,还将造成土壤利用的不可持续,出现诸如土壤的次生盐渍化等问题,同时也增加了肥料成本投入,影响经济效益。对于微量元素一定要根据土壤分析的结果有针对性地进行施用,本试验结果表明京郊19个点中,大多数日光温室的有效铁、锰、铜、锌都处于较高的水平,而硼的水平较低,因此在种植中应注意适量地补充硼肥。

参 考 文 献

- [1] 王树忠. 北京郊区蔬菜生产现状及展望 [J]. 北京农业科学(增刊), 1999, 17: 1~5
- [2] 张福瓚主编. 设施园艺学 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2001. 185~187
- [3] 贾继文, 李文庆, 陈宝成. 山东省蔬菜大棚土壤养分状况与施肥现状的调查研究 [A]. 见: 谢建昌, 陈际型, 等编著. 菜园土壤肥力与蔬菜合理施肥 [C]. 南京: 河海大学出版社, 1997. 73~75
- [4] 刘兆辉, 聂燕, 刘雅俐, 等. 山东省保护地土壤养分状况及施肥问题, 设施农业相关技术 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999
- [5] 梁成华. 蔬菜保护地土壤肥力特征及其调控研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 1996
- [6] 刘志明. 设施土壤的肥力特征及酶活性 [J]. 土壤, 1994, 26(5): 273~275
- [7] 赵凤艳, 吴凤之, 刘德, 等. 大棚菜地土壤理化特性的研究 [J]. 土壤肥料, 2000, (2): 11~13
- [8] 肖千明, 高秀兰, 娄春荣, 等. 辽宁省保护地土壤肥力现状分析 [A]. 见: 谢建昌, 陈际型, 等编著. 菜园土壤肥力与蔬菜合理施肥 [C]. 南京: 河海大学出版社, 1997. 52~56
- [9] 孟鸿光, 李中, 刘乙俭, 等. 沈阳城郊温室土壤特性调查研究 [J]. 土壤通报, 2000, 31(2): 70~72
- [10] 田应兵. 荆州市郊区菜地土壤肥力特征及合理施肥 [J]. 湖北农学院学报, 1997, 11(1): 36~39
- [11] 谢学东, 李加友. 蔬菜大棚土壤肥力状况研究 [J]. 南京农专学报, 1999, 15(1): 26~29
- [12] 高弼模, 于淑芳, 高贤彪, 等. 山东省大棚土壤养分调查 [A]. 见: 李晓林, 张福锁, 米国华主编. 平衡施肥与可持续优质蔬菜生产 [C]. 北京: 中国农业大学出版社, 2000. 48~51
- [13] 陈永智, 丁光国, 胡永军, 等. 寿光大棚蔬菜土壤养分调查 [A]. 见: 李晓林, 张福锁, 米国华主编. 平衡施肥与可持续优质蔬菜生产 [C]. 北京: 中国农业大学出版社, 2000. 52~58
- [14] 程季珍, 任继海, 亢青选, 等. 山西省菜田土壤肥力特征与蔬菜施肥问题 [A]. 见: 李晓林, 张福锁, 米国华主编. 平衡施肥与可持续优质蔬菜生产 [C]. 北京: 中国农业大学出版社, 2000. 76~92
- [15] 鸠田永生. 蔬菜营养生理与土壤 [M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1982. 252~253
- (上接第 61 页)
- [3] Haruta S, Cui Z, Huang Z, et al. Construction of a stable microbial community with high cellulose-degradation ability [J]. Apply Microbiol Biotechnol, 2002, 59: 529~534
- [4] 日本・ルロ・ス学会编. ルロ・ス事典 [M]. 东京: 朝仓邦造, 2000. 300~408
- [5] 史玉英, 沈其荣, 姜无忌, 等. 纤维素分解菌群的分离和筛选 [J]. 南京农业大学学报, 1996, 19(3): 39~62
- [6] 崔宗均, 李美丹, 朴哲, 等. 一组高效稳定纤维素分解菌复合系 MC1 的筛选及功能 [J]. 环境科学, 2002, 23(3): 36~39
- [7] 王琳, 刘国生, 王林富, 等. DNS 法测定纤维素酶活力最适条件研究 [J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 1998, 26(3): 66~69
- [8] 富田作藏. 还原糖的定量法 [M]. 东京: 学会出版社・シタ, 1989
- [9] 管斌, 丁友昉, 谢来芬, 等. 还原糖测定方法的规范 [J]. 无锡轻工大学学报, 1999, 18(3): 74~78
- [10] 孙英华, 梁静思, 胡新文, 等. 大型腐生真菌 *Pleurotus sajor caju* 与木霉菌 *Trichoderma viride* 的纤维素酶活力比较研究 [J]. 热带作物学报, 1995, 16(1): 99~103