

三七连作土壤对其种子萌发及幼苗生长的影响^①

张子龙¹, 王文全¹, 杨建忠², 崔秀明²

(1 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2 云南省文山三七研究院, 云南文山 663000)

摘要: 为明确三七连作的障碍效应, 以不同连作年限及不同空间分布的土壤为基质, 通过发芽和幼苗生长试验, 研究了连作土壤对三七种子萌发及幼苗生长的影响。结果表明: ①与新土相比, 连作土壤处理下三七种子萌发的最大速度加快, 种子的发芽势变化不大, 而发芽率、发芽指数和快速发芽期则明显呈降低或变短的趋势; ②随土壤连作年限的增加, 三七幼苗的成苗率和株高均显著下降 ($p < 0.05$); ③与根区外土相比, 根区土和根区下土显著降低了三七种子的发芽势、发芽率和发芽指数, 对种子萌发的最大速度也呈降低作用, 但却使三七幼苗的地上生物量明显增加。连作土壤对三七种子的萌发及幼苗的生长均表现明显的障碍效应, 化感(自毒)作用可能是造成三七连作障碍的原因之一。

关键词: 三七; 连作土壤; 障碍效应; 种子萌发; 幼苗生长

中图分类号: S154

三七 (*Panax notoginseng* (Burk.) F.H. Chen), 又名田七、山漆和金不换, 是五加科人参属植物, 为我国特有的名贵中药材, 具有显著的散瘀止血, 消肿定痛功效^[1]。三七主要分布于我国云南文山州和广西百色地区, 目前, 野生三七已十分罕见, 现三七均为人工栽培^[2]。

近年来, 随着三七在降低血脂、抗炎、抗肿瘤及增强免疫力等方面功效的相继报道^[3], 人们对三七药用、保健价值的认识逐渐加深, 其需求量也逐年增加。因此, 三七的栽种面积逐年扩大, 其栽培过程中的土壤环境恶化及连作障碍危害也日益突出。目前, 三七连作障碍的发生面积高达总种植面积的 15%, 每年由此造成的损失达上千万元, 连作障碍已成为三七栽培中亟待解决的难题^[4-6]。但目前对于三七连作障碍的相关报道较少, 本研究通过发芽及幼苗生长试验, 比较分析了不同连作年限及不同空间分布土壤对三七种子萌发及幼苗生长的影响, 旨在明确连作对三七种子萌发及幼苗生长的障碍效应, 同时对三七连作障碍形成的可能原因进行初步探讨, 以期在生产上克服连作危害提供可能途径和理论依据, 这对于三七生产的可持续发展有重要的理论和实践意义。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤采自云南省文山州砚山县盘龙彝族乡拖支白村三七种植基地。该基地处于 104°23'45" E,

23°18'06" N, 海拔 1487 m, 年平均气温 16.3℃, 年降水量 996 mm, 土壤属于由碳酸盐岩发育而成的红壤。

2008 年 1 月分别在连作 0 年(新地)、1 年、2 年和 3 年三七的地块上采集土样, 各地块处于相邻位置, 土壤理化性状基本相同, 前作三七长势一致。按照土壤空间分布, 在不同连作年限的四块地上分别采集三七畦内的土壤(20 cm 土层)、三七畦下方土壤(0~20 cm)以及三七畦两侧土壤(0~20 cm), 依次称为根区土、根区下土和根区外土(图 1)。土样均按五点法采集混匀, 共采集 12 份土样。

三七种子由文山三七研究院栽培研究所提供, 种子于 2008 年 1 月采摘后用湿沙(含水量 25% 左右)埋藏, 5℃ 避光保存。

1.2 试验设置

将各供试土样于室内风干, 去除石块、植物根系等杂物, 过 2 mm 筛, 充分混匀。从每份土样中取 90 g, 均匀平铺于 3 个事先灭菌的培养皿($\Phi=90$ mm)中, 30 g/皿。加入适量蒸馏水(20 ml/皿), 使土壤湿润。选取大小一致、健康饱满的三七种子(经过后熟处理), 用 3% 的次氯酸钠(NaClO)溶液表面消毒处理 5 min, 经蒸馏水反复冲洗后均匀播于培养皿中, 每皿播 50 粒。将所有处理置于室内自然光照下培养, 培养温度为 20℃ 左右。

播种后次日开始, 每天记录萌发的种子数, 并及时补充等量的蒸馏水, 以保持土壤湿润。连续观察 20 天, 计算发芽势、发芽率和发芽指数等。播后 50 天

①基金项目: 国家科技支撑计划项目(2006BAI09B03)和中国博士后科学基金项目(20080440337)资助。

作者简介: 张子龙(1976—), 男, 山西天镇人, 博士后, 主要从事中药材规范化栽培方面研究。E-mail: zhangzilong2000@yahoo.com.cn

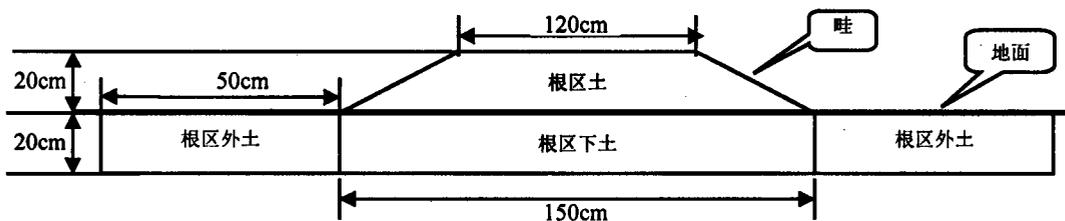


图 1 不同空间分布土样采集示意图

Fig. 1 Schematic diagram of spatial distribution of soil samples

时调查每皿现存的幼苗数，计算成苗率；每皿选取长势一致的三七幼苗 10 株，测定其株高、地上和地下生物量等生长指标，计算根冠比。

1.3 指标测定

播种后 10 天统计种子的发芽势，发芽势 (%) = (萌发的种子数/播种数) × 100；播种后 20 天统计发芽率和发芽指数，发芽率 (%) = (萌发的种子数/播种数) × 100，发芽指数 = $\sum(Gt/Dt)$ ，其中 Gt 为 t 日内的发芽数， Dt 为相应的发芽天数^[7-8]。收获时统计每皿的成苗率，成苗率 (%) = (现存幼苗数/播种数) × 100。采用常规方法测量株高，之后将植株按照地上、地下部分开，分别置于烘箱内，80℃下烘至恒重，然后在精度为 0.001 g 的天平上称量；根冠比 (R/S) = 地下生

物量/地上生物量。

所有试验数据均在 DPS7.05 平台上采用 ANOVA 和 LSD 法进行统计分析^[9]。

2 结果与分析

2.1 三七种子萌发过程的动态模拟

不同连作年限及不同空间分布土壤条件下，三七种子的发芽曲线具有“S”型曲线特征（图 2）。利用 Logistic 方程： $Y = c/[1 + \text{EXP}(a - bt)]$ 对三七种子萌发过程进行动态模拟，其中 Y 为发芽率 (%), t 为发芽天数, a 、 b 、 c 为系数，模拟结果见表 1。表中各模拟方程都具有极显著的意义，这说明三七种子的萌发过程可以很好地利用 Logistic 方程进行拟合。

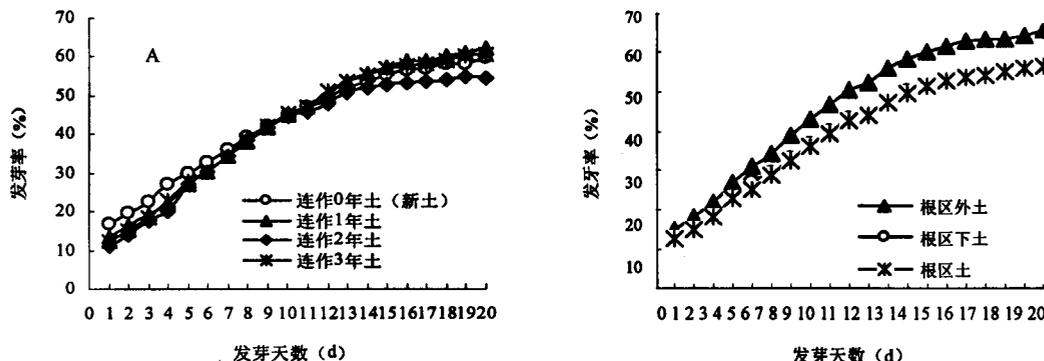


图 2 不同连作年限 (A) 及不同空间分布 (B) 土壤条件下三七种子的发芽曲线

Fig. 2 Germination curves of *Panax notoginseng* seed in different soils with various years of continuous cropping(A) and various spatial distributions (B)

表 1 不同土壤条件下三七种子萌发的 Logistic 方程及其特性

Table 1 Logistic equations and the characteristics of seed germination in *Panax notoginseng* under different soil conditions

处理	模拟方程	F-value	V_{max} (%/d)	T_{maxv} (d)	S_{lg} (d)
连作 0 年土 (新土)	$Y = 62.1365/[1 + \text{EXP}(1.2153 - 0.2192t)]$	89.2699**	3.41	6	0~12
连作 1 年土	$Y = 64.7117/[1 + \text{EXP}(1.5791 - 0.2419t)]$	241.3392**	3.91	7	1~12
连作 2 年土	$Y = 55.1411/[1 + \text{EXP}(1.7256 - 0.3191t)]$	366.0628**	4.40	5	1~10
连作 3 年土	$Y = 61.9909/[1 + \text{EXP}(1.6832 - 0.2709t)]$	391.9650**	4.20	6	1~11
根区土 (不同年限平均值)	$Y = 57.7328/[1 + \text{EXP}(1.5293 - 0.2556t)]$	209.8970**	3.69	6	1~11
根区下土 (不同年限平均值)	$Y = 57.2905/[1 + \text{EXP}(1.5490 - 0.2632t)]$	245.1792**	3.77	6	1~11
根区外土 (不同年限平均值)	$Y = 67.2050/[1 + \text{EXP}(1.5107 - 0.2594t)]$	404.0325**	4.36	6	1~11

注: ** 表示在 $p < 0.01$ 水平上显著。

对 Logistic 方程进行一阶微分, 得出发芽率增加速度 (V) 方程, 由此方程可以求得三七种子发芽率的增加速度, 即每天发芽率的增加百分数 (%)。

$$V = \frac{dy}{dt} = \frac{c \cdot b \cdot e^{a-bt}}{(1 + e^{a-bt})^2} \quad (1)$$

上述发芽率增加速度方程是一条连续变化的单峰曲线, 曲线高峰即发芽率增加速度的极大值。在这个极值点之前, 随着发芽天数的推移, 发芽率增加速度也随着增大; 而在这点之后, 随发芽天数的推移, 增加速度不断减小。为此, 三七种子发芽率增加速度极大值出现的时期是发芽率增加曲线的关键点, 即增加曲线的拐点。对上式求一阶导数, 得出发芽率增加的速度方程:

$$y'' = \frac{c \cdot b^2 \cdot e^{a-bt} \cdot (e^{a-bt} - 1)}{(1 + e^{a-bt})^3} \quad (2)$$

令 $y'' = 0$, 必使 $e^{a-bt} - 1 = 0$, 即 $e^{a-bt} = 1$, $a-bt = 0$, $t = a/b$, 此即极值点出现的时间 T_{maxv} ; 相应的三七种子萌发的最大速度 $V_{max} = bc/4$ 。

再对上式求一阶导数, 并令其等于 0, 得一元二次方程, 解方程, 由此求得三七种子萌发过程中的两个特征点:

$$x_1 = \frac{a - \ln(2 + \sqrt{3})}{b}; \quad x_2 = \frac{a - \ln(2 - \sqrt{3})}{b} \quad (3)$$

x_1 和 x_2 分别代表发芽率增加曲线上的两个突变点。在 x_1 之前和 x_2 之后发芽率增加缓慢, 在 x_1 和 x_2 之间, 发芽率增加迅速, 这段时期称为三七种子的快速发芽时期 (fast germination stage, S_{fg})。

根据各模拟方程求得的三七种子萌发最大速度 V_{max} 、达到最大速度的时间 T_{maxv} 及快速发芽时期 S_{fg} 亦列于表 1。由表 1 中可以看出, 连作对种子萌发最大速度 V_{max} 和快速发芽时期 S_{fg} 有一定影响, 而对达到最大萌发速度的时间 T_{maxv} 影响不大。新土处理下的 V_{max} 为 3.41%/d, 而连作 1 年、2 年和 3 年土壤处理下

的 V_{max} 依次为 3.91%/d、4.40%/d 及 4.20%/d, 可见连作有使三七种子萌发最大速度增加的趋势。新土处理下三七种子的快速发芽期 S_{fg} 为 12 天, 而连作土壤处理下为 9~11 天, 略有变短。此外, 由表 1 还可看出, 不同空间分布土壤条件下, 三七种子的 V_{max} 也有明显差异, 具体表现为根区外土 > 根区下土 > 根区土。可以看出, 根区土壤处理的 V_{max} 最小, 表明三七根区土壤对其种子萌发有一定的抑制作用。

2.2 连作土壤对三七种子发芽指标的影响

土壤的连作年限及空间分布对三七种子的发芽指标存在一定影响。由表 2 可知, 连作年限只对三七种子的发芽率有显著影响, 而空间分布对三七种子的发芽势、发芽率和发芽指数等发芽指标均有显著或极显著影响。由此可见, 土壤的空间分布比连作年限更易对三七种子萌发产生影响; 与发芽势和发芽指数相比, 三七种子的发芽率更易受外界环境条件影响。

不同土壤条件下, 三七种子的发芽势、发芽率及发芽指数等都存在一定差异 (表 3)。总体而言, 连作对三七种子的发芽势影响不大, 但可使三七种子发芽率和发芽指数明显降低。本试验中, 连作 2 年土上三七种子的发芽率和发芽指数最低, 依次为 58.15% 和 5.09, 分别比新土上的发芽率和发芽指数降低 8.18% 和 16.56%。从土壤的空间分布来看, 根区外土上三七种子的发芽势、发芽率和发芽指数均为最高, 显著或极显著高于根区土和根区下土。

表 2 不同土壤条件对三七种子发芽指标影响的方差分析 (F 值)
Table 2 ANOVA of germination indexes of *Panax notoginseng* under different soil conditions (F-value)

变异来源	发芽势	发芽率	发芽指数
连作年限	0.139	3.733*	0.885
空间分布	3.586*	5.705**	3.974*
连作年限×空间分布	0.986	2.806*	1.243

注: *, ** 分别表示在 $p < 0.05$ 和 $p < 0.01$ 水平上差异显著, 下同。

表 3 不同土壤条件下三七种子发芽指标间的差异

Table 3 Differences in germination indexes of *Panax notoginseng* under different soil conditions

处理	发芽势 (%)	发芽率 (%)	发芽指数
连作 0 年土 (新土)	44.44 a	63.33 ab	6.10 a
连作 1 年土	44.44 a	65.93 a	5.54 a
连作 2 年土	44.07 a	58.15 b	5.09 a
连作 3 年土	46.67 a	61.48 ab	5.48 a
根区土 (不同年限平均值)	42.78 ab	59.72 bB	5.19 b
根区下土 (不同年限平均值)	41.94 b	58.61 bB	5.15 b
根区外土 (不同年限平均值)	50.00 a	68.33 aA	6.32 a

注: 表中字母表示多重比较的结果, 小写字母表示在 $p < 0.05$ 水平上差异显著; 大写字母表示在 $p < 0.01$ 水平上差异显著, 下同。

2.3 三七连作土壤对其幼苗生长的影响

不同土壤条件下三七幼苗主要生长指标的方差分析结果见表 4。可以看出,土壤的连作年限对三七的成苗率和株高有极显著或显著影响。此外,土壤的空间分布对三七植株的地上部生物量也有显著影响。不同土壤条件对三七幼苗地下生物量、总生物量及根冠比等其他生长指标的影响未达到显著水平。

不同的土壤连作年限和空间分布条件下,三七幼苗主要生长指标间的差异见表 5。由表 5 中可知,随

连作年限的增加,三七的成苗率和株高显著下降(r 分别为 -0.9777^* 和 -0.9940^{**})。本试验中,新土上三七的成苗率和株高分别为 41.78% 和 8.43 cm,而连作 3 年土上的这两个指标则分别降至 24.48% 和 6.73 cm,降幅分别达到 41.41% 和 20.17%。此外还可发现,与根区外土相比,根区土和根区下土上三七幼苗的地上生物量明显增加。尤其是根区下土上三七幼苗的地上生物量,比对照(根区外土)增加 45.53%,差异达到显著水平。

表 4 不同土壤条件对三七幼苗生长影响的方差分析(F-value)

Table 4 ANOVA of seedling growth indexes of *Panax notoginseng* under different soil conditions (F-value)

变异来源	成苗率	株高	地上生物量	地下生物量	总生物量	根冠比(R/S)
连作年限	4.732**	3.155*	1.065	0.247	0.341	0.093
空间分布	1.141	1.221	5.019*	0.358	1.473	1.758
连作年限×空间分布	1.395	2.143	0.303	0.314	0.268	0.485

表 5 土壤的连作年限和空间分布对三七幼苗生长的影响

Table 5 Differences in seedling growth indexes of *Panax notoginseng* under different soil conditions

处理	成苗率 (%)	株高 (cm)	地上生物量 ($\times 10^{-3}$ g/株)	地下生物量 ($\times 10^{-3}$ g/株)	总生物量 ($\times 10^{-3}$ g/株)	根冠比 (R/S)
连作 0 年土(新土)	41.78 a A	8.43 a	9.33 a	2.25 a	11.52 a	0.25 a
连作 1 年土	39.63 ab AB	7.99 a	10.53 a	2.32 a	12.87 a	0.27 a
连作 2 年土	31.11 bc AB	7.21 a	9.84 a	2.41 a	12.24 a	0.28 a
连作 3 年土	24.48 c B	6.73 b	11.31 a	2.53 a	14.45 a	0.25 a
根区土(不同年限平均值)	38.56 a A	8.14 a	9.26 b	2.37 a	11.68 a	0.28 a
根区下土(不同年限平均值)	32.67 a A	7.78 a	13.01 a	2.22 a	15.30 a	0.20 b
根区外土(不同年限平均值)	31.78 a A	6.85 a	8.94 b	2.50 a	11.41 a	0.29 a

3 讨论

三七是连作障碍现象十分突出的药用植物,种植过三七的地块一般要间隔(轮作或休闲)8~10年才能重新种植。三七连作障碍主要表现为植株基本全部死亡,缩短间隔年限则表现为发病严重和保苗率低等,从而造成产量低、质量差^[5-6]。但上述结论多为通过田间调查所获得,尚缺乏严格的试验设计与数据分析。目前对于三七连作障碍效应的系统研究较少,对连作后土壤对三七种子萌发及幼苗生长的影响更是未见报道。

本研究分析了不同连作年限土壤对三七种子萌发及幼苗生长的影响,结果发现:与新土相比,连作土壤处理下三七种子萌发最大速度增加,而种子的发芽势变化不大,发芽率、发芽指数和快速发芽期则呈降低或变短的趋势。此外,随土壤连作年限的增加,三七生长后期的成苗率和株高均显著下降。由此可见,

连作土壤对三七种子萌发及幼苗生长均存在较为明显的障碍效应。本研究只是对三七连作的障碍效应进行了一些初步研究,至于这种障碍效应形成的生理生化机制如何?连作对三七种子的生长发育及药材产量与质量又有何影响?这些都是十分有意义的研究内容,值得进一步研究。

为揭示三七连作障碍土壤的空间分布规律,进一步探讨三七连作障碍形成的可能机理,本研究还比较了根区土、根区下土和根区外土对三七种子萌发及幼苗生长的影响。结果表明,与对照(根区外土)相比,供试的根区土和根区下土显著抑制了三七种子的发芽势、发芽率和发芽指数,对三七种子萌发的最大速度也有降低的作用。这可能是由于根区土和根区下土距离三七植株的根系比较接近,尤其是根区土壤,其中积累了大量的根系分泌物、根系浸出物及腐解产

物,而这些物质中的某些化学成分可能具有化感(自毒)作用,因此导致三七种子的萌发受到一定影响。由此我们推断,化感(自毒)作用很可能是引起连作土壤对三七种子萌发障碍的重要原因。另外,在实验过程中发现,根区土和根区下土上未发芽的三七种子均存在不同程度的发霉、腐烂现象,这究竟是因为土壤中的化感物质抑制了种子吸涨,损伤质膜系统造成^[10],还是由于化感物质促进了病原微生物增殖,从而使三七种子感病所致,尚待进一步探讨。本研究还表明,与根区外土相比,根区土和根区下土上三七幼苗的地上生物量明显增加。这是由于种植三七后的土壤理化性状,尤其是土壤肥力状况发生改变所致,还是预示着连作土壤中的某些化感物质对三七幼苗地上部生长具有促进作用?也需通过进一步研究方能明确。大量研究表明,植物连作障碍的形成机理是复杂的,化感(自毒)效应只是其中的一个方面^[11],连作土壤理化性状恶化^[12-15]、微生物群落改变导致病原微生物的增殖^[12-13]等都可能是造成三七连作障碍的原因。因此,在对三七连作障碍效应系统研究的基础上,应该进一步加强上述几方面内容的研究,以期为全面揭示三七的连作障碍机理奠定基础,同时也为更有针对性地防治三七连作障碍提供理论依据。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2005年版). 北京: 化学工业出版社, 2005: 10
- [2] 缪作清, 李世东, 刘杏忠, 陈昱君, 李云华, 王勇, 郭荣君, 夏振远, 张克勤. 三七根腐病病原研究. 中国农业科学, 2006, 39(7): 1 371-1 378
- [3] 杨志刚. 中药三七对神经系统和免疫系统的影响. 中国药房, 2008, 19(18): 1 424-1 426
- [4] 孙玉琴, 韦美丽, 陈中坚, 柯金虎, 黄天卫, 王炳艳, 崔秀明. 化感物质对三七种子发芽影响的初步研究. 特产研究, 2008(3): 44-46
- [5] 马承铸, 顾真荣, 李世东, 刘杏忠, 缪作清, 陈昱君, 王勇, 刘云芝, 冯光泉, 夏振远, 李云华. 两种有机硫熏蒸剂处理连作土壤对三七根腐病复合症的防治效果. 上海农业学报, 2006, 22(1): 1-5
- [6] 马承铸, 李世东, 顾真荣, 陈昱君, 周薇, 王勇, 刘云芝, 夏振远, 李云华. 三七连作田根腐病复合症综合治理措施与效果. 上海农业学报, 2006, 22(4): 63-68
- [7] 张志勇, 汤菊香, 韩静, 姚利娇. 不同绿豆品种萌发期的自毒作用研究. 广东农业科学, 2008(10): 25-27, 32
- [8] 杜玮, 何池全, 陈玉丽, 梁霞, 郭寒青, 雷雁茹, 白胜. 入侵植物互花米草水浸液对菖苣的化感效应. 环境科学学报, 2009, 29(4): 869-875
- [9] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社, 2002: 43-65
- [10] 朱慧, 马瑞君, 吴双桃, 林金哲, 廖宜英. 当归根际土对其种子萌发和幼苗生长的影响. 生态学杂志, 2009, 28(5): 833-838
- [11] 李勇, 黄小芳, 丁万隆, 张锐. 不同土壤提取物对人参种子生长的化感效应及其化学组成. 生态环境, 2008, 17(3): 1 173-1 178
- [12] 吕卫光, 余廷园, 诸海涛, 沈其荣, 张春兰. 黄瓜连作对土壤理化性状及生物活性的影响研究. 中国生态农业学报, 2006, 14(2): 119-121
- [13] 梁银丽, 陈志杰, 徐福利, 张成娥, 杜社妮, 严勇敢. 黄土高原设施农业中的土壤连作障碍. 水土保持学报, 2004, 18(4): 134-136
- [14] 吴凤芝, 王学征. 设施黄瓜连作和轮作中土壤微生物群落多样性的变化及其与产量品质的关系. 中国农业科学, 2007, 40(10): 2 274-2 280
- [15] 申卫收, 林先贵, 张华勇, 尹睿, 段增强, 施卫明. 不同栽培条件下蔬菜塑料大棚土壤尖孢镰刀菌数量的变化. 土壤学报, 2008, 45(1): 137-142

Effects of Continuous *Panax notoginseng* Cropping Soil on *P. notoginseng* Seed Germination and Seedling Growth

ZHANG Zi-long¹, WANG Wen-quan¹, YANG Jian-zhong², CUI Xiu-ming²

(1 College of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2 Wenshan Research Institute of Sanqi, Yunnan Province, Wenshan, Yunnan 663000, China)

Abstract: To study the effects of *Panax notoginseng* continuous cropping on *P. notoginseng* seed germination and seedling growth, the main germination indexes, seedling growth indexes and R/S of *P. notoginseng* under different soil conditions were investigated and analyzed for ANOVA using DPS7.05 software package. The results showed:①Compared with first cropping soil, the maximum germination speed of *P. notoginseng* in continuous cropping soil increased, and germination vigor changed little, while the germination rate, germination index and fast germination stage decreased. ②The ratio of seedling survival and plant height of *P. notoginseng* decreased significantly ($p<0.05$) with the increase of cropping year. ③ Compared to outer-rhizosphere soil (CK), rhizosphere and under-rhizosphere soils inhibited significantly *P. notoginseng* seed germination, but promoted aboveground biomass of *P. notoginseng* seedling. Germination vigor, germination rate and germination index of *P. notoginseng* seed in rhizosphere and under-rhizosphere soils decreased significantly compared to CK, and the maximum germination speed of *P. notoginseng* also decreased. There were obvious obstacle effects of continuous cropping on seed germination and seedling growth in *P. notoginseng*, which may be related to the allelopathy (autotoxicity).

Key words: *Panax notoginseng*, Continuous cropping soil, Obstacle effect, Seed germination, Seedling growth