

梨园间作牧草根际微生物类群和酶活性的变化

张蕊¹, 智健飞², 刘全兰¹

(1. 青岛科技大学 化工学院, 山东 青岛 266042; 2. 河北省农林科学院 农业资源环境研究所, 河北 石家庄 050051)

摘要:为评价间作牧草对果园土壤质量的影响,对河北省晋州市马于镇梨园间作牧草根际土壤的 pH、微生物群落数量、酶活性及各因素间的相关性进行了研究。结果表明:间作牧草根际土壤 pH、真菌数、放线菌数和脲酶活性有垂直分布特征;二月兰增加土壤 pH、放线菌数和过氧化物酶活性(0~20 cm 土样),降低脲酶活性;早熟禾降低 pH,增加真菌数(0~20 cm)和脲酶活性;黑麦草降低过氧化物酶活性(0~20 cm)和增加脲酶活性(21~40 cm);pH 与土壤深度、过氧化物酶活性与放线菌量和 pH、放线菌量与 pH 等显著正相关,放线菌量与土壤深度、脲酶活性与土壤深度和 pH 等显著负相关,放线菌量与间作牧草显著相关。因此,该梨园中二月兰与早熟禾共同间种于 2 行梨树间将可能获得更好的土壤质量。

关键词:梨园间作牧草;根际;土壤微生物群落;土壤酶活性

中图分类号:S 661.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0165-07

土壤是陆地植物和微生物的主要栖息地,为其繁衍生长提供大量营养源,为其物质循环和能量流动提供载体。土壤微生物的主要种类有细菌、放线菌、真菌和藻类等;它们与土壤和植被两因素存在紧密联系,常被用

作土壤健康的灵敏性指标^[1]。土壤酶主要来自土壤微生物活动、植物根系分泌物和植物残体以及土壤动物区系分解,是土壤代谢的动力,可作为评价土壤肥力、土壤质量和微生物活性的重要指标^[2]。过氧化物酶是土壤中的氧化还原酶类,其酶促反应产物是氧气和水;其活性可以表征土壤腐殖质化强度大小和有机质转化速度^[2-3]。土壤脲酶是线性酰胺的 C-N 键(非肽)的水解酶,其酶促反应产物是氨、二氧化碳和水;其活性与土壤的微生物含量、有机物质含量、全氮和速效氮含量呈正相关,其活性高低在一定程度上反映土壤供氮水平状况^[2-3]。根际是围绕于植物活根的土壤微域,是土壤-植

第一作者简介:张蕊(1987-),女,硕士研究生,现主要从事植物分子生态学等研究工作。E-mail:zhangrui20@aliyun.com.

责任作者:刘全兰(1974-),女,副教授,现主要从事小麦族植物分子生态学和牧草青贮菌与青贮添加技术等研究工作。E-mail:li-quanlan@yahoo.com.

基金项目:公益性行业(农业)科研专项资助项目(201103005)。

收稿日期:2014-03-19

Determination of Cadmium and Lead in Different Chinese Herbal Medicine by Separating and Enriching With Sulfhydryl Cotton-Flame Atomic Absorption Spectrometry

FENG Shao-ping^{1,2}, HUANG Zhao-long^{1,2}, LI Zi-jing^{1,2}, LIU Wei^{1,2}, XIAO Rui-min^{1,2}, JIANG Yan^{1,2}

(1. School of Science, Honghe University, Mengzi, Yunnan 661199; 2. Key Laboratory of Natural Pharmaceutical and Chemical Biology of Yunnan Province, Mengzi, Yunnan 661199)

Abstract: Taking *Panax notoginseng*, *Aucklandia lappa* Decne., *Rhizoma paridis*, *Poria cocks* and *Rhizoma coptis* as materials, content of cadmium(Cd) and lead(Pb) in 5 different Chinese herbal medicine after separating and enriching with sulfhydryl cotton by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) were determined, the enriching and eluting conditions were studied. The results showed that the precision relative standard deviations were between 0.34% and 2.86% for determining of Cd and Pb by this method, and the spike recoveries range from 96.32% to 103.70%. The results indicated that the method was reasonable well for determining content of Cd and Pb in Chinese herbal medicine.

Key words: sulfhydryl cotton; Chinese herbal medicine; cadmium; lead

物根系-微生物三者相互作用的场所,是土壤营养成分参与生物循环的门户,同时也是根系自身代谢活动对土壤微生物和土壤理化性质影响最直接、最强烈的区域^[4]。可见,植被根际微生物种类和酶活性的研究有助于了解土壤养分水平及其养分的转化和循环,有助于预测地面植被生长趋势^[1-4]。

果园的土壤是果树赖以生长发育的基础,只有土壤条件良好,才能满足生产优质果品的需要,这一生产目的可通过果园间作牧草来实现。已有研究表明选择合适植物与果树间作种植可得到如下效果:土壤微生物数量和酶活性的提高^[5]、土壤温度变化速率的缓和^[6]、土壤水土和养分流失的降低^[7]、杂草的控制^[8]以及害虫天敌的增加^[9]等目的。因此,果园间作牧草在欧美等国家得到普遍应用,在中国也得到推行和应用。该试验选择与梨树生态位有显著差异的3种牧草为梨园间作牧草,即地下根量和地上高度远小于梨树的牧草,以防止牧草和梨树在水分、养分和阳光等资源方面进行竞争,探讨间作牧草根际土壤微生物群落结构和两类土壤酶(过氧化物酶与脲酶)活性的变化规律,以期为梨园土壤生态建设提供理论依据和选择合适的间作牧草。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤为潮褐土,供试梨树品种为20年生的“皇冠梨”,株间距为5 m×6 m。试验区地势、地貌、土质等自然条件和栽培管理方式均基本一致。间作牧草种类为二月兰(*Orychophragmus violaceus* (L.) Schulz)、早熟禾(*Poa annua* L.)和黑麦草(*Lolium perenne* L.);二月兰的地下根量在0~15.48 cm之间^[10],早熟禾的地下根量为0~40 cm^[11],黑麦草的地下根量为0~60 cm^[11]。种子来自于中国农业科学院和河北省农林科学院旱作所。试验样品于2013年7月采集。

1.2 试验方法

试验在河北省晋州市马于镇进行,设置梨树行间(距离树干1 m)种植二月兰、黑麦草、早熟禾3个处理,以无牧草为对照,其中二月兰和其对照在相同的梨园,黑麦草、早熟禾和其对照在相同的梨园。处理区间作牧草覆盖率为90%以上,定期人工除去杂草。每种间作牧草和其对照的梨园土地上各取20份等距离的土壤样品,包括土壤深度为0~20 cm的样品10份,土壤深度为21~40 cm的样品10份;随机区组设计,3次重复;共采集300份土壤,包括120份的二月兰及其对照所在土壤、60份的黑麦草所在土壤、60份的早熟禾和60份的黑麦草与早熟禾的对照土壤。

1.3 项目测定

新鲜土样压碎混匀除去植物细根和残屑,过2 mm筛后分成若干份保存于-20℃条件下备用,以测定土壤

微生物群落结构和土壤酶活性。

1.3.1 土壤pH值的测定 土壤中加入CaCl₂后进行pH值测定,其稀释比例为1 g土壤:0.01 mol/L CaCl₂=1:5^[12];pH值采用雷磁PHS-25型pH仪测定。

1.3.2 土壤微生物的培养 微生物种类和数量采用平板梯度稀释法分析测定^[1,13]。称取2 g左右土壤,用灭菌水分别稀释成10⁻²、10⁻⁴、10⁻⁶稀释梯度的土壤悬液。其中细菌培养用牛肉膏蛋白胨培养基,37℃培养3~5 d;真菌培养用马丁氏培养基,28~30℃培养5~10 d;放线菌培养用高氏I号培养基,30℃的生化培养箱中倒置培养3~5 d。

1.3.3 土壤过氧化物酶活性测定 土壤过氧化物酶活性测定采用靛亚胺化合物的可见光比色法^[12]。测定原理是利用过氧化物酶催化过氧化物可产生氧气;氧气可催化4-氨基安替吡啉与苯酚形成红色的靛亚胺化合物,在可见光范围内测定该显色化合物的吸光度(OD值),即可推算出过氧化物酶的酶活。过氧化物酶活性单位(U)为每小时每克干土壤消耗的过氧化氢(mmol)^[12]。

1.3.4 土壤脲酶活性测定 土壤脲酶的测定采用水杨酸-次氯酸盐的可见光比色法^[14],该方法产物颜色可稳定8 h。测定原理为脲酶可将土壤中的有机氮氧化成氨氮(NH₃和NH₄⁺形式存在的氮元素);在碱性条件下,二氯异氰尿酸钠碱性水解产生的次氯酸根离子与样品中的氨、铵根离子反应形成一氯胺;在pH 12左右的条件下,一氯胺在亚硝基铁氰化钠的催化作用下能与水杨酸盐反应生成绿色复合物。在690 nm下检测该绿色复合物的吸光度,根据校准曲线即可获得样品中氨氮含量。脲酶活性单位(U)为每小时每克干土壤水解氮的含量^[14]。

1.4 数据分析

数据统计方法利用Excel软件处理基础数据,牧草类型、土壤深度和无牧草对照土壤微生物种群和酶活性的变化规律采用SAS 9.0软件进行单因子方差分析,牧草类型和土壤深度对测定项目的影响使用两因子方差分析;牧草类型、土壤深度及其它各测定项目之间的Pearson相关系数(*r*)用SAS 9.0软件测度^[15]。以上分析的显著性水平设置为 $P<0.05$,极显著性水平设置为 $P<0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 梨园间作牧草根际土壤pH值的变化

从图1可以看出,种植二月兰的梨园中,在土壤深度为0~20 cm时,二月兰根际土壤pH为7.50~7.82,其无牧草对照为7.07~7.22;在土壤深度为21~40 cm时,二月兰根际pH为7.53~7.83,其无牧草对照为7.03~7.17。SAS软件分析表明pH值表现为极显著差异($P<0.0001$),两因子(间作牧草和土壤深度)分析表

明这种极显著差异是二月兰对土壤 pH 值的极显著改变 ($P < 0.0001$)。

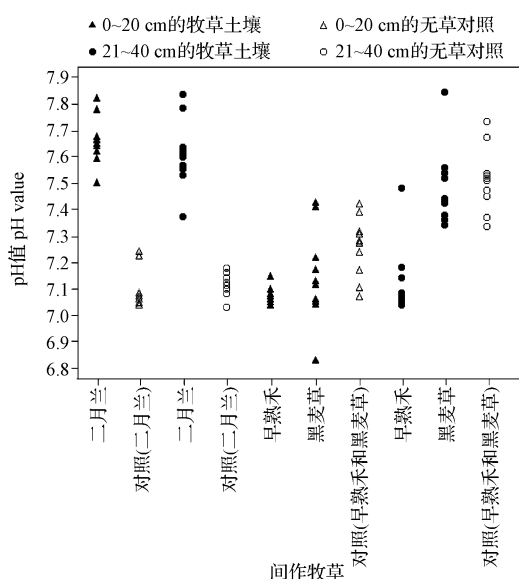


图1 不同间作牧草在2个土壤深度的pH值

注:图标位置紧邻或平行,表示数值相近或相同;图中符号所代表的含义和图标排列方式亦用于其它图。

Fig.1 pH values affected by three intercropping pastures at two depth levels

Note: pH values were close or equal when symbols of soil depths were close or at the same high level; symbols of soil depths were also used in the following figures.

由图1可知,种植早熟禾和黑麦草的梨园中,在土壤深度为0~20 cm时,早熟禾根际土壤pH为7.04~7.15,黑麦草根际土壤pH为6.83~7.43,其无牧草对照为7.07~7.42;在土壤深度为21~40 cm时,早熟禾根际土壤pH为7.04~7.48,黑麦草根际土壤pH为7.35~7.85,其无牧草对照为7.37~7.67。SAS软件分析表明pH值表现为极显著差异($P < 0.0001$),两因子分析表明早熟禾和土壤深度都对土壤pH值有极显著影响($P < 0.0001$)。

根据分析结果,可以初步推断早熟禾可使土壤pH偏中性,二月兰可使土壤pH偏碱性,黑麦草对土壤pH改变不大。

2.2 梨园间作牧草根际土壤微生物数量的变化

2.2.1 梨园间作牧草根际土壤中细菌数量的变化 种植二月兰的梨园中,在土壤深度为0~20 cm时,二月兰根际土壤细菌量为 $2.60 \times 10^7 \sim 5.52 \times 10^7$ CFU/g,无牧草对照为 $1.05 \times 10^7 \sim 6.66 \times 10^7$ CFU/g;在土壤深度为21~40 cm时,二月兰根际土壤细菌量为 $0.51 \times 10^7 \sim 4.47 \times 10^7$ CFU/g,无牧草对照为 $0.28 \times 10^7 \sim 9.00 \times 10^7$ CFU/g。种植早熟禾和黑麦草的梨园中,在土壤深

度为0~20 cm时,早熟禾根际土壤细菌量为 $1.12 \times 10^7 \sim 4.06 \times 10^7$ CFU/g,黑麦草根际土壤细菌量为 $0.90 \times 10^7 \sim 3.86 \times 10^7$ CFU/g,无牧草对照为 $0.96 \times 10^7 \sim 2.74 \times 10^7$ CFU/g;在土壤深度为21~40 cm时,早熟禾根际土壤细菌量为 $0.90 \times 10^7 \sim 22.40 \times 10^7$ CFU/g,黑麦草根际土壤细菌量为 $0.40 \times 10^7 \sim 2.26 \times 10^7$ CFU/g,无牧草对照为 $0.36 \times 10^7 \sim 30.00 \times 10^7$ CFU/g。SAS软件分析表明细菌数量在统计学上无显著差异($P > 0.05$),两因子分析表明间作牧草和土壤深度对土细菌数量无显著改变($P > 0.05$) (图2A)。由图2可知,在0~20 cm的土壤深度,二月兰根际土壤菌数量增加的多,其它牧草较少;在21~40 cm的土壤深度,3种间作牧草根际菌数量较对照没有明显增减。

2.2.2 梨园间作牧草根际土壤中真菌数量的变化 种植二月兰的梨园中,在土壤深度为0~20 cm时,二月兰根际土壤真菌量为 $0.02 \times 10^7 \sim 0.14 \times 10^7$ CFU/g,无牧草对照为 $0.02 \times 10^7 \sim 0.08 \times 10^7$ CFU/g;在土壤深度为21~40 cm时,二月兰根际土壤真菌量为 $0.02 \times 10^7 \sim 0.14 \times 10^7$ CFU/g,无牧草对照为 $0.02 \times 10^7 \sim 0.06 \times 10^7$ CFU/g。SAS软件分析表明真菌量在统计学上无显著差异($P > 0.05$),两因子分析表明间作牧草和土壤深度对真菌数量无显著改变($P > 0.05$)。种植早熟禾和黑麦草的梨园中,在土壤深度为0~20 cm时,早熟禾根际土壤真菌量为 $0.18 \times 10^7 \sim 1.30 \times 10^7$ CFU/g,黑麦草根际土壤真菌量为 $0.02 \times 10^7 \sim 0.26 \times 10^7$ CFU/g,无牧草对照为 $0.02 \times 10^7 \sim 2.00 \times 10^7$ CFU/g;在土壤深度为21~40 cm时,早熟禾根际土壤真菌量为 $0.02 \times 10^7 \sim 0.36 \times 10^7$ CFU/g,黑麦草根际土壤真菌量为 $0.02 \times 10^7 \sim 0.28 \times 10^7$ CFU/g,无牧草对照为 $0.02 \times 10^7 \sim 0.14 \times 10^7$ CFU/g。SAS软件分析表明真菌量在统计学上有显著差异($P = 0.0233 < 0.05$),两因子分析表明土壤深度对真菌量有显著影响($P = 0.0163 < 0.05$),而间作牧草对真菌量无显著改变($P > 0.05$) (图2B)。

2.2.3 梨园间作牧草根际土壤中放线菌数量的变化 种植二月兰的梨园中,在土壤深度为0~20 cm时,二月兰根际土壤放线菌量为 $4.10 \times 10^7 \sim 10.00 \times 10^7$ CFU/g,无牧草对照为 $0.60 \times 10^7 \sim 5.80 \times 10^7$ CFU/g;在土壤深度为21~40 cm时,二月兰根际土壤放线菌量为 $0.20 \times 10^7 \sim 2.40 \times 10^7$ CFU/g,其无牧草对照为 $0.12 \times 10^7 \sim 0.72 \times 10^7$ CFU/g。SAS软件分析放线菌量在统计学上极显著差异($P < 0.0001$),两因子分析表明间作牧草和土壤深度对土放线菌数量有极显著影响($P < 0.0001$)。种植早熟禾和黑麦草的梨园中,在土壤深度为0~20 cm时,早熟禾根际土壤放线菌量为 $0.20 \times 10^7 \sim 2.78 \times 10^7$ CFU/g,黑麦草根际土壤放线菌量为 $0.56 \times 10^7 \sim 6.76 \times 10^7$ CFU/g,其无牧草对照为 $0.52 \times 10^7 \sim 3.78 \times 10^7$

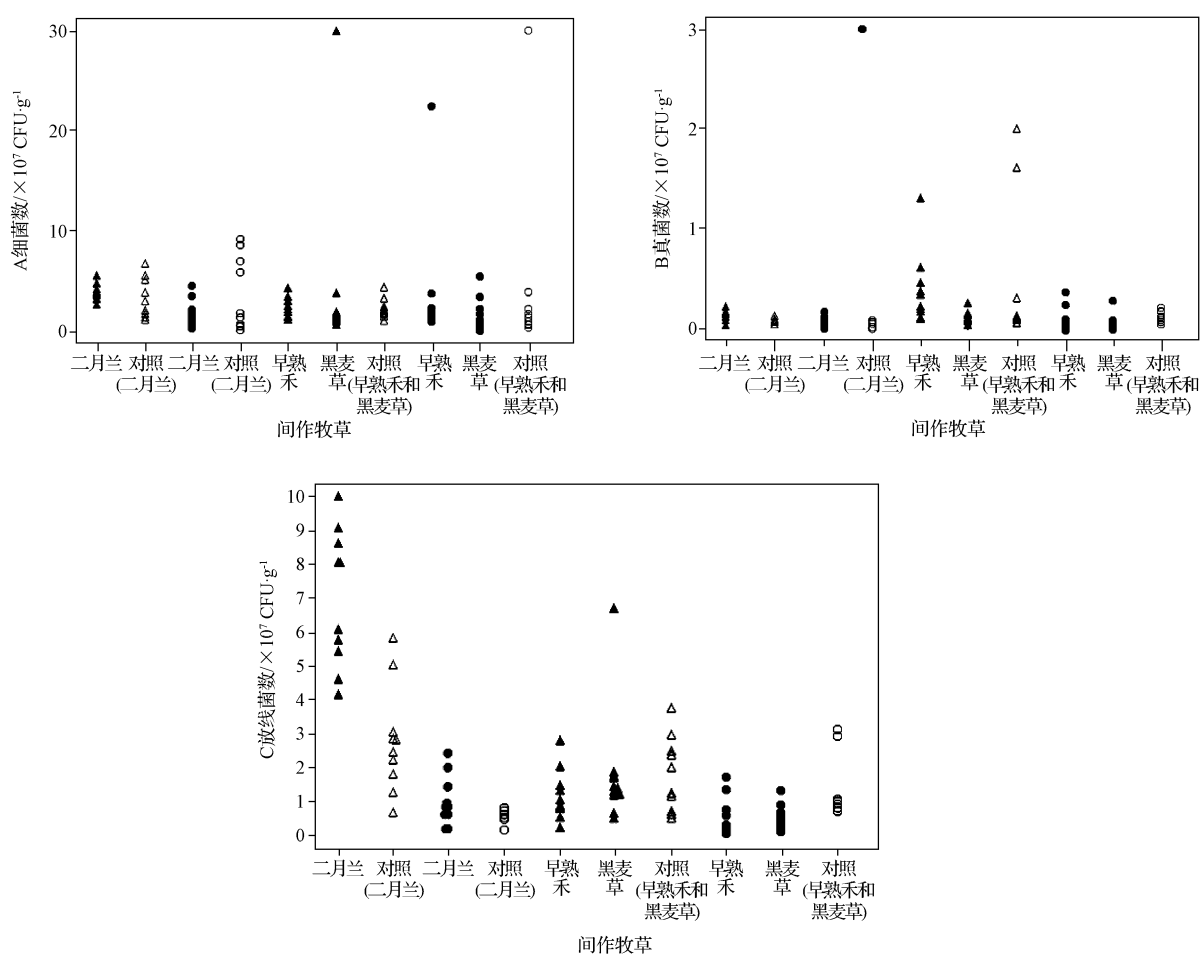


图2 不同间作牧草在2个土壤深度处细菌(A)数量、真菌(B)数量和放线菌(C)数量的变化

Fig. 2 Variation of numbers of bacteria(A), fungi(B), and actinomycetes(C) affected by three intercropping pastures at two depth levels

CFU/g;在土壤深度为21~40 cm时,早熟禾根际土壤放线菌量为 $0.08 \times 10^7 \sim 1.70 \times 10^7$ CFU/g,黑麦草根际土壤放线菌量为 $0.22 \times 10^7 \sim 1.30 \times 10^7$ CFU/g,其无牧草对照为 $0.36 \times 10^7 \sim 2.78 \times 10^7$ CFU/g。SAS 软件分析表明放线菌量在统计学上有差异($P < 0.05$),两因子分析表明间作牧草对放线菌量无显著改变($P > 0.05$);土壤深度对放线菌量有显著改变($P < 0.05$)(图2C)。同时,数据分析表明在0~20 cm的土壤深度,二月兰根际土壤放线菌量显著多于另外2种牧草;在21~40 cm的土壤深度,二月兰根际土壤放线菌量也多于其它2种间作牧草。

2.3 梨园间作牧草根际土壤过氧化物酶和脲酶活性的变化

2.3.1 梨园间作牧草根际土壤过氧化物酶活性的变化 土壤过氧化物酶活性通过靛亚胺化合物的吸光度值测定(图3A、B)。种植二月兰的梨园中,在土壤深度为0~20 cm时,二月兰根际土壤过氧化物酶活性为 $1.913 \sim 1.991 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,其无牧草对照

为 $1.479 \sim 1.863 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$;在土壤深度为21~40 cm时,二月兰根际土壤过氧化物酶活性为 $1.140 \sim 1.835 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,无牧草对照为 $1.238 \sim 1.842 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。SAS 软件分析表明过氧化物酶活性在统计学上有显著差异($P < 0.05$);两因子分析表明间作二月兰根际土壤过氧化物酶活性有显著变化($P = 0.0307 < 0.05$),土壤深度对过氧化物酶活性有极显著影响($P < 0.0001$)(图4)。种植早熟禾和黑麦草的梨园中,在土壤深度为0~20 cm时,早熟禾根际土壤过氧化物酶活性为 $1.287 \sim 1.899 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,黑麦草根际土壤过氧化物酶活性为 $1.209 \sim 1.572 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,无牧草对照为 $1.543 \sim 1.956 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$;在土壤深度为21~40 cm时,早熟禾根际土壤过氧化物酶活性为 $1.351 \sim 1.743 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,黑麦草根际土壤过氧化物酶活性为 $1.458 \sim 1.970 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,无牧草对照为 $1.615 \sim 1.977 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。SAS 软件分析表明过氧化物酶活性在统计学上有显著性差异($P < 0.05$);两因子分析表明间作牧草根际土壤过氧化物酶活性有极显著变化($P <$

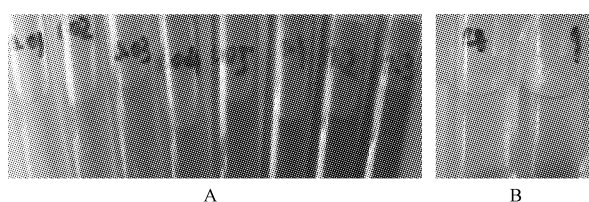


图3 不同浓度的醌亚胺化合物

注:(A) 5种不同浓度 H_2O_2 标准液(0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.10%、0.20%、0.30%)形成不同浓度的醌亚胺化合物;(B) 二月兰根际土壤(0~20 cm)的1和4号样品形成不同浓度的醌亚胺化合物。

Fig. 3 Different concentrations of quinone imine compounds

Note:(A) Five different concentrations of quinone imine compounds produced by five concentrations of H_2O_2 standard solutions (0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.10%, 0.20%, 0.30%); (B) two different concentrations of quinone imine compounds produced by enzymatic reaction of *O. violaceus* rhizospheric soils

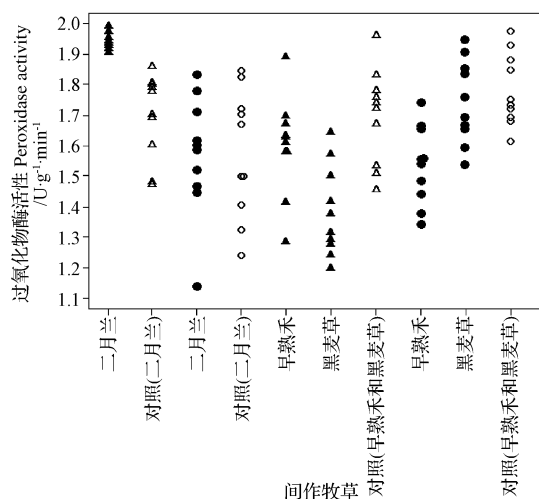


图4 不同间作牧草在不同深度土壤的过氧化物酶活性

Fig. 4 Peroxidase activity affected by three intercropping pastures at different depth levels

0.0001), 土壤深度对过氧化物酶活性有显著影响($P=0.0278$)(图4)。结果表明,在0~20 cm的土壤深度,二月兰根际土壤过氧化物酶活性明显高于早熟禾和黑麦草;在21~40 cm的土壤深度,二月兰没有明显优势。

2.3.2 梨园间作牧草根际土壤脲酶活性的变化 土壤脲酶活性通过水杨酸-次氯酸盐的吸光值测得(图5A、B)。种植二月兰的梨园中,在土壤深度为0~20 cm时,二月兰根际土壤脲酶活性为 $1.159 \sim 1.767 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,无牧草对照为 $1.791 \sim 2.761 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$;在土壤深度为21~40 cm时,二月兰根际土壤脲酶活性为 $1.065 \sim 1.276 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,其无牧草对照为 $0.972 \sim 1.323 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。SAS软件分析表明脲酶活性在统计学上有极显著性差异($P<0.01$);两因子分析表明间作二月兰根际土壤脲酶活性有极显著变化

($P<0.0001$), 土壤深度对过氧化物酶活性有极显著影响($P<0.0001$)(图6)。种植早熟禾和黑麦草的梨园中,在土壤深度为0~20 cm时,早熟禾根际土壤脲酶活性为 $1.440 \sim 2.773 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,黑麦草根际土壤脲酶活性为 $1.405 \sim 2.165 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,无牧草对照为 $1.381 \sim 2.305 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$;在土壤深度为21~40 cm时,早熟禾根际土壤脲酶活性为 $1.136 \sim 2.060 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,黑麦草根际土壤脲酶活性为 $0.961 \sim 1.779 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,无牧草对照为 $0.949 \sim 1.545 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。SAS软件分析表明脲酶活性在统计学上有明显差异;两因子分析表明间作牧草根际土壤脲酶活性无显著性变化($P=0.6498$),土壤深度对脲酶活性有极显著影响($P<0.0001$)(图6)。

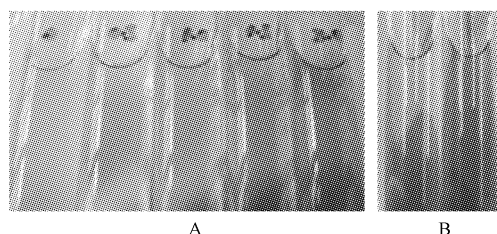


图5 不同浓度的水杨酸-次氯酸盐

注:(A) 5种不同浓度 NH_4^+-N 标准液(0、0.5、1.0、1.5、2.0 $\mu\text{g/mL}$)形成不同浓度的水杨酸-次氯酸盐;(B) 二月兰根际土壤(0~20 cm)的2个样品形成不同浓度的水杨酸-次氯酸盐。

Fig. 5 Different concentrations of salicylic acid and hypochlorite

Note:(A) Five different concentrations of salicylic acid and hypochlorite produced by five concentrations of NH_4^+-N standard solutions (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 $\mu\text{g/mL}$); (B) two different concentrations of salicylic acid and hypochlorite produced by enzymatic reaction of *O. violaceus* rhizospheric soils.

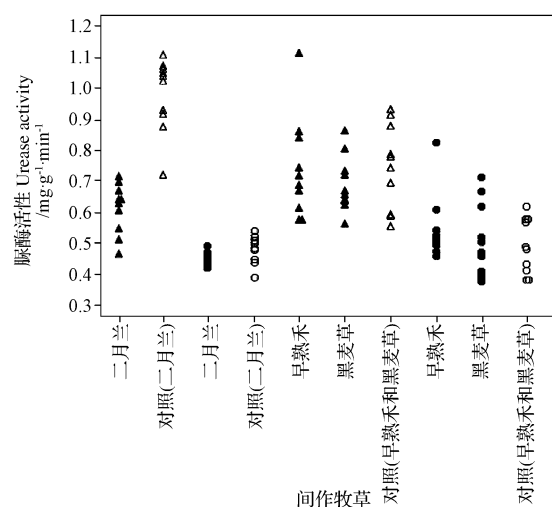


图6 不同间作牧草在不同深度土壤的脲酶活性

Fig. 6 Urease activity affected by three intercropping pastures at different depth levels

2.4 各因素间的相关性

表 1 结果表明,土壤 pH 与土壤深度存有显著的正相关,与其它因素相关性不显著。土壤放线菌数量与间作的 3 种牧草有极显著正相关,与土壤深度存在极显著的负相关,与土壤 pH 值存有显著的正相关,与其它因素

相关性不显著。土壤过氧化物酶活性与土壤 pH 值和放线菌数量存在极显著的正相关,与其它因素相关性不显著。土壤脲酶活性与土壤深度和土壤 pH 值存在极显著的负相关,与其它因素相关性不显著。

表 1 土壤中各因素的相关系数

Table 1 Correlation analysis between intercropping pear-grass, soil heights, pH, microbial communities and enzyme activities

| | 间作牧草 Intercropping pastures | 土壤深度 Soil depth | pH 值 pH value | 细菌数 Bacterial numbers | 真菌数 Fungi numbers | 放线菌数 Actinomycetes numbers | 过氧化物酶活性 Peroxidase activity | 脲酶活性 Urease activity |
|-----------------------------|--------------------------------|--------------------|------------------|--------------------------|----------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|
| 间作牧草 Intercropping pastures | 1.0000 | | | | | | | |
| 土壤深度 Soil depth | 0.0000 | 1.0000 | | | | | | |
| 土壤 pH 值 Soil pH value | -0.1534 | 0.2455 * | 1.0000 | | | | | |
| 细菌数 Bacterial numbers | 0.0104 | -0.0234 | -0.0167 | 1.0000 | | | | |
| 真菌数 Fungi numbers | 0.0414 | -0.10312 | 0.0382 | -0.0901 | 1.0000 | | | |
| 放线菌数 Actinomycetes numbers | 0.3756 ** | -0.5005 ** | 0.3008 ** | 0.0216 | -0.0947 | 1.0000 | | |
| 过氧化物酶活性 Peroxidase activity | -0.0504 | -0.1046 | 0.3107 ** | 0.1096 | -0.0727 | 0.3889 ** | 1.0000 | |
| 脲酶活性 Urease activity | 0.0350 | -0.6942 ** | -0.3831 ** | -0.0138 | 0.0350 | 0.2767 | -0.0160 | 1.0000 |

注: * 表示统计学上为显著差异 ($P < 0.05$); ** 表示统计学上为极显著差异 ($P < 0.01$)。

Note: * indicate significant difference at $P < 0.05$ level; ** indicate highly significant difference at $P < 0.01$ level.

3 讨论与结论

该试验表明二月兰使土壤 pH 值增加的最多,黑麦草使土壤 pH 值变化的较多,早熟禾使土壤 pH 值变化的最少。相关性分析表明 pH 值与土壤放线菌数量为极显著正相关,这与王世强等^[13]、张强等^[16]的结果一致; pH 值与过氧化物酶的酶活为极显著正相关、与土壤脲酶活性为极显著负相关。这说明间作二月兰可提高有机质转化速率和降低有毒物质的毒害,而间作早熟禾可充分利用土壤中的氮素。

细菌数量方面,在土壤深度为 0~20 cm 时,梨园间作二月兰根际土壤细菌的最低数量比对照的最低数量增加 1.55×10^7 CFU/g,早熟禾根际土壤的最低数量比对照增加 0.06×10^7 CFU/g,黑麦草的最低数量与对照的相近。在土壤深度为 21~40 cm 时,牧草根际土壤细菌数量变化不明显。真菌数量方面,在土壤深度为 0~20 cm 时,梨园间作早熟禾根际真菌的最低数量比对照多,二月兰和黑麦草根际土壤真菌数量较对照变化不明显。在土壤深度为 21~40 cm 时,梨园间作牧草根际土壤真菌数量与对照土壤真菌数量相近。放线菌数量方面,在土壤深度为 0~20 cm 时,梨园间作二月兰根际放线菌数量显著高于对照,间作黑麦草可明显提高放线菌数量,但间作早熟禾没有明显增加放线菌数量。在土壤深度为 21~40 cm 时,间作二月兰根际放线菌数量显著高于对照,但间作早熟禾和黑麦草的根际土壤放线菌数量低于对照。可见,在 0~20 cm 的土壤处,间作二月兰可显著增加土壤中细菌和放线菌的数量,间作早熟禾可增加土壤中真菌的数量。同时,该试验的微生物群落结构在一定程度上支持了李艳丽等^[17]的研究结果,即梨园

在 0~20 cm 和 21~40 cm 土壤中微生物数量中细菌最多,放线菌次之,真菌最少。

该试验的相关性分析表明过氧化物酶活性与土壤 pH 极显著正相关,这与岳中辉等^[18]关于盐碱地过氧化物酶活性与 pH 值显著正相关的结果相一致。结合间作牧草对土壤 pH 值的影响,该试验说明间作牧草对土壤 pH 的改变最终将影响土壤过氧化物酶活性,也说明二月兰在加速梨园有机物降解和形成氧气方面占优势。土壤脲酶活性在梨园间作二月兰根际的不同土壤深度处有极显著变化,在梨园间作早熟禾根际处有明显增加特征,但在黑麦草根际处略有增加;相关性分析表明土壤脲酶活性与土壤深度和 pH 有极显著负相关,这说明可选用降低偏碱性土壤 pH 值的间作牧草来提高土壤脲酶活性以提高土壤氮素的利用率。

可见,梨园里间作牧草后,土壤过氧化物酶和脲酶的活性均明显高于不间作牧草的对照处理,说明间作牧草在总体上增强了土壤酶活性。比较不同间作牧草处理发现(图 4、6),在 0~20 cm 的土壤处,间作二月兰根际过氧化物酶活性明显高于间作早熟禾和黑麦草,间作早熟禾根际脲酶活性高于间作二月兰和黑麦草。这种变化规律可能源于间作牧草根分泌不同的有机物质,刺激土壤中不同的微生物活动及生化反应,使酶活性增强有所不同^[19],这说明选择合适的间作牧草是提高土壤生物学活性的有效手段^[20]。

各处理中,在不同土层深度处,梨园间作二月兰可提高土壤 pH,梨园间作早熟禾可降低土壤 pH,梨园间作黑麦草对土壤 pH 影响不大,不同采样点的土壤 pH 值差异。各处理中随着土层加深,梨园间作牧草根际土壤中微生物数量表现出下降趋势。整体上看,梨园土壤

中细菌数量>放线菌数量>真菌数量;其中,间作牧草对放线菌数量的影响明显高于对细菌和真菌的影响;各处理中,在不同土层深度处,间作二月兰根际的放线菌数量最高。各处理中,在不同土层深度处,梨园间作二月兰对土壤过氧化物酶活性增强的最大,梨园间作早熟禾对土壤脲酶活性增强的最大。

参考文献

- [1] 周桔,雷霆.土壤微生物多样性影响因素及研究方法的现状与展望[J].生物多样性,2007,15(3):306-311.
- [2] 关松荫.土壤酶及其研究方法[M].北京:农业出版社,1986.
- [3] 张翠翠,张少伟,常介田.葡萄园行间生草对土壤养分及微生物的影响[J].北方园艺,2013(3):181-184.
- [4] 陆雅海,张福锁.根际微生物研究进展[J].土壤,2006,38(2):113-121.
- [5] 姜培坤,徐秋芳,周国模,等.种植绿肥对板栗林土壤养分和生物学性质的影响[J].北京林业大学学报,2007,29(3):120-124.
- [6] 李全胜,吴建军,严力蛟,等.下垫面性状对农林系统微生态环境的影响[J].生态学报,1999,19(3):329-334.
- [7] 霍颖,张杰,王美超,等.梨园行间种草对土壤有机质和矿质元素变化及相互关系的影响[J].中国农业科学,2011,44(7):1415-1424.
- [8] 卢向阳,徐筠,林峰.栗园利用多年生覆盖植物控制杂草的初步研究[J].植物保护,2006,32(6):91-94.
- [9] 魏巍,孔云,张玉萍,等.梨园芳香植物间作区中国梨木虱子与其天敌类群的相互作用[J].生态学报,2010,30(8):2063-2074.
- [10] 魏力军,刘晓辉,刘鸣远.二月兰根系发育形态学研究[J].植物研究,1995,15(3):377-381.
- [11] 成文竞,崔建宇,闵凡华,等.三种草坪草的根系分布特征及其对土壤养分的影响[J].草业学报,2009,18(1):179-183.
- [12] Trasar-Cepeda C, Camiña F, Leirós M C, et al. An improved method to measure catalase activity in soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31(3):483-485.
- [13] 王世强,胡长玉,程东华,等.调节茶园土壤 pH 对其土著微生物区系及生理群的影响[J].土壤,2011,43(1):76-80.
- [14] Kandeler E, Gerber H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium[J]. Biology and Fertility of Soils, 1988, 6:68-72.
- [15] 阮敬. SAS 统计分析从入门到精通[M]. 北京:人民邮电出版社,2009.
- [16] 张强,魏钦平,齐鸿雁,等.北京果园土壤养分和 pH 与微生物数量的相关分析及优化方案[J].果树学报,2011,28(1):15-19.
- [17] 李艳丽,赵化兵,谢凯,等.不同土壤管理方式对梨园土壤微生物及养分含量的影响[J].土壤,2012,44(5):788-793.
- [18] 岳中辉,王博文,王洪峰,等.松嫩草原盐碱土过氧化物酶活性及其与肥力因素的关系[J].草地学报,2009,17(3):294-297.
- [19] 李发林,黄炎和,刘长全,等.土壤管理模式对幼龄果园根际土壤养分和酶活性影响初探[J].福建农业学报,2002,17(2):112-115.
- [20] 张丽莉,武志杰,陈利军,等.不同种植制度土壤氧化还原酶活性和动力学特征[J].生态环境学报,2009,18(1):343-347.

Variation of Enzyme Activity and Microbial Communities at the Rhizosphere Soils of Intercropping Pastures in the Pear Orchard

ZHANG Rui¹, ZHI Jian-fei², LIU Quan-lan¹

(1. College of Chemical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao, Shandong 266042; 2. Institute of Resource and Environment, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang, Hebei 050051)

Abstract: To evaluate effects of intercropping pastures on the soil quality in the pear orchard distributed at Mayu Town of Jinzhou City, Hebei Province, China, soil pH, soil microbes, and soil enzyme activities were measured at two depth levels (0~20 cm and 21~40 cm) of the rhizosphere soils of three pastures (*Orychophragmus violaceus* (L.) Schulz), *Poa annua* L., and *Lolium perenne* L.) intercropping plots. Subsequently, the correlation between above factors was analyzed. Five main results were obtained. First, pH values, fungi numbers, actinomycetes numbers, and urease activity differed at two depth levels. Second, pH values, actinomycetes numbers, and peroxidase activity (0~20 cm) were highly improved by the intercropping *O. violaceus*. By contrast, urease activity was decreased in this intercropping plot. Third, pH value was decreased in the intercropping plot of *P. annua*, and fungi numbers (0~20 cm) and peroxidase activity were highly improved. Fourth, peroxidase activity was decreased and urease activity was highly improved in the intercropping *Lolium perenne* L. plot. Finally, there had significant positive correlation between pH values and soil depths, between peroxidase activities and actinomycetes numbers, between peroxidase activities and pH values, and between actinomycetes numbers and pH values. In addition, there had significant negative correlation between actinomycetes numbers and soil depths, between urease activities and soil depths, and between urease activities and pH values. Also, there had significant correlation between actinomycetes numbers and intercropping pastures. Therefore, the soil quality would be greatly improved when *O. violaceus* (L.) Schulz and *P. annua* L. were simultaneously planted between pears.

Key words: intercropping pastures; rhizosphere soils; soil microbial communities; soil enzyme activity