

连翘根际微生物区系和土壤酶活性变化的研究

魏志华, 程茂高, 介晓磊, 乔卿梅, 王新民

(郑州牧业工程高等专科学校 河南 郑州 450011)

摘要: 研究了 2 a 生和 10 a 生连翘根际土壤微生物和酶活性的变化规律。结果表明: 随着连翘生长期的延长, 其根际土壤中微生物总量呈增长趋势, 其中细菌和真菌数量增长明显, 放线菌呈下降趋势, 所有土壤微生物中细菌数量均占优势; 硝化细菌、氨化细菌、好气性纤维素分解菌、厌气性纤维素分解菌、厌气性固氮菌等重要有益微生物生理类群随连翘生长年限的延长而增强, 而反硝化细菌和好气性固氮菌数量变化不明显; 同时连翘生长能够显著增加根际土壤中过氧化氢酶、蔗糖酶、磷酸酶的活性, 显著降低蛋白酶活性, 而对多酚氧化酶和脲酶活性影响不明显。

关键词: 连翘; 根际; 微生物区系; 酶活性

中图分类号: S 154.37; S 567.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)06-0012-03

土壤中的酶和微生物活性高低既可以代表土壤中物质代谢的旺盛程度, 也是土壤生态系统发育成熟与否和系统资源能否高效持续利用的重要标志^[1]。由于药用植物次生代谢产物(如黄酮、生物碱、萜类、蒽醌、酚酸类等)丰富, 在生长过程中很容易释放到土壤中, 从而改变根际土壤理化性质, 导致根际这一特殊微生态环境中

的土壤微生物和酶活性较非根际有更大变化^[2-3]。近年来, 人们日益重视研究不同药材根际土壤微生物和酶活性的变化规律, 为了解中药材道地性成因^[4]、解决连作障碍^[5-7]、提高药材产量与品质寻找依据, 但对连翘根际土壤微生物和酶活性的研究尚未涉及。连翘 *Forsythia suspense* (Thunb.) 为木樨科植物连翘的干燥果实, 有丰富的黄酮类和三萜类化合物以及维生素 P 和少量挥发油, 具有清热止吐、清肝利胆、除湿退黄、通调三焦、畅达血脉、保肝护心等作用, 是我国传统常用中药材。试验对种植 2 a 和 10 a 的连翘根际土壤三大类群微生物及主要生理群落、酶活性作对比研究, 旨在了解连翘生长过程中土壤微生态系统的变化规律, 对改善多年栽培连翘土壤环境恶化、提高连翘的产量和质量有重要意义。

第一作者简介: 魏志华(1971-), 女, 河南清丰人, 硕士, 讲师, 现从事药用植物资源开发与利用研究工作。E-mail: cliff925@163.com。

通讯作者: 王新民(1973-), 男, 博士, 副教授, 现主要从事森林生态学方面研究工作。

基金项目: 河南杰出青年科学基金资助项目(074100510018); 国家第四十一批博士后科学基金资助项目(20070410616)。

收稿日期: 2009-12-20

Regulation of Calcium on Tomato Seeding under Subhigh Temperature

XU Kun-peng, QI Ming-fang, LI Tian-lai, XU Tao, ZHANG Jiao, JIANG Qing-qing

(College of Horticulture Shenyang Agricultural University, Liaoning Key Laboratory of Protected Horticulture, Shenyang, Liaoning 110161)

Abstract: Regulation of calcium on tomato seeding under sub-high temperature was researched by treating with CaCl_2 , Ca^{2+} chelator EGTA, and Ca^{2+} channel inhibitor LaCl_3 on tomato seeding with 7 leaves. The results showed that CaCl_2 promoted plant growth under high temperature stress, but LaCl_3 and EGTA, especially the first, aggravated the effect of sub-high temperature. CaCl_2 increased the content of various fraction of calcium. EGTA and LaCl_3 treatments had no effect on total calcium content, but it decreased water-soluble calcium content and increased the content of pectate-bound and calcium silicate fractions. It was showed that the seedling index was significantly positive with the content of water-soluble calcium and negative with the content of calcium silicate. These results were further proved that water-soluble calcium played an important role in regulating tomato seeding under sub-high temperature stress.

Key words: tomato; calcium; sub-high temperature

1 材料与方法

1.1 试验材料

连翘土壤样品于 2008 年 11 月中旬采自河南省禹州市。采用 5 点取样法选择植株, 铲去表层土后挖出根部, 抖动根部获取根际土壤, 一部分风干后过 20 目筛备用, 测定土壤酶活性; 一部分在 4℃下保存鲜样, 测定微生物类群和数量。对照土采自邻近未种植连翘的地块。

1.2 试验方法

1.2.1 土壤微生物数量的测定 采用混合平板培养计数法, 细菌培养采用牛肉膏蛋白胨培养基, 真菌采用马丁孟加拉红培养基, 放线菌采用改良高氏 1 号培养基^[8]。

1.2.2 微生物生理类群的测定 硝化细菌、反硝化细菌、氨化细菌、好气性纤维素分解菌、厌气性纤维素分解菌、好气性固氮菌、厌气性固氮菌均采用特化培养基进行培养, 采用最大或然计数法(MPN)进行菌数统计^[9]。

1.2.3 土壤酶活性的测定 过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法测定, 多酚氧化酶活性采用邻苯三酚比色法测定, 蔗糖酶活性用 3, 5—二硝基水杨酸比色法测定, 蛋白酶用茚三酮比色法测定, 脲酶用茚三酮比色法, 磷酸酶用磷酸苯二钠(4—氨基安替比林)比色法测定^[9]。

1.3 数据分析

应用 SPSS 11.5 软件对数据进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 根际土壤微生物区系变化

由表 1 可知, 根际土壤微生物总量随着连翘生长期的延长呈上升趋势, 其中种植连翘 2 a 与 10 a 的土壤细菌和真菌总量分别比对照增加了 12.10%、90.14%和 187.17%、474.35%。放线菌随着连翘生长期的延长呈下降趋势。所有土壤微生物中细菌在总体数量上均占优势, 所占比例分别为 87.27%、89.91%、93.77%; 放线菌

次之, 分别占其总量的 12.28%、8.90%、4.77%, 真菌最少, 仅占 0.45%、1.19%和 1.46%。细菌、真菌数量随种植年限的增加而稳定增加, 放线菌数量下降, 含量变化均达显著水平, 说明连翘根际微生物总量与根际细菌数量多少关系最为密切, 这与郝慧荣等研究结果一致^[9]。

表 1 根际土壤中可培养微生物数量变化

| 处理 Treatment | 细菌 Bacteria(× 10 ⁶ cells · g ⁻¹ soil) | 真菌 Fung(× 10 ⁴ cells · g ⁻¹ soil) | 放线菌 Actinomycetes (× 10 ⁵ cells · g ⁻¹ soil) |
|-----------------|---|---|--|
| | | | |
| 对照 CK | 3.033 aA | 1.567 aA | 4.267 aA |
| 2 a 生 2 years | 3.400 aA | 4.500 bB | 3.367 bA |
| 10 a 生 10 years | 5.767 bB | 9.000 cC | 2.933 bA |

注: 同列不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著, 同列不同小写字母表示在 0.01 水平上差异极显著, 下同。

Note: Different capital or small letters in the same column indicated significant difference at 0.01 or 0.05 level the same below.

2.2 土壤主要微生物生理类群变化

由表 2 可知, 连翘根际土壤中的硝化细菌、氨化细菌、好气性纤维素分解菌、厌气性纤维素分解菌、厌气性固氮菌数量变化趋势一致, 均随着种植年限的增加菌数极显著增加, 10 a 生 5 种细菌分别是对照的 2.37、2.44、4.49、17.66、3.59 倍, 分别是 2 a 生的 1.77、1.23、1.82、10.98、1.77 倍。反硝化细菌数量随种植年限的增加呈现先减后增趋势, 而好气性固氮菌与其相反, 呈现先升后降趋势, 种植年限为 10 a 的土壤中反硝化细菌和好气性固氮菌数量均与对照没有显著差异, 2 a 生与 10 a 生和对照土壤中反硝化细菌和好气性固氮菌数量达显著水平。10 a 生土壤中好气性固氮菌数量显著减少可能与土壤的透气性降低有关。由此可见, 连翘生长过程中土壤中重要有益微生物生理类群随生长年限的延长而增强。

表 2 根际土壤中微生物类群变化

| 处理 Treatment | 硝化细菌 Nitrobacteria (× 10 ³) | 反硝化细菌 Denitrifying bacteria(× 10 ⁴) | 氨化细菌 Ammonifier (× 10 ⁵) | 好气性纤维 素分解菌 Aerobic cellulose Decomposer(× 10 ²) | 厌气性纤维素分解菌 Anaerobic cellulose Decomposer(× 10 ²) | 好气性固氮菌 Aerobic Azotobacter (× 10 ⁴) | 厌气性固氮菌 Anaerobic azotobacter (× 10 ³) |
|-----------------|---|---|--|--|--|--|---|
| | | | | | | | |
| 对照 CK | 5.720 aA | 9.836 bB | 3.756 aA | 8.372 aA | 7.873 aA | 7.628 aAB | 4.872 aA |
| 2 a 生 2 years | 7.652 bB | 8.445 aA | 7.430 bB | 20.559 bB | 12.665 bB | 8.354 bB | 9.886 bB |
| 10 a 生 10 years | 13.558 cC | 9.136 bB | 9.158 cC | 37.495 cC | 139.057 cC | 6.950 aA | 17.500 cC |

表 3 根际土壤酶活性变化

| 处理 Treatment | 过氧化氢酶 Catalase 0.1N K ₂ MO ₄ /mL · g ⁻¹ soil | 多酚氧化酶 Polyphenoloxidase /mg · g ⁻¹ soil | 蔗糖酶 Sucrase glucose /mg · g ⁻¹ soil | 蛋白酶 Protease NH ₂ -N/mg · g ⁻¹ soil | 磷酸酶 Phosphatase phenols/mg · g ⁻¹ soil | 脲酶 Urease NH ₃ -N/mg · g ⁻¹ soil |
|-----------------|--|--|--|--|--|---|
| | | | | | | |
| 对照 CK | 4.335 aA | 3.246 abA | 18.929 aA | 7.620 cB | 3.079 aA | 0.585 bB |
| 2 a 生 2 years | 4.754 bB | 3.210 aA | 21.636 bB | 7.256 bB | 3.139 aA | 0.555 bB |
| 10 a 生 10 years | 7.330 cC | 3.356 bA | 30.516 cC | 4.948 aA | 5.253 bB | 0.368 aA |

2.3 土壤酶活性变化

由表3可知,不同处理的根际土壤中,过氧化氢酶、多酚氧化酶、蔗糖酶、磷酸酶的变化趋势一致,都是随着连翘生长期的延长而酶活性增强,其中过氧化氢酶、蔗糖酶活性增强较快,均达到极显著水平,但多酚氧化酶活性变化不明显。蛋白酶、脲酶活性呈下降趋势。说明连翘的生长能够显著增加根际土壤中过氧化氢酶、蔗糖酶、磷酸酶的活性,显著降低蛋白酶活性,而对多酚氧化酶和脲酶活性的影响不明显。

3 讨论

土壤微生物和土壤酶在土壤微生态环境中发挥着重要作用,在物质转化与分解中具有特定的功能,且微生物类群间、微生物和土壤酶与植物群落、物质循环、生态系统管理措施、外源化学物质间等都具有相互作用。试验中发现,随着连翘生长期的延长,其根际土壤中真菌和多种有益细菌生理类群呈增长趋势,其原因可能是土壤中的真菌与连翘的根共生^[10-11],即菌根真菌。菌根菌丝体能从连翘的根组织中摄取碳水化合物作为能量和营养,从而促进真菌的生长发育。大部分菌根都具有很强的酸溶和酶解能力,这种作用有利于提高养分的有效性和维持土壤肥力,增加土壤有机质的含量,有利于细菌的生长发育,提高土壤酶的活性。同时菌根真菌可增强宿主的抗逆性、提高植物的生产力^[12-13]。对连翘根际土壤真菌尤其是菌根真菌进一步进行研究可能对提高连翘的产量和质量有所帮助。

参考文献

- [1] Morgan J A W, Bending G D, White P J. Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere[J]. J. Experi Botany, 2005, 56: 417.
- [2] Ni G Y, Song L Y, Zhang J L, et al. Effects of root extracts of *Mikania micrantha* HBK on soil microbial community[J]. J. Allelopathy, 2006, 17(2): 247-254.
- [3] Park S W, Stevens N M, Vivanco J M, et al. Enzymatic specificity of three ribosome inactivating proteins against fungal ribosomes and correlation with antifungal activity[J]. Plant & 2002, 216(2): 227-234.
- [4] 郑艳. 中药材的地道性与根际土壤微生物[J]. 现代中药研究与实践, 2007, 21(6): 61-63.
- [5] 陈慧, 郝慧荣, 熊君, 等. 地黄连作对根际微生物区系及土壤酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(12): 2755-2759.
- [6] 郝慧荣, 李振方, 熊君, 等. 连作怀牛膝根际土壤微生物区系及酶活性的变化研究[J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(2): 307-311.
- [7] 李琼芳. 不同连作年限麦冬根际微生物区系动态研究[J]. 土壤通报, 2006, 37(3): 563-567.
- [8] 姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学及其实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 8.
- [9] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 7.
- [10] 杨润亚, 李艳华, 柳娜娜. 连翘内生真菌的分离及其抑菌活性初步研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(15): 4561-4563.
- [11] 袁保红, 杜青平, 邓祖军. 小连翘内生真菌种群分布及其抗菌性研究[J]. 广东药学院学报, 2007, 32(3): 307-311.
- [12] 乔卿梅, 程茂高, 王新民. 根际微生物在克服药用植物连作障碍中的潜力[J]. 土壤通报, 2009, 40(4): 958-961.
- [13] 邹文欣, 谭仁祥. 植物内生菌研究新进展[J]. 植物学报, 2001, 43(9): 881-892.

Variation of Microbial Community and Enzyme Activity in Rhizospheric Soil of *Forsythia suspense* (Thunb.)

WEI Zhi-hua CHENG Mao-gao, JIE Xiao-lei, QIAO Qing-mei, WANG Xin-min
(Zhengzhou College of Animal Husbandry Engineering, Zhengzhou, Henan 450011)

Abstract: This paper studied the variations of microbes community and enzyme activity in *Forsythia suspense* (Thunb.) rhizosphere soil grown of 2 years or 10 years. The results showed that with the *Forsythia suspense* (Thunb.) growing development, the gross of microorganisms had an obvious increase; the number of fungi and bacteria had a distinct increase, while the actinomycetes decreased. The number of bacteria in rhizosphere soil were dominated all the time. The number of nitrobacteria, ammonifier, aerobic cellulose decomposer, anaerobic cellulose decomposer and anaerobic azotobacter showed increase tendency with the *Forsythia suspense* (Thunb.) growing development. And the variation of number was not obvious of denitrifying bacteria and aerobic azotobacter. The enzyme activity of catalase, sucrase and phosphatase in rhizosphere showed increase tendency, while the variation of enzyme activity in protease was contrary. Polyphenol oxidase and urease were not obvious.

Key words: *Forsythia suspense* (Thunb.); rhizosphere; microbe community; soil enzyme activity