

现代设施农业中土壤活性物组成关联分析

孙传伯 李云 廖梓良 李永丽 刘士清*, 张无敌 夏朝凤 (云南师范大学能源与环境科学学院, 云南昆明650092)

摘要 [目的] 研究设施农业土壤微生物和土壤酶活性的关系。[方法] 采集种植香石竹的大棚设施中正常株、发病株的根际土壤, 分析土壤pH值、微生物数量及酶活性的关系。[结果] 正常株土壤pH值、微生物总量均高于发病株土壤。真菌与放线菌在数量上呈显著正相关, 好氧细菌与厌氧细菌、细菌总数呈显著正相关, 真菌数量与土壤pH值呈显著负相关。纤维素酶与蛋白酶呈极显著正相关, 与脲酶呈显著正相关, 半纤维素酶与蔗糖酶、脲酶与蛋白酶均呈显著正相关。好氧细菌与半纤维素酶、蔗糖酶都呈显著负相关, 厌氧细菌与半纤维素酶呈显著负相关。[结论] 土壤酶活性与土壤微生物的种类和数量有着密切关系, 土壤中的微生物可以对土壤酶活性进行表征。

关键词 土壤活性物; 设施农业; 香石竹; 土壤酶活性

中图分类号 S154.2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)21-09173-03

Analysis on Correlation of Active Composition in Soil in Modern Facility Agriculture

SUN Chuan bo et al (College of Energy and Environment Sciences, Yunnan Normal University, Kunming, Yunnan 650092)

Abstract [Objective] The aim was to study the relationship between soil microorganism and soil enzyme activity in facility agriculture. [Method] The rhizosphere soil from normal plant and diseased plant of carnation grown in greenhouse was collected, and the correlation between soil pH value, microbe quantity and enzyme activity was analyzed. [Result] The pH value and microorganism amount in normal plant soil were all higher than that in diseased plant one. The fungi and actinomycetes showed significant positive correlation on quantity. There was a remarkable positive correlation between the aerobic bacteria and anaerobic bacteria and total bacteria had remarkable positive correlation. The fungi amount and soil pH showed obvious negative correlation. The cellulose enzyme had a significant positive correlation with protease and an evident positive correlation with urease. The hemicellulase had significant positive correlation all with sucrase, urease and protease. The aerobic bacteria had the remarkable negative correlation with hemicellulase and sucrase. The anaerobic bacteria showed obvious negative correlation with hemicellulase. [Conclusion] The soil enzyme activity had a close relationship with the varieties and quantities of soil microorganisms, and soil enzyme activity could be characterized by the microorganisms in soil.

Key words Active composition in soil; Facility agriculture; Carnation; Soil enzyme activity

土壤不仅是植物生长发育的基础, 也是微生物赖以生存的栖息地。土壤中微生物参与多种反应过程, 如矿化-同化、氧化-还原等, 是植物养料转化有机碳代谢及污染物降解的驱动力, 也是有机质和速效养分的一部分, 在土壤肥力演变, 尤其是养分循环中具有重要意义^[1-4]。土壤酶是土壤最活跃的活性组分, 也是有机成分之一, 土壤酶和土壤微生物共同推动土壤的代谢过程。土壤酶活性反映了土壤中各种生物化学过程的强度和方向, 其活性可作为土壤肥力评价的参考指标之一, 同时也是土壤自净能力评价的一个重要指标^[5-6], 而且土壤的生态条件决定土壤微生物的组成、数量、分布及生化活性^[7]。最新研究表明, 土壤微生物学特性^[8]和土壤酶活性^[9]可作为评价土壤健康的指标。

据资料报道^[10-11], 枯萎病是香石竹生产中最严重的病害之一, 该病害在香石竹的各个生育期都可能发生, 已成为制约香石竹生产的一个主要因素。目前国内外研究香石竹病害多从植物生理角度寻找病原菌, 侧重于土壤酶活与营养元素的机理研究^[12-15], 而对设施栽培下的土壤活性物质, 特别是对香石竹发病影响与关联性研究甚少。为了更好地做好香石竹病害的防治工作, 有必要对其土壤微生物和常见关联的酶进行研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料 土壤样品。采样参照文献[16]的根际土壤采集方法。分别于云南省江川县(A)、昆明市呈贡县(B)和晋宁县(C)3地种植香石竹的大棚设施下采集正常株、发病株的根际土壤。微生物计数用培养基。真菌用马丁氏培养基; 细菌用牛肉膏蛋白胨培养基; 放线菌用改良高氏1号培

养基。

1.2 土壤微生物分离计数方法 称取10 g土样加入到装有90 ml无菌水和20粒直径3~5 mm玻璃珠的250 ml三角瓶中, 160 r/min旋转振荡20 min, 制成较均匀的土壤悬浮液; 吸取1 ml悬浮液于9 ml无菌水中旋涡振荡稀释均匀, 制成 10^{-1} ~ 10^{-7} 的10倍系列稀释度悬液。根据预备试验的各类微生物在土壤中的数量, 选择适当的稀释度, 分别采用涂布法或混菌法准确计数各类微生物数量。细菌计数选择 10^{-5} ~ 10^{-6} 悬液; 真菌和放线菌选择 10^{-3} ~ 10^{-4} 悬液。每个稀释度重复3个平板。细菌、真菌与放线菌分别在30~32、24~26℃下恒温培养, 待菌落生长出来即进行结果记载^[17]。

1.3 根际土壤酶活测定方法 多酚氧化酶(PPO)采用邻苯三酚比色法测定。以1,2,3-邻苯三酚(焦性没食子酸)为底物水解产生1 μg没食子素的酶量定义为1个酶活单位, 以0.750 0 g $K_2Cr_2O_7$ 溶于1 L 0.5 mol/L HCl中的色度相当于50 ml乙醚中含5 ng没食子素为基准, 测定在30℃下土壤样品对底物产生的 OD_{430nm} 值, 对比获得没食子素的含量(μg)。半纤维素酶主要为木聚糖酶, 底物为桦木聚糖采用3,5-二硝基水杨酸比色法测定^[18]。纤维素酶同半纤维素酶测定方法, 只是底物为CMC-Na; 淀粉酶以外切的糖化型为代表, 测定其对可溶性淀粉水解的还原糖^[19]。脱氢酶活性采用红四氮唑(TTC)改良法测定^[20-25]。以TTC(2,3,5-triphenyltetrazolium)为底物, 样品与底物在40℃下恒温反应2 h, 以1 ml或1 g样品在1 h内生成的1 μg甲簪TPF(triphenylformazan)的量[μg TPF/(ml·h)]定义为1个酶活力单位U。磷酸酶用对硝基苯磷酸二钠为底物的比色法测定^[26]。无机焦磷酸酶以焦磷酸钠为底物的定磷比色法测定^[26]。蛋白酶活性的测定采用文献[19]的方法。脲酶采用文献[26]的方法。蔗糖酶以浓度5%蔗糖为底物的DNS比色法测定。

1.4 数据处理 试验数据采用Excel电子文档及SPSS软件

基金项目 云南省自然科学基金资助项目(2007E049M)。

作者简介 孙传伯(1978-), 男, 安徽桐城人, 硕士研究生, 研究方向: 生物质能与环境工程。* 通讯作者。

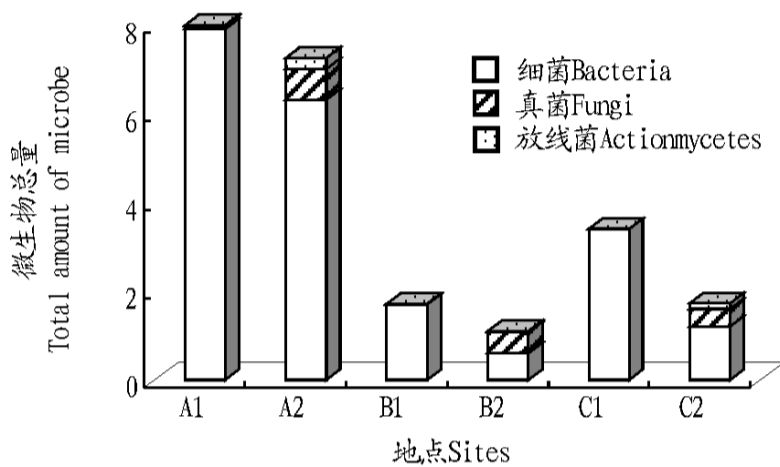
收稿日期 2008-05-12

统计分析处理。

2 结果与分析

2.1 土壤 pH 值的差异 用酸度计测定栽培香石竹的土壤 pH 值,正常植株下的土壤 pH 值均比出现病症植株下的土壤 pH 值高。正常株的 pH 值的中位数是 7.78,发病株的是 7.49;正常株 pH 值平均值为 7.76,比发病株高 0.25 个 pH 单位;正常株下土壤的 pH 值都在 7.6 以上,趋向碱性方向;而发病株的土壤 pH 值都在 7.6 以下,始终低于正常株,其数值变化区间为中性或偏向酸性靠近;2 种植株状态根际土壤 pH 值变化有较强的规律性。

2.2 根际微生物的总量 细菌、真菌和放线菌是土壤中主要的 3 大类微生物,在土壤有机质和无机质的转化中起着巨大作用^[27],土壤微生物总量可以反映其土壤活力程度。



注:A1、B1、C1 为正常株试点;A2、B2、C2 为发病株试点。

Note: A1, B1 and C1 are the test plots of normal plants; A2, B2 and C2 are the test plots of diseased plants.

图1 香石竹根际土壤微生物总量变化

Fig.1 Changes of the total quantity of rhizosphere soil microorganism of carnation

从图1 可以看出,3 个采样点香石竹根际土壤微生物总量变化主要体现在细菌数量的变化上。从总体趋势看,正常株微生物总量呈高于发病株的规律性;A 试点微生物总量变化差异较小,正常株的微生物总量只比发病株高出 10%;B 和 C 试点微生物总量变化比较明显,正常株的微生物总量比发病株分别高出 55% 和 98%。3 地正常株、发病株的微生物总量关系为:A > C > B,这可能和 3 地不同耕作管理及土质条件有关,因为土壤中微生物的生长发育经常受到来自各方面因素的干扰,如土壤的理化性状、土壤温湿度、土壤有机质含量、土壤肥力水平等。图1 的总体变化趋势也与“2.1”土壤 pH 值变化趋势相吻合,因为大多数细菌与真菌相比,一般都喜居偏碱性的土壤环境。在栽培香石竹的偏碱土壤中细菌生长代谢,其产物能给香石竹提供营养,并加强对真菌病害的防护作用,所以在正常株土壤中细菌数较发病株多。

2.3 微生物及土壤 pH 值的相关性 从表1 可以看出,设施栽培下香石竹根际土壤微生物中真菌和放线菌数量变化之间呈显著($P < 0.05$) 正相关;好氧性细菌和细菌、厌氧性细菌数之间也有显著的正相关性;此外,真菌数和土壤 pH 值之间呈显著负相关;而细菌数和放线菌数、真菌数、厌氧细菌数、土壤 pH 值之间没有明显的相关性。说明当香石竹病株根际土壤中放线菌增多时,可能产生了抑制细菌的抗生素,这与王艳等^[28] 报道的结果相同。而真菌基本不受放线菌影响,导致其数量增多,此推理可从表1 得出的真菌与放线菌呈显

著正相关获得证据支持。伴随着微生物结构组成的变化,也引起了土壤生态环境的重新平衡调整,同时土壤 pH 值等理化生态条件因子也发生了变化。从实测数据来看,当真菌数量增多时,土壤 pH 值也向中性或偏酸性靠近,这与“2.1”和“2.2”的实际试验环境情况相符。由图1 正常株土壤中的细菌总数比发病株多,结合相关性分析有:香石竹根际土壤微生物总量变化主要表现在细菌总数上,所以导致了正常株的微生物总量要比发病株多,从而说明根际土壤中细菌、真菌和放线菌的种群数量变化对香石竹生长有显著的影响,可从微生物的组成结构上对其发病与否进行表征与预测。

表1 香石竹根际土壤微生物和土壤 pH 值相关分析

Table 1 Correlative analysis of microorganism and pH value in rhizosphere soil of carnation

	土壤 pH 值 Soil pH value	细菌总数 Total bacterial number	真菌 Fungus	放线菌 Actinomycete	好氧细菌 Aerobic bacteria	厌氧细菌 Anaerobic bacteria
土壤 pH 值 Soil pH value	1					
细菌总数 Total bacterial number	0.214	1				
真菌 Fungus	-0.858*	-0.024	1			
放线菌 Actinomycete	-0.785	0.289	0.842*	1		
好氧细菌 Aerobic bacteria	0.331	0.880*	-0.342	-0.018	1	
厌氧细菌 Anaerobic bacteria	0.632	0.677	-0.676	-0.347	0.889*	1

注:* 表示 0.05 显著水平。

Note: * stands for significance at 0.05 level.

2.4 根际土壤酶活性间相关性 对 3 地采集的每个样品进行 10 种酶的活力测定后,用 SPSS 软件对数据分析,结果见表 2。由表 2 可知,纤维素酶和蛋白酶有极显著($P < 0.01$) 的正相关性,与脲酶呈显著正相关;半纤维素酶与蔗糖酶、脲酶与蛋白酶之间皆有显著的正相关性。还可看出,对植物主要组成结构纤维素有水解作用的纤维素酶与控制唯一人工合成物尿素水解的脲酶存在显著互助关系;而对植物纤维组成中多分枝的杂多糖聚合物半纤维素有水解作用的半纤维素酶则与糖控制转化有生理作用的蔗糖有互助现象;而蛋白酶与纤维素酶及与脲酶的正相关性则需要深入研究。按常理论,酶是蛋白质为主体的活性有机大分子,易受蛋白酶攻击而失去活性,应是反相关性,结果却相反。也许是在土壤大环境缓冲体系下,两者酶活再高也达不到工业发酵产酶的程度而相互干扰,在土壤中被固定在相对不接触移动的程度范围,而蛋白酶水解产物分子较小,易移动成为合成相应其他酶的原料,故此有显示正相关的显著变化现象。另外,起氧化还原作用的多酚氧化酶、脱氢酶与其他酶无显著相关性,两者之间也无相关作用,表明这 2 种酶与其他水解酶在调查研究条件下是独立发挥作用的酶。多酚氧化酶是一大类与金属离子有关的不明确特定某种酶的总称,而脱氢酶则是与动植物及微生物等代谢中氧化-还原中氢转移密切相关的酶。

2.5 微生物与酶的关系 由表 3 可知,好氧生长细菌与半纤维素酶、蔗糖酶之间有显著($P < 0.05$) 的负相关性;厌氧生

表2 香石竹根际土壤酶活性相关分析

Table 2 Correlative analysis of enzyme activity of rhizosphere soil microorganism of carnation

	多酚氧化酶 Polyphenol oxidase	脱氢酶 Dehydrogenase	纤维素酶 Cellulase	半纤维素酶 Hemicellulase	淀粉酶 Amylase	蔗糖酶 Sucrase	蛋白酶 Protease	磷酸酶 Phosphatase	无机焦磷酸酶 Inorganic pyrophosphatase	脲酶 Urease
多酚氧化酶 Polyphenol oxidase	1									
脱氢酶 Dehydrogenase	0.560	1								
纤维素酶 Cellulase	-0.589	0.012	1							
半纤维素酶 Hemicellulase	-0.159	-0.292	-0.156	1						
淀粉酶 Amylase	-0.782	-0.240	0.350	0.044	1					
蔗糖酶 Sucrase	-0.338	-0.084	0.187	0.815*	0.046	1				
蛋白酶 Protease	-0.505	0.110	0.970**	0.018	0.256	0.369	1			
磷酸酶 Phosphatase	-0.622	-0.009	0.695	-0.354	0.803	-0.251	0.567	1		
无机焦磷酸酶 Inorganic pyrophosphatase	0.192	0.526	-0.184	-0.169	-0.249	0.253	-0.115	-0.360	1	
脲酶 Urease	-0.786	-0.247	0.871*	0.147	0.664	0.284	0.839*	0.788	-0.454	1

注: * 表示0.05 显著水平; ** 表示0.01 显著水平。

Nte: * and ** stand for significance at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

长细菌和半纤维素酶之间也有显著的负相关性。说明根际土壤的半纤维素酶对根际土壤的好氧生长细菌和厌氧生长细菌有显著的抑制作用。当半纤维素酶活较高时相应地土壤中能产生此酶的真菌类微生物活跃,土壤的生态结构就会发生调整,细菌类微生物就会受到抑制;而此时,植物表皮中的半纤维素易被分解,造成植物易发病。蔗糖酶是与植物和微生物生理代谢密切相关的一类重要的酶,在研究中将其称

为特定意义的转化酶类,该研究中蔗糖酶活性和好氧生长细菌呈显著的负相关性,说明当蔗糖酶活力增高时,香石竹根际分泌物会发生变化,微生物类群间结构也会发生变化,而生态平衡微生物间的活动是相互影响的,这导致好氧细菌生长受到抑制。所以,土壤中微生物可以对土壤的酶活性进行表征。

表3 香石竹根际土壤微生物和土壤酶活性相关分析

Table 3 Correlative analysis between microorganism and enzyme activity in rhizosphere soil of carnation

	多酚氧化酶 Polyphenol oxidase	脱氢酶 Dehydrogenase	纤维素酶 Cellulase	半纤维素酶 Hemicellulase	淀粉酶 Amylase	蔗糖酶 Sucrase	蛋白酶 Protease	磷酸酶 Phosphatase	无机焦磷酸酶 Inorganic pyrophosphatase	脲酶 Urease
细菌总数 Total bacterial number	-0.226	-0.036	0.286	-0.624	0.555	-0.752	0.094	0.808	-0.497	0.365
真菌 Fungus	0.434	-0.217	-0.596	0.458	-0.184	-0.126	-0.543	-0.353	-0.595	-0.297
放线菌 Actinomycte	0.568	0.153	-0.308	0.102	-0.192	-0.392	-0.277	-0.550	-0.631	-0.158
好氧细菌 Aerobic bacteria	-0.122	0.091	0.229	-0.902*	0.347	-0.835*	0.016	0.649	-0.108	0.116
厌氧细菌 Anaerobic bacteria	-0.299	0.061	0.537	-0.880*	0.259	-0.583	0.346	0.642	0.048	0.293

3 结论

(1) 香石竹正常植株下的根际土壤pH值平均值比病症土壤低,且pH值变化和真菌数之间有显著的负相关性。

(2) 设施根际土壤中真菌数和放线菌数有显著的正相关性,对植物的防治有重要的参考价值;根际土壤中好氧细菌与细菌总数及厌氧细菌有显著的正相关性,对土壤肥力的表征意义重大。

(3) 纤维素酶和蛋白酶之间有极显著正相关性,土壤酶活之间有显著相关性,表明各种酶之间是相互影响相互作用的。

(4) 酶活和微生物之间的相关性能在一定程度上反映土壤微生物的种类和数量;作为土壤生物学性状指标的酶活与土壤微生物的种类和数量有密切关系,所以土壤中的微生物可以对相应的酶活性进行表征。

参考文献

[1] JENKINSON D S, LADD J N. Microbial biomass in soil: Measurement and

turnover [C] // PAUL E A. Soil biochemistry. New York: Marcel Dekker, 1981: 415 - 471.

[2] 何振立. 土壤微生物量及其在养分循环和环境质量评价中的意义 [J]. 土壤, 1997, 29(2): 61 - 69.

[3] 李香真, 陈佐忠. 不同放牧率对草原植物与土壤C、N、P含量的影响 [J]. 草地学报, 1998, 6(2): 90 - 98.

[4] TSCHERKO D, HAMMESFAHR U, MARX MC, et al. Shifts in rhizosphere microbial communities and enzyme activity of *Poa alpina* across an alpine chronosequence [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36: 1685 - 1698.

[5] 王书锦, 胡江春. 新世纪中国土壤微生物学的展望 [J]. 微生物学杂志, 2002, 22(1): 36 - 39.

[6] 邱莉萍, 刘军, 王益权. 土壤酶活性与土壤肥力的关系研究 [J]. 植物营养与肥料学报, 2004, 10(3): 277 - 280.

[7] 郭学军. 微生物对土壤环境中重金属活性的影响 [J]. 应用与环境生物学报, 2002, 8(1): 105 - 110.

[8] 周丽霞, 丁明懋. 土壤微生物学特性对土壤健康的指示作用 [J]. 生物多样性, 2007, 15(2): 162 - 171.

[9] 廖梓良, 孙传伯, 李云, 等. 香石竹根际土壤微生物酶活性变化分析 [J]. 现代农业科技, 2008(2): 10 - 12.

[10] GARIBALDI A, GULINO ML. Fusarium wilt of carnation: present situation, problems and perspectives [J]. Acta Horticulturae, 1987, 216: 45 - 54.

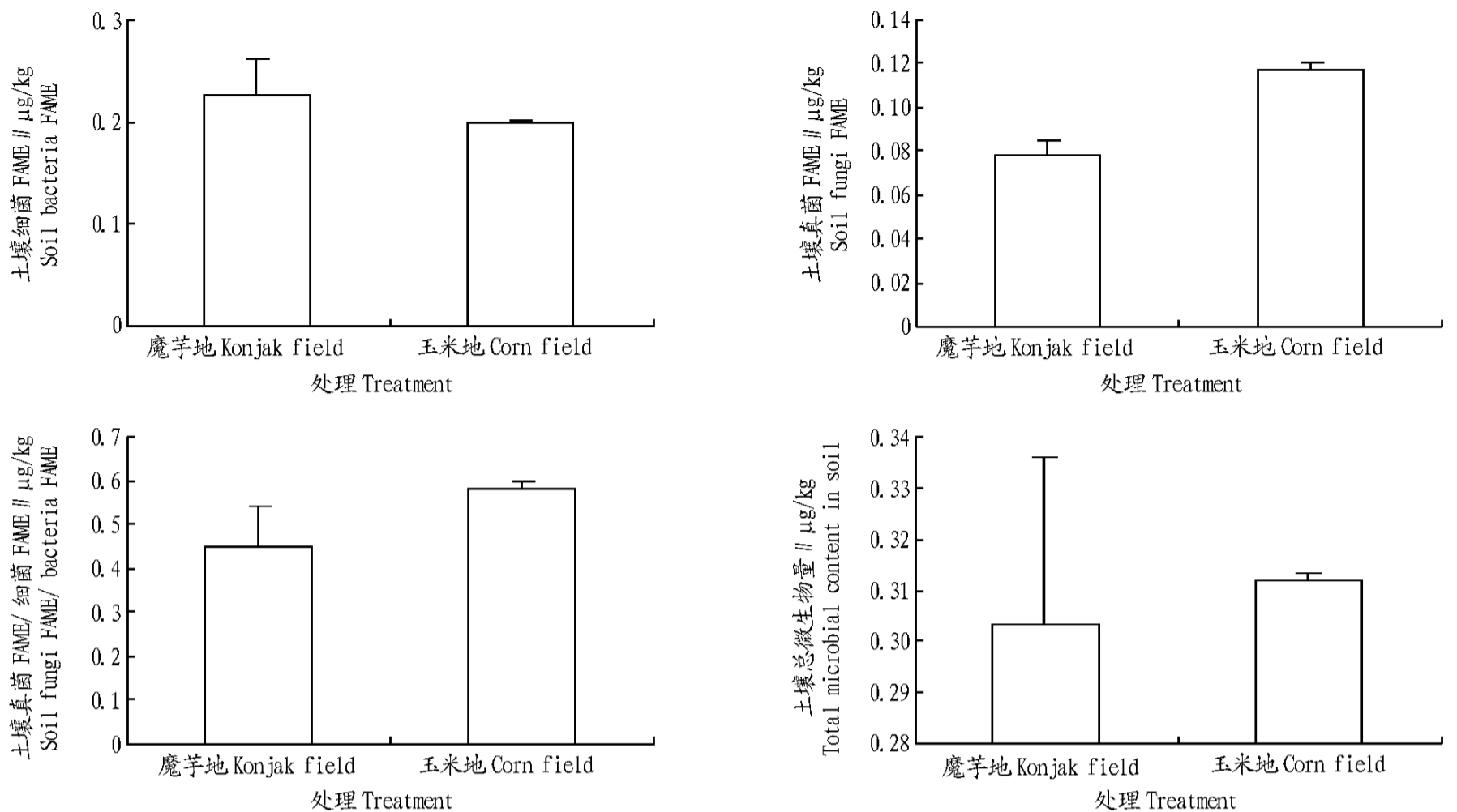


图3 魔芋种植对土壤微生物群落组成的影响

Fig.3 Effects of konjak planting on microbial community composition in soil

参考文献

- [1] 崔鸣, 赵兴喜, 都大俊, 等. 氮磷钾肥料对魔芋产量的影响效应研究[J]. 水土保持研究, 2006, 13(6): 185 - 187.
- [2] INSAM H, MITCHELL C C, DORMAAR J F. Relationship of soil microbial biomass and activity with fertilization practice and crop yield of 3 soils[J]. Soil Biol Biochem, 1991, 23: 459 - 464.
- [3] BASUS, PAII DP, BEHERAN. Microfungal biomass in some microbial biomass [J]. Soil Biol Biochem, 1992, 24: 1 - 3.
- [4] ANDERSON, T H, DOMSCH, K H. Ratio of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils [J]. Soil Biol Biochem, 1989, 21: 471 - 479.
- [5] GARCIA C, HERNANDEZ T, ROLDAN A, et al. Effect of plant cover decline on chemical and microbiological parameters under Mediterranean climate [J]. Soil Biol Biochem, 2002, 34: 635 - 642.
- (上接第9175页)
- [11] TRAME R, PICONAT J C, METATA Y C. Epidemiology of fusarium wilt during propagation of carnation [J]. Acta Horticulturae, 1983, 141: 71 - 77.
- [12] 刘广深, 徐东梅, 许中坚. 用通径分析法研究土壤水解酶活性与土壤性质的关系 [J]. 土壤学报, 2003, 40(5): 756 - 762.
- [13] 万忠梅, 吴景贵. 土壤酶活性影响因子研究进展 [J]. 西北农林科技大学学报, 2005, 33(6): 88 - 91.
- [14] MAWDSLEY J L, BURNS R G. Inoculation of plants with Flavobacterium P25 results in altered rhizosphere enzyme activities [J]. Soil Biol Biochem, 1994, 26: 871 - 882.
- [15] NASEBY D C, LYNCH J M. Rhizosphere soil enzymes as indicators of perturbations caused by enzyme substrate addition and incubation of a genetically modified strain of Pseudomonas fluorescens as wheat seeds [J]. Soil Biol Biochem, 1997, 29: 1353 - 1362.
- [16] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法 [M]. 北京: 科学技术出版社, 1985.
- [17] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1986.
- [18] 刘士清, 李文鹏, 廖昌琮, 等. 沼气料液对木聚糖酶活性的影响 [J]. 中国沼气, 2004, 22(3): 8 - 10.
- [19] 中华人民共和国轻工部. 工业用液化型淀粉酶、糖化型淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶的质量标准及测定方法 [S]. 北京: 北京大学出版社, 1984: 294.
- [20] LENHARD G A. Standardized procedure for the determination of hydrogenase activity in samples for anaerobic treatment systems [J]. Water Pollution Res, 1968, 2: 161 - 167.
- [21] RYSSOV NIELSEN K H. Measurement of the inhibition of respiration in activated sludge by a modified determination of the TTC dehydrogenase activity [J]. Wat Res, 1975, 9: 1179 - 1185.
- [22] BENEHLD C B, HOWARD P J A, HOWARD D M. The estimation of dehydrogenase activity in soil [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1977, 9: 67 - 70.
- [23] CASIDA L E, KLEIN D A, SANTORO T. Soil dehydrogenase activity [J]. Soil Science, 1964, 98: 371 - 376.
- [24] FRIEDEL J K, MILLER K, HSCHER W R. Comparison and improvement of methods for determining soil dehydrogenase activity by using triphenyltetrazolium chloride and iodobromotetrazolium chloride [J]. Biology and Fertility of Soils, 1994, 18: 291 - 296.
- [25] ROSS D J. Some factors influencing the estimation of dehydrogenase activities of some soils under pasture [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1971, 3: 97 - 110.
- [26] A·L·佩奇, R·H·米勒. 土壤分析法 [M]. 闵九康, 郝心仁, 严慧峻, 等译. 北京: 中国农业出版社, 1991.
- [27] 褚海燕, 李振高. 稀土元素镧对红壤微生物区系的影响 [J]. 环境科学, 2000(6): 28 - 31.
- [28] 王燕, 宗兆锋, 程联社. 放线菌在植物病害生物防治中的应用 [J]. 杨凌职业技术学院学报, 2005, 4(3): 21 - 23.