

# 道地药材怀牛膝生长期间土壤微生物与酶活性研究

吴小丽<sup>1</sup>, 黄进勇<sup>1</sup>, 岳彩鹏<sup>1</sup>, 王新民<sup>1,2,3\*</sup>, 魏志华<sup>2</sup>

(1. 郑州大学生物工程系, 河南郑州 450001; 2. 郑州牧业工程高等专科学校, 河南郑州 450011; 3. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100094)

**摘要** [目的] 对怀牛膝的整个生育周期内土壤微生物和酶活性进行研究, 探讨怀牛膝药材的道地性成因。[方法] 以不同怀牛膝生长时期的不同层次土壤为材料, 研究土壤微生物总数和酶活性的变化规律。[结果] 怀牛膝不同生长时期土壤微生物总数和酶活性在种植前较高, 苗期较低, 增重期又增高, 总体上表现为高-低-高的变化规律。土壤微生物的总数和酶活性随取样深度的增加均表现为降低趋势, 0~20 cm 的表土层明显高于 20~40 cm 的亚表层和 40~60 cm 深层。土壤微生物数量和酶活性之间表现出较高的相关性。[结论] 怀牛膝在增重期土壤微生物数量和酶活性均最大。

**关键词** 怀牛膝; 微生物; 酶活性

**中图分类号** S154.39 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)23-11008-02

## Study on the Soil Microbe Populations and Enzyme Activities during the Growth in the Field of *Achyranthes bidentata* Blume.

WU Xiao-li et al (Department of Bioengineering, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450001)

**Abstract** [Objective] The research aimed to study the changing pattern of the soil microbe populations and enzyme activities during the growth of *Achyranthes bidentata* Blume. and discuss the factors affecting the good quality of this herbal plant. [Method] The soil microbe populations and enzyme activities were studied during the growth of *Achyranthes bidentata* Blume using the soils at different period and different soil depth. [Result] The total microbe populations and enzyme activities had shown a trend of high-low-high during the experiment time (from July to November in 2008). And there was a good correlation between the microbial populations and enzyme activities. With the depth added, the microbe populations and enzyme activities declined continually and the soil microbe populations and enzyme activities at 0-20 cm depth were higher than that of 20-40 cm and 40-60 cm. [Conclusion] The soil microbe populations and enzyme activities were all the highest at the weight-gaining stage of *Achyranthes bidentata* Blume.

**Key words** *Achyranthes bidentata* Blume.; Soil microbe populations; Enzyme activities

怀牛膝 (*Achyranthes bidentata* Blume) 为苋科牛膝属多年生草本植物, 为我国著名的道地药材“四大怀药”之一, 主产于河南武陟、泌阳等地<sup>[1]</sup>。近年来, 关于怀牛膝的规范化栽培、加工炮制、品质研究、化学成分、药理作用以及临床应用等方面的研究很多<sup>[2]</sup>。但对于怀牛膝生长期间土壤微生物及酶活性的研究还未见报道。为此, 笔者对怀牛膝土壤微生物的数量、分布规律和土壤酶活性的变化状况及它们之间的相互关系进行了研究, 旨在为揭示怀牛膝药材的道地性成因及进行其标准化栽培提供理论依据。

## 1 材料与方

**1.1 试验地概况** 怀牛膝道地产区气候为大陆性季风型温带半干旱性, 全年日照时数 2 422.7 h, 年日照率 55%。全区年平均气温 14.9 °C, 7 月平均温度最高为 27.7 °C, 全年有效积温 4 874.8 °C, 无霜期约 230 d。土壤类型以壤土、砂壤土为主, 其理化性状为: 有机质含量 23.9 g/kg, 全氮含量 0.8 g/kg, 速效氮含量 78.30 mg/kg, 速效磷含量 7.74 mg/kg, 速

效钾含量 164.30 kg/kg, pH 值 7.89。

**1.2 试验地点和取样方法** 供试土壤采自焦作市武陟县驾部一村, 于 2008 年怀牛膝种植前、苗期、盘棵期、增重期、收获期分别进行田间取样。样点在怀牛膝行间, 取样深度分别为 0~20、20~40、40~60 cm 3 个层次。土样采集用 5 点采样混合再用四分法。样品分 2 份, 1 份放于 4 °C 冰箱保存用于微生物的测定, 另一份风干过筛测定土壤酶活性。

**1.3 测定项目与方法** 分别采用牛肉膏蛋白胨培养基、马铃薯-蔗糖培养基 (PDA)、马丁氏培养基培养, 稀释平板法测定细菌、真菌、放线菌的总数<sup>[3]</sup>; 土壤脲酶活性采用苯酚次氯酸比色法测定; 蛋白酶活性采用茆三酮比色法<sup>[4]</sup>测定。

## 2 结果与分析

**2.1 怀牛膝不同生育时期表层土壤中微生物数量和酶活性变化** 从表 1 可以看出, 土壤中 3 大类微生物相对数量中细菌最多, 占其总量的 94.0%~95.5%, 放线菌次之, 真菌最少。细菌数量以及微生物总量的最大值均出现在怀牛膝增

表 1 怀牛膝不同生育时期表层 (0~20 cm) 土壤中微生物数量和酶活性变化

Table 1 The changes of microorganism quantity and enzyme activity in surface soil (0-20 cm) of *Achyranthes bidentata* Blume in different growth periods

| 生长期                         | 细菌// × 10 <sup>6</sup> /g | 真菌// × 10 <sup>3</sup> /g | 放线菌// × 10 <sup>5</sup> /g | 微生物总数// × 10 <sup>6</sup> g   | 脲酶//mg/g | 蛋白酶//mg/g |
|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------|-----------|
| Growth periods              | Bacteria                  | Fungi                     | Actinomycete               | Total number of microorganism | Urease   | Protease  |
| 种植前 Before planting         | 6.764                     | 6.952                     | 4.258                      | 7.196                         | 1.167    | 0.439     |
| 苗期 Seedling period          | 6.543                     | 6.741                     | 3.956                      | 6.945                         | 1.035    | 0.364     |
| 盘棵期 Vigorous growing period | 7.113                     | 8.357                     | 4.028                      | 7.524                         | 1.325    | 0.456     |
| 增重期 Weight gain period      | 8.697                     | 12.549                    | 4.106                      | 9.121                         | 1.536    | 0.613     |
| 收获期 Harvest period          | 7.336                     | 9.354                     | 3.851                      | 7.732                         | 1.257    | 0.321     |

**基金项目** 河南省杰出青年基金项目 (074100510018); 中国博士后科学基金项目 (20070410616)。

**作者简介** 吴小丽 (1982 - ), 女, 河南开封人, 硕士研究生, 研究方向: 植物资源。\* 通讯作者, 博士, 副教授, E-mail: wangxinmindr@sina.com.cn。

**收稿日期** 2009-04-20

重期; 在怀牛膝的整个生育长期内, 微生物呈现先减少再增加最后又减少的状况; 真菌数量最大值出现在增重期, 而放线菌数量在整个生育周期中变化不明显。土壤中脲酶和蛋白酶活性同样出现在怀牛膝增重期, 其变化趋势和微生物数

量变化相似。

**2.2 怀牛膝不同生育时期各土层微生物总量和酶活性变化** 从表 2 可以看出,不同的取样深度土壤微生物的总数存在着较大差异。土壤微生物的分布状况均为:表层土 > 亚表层土 > 深层土,增重期表层土中土壤微生物总量最高达到了  $9.121 \times 10^6/g$ ,而苗期最低为  $6.945 \times 10^6/g$ ;亚表层和深层土中微生物总量也以增重期最高,苗期最低。不同的取样深度土壤酶活性也存在较大差异,与土壤微生物总量的分布状况基本一致,表现为:表层土 > 亚表层土 > 深层土;增重期,脲酶活性和蛋白酶活性均最大,脲酶活性在苗期最小,而蛋白酶活性是在收获期最小。微生物总量以及土壤酶活性随土层的这种变化规律既与牛膝根系的垂直分布有关,同时也与土层温度的变化有关<sup>[5]</sup>。

**2.3 怀牛膝不同生育时期土壤微生物数量和酶活性之间的相关性分析** 从表 3 可以看出,除了细菌和脲酶在苗期达到显著水平外,其余各因素在各个时期均达到了极显著水平。这说明微生物数量的多少与酶活性呈正相关关系。这与 Insam 及张国红等所报道的“微生物总数越多,酶活性越高”的结论是一致的<sup>[5-6]</sup>。

表 2 不同采样深度微生物总数和酶活性状况

Table 2 The situations of total number of microorganism and enzyme activity in different sampling depth

| 测定指标<br>Measuring index        | 土层深度<br>cm<br>Soil depth | 微生物总数<br>$\times 10^6/g$<br>Total number of microorganism | 脲酶<br>mg/g<br>Urease | 蛋白酶<br>mg/g<br>Protease |
|--------------------------------|--------------------------|---|----------------------|-------------------------|
| 种植前<br>Before planting         | 0~20                     | 7.196   | 1.167                | 0.439                   |
|                                | 20~40                    | 5.413   | 0.815                | 0.325                   |
|                                | 40~60                    | 3.254   | 0.764                | 0.258                   |
| 苗期<br>Seedling period          | 0~20                     | 6.945   | 1.035                | 0.364                   |
|                                | 20~40                    | 4.625   | 0.792                | 0.234                   |
|                                | 40~60                    | 3.036   | 0.628                | 0.205                   |
| 盘裸期<br>Vigorous growing period | 0~20                     | 7.524   | 1.325                | 0.456                   |
|                                | 20~40                    | 5.637   | 0.886                | 0.351                   |
|                                | 40~60                    | 3.891   | 0.783                | 0.265                   |
| 增重期<br>Weight gain period      | 0~20                     | 9.121   | 1.536                | 0.613                   |
|                                | 20~40                    | 6.958   | 1.036                | 0.432                   |
|                                | 40~60                    | 4.021   | 0.965                | 0.316                   |
| 收获期<br>Harvest period          | 0~20                     | 7.732   | 1.257                | 0.321                   |
|                                | 20~40                    | 5.832   | 0.982                | 0.259                   |
|                                | 40~60                    | 3.536   | 0.764                | 0.194                   |

表 3 怀牛膝不同生育时期土壤微生物数量与土壤酶活性之间的关系

Table 3 The relationship between soil microorganism and enzyme activity in different growth periods of *A. bidentata*

| 生育时期<br>Growth periods      | 细菌-真菌<br>Bacteria-Fungi | 细菌-脲酶<br>Bacteria-Urease | 真菌-放线菌<br>Fungi-Actinomycete | 真菌-脲酶<br>Fungi-Urease | 放线菌-脲酶<br>Actinomycete-Urease |
|-----------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------------|-----------------------|-------------------------------|
| 种植前 Before planting         | 0.629**                 | 0.595**                  | 0.712**                      | 0.701**               | 0.821**                       |
| 苗期 Seedling period          | 0.679**                 | 0.425*                   | 0.721**                      | 0.672**               | 0.743**                       |
| 盘裸期 Vigorous growing period | 0.727**                 | 0.519**                  | 0.620**                      | 0.725**               | 0.777**                       |
| 增重期 Weight gain period      | 0.678**                 | 0.619**                  | 0.798**                      | 0.613**               | 0.618**                       |
| 增重期 Weight gain period      | 0.733**                 | 0.607**                  | 0.863**                      | 0.663**               | 0.618**                       |

3 结论

该研究结果表明,不同的取样时间、不同的取样深度,微生物的数量与酶活性都是不同的。在试验期内,土壤微生物数量和酶活性呈先下降后增加再下降的趋势;土壤微生物和土壤酶活性之间呈显著相关性;随着土层的加深,怀牛膝各生长期土壤微生物数量和土壤酶活性均表现为:表层 > 亚表层 > 深层。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2005版) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 49.

[2] 刘舞霞, 郭青, 史叶龙. 牛膝栽培品的质量考察 III. 栽培措施和产地加工方法 [J]. 中药材, 1990, 13 (10): 8-9.

[3] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析手册 [M]. 北京: 农业出版社, 1986.

[4] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 1986.

[5] INSAM H. Relationship of soil microbial biomass and activity with fertilizer practice and crop yield of three Lutisols [J]. Soil Biol Biochem, 1991, 23: 459-464.

[6] 张国红, 任华中, 高丽红. 京郊日光温室土壤微生物状况和酶活性 [J]. 中国农业科学, 2005, 38 (7): 1447-1552.

(上接第 11004 页)

[18] 赵国华, 李志孝, 陈宗道, 等. 山药多糖对荷瘤小鼠免疫功能的影响 [J]. 营养学报, 2003, 25 (1): 110-112.

[19] 詹彤, 陶靖, 王淑如. 水溶性山药多糖对小鼠的抗衰老作用 [J]. 药学进展, 1999, 23 (6): 356-360.

[20] 蒋艳玲. 怀山药多糖对衰老小鼠免疫器官组织的影响 [J]. 河南中医药学刊, 2002, 17 (6): 18-19.

[21] 程林, 陈斌, 蔡宝昌. 山药及其麸炒品的多糖部位对小鼠免疫功能的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17 (2): 86-89.

[22] 王金亭. 甘薯多糖的生物活性及其作用机制研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2008, 29 (7): 183-185.

[23] 胡国强, 杨保华, 张忠泉. 山药多糖对大鼠血糖及胰岛释放的影响 [J]. 山东中医杂志, 2004, 23 (4): 230-231.

[24] 郜红利, 肖本见, 梁文梅. 山药多糖对糖尿病小鼠降血糖作用 [J]. 中国公共卫生, 2006, 22 (7): 804-805.

[25] 何云. 山药多糖降血糖作用的实验研究 [J]. 华北煤炭医学院学报, 2008, 14 (1): 448-449.

[26] 何云, 戚玉敏, 刘景升, 等. 山药多糖对糖尿病大鼠胰岛素及血小板数的影响 [J]. 河北北方医学院学报: 医学版, 2009, 26 (1): 29-32.