

文章编号 :1003-8701(2013)05-0018-04

树莓根际土壤微生物及土壤酶活性动态变化研究

杨国慧¹, 于洋¹, 张伟¹, 韩德果¹, 冯宇¹, 王凭¹, 孙兰英²

(1. 农业部东北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室 / 东北农业大学园艺学院, 哈尔滨 150030 ;
2. 黑龙江省农业科学院浆果研究所, 黑龙江 绥棱 152204)

摘要 : 分别于展叶期、新梢生长期、现蕾期、果实成熟期、落叶期取树莓“哈瑞太兹”根际土壤, 株龄为 2、4、5、7 年生, 测定过氧化氢酶、脲酶、磷酸酶活性, 土壤微生物生物量碳和氮, 细菌、真菌、放线菌数量的变化。结果表明: 过氧化氢酶、脲酶和磷酸酶的活性、微生物生物量碳和氮、细菌数量均表现为先上升后下降的趋势, 过氧化氢酶和脲酶的活性、微生物生物量碳和氮、细菌数量均在现蕾期时达到最大, 而磷酸酶活性在成熟期最高; 真菌数量表现为下降-上升-下降的趋势, 在成熟期达到最高, 而放线菌表现为上升-下降-上升趋势, 在现蕾期达到最高。

关键词 : 树莓; 根际; 土壤微生物; 土壤酶

中图分类号 : S663.2

文献标识码 : A

Studies on Dynamic Changes of Microorganism and Enzymatic Activity of Raspberry Rhizosphere Soil

YANG Guo-hui¹, YU Yang¹, ZHANG Wei¹, HAN De-guo¹, FENG Yu¹, WANG Ping¹, SUN Lan-ying²

(1. Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops of Northeast Region, Ministry of Agriculture; College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030 2. Institute of Berries Research, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Suiling 152204, China)

Abstract: The rhizosphere soil of raspberry 'Heritage' of 2, 4, 5 and 7 years old was collected at leaf-expansion, new shoot growth, flower budding, fruit maturity and defoliation stage. The soil enzymes (catalase, urease, phosphatase) activity, soil microbial biomass of carbon and nitrogen and the number of soil microorganisms (bacteria, fungi and actinomycetes) were determined. The results showed that the activities of catalase, urease and phosphatase, microbial biomass of C and N, and the number of soil bacteria presented the trend of increased at first and then decreased. The activities of catalase and urease, soil microbial biomass of C and N, the number of soil bacteria reached the maximum at the flower budding stage, but the phosphatase activity reached the maximum in the fruit maturity period. The number of fungi presented a decrease-increase-decrease trend, and it reached the maximum at fruit maturity period. The dynamic change trend of actinomycetes was just the opposite to fungi, increase-decrease-increase, and reached the maximum in flower budding stage.

Keywords: Raspberry; Rhizosphere; Soil Microorganism; Soil Enzyme

树莓为蔷薇科(Rosaceae)悬钩子属(Rubus L.)小浆果半灌木果树, 又称托盘、马林等。树莓根系

易萌生不定芽, 形成根蘖苗。朱首军等人的研究表明, 种植树莓地块的土壤表层有机质含量较为丰富, 再加上易形成根蘖, 地表毛根含量较多, 因此具有良好的保土作用^[1]。

根际土壤是植物与土壤直接进行物质交换的最为活跃的场所, 对根际土界面的生态研究目前主要集中于根际土壤酶、根际土壤微生物和根系

收稿日期 : 2013-03-26

基金项目 : 农业部公益性行业专项基金(201103037)

作者简介 : 杨国慧(1969-), 女, 博士, 教授, 主要从事果树栽培与生理学研究。

分泌物等方面。果树基本为多年生木本植物或草本植物,由于长期生长在同一地点而引起根际土壤微生态的恶化,也是果树产量降低、土传病害加剧的主要原因。目前国内对于果树土壤微生态的研究还处于起步阶段,报道的树种有苹果、葡萄、香蕉、柑橘、樱桃等^[2-6]。本研究通过采集不同种植年限的树莓根际土壤,研究了土壤酶活性、土壤微生物生物量、土壤微生物数量在不同生长阶段的动态变化,旨在为今后采用合理的农业技术措施调整树莓土壤微生态环境提供理论依据。

1 材料与方 法

于 2011 年 5~10 月采集试验树莓根际土样,地点为哈尔滨市宾县树莓种植园,土壤为黑壤土(pH 值为 6.0),树莓品种为哈瑞太兹,株龄分别为 2 年、4 年、5 年和 7 年。分别于展叶期(5 月 4 日)、新梢生长期(7 月 6 日)、现蕾期(8 月 8 日)、果实成熟期(9 月 11 日)、落叶期(10 月 20 日)取上述 4 个株龄的根际土壤,S 型多点采集根际土样,取土深度为 10~20 cm,以行间土壤做对照。采用高锰酸

钾滴定法测定土壤过氧化氢酶活性、苯酚钠比色法测定脲酶活性、磷酸苯二钠比色法测定磷酸酶活性^[7-9];采用熏蒸提取-容量分析法测定土壤微生物生物量碳、熏蒸提取-茚三酮比色法测定土壤微生物生物量氮^[10];利用稀释平板法进行土壤细菌、真菌、放线菌数量统计,其中细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基、放线菌采用高氏一号培养基、真菌采用孟加拉红培养基^[11]。所用分光光度计为北京产 T6 系列普析通用,利用 SPSS 软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 不同生长期树莓根际土壤酶活性的变化

研究结果表明,不同株龄(2、4、5、7 年)树莓根际土壤过氧化氢酶活性、脲酶活性、磷酸酶活性在不同物候期的变化均呈现先上升再下降的趋势。土壤过氧化氢酶和脲酶的活性从展叶期均逐渐增高,现蕾期达到最大,之后一直下降,而土壤磷酸酶活性在果实成熟期达到了最高值,之后显著下降,行间对照表现出同样的变化规律(表 1)。

表 1 不同生长阶段树莓根际土壤酶活性

土壤酶	株龄	2 年生	4 年生	5 年生	7 年生	行间对照
过氧化氢酶	展叶期	21.55 ± 0.25d	22.55 ± 0.17b	22.56 ± 0.07c	22.26 ± 0.29b	22.65 ± 0.14c
	新梢生长期	22.25 ± 0.13c	23.13 ± 0.28a	22.95 ± 0.34b	22.62 ± 0.45b	23.33 ± 0.10b
	现蕾期	23.56 ± 0.17a	23.39 ± 0.14a	23.41 ± 0.07a	23.24 ± 0.24a	23.61 ± 0.08a
	成熟期	22.80 ± 0.11b	22.62 ± 0.15b	22.83 ± 0.20bc	22.61 ± 0.19b	22.77 ± 0.06c
	落叶期	21.11 ± 0.11e	20.62 ± 0.10c	20.82 ± 0.12d	21.13 ± 0.08c	21.30 ± 0.31d
脲酶	展叶期	6.26 ± 0.59c	7.81 ± 0.41cd	6.97 ± 0.58c	6.34 ± 0.63d	8.21 ± 1.13c
	新梢生长期	13.86 ± 0.78b	15.15 ± 1.27b	13.24 ± 0.81b	15.55 ± 1.48b	15.59 ± 0.94b
	现蕾期	21.33 ± 4.13a	24.26 ± 1.25a	17.15 ± 1.21a	18.17 ± 1.39a	18.86 ± 1.07a
	成熟期	8.84 ± 0.13c	10.61 ± 0.81c	12.75 ± 0.63b	10.88 ± 0.68c	9.10 ± 0.80c
	落叶期	6.92 ± 1.20c	6.96 ± 0.62d	6.75 ± 1.20c	6.84 ± 0.35d	6.17 ± 0.40d
磷酸酶	展叶期	18.49 ± 0.98e	23.71 ± 1.75e	22.04 ± 1.85d	20.42 ± 3.24d	21.94 ± 1.07d
	新梢生长期	32.09 ± 0.81c	36.11 ± 1.53c	36.66 ± 1.33b	37.88 ± 1.10b	35.14 ± 3.98b
	现蕾期	37.17 ± 0.47b	41.09 ± 0.39b	39.10 ± 1.70b	40.88 ± 1.82b	37.98 ± 1.68b
	成熟期	50.77 ± 2.03a	57.68 ± 0.81a	60.42 ± 1.10a	62.45 ± 1.80a	63.82 ± 1.01a
	落叶期	27.93 ± 3.05d	29.53 ± 1.33c	26.41 ± 2.48c	30.06 ± 2.89c	28.03 ± 2.33c

注 过氧化氢酶单位为 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \text{dwt}$,脲酶单位为 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \text{dwt}$,磷酸酶单位为 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \text{dwt}$,表中小写字母为 $\alpha=0.05$ 水平的差异显著性分析。

2.2 不同生长期树莓根际土壤微生物生物量的变化

研究表明,不同株龄树莓根际土壤微生物生物量碳和生物量氮也表现为先上升后下降的变化趋势:在现蕾期达到最大值,之后显著下降,行间对照表现出同样的变化规律(表 2)。

2.3 不同生长期树莓根际土壤微生物数量的变化

研究结果表明:不同株龄树莓根际土壤中细菌数量呈现出先上升再下降的趋势,在现蕾期达到最大,之后显著下降。真菌数量表现为下降-上升-下降的趋势,在成熟期达到最高。放线菌数量

先表现为逐渐升高,于现蕾期达到最大值,从现蕾期到成熟期显著下降,到落叶期又表现为升高。行

间对照无论是细菌、真菌,还是放线菌的数量变化均和树莓根际土壤变化规律相同(表 3)。

表 2 不同生长阶段树莓根际土壤微生物生物量碳和氮

生物量	株龄	2 年生	4 年生	5 年生	7 年生	行间对照
生物量碳	展叶期	110.89 ± 9.13c	102.90 ± 10.09d	106.43 ± 8.05d	100.52 ± 9.47c	99.49 ± 7.21d
	新梢生长期	162.29 ± 9.24b	168.15 ± 8.59b	158.17 ± 3.74b	167.28 ± 6.84b	176.68 ± 4.85b
	现蕾期	235.12 ± 9.42a	242.56 ± 6.27a	240.34 ± 9.71a	264.61 ± 5.96a	226.73 ± 4.15a
	成熟期	120.77 ± 9.07c	126.86 ± 5.13c	122.86 ± 8.40c	114.44 ± 7.45c	127.70 ± 6.66c
	落叶期	84.09 ± 5.62d	90.02 ± 2.22d	93.71 ± 3.61d	82.68 ± 1.80d	89.27 ± 6.38d
生物量氮	展叶期	10.68 ± 1.57c	16.91 ± 1.18c	4.91 ± 1.60c	7.57 ± 1.06d	6.76 ± 1.04cdc
	新梢生长期	13.79 ± 2.33b	18.96 ± 0.28b	15.03 ± 1.47b	14.18 ± 0.54b	12.50 ± 1.78b
	现蕾期	44.18 ± 0.34a	39.77 ± 1.16a	46.87 ± 2.55a	45.15 ± 0.51a	38.06 ± 2.68a
	成熟期	13.89 ± 0.42b	14.28 ± 0.43d	12.47 ± 4.29b	10.83 ± 0.40c	10.63 ± 2.55bc
	落叶期	5.90 ± 1.85d	9.08 ± 1.41e	4.04 ± 0.63c	5.22 ± 0.74e	5.80 ± 0.67d

注:生物量碳单位为 $\text{mg}\cdot\text{C}\cdot\text{kg}^{-1}\text{dwt}$,生物量氮单位为 $\text{mg}\cdot\text{N}\cdot\text{kg}^{-1}\text{dwt}$,表中小写字母为 $\alpha=0.05$ 水平的差异显著性分析。

表 3 不同生长阶段树莓根际土壤细菌、真菌和放线菌数量

微生物	株龄	2 年生	4 年生	5 年生	7 年生	行间对照
细菌数量	展叶期	1.87 ± 0.47cd	2.60 ± 0.43d	2.46 ± 0.60c	4.75 ± 0.69c	5.06 ± 0.50c
	新梢生长期	3.51 ± 1.23c	13.92 ± 0.67b	7.10 ± 0.80b	5.53 ± 0.45c	13.69 ± 1.30b
	现蕾期	26.70 ± 1.58a	18.73 ± 1.13a	17.39 ± 1.67a	29.02 ± 3.69a	27.09 ± 1.88a
	成熟期	14.71 ± 1.38b	10.77 ± 1.55c	10.67 ± 0.61b	9.38 ± 0.66b	8.35 ± 1.17c
	落叶期	0.92 ± 0.09d	1.06 ± 0.14d	2.42 ± 1.01c	0.88 ± 0.14d	1.25 ± 0.24e
真菌数量	展叶期	11.06 ± 2.62a	9.36 ± 0.97b	7.94 ± 0.28b	7.89 ± 1.37b	7.80 ± 1.06b
	新梢生长期	3.96 ± 0.47b	1.90 ± 0.92c	4.81 ± 1.51bc	3.51 ± 1.68c	4.17 ± 0.92c
	现蕾期	1.30 ± 0.35b	3.03 ± 0.52c	2.45 ± 0.93c	3.53 ± 1.37c	5.17 ± 0.77c
	成熟期	13.11 ± 0.78a	12.94 ± 1.69a	14.53 ± 3.92a	18.82 ± 0.94	14.52 ± 1.28a
	落叶期	1.96 ± 0.58b	2.19 ± 0.66c	2.69 ± 2.01c	7.79 ± 0.33b	2.16 ± 0.57d
放线菌数量	展叶期	9.13 ± 1.22c	11.89 ± 0.68b	11.18 ± 1.09c	6.96 ± 0.46b	6.26 ± 0.31c
	新梢生长期	13.49 ± 0.76b	10.73 ± 1.22b	10.04 ± 0.62c	8.28 ± 1.91b	10.38 ± 0.26b
	现蕾期	18.90 ± 1.60a	21.61 ± 1.08a	25.72 ± 1.96a	13.83 ± 2.08a	32.59 ± 1.42a
	成熟期	5.96 ± 1.51d	3.79 ± 1.47c	7.05 ± 1.33d	3.81 ± 1.79c	9.22 ± 0.97b
	落叶期	11.32 ± 1.21bc	8.12 ± 1.66d	13.54 ± 1.29b	7.83 ± 1.12b	9.85 ± 0.76b

注:细菌数量单位为 $\times 10^7\cdot\text{g}^{-1}\text{dwt}$,真菌数量单位为 $\times 10^3\cdot\text{g}^{-1}\text{dwt}$,放线菌数量单位为 $\times 10^5\cdot\text{g}^{-1}\text{dwt}$,表中小写字母为 $\alpha=0.05$ 水平的差异显著性分析。

2.4 树莓根际土壤酶活性、土壤微生物生物量、土壤微生物数量与株龄的关系

由表 1~3 可以看出,树莓根际过氧化氢酶、脲酶、磷酸酶的活性,土壤微生物生物量碳和氮,以及土壤细菌、真菌和放线菌的数量随株龄的增长,均没有表现出规律性的变化;土壤过氧化氢酶在展叶期、新梢生长期、现蕾期、果实成熟期和落叶期分别为 5 年、4 年、2 年、5 年和 7 年生酶活性最高,脲酶在这五个时期分别为 4 年、7 年、4 年、5 年和 4 年生酶活性最高,而磷酸酶在这五个时期分别为 4 年、7 年、4 年、7 年和 7 年生根际酶活

性最高;土壤微生物生物量碳在这五个时期分别为 2 年、4 年、7 年、4 年和 5 年生含量最高,而生物量氮在这五个时期分别为 4 年、4 年、5 年、4 年和 4 年生含量最高;土壤微生物细菌数量在这五个时期分别为 7 年、4 年、7 年、2 年和 5 年生最多,真菌数量在这五个时期分别为 2 年、5 年、7 年、7 年和 7 年生最多,而放线菌在这五个时期分别为 4 年、2 年、5 年、5 年和 5 年生最多。

3 讨论

土壤微生物随季节的变化是明显的,季节对

土壤微生物的影响是通过土壤温度、湿度、有机物的供应和植物生长状况等因素的综合作用而形成的^[12]。本研究结果表明,无论是树莓根际土壤酶活性、还是土壤微生物量均表现出明显的季节性变化特点,过氧化氢酶和脲酶的活性、土壤微生物量碳和氮、细菌和放线菌的数量均在现蕾期达到最大,而磷酸酶的活性和真菌的数量则在成熟期达到最大。分析其原因可能是秋果型树莓现蕾期处于8月上旬,这时的温度和水分条件等有利于土壤微生物的活动,导致了土壤中细菌和放线菌数量的增加,使得分泌到土壤中的过氧化氢酶、脲酶、磷酸酶量增加,从而导致了酶活性的增高。但树莓土壤磷酸酶活性最大值则是出现在果实成熟期,这一点与真菌数量的变化是一致的,陈伟研究表明,苹果园土壤中真菌的数量和碱性磷酸酶的活性呈极显著正相关^[13],但对于树莓来说这两者之间是否存在直接的相关性还需要进一步探讨。

一般来说,在土壤中细菌数量最多,其数量在 $10^6 \sim 10^9$ 之间,占微生物总数的70%~90%,放线菌的数量在 $10^4 \sim 10^6$ 之间,真菌的数量在 $10^2 \sim 10^5$ 之间^[14]。陈伟研究表明,细菌和放线菌的数量与苹果产量呈极显著正相关,而真菌与苹果产量间的关系不明显,细菌数量可作为评价果园土壤肥力的生物指标^[13]。本文的研究结果表明,树莓根际土壤中细菌数量最多,其次为放线菌,真菌数量最少,其占土壤中微生物总量最高时不超过6%,这一点和大多数作物的报道基本一致,而关于这三大微生物类群和树莓产量之间的关系还有待于验证。

刘素慧^[15]、董艳^[16]的研究结果表明随种植年限的增加,土壤微生物数量和土壤酶活性基本都表现为先增加后降低的趋势,本研究所测定的各项土壤微生物指标和株龄之间却没有表现出一致性的变化规律。分析其原因,可能主要为本研究所利用的材料最高株龄为7年,对于多年生作物果树来说,这一株龄还是比较短。其次,本研究利用的是秋果型树莓,对其株丛管理方式是每年春季萌芽前剪去其地上部分,利用基部芽抽生的新梢结果,这种管理方式可能也使株龄对土壤微生物的影响较小。此外,所采用的土、肥、水等技术管理措施对树莓根际土壤微生物的影响可能超过树龄的影响。因此,今后还应持续研究树莓株龄和土壤

微生态之间的动态变化关系。

本研究把树莓行间土壤设置为对照。对照组与测定组的土壤酶活性和微生物指标一样,均表现出明显的季节性变化趋势。可能是由于树莓易生根蘖,且秋果型树莓种植行间距较近,所以导致对照土壤和树莓根际土壤差别不大。因此今后在关于树莓根际土壤微生物的研究中应考虑取相近地块裸地或者种植其它作物的土壤为参考对照。

参考文献:

- [1] 朱首军, 陈云明, 陈铁山, 等. 树莓和黑莓对土壤物理性质的影响[J]. 西北植物学报, 2003, 23(8): 1462-1466.
- [2] 陈 汝, 王海宁, 姜远茂, 等. 不同苹果砧木的根际土壤微生物数量及酶活性[J]. 中国农业科学, 2012, 45(10): 2099-2106.
- [3] 龙 研, 惠竹梅, 程建梅, 等. 生草葡萄园土壤微生物分布及土壤酶活性研究 [J]. 西北农林科技大学学报, 2007, 35(6): 99-103.
- [4] 卢松茂, 李丽蓉, 曹明华. 香蕉园土壤活性微生物的测定[J]. 福建热作科技, 2008, 33(4): 16-17.
- [5] 李洁荣, 邓业成, 叶家颖, 等. 宫川蜜柑根际土壤酶活性与土壤养分含量相关性的研究[J]. 广西植物, 2002, 22(2): 189-192.
- [6] 秦嗣军, 吕德国, 李作轩, 等. 樱桃根际生物活性因子动态变化初步研究[J]. 吉林农业大学学报, 2006, 28(3): 274-278.
- [7] Marx M C, Wood M, Jarvis S C. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2001(33): 1633-1640.
- [8] Berchet V, Boulanger D, Gounot A M. Use of gel electrophoresis for the study of enzymatic activities of cold-adapted bacteria [J]. Journal of Microbiological Methods, 2002, 40(1): 105-110.
- [9] Vepsäläinen M, Kukkonen S, Vestberg M, et al. Application of soil enzyme activity test kit in a field experiment [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2001(33): 1665-1672.
- [10] 马效国, 樊丽琴, 陆 妮, 等. 不同土地利用方式对苜蓿茬地土壤微生物生物量碳、氮的影响 [J]. 草业科学, 2005, 22(10): 13-17.
- [11] 李振高, 骆永明, 滕 应. 土壤与环境微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 395-421.
- [12] 谢龙莲. 桉树人工林土壤微生物动态变化研究[D]. 华南热带农业大学, 2005.
- [13] 陈 伟. 苹果园土壤微生物类群与栽培环境关系的研究[D]. 山东农业大学, 2007.
- [14] 王 珊. 不同种植年限设施土壤微生物学特性变化研究[D]. 四川农业大学, 2007.
- [15] 刘素慧, 刘世琦, 张自坤, 等. 大蒜连作对其根际土壤微生物和酶活性的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(5): 1000-1006.
- [16] 董 盐, 董 坤, 郑 毅, 等. 种植年限和种植模式对设施土壤微生物区系和酶活性的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(3): 527-532.