

# 秦艽不同种植年限对根际土壤微生物群落结构影响的研究

王晓军<sup>1</sup>, 李和明<sup>2</sup>, 马廷吉<sup>3</sup>, 丁鹏<sup>3</sup>, 马廷菊<sup>4</sup>, 马远<sup>5</sup>

(1. 宁夏农林科学院固原分院, 宁夏 固原 756000; 2. 西吉县红耀乡人民政府农业综合服务中心, 宁夏 固原 756000; 3. 宁夏固原市原州区林业与草原局, 宁夏 固原 756000; 4. 原州区黄铎堡镇综合办公室林业服务中心, 宁夏 固原 756000; 5. 宁夏师范大学数学与计算机科学学院, 宁夏 固原 756000)

**摘要:**为了揭示秦艽不同种植年限对根际土壤微生物群落结构的影响, 利用 Biolog-ECO 板的方法, 开展了秦艽不同种植年限对根际土壤酶活性、土壤微生物群落平均颜色变化率(AWCD)、土壤微生物群落丰富度和土壤微生物群落多样性指数影响的研究。结果表明, 0~20 cm 土层, 栽培秦艽 3 年的土壤脲酶活性和蔗糖酶活性最高, 种植 3、5、7 年的土壤过氧化氢酶活性差异不显著; 土壤微生物群落多样性(Shannon)指数随着种植年限的延长也呈现逐渐下降的趋势; 土层 AWCD 随培养时间的延长呈现逐步增加的趋势。土壤微生物碳源整体利用能力大小顺序为: 种植 3 年 > 种植 1 年 > 种植 5 年 > 种植 7 年 > CK, 且不同种植年限下 0~20 cm 土层土壤微生物群落的碳源利用能力均高于 20~40 cm 土层。秦艽作为以根茎入药的中药材, 长期连作种植对土壤酶活性、微生物群落 AWCD、微生物群落丰富度及微生物群落多样性有较大影响, 因此, 人工栽培秦艽应在充分满足其生态和环境生长要求的基础上, 合理增加土壤微生物总量, 可提高秦艽产量。

**关键词:** 秦艽; 微生物群落; 酶活性; 丰富度; 多样性; 种植年限

中图分类号: S567.9

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2024)06-0045-05

## Effect of Gentiana on Soil Microbial Community Structure in Different Planting Years

WANG Xiaojun<sup>1</sup>, LI Heming<sup>2</sup>, MA Tingji<sup>3</sup>, DING Peng<sup>3</sup>, MA Tingju<sup>4</sup>, MA Yuan<sup>5</sup>

(1. Guyuan Branch of Ningxia Academy of Agriculture and Forestry, Guyuan 756000; 2. Hongyao Township people's Government Agricultural Comprehensive Service Center, Guyuan 756000; 3. Natural Resources Bureau of Yuanzhou District, Guyuan City, Guyuan 756000; 4. Huangduobao Town Comprehensive Office Forestry Service Center, Guyuan 756000; 5. School of Mathematics and Computer Science, Ningxia Normal University, Guyuan 756000, China)

**Abstract:** In order to reveal the effects of different planting years of Gentiana on soil microbial community structure and to provide theoretical basis for artificial cultivation of Gentiana, the effects of Gentiana on soil enzyme activity, soil microbial community AWCD, soil microbial community richness and soil microbial community diversity index were studied by using Biolog-Eco plate method. The results showed that in 0-20 cm soil layer, soil urease activity and sucrase activity reached the highest in the 3rd year of cultivation, while there was no significant difference in soil catalase activity in the 3rd, 5th and 7th years, and soil enzyme activity was higher than CK in all planting years. Shannon index also showed a decreasing trend with the extension of planting years. At the same time, AWCD in 0-20 cm soil layer showed a trend of gradual increase with the extension of culture time, and the overall utilization capacity of soil microbial carbon sources was in the following order: 3 years of planting > 1 year of planting > 5 years of planting > 7 years of planting > CK, and the carbon source utilization capacity of soil microbial community in 0-20 cm soil layer was higher than that in 20-40 cm soil layer under different planting years. As a traditional Chinese herbal medicine, long-term continuous cultivation of Gentiana has a great impact on soil enzyme activity, AWCD value, abundance and diversity of microbial community. Therefore, it is suggested that artificial cultivation of Gen-

收稿日期: 2024-07-22

基金项目: 固原市科技研发项目(2020GYKYF011); 宁夏回族自治区农业科技自主创新资金项目(NGSB-2021-16-05); 宁夏回族自治区农业种质资源库基础条件建设项目(2022DPC05001)

作者简介: 王晓军(1983-), 男, 副研究员, 硕士, 主要从事植物营养与测土配方施肥研究。

tiana should fully meet the ecological and environmental growth requirements, and reasonably change the cultivation environment to increase the total amount of soil microorganisms, which can increase the yield of Gentiana.

**Key words:** Gentian; Microbial community structure; Enzyme activity; Diversity; Richness; Different planting years

秦艽(*Gentiana macrophylla* Pall.)、粗茎秦艽(*G. crassicaulis* Duthie ex Burk.)、小秦艽(*G. dahurica* Fisch.)、麻花秦艽(*G. straminea* Maxim.)为2015年版中国药典(一部)收录的秦艽药材基原植物<sup>[1]</sup>。全世界秦艽组植物约有12种可作药用<sup>[2]</sup>,其干燥根在中医临床上用途较广<sup>[3-4]</sup>。随着秦艽中药材需求量的持续增长,仅靠野生资源已经很难满足需求,栽培秦艽逐步替代野生秦艽,且质量优于野生秦艽<sup>[5-6]</sup>,和其他中药材一样,在同一地块种植超过2年,中药材植株的生长发育就会明显受阻,根际土壤微生物群落结构受到影响,药材产量下降,品质低劣<sup>[7-8]</sup>。由于秦艽是以根茎入药的中药材,因此,人工栽培秦艽前需要对种植地的土壤状况进行充分了解。为此,以秦艽不同种植年限的根际土壤为研究对象,分析土壤微生物群落的丰富度和多样性,为早作土壤质量持续提升及秦艽种植提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验基地基本情况

本试验在宁夏隆德县沙塘镇马家河秦艽种植基地进行,该区域位于六盘山西麓,北纬35°21′~35°47′、东经105°48′~106°15′,属中温带季风区半湿润半干旱气候,土壤类型为黄壤土。供试材料鉴定为龙胆科龙胆属植物秦艽(*Gentiana macrophylla* pall.)。秦艽种植地土壤理化性状为:速效磷含量38.5 mg/kg,速效钾含量168 mg/kg,有机质含量7.38 g/kg,碱解氮含量66.0 mg/kg,全氮含量0.61 g/kg,全磷含量0.79 g/kg,全钾含量14.6 g/kg, pH值6.43。

### 1.2 土壤采集与处理

分别采集秦艽种植样地1、3、5、7年土壤样品,对照(CK)为野生秦艽生长的荒地土壤。

土壤样品采集以“S”形布点方法进行采集,分别采集0~20 cm和20~40 cm根际土样。每个样地采集4个样点进行混合,充分混合后采用四分法反复取舍,每个样地土壤分成3份,装入自封袋做好标记带回实验室,取1份(250 g)新鲜土样置于冰箱中冷藏,其余样品用于土壤化学性质的测试<sup>[9]</sup>。

### 1.3 测试项目

#### 1.3.1 土壤微生物群落功能多样性的测定

采用Biolog-ECO板确定土壤微生物群落的水

平生理分布。先称取相当于10 g干土重的新鲜土壤样品,加入90 g无菌水,180次/min振荡10 min,4℃条件下沉降30 min,然后吸取1 mL土壤悬液到99 mL无菌水中稀释。每孔接种125 μL样品于Biolog-ECO板,利用读板机每24 h在590 nm读数一次,连续读数7 d<sup>[10]</sup>。

#### 1.3.2 土壤酶活性的测定

土壤脲酶活性采用靛酚蓝比色法测定;土壤蔗糖酶活性采用3,5-二硝基水杨酸比色法测定;土壤过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法测定<sup>[11]</sup>。

### 1.4 数据处理

采用Excel 2003进行数据整理和初步分析。运用SPSS 15.0进行方差分析,所有数据测定结果均以“平均值±标准差”表示。采用Duncan's新复极差法进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 秦艽不同种植年限对土壤酶活性的影响

由表1可知,0~20 cm土层,土壤脲酶活性在种植3年时最高,为0.415 mg/(g·24 h),较CK提高84.44%,较种植1年提高25.38%,不同种植年限土壤脲酶活性表现为:种植3年>种植1年>种植7年>CK>种植5年;土壤过氧化氢酶活性在种植5年时最高,为0.38 mg/(g·min),较CK提高15.15%,较种植1年提高58.33%;土壤过氧化氢酶活性表现为:种植5年>种植7年>种植3年>CK>种植1年;土壤蔗糖酶活性在种植3年时最高,为25.36 mg/(g·24 h)。20~40 cm土层,土壤脲酶活性种植3年时最高,为0.325 mg/(g·24 h),较CK提高56.25%;土壤过氧化氢酶活性在种植1年时最高,为0.32 mg/(g·min),较CK提高77.78%;土壤蔗糖酶活性在种植3年时最高,为20.06 mg/(g·24 h),较CK、1年、3年和5年处理显著增加。

### 2.2 秦艽不同种植年限对土壤微生物群落平均颜色变化率(AWCD)的影响

由于Biolog-ECO板中制备有31种不同性质的碳源,在培养过程中土壤的不同类群微生物对各自的优先利用碳源基质具有选择性,进而使Biolog-ECO板中反应孔的AWCD出现不同程度的差异。因而,颜色变化孔数越多则表明土壤微生物群落种类相对就越丰富<sup>[12-17]</sup>。由图1a可知,0~

表1 秦艽不同种植年限土壤酶活性变化

样地	土层/cm	脲酶活性/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 24\text{h}^{-1}$	过氧化氢酶活性/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	蔗糖酶活性/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 24\text{h}^{-1}$
1年	0~20	$0.331\pm 0.13\text{b}$	$0.24\pm 0.20\text{b}$	$9.25\pm 1.56\text{c}$
	20~40	$0.214\pm 0.21\text{b}$	$0.32\pm 1.25\text{a}$	$15.20\pm 3.14\text{b}$
3年	0~20	$0.415\pm 0.25\text{a}$	$0.35\pm 0.36\text{a}$	$25.36\pm 2.21\text{a}$
	20~40	$0.325\pm 0.10\text{a}$	$0.15\pm 0.54\text{c}$	$20.06\pm 0.52\text{a}$
5年	0~20	$0.205\pm 0.01\text{d}$	$0.38\pm 2.36\text{a}$	$12.35\pm 0.21\text{b}$
	20~40	$0.158\pm 0.10\text{c}$	$0.22\pm 1.25\text{b}$	$6.25\pm 0.62\text{c}$
7年	0~20	$0.254\pm 0.19\text{c}$	$0.37\pm 2.36\text{a}$	$5.62\pm 2.32\text{d}$
	20~40	$0.146\pm 0.46\text{c}$	$0.24\pm 1.26\text{b}$	$1.28\pm 2.12\text{d}$
CK	0~20	$0.225\pm 0.35\text{d}$	$0.33\pm 0.66\text{a}$	$3.25\pm 0.25\text{d}$
	20~40	$0.208\pm 0.45\text{b}$	$0.18\pm 0.46\text{c}$	$1.25\pm 0.52\text{d}$

注:小写字母不同表示差异显著( $P<0.05$ ),所有数据均为“平均值 $\pm$ 标准差”,下同

20 cm 土层 AWCD 表现为随培养时间的延长呈逐渐增加的趋势,土壤微生物对碳源的整体利用能力大小顺序为:种植3年>种植1年>种植5年>种植7年>CK。0~20 cm 土层微生物碳源利用能力随培养时间的延长而提高,培养24 h时,各种年限土壤的 AWCD 未表现出明显的变化。培养48 h时,所有样地均表现出增长趋势,种植3年表现出快速升高的趋势,与其他样地的 AWCD 明显分离。120 h后趋于稳定。而其他样地 AWCD 未表现出明显的分离。说明种植3年时碳源利用能力最强。随着种植年限的延长,在5年到7年之间,AWCD 呈现缓慢的增长。

由图1b可知,20~40 cm 土层土壤 AWCD 大小顺

序为:种植3年>种植1年>种植5年>种植7年>CK。供试土样的 AWCD 随着培养时间的增加呈上升趋势,碳源利用能力增强。培养24 h时,AWCD 未表现出明显的变化,培养48 h时,种植3年与其他种植利用年限的 AWCD 出现明显分离。培养72 h时,种植5年和CK的 AWCD 明显分离,1、3、5、7年的 AWCD 均高于CK。种植3年最高,是CK的2.14倍。

通过图1也发现,不同种植年限土壤在0~20 cm 土层碳源整体利用能力均高于20~40 cm,说明土壤表层微生物种类较深层多。同时,种植3年的0~20 cm 和20~40 cm 土壤 AWCD 最高,土壤微生物量多且种群丰富,AWCD 随着培养时间的延长增加较快。

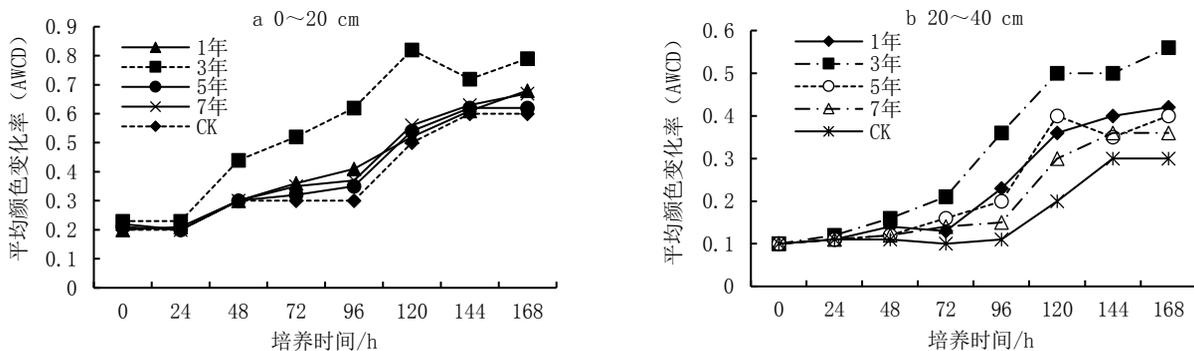


图1 秦艽不同种植年限下土层 AWCD 的变化

### 2.3 秦艽不同种植年限土壤微生物群落丰富度变化

微生物群落丰富度随培养时间的延长不断变化,由图2a可知,种植3年时,0~20 cm 土层土壤微生物群落丰富度远远高于种植利用1、5、7年。秦艽不同种植年限土壤和CK总趋势均表现为随培养时间的延长土壤微生物群落丰富度逐渐增加。培养24 h时,不同种植年限土壤微生物群落

丰富度大于CK,除种植3年外,其余种植年限土壤微生物群落丰富度与CK无明显差异。由图2b可知,20~40 cm 土层,除种植1、3年微生物群落丰富度多于CK,种植5、7年与CK无明显的变化。随着种植年限的延长,土壤微生物群落丰富度逐渐降低,系统稳定性降低,说明长期不耕作改变了土壤微生物丰富度,种植年限影响土壤微生物对碳源的利用能力。

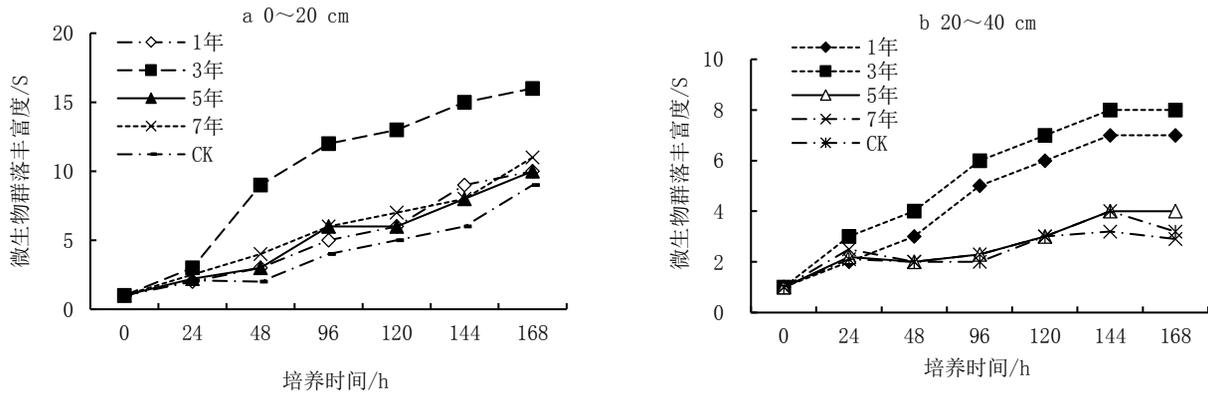


图2 秦艽不同种植年限土壤微生物群落丰富度变化

## 2.4 秦艽不同种植年限土壤微生物群落多样性指数

不同的多样性指数可以反映微生物群落组成的不同方面, Shannon指数主要反映物种的丰富度, 描述了土壤微生物群落功能多样性相对多度的信息<sup>[18-19]</sup>。由表2可知, 0~20 cm 土层土壤微生物群落 Shannon 指数整体上是随着种植年限的延

长呈下降趋势, 种植1、3年土壤微生物群落 Shannon 指数高于CK, 种植5、7年均低于CK, 种植1年最高, 与种植3、5、7年差异显著。0~20 cm 土层土壤微生物群落 Shannon 指数高于20~40 cm 土层; 20~40 cm 土层不同种植年限 Shannon 指数均高于CK。在0~20 cm 和20~40 cm 土层, 种植3年土壤微生物群落均匀度最高。

表2 秦艽不同种植年限下土壤微生物群落多样性指数变化

样地	0~20 cm		20~40 cm	
	Shannon 指数	微生物群落均匀度	Shannon 指数	微生物群落均匀度
1年	4.09±0.08a	2.15±0.06c	2.34±0.21a	2.30±0.11c
3年	3.69±0.28b	2.83±0.63a	2.36±0.37a	4.26±1.24a
5年	2.63±0.08c	2.52±0.15b	2.35±0.21a	2.43±0.24c
7年	2.64±0.22c	2.49±0.27b	2.14±0.18b	2.68±0.56c
CK	2.70±0.11c	2.74±0.19a	2.12±0.50b	3.46±0.83b

## 3 讨论

秦艽是以根茎入药的中药材, 喜疏松的土壤环境。研究表明, 长期连作种植会影响土壤酶活性, 从而影响植物生长或造成品质下降<sup>[20]</sup>。刘姣姣等<sup>[21]</sup>研究表明, 花椒连作多年后土壤过氧化氢酶活性和蔗糖酶活性呈先降低后升高的趋势, 脲酶活性无显著变化。连作种植广藿香也会降低土壤酶活性<sup>[22]</sup>。本研究发现, 土壤酶活性随着秦艽种植年限的延长呈现先增加后减少的趋势。其中0~20 cm 和20~40 cm 土层深度不同种植年限土壤脲酶均在3年时最高, 分别为0.415、0.325 mg/(g·24 h), 较CK分别提高84.44%和36.0%。

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分, 对调节土壤养分转化的稳定性和提高抗干扰能力具有重要作用<sup>[23]</sup>。群落结构对土壤微生物活性能作出较敏感反应<sup>[24]</sup>。本研究表明, 0~20 cm 土层深度AWCD随培养时间的延长呈现逐步增加的趋势, 土壤微生物对碳源的整体利用能力大小顺

序为: 种植3年>种植1年>种植5年>种植7年>CK, 且CK和样地0~20 cm 土层深度碳源利用能力均高于20~40 cm 土层深度。研究发现, 多年生植物通过根系分泌物对土壤微生物的群落结构和分布产生影响, 从而改变微生物的丰富度和多样性<sup>[25-26]</sup>。本研究中, 样地和CK总体呈现出随秦艽培养时间的延长土壤微生物群落丰富度在逐渐变化, 不同的土层表现出不同的变化趋势。0~20 cm 土层深度土壤微生物群落 Shannon 指数整体上是随着种植年限的延长呈下降趋势, 但总体高于20~40 cm 土层深度, 长期种植导致土壤耕层微生物丰富度降低, 微生物对碳源利用能力下降。

## 4 结论

秦艽不同种植年限对秦艽土壤微生物群落结构有显著影响。整体来看, 在0~20 cm 和20~40 cm 土层, 栽培3年秦艽土壤的脲酶活性、蔗糖酶活性、土层平均颜色变化率(AWCD)及微生物群落丰富度含量最大; 栽培3年秦艽土壤的微生物

群落均匀度最高;栽培1年秦艽土壤的微生物群落 Shannon 指数最高。本研究为秦艽栽培及资源开发利用提供了理论依据,对于不同种植年限的土壤养分、秦艽品质及药性方面的研究还未明确,后续将进一步探索。

### 参考文献:

- [ 1 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015: 270.
- [ 2 ] 郭伟娜,熊文勇,魏朔南. 秦艽及其近缘种植物资源在我国的分布[J]. 中国野生植物资源, 2009, 28(2): 21-23.
- [ 3 ] 杨建宏,王莉,马丰才,等. 秦艽提取物镇咳祛痰抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(1): 51-52.
- [ 4 ] 何微微,韦翡翠,吕蓉,等. 秦艽的资源现状和可持续利用[J]. 时珍国医药, 2019, 30(7): 1754-1756.
- [ 5 ] 聂艳琼,李海彦,孙娜,等. 粗茎秦艽资源学研究进展[J]. 中国现代中药, 2012, 14(5): 37-40.
- [ 6 ] 叶莉,赵淑红,梁军,等. 宁夏栽培秦艽与野生秦艽的比较研究[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(17): 101-102.
- [ 7 ] 张辰露,孙群,叶青. 连作对丹参生长的障碍效应[J]. 西北植物学报, 2005, 25(5): 1029-1034.
- [ 8 ] 李明,李吉宁,刘华,等. 六盘山中药材田间杂草种类及药用植物资源[J]. 宁夏农林科技, 2019, 60(9): 64-63.
- [ 9 ] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社, 2000: 228-264.
- [ 10 ] Classen A T, Boyle S I, Hasking K E, et al. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 44(3): 319-328.
- [ 11 ] 关松荫. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京:农业出版社, 1986: 125.
- [ 12 ] Choi K, Dobbs F C. Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among a quatic microbial communities[J]. Journal of Microbiology Methods, 1999(36): 203-213.
- [ 13 ] Qing C L, Lee A, Artur Q W. Microbial biomass and bacterial functional diversity in forest soils: effects of organic matter removal, compaction and vegetation control[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004(36): 571-579.
- [ 14 ] Robert L B, Bill S, Carole B. Refining numerical approaches for analyzing soil microbial community catabolic profiles based on carbon source utilization patterns[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006(38): 629-632.
- [ 15 ] 滕应,黄昌勇,骆永明,等. 铅锌银尾矿区土壤微生物活性及其群落功能多样性研究[J]. 土壤学报, 2004, 41(1): 113-119.
- [ 16 ] 龙健,黄昌勇,滕应,等. 我国南方红壤矿区复垦土壤的微生物生态特征研究 I. 对土壤微生物活性的影响应用[J]. 应用生态学报, 2003, 14(11): 1925-1928.
- [ 17 ] 龙健,黄昌勇,滕应,等. 矿区废弃地土壤微生物及其生化活性[J]. 生态学报, 2003, 23(3): 496-503.
- [ 18 ] 杨永华,姚健,华晓梅. 农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 微生物学杂志, 2000, 20(2): 23-25, 47.
- [ 19 ] 马琨,张丽,杜茜. 马铃薯连作栽培对土壤微生物群落的影响[J]. 水土保持学报, 2010, 24(4): 229-233.
- [ 20 ] 邱立友,戚元成,王明道,等. 植物次生代谢物的自毒作用及其与连作障碍的关系[J]. 土壤, 2010, 42(1): 1-7.
- [ 21 ] 刘姣姣,何静,陈伟,等. 花椒连作对土壤化学性质及酶活性的影响[J]. 分子植物育种, 2019, 17(22): 7545-7550.
- [ 22 ] 洪彪,李明,黄结雯,等. 连作对广藜香扦插苗土壤微生物及酶活性的影响[J]. 江西农业大学学报, 2020, 42(3): 438-447.
- [ 23 ] Lozano Y M, Hortal S, Armas C. Interactions among soil, plants, and microorganisms drive secondary succession in a dry environment[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014(78): 298-306.
- [ 24 ] 王进闯,王敬国. 大豆连作土壤线虫群落结构的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(4): 1022-1031.
- [ 25 ] Dennis P G, Miller A J, Hirsch P R. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities[J]. Fems Microbiology Ecology, 2010, 72(3): 313-327.
- [ 26 ] 马欣. 陇中半干旱区苜蓿种植年限对黄绵土微生物群落结构的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2020.

(责任编辑:范杰英)