

牡丹根际微生物区系及土壤酶活的研究

史冬燕,王宜磊

(山东菏泽学院 生命科学系,山东 菏泽 274015)

摘要:为了解牡丹种植对土壤微生态系统的影响,以多年种植牡丹的土壤为研究对象,对其根际微生物区系及根际土壤酶活性进行研究。结果表明:牡丹根际土壤微生物总数量大于非根际土壤,两类土壤中细菌占主要优势,但非根际土壤中真菌的含量高于根际土壤。根际土壤脲酶、碱性磷酸酶和中性磷酸酶的活性分别比非根际土壤增加了 38.40%、81.76%和 129.42%,多酚氧化酶差异不大,而非根际土壤中的过氧化氢酶比根际土壤增加了 5.31%。

关键词:牡丹;根际;微生物区系;土壤酶活性

中图分类号:S154.37;S567.9

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2013)06-0015-03

土壤微生物和土壤酶是土壤生态系统的主要组成部分,它们作为土壤的有机活性成分,能够直接或间接参与并促进土壤中一系列复杂的生理生化反应;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,同时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^[1-2]。根际是植物与土壤接触的微域环境,是植物获取养分的主要区域^[3]。由于药用植物次生代谢产物丰富,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^[4-5]。

牡丹(*Paeonia suffruticosa*)属芍药科、芍药属的落叶型亚灌木,为我国特产传统名花。其根皮具有重要的药用价值,在中药上称为“丹皮”。丹皮苦、辛、微寒,归心、肝、肾经,具有清热凉血、活血散瘀之功效,是我国常见的传统地道中药材之一^[6]。现代药理研究表明,丹皮的化学成分主要有牡丹酚、牡丹酚苷、芍药苷、挥发油以及 D2 葡萄糖、蔗糖和苯甲酸,对心血管系统、血液系统、中枢神经系统、免疫系统、消化系统和泌尿系统均有一定的影响,并且还有抗菌、抗病毒、抗炎,以及降血糖作用,具有很高的药用价值^[7-9]。康业斌等^[10]曾研究了凤丹和洛阳红根皮中丹皮酚含量与根际真菌、细菌数量的关系。但目前针对牡丹根际与非根际土壤微生物和酶活性的研究尚未涉

及。为此,以牡丹品种肉苻蓉根际和非根际土壤为研究对象,对其微生物主要类群和酶活性进行研究,旨在了解牡丹种植对土壤微生态系统的影响,同时为牡丹种植有效控制病害,提高牡丹根皮产量和质量提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2012 年 11 月菏泽牡丹园选择种植年限为 5~10 a 的肉苻蓉牡丹品种,5 点取样,铲去 0~5 cm 表层土壤,带土挖出植株,去除根部大土块,之后采用抖落法获取根围土壤(非根际土),再用干净毛刷刷下紧粘在根部的土壤(根际土),两土样分别过 20 目筛备用,一部分风干保存,测定土壤 pH 和酶活性;一部分在 4℃ 下保存鲜样,测定其微生物类群和数量。

1.2 方法

1.2.1 土壤微生物数量的测定 细菌、真菌、放线菌计数采用稀释涂布平板法。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。微生物数量以每克样品的菌数表示。每克样品的菌数=同一个稀释度几次重复的菌落平均数 $\times 5 \times$ 稀释倍数^[11]。

1.2.2 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;脲酶采用苯酚钠比色法测定;荧光素二乙酸酯水解酶(FDA)采用荧光素二乙酸比色法测定;磷酸酶用对硝基苯磷酸二钠比色法测定^[12]。

1.2.3 数据分析 应用 EXCELL 和 SPSS 17.0 软件对数据进行分析。

收稿日期:2013-01-29

基金项目:山东省科技计划资助项目(2011GSF12114);山东省教育厅资助项目(J06K54)

第一作者简介:史冬燕(1973-),女,山东省单县人,硕士,副教授,从事植物生态学方面研究。E-mail: sdsdy88_66@163.com。

2 结果与分析

2.1 牡丹根际与非根际土壤微生物区系的变化

由表 1 可以看出,根际土壤微生物总量为 $519.11\times 10^5\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$,非根际土壤微生物总量为 $391.32\times 10^5\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ 。两类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86.89%、87.07%;放线菌次之,占其总量的 12.52%、12.62%;真菌最少,仅占 0.59%和 0.31%。从三大微生物的分

布来看,牡丹根际土微生物总量>非根际土微生物总量,其中细菌和放线菌的数量大小变化趋势是根际土>非根际土,而真菌的数量则为非根际土较高。吴晓慧^[13]等研究证实牡丹丹皮酚对真菌和植物病原菌有一定的抑制作用。这可能是导致非根际土中真菌数量相对高的原因。从根圈比来看,基本上在 0.5~1.5(见表 2),从不同取土部位来看,根际微生物数量/根外土微生物数量大于非根际土微生物数量/根外土微生物数量。

表 1 牡丹土壤可培养微生物数量变化

微生物类群 Microbial flora	非根际土 Non-rhizosphere		根际土 Rhizosphere	
	平均数/ $\times 10^5\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$	平均占有率/%	平均数/ $\times 10^5\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$	平均占有率/%
	Mean	Proportion	Mean	Proportion
细菌 Bacteria	340	86.89	452 * *	87.07
放线菌 Actinomycetes	49	12.52	65.5 * *	12.62
真菌 Fungi	2.32	0.59	1.61 *	0.31
总菌数 Total number	391.32	100	519.11	100

表 2 牡丹土壤微生物数量变化的根圈比
Table 2 The R/S value of microorganism form of the rhizosphere and non-rhizosphere of *Paeonia suffruticosa*

根圈比 R/S	细菌 Bacteria	放线菌 Actinomycetes	真菌 Fungi
根际土/根外土 Rhizosphere/Outrhizosphere	1.50	1.42	0.45
非根际土/根外土 Non-rhizosphere/Outrhizosphere	1.13	1.07	0.64

2.2 牡丹土壤酶活性变化

由表 3 可知,牡丹种植的根际土壤中,多酚氧化酶、脲酶和磷酸酶的变化趋势一致,都是根际土的酶活性大于非根际土。其中脲酶、碱性磷酸酶和中性磷酸酶的活性分别比非根际土增加了 38.40%、81.76%和 129.42%,差异均达到极显著水平;但多酚氧化酶活性变化差异不大。过氧化氢酶的活性则是非根际土高于根际土,高 5.31%。这表明牡丹根系分泌物对脲酶、磷酸酶和多酚氧化酶的活性具有促进作用,而对过氧化氢酶呈抑制作用。FDA 结果表明根际土壤大于非根际土壤,说明牡丹根际土壤的微生物的总体活性高,比非根际土壤高 18.83%。

表 3 牡丹土壤酶活性变化
Table 3 Variation of enzyme activity of *Paeonia suffruticosa*

酶类型 Type of enzyme	非根际土 Non-rhizosphere	根际土 Rhizosphere
过氧化氢酶/ $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ Catalase	3.4661 ± 0.46	3.2908 ± 0.29
多酚氧化酶/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ Polyphenoloxidase	4.3440 ± 0.08	4.4961 ± 0.36
FDA/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	72.6497 ± 1.10	$86.3287\pm 3.41 *$
脲酶/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ Urease	0.1729 ± 0.16	$0.2393\pm 0.13 * *$
中性磷酸酶/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 2\text{h}^{-1}$ Neutral phosphatase	89.4817 ± 1.11	$205.2876\pm 8.38 * *$
碱性磷酸酶/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 2\text{h}^{-1}$ Alkaline phosphatase	187.4412 ± 2.63	$340.6893\pm 3.04 * *$

3 讨论

在植物的整个生长期间,根系进行着活跃的代谢作用,向根外不断分泌有机物质,这些分泌物是根际微生物的重要营养和能量来源。所以根际是受根系直接影响的土壤范围。报道表明,根表和根际微生物的活度和数量远远高于非根际土壤,且微生物活度从根区向土体土壤呈明显的递减趋势^[14]。从该研究的结果来看,证明了这一点。牡丹种植多年后,土壤中微生物的基数发生

变化,从而引起根际微生物类群变化。从根圈比和微生物数量上看,随牡丹根生长及根系分泌物的积聚导致根际营养丰富,因此根际微生物数量较高;另外,真菌喜酸性环境,细菌主要生活在中性环境而放线菌则适宜中性至碱性环境,该试验土壤酸碱度测试根际 pH 为 7.0,非根际 pH 为 6.5,同时牡丹根代谢过程中产生较多的次生代谢产物,如:丹皮酚、丹皮酚磺酸钠等对真菌的生长有一定的抑制作用,故非根际土中真菌数量高于根际土。

土壤酶是表征土壤中物质、能量代谢旺盛程度和土壤质量水平的一个重要生物指标。它和土壤微生物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。试验中发现,除了过氧化氢酶之外,其余几种土壤酶的变化趋势一致,都是根际土壤中酶活性高,这与陈慧^[15]等地黄连作的研究结果相似。牡丹根际与非根际土壤的多酚氧化酶活性差异不大,说明牡丹根具有较强的氧化物质的能力。

该文应用传统平板计数法分析牡丹土壤微生物区系变化,存在着局限性,因为可培养土壤微生物的数量仅占土壤微生物总量的 0.01%~10%,所以深入全面地揭示牡丹根际土壤微生物群落多样性的研究还有待于新技术的使用。近年来,随着分子生物学技术与方法的发展,在土壤微生物多样性研究上有了较大进展。因此,今后拟应用 DGGE、T-RFLP 等技术对牡丹土壤微生物多样性进行更深一步的分析,同时探讨牡丹根系分泌物(如丹皮酚)与根际微生物数量的关系或不同牡丹品种根系分泌物与微生物种类、数量的关系,为提高牡丹根的质量及其病虫害防治奠定基础。

参考文献:

[1] 胡斌,段昌群,王震洪,等.植被恢复措施对退化生态系统土

壤酶活性及肥力的影响[J].土壤学报,2002,39(4):604-608.

[2] 魏功峰.土壤中的微生物[J].土壤学通报,1995,30(2):5-7.

[3] 郭天财,宋晓,马冬云,等.氮素营养水平对小麦根际微生物及土壤酶活性的影响[J].水土保持学报,2006,20(3):129-132.

[4] 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.

[5] 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]. Planta, 2002, 216(2): 227-234.

[6] 李方军.牡丹化学成分及药理作用研究进展[J].安徽医药,2004,8(1):9-10.

[7] 王斌,葛志东,周爱武,等.牡丹总苷体外对三类免疫细胞功能的影响[J].中国药理通报,1999,15(1):63-65.

[8] 汤文路,李俊,徐叔云.牡丹总苷抗炎作用的研究[J].安徽医科大学学报,1999,34(1):11-13.

[9] 巫冠中,杭秉茜,杭静霞,等.牡丹的抗炎作用[J].中国药科大学学报,1990,21(4):222-225.

[10] 康业斌,商鸿生,成玉梅.牡丹病害及其固有的化学抗病物质研究进展[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2005,33(S1):247-249.

[11] 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.

[12] 林先贵.土壤微生物研究原理与方法[M].北京:高等教育出版社,2010:243-262.

[13] 吴晓慧,吴国荣,张卫明.丹皮酚的磺化、产物鉴定及抑菌作用的比较[J].南京师大学报:自然科学版,2003,26(4):99-102.

[14] 庞欣,张福锁,王敬国.不同供氮水平对根际微生物量氮及微生物活度的影响[J].植物营养与肥料学报,2000,6(4):476-480.

[15] 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.

Study on Microflora and Enzyme Activity in Rhizospheric Soil of *Paeonia suffruticosa*

SHI Dong-yan, WANG Yi-lei

(Life Science Department of Heze University, Heze, Shandong 274015)

Abstract: To understand the effect of planting peony on soil micro-ecosystem, taking the soil cultivated *Paeonia suffruticosa* for several years as material, the study on rhizosphere microflora and soil enzyme activities of *Paeonia suffruticosa* was studied. The results showed that the total microflora quantity of rhizosphere was greater than that of the non-rhizosphere, and bacteria in two kinds of the soil were dominant, while the content of fungi in non-rhizosphere soil was higher than that in the rhizosphere. Compared with those in the non-rhizosphere, the activities of urease, alkaline phosphatase and neutral phosphatase were increased by 38.40%, 81.76% and 129.42%. Polyphenol oxidase had little difference, but the activity of catalase in the non-rhizosphere increased by 5.31% than that in rhizosphere soil.

Key words: *Paeonia suffruticosa*; rhizosphere; microflora; soil enzyme activity