

干旱胁迫下灰色链霉菌对桔梗幼苗根际土壤酶活性、养分及微生物的影响

李堆淑,何念武,冀玉良

(商洛学院 生物医药与食品工程学院, 陕西 商洛 726000)

摘要:以不同浓度的灰色链霉菌发酵液处理干旱胁迫的桔梗根际土壤为研究对象,将不同浓度的灰色链霉菌发酵液(原液,原液稀释 10 倍,原液稀释 50 倍,原液稀释 100 倍(菌数 1×10^8 cfu·mL⁻¹),原液稀释 150 倍)200 mL 分别与花盆 0~20 cm 的土搅拌,无菌水作为对照(CK),土壤的持水量控制在 45%左右,待桔梗生长至四叶期时,分别于 7、14、21、28、35 d 取其根际土壤(0~20 cm)。采用比色法和高锰酸钾滴定法测定桔梗根际土壤蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶、纤维素酶和蛋白酶活性的变化,稀释平板计数法测定微生物数量。结果表明,随着灰色链霉菌发酵液稀释倍数增加,桔梗根际土壤蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶、纤维素酶和蛋白酶活性均逐渐升高,发酵液稀释到 100 倍时,土壤蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶、纤维素酶和蛋白酶活性均达到峰值,比 CK 的峰值分别提高了 68%、12.63%、11.53%、128.24%、43.51%。在第 35 天时,用灰色链霉菌发酵液稀释 100 倍处理干旱胁迫的桔梗根际土壤有机质、全氮、有效磷、速效钾含量比 CK 分别升高了 280.13%、99.15%、60%和 60.12%;灰色链霉菌发酵液处理的土壤中细菌不断增加,在第 35 天时比 CK 增加了 355.43%,而土壤中放线菌和真菌先增加后降低,但高于 CK。土壤酶活性、土壤养分因子和土壤微生物数量的相关性分析表明,脲酶与有机质、全氮、有效磷、速效钾和细菌呈极显著正相关($P<0.01$),纤维素酶与有机质、全氮、有效磷、速效钾、细菌和放线菌呈极显著或显著正相关,蛋白酶与有效磷、速效钾、细菌、放线菌和真菌呈极显著或显著正相关,蔗糖酶和过氧化物酶与有机质、全氮、有效磷、速效钾和细菌呈负相关且不显著,与放线菌、真菌正相关且不显著。

关键词: 桔梗幼苗;灰色链霉菌;干旱胁迫;土壤酶活性;土壤养分;微生物群落

中图分类号: S154.2; S567.2 **文献标志码:** A

Effects of *Streptomyces griseus* on soil enzyme activity, nutrients and microorganism of the seedlings of *Platycodon grandiflorum* rhizosphere under drought stress

LI Dui-shu, HE Nian-wu, JI Yu-liang

(College of Biopharmaceutical Engineering and Food Science, Shangluo University, Shangluo, Shaanxi 726000, China)

Abstract: *Platycodon grandiflorum* of rhizosphere soil under drought stress was treated with different concentrations of *Streptomyces griseus* fermentation medium and different concentrations of *Streptomyces griseus* fermentation broth (original solution, and original solution diluted 10, 50, 100 times(The number of bacteria was 1×10^8 cfu·mL⁻¹) and 150 times), mixed with 0~20 cm of the soils in 200 mL pots respectively, sterile water was as control (CK). Soil water holding capacity was controlled around 45%. When the *Platycodon grandiflorum* growth reached four leaves, the rhizosphere soil (0~20 cm) was taken at 7, 14, 21, 28, and 35 days. The changes of rhizosphere soil invertase, urease, catalase, cellulase and protease activities were measured with colorimetry and potassium permanganate titration, and the number of microbes were determined by dilution method of plate counting. The results showed that the activity of invertase, urease, catalase, cellulase and protease in the rhizosphere soil of *Platycodon grandiflorum* increased with the increase of the dilution of the fermentation broth of *Streptomyces griseus*. When the fermented broth was diluted to 100

times, peak of invertase, urease, catalase, cellulase and protease activities reached 68%, 12.63%, 11.53%, 128.24%, 43.51% respectively higher than that of CK. *Platycodon grandiflorum* rhizosphere soil treated by *Streptomyces griseus* fermentation broth diluted 100 times, significantly improved soil organic matter, total nitrogen, available P, available K contents by 280.13%, 99.15%, 60%, 60.12% respectively higher than CK at 35 d. The bacteria in soil treated by *Streptomyces griseus* fermentation broth continuously increased, in by 355.43% than CK at 35 d. Actinomyces and fungi in the soil increased first and then decreased, but were all higher than CK. Correlation analysis of soil enzyme activities, soil nutrient factors and soil microorganisms showed that urease and organic matter, total N, available P, available K, bacteria were significantly positive correlated ($P < 0.01$). Cellulase and organic matter, total N, available P, available K, bacteria, actinomycetes were extremely significant or significantly positive correlated. Protease and effective phosphorus, rapidly-available potassium, bacteria, actinomycetes, fungi were extremely significant or significant positive correlated. Invertase, peroxidase (pod) and organic matter, total N, available P, available K, bacteria were not significant and negative correlated, but invertase, peroxidase and actinomycetes, fungi had a positive correlation but not significant.

Keywords: the seedlings of *Platycodon grandiflorum*; *Streptomyces griseus*; drought stress; soil enzyme activity; soil nutrient; microbial community

桔梗 (*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC) 属于桔梗科、桔梗属, 是一种药、食、赏兼具的多年生草本植物^[1], 具有理气、活血、宣肺、利咽、消食、安神、抗衰老、抗癌、杀虫杀菌等功效, 因此社会对其需求量较大, 但是农民在种植过程中施肥、喷洒农药造成桔梗的产量和品质越来越低。为了解决环保问题和促进桔梗生长发育, 发现土壤中的放线菌是一类拥有巨大应用价值的微生物类群, 是一种能产生多种有益代谢产物且具有很高经济价值的菌株^[2-3]。大多数放线菌具有生物活性, 有 50% 的放线菌具有天然生物活性, 其中从链霉菌一个属就发现近万种具有天然生物活性的放线菌^[4-5]。链霉菌是抗生素的产生菌, 不但能作为生物农药防治植物的各种病害, 还能给植物追肥, 既环保, 又经济。链霉菌还用于生产酶制剂和维生素, 处理污水等。桔梗的根腐病和枯萎病发生较普遍, 这两种病害是土传病害。根际是植物、微生物和土壤环境之间物质和能量交换最频繁的区域^[6]。有些根际微生物分泌抗生素, 可防治植物病害的发生, 而有些根际微生物产生有毒物质, 影响植物生长^[7]。根际微生物的种群结构多样性不仅影响根际土壤酶的活性, 而且影响土壤肥力。土壤酶参与了土壤的发生和发育以及土壤肥力的形成和演化的全过程, 因此土壤酶是评价土壤肥力的重要指标^[8-9]。耿增超等^[10]发现秦岭南坡松栎混交林和锐齿栎林的土壤中的磷酸、土壤脲酶活性越高, 土壤中氮、磷等元素的浓度越高。Kandeler 等^[11]发现土壤凋落物界面的腐殖质的土壤酶活性高于土壤层的酶活性, 并且土壤中腐殖质的氨基酸和磷的

浓度较高。李敏等^[12]研究发现夏季填闲小麦能提高土壤酶活性, 改变土壤细菌群落结构多样性。陈竑竣^[13]发现植物与土壤界面的土壤酶活性最高, 而且土壤肥力也最强。司鹏等^[14]发现甜樱桃重茬土壤的有效养分含量以及土壤酶活性显著降低, 养分比例失调。王丽红等^[15]发现豌豆—马铃薯—豌豆轮作条件下, 土壤的蔗糖酶活性比连作显著提高, 而土壤多酚氧化酶活性低于连作; 连作年限的增加, 细菌数量及微生物总量降低, 真菌数量升高, 而小麦—豌豆—马铃薯轮作后, 土壤中的细菌、放线菌数量最高。灰色链霉菌 (*Streptomyces griseus*) 是链霉素的产生菌, 是土壤习居菌, 并且分解快、残留少、选择性强, 杀菌谱较广。为了生产高产量和好品质的桔梗, 满足社会的需求, 本文用灰色链霉菌发酵液处理干旱胁迫的桔梗根际土壤 (土壤的持水量控制在 45% 左右), 研究灰色链霉菌对桔梗根际土壤酶 (蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶、纤维素酶和蛋白酶) 活性、土壤微生物 (细菌、放线菌和真菌) 以及土壤肥力的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

灰色链霉菌 (*Streptomyces griseus*): 购于中国工业微生物菌种保藏管理中心; 桔梗种子来自陕西省商洛市天士力有限公司。

1.2 培养基

牛肉膏蛋白胨培养基: 牛肉膏 5.0 g, 蛋白胨 10.0 g, NaCl 5.0 g, 琼脂 18.0 g, 水 1 000 mL, pH 7.2 ~ 7.4。

高氏一号培养基:KNO₃ 1.0 g、FeSO₄·7H₂O 0.01 g、K₂HPO₄ 0.5 g、淀粉 20.0 g、MgSO₄·7H₂O 0.5 g、琼脂 18.0 g、NaCl 0.5 g、蒸馏水 1 000 mL, pH 7.2 ~ 7.4。

马铃薯培养基(PDA):马铃薯 300 g、葡萄糖 20 g、琼脂 20 g、蒸馏水 1 000 mL、自然 pH。

种子培养基:可溶性淀粉 20 g、酵母膏 5 g、蛋白胨 5 g、NaCl 5 g、K₂HPO₄ 1 g、蒸馏水 1 000 mL、pH 7.2。

发酵培养基:玉米粉 20 g、黄豆饼粉 15 g、CaCl₂ 0.2 g、MgSO₄ 0.2 g、NaCl 2.5 g、K₂HPO₄ 2 g、柠檬酸钠 2 g、硫酸铵 0.75 g(溶解后加入)、Na₂HPO₄ 2 g、蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0。

1.3 方法

1.3.1 发酵液的制备与浓度的配制 在活化的斜面灰色链霉菌菌种中加无菌水 5 mL,刮下培养好的孢子,倒入装有适量玻璃珠的锥形瓶内,震荡 15 min,打散孢子,制成一定浓度的孢子悬液,吸取 1 mL 菌悬液接种于三角瓶液体种子培养基中,于 28℃,130 r·min⁻¹的恒温培养振荡器中培养 3 d 后,按 10%的接种量接于三角瓶(装有玻璃球)发酵培养基中,于 28℃,130 r·min⁻¹的恒温培养振荡器中培养 5 ~ 7 d。将灰色链霉菌发酵液的原液配制成为不同浓度(稀释为 0, 10, 50, 100, 150 倍,其中稀释为 100 倍的发酵液的菌数为 1 × 10⁸ cfu·mL⁻¹),备用。

1.3.2 桔梗的培养与处理 选取大小均匀、无病虫害的桔梗种子,用 3% 浓度的 KMnO₄ 浸泡消毒 30 min,再用蒸馏水冲洗干净后自然晒干,备用。将直径 9 cm 的培养皿洗净烘干并铺上双层滤纸,然后加入 10 mL 蒸馏水,将桔梗种子放入,每皿 50 粒,在 25℃、湿度为 85.5% 的人工气候箱中培养,每天补充蒸馏水以保持滤纸湿润。待桔梗幼苗生长至大约 0.2 cm 长度移栽至装有沙质土壤的小花盆中,每盆(直径 15 cm × 高度 15 cm)土量为 2.5 kg,将不同浓度的灰色链霉菌发酵液 200 mL 分别与花盆中的土搅拌,无菌水作为对照(CK),土壤的持水量控制在 45% 左右(采用环刀法测定),每盆 15 株,共 60 盆,摆放在实验室楼顶的平台上培养,生长至四叶期时,分别于 7、14、21、28、35 d 取桔梗根际土壤(0 ~ 20 cm),检测不同时间桔梗幼苗根际土壤酶活性变化,筛选最佳浓度的灰色链霉菌发酵液处理的桔梗根际土壤,测定土壤理化性质和微生物数量。

1.3.3 土壤酶活性测定 参考松荫^[16]的方法测定土壤酶活性,蔗糖酶活性测定用 3,5-二硝基水杨

酸比色法,以 24 h 后 1 g 干土生成葡萄糖毫克数表示。脲酶活性测定用苯酚钠比色法,以 24 h 后 1 g 土壤中 NH₃-N 的毫克数表示。过氧化氢酶活性用高锰酸钾滴定法测定,以每克干土 1 h 内消耗的 0.1 mol·L⁻¹ KMnO₄ 溶液体积数表示。纤维素酶活性测定用 3,5-二硝基水杨酸比色法,以 72 h 后 1 g 干土生成葡萄糖毫克数表示。蛋白酶活性测定用茚三酮比色法,以 24 h 后 1 g 土壤中的氨基氮的毫克数表示。

1.3.4 土壤理化性质测定 有机质含量采用重铬酸钾容量法测定,全氮含量采用浓硫酸—硫酸铜—硫酸钾—硒消解的凯氏定氮法测定,有效磷含量采用浓硫酸—高氯酸消解硫酸钼锑抗比色法测定,速效钾含量采用 1.0 mol·L⁻¹ CH₃COONH₄ 浸提—火焰光度计法测定。

1.3.5 土壤微生物数量测定 采用稀释平板计数法^[17],以土壤悬浊液稀释 10⁻⁶接种于牛肉蛋白胨琼脂培养基,24 ~ 48 h 统计细菌数量,土壤悬浊液稀释 10⁻⁴接种于高氏一号琼脂培养基,5 ~ 7 d 统计放线菌数量,土壤悬浊液稀释 10⁻²接种于 PDA 琼脂培养基,3 ~ 5 d 统计真菌数量。

1.3.6 数据处理 采用 Excel 2010 和 SPSS 17.0 多重比较的 Duncan 进行整理和分析数据。

2 结果与分析

2.1 灰色链霉菌发酵液对干旱胁迫的桔梗根际土壤活性的影响

2.1.1 灰色链霉菌发酵液对干旱胁迫的桔梗根际土壤蔗糖酶活性的影响 将不同浓度灰色链霉菌菌株发酵液加入干旱胁迫的桔梗幼苗根际土壤,不同时间内测定桔梗土壤根际蔗糖酶活性。如表 1 所示,在桔梗育苗过程中,各组处理根际土壤蔗糖酶活性的变化动态规律基本相似。随着灰色链霉菌发酵液浓度稀释倍数的增加,桔梗根际土壤蔗糖酶活性也在增加,发酵液浓度稀释到 100 倍时,在 7 ~ 35 d 桔梗根际土壤蔗糖酶活性均显著高于对应时间的其它处理,并且在第 14 天,原液浓度稀释 100 倍时,桔梗根际土壤蔗糖酶活性达到峰值,为 0.798 ± 0.040 mg·g⁻¹,比 CK、灰色链霉菌稀释 0, 10, 20, 50, 150 倍的峰值分别高 68%、12.55%、8.87%、7.98%、45.89%。用同种溶液浓度处理的桔梗根际土壤,在不同时间桔梗根际土壤蔗糖酶活性变化趋势为先升高后降低。说明低浓度的灰色链霉菌菌株发酵液对桔梗根际土壤蔗糖酶活性有一定的促进作用,还能缓解桔梗幼苗受干旱胁迫。因此,不同灰色链霉菌

发酵液通过诱导桔梗根际土壤,可以提高灰色链霉菌菌株发酵液中的土壤肥力。

表 1 灰色链霉菌发酵液对干旱胁迫的桔梗根际土壤蔗糖酶活性的影响
Table 1 The influence of *Streptomyces griseus* fermentation medium on invertase activity in rhizosphere soil of *Platycodon grandiflorum* under drought stress

时间/d Time	CK /(mg·g ⁻¹)	菌液稀释倍数 Microbial dilution multiple/(mg·g ⁻¹)				
		1	10	50	100	150
7	0.131 ± 0.024c	0.351 ± 0.040c	0.427 ± 0.002c	0.479 ± 0.003c	0.491 ± 0.026d	0.195 ± 0.037c
14	0.475 ± 0.095a	0.559 ± 0.073b	0.682 ± 0.003b	0.723 ± 0.002a	0.798 ± 0.040a	0.547 ± 0.031a
21	0.366 ± 0.012b	0.709 ± 0.057a	0.733 ± 0.014a	0.739 ± 0.002a	0.756 ± 0.035b	0.322 ± 0.030b
28	0.185 ± 0.002c	0.574 ± 0.097b	0.542 ± 0.045c	0.622 ± 0.003b	0.624 ± 0.038c	0.258 ± 0.028c
35	0.200 ± 0.015c	0.317 ± 0.045c	0.324 ± 0.001d	0.302 ± 0.004d	0.358 ± 0.041e	0.216 ± 0.039c

注:同列不同小写字母表示显著差异($P < 0.05$),下同。
Note: Different small letters within the same column mean significant difference($P < 0.05$), the same as below.

2.1.2 灰色链霉菌发酵液对干旱胁迫的桔梗根际土壤脲酶活性的影响 将不同浓度灰色链霉菌菌株发酵液加入干旱胁迫的桔梗幼苗根际土壤,不同时间内测定桔梗土壤根际脲酶活性。如表 2 所示,在不同浓度灰色链霉菌发酵液处理条件下,各组处理在 7~35 d 内桔梗根际土壤脲酶活性均有显著影响。随着灰色链霉菌发酵液稀释倍数的增加,桔梗根际土壤脲酶活性不断增加,灰色链霉菌发酵液稀释到 100 倍时,桔梗根际土壤脲酶活性均达到了峰值,随之桔梗根际土壤脲酶活性有下降趋势。但是用 6 种溶液处理的桔梗根际土壤脲酶活性随着时间的延长均显著增高($P < 0.05$)。处理第 35 天时,用灰色链霉菌发酵液稀释 100 倍处理的桔梗根际土壤脲酶活性的峰值最高($11.616 \pm 0.012 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),比 CK、灰色链霉菌发酵液稀释 0、10、20、50、150 倍分别升高了 12.63%、6.64%、5.48%、3.37%、7.70%。可见经过灰色链霉菌发酵液处理的桔梗根际土壤肥力在 7~35 d 不断地增强,还能缓解桔梗幼苗受干旱胁迫。

2.1.3 灰色链霉菌发酵液对干旱胁迫的桔梗根际土壤过氧化氢酶活性的影响 将不同浓度灰色链霉菌菌株发酵液加入干旱胁迫的桔梗幼苗根际土壤,不同时间内测定桔梗土壤根际过氧化氢酶活性。如表 3 所示,在不同浓度灰色链霉菌发酵液处理条件下,各组处理在 7~35 d 内桔梗根际土壤过氧化氢酶活性均有显著影响。各处理的桔梗根际土壤过氧化氢酶(CAT)的活性均显著地高于 CK,随着各处理时间的延长桔梗根际土壤过氧化氢酶活性均先升高后下降。CK 的过氧化氢酶活性在处理后的 28 d 达到峰值($4.537 \pm 0.002 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),其它处理均是在处理后的第 21 天达到峰值,其中灰色链霉菌菌株发酵液稀释 100 倍处理的桔梗根际土壤过氧化氢酶活性达到最大值($5.060 \pm 0.056 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),分别比 CK、灰色链霉菌发酵液稀释 0、10、50、150 倍的峰值分别提高了 11.53%、7.67%、4.63%、1.87%、6.53%。可见,用灰色链霉菌发酵液稀释 100 倍能更有效地诱导一系列防御机制保护桔梗根际土壤免受氧化胁迫,但过量的过氧化氢则导致过氧化氢酶损失。可见,灰色链霉菌发酵液能缓解桔梗幼苗受干旱胁迫。

表 2 灰色链霉菌发酵液对干旱胁迫的桔梗根际土壤脲酶活性的影响
Table 2 The influence of *Streptomyces griseus* fermentation medium on urease activity in rhizosphere soil of *Platycodon grandiflorum* under drought stress

时间/d Time	CK /(mg·g ⁻¹)	原液稀释倍数 Microbial dilution multiple/(mg·g ⁻¹)				
		1	10	50	100	150
7	9.140 ± 0.071c	9.192 ± 0.037c	9.199 ± 0.036d	9.279 ± 0.018d	9.154 ± 0.028e	9.216 ± 0.031c
14	9.137 ± 0.038c	9.511 ± 0.026c	9.667 ± 0.017c	9.753 ± 0.019d	9.871 ± 0.025d	9.295 ± 0.039b
21	10.215 ± 0.026b	10.401 ± 0.077b	10.418 ± 0.019b	10.511 ± 0.034c	10.640 ± 0.037c	10.243 ± 0.034ab
28	10.294 ± 0.018a	10.602 ± 0.081b	10.721 ± 0.032b	10.735 ± 0.023b	10.811 ± 0.028b	10.410 ± 0.027a
35	10.313 ± 0.021a	10.893 ± 0.076a	11.012 ± 0.025a	11.237 ± 0.020a	11.616 ± 0.012a	10.786 ± 0.029a

表 3 灰色链霉菌发酵液对干旱胁迫的桔梗根际土壤过氧化氢酶活性的影响
Table 3 The influence of *Streptomyces griseus* fermentation medium on catalase activity in rhizosphere soil of *Platycodon grandiflorum* under drought stress

时间/d Time	CK /(mg·g ⁻¹)	原液稀释倍数 Microbial dilution multiple/(mg·g ⁻¹)				
		1	10	50	100	150
7	3.843 ± 0.001c	4.007 ± 0.041c	4.127 ± 0.112c	4.500 ± 0.070c	4.747 ± 0.045c	4.207 ± 0.040a
14	3.900 ± 0.002b	4.363 ± 0.071b	4.560 ± 0.036b	4.600 ± 0.060b	4.860 ± 0.046b	4.540 ± 0.056b
21	4.233 ± 0.004a	4.700 ± 0.030a	4.836 ± 0.020a	4.967 ± 0.047a	5.060 ± 0.056a	4.750 ± 0.080a
28	4.537 ± 0.002a	4.447 ± 0.035a	4.743 ± 0.021a	4.770 ± 0.053a	4.897 ± 0.045b	4.603 ± 0.045b
35	4.163 ± 0.002b	4.210 ± 0.046b	4.477 ± 0.021b	4.583 ± 0.021b	4.627 ± 0.083c	4.493 ± 0.061b

2.1.4 灰色链霉菌发酵液对干旱胁迫的桔梗根际土壤纤维素酶活性的影响 将不同浓度灰色链霉菌菌株发酵液加入干旱胁迫的桔梗幼苗根际土壤,不同时间内测定桔梗土壤根际纤维素酶活性。如表 4 所示,干旱胁迫的桔梗根际土壤纤维素酶活性较小,在不同浓度灰色链霉菌发酵液处理条件下,各组处理在 7~35 d 内桔梗根际土壤纤维素酶活性变化较显著($P < 0.05$)。各处理的桔梗根际土壤纤维素酶活性均显著高于 CK,施加灰色链霉菌发酵液能使桔梗根际土壤纤维素酶活性提前达到峰值。随着桔梗的生长,不同浓度的灰色链霉菌发酵液处理的桔梗根际土壤纤维素酶活性均在处理后的第 28 天达到峰值,而 CK 在第 35 天达到峰值。从整体看,用灰色链霉菌发酵液稀释 100 倍处理的桔梗根际土壤纤维素酶活性在 7~35 d 内均高于其它处理的对应时间的纤维素酶活性。用灰色链霉菌发酵液稀释 100 倍处理的桔梗根际土壤纤维素酶活性峰值($0.897 \pm 0.021 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),分别比 CK、灰色链霉菌发酵液稀释 0、10、50、150 倍的峰值分别提高了 128.24%、85.71%、34.48%、22.37%、30.57%。土壤纤维素酶分解的纤维素越多,土壤肥力就越高,作物产量也越高,可见,灰色链霉菌发酵液能很好地促进桔梗根际土壤分解纤维素。

2.1.5 灰色链霉菌发酵液对干旱胁迫的桔梗根际土壤蛋白酶活性的影响 将不同浓度灰色链霉菌菌株发酵液加入桔梗幼苗的根际土壤,不同时间内测定桔梗土壤根际土壤蛋白酶活性。如表 5 所示,在不同浓度灰色链霉菌发酵液处理条件下,各组处理在 7~35 d 内桔梗根际土壤蛋白酶活性变化显著。用灰色链霉菌发酵液处理的桔梗根际土壤蛋白酶活性随着桔梗生育期的延长呈先升高后降低的变化趋势,但 CK 的桔梗根际土壤蛋白酶活性在 7~35 d 内一直升高,并且在同一生育期桔梗根际土壤蛋白酶活性总是低于其它处理,土壤中蛋白酶活性反映了土壤中氮素营养的转化状况,说明 CK 处理的土壤中的氮素水平较低。用灰色链霉菌菌株发酵液稀释 100 倍处理的桔梗根际土壤蛋白酶活性峰值($1.748 \pm 0.028 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),分别比 CK、灰色链霉菌菌株发酵液 0、10、50、150 倍的峰值分别提高了 43.51%、33.33%、34.67%、27.50%、23.56%。从整体看,用灰色链霉菌菌株发酵液稀释 100 倍处理的桔梗根际土壤蛋白酶活性,在不同生长时间均比对应的其它处理的桔梗根际土壤蛋白酶活性显著提高($P < 0.05$),说明了土壤肥力越高,土壤供应养分的能力越强,桔梗幼苗生长越好。可见,灰色链霉菌发酵液可以缓解桔梗幼苗受干旱胁迫。

表 4 灰色链霉菌发酵液对干旱胁迫的桔梗根际土壤纤维素酶活性的影响
Table 4 The influence of *Streptomyces griseus* fermentation medium on cellulase activity in rhizosphere soil of *Platycodon grandiflorum* under drought stress

时间/d Time	CK /(mg·g ⁻¹)	原液稀释倍数 Microbial dilution multiple/(mg·g ⁻¹)				
		1	10	50	100	150
7	0.212 ± 0.006c	0.278 ± 0.003e	0.266 ± 0.026c	0.272 ± 0.028c	0.280 ± 0.024b	0.259 ± 0.034c
14	0.259 ± 0.009c	0.306 ± 0.011d	0.314 ± 0.011b	0.351 ± 0.022b	0.314 ± 0.001b	0.361 ± 0.032b
21	0.243 ± 0.006d	0.366 ± 0.005c	0.385 ± 0.025b	0.451 ± 0.021b	0.536 ± 0.036b	0.491 ± 0.041b
28	0.335 ± 0.007b	0.483 ± 0.006a	0.667 ± 0.019a	0.733 ± 0.022a	0.897 ± 0.021a	0.687 ± 0.032a
35	0.393 ± 0.004a	0.416 ± 0.006b	0.506 ± 0.015a	0.525 ± 0.025b	0.622 ± 0.037a	0.537 ± 0.034b

表 5 灰色链霉菌发酵液对干旱胁迫的桔梗根际土壤蛋白酶活性的影响

Table 5 The influence of *Streptomyces griseus* fermentation medium on protease activity in rhizosphere soil of *Platycodon grandiflorum* under drought stress

时间/d Time	CK /(mg·g ⁻¹)	原液稀释倍数 Microbial dilution multiple/(mg·g ⁻¹)				
		1	10	50	100	150
7	1.108 ± 0.013c	1.134 ± 0.012b	1.213 ± 0.027c	1.262 ± 0.031c	1.284 ± 0.032d	1.176 ± 0.015d
14	1.119 ± 0.028c	1.147 ± 0.019b	1.229 ± 0.031c	1.329 ± 0.018b	1.543 ± 0.024c	1.250 ± 0.011d
21	1.169 ± 0.066a	1.248 ± 0.008b	1.279 ± 0.024a	1.371 ± 0.024a	1.598 ± 0.039b	1.357 ± 0.008b
28	1.192 ± 0.019b	1.311 ± 0.039a	1.298 ± 0.020a	1.329 ± 0.008b	1.748 ± 0.028a	1.417 ± 0.021a
35	1.218 ± 0.029a	1.267 ± 0.031b	1.258 ± 0.059b	1.315 ± 0.007b	1.610 ± 0.024b	1.310 ± 0.023c

2.2 灰色链霉菌发酵液对干旱胁迫的桔梗根际土壤理化性质的影响

如表 6 可见,用稀释 100 倍的灰色链霉菌发酵液处理干旱胁迫的桔梗幼苗根际土壤,在 0 ~ 35 d 内桔梗根际土壤肥力因素的变化趋势基本一致。随

着灰色链霉菌发酵液处理时间的延长,土壤有机质、全氮、有效磷和速效钾含量均不断增加,在第 35 天时,土壤有机质、全氮、有效磷和速效钾含量均达到最高值,分别比 CK 升高了 280.13%、99.15%、60% 和 60.12%。

表 6 灰色链霉菌发酵液(稀释 100 倍)对干旱胁迫的桔梗根际土壤理化性质的影响

Table 6 The influence of *Streptomyces griseus* fermentation medium on physical and chemical properties in rhizosphere soil of *Platycodon grandiflorum* under drought stress

时间/d Time	有机质/(mg·kg ⁻¹) Organic matter	全氮量/(mg·kg ⁻¹) Nitrogen content	有效磷含量/(mg·kg ⁻¹) Available phosphorus content	速效钾含量/(mg·kg ⁻¹) Available potassium content
0	11.88d	15.32d	1.05d	3.26c
7	13.21c	15.86d	1.09d	3.49d
14	16.47c	16.91c	1.27c	3.81d
21	23.12b	19.75b	1.42b	4.55c
28	38.55b	24.44b	1.51b	4.93b
35	45.16a	30.51a	1.68a	5.29a

2.3 灰色链霉菌发酵液对干旱胁迫的桔梗根际土壤微生物的影响

如表 7 可见,用稀释 100 倍的灰色链霉菌发酵液处理干旱胁迫的桔梗根际土壤,在 0 ~ 35 d 内桔梗根际土壤微生物群落的数量细菌占优势。随着处理时间的延长,细菌的数量一直增加,而放线菌和真菌的数量先升高后降低。在桔梗根际土壤处理的第 35 天时细菌数量最多比未处理土壤的细菌数量增加了 355.43%,在桔梗根际土壤处理的第 28 天时放线菌和真菌数量均达到最高值,分别比未处理土壤的放线菌和真菌数量增加了 253.70% 和 223.38%。可见,用稀释 100 倍的灰色链霉菌发酵液处理桔梗根际土壤,土壤中微生物群落在整个生长过程变化差异显著($P < 0.05$),并且细菌数量的增长分别比放线菌和真菌快 101.73 个和 132.05 个百分点。

2.4 桔梗根际土壤酶、土壤理化性质、土壤微生物的相关性

如表 8 可见,用稀释 100 倍的灰色链霉菌发酵

液处理干旱胁迫的桔梗根际土壤,在 0 ~ 35 d 内桔梗根际土壤酶活性、土壤肥力、微生物之间存在一定的相关性。土壤酶活性与土壤酶活性之间的相关性表现为:蔗糖酶与过氧化氢酶正相关显著($r = 0.849$,

表 7 灰色链霉菌发酵液(稀释 100 倍)对干旱胁迫的桔梗根际土壤微生物的影响

Table 7 The influence of <i>Streptomyces griseus</i> fermentation medium on soil microorganism in rhizosphere soil of <i>Platycodon grandiflorum</i> under drought stress			
时间/d Time	细菌数量 (10 ⁴ cfu·g ⁻¹) Bacterial population	放线菌数量 (10 ⁴ cfu·g ⁻¹) Actinomycetes population	真菌数量 (10 ⁴ cfu·g ⁻¹) Funga population
0	11.51d	1.08d	0.77d
7	14.15d	1.23d	0.96d
14	23.97d	1.73c	1.17b
21	36.76c	2.37b	1.86b
28	47.29b	3.82a	2.49a
35	52.42a	2.54b	1.03c

$P < 0.05$),脲酶与纤维素酶正相关显著($r = 0.825$, $P < 0.05$),其它土壤酶之间相关但差异不显著($P > 0.05$)。土壤酶活性与土壤肥力含量、微生物数量的相关性表现为:脲酶与有机质、全氮、有效磷、速效钾含量和细菌数量分别为正相关且极显著($P < 0.01$);纤维素酶与有机质、全氮含量和细菌数量分别为正相关且极显著($P < 0.01$),而与有效磷、速效钾含量和放线菌数量分别为正相关且显著($P < 0.05$);蛋白酶与放线菌数量正相关且极显著($P < 0.01$),而与有机质、有效磷、速效钾含量和细菌、真菌数量分别为正相关且显著($P < 0.05$)。土壤肥

力含量之间相关性表现为:有机质含量与全氮、有效磷、速效钾含量分别为正相关且极显著($P < 0.01$),全氮含量与有效磷、速效钾含量分别为正相关且极显著($P < 0.01$),有效磷与速效钾含量为正相关且极显著($P < 0.01$)。土壤肥力含量与土壤微生物数量相关性表现为:细菌分别与有机质、全氮、有效磷、速效钾含量呈正相关且极显著($P < 0.01$),而放线菌含量分别与有机质、有效磷、速效钾、细菌数量正相关且显著($P < 0.05$),真菌数量与放线菌数量正相关且显著($P < 0.05$)。

表 8 桔梗根际土壤酶活性、土壤理化性质和土壤微生物的相关性
Table 8 Correlation of soil enzyme activity, soil physicochemical properties and soil microorganisms in rhizosphere soil of *Platycodon grandiflorum*

指标 Index	蔗糖酶 Invertase	脲酶 Urease	过氧化氢酶 Catalase	纤维素酶 Cellulase	蛋白质酶 Protease	有机质 Organic matte	全氮 Nitrogen	有效磷 Available phosphorus	速效钾 Available potassium	细菌 Bacterial	放线菌 Actinomycetes	真菌 Funga
蔗糖酶 Invertase	1.000											
脲酶 Urease	-0.312	1.000										
过氧化氢酶 Catalase	0.849*	-0.126	1.000									
纤维素酶 Cellulase	-0.477	0.825*	-0.278	1.000								
蛋白酶 Protease	0.204	0.782*	0.304	0.746*	1.000							
有机质 Organic matte	-0.490	0.935**	-0.308	0.965**	0.749*	1.000						
全氮 Nitrogen	-0.577	0.944**	-0.412	0.907**	0.648	0.982**	1.000					
有效磷 Available phosphorus	-0.278	0.996**	-0.123	0.847*	0.823*	0.945**	0.942**	1.000				
速效钾 Available potassium	-0.280	0.987**	-0.060	0.882*	0.842*	0.954**	0.934**	0.989**	1.000			
细菌 Bacteria	-0.262	0.978**	-0.061	0.900**	0.867*	0.960**	0.930**	0.987**	0.998**	1.000		
放线菌 Actinomycetes	0.014	0.716*	0.230	0.859*	0.930**	0.788*	0.661	0.753*	0.815*	0.843*	1.000	
真菌 Funga	0.407	0.382	0.650	0.511	0.803*	0.400	0.234	0.418	0.509	0.537	0.837*	1.000

注: * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$ 。 Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3 讨 论

土壤酶活性可以作为评价土壤肥力状况的生物指标,蔗糖酶与土壤有机质、氮、磷含量和微生物数量有关。本研究用不同浓度灰色链霉菌发酵液处理干旱胁迫的桔梗根际土壤,发现桔梗根际土壤的蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶、蛋白酶、纤维素酶活性比CK均显著提高,尤其稀释100倍的灰色链霉菌发酵液比其它浓度更为显著($P < 0.05$)。由于土壤脲酶能促进土壤中氮素循环,提高土壤肥力。过氧化氢酶活性与土壤中 H_2O_2 含量密切相关, H_2O_2 可以杀死病原菌,还能诱导一系列防御酶系统。土壤纤维

素酶有助于腐殖质的形成,促进纤维素分解利用,是自然界碳循环的重要环节,最终提高土壤肥力,增加农作物的产量。土壤蛋白酶也能促进土壤中氮素循环。可见,灰色链霉菌发酵液随着浓度的稀释,土壤氮素、碳素的循环转化速率不断提高,腐殖质形成和有机质的转化能力不断增强,直到灰色链霉菌发酵液稀释到100倍,土壤氮素、碳素的循环转化速率、腐殖质形成和有机质的转化能力达到最高值,桔梗根际土壤的蔗糖酶、过氧化氢酶、蛋白酶和纤维素酶活性均是随着灰色链霉菌发酵液处理时间的延长,此4种土壤酶活性均先升高后降低;而脲酶活性在0~35 d内一直升高,并且此4种土壤酶活性均显著

高于 CK。灰色链霉菌发酵液使干旱胁迫的桔梗根际土壤微生物群落中细菌占优势,细菌的数量一直增加,而放线菌和真菌的数量先升高后降低。可见,施加灰色链霉菌有利于干旱胁迫的桔梗幼苗根际土壤酶活性的提高,间接的促进了土壤微生物的生长,增加了土壤中微生物群落的数量,能促进土壤肥力提高,说明灰色链霉菌能缓解桔梗幼苗受干旱胁迫。此结果与高吉坤^[18]研究枯草芽孢杆菌 B29 有利于提高土壤中蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶、酸性磷酸酶活性的结果基本一致。刘慧芬^[19]发现刺槐根瘤固氮菌放氮有利于增加土壤微生物,能提高脱氢酶、过氧化氢酶、脲酶、转化酶等土壤酶活性。

本研究发现桔梗根际土壤蔗糖酶与过氧化氢酶、脲酶与纤维素酶、蛋白酶呈显著正相关,可以促进氮素循环,说明桔梗根际土壤中这 5 种酶之间关系密切,它们共同影响着土壤肥力。土壤中微生物之间的关系为:细菌与放线菌、放线菌与真菌呈显著正相关,且细菌在微生物群落中占优势。这与何芳兰^[20]研究沙化高寒草甸土壤中细菌是土壤微生物的主要成分的结果基本一致。土壤肥力之间的关系为土壤有机质与全氮、有效磷、速效钾互相呈极显著正相关。土壤酶活性与土壤肥力、微生物数量的关系为脲酶与有机质、全氮、有效磷、速效钾和细菌呈极显著正相关,纤维素酶与有机质、全氮、有效磷、速效钾、细菌和放线菌呈极显著或显著正相关,蛋白酶与有效磷、速效钾、细菌、放线菌和真菌呈极显著或显著正相关,蔗糖酶和过氧化物酶与有机质、全氮、有效磷、速效钾和细菌呈负相关且不显著,与放线菌和真菌正相关且不显著。从土壤酶活性、土壤肥力、微生物数量之间的相关性可以看出,土壤酶活性影响着土壤肥力和微生物数量变化,土壤肥力同时影响着土壤酶活性和微生物数量变化,它们之间是相互影响、相互制约的。这与王笛等^[21-22]研究结果基本一致。

参 考 文 献:

[1] 张 承,龙友华,和桂秋,等.生长调节剂浸种对桔梗种子萌发及生长的影响[J].中药材,2015,28(1):22-25.
[2] 黄世文,高成伟,王 玲,等.土壤中有益放线菌的高效分离,筛

选和生物测定技术[J].植物保护,2008,34(1):138-141.
[3] 许世俊,薛泉宏,邢胜利,等.3 株放线菌对草莓的促生作用及对 PPO 活性的影响[J].西北农业学报,2008,17(1):129-136.
[4] Janos Berdy. Bioactive microbial metabolites, a personal review[J]. J Antibiot, 2005,58(1):1-26.
[5] 姜 怡,徐 平,姜 恺,等.放线菌药物资源开发面临的问题与对策[J].微生物学通报,2008,35(2):272-274.
[6] 倪 彬.巨桉人工林根际土壤微生物根系土壤酶活性与根系土壤养分研究[D].成都:四川农业大学,2007:9-10.
[7] 徐 锴,赵德莫,袁继存,等.地膜和秸秆覆盖对梨园土壤酶活性的影响[J].中国南方果树,2014,43(6):94-96.
[8] 陈 珏.水土保持林地根系分泌物及土壤酶活性研究[D].北京:北京林业大学,2011:7-9.
[9] 李俊华,沈其荣,褚贵新,等.氨基酸有机肥对棉花根际和非根际土壤酶活性和养分有效性的影响[J].土壤,2011,43(2):277-284.
[10] 耿增超,刘莉丽,毕春侠.秦岭南坡锐齿栎林、松栎混交林几种土壤酶活性的初步研究[J].西北林学院学报,1999,14(1):64-67.
[11] Kandeler E, Luxhi J, Tschenko J, et al. Xylanase, invertase and protease at the soil-litterinter face of a loamy sand[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999,31:1171-1179.
[12] 李 敏,吴凤芝.不同休闲模式对黄瓜根际土壤酶活性及细菌群落的影响[J].应用生态学报,2014,25(12):3556-3562.
[13] 陈泓竣,李传涵.杉木根际与非根际土壤酶活性的比较研究[J].林业科学,1994,30(2):170-175.
[14] 司 鹏,邵 微,于会丽,等.甜樱桃重茬土壤有效养分及酶活性的变化[J].干旱地区农业研究,2017,35(4):39-44.
[15] 王丽红,郭晓冬,谭雪莲,等.不同轮作方式对马铃薯土壤酶活性及微生物数量的影响[J].干旱地区农业研究,2016,34(5):109-113.
[16] 关松荫.土壤酶及其研究方法[M].北京:中国农业出版社,1987:1-304.
[17] 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.
[18] 高吉坤.施加生防菌 B29 对黄瓜根际土壤微生物多样性的影响[D].哈尔滨:黑龙江大学,2013:29-32.
[19] 刘慧芬.刺槐根瘤固氮放氮对根际土壤微生物的影响[D].西安:西北大学,2010:51-52.
[20] 何芳兰,金红喜,王锁民,等.沙化对玛曲高寒草甸土壤微生物数量及土壤酶活性的影响[J].生态学报,2016,36(18):1-8.
[21] 王 笛,马风云,姚秀粉,等.黄河三角洲退化湿地土壤养分、微生物与土壤酶特性及其关系分析[J].中国水土保持科学,2012,10(5):94-98.
[22] 许景伟,王卫东,李 成.不同类型黑松混交林土壤微生物、酶及其与土壤养分关系的研究[J].北京林业大学学报,2000,22(1):51-55.