

赵海霞,裴红宾,张永清,等. 不同氮、腐殖酸肥施用量下芽孢杆菌 ZJM-P5 对红小豆幼苗根际土壤酶活性的影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(6):109-113.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.06.024

不同氮、腐殖酸肥施用量下芽孢杆菌 ZJM-P5 对红小豆幼苗根际土壤酶活性的影响

赵海霞¹,裴红宾¹,张永清^{1,2},高振峰³,栾换换¹,周进财¹

(1. 山西师范大学生命科学学院,山西临汾 041004; 2. 山西师范大学地理科学学院,山西临汾 041004;

3. 山西农业大学农学院,山西太谷 030801)

摘要:通过盆栽试验研究 2 种肥料(氮肥和腐殖酸肥)不同施用量与芽孢杆菌 ZJM-P5 菌悬液组合处理对红小豆幼苗根际土壤酶活性的影响,为红小豆经济合理施肥和微生物肥料菌种选育提供理论依据。结果发现,(1)同一施肥水平下,2 种栽培环境下的土壤脲酶、蔗糖酶和过氧化氢酶活性均随菌悬液浓度的增大呈先升高后降低的趋势,其中脲酶活性均在 10^7 CFU/mL 浓度下达最大值,蔗糖酶活性除 0.50 mg/kg 施氮处理外其他施肥水平均在 10^7 CFU/mL 浓度下达最大值,而过氧化氢酶活性均在 10^8 CFU/mL 时最大。(2)相同菌悬液浓度下,与不施肥处理相比,施氮、腐殖酸肥处理的脲酶活性均随施肥量的增加呈升高趋势;施氮处理的蔗糖酶活性在 0.10^6 CFU/mL 浓度下随施氮量的增加而增大,在 10^8 CFU/mL 和 10^9 CFU/mL 下不同施氮处理的酶活性接近, 10^7 CFU/mL 浓度下在 100 mg/kg 施氮处理时酶活性显著高于其他处理,而过氧化氢酶活性随施氮量的增加先增大后减小,在 100 mg/kg 时酶活性最大;腐殖酸肥处理的蔗糖酶活性随施肥量的增加呈先升后降的趋势,在 0.67 g/kg 处理下酶活性最大,而过氧化氢酶活性随施肥量的增加逐渐增大。(3)相同菌悬液浓度下 2 种栽培环境间土壤酶活性结果比较得出,施用腐殖酸效果优于化学氮肥。研究表明,对于种植红小豆来说,芽孢杆菌 ZJM-P5 菌悬液浓度为 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL 为最佳菌浓度,纯氮量为 100 mg/kg、腐殖酸量 0.67 g/kg 为最佳施肥量,合理浓度的菌悬液和肥料组合处理可以更大作用地发挥土壤酶的生物学活性。

关键词:红小豆;施肥;芽孢杆菌 ZJM-P5 菌悬液;土壤酶活性

中图分类号:S521.06 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)06-0109-05

土壤作为植物的生长载体,其肥力与作物产量及品质密切相关,而土壤酶作为土壤生物活性和肥力的重要组成部分,

在土壤物质循环和能量转化过程中起着重要的催化作用,其活性可以反映土壤中各种生物化学反应的强度和方向^[1],对土壤肥力的演化具有重要影响^[2]。目前人们已从不同种植方式^[3-4]、不同肥料及施用方式^[5-6]、不同微生物处理^[7-8]以及不同逆境^[9]等方面对土壤酶活性进行了研究,发现这些条件均对土壤酶活性具有一定影响,且和土壤肥力以及作物产量和品质具有一定相关性。因此,土壤蔗糖酶、脲酶和过氧化氢酶等酶活性可作为土壤肥力和土壤质量生物活性评价的潜在指标^[10],对土壤肥力培育和合理施肥具有一定意义。

收稿日期:2018-03-07

基金项目:国家自然科学基金(编号:31571604);山西师范大学科技开发与应用基金(编号:YK1502)。

作者简介:赵海霞(1992—),女,山西朔州人,硕士研究生,主要从事植物生理生态研究。E-mail:zhx31621392@163.com。

通信作者:裴红宾,硕士,副教授,主要从事植物生理生态方面的教学与研究工作。E-mail:bbpei65110@163.com。

[6] Wang J R, Li S X, Li K L. Effects of water limited deficit stress during different growth stages on leaf protective enzymes of winter wheat[J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 2001, 21(1): 47-52.

[7] 白宝璋,靳占忠,李德春. 植物生理生化测试技术[M]. 北京:中国科技出版社,1995:143-147.

[8] 陈建勋,王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社,2002.

[9] 洪森荣,尹明华. 盐胁迫对杂交水稻试管苗生长发育和部分生理生化指标的影响[J]. 杂交水稻,2008,23(4):69-72,77.

[10] 刘晓红,王国栋,张 钢. 水分胁迫对不同小麦品种叶片电阻抗参数的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2007,35(2):210-214.

[11] 刘晓红,王国栋,张 钢. 干旱胁迫下小麦叶片的电阻抗图谱参

数与生理参数的关系[J]. 西北植物学报,2007,27(5):970-976.

[12] 付秋实,李红岭,崔 健,等. 水分胁迫对辣椒光合作用及相关生理特性的影响[J]. 中国农业科学,2009,42(5):1859-1866.

[13] 李清芳,马成仓,尚启亮. 干旱胁迫下硅对玉米光合作用和保护酶的影响[J]. 应用生态学报,2007,18(3):531-536.

[14] Yang X, Chen X, Ge Q, et al. Tolerance of photosynthesis to photoinhibition, high temperature and drought stress in flag leaves of wheat: a comparison between a hybridization line and its parents grown under field conditions [J]. Plant Science, 2006, 171(3): 389-397.

[15] Bajin M, Kinet J M, Luttes S. The use of electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat [J]. Plant Growth Regulation, 2002, 36: 67-70.

芽孢杆菌 (*Bacillus*) 因其具有抗逆性强、生长快速、适应范围广等优点,已在多个领域中被研究和应用,应用前景良好^[11-12]。目前,已有研究发现芽孢杆菌在植物促生、根际微生态改良、土壤酶活性调节、土壤肥力提升和提高养分利用率等方面具有重要意义^[13-14],如刘丽等研究表明接种微生物菌剂均可不同程度地提高土壤酶活性^[8];张美存等研究发现接种微生物菌剂使土壤酶活性提高,改善了根际微生态环境,提高了土壤肥力和养分利用率^[15]。虽然目前已有研究发现芽孢杆菌对土壤酶活性具有一定的调节作用,但是在生产实践中单纯依靠微生物菌剂还无法满足作物需求,依然需要化肥投入。因此,本研究以芽孢杆菌和肥料组合为处理,综合分析在二者作用下对土壤酶活性的影响。

腐殖酸作为动植物残体经过微生物分解和转化以及地球化学的一系列过程形成和积累起来的一类有机物质^[16],在促进植物生长、土壤结构改良以及肥料增效等方面具有重要作用^[17],是有效缓解化肥过量施用负面问题和减少化肥用量的途径之一。如刘兰兰等研究腐殖酸肥料对生姜土壤微生物量和酶活性的影响,表明施用腐殖酸可增加土壤活跃微生物量,使土壤酶活性得到调节^[18]。但有关腐殖酸和外源芽孢杆菌双重作用下对土壤酶活性的影响还鲜有报道。

红小豆 (*Phaseolus angularis* L.) 为豆科豇豆属一年生草本植物,除富含多种生物活性物质,是一种高蛋白、低脂肪、多营养的功能食品外^[19],还具有土壤适应性强和固氮养地等作用,也是我国出口创汇的重要杂粮作物^[20]。目前人们已从水氮耦合^[21]、低磷胁迫^[22]和 NaCl 胁迫^[23]、不同播期^[24]以及氮、磷、钾肥配施^[25]等方面对其高效栽培技术进行了相关研究,而有关不同氮肥和腐殖酸用量下促生芽孢杆菌对其根际土壤酶活性的影响还未见相关报道。因此本研究以笔者所在实验室前期筛选到的红小豆促生芽孢杆菌 ZJM - P5 (10^7 CFU/mL 时可有效提高红小豆幼苗品质并促进其养分吸收^[26]) 为研究对象,对其在氮肥和腐殖酸分别联合作用下红小豆根际土壤酶活性进行对比分析,旨在明确芽孢杆菌 ZJM - P5 在氮肥和腐殖酸 2 种栽培环境下对红小豆幼苗根际土壤酶活性的影响,探讨腐殖酸在红小豆栽培中的应用潜力,寻求合理、科学的施肥方式,为芽孢杆菌 ZJM - P5 生物菌肥的开发和应用提供理论依据,为促生芽孢杆菌和腐殖酸联合应用研究奠定基础,也为红小豆高效栽培体系、“减肥”目标实现以及种植产业可持续发展奠定基础。

1 材料与方

1.1 试验材料

供试植物为晋红小豆 5 号,由山西省农业科学院作物科学研究所提供。供试菌株为芽孢杆菌 ZJM - P5,由笔者所在实验室从酸枣植株内筛选、分离、保存。供试土壤取自石灰性褐土下层,养分含量较低,其理化性质为全氮含量 30 mg/kg,速效磷含量 2.8 mg/kg,速效钾含量 92.32 mg/kg,风干后备用。供试肥料为分析纯试剂尿素 (含 N 46%)、过磷酸钙 (含 P_2O_5 15%) 和氯化钾 (含 K_2O 52%) ;腐殖酸山西临汾生产的风化煤,风化煤含水量为 20.41%,腐殖酸总量为 40.10%,游离腐殖酸含量为 38.15%,pH 值为 3.91。采用盆栽,用上口径 18 cm、下口径 16 cm、高 18 cm 的培养钵,可装风干土 2 kg。

1.2 试验设计

本试验于 2016 年 5 月初开始在山西师范大学农场防雨棚进行。试验采用 2 因素完全随机设计,芽孢杆菌 ZJM - P5 浓度设 5 个梯度: 0 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 CFU/mL,分别用 B_1 、 B_2 、 B_3 、 B_4 、 B_5 表示。肥料包括氮肥和腐殖酸 2 种,各设 4 个水平,氮为 N_1 、 N_2 、 N_3 、 N_4 ,腐殖酸为 H_1 、 H_2 、 H_3 、 H_4 ,具体施用量见表 1,每种肥料共 20 (5×4) 个处理组合,每个处理 3 次重复,共种 60 盆。另 1 kg 土分别施 0.2 g P_2O_5 和 0.3 g K_2O 作为肥底,所有肥料均作为底肥与土壤混合均匀后一次性施入。试验时,选取饱满均匀且无病害的种子,用 3% H_2O_2 浸泡 30 min 作表面消毒,蒸馏水冲洗后浸泡 7 h,于 2016 年 5 月 10 日播种,每盆播 15 粒种子,待第 1 对单叶完全展开后每盆定苗 7 株,3 叶期 (5 月 25 日) 时用 200 mL 不同浓度的菌悬液灌根处理。

表 1 不同施肥水平及物质含量

氮水平	氮含量 (mg/kg)	腐殖酸水平	腐殖酸含量 (g/kg)
N_1	0	H_1	0
N_2	50	H_2	0.33
N_3	100	H_3	0.67
N_4	200	H_4	1.0

1.3 测定项目与方法

1.3.1 土样的采集 从灌根当天至生长 30 d 时开始收集土壤,把培养钵撕开,将幼苗连同根系土壤从培养钵中取出,轻轻抖落根系外围土壤后,用软毛刷收集松散黏附在根系表面的土壤作为根际土壤,然后将每个处理 (3 盆) 所取根际土壤混合均匀,装入塑封袋内立刻带回实验室对其进行除杂,风干后过 1 mm 筛用于土壤酶活性的测定。

1.3.2 土样酶活性的测定 脲酶活性测定采用苯酚钠 - 次氯酸钠比色法,以 24 h 后 1 g 土壤中 $NH_4^+ - N$ 的量 (mg) 表示脲酶活性 (U);蔗糖酶活性采用 3,5 - 二硝基水杨酸比色法测定,以 24 h 后 1 g 土壤中葡萄糖的量 (mg) 表示蔗糖酶的活性 (U);过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法测定,酶活性以 20 min 后 1 g 土壤消耗 0.05 mol/L 高锰酸钾溶液的体积 (mL) 表示^[27]。

1.4 数据处理

试验数据利用 Excel 2007 和 SPSS 17.0 进行整理和统计分析,采用 Duncan's 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 芽孢杆菌 ZJM - P5 对 2 种栽培环境下红小豆根际土壤脲酶活性的影响

土壤脲酶主要来源于植物和微生物,其活性常用来表示土壤的供氮能力和水平。表 2 试验结果表明:与对照处理组合 ($N_1 B_1$ 、 $H_1 B_1$) 相比,其他处理组合都增大了土壤脲酶活性,不同处理之间土壤脲酶活性差异显著。同一施肥水平下,土壤脲酶活性均随菌悬液浓度的增大呈先升高后降低的趋势,且在菌悬液浓度为 B_3 时酶活性达最大值;同一菌悬液浓度、相同施肥水平下,氮肥栽培环境下的土壤脲酶活性整体上高于腐殖酸栽培环境,且菌悬液浓度为 B_3 时在 N_4 水平下酶活性为 0.730 mg/(g · d),达最大值,同其他施肥水平之间差异

表2 芽孢杆菌 ZJM-P5 对土壤脲酶活性的影响

栽培环境	施肥水平	不同菌悬液浓度的土壤脲酶活性[$\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$]				
		B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅
氮肥	N ₁	0.283 ± 0.022Ce	0.422 ± 0.024Ac	0.456 ± 0.030Ae	0.436 ± 0.016Ad	0.362 ± 0.021Bc
	N ₂	0.394 ± 0.043Ccd	0.458 ± 0.016Bc	0.595 ± 0.022Acd	0.558 ± 0.023Ab	0.372 ± 0.013Cc
	N ₃	0.586 ± 0.046BCa	0.523 ± 0.018Cb	0.676 ± 0.060Ab	0.631 ± 0.019Ba	0.567 ± 0.040BCa
	N ₄	0.625 ± 0.018Ba	0.631 ± 0.022Ba	0.730 ± 0.031Aa	0.657 ± 0.044Ba	0.604 ± 0.028Ba
腐殖酸	H ₁	0.283 ± 0.022Be	0.330 ± 0.021Be	0.390 ± 0.015Af	0.382 ± 0.038Ae	0.323 ± 0.026Bd
	H ₂	0.348 ± 0.032Bd	0.376 ± 0.017Bd	0.460 ± 0.019Ae	0.433 ± 0.011Ad	0.373 ± 0.010Bc
	H ₃	0.425 ± 0.035Cbc	0.426 ± 0.030Cc	0.557 ± 0.016Ad	0.506 ± 0.020Bc	0.456 ± 0.012Cb
	H ₄	0.456 ± 0.027Db	0.498 ± 0.025Cb	0.615 ± 0.008Ac	0.573 ± 0.023Bb	0.488 ± 0.014Cdb

注:(1)B₁、B₂、B₃、B₄、B₅表示芽孢杆菌 ZJM-P5 菌悬液5个浓度梯度,分别对应为0、10⁶、10⁷、10⁸、10⁹ CFU/mL;(2)N₁、N₂、N₃、N₄表示氮肥4个施肥水平,纯氮用量分别为0、50、100、200 mg/kg;(3)H₁、H₂、H₃、H₄表示腐殖酸4个施加量,含量分别对应0、0.33、0.67、1.0 g/kg;(4)表内数据为平均值±标准差,同行不同大写字母表示菌悬液浓度处理间差异显著($P < 0.05$),同列不同小写字母表示施肥水平处理间差异显著($P < 0.05$)。下同。

显著。

另外,同不施肥处理(N₁、H₁)相比,2种栽培环境下的土壤脲酶活性均随施肥量的增加而升高,但变化幅度不同。氮肥以N₃、N₄水平对土壤脲酶活性的影响最为明显,其中以B₃和N₂、N₃、N₄组合处理下的增长幅度最大,分别比N₁提高了30.48%、48.25%、60.09%;腐殖酸栽培环境下,当菌液浓度为B₃时,H₂、H₃、H₄分别比H₁增加了17.95%、42.82%、57.69%。

2.2 芽孢杆菌 ZJM-P5 对2种栽培环境下红小豆根际土壤蔗糖酶活性的影响

蔗糖酶是一种水解酶,能促进土壤中的蔗糖水解成葡萄糖和果糖,供作物吸收和利用。研究发现,同对照相比,2种栽培环境下不同处理组合的土壤蔗糖酶活性均明显增大(多数差异显著)。相同施肥水平下,蔗糖酶活性随菌悬液浓度的增大表现为先增加后减少的单峰曲线变化,且同B₁相比,

腐殖酸各施肥水平下,蔗糖酶活性在B₃浓度时均达峰值,与其他菌悬液浓度相比差异显著;但施氮条件下,蔗糖酶活性仅在N₃、N₄时,在B₃浓度下达到最大值,其余水平则在B₄水平下达最大值(表3)。

相同菌悬液浓度下,虽然部分处理间酶活性仍表现出显著差异,且2种栽培环境下酶活性均随施肥水平增加而呈现先升高后下降趋势,但不同栽培环境下变化规律略有差异,如施氮条件下,菌液浓度为B₁、B₂时,酶活性在N₄达最大值;B₃时在N₃达最大值;B₄时在N₂达最大值;B₅时在N₃达最大值,说明适宜浓度的菌悬液可有效改善土壤蔗糖酶活性,且在一定程度上可降低氮肥用量;腐殖酸条件下,蔗糖酶活性不仅明显高于各氮肥水平,而且相同菌液浓度下和相同施肥条件下酶活性分别在B₃和H₃水平时达最大值,说明H₃B₃组合处理可有效提高土壤酶活性,对促进植物生长具有重要意义。

表3 芽孢杆菌 ZJM-P5 对土壤蔗糖酶活性的影响

栽培环境	施肥水平	不同菌悬液浓度的土壤蔗糖酶活性[$\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$]				
		B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅
氮肥	N ₁	2.39 ± 0.27Cf	2.44 ± 0.34Ce	3.17 ± 0.36Bf	4.18 ± 0.23Ae	3.08 ± 0.23Be
	N ₂	3.22 ± 0.35Ce	3.47 ± 0.36BCde	3.83 ± 0.27ABf	4.34 ± 0.26Ae	3.18 ± 0.35Ce
	N ₃	3.52 ± 0.22Ce	4.07 ± 0.31BCd	5.08 ± 0.23Ae	4.33 ± 0.36Be	3.50 ± 0.50Ce
	N ₄	4.25 ± 0.31BCd	4.71 ± 0.14ABd	4.96 ± 0.62Ae	4.06 ± 0.09Ce	3.35 ± 0.19De
腐殖酸	H ₁	2.39 ± 0.27Cf	15.06 ± 0.11Be	17.32 ± 0.64Ad	17.03 ± 0.10Ad	14.55 ± 0.13Be
	H ₂	13.30 ± 0.42De	15.49 ± 1.06Cc	22.54 ± 0.84Ac	18.38 ± 0.38Bc	17.43 ± 0.16Bb
	H ₃	18.19 ± 0.31Ea	22.91 ± 1.06Ca	29.84 ± 1.16Aa	27.84 ± 0.83Ba	21.05 ± 0.95Da
	H ₄	15.64 ± 0.40Db	18.24 ± 1.10Cb	25.07 ± 0.38Ab	20.75 ± 0.80Bb	13.17 ± 0.40Ed

2.3 芽孢杆菌 ZJM-P5 对2种栽培环境下红小豆根际土壤过氧化氢酶活性的影响

过氧化氢酶能够酶促水解过氧化氢,酶活性的大小可以用来表征土壤的生化活性。研究发现,同一施肥水平下,菌悬液浓度从B₁至B₅,2种栽培环境下的酶活性总变化趋势为先增大后减小,菌悬液浓度为B₄时酶活性达最大值(除H₃水平)。统计分析表明:施氮条件下,N₂、N₃水平在B₄下酶活性与其他菌悬液浓度处理相比差异显著(除N₃B₄与N₃B₅),与B₁相比各增加了15.05%、19.39%;腐殖酸栽培环境下,各施肥处理在B₄时与B₁、B₂、B₃相比整体上具有显著性差异,与

B₃相比差异小(表4)。

同一菌悬液浓度下,腐殖酸栽培环境下的过氧化氢酶活性明显高于氮肥栽培环境,部分施肥水平之间差异显著。施氮肥时,酶活性随施肥量的增加总变化趋势为先增大后减小,在N₃水平有最大值;腐殖酸栽培环境下,B₄、B₅浓度下H₂、H₃水平之间差异并不显著,酶活性随施用量的增加总体呈增大趋势,在H₄水平均达最大值。氮肥栽培环境在B₄浓度下,N₃和N₄水平与其他施肥水平之间具有显著性差异,其他菌悬液浓度处理下酶活性大小接近,差异不明显;腐殖酸条件下,菌悬液浓度为B₄时,在H₄水平下酶活性为1.743 mL/(g·20 min),达最

表4 芽孢杆菌 ZJM-P5 对土壤过氧化氢酶活性的影响

栽培环境	施肥水平	不同菌悬液浓度的过氧化氢酶活性[mL/(g·20 min)]				
		B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅
氮肥	N ₁	0.877 ± 0.117Ac	0.917 ± 0.016Ad	0.923 ± 0.012Ac	0.970 ± 0.020Af	0.960 ± 0.017Ae
	N ₂	0.930 ± 0.010Cbc	0.940 ± 0.010BCd	0.960 ± 0.010Bc	1.070 ± 0.010Ae	0.920 ± 0.026Ce
	N ₃	0.980 ± 0.010Db	0.990 ± 0.020CDd	1.070 ± 0.020BCc	1.170 ± 0.010Ad	1.110 ± 0.100ABd
	N ₄	0.950 ± 0.010Abc	0.980 ± 0.010Ad	0.990 ± 0.215Ac	1.160 ± 0.010Ad	1.030 ± 0.121Ade
腐殖酸	H ₁	0.877 ± 0.117Bc	1.300 ± 0.009Ac	1.328 ± 0.130Ab	1.400 ± 0.031Ac	1.290 ± 0.050Ac
	H ₂	1.357 ± 0.017Dab	1.427 ± 0.040Cb	1.578 ± 0.029Aa	1.631 ± 0.016Ab	1.495 ± 0.056Bb
	H ₃	1.364 ± 0.018Ba	1.462 ± 0.092Bb	1.600 ± 0.033Aa	1.592 ± 0.060Ab	1.429 ± 0.043Bb
	H ₄	1.42 ± 0.079Ca	1.622 ± 0.043Ba	1.677 ± 0.084ABa	1.743 ± 0.034Aa	1.624 ± 0.044Ba

大值,与其他施肥水平相比具有显著性(表4)。

3 结论与讨论

土壤酶是指具有高度催化作用的一类蛋白质,主要包括氧化还原酶类(脱氢酶、过氧化氢酶、过氧化物酶等)、水解酶类(蔗糖酶、脲酶、磷酸酶等)和转移酶类(转氨酶、转糖苷酶等)等,其中以蔗糖酶、过氧化氢酶和脲酶等与土壤肥力、作物产量和品质之间相关性较为密切,如武晓森等研究不同施肥处理对玉米产量及土壤酶活性的影响,表明秸秆还田配施化肥加秸秆腐熟剂有利于增加土壤纤维素酶、脲酶、过氧化氢酶活性及土壤养分含量,提高玉米产量^[6]。邱珊莲等研究表明,各种施肥处理均能不同程度地提高土壤中脲酶、过氧化氢酶、转化酶等酶活性,有机无机配施更有利于提高土壤酶活性和土壤微生物数量,提升土壤生物肥力^[28]。彭小兰等在研究长期不同施肥处理对麦季土壤酶活性的影响中发现,施肥能有效调节土壤酶活性,相关分析表明土壤酶活性与小麦产量的相关性优于土壤养分。因此改善土壤酶活性对作物高效栽培具有一定意义^[29]。

土壤脲酶是决定土壤中氮转化的关键酶,其活性高低反映了各种生化过程的方向和强度。马冬云等研究表明,在同一生育时期内,小麦根际土壤脲酶活性的整体变化趋势为随施氮水平的提高而逐渐增加^[30-31]。马斌等研究表明,随腐殖酸施用年限的增加,土壤脲酶活性呈增加的趋势,与CK相比4种腐殖酸处理脲酶活性都增大^[32]。本研究结果表明,不同氮肥、腐殖酸施用量下,与不施肥处理相比,每个处理组合都明显提高了土壤脲酶活性。同一菌悬液浓度下,随施肥量的增加,2种栽培环境的土壤脲酶活性都增大,这与前人研究结果相一致。2种栽培环境下相同施肥水平的土壤脲酶活性相比较,施氮处理的脲酶活性更高,这可能由于氮素含量的增加更大程度地刺激了作物根系和土壤微生物,分泌出更多与碳氮分解有关的酶。

蔗糖酶作为一种蔗糖水解酶,可有效增加土壤中易溶性营养物质和促进有机质转化,且与呼吸强度关系密切。本研究表明,2种栽培环境的土壤蔗糖酶活性较各自不施肥处理酶活性都增大,原因在于施肥后植株根系生长加快、根系分泌物增多及加快微生物的繁殖,使得根系土壤酶活性增大。其中同一施肥水平下随菌悬液浓度的增大,酶活性变化趋势为先升高后降低,在 10^7 CFU/mL下酶活性达到最大值;施加氮肥时,在低浓度菌悬液处理下($0, 10^6$ CFU/mL)随施氮量的增加酶活性逐渐增大,高浓度菌悬液($10^8, 10^9$ CFU/mL)下酶活

性接近,相互间差异不显著,这可能由于低浓度菌悬液促进了根际土壤酶活性的提高,高浓度相对抑制了土壤酶的生物学活性,使得酶活性降低,因此适宜浓度的菌悬液可改善土壤酶活性,在一定程度上还可降低化肥的使用量。有关研究指出,土壤酶活性与肥料的施用量有关,如果肥料用量超过了最大临界范围,酶活性就会相对降低^[33]。本研究结果表明,同一菌悬液浓度下,随施肥量的增加,酶活性总体变化趋势为先升高后降低。

过氧化氢酶作为土壤中的氧化还原酶类,在有机质氧化和腐殖质形成过程中起重要作用,可以促进过氧化氢的分解,有利于防止对生物体的毒害作用^[34]。本研究结果表明,不同施肥水平下,施肥处理的过氧化氢酶活性高于不施肥处理,说明施加肥料刺激了过氧化氢酶,使得酶活性提高;而施肥量相同时,随菌悬液浓度的增大,土壤中过氧化氢酶活性变化趋势为先升高后降低,其中在 10^8 CFU/mL时酶活性达最大值(除H₃水平),对土壤中过氧化氢酶活性具有最大促进作用,有助于其催化过氧化氢反应生成水和氧气,在细胞内起到解毒作用,从而改善植株土壤微环境。施用腐殖酸与施氮处理相比过氧化氢酶活性更高,这由于腐殖酸具有活化功能,可提高植物体内氧化酶活性及代谢活动,可以改良土壤、提高肥效^[35]。试验结果表明,同一菌悬液浓度下随腐殖酸施用量的增加,土壤过氧化氢酶活性呈增加趋势,这与马斌等的研究结果^[33]一致。

通过对相同菌悬液浓度下2种肥料(氮肥和腐殖酸)之间的土壤酶活性结果比较,表明施用腐殖酸显著提高土壤蔗糖酶和过氧化氢酶活性,而脲酶活性与施氮处理相比接近,且与芽孢杆菌 ZJM-P5 菌悬液组合处理会使效果更好,综合考虑可见,在农业生产过程中应提倡使用腐殖酸等有机肥料,减少化学氮肥的投入量。

综上所述,氮肥和腐殖酸肥不同施用量与芽孢杆菌 ZJM-P5 菌悬液组合处理对红小豆幼苗根际土壤产生较大的影响。施肥量为100 mg/kg 氮、0.67 g/kg 腐殖酸,菌悬液浓度均控制在 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL时,土壤酶活性可达最大值。因此掌握这些规律,科学合理地施肥,更大作用发挥这些土壤酶的生物学活性,为红小豆高产高效栽培和土壤改良提供理论基础,进而提高红小豆施肥经济效益,也对将芽孢杆菌 ZJM-P5 进一步研制成优质微生物肥料菌种和其生产应用具有现实指导意义。由于本研究主要进行的是盆栽试验,所以今后还需要通过大田实验对芽孢杆菌 ZJM-P5 与肥料的互作机制以及对红小豆产量及品质的影响进行深入探讨。

参考文献:

- [1] Paz Jimenez M D, Horra A M, Peuzzo L, et al. Soil quality: a new index based on microbiological and biochemical parameters [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 35: 302 - 306.
- [2] 叶协锋, 杨超, 李正, 等. 绿肥对植烟土壤酶活性及土壤肥力的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2013, 19(2): 445 - 454.
- [3] 李锐, 刘瑜, 褚贵新. 不同种植方式对绿洲农田土壤酶活性与微生物多样性的影响[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(2): 490 - 496.
- [4] 高维常, 马健, 邱雪柏, 等. 不同种植模式对烤烟根际土壤养分、酶活性及烟草生长的影响[J]. *江苏农业科学*, 2016, 44(12): 146 - 150.
- [5] 王文锋, 李春花, 黄绍文, 等. 不同施肥模式对设施秋冬茬芹菜生育期间土壤酶活性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2016, 22(3): 676 - 686.
- [6] 武晓森, 周晓琳, 曹凤明, 等. 不同施肥处理对玉米产量及土壤酶活性的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2015(1): 44 - 49.
- [7] 付晓峰, 张桂萍, 张小伟, 等. 溶磷细菌和丛枝菌根真菌接种对南方红豆杉生长及根际微生物和土壤酶活性的影响[J]. *西北植物学报*, 2016, 36(2): 353 - 360.
- [8] 刘丽, 马鸣超, 姜昕, 等. 根瘤菌与促生菌双接种对大豆生长和土壤酶活性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2015, 21(3): 644 - 654.
- [9] 杨良静, 何俊瑜, 任艳芳, 等. Cd胁迫对水稻根际土壤酶活性和微生物的影响[J]. *贵州农业科学*, 2009, 37(3): 85 - 88.
- [10] 张菁, 江山, 王改玲. 安太堡露天矿不同复垦年限苜蓿地土壤养分和酶活性剖面特征[J]. *灌溉排水学报*, 2018, 37(1): 42 - 48.
- [11] 张艳群, 来航线, 韦小敏, 等. 生物肥料多功能芽孢杆菌的筛选及其作用机理研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2013, 19(2): 489 - 497.
- [12] Swain M R, Ray R C. Biocontrol and other beneficial activities of *Bacillus subtilis* isolated from cowdung microflora [J]. *Microbiological Research*, 2009, 164(2): 121 - 130.
- [13] 常文智, 马鸣超, 李力, 等. 施用胶质类芽孢杆菌对土壤生物活性和花生产量的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2014(1): 84 - 89.
- [14] 张霞, 唐文华, 张力群. 枯草芽孢杆菌 B931 防治植物病害和促进植物生长的作用[J]. *作物学报*, 2007, 33(2): 236 - 241.
- [15] 张美存, 程田, 多立安, 等. 微生物菌剂对草坪植物高羊茅生长与土壤酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2017, 37(14): 4763 - 4769.
- [16] 王曰鑫, 李成学. 绿色环保型腐植酸磷肥[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.
- [17] 牛育华, 李媛, 龙学莉, 等. 腐植酸肥料在农业生产中的应用及研究进展[J]. *化肥工业*, 2016, 43(5): 9 - 12, 46.
- [18] 刘兰兰, 史春余, 梁太波, 等. 腐植酸肥料对生姜土壤微生物量和酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2009, 29(11): 6136 - 6141.
- [19] 张波, 薛文通. 红小豆功能特性研究进展[J]. *食品科学*, 2012, 33(9): 264 - 266.
- [20] 尹宝重, 陶晔, 张月辰. 短日照对不同叶龄红小豆幼苗的诱导效应[J]. *作物学报*, 2011, 37(8): 1475 - 1484.
- [21] 李鑫, 张永清, 王大勇, 等. 水氮耦合对红小豆根系生理生态及产量的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2015, 23(12): 1511 - 1519.
- [22] 连慧达, 裴红宾, 张永清, 等. 施磷量对不同品种红小豆形态和生理特性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2015, 21(3): 792 - 799.
- [23] 于香军. 盐胁迫对红小豆种子萌发与生理生化特性的影响[J]. *作物杂志*, 2010(4): 47 - 48.
- [24] 赵阳, 葛维德. 不同播期对春播红小豆干物质积累和产量的影响[J]. *园艺与种苗*, 2013(4): 53 - 56.
- [25] 曾玲玲, 季生栋, 王成, 等. 氮、磷、钾配施对红小豆产量的效应研究[J]. *黑龙江八一农垦大学学报*, 2017, 29(1): 6 - 10.
- [26] 栾换换, 裴红宾, 张永清, 等. 芽孢杆菌 ZJM - P5 与氮配施对红小豆幼苗生长和氮吸收的影响[J]. *西北植物学报*, 2017, 37(8): 1550 - 1558.
- [27] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 274 - 339.
- [28] 邱珊莲, 刘丽花, 陈济琛, 等. 长期不同施肥对黄泥田土壤酶活性和微生物的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2013(4): 30 - 34.
- [29] 彭小兰, 王德建, 王灿, 等. 长期不同施肥处理对麦季土壤酶活性的影响[J]. *中国农学通报*, 2013, 29(33): 200 - 206.
- [30] 马冬云, 郭天财, 宋晓, 等. 尿素施用量对小麦根际土壤微生物数量及土壤酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2007, 27(12): 5222 - 5228.
- [31] 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 - 131, 140.
- [32] 马斌, 刘景辉, 张兴隆. 褐煤腐植酸对旱作燕麦土壤微生物量碳、氮、磷含量及土壤酶活性的影响[J]. *作物杂志*, 2015(5): 134 - 140.
- [33] 黄昌勇. 土壤学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 192 - 214.
- [34] 尹玉玲, 汤泳萍, 谢启鑫, 等. 豆蔻酸对茄子根际土壤微生物生理类群和土壤酶活性的影响[J]. *江苏农业学报*, 2017, 33(1): 181 - 184.
- [35] 程亮, 张保林, 王杰, 等. 腐植酸肥料的研究进展[J]. *中国土壤与肥料*, 2011(5): 1 - 6.