

不同生长期乌头根际土壤酶动态变化研究

吴清华, 王光志*, 马云桐, 马庆, 徐瑞超

成都中医药大学药学院, 中药资源系统研究与开发利用省部级重点实验室培育基地, 四川 成都 610075

摘要: **目的** 研究不同生长期健康与患病乌头根际土壤酶活性的动态变化。**方法** 采用紫外分光光度法测定健康与患病乌头不同生长期蔗糖酶、脲酶和磷酸酶的活性。**结果** 健康植株根际土壤蔗糖酶活性呈逐渐下降趋势, 患病植株土壤蔗糖酶活性呈逐渐增强的趋势; 在相同生长期, 健康植株土壤脲酶、磷酸酶活性均低于患病植株, 脲酶在 3~5 月均呈逐渐增强的趋势, 酸性磷酸酶、碱性磷酸酶活性呈先降低后增强的趋势。**结论** 健康与患病乌头根际土壤酶活性差异较大, 为乌头病害的进一步研究提供了科学依据。

关键词: 乌头; 根际土壤; 蔗糖酶; 脲酶; 磷酸酶

中图分类号: R282.13

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2012)07-1403-04

Dynamic changes of enzyme in rhizosphere soil of *Aconitum carmichaeli* at various growing stages

WU Qing-hua, WANG Guang-zhi, MA Yun-tong, MA Qing, XU Rui-chao

State Key Laboratory Breeding Base of Research and Development of Chinese Medicinal Resources, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China

Abstract: **Objective** To investigate the rhizosphere soil enzyme activities of healthy and diseased *Aconitum carmichaeli* at various growing stages. **Methods** The activities of sucrase, urease, and phosphatase were measured by UV spectrophotometry. **Results** The sucrase activity in rhizosphere soil of healthy plants showed a gradual decline trend, while a gradual increase in rhizosphere soil of diseased plant was observed; At the same growing stage, the urease and phosphatase activities in rhizosphere soil of healthy plant were lower than those of the diseased plants. The activity of urease showed a gradual increase from March to May and the activity of acid and alkaline phosphatases first decreased and then increased. **Conclusion** Rhizosphere soil enzyme activities of the healthy and diseased *A. carmichaeli* are quite different. The results may provide the scientific reference for disease study of *A. carmichaeli*.

Key words: *Aconitum carmichaeli* Debx.; rhizosphere soil; sucrase; urease; phosphatase

毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 在四川有悠久的栽培历史, 其子根为中药乌头, 是川产道地药材。其辛、甘, 能回阳救逆、补火助阳、散寒止痛, 被广泛应用于临床。乌头也是许多中成药和成方制剂的主要原料药之一, 市场需求量大。乌头病害较多, 如花叶病、根腐病、叶斑病、霜霉病等^[1], 从开始旺盛生长的 3 月开始, 病害逐渐明显, 到 5 月份, 患花叶病、霜霉病的植株几乎全部死亡。长期以来, 病害严重影响药材乌头的产量和质量, 成为制约乌头产业健康发展的不利因素之一。

土壤是植物赖以生存的物质基础, 它不仅是水、肥等物质的主要输送介质, 也是物质和能量转化的场所, 因此, 土壤的状况直接影响植物的生长发育。同时, 土传病害也是药用植物病害的主要来源之一, 药用植物根际微生物的构成、微生物的活动也与药用植物的健康生长、病害的发生密切相关。有研究表明, 土壤肥力水平在很大程度上受制于土壤酶的影响, 而土壤酶活性的研究被作为土壤肥力指标而受到土壤学家的普遍重视^[2-3]。土壤酶对环境和管理因素导致的变化具有较强的敏感性, 几乎参与了土壤中所有生物化学过程^[4]。土壤酶活性对环境的影响

收稿日期: 2011-12-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30901962)

作者简介: 吴清华 (1986—), 女, 在读研究生, 从事中药品种、质量和资源开发方向研究。Tel: 13980037435 E-mail: lingduweixiao@sina.cn

*通讯作者 王光志 E-mail: wangguangzhi@cdutcm.edu.cn

响、根际土壤酶的功能、土壤质量等问题是近年来的研究热点^[5]。由于土壤酶绝大部分来自于土壤微生物,探讨土壤酶活性的变化在一定程度上可以反映土壤微生物的活性。

目前,关于植物根际环境对土壤酶活性的影响及植物不同生长时期土壤酶活性变化的研究较少^[6],而有关乌头根际土壤酶的研究报道则鲜有报道。本研究以乌头道地产地江油的土壤为研究对象,选取发病集中的 3~5 月份土样,探讨不同生长期乌头土壤酶活性的动态变化以及正常植物与患病植株土壤酶活性差异,为揭示乌头不同生长期以及健康与患病植株根际土壤的变化规律、创造良好的土壤环境和保证乌头产业的健康发展提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

供试土壤采自四川江油,为生长良好和患病乌头的根际土壤,于 2011 年 3~5 月,每月中旬采样 1 次,每个按 S 行路线采集 5 个样点的 0~20 cm 耕层土样,混匀后用四分法留取 1 kg。每个采集点采集正常和患病的乌头根际土壤去除土壤中的动植物残体等杂质,混合均匀后风干,磨细过 2 mm 筛用于测定土壤酶活性。

3,5-二硝基水杨酸、氢氧化钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、尿素、醋酸苯汞(PMA)、二乙酰一肟(DAM)、氨基硫脲(TSC)、三羟甲基氨基甲烷(THAM)、顺丁烯二酸、柠檬酸等化学纯试剂。

1.2 方法

采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定土壤蔗糖酶活性^[7],以蔗糖为基质,根据酶促产物葡萄糖与 3,5-二硝基水杨酸生成的有色化合物的量进行比色测定,酶活性以 1 g 土壤在 37 °C 培养 24 h 生成的葡萄糖量(mg/g)表示;土壤脲酶活性采用靛酚蓝比色法^[8],以尿素为基质,根据酶促产物氨在碱性基质中与苯酚及次氯酸钠作用生产蓝色的靛酚,其生成数量与氨质量浓度成正比来进行定量分析,酶活性以 1 g 土壤在 37 °C 培养 24 h 释放出 NH₃-N 的量(mg/g)表示;土壤碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性采用磷酸苯二钠比色法测定^[9],以 1 g 土壤在 37 °C 培养 12 h 后生成的酚的量(μg/g)表示^[10]。

1.3 数据统计分析

测试数据用 SPSS15.0 统计软件进行统计分析,采用 Tukey HSD 和 LSD 法进行单因素方差分析和结果显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同月份土壤蔗糖酶活性变化

健康植株根际土壤蔗糖酶在 3~5 月呈下降的趋势,且 3~5 月间蔗糖酶的活性变化有显著差异(表 1);而患病植株土壤蔗糖酶活性在 3~5 月呈逐渐增强的趋势,在 4 月后增强趋缓。对于乌头开始旺盛生长的 3 月,健康植株蔗糖酶活性明显强于患病植株,且有显著性差异。初步说明健康植株根际土壤中蔗糖水解程度降低,而患病植株恰好相反。

表 1 3~5 月蔗糖酶活性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Sucrase activity from March to May ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	蔗糖酶 / (mg·g ⁻¹)
3 月健康	39.99 ± 1.48
4 月健康	31.82 ± 9.10
5 月健康	22.53 ± 10.72*
3 月患病	26.21 ± 13.88*
4 月患病	35.55 ± 5.65
5 月患病	35.95 ± 3.94

与 3 月份健康组比较 * $P < 0.05$, 下同

* $P < 0.05$ vs healthy group in March, same as below

2.2 不同月份土壤脲酶活性变化

在相同生长期,健康植株土壤脲酶活性低于患病植株,其中患病植株 4、5 月的土壤脲酶活性变化有显著差异(表 2)。健康与患病植株根际土壤脲酶在 3~5 月间均呈逐渐增强的趋势,对于健康植株,3 月与 5 月根际土壤脲酶活性增强有显著差异。

表 2 3~5 月脲酶活性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Urase activity from March to May ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	脲酶 / (mg·g ⁻¹)
3 月健康	2.78 ± 0.21
4 月健康	3.01 ± 0.23
5 月健康	3.40 ± 0.08*
3 月患病	3.05 ± 0.47
4 月患病	3.43 ± 0.09*
5 月患病	3.27 ± 0.08*

2.3 不同月份土壤磷酸酶活性变化

在相同生长期,健康植株根际土壤酸性磷酸酶、碱性磷酸酶活性均较患病植株低,其中 3 月份健康与患病植株土壤酸性磷酸酶、碱性磷酸酶活性均有显著差异(表 3、4)。对于健康和患病植株,土壤酸性磷酸酶、碱性磷酸酶活性在 3~5 月间呈先降低后增强的趋势,与 3 月份健康组比较,4~5 月健康与病患植株酸性磷酸酶、碱性磷酸酶活性变化均有显著差异。

表3 3~5月酸性磷酸酶活性 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 3 Acid phosphatase activity from March to May ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	酸性磷酸酶 / ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
3月健康	375.32 $\pm$ 46.60
4月健康	141.32 $\pm$ 40.45 [*]
5月健康	222.162 $\pm$ 53.57 [*]
3月患病	328.55 $\pm$ 68.92 [*]
4月患病	137.12 $\pm$ 83.20 [*]
5月患病	189.13 $\pm$ 28.43 [*]

表4 3~5月碱性磷酸酶活性 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 4 Alkaline phosphatase activity from March to May ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	碱性磷酸酶 / ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
3月健康	131.79 $\pm$ 57.52
4月健康	11.12 $\pm$ 12.50 [*]
5月健康	90.10 $\pm$ 22.93
3月患病	44.58 $\pm$ 55.14 [*]
4月患病	11.34 $\pm$ 4.39 [*]
5月患病	86.23 $\pm$ 20.62 [*]

3 讨论

四川江油是乌头的道地产区,乌头的病害种类较多,危害较大,已严重影响乌头的产量和质量。目前,已分离鉴定出乌头霜霉菌 *Peronospora aconite* Yu、齐整小核菌 *Sclerotium rolfsii* Sacc.、腐皮镰孢 *Fusarium solani* (Mart.) App. et Wollenw.、尖镰孢 *F. oxysporum* Schlecht.等造成乌头霜霉病、白绢病以及根腐病的病原菌^[11]。乌头在生长过程中,其根际微生物、土壤结构、土壤成分以及乌头自身的分泌物等构成了影响其生长发育的微生态环境。土壤微生物数量变化,特别是微生物多样性指数减少,可使土传病害的发生率上升;硝态氮的不正常积累会造成植物体内硝酸盐积累和根际环境的恶化。任何不良影响或微环境的改变均可影响乌头的正常生长发育。土壤酶则与根际养分量、微生物有非常密切的关系。3~5月间是乌头从幼苗到迅速形成子根的过程,是乌头生长的重要时期,进行乌头根际酶活性、微生物种群结构等微生态环境及营养特性的研究,是解决这一问题的关键。

蔗糖酶广泛存在于所有土壤里,参与碳水化合物的转化,为生物提供充分的能源,是表征土壤C循环和土壤生物化学活性的重要酶^[12]。土壤蔗糖酶与土壤中的腐殖质、水溶性有机质以及微生物的数

量呈正相关,患病乌头根际土壤蔗糖酶活性在3~5月较正常植株有增强趋势,可能与患病植株根际微生物的区系、种类有关;健康植株的不断生长,会逐渐消耗根际土壤的养分,其局部肥力会呈下降趋势,这可能是造成乌头健康植株土壤蔗糖酶活性逐渐下降的原因之一。

脲酶作为一种酰胺酶,能促进有机子分子中肽键的水解,从而酶促尿素分解成氨、二氧化碳和水。土壤有效氮的水平与脲酶活性密切相关。健康与患病乌头植株根际土壤脲酶活性随着生长时间的增加而增加,说明乌头土壤的氮素代谢有随生长时间的增长而增强的趋势;在相同生长期,因患病植株根际土壤脲酶活性较高,可能加速氮素分解,造成土壤硝态氮过量累积和植株体内硝酸盐积累,进而恶化微环境,产生病害。

磷酸酶是土壤中的主要水解酶类之一,土壤磷酸酶活性可以表征土壤的肥力状况^[13]。据酶促反应的最适pH值,将磷酸酶分为碱性、中性和酸性三类^[14]。酸性磷酸酶能促进土壤有机磷化合物的水解,使之转化为植物可吸收利用的无机磷,其活性变化是土壤生物学状况的良好表征指标^[15]。土壤碱性磷酸酶能够促使土壤有机磷的矿化与分解,有助于植物对磷的吸收,其活性也可作为土壤的供磷能力的重要指标之一^[16]。对于相同生长期的乌头根际土壤,健康植株土壤酸性磷酸酶、碱性磷酸酶活性均较患病植株低,可能与乌头根际微生物区系与种类有关,患病乌头根际微生物活动可能较强,对磷的利用较快,可能与其根际磷酸酶活性较高有关。

由于在5月,乌头患病植株,特别是霜霉病的植株几乎全部死亡或被药农除去,所以本实验仅研究了3~5月间乌头土壤酶的动态变化,进一步需要加强乌头根系分泌物—根际微生物—根际微生态之间协同作用机制研究,以揭示其正常生长与病害的发生机制。

参考文献

- [1] 田迎秋,刘帆,黄玉碧,等.乌头离体培养和快速繁殖[J].中草药,2007,38(8):1243-1247.
- [2] 中国科学院林业土壤研究所.中国土壤酶学研究论文集[C].沈阳:辽宁科学技术出版社,1988.
- [3] 周礼恺.土壤酶学[M].北京:科学出版社,1987.
- [4] Dick R P. Soil enzyme activities as indicators of soil quality [A]. Doranj W, Colemand C, Bedzicekd F, et al. *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment* [C]. Madison: Soil Society of America Inc, 1994.

- [5] 姜惠武, 赵玉泉, 张 博. 森林中的土壤酶研究 [J]. 林业勘察设计, 2009(3): 75-76.
- [6] 张 华, 韩宝平, 肖 昕, 等. Cu-Cd 胁迫对小麦生长过程中土壤蔗糖酶活性的影响. [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(29): 14078-14080.
- [7] 李永红, 高玉葆. 土壤中单噻磺隆对谷子生长及土壤微生物若干生化功能的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(4): 633-637.
- [8] 朱鲁生, 王 军, 林爱军. 二甲戊乐灵的土壤微生物生态效应 [J]. 环境科学, 2002, 23(3): 88-91.
- [9] 关松荫, 张德生, 张志明. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [10] 赵兰坡, 姜 岩. 土壤磷酸酶测定方法的探讨 [J]. 土壤通报, 1986, 71(3): 138-141.
- [11] 唐 莉, 梁丽娟, 叶华智, 等. 附子常见病害的调查研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2004, 18(6): 29-32.
- [12] 王 娟, 刘淑英, 王 平, 等. 不同施肥处理对西北半干旱区土壤酶活性的影响及其动态变化 [J]. 土壤通报, 2008, 39(2): 299-303.
- [13] 关松荫. 我国主要土壤剖面酶活性状况 [J]. 土壤学报, 1984, 21(4): 868-881.
- [14] Burns R G. *Soil Enzyme* [M]. New York: Academic Press Inc, 1978.
- [15] Zornoza R, Guerrero C, Mataix S J, *et al.* Assessing air-drying and rewetting pre-treatment effect on some soil enzyme activities under Mediterranean conditions [J]. *Soil Biol Biochem*, 2006, 38: 2125-2134.
- [16] 邱莉萍, 刘 军, 和文祥, 等. 长期培肥对土壤酶活性的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 2003, 21(4): 46.