

# 水肥处理对黄瓜土壤养分、酶及微生物多样性的影响<sup>\*</sup>

韦泽秀<sup>1</sup> 梁银丽<sup>1,2,\*</sup> 井上光弘<sup>3</sup> 周茂娟<sup>1</sup> 黄茂林<sup>1</sup> 古建锋<sup>1</sup> 吴燕<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>西北农林科技大学资源环境学院, 陕西杨凌 712100; <sup>2</sup>中国科学院水利部水土保持研究所, 陕西杨凌 712100; <sup>3</sup>日本鸟取大学干燥地研究中心, 日本鸟取 680-0001)

**摘要** 以津优1号黄瓜为试材, 设3个土壤相对含水量水平(50%~60%、70%~80%、90%~100%)和2个肥料追施量(600 kg N·hm<sup>-2</sup>和420 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·hm<sup>-2</sup>, 420 kg N·hm<sup>-2</sup>和294 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·hm<sup>-2</sup>)处理, 研究了不同水肥供应对日光温室黄瓜土壤养分、酶活性及微生物多样性的影响。结果表明: 土壤中NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N含量随施肥量的增加而提高, 随土壤相对含水量的增加而降低; 水肥供给的增加有利于提高土壤中速效磷含量和蔗糖酶活性; 肥料增加使土壤中蛋白酶活性降低, 而水分降低使土壤中脲酶活性提高。土壤中微生物多样性与土壤中养分含量无显著相关性, 与土壤脲酶活性呈显著正相关, 与蔗糖酶活性呈显著负相关。土壤相对含水量70%~80%、氮肥追施量600 kg N·hm<sup>-2</sup>和420 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·hm<sup>-2</sup>处理的土壤养分含量、蔗糖酶、磷酸酶和脲酶活性较高, 且土壤中微生物多样性和均匀度显著高于其他处理, 土壤生产潜力最优。

**关键词** 水肥耦合 土壤酶 Shannon-Wiener指数 均匀度

**文章编号** 1001-9332(2009)07-1678-07 **中图分类号** S154, S158 **文献标识码** A

**Effects of different water and fertilizer supply on cucumber soil nutrient content, enzyme activity, and microbial diversity.** WEI Ze-xiu<sup>1</sup>, LIANG Yin-li<sup>1,2</sup>, INOUE Mitsuhito<sup>3</sup>, ZHOU Mao-juan<sup>1</sup>, HUANG Mao-lin<sup>1</sup>, GU Jian-feng<sup>1</sup>, WU Yan<sup>1</sup> (<sup>1</sup>College of Resource and Environment, Northwest A & F University, Yangling 712100, Shaanxi, China; <sup>2</sup>Institute of Water and Soil Conservation, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Resources, Yangling 712100, Shaanxi, China; <sup>3</sup>Arid Land Research Center, Tottori University, Tottori, 680-0001, Japan). *Chin. J. Appl. Ecol.*, 2009, 20(7): 1678-1684.

**Abstract:** With cucumber (*Cucumis sativus* L.) variety Jinyou 1 as test material, a greenhouse experiment was conducted to study the effects of different water and fertilizer supply on the cucumber soil nutrient content, enzyme activity, and microbial diversity. Three water regimes (50%-60%, 70%-80%, and 90%-100% soil relative moisture content) and two fertilization practices (600 kg N·hm<sup>-2</sup> + 420 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·hm<sup>-2</sup> and 420 kg N·hm<sup>-2</sup> + 294 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·hm<sup>-2</sup>) were designed. The increase of water and fertilizer supply benefited the increase of soil available P content and sucrose activity. Increasing fertilization rate increased soil NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N content but decreased soil protease activity, and increasing soil relative moisture content decreased the soil NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N content and urease activity. Soil microbial diversity had no significant correlations with soil nutrient contents, but significantly positively correlated with soil urease activity and negatively correlated with soil sucrose activity. Among the treatments, the treatment 70%-80% soil relative moisture content + 600 kg N·hm<sup>-2</sup> and 420 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·hm<sup>-2</sup> had the highest soil nutrient contents, soil urease, sucrose, and phosphatase activities, and soil microbial diversity and evenness, being the best in soil potential productivity.

**Key words:** water and fertilizer coupling; soil enzyme; Shannon-Wiener index; evenness

\* 中国科学院知识创新工程项目 (KZCX2-XB2-05-01) 和中日合作 JSPS“中国内陆沙漠化防治及农业替代技术研究”项目资助。

\*\* 通讯作者。E-mail: liangyl@ms.iswc.ac.cn

2008-12-09收稿, 2009-05-15接受。

黄瓜 (*Cucumis sativus*) 是设施栽培的主要蔬菜作物,对土壤水肥供给敏感.有关日光温室中黄瓜水分调控与利用及肥料施用的研究<sup>[1-4]</sup>在国内外已有大量报道.研究表明,土壤的微生物种类、数量及其变化在一定程度上反映了土壤有机质的矿化速度及各种养分的存在状态,并直接影响土壤养分的有效性和肥力状况<sup>[5-7]</sup>,而土壤水分、养分在一定程度上也会影响土壤的微生物特征<sup>[8-10]</sup>.土壤的许多生化过程,如土壤中腐殖质的合成与分解、营养物质的转化速度等都与土壤酶活性密切相关<sup>[11-12]</sup>,但关于土壤酶活性与土壤肥力关系的研究结果并不一致<sup>[13-14]</sup>,并且有关水肥耦合对土壤生物环境的影响研究报道较少.

生物化学和分子生物学等测定技术的发展丰富了微生物多样性研究的手段,基于 PCR 标记技术的长随机引物和 RAPD 引物 PCR 扩增方法<sup>[15-17]</sup>,可以将极微量的 DNA 进行大量扩增,通过比较分析基因序列的特异性来研究微生物的多样性,其灵敏度较高,能全面详细地了解土壤微生物群落组成等方面的差异,克服了传统方法难分离培养的限制性<sup>[18-19]</sup>.因此,本研究采用此方法研究了温室条件下不同水肥处理的黄瓜土壤中微生物多样性的差异,并结合土壤养分状况和酶学特征分析了不同水肥处理对黄瓜土壤生物环境的影响,以期对黄瓜生产中合理的水肥管理提供一定的科学依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

试验于 2007 年 4 月—2008 年 9 月在中国科学院水土保持研究所安塞试验站日光温室内进行.试验地为 1 m 深漏水小区.土壤为典型的黄绵土,土壤容重为  $1.26 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ,饱和水含量 30%,有机质  $9.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,全氮  $0.518 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,全磷  $0.636 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,碱解氮  $3.57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,速效磷  $26.93 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,速效钾  $240.37 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,pH 8.0, EC  $0.18 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ .供试黄瓜品种为津优 1 号,采用营养钵育苗,幼苗四叶一心时在日光温室内移栽,黄瓜生长期温室环境条件见图 1.

试验为 2 因素随机区组设计.其中,土壤相对含水量设 3 水平: 90% ~ 100% (Wh)、70% ~ 80% (Wm)、50% ~ 60% (Wl);肥料设 2 水平:  $600 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2} + 420 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \cdot \text{hm}^{-2}$  (Fh) 和  $420 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2} + 294 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \cdot \text{hm}^{-2}$  (Fl),共 6 个处理 (Wh Fh、Wm Fh、Wl Fh、Wh Fl、Wm Fl 和 Wl Fl). 4 次重复,

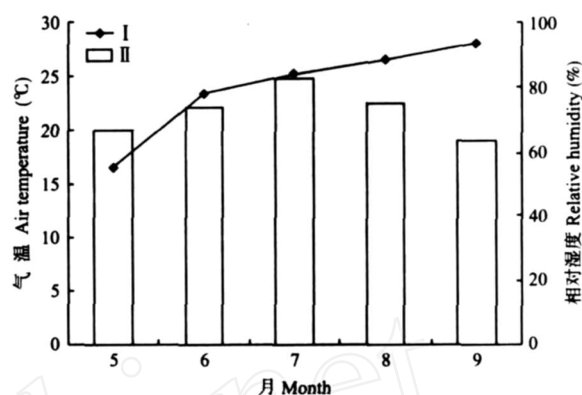


图 1 日光温室黄瓜生长期环境条件

Fig 1 Environmental condition in greenhouse during cucumber growth stage

: 相对湿度 Relative humidity (%); : 温度 Temperature (°C).

小区面积  $2.4 \times 2.5 = 6.0 \text{ m}^2$ .按滴灌带确定株距为 30 cm.行距为 60 cm.在小区北边 2 行垄面中央安装土壤剖面水分检测仪 PR1 (产地:英国)套管.每 2 d 测定 1 次 0 ~ 40 cm 土层的土壤水分,每 20 d 通过取土烘干法校对土壤含水量,按水分上限确定灌水量<sup>[1]</sup>.

### 1.2 研究方法

1.2.1 样品采集及处理 在黄瓜收获后的 2008 年 9 月 23 日,以“S 型多点采样法”取 0 ~ 20 cm 土样 1000 g,混匀,拣出根系等杂质,其中 100 g 过 2 mm 筛后,装入聚乙烯袋保鲜带回实验室,于  $-20^\circ\text{C}$  下保存,供提取土壤微生物 DNA 用,其余土样风干测定土壤养分和酶活性.同时,每小区取 3 株,将植株分为根、茎、叶 3 部分,经 105  $^\circ\text{C}$  杀青 30 min, 70  $^\circ\text{C}$  下烘干至恒量,测定干物质质量后用小型高速粉碎机粉碎备用.

化学指标测定:植物样品用  $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$  消煮,凯氏定氮仪测定全氮,钼蓝比色法测定全磷<sup>[20]</sup>.土壤全氮、全磷、速效磷、铵态氮和硝态氮等按常规方法测定<sup>[18]</sup>.

生物指标测定:土壤蔗糖酶活性用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定;土壤中磷酸酶活性用磷酸苯二钠比色法测定;脲酶活性用苯酚-次氯酸钠比色法测定;蛋白酶活性用明胶培养后茚三酮比色法测定.用 24 h 后 100 g 风干土产生的葡萄糖质量 (mg) 表示蔗糖酶活性 (Suc),用释放出的酚的质量 (mg) 表示磷酸酶活性 (Pho),用产生的  $\text{NH}_3\text{-N}$  的质量 (mg) 表示脲酶活性 (Ure),用酶解蛋白质释放的  $\text{NH}_3\text{-N}$  的质量 ( $\mu\text{g}$ ) 表示蛋白酶活性 (Pro)<sup>[6]</sup>.

1.2.2 土壤中微生物基因组 DNA 提取 微生物 DNA 提取采用 OMEGA 公司生产的 E Z N. A. TM

Soil DNA Kit试剂盒 (D5625-01) (<http://www.omegabiotek.com/genomicsoilmini.asp>). 采用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度法对所提取的微生物基因组DNA的质量及浓度进行检测,并将DNA的浓度调至  $50 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ .

**1.2.3 PCR扩增及产物检测** 随机引物序列见表1,由上海生物工程有限公司合成. PCR中所用的酶及相关试剂均购自 TaKaRa公司(大连),PCR反应体系为:  $10 \times \text{PCR Buffer } 2.0 \mu\text{l}$ ,  $\text{dNTP Mix (各 } 2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}) 1.3 \mu\text{l}$ ,  $\text{MgCl}_2 (25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}) 1.2 \mu\text{l}$ , 引物 ( $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )  $0.5 \mu\text{l}$ , Taq聚合酶 ( $5 \text{ U} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ )  $0.2 \mu\text{l}$ , DNA模板  $2 \mu\text{l}$ ,  $\text{ddH}_2\text{O}$  补充定容至  $20 \mu\text{l}$  PCR反应程序为:  $94^\circ\text{C}$  预变性  $3 \text{ min}$ ;  $94^\circ\text{C}$  变性  $40 \text{ s}$ ,  $36^\circ\text{C}$  或  $46^\circ\text{C}$  退火  $40 \text{ s}$ ,  $72^\circ\text{C}$  延伸  $90 \text{ s}$ , 34个循环,  $72^\circ\text{C}$  延伸  $5 \text{ min}$ ;  $4^\circ\text{C}$  保存. 所有反应均在 MJ Research PTC-200 PCR仪上进行. 扩增产物中加入  $4.0 \mu\text{l}$  的  $5 \times \text{Loading Buffer}$ , 进行10%的凝胶电泳. 用 Gel Doc 2000™ (Bio-Rad) 凝胶成像系统观察并照相.

### 1.3 数据处理

按照3次重复扩增中均能稳定扩增的条带在同一电泳迁移位置上的表现,有扩增条带的记为1,无条带记为0,建立  $[1, 0]$  矩阵<sup>[21]</sup>. 然后利用 NTSYSp 2.1 数据分析软件的相似性分析模块 Qualitative的 Dice法计算遗传相似系数,利用 Shannon-Wiener<sup>[6]</sup> 遗传多样性指数来衡量群体遗传多样性大小. 采用 SAS V8.1 软件对数据进行方差分析、多重比较和相关性分析,采用 Excel 软件作图.

## 2 结果与分析

### 2.1 不同水肥处理对黄瓜植株氮、磷吸收量及土壤氮、磷含量的影响

表2 不同处理植株生物量及全氮和全磷含量

Tab 2 Dry matter and total nitrogen, total phosphorus contents in different parts of plant under different treatments

处理 Treatment	根 Root			茎 Straw			叶片 Leaf		
	干物质量 Dry matter ( $\text{g} \cdot \text{plant}^{-1}$ )	全氮 Total N ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	全磷 Total P ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	干物质量 Dry matter ( $\text{g} \cdot \text{plant}^{-1}$ )	全氮 Total N ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	全磷 Total P ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	干物质量 Dry matter ( $\text{g} \cdot \text{plant}^{-1}$ )	全氮 Total N ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	全磷 Total P ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )
WhFh	2.89c	17.36b	4.54a	9.46b	17.95c	9.85b	97.73a	32.58a	10.51a
WmFh	2.99bc	18.68a	4.01b	10.38b	18.14b	12.68a	83.48b	30.53b	9.29b
WIFh	2.70c	17.08c	4.12b	6.67c	19.41a	5.92d	69.60c	28.97c	9.09b
WhFI	3.27ab	16.64d	3.72c	12.16a	18.14b	7.51c	64.17c	26.66d	6.97d
WmFI	2.70c	16.55e	3.31d	6.69c	17.67d	5.17e	56.22d	28.08c	6.95d
WIFI	3.32a	16.60de	3.41d	9.30b	16.89e	4.76f	54.60d	25.45e	7.28c

同列不同小写字母表示不同处理在 0.05 水平上差异显著 Different small letters in the same line meant significant difference at 0.05 level among treatments 下同 The same below.

表1 试验中所用随机引物序列表

Tab 1 Primers and their sequences applied in the experiment

引物名称 Primer	序列 Sequence (5' to 3')
E2	GGAA TTCACGTC
L1	AGCAA GTTCA GCCTGGTAA G
A1	GCACGCCGCGGGTGGTAC
A2	GCCGGCTTGCCGTACTTGG
M12	GGGACGTTGG
S80	ACTTCGCCAC
S366	CACCTTTC

**2.1.1 植株氮、磷吸收量** 对不同水肥处理黄瓜根、茎和叶片生物产量的统计表明,黄瓜干物质主要积累在叶片中,其次是茎干,根部生物量最小;相同水分条件下,黄瓜叶片的干物质量表现为  $\text{Fh} > \text{FI}$ ,而相同肥料条件下则表现为  $\text{Wh} > \text{Wm} > \text{WFI}$ (表2). 植株中不同部位全氮、全磷含量也主要表现为叶片  $>$  茎干  $>$  根,其中叶片中全氮、全磷含量总体表现为  $\text{Fh} > \text{FI}$ ,但不同水肥条件下的植株表现出差异,  $\text{Fh}$  下各处理叶片中全氮、全磷含量表现为  $\text{Wh} > \text{Wm} > \text{WFI}$ ,但  $\text{FI}$  下各处理变化无规律可循. 将植株各部位干物质量与全氮(全磷)含量分别相乘,加和后即可得到植株氮(磷)吸收量.  $\text{WhFh}$ ,  $\text{WmFh}$ ,  $\text{WIFh}$ ,  $\text{WhFI}$ ,  $\text{WmFI}$  和  $\text{WIFI}$  处理的黄瓜植株氮吸收量分别为  $3.404$ 、 $2.793$ 、 $2.192$ 、 $1.986$ 、 $1.742$  和  $1.602 \text{ g} \cdot \text{plant}^{-1}$ ;与  $\text{WIFI}$  相比,  $\text{WhFh}$ ,  $\text{WmFh}$ ,  $\text{WIFh}$ ,  $\text{WhFI}$  和  $\text{WmFI}$  分别增加  $112.47\%$ 、 $74.33\%$ 、 $36.82\%$ 、 $23.94\%$  和  $8.71\%$ ;同理,与  $\text{WIFI}$  相比,  $\text{WhFh}$ ,  $\text{WmFh}$ ,  $\text{WIFh}$ ,  $\text{WhFI}$  和  $\text{WmFI}$  处理植株磷吸收量分别增加  $150.09\%$ 、 $102.78\%$ 、 $50.81\%$ 、 $21.53\%$  和  $-4.21\%$ . 可见,  $\text{WhFh}$  处理黄瓜植株由于水肥供给充足,生长旺盛,吸收的氮、磷营养最多.

表 3 不同处理土壤氮、磷含量

Tab 3 Soil nitrogen and phosphorus contents under different treatments

处理 Treatment	全氮 Total N ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	$\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	$\text{NH}_4^+ \cdot \text{N}$ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	全磷 Total P ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	速效磷 Available P ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )
WhFh	564.66 $\pm$ 0.61d	27.92 $\pm$ 2.89e	7.62 $\pm$ 0.59c	1304.34 $\pm$ 9.22a	686.38 $\pm$ 1.92a
WmFh	698.74 $\pm$ 0.42a	114.82 $\pm$ 1.66a	8.85 $\pm$ 0.15a	1265.72 $\pm$ 2.03b	661.79 $\pm$ 0.49b
WIFh	651.74 $\pm$ 1.67b	112.55 $\pm$ 1.97a	9.09 $\pm$ 0.12a	907.99 $\pm$ 0.81d	541.86 $\pm$ 1.39c
WhFI	605.89 $\pm$ 0.02c	98.48 $\pm$ 0.14b	7.33 $\pm$ 0.39c	1000.47 $\pm$ 2.27c	402.13 $\pm$ 2.30d
WmFI	657.51 $\pm$ 0.46b	58.56 $\pm$ 1.83c	7.84 $\pm$ 0.66bc	754.49 $\pm$ 2.32e	325.66 $\pm$ 2.17e
WIFI	596.35 $\pm$ 0.59c	39.37 $\pm$ 1.33d	8.66 $\pm$ 0.66a	760.28 $\pm$ 2.06e	317.00 $\pm$ 1.09f

2.1.2 土壤氮、磷含量 不同水肥处理后土壤中氮、磷含量见表 3。土壤全 N 含量变化幅度为 564.66 ~ 698.74  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。当土壤水分含量一致时,土壤全氮含量在各处理中的表现为:WhFh < WhFI, WmFh > WmFI, WIFh > WIFI; 当肥料水平一致时, Wm 处理后土壤全氮含量高于其他处理,其中 WmFh 处理最高,为 698.74  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ; WhFh 处理最低,为 564.66  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,二者差异极显著。不同水肥条件下,土壤中  $\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$  含量表现为:WmFh > WIFh > WhFI > WmFI > WIFI > WhFh。  $\text{NH}_4^+ \cdot \text{N}$  随土壤相对含水量的增加而降低,随肥料供给量的增加而增加。总体上,WhFh 处理后土壤全氮、 $\text{NH}_4^+ \cdot \text{N}$  和  $\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$  含量都显著低于其他处理,这可能是由于高水高肥条件下,土壤水分一直处于近饱和状态,肥料随水淋洗,使表层土壤氮素含量降低<sup>[22]</sup>,而黄瓜是喜湿作物,在水分充足条件下,植株生长旺盛,植株吸收的养分较多(表 2),使表层土壤养分含量下降。而 WIFI 处理土壤全氮和  $\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$  含量都较低,但  $\text{NH}_4^+ \cdot \text{N}$  含量较高,表明该处理由于土壤相对含水量低,肥料挥发损失较多。

表 3 还表明,不同水肥处理对土壤全磷含量的影响较大。各处理土壤全磷含量表现为 Fh > FI,其中 Fh 条件下各处理土壤全磷含量平均为 1159.35  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,FI 条件下各处理土壤全磷含量平均为 838.41  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。土壤全磷含量随土壤相对含水量和肥料水平的增加而增加,土壤中速效磷含量的变化趋势与全磷一致。

## 2.2 不同水肥处理对土壤酶学特性的影响

由于不同的水肥供给使黄瓜土壤营养状况和水分状况产生了差异,影响了土壤内的水气环境,导致土壤中酶学特性发生不同程度的变化(表 4)。土壤中蔗糖酶是由植物根系分泌产生的,与土壤有机质和土壤团聚体表面积有关,能反映土壤的肥力水平和生物学活性强度。各处理土壤中蔗糖酶活性的变化范围为 1.12 ~ 2.70  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,其中 Fh 和 FI

条件下各处理土壤中蔗糖酶活性平均值分别为 2.44 和 1.49  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,前者比后者增加 63.07%; Wh, Wm 和 WI 各处理土壤蔗糖酶活性平均值分别为 2.36、1.87 和 1.67  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,与 WI 相比,Wh 和 Wm 处理后土壤蔗糖酶活性分别增加 11.68% 和 40.81%。在 6 种处理中,WhFh 土壤蔗糖酶活性最高,为 2.70  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,WIFI 最低,为 1.12  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,说明增加水肥供给有利于提高土壤蔗糖酶的活性。

土壤中性磷酸酶活性依赖于土壤速效磷含量,土壤中速效磷含量越高,则中性磷酸酶活性越高<sup>[22]</sup>。由表 4 可知,不同水肥条件下土壤中性磷酸酶活性从高到低依次为:WhFI > WmFh > WhFh > WIFh > WmFI > WIFI,其中 FI 水平下土壤中性磷酸酶活性的变化与前人研究结论一致;但 Fh 水平下土壤速效磷含量为 WhFh > WmFh,而土壤中性磷酸酶活性为 WhFh < WmFh。综合水、肥两因素,WhFI 处理土壤中性磷酸酶活性最高,WIFI 和 WmFI 处理土壤中性磷酸酶活性最低,土壤有机磷的活化作用较弱。

脲酶和蛋白酶对氮素肥的转化和吸收有较大影响。从表 4 可以看出,土壤脲酶活性受肥料供给水平的影响规律不明显;不同土壤含水量条件下,FI 各处理土壤脲酶活性表现为 WI > Wm > Wh, Fh 各

表 4 不同处理土壤酶活性

Tab 4 Soil enzyme activities under different treatments

处理 Treatment	蔗糖酶 Sucrase ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )	中性磷酸酶 Neutral phosphatase ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )	脲酶 Urease ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )	蛋白酶 Protease ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )
WhFh	2.70a	412.7b	282.7e	198.2b
WmFh	2.39b	425.9b	349.0a	175.6c
WIFh	2.22b	254.5c	325.6c	172.2c
WhFI	2.01c	504.1a	263.0f	209.6b
WmFI	1.34d	229.9c	317.9d	233.2a
WIFI	1.12e	228.6c	336.7b	209.9b

理表现为  $W_m > W_l > W_h$ ,各处理中  $W_m F_h$ 的土壤脲酶活性最高.表明在低肥条件下,土壤含水量减少有利于提高土壤脲酶活性表 4;而在高肥条件下,当土壤相对含水量 70% ~ 80%时,土壤脲酶活性最高.不同水肥条件下,土壤蛋白酶活性总体上表现为  $F_l > F_h$ ,其中  $W_m F_l$ 处理显著高于其他处理,其次是  $W_l F_l$ 处理.可见,在适宜的土壤水分环境下,减少施肥能加速土壤中氮素养分的循环.

2.3 不同水肥处理对土壤微生物多样性的影响

PCR扩增条带数量能体现微生物丰富度(图 2).肥料的供给差异影响了微生物生长繁殖所需的营养源,而水分供给的差异改变了土壤的通气状况和微生物生存环境.不同水肥处理后,土壤微生物 PCR扩增条带数(98 ~ 123)、微生物多样性指数(1.30 ~ 1.49)和均匀度(0.27 ~ 0.31)存在差异(表 5),但它们随水肥变化的规律基本相同:当肥料水平相同时,  $W_m > W_h > W_l$ ;当水分条件相同时,  $W_h F_l > W_h F_h, W_l F_l > W_l F_h, W_m F_h > W_m F_l$ 各处理中,  $W_m F_h$ 处理的土壤微生物多样性和均匀度最高(1.49, 0.31),其次是  $W_m F_l$ 处理(1.45, 0.30),  $W_l F_h$ 处理最低.表明适宜的水肥环境能提高土壤微生物的多样性和均匀度,形成良好的土壤生物环境.

2.4 各指标相关性分析

土壤肥力在很大程度上决定酶的生成者植物和土壤微生物的营养状况.同时,土壤肥力水平受土壤酶影响,与土壤酶活性密切相关<sup>[13, 23-24]</sup>.对土壤中氮、磷养分及酶活性(蔗糖酶、中性磷酸酶、脲酶和蛋白酶)的相关分析表明:土壤中全氮含量与  $NO_3^- - N$ 含量显著正相关( $r=0.855$ ),而与  $NH_4^+ - N$ 含量无显著相关性;土壤中速效磷含量与全磷含量

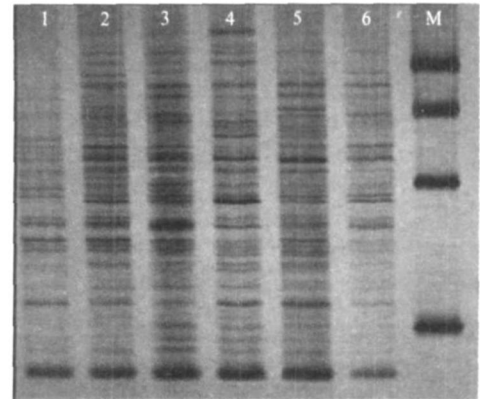


图 2 A2长随机引物扩增图

Fig 2 The amplification result by primer A2

1)  $W_h F_l$ ; 2)  $W_h F_h$ ; 3)  $W_m F_h$ ; 4)  $W_l F_h$ ; 5)  $W_m F_l$ ; 6)  $W_l F_l$

表 5 不同处理土壤的微生物多样性

Tab 5 Soil microbial diversity under different treatments

处理 Treatment	总条带数 Number of all bands	多样性指数 Shannon-Wiener index	均匀度指数 Shannon evenness
$W_h F_h$	110	1.38c	0.29b
$W_m F_h$	123	1.49a	0.31a
$W_l F_h$	98	1.30d	0.27c
$W_h F_l$	114	1.41b	0.29a
$W_l F_h$	117	1.45a	0.30a
$W_l F_l$	111	1.37c	0.29b

极显著相关( $r=0.921$ );土壤蔗糖酶活性与速效磷和全磷含量显著相关,与土壤氮素各指标相关不显著;中性磷酸酶活性仅与土壤中全磷含量显著相关( $r=0.742$ );蛋白酶活性与土壤中  $NO_3^- - N, NH_4^+ - N$ 、全磷和速效磷含量显著负相关,相关系数分别为 - 0.590、- 0.658、- 0.737、- 0.541(表 6).说明在本试验条件下,蛋白酶能较全面地反映土壤肥力水平变化.

表 6 土壤养分与土壤酶的相关分析

Tab 6 Correlations between soil nutrients and soil enzymes

	全氮 Total N	$NO_3^- - N$	$NH_4^+ - N$	速效磷 Available P	全磷 Total P	蔗糖酶 Sucrase	中性磷酸酶 Neutral phosphatase	脲酶 Urease	蛋白酶 Protease
全氮 Total N	1								
$NO_3^- - N$	0.855*	1							
$NH_4^+ - N$	0.037	0.401	1						
速效磷 Available P	- 0.113	0.202	0.167	1					
全磷 Total P	- 0.032	0.117	- 0.123	0.921**	1				
蔗糖酶 Sucrase	- 0.301	- 0.055	- 0.336	0.600*	0.545*	1			
中性磷酸酶 Neutral phosphatase	0.366	0.281	- 0.500	0.484	0.742*	0.423	1		
脲酶 Urease	- 0.370	- 0.379	0.349	0.242	0.233	- 0.446	- 0.242	1	
蛋白酶 Protease	- 0.130	- 0.590*	- 0.658*	- 0.737*	- 0.541*	- 0.328	- 0.221	- 0.037	1

n = 18; \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ . 下同 The same below.

表 7 土壤养分和酶与土壤微生物的相关分析

Tab 7 Correlations between soil nutrients, soil enzymes and soil microorganism

	蔗糖酶 Sucrase	中性磷酸酶 Neutral phosphatase	脲酶 Urease	蛋白酶 Protease	全氮 Total N	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	速效磷 Available P	全磷 Total P
条带数 Band No	-0.694 <sup>*</sup>	0.138	0.576 <sup>*</sup>	0.406	0.253	-0.159	-0.218	-0.233	0.019
多样性指数 Shannon-Wiener index	-0.777 <sup>*</sup>	0.031	0.591 <sup>*</sup>	0.395	0.278	-0.127	-0.151	-0.284	-0.055
均匀度指数 Shannon evenness	-0.808 <sup>**</sup>	0.035	0.601 <sup>*</sup>	0.422	0.204	-0.197	-0.114	-0.366	-0.148

关于土壤养分、土壤酶与土壤微生物之间关系的研究较多,但结论并不相同<sup>[13-14]</sup>。对土壤养分、酶学特征及微生物多样性的相关性分析表明:土壤养分与微生物多样性指标相关不显著;土壤中蔗糖酶和脲酶都能表征土壤微生物多样性特征,其中,土壤微生物多样性指数、均匀度指数与蔗糖酶活性呈显著负相关,而与脲酶活性呈显著正相关(表7)。

### 3 小 结

本研究结果表明,不同水肥处理改变了土壤水肥环境,影响了植株对养分的吸收、土壤养分含量、酶活性及土壤微生物多样性。与420 kg N·hm<sup>-2</sup>+294 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·hm<sup>-2</sup>追肥处理(FI)相比,600 kg N·hm<sup>-2</sup>+420 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·hm<sup>-2</sup>追肥处理(Fh)的植株氮、磷吸收量和叶片干物质量增加,土壤NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、速效磷、全磷含量和蔗糖酶活性提高,土壤蛋白酶活性降低;随土壤相对含水量增加,植株氮吸收量和叶片干物质量增加,土壤速效磷含量和蔗糖酶活性提高,土壤NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N含量降低。综合水、肥两因素,土壤相对含水量70%~80%、追肥600 kg N·hm<sup>-2</sup>+420 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·hm<sup>-2</sup>处理的土壤全氮、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N含量、脲酶活性及土壤微生物多样性和均匀度都高于其他处理,土壤全磷、速效磷含量和蔗糖酶、磷酸酶活性较高,土壤生物环境最优,生产潜力最大。但本试验开展年限较短,要深入研究不同水肥耦合下土壤生物环境的变化,应做长期定位试验,并结合多阶段取样分析进行深入研究。

### 参考文献

- [1] Zou Z-R (邹志荣), Li Q-M (李清明), He Z-Q (贺忠群). Effects of different irrigation maximums on growth dynamics, yield and quality of cucumber during fruit-bearing stage in greenhouse *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (农业工程学报), 2005, **21**(suppl): 77-81 (in Chinese)
- [2] Zhai S (翟胜), Wang J-Y (王巨媛), Liang Y-L (梁银丽). Effects of soil surface mulching on cucumber production and water use efficiency in solar greenhouse *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (农业工程学报), 2005, **21**(10): 129-133 (in Chinese)
- [3] Zhai S (翟胜), Liang Y-L (梁银丽), Wang J-Y (王巨媛), et al. Water production function of cucumber in Chinese solar greenhouse in arid and semiarid region *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (农业工程学报), 2005, **21**(4): 136-139 (in Chinese)
- [4] Xu F-L (徐福利), Liang Y-L (梁银丽), Chen Z-J (陈志杰), et al. The study of fertilizer application and its effect to environment in sunlight greenhouse in Yan'an *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), 2003, **23**(5): 797-801 (in Chinese)
- [5] Li F-D (李阜棣). *Soil Microbiology*. Beijing: China Agriculture Press, 1996 (in Chinese)
- [6] Yao H-Y (姚槐应), Huang C-Y (黄昌勇). *Soil Microbial Ecology and Experiment Technology*. Beijing: Science Press, 2006 (in Chinese)
- [7] Liang Y-L (梁银丽), Dang T-H (党廷辉), Zhang C-E (张成娥). *Cropland Ecosystem Productivity Research on Loess Plateau Xi'an: Shaanxi Science & Technology Press*, 2000 (in Chinese)
- [8] Debosz K, Rasmussen PH, Pedersen AR. Temporal variations in microbial biomass C and cellulytic enzyme activity in arable soils: Effects of organic matter input *Applied Soil Ecology*, 1999, **13**: 209-218
- [9] Taylor JP, Wilson B, Mills MS, et al. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface and subsoil using various techniques *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, **34**: 387-401
- [10] Vepsäläinen M, Erkomaa K, Kukkonen S, et al. The impact of crop plant cultivation and peat amendment on soil microbial activity and structure *Plant and Soil*, 2004, **264**: 273-286
- [11] Wang Z-Y (王振宇), Lü J-Y (吕金印), Li F-M (李凤民), et al. Rhizodeposition and its role in carbon cycling in plant-soil system. *Chinese Journal of Applied*

- Ecology* (应用生态学报), 2006, **17**(10): 1963-1968 (in Chinese)
- [12] Xu Q (徐强), Cheng Z-H (程智慧), Meng H-W (孟焕文), *et al* Relationships between soil nutrients and rhizospheric soil microbial communities and enzyme activities in a maize capsicum intercropping system. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2007, **18**(12): 2747-2754 (in Chinese)
- [13] Xue D (薛冬), Yao H-Y (姚槐应), He Z-L (何振立), *et al* Relationships between red soil enzyme activity and fertility. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2005, **16**(8): 1455-1458 (in Chinese)
- [14] Staddon WJ, Duchesne LC, Trevors JT. Acid phosphatase, alkaline phosphatase and arylsulfatase activities in soil from a jack pine (*Pinus banksiana* Lamb) ecosystem after clear-cutting, prescribed burning, and scarification. *Biology and Fertility of Soils*, 1998, **27**: 1-4
- [15] Song WN, Langridge P. Identification and mapping polymorphism in cereals based on polymerase chain reaction. *Theory of Applied Genetics*, 1991, **82**: 209-216
- [16] Weining S, Ko L, Henry RJ. Polymorphisms in *amy1* gene of wild and cultivated barley revealed by the polymerase chain reaction. *Theory of Applied Genetics*, 1994, **89**: 509-513
- [17] Weining S, Henry RJ. Molecular analysis of the DNA polymorphism of wild barley (*Hordeum spontaneum*) using the polymerase chain reaction. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1995, **42**: 273-281
- [18] Zhou J (周桔), Lei T (雷霆). Review and prospects on methodology and affecting factors of soil microbial diversity. *Biodiversity Science* (生物多样性), 2007, **15**(3): 306-311 (in Chinese)
- [19] Zhang Y-G (张于光), Li D-Q (李迪强), Wang H-M (王慧敏), *et al* Extraction method of soil microbial DNA for molecular ecology study. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2005, **16**(5): 956-960 (in Chinese)
- [20] Bao S-D (鲍士旦). Soil and Agricultural Chemistry Analysis. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese)
- [21] Nei M, Li W. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1979, **76**: 5269-5273
- [22] Sun B (孙波), Zhao Q-G (赵其国), Zhang T-L (张桃林), *et al* Soil quality and sustainable environment research. Soil quality evaluation with biological index. *Soils* (土壤), 1997, **29**(5): 225-234 (in Chinese)
- [23] Xu F-L (徐福利), Liang Y-L (梁银丽), Zhang C-E (张成娥), *et al* Effect of fertilization on cucumber growth and soil biological characteristics in sunlight greenhouse. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2004, **15**(7): 1227-1230 (in Chinese)
- [24] Xue L (薛立), Chen H-Y (陈红跃), Kuang L-G (邝立刚). Soil nutrient, microorganism and enzyme activity in *Pinus elliottii* mixed stands. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2003, **14**(1): 157-159 (in Chinese)

---

作者简介 韦泽秀,女,1978年生,博士研究生.主要从事农业生态研究. Email: weizexiu\_1@yahoo.cn

责任编辑 张凤丽

---