

自然生草和间种绿肥对盆栽柑橘土壤养分、酶活性和微生物的影响

潘学军^{1,3,*}, 张文娥², 樊卫国^{1,3}, 蓬桂华², 罗国华^{1,3}

(¹ 贵州大学喀斯特山地果树资源研究所, 贵阳 550025; ² 贵州大学农学院, 贵阳 550025; ³ 贵州省果树工程技术研究中心, 贵阳 550025)

摘 要: 以盆栽 2 年生纽荷尔脐橙为试材, 研究了清耕、自然生草和间种绿肥条件下土壤养分、微生物数量及酶活性的差异。结果表明, 间种绿肥和自然生草处理能明显提高土壤中有机质、全氮、速效钾和速效磷的含量, 但生草处理土壤速效氮含量低于清耕处理。间种绿肥和自然生草处理的土壤脲酶、蛋白酶和过氧化氢酶活性明显高于清耕处理。柑橘生育期内, 土壤中微生物以细菌最多, 占 90% 以上, 其次是放线菌, 真菌最少。间种绿肥使土壤中细菌和放线菌数量增多, 生草则明显提高土壤中真菌数量。相关分析表明: 土壤酶活性和微生物数量与土壤氮素和有机质含量之间显著正相关。

关键词: 柑橘; 土壤管理方式; 土壤养分; 酶活性; 微生物

中图分类号: S 666.4

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2010) 08-1235-06

Effects of Sod Culture and Intercropping Green Manure on the Soil Nutrient , Enzyme Activities and Microorganisms in Bonsai *Citrus*

PAN Xue-jun^{1,3,*}, ZHANG Wen-e², FAN Wei-guo^{1,3}, PENG Gui-hua², and LUO Guo-hua^{1,3}

(¹ *Research Institute for Fruit Resource of Karst Mountain Region, Guizhou University, Guiyang 550025, China*; ² *Agriculture College of Guizhou University, Guiyang 550025, China*; ³ *Guizhou Engineering Research Center for Fruit Crops, Guiyang 550025, China*)

Abstract : The experiment was conducted to study the variation of soil nutrient ,enzyme activities and microorganism category in the soil of 2-year Newhall Navel orange (*Citrus sinensis* Osbeck ‘ Newhall Navel ’)seedlings ,planted in pots at different managements by clean tillage ,sod culture and intercropping green manure. The results showed that the contents of soil organic matter , total N , available K and P were obviously improved by intercropping green manure and sod culture , but the available N content in the sod culture soil was lower than that of clean tillage. Compared with the control , the activities of the urease , protease and catalase of green manure and sod culture treatment were improved obviously. The bacteria quantity in the soil ,ranked first ,account for 90 percent of total microorganisms during the whole growing period of the seedlings , and then were the actinomycete and fungi. The quantity of soil bacteria and

收稿日期: 2009 – 11 – 30; **修回日期:** 2010 – 07 – 05

基金项目: 贵州省 ‘ 十一五 ’ 重大科技攻关项目 (黔科合 NZ 字 2005-3001); 贵州省果树学科科技创新人才团队建设项目 (黔科合人才团队[2008]88007 号); 贵州省特色农业产业人才培养基地建设项目; 贵州省果树工程技术研究中心建设项目 (黔科合农 G 字[2007]4001 号)

* E-mail : pxjun2050@yahoo.com.cn

actinomycete were improved, while the fungi quantity was improved by sod culture. Further analysis showed that there is significant positive-correlations between the enzyme activities, the microorganism quantity and the soil nutrients.

Key words : *Citrus*; soil management; soil nutrient; enzyme activity; microorganism

贵州南盘江、北盘江、红水河、樟江、都柳江、清水江、赤水河、乌江中下游等河谷地带是目前贵州柑橘栽培较为集中的地区。但该地区大多属于喀斯特河谷地带,喀斯特地貌明显,土壤瘠薄,虽降水充沛,但土层薄,土壤蓄肥水能力差,旱情严重(杨成等,2008)。传统的土壤耕作模式(清耕法)下,地面覆盖率低,水土流失严重,幼龄果园尤甚。果园生草和间种绿肥能有效地改善果园的生态小气候,减少地表径流量,增加果园蓄水保肥能力(张猛等,2006)。生草和绿肥一方面与果树竞争土壤养分,另一方面又调节土壤酶活性和土壤微生物数量,从而影响着土壤肥力(施卫明,1993)。土壤酶活性、土壤微生物区系及数量与土壤理化性质之间的关系已成为近年来的主要研究内容。本研究中以盆栽幼龄柑橘为材料,以传统的清耕方式为对照,研究自然生草和间种绿肥对盆栽土壤养分、微生物数量和酶活性的影响,旨在探索一条适合贵州喀斯特河谷地区幼龄柑橘园的土壤管理模式,为喀斯特柑橘园土壤管理提供科学的理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验地区概况

试验在贵阳市贵州大学农学院果树种质资源圃进行。该地区属中亚热带季风湿润气候,年均气温 15℃,年均降水量 1 197 mm,年日照 1 278 h,年相对湿度 76.9%,无霜期 270 d 左右。

1.2 供试材料与处理

供试材料为柑橘属甜橙类(*Citrus sinensis* Osbeck)的 2 年生纽荷尔脐橙(Newhall Navel)嫁接苗,砧木为枳(*Poncirus trifoliata* L.)。平均株高 35 cm,茎粗 0.5~0.7 cm。2006 年春季栽植于直径为 40 cm,高度为 40 cm 的盆内。盆土为黄壤土,取自喀斯特地貌柑橘园,pH 7.82,有机质 27.90 g·kg⁻¹,全氮 1.55 g·kg⁻¹,速效氮 94.09 mg·kg⁻¹,全磷 2.05 g·kg⁻¹,速效磷 17.57 mg·kg⁻¹,速效钾 249.05 mg·kg⁻¹。盆栽树放在资源圃露天环境下,土壤管理方式分为清耕(对照)、自然生草和间种绿肥 3 种方式。清耕:定期中耕除草(主要有看麦娘、扬子毛茛、早熟禾、繁缕等),杂草放在盆外;生草处理:于杂草旺盛生长期刈割 4 次,割下杂草置于树盘下,待腐烂后翻压到土壤中;绿肥处理:分别于 2006 年 5 月 14 日春播光叶紫花苕子,2006 年 8 月 16 日压青,2006 年 10 月 16 日秋播光叶紫花苕子,2007 年 3 月压青,压青深度 10 cm 左右;2007 年管理方式同 2006 年。试验每处理设 3 次重复,每 10 盆为 1 次重复,3 个处理共种植 90 盆。

1.3 土壤 pH 值、土壤养分、微生物数量和酶活性的测定

于 2008 年 4 月 20 日取土样。取样采用对角线法,在树冠滴水线下取 0~40 cm 土层的土样。每重复充分混匀后采用四分法取 500 g 土样带回实验室,分为两份,一份鲜土样用于土壤微生物测定,另一份风干、去杂,过 20 目和 100 目筛后用于土壤养分和酶活性测定。重复 3 次。

土壤 pH 值、碱解氮、速效磷、速效钾、全氮、全磷按《土壤农业化学分析方法》(鲁如坤,2000)进行测定。pH 值采用 pHS-3C 型酸度计测定。

土壤微生物的计数采用平板法,根区土壤细菌、放线菌、真菌培养分别采用牛肉膏蛋白胨培养

基、高氏 1 号培养基和马丁氏琼脂培养基（徐雄 等，2006）。

过氧化氢酶活性的测定采用高锰酸钾滴定法，活性单位以 1 g 土样在 1 h 反应后消耗 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KMnO_4 溶液的毫升数来表示；脲酶活性的测定采用苯酚钠—次氯酸钠比色法，活性单位以 1 g 土样在 37℃ 条件下，经过 24 h 反应后水解生成的氨基氮的毫克数来表示；蛋白酶活性测定采用茚三酮比色法，活性单位以 1 g 土样在 37℃ 条件下，经过 24 h 反应后水解生成的氨基氮的毫克数来表示（关松荫，1986）。

1.4 柑橘春梢生长量及叶片光合色素含量的测定

于 2008 年 5 月统计各处理春梢萌发数，用游标卡尺和直尺分别测量春梢粗度（以春梢中部节间中央部位的直径表示）和长度。利用比色法（李合生，2000）测定各处理柑橘春梢叶片中叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量，并计算光合色素总含量。

1.5 试验数据统计分析

试验数据借助 Excel 和 DPS 软件，进行方差分析和相关分析。

2 结果与分析

2.1 自然生草和间种绿肥对土壤养分含量的影响

土壤管理方式不同，其营养水平差异明显（表 1）。与对照相比，间种绿肥和自然生草能极显著提高土壤有机质和土壤中全氮的含量，且间种绿肥的土壤中的全氮和有机质含量明显高于自然生草的。这种效果一方面是由于绿肥的固氮作用，另一方面与绿肥和生草减少了氮素的淋失有关。但在自然生草法的土壤管理模式下，由于杂草对速效氮的消耗，其含量低于对照清耕法。间种绿肥的土壤中速效氮含量极显著高于清耕的，这进一步说明了绿肥的固氮作用明显。

由表 1 还可以看出，土壤全磷、速效磷和速效钾都以生草法最高，其次是间种绿肥的，清耕法最低，但三者之间的差异水平不同，以速效钾的差异最大，其中生草法的土壤速效钾含量（ $604.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ）极显著的高于其他两种方式。

表 1 自然生草和间种绿肥对土壤养分含量的影响
Table 1 Effects of sod culture and intercropping green manure on the soil nutrients

处理 Treatment	pH	有机质/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Organic matter	全氮/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Total N	速效氮/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) Available N	全磷/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Total P	速效磷/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) Available P	速效钾/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) Available K
间种绿肥 Intercropping green manure	7.81 a	44.38 a	2.29 a	160.80 a	0.76 ab	49.67 a	419.81 b
自然生草 Sod culture	7.82 a	41.79 b	1.96 b	118.89 c	0.80 a	50.65 a	604.06 a
清耕（对照） Clean tillage (Control)	7.91 a	35.01 c	1.47 c	135.41 b	0.70 b	47.19 a	364.49 b

注：表中小写字母代表 5% 差异显著水平，下同。

Note: The small letters represent significant difference at 5% level. The same below.

2.2 自然生草和间种绿肥对土壤酶活性的影响

土壤脲酶是土壤氮素循环的重要酶类，直接参与土壤中含氮有机化合物的转化，在土壤氮素循环进程中起着重要作用，其活性强度常用来表示土壤氮素供应强度。间种绿肥的土壤管理模式下土壤脲酶活性最高，比生草法和对照清耕法分别高出 11.91% 和 27.99%（表 2），这是因为土壤有机质

和累积在其中的氮决定了酶进入土壤中的数量(田昆等,2004),间种绿肥能明显提高土壤有机质和氮的含量,从而提高了酶活性。

土壤蛋白酶也是氮素转化的重要酶类。由表2可见,土壤蛋白酶活性也是间种绿肥最高,其活性为94.74 U,其次是生草法酶活性为73.22 U,二者分别比对照(43.88 U)高出了50.86%和28.34%。

过氧化氢酶能解除由生物呼吸和有机物生物化学反应而产生的过氧化氢的毒害,参与土壤中物质和能量转化,其活性表示土壤腐质化强度大小和有机质积累程度。间种绿肥同样能提高土壤过氧化氢酶的活性,且酶活性显著高于对照,生草法与清耕法二者酶活性差异不明显(表2)。

表 2 自然生草和间种绿肥对土壤酶活性的影响
Table 2 Effects of sod culture and intercropping green manure on the soil enzyme activities

处理 Treatment	脲酶/U Urease	蛋白酶/U Protease	过氧化氢酶/ U Catalase
间种绿肥 Intercropping green manure	44.26 a	94.74 a	4.92 a
自然生草 Sod culture	32.35 b	73.22 b	4.87 ab
清耕(对照) Clean tillage (Control)	16.27 c	43.88 c	4.85 b

2.3 自然生草和间种绿肥对土壤微生物的影响

幼龄柑橘根际微生物组成以细菌为主,放线菌次之,真菌数量最少(表3)。3种土壤管理方式中以对照清耕法每克鲜土中微生物数量最少,细菌、真菌和放线菌数量显著低于间种绿肥的处理,细菌和真菌数量低于自然生草处理。生草处理比间种绿肥有利于真菌的繁殖。这些结果表明清耕的土壤腐殖质含量低,不利于微生物生长,而自然生草和间种绿肥能够改善土壤中有机质含量,为土壤微生物提供生长条件,从而提高了土壤微生物类群数量。

表 3 自然生草和间种绿肥对土壤微生物的影响
Table 3 Effects of sod culture and intercropping green manure on the soil microorganisms

处理 Treatment	细菌/($\times 10^5 \cdot g^{-1}$) Bacteria	真菌/($\times 10^2 \cdot g^{-1}$) Fungi	放线菌/($\times 10^4 \cdot g^{-1}$) Actinomyces
间种绿肥 Intercropping green manure	3.57 a	1.80 b	1.97 a
自然生草 Sod culture	3.33 a	2.12 a	0.71 b
清耕(对照) Clean tillage (Control)	1.89 b	0.16 c	0.59 b

2.4 自然生草和间种绿肥对幼龄柑橘树势及光合色素含量的影响

由表4可以看出,间种绿肥处理的柑橘幼树的春梢萌发数量和长度大于清耕处理,自然生草处理的春梢长度大于清耕处理,3个处理的春梢粗度差异不显著。间种绿肥的春梢萌发数为55条,比清耕增加71.87%,平均长度为7.84 cm,比清耕增加97.48%;自然生草的春梢平均长度为5.81 cm,比清耕增加46.34%。

表 4 自然生草和间种绿肥对柑橘生长及光合色素含量的影响
Table 4 Effects of sod culture and intercropping green manure on growing and photosynthetic pigment contents in *Citrus*

处理 Treatment	春梢数 Spring shoots number	春梢长度/ cm Spring shoot length	春梢粗度/ mm Spring shoot width	Chl.a / ($mg \cdot g^{-1}$)	Chl.b / ($mg \cdot g^{-1}$)	Car./ ($mg \cdot g^{-1}$)	光合色素总量/ ($mg \cdot g^{-1}$) Photosynthetic pigment contents
间种绿肥 Intercropping green mature	55 a	7.84 a	2.17 a	1.62 a	0.51 a	0.39 a	2.50 a
自然生草 Sod culture	37 b	5.81 b	2.17 a	1.62 a	0.45 b	0.37 a	2.46 b
清耕(对照) Clean tillage (Control)	32 b	3.97 c	2.04 a	1.46 a	0.44 b	0.35 a	2.25 c

间种绿肥处理能显著地提高光合色素的含量，特别是叶绿素b的含量。高含量的光合色素有利于柑橘叶片光合作用的进行，从而提高了柑橘幼苗利用光照的能力。

2.5 土壤酶活性、土壤微生物数量、土壤养分之间的相关性

土壤养分（尤其是有机质）是土壤微生物的碳源和氮源，而土壤微生物的种类和数量又在某种程度上决定土壤酶的来源（许景伟 等，2000；薛立 等，2003；王清奎 等，2006；刘增文 等，2007）。柑橘幼树根际土壤酶活性与肥力水平间存在着密切的相关性。土壤脲酶、过氧化氢酶、蛋白酶活性与土壤有机质、全氮及速效氮含量显著（ $r < 0.05$ ）相关或极显著（ $r < 0.01$ ）相关，但土壤酶活性与土壤 pH 值、全磷、速效磷和速效钾含量相关性小，由此说明土壤酶在促进土壤有机物和氮素循环过程中显示专性、特性。

土壤中真菌、细菌和放线菌数量与土壤中有机质和全氮含量也均达到极显著相关。细菌数量还与土壤中全磷含量相关性极显著（ $r = 0.5566^{**}$ ），与土壤 pH 值成显著负相关（ $r = -0.4268^*$ ）。土壤中放线菌数量与土壤速效氮含量极显著相关（ $r = 0.7824^{**}$ ）。土壤中真菌数量与土壤中全磷和速效钾含量极显著相关。

上述结果说明，一方面土壤有机质及氮素含量高，为土壤微生物提供了充足的碳源和氮源，维持了较高的土壤微生物活性；另一方面这些微生物又不断分解土壤中的不可利用性肥料，提高土壤中速效氮、速效磷和速效钾的供应能力。

土壤 pH 值与土壤中酶活性及土壤微生物数量均表现为负相关性，说明土壤酶活性和土壤微生物数量随着土壤 pH 值的增加而降低。

3 种土壤酶与 3 种土壤微生物之间均存在显著的正相关。这说明 3 种微生物在土壤生化反应中贡献较大，土壤酶活性的高低能较好地反映土壤中微生物数量的多少。

3 讨论

间种绿肥和自然生草能够明显提高土壤中有机质、全氮、速效钾和速效磷含量；绿肥能够通过固氮菌利用空气中的氮气，提高土壤中速效氮水平，但自然生草由于杂草较多地利用了土壤中的有效态氮，使其含量显著降低。

土壤酶是土壤生化作用的调控者，在土壤氮素循环和有机质的形成过程中扮演着重要角色（Yao et al., 2006）。间种绿肥能有效提高土壤脲酶、蛋白酶和过氧化氢酶活性，加速土壤养分的转化，从而提高土壤养分含量。土壤酶活性与土壤 pH 值成负相关，与土壤养分成正相关。3 种酶活性与土壤中有机质和土壤全氮含量均极显著相关。

柑橘幼苗根际土壤中细菌为主体微生物，占到微生物总量的 90% 以上。土壤肥力的高低对土壤生物类群数量影响很大（侯晓杰 等，2007），本试验中发现间种绿肥后能显著提高土壤中细菌和放线菌的数量，而生草则提高了真菌的数量。3 种土壤微生物数量与土壤全氮、土壤有机质含量均呈极显著正相关，细菌和真菌数量与土壤全磷和速效钾含量显著正相关，说明细菌和真菌不仅促进有机质和氮素循环，而且在磷素和钾元素循环中作用也很显著。间种绿肥和生草改善了土壤的理化性能，增加了土壤有机—无机体的转化，促进了土壤微生物生长繁育，从而明显增加了土壤微生物类群数量。

间种绿肥不仅能提高土壤肥力，而且促进了柑橘幼苗的生长，幼树春梢数量增多，光合色素含量提高。因此幼龄柑橘园间种绿肥，绿肥翻压还园是目前贵州喀斯特河谷地带最佳的土壤管理方式之一。

References

- Guan Song-yin. 1986. Soil enzyme research methods. Beijing : Agriculture Press : 7 – 60. (in Chinese)
- 关松荫. 1986. 土壤酶及其研究法. 北京 : 农业出版社 : 7 – 60.
- Hou Xiao-jie, Wang Jing-kuan, Li Shi-peng. 2007. Effects of different fertilization and plastic-mulching on functional diversity of soil microbial community. *Acta Ecologica Sinica*, 27 (2) : 655 – 661. (in Chinese)
- 侯晓杰, 王景宽, 李世朋. 2007. 不同施肥处理与地膜覆盖对土壤微生物群落功能多样性的影响. *生态学报*, 27 (2) : 655 – 661.
- Li He-sheng. 2000. The principles and techniques of plant physiological and biochemical experiment. Beijing :Higher Education Press. (in Chinese)
- 李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术指导. 北京 : 高等教育出版社.
- Liu Zeng-wen, Gao Wen-jun, Pan Kai-wen, Zhang Li-ping, Du Hong-xia, Gao Xiang-bin. 2007. Effects of soil mix-incubation of 4 species artificial forests with litters on the biochemical characteristic. *Journal of Northwest A & F University: Nat Sci Ed*, 35 (7) : 48 – 54. (in Chinese)
- 刘增文, 高文俊, 潘开文, 张丽萍, 杜红霞, 高祥斌. 2007. 4 种人工纯林土壤及其凋落叶混合培养对土壤化学性质的影响. *西北农林科技大学学报 : 自然科学版*, 35 (7) : 48 – 54.
- Lu Ru-kun. 2000. Soil and agricultural chemistry analysis methods. Beijing : China Agricultural Sciencetech Press. (in Chinese)
- 鲁如坤. 2000. 土壤农业化学分析方法. 北京 : 中国农业科技出版社.
- Shi Wei-ming. 1993. Root exudates and nutrition validity. *Soil*, 25 (5) : 263 – 265. (in Chinese)
- 施卫明. 1993. 根系分泌物与养分有效性. *土壤*, 25 (5) : 263 – 265.
- Tian Kun, Lu Mei, Chang Feng-lai, Mo Jian-feng, Li Liang-cai, Yang Yong-xing. 2004. The ecological environment degradation and degradation mechanism of Napahai Karst wetland in Southwestern Yunnan Plateau. *Journal of Lake Sciences*, 16 (1) : 35 – 42. (in Chinese)
- 田 昆, 陆 梅, 常凤来, 莫剑锋, 黎良才, 杨永兴. 2004. 云南纳帕海岩溶湿地生态环境变化及驱动机制. *湖泊科学*, 16 (1) : 35 – 42.
- Wang Qing-kui, Wang Si-long, Feng Zong-wei. 2006. Comparison of active soil organic carbon pool between Chinese fir plantations and evergreen broadleaved forests. *Journal of Beijing Forestry University*, 28 (5) : 126. (in Chinese)
- 王清奎, 汪思龙, 冯宗炜. 2006. 杉木纯林与常绿阔叶林土壤活性有机碳库的比较. *北京林业大学学报*, 28 (5) : 126.
- Xu Jing-wei, Wang Wei-dong, Li Cheng. 2000. The correlation among soil microorganism, enzyme and soil nutrient in different types of mixed stands of *Pinus thunbergii*. *Journal of Beijing Forestry University*, 22 (1) : 51 – 55. (in Chinese)
- 许景伟, 王卫东, 李 成. 2000. 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. *北京林业大学学报*, 22 (1) : 51 – 55.
- Xue Li, Chen Hong-yue, Kuang Li-gang. 2003. Soil nutrients, microorganism and enzyme activities of different stands. *Acta Pedologica Sinica*, 40 (2) : 280 – 285. (in Chinese)
- 薛 立, 陈红跃, 邝立刚. 2003. 不同林分土壤养分、微生物与酶活性的研究. *土壤学报*, 40 (2) : 280 – 285.
- Xu Xiong, Zhang Jian, Liao Er-hua. 2006. Effects of four types of management on soil micro-organisms and enzymes in an orchard. *Chinese Journal of Soil Science*, 37 (5) : 901 – 905. (in Chinese)
- 徐 雄, 张 健, 廖尔华. 2006. 四种土壤管理方式对李园土壤微生物和土壤酶的影响. *土壤通报*, 37 (5) : 901 – 905.
- Yang Cheng, Liu Cong-qiang, Song Zhao-liang, Liu Zhan-min, Zheng Hou-yi. 2008. Distribution characteristics of carbon,nitrogen and sulphur of plants and soils in Guizhou karst mountain area,southwestern China. *Journal of Beijing Forestry University*, 30 (1) : 45 – 51. (in Chinese)
- 杨 成, 刘丛强, 宋照亮, 刘占民, 郑厚义. 2008. 贵州喀斯特山区植物土壤C、N、S的分布特征. *北京林业大学学报*, 30 (1) : 45 – 51.
- Yao Xiao-hua, Hang Min, Li Zhen-hua, Yuan Hai-ping. 2006. Influence of acetamiprid on soil enzymatic activities and respiration. *European Journal of Soil Biology*, 42 : 120 – 126.
- Zhang Meng, Zhang Jian, Xu Xiong, Liao Er-hua. 2006. Effects of soil management ways on soil properties of an artificial fruit – grass ecosystem. *Scientia Silvae Sinicae*, 42 (8) : 44 – 49. (in Chinese)
- 张 猛, 张 健, 徐 雄, 廖尔华. 2006. 土壤管理方式对果—草人工生态系统土壤性质影响. *林业科学*, 42 (8) : 44 – 49.