

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2021.01.017

段亚楠, 刘恩太, 陈学森, 等. 冻融对老龄苹果园土壤微生物数量及酶活性的影响. 土壤, 2021, 53(1): 125–132.

冻融对老龄苹果园土壤微生物数量及酶活性的影响^①

段亚楠¹, 刘恩太², 陈学森¹, 沈 向¹, 尹承苗¹, 毛志泉^{1*}

(1 山东农业大学园艺科学与工程学院/作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018; 2 蓬莱市果树工作站, 山东烟台 264000)

摘 要: 以山东蒙阴、莱州和栖霞 3 地老龄苹果园土壤为材料, 分别在冬前和冬后采集 0 ~ 30 cm(上层)与 30 ~ 60 cm(下层)土层土样, 探讨了冻融作用对老龄苹果园土壤微生物数量和酶活性的影响。结果显示: 3 地苹果园 0 ~ 30 cm 土层各理化性状均显著高于 30 ~ 60 cm 土层, 其中速效钾含量差异最显著; 冻融处理后, 3 地上下层土壤细菌、真菌和放线菌数量均显著性降低, 且上层土壤降低最显著, 其中蒙阴苹果园上层土壤细菌、真菌和放线菌分别降低了 40.6%、43.6% 和 55.7%, 3 地上下层土壤细菌/真菌比值显著提高、尖孢镰孢菌基因拷贝数大幅下降; 冻融处理后, 3 地上下层土壤脲酶、磷酸酶和蔗糖酶活性均有所降低, 且表现出显著性差异, 但三地上下层土壤 CEC 变化趋势不同, 其中蒙阴苹果园上层 CEC 降低了 41.7%, 下层 CEC 提高了 19.2%, 栖霞苹果园则相反。综上, 3 地老龄苹果园土壤经过冻融处理后, 显著降低了上下层土壤微生物数量, 显著提高了上下层土壤细菌/真菌比值, 优化了土壤微生物群落结构, 有利于缓解苹果园连作障碍。

关键词: 冻融作用; 苹果连作障碍; 土壤微生物; 土壤酶

中图分类号: S661.1 文献标志码: A

Effects of Freezing-thawing on Soil Microbial Quantities and Enzymatic Activities of Old Apple Orchards

DUAN Yanan¹, LIU Entai², CHEN Xuesen¹, SHEN Xiang¹, YIN Chengmiao¹, MAO Zhiquan^{1*}

(1 College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, National Key Laboratory of Crop Biology, Taian, Shandong 271018, China; 2 Penglai Fruit Work Station, Yantai, Shandong 264000, China)

Abstract: Taking the soils of old apple orchards in Mengyin, Laizhou and Qixia of Shandong Province as the objects, the effects of freezing-thawing on soil microbial quantities and enzymatic activities of old apple orchards were explored in order to provide a theoretical basis for alleviating apple replant disease. The soils of 0–30 cm and 30–60 cm depths were sampled before winter and in spring and then soil physiochemical properties, microbial population, enzyme activities and cation exchange capacity(CEC) were determined. The results showed that after freezing-thawing treatment, the quantities of soil bacteria, fungi and actinomycetes in each layer decreased significantly, and decreased most in the upper soil; The quantities of soil bacteria, fungi and actinomycetes in the upper layers of Mengyin decreased by 40.6%, 43.6% and 55.7%, respectively, and the ratios of soil bacteria/fungi in the orchards of three regions were greatly increased; At the same time soil *F. oxysporum* gene copy number in each layer decreased significantly; The activities of urease, phosphatase and invertase in each soil layer decreased significantly, and there were significant differences; The changes of soil CEC were significantly different in the three regions, soil CEC of the upper layer in Mengyin decreased by 41.7%, soil CEC of the lower layer increased by 19.2%, whereas the change tendency in Qixia was opposite. In conclusion, after the freezing-thawing treatment, soil microbe quantities in the upper and lower layers were reduced significantly, and soil microbial community structure was optimized, thus, helpful to alleviate apple replant diseases.

Key words: Freezing-thawing; Apple replant disease; Soil microorganism; Soil enzyme

苹果是我国栽培面积最大、总产量最高的水果品种之一^[1]。山东为我国主要的苹果产区, 其中烟台地

①基金项目: 山东省农业重大应用技术创新项目(SD2019ZZ008)、泰山学者资助项目(ts20190923)和山东省高等学校青创科技支持计划项目(SDAIT-06-07)资助。

* 通讯作者(mzhiquan@sdaa.edu.cn)

作者简介: 段亚楠(1995—), 女, 山东菏泽人, 博士研究生, 研究方向为果树土壤与微生物。E-mail: 1351839380@qq.com

区 20 年以上的老龄苹果园占地 8.10 万 hm^2 , 是总果园面积的 46.66%, 果园老龄化严重亟需更新。在栖霞市, 苹果栽植面积占当地总耕地面积的 75%, 是当地的主要经济来源, 同时也造成了作物结构单一的现状^[2], 导致连作障碍普遍发生且危害严重。连作障碍是指在同一地方连年种植同一或近源作物后, 即使在正常管理的情况下, 也会出现幼树生长不均匀、根系腐烂、产量降低、品质变差等现象^[3-4]。研究认为, 非生物因素能加重苹果连作障碍, 包括土壤 pH 过低、土壤养分不均衡、土壤结构不良等^[5-7]; 造成苹果连作障碍的主要因素是生物因素^[8], 包括真菌^[9]、细菌、放线菌^[7]、线虫^[5]等。在连作障碍发生严重的果园中, 土壤微生物群落结构发生了改变^[10], 有益菌数量减少, 病原真菌数量增加, 土壤微生物由细菌型向真菌型转化, 从而引发各种疾病^[11]。Moharana 等^[12]研究发现, 随着连作年限的增加, 土壤 pH 呈显著下降趋势, 更有益于真菌的繁殖, 加重连作障碍的危害。

目前防治连作障碍的措施繁多, 但大多以在冬前进行深翻作为基础措施^[13], 因此研究冻融作用对老龄苹果园土壤微生物数量及酶活性的影响具有重要意义。李光宇和吴次芳^[14]提出, 土壤微生物群落结构及理化性状可作为评价农田土壤质量的重要指标, 而冻融交替过程中产生的收缩与膨胀会改变土壤结构及土壤含水量, 导致土壤理化性状及生物学特性发生改变, 主要包括土壤微生物数量、酶活性、孔隙度以及有机质含量等^[15-16]。Henry^[17]研究发现, 冻融过程会加速有机质的硝化和矿化速率, 从而增加土壤养分。李娜等^[18]研究发现, 土壤在冻融过程中会进行好氧和厌氧环境的不断交替, 在一定程度上会抑制好氧微生物的活动和部分酶活性。

土壤冻融作用是指因季节或昼夜热量变化使得土壤温度在 0℃ 上下波动, 而导致表层土及以下一定深度土壤出现频繁冻结-解冻的过程^[19]。我国北方地区普遍发生季节性冻融现象^[20], 然而, 关于冻融对老龄苹果园土壤微生物数量及酶活性的影响报道较少。鉴于此, 本研究以山东蒙阴、莱州和栖霞 3 地老龄苹果园土壤为材料, 探讨了冻融作用对老龄苹果园土壤微生物数量和酶活性的影响, 以为选择缓解苹果连作障碍的措施提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料 with 处理

本试验在蒙阴、莱州和栖霞 3 地 20~30 年的老龄苹果园进行, 其中莱州苹果园土壤为壤土, 蒙阴苹

果园土壤为黏土, 栖霞苹果园土壤为砂土, 3 地土壤有机质含量均不足 10 g/kg, 所栽果树品种为烟富 3 号/T337, 栽植密度为株行距(1.2~1.5)m×(3~4)m。2012 年 12 月中旬, 将这 3 地老龄苹果园进行清理后, 在果树原行位置挖两条 100 cm 长、50 cm 宽、60 cm 高的深沟, 并将 0~30 cm 土层与 30~60 cm 土层的土壤分开摊放在深沟两侧, 于 2012 年 12 月中旬(冬前)与 2013 年 3 月中旬(冬后)进行取样。采样方法为 S 形 5 点混合取样法, 混匀后将样品放于无菌密封塑料袋中带回, 保存在 4℃ 冰箱中备测。根据中国气象局天气预报调查统计, 2012 年 12 月至 2013 年 3 月期间, 蒙阴、莱州和栖霞 3 地雨雪天气平均在 25 d 左右, 最低气温平均为 -11℃, 最高气温平均为 20℃, 这些自然条件为研究冻融作用对老龄苹果园土壤 pH、微生物数量、相关酶活性以及阳离子交换量(CEC)等指标的影响提供了良好条件。

本文将蒙阴、莱州和栖霞 3 地老龄苹果园分别记作 M、L 和 Q, 将 0~30 cm(上层)与 30~60 cm(下层)土层的土样分别记做 A 和 B。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 土壤理化性状的测定 参照鲍士旦^[21]《土壤农化分析》第三版的方法, 对土壤氮、磷、钾和有机质进行测定。其中, 有效磷(P_2O_5)测定采用钼锑抗比色法; 速效钾(K_2O)测定采用火焰光度法; 有机质测定采用重铬酸钾容量法(稀释热法); 铵态氮和硝态氮测定采用 CaCl_2 浸提流动注射分析法。

1.2.2 土壤微生物数量的测定 参照周德庆^[22]方法, 采用稀释涂布平板法测定。土壤处理如下: 称取鲜土样 10 g, 放入盛 90 ml 无菌水并带有玻璃珠的三角烧瓶中, 振荡约 20 min, 使土样与水充分混匀、细胞分散; 用一支 1 ml 无菌吸管吸取 1 ml 土壤悬液加入盛有 9 ml 无菌水的大试管中充分混匀, 此为 10^{-1} 稀释液, 以此类推制成 10^{-2} 、 10^{-3} (真菌)、 10^{-4} (细菌)和 10^{-5} (放线菌)稀释度的土壤溶液, 每次取 100 μl 涂布于培养基上, 3 次重复。真菌培养采用马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA), 细菌培养采用蛋白胨酵母膏琼脂培养基(LB), 放线菌培养采用高氏(Gause)I 号琼脂培养基, 所有培养基均经过 121℃ 高温高压灭菌 20 min。PDA 加入青霉素和链霉素溶液(终质量浓度为 30 $\mu\text{g/ml}$), 高氏 I 号加入 4%~6% 重铬酸钾溶液后倒板。

1.2.3 土壤酶活性的测定 采用靛酚比色法测定土壤脲酶活性; 采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定土壤蔗糖酶活性, 采用磷酸苯二钠比色法测定土壤磷酸

酶活性，具体方法参考文献[23]。

1.2.4 土壤 pH 的测定 称取过 1 mm 筛的鲜土样 10 g，将土壤与中性水以 1 : 2.5 的质量比搅拌混匀，放置 30 min 后用酸度计进行测定。

1.2.5 土壤 CEC 的测定 参照鲁如坤^[24]的乙酸铵法。

1.2.6 土壤尖孢镰孢菌基因拷贝数的测定 参照王晓宝等^[9]的方法，使用 E.Z.N.A.®土壤 DNA 提取试剂盒提取土壤 DNA，用 CFX96TM Thermal Cycler (Bio-Rad)测定。

1.3 数据处理

试验数据采用 Microsoft Excel 2003 进行处理与作图，通过 SPSS 19.0 软件邓肯氏新复极差法进行差异显著性分析。

2 结果

2.1 三地老龄苹果园土壤的基本理化性状

由表 1 可以看出，冬前土样莱州老龄苹果园上下土层养分含量最高，蒙阴和栖霞两地老龄苹果园上下土层养分含量相近，且 3 地上层土壤硝态氮、铵态氮、有效磷、速效钾和有机质含量均显著高于下层，其中速效钾含量差异最显著，蒙阴上层土壤是下层的 2.44 倍，莱州上层土壤是下层的 2.06 倍，栖霞上层土壤是下层的 2.15 倍；铵态氮和有机质含量差异较小，且有机质含量偏低均不足 10 g/kg；硝态氮含量与铵态氮含量差异较显著。可见，3 地老龄苹果园土壤养分失衡严重，不利于老龄苹果园产量和品质的提高。

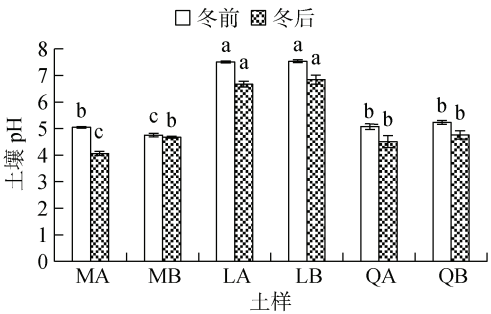
表 1 3 地老龄果园土壤基本理化性质
Table 1 Basic physiochemical properties of old apple orchards in three regions

土样	硝态氮(mg/kg)	铵态氮(mg/kg)	有效磷(mg/kg)	速效钾(mg/kg)	有机质(g/kg)
MA	34.66 ± 0.44 b	2.18 ± 0.13 a	25.41 ± 0.34 bc	160.41 ± 0.67 c	7.83 ± 0.05 b
MB	16.55 ± 0.43 c	1.45 ± 0.04 c	17.27 ± 0.58 e	65.66 ± 0.93 f	6.73 ± 0.10 a
LA	49.49 ± 0.54 a	1.89 ± 0.14 b	52.79 ± 1.60 a	202.05 ± 0.55 a	8.13 ± 0.02 a
LB	46.32 ± 0.56 a	1.48 ± 0.06 c	24.59 ± 0.33 c	98.28 ± 0.46 d	7.17 ± 0.02 a
QA	36.99 ± 3.81 b	1.80 ± 0.06 b	27.79 ± 1.46 b	170.63 ± 0.19 b	8.27 ± 0.03 a
QB	16.42 ± 0.37 c	1.66 ± 0.04 bc	21.24 ± 0.71 d	79.46 ± 0.49 e	7.13 ± 0.01 a

注：表中同列不同小写字母表示不同土样间差异显著(P<0.05)，下同。

2.2 冻融作用对三地老龄苹果园土壤 pH 的影响

由图 1 可见，莱州苹果园土壤为中性偏碱性，蒙阴和栖霞两地苹果园土壤均为酸性，pH 均小于 6，且莱州和蒙阴两地上层土壤 pH 显著高于下层，栖霞下层土壤 pH 显著高于上层；3 地老龄苹果园土壤经过冻融处理后，上下层土壤 pH 均有所降低，且下层土壤 pH 变化幅度较小。



(图中不同小写字母表示同一取样时间各土样间差异显著(P < 0.05)，下同)

图 1 冻融处理对土壤 pH 的影响

Fig. 1 Effects of freezing-thawing on soil pH

2.3 冻融作用对三地老龄苹果园土壤微生物的影响

由图 2 可知，苹果园进行清理后，蒙阴、莱州和栖霞 3 地冬前土样上层土壤细菌、真菌和放线菌数量均显著高于下层土壤，上层细菌数量分别是下层的 3.37 倍、2.33 倍和 1.90 倍，上层真菌数量分别是下层的 3.05 倍、1.77 倍和 1.32 倍，上层放线菌数量分别是下层的 2.12 倍、1.91 倍和 2.72 倍；经过冻融处理后，3 地上层与下层土壤细菌、真菌和放线菌数量均显著性降低，且上层降低更显著，其中蒙阴上层土壤细菌、真菌和放线菌分别降低了 40.6%、43.6% 和 55.7%，莱州上层土壤细菌、真菌和放线菌分别降低了 24.2%、27.0% 和 64.1%，栖霞上层土壤细菌、真菌和放线菌分别降低了 43.6%、46.2% 和 41.8%，且 3 地上下层土壤细菌/真菌值均显著性增加，土壤向高肥的细菌主导型转变，更有利于苹果的生长。

2.4 冻融作用对三地老龄苹果园土壤尖孢镰孢菌的影响

由图 3 可知，土壤尖孢镰孢菌基因拷贝数变化规

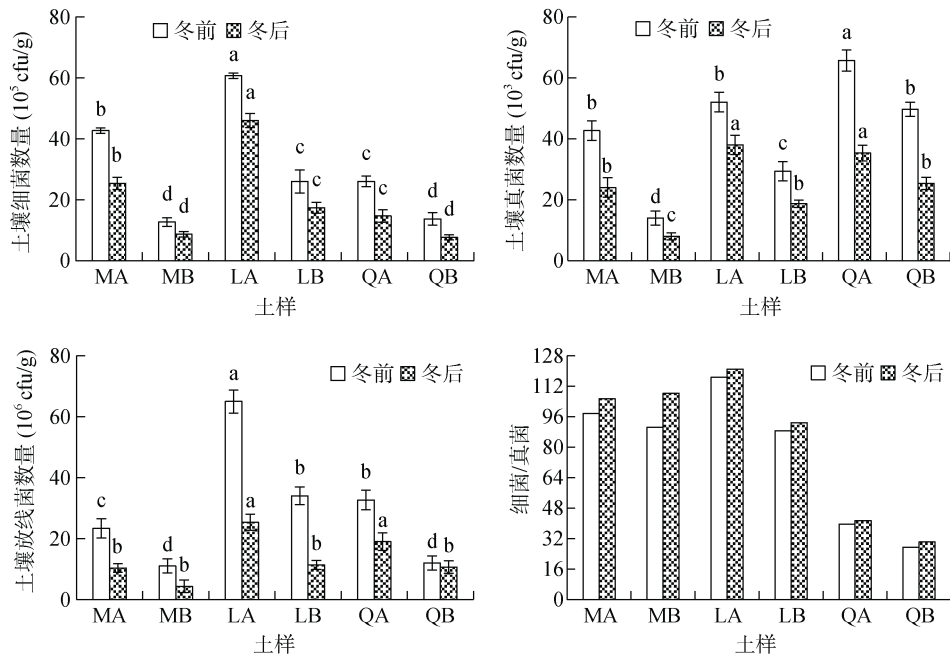


图 2 冻融处理对土壤微生物的影响
Fig. 2 Effects of freezing-thawing on soil microorganisms

律同真菌变化趋势相似, 蒙阴、莱州和栖霞 3 地老龄苹果园土壤经过冻融处理后, 上层与下层土壤尖孢镰孢菌基因拷贝数均显著性降低, 上层分别降低了 33.73%、33.16% 和 46.67%, 下层分别降低了 35.46%、21.18% 和 55.88%, 说明冻融过程中低氧低温缺水不利于真菌的生长, 对尖孢镰孢菌也有很好的抑制效果。

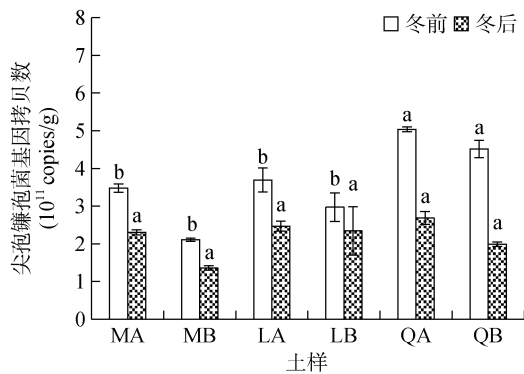


图 3 冻融处理对尖孢镰孢菌基因拷贝数的影响
Fig. 3 Effects of freezing-thawing on copy numbers of *Fusarium oxysporum*

2.5 冻融作用对三地老龄苹果园土壤 CEC 的影响

由图 4 可以看出, 冬前土样中, 蒙阴和莱州两地老龄苹果园上层土壤 CEC 均显著高于下层, 栖霞苹果园则相反; 冻融处理后, 3 地上下层土壤 CEC 变化趋势不一致, 其中蒙阴苹果园上层 CEC 降低了 41.7%, 下层 CEC 提高了 19.2%; 栖霞苹果园则相反,

上层 CEC 提高了 0.8%, 下层 CEC 降低了 4.5%; 且莱州和栖霞两地苹果园上下层 CEC 冻融前后差异较小。可见, 冻融处理对不同果园或者同一果园不同土层 CEC 的影响不同, 会使土壤 CEC 升高或者降低。

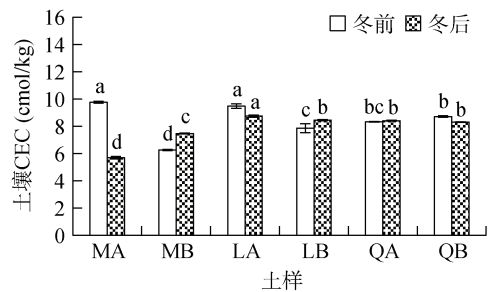


图 4 冻融作用对土壤 CEC 的影响
Fig. 4 Effects of freezing-thawing on soil CEC

2.6 冻融作用对三地老龄苹果园土壤相关酶活性的影响

由表 2 可以看出, 3 地老龄苹果园冬前土样上下层土壤酶活性差异较小, 且 3 地上层土壤脲酶、磷酸酶和蔗糖酶活性均显著高于下层, 其中蒙阴上层分别是下层的 1.52 倍、1.76 倍和 1.46 倍, 莱州上层分别是下层的 1.30 倍、1.28 倍和 1.15 倍, 栖霞上层分别是下层的 1.52 倍、1.21 倍和 1.92 倍; 冻融处理后, 3 地上下层土壤脲酶、磷酸酶和蔗糖酶活性均有所降低, 且表现出显著性差异, 其中蒙阴上层土壤脲酶、磷酸酶和蔗糖酶活性分别降低了

32.9%、28.8% 和 30.6%，莱州下层土壤脲酶、磷酸酶和蔗糖酶活性分别降低了 51.5%、46.7% 和 26.2%；栖霞老龄苹果园上下层土壤酶活性降低幅度变化相近。可见，冻融处理可以显著降低土壤脲酶、磷酸酶和蔗糖酶活性，并且随着土层加深土壤酶活性越低。

表 2 冻融处理对土壤酶活性的影响(mg/(g·d))
Table 2 Effects of freezing-thawing on soil enzyme activities

土样	采样时间	脲酶活性	磷酸酶活性	蔗糖酶活性
MA	冬前	0.35 ± 0.02 b	1.53 ± 0.01 b	12.34 ± 0.02 b
	冬后	0.13 ± 0.01 ef	1.09 ± 0.06 d	8.56 ± 0.06 e
MB	冬前	0.23 ± 0.01 d	0.78 ± 0.02 e	8.46 ± 0.06 ef
	冬后	0.11 ± 0.01 f	0.57 ± 0.01 f	6.36 ± 0.05 h
LA	冬前	0.43 ± 0.01 a	1.34 ± 0.02 c	12.95 ± 0.14 a
	冬后	0.27 ± 0.01 d	0.99 ± 0.07 d	11.55 ± 0.11 c
LB	冬前	0.33 ± 0.01 b	1.05 ± 0.09 d	11.26 ± 0.02 d
	冬后	0.16 ± 0.01 e	0.56 ± 0.05 f	8.31 ± 0.02 f
QA	冬前	0.32 ± 0.02 b	1.68 ± 0.02 a	11.28 ± 0.03 d
	冬后	0.23 ± 0.01 b	1.23 ± 0.01 c	7.83 ± 0.04 g
QB	冬前	0.21 ± 0.01 d	0.56 ± 0.02 f	5.87 ± 0.06 i
	冬后	0.14 ± 0.01 d	0.52 ± 0.03 f	3.79 ± 0.06 j

3 讨论

本试验所选山东 3 地老龄苹果园的土壤有机质含量偏低均不足 10 g/kg，速效钾含量偏高，这些特征均不利于果实品质的提高^[12,25]。何琳等^[26]研究表明，烟草连作后，在不同深度的土壤中，其养分的亏缺程度不同，0 ~ 20 cm 土层中的磷、钾元素含量要显著高于 20 ~ 40 cm 土层，这与本试验结果一致，3 地上层土壤硝态氮、铵态氮、有效磷、速效钾和有机质含量均显著高于下层土壤。

3.1 冻融处理对土壤微生物的影响

微生物在土壤中分布广，数量大，主要参与矿化、分解土壤有机质和腐殖质、促进土壤养分转化和循环等过程^[27]。细菌、真菌和放线菌是土壤微生物中最重要的三大类群^[28]。微生物活动与土壤基本理化性状密切相关^[29-30]。盛月凡等^[31]对老龄苹果园不同质地土壤微生物进行平板计数发现，壤土中细菌和放线菌数量最多，砂土中真菌数量最多，这与本试验冻融前不同质地土壤中微生物数量变化一致。也有研究^[28,32]发现，土壤细菌与放线菌数量与有效磷含量呈显著正相关，土壤真菌的生长与有机质含量呈正相关。而本试验 3 地老龄苹果园中，壤土的有效磷含量显著高于砂土和黏土，砂土的有机质含量最高，这与土壤中细

菌、真菌和放线菌数量变化一致。

前人^[9,33]研究发现，单一作物连年种植后土壤 pH 会显著降低，土壤有益微生物数量减少，而以镰孢菌为代表的有害真菌数量增加，细菌型土壤转变为真菌型土壤。Kelderer 等^[3]的研究表明，尖孢镰孢菌、柱孢属真菌和双核丝核菌是引起意大利地区苹果连作障碍的主要病原菌。Westcott^[7]研究发现，放线菌也是导致再植病的主要因素。本试验 3 地老龄苹果园土壤经过冻融后，上下层土壤 pH 均降低，这与李娜等^[18]研究结果一致，可以考虑适当施加生物炭等物质提高土壤 pH，土壤 pH 的降低可能与冻融过程中促进土壤硝化作用和溶解性有机酸的释放有关^[30]。李琳慧等^[34]研究发现，随着冻融过程中温度的下降，土壤 pH 也会升高，冻融过程中土壤 pH 的变化不稳定。由于低温条件下土壤冻结期长、通透性能差，不利于土壤微生物的繁殖^[35]，导致土壤微生物数量显著性降低，这与赵国栋等^[36]研究结果一致，但本试验显著提高了 3 地土壤细菌/真菌比值，土壤转变为细菌主导型，在一定程度上减轻了苹果连作障碍。这与周旺明等^[37]研究结果一致，即在多次冻融交替过程中，土壤微生物群落由 C/N 比较高的真菌群落转变为 C/N 比较低的细菌群落。本试验土壤经过冻融后细菌数量下降幅度低于真菌，可能与细菌个体小、代谢强、繁殖迅速，且大部分细菌具有耐冷特性，对环境变化的应激性强有关^[38]。真菌通常以孢子形式存在，对水分要求较高，其生长不耐低氧环境^[39]，第一次冻融循环就可以杀死土壤中 50% 以上的微生物，对连作土壤起到类似化学熏蒸的消毒作用，降低了土壤有害真菌的数量^[40-41]，所以冻融后上下层尖孢镰孢菌的基因拷贝数均显著下降。司美茹和赵云峰^[42]研究发现，有机质含量高、pH 偏高(中性或偏碱性)的土壤中放线菌数量越多；刘倍伶^[43]研究发现，放线菌更喜热耐干，发育远比大多数的真菌和细菌缓慢。冻融后土壤有机质分解受阻和 pH 降低导致放线菌显著降低。而 Koponen 和 Bååth^[44]研究发现，冻融对土壤微生物数量无显著性影响。可见，冻融对土壤微生物数量影响的研究结果还具有不确定性，仍需进行深入研究。

3.2 冻融处理对土壤酶活性的影响

土壤酶是植物根系及生物体分泌的活性物质^[45]，与凋落物/细根分解、腐殖质合成、养分循环等土壤生态过程密切相关^[46]，其活性水平是衡量土壤退化程度、土壤肥力以及管理措施优劣等的重要指标^[47]。

在本试验中,不同质地土壤不同土层在冻融前后脲酶、蔗糖酶和磷酸酶活性变化不一致,说明冻融过程能够影响酶活性,不同土壤类型和酶种类的影响存在差异^[48]。土壤脲酶主要来源于微生物,是氮素转化过程中的专用酶^[23];土壤磷酸酶是土壤有机磷分解转化过程中的关键酶,能够分解与转化有机磷为植物可利用的形态^[49];蔗糖酶又称为土壤转化酶,主要作用于土壤中的碳循环,促进蔗糖水解成果糖和葡萄糖^[23]。孙雪婷等^[50]研究认为,土壤酶活性与土壤微生物类群情况、土壤温度和连作年限密切相关;长期连作会导致脲酶、蔗糖酶、中性磷酸酶、过氧化氢酶等土壤主要酶活性的降低^[51]。郭继勋等^[52]研究表明,脲酶、磷酸酶活性与微生物量有较密切的关系,酶活性随着微生物量的增加而不断增强。Hu 等^[53]研究发现,蔗糖酶可能来源于植物根系,其活性与微生物数量无关,与土壤有机质含量呈正相关。本试验 3 地老龄苹果园土壤经过冻融后上下层土壤脲酶、蔗糖酶和磷酸酶活性均显著降低,可能与微生物数量显著减少和土壤冻结温度过低有关。土壤冻结时,部分土壤微生物受到低温胁迫而死亡,一些分泌酶类的微生物活性降低,有机质分解受阻^[54],间接影响土壤蔗糖酶活性。唐万鹏等^[55]研究发现,在垂直分布上随着土层深度的增加土壤酶活性和微生物数量相应减少。本试验 3 地苹果园中土壤脲酶、蔗糖酶和磷酸酶活性与土壤细菌、真菌和放线菌数量变化一致,均表现为上层显著高于下层,且活性较低,可能与果树连作年限较长,导致土壤微生态环境及土壤肥力变差有关^[56-57];而土壤表层覆盖大量植物残体,加上表层水气条件较好,更有益于微生物繁殖,使表层的有效养分高于下层,导致表层土壤酶活性相对较高^[58]。

3.3 冻融处理对土壤 CEC 的影响

CEC 是指土壤胶体所能吸附各种阳离子的总量^[59],能够直接反映土壤保水保肥、供应和缓冲阳离子养分的能力,可作为土壤改良和合理施肥的重要依据^[30]。一些研究^[60-61]发现,土壤有机质含量越高,CEC 越大;土壤 pH 越低,土壤黏粒含量越高,土壤胶体表面所载的负电荷越多,CEC 越大。但也有一些研究^[62-63]发现,土壤 pH 与土壤 CEC 呈正相关,且随着冻结温度的升高,土壤 CEC 也会增加。本试验中,3 地老龄苹果园土壤中由于栖霞苹果园上层土壤砂粒(2 ~ 0.02 mm)含量较高,致使土壤 CEC 低于下层土壤;经冻融后,蒙阴和莱州两地苹果园上层 CEC 均显著降低,下层土壤 CEC 增大,栖霞苹果园表现相反。可见,冻融处理对不同果园或同一果园不

同土层 CEC 的影响主要受土壤 pH、土壤类型及土壤有机质含量的共同作用,具体影响因素仍需深入研究,且 3 地冻融前后各层土壤 CEC 均小于 10.0 cmol/kg,土壤较贫瘠^[64]。

4 结论

3 地老龄苹果园土壤经过冻融后,有效减少了上下层土壤真菌、细菌和放线菌数量,显著降低了上下层土壤尖孢镰孢菌的基因拷贝数,增大了土壤细菌/真菌比值,使土壤向着高肥的“细菌型”土壤转变;上下层土壤脲酶、蔗糖酶和磷酸酶活性及土壤 pH 有所下降,且三地土壤 CEC 偏低,可适当施用生物炭等物质改善土壤 pH,并结合一些农耕措施,有效提高土壤 CEC,改善土壤基本理化条件,从而减轻苹果连作障碍。

参考文献:

- [1] 里程辉,刘志,王宏,等. 我国苹果的产业现状分析及节本增效关键技术[J]. 北方园艺, 2016(3): 174-177.
- [2] 杨树泉. 老龄苹果园及连作园不同位置土壤环境研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2010.
- [3] Kelderer M, Manici L M, Caputo F, et al. Planting in the 'inter-row' to overcome replant disease in apple orchards: a study on the effectiveness of the practice based on microbial indicators[J]. Plant and Soil, 2012, 357(1-2): 381-393.
- [4] 陈名蔚,王峰韩益飞,潘国云,等. 蔬菜连作障碍成因分析和防止技术初探[J]. 南方农业, 2017, 11(30): 3-4.
- [5] Mai W F. Controlling replant diseases of pome and stone fruits in northeastern United States by preplant fumigation[J]. Plant Disease, 1981, 65(11): 859.
- [6] Traquair J A. Etiology and control of orchard replant problems: a review[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1984, 6(1): 54-62.
- [7] Westcott S W. Interactions between actinomycete-like organisms and young apple roots grown in soil conducive to apple replant disease[J]. Phytopathology, 1987, 77(6): 1071-1077.
- [8] Tewoldemedhin Y T, Mazzola M, Labuschagne I, et al. A multi-phasic approach reveals that apple replant disease is caused by multiple biological agents, with some agents acting synergistically[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(9): 1917-1927.
- [9] 王晓宝,王功帅,刘宇松,等. 西北黄土高原地区苹果连作障碍与土壤真菌群落结构的相关性分析[J]. 园艺学报, 2018, 45(5): 855-864.
- [10] Mazzola M, Manici L M. Apple replant disease: role of microbial ecology in cause and control[J]. Annual Review of Phytopathology, 2012, 50: 45-65.

- [11] 薛超, 黄启为, 凌宁, 等. 连作土壤微生物区系分析、调控及高通量研究方法[J]. 土壤学报, 2011, 48(3): 612–618.
- [12] Moharana P C, Sharma B M, Biswas D R, et al. Long-term effect of nutrient management on soil fertility and soil organic carbon pools under a 6-year-old pearl millet-wheat cropping system in an Inceptisol of subtropical India[J]. Field Crops Research, 2012, 136: 32–41.
- [13] 宋海德. 果树冬前管理措施[J]. 中国农垦, 2000(11): 17.
- [14] 李光宇, 吴次芳. 土壤微生物研究在农田质量评价中的应用[J]. 土壤学报, 2018, 55(3): 543–556.
- [15] 胡霞, 尹鹏. 模拟冻融对高山土壤微生物数量和活性的影响[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2017, 38(5): 462–466.
- [16] 高敏, 李艳霞, 张雪莲, 等. 冻融过程对土壤物理化学及生物学性质的影响研究及展望[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(12): 2269–2274.
- [17] Henry H A L. Soil freeze-thaw cycle experiments: Trends, methodological weaknesses and suggested improvements[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(5): 977–986.
- [18] 李娜, 汤洁, 张楠, 等. 冻融作用对水田土壤有机碳和土壤酶活性的影响[J]. 环境科学与技术, 2015, 38(10): 1–6.
- [19] 伍星, 沈珍瑶. 冻融作用对土壤温室气体产生与排放的影响[J]. 生态学杂志, 2010, 29(7): 1432–1439.
- [20] 王澄海, 靳双龙, 施红霞. 未来 50a 中国地区冻土面积分布变化[J]. 冰川冻土, 2014, 36(1): 1–8.
- [21] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [22] 周德庆. 微生物学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [23] 关松荫. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [24] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [25] 王海云, 姜远茂, 彭福田, 等. 胶东苹果园土壤有效养分状况及与产量关系研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2008, 39(1): 31–38.
- [26] 何琳, 姜翼来, 王玲莉, 等. 烤烟连作对土壤养分状况的影响[J]. 现代农业科技, 2008(8): 115–116.
- [27] 张毅博, 韩燕来, 吴名字, 等. 生物炭与有机肥施用对黄褐土土壤酶活性及微生物碳氮的影响[J]. 中国农学通报, 2018, 34(13): 113–118.
- [28] 曹延珩, 徐华东, 王立海, 等. 土壤理化性质对腐朽红松根部土壤微生物数量的影响[J]. 森林工程, 2018, 34(2): 45–49.
- [29] 陈海生, 王素娜. 豫中烟区植烟田土壤 pH 和阳离子交换量的空间变异性研究[J]. 西南农业学报, 2016, 29(2): 342–345.
- [30] 倪方方, 彭三妹, 徐建中, 等. 通过改变土壤 pH 及菌群结构缓解杭白菊连作障碍[J]. 中药材, 2017, 40(4): 762–768.
- [31] 盛月凡, 王海燕, 乔鉉元, 等. 不同土壤质地对平邑甜茶幼苗连作障碍程度的影响[J]. 中国农业科学, 2019, 52(4): 715–724.
- [32] 袁向华, 周艳玲, 宋清姿, 等. 蚯蚓吞食过程中土壤理化性质与放线菌多样性的变化特征[J]. 生态学报, 2017, 37(4): 1199–1210.
- [33] Högborg M N, Högborg P, Myrold D D. Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees, or all three?[J]. Oecologia, 2007, 150(4): 590–601.
- [34] 李琳慧, 李旭, 许梦, 等. 冻融温度对东北黑土理化性质及土壤酶活性的影响[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(4): 318–320.
- [35] 李阜棣, 胡正嘉. 微生物学[M]. 5 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [36] 赵国栋, 赵政阳, 樊红科. 苹果根区土壤微生物分布及土壤酶活性研究[J]. 西北农业学报, 2008, 17(3): 205–209, 214.
- [37] 周旺明, 秦胜金, 刘景双, 等. 沼泽湿地土壤氮矿化对温度变化及冻融的响应[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(4): 806–811.
- [38] 窦森. 土壤有机质[M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- [39] 熊雪晶. 季节性冻融对亚高山冷杉林土壤微生物活性的影响[D]. 成都: 四川农业大学, 2009.
- [40] Larsen K S, Jonasson S, Michelsen A. Repeated freeze-thaw cycles and their effects on biological processes in two arctic ecosystem types[J]. Applied Soil Ecology, 2002, 21(3): 187–195.
- [41] 刘利. 季节性冻融对亚高山/高山森林土壤微生物多样性的影响[D]. 成都: 四川农业大学, 2010.
- [42] 司美茹, 赵云峰. 不同种植年限菜田土壤微生物区系的研究[J]. 微生物学杂志, 2009, 29(2): 71–76.
- [43] 刘倍伶. 土壤放线菌 11-9-3 的鉴定及其代谢产物杀虫活性成分研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [44] Koponen H T, Bååth E. Soil bacterial growth after a freezing/thawing event[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 100: 229–232.
- [45] 马晓飞, 楚新正, 马倩. 艾比湖地区冻融作用对梭梭群落土壤酶活性及微生物数量的影响[J]. 干旱区地理, 2015, 38(6): 1190–1201.
- [46] Zahir Z A, Re M A U, Arshad M. Soil enzymes research: A review[J]. Journal of Biological Sciences, 2001, 1(5): 299–307.
- [47] 张体彬, 展小云, 冯浩. 盐碱地土壤酶活性研究进展和展望[J]. 土壤通报, 2017, 48(2): 495–500.
- [48] 王娇月, 宋长春, 王宪伟, 等. 冻融作用对土壤有机碳库及微生物的影响研究进展[J]. 冰川冻土, 2011, 33(2): 442–452.
- [49] 曹婷婷, 郭振. 森林土壤酶活性与土壤质量相关性探究[J]. 生物化工, 2019, 5(6): 144–146.
- [50] 孙雪婷, 龙光强, 张广辉, 等. 基于三七连作障碍的土壤理化性状及酶活性研究[J]. 生态环境学报, 2015, 24(3): 409–417.
- [51] Yang Y S, Liu C J, Kutsh W, et al. Impact of continuous Chinese fir monoculture on soil[J]. Pedosphere, 2004, 14: 117–124.
- [52] 郭继勋, 姜世成, 林海俊, 等. 不同草原植被碱化草甸土的酶活性[J]. 应用生态学报, 1997, 8(4): 412–416.
- [53] Hu X, Wu Y, Wang Q, et al. Effects of snowpack and litter decomposition on nitrogen dynamics in soil of the alpine

- zone of the Eastern Tibetan Plateau[J]. Polish Journal of Ecology, 2013, 61(2): 297–304.
- [54] 田路路, 隗英华, 孙文涛. 冻融作用对土壤微生物的影响综述[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(10): 438–443.
- [55] 唐万鹏, 李吉跃, 胡兴宜, 等. 江汉平原杨树人工林连栽对林地土壤质量的影响[J]. 华中农业大学学报, 2009, 28(6): 750–755.
- [56] 汤洁, 梁爽, 张豪, 等. 吉林西部盐碱水田区冻融期土壤水盐运移特征及酶活性变化[J]. 吉林大学学报(地球科学版), 2014, 44(2): 636–644.
- [57] 李鑫, 张秀丽, 孙冰玉, 等. 烤烟连作对耕层土壤酶活性及微生物区系的影响[J]. 土壤, 2012, 44(3): 456–460.
- [58] 刘育红. 三江源区退化高寒草地土壤酶活性研究[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(6): 243–246.
- [59] 许亚琪. 土壤阳离子交换量的分析结果研究[J]. 干旱环境监测, 2018, 32(1): 19–23.
- [60] 李学恒. 土壤化学[J]. 北京: 高等教育出版社, 2001: 173–177.
- [61] 孙鸿烈, 刘光崧. 土壤理化分析与剖面描述[J]. 北京: 中国标准出版社, 1996, 25.
- [62] 王文艳, 张丽萍, 刘俏. 黄土高原小流域土壤阳离子交换量分布特征及影响因子[J]. 水土保持学报, 2012, 26(5): 123–127.
- [63] 沈月, 依艳丽, 张大庚, 等. 耕地棕壤酸碱缓冲性能及酸化速率研究[J]. 水土保持学报, 2012, 26(1): 95–100.
- [64] 张墨. 农田土壤阳离子交换量的测定及分析[J]. 山东工业技术, 2018(2): 172.