

# 不同栽培模式对黄瓜根际土壤酶活性及细菌群落结构的影响

韩哲, 刘守伟, 潘凯, 吴凤芝\*

(东北农业大学园艺学院, 哈尔滨 150030)

**摘要:** 分别以小麦、燕麦、毛葱、芹菜、白菜与黄瓜伴生或套作, 研究了不同栽培模式对黄瓜根际土壤酶活性及细菌群落结构的影响, 为连作土壤环境修复提供理论依据。结果表明, 小麦/黄瓜、燕麦/黄瓜伴生, 毛葱/黄瓜套作显著提高了根际土壤过氧化氢酶活性 ( $P < 0.05$ ); 芹菜/黄瓜套作和小麦/黄瓜伴生显著提高了根际土壤过氧化物酶活性 ( $P < 0.05$ ); 芹菜/黄瓜套作显著提高了根际土壤脲酶活性 ( $P < 0.05$ ); 不同栽培模式均显著提高了各时期根际土壤转化酶活性 ( $P < 0.05$ )。PCR-DGGE 分析结果显示, 不同栽培模式在一定程度上提高了黄瓜根际土壤细菌群落结构多样性。DGGE 条带测序显示, 黄瓜根际土壤细菌大多与不可培养的细菌种属具有较高的同源性, 测序比对推测, 主要分属于  $\alpha$ -变形菌纲 (*Alphaproteobacteria*)、 $\gamma$ -变形菌纲 (*Betaproteobacteria*)、鞘脂杆菌纲 (*Sphingobacteria*) 和芽单胞菌纲 (*Gemmatimonadetes*) 四个纲。本研究说明不同栽培模式对土壤酶活性和土壤细菌群落结构均产生一定影响, 改变了土壤环境, 其中小麦与黄瓜伴生栽培模式效果较好。

**关键词:** 栽培模式; 黄瓜; 土壤酶; 细菌群落结构

中图分类号: S642.2; S154

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2012)04-0922-10

## Effects of cultivation modes on soil enzyme activities and bacterial community structures in the cucumber rhizosphere

HAN Zhe, LIU Shou-wei, PAN Kai, WU Feng-zhi\*

(College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** To solve the problem of soil degradation with the increase of continuous cropping years, changes of rhizosphere soil enzyme activities and bacterial community structures under different cultivation modes were studied. The cultivation modes (accompany and intercropping) were set up with cucumber as the main crop. Wheat and oats were accompanied with cucumber, respectively, and Chinese onion, Chinese cabbage and celery were intercropped with cucumber, respectively. The results suggest that the soil catalase activities are increased when cucumber is cultivated with wheat, oats and Chinese onion, the soil urease activities are increased under the celery treatment, and the soil invertase activities are increased significantly in all cultivation modes. The results of the cloning and sequencing of DGGE bands amplified from cucumber rhizospheric soil samples show a high homology to uncultured bacterial species. The bands in cucumber rhizosphere soil are affiliated with *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Sphingobacteria* and *Gemmatimonadetes*. This study shows that soil enzyme activities and soil bacterial community structures are influenced by different cultivation modes, the soil environment is influenced by the cultivation modes, and the accompanied with wheat is a better mode of cucumber.

**Key words:** cultivation mode; cucumber; soil enzyme activities; bacterial community structures

收稿日期: 2011-12-20

接受日期: 2012-03-05

基金项目: 国家“973”项目(2009CB119004-05); 国家自然科学基金(30971998); 大宗蔬菜产业技术体系专项(CARS-25-08)资助。

作者简介: 韩哲(1986—), 女, 山东博兴人, 硕士研究生, 主要从事蔬菜生理生态与质量控制方面的研究。E-mail: hanzhe6606615@163.com

\* 通讯作者 E-mail: fzwu2006@yahoo.com.cn

合理利用土地资源,收获高产、优质的蔬菜产品已成为蔬菜产业的发展目标,设施栽培模式利用其可周年生产的优势迅速发展。为追求经济效益,设施蔬菜生产主要局限于几种经济效益较高的果菜类,黄瓜就是主栽作物之一。随着连续种植年限的增加,设施黄瓜连作障碍日趋明显<sup>[1]</sup>,产生了土壤环境恶化、蔬菜病虫害严重、产量降低、品质下降等不良现象<sup>[2]</sup>。

采用合理的种植制度,利用不同植物之间的化感作用,被认为是安全有效解决连作障碍的一项重要措施<sup>[3-4]</sup>。农田伴生植物和农作物间作套种复合系统往往由多种植物相互作用,构成复合根际微环境,抑制在单一栽培系统中易繁衍的有害微生物,提高农作物产量<sup>[5]</sup>,为利用植物多样性的复合根际修复提供了高效率、低成本的途径<sup>[6]</sup>。混植能明显改善群体植株农艺性状,提高其经济产量,对田间水、热、气、肥的运作起到协调作用,提高植物对光能的利用率<sup>[7]</sup>。大蒜和分蘖洋葱与黄瓜间作提高了黄瓜产量的同时,也改善了土壤环境<sup>[8]</sup>。许多葱蒜类蔬菜由于根系分泌物对多种细菌和真菌有较强的抑制作用,常被用于间作或套种<sup>[9]</sup>。

填闲和合理的轮作可改善土壤微生物组成,改善后茬黄瓜的生长发育状况,提高产量和品质,改良产生连作障碍的土壤<sup>[10-12]</sup>。设施栽培条件下,合理的轮作、套作和间作有利于作物产量和品质的提高<sup>[13-14]</sup>,但不同模式间的效果比较相对较少,影响机制尚不明确。本研究选用小麦、燕麦、毛葱、芹菜、白菜与黄瓜进行伴生或套作,研究不同栽培模式对黄瓜根际土壤酶活性及细菌群落结构的影响,为缓解连作障碍提供理论依据和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试品种及来源

供试黄瓜(*Cucumis sativus* L.)品种为津绿3号,小麦(*Triticum aestivum* L.)品种为龙幅750,燕麦(*Avena fatua* L.)品种为龙麦,分蘖洋葱(*Allium cepa* L.)品种为阿城洋葱,芹菜(*Apium graveolens* L.)品种为西芹,白菜(*Brassica rapa pekinensis* L.)品种为东农701。

试验于2008年2月至7月在东北农业大学蔬菜生理生态研究室和东北农业大学设施园艺工程中心多年连作黄瓜的塑料大棚内完成。供试土壤为大棚内多年连作黄瓜的黑土,基本化学性状为:有机质4.51 g/kg、碱解氮276.6 mg/kg、速效磷264.1

mg/kg、速效钾341.8 mg/kg、pH 7.81、EC 0.93 mS/cm。各指标测定采用鲍士旦<sup>[15]</sup>的方法。

### 1.2 试验设计

本试验以黄瓜单作为对照,设小麦/黄瓜、燕麦/黄瓜、毛葱/黄瓜、芹菜/黄瓜、白菜/黄瓜5种栽培处理,主栽作物黄瓜为常规育苗,4月27日定植,垄距为0.6 m,株距为0.3 m,定植于垄台两侧。小麦、燕麦、毛葱于4月17日种植于黄瓜垄台外侧,芹菜和白菜常规育苗于5月5日定植于黄瓜两垄之间。小麦和燕麦播种量均为每垄25 g,随黄瓜全生长期生长,当长到30 cm左右时留茬5~10 cm,割去上部,并填到黄瓜两垄之间作为绿肥;毛葱每垄用量为250 g,6月19日妨碍黄瓜生长时采收;芹菜株距15 cm,两垄黄瓜之间定植3行,6月28日收割;白菜间距35 cm,两垄黄瓜之间以拐子苗方式种植两行,并于5月24日进行间苗,间苗量为白菜苗总量的一半,6月6日采收。

试验为随机排列,每处理3次重复,常规生产管理。分别于黄瓜定植后20、40、60和80 d用抖落法采集黄瓜根际土壤<sup>[16]</sup>,新鲜土样过0.2 mm筛,用于土壤酶活性测定的样品于4℃保存,用于土壤细菌群落结构测定的土样于-70℃保存。

### 1.3 测定项目与方法

1.3.1 土壤酶活性的测定 土壤酶活性测定采用周礼恺<sup>[17]</sup>的方法。其中,土壤过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法;过氧化物酶活性采用邻苯三酚比色法;转化酶活性采用3,5-二硝基水杨酸比色法;脲酶活性采用苯酚-次氯酸钠比色法。

1.3.2 根际细菌群落结构多样性的测定 土壤微生物群落DNA的提取:采取天泽基因工程公司的天净沙系列DNA提取试剂盒Soil DNA out提取土壤细菌基因组DNA。PCR扩增反应条件参考邢德峰等<sup>[18]</sup>的方法,所用引物为F338和R518<sup>[19]</sup>,由上海生工公司合成。PCR反应程序为:94℃变性7 min,94℃变性45 s,52℃退火45 s,72℃延伸45 s,共35个循环;72℃终延伸10 min,4℃保存,PCR产物长约230 bp。PCR反应体系为:50 μL体系,DNA模板8 μL,Buffer-Mg<sup>2+</sup>5 μL,Mg<sup>2+</sup>4 μL,dNTP 4 μL,引物各1.5 μL,Taq酶0.4 μL,去离子水25.6 μL。

变性梯度凝胶电泳(DGGE):采用6%的聚丙烯酰胺凝胶电泳,变性剂浓度从30%~80%(100%的变性剂为7 mol/L的尿素和40%去离子甲酰胺的混合物),变性剂的浓度从胶的上方向下方依次递增。上样量为30 μL PCR产物加适量的加样缓冲

液。利用 Bio-Rad 公司的 D-code System 电泳仪,电压 80 V, 温度 60℃, 11 h 结束后, 银染, 使用 AlphaImager HP-1. 2. 0. 1 成像系统获取图像<sup>[20]</sup>。

土壤微生物 DNA 片段的克隆和测序: 切下目的条带, 放入小离心管中研磨, 加入 50  $\mu$ L TE (pH 8.0) 37℃ 保温 6 h 以上使 DNA 从凝胶中释放, 用聚丙烯酰胺凝胶回收试剂盒回收, 然后取 10  $\mu$ L 作为模板, 以 F338 (不含 GC 夹子) 和 R518 作为引物再次进行 PCR 扩增。扩增产物纯化后与 PucM-Tvector (博亚公司) 连接过夜, 然后转化到 TG1 感受态细胞, 挑取白斑筛选阳性克隆。将筛选到的阳性克隆委托哈尔滨鑫丰生物材料有限公司测序。

#### 1.4 数据统计分析

测序所得序列采用 NCBI 的 Blast 程序 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 进行序列同源性分析, 采用 Sequence match 程序 (<http://rdp.cme.msu.edu/>) 进行细菌分类分析, 序列全部上传至 NCBI 的 Genbank 数据库。DGGE 指纹图谱数字化、标准化分析采用 Bio-Rad Quantityone 4.3.0 软件分析。试验中原始数据处理采用 Microsoft Excel 2003 软件; 方差分析采用 SAS 9.0 软件的 ANOVA 过程的 LSD

多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同栽培模式对黄瓜根际土壤酶活性的影响

2.1.1 不同栽培模式对黄瓜根际土壤过氧化氢酶活性的影响 不同栽培模式对黄瓜根际土壤过氧化氢酶活性的影响, 结果 (图 1) 表明, 定植后 20 d, 白菜/黄瓜处理土壤过氧化氢酶活性显著低于黄瓜单作处理 ( $P < 0.05$ ), 芹菜/黄瓜处理与黄瓜单作处理差异不显著, 其他处理均高于黄瓜单作, 其中, 燕麦/黄瓜处理活性最高, 与黄瓜单作处理差异显著 ( $P < 0.05$ ); 定植后 40 d, 白菜/黄瓜处理土壤过氧化氢酶活性显著低于黄瓜单作 ( $P < 0.05$ ), 芹菜/黄瓜处理虽然也低于黄瓜单作处理, 但差异不显著, 其他处理活性均高于黄瓜单作, 小麦/黄瓜处理活性最高, 与燕麦/黄瓜处理和毛葱/黄瓜处理差异不显著; 定植后 60 d, 除芹菜/黄瓜处理和白菜/黄瓜处理过氧化氢酶活性与黄瓜单作处理差异不显著外, 其他处理均显著高于黄瓜单作 ( $P < 0.05$ ), 但这三者处理间差异不显著; 定植后 80 d, 所有处理与黄瓜单作处理均无显著差异。

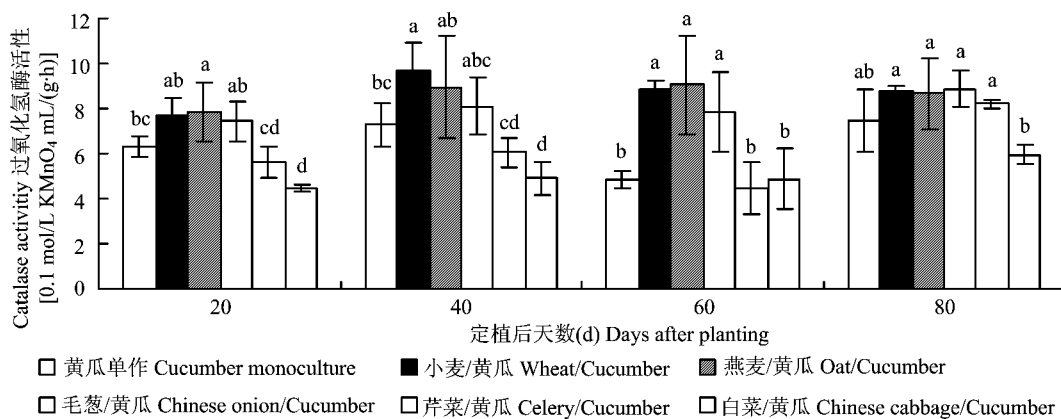


图1 不同栽培模式对根际土壤过氧化氢酶活性的影响

Fig. 1 Effects of different cultivation modes on catalase activities in rhizosphere soil

[注 (Note): 柱上不同字母表示同一时期处理间差异达到 5% 显著水平 Different letters above bars at the same stage mean significant at the 5% level.]

2.1.2 不同栽培模式对黄瓜根际土壤过氧化物酶活性的影响 从图 2 可以看出, 定植后 20 d, 燕麦/黄瓜处理和毛葱/黄瓜处理的土壤过氧化物酶活性与黄瓜单作处理无显著差异, 其他处理均显著高于黄瓜单作 ( $P < 0.05$ ); 定植后 40 d, 黄瓜单作处理过氧化物酶活性显著低于各处理 ( $P < 0.05$ ), 小麦/黄瓜处理活性最高, 显著高于其他各处理 ( $P < 0.05$ );

定植后 60 d, 燕麦/黄瓜处理与黄瓜单作处理无显著差异, 其他处理均高于黄瓜单作, 其中毛葱/黄瓜处理与黄瓜单作处理差异不显著, 小麦/黄瓜处理和白菜/黄瓜处理酶活性最高; 定植后 80 d, 白菜/黄瓜处理过氧化物酶活性最低, 而其他各处理均高于黄瓜单作处理, 小麦/黄瓜处理最高, 均表现为差异显著 ( $P < 0.05$ )。

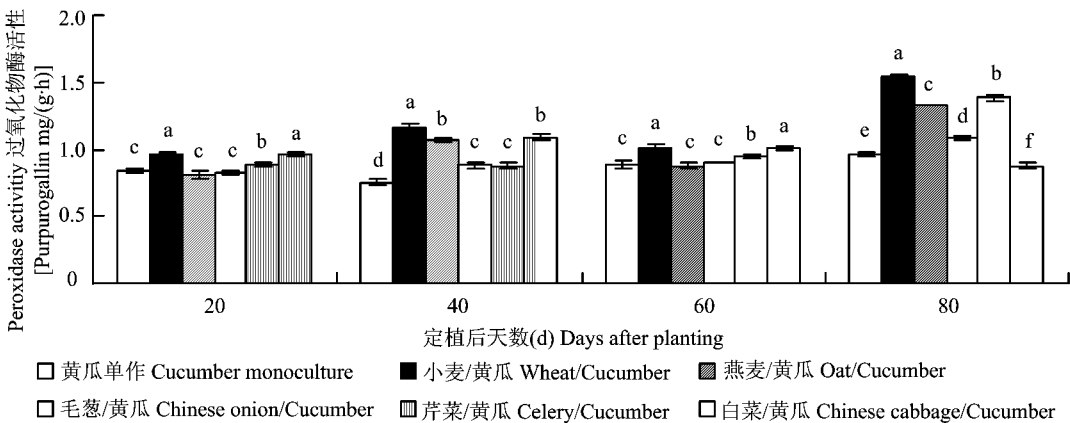


图2 不同栽培模式对土壤过氧化物酶活性的影响

Fig.2 Effects of different cultivation modes on peroxidase activities in rhizosphere soil

[注(Note): 柱上不同字母表示同一时期处理间差异达到5%显著水平 Different letters above bars at the same stage mean significant at the 5% level.]

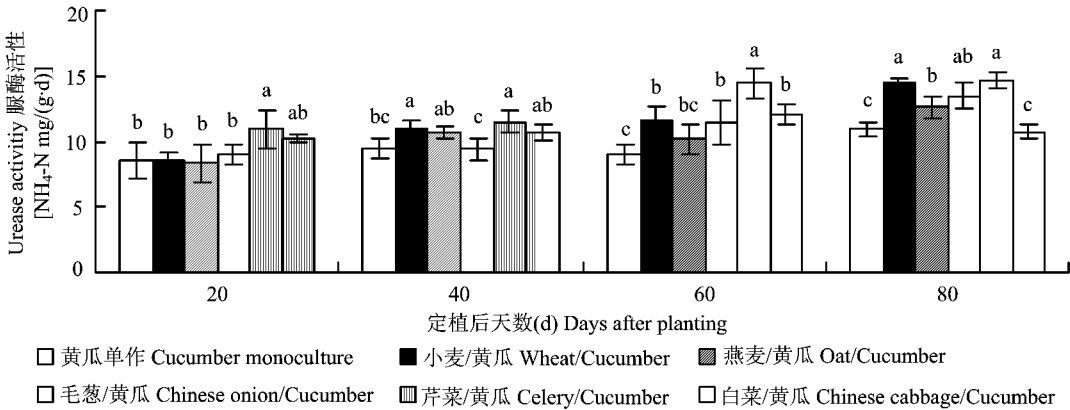


图3 不同栽培模式对土壤脲酶活性的影响

Fig.3 Effects of different cultivation modes on urease activities in rhizosphere soil

[注(Note): 柱上不同字母表示同一时期处理间差异达到5%显著水平 Different letters above bars at the same stage mean significant at the 5% level.]

2.1.3 不同栽培模式对黄瓜根际土壤脲酶活性的影响 图3显示,定植后20 d,只有芹菜/黄瓜处理脲酶活性显著高于黄瓜单作处理( $P < 0.05$ );定植后40 d,小麦/黄瓜处理和芹菜/黄瓜处理脲酶活性显著高于黄瓜单作处理( $P < 0.05$ );定植后60 d,黄瓜单作处理酶活性最低,与燕麦/黄瓜处理差异不显著,而显著低于其他各处理( $P < 0.05$ ),芹菜/黄瓜处理酶活性最高,并显著高于各处理( $P < 0.05$ );定植后80 d,除白菜/黄瓜处理与黄瓜单作处理无显著差异外( $P < 0.05$ ),其他处理脲酶活性均显著高于黄瓜单作处理,芹菜/黄瓜处理最高,与小麦/黄瓜处理和毛葱/黄瓜处理差异不显著。

2.1.4 不同栽培模式对黄瓜根际土壤转化酶活性的影响 图4结果表明,定植后20 d,黄瓜单作处理土壤转化酶活性最低,显著低于其他各处理( $P <$

0.05),毛葱/黄瓜处理酶活性最高,与燕麦/黄瓜处理差异不显著;定植后40 d,黄瓜单作处理活性最低,与芹菜/黄瓜处理差异不显著,而显著低于其他各处理( $P < 0.05$ ),毛葱/黄瓜处理活性最高,显著高于其他各处理( $P < 0.05$ );定植后60 d,黄瓜单作处理活性最低,显著低于其他各处理( $P < 0.05$ ),而其余五个处理间均表现为差异不显著;定植后80 d,黄瓜单作处理活性最低,显著低于其他各处理( $P < 0.05$ ),燕麦/黄瓜处理活性最高,与毛葱/黄瓜处理间差异不显著( $P < 0.05$ )。

2.2 根际土壤细菌群落结构的PCR-DGGE分析

2.2.1 不同栽培方式对黄瓜土壤细菌群落多样性的影响 从图5可以看出,各处理间有许多共有条带,如条带A、B、C、D;也有差异条带,如条带a只出现在定植后20 d的燕麦/黄瓜处理,条带f只在定植

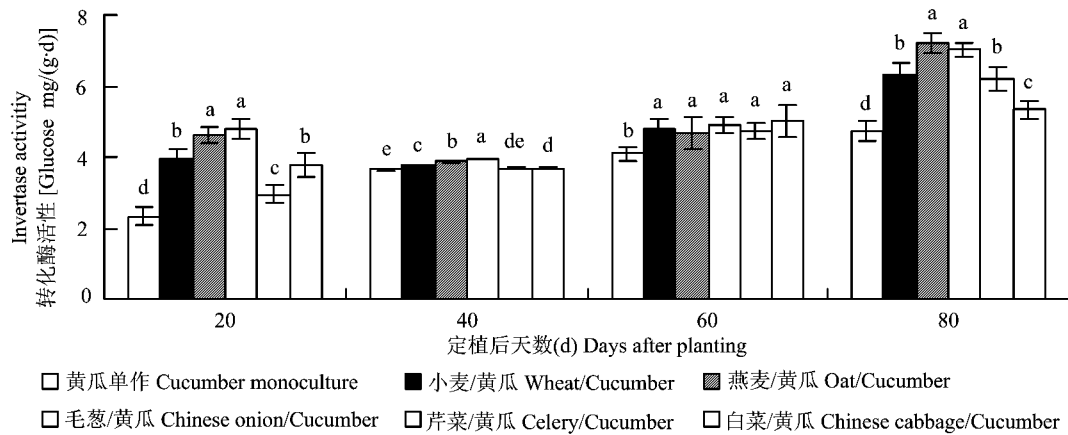


图4 不同栽培模式对土壤转化酶活性的影响

Fig. 4 Effects of different cultivation modes on invertase activities in rhizosphere soil

[注(Note): 柱上不同字母表示同一时期处理间差异达到5%显著水平 Different letters above bars at the same stage mean significant at the 5% level.]

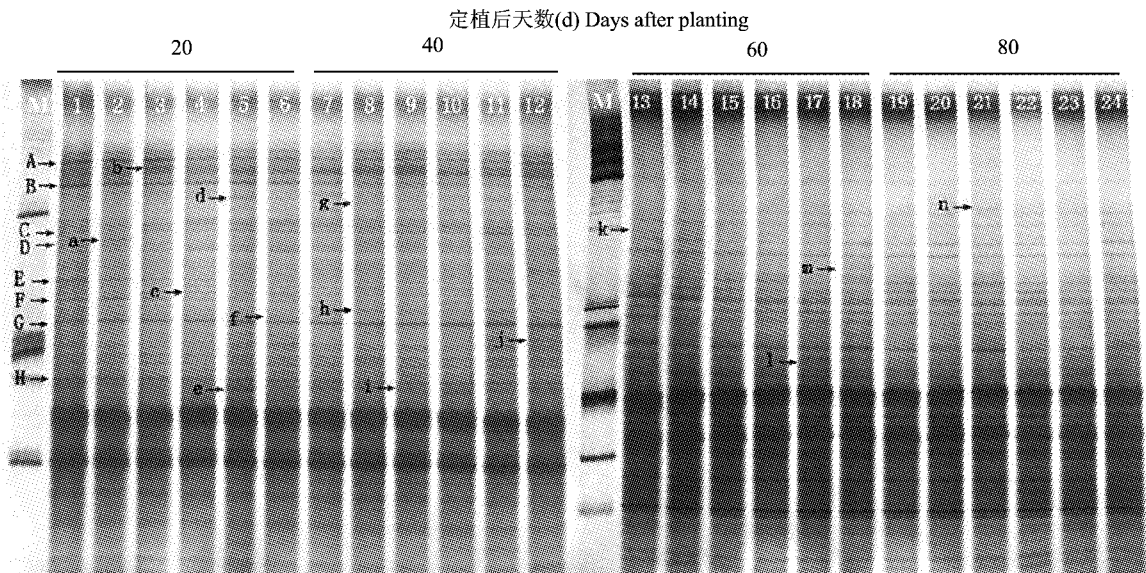


图5 土壤细菌 16S rDNA DGGE 泳道比较图

Fig. 5 Comparison of the 16S rDNA DGGE lands of bacterial communities

[注(Note): M 为 Marker, 1、7、13、19 为小麦/黄瓜 1、7、13、19 Indicate Wheat/Cucumber; 2、8、14、20 为燕麦/黄瓜 2、8、14、20 Indicate Oat/Cucumber; 3、9、15、21 为毛葱/黄瓜 3、9、15、21 Indicate Chinese onion/Cucumber; 4、40、16、22 为黄瓜单作 4、40、16、22 Indicate cucumber monoculture; 5、11、17、23 为芹菜/黄瓜 5、11、17、23 Indicate Celery/Cucumber; 6、12、18、24 为白菜/黄瓜 6、12、18、24 Indicate Chinese cabbage/Cucumber; A ~ H 为共有条带 Mean common bands; a ~ n 为差异条带 Mean different bands.]

后 40 d 的白菜/黄瓜处理中出现,条带 g 只在定植后 40 d 的燕麦/黄瓜处理出现,条带 n 只在定植后 80 d 的毛葱/黄瓜处理出现。处理间差异条带的存在表明不同时期不同处理的土壤菌群群落结构存在差异,某一菌群在某个处理中的出现或消失,说明这一菌群受到不同栽培模式的影响较大。

### 2.2.2 不同栽培模式对黄瓜土壤细菌类群的影响

对 DGGE 图谱中的标注条带进行回收、扩增、克隆与测序,将测序结果与 NCBI GenBank 中已提交的核酸序列进行比对分析并推测种群。共有条带 16S rDNA 基因测序结果见表 1,共有条带序列与不可培养的土壤细菌克隆同源性较高。经序列比对推测为 3 大细菌类群:变形菌门(*Proteobacteria*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*),

条带 A、B、C 属于变形菌门(*Proteobacteria*), $\alpha$ 、 $\gamma$ -变形菌纲;条带 G 属于芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*),单胞菌纲;条带 C、D、H 属于拟杆菌门(*Bacteroidetes*),鞘脂杆菌纲。差异条带 16S rDNA 基因测序结果见表 2,差异条带序列与不可培养的土壤细菌克隆同源性较高。经序列比对推测为 4 大细菌类群:变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*),条带 a、b、c、e、g、j 属于变形菌门(*Proteobacteria*), $\alpha$ 、 $\gamma$ -变形菌纲;条带 d、k 属于放线菌门(*Actinobacteria*),放线菌纲;条带 f、m、n 为相同种群,属于芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*),芽单胞菌纲;条带 l 属于拟杆菌门(*Bacteroidetes*),鞘脂杆菌纲。

表 1 共有条带 16S rDNA 基因测序结果  
Table 1 Closest relatives of partial of the 16S rDNA sequences derived from common DGGE bands

| DGGE<br>条带<br>DGGE<br>band | 片段长 (bp)<br>Sequence<br>length | 同源性对比 BLAST match                            |                          |                           |                       | 相似度<br>Similarity<br>( % ) |
|----------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------------------|
|                            |                                | 来源<br>Resource                               | 推测种群 Putative population |                           | 登录号<br>Accession code |                            |
|                            |                                |                                              | 科 Familia                | 属 Genera                  |                       |                            |
| A                          | 200                            | uncultured prokaryote                        | Xanthomonadaceae         | <i>Arenimonas</i>         | GU208372.1            | 98                         |
| B                          | 175                            | uncultured alpha<br>proteobacterium          | Rhodospirillaceae        | <i>Inquilinus</i>         | FJ569550.1            | 98                         |
| C                          | 195                            | uncultured <i>Chitinophaga</i> sp.           | Sphingobacteriaceae      | <i>Mucilaginibacter</i>   | EU300389.1            | 98                         |
| D                          | 196                            | uncultured soil bacterium                    | Saprospiraceae           | <i>Haliscomenobacter</i>  | EF540355.1            | 100                        |
| E                          | 175                            | uncultured bacterium                         | Erythrobacteraceae       | <i>Altererythrobacter</i> | EU563185.1            | 100                        |
| F                          | 195                            | uncultured <i>Bacteroidetes</i><br>bacterium | Cyclobacteriaceae        | <i>Ferruginibacter</i>    | GJ486916.1            | 97                         |
| G                          | 175                            | uncultured bacterium                         | Gemmatimonadaceae        | <i>Gemmatimonas</i>       | GU256623.1            | 99                         |
| H                          | 195                            | uncultured bacterium                         | Chitinophagaceae         | <i>Niabella</i>           | EF018856.1            | 99                         |

对不同栽培模式对黄瓜土壤细菌 DGGE 图谱条带数进行分析,用 Quantity One 软件对 DGGE 图像进行分析,分别进行泳道和条带的自动识别,得到各列泳道的条带数量信息,DGGE 条带数量可以代表土壤细菌群落的丰富度。条带数统计结果(图 6)显示,不同处理电泳条带数和迁移率不同,表明不同栽培模式对土壤细菌群落结构的影响不同,同一栽培模式在不同时期间的差异表明其持续作用存在差异。条带数多表明此种栽培模式有助于黄瓜根际土壤细菌种类的增多,提高了根际土壤细菌群落的丰富度。由图 6 还可以看出,定植后 20 d,燕麦/黄瓜处理和毛葱/黄瓜处理的泳道条带数较多,黄瓜单作处理和芹菜/黄瓜处理条带数较少;定植后 40 d,小麦/黄瓜处理和白菜/黄瓜处理的泳道条带数较多,黄瓜单作处理和毛葱/黄瓜处理条带数较少;定植后 60 d,燕麦/黄瓜处理和芹菜/黄瓜处理的泳道条

带数较多,黄瓜单作处理条带数较少;定植后 80 d,毛葱/黄瓜处理的泳道条带数较多,黄瓜单作处理条带数较少。

3 讨论

植物化感作用是指一种活体植物(供体)产生并以挥发、淋溶、分泌和分解等方式向环境释放次生代谢物质而影响临近伴生植物(受体)生长发育的化学生态学现象<sup>[21]</sup>。化感作用在农业生产中不可忽视,无论是作物的单一种植,还是作物轮作、间作、覆盖、翻埋、重茬种植,都要考虑化感作用的影响<sup>[24]</sup>。本试验以化感作用影响因子中的土壤酶活性和土壤细菌群落结构多样性为研究对象,对几种栽培模式减轻连作障碍的效果进行初步评价,希望能够为日后深入细致地研究提供参考。

表 2 差异条带 16S rDNA 基因测序结果  
Table 2 Closest relatives of partial of the 16S rDNA sequences derived from differential DGGE bands

| DGGE<br>条带<br>DGGE<br>band | 片段长 (bp)<br>Sequence<br>length | 同源性对比 BLAST match                                        |                          |                        |                       | 相似度<br>Similarity<br>( % ) |
|----------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------------------|------------------------|-----------------------|----------------------------|
|                            |                                | 来源<br>Resource                                           | 推测种群 Putative Population |                        | 登录号<br>Accession code |                            |
|                            |                                |                                                          | 科 Familia                | 属 Genera               |                       |                            |
| a                          | 195                            | uncultured<br><i>Bacteroidetes</i> bacterium             | Ruminococcaceae          | <i>Inquilinus</i>      | FJ579540. 1           | 95                         |
| b                          | 175                            | bacterium N44                                            | Sphingomonadaceae        | <i>Sphingomonas</i>    | GQ389786. 1           | 98                         |
| c                          | 176                            | <i>Sphingomonadaceae</i><br>bacterium UBF4               | Erythrobacteraceae       | <i>Erythromicrobiu</i> | GU567798. 1           | 97                         |
| d                          | 176                            | uncultured bacterium                                     | Iamiaceae                | <i>Iamia</i>           | GQ214120. 1           | 95                         |
| e                          | 176                            | uncultured bacterium                                     | Pseudomonadaceae         | <i>Rhizobacte</i>      | FJ933431. 1           | 99                         |
| f                          | 192                            | uncultured <i>Gemmati-</i><br><i>monadetes</i> bacterium | Gemmatimonadacea         | <i>Gemmatimonas</i>    | EF665981. 1           | 98                         |
| g                          | 200                            | uncultured bacterium                                     | Vibrionaceae             | <i>Catenococcu</i>     | GU256586. 1           | 96                         |
| h                          | 195                            | uncultured bacterium                                     | Sphaerobacteracea        | <i>Sphaerobacte</i>    | FJ479983. 1           | 97                         |
| i                          | 199                            | uncultured bacterium                                     | Chitinophagaceae         | <i>Algoriphagus</i>    | GU325915. 1           | 98                         |
| j                          | 177                            | uncultured bacterium                                     | Bartonellaceae           | <i>Grahamell</i>       | GU601932. 1           | 98                         |
| k                          | 195                            | uncultured bacterium                                     | Cellulomonadaceae        | <i>Oerskovi</i>        | GQ264255. 1           | 98                         |
| l                          | 194                            | uncultured bacterium                                     | Sphingobacteriaceae      | <i>Olivibacte</i>      | GU294416. 1           | 98                         |
| m                          | 201                            | uncultured bacterium                                     | Gemmatimonadacea         | <i>Gemmatimonas</i>    | EU160131. 1           | 98                         |
| n                          | 201                            | uncultured <i>Gemmati-</i><br><i>monadetes</i> bacterium | Gemmatimona              | <i>Gemmatimonas</i>    | EF665981. 1           | 97                         |

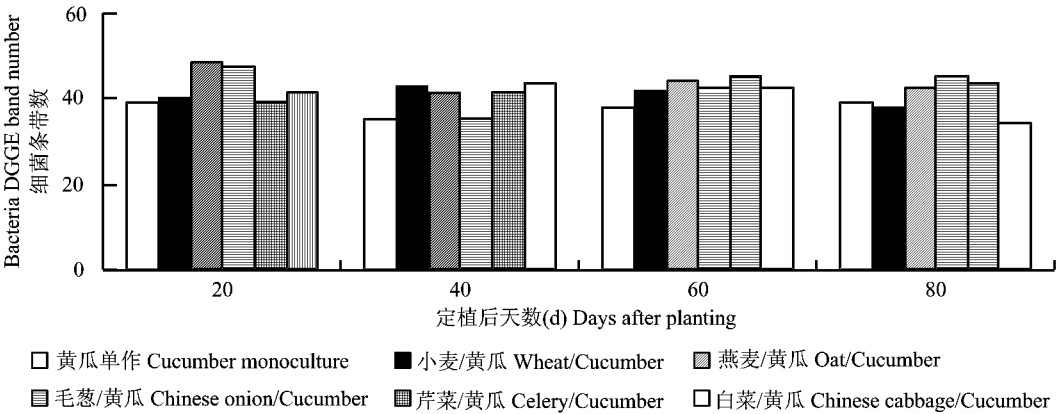


图 6 不同栽培模式对黄瓜根际土壤细菌 DGGE 图谱泳道条带数的影响  
Fig. 6 Effects of different cultivation methods on bacterial DGGE band numbers of rhizosphere soil

注(Note): 柱上不同字母表示同一时期处理间差异达到5% 显著水平 Different letters above the bars at the same stage mean significant at the 5% level. ]

土壤腐殖化程度高、解毒作用强、生物活性高，物质转化速度快，而土壤酶是具有催化活性的蛋白质，反映了土壤中养分的转化能力以及土壤的生物活性的大小，参与土壤中的各种代谢过程和能量转

化<sup>[22-23]</sup>,被认为是重要的土壤性质和生态稳定的指示剂<sup>[24-25]</sup>。本研究表明,小麦/黄瓜、燕麦/黄瓜、毛葱/黄瓜栽培模式提高了根际土壤过氧化氢酶活性,芹菜/黄瓜和小麦/黄瓜显著提高了根际土壤过氧化物酶活性,芹菜/黄瓜栽培模式显著提高了根际土壤脲酶活性,不同栽培模式均显著提高了各时期根际土壤转化酶活性( $P < 0.05$ )。有研究表明,随着种植年限的增加,部分土壤酶活性出现逐年降低的趋势<sup>[26]</sup>;而与单作相比,间作提高了土壤中几种酶的活性<sup>[27-28]</sup>;轮作条件下几种土壤酶活性也表现为显著高于连作土壤<sup>[29]</sup>,土壤酶活性的升高在一定程度上说明了土壤环境向着有益的方向发展。

微生物在土壤养分循环和生态系统功能上起着重要的作用,研究微生物群落有助于更好地认识土壤特性<sup>[30]</sup>,环境改变、根际化感物质或分泌物质量和数量改变都会引起土壤细菌群落结构的变化<sup>[31]</sup>,不同种植方式影响了土壤微生物的群落结构特征<sup>[32-33]</sup>。本试验 DGGE 结果表明,各栽培模式不同程度地增加了土壤细菌种类,提高了根际土壤细菌丰富度,对土壤细菌群落结构组成产生了一定影响,与吴凤芝等<sup>[34]</sup>研究结果相近。其中,小麦/黄瓜处理、燕麦/黄瓜处理和毛葱/黄瓜处理的影响作用较明显,土壤生物种类增多说明土壤生物活性增强,可能促进植株对养分的吸收和利用。黄瓜幼苗生长的不同时期共有条带的存在,表明具有这些条带基因的土壤细菌不受取样时期和栽培模式的影响,是土壤组成中比较稳定的部分。不同栽培制度下,作物残体和根系分泌物在土壤中积累,引起碳源数量和种类发生变化,影响微生物的种类、数量和多样性<sup>[35]</sup>,合理的微生物多样性可以抑制有害病菌的繁殖,且不同作物吸收养分的种类和数量不同,有利于提高养分吸收利用效率,例如间套作有利于土壤中氮素的有效利用<sup>[36-37]</sup>,合理的栽培制度有利于良好土壤环境的建立和保持。

## 4 结论

本研究以传统栽培模式为背景,打破间套作植物平等的原则,将黄瓜作为种植主体,以不同间套作栽培模式作为改良连作土壤环境的手段,对不同栽培模式下黄瓜根际土壤酶活性及细菌群落结构变化进行研究。结果表明,不同栽培模式对土壤酶活性和土壤细菌群落结构均产生一定影响,其中小麦与黄瓜伴生的栽培模式对连作土壤的改良效果较好,

但不同栽培模式对土壤环境的影响仍需对其他相关因子进行研究后再进行综合评价。

## 参 考 文 献:

- [1] 吴凤芝,包静,刘淑芹. 盐胁迫对黄瓜根际土壤细菌群落结构和生长发育的影响[J]. 园艺学报, 2010, 37(5): 741-748.  
Wu F Z, Bao J, Liu S Q. Effects of salt stress on rhizospheric soil bacterial community structure and cucumber yield [J]. Acta Hort. Sin., 2010, 37(5): 741-748.
- [2] 孙光闻,陈日远,刘厚诚. 设施蔬菜连作障碍原因及防治措施[J]. 农业工程学报, 2005, 12(21): 184-188.  
Sun G W, Chen R Y, Liu H C. Causes and control measures for continuous cropping obstacles in protected vegetable cultivation [J]. Trans. Chin. Soc. Agric. Eng., 2005, 12(21): 184-188.
- [3] 由海霞,梁银丽,吕文,等. 不同作物根系分泌物对黄瓜的化感作用[J]. 西北农林科技大学学报, 2006, 34(6): 101-105.  
You H X, Liang Y L, Lu W *et al.* Research on the allelopathy of root secretion of different crops on cucumber [J]. J. Northwest Sci-Tech. Univ. Agric. For., 2006, 34(6): 101-105.
- [4] Miller D A. Allelopathy in forage crop systems [J]. Agron. J., 1996, 88(6): 854-859.
- [5] Shiomi Y, Nishiyama M, Onizuka T *et al.* Comparison of bacterial community structures in the rhizosphere of tomato plants grown in soils suppressive and conducive towards bacterial wilt [J]. Appl. Environ. Microbiol., 1999, 65(9): 996-1001.
- [6] 苏嘉欣,卓胜,黎华寿,等. 植物间作下根际微生物和土壤酶与土壤多氯联苯(PCB)降解的关系[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(11): 2114-2120.  
Su J X, Zhou S, Li H S *et al.* Effects of rhizospheric microbes and soil enzymes on the biodegradation of PCB in the soil within intercropping systems [J]. J. Agro-Environ. Sci., 2010, 29(11): 2114-2120.
- [7] 李少峰,饶文芳. 混植对油菜主要农艺性状及产量的影响[J]. 耕作与栽培, 2001, (5): 10, 21.  
Li S F, Rao W F. The effect of main agronomic and yield on rape mixed planting [J]. Cult. Plant., 2001, (5): 10, 21.
- [8] Zhou X G, Yu G B, Wu F Z. Effects of intercropping cucumber with onion or garlic on soil enzyme activities, microbial communities and cucumber yield [J]. Eur. J. Soil Biol., 2011, 47: 279-287.
- [9] 刘凤淮,文廷刚,杜小凤,等. 蔬菜连作障碍因子分析及其防治措施[J]. 江西农业学报, 2008, 20(5): 41-43.  
Liu F H, Wen T G, Du X F *et al.* Analysis of obstacle factors of vegetable continuous cropping and prevention measures [J]. Acta Agric. Jiangxi, 2008, 20(5): 41-43.
- [10] 吴艳飞,张雪艳,李元,等. 轮作对黄瓜连作土壤环境和产量的影响[J]. 园艺学报, 2008, 35(3): 357-362.  
Wu Y F, Zhang X Y, Li Y *et al.* Influence of rotation on



- continuous cropping soil environment and cucumber yield [J]. *Acta Hort. Sin.*, 2008, 35(3): 357-362.
- [11] 吴焕涛, 魏珉, 杨凤娟, 王秀峰. 轮作和休茬对日光温室黄瓜连作土壤的改良效果[J]. *山东农业科学*, 2008, (5): 59-63.
- Wu H T, Wei M, Yang F J, Wang X F. Improving effects of crop rotation and fallowing on continuous cucumber cropping soil in solar greenhouse[J]. *Shandong Agric. Sci.*, 2008, (5): 59-63.
- [12] 杨凤娟, 吴焕涛, 魏珉, 等. 轮作与休闲对日光温室黄瓜连作土壤微生物和酶活性的影响[J]. *应用生态学报*, 2009, 20(12): 2983-2988.
- Yang F J, Wu H T, Wei M *et al.* Effects of rotation and fallowing on the microbial communities and enzyme activities in a solar greenhouse soil under continuous cucumber cropping [J]. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 2009, 20(12): 2983-2988.
- [13] 刘静, 吴凤芝, 吕涛. 设施条件下不同轮套作对黄瓜产量及品质的影响[J]. *北方园艺*, 2008, (12): 44-46.
- Liu J, Wu F Z, Lü T. Effects of different rotations and interplantings on cucumber yields and qualities under protected cultivation[J]. *Northern Hortic.*, 2008, (12): 44-46.
- [14] 王玉彦, 吴凤芝, 周新刚. 不同间作模式对设施黄瓜生长及土壤环境的影响[J]. *中国蔬菜*, 2009, (16): 8-13.
- Wang Y Y, Wu F Z, Zhou X G. Effects of different intercropping patterns on the growth of cucumber in greenhouse and soil environment[J]. *China Veget.*, 2009, (16): 8-13.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- Bao S D. *Soil and agricultural chemistry analysis* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005.
- [16] 关松荫. 土壤酶活性及其研究法[M]. 北京: 科学技术出版社, 1987.
- Guan S Y. *Soil enzyme activity and research method* [M]. Beijing: Science and Technology Press, 1987.
- [17] 周礼恺. 土壤酶活性学 [M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- Zhou L K. *Soil enzyme activity study* [M]. Beijing: Science Press, 1987.
- [18] 邢德峰, 任南琪, 宋秀佳, 等. 不同 16SrDNA 靶序列对 DGGE 分析活性污泥群落的影响[J]. *环境科学*, 2006, 27(7): 1425-1428.
- Xing D F, Ren N Q, Song X J *et al.* Community of activated sludge based on different targeted sequence of 16S rDNA by denaturing gradient gel electrophoresis [J]. *Chin. J. Envir. Sci.*, 2006, 27(7): 1425-1428.
- [19] Muyzer G, Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, 59: 695-700.
- [20] 许绍斌, 陶玉芬, 杨昭庆, 褚嘉祐. 简单快速的 DNA 银染和胶保存方法[J]. *遗传*, 2002, 24(3): 335-336.
- Xu S B, Tao Y F, Yang Z Q, Chu J Y. A simple and rapid methods used for silver staining and gel preservation [J]. *Hereditas*, 2002, 24(3): 335-336.
- [21] Rice E L. *Allelopathy* [M]. New York: Academic Press, 1984.
- [22] Acosta-Martinez V A, Zobeck T M, Gill T E *et al.* Enzyme activities and microbial community structure in semiarid agricultural soils[J]. *Biol. Fert. Soils*, 2003, 38: 216-227.
- [23] Iyyemperumal K, Shi W. Soil enzyme activities in two forage systems following application of different rates of swine lagoon effluent or ammonium nitrate [J]. *Appl. Soil Ecol.*, 2008, 38(2): 128-136.
- [24] Stegea P W, Germán A, Bianchib M G *et al.* Determination of arylsulphatase and phosphatase enzyme activities in soil using screen-printed electrodes modified with multi-walled carbon nanotubes[J]. *Soil Biol. Biochem.*, 2009, 41: 2444-2452.
- [25] Tian L, Dell E, Shi W. Chemical composition of dissolved organic matter in agroecosystems: correlations with soil enzyme activity and carbon and nitrogen mineralization [J]. *Appl. Soil Ecol.*, 2010, 46: 426-435.
- [26] 孙秀山, 封海胜, 万书波, 左学青. 连作花生田主要微生物类群与土壤酶活性变化及其交互作用[J]. *作物学报*, 2001, 27(5): 617-621.
- Sun X S, Feng H S, Wan S B, Zuo X Q. Changes of main microbial strains and enzymes activities in peanut continuous cropping soil and their interactions [J]. *Acta Agron. Sin.*, 2001, 27(5): 617-621.
- [27] 张智晖. 玉米/大豆间作模式对土壤酶活性及土壤养分的影响[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(16): 9706-9707.
- Zhang Z H. Effects of intercropping patterns for maize and soybean on soil enzyme activity and soil nutrients [J]. *J. Anhui Agric. Sci.*, 2011, 39(16): 9706-9707.
- [28] 章铁, 刘秀清, 孙晓莉. 栗茶间作模式对土壤酶活性和土壤养分的影响[J]. *中国农学通报*, 2008, 24(4): 265-268.
- Zhang T, Liu X Q, Sun X L. Effect of intercropping pattern of chestnut with tea on soil enzyme activities and soil nutrients [J]. *Chin. Agric. Sci. Bull.*, 2008, 24(4): 265-268.
- [29] 吴凤芝, 孟立君, 王学征. 设施蔬菜轮作和连作土壤酶活性的研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2006, 12(4): 554-558.
- Wu F Z, Meng L J, Wang X Z. Soil enzyme activities in vegetable rotation and continuous cropping system of under shed protection [J]. *Plant Nutr. Fert. Sci.*, 2006, 12(4): 554-558.
- [30] Macdonald C A, Thomas N, Robinson L *et al.* Singh. Physiological, biochemical and molecular responses of the soil microbial community after afforestation of pastures with *Pinus radiata* [J]. *Soil Biol. Biochem.*, 2009, 41: 1642-1651.
- [31] Whitney D, Rossman A, Hayden N. Evaluating an existing subsurface flow constructed wetland in Akumal, Mexico [J]. *Ecol. Eng.*, 2003, 20(1): 105-111.
- [32] Alvey S, Yang C H, Buerkert A *et al.* Cereal/legume rotation effects on rhizosphere bacterial community structure in West African soils [J]. *Biol. Fert. Soils*, 2003, 37(2): 73-82.
- [33] 庄岩, 吴凤芝, 杨阳, 尚庆茂. 轮套作对黄瓜土壤微生物多样性及产量的影响[J]. *中国农业科学*, 2009, 42(1): 204

- 209.
- Zhuang Y, Wu F Z, Yang Y, Shang Q M. Effect of rotation and interplanting on cucumber yield and soil microbial diversity[J]. *Sci. Agric. Sin.*, 2009, 42(1): 204-209.
- [34] 吴凤芝, 王澍, 杨阳. 轮套作对黄瓜根际土壤细菌种群的影响[J]. *应用生态学报*, 2008, 19(12): 2717-2722.
- Wu F Z, Wang S, Yang Y. Effects of rotation and intercropping on bacterial communities in rhizosphere soil of cucumber[J]. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 2008, 19(12): 2717-2722.
- [35] 朱丽霞, 章家恩, 刘文高. 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述[J]. *生态环境*, 2003, 12(1): 102-105.
- Zhu L X, Zhang J E, Liu W G. Review of studies on interactions between root exudates and rhizospheric microorganisms[J]. *Ecol. Environ.*, 2003, 12(1): 102-105.
- [36] Szumigalski A R, VanAcker R C. Nitrogen yield and land use efficiency in annual sole crops and intercrops[J]. *Agron. J.*, 2006, 98(4): 1030-1040.
- [37] Jeranyama P, Hesterman O B, Waddington S R *et al.* Relay-intercropping of sunnhemp and cowpea into a smallholder maize system in Zimbabwe[J]. *Agron. J.*, 2000, 92(2): 239-244.