

# 套作不同化感潜力分蘖洋葱对黄瓜生长及土壤微环境的影响\*

杨 阳<sup>1,2</sup> 吴凤芝<sup>1\*\*</sup>

(<sup>1</sup>东北农业大学园艺学院, 哈尔滨 150030; <sup>2</sup>武汉生物工程学院, 武汉 430415)

**摘 要** 盆栽试验以黄瓜为主栽作物, 分蘖洋葱为套作作物, 研究了套作不同化感潜力分蘖洋葱对黄瓜生长及土壤微环境的影响. 结果表明: 与化感潜力强的分蘖洋葱套作, 黄瓜根际土壤电导率降低、pH 值提高; 根际土壤过氧化氢酶和转化酶活性提高, 过氧化物酶活性降低; 根际土壤细菌丰富度增加. 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, 共有条带的测序比对推测为放线菌纲和变形菌纲, 差异条带的测序比对推测为变形菌纲和酸杆菌纲, 红螺旋菌目、酸杆菌属只出现在与化感潜力弱的分蘖洋葱套作的黄瓜根际土壤中. 相关分析表明, 土壤脲酶与黄瓜幼苗株高、全株干质量、叶面积、DGGE 条带数呈显著正相关. 综上, 与化感潜力强的分蘖洋葱套作, 可为黄瓜生长创造良好的根际微环境, 显著促进黄瓜幼苗生长.

**关键词** 分蘖洋葱 黄瓜 套作 土壤微环境

**文章编号** 1001-9332(2011)10-2627-08 **中图分类号** Q55 **文献标识码** A

**Effects of intercropping Chinese onion cultivars of different allelopathic potential on cucumber growth and soil micro-environment.** YANG Yang<sup>1,2</sup>, WU Feng-zhi<sup>1</sup> (<sup>1</sup>College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; <sup>2</sup>Wuhan Bioengineering Institute, Wuhan 430415, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2011, 22(10): 2627-2634.

**Abstract:** A pot experiment was conducted to study the effects of intercropping various Chinese onion cultivars of different allelopathic potential on the cucumber growth and rhizospheric soil environment. When intercropped with high allelopathic Chinese onion cultivars, the EC value and peroxidase activity of cucumber rhizospheric soil decreased, while the pH value, invertase and catalase activities, and bacterial community diversity increased. The cloning and sequencing results indicated that most DGGE bands amplified from cucumber rhizospheric soil samples showed a high homology to uncultured bacterial species. The common bands were affiliated with Actinobacteria and Proteobacteria, and the differential bacteria bands were affiliated with Proteobacteria and Anaerolineaceae. Rhodospirillales and *Acidobacteria* were only found in the cucumber rhizospheric soil intercropped with low allelopathic Chinese onion cultivars. Correlation analysis showed that there were significant positive correlations between rhizospheric soil urease activity and cucumber seedlings height, total dry biomass, leaf area, and DGGE band number. It was suggested that intercropping high allelopathic Chinese onion cultivars could establish a good rhizospheric soil micro-environment for cucumber growth, and promote the growth of cucumber seedlings markedly.

**Key words:** Chinese onion; cucumber; intercropping; soil micro-environment.

黄瓜 (*Cucumis sativus*) 作为设施生产的主要蔬菜作物, 连作问题十分严重, 连作障碍日趋明显. 合

理的轮作和间、混、套作是解决连作障碍最简单有效的方法. 由于许多葱蒜类蔬菜根系分泌物可以有效杀灭某些有害病菌, 减少相关病害的发生, 因此常被用于与其他作物轮、间作<sup>[1]</sup>. 研究表明, 大蒜可促进根际土壤细菌、放线菌和真菌的生长, 间接提高根际土壤脲酶、磷酸酶和过氧化氢酶的活性, 从而提高大

\* 国家自然科学基金项目(30971998)、黑龙江省杰出青年基金项目(JC200803)和国家大宗蔬菜产业技术体系专项(CARS-25-C-08)资助.

\*\* 通讯作者. E-mail: fzwu2006@yahoo.com.cn

2011-01-27 收稿, 2011-06-29 接受.

蒜根际土壤中氮、磷等营养元素的周转与循环,为下茬作物提供良好的微生态环境<sup>[2]</sup>. 夏季温室休闲期栽植青葱可显著降低土壤盐分积累,改善土壤微生物组成,使黄瓜增产 22%,有利于缓解黄瓜连作障碍<sup>[3]</sup>. 吴凤芝等<sup>[4]</sup>研究表明,轮套作可影响黄瓜根际土壤细菌种群,其中以小麦为轮作作物和以分蘖洋葱为套作作物的黄瓜轮套作栽培模式最佳.

分蘖洋葱 (*Allium cepa* L. var. *multiplacans* Bailey), 俗称毛葱或珠葱,为百合科葱属草本植物,是我国东北特别是黑龙江省传统的优良栽培品种. 但有关黄瓜套作不同化感潜力分蘖洋葱对黄瓜生长及土壤微环境的影响研究尚未见报道. 为此,本研究以黄瓜为主栽作物,分蘖洋葱为套作作物,采用 PCR-DGGE 技术研究了套作不同化感潜力分蘖洋葱对黄瓜生长及土壤微环境的影响,以期为建立和推广合理的栽培制度及设施园艺的可持续发展提供技术支撑和理论基础.

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试分蘖洋葱品种为 L04 (化感潜力弱) 和 L06 (化感潜力强)<sup>[5-6]</sup>. 供试黄瓜品种为津优 1 号,种子购于哈尔滨市华威种业有限公司. 供试土壤为黑土,基本理化性质为: 有机质 10.4 g · kg<sup>-1</sup>, 速效钾 466.3 mg · kg<sup>-1</sup>, 有效磷 64.4 mg · kg<sup>-1</sup>, 碱解氮 182.3 mg · kg<sup>-1</sup>, 电导率 0.51 mS · cm<sup>-1</sup>, pH 7.23.

1.2 试验设计

试验于 2009 年在东北农业大学园艺站连栋温室内进行. 津优 1 号黄瓜种子经 1% 次氯酸钠消毒后按常规方式进行浸种、催芽及播种,当子叶完全展开时于苗盘中分苗并缓苗. 选取大小均匀、个头适中的分蘖洋葱 L04 和 L06 鳞茎做种. 将不同化感潜力分蘖洋葱与黄瓜套作,一株黄瓜苗套种一个分蘖洋葱,每苗盘 (60 cm×36 cm×7 cm) 装 3600 g 土,栽 24 株苗 (4 株×6 株),株行距 7 cm×8 cm. 试验设分蘖洋葱 L06 与黄瓜套作 (A)、分蘖洋葱 L04 与黄瓜套作 (B) 2 个处理,以黄瓜单种为对照 (CK). 每处理设 3 次重复,完全随机排列,苗盘置于全光温室中培养,昼温 28 ℃,夜温 15 ℃,常规管理.

1.3 取样方法

套作处理 30 d 后,每处理的每重复随机取 3 株黄瓜幼苗测定株高 (cm)、茎粗 (cm)、叶面积 (cm<sup>2</sup>)、全株干质量 (g). 用抖根法<sup>[7]</sup>采集各处理根际土壤,3 次重复,过 80 目筛,保存于 -80 ℃ 冰箱中,用于测

定根际土壤微生物多样性. 风干土用于土壤酶活性及土壤养分测定.

1.4 测定指标

1.4.1 土壤基本理化性质的测定 土壤有机质采用重铬酸钾容量法测定;碱解氮采用碱解扩散法测定;有效磷采用钼蓝比色法测定;速效钾采用醋酸铵-火焰光度法测定;pH 值按土水比 1 : 5 用酸度计测定;EC 值按土水比 1 : 5 用电导率仪测定<sup>[8]</sup>.

1.4.2 土壤酶活性的测定 土壤脲酶采用苯酚-次氯酸钠比色法测定;多酚氧化酶采用邻苯三酚比色法测定;转化酶采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定;过氧化氢酶采用高锰酸钾滴定法测定<sup>[9]</sup>.

1.4.3 土壤微生物群落结构多样性的测定 采用天泽基因工程有限公司生产的天净沙系列试剂盒 Soil DNAout 提取土壤微生物 DNA.

1) 土壤细菌 16S rDNA 的扩增 将提取的 DNA 原液用无菌去离子水稀释 50 倍,采用 16S rDNA V3 区通用引物对 F338-GC (5'-CGCCGCGCGCGCG-GCGGGCGGGCGGGGGCACGGGGGGACTCCTACGGAGGCAGCAG-3') 和 R518 (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') 进行 PCR 扩增. 50 μL PCR 反应体系为: DNA 模板 2 μL, Buffer (缓冲液) 5 μL, Mg<sup>2+</sup> 3 μL, dNTP 4 μL, 引物各 1 μL, *pfu* 酶 1 μL, 无菌去离子水 33 μL. 设一阴性对照不加模板. PCR 反应程序为: 94 ℃ 预变性 4 min; 94 ℃ 变性 1 min, 60 ℃ 退火 1 min, 72 ℃ 延伸 1 min, 共 30 个循环; 72 ℃ 延伸 5 min; 4 ℃ 保存. 取 3 μL PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 (D 2000 Marker). 将上述扩增产物稀释 40 倍,用 *Taq* 酶再次扩增,PCR 反应体系和反应程序同上. PCR 产物长 230 bp 左右,产物在 1% 琼脂糖凝胶中检测.

2) 变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 凝胶为变性梯度为 45% 到 70% (100% 的变性剂为 7 mol · L<sup>-1</sup> 的尿素和 40% 去离子甲酰胺的混合物) 的 8% 聚丙烯酰胺凝胶. 待胶完全凝固后,将胶板放入装有 1× TAE 电泳缓冲液的装置中,每孔上样为 40 μL PCR 产物和 5 μL 6×Loading Buffer (上样缓冲液) 的混合物. 利用 Bio-Rad 公司的 D-code System 电泳仪进行电泳,电压 80 V,温度 60 ℃,电泳时间 12 h. 电泳结束后,取胶进行银染<sup>[10]</sup>,利用 AlphaImager HP-1.2.0.1 照相获取胶图.

3) 细菌 16S rDNA 片段回收和克隆测序 切下目的条带,用聚丙烯酰胺凝胶 DNA 回收试剂盒进行胶回收,以不含 GC 夹子的引物对 F338 (5'-

CCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 R518 再次进行 PCR 扩增. 50  $\mu$ L PCR 反应体系为: DNA 模板 2  $\mu$ L, Buffer 5  $\mu$ L,  $Mg^{2+}$  3  $\mu$ L, dNTP 4  $\mu$ L, 引物各 1  $\mu$ L, *Taq* 酶 1  $\mu$ L, 无菌去离子水 33  $\mu$ L. 设一阴性对照不加模板. PCR 反应程序为: 94  $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 1 min, 60  $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 共 30 个循环; 72  $^{\circ}$ C 延伸 5 min; 4  $^{\circ}$ C 保存. 扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 (D 2000 Marker). 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进行克隆和测序.

1.5 数据处理

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. 采用 Quantity One (BIO-RAD) 软件对 DGGE 图像条带的位置进行数字化处理, 可检测到 DGGE 条带数, 并进行分析. 试验中原始数据的整理采用 Microsoft Excel 2003 软件完成; 数据处理采用 SAS 8.1 软件, 方差分析使用 ANOVA 过程, 相关分析使用 CORR 过程.

2 结果与分析

2.1 套作不同化感潜力分蘖洋葱对黄瓜幼苗生长的影响

由表 1 可知, 套作处理的黄瓜幼苗株高、茎粗、全株干质量和叶面积显著优于 CK ( $P<0.05$ ); 其中 A 处理显著优于 B 处理 ( $P<0.05$ ), 分别比 B 处理提高了 33.5%、-1.5%、39.0% 和 38.8%.

2.2 套作不同化感潜力分蘖洋葱对黄瓜根际土壤基本理化性质和酶活性的影响

与 CK 相比, 套作处理显著降低了黄瓜根际土

壤电导率 ( $P<0.05$ ), A 与 B 处理均下降了 17.8%, 但 A 与 B 之间差异不显著 (表 2). 套作处理显著提高了黄瓜根际土壤 pH ( $P<0.05$ ), 其中 A 处理显著高于 B 处理 ( $P<0.05$ ). 套作不同化感潜力分蘖洋葱对黄瓜根际土壤有机质、碱解氮、有效磷及速效钾的影响不大, 差异不显著.

与 CK 相比, 套作处理提高了黄瓜根际土壤过氧化氢酶及转化酶活性, 且 A 处理显著高于 B 处理 ( $P<0.05$ ), 其中 A 处理两种酶活性比 CK 分别提高了 26.1% 和 91.5%, 比 B 处理分别提高了 22.8% 和 17.6%. A 处理根际土壤过氧化物酶活性显著低于 CK ( $P<0.05$ ), 比 CK 降低了 13.3%, B 处理与 CK 差异不显著. 套作处理根际土壤脲酶活性与 CK 差异均不显著 (表 2).

2.3 套作不同化感潜力分蘖洋葱对黄瓜根际土壤细菌群落结构的影响

2.3.1 细菌群落结构多样性 由各处理黄瓜根际土壤微生物总 DNA 提取图 (图 1 I)、根际土壤细菌 16S rDNA 基因扩增电泳图 (图 1 II) 及细菌 16S rDNA V3 区片段 PCR 产物 DGGE 图谱 (图 1 III) 可知, 各处理间有许多共有条带, 如条带 a、b、c、d、e、f; 也有差异条带, 如条带 1、3、4、5 只出现在 A、B 处理

表 1 套作不同化感潜力分蘖洋葱对黄瓜幼苗生长的影响  
Table 1 Effects of intercropping with different Chinese onions cultivars of different allelopathic potentials on growth of cucumber seedlings (mean $\pm$ SE)

处理 Treatment	株高 Plant height (cm)	茎粗 Stem diameter (cm)	单株干质量 Plant dry mass (g)	叶面积 Leaf area (cm <sup>2</sup> )
CK	18.9 $\pm$ 2.7c	0.55 $\pm$ 0.02b	1.45 $\pm$ 0.08c	366.8 $\pm$ 17.9c
A	39.2 $\pm$ 3.5a	0.65 $\pm$ 0.03a	3.53 $\pm$ 0.64a	892.4 $\pm$ 172.7a
B	29.3 $\pm$ 3.1b	0.66 $\pm$ 0.03a	2.54 $\pm$ 0.35b	643.0 $\pm$ 88.5b

CK; 对照 Control; A: L06 与黄瓜套作 Cucumber intercropping with L06; B: L04 与黄瓜套作 Cucumber intercropping with L04. 同列中不同字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ , LSD 法) Different letters in the same column meant significant difference among treatments at 0.05 level by LSD test. 下同 The same below.

表 2 套作不同化感潜力分蘖洋葱对黄瓜根际土壤理化性质和酶活性的影响  
Table 2 Effects of intercropping with different Chinese onions cultivars of different allelopathic potentials on physicochemical properties and enzyme activities of cucumber rhizosphere soil

处理 Treatment	电导率 EC (mS $\cdot$ cm <sup>-1</sup> )	pH	有机质 Organic matter (g $\cdot$ kg <sup>-1</sup> )	碱解氮 Alkali- hydrolysable N (mg $\cdot$ kg <sup>-1</sup> )	有效磷 Available P (mg $\cdot$ kg <sup>-1</sup> )	速效钾 Available K (mg $\cdot$ kg <sup>-1</sup> )	过氧化氢酶 Hydrogen peroxidase (0.1 mol $\cdot$ L <sup>-1</sup> KMnO <sub>4</sub> $\cdot$ g <sup>-1</sup> $\cdot$ 30 min <sup>-1</sup> )	过氧化物酶 Peroxidase (mg $\cdot$ g <sup>-1</sup> $\cdot$ 2 h <sup>-1</sup> )	转化酶 Saccharase (mg $\cdot$ g <sup>-1</sup> $\cdot$ 24 h <sup>-1</sup> )	脲酶 Urease (mg NH <sub>3</sub> -N $\cdot$ g <sup>-1</sup> $\cdot$ 24 h <sup>-1</sup> )
CK	0.45 $\pm$ 0.01a	6.71 $\pm$ 0.01c	5.75 $\pm$ 1.42a	183.9 $\pm$ 16.0a	73.7 $\pm$ 9.9a	436.6 $\pm$ 0.0b	1.15 $\pm$ 0.00b	0.45 $\pm$ 0.02a	7.65 $\pm$ 0.44c	6.48 $\pm$ 0.03a
A	0.37 $\pm$ 0.01b	6.86 $\pm$ 0.01a	5.25 $\pm$ 1.03a	165.8 $\pm$ 18.8a	93.8 $\pm$ 16.1a	456.9 $\pm$ 41.9ab	1.45 $\pm$ 0.07a	0.39 $\pm$ 0.02b	14.65 $\pm$ 0.79a	6.91 $\pm$ 0.09a
B	0.37 $\pm$ 0.02b	6.76 $\pm$ 0.03b	5.78 $\pm$ 0.12a	160.5 $\pm$ 6.8a	88.0 $\pm$ 4.5a	436.6 $\pm$ 9.3b	1.18 $\pm$ 0.04b	0.51 $\pm$ 0.01a	12.46 $\pm$ 0.53b	6.72 $\pm$ 0.21a

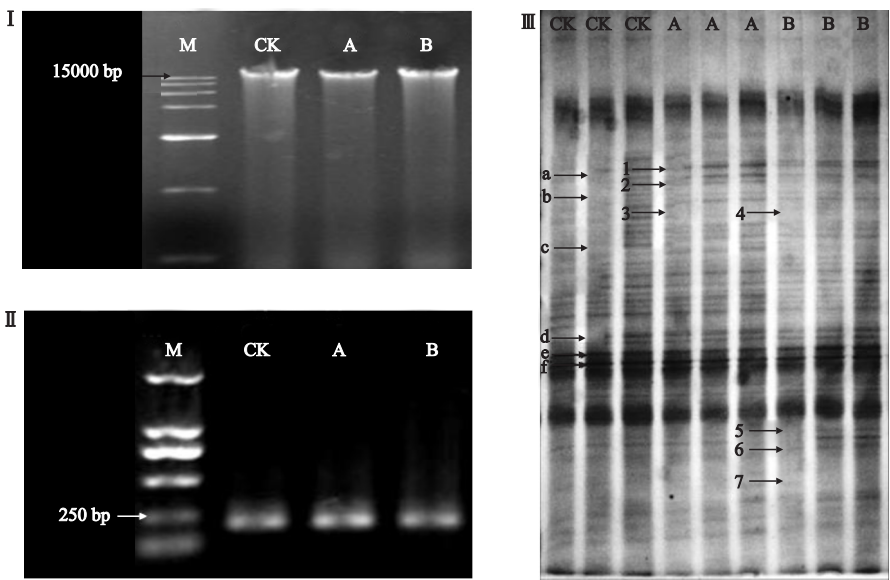


图 1 不同处理黄瓜根际土壤细菌 PCR-DGGE 分析

Fig. 1 PCR-DGGE analysis of cucumber rhizosphere bacteria under different treatments.

I :基因组 DNA Genome DNA; II :16S rDNA 基因扩增产物 16S rDNA gene amplification product; III :DGGE 电泳图 DGGE electrophoretogram. a、b、c、d、e、f、1、2、3、4、5、6、7 为条带编号 a、b、c、d、e、f、1、2、3、4、5、6、7 meant band code. CK:对照 Control; A:L06 与黄瓜套作 Cucumber intercropping with L06; B:L04 与黄瓜套作 Cucumber intercropping with L04. 下同 The same below.

中,条带 2 只出现在 A 处理中,条带 6、7 只出现在 B 处理中.

**2.3.2 细菌类群** 对图 1 III 中箭头所指条带进行回收、扩增、克隆及测序. 将测序结果与 NCBI GenBank 中已提交的核酸序列进行比对分析,采用 Sequence match 程序进行细菌分类并推测种群. 由表 3 可以看出,共有条带序列与不可培养的土壤细菌克隆同源性较高. 经测序比对推测为 2 大细菌类群:放线菌纲(Actinobacteria)和变形菌纲(Proteobacteria). 条

带 a、b、e、f 属于变形菌门(Proteobacteria)α-γ-变形菌纲;条带 c、d 属于放线菌纲. 由表 4 可以看出,差异条带序列与不可培养的土壤细菌克隆同源性较高. 经测序比对推测为 2 大细菌类群:变形菌纲和酸杆菌纲(Anaerolineaceae). 条带 3、4、5、6 属于变形菌门α-γ-变形菌纲;条带 7 属于酸杆菌纲;条带 1、2 属于尚未分类的细菌. 红螺旋菌目,酸杆菌属只出现在 B 处理中.

**2.3.3 细菌群落结构丰富度** 用Quantity One软件

表 3 共有条带 16S rDNA 基因测序结果

Table 3 Closest relatives of partial of 16S rDNA sequences derived from common DGGE bands

测序条带 Band	片段长度 Fragment length (bp)	序列比对 Alignments	同源性比对 BLAST match		推测种群 Putative population
			相似序列 Similar sequences	登录号 Accession No.	
a	135	134/135	Uncultured bacterium clone RW7559 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (99%)	GU642903.1	α-变形菌纲鞘氨醇单孢菌属 <i>Sphingomonadales</i> , α-Proteobacteria
b	161	160/161	Uncultured bacterium clone AFZEB_aaaj69b04 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (99%)	EU464683.1	γ-变形菌纲不动细菌属 <i>Acinetobacter</i> , γ-Proteobacteria
c	136	134/136	Uncultured actinobacterium clone SL6a/219 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (98%)	EU715958.1	微酸菌亚目 <i>Lamia</i>
d	142	138/142	Uncultured bacterium clone Bul2be06 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (97%)	FJ228861.1	放线菌纲 <i>Actinobacteria</i>
e	135	134/135	Uncultured <i>Rhodopseudomonas</i> sp. clone 202 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (99%)	GU556417.1	α-变形菌纲根瘤菌目 <i>Rhizobiales</i> , α-Proteobacteria
f	135	133/135	Uncultured bacterium clone TF82 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (98%)	GU272246.1	α-变形菌纲鞘氨醇单孢菌属 <i>Sphingomonadales</i> , α-Proteobacteria



表 4 差异条带 16S rDNA 基因测序结果  
Table 4 Closest relatives of partial of 16S rDNA sequences derived from differential DGGE bands

测序条带 Band	片段长度 Fragment length (bp)	序列比对 Alignments	同源性比对 BLAST match		推测种群 Putative population
			相似序列	登录号	
			Similar sequences	Accession No.	
1	139	132/139	Uncultured bacterium clone SUL_818_B11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (94%)	EU644307.1	未分类细菌 Unclassified bacteria
2	134	129/134	Uncultured bacterium clone H-11-H 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (96%)	FJ946332.1	未分类细菌 Unclassified bacteria
3	161	161/161	Uncultured bacterium clone nbw1208g10c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (100%)	GQ077443.1	γ-变形菌纲不动细菌属 <i>Acinetobacter</i> , γ-Proteobacteria
4	160	159/160	Uncultured <i>Lysobacter</i> sp. partial 16S rRNA gene, clone CMJG1 Length=1365 (99%)	AM935900.1	γ-变形菌纲黄色单胞菌科 <i>Xanthomonadaceae</i> , γ-Proteobacteria
5	135	135/135	Uncultured bacterium clone 0-179 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (100%)	GU444083.1	α-变形菌纲根瘤菌目 <i>Rhizobiales</i> , α-Proteobacteria
6	135	132/135	Uncultured bacterium clone MACA-EFT01 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (97%)	GQ500775.1	α-变形菌纲红螺旋菌目 <i>Rhodospirillales</i> , α-Proteobacteria
7	161	154/161	Uncultured bacterium isolate ALT6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (95%)	AY703471.1	酸杆菌纲酸杆菌属 <i>Acidobacteria</i> Gp10, Anaerolineaceae

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位置及条带数量信息图,DGGE 条带数量可以代表土壤细菌群落的丰富度.如图 2 所示,套作处理根际土壤细菌群落丰富度显著高于 CK ( $P<0.05$ ),A 处理显著高于 B 处理 ( $P<0.05$ ).即与化感潜力强的分蘖洋葱套作更有利于黄瓜根际土壤细菌群落丰富度的提高.

2.4 黄瓜幼苗生长情况与各指标相关性

由表 5、表 6 可知,黄瓜幼苗茎粗与电导率和碱解氮呈负相关.脲酶与株高、全株干质量、叶面积和 DGGE 条带数呈显著正相关;DGGE 条带数与株高、全株干质量和叶面积呈正相关;转化酶与脲酶和 DGGE 条带数呈正相关.

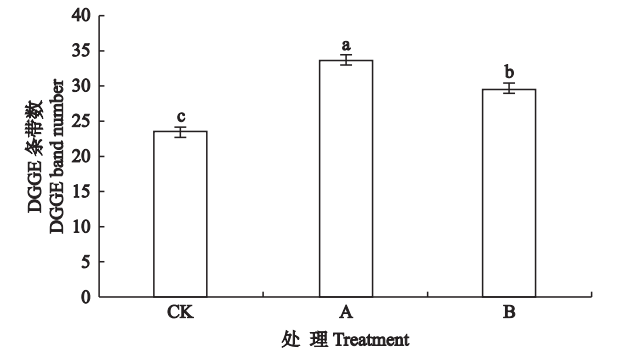


图 2 黄瓜根际土壤细菌 DGGE 条带数  
Fig. 2 DGGE band number of cucumber rhizosphere soil bacteria.  
不同字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ , LSD 法) Different letters meant significant difference among treatments at 0.05 level by LSD test.

表 5 黄瓜幼苗生长情况与土壤理化性质的相关系数  
Table 5 Correlation coefficients between cucumber seedling growth and rhizosphere soil physicochemical properties

	株高 Plant height	茎粗 Stem diameter	单株干 质量 Plant dry mass	叶面积 Leaf area	电导率 EC	pH	有机质 Organic matter	碱解氮 Alkali- hydrolysable N	有效磷 Available P	速效钾 Available K
株高 Plant height	1	0.823	0.999 **	0.999 **	-0.889	0.979	-0.833	-0.750	0.975	0.858
茎粗 Stem diameter		1	0.832	0.831	-0.992	0.690	-0.372	-0.993	0.929	0.415
全株干质量 Plant dry mass			1	1.000 **	-0.896	0.976	-0.924	-0.760	0.978	0.850
叶面积 Leaf area				1	-0.895	0.976	-0.825	-0.759	0.978	0.851
电导率 EC					1	-0.776	0.487	0.970	-0.969	-0.527
pH						1	-0.929	-0.599	0.908	0.945
有机质 Organic matter							1	0.258	-0.688	-0.999
碱解氮 Alkali-hydrolysable N								1	-0.879	-0.304
有效磷 Available P									1	0.721
速效钾 Available K										1

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

表 6 黄瓜幼苗生长情况与土壤酶活性的相关系数  
Table 6 Correlation coefficients between cucumber seedling growth and rhizosphere soil enzyme activities

	株高 Plant height	茎粗 Stem diameter	单株干质量 Plant dry mass	叶面积 Leaf area	过氧化氢酶 Hydrogen peroxidase	过氧化物酶 Peroxidase	转化酶 Saccharase	脲酶 Urease	DGGE 条带数 DGGE band number
株高 Plant height	1	0.823	0.999 * *	0.999 * *	0.894	-0.567	0.981	0.998 *	0.994
茎粗 Stem diameter		1	0.832	0.831	0.482	0.000	0.919	0.855	0.882
单株干质量 Plant dry mass			1	1.000 * *	0.887	-0.555	0.983	0.999 *	0.995
叶面积 Leaf area				1	0.888	-0.557	0.983	0.999	0.995
过氧化氢酶 Hydrogen peroxidase					1	-0.876	0.789	0.866	0.838
过氧化物酶 Peroxidase						1	-0.395	-0.518	-0.471
转化酶 Saccharase							1	0.990	0.997
脲酶 Urease								1	0.999 *
DGGE 条带数 DGGE band number									1

3 讨 论

植物化感作用是指一种植物(供体)产生并通过挥发、淋溶、根系分泌和残留物分解等方式向环境释放某些化学物质而影响周围其他植物(受体)生长和发育的生态学现象<sup>[11-12]</sup>。化感作用在农业生产中的应用极为广泛,无论是作物的单一种植,还是间作、轮作、覆盖、翻埋、重茬种植,都要考虑化感作用的影响。本试验将化感作用引入到套作栽培模式中以解决黄瓜连作障碍问题。

在葱蒜的化感作用研究中,多数结果表现为低浓度促进高浓度抑制的双重效应。例如,大蒜植株水浸液醇溶成分对受试作物表现出明显的高浓度抑制低浓度促进的双重效应<sup>[13]</sup>;大蒜根系水浸液对番茄和辣椒的幼苗生长也具有双重效应<sup>[14]</sup>。也有一些研究只表现为促进作用,如分葱对黄瓜和萝卜幼苗生长有一定促进作用,因此,在生产中,分葱可与黄瓜和萝卜进行合理的轮作与间套作<sup>[15]</sup>。本研究表明,在温室盆栽条件下,黄瓜与分蘖洋葱套作促进了黄瓜幼苗的生长,且与化感潜力强的分蘖洋葱套作更有利于黄瓜幼苗生长。这与前人研究结果不尽相同,可能的原因是:1)前人的研究主要是在实验室环境下<sup>[13-14]</sup>,而本试验为温室环境下;2)前人采用不同浓度的葱蒜植株水浸液或根系分泌物研究对受体作物的化感作用<sup>[13-14]</sup>,而本试验是在自然条件下产生的化感作用;3)研究的作物本身存在差异。

作物的生长状况与其生长的土壤环境密不可分,轮套作能明显改善土壤的理化性状,提高土壤 pH 值,有效避免土壤酸化<sup>[16]</sup>,并能增加土壤有机质

和养分含量,加快速效养分的释放<sup>[17]</sup>,有利于作物对土壤中营养元素的吸收<sup>[18]</sup>。本试验中,黄瓜套作分蘖洋葱降低了黄瓜根际土壤 EC 值、提高了 pH 值,土壤有效磷、速效钾含量有增加趋势,这与前人研究结论<sup>[16-18]</sup>相同。土壤酶活性是土壤重要的生物学特性,能反映土壤中各种生物化学过程的强度和方向及土壤微生物功能多样性<sup>[9,19-20]</sup>。玉米和蒜苗套作能显著提高玉米及蒜苗根际土壤过氧化氢酶活性<sup>[21]</sup>;轮作土壤的过氧化氢酶、脲酶和转化酶活性显著高于连作 7 年的土壤( $P<0.05$ )<sup>[22]</sup>。本试验套作处理增加了黄瓜根际土壤过氧化氢酶和转化酶活性,与前人研究<sup>[21-22]</sup>结果一致。微生物是表征土壤环境质量的主要指标之一<sup>[23]</sup>,土壤的生物群落多样性与生物活性较高,其养分含量也较为丰富。本试验套作处理黄瓜根际土壤细菌群落丰富度明显增加,为黄瓜幼苗生长创造了良好的根际微生物环境。试验各处理的共有条带序列与不可培养的土壤细菌克隆同源性较高,推测为放线菌纲(Actinobacteria)和变形菌纲(Proteobacteria)。差异条带序列与不可培养的土壤细菌克隆同源性也较高,推测为变形菌纲和酸杆菌纲(Anaerolineaceae)。分析细菌功能,条带 5、e 属于根瘤菌,根瘤菌大多数为有益细菌,具有固氮功能;条带 a、f 属于鞘氨醇单胞菌属,是土壤中的降解细菌<sup>[24]</sup>;条带 6 属于红螺旋菌科目,有报道表明,光合细菌(简称 PSB)属红螺旋菌科细菌,具有防治疾病和净化水质的功能,并能以有机物作为光合作用的供氧体兼碳源<sup>[25]</sup>。本试验脲酶与株高、全株干质量、叶面积和 DGGE 条带数呈显著正相关;DGGE 条带数与株高、全株干质量和叶面积呈正相

关;转化酶与脲酶和 DGGE 条带数呈正相关. 这表明土壤酶活性、土壤细菌群落丰富度对黄瓜幼苗生长的影响更大. 脲酶是决定土壤氮素转化的关键酶, 土壤脲酶活性的提高有利于土壤氮素肥力的提高<sup>[9]</sup>. 转化酶能促进有机物分解, 为微生物提供养料, 从而促进微生物的繁殖, 反过来, 微生物又能刺激酶活性增强<sup>[26]</sup>.

胡开辉等<sup>[27]</sup>对化感水稻的研究结果表明, 化感水稻 PI312777 (PI) 根际细菌、放线菌和固氮菌的数量高于非化感水稻 Lemont (LE); PI 根系分泌物对土壤脲酶、磷酸酶和蔗糖酶活性具有促进作用, 而对过氧化氢酶活性具有抑制作用. 本研究结论与其类似, 与分蘖洋葱 L04 (化感潜力弱) 套作相比, 与 L06 (化感潜力强) 套作处理提高了黄瓜根际土壤 pH 值、过氧化氢酶和转化酶活性, 降低了过氧化物酶活性, 改变了黄瓜根系土壤细菌群落结构并显著提高了细菌群落丰富度, 改善了黄瓜根际土壤环境, 促进了黄瓜幼苗生长. 但本试验只在温室盆栽条件下研究了套作不同化感潜力分蘖洋葱对黄瓜苗期生长及土壤生态环境的影响, 还需在大田条件下对黄瓜整个生长期的变化作进一步研究.

## 参考文献

- [1] Zhao Z-L (赵尊练), Yang G-J (杨广君), Gong Z-H (巩振辉), *et al.* Review on continuous cropping obstacle in vegetable crops. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2007, **23**(12): 278–282 (in Chinese)
- [2] Zhou Y-L (周艳丽). Research on Allelopathy and Allelochemicals of Garlic Root Exudates. PhD Thesis. Yangling, Shanxi: Northwest A and F University, 2007 (in Chinese)
- [3] Wu Y-F (吴艳飞), Gao L-H (高丽红), Li H-L (李红岭), *et al.* Effects of different aestival utilization patterns on yield and soil environment in cucumber. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2006, **39**(12): 2551–2556 (in Chinese)
- [4] Wu F-Z (吴凤芝), Wang S (王 澍), Yang Y (杨阳). Effects of rotation and intercropping on bacterial communities in rhizosphere soil of cucumber. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2008, **19**(12): 2722–2727 (in Chinese)
- [5] Yang Y, Wu FZ, Liu SW. Allelopathic effects of root exudates of Chinese onion accessions on cucumber yield and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum*. *Allelopathy Journal*, 2011, **27**: 75–86
- [6] Yang Y (杨 阳). Allelopathy of Chinese Onion Root Exudates on Cucumber and Its Application. PhD Thesis. Harbin: Northeast Agricultural University, 2010 (in Chinese)
- [7] Riley D, Barker SA. Bicarbonate accumulation and pH changes at the soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) root-soil interface. *Soil Science Society of America Journal*, 1969, **33**: 905–908
- [8] Bao S-D (鲍士旦). Soil and Agricultural Chemical Analysis. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese)
- [9] Guan S-Y (关松荫). Soil Enzymes and the Research Methods. Beijing: China Agriculture Press, 1986 (in Chinese)
- [10] Li ZY, He LM, Miao XL. Cultivable bacterial community from South China Sea sponge as revealed by DGGE fingerprinting and 16S rDNA phylogenetic analysis. *Current Microbiology*, 2007, **55**: 465–472
- [11] Rice EL. Allelopathy. 2nd Ed. New York: Academic Press, 1984
- [12] Harborne JB. Chemical signals in the ecosystems. *Annals of Botany*, 1987, **60**: 39–57
- [13] Tong F (佟 飞), Cheng Z-H (程智慧), Jin R (金瑞), *et al.* Allelopathy of methanol dissolved ingredient from garlic plant aqueous extracts. *Journal of Northwest A & F University* (Natural Science) (西北农林科技大学学报·自然科学版), 2007, **35**(6): 119–124 (in Chinese)
- [14] Zhou Y-L (周艳丽), Cheng Z-H (程智慧), Meng H-W (孟焕文), *et al.* Allelopathy of garlic root aqueous extracts and root exudates. *Journal of Northwest A & F University* (Natural Science) (西北农林科技大学学报·自然科学版), 2007, **35**(10): 87–92 (in Chinese)
- [15] Jiang L (姜 丽), Sun Y-W (孙玉文), Liu J-A (刘景安). Allelopathy of *Allium fistulosum* L. var. *caespitosum* Makino on *Cucumis sativus* L., *Raphanus sativus* L. and *Brassica chinensis* L. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2007, **23**(2): 263–266 (in Chinese)
- [16] Huang G-Q (黄国勤), Xiong Y-M (熊云明), Qian H-Y (钱海燕), *et al.* Ecological analysis of crop rotation systems in paddy field. *Acta Pedologica Sinica* (土壤学报), 2006, **43**(1): 69–78 (in Chinese)
- [17] Zheng C (郑 超), Liao Z-W (廖宗文), Tan Z-W (谭中文), *et al.* Effects of the crop rotation of pineapples-sugarcane on soil ecology. *Ecological Science* (生态科学), 2003, **21**(3): 248–249 (in Chinese)
- [18] Xiao J-X (肖靖秀), Zheng Y (郑 毅). Nutrients uptake and pests and diseases control of crops in inter-

cropping system. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2005, **21**(3): 150–154 (in Chinese)

[19] Huang HC, Chou CH, Erickson RS. Soil sickness and its control. *Allelopathy Journal*, 2006, **18**: 1–21

[20] Ma Y-H (马云华), Wei M (魏 珉), Wang X-F (王秀峰). Variation of microflora and enzyme activity in continuous cropping cucumber soil in solar greenhouse. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2004, **15**(6): 1005–1008 (in Chinese)

[21] Zhang Y (张 昱), Cheng Z-H (程智慧), Xu Q (徐强), *et al.* Analysis of soil microorganism and nutrients in corn/garlic sprouts intercropping. *Chinese Journal of Soil Science* (土壤通报), 2007, **38**(6): 1136–1140 (in Chinese)

[22] Wu F-Z (吴凤芝), Meng L-J (孟立君), Wang X-Z (王学征). Soil enzyme activities in vegetable rotation and continuous cropping system under shed protection. *Plant Nutrition and Fertilizer Science* (植物营养与肥料学报), 2006, **12**(4): 554–558 (in Chinese)

[23] Visser S, Parkinson D. Soil biological criteria as indicators of soil quality, soil microorganisms. *American Journal of Alternative Agriculture*, 1992, **7**: 33–37

[24] Xiang L (项 丽), Tang J-S (唐建设). Application of denatured gradient gel electrophoresis in environmental microbiology. *Anhui Agricultural Science Bulletin* (安徽农学通报), 2007, **13**(15): 28–30 (in Chinese)

[25] Lin F-R (林凤荣). Application of photosynthesis bacteria as additives in the rearing of grass carp *Ctenopharyngodon idellus* fingerlings. *Reservoir Fisheries* (水利渔业), 2001, **21**(6): 21 (in Chinese)

[26] Yang S-X (杨式雄), Dai J-F (戴教藩), Chen Z-X (陈宗猷), *et al.* Studies on the correlation between soil enzyme activities of different forest types and forest tree growth in the Wuyi Mountain. *Journal of Fujian Forestry Science and Technology* (福建林业科技), 1994, **21**(4): 1–12 (in Chinese)

[27] Hu K-H (胡开辉), Luo Q-G (罗庆国), Wang S-H (汪世华), *et al.* Effects of allelopathic rice on rhizosphere microbial flora and enzyme activity. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2006, **17**(6): 1060–1064 (in Chinese)

---

**作者简介** 杨 阳,女,1982年生,博士,讲师.主要从事蔬菜化感作用和植物-土壤-微生物相互关系研究. E-mail: yyang\_311@yahoo.cn

**责任编辑** 张凤丽

---