

ISSN 0564-3929

Acta Pedologica Sinica 土壤学报

Turang Xuebao

土壤学报

第五十二卷

第一期

二〇一五年一月

科学出版社



中国土壤学会
科学出版社

主办
出版

2015

第52卷 第1期

Vol.52 No.1

《土壤学报》编辑委员会

主 编: 史学正

执行编委: (按姓氏笔画为序)

丁维新	巨晓棠	王敬国	王朝辉	史 舟	宇万太	朱永官
李永涛	李芳柏	李保国	李 航	吴金水	沈其荣	张玉龙
张甘霖	张福锁	陈德明	邵明安	杨劲松	杨明义	杨林章
林先贵	依艳丽	周东美	周健民	金继运	逢焕成	胡 锋
施卫明	骆永明	赵小敏	贾仲君	徐国华	徐明岗	徐建明
崔中利	常志州	黄巧云	章明奎	蒋 新	彭新华	雷 梅
窦 森	廖宗文	蔡祖聪	蔡崇法	潘根兴	魏朝富	

编辑部主任: 陈德明

责任编辑: 汪枏生 卢 萍 檀满枝

土 壤 学 报

Turang Xuebao

(双月刊, 1948 年创刊)

第 52 卷 第 1 期 2015 年 1 月

ACTA PEDOLOGICA SINICA

(Bimonthly, Started in 1948)

Vol. 52 No. 1 Jan., 2015

编 辑 《土 壤 学 报》编 辑 委 员 会

地址: 南京市北京东路 71 号 邮政编码: 210008

电话: 025 - 86881237

E-mail: actapedo@issas.ac.cn

Edited by Editorial Board of Acta Pedologica Sinica

Add: 71 East Beijing Road, Nanjing 210008, China

Tel: 025 - 86881237

E-mail: actapedo@issas.ac.cn

主 编 史 学 正

Editor-in-Chief Shi Xuezheng

主 管 中 国 科 学 院

Superintended by Chinese Academy of Sciences

主 办 中 国 土 壤 学 会

Sponsored by Soil Science Society of China

承 办 中国科学院南京土壤研究所

Undertaken by Institute of Soil Science,
Chinese Academy of Sciences

出 版 科 学 出 版 社

Published by Science Press

地址: 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717

Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China

印刷装订 北京中科印刷有限公司

Printed by Beijing Zhongke Printing Limited Company

总 发 行 科 学 出 版 社

Distributed by Science Press

地址: 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717

Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China

电话: 010 - 64017032

Tel: 010 - 64017032

E-mail: journal@mail.sciencep.com

E-mail: journal@mail.sciencep.com

国 外 发 行 中国图书贸易总公司

Foreign China International Book Trading Corporation

地址: 北京 399 信箱 邮政编码: 100044

Add: P. O. Box 399, Beijing 100044, China

国内统一刊号: CN 32-1119/P

国内邮发代号: 2-560

国外发行代号: BM45

定价: 60.00 元

国 内 外 公 开 发 行

ISSN 0564-3929



0 1 >

9 770564 392156

菇菜套作对土壤微生物群落的影响^{*}陈 敏^{1,2,3} 王军涛^{1,2,3} 冯有智^{1,2} 李 晶⁴ 王俊华^{1,2} 林先贵^{1,2†}

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

(2 南京土壤研究所-香港浸会大学土壤与环境联合开放实验室, 南京 210008)

(3 中国科学院大学, 北京 100049)

(4 南京中科院跨克科技有限责任公司, 南京 210008)

摘 要 套作是防治连作障碍的有效方法之一,但是蔬菜和可食用菌之间的套作机理研究鲜见报道,尤其是其土壤微生物学机制。本研究建立菇菜套作体系,利用实时荧光定量 PCR 和 PCR-DGGE 技术研究土壤细菌和真菌群落的变化。结果表明,菇菜套作显著提高了番茄生物量,且其番茄果实产量最高,硝酸盐含量最低。与对照相比,菇菜套作下土壤细菌和真菌基因拷贝数量均无显著变化;DGGE 指纹图谱表明,不同处理下的细菌群落无明显差异,但是菇菜套作下真菌群落结构发生了分异,主要表现为尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和稻黑孢菌(*Nigrospora oryzae*)代表型条带的强度的下降。

关键词 菇菜套作;土壤微生物;实时荧光定量 PCR;变性梯度凝胶电泳(DGGE)

中图分类号 S154.36

文献标识码 A

中国人多地少,耕地资源不足,农业发展形势严峻^[1]。设施农业是解决我国粮食问题的有效途径之一^[2]。它在生产过程中不受或很少受自然条件的制约,能使单位土地农业生产效益大幅提升,具有高产、优质、高效和可持续发展的优势^[2]。有报道,位于半干旱地区的辽宁朝阳县,设施园艺平均效益是大田作物的 10 倍~15 倍、旱坡地作物的 30 倍~36 倍以及山地作物的 50 倍^[3]。目前,中国已成为世界上设施园艺面积最大的国家,设施蔬菜已成为中国农业中最有活力的新产业之一^[4]。但是设施蔬菜生产易引起土壤健康状况恶化^[5],如化感物质的累积^[6],病虫害加剧,微生物种群结构失衡^[7]等,从而出现连作障碍,导致蔬菜产量和品质的下降^[8],严重阻碍了设施蔬菜的发展。

套作是防治连作障碍的有效方法之一^[9]。目前,关于套作对作物产量和品质的影响已有诸多报道。例如:在发生西瓜连作障碍的土壤上,将香葱、芹菜、大蒜三种作物分别与西瓜套作均能促进西瓜生长,其株高分别为对照的 1.82 倍、1.24 倍和 1.68 倍^[10];与连作两茬的单作番茄相比,套作降低了番

茄果实的硝酸盐和亚硝酸盐含量,提高了其可溶性总糖含量和糖酸比^[11]。然而,目前关于蔬菜和可食用菌间套作的作用机理研究却鲜见报道,尤其是其土壤微生物学机制。土壤微生物是土壤生态系统的重要活性组分之一。它们直接或间接地参与了几乎所有的土壤过程^[12],驱动土壤中碳、氮、磷、硫等元素的循环过程^[13]。所以土壤微生物能够敏感地响应外界对土壤生态系统的影响。因此,土壤微生物群落结构组成及活性是衡量土壤质量和肥力的一个重要指标^[14]。

鉴于土壤微生物在土壤生态系统中的重要作用,以及当前套作体系下土壤微生物学机制的不明,在本实验中我们建立菇菜套作方式,以揭示其对土壤微生物群落的影响。菇菜套作是一种将异养型食用菌的培养与自养型蔬菜的栽培相结合的特殊套作方式^[15]。本研究以食用菌中种植最为广泛的双孢菇和蔬菜中经济价值较高的番茄作为菇菜套作的实验对象,研究菇菜套作模式下番茄生长情况和土壤微生物群落的变化,以期为设施农业可持续发展提供理论基础和实践指导。

^{*} 国家重点基础研究发展计划(“973”)项目(2011CB100505)和国家自然科学基金项目(41071168,41271256)资助

[†] 通讯作者, E-mail: xglin@issas.ac.cn

作者简介:陈 敏(1991—),女,福建三明人,硕士研究生,主要研究土壤微生物生态与功能。E-mail: mchen@issas.ac.cn

收稿日期: 2013-12-16; 收到修改稿日期: 2014-04-20

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试潮土采自河南封丘,为番茄 5 年连作土壤,经自然风干后挑除植物残体及石块,过 20 目筛。土壤 pH 8.4,有机碳 4.5 g kg⁻¹,全氮 0.45 g kg⁻¹,全磷 0.50 g kg⁻¹,全钾 18.6 g kg⁻¹。供试番茄种子为金棚一号,购自河南封丘,在蛭石基质中育苗 30 d 后定植。供试双孢菇菌种为浙江 20,购自河南开封。双孢菇培养基质的原材料购自封丘县周边农户及农资销售处,发酵配方如下:麦秸 15 kg m⁻²,牛粪 8 kg m⁻²,快腐牛粪 11 kg m⁻²,石灰 0.5 kg m⁻²,过磷酸钙 0.7 kg m⁻²,石膏 0.7 kg m⁻²,尿素 0.2 kg m⁻²。盆栽容器采用 30 cm×20 cm×20 cm 的方形塑料盆。

1.2 试验方法

盆栽试验在中国科学院南京土壤研究所日光温室进行,试验时间为 2010 年 8 月—2011 年 1 月,设置 3 个处理:未添加双孢菇培养基质且未接种双孢菇菌种的对照处理(L)、添加双孢菇培养基质而不接种双孢菇菌种处理(LS)、添加双孢菇培养基质

并接种双孢菇菌种的菇菜套作处理(LSA),每个处理 3 个重复。具体方法为:在装有 4 kg 土壤的实验盆对角处移栽番茄苗两株,株距约 30 cm,在两株苗中间挖一深 20 cm、宽 15 cm 的沟,LS 处理仅添加 1.5 kg 双孢菇培养基质,LSA 处理添加 1.5 kg 双孢菇培养基质并接入 20 g 双孢菇菌种。番茄定植 90 d 后收获。植株采收时分地上部和地下部,于 90 ℃杀青 1 h 后经 65 ℃烘至恒重,测定其生物量。采用水杨酸-硫酸比色法测定果实硝酸盐含量,详细步骤参见文献[16]。盆中土壤在去除植物残体后混匀,采集样品,置于-80 ℃冰箱保存备用。

1.3 土壤微生物总 DNA 提取

称取 0.5 g 土壤样品,采用土壤 DNA 快速提取试剂盒(MP Biomedicals, Santa Ana, CA)提取土壤微生物总 DNA,具体实验步骤详见说明书。提取后的 DNA 保藏于-20 ℃备用。

1.4 PCR-DGGE

PCR 扩增:细菌 16S rRNA 基因片段扩增采用引物 341F-GC/907R(表 1),真菌 18S rRNA 基因片段扩增采用引物 FF390/FR1-GC(表 1),PCR 产物均于 4 ℃恒温保存。

表 1 实验所需引物
Table 1 Primers used in this investigation

目标微生物 Target microbe	正向引物 Forward primer(5' to 3')	反向引物 Reverse primer(5' to 3')	用途 Usage
细菌 16S rRNA 基因 ^[17] Bacterial 16S rRNA genes	341F-GC(CCCCGCCGCGCGCGGC		
	GGGCGGGCGGGGGCACGGGCCG	907R(CCGTCAATTCMTTTRAGTTT)	DGGE
	CCTACGGGAGGCAGCAG)		
	519F(CAGCMGCCGCGTAATWC)	907R	qPCR
真菌 18S rRNA 基因 ^[18] Fungal 18S rRNA genes	FF390(CGATAACGAACGAGACCT)	FR1-GC(CCCCGCCGCGCGCGGC	
		GGGCGGGCGGGGGCACGGGCCG	DGGE
		AICCATTC AATCGGTAIT)	
	FF390	FR1(AICCATTC AATCGGTAIT)	qPCR

变性梯度凝胶电泳(denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE):采用 BIO-RAD Dcode 系统(Bio-Rad, CA, USA)对 PCR 产物进行 DGGE 分析。对于细菌 16S rRNA 基因,变性剂梯度范围为 40%~80%(100% 变性剂组成为 7 mol L⁻¹ 尿素和 40%(体积比)去离子甲酰胺),聚丙烯酰胺凝胶浓度为 6%(丙烯酰胺-甲叉双丙烯酰胺(37.5:1));对于真菌 18S rRNA 基因,变性剂梯度范围为 45%~65%,聚丙烯酰胺凝胶浓度为 8%。PCR 产物上样量约为

150~250 ng DNA,在 60 ℃的 1×TAE 缓冲液(40 mmol L⁻¹ Tris, 20 mmmol L⁻¹ Acetic acid,1 mmol L⁻¹ EDTA, pH 8.3),75 V 恒定电压下电泳 15 h,电泳后用 SYBR Green I (Invitrogen)(1:10 000,体积比)染色 30 min,用自动凝胶成像系统 Gel DocTM EQ Imager(Bio-Rad)拍照检测,并用 Quantity One 4.4.0 (Bio-Rad)对图像进行分析。

1.5 切胶回收测序并构建系统发育树

将真菌 DGGE 图谱上的代表性条带分别切割

后置于 1.5 ml 离心管中,加入 30 μl ddH₂O 过夜溶解,分别取 1 μl 上清液作为模板,以 FR1/FF390 为引物进行 PCR 扩增。将 PCR 产物切胶回收后,连接到 pEASY-T1 载体上,并转化进入大肠杆菌 Trans1-T1 感受态细胞中,将阳性克隆接入 350 μl 已加氨苄的 LB 液体培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 摇床 200 r min^{-1} 培养 3~4 h 后,将菌液送往上海英骏生物技术有限公司测序。条带的测序结果在 GenBank 中进行 Blast 比对分析,挑选与序列最相似的亲缘关系,然后利用 Cluster W 软件进行多重序列比对,根据 N-J (Neighbor-Joining) 法,利用 MEGA 4.0 软件构建系统发育树。

1.6 实时荧光定量 PCR (Real-time quantitative PCR, qPCR)

采用 CFX96TM Thermal Cyclers (Bio-Rad) 对土壤细菌 16S rRNA 和真菌 18S rRNA 基因拷贝数进行定量分析。首先分别建立细菌 16S rRNA 基因片段和真菌 18S rRNA 基因片段的标准曲线:将含有正确基因片段的克隆子培养扩大,提取质粒 DNA,纯化并定量;以 10 倍稀释法建立每微升 $1.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^8$ 基因拷贝数的标准曲线;实时荧光定量 PCR 体系依据 SYBR Premix Ex TaqTM Kit (TaKaRa) 试剂盒说明。PCR 产物经溶解曲线 (Melting curve analysis) 和琼脂糖电泳验证,确认其专一性和有效性。依据基因拷贝数和 Cycle threshold (C_T) 的线性

方程,利用外延法根据环境样品的 C_T 值计算出环境样品中相应基因片段的拷贝数。

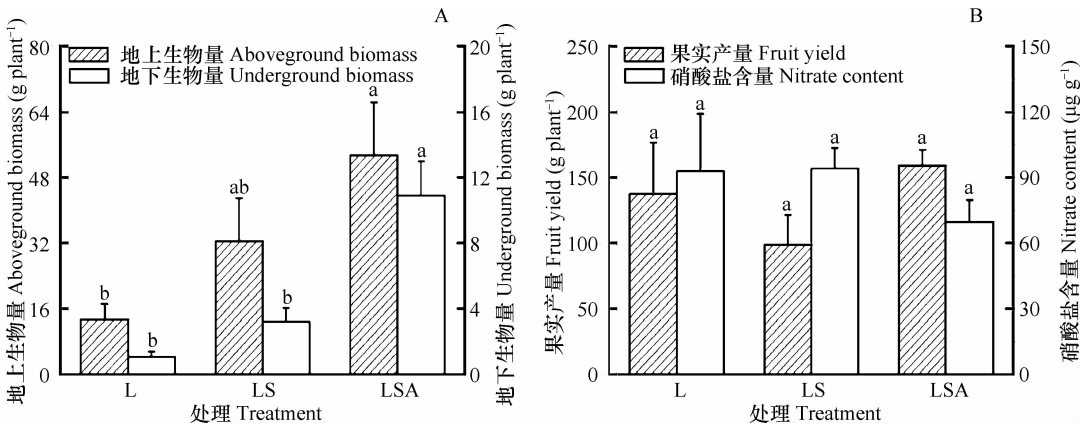
1.7 数据分析

采用 SPSS 20.0 进行统计分析,并使用 Duncan 检验进行多重比较 ($p < 0.05$)。采用 Canoco 软件进行主成分分析 (Principal component analysis, PCA)。

2 结 果

2.1 植株生物量与果实品质

各处理间番茄植株地上部及地下部生物量的变化如图 1A 所示。LSA 处理的地上部和地下部生物量最高,为 53.4 g 株^{-1} 和 10.9 g 株^{-1} ,均显著高于对照 L 处理 (13.3 g 株^{-1} 和 1.1 g 株^{-1}) ($p < 0.05$);而 LS 的生物量处于两者之间,分别为 32.4 g 株^{-1} (地上部) 和 3.2 g 株^{-1} (地下部)。菇菜套作对番茄产量的影响如图 1B 所示:LSA 处理下的番茄产量最高,达到 159.2 g 株^{-1} ,其次为 L 处理 (137.6 g 株^{-1}),LS 处理 (98.5 g 株^{-1}) 的产量最低,但差异均未达到显著性水平。此外,从图 1B 还可看出,虽然各个处理间番茄硝酸盐含量没有显著性差异,但是 LSA 处理有降低番茄硝酸盐含量的趋势,即 LSA 处理在提高番茄生物量和产量的同时,可能有助于促进番茄品质的提高。



注:L:未添加双孢菇培养基且未接种双孢菇菌种(对照);LS:添加双孢菇培养基质而不接种双孢菇菌种;LSA:添加双孢菇培养基质并接种双孢菇菌种。图中同一柱形字母不同表示处理间差异显著($p < 0.05$)。下同 Note: L: Control without addition of any mushroom culturing media or inoculation of mushroom spores; LS: Mushroom culturing media added, but no mushroom spores inoculated; LSA: Mushroom culturing media added and mushroom spores inoculated. Different letters in the same column indicate significant difference among treatments ($p < 0.05$). The same below

图1 不同处理下番茄地上、地下部生物量(A),果实产量及硝酸盐含量(B)

Fig. 1 Aboveground and underground biomasses of tomato (A), and yield and nitrate content of tomato fruit (B) of the plant relative to treatment

2.2 细菌和真菌基因拷贝数

采用实时荧光定量 PCR 技术对不同处理下土壤细菌 16S 和真菌 18S rRNA 的基因拷贝数进行测定(图 2)。结果显示,虽然 LS 处理下的细菌和真菌基因拷贝数均显著低于其他处理($p < 0.05$),但是 LSA 处理有增加 L 处理土壤中细菌和真菌的基因拷

贝数的趋势,虽然未达到显著水平,即细菌和真菌基因拷贝数分别从 L 处理中的 1.33×10^{10} 基因拷贝数 g^{-1} 干土(细菌)和 6.97×10^8 基因拷贝数 g^{-1} 干土(真菌)分别增加至 1.47×10^{10} 基因拷贝数 g^{-1} 干土(细菌)和 7.04×10^8 基因拷贝数 g^{-1} 干土(真菌)。

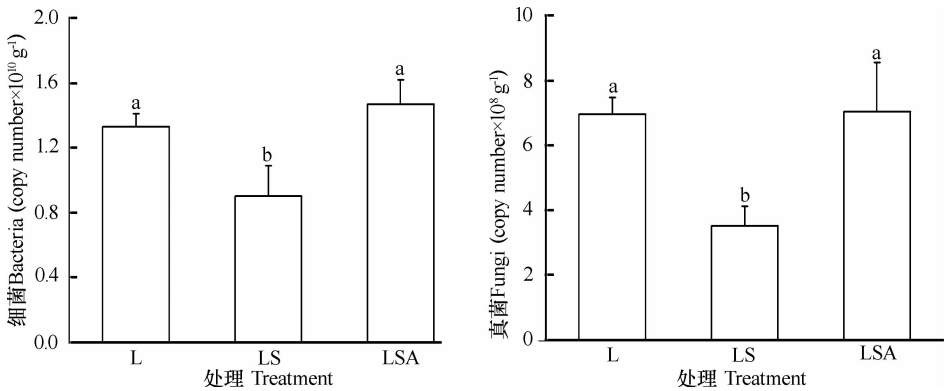


图 2 不同处理下土壤细菌 16S 和真菌 18S rRNA 基因拷贝数
Fig. 2 Numbers of copies of soil bacterial 16S and fungal 18S rRNA genes relative to treatment

2.3 细菌群落结构

细菌 16S rRNA 基因的 DGGE 指纹图谱如图 3A 所示,各处理中优势条带数目大致相同,且各条带的强度和迁移率无明显差异。聚类分析结果也表

明(图 3B),各处理的细菌群落结构差异不大,相似度均在 70% 以上,说明菇菜套作对土壤优势细菌的群落结构没有影响。

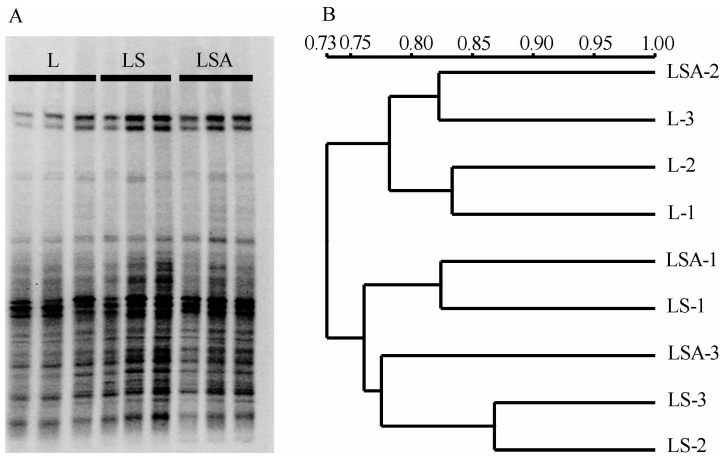


图 3 不同处理下土壤细菌 16S rRNA 基因的 DGGE 指纹图谱(A)和相似性聚类图(B)
Fig. 3 DGGE fingerprinting profile (A) and similarity dendrogram (B) of soil bacterial 16S rRNA genes relative to treatment

2.4 真菌群落结构的变化及其主成分分析

真菌 18S rRNA 基因的 DGGE 指纹图谱表明,各处理的优势条带数目不等,且多个条带的强度有所不同(图 4A)。其中,LSA 处理中条带 4 和条带 6 与其他处理相比,强度明显减弱,说明菇菜套作下这两个条带代表的真菌数量有所下降。聚类分析结果表明(图 4B),LSA 处理与其他处理的相似系数

最低,即 LSA 处理的群落结构和其他处理有明显差异。

为了更好地解析不同处理下土壤真菌群落的演替,对土壤优势真菌群落结构组成进行了主成分分析(图 5)。结果表明:第一个主成分(PC1)对土壤优势真菌群落结构分异的贡献率为 35.2%,第二个主成分(PC2)的贡献率为 21.8%,前两个共能解

释总变量的 57.0%。在 PC1 上,LSA 处理与其他两个处理明显分开,在 PC2 上,L 处理和 LS 处理明显

分开,即菇菜套作对土壤中优势真菌群落结构产生影响。

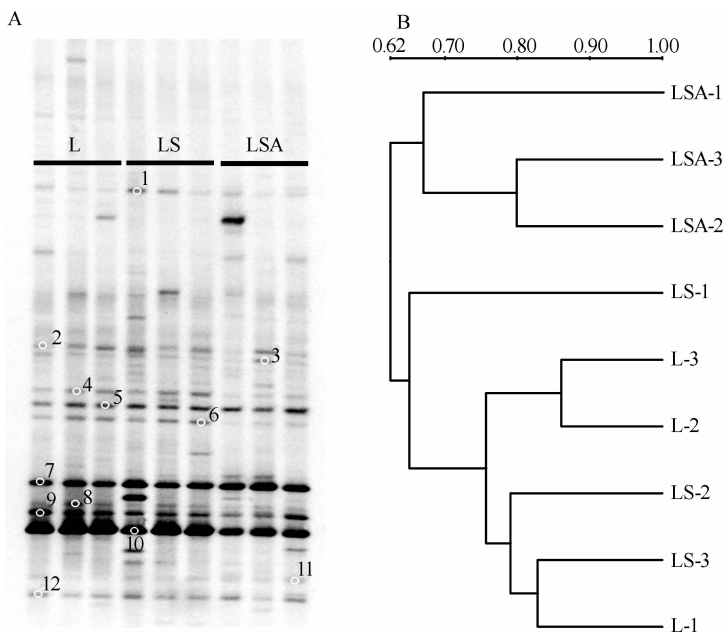


图 4 不同处理下土壤真菌 18S rRNA 的 DGGE 指纹图谱 (A) 和群落结构相似性聚类图 (B)
Fig. 4 DGGE fingerprints profile (A) and community structure dendrogram (B) of soil fungal 18S rRNA
genes relative to treatment

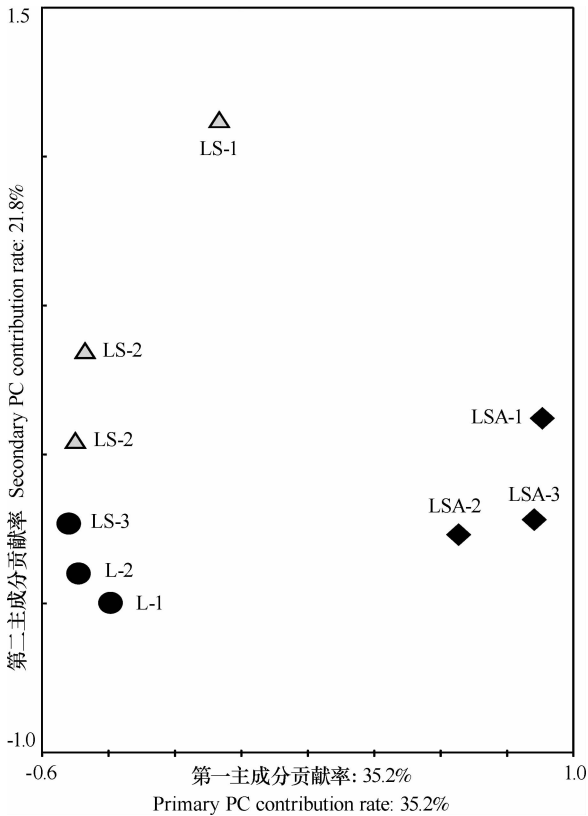


图 5 不同处理下土壤真菌群落结构变化的主成分分析
Fig. 5 Principal component analysis of changes in soil fungal
community structure relative to treatment

2.5 不同处理下土壤优势真菌系统发育树

对真菌 18S rRNA 基因指纹图谱上 12 个优势条带切胶回收、测序和构建系统发育树 (图 6)。结果表明,除条带 1 外,其他条带均隶属于盘菌亚门 (Peizizomycotina)。在纲水平下,条带 2、4、5、6、7、8、10 均隶属于粪壳菌纲 (Sordariomycetes); 条带 3、9、11、12 均隶属于散囊菌纲 (Eurotiomycetes)。其中 LSA 处理下强度明显减弱的条带 4 和 6 分别隶属于尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 和稻黑孢菌 (*Nigrospora oryzae*)。

3 讨 论

菇菜套作是一种将异养型食用菌的培养与自养型蔬菜的栽培相结合的套作方式^[15]。在本研究中,番茄双孢菇套作促进了番茄生长,提高了番茄地上和地下生物量。这与很多已有报道的结果相一致,例如与对照相比,套种三叶草的樱桃番茄产量增加 14.4%^[19]。套作优势原因可能有以下两方面:其一,双孢菇分解培养基质直接为番茄生长提供了丰富的养分,促进了植株根系生长,增加了根系分泌物;同时也为土壤微生物提供更多的营养及能源,增强土壤微生物活性,促进土壤物质的转化。

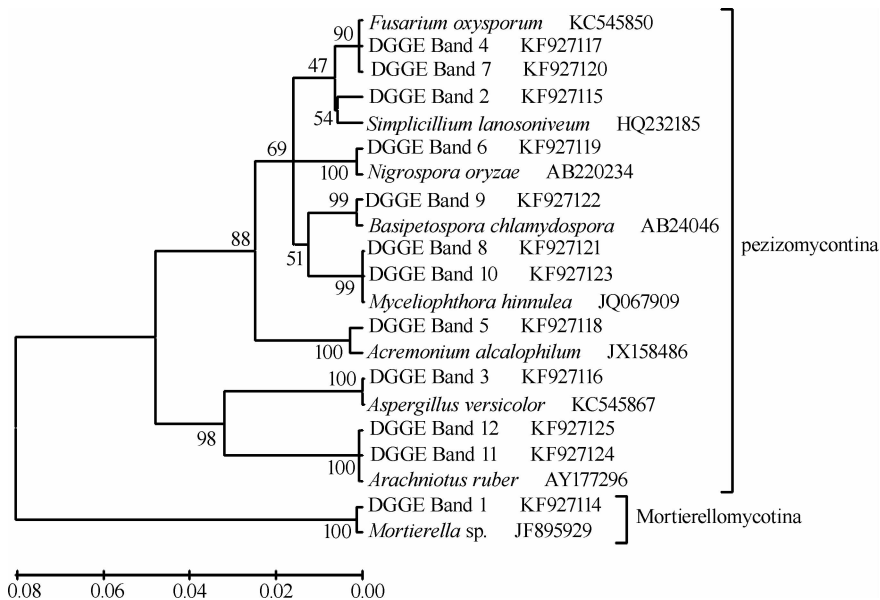


图 6 土壤真菌优势条带的系统发育树分析

Fig. 6 Phylogenetic tree of dominant DGGE bands of soil fungal 18S rRNA genes

李宪文等^[20]对菌粮菜套作的农田生态系统的土壤肥力特征进行了研究,结果表明菌粮菜地的土壤有机质较小麦-玉米地和菜园地分别增加了 36.3% 和 29.9%,土壤全氮含量较小麦-玉米地和菜园地分别提高了 9.7% 和 8.7%,土壤呼吸强度也显著高于小麦-玉米地,即微生物活性得到增强。本实验室相关工作已发现^[15]番茄地套作蘑菇后表征土壤微生物活性的关键酶活性,如土壤磷酸酶活性显著提高。其二、推测双孢菇利用番茄光合作用产生的 O₂ 生长,而双孢菇生长产生的 CO₂ 能够提供给番茄进行光合作用,从而促进番茄地上部的生长,该部分还需要进一步的实验验证。此外,本实验结果还表明,菇菜套作在显著增加了番茄生物量的同时,也在一定程度上提高了其产量和品质,但并未达到显著水平,这可能与试验周期较短有关。相信随着套作方式的持续,作物产量和品质均会有显著的改善。

菇菜套作不仅影响了土壤微生物活性,对其群落结构也产生了影响。首先利用 qPCR 对不同处理下土壤细菌和真菌数量进行了测定。结果表明,与对照相比,菇菜套作对细菌和真菌数量无显著影响。这可能是土壤细菌基数庞大,且试验开展年限短的原因。此外,PCR-DGGE 指纹图谱分析也表明,与对照相比,菇菜套作对优势细菌的群落结构无影响。但是,真菌群落结构的差异较大,尤其表现为菇菜套作中条带 4 和条带 6 所代表的真菌物种数量的降低。真菌群落对环境的敏感性要高于细菌,且能够更好地反映土壤健康状况^[21],因此在本研究

中只检测到真菌群落结构发生了变化。系统发育分析进一步表明,条带 4 和 6 的序列与尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 和 稻 黑 孢 菌 (*Nigrospora oryzae*) 亲缘性较高。稻黑孢菌与多种作物叶斑病有关,如棉花^[22]、真芦荟^[23]等,且能导致芥菜茎部枯萎^[24]。尖孢镰刀菌是一种世界性分布的土传病害真菌^[25],可引起 100 多种植物枯萎病^[26],导致严重的经济损失:病田一般减产 20%~30%,严重田块可达 50%~60%,甚至绝产^[27]。枯萎病在番茄、黄瓜等茄果类蔬菜上危害最为严重,一般田块发病率在 5% 左右,重者可达 30% 以上^[28]。因此,本研究表明菇菜套作可通过抑制某些病原菌(如稻黑孢菌、尖孢镰刀菌等)来降低番茄土传病害的发病率,进而促进番茄增产增质和维系土壤质量。

4 结 论

双孢菇与番茄套作可能通过抑制土壤中某些病害真菌,如尖孢镰刀菌和稻黑孢菌的生长,降低土传病害的发病机率,维系土壤健康,进而能够显著提高番茄地上、地下生物量,并有助于产量的提高和品质的改善。

参 考 文 献

[1] 廖允成,王立祥. 设施农业与中国农业现代化建设. 农业现代化研究, 1999, 20(1): 5—8. Liao Y C, Wang L X. Installation agriculture and the building of Chinese agricultural modern-

- ization (In Chinese). Research of Agricultural Modernization, 1999, 20(1): 5—8
- [2] 鲍顺淑, 齐飞, 魏晓明, 等. 中国设施园艺发展的意义和作用. 北方园艺, 2010 (15): 25—28. Bao S S, Qi F, Wei X M, et al. Significance and role of protected horticulture in China (In Chinese). Northern Horticulture, 2010 (15): 25—28
- [3] 杜显良. 从朝阳县农业生产现状看设施农业发展优势. 吉林蔬菜, 2008 (1): 79—80. Du X L. Research on advantages of greenhouse cropping system with the example of current agricultural production situation of Chaoyang County (In Chinese). Jilin Vegetable, 2008 (1): 79—80
- [4] 郝丽娟, 刘春艳, 王勇, 等. 设施蔬菜连作障碍的研究现状及综合调控. 中国农学通报, 2007, 23(8): 396—398. Hao Y J, Liu C Y, Wang Y, et al. Present condition of research and integrated control on replant disease in greenhouse vegetable (In Chinese). Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007, 23(8): 396—398
- [5] 刘建国, 张伟, 李彦斌, 等. 新疆绿洲棉花长期连作对土壤理化性状与土壤酶活性的影响. 中国农业科学, 2009, 42(2): 725—733. Liu J G, Zhang W, Li Y B, et al. Effects of long-term continuous cropping system of cotton on soil physical-chemical properties and activities of soil enzyme in oasis in Xinjiang (In Chinese). Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(2): 725—733
- [6] 韩丽梅, 沈其荣, 鞠会艳, 等. 大豆地上部水浸液的化感作用及化感物质的鉴定. 生态学报, 2002, 22(9): 1425—1432. Han L M, Shen Q R, Ju H Y, et al. Allelopathy of the aqueous extracts of aboveground parts of soy-bean and the identification of the allelochemicals (In Chinese). Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(9): 1425—1432
- [7] 杜茜, 卢迪, 马琨. 马铃薯连作对土壤微生物群落结构和功能的影响. 生态环境学报, 2012, 21(7): 1252—1256. Du Q, Lu D, Ma K. Effect of potato continuous cropping on soil microbial community structure and function (In Chinese). Ecology and Environmental Sciences, 2012, 21(7): 1252—1256
- [8] 沈宝云, 刘星, 王蒂, 等. 甘肃省中部沿黄灌区连作对马铃薯植株生理生态特性的影响. 中国生态农业学报, 2013, 21(6): 689—699. Shen B Y, Liu X, Wang D, et al. Effects of continuous cropping on potato eco-physiological characteristics in the Yellow River irrigation area of the central Gansu Province (In Chinese). Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2013, 21(6): 689—699
- [9] 于高波. 不同轮套作方式对黄瓜产量及其根际土壤微生态环境的影响. 哈尔滨: 东北农业大学, 2009. Yu G B. Effects of different rotation and intercropping modes on cucumber yield and rhizosphere soil microbial environment (In Chinese). Harbin: Northeast Agricultural University, 2009
- [10] 姜志廷, 刘林德, 郑宪清, 等. 三种套作模式对连作西瓜生长和土壤微生物区系的影响. 上海农业学报, 2012, 28(1): 60—64. Jiang Z T, Liu L D, Zheng X Q, et al. Effects of three relay intercropping patterns on watermelon growth and soil microflora in continuous cropping (In Chinese). Acta Agriculturae Shanghai, 2012, 28(1): 60—64
- [11] 郝丽霞. 大棚番茄套作大蒜的生物效应和生态效应研究. 陕西杨凌: 西北农业科技大学, 2010. Hao L X. Study on biological and ecological effects of interplanting tomato/garlic under plastic tunnel (In Chinese). Yangling, Shanxi: Northwest A & F University, 2010
- [12] 周丽霞, 丁明懋. 土壤微生物学特性对土壤健康的指示作用. 生物多样性, 2007, 15(2): 162—171. Zhou L X, Ding M M. Soil microbial characteristics as bioindicators of soil health (In Chinese). Biodiversity Science, 2007, 15(2): 162—171
- [13] 郭瑞英, 陈清, 李晓林. 土壤微生物—抑病性与土壤健康. 中国蔬菜, 2005(增刊): 78—82. Guo R Y, Chen Q, Li X L. The influence of soil microorganism community on the soil healthy and disease suppressiveness (In Chinese). China Vegetables, 2005 (suppl): 78—82
- [14] 王光华, 金剑, 徐美娜, 等. 植物、土壤及土壤管理对土壤微生物群落结构的影响. 生态学杂志, 2006, 25(5): 550—556. Wang G H, Jin J, Xu M N, et al. Effects of plant, soil and soil management on soil microbial community diversity (In Chinese). Chinese Journal of Ecology, 2006, 25(5): 550—556
- [15] 王军涛, 尹睿, 胡君利, 等. 番茄地套作蘑菇对土壤肥力和生物活性的影响. 土壤通报, 2012, 43(3): 627—630. Wang J T, Yin R, Hu J L, et al. Effects of intercropping mushroom on the fertility and biological activity in a fluvo-aquic soil for planting tomato (In Chinese). Chinese Journal of Soil Science, 2012, 43(3): 627—630
- [16] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000. Li H S. Principle and technology of plant physiology and biochemistry experiment (In Chinese). Beijing: Higher Education Press, 2000
- [17] Muyzer G, Brinkhoff T, Nübel U, et al. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial ecology. // Kowalchuk G A, de Bruijn F J, Head I M, et al. Molecular microbial ecology manual. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2004
- [18] Vainio E J, Hantula J. Direct analysis of wood-inhabiting fungi using denaturing gradient gel electrophoresis of amplified ribosomal DNA. Mycological Research, 2000, 104(8): 927—936
- [19] 杨冬艳, 郭文忠, 曲继松, 等. 套种三叶草对日光温室樱桃番茄生长及根际土壤环境的影响. 西北农业学报, 2012, 21(6): 108—111, 128. Yang D Y, Guo W Z, Qu J S, et al. Effect of interplanting clover on growth and rhizosphere soil environment of cherry tomato in greenhouse (In Chinese). Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2012, 21(6): 108—111, 128
- [20] 李宪文, 蔡德华, 李汉昌. 菌粮菜农田生态系统土壤肥力特征的研究. 土壤通报, 1997, 8(6): 271—273. Li X W, Cai D H, Li H C. Research on characteristics of soil fertility in edible fungi-grain-vegetable interplanting system (In Chinese). Chinese Journal of Soil Science, 1997, 28(6): 271—273
- [21] He J Z, Zheng Y, Chen C R, et al. Microbial composition and diversity of an upland red soil under long-term fertilization treatments as revealed by culture-dependent and culture-independent approaches. Journal of Soils and Sediments, 2008, 8(5): 349—

- 358
- [22] Zhang L X, Li S S, Tan G J, et al. First report of *Nigrospora oryzae* causing leaf spot of cotton in China. *Plant Disease*, 2012, 96(9): 1379—1380
- [23] Zhai L F, Liu J, Zhang M X, et al. The first report of leaf spots in *Aloe vera* caused by *Nigrospora oryzae* in China. *Plant Disease*, 2013, 97(9): 1256—1257
- [24] Sharma P, Meena P D, Chauhan J S. First report of *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch causing stem blight on *Brassica juncea* in India. *Journal of Phytopathology*, 2013, 161(6): 439—441
- [25] 郝晓娟, 刘波, 谢关林. 植物枯萎病生物防治研究进展. *中国农学通报*, 2005, 21(7): 319—322, 337. Hao X J, Liu B, Xie G L. Research progress in biological control of *Fusarium* wilt disease (In Chinese). *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(7): 319—322, 337
- [26] 肖荣凤, 朱育菁, 蓝江林, 等. 黄瓜尖孢镰刀菌的营养特性. *中国农学通报*, 2008, 24(5): 299—303. Xiao R F, Zhu Y J, Lan J L, et al. Effects of nutritive components on growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerium* (In Chinese). *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, 24(5): 299—303
- [27] 高军, 高增贵, 赵世波. 甜瓜枯萎病菌的抗药性及致病力测定. *江苏农业科学*, 2006(4): 39—40. Gao J, Gao Z G, Zhao S B. Research on pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *muskmelon* and its resistance to fungicides (In Chinese). *Jiangsu Agriculture Sciences*, 2006(4): 39—40
- [28] 王治林, 朱剑花, 岳菊, 等. 茄果类蔬菜枯萎病及其综合防治. *江苏农业科学*, 2010(6): 168—171. Wang Z L, Zhu J H, Yue J, et al. Intergrated management of *Fusarium* wilt disease of solanaceous vegetables (In Chinese). *Jiangsu Agriculture Sciences*, 2010(6): 168—171

CHANGES IN SOIL MICROBIAL COMMUNITY IN RESPONSE TO TOMATO-*AGARICUS BISPORUS* INTERPLANTING

Chen Min^{1,2,3} Wang Juntao^{1,2,3} Feng Youzhi^{1,2} Li Jing⁴ Wang Junhua^{1,2} Lin Xiangui^{1,2†}

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(2 Joint Open Laboratory of Soil and the Environment, Institute of Soil Science and HongKong Baptist University, Nanjing 210008, China)

(3 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

(4 Kuake Science and Technology Limited Liability Company, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract Facility agriculture is an efficient way to solve the problem of food supply in China. However, it tends to lead to deterioration of soil health, such as the occurrence of continuous cropping obstacle, which in turn, triggers decline in yield and quality of the vegetables in facility agriculture. Interplanting is an effective way to avoid continuous cropping obstacle. Numerous reports have been published on positive effects of interplanting of vegetables on vegetable production, but few are available on effect of interplanting of vegetable with edible fungi, let alone papers on its underlying mechanisms, such as soil microbiological mechanism.

For this purpose, a tomato-*Agaricus bisporus* interplanting experiment was laid out. Tomato is a thermophilic and photophilic species of plant while *Agaricus bisporus* prefers to grow in dark environment. Therefore the latter can flourish in the shade of the former. From the angle of gas exchange, tomatoes can get more CO₂ for photosynthesis from respiration of *Agaricus bisporus*, while *Agaricus bisporus* can have more O₂ generated from tomato in photosynthesis to decompose cultural media into nutrients available to tomato for growth. It is, therefore, hypothesized that the relationship of mutual benefit between tomato and *Agaricus bisporus* should contribute to improvement of crop yield and soil quality in facility agriculture.

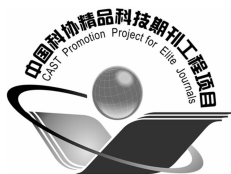
In the interplanting experiment, tomato seeds were sown in vermiculite for seedling culture. Thirty days later, the seedlings were transplanted into pots, 2 seedlings each planted in diagonally opposite corners and a ditch was dug in between the two plants for culturing of *Agaricus bisporus*. The experiment was designed to have three treatments, each having three replicates; i. e. Treatment L (control without addition of any mushroom culturing media or inoculation of mushroom spores in the ditch); Treatment LS (mushroom culturing media added, but no mushroom spores inoculated); and Treatment LSA (mushroom culturing media added and mushroom spores inoculated). Biomasses of tomato plants, fresh weight of fruits and nitrate contents therein from different treatments were measured for analysis of effects of the interplanting on yield and equality of the tomato. For the microbial mechanisms, real-time quantitative PCR and PCR-DGGE fingerprinting analyses of targeting soil bacteria and fungi were conducted to determine numbers of copies of 16S and 18S rRNA genes

and community compositions.

Results show that Treatment LSA significantly increased tomato biomasses ($p < 0.05$) and was the highest in fruit yield, but the lowest in nitrate content in tomato among the treatments. Though the numbers of gene copies of soil bacteria and fungi did not vary much statistically in the soil under the interplanting as compared those in the control, they were the highest in Treatment LSA. The PCR-DGGE fingerprinting profiles reveal that the treatments differed slightly in composition of soil bacterial community, but the PCR-DGGE fingerprinting profiles of the fungal 18S rRNA genes show that Band 4 and Band 6 were obviously lower in intensity in Treatment LSA than in the other two treatments. Cluster analysis indicates that Treatment LSA differed significantly from the other two in soil fungal community composition, that is, in Treatment LSA differentiation occurred in fungal community structure. Moreover, principal component analysis of the changes in soil fungal community structure in different treatments shows that along the X axis (primary principal component), Treatment LSA deviated from the other two and along the Y axis (secondary principal component), Treatment L parted apparently from Treatment LS, indicating that Treatment LSA had some apparent impact on community structure of the dominant soil fungi. By sequencing and constructing phylogenetic tree, it was found that Band 4 and Band 6 that decreased significantly in intensity in the DGGE fingerprinting profiles were affiliated with *Fusarium oxysporum* and *Nigrospora* respectively, both of which were documented as pathogens. All in all, the findings suggest that interplanting of tomato with *Agaricus bisporus* may reduce the incidence of some soil borne diseases by inhibiting certain pathogenic microbes, thus contributing to improvement of yield and quality of the crops and soil quality as well.

Key words Tomato-*Agaricus bisporus* interplanting system; Soil microorganisms; Real-time quantitative PCR; Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)

(责任编辑:卢 萍)



土壤学报

(Turang Xuebao)



第 52 卷 第 1 期 2015 年 1 月

目 次

综述与评论

农业土壤学研究:侯光炯学术思想形成之考察——纪念侯光炯先生诞辰 110 周年..... 申丽娟 丁恩俊 陈绍兰等(1)

土壤多样性研究趋势与未来挑战 任圆圆 张学雷(9)

土壤磷酸盐氧同位素分析方法和应用研究进展 张 晗 王佳妮 郭庆军等(19)

研究论文

土壤制图中多等级代表性采样与分层随机采样的对比研究 杨 琳 朱阿兴 张淑杰等(28)

河南省典型淋溶土土系划分研究 鞠 兵 吴克宁 李 玲等(38)

黄土坡面细沟侵蚀发育过程与模拟 吴淑芳 刘政鸿 霍云云等(48)

黄土丘陵区小流域土壤有效水空间变异及其季节性特征 高晓东 吴普特 张宝庆等(57)

科尔沁沙丘-草甸相间地区表土饱和和导水率的土壤传递函数研究 孙 丽 刘廷玺 段利民等(68)

砒砂岩风化物对土壤水分特征曲线及蒸发的影响 张 磊 齐瑞鹏 张应龙等(77)

稳定同位素²⁰²Hg 稀释技术测定土壤汞有效性——与化学提取方法比较 郑顺安 徐志宇 王 飞等(87)

土壤提取液中酰基高丝氨酸内酯的气相色谱-质谱检测方法优化 生弘杰 宋 洋 卞永荣等(95)

复合污染土壤中土霉素的吸附行为及其对土壤重金属解吸影响的研究 陈励科 马婷婷 潘 霞等(104)

污染区千金子和酢浆草根际土壤中 PAHs 结合态残留的梯度分布 王意泽 高彦征 彭安萍等(112)

土壤磷解吸特性对菜稻轮作田间渗漏水总磷浓度的影响 章明清 李 娟 孔庆波(120)

湖区小麦-玉米轮作模式下不同施肥措施调控氮磷养分流失研究 谭德水 江丽华 谭淑樱等(128)

鄱阳湖洲滩湿地土壤-水-植物系统中磷的静态迁移研究 徐 进 徐力刚 丁克强等(138)

菇菜套作对土壤微生物群落的影响 陈 敏 王军涛 冯有智等(145)

黄土高原油松根际土壤酶活性及真菌群落多样性研究——以黄龙山林场为例 褚洪龙 李 莎 唐 明(154)

硅介导番茄青枯病抗性的土壤定量蛋白质组学研究 陈玉婷 林威鹏 范雪滢等(162)

有机无机肥配施对红壤旱地花生生理特性、产量及品质的影响 许小伟 樊剑波 陈 晏等(174)

氮素富集对青藏高原高寒草甸土壤有机碳迁移和累积过程的影响 李林森 程淑兰 方华军等(183)

长期施肥下黑土活性有机质和碳库管理指数研究 何翠翠 王立刚 王迎春等(194)

火烧和保留采伐剩余物对土壤有机碳矿化的影响 吴君君 杨智杰 刘小飞等(203)

研究简报

碳氮稳定同位素检测能力的验证——2013 年实验室间比对分析结果的汇总 曹亚澄 韩 勇 唐昊冶等(212)

土壤厚度的划分标准与案例研究 易 晨 李德成 张甘霖等(220)

积盐条件下土壤酸化过程的特异性研究 王媛华 段增强 赵 宇等(228)

四川省不同区域水稻氮肥施用效果研究 张 智 王伟妮 李 昆等(234)

小叶锦鸡儿灌丛化对退化沙质草地土壤孔隙特征的影响 李宗超 胡 霞(242)

信息

《土壤学报》2013 年度优秀论文评选揭晓 (241)

封面图片:黄土坡面细沟形态发育过程(由吴淑芳提供)

CONTENTS

Reviews and Comments

Agricultural soil science research: Formation of Hou Kuangchun's academic thought—Celebrate 110th anniversary of Mr Hou Kuangchun's birth	Shen Lijuan, Ding Enjun, Chen Shaolan, et al. (8)
Study on pedodiversity: Status quo and future challenges	Ren Yuanyuan, Zhang Xuelei(17)
Advance in study on method for oxygen isotopic analysis of phosphate in soil and its application	Zhang Han, Wang Jiani, Guo Qingjun, et al. (26)

Research Articles

A comparative study of multi-grade representative sampling and stratified random sampling for soil mapping	Yang Lin, Zhu A-xing, Zhang Shujie, et al. (37)
Classification of Typical Argosols of Henan Province at soil series level of Chinese Soil Taxonomy	Ju Bing, Wu Kening, Li Ling, et al. (47)
Development of rill erosion on loess slope and its simulation	Wu Shufang, Liu Zhenghong, Huo Yunyun, et al. (55)
Spatial variability of available soil moisture and its seasonality in a small watershed in the hilly region of the Loess Plateau	Gao Xiaodong, Wu Pute, Zhang Baoqing, et al. (66)
Prediction of saturated hydraulic conductivity of surface soil in sand-dune-and-meadow interlaced region of Horqin with pedo-transfer functions method	Sun Li, Liu Tingxi, Duan Limin, et al. (75)
Effects of amendment of aeolian sandy soil and loess with soft sandstone on soil water retention curve and evaporation	Zhang Lei, Qi Ruipeng, Zhang Yinglong, et al. (85)
Comparison between stale isotope ²⁰² Hg dilution technique and chemical extraction in determining Hg availability in two typical soils of China	Zheng Shunan, Xu Zhiyu, Wang Fei, et al. (94)
Optimization of determination of N-acyl-homoserine lactones in soil solution with Gas-Chromatography-Mass Spectrometry	Sheng Hongjie, Song Yang, Bian Yongrong, et al. (102)
Sorption behavior of oxytetracycline in complex contaminated soil and its effects on desorption of heavy metals in the soil	Chen Like, Ma Tingting, Pan Xia, et al. (111)
Gradient distribution of bound-PAH residues in different layers of rhizosphere soils of moleplant and wood sorrel growing in polluted regions	Wang Yize, Gao Yanzheng, Peng Anping, et al. (118)
Soil P desorption characteristics and their effects on total P concentration in percolating water in fields under vegetable-rice rotation system	Zhang Mingqing, Li Juan, Kong Qingbo(127)
Effects of fertilization controlling nitrogen and phosphorus loss from farmland under wheat-maize rotation in Nansi Lake region	Tan Deshui, Jiang Lihua, Tan Shuying, et al. (137)
Static transfer of phosphorus in the soil-water-plant system of beach wetlands in Poyang Lake	Xu Jin, Xu Ligang, Ding Keqiang, et al. (144)
Changes in soil microbial community in response to tomato- <i>Agaricus bisporus</i> interplanting	Chen Min, Wang Juntao, Feng Youzhi, et al. (152)
Soil enzyme activity and fungal community diversity in rhizosphere of <i>Pinus tabulaeformis</i> Carr. growing on Loess Plateau— A case study of Huanglongshan forest farm	Chu Honglong, Li Sha, Tang Ming(161)
Soil quantitative proteomic analysis of silicon-mediated resistance of tomato (<i>Solanum lycopersicum</i>) to <i>Ralstonia solanacearum</i>	Chen Yuting, Lin Weipeng, Fan Xueying, et al. (172)
Effect of manure combined with chemical fertilizer application on yield, kernel quality and physiological characteristics of peanut to red soil in subtropical China	Xu Xiaowei, Fan Jianbo, Chen Yan, et al. (181)
Effects of nitrogen enrichment on transfer and accumulation of soil organic carbon in alpine meadows on the Qinghai-Tibetan Plateau	Li Linsen, Cheng Shulan, Fang Huajun, et al. (192)
Effect of long-term fertilization on labile organic matter in and carbon pool management index of black soil	He Cuicui, Wang Ligang, Wang Yingchun, et al. (202)
Effect of prescribed burning and reservation of logging residues on soil organic carbon mineralization	Wu Junjun, Yang Zhijie, Liu Xiaofei, et al. (210)

Research Notes

Testing of proficiency for measurement of carbon and nitrogen stable isotopes ...	Cao Yacheng, Han Yong, Tang Haoye, et al. (218)
Criteria for partition of soil thickness and case studies	Yi Chen, Li Decheng, Zhang Ganlin, et al. (227)
Specificity of soil acidification affected by salt accumulation	Wang Aihua, Duan Zengqiang, Zhao Yu, et al. (233)
Effects of nitrogen fertilization on rice in different regions of Sichuan Province	Zhang Zhi, Wang Weini, Li Kun, et al. (240)
Effects of shrub (<i>Caragana microphylla</i> Lam) encroachment on soil porosity of degraded sandy grassland	Li Zongchao, Hu Xia(248)

Cover Picture: Rill morphological development process on loess slope (by Wu Shufang)