

DOI: 10.16861/j.cnki.zggc.2025.0511

原花青素对设施连作土壤反硝化作用及黄瓜幼苗生长的影响

武晓喆, 齐迎斌, 赵鑫, 孟昕, 张宁, 武春成

(河北科技师范学院园艺科技学院·河北省特色园艺种质挖掘与创新利用重点实验室 河北秦皇岛 066004)

摘要:为探明添加外源原花青素对设施黄瓜连作土壤反硝化作用以及黄瓜幼苗生长的影响,以连续栽培9 a(年)的塑料大棚黄瓜土壤为供试材料,以不添加原花青素为对照T₀,添加原花青素分别为折合干土质量0.5、1、2、3 g·kg⁻¹为处理,标记为T_{0.5}、T₁、T₂、T₃,分析原花青素对黄瓜幼苗生长、根系氮代谢酶活性、反硝化微生物群落结构以及反硝化作用功能基因相对丰度的影响。结果表明,与T₀相比,T₂处理显著提高了黄瓜幼苗株高、茎粗、总根长、根表面积、根体积,分别提高了25.5%、14.2%、101.27%、112.51%和214.56%。原花青素的添加提高了黄瓜地上部和根系氮素含量以及根系氮代谢酶活性,T₂处理使根系硝态氮含量提高171.52%;影响了土壤中反硝化细菌群落结构,降低了相关菌群丰度和亚硝酸还原酶活性及其功能基因*nirK*和*nirS*的相对丰度,通过抑制反硝化作用使土壤硝态氮含量提高了38.57%~235.77%。冗余分析结果表明,土壤有机质和硝态氮含量与土壤反硝化细菌群落呈显著正相关;Pearson相关性分析表明,土壤环境因子对反硝化功能基因丰度影响较大。综上所述,外源原花青素通过抑制土壤反硝化作用调节土壤氮循环,减少土壤硝态氮流失,提高植株氮吸收能力,促进黄瓜植株生长。

关键词:黄瓜;设施连作土壤;原花青素;幼苗生长;氮素;反硝化细菌

中图分类号:S642.2

文献标志码:A

文章编号:1673-2871(2026)04-089-09

Effects of proanthocyanidin on denitrification of continuous cropping soil in protected cultivation and the growth of cucumber seedlings

WU Xiaozhe, QI Yingbin, ZHAO Xin, MENG Xin, ZHANG Ning, WU Chuncheng

(College of Horticulture Science and Technology, Hebei Normal University of Science and Technology/Hebei Key Laboratory of Horticultural Germplasm Excavation and Innovative Utilization, Qinhuangdao 066004, Hebei, China)

Abstract: To investigate the effects of exogenous proanthocyanidin on soil denitrification in facility-grown cucumber monoculture systems and on the growth of cucumber seedlings, soil from plastic greenhouse where cucumbers had been continuously cultivated for nine years was used as the experimental material. A control treatment (T₀) without proanthocyanidin (T₀) was established, along with treatments in which proanthocyanidin were added at rates of 0.5, 1, 2, and 3 g·kg⁻¹ dry soil (designated as T_{0.5}, T₁, T₂, and T₃, respectively). The effects of proanthocyanidin on cucumber seedling growth, root nitrogen metabolism enzyme activities, denitrifying microbial community structure, and relative abundance of functional genes associated with denitrification were analyzed. The results demonstrated that compared with T₀, the T₂ treatment significantly promoted the growth of cucumber seedlings, increasing plant height, stem diameter, total root length, root surface area, and root volume by 25.5%, 14.2%, 101.27%, 112.51%, and 214.56%, respectively. The addition of proanthocyanidin increased nitrogen content in both the aboveground biomass and roots of cucumber, as well as root nitrogen metabolism enzyme activity. Specifically, the T₂ treatment increased root nitrate nitrogen content by 171.52%. Furthermore, proanthocyanidin altered the community structure of denitrifying bacteria in the soil, reduced the abundance of related microbial populations, and inhibited nitrite reductase activity (*NiR*) and the relative abundance of its functional genes *nirK* and *nirS*, thereby increasing soil nitrate nitrogen content by 38.57% to 235.77% through the inhibition of denitrification. Redundancy analysis (RDA) indicated that soil organic matter (SOM) and nitrate nitrogen content were significantly positively correlated with the denitrifying bacterial community. Pearson correlation analysis further demonstrated

收稿日期:2025-07-17;修回日期:2025-08-13

基金项目:河北省自然科学基金(C2024407058)

作者简介:武晓喆,女,在读硕士研究生,研究方向为蔬菜栽培与生理。E-mail:2728569485@qq.com

通信作者:武春成,男,教授,主要从事设施蔬菜栽培与生理研究。E-mail:wuchuncheng1979@126.com

that soil environmental factors had a substantial influence on the abundance of denitrification functional genes. In conclusion, exogenous addition of proanthocyanidin can regulate soil nitrogen cycling by inhibiting denitrification, reduce nitrate nitrogen loss, enhance plant nitrogen uptake, and consequently promote cucumber growth.

Key words: Cucumber; Continuous cropping soil in protected cultivation; Proanthocyanidin; Seedling growth; Nitrogen; Denitrifying bacteria

我国设施农业施用氮肥总量巨大,但氮肥利用率仅为19%,而全国大田作物的化肥利用率为40%^[1],远低于全国水平,造成了大量氮素积累。研究表明,由反硝化过程产生的氮素损失占比35%~52%^[2],反硝化作用是由一些具有多种功能基因及代谢通路的反硝化菌共同完成的^[3],硝酸还原酶催化 NO_3^- 还原为 NO_2^- ,包括膜结合硝酸还原酶和周质硝酸还原酶,分别由 *narG* 和 *napA* 基因编码^[4], NO_2^- 还原为 NO 的过程是由 *nirS* 基因编码的细胞色素 *cd1* 亚硝酸还原酶或 *nirK* 基因编码的含铜亚硝酸还原酶催化^[5]。而 NO 转化为 N_2O 涉及一氧化氮还原酶,它是一种由 *norB* 基因编码的跨膜酶^[6]。最后, N_2O 由 *nosZ* 基因编码的一氧化二氮还原酶还原为 N_2 ^[7-8]。其中,反硝化过程的中间产物 N_2O 是温室气体之一^[9]。因此,如何实现农田土壤反硝化过程的高效调控,是减少农田生态系统氮流失与 N_2O 减排的关键。

原花青素是一类多酚化合物,在植物的皮、壳、核、花、叶中均可提取原花青素,尤其是葡萄籽中含量最高^[10]。研究表明,在土壤中添加原花青素,可降低土壤氮素损失、提高氮肥利用率并增加作物产量^[11]。Galland等^[12]研究发现,当原花青素用量为 $210\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 时,生菜的地上部鲜质量显著提高了16%,这一结论在芹菜中也被证实^[13]。这是因为旱地作物更倾向于以硝态氮作为氮素养分进行吸收转运^[14]。Bardon等^[15]的研究表明,在不种植作物的土壤中添加原花青素会使土壤硝态氮含量增加6倍。Mayer等^[16]的研究发现,添加原花青素使壤质砂土的硝态氮含量显著增加113%。

同时,外源添加原花青素不但可以改变土壤理化性质,而且可能对参与反硝化过程的微生物群落结构及其功能基因丰度产生影响。Ye等^[17]研究发现,在土壤中加入原花青素能显著降低 *nirS* 型和 *nirK* 型微生物种群数量,降低幅度约为10%~25%,但对 *nirK* 型微生物种群数量的影响因不同土壤类型而异。这是因为土壤反硝化细菌群落结构及组成的变化与土壤pH、有机质含量、氮含量等因素密切相关^[18-19]。Hugoni等^[20]研究发现,原花青素的添加对土壤中的细菌、真菌及

非目标微生物的群落组成、多样性和功能没有明显的影响,但改变了不同种属的微生物富集情况。

由于设施连作土壤存在氮素积累、利用率偏低、养分流失严重^[21]等问题,且原花青素对设施黄瓜连作土壤反硝化过程以及黄瓜生长的影响尚不清晰,因此,笔者采用宏基因组测序技术系统地研究了原花青素对设施连作土壤中反硝化相关细菌的群落组成、功能基因丰度及黄瓜幼苗生长发育等的影响,探究原花青素抑制设施连作土壤反硝化作用的调控机制,以期为其在设施作物生产中减少氮素流失的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试黄瓜品种为未来103,由青岛新干线蔬菜科技研究所有限公司培育。供试土壤为河北省昌黎县河北科技师范学院园艺试验站塑料大棚内连续栽培9a(年)黄瓜的土壤,土壤基本理化性质为:有机质含量(w ,下同) $68.76\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、速效钾含量 $213\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、速效磷含量 $49.36\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、碱解氮含量 $181.30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、铵态氮含量 $8.47\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、硝态氮含量 $220.07\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、亚硝态氮含量(w ,下同) $3.66\text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ 、pH值5.70、EC值 $736\text{ }\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 。供试原花青素($\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{O}_{11}$)为葡萄籽提取物,由河北鸿韬生物工程有限公司提供,纯度 $\geq 95.0\%$ 。

1.2 试验设计

试验于2024年3—5月在河北科技师范学院昌黎校区园艺试验站日光温室内进行。试验采用塑料钵(上口径17cm,下口径11.5cm,高17cm)栽培,每钵装有折合干土1.5kg的土壤。分别向土壤中添加折合干土质量0.5、1、2、3 $\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的原花青素,分别记为T0.5、T1、T2、T3,以不添加原花青素为对照(T0),每个处理3次重复,每次重复5株。采用50孔穴盘育苗,于黄瓜幼苗1叶1心时定植,每钵1株,黄瓜整个生长期不施肥,其他管理按照常规进行。于黄瓜定植30d后取样并测定相关指标。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 黄瓜植株相关指标测定 黄瓜幼苗定植30d

后,各处理随机选取长势一致的3株幼苗,测定其株高、茎粗。将根系洗净后使用LA-S系列植物图像分析仪测定根系总根长、根表面积和根体积。选出原花青素处理后差异最大的2个处理及T0进行植株氮代谢指标的测定。将根系剪碎,用液氮速冻后于-80℃下保存,测定时取出根系冻样,采用试剂盒(北京索莱宝有限公司)测定植株根系硝态氮和铵态氮含量与根系硝酸还原酶和亚硝酸还原酶活性。植株地上部于105℃烘箱中烘干至恒质量后测定其干质量,将地上部干样混匀,研磨粉碎后过0.15 mm筛。采用H₂SO₄-K₂SO₄-CuSO₄法^[22]测定植株地上部全氮含量。

1.3.2 土壤样品的采集与测定 随机选取3株黄瓜幼苗,采用抖根法采集根际土壤样品,混匀后分成3份,一份保存于-4℃冰箱中,用于测定土壤硝态氮和铵态氮含量;另一份过0.45 mm筛后保存于-80℃,用于土壤宏基因组测序;剩余土样阴干后过0.45 mm筛,用于测定土壤理化性质与土壤硝酸还原酶和亚硝酸还原酶活性。选出原花青素处理后差异最大的2个处理及T0进行土壤氮代谢指标的测定与微生物测序。

以KCl溶液为提取液(土与溶液质量体积比为1:5),振荡过滤后采用紫外分光光度计在双波长(220、275 nm)下测定硝态氮含量^[23],采用靛酚蓝比色法在单波长(625 nm)下测定铵态氮含量^[24]。土壤亚硝态氮含量采用试剂盒(北京索莱宝有限公司)测定。土壤有机质含量采用重铬酸钾-容量稀释法测定^[25]。土壤pH和EC值(土水质量比1:5)采用

上海雷磁多参数水质分析仪(DZS-708)测定。碱解氮含量采用碱解扩散法测定^[26]。土壤硝酸还原酶和亚硝酸还原酶活性采用试剂盒(北京索莱宝有限公司)测定。

1.3.3 土壤微生物宏基因组测序 委托上海美吉医药生物公司对采集的土壤样品进行宏基因组测序。用CD-HIT(version 4.6.1)对所有样品预测出来的基因序列进行聚类(参数为:90% identity、90% coverage)。使用Diamond(version 0.8.35)将非冗余基因集的氨基酸序列与NR数据库和KEGG数据库进行比对,通过NR库对应的分类学信息数据库获得物种注释,然后使用物种对应的基因丰度总和计算该物种的丰度。获得基因对应的KEGG功能后使用KO、Pathway、EC、Module对应的基因丰度总和计算对应功能类别的丰度。

1.4 数据处理

采用Excel 2019对数据进行统计分析及作图,采用SPSS 27.0进行单因素方差分析和多重比较与Pearson相关性分析,利用ChiPlot云平台 and 上海美吉生物医药科技有限公司所提供的云服务平台作图。

2 结果与分析

2.1 添加原花青素对黄瓜幼苗生长的影响

由表1可知,添加原花青素后,黄瓜幼苗生长得到促进。其中,T2处理表现最好,与T0相比,黄瓜幼苗株高、茎粗、总根长、根表面积、根体积分别显著增加了25.5%、14.2%、101.27%、112.51%和214.56%。

表1 添加原花青素对黄瓜幼苗生长的影响

Table 1 Effects of application of proanthocyanidins on the growth of cucumber seedlings

处理 Treatment	株高 Plant height/cm	茎粗 Stem diameter/mm	地上部干质量 Shoot dry mass/g	总根长 Total root length/cm	根表面积 Root surface area/cm ²	根体积 Root volume/cm ³
T0(CK)	22.0±0.49 d	6.33±0.06 c	2.90±0.34 a	969.53±134.10 d	656.22±26.97 b	72.17±9.05 c
T0.5	26.9±0.49 ab	6.69±0.28 b	3.30±0.53 a	1 539.04±239.06 b	869.45±165.06 b	59.91±7.71 c
T1	25.3±0.25 cd	6.40±0.05 bc	3.05±0.40 a	1 133.97±63.45 cd	757.44±43.10 b	129.36±49.55 b
T2	27.6±1.08 a	7.38±0.05 a	3.24±0.29 a	1 951.35±301.87 a	1 394.58±234.96 a	224.02±29.30 a
T3	26.2±0.79 bc	6.55±0.21 bc	2.97±0.26 a	1 410.00±116.75 bc	808.75±92.17 b	77.19±22.24 c

注:同列数字后不同小写字母表示在0.05水平差异显著。下同。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

2.2 添加原花青素对黄瓜幼苗氮素含量及根系硝酸还原酶和亚硝酸还原酶活性的影响

由表2可知,原花青素的添加显著提高了地上部全氮含量、根系铵态氮和硝态氮含量。地上部全氮含量和根系铵态氮含量表现为T1>T2>T0,根

系硝态氮含量表现为T2>T1>T0。与T0相比,T1处理的地上部全氮含量和根系铵态氮含量分别显著提高了28.49%和126.72%,T2处理的硝态氮含量显著提高了171.52%。与T0相比,T1处理的黄瓜根系硝酸还原酶活性提高了30.93%,T2处理的

表2 添加原花青素对黄瓜幼苗氮素含量及根系硝酸还原酶和亚硝酸还原酶活性的影响

Table 2 Effects of application of proanthocyanidins on nitrogen content and the activity of nitrate reductase and nitrite reductase of cucumber seedlings

处理 Treatment	w(地上部全氮) Aboveground total nitrogen content/%	w(根系铵态氮) Root ammonia nitrogen content/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	w(根系硝态氮) Root nitrate nitrogen content/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	根系硝酸还原酶活性 Root NR activity/($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)	根系亚硝酸还原酶活性 Root NiR activity/($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)
T0	2.76±0.05 c	304.31±38.82 c	27.67±2.21 c	7.50±1.25 ab	0.73±0.09 b
T1	3.54±0.05 a	689.94±12.47 a	56.82±7.15 b	9.82±1.37 a	3.65±0.95 a
T2	3.04±0.03 b	499.14±30.65 b	75.13±0.56 a	6.82±0.80 b	3.78±0.38 a

黄瓜根系亚硝酸还原酶活性显著提高了 417.41%。说明添加原花青素能提高根系氮代谢酶活性,从而促进根系对氮素的吸收,提高根系和地上部氮素含量。

2.3 添加原花青素对土壤化学性质的影响

由表 3 可知,添加原花青素提高了土壤 EC 值

和有机质含量,硝态氮含量提高了 38.57%~235.77%。与 T0 相比,T0.5 处理使黄瓜土壤的 EC 值、铵态氮含量、硝态氮含量分别显著提高了 54.74%、21.31%、235.77%,T2 处理显著提高了 pH 和有机质含量,而原花青素的添加并没有提高土壤碱解氮含量和亚硝态氮含量。

表3 添加原花青素对土壤化学性质的影响

Table 3 Effects of application of proanthocyanidins on soil chemistry of cucumber

处理 Treatment	pH	EC/ ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	w(有机质) Organic matter content/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	w(碱解氮) Alkali-N content/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	w(铵态氮) Ammonium nitrogen content/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	b(亚硝态氮) Nitrite nitrogen content/($\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$)	w(硝态氮) Nitrate nitrogen content/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
T0	6.09±0.03 b	319.67±2.31 d	63.11±0.91 b	162.89±2.52 a	11.45±1.28 b	2.63±0.56 a	6.43±0.54 d
T0.5	6.03±0.02 c	494.67±20.55 a	68.47±0.31 a	157.29±0.70 b	13.89±0.35 a	1.3±0.15 b	21.59±0.94 a
T1	6.03±0.04 c	384.00±4.36 b	69.12±1.49 a	159.62±2.46 ab	9.88±0.26 c	2.07±0.56 a	16.25±1.18 b
T2	6.17±0.03 a	358.00±4.36 c	69.52±1.08 a	161.96±2.02 a	10.40±0.42 b	2.17±0.37 a	10.24±0.87 c
T3	6.03±0.01 c	400.67±8.96 b	68.30±0.66 a	159.62±2.25 ab	10.22±0.55 b	2.14±0.21 a	8.91±0.26 c

2.4 添加原花青素对土壤硝酸还原酶和亚硝酸还原酶活性的影响

由表 4 可知,与 T0 相比,T1 和 T2 处理土壤硝酸还原酶活性分别显著提高了 141.18%、49.26%;T1 和 T2 处理土壤亚硝酸还原酶活性分别降低了 28.42%、34.46%。添加原花青素降低了亚硝酸还原酶活性,抑制了亚硝态氮向一氧化氮的转化。

表4 添加原花青素对土壤硝酸还原酶与亚硝酸还原酶活性的影响

Table 4 Effects of adding proanthocyanidins on the activity of nitrate reductase and nitrite reductase in the soil ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)

处理 Treatment	土壤硝酸还原酶活性 Soil NR activity	土壤亚硝酸还原酶活性 Soil NiR activity
T0	1.33±0.02 c	127.23±32.99 a
T1	3.21±0.06 a	91.07±13.52 a
T2	1.98±0.06 b	83.39±9.28 a

2.5 添加原花青素对土壤反硝化细菌群落结构的影响

物种丰富度 Chao 指数值越大,群落物种丰富度(种类)越高;Shannon 指数值越大,群落多样性越

高;Simpson 指数值越小,群落多样性越高;Pielou 指数值越大,群落分布越均匀。由表 5 可知,原花青素的添加对土壤反硝化细菌群落丰富度、多样性和均匀度无显著影响。通过主坐标分析(PCoA,principal coordinate analysis)发现,向土壤中添加原花青素后,PC1 和 PC2 解释了土壤反硝化细菌相关物种群落总变异的 75.36%和 9.71%(图 1),T0 与 T1 和 T2 之间的距离较远,说明 T0 的细菌群与 T1 和 T2 之间存在明显差异,原花青素的添加影响了反硝化细菌的群落结构。

表5 原花青素对土壤反硝化细菌群落 Alpha 多样性的影响

Table 5 Effects of proanthocyanidins on denitrifying bacteria community with soils impact of Alpha diversity

处理 Treatment	Chao 指数 Chao index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	Pielou 指数 Pielou index
T0	1259± 5.51 a	5.49± 0.003 a	0.010 3± <0.01 a	0.769 5± <0.01 a
T1	1264± 10.14 a	5.48± 0.012 a	0.010 4± <0.01 a	0.766 7± <0.01 a
T2	1257± 13.02 a	5.48± 0.007 a	0.010 2± <0.01 a	0.768 1± <0.01 a

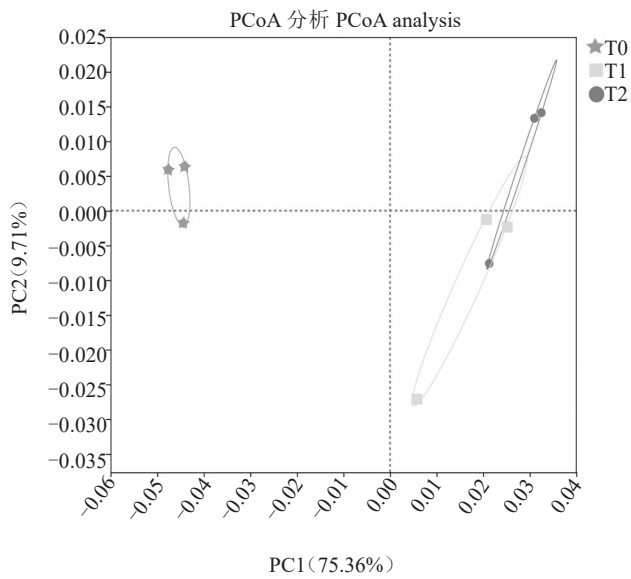


图1 土壤反硝化细菌群落结构主坐标分析
 Fig. 1 Principal coordinate analysis of soil denitrifying bacteria colony structure

2.6 添加原花青素对土壤反硝化细菌群落组成的影响

图2和图3分别为黄瓜土壤中相对丰度大于1%的反硝化优势菌门和反硝化优势菌属。由图2可以看出,原花青素的添加降低了假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、绿屈挠菌门(*Chloroflexota*)、出芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*)、疣微菌门(*Verrucomicrobiota*)的相对丰度,提高了拟杆菌门(*Bacteroidota*)、芽孢杆菌门(*Bacillota*)的相对丰度

由图3可以看出,原花青素的添加提高了鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、溶杆菌属(*Lysobacter*)和生根瘤菌属(*Mesorhizobium*)的相对丰度,降低了芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)、厌氧绳菌属(*Anaerolinea*)、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、珠宝玫瑰菌属(*Gemmatirosa*)、假双斧状菌属(*Pseudolabrys*)、水栖菌属(*Enhydrobacter*)和极单胞菌属(*Polaromonas*)的相对丰度。

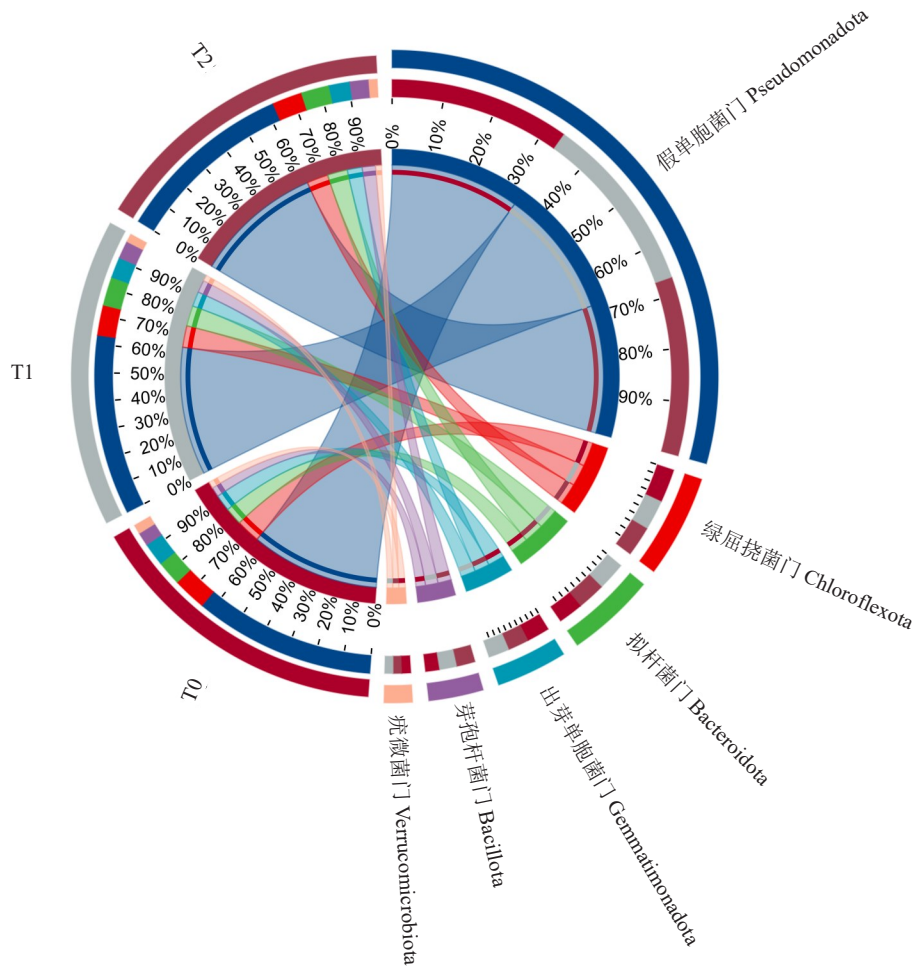


图2 土壤反硝化细菌门水平(TOP10)优势物种丰度
 Fig. 2 Abundance of dominant species (TOP10) at the pylum level of soil denitrifying bacteria

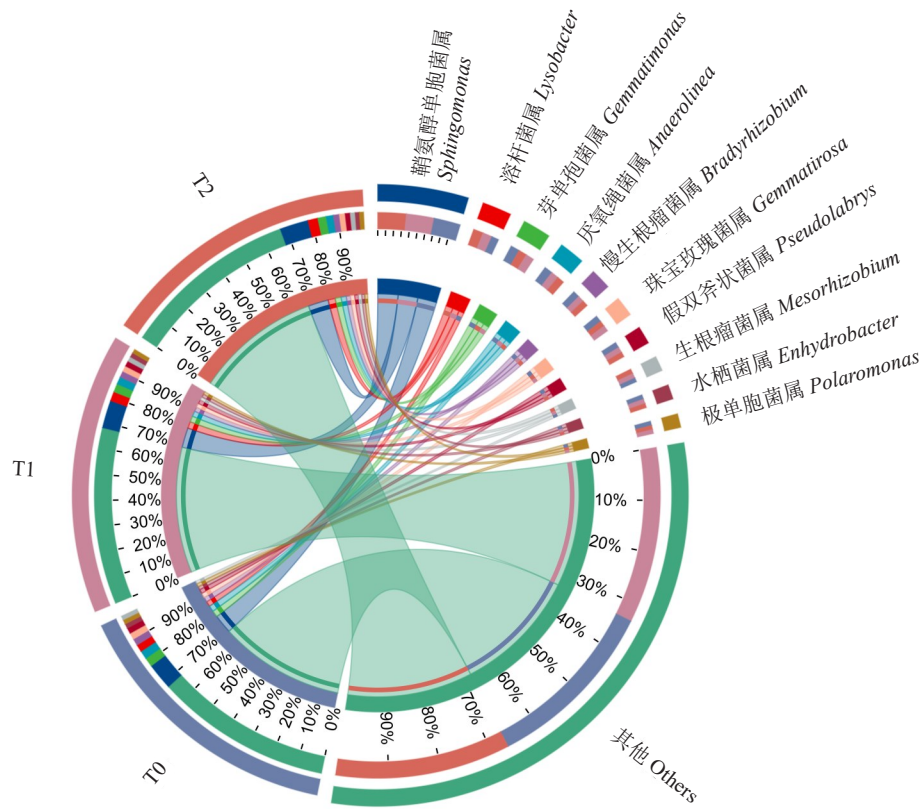


图3 土壤反硝化细菌属水平(TOP10)优势物种丰度

Fig. 3 Abundance of dominant species (TOP10) at the genus level of soil denitrifying bacteria

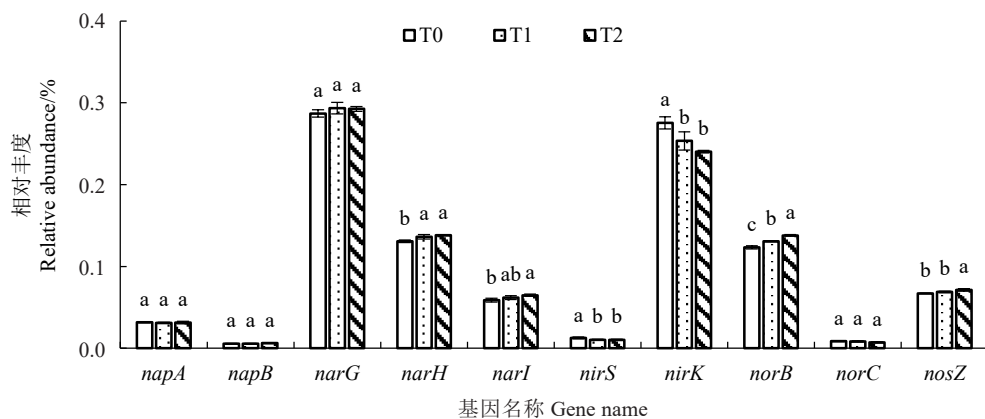
2.7 添加原花青素对土壤反硝化细菌相关功能基因的影响

由图4可知,原花青素的添加显著降低了土壤亚硝酸还原酶的功能基因 *nirK* 和 *nirS* 的相对丰度。与T0处理相比,T1和T2处理显著提高了硝酸还原酶功能基因 *narH* 和一氧化氮还原酶功能基因 *norB* 的相对丰度,T2处理显著提高了硝酸还原酶功

能基因 *narI* 和一氧化二氮还原酶功能基因 *nosZ* 的相对丰度。其他功能基因相对丰度无显著变化。

2.8 土壤反硝化细菌及其相关基因与土壤环境因素相关性分析

冗余分析(redundancy analysis, RDA)揭示了黄瓜土壤反硝化菌属相对丰度和土壤化学性质的关系。由图5可知,第一轴、第二轴分别解释了土壤

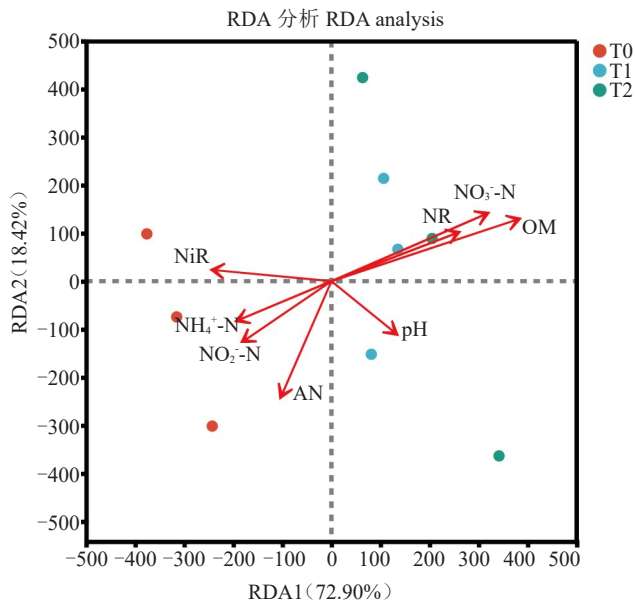


注:不同小写字母表示在0.05水平差异显著。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level.

图4 土壤反硝化作用相关功能基因相对丰度差异比较

Fig. 4 Comparison of differences in relative abundance of functional genes related to soil denitrification



注:OM 代表有机质含量;AN 代表碱解氮含量;NO₃-N 代表硝态氮含量;NO₂-N 代表亚硝态氮含量;NH₄⁺-N 代表铵态氮含量;NR 代表硝酸还原酶活性;NiR 代表亚硝酸还原酶活性。下同。

Note: OM represents organic matter content; AN represents Alkali-N content; NO₃-N represents nitrate nitrogen content; NO₂-N represents nitrite nitrogen content; NH₄⁺-N represents ammonium nitrogen content; NR represents nitrate reductase activity; NiR represents nitrite reductase activity. The same below.

图5 土壤化学性质与反硝化细菌属水平(TOP10)物种 RDA 分析

Fig. 5 RDA analysis of soil chemical properties and denitrifying bacteria level (TOP10) species

细菌群落总变异的 72.90%和 18.42%。通过计算 *P* 值,分析了土壤化学性质与土壤微生物群落结构、组成的关系。其中,土壤的有机质含量(OM)和硝态氮含量与反硝化细菌丰度呈显著正相关,其他土壤环境因子则与细菌群落丰度无显著相关性。说明土壤有机质含量和土壤硝态氮含量对黄瓜土壤的反硝化细菌群落有较大的影响。

由图 6 可知,一氧化氮还原酶功能基因 *norB* 相对丰度与硝酸还原酶功能基因 *narI* 相对丰度呈显著正相关,硝酸还原酶功能基因 *napA* 相对丰度与土壤铵态氮和碱解氮含量呈显著正相关。硝酸还原酶功能基因 *nirS* 相对丰度与土壤有机质含量呈显著负相关,硝酸还原酶功能基因 *narG* 相对丰度与土壤亚硝态氮含量呈极显著负相关。

3 讨论与结论

本研究结果表明,添加原花青素促进了黄瓜根系及地上部的生长,这与 Galland 等^[12]的试验结果一致。景悦杨^[27]发现,原花青素的添加提高了油菜

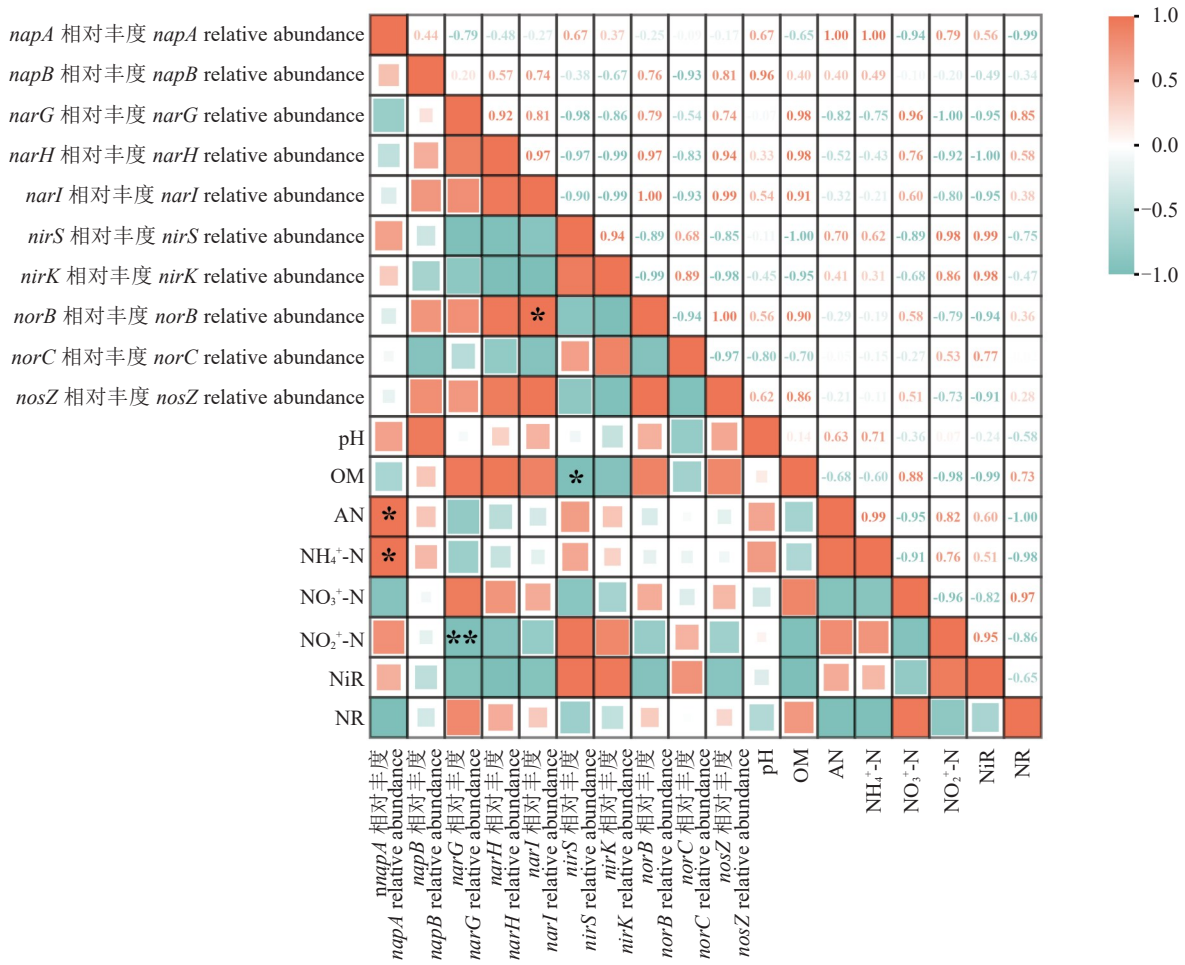
的氮素含量,本研究中添加原花青素提高了黄瓜幼苗地上部与根系氮素含量,这可能是由于添加原花青素提高了根系硝酸还原酶和亚硝酸还原酶活性,而硝酸还原酶是植物同化硝态氮的第一个关键酶,其活性一般随着硝态氮含量的增加而提高^[28];而铵态氮含量随亚硝酸还原酶活性的提高而增加^[29]。土壤硝酸还原酶和亚硝酸还原酶可催化土壤中 NO₃⁻还原为 NO₂⁻和 NO⁰^[4-5]。在本研究中,添加原花青素同时降低了土壤亚硝酸还原酶活性,从而一定程度上抑制了土壤反硝化作用,提高了土壤氮素含量。

原花青素的添加降低了土壤的芽单孢菌属(*Gemmatimonas*)、厌氧绳菌属(*Anaerolinea*)等反硝化细菌的相对丰度,进而抑制了土壤反硝化作用。此外,在黄瓜连作土壤中添加原花青素显著降低了反硝化基因(*nirK* 和 *nirS*)丰度,抑制硝态氮向 N₂的转化,这与 Bardon 等^[14]的结果一致。众多环境因子和微生物种群在土壤中的相互作用可以影响反硝化作用强度^[30]。有关研究表明,反硝化细菌的群落结构受土壤 pH^[31]、土壤铵态氮含量^[32]、土壤硝态氮含量^[33]、土壤温度^[34]、土壤含水量^[35]等因素影响。在本研究中,土壤理化性质与反硝化细菌 RDA 分析结果显示,有机质和硝态氮含量对土壤反硝化细菌群落结构影响较大。这是由于土壤中的有机质为土壤反硝化微生物提供碳源,且反硝化功能基因与土壤氮含量和有机质含量呈显著正相关^[36]。在本研究中,亚硝酸还原酶功能基因 *nirS* 相对丰度与土壤有机质含量呈显著负相关,这与陈会巧等^[32]的研究结果一致。硝酸还原酶功能基因 *napA* 相对丰度与土壤铵态氮和碱解氮含量呈显著正相关,硝酸还原酶功能基因 *narG* 相对丰度与土壤亚硝态氮含量呈极显著负相关,说明土壤铵态氮和碱解氮促进硝酸还原,而亚硝态氮对硝酸还原过程产生负面影响。

综上所述,原花青素的添加提高了设施黄瓜连作土壤硝态氮含量,改变了土壤反硝化细菌群落结构,降低了土壤反硝化细菌群落相对丰度,降低了亚硝酸还原酶活性及其功能基因丰度,抑制了土壤反硝化作用,减少了氮素流失。同时,通过提高根系硝酸还原酶和亚硝酸还原酶活性促进根系对氮素的吸收,进而提高黄瓜根系及地上部氮含量,最终促进黄瓜植株生长。

参考文献

- [1] 董金龙,徐焯红,全智,等.中国设施种植土壤可持续利用的难点与应对策略[J].土壤学报,2024,61(6):1467-1480.
- [2] SUN R B R, GUO X S, WANG D Z, et al. Effects of long-term



注:*表示在 0.05 水平显著相关,**表示在 0.01 水平极显著相关。

Note: * indicate the correlation is significant at 0.05 level, ** indicate the correlation is extremely significant at 0.01 level.

图 6 土壤化学性质与反硝化功能基因相对丰度 Pearson 相关性分析

Fig. 6 Pearson correlation analysis of soil chemical properties and relative abundance of denitrification functional genes

application of chemical and organic fertilizers on the abundance of microbial communities involved in the nitrogen cycle[J]. Applied Soil Ecology, 2015, 95: 171-178.

[3] ZHANG L Y, JING Y M, CHEN C R, et al. Effects of biochar application on soil nitrogen transformation, microbial functional genes, enzyme activity, and plant nitrogen uptake: A meta-analysis of field studies[J]. GCB Bioenergy, 2021, 13(12): 1859-1873.

[4] LEVY-BOOTH D J, PRESCOTT C E, GRAYSTON S J. Microbial functional genes involved in nitrogen fixation, nitrification and denitrification in forest ecosystems[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 75: 11-25.

[5] KUYPERS M M M, MARCHANT H K, KARTAL B. The microbial nitrogen-cycling network[J]. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16(5): 263-276.

[6] WALLENSTEIN M D, MYROLD D D, FIRESTONE M, et al. Environmental controls on denitrifying communities and denitrification rates: Insights from molecular methods[J]. Ecological Applications, 2006, 16(6): 2143-2152.

[7] HALLIN S, PHILIPPOT L, LÖFFLER F E, et al. Genomics and ecology of novel N₂O-reducing microorganisms[J]. Trends in Microbiology, 2018, 26(1): 43-55.

[8] SHEN W S, XUE H W, GAO N, et al. Effects of copper on nitrous oxide (N₂O) reduction in denitrifiers and N₂O emissions from agricultural soils[J]. Biology and Fertility of Soils, 2020, 56(1): 39-51.

[9] BAGGS E M. A review of stable isotope techniques for N₂O source partitioning in soils: recent progress, remaining challenges and future considerations[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2008, 22(11): 1664-1672.

[10] VERMA P, SEN R, BAMANNA A, et al. Structural chemistry to therapeutic functionality: A comprehensive review on proanthocyanidins[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2024, 55: 102963.

[11] 刘涛, 张萱, 沈阿林, 等. 生物反硝化抑制剂原花青素对土壤氮转化及植物生长的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2023, 29(8): 1556-1562.

[12] GALLAND W, PIOLA F, BURLET A, et al. Biological denitrifi-

- cation inhibition (BDI) in the field: A strategy to improve plant nutrition and growth[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 136:107513.
- [13] GALLAND W, PIOLA F, MATHIEU C, et al. Does biological denitrification inhibition (BDI) in the field induce an increase in plant growth and nutrition in *Apium graveolens* L. grown for a long period?[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(8):8081204.
- [14] 连慧达. 陕西省不同年代主栽旱地冬小麦品种对氮肥响应的差异研究[D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学, 2020.
- [15] BARDON C, POLY F, HAICHAR F E Z, et al. Biological denitrification inhibition (BDI) with procyanidins induces modification of root traits, growth and N status in *Fallopia × bohémica*[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 107:41-49.
- [16] MAYER R, STECHER G, WUERZNER R, et al. Proanthocyanidins: Target compounds as antibacterial agents[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(16):6959-6966.
- [17] YE M J, YIN C, FAN X P, et al. Procyanidin inhibited N₂O emissions from paddy soils by affecting nitrate reductase activity and *nirS*- and *nirK*-denitrifier populations[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2021, 57(7):1-13.
- [18] CUI P Y, FAN F L, YIN C, et al. Long-term organic and inorganic fertilization alters temperature sensitivity of potential N₂O emissions and associated microbes[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 93:131-141.
- [19] KANDELER E, DEIGLMAYR K, TSCHERKO D, et al. Abundance of *narG*, *nirS*, *nirK*, and *nosZ* genes of denitrifying bacteria during primary successions of a glacier foreland[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(9):5957-5962.
- [20] HUGONI M, GALLAND W, LECOMTE S, et al. Effects of the denitrification inhibitor "procyanidins" on the diversity, interactions, and potential functions of rhizosphere-associated microbiome[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(7):1406.
- [21] 宿福玥, 张辰, 熊子皓, 等. 设施栽培土壤盐渍化与酸化的成因及其防治措施研究进展[J]. *生态产业科学与磷氟工程*, 2025, 40(5):106-112.
- [22] 吴刚, 张兆法, 宋凡, 等. 石墨消解仪-自动定氮法测定植物果实中的全氮[J]. *岩矿测试*, 2020, 39(2):311-317.
- [23] 涂常青, 温欣荣. 双波长分光光度法测定土壤硝态氮[J]. *土壤肥料*, 2006(1):50-51.
- [24] 王佳敏, 李涵, 张文凯, 等. 两种比色法检测水体中微量氨含量的比较研究[J]. *大学化学*, 2019, 34(3):36-41.
- [25] 鲁如坤. *土壤农业化学分析方法*[M]. 北京:中国农业出版社, 2000.
- [26] 侯建伟, 邢存芳, 杨莉琳. 土壤碱解氮测定方法优化改革[J]. *西南师范大学学报*, 2021, 46(7):45-49.
- [27] 景悦杨. 原花青素与单宁酸对石灰性土壤 N₂O 排放的影响[D]. 河北保定:河北农业大学, 2024.
- [28] 宋可欣, 王丽霞, 刘永霞, 等. 根际微生态环境中氮源转化及循环研究进展[J]. *中国农学通报*, 2024, 40(21):91-98.
- [29] 刘利, 李惠, 韩燕, 等. 盐及盐碱胁迫对葡萄砧木幼苗氮素代谢关键酶活性及相关基因表达的差异影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2024, 30(11):2104-2117.
- [30] 叶木军. 硝化/生物反硝化抑制剂对农田土壤氮素转化和 N₂O 排放的影响及其微生物机制[D]. 杭州:浙江大学, 2022.
- [31] 徐硕, 李玉双, 魏建兵, 等. 河岸带土壤反硝化作用研究进展[J]. *生态科学*, 2021, 40(4):229-236.
- [32] 陈会巧, 马慧霞, 张桥, 等. 长期培肥降低稻田土壤硝化和反硝化细菌功能基因丰度并减缓氮素周转[J]. *植物营养与肥料学报*, 2023, 29(9):1630-1642.
- [33] LEININGER S, URICH T, SCHLOTTER M, et al. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils[J]. *Nature*, 2006, 442:806-809.
- [34] 胡国山, 张建美, 蔡惠军. 碳源/C/N 和温度对生物反硝化脱氮过程的影响[J]. *科学技术与工程*, 2016, 16(14):74-77.
- [35] SZUKICS U, ABELL G C J, HÖDL V, et al. Nitrifiers and denitrifiers respond rapidly to changed moisture and increasing temperature in a pristine forest soil[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 72(3):395-406.
- [36] 闻鸣, 刘禹, 冯朝阳, 等. 不同土地利用方式下土壤氮循环关键过程的差异及其驱动因素[J]. *应用生态学报*, 2025, 36(5):1387-1397.