

# 不同连作年限硒砂瓜土壤细菌群落结构特征

岳思君,冯翠娥,杨彦研,陈丽萍,郭洋,郑蕊,苏建宇

(宁夏大学生命科学学院,西部特色生物资源保护与利用教育部重点实验室,宁夏银川750021)

**摘要:**应用高通量测序技术对宁夏中卫地区不同连作年限硒砂瓜土壤细菌群落结构和多样性进行研究,旨在揭示不同连作年限对硒砂瓜土壤细菌群落结构的影响。结果表明:随着连作时间的增加,细菌多样性指数和丰富度指数逐渐增加。从5份不同连作年限硒砂瓜土壤样本中共获得39门、98纲和620属的细菌;优势门为放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteria);随着连作时间的增加,放线菌门、酸杆菌门丰度先增加后降低,变形菌门丰度逐渐降低,绿弯菌门丰度呈先降低后增加又降低现象;优势纲分别为放线菌纲(Actinobacteria)、酸杆菌纲(Acidobacteria)、 $\alpha$ -变形菌纲(Alphaproteobacteria)、芽单胞菌纲(Gemmatimonadetes)、杆菌纲(Bacilli)、热原体纲(Thermomicrobia)、 $\gamma$ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)、 $\beta$ -变形菌纲(Betaproteobacteria);优势目为norank\_c\_Acidobacteria、芽孢杆菌目(Bacillales)、芽单胞菌目(Gemmatimonadales)、根瘤菌目(Rhizobiales)。RDA分析表明,有机质、速效磷是硒砂瓜连作土壤细菌群落组成的主要影响因子。研究表明,引起硒砂瓜连作障碍发生主要因素不是由于土壤理化性质变化引起的,而是随着连作时间的增加,放线菌门、变形菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、厚壁菌门等有益微生物丰度下降造成的。

**关键词:**连作年限;硒砂瓜;细菌群落结构;多样性;高通量测序技术

**中图分类号:**S154.3 **文献标志码:**A

## Analysis of microbial community structure and diversity in selenium-sand melon soil under different continuous cropping years

YUE Sijun, FENG Cuie, YANG Yanyan, CHEN Liping, GUO Yang, ZHENG Rui, SU Jianyu

(Western Biological Resources Protection and Utilization Lab of National Education Ministry, College of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia, 750021, China)

**Abstract:** High-throughput sequencing technique was used to study the soil bacterial community structure and diversity of selenium-sand melon soil in Zhongwei area of Ningxia under different continuous cropping years. The results showed that bacterial diversity index and richness index gradually increased with the increase in continuous cropping years. A total of 39 phyla, 98 classes, and 620 genera of bacteria were isolated from 5 samples of selenium-sand melon soil with different successive cropping years. The dominant phylum was Actinobacteria, Proteobacteria, Chloroflexi and Acidobacteria. With the continuous cropping time increased, the abundance of Actinobacteria and Acidobacteria increased first and then decreased, the abundance of Proteobacteria gradually decreases, the abundance of Chloroflexi decreased first, then increased and then decreased. The dominant class was Actinobacteria, Acidobacteria, Alphaproteobacteria, Gemmatimonadetes, Bacilli, Thermomicrobia, Gammaproteobacteria and Betaproteobacteria. The dominant order was norank\_c\_Acidobacteria, Bacillales, Gemmatimonadales, Rhizobiales. The dominant orders were norank\_c\_Acidobacteria, Bacillales, Gemmatimonadales, and Rhizobiales. RDA analysis showed that organic matter and available phosphorus were the main influencing factors of bacterial community composition in selenium-sand melon continuous cropping soil. The results showed that the occurrence of continuous

收稿日期:2019-03-11

修回日期:2019-05-18

基金项目:国家自然科学基金(31360025,31560418);宁夏回族自治区重点研发计划项目(东西部合作专项:2017BY081)

作者简介:岳思君(1972-),男,宁夏银川人,博士,教授,主要研究方向为微生物资源开发与利用。E-mail:sijunye@126.com

通信作者:苏建宇(1968-),男,教授,研究方向为资源微生物。E-mail:su\_jy@nxu.edu.cn

cropping obstacle of selenium-sand melon was not caused by the change of soil physical and chemical properties, but was caused by the decrease of the abundance of beneficial microorganisms such as Actinobacteria, Proteobacteria, Chloroflexi, Acidobacteria and Firmicutes with the increase of continuous cropping time.

**Keywords:** high throughput sequencing technique; continuous cropping; bacterial community structure; diversity

连作障碍作为长期困扰农业生产可持续发展的原因之一,其形成机制一直是农业发展研究的热点。影响农作物连作障碍发生的因素有很多,有研究表明,其主要原因是由于土壤生态环境失衡<sup>[1]</sup>。土壤微生物在土壤生态环境中生物与环境物质循环和能量转换间扮演重要角色,是土壤环境正常运行的重要组成部分<sup>[2]</sup>。同时,土壤微生物对土壤基质变化比较敏感,对土壤养分的吸收与转化、作物生长发育有显著影响<sup>[3]</sup>。连作土壤中土壤微生物群落结构与功能的改变是导致土壤肥力下降、作物减产的主要原因<sup>[4]</sup>。连作会破坏土壤微生物群落结构与物种多样性,促进病原微生物的生长与积累,抑制有益微生物繁殖,作物产量显著降低<sup>[5-6]</sup>。同时,土壤微生物多样性和群落结构也会受到作物连作时间的影响,连作时间越长,微生物群落结构差异越明显<sup>[7-8]</sup>。细菌是土壤环境中重要的微生物类群,研究表明,连作会影响土壤细菌的群落结构,阻碍马铃薯、棉花、番茄等作物的生长<sup>[9-11]</sup>。

硒砂瓜主产于宁夏中卫市环香山地区,其采用压砂栽培技术,并富含硒元素,故得名“硒砂瓜”,是当地主要的经济作物。硒砂瓜栽培生产中由于西瓜枯萎病而导致连作障碍严重,硒砂瓜产量和品质受到明显影响。目前,对于硒砂瓜土壤中细菌多样性以及连作时间对土壤细菌群落结构的影响少有报道,研究阐明连作条件下硒砂瓜土壤细菌群落结构及变化规律,对减少硒砂瓜土传病害发生,提高硒砂瓜产量和品质具有重要意义。本研究应用高通量测序技术,分析宁夏中卫市环香山地区不同连作年限硒砂瓜土壤细菌群落结构特征,为采用合理有效方法防治连作条件下硒砂瓜土传病害的发生提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究地概况

试验地点位于宁夏中卫市沙坡头区(105°25' E、36°97' N),海拔 1 642.0 m,年平均气温 8.8℃,年降水量 179.6 mm,年蒸发量为 1 829.6 mm,供试土为砂土。

试验设置 5 个处理:分别为连作 5 a(T5)、10 a(T10)、15 a(T15)、20 a(T20)及对照土壤(T0,未种植硒砂瓜),各处理分别设置 3 个重复,根据连作时间进行试验设计。

### 1.2 样本采集

于 2017 年 10 月 1 日在试验区采样。硒砂瓜采收后期去除表层(0~15 cm)砂石,在深度为 15~25 cm 处取土,每个处理各采集 3 份土壤,每份土样分别采用五点取样法取样,除去土壤中的植物根系、碎石及其他杂物,混匀成 1 份土样装进塑封袋,置入冰盒带回实验室,一部分鲜土置于超低温冰箱,用于微生物多样性研究;另一部分土样自然风干后过 1 mm 筛子,用于测定土壤中全氮、全钾、全磷、碱解氮、速效磷、速效钾、pH 值、有机质等。

### 1.3 土壤理化性质测定

按照土壤农化分析方法<sup>[12]</sup>,土壤 pH 值采用电位法测定(水:土=2.5:1);土壤有机质含量测定采用重铬酸钾外加热法,全氮采用凯氏定氮法,碱解氮采用扩散法,全磷采用钼钒黄比色法,速效磷采用钼锑抗比色法,全钾采用 ICP 法,速效钾采用原子吸收分光光度计法。

### 1.4 Illumina Miseq 测序

土壤样本送上海美吉生物医药科技有限公司的 Illumina Miseq PE300 平台(San Diego, CA, USA)进行 16s rDNA 高通量测序。

### 1.5 序列分析

原始测序序列使用 Trimmomatic<sup>[13]</sup>软件质控,使用 FLASH 软件进行拼接;去除质控后长度低于 50 bp 的序列;去除模糊碱基;根据重叠碱基 overlap 将两端序列进行拼接。使用的 UPARSE v7.1 软件<sup>[14]</sup>,对有效数据在 97%的相似度水平进行操作分类单元 OTU 聚类;使用 UCHIME 软件<sup>[15]</sup>剔除嵌合体。利用 RDP classifier (<http://rdp.cme.msu.edu/>)<sup>[16]</sup>对每条序列进行物种分类注释,比对 Unite (Release 6.0 <http://unite.ut.ee/index.php>)数据库,设置比对阈值为 70%,并在各个水平上统计样本的群落组成。

### 1.6 数据分析

试验数据采用 Microsoft Excel 2016 进行计算,通过 SPSS 19.0 进行单因素方差分析( $P<0.05$ ),表中数据均采用平均值±标准差表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 硒砂瓜连作对土壤理化性质的影响

不同连作年限土壤 pH 值均大于 8,为碱性土。

土壤 pH 值随连作年限的增加而增大,至连作 20 a 略有降低;与 T0 土壤相比,T5~T20 土壤有机质、全氮、速效钾、全磷含量均增加,其中 T5 土壤中全氮、速效磷、全磷、速效钾、碱解氮含量最高,T15 土壤中有机质含量最高。从结果可知,土壤综合理化性质与硒砂瓜连作年限不存在相关性。因此,硒砂瓜连作障碍不是由于土壤理化性质的改变所导致的(表 1)。

### 2.2 测序数据分析

对 5 份不同连作年限的硒砂瓜土壤样本 v3-v4 区进行 Illumina 高通量测序并进行优化后,5 份土壤

样本共获得 835 534 条序列,平均序列长度为 438.99,总碱基数为 366 797 133 bp。基于 Sobs 指数的稀释曲线分析(图 1)表明,各样本的稀释曲线基本趋向平坦,说明本次测序数据量合理,能够比较真实地反映土壤样本的细菌群落。

### 2.3 硒砂瓜连作土壤中细菌的多样性

对不同连作年限硒砂瓜土壤中细菌进行 Alpha 多样性分析,结果见表 2。结果表明,T0 土壤细菌多样性最低,随着连作年限的增加,硒砂瓜土壤中细菌多样性逐渐增加,T20 土壤细菌多样性最高。硒砂瓜土壤中细菌多样性随着连作年限的增加而增加。

表 1 不同连作年限的土壤理化性质

Table 1 Soil physical and chemical properties under different continuous cropping years

| 样本<br>Sample | pH          | 有机质<br>Organic matter<br>/(g · kg <sup>-1</sup> ) | 全氮<br>Total N<br>/(g · kg <sup>-1</sup> ) | 速效磷<br>Available P<br>/(mg · kg <sup>-1</sup> ) | 全磷<br>Total P<br>/(g · kg <sup>-1</sup> ) | 速效钾<br>Available K<br>/(mg · kg <sup>-1</sup> ) | 全钾<br>Total K<br>/(g · kg <sup>-1</sup> ) | 碱解氮<br>Available N<br>/(mg · kg <sup>-1</sup> ) |
|--------------|-------------|---|---|---|---|---|---|---|
| T0           | 8.07±0.26c  | 9.17±0.41ab                                       | 0.41±0.04ab                               | 7.90±0.91b                                      | 0.61±0.03ab                               | 122±22.07ab                                     | 24.10±0.69a                               | 29.87±5.94a                                     |
| T5           | 8.22±0.10bc | 9.45±0.43a  | 0.53±0.12a                                | 18.90±4.52a                                     | 0.90±0.25a                                | 141±7.77a                                       | 23.40±0.66ab                              | 34.83±3.38a                                     |
| T10          | 8.51±0.01ab | 9.22±1.52ab                                       | 0.47±0.12ab                               | 4.00±0.99b                                      | 0.60±0.08b                                | 112±4.24ab                                      | 24.50±1.69a                               | 21.95±8.69a                                     |
| T15          | 8.67±0.06a  | 10.32±0.58a                                       | 0.45±0.02ab                               | 5.00±2.00b                                      | 0.66±0.05ab                               | 138±10.07a                                      | 23.90±0.26ab                              | 28.80±4.00a                                     |
| T20          | 8.58±0.04ab | 9.17±1.44ab                                       | 0.43±0.02ab                               | 6.50±1.54b                                      | 0.64±0.03ab                               | 136±8.18a                                       | 23.77±0.26ab                              | 27.13±4.09a                                     |

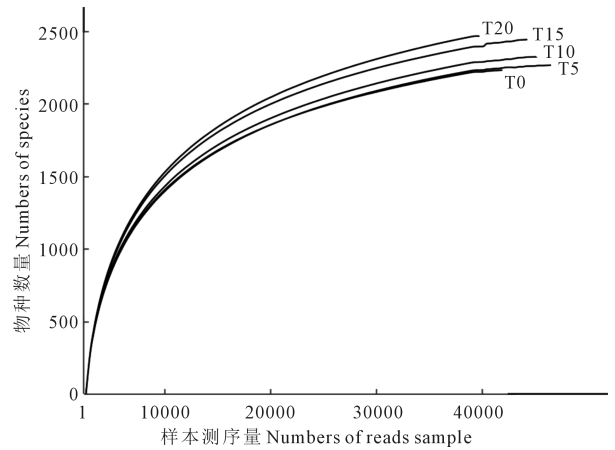
注:T0、T5、T10、T15、T20 分别指未种植硒砂瓜处理及连作 5、10、15、20 a 处理,下同。

Note: T0, T5, T10, T15, and T20 refer to the treatment of non-planted selenium-sand melon and continuous cropping for 5, 10, 15 a and 20 a, respectively. The same below.

### 2.4 硒砂瓜连作土壤细菌群落组成与结构分析

根据高通量测序结果分析,从 5 份供试土壤样本中共检测出细菌 39 门、98 纲、189 目、349 科、620 属、1195 种。在门水平上(图 2),不同连作年限的硒砂瓜土壤物种组成较为相似,其中放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteria)相对丰度超过 10%,丰度分别为 20.71%~24.14%、17.08%~24.14%、15.82%~18.45%、11.76%~18.83%,是硒砂瓜土壤中的优势细菌群落;此外厚壁菌门(Firmicutes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、浮霉菌门(Planctomycetes)、unclassified-norank 在土壤中相对丰度大于 1%,是土壤中细菌主要的门。与 T0 相比,随连作时间增加,变形菌门、绿弯菌门丰度呈逐渐下降趋势,酸杆菌门丰度呈逐渐增加的趋势,且在 T15 中丰度最高,为 18.83%,且 T0 中变形菌门、T5 中放线菌门、T15 中酸杆菌门细菌丰度最高,分别为 24.14%、25.97%、18.83%;T0、T10 中变形菌门、硝化螺旋菌门细菌丰度显著高于其它组份物种丰度(P<0.05)。

在纲水平上(图 3),土壤样本中优势纲分别为放线菌纲(Actinobacteria)、酸杆菌纲(Acidobacteria)、α-变形菌纲(Alphaproteobacteria)、芽单胞菌纲(Gemmatimonadetes)、杆菌纲(Bacilli)、热原体纲(Thermomi-



注:不同字母表示处理间差异显著(P<0.05)。

Note: Different letters indicate significant difference at P<0.05.

图 1 硒砂瓜连作土壤样本在 OTU 水平稀释曲线  
Fig.1 Rarefaction curves of OTU level in soil samples of selenium-sand melon continuous cropping

表 2 不同连作年限硒砂瓜土壤细菌多样性指数和丰富度指数

Table 2 Diversity index and richness index of soil bacteria in selenium melon soil under different continuous cropping years

| 样本<br>Sample | 辛普森指数<br>Shannon index | Ace 指数<br>Ace index | Chao 1 指数<br>Chao 1 index |
|--------------|------------------------|---------------------|---------------------------|
| T0           | 6.49±0.19              | 2522.13±264.65      | 2552.27±247.79            |
| T5           | 6.48±0.10              | 2591.74±33.83       | 2631.86±54.92             |
| T10          | 6.50±0.14              | 2621.72±194.27      | 2668.97±199.92            |
| T15          | 6.59±0.03              | 2712.26±88.08       | 2751.83±107.39            |
| T20          | 6.59±0.09              | 2831.37±183.07      | 2835.04±203.65            |

crobia)、 $\gamma$ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)、 $\beta$ -变形菌纲(Betaproteobacteria)。在 T5 中放线菌纲丰度最高为 25.97%, 酸杆菌纲随连作年限增加呈先增加后下降趋势, 并在 T15 中丰度达到 18.83%,  $\gamma$ -变形菌纲在 T5 中丰度最低(5.23%), 在 T20 中杆菌丰度最高(8.18%)。

在目水平(图 4), 丰度前 5 的类群分别为 norank\_c\_Acidobacteria、芽孢杆菌目(Bacillales)、芽单胞菌目(Gemmatimonadales)、根瘤菌目(Rhizobiales)、酸微

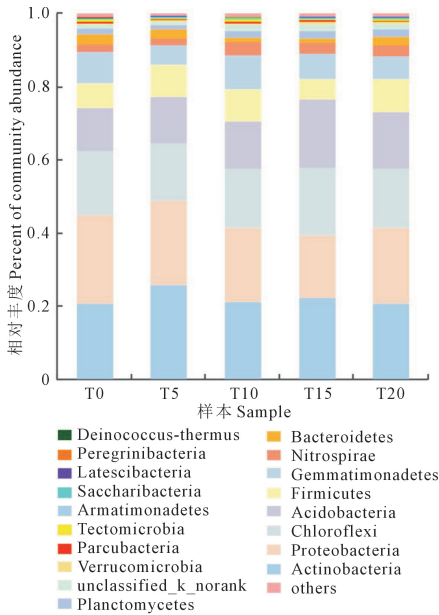


图 2 硒砂瓜不同连作年限土壤细菌群落在门水平相对丰度  
Fig.2 Relative abundance of soil bacterial communities at phylum level in different continuous cropping years of selenium-sand melon

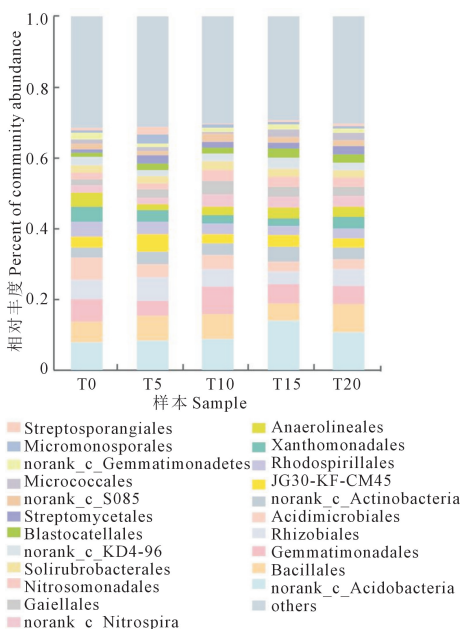


图 4 硒砂瓜不同连作年限土壤细菌群落在目水平相对丰度  
Fig.4 Relative abundance of soil bacterial communities at order level in different continuous cropping years of selenium-sand melon

菌目(Acidimicrobiales)。随连作年限增加, norank\_c\_Actinobacteria 丰度先增加后减少, 在 T15 中丰度为 13.97%; 芽孢杆菌目在 T15 中丰度最低(5.08%), 在 T20 中丰度最高(8.15%); 芽单胞菌目在 T10 中丰度最高(7.77%); 根瘤菌目在 T5 中丰度最高(6.64%); 随连作年限增加, 酸微菌目丰度呈下降趋势。

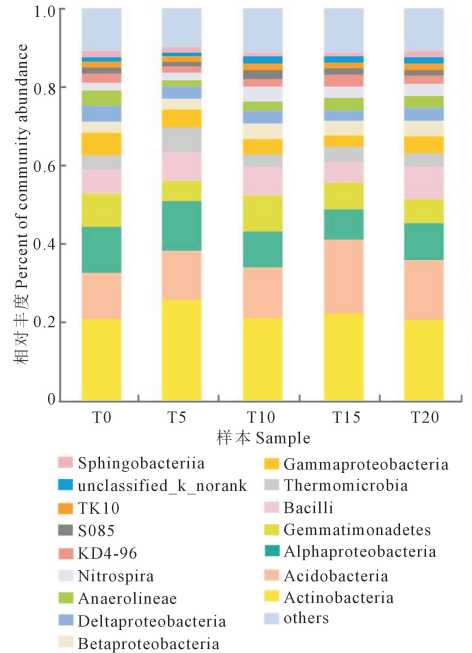


图 3 硒砂瓜不同连作年限土壤细菌群落在纲水平相对丰度  
Fig.3 Relative abundance of soil bacterial communities at class level in different continuous cropping years of selenium-sand melon

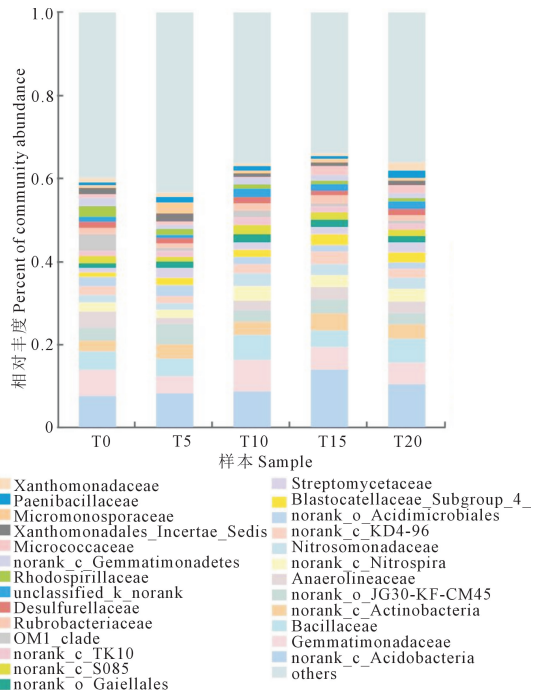


图 5 硒砂瓜不同连作年限土壤细菌群落在科水平相对丰度  
Fig.5 Relative abundance of soil bacterial communities at family level in different continuous cropping years of selenium-sand melon

在科水平(图 5),丰度前 6 的类群分别为 norank\_c\_Acidobacteria、芽单胞菌科(Gemmatimonadaceae)、芽孢杆菌科(Bacillaceae)、norank\_c\_Actinobacteria、norank\_o\_JG-KF-CM45、厌氧绳菌科(Anaerolineaceae)。随连作年限增加,norank\_c\_Actinobacteria 丰度先增加后减少,在 T15 中丰度为 13.97%;芽单胞菌科在 T5 中丰度最低(4.21%),在 T10 中丰度最高(7.77%);芽孢杆菌科在 T10 中丰度最高为 5.84%,其次是 T20(5.80%),厌氧绳菌科在 T0 中丰度最高(3.99%),在 T5 中丰度最低(1.50%)。

### 2.5 硒砂瓜连作土壤样本比较分析

基于细菌 OUT 水平主成分分析结果表明,T10、T15、T20 土壤样本点距离比较近,T5 与 T15、T20 样本部分距离较近,群落结构相似,而 T0 土壤样本单独聚在一起,群落结构与其他连作土壤样本

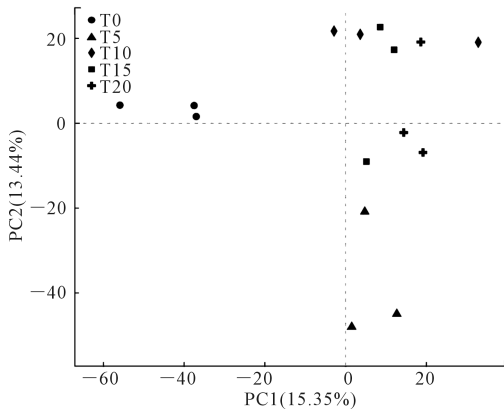


图 6 硒砂瓜不同连作年限土壤细菌基于 OTU 水平的 PCA 分析  
Fig.6 PCA analysis of soil bacterial based on OTU level in different continuous cropping years of selenium-sand melon

中的群落结构不同,表明长期种植硒砂瓜后,土壤细菌群落结构会趋于一致性(图 6)。

### 2.6 土壤理化性质与细菌群落的相关性

对土壤细菌群落与土壤理化因子进行冗余分析(RDA),结果如图 7 所示。有机质、速效磷是硒砂瓜连作土壤细菌群落组成的主要影响因子。

对不同连作年限硒砂瓜土壤细菌群落组成(纲水平)与土壤理化因子间相互关系分析发现,放线菌纲与土壤理化性质无显著相关性( $P>0.05$ ),酸杆菌纲与有机质含量呈极显著正相关( $P<0.01$ ), $\alpha$ -变形菌纲与速效磷含量呈极显著正相关( $P<0.01$ ),芽单胞菌纲与全磷含量呈显著负相关( $P<0.01$ ),杆菌与有机质含量呈极显著负相关( $P<0.01$ ),热原体纲与全磷、碱解氮含量呈显著正相关( $P<0.05$ ),与全钾含量呈显著负相关( $P<0.05$ )(表 3)。

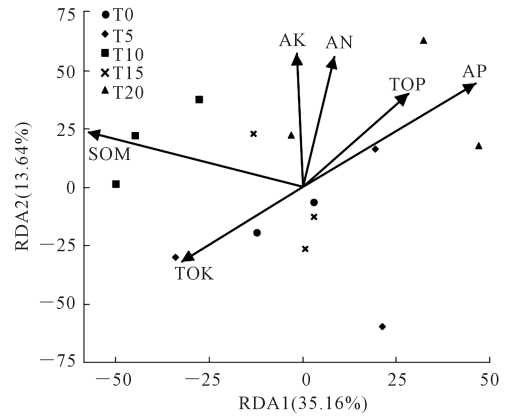


图 7 土壤细菌群落与土壤理化因子的 RDA 分析  
Fig.7 RDA analysis of soil bacterial communities and soil physicochemical properties

表 3 土壤细菌群落结构与土壤理化性质的相关性

Table 3 The correlation between soil bacterial communities and soil physicochemical properties

| 主要纲<br>Dominant phylum             | 有机质<br>Organic matter | 速效磷<br>Available P | 全磷<br>Total P | 速效钾<br>Available K | 全钾<br>Total K | 碱解氮<br>Available N |
|------------------------------------|-----------------------|--------------------|---------------|--------------------|---------------|--------------------|
| 放线菌纲 Actinobacteria                | 0.121                 | 0.332              | 0.436         | 0.472              | -0.331        | 0.449              |
| 酸杆菌门 Acidobacteria                 | 0.689**               | -0.293             | 0.245         | 0.177              | 0.207         | 0.016              |
| $\alpha$ -变形菌纲 Alphaproteobacteria | -0.386                | 0.718**            | 0.229         | -0.132             | -0.345        | 0.502              |
| 芽单胞菌纲 Gemmatimonadetes             | -0.182                | -0.443             | -0.599*       | -0.252             | 0.378         | -0.429             |
| 杆菌 Bacilli                         | -0.682**              | -0.143             | -0.438        | -0.272             | -0.482        | -0.449             |
| 热原体纲 Thermomicrobia                | -0.011                | 0.371              | 0.516*        | 0.102              | -0.57*        | 0.561*             |
| $\gamma$ -变形菌纲 Gammaproteobacteria | -0.254                | 0.593*             | 0.197         | -0.132             | -0.002        | 0.397              |

注: \*\*  $P<0.01$ ; \*  $P<0.05$ .

## 3 讨论

硒砂瓜是宁夏地区特有的经济作物,但连作障碍对硒砂瓜产量和品质造成严重影响,是目前亟待解决的问题<sup>[17]</sup>。连作障碍发生的原因主要有土壤营养失衡、土壤理化性质恶化、土壤微生物群落结

构失衡等。Xu 等<sup>[18]</sup>研究黄连连作发现,随着连作时间的增加,碱解氮、速效磷和速效钾含量都出现增加的趋势,与本研究 T5~T20 土壤有机质、全氮、速效钾、全磷含量均增加的结果相似,硒砂瓜连作障碍并不是由于土壤理化性质的改变所导致。

土壤微生物对作物的健康生长起着重要作用,

有益微生物能增加土壤肥力、改善根际土壤环境、促进根系的生长和防治植物病害等<sup>[19]</sup>。越来越多的研究表明,连作障碍与作物根际土壤微生物密切相关<sup>[20]</sup>。龚治翔等<sup>[21]</sup>研究表明,造成连作障碍的主要原因是由于土壤微生物群落结构的改变;朱菲莹等<sup>[22]</sup>研究结果显示,根际土壤细菌群落结构是影响西瓜枯萎病发生的主要环境因子。

本研究结果表明,不同连作年限硒砂瓜土壤细菌优势群落主要为放线菌门、变形菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、厚壁菌门,这与香榧、棉花、苕麻等的相关研究结果<sup>[23-25]</sup>相似。其中放线菌门随着连作时间的增加,会出现先增加后下降的趋势,在 T5 中丰度最高(图 2),放线菌门大多数微生物主要降解纤维素甚至许多难降解的芳香族化合物,对于土壤的矿化作用起十分重要的作用<sup>[26]</sup>。70% 抗生素来源于放线菌,其产生的抗生素及其代谢产物对动物植物等都具有重要作用<sup>[27]</sup>。可推测放线菌门在作物的连作过程中会抑制病原菌的侵害,其对长期连作土壤土传病害有一定的防治能力。变形菌门和放线菌门都是土壤中有益的菌门,参与各种有机物碳氮循环,如固氮菌,对作物在土壤中氮的吸收有一定的作用。绿弯菌门是一种能通过光合作用并以 CO<sub>2</sub> 为碳源产生能量的微生物,在有机质等营养含量低的土壤中也具有较强的竞争力,而硒砂瓜种植于干旱的沙漠地区,压砂种植,日照充足,土壤贫瘠,因此,绿弯菌门可能对硒砂瓜的生长具有重要作用。酸杆菌门是土壤微生物的重要成员,能降解植物残体、进行光合作用、参与碳化合物代谢等,在土壤物质循环和生态环境构建过程中起到非常重要的作用<sup>[28]</sup>。聂园军等<sup>[29]</sup>研究表明,随着连作时间的增加,西瓜土壤中有益微生物的降低而病原菌所在的镰刀菌属(*Fusarium*) 相对丰度增加,造成西瓜枯萎病的发生。本研究中,随着连作时间的增加,放线菌门、变形菌门、绿弯菌门丰度逐渐下降,可推测其有益菌丰度的降低,使得土壤抵抗性差,土壤中病原菌数量增加,从而造成连作障碍。

在目水平上,芽孢杆菌目、芽单胞菌目、根瘤菌目是硒砂瓜土壤中的优势类群。研究表明,绝大多数芽孢杆菌都是有益菌,对植物病原菌的防治具有重要价值<sup>[30]</sup>,李丹等<sup>[31]</sup>研究表明,解淀粉芽孢杆菌对西瓜枯萎病有较强的防治作用,岳菊<sup>[32]</sup>筛选的枯草芽孢杆菌对西瓜枯萎病的防效达 80.4%。本试验结果表明,随着连作时间的增加,芽孢杆菌目丰度呈现先增后降再升的趋势,在 T15 土壤中丰度最低,在 T20 土壤中丰度最高,可能是由于随着连作时间

的增加,病原菌数量增加,导致芽孢杆菌目中有有益菌数量减少;芽孢杆菌目在 T20 土壤中丰度增加,可能是由于长时间的连作使得土壤中细菌群落变化较大,因为长期连作扰乱了细菌群落结构,导致细菌群落增多<sup>[21,33]</sup>,同时,这也与本研究中不同连作年限土壤细菌多样性增加的结果一致。

## 4 结 论

不同连作年限硒砂瓜土壤理化性质变化不显著,硒砂瓜连作障碍的产生不是由于土壤理化性质的变化引起的,而是由于土壤微生物群落结构的变化所导致的。随着连作时间的增加,细菌群落结构发生改变,细菌群落增多,连作土壤中细菌群落多样性增加。在群落结构上,放线菌门、变形菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、厚壁菌门等有益微生物丰度的下降,造成连作障碍的产生。研究结果对于采用合理有效的方法改善土壤连作障碍具有重要意义。

## 参 考 文 献:

- [1] Vargas Cil S, Meriles J, Conforto C, et al. Field assessment of soil biological and chemical quality in response to crop management practices [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 25(3): 439-448.
- [2] Martin A. Introduction to soil microbiology [M]. New York: John Wiley & Sons Publishing, 1964:19-44.
- [3] 李晨华, 李彦, 谢静霞, 等. 荒漠-绿洲土壤微生物群落组成与其活性对比[J]. 生态学报, 2007, 27(8):3391-3399.
- [4] Ling N, Deng K Y, Song Y, et al. Variation of rhizosphere bacterial community in watermelon continuous mono-cropping soil by long-term application of a novel bioorganic fertilizer [J]. Microbiological Research, 2014, 169(7-8):570.
- [5] Klein E, Katan J, Gamliel A. Soil suppressiveness to fusarium disease following organic amendments and solarization [J]. Plant Disease, 2011, 95(95):1116-1123.
- [6] Dong L L, Xu J, Feng G Q, et al. Soil bacterial and fungal community dynamics in relation to Panax notoginseng death rate in a continuous cropping system [J]. Scientific Reports, 2016, 6:31802.
- [7] 赵帆. 不同连作年限草莓根际土壤微生物多样性变化[D]. 合肥: 安徽大学, 2018.
- [8] 王娟英, 许佳慧, 吴林坤, 等. 不同连作年限怀牛膝根际土壤理化性质及微生物多样性[J]. 生态学报, 2017, 37(17):5621-5629.
- [9] 崔勇. 马铃薯连作造成的影响及连作障碍防控技术[J]. 作物杂志, 2018, (2):87-92.
- [10] 张亚楠, 王兴祥, 李孝刚, 等. 连作对棉花抗枯萎病生理生化特性的影响[J]. 生态学报, 2016, 36(14):4456-4464.
- [11] 马媛媛, 李玉龙, 来航线, 等. 连作番茄根区病土对番茄生长及土壤线虫与微生物的影响[J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(5): 730-739.
- [12] 鲍士旦. 土壤化学分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [13] Bolger A M, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for

- Illumina sequence data [J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(15): 2114-2120.
- [14] Edgar R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST [J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(19): 2460-2461.
- [15] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [16] Deshpande V, Wang Q, Greenfield P, et al. Fungal identification using a Bayesian classifier and the Warcup training set of internal transcribed spacer sequences [J]. *Mycologia*, 2015, 108(1): 1-5.
- [17] 开建荣, 王晓静. 不同压砂地龄土壤肥力及硒砂瓜品质分析[J]. *北方园艺*, 2017, (3): 168-172.
- [18] Song X H, Pan Y, Li L Y, et al. Composition and diversity of rhizosphere fungal community in *Coptis chinensis* Franch. Continuous Cropping Fields [J]. *PLoS ONE*, 2018, 13(3): e0193811.
- [19] 董德武, 刘宇, 卢存龙, 等. 不同栽培年限蓝莓根际土壤微生物群落多样性分析[J]. *西北农业学报*, 2018, 27(7): 1041-1048.
- [20] 马琨, 张丽, 杜茜, 等. 马铃薯连作栽培对土壤微生物群落的影响 [C]//浙江省生态学会. 王兆骞教授农业生态学学术思想研讨会. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [21] 龚治翔, 马晓寒, 任志广, 等. 连作烤烟根际土壤细菌群落 16S rDNA-PCR-DGGE 分析[J]. *中国农业科技导报*, 2018, 20(2): 39-47.
- [22] 朱菲莹, 李基光, 张屹, 等. 西瓜根际土壤细菌群落多样性对枯萎病发生的影响[J]. *中国农学通报*, 2018, 34(17): 69-76.
- [23] 叶雯, 李永春, 喻卫武, 等. 不同种植年限香榧根际土壤微生物多样性[J]. *应用生态学报*, 2018, 29(11): 284-293.
- [24] 乔清华, 张传云, 袁哲诚, 等. 多年连作土壤中棉花根际细菌群落结构及其动态[J]. *棉花学报*, 2018, (2): 128.
- [25] Zhu S Y, Wang Y Z, Xu X M, et al. Potential use of high-throughput sequencing of soil microbial communities for estimating the adverse effects of continuous cropping on ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud) [J]. *PLoS ONE*, 2018, 13(5): e0197095.
- [26] 张丽丽. 整合宏组学方法揭示天然木质纤维素堆肥中的关键功能微生物群落[D]. 济南: 山东大学, 2016.
- [27] Seipke R F, Kaltenpoth M, Hutchings M I. Streptomyces as symbionts: an emerging and widespread theme? [J]. *Fems Microbiology Reviews*, 2012, 36(4): 862-876.
- [28] 王光华, 刘俊杰, 于镇华, 等. 土壤酸杆菌门细菌生态学研究进展[J]. *生物技术通报*, 2016, 32(2): 14-20.
- [29] 聂园军, 李瑞珍, 赵佳, 等. 西瓜连作对根际微生物群落的影响[J]. *中国瓜菜*, 2019, 32(1): 6-11, 3.
- [30] Lalloo R, Maharajh D, Görgens J, et al. A downstream process for production of a viable and stable *Bacillus cereus* aquaculture biological agent [J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2010, 86(2): 499.
- [31] 李丹, 李茸梅, 秦伟英, 等. 两株解淀粉芽胞杆菌对西瓜枯萎病的防治作用及其相关生防因子检测[J]. *中国生物防治学报*, 2018, 34(5): 84-92.
- [32] 岳菊. 西瓜枯萎病生防细菌筛选及其防治作用的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [33] 李小林, 李强, 彭卫红, 等. 烟草成熟期土壤细菌群落结构及多样性[J]. *中国烟草学报*, 2015, 21(4): 40-47.

(上接第 229 页)

- [26] Elfstrand S, Hedlund K, Mrtensson A. Soil enzyme activities, microbial community composition and function after 47 years of continuous green manuring [J]. *Applied Soil Ecology*, 2007, 35(3): 610-621.
- [27] 江春, 黄菁华, 李修强, 等. 长期施用有机肥对红壤旱地土壤线虫群落的影响[J]. *土壤学报*, 2011, 48(6): 1235-1241.
- [28] Nahar M S, Grewal P S, Miller S A, et al. Differential effects of raw and composted manure on nematode community, and its indicative value for soil microbial, physical and chemical properties [J]. *Applied Soil Ecology*, 2006, 34(2/3): 140-151.
- [29] 刘婷, 叶成龙, 陈小云, 等. 不同有机肥源及其与化肥配施对稻田土壤线虫群落结构的影响[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(12): 3508-3516.
- [30] 朱同彬, 陈小云, 张金波, 等. 优化施肥对设施蔬菜土壤线虫群落的影响[J]. *应用生态学报*, 2017, 28(3): 927-934.
- [31] 沈德龙, 曹凤明, 李力. 我国生物有机肥的发展现状及展望[J]. *中国土壤与肥料*, 2007, (6): 1-5.
- [32] 高超. 生物有机肥对农田土壤线虫群落结构的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- [33] Alam M M, Khan A M, Saxena S K. Mechanism of control of plant-parasitic nematodes as a result of the application of organic amend-
- ments to the soil IV. Role of formaldehyde and acetone [J]. *Journal of Reinforced Plastics and Composites*, 1978, 8(2): 172-174.
- [34] Guiran G D, Bonnel L, Abirached M. Land-spreading of pig Manures IV. Effect on Soil Nematode [M]. London: Applied Science Publisher, 1980: 109-119.
- [35] 毛妙, 王磊, 席运官, 等. 有机种植业土壤线虫群落特征的调查研究[J]. *土壤*, 2016, 48(3): 492-502.
- [36] Neher D A. Ecology of plant and free-living nematodes in natural and agricultural soil [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2010, 48(1): 371-394.
- [37] Li Q, Jiang Y, Liang W J, et al. Long-term effect of fertility management on the soil nematode community in vegetable production under greenhouse conditions [J]. *Applied Soil Ecology*, 2010, 46: 111-118.
- [38] Ferris H, Eyre M, Venette R C, et al. Population energetics of bacterial-feeding nematodes: stage-specific development and fecundity rates [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(3): 271-280.
- [39] Liu T, Guo R, Ran W, et al. Body size is a sensitive trait-based indicator of soil nematode community response to fertilization in rice and wheat agroecosystems [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 88: 275-281.