

不同生态条件对西瓜根际土壤微生物群落结构的影响

张 晓 晓, 安 美 君, 吴 凤 芝

(东北农业大学 园艺园林学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:以西瓜为试材,在黑龙江省内 11 种典型栽培模式背景下种植西瓜,研究了西瓜根际土壤微生物群落结构的变化。结果表明:栽种西瓜后明显改变了土壤微生物群落结构,其中处理 D(西瓜/西瓜)的微生物多样性指数和均匀度以及细菌的丰富度最低,并且与大多数处理的微生物群落结构相似性较低。相关性分析表明,真菌的多样性与土壤的电导率呈极显著负相关。经测序后发现,大部分的细菌属于链球菌属、放线菌、拟无枝酸菌、芽单胞菌门等;真菌类群为赤霉属、链格孢属、毛壳菌属、隐球菌属等。

关键词:生态条件;变性梯度凝胶电泳;细菌;真菌

中图分类号:S 651.606⁺.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)03-0101-08

土壤微生物能够直接或间接的影响土壤生态过程,是土壤生态系统中的重要组成部分。相关研究表明,根际微生物具有分解有机物,促进植物营养吸收,增强植物抵抗性的作用^[1],在植物健康生长中发挥着重要的作用。因此,土壤微生物常作为评价土壤质量,维持土壤肥力的重要生物学指标^[2-3],并且通常使用微生物的群落结构和多样性反映土壤微生物的特征^[4]。由于黑龙江省的独特条件,西瓜具有良好的生长环境,随着其经济效益提高,种植面积也在逐渐增大^[5],所以研究不同生态条件下土壤微生物群落结构和组分对于指导西瓜的种植具有重要的意义。

黑龙江省地处我国的东北部,地域跨越较大,具有多样的生态环境。土壤微生物可以通过调节它的活性、生物量以及群落结构来适应不同的生态环境^[6-7],而且土壤的理化性质,植物的种类及其群落结构的变化也会改变土壤微生物的生物学特性^[8-9]。研究表明,土壤的全氮、全钾、速效钾含量与微生物

群落结构密切相关^[10],细菌群落的多样性与土壤 pH 显著正相关^[11-12],真菌的多样性与土壤全氮相关^[13]。在不同的土壤管理方式下,土壤微生物的群落功能多样性不同,并且它的种类和群落结构也会发生变化^[14-16]。黄瓜、地黄连作使得土壤微生物的多样性指数,丰富度及均匀度随着连作年限的增加而降低^[17-19];间作、轮作可以增加根际的微生物区系组成,降低病害的发生,提高作物的产量^[20-22]。马宁宁等^[23]利用 PCR-DGGE 技术研究设施番茄长期连作土壤微生物群落结构时,发现土著真菌群落结构稳定性优于土著细菌,而且优势菌属于子囊菌纲;大葱伴生黄瓜的模式下,黄瓜根际土壤出现了一些特异菌群,如酸杆菌纲、放线菌纲、鞘氨醇菌纲和假单胞菌纲^[24];香蕉轮作比连作的细菌多样性更高,以拟杆菌门、酸杆菌门为主要菌群^[25]。正是由于上述这些条件的变化,土壤微生物群落才具有了不同的特征,从而影响了作物的生长发育。因此,该试验选取黑龙江省内 11 个不同生态环境的黑土土壤种植西瓜,研究不同生态条件对西瓜根际土壤微生物群落结构的影响,以期对西瓜种植模式的优化提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试西瓜品种“京欣”由哈尔滨市种子公司提供。

第一作者简介:张晓晓(1990-),女,硕士研究生,研究方向为设施园艺与蔬菜生理生态。E-mail:axiaode@163.com.

责任作者:吴凤芝(1963-),女,教授,博士生导师,研究方向为设施园艺与蔬菜生理生态。E-mail:fzww2006@aliyun.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31471917)。

收稿日期:2016-09-23

1.2 试验方法

在黑龙江省不同西瓜主产区选择 11 块具有不同前茬作物的地块,进行当年西瓜种植,每样地种植面积 0.667 hm² 以上,种植方式为连作或轮作,采用相同方法进行种植。土壤的采样地点及土壤的化学性质见表 1。

西瓜定植前采用五点取样法收集 20 cm 土层的

表 1 供试土壤基本化学性质

Table 1 Basic chemical properties of test soil

采样地点 Sampling place	处理编号 Treatment code	前茬作物 Previous crop	有机质含量 Organic matter content /(g · kg ⁻¹)	碱解氮含量 Alkali-hydrolyzable N content/(mg · kg ⁻¹)	速效磷含量 Available P content /(mg · kg ⁻¹)	速效钾含量 Available K content /(mg · kg ⁻¹)	pH	电导率 EC /(mS · cm ⁻¹)	有机碳含量 SOC content /(g · kg ⁻¹)
阿城玉泉镇	A	叶菜/草莓	24.64	310.61	393.23	231.04	7.26	1.20	14.29
望奎	B	番茄/草莓	28.72	340.16	414.29	210.17	6.54	0.79	16.66
双城朝阳	C	甘蓝/玉米	24.98	198.62	183.93	172.95	7.35	1.16	14.49
双城市	D	西瓜/西瓜	22.78	178.61	201.55	205.34	7.08	0.78	13.21
宁安兰岗镇 A	E	玉米/豆角	31.87	191.60	430.96	196.31	6.26	1.02	18.49
齐齐哈尔市郊	F	西瓜/西瓜(葫芦嫁接)	26.07	198.60	377.71	202.58	7.22	0.83	15.12
宁安兰岗镇 B	G	西瓜/辣椒	27.32	206.74	358.12	193.25	5.97	0.65	15.85
哈尔滨香坊	H	黄瓜/番茄	29.23	156.42	275.67	310.31	7.35	0.49	16.95
哈尔滨道里	I	香瓜/番茄	26.34	189.33	273.45	188.69	6.97	0.38	15.28
兰西县	J	番茄/叶菜	25.91	248.09	317.47	252.46	7.08	0.59	15.03
肇东红旗乡	K	玉米/玉米	22.27	235.78	269.62	195.56	7.47	0.57	12.92

1.3 项目测定

1.3.1 土壤微生物 DNA 的提取 每处理选取 3 个取样点的混合样作为样本土,提取土壤 DNA。采用天净沙系列试剂盒 Soil DNAout(天泽基因工程有限公司)提取土壤微生物 DNA。其中细菌 16S rDNA 序列扩增引物为 F338-GC 和 R518^[28],PCR 反应体系及条件参考 AN 等^[29]方法;真菌 ITS rDNA 区段扩增引物为 ITS1F 与 ITS2-GC^[30],PCR 反应程序及条件参考 AN 等^[29]方法。

1.3.2 变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析 制备 8% 的聚丙烯酰胺凝胶,其中变性剂的浓度从胶的上方向下方依次递增。细菌采用的变性剂浓度为 30%~60%,真菌采用的变性剂浓度为 30%~55%(100% 的变性剂为 7 mol · L⁻¹ 的尿素和 40% 去离子甲酰胺的混合物)。利用 D-code System(Bio-Rad 公司)设置电压 80 V、温度 60 ℃,电泳 10 h 后进行银染。利用 Alpha Imager HP-1.2.0.1 成像系统照相。将目的条带 DNA 回收、克隆^[29],筛选到的阳性克隆由哈尔滨博仕生物材料有限公司测序。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。

1.4 数据分析

采用 Bio-Rad Quantityone 4.3.0 软件对 DGGE

土壤,参照鲍士旦^[26]的方法,测定土壤化学性质;西瓜定植 90 d 后,在每样地随机选取 3 个取样点收获西瓜,并采用抖根法^[27]收集西瓜根际土壤,同样采用五点取样法采集土样,3 个西瓜取样点即为 3 次重复。根际土壤过 80 目筛,置于一 70 ℃ 冰箱备用。试验分析在东北农业大学蔬菜生理生态实验室完成。

指纹图谱进行数字化、标准化分析;采用 SPSS 16.0 软件对 DGGE 图谱的数字化结果进行主成分分析及相关性分析;采用 Microsoft Excel 及 Office 2010 软件处理试验原始数据。

2 结果与分析

2.1 不同生态条件对西瓜根际细菌群落结构的影响

由图 1a、2a 可知,西瓜定植前后土壤细菌的 DEEG 条带存在差异,但其主条带基本相同。各处理之间既有共有条带,也有差异条带。对差异条带克隆测序后与 GenBank 数据库序列进行 Blast 比对,同源性在 87%~100%,部分特异性条带结果见表 3。从整体条带分析可知,厚壁菌门在除 A、I、J 处理外的其它处理中均有表现;疣微菌门除处理 B、E、F 外,在其它处理中均有表现; α -变形菌纲,放线菌纲为处理 I、O 特有菌群;酸杆菌纲仅出现在 E、J、K 处理中; β -变形菌纲出现在处理 A、D、E、F 和 K 中;微单胞菌科,鞘氨醇单胞菌属分别是处理 A、G 和 G、K 的特有菌群。

定植前不同土壤生态条件土壤细菌群落结构的主成分分析(图 1b)结果表明,2 个主要成分 PC1 和 PC2 分别代表总变量的 27.030% 和 14.254%。根据各散点所在的位置以及散点间的距离判断:D、E、F、H 和 K 处理相距较近,形成一个区域,而其余的

散点相距较近,形成另一个区域,因此认为 D、E、F、H 和 K 处理的土壤细菌群落结构相似性相对较高,与其余处理土壤细菌群落结构则相对较低,说明定植前不同的作物种植方式下土壤细菌群落结构存在差异。

定植后,西瓜根际土壤细菌群落结构的主成分分析(图 2b)表明,2 个主要成分 PC1 和 PC2 分别代

表总变量的 26.870% 和 14.192%。各处理的散点大致可以分为 2 个区域,一个区域由 C、D、E、F 组成,它们之间相距较近。说明这几种处理的土壤细菌群落结构比较相似;另一个区域由其余 7 个的散点组成,它们之间的距离,除了 B 和 H 处理之间较近,每 2 个散点间都相距较远,说明各处理间对土壤细菌群落结构的影响存在差异。

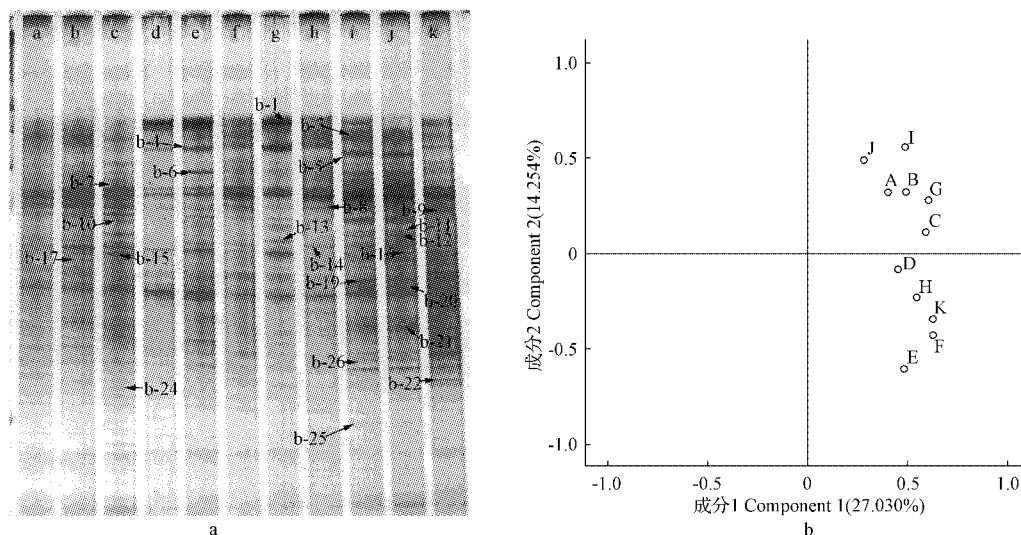


图 1 西瓜定植前土壤细菌 PCR-DGGE 图谱与主成分(PCA)分析

Fig. 1 Bacterial DGGE electrophoretogram and PCA analysis of soil before planting watermelon

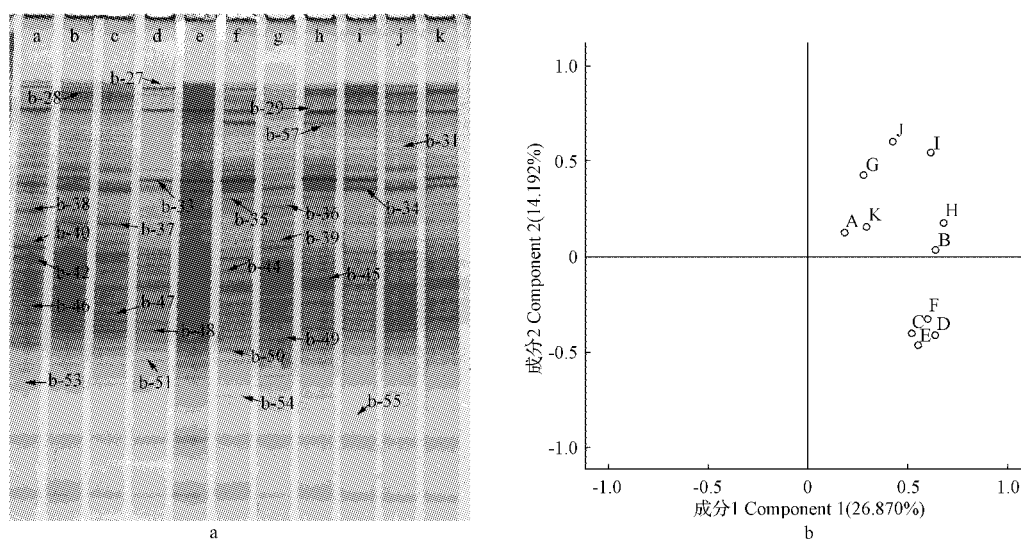


图 2 西瓜定植后西瓜根际土壤细菌 PCR-DGGE 图谱与主成分(PCA)分析

Fig. 2 Bacterial DGGE electrophoretogram and PCA analysis of watermelon rhizosphere soil after planting

2.2 不同生态条件对西瓜根际真菌群落结构的影响

由图 3a、4a 可知,西瓜定植前后不同的土壤生态环境下土壤真菌 DGGE 图谱的条带有差异。对土壤真菌 PCR-DGGE 差异条带克隆测序后与 GenBank 数据库序列进行 Blast 比对,同源性在

96%~100%,部分特异性条带结果见表 3。从整体条带结果分析,伞菌亚门在除处理 A、K 外,在其它 9 处理中均有表现;接合菌门出现在处理 C、D、E、F、G 中;球囊菌亚门,赤壳科在处理 I、K 中表现明显;链格孢属,赤霉属分别是处理 F、G 和处理 E、F 的特有

表 2 部分条带 16S rDNA PCR-DGGE 片段测序分析

Table 2 Sequencing analysis of part band 16S rDNA PCR-DGGE fragment

测序条带	片段长度	登录号	同源比对	Closest relative	相似度	序列比对
DGGE	Sequence	Accession	微生物来源	系统分类	登录号	Similarity
band	length/bp	code	Microorganisms	Phylogenetic affiliations	Accession code	Alignment
b-1	134	GQ866137	Uncultured bacilli bacterium clone MS020A1_B04 16S ribosomal RNA gene	Firmicutes 厚壁菌门	EF696151	90 175/194
b-3	157	GQ866138	Uncultured Firmicutes bacterium clone P1s-50 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Firmicutes 厚壁菌门	GQ287554	97 166/170
b-5	173	GQ866139	Alpha proteobacterium DCo04-78 gene for 16S rRNA	Alphaa 变形菌纲	AB308309	100 173/173
b-6	193	GQ866140	Uncultured Acidobacteria bacterium	Acidobacteria 酸杆菌纲	FJ570259	100 173/173
b-13	198	GQ866146	Uncultured bacterium	Bacteria	FJ948241	100 178/178
b-19	193	GQ866151	Uncultured actinobacterium	Actinobacteria 放线菌纲	AJ581629	98 167/170
b-22	218	GQ866154	Uncultured betaproteobacterium	Betaproteobacteriab β -变形菌纲	EF072954	99 197/198
b-27	186	GQ866156	Uncultured bacterium clone 1700a-13 16S ribosomal RNA gene	Bacteria	AY917410	97 194/198
b-28	198	GQ866157	Amycolatopsis sp. 308201	Pseudomonocardineae; Amycolatopsis	FJ830616	100 178/178
b-29	193	GQ866158	Uncultured bacterium	Bacteria	FJ977395	100 173/173
b-36	169	GQ866165	Uncultured Sphingomonas sp. clone PNS_3_10 16S ribosomal RNA gene	Alphaproteobacteria; Sphingomonas 鞘氨醇单胞菌属	FJ842908	99 171/172
b-40	165	GQ866169	Uncultured Actinoplanes sp. clone SDF-215 16S ribosomal RNA gene	Micromonosporaceae 微单孢菌科; Actinoplanes	EU547837	99 167/168
b-54	184	GQ866180	Uncultured Verrucomicrobiae bacterium clone 16S ribosomal RNA gene	Verrucomicrobiae 疣微菌门 Verrucomicrobia subdivision 3	EU298905	98 190/193
b-57	154	GQ866182	Uncultured bacterium partial 16S rRNA gene	Bacteria	AM259173	96 166/172

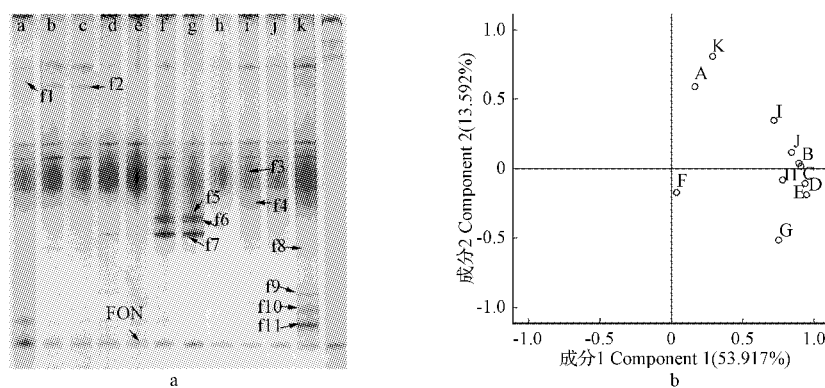


图 3 西瓜定植前土壤真菌 PCR-DGGE 图谱与主成分(PCA)分析

Fig. 3 Fungal DGGE electrophoretogram and PCA analysis of soil before planting watermelon

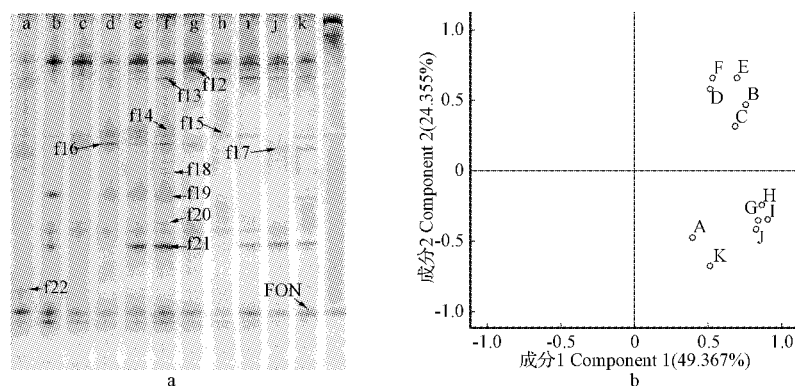


图 4 西瓜定植后西瓜根际土壤真菌 PCR-DGGE 图谱与主成分(PCA)分析

Fig. 4 Fungal DGGE electrophoretogram and PCA analysis of watermelon rhizosphere soil after planting

菌群;分枝孢子菌属仅存在于处理 K 中;附球菌属除处理 D、J 外,在其它各处理中均有表现;枝顶孢属在处理 D、J、K 表现明显;毛壳菌属是处理 A、F 的特有

菌群;柄孢壳菌属在处理 B、E、F、I、J、K 表现明显;隐球菌属是处理 A 的特有菌群。说明不同土壤生态条件下,西瓜种植后土壤真菌群落存在差异。

表 3 部分条带 ITS rDNA PCR-DGGE 片段测序分析

测序条带 DGGE band	片段长度 Sequence length/bp	登录号 Accession code	微生物来源 Microorganisms	同源比对 Closest relative Phylogenetic affiliations	登录号 Accession code	相似度 Similarity /%	序列比对 Alignment
f2	233	GQ866201	Uncultured fungus clone Singleton_ (308-1842-3176) 18S ribosomal RNA gene	Fungi	FJ784074	99	236/237
f3	73	GQ866202	Uncultured Glomus 18S rRNA gene	Glomeromycota; Glomeraceae 球囊菌亚门	AM992805	100	73/73
f4	247	GQ866203	Nectriaceae sp. LM109 18S ribosomal RNA gene	Ascomycota; Nectriaceae 赤壳科	EF060478	100	247/247
f5	271	GQ866204	Alternaria alternata 18S ribosomal RNA gene	Ascomycota; Pleosporaceae; Alternaria 链格孢属	FJ872066	99	276/278
f6	275	GQ866205	Alternaria sp. GZ-2006a 18S ribosomal RNA gene	Ascomycota; Alternaria 链格孢属	DQ499661	99	278/279
f7	258	GQ866206	Fusarium oxysporum strain F-T2. 1.1-030616-01 18S ribosomal RNA gene	Ascomycota; Hypocreales; Fusarium 尖镰孢属	EU364852	99	261/262
f9	246	GQ866208	Simplicillium sp. KYK00011 genes for 18S rRNA	Ascomycota; Hypocreales; Cordycipitaceae; Simplicillium	AB378538	98	258/263
f10	269	GQ866209	Cladosporium sp. F40 18S ribosomal RNA gene	Ascomycota; Davidiellaceae; Cladosporium 分枝孢子菌属	FJ755823	99	272/273
f11	273	GQ866210	Alternaria sp. IA275 18S ribosomal RNA gene	Ascomycota; Pleosporales; Alternaria	AY154708	100	273/273
f12	279	GQ866211	Uncultured Cryptococcus ITS1, 5.8S rRNA gene and ITS2	Basidiomycota; Agaricomycotina; 伞菌亚门 Tremellomycetes	FM866378	99	281/282
f14	255	GQ866213	Gibberella moniliformis strain Fm-X. 1.7-030527-08 18S ribosomal RNA gene	Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Gibberella 赤霉属	EU364865	99	260/262
f15	254	GQ866214	Epicoccum nigrum isolate L27 18S ribosomal RNA	Ascomycota; Leptosphaeriaceae 蛹孢假壳科; Epicoccum 附球菌属	FJ903352	99	259/261
f16	285	GQ866215	Uncultured zygomycete clone 4M1_C06 18S ribosomal RNA gene	Zygomycete 接合菌门	EU489899	99	290/292
f17	235	GQ866216	Acremonium sp. YT03 18S ribosomal RNA gene	Ascomycota; Acremonium 枝顶孢属	EF577237	99	240/242
f18	265	GQ866217	Chaetomium sp. 15002 18S ribosomal RNA gene	Ascomycota; Pezizomycotina; Chaetomium 毛壳菌属	EU750690	99	269/271
f20	279	GQ866218	Alternaria alternata strain GrS8 18S ribosomal RNA gene	Ascomycota; Pezizomycotina Alternaria 链格孢属	FJ904919	99	281/282
f21	195	GQ866219	Podospira communis strain NZ206 18S ribosomal RNA gene	Ascomycota; Lasiosphaeriaceae 毛球壳科; Podospira 柄孢壳菌属	EU621831	97	208/214

定植前不同土壤生态条件下土壤真菌群落结构主成分分析(图 3b)结果表明,2 个主要成分 PC1 和 PC2 分别代表总变量的 53.971%和 13.592%。B、C、D、E、H、J 处理的散点间相对较近,认为它们的土壤真菌群落结构比较相似,而它们与其余散点之间以及其它散点之间的距离则相对较远,说明定植前处理间的差异较大,其中西瓜嫁接处理 F 和玉米连作处理 K 的散点与其它散点都较远,说明与其它处理相比,F 和 K 处理的土壤真菌群落差异较大。

由图 4b 可知,定植后不同生态条件下西瓜根际土壤真菌群落结构主成分分析显示,2 个主要成分 PC1 和 PC2 分别代表总变量的 49.367%和 24.355%。G、H、I、J 处理的散点比较接近,说明它们之间的土壤真菌群落结构相似,连作处理与轮作处理对定植

后土壤真菌群落结构影响存在差异。另外,西瓜嫁接处理 F 与西瓜连作 D 处理的散点比较接近,说明虽然采取了隔年种植的栽培方式,但土壤中的真菌群落结构相似性仍然很高。

2.3 不同生态条件对西瓜根际土壤微生物群落结构多样性的影响

由表 4 可知,不同处理之间的细菌群落多样性相差较大,与其它处理相比,连作处理 D(西瓜/西瓜)的丰富度指数最低,为 23;轮作处理的多样性指数、均匀度指数均高于连作处理 D,其中处理 A、C 和 G 的多样性指数相对较高,细菌群落较丰富。在所有处理中,连作处理 D 的真菌群落的多样性指数、均匀度指数最小,真菌的多样性最低。

表 4 西瓜根际土壤微生物群落结构多样性

Table 4 Diversity of microbial community structure in watermelon rhizosphere

处理 Treatment	细菌 Bacteria			真菌 Fungi		
	丰富度指数 Richness index	多样性指数 Diversity index	均匀度指数 Evenness index	丰富度指数 Richness index	多样性指数 Diversity index	均匀度指数 Evenness index
A	39	2.23	0.51	13	0.70	0.21
B	31	1.65	0.38	11	0.84	0.26
C	40	2.22	0.51	12	0.70	0.21
D	23	1.42	0.33	10	0.64	0.19
E	30	1.70	0.39	14	0.75	0.23
F	35	1.94	0.45	14	0.74	0.23
G	42	2.07	0.48	11	0.78	0.24
H	31	1.91	0.44	10	0.98	0.30
I	30	1.33	0.31	15	1.17	0.36
J	35	1.90	0.44	14	1.05	0.32
K	25	1.29	0.30	8	0.80	0.24

2.4 西瓜根际土壤微生物多样性与土壤基本化学性质的相关分析

从表 5 可以看出,西瓜根际微生物的多样性与土壤电导率的相关关系最大,其中真菌多样性与电导率呈负相关,并达到极显著水平,细菌的多样性与

电导率呈正相关;碱解氮和速效磷均与真菌多样性负相关,而细菌的多样性与之相反;土壤速效钾与微生物的多样性呈正相关;而 pH 与微生物的多样性基本不相关。真菌多样性与有机碳、有机质呈正相关,相关系数大于细菌的相关系数。

表 5 西瓜根际土壤微生物多样性与土壤基本化学性质的相关关系

Table 5 Correlation between microbial diversity of watermelon rhizosphere and soil basic chemical properties

类别 Type	有机质 Organic matter	碱解氮 Alkali-Hydrolyzable N	速效磷 Available P	速效钾 Available K	pH	电导率 EC	有机碳 SOC
真菌 Fungi	0.233	-0.100	-0.042	0.363	0.047	-0.708**	0.233
细菌 Bacteria	0.181	0.139	0.193	0.189	-0.037	0.400	0.181

注:表中数字后**表示极显著相关($P<0.01$)。

Note: ** after the number in the table indicates a very significant correlation ($P<0.01$).

3 讨论与结论

西瓜种植前后土壤中微生物的群落结构发生了变化。种植西瓜后,各处理的细菌群落结构存在明显差异,连作处理 D(西瓜/西瓜)的条带亮度明显较弱,而其它轮作处理条带的亮度相对较强,其中处理 I(香瓜/番茄)、J(番茄/叶菜)、K(玉米/玉米)的条带亮度尤为明显(图 2a),虽然多数的轮作处理的细菌结构比较相似(图 2b),但是它们之间的距离相对分散,这可能是不同处理中前茬作物的种类和数量输入的差异影响了微生物群落^[31]。陈丹梅等^[32]的结果表明,轮作土壤中真菌种类多而连作土壤中的优势菌群相对丰富,该研究结果与其存在差异,原因可能是该试验的土壤环境条件不同,如土壤的养分, pH 等,这些因素都会对土壤微生物产生影响^[33],造成了其优势菌表现不明显。

该试验结果表明细菌大部分差异条带属于变形菌纲(Proteobacteria),这与前人的研究结果相一致^[34-36],其它条带推测为放线菌纲(Actinobacteria),鞘脂杆菌门(Sphingobacteria),厚壁菌门(Firmicutes),

酸杆菌纲(Acidobacteria),拟杆菌纲(Bacteroidetes),芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)等。除连作处理 D(西瓜/西瓜)外,在其它处理中发现了具有拮抗作用的菌类^[37-38],如链球菌属(*Streptococcus*),放线菌(*Actinomycetes*),拟无枝酸菌(*Amycolatopsis*),芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)等,它们能够产生抗生素,对土传病原菌具有一定的抑制作用,有利于促进植物的健康生长。相关研究表明^[39],真菌中的木霉菌(*Trichoderma*)、毛壳菌(*Chaetomium*)、厚壁孢子轮枝菌(*Verticillium*)及其菌根真菌(*Mycorrhiza fungui*)等均为拮抗菌,它们均属于子囊菌门(Ascomycetes)。该试验 ITS rDNA 的 PCR-DGGE 试验结果表明,轮作处理大部分差异条带属于赤霉属(*Gibberella*)、毛壳菌属(*Chaetomium*)、隐球菌属(*Cryptococcus*)等,因此在这些条带中可能含有拮抗菌。

根据 DGGE 图谱中条带的信息,对各处理中的多样性指数、丰富度及均匀度等指标进行综合分析可知,与大多数的轮作处理相比,连作处理 D 的微生物多样性较低,而不同的轮作处理之间,微生物多样

性也存在差异,说明不同的轮作作物对土壤微生物的影响不同。董艳等^[40]在研究设施内的栽培模式对土壤微生物的影响时,发现轮作处理能够增加微生物的多样性指数和均匀度指数,与该研究的结果相一致。合理的轮作方式可以降低病害的发生,提高作物的产量^[41],增加土壤微生物的多样性,其中叶菜-草莓-西瓜,甘蓝-玉米-西瓜的轮作方式效果最好。因此选择合理的轮作方式可以改变土壤微生物区系的组成,增加土壤微生物的多样性,为西瓜的种植模式的优化提供一定的理论依据。

尚天翠等^[42]在研究不同生态条件下樱桃林的土壤细菌数量变化时发现土壤细菌的数量与土壤有机质和全氮含量间存在极显著的正相关,与该研究中微生物的多样性指数与土壤有机质的含量呈正比相似。SHEN等^[43]的研究表明,长白山上的细菌群落多样性与pH显著正相关,这与该研究的结果不一致,可能是因为该试验的pH值变化范围比较小(5.97~7.47),使pH对微生物群落的影响表现不明显。而该试验中真菌群落的多样性与pH不相关,与LIU等^[13]的研究结果一致。

栽种西瓜后明显改变了土壤微生物群落结构,其中连作西瓜(D(西瓜/西瓜)处理)的微生物多样性指数和均匀度以及细菌的丰富度最低,并且与大多数处理的微生物群落结构相似性较低。相关性分析表明,真菌的多样性与土壤的电导率呈极显著负相关。经测序后发现,大部分的细菌属于芽单胞菌门,链球菌属,放线菌,拟无枝酸菌等,真菌类群为赤霉属、链格孢属、毛壳菌属、隐球菌属等。

参考文献

- [1] BERENDSEN R L, PIETERSE C M, BAKKER P A. The rhizosphere microbiome and plant health[J]. Trends Plant Sci, 2012, 17(8): 478-486.
- [2] BNEMANN E K, BOSSIO D A, SMITHSON P C, et al. Microbial community composition and substrate use in a highly weathered soil as affected by crop rotation and P fertilization[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(6): 889-901.
- [3] 周丽霞, 丁明懋. 土壤微生物学特性对土壤健康的指示作用[J]. 生物多样性, 2007, 15(2): 162-171.
- [4] ZHONG W H, CAI Z C. Long-term effects of inorganic fertilizers on microbial biomass and community functional diversity in a paddy soil derived from quaternary red clay[J]. Applied Soil Ecology, 2007, 36(2-3): 84-91.
- [5] 王喜庆, 贾云鹤, 李坤, 等. 黑龙江省西瓜甜瓜生产现状分析[J]. 中国瓜菜, 2014(27): 188.
- [6] SCHLOTTER M, DILLY O, MUNCH J C. Indicators for evaluating soil quality[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2003, 98(1-3): 255-262.
- [7] 白爱芹, 傅伯杰, 曲来业, 等. 大兴安岭火烧迹地恢复初期土壤微生物群落特征[J]. 生态学报, 2012, 32(15): 4762-4771.
- [8] 黄元元, 曲来叶, 曲秀春, 等. 镜泊湖岩溶地不同植被类型土壤微生物群落特征[J]. 生态学报, 2012, 32(9): 2827-2836.
- [9] GRAYSTON S J, WANG S, CAMPBELL C D, et al. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere[J]. Soil Biol Biochem, 1998, 30(3): 369-378.
- [10] 刘晓利, 樊剑波, 蒋瑞霖. 不同施肥制度甘蔗地土壤养分对微生物群落结构的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(18): 5242-5248.
- [11] FIERER N, JACKSON R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(3): 626-631.
- [12] ROUSK J, BAATH E, BROOKES P C, et al. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil[J]. ISME J, 2010, 4(10): 1340-1351.
- [13] LIU J, SUI Y, YU Z, et al. Soil carbon content drives the biogeographical distribution of fungal communities in the black soil zone of northeast China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 83: 29-39.
- [14] KÖHL L, OEHL F, van DHMGA, et al. Agricultural practices indirectly influence plant productivity and ecosystem services through effects on soil biota[J]. Ecological Applications, 2014, 24(7): 1842-1853.
- [15] ZHANG J, WANG Q, FAN J, et al. Comparisons of microbial abundance and community among different plant species in constructed wetlands in summer[J]. Ecological Engineering, 2015, 82: 376-380.
- [16] 路丹, 雷静, 韦燕燕, 等. 短期免耕和垄作对稻田土壤微生物群落及多样性指数的影响[J]. 西南农业学报, 2015, 28(4): 1670-1674.
- [17] 吴凤芝, 王学征. 设施黄瓜连作和轮作中土壤微生物群落多样性的变化及其与产量品质的关系[J]. 中国农业科学, 2007, 40(10): 2274-2280.
- [18] 张重义, 陈慧, 杨艳会, 等. 连作对地黄根际土壤细菌群落多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21(11): 2843-2848.
- [19] ZHOU X, GAO D, LIU J, et al. Changes in rhizosphere soil microbial communities in a continuously monocropped cucumber (*Cucumis sativus* L.) system[J]. European Journal of Soil Biology, 2014, 60: 1-8.
- [20] 吴凤芝, 周新刚. 不同作物间作对黄瓜病害及土壤微生物群落多样性的影响[J]. 土壤学报, 2009, 46(5): 899-905.
- [21] REN L, SU S, YANG X, et al. Intercropping with aerobic rice suppressed Fusarium wilt in watermelon[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(3): 834-844.
- [22] 胡国彬, 董坤, 董艳, 等. 小麦与蚕豆间作对根际真菌代谢功能多样性的影响[J]. 土壤学报, 2015, 52(4): 926-932.
- [23] 马宁宁, 李天来. 设施番茄长期连作土壤微生物群落结构及多样性分析[J]. 园艺学报, 2013, 40(2): 255-264.
- [24] 夏秀波, 王全华, 葛晨辉, 等. 大葱伴生栽培对黄瓜根区土壤细菌种群的影响[J]. 中国蔬菜, 2013(16): 72-77.
- [25] 欧阳炯, 阮小蕾, 吴超, 等. 香蕉轮作和连作土壤细菌主要类群[J]. 应用生态学报, 2011, 22(6): 1573-1578.
- [26] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 30-180.
- [27] XU W H, WANG Z G, WU F Z. The effect of D123 wheat as a companion crop on soil enzyme activities, microbial biomass and microbial communities in the rhizosphere of watermelon[J]. Frontiers in Microbiology, 2015(6): 899-908.
- [28] MUYZER G, WAAL E C D, UITTERLINDEN A G. Profiling of

complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(3): 695-700.

[29] AN M, ZHOU X, WU F, et al. Rhizosphere soil microorganism populations and community structures of different watermelon cultivars with differing resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. niveum[J]. Can J Microbiol, 2011, 57(5): 355-365.

[30] GARDES M, BRUNS T D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application to the identification of mycorrhiza and rusts[J]. Molecular Ecology, 1993(2): 113-118.

[31] 王旭熙, 吴福忠, 杨万勤, 等. 不同种植模式背景下栽植生姜对紫色土细菌多样性的影响[J]. 土壤学报, 2012, 49(1): 147-154.

[32] 陈丹梅, 陈晓明, 梁永江, 等. 种植模式对土壤酶活性和真菌群落的影响[J]. 草业学报, 2015, 24(2): 77-84.

[33] ACIEGO PIETRI J C, BROOKES P C. Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(7): 1856-1861.

[34] GE Y, ZHANG J, ZHANG L, et al. Long-term fertilization regimes affect bacterial community structure and diversity of an agricultural soil in northern China[J]. Journal of Soils and Sediments, 2008, 8(1): 43-50.

[35] JANGID K, WILLIAMS M A, FRANZLUEBBERS A J, et al.

Relative impacts of land-use, management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(11): 2843-2853.

[36] 沈冰洁, 祝贞科, 袁红朝, 等. 不同种植方式对亚热带红壤微生物多样性的影响[J]. 环境科学, 2015, 36(10): 3839-3844.

[37] COSTA R, GOTZ M, MROTZEK N, et al. Effects of site and plant species on rhizosphere community structure as revealed by molecular analysis of microbial guilds[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2006, 56(2): 236-249.

[38] BERG G, OPELT K, ZACHOW C, et al. The rhizosphere effect on bacteria antagonistic towards the pathogenic fungus *Verticillium* differs depending on plant species and site[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2006, 56(2): 250-261.

[39] 李卓楮. 微生物学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.

[40] 董艳, 鲁耀, 董坤, 等. 轮作模式对设施土壤微生物区系和酶活性的影响[J]. 土壤通报, 2010, 41(1): 53-55.

[41] 高丽丽, 杜清福, 韩俊杰, 等. 甘薯重茬对土壤微生物的影响及重茬障碍防治措施研究[J]. 作物杂志, 2015(4): 126-129.

[42] 尚天翠, 卫刚, 赵玉. 新疆野生櫻桃李林不同生态条件下土壤细菌数量变化及其影响因子研究[J]. 生态学杂志, 2015, 32(2): 58-60.

[43] SHEN C, XIONG J, ZHANG H, et al. Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 57: 204-211.

Effects of Different Soil Ecological Conditions on Structure of Microbial Communities of Watermelon Rhizosphere Soil

ZHANG Xiaoxiao, AN Meijun, WU Fengzhi

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract: Watermelon was used as test material, the change of soil microbial community structure was researched in 11 typical cropping modes of the Heilongjiang Province after cultivation of watermelon. It clearly changed the soil microbial community structure after cultivation of watermelon, in which the diversity index, evenness and richness of the bacteria was the lowest in the treatment D (watermelon/watermelon) whose microbial community structure was low similar to most of others' treatments. Correlation analysis indicated that there was extremely significant negative correlated between the diversity of fungi and the electrical conductive of soil. After sequencing, most of bacterium belonged to *Streptococcus*, *Actinomycetes*, *Amycolatopsis*, *Gemmatimonadetes* and so on, while many fungi were consist of *Gibberella*, *Alternaria*, *Chaetomium*, *Cryptococcus*.

Keywords: ecological conditions; DGGE; bacteria; fungi