

胡基华,李 晶,曹 旭,等. 解淀粉芽孢杆菌 TF28 不同施用方式对棚室连作黄瓜根际土壤细菌多样性的影响[J]. 江苏农业科学,2020,48(18):262-268.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.18.051

# 解淀粉芽孢杆菌 TF28 不同施用方式对棚室连作黄瓜根际土壤细菌多样性的影响

胡基华<sup>1</sup>, 李 晶<sup>1,2</sup>, 曹 旭<sup>1,2</sup>, 姜 威<sup>1,2</sup>, 陈静宇<sup>1</sup>, 孟利强<sup>1,2</sup>, 张淑梅<sup>1,2</sup>

(1. 黑龙江省科学院微生物研究所,黑龙江哈尔滨 150010; 2. 黑龙江省科学院高新技术研究院,黑龙江哈尔滨 150020)

**摘要:**为了研究棚室黄瓜连作障碍,利用微生物菌剂改善连作产生的土壤问题,将解淀粉芽孢杆菌 TF28 以液体(L)、颗粒(P)、复合(LP)3 种形式施用,取苗期、花期、盛果期、结果后期土壤样品,采用高通量测序技术对施用 TF28 与不施用 TF28(CK)处理的土壤细菌多样性、群落组成进行比较分析,并对菌群代谢功能进行预测。结果显示,变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、螺旋体菌门(Saccharibacteria)为 8 个优势菌门。*Haliangium*、*Asanoa*、*Microvirga* 3 个属与 CK 差异明显。结果 3 种处理的菌群功能预测结果比 CK 好,其中 P 处理预测结果比其他 2 种处理好,对棚室连作黄瓜土壤调节稳定。本研究为改善棚室连作黄瓜障碍,实现设施蔬菜持续稳定健康生产提供理论依据。

**关键词:**高通量测序;连作障碍;细菌丰度;代谢功能;施用方式

**中图分类号:** S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)18-0262-07

连作障碍备受关注<sup>[1]</sup>,研究表明土壤微生物区系改变是造成作物连作障碍的重要因素之一<sup>[2]</sup>。在东北地区,黄瓜(*Cucumis sativas* L.)是设施蔬菜的主要栽培种类,1 年可多茬栽种,农民为了经济效益盲目增加肥料投放量,更加剧了土壤营养失衡。土壤产出率虽高,但得不到修复、连年恶化,随着时间积累作物生理病害日益严重,产量和品质也随之下降<sup>[3-5]</sup>。土壤微生物作为土壤生态系统的重要组成部分,可以提高土壤肥力、维持土壤生态系统物质的良性循环,一定程度上抑制作物土传病害<sup>[6]</sup>。微生物群落结构越丰富,多样性越高,对抗病原菌的综合能力越强<sup>[7]</sup>。解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)在自然界中分布广泛,是一类重要的生防资源菌,具有较高开发价值<sup>[8-9]</sup>,在植物病害生物防治方面具有广阔的应用前景<sup>[10]</sup>。内生解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) TF28 是从大

豆根部分离出的 1 株内生细菌,具有广谱抗菌活性<sup>[11]</sup>。前期研究发现,它可以改善棚室连作土壤的 pH 值,增加土壤细菌、放线菌生物量,降低真菌生物量,同时对磷酸酶、脲酶、过氧化氢酶具有调节作用;对黄瓜的根系发育具有促进作用<sup>[12]</sup>。本研究基于前期试验结果,选取苗期、花期、结果期和结果后期土壤样品,采用高通量测序技术,对棚室连作黄瓜根际土壤细菌群落丰度动态变化和菌群功能进行研究预测,以期为微生物改善连作障碍、改良土壤健康状况提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验所用菌株由黑龙江省科学院微生物研究所生物工程重点实验室分离保存。试验地点:黑龙江省哈尔滨市太平镇兴业村。2018 年 2 月穴盘育苗,4 月 5 日棚室移栽;菌液浓度为  $10^8$  CFU/mL,颗粒剂含菌量为  $2 \times 10^8 \sim 3 \times 10^8$  CFU/g。菌剂施用方法:(1)液体样品(L)施用法:移栽时在苗根部浇施 5 mL( $10^8$  CFU/mL)/颗;(2)颗粒剂(P)施用法,瓜苗移栽前穴施 5 g( $2 \times 10^8 \sim 3 \times 10^8$  CFU/g)/颗;(3)复合[LP(菌液+颗粒剂)]施用法:移栽时穴施 5 g( $2 \times 10^8 \sim 3 \times 10^8$  CFU/g)/颗,移栽后浇施菌悬液

收稿日期:2019-11-14

基金项目:黑龙江省院所基本应用技术研究专项(编号:ZNBZ2018SW02)。

作者简介:胡基华(1970—),女,吉林长春人,博士,副研究员,主要从事生物防治方面研究。E-mail:158631375@qq.com。

通信作者:张淑梅,博士,研究员,从事微生物药物研究。E-mail:shumeizhang@Yahoo.com。

5 mL( $10^8$  CFU/mL)/颗。以不施用 TF28 的处理为空白对照(CK)。日光温度南北跨度 50 m,东西跨度 7 m,黄瓜种植行距 50 cm,株距 35 cm。按周取样,采用五点取样法取根际 5~10 cm 处土壤,混合过 2 mm 筛,于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冻存储用。

## 1.2 土壤微生物基因组 DNA 提取

根据前期 TF28 对黄瓜的生育指标、pH 值、酶(磷酸酶、脲酶、过氧化氢酶)活性的试验结果<sup>[12]</sup>,选用苗期(第 2~3 周)、花期(第 4 周)、盛果期(第 6~7 周)、结果后期(第 10 周)6 个时间段的 24 组样品,送至上海派森诺生物科技股份有限公司进行 DNA 提取和高通量测序。使用 OMEGA 土壤试剂盒(D5625-01)提取细菌总基因组 DNA 样本, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  存储。分别用 NanoDrop ND-1000 分光光度计(美国赛默飞世尔科技有限公司生产)和琼脂糖凝胶电泳法测定 DNA 的提取量和质量。

## 1.3 聚合酶链式反应(PCR)扩增及高能量测序

提取的 DNA 以 v3 和 v4 为目标区域进行 PCR 扩增,引物序列为 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCA GCA-3')及 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAA T-3'),扩增产物在 Illumina Miseq 平台上进行高能量测序。

## 1.4 对根际土壤细菌群落分析

对 Illumina Miseq 测序平台所得数据进行处理,去除低质量序列(长度 $<150\text{ bp}$ 、测序碱基质量值 $<20$ 的序列,即模糊碱基和单核苷酸重复 $>8\text{ bp}$ 的序列),得到优质序列进行下游分析。在嵌合体检测之后采用 UCLUST 软件以 97% 相似度进行操作分类单元(OTU)划分,按丰度高低使用 QIIME 软件构建稀释性曲线。通过 Galaxy 在线分析平台进行 LEfSe 分析,对样本(组)间进行分类学组成的差异分析。使用 Mothur 软件,调用 Metastats(<http://metastats.cbcb.umd.edu/>)的统计学算法,对门、属水平的各分类单元在样本(组)间的序列量(即绝对丰度)差异进行两两比较。菌群代谢功能使用 PICRUST 预测工具,将现有的 16S rRNA 基因测序数据与代谢功能已知的微生物参考基因组数据库相对比,从而实现了对细菌和古菌代谢功能的预测,根据不同物种 16S rRNA 基因拷贝数的差异,对原始数据中的物种丰度数据进行校正。

## 1.5 数据分析

采用 Excel 2007 和 SPSS 17.0 软件进行数据分析,应用 ANOVA 单因素(LSD 法)进行显著性检验

( $P<0.05$ )。

# 2 结果与分析

## 2.1 不同处理土壤微生物群落丰度及多样性

3 种处理 6 个时间点共计 24 个样本,共获得 804 159 条高质量的内转录间隔区(ITS)序列。土壤细菌覆盖度(coverage)指数为 0.909 8~1.000,测序数据量合理,测序数据基本涵盖棚室连作黄瓜土壤中所有细菌类群,能体现土壤环境中细菌特征。按 97% 的序列相似度进行归并共产生 10 398 个 OTU,L、P、LP 和 CK 所特有的 OTU 数量分别为 679、773、717、713(图 1-a)。多样性 Simpson 和 Shannon 指数第 4 周 P 处理均为最高,分别为 0.998 619 和 10.50(表 1);丰富度 Chao1 和 ACE 指数在第 6 周 P 处理有最高值,分别为 4 043.64 和 4 172.24;可视物种在第 2 周 LP 处理显示为最高值 3 044.00。

## 2.2 不同处理棚室连作黄瓜土壤细菌群落组成

根据获得的 OTU 丰度矩阵,使用 R 软件计算各样本(组)独有及共有 OTU 数量,L、P、LP 和 CK 的 OTU 分别为 679、773、717 和 713(图 1-a)。OTU 共注释到 31 个门,106 个纲,218 个目,424 科,1 008 个属和 1 769 个种。门水平丰度前 20 用柱形标示(图 1-b),其中大于 1% 的有 8 个,分别是变形菌门(Proteobacteria,43.52%)、放线菌门(Actinobacteria,25.80%)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes,7.19%)、拟杆菌门(Bacteroidetes,7.00%)、绿弯菌门(Chloroflexi,6.32%)、酸杆菌门(Acidobacteria,4.38%)、厚壁菌门(Firmicutes,1.89%)、螺旋体菌门(Saccharibacteria,1.85%),变形菌门为主要优势菌类群。1 008 个属丰度高于 1% 有 17 个,其中 4 个为变形菌门,3 个为放线菌门、绿弯菌门和拟杆菌门,芽单胞菌门、放线菌门、螺旋体菌门和厚壁菌门各有 1 个。

## 2.3 不同处理样本间差异分析

表 2 显示,门水平两两比较发现 P-CK 中绿菌门(Chlorobi)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、酸杆菌门、绿弯菌门、芽单胞菌门这 5 个具有差异性;L 和 CK 两两比较中酸杆菌门具有差异性(表 3)。属水平比较中,P 和 CK 具有差异性的样本(组)共有 44 个(表 2、表 4),L 和 CK 有 28 个,LP 和 CK 有 15 个。属水平样本(组)间差异最显著的前 20 个分类单元的丰度分布情况用小提琴图标示(图 2),其中

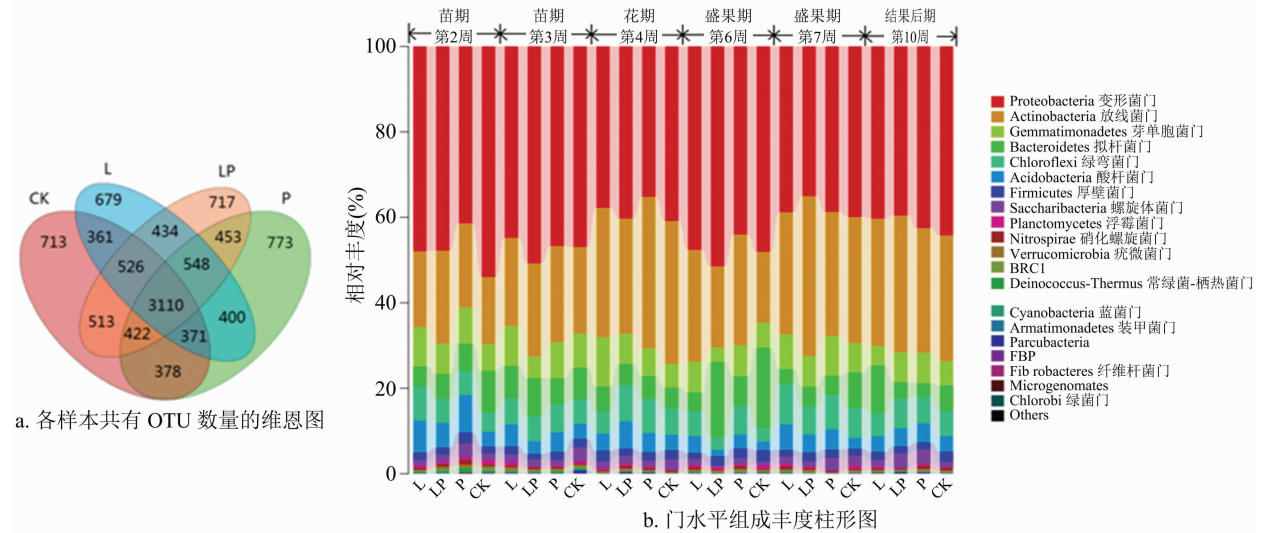


图1 不同处理土壤微生物群落丰度及多样性

表1 连续6周不同处理土壤细菌多样性指数

日期	处理	覆盖度指数	多样性指数		丰富度指数		可视物种数
			Simpson	Shannon	Chao1	ACE	
第2周苗期	L	0.922 3	0.997 781aA	10.19aA	3 606.34aA	3 700.26aA	2 691.00aA
	LP	0.916 0	0.998 268aA	10.46bB	3 711.54aA	4 090.46aA	3 044.00bB
	P	0.961 5	0.998 289aA	10.27aA	2 583.29bB	2 731.07bB	2 413.00aA
	CK	0.955 0	0.997 825aA	10.19aA	2 705.94bB	2 906.19bB	2 514.00aA
第3周苗期	L	1.000 0	0.998 026aA	10.32aB	2 399.00aC	2 399.00aC	2 999.00aB
	LP	1.000 0	0.997 611aA	10.14bA	2 256.00aC	2 256.00aC	2 256.00bA
	P	0.999 8	0.997 908aA	10.21bA	2 322.00aC	2 323.04aC	2 322.00bA
	CK	0.987 8	0.998 189aA	10.37bB	2 575.43bB	2 630.12bB	2 566.00bA
第4周花期	L	0.999 9	0.998 009aA	10.23aA	2 318.00aC	2 318.35aC	2 318.00aA
	LP	0.919 2	0.998 159aA	10.29aA	3 753.01bA	3 776.84bA	2 740.00bA
	P	1.000 0	0.998 619aA	10.50bB	2 462.00aB	2 462.00aC	2 462.00aA
	CK	0.977 3	0.997 407bB	10.21aA	2 579.90aB	2 681.83aC	2 545.00aA
第6周盛果期	L	0.924 9	0.997 36aB	10.14aA	3 323.54aA	3 511.20aA	2 652.00aA
	LP	0.998 0	0.996 369cC	9.85aC	2 192.28bC	2 201.77bC	2 192.00bC
	P	0.909 8	0.998 539aA	10.52bB	4 043.64cD	4 172.24cA	3 002.00cB
	CK	1.000 0	0.996 789cC	9.85aC	2 021.00bC	2 021.00bC	2 021.00bC
第7周盛果期	L	0.992 6	0.998 222aA	10.35aB	2 519.20aB	2 554.30aB	2 516.00aA
	LP	1.000 0	0.998 446aA	10.40aB	2 396.00aC	2 396.00aB	2 396.00aA
	P	0.924 1	0.998 046aA	10.24aA	3 463.31bA	3 565.25bA	2 673.00aA
	CK	0.957 9	0.998 096aA	10.23aA	2 668.23aB	2 849.68aB	2 408.00aA
第10周结果后期	L	0.919 4	0.998 107aA	10.31aB	3 754.01aA	3 738.64aA	2 712.00aA
	LP	0.927 5	0.997 934aA	10.23aA	3 356.53aA	3 478.77aA	2 637.00aA
	P	0.923 8	0.996 438bC	9.96bA	3 574.60aA	3 532.4a3A	2 570.00aA
	CK	0.918 2	0.998 225aA	10.35aB	3 769.29aA	3 796.73aA	2 794.00aA

注:同列数据后不同小写字母表示每周4个样品差异显著( $P < 0.05$ ),不同大写字母表示同列24个样品差异显著( $P < 0.05$ )。

表 2 样本(组)间的 Metastats 两两比较检验统计表

组间比较	门(个)	属(个)
L - CK	1	28
LP - CK	0	15
P - CK	5	44

表 3 门水平两两比较差异统计表

组间差距	名称	OTU 相对丰度值
L - CK	Acidobacteria 酸杆菌门	638.50(L)/402.00(CK)
P - CK	Chlorobi 绿菌门	3.00(P)/0.67(CK)
	Nitrospirae 硝化螺旋菌门	80.63(P)/49.50(CK)
	Acidobacteria 酸杆菌门	644.83(P)/402.00(CK)
	Gemmatimonadetes 芽单胞菌门	997.83(P)/807.33(CK)
	Chloroflexi 绿弯菌门	881.50(P)/688.50(CK)

*Asanoa*、*Georgenia*、*Microvirga* 的 3 个处理与 CK 差异最为明显。

#### 2.4 菌群代谢功能预测

根据 PICRUST 预测结果,共有功能类群数量为 5 757(图 3 - a);两两重叠部分数量分别是 3(L/CK)、6(L/LP)、8(LP/P)、14(L/P)、7(P/CK)、7(LP/CK);三重叠部分数量分别为 12(CK/L/LP)、44(L/LP/P)、7(CK/L/P);L、LP、P 和 CK 独有功能菌群数量分别是 21、58、16 和 5。如高丰度前 50 位的功能类群聚类分析绘制热图(图 3 - b)所示,将两大区块按丰度高低再分为 4 个区块(图 3 - b 黄线分割)。在 10 个高丰度功能类群中,3 个处理组各有 3 个,CK 有 1 个;在 14 个低丰度样品中,3 个处理组各有 3 个,CK 有 5 个。P 处理 6 个时间段分别在 I、II、III 区,4 个区均有 L、LP 处理。部分类群功能见表 5。

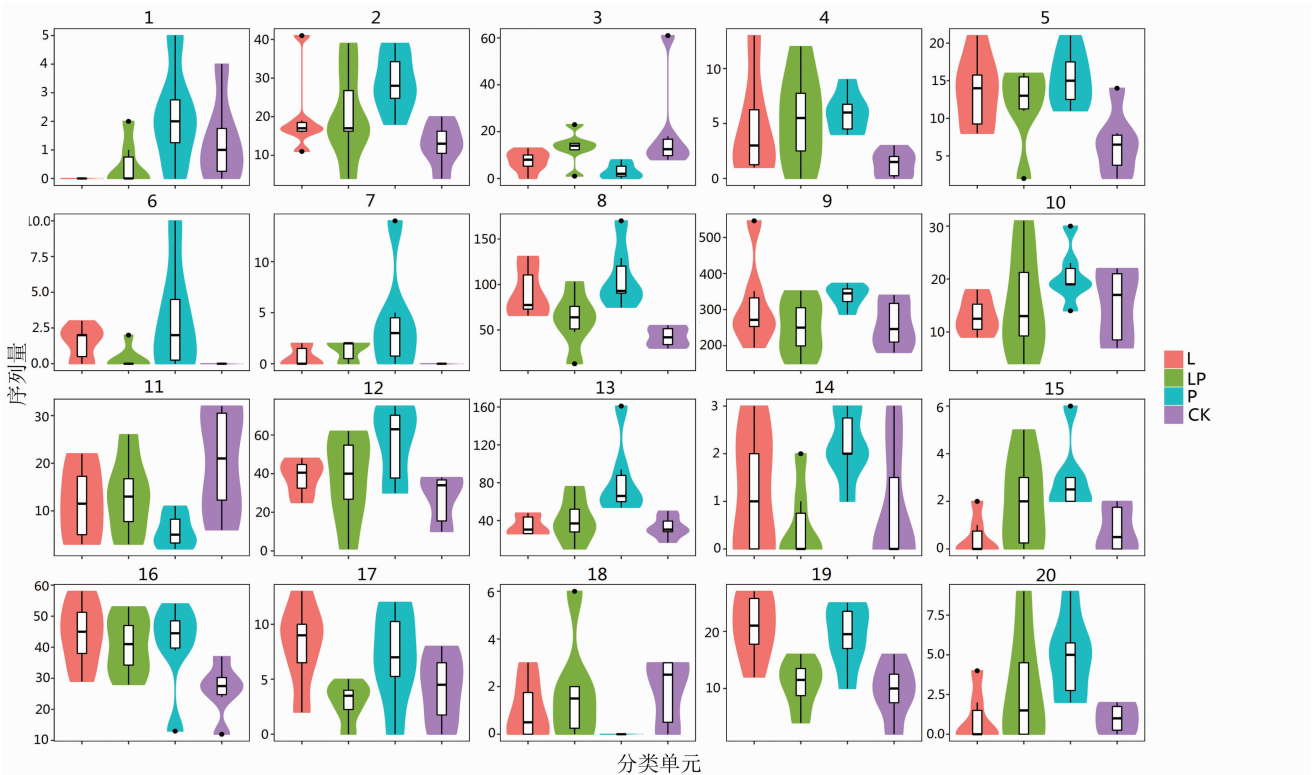
### 3 讨论与结论

微生物在土壤有机质形成和养分转化循环中有重要作用<sup>[13]</sup>,土壤微生物群落结构、多样性、活性是影响连作障碍的主要因素<sup>[14]</sup>,同时也是维持土壤生态系统稳定性和可持续性的重要保证。设施蔬菜连作会导致土壤微生物群落结构单一、有害微生物数量增多<sup>[15]</sup>。解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) TF28 能够产生多种抗菌物质,具有广谱抑制植物病原真菌的功能<sup>[16]</sup>。本研究结果显示,3 种处理在苗期、花期、盛果期、结果后期土壤微生物的群落结构差异不大,连作并未造成土壤菌

表 4 属水平的两两比较差异统计

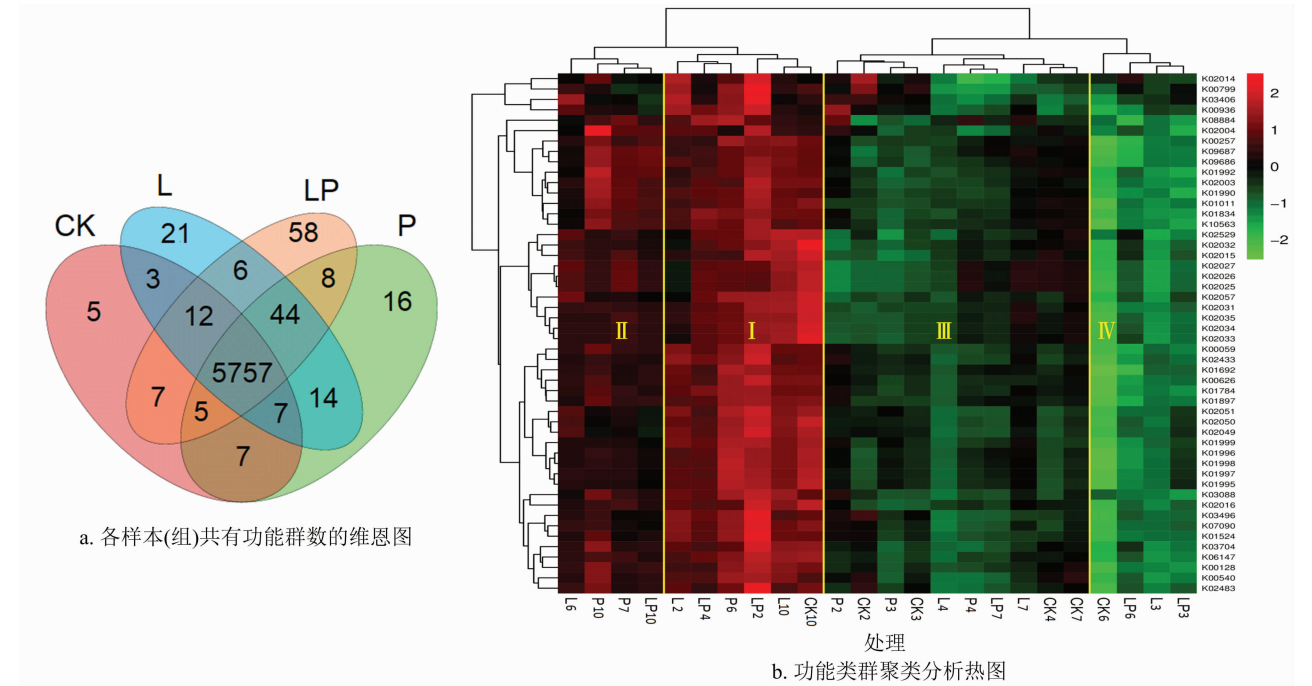
序号	P - CK	L - CK	LP - CK
1	纤维微菌属	DS - 100	弗拉特氏菌属
2	AKYG587	<i>Aggregicoccus</i>	柠檬酸菌属
3	巴尔通体属	<i>Plantactinospora</i>	possible_genus_04
4	<i>Methylovirgula</i>	放线菌属	<i>Niastella</i>
5	放线菌属	嗜酸菌属	<i>Alicyclophilus</i>
6	<i>Alicyclophilus</i>	WX59	嗜酸菌属
7	<i>Kribbia</i>	<i>Fodinicola</i>	<i>Aquicella</i>
8	<i>Kineosporia</i>	微丝菌属(暂定)	<i>Jeotgalicoccus</i>
9	木洞菌属	枝芽孢菌属	丛毛单胞菌属
10	<i>Lapillicoccus</i>	<i>Dongia</i>	<i>Aerosphaera</i>
11	<i>Aquicella</i>	<i>Noviherbaspirillum</i>	wastewater_metagenome
12	<i>Paracaligenes</i>	根瘤菌属	<i>Virgisporangium</i>
13	小月菌属	<i>Tellurimicrobium</i>	<i>Ramlibacter</i>
14	<i>Virgisporangium</i>	<i>Asanoa</i>	赖氨酸单胞菌属
15	<i>Asanoa</i>	迪茨菌属	微枝形杆菌属
16	<i>Pelagibacterium</i>	<i>Phytohabitans</i>	
17	<i>Phytohabitans</i>	<i>Bogoriella</i>	
18	<i>Anseongella</i>	<i>Anseongella</i>	
19	副球菌属	红游动菌属	
20	红游动菌属	赖氏菌属	
21	C1 - B045	H16	
22	酸杆菌属	哈马达菌属	
23	哈马达菌属	<i>Actinotalea</i>	
24	生丝微菌属	微枝形杆菌属	
25	<i>Pseudohongiella</i>	<i>Reyranella</i>	
26	<i>Salinimicrobium</i>	指孢囊菌属	
27	等孢子球虫属	<i>Gaiella</i>	
28	角珊瑚属	<i>Mizufakiibacter</i>	
29	玫瑰弯菌属		
30	梭菌属		
31	韩国生工属		
32	微枝形杆菌属		
33	<i>Haliangium</i>		
34	<i>Reyranella</i>		
35	麻风树属		
36	硝化螺旋菌属		
37	放线菌属		
38	热单胞菌		
39	游动放线菌属		
40	芽生球菌属		
41	中慢生根瘤菌属		
42	芽单胞菌属		
43	溶杆菌属		
44	藤黄色单胞菌属		

注:每列按 P 值升序排列。



1—WX59; 2—不动杆菌属(*Acidibacter*); 3—*Aquamicrobium*; 4—*Aquicella*; 5—*Asanoa*; 6—DS-100; 7—弗拉特氏菌属(*Frateuria*); 8—*Gaiella*; 9—芽单胞菌属(*Gemmatimonas*); 10—地嗜皮菌属(*Geodermatophilus*); 11—乔治菌属(*Georgenia*); 12—侏囊菌属(*Haliangium*); 13—*Jatrophihabitans*; 14—*Kineosporia*; 15—*Kribbia*; 16—微枝形杆菌属(*Microvirga*); 17—*Noviherspirillum*; 18—*Paralcaligenes*; 19—*Rhodoplanes*; 20—木洞菌属(*Woodsholea*)。横坐标为差异最显著的前 20 个分类单元, 纵坐标为各分类单元在各样本(组)内的序列量。“小提琴”的“胖瘦”反映了样本数据分布的密度高低(宽度越宽, 表明该序列量下对应的样本越多); 箱线图边框代表上下四分位数间距(interquartile range, IQR), 横线代表中位值, 上下触须分别代表上下四分位以外的 1.5 倍 IQR 围, 符号“...”表示超过范围的极端值

图2 属水平差异显著性前 20 个分类单元小提琴图



b. 功能类群聚类分析热图

b 中结合聚类分析的KEGG直系同源基因簇(KO)丰度, 按照不同样本中分布的相似度进行聚类, 各样本根据聚类分析结果按相似度横向依次排列, 红色代表在对应样本中丰度较高的功能类群, 绿色代表丰度较低的功能类群, 横轴字母后的数字表示时间(周)

图3 菌群代谢功能预测

表 5 部分类群主要功能

功能类群编号	主要功能
K02014	属于铁复合物外膜受体蛋白
K00799	促进谷胱甘肽 S- 转移酶形成
K03406	属于甲基受体趋化蛋白
K08884	形成丝氨酸、苏氨酸蛋白激酶
K09687	生成抗生素转运系统 ATP 结合蛋白
K01990, K01992	生成 ABC-2 型转运系统 ATP 结合蛋白, 促进渗透蛋白系统转运
K01011	促进硫代硫酸盐/3- 巯基丙酮酸硫基转移酶形成
K01834	生成 2,3- 双磷酸甘油酸依赖型磷酸甘油酸变位酶
K10563	生成甲酰胺嘧啶- DNA 糖基化酶
K02529	属于 LacI 家族转录调节因子
K02032	属于肽、镍转运系统 ATP 结合蛋白
K02015	生成铁复合转运系统渗透蛋白
K02025 - 02027, K02057	属于多糖转运系统底物结合、渗透、单糖转运系统渗透蛋白
K02031, K02033 - K02035	属于肽、镍转运系统 ATP 结合、底物结合、系统渗透蛋白
K00059	生成 3- 氧羰基- 酰基载体蛋白还原酶
K02433	生成天冬氨酰 tRNA( ASN)、谷氨酰 tRNA( GLN) 酰胺转移酶
K01692	属于苯基辅酶 A 水合酶
K00626	属于乙酰辅酶 A c- 乙酰转移酶
K01784	属于 UDP- 葡萄糖 4- 差向异构酶
K01897	属于长链酰基辅酶 A 合成酶
K02049 - K02051	属于磺酸盐、硝酸盐、牛磺酸、系统转运 ATP 结合蛋白
K01995 - K01999	属于支链氨基酸转运系统 ATP 结合渗透蛋白
K03088	属于 ECF 亚家族 RNA 聚合酶 sigma70 因子
K02016	属于铁铬合物转运系统底物结合蛋白
K03496	属于染色体分配蛋白
K03704	属于冷休克蛋白
K06147	属于细菌 B 亚科 ATP 结合基因盒
K00128	属于醛脱氢酶( NAD + )
K02483	属于双组分系统 OMPR 系列响应调节器

群生物量大量减少, 菌群构成较稳定。但是在花期、盛果期, 土壤微生物相对丰度存在较大差异, 这与前人研究结果<sup>[17-19]</sup>相似。P 处理在第 4 周(花期)和第 6 周(盛果期)多样性指数与丰富度指数达到最高值, 明显高于其他 2 种处理和空白对照, 根际微生物主要类群的数量与其生长发育呈正相关关系, 这与前人研究结果<sup>[20]</sup>一致。土壤细菌群落组成结果表明, 变形菌门为优势类群、其次为放线菌门和芽单胞菌门, 连作会造成土壤微生物选择性的适应, 造成某些种群富集, 而另一些种群数量降低的现象<sup>[17]</sup>。与 CK 相比, P 处理提高硝化螺旋菌门微生物量, 硝化螺旋菌门具有固氮作用和良好的根际效应, 相关结论有待后续试验验证。酸杆菌门是 L 和 P 处理与 CK 共同差异菌门, 特别是 P 处理酸杆

菌门 OTU 相对丰度比 CK 提高 60.4%, 显示了明显的调节作用; 已有的研究表明酸杆菌广泛存在于自然界的各种环境中, 占土壤细菌类群的 5% ~ 46% 或者超过 50%<sup>[21-22]</sup>, 大多为嗜酸菌, 对土壤 pH 值极为敏感<sup>[23]</sup>。3 种处理对 *Haliangium*、*Acidibacter*、*Microvirga* 具有明显的调节作用(表 4、图 3), *Haliangium* 为一种中度嗜盐菌群<sup>[24]</sup>, *Acidibacter* 为一种嗜酸铁离子还原菌<sup>[25]</sup>, *Microvirga* 具有明显的溶大肠杆菌活性, 抑制马铃薯晚疫病菌活性<sup>[26]</sup>。菌群代谢功能预测 L、LP、P 特有数量均比 CK 高; 三重叠部分数量 CK 与 L、LP 组和 L、P 组数量分别是 12 和 7, 而 L、LP、P 重叠部分数量为 44, 差异明显, 2 组数据说明 3 种处理与空白对照相似度小, 对土壤微生物的功能作用高于空白对照。LP2、L10、CK10 3

个时间段在 I 区功能类群丰度值相对较高,这可能是苗期土壤微生物代谢功能健康,结果后期植株需要养分较少,同时土壤具有自我修复能力的表现。菌群代谢功能结果显示,TF28 提高了连作土壤整体细菌群系的功能包括生物降解和代谢、类萜化合物和聚脂化合物的代谢、碳水化合物代谢、氨基酸代谢、多糖和单糖生物合成和代谢等,代谢功能作用将在后续工作中继续研究证实。

本研究结果说明,解淀粉芽孢杆菌 TF28 对棚室连作黄瓜根际土壤具有改善作用,3 种处理对土壤微生物细菌群落丰度及多样性与 CK 无明显差异,对连作黄瓜土壤中细菌群落组成与 CK 差异明显。TF28 对棚室连作黄瓜土壤具有一定的调节修复作用,P 处理与 L 和 LP 相比表现出良好的根际效应和稳定的改善作用。

#### 参考文献:

- [1] 贺丽娜,梁银丽,高 静,等. 连作对设施黄瓜产量和品质及土壤酶活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2008,36(5):154-159.
- [2] Yin B, Crowley D, Sparoved G, et al. Bacterial functional redundancy along a soil reclamation gradient[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000,66(10):4361-4365.
- [3] 何莉莉,陈 阳,陈俊琴,等. 黄瓜连作栽培中营养基质的微量元素、病原菌和产量的变化[J]. 沈阳农业大学学报,2010,41(1):13-17.
- [4] 许云翔,何莉莉,刘玉学,等. 施用生物炭 6 年后对稻田土壤酶活性及其肥力的影响[J]. 应用生态学报,2019,30(4):1110-1118.
- [5] 吴风芝,刘 德,栾非时. 大棚土壤连作年限对黄瓜产量和品质的影响[J]. 东北农业大学学报,1999,30(3):245-267.
- [6] 张 超,朱三荣,田 峰,等. 不同绿肥对湘西烟田土壤细菌群落结构与多样性的影响[J]. 贵州农业科学,2016,44(5):43-46.
- [7] 姜佳昌. 四种除草剂对燕麦田土壤微生物数量的影响研究[J]. 甘肃畜牧兽医,2015,45(10):26-29.
- [8] Adnan N, Shahid M, Sarosh B, et al. Complete genome sequence of a plant associated bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* UCMB5033 [J]. Standards Genomic Sciences, 2014,9(3):718-725.
- [9] 张龙来,康向辉,魏孝义,等. 一株解淀粉芽孢杆菌 HN011 抑菌次级代谢产物的分析[J]. 华南农业大学学报,2016,37(1):63-69.
- [10] 车晓曦,李校堃. 解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* 的研究进展[J]. 北京农业,2010(3):11-14.
- [11] 张淑梅,沙长青,王玉霞,等. 大豆内生细菌的分离及根腐病拮抗菌的筛选鉴定[J]. 微生物学通报,2008,35(10):1593-1599.
- [12] 胡基华,李 晶,张淑梅,等. 解淀粉芽孢杆菌 TF28 对设施连作黄瓜根际土壤酶活性和微生物的调节[J]. 江苏农业科学, 2020,48(7):152-156.
- [13] 庞 欣,张福锁,王敬国. 根际土壤微生物量氮周转率的研究[J]. 核农学报,2001,15(2):106-110.
- [14] 李兰君,刘耿含,刘建斌,等. 连作对设施番茄土壤微生物及酶活性的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(18):130-134.
- [15] 邹春娇,张勇勇,张一鸣,等. 生物炭对设施连作黄瓜根域基质酶活性和微生物的调节[J]. 应用生态学报,2015. 26(6):1772-1778.
- [16] 张淑梅,王玉霞,孟利强,等. 内生解淀粉芽孢杆菌 TF28 液体发酵条件研究[J]. 东北农业大学学报,2013,44(11):19-24.
- [17] 胡元森,吴 坤,李翠香,等. 黄瓜连作对土壤微生物区系影响 II——基于 DGGE 方法对微生物种群的变化分析[J]. 中国农业科学,2007,40(10):2267-2273.
- [18] Deheridge A P, Brand G, Fychan R, et al. The legacy effect of cover crops on soil fungal populations in a cereal rotation [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2016,228:49-61.
- [19] Nair A, Ngouajio M. Soil microbial biomass, functional microbial diversity, and nematode community structure as affected by cover crops and compost in an organic vegetable production system[J]. Applied Soil Ecology, 2012,58:45-55.
- [20] 胡元森,吴 坤,刘 娜,等. 黄瓜不同生育期根际微生物区系变化研究[J]. 中国农业科学,2004,37(10):1521-1526.
- [21] Lee S H, Ka J O, Cho J C. Members of the phylum Acidobacteria are dominant and metabolically active in rhizosphere soil[J]. FEMS Microbiology Letters, 2008,285(2):263-269.
- [22] Ellis R J, Morgan P, Weightman A J, et al. Cultivation-dependent and independent approaches for determining bacterial diversity in heavy-metal contaminated soil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003,69(6):3223-3230.
- [23] 王春香,田宝玉,吕睿瑞,等. 西双版纳地区热带雨林土壤酸杆菌(*Acidobacteria*)群体结构和多样性分析[J]. 微生物学通报, 2010,37(1):24-29.
- [24] Fudou R, Jojima Y, Iizuka T, et al. *Haliangium ochraceum* gen. nov., sp. nov. and *Haliangium tepidum* sp. nov.: novel moderately halophilic myxobacteria isolated from coastal saline environments. [J]. Microbiology Research Foundation, 2002,48(2):109-115.
- [25] Falagán C, Johnson D. *Acidibacter ferrireducens* gen. nov., sp. nov.: an acidophilic ferric iron-reducing gamma proteobacterium [J]. Extremophiles, 2014,18:1067-1073.
- [26] 赵璞钰,任兴波,丁一秀,等. 三株微枝形杆菌属菌株的分离鉴定及其抗马铃薯晚疫病病菌活性分析[J]. 科学技术与工程, 2017,17(2):170-175,210.