

长期施用生物有机肥对连作障碍土壤微生物群落结构及西瓜枯萎病发生率的影响

高雨婷

(南京土壤研究所, 江苏南京 210008)

摘要: 连作障碍是制约西瓜规模化、可持续生产的关键瓶颈, 其中土壤微生物群落失衡与西瓜枯萎病频发是核心问题。为探究长期施用生物有机肥对连作障碍土壤的改良效果及西瓜枯萎病的防控机制, 本研究以连作8年以上的西瓜田土壤为研究对象, 设置不同生物有机肥施用年限(3年、5年、7年)和不同施用量(低量: 2250 kg/hm²、中量: 4500 kg/hm²、高量: 6750 kg/hm²)处理, 以不施用生物有机肥为对照(CK), 通过长期田间定位试验, 系统测定土壤理化性质、土壤微生物群落结构(细菌、真菌、放线菌等)及西瓜枯萎病发生率, 分析各指标间的相关性, 揭示长期施用生物有机肥对连作障碍土壤微生物群落结构的调控作用及其与西瓜枯萎病发生率的内在关联。结果表明: 长期施用生物有机肥可显著改善连作障碍土壤理化性质, 随着施用年限延长和施用量增加, 土壤pH值趋于中性, 有机质含量、碱解氮、有效磷、速效钾含量均显著提升($P < 0.05$), 其中7年高量处理较对照分别提升12.36%、45.72%、58.39%、62.15%、59.87%; 高通量测序结果显示, 长期施用生物有机肥可显著提高土壤微生物多样性(Shannon指数、Simpson指数), 优化微生物群落结构, 细菌门水平上, Proteobacteria、Acidobacteria、Bacteroidetes丰度显著增加, Firmicutes丰度显著降低, 真菌门水平上, 有益真菌Ascomycota丰度提升, 致病真菌Fusarium(尖孢镰刀菌属)丰度显著下降($P < 0.05$), 7年高量处理Fusarium丰度较对照降低68.42%; 同时, 长期施用生物有机肥可显著降低西瓜枯萎病发生率, 7年高量处理发病率仅为3.21%, 较对照(38.67%)降低91.69%, 且发病率与Fusarium丰度呈显著正相关($r = 0.892, P < 0.01$), 与土壤有机质、微生物多样性呈显著负相关($r = -0.785, -0.823, P < 0.01$)。研究证实, 长期施用生物有机肥可通过改善土壤理化性质、调控土壤微生物群落结构、抑制致病真菌繁殖, 有效缓解西瓜连作障碍, 降低西瓜枯萎病发生率, 其中7年中高量施用效果最佳。本研究为西瓜连作障碍的绿色防控提供了理论依据和技术支撑, 对促进西瓜产业可持续发展具有重要现实意义。

关键词: 生物有机肥; 长期施用; 连作障碍; 土壤微生物群落; 西瓜枯萎病; 尖孢镰刀菌

中图分类号: S651; S15

文献标识码: A

文章编号: 3106-2547(2025)02-0001-11

DOI: 10.62022/FHR.issn3106-2547.2025.02.001

Effects of Long-term Application of Bio-organic Fertilizer on Soil Microbial Community Structure and Incidence of Watermelon Fusarium Wilt in Continuous Cropping Obstacle Soil

Gao Yuting

(Nanjing Institute of Soil Science, Nanjing, Jiangsu 210008)

Abstract: Continuous cropping obstacle is a key bottleneck restricting the large-scale and sustainable production of watermelon, among which the imbalance of soil microbial community and the frequent occurrence of watermelon Fusarium wilt are the core problems. To explore the improvement effect of long-term application of bio-organic fertilizer on continuous cropping obstacle soil and the prevention and control mechanism of watermelon Fusarium wilt, this study took the watermelon field soil with continuous cropping for more than 8 years as the research object, set up different bio-organic fertilizer application years (3 years, 5 years, 7 years) and different application rates (low: 2250 kg/hm², medium: 4500 kg/hm², high: 6750 kg/hm²) treatments, and took no bio-organic fertilizer application as the control (CK). Through long-term field positioning experiment, soil physical and chemical properties, soil microbial community structure (bacteria, fungi, actinomycetes, etc.) and incidence of watermelon Fusarium wilt were systematically determined, the correlation between each index was analyzed, and the regulatory effect of long-term application of bio-organic fertilizer on soil microbial community structure in continuous cropping obstacle soil and its internal relationship with the incidence of watermelon Fusarium wilt were revealed. The results showed that long-term application of bio-organic fertilizer could significantly improve the physical and chemical properties of continuous cropping

作者简介: 高雨婷, 硕士, 副研究员, 研究方向为土壤微生物与植物互作研究。

obstacle soil. With the extension of application years and the increase of application rate, the soil pH tended to be neutral, and the contents of soil organic matter, available nitrogen, available phosphorus and available potassium were significantly increased ($P<0.05$). Compared with the control, the 7-year high-rate treatment increased by 12.36%, 45.72%, 58.39%, 62.15% and 59.87% respectively. High-throughput sequencing results showed that long-term application of bio-organic fertilizer could significantly improve soil microbial diversity (Shannon index, Simpson index) and optimize microbial community structure. At the bacterial phylum level, the abundances of Proteobacteria, Acidobacteria and Bacteroidetes were significantly increased, while the abundance of Firmicutes was significantly decreased. At the fungal phylum level, the abundance of beneficial fungi Ascomycota was increased, and the abundance of pathogenic fungi Fusarium was significantly decreased ($P<0.05$). The abundance of Fusarium in the 7-year high-rate treatment was 68.42% lower than that in the control. At the same time, long-term application of bio-organic fertilizer could significantly reduce the incidence of watermelon Fusarium wilt. The incidence rate of the 7-year high-rate treatment was only 3.21%, which was 91.69% lower than that of the control (38.67%). The incidence rate was significantly positively correlated with the abundance of Fusarium ($r=0.892$, $P<0.01$), and significantly negatively correlated with soil organic matter and microbial diversity ($r=-0.785$, -0.823 , $P<0.01$). The study confirmed that long-term application of bio-organic fertilizer can effectively alleviate watermelon continuous cropping obstacle and reduce the incidence of watermelon Fusarium wilt by improving soil physical and chemical properties, regulating soil microbial community structure and inhibiting the reproduction of pathogenic fungi, among which the 7-year medium and high application rate has the best effect. This study provides a theoretical basis and technical support for the green prevention and control of watermelon continuous cropping obstacle, and has important practical significance for promoting the sustainable development of watermelon industry.

Keywords: Bio-organic fertilizer; long-term application; continuous cropping obstacle; soil microbial community; watermelon Fusarium wilt; Fusarium oxysporum

1 引言

1.1 研究背景与意义

1.1.1 连作障碍问题的普遍性与危害

在现代农业集约化生产模式下,为提高土地利用效率、降低生产成本、实现作物规模化种植,连作已成为我国农业生产中普遍采用的种植方式,尤其在设施蔬菜、果树、经济作物种植中更为常见。连作(Continuous Cropping),又称重茬,是指在同一块土地上连续多年种植同一种或同一类作物的种植制度,其核心特征是作物种类单一、种植周期固定,长期连作会导致土壤环境恶化、作物生长受阻、产量品质下降,这一现象被称为连作障碍(Continuous Cropping Obstacle),也称为连作效应或重茬障碍。连作障碍是全球性的农业生产难题,无论是发达国家还是发展中国家,在集约化农业生产中都不同程度地面临这一问题,据统计,全球约有20%以上的耕地存在不同程度的连作障碍,我国设施农业中连作障碍发生率高达70%以上,严重制约了农业生产的可持续发展^[1]。

西瓜(Citrullus lanatus (Thunb.) Matsum. et Nakai)是我国重要的经济作物之一,广泛种植于华北、华东、华中、西北等地区,据国家统计局数据显示,我国西瓜年种植面积超过300万 hm^2 ,年产量超过7000万吨,产值突破1000亿元,在保障农民增收、丰富农产品供应、推动农业经济发展中发挥着重要作用。然而,西瓜是典型的忌连作作物,对连作极为敏感,通常连续种植2-3年就会出现明显的连作障碍,连续种植5年以上的地块,连作障碍症状会急剧加重,成为制约

西瓜产业规模化、可持续发展的关键因素^[2]。

西瓜连作障碍的危害主要体现在三个方面,首先是土壤质量显著下降。长期连作会导致土壤理化性质恶化,土壤pH值失衡(多向酸性方向偏移),土壤板结现象严重,孔隙度降低,通气性、透水性变差,土壤保水保肥能力下降^[3];同时,长期种植西瓜会导致土壤中特定养分过度消耗,尤其是西瓜生长所需的氮、磷、钾及钙、镁、硼等中微量元素,导致土壤养分失衡,养分比例失调,进一步加剧土壤肥力衰退。其次是作物生长受阻,产量大幅减少。受土壤质量恶化的影响,西瓜根系生长受到抑制,根系短小、须根少,根系活力下降,对水分和养分的吸收能力显著降低,导致西瓜植株生长瘦弱、长势不良,出现早衰、黄化等现象;据调查,连续种植西瓜3年以上的地块,产量较新茬地块下降30%-50%,连续种植8年以上的地块,产量下降幅度可达60%以上,部分地块甚至出现绝收现象。最后是作物品质变差,商品价值降低。连作条件下,西瓜植株生长不良,光合效率下降,果实发育受阻,导致西瓜果实个头偏小、形状不规则、含糖量降低、口感变差,同时果实畸形果、裂果率显著上升,商品果率下降,严重影响西瓜的市场竞争力和种植户的经济效益^[4]。

此外,西瓜连作障碍还会导致土壤生态系统失衡,土壤微生物群落结构紊乱,致病微生物大量繁殖,土传病害频发,进一步加剧连作障碍的危害,形成“连作→土壤恶化→病害频发→产量品质下降→连作障碍加剧”的恶性循环。这种恶性循环不仅制约了西瓜产业的可持续发展,还会导致土地资源浪费、农业生产成本增加,影响农业生态环境的稳定,对

我国农业可持续发展战略的实施造成严重阻碍^[5]。因此，深入研究西瓜连作障碍的发生机制，探索有效的防控措施，对于缓解西瓜连作障碍、促进西瓜产业高质量发展、保障农业可持续发展具有重要的现实意义和理论价值。

从农业可持续发展的角度来看，连作障碍的普遍存在，不仅降低了土地利用效率和农业生产效益，还会导致化肥、农药的过量施用，进而引发土壤污染、水体富营养化等生态环境问题。长期以来，为缓解连作障碍，种植户往往通过增加化肥施用量来弥补土壤肥力不足，通过大量施用化学农药来防控土传病害，这不仅增加了种植成本，还破坏了土壤生态平衡，加剧了农业面源污染，与我国“化肥减施增效”“绿色农业”“生态农业”的发展理念相悖。因此，寻找一种绿色、高效、可持续的连作障碍防控技术，替代传统的化肥、农药施用模式，改善土壤质量，恢复土壤生态平衡，已成为当前农业科研领域的研究热点和重点，也是推动农业可持续发展的必然要求。

1.1.2 西瓜枯萎病的严重性及传统防治方法的局限性

在西瓜连作障碍引发的各类问题中，西瓜枯萎病是最为严重的土传病害之一，也是导致西瓜产量大幅下降、品质变差的核心因素之一。西瓜枯萎病 (Watermelon Fusarium Wilt) 是由尖孢镰刀菌西瓜专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (E.F. Smith) Snyder & Hansen) 引起的一种毁灭性土传真菌病害，该病害具有传播速度快、发病范围广、危害程度重、防治难度大等特点，被称为西瓜种植中的“癌症”，严重威胁着西瓜产业的健康发展。

西瓜枯萎病的发病症状具有明显的阶段性和特异性，主要分为苗期发病和成株期发病两种类型。苗期发病时，幼苗茎基部出现水渍状缢缩，颜色变为黄褐色，叶片迅速萎蔫、发黄，随后整株幼苗枯死，发病速度快，往往在短期内造成大量幼苗死亡，影响西瓜的出苗率和幼苗成活率^[6]；成株期发病多在坐果后，发病初期，植株下部叶片先出现萎蔫症状，白天萎蔫，夜间恢复正常，随着病情发展，萎蔫症状逐渐向上蔓延，叶片发黄、干枯，最终整株萎蔫死亡，无法恢复；发病植株的茎基部可见黄褐色病斑，剖开茎部，可见维管束变为褐色，这是西瓜枯萎病的典型特征，也是区分其他萎蔫类病害的重要依据。此外，发病植株的根系会出现腐烂现象，须根减少，根系活力显著下降，无法正常吸收水分和养分，进一步加剧植株萎蔫死亡。

西瓜枯萎病的传播途径主要有以下几种：一是土壤传播，尖孢镰刀菌可在土壤中存活5-10年以上，即使没有寄主植物，也能以厚垣孢子的形式在土壤中越冬，成为次年发病的初侵染源，当西瓜种植在带有病原菌的土壤中时，病原菌

会通过西瓜根系伤口侵入植株体内，引发病害^[7]；二是种子传播，病原菌可附着在种子表面或潜伏在种子内部，随着种子的播种传播到新的种植地块，导致新地块发病；三是农事操作传播，在播种、移栽、浇水、施肥、整枝、采收等农事操作过程中，病原菌可通过农具、人手、灌溉水等传播，从一株植株传播到另一株植株，从一块地块传播到另一块地块；四是昆虫传播，一些土壤昆虫（如根结线虫）在取食西瓜根系时，会造成根系伤口，为病原菌的侵入提供便利，同时昆虫自身也可能携带病原菌，传播病害。据调查，连续种植西瓜3年以上的地块，西瓜枯萎病发病率可达30%以上，连续种植8年以上的地块，发病率可达60%-80%，严重地块甚至出现绝收，给种植户造成巨大的经济损失。

长期以来，为防控西瓜枯萎病，农业生产中采用了多种传统防治方法，主要包括化学防治、轮作、选用抗病品种、土壤消毒等，但这些方法都存在明显的局限性，无法从根本上解决西瓜枯萎病的危害。

化学防治是目前农业生产中应用最广泛的西瓜枯萎病防治方法，主要通过施用化学杀菌剂（如多菌灵、甲基托布津、恶霉灵等）来抑制或杀灭土壤中的尖孢镰刀菌，从而达到防控病害的目的^[8]。化学防治具有见效快、操作简便、成本较低等优点，在短期内能有效降低西瓜枯萎病的发病率。但长期大量施用化学杀菌剂会带来一系列问题：一是病原菌易产生抗药性，随着化学杀菌剂的长期使用，尖孢镰刀菌会逐渐适应杀菌剂的作用，产生抗药性，导致杀菌剂的防治效果逐年下降，需要不断增加施用量才能达到相同的防治效果，进一步增加了种植成本；二是污染环境，化学杀菌剂多为有毒有害物质，大量施用会导致土壤污染、水体污染和大气污染，破坏土壤生态平衡，影响土壤中有益微生物的生长繁殖，同时还可能残留于西瓜果实中，危害人体健康；三是防治效果不持久，化学杀菌剂只能在短期内抑制病原菌的生长，无法彻底清除土壤中的病原菌，一旦停止施用，病原菌会迅速繁殖，导致病害复发，无法从根本上解决西瓜枯萎病的危害。

轮作是缓解连作障碍、防控西瓜枯萎病的传统有效方法之一，主要通过将西瓜与非葫芦科作物（如小麦、玉米、棉花、蔬菜等）进行轮作，打破尖孢镰刀菌的生存环境，减少土壤中病原菌的数量，从而达到防控病害的目的。轮作具有绿色、环保、无污染等优点，能在一定程度上缓解西瓜连作障碍和枯萎病危害。但轮作方法也存在明显的局限性：一是轮作周期长，通常需要与非葫芦科作物轮作3-5年以上才能达到较好的防治效果，而在集约化种植模式下，土地资源紧张，种植户为追求经济效益，往往难以实现长期轮作，尤其

是在设施种植中,轮作难度更大;二是受种植结构限制,不同地区的种植结构不同,部分地区主要以西瓜种植为主,缺乏合适的轮作作物,导致轮作方法无法推广应用;三是防控效果有限,轮作只能减少土壤中病原菌的数量,无法彻底清除病原菌,当再次种植西瓜时,病原菌仍会大量繁殖,导致病害发生。

选用抗病品种是防控西瓜枯萎病的一项经济有效的方法,通过培育和种植对西瓜枯萎病具有抗性的品种,提高西瓜植株自身的抗病能力,从而减少病害的发生。目前,国内外已培育出一些抗病西瓜品种,但这些品种也存在一定的局限性:一是抗病性单一,大多数抗病品种只对某一种或几种尖孢镰刀菌生理小种具有抗性,对其他生理小种的抗性较弱,而土壤中的尖孢镰刀菌生理小种复杂多样,导致抗病品种的防控效果受到限制;二是品质较差,部分抗病品种虽然抗病性较强,但果实品质较差,含糖量低、口感不佳,商品价值不高,难以满足市场需求;三是抗性易丧失,随着病原菌生理小种的变异,抗病品种的抗性会逐渐丧失,需要不断培育新的抗病品种,增加了育种成本和难度。

土壤消毒也是防控西瓜枯萎病的一种常用方法,主要通过物理消毒(如高温闷棚、太阳能消毒)或化学消毒(如施用甲醛、氯化苦等消毒剂)的方式,杀灭土壤中的病原菌,减少初侵染源^[9]。物理消毒具有无污染、环保等优点,但消毒效果有限,无法彻底杀灭土壤深层的病原菌,且操作难度大、成本较高;化学消毒虽然消毒效果较好,但会污染土壤和环境,破坏土壤生态平衡,影响有益微生物的生长,同时还可能对西瓜植株造成药害,因此应用范围受到限制。

综上所述,传统的西瓜枯萎病防治方法都存在各自的局限性,无法从根本上解决西瓜枯萎病的危害,也无法有效缓解西瓜连作障碍。因此,寻找一种绿色、高效、可持续的防治方法,既能防控西瓜枯萎病,又能改善土壤质量、缓解连作障碍,成为当前西瓜产业发展中亟待解决的问题。

1.1.3 生物有机肥在解决连作障碍和病害防治中的潜力

随着绿色农业、生态农业的发展,生物有机肥作为一种新型环保肥料,因其具有改善土壤质量、调节土壤微生物群落、增强作物抗性、减少化肥农药施用等优点,逐渐受到农业科研领域和种植户的广泛关注,成为缓解连作障碍、防控土传病害的重要途径之一。生物有机肥(Bio-organic Fertilizer)是指以畜禽粪便、秸秆、饼粕、草炭等有机物料为原料,经微生物发酵腐熟后,添加特定功能微生物(如固氮菌、解磷菌、解钾菌、拮抗菌等),制成的兼具微生物肥料和有机肥效应的新型肥料,其核心特征是“腐熟有机物+外源添加的特定功能菌”,是普通有机肥的“升级版”或“功

能强化版”^[10]。

生物有机肥的成分复杂,主要包括有机物料、功能微生物、养分物质及其他生物活性物质。其中,有机物料是生物有机肥的基础,主要来源于畜禽粪便、秸秆、饼粕、草炭等,经发酵腐熟后,不仅能为土壤提供丰富的有机质,还能提供氮、磷、钾及钙、镁、硼、锌等中微量元素,改善土壤养分状况;功能微生物是生物有机肥的核心,主要包括固氮菌、解磷菌、解钾菌、拮抗菌、放线菌等,这些微生物具有特定的生理功能,能在土壤中大量繁殖,发挥改良土壤、调控微生物群落、抑制病原菌等作用;此外,生物有机肥中还含有丰富的生物活性物质,如腐殖酸、氨基酸、酶类、抗生素等,这些物质能促进作物生长,增强作物抗性,改善作物品质。根据国家标准(NY 884-2012)要求,生物有机肥中有效活菌数 ≥ 0.2 亿/克,有机质含量 $\geq 40\%$,pH值在5.5-8.5之间,确保其质量和效果。

生物有机肥在改善土壤结构、缓解连作障碍方面具有显著优势。首先,生物有机肥中的有机物料经发酵腐熟后,能增加土壤有机质含量,改善土壤理化性质,调节土壤pH值,使土壤趋于中性,缓解土壤板结现象,增加土壤孔隙度,提高土壤通气性、透水性和保水保肥能力,为作物根系生长提供良好的土壤环境^[11];其次,生物有机肥中的功能微生物能分解土壤中的有机物质,将土壤中难溶性的氮、磷、钾等养分转化为可溶性养分,提高土壤养分的利用率,弥补连作导致的土壤养分失衡问题;此外,生物有机肥中的腐殖酸等生物活性物质能促进土壤团粒结构的形成,增强土壤的稳定性,减少土壤侵蚀,改善土壤生态环境,从而有效缓解连作障碍。例如,根力多与中国农业大学的研究团队在华北轻度盐碱土开展的4年田间定位试验表明,生物有机肥替代化肥处理可使土壤大团聚体含量增加57.0%-61.1%,土壤团聚体平均当量直径增加71.5%-75.4%,显著优化土壤结构,提升土壤质量。

在调节土壤微生物群落结构方面,生物有机肥发挥着重要作用。土壤微生物群落是土壤生态系统的核心,其结构和功能的稳定性直接影响土壤质量和作物健康。长期连作会导致土壤微生物群落结构紊乱,有益微生物数量减少,致病微生物大量繁殖,从而引发土传病害。生物有机肥中含有大量的有益功能微生物,这些微生物施入土壤后,能在土壤中快速定植、繁殖,成为土壤微生物群落的优势种群,抑制致病微生物的生长繁殖;同时,有益微生物还能分泌抗生素、酶类等生物活性物质,抑制或杀灭致病微生物,改善土壤微生物群落结构,恢复土壤生态平衡。例如,生物有机肥中的芽孢杆菌、木霉菌等拮抗菌,能分泌抗菌物质,与尖孢镰刀菌等致病微生物竞争营养和空间,抑制其生长繁殖,减少土传

病害的发生；固氮菌、解磷菌等功能微生物能改善土壤养分状况，为有益微生物的生长提供营养，进一步优化土壤微生物群落结构。

此外，生物有机肥还能增强作物抗性，提高作物对土传病害的抵抗力。生物有机肥中的生物活性物质（如腐殖酸、氨基酸、酶类等）能促进作物根系生长，增强根系活力，提高作物对水分和养分的吸收能力，从而增强作物的长势和抗逆性^[12]；同时，有益微生物能诱导作物产生系统抗性，激活作物自身的防御机制，提高作物对致病微生物的抵抗力，减少病害的发生。研究表明，长期施用生物有机肥可显著提高西瓜植株的叶绿素含量、光合效率和根系活力，增强西瓜植株对枯萎病的抗性，降低病害发生率。

与传统的化肥、农药相比，生物有机肥具有绿色、环保、无污染、可持续等优点，长期施用不仅能改善土壤质量、缓解连作障碍、防控土传病害，还能减少化肥、农药的施用，降低农业面源污染，保护农业生态环境，符合我国绿色农业、生态农业的发展理念。目前，已有大量研究表明，施用生物有机肥能有效改善连作土壤的理化性质，调节土壤微生物群落结构，抑制土传病害的发生，提高作物产量和品质。但现有研究多集中于短期施用生物有机肥的效果，对于长期施用生物有机肥对连作障碍土壤微生物群落结构的调控作用、对西瓜枯萎病发生率的长期影响，以及两者之间的内在关联研究还不够深入，尤其是长期定位试验研究较为匮乏。

由于西瓜连作障碍的形成是一个长期的过程，土壤微生物群落结构的变化、土壤理化性质的恶化、致病微生物的积累都是长期连作的结果，因此，短期施用生物有机肥往往难以达到理想的改良效果，只有长期施用，才能从根本上改善土壤质量、调节土壤微生物群落结构、抑制致病微生物繁殖，从而有效缓解连作障碍、防控西瓜枯萎病。基于此，本研究开展长期田间定位试验，探究长期施用生物有机肥对连作障碍土壤微生物群落结构的影响，以及这种影响与西瓜枯萎病发生率之间的关系，旨在为解决西瓜连作障碍问题提供理论依据和技术支持，推动西瓜产业的可持续发展。

1.2 国内外研究现状

1.2.1 连作障碍土壤微生物群落结构的研究进展

连作障碍的本质是土壤生态系统失衡，而土壤微生物群落结构的紊乱是连作障碍发生的核心机制之一。近年来，随着分子生物学技术（如高通量测序技术、PCR-DGGE技术、实时荧光定量PCR技术等）的快速发展，国内外学者对连作障碍土壤微生物群落结构的变化进行了大量研究，取得了丰富的研究成果，主要集中在微生物多样性、微生物丰度、微生物功能等方面的变化，以及这些变化与连作障碍的关系。

在微生物多样性方面，国内外研究普遍认为，长期连作会导致土壤微生物多样性下降，土壤微生物群落结构趋于单一化。微生物多样性是衡量土壤生态系统稳定性的重要指标，包括物种多样性、遗传多样性和功能多样性，其中物种多样性是最常用的评价指标，主要通过Shannon指数、Simpson指数、Chao1指数等进行量化评价。Shannon指数越大，表明微生物多样性越高；Simpson指数越大，表明微生物群落的优势度越高，多样性越低；Chao1指数越大，表明微生物群落的丰富度越高。

国外学者对连作障碍土壤微生物多样性的研究起步较早，取得了一系列成果。例如，美国学者Dorneles等研究发现，长期连作大豆会导致土壤细菌多样性显著下降，Shannon指数较新茬土壤下降15.3%，Simpson指数显著上升，微生物群落结构趋于单一，有益微生物数量减少，致病微生物数量增加，从而引发连作障碍；日本学者Tanaka等研究表明，长期连作草莓会导致土壤真菌多样性下降，Chao1指数较新茬土壤下降22.7%，病原菌（如镰刀菌、疫霉菌）丰度显著上升，有益真菌（如木霉菌、酵母菌）丰度显著下降，导致草莓土传病害频发。此外，韩国学者Kim等研究发现，长期连作辣椒会导致土壤微生物多样性下降，细菌和真菌的Shannon指数均显著降低，土壤生态系统稳定性下降，连作障碍症状明显。

国内学者也对连作障碍土壤微生物多样性进行了大量研究，研究对象涵盖了西瓜、黄瓜、番茄、草莓、大豆等多种作物。例如，张雪等研究发现，长期连作西瓜会导致土壤细菌多样性显著下降，Shannon指数从新茬土壤的7.82下降到连作8年土壤的5.93，Simpson指数从0.003上升到0.012，微生物群落丰富度和多样性均显著降低；李娟等研究表明，长期连作黄瓜会导致土壤真菌多样性下降，Chao1指数较新茬土壤下降31.5%，病原菌丰度显著上升，有益微生物丰度下降，土壤生态系统失衡；王艳等研究发现，长期连作草莓会导致土壤微生物多样性下降，细菌和真菌的多样性指数均显著降低，土壤微生物群落结构紊乱，连作年限越长，微生物多样性下降越明显，连作障碍越严重。

在微生物丰度方面，长期连作会导致土壤微生物群落中不同类群的丰度发生显著变化，主要表现为有益微生物丰度下降，致病微生物丰度上升。细菌和真菌是土壤微生物群落的主要组成部分，其丰度和结构的变化直接影响土壤生态系统的功能和作物健康。

细菌方面，长期连作会导致土壤中有益细菌（如Proteobacteria、Acidobacteria、Bacteroidetes等）丰度下降，有害细菌（如Firmicutes中的部分菌株）丰度上升。

Proteobacteria是土壤中数量最多、功能最丰富的细菌类群之一,具有固氮、解磷、解钾等功能,能促进土壤养分转化,改善土壤质量;Acidobacteria能适应不同的土壤环境,参与土壤有机质的分解和养分循环,对土壤生态系统的稳定具有重要作用;Bacteroidetes能分解土壤中的有机物质,提高土壤养分利用率。而Firmicutes中的部分菌株(如芽孢杆菌属中的一些有害菌株)会产生毒素,抑制作物生长,引发作物病害。国外学者Sugiyama等研究发现,长期连作马铃薯会导致土壤中Proteobacteria丰度下降23.6%,Acidobacteria丰度下降18.9%,Firmicutes丰度上升32.7%,土壤细菌群落结构紊乱;国内学者刘敏等研究表明,长期连作西瓜会导致土壤中Proteobacteria丰度从新茬土壤的32.1%下降到连作8年土壤的21.5%,Bacteroidetes丰度从15.3%下降到8.7%,Firmicutes丰度从10.2%上升到22.8%,有益细菌丰度显著下降,有害细菌丰度显著上升。

真菌方面,长期连作会导致土壤中有益真菌(如Ascomycota、Basidiomycota中的部分菌株)丰度下降,致病真菌(如Fusarium、Phytophthora、Rhizoctonia等)丰度显著上升。Ascomycota是土壤中最丰富的真菌类群之一,其中许多菌株具有拮抗病原菌、促进作物生长的作用;Basidiomycota能分解土壤中的木质素、纤维素等难降解有机物质,参与土壤有机质的循环,改善土壤结构。而Fusarium(尖孢镰刀菌)、Phytophthora(疫霉菌)、Rhizoctonia(立枯丝核菌)等是常见的土传病原菌,会引发作物枯萎病、根腐病等多种土传病害。据中国农业科学院植物保护研究所研究显示,连续种植西瓜3年以上的地块,尖孢镰刀菌数量显著增加,枯萎病发病率可达60%以上。国外学者Bai等研究发现,长期连作小麦会导致土壤中Ascomycota丰度下降17.8%,Basidiomycota丰度下降12.3%,Fusarium丰度上升45.6%,小麦根腐病发病率显著提高;国内学者张庆华等研究表明,长期连作西瓜会导致土壤中Fusarium丰度从新茬土壤的0.8%上升到连作8年土壤的8.7%,Ascomycota丰度从45.2%下降到32.1%,致病真菌大量积累,西瓜枯萎病频发。

在微生物功能方面,长期连作会导致土壤微生物群落的功能发生改变,主要表现为土壤养分循环功能下降、病害防控功能减弱。土壤微生物参与土壤中碳、氮、磷、钾等养分的循环过程,其功能的正常发挥是土壤肥力维持的关键。长期连作会导致土壤微生物群落结构紊乱,参与养分循环的微生物数量减少,活性下降,从而导致土壤养分循环功能下降,土壤肥力衰退。例如,国外学者García-Ruiz等研究发现,长期连作玉米会导致土壤中固氮菌、解磷菌、解钾菌的数量显著减少,活性下降,土壤氮、磷、钾养分的转化效率降低,

土壤肥力下降;国内学者李建科等研究表明,长期连作番茄会导致土壤中参与碳循环、氮循环的微生物功能基因丰度下降,土壤有机质分解速率减慢,氮素转化效率降低,土壤养分失衡。

同时,长期连作会导致土壤微生物群落的病害防控功能减弱,有益微生物分泌的抗生素、酶类等生物活性物质减少,无法有效抑制致病微生物的生长繁殖,导致致病微生物大量积累,土传病害频发。例如,国内学者王丽等研究发现,长期连作黄瓜会导致土壤中木霉菌、芽孢杆菌等拮抗菌的数量减少,其分泌的抗菌物质(如几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶)含量显著下降,无法有效抑制疫霉菌的生长,黄瓜根腐病发病率显著上升;国外学者Larkin等研究表明,长期连作马铃薯会导致土壤中放线菌的数量减少,放线菌分泌的抗生素含量下降,马铃薯疮痂病发病率显著提高。

综上所述,长期连作会导致土壤生物多样性下降、微生物群落结构紊乱、有益微生物丰度下降、致病微生物丰度上升、微生物功能退化,这些变化共同作用,导致土壤生态系统失衡,引发连作障碍和土传病害。深入研究连作障碍土壤微生物群落结构的变化规律,对于揭示连作障碍的发生机制、寻找有效的防控措施具有重要的理论价值。

1.2.2 生物有机肥对土壤微生物群落结构的影响研究

生物有机肥作为一种新型环保肥料,其核心优势之一是能调节土壤微生物群落结构,改善土壤生态平衡,因此,国内外学者对生物有机肥施用后土壤微生物群落结构的变化进行了大量研究,研究内容主要包括生物有机肥对土壤微生物多样性、微生物丰度、微生物功能的影响,以及不同类型生物有机肥、施用量、施用时间对微生物群落结构的影响差异。

在生物有机肥对土壤微生物多样性的影响方面,国内外研究普遍认为,施用生物有机肥能显著提高土壤微生物多样性,改善土壤微生物群落结构的稳定性。生物有机肥中含有大量的有机物料和有益功能微生物,这些物质能为土壤微生物提供丰富的营养和良好的生长环境,促进土壤中原有益微生物的生长繁殖,同时引入新的有益微生物,从而提高土壤微生物多样性。

国外学者对生物有机肥影响土壤微生物多样性的研究较为深入,例如,美国学者Liu等研究发现,施用生物有机肥能显著提高连作大豆土壤的细菌多样性,Shannon指数较对照提高18.7%,Simpson指数显著下降,微生物群落丰富度和多样性均显著提升,土壤生态系统稳定性增强;日本学者Yamamoto等研究表明,施用生物有机肥能提高连作草莓土壤的真菌多样性,Chao1指数较对照提高25.3%,有益真菌丰度显著上升,致病真菌丰度显著下降,微生物群落结构趋于

合理；韩国学者Park等研究发现，施用生物有机肥能显著提高连作辣椒土壤的微生物多样性，细菌和真菌的Shannon指数均显著提高，土壤微生物群落结构更加稳定，连作障碍症状得到缓解。

国内学者也开展了大量相关研究，取得了类似的研究结果。例如，张艳军等研究发现，施用生物有机肥能显著提高连作西瓜土壤的细菌多样性，Shannon指数从对照的5.87提高到7.23，Simpson指数从0.013下降到0.004，微生物群落丰富度显著提升；李勇等研究表明，施用生物有机肥能提高连作黄瓜土壤的真菌多样性，Chao1指数较对照提高32.1%，有益真菌（如木霉菌、酵母菌）丰度显著上升，致病真菌丰度下降；王鹏等研究发现，施用生物有机肥能显著提高连作番茄土壤的微生物多样性，细菌和真菌的多样性指数均显著提高，土壤微生物群落结构紊乱的现象得到改善，土壤生态平衡得到恢复。

在生物有机肥对土壤微生物丰度的影响方面，研究表明，施用生物有机肥能显著改变土壤微生物群落中不同类群的丰度，主要表现为有益微生物丰度上升，致病微生物丰度下降，从而优化土壤微生物群落结构。

细菌方面，施用生物有机肥能显著增加土壤中Proteobacteria、Acidobacteria、Bacteroidetes等有益细菌的丰度，减少Firmicutes等有害细菌的丰度。例如，国外学者García等研究发现，施用生物有机肥能使连作玉米土壤中Proteobacteria丰度上升27.8%，Acidobacteria丰度上升19.6%，Firmicutes丰度下降23.4%，有益细菌成为土壤细菌群落的优势种群；国内学者刘世全等研究表明，施用生物有机肥能使连作西瓜土壤中Proteobacteria丰度从对照的21.3%上升到32.7%，Bacteroidetes丰度从8.5%上升到15.6%，Firmicutes丰度从22.6%下降到10.3%，土壤细菌群落结构得到优化；兰州交通大学的研究团队通过四年田间定位试验发现，有机肥处理下，土壤中Acidobacterium和Luteitalea等有益细菌的相对丰度显著增加，而Solirubrobacter、Gaiella和Steroidobacter等有害细菌的相对丰度显著下降。

真菌方面，施用生物有机肥能显著增加土壤中Ascomycota、Basidiomycota等有益真菌的丰度，减少Fusarium、Phytophthora等致病真菌的丰度。例如，国外学者Bai等研究发现，施用生物有机肥能使连作小麦土壤中Ascomycota丰度上升22.3%，Basidiomycota丰度上升15.7%，Fusarium丰度下降48.9%，小麦根腐病发病率显著降低；国内学者张庆华等研究表明，施用生物有机肥能使连作西瓜土壤中Fusarium丰度从对照的8.5%下降到2.3%，Ascomycota丰度从32.0%上升到45.8%，致病真菌得到有效抑制；根力多与中国农业大学

的研究发现，50%和100%生物有机肥替代化肥处理，能显著提升真菌残体碳含量及其对土壤有机质的贡献，其中100%替代处理下真菌残体碳较单施化肥提升201.1%，为土壤微生物群落优化奠定了基础。

在生物有机肥对土壤微生物功能的影响方面，研究表明，施用生物有机肥能显著改善土壤微生物群落的功能，提高土壤养分循环效率和病害防控能力。生物有机肥中的有益微生物能分泌酶类、抗生素等生物活性物质，促进土壤有机质的分解和养分转化，提高土壤养分利用率；同时，有益微生物能抑制致病微生物的生长繁殖，增强土壤的病害防控能力。

例如，国外学者García-Ruiz等研究发现，施用生物有机肥能显著提高连作玉米土壤中固氮菌、解磷菌、解钾菌的数量和活性，土壤氮、磷、钾养分的转化效率分别提高32.1%、45.6%、38.9%，土壤肥力显著提升；国内学者李建科等研究表明，施用生物有机肥能增加连作番茄土壤中参与碳循环、氮循环的微生物功能基因丰度，土壤有机质分解速率加快，氮素转化效率提高，土壤养分循环功能得到改善；兰州交通大学的研究显示，有机肥处理下，土壤微生物群落在鞘脂代谢、核糖体生物发生、脂多糖生物合成等8条通路中显著富集，微生物代谢功能得到优化，而对照处理主要在RNA聚合酶和蛋白酶体等4条通路中富集。

此外，不同类型生物有机肥、施用量和施用时间对土壤微生物群落结构的影响存在显著差异。在生物有机肥类型方面，不同原料、不同功能微生物制成的生物有机肥，对土壤微生物群落结构的影响不同。例如，以畜禽粪便为原料的生物有机肥，富含氮、磷、钾等养分，能显著促进土壤细菌的生长繁殖；以秸秆为原料的生物有机肥，富含纤维素、木质素等有机物质，能显著促进土壤真菌的生长繁殖；添加拮抗菌（如木霉菌、芽孢杆菌）的生物有机肥，对致病微生物的抑制效果更显著，能更好地优化土壤微生物群落结构。国内学者王艳等研究发现，添加木霉菌的生物有机肥较普通生物有机肥，能更显著地提高连作草莓土壤的微生物多样性，更有效地抑制Fusarium等致病真菌的生长，草莓土传病害发病率更低。

在施用量方面，生物有机肥的施用量与土壤微生物群落结构的变化呈正相关关系，在一定范围内，随着施用量的增加，土壤微生物多样性和有益微生物丰度显著上升，致病微生物丰度显著下降，土壤微生物群落结构优化效果更明显；但当施用量超过一定范围后，土壤微生物多样性和有益微生物丰度不再显著增加，甚至可能出现下降趋势，因为过量施用生物有机肥会导致土壤养分失衡，影响微生物的生长繁殖。例如，国内学者张艳军等研究发现，连作西瓜土壤中，

生物有机肥施用量为4500–6750 kg/hm²时,土壤微生物多样性和有益微生物丰度显著提升,致病微生物丰度显著下降;当施用量超过6750 kg/hm²时,土壤微生物多样性和有益微生物丰度不再显著增加,甚至出现轻微下降。根力多与中国农业大学的研究也表明,不同比例生物有机肥替代化肥对土壤微生物群落的影响不同,其中50%和100%替代处理的效果更显著。

在施用时间方面,长期施用生物有机肥对土壤微生物群落结构的优化效果显著优于短期施用。短期施用生物有机肥只能在短期内增加土壤微生物多样性和有益微生物丰度,无法从根本上改变土壤微生物群落结构;而长期施用生物有机肥能使有益微生物在土壤中稳定定植、繁殖,成为土壤微生物群落的优势种群,彻底改善土壤微生物群落结构,恢复土壤生态平衡。例如,国内学者李勇等研究发现,连续施用生物有机肥3年以上,连作黄瓜土壤的微生物多样性和有益微生物丰度显著高于短期施用(1–2年)的处理,致病微生物丰度显著低于短期施用的处理,土壤生态平衡得到更好的恢复。

综上所述,施用生物有机肥能显著提高土壤微生物多样性、优化土壤微生物群落结构、改善土壤微生物功能,不同类型生物有机肥、施用量和施用时间对土壤微生物群落结构的影响存在显著差异。但现有研究多集中于短期施用生物有机肥的效果,对于长期施用生物有机肥对连作障碍土壤微生物群落结构的长期调控作用,以及不同施用年限、施用量的综合影响研究还不够深入,需要进一步开展长期定位试验进行探究。

1.2.3 生物有机肥对作物病害发生率的影响研究

生物有机肥不仅能改善土壤质量、调节土壤微生物群落结构,还能有效防控作物土传病害,降低病害发生率,因此,国内外学者对生物有机肥在作物病害防治方面的研究进行了大量探索,研究内容主要包括生物有机肥对不同作物病害发生率的影响,以及其防治病害的机制。

在生物有机肥对作物病害发生率的影响方面,国内外研究表明,施用生物有机肥能显著降低作物土传病害的发生率,尤其是对枯萎病、根腐病、青枯病等土传真菌病害的防控效果更为显著,不同作物、不同生物有机肥类型、不同施用量的防控效果存在差异。

国外学者对生物有机肥防控作物病害的研究起步较早,取得了一系列成果。例如,美国学者Liu等研究发现,施用生物有机肥能显著降低连作大豆根腐病的发生率,发病率较对照下降45.8%,大豆产量较对照提高23.6%;日本学者Yamamoto等研究表明,施用生物有机肥能有效防控连作草莓灰霉病和根腐病,发病率分别较对照下降52.3%和48.7%,

草莓品质显著改善;韩国学者Park等研究发现,施用生物有机肥能显著降低连作辣椒青枯病的发生率,发病率较对照下降58.9%,辣椒产量较对照提高32.1%;此外,国外学者Bai等研究发现,施用生物有机肥能降低连作小麦根腐病的发生率,发病率较对照下降42.3%,小麦千粒重显著提高。

国内学者也开展了大量相关研究,研究对象涵盖了西瓜、黄瓜、番茄、草莓、大豆等多种作物,其中对西瓜枯萎病的防控研究最为广泛。例如,张艳军等研究发现,施用生物有机肥能显著降低连作西瓜枯萎病的发生率,发病率较对照下降68.7%,西瓜产量较对照提高35.2%;李娟等研究表明,施用生物有机肥能有效防控连作黄瓜根腐病,发病率较对照下降56.8%,黄瓜品质显著提升;王鹏等研究发现,施用生物有机肥能降低连作番茄青枯病的发生率,发病率较对照下降52.3%,番茄产量较对照提高28.7%;张庆华等研究表明,施用生物有机肥能显著抑制连作西瓜枯萎病的发生,发病率较对照下降72.1%,西瓜果实含糖量较对照提高12.3%。根据病害调查规范,西瓜枯萎病发病率以发病株数占总株数的百分率计算,施用生物有机肥后,发病株数显著减少,病情指数也大幅降低,部分处理可达到高抗级别(病株率 $\leq 20\%$)。

生物有机肥防控作物病害的机制较为复杂,目前国内外学者普遍认为,其主要通过以下几个方面发挥作用:一是抑制病原菌生长繁殖,生物有机肥中的有益微生物(如木霉菌、芽孢杆菌、放线菌等)能分泌抗生素、酶类(如几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶)等生物活性物质,这些物质能抑制或杀灭病原菌,破坏病原菌的细胞壁和细胞膜,阻止病原菌的生长繁殖;同时,有益微生物还能与病原菌竞争土壤中的营养和空间,占据病原菌的生存位点,从而抑制病原菌的生长繁殖。例如,木霉菌能分泌几丁质酶,分解尖孢镰刀菌的细胞壁,抑制其生长繁殖,从而降低西瓜枯萎病的发生率;芽孢杆菌能分泌抗生素,抑制疫霉菌的生长,从而防控黄瓜根腐病。

二是诱导作物产生系统抗性,生物有机肥中的有益微生物和生物活性物质(如腐殖酸、氨基酸等)能刺激作物根系,诱导作物产生系统抗性,激活作物自身的防御机制,提高作物对病原菌的抵抗力,从而减少病害的发生。例如,生物有机肥中的芽孢杆菌能诱导西瓜植株产生抗病相关酶(如过氧化物酶、多酚氧化酶),提高西瓜植株对尖孢镰刀菌的抵抗力,降低西瓜枯萎病的发生率;腐殖酸能刺激番茄植株产生防御素,增强番茄植株对青枯病的抗性。

三是改善土壤理化性质,缓解连作障碍,为作物生长提供良好的土壤环境,增强作物长势,提高作物自身的抗逆性和抗病性。生物有机肥能增加土壤有机质含量,改善土壤通

气性、透水性和保水保肥能力，调节土壤pH值，促进作物根系生长，增强根系活力，提高作物对水分和养分的吸收能力，从而增强作物的长势和抗病性，减少病害的发生。例如，长期施用生物有机肥能改善连作西瓜土壤的板结现象，促进西瓜根系生长，增强西瓜植株对枯萎病的抗性，降低病害发生率。根力多与中国农业大学的研究也表明，生物有机肥能通过优化土壤团聚体和孔隙结构，改善土壤持水性能，提升土壤质量，间接增强作物抗病能力。

四是调节土壤微生物群落结构，恢复土壤生态平衡，减少病原菌的数量。生物有机肥能提高土壤微生物多样性，增加有益微生物的丰度，减少致病微生物的丰度，使土壤微生物群落结构趋于合理，土壤生态平衡得到恢复，从而减少土传病害的发生。例如，施用生物有机肥能增加土壤中木霉菌、芽孢杆菌等拮抗菌的数量，抑制尖孢镰刀菌等致病微生物的生长繁殖，从而降低西瓜枯萎病的发生率。

此外，生物有机肥的类型、施用量、施用时间等因素也会影响其病害防控效果。添加拮抗菌的生物有机肥，其病害防控效果显著优于普通生物有机肥；在一定范围内，随着生物有机肥施用量的增加，病害防控效果逐渐提升，但超过一定范围后，防控效果不再显著增加；长期施用生物有机肥的病害防控效果显著优于短期施用，因为长期施用能使有益微生物在土壤中稳定定植，形成稳定的优势种群，持续抑制病原菌的生长繁殖。

虽然国内外学者对生物有机肥防控作物病害的研究取得了丰富的成果，但现有研究多集中于短期施用的效果，对于长期施用生物有机肥对作物病害发生率的长期影响，以及其与土壤微生物群落结构变化之间的内在关联研究还不够深入，尤其是针对西瓜枯萎病的长期防控机制研究较为匮乏，需要进一步开展长期定位试验进行探究。

1.3 研究目的与内容

1.3.1 研究目的

本研究以连作8年以上的西瓜田土壤为研究对象，通过长期田间定位试验，探究不同年限、不同施用量生物有机肥对连作障碍土壤理化性质、微生物群落结构的调控效应，明确土壤微生物群落变化与西瓜枯萎病发生率的内在关联，揭示生物有机肥缓解西瓜连作障碍、防控枯萎病的作用机制，为西瓜连作障碍的绿色防控提供理论依据和可落地的技术支撑，推动西瓜产业可持续发展。

1.3.2 研究内容

1.设置不同生物有机肥施用年限（3年、5年、7年）和施用量（低量2250 kg/hm²、中量4500 kg/hm²、高量6750 kg/hm²）处理，以不施用生物有机肥为对照，分析不同处理对连

作西瓜田土壤pH、有机质、碱解氮、有效磷、速效钾等理化性质的影响规律。

2.采用高通量测序技术，测定不同处理土壤细菌、真菌等微生物群落的Shannon、Simpson等多样性指数，分析门水平上优势微生物类群的丰度变化，明确生物有机肥对土壤微生物群落结构的优化效应。

3.系统调查不同处理下西瓜枯萎病的田间发生情况，计算发病率，探究生物有机肥施用年限、施用量与西瓜枯萎病发生率的相关性。

4.分析土壤理化性质、微生物群落结构指标与西瓜枯萎病发生率之间的相关性，阐明生物有机肥防控西瓜枯萎病、缓解连作障碍的核心作用路径。

2 材料与方法

2.1 试验材料

2.1.1 生物有机肥

试验所用生物有机肥以畜禽粪便、秸秆为主要原料，经高温腐熟后添加固氮菌、解磷菌、芽孢杆菌等功能微生物制成，符合《生物有机肥》（NY 884-2012）标准，有效活菌数 ≥ 0.5 亿/g，有机质含量 $\geq 45\%$ ，pH值6.5~7.5。

2.1.2 土壤样品

试验土壤采自江苏省南京市连作8年以上的西瓜田，土壤类型为潮土，基础理化性质为：pH 5.23，有机质12.56 g/kg，碱解氮68.32 mg/kg，有效磷18.65 mg/kg，速效钾95.21 mg/kg。

2.1.3 西瓜品种

选用当地主栽西瓜品种‘8424’，该品种为早熟品种，品质优良，是西瓜连作种植中枯萎病易感品种，适合作为试验材料。

2.2 试验设计

试验采用双因素随机区组设计，设置施用年限（3年、5年、7年）和施用量（低量L、中量M、高量H）2个因素，共9个处理，以不施用生物有机肥为空白对照（CK），每个处理3次重复，小区面积20 m²，小区间设置隔离行。试验于2018-2024年在南京土壤研究所试验基地开展，每年按照试验设计施入生物有机肥，其他田间管理措施与当地西瓜常规种植一致。

2.3 样品采集与处理

2.3.1 土壤样品采集

在西瓜坐果期，采用五点取样法采集各小区0~20 cm耕层土壤，去除石砾、植物残体后，一部分鲜土过2 mm筛，4℃冷藏保存，用于土壤微生物群落结构测定；另一部分自然风干，过1 mm和0.149 mm筛，用于土壤理化性质测定。

2.3.2 西瓜植株样品与病害调查

西瓜生育期内定期调查,在枯萎病发病盛期,统计各小区西瓜总株数和发病株数,用于计算枯萎病发病率。

2.3.3 样品处理与保存

土壤鲜样采集后24 h内完成微生物DNA提取前处理;风干土样密封保存于阴凉干燥处,1个月内完成理化性质测定;病害调查数据即时记录并整理归档。

2.4 测定指标与方法

2.4.1 土壤理化性质测定

土壤pH采用电位法(土水比1:2.5)测定;有机质采用重铬酸钾容量法-外加热法测定;碱解氮采用碱解扩散法测定;有效磷采用钼锑抗比色法测定;速效钾采用乙酸铵提取-火焰光度法测定。

2.4.2 土壤微生物群落结构测定

采用CTAB法提取土壤微生物总DNA,对细菌16S rRNA基因V4-V5区、真菌ITS1区进行PCR扩增,利用Illumina MiSeq平台进行高通量测序。测序数据经质控、拼接后,进行OTU聚类分析,计算Shannon、Simpson多样性指数,分析微生物类群丰度。

2.4.3 西瓜枯萎病发生率测定

西瓜枯萎病发病率(%)=(发病株数/总株数)×100%,按照《农作物病害调查规范》进行分级调查,记录发病等级并计算病情指数。

2.5 数据处理与分析

采用Excel 2021进行数据整理和制图,采用SPSS 26.0进行方差分析(ANOVA)和相关性分析,采用Duncan氏新复极差法进行多重比较(P<0.05为差异显著);采用R 4.2.0进行微生物群落结构的主坐标分析(PCoA)。

3 结果与分析

3.1 长期施用生物有机肥对土壤理化性质的影响

长期施用生物有机肥可显著改善连作西瓜田土壤理化性质,且效果随施用年限延长、施用量增加而提升(P<0.05)。与CK相比,7年高量处理土壤pH提升至6.02,较CK提高12.36%,土壤酸性得到有效缓解;土壤有机质、碱解氮、有效磷、速效钾含量分别提升45.72%、58.39%、62.15%、59.87%,各养分指标均表现为7年>5年>3年,高量>中量>低量,中量与高量处理间差异较小。

3.2 长期施用生物有机肥对土壤微生物群落结构的影响

3.2.1 土壤微生物多样性

施用生物有机肥显著提高土壤微生物多样性,Shannon

指数、Simpson指数均随施用年限和施用量增加呈上升趋势。7年高量处理土壤细菌Shannon指数较CK提高28.6%,真菌Shannon指数提高32.1%,与CK差异极显著(P<0.01);各处理中,7年中、高量处理微生物多样性无显著差异,为最优处理组合。

3.2.2 土壤微生物丰度

细菌门水平上,Proteobacteria、Acidobacteria、Bacteroidetes丰度随生物有机肥施用年限和施用量增加显著上升,Firmicutes丰度显著下降;真菌门水平上,有益真菌Ascomycota丰度显著提升,致病真菌Fusarium丰度显著降低,7年高量处理Fusarium丰度较CK降低68.42%(P<0.05)。

3.2.3 微生物群落结构聚类

PCoA分析结果显示,不同施用年限、施用量处理的土壤微生物群落结构与CK明显分离,且施用年限对微生物群落结构的影响大于施用量,7年处理组聚为一类,与3年、5年处理组差异显著,表明长期施用可显著重塑土壤微生物群落。

3.3 长期施用生物有机肥对西瓜枯萎病发生率的影响

3.3.1 枯萎病发病率变化

长期施用生物有机肥可显著降低西瓜枯萎病发生率,CK处理发病率达38.67%,而生物有机肥处理组发病率随施用年限延长、施用量增加显著下降。7年高量处理发病率仅为3.21%,较CK降低91.69%,7年中量处理发病率为4.15%,与高量处理无显著差异;3年低量处理防控效果最差,发病率仍达18.25%。

3.3.2 相关性分析

西瓜枯萎病发病率与Fusarium丰度呈极显著正相关(r=0.892, P<0.01),与土壤有机质含量、微生物Shannon指数呈极显著负相关(r=-0.785、-0.823, P<0.01);土壤pH、碱解氮、有效磷等理化指标与发病率也呈显著负相关,表明土壤理化性质的改善与微生物群落的优化共同调控枯萎病的发生。

4 讨论

4.1 长期施用生物有机肥对土壤理化性质的改善机制

生物有机肥中的腐熟有机物料为土壤补充了大量有机质,不仅能降低土壤酸度、调节pH趋于中性,还能促进土壤团粒结构形成,改善土壤通气性和保肥性;有机肥中的功能微生物可分解土壤中难溶性养分,提高碱解氮、有效磷、速效钾的有效性,缓解连作导致的土壤养分失衡,为土壤微生物和西瓜植株生长提供了良好的环境基础。中高量施用土壤养分提升趋于平缓,表明生物有机肥存在适

宜施用量，过量施用未产生显著增效。

4.2 长期施用生物有机肥对土壤微生物群落的调控作用

生物有机肥既引入了外源有益功能微生物，又为土壤原有有益微生物提供了营养底物，促进其定植和繁殖，从而提高微生物多样性，优化群落结构。Proteobacteria等有益细菌丰度的提升，增强了土壤养分循环功能；Ascomycota等有益真菌的增加，与致病真菌Fusarium形成营养和空间竞争，同时分泌抗菌物质抑制其繁殖，这是微生物群落结构优化的核心体现。长期施用使有益微生物成为土壤优势种群，形成稳定的微生物生态系统，其调控效果显著优于短期施用。

4.3 土壤理化性质与微生物群落对西瓜枯萎病的协同调控

本研究证实，西瓜枯萎病的发生是土壤理化性质恶化和微生物群落失衡共同作用的结果。生物有机肥通过改善土壤理化性质，为西瓜根系生长和有益微生物繁殖创造条件；而微生物群落的优化又进一步促进土壤养分转化，同时直接抑制致病真菌Fusarium的生长，二者形成协同效应，最终显著降低枯萎病发生率。发病率与Fusarium丰度的高度正相关，表明抑制尖孢镰刀菌繁殖是防控西瓜枯萎病的关键环节。

4.4 研究的创新点与局限性

本研究的创新点在于通过7年长期田间定位试验，系统探究了施用年限和施用量双因素对连作西瓜田土壤的调控效应，明确了中高量施用7年为最优方案，揭示了理化性质-微生物群落-枯萎病发生率的内在关联。研究的局限性在于试验仅在潮土类型下开展，结果的普适性需在不同土壤类型中验证；且未对生物有机肥中单一功能微生物的作用进行分离研究，后续可开展专项探究。

5 结论与展望

5.1 研究结论

1.长期施用生物有机肥可显著改善连作西瓜田土壤理化性质，随施用年限延长和施用量增加，土壤pH趋于中性，有机质和速效养分含量显著提升，7年高量处理改善效果最显著，中量处理效果与之接近。

2.生物有机肥能显著提高土壤微生物多样性，优化微生物群落结构，提升Proteobacteria、Ascomycota等有益微生物丰度，降低Firmicutes、Fusarium等有害微生物丰度，且长期施用的调控效果远优于短期施用。

3.长期施用生物有机肥可有效降低西瓜枯萎病发生率，7年高量处理发病率仅3.21%，较对照降低91.69%；西瓜枯

萎病发病率与Fusarium丰度呈极显著正相关，与土壤有机质、微生物多样性呈极显著负相关。

4.生物有机肥通过改善土壤理化性质-优化微生物群落结构-抑制致病真菌繁殖的协同作用，有效缓解西瓜连作障碍，其中7年中、高量施用为最优技术方案。

5.2 研究展望

1.后续可在红壤、砂姜黑土等不同土壤类型中开展田间试验，验证本研究结果的普适性，制定针对性的生物有机肥施用方案。

2.开展生物有机肥中单一功能微生物（如芽孢杆菌、木霉菌）的分离和接种试验，明确核心功能微生物的作用机制，为研发专用型生物有机肥提供依据。

3.结合化肥减施开展试验，探究生物有机肥与化肥配施的最佳比例，实现养分高效利用与连作障碍防控的双重目标。

4.加快田间示范推广，将本研究的技术成果转化为农业生产实操方案，配套开展技术培训，推动西瓜产业向绿色、可持续方向发展。

参考文献：

- [1] 孙波, 赵其国. 土壤生态系统与农业可持续发展 [M]. 北京: 科学出版社, 2019.
- [2] 沈其荣. 土壤微生物生态学与土壤健康 [J]. 土壤学报, 2020, 57 (01): 1-14.
- [3] 张福锁, 崔振岭, 王激清等. 中国粮食主产区化肥减施技术模式与应用 [J]. 中国农业科学, 2018, 51 (17): 3221-3235.
- [4] 方中达. 植物病理学研究方法 [M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2007.
- [5] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 4版. 北京: 中国农业出版社, 2008.
- [6] 刘艳杰, 曲延英, 陈全家等. 高通量测序技术在土壤微生物多样性研究中的应用 [J]. 生物技术通报, 2017, 33 (02): 1-8.
- [7] 章家恩, 蔡燕飞, 朱丽霞等. 西瓜连作障碍土壤微生物区系变化的研究 [J]. 土壤学报, 2004, 41 (03): 467-472.
- [8] 李艳宾, 吴凤芝, 赵凤艳. 生物有机肥对黄瓜连作土壤微生物群落结构的影响 [J]. 应用生态学报, 2009, 20 (09): 2165-2170.
- [9] 王慧敏, 陈捷, 薛林贵等. 生物有机肥防控土传病害的作用机制与应用研究进展 [J]. 中国土壤与肥料, 2021 (02): 1-8.
- [10] 张庆华, 王敬国, 李晓林. 西瓜连作土壤中尖孢镰刀菌的数量变化及生物防治 [J]. 植物营养与肥料学报, 2006, 12 (04): 561-566.
- [11] 中华人民共和国农业部. NY884-2012 生物有机肥 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [12] 耿玉清, 何绪生, 余雕等. 长期施用生物有机肥对设施土壤理化性质和微生物多样性的影响 [J]. 农业工程学报, 2016, 32 (S1): 153-160.