

研究报告

混合菌剂施用对加工番茄生长及根际功能性微生物群落的影响

周皓^{#1}, 范永斌^{#1}, 姚楠¹, 陈珂珂¹, 范方斌¹, 包少杰¹, 王爱英^{*1}, 张革²

1 石河子大学生命科学学院 绿洲城镇与山盆系统生态兵团重点实验室 石河子大学农业生物技术重点实验室, 新疆 石河子 832003

2 石河子开发区新番种业有限公司, 新疆 石河子 832000

周皓, 范永斌, 姚楠, 陈珂珂, 范方斌, 包少杰, 王爱英, 张革. 混合菌剂施用对加工番茄生长及根际功能性微生物群落的影响[J]. 微生物学通报, 2023, 50(12): 5363-5375.

ZHOU Hao, FAN Yongbin, YAO Nan, CHEN Kedi, FAN Fangbin, BAO Shaojie, WANG Aiyong, ZHANG Ge. Effects of a microbial mixture on the growth and rhizosphere functional microbial community of processing tomatoes[J]. Microbiology China, 2023, 50(12): 5363-5375.

摘要: 【背景】加工番茄为新疆种植红色产业重要的作物之一, 加工番茄生产中存在传统配料过度施用的问题, “生物肥”逐渐受到人们关注。【目的】探究混合菌剂对加工番茄生长的影响, 激发根际土壤功能性微生物种群的变化, 为未来微生物菌剂的开发利用提供理论和实践基础。【方法】加工番茄根际施加微生物混合菌剂, 测定加工番茄生长发育期间的农艺性状, 探究混合菌剂对加工番茄生长的影响, 利用 16S rRNA 基因扩增子分析技术, 探究混合菌剂对根际微生物的群落组成及群落结构的影响。【结果】经过混合菌剂处理后, 加工番茄的一些生长状况指标、果实重量、单株结果数及果实含糖量等性状得到改良, 影响了果实的品质; 施加混合菌剂激发土壤微生物的种群数量、群落组成和群落结构的改变, 其中放线菌门(*Actinobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*)相对丰度提高, 相关性分析表明对加工番茄生长产生了影响。【结论】加工番茄根际施用特基拉芽孢杆菌 C-9 与鞘氨醇杆菌 A1 制备的水分散混合菌剂, 对加工番茄根际功能性微生物群落结构产生影响, 一些功能性微生物的相对丰度提高, 混合菌剂施加促进了根际微生物与植物的相互作用, 使得加工番茄果实品质得到改良。

关键词: 混合菌剂; 加工番茄; 16S rRNA 基因扩增子分析; 功能性微生物

资助项目: 国家大学生创新创业训练计划(202210759072)

[#]对本文贡献相同

This work was supported by the National Undergraduate Innovation and Entrepreneurship Training Program (202210759072).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. E-mail: way-sh@126.com

Received: 2023-05-18; Accepted: 2023-06-19; Published online: 2023-08-15

Effects of a microbial mixture on the growth and rhizosphere functional microbial community of processing tomatoes

ZHOU Hao^{#1}, FAN Yongbin^{#1}, YAO Nan¹, CHEN Kedi¹, FAN Fangbin¹, BAO Shaojie¹, WANG Aiyong^{*1}, ZHANG Ge²

1 Shihezi University Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Key Laboratory of Oasis Town and Mountain-basin System Ecological Corps, College of Life Sciences, Shihezi University, Shihezi 832003, Xinjiang, China

2 Xinfan Seed Industry Limited Company of Shihezi Development Zone, Shihezi 832000, Xinjiang, China

Abstract: [Background] Processing tomatoes are one of the major crops for the “red” planting industry in Xinjiang. Due to the excessive application of chemical fertilizers in processing tomato production, bio-fertilizer has attracted increasing attention. [Objective] To explore the effect of a microbial mixture on the growth of processing tomatoes, stimulate the changes of functional microbial populations in the rhizosphere soil, and provide a theoretical and practical basis for the development and utilization of microbial agents in the future. [Methods] We applied the microbial mixture to the rhizosphere and then determined the agronomic traits of processing tomatoes during the growth period, so as to explore the effects of the microbial mixture on the growth of processing tomatoes. The 16S rRNA gene amplicon analysis was employed to explore the effects of the microbial mixture on the microbial community composition and structure in the rhizosphere soil. [Results] After the treatment with the microbial mixture, the fruit weight, fruit number per plant, and fruit sugar content increased, which improved the quality of fruits. Furthermore, the treatment altered the microbial population and community composition and structure. Specifically, the relative abundance of *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, and *Bacteroidetes* increased. The correlation analysis indicated that the microbial mixture affected the growth of processing tomatoes. [Conclusion] The application of the water-dispersible microbial mixture composed of *Bacillus tequilensis* C-9 and *Sphingomonas* A1 in the rhizosphere of processing tomatoes affected the functional microbial community structure (increasing the relative abundance of some functional microorganisms) in the rhizosphere of processing tomatoes. It promoted the interaction between rhizosphere microorganisms and plants, thus improving the quality of processing tomato fruits.

Keywords: microbial mixture; processing tomato; analysis of 16S rRNA gene amplicons; functional microorganisms

微生物菌剂作为一种具有广阔应用前景的资源，能够促进植物生长。研究表明，根际促生菌能促进植物的生长、提高生物量和增强抗病性^[1]。根际促生菌可以通过自身代谢功能影响根际微环境，微生物菌剂由于其污染小、应用前景大等特点，受到学者们的广泛关注^[2]。

但是微生物菌剂的广泛应用受限，主要原因是菌剂限制对象较为单一、施加条件的限制，以及目前研究深度和广度还较为欠缺^[3]。

特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis*) C-9 分离自新疆棉花根系土壤，实验室已有的研究表明该菌是好氧型细菌^[4]，具有利用葡萄糖发

酵产酸和淀粉水解的特性, 可以产生蛋白酶和纤维素酶; 鞘氨醇杆菌(*Sphingobacterium*) A1 分离自新疆阿魏根际, 为革兰氏阴性菌, 能够产生蛋白酶、纤维素酶和 1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylate, ACC)脱氨酶, 具有较强的促生作用, 利用鞘氨醇杆菌 A1 和特基拉芽孢杆菌 C-9 混合制备的微生物菌剂, 在体积比为 1:9 的混菌比例下具有较强的防病促生效果, 而且显著优于单一菌种^[4]。

加工番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill)是普通番茄中的一种栽培类型, 我国是加工番茄产量最多的国家之一, 我国新疆地区已成为世界三大加工番茄种植区之一^[5-6]。新疆地区属于典型大陆性干旱气候, 昼夜温差大、光照强、日照足、降雨量少, 加工番茄在天山北坡经济带得到了广泛种植^[7-9]。目前已基本实现全程机械化作业^[10], 其独有的加工和耐运输特性使得加工番茄种植和加工产业成为新疆农业经济发展的重要组成部分^[11]。由于加工番茄生长中对钙、镁等需求量较大, 出现生产农户为追求产量而过度施肥的现象, 逐渐造成了田间环境污染、品质下降、连作障碍及土壤微生态恶化等问题, 使农业可持续发展及“生物肥”应用成为加工番茄生产实践中的焦点。

本研究通过加工番茄植株根际施加混合水分散菌剂, 检测加工番茄生长的不同时期农艺性状, 探究混合菌剂对加工番茄生长的影响, 并利用 16S rRNA 基因扩增子测序技术探究混合菌剂对其根际微生物的群落组成及群落结构的影响, 以为微生物菌剂的开发和实际生产利用提供理论和实践基础。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 加工番茄种子及试验菌株

加工番茄种子为石番 47 号, 由石河子开发区

新番种业有限公司提供; 特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis*) C-9、鞘氨醇杆菌(*Sphingobacterium*) A1 来自石河子大学农业生物技术重点实验室。

1.1.2 培养基

LB 培养基(g/L): NaCl 10.0, 蛋白胨 10.0, 酵母提取物 5.0, 琼脂粉 16.0–20.0 (固体), 121 °C 灭菌 20 min^[2]。

1.1.3 主要试剂和仪器

土壤微生物 DNA 提取试剂盒, 凯杰企业管理(上海)有限公司; 2×Hieff[®] Robust PCR Master Mix 试剂盒, YEASEN 公司。电热恒温培养箱, 信钰仪器(北京)有限公司; 台式高速离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; 荧光叶室的便携式光合测定系统, L-COR 公司。

1.2 混菌发酵

挑取少量菌株 C-9、A1 分别接种于 50 mL LB 培养基中, 25 °C、160 r/min 恒温培养 16 h 制备种子液。然后吸取混合种子液 2.5 mL (A1:C-9 体积比为 1:9)转接至 50 mL 灭菌后的 LB 培养基中, 28 °C、160 r/min 发酵 72 h 制成混合菌剂发酵液。取混菌发酵液于 16 °C、4 000 r/min 离心 10 min, 弃 40 mL 上清液, 留 10 mL 上清液与沉淀混匀, 保存混匀液。

梯度稀释检测菌剂中的活菌数: 准备分别盛有 900 μL 蒸馏水的 6 支 1.5 mL 离心管灭菌, 吸取 100 μL 发酵液加入第 1 支离心管中, 使菌液与水充分混匀, 则该离心管中的混合液为 10⁻¹ 的稀释液, 从 10⁻¹ 稀释的离心管中吸取 100 μL 稀释液, 加入 10⁻² 稀释的离心管中, 重复第 2 步的混匀操作。直到完成最后的稀释。每个梯度的稀释液各取 50 μL 滴加到培养基表面, 用涂布器将稀释液均匀地涂布在培养基表面, 置于培养箱 28 °C 培养 1 d 后进行观察并计数。

1.3 加工番茄育苗和栽培管理

加工番茄种子育苗, 在室内自然生长 30 d

后,将加工番茄幼苗移至室外炼苗 7 d,然后移栽到大田中。

1.4 混合菌剂的施加

设置处理混合菌剂(水分散菌剂) 2、4 和 6 g/kg 土壤,每个处理 4 个重复,共划分为 16 个小区,小区规格为 8 m (长)×2 m (宽),每个小区种植 3 (列)×20 (株),株间距约 0.2 m。加工番茄移栽至大田期间,定期观察加工番茄的生长情况,待加工番茄定植成功后,在加工番茄根际施加混合菌剂。

1.5 混合菌剂施用对加工番茄生长的影响

1.5.1 加工番茄生长指标

随机取样 3–10 株调查,同一农艺性状测量次数相同,在加工番茄生长发育时期测定其株高、茎粗等生物学性状,测量叶绿素含量,果实成熟采摘时测定其单果质量、果实纵径、果实横径、果实含糖量、单株结果数、红果数、总果数和总果重。最后检测加工番茄植株的地上部鲜重。

试验数据使用 IBM SPSS statistics 23 对测定的原始数据进行单因素方差分析,柱状图绘制使用 Origin 2019,下同。

1.5.2 叶片叶绿素荧光参数的测定

采用荧光叶室的便携式光合测定系统瞬时测定加工番茄完全展开功能叶的气体交换和叶绿素荧光参数。叶室光强设蓝光比例设置为 10%–15%,设最大化气孔开度空气流速为 300 mL/min。设置叶片温度为 28 °C。于 7:00 开始放置到低温黑暗处,取相同部位叶片,每个处理测 5 片叶,叶绿素荧光参数测定采用开路式气体交换系统和叶绿素荧光叶室进行测定。整个测量期间叶片与大气蒸气压差(vapor pressure defici, VPD)保持在 1.2–1.8 kPa 之间。

1.5.3 加工番茄果实果径的测量

加工番茄果实横径/纵径使用直尺按照加工

番茄中心轴进行测量,加工番茄果实单果重使用电子天平进行测量。

1.5.4 加工番茄果实可溶性糖含量的测量

取 1 g 加工番茄果实加入缓冲液 3 mL 研磨后,分次冲洗研钵,转移至 10 mL 离心管,将 2 个离心管平衡后,4 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液定容在 25 mL 容量瓶。取 1 mL 样品溶液加 1 mL 蒸馏水,加入 1.5 mL 3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)试剂,沸水浴 5 min,冷却后加入 16.5 mL 蒸馏水,混匀后用分光光度计测定,分别记录 OD_{520} 值。

1.6 混合菌剂施用对根际土壤微生物种群动态的影响

1.6.1 加工番茄根际土壤微生物宏基因组 DNA 提取

称取 2.5–3.0 g 混合均匀的根际土壤,液氮研磨,采用土壤微生物 DNA 提取试剂盒提取根际微生物宏基因组 DNA,4 °C 保藏。通过琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量。

1.6.2 16S rRNA 基因扩增子分析

为分析混合菌剂对土壤细菌种群的影响,对细菌 16S rRNA 基因序列的 V3–V4 可变区进行 PCR 扩增,反应体系参照试剂盒使用说明书,选用 341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3')和 805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')为引物。PCR 反应体系:2×Hieff[®] Robust PCR Master Mix 15 μL, Bar-PCR primer F (0.2 μmol/L) 1 μL, Primer R (0.2 μmol/L) 1 μL, 模板 DNA (9–30 ng/μL) 1 μL, ddH₂O 补足 30 μL。PCR 反应条件:94 °C 3 min; 94 °C 30 s, 45 °C 20 s, 65 °C 30 s, 5 个循环; 94 °C 20 s, 55 °C 20 s, 72 °C 30 s, 20 个循环; 72 °C 5 min。第 2 轮扩增引入 Illumina 桥式 PCR 兼容引物。PCR 反应体系:2×Hieff[®] Robust PCR Master Mix 15 μL, Primer F (0.2 μmol/L) 1 μL, Index-PCR Primer R (0.2 μmol/L) 1 μL, 模板 DNA (9–30 ng/μL) 1 μL, ddH₂O 补足 30 μL。

PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 94 °C 20 s, 55 °C 20 s, 72 °C 30 s, 5 个循环; 72 °C 5 min。测序工作由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。

1.6.3 数据处理

将二代测序得到的原始数据进行预处理, 通过去除引物、拼接序列和数据过滤等操作, 得到各样本有效数据, 再进行操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 聚类[扩增子序列变异 (amplicon sequence variant, ASV) 去噪] 分析和物种分类学分析。基于 OTU 聚类 (ASV 去噪) 分析结果, 对多样性指数分析; 检测测序

深度, 结合分类学信息, 对不同分类水平上群落结构进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 混合菌剂施用对加工番茄生长的影响

叶片叶绿素和净光合速率是反映植物叶片光合能力及植株营养状况的重要指标, 本研究在加工番茄开花坐果期测定了叶片叶绿素含量和净光合速率 (图 1)。结果表明, 对照实验 (control check, CK) 组及各处理组间叶绿素含量无显著性差异 ($P>0.05$), 但高浓度处理组净光合速率具

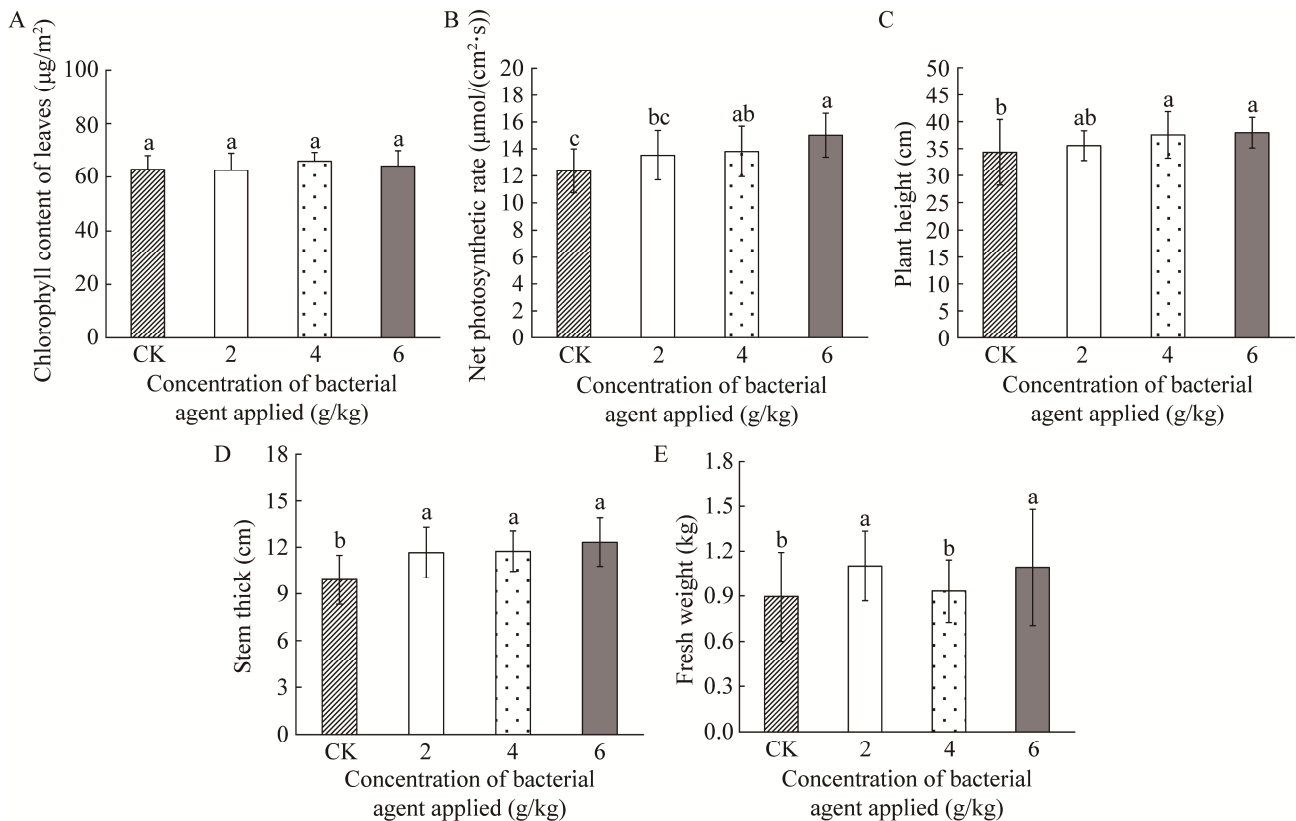


图 1 不同处理下加工番茄生长指标变化 A: 叶片叶绿素含量. B: 净光合速率. C: 株高. D: 茎粗. E: 地上部鲜重. 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$); CK 表示对照组 (未施加菌剂处理). 下同

Figure 1 Growth index changes of processing tomato under different treatments. A: Chlorophyll content of leaves. B: Net photosynthetic rate. C: Plant height. D: Stem diameter. E: Fresh weight. Different lowercase letters indicate significant different ($P<0.05$); CK represents the control group (no microbial agent treatment). The same below.

有显著性差异,发现经过不同浓度混合菌剂处理后,菌剂对加工番茄的叶绿素含量影响不大,而净光合速率有一定程度提高。

株高、茎粗反映了加工番茄植株生长情况,通过统计数据可以看出,不同浓度混合菌剂处理下株高、茎粗的促生效果显著,且具有显著性的差异($P<0.05$)。由此可见,混合菌剂施用对加工番茄营养生长起一定的促进作用,在一定范围内会随菌剂处理浓度的提高而提高。

加工番茄地上部鲜重能反映植株地上部分的营养生长状况,CK、处理组菌剂浓度 2、4 和 6 g/kg 土壤处理后均值分别为(0.896±0.296)、(1.102±0.233)、(0.933±0.208)、(1.093±0.387) kg,各浓度处理组均高于对照组,两组出现显著性差异($P<0.05$),施加混合菌剂处理使加工番茄地上部鲜重增加。

2.2 加工番茄果实生长情况

2.2.1 对加工番茄结果数、果重与含糖量的影响

结果数是与加工番茄产量相关的性状,通过统计开花坐果期不同处理的结果数(图 2),结果显示,CK、处理组 2、4 和 6 g/kg 土壤结果数分别为(5.8±2.5)、(8.4±2.6)、(8.4±1.5)和(9.0±2.7)个,处理组数值均显著高于对照组($P<0.05$),混合菌剂施加对加工番茄结果数的影响具有显著性差异。

果重是衡量果实品质的重要特征之一,CK、处理组 2、4 和 6 g/kg 土壤,单株总果重均值分别为(1.598±0.627)、(2.130±0.913)、(2.246±0.935)和(2.385±0.872) kg,施用混合菌剂处理的试验组果重均高于对照组,且存在显著性差异($P<0.05$)。随着混合菌剂浓度增加,不同浓度处理组差异显著。由此可见,施加混合菌剂处理提高了加工番茄单株总果量。

加工番茄果实糖含量及比率对果实风味、色泽和其他营养成分有重要影响,是决定果实

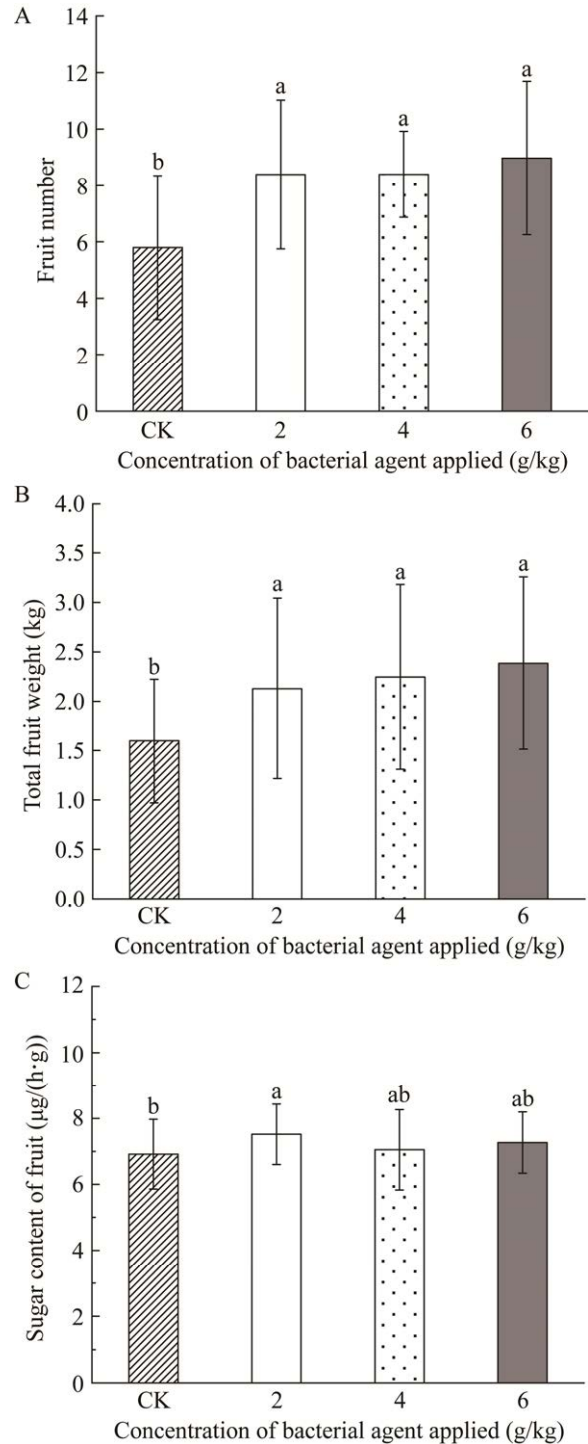


图2 不同处理下加工番茄果实生长指标变化 A: 结果数. B: 总果重. C: 果实含糖量

Figure 2 Changes of fruit growth indexes of processing tomato under different treatments. A: Fruit number. B: Total fruit weight. C: Sugar content of fruit.

品质和商品价值的主要因素^[12]。CK、处理组 2、4 和 6 g/kg 土壤含糖量分别为(6.89±0.73)、(7.52±0.68)、(7.03±1.16)和(7.28±0.18) μg/(h·g); 处理组与对照组相比, 含糖量均提高, 其低浓度处理组含糖量显著高于对照组($P<0.05$)。由此可见, 经过混合菌剂处理后, 果实含糖量均有不同程度的提高, 低浓度菌剂促进效果较优, 施加混合菌剂提高了加工番茄果实含糖量。

2.2.2 果实成熟度与果实横纵比

果实成熟度能够很好地反映加工番茄果实品质, 在结果收获期对加工番茄成熟度(红果数量)进行测定, CK、处理组 2、4 和 6 g/kg 土壤红果数分别为(31.3±6.88)、(29.6±6.25)、(34.3±9.25)和(35.7±9.58)个, 总果数均值分别为(55.3±17.2)、(54.1±12.5)、(55.6±13.2)和(55.8±13.4)个(图 3A); 低浓度处理组的红、总果数均较低, 中高浓度处理组数值增加, 但各组间差异并不显著。由此可见, 施加混合菌剂处理在一定程度上能够促进加工番茄果实的成熟, 提高成熟度。

果径是反映果实品质的重要特征, 果实的横纵比(果形指数之一)反映加工番茄的耐压程

度。处理组 2、4 和 6 g/kg 土壤果实横纵比均略高于对照组, 处理组间果径比例随菌剂施加浓度提高, 但差异并不显著(图 3B), 可能与植株间个体差异有关。经过混合菌剂处理后的加工番茄果实横纵比均比对照组高, 果实的外形较为饱满。

2.3 加工番茄根际微生物群落结构分析

2.3.1 微生物多样性分析

稀释曲线是从样本中随机抽取一定数量的序列, 统计这些序列对应样本的 α 多样性指数, 以抽取序列数据作为横轴, 以 α 多样性指数为纵轴绘制的曲线^[13]。从稀释曲线的结果可以看出(图 4), 4 组样品的稀释曲线基本趋于平缓, 表明此次测序数据量充足, 测序深度足以覆盖样品中的大部分微生物, 测序合理。

Pan and Core OTU 用于描述样本量增加后物种总量及核心微生物物种量的变化情况。Pan/Core 曲线图反映了持续抽样下新 OTU 出现的速率。从图 5 可以看出曲线趋于平缓, 表明此环境中的物种并不会随样品量的增加而显著增多。说明抽样充分, 可以进行数据分析。

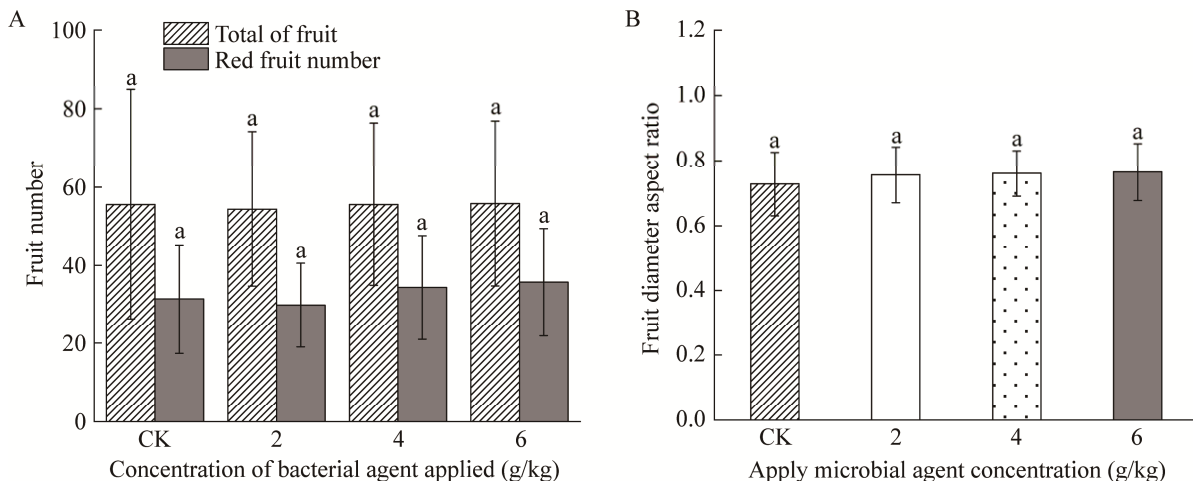


图 3 不同处理下加工番茄果实品质变化 A: 红果数及总果数. B: 果径横纵比

Figure 3 Changes of fruit quality of processing tomato under different treatments. A: Red fruit number and total fruit number. B: Fruit diameter aspect ratio.

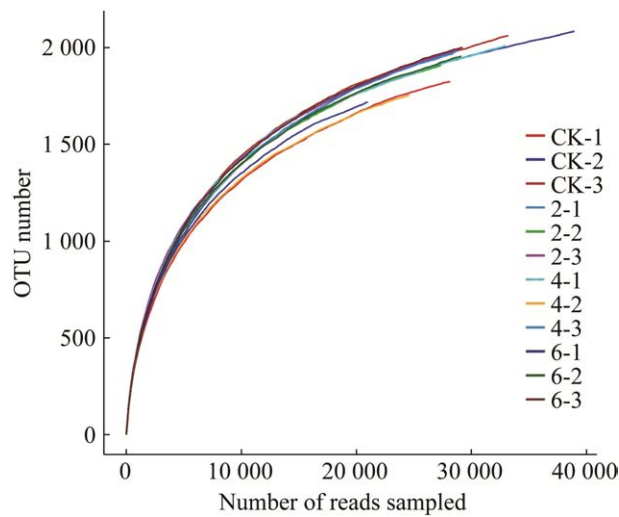


图 4 不同处理下的土壤细菌群落稀释性曲线
Figure 4 Dilution curve of soil bacterial community under different treatments.

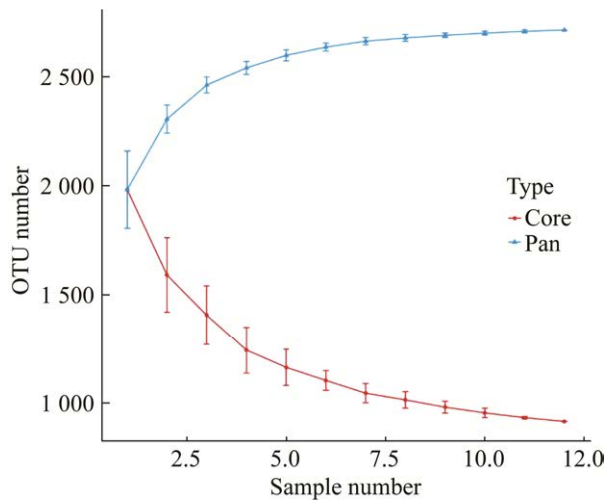


图 5 各处理组的 Pan/Core 物种分析曲线
Figure 5 The Pan/Core species analysis curve of each treatment group.

Rank-abundance 曲线是分析多样性的一种方式,可用于同时解释样品多样性的两个方面,即样品所含物种的丰富程度和均匀程度^[14]。从图 6 可以看出,该曲线在横轴方向上较宽,并且曲线走向逐渐平坦,表明每个样本中的物种组成丰富,且每个样本的物种组成均匀程度较高。

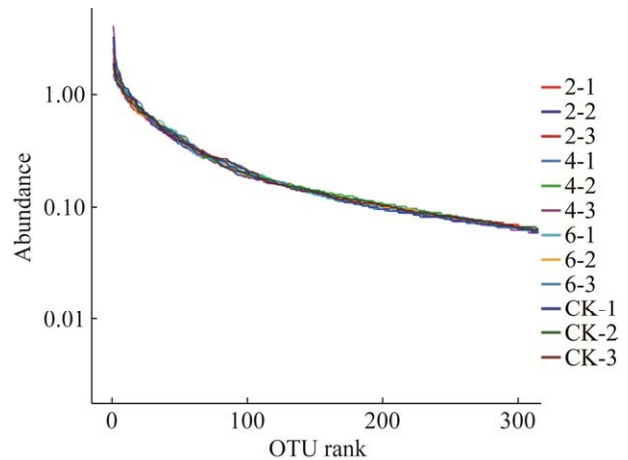


图 6 Rank-abundance 曲线图
Figure 6 Rank-abundance curve.

通过单样品的多样性分析(α 多样性)可以反映微生物群落的丰度和多样性^[15],从表 1 中可以看出,3 个处理组与对照组相比,OTU 数量一定程度的降低,从 Shannon、Simpson 指数来看 2-3 处理组细菌群落多样性和丰富度高于其他组,从 Chao1 指数来看,2-1 处理组最高,ACE 指数中 CK (3)处理组最高,且各组覆盖率除 6-3 组外均达到 98%以上。但总体来看,各处理组之间多样性指数分析并无显著性差异,说明混合菌剂处理对加工番茄根际土壤细菌多样性的影响并不明显。

2.3.2 群落相关性分析

将不同处理下的根际土壤样本中的 OTU 进行比较,结果显示(图 7) CK、2、4 和 6 g/kg 土壤所测得的 OTU 数量分别为 2 490、2 466、2 466 和 2 436,其中不同处理下所共有的 OTU 数量为 2 086,特有 OTU 数量分别为 404、380、380 和 350,分别占总数的 64.33%、60.51%、60.51%和 55.73%。可见经过混合菌剂施用后,处理组与对照组相比存在较大差异,高浓度处理组较大,混合菌剂的施用使得加工番茄根际土壤的细菌群落结构发生了改变。

表 1 不同处理下加工番茄根际土壤细菌多样性指数分析

Table 1 Analysis of bacterial diversity index in rhizosphere soil of processing tomato under different treatments

| Sample | OTUs | Shannon | Chao1 | ACE | Simpson | Shannoneven | Coverage (%) |
|--------|-------|---------|-------------|-------------|---------|-------------|--------------|
| 2-1 | 1 967 | 6.284 9 | 2 435.003 6 | 2 380.793 0 | 0.004 6 | 0.828 7 | 98.22 |
| 2-2 | 1 908 | 6.209 6 | 2 221.698 2 | 2 288.209 4 | 0.005 2 | 0.822 0 | 98.31 |
| 2-3 | 1 984 | 6.331 7 | 2 349.035 3 | 2 356.909 9 | 0.004 0 | 0.833 9 | 98.34 |
| 4-1 | 2 008 | 6.299 9 | 2 422.342 1 | 2 378.288 6 | 0.004 2 | 0.828 4 | 98.57 |
| 4-2 | 1 753 | 6.186 1 | 2 131.828 6 | 2 176.640 5 | 0.004 7 | 0.828 2 | 98.10 |
| 4-3 | 1 982 | 6.192 6 | 2 394.981 1 | 2 429.984 0 | 0.006 0 | 0.815 7 | 98.22 |
| 6-1 | 1 718 | 6.173 0 | 2 182.902 5 | 2 211.665 7 | 0.004 8 | 0.828 7 | 97.58 |
| 6-2 | 1 955 | 6.259 6 | 2 310.229 5 | 2 325.903 8 | 0.004 5 | 0.826 0 | 98.40 |
| 6-3 | 2 001 | 6.294 0 | 2 387.574 6 | 2 401.698 3 | 0.004 1 | 0.828 0 | 98.31 |
| CK-1 | 1 824 | 6.127 5 | 2 215.394 3 | 2 234.057 8 | 0.005 5 | 0.816 0 | 98.32 |
| CK-2 | 2 084 | 6.293 3 | 2 410.253 4 | 2 403.730 6 | 0.004 3 | 0.823 5 | 98.88 |
| CK-3 | 2 061 | 6.312 6 | 2 472.139 5 | 2 459.930 2 | 0.004 1 | 0.827 2 | 98.50 |

2.3.3 功能性微生物群落分析

使用统计学方法分析样本在门水平上的群落结构。将多个样本中的群落结构分析对比绘制相对丰度柱状图(图 8A)。结果显示,施加混合菌剂的处理组与对照组加工番茄根际土壤中的主要类群为放线菌门(*Actinobacteria*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、

厚壁菌门(*Firmicutes*)、浮霉菌门(*Planctomycetes*)、蓝细菌门(*Cyanobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)和硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*)等。其中放线菌门、变形菌门和酸杆菌门占比均超过 13.4%,一些无法分类的菌种和其他占比为 16.87%。

在大多数的研究中,加工番茄根际土壤中的核心微生物是放线菌门、变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门。在李凤等^[16]的研究中蓝细菌门在其中两个处理中相对丰度较高,他们指出以上几类核心微生物中的菌属具有解磷能力、产铁载体能力及对病原菌的拮抗能力。然而在本研究中这 5 类微生物在不同处理情况下比例均超过 55.78%,同时酸杆菌门占比超过 13.93%,其中功能性微生物占比较高。

2.3.4 混合菌剂对功能性微生物的影响

为探究混合菌剂施用对加工番茄根际土壤功能性微生物的影响,按照不同的处理方式制作了优势细菌的相对丰度图(图 8B),结果显示,土壤中占据主导地位的功能性菌种,即放线菌门(*Actinobacteria*)占比呈上升趋势,其对照组的

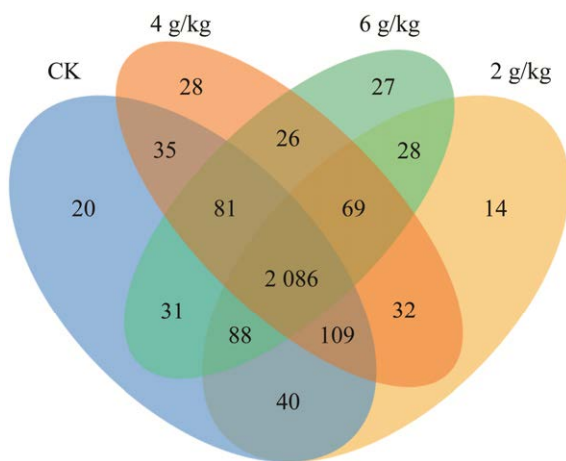


图 7 不同处理下加工番茄根际细菌 OTU 分布韦恩图

Figure 7 The distribution of OTUs in processing tomato rhizosphere bacteria under different treatments Venn diagram.

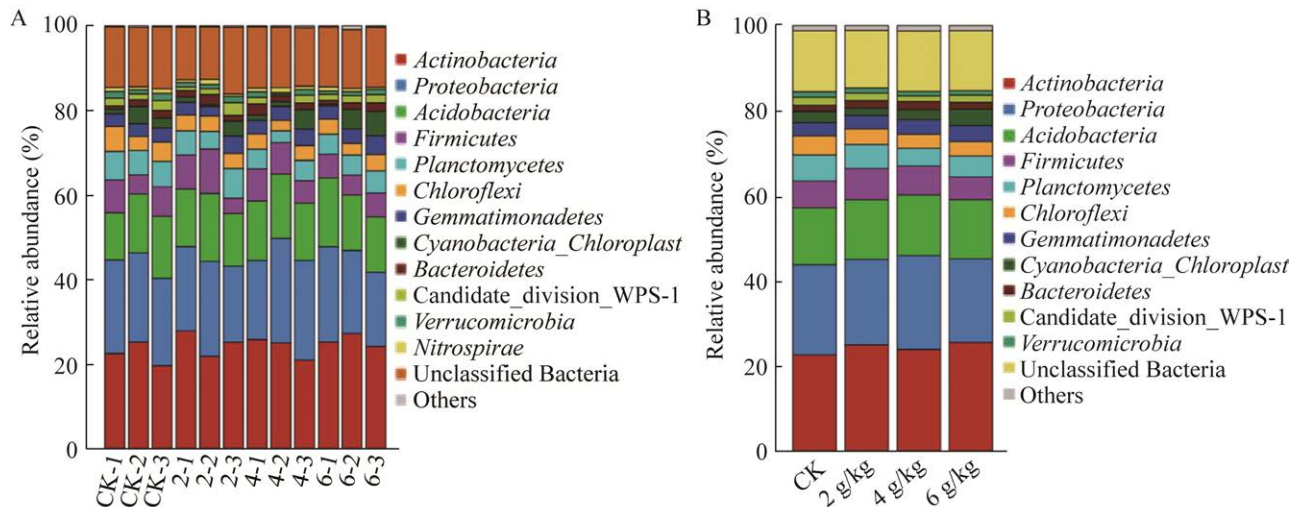


图 8 不同处理下加工番茄根际优势细菌相对丰度图 A: 各处理组优势细菌. B: 门水平优势细菌

Figure 8 The relative abundance of dominant bacteria in the rhizosphere of processing tomato under different treatments. A: Dominant bacteria in each treatment group. B: Dominant bacteria at the phylum level.

占比为 22.71%，处理组 2、4 和 6 g/kg 土壤相对丰度占比分别为 25.08%、24.03%和 25.67%；变形菌门(*Proteobacteria*)中各处理组占比分别为 21.17%、20.03%、22.00%和 19.60%，酸杆菌门(*Acidobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)，处理组与对照组相比相对丰度占比均升高，厚壁菌门(*Firmicutes*)低、中浓度处理组和蓝细菌门(*Cyanobacteria*)高浓度处理组占比均有不同程度的提升。

经过混合菌剂处理后，加工番茄根际土壤功能性微生物结构发生变化，其中放线菌门(*Actinobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*)相对丰度占比均增大，厚壁菌门(*Firmicutes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)和蓝细菌门(*Cyanobacteria*)占比出现了变化。

2.4 功能性微生物群落与加工番茄生长指标相关性分析

为探究功能性微生物群落结构和加工番茄农艺性状指标间的联系，对功能性微生物群落中放线菌门(*Actinobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*)与加工番茄农艺性状

进行相关性分析(IBM SPSS statistics 23)。从表 2 可知，酸杆菌门与含糖量变化呈显著正相关($P<0.05$)，拟杆菌门与含糖量变化呈极显著正相关($P<0.01$)，同时发现加工番茄总果重、结果数与株高、茎粗也呈不同程度的显著正相关，说明经过混合菌剂处理后，加工番茄农艺性状品质改良与其功能性微生物群落结构变化呈正相关，混合菌剂对加工番茄根际群落的影响在一定程度上反映出对植株生长产生的影响。

3 讨论与结论

本研究通过施用由鞘氨醇杆菌 A1 与特基拉芽孢杆菌 C-9 制备的混合菌剂，对大田加工番茄农艺性状进行调查，并对其根际功能性微生物群落的结构进行分析，阐明不同浓度混合菌剂对加工番茄生长和功能性种群变化的影响。本研究结果为分析混合发酵制备的菌剂在大田栽培条件下对加工番茄生长及其根际功能性微生物群落变化提供了数据支撑，并为绿色微生物菌剂的开发和实际应用提供了理论基础。

表 2 功能性微生物群落与加工番茄生长指标相关性分析

Table 2 Correlation analysis between functional microbial community and growth index of processing tomato

| Functional communities and characters | Actinobacteria | Acidobacteria | Bacteroidetes | Sugar content | Total fruit weight | Fruit number | Aboveground fresh weight | Plant height | Stem thick |
|---------------------------------------|----------------|---------------|---------------|---------------|--------------------|--------------|--------------------------|--------------|------------|
| <i>Actinobacteria</i> | 1 | | | | | | | | |
| <i>Acidobacteria</i> | 0.601 | 1 | | | | | | | |
| <i>Bacteroidetes</i> | 0.271 | 0.920 | 1 | | | | | | |
| Sugar content | 0.335 | 0.951* | 0.995** | 1 | | | | | |
| Total fruit weight | 0.877 | 0.839 | 0.559 | 0.633 | 1 | | | | |
| Fruit number | 0.914 | 0.858 | 0.591 | 0.656 | 0.987* | 1 | | | |
| Aboveground fresh weight | 0.934 | 0.395 | 0.106 | 0.145 | 0.655 | 0.736 | 1 | | |
| Plant height | 0.827 | 0.876 | 0.622 | 0.694 | 0.995** | 0.977* | 0.585 | 1 | |
| Stem thick | 0.922 | 0.815 | 0.524 | 0.596 | 0.994** | 0.995** | 0.731 | 0.980* | 1 |

*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

研究发现混合制备的菌剂施加至加工番茄根际, 经过生长周期, 在一定程度上促进番茄果实数量与品质显著性提高。这与同类型研究中提到的混合菌剂相较于单一菌剂具有优越性的观点相符。例如, 张博等^[17]利用 3 种菌株混合制备丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)混合菌剂, 能够有效增加寒地水稻生物量, 增强内生真菌侵染率。杨涛等^[18]制备的芽孢杆菌属(*Bacillus*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)混合菌剂活化了当归土壤钾素, 提高了氮素吸收利用率, 一定程度上增加了当归的产量。

施加混合菌剂激发加工番茄根际功能性微生物群落结构产生变化, 一些功能性微生物的相对丰度提高。本研究涉及的功能性微生物放线菌门、酸杆菌门和拟杆菌门相对丰度增大, 且随混合菌剂浓度施加而增加, 厚壁菌门、蓝细菌门部分处理组相对丰度呈正相关增加。在李凤等^[16]的研究中也提到, 除功能性微生物外, 其他菌群的相对丰度要高于基质栽培条件, 且在属水平上存在较大差异, 土壤栽培条件下, 加工番茄根际群落物种更丰富、多样性更高。

本研究涉及的根际土壤功能性微生物在番茄相关研究中十分常见, 已有不少研究对其功能性进行了探究, 如放线菌门(*Actinobacteria*)是革兰氏阳性的土壤栖息细菌, 具有较高的固氮效率, 一些放线菌属具有产吲哚乙酸(indoleacetic acid, IAA)和铁载体的能力^[19]。酸杆菌门(*Acidobacteria*)是植物根际中占据主导地位的 7 类微生物之一, 由于其难培养的特性, 在传统研究中常常被忽略。随着各类测序技术的发展, 酸杆菌的功能和特性得以被研究, 一些酸杆菌属微生物作为促进植物生长的根际细菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR), 能够产生植物促生长激素(auxin IAA)和具有产生铁载体以及溶解磷酸盐的能力, 与植物相互作用, 从而促进植物生长^[20]。拟杆菌门(*Bacteroidetes*)为典型革兰氏阴性细菌, 在传统土壤研究中往往被忽略^[21]。然而 Wolińska 等^[22]证明拟杆菌门在生物圈中擅长降解复杂的有机物, 对耕作方式具有显著敏感性, 通常将其视为农业土壤利用效率是否充分的生物学指标。

综上所述, 由鞘氨醇杆菌 A1 与特基拉芽

孢杆菌 C-9 混合制备的菌剂对大田加工番茄的果实品质效果的提高较为明显, 并且对加工番茄根际主要功能性微生物群落放线菌门、酸杆菌门、拟杆菌门等的影响也呈正相关; 随着接种混合菌剂浓度的增加, 部分功能性微生物的相对丰度存在梯度变化。本次研究结果仅是对混合型微生物菌剂在大田土壤条件作用效应的初步研究。混合菌剂的施用有助于实现打破实验室环境与大田生产环境差异的技术壁垒, 目前, 混合菌剂作用机理以及混合菌剂与土著微生物的协同作用策略有待探索, 将来的研究可关注群落定殖情况、群落功能性作用机制, 以及探索混合菌剂在自然生长条件下的作用方式, 为实现混合菌剂研究成果转化提供重要的理论基础。

REFERENCES

- [1] 韩长志. 植物病害生防菌的研究现状及发展趋势[J]. 中国森林病虫, 2015, 34(1): 33-37, 25.
HAN CZ. Research status and development trend of microbial antagonists against plant diseases[J]. Forest Pest and Disease, 2015, 34(1): 33-37, 25 (in Chinese).
- [2] 王红丽, 善文辉, 胡海瑶, 李燕, 王琦, 王坤, 卞凤娥. 生防菌混合接种对葡萄灰霉病菌的防治效果[J]. 中国生物防治学报, 2020, 36(2): 265-271.
WANG HL, SHAN WH, HU HY, LI Y, WANG Q, WANG K, BIAN FE. Control effect of mixed inoculation of different biocontrol strains on *Botrytis cinerea*[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2020, 36(2): 265-271 (in Chinese).
- [3] 陈忠男, 王志刚, 徐伟慧. 生防菌在农业中的应用及其机制研究进展[J]. 高师理科学刊, 2022, 42(6): 89-94, 110.
CHEN ZN, WANG ZG, XU WH. Research progress of application and mechanism of biocontrol bacteria in agriculture[J]. Journal of Science of Teachers' College and University, 2022, 42(6): 89-94, 110 (in Chinese).
- [4] 李国, 赵辉, 刘元元, 张梦恬, 庞学兵, 郭建强, 李湘钰, 祝建波, 王爱英. 多元混菌培养对棉花黄萎菌拮抗效果的研究[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(3): 431-439.
LI G, ZHAO H, LIU YY, ZHANG MT, PANG XB, GUO JQ, LI XY, ZHU JB, WANG AY. Antagonistic effect of the mixed bacteria culture on *Verticillium dahlia*[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2018, 34(3): 431-439 (in Chinese).
- [5] 赵雯, 李金叶. 中国番茄国际竞争力分析[J]. 新疆社会科学(汉文版), 2008(6): 28-32.
ZHAO W, LI JY. Analysis on international competitiveness of tomato in China[J]. Social Sciences in Xinjiang, 2008(6): 28-32 (in Chinese).
- [6] 王飞燕, 李玉姗, 何伟, 马越, 许红军, 宋羽. 新疆鲜食番茄农艺性状的多元统计分析[J]. 北方园艺, 2022(15): 1-9.
WANG FY, LI YS, HE W, MA Y, XU HJ, SONG Y. Multivariate statistical analysis on agronomic traits of fresh tomato in Xinjiang[J]. Northern Horticulture, 2022(15): 1-9 (in Chinese).
- [7] 李荣霞, 刘磊, 刘伟, 李君明, 张爱萍. 新疆加工番茄种植现状、问题及建议[J]. 中国蔬菜, 2022(4): 4-8.
LI RX, LIU L, LIU W, LI JM, ZHANG AP. Present situation, problems and suggestions of processing tomato planting in Xinjiang[J]. China Vegetables, 2022(4): 4-8 (in Chinese).
- [8] 王娟. 番茄种植业发展思路与建议[J]. 智慧农业导刊, 2022, 2(14): 43-45.
WANG J. Thoughts and suggestions on the development of tomato planting[J]. Journal of Smart Agriculture, 2022, 2(14): 43-45 (in Chinese).
- [9] 颀健辉, 张占琴, 李艳, 王建江, 杨相昆. 液体地膜覆盖对加工番茄产量与品质的影响[J]. 北方园艺, 2023(5): 18-26.
XIE JH, ZHANG ZQ, LI Y, WANG JJ, YANG XK. Effects of liquid film mulching on yield and quality of processing tomato[J]. Northern Horticulture, 2023(5): 18-26 (in Chinese).
- [10] 齐晓辉. 新疆番茄加工产业发展中存在的问题与对策研究[J]. 商场现代化, 2008(7): 330-331.
QI XH. Problems and countermeasures in the development of tomato processing industry in Xinjiang[J]. Market Modernization, 2008(7): 330-331 (in Chinese).
- [11] 张桂芬, 刘万学, 万方浩, 洗晓青, 张毅波, 郭建洋. 世界毁灭性检疫害虫番茄潜叶蛾的生物生态学及危害与控制[J]. 生物安全学报, 2018, 27(3): 155-163.
ZHANG GF, LIU WX, WAN FH, XIAN XQ, ZHANG YB, GUO JY. Bioecology, damage and management of the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), a worldwide quarantine pest[J]. Journal of Biosafety, 2018, 27(3): 155-163 (in Chinese).

- [12] 宋曼曼, 韩广泉, 樊新民, 刘慧英. 加工番茄果实糖分含量的变化[J]. 北方园艺, 2011(4): 24-28.
SONG MM, HAN GQ, FAN XM, LIU HY. Study on sugar content changes of processing tomato fruit[J]. Northern Horticulture, 2011(4): 24-28 (in Chinese).
- [13] 赖宝春, 姚锦爱, 戴瑞卿, 吴振强, 王家瑞. 2株拮抗放线菌复合防治番茄青枯病的研究[J]. 中国生物防治学报, 2021, 37(5): 1035-1040.
LAI BC, YAO JA, DAI RQ, WU ZQ, WANG JR. Control effect of two antagonistic actinomycete mixed strains against tomato bacterial wilt disease[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2021, 37(5): 1035-1040 (in Chinese).
- [14] 牟建平, 滕宝霞, 史中飞, 贺晓文, 赖晶, 朱玲, 肖静, 曾小梅. 基于高通量测序考察甘肃黄芪种植区根际土壤微生物群落结构及多样性[J]. 中国野生植物资源, 2022, 41(3): 15-24.
MU JP, TENG BX, SHI ZF, HE XW, LAI J, ZHU L, XIAO J, ZENG XM. Examining the structure and diversity of inter-root soil microbial communities in *Astragalus membranaceus* plantation areas of Gansu based on high-throughput sequencing[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2022, 41(3): 15-24 (in Chinese).
- [15] 刘晓梅, 苏文英, 纪伟, 梁长东, 任立凯. 施肥方式对设施番茄产量及土壤细菌多样性、群落结构的影响[J]. 浙江农业科学, 2023, 64(1): 148-152.
LIU XM, SU WY, JI W, LIANG CHANGDONG, REN LIKAI. Effects of fertilization methods on yield, soil bacterial diversity and community structure in facility tomato[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2023, 64(1): 148-152 (in Chinese).
- [16] 李凤, 周方园, 张广志, 周红姿, 吴晓青, 吴金娟, 张新建. 促生菌对基质栽培番茄根系细菌群落的影响[J]. 微生物学通报, 2022, 49(2): 583-597.
LI F, ZHOU FY, ZHANG GZ, ZHOU HZ, WU XQ, WU JJ, ZHANG XJ. Impacts of growth-promoting bacteria on root bacterial community of tomato in substrate culture[J]. Microbiology China, 2022, 49(2): 583-597 (in Chinese).
- [17] 张博, 石峰, 宋福强. AMF复合菌剂对寒地水稻光合作用和生长效应的影响[J]. 中国农学通报, 2022, 38(33): 15-22.
ZHANG B, SHI F, SONG FQ. AMF complex fungicides: effects on photosynthesis and growth of rice in cold region[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2022, 38(33): 15-22 (in Chinese).
- [18] 杨涛, 姚阳阳, 王治业, 党昇荣, 毛婷, 牛永艳, 彭桐, 王引权. 复合菌剂调控连作当归根围土壤养分及对产量的影响[J]. 微生物学通报, 2022, 49(7): 2648-2660.
YANG T, YAO YY, WANG ZY, DANG SR, MAO T, NIU YY, PENG T, WANG YQ. Effects of complex bacterium inoculants on rhizosphere soil nutrients and yield of *Angelica sinensis* in continuous cropping[J]. Microbiology China, 2022, 49(7): 2648-2660 (in Chinese).
- [19] KENZA B, ABDOULAYE S, ILHAM M, KARIM L, YEDIR O, MOHAMED H, LAMFEDDAL K. Multifunctional role of *Actinobacteria* in agricultural production sustainability: a review[J]. Microbiological Research, 2022, 261: 127059.
- [20] SADAF K, ANIRBAN B, RAO AP. Difficult-to-culture bacteria in the rhizosphere: the underexplored signature microbial groups[J]. Pedosphere, 2022, 32(1): 75-89.
- [21] TIAN BY, ZHANG CJ, YE Y, WEN JM, WU YM, WANG HZ, LI HM, CAI SX, CAI WT, CHENG ZQ, LEI SN, MA RQ, LU CJ, CAO Y, XU XH, ZHANG KQ. Beneficial traits of bacterial endophytes belonging to the core communities of the tomato root microbiome[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2017, 247: 149-156.
- [22] WOLIŃSKA A, KUŹNIAR A, ZIELENKIEWICZ U, IZAK D, SZAFRANEK-NAKONIECZNA A, BANACH A, BŁASZCZYK M. *Bacteroidetes* as a sensitive biological indicator of agricultural soil usage revealed by a culture-independent approach[J]. Applied Soil Ecology, 2017, 119: 128-137.