

李青, 李其胜, 刘璐, 等. 双物种植物根际促生菌菌剂的不同应用策略对西瓜生长及根际细菌群落的影响[J]. 江苏农业学报, 2026, 42(4): 786-797.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2026.04.015

双物种植物根际促生菌菌剂的不同应用策略对西瓜生长及根际细菌群落的影响

李青, 李其胜, 刘璐, 孙玉东, 赵建锋, 张苗, 董青君, 谢昶琰, 章安康
(江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所, 江苏 淮安 223001)

摘要: 生物育苗基质、生物有机肥均可以通过其含有的植物根际促生菌(PGPR)来优化根际微生物组,从而促进作物生长。本研究旨在探究在2种施用策略(生物育苗基质和生物有机肥)下,双物种PGPR菌剂对西瓜生长及根际细菌群落的影响,从而为设施农业的发展提供技术支撑。设置如下4个盆栽试验处理:普通育苗基质+普通有机肥(OSOF)、普通育苗基质+生物有机肥(OSBF)、生物育苗基质+普通有机肥(BSOF)、生物育苗基质+生物有机肥(BSBF)。结果表明,与OSOF处理相比,OSBF处理对西瓜生长、根际细菌群落的影响不明显;BSBF处理能改变根际细菌群落的多样性,优化其结构与组成,显著增加西瓜植株株高、地上部生物量和地下部生物量。在BSOF处理下,鞘氨醇单胞菌科(Sphingomonadaceae)等若干潜在有益细菌类群的相对丰度显著提高,或被随机森林模型预测为该处理的关键类群,其中,鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas* sp.)是预测西瓜促生效应的重要因子。PICRUST2功能预测结果显示,与OSOF、OSBF处理相比,BSOF、BSBF处理的辅因子与维生素代谢、其他氨基酸代谢、膜转运及信号转导等相关功能的相对丰度显著提升。综上,在首次施用双物种PGPR菌剂时,应优先选择生物育苗基质策略,能够更高效地优化根际细菌群落结构并促进西瓜生长,并且与生物有机肥联用的效果更佳。

关键词: 生物育苗基质; 双物种植物根际促生菌菌剂; 根际细菌群落; 生物有机肥; 植物生长促进作用

中图分类号: S651.06 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2026)04-0786-12

Effects of different application strategies of dual-species plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) inoculants on watermelon growth and rhizosphere bacterial communities

LI Qing, LI Qisheng, LIU Lu, SUN Yudong, ZHAO Jianfeng, ZHANG Miao, DONG Qingjun, XIE Changyan, ZHANG Ankang

(Huaiyin Institute of Agricultural Sciences of the Xuhuai District of Jiangsu Province, Huai'an 223001, China)

Abstract: Both biological seedling-raising substrates and biological organic fertilizers can optimize the rhizosphere

收稿日期: 2025-06-19

基金项目: 淮安市自然科学研究计划项目(HAB2024077); 江苏省水利科技项目(2023056)

作者简介: 李青(1990-), 女, 河南洛阳人, 博士, 助理研究员, 主要从事土壤微生物与生物肥料研究。(E-mail) l2013203049@163.com。李其胜为共同第一作者。

通讯作者: 谢昶琰, (E-mail) 15295590157@163.com; 章安康, (E-mail) 13905239366@139.com

microbiome through the plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) they contain, thereby promoting crop growth. This study aimed to explore the effects of a dual-species PGPR inoculant on watermelon growth and rhizosphere bacterial communities under two application strategies (biological seedling-raising substrates and biological organic fertilizers), so as to provide technical support for the development of facility agriculture. The pot ex-

periment was set up with the following four treatments; ordinary seedling-raising substrate + ordinary organic fertilizer (OSOF), ordinary seedling-raising substrate + biological organic fertilizer (OSBF), biological seedling-raising substrate + ordinary organic fertilizer (BSOF), biological seedling-raising substrate + biological organic fertilizer (BSBF). The results showed that compared with the OSOF treatment, the OSBF treatment had no obvious impact on watermelon growth and rhizosphere bacterial communities. The BSBF treatment altered the diversity of rhizosphere bacterial communities, optimized their structure and composition, and significantly increased the plant height, aboveground biomass, and underground biomass of watermelon plants. Under the BSOF treatment, the relative abundances of several potentially beneficial bacterial taxa, such as Sphingomonadaceae, were significantly increased, or were predicted as key taxa for this treatment by the random forest model. Among them, *Sphingomonas* sp. was identified as an important factor for predicting the growth-promoting effect on watermelon. The PICRUSt2 functional prediction results revealed that compared with the OSOF and OSBF treatments, the relative abundances of functions such as cofactor and vitamin metabolism, other amino acid metabolism, membrane transport, and signal transduction in the BSOF and BSBF treatments were significantly increased. In conclusion, when applying the dual-species PGPR inoculant for the first time, the biological seedling-raising substrate strategy should be given priority, as it can more efficiently optimize the rhizosphere bacterial community structure and promote watermelon growth, and the effect is even better when combined with biological organic fertilizers.

Key words: biological seedling-raising substrate; dual-species plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) inoculant; rhizosphere bacterial community; bio-organic fertilizer; plant growth promotion

随着集约化农业的快速发展,由化肥过度使用引起的土壤退化现象已经成为农业生产中日益严峻的问题^[1]。这一现象往往会制约经济作物的生长,降低作物的产量与品质,最终影响经济效益^[2-3]。当前,为了推进农业的可持续发展并保障食品供应,人们越来越关注利用植物根际有益微生物来促进作物的健康生长,从而减少对环境有害的农用化学品的使用^[3-4]。

根际是植物根系表面与土壤之间的关键界面,大量微生物群落定植于植物根际,统称为根际微生物组,它们对植物健康具有至关重要的作用^[5-6]。在根际微生物中,根际细菌群落能为植物提供多种生命支持,包括提供养分、促进生长、响应非生物胁迫及抵御病害等^[7]。因此,调控植物根际细菌群落结构成为调节植物根际微生物有益功能的有效途径,有助于提高作物的生产力、维持农业的可持续发展^[8]。近年来,研究者提出利用植物根际促生菌(PGPR)调控植物根际微生物组,从而创建有利的根际微生态环境^[9-10]。为了在农业生产中实施这一策略,利用PGPR菌剂调控根际微生物群落成为关键研究方向。

研究者通常用生物育苗基质进行幼苗培育,用生物有机肥进行幼苗移栽后的土壤改良,这2种操作的共同特点是将PGPR菌剂与适宜的基质结合,两者均能重塑根际微生物组并促进作物生长^[11-12]。

具体而言,Zhang等^[12]提出了1种新型的PGPR菌株预接种策略,即将PGPR添加至普通育苗基质中,从而促进其在作物苗期的根际定殖。该研究结果证实,这种生物育苗基质能驱动移栽后的作物根际微生物群落组成向植物有益的方向演替,进而提高作物产量。与其类似的是,生物有机肥也具有调控植物根际微生物组的能力^[11,13]。施用生物有机肥后,诱导形成抑病型土壤的关键因素在于其含有的有益功能菌,这些功能菌通过富集具有抗真菌特性的土著微生物种群来帮助植物防治病害^[14]。进一步的研究发现,引入土壤中的有益微生物能够招募特定的土著微生物类群。例如,有研究发现芽孢杆菌(*Bacillus*)W19、SQR9均可促进根际土著假单胞菌(*Pseudomonas*)种群的增殖,并可与其协同作用以提升植物的健康水平^[10,15]。

目前,在中国的设施西瓜种植过程中,普遍采用育苗基质培育西瓜幼苗,待成苗后再移栽至施用有机肥改良的土壤中。基于这一生产实际,施用含有PGPR菌株的生物育苗基质或生物有机肥,有利于构建有益的根际微生物环境并促进西瓜生长。生物育苗基质、生物有机肥的应用能使PGPR菌株在作物的不同生育阶段以不同途径进入根际环境。然而,目前较少有研究者关注和比较这2种应用方式对作物促生效果的影响,也未明确其联合施用是否会产生优于单一施用模式的协同效应,并且对于移栽后西瓜根际细

菌群落重塑的差异化影响也缺乏深入探究。

在前期工作中,笔者分离并获得 2 株 PGPR 菌株,分别是贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) R1-3 和假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.) 细菌 HY-S70,由这 2 株菌株构成的菌群能显著促进甜瓜幼苗的生长^[16-17]。本研究拟以上述菌群作为 PGPR 菌剂,分别与普通育苗基质、有机肥混合制成生物育苗基质、生物有机肥,通过盆栽试验进行如下研究:(1)比较生物育苗基质、生物有机肥单独施用及联合施用对西瓜植株生长的影响;(2)解析不同 PGPR 菌剂的施用方式重塑根际细菌群落结构的原理与功能;(3)探究双物种 PGPR 菌剂在根际招募的关键细菌类群及其与西瓜促生效应间的关联。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

供试 PGPR 菌株为笔者在前期工作中分离并保存的贝莱斯芽孢杆菌 R1-3(*Bacillus velezensis* R1-3)和假单胞菌属细菌 HY-S70(*Pseudomonas* sp. HY-S70)^[16-17]。供试普通育苗基质、有机肥购自淮安市柴米河农业科技股份有限公司。

1.2 试验设计

1.2.1 生物育苗基质、生物有机肥的制备 将 R1-3、HY-S70 活化后分别接种至 LB 培养基(含 10 g/L 胰蛋白胨,5 g/L 酵母提取物,10 g/L 氯化钠)上,振荡培养(35 ℃,180 r/min)30 h 左右,使发酵液中的菌含量均达到 1.0×10^9 CFU/mL。将 R1-3、HY-S70 发酵液离心后重悬于无菌水中,再按照体积比 1:1 混合。将双菌菌悬液分别按照 5%(体积分数)、13%(质量分数)的接种量接种至灭菌的普通育苗基质、普通有机肥中并混合均匀,使本研究制备的生物育苗基质、生物有机肥中的细菌含量(以干物质基质中的含量计)分别超过 1.0×10^7 CFU/g 和 1.0×10^8 CFU/g。

1.2.2 盆栽试验 在江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所科研创新基地开展盆栽试验。使用的普通育苗基质、普通有机肥均进行灭菌处理。根据所用育苗基质类型,分为如下 2 个处理:普通育苗基质(OS)和生物育苗基质(BS)。育苗 28 d 后,分别将幼苗按照常规操作移栽至添加普通有机肥(OF)和生物有机肥(BF)的盆栽土壤中。综上,盆栽试验包含以下 4 种处理:OSOF,将 OS 幼苗移栽至 OF 改良

土壤中;OSBF 处理,将 OS 幼苗移栽至 BF 改良土壤中;BSOF 处理,将 BS 幼苗移栽至 OF 改良土壤中;BSBF 处理,将 BS 幼苗移栽至 BF 改良土壤中。每盆装土 5 kg,移栽后继续培养 26 d。所有处理的土壤均按干重添加 OF 或 BF,并补充等量化肥。每个处理设 6 次重复,所有盆栽在地面随机摆放。

1.3 植物农艺性状的测定和土壤样品的采集

在试验结束时测定植株的生长指标(包括株高、茎粗、SPAD 值及地上部鲜重和地下部鲜重)。采集根际土壤时,将整株西瓜根系从土壤中移出,轻轻抖落并弃去松散附着于根系的土壤,随后参照 Zhao 等^[18]的方法,收集紧密附着于根系的土壤作为根际土壤样本。

1.4 DNA 的提取和高通量测序

参照土壤 DNA 提取试剂盒(Omega Bio-Tek,美国)说明书提取根际土壤样本的总 DNA。借助琼脂糖凝胶电泳、NanoDrop2000 分光光度计(Thermo Fisher Scientific,美国)检测 DNA 质量与浓度。以细菌 16S rRNA 高变区 V3~V4 为目标片段,使用引物 341F(5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3')、806R(5'-GGACTACNNGGTATCTAAT-3')进行 DNA 片段扩增。将 PCR 扩增产物进行纯化处理后,参照 Illumina 基因组 DNA 建库流程构建文库,使用上海凌恩生物科技有限公司的 Illumina MiSeq 平台完成扩增子的测序。

1.5 数据统计分析

对通过质量检查的序列进行去重复处理,并用 DADA2 算法^[19]进行分析。插入/缺失突变和碱基替换事件通过 QIIME 2^[20]进行检测。使用核糖体数据库计划(RDP)分类器基于 Silva(SSU132)16S rRNA 数据库^[21]对每个扩增子序列变体(Amplicon sequence variant,ASV)进行物种的分类注释,置信度阈值设定为 70%。用 R 语言 Phyloseq 软件包(版本 1.45.2)对经过对数标准化的数据进行 α 多样性、 β 多样性分析^[22]。其中 α 多样性通过 Chao 1 指数、ACE 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数进行评估。维恩图(Venn diagrams)通过在线工具 Draw Venn Diagram(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn>)绘制,用于分析不同处理组间共有、特有的扩增子序列变体(ASV)。采用 R 语言(版本 4.1.3)中的 `pca` 函数进行主成分分析(PCA),以评估 β 多样性的变化。细菌群落的相似性分析基于

Bray-Curtis 距离矩阵,并通过 R 语言的 vegan 包进行 999 次置换检验。上述细菌群落的结构分析均在上海凌恩生物科技有限公司提供的在线数据分析平台上完成。采用 R 语言中的 cor 函数(基于皮尔森相关系数)、CRAN 的 superheat 包进行层次聚类分析,以实现数据可视化^[23]。通过 microeco 包实现的随机森林算法被用于分析微生物类群的重要性及其与植物生物量的关系,该分析过程需要计算重要性值并进行交叉检验,在分析过程中将丰度数据通过标准化转换为 Z 分数^[24]。采用 PICRUST2(Phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved states 2,基于未观察状态重建的群落系统发育推断 2)方法,基于 16S rRNA 基因扩增子数据,对根际土壤细菌组的功能谱进行预测^[25]。

在对 ASV 进行差异分析前,先对其进行标准化处理,然后用 QIIME 脚本功能 group-significance.py^[26]分析不同处理组间在统计学上具有显著差异的 ASV,显著性水平设定为 0.05。对于满足方差齐

性检验的数据,用单因素方差分析法(ANOVA)比较不同处理组间的差异;对于不满足方差齐性检验的数据,采用 Kruskal-Wallis 检验。双因素 ANOVA 用于评估育苗基质、有机肥料及其交互作用对西瓜生长、细菌 α 多样性及 ASV 相对丰度的影响。所有统计分析均借助 R 软件(版本 4.1.3)完成。

2 结果与分析

2.1 不同处理对西瓜植株生长的影响

由表 1 可知,在 OSOF、OSBF 处理下,西瓜植株的各项生长指标之间均无显著差异。与 OSOF 处理相比,BSOF 处理促进了西瓜植株生长,其株高显著提高了 21.4%。生物育苗基质与生物有机肥联合施用的 BSBF 处理表现出最佳的促生效果,与 OSOF 处理相比,其地上部生物量、地下部生物量均显著增加($P \leq 0.05$)。此外,双因素方差分析得出育苗基质因素对植株株高、生物量具有显著影响($P \leq 0.05$),而有机肥因素的影响未达显著水平($P > 0.05$)。

表 1 不同育苗基质和有机肥处理对西瓜植株生长的影响

Table 1 Effects of different nursery substrate and organic fertilizer treatments on the growth of watermelon plants

处理	株高(cm)	茎粗(mm)	SPAD 值	地上部生物量(g)	地下部生物量(g)
OSOF	50.70±3.41b	3.76±0.25a	37.83±3.30a	25.94±3.46b	2.01±0.09b
OSBF	51.37±4.50b	3.87±0.24a	40.43±1.37a	28.84±5.06b	2.15±0.41b
BSOF	61.53±5.30a	4.10±0.38a	37.10±2.49a	37.78±6.60ab	2.50±0.48ab
BSBF	65.13±6.19a	4.02±0.33a	38.17±0.23a	41.45±8.89a	2.95±0.15a

OS:普通育苗基质;BS:生物育苗基质;OF:添加普通有机肥;BF:添加生物有机肥;OSOF:将 OS 幼苗移栽至 OF 改良土壤中;OSBF:将 OS 幼苗移栽至 BF 改良土壤中;BSOF:将 BS 幼苗移栽至 OF 改良土壤中;BSBF:将 BS 幼苗移栽至 BF 改良土壤中。同列数据后标有不同小写字母表示处理间差异显著($P \leq 0.05$)。

2.2 不同处理对西瓜根际细菌群落 α 多样性的影响

经双因素方差分析,西瓜根际土壤细菌群落的 α 多样性指数受到育苗基质因素的显著影响($P \leq 0.05$),而未受到有机肥因素的显著影响($P > 0.05$)。由表 2 可以看出,各处理间的丰富度指数(Chao 1 指数、ACE 指数)未表现出显著差异,但是生物育苗基质处理(BSOF 处理、BSBF 处理)的细菌群落丰富度指数(Chao 1 指数、ACE 指数)总体低于 OS 处理组(OSOF 处理、OSBF 处理)。与 OSOF 处理相比,BSOF 处理的 Simpson 指数显著降低($P \leq 0.05$)。上述结果表明,通过生物育苗基质预接种双物种 PGPR 菌剂会降低西瓜根际细菌群落的多样性。值得注意的是,BSBF 处理的西瓜根际细菌群落丰富度指数与多样性指数均为所有处理中的最低值。与

BSOF 处理相比,BSBF 处理的 Shannon 指数降低,且是唯一显著低于 OSOF 处理的组别,意味着生物有机肥与生物育苗基质的联合施用会导致细菌群落多样性降低。上述结果表明,虽然单独使用生物有机肥对细菌群落多样性的影响有限,但其在与生物育苗基质联用时会产生一定的效应。

2.3 不同处理根际细菌的 ASV 相关性分析

由图 1 可以看出,4 个处理有 609 个共同的 ASV,占 ASV 总数(8 889 个)的 6.9%。OSOF 处理有 1 700 个特有的 ASV,而 BSOF 处理、BSBF 处理的特有物种数量分别比 OSOF 处理减少了 6.0%、18.1%(图 1A)。由图 1B 可以看出,对 OSBF 处理与 OSOF 处理的比较组、BSOF 处理与 OSOF 处理的比较组、BSBF 处理与 OSOF 处理的比较组进行比较

发现, OSOF 处理特有的 ASV 数量依次递增, 而与其他试验组共有的 ASV 数量(1 126 个、1 040 个、982 个)及其他试验组特有的 ASV 数量(2 054 个、1 901 个、1 676 个)则逐渐减少。上述结果表明, 与 OSBF 处理相比, BSOF 处理、BSBF 处理对根际细菌群落

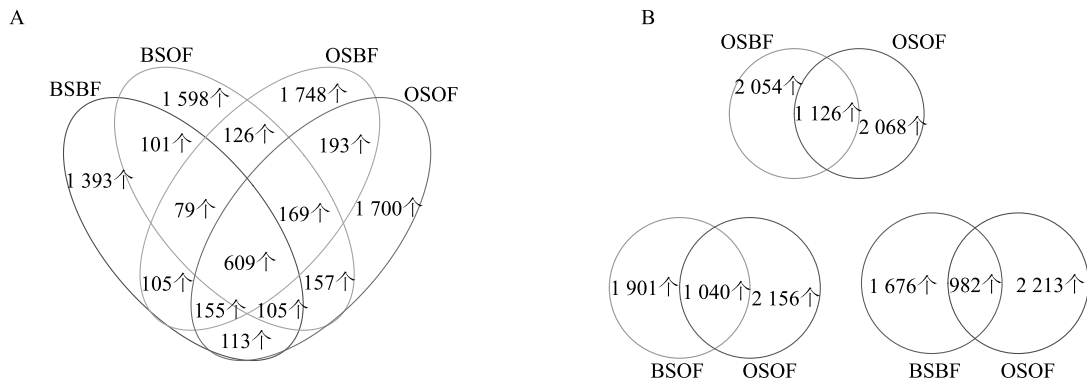
ASV 组成特征(包括特有 ASV 及共有 ASV)的影响逐渐增强。BSBF 处理表现出最强的环境驯化效应, 可能由于在该处理下, 自身特有物种流失得最多, 与对照组共有物种减少得也最明显。

表 2 不同处理根际细菌群落的 α 多样性

Table 2 Alpha diversity of rhizosphere bacterial communities under different treatments

处理	α 多样性指数			
	Chao1 丰富度指数	ACE 丰富度指数	Shannon 多样性指数	Simpson 多样性指数
OSOF	1 414.42±49.02a	1 415.91±49.24a	6.75±0.06a	0.998 3±0.000 2a
OSBF	1 414.40±106.46a	1 415.29±107.74a	6.76±0.08a	0.998 3±0.000 1a
BSOF	1 270.36±247.08a	1 271.11±247.40a	6.56±0.14ab	0.997 6±0.000 4b
BSBF	1 172.67±49.52a	1 172.95±49.79a	6.49±0.03b	0.997 3±0.000 2b

OS: 普通育苗基质; BS: 生物育苗基质; OF: 添加普通有机肥; BF: 添加生物有机肥; OSOF: 将 OS 幼苗移栽至 OF 改良土壤中; OSBF: 将 OS 幼苗移栽至 BF 改良土壤中; BSOF: 将 BS 幼苗移栽至 OF 改良土壤中; BSBF: 将 BS 幼苗移栽至 BF 改良土壤中; ACE: 基于丰度的覆盖率估计量。同列数据后标有不同小写字母表示处理间差异显著 ($P \leq 0.05$)。



A: 各处理组间共有 ASV、特有 ASV 的维恩图; B: 各试验组与对照组比较的维恩图。OSOF: 将普通育苗基质(OS)幼苗移栽至添加普通有机肥(OF)改良土壤中; OSBF: 将 OS 幼苗移栽至添加生物有机肥(BF)改良土壤中; BSOF: 将生物育苗基质(BS)幼苗移栽至 OF 改良土壤中; BSBF: 将 BS 幼苗移栽至 BF 改良土壤中。

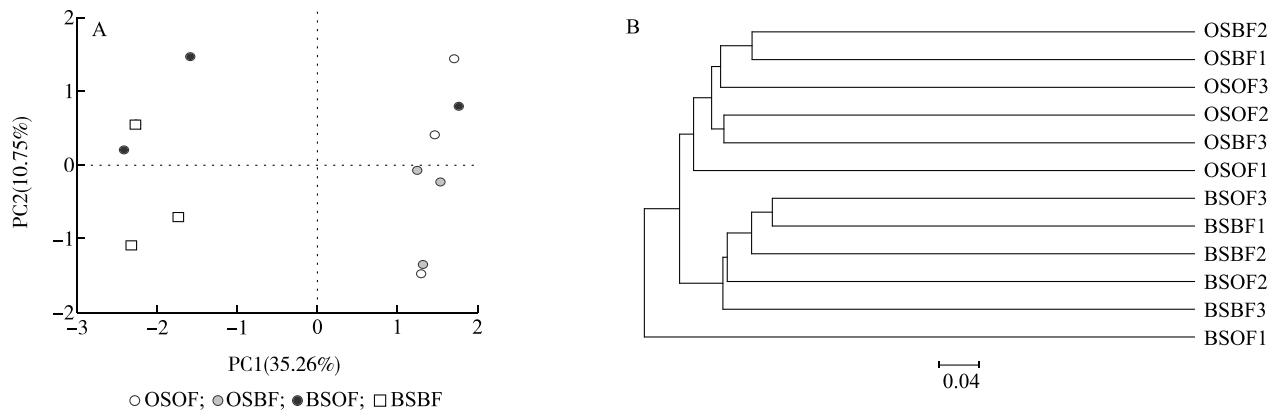
图 1 各处理组根际细菌共有扩增子序列变异体(ASV)数目、特有 ASV 数目分析

Fig.1 Analysis of the number of shared and unique amplicon sequence variants (ASVs) of rhizosphere bacteria in different treatments

2.4 不同处理对根际细菌群落结构的影响

为了直观地呈现不同处理间的细菌群落结构差异, 并探究驱动群落结构变化的主要因素, 对根际细菌群落进行主成分分析(PCA)和聚类分析。如图 2A 所示, OSBF 处理的样本分布与 OSOF 处理重合, 说明 2 个处理的土壤细菌群落结构相似; BSOF 处理样本与 OSOF 处理样本间虽然存在部分重合, 但 BS 处理组(BSOF 处理、BSBF 处理)样本沿第 1 主坐标(PC1, 占比 35.26%)基本上与 OS 处理组(OSOF 处理、OSBF 处理)分离, 其中 BSBF 处理与 OS 处理组

之间的区分尤为明显。此外, OF 处理组(OSOF 处理、BSOF 处理)与 BF 处理组(OSBF 处理、BSBF 处理)样本的分布呈现沿第 2 主坐标(PC2, 占比 10.75%)分离的趋势。置换检验(PERMANOVA)结果表明, 在不同处理间, 根际细菌群落组成差异显著[决定系数(R^2)= 0.318 83, P = 0.034]。聚类分析结果显示, OSOF 处理、OSBF 处理位于相同或相近分支, 并与聚集在一起的 BSOF 处理、BSBF 处理明显区分(图 2B)。上述结果表明, 育苗基质类型是造成根际细菌群落结构差异的主要因素。



OSOF:将普通育苗基质(OS)幼苗移栽至添加普通有机肥(OF)改良土壤中;OSBF:将OS幼苗移栽至添加生物有机肥(BF)改良土壤中;BSOF:将生物育苗基质(BS)幼苗移栽至OF改良土壤中;BSBF:将BS幼苗移栽至BF改良土壤中。PC1:主成分1;PC2:主成分2。OSBF1~3等处理名称后的编号表示该处理下的3个重复样本。

图2 不同处理根际细菌群落的主成分分析(PCA)(A)和聚类分析(B)结果

Fig.2 Results of principal component analysis (PCA) (A) and cluster analysis (B) of rhizosphere bacterial communities under different treatments

2.5 不同处理对根际细菌群落组成的影响

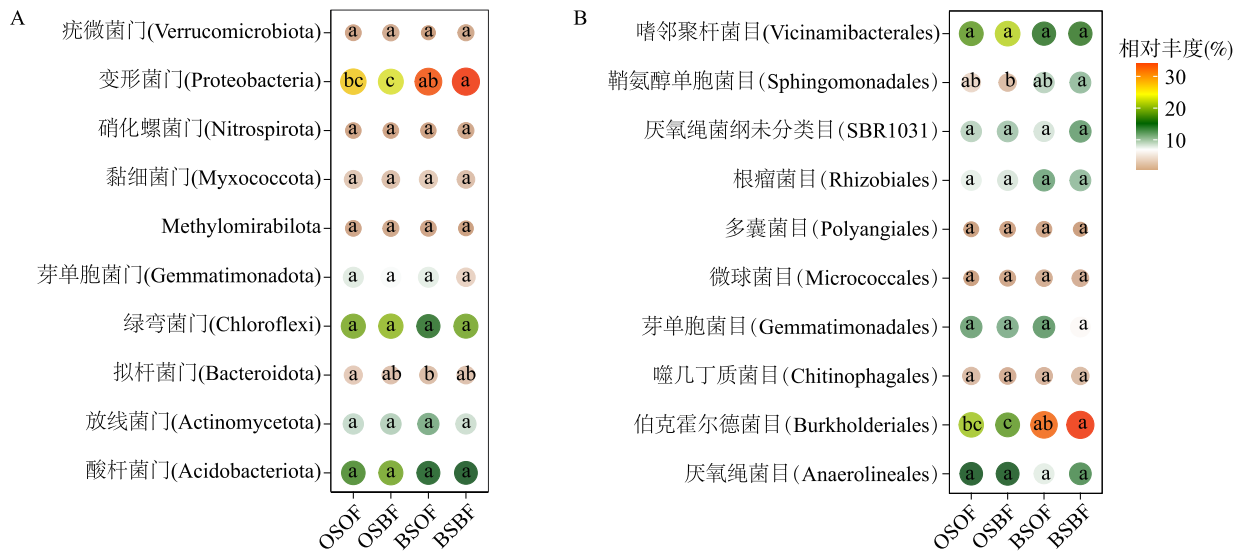
为了研究不同处理对根际优势细菌群落组成的影响,本研究分析了门水平、目水平排名前10的根际细菌群落的相对丰度差异。由图3A可以看出,门水平排名靠前的5个优势菌门依次为变形菌门(Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteriota)、放线菌门(Actinomycetota)、芽单胞菌门(Gemmatimonadota),上述5个优势菌门的占比分别为23.0%~32.5%、16.4%~20.6%、15.6%~19.5%、7.8%~10.4%、4.4%~7.4%。与OSOF处理相比,BS处理组提高了变形菌门的相对丰度,其中BSBF处理提高幅度达显著水平($P \leq 0.05$)。在对目水平的分析中发现了与门水平相似的规律。如图3B所示,BS处理组伯克霍尔德菌目(Burkholderiales)的相对丰度较OSOF处理明显增加,且BSBF处理的增幅达显著水平($P \leq 0.05$)。在门水平、目水平上,OSBF处理中未发现比OSOF处理明显增加的细菌类群。上述结果表明,生物育苗基质的应用能够特异性富集变形菌门、伯克霍尔德菌目等类群,当其与生物有机肥联用时能产生显著的富集效应。

为了进一步探究生物育苗基质、生物有机肥对特定细菌类群ASV水平的影响,通过热图展示了39个相对丰度在不同处理间存在差异的ASV(图4)。采用单因素方差分析比较处理间的差异,采用双因

素方差分析评估育苗基质与有机肥的交互作用。如图4所示,与OSOF处理相比,OSBF处理中属于脱氯球菌科(Defluviococcaceae)、微杆菌科(Microbacteriaceae)、土球菌科(Pedosphaeraceae)等科的若干ASV的相对丰度显著或极显著提升;BSOF处理中属于根瘤菌科(Rhizobiaceae)、鞘氨醇单胞菌科(Sphingomonadaceae)、嗜甲基菌科(Methylophilaceae)、红弯菌科(Roseiflexaceae)、拜叶林克氏菌科(Beijerinckiaceae)及类诺卡氏菌科(Nocardioidaceae)等科的多个ASV的相对丰度显著或极显著上调。随机森林模型进一步将ASV435根瘤菌科(Rhizobiaceae)和ASV279鞘氨醇单胞菌科(Sphingomonadaceae)预测为BSOF处理的关键特征菌群(图5)。

2.6 根际微生物与西瓜促生效应的关联分析

采用随机森林模型预测与西瓜促生效应相关的关键微生物,并评估其重要性。排名前10位的ASV被认为是与西瓜根系生物量相关的重要预测因子,其中ASV3是最重要的预测菌株(图6)。在这些关键微生物类群中,ASV3、ASV4均属于鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas* sp.)。值得注意的是,ASV3在BSOF处理中显著富集(图4),而ASV4则是BSBF处理的关键特征菌群(图5)。上述结果表明,施用生物育苗基质可能通过激活西瓜根际的鞘氨醇单胞菌种群来促进西瓜根系的生长。



OSOF:将普通育苗基质(OS)幼苗移栽至添加普通有机肥(OF)改良土壤中;OSBF:将OS幼苗移栽至添加生物有机肥(BF)改良土壤中;BSOF:将生物育苗基质(BS)幼苗移栽至OF改良土壤中;BSBF:将BS幼苗移栽至BF改良土壤中。图中点的大小和颜色代表各处理组中对应类群的平均相对丰度。不同处理对应的点上标有不同小写字母表示处理间差异显著($P \leq 0.05$)。

图3 根际细菌前10个优势类群在门水平(A)、目水平(B)的相对丰度差异

Fig.3 Differences in relative abundance of the top 10 rhizosphere bacterial taxa at the phylum (A) and order (B) levels

2.7 根际细菌群落的功能预测

为了探究根际细菌群落组成与结构的改变是否会造成其功能变化,基于扩增子数据,用PICRUSt2方法预测细菌的功能谱。如图7所示,在代谢和环境信号处理相关功能类别中,与OSOF处理相比,BSBF处理显著富集了5项功能。与OSOF处理相比,BS处理中除了BSOF处理的甲烷代谢功能相对丰度未达显著水平外,其他功能的相对丰度均显著增加;在环境信号处理方面,BS处理显著提高了双组分系统(信号转导)、细菌分泌系统功能的相对丰度。

3 讨论

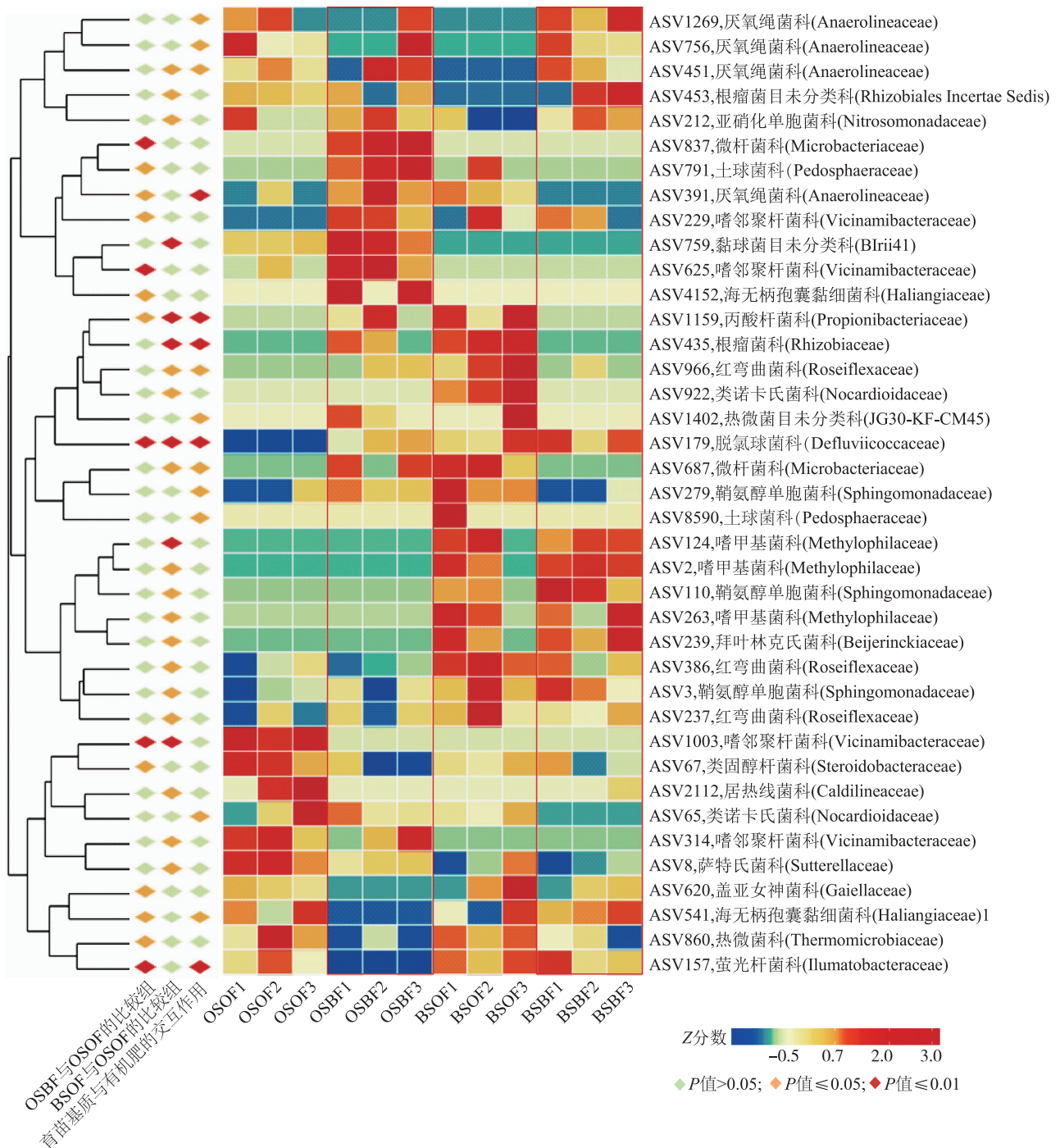
在本研究中,我们将前期构建的双物种PGPR菌剂分别添加到普通育苗基质和有机肥中,探究不同施用方式对西瓜生长及根际细菌群落的影响,揭示了通过将PGPR菌剂添加至育苗基质中促进西瓜生长的潜在微生物学机制,有助于探明该PGPR菌剂在农业生产中的最优施用策略。

3.1 不同PGPR菌剂施用策略对西瓜生长及根际细菌群落的影响

本研究采用的生物育苗基质与生物有机肥均含有相同的PGPR菌剂,因此除了应用方式外,各处理间的差异主要源于PGPR引入西瓜根际的时期与频

次。Zhang等^[12]指出,生物育苗基质能促进PGPR在作物苗期定殖,这为作物移栽后建立有利的根际环境进而促进作物生长奠定了基础。另一项研究发现,先驱菌群的到达会通过“优先效应”影响后续微生物群落组成,这一现象在农作物育苗管理中具有重要的实践价值^[27]。本研究结果与其一致,即施用含有PGPR的生物育苗基质能够改变移栽后西瓜的根际细菌群落组成与结构,并促进其生长。此外,与OS处理相比,施用生物育苗基质导致根际细菌群落 α 多样性降低。这种外源接种功能菌后降低根际生物多样性的现象也有相关报道^[28]。其原因可能与PGPR菌株早期的根际定殖、对根际环境适应性强有关,它们能够优先获取资源或合成抗生素类物质,从而降低后续定殖在该生态位的其他微生物的多样性。

据报道,生物有机肥具有促进植物生长^[29-32]、重塑植物根际微生物组的作用^[33-35]。然而在本研究中,单独施用生物有机肥并未显著促进西瓜生长,也未引起西瓜根际细菌群落多样性、结构与组成发生显著变化。在OSBF处理中,首次通过生物有机肥将PGPR菌剂引入土壤中,随后仅经过26d的短暂培养期。鉴于已有研究中生物有机肥的施用周期相对较长或频次更高^[33-35],我们推测在短期生长



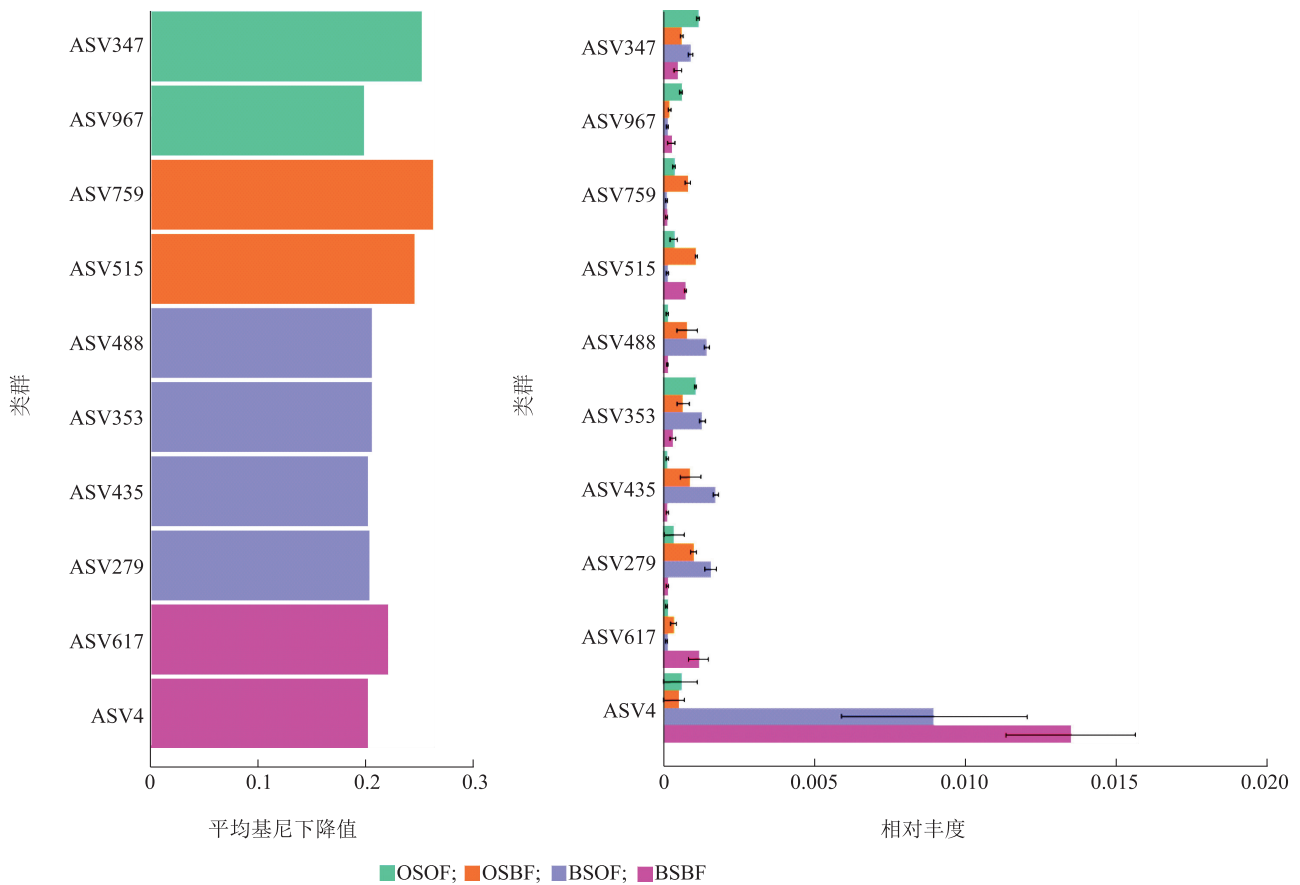
OSOF:将普通育苗基质(OS)幼苗移栽至添加普通有机肥(OF)改良土壤中;OSBF:将OS幼苗移栽至添加生物有机肥(BF)改良土壤中;BSOF:将生物育苗基质(BS)幼苗移栽至OF改良土壤中;BSBF:将BS幼苗移栽至BF改良土壤中。右侧展示各ASV在科水平上的分类名称,左侧不同颜色的色块对应不同的P值。

图4 不同处理间相对丰度存在差异的扩增子序列变异体(ASV)热图

Fig.4 Heatmap of amplicon sequence variants (ASVs) exhibiting varying relative abundances among different treatments

过程中,土壤环境条件的扰动可能限制了通过生物有机肥引入的双菌组合在根际的有效定殖,从而影响PGPR菌株促生功能的发挥及其对有益微生物的

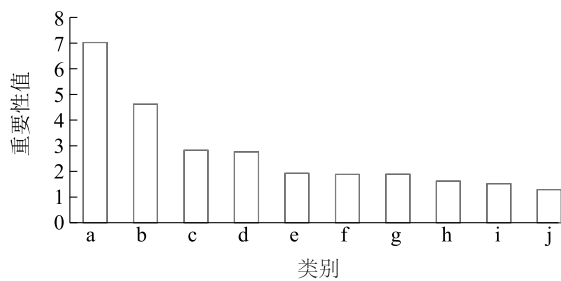
招募。值得注意的是,生物有机肥的施用效果因育苗阶段是否进行PGPR预接种而存在差异。与OS-OF处理相比,未采用生物育苗基质的OSBF处理的



OSOF:将普通育苗基质(OS)幼苗移栽至添加普通有机肥(OF)改良土壤中;OSBF:将OS幼苗移栽至添加生物有机肥(BF)改良土壤中;BSOF:将生物育苗基质(BS)幼苗移栽至OF改良土壤中;BSBF:将BS幼苗移栽至BF改良土壤中;ASV:扩增子序列变异体。

图5 随机森林模型预测的各处理中关键微生物类群及其相对丰度

Fig.5 Key bacterial groups predicted by the random forest model and their relative abundances in different treatments



a: ASV3 鞘氨醇单胞菌属 (*g_Sphingomonas*); b: ASV102 未分类属 (*g_norank*); c: ASV255 未分类属 (*g_norank*); d: ASV533 未分类属 (*g_norank*); e: ASV351 未分类属 (*g_norank*); f: ASV383 农霉菌属 (*g_Agromyces*); g: ASV767 未分类属 (*g_norank*); h: ASV251 盖亚女神菌属 (*g_Gaiella*); i: ASV580 未分类属 (*g_norank*); j: ASV4 鞘氨醇单胞菌属 (*g_Sphingomonas*)。ASV: 扩增子序列变异体。

图6 西瓜根系生物量的主要预测因子重要性

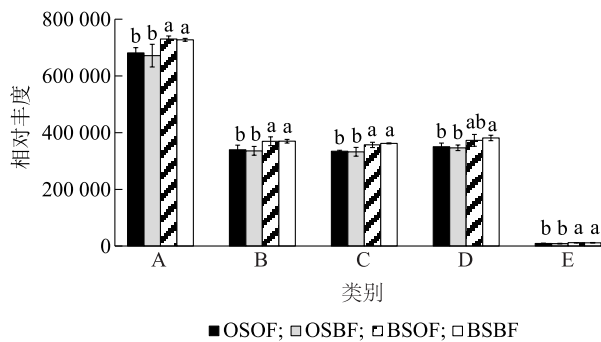
Fig.6 Importance of major predictors of watermelon root biomass

生物有机肥的效果不明显。然而在生物有机肥与生

物育苗基质联用处理 (BSBF 处理) 下,与单独使用生物育苗基质处理 (BSOF 处理) 相比,BSBF 处理的植株生物量进一步增加,根际细菌群落的多样性指数也发生改变。上述现象表明,预接种的 PGPR 可能有效促进了后续通过生物有机肥引入的相同 PGPR 的定殖与功能的发挥,这可能是 BSBF 处理中生物有机肥增效的原因。上述结果表明,首次施用双物种 PGPR 菌剂时,采用具有预接种特性的生物育苗基质的策略较好。首次施用含有双物种 PGPR 菌剂的生物有机肥时,结合生物育苗基质策略可能增强其效果,但是这种联合利用方式会增加农业生产的经济成本。关于不同应用方式的具体作用机制及其综合效益评估,有待后续在田间试验中进一步验证和阐明。

3.2 生物育苗基质促进西瓜生长的微生物机制

生物育苗基质的应用改变了西瓜根际细菌群落



A: 双组分系统(信号转导、环境信号处理); B: 吡啉与叶绿素代谢(辅因子与维生素代谢); C: 细菌分泌系统(膜转运、环境信号处理); D: 甲烷代谢(能量代谢); E: 磷酸盐和次磷酸盐代谢(其他氨基酸代谢)。OSOF: 将普通育苗基质(OS)幼苗移栽至添加普通有机肥(OF)改良土壤中; OSBF: 将 OS 幼苗移栽至添加生物有机肥(BF)改良土壤中; BSOF: 将生物育苗基质(BS)幼苗移栽至 OF 改良土壤中; BSBF: 将 BS 幼苗移栽至 BF 改良土壤中。不同处理间标有不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图7 生物育苗基质处理中增强的细菌功能预测

Fig.7 Prediction of enhanced bacterial functions in the bio-nursery substrate treatments

的组成,可能是其促进西瓜生长的主要因素之一。尽管生物育苗基质处理导致细菌群落多样性降低,但是根际中的变形菌门、伯克霍尔德菌目的相对丰度明显增加,表明双物种 PGPR 的预接种增强了对特定类群微生物的招募作用,这些类群的微生物很可能是具有植物益生功能的土著微生物。例如,在变形菌门中,已有研究证实,多个类群成员可以通过改善养分吸收、合成生长素(IAA)和铁载体等途径促进植物生长^[36]。伯克霍尔德菌目的大量成员也具有多种有益功能,包括促进植物生长、作为新型抗生素的来源,对不同作物病原菌具有生物防治潜力^[37-38]。在 ASV 水平上,施用生物育苗基质会导致西瓜根际中属于根瘤菌科、鞘氨醇单胞菌科、Roseiflexaceae、Methylophilaceae 和 Nocardioideaceae 等科的多个微生物类群富集,这些微生物类群对植物健康具有不同促进作用。例如,根瘤菌科的许多成员是众所周知的与根系共生的固氮细菌^[39];鞘氨醇单胞菌科中的鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)能够增强植物的光合作用,具有作为生物肥料的潜力^[40]。本研究也发现,鞘氨醇单胞菌在生物育苗基质处理中被显著富集并被鉴定为关键类群,是西瓜促生效应的主要预测因子。有研究发现,Roseiflexaceae 和 Nocardioideaceae 类群可能通过增强土壤中磷的代谢

来促进植物生长^[41-42]。Methylophilaceae 类群可被小麦和燕麦选择性富集,并在甲醇存在时有效降低土壤中过高的硝酸盐浓度^[43]。

经生物育苗基质处理后,根际细菌群落显著富集了具有重要代谢功能的菌群,如辅因子与维生素代谢、氨基酸代谢及能量代谢相关类群。一般情况下,辅因子与维生素代谢对植物抵御逆境胁迫具有关键作用,而能量代谢过程则有助于细胞抵抗氧化应激^[44]。此外,显著上调的功能还涉及环境信息处理,如信号转导中的双组分系统。已有研究发现,双组分系统能够识别环境信号并激活细胞信号通路,从而快速精准地响应环境变化^[45]。上述结果表明,经生物育苗基质处理的根际细菌群落可能通过增强环境信号感知与响应能力来提升其环境适应力。

综上所述,首次应用双物种 PGPR 接种剂时,采用 PGPR 预先接种的生物育苗基质策略对于改变根际细菌群落结构、招募有益微生物类群和促进西瓜生长等更有效,若将该策略与生物有机肥联用,可使效果进一步放大。

参考文献:

- [1] SHAH F, WU W. Soil and crop management strategies to ensure higher crop productivity within sustainable environments[J]. Sustainability, 2019, 11(5): 1485.
- [2] ZHANG H Q, ZHENG X Q, WANG X T, et al. Effect of fertilization regimes on continuous cropping growth constraints in watermelon is associated with abundance of key ecological clusters in the rhizosphere[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2022, 339: 108135.
- [3] AL-TAMMAR F K, KHALIFA A Z. Plant growth promoting bacteria drive food security[J]. Brazilian Journal of Biology, 2022, 82: e267257.
- [4] DLAMINI S P, AKANMU A O, BABALOLA O O. Rhizospheric microorganisms: the gateway to a sustainable plant health[J]. Frontiers in Sustainable Food Systems, 2022, 6: 925802.
- [5] BERENDSEN R L, PIETERSE C M J, BAKKER P A H M. The rhizosphere microbiome and plant health[J]. Trends in Plant Science, 2012, 17(8): 478-486.
- [6] PHILIPPOT L, RAAIJMAKERS J M, LEMANCEAU P, et al. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere[J]. Nature Reviews Microbiology, 2013, 11(11): 789-799.
- [7] BAI B, LIU W D, QIU X Y, et al. The root microbiome: community assembly and its contributions to plant fitness[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2022, 64(2): 230-243.
- [8] PANTIGOSO H A, NEWBERGER D, VIVANCO J M. The rhizosphere microbiome: plant-microbial interactions for resource acqui-

- sition[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 133(5):2864-2876.
- [9] NOMAN M, AHMED T, IJAZ U, et al. Plant-microbiome crosstalk: dawnning from composition and assembly of microbial community to improvement of disease resilience in plants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(13):6852.
- [10] SUN X L, XU Z H, XIE J Y, et al. *Bacillus velezensis* stimulates resident rhizosphere *Pseudomonas stutzeri* for plant health through metabolic interactions[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16:774-787.
- [11] ZHAO J, LIU J, LIANG H, et al. Manipulation of the rhizosphere microbial community through application of a new bio-organic fertilizer improves watermelon quality and health[J]. *PLoS One*, 2018, 13(2):e0192967.
- [12] ZHANG Y, GAO X, SHEN Z Z, et al. Pre-colonization of PGPR triggers rhizosphere microbiota succession associated with crop yield enhancement[J]. *Plant and Soil*, 2019, 439(1):553-567.
- [13] FU L, PENTON C R, RUAN Y Z, et al. Inducing the rhizosphere microbiome by biofertilizer application to suppress banana *Fusarium* wilt disease[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 104:39-48.
- [14] XIONG W, GUO S, JOUSSET A, et al. Bio-fertilizer application induces soil suppressiveness against *Fusarium* wilt disease by reshaping the soil microbiome[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 114:238-247.
- [15] TAO C Y, LI R, XIONG W, et al. Bio-organic fertilizers stimulate indigenous soil *Pseudomonas* populations to enhance plant disease suppression[J]. *Microbiome*, 2020, 8(1):137.
- [16] LI Q S, LI Q, YIN X D, et al. Construction of *Bacillus-Pseudomonas* synthetic communities and development of bio-nursery substrates[J]. *Agronomy*, 2024, 14(9):2179.
- [17] 李青, 谢昶琰, 张苗, 等. 防控甜瓜枯萎病病菌的生防菌筛选及其根际定殖[J]. *江苏农业学报*, 2023, 39(2):336-343.
- [18] ZHAO M L, YUAN J, SHEN Z Z, et al. Predominance of soil vs root effect in rhizosphere microbiota reassembly[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2019, 95(10):139.
- [19] CALLAHAN B J, MCMURDIE P J, ROSEN M J, et al. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data[J]. *Nature Methods*, 2016, 13(7):581-583.
- [20] BOKULICH N A, KAEHLER B D, RIDEOUT J R, et al. Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1):90.
- [21] QUAIST C, PRUESSE E, YILMAZ P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41:D590-D596.
- [22] MCMURDIE P J, HOLMES S. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4):e61217.
- [23] BARTER R L, YU B. Superheat: an R package for creating beautiful and extendable heatmaps for visualizing complex data[J]. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 2018, 27(4):910-922.
- [24] LIU C, CUI Y M, LI X Z, et al. Microeco: an R package for data mining in microbial community ecology[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2021, 97(2):fiae255.
- [25] DOUGLAS G M, MAFFEI V J, ZANEVELD J R, et al. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions[J]. *Nature Biotechnology*, 2020, 38(6):685-688.
- [26] GREGORY CAPORASO J, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature Methods*, 2010, 7(5):335-336.
- [27] WERNER G D A, TOBY KIERS E. Order of arrival structures arbuscular mycorrhizal colonization of plants[J]. *The New Phytologist*, 2015, 205(4):1515-1524.
- [28] 沈婷婷, 张琇, 杨国平, 等. 生防菌剂对西瓜根际土壤微生物群落和尖孢镰刀菌属的影响[J]. *西北农林科技大学学报*, 2023, 51(7):115-125.
- [29] 刘红江, 郭智, 张岳芳, 等. 不同类型有机肥对水稻产量和稻米品质的影响[J]. *江苏农业学报*, 2024, 40(4):645-651.
- [30] 刘亚军, 胡启国, 王文静, 等. 生物有机肥以及钙镁硅型土壤调理剂对甘薯连作田土壤团聚体稳定性及有机碳含量的影响[J]. *江苏农业学报*, 2025, 41(1):51-60.
- [31] 李禹, 段斌, 杨代云, 等. 有机肥配施微生物菌剂对土壤理化特性及烤烟产质量的影响[J]. *江苏农业科学*, 2025, 53(2):81-87.
- [32] 付锦涛, 张香竹, 郑煜, 等. 化肥减量配施有机肥和灌水量对马铃薯生长、产量及水肥利用效率的影响[J]. *江苏农业科学*, 2024, 52(17):73-79.
- [33] SHEN Z Z, WANG D S, RUAN Y Z, et al. Deep 16S rRNA pyrosequencing reveals a bacterial community associated with banana *Fusarium* Wilt disease suppression induced by bio-organic fertilizer application[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e98420.
- [34] SHEN Z Z, WANG B B, ZHU J X, et al. Lime and ammonium carbonate fumigation coupled with bio-organic fertilizer application steered banana rhizosphere to assemble a unique microbiome against *Panama* disease[J]. *Microbial Biotechnology*, 2019, 12(3):515-527.
- [35] YE L, ZHAO X, BAO E C, et al. Bio-organic fertilizer with reduced rates of chemical fertilization improves soil fertility and enhances tomato yield and quality[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1):177.
- [36] YOUSEIF S H. Genetic diversity of plant growth promoting rhizobacteria and their effects on the growth of maize plants under greenhouse conditions[J]. *Annals of Agricultural Sciences*, 2018, 63(1):25-35.
- [37] ELSHAFIE H S, CAMELE I. An overview of metabolic activity, beneficial and pathogenic aspects of *Burkholderia* spp[J]. *Metabolites*, 2021, 11(5):321.
- [38] PAL G, SAXENA S, KUMAR K, et al. Endophytic *Burkholderia*: multifunctional roles in plant growth promotion and stress tolerance

- [J]. *Microbiological Research*, 2022, 265: 127201.
- [39] MA T F, XUE H, PIAO C G, et al. Phylogenomic reappraisal of the family *Rhizobiaceae* at the genus and species levels, including the description of *Ectorhizobium quercum* gen. nov., sp. nov [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1207256.
- [40] WANG F, WEI Y L, YAN T Z, et al. *Sphingomonas* sp. Hbc-6 alters physiological metabolism and recruits beneficial rhizosphere bacteria to improve plant growth and drought tolerance [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 1002772.
- [41] WANG J L, LIU K L, ZHAO X Q, et al. Microbial keystone taxa drive crop productivity through shifting aboveground-belowground mineral element flows [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 811: 152342.
- [42] WANG S J, DUAN S L, GEORGE T S, et al. Adding plant metabolites improve plant phosphorus uptake by altering the rhizosphere bacterial community structure [J]. *Plant and Soil*, 2024, 497(1): 503-522.
- [43] TURNER T R, RAMAKRISHNAN K, WALSHAW J, et al. Comparative metatranscriptomics reveals Kingdom level changes in the rhizosphere microbiome of plants [J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(12): 2248-2258.
- [44] LI H Y, LOU J, CHEN X L, et al. Effects of sweet pepper straw biochar on soil microbial communities and growth of continuously cropped cucumber [J]. *Annals of Microbiology*, 2024, 74(1): 12.
- [45] TANAKA T. Recent progress in *Bacillus subtilis* two-component regulation [J]. *Frontiers in Bioscience*, 2002, 7(4): d1815-d1824.

(责任编辑:徐 艳)