

# 生物炭-蚯蚓原位对设施番茄根际微生物和果实代谢的影响

刘辰熙<sup>1</sup>, 王继涛<sup>2</sup>, 尹翠<sup>3</sup>, 徐广亚<sup>3</sup>, 朱红艳<sup>3</sup>, 曹云娥<sup>1</sup>

(1. 宁夏大学葡萄酒及园艺学院, 宁夏 银川 750021; 2. 宁夏回族自治区园艺技术推广站, 宁夏 银川 750004;  
3. 宁夏共享人力集团有限公司, 宁夏 银川 750021)

**摘要:**为改善设施番茄过量施用化肥、品质和产量下降等问题,采用不同土壤改良措施,以‘粉宴1号’番茄为试验材料,设置空白对照(CK)、生物炭(B)、蚯蚓原位(V)、生物炭+蚯蚓原位(BV)4个处理,研究番茄生长发育过程中根区土壤理化性质和土壤根际微生物的变化以及番茄盛果期果实产量和品质的差异,解析不同处理果实代谢物组成的差异。结果表明:BV处理显著提高了土壤速效氮、速效磷和速效钾含量,与CK相比分别提高174.00%、7.44%和45.00%;BV处理显著提高了蔗糖酶活性比CK提高62.02%,V处理显著提高脲酶活性,较CK提高39.72%。BV处理显著提高了土壤细菌Simpson指数,V处理显著提高了土壤真菌Ace、Chao1指数;B处理明显改变了土壤细菌相对丰富占比,其中变形菌门增加最多(45.48%),酸杆菌门和芽单孢菌门降低幅度最大,分别为14.90%和25.70%;对于土壤真菌,B处理中子囊菌门相对丰度最高,提升了15.90%,V处理油壶菌门提升最高,为7.24%,罗兹菌门提升次之,为3.11%。同时,各处理可以显著提高果实产量和品质,BV处理的番茄产量最高、品质最好,表现为其生物量、果实产量、可溶性固形物含量、Vc含量、有机酸含量最高;V处理的番茄果实差异代谢物种类最多,与对照相比差异最大,所得的差异物代谢通路最多。

**关键字:**设施番茄;生物炭;蚯蚓原位;土壤微生物;差异代谢物

**中图分类号:** S641.2; S156 **文献标志码:** A

## Effects of biochar-earthworm in situ on rhizosphere microorganisms and fruit metabolism of facility tomatoes

LIU Chenxi<sup>1</sup>, WANG Jitao<sup>2</sup>, YIN Cui<sup>3</sup>, XU Guangya<sup>3</sup>, ZHU Hongyan<sup>3</sup>, CAO Yun'e<sup>1</sup>

(1. College of Wine and Horticulture, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China;

2. Horticultural Technology Extension Station of Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan, Ningxia 750004, China;

3. Ningxia Shared Human Resources Group Co., Ltd., Yinchuan, Ningxia 750021, China)

**Abstract:** To resolve the problems with excessive application of chemical fertilizers, resulting in poor quality and yield of facility tomatoes, different soil improvement measures were adopted. The experiment used ‘Fenyan No. 1’ tomato as the test material, and included blank control (CK), biochar (B), earthworm in situ (V) and biochar + earthworm in situ (BV) to study the changes in the physical and chemical properties of the root zone soil and soil rhizosphere microorganisms during the growth and development of tomatoes as well as the differences in fruit yield and quality during the fruiting period of tomatoes. The differences in metabolite composition of fruits under different treatments were analyzed. The results showed that BV treatment significantly increased soil available nitrogen, available phosphorus, and available potassium contents when compared with CK by 174%, 7.44%, and 45% respectively. BV treatment significantly increased sucrase activity by 62.02% and V treatment significantly increased urease by 39.72% compared with CK. BV treatment significantly increased the Simpson index of soil bacteria, and V treatment significantly increased the Ace and Chao1 index of soil fungi. B treatment significantly

收稿日期:2023-07-30

修回日期:2023-11-27

**基金项目:**国家自然科学基金项目(32260798);宁夏回族自治区“青年拔尖人才培养工程”项目(202101);宁夏回族自治区重点研发计划项目(2021BBF02025)

**作者简介:**刘辰熙(2000-),男,河南沁阳人,硕士研究生,研究方向为设施园艺学。E-mail:1537927553@qq.com

**通信作者:**曹云娥(1977-),女,宁夏平凉人,教授,主要从事设施蔬菜营养与生理及土壤微生态调控研究。E-mail:caohua3321@163.com

changed the relative abundance of soil bacteria, with Proteobacteria increasing the most, reaching 45.48%, Acidobacteria and The Bacillus Monospora phylum decreased the most by 14.90% and 25.70% respectively. For soil fungi, the relative abundance of Ascomycota in treatment B was the highest, increasing by 15.90%, and the V treatment had the highest relative abundance of Oychytrids with 7.24% and Rhododendron increased second, reaching 3.11%. At the same time, each treatment significantly improved fruit yield and quality. BV treatment had the best tomato yield and quality effects, as shown by its highest biomass, fruit yield, soluble solids, Vc, and organic acid content. Based on the analysis of the fruit differential metabolites, the tomato fruits obtained in the V treatment had the largest variety of differential metabolites, the greatest difference, and the largest number of differential metabolic pathways compared with the control group.

**Keywords:** facility tomato; biochar; in situ earthworms; soil microorganisms; differential metabolites

近年来,我国设施栽培已超过  $4.0 \times 10^6$  hm<sup>2</sup>,成为设施栽培世界大国<sup>[1]</sup>,然而设施蔬菜长期种植会引起土壤质量变化,其主要原因包括以下两个方面:一是由于设施菜地内封闭性、可控性、缺少雨水淋洗、复种指数高等因素,其土壤环境与露地土壤环境显著不同;二是设施蔬菜栽培过程中化学品的大量施用和土地利用强度增加导致的土壤质量问题,包括大量的化肥施用导致的土壤酸化、次生盐渍化及营养元素失衡,畜禽粪便、农膜、农药等农业投入品施用导致的污染物(重金属、抗生素、有机氯农药、邻苯二甲酸酯等)增加<sup>[2]</sup>。针对上述问题,土壤微生物在土壤生态系统的维护和可持续性中都发挥着至关重要的作用,其多样性又代表着土壤微生物群落的稳定性,也能反映土壤胁迫对微生物的影响<sup>[3]</sup>。同样的,地下微生物与地上作物之间具有协同作用,增加地下土壤细菌和真菌的数量能够促进土壤养分的转化,进而提升地上作物的生物量。施用有机肥是影响土壤质量和可持续发展的重要措施之一,采用不同的有机肥进行施肥,土壤养分含量提高,有机质含量和组成会有较大变化,土壤微生物多样性也有很大差异<sup>[4]</sup>。

生物炭和蚯蚓粪均为性能优异的有机肥,常用于改善土壤环境,进而提高作物品质和产量<sup>[5]</sup>。生物炭一般是生物残体在无氧或者缺氧的条件下通过高温慢热解制备,其可以改善土壤的通透性和吸附氮磷养分,以保持土壤氮磷含量、提高养分利用率<sup>[6]</sup>。同时生物炭可以提升土壤中全氮含量,对于土壤中微生物群落也有很好的调控作用。有研究表明,生物炭可以调控酚酸胁迫下的番茄根际环境,从而提高番茄果实产量与品质<sup>[7]</sup>。蚯蚓原位产生的蚯蚓粪是一种良好的腐熟有机肥料,具有很好的孔性、通气性、排水性,可以缓解土壤板结,蚯蚓粪还富含氮、磷、钾元素,可以有效减少土壤养分流失,增加土壤肥力,保持土壤碳平衡等<sup>[8]</sup>。蚯蚓粪

还为许多有益微生物提供生存环境,提升土壤微生物多样性和丰富性<sup>[9]</sup>。

番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.)因其口感适宜、产量足、营养价值高、抗逆性强成为我国设施蔬菜种植中最广泛的作物之一。因番茄有较高的经济效益,种植者连续多茬单一种植番茄导致的土壤障碍是影响设施番茄生产的重点难题之一,番茄品质下降,产量变低,还影响土壤理化性质与土壤养分降低,根际微生物群落失衡和土传病害增加均是土壤连作障碍的体现<sup>[10]</sup>。因此,本研究利用土壤改良措施,探究生物炭、蚯蚓原位对番茄生长发育的影响,以及生物炭和蚯蚓原位之间的互作关系,探索生物炭和蚯蚓原位共同处理相比单一处理是否具有正向的互作关系,同时通过对番茄根际土壤微生物群落的影响,了解各处理改善土壤微生物的性能,对番茄果实进行差异代谢物分析,探究各处理是否能够通过调控代谢物的产生来提高果实品质,寻求更加适合的设施番茄种植方式。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验场地

试验地位于宁夏贺兰县园艺产业园(106.3°E, 38.6°N),该园区属于国家级农业示范园区,园区内年降雨量180~200 mm,其80%的降雨量集中在6—8月,年平均气温9.7℃,无霜期160~170 d,属中温带干旱气候区,具有典型的大陆性气候特点。温室为二代日光温室,长80 m,跨度8 m,后墙厚度1 m、高度4.7 m,室内配有自动化灌溉设备,可满足水肥一体化的灌溉要求。

### 1.2 试验材料

供试番茄品种为‘粉宴1号’,生物炭(主要成分为椰壳,有效碳成分为95%)购买于河南泰源环保科技有限公司;供试蚯蚓为‘赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)’,购买于宁夏万辉生物科技有限公司,

蚯蚓粪由试验开始前投放的蚯蚓堆肥消解半腐熟的牛粪产生。供试材料理化性质如表 1 所示。

表 1 供试材料理化性质

Table 1 Physicochemical properties of tested materials

材料 Material	氮 N/%	磷 P/%	钾 K/%	有机碳 C/%	pH	EC /(mS·cm <sup>-1</sup> )
蚯蚓粪 Vermicompost	0.83	2.11	1.23	14	8.21	3.67
生物炭 Biochar	0.32	0.56	0.76	95	11.02	2.45

### 1.3 试验设计

2021 年 7 月 9 日定植,12 月中旬拉秧。通过梯度试验,本课题组前期对生物炭施用量进行优选,最优实施方案为 3 t·hm<sup>-2</sup>,根据等炭原则,蚯蚓原位需添加牛粪 60 t·hm<sup>-2</sup>。因此本试验共设 4 个土壤处理:(1)土壤中不施任何肥料,作为空白对照(CK);(2)定植前土壤增施生物炭(B),施用量为 3 t·hm<sup>-2</sup> [11];(3)定植前土壤蚯蚓原位产生蚯蚓粪(V),种植前养殖垄施用牛粪 60 t·hm<sup>-2</sup>; (4)定植前土壤增施生物炭+蚯蚓原位产生蚯蚓粪(BV),种植前养殖垄施牛粪 30 t·hm<sup>-2</sup>、生物炭 1.5 t·hm<sup>-2</sup>。每个处理 3 次重复,每个小区长 7 m,宽 3.9 m。每垄定植 2 行,株距为 30 cm,各处理随机排列。生长过程中正常进行浇水施肥,且各处理一致。

设施蚯蚓种养结合是本课题组经长期研究提出的一种新型且有效的栽培模式,两条垄规格均为 0.4 m×7.0 m(宽×长)。一垄作为养殖垄,用腐熟 1 个月后的牛粪作为蚯蚓培育垄,每垄蚯蚓投放量为 1 670 kg·hm<sup>-2</sup>,垄上布置 2 条滴灌管,滴头间距 0.3 m,每日滴水,使养殖垄的湿度达到 55%;另一垄作为栽培垄,将蚯蚓消解牲畜粪便及蔬菜秸秆产生的蚯蚓粪作为番茄栽培基质,每茬番茄收获后,种植垄与养殖垄互换,蚯蚓随滴灌带水源切换移动到另一垄,蚯蚓不再继续投放。

### 1.4 样品采集

番茄定植缓苗两周后每 7 d 测定一次株高、茎粗、叶面积和叶绿素(SPAD)(共测 3 次,记为 t1、t2、t3)。根据 Zhang 等 [12] 采用的抖落法收集根际土壤样品,本研究于番茄盛果期(定植两个月后)Z 字型采样采集不同处理番茄样品其根际土壤,过 2 mm 筛子,置于 15 ml 无菌离心管中用干冰保存,每个处理 3 次重复,用于土壤微生物的测定;另取根际土壤将其物理晾干后过筛,用于测定土壤的理化指标;同时各选取 5 株植株样品小心挖取出根部,清洗根部,用剪刀分剪植株地上部与地下部,测定植株地

上下部干鲜重,同时各处理并选取 9 个番茄果实,用于后续品质及组学的测定。

### 1.5 测量指标

1.5.1 土壤理化性质和酶活性测定 有机质含量采用重铬酸钾-硫酸氧化法测定;全氮含量采用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>消化-半微量凯氏定氮法测定;全磷含量采用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>消化-钼锑抗比色法测定;速效氮含量采用凯氏定氮法测定;速效磷含量采用钼锑抗比色法测定;速效钾含量采用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>消化-火焰光度法测定。土壤过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法测定;土壤碱性磷酸酶采用磷酸苯二钠比色法;蔗糖酶活性采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定;土壤脲酶活性采用苯酚钠比色法测定 [13]。

1.5.2 微生物高通量测序 根据 QIAamp DNA MiniKit(QIAGEN.V,德国)说明书对土壤微生物群落总 DNA 进行提取,DNA 浓度和纯度利用 Nano Drop 2000 进行检测,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量;用引物 338F(5'-ACTCCTACGGAG-GCAGCAG-3')和 806R(5'-GGACTACHVGGGT-WTCTAAT-3')扩增细菌 16S rRNA V3-V4 区段。采用 Illumina Miseq PE300 测序平台对 PCR 扩增产物进行测序。

使用美吉生物云平台对测序数据进行质控,使用 FLASH1.2.7 软件进行拼接。使用 UPARSE 软件,质控后的序列进行 OTU 聚类并剔除嵌合体,OTU 相似度设置为 97%。利用 RDP classifier 对每条序列进行物种分类注释,比对 Silva 数据库,设置比对阈值为 70% [14]。

1.5.3 植株形态指标和果实品质测定 株高用钢卷尺测定;茎粗使用数显游标卡尺进行测量;叶面积使用钢尺测定;叶绿素采用叶绿素仪器测定。番茄果实的可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定;可滴定酸含量采用 NaOH 滴定法测定;维生素 C 含量采用钼蓝比色法测定;采用手持糖度计测定番茄可溶性固形物含量,硝酸盐含量采用水杨酸比色法 [15]。

1.5.4 番茄果实代谢物组学测定 在番茄成熟期时,每个处理选取大小一致的 9 个果实,每 3 个番茄果实的果肉混合作为 1 个生物学重复,每个处理重复上述操作设置 3 个生物学重复。样品保存于 50 mL 离心管中,先用液氮速冻,再妥善贮存于 -80℃ 超低温冰箱中。相关代谢组学检测在河北美吉尔生物科技有限公司实施。

### 1.6 数据处理

利用 Excel 和 SPSS 软件进行数据分析,采用单因素 ANOVA 和 Duncan 法进行方差分析和多重比

较,在  $P < 0.05$  水平进行显著性分析,利用 Origin 2018 软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理土壤理化性质和土壤酶活性的变化

番茄盛果期土壤理化性质如表 2 所示,各处理 pH 均为中性,与对照相比,B 处理显著提高了 pH 值,V 处理显著降低了 pH 值。与土壤 pH 相比,4 个处理间的土壤 EC 值都有显著提高,提升效果分别为  $BV > B > V$ ,分别提升 92.59%、41.97%、29.63%。与对照相比,各处理土壤中的速效氮、速效磷、速效钾浓度显著提高,且 BV 处理的速效氮、速效钾浓度最高,分别为  $9.71 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  和  $406.58 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,与

CK 相比分别提高了 174% 和 45%,V 处理的速效磷浓度最高,为  $363.34 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,与 CK 相比提高了 10.45%。表明各处理能提高速效氮、速效钾浓度,且 BV 处理提升效果最明显。

盛果期各处理根系土壤酶活性如表 3 所示,施用生物炭和蚯蚓原位处理与 CK 相比,土壤脲酶活性均得到提升,BV 处理和 CK 相比无显著提升,B、V 处理显著高于 CK,与对照相比分别提升 13.35%、39.72%。BV、V 处理土壤过氧化氢酶活性和 CK 相比有显著差异,B 处理无显著差异。各处理间的蔗糖酶活性和 CK 相比分别显著提升 7.82%、62.02%、5.35%,提升最大的是 B 施用生物炭处理。各处理间的土壤碱性磷酸酶的活性无显著变化。

表 2 土壤理化性质的变化

Table 2 Changes of soil physical and chemical properties

处理 Treatment	pH	EC /( $\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	速效氮/( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) Available nitrogen	速效磷/( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) Available phosphorus	速效钾/( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) Available potassium
CK	7.39±0.01b	0.81±0.03d	3.55±0.41c	326.23±19.91bc	280.26±6.96c
B	7.47±0.01a	1.15±0.01b	8.03±0.92ab	321.52±7.12c	351.32±3.48b
BV	7.44±0.01ab	1.56±0.04a	9.71±1.22a	350.51±2.63ab	406.58±9.49a
V	7.27±0.03c	1.05±0.02c	5.41±0.65bc	363.34±6.46a	356.58±4.56b

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference between treatments ( $P < 0.05$ ). The same below.

表 3 盛果期土壤酶活性

Table 3 Soil enzyme activities at full fruit stage

处理 Treatment	脲酶 Urease /( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )	过氧化氢酶 Catalase /( $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 20\text{min}^{-1}$ )	蔗糖酶 Sucrase /( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase /( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )
CK	59.25±0.74c	2.95±0.02b	23.54±0.06d	2.39±0.02a
B	67.16±2.12b	2.94±0.02b	25.38±0.05b	2.59±0.09a
BV	62.35±0.66c	2.98±0.01a	38.14±0.22a	2.38±0.08a
V	82.79±0.83a	2.99±0.01a	24.80±0.18c	2.34±0.10a

### 2.2 不同处理对番茄土壤根际微生物群落的影响

2.2.1 土壤 DNA 测序分析 对 16S rRNA 基因的 V3-V4 区进行了测序。在去除低质量、条形码和引物序列后,从 12 个样本中获得 657 351 个有效序列,平均长度为 416 bp。依据物种 Venn 图分析各处理根际土壤样品,测得总 OTU 数目为 6 274 个(图 1a,见 188 页),其中共有的 OTU 数为 2 989 个,占总数的 47.64%。B 处理独有的 OTU 数目最多,为 265 个,约占 4.22%;CK 处理独有 OTU 数目最少,为 138 个,约占 2.20%;处理 BV 和 V 特有的 OTU 数分别为 179 个和 216 个,分别约占总数目的 2.85% 和 3.44%。

对 ITSrRNA 基因的 ITS1 区进行了测序。在去

除低质量、条形码和引物序列后,从 12 个样本中获得 1 278 843 个有效序列,平均长度为 249 bp。依据物种 Venn 图分析各处理根际土壤样品,测得的总 OTU 数目为 1 524 个(图 1b,见 188 页),其中共有的 OTU 数为 272 个,约占总数的 17.85%。CK 处理独有的 OTU 数目最多,为 244 个,约占 16.01%;BV 处理独有 OTU 数目最少,为 148 个,约占 9.71%;处理 B 和 V 特有的 OTU 数分别为 150 个和 228 个,分别约占总数目的 9.84% 和 14.96%。

2.2.2 土壤微生物群落 Alpha 多样性分析 不同处理根际土壤细菌多样性指数如表 4 所示,经过 Alpha 多样性分析后,发现各处理细菌的多样性高于真菌的多样性,不同处理间细菌多样性指数除 Simpson 外无显著差异,BV 处理 Simpson 指数相比 CK 显著提高了 50%。真菌多样性指数中,Shannon 指数无显著差异,B 处理显著提高了 Simpson 指数,提高了 218%,B、BV 处理 Ace、Chao1 指数有所降低,但并未达到显著水平,V 处理显著提高了 Ace、Chao1 指数,分别提高 9%、6.8%。细菌各样本覆盖率的平均值都在 98% 左右,真菌各样本覆盖率的平均值都为 99.9% 左右,说明番茄根际土壤样本微生物文库覆盖度高。

表 4 不同处理根际土壤微生物的 Alpha 多样性分析

Table 4 Alpha diversity analysis of rhizosphere soil microorganisms in different treatments

处理 Treatment	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	Ace 指数 Ace index	Chao1 指数 Chao1 index	覆盖率/% Coverage	
细菌 Bacteria	CK	6.80±0.10a	0.0020±0.0004b	4141.36±185.09a	4143.13±205.58a	97.95±0.11a
	B	6.83±0.12a	0.0029±0.0004ab	4075.90±159.78a	4099.41±121.97a	98.07±0.25a
	BV	6.92±0.21a	0.0030±0.0003a	4057.22±227.48a	4068.67±66.98a	98.38±0.37a
	V	6.80±0.09a	0.0028±0.0003ab	4195.82±206.51a	4166.55±121.64a	98.47±0.27a
真菌 Fungus	CK	4.16±0.10a	0.0300±0.0028c	447.85±33.52ab	455.93±44.99ab	99.97±0.01a
	B	3.32±0.57a	0.0956±0.0152a	384.55±45.16b	389.17±32.90b	99.97±0.01a
	BV	3.66±0.61a	0.0763±0.0269ab	408.83±21.51b	416.10±13.79ab	99.97±0.01a
	V	3.92±0.35a	0.0501±0.0242bc	488.28±29.39a	487.09±60.72a	99.97±0.02a

2.2.3 土壤微生物群落 Beta 多样性分析 通过数据库对比对不同处理的土壤细菌进行分类水平注释,一共得到了 41 门、148 纲、369 目、585 科、1 069 属和 2 183 种。构建门水平分类细菌的群落结构如图 2(见 188 页)所示,在不同处理中占主要优势的菌门有变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteriota)和厚壁菌门(Firmicutes),其它相对丰度大于 1%的主要菌门有芽单孢菌门(Gemmatimonadota)、拟杆菌门(Bacteroidota)、粘菌门(Myxococcota)和骸骨细菌门(Patescibacteria)等。结果表明,不同处理并没有改变细菌门水平上的主要组成,但改变了变形菌门、放线菌门、绿弯菌门、芽单孢菌门等的相对丰度,与 CK 比较,各处理变形菌门、厚壁菌门相对丰度都有所增加,B 处理的变形菌门相对丰度值增加最多,达 45.48%,BV 处理的厚壁菌门相对丰度增加最多,为 67.25%;V、BV 处理放线菌门和绿弯菌门丰度值无显著变化,B 处理放线菌门和绿弯菌门丰度值降低;各处理酸杆菌门和芽单孢菌门丰度值降低,B 处理酸杆菌门和芽单孢菌门丰度值降低最大,分别为 14.90%和 25.70%。

通过数据库对比对不同处理的土壤细菌进行分类水平注释,一共得到了 11 门、37 纲、81 目、164 科、327 属和 546 种。构建门水平分类真菌的群落结构如图 3(见 188 页)所示,共观察到 10 个菌门,各处理优势真菌门为子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、被孢菌门(Mortierellomycota)、未知菌门(unclassified-k-fungi)、油壶菌门(Olpidiomycota)、罗兹菌门(Rozellomycota)。处理 B 中子囊菌门相对丰度最高,为 87.49%,较 CK 提升了 15.90%。同时 B 处理未知菌门和罗兹菌门占比增加,担子菌门、被孢菌门、油壶菌门占比减少;BV 处理子囊菌门和罗兹菌门占比增加,担子菌门、被孢菌门、未知菌门、油壶菌门占比减少;V 处理油壶菌门、罗兹菌门丰度占比提升最多,分别为 7.24%、

3.11%,显著高于其他处理,而 V 处理担子菌门、被孢菌门、未知菌门、油壶菌门占比减少。

2.2.4 土壤微生物群落物种组成分析 不同处理条件下土壤细菌门水平主坐标分析(PCoA)如图 4a 所示,第 1 主坐标轴(PC1)与第 2 主坐标轴(PC2)分别可以解释所有变量的 54.12%和 23.32%,两个主成分方差贡献率累计达到 77.44%,说明其可以代表土壤细菌门水平群落组成的特征。处理 B 与其他样本在 PC2 轴上明显分开,说明处理 B 与其他处理存在显著差异。

不同处理条件下土壤真菌门水平主坐标分析(PCoA)如图 4b 所示,第 1 主坐标轴(PC1)与第 2 主坐标轴(PC2)分别可以解释所有变量的 46.64%和 22.01%,两个主成分方差贡献率累计达到 68.65%,说明其可以代表土壤真菌门水平群落组成的特征。从图 4 可以发现,除 B 处理外,其余各处理相聚在一起,说明 B 处理与其他处理有明显差异。通过对比细菌与真菌的 PCoA 发现,处理 B 比其他处理更显著,且处理效果细菌要比真菌好。

2.2.5 土壤细菌 PICRUSt 功能预测 利用 PICRUSt 软件对 4 个处理根际土壤进行菌群功能预测,比较各处理代谢功能通路的差异。KEGG pathway 丰度统计分析如表 5 所示,B 处理显著提高了人类疾病和未知通路细菌的相对丰度,BV、V 处理相比 B 处理显著提高了代谢通路的相对丰度。对不同处理土壤细菌基因二级功能层进行预测分析如图 5 所示,各处理土壤微生物群落均有 46 个子功能,其中全局概览通路(40.14%~40.53%)、碳水化合物代谢(8.94%~9.12%)、辅助因子和维生素代谢(8.04%~8.14%)为主要子功能。具体而言,V 处理的全局概览通路、碳水化合物代谢、能量代谢、膜运输、氨基酸代谢、核苷酸代谢、运输和分解代谢等 43 个二级功能预测基因拷贝数最多,B 处理的内分泌及代谢疾病、感觉系统的预测基因拷贝数最多,BV 处理的发展与再生的预测基因拷贝数最多。

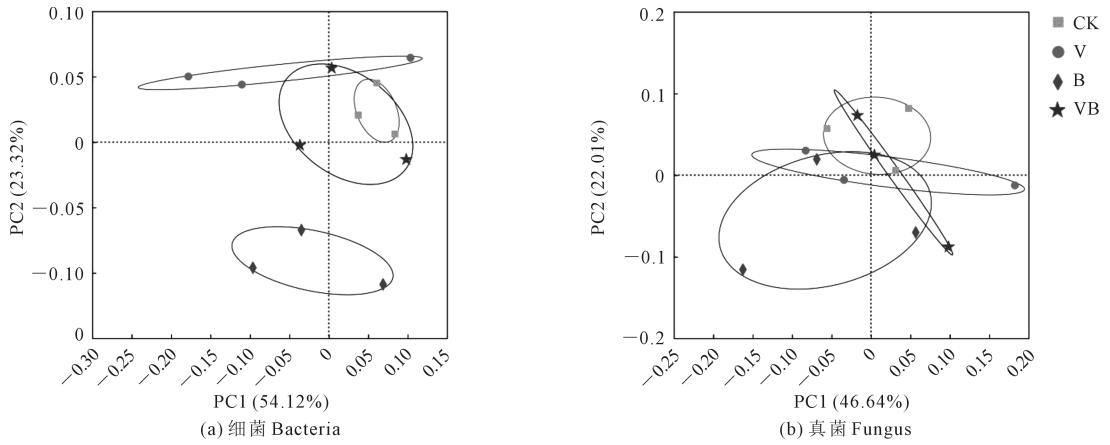


图4 不同处理土壤微生物群落结构分析(门水平)

Fig.4 Analysis of soil microbial community structure in different treatments (phylum level)

表5 土壤细菌群落的一级功能代谢通路在不同处理中的相对丰度信息

Table 5 Relative abundance information of primary functional metabolic pathways in soil bacterial communities in different treatments

处理 Treatment	细胞过程 Cellular processes	环境信息处理 Environmental information processing	遗传信息处理 Genetic information processing	人类疾病 Human diseases	代谢 Metabolism	有机系统 Organismal systems	未分类信息 Unclassified
CK	0.0383±0.0004a	0.1428±0.0005a	0.1580±0.0004a	0.0087±0.0000b	0.5156±0.0005ab	0.0079±0.0010a	0.1287±0.0002ab
B	0.0406±0.0005a	0.1437±0.0012a	0.1555±0.0006a	0.0093±0.0001a	0.5125±0.0003b	0.0078±0.0000a	0.1306±0.0002a
BV	0.0383±0.0010a	0.1428±0.0008a	0.1575±0.0007a	0.0086±0.0001b	0.5170±0.0013a	0.0079±0.0001a	0.1280±0.0005b
V	0.0381±0.0012a	0.1426±0.0023a	0.1579±0.0015a	0.0087±0.0001b	0.5164±0.0016a	0.0079±0.0001a	0.1284±0.0010b

### 2.3 不同处理对番茄植株生长状况的影响

番茄植株生长过程中株高的变化如图6a所示, t1~t3分别代表番茄定植后幼苗中期、幼苗后期及开花期。在番茄植株的生长过程中,施用生物炭处理的B组植株高在全时期最低,低于CK,但是两者之间没有显著差异,蚯蚓种养处理的V组在任意时期显著地高于其他处理,最高的是t3时期的V组植株(31.03 cm),而生物炭和蚯蚓种养联合处理的BV组要略高于对照,但是也无显著性关系,部分时期要显著高于施用生物炭处理B组。番茄的茎粗状况如图6b所示,整个生长期番茄植株的茎粗缓慢增加,施用各个处理后的番茄茎粗较CK都有所提升,但是整个时期都无显著差异,对番茄植株茎粗提升最大的是蚯蚓种养处理的V组,最大值为7.23 cm。由图6a、b来看,各处理对番茄植株株高的影响要大于茎粗,蚯蚓种养处理最适于提高番茄植株增高和增粗。

番茄植株叶面积的变化如图6c所示,随着植株生长,叶面积逐渐变大,各个时期经过蚯蚓种养处理和生物炭+蚯蚓种养处理的BV组和V组显著高于生物炭处理的B组和CK对照,t3时期的V组处理叶面积最大(516.98 cm<sup>2</sup>),t1时期的CK处理则为最小(207.06 cm<sup>2</sup>)。番茄叶片中的叶绿素含量如图6d所示,在t1~t3时期,叶片中的叶绿素含量略

有增加,基本保持一致。与叶面积不同的是,施用生物炭的B组在全时期显著高于其他处理,BV组和V组对于CK来说是降低的,并且有显著性差别,B组在t3时期有最大的叶绿素含量(50.87 mg·g<sup>-1</sup>),V组在t1时期有最小的叶绿素含量(40.13 mg·g<sup>-1</sup>)。由图6c、d来看,植株叶片越大,其叶绿素含量越小,各处理不利于增大叶面积和提高叶绿素含量。

### 2.4 不同处理对番茄果品质及产量的影响

在盛果期,番茄植株的干、鲜质量和果实产量如表6所示,植株地上部和地下部的干、鲜质量能具体反映植株的长势情况,BV组的地上部鲜质量和干质量显著高于其他组处理,分别为569.98 g和78.60 g,较CK处理分别提升了55.44%和54.27%。V组处理地上部鲜质量和干质量也显著高于CK,分别提高了21.96%和12.27%,B组和CK的地上部鲜、干质量无显著差异。对于地下部,BV组同样有最大的鲜质量和干质量,分别为19.99 g和2.87 g,较CK处理分别提升了45.38%和47.18%,与地上部不同的是,B组地下部鲜质量和干质量和CK相比有很大提升,分别提升了40.58%和36.41%。与各处理都提高了番茄果实产量,提升效果为BV>B>V,分别较CK提升25.42%、19.16%、18.00%,其中BV处理达显著水平。

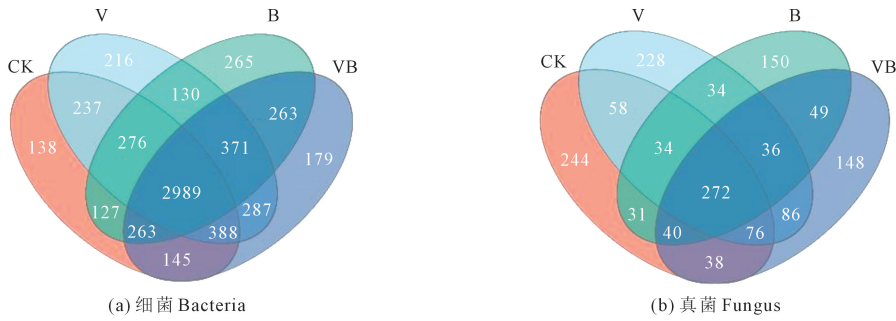


图 1 不同处理土壤微生物 OTU 分布 Venn 图

Fig.1 Venn diagram of OTU distribution of soil microorganisms in different treatments

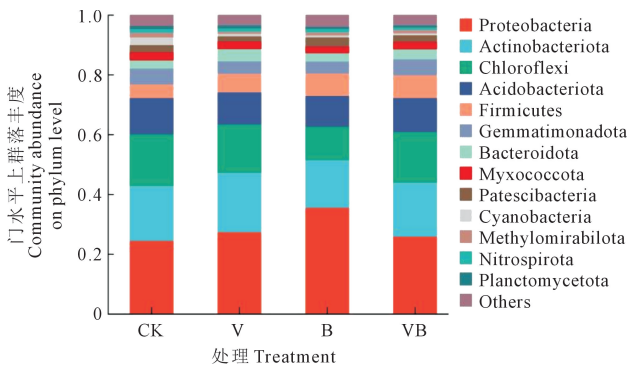


图 2 不同处理土壤细菌门水平上物种相对丰度分布

Fig.2 Relative abundance distribution of species at the level of soil bacterial phylum in different treatments

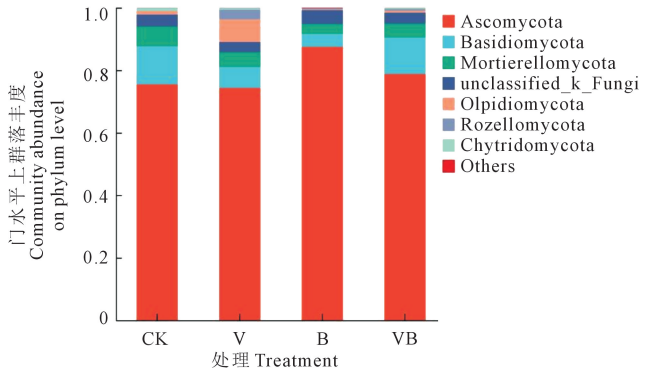


图 3 不同处理土壤真菌门水平上物种相对丰度分布

Fig.3 Distribution of relative abundance of species at the level of fungal phylum in different treatments

表 7 体现了番茄成熟后的果实品质,各处理均能显著提高果实可溶性固形物含量,BV 处理可溶性固形物含量最多,为 4.03%,较 CK 提升了 28.75%。各处理果实中 Vc 含量和 CK 相比无显著变化。B、V 处理和 CK 相比显著提升果实中可溶性糖含量,最大提升了 12.57%,BV 处理无显著变化。各处理均能显著提高果实中有机酸含量,有机酸含量最大为 BV 组,提升了 19.60%。各处理都降低了果实中硝酸盐含量,B、BV 处理较 CK 分别显著降低 8.26%、10.24%,V 处理无显著变化。

### 2.5 番茄果实差异代谢物

2.5.1 各处理不同差异代谢物分析 运用 VIP\_pred\_OPLS-DA > 1, P < 0.05, 设定 FC ≥ 1 或 FC < 1 (FC 值为代谢物在两组样本中的相对丰度比值,FC 值越大代表差异越显著,反之则代表差异较小) 筛选含量上调和下调代谢物标准对不同处理差异代谢物进行筛选。通过对模型的预测误差和变量重要性进行综合考虑,得出每个代谢物的 VIP (Variable importance in the projection) 值, VIP 值的计算基于偏最小二乘回归模型,在差异代谢组学中,通常将 VIP > 1 的代谢物视为显著差异代谢物,可进一步分析其生物学意义和潜在作用机制;并用文氏图比较显示

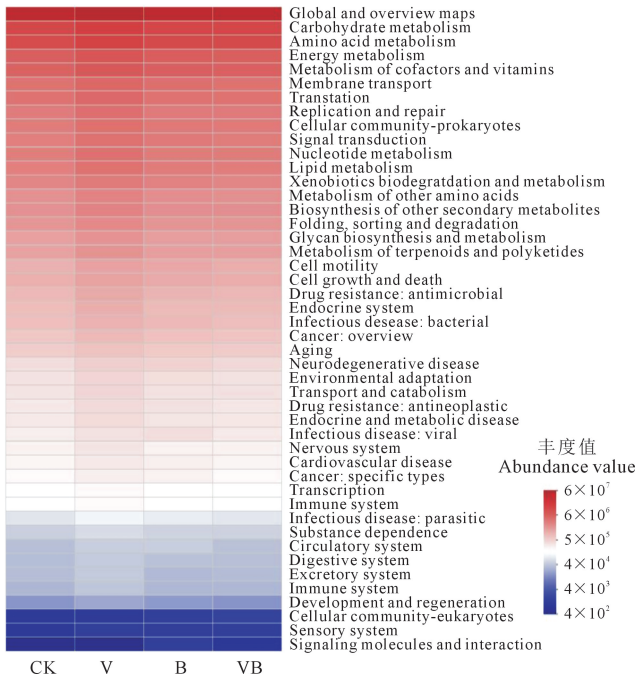


图 5 不同处理土壤样品细菌预测功能基因二级功能层热图

Fig.5 Heat map of the secondary functional layer of bacteria predicted functional genes in soil samples treated with different treatments

不同代谢集间差异代谢物的关系。不同处理和 CK 之间进行差异代谢物比较,发现 CK vs V 代谢集差异代谢物和特有的差异代谢物最多,分别为 84 种和 51 种;其次为 CK vs BV 代谢集,分别为 40 种和 21 种;最少的为 CK vs B 代谢集,分别为 30 种和 9 种(图 7)。其中 3 组代谢集共有 5 个相同的差异代谢物,分别为 PE-NMe (18 : 1(11Z)/20 : 3(5Z, 8Z, 11Z)), D-Glycerate 2-phosphate (D-甘油酯 2-磷酸), PE-NMe (18 : 0/18 : 2(9Z, 12Z)), 1-O-Feruloylglucose(1-O-阿魏酰葡萄糖), PA(20 : 1(11Z)/22 : 6(4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z))。

对 3 个代谢集间火山差异图进行分析(图 8a、b、c),发现 CK vs B 代谢集上调代谢物最多,有 60

种,其次为 CK vs BV 代谢组,23 种上调代谢物;CK vs B 代谢集最少(17 种)。和上调代谢物一致,CK vs V 代谢集有着最多的下调代谢集,共 24 种;其次是 CK vs BV,CK vs B 代谢集,分别为 17、13 种下调代谢物。根据对比 3 个代谢集 PLS-DA 分析结果可知(图 8d、e、f),CK vs V 的 PC1 的贡献率为 45.80%, PC2 的贡献率为 23.30%,总贡献率为 69.10%;CK vs B 的 PC1 的贡献率为 40.50%, PC2 的贡献率为 18.70%,总贡献率为 59.20%;CK vs BV 的 PC1 的贡献率为 33.70%, PC2 的贡献率为 21.3%,总贡献率为 55.00%,发现 3 个代谢集间 CK vs BV 处理总贡献率最低,CK vs V 处理贡献率最高,且图中分离趋势最明显。

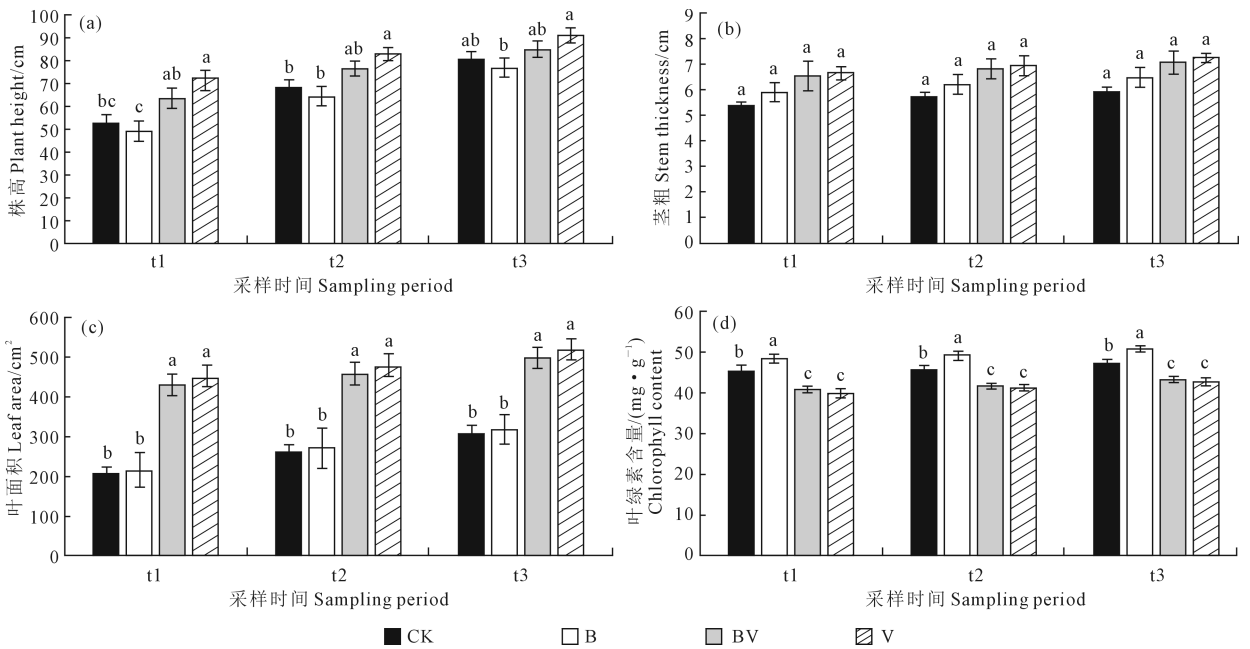


图 6 番茄植株各时期的生长状况

Fig.6 Growth status of tomato plants at different stages

表 6 盛果期番茄植株干、鲜质量及果实产量

Table 6 Dry and fresh weight and fruit yield of the upper and lower parts of tomato plants in full fruit stage

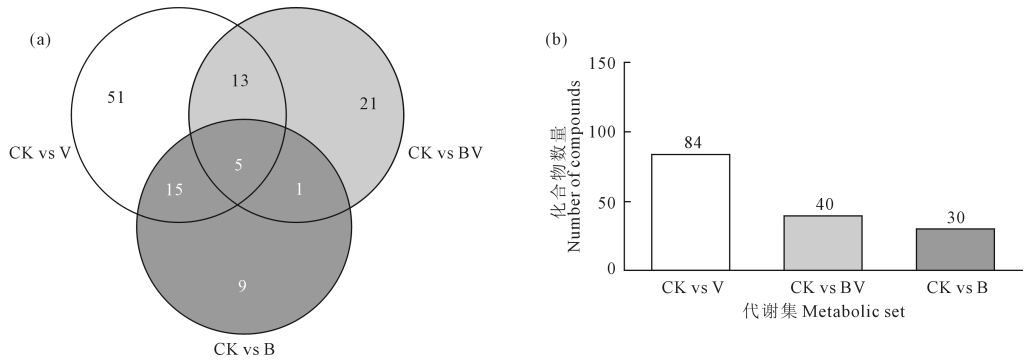
处理 Treatment	地上部鲜质量/g Aboveground fresh mass	地下部鲜质量/g Underground fresh mass	地上部干质量/g Aboveground dry mass	地下部干质量/g Underground dry mass	果实产量/(kg·667m <sup>-2</sup> ) Fruit yield
CK	366.69±3.87c	13.75±0.54b	50.95±0.59c	1.95±0.17b	4149.52±25.73b
B	353.21±4.57c	19.33±0.62a	49.04±0.28c	2.66±0.06a	4944.86±77.12ab
BV	569.98±5.27a	19.99±0.37a	78.60±1.01a	2.87±0.03a	5204.38±508.72a
V	447.23±4.98b	13.83±0.66b	57.21±2.13b	1.93±0.07b	4896.76±126.68ab

表 7 盛果期番茄果实品质

Table 7 Tomato fruit quality at full fruit stage

处理 Treatment	可溶性固形物/% Soluble solids	Vc /(mg·100g <sup>-1</sup> )	可溶性糖/% Soluble sugar	有机酸/% Organic acid	硝酸盐/(mg·kg <sup>-1</sup> ) Nitrate
CK	3.13±0.570c	26.96±1.52a	3.58±0.10b	0.51±0.02b	21.18±0.59a
B	3.63±0.21b	27.66±1.59a	3.96±0.03ab	0.58±0.02a	19.43±0.5b
BV	4.03±0.15a	29.40±0.92a	3.64±0.21ab	0.61±0.02a	19.01±0.11b
V	3.83±0.21ab	26.61±1.81a	4.03±0.02a	0.58±0.02a	20.11±0.45ab





注:图 a 中不同的颜色代表不同的对比组的差异代谢物,重叠部分表示多个代谢集中共有的代谢物数目,没有重叠的部分表示该代谢集所特有的代谢物数目,数字表示对应的代谢物数目。图 b 柱上数字表示各个代谢集里包含代谢物的数目。

Note: Different colors in the figure a represent the differential metabolites of different comparison groups, the overlapping part indicates the number of metabolites shared by multiple metabolic sets, the non-overlapping part indicates the number of metabolites unique to this metabolic set, and the number indicates the corresponding number of metabolites. The numbers in the bar in figure b represent the number of metabolites contained in each metabolic set.

图 7 差异代谢物 Venn 图

Fig.7 Venn diagram of differential metabolites

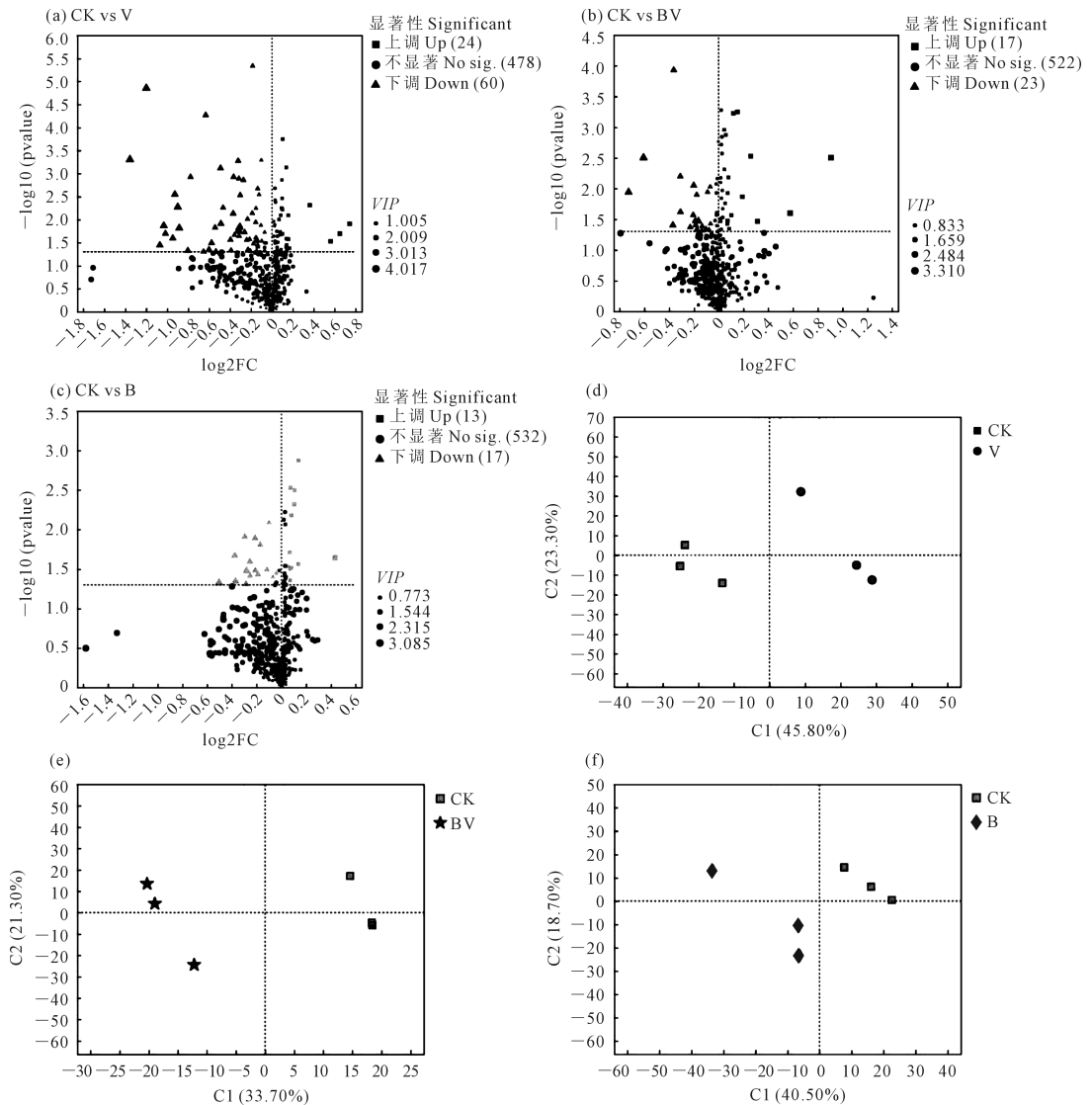


图 8 不同代谢集火山差异图和 PLS-DA 得分图

Fig.8 Volcanic difference map and PLS-DA score map for different metabolic sets

2.5.2 各处理果实差异代谢物 VIP 值分析 为比较差异代谢物在样本中的贡献及其重要程度,本研究通过选取 VIP 值前 30 的代谢物进行分析,如图 9a 所示,发现对于 CK 来说,V 处理中 THYMOQUINONE(百里香醌)表达量极显著下降;Kynurenine(犬尿氨酸)、Vasicinone(鸭嘴花酮)、Phenobarbital(苯巴比妥)表达量显著下降。其下调 VIP 值变化范围为 2.1385~2.3376;同时发现 Butyramide(丁酰胺)VIP 值排序未在前 30,但是属于非常显著的下调代谢物。Quercetin(槲皮素)、Tuberonic acid glucoside(多糖酸葡萄糖苷)、Beta-Microperoxanthin、Kaempferol(山奈酚)和 PGF2a ethanolamide PGF2a(乙醇酰胺)5 种代谢物表达量非常显著上升;Imperialine(西贝素)、(1S,2R,4R,8S)-p-Menthane-2,8,9-triol 2-glucoside、Quercetin 3-O-glucoside(槲皮素 3-O-葡萄糖苷)、23-Acetoxyisolaludicine 23(乙酰氧基茄氨酸)、(25S)-5beta-spirostan-3beta-ol 和 Discodermolide(圆皮海绵内酯)6 种代谢物表达量极显著上升,还有 Tomatoside A(番茄甙 A)、Spermine(精胺)、Camelliaside B(茶花甙 B)等 14 种代谢物表达量显著上升,其上调的 VIP 值变化范围为 2.1161~4.0167。

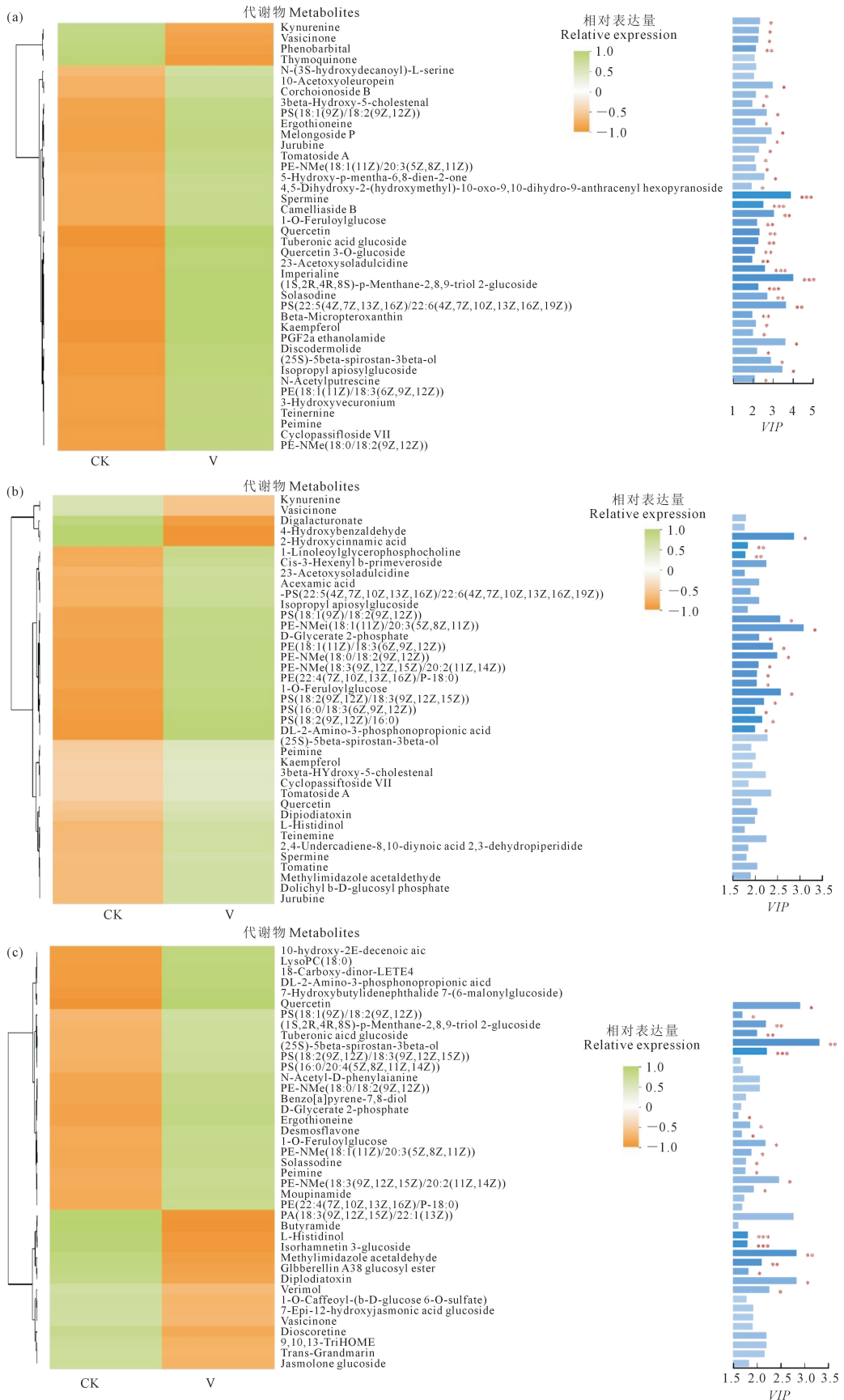
通过 B 和 CK 处理中 VIP 值前 30 代谢物的差异(图 9b)发现,相对于 CK 处理,B 处理中 VIP 值前 30 的代谢物只有 Digalacturonate(双半乳糖醛酸盐)一种代谢物表达量显著下调,其 VIP 值为 2.0927,其余代谢物均上调,有 13 种上调差异物达到显著水平,主要有 PS(18:1(9Z)/18:2(9Z,12Z))、PE-NMe(18:1(11Z)/20:3(5Z,8Z,11Z))、D-Glycerate 2-phosphate、PE(18:1(11Z)/18:3(6Z,9Z,12Z))、PE-NMe(18:0/18:2(9Z,12Z))、DL-2-Amino-3-phosphonopropionic acid 等,其 VIP 值的范围为 1.9988~3.0855;其余上调代谢物均未达到显著水平。

通过 BV 和 CK 处理中 VIP 值前 30 代谢物的差异(图 9c)发现,相对于 CK 处理,BV 处理共有 15 种代谢物上调,15 种代谢物下调,其中 Quercetin(槲皮素)上调代谢量表达量达到非常显著水平,其 VIP 值为 2.2027,18-Carboxy-dinor-LTE4、7-Hydroxybutylidene-phthalide 7-(6-malonylglucoside)、DL-2-Amino-3-phosphonopropionic acid 这 3 种上调代谢物表达量达到极显著水平,其 VIP 值分别为 2.1825、3.3101、2.0006,10-hydroxy-2E-decenoic acid、Desmosflavone、D-Glycerate 2-phosphate、Ergothioneine 等 7 种上调代谢物表达量达到显著水平,其 VIP 值范围为 1.8605~2.9084,剩余 4 种上调代谢物未达到显著

水平,对于下调代谢物,PA(18:3(9Z,12Z,15Z)/22:1(13Z))、Butyramide(丁酰胺)两种下调代谢物表达量达到非常显著水平,其 VIP 值分别为 1.8021、1.797,L-Histidinol(L-组氨酸)、Isorhamnetin 3-glucoside 两种下调代谢物表达量达到极显著水平,其 VIP 值分别为 2.8312、2.0932,Methylimidazole acetaldehyde(甲基咪唑乙醛)、Gibberellin A38 glucosyl ester(赤霉素 A38 葡萄糖酯)和 Diplodiatoxin(双碘毒素)这 3 种下调代谢物表达量达到显著水平, VIP 值分别为 1.8156、2.8333、2.2552,其余 8 种下调代谢物表达量未达到显著水平。

2.5.3 各处理果实差异代谢物代谢通路分析 为进一步解析各处理对番茄差异代谢物的分子机制,本研究基于 CK vs V 检测到的 84 个差异代谢产物富集并注释得到了 55 条代谢通路(图 10a)。其中非常显著差异代谢通路有 1 条( $P < 0.001$ ),为组氨酸代谢,其中极显著差异代谢通路有 5 条( $P < 0.01$ ),分别为氨酰 tRNA 生物合成、黄酮和黄酮醇生物合成、转运蛋白、嘌呤代谢、 $\beta$ -丙氨酸代谢,其余 7 条为显著差异代谢通路( $P < 0.05$ ),分别为甘油磷脂代谢、苯丙氨酸代谢、乙醛酸和二羧酸代谢、嘧啶代谢、苯丙烷生物合成、Flavonoid biosynthesis 类黄酮生物合成、精氨酸和脯氨酸代谢。注释到 13 条差异显著的代谢途径中,其中 1 条属于一级分类环境信息处理下的二级分类膜运输,其中 1 条属于遗传信息处理下的二级分类翻译,剩下 11 条均为一级分类新陈代谢途径,其中有 3 条氨基酸代谢途径、3 条其他次级代谢产物的生物合成、2 条核苷酸代谢、1 条脂质代谢、1 条碳水化合物代谢和 1 条其他氨基酸的代谢,该富集分析结果与上述差异代谢物存在很好的对应关系。

基于 CK vs B 检测到的 30 个差异代谢产物富集并注释到了 34 条代谢通路(图 10b)。其中非常显著差异代谢通路有 2 条( $P < 0.001$ ),分别为氨酰 tRNA 生物合成、转运蛋白;极显著差异代谢通路有 3 条( $P < 0.01$ ),分别为苯丙氨酸代谢、乙醛酸和二羧酸代谢、苯丙烷生物合成;显著差异代谢通路有 8 条( $P < 0.05$ ),分别为氮代谢、精氨酸生物合成、倍他林生物合成、丙氨酸和天冬氨酸及谷氨酸代谢、硫胺素代谢、糖酵解/糖异生、 $\beta$ -丙氨酸代谢、苯丙氨酸和酪氨酸及色氨酸生物合成。注释到 13 条差异显著的代谢途径中,其中 1 条属于一级分类遗传信息处理下的二级分类翻译途径,其中 1 条属于环境信息处理下的二级分类膜运输,剩下 11 条均为一级分

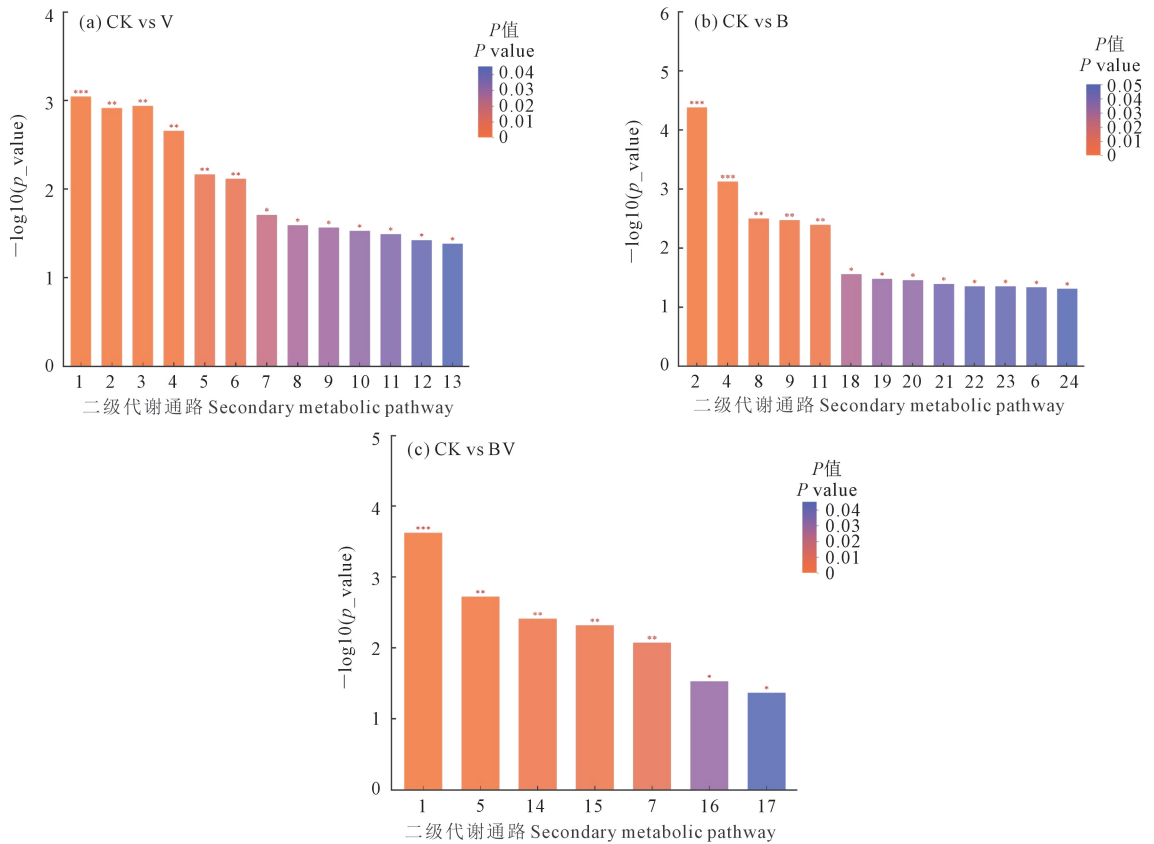


注: \* 代表显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 代表极显著 ( $P < 0.01$ ), \*\*\* 代表非常显著 ( $P < 0.001$ ), 下同。

Note: \* represents significant ( $P < 0.05$ ), \*\* represents extremely significant ( $P < 0.01$ ), \*\*\* represents extremely significant ( $P < 0.001$ ). The same below.

图 9 各代谢集间主要化合物 VIP 值分析

Fig.9 Analysis of VIP values of main compounds among each metabolic set



注:横轴的数字含义:1.组氨酸代谢 M;2.氨基酰-tRNA 生物合成 GIP;3.黄酮和黄酮醇生物合成 M;4.ABC 转运蛋白 EIP;5.嘌呤代谢 M;6.β-丙氨酸代谢 M;7.甘油磷脂代谢 M;8.苯丙氨酸代谢 M;9.乙醛酸和二羧酸代谢 M;10.嘧啶代谢 M;11.苯丙素生物合成 M;12.类黄酮生物合成 M;13.精氨酸和脯氨酸代谢 M;14.戊糖磷酸途径 M;15.玉米素生物合成 M;16.光合作用 M;17.氧化磷酸化 M;18.氮代谢 M;19.精氨酸生物合成 M;20.甜菜红素生物合成 M;21.丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢 M;22.糖酵解/糖异生 M;23.硫胺素代谢 M;24.苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成 M。后缀为 EIP 代表一级代谢通路为环境信息处理,后缀为 GIP 代表一级代谢通路为遗传信息处理,后缀为 M 代表一级代谢通路为代谢。

Note: The meaning of numbers on the horizontal axis, 1. Histidine metabolism M; 2. Aminoacyl-tRNA biosynthesis GIP; 3. Flavones and flavonol biosynthesis M; 4. ABC transporter EIP; 5. Purine metabolism M; 6. β-alanine metabolism M; 7. Glycerophospholipid metabolism M; 8. Phenylalanine metabolism M; 9. Glyoxylic acid and dicarboxylic acid metabolism M; 10. Pyrimidine metabolism M; 11. Phenylpropanoid biosynthesis M; 12. Flavonoid biosynthesis M; 13. Arginine and proline metabolism M; 14. Pentose phosphate pathway M; 15. Zeatin biosynthesis M; 16. Photosynthesis M; 17. Oxidative phosphorylation M; 18. Nitrogen metabolism M; 19. Arginine biosynthesis M; 20. Betalain biosynthesis M; 21. Alanine, aspartate and glutamate metabolism M; 22. Glycolysis/gluconeogenesis M; 23. Thiamine metabolism M; 24. Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis M. The suffix EIP represents the primary metabolic pathway for environmental information processing, the suffix GIP represents the primary metabolic pathway for genetic information processing, and the suffix M represents the primary metabolic pathway for metabolism.

图 10 各处理差异代谢物 KEGG 富集柱状图

Fig.10 KEGG enrichment histogram of differential metabolites in each treatment

类新陈代谢途径,其中有 4 条氨基酸代谢途径、2 条碳水化合物代谢、2 条其他次级代谢产物的生物合成、2 条辅助因子和维生素的代谢、1 条能量代谢,该富集分析与上述差异代谢物存在很好的对应关系。

最后基于 CK vs BV 检测到的 40 个差异代谢产物富集并注释到了 28 条代谢通路(图 10c)。其中非常显著差异代谢通路有 1 条( $P<0.001$ ),为组氨酸代谢,极显著差异代谢通路有 4 条( $P<0.01$ ),分别为嘌呤代谢、戊糖磷酸途径、玉米素生物合成和甘油磷脂代谢,显著差异代谢通路有 2 条( $P<0.05$ ),

分别为光合作用、氧化磷酸化。注释到 7 条差异显著的代谢途径均为一级分类新陈代谢途径,其中 2 条能量代谢、1 条有脂质代谢、1 条萜类化合物和聚酮化合物的代谢、1 条碳水化合物代谢、1 条核苷酸代谢和 1 条氨基酸代谢,该富集分析与上述差异代谢物存在很好的对应关系。

### 3 讨论

本研究表明,施用生物炭后土壤 pH 值有所升高,因为其表面有碱性官能团,施入土壤后会与土壤中的  $H^+$ 、 $Al^{3+}$  进行交换,因而提高 pH 值<sup>[16]</sup>。各

处理显著增加了土壤电导率,可能与生物炭和蚯蚓粪的有机质分解释放的盐分有关<sup>[17]</sup>。张宁等<sup>[18]</sup>研究表明,生物炭能够改善土壤酸碱环境,增加土壤速效氮、磷、钾含量,改善土壤肥力;赵鹏博等<sup>[19]</sup>研究也发现蚯蚓粪的施入能提高土壤速效氮、速效钾含量,这与本试验结果相印证。而本试验发现无论是单一施用蚯蚓粪、生物炭,还是蚯蚓粪配施生物炭,其土壤速效氮磷钾的含量均有大幅提升。基于上述土壤养分状况的改善,本研究施用生物炭提高了土壤蔗糖酶和脲酶的活性,潜在原因一是生物炭具有多孔结构和吸附性,能够吸附反应底物,加强了基质中酶与底物的结合,促进酶促反应,能为微生物生命活动提供栖息地,二是与其对养分的改善密切相关。Ren 等<sup>[20]</sup>研究表明,单独施用生物炭可能提高土壤脲酶活性、总氮和总钾浓度。类似结果在相关蚯蚓粪的研究报道中也被证实<sup>[21]</sup>。

微生物是土壤生态系统的重要组成部分,不仅与土壤养分状况、酶活性的改变紧密关联,而且对作物的产量品质有深远影响,故土壤微生物的丰富度是维持农田生态系统稳态的基础。前期研究发现,生物炭和蚯蚓粪都能通过改变土壤养分来改变土壤微生物的多样性。Shannon 和 Simpson 指数体现了土壤微生物的多样性,Ace 和 Chao1 指数体现了土壤微生物的数量<sup>[22]</sup>。本试验中,细菌和真菌的各项指数无显著变化,说明各处理没有改变土壤微生物的多样性和丰富性。本研究分别基于细菌群落和真菌群落在门水平的分布特征进行分析,发现变形菌门、放线菌门和绿弯菌门为细菌群落优势菌门,子囊菌门、担子菌门、被孢菌门为真菌群落优势菌门,这分别与武育芳等<sup>[23]</sup>、张文文<sup>[24]</sup>的结论一致。各处理均提高了细菌中变形菌门的丰度占比,变形菌门将可溶性糖分解为短链脂肪酸和单糖,可以调节有机物的水解酶活性,生物炭和蚯蚓粪导致土壤有机质增多,从而提高变形菌门活性。同时各处理均提高了真菌中担子菌门的丰度占比,担子菌门可以分泌木质素降解所必须的酶,从而被认为是纤维素重要的分解者<sup>[25]</sup>。酸杆菌属嗜酸性细菌门,适宜生长于可溶性有机碳含量较低的酸性土壤中<sup>[26]</sup>,各处理酸杆菌门占比降低,可能是生物炭和蚯蚓粪提升了土壤中有机碳含量。本试验并没有改变土壤微生物细菌和真菌门水平上的主要组成,但提高了细菌和真菌不同菌门的相对丰度,并且生物炭处理的土壤微生物结构与其他处理差异较大。

有研究表明,施用生物炭后作物前期生长发育可能会得到抑制,并已经在大豆等作物上得到印

证<sup>[27]</sup>。本试验亦发现施用生物炭后,番茄生长期株高、叶面积都受到一定程度抑制,但叶绿素含量显著增加,可能是施加生物炭后土壤含水率有效提高,促进植株光合作用,这与邓婷婷<sup>[28]</sup>得到的结果一致。沈卫月<sup>[29]</sup>试验结果证明,蚯蚓粪能显著提高黄瓜幼苗的株高和茎粗,也有结果证明,蚯蚓粪可以促进甘蓝叶面积增长,均与本试验得到的结果一致。但本试验中,施用蚯蚓粪后叶片叶绿素含量反而降低,猜测可能是蚯蚓粪施用过度导致叶片徒长,叶片内部结构不完整,导致叶绿素含量降低。施用生物炭和蚯蚓粪后,番茄植株的生长得到很好的促进,植物生长后期,该处理地上、下部生物量与对照相比,得到显著提升。正如王福友等<sup>[30]</sup>研究表明蚯蚓粪能够增加玉米幼苗地上部和地下部的生物量,汪勇等<sup>[31]</sup>研究表明生物炭能够增加水稻地上部和地下部的生物量,并且生物炭和蚯蚓粪的联合施用要比单一施用效果更好。

生物炭与蚯蚓粪可以提高葡萄、水稻、高粱、黄瓜等作物产量<sup>[32]</sup>,在本试验中也显著提高了番茄的产量,原因可能是生物炭和蚯蚓粪本身就是一种有机肥,可通过提高土壤速效氮、磷、钾的含量来促进植株产量提高;也有试验验证生物炭通过促进植物细胞扩增、细胞壁松弛、水及营养的转运等相关基因的表达,从而促进植株生长,提高产量<sup>[33]</sup>。本研究发现,无论是生物炭与蚯蚓粪单独处理还是联合处理,都能显著提高番茄果实中可溶性固形物、可溶性糖、有机酸含量,显著降低硝酸盐含量。研究表明蚯蚓粪单一施入或与其他有机肥配施都可以改善土壤环境,增加植株果实产量与品质。添加生物炭后对果实品质有明显的促进作用,这与前人研究结果一致。果实品质的提升可能是因为施用生物炭和蚯蚓粪促进了植株生长,光合作用增强,光合产物增多,同时提高了植株氮、磷和钾的利用效率,使得果实品质改善<sup>[34]</sup>。

本研究中,蚯蚓原位和生物炭+蚯蚓原位处理极大地促进了番茄果实差异代谢物的上调,其中 Quercetin(槲皮素)含量相对于对照上调,Butyramide(丁酰胺)含量相对于对照下调,且差异均达到非常显著水平。槲皮素是一种类黄酮物质,具有抗癌、降压、降血糖、抗氧化、消炎和抗病毒等活性,同时还具有较低的细胞毒性,相关研究表明,蚯蚓粪产生的液体能提高甜罗勒植物类黄酮物质的含量,同时槲皮素含量上升显著<sup>[35]</sup>;Chavez 等<sup>[36]</sup>也发现施用蚯蚓粪后草莓果实中的类黄酮物质积累量提高,这与本试验结果相似。本研究还发现,生物炭和生

物炭+蚯蚓原位处理 D-Glycerate 2-phosphate 相对于对照均上调,且差异达到显著水平;同时生物炭处理显著上调差异物多为 3 个代谢集共有的代谢物,说明生物炭处理没有提高番茄果实其他特有代谢物含量。蚯蚓原位和生物炭处理均有 13 条显著代谢通路,且均有一条一级代谢遗传信息处理途径和环境信息处理途径,11 条新陈代谢途径,而生物炭加蚯蚓原位处理只有 7 条显著代谢通路,且均为新陈代谢途径。说明蚯蚓原位和生物炭之间存在负调控作用,且蚯蚓原位和生物炭加蚯蚓原位处理组氨基酸代谢通路均有非常显著代谢差异,说明蚯蚓原位处理可以改变番茄果实中组氨酸代谢,这与安明远<sup>[37]</sup>结果一致。

## 4 结 论

1) 施用生物炭和蚯蚓粪能提高土壤 pH 值和 EC 值,提高土壤养分与土壤过氧化氢酶和蔗糖酶活性。

2) 施用生物炭和蚯蚓粪没有改变土壤细菌和真菌的多样性,但改变了微生物丰富度占比,其中生物炭处理变形菌门和子囊菌门丰富度占比提升明显。

3) 施用生物炭和蚯蚓粪可促进番茄生长发育,果实产量与品质得到明显提升,生物炭+蚯蚓原位处理效果更显著。

4) 生物炭和蚯蚓原位处理均能提高上调果实差异代谢物,蚯蚓原位提升效果更显著,同时生物炭与蚯蚓原位之间有着负调控,其差异代谢物的数目以及代谢通路较蚯蚓原位处理大幅度下降。

## 参 考 文 献:

- [1] 周杰, 师恺, 夏晓剑, 等. 中国蔬菜栽培科技 60 年回顾与展望[J]. 园艺学报, 2022, 49(10): 2131-2142.  
ZHOU J, SHI K, XIA X J, et al. Vegetable cultivation technology in China: a sixty-year review and prospect[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2022, 49(10): 2131-2142.
- [2] 黄绍文, 唐继伟, 李春花, 等. 我国蔬菜化肥减施潜力与科学施用对策[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(6): 1480-1493.  
HUANG S W, TANG J W, LI C H, et al. Reducing potential of chemical fertilizers and scientific fertilization countermeasure in vegetable production in China[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2017, 23(6): 1480-1493.
- [3] 马光恕, 梁泉, 张淳, 等. 生物炭对甜瓜幼苗质量与根系生理特性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2022, 40(5): 212-221.  
MA G S, LIANG X, ZHANG T, et al. Effects of biochar on seedling quality and root physiological characteristics of melon[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2022, 40(5): 212-221.
- [4] 徐万里, 唐光木, 葛春辉, 等. 长期施肥对新疆灰漠土土壤微生物群落结构与功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(2):

468-477.

- XU W L, TANG G M, GE C H, et al. Effects of long-term fertilization on diversities of soil microbial community structure and function in grey desert soil of Xinjiang[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(2): 468-477.
- [5] 贾林, 张金龙, 刘璐瑶, 等. 生物炭在盐碱区域土壤环境生态修复中的应用[J]. 环境科学与技术, 2021, 44(S2): 124-131.  
JIA L, ZHANG J L, LIU L Y, et al. Application of biochar in ecological remediation of soil environment in saline area[J]. Environmental Science and Technology, 2021, 44(S2): 124-131.
- [6] LI Z C, SONG Z L, SINGH B P, et al. The impact of crop residue biochars on silicon and nutrient cycles in croplands[J]. Science of the Total Environment, 2019, 659: 673-680.
- [7] 涂玉婷, 彭智平, 许贵勇, 等. 生物炭-过氧化钙复合颗粒对酚酸胁迫下番茄生长和根际微生态的调控效应[J]. 植物营养与肥料学报, 2022, 28(10): 1914-1927.  
TU Y T, PENG Z P, XU Y G, et al. Regulatory effects of biochar-calcium peroxide composite particles on tomato growth and rhizosphere microbial ecology under phenolic acid stress[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2022, 28(10): 1914-1927.
- [8] GOSWAMI L, NATH A, SUTRADHAR S, et al. Application of drum compost and vermicompost to improve soil health, growth, and yield parameters for tomato and cabbage plants[J]. Journal of Environmental Management, 2017, 200: 243-252.
- [9] 白洁瑞, 刘庆峰, 于建光, 等. 玉米、三叶草秸秆和蚯蚓堆肥施用对黄河故道潮土理化性状的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2021, (6): 18-24.  
BAI J R, LIU Q F, YU J G, et al. Effect of maize and clover straw and vermicompost application on the physical-chemical properties of silty loam soil[J]. Soils and Fertilizers Sciences in China, 2021, (6): 18-24.
- [10] 刘吉青, 兰谦谦, 田兴武, 等. 微生物菌肥与蚯蚓液体肥对设施连作番茄生长和土壤肥力的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2019, 46(6): 1069-1074.  
LIU J Q, LAN Z Q, TIAN X W, et al. Effects of microbial fertilizer and earthworm liquid fertilizer on tomato growth and soil fertility in continuous facility cropping[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2019, 46(6): 1069-1074.
- [11] XU G Y, WU Z S, TIAN Y Q, et al. Effect of in situ vermicomposting combined with biochar application on soil properties and crop yields in the tomato monoculture system[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023, 30(37): 87721-87733.
- [12] ZHANG J, ZHANG L J, QIU S J. Biochar amendment benefits 15N fertilizer retention and rhizosphere N enrichment in a maize-soil system[J]. Geoderma, 2022, 412: 115713.
- [13] 鲍士旦. 土壤化学分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 11-19.  
BAO S D. Soil and agricultural chemistry analysis [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 11-19.
- [14] MAGOC T, SALZBERG S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. Bioinformatics, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [15] 赵丹. 微生物菌剂对基质培黄瓜生长、产量和品质的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2020.  
ZHAO D. Effects of microbial agents on growth, yield and quality of cucumber grown on substrate[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020.
- [16] XU R K, ZHAO A Z, YUAN J H, et al. pH buffering capacity of

- acid soils from tropical and subtropical regions of China as influenced by incorporation of crop straw biochars[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2012, 12(4): 494-502.
- [17] 陈丽美, 李小英, 李俊龙, 等. 竹炭与有机肥配施对土壤肥力及紫甘蓝生长的影响[J]. *浙江农林大学学报*, 2021, 38(4): 774-783.  
CHEN L M, LI X Y, LI J L, et al. Effects of combined application of bamboo charcoal and organic fertilizer on soil fertility and growth of *Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*[J]. *Journal of Zhejiang A & F University*, 2021, 38(4): 774-783.
- [18] 张宁. 蚯蚓粪对西瓜和番茄生长、品质及产量的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.  
ZHANG N. Effects of earthworm manure on the growth, quality and yield of watermelon and tomato[D]. Taian; Shandong Agricultural University, 2012.
- [19] 赵鹏博, 郑璞帆, 李司童, 等. 蚯蚓粪与酒糟不同配比对土壤理化性质及烤烟品质的影响初探[J]. *土壤通报*, 2017, 48(3): 676-682.  
ZHAO P B, ZHENG P F, LI S T, et al. Effects of different ratios of vermicompost and vinasse on soil physical and chemical properties and quality of flue-cured tobacco [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2017, 48(3): 676-682.
- [20] REN H, LV C Q, FERNÁNDEZ-GARCÍA V, et al. Biochar and PGPR amendments influence soil enzyme activities and nutrient concentrations in a eucalyptus seedling plantation [J]. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2021, 11: 1865-1874.
- [21] ZHAO F Y, ZHANG Y Y, LI Z J, et al. Vermicompost improves microbial functions of soil with continuous tomato cropping in a greenhouse[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2020, 20(1): 380-391.
- [22] 郭振, 师晨迪. 不同复配比例土壤的细菌群落结构和功能预测[J]. *环境科学与技术*, 2021, 44(1): 69-76.  
GUO Z, SHI C D. Prediction of bacterial community structure and function in soils with different compounding ratios soils [J]. *Environmental Science and Technology*, 2021, 44(1): 69-76.
- [23] 武育芳, 杨官凯, 曹行行, 等. 不同基质下咸、淡水灌溉对番茄生长和品质的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2021, 39(5): 153-159, 168.  
WU Y F, YANG G K, CAO H H, et al. Effects of brackish and fresh water irrigation on tomato growth and quality under different substrates[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2021, 39(5): 153-159, 168.
- [24] 张文文. 蚯蚓原位活动及蚯蚓发酵液对黄瓜生长及根结线虫防效的研究[D]. 宁夏: 宁夏大学, 2022.  
ZHANG W W. Research on the in situ activity of earthworms and the effectiveness of earthworm fermentation solution on cucumber growth and root-knotnematode prevention[D]. Ningxia; Ningxia University, 2022.
- [25] KRAMER S, DIBBERN D, MOLL J, et al. Resource partitioning between bacteria, fungi, and protists in the detritosphere of an agricultural soil[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1524.
- [26] 倪栋, 陈应素, 李爽, 等. 大葱伴生甜瓜栽培对根际土壤酶活性和细菌群落的影响[J]. *核农学报*, 2022, 36(1): 201-209.  
NI D, CHEN Y S, LI S, et al. Effects of companion planting of melon with onion on enzyme activities and bacterial community in rhizosphere soil[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2022, 36(1): 201-209.
- [27] 张凯煜, 谷洁, 王小娟, 等. 生物有机肥对核桃园土壤细菌群落结构的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2019, 37(6): 178-183.  
ZHANG K Y, GU J, WANG X J, et al. Effects of bio-organic fertilizer on soil bacterial community structure in walnut orchard[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2019, 37(6): 178-183.
- [28] 邓婷婷. 生物炭、膨润土和有机肥对风沙地披碱草生长及生理特性的影响[D]. 阜阳: 辽宁工程技术大学, 2022.  
DENG T T. Effects of biochar, bentonite and organic fertilizer on the growth and physiological characteristics of *Phragmites australis* in windy sandy land [D]. Fuyang; Liaoning University of Engineering and Technology, 2022.
- [29] 沈卫月. 不同比例蚯蚓粪混配基质对黄瓜育苗效果的影响[J]. *浙江农业科学*, 2019, 60(3): 403-405.  
SHEN W Y. Effects of different proportions of vermicompost mixed substrates on the effect of cucumber seedlings[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2019, 60(3): 403-405.
- [30] 王福友, 王冲, 刘全清, 等. 腐植酸、蚯蚓粪及蚯蚓蛋白肥料对滨海盐碱土壤的改良效应[J]. *中国农业大学学报*, 2015, 20(5): 89-94.  
WANG F Y, WANG C, LIU Q Q, et al. Improved effect of humic acid, earthworm protein fertilizer and vermicompost on coastal saline soils[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2015, 20(5): 89-94.
- [31] 汪勇, 吕茹洁, 黎星, 等. 生物炭对双季稻生长与土壤理化性质的影响及其后效[J]. *中国土壤与肥料*, 2021, (4): 96-103.  
WANG Y, LV R J, LI X, et al. Effects of biochar on double-season rice growth and soil physical and chemical properties and its aftereffects[J]. *Soils and Fertilizers Sciences in China*, 2021, (4): 96-103.
- [32] STEINER C, TEIXEIRA W G, LEHMANN J, et al. Long term effects of manure, charcoal and mineral fertilization on crop production and fertility on a highly weathered Central Amazonian upland soil[J]. *Plant and Soil*, 2007, 291(1): 275-290.
- [33] 刘悦, 黎子涵, 邹博, 等. 生物炭影响作物生长及其与化肥混施的增效机制研究进展[J]. *应用生态学报*, 2017, 28(3): 1030-1038.  
LIU Y, LI Z H, ZOU B, et al. Progress of research on the synergistic mechanism of biochar affecting crop growth and its mixed application with chemical fertilizer [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, 28(3): 1030-1038.
- [34] 吴伟健, 陈艺杰, 李高洋, 等. 水稻秸秆生物炭对镉污染农田中番茄产量和品质的影响机制[J]. *农业环境科学学报*, 2022, 41(3): 492-503.  
WU W J, CHEN Y J, LI G Y, et al. Effects of rice straw biochar on tomato yield and quality in farmland affected by Cd contamination[J]. *Journal of Agro-environment Science*, 2022, 41(3): 492-503.
- [35] KOSEM H, KOCAK Z M, KAYSIM M G, et al. Liquid leachate produced from vermicompost effects on some agronomic attributes and secondary metabolites of sweet basil (*Ocimum Basilicum* L.) exposed to severe water stress conditions [J]. *Horticulturae*, 2022, 8(12): 1190.
- [36] Chavez R H F, Alvarez C E L, Galvez V G, et al. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost liquid extract on quality of strawberry[J]. *Ra Ximhai*, 2012, 8(Especial 3a): 119-130.
- [37] 安明远. 蚯蚓粪持续更新无土栽培系统初探[D]. 银川: 宁夏大学, 2022.  
AN M Y. A preliminary study of continuous renewal soilless culture system with earthworm manure[D]. Yinchuan; Ningxia University, 2022.