



果实红色与黄色番茄品种植株茎部内生细菌群落结构及代谢功能特征

陈思宇¹, 孙妍¹, 肖健¹, 赵天义^{2*}, 杨尚东^{1*}

1 广西大学农学院, 植物科学国家级实验教学示范中心, 广西 南宁 530004

2 广西钦州市农业技术推广中心, 广西 钦州 535099

陈思宇, 孙妍, 肖健, 赵天义, 杨尚东. 果实红色与黄色番茄品种植株茎部内生细菌群落结构及代谢功能特征. 微生物学报, 2022, 62(2): 602–616.

Chen Siyu, Sun Yan, Xiao Jian, Zhao Tianyi, Yang Shangdong. Characteristics of endophytic bacterial community structure and metabolic function in stems of tomatoes between red and yellow varieties. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(2): 602–616.

摘要: 【目的】比较果实颜色分别为红色和黄色的番茄植株茎部内生细菌群落组成及代谢功能特征, 旨在探究番茄果色形成与植株内生细菌的关联, 为构建番茄育种新型的评价体系, 以及开发利用有益微生物功能提供理论依据和技术支撑。【方法】基于 MiSeq 高通量测序技术, 分析果实颜色分别为红色和黄色番茄品种植株茎部内生细菌群落组成及相关代谢功能生物信息学分析。【结果】果实颜色分别为红色和黄色番茄品种植株茎部中, 短状杆菌属(*Brachybacterium*)、未分类大肠杆菌属(*unclassified_f_Enterobacteriaceae*)、乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、棒杆菌属(*Corynebacterium*)、绿脓杆菌属(*Pseudomonas*)、微杆菌属(*Microbacterium*)、*norank_f_norank_o_Gaiellales*、褚氏杆菌属(*Chujaibacter*)、鞘氨醇单胞杆菌属(*Sphigomonas*)细菌是红色番茄品种植株茎部特有的优势内生细菌属; 短小杆菌属(*Curtobacterium*)、*norank_f_Mitochondria*、拟无枝酸菌属(*Amycolatopsis*)和束毛球菌属(*Trichococcus*)是黄色番茄品种植株茎部特有的优势的 内生细菌属。此外, 果实颜色为红色的番茄品种植株茎部中, 拥有比黄色番茄品种更为丰富的内生细菌属与基因功能。【结论】果实颜色分别为红色和黄色的番茄品种植株茎部, 形成了特异的内

基金项目: 国家自然科学基金(31860547); 广西重点研发计划(桂科 AB18221051); 广西科技重大专项(AA17204041)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (31860547), by the Guangxi Key Research and Development Program (AB18221051) and by the Guangxi Science and Technology Major Special Project (AA17204041)

*Corresponding authors. E-mail: ZHAO Tianyi, zhty2006@163.com; YANG Shangdong, ysd706@gxueducn

Received: 27 April 2021; Revised: 1 June 2021; Published online: 4 June 2021

生细菌群落组成与功能, 红色品种拥有比黄色品种更丰富的特有优势内生细菌属与基因功能, 番茄果实颜色形成与植株内生细菌的群落组成与功能紧密相关。

关键词: 番茄; 内生细菌; 高通量测序; 功能预测

Characteristics of endophytic bacterial community structure and metabolic function in stems of tomatoes between red and yellow varieties

CHEN Siyu¹, SUN Yan¹, XIAO Jian¹, ZHAO Tianyi^{2*}, YANG Shangdong^{1*}

¹ National Experimental Teaching Demonstration Center of Plant Science, Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530004, Guangxi, China

² Qinzhou Agricultural Technology Extension Center, Qinzhou 535099, Guangxi, China

Abstract: [Objectives] To provide theoretical basis and technical support for exploiting and utilizing beneficial microbes and their functions, the mechanism of color formation in tomato fruits related to endophytic bacteria in stems of different tomato varieties were analyzed. [Methods] Based on MiSeq high-throughput sequencing technology, informatics analysis of the endophytic bacteria in stems of tomatoes between red and yellow varieties were conducted. [Results] At the genus level, *Brachybacterium*, unclassified *f_Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Microbacterium*, norank *f_norank_o_Gaiellales*, *Chujaibacter*, *Sphigomonas* were the specific dominant endophytic bacteria in stems of red tomato varieties; And *Curtobacterium*, norank *f_Mitochondria*, *Amycolatopsis* and *Trichococcus* were the specific dominant endophytic bacteria in stems of yellow tomato varieties. Meanwhile, the abundance of endophytic bacteria and their functions in stems of red tomato varieties were higher than those of yellow tomato varieties. [Conclusions] The composition of endophytic bacteria in stems between with red and yellow fruits of tomato varieties formed specific dominant endophytic bacteria, respectively. And higher abundance of specific endophytic bacterial genera and gene functions were found in red fruit tomato varieties than those of the yellow variety. It suggests that the fruit color formations were significantly related to the composition and function of endophytic bacteria in plant.

Keywords: tomato (*Solanum lycopersicum* L.); endophytic bacteria; high-throughput sequencing; function prediction

番茄(*Solanum lycopersicum* L.)是世界重要的经济作物之一^[1], 全球范围内广受欢迎^[2-3]。番茄果实颜色多样, 是番茄重要的商品品质之一, 常见的番茄果色有红色、粉色、黄色等^[4-5]。

至今的研究已发现, 番茄果实颜色形成主要与光照、温度、内源激素以及果实中类胡萝卜素和花青素组分积累紧密相关^[6]。番茄类胡萝卜素的代谢调控与番茄的激素、表观遗传、发育的内源性激素调控有关, 受外

界光照、温度等外界条件的影响。如：光传导因子突变影响果实呈深红色^[7]；番茄果皮的花青素受光调控和低温刺激影响^[8-9]；利用红光处理可显著提高番茄红素的含量，使番茄果实颜色加深^[10]；高温抑制番茄红素的合成和果实成熟，导致果实保持绿色^[11]。此外，乙烯调控类胡萝卜素合成影响果色变化^[12]，编码乙烯相应因子可使突变体果实呈橘黄色^[13]；脱落酸可以调节番茄中类胡萝卜素的组成和含量^[14-15]。外源施加低浓度的脱落酸和茉莉酸甲酯可促进番茄红素的合成，加速果实变红^[16-17]；对绿熟期的果实涂抹赤霉素会抑制类胡萝卜素和番茄红素的合成，抑制果实变红^[18]。

植物内生菌是指那些生活于健康植物各种组织和器官内部以及细胞间隙，能够与植物本身长期和谐相处不引起宿主植物发生明显病害的一类微生物^[19-20]，主要集中在植物的根、茎、叶、花和果实中^[21]，是植物微生态系统的主要组成部分。至今的研究已发现，植物内生细菌与生长素^[22]、细胞分裂素^[23]、脱落酸^[24]、赤霉素^[25]以及乙烯^[26]等植物内源激素的产生紧密相关，同时与番茄植株叶片及果实中的叶绿素含量亦紧密相关^[27]。

为探究内生细菌与番茄果实色泽形成的相关性，本文分析黄色和红色果实番茄植株茎部内生细菌群落结构及代谢功能特征，旨在为构建番茄育种新型的评价体系，以及开发利用有益微生物功能提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验概况

试验于广西大学农学院蔬菜基地设施大棚(东经 108°17′, 北纬 22°51′)内进行。供试黄色

番茄品种分别为‘金牛 101’(Y1)、“黄小丫”(Y2)、“吉美三号”(Y3)、“牛奶番茄”(Y4)；红色番茄品种分别为‘爱丽’(R1)、“凤珠”(R2)、“桃太郎”(R3)、“千禧”(R4)(图 1)。不同果色番茄种子购置于台湾农友种苗公司，所有品种均同期育苗、定植及相同常规栽培管理。

试验地土壤理化性质如下：土壤 pH 5.68，有机质含量 8.92 g/kg，全氮 0.55 g/kg，全磷 0.67 g/kg，全钾 7.51 g/kg、碱解氮 15.27 mg/kg，速效磷 0.67 mg/kg，速效钾 82.8 mg/kg。

1.2 样品采集

于 2020 年 6 月 16 日番茄果实开始进入果实成熟采收期时进行样品采集(图 1)。随机采集上述 8 种不同果色番茄品种的茎部位植株样品。每个品种随机选取 3 株长势一致的番茄植株，以植株为中心，用消毒铁铲铲松半径约 25 cm 的圆圈，然后手握植株茎基部，连根拔起整个植株。采用抖根法^[28]去除根际土壤后，采集植株茎部样品，置于流动的无菌水下冲洗，去除样品表面的泥土和附属物，并用无菌滤纸吸干，标记后装入无菌袋中送样检测。

1.3 植株茎部汁液收集及 pH 测定

参照 Liang 等^[29]和 Borel 等^[30]的方法采集茎部汁液，并用微型 pH 电极(Orione Scientific Ltd, Manchester, UK)测定汁液 pH。

根系样品总 DNA 提取、PCR 扩增和序列测定均由上海美吉生物医药科技有限公司完成。使用 MiSeq 平台进行高通量测序。

根据 FastDNA[®] Spin Kit for Soil 试剂盒(MP Biomedicals, U.S.)说明书进行总 DNA 提取，DNA 浓度和纯度使用 NanoDrop2000 分光光度计(Thermo Fisher Scientific, U.S.)检测。在 ABI GeneAmp[®]9700 上进行 PCR 扩增，具体引物和测序类型见表 1。

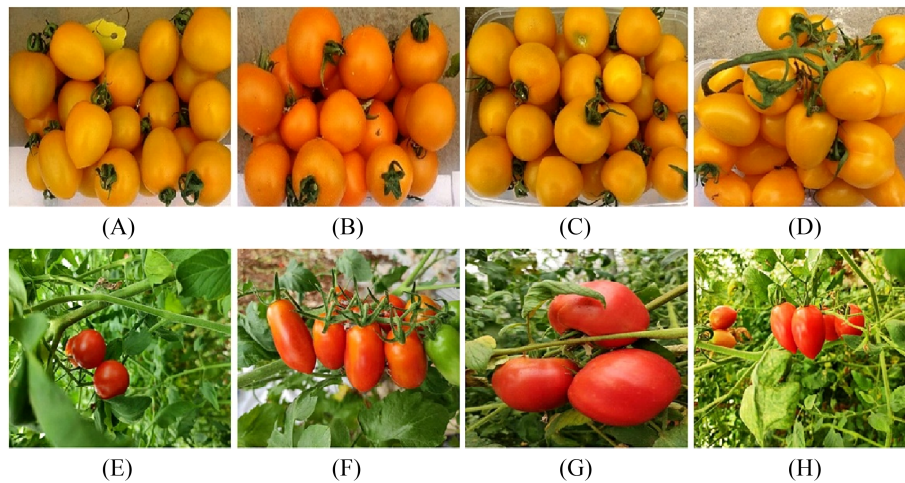


图 1 不同番茄品种果实颜色外观形态特征

Figure 1 The appearance and morphological characteristics of different fruit colors *Solanum lycopersicum* L. varieties. A: Jinniu 101 (Y1); B: Huangxiaoya (Y2); C: Jimei No. 3 (Y3); D: Niumai fanqie (Y4); E: Aili (R1); F: Fengzhu (R2); G: Taotailang (R3); H: Qianxi (R4).

表 1 测序类型与引物序列名称

Table 1 Sequencing type and primer sequence

Primer name	Primer type	Primer sequence (5'→3')	Sequencing platform	Sequencing length/bp
799F	Endophytic bacterial	AACMGGATTAGATACCKG	MiSeq	394
1193R		ACGTCATCCCCACCTTC		

illumina MiSeq 测序: 利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, USA) 将同一样本的 PCR 产物进行回收产物纯化, 混合后使用 2%琼脂糖凝胶进行回收检测, 并用 Quantus™ Fluorometer (Promega, USA)对回收产物进行检测定量。使用 NEXTFLEX® Rapid DNA-Seq Kit 进行建库。

利用 Illumina 公司的 MiSeq PE250 平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。原始数据上传至 NCBI 数据库中进行比对。

1.4 统计分析

数据采用 Excel 2013 和 IBM SPSS Statistics 21 统计软件对试验数据统计分析, 平均数据采用“平均数+标准数(SD)”表示。利用上海美吉生物医药科技有限公司的 I-sanger 云数据分析平

台进行在线数据分析。采用 Shannon 指数和 Simpson 指数^[31], 表征内生细菌多样性, Ace 指数和 Chao1 指数^[32]分析细菌丰富度。

2 结果和分析

2.1 OTU 聚类分析

基于 97%相似度水平对样品序列进行聚类分析发现, 2 种不同果色番茄植株茎部内生细菌共鉴定得出 32 个门、97 个纲、239 个目、418 个科、859 个属、1 488 个种、3 354 个 OTU (operational taxonomic units) (表 2)。其中, 黄色番茄品种不同分类水平数量分别为: 30 门、89 纲、212 目、376 科、756 属、1 275 种、2 865 个 OTU。与之相比, 红色番茄品种不同分类水平数量分别为: 31 门、85 纲、210 目、357 科、715 属、1 183 种

和 2 070 个 OTU (表 2)。由此可知,黄色番茄品种植株茎部内生细菌,除门分类水平外其余不同分类水平数量均高于相应的红色番茄品种。

2.2 多样性指数分析

由表 3 可知,表征植物内生细菌丰富度的 Ace 与 Chao1 指数均表现出黄色番茄品种显著高于红色番茄品种的趋势,但指示内生细菌多样性的 Shannon 指数两者间无显著差异。由此推测,与红色番茄品种相比,黄色番茄品种果实色泽的形成,可能需要更为丰富的植株茎部内生细菌种类数量。

2.3 细菌群落结构分析

2.3.1 不同果色番茄品种植株茎部内生细菌优势门类

门分类水平,黄色与红色番茄品种植株中,占比大于 1%的优势内生细菌门类数量均为 6 个,分别为放线菌门(*Actinobacteriota*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、酸杆菌门(*Acidobacteriota*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*) (图 2)。其中,黄色番茄植株茎部优势内生细菌门分类水平丰度占比

大小顺序依次为:放线菌门(*Actinobacteriota*, 61.68%)>变形菌门(*Proteobacteria*, 23.49%)>厚壁菌门(*Firmicutes*, 8.57%)>绿弯菌门(*Chloroflexi*, 1.35%)>酸杆菌门(*Acidobacteriota*, 1.31%)>拟杆菌门(*Bacteroidota*, 1.21%)和其他(others)门类(2.39%);与之相比,红色番茄植株茎部优势内生细菌门分类水平占比大小顺序依次为:放线菌门(*Actinobacteriota*, 40.18%)>变形菌门(*Proteobacteria*, 39.77%)>厚壁菌门(*Firmicutes*, 13.08%)>酸杆菌门(*Acidobacteriota*, 1.61%)>拟杆菌门(*Bacteroidota*, 1.92%)>绿弯菌门(*Chloroflexi*, 1.34%)和其他(others)门类(2.10%)。

由此可知,与黄色番茄品种相比,红色番茄品种植株茎部中,丰度占比前三位的优势细菌门排序与前者无异,但放线菌门(*Actinobacteriota*)细菌丰度占比下降,由黄色番茄品种的 61.68% 下降到 40.18%;变形菌门(*Proteobacteria*)和厚壁菌门(*Firmicutes*)细菌丰度占总数 2 倍以上,分别由黄色番茄品种的 23.49%和 8.57%升至 39.77%与 13.08%。同时,绿弯菌门、拟杆菌门

表 2 不同果色番茄品种植株茎部内生细菌不同分类水平数量

Table 2 Numbers of endophyte bacteria in stem of different fruit colors *Solanum lycopersicum* L. varieties at different classification levels

Sample	Number of operational taxonomic units (OTU)	Number of different taxonomic categories					
		Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species
Yellow fruit tomato (Y)	2 865	30	89	212	376	756	1 275
Red fruit tomato (R)	2 070	31	85	210	357	715	1 183
Total	3 354	32	97	239	418	859	1 488

表 3 不同果色番茄品种茎部内生细菌的多样性指数

Table 3 Diversity index of endophyte bacteria in stem of different fruit colors *Solanum lycopersicum* L. varieties

Sample	Shannon index	Ace index	Chao1 index	Coverage
Yellow fruit tomato (Y)	3.65±1.67a	1 593.17±412.54a	1 341.11±415.53a	0.98
Red fruit tomato (R)	4.01±1.32a	886.14±180.08b	851.68±200.96b	0.98

Data in the table are means±SD. Values followed by different small letters mean significant difference between endophyte in stem of different fruit colors *Solanum lycopersicum* L. varieties ($P<0.05$).

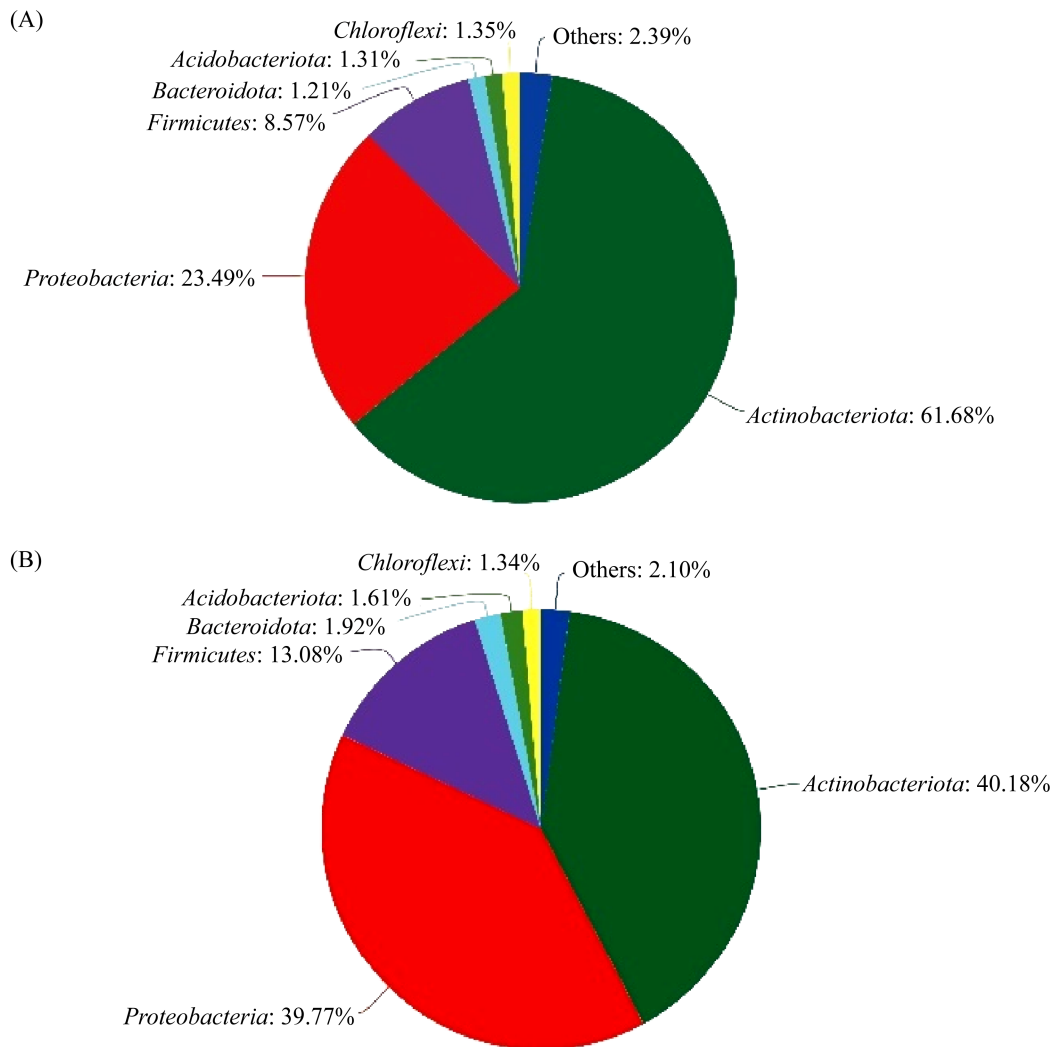


图 2 门分类水平黄色番茄(A)和红色番茄(B)茎部中优势内生细菌丰度占比

Figure 2 Proportion of dominant endophytic bacteria in stem of yellow fruit tomato (Y) and red fruit tomato (R) at phylum level.

和酸杆菌门内生细菌在黄色与红色番茄品种植株茎部中的丰度占比大小及排序亦发生明显变化(图 2A 和 B)。

2.3.2 不同果色番茄品种植株茎部内生细菌优势菌属

黄色与红色番茄植株中, 属分类水平占比大于 1% 的优势内生细菌属分类数量分别为 10 和 16 个(图 3)。

黄色番茄品种植株茎部优势内生细菌属类

别及丰度占比大小顺序分别为: 假诺卡氏菌属 (*Pseudonocardia*, 36.18%)>青枯菌属(*Ralstonia*, 5.77%)>短小杆菌属(*Curtobacterium*, 5.39%)>短杆菌属(*Brevibacterium*, 4.69%)>红球菌属(*Rhodococcus*, 3.96%)>甲基杆菌-甲基罗布氏菌属(*Methylobacterium-Methylorubrum*, 3.22%)>norank_f_Mitochondria (2.42%)>芽孢杆菌属(*Bacillus*, 1.59%)>拟无枝酸菌属(*Amycolatopsis*, 1.18%)>束毛球菌属(*Trichococcus*, 1.15%)。

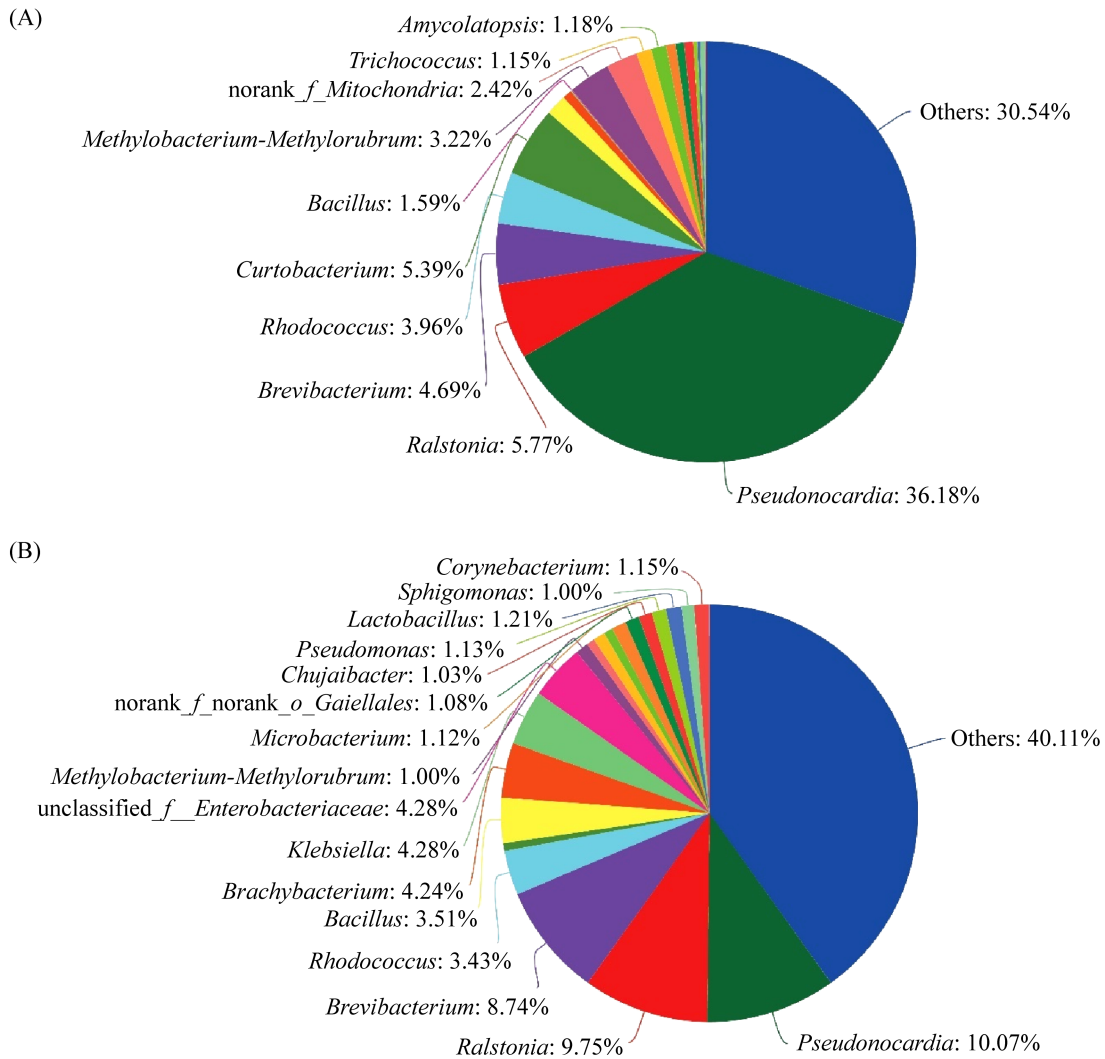


图3 属分类水平黄色番茄(A)和红色番茄(B)植株茎部优势内生细菌丰度占比

Figure 3 Proportion of dominant endophytic bacteria in stem of yellow fruit tomato (A) and red fruit tomato (B) at genus level.

红色番茄品种植株茎部优势内生细菌属类别及丰度占比大小顺序分别为：假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*, 10.07%)>青枯菌属(*Ralstonia*, 9.75%)>短杆菌属(*Brevibacterium*, 8.74%)>未分类大肠杆菌(*unclassified_f_Enterobacteriaceae*, 4.28%)=克雷伯氏菌(*Klebsiella*, 4.28%)>短状杆菌属(*Brachybacterium*, 4.24%)>芽孢杆菌属(*Bacillus*, 3.51%)>红球菌属(*Rhodococcus*, 3.43%)>乳酸杆菌属(*Lactobacillus*, 1.21%)>棒

杆菌属(*Corynebacterium*, 1.15%)>绿脓杆菌属(*Pseudomonas*, 1.13%)>微杆菌属(*Microbacterium*, 1.12%)>*norank_f_norank_o_Gaiellales* (1.08%)>褚氏杆菌属(*Chujaibacter*, 1.03%)>鞘氨醇单胞杆菌属(*Sphigomonas*, 1.00%)和甲基杆菌-甲基罗布氏菌属(*Methylobacterium-Methylorubrum*, 1.00%)。

其中，短状杆菌属(*Brachybacterium*)、未分类大肠杆菌属(*unclassified_f_Enterobacteriaceae*)、

乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*)、棒杆菌属 (*Corynebacterium*)、绿脓杆菌属 (*Pseudomonas*)、微杆菌属 (*Microbacterium*)、norank_f_norank_o_Gaiellales、褚氏杆菌属 (*Chujaibacter*)、鞘氨醇单胞杆菌属 (*Sphigomonas*) 细菌是红色番茄品种植株茎部特有的优势内生细菌属；短小杆菌属 (*Curtobacterium*)、norank_f_Mitochondria、拟无枝酸菌属 (*Amycolatopsis*) 和束毛球菌属 (*Trichococcus*) 是黄色番茄品种植株茎部特有的优势的内生细菌属 (图 3A 和 B)。

2.4 物种 Venn 分析

由图 4A 可知，黄色和红色番茄品种植株茎部共有的内生细菌属为 612 个，而特有的内生细菌属黄色品种为 144 个，红色品种为 103 个；种分类水平，黄色与红色番茄品种植株茎部共有内生细菌种分类水平数量为 970 个，特有的内生细菌种数量黄色品种为 305，红色品种为 213 个 (图 4B)。由这一现象推测：黄色番茄品种果实色泽形成，可能需要比红色品种更为丰富的内生细菌属、种分类水平数量才能有效形成其色泽，但具体的验证工作仍有待进一步

的探究。

2.5 PICRUST 功能预测

基于高通量测序技术和 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 数据库进行比对，发现黄色和红色番茄品种植株茎部内生细菌一级功能层共包含 6 类生物代谢通路 (图 5)。即：代谢 (metabolism)、环境信息处理 (environmental information processing)、细胞过程 (cellular processes)、遗传信息处理 (genetic information processing)、人类疾病 (human diseases) 和有机系统 (organismal systems)。

由图 5 可知，除有机系统通路外，黄色番茄品种植株茎部内生细菌一级功能层的生物功能通路占比均逊于相应的红色番茄品种。其中，代谢 (metabolism) 通路于黄色和红番茄品种中的占比分别为 48.17% 和 51.83%；环境信息处理 (environmental information processing) 通路在黄色和红色番茄品种的占比分别为 43.55% 和 56.45%；细胞过程 (cellular processes) 通路在黄色和红色番茄占比 47.64% 和 52.36%；遗传信息处理 (genetic information processing) 通路在黄色

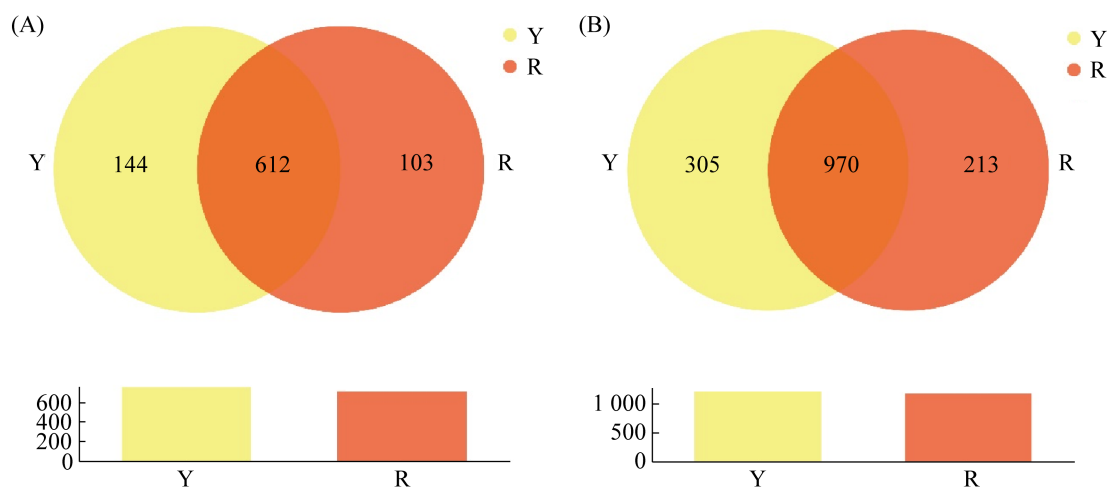


图 4 不同果色番茄植株茎部内生细菌属(A)、种(B)分类水平 Venn 图

Figure 4 Venn diagram of endophytic bacteria at genus (A) and species levels (B) in different tomato colors.

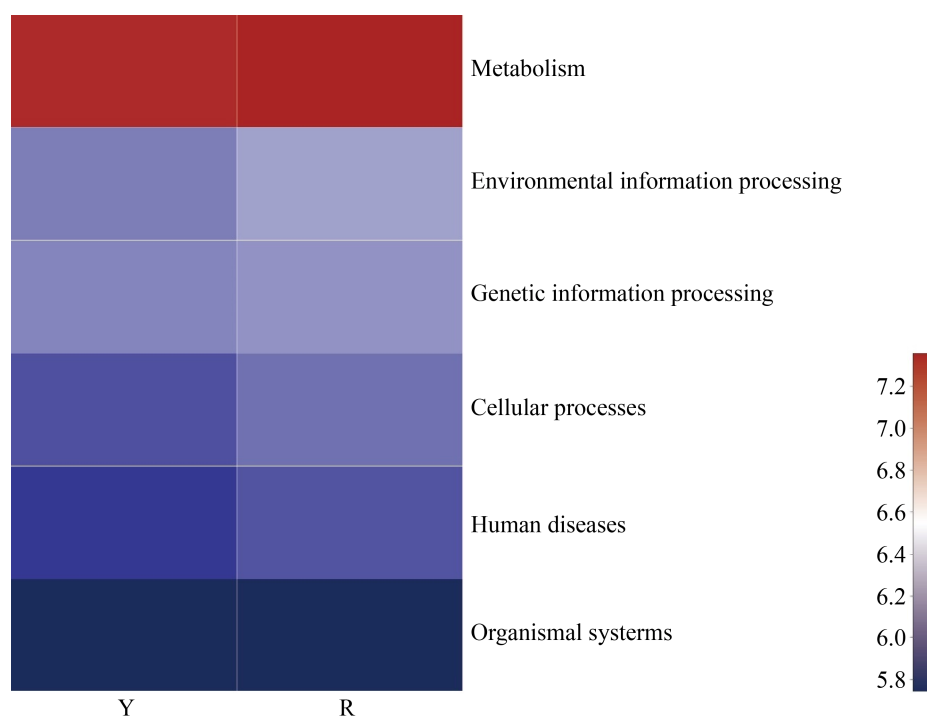


图 5 预测功能基因在不同样品间的差异(一级功能层)

Figure 5 The variation of predicted functional profiles in different samples (hierarchy level 1).

和红色番茄占比分别为 43.86%和 56.14%;人类疾病(human diseases)通路在黄色和红色番茄占比分别为 44.79%和 55.21%;有机系统(organismal systems)通路在黄色和红色番茄占比分别为 50.05%和 49.95%。

另一方面,内生细菌基因二级功能层分析发现,黄色和红色番茄品种植株茎部内生细菌基因二级功能层主要由膜运输(membrane transport)、细胞群落-真核生物(cellular community-eukaryotes)、信号分子与相互作用(signaling molecules and interaction)、循环系统(circulatory system)、耐药性:抗菌(drug resistance: antimicrobial)和细胞运动(cell motility)等 46 个子功能组成(图 6)。

其中,红色番茄品种植株茎部内生细菌的细胞运动(cell motility)、循环系统(circulatory system)、细胞群落-真核生物(cellular community-

eukaryotes)、膜运输(membrane transport)、萜类和生物合成和代谢(metabolism of terpenoids and polyketides)、运输和分解(transport and catabolism)、传染病:细菌(infectious diseases: bacterial)、耐药性:抗菌(drug resistance: antimicrobial)、疾病免疫(immune disease)、物质依赖(excretory system)等 35 个二级功能层预测基因拷贝数均高于相应的黄色番茄品种;但信号分子与相互作用(signaling molecules and interaction)以及感应系统(sensory system)二级功能层预测基因拷贝数数目占比则是黄色番茄品种高于相应的红色品种。

由以上结果可知,虽然黄色与红色番茄品种植株茎部内生细菌基因二级功能层预测基因种类相仿,但基因拷贝数两者间存在显著差异。由此推测,黄色和红色番茄品种间,相异的内生细菌群落组成、丰度及功能

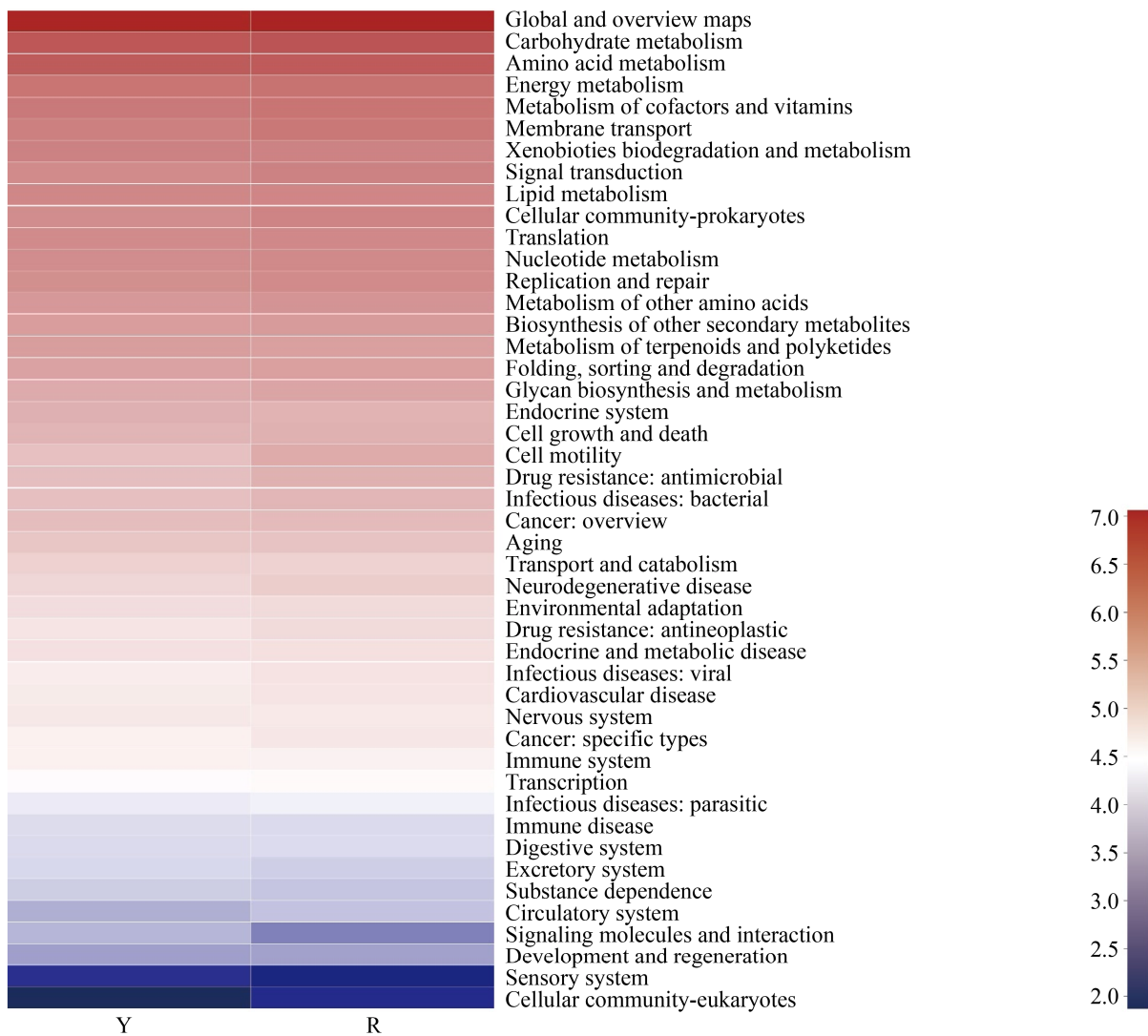


图 6 预测功能基因在不同样品间的差异(二级功能层)

Figure 6 The variation of predicted functional profiles in different samples (hierarchy level 2).

基因种类及丰度占比,可能是使不同果色番茄品种植株内部的合成代谢途径、强度以及营养、激素种类和含量水平产生差异因素之一,进而影响了包括色素在内的代谢产物种类与含量,使不同果色番茄品种呈现不同的果实颜色。

2.6 植株茎部 pH 分析

由图 7 可知,测量不同果色番茄植株茎部

汁液 pH,黄色番茄品种(Y)的茎部汁液 pH 为 $5.48 \pm 0.26b$,红色番茄品种(R)的茎部汁液 pH 为 $5.95 \pm 0.19a$ 。红色番茄品种茎部 pH 显著高于黄色番茄品种。由此推测,不同番茄品种植株茎部 pH 存在显著差异,不仅影响了富集的内生微生物群落组成,而且可能左右了植株内部发生的生理生化反应,从而形成了不同的果实表观颜色。

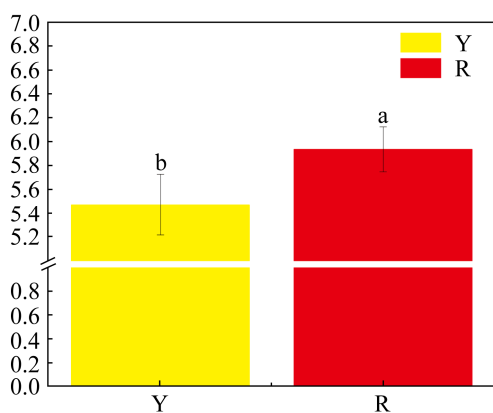


图7 不同果色番茄植株茎部汁液的 pH
Figure 7 pH of different tomato colors.

3 讨论

番茄果实中色素含量的变化导致不同品种果实间存在颜色上的差异^[33], 果实外观颜色主要与叶绿素、胡萝卜素、番茄红素以及花青素等色素种类及含量紧密相关。如, 黄色番茄品种成熟果实中不含番茄红素, 且胡萝卜素含量低于相应的红色番茄品种, 但花青素则高于相应的红色番茄品种; 红色番茄品种成熟果实中胡萝卜素含量高于相应的黄色番茄品种^[34]。

至今的研究已证实, 植物内源激素与色素形成亦存在着紧密的关联。如, 赤霉素(GA)与乙烯对番茄红素的积累呈负相关^[35-36]; 脱落酸(ABA)对 β -胡萝卜素的积累具有正调控效应^[37]。此外, 通过对水稻的研究还发现, 生长素、细胞分裂素等生长促进类植物激素总和与酸杆菌门、绿弯菌门、浮霉菌门细菌呈显著正相关, 与厚壁菌门细菌呈显著负相关; 脱落酸、茉莉酸、水杨酸等抗逆防御类植物激素总和与放线菌门细菌呈显著正相关, 与变形菌门细菌呈显著负相关^[38]。pH会影响花色苷调控果实颜色^[39]。

分析发现, 放线菌门(*Actinobacteriota*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、

绿弯菌门(*Chloroflexi*)、酸杆菌门(*Acidobacteriota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)均是黄色和红色番茄品种植株茎部共有的优势内生细菌门类, 且两者间均是放线菌门细菌占比为最高。其中, 黄色番茄品种植株茎部放线菌门细菌丰度占比达60%以上, 与之相比, 红色番茄品种植株茎部放线菌门细菌丰度占比仅为40%左右。同时, 除放线菌门细菌外, 其他优势细菌门类的丰度占比均是红色番茄品种高于相应的黄色番茄品种。

由此推测, 黄色番茄品种内源激素可能主要以脱落酸、茉莉酸等防御类植物激素为主; 与之相比, 红色番茄品种内源激素可能除了拥有脱落酸、茉莉酸等防御类植物激素外, 同时含有的生长素、细胞分裂素等生长促进类激素可能亦高于相应的黄色番茄品种。简言之, 红色番茄品种植株内源激素种类或含量可能比相应的黄色品种更为丰富与均衡。

另一方面, 研究已发现红球菌属(*Rhodococcus*)、短状杆菌属(*Brachy bacterium*)、微杆菌(*Microbacterium*)属细菌具有可以生产类胡萝卜素^[40-42]; 大肠杆菌可以促进番茄红素的合成^[43-44]。本文分析发现, 与黄色番茄品种相比, 红色番茄品种植株茎部中, 除了拥有与黄色番茄品种一致的假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)、青枯菌属(*Ralstonia*)、短杆菌属(*Brevibacterium*)、红球菌属(*Rhodococcus*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、甲基杆菌-甲基罗布氏菌属(*Methylobacterium-Methylorubrum*)等6个共有优势细菌属外, 还拥有短状杆菌属(*Brachy bacterium*)和微杆菌属(*Microbacterium*)、番茄红素[未分类大肠杆菌 *unclassified_f_Enterobacteriaceae*]等特有优势细菌属。红色番茄品种植株中富含产类胡萝卜素、番茄红素功能的特有优势内生细菌属, 可能是红色番茄品种成熟果实呈现红色的重要原因。

此外, PICRUST 功能预测分析方法已经在不同植物细菌功能研究中广泛应用^[45], 利用与 KEGG 数据库进行比对将生物功能与为微生物变化情况相结合, 为研究微生物生态功能提供帮助^[46-48]。本研究发现黄色和红色番茄品种植株茎部内生细菌, 虽然拥有相仿的基因一级功能层代谢通路, 但黄色番茄品种植株茎部内生细菌的生物功能通路占比, 除有机系统外, 均逊于相应的红色番茄品种。同时, 黄色和红色番茄品种植株茎部内生细菌基因共有的 46 个二级功能层, 除信号分子与相互作用(signaling molecules and interaction)以及感应系统(sensory system)外, 红色番茄品种植株茎部内生细菌基因二级功能层, 包括循环系统(circulatory system)、膜运输(membrane transport)、萜类和生物合成代谢(metabolism of terpenoids and polyketides)、运输和分解(transport and catabolism)等 35 个二级功能层预测基因拷贝数均高于相应的黄色番茄品种。这一现象表明, 红色番茄品种植株茎部中的内生细菌, 拥有比相应黄色番茄品种更强的合成与代谢功能, 进而诱导形成了比黄色品种更为多样且含量更高的酶类或内源激素环境。

另一方面, 分析发现, 黄色番茄品种植株汁液的 pH 为 5.22-5.74, 而红色番茄品种植株汁液 pH 为 5.76-6.14, 且两个品种植株汁液 pH 存在显著差异。由此推测, 不同果色番茄品种植株, 控制番茄果色形成基因可能通过调控合成与代谢产物, 调控植株汁液 pH、内含物等内部环境条件, 影响花色苷合成调控果实颜色外, 形成特异的植株内部环境条件, 并富集形成特异的特异优势内生细菌门、属组成。由此推断不同果实颜色番茄植株茎部中, 由于富集了具有不同生理功能的特异优势内生细菌属, 形成了植株茎部中种类和含量不同的酶类或内源激素环

境, 进而影响了植物基因的表达而呈现不同的果实颜色。

4 结论

果实颜色分别为红色和黄色番茄品种植株茎部中, 短状杆菌属(*Brachy bacterium*)、未分类大肠杆菌(*unclassified_f_Enterobacteriaceae*)、乳酸杆菌(*Lactobacillus*)、棒杆菌属(*Corynebacterium*)、绿脓杆菌属(*Pseudomonas*)、微杆菌属(*Microbacterium*)、*norank_f_norank_o_Gaiellales*、褚氏杆菌属(*Chujaibacter*)、鞘氨醇单胞杆菌属(*Sphigomonas*)细菌是红色番茄品种植株茎部特有的优势内生细菌属; 短小杆菌属(*Curtobacterium*)、*norank_f_Mitochondria*、拟无枝酸菌属(*Amycolatopsis*)和束毛球菌属(*Trichococcus*)则是黄色番茄品种植株茎部特有的优势的内生细菌属。此外, 果实颜色为红色的番茄品种植株茎部中, 拥有比黄色番茄品种更为丰富的内生细菌基因功能。番茄果色形成受植物内源激素的影响, 而不同内源激素的产生来源于包括细菌在内的不同种属微生物; 不同果色番茄植株茎部拥有各自特异的内生细菌属。由此推断, 番茄果实颜色形成与植株内生细菌的群落组成与功能紧密相关。

参考文献

- [1] Ranc N, Muños S, Santoni S, Causse M. A clarified position for *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* in the evolutionary history of tomatoes (Solanaceae). *BMC Plant Biology*, 2008, 8(1): 130.
- [2] 彭浩然, 潘琪, 魏周玲, 蒲运丹, 张永至, 吴根土, 青玲, 孙现超. 番茄抗性相关基因 *SlHin1* 的克隆、表达与抗病毒功能. *中国农业科学*, 2017, 50(7): 1242-1251.
Peng HR, Pan Q, Wei ZL, Pu YD, Zhang YZ, Wu GT, Qing L, Sun XC. Cloning, expression and antiviral function analysis of tomato resistance-related gene

- SlHin1. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(7): 1242–1251. (in Chinese)
- [3] 潘琪, 刘旭旭, 彭浩然, 蒲运丹, 张永至, 叶思涵, 吴根土, 青玲, 孙现超. 番茄 SYTA 的克隆及表达分析. *中国农业科学*, 2017, 50(15): 2936–2945.
Pan Q, Liu XX, Peng HR, Pu YD, Zhang YZ, Ye SH, Wu GT, Qing L, Sun XC. Cloning, expression analysis of *Solanum lycopersicum* SYTA. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(15): 2936–2945. (in Chinese)
- [4] Breksa AP, Robertson LD, Labate JA, King BA, King DE. Physicochemical and morphological analysis of ten tomato varieties identifies quality traits more readily manipulated through breeding and traditional selection methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2015, 42: 16–25.
- [5] 吴浪, 赵菁菁, 罗佳伟, 王晨, 李方曼, 李云洲, 张颜, 梁燕. 番茄绿果与橙果间果实颜色及主要色素含量的遗传研究. *中国蔬菜*, 2017(3): 29–37.
Wu L, Zhao JJ, Luo JW, Wang C, Li FM, Li YZ, Zhang Y, Liang Y. Studies on inheritance of fruit color and major pigment contents between green and orange of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *China Vegetables*, 2017(3): 29–37. (in Chinese)
- [6] 刘昕, 陈韵竹, Kim Pyol, Kim Min-Jun, Song Hyondok, 李玉花, 王宇. 番茄果实颜色形成的分子机制及调控研究进展. *园艺学报*, 2020, 47(9): 1689–1704.
Liu X, Chen YZ, Kim P, Kim MJ, Song H, Li YH, Wang Y. Progress on molecular mechanism and regulation of tomato fruit color formation. *Acta Horticulturae Sinica*, 2020, 47(9): 1689–1704. (in Chinese)
- [7] Liu YS, Roof S, Ye ZB, Barry C, van Tuinen A, Vrebalov J, Bowler C, Giovannoni J. Manipulation of light signal transduction as a means of modifying fruit nutritional quality in tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(26): 9897–9902.
- [8] Mazzucato A, Willems D, Bernini R, Picarella ME, Santangelo E, Ruiu F, Tilesi F, Soressi GP. Novel phenotypes related to the breeding of purple-fruited tomatoes and effect of peel extracts on human cancer cell proliferation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 72: 125–133.
- [9] Petric T, Kiferle C, Perata P, Gonzali S. Optimizing shelf life conditions for anthocyanin-rich tomatoes. *PLoS ONE*, 2018, 13(10): e0205650.
- [10] 蒲高斌, 刘世琦, 杜洪涛, 刘磊. 光质对番茄果实转色期品质变化的影响. *中国农学通报*, 2005, 21(4): 176–178, 187.
Pu GB, Liu SQ, Du HT, Liu L. Effect of light quality on tomato fruit qualities in turning-color period. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(4): 176–178, 187. (in Chinese)
- [11] Lurie S, Handros A, Fallik E, Shapira R. Reversible inhibition of tomato fruit gene expression at high temperature (effects on tomato fruit ripening). *Plant Physiology*, 1996, 110(4): 1207–1214.
- [12] Ito Y, Nishizawa-Yokoi A, Endo M, Mikami M, Shima Y, Nakamura N, Kotake-Nara E, Kawasaki S, Toki S. Re-evaluation of the rin mutation and the role of RIN in the induction of tomato ripening. *Nature Plants*, 2017, 3(11): 866–874.
- [13] Karlova R, Rosin FM, Busscher-Lange J, Parapunova V, Do PT, Fernie AR, Fraser PD, Baxter C, Angenent GC, de Maagd RA. Transcriptome and metabolite profiling show that APETALA2a is a major regulator of tomato fruit ripening. *The Plant Cell*, 2011, 23(3): 923–941.
- [14] Ma Y, Szostkiewicz I, Korte A, Moes D, Yang Y, Christmann A, Grill E. Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors. *Science*, 2009, 324(5930): 1064–1068.
- [15] Sun L, Wang YP, Chen P, Ren J, Ji K, Li Q, Li P, Dai SJ, Leng P. Transcriptional regulation of SIPYL, SIPP2C, and SlSnRK2 gene families encoding ABA signal core components during tomato fruit development and drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(15): 5659–5669.
- [16] 翁倩, 周宝利, 于洋, 付亚文. 外源 ABA、BR 和 ETH 对番茄果实番茄红素含量的影响. *沈阳农业大学学报*, 2007, 38(6): 784–787.
Weng Q, Zhou BL, Yu Y, Fu YW. Effects of exogenous ABA, BR, ETH on changes of lycopene's contents in fruit of tomato. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2007, 38(6): 784–787. (in Chinese)
- [17] Liu L, Wei J, Zhang M, Zhang L, Li C, Wang Q. Ethylene independent induction of lycopene biosynthesis in tomato fruits by jasmonates. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(16): 5751–5761.
- [18] 于洋. 外源 GA₃ 和 ABA 对番茄果实主要色素形成的影响及生理机制研究. 沈阳农业大学博士学位论文, 2016.
- [19] 龙锡, 严希, 洪佳丽, 梁宗锁, 陈海敏. 植物种子内生菌的研究进展. *浙江农业科学*, 2016, 57(8): 1319–1324.

- Long X, Yan X, Hong JL, Liang ZS, Chen HM. Research advances on endophytic bacteria of plant seeds. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2016, 57(8): 1319–1324. (in Chinese)
- [20] Zhang Y, Yu XX, Zhang WJ, Lang DY, Zhang XJ, Cui GC, Zhang XH. Interactions between endophytes and plants: beneficial effect of endophytes to ameliorate biotic and abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Biology*, 2019, 62(1): 1–13.
- [21] Emami S, Alikhani HA, Pourbabaee AA, Etesami H, Sarmadian F, Motessharezadeh B. Effect of rhizospheric and endophytic bacteria with multiple plant growth promoting traits on wheat growth. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(19): 19804–19813.
- [22] Ali S, Charles TC, Glick BR. Endophytic phytohormones and their role in plant growth promotion In: Doty SL (ed). *Functional importance of the plant microbiome*. Springer, Berlin, 2017: 89–105.
- [23] Glick BR. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, 2012: 963401.
- [24] Shahzad R, Khan AL, Bilal S, Waqas M, Kang SM, Lee IJ. Inoculation of abscisic acid-producing endophytic bacteria enhances salinity stress tolerance in *Oryza sativa*. *Environmental and Experimental Botany*, 2017, 136: 68–77.
- [25] Cohen AC, Travaglia CN, Bottini R, Piccoli PN. Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic *Azospirillum* in the alleviation of drought effects in maize. *Botany*, 2009, 87(5): 455–462.
- [26] Glick BR. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 2014, 169(1): 30–39.
- [27] Khan AL, Waqas M, Kang SM, Al-Harrasi A, Hussain J, Al-Rawahi A, Al-Khiziri S, Ullah I, Ali L, Jung HY, Lee IJ. Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *Journal of Microbiology*, 2014, 52(8): 689–695.
- [28] 庞师婵, 郭霜, 任奎瑜, 王帅帅, 杨尚东. 番茄/茄子嫁接对其根际土壤生物学性状及细菌群落结构的影响. *园艺学报*, 2020, 47(2): 253–263.
Pang SC, Guo S, Ren KY, Wang SS, Yang SD. Impact of grafting on soil microbial properties and bacterial community structure in tomato rhizosphere. *Acta Horticulturae Sinica*, 2020, 47(2): 253–263. (in Chinese)
- [29] Liang J, Zhang J, Wong MH. Stomatal conductance in relation to xylem sap abscisic acid concentrations in two tropical trees, *Acacia confusa* and *Litsea glutinosa*. *Plant, Cell & Environment*, 1996, 19(1): 93–100.
- [30] Borel C, Simonneau T. Is the ABA concentration in the sap collected by pressurizing leaves relevant for analysing drought effects on stomata? Evidence from ABA-fed leaves of transgenic plants with modified capacities to synthesize ABA. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53(367): 287–296.
- [31] Simpson EH. Measurement of diversity. *Nature*, 1949, 163(4148): 688.
- [32] Chao A, Wang WH, Chen YC. Estimating the number of shared species in two communities. *Statistica Sinica*, 2000, 10(1): 227–246.
- [33] 孟凡娟, 许向阳, 李景富. 番茄果实色素含量和表面颜色相关性研究. *东北农业大学学报*, 2006, 37(4): 459–462.
Meng FJ, Xu XY, Li JF. Study on correlation of the tomato fruit's pigment content and surface colour. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2006, 37(4): 459–462. (in Chinese)
- [34] 阮美颖, 叶青静, 周国治, 王荣青, 姚祝平, 李志邈, 万红建, 杨悦俭. 不同颜色樱桃番茄果实成熟过程中色素的变化. *浙江农业科学*, 2013, 54(5): 526–528.
Ruan MY, Ye QJ, Zhou GZ, Wang RQ, Yao ZP, Li ZM, Wan HJ, Yang YJ. Changes in pigmentation of cherry tomato fruits of different colours during ripening. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2013, 54(5): 526–528. (in Chinese)
- [35] 豆峻岭, 路绪强, 刘文革, 袁平丽, 赵胜杰, 何楠, 朱红菊, 高磊, 姬万丽. 发育过程中不同倍性西瓜果实番茄红素合成基因表达及内源激素合成差异的研究. *中国瓜菜*, 2019, 32(8): 157.
Dou JL, Lu XQ, Liu WG, Yuan PL, Zhao SJ, He N, Zhu HJ, Gao L, Ji WL. Effect of ploidy level on expression of lycopene biosynthesis genes and accumulation of phytohormones during watermelon (*Citrullus lanatus*) fruit development and ripening. *China Cucurbits and Vegetables*, 2019, 32(8): 157. (in Chinese)
- [36] Gao HY, Zhu HL, Shao Y, Chen AJ, Lu CW, Zhu BZ, Luo YB. Lycopene accumulation affects the biosynthesis of some carotenoid-related volatiles independent of ethylene in tomato. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2008, 50(8): 991–996.

- [37] 王贵元, 夏仁学. 红肉脐橙果实发育过程中番茄红素、 β -胡萝卜素、糖、GA、ABA 含量的变化. *园艺学报*, 2005, 32(3): 482–485.
Wang GY, Xia RX. Changes in the contents of lycopene, beta-carotene, sugar and endogenous GA and ABA in flesh during the fruit development of ‘Cara Cara’ Orange. *Acta Horticulturae Sinica*, 2005, 32(3): 482–485. (in Chinese)
- [38] 卢玉秋. 微生物群落对作物生长及植物激素的影响. 中国农业科学院硕士学位论文, 2019.
- [39] Feng J, Jiang LL, Zhang JL, Zheng H, Sun YF, Chen SN, Yu ML, Hu W, Shi DF, Sun XH, Lu HF. Nondestructive determination of soluble solids content and pH in red bayberry (*Myrica rubra*) based on color space. *Journal of Food Science and Technology*, 2020, 57(12): 4541–4550.
- [40] 张勇, 吴刚, 杨宝玉, 陈士云, 宋冬林. 一株产类胡萝卜素细菌的分离与鉴定. *水生生物学报*, 2005, 29(2): 206–209.
Zhang Y, Wu G, Yang BY, Chen SY, Song DL. Isolation and identification of one carotenoid-producing bacterium. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, 29(2): 206–209. (in Chinese)
- [41] 陈亚淑, 汪荣, 谢笔钧, 杨季芳, 陈吉刚, 孙智达. 北极海洋红球菌(*Rhodococcus* sp.) B7740 产类胡萝卜素的提取条件优化及甲基萘醌类胡萝卜素鉴定. *食品科学*, 2016, 37(2): 25–30.
Chen YS, Wang R, Xie BJ, Yang JF, Chen JG, Sun ZD. Optimization of extraction of carotenoids and identification of menaquinone carotenoids from *Rhodococcus* sp. B7740. *Food Science*, 2016, 37(2): 25–30. (in Chinese)
- [42] Giuffrida D, Monnet C, Laurent F, Cacciola F, Oteri M, Le Piver M, Caro Y, Donato P, Mondello L, Roueyre D, Dufossé L. Carotenoids from the ripening bacterium *Brevibacterium linens* impart color to the rind of the French cheese, Fourme de Montbrison (PDO). *Natural Product Research*, 2020, 34(1): 10–15.
- [43] Wang ZB, Sun JX, Yang Q, Yang JM. Metabolic engineering *Escherichia coli* for the production of lycopene. *Molecules*, 2020, 25(14): 3136.
- [44] Liu L, Wei J, Zhang M, Zhang L, Li C, Wang Q. Ethylene independent induction of lycopene biosynthesis in tomato fruits by jasmonates. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(16): 5751–5761.
- [45] Jiang LF, Song MK, Yang L, Zhang DY, Sun YT, Shen ZG, Luo CL, Zhang G. Exploring the influence of environmental factors on bacterial communities within the rhizosphere of the Cu-tolerant plant, *Elsholtzia splendens*. *Scientific Reports*, 2016, 6: 36302.
- [46] 谢红炼, 汪汉成, 蔡刘体, 周浩, 刘畅, 陆宁, 史彩华, 王香萍. 烟草种子内生细菌群落结构与多样性. *微生物学报*, 2020, 60(3): 601–616.
Xie HL, Wang HC, Cai LT, Zhou H, Liu C, Lu N, Shi CH, Wang XP. Community structure and diversity of endophytic bacteria of tobacco seeds. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(3): 601–616. (in Chinese)
- [47] 马欣, 罗珠珠, 张耀全, 刘家鹤, 牛伊宁, 蔡立群. 黄土高原雨养区不同种植年限紫花苜蓿土壤细菌群落特征与生态功能预测. *草业学报*, 2021, 30(3): 54–67.
Ma X, Luo ZZ, Zhang YQ, Liu JH, Niu YN, Cai LQ. Distribution characteristics and ecological function predictions of soil bacterial communities in rainfed alfalfa fields on the Loess Plateau. *Acta Prataculturae Sinica*, 2021, 30(3): 54–67. (in Chinese)
- [48] Wu ZX, Hao ZP, Sun YQ, Guo LP, Huang LQ, Zeng Y, Wang Y, Yang L, Chen BD. Comparison on the structure and function of the rhizosphere microbial community between healthy and root-rot *Panax notoginseng*. *Applied Soil Ecology*, 2016, 107: 99–107.

(本文责编 张晓丽)