



园林植物女贞不同生态位细菌群落结构及其多样性

李斌^{1,2}, 史鸿翔³, 刘兰兰³, 张欣¹, 杨璞¹, 陈航¹, 冯颖¹, 陈晓鸣^{1*}

- 1 中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 国家林业和草原局资源昆虫培育与利用重点实验室, 云南 昆明 650224
- 2 南京林业大学林学院, 江苏 南京 210037
- 3 西南林业大学生物多样性保护学院, 云南 昆明 650224

李斌, 史鸿翔, 刘兰兰, 张欣, 杨璞, 陈航, 冯颖, 陈晓鸣. 园林植物女贞不同生态位细菌群落结构及其多样性. 微生物学报, 2022, 62(2): 686–702.

Li Bin, Shi Hongxiang, Liu Lanlan, Zhang Xin, Yang Pu, Chen Hang, Feng Ying, Chen Xiaoming. Structure and diversity of bacterial community in different niches of garden plant *Ligustrum lucidum* Ait.. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(2): 686–702.

摘要:【目的】女贞是我国分布广泛的园林绿化树种、药用植物和资源昆虫白蜡虫的优良寄主植物, 解析女贞叶、茎、根、根际土壤 4 种生态位的细菌群落结构、物种组成和多样性特征, 为研究女贞及其相关微生物组的互作及开发利用女贞内生和根际细菌资源奠定基础。【方法】以女贞叶、茎、根、根际土壤为研究材料, 基于细菌 16S rRNA 基因 V5–V7 区, 通过 Illumina MiSeq 扩增子高通量测序和生物信息学分析, 比较女贞不同生态位细菌群落结构、物种组成、功能的差异性和相似性。【结果】女贞 4 种样本共获得 168 229 条有效序列, 聚类后共计 977 个 OTU, 归属于 23 门, 54 纲, 138 目, 227 科和 399 属。不同生态位细菌群落多样性从根际土壤到根、茎、叶自下而上逐渐降低, Shannon 指数分别为 4.514、3.856、2.704 和 1.908。β-多样性分析表明, 女贞 4 种生态位细菌群落结构存在显著差异($R=0.842\ 6$, $P<0.05$), 而叶与茎($R=0.481\ 5$, $P>0.05$)、根与根际土壤($R=0.888\ 9$, $P>0.05$)的细菌群落结构相对较为相似。在物种组成上, 根、茎和叶内生细菌群落中相对丰度较高的为变形菌门和放线菌门, 根际土壤中相对丰度较高的为绿弯菌门; 在属水平上, 女贞核心菌群主要包括红球菌属、马赛菌属、鞘氨醇单胞菌属、伯克氏菌属、慢生根瘤菌属和热酸菌属, 其中伯克氏菌属、慢生根瘤菌属等为植物益生菌资源。功能预测结果显示, 不同生态位细菌群落的功能以化能异养为主, 地上部分(叶、茎)菌群主要在碳、氮循环中发挥作

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(CAFYBB2019SZ005, CAFYBB2017ZB005)

Supported by the Central Non-Profit Research Institution of CAF (CAFYBB2019SZ005, CAFYBB2017ZB005)

*Corresponding author. Tel: +86-871-63860019; E-mail: cafcxm@139.com

Received: 26 May 2021; Revised: 4 September 2021; Published online: 26 September 2021

用, 而地下部分(根和根际土壤)菌群主要行使与氮循环相关的功能。【结论】女贞不同生态位的细菌群落多样性自下而上呈现过滤选择机制, 不同样本细菌群落结构生态位分化特征明显, 在物种组成上存在植物区室特异性。女贞相关微生物群中存在多种植物益生菌, 值得进一步研究和开发利用。

关键词: 女贞; 植物内生细菌; 根际细菌; 群落结构; 多样性; 生态位分化; 功能预测

Structure and diversity of bacterial community in different niches of garden plant *Ligustrum lucidum* Ait.

LI Bin^{1,2}, SHI Hongxiang³, LIU Lanlan³, ZHANG Xin¹, YANG Pu¹, CHEN Hang¹, FENG Ying¹, CHEN Xiaoming^{1*}

1 Key Laboratory of Cultivating and Utilization of Resources Insects of National Forestry and Grassland Administration, Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650224, Yunnan, China

2 College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China

3 College of Biodiversity Conservation and Utilization, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China

Abstract: [Objective] *Ligustrum lucidum* Ait., a plant with landscaping and medical values as well as an excellent host plant for the resource insect *Ericerus pela*, is widely distributed in China. This study aims to investigate the community structure, species composition, and diversity of bacteria in four niches (leaf, stem, root, and rhizosphere soil) of *L. lucidum*, and to lay a foundation for the interaction between *L. lucidum* and its associated microbiota, so as to provide a scientific basis for exploiting and utilizing endophytic and rhizospheric bacterial resources. [Methods] The leaf, stem, root, and rhizosphere soil samples of *L. lucidum* were collected, and the V5–V7 region of bacterial 16S rRNA gene was sequenced with the Illumina MiSeq platform. The bacterial community structure, species composition, and function in different niches were compared with bioinformatics tools. [Results] The high-throughput sequencing generated 168 229 valid sequences for the four samples of *L. lucidum*. A total of 977 OTUs were annotated, belonging to 23 phyla, 54 classes, 138 orders, 227 families, and 399 genera. The bacterial community diversity decreased gradually in the order of rhizosphere soil, root, stem, and leaf, with the Shannon indexes of 4.514, 3.856, 2.704, and 1.908, respectively. The β -diversity analysis indicated that there were significant differences in bacterial community structure among four niches ($R=0.842\ 6$, $P<0.05$). The bacterial community structure was similar between leaf and stem ($R=0.481\ 5$, $P>0.05$) as well as between root and rhizosphere soil ($R=0.888\ 9$, $P>0.05$). At the level of phylum, *Proteobacteria* and *Actinobacteriota* were dominant in leaf, stem, and root, while *Chloroflexi* had the highest relative abundance in rhizosphere soil. The dominant genera mainly included *Rhodococcus*, *Massilia*, *Sphingomonas*, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, and *Acidothermus*, some of which, like *Bradyrhizobium* and *Burkholderia*, were plant probiotics. Chemoheterotrophy was the predominant function in each niche. The bacterial community in the aboveground part (leaf and stem) mainly played a role in carbon and hydrogen cycle, while that in the underground part (root and

rhizosphere soil) mainly played a role in nitrogen cycle. **[Conclusion]** The bacterial community diversity in different niches of *L. lucidum* showed a selective filtration mechanism from bottom to top. The niche differentiation of bacterial community structure was obvious in different samples, and plant compartment specificity existed in species composition. There were a variety of plant probiotics in *L. lucidum*-associated microbiota, which were worthy of further study and utilization.

Keywords: *Ligustrum lucidum* Ait.; endophytic bacteria; rhizospheric bacteria; community structure; diversity; niche differentiation; function prediction

生态位被定义为影响栖息地内某一物种的生物和环境因素的总和, 包括一个物种如何利用这个环境^[1]。在一个植物器官上的群落环境中, 某一特定微生物成员种群的建立被视为生态位定殖(niche colonization)^[2]。植物并不是一个孤立的有机体, 在其组织内部和表面, 栖息着各种各样的微生物, 包括细菌、古菌、真菌、原生生物、病毒等, 将植物及其相关微生物群的整体称为植物共生功能体(plant holobiont)^[3]。通常将植物内生细菌(endophytic bacteria)定义为部分或全部生命周期定殖于植物组织内部的细菌^[4], 这些细菌对植物存在有利、中性或有害的影响。根据内生菌与宿主植物相互作用的关系可以将其分为互利共生(mutualism)、偏利共生(commensalism)和寄生(parasitism)内生菌^[4]。研究表明, 植物内生菌与植物生长发育、适应性和抗逆性等密切相关, 并且发现内生菌的功能受宿主类型和环境因子的影响^[2]。此外, 植物内生菌的次生代谢产物是抗癌、抗氧化、抗病毒、抑菌、杀虫等药物的重要来源^[5-6]。

根际(rhizosphere)通常指包围根且受根系影响的薄层土壤^[7], 根际土壤中富含根际沉积物(rhizodeposits), 包括根系释放的营养物、分泌物、边缘细胞、黏液等, 这些物质可吸引土壤中的细菌、真菌、卵菌、病毒、古菌、原生生物等土壤微生物在根际栖息繁殖^[2,7]。根际微生物被视为植物的第二基因组, 在促进植物生长、健康、营养获取、胁迫耐受和生物地球化

学循环中发挥着关键作用^[7-8]。近年来, 随着合成群落(SynComs)这一合成生物学技术的推广应用, 植物相关微生物群作为一种绿色资源, 减少了农林业生产活动中对农药化肥的依赖, 同时在作物育种、植物修复、促进环境友好型可持续发展中扮演着重要角色^[9-11]。

女贞(*Ligustrum lucidum* Ait.)是木犀科(Oleaceae)一种常绿乔木或灌木, 又名大叶女贞、蜡树等, 果(女贞子)可入药, 具有耐旱、耐寒、抗污染、降低空气 PM (particulate matter) 等优良特性^[12-13], 在我国主要分布于长江流域及南方各省, 常作行道树、孤植树等种植。此外, 女贞还具有较强的重金属离子积累和转运能力, 在污染土壤的生物修复和指示空气污染物的应用中具有巨大潜力^[13]。长期以来, 女贞还作为我国重要资源昆虫白蜡虫(*Ericerus pela*)的优良寄主, 在虫白蜡的生产中发挥着关键基础性作用^[14]。

近年来, 不依赖培养的下一代测序技术(包括 16S rRNA 基因扩增子测序、宏基因组测序等)极大拓展了人们对存在于植物体内、表面及周围环境中微生物类群的认识^[15]。然而, 目前从整个植株水平上研究植物不同生态位细菌群落结构组成、多样性的植物数量有限, 多集中于拟南芥(*Arabidopsis*)、甘蔗(*Saccharum officinarum*)、美洲黑杨(*Populus deltoides*)、构树(*Broussonetia papyrifera*)、黑果枸杞(*Lycium ruthenicum*)等物种^[16-20]。本研究以女贞为研究

对象, 基于 16S rRNA 基因扩增子测序, 系统分析女贞不同生态位(叶、茎、根、根际土壤)的细菌群落结构、多样性、物种组成的相似性和差异性, 旨在为林木微生物组研究提供参考, 同时为研究女贞-细菌相互作用和开发利用女贞内生和根际细菌资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

5 年生女贞取自云南省昆明市平顶山白蜡虫种质资源基地女贞人工纯林(25°04' N, 102°48' E), 平均海拔 2 190 m, 位于昆明市东北郊的金殿国家森林公园, 属亚热带高原山地季风气候, 土壤类型为山地红壤, 年平均气温 15 °C 左右, 年平均降水量约 1 030 mm, 蒸发量约为 1 870 mm^[21]。

1.2 样品采集和表面无菌化处理

2020 年 7 月, 在上述研究区内相距 30 m, 选择 3 株健康且株型一致的女贞植株(平均株高 2.14 m, 平均地径 8.65 cm), 分别收获叶、茎(一年生)、根和根际土壤(经检测, 取样土壤平均 pH 为 4.76, 平均温度为 20.3 °C, 平均湿度为 25.6%), 采集根际土壤时, 用无菌刷刷取根面附着的薄层土壤, 并过 2 mm 无菌筛网后置于无菌 EP 管中, 立即保存于干冰中, 用于后续 DNA 的抽提。采集的叶、茎、根先置于 4 °C 保温冰盒内, 并在 12 h 内带回实验室, 进行表面无菌化处理: 流水洗净表面泥土, 无菌吸水纸擦干, 无菌水振荡漂洗数次至洗涤液无色后, 置于 75%乙醇中浸泡 2 min, 2.5% NaClO (含 0.1% Tween80)溶液浸泡 5 min 后转移至 75%乙醇中浸泡 30 s, 最后用无菌水冲洗 3 次, 液氮速冻, 最后一次无菌水洗涤液经涂板检测无菌后, 于无菌条件下进行 DNA 的提取^[16,20]。每种样品 3 个重复, 叶内圈(leaf endosphere)、茎

内圈(stem endosphere)、根内圈(root endosphere)和根际土壤(rhizosphere soil)分别记为 LE、SE、RE 和 RS。

1.3 总 DNA 提取和 PCR 扩增测序

样本 DNA 的提取与扩增测序均由美吉生物(上海)微生态事业部完成。根据 FastDNA[®] SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals)说明书进行微生物群落总 DNA 抽提, 使用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的提取质量, 使用 NanoDrop2000 测定 DNA 浓度和纯度; 质检合格后, 使用第一轮扩增引物 799F (5'-AACMGGATTAGATA CCKG-3')和 1392R (5'-ACGGCGGTGTGTR C-3')和第二轮扩增引物 799F (5'-AACMGGATT AGATACCCKG-3')和 1193R (5'-ACGTCATCCC CACCTTCC-3')^[20]对 16S rRNA 基因 V5-V7 可变区进行 PCR 扩增, PCR 试验使用 ABI GeneAmp[®] 9700 型 PCR 仪, 采用 TransGen AP221-02: TransStart Fastpfu DNA Polymerase, 20 μL 反应体系, 每样本 3 次重复。扩增程序如下: 95 °C 预变性 3 min, 第一轮引物 27 个循环, 第二轮引物 13 个循环(95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s), 然后 72 °C 稳定延伸 10 min, 最后 4 °C 保存。PCR 产物经回收、纯化、定量检测合格后, 使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit (Bioo Scientific, USA)进行建库, 利用 Illumina MiSeq PE300 平台进行测序。原始数据上传至 NCBI SRA 数据库(序列号: PRJNA732293)。

1.4 测序数据处理及生物信息学分析

分别使用 fastp (0.19.6)^[22]和 FLASH (1.2.11)^[23]软件对原始测序序列进行质控和拼接, 获得优化后的有效序列。然后使用 UPARSE^[24]软件, 将相似度大于 97%的有效序列聚类为一个细菌 OTU (operational taxonomic unit) (未培养), 并剔除嵌合体。采用 RDP classifier^[25]贝叶斯算法

对 OTU 代表序列进行物种分类注释, 通过比对 Silva 16S rRNA 数据库(v138), 设置比对分类置信度阈值为 0.7, 生成 OTU 分类统计表。按最小样本序列数抽平后, 使用 Mothur (v1.30.1)^[26]软件计算各样本的 α 多样性指数并进行 Student's *t* 检验, 根据 Shannon 指数绘制稀释曲线; 采用 R 语言统计和绘图, 分析不同样品门、纲、属水平上的物种组成情况; 利用 QIIME 软件计算 β 多样性 Bray-Curtis 距离矩阵, 使用非加权组平均法(UPGMA)构建样本等级聚类树, 并进行相似性分析(ANOSIM), 比较不同样品细菌群落结构的相似性和差异程度; 利用 LefSe 软件, 寻找不同样品中的差异物种, 并结合 LDA 线性判别分析评估这些差异物种对组间差异影响的大小^[27]。采用韦恩图和 GGTERN 软件绘制的三元相图比较不同植株间的物种分布差异, 最后基于 FAPROTAX 数据库预测不同样本菌群的生态功能, 并对结果进行 Kruskal-Wallis 秩和检验多组比较分析。以上分析在美吉生物云平台(<https://cloud.majorbio.com>)上完成。

2 结果与分析

2.1 测序数据统计及 α 多样性

女贞叶、茎、根和根际土壤 4 种样品测序后共获得 232 887 条原始序列, 序列平均长度

为 375 bp, 质控优化后共获得 168 229 条有效序列, LE、SE、RE、RS 各样品有效序列数分别为 53 444、50 756、30 551 和 33 478, 各样品 3 个样本的平均有效序列数为 17 815、16 919、10 184 和 11 159 (表 1)。此外, 基于 OTU 水平的覆盖度 Coverage 指数(表 1)来评估本研究的测序深度, 可以看出, 4 种样品的覆盖度指数均大于 98%, 并且稀释曲线分析表明(数据未列出), 12 个样本随着测序数据量的增加, 即在测序 reads 数达到 4 000 以后, 稀释曲线趋于平缓, 说明本次测序深度足够, 测序数据能反映样品中的实际物种组成情况, 继续增加测序数据量对发现新物种的贡献较小。

4 种样品的有效序列经 OTU 聚类和物种分类注释后, 共获得 977 个 OTU, 归属于 23 门, 54 纲, 138 目, 227 科和 399 属。LE、SE、RE、RS 4 种样品细菌群落中的 OTU 数分别为 312、255、537 和 560, 分别占 OTU 总数的 31.93%、26.10%、54.96%和 57.32% (表 1)。将各样本细菌的 reads 数标准化为 8 710 后, 基于 OTU 水平计算 4 种样品的物种丰富度指数(Chao1 index)和群落多样性指数(Shannon index), 以此作为评估女贞 4 种生态位中细菌群落多样性的依据。由表 1 可见, RS 的 Chao1 指数最大, 为 541.96, 且显著高于 RE (360.81)、LE (166.52) 和 SE (165.80); Shannon 指数的大小排序为

表 1 不同样品测序信息和细菌群落多样性分析

Table 1 Sequencing information and diversity index of bacterial communities in different samples

Samples	Raw sequences	Valid sequences	Number of OTUs	Chao1 index	Shannon index	Coverage/%
LE	55 166	53 444	312	166.52±50.18 c	1.908±0.46 c	99.71
SE	57 105	50 756	255	165.80±26.89 c	2.704±0.46 b	99.64
RE	56 444	30 551	537	360.81±32.31 b	3.856±0.35 a	99.23
RS	64 172	33 478	560	541.96±58.51 a	4.514±0.30 a	98.76
Total	232 887	168 229	977	—	—	—

The diversity index data in the table were means±SD (standard deviation). Different letters in the same column indicated significant difference among samples at $P<0.05$ level. LE: leaf endosphere; SE: stem endosphere; RE: root endosphere; RS: rhizosphere soil. The same below.

RS>RE>SE>LE, 表明女贞根际土壤和根内生细菌群落的物种丰富度和群落多样性显著高于茎和叶($P<0.05$)。

2.2 不同生态位共有和特有物种组成分析

对女贞叶、茎、根、根际土壤 4 种生态位细菌群落的 OTU 进行 Venn 图分析(图 1A), 4 种生态位共有 59 个 OTU, 占 OTU 总数的 6.04%; LE 与 SE, LE 与 RE, LE 与 RS, SE 与 RE, SE 与 RS, RE 与 RS 共有的 OTU 数分别为 152、137、112、123、96 和 354, 由此可见, 根与根际土壤(354)、叶与茎(152)共有的 OTU 数量相对较多, 说明二者细菌群落间的物种相似度相对较高。此外, LE、SE、RE、RS 4 种样品特有的 OTU 数分别为 102、64、121 和 171, 分别占 OTU 总数的 10.44%、6.55%、12.38%和 17.50%, 根际土壤中特有物种的数量最多。

基于女贞叶、茎、根、根际土壤 4 种生态位中细菌群落共有和特有 OTU 在属水平上的物种注释结果, 由图 1B 可以看出, 4 种生态位共有属主要有 12 个, 包括: 红球菌属(*Rhodococcus*)、马赛菌属 (*Massilia*)、鞘氨醇单胞菌属

(*Sphingomonas*)、伯克氏菌属(*Burkholderia*)、慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*)、热酸菌属 (*Acidothermus*)、埃希氏-志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*)、伴肠杆菌属(*Conexibacter*)、戴氏菌属 (*Dyella*)、分枝杆菌属(*Mycobacterium*)、甲基杆菌属 (*Methylobacterium*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*), 其中红球菌属在 4 种生态位共有物种中所占比例最高(31.84%)。此外, LE 中特有的物种主要包括: 韧皮部杆菌属(*Candidatus Liberibacter*)、利姆诺杆菌属(*Limnobacter*)、地芽孢杆菌属(*Geobacillus*)、*Abditibacterium*、紫单胞菌属(*Parabacteroides*); SE 中特有的物种主要包括: 萨勒河菌属(*Salana*)、NS5 marine group、弹性蛋白菌(*Proteiniclasticum*)、*Tyzzarella*、*Eubacterium hallii* group; RE 中特有的物种主要包括: 巴斯德氏菌属(*Pasteuria*)、大洋芽孢杆菌属(*Oceanobacillus*)、温双歧菌属(*Thermobifida*)、*Candidatus Soleaferrea*、*Agathobacter*; RS 中特有的物种则主要包括: *Bauldia*、*Methylorosula*、HSB OF53-F07 (表 2)。值得注意的是, 女贞叶、茎、根、根际土壤样

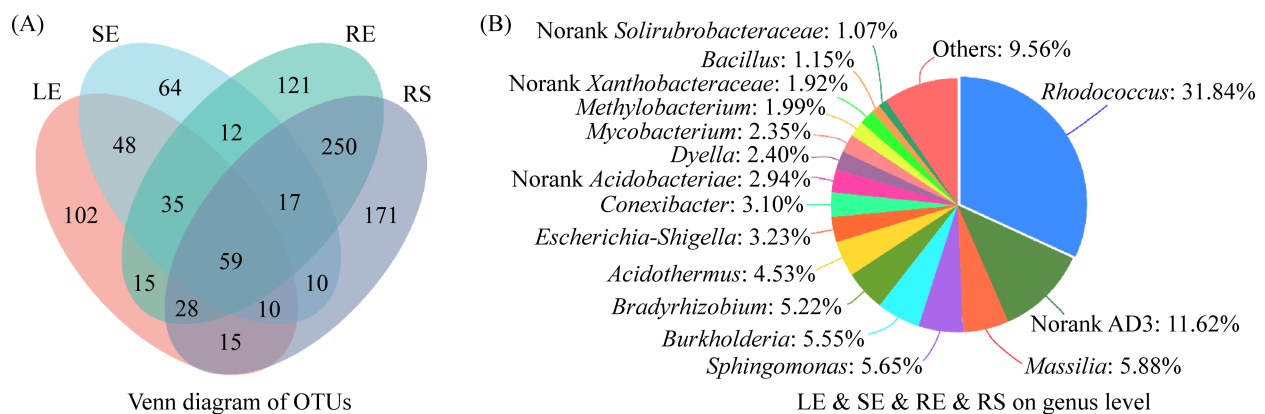


图 1 叶、茎、根和根际土壤中细菌群落的共有物种组成分析

Figure 1 Common species composition analysis of bacterial communities of leaf, stem, root and rhizosphere soil. A: Venn diagram of bacterial communities of four samples at the OTU level; B: common genera of bacterial communities of four samples. Different colors in the pie chart represented different species, and pie area represented the percentage of a given species in the total number of common species.

表 2 女贞叶、茎、根、根际土壤特有细菌属

Table 2 Genera of endemic bacteria in leaf, stem, root and rhizosphere soil of *L. lucidum*

Samples	Genus	Taxonomic affiliation	Percentage/%
LE	<i>Candidatus Liberibacter</i>	P: <i>Proteobacteria</i> ; C: <i>Alphaproteobacteria</i> ; F: <i>Rhizobiaceae</i>	17.33
	<i>Limnobacter</i>	P: <i>Proteobacteria</i> ; C: <i>Gammaproteobacteria</i> ; F: <i>Burkholderiaceae</i>	13.00
	<i>Geobacillus</i>	P: <i>Firmicutes</i> ; C: <i>Bacilli</i> ; F: <i>Bacillaceae</i>	8.66
	<i>Abditibacterium</i>	P: <i>Abditibacteriota</i> ; C: <i>Abditibacteria</i> ; F: <i>Abditibacteriaceae</i>	5.78
	<i>Parabacteroides</i>	P: <i>Bacteroidota</i> ; C: <i>Bacteroidia</i> ; F: <i>Tannerellaceae</i>	4.69
SE	<i>Salana</i>	P: <i>Actinobacteriota</i> ; C: <i>Actinobacteria</i> ; F: <i>Beutenbergiaceae</i>	32.99
	NS5 marine group	P: <i>Bacteroidota</i> ; C: <i>Bacteroidia</i> ; F: <i>Flavobacteriaceae</i>	8.25
	<i>Proteinclasticum</i>	P: <i>Firmicutes</i> ; C: <i>Clostridia</i> ; F: <i>Clostridiaceae</i>	7.22
	<i>Tyzzarella</i>	P: <i>Firmicutes</i> ; C: <i>Clostridia</i> ; F: <i>Lachnospiraceae</i>	7.22
	<i>Eubacterium hallii</i> group	P: <i>Firmicutes</i> ; C: <i>Clostridia</i> ; F: <i>Lachnospiraceae</i>	5.15
RE	<i>Pasteuria</i>	P: <i>Firmicutes</i> ; C: <i>Bacilli</i> ; F: <i>Thermoactinomycetaceae</i>	14.23
	<i>Oceanobacillus</i>	P: <i>Firmicutes</i> ; C: <i>Bacilli</i> ; F: <i>Bacillaceae</i>	8.94
	<i>Thermobifida</i>	P: <i>Actinobacteriota</i> ; C: <i>Actinobacteria</i> ; F: <i>Nocardiopsaceae</i>	7.32
	<i>Candidatus Soleaferrea</i>	P: <i>Firmicutes</i> ; C: <i>Clostridia</i> ; F: <i>Ruminococcaceae</i>	6.91
	<i>Agathobacter</i>	P: <i>Firmicutes</i> ; C: <i>Clostridia</i> ; F: <i>Lachnospiraceae</i>	4.88
RS	<i>Bauldia</i>	P: <i>Proteobacteria</i> ; C: <i>Alphaproteobacteria</i> ; F: <i>Rhizobiales Incertae</i>	13.74
	Norank <i>Acidimicrobiaceae</i>	P: <i>Actinobacteriota</i> ; C: <i>Acidimicrobiia</i> ; F: <i>Acidimicrobiaceae</i>	10.54
	<i>Methylorosula</i>	P: <i>Proteobacteria</i> ; C: <i>Alphaproteobacteria</i> ; F: <i>Beijerinckiaceae</i>	3.19
	HSB OF53-F07	P: <i>Chloroflexi</i> ; C: <i>Ktedonobacteria</i> ; F: <i>Ktedonobacteraceae</i>	2.56
	Norank <i>Sutterellaceae</i>	P: <i>Proteobacteria</i> ; C: <i>Gammaproteobacteria</i> ; F: <i>Sutterellaceae</i>	2.24

The percentage indicated the proportion of a given species in the total number of endemic species. P: phylum; C: class; F: family.

品的特有物种在各自细菌群落中的相对丰度均较小(<1%)。

2.3 不同生态位优势类群组成分析

在门水平上, 4 种生态位细菌群落中丰度相对较高的细菌主要包括变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteriota*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、酸杆菌门(*Acidobacteriota*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)和异常球菌门(*Deinococcota*)。不同细菌门在 4 种生态位中的丰度存在差异, 变形菌门在 LE、SE、RE 及 RS 中的相对丰度分别为 41.90%、51.36%、50.54% 和 20.60%; 放线菌门的相对丰度分别为 53.39%、43.56%、39.27%和 27.61%; 绿弯菌门(35.37%)和酸杆菌门(13.18%)主要分布于 RS 中; 厚壁菌门(6.31%)主要分布于 RE 中; 异常

球菌门(2.14%)则在 SE 中的相对丰度较高。由此可见, 女贞叶、茎、根 3 种生态位内生细菌群落中相对丰度较高的为变形菌门和放线菌门, 而绿弯菌门、酸杆菌门在根际土壤中的相对占比较高(图 2A)。

在纲水平(图 2B), LE、SE、RE 中细菌群落的放线菌纲(*Actinobacteria*)、 γ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)和 α -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)相对丰度较高; RS 中相对占比最高的为 AD3 (30.07%), 其次为 α -变形菌纲(14.19%)、放线菌纲(14.15%)、酸杆菌纲(*Acidobacteriae*) (13.16%)和嗜热油菌纲(*Thermoleophilia*) (11.50%)。此外, 芽孢杆菌纲(*Bacilli*)主要分布于 RE (5.38%)中; 纤维杆菌纲(*Ktedonobacteria*)主要分布于 RE 和 RS 中;

TK10、酸微菌纲(*Acidimicrobiia*)主要分布在RS中;异常球菌(*Deinococci*)则主要分布于SE和LE中。由图2还可看出,放线菌纲(14.15%–53.50%)和 γ -变形菌纲(6.41%–36.55%)在女贞根际土壤、根、茎、叶中的相对丰度呈现逐渐升高的变化趋势。

由图2C可见,在属水平上,LE和SE细菌群落中的相对丰度较高的为红球菌属和青枯雷尔氏菌属(*Ralstonia*),二者合并后的占比分别为73.19%和45.02%,LE中相对丰度较高的细菌还有埃希氏菌属(8.34%),SE中相对丰度较高的细菌还有马赛菌属(14.02%)和鞘氨醇单胞菌

属(11.08%)。此外,RE中慢生根瘤菌属(10.46%)和伯克氏菌属(9.35%)的相对丰度较大,其他相对丰度较高的细菌还有青枯雷尔氏菌(6.18%)、*Acidibacter* (6.10%)、*Kutzneria* (6.05%)和戴氏菌属(5.53%)。RS中则以未归类的AD3纲(30.07%)丰度最高,其次为热酸菌属(8.69%)、伴肠杆菌属(6.69%)。由此可以看出,红球菌属、青枯雷尔氏菌、贪噬菌属(*Variovorax*)主要以植物组织内生菌的形式分布于女贞的叶、茎和根内;马赛菌属、鞘氨醇单胞菌属、埃希氏菌属、甲基杆菌属、*Frigoribacterium*、异常球菌属(*Deinococcus*)和动球菌属(*Kineococcus*)主要分布于女贞的地

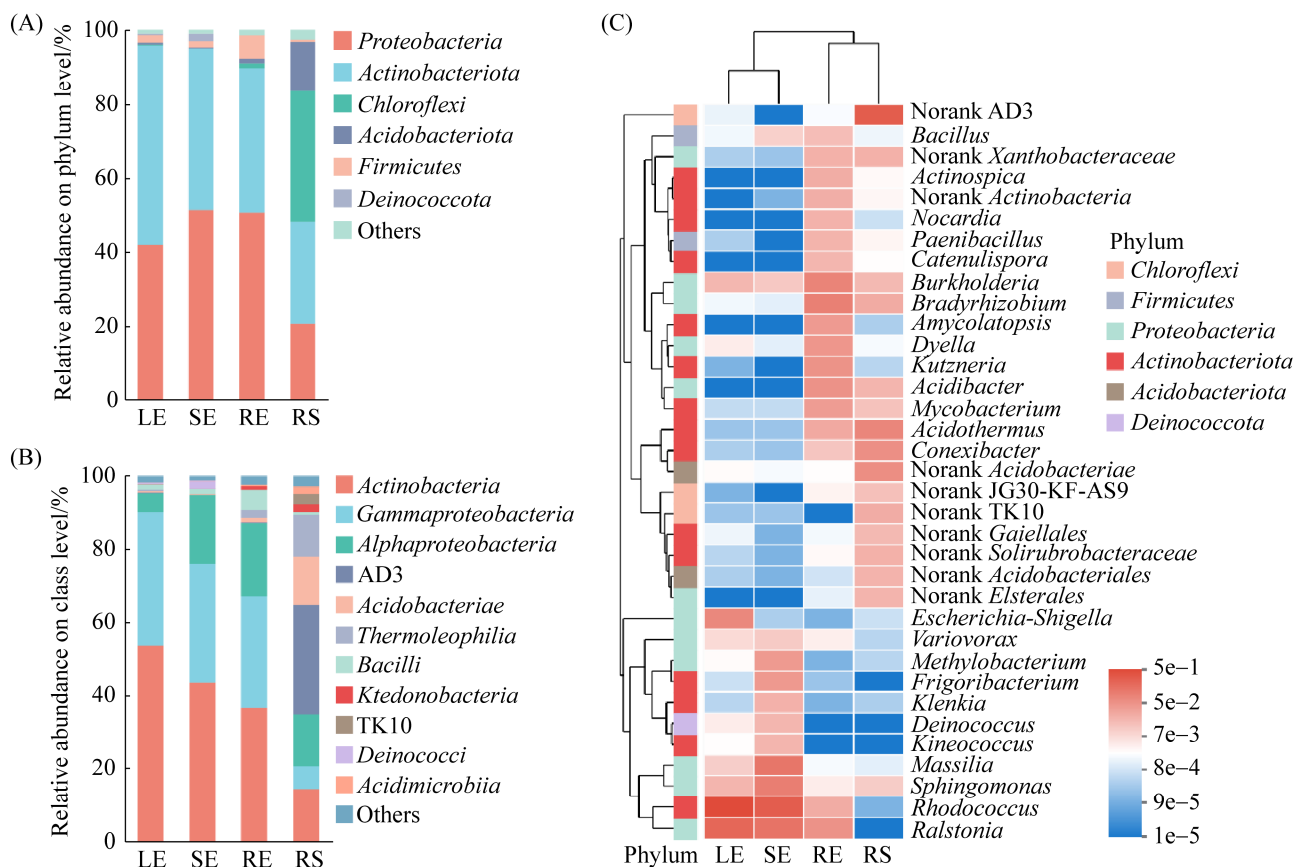


图2 叶、茎、根和根际土壤中细菌在门(A)、纲(B)和属(C)水平上的相对丰度

Figure 2 The relative abundance of bacteria in leaf, stem, root and rhizosphere soil at phylum (A), class (B) and genus (C) level. In figure A and figure B, the “others” represented the sum of bacterial taxa with relative abundance of less than 1%. In figure C, the colors represented the logarithms of relative abundance of bacteria.

上部分(叶、茎)中;而伯克氏菌属、慢生根瘤菌属、热酸菌属、伴肠杆菌属、*Acidibacter*、分枝杆菌属则主要分布于女贞的地下部分(根、根际土壤)中。

2.4 β 多样性分析

本研究基于 Bray-Curtis 距离,通过类平均法(average)对距离矩阵进行等级聚类,结果如图 3 所示,在 OTU 水平上,LE 与 SE 聚为一支,RS 与 RE 聚为一支,表明女贞叶与茎的内生细菌群落结构相似性相对较高,根际土壤与根内生细菌群落结构较为相似。此外,相对于 RS 而言,RE 与 LE、SE 的距离较近,表明女贞不同组织内生细菌群落结构具有一定的相似性。

与样本等级聚类分析不同,相似性分析(ANOSIM)是生态学中分析高维度数据组间(2 组或多组)相似性的非参数检验统计方法,可用于评估多组实验数据的整体相似性(R 值越小,表明组间相似性越高,反之亦然; P 值大小用来评估差异的显著水平)^[19]。基于 Bray-Curtis 距离算法对女贞 4 种生态位细菌群落组成进行 ANOSIM 分析,执行 999 次置换计算 P 值,结果如表 3 所示,女贞 4 组样品间或

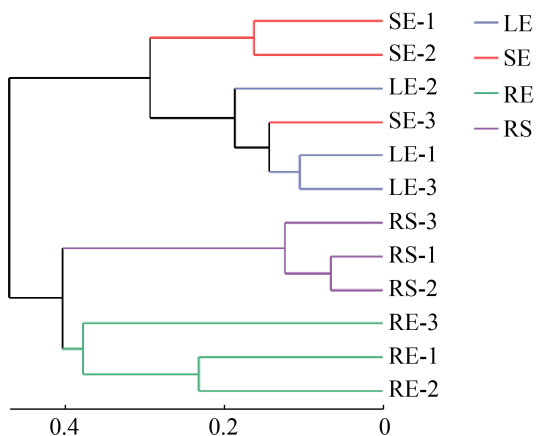


图 3 基于 OTU 的样本等级聚类树

Figure 3 Hierarchical cluster tree based on the OTU.

表 3 不同样品间细菌群落的相似性分析

Table 3 Analysis of similarities (ANOSIM) of bacterial communities between the samples

Samples	R	P
LE vs SE vs RE vs RS	0.842 6	0.002*
LE vs SE vs RE	0.629 6	0.001*
LE vs SE vs RS	0.860 1	0.007*
SE vs RE vs RS	0.942 4	0.001*
LE vs SE	0.481 5	0.098
LE vs RE	0.777 8	0.098
LE vs RS	1	0.098
SE vs RE	0.851 9	0.098
SE vs RS	1	0.098
RE vs RS	0.888 9	0.098

The values with asterisk indicated significant differences at $P < 0.05$.

任意 3 组样品间的组间差异均显著大于组内差异($P < 0.05$),其中 LE vs SE vs RE 的 R 值相对较小(0.629 6),表明女贞叶、茎、根内生细菌群落结构的差异相对较小。然而,在两两比较分析中,虽然 R 值均大于 0,但 P 值均大于 0.05,表明任意两组间的组间差异均大于组内差异,但不显著;其中 LE vs SE 的 R 值最小(0.481 5),表明女贞叶与茎内生细菌群落结构的差异相对较小。

2.5 女贞不同生态位物种差异分析

通过以上 β -多样性分析可以看出,女贞不同生态位细菌群落结构存在差异。本研究对 LDA 阈值大于 4,采用 All-against-all 多组比较策略,分析门到属水平上存在显著差异的物种,结果如图 4 所示。在门、纲、目水平上(图 4A),放线菌门、放线菌纲、*Corynebacteriales* 特异富集于叶中;*Kineosporiales*、伯克霍尔德里氏菌目(*Burkholderiales*) 特异富集于茎中;*Paenibacillales*、*Pseudonocardiales*、黄单胞菌目(*Xanthomonadales*)、根瘤菌目(*Rhizobiales*)特异富集于根内;而绿弯菌门、酸杆菌门、酸杆菌纲、嗜热油菌纲、纤线杆菌纲、TK10、AD3、

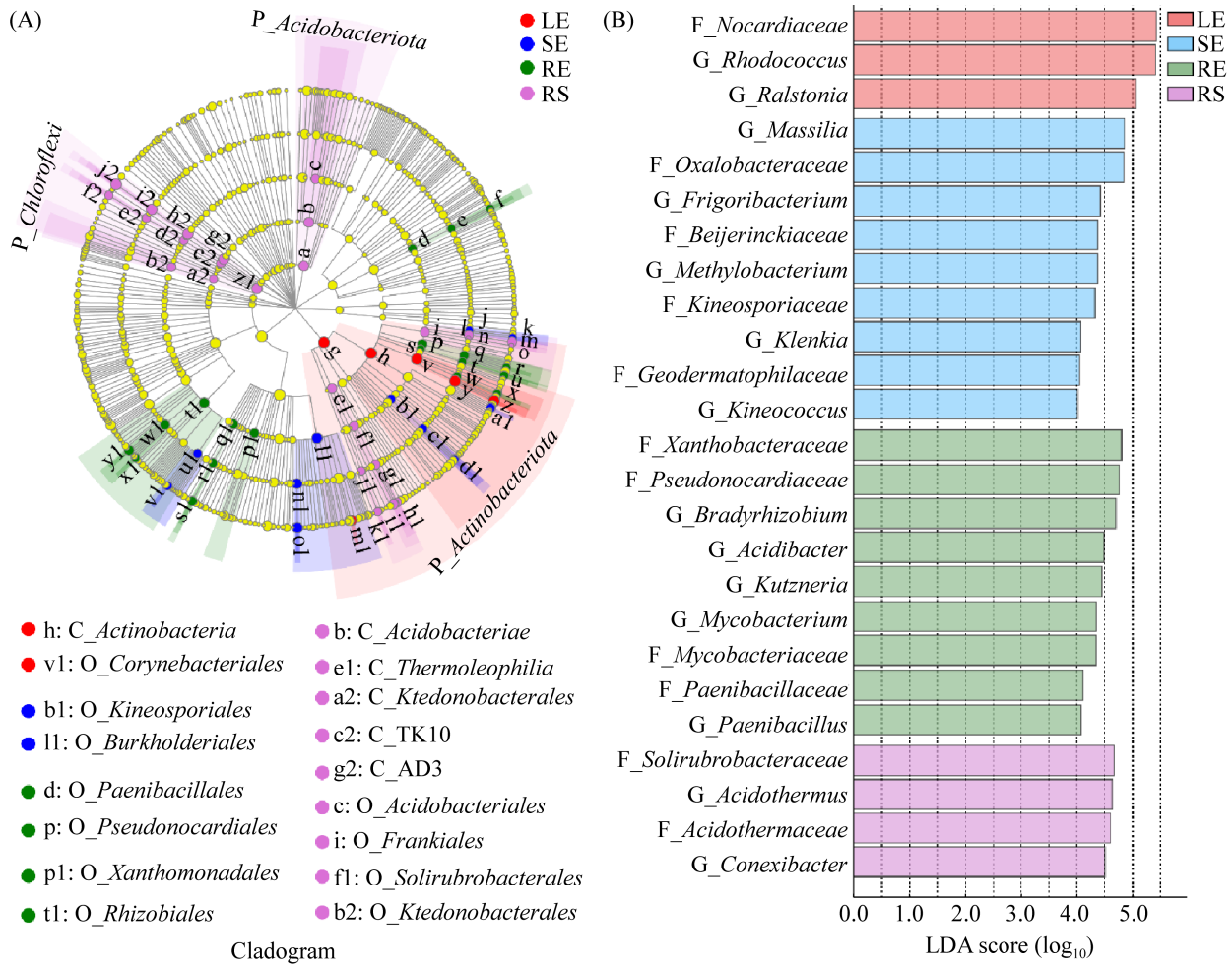


图 4 不同生态位细菌群落的 LEfSe 分析

Figure 4 LEfSe analysis of bacterial communities in different niches. A: the cladogram of bacterial communities in different niches. The red, blue, green and purple nodes in the figure represented bacterial taxa that were significantly enriched in LE, SE, RE and RS, respectively, and significantly influenced the differences between groups at the same time. The yellow nodes represented bacterial taxa that have no significant differences among different groups, or that had no significant effect on the differences between groups. B: the LDA analysis of bacterial communities in different niches. The LDA score indicated the effect of species abundance on the difference between groups, and the higher score represented greater influence. The P, C, O, F and G represented phylum, class, order, family and genus, respectively.

酸杆菌目 (*Acidobacteriales*)、*Frankiales*、*Solirubrobacterales*、*Ktedonobacterales* 特异富集于根际土壤中。

在属水平(图 4B), LE 中的生物标记物为红球菌属、青枯雷尔氏菌属; SE 中的生物标记物为马赛菌属、*Frigoribacterium*、甲基杆菌属、

动球菌属; RE 中的生物标记物为慢生根瘤菌、*Kutzneria*、*Acidibacter*、分枝杆菌属、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*), RS 中的生物标记物为热酸菌属、*Conexibacter*。相比较而言, 这些物种的存在对女贞不同生态位中细菌群落结构及物种组成差异的影响较大。

2.6 女贞不同植株叶、茎、根、根际土壤物种组成比较分析

对不同女贞植株叶、茎、根、根际土壤物种组成比较分析发现, 3 个植株叶、茎、根、根际土壤共有的 OTU 数分别为 44、67、121 和 330 个, 分别占不同样品 OTU 总数的 14.10%、26.27%、22.53%和 58.93%(图 5)。此外, 基于 OTU 水平的三元相图分析显示, 根际土壤菌群中的 OTU 多分布于三元相图的中部, 叶和茎中相对丰

度较高的 OTU (注释为红球菌属和青枯雷尔氏菌属) 主要分布于三元相图的中部, 而根内菌群的 OTU 在二元相图中的位置则比较分散(图 5)。由此表明, 女贞根际土壤菌群的物种在不同植株间分布较均匀, 根际土壤物种组成的株间差异相对较小; 叶和茎内优势物种在不同植株内的分布比较平均, 但也存在部分物种在单一植株内的特异性富集; 不同植株间根内菌群结构差异相对较大, 这与样本等级聚类分析的结果类似。

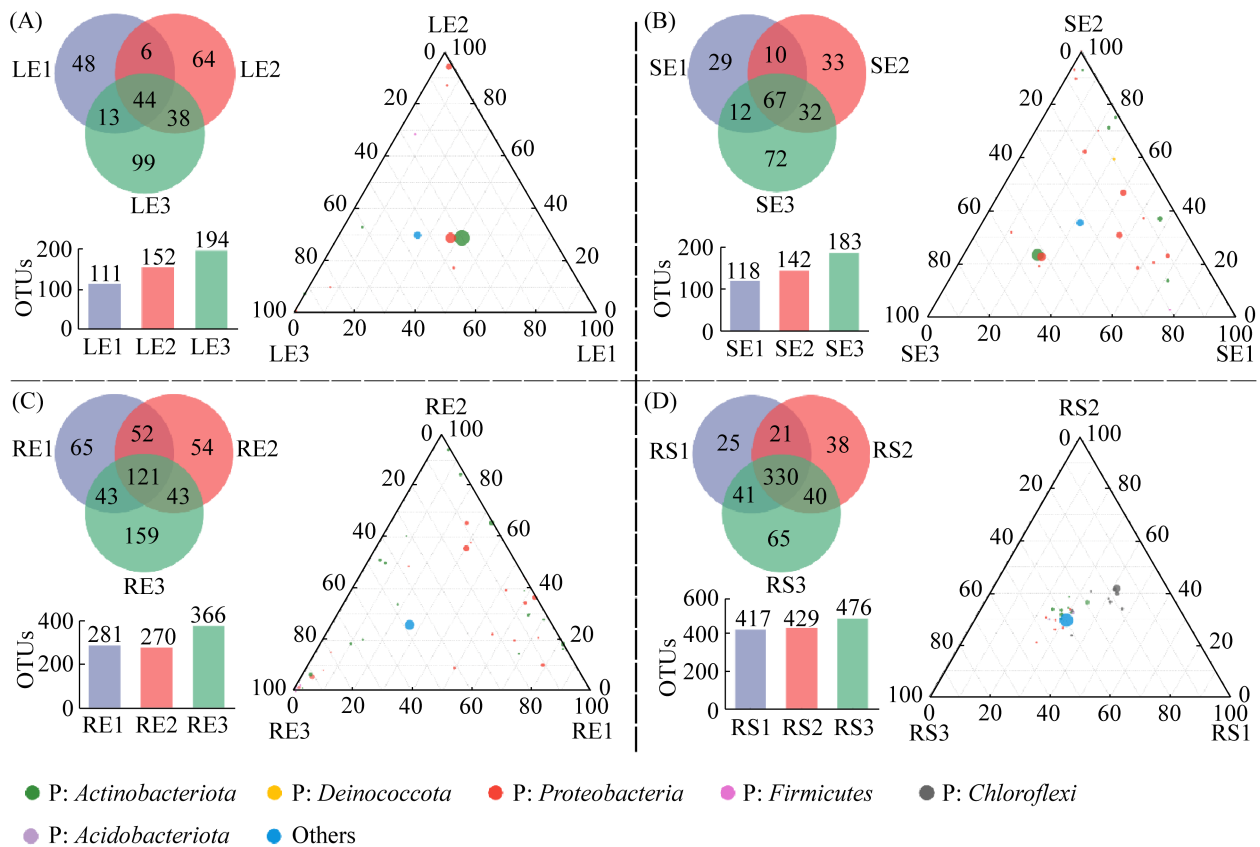


图 5 不同植株间叶(A)、茎(B)、根(C)和根际土壤(D)菌群物种组成比较分析

Figure 5 Comparative analysis of species composition of bacterial communities in leaf (A), stem (B), root (C) and rhizosphere soil (D) among different individual plants. The Venn diagrams, bar diagrams and ternary phase diagrams of bacterial communities in leaf, stem, root and rhizosphere soil among different individual plants at OTU level were demonstrated in the figure. In the ternary phase diagrams, different circles represented different OTUs, and the size of that represented the average relative abundance of OTU. The circles with different colors represented different phyla. OTUs with relative abundance of less than 1% were merged into "others".

2.7 女贞不同生态位细菌群落功能预测分析

女贞不同生态位细菌群落 FAPROTAX 功能预测结果如图 6 所示, 在丰度排名前 25 的功能中, 化能异养(chemoheterotrophy)的丰度最高, 且在 4 种生态位间存在显著差异($P<0.05$)。叶和茎的菌群功能在尿素水解(ureolysis)、芳香族化合物降解(aromatic compound degradation)、烃降解(hydrocarbon degradation)、脂肪族非甲烷烃降解(aliphatic non methane hydrocarbon degradation)、芳香烃降解(aromatic hydrocarbon

degradation)、木质素分解(ligninolysis)中显著高于根和根际土壤。而根内菌群的好氧化能异养(aerobic chemoheterotrophy)、硝酸盐还原(nitrate reduction)、固氮(nitrogen fixation)、氮呼吸(nitrogen respiration)、硝酸盐呼吸(nitrate respiration)、亚硝酸盐呼吸(nitrite respiration)、一氧化二氮反硝化(nitrous oxide denitrification)、反硝化作用(denitrification)、亚硝酸盐反硝化(nitrite denitrification)、硝酸盐反硝化(nitrate denitrification)功能丰度相对较高。此外, 根际

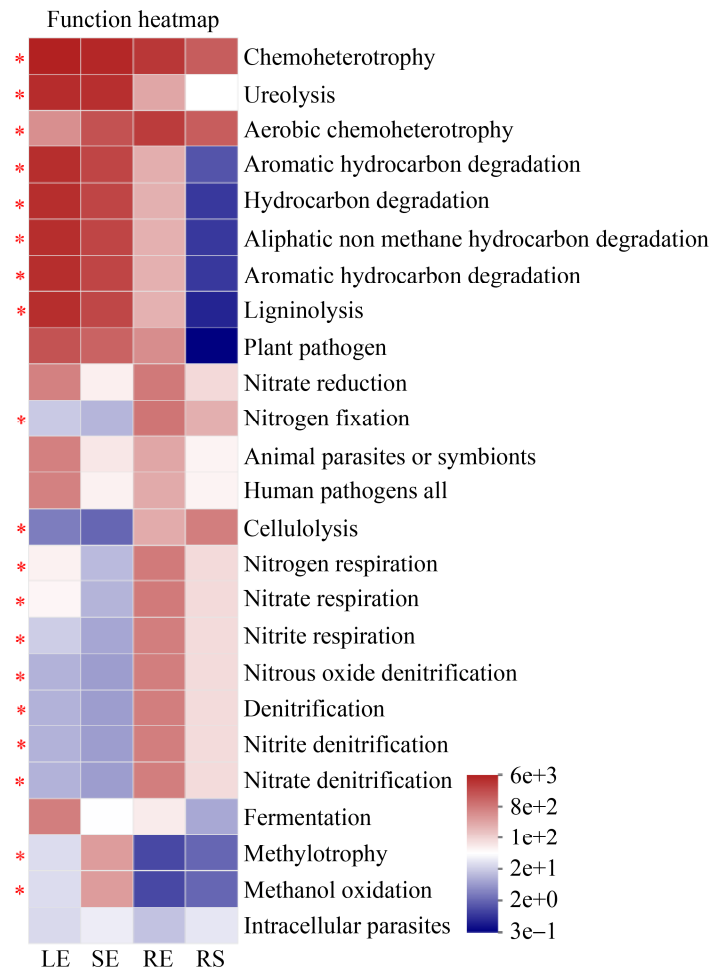


图 6 不同生态位菌群功能热图

Figure 6 Function heatmap of different niches. The color gradient represented the variation in abundance of different functions in different niches, and the “*” indicated that corresponding functions were significantly different among four niches at $P<0.05$.

土壤菌群的纤维素水解(cellulolysis)功能显著高于根、茎和叶。由此可以看出,女贞不同生态位细菌群落的功能以化能异养为主,地上部分(叶、茎)菌群主要在碳、氢循环中发挥作用,而地下部分(根和根际土壤)菌群主要行使与氮循环相关的功能。

3 讨论

根系微生物群分化的两步选择模型(two-step selection model)^[2]指出,从非根际土壤到根际到根内,细菌多样性在土壤因子、根际沉积物、细胞壁特征和宿主基因型的影响下逐渐减小。首先,土壤因子决定了土壤中细菌群落的初始结构;在分化的第一步,根际沉积物和宿主细胞壁特征促进了有机营养细菌的生长,根系分泌物和细菌的趋化性驱使土壤微生物向根际转移;在第二步中,宿主基因型依赖选择的细菌趋近并进入根内,对根表面和根内生长的细菌群落结构进行微调^[2]。进入植物体内的微生物,被植物感知并激活促进微生物定殖的共生反应或限制微生物定殖的免疫反应,不同的适应性结果导致宿主对有益细菌的控制装配和病原菌的选择性去除^[15]。本研究基于 α -多样性指数的分析表明,女贞根际土壤细菌群落的物种丰富度显著高于根、叶和茎,群落多样性从根际土壤到叶呈现自下而上逐级降低的变化趋势。在群落水平上,这种机制似乎是普遍的,对于根区,水稻^[28]和大豆^[29]细菌群落多样性由根际向根面和根内递减,认为细菌由土壤向根内定殖的过程存在分层过滤机制(hierarchical filtration mechanism);后来,研究者将美洲黑杨(*Populus deltoides*)^[18]和构树(*Broussonetia papyrifera*)^[19]的研究从根区扩展到树冠,发现这种机制同样适用于木本植物。此外,植物不同部位的养分水平、生物(宿主免

疫、微生物互作等)和非生物因子(温度、湿度、紫外线辐射等)差异也是导致不同生态位细菌群落多样性不同的原因之一^[15,30]。针对特定的细菌类群,美洲黑杨^[18]和拟南芥^[31]根内主要以变形菌门、放线菌门为主,而在根际土壤中占优势的酸杆菌门在根内群落中代表性不足。本研究获得了类似的结果,酸杆菌门和绿弯菌门显著富集于根际土壤中,而在女贞组织内部的相对丰度较低。值得注意的是,基于相对丰度来评估某一微生物在不同环境样品中的多寡和变化存在一定的局限性,近年来,新技术(表型微阵列技术、宿主相关定量分析法等)的出现使准确计算群落中每个物种的绝对丰度成为可能^[32],使植物-微生物、微生物-微生物互作的研究结果更加可靠。

样品类型或植物区室(plant compartments)对细菌群落结构和物种组成具有显著影响^[19,33]。女贞4种样品的 β 多样性分析表明,女贞叶、茎、根、根际土壤的细菌群落结构存在显著差异,这种植物细菌群落结构和物种组成的组织、器官、区室特异性在植物中普遍存在^[18-19,34]。通常认为,植物不同部位的物理化学性质各异,形成不同的生态位特征,基于生态位过程的生境适应选择驱动了细菌在植物区室中的群落装配,并导致细菌群落结构的生态位分化^[35-36]。然而,比较分析发现,女贞叶与茎、根与根际土壤的细菌群落结构较为相似,共有OTU数相对较多,表明叶与茎、根与根际土壤细菌群落中的物种交换更加频繁,这可能与细菌通过木质部导管的管腔在不同组织间转移^[37]以及根际细菌通过侧根萌发过程中根系表皮细胞分离的孔隙进入根系内部有关^[2]。

对女贞不同生态位和不同植株间叶、茎、根和根际土壤细菌群落结构的比较分析结果发现,不同生态位的菌群结构差异显著大于株间

差异, 表明不同单株对不同生态位菌群结构的影响小于生态位特征。土壤类型和植物基因型可影响植物微生物群的物种组成^[15]。本研究中, 相同土壤类型背景下不同女贞植株间根际土壤菌群的物种组成差异较小, 女贞组织内的细菌除优势类群在不同植株间分布较均匀外, 存在部分微生物在某一植株上的随机定殖。Hardoim等根据内生菌与宿主植物亲密度的不同将内生菌分为专性(obligate)、兼性(facultative)和机会(opportunistic)内生菌^[4]。通常认为, 植物核心微生物与宿主经过长期的相互适应与协同进化, 能克服植物免疫而稳定地在植物体内留存和繁殖^[15]。此外, 研究发现拟南芥根发育过程中, 木质部和代谢活跃的根细胞会被不同的细菌亚群所占据^[31], 根系类型的取样差异可能是女贞根内菌群株间差异相对较大的原因之一。

植物核心微生物群(core microbiota)作为植物微生物群的子集, 由植物微生物群的部分成员组成, 这组微生物在特定植物宿主相关的所有微生物群落中是持久和普遍存在的^[3,15,38], 其中包含一些关键的微生物类群, 这些类群携带的基因对宿主的适应性至关重要^[39], 并成为合成微生物群落生物技术开发新型植物益生菌剂的目标菌种^[40]。通常基于隶属度、组成、系统发育、持久性和连通性等参数, 通过韦恩图和共现性网络分析可寻找核心微生物群^[41-42]。本研究基于韦恩图分析发现, 女贞核心菌群主要包括红球菌属、马赛菌属、鞘氨醇单胞菌属、伯克氏菌属、慢生根瘤菌属、热酸菌属、埃希氏菌属、伴肠杆菌属、戴氏菌属、分枝杆菌属、甲基杆菌属和芽孢杆菌属。前期研究发现, 红球菌属和芽孢杆菌属细菌能参与植物激素脱落酸(ABA)的代谢调控, 提高植物对盐胁迫的耐受性, 促进植物生长^[43-44], 类似地, 芽孢杆菌属、伯克氏菌属、甲基杆菌属、红球菌属、鞘

氨醇单胞菌属、慢生根瘤菌属、分枝杆菌属细菌可改变植物的激素(如生长素、赤霉素、茉莉酸等)水平, 进而影响植物的生长发育^[45]; 还有研究报道了慢生根瘤菌属^[46]、伯克氏菌属^[47]、马赛菌属^[48]细菌通过固氮、溶磷等作用提高植物的营养获取能力, 显著影响植物的生长和产量。女贞根内和根际土壤菌群中慢生根瘤菌属、伯克氏菌属的相对丰度较高, 且菌群主要发挥固氮作用、反硝化作用等与氮循环相关的功能, 由此可以推测, 生长在降水充沛、酸性土壤上的女贞植株, 可通过根内和根际菌群的反硝化作用、固氮作用, 缓解硝态氮的淋溶, 促进氮素的吸收和利用。此外, 红球菌属^[49]、马赛菌属^[50]、鞘氨醇单胞菌属^[51-52]、甲基杆菌属^[53]细菌还具有降解有机污染物, 提高植物对重金属离子的富集能力, 在污染土壤生物修复中发挥着关键作用^[54]; 女贞地上部分菌群具有高丰度的烃类化合物降解功能, 这可能是红球菌属、马赛菌属等富集于叶和茎中所致, 同时拓展了女贞抗污染的优良特性。

近年来, 随着多组学技术的发展和植物微生物组研究的不断深入, 植物相关微生物群的功能和应用潜力正逐渐被发现和重视, 张福锁院士团队提出将“植物-根系-根际-菌丝际-主体及其微生物”连接成一个以根际互作为核心, “牵一发而动全身”的“根际生命共同体(rhizobiont)”的新理论^[55], 再次强调了植物-微生物组多界面互作体系在协同“粮食安全、资源高效、环境保护”中的巨大潜力, 不仅为发展绿色农业的研究指明了新方向, 也为林木-土壤-根际微生物互作、维持根际微生态平衡、促进林木可持续经营的研究提供了新的思路。女贞不同生态位存在诸如红球菌属、马赛菌属、鞘氨醇单胞菌属、伯克氏菌属、慢生根瘤菌属、甲基杆菌属和芽孢杆菌属等有益细菌资源, 深入研

究和揭示女贞-微生物组互作增效机制, 拓展和建立女贞优良性状(耐盐、耐旱、耐重金属胁迫、抗污染等)的生物学调控途径, 创制新型林木促生、抗逆微生物肥料, 将促进女贞在干旱、盐碱、重金属污染等困难和污染立地造林, 同时结合虫白蜡生产, 实现生态和经济效益双赢, 为白蜡产业发展和乡村振兴提供科技支撑。

参考文献

- [1] Vandermeer JH. Niche theory. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1972, 3(1): 107–132.
- [2] Bulgarelli D, Schlaeppi K, Spaepen S, Ver Loren van Themaat E, Schulze-Lefert P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology*, 2013, 64: 807–838.
- [3] Vandenkoornhuysen P, Quaiser A, Duhamel M, Le Van A, Dufresne A. The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytologist*, 2015, 206(4): 1196–1206.
- [4] Haroim PR, Van Overbeek LS, Berg G, Pirttilä AM, Compant S, Campisano A, Döring M, Sessitsch A. The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2015, 79(3): 293–320.
- [5] Gunatilaka AA. Natural products from plant-associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. *Journal of Natural Products*, 2006, 69(3): 509–526.
- [6] Brader G, Compant S, Mitter B, Trognitz F, Sessitsch A. Metabolic potential of endophytic bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, 2014, 27: 30–37.
- [7] Berendsen RL, Pieterse CMJ, Bakker PAHM. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 2012, 17(8): 478–486.
- [8] Philippot L, Raaijmakers JM, Lemanceau P, Van Der Putten WH. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(11): 789–799.
- [9] Wei Z, Jousset A. Plant breeding goes microbial. *Trends in Plant Science*, 2017, 22(7): 555–558.
- [10] Ryan PR, Dessaux Y, Thomashow LS, Weller DM. Rhizosphere engineering and management for sustainable agriculture. *Plant and Soil*, 2009, 321(1/2): 363–383.
- [11] 朱永官, 彭静静, 韦中, 沈其荣, 张福锁. 土壤微生物组与土壤健康. *中国科学: 生命科学*, 2021, 51(1): 1–11.
Zhu YG, Peng JJ, Wei Z, Shen QR, Zhang FS. Linking the soil microbiome to soil health. *Scientia Sinica: Vitae*, 2021, 51(1): 1–11. (in Chinese)
- [12] Wang HX, Shi H, Wang YH. Effects of weather, time, and pollution level on the amount of particulate matter deposited on leaves of *Ligustrum lucidum*. *The Scientific World Journal*, 2015, 2015: 935942.
- [13] Zhou J, Zhang ZP, Zhang YC, Wei Y, Jiang ZP. Effects of lead stress on the growth, physiology, and cellular structure of privet seedlings. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0191139.
- [14] 陈勇, 陈晓鸣, 王自力, 叶寿德, 王绍云, 毛玉芬. 白蜡虫泌蜡研究 II. 不同寄主植物上的泌蜡比较. *林业科学研究*, 1998, 11(3): 285–288.
Chen Y, Chen XM, Wang ZL, Ye SD, Wang SY, Mao YF. Studies on secreting wax of Chinese white wax scale II. The comparison of secreting wax on different host plants. *Forest Research*, 1998, 11(3): 285–288. (in Chinese)
- [15] Trivedi P, Leach JE, Tringe SG, Sa TM, Singh BK. Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18(11): 607–621.
- [16] Bai Y, Müller DB, Srinivas G, Garrido-Oter R, Potthoff E, Rott M, Dombrowski N, Münch PC, Spaepen S, Remus-Emsermann M, Hüttel B, McHardy AC, Vorholt JA, Schulze-Lefert P. Functional overlap of the *Arabidopsis* leaf and root microbiota. *Nature*, 2015, 528(7582): 364–369.
- [17] De Souza RSC, Okura VK, Armanhi JSL, Jorrín B, Lozano N, Da Silva MJ, González-Guerrero M, De Araújo LM, Verza NC, Bagheri HC, Imperial J, Arruda P. Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome. *Scientific Reports*, 2016, 6: 28774.
- [18] Cregger MA, Veach AM, Yang ZK, Crouch MJ, Vilgalys R, Tuskan GA, Schadt CW. The *Populus* holobiont: dissecting the effects of plant niches and genotype on the microbiome. *Microbiome*, 2018, 6(1): 31.
- [19] Chen PL, Zhao ML, Tang F, Hu YM, Peng XJ, Shen SH. The effect of plant compartments on the *Broussonetia papyrifera*-associated fungal and bacterial communities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(8): 3627–3641.

- [20] 顾美英, 古丽尼沙·沙依木, 张志东, 朱静, 刘晓静, 唐琦勇, 欧提库尔·玛合水提, 宋素琴, 冯雷, 唐光木, 徐万里. 黑果枸杞不同组织内生细菌群落多样性. *微生物学报*, 2021, 61(1): 152–166.
Gu MY, Gulinisha SYM, Zhang ZD, Zhu J, Liu XJ, Tang QY, Outikuer M, Song SQ, Feng L, Tang GM, Xu WL. Diversity and function analysis of endophytic bacterial community in different tissues of *Lycium ruthenicum* Murr.. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(1): 152–166. (in Chinese)
- [21] 王健敏, 刘娟, 陈晓鸣, 杨子祥, 梁军生. 昆明金殿林区云南松次生林健康状况与土壤相关性分析. *林业科学研究*, 2009, 22(6): 865–871.
Wang JM, Liu J, Chen XM, Yang ZX, Liang JS. Correlation between health conditions of *Pinus yunnanensis* secondary forest and soil properties in golden temple forest region of Kunming. *Forest Research*, 2009, 22(6): 865–871. (in Chinese)
- [22] Chen SF, Zhou YQ, Chen YR, Gu J. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics: Oxford, England*, 2018, 34(17): i884–i890.
- [23] Magoc T, Salzberg SL. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957–2963.
- [24] Edgar RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996–998.
- [25] Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM, Cole JR. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261–5267.
- [26] Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, Hall JR, Hartmann M, Hollister EB, Lesniewski RA, Oakley BB, Parks DH, Robinson CJ, Sahl JW, Stres B, Thallinger GG, Van Horn DJ, Weber CF. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(23): 7537–7541.
- [27] Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, Huttenhower C. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology*, 2011, 12(6): R60.
- [28] Edwards J, Johnson C, Santos-Medellín C, Lurie E, Podishetty NK, Bhatnagar S, Eisen JA, Sundaresan V. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(8): E911–E920.
- [29] Xiao X, Chen WM, Zong L, Yang J, Jiao S, Lin YB, Wang ET, Wei GH. Two cultivated legume plants reveal the enrichment process of the microbiome in the rhizocompartments. *Molecular Ecology*, 2017, 26(6): 1641–1651.
- [30] Müller DB, Vogel C, Bai Y, Vorholt JA. The plant microbiota: systems-level insights and perspectives. *Annual Review of Genetics*, 2016, 50: 211–234.
- [31] Bulgarelli D, Rott M, Schlaeppi K, Ver Loren Van Themaat E, Ahmadinejad N, Assenza F, Rauf P, Huettel B, Reinhardt R, Schmelzer E, Peplies J, Gloeckner FO, Amann R, Eickhorst T, Schulze-Lefert P. Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature*, 2012, 488(7409): 91–95.
- [32] 刘京伟, 李香真, 姚敏杰. 植物根际微生物群落构建的研究进展. *微生物学报*, 2021, 61(2): 231–248.
Liu JW, Li XZ, Yao MJ. Research progress on assembly of plant rhizosphere microbial community. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(2): 231–248. (in Chinese)
- [33] Hamonts K, Trivedi P, Garg A, Janitz C, Grinyer J, Holford P, Botha FC, Anderson IC, Singh BK. Field study reveals core plant microbiota and relative importance of their drivers. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(1): 124–140.
- [34] 沙月霞. 不同水稻组织内生细菌的群落多样性. *微生物学报*, 2018, 58(12): 2216–2228.
Sha YX. Diversity of bacterial endophytic community in different rice tissues. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, 58(12): 2216–2228. (in Chinese)
- [35] Gottel NR, Castro HF, Kerley M, Yang Z, Pelletier DA, Podar M, Karpinets T, Uberbacher E, Tuskan GA, Vilgalys R, Doktycz MJ, Schadt CW. Distinct microbial communities within the endosphere and rhizosphere of *Populus deltoides* roots across contrasting soil types. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(17): 5934–5944.
- [36] Singer E, Bonnette J, Kenaley SC, Woyke T, Juenger TE. Plant compartment and genetic variation drive microbiome composition in switchgrass roots. *Environmental Microbiology Reports*, 2019, 11(2): 185–195.
- [37] Compant S, Kaplan H, Sessitsch A, Nowak J, Ait Barka E, Clément C. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by *Burkholderia* phytofirmans strain PsJN: from the

- rhizosphere to inflorescence tissues. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 63(1): 84–93.
- [38] Astudillo-García C, Bell JJ, Webster NS, Glasl B, Jompa J, Montoya JM, Taylor MW. Evaluating the core microbiota in complex communities: a systematic investigation. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(4): 1450–1462.
- [39] Lemanceau P, Blouin M, Muller D, Moënné-Loccoz Y. Let the core microbiota be functional. *Trends in Plant Science*, 2017, 22(7): 583–595.
- [40] Hacquard S. Disentangling the factors shaping microbiota composition across the plant holobiont. *New Phytologist*, 2016, 209(2): 454–457.
- [41] Shade A, Handelsman J. Beyond the Venn diagram: the hunt for a core microbiome. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(1): 4–12.
- [42] Williams RJ, Howe A, Hofmockel KS. Demonstrating microbial co-occurrence pattern analyses within and between ecosystems. *Frontiers in Microbiology*, 2014, 5: 358.
- [43] Porcel R, Zamarreño ÁM, García-Mina JM, Aroca R. Involvement of plant endogenous ABA in *Bacillus megaterium* PGPR activity in tomato plants. *BMC Plant Biology*, 2014, 14(1): 1–12.
- [44] Qin Y, Druzhinina IS, Pan XY, Yuan ZL. Microbially mediated plant salt tolerance and microbiome-based solutions for saline agriculture. *Biotechnology Advances*, 2016, 34(7): 1245–1259.
- [45] Dodd IC, Zinovkina NY, Safronova VI, Belimov AA. Rhizobacterial mediation of plant hormone status. *Annals of Applied Biology*, 2010, 157(3): 361–379.
- [46] Piromy P, Greetatorn T, Teamtisong K, Tittabutr P, Boonkerd N, Teamroong N. Potential of rice stubble as a reservoir of bradyrhizobial inoculum in rice-legume crop rotation. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, 83(22): e01488-17.
- [47] Baldani VLD, Baldani JI, Döbereiner J. Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, 30(5): 485–491.
- [48] Zheng BX, Bi QF, Hao XL, Zhou GW, Yang XR. *Massilia phosphatilytica* sp. nov., a phosphate solubilizing bacteria isolated from a long-term fertilized soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2017, 67(8): 2514–2519.
- [49] Zampolli J, Zeaiter Z, Di Canito A, Di Gennaro P. Genome analysis and -omics approaches provide new insights into the biodegradation potential of *Rhodococcus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(3): 1069–1080.
- [50] 杨恩东, 崔丹曦, 汪维云. 马赛菌属细菌研究进展. *微生物学通报*, 2019, 46(6): 1537–1548.
Yang ED, Cui DX, Wang WY. Research progress on the genus *Massilia*. *Microbiology China*, 2019, 46(6): 1537–1548. (in Chinese)
- [51] 马爱芝, 武俊, 汪婷, 张国顺, 李顺鹏. 六六六(HCH)降解菌 *Sphingomonas* sp. BHC-A 的分离与降解特性的研究. *微生物学报*, 2005, 45(5): 728–732.
Ma AZ, Wu J, Wang T, Zhang GS, Li SP. Isolation and characterization of a HCH degradation *Sphingomonas* sp. strain BHC-A. *Acta Microbiologica Sinica*, 2005, 45(5): 728–732. (in Chinese)
- [52] Pan FS, Meng Q, Wang Q, Luo S, Chen B, Khan KY, Yang XE, Feng Y. Endophytic bacterium *Sphingomonas* SaMR12 promotes cadmium accumulation by increasing glutathione biosynthesis in *Sedum alfredii* Hance. *Chemosphere*, 2016, 154: 358–366.
- [53] Alcántara-Martínez N, Figueroa-Martínez F, Rivera-Cabrera F, Gutiérrez-Sánchez G, Volke-Sepúlveda T. An endophytic strain of *Methylobacterium* sp. increases arsenate tolerance in *Acacia farnesiana* (L.) Willd: a proteomic approach. *Science of the Total Environment*, 2018, 625: 762–774.
- [54] He W, Megharaj M, Wu CY, Subashchandrabose SR, Dai CC. Endophyte-assisted phytoremediation: mechanisms and current application strategies for soil mixed pollutants. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2020, 40(1): 31–45.
- [55] 申建波, 白洋, 韦中, 储成才, 袁力行, 张林, 崔振岭, 丛汶峰, 张福锁. 根际生命共同体: 协调资源、环境和粮食安全的学术思路与交叉创新. *土壤学报*, 2021, 58(4): 805–813.
Shen JB, Bai Y, Wei Z, Chu CC, Yuan LX, Zhang L, Cui ZL, Cong WF, Zhang FS. Rhizobiont: an interdisciplinary innovation and perspective for harmonizing resources, environment, and food security. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58(4): 805–813. (in Chinese)

(本文责编 张晓丽)