

促生菌对基质栽培番茄根系细菌群落的影响

李凤¹, 周方园¹, 张广志¹, 周红姿¹, 吴晓青¹, 吴金娟², 张新建^{*1}

1 齐鲁工业大学(山东省科学院)生态研究所 山东省应用微生物重点实验室, 山东 济南 250103

2 山东商道生物科技股份有限公司, 山东 济南 250000

李凤, 周方园, 张广志, 周红姿, 吴晓青, 吴金娟, 张新建. 促生菌对基质栽培番茄根系细菌群落的影响[J]. 微生物学通报, 2022, 49(2): 583-597

Li Feng, Zhou Fangyuan, Zhang Guangzhi, Zhou Hongzi, Wu Xiaqing, Wu Jinjuan, Zhang Xinjian. Impacts of growth-promoting bacteria on root bacterial community of tomato in substrate culture[J]. Microbiology China, 2022, 49(2): 583-597

摘要: 【背景】植物促生菌剂产品在农业生产上的应用越来越广泛, 但人们对促生菌在基质栽培条件下对作物根系微生物群落影响的了解有限。【目的】明确在基质栽培条件下促生菌假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) JP2-3 和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) Z54 对番茄生长和根系细菌群落的影响。【方法】通过蘸根和灌根处理, 分别将 2 株促生菌接种到基质栽培的番茄上。通过对番茄苗期各生长指标调查, 明确促生菌对番茄生长的影响。利用 16S rRNA 基因扩增子测序技术, 分析接种促生菌对番茄根系细菌群落组成和结构的影响。【结果】2 株促生菌均能促进番茄生长: 菌株 JP2-3 处理组的 4 种生长指标(株高、茎粗、最大叶长、最大叶宽)均比对照组大; 除茎粗外, 菌株 Z54 处理组其余 3 种指标均大于对照组。接种菌株 JP2-3 和 Z54 改变了番茄根系细菌群落的 α 多样性, 丰富度指数和多样性指数都比对照组低, 而且菌株 Z54 处理组降低更显著($P < 0.05$)。接种菌株 Z54 使根系细菌群落的 β 多样性发生了明显变化, 而菌株 JP2-3 对 β 多样性的影响相对较小。番茄根系细菌群落的主要优势菌门有变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*); 主要优势菌属有: 链霉菌属(*Streptomyces*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、艾德昂菌属(*Ideonella*)和德沃斯氏菌属(*Devosia*)等。在门水平上, 基质栽培的番茄根系细菌群落组成与土壤栽培相似, 但在属水平上有较大差异。接种菌株 JP2-3 提高了艾德昂菌属(*Ideonella*)、游动放线菌属(*Actinoplanes*)和水居菌属(*Aquincola*)等菌属的相对丰度; 接种菌株 Z54 则提高了短波单胞菌属(*Brevundimonas*)和黄杆菌属(*Flavobacterium*)等菌属的相对丰度。在上述相对丰度增加的菌属中, 有多种细菌是植物益生菌。基于线性判别效应量分析的结果表明, 菌株 JP2-3 处理组的生物标志物主要集中分布于 β -变形菌纲(*Betaproteobacteria*)和放线菌纲(*Actinobacteria*), 而菌株 Z54 处理组主要集中于 γ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)。【结论】在基质栽培条件下, 施

基金项目: 山东省重点研发计划(2019JZZY020610, 2019GSF107086)

Supported by: Key Research and Development Program of Shandong Province (2019JZZY020610, 2019GSF107086)

*Corresponding author: E-mail: zhangxj@sdas.org

Received: 2021-08-27; Accepted: 2021-10-15; Published online: 2021-11-16

用假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) JP2-3 和枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) Z54, 对番茄根系细菌群落组成和结构产生了不同的影响。2 株菌分别提高了不同土著有益微生物的相对丰度, 在促生菌和土著有益微生物的协同作用下促进了番茄的生长。

关键词: 促生菌; 高通量测序; 基质栽培; 微生物群落

Impacts of growth-promoting bacteria on root bacterial community of tomato in substrate culture

LI Feng¹, ZHOU Fangyuan¹, ZHANG Guangzhi¹, ZHOU Hongzi¹, WU Xiaoqing¹,
WU Jinjuan², ZHANG Xinjian^{*1}

1 Shandong Provincial Key Laboratory of Applied Microbiology, Ecology Institute, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Ji'nan 250103, Shandong, China

2 Shandong Shangdao Biotechnology Limited Company, Ji'nan 250000, Shandong, China

Abstract: [Background] Plant growth-promoting agents have been widely used in agricultural production, while the knowledge to their impacts on the root microbial community of crops in substrate culture is limited. [Objective] The objective is to investigate the effects of *Pseudomonas* sp. JP2-3 and *Bacillus subtilis* Z54 on the growth and root bacterial community of tomato in substrate culture. [Methods] The two strains were inoculated by root dipping and root irrigation for the tomato plants in substrate culture. We then measured the growth indexes of tomato seedlings to explore the effect of growth promoting bacteria on tomato growth. The strain effects on the composition and structure of the root bacterial community were analyzed by 16S rRNA gene amplicon sequencing technology. [Results] The two strains promoted tomato growth. Four growth indexes (plant height, stem diameter, maximum leaf length, and maximum leaf width) in strain JP2-3 group were higher than those in CK group. Except stem diameter, the other three indexes in strain Z54 group were higher than those in CK group. Both strains JP2-3 and Z54 changed the α diversity of bacterial community and decreased the bacterial richness and diversity compared with the CK group. Particularly, the decrease was more significant in strain Z54 group ($P < 0.05$). The β diversity of root bacterial community was significantly changed by strain Z54 while slightly affected by strain JP2-3. The dominant bacterial phyla included *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, and *Bacteroidetes*, and the dominant genera were *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Ideonella*, *Devosia*, etc. The composition of root bacterial community of tomato in substrate culture was similar to that in soil culture at the phylum level while different at the genus level. Inoculation with strain JP2-3 increased the relative abundance of *Ideonella*, *Actinoplanes*, and *Aquincola*, while strain Z54 increased the relative abundance of *Brevundimonas* and *Flavobacterium*. Among the genera with increased relative abundance, many bacteria are beneficial to plants. LEfSe showed that the biomarkers of strain JP2-3 group were mainly distributed in *Betaproteobacteria* and *Actinobacteria*, while those of strain Z54 group in *Gammaproteobacteria*. [Conclusion] *Pseudomonas* sp. JP2-3 and *B. subtilis* Z54 promoted the growth of tomato in substrate culture and had different impacts on the composition and structure of the bacterial community in tomato roots. The two strains

increased the relative abundance of indigenous beneficial microorganisms and cooperated with indigenous beneficial microorganisms to promote tomato growth.

Keywords: growth-promoting bacteria; high-throughput sequencing; substrate culture; microbial community

番茄(*Solanum lycopersicum*)含有丰富的番茄红素、维生素、矿物质等营养物质,深受人们喜爱,是世界上种植范围最广、总产量最高的蔬菜作物之一。随着设施农业的逐渐发展,番茄在我国的栽培面积不断扩大,已成为种植面积排名第四的蔬菜品种^[1]。由于常年重茬连作以及化肥农药的不合理使用,导致土传病害发生严重、土壤质量不断下降,制约了设施农业的可持续发展。然而无土栽培是解决上述连作障碍问题的有效途径^[2],其中基质栽培因其具有技术要求低、前期投资少、病虫害少、节水节肥、栽种灵活、可控性较高等优点,在实际生产中应用最广泛^[3]。目前常用的栽培基质由草炭、菌渣、秸秆、稻壳、蛭石、炉渣、珍珠岩等有机和无机原料混配而成^[4],具有透气、保湿、轻质等优点。

正常生长的植物根系富集了各种各样的微生物,其中有大量的植物促生菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR),这类微生物一般通过生物固氮或溶磷作用为植物提供氮素及磷素营养物质^[5],另外还有一些 PGPR 可以分泌抗生素、植物激素等代谢产物及产生铁载体等物质,促进植物根系吸收矿物质和水分,进而促进植物的生长发育,抑制病原微生物生长,减少植物病害的发生^[6-7]。常见促生菌有芽孢杆菌属(*Bacillus*)、假单胞菌(*Pseudomonas* spp.)、放线菌(*Actinomyces* spp.)、根瘤菌(*Rhizobium* spp.)和木霉菌(*Trichoderma* spp.)等^[8-9]。其中有多种微生物已开发成商品化菌剂,随着人们对化肥农药滥用危害的关注以及对健康和环境问题的重视,植物促生菌剂产品在农业生产上的

应用越来越广泛,具有广阔的应用前景。

健康植物的根系微生物通过竞争和协作形成了比较稳定的群落结构,这些微生物对于植物的生长发育、抗病、抗逆至关重要^[10]。以往的研究往往关注基质养分的优化,却对基质中的微生物群落了解较少。近年来,随着微生物组测序、高通量培养、人工重组体系等方法的建立及应用,极大地提高了人们对根系微生物群落结构和功能的认知能力和水平,已发现土壤理化性质、植物基因型、根系构型等因素对根系微生物群落具有较大影响^[10-11]。栽培基质的组成与土壤有较大不同,与土壤相比,基质的缓冲能力非常低。关于添加促生菌对基质栽培作物根系微生物群落产生的影响目前了解较少,因此,本研究通过在番茄的基质栽培过程中接种促生菌,检测菌株对番茄生长的影响,并利用扩增子高通量测序技术分析接种促生菌对番茄根系细菌群落组成和结构的影响,以为促生菌在番茄基质栽培中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 番茄品种

鲁青娇粉,由山东鲁青种苗有限公司提供。

1.1.2 促生菌

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) Z54 和假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) JP2-3, 本实验室保存。其中,枯草芽孢杆菌 Z54 对多种植物病原菌具有生防效果,而且能促进植物生长^[12];假单胞菌 JP2-3 具有较强的溶磷能力,可以促进作物

生长^[13]。

1.1.3 栽培基质

栽培基质由山东商道生物科技股份有限公司提供,主要原料为稻壳、牛粪、作物秸秆等,按 1:1:2 比例掺混腐熟而成。

1.2 番茄的栽培

温室试验在济南市鲁青生态蔬菜体验中心(117.1039°E, 36.5841°N)进行。栽培方式采用槽式栽培,栽培槽采用挖沟槽铺塑料膜的方式。栽培槽的形状为梯形,上口宽 60 cm,底宽 40 cm,深度 20 cm。槽面覆盖 0.01 mm 的塑料膜,然后填加栽培基质至稍高出栽培槽口。

1.3 促生菌接种液的制备

划线接种 *B. subtilis* Z54 和 *Pseudomonas* sp. JP2-3 到 LB 平板上,置于培养箱中 30 °C 培养 48 h,然后分别挑取单菌落接种于营养肉汤培养基中,30 °C、180 r/min 条件下培养 72 h。取细菌培养液于 8 000 r/min 离心 10 min,弃上清,加无菌水洗涤菌体沉淀 2 次,重悬菌体,调整菌液浓度为 1×10^8 CFU/mL。

1.4 接种方式

分 2 次进行接种,第 1 次在番茄移栽前进行蘸根处理,将待定植的番茄苗根部置于浓度为 1×10^8 CFU/mL 菌液中浸泡 5 min,然后进行移栽。第 2 次在定植后第 7 天进行灌根处理,在每株番茄根部浇灌 20 mL 浓度为 1×10^8 CFU/mL 菌液。以清水作为对照,每个处理设置 3 个小区重复,每个小区面积为 1.5 m \times 12 m,各处理的小区在温室内随机分布。

1.5 番茄生长指标的调查

在定植后的第 14 天,调查菌株对番茄生长的影响,采取随机取样调查,每个处理调查 10 株番茄,调查的指标包括株高、茎粗、最大叶长和最大叶宽。

1.6 根系样品的采集

在定植后的第 30 天,进行番茄根系样品的采集。样品采集方法参考胡雅丽等^[14-15]的方法,每种处理随机取 6 株番茄,取样时用铁锹向下挖取约 15 cm,取出其中番茄的根,抖落根上携带的基质,将番茄的根全部剪下,粗剪成段,混匀,抓取一部分装入 50 mL 的离心管中。每个离心管加入 35 mL 磷酸盐缓冲液,在转速为 180 r/min 的摇床上振荡清洗 20 min,将根转入新的 50 mL 离心管,再重复上述清洗步骤 2 次。

1.7 样品 DNA 提取及高通量测序

采用植物 DNA 提取的经典方法(CTAB 法)提取番茄根系样本的总 DNA。提取结束后,进行琼脂糖凝胶电泳,使用 NanoDrop 2000 检测 DNA 浓度。用无菌水将获得的适量 DNA 稀释至 1 ng/ μ L,以此作为 PCR 扩增模板,对细菌 16S rRNA 基因的 V5-V7 可变区进行 PCR 扩增。PCR 扩增使用的是 Phusion[®] High-Fidelity PCR Master Mix 试剂盒,反应体系参照试剂盒的使用说明书,扩增引物为 799F (5'-AACMGG ATTAGATACCCKG-3')和 1193R (5'-ACGTCAT CCCCACCTTCC-3')。PCR 反应条件:98 °C 1 min; 98 °C 10 s, 50 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30 个循环; 72 °C 5 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶回收后,使用 TruSeq[®] DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 构建文库,构建好的文库经过 Qubit 和 Q-PCR 定量,文库合格后,使用 NovaSeq6000 进行上机测序,每个样本测序数据量为 50 000 tags 以上。高通量测序工作在北京诺禾致源科技股份有限公司完成。

1.8 数据处理及生物信息学分析

数据处理与分析参照 Liu 等^[16]的方法进行。利用 VSEARCH 合并双端测序数据,根据 barcode 序列和 PCR 扩增引物序列从合并的序列中截去 barcode 和引物序列,并进行序列质控和去冗余^[17]。然后使用 USEARCH 对有效序列

进行非聚类法去噪,获得扩增序列变体(amplicon sequence variants, ASV)^[18],基于 Ribosomal Database Project (RDP)数据库去除嵌合体和进行物种注释^[19]。使用 USEARCH 计算 α 多样性指数、稀释曲线、 β 多样性等,用 R 语言(version 4.1.0)对样品物种组成及相对丰度统计结果绘制箱线图、韦恩图(Venn)、主坐标分析图(principal co-ordinates analysis, PCoA)和堆叠柱状图等。通过 LEfSe 分析获得不同处理的生物标志物,其中筛选标准设置为 LDA score>2。

2 结果与分析

2.1 促生菌对番茄生长的影响

在番茄定植 14 d 后,通过对番茄生长指标

的调查,判断菌株对番茄生长的影响。如图 1 所示,接种促生菌的 2 个处理组番茄植株的株高、最大叶长、最大叶宽指标均比对照组 CK 要大。对于上述 3 个指标,菌株 Z54 处理的促生效果均比菌株 JP2-3 明显。然而对于番茄茎粗的影响,接种菌株 Z54 的处理比对照 CK 略小,菌株 JP2-3 处理比对照 CK 大。根据统计分析,接种促生菌显著增加了番茄最大叶长($P<0.05$),而对另外 3 个生长指标的影响不显著。造成差异不显著的原因是:苗期生长受种子的影响较大,番茄植株个体之间差异较大,各生长指标数值比较离散。总而言之,接种枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) Z54 和假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) JP2-3 均能促进番茄的生长发育。

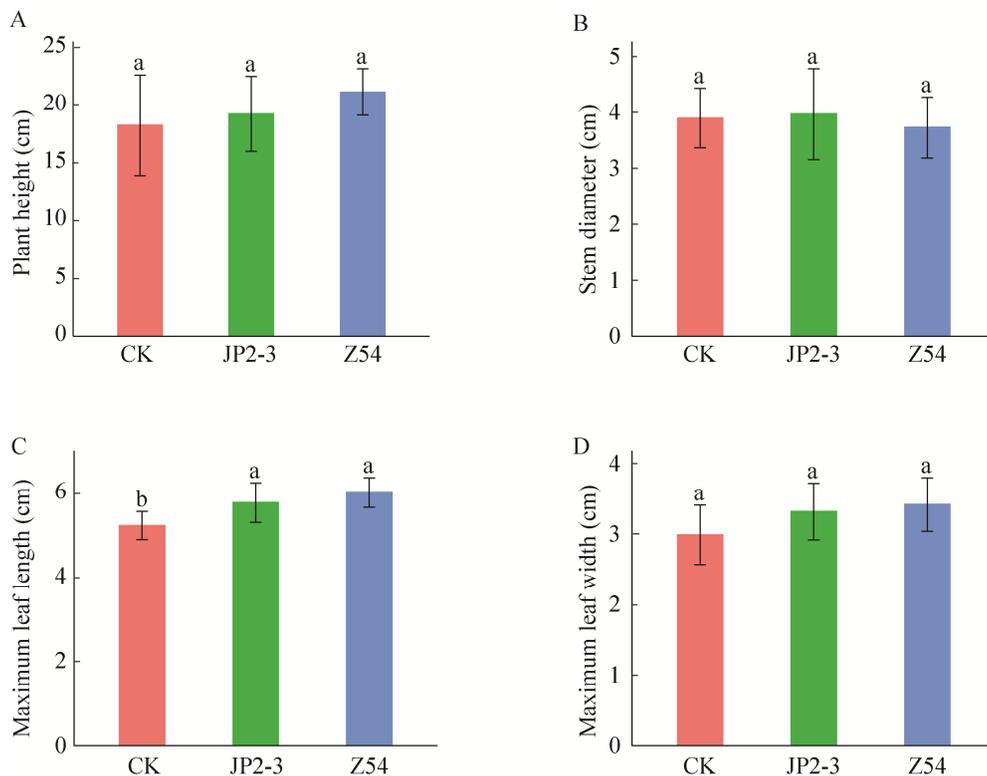


图 1 接种促生菌后番茄生长指标的变化 A: 株高; B: 茎粗; C: 最大叶长; D: 最大叶宽; 不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 下同

Figure 1 Changes of tomato growth indexes after inoculation with promoting bacteria. A: Plant height; B: Stem diameter; C: Maximum leaf length; D: Maximum leaf width. Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$), the same below.

2.2 番茄根系微生物物种组成情况

基于 RDP 数据库,对 3 组处理 18 个样品的扩增子序列进行分析和物种注释,共获得 1 978 个细菌 ASV,鉴定出细菌 17 门 32 纲 64 目 140 科 301 属。如图 2 所示,在门水平上,番茄根系细菌群落的优势菌门有变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*),这 4 个门的相对丰度占总体的 90%以上,其中变形菌门(*Proteobacteria*)的相对丰度最高。该结果与其他研究报道的土壤栽培番茄根系细菌群落组成相似,说明尽管基质与土壤的理化性质存在较大差异,但番茄根系细菌群落在门水平上的组成比较相似。

通过对 3 组样本的稀释曲线(图 3)进行分析,发现从样本中随机抽取一定测序量的数据, Richness 数目先快速上升而后趋于平缓,说明

随着测序量的增大,初期检出大量物种,后期样本群落的物种丰富度变化趋缓,低丰度物种逐渐被检出,物种丰富度上升速率降低,说明测序量已基本达到饱和,能比较完整地反映细菌群落的结构和种类。从稀释曲线上可以看出,各组样品的丰富度大小顺序为 CK>JP2-3>Z54,说明接种促生菌降低了番茄根系细菌群落的丰富度,其中菌株 Z54 的影响最大,推测其原因是菌株 Z54 对其他细菌具有较强的抑制作用。

对 3 组处理样本中相对丰度 $\geq 0.05\%$ 的细菌 ASV 进行统计和比较,结果如图 4 所示。CK、JP2-3 和 Z54 组的 ASV 数目分别为 275、263 和 244,其中 3 组共有 ASV 数目为 114,各自特有的 ASV 分别为 55、52 和 111,分别占各组总 ASV 数的 20.0%、19.8%和 45.5%。Z54 处理组特有 ASV 数最多,说明 Z54 组较另外 2 组有更多的特有微生物种类。3 组之间两两比较,

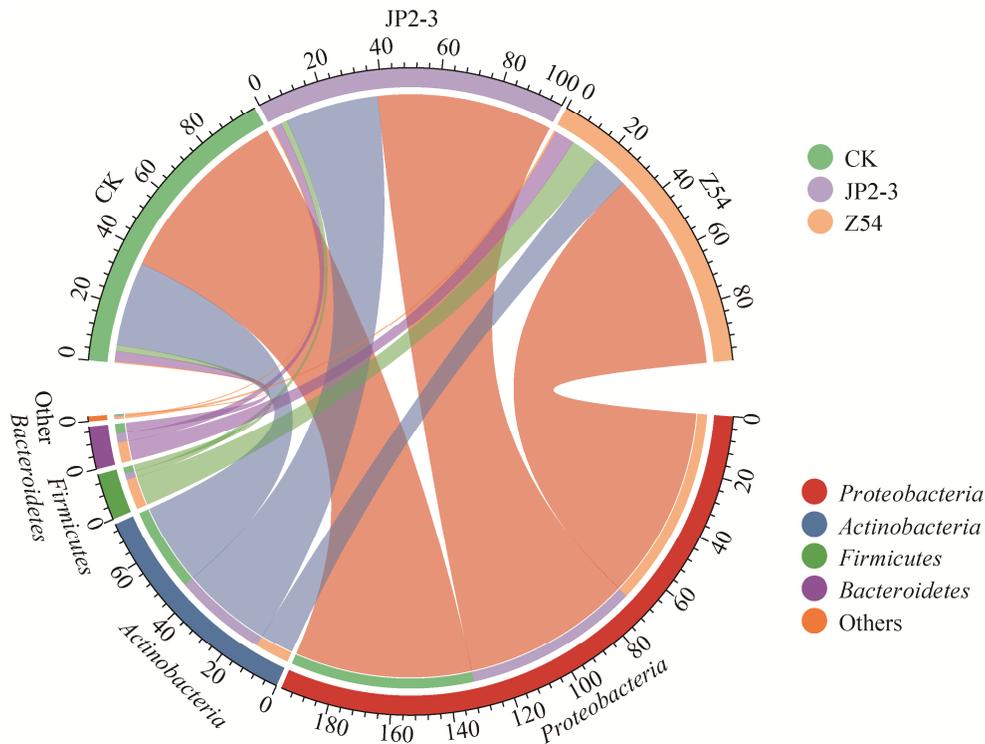


图 2 样品物种分布弦图

Figure 2 Chord diagram of sample species distribution.

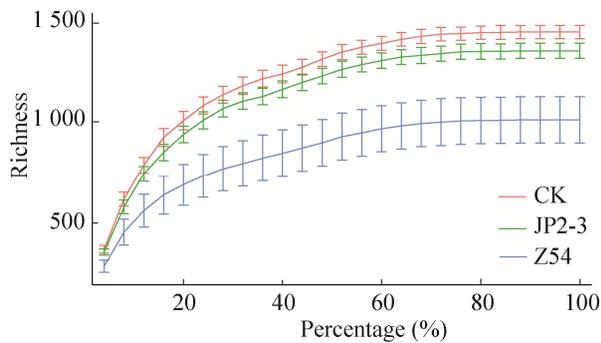


图3 在相似度 97%水平下的稀释曲线
Figure 3 Rarefaction curves at the 97% similarity level.

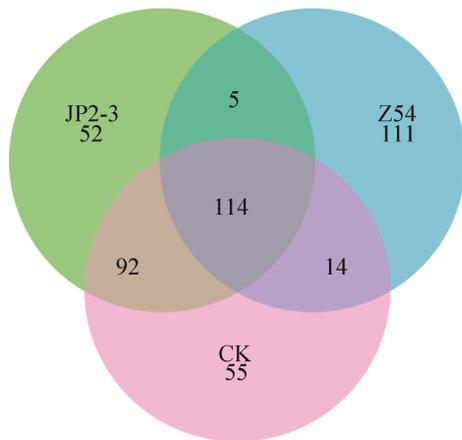


图4 基于 ASV 的韦恩图
Figure 4 Venn graph based on ASVs distribution.

JP2-3 组与 CK 组共有的 ASV 数目最大,为 206 个,高于 Z54 与 JP2-3 组(119)或 Z54 与 CK 组共有 ASV 数(128),说明与 Z54 组相比,JP2-3 组与 CK 组的微生物种类具有更好的相似性。上述结果表明,接种菌株 JP2-3 和 Z54 均引起了番茄根系细菌组成的变化,其中菌株 Z54 的影响更大。

2.3 不同处理的番茄根系微生物群落的 α 多样性

α 多样性是指特定群落或生境内的物种多样性,常用指标为 ACE、Chao1、Richness、Shannon 指数等,前 3 个指标反映物种丰富度,

Shannon 指数同时表征丰富度和均匀度,反映了细菌群落多样性。接种促生菌后,对番茄根系细菌群落的 α 多样性指数影响如图 5 所示,各组 ACE、Chao1 和 Richness 指数大小顺序为 CK>JP2-3>Z54。其中 CK 组和 JP2-3 组的组间差异不显著($P>0.05$),而与 Z54 组的组间差异显著($P<0.05$),即接种促生菌 JP2-3 降低了细菌群落丰富度,但差异不明显,而接种促生菌 Z54 显著降低了细菌群落的丰富度。JP2-3 组和 Z54 组的 Shannon 指数低于 CK 组,说明添加促生菌降低了番茄根系细菌群落多样性和均匀度,而且 Z54 处理组与 CK 组差异显著($P<0.05$)。上述结果表明,接种菌株 JP2-3 和 Z54 降低了番茄根系细菌群落的丰富度和均匀度,其中菌株 Z54 的影响比较显著。这可能是由于枯草芽孢杆菌 Z54 能产生抗菌物质,抑制了其他细菌的生长,从而显著降低了细菌群落的丰富度和均匀度;而假单胞菌 JP2-3 对其他细菌的抑制作用较弱,因此影响不显著。

2.4 不同处理番茄根系微生物群落的 β 多样性

β 多样性是对不同样本的微生物群落构成进行比较分析,用来衡量样本间群落的差别,反映样本之间的多样性距离关系以及生物群落之间的分化程度。基于 Bray-Curtis 距离,对 3 组样本进行 PCoA 分析,结果如图 6 所示。Z54 组样品在图中的分布相对分散,而 JP2-3 组和 CK 组样品分布相对比较集中,分布越集中说明组内的相似性越高。Z54 组样本主要分布在 PCo1 的左轴,而 CK 组和 JP2-3 组分布在 PCo1 的右轴,说明 Z54 组与 CK 组、JP2-3 组的细菌群落结构存在明显差异。CK 组和 JP2-3 组的细菌群落分散于 PCo2 的上下轴,2 组数据簇未完全分开,说明 2 组群落结构较为相似。上述结果表明,接种 *B. subtilis* Z54 后使番茄根系细菌

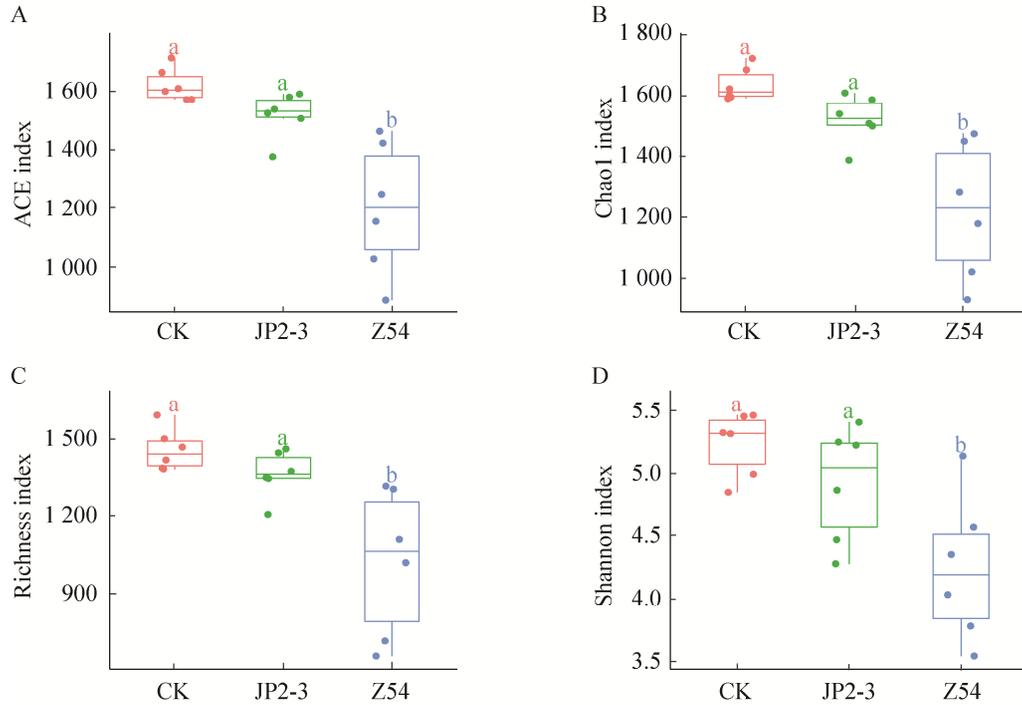


图5 土壤细菌群落 α 多样性指数 A: ACE指数; B: Chao1指数; C: Richness指数; D: Shannon指数
Figure 5 Alpha diversity index of soil bacterial communities. A: ACE index; B: Chao1 index; C: Richness index; D: Shannon index.

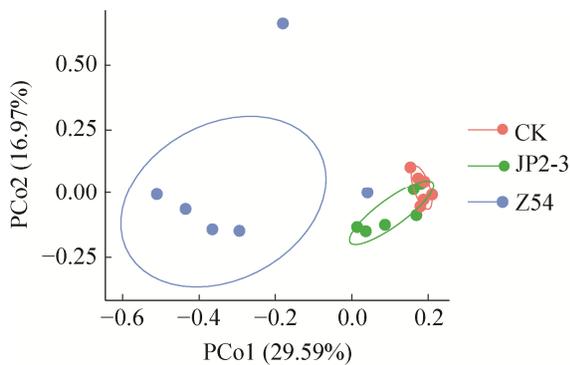


图6 基于ASV的主坐标分析

Figure 6 Principal co-ordinates analysis based on ASVs.

群落结构发生了明显改变,而接种 *Pseudomonas* sp. JP2-3 对番茄根系细菌群落结构的影响比菌株 Z54 要小。

2.5 不同促生菌引起的番茄根系细菌群落组成变化

如前所述, 接种促生菌后引起了番茄根系

微生物种群 α 多样性和 β 多样性的改变。通过对不同处理组样品中相对丰度最高的12个门和属进行比较分析, 发现了不同促生菌引起的番茄根系细菌群落变化差异(图7)。

在门水平上, 番茄根系细菌样品中, 变形菌门(*Proteobacteria*)的相对丰度最高, 在各处理组中的占比分别为64.33% (CK组)、61.52% (JP2-3组)和69.92% (Z54组)。接种 *B. subtilis* Z54 后, 放线菌门(*Actinobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*)的相对丰度受影响较为明显, 与CK组相比, 厚壁菌门和拟杆菌门的相对丰度分别由2.19%和3.55%提高到10.44%和6.94%, 而放线菌门的相对丰度由29.48%降低为11.94%。*B. subtilis* Z54 属于厚壁菌门, 该菌门相对丰度的增加可能与接种该菌有关, 而且厚壁菌门有很多植物促生菌, 有利于植物生长。接种 *Pseudomonas* sp.

JP2-3 后主要引起变形菌门和放线菌门的变化, 其中放线菌门的相对丰度由 29.48% 提高到 32.68%, 而变形菌门的相对丰度由 64.33% 降低到 61.52%。放线菌门的许多细菌能产生抗菌物质来抑制植物病原菌生长, 有利于维持植物健康。

在属水平上, CK 组可鉴定出的主要优势菌属有链霉菌属(*Streptomyces*, 19.86%)、假单胞菌属(*Pseudomonas*, 6.26%)、艾德昂菌属(*Ideonella*, 5.40%)、德沃斯氏菌属(*Devosia*, 5.12%)、根瘤菌属(*Rhizobium*, 3.01%)、纤维弧菌属(*Cellvibrio*, 2.64%)、细杆菌属(*Microbacterium*, 2.59%)、游动放线菌属(*Actinoplanes*, 2.49%)、黄杆菌属(*Flavobacterium*, 2.42%)、水居菌属(*Aquicola*, 2.22%)和短波单胞菌属(*Brevundimonas*, 0.94%), 合计占比为 52.95%。与 CK 组相比, 接种菌株 JP2-3 处理分别使链霉菌属、艾德昂菌属、游动放线菌属和水居菌属的相对丰度增加到 20.83%、7.77%、

5.40% 和 3.51%, 而使假单胞菌属、德沃斯氏菌属和根瘤菌属的相对丰度降低到 4.51%、2.81% 和 1.90%。接种菌株 Z54 处理主要使短波单胞菌属和黄杆菌属的相对丰度增加到 7.84% 和 5.30%, 其余优势菌属的相对丰度均有不同程度的降低。与 CK 组相比, 接种 *B. subtilis* Z54 后使番茄根系细菌种群中芽孢杆菌属(*Bacillus*)的相对丰度由 1.26% 提高到 1.58%, 但接种 *Pseudomonas* sp. JP2-3 却降低了假单胞菌属的相对丰度, 推测其原因是链霉菌产生的链霉菌素等抗菌物质能抑制其他细菌的生长, 从而造成假单胞菌等其他菌属相对丰度下降。

2.6 不同处理番茄根系细菌种群的生物标志物分析

采用基于线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)效应量的分析方法(LDA effect size, LEfSe), 寻找在组间具有统计学差异的生物标志物。图 8 展示了 CK、JP2-3 和 Z54 组

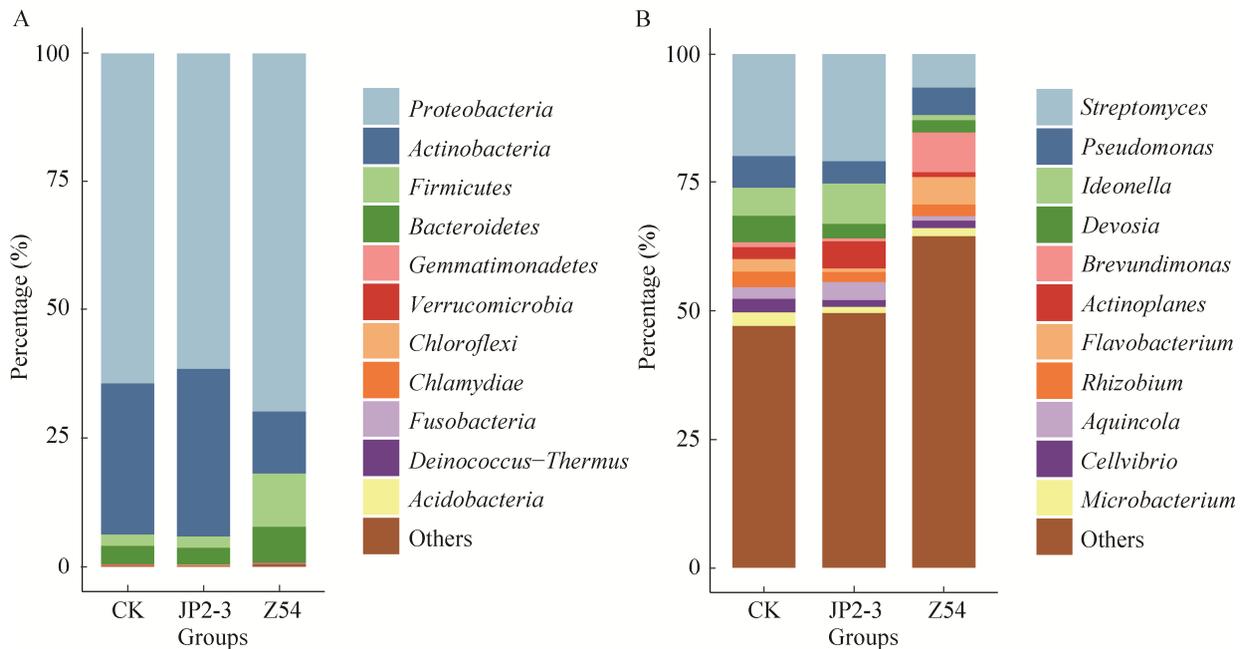


图 7 门水平(A)和属水平(B)上土壤细菌群落组成

Figure 7 Soil bacterial community composition at phylum level (A) and genus level (B).

之间丰度差异显著物种的进化分支图, 3 组比较时的 LDA 得分设置为大于 2。

3 组间相互比较的结果如图 8 所示。在属水平上, CK 组的生物标志物主要为链霉菌属 (*Streptomyces*)、微杆菌属 (*Microbacterium*)、苯基杆菌属 (*Phenyllobacterium*)、德沃斯氏菌属 (*Devosia*)、鞘脂菌属 (*Sphingobium*)、水小杆菌属 (*Aquabacterium*)、氢噬菌属 (*Hydrogenophaga*) 和甲基菌属 (*Methylobacillus*) 等。JP2-3 处理组的生物标志物主要为游动放线菌属 (*Actinoplanes*)、伦茨氏菌属 (*Lentzea*)、慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*)、中慢生根瘤菌属 (*Mesorhizobium*)、艾德昂菌属 (*Ideonella*)、水库杆菌属 (*Piscinibacter*)、沙壤土杆菌属 (*Ramlibacter*)、砂单胞菌属 (*Arenimonas*)、*Chryseolinea* 和 *Corticibacter* 等, 上述菌属主要

集中分布于 β -变形菌纲 (*Betaproteobacteria*) 和放线菌纲 (*Actinobacteria*); 游动放线菌属、伦茨氏菌属等放线菌纲的许多细菌能产生多种抗菌物质, 有利于维持植物健康。Z54 处理组的生物标志物主要为狭义梭菌属 (*Clostridium sensu stricto*)、短波单胞菌属 (*Brevundimonas*)、科迪单胞菌属 (*Kordiimonas*)、鞘脂单胞菌属 (*Sphingomonas*)、产碱杆菌属 (*Alcaligenes*)、贪铜菌属 (*Cupriavidus*)、大肠埃希菌-志贺氏菌属 (*Escherichia Shigella*)、果胶杆菌属 (*Pectobacterium*) 和不动杆菌属 (*Acinetobacter*), 上述菌属主要集中分布于 γ -变形菌纲 (*Gammaproteobacteria*) 等。短波单胞菌属、产碱杆菌属的许多菌株具有生防、溶磷等功能, 有利于维持植物健康、促进植物生长。

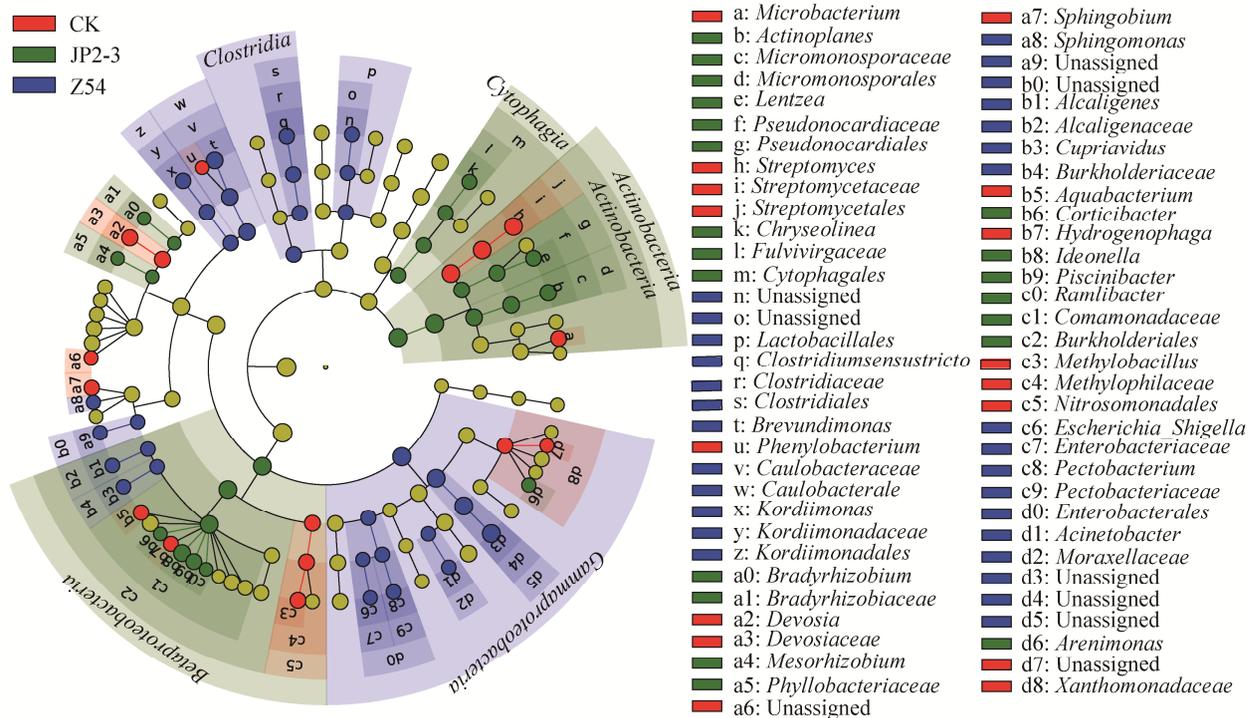


图 8 不同处理组之间番茄根系细菌群落差异物种进化分支图

Figure 8 The phylogenetic clade diagram of the bacterial community differences in tomato rhizosphere between different treatment groups.

3 讨论与结论

本研究利用 16S rRNA 基因扩增子高通量测序技术分析了基质栽培的番茄在分别接种促生菌枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) Z54 和假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) JP2-3 后的根系细菌群落组成和结构, 通过比较不同处理之间的细菌群落结构, 解析了在基质栽培条件下接种 2 种促生菌引起的番茄根系细菌种群变化差异。通过文献检索, 我们未发现相同的研究报道, 因此, 本研究结果对于了解促生菌在基质栽培条件下引起的作物根系细菌群落变化提供了重要信息, 为指导促生菌在番茄基质栽培中的应用提供了理论依据。

本研究发现, 在基质栽培条件下, 番茄根系细菌优势物种主要有变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*)等, 其中变形菌门的相对丰度占比最大。该结果与其他研究报道的土壤栽培番茄根系细菌群落组成相似。例如: Lee 等^[20]收集了韩国 7 个地区 23 个温室土壤种植的番茄样品, 检测发现这些番茄根系细菌群落的优势菌门为变形菌门、放线菌门、拟杆菌门和厚壁菌门; Cheng 等^[21]对 11 个番茄品种的根系细菌群落进行研究, 发现变形菌门、拟杆菌门和酸杆菌门等占优势。通过与上述结果比较, 我们还发现在土壤栽培条件下, 其他菌门的相对丰度比基质栽培条件下高, 说明土壤栽培条件下番茄根系细菌群落的多样性更高。在属水平上, Lee 等^[20]发现番茄的 19 个核心 OTU 隶属于 12 个菌属, 其中仅有链霉菌属(*Streptomyces*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、根瘤菌属(*Rhizobium*) 3 个属在本研究的优势菌属中被发现, 表明基质栽培和土壤栽培的番茄根系细菌种群在属水平的组成

上存在较大差异。Cheng 等^[21]的研究中也比较了一个番茄品种在 5 种土壤和 2 种基质中的根系细菌群落, 发现在不同土壤中番茄根系细菌种群在组成和结构上相对比较保守, 但与基质中有显著的不同。

接种促生菌假单胞菌 JP2-3 后降低了番茄根系细菌群落的丰富度和多样性, 但与 CK 组相比差异不显著($P>0.05$)。刘辉等^[22]的研究发现了相似的结果, 单独接种溶磷细菌荧光假单胞菌 JW-JS1 可以提高 NL-895 杨树根系土壤微生物群落的物种均匀性, 但降低了微生物种群的多样性。在门水平上, 接种菌株 JP2-3 的处理组中细菌群落的优势物种种类未变化, 但放线菌门的相对丰度略有上升。这与罗路云等^[23]的研究结果一致, 喷洒沼泽红假单胞菌菌剂 PSB06 可以改善土壤微生物区系, 提高土壤中放线菌所占的相对丰度, 而放线菌是土壤中的主要类群, 可以抑制土壤病害、促进土壤养分循环。在属水平上, 接种菌株 JP2-3 后增加的优势菌属主要有艾德昂菌属(*Ideonella*)、游动放线菌属(*Actinoplanes*)和水居菌属(*Aquincola*)。 *Ideonella* sp. TH17^[24]被报道可以有效去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$, 将其转化为生物质氮。 *Actinoplanes*^[25]则被报道具有产生吡啶乙酸、铁载体及磷酸盐增溶活性, 还对水稻病原菌有拮抗能力, 能够显著促进水稻幼苗生长。可见, 接种假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) JP2-3 在一定程度上能够提高植株中有益微生物的相对丰度。

接种枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) Z54 之后, 降低了番茄根系土壤中细菌群落的丰富度和多样性指数且结果显著($P<0.05$), 表明添加菌株 Z54 对土壤细菌群落的 α 多样性有显著影响。此外, β 多样性分析结果表明, 添加菌株 Z54 组改变了土壤细菌群落的 β 多样性, 土壤细菌群落结构产生了差异性变化。Qiao 等^[26]的研究发

现, 根系定殖枯草芽孢杆菌 PTS-394 对番茄根系微生物群落也有过短暂影响变化, 对细菌群落仅持续 3 d。然而 Han 等^[27]在研究使用解淀粉芽孢杆菌 B1408 调节根系微生物群落来抑制黄瓜枯萎病时, 结果发现细菌多样性显著增加; Wang 等^[28]施用芽孢杆菌 FKM10 进行盆栽试验, 结果表明与对照组相比, 处理组细菌丰富度和多样性增加, 土壤微生物群落结构发生变化。在属水平上, 接种菌株 Z54 处理主要使短波单胞菌属 (*Brevundimonas*) 和黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 的相对丰度增加。孙卓等^[29]从人参根系土壤分离得到的一株土壤短波单胞菌对人参锈腐病具有防治作用。Kwak 等^[30]基于宏基因组学分析从番茄根系鉴定和分离到一株黄杆菌, 其能有效抑制番茄青枯病的发生。因此, 接种枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) Z54 在一定程度上也提高了番茄根系有益微生物的相对丰度。

根系微生物发挥着重要的功能, 如为植物提供营养、矿物质和维生素, 并保护植物免受生物和非生物的胁迫, 对于维持植物健康具有重要作用。土著根系微生物种群作为一种生态屏障, 帮助植物抵御外来微生物的入侵。研究表明, 微生物种群的多样性和均匀性越高, 抵抗环境胁迫和生物胁迫的能力往往越强。外源植物促生菌可以通过提供养分、平衡植物激素状态、诱导抗性、改变根系分泌物组成等方式改变根系微生物种群的组成和结构。Berg 等^[31]将外源促生菌调节植物根系微生物的作用归纳为 6 种类型: 短暂的微生物群落变化; 微生物多样性的稳定或增加; 微生物群落均匀度的稳定或增加; 恢复微生态平衡; 增加有益微生物; 减少潜在的病原菌。马慧媛等^[32]将含有哈茨木霉和巨大芽孢杆菌的菌剂接种到茄子根际, 显著提高了微生物群落的多样性, 并且提高了芽孢杆菌、假单胞菌等有益微生物的占比。本研

究发现, 接种促生菌 Z54、JP2-3 分别增加了不同有益微生物的相对丰度, 但是降低了微生物群落的多样性, 尤其是菌株 Z54 的影响更为显著。推测菌株 Z54 造成细菌群落显著变化的原因是该菌株为高活性拮抗菌, 能产生多种拮抗物质, 对其他微生物产生了抑制作用, 而基质的生态缓冲能力较弱, 从而降低了微生物群落的丰富度和多样性。基质中的微生物多样性较低, 生态平衡更容易被破坏, 而在基质中接种促生菌可提高土著有益微生物的相对丰度, 在促生菌和土著有益微生物的协同作用下, 有利于预防病害发生、促进作物生长。因此, 在基质栽培条件下, 接种促生菌对于维持作物健康、减少农药化肥的使用具有重要意义。

促生菌在作物根部的定殖、增殖和存活能力对于菌株促生和生防效果的稳定性具有重要影响^[33]。由于扩展子测序技术的局限, 本研究的结果只是对菌群的相对定量, 未对接种的促生菌在番茄根际定殖水平进行绝对定量。近期的一些研究进展对将来的研究提供了很好的参考。例如: Zhang 等^[34]通过 AFLP 鉴定出 *B. subtilis* NCD-2 和 *P. protegens* FD6 的特异片段, 然后基于实时定量 PCR 技术建立了特异的检测方法, 研究了上述菌株在小麦根际的定殖情况; Guo 等^[35]报道了一种宿主相关定量丰度分析方法, 该方法可以通过微生物标记基因与植物基因组的拷贝数比值, 准确地检测相对于宿主植物的微生物总量和根微生物组成员的定殖情况。基于上述方法, 可以更加准确地了解促生菌在植物根系的定殖情况以及根系微生物种群变化情况。

综上所述, 在基质栽培条件下, 施用假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) JP2-3 和枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) Z54 促进了番茄生长。基质栽培番茄根系细菌群落组成在门水平上与土壤栽培相

似,但在属水平上有较大差异。接种这 2 种促生菌改变了番茄根系细菌群落的 α 多样性,群落的丰富度指数和多样性指数都被降低,而且菌株 Z54 处理组的降低更显著。2 种促生菌对番茄根系细菌群落的组成和结构产生了不同的影响,菌株 Z54 使番茄根系细菌群落多样性发生了明显变化,而菌株 JP2-3 对群落多样性的影响相对较小。接种 2 种促生菌,分别增加了不同土著有益微生物的相对丰度,有助于促进植物健康生长。上述结果是对基质栽培条件下促生菌微生态效应的初步探索,将来的研究可以通过宏基因组学和培养组学等多组学结合的手段研究根系微生态的功能,为阐明促生菌的作用机制提供重要信息。

REFERENCES

- [1] 李波,米兴旺,何萌,王学强,钱宝玲. 复配基质对戈壁日光温室番茄果实品质及产量的影响[J]. 北方园艺, 2021(8): 64-70
Li B, Mi XW, He M, Wang XQ, Qian BL. Effects of compound matrix on fruit quality and yield of tomato in Gobi solar greenhouse[J]. Northern Horticulture, 2021(8): 64-70 (in Chinese)
- [2] 杨俊雪,王冲,石如岳,于点,高萌萌. 基质栽培对番茄产量和品质影响的 Meta 分析[J]. 中国瓜菜, 2021, 34(6): 47-53
Yang JX, Wang C, Shi RY, Yu D, Gao MM. Effects of substrate culture on the yield and quality of tomato: a meta-analysis[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2021, 34(6): 47-53 (in Chinese)
- [3] 郭世荣. 固体栽培基质研究、开发现状及发展趋势[J]. 农业工程学报, 2005, 21(S2): 1-4
Guo SR. Research progress, current exploitations and developing trends of solid cultivation medium[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2005, 21(S2): 1-4 (in Chinese)
- [4] 徐强,张沛东,涂忠. 植物基质栽培的研究进展[J]. 山东农业科学, 2015, 47(3): 131-137
Xu Q, Zhang PD, Tu Z. Research progress of substrate culture of plant[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2015, 47(3): 131-137 (in Chinese)
- [5] Saleem M, Arshad M, Hussain S, Bhatti AS. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2007, 34(10): 635-648
- [6] Singh RP, Jha PN. Analysis of fatty acid composition of PGPR *Klebsiella* sp. SBP-8 and its role in ameliorating salt stress in wheat[J]. Symbiosis, 2017, 73(3): 213-222
- [7] 丁新景,黄雅丽,马风云,杜秉海,王贝贝,马海林,刘方春,李丽. 根际促生菌对景天科多肉植物雪莲的促生作用[J]. 东北林业大学学报, 2016, 44(12): 26-30
Ding XJ, Huang YL, Ma FY, Du BH, Wang BB, Ma HL, Liu FC, Li L. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on the *Echeveria laui*[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2016, 44(12): 26-30 (in Chinese)
- [8] Hashem A, Tabassum B, Fathi Abd_Allah E. *Bacillus subtilis*: a plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2019, 26(6): 1291-1297
- [9] He AL, Liu J, Wang XH, Zhang QG, Song W, Chen J. Soil application of *Trichoderma asperellum* GDFS1009 granules promotes growth and resistance to *Fusarium graminearum* in maize[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2019, 18(3): 599-606
- [10] 白洋,钱景美,周俭民,钱韦. 农作物微生物组: 跨越转化临界点的现代生物技术[J]. 中国科学院院刊, 2017, 32(3): 260-265
Bai Y, Qian JM, Zhou JM, Qian W. Crop microbiome: breakthrough technology for agriculture[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2017, 32(3): 260-265 (in Chinese)
- [11] 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[J]. 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[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58(4): 805-813 (in Chinese)
- [12] 周红姿,周方园,赵晓燕,吴翠霞,张广志,苑伟伟,吴晓青,谢雪迎,范素素,张新建. 小麦赤霉病生防菌的筛选及其田间防效研究[J]. 中国农业科技导报, 2020, 22(1): 67-77
Zhou HZ, Zhou FY, Zhao XY, Wu CX, Zhang GZ, Yuan WW, Wu XQ, Xie XY, Fan SS, Zhang XJ. Screening of biocontrol agents against wheat *Fusarium* head blight

- and its field control experiment[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2020, 22(1): 67-77 (in Chinese)
- [13] 张广志, 吴晓青, 赵晓燕, 周方园, 张新建, 谢雪迎, 周红姿. 设施土壤中解磷-反硝化复合功能细菌筛选及其活性研究[J]. 土壤通报, 2020, 51(6): 1467-1472
Zhang GZ, Wu XQ, Zhao XY, Zhou FY, Zhang XJ, Xie XY, Zhou HZ. Screening and activity of phosphorous releasing and denitrifying bacteria in greenhouse soils[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2020, 51(6): 1467-1472 (in Chinese)
- [14] 胡雅丽, 戴睿, 刘永鑫, 张婧赢, 胡斌, 储成才, 袁怀波, 白洋. 水稻典型品种日本晴和 IR24 根系微生物组的解析[J]. 遗传, 2020, 42(5): 506-518
Hu YL, Dai R, Liu YX, Zhang JY, Hu B, Chu CC, Yuan HB, Bai Y. Analysis of rice root bacterial microbiota of Nipponbare and IR24[J]. Hereditas, 2020, 42(5): 506-518 (in Chinese)
- [15] Zhang JY, Liu YX, Zhang N, Hu B, Jin T, Xu HR, Qin Y, Yan PX, Zhang XN, Guo XX, et al. NRT1.1B is associated with root microbiota composition and nitrogen use in field-grown rice[J]. Nature Biotechnology, 2019, 37(6): 676-684
- [16] Liu YX, Qin Y, Chen T, Lu MP, Qian XB, Guo XX, Bai Y. A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data[J]. Protein & Cell, 2021, 12(5): 315-330
- [17] Rognes T, Flouri T, Nichols B, Quince C, Mahé F. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics[J]. PeerJ, 2016, 4: e2584
- [18] Edgar RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. Bioinformatics, 2010, 26(19): 2460-2461
- [19] Cole JR, Wang Q, Fish JA, Chai BL, McGarrell DM, Sun YN, Brown CT, Porras-Alfaro A, Kuske CR, Tiedje JM. Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis[J]. Nucleic Acids Research, 2014, 42(D1): D633-D642
- [20] Lee SA, Kim Y, Kim JM, Chu B, Joa JH, Sang MK, Song J, Weon HY. A preliminary examination of bacterial, archaeal, and fungal communities inhabiting different rhizocompartments of tomato plants under real-world environments[J]. Scientific Reports, 2019, 9: 9300
- [21] Cheng ZQ, Lei SN, Li Y, Huang W, Ma RQ, Xiong J, Zhang T, Jin LY, Haq HU, Xu XH, et al. Revealing the variation and stability of bacterial communities in tomato rhizosphere microbiota[J]. Microorganisms, 2020, 8(2): 170
- [22] 刘辉, 吴小芹, 任嘉红, 陈丹. 荧光假单胞菌与红绒盖牛肝菌共接种对杨树根际土壤酶活性及微生物多样性的影响[J]. 林业科学, 2019, 55(1): 22-30
Liu H, Wu XQ, Ren JH, Chen D. Effect of co-inoculation with *Pseudomonas fluorescens* and *Xerocomus chrysenteron* on the soil enzyme activity and microbial diversity in poplar rhizosphere[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2019, 55(1): 22-30 (in Chinese)
- [23] 罗路云, 金德才, 左晖, 张卓, 谭新球, 张德咏, 卢向阳, 刘勇. 沼泽红假单胞菌 PSB06 对辣椒根际微生物群落结构的影响[J]. 环境科学, 2017, 38(2): 735-742
Luo LY, Jin DC, Zuo H, Zhang Z, Tan XQ, Zhang DY, Lu XY, Liu Y. Effects of *Rhodopseudomonas palustris* PSB06 on pepper rhizosphere microbial community structure[J]. Environmental Science, 2017, 38(2): 735-742 (in Chinese)
- [24] Zhang LJ, Xie Y, Ding LY, Qiao XJ, Tao HC. Highly efficient ammonium removal through nitrogen assimilation by a hydrogen-oxidizing bacterium, *Ideonella* sp. TH17[J]. Environmental Research, 2020, 191: 110059
- [25] Suksaard P, Pathom-aree W, Duangmal K. Diversity and plant growth promoting activities of actinomycetes from mangroves[J]. Chiang Mai Journal of Science, 2017, 44(4): 1210-1223
- [26] Qiao JQ, Yu X, Liang XJ, Liu YF, Borriss R, Liu YZ. Addition of plant-growth-promoting *Bacillus subtilis* PTS-394 on tomato rhizosphere has no durable impact on composition of root microbiome[J]. BMC Microbiology, 2017, 17(1): 1-12
- [27] Han LJ, Wang ZY, Li N, Wang YH, Feng JT, Zhang X. *Bacillus amyloliquefaciens* B1408 suppresses *Fusarium* wilt in cucumber by regulating the rhizosphere microbial community[J]. Applied Soil Ecology, 2019, 136: 55-66
- [28] Wang CQ, Zhao DY, Qi GZ, Mao ZQ, Hu XN, Du BH, Liu K, Ding YQ. Effects of *Bacillus velezensis* FKM10 for promoting the growth of *Malus hupehensis* rehd. and inhibiting *Fusarium verticillioides*[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2889
- [29] 孙卓, 杨利民. 人参锈腐病生防细菌的筛选及鉴定[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(4): 536-542
Sun Z, Yang LM. Screening and identification of antagonistic bacteria on *Cylindrocarpon destructans* (zinss.) scholtan[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2015, 31(4): 536-542 (in Chinese)
- [30] Kwak MJ, Kong HG, Choi K, Kwon SK, Song JY, Lee J, Lee PA, Choi SY, Seo M, Lee HJ, et al. Rhizosphere

- microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato[J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(11): 1100-1109
- [31] Berg G, Kusstatscher P, Abdelfattah A, Cernava T, Smalla K. Microbiome modulation — toward a better understanding of plant microbiome response to microbial inoculants[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021. DOI:10.3389/fmicb.2021.650610
- [32] 马慧媛, 黄媛媛, 刘胜尧, 徐炳雪, 黄亚丽, 范凤翠, 贾振华, 宋水山. 微生物菌剂施用对设施茄子根际土壤养分和细菌群落多样性的影响[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(1): 140-150
- Ma HY, Huang YY, Liu SY, Xu BX, Huang YL, Fan FC, Jia ZH, Song SS. Effects of microbial agents on nutrient and bacterial community diversity in rhizosphere soil of eggplant cultivated in facilities[J]. *Microbiology China*, 2020, 47(1): 140-150 (in Chinese)
- [33] Lugtenberg B, Kamilova F. Plant-growth-promoting rhizobacteria[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2009, 63(1): 541-556
- [34] Zhang QX, Stummer BE, Guo QG, Zhang W, Zhang XJ, Zhang LQ, Harvey PR. Quantification of *Pseudomonas protegens* FD6 and *Bacillus subtilis* NCD-2 in soil and the wheat rhizosphere and suppression of root pathogenic *Rhizoctonia solani* AG-8[J]. *Biological Control*, 2021, 154: 104504
- [35] Guo XX, Zhang XN, Qin Y, Liu YX, Zhang JY, Zhang N, Wu K, Qu BY, He ZS, Wang X, et al. Host-associated quantitative abundance profiling reveals the microbial load variation of root microbiome[J]. *Plant Communications*, 2020, 1(1): 100003