

研究报告

低温胁迫下链霉菌 TOR3209 对番茄根和茎可培养内生细菌的影响

马佳, 胡栋, 彭杰丽, 张翠绵, 贾楠, 王旭, 王一凡, 王占武*

河北省农林科学院农业资源环境研究所 河北省肥料技术创新中心, 河北 石家庄 050051

马佳, 胡栋, 彭杰丽, 张翠绵, 贾楠, 王旭, 王一凡, 王占武. 低温胁迫下链霉菌 TOR3209 对番茄根和茎可培养内生细菌的影响[J]. 微生物学通报, 2023, 50(1): 194-217.

MA Jia, HU Dong, PENG Jieli, ZHANG Cuimian, JIA Nan, WANG Xu, WANG Yifan, WANG Zhanwu. Impact of *Streptomyces* sp. TOR3209 on culturable endophytic bacteria of tomato roots and stems under low temperature[J]. Microbiology China, 2023, 50(1): 194-217.

摘要:【背景】低温是影响北方温室番茄稳产与高产的主要障碍因子, 前期研究明确链霉菌 (*Streptomyces* sp.) TOR3209 能显著提高番茄的耐低温能力。【目的】揭示菌株 TOR3209 提高番茄抗冷性与番茄内生细菌结构和特性的关系。【方法】在番茄根部施用 TOR3209 菌剂, 分别在低温 (5 °C) 和常温 (25 °C) 条件下, 采用平板分离法和 16S rRNA 基因序列扩增研究菌株 TOR3209 处理对番茄根系和茎部内生细菌菌群结构的影响。【结果】共分离、纯化获得内生细菌 69 株, 分属 4 门 20 科 28 属。分析发现, 与对照相比, 在低温和常温下, 接种菌株 TOR3209 均可提高番茄根茎内生细菌群落的丰富度和多样性。在门水平上, 番茄根茎厚壁菌门的相对丰度显著提高, 变形菌门和拟杆菌门的相对丰度显著降低; 在属水平上, 芽孢杆菌属的相对丰度显著提高, 假单胞菌属和黄杆菌属的相对丰度则显著降低; 在种水平上, 菌株 TOR3209 处理能显著提高番茄根茎解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)、贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*) 和阿氏芽孢杆菌 (*Bacillus aryabhatai*) 等共有芽孢杆菌的相对丰度。常温 and 低温条件下, TOR3209 处理的番茄植株中均分离出威兹曼芽孢杆菌 (*Bacillus wiedmannii*)、耐寒短杆菌 (*Brevibacterium frigoritolerans*) 和约氏不动杆菌 (*Acinetobacter johnsonii*), 实验证明这 3 株菌具有促进番茄生长和提高其耐冷的功能, 均可显著提高番茄植株的株高、叶面积和生物量, 其中耐寒短杆菌提高番茄植株生物量作用效果最为明显, 与对照相比, 地下部与地上部的鲜重分别提高 55.13% 和 51.03%, 干重分别提高 48.37% 和 50.95%。未分离出冰核细菌成团泛菌 (*Pantoea agglomerans*)、地中海假单胞菌 (*Pseudomonas mediterranea*) 和皱纹假单胞菌 (*Pseudomonas corrugate*) 等条件致病菌。【结论】菌株 TOR3209 介导番茄根际后优

资助项目: 河北省自然科学基金(C2020301047); 河北省重点研发计划(19222902D); 国家重点研发计划(2021YFD19009)
This work was supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province (C2020301047), the Key Research and Development Program of Hebei Province (19222902D), and the National Key Research and Development Program of China (2021YFD19009).

*Corresponding author. E-mail: zhanwu@126.com

Received: 2022-03-29; Accepted: 2022-07-27; Published online: 2022-09-17

化了番茄内生细菌的菌群结构, 耐冷促生等功能菌增多, 条件致病菌减少, 对提高番茄耐低温能力起到了重要作用。

关键词: 低温胁迫; 链霉菌; 番茄内生细菌; 群落结构; 多样性

Impact of *Streptomyces* sp. TOR3209 on culturable endophytic bacteria of tomato roots and stems under low temperature

MA Jia, HU Dong, PENG Jieli, ZHANG Cuimian, JIA Nan, WANG Xu, WANG Yifan, WANG Zhanwu*

Institute of Agricultural Resources and Environment, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Hebei Fertilizer Technology Innovation Center, Shijiazhuang 050051, Hebei, China

Abstract: **[Background]** Low temperature is the main obstacle factor affecting the stable and high yield of tomato in solar-energy greenhouse in northern China. We found that *Streptomyces* sp. TOR3209 improved the cold tolerance of tomato plants. **[Objective]** To explore whether the impact of strain TOR3209 on improving resistance to cold stress of tomato plants is related to their endophytic bacterial community structure and property. **[Methods]** Tomato roots were inoculated with strain TOR3209 in substrate culture, and cultured under low temperature (5 °C) and mild temperature (25 °C) separately. Traditional culture-dependent methods were used to isolate and identify bacteria, and the effects of strain TOR3209 on the composition and structure of the root and stem bacterial community were analyzed by 16S rRNA gene amplicon sequencing technology. **[Results]** In this study, 69 species of endophytic bacteria belonging to 28 genera, 20 families and 4 phyla were isolated. Compared to the conditions in the control group, the Shannon index and Margalef index of the endophytic bacterial community of tomato roots and stems inoculated with strain TOR3209 were increased under low and mild temperatures. At phylum level, the relative abundance of *Firmicutes* was increased, while that of *Proteobacteria* and *Bacteroidetes* was decreased; at genus level, the relative abundance of *Bacillus* was boosted, while that of *Pseudomonas* and *Flavobacterium* was reduced; at species level, after treatment with strain TOR3209, the relative abundance of *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus velezensis*, and *Bacillus aryabhatai* was elevated significantly. Under both temperatures of 5 °C and 25 °C, *Bacillus wiedmannii*, *Brevibacterium frigoritolerans* and *Acinetobacter johnsonii* were isolated from the tomato plants inoculated with strain TOR3209, and the experiment demonstrated that the three bacteria are plant-beneficial and cold-adapted, and can markedly increase the heights, leaf areas and biomasses of tomato plants; especially *B. frigoritolerans* treatment had the most obvious effect on the biomass. Compared with the conditions in the control group, fresh weight of root and shoot rose by 55.13% and 51.03%, respectively, and dry weight rose by 48.37% and 50.95%, respectively. The pathogenic bacteria such as *Pantoea agglomerans*,

Pseudomonas mediterranea and *Pseudomonas corrugate* were not isolated. **[Conclusion]** Inoculation with strain TOR3209 impacted the composition and structure of the bacterial community in tomato roots and stems. The relative abundance of indigenous cold-adapted and beneficial microorganisms was increased, and the pathogenic bacteria was decreased, which improved plant cold tolerance.

Keywords: cold stress; *Streptomyces*; tomato endophytic bacteria; community structure; diversity

番茄是我国北方设施栽培蔬菜的主要种类之一,因番茄起源于热带,是一种典型的冷敏感蔬菜作物^[1],容易受到低温环境的影响。近年来,受极端天气的影响,北方冬春季设施番茄生产常遭遇低温胁迫,对番茄的产量和品质造成了巨大影响,成为设施番茄稳产与高产的主要障碍因子。因此,提高番茄的抗冷性对提高设施番茄的产量和品质具有重要意义。随着人们对资源环境和食品质量要求的提高,有益微生物在生态绿色农业中发挥着越来越重要的作用,微生物提高植物耐冷性已成为新的研究热点^[2],但是目前有益微生物提高作物抗逆性与内生菌群落结构之间关系的研究较少。

植物内生菌是生活在植物组织中且不引起植物明显病害症状的微生物,是植物微生态系统的重要组成部分,植物内生细菌是非常重要的内生菌资源^[3]。目前在各种农作物及经济作物中发现的内生细菌已超过 130 种,其中,假单胞菌属(*Pseudomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)及土壤杆菌属(*Agrobacterium*)为最常见的属^[4]。植物内生细菌与宿主植物协同进化,其菌群数量消长动态与宿主的不同器官、生长时期及外界环境的变化有关^[5],内生细菌的群落结构特性也会影响宿主植株的抗性。West 等^[6]研究表明,葡萄抗病品种的内生细菌的菌群结构要优于感病品种,而且两者之间的多样性差异显著。冯杭等^[7]研究证实了番茄内生细菌的特性与寄主品种抗青枯病之间存在着协同关系。分布于新疆盐碱地区的胡杨,其可培养内生细菌群落具有耐盐碱等特性^[8]。植物内生菌群落结构除了受到地理

环境、品种基因型和组织部位等客观因素的影响,也会因为栽培条件和喷施药剂等主观因素而改变。李爽等^[9]研究发现,沙雷氏菌(*Serratia* sp.) PW7 浸根处理可提高黑麦草内生细菌多样性并改变其优势种群来降低黑麦草体内菟丝子污染。

本实验室前期从番茄根际筛选获得了一株根际益生菌——链霉菌(*Streptomyces* sp.) TOR3209,在多种作物上应用发现,该菌可显著促进根系发育,根际生态效应显著^[10]。前期研究表明,菌株 TOR3209 能显著提高番茄的抗冷害能力,经 TOR3209 处理的番茄在低温胁迫下大部分叶片能保持舒展,光合速率显著增加,根系活力提高^[11]。然而, TOR3209 调控番茄的抗冷机制目前尚不清楚。前期通过高通量测序发现菌株 TOR3209 可改善根际菌群结构,优化根际微生态环境^[11],但是低温胁迫下 TOR3209 对番茄内生菌群的影响目前尚不知晓。内生细菌的群落结构是衡量番茄植株体内环境是否健康的重要生物学指标之一, TOR3209 提高番茄植株的耐冷性是否与番茄内生菌结构与特性的改变有关还有待研究。

植物的内生菌可能具有某种或某些特殊的功能, van Oevelen 等^[12]研究发现,分离自 *Psychotria* 植株中的一株内生细菌伯克氏菌(*Burkholderia* sp.),若将其从植株中去除会导致植株无法正常生长并最终死亡。高通量测序技术虽能全面系统地检测植物内生菌的菌群结构及多样性,但在探索植物某一内生菌的功能及其潜在应用价值的研究中,传统的分离培养法是最直接和常用的办法,可兼获菌群变化趋势和种水平

上的菌群差异, 并获得相应菌种资源, 除揭示内生菌群变化机理外, 在新种资源的发现、复合菌种产品的开发和菌菌互作机理等方面发挥不可替代的作用。虽然某些植物内生真菌也具有生防特性, 但因其生长周期较长且次级代谢物可能会产生真菌毒素, 具有潜在毒性等问题^[13], 在应用中存在局限性。然而植物内生细菌可利用资源较多且生长快, 在实际应用中具备特有的优势。

本研究采用培养法分离低温胁迫下链霉菌 TOR3209 处理番茄根系和茎部的可培养内生细菌, 通过内生细菌的 16S rRNA 基因序列进行菌种的分析鉴定, 揭示经 TOR3209 处理的番茄内生细菌的多样性、菌群结构及其与植株耐冷性之间的关系, 以期为深入研究有益微生物提高植物耐冷性, 以及菌菌、菌植互作机制提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 样品的采集与处理

试验选取的番茄品种为“朝研 219”。选取颗粒饱满一致的番茄种子, 消毒后在 48 孔育苗钵中培养, 培育基质为育苗专用基质。整个育苗过程在日光温室中进行, 温室内的环境参数为: 温度 20–25 °C, 自然光照, 相对湿度为 60%–80%。待番茄幼苗长到 4 个真叶时, 选取整齐一致的健壮幼苗, 移入含大田土壤:蛭石体积比为 2:1 的塑料花盆中, 移栽时一半幼苗用于含有 1% 的链霉菌 TOR3209 (1×10^7 CFU/g) 菌剂的处理中, 一半幼苗作为对照, 用于含有 1% 的灭菌菌剂处理。继续进行日光温室培养, 30 d 后进行低温处理, 每个处理 20 盆, 所有处理转移到人工气候室处理 6 d, 分为 2 个温度条件, 即常温 25 °C 和低温 5 °C, 光周期为 16 L (light):8 D (dark) 的条件下进行培养。试验设置 4 组处理: 25 °C 接种菌株 TOR3209 植株(TOR3209), 25 °C 未接菌植株(NI), 5 °C 接种菌株 TOR3209 植株(TOR3209+C), 5 °C

未接菌植株(NI+C)。于 5 °C 处理第 6 天, 带根整株挖取待测植株。样品从植株分离后立即放入无菌样品袋中, 低温保鲜, 在 24 h 之内进行表面灭菌处理及内生细菌的分离。

1.2 培养基、主要试剂和仪器

内生细菌分离用寡营养培养基 R2A^[14]和富营养培养基 NR (g/L): 酵母粉 0.50, 胰蛋白胨 0.50, 葡萄糖 0.50, 可溶性淀粉 0.50, K_2HPO_4 0.30, $MgSO_4$ 0.02, 丙酮酸钠 0.30, 琼脂 15.00。液体培养用 LB 培养基^[7]。细菌基因组 DNA 提取试剂盒, 天根生化科技(北京)有限公司; 引物, 生工生物工程(上海)股份有限公司; 16S rRNA 基因片段扩增所用的各种酶、Marker、dNTPs、Buffer 等试剂, 宝生物工程(大连)有限公司; 其余试剂均为国产分析纯。台式离心机, Thermo Fisher 公司; PCR 仪, Bio-Rad 公司; 电泳仪, 北京六一生物科技有限公司; 凝胶成像仪, 森西赛智科技(广州)有限公司。

1.3 番茄材料表面消毒

将番茄根系和茎部表面在流水下冲洗干净, 用无菌滤纸擦干, 根取主根和侧根, 茎取靠近地面的部分以及中段部分。根、茎各取 1 g, 转入超净台内进行表面消毒, 先在 75% 酒精中振荡浸泡 1 min, 再用 1% 的次氯酸钠溶液振荡浸泡 5–10 min, 之后无菌水漂洗 3 次。将最后一次的漂洗液分别涂布 R2A 和 NR 平板, 72 h 后观察是否长出菌落, 以无菌长出即为表面灭菌彻底。

1.4 内生细菌的分离与纯化

将 1 g 表面消毒的材料放入无菌研钵中, 加入 9 mL 无菌生理盐水, 研磨成匀浆, 即得 10^{-1} 稀释液, 然后吸取 10 mL 10^{-1} 土壤稀释液进行梯度稀释至 10^{-3} , 各取 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 浓度稀释液分别涂布于 NR 和 R2A 培养基, 每种培养基每个梯度设 3 个重复。30 °C 培养 48 h, 结合菌落形态观察和 16S rRNA 基因序列扩增与测序验证进行平板计数, 根据每个处理的平均菌落

数量, 计算每克植株鲜重所含活菌数的公式为 $CFU/g-FW=(\text{菌落数} \times \text{稀释倍数})/3$ 。统计不同处理每种菌株的数量后计算其相对丰度。相对丰度=各个种的菌数/全部种的总菌数 $\times 100\%$ 。

菌株纯化: 取一环菌苔于 1.5 mL 无菌生理盐水中, 振荡混匀后, 取一环稀释菌液在 NR 或者 R2A 平板上划线, 28 °C 培养至单菌落出现, 重复此步骤 3 次, 将菌落颜色、大小、形态相同且镜检菌体形态相同的细菌合并。纯化的菌种于 LB 固体斜面 4 °C 保存。

1.5 番茄根系和茎部内生细菌的 16S rRNA 基因序列扩增与测序

采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取内生细菌基因组 DNA, 然后采用细菌 16S rRNA 基因扩增的通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-TACGGCTACCTGTTCAGACTT-3') 扩增番茄根系和茎部内生细菌的 16S rRNA 基因序列。PCR 反应体系(20 μ L): 10 \times PCR Buffer 2 μ L, dNTPs mix (10 mmol/L) 1 μ L, Taq 酶(5 U/ μ L) 0.25 μ L, DNA 模板 1 μ L, 上、下游引物(5 μ mol/L)各 1 μ L, 双蒸水(ddH₂O) 13.75 μ L。PCR 反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 45 s, 55 °C 45 s, 72 °C 90 s, 30 个循环; 72 °C 10 min, 4 °C 保存。PCR 扩增后的产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 选取条带清晰的 PCR 扩增产物直接送往北京擎科生物技术有限公司测序。

1.6 数据分析

将测序得到的菌株序列用 ContigExpress 软件进行校对、拼接, 把拼接好的序列提交至 NCBI 的 GenBank 数据库进行在线比对, 结果可以鉴定到属种。引入群落生态学 Shannon 多样性指数、Pielou 均匀度指数和 Margalef 丰富度指数, 分析 4 组处理番茄根系和茎部内生细菌群落的多样性, 各指数^[15]计算公式为:

Shannon 指数(H): $H = -\sum P_i \ln P_i$

Pielou 指数(E): $E = H/\ln S$

Margalef 指数(R): $R = (S-1)/\ln N$

式中: P_i 为各处理组中各菌种的数量占比; S 为各处理组中菌种的种类数; N 为各处理组中所有种的总菌数。

采用 Excel 2016 软件进行数据统计, 派森诺云图汇进行图表绘制, SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA), 并用 Duncan's multiple range test 检验各处理间差异的显著性($P < 0.05$)。

1.7 三株耐冷内生细菌耐冷促生功能的研究

番茄样品的处理同 1.1, 待番茄幼苗长到 4 个真叶时移栽, 移栽时设置 5 组处理: 接种菌株 TOR3209 植株(TOR3209)、接种威兹曼芽孢杆菌植株(*Bacillus wiedmannii*)、接种约氏不动杆菌植株(*Acinetobacter johnsonii*)、接种耐寒短杆菌植株(*Brevibacterium frigoritolerans*)及未接菌植株(NI), 各菌剂含量为 1% (1×10^7 CFU/mL), 15 d 后进行低温处理, 每个处理 10 盆, 所有处理转移到人工气候室处理 3 d, 分为两个温度条件: 常温 25 °C 和低温 5 °C, 光周期为 16L:8D。于 5 °C 处理 48 h 后, 对低温处理的植株进行表型观察, 对 25 °C 条件下的 5 组处理进行株高和叶面积的测量, 将地上部和地下部分开测定鲜重, 105 °C 杀青 15 min, 70 °C 恒温烘干后测定地上和地下部干重。检测 3 株耐冷内生菌的耐冷和促生功能。

2 结果与分析

2.1 内生细菌的分离

对 4 种处理下番茄根系和茎部内生细菌进行分离鉴定, 共分离出 438 株菌株, 测序得到 417 条序列, 通过 NCBI 比对, 并结合菌落形态、颜色、大小的特征合并相同菌株, 筛选出与最相似菌株序列相似性均高于 98% 的菌株, 共得到可培养内生细菌 69 株(图 1), 细菌分类共有 4 门

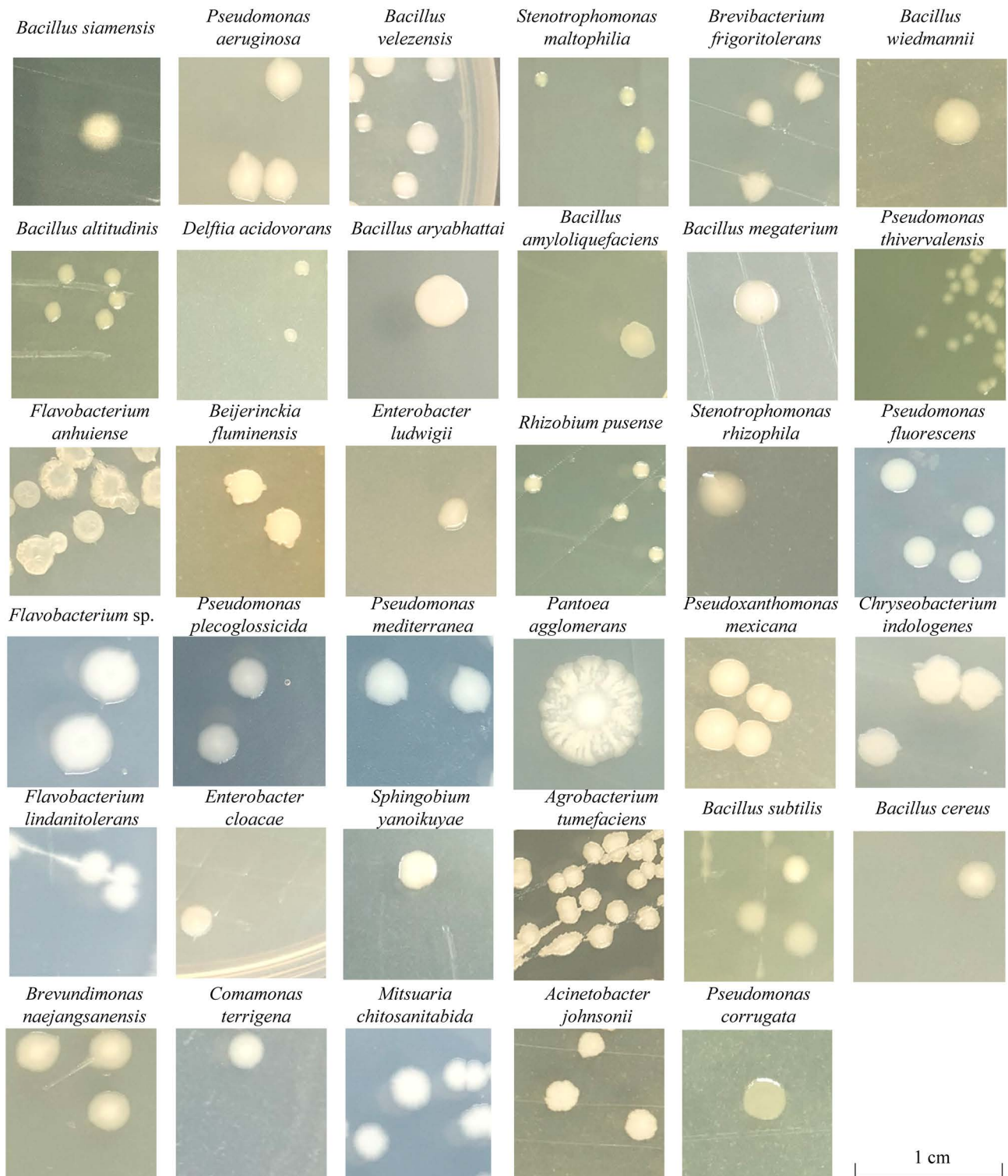


图 1 不同处理中 35 株优势番茄内生细菌菌落形态

Figure 1 Colony morphology of 35 dominant endophytic bacteria in tomato roots and stems with different treatments.

20 科 28 属。无论何种生境, 经菌株 TOR3209 处理的番茄根系和茎部的可培养内生细菌种类和数量均高于未接种的处理; 受低温胁迫的影响, 接菌或不接菌处理的番茄根系和茎部的可培养内生细菌种类和数量均低于常温下的相同处理; 相同处理的番茄根系可培养内生细菌数量高于同处理的茎部(表 1)。根据各处理番茄根和茎可培养内生细菌菌落形态和种类组成, 选取 35 株优势内生菌, 具体描述见表 2。

2.2 不同处理番茄根系和茎部内生细菌的门级和科级水平变化

从门级水平来看, 4 组处理番茄根系和茎部共分离到 4 门可培养内生细菌, 分别为厚壁菌门(*Firmicutes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)和放线菌门(*Actinobacteria*), 其中, 厚壁菌门、变形菌门和拟杆菌门为优势门类。番茄根系中, TOR3209+C 处理和 TOR3209 处理可培养内生细菌均属于 4 门, 与 NI+C 和 NI 相比, 均表现为厚壁菌门和放线菌门的相对丰度显著提高($P<0.05$), 变形菌门和拟杆菌门相对丰度显著降低($P<0.05$), 属于放线菌门的内生细菌仅存在于 TOR3209+C、TOR3209 和 NI 处理中, 且相对丰度较小。番茄茎部中, 4 组处理可培养

内生细菌属于厚壁菌门、变形菌门和拟杆菌门, TOR3209+C 处理和 TOR3209 处理可培养内生细菌与 NI+C 和 NI 相比, 均表现为厚壁菌门的相对丰度显著提高($P<0.05$), 变形菌门和拟杆菌门相对丰度显著降低($P<0.05$), 其中 TOR3209 处理的可培养内生细菌仅有厚壁菌门和变形菌门(图 2)。

从科级水平上看, 番茄根系的可培养内生细菌共有 14 科菌株, 茎部共有 16 科菌株。4 组处理番茄根系和茎部共有的可培养内生细菌为芽孢杆菌科(*Bacillaceae*)、假单胞菌科(*Pseudomonadaceae*)和黄色单胞菌科(*Xanthomonadaceae*)的菌株, 芽孢杆菌科和假单胞菌科为优势菌科。TOR3209+C 和 TOR3209 处理的番茄根系和茎部的优势菌科为芽孢杆菌科, NI+C 和 NI 处理的番茄根系和茎部的优势菌科为假单胞菌科和黄杆菌科(*Flavobacteriaceae*)。相同处理在不同温度下具有共同的独有优势菌科, 鞘脂单胞菌科(*Sphingomonadaceae*)、丛毛单胞菌科(*Comamonadaceae*)和肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)为 TOR3209+C 和 TOR3209 处理在番茄根系和茎部共有的内生菌科; 黄杆菌科为 NI+C 和 NI 处理在番茄根系和茎部共有的

表 1 不同处理番茄根系和茎部内生细菌的种类和数量

Table 1 The species and quantity of tomato endophytic bacteria of roots and stems under different treatments

样品部位	样品处理	门	科	属	种	数量
Sample tissue	Treatment	Phylum	Family	Genera	Species	Quantity (CFU/g-FW)
根 Root	TOR3209+C	4	10	10	17	4.26×10^4
	NI+C	3	7	9	15	3.16×10^4
	TOR3209	4	12	13	26	6.59×10^4
	NI	3	8	9	19	3.87×10^4
茎 Stem	TOR3209+C	3	10	12	18	3.21×10^4
	NI+C	3	5	7	14	2.11×10^4
	TOR3209	2	13	14	28	4.73×10^4
	NI	3	7	10	16	3.31×10^4

表 2 不同处理中 35 株优势番茄内生细菌菌落形态及鉴定结果

Table 2 Colony morphology and species composition of 35 dominant endophytic bacteria in tomato roots and stems with different treatments

菌株 Strain	菌落特征 Colony characteristics	最高相似性菌株 Similarity with known species	相似性 Similarity (%)
暹罗芽孢杆菌 <i>Bacillus siamensis</i>	圆形, 白色, 表面干燥有褶皱 Colonies are round, white with dry and wrinkled surface	<i>Bacillus siamensis</i> KCTC 13613 ^T	99.79
铜绿色假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	不规则圆形, 边缘不整齐, 米白色, 湿润, 扁平 Colonies are irregular round with irregular edge, white-cream, wet and flat	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> JCM 5962 ^T	99.79
贝莱斯芽孢杆菌 <i>Bacillus velezensis</i>	圆形, 边缘整齐, 淡黄色, 不透明 Colonies are round, neat edge, light yellow and opaque	<i>Bacillus velezensis</i> CR-502 ^T	99.93
嗜麦芽窄食单胞菌 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	圆形, 浅黄色, 表面光滑湿润 Colonies are round, light yellow, smooth and wet	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> NCTC10257 ^T	99.78
耐寒短杆菌 <i>Brevibacterium frigoritolerans</i>	圆形, 白色, 菌落扁平, 边缘波纹状 Colonies are round, white, flat and wavy edge	<i>Brevibacterium frigoritolerans</i> DSM 8801 ^T	100.00
威兹曼芽孢杆菌 <i>Bacillus wiedmannii</i>	圆形, 边缘整齐, 乳白色 Colonies are round, neat edge, and milk white	<i>Bacillus wiedmannii</i> FSL W8-0169 ^T	100.00
高地芽孢杆菌 <i>Bacillus altitudinis</i>	圆形, 米黄色, 表面光滑湿润 Colonies are round, light yellow, smooth and wet.	<i>Bacillus altitudinis</i> 41KF2b ^T	99.93
食酸戴尔福特菌 <i>Delftia acidovorans</i>	圆形, 边缘整齐, 白色, 湿润, 中央凸起 Colonies are round, neat edge, white, wet and convex	<i>Delftia acidovorans</i> 2167 ^T	100.00
阿氏芽孢杆菌 <i>Bacillus aryabhatai</i>	圆形, 米白色, 菌落扁平, 较大 Colonies are round, white-cream, flat and large	<i>Bacillus aryabhatai</i> B8W22 ^T	100.00
解淀粉芽孢杆菌 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	圆形, 淡黄色, 菌落不透明, 表面有隆起 Colonies are round, light yellow, opaque and convex	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> NBRC 15535 ^T	100.00
巨大芽孢杆菌 <i>Bacillus megaterium</i>	圆形, 黄白色, 平隆, 表面略有光泽 Colonies are round, yellowish-white, micro convex, slight smooth	<i>Bacillus megaterium</i> NBRC 15308 ^T	99.93
赛维瓦尔假单胞菌 <i>Pseudomonas thivervalensis</i>	不规则圆形, 边缘有波浪形, 白色, 干燥扁平 Colonies are irregular round, wavy edge, white, flat and dry	<i>Pseudomonas thivervalensis</i> SBK26 ^T	99.71
安徽黄杆菌 <i>Flavobacterium anhuiense</i>	圆形, 黄色, 有凸起 Colonies are round, yellow, convex	<i>Flavobacterium anhuiense</i> D3 ^T	99.71
弗留明拜叶林克氏菌 <i>Beijerinckia fluminensis</i>	圆形, 白色, 不透明, 边缘细小瓣状 Colonies are round, white, opaque, fine lines edge	<i>Beijerinckia fluminensis</i> RB1-046	100.00
路氏肠杆菌 <i>Enterobacter ludwigii</i>	圆形, 边缘整齐, 乳白色, 表面光滑 Colonies are round, neat edge, white-cream, and smooth	<i>Enterobacter ludwigii</i> EN-119 ^T	99.93
根瘤菌 <i>Rhizobium pusense</i>	圆形, 乳白色, 黏液状, 光滑 Colonies are round, white-cream, mucoid and smooth	<i>Rhizobium pusense</i> NRCPB10 ^T	99.56
嗜根寡养单胞菌 <i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	圆形, 黄色, 边缘整齐, 表面光滑 Colonies are round, yellow, neat edge and smooth	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> DSM 14405 ^T	99.64

(待续)

(续表 2)

菌株 Strain	菌落特征 Colony characteristics	最高相似性菌株 Similarity with known species	相似性 Similarity (%)
荧光假单胞菌 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	圆形, 淡黄色, 表面湿润有隆起 Colonies are round, light yellow, wet and convex	<i>Pseudomonas fluorescens</i> F113 ^T	99.30
黄杆菌 <i>Flavobacterium</i> sp.	圆形, 米白色, 半透明, 表面光滑有光泽 Colonies are round, white-cream, translucent and smooth	<i>Flavobacterium</i> sp.	99.17
香鱼假单胞菌 <i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	圆形, 白色, 表面微隆起 Colonies are round, white, and micro convex	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> NBRC 103162 ^T	99.16
地中海假单胞菌 <i>Pseudomonas mediterranea</i>	圆形, 边缘规则, 米黄色, 半透明 Colonies are round, neat edge, light yellow, and translucent	<i>Pseudomonas mediterranea</i> DSM 16733 ^T	99.72
成团泛菌 <i>Pantoea agglomerans</i>	圆形, 黄白色, 低凸 Colonies are round, yellowish-white, micro convex	<i>Pantoea agglomerans</i> JCM1236 ^T	98.02
墨西哥假黄单胞菌 <i>Pseudoxanthomonas Mexicana</i>	圆形, 黄色, 表面黏稠湿润 Colonies are round, yellow, and mucoid	<i>Pseudoxanthomonas mexicana</i> AMX 26B ^T	100.00
产吡啶金黄杆菌 <i>Chryseobacterium indologenes</i>	圆形, 边缘规则, 金黄色, 表面隆起, 湿润有光泽 Colonies are round, neat edge, golden yellow, convex, wet and glossy	<i>Chryseobacterium indologenes</i> DSM 16777 ^T	98.51
耐林丹黄杆菌 <i>Flavobacterium lindanitolerans</i>	圆形, 边缘不规则, 淡黄色, 半透明 Colonies are round, irregular edge, light yellow, and translucent	<i>Flavobacterium lindanitolerans</i> IP-10 ^T	99.93
阴沟肠杆菌 <i>Enterobacter cloacae</i>	圆形, 白色, 菌落黏液状, 湿润, 较大 Colonies are round, white, mucoid, wet and large	<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. dissolvens LMG 2683 ^T	99.58
鞘氨醇杆菌 <i>Sphingobium yanoikuyae</i>	圆形, 边缘规则, 乳黄色不透明, 表面光滑湿润, 中央微凸 Colonies are round, neat edge, yellow-cream, opaque, wet, smooth and micro convex	<i>Sphingobium yanoikuyae</i> NBRC 15102 ^T	99.85
根癌农杆菌 <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	圆形, 米白色, 不透明, 中心稍凸起 Colonies are round, white-cream, opaque, and micro convex	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> IAM 12048 ^T	99.61
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	菌落表面粗糙, 微黄色, 不透明 Colonies are rough, light yellow and opaque	<i>Bacillus subtilis</i> JCM 1465 ^T	99.72
蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	圆形, 白色, 表面粗糙, 扁平 Colonies are round, white, rough and flat	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579 ^T	99.93
泡囊短波单胞菌 <i>Brevundimonas naejangsanensis</i>	圆形, 中等大小, 灰白色, 表面光滑 Colonies are round, median size, off white, and smooth	<i>Brevundimonas naejangsanensis</i> DSM 23858 ^T	99.85
土生丛毛单胞菌 <i>Comamonas terrigena</i>	圆形, 白色, 凸起 Colonies are round, white, and convex.	<i>Comamonas terrigena</i> NBRC 13299 ^T	100.00
解脱乙酰壳多糖松江菌 <i>Mitsuaria chitosanitabida</i>	圆形, 白色, 湿润 Colonies are round, white and wet	<i>Mitsuaria chitosanitabida</i> NBRC 102408 ^T	99.02
约氏不动杆菌 <i>Acinetobacter johnsonii</i>	圆形, 边缘瓣状, 米白色, 中央凸起, 湿润, 有光泽 Colonies are round, lace edge, white-cream, convex, wet and glossy	<i>Acinetobacter johnsonii</i> ATCC 17909 ^T	99.51
皱纹假单胞菌 <i>Pseudomonas corrugata</i>	不规则, 黄色, 半透明, 表面湿润, 微隆起 Colonies are irregular edge, yellow, translucent, wet, and micro convex	<i>Pseudomonas corrugata</i> ATCC 29736 ^T	99.02

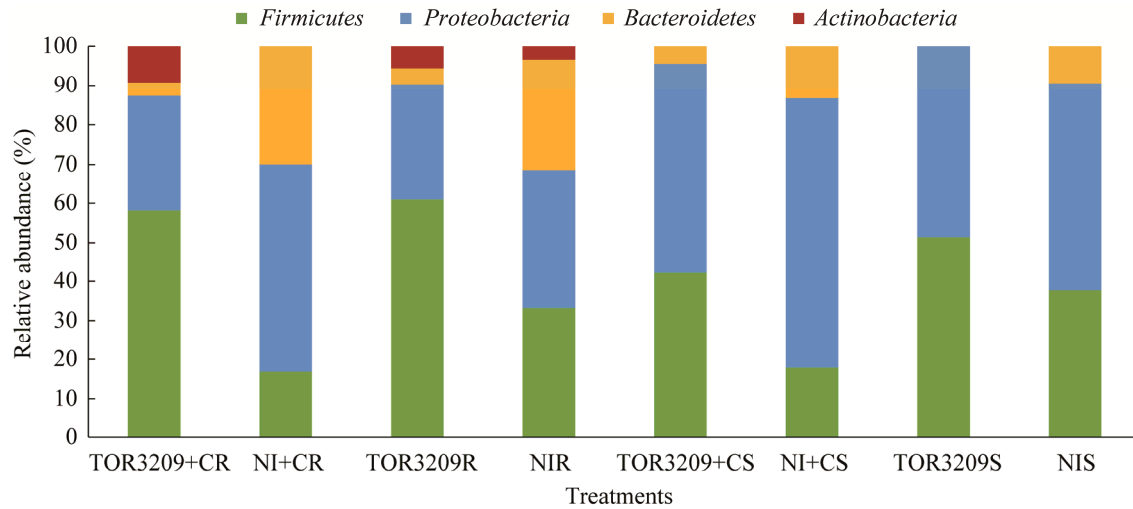


图 2 不同处理对番茄根茎内生细菌菌群组成的影响(门水平) TOR3209+CR: TOR3209+C 根; NI+CR: NI+C 根; TOR3209R: TOR3209 根; NIR: NI 根; TOR3209+CS: TOR3209+C 茎; NI+CS: NI+C 茎; TOR3209S: TOR3209 茎; NIS: NI 茎. 下同

Figure 2 Impact of different treatments on endophytic bacterial community structure of tomato roots and stems (phylum level). TOR3209+CR: Root tissue of TOR3209+C; NI+CR: Root tissue of NI+C; TOR3209R: Root tissue of TOR3209; NIR: Root tissue of NI; TOR3209+CS: Stem tissue of TOR3209+C; NI+CS: Stem tissue of NI+C; TOR3209S: Stem tissue of TOR3209; NIS: Stem tissue of NI. The same below.

内生菌科。不同温度下, 相同处理具有一些共有的可培养内生细菌。TOR3209+C 和 TOR3209 处理的仅出现在番茄根系的可培养内生细菌中, 共有可培养内生细菌科包括拜叶林克氏菌科 (*Beijerinckiaceae*) 和短杆菌科 (*Brevibacteriaceae*), NI+C 和 NI 处理的共有可培养内生细菌科包括黄杆菌科和根瘤菌科 (*Rhizobiaceae*)。TOR3209+C 和 TOR3209 处理的仅出现在番茄茎部的共有可培养内生细菌科包括柄杆菌科 (*Caulobacteraceae*)、莫拉菌科 (*Moraxellaceae*)、类芽孢杆菌科 (*Paenibacillaceae*) 及未定菌科松江菌属 (*Mitsuaria*)。 *Microbacteriaceae* 仅存在于常温下的番茄根系中, 为 TOR3209 和 NI 处理的共有菌科; 几丁质科 (*Chitinophagaceae*) 仅存在于常温下 NI 处理的番茄根系; 生丝微菌科 (*Hyphomicrobiaceae*) 和草酸杆菌科 (*Oxalobacteraceae*) 仅出现在常温 TOR3209 处理

的番茄茎部(图 3)。

2.3 不同处理番茄根系和茎部内生细菌的属水平变化

从属级水平上看, 4 组处理可培养内生菌在番茄根系共有 19 个属, 分别是芽孢杆菌属、假单胞菌属、鞘脂菌属 (*Sphingobium*)、黄杆菌属 (*Flavobacterium*)、苍白杆菌属 (*Ochrotrichum*)、戴尔福特菌属 (*Delftia*)、肠杆菌属、藤黄杆菌属 (*Luteibacter*)、寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*)、拜叶林克氏菌属 (*Beijerinckia*)、短杆菌属 (*Brevibacterium*)、微杆菌属 (*Microbacterium*)、土壤杆菌属、假黄单胞菌属 (*Pseudoxanthomonas*)、根瘤菌属 (*Rhizobium*)、泛菌属 (*Pantoea*)、丝状单胞菌属 (*Filimonas*)、鞘脂单胞菌属 (*Sphingomonas*) 和金黄杆菌属 (*Chryseobacterium*)。其中, 芽孢杆菌属在 TOR3209+C、TOR3209 和 NI 处理中为优势菌属, 相对丰度分别为 58.20%、60.99% 和 33.30%,

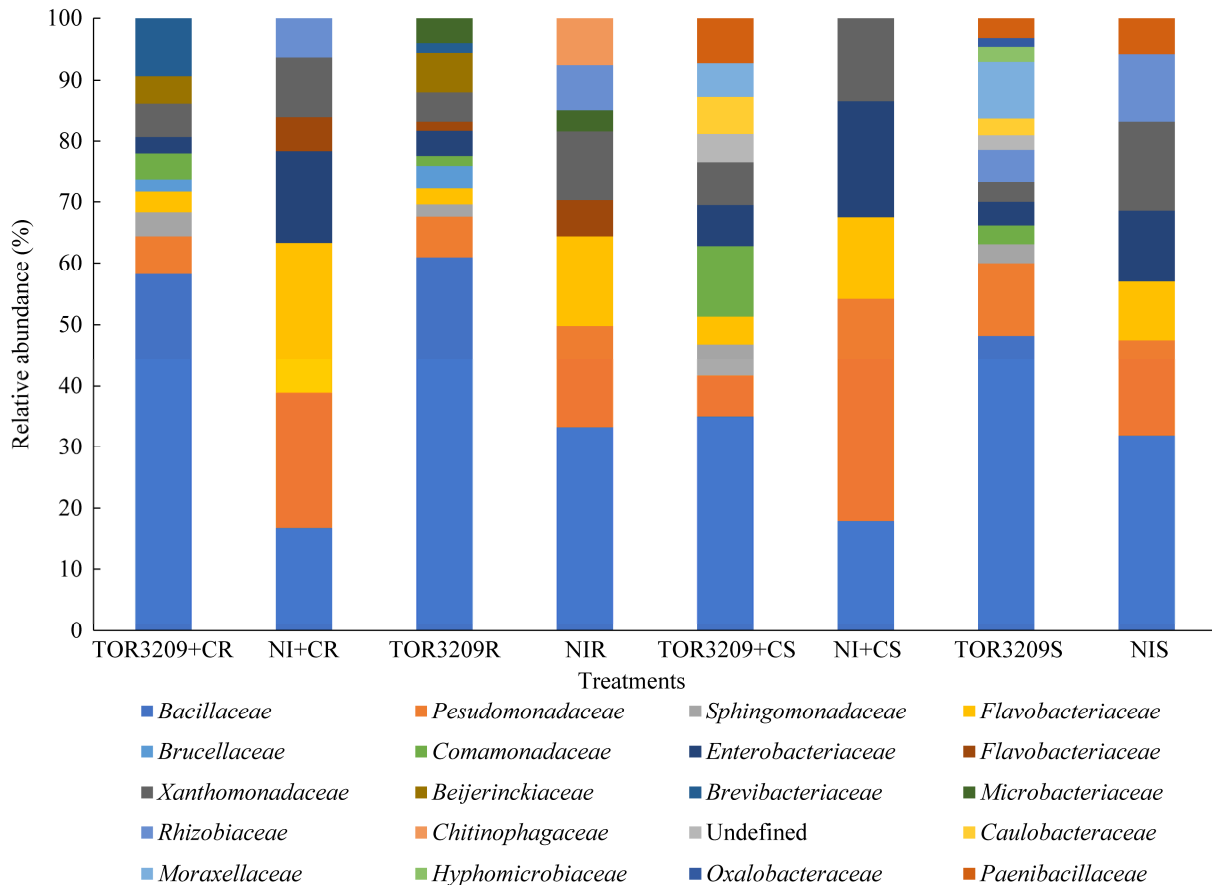


图3 不同处理对番茄根茎内生细菌菌群组成的影响(科水平)

Figure 3 Impact of different treatments on endophytic bacterial community structure of tomato roots and stems (family level).

NI+C 处理中的优势菌属为黄杆菌属, 相对丰度为 24.40%。芽孢杆菌属、假单胞菌属、黄杆菌属和寡养单胞菌属为 4 组处理的共有菌属。常温下, TOR3209 处理与 NI 处理相比, 芽孢杆菌属、短杆菌属、拜叶林克氏菌属、肠杆菌属、苍白杆菌属、藤黄杆菌属、戴尔福特菌属、鞘脂菌属和农杆菌属的相对丰度显著升高, 假单胞菌属、黄杆菌属、寡养单胞菌属、根瘤菌属、丝状单胞菌属、金黄杆菌属和假黄单胞菌属的相对丰度明显降低; 低温胁迫对对照组的芽孢杆菌属影响较大, 与 NI 处理相比, NI+C 处理组的芽孢杆菌属和丝状单胞菌

属的相对丰度显著降低, 黄杆菌属、肠杆菌属、泛菌属的相对丰度显著提高; 低温处理下, TOR3209+C 处理与 NI+C 处理相比, 芽孢杆菌属、短杆菌属、戴尔福特菌属、拜叶林克氏菌属、鞘脂单胞菌属和苍白杆菌属的相对丰度显著升高, 假单胞菌属、黄杆菌属、肠杆菌属、根瘤菌属、泛菌属、金黄杆菌属和假黄单胞菌属的相对丰度明显降低。鞘脂单胞菌属为 TOR3209+C 处理的独有菌属, 泛菌属为 NI+C 处理的独有菌属, 鞘脂菌属和藤黄杆菌属为 TOR3209 处理的独有菌属, 丝状单胞菌属为 NI 处理的独有菌属(图 4)。

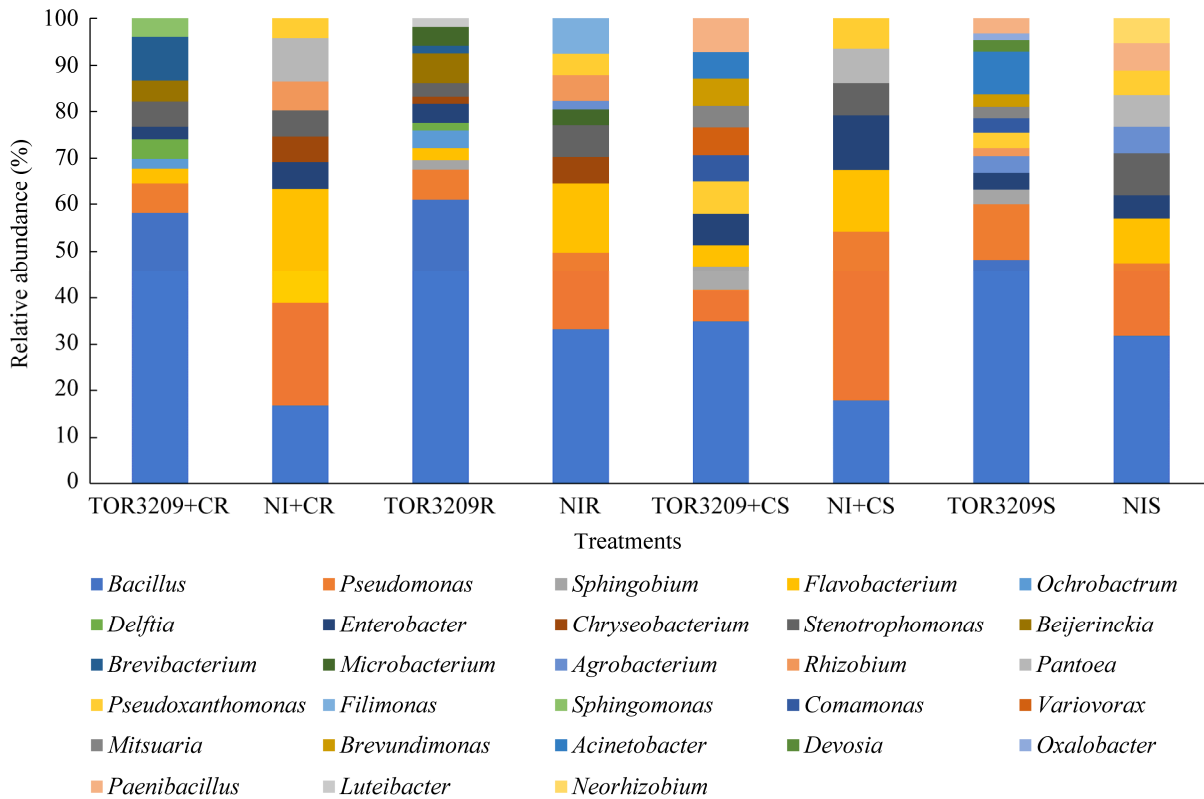


图 4 不同处理对番茄根茎内生细菌菌群组成的影响(属水平)

Figure 4 Impact of different treatments on endophytic bacterial community structure of tomato roots and stems (genus level).

茎部分离纯化出的 45 株可培养内生细菌分别属于 19 个已知属, 分别是: 芽孢杆菌属、假单胞菌属、黄杆菌属、肠杆菌属、假黄单胞菌属、丛毛单胞菌属 (*Comamonas*)、贪噬菌属 (*Variovorax*)、松江菌属 (*Mitsuaria*)、土壤杆菌属、短波单胞菌属 (*Brevundimonas*)、根瘤菌属、泛菌属、寡养单胞菌属、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、鞘脂菌属 (*Sphingobium*)、德沃斯氏菌属 (*Devosia*)、草酸杆菌属 (*Oxalobacter*)、类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*)、新根瘤菌属 (*Neorhizobium*)。其中, 芽孢杆菌属占绝对优势, 在 TOR3209+C、TOR3209 和 NI 处理中的相对丰度分别为 35%、48.20%和 31.90%。芽孢杆菌属、假单胞菌属、肠杆菌属和假黄单胞菌属为 4 组处理的共有菌

属。常温下, TOR3209 处理与 NI 处理相比, 芽孢杆菌属、不动杆菌属、鞘脂菌属、丛毛单胞菌属、短波单胞菌属、松江菌属、草酸杆菌属和德沃斯氏菌属的相对丰度均有所提高, 假单胞菌属、黄杆菌属、肠杆菌属、假黄单胞菌属、泛菌属、寡养单胞菌属和类芽孢杆菌属的相对丰度显著降低。低温胁迫对对照组的芽孢杆菌属影响较大, 与 NI 处理相比, NI+C 处理组的芽孢杆菌属、土壤杆菌属、寡养单胞菌属、类芽孢杆菌属和新根瘤菌属的相对丰度显著降低, 假单胞菌属、黄杆菌属和假黄单胞菌属的相对丰度显著增加。低温处理下, TOR3209+C 处理与 NI+C 处理相比, 芽孢杆菌属、假黄单胞菌属、丛毛单胞菌属、贪噬菌属、松江菌属、短波单胞菌属、不

动杆菌属、鞘脂菌属和类芽孢杆菌属的相对丰度显著提高,假单胞菌属、黄杆菌属、泛菌属、寡养单胞菌属、新根瘤菌属的相对丰度显著降低。短波单胞菌属、丛毛单胞菌属、不动杆菌属、鞘脂菌属和松江菌属为 TOR3209+C 和 TOR3209 的特有的共有内生菌,寡养单胞菌属和泛菌属只存在于 NI 和 NI+C 处理中,根瘤菌属、德沃斯氏菌属和草酸杆菌属只存在于 TOR3209 处理中,新根瘤菌属只存在于 NI 处理中(图 4)。

2.4 不同处理可培养内生细菌的种水平变化

进一步对各处理样品在种水平的相对丰度进行研究,内生细菌群落结构因接菌与否而异,即在 TOR3209 接菌或不接菌的番茄根系和茎部的可培养内生细菌种类和数量不同。番茄根系中 TOR3209 处理的可培养内生菌中芽孢杆菌属为优势菌属,包含 10 个菌种,主要包括解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)、贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)、威兹曼芽孢杆菌(*Bacillus wiedmannii*)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)、阿氏芽孢杆菌(*Bacillus aryabhatai*)、暹罗芽孢杆菌(*Bacillus siamensis*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)等有益芽孢杆菌。其次为假单胞菌属,占比为 6.6%,包含 3 个菌种,分别为门多萨假单胞菌(*Pseudomonas mendocina*)、油菜假单胞菌(*Pseudomonas brassicacearum*)、赛维瓦尔假单胞菌(*Pseudomonas thivervalensis*)。短杆菌属仅有耐寒短杆菌(*Brevibacterium frigoritolerans*),占比为 6.3%。NI 处理的番茄根系可培养内生细菌中芽孢杆菌属,假单胞菌属和黄杆菌属为优势菌属,占比分别为 33.30%、16.50%和 14.60%。假单胞菌属包含 5 个菌种,主要包括铜绿色假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、赛维瓦尔假单胞菌、荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)、亚麻假单胞菌(*Pseudomonas lini*)和地中海假单胞菌

(*Pseudomonas mediterranea*)。TOR3209+C 处理的番茄根系可培养内生菌中芽孢杆菌属为优势菌属,占比为 58.20%,短杆菌属和假单胞菌属其次,分别占比 9.30%和 6.20%,短杆菌属为耐寒短杆菌。NI+C 处理中黄杆菌属、假单胞菌属、芽孢杆菌属和泛菌属为优势菌属,占比分别为 24.40%、22.10%、16.80%和 9.2%。其中假单胞菌属中的香鱼假单胞菌(*Pseudomonas plecoglossicida*)、地中海假单胞菌和黄杆菌属中的耐林丹黄杆菌(*Flavobacterium lindanitolerans*)为致病菌,泛菌属只包括成团泛菌(*Pantoea agglomerans*),属于冰核细菌,金黄杆菌属中的产吡啶金黄杆菌(*Chryseobacterium indologenes*)也为致病菌。4 组处理中,与 NI 和 NI+C 处理相比,TOR3209 和 TOR3209+C 处理均显著提高了暹罗芽孢杆菌、贝莱斯芽孢杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)、耐寒短杆菌、威兹曼芽孢杆菌、高地芽孢杆菌、阿氏芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌、食酸戴尔福特菌(*Delftia acidovorans*)、弗留明拜叶林克氏菌(*Beijerinckia fluminensis*)和路氏肠杆菌(*Enterobacter ludwigii*)的相对丰度,显著降低了根瘤菌(*Rhizobium* sp.)、嗜根寡养单胞菌(*Stenotrophomonas rhizophila*)、荧光假单胞菌、地中海假单胞菌、产吡啶金黄杆菌和耐林丹黄杆菌的相对丰度(图 5A–5D)。

番茄茎部 4 组处理的可培养内生菌中芽孢杆菌属为绝对的优势菌属,各处理芽孢杆菌种类各有不同,既有共有菌种,又有独有菌种。贝莱斯芽孢杆菌为共有芽孢杆菌,各处理独有芽孢杆菌分别为 TOR3209+C 处理中的特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis*)和苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*); NI+C 处理中人参芽孢杆菌(*Bacillus ginsengisoli*); TOR3209 处理中的烟酸芽孢杆菌(*Bacillus niacin*); NI 处理中环状芽孢杆

菌(*Bacillus circulans*)。TOR3209+C 和 TOR3209 处理组的共有芽孢杆菌包括蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、阿氏芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆

菌。NI+C 和 NI 处理组的共有优势菌属还有假单胞菌属占比分别为 36.30%和 15.60%，皱纹假单胞菌(*Pseudomonas corrugata*)和地中海假单胞

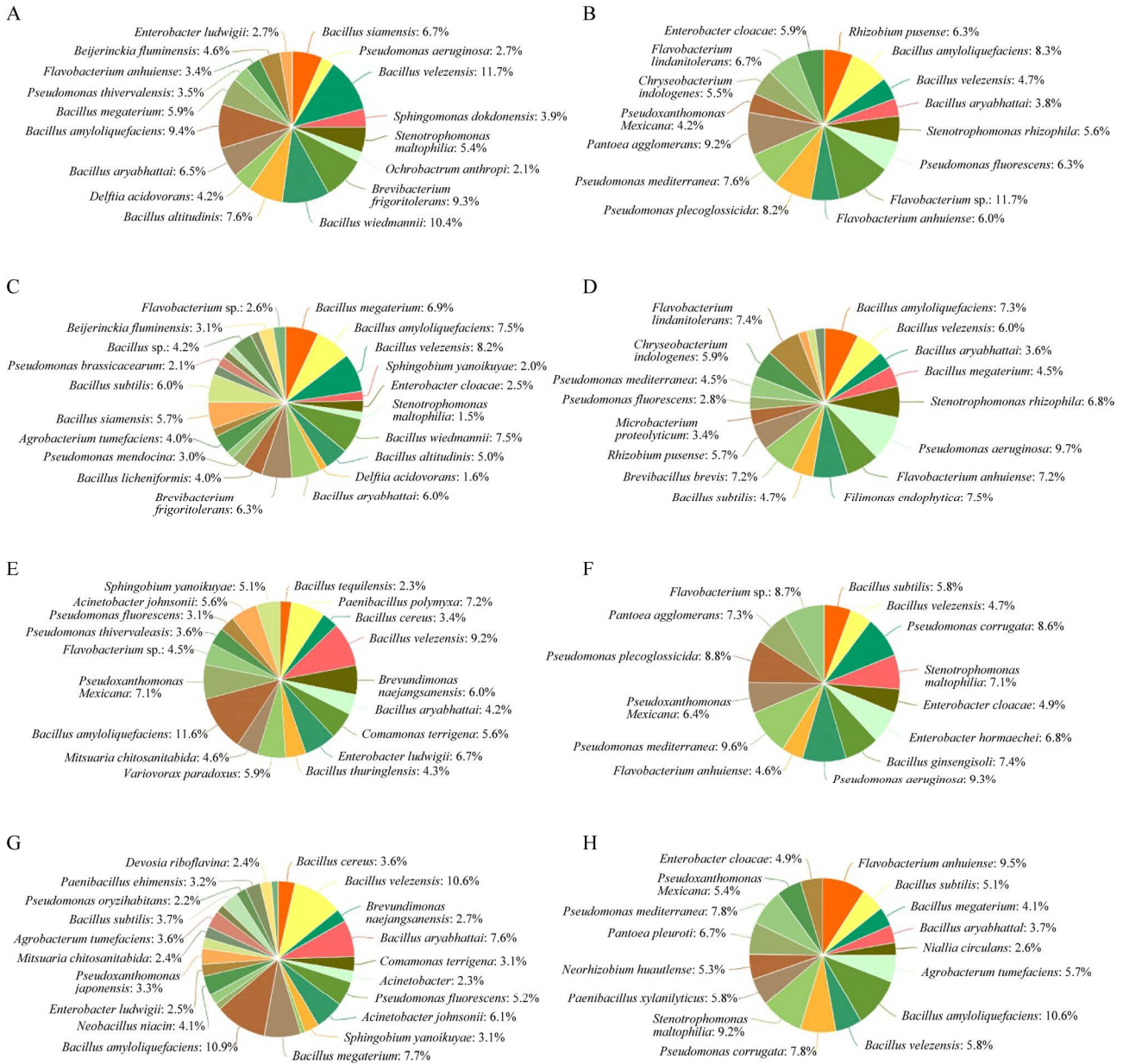


图 5 不同生境下番茄根系和茎部各类群内生菌所占比例(种水平) A: TOR3209+C 根. B: NI+C 根. C: TOR3209 根. D: NI 根. E: TOR3209+C 茎. F: NI+C 茎. G: TOR3209 茎. H: NI 茎

Figure 5 Groups and their respective occupation of endophytes from tomato roots and stems sampled in different habitats (species level). A: Root tissue of TOR3209+C. B: Root tissue of NI+C. C: Root tissue of TOR3209. D: Root tissue of NI. E: Stem tissue of TOR3209+C. F: Stem tissue of NI+C. G: Stem tissue of TOR3209. H: Stem tissue of NI.

菌为 2 个处理的共有假单胞菌。常温和低温下, TOR3209 处理中均检测出约氏不动杆菌 (*Acinetobacter johnsonii*), 该菌为耐冷菌, 在 NI 处理中均未检测出该菌。低温胁迫下, NI+C 根系和茎部处理中均出现香鱼假单胞菌和成团泛菌, 而 TOR3209+C 处理未检测出这两种菌株。4 组处理中, 与 NI 和 NI+C 处理相比, TOR3209 和 TOR3209+C 处理均显著提高了蜡样芽孢杆菌、贝莱斯芽孢杆菌、泡囊短波单胞菌 (*Brevundimonas naejangsanensis*)、阿氏芽孢杆菌、土生丛毛单胞菌 (*Comamonas terrigena*)、路氏肠杆菌、解脱乙酰壳多糖松江菌 (*Mitsuaria chitosanitabida*)、解淀粉芽孢杆菌、荧光假单胞菌、约氏不动杆菌、鞘氨醇杆菌 (*Sphingobium maltophilia*) 的相对丰度, 显著降低了安徽黄杆菌 (*Flavobacterium anhuiense*)、枯草芽孢杆菌、皱纹假单胞菌、嗜麦芽窄食单胞菌、地中海假单胞菌、墨西哥假黄单胞菌 (*Pseudomonas mexicana*) 和阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) 的相对丰度 (图 5E-5H)。

另外, 依据表 2 中的 35 株优势菌进行相对丰度的聚类分析发现, 不论何种温度下, 经 TOR3209 处理的番茄根系和茎部中可培养内生菌相对丰度较高的菌多为芽孢杆菌, 而 NI 处理相对丰度较高的菌则集中为假单胞菌和黄杆菌, 此结果与种属分析结果一致 (图 6)。

2.5 TOR3209 处理后番茄组织内生细菌的共有和独有物种

四个处理番茄根部的共有可培养内生细菌有 3 个, 分别为解淀粉芽孢杆菌、贝莱斯芽孢杆菌和阿氏芽孢杆菌。TOR3209+C 和 TOR3209 的共有可培养内生细菌有 10 个, 为巨大芽孢杆菌、

嗜麦芽寡养单胞菌、威兹曼芽孢杆菌、高地芽孢杆菌、食酸戴尔福特菌、耐寒短杆菌、暹罗芽孢杆菌、路氏肠杆菌、赛维瓦尔假单胞菌和弗留明拜叶林克氏菌; NI+C 和 NI 的共有可培养内生细菌有 8 个, 为根瘤菌、嗜根寡养单胞菌、荧光假单胞菌、安徽黄杆菌、短短芽孢杆菌 (*Bacillus brevis*)、地中海假单胞菌、产吡啶金黄杆菌和耐林丹黄杆菌; TOR3209+C 与 NI+C 的共有可培养内生细菌有 1 个, 为安徽黄杆菌; TOR3209 与 NI 的共有可培养内生细菌有 4 个, 包括巨大芽孢杆菌、赛维瓦尔假单胞菌、根癌农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 和枯草芽孢杆菌。TOR3209+C 的独有可培养内生细菌有 2 个, NI+C 有 3 个, TOR3209 有 9 个, NI 有 4 个 (图 7A)。

四个处理番茄茎部的共有可培养内生细菌仅 1 个, 为贝莱斯芽孢杆菌。TOR3209+C 和 TOR3209 的共有可培养内生细菌有 10 个, 为蜡样芽孢杆菌、泡囊短波单胞菌、阿氏芽孢杆菌、土生丛毛单胞菌、路氏肠杆菌、解脱乙酰壳多糖松江菌、解淀粉芽孢杆菌、荧光假单胞菌、约氏不动杆菌和鞘氨醇杆菌; NI+C 和 NI 的共有可培养内生细菌有 7 个, 为安徽黄杆菌、枯草芽孢杆菌、皱纹假单胞菌、嗜麦芽窄食单胞菌、地中海假单胞菌、墨西哥假单胞菌和阴沟肠杆菌; TOR3209+C 与 NI+C 的共有可培养内生细菌有 2 个, 为黄杆菌 (*Flavobacterium* sp.) 和墨西哥假黄单胞菌; TOR3209 与 NI 的共有内生细菌有 2 个, 为枯草芽孢杆菌和阴沟肠杆菌。TOR3209+C 的独有可培养内生细菌有 5 个, NI+C 有 4 个、TOR3209 有 10 个、NI 有 4 个 (图 7B)。

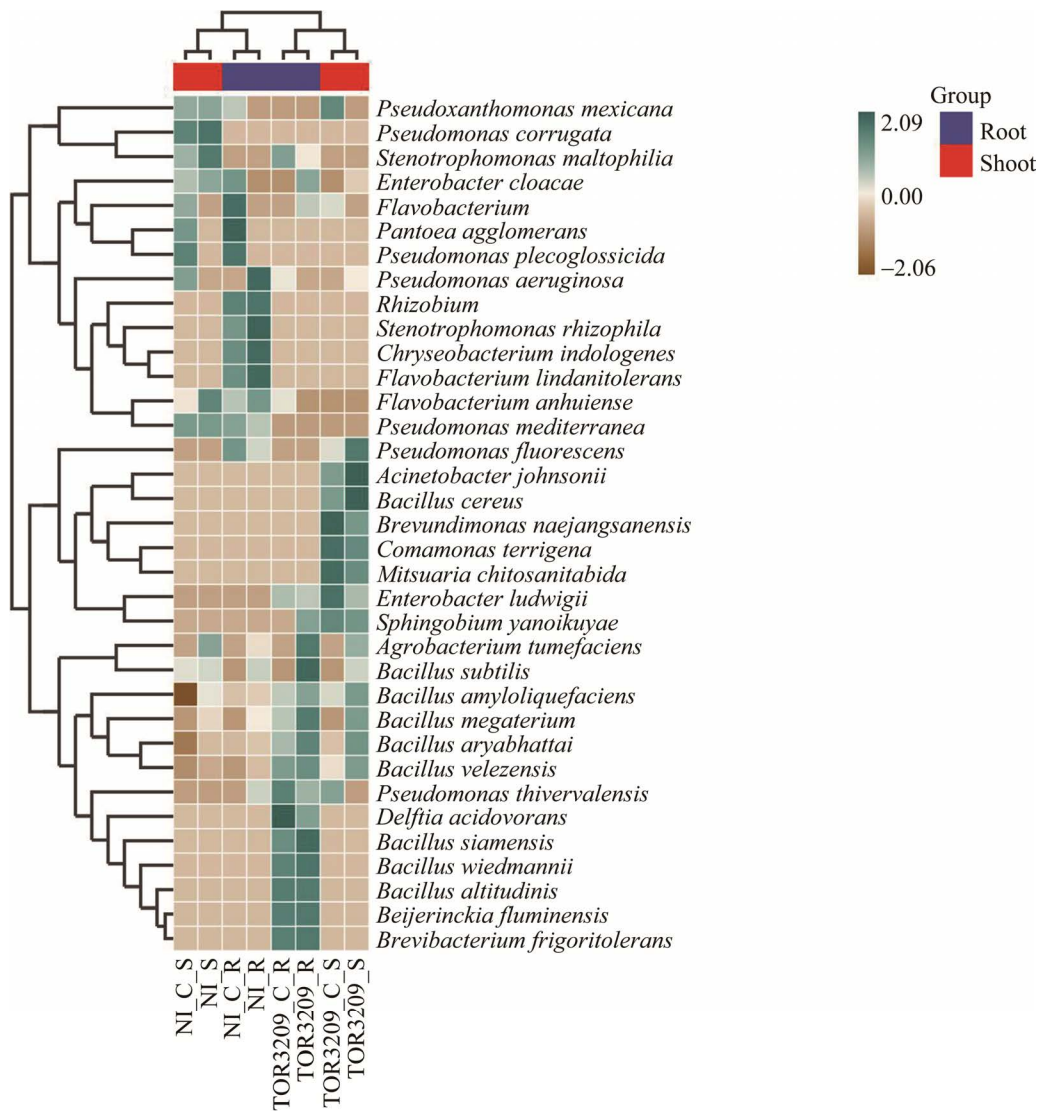


图 6 不同处理 35 种优势内生细菌相对丰度的聚类热图

Figure 6 Heat map of 35 dominant bacterial expressed as relative abundance of species of different treatments. TOR3209_C_R: Root tissue of TOR3209+C; NI_C_R: Root tissue of NI+C; TOR3209_R: Root tissue of TOR3209; NI_R: Root tissue of NI; TOR3209_C_S: Stem tissue of TOR3209+C; NI_C_S: Stem tissue of NI+C; TOR3209_S: Stem tissue of TOR3209; NI_S: Stem tissue of NI.

无论何种生境下, TOR3209+C 和 TOR3209 处理组的番茄根系均分离出威兹曼芽孢杆菌和耐寒短杆菌, TOR3209+C 和 TOR3209 处理组的番茄茎部均分离出约氏不动杆菌, 三者均为耐寒促生菌; NI+C 和 NI 处理组的番茄根系分离出了产吡啶金黄杆菌和地中海假单胞菌, 两

者均为致病菌。低温胁迫下, 在 NI+C 处理的番茄根茎中均出现了香鱼假单胞菌、地中海假单胞菌、成团泛菌和墨西哥假黄单胞菌, 四者均为致病菌且成团泛菌属冰核细菌, 而在 TOR3209+C 和 TOR3209 处理组中并未检测到这 4 种菌株。

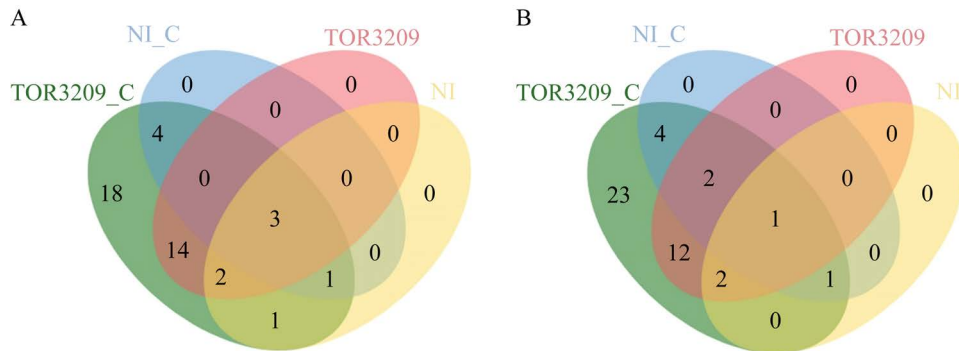


图 7 不同处理对番茄根茎组织内生细菌种类的影响(Venn 分析) A: 番茄根系. B: 番茄茎部. TOR3209_C: TOR3209+C; NI_C: NI+C

Figure 7 Impact of different treatments on endophytic bacterial community of tomato roots and stems (Venn analysis). A: Tomato roots. B: Tomato stems. TOR3209_C: TOR3209+C; NI_C: NI+C.

2.6 不同处理可培养内生细菌的多样性

采用多样性指数、丰富度指数和均匀度指数 3 个生物学指数来表征番茄根系和茎部中可培养内生细菌的菌群多样性。如表 3 所示, 在常温和低温下, 4 组处理番茄的根系和茎部样品中, 经菌株 TOR3209 处理的多样性指数和丰富度指数均高于未接菌的处理, 其中常温下 TOR3209 处理的番茄根系可培养内生菌的多样性指数最高, 为 3.10, TOR3209 处理的茎部可培养内生菌多样性指数次之, 为 3.06 ($P<0.05$)。常温下 TOR3209 处理的茎部可培养内生菌丰富度指数最高, 为 2.32, TOR3209 处理的根系

可培养内生菌次之, 为 2.25 ($P<0.05$)。经 TOR3209 处理的番茄样品均匀度指数略低于未接菌的处理, 各处理均匀度指数为 0.97 左右, 无显著差异 ($P>0.05$)。说明常温和低温下, TOR3209 处理增加了番茄根系和茎部组织可培养内生细菌群落的多样性和丰富度, 但是对可培养内生细菌群落的均匀度没有显著影响。

2.7 三株耐冷内生菌的耐冷促生功能

促生实验表明, 3 株内生菌均能提高番茄植株的株高、叶面积和生物量(图 8A)。低温处理 24 h 后, 对照组大部分番茄叶片萎蔫并卷曲, 茎秆弯曲, 而 3 株内生菌处理组叶片较为舒展, 茎

表 3 不同温度下番茄根和茎内生细菌的多样性指数

Table 3 Diversity of endophytic bacteria among four treatments of tomato roots and stems in two different temperatures

样品部位	样品处理	多样性指数	丰富度指数	均匀度指数
Sample tissue	Treatment	Shannon index	Margalef index	Pielou index
根 Root	TOR3209+C	2.72±0.15c	1.50±0.00e	0.96±0.05a
	NI+C	2.66±0.14c	1.35±0.00g	0.98±0.05a
	TOR3209	3.10±0.10a	2.25±0.01b	0.95±0.03a
	NI	2.85±0.10bc	1.70±0.01c	0.97±0.03a
茎 Stem	TOR3209+C	2.82±0.17c	1.64±0.01d	0.97±0.06a
	NI+C	2.61±0.16c	1.31±0.00h	0.99±0.06a
	TOR3209	3.06±0.09ab	2.32±0.01a	0.94±0.03a
	NI	2.71±0.12c	1.44±0.00f	0.99±0.04a

不同小写字母表示差异显著

Different lowercase letters indicate significantly difference.

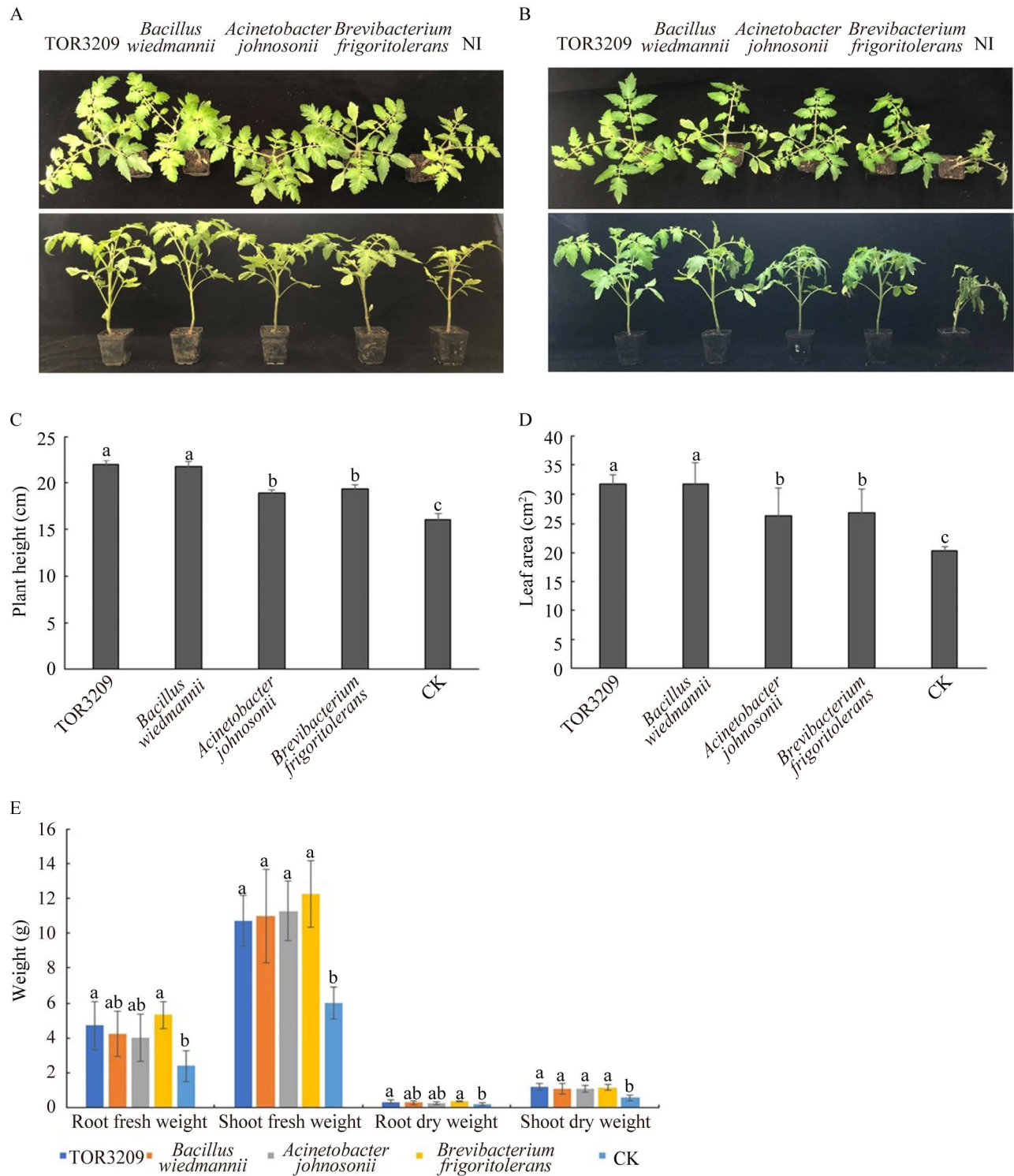


图 8 三株耐冷内生菌对番茄植株的促生和耐冷作用 A: 促生作用. B: 耐冷作用. C: 株高. D: 叶面积. E: 生物量

Figure 8 Effects of tomato plants treated by three psychrotolerant endophytes on plant growth-promoting and cold tolerance. A: Growth promoting function. B: Cold tolerance. C: Plant height. D: Leaf area. E: Biomass.

秆保持直立,能显著提高番茄植株的耐冷性(图 8B)。促生方面,威兹曼芽孢杆菌作用效果最显著,株高和叶面积比对照分别提高 34.88%和 56.33%(图 8C、8D),与 TOR3209 处理组无显著差异,可达到与 TOR3209 相同的促生效果。约氏不动杆菌与耐寒短杆菌也具有显著促生作用,可显著提高叶面积。各处理干重与鲜重有相似的处理间差异,处理组均能显著提高番茄植株的生物量,其中耐寒短杆菌作用效果最显著,地下部与地上部的鲜重与对照相比分别提高 55.13%和 51.03%,干重分别提高 48.37%和 50.95%,略高于 TOR3209 处理组,但无显著差异(图 8E)。

3 讨论与结论

植物在低温胁迫下会影响其体内微生物结果变化,多样性和均匀性会随着胁迫时间的延长而降低,化学调节剂的喷施可一定程度提高蔬菜的抗冷性,但是也会影响环境微生物的生态平衡。柴阳阳^[16]对蔬菜四月蔓和高梗白样品的多样性指数分析发现,低浓度邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate, DBP)处理均增加了四月蔓和高梗白微生物的多样性和丰富度,且低浓度 DBP 具有更明显的促进作用,而高浓度 DBP 则抑制了菌群多样性。方素云等^[17]用农用链霉素、苯醚甲环唑和代森锌对黄瓜处理后发现,黄瓜茎、叶的内生细菌多样性指数减少,这与本研究结果差异较大,说明化学药剂对蔬菜内生细菌群落有一定的抑制作用,但是有益微生物的使用可优化植物内生菌的组成。沙月霞等^[18]研究发现,用 3 种芽孢杆菌浸种处理可以提高水稻根和茎部内生细菌群落的丰富度和均匀度,显著改变水稻根系和茎部内生细菌群落结构,这与本研究结果相符。本研究通过检测低温胁迫下 TOR3209 处理后番茄不同组织可培养内生细菌群落的多样性,结果发现 TOR3209 处理后番茄根系和茎部

可培养内生细菌的多样性显著增加,提高了芽孢杆菌属的相对丰度,降低了黄杆菌属和假单胞菌属的相对丰度,优化了内生菌的结构。

影响功能有益微生物生物防治作用的关键因素在于其在植物根系的定殖效率,定殖方式也会影响有益微生物的定殖效率。Afzal 等^[19]通过种子浸种和灌根接种两种方式将有益细菌 *Burkholderia phytofirmans* PsJN 接种到黑麦草体内,发现菌株 PsJN 灌根接种的定殖效率最高,表现出最佳的生防效果。TOR3209 是本实验室从番茄根际筛选获得的一株根际益生菌,前期实验表明其在根际定殖效率最好,优于叶面施用的定殖效率,能有效改善根际微生物的群落结构,且可培养平板分离实验表明 TOR3209 能显著提高根际枯草芽孢杆菌和贝莱斯芽孢杆菌的数量^[11],与本研究 TOR3209 能显著提高番茄可培养内生芽孢杆菌的相对丰度结果一致。

大量研究表明,番茄内生菌株以变形菌门和厚壁菌门为主,富含芽孢杆菌、假单胞菌、肠杆菌等^[20-21],本研究结果与之一致。4 组处理在番茄根系和茎部可培养内生细菌中的优势菌门为厚壁菌门、变形菌门和拟杆菌门,根系共有菌属为芽孢杆菌属、假单胞菌属、黄杆菌属和寡养单胞菌属,茎部的共有菌属为芽孢杆菌属、假单胞菌属、肠杆菌属和假单胞菌属。低温胁迫显著降低了 NI+C 处理组根茎部芽孢杆菌属的相对丰度,而接种 TOR3209 处理组的芽孢杆菌属的相对丰度显著增加。芽孢杆菌属作为番茄根系和茎部可培养内生菌的绝对优势菌属,属内细菌广泛具有防病促生效果。贝莱斯芽孢杆菌作为 4 组处理的共有菌株,广泛存在于番茄根系和茎部,且其在 TOR3209 处理的番茄中的菌数量显著高于 NI 处理。贝莱斯芽孢杆菌能诱导植物产生系统抗性,并产生吲哚-3-乙酸,促生并增强植物对逆境的抵抗力^[22]。仅在 TOR3209+C 和 TOR3209

处理的根系中分离出的暹罗芽孢杆菌,对常见的真菌和细菌病害均有高效广谱的拮抗能力,提高植物抗病力,同时还可提高作物的氮素利用率,促进作物生长^[23-24]。TOR3209 处理后番茄根系和茎部可培养内生菌种类丰富,表现出很强的功能多样性,除了具有可以防病促生的内生菌,还有一些具有其他功能的内生菌。仅在 TOR3209+C 处理的茎部分离出的苏云金芽孢杆菌有杀虫的作用^[25],多黏类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)有很高的杀菌抗病活性^[26]。还有一些菌株在环境治理修复方面具有重要的应用价值,比如仅在 TOR3209+C 和 TOR3209 处理的根系中分离出的弗留明拜叶林克氏菌可显著降低砷的毒性^[27];4 组处理共有的阿氏芽孢杆菌对盐碱地等高含盐量的土壤中的阿特拉津有非常好的降解效果^[28];鞘氨醇杆菌可降解邻苯二甲酸二乙酯等物质^[29];赛维瓦尔假单胞菌是一种好氧反硝化苯系物(benzene toluene ethylbenzene & xylene, BTEX)降解菌^[30];酯香微杆菌(*Microbacterium esteraromaticum*)可降解氰戊菊酯等^[31]。以上菌株均单独存在于 TOR3209 处理的番茄植株中或是在 TOR3209 处理的番茄组织中相对丰度较高,说明 TOR3209 处理能改善番茄植株体内的微生态环境。

不论何种温度,与接种菌株 TOR3209 的处理相比,NI 和 NI+C 处理组可培养内生菌中相对丰度较高的菌则集中于假单胞菌属和黄杆菌属。其中,NI+C 和 NI 处理的独有菌株有 4 株致病菌,分别是分离自根系的地中海假单胞菌和产吡啶金黄杆菌,分离自茎部的地中海假单胞菌和皱纹假单胞菌。已报道的地中海假单胞菌和皱纹假单胞菌均可单独引起番茄细菌性髓部坏死,而当两者互作时会加重细菌性髓部坏死病的发生程度^[32-34],对番茄植株的生长发育造成严重影响。产吡啶金黄杆菌是一株条件致病菌,何斐

等^[35]研究发现该菌和其他致病菌的存在会导致农田魔芋软腐病发病率高、产量低。低温胁迫下,NI+C 处理的根系和茎部有一株特有的假单胞菌,为致病性香鱼假单胞菌。香鱼假单胞菌是大黄鱼致病菌,易引起内脏白点病^[36],但对植物有无致病性尚无报道。以上致病菌未在 TOR3209 处理组中分离出现,说明 TOR3209 能一定程度地抑制致病菌,优化番茄植株的内生菌结构。在提高番茄耐冷性方面,相较于 NI+C 和 NI 处理,TOR3209+C 和 TOR3209 的共有可培养内生细菌中有 3 株耐冷菌,分别为分离自根系的威兹曼芽孢杆菌、耐寒短杆菌及茎部的约氏不动杆菌。Wu 等^[37]分离了自青藏高原采集的植物样本,鉴定筛选出 37 株具有冷适应或嗜冷特性的菌株,发现威兹曼芽孢杆菌能在 10 °C 的低温条件下生长繁殖,而且能提高低温下冬小麦的茎和根鲜重,有效促进植物生长。本研究中威兹曼芽孢杆菌在 TOR3209+C 的相对丰度显著高于 TOR3209 处理,推测低温下威兹曼芽孢杆菌与 TOR3209 在根系的互作对植物起到一定的保护作用。耐寒短杆菌是一株嗜冷型细菌,在低温环境中有良好的生物活性。张喆^[38]自冻土中分离出一株耐寒短杆菌 ZL-2,利用其在低温环境中良好的生物活性代谢产热,实现堆体的低温启动和快速升温,在小白菜根系施用加入低温启动复合菌剂的腐熟堆肥,能够显著促进植株生长且效果优于化肥。耐寒短杆菌仅出现在接种 TOR3209 处理的根系中,而且 TOR3209+C 的相对丰度较高,推测 TOR3209 通过招募土壤中的耐寒短杆菌,两者共同作用增强植物的耐冷性。约氏不动杆菌是一株耐冷菌,可在相对较低的温度条件下生长并保持一定生物降解活性,能够产生低温碱性脂肪酶,在环境保护和生物修复中发挥重要的作用^[39]。苏丹^[40]研究发现,约翰氏不动杆菌 DBP-3 最适生长温度为 25 °C,在 5 °C 时仍能缓慢生长,

将 DBP-3 中的冷休克蛋白 Csp4 载体转入大肠杆菌中,可使大肠杆菌在 7.5 °C 恢复生长。约翰氏不动杆菌是 TOR3209+C 和 TOR3209 处理植株茎部的独有菌株。推测这 3 种耐冷菌可能是 TOR3209 提高植物耐冷性的关键因素,验证实验也表明 3 种耐冷菌有耐冷促生的作用,三者在 TOR3209 的招募或与其互作中共同对番茄植株起到了抗寒促生的作用。

低温胁迫下,仅在 NI+C 处理的根茎部分离出冰核细菌成团泛菌,冰核细菌的存在能显著加重植物冻害的程度^[41]。黄晓琴等^[42]研究发现,冰核细菌的存在能提高茶树叶片内水分的过冷却点,使叶片在较高的温度下结冰而易遭受霜冻害。低温胁迫下,NI+C 处理组的根系和茎部均分离出成团泛菌,而 TOR3209+C 处理组却未发现,说明 TOR3209 能一定程度防除番茄植株上的成团泛菌,减少冰核细菌的产生,能够减轻或控制冷害的发生。

植物与其相关的微生物共进化可能是植物应对逆境胁迫的一种策略,有益微生物如何帮助植物在复杂微生物组中相对特异性富集其他功能微生物的机制并不清楚^[43]。链霉菌作为一种普遍存在于土壤中的微生物资源,其产生的一些天然活性物质可以广泛应用在农业和环境修复等不同领域。Bhave 等^[44]首次从南极洲的土壤中分离出了一株能耐低温的新链霉菌(*Streptomyces radiopugnans*) MTCC 5447,分析其代谢产物发现,该菌可以产生一种新型的抗菌化合物 patent-US2012/0156295。本实验室前期研究发现, TOR3209 的挥发性有机化合物(volatile organic compounds, VOCs)具有促进烟草生长的功能,烟草的鲜重提高了 100%,对其 VOCs 成分分析发现,成分最高的两种化合物为 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-phenol 和 hexanedioic acid dibutyl ester^[45]。本研究中链霉菌 TOR3209 在低

温胁迫下可以相对特异性地招募耐冷促生菌,但其作用机制是否与 TOR3209 的次级代谢物或 VOCs 有关还需进行后续研究。

综上所述,经 TOR3209 处理所分离获得的内生菌,在与 TOR3209 互作中产生有利于番茄的生物学效应,分析认为,链霉菌 TOR3209 一方面可能促进了番茄组织中一些有益可培养内生细菌的生长;另一方面抑制了部分有害菌的生长,因此提高了根系和茎部内生细菌群落的多样性,改善了番茄植株生长的微生态环境。而且低温下经 TOR3209 处理的一些功能可培养内生菌相对丰度要高于常温下 TOR3209 的处理,其中, TOR3209 处理的番茄植株中出现威兹曼芽孢杆菌、耐寒短杆菌和约氏不动杆菌这 3 株具有耐冷促生功能的内生菌,同时防控了冰核细菌成团泛菌的侵入,减少了地中海假单胞菌和皱纹假单胞菌等致病菌,优化了植株体内微生物的菌群结构, TOR3209 与其响应菌共同抵御逆境胁迫。TOR3209 如何招募耐寒菌及如何与耐寒菌联合使用以有效提高番茄植株的耐冷性有待进一步深入探究。本研究运用传统平板分离法比较常温和低温条件下,接种和不接种 TOR3209 的番茄根系和茎部内生细菌的群落组成的区别和菌群的变化,揭示有益菌提高番茄植株耐冷性的微生物学机制,为研究有益菌促进植物的抗逆机制提供理论基础。

REFERENCES

- [1] 孙佳瑞,胡栋,张翠绵,贾楠,黄石,赵晨颖,王占武. 链霉菌 S506 对番茄苗生长和冷害生理生化的影响[J]. 中国农学通报, 2012, 28(31): 167-171.
SUN JR, HU D, ZHANG CM, JIA N, HUANG S, ZHAO CY, WANG ZW. Effects of *Streptomyces* S506 on growth and cold injury physiology and biochemistry of tomato seedlings under cold stress[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(31): 167-171 (in Chinese).
- [2] AROCA R, PORCEL R, RUIZ-LOZANO JM. How does

- arbuscular mycorrhizal symbiosis regulate root hydraulic properties and plasma membrane aquaporins in *Phaseolus vulgaris* under drought, cold or salinity stresses?[J]. *The New Phytologist*, 2007, 173(4): 808-816.
- [3] ROSENBLUETH M, MARTÍNEZ-ROMERO E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2006, 19(8): 827-837.
- [4] 程志强, 雷少楠, 熊娟, 马荣琴, 陈优优, 李容丹, 路晶晶, 吴寒, 龚玉杰, 田宝玉. 番茄根内生芽孢杆菌的多样性和系统发育研究[J]. *中国农学通报*, 2018, 34(8): 37-45.
- CHENG ZQ, LEI SN, XIONG J, MA RQ, CHEN YY, LI RD, LU JJ, WU H, GONG YJ, TIAN BY. Diversity and phylogenetic analysis of root endophytic *Bacillus* in tomato[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2018, 34(8): 37-45 (in Chinese).
- [5] AZEVEDO JL, ARAÚJO WL, LACAVA PT. The diversity of citrus endophytic bacteria and their interactions with *Xylella fastidiosa* and host plants[J]. *Genetics and Molecular Biology*, 2016, 39(4): 476-491.
- [6] WEST ER, COTHER EJ, STEEL CC, ASH GJ. The characterization and diversity of bacterial endophytes of grapevine[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2010, 56(3): 209-216.
- [7] 冯杭, 段焱钦, 杨利平, 周岗泉, 刘琼光. 不同青枯病抗性的番茄品种内生细菌生理群数量研究[J]. *微生物学通报*, 2008, 35(8): 1255-1261.
- FENG H, DUAN LQ, YANG LP, ZHOU GQ, LIU QG. Study on population of bacterial physiological groups in tomato with different resistance to *Ralstonia solanacearum*[J]. *Microbiology China*, 2008, 35(8): 1255-1261 (in Chinese).
- [8] 杨多, 岳海涛, 伍杰毅, 赵鲁玉, 邢祥祥, 郭飞, 杨洁. 胡杨叶片及韧皮部内生细菌多样性及生物学功能分析[J]. *微生物学报*, 2022, 62(1): 213-226.
- YANG D, YUE HT, WU JY, ZHAO LY, XING XX, GUO F, YANG J. Diversity and biological function of endophytic bacteria in *Populus euphratica* leaves and phloem[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(1): 213-226 (in Chinese).
- [9] 李爽, 左尚武, 王万清, 王金嵩, 权成伟, 朱雪竹. 菌株 *Serratia* sp. PW7 不同定殖方式对黑麦草中砷污染去除及其内生菌群的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(12): 2755-2764.
- LI S, ZUO SW, WANG WQ, WANG JS, QUAN CW, ZHU XZ. Determining the effects of *Serratia* sp. PW7 on pyrene removal and the endophytic bacterial community in ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) via different inoculation methods[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(12): 2755-2764 (in Chinese).
- [10] HU D, LI XZ, CHANG YL, HE H, ZHANG CM, JIA N, LI HT, WANG ZW. Genome sequence of *Streptomyces* sp. strain TOR3209, a rhizosphere microecology regulator isolated from tomato rhizosphere[J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(6): 1627.
- [11] HU D, LI SH, LI Y, PENG JL, WEI XY, MA J, ZHANG CM, JIA N, WANG ET, WANG ZW. *Streptomyces* sp. strain TOR3209: a rhizosphere bacterium promoting growth of tomato by affecting the rhizosphere microbial community[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 20132.
- [12] van OEVELEN S, de WACHTER R, ROBBRECHT E. Induction of a crippled phenotype in *Psychotria (Rubiaceae)* upon loss of the bacterial endophyte[J]. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 2003: 242-247.
- [13] 许明双. 番茄和水稻种子可培养内生细菌的多样性分析及促生菌功能研究[D]. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 2014.
- XU MS. Culturable bacterial community compositions from seeds of tomato and rice and function of plant growth promoting endophytic bacteria[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of China Agricultural University, 2014 (in Chinese).
- [14] 孙创, 王金燕, 张钰琳, 张蕴慧, 朱晓雨, 陈朝晖, 张晓华. 利用改良培养基探究西太平洋海水可培养细菌多样性[J]. *微生物学报*, 2021, 61(4): 845-861.
- SUN C, WANG JY, ZHANG YL, ZHANG YH, ZHU XY, CHEN ZH, ZHANG XH. Exploring the diversity of cultivated bacteria in the western Pacific waters through improved culture media[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(4): 845-861 (in Chinese).
- [15] ZHANG NL, WAN SQ, LI LH, BI J, ZHAO MM, MA KP. Impacts of urea N addition on soil microbial community in a semi-arid temperate steppe in northern China[J]. *Plant and Soil*, 2008, 311(1): 19-28.
- [16] 柴阳阳. DBP 对蔬菜叶际、根际微生物和内生菌群落结构的影响[D]. 青岛: 青岛科技大学硕士学位论文, 2018.
- CHAI YY. Effects of DBP on the community structure of phyllosphere, rhizospheres microorganisms and endophytes of vegetables[D]. Qingdao: Master's Thesis of Qingdao University of Science & Technology, 2018 (in Chinese).
- [17] 方素云, 王振中. 三种杀菌剂对黄瓜内生细菌群落多样性的影响[J]. *植物保护*, 2011, 37(3): 52-57, 98.
- FANG SY, WANG ZZ. Effects of three kinds of

- fungicides on endophytic bacterial communities in cucumber plants[J]. *Plant Protection*, 2011, 37(3): 52-57, 98 (in Chinese).
- [18] 沙月霞, 沈瑞清. 芽胞杆菌浸种对水稻内生细菌群落结构的影响[J]. *生态学报*, 2019, 39(22): 8442-8451.
SHA YX, SHEN RQ. Impact of seed soaked by *Bacillus* on endophytic bacterial community structure of rice[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(22): 8442-8451 (in Chinese).
- [19] AFZAL M, YOUSAF S, REICHENAUER TG, SESSITSCH A. The inoculation method affects colonization and performance of bacterial inoculant strains in the phytoremediation of soil contaminated with diesel oil[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2012, 14(1): 35-47.
- [20] 王美琴, 刘慧平, 韩巨才, 路涛. 番茄内生细菌种群动态分析及拮抗菌株的筛选[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(9): 277-282.
WANG MQ, LIU HP, HAN JC, LU T. Population dynamics of endophytic bacteria in tomato plant and screening of antagonistic strains[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(9): 277-282 (in Chinese).
- [21] 王玲玲, 尚庆茂, 董春娟. 番茄附生和内生细菌分离与群落相似性分析[J]. *生物技术通报*, 2018, 34(7): 147-153.
WANG LL, SHANG QM, DONG CJ. Isolation and similarity analysis of epiphytic and endophytic bacteria in different tissues of tomato plants[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(7): 147-153 (in Chinese).
- [22] 张德锋, 高艳侠, 王亚军, 刘春, 石存斌. 贝莱斯芽胞杆菌的分类、拮抗功能及其应用研究进展[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(11): 3634-3649.
ZHANG DF, GAO YX, WANG YJ, LIU C, SHI CB. Advances in taxonomy, antagonistic function and application of *Bacillus velezensis*[J]. *Microbiology China*, 2020, 47(11): 3634-3649 (in Chinese).
- [23] 陈倩倩, 刘波, 王阶平, 车建美, 刘国红, 龚海艳, 关雄. 芽胞杆菌 FJAT-28592 抗真菌脂肽的研究[J]. *农业生物技术学报*, 2016, 24(2): 261-269.
CHEN QQ, LIU B, WANG JP, CHE JM, LIU GH, GONG HY, GUAN X. Anti-fungal lipopeptides produced by *Bacillus siamensis* FJAT-28592[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2016, 24(2): 261-269 (in Chinese).
- [24] 林志楷, 林文珍. 暹罗芽胞杆菌研究进展[J]. *亚热带植物科学*, 2019, 48(4): 391-396.
LIN ZK, LIN WZ. Research progress on *Bacillus siamensis*[J]. *Subtropical Plant Science*, 2019, 48(4): 391-396 (in Chinese).
- [25] ELLEUCH J, JAOUA S, DARRIET F, CHANDRE F, TOUNSI S, ZGHAL RZ. Cry4Ba and Cyt1Aa proteins from *Bacillus thuringiensis israelensis*: interactions and toxicity mechanism against *Aedes aegypti*[J]. *Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology*, 2015, 104: 83-90.
- [26] 胡飞, 李昌春, 周子燕, 胡本进, 徐丽娜, 郑进国. 多粘类芽胞杆菌 DN-1 防治水稻纹枯病初步研究[J]. *中国生物防治学报*, 2015, 31(4): 524-528.
HU F, LI CC, ZHOU ZY, HU BJ, XU LN, ZHENG JG. Preliminary study on *Paenibacillus polymyxa* DN-1 controlling rice sheath blight in rice[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2015, 31(4): 524-528 (in Chinese).
- [27] 闫凯丽, 郑君健, 王志伟, 吴志超. 膜生物反应器降解对氨基苯磺酸的性能及微生物群落特征[J]. *环境科学研究*, 2017, 30(9): 1433-1439.
YAN KL, ZHENG JJ, WANG ZW, WU ZC. Sulfanilic acid biodegradation and resulting microbial communities using membrane bioreactor[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2017, 30(9): 1433-1439 (in Chinese).
- [28] 李戈. 阿特拉津厌氧降解菌的筛选鉴定及其降解特性研究[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2018.
LI G. Isolation of anaerobic degrading bacteria of atrazine in soil and studies on the degrading characteristics[D]. Taian: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2018 (in Chinese).
- [29] 蔡训辉, 王如意, 胡胜男, 李盈, 周玮. 鞘氨醇杆菌的研究进展[J]. *基因组学与应用生物学*, 2020, 39(5): 2096-2102.
CAI XH, WANG RY, HU SN, LI Y, ZHOU W. Research progress of *Sphingo bacterium*[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2020, 39(5): 2096-2102 (in Chinese).
- [30] 曲丹, 赵勇胜, 任何军, 周睿. 一株新的 *Pseudomonas thivervalensis* MATH1 BTEX 降解及脱氮能力[J]. *中国科技论文*, 2016, 11(21): 2502-2508.
QU D, ZHAO YS, REN HJ, ZHOU R. BTEX biodegradation and its nitrogen removal potential by a newly isolated *Pseudomonas thivervalensis* MATH1[J]. *China Sciencepaper*, 2016, 11(21): 2502-2508 (in Chinese).
- [31] 陈晶瑜, 曹明, 庞晓娜, 韩北忠. 一株高效降解氰戊菊酯的酯香微杆菌及其应用: 中国, CN108410760A[P]. 2018-08-17.
CHEN JY, CAO M, PANG XN, HAN BZ. *Microbacterium esteraromaticum* for efficiently

- degrading fenvalerate and application thereof: China, CN108410760A[P]. 2018-08-17 (in Chinese).
- [32] 陈鹏, 甘桂云, 汪茜, 罗艳, 王先裕. 番茄细菌性髓部坏死病研究进展[J]. 中国瓜菜, 2021, 34(5): 8-14.
CHEN P, GAN GY, WANG Q, LUO Y, WANG XY. Research progress of tomato pith necrosis[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2021, 34(5): 8-14 (in Chinese).
- [33] TRANTAS EA, SARRIS PF, PENTARI MG, MPALANTINAKI EE, VERVERIDIS FN, GOUMAS DE. Diversity among *Pseudomonas corrugate* and *Pseudomonas mediterranea* isolated from tomato and pepper showing symptoms of pith necrosis in Greece[J]. Plant Pathology, 2015, 64(2): 307-318.
- [34] PEKHTEREVA ES, KORNEV KP, MATVEEVA EV, POLITYKO VA, BUDENKOV NI, IGNATOV AN, SCHAAD NW. Pith necrosis of tomato in Russia[J]. Acta Horticulturae, 2009(808): 251-254.
- [35] 何斐, 张忠良, 刘列平, 崔鸣, 薛泉宏. 刺槐林魔芋健康高产的土壤微生态机制[J]. 西北植物学报, 2015, 35(2): 364-372.
HE F, ZHANG ZL, LIU LP, CUI M, XUE QH. Microecological mechanism for healthy growth and higher yield of *Amorphophallus konjac* under *Acacia* forest[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2015, 35(2): 364-372 (in Chinese).
- [36] 袁雪梅, 葛明峰, 安树伟, 张继挺, 陶震, 王国良. 大黄鱼致病香假单胞菌对环境因子的响应及其感染检测的分析[J]. 应用海洋学学报, 2015, 34(4): 549-553.
YUAN XM, GE MF, AN SW, ZHANG JT, TAO Z, WANG GL. Response of *Pseudomonas plecoglossicida* to environmental factors and detection of infection in farmed *Pseudosciaena crocea*[J]. Journal of Applied Oceanography, 2015, 34(4): 549-553 (in Chinese).
- [37] WU HJ, GU Q, XIE YL, LOU ZY, XUE PQ, FANG L, YU CJ, JIA DD, HUANG GC, ZHU BC, SCHNEIDER A, BLOM J, LASCH P, BORRIS R, GAO XW. Cold-adapted *Bacilli* isolated from the Qinghai-Tibetan Plateau are able to promote plant growth in extreme environments[J]. Environmental Microbiology, 2019, 21(9): 3505-3526.
- [38] 张喆. 牛粪堆肥低温启动复合菌剂研制及其效果评价[D]. 大连: 大连理工大学硕士学位论文, 2019.
ZHANG Z. Preparation and evaluation of the low-temperature fermenting compound microbial agent for cattle manure composting[D]. Dalian: Master's Thesis of Dalian University of Technology, 2019 (in Chinese).
- [39] WANG HK, WANG XJ, LI XL, ZHANG YH, DAI YJ, GUO CL, ZHENG H. QSAR study and the hydrolysis activity prediction of three alkaline lipases from different lipase-producing microorganisms[J]. Lipids in Health and Disease, 2012, 11: 124.
- [40] 苏丹. 约翰氏不动杆菌 DBP-3 低温生长特性及冷休克蛋白表达研究[D]. 长春: 吉林大学硕士学位论文, 2016.
SU D. Study of the growth characteristics under low temperature and expression of cold shock protein of *Acinetobacter johnsonii* strain DBP-3[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin University, 2016 (in Chinese).
- [41] KARIMI B, NOSRATI R, FAZLY BAZZAZ BS, MIRPOUR M, MALBOOBI M, OWLIA P. A comparative evaluation of freezing criteria and molecular characterization of epiphytic ice-nucleating (ice⁺) and non-ice-nucleating (ice⁻) *Pseudomonas syringae* and *Pseudomonas fluorescens*[J]. Journal of Plant Pathology, 2020, 102(1): 169-178.
- [42] 黄晓琴, 张丽霞, 刘会香, 陈宗懋, 李多川. 抗茶树冰核细菌内生菌的筛选及鉴定[J]. 茶叶科学, 2015, 35(1): 97-102.
HUANG XQ, ZHANG LX, LIU HX, CHEN ZM, LI DC. Screening and identification of the endophytic bacterial strain against ice nucleation active bacteria of tea plant[J]. Journal of Tea Science, 2015, 35(1): 97-102 (in Chinese).
- [43] LIU HW, LI JY, CARVALHAIS LC, PERCY CD, PRAKASH VERMA J, SCHENK PM, SINGH BK. Evidence for the plant recruitment of beneficial microbes to suppress soil-borne pathogens[J]. The New Phytologist, 2021, 229(5): 2873-2885.
- [44] BHAVE SV, SHANBHAG PV, SONAWANE SK, PARAB RR, MAHAJAN GB. Isolation and characterization of halotolerant *Streptomyces radiopugnans* from *Antarctica* soil[J]. Letters in Applied Microbiology, 2013, 56(5): 348-355.
- [45] HE YX, GUO WY, PENG JL, GUO JY, MA J, WANG X, ZHANG CM, JIA N, WANG ET, HU D, WANG ZW. Volatile organic compounds of *Streptomyces* sp. TOR3209 stimulated tobacco growth by up-regulating the expression of genes related to plant growth and development[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 891245.