

研究报告

贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 通过调控特定时空的土壤微生物组促进水稻苗生长

代诗佳^{1,2,3}, 王敬敬^{*2,3}, 魏茉^{2,3}, 庞琰^{2,3}, 杨杨¹, 许世武⁴, 黄志勇^{*2,3}

1 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457

2 中国科学院天津工业生物技术研究所 天津工业生物系统与过程重点实验室, 天津 300308

3 国家合成生物技术创新中心, 天津 300308

4 农用微生物与药肥创制兵团重点实验室, 新疆 石河子 832000

代诗佳, 王敬敬, 魏茉, 庞琰, 杨杨, 许世武, 黄志勇. 贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 通过调控特定时空的土壤微生物组促进水稻苗生长[J]. 微生物学通报, 2024, 51(7): 2381-2410.

DAI Shijia, WANG Jingjing, WEI Mo, PANG Yan, YANG Yang, XU Shiwu, HUANG Zhiyong. *Bacillus velezensis* FH-1 promotes rice seedlings growth by regulating specific spatiotemporal soil microbiome[J]. Microbiology China, 2024, 51(7): 2381-2410.

摘要:【背景】以植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)为核心的微生物肥料是实现农业可持续发展的重要途径。【目的】以前期获得的一株可显著促进水稻生长的贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) FH-1 为研究对象, 运用盆栽试验和高通量测序技术, 在时空尺度上系统研究了其在复杂土壤系统中的演变规律及其促进水稻生长的微生物生态学机制。【方法】将贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 接种水稻盆栽, 在时间和空间尺度分别采取水稻和根际土壤样品, 利用直尺和天平测定水稻的株高和植株干重。提取根际土壤 DNA 后, 利用 16S rRNA 基因扩增子测序解析水稻根际土壤的微生物群落组成, 进一步使用 Spearman 相关统计分析研究水稻-微生物之间的相关性。【结果】接种后第 0 天, 处理组(F)与对照组(CK)间水稻无显著差异。随着时间推移, F 组对水稻的促生效果越来越明显。接种后第 20 天 F 组中水稻株高和干重分别比 CK 组高 6.02% 和 12.52% ($P < 0.05$)。前期(接种后 5–10 d)贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 在地下 0–3 cm 土壤中的定殖丰度高于地下 3–6 cm 1.19%–2.64%, 通过富集地下 0–3 cm 土壤中的 *Kineosporiaceae*、*Chitinophagales* 等物种和延胡索酸呼吸(fumarate respiration)等功能, 以及地下 3–6 cm 土壤中的 *Bacillaceae*、*Phycisphaerae* 等物种和 nitrate ammonification 等功能促进水稻生长。后期(接种后 15–20 d)贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 在地下 0–3 cm 土壤中的定殖丰度高于地下 3–6 cm 134%–139%, 通过富集地下 0–3 cm 土壤中的 *Bacillus*、*Ilumatobacteraceae* 等物种和

资助项目: 中国科学院战略先导专项(XDA28030203); 天津市自然科学基金(20JCYBJC01220); 新疆维吾尔自治区第八师科技领军人才项目(2022CB010-01)

This work was supported by the Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA28030203), the Tianjin Natural Science Foundation (20JCYBJC01220), and the Leading Talents in Science and Technology of Xinjiang Uygur Autonomous Region Eighth Division (2022CB010-01).

*Corresponding authors. E-mail: WANG Jingjing, wang_jj@tib.cas.cn; HUANG Zhiyong, huang_zy@tib.cas.cn

Received: 2023-10-03; Accepted: 2023-12-08; Published online: 2024-01-19

xylanolysis 功能, 及地下 3–6 cm 土壤中的 *Acidimicrobiia*、*Mycobacterium* 等物种和 respiration of sulfur compounds 功能促进水稻苗早期生长。【结论】在土壤生态系统中, 贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 通过调控特定时空位点的微生物群落结构和功能促进水稻苗的早期生长。

关键词: 植物根际促生菌; 贝莱斯芽孢杆菌; 土壤微生物群落; 时间; 空间; 水稻

***Bacillus velezensis* FH-1 promotes rice seedlings growth by regulating specific spatiotemporal soil microbiome**

DAI Shijia^{1,2,3}, WANG Jingjing^{*2,3}, WEI Mo^{2,3}, PANG Yan^{2,3}, YANG Yang¹, XU Shiwu⁴, HUANG Zhiyong^{*2,3}

1 College of Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China

2 Tianjin Key Laboratory for Industrial Biology System and Process Engineering, Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China

3 National Center of Technology Innovation for Synthetic Biology, Tianjin 300308, China

4 Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Pesticide and Fertilizer Production, Shihezi 832000, Xinjiang, China

Abstract: [Background] Microbial fertilizers prepared with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) are an important way to achieve sustainable agricultural development. [Objective] To systematically study the distribution of *Bacillus velezensis* FH-1 capable of promoting rice growth in complex soil systems and the mechanism of the strain in promoting rice growth on a spatial-temporal scale. [Methods] The rice seedlings were inoculated with *B. velezensis* FH-1, and rice seedling and rhizosphere soil samples in different layers were collected at different time points. The plant height and dry weight of rice seedlings were measured by a ruler and a balance, respectively. After DNA was extracted from the rhizosphere soil, 16S rRNA gene amplicon sequencing was performed to analyze the microbial community composition. Spearman correlation analysis was performed to study the correlations between rice and microorganisms. [Results] On day 0 after inoculation, there was no significant difference between the *B. velezensis* FH-1 (F) group and the control group (CK). The rice growth-promoting effect of group F became increasingly obvious over time. On day 20 after inoculation, the plant height and dry weight of rice seedlings in group F were 6.02% and 12.52% higher than those in group CK, respectively ($P < 0.05$). During days 5–10 after inoculation, the colonization abundance of *B. velezensis* FH-1 in the 0–3 cm underground soil layer was 1.19%–2.64% higher than that in the 3–6 cm underground soil layer. During this period, *B. velezensis* FH-1 promoted rice growth by enriching *Kineosporiaceae* and *Chitinophagales* and promoting fumarate respiration in the 0–3 cm underground soil layer and enriching *Bacillaceae* and *Phycisphaerae* and enhancing nitrate ammonification in the 3–6 cm underground soil layer. During days 15–20 after inoculation, the colonization abundance of *B. velezensis* FH-1 in the 0–3 cm underground soil layer was 134%–139% higher than that in the 3–6 cm underground soil layer. During this period, *B. velezensis* FH-1 promoted rice growth by

enriching *Bacillus* and *Ilumatobacteraceae* and promoting xylanolysis in the 0–3 cm underground soil layer and enriching *Acidimicrobiia* and *Mycobacterium* and boosting respiration of sulfur compounds in the 3–6 cm underground soil layer. **[Conclusion]** In the soil ecosystem, *B. velezensis* FH-1 promotes the early growth of rice seedlings by regulating the structure and function of the microbial community in the soil on a spatial-temporal scale.

Keywords: plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR); *Bacillus velezensis*; soil microbial community; time; space; rice

化学肥料和农药在提高作物产量、保障粮食安全方面发挥了重要作用^[1-2]。然而随着化学肥料和农药的大量使用,不仅提产效果下降,还造成了大量的资源能源消耗(生产环节)、严重的生态环境污染(生产和应用环节)、潜在的食品安全隐患和人体健康威胁^[3-5]。

以植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)为核心的微生物肥料是一类以微生物生命活动及其产物使农作物得到特定肥料效应的微生物活体制品^[6-8]。通常认为微生物肥料通过固氮、解磷等促生机制促进作物养分吸收,可通过分泌吡啶乙酸、赤霉素等促进作物生长发育,可通过分泌抗生素、铁载体等防治作物病虫害,可通过分泌氨基环丙烷-1-羧酸盐脱氨酶等增强作物抗逆能力^[9-11]。然而最近的一些研究发现植物接种 PGPR 后会显著改变其根际微生物群落结构和功能,且与作物生长和产量密切相关^[12-13]。因此越来越多的人认为调控根际微生物组也是 PGPR 的促生机制之一。

中国是稻米的生产大国,约占世界稻米总产量的 30%,其产量在全球范围内居于领先地位^[14]。水稻微生物接种剂是为水稻提供营养和保护的生物制剂,已经引起了许多学者的关注,如 *Pseudomonas*、*Bacillus*、*Cyanobacteria*、*Azospirillum* 等是常用的微生物接种剂^[15-17]。其中, Bao 等^[18]和 Asiloglu 等^[19]在水稻中接种

Azospirillum sp. B510 不仅能够促进水稻生长还能显著影响水稻根部的 *Veillonellaceae*、*Rodospirillales* 等微生物的相对丰度;涂保华等^[20]在水稻盆栽中接种 *Photosynthetic bacteria* 和 *Bacillus* 能够显著提高水稻产量,富集土壤中的 *Acidobacteria*、*Actinobacteriota* 和 *Planctomycetes*。微生物肥料的特性使其可部分替代化学肥料和农药,促进农业绿色发展。目前,微生物肥料已经成为全球农业领域的一个热点,24 个国家的近 170 家企业将生物肥料商业化,并拥有一定规模微生物肥料的工厂^[21]。预计到 2025 年,微生物肥料的市场规模将达到 35 亿美元^[22-24]。尽管应用前景广阔,但由于受到多种因素的影响,微生物肥料在田间应用效果和稳定性还有待提高,严重阻碍了其在主流农业中的大规模应用^[25-28]。PGPR 接种到土壤后可能会与土壤养分,尤其是与土著微生物组互作。土著微生物组可能会影响 PGPR 的定殖和功能发挥,PGPR 也可能会影响土著微生物组的结构和功能。已有大量文献报道 PGPR 接种后会在土壤中定殖并影响土壤微生物组^[29-31]。也有大量文献报道土壤微生物组在植物生长、发育、健康、疾病等方面发挥重要作用^[32-36]。然而 PGPR 在时空尺度的定殖特性及对土壤微生物影响的研究尚不完善,此外,PGPR 影响微生物与作物生长间的关系仍不清晰。

本文拟以前期获得的一株可显著促进水稻

生长的贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 为研究对象^[37-38], 利用水稻盆栽试验研究其在复杂自然土壤系统中的时空定殖特性及对土壤微生物的影响, 并从微生物生态学角度解析贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 的促生机制, 以期为高效稳定微生物肥料的研发及农业绿色发展提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 水稻种子预处理

挑选颗粒完整饱满的水稻种子(内五优 8015)进行消毒。使用 3.7% (有效氯)次氯酸钠浸泡水稻种子 15 min 后, 倒掉次氯酸钠, 加入 75%乙醇浸泡种子消毒 5 min, 种子消毒期间使用玻璃棒进行搅拌。然后用无菌水清洗消毒后的水稻种子 6 次。最后 3 次洗涤水稻种子时每次浸泡 10 min。完成消毒的水稻种子平铺在底部铺有滤纸的玻璃培养皿中, 加入自来水淹没水稻种子, 用保鲜膜将容器密封, 放置于人工气候培养箱培养 2 d 露白。温度设置为昼夜 30 °C, 每隔 12 h 换水。

1.2 盆栽试验

土壤(有机质 3.48%; 全氮 1.29 g/kg; 速效氮 35.47 mg/kg; 全磷 0.38 g/kg; 速效磷 4.38 mg/kg; 全钾 5.70 g/kg; 速效钾 137.91 mg/kg; pH 6.43; 电导率 227 $\mu\text{S}/\text{cm}$)来源于天津市空港经济区。使用 5 mm 筛子去掉大颗粒土壤植物碎片后, 将土壤阴干并混合均匀。每个花盆(顶部直径为 8 cm, 底部直径 5.6 cm, 高度 7.5 cm)装入 240 g 土壤后, 播种 10 颗露白(自来水浸泡 48 h)的水稻种子, 表面覆盖薄土, 并从底部加入 100 mL 自来水。将盆栽放置于人工气候培养箱, 光照时间为 16 h, 黑暗时间为 8 h。在水稻萌发时期将培养温度设置为 30 °C。播种后第 4 天水稻长出第 1 片叶子时, 将温度改为白天 28 °C, 夜间 24 °C。水稻出现第 2 片叶子

时, 昼夜温度保持在 24 °C。水稻出现第 4 片叶子时, 昼夜温度保持在 22 °C。水稻播种后第 3 天浇水 30 mL, 之后每两天浇水 30 mL。

1.3 微生物接种

水稻生长第 3 天时, 将保存在-80 °C冰箱的贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 接种到 LB 培养基中, 30 °C、180 r/min 培养 48 h 后 4 °C、6 000 r/min 离心 8 min, 倒掉上清液, 使用 0.9% NaCl 溶液洗涤 3 次菌体后用自来水进行重悬。使用分光光度计将菌体重悬液的 OD_{600} 调至 1.0 (菌数约为 1×10^9 – 1×10^{10} CFU/mL)。

水稻生长第 5 天对盆栽进行间苗, 每盆保留 5 株水稻幼苗, 确保每盆水稻的长势基本一致, 以减少植株异质性造成的差异。设置 2 个处理组, 分别为贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 接种组(F 组)和空白对照组(CK 组)。F 组从上方加入 30 mL 菌悬液, CK 组加入相同体积的自来水, 每个处理设置 50 个重复。每天定向交换盆栽的位置(人工气候培养箱共 4 层, 交换时位置从上至下循环, 同一层的盆栽横向纵向都需要进行平移), 以减少空间异质性造成的差异。接种后水稻培养 25 d, 共培养 30 d。

1.4 样本收集

水稻接种微生物菌剂后, 每隔 5 天随机选取每个处理组的 10 个重复进行取样。将水稻植株和土壤从花盆完整倒出, 植株地上部分使用直尺测量高度后放入牛皮纸袋(每盆植株放入一袋), 55 °C 烘干至恒重后使用天平进行称重。取水稻根系上(地下 0–3 cm)下(地下 3–6 cm)两层土壤分别放入样品袋中-20 °C 冰箱保存。

1.5 微生物组分析

选取每个处理中株高前五的水稻根系土壤样品(包括地下 0–3 cm 和 3–6 cm 土壤样本)进行扩增子测序, 共计 50 个样本。使用引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3' 和 806R

(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对细菌 V3-V4 区进行扩增, PCR 反应体系(20 μ L): 5 \times FastPfu Buffer 4 μ L, dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μ L, 正、反向引物(5 μ mol/L)各 0.8 μ L, FastPfu DNA 聚合酶 0.4 μ L, 模板 DNA 1 μ L, ddH₂O 11 μ L。PCR反应条件: 95 $^{\circ}$ C 3 min; 95 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 共 27 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min; 4 $^{\circ}$ C 保存。样品经检测后在上海美吉生物医药科技有限公司完成测序。利用美吉生物云平台对测序结果进行数据处理, 包括对物种的丰富度和多样性的分析、物种的注释、PCoA 分析及功能预测; 将物种丰度表上

传到 Galaxy 网站(<http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy>)进行 LEfSe 分析, 设置 LDA>4, 分析不同处理间具有统计学差异的微生物类群。使用 R (4.2.2)对需要进行统计学检验的数据进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对不同时期水稻的影响

接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对不同时期水稻株高和干重的影响如图 1 所示。接种后第 0 天, CK 组和 F 组之间水稻植株干重和株高无显著差

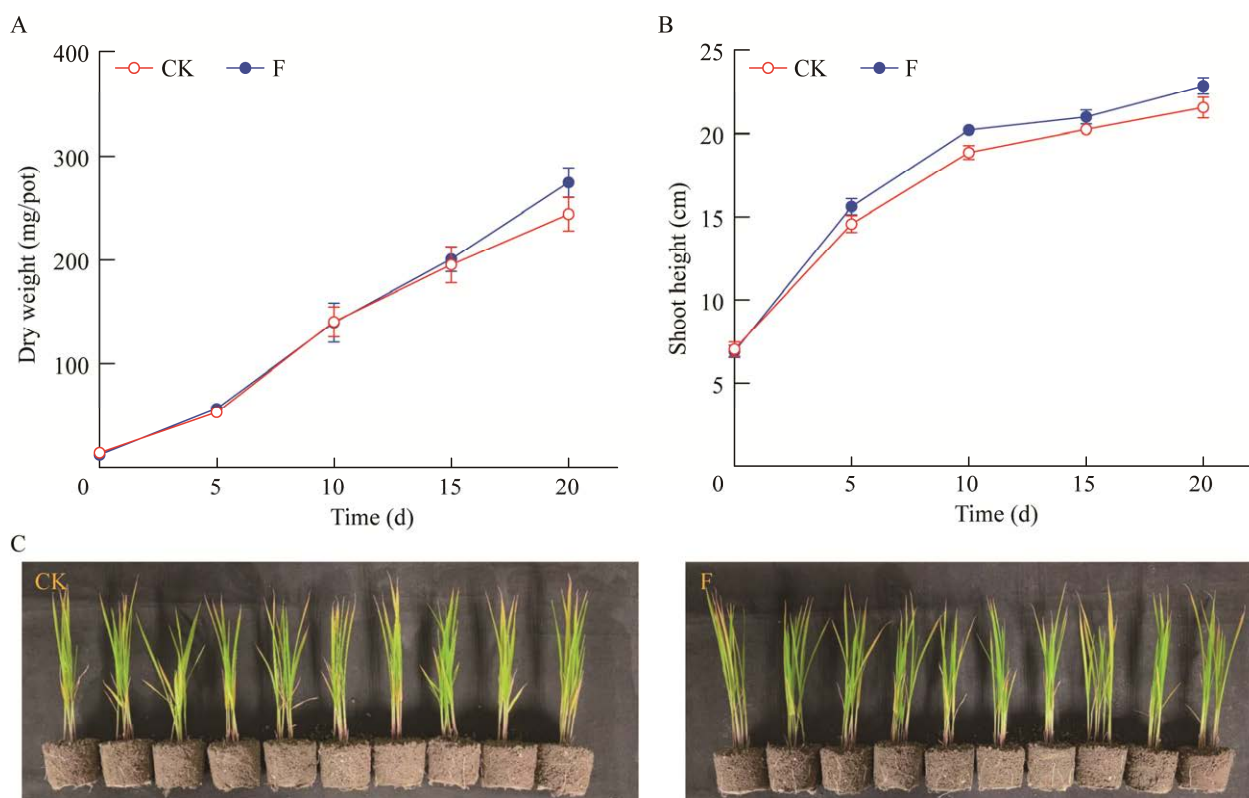


图 1 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对水稻的影响 A: 水稻干重. B: 水稻株高. C: 水稻接种后第 20 天长势. CK: 未接种 *B. velezensis* FH-1; F: 接种 *B. velezensis* FH-1. 下同

Figure 1 Effects of inoculation with *Bacillus velezensis* FH-1 on rice. A: Dry weight of rice. B: Plant height of rice. C: The growth status of rice on the day 20 after inoculation. CK: Non-inoculated with *B. velezensis* FH-1; F: Inoculation with *B. velezensis* FH-1. The same below.

异, 但 CK 组植株干重和株高都略高于 F 组。接种后第 5 和 15 天, F 组水稻的植株干重分别高于 CK 组 7.02% 和 2.85%, 但是无显著差异。接种后第 20 天, F 组较 CK 组植株干重增加 12.52%, 表现出显著的差异。接种后第 5–20 天, F 组的株高均显著高于 CK 组。F 组的株高较 CK 组分别提升 7.12%、7.15%、3.70% 和 6.02%。综上所述, 在自然土壤系统中接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对不同时期的水稻植株干重和株高均具有明显的提升作用, 尤其是接种后第 20 天, 水稻植株干重和株高均显著高于对照。

2.2 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对不同时空土壤细菌 α 多样性的影响

在地下 0–3 cm 土壤中, 除了接种后第 10 天, 其他时间 F 组的细菌 Chao1 指数和 Shannon 指数均明显高于 CK 组(图 2A、2B)。在地下 3–6 cm 土壤中, 接种后第 0、5、15 天 F 组的细菌 Chao1 指数高于 CK 组; 接种后第 0–15 天, F 组的细菌 Shannon 指数高于 CK 组(图 2A、2B)。在

CK 组和 F 组中, 细菌 Chao1 指数和 Shannon 指数在水稻的生长周期内均呈现波动状态, 地下 3–6 cm 土壤中的细菌 Chao1 指数和 Shannon 指数均高于地下 0–3 cm 土壤(表 1)。

2.3 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对不同时空土壤细菌 β 多样性的影响

使用主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA)和 bray-curtis 距离分析 5 个时间点地下 0–3 cm 和 3–6 cm 土壤细菌群落结构, 并使用置换多元方差分析(adonis)进行组间差异检验, 结果如图 3 所示, 不同处理(group)、空间(space)和时间(time)对细菌群落结构都有显著的影响。接种后第 0 天, 地下 0–3 cm 和地下 3–6 cm 土壤中 F 组和 CK 组的细菌群落均有显著差异。接种后第 5 天, 仅地下 0–3 cm 土壤中 F 组和 CK 组的细菌群落有显著差异(图 4)。接种后第 10 天和第 20 天, 仅地下 3–6 cm 土壤中 F 组和 CK 组的细菌群落有显著差异。这说明随着水稻的生长, 贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 主要影响地下 3–6 cm 土壤细菌的群落结构。

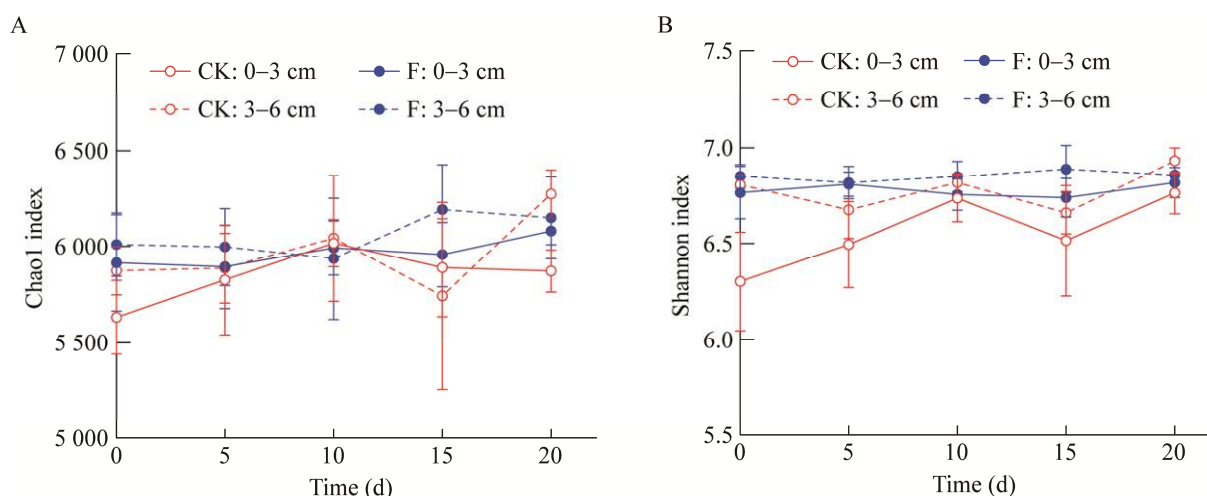


图 2 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对细菌 α 多样性的影响 A: Chao1 指数. B: Shannon 指数

Figure 2 Effects of inoculation with *Bacillus velezensis* FH-1 on bacterial α diversity. A: Chao1 index. B: Shannon index.

表 1 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对不同时空细菌 α 多样性的影响Table 1 Effects of inoculation with *Bacillus velezensis* FH-1 on α diversity of bacterial communities in different spatiotemporal level

Item	Time (d)	CK		F	
		0–3 cm	3–6 cm	0–3 cm	3–6 cm
Chao1 index	0	5 631.73±191.46Aa	5 873.03±124.53Aa	5 913.95±250.36Aa	6 009.90±165.57Aa
	5	5 825.78±284.90Aa	5 886.21±181.81Aa	5 893.97±216.10Aa	5 997.11±201.22Aa
	10	6 016.90±122.98Aa	6 042.79±327.92Aa	5 991.61±141.78Aa	5 936.73±316.49Aa
	15	5 889.75±255.74Aa	5 742.75±487.97Aa	5 956.93±167.68Aa	6 192.65±233.57Aa
	20	5 871.36±108.91Ab	6 273.75±124.46Aa	6 080.46±72.26Aab	6 149.13±214.38Aab
Shannon index	0	6.30±0.26Bb	6.81±0.05ABa	6.77±0.14Aa	6.85±0.06Aa
	5	6.49±0.22ABb	6.68±0.15Bab	6.81±0.06Aa	6.82±0.08Aa
	10	6.74±0.12ABa	6.82±0.05ABa	6.76±0.08Aa	6.85±0.08Aa
	15	6.51±0.29ABb	6.66±0.11Bab	6.74±0.10Aab	6.89±0.12Aa
	20	6.76±0.11Aa	6.93±0.07Aa	6.82±0.08Aa	6.86±0.09Aa

同一行的小写字母表示在相同时间点的不同处理组间的数据存在显著差异($P<0.05$); 同一列的大写字母表示在相同处理组的不同时间点的数据存在显著差异($P<0.05$)

The lowercase letters within the same row indicate significant differences in data between different treatment groups at the same time point ($P<0.05$); Uppercase letters within the same column indicate significant differences in data at different time points within the same treatment group ($P<0.05$).

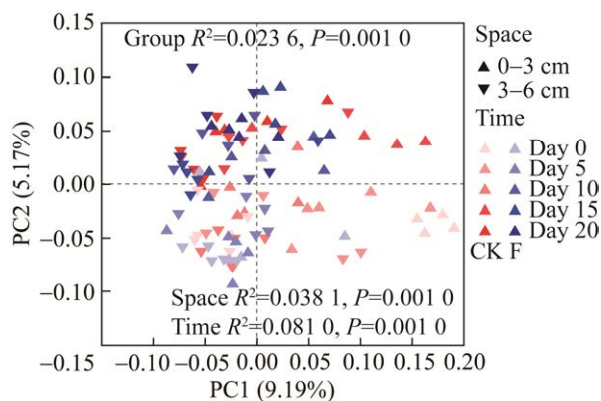
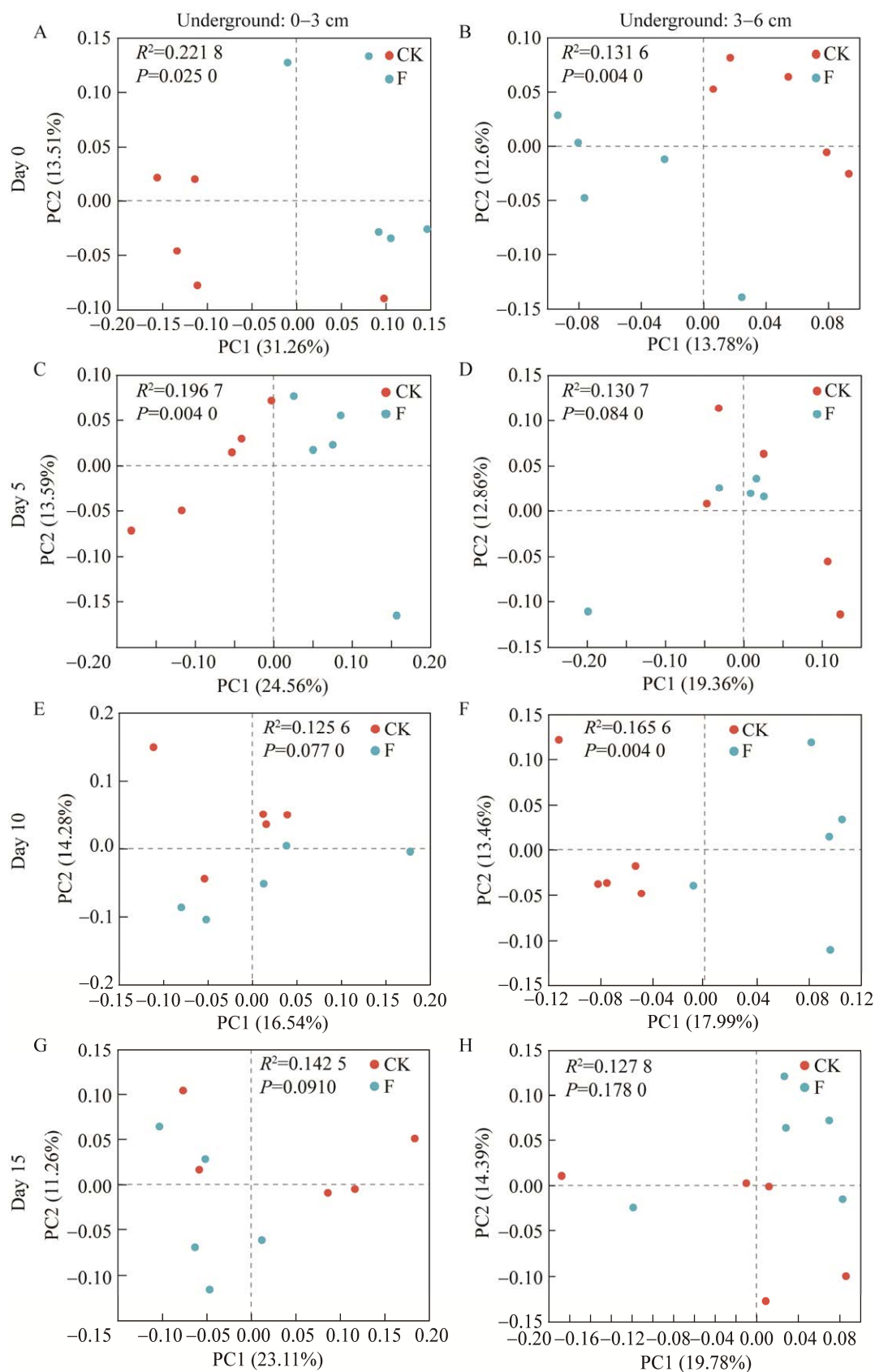


图 3 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对细菌 β 多样性的影响 R^2 表示分组方法对样品间差异的解释程度, R^2 越大, 表明分组方法对差异的解释程度越高; $P<0.05$ 表示分组之间存在显著差异

Figure 3 Effects of inoculation with *Bacillus velezensis* FH-1 on bacterial β diversity. R^2 indicates the degree of explanation of differences between samples by grouping methods, and a larger R^2 indicates a higher degree of explanation of differences by grouping methods; $P<0.05$ indicates a significant difference between groups.

2.4 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对不同时空细菌群落组成的影响

在水稻接种后的 0–20 d, 地下 0–3 cm 和 3–6 cm 土壤的细菌门组成相似, 优势菌门均是 *Actinobacteriota*、*Proteobacteria*、*Acidobacteria*、*Chloroflexi* 和 *Firmicutes*。地下 0–3 cm 土壤中, 接种后第 0 天, F 组 *Proteobacteria*、*Bacteroidota*、*Planctomycetota*、others 相对丰度显著增加, *Actinobacteriota* 相对丰度显著减少。接种后第 5 天, F 组 *Myxococcota*、*Gemmatimonadota* 相对丰度显著增加。接种后第 10 天, F 组 *Proteobacteria*、*Bacteroidota* 相对丰度显著增加。接种后第 15 天, F 组 *Proteobacteria* 相对丰度显著增加。接种后第 20 天, F 组 *Firmicutes* 相对丰度显著增加。地下 3–6 cm 土壤中, 接种后第 10 天, F 组 *Acidobacteria*、*Firmicutes* 相对丰度显著增加, *Actinobacteriota* 相对丰度显著减少(图 5)。



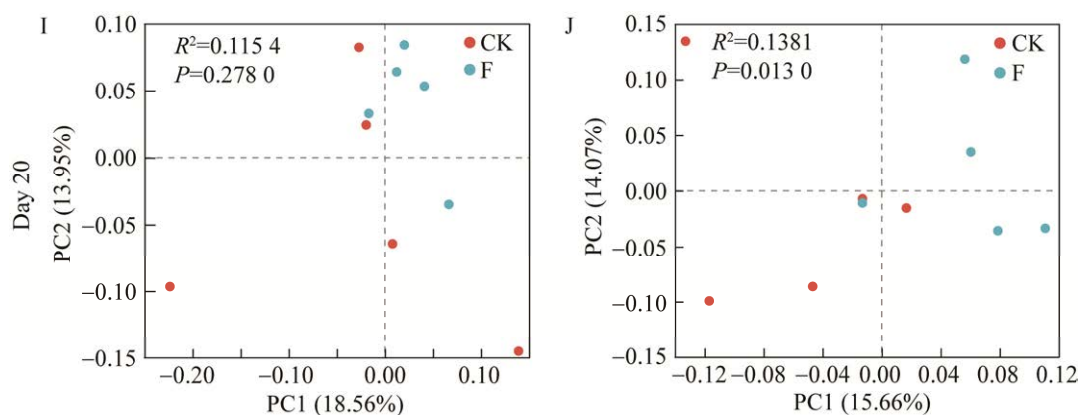


图 4 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 在不同时空对细菌 β 多样性的影响 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 第 0 天 (A、B)、第 5 天(C、D)、第 10 天(E、F)、第 15 天(G、H)和第 20 天(I、J), 对地下 0–3 cm (A、C、E、G、I)及地下 3–6 cm (B、D、F、H、J)土壤细菌群落的影响. R^2 表示分组方法对样品间差异的解释程度, R^2 越大, 表明分组方法对差异的解释程度越高; $P<0.05$ 表示分组之间存在显著差异

Figure 4 Effects of inoculation with *Bacillus velezensis* FH-1 on bacterial β diversity at different spatiotemporal levels. Effects of inoculation with *B. velezensis* FH-1 on soil bacterial communities in the 0–3 cm underground soil layer (A, C, E, G, and I) and the 3–6 cm underground soil layer (B, D, F, H, and J) on day 0 (A and B), 5 (C and D), 10 (E and F), 15 (G and H) and 20 (I and J). R^2 indicates the degree of explanation of differences between samples by grouping methods, and a larger R^2 indicates a higher degree of explanation of differences by grouping methods; $P<0.05$ indicates a significant difference between groups.

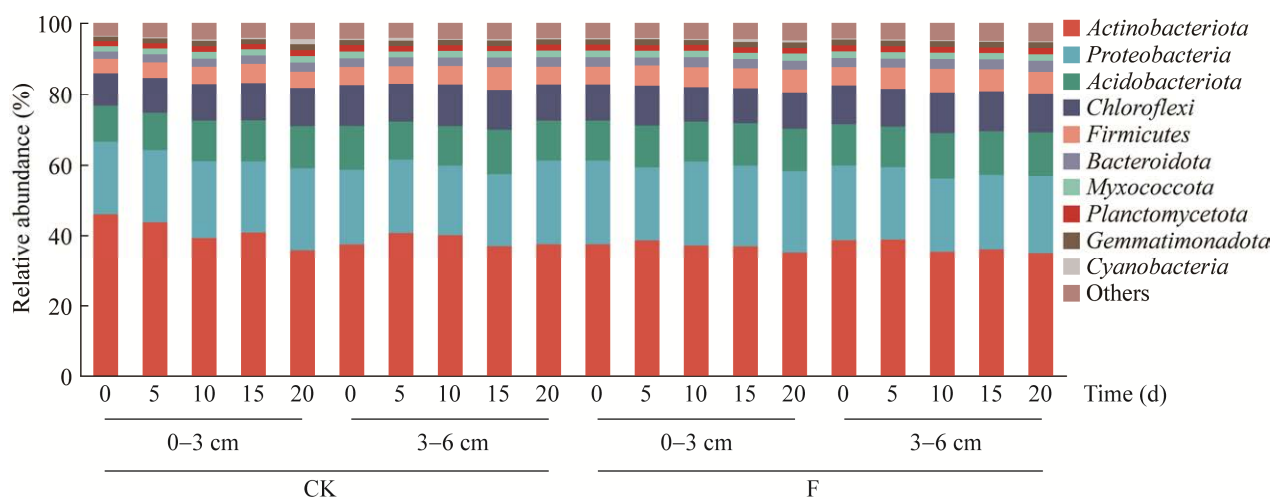


图 5 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对细菌组成(门水平)的影响

Figure 5 Effects of inoculation with *Bacillus velezensis* FH-1 on bacterial composition at the phylum level.

按照细菌种水平的物种丰度进行排序, 将物种丰度小于 0.01% 的物种合并为 others, 结果如图 6 所示。细菌优势种为 unclassified_g__*Arthrobacter*、uncultured_bacterium_g__

Intrasporangium、uncultured_bacterium_g__*Skermanella*、unclassified_g__uncultured_f__uncultured_o__*Vicinamibacterales* 等。接种后第 0 天, 在地下 0–3 cm 土壤中, F 组中 unclassified_g__

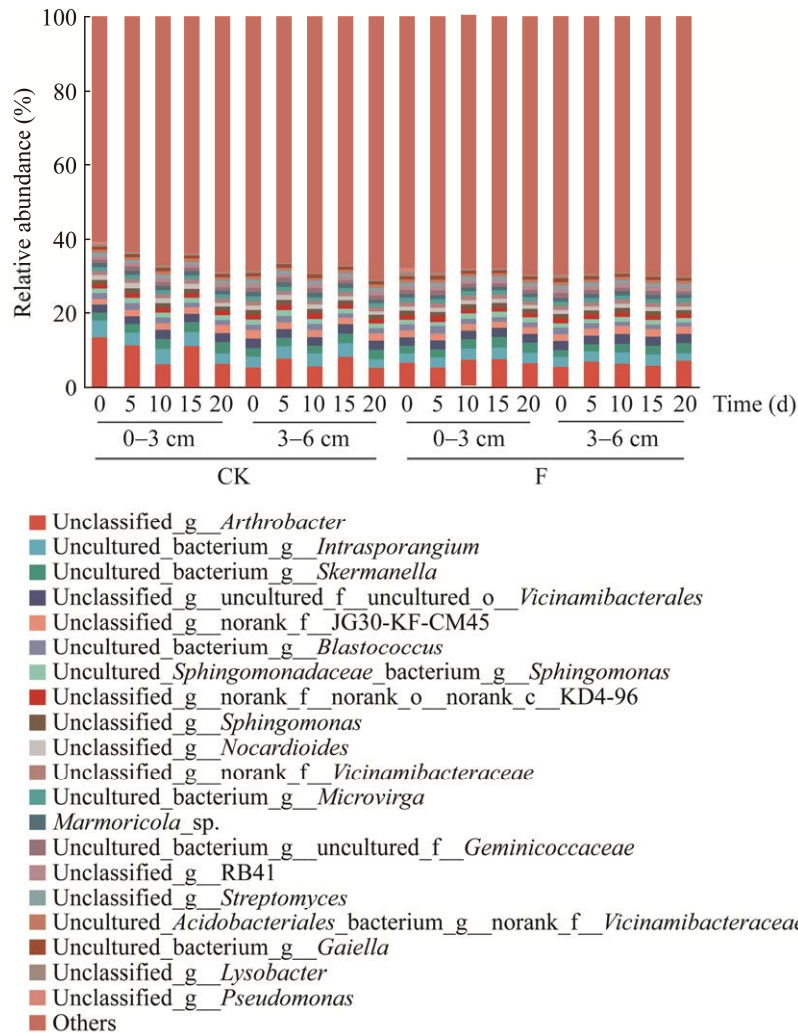


图 6 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对细菌组成(种水平)的影响

Figure 6 Effects of inoculation with *Bacillus velezensis* FH-1 on bacterial composition at the species level.

g_Arthrobacter、others 相对丰度显著增加，*uncultured_bacterium_g_Intrasporangium* 相对丰度显著减少；在地下 3–6 cm 土壤中，F 组 *uncultured_bacterium_g_Intrasporangium*、*uncultured_bacterium_g_Skermanella*、*unclassified_g_norank_f_JG30-KF-CM45* 相对丰度显著减少。接种后第 5 天，在地下 0–3 cm 土壤和地下 3–6 cm 土壤中，F 组 *uncultured_Sphingomonadaceae_bacterium_g_Sphingomonas* 相对丰度显著减少。接种后第 10 天，在地下 0–3 cm 土壤中，F 组

Marmoricola_sp.、*unclassified_g_Nocardioides* 相对丰度显著减少；在地下 3–6 cm 土壤中，F 组 *uncultured_bacterium_g_Blastococcus*、*uncultured_bacterium_g_uncultured_f_Geminicoccaceae* 相对丰度显著减少。接种后第 15、20 天，在地下 0–3 cm 和 3–6 cm 土壤中 F 组和 CK 组细菌种组成无显著差异。

从测序结果中筛选不同处理中贝莱斯芽孢杆菌的相对丰度，并进行统计分析。结果如图 7 和表 2 所示，在地下 0–3 cm 和 3–6 cm 土壤中，

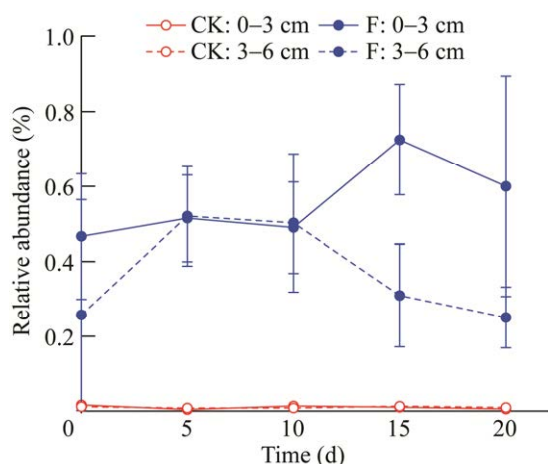


图7 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对不同时空土壤中贝莱斯芽孢杆菌相对丰度的影响

Figure 7 Effects of inoculation with *Bacillus velezensis* FH-1 on *Bacillus velezensis* relative abundance in different spatiotemporal soils.

F 组中贝莱斯芽孢杆菌的相对丰度均显著高于 CK 组。在 F 组中,前期(接种后 5–10 d)贝莱斯芽孢杆菌在地下 0–3 cm 土壤定殖丰度低于地下 3–6 cm 土壤 1.19%–2.64%,后期(接种后 15–20 d)贝莱斯芽孢杆菌在地下 0–3 cm 土壤定殖丰度高于地下 3–6 cm 土壤 134%–139%,F 组中贝莱斯芽孢杆菌的相对丰度在地下 0–3 cm 土壤中随时间上升,在地下 3–6 cm 土壤中随时间下降。这说明接种后贝莱斯芽孢杆菌在土壤中可高效定殖,且随着水稻生长在地下 0–3 cm 土壤定殖的量越来越多。

CK 组土壤中贝莱斯芽孢杆菌无显著差异。

通过 Galaxy 网站对 F 和 CK 处理组接种后第 0–20 天土壤的细菌类群进行 LEfSe 分析 (LDA>2.5),寻找 F 组和 CK 组在不同时空尺度的差异物种,结果如图 8 所示。

接种第 0 天,在地下 0–3 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 *Proteobacteria*、*Alphaproteobacteria*、*Bacilli* 等 71 个细菌类群,抑制了 *Actinobacteriota*、*Intrasporangiaceae* 等 11 个细菌类群(图 8A)。在接种第 0 天的地下 3–6 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 *Gammaproteobacteria*、*Microtrichales*、*Bacillus velezensis* 等 19 个细菌类群,抑制了 *Alphaproteobacteria*、*Chloroflexia*、*Thermomicrobiales* 等 28 个细菌类群(图 8B)。

接种第 5 天,在地下 0–3 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 *Firmicutes*、*Bacilli*、*Thermoleophilia* 等 71 个细菌类群,抑制了 *Micrococcales*、*Actinobacteriota*、*Micrococcaceae* 等 31 个细菌类群(图 8C)。在接种第 5 天的地下 3–6 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 *Gammaproteobacteria*、*Bacillaceae*、*Bacilli* 等 27 个细菌类群,抑制了 *Sphingomonas*、*Sphingomonadaceae*、*Sphingomonadales* 等 14 个细菌类群(图 8D)。

表2 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对不同时空土壤中贝莱斯芽孢杆菌相对丰度的影响

Table 2 Effects of inoculation with *Bacillus velezensis* FH-1 on the relative abundance of *Bacillus velezensis* in different spatiotemporal soils (%)

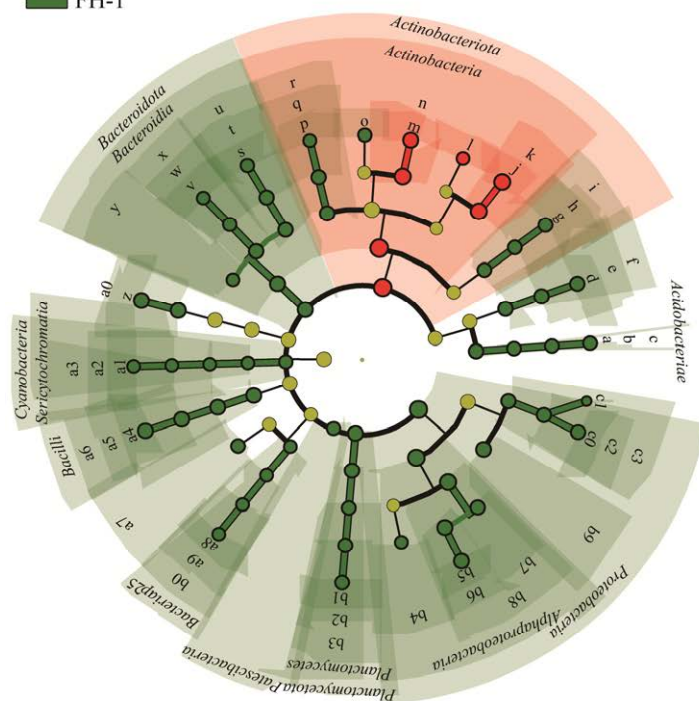
Time (d)	CK		F	
	0–3 cm	3–6 cm	0–3 cm	3–6 cm
0	0.016 8±0.01b	0.012 4±0.01b	0.466 7±0.17a	0.258 5±0.31ab
5	0.004 4±0.00b	0.008 8±0.00b	0.515 2±0.12a	0.521 4±0.13a
10	0.014 1±0.01b	0.008 8±0.01b	0.489 6±0.12a	0.502 9±0.18a
15	0.010 6±0.00c	0.013 2±0.01c	0.725 2±0.15a	0.309 7±0.14b
20	0.006 2±0.01b	0.009 7±0.01b	0.600 0±0.29a	0.250 6±0.08b

不同行的小写字母表示在不同处理组间存在显著差异 ($P<0.05$)

Lowercase letters in different rows indicate significant differences among different treatment groups ($P<0.05$).

A

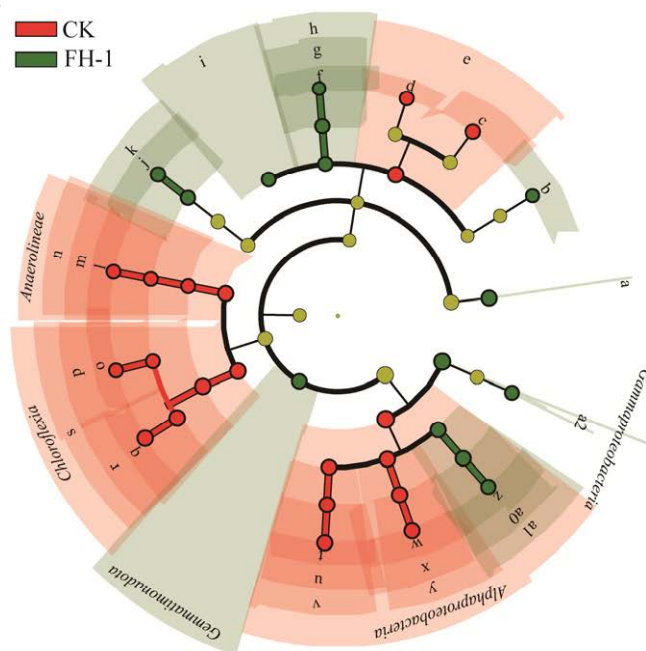
CK
FH-1



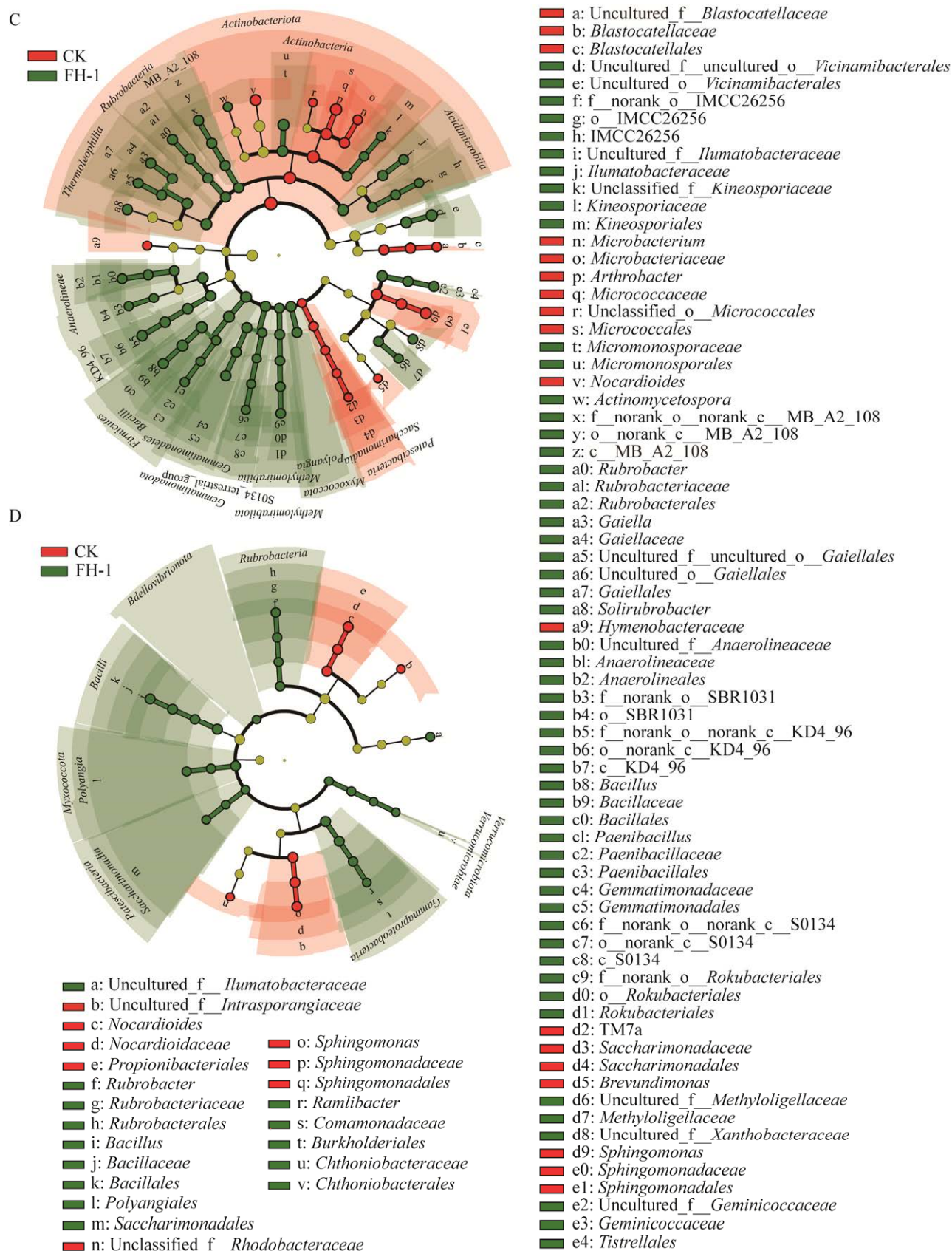
a: *Bryobacter*
b: *Bryobacteraceae*
c: *Bryobacteriales*
d: RB41
e: *Pyrinomonadaceae*
f: *Pyrinomonadales*
g: *Uncultured_f_Actinomarinales*
h: *Uncultured_o_Actinomarinales*
i: *Actinomarinales*
j: *Intrasporangium*
k: *Intrasporangiaceae*
l: *Kocuria*
m: *Nocardioideae*
n: *Nocardioideae*
o: *Micrococcus*
p: *Lechevalieria*
q: *Pseudonocardia*
r: *Pseudonocardiales*
s: *Flavisolibacter*
t: *Chitinophagaceae*
u: *Chitinophagales*
v: *Pontibacter*
w: *Hymenobacteraceae*
x: *Cytophagales*
y: *Sphingobacteriales*
z: f_G30_KF_CM45
a0: JG30KF_CM45
a1: f_norank_o_norank_c_Sericytochromatia
a2: o_norank_c_Sericytochromatia
a3: c_Sericytochromatia
a4: *Bacillus*
a5: *Bacillaceae*
a6: *Bacillales*
a7: *Polyangiales*
a8: f_norank_o_norank_c_bacteriap25
a9: o_norank_c_bacteriap25
b0: c_bacteriap25
b1: *Uncultured_f_Gemmataceae*
b2: *Gemmataceae*
b3: *Gemmatales*
b4: *Caulobacteraceae*
b5: *Microvirga*
b6: *Beijerinckia*
b7: *Xanthobacteraceae*
b8: *Rhizobiales*
b9: *Burkholderiales*
c0: *Lysobacter*
c1: *Thermomonas*
c2: *Xanthomonadaceae*
c3: *Xanthomonadales*

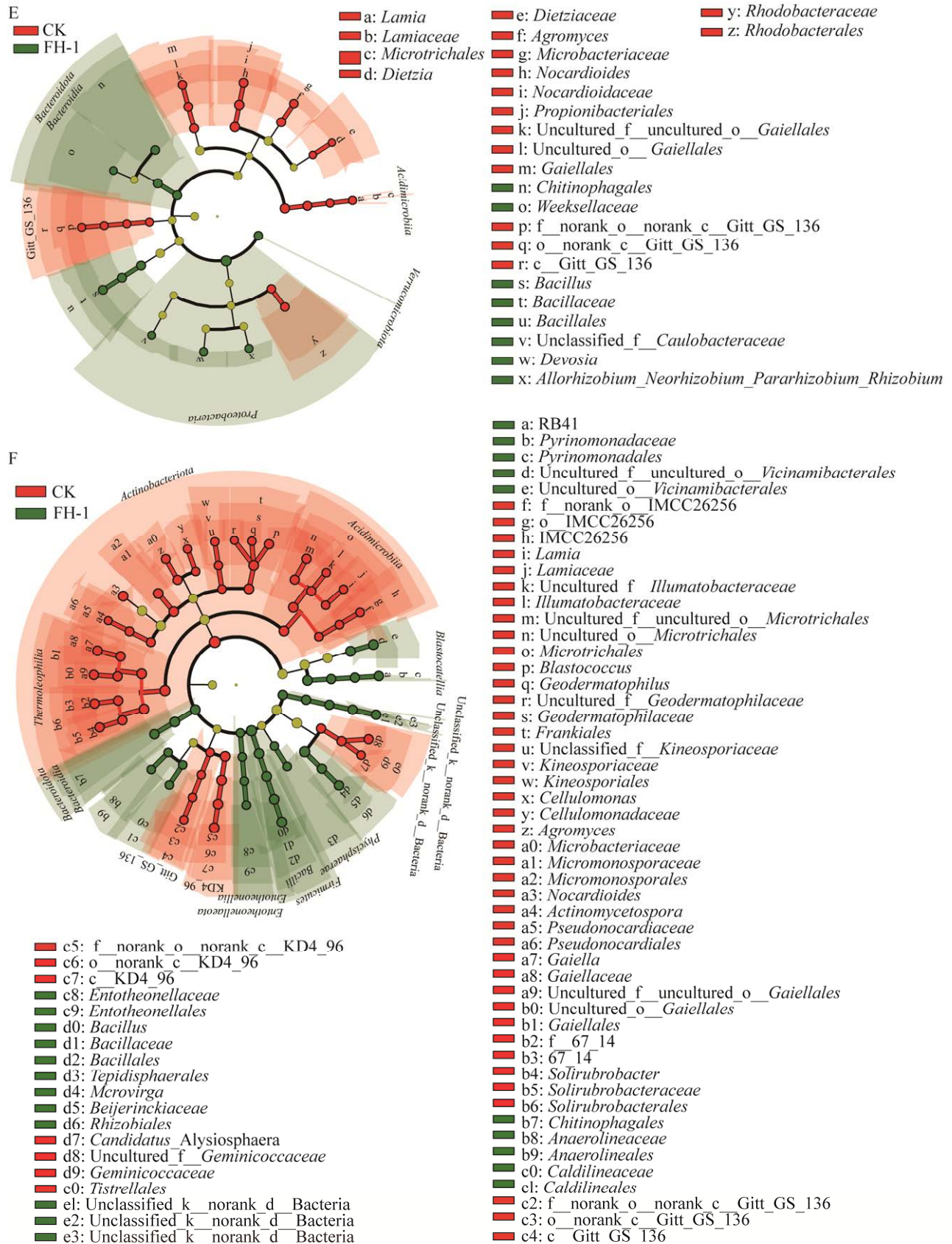
B

CK
FH-1



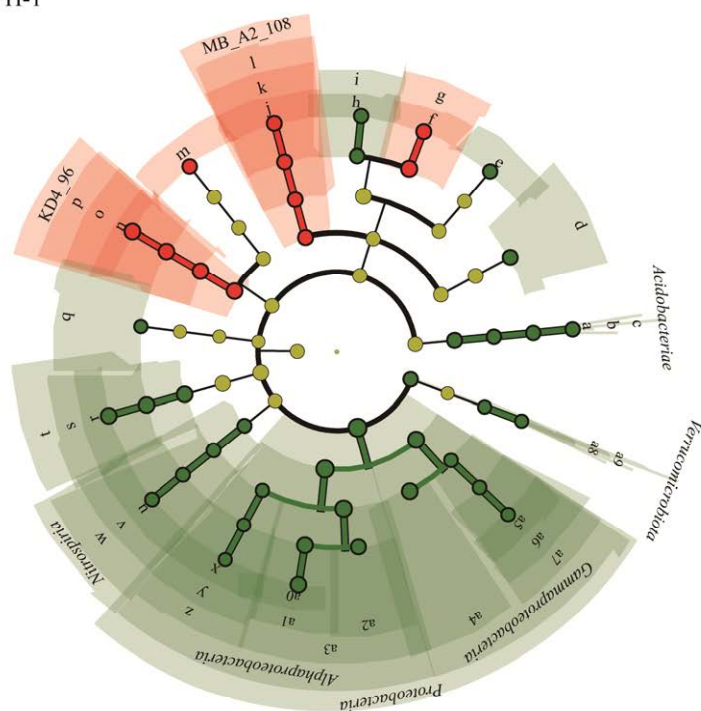
a: *Microtrichales*
b: *Uncultured_f_Micromonosporaceae*
c: *Marmoricola*
d: *Micrococcus*
e: *Propionibacteriales*
f: *Actinophytocola*
g: *Pseudonocardia*
h: *Pseudonocardiales*
i: *Streptosporangiales*
j: *Gaiella*
k: *Gaiellaceae*
l: *Uncultured_f_Caldilineaceae*
m: *Caldilineaceae*
n: *Caldilineales*
o: f_AKYG1722
p: AKYG1722
q: f_JG30_KF_CM45
r: JG30_KF_CM45
s: *Thermomicrobiales*
t: *Skermanella*
u: *Azospirillaceae*
v: *Azospirillales*
w: *Sphingomonas*
x: *Sphingomonadaceae*
y: *Sphingomonadales*
z: *Uncultured_f_Geminicoccaceae*
a0: *Geminicoccaceae*
a1: *Tistrellales*
a2: *Nitrosomonadaceae*





G

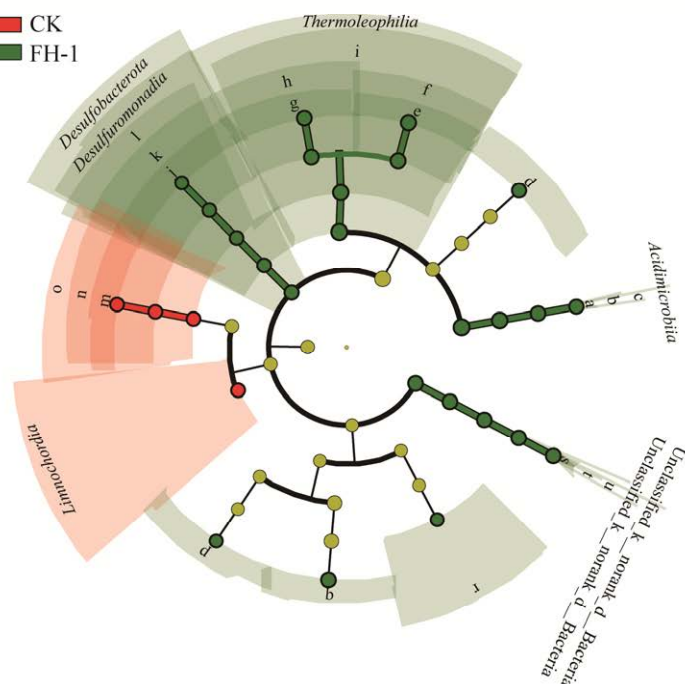
CK
FH-1



a: *Bryobacter*
b: *Bryobacteraceae*
c: *Bryobacteriales*
d: *Ilumatobacteraceae*
e: *Krasilnikovia*
f: *Marmoricola*
g: *Nocardioideaceae*
h: *Microtholatus*
i: *Propionibacteriaceae*
j: f_norank_o_norank_c_MB_A2_108
k: o_norank_c_MB_A2_108
l: c_MB_A2_108
m: Uncultured_f_Anaerolineaceae
n: f_norank_o_norank_c_KD4_96
o: o_norank_c_KD4_96
p: c_KD4_96
q: *Phoridiaceae*
r: *Bacillus*
s: *Bacillaceae*
t: *Bacillales*
u: *Nitrospira*
v: *Nitrospiraceae*
w: *Nitrospirales*
x: *Dongia*
y: *Dongiaceae*
z: *Dongiiales*
a0: *Microvirga*
a1: *Beijerinckiaceae*
a2: *Xanthobacteraceae*
a3: *Rhizobiales*
a4: *Burkholderiales*
a5: *Acidibacter*
a6: Unknown_Family
a7: *Gammaproteobacteria_Incertae_Sedis*
a8: *Pedospaeraceae*
a9: *Pedospaerales*

H

CK
FH-1



a: *Ilumatobacter*
b: *Ilumatobacteraceae*
c: *Microtrichales*
d: *Microtholatus*
e: f_67_14
f: 67_14
g: *Solirubrobacter*
h: *Solirubrobacteraceae*
i: *Solirubrobacteriales*
j: *Citrifermentans*
k: *Geobacteraceae*
l: *Geobacteriales*
m: *Tumebacillus*
n: *Alicyclobacillaceae*
o: *Alicyclobacillales*
p: *Azospirillum*
q: Uncultured_f_Geminococcaceae
r: *Rhodocyclaceae*
s: Unclassified_k_norank_d_Bacteria
t: Unclassified_k_norank_d_Bacteria
u: Unclassified_k_norank_d_Bacteria

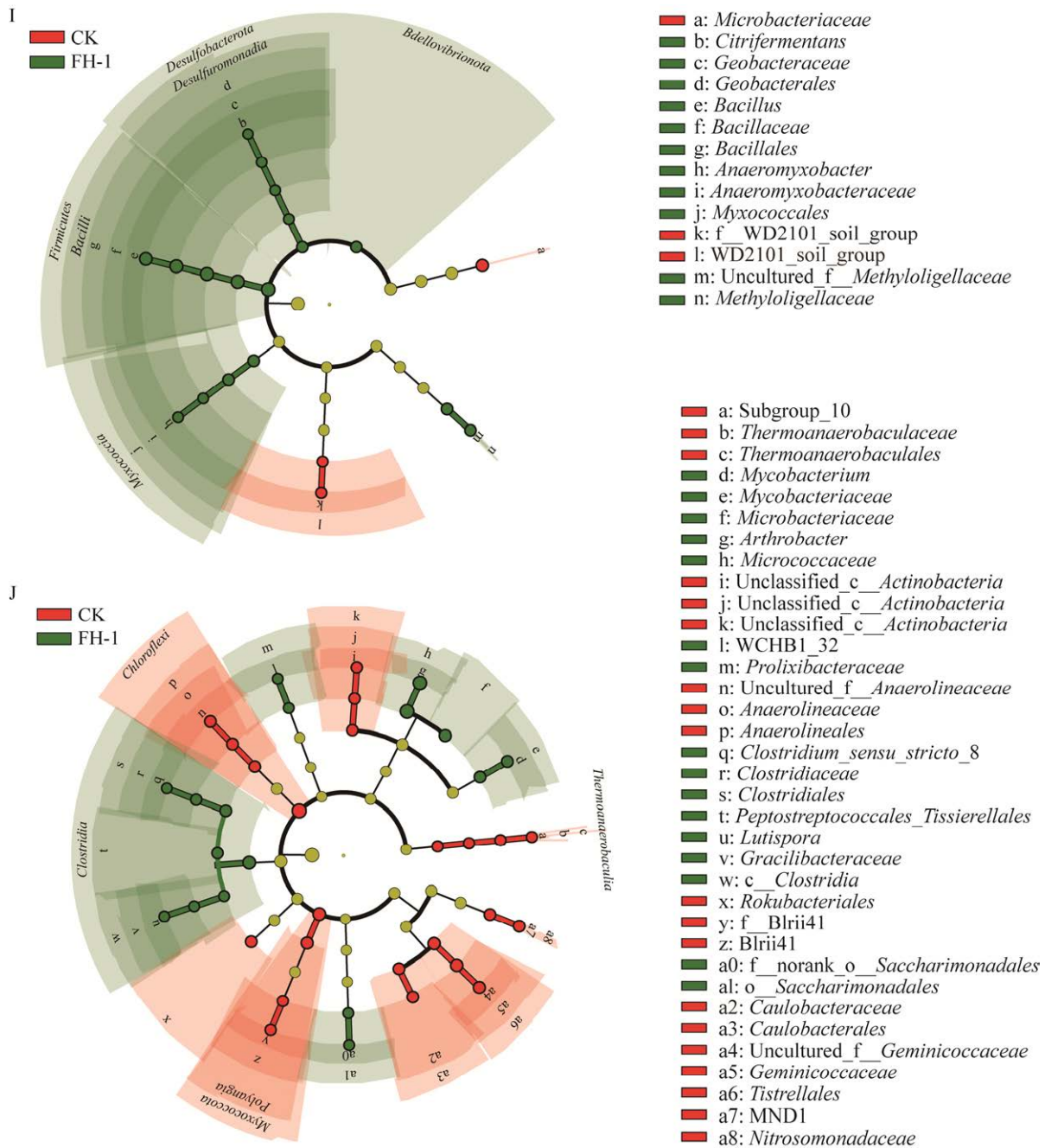


图 8 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对不同时空土壤细菌类群的影响(LDA value>2.5) 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 第 0 天(A、B)、第 5 天(C、D)、第 10 天(E、F)、第 15 天(G、H)和第 20 天(I、J), 地下 0–3 cm (A、C、E、G、I)及地下 3–6 cm (B、D、F、H、J)土壤细菌群落与对照组的差异。

Figure 8 Effects of inoculation with *Bacillus velezensis* FH-1 on bacterial communities in different spatiotemporal soil (LDA value>2.5). Differences on soil bacterial communities in the 0–3 cm underground soil layer (A, C, E, G, and I) and the 3–6 cm underground soil layer (B, D, F, H, and J) on days 0 (A and B), 5 (C and D), 10 (E and F), 15 (G and H) and 20 (I and J) of inoculation with *B. velezensis* FH-1, compared to the control group.

接种第 10 天,在地下 0–3 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 *Proteobacteria*、*Bacillus velezensis*、*Bacteroidota* 等 17 个细菌类群,抑制了 *Propionibacteriales*、*Nocardiodaceae*、*Gaiellales* 等 26 个细菌类群(图 8E)。在接种第 10 天的地下 3–6 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 *Firmicutes*、*Bacilli*、*Bacillales* 等 42 个细菌类群,抑制了 *Actinobacteriota*、*Thermoleophilia*、*Solirubrobacterales* 等 75 个细菌类群(图 8F)。

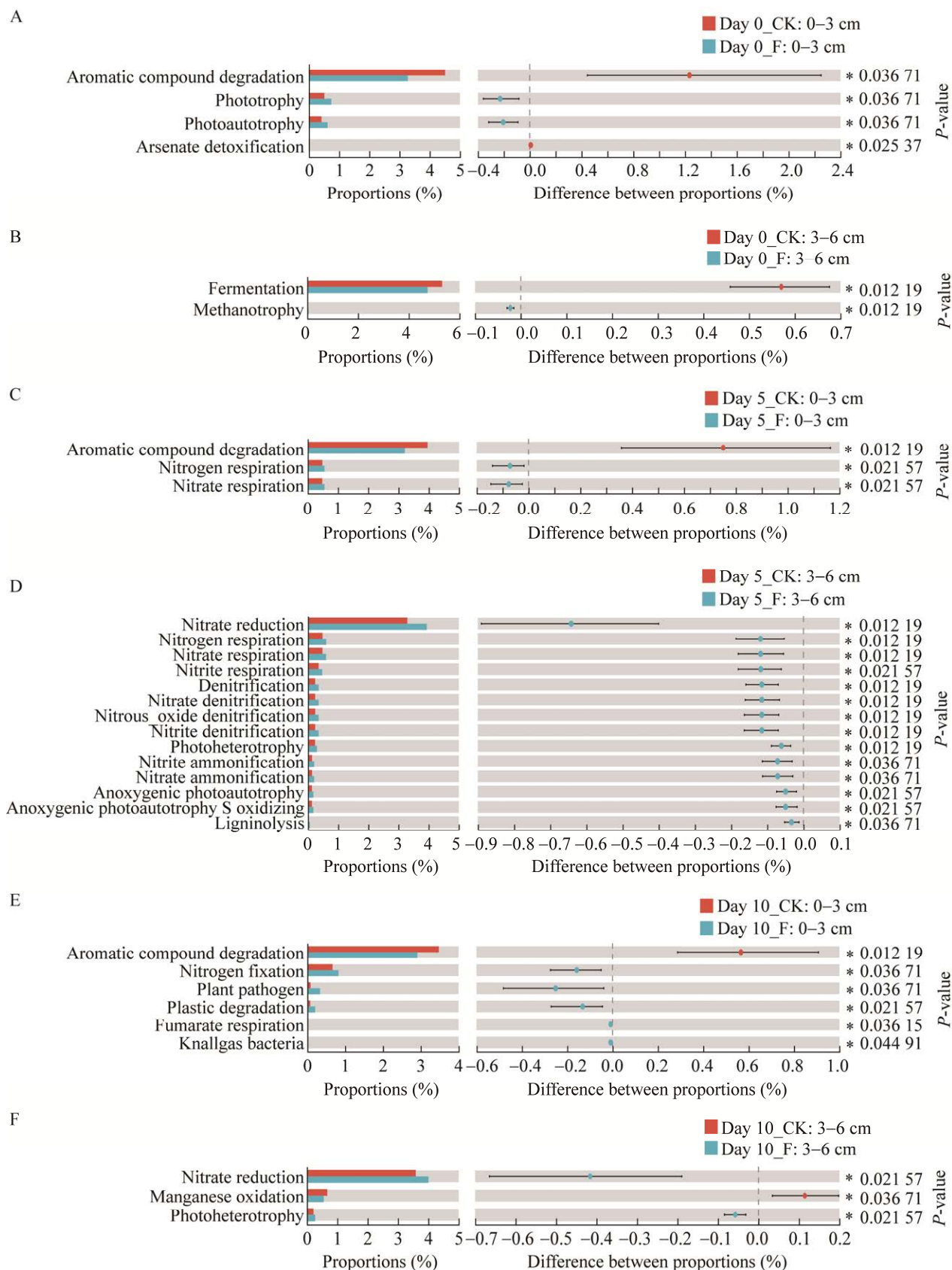
接种第 15 天,在地下 0–3 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 *Proteobacteria*、*Alphaproteobacteria*、*Gammaproteobacteria* 等 38 个细菌类群,抑制了 *Nocardiodaceae*、*Marmoricola*、*Marmoricola* sp.等 15 个细菌类群(图 8G)。在接种第 15 天的地下 3–6 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 *Thermoleophilia*、*Acidimicrobiia*、*Solirubrobacterales* 等 30 个细菌类群,抑制了 *Alicyclobacillaceae*、*Alicyclobacillales*、*Tumebacillus* 等 6 个细菌类群(图 8H)。

接种第 20 天,在地下 0–3 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 *Firmicutes*、*Bacilli*、*Bacillales* 等 20 个细菌类群,抑制了 *uncultured_bacterium_g_Skermanella*、*Microbacteriaceae*、*uncultured_bacterium_g_Pseudonocardia* 等 6 个细菌类群(图 8I)。在接种第 20 天的地下 3–6 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 *Micrococcaceae*、*Arthrobacter*、*unclassified_g_Arthrobacter* 等 22 个细菌类群,抑制了 *Chloroflexi*、*Geminicoccaceae*、*Tistrellales* 等 29 个细菌类群(图 8J)。

2.5 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对细菌群落功能的影响

不同处理组之间细菌功能预测(FAPROTAX)的差异分析结果如图 9 所示。在接种第 0 天的

地下 0–3 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 phototrophy 和 photoautotrophy,抑制了 aromatic compound degradation、arsenate detoxification (图 9A)。在接种第 0 天的地下 3–6 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 methanotrophy,抑制了 fermentation (图 9B)。在接种后第 5 天的地下 0–3 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 nitrogen respiration、nitrate respiration,抑制了 aromatic compound degradation (图 9C)。在接种第 5 天的地下 3–6 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 nitrate reduction、nitrogen respiration、nitrate respiration、nitrite respiration、denitrification、nitrate denitrification、nitrous oxide denitrification、nitrite denitrification、photoheterotrophy、nitrite ammonification、nitrate ammonification、anoxygenic photoautotrophy、anoxygenic photoautotrophy S oxidizing、ligninolysis (图 9D)。在接种后第 10 天的地下 0–3 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 nitrogen fixation、plant pathogen、plastic degradation、fumarate respiration、knallgas bacteria,抑制了 aromatic compound degradation (图 9E)。在接种第 10 天的地下 3–6 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 nitrate reduction、photoheterotrophy,抑制了 manganese oxidation (图 9F)。在接种后第 15 天的地下 0–3 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组抑制了 nitrate reduction、aromatic compound degradation (图 9G)。在接种第 15 天的地下 3–6 cm 土壤中,与 CK 组相比, F 组富集了 respiration of sulfur compounds (图 9H)。在接种后第 20 天的地下 0–3 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组富集了 xylanolysis,抑制了 arsenite oxidation energy yielding、dissimilatory arsenite oxidation (图 9I)。在接种第 20 天的地下 3–6 cm 土壤中,与 CK 相比, F 组抑制了 dark hydrogen oxidation (图 9J)。



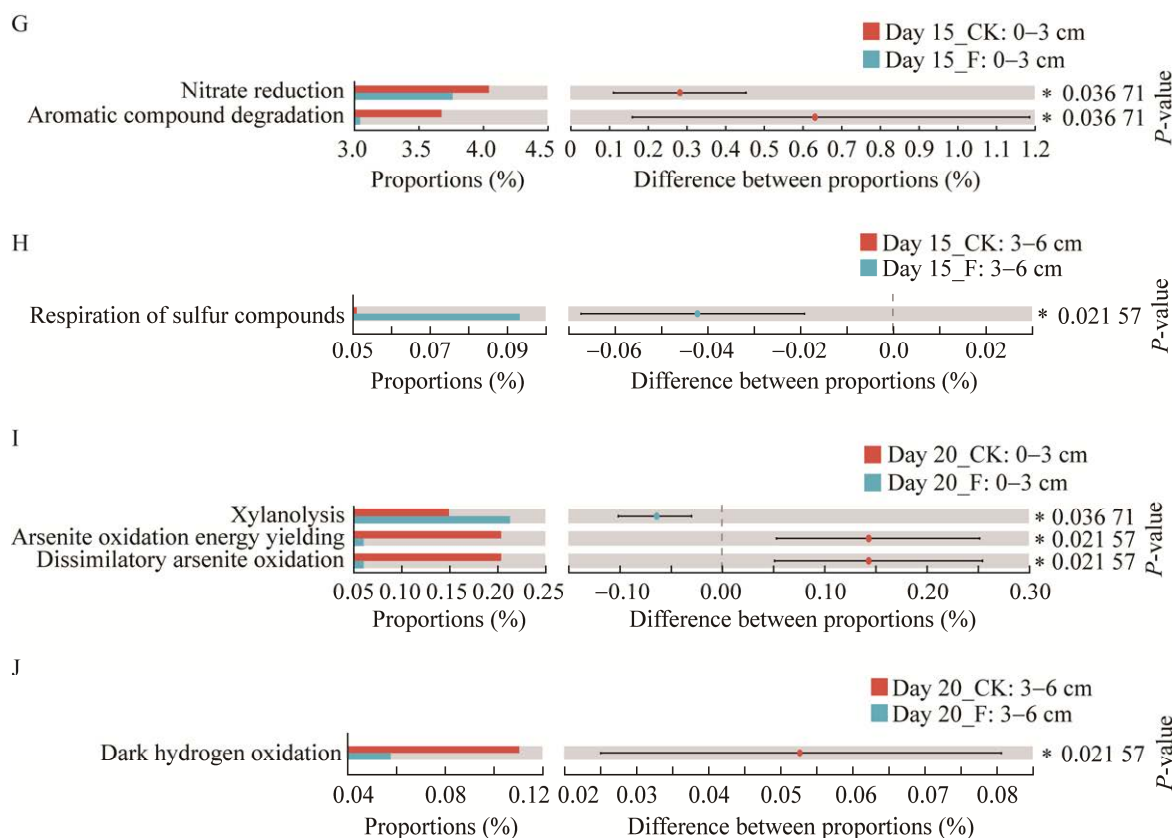


图 9 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对细菌群落功能的影响

Figure 9 Effects of inoculation with *Bacillus velezensis* FH-1 on bacterial community function. *: $P < 0.05$.

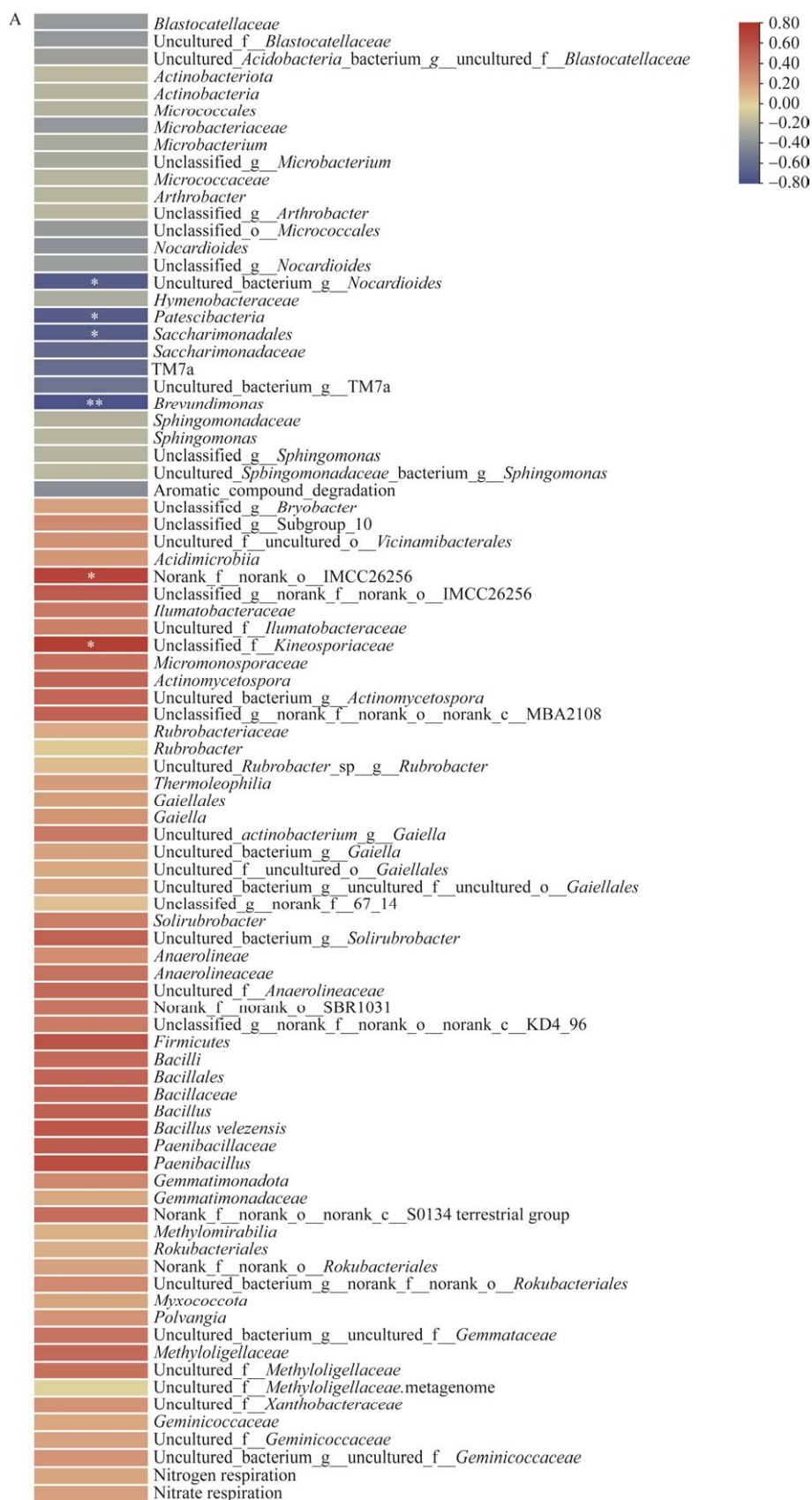
2.6 水稻与细菌物种和功能的相关性

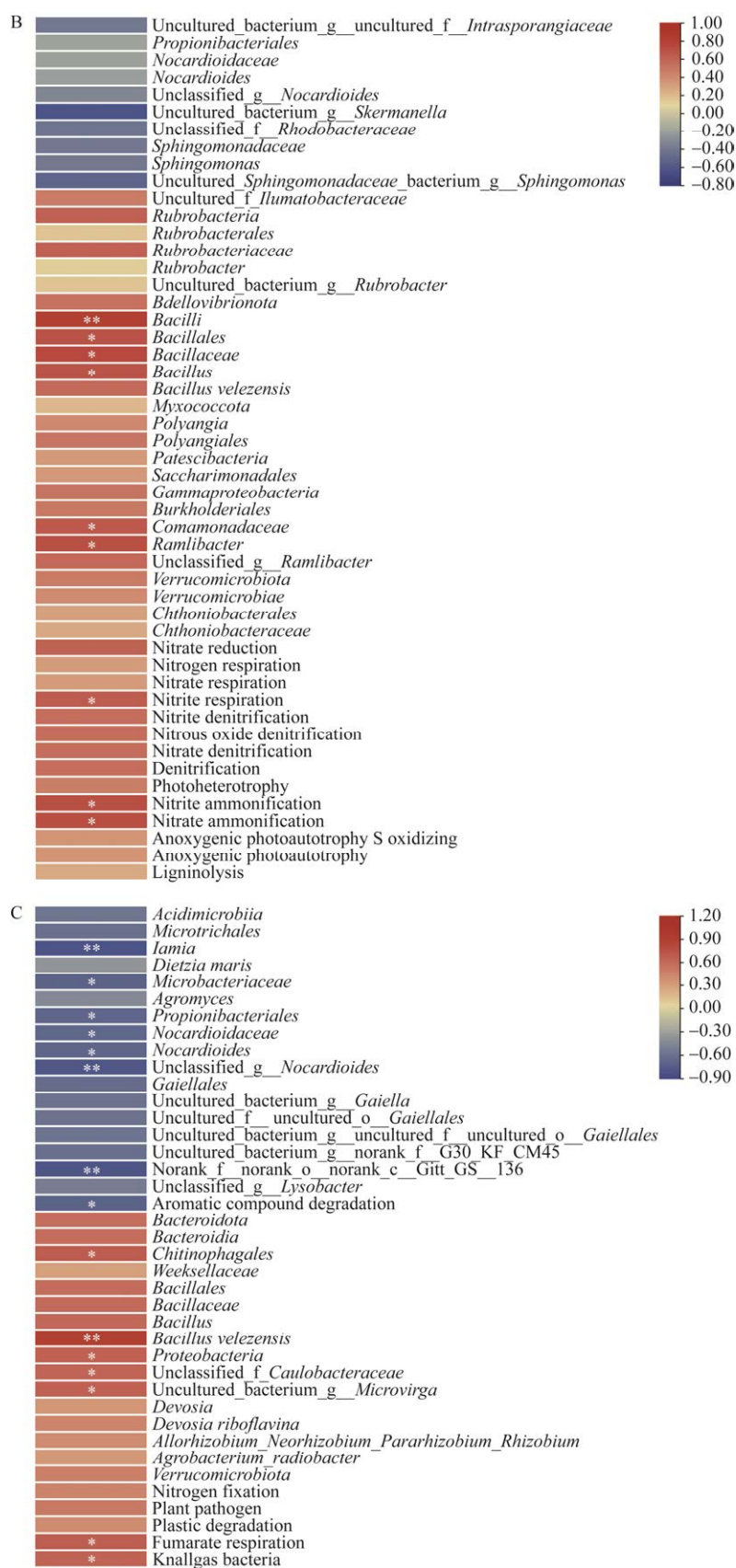
将水稻株高与差异物种和功能进行斯皮尔曼相关性分析, 结果如图 10 所示, F 组富集的物种及功能都与水稻的株高表现出正相关, F 组抑制的物种及功能都与水稻的株高表现出负相关。

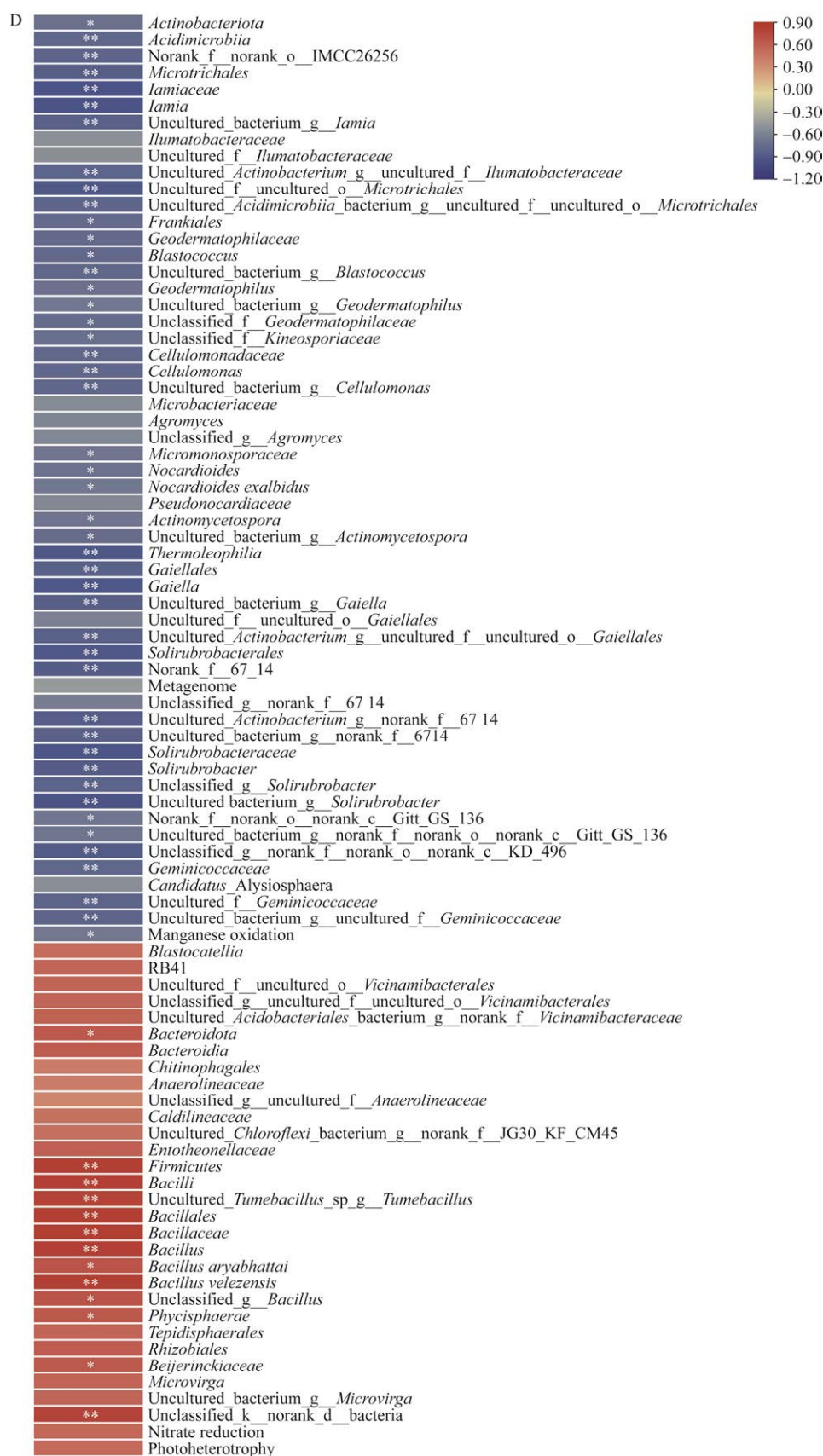
接种后第 5 天的地下 0–3 cm 土壤中, F 组富集的 *norank_f_norank_o_IMCC26256*、*unclassified_f_Kineosporiaceae* 等物种与水稻株高呈显著正相关, F 组抑制的 *uncultured_bacterium_g_Nocardioides*、*Patescibacteria*、*Saccharimonadales* 等物种与水稻株高呈显著的负相关(图 10A)。地下 3–6 cm 土壤中, F 组富集的 *Bacilli*、*Bacillales*、*Bacillaceae* 等物种, 及 *nitrite respiration*、*nitrite ammonification*、

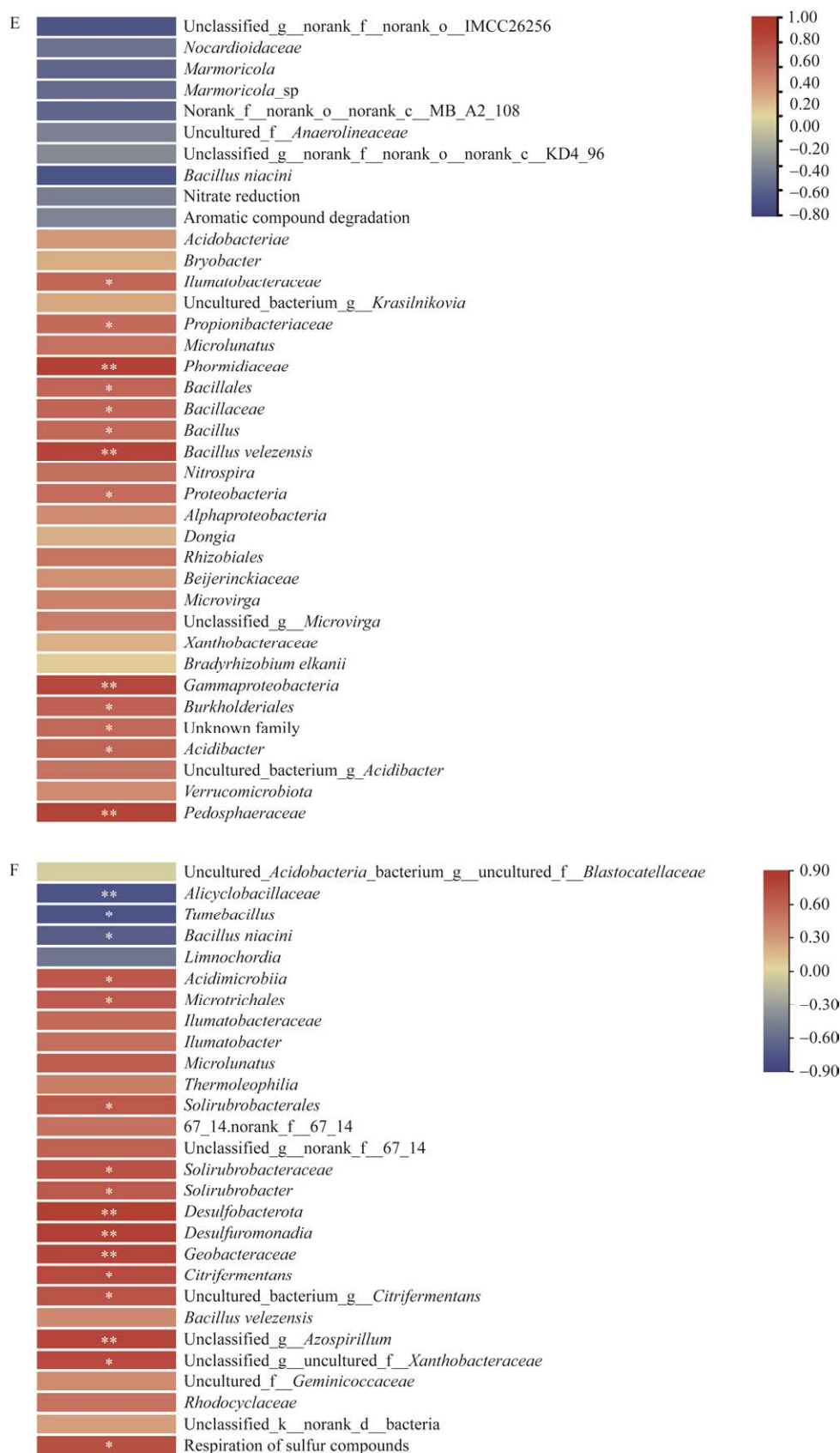
nitrate ammonification 等功能与水稻株高呈显著正相关(图 10B)。

接种后第 10 天的地下 0–3 cm 土壤中, F 组富集的 *Chitinophagales*、*B. velezensis*、*Proteobacteria* 等物种及 *fumarate respiration*、*knallgas bacteria* 等功能与水稻株高呈显著的正相关。F 组抑制的 *Iamia*、*Microbacteriaceae*、*Propionibacteriales* 等物种及 *aromatic compound degradation* 功能与水稻株高呈显著负相关(图 10C)。地下 3–6 cm 土壤中, F 组富集的 *Bacteroidota*、*Fimicutes*、*Bacilli* 等物种与水稻株高呈显著正相关, F 组抑制的 *Actinobacteriota*、*Acidimicrobiia*、*norank_f_norank_o_IMCC26256* 等物种与水稻株高呈显著负相关(图 10D)。









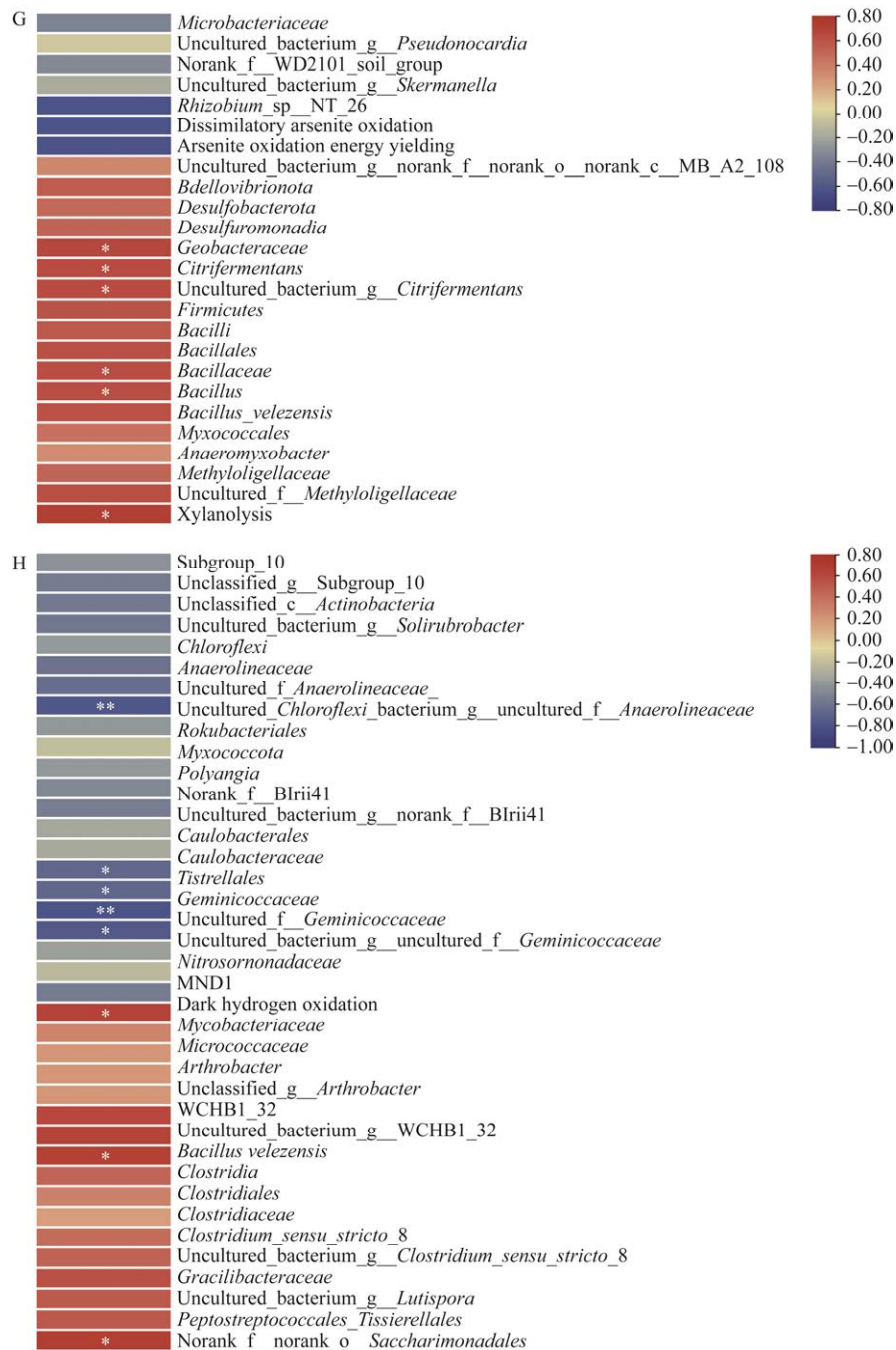


图 10 水稻和差异物种及功能的相关性热图 接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 第 5 天(A、B)、第 10 天(C、D)、第 15 天(E、F)和第 20 天(G、H)水稻株高与地下 0–3 cm (A、C、E、G)及地下 3–6 cm (B、D、F、H)土壤差异物种及功能的相关性

Figure 10 Heat map of correlation between rice and differential species and functions. Correlation of rice plant height with soil differential species and functions in the 0–3 cm underground soil layer (A, C, E, and G) and the 3–6 cm underground soil layer (B, D, F, and H) on day 5 (A and B), 10 (C and D), 15 (E and F), and 20 (G and H) of inoculation with *B. velezensis* FH-1.

接种后第 15 天的地下 0–3 cm 土壤中, F 组富集的 *Ilumatobacteraceae*、*Propionibacteriaceae*、*Phormidiaceae* 等物种与水稻株高呈显著正相关(图 10E)。地下 3–6 cm 土壤中, F 组富集的 *Acidimicrobiia*、*Microtrichales*、*Solirubrobacterales* 物种与 respiration of sulfur compounds 功能与水稻株高呈显著正相关, F 组抑制的物种 *Alicyclobacillaceae*、*Tumebacillus*、*Bacillus niacini* 与水稻株高呈显著负相关(图 10F)。

接种后第 20 天的地下 0–3 cm 土壤中, 与 CK 组相比, F 组富集的 *Geobacteraceae*、*Citrifermentans*、uncultured_bacterium_g_Citrifermentans 等物种和 xylanolysis 功能与水稻株高呈显著正相关(图 10G)。地下 3–6 cm 土壤中, 与 CK 组相比, F 组富集的物种 *Mycobacterium*、norank_f_norank_o_Saccharimonadales、*B. velezensis* 与水稻株高呈显著正相关。F 组抑制的 *Geminicoccaceae*、uncultured_Chloroflexi_bacterium_g_uncultured_f_Anaerolineaceae、*Tistrellales* 等物种与水稻株高呈显著负相关(图 10H)。

3 讨论与结论

3.1 随着水稻生长贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 在上层土壤中的定殖能力增强

在时间尺度上, 随着植物生长, 对接种 PGPR 在土壤中动态变化的研究较多。与豆科植物共生的根瘤菌接种后, 在根际的数量均有上升现象^[39]。接种的 *Azospirillum brasilense* 随着在小麦和土豆中生长, 数量也无明显下降^[40]。然而接种在小麦、玉米根际的假单胞菌 (*Pseudomonas* spp.) 均有显著下降现象^[41–43]。

PGPR 在土壤空间垂直尺度上的分布少有报道, 只有 Kemp 等^[44]和 Troxler 等^[45]分别研究了假单胞菌在土壤空间垂直尺度上的分布特征。Kemp 等^[44]发现接种后, *P. fluorescens* 在地

下 0–2 cm 土壤的数量为 10^6 CFU/g, 在地下 4–7 cm 土壤中的数量降到 10^5 CFU/g。Troxler 等^[45]研究发现 *Pseudomonas* spp. CHA0-Rif 在草地上施用 72 d 后, 数量随土壤深度增加明显下降, 表层土壤(0–10 cm)中的假单胞菌的数量为 10^5 – 10^6 CFU/g, 在深层土壤(180–200 cm)中数量急剧下降到 10^2 – 10^3 CFU/g^[45]。

本研究首次报道了贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 在时空尺度的定殖变化。发现接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 后, 前期(接种后 5–10 d)贝莱斯芽孢杆菌在地下 0–3 cm 定殖丰度低于地下 3–6 cm 土壤 1.19%–2.64%, 后期(接种后 15–20 d)贝莱斯芽孢杆菌在地下 0–3 cm 定殖丰度高于地下 3–6 cm 土壤 134%–139%, 且丰度在地下 0–3 cm 土壤中随时间的延长而增大, 在地下 3–6 cm 土壤中随时间的延长而下降。根系微生物的群落结构组成与植物的发育阶段密切相关, 此外也会受如温度、湿度等非生物因素的影响^[46–47]。这些因素就可能导致 PGPR 定殖的动态变化。

3.2 随着水稻生长贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 对上层土壤微生物的影响减弱

很多研究发现接种 PGPR 会影响土壤微生物群落的结构和功能^[31,48–50]。然而在时间尺度上, Chen 等^[51]发现接种 *Bacillus* sp. PGP5 和 *Arthrobacter* sp. PGP41 后, 在植物发育阶段的后期各处理组的根际微生物群落变化趋于一致, 同时各处理组群落差异随接种时间的增加而减小。Ferrarezi 等^[52]发现玉米在接种 *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9、*Burkholderia ambifaria* RZ2MS16 和 *Azospirillum brasilense* Ab-V5 的 60 d 后, 土壤微生物群落组成和细菌总生物量没有差异。Kong 等^[49]发现在接种 PGPR 第 1 天细菌群落结构存在显著差异, 在接种过程中趋于相似, 在第 100 天后各处理组的最终群落结构无显著差异。接种 PGPR 在空

间尺度上影响土壤微生物群落的报道较少。本研究首次从时空尺度研究了 PGPR 接种对土壤微生物的影响,发现随着水稻生长,接种处理(F)和对照组(CK)在地下 0–3 cm 中土壤微生物群落结构的差距逐渐减小,而地下 3–6 cm 土壤中的距离群落结构差异变化较小(图 4)。

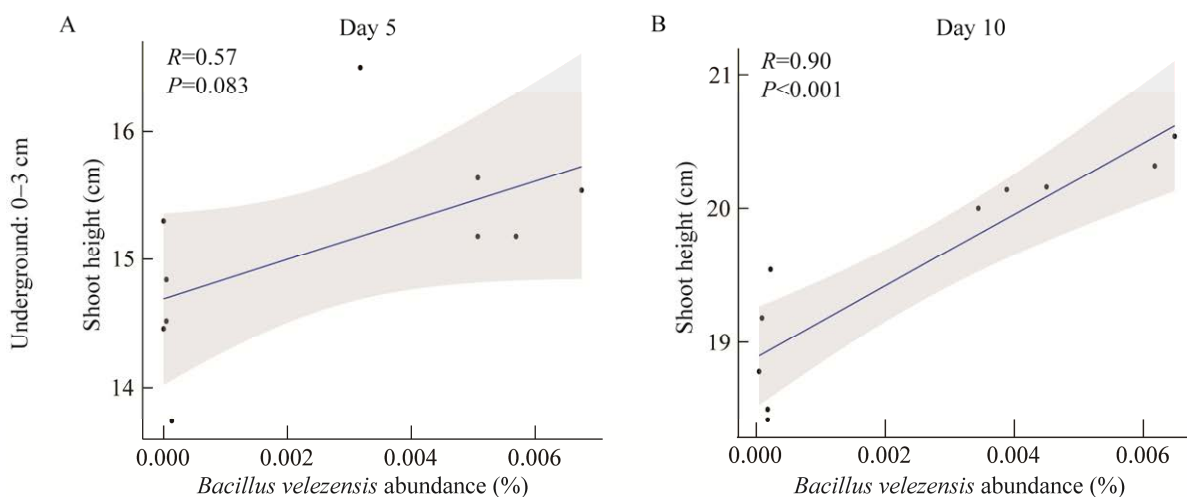
3.3 贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 的促生能力与其在土壤中的定殖能力密切相关

成功的微生物接种剂通常需要在不同的环境中侵入并持续存在于土著微生物和当地非生物条件的背景下,并与宿主建立相容的相互作用^[53]。因此,PGPR 在植物的根际定殖是实现微生物功能的一个重要能力^[54]。一些研究认为 PGPR 只有在根际这个特殊的空间范围内,长期保持 10^8 CFU/g 土壤以上的数量,才能实现其促生功能^[55–56]。本研究发现在水稻接种贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 后,贝莱斯芽孢杆菌在土壤中的相对丰度与水稻株高均表现出正相关。接种后,在地下 0–3 cm 土壤的第 10 天和第 15 天,以及地下 3–6 cm 土壤的第 10 天和第 20 天,土壤中贝莱斯芽孢杆菌的相对丰度与水稻株高显著正相关(图 11)。

3.4 贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 通过调控特定时空的土壤微生物组促进水稻生长

PGPR 的促生机制已有很多报道,主要是促

进作物养分吸收、促进根系生长发育、防治作物病虫害、增强作物抗逆能力等^[9–11]。近期一些研究发现 PGPR 接种后会富集一些有益菌,并且富集的有益菌也与作物生长正相关。例如,He 等^[57]在龙葵中接种 *Acinetobacter pittii* 和 *Escherichia coli*,通过富集 *Betaproteobacteria*、*Acidobacteria_Gp6* 和 *Sphingobacteria* 等具促生功能的优势土壤微生物群落促进作物的生长。Wang 等^[37]发现 *Bacillus* sp. 通过富集 *Pseudomonas*、*Ascomycota*、*oriliomycetes* 等物种调控根际微生物群落,改变土壤微生物的种间相互作用促进黄瓜的生长。李晴晴等^[58]发现在水稻接种 *Bacillus* sp. 可显著富集 *Chloroflexi*、*Gammaproteobacteria* 等物种促进水稻的生长。He 等^[50]在作物中接种 *Escherichia coli* 10527 促进作物生长,不仅依赖于细菌的有效定殖更是依赖于对根际微生物组的重塑加强微生物组的协同作用。因此,越来越多的人提出调控土壤微生物组可能是 PGPR 促生的新机制^[13,59–60]。本研究发现贝莱斯芽孢杆菌 FH-1 接种后在不同土壤时空位点通过富集不同的物种和功能促进水稻植株生长(图 10)。以上结果加深了我们对 PGPR 促进植物生长在时空尺度上的认识,对可持续农业绿色发展具有重要的意义。



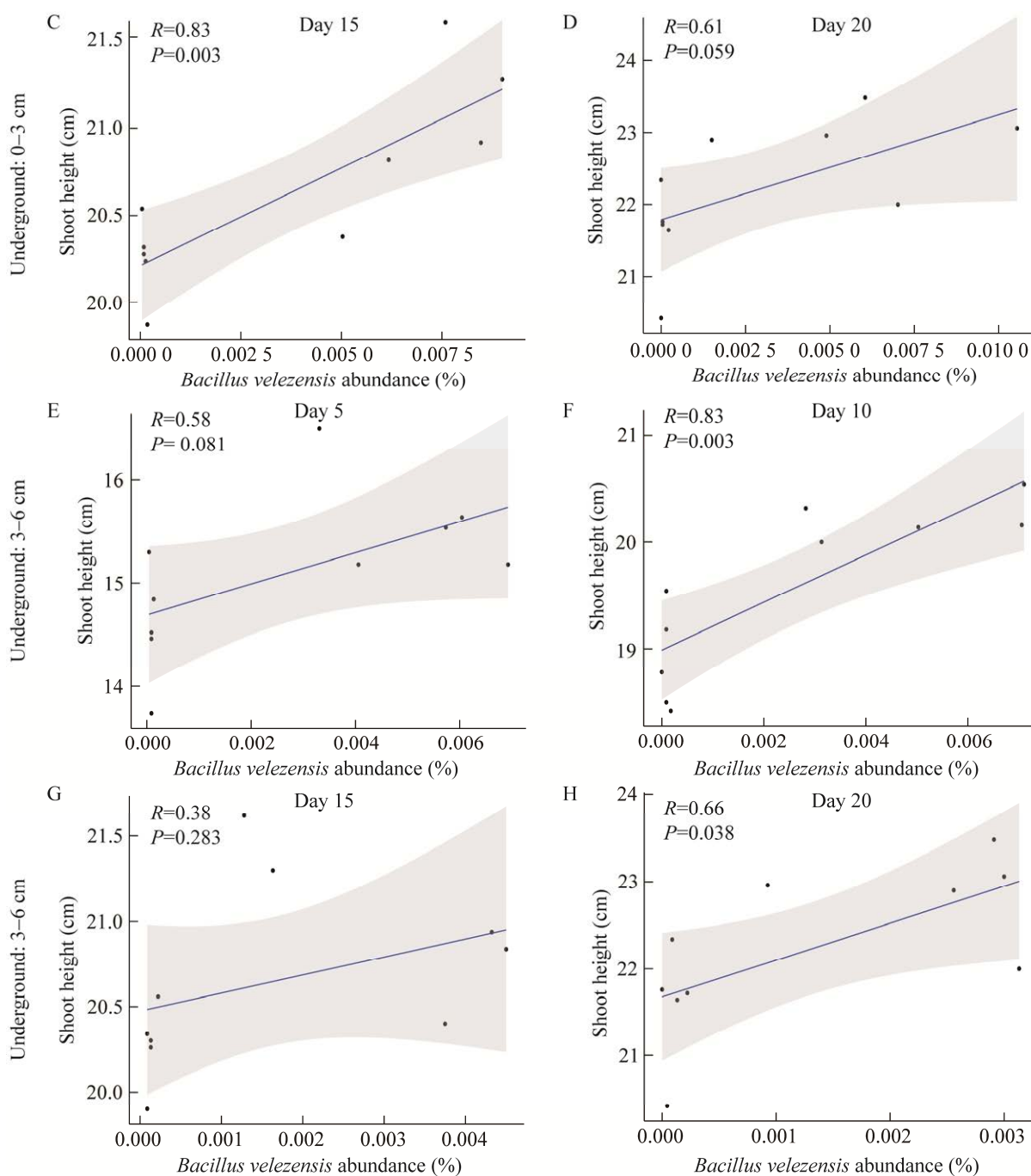


图 11 水稻株高和贝莱斯芽孢杆菌相对丰度的相关性分析

Figure 11 Correlation analysis between rice plant height and relative abundance of *Bacillus velezensis*.

REFERENCES

- [1] 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).

- [2] SINGH BK, TRIVEDI P, EGIDI E, MACDONALD CA, DELGADO-BAQUERIZO M. Crop microbiome and sustainable agriculture[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18(11): 601-602.
- [3] TIAN ML, ZHENG YY, SUN XL, ZHENG HC. A research on promoting chemical fertiliser reduction for sustainable agriculture purposes: evolutionary game analyses involving 'government, farmers, and consumers'[J]. *Ecological Indicators*, 2022, 144: 109433.
- [4] PAHALVI HN, RAFIYA L, RASHID S, NISAR B, KAMILI AN. Chemical fertilizers and their impact on soil health[M]//*Microbiota and Biofertilizers*, Vol 2. Cham: Springer International Publishing, 2021: 1-20.
- [5] BAWEJA P, KUMAR S, KUMAR G. Fertilizers and pesticides: their impact on soil health and environment[M]//*Soil Biology*. Cham: Springer International Publishing, 2020: 265-285.
- [6] CABALLERO-MELLADO J, ONOFRE-LEMUS J, SANTOS PED L, MARTÍNEZ-AGUILAR L. The tomato rhizosphere, an environment rich in nitrogen-fixing *Burkholderia* species with capabilities of interest for agriculture and bioremediation[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5308-5319.
- [7] CALVO P, NELSON L, KLOPPER JW. Agricultural uses of plant biostimulants[J]. *Plant and Soil*, 2014, 383(1): 3-41.
- [8] 王素英, 陶光灿, 谢光辉, 沈德龙, 李俊, 路宝庆. 我国微生物肥料的应用研究进展[J]. *中国农业大学学报*, 2003, 8(1): 14-18.
WANG SY, TAO GC, XIE GH, SHEN DL, LI J, LU BQ. A review of effects of biofertilizers on crop yield and quality[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2003, 8(1): 14-18 (in Chinese).
- [9] SAMMAURIA R, KUMAWAT S, KUMAWAT P, SINGH J, JATWA TK. Microbial inoculants: potential tool for sustainability of agricultural production systems[J]. *Archives of Microbiology*, 2020, 202(4): 677-693.
- [10] BACKER R, ROKEM JS, ILANGUMARAN G, LAMONT J, PRASLICKOVA D, RICCI E, SUBRAMANIAN S, SMITH DL. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1473.
- [11] SINGH M, SINGH D, GUPTA A, DEO PANDEY K, SINGH PK, KUMAR A. Plant growth promoting rhizobacteria[M]//*PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture*. Amsterdam: Elsevier, 2019: 41-66.
- [12] SUN XL, XU ZH, XIE JY, HESSELBERG-THOMSEN V, TAN TM, ZHENG DY, STRUBE ML, DRAGOŠ A, SHEN QR, ZHANG RF, KOVÁCS ÁT. *Bacillus velezensis* stimulates resident rhizosphere *Pseudomonas stutzeri* for plant health through metabolic interactions[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16(3): 774-787.
- [13] KANG YJ, SHEN M, WANG HL, ZHAO QX. A possible mechanism of action of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) strain *Bacillus pumilus* WP8 via regulation of soil bacterial community structure[J]. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 2013, 59(4): 267-277.
- [14] PU JY, LI ZY, TANG HQ, ZHOU GP, WEI CH, DONG WB, JIN ZJ, HE TG. Response of soil microbial communities and rice yield to nitrogen reduction with green manure application in Karst paddy areas[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 13: 1070876.
- [15] LAVAKUSH, YADAV J, VERMA J P, JAISWAL DK, KUMAR A. Evaluation of PGPR and different concentration of phosphorus level on plant growth, yield and nutrient content of rice (*Oryza sativa*)[J]. *Ecological Engineering*, 2014, 62: 123-128.
- [16] WEINAND T, EL-HASAN A, ASCH F. Role of *Bacillus* spp. plant growth promoting properties in mitigating biotic and abiotic stresses in lowland rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Microorganisms*, 2023, 11(9): 2327.
- [17] 宋维民, 王丽艳, 郭永霞, 孙强, 吕艳东, 荆瑞勇, 王海泽. 秸秆还田条件下固氮蓝藻复合菌剂与促生细菌 SM13 对水稻产量及稻米品质的影响[J]. *南方农业学报*, 2021, 52(3): 762-768.
SONG WM, WANG LY, GUO YX, SUN Q, LYU YD, JING RY, WANG HZ. Effects of nitrogen-fixing cyanobacteria complex microbial inoculant and growth-promoting bacteria SM13 on yield and quality of rice with straw turnover[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, 52(3): 762-768 (in Chinese).
- [18] BAO ZH, SASAKI K, OKUBO T, IKEDA S, ANDA M, HANZAWA E, KAKIZAKI K, SATO T, MITSUI H, MINAMISAWA K. Impact of *Azospirillum* sp. B510 inoculation on rice-associated bacterial communities in a paddy field[J]. *Microbes and Environments*, 2013, 28(4): 487-490.
- [19] ASILOGLU R, SHIROISHI K, SUZUKI K, TURGAY OC, MURASE J, HARADA N. Protist-enhanced survival of a plant growth promoting rhizobacteria, *Azospirillum* sp. B510, and the growth of rice (*Oryza sativa* L.) plants[J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 154: 103599.
- [20] 涂保华, 符菁, 赵远, 赵利华, 肖娴, 张晟, 卫国华, 吉昕华. 基于光合菌剂的复合微生物菌肥对土壤速效养分含量及微生物群落结构多样性的影响[J]. *西南农业学报*, 2019, 32(12): 2878-2884.
TU BH, FU J, ZHAO Y, ZHAO LH, XIAO X, ZHANG S, WEI GH, JI XH. Effects of photosynthetic fungicide based compound microbial fertilizer on soil available nutrient content and microbial community structure diversity[J].

- Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2019, 32(12): 2878-2884 (in Chinese).
- [21] ALOO BN, TRIPATHI V, MAKUMBA BA, MBEGA ER. Plant growth-promoting rhizobacterial biofertilizers for crop production: the past, present, and future[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 1002448.
- [22] BASU A, PRASAD P, DAS SN, KALAM S, SAYYED RZ, REDDY MS, EL ENSHASY H. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects[J]. *Sustainability*, 2021, 13(3): 1140.
- [23] 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 JIM, QIAN W. Crop microbiome: breakthrough technology for agriculture[J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2017, 32(3): 260-265 (in Chinese).
- [24] WALTZ E. A new crop of microbe startups raises big bucks, takes on the establishment[J]. *Nature Biotechnology*, 2017, 35(12): 1120-1122.
- [25] O'CALLAGHAN M. Microbial inoculation of seed for improved crop performance: issues and opportunities[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(13): 5729-5746.
- [26] AWASTHI A. Field-specific microbial consortia are feasible: a response to Kaminsky *et al.*[J]. *Trends in Biotechnology*, 2019, 37(6): 569-572.
- [27] MITTER B, BRADER G, PFAFFENBICHLER N, SESSITSCH A. Next generation microbiome applications for crop production: limitations and the need of knowledge-based solutions[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2019, 49: 59-65.
- [28] BUSBY PE, SOMAN C, WAGNER MR, FRIESEN ML, KREMER J, BENNETT A, MORSY M, EISEN JA, LEACH JE, DANGL JL. Research priorities for harnessing plant microbiomes in sustainable agriculture[J]. *PLoS Biology*, 2017, 15(3): e2001793.
- [29] QIN YX, SHANG QM, ZHANG Y, LI PL, CHAI YR. *Bacillus amyloliquefaciens* L-S60 reforms the rhizosphere bacterial community and improves growth conditions in cucumber plug seedling[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2620.
- [30] AMBROSINI A, de SOUZA R, PASSAGLIA LMP. Ecological role of bacterial inoculants and their potential impact on soil microbial diversity[J]. *Plant and Soil*, 2016, 400(1/2): 193-207.
- [31] TRABELSI D, MHAMDI R. Microbial inoculants and their impact on soil microbial communities: a review[J]. *BioMed Research International*, 2013, 2013: 863240.
- [32] MENDES R, KRUIJT M, de BRUIJN I, DEKKERS E, van der VOORT M, SCHNEIDER JHM, PICENO YM, DeSANTIS TZ, ANDERSEN GL, BAKKER PAHM, RAAIJMAKERS JM. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria[J]. *Science*, 2011, 332(6033): 1097-1100.
- [33] MENDES R, RAAIJMAKERS JM. Cross-Kingdom similarities in microbiome functions[J]. *The ISME Journal*, 2015, 9(9): 1905-1907.
- [34] RODRIGUEZ PA, ROTHBALLER M, CHOWDHURY SP, NUSSBAUMER T, GUTJAHR C, FALTER-BRAUN P. Systems biology of plant-microbiome interactions[J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(6): 804-821.
- [35] SANTOS LF, OLIVARES FL. Plant microbiome structure and benefits for sustainable agriculture[J]. *Current Plant Biology*, 2021, 26: 100198.
- [36] TRIVEDI P, LEACH JE, TRINGE SG, SA TM, SINGH BK. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18(11): 607-621.
- [37] WANG JJ, XU S, YANG R, ZHAO W, ZHU D, ZHANG XX, HUANG ZY. *Bacillus amyloliquefaciens* FH-1 significantly affects cucumber seedlings and the rhizosphere bacterial community but not soil[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 12055.
- [38] WANG JJ, ZHAO SQ, XU S, ZHAO W, ZHANG XX, LEI Y, ZHAI HH, HUANG ZY. Co-inoculation of antagonistic *Bacillus velezensis* FH-1 and *Brevundimonas diminuta* NYM3 promotes rice growth by regulating the structure and nitrification function of rhizosphere microbiome[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1101773.
- [39] ROBERT FM, SCHMIDT EL. Population changes and persistence of *Rhizobium phaseoli* in soil and rhizospheres[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1983, 45(2): 550-556.
- [40] BASHAN Y, PUENTE ME, RODRIGUEZ-MENDOZA MN, TOLEDO G, HOLGUIN G, FERRERA-CERRATO R, PEDRIN S. Survival of *Azospirillum brasilense* in the bulk soil and rhizosphere of 23 soil types[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(5): 1938-1945.
- [41] FISCHER SE, JOFRÉ EC, CORDERO PV, GUTIÉRREZ MAÑERO FJ, MORI GB. Survival of native *Pseudomonas* in soil and wheat rhizosphere and antagonist activity against plant pathogenic fungi[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2010, 97(3): 241-251.
- [42] JÄDERLUND L, HELLMAN M, SUNDH I, BAILEY MJ, JANSSON JK. Use of a novel nonantibiotic triple marker gene cassette to monitor high survival of *Pseudomonas fluorescens* SBW25 on winter wheat in the field[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 63(2): 156-168.
- [43] VON FELTEN A, DÉFAGO G, MAURHOFER M.

- Quantification of *Pseudomonas fluorescens* strains F113, CHA0 and Pf153 in the rhizosphere of maize by strain-specific real-time PCR unaffected by the variability of DNA extraction efficiency[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2010, 81(2): 108-115.
- [44] KEMP JS, PATERSON E, GAMMACK SM, CRESSER MS, KILLHAM K. Leaching of genetically modified *Pseudomonas fluorescens* through organic soils: influence of temperature, soil pH, and roots[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1992, 13(4): 218-224.
- [45] TROXLER J, SVERCEL M, NATSCH A, ZALA M, KEEL C, MOËNNE-LOCCOZ Y, DÉFAGO G. Persistence of a biocontrol *Pseudomonas* inoculant as high populations of culturable and non-culturable cells in 200-cm-deep soil profiles[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 44(1): 122-129.
- [46] EDWARDS J, JOHNSON C, SANTOS-MEDELÍN C, LURIE E, PODISHETTY NK, BHATNAGAR S, EISEN JA, SUNDARESAN V. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(8): E911-920.
- [47] CORNEO PE, PELLEGRINI A, CAPPELLIN L, RONCADOR M, CHERICI M, GESSLER C, PERTOT I. Microbial community structure in vineyard soils across altitudinal gradients and in different seasons[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 84(3): 588-602.
- [48] VACHERON J, DESBROSSES G, BOUFFAUD ML, TOURAINE B, MOËNNE-LOCCOZ Y, MULLER D, LEGENDRE L, WISNIEWSKI-DYÉ F, PRIGENT-COMBARET C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, 4: 356.
- [49] KONG Z, WU Z, GLICK B R, HE S, HUANG C, WU L. Co-occurrence patterns of microbial communities affected by inoculants of plant growth-promoting bacteria during phytoremediation of heavy metal-contaminated soils[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 183: 109504.
- [50] HE T, XU ZM, WANG JF, ZHANG K, WANG FP, LI WL, TIAN P, LI QS. Inoculation of *Escherichia coli* enriched the key functional bacteria that intensified cadmium accumulation by halophyte *Suaeda salsa* in saline soils[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 458: 131922.
- [51] CHEN C, WANG M, ZHU JZ, TANG YW, ZHANG HC, ZHAO QM, JING MY, CHEN YH, XU XH, JIANG JD, SHEN ZG. Long-term effect of epigenetic modification in plant-microbe interactions: modification of DNA methylation induced by plant growth-promoting bacteria mediates promotion process[J]. *Microbiome*, 2022, 10(1): 1-19.
- [52] FERRAREZI JA, de ALMEIDA CARVALHO-ESTRADA P, BATISTA BD, ANICETO RM, TSCHOEKE BAP, de MAIA ANDRADE PA, de MOURA LOPES B, LETICIA BONATELLI M, ODISI EJ, AZEVEDO JL, QUECINE MC. Effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria from the Brazilian Amazon on the bacterial community associated with maize in field[J]. *Applied Soil Ecology*, 2022, 170: 104297.
- [53] FINKEL OM, CASTRILLO G, HERRERA PAREDES S, SALAS GONZÁLEZ I, DANGL JL. Understanding and exploiting plant beneficial microbes[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2017, 38: 155-163.
- [54] STANIER RY, PALLERONI NJ, DOUDOROFF M. The aerobic pseudomonads a taxonomic study[J]. *Journal of General Microbiology*, 1966, 43(2): 159-271.
- [55] STÉPHANE C, CHRISTOPHE C, ANGELA S. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(5): 669-678.
- [56] BAI Y, PAN B, CHARLES T C, SMITH DL. Co-inoculation dose and root zone temperature for plant growth promoting rhizobacteria on soybean (*Glycine max* (L.) Merr) grown in soil-less media[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(12): 1953-1957.
- [57] HE T, XU ZJ, WANG JF, WANG FP, ZHOU XF, WANG LL, LI QS. Improving cadmium accumulation by *Solanum nigrum* L. via regulating rhizobacterial community and metabolic function with phosphate-solubilizing bacteria colonization[J]. *Chemosphere*, 2022, 287: 132209.
- [58] 李晴晴, 徐松, 赵维, 杨榕, 赵思崎, 黄志勇, 王敬敬. 根际微生物组介导的解淀粉芽孢杆菌 FH-1 对水稻的促生机制[J]. *微生物学报*, 2019, 59(12): 2410-2426.
- LI QQ, XU S, ZHAO W, YANG R, ZHAO SQ, HUANG ZY, WANG JJ. Rhizosphere microbiome mediated growth-promoting mechanisms of *Bacillus amyloliquefaciens* FH-1 on rice[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59(12): 2410-2426 (in Chinese).
- [59] KONG ZY, LIU HG. Modification of rhizosphere microbial communities: a possible mechanism of plant growth promoting rhizobacteria enhancing plant growth and fitness[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 920813.
- [60] CHEN L, LI KK, SHANG JY, WU Y, CHEN T, WANYAN YQ, WANG ET, TIAN CF, CHEN WF, CHEN WX, MI GH, SUI XH. Plant growth-promoting bacteria improve maize growth through reshaping the rhizobacterial community in low-nitrogen and low-phosphorus soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2021, 57(8): 1075-1088.