

DOI: 10.11829/j.issn.1001-0629.2019-0306

郭建秀, 王召锋, Saman BOWATTE, 侯扶江. 高寒草甸 8 种植物种子内生细菌和真菌群落的多样性. 草业科学, 2020, 37(5): 901-915.

GUO J X, WANG Z F, BOWATTE S, HOU F J. Diversity of seed endophytic bacterial and fungal communities of eight alpine meadow grassland species. Pratacultural Science, 2020, 37(5): 901-915.

高寒草甸 8 种植物种子内生细菌和真菌 群落的多样性

郭建秀, 王召锋, Saman BOWATTE, 侯扶江

(兰州大学草地农业生态系统国家重点实验室 / 兰州大学农业农村部草业创新重点实验室 /
兰州大学草地农业科技学院, 甘肃 兰州 730020)

摘要: 种子是微生物从母本植物到子代植物的传播介质, 将有益微生物代代相传。种子传播的微生物存在于植物不同部位, 为寄主植物提供了一系列的益处。以往种子微生物研究主要集中于农作物, 鲜有关于草地植物的研究。本研究利用 Illumina-Miseq DNA 测序技术, 对青藏高原高山草甸 8 种优势植物的种子微生物群进行多样性分析。结果表明: 8 种草地植物的种子中有多种细菌和真菌 (115 个细菌属和 135 个真菌属), 且细菌和真菌群落均存在显著差异 ($P < 0.05$)。8 种草地植物的优势种细菌门和真菌门分别为 Proteobacteria 和 Ascomycota。在 8 种草地植物的种子中均发现了细菌属 *Pseudomonas*、*Pantoea* 和 *Ochrobactrum* 及真菌属 *Botrytis*、*Bullera* 和 *Didymella*。另外, 在 8 种草地植物的种子中有其独特的细菌和真菌属。本研究表明, 植物的个体特征是塑造种子微生物群落的重要因素, 同时还发现了一些有利于寄主植物生长且可用于未来种子微生物组调控的微生物。

关键词: 草地植物; 种子内生菌; 青藏高原; 菌群多样性; 共有菌; 特有菌; 菌群功能

文献标志码: A 文章编号: 1001-0629(2020)05-0901-15

Diversity of seed endophytic bacterial and fungal communities of eight alpine meadow grassland species

GUO Jianxiu, WANG Zhaofeng, Saman BOWATTE, HOU Fujiang

(State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems / Key Laboratory of Grassland Livestock Industry Innovation,
Ministry of Agriculture and Rural Affairs / College of Pastoral Agriculture Science and Technology,
Lanzhou University, Lanzhou 730020, Gansu, China)

Abstract: Plant seeds are involved in the transmission of microorganisms from one plant generation to the next, acting as initial inoculums for the plant microbiomes of a wide range of species. It has been well established that seed-borne microbes can establish themselves in various plant parts and provide a range of benefits to their host plants. Previous studies have characterized the seed microbiomes of several agricultural crops, but the seed microbiomes of grassland species are still poorly defined. The aim of this study was to characterize the seed microbiomes of eight grassland species that are dominant among the alpine meadow grasslands of the Qinghai Tibetan Plateau (QTP) using Illumina MiSeq DNA sequencing. The results showed a diverse consortia of bacteria and fungi (115 bacterial genera and 135 fungal genera) that thrive inside the

收稿日期: 2019-06-19 接受日期: 2019-09-16

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金 (lzujbky-2017-ot21); 长江学者和创新团队发展计划 (IRT_17R50); 2018 年度甘肃省科技重大专项计划项目 (18ZD2FA009)

第一作者: 郭建秀 (1993-), 女, 山西太原人, 在读硕士生, 研究方向为种子内生微生物。E-mail: guojx17@lzu.edu.cn

通信作者: BOWATTE Saman (1967-), 男, 新西兰人, 教授, 博导, 博士, 研究方向为土壤微生物。E-mail: samanbowatte@lzu.edu.cn

seeds of eight grassland species. The bacterial and fungal communities inside the seeds were significantly different among the eight grassland species. The dominant seed bacterial and fungal phyla of the eight grassland species were Proteobacteria and Ascomycota, respectively. The bacterial genera *Pseudomonas*, *Pantoea*, and *Ochrobactrum*, and the fungal genera *Botrytis*, *Bullera*, and *Didymella* were found in the seeds of all eight grassland species. There were also bacterial and fungal genera unique to each of the seeds of the eight grassland species. This study showed that plant identity is an important factor shaping the seed microbiome. Some of the microbes identified in this study have been previously identified as being beneficial to their host plants, hence the results of this study can be used for future studies on seed microbiome manipulations to ensure healthy and productive grasslands.

Keywords: grasslands; seed endophytes; Qinghai Tibetan Plateau; diversity; unique microbiome; shared microbiome; function

Corresponding author: BOWATTE Saman E-mail: samanbowatte@lzu.edu.cn

青藏高原 (Qinghai-Tibet Plateau) 是世界海拔最高的高原, 被称为“世界屋脊”。高寒草甸作为青藏高原的典型草地类型之一, 是发展畜牧业的基本条件^[1]。青藏高原由于气候变化和过度放牧, 可持续草地生产力受到严重威胁^[2]。因此, 需要新技术来改善青藏高原高寒草甸可持续生产力, 这些新技术可以使用类似调控植物微生物组的生物技术^[3]。最近的研究表明, 种子是微生物从母本植物到下一代植物的传播介质, 将有益微生物代代相传^[4-6]。若想要利用植物微生物组来提高青藏高原高寒草甸的生产力, 就必须深入了解草地植物种子微生物组的基础知识。

种子微生物组包含多种细菌^[7]和真菌^[8], 有研究表明, 种子内生菌因植物种类^[9]、基因型^[3]、种子成熟过程^[10]和环境条件^[11]而有所不同。种子携带的微生物存在于种子的表皮和内部组织中, 分为附生菌和内生菌, 可以影响种子对环境的适应性。种子内生菌来源于植物相关内生菌, 可以影响植物微生物群落结构和功能^[12]。最常见的种子内生细菌门有 Proteobacteria、Actinobacteria、Firmicutes 和 Bacteroidetes^[7,13], 最常见的种子细菌属是 *Bacillus*、*Pseudomonas*、*Paenibacillus*、*Micrococcus*、*Staphylococcus*、*Pantoea* 和 *Acinetobacter*^[7]。大多数种子内生真菌门是 Ascomycota 和 Basidiomycota, 最常见的真菌属为 *Alternaria*^[14]。

植物内生菌通常由种子传播并为其宿主植物提供有益作用^[15]。研究表明, 种子内生菌可以促进植物生长, 例如种子内生菌产生的植物激素能促进幼苗的萌发和建立^[16], 通过产生生长素^[17]和 ACC

脱氨酶^[6]促进植物生长; 其中, 一些种子内生细菌还可进行固氮作用^[18]和磷增溶作用^[19]来支持植物生长。此外, 水稻种子中的泛菌属 (*Pantoea*)、微杆菌属 (*Bacilli*)、假单胞菌属和苍白杆菌属 (*Ochrobactrum*) 不仅可以促进植物生长, 还可以提高植物抗逆境的能力^[4,7]。除以上功能外, 种子内生菌的另一个主要功能是保护寄主植物抵抗各种病原体^[15, 20-22]。

目前种子内生菌功能和多样性的研究大部分集中于农作物, 如玉米 (*Zea mays*)^[23]、水稻 (*Oryza sativa*)^[24]、大豆 (*Glycine max*)^[25] 和小麦 (*Triticum aestivum*)^[26], 草地内生真菌的研究主要集中于内生真菌 *Epicoilē* 属与草的共生关系, 鲜有关于高寒草地植物种子内生菌多样性的研究。已有研究表明, 植物因个体差异而具有不同的植物内生菌^[27], 据此假设青藏高原高寒草甸 8 种植物种子内生菌群也存在差异。本研究利用 Illumina Miseq DNA 测序技术, 对青藏高原高寒草甸 8 种草地植物的种子微生物组进行多样性分析, 旨为今后调控种子微生物, 提高草地生产力, 维持草地健康提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 样地和材料

本研究所用到的植物种子采自于兰州大学青藏高原玛曲县阿孜站 (101°44' E, 33°36' N), 该地区平均海拔 3 700 m, 年平均降水量 603 mm, 年平均气温 2.0 °C。于 2017 年 10 月收集当地自然条件下 8 种优势植物植株上的种子, 并参照孙义^[28]对植物功能特性, 等级划分 (表 1)。野外将收集的植物种

表 1 用于种子内生菌群表征的 8 种植物的概况
Table 1 Descriptions of eight grassland plant species used for the seed microbiome characterization

植物名 Plant	所属科 Family	寿命 Life span	适口性 Palatability
垂穗披碱草 <i>Elymus nutans</i>	禾本科 Gramineae	多年生 Perennial	高 High
瑞苓草 <i>Saussurea nigrescens</i>	菊科 Compositae	多年生 Perennial	低 Low
花锚 <i>Halenia corniculata</i>	龙胆科 Gentianaceae	一年生 Annual	低 Low
黄帚橐吾 <i>Ligularia virgaurea</i>	菊科 Compositae	多年生 Perennial	不可食 Un-palatable
播娘蒿 <i>Descurainia sophia</i>	十字花科 Cruciferae	一年生 Annual	高 High
小花草玉梅 <i>Anemone rivularis</i>	毛茛科 Ranunculaceae	多年生 Perennial	不可食 Un-palatable
长毛风毛菊 <i>Saussurea hieracioides</i>	菊科 Compositae	多年生 Perennial	不可食 Un-palatable
菥蓂 <i>Thlaspi arvense</i>	十字花科 Cruciferae	一年生 Annual	高 High

子放置种子袋, 每种植物 3 个重复。用冰盒带回实验室, 进行去除外稃等预处理以备后续试验所需。

1.2 种子表面灭菌

将野外取回的 8 种植物种子共 24 个样本参照 Shearin 等^[8]的方法进行表面灭菌。首先用 70% 酒精浸泡 5 min, 2% 次氯酸钠溶液浸泡 3 min, 最后用无菌水冲洗 5~7 次。取 1 μL 最终漂洗过种子的无菌水, 并将其涂布在牛肉膏蛋白胨培养基上培养, 检测灭菌效果。1 周后, 若培养基表面无菌落生成, 则表明种子表面完全灭菌。将完全灭菌的种子用于 DNA 提取。

1.3 种子内生菌 DNA 的提取及 Illumina MiSeq 测序

用无菌剪剪开种皮, 取内部组织移入无菌研钵, 加入液氮充分研磨后转移到 DNeasy Power Soil Kit (QIAGEN, Inc., Netherlands) 的 Power Beads 试管中。然后提取微生物基因组 DNA 总样本。通过 NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 测定 DNA 浓度和纯度, 同时利用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳分析 DNA 的完整性, 在 PCR 扩增前保存在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下。

使用引物 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGG TAA-3') 和 907R (5'-CCGTC AATTCMTTTRAGTTT-3') 对细菌 16S rRNA 基因 V4-V5 区域进行 PCR 扩增, 并将 7 bp 样品特异性接头序列连接至 515F 引物的 5' 末端。使用 25 μL 的 PCR 反应体系, 体系包含: 5 μL Q5 反应缓冲液 (5 \times), 5 μL Q5 高保真 GC 缓冲液 (5 \times), 0.25 μL Q5 DNA 高保真聚合酶 (5 U $\cdot\mu\text{L}^{-1}$), dNTPs 为 2 μL (2.5 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$), 每个正向和反向引物 1 μL (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), DNA 模板 2 μL , ddH₂O 8.75 μL 。

反应条件: 98 $^{\circ}\text{C}$, 2 min; (98 $^{\circ}\text{C}$, 15 s; 55 $^{\circ}\text{C}$, 30 s; 72 $^{\circ}\text{C}$, 30 s), 25 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$, 5 min。用 Agencourt AM Pure Beads (Beckman Coulter, Indianapolis, IN, USA) 纯化 PCR 扩增产物, 之后保存在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱待送样测序。

PCR 扩增选用真菌 ITS1 区引物, ITS5F (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') 和 ITS1R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')。反应体系同上文一样, 扩增条件: 95 $^{\circ}\text{C}$, 30 s; (94 $^{\circ}\text{C}$, 30 s; 50 $^{\circ}\text{C}$, 30 s; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延长 45 s), 25~27 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$, 5 min。扩增结果进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 切取目的片段然后用 Axygen 凝胶回收试剂盒回收目的片段。PCR 产物保存在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱待送样测序。利用 Quant-IT Pico Green dsDNA Assay Kit 对 PCR 产物在 Microplate reader (BioTek, FLx800) 上进行定量, 然后按照每个样品所需的数据量进行混样。之后根据定量结果, 按照每个样本的测序量需求, 对各样本按相应比例进行混合。在 MiSeq 机器上利用 MiSeq Reagent Kit v. 3 进行对端 2 \times 300 bp 测序 (上海派森诺生物有限公司)。

1.4 数据处理

测序结果使用 QIIME 软件分析处理, 按照 97% 的相似度分为 1 个 OTU 单元。使用 QIIME 软件分别对每个样本计算 Chao1 指数和 ACE 指数, 以及 Shannon 指数和 Simpson 指数; 使用 QIIME 软件, 获取各样本在属水平上的组成和丰度分布表, 并通过柱状图呈现分析结果; 采用 SPSS 20.0 进行数据分析, 通过单因素方差分析种子内生细菌和真菌在植物物种间的差异性, 平均值多重比较采用 LSD 法在 0.05 水平下分析; 使用 R 软件中

的主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和相似性分析 (analysis of similarity, ANOSIM) 对属水平的内生菌群进行聚类 and 差异性比较。

本研究中获得 的 *16S rRNA* 和 *ITS* 基因序列已经提交给 NCBI GenBank, 登录号分别是 SRP211984 和 SRP211983。

2 结果

2.1 种子内生细菌和真菌群落组成

结果表明, 在细菌的门水平上 (表 2), 8 种植物中占比最高的都是 Proteobacteria, 瑞苓草 (*Saussurea nigrescens*)、垂穗披碱草 (*Elymus nutans*) 和 黄帚橐吾

(*Ligularia virgaurea*) 3 种植物的 Proteobacteria 的相对丰度都显著高于花锚 (*Halenia corniculata*) ($P < 0.05$); 而花锚中 Actinobacteria 相对丰度显著高于垂穗披碱草和 黄帚橐吾 ($P < 0.05$)。播娘蒿 (*Descurainia sophia*) 的 Firmicutes 相对丰度在 8 种植物中最高, 并显著高于垂穗披碱草、瑞苓草、黄帚橐吾和长毛风毛菊 (*S. hieracioides*) ($P < 0.05$); 长毛风毛菊的 Bacteroidetes 相对丰度显著高于其他 7 种植物 ($P < 0.05$)。花锚中还检测到 Chloroflexi 的存在, 其相对丰度为 3.17%, 在其他 7 种植物中未检测到 Chloroflexi 的存在。同内生细菌一样, 种子内生真菌在 8 种植物种之间存在显著差异 (表 3), 垂穗披碱草、黄帚橐吾、长毛风毛菊的 Ascomycota

表 2 草地植物种类对前 5 种内生细菌门的相对丰度的影响
Table 2 Effects of grassland plant species on the relative abundance of the top five seed endophytic bacterial phyla

植物 Plant	内生细菌门 Endophytic bacterial phyla					%
	Proteobacteria	Actinobacteria	Firmicutes	Bacteroidetes	Chloroflexi	
<i>E. nutans</i>	99.570 ± 0.001a	0.270 ± 0.000b	0.100 ± 0.001b	0.070 ± 0.001b	0.000 ± 0.000b	
<i>S. nigrescens</i>	96.400 ± 0.016a	2.930 ± 0.018ab	0.670 ± 0.004b	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	
<i>H. corniculata</i>	75.430 ± 0.096b	17.070 ± 0.087a	2.800 ± 0.012ab	1.170 ± 0.007b	3.170 ± 0.018a	
<i>L. virgaurea</i>	99.100 ± 0.007a	0.230 ± 0.001b	0.500 ± 0.004b	0.100 ± 0.001b	0.000 ± 0.000b	
<i>D. sophia</i>	86.500 ± 0.029ab	8.570 ± 0.021ab	4.570 ± 0.010a	0.330 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	
<i>A. rivularis</i>	91.730 ± 0.002ab	6.430 ± 0.009ab	1.800 ± 0.007ab	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	
<i>S. hieracioides</i>	90.100 ± 0.022ab	6.270 ± 0.013ab	0.770 ± 0.003b	2.900 ± 0.013a	0.000 ± 0.000b	
<i>T. arvense</i>	87.070 ± 0.020ab	8.830 ± 0.012ab	3.300 ± 0.012ab	0.670 ± 0.005b	0.000 ± 0.000b	
<i>P</i>	0.01	0.04	0.01	0.02	0.03	

同列不同小写字母表示不同植物种间差异显著 ($P < 0.05$); 下表同。

Different lowercase letters indicate significant difference between different plant species at the 0.05 level; this is applicable for the following tables as well.

表 3 草地植物种类对前 5 种内生真菌门的相对丰度的影响
Table 3 Effects of grassland plant species on the relative abundance of the top five seed endophytic fungal phyla

植物 Plant	内生真菌门 Endophytic fungal phyla					%
	Ascomycota	Basidiomycota	Rozellomycota	Glomeromycota	Zygomycota	
<i>E. nutans</i>	84.300 ± 0.028a	12.530 ± 0.034b	0.570 ± 0.003	1.130 ± 0.003a	0.400 ± 0.002	
<i>S. nigrescens</i>	81.270 ± 0.035ab	18.730 ± 0.035b	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000	
<i>H. corniculata</i>	78.800 ± 0.102ab	19.970 ± 0.097b	0.200 ± 0.001	0.000 ± 0.000b	0.300 ± 0.001	
<i>L. virgaurea</i>	85.700 ± 0.046a	12.200 ± 0.027b	0.270 ± 0.003	0.000 ± 0.000b	0.470 ± 0.005	
<i>D. sophia</i>	49.370 ± 0.132b	49.870 ± 0.131a	0.130 ± 0.001	0.000 ± 0.000b	0.130 ± 0.000	
<i>A. rivularis</i>	76.830 ± 0.102ab	21.200 ± 0.100b	0.470 ± 0.002	0.600 ± 0.006ab	0.070 ± 0.001	
<i>S. hieracioides</i>	98.570 ± 0.003a	1.430 ± 0.003b	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000	
<i>T. arvense</i>	67.630 ± 0.045ab	24.500 ± 0.035b	0.200 ± 0.002	0.000 ± 0.000b	0.100 ± 0.001	
<i>P</i>	0.01	0.01	0.37	0.03	0.47	

相对丰度显著高于播娘蒿 ($P < 0.05$)；播娘蒿的 Basidiomycota 相对丰度相对高于其他植物；在垂穗披碱草和小花草玉梅 (*Anemone rivularis*) 中检测到 Glomeromycota 的存在，其余 6 种植物中未检测到。

在属水平上各种菌属的相对丰度 (图 1) 和差异性分析 (表 4) 结果表明，占比较高的细菌属主要是 *Pseudomonas* (59.2%)、*Pantoea* (11.3%)、*Escherichia-Shigella* (3.8%) 和 *Stenotrophomonas* (2.2%)；占比较高的真菌属为 *Botrytis* (20.7%)、*Didymella* (11.0%)、*Bullera* (5.4%) 和 *Epicolē* (4.5%)。 *Pseudomonas* 是最主要的内生细菌，其在种子样本中占比由高到低依次是：垂穗披碱草 90.700%，小花草玉梅 71.067%，黄帚橐吾 70.233%，花锚 65.400%，菥蓂 58.900%，播娘蒿 56.433%，瑞苓草种子 42.833%，长毛风毛菊 18.267%。在垂穗披碱草中的相对丰度显著 ($P < 0.05$) 高于在瑞苓草和长毛风毛菊中的 (表 5)。 *Pantoea* 在瑞苓草中的相对丰度为 35.337%，显著高于其他植物 ($P < 0.05$)。 *Escherichia-Shigella* 在黄帚橐吾中的相对丰度为 12.6%，显著高于垂穗披

碱草、花锚和小花草玉梅。菥蓂中 *Stenotrophomonas* 相对丰度为 16.333%，显著高于其他植物 ($P < 0.05$)。 *Sanguibacter* 在播娘蒿种子中相对丰度为 6.367%，除长毛风毛菊和菥蓂外显著高于其他植物 ($P < 0.05$)。另外，*Botrytis* 是最主要的内生真菌，其在种子样本中占比由高到低依次为：瑞苓草 80.100%，长毛风毛菊 30.333%，花锚 21.033%，黄帚橐吾 28.567%，垂穗披碱草 4.067%，菥蓂 0.800%，小花草玉梅 0.733%，播娘蒿 0.033%，瑞苓草显著高于其他植物 ($P < 0.05$)。长毛风毛菊中 *Didymella* 的相对丰度为 62.600%，显著高于其他植物。在瑞苓草中，*Bullera* 的相对丰度为 18.400%，除花锚外显著高于其他植物 ($P < 0.05$)。 *Epicolē* 仅存在于垂穗披碱草中，相对丰度最高为 36.100%。 *Leptosphaeria* 在花锚中的相对丰度为 29.367%，显著高于其他植物的 ($P < 0.05$)； *Phoma* 相对丰度在菥蓂中为 11.167%，高于其他植物，*Cryptococcus* 在小花草玉梅种子中相对丰度为 12.667%，显著高于其他植物 ($P < 0.05$)。

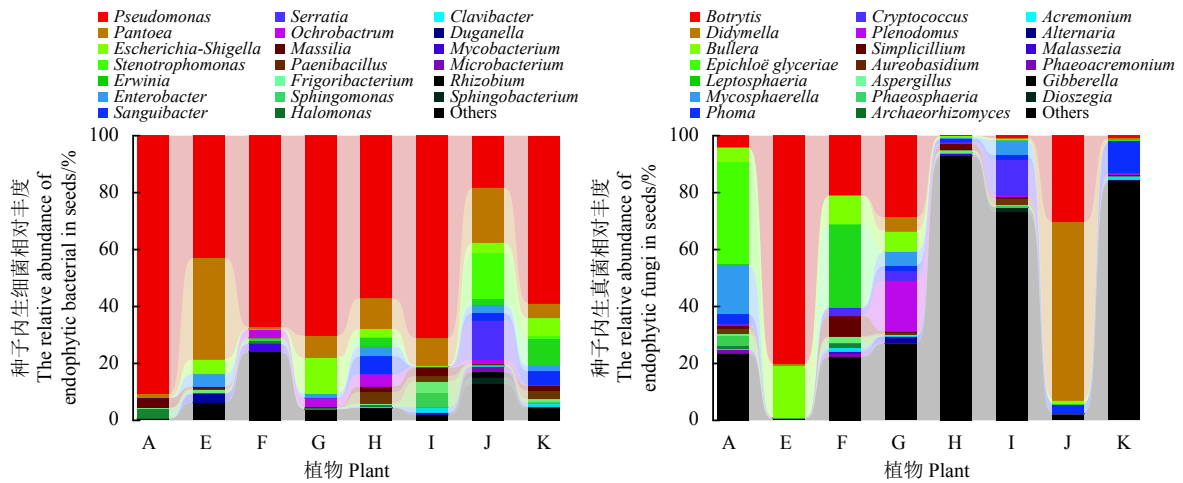


图 1 种子内生细菌和真菌在 8 种植物种子中的相对丰度

Figure 1 The relative abundance of seed endophyte bacterial genera and fungal genera in eight grassland plant species

A, 垂穗披碱草; E, 瑞苓草; F, 花锚; G, 黄帚橐吾; H, 播娘蒿; I, 小花草玉梅; J, 长毛风毛菊; K, 菥蓂; 图 2 同。

A, *Elymus nutans*; E, *Saussurea nigrescens*; F, *Halenia corniculata*; G, *Ligularia virgaurea*; H, *Descurainia sophia*; I, *Anemone rivularis*; J, *Saussurea hieracioides*; K, *Thlaspi arvense*; this is applicable for Figure 2 as well.

2.2 植物种子内生真菌和细菌的多样性分析

Chao 1 指数和 ACE 指数估算每个样本的种子内生微生物组的丰富度，Shannon 指数和 Simpson 指数体现群落均匀度。Chao 1 和 ACE 多样性指数表明，8 种植物种子细菌群落丰富度无显著差异 ($P > 0.05$) (表 6)；Simpson 指数和 Shannon 指数显示的群

落均匀度存在显著差异 ($P < 0.05$)，播娘蒿种子的细菌群落多样性显著高于小花草玉梅。种子内生真菌的 α 多样性指数中 ACE 多样性指数表明，植物种子样品的真菌群落丰富度无显著差异 ($P > 0.05$) (表 6)，而 Chao 1 指数表明垂穗披碱草植物种子样品的真菌群落丰富度与瑞苓草、长毛风毛菊的差异显著。Simpson 指数和 Shannon 指数表明，

表 4 草地植物种类对前 10 种内生细菌属的相对丰度的影响
Table 4 Effects of grassland plant species on the relative abundance of the top ten seed endophytic bacterial

植物 Plant	内生细菌属 Endophytic bacterial genus										%
	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pantoea</i>	<i>Escherichia-shigella</i>	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>Erwinia</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Sanguibacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>Ochrobactrum</i>	<i>Massilia</i>	
<i>E. nutans</i>	90.700 ± 0.019a	1.067 ± 0.008b	0.100 ± 0.001b	3.817 ± 0.011b	2.225 ± 0.012b	0.133 ± 0.001	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	0.133 ± 0.001	3.467 ± 0.020	
<i>S. nigrescens</i>	42.833 ± 0.045bc	35.667 ± 0.024a	5.133 ± 0.019ab	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	4.433 ± 0.004	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	0.167 ± 0.002	0.367 ± 0.004	
<i>H. corniculata</i>	65.400 ± 0.107ab	0.567 ± 0.006b	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	0.067 ± 0.001b	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	3.200 ± 0.024	0.000 ± 0.000	
<i>L. virgaurea</i>	70.233 ± 0.139ab	7.800 ± 0.039b	12.600 ± 0.065a	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	1.400 ± 0.01	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	3.167 ± 0.015	0.233 ± 0.001	
<i>D. sophia</i>	56.433 ± 0.098ab	11.133 ± 0.055b	2.633 ± 0.010ab	0.067 ± 0.001b	0.000 ± 0.000b	3.500 ± 0.009	6.367 ± 0.027a	0.000 ± 0.000b	4.200 ± 0.026	2.133 ± 0.005	
<i>A. rivularis</i>	71.067 ± 0.090ab	9.733 ± 0.087b	0.233 ± 0.001b	0.600 ± 0.003b	3.067 ± 0.014b	0.100 ± 0.001	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	0.400 ± 0.001	2.933 ± 0.017	
<i>S. hieracioides</i>	18.267 ± 0.038c	19.467 ± 0.011b	3.567 ± 0.013ab	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	2.700 ± 0.007	2.633 ± 0.012ab	13.400 ± 0.078a	1.500 ± 0.008	0.000 ± 0.000	
<i>T. arvense</i>	58.900 ± 0.048ab	5.300 ± 0.010b	6.267 ± 0.009ab	16.333 ± 0.044a	2.167 ± 0.015b	2.067 ± 0.001	4.867 ± 0.006ab	0.000 ± 0.000b	0.133 ± 0.001	1.800 ± 0.006	
P	0.001	0.000	0.034	0.000	0.002	0.000	0.002	0.035	0.265	0.116	

表 5 草地植物种类对前 10 种内生真菌属的相对丰度的影响
Table 5 Effects of grassland plant species on the relative abundance of the top ten seed endophytic fungal genera

植物 Plant	内生真菌属 Endophytic fungal genus										%
	<i>Botrytis</i>	<i>Didymella</i>	<i>Bullera</i>	<i>Epichloë</i>	<i>Leptosphaeria</i>	<i>Mycosphaerella</i>	<i>Phoma</i>	<i>Cryptococcus</i>	<i>Plenodomus</i>	<i>Simplicillium</i>	
<i>E. nutans</i>	4.067 ± 0.028c	0.133 ± 0.001b	4.900 ± 0.009b	36.100 ± 0.171a	0.233 ± 0.002b	17.333 ± 0.102	3.167 ± 0.019b	0.833 ± 0.004b	0.000 ± 0.000	0.967 ± 0.006	
<i>S. nigrescens</i>	80.100 ± 0.037a	0.633 ± 0.003b	18.400 ± 0.035a	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000	0.067 ± 0.001b	0.067 ± 0.001b	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	
<i>H. corniculata</i>	21.033 ± 0.108bc	0.033 ± 0.000b	10.033 ± 0.071ab	0.000 ± 0.000b	29.367 ± 0.115a	0.167 ± 0.002	0.000 ± 0.000b	2.667 ± 0.014b	0.000 ± 0.000	7.167 ± 0.068	
<i>L. virgaurea</i>	28.567 ± 0.069b	4.933 ± 0.044b	7.200 ± 0.033b	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	5.000 ± 0.028	1.833 ± 0.017b	3.300 ± 0.027b	17.833 ± 0.114	0.667 ± 0.003	
<i>D. sophia</i>	0.033 ± 0.000c	0.033 ± 0.000b	0.500 ± 0.002b	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	0.433 ± 0.001	1.333 ± 0.008b	0.267 ± 0.001b	0.100 ± 0.001	2.267 ± 0.023	
<i>A. rivularis</i>	0.733 ± 0.005c	0.200 ± 0.001b	0.600 ± 0.003b	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	5.233 ± 0.022	1.667 ± 0.014b	12.667 ± 0.062a	0.500 ± 0.005	0.467 ± 0.005	
<i>S. hieracioides</i>	30.333 ± 0.022b	62.600 ± 0.033a	1.333 ± 0.003b	0.000 ± 0.000b	0.067 ± 0.001b	0.000 ± 0.000	3.300 ± 0.009b	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	
<i>T. arvense</i>	0.800 ± 0.008c	0.533 ± 0.002b	0.267 ± 0.001b	0.000 ± 0.000b	0.000 ± 0.000b	0.200 ± 0.001	11.167 ± 0.050a	0.367 ± 0.001b	0.467 ± 0.003	0.267 ± 0.001	
P	0	0	0.007	0.006	0.001	0.065	0.037	0.028	0.071	0.529	

表 6 8 种植物的种子内生细菌和内生真菌 α 多样性指数分析
Table 6 Analysis of alpha diversity indices of the endophytic bacteria and fungi in the seeds of eight plant species

植物 Plant	内生细菌 Endophytic bacteria				内生真菌 Endophytic fungi			
	Simpson	Shannon	Chao1	ACE	Simpson	Shannon	Chao1	ACE
<i>E. nutans</i>	0.95 ± 0.01abc	5.42 ± 0.17ab	124.16 ± 3.86	135.05 ± 4.31	0.83 ± 0.01a	4.01 ± 0.14a	94.33 ± 6.98a	135.70 ± 22.75
<i>S. nigrescens</i>	0.95 ± 0.01ab	5.49 ± 0.21ab	120.42 ± 12.30	127.66 ± 12.58	0.41 ± 0.04c	1.33 ± 0.12c	24.33 ± 0.67b	51.53 ± 6.91
<i>H. corniculata</i>	0.91 ± 0.04bc	5.22 ± 0.54ab	129.87 ± 22.91	141.70 ± 28.75	0.81 ± 0.07a	3.97 ± 0.94ab	85.00 ± 28.15ab	109.39 ± 24.75
<i>L. virgaurea</i>	0.94 ± 0.02abc	5.29 ± 0.33ab	117.28 ± 13.22	124.78 ± 14.00	0.80 ± 0.05ab	3.32 ± 0.63ab	59.00 ± 25.17ab	93.51 ± 48.29
<i>D. sophia</i>	0.97 ± 0.00a	6.12 ± 0.10a	128.41 ± 13.11	131.37 ± 15.71	0.65 ± 0.05a	2.59 ± 0.15bc	57.67 ± 3.84ab	80.97 ± 5.37
<i>A. rivularis</i>	0.89 ± 0.02b	4.66 ± 0.19b	87.00 ± 6.35	94.47 ± 7.30	0.71 ± 0.05a	2.97 ± 0.22ab	60.67 ± 7.97ab	105.63 ± 17.68
<i>S. hieracioides</i>	0.96 ± 0.01ab	5.81 ± 0.15ab	140.54 ± 2.51	148.79 ± 1.31	0.53 ± 0.02bc	1.56 ± 0.06c	22.33 ± 1.76b	45.58 ± 6.71
<i>T. arvense</i>	0.96 ± 0.01ab	5.68 ± 0.17ab	140.57 ± 16.73	151.30 ± 18.32	0.77 ± 0.03a	2.96 ± 0.16ab	42.33 ± 4.48ab	58.55 ± 7.43
<i>P</i>	0.047	0.049	0.180	0.275	<0.000 1	0.002	0.021	0.113

真菌群落多样性存在显著差异 ($P < 0.05$), 其中来自垂穗披碱草种子内生真菌群落多样性显著高于瑞苓草、长毛风毛菊的。

种子内生细菌和内生真菌的属水平丰度进行主成分分析 (PCA) 和相似性分析 (ANOSIM), 结果表明种子细菌群落 (ANOSIM: $R = 0.725 5$, $P < 0.001$) 和真菌群落 (ANOSIM: $R = 0.691 8$, $P < 0.001$) 在 8 种植物之间都存在显著差异 (图 2)。细菌 PCA 中主成分 1 (PC₁) 和主成分 2 (PC₂) 的方差贡献率分别为 76.57% 和 9.96%, 真菌 PCA 中 PC₁ 和 PC₂ 的方差贡献率分别为 36.73% 和 16.9%。PCA 图聚类分析表明, 垂穗披碱草、黄帚橐吾和小花草玉梅种子

内生细菌菌群多样性较为相似; 瑞苓草、长毛风毛菊种子内生细菌菌群多样性与其他植物差异较大。种子内生真菌相比于内生细菌有所不同, 垂穗披碱草、花锚、黄帚橐吾、播娘蒿、小花草玉梅和菥蓂菌群多样性较为相似; 瑞苓草和长毛风毛菊种子内生真菌菌群多样性与其他植物差异较大。

2.3 种子内生核心微生物组

根据测序结果进一步将 8 种植物种子细菌和真菌的分析结果进行整理, 研究各植物种子中特有内生菌与共有内生菌 (表 7)。关于细菌的内生菌与共有内生菌结果表明 *Pseudomona*、*Pantoea* 和

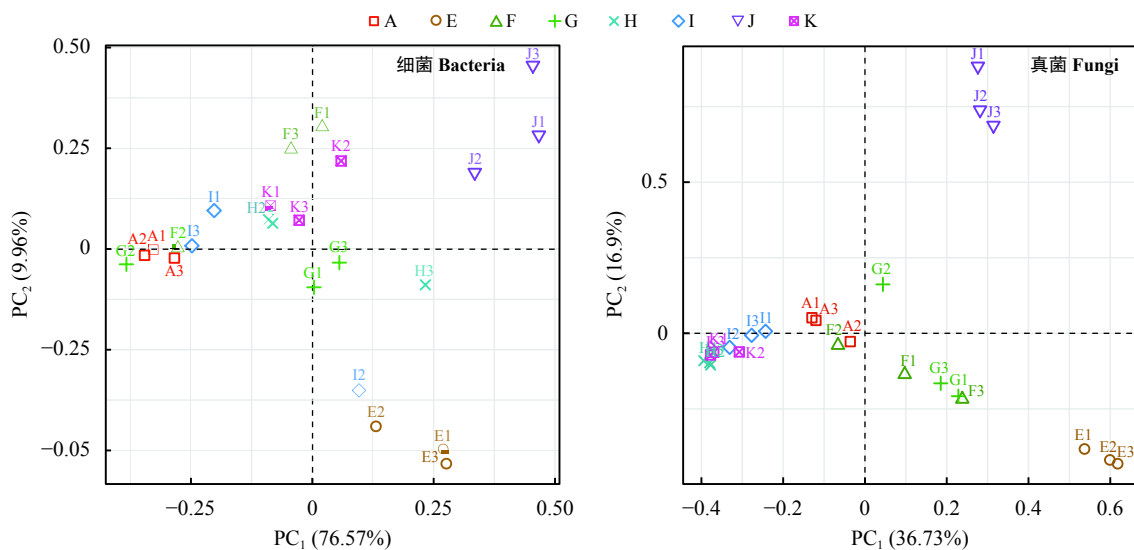


图 2 8 种植物的种子内生细菌和真菌群落的 PCA 分析

Figure 2 Principal component analysis (PCA) of the seed bacterial and fungal communities of eight plant species

表 7 8 种植物中独特和共有的种子内生细菌和真菌
 Table 7 Unique and shared seed endophytic bacteria and fungi in eight plant species

植物 Plant	细菌 Bacteria	真菌 Fungi
<i>E. nutans</i>	<i>Alistipes</i>	<i>Arthrographis, Capnobotryella, Codinaeopsis, Darksidea, Epichloë, Falcocladium, Geastrum, Hysterangium, Lecanicillium, Solenopsora, Lecythophora, Lentinus, Mycofalcella, Periconia, Phialocephala, Phialosimplex, Ramicandelaber, Redeckera, Savoryella, Scytalidium</i>
<i>S. nigrescens</i>	<i>Rathayibacter, Curtobacterium</i>	—
<i>H. corniculata</i>	<i>Mycobacterium, Actinoplanes, Pseudonocardia, Ruminococcaceae, Actinophytocola, Micromonospora, Solirubrobacter, Luedemannella, Cellulomonas, Nitrobacter, Nakamurella, Hamadaea, Ralstonia, Oceanobacillus, Variibacter, Nocardioides, Conexibacter, Leifsonia, Roseiflexus, Blastococcus, Citricoccus, Akkermansia, Angustibacter</i>	<i>Boletus, Bulleribasidium, Cadophora, Caloplaca, Engyodontium, Exophiala, Helicosporium, Hygrocybe, Hygrophorus, Hypotrachyna, Ilyonectria, Metarhizium, Moniliella, Mycocentrospora, Trichoderma, Myrothecium, Pyrenochaetopsis, Paecilomyces, Slopeiomyces</i>
<i>L. virgaurea</i>	<i>Lachnospiraceae, Ruminiclostridium, Ruminococcus</i>	<i>Beauveria, Chaenothecopsis, Clavulinopsis, Corynespora, Leptogium, Dendroclathra, Gongronella, Heterobasidion, Neobulgaria, Oidiodendron, Preussia, Phallus, Saitoella, Sarocladium, Scedosporium, Sphaerulina, Westerdykella, Apodospora, Camarosporium, Gymnopilus, Lulwoana, Neurospora, Paraphaeosphaeria, Phanerochaete, Sarcosphaera, Schizangiella</i>
<i>D. sophia</i>	<i>Exiguobacterium, Parasutterella</i>	<i>Inocutis</i>
<i>A. rivularis</i>	<i>Fronidhabitans, Xanthomonas</i>	<i>Inocutis</i>
<i>S. hieracioides</i>	<i>Serratia, Sphingobacterium, Yersinia, Luteimonas, Vibrio, Staphylococcus, Pectobacterium, Williamsia, Acidovorax, Enterococcus, Shinella</i>	—
<i>T. arvense</i>	<i>Chryseobacterium, Saccharibacillus, Epilithonimonas, Raoultella, Salana</i>	<i>Ganoderma, Lignincola</i>
共有菌 Shared	<i>Pseudomonas, Pantoea, Ochrobactrum</i>	<i>Botrytis, Bullera, Didymella</i>

Ochrobactrum 是 8 种植物种子共有内生细菌；花锚作为唯一龙胆科植物，其特有的内生细菌相较于其他植物最多，表明花锚种子可以从外界获取更多的特异性细菌。垂穗披碱草只有一种特有内生细菌为 *Alistipes*。瑞苓草、小花草玉梅和播娘蒿都只有两种特有内生菌。瑞苓草特有内生细菌有 *Rathayibacter* 和 *Curtobacterium*；*Fronidhabitans* 和 *Xanthomonas* 是小花草玉梅的特有内生细菌；*Exiguobacterium* 和 *Parasutterella* 是播娘蒿的特有内生细菌；*Lachnospiraceae*、*Ruminiclostridium* 和 *Ruminococcus* 是黄帚橐吾的特有内生细菌。长毛风毛菊的特有内生细菌有 *Serratia*、*Sphingobacterium* 等；*Chryseobacterium*、*Saccharibacillus*、*Epilithonimonas* 等是菥蓂的特有菌。

真菌的特有内生菌与共有内生菌的研究结果表明：*Botrytis*、*Bullera* 和 *Didymella* 是 8 种植物种子共

有的内生真菌。瑞苓草和长毛风毛菊无特有内生真菌，表明这两种植物能主动选择的真菌有限。小花草玉梅只有 1 种特有内生真菌，为 *Inocutis*。菥蓂的特有内生真菌有 2 种，是 *Ganoderma* 和 *Lignincola*。*Epichloë*、*Hysterangium* 和 *Arthrographis* 等是垂穗披碱草的特有内生真菌。花锚、黄帚橐吾和播娘蒿较其他植物有更多的特有内生菌，可以选择性从外界吸收更多的真菌。*Bulleribasidium*、*Cadophora* 和 *Hygrocybe* 等是花锚特有内生真菌；*Beauveria*、*Leptogium* 和 *Neobulgaria* 等是黄帚橐吾特有内生真菌；*Camarosporium*、*Gymnopilus* 和 *Paraphaeosphaeria* 等是播娘蒿的特有内生真菌。

3 讨论

结果发现在 8 种草地植物的种子中有多种细菌和真菌 (115 个细菌属和 135 个真菌属)，更重要的

是草地植物物种是决定种子微生物群的一个重要因素。本研究发现，细菌和真菌以前存在于不同作物的不同植物部位，为寄主植物提供了一系列的益处。结合先前的研究将本研究观察到的前 10 个细菌属和真菌属及其对寄主植物的生物学功能进行总结 (表 8、表 9)。预计这些微生物将成为 8 种草地植物微生物群的一部分，可能具有促进植物生长并提高植物抗逆境的能力。

草地物种中最主要的门是变形杆菌 (90.7%)。许多研究报道了 *Proteobacteria* 在水稻^[29] 和玉米种子^[55-56] 中也是优势菌门。在本研究中，种子中物种丰度最高的 *Pseudomonas* 属 (59.2%) 决定了变形杆菌的优势，已有研究发现 *Pseudomonas* 作为内生菌存在于水稻、芦苇 (*Phragmites australis*) 等植物种子中，具有磷增溶、蛋白酶生产、抗真菌和促进植物生长等功能^[22]；内生菌 *Pantoea* 和

表 8 本研究发现的前 10 种细菌属的起源和功能的先前报告
Table 8 Previous reports on the origin and function of the top 10 bacterial genera identified in this study

优势细菌菌群 Bacterial genera	细菌功能 Functions of bacteria	来源 Origin	参考文献 Reference
<i>Pseudomonas</i>	磷增溶作用，产生蛋白酶，促进植物生长 Phosphate solubilizing, protease production, plant growth promotion	芦苇种子 Seeds of <i>Phragmites australis</i>	[22]
	促进植物生长，缓解生物和非生物胁迫 Plant growth promotion, mitigating biotic and abiotic stress	水稻种子 Seeds of <i>Oryza sativa</i>	[29]
	减轻重金属毒性，促进植物生长 Mitigating metal toxicity, plant growth promotion	烟草种子 Seeds of <i>Nicotiana tabacum</i>	[30]
<i>Pantoea</i>	促进植物生长，光合产物分配 Plant growth, photosynthates allocations	水稻种子 Seeds of <i>O. sativa</i>	[31]
	固氮作用 Nitrogen fixing	甘蔗植株 Plant of Sugarcane	[32]
	磷增溶作用 Phosphate solubilizing	木薯根 Root of <i>Manihot esculenta</i>	[33]
<i>Escherichia-shigella</i>	影响高尔基体功能 Affects golgi function	—	[34]
	抗炎作用 Anti-inflammatory function	—	[35]
<i>Stenotrophomonas</i>	促进植物生长，缓解生物和非生物胁迫 Plant growth promotion, mitigating biotic and abiotic stress	水稻种子 Seeds of <i>O. sativa</i>	[29]
	减轻重金属毒性，促进植物生长 Mitigating metal toxicity, plant growth promotion	烟草种子 Seeds of <i>N. tabacum</i>	[36]
<i>Erwinia</i>	—	玉米种子 Seeds of <i>Zea mays</i>	[37]
<i>Enterobacter</i>	—	水稻种子 Seeds of <i>O. sativa</i>	[20]
<i>Sanguibacter</i>	减轻重金属毒性，促进植物生长 Mitigating metal toxicity, plant growth promotion	烟草种子 Seeds of <i>N. tabacum</i>	[36]
<i>Serratia</i>	抗真菌作用 Antifungal activity	南瓜 <i>Cucurbita pepo</i>	[38]
<i>Ochrobactrum</i>	减轻重金属毒性，促进植物生长 Mitigating metal toxicity, plant growth promotion	耐盐植物 Halotolerant plants	[39]
	—	羽扇豆根瘤 Nodulation of <i>Lupinus albus</i>	[40]
	促进植物生长，缓解生物和非生物胁迫 Plant growth promotion, mitigating biotic and abiotic stress	水稻种子 Seeds of <i>O. sativa</i>	[29]
<i>Massilia</i>	植物生长促进，植物激素和代谢产物的生产 Plant growth promotion, phytohormone and metabolite production	蚕豆种子 Seeds of <i>Tylosema esculentum</i>	[19]

表9 本研究发现的前10种真菌属的起源和功能的先前报告
Table 9 Previous reports on the origin and function of the top 10 fungal genera identified in this study

优势真菌菌群 Fungal genera	真菌功能 Functions of fungi	来源 Origin	文献 Reference
<i>Botrytis</i>	–	矢车菊植株 Plant of <i>Centaurea nigra</i>	[41]
	作为病原菌侵害植物 Plant pathogenic	–	[42]
<i>Didymella</i>	抗真菌作用 Antifungal activity	–	[43]
<i>Bullera</i>	苦参碱生产 Matrine producing	苦豆种子 Seed of <i>Sophora alopecuroides</i>	[44]
<i>Epichloë</i>	诱导叶鞘中的水分保持 Induce greater water retention in the leaf sheath	禾草植物 Plant of <i>Graminea</i>	[45]
	提高植物对食草动物和逆境抵抗力 Improved resistance to herbivores and environmental stresses	高羊茅植株 Plant of <i>Alta fescue</i>	[46]
	提高寄主植物的生长和光合作用 Improved host plant growth and photosynthesis	鸭茅植株 Plant of <i>Dactylis glomerata</i>	[47]
<i>Leptosphaeria</i>	–	青蒿植株 Plant of <i>Artemisia carvifolia</i>	[48]
<i>Mycosphaerella</i>	造成冬小麦减产 Resulting in reduced winter wheat production	小麦植株 Plant of <i>Triticum aestivum</i>	[49]
	–	柠檬叶子 Leaves of <i>Citrus limon</i>	[50]
	–	褐藻类植物 Plant of <i>Phaeophyta</i>	[51]
<i>Phoma</i>	种子萌发与幼苗生长改良 Seed germination and seedling growth improvement	芦苇种子 Seeds of <i>P. australis</i>	[6]
<i>Cryptococcus</i>	种子萌发与幼苗生长改良 Seed germination and seedling growth improvement	芦苇种子 Seeds of <i>Phragmites</i>	[6]
	–	水稻叶片 Leaves of <i>O. sativa</i>	[52]
<i>Plenodomus</i>	干旱条件下促进沙棘生长的研究 Promoting the growth of <i>Ammopiptanthus mongolicus</i>	裸果木 <i>Gymnocarpus przewalskii</i>	[53]
<i>Simplicillium</i>	控制线虫 Nematode control	–	[54]

Escherichia-Shigella 在玉米种子中也有发现^[57]; *Stenotrophomonas* 曾被报道作为内生菌存在于玉米与棉花 (*Gossypium* spp.) 中^[58]。此外, Ascomycota (77.8%) 和 Basidiomycota (20.1%) 是植物种子优势真菌门。Clay 和 Holah^[59] 的研究证明 Ascomycota 是高羊茅 (*Festuca elata*) 植物内丰富度最高的内生真菌, Basidiomycota 被证明是种子中的优势真菌, 与本研究结果不同, 可能是由于内生菌特异性垂直传播造成的差异。另外, 在真菌属水平上, *Botrytis* 占了植物种子内生真菌微生物组的 20.7%, *Didymella* 占了 11.0%, 另外两个主要类别是 *Bullera* (5.4%) 和 *Epichloë* (4.5%)。 *Botrytis* 在 8 种植物中相对丰度最高, 是一种广泛的致病菌^[60]; *Didymella*

的相对丰度仅次于 *Botrytis*, 有报道该菌是从小麦叶片上分离出来的一种致病菌^[61]; *Bullera* 曾被报道作为内生菌存在于矢车菊 (*Centaurea cyanus*) 中^[41], 能够产生苦参碱, 保护寄主植物免受各种病虫害侵扰^[44]; *Epichloë* 仅存在于垂穗披碱草种子中, 这与先前的报道结果类似: *Epichloë* 作为内生菌大部分存在于禾本科植物中。内生真菌相比于内生细菌更加具有特异性, 它可以和寄主植物形成特定的内生真菌共生体共同受益, 并通过垂直传播使后代受益^[62]。

α 多样性分析表明, 8 种草地植物种子内生菌群丰富度无显著差异 ($P > 0.05$), 均匀度存在显著差异 ($P < 0.05$); 真菌群落多样性存在显著差异 ($P <$

0.05)。PCA 和 ANOSIM 分析表明, 植物个体特征对种子微生物群落有显著影响。然而, 也有一些植物的种子微生物群落结构相似。Truyens 等^[5] 学者的研究解释了这一现象: 在植物生长的过程中, 由于宿主植物的不同, 细菌选择性地从环境中被吸收, 组成内生菌群, 从中再次选择下一代种子内生菌。Johnston-Monje 和 Raizada^[6] 也指出, 细菌内源群落的建立不仅基于土壤的被动进入, 而且基于选择性土壤吸收和利用种子进行的垂直传播。对于内生真菌, 先前有报道证明内生菌通常与寄主植物形成特定内共生体, 并通过种子垂直传播^[41]。Billingsley Tobias 等^[63] 发现大量致病真菌与植物物种间种子内生菌群变异结合在一起, 表明与种子相关的真菌因植物物种的不同而不同, 本研究结果与之相似。Shahzad 等^[64] 的研究解释了这一现象: 内生真菌可以通过垂直传播, 特异性选择对植物有益的内生菌传递给种子后代, 因此造成了种子内生菌因宿主植物不同而出现的差异。Sánchez-López 等^[65] 表示, 核心微生物组变化取决于环境的变化, 与本研究结果不同, 产生不同的原因可能是试验选取的样地富含金属元素, 属于极端环境条件下的微生物多样性的变化。Hameed 等^[66] 研究表明4种水稻品种内生细菌存在差异, 与本研究结果相似, 同时其也证明土壤是引起内生菌差异变化的因素, 但本研究中由于8种草地植物均来自同一地区, 因此我们推测除土壤因素外, 宿主植物的个体差异也可能是影响种子内生菌多样性的原因之一。

尽管不同植物种子微生物组之间存在显著差异, 但种子相关的微生物组包含一些共有微生物类群。本研究发现, 青藏高原8种植物种子共有的内生细菌属是 *Pseudomonas*、*Pantoea* 和 *Ochrobactrum*, 共有的真菌属是 *Didymella*、*Botrytis* 和 *Bullera*, *Pseudomonas* 属的优势在共有细菌核心类群中尤为明显。为了测试草地植物与其他作物的一致性, 将本研究结果与 Chen 等^[13] 的研究进行比较。Chen 等^[13] 的研究结果显示, *Pseudomonas*、*Pantoea* 和 *Sphingomonas* 是玉米、豆类、水稻和丹参 (*Salvia miltiorrhiza*) 的共有内生细菌; 丹参、十字花科植物与大豆的共有种子内生真菌是 *Alternaria*。由此得出, 作物与草地植物的种子核心细菌群存在一

定的相似性, 而真菌则有所不同。近年来, 许多研究表明, *Pseudomonas* 属真菌广泛分布于植物的根际和植物内部, 并能促进植物生长和根系发育^[67-68]。从水稻^[69]、玉米^[70] 和小麦^[26] 分离得到的 *Pantoea* 菌株有较好的拮抗活性。*Ochrobactrum* 是水稻中的优势属, 具有促进植物生长, 减轻生物和非生物胁迫的作用^[29]。关于共有的真菌核心类群, *Didymella* 是共有真菌核心类群中丰度最高的菌, 是一种致病菌, 且对杀菌剂具有抗性^[71]; *Botrytis* 可以导致植物地上部分的软腐烂^[42]; *Bullera* 可以产生低聚半乳糖, 为植物生长提供营养物质^[72]。在共有真菌核心类群中, 物种丰度最高的两个属都是致病菌, 但是有研究发现大量的致病真菌与寄主植物内生菌群特异性的结合在一起, 为植物生长发育提供有利条件^[63]。

本研究对8种草地种子微生物群的特征进行了研究, 为今后进一步探索更好的植物-微生物相互作用提供了广阔的前景。植物的遗传变异性是培育新品种的关键因素, 植物育种工作者只考虑传统的植物基因组学。然而, 植物生物学的新进展表明, 植物相关微生物的可遗传性为植物的遗传变异提供了新的基础^[73-74]。种子内生菌是建立植物内生菌群的基础^[63], 可能为寄主植物的生长发育和植物保护提供许多益处^[7, 75]。在8种草地植物中, 发现种子微生物特有菌群和共有菌群存在差异, 表明植物个体特征与种子微生物群落有着密切的联系。识别和理解在各种植物中建立的这种密切联系且使之在种子中积累, 对于开发农业中有益的植物微生物相互作用和新品种的培育是至关重要的^[3]。此外, Berg 和 Raaijmakers^[76] 认为, 在过去的几十年, 传统植物育种仅考虑植物遗传变异和种子处理, 可能造成当地有益种子微生物的损失。结合参考本研究结果, 有助于将野生亲缘植物中缺失的有益微生物恢复到子代品种的种子中。本研究中青藏高原8种草地物种的内生细菌和真菌特征将有利于未来对潜在种子微生物群落调控, 维持草地生产力。

4 结论

本研究结果证实多种内生细菌和内生真菌 (115个细菌属和135个真菌属) 存在于青藏高原高寒草甸8种植物种子中, 且细菌和真菌群落均存在

显著差异。细菌变形杆菌门 (Proteobacteria) 和真菌子囊菌门 (Ascomycota) 在各植物种子中占优势。在 8 种草地植物的种子中有其独特的细菌和真菌属, 也有一些有利于植物生长的核心微生物组。

研究表明, 8 种草地植物的个体特征是塑造种子微生物群落的重要因素, 将有助于今后探索潜在的种子微生物功能, 提高草地生产力, 维持草地健康。

参考文献 References:

- [1] 柴锦隆, 徐长林, 鱼小军, 肖红, 张建文, 杨海磊, 郭银潇, 潘涛涛. 不同改良措施对退化高寒草甸土壤种子库的影响. *草原与草坪*, 2016, 36(4): 34-40.
CHAI J L, XU C L, YU X J, XIAO H, ZHANG J W, YANG H L, GUO Y X, PAN T T. Effects of various rangeland improvements on soil seed bank on degraded alpine meadow. *Grassland and Turf*, 2016, 36(4): 34-40.
- [2] SHANG Z H, GIBB M J, LEIBER F, ISMAIL M, DING L M, GUO X S, LONG R J. The sustainable development of grassland-livestock systems on the Tibetan plateau: Problems, strategies and prospects. *The Rangeland Journal*, 2014, 36(3): 267-296.
- [3] ADAM E, BERNHART M, MÜLLER H, WINKLER J, BERG G. The *Cucurbita pepo* seed microbiome: Genotype-specific composition and implications for breeding. *Plant and Soil*, 2018, 422(1/2): 35-49.
- [4] SHADE A, JACQUES M A, BARRET M. Ecological patterns of seed microbiome diversity, transmission, and assembly. *Current Opinion in Microbiology*, 2017, 37: 15-22.
- [5] LOPEA-VELASCO G, CARDER P A, WELBAUM G E, PONDER M A. Diversity of the spinach (*Spinacia oleracea*) spermosphere and phyllosphere bacterial communities. *Fems Microbiology Letters*, 2013, 346(2): 146-154.
- [6] JOHNSTON-MONJE D, RAIZADA M N. Conservation and diversity of seed associated endophytes in *Zea* across boundaries of evolution, ethnography and ecology. *PLoS One*, 2011, 6(6): e20396.
- [7] TRUYENS S, WEYENS N, CUYPERS A, VANGRONSVELD J. Bacterial seed endophytes: Genera, vertical transmission and interaction with plants. *Environmental Microbiology Reports*, 2015, 7(1): 40-50.
- [8] SHEARIN Z R C, FILLIPEK M, DESAI R, BICKFORD W A, KOWALSKI K P, CLAY K. Fungal endophytes from seeds of invasive, non-native *Phragmites australis* and their potential role in germination and seedling growth. *Plant and Soil*, 2018, 422(1/2): 183-194.
- [9] LINKS M G, DEMEKE T, GRAFENHAN T, HILL J E, HEMMINGSEN S M, DUMONCEAUX T J. Simultaneous profiling of seed-associated bacteria and fungi reveals antagonistic interactions between microorganisms within a shared epiphytic microbiome on *Triticum* and *Brassica* seeds. *New Phytologist*, 2014, 202(2): 542-553.
- [10] MANO H, TANAKA F, WATANABE A, KAGA H, OKUNISHI S, MORISAKI H. Culturable surface and endophytic bacterial flora of the maturing seeds of rice plants (*Oryza sativa* L.) cultivated in a paddy field. *Microbes and Environments*, 2006, 21(2): 86-100.
- [11] KLAEDTKE S, JACQUES M A, RAGGI L, PRÉVEAUX A, BONNEAU S, NEGRI V, CHABLE V, BARRET M. Terroir is a key driver of seed-associated microbial assemblages. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(6): 1792-1804.
- [12] MIDHA S, BANSAL K, SHARMA S, KUMAR N, PATIL P, CHAUDHRY V, PATIL P B. Genomic resource of rice seed associated bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 6: 1551.
- [13] CHEN H, WU H, YAN B, ZHAO H, LIU F, ZHANG H, SHENG Q, MIAO F, LIANG Z. Core microbiome of medicinal plant *Salvia miltiorrhiza* seed: A rich reservoir of beneficial microbes for secondary metabolism? *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(3): 672-683.
- [14] SHAHZAD R, WAQAS M, KHAN A L, ALHOSNI K, KANG S M, SEO C W, LEE I J. Indoleacetic acid production and plant growth promoting potential of bacterial endophytes isolated from rice (*Oryza sativa* L.) seeds. *Acta Biologica Hungarica*, 2017, 68(2): 175-186.
- [15] AB RAHMAN S F S, SINGH E, PIETERSE C M, SCHENK P M. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Science*, 2018, 267: 102-111.
- [16] RUIZA D, AGARAS B, WERRAB P D, WALL L G, VALVERDE C. Characterization and screening of plant probiotic traits of bacteria isolated from rice seeds cultivated in Argentina. *The Journal of Microbiology*, 2011, 49: 902-912.
- [17] FARIA D C, DIAS A C F, MELO I S, DE CARVALHO COSTA F E. Endophytic bacteria isolated from orchid and their potential

- to promote plant growth. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2013, 29(2): 217-221.
- [18] XU M, SHENG J, CHEN L, MEN Y, GAN L, GUO S, SHEN L. Bacterial community compositions of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds and plant growth promoting activity of ACC deaminase producing *Bacillus subtilis* (HYT-12-1) on tomato seedlings. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2014, 30(3): 835-845.
- [19] CHIMWAMUROMBE P M, GRÖNEMEYER J L, REINHOLD-HUREK B. Isolation and characterization of culturable seed-associated bacterial endophytes from gnotobiotically grown Marama bean seedlings. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, 92(6): 083.
- [20] COTTYN B, REGALADO E, LANOOT B, CLEENE M D, MEW T W, SWING J. Bacterial populations associated with rice seed in the tropical environment. *Phytopathology*, 2001, 91(3): 282-292.
- [21] REZKI S, CAMPION C, SIMONEAU P, JACQUES M, SHADE A, BARRET M. Assembly of seed-associated microbial communities within and across successive plant generations. *Plant and Soil*, 2018, 422(1/2): 67-79.
- [22] WHITE J F, KINGSLEY K I, KOWALSKI K P, IRIZARRY I, MICCI A, SOARES M A, BERGEN M S. Disease protection and allelopathic interactions of seed-transmitted endophytic pseudomonads of invasive reed grass (*Phragmites australis*). *Plant and Soil*, 2017, 422(1/2): 195-208.
- [23] HAMEEDA B, HARINI G, RUPELA O P, WANI S P, REDDY G. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiological Research*, 2008, 163(2): 234-242.
- [24] KAGA H, MANO H, TANAKA F, WATANABE A, KANEKO S, MORISAKI H. Rice seeds as sources of endophytic bacteria. *Microbes and Environments*, 2009, 24(2): 154-162.
- [25] HUNG P Q, KUMAR S M, GOVINDSAMYV, ANNAPURNA K. Isolation and characterization of endophytic bacteria from wild and cultivated soybean varieties. *Biology and Fertility of Soils*, 2007, 44(1): 155-162.
- [26] RUDGERS J A, AFKHAMI M E, RÚA M A, DAVITT A J, SAMANTHA H, HUGUET V M. A fungus among us: Broad patterns of endophyte distribution in the grasses. *Ecology*, 2009, 90(6): 1531-1539.
- [27] MANO H, MORISAKI H. Endophytic bacteria in the rice plant. *Microbes and Environments*, 2008, 23(2): 109-117.
- [28] 孙义. 高寒草甸-藏羊放牧系统土草畜互作特征. 兰州: 兰州大学博士学位论文, 2015.
SUN Y. Interactions of soil-herbage-livestock in alpine meadow-Tibetan sheep grazing system, Qinghai-Tibetan Plateau. PhD Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2015.
- [29] HARDOIM P R, HARDOIM C, VAN OVERBEEK L S, VAN ELSAS J D. Dynamics of seed-borne rice endophytes on early plant growth stages. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30438.
- [30] MASTRETTA C, TAGHAVI S, VAN DER LELIE D, MENGONI A, GALARDI F, GONNELLI C, BARAC T, BOULET J, WEYENS N, VANGGRONSVELD J. Endophytic bacteria from seeds of *Nicotiana tabacum* can reduce cadmium phytotoxicity. *International Journal of Phytoremediation*, 2009, 11(3): 251-267.
- [31] FENG Y, SHEN D, SONG W. Rice endophyte *Pantoea agglomerans* YS19 promotes host plant growth and affects allocations of host photosynthates. *Journal of Applied Microbiology*, 2006, 100(5): 938-945.
- [32] LOIRET F G, ORTEGA E, KLEINER D, ORTEGA-RODES P, RODES R, DONG Z. A putative new endophytic nitrogen-fixing bacterium *Pantoea* sp. from sugarcane. *Journal of Applied Microbiology*, 2004, 97(3): 504-511.
- [33] CHEN H, JIANG W. Application of high-throughput sequencing in understanding human oral microbiome related with health and disease. *Frontiers in Microbiology*, 2014, 5: 00508.
- [34] MOUNIER J, BONCOMPAIN G, SENEROVIC L, LAGACHE T, CHRTIEN F, PEREZ F, KOLBE M, OLIVO-MARIN J C, SANSONETTI P J, SAUVONNET N. Shigella effector IpaB-induced cholesterol relocation disrupts the Golgi complex and recycling network to inhibit host cell secretion: Cell host and microbe. *Cell Host and Microbe*, 2012, 12(3): 381-389.
- [35] MARTEYN B, GAZI A, SANSONETTI P. Shigella: A model of virulence regulation in vivo. *Gut Microbes*, 2012, 3(2): 104-120.
- [36] MASTRETTA C, BARAC T, VANGGRONSVELD J, NEWMAN L, TAGHAVI S, VAN D L D. Endophytic bacteria and their potential application to improve the phytoremediation of contaminated environments. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 2006, 23(1): 175-188.
- [37] ROSENBLUETHM, LÓPEZ-LÓPEZ A, MARTÍNEZ-ROMERO J, ROGEL M A, TOLEDO I. Seed bacterial endophytes: Common genera, seed-to-seed variability and their possible role in plants. *Acta Horticulturae*, 2012, 938(938): 39-48.
- [38] FÜRNKRANZ M, LUKESCH B, MÜLLER H, HUSS H, GRUBE M, BERG G. Microbial diversity inside pumpkins: Microhabitat-specific communities display a high antagonistic potential against phytopathogens. *Microbial Ecology*, 2012, 63(2): 418-428.

- [39] BIAN G, ZHANG Y, QIN S, XING K, XIE H, JIANG J. Isolation and biodiversity of heavy metal tolerant endophytic bacteria from halotolerant plant species located in coastal shoal of Nantong. *Acta Microbiologica Sinica*, 2011, 51(11): 1538-1547.
- [40] TRUJILLO M E, WILLEMS A, ABRIL A, PLANCHUELO A, RIVAS R, LUDEÑA D, MATEOS P F, MARTÍNEZ -MOLINA E, VELÁZQUEZ E. Nodulation of *Lupinus albus* by strains of *Ochrobactrum lupini* sp. nov. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 3(71): 1318-1327.
- [41] HODGSON S, CATES D C, HODGSON J, MORLEY N J, SUTTON B C, GANGE A C. Vertical transmission of fungal endophytes is widespread in forbs. *Ecology and Evolution*, 2014, 4(8): 1199-1208.
- [42] WILLIAMSON B, TUDZYNSKI B, TUDZYNSKI P, VAN KAN J A. *Botry tiscinerea*: The cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 2010, 8(5): 561-580.
- [43] FIORI A C G, ESTRADA K R F S, STANGARLIN J R, VIDA J B, SCAPIM C A, CRUZ M E S, PASCHOLATI S F. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. *Journal of Phytopathology*, 2000, 148(7/8): 483-487.
- [44] YU Y T, HE S H, ZHAO Q M. Isolation and identification of matrine-producing fungal endophytes from *Sophora alopecuroides* in Ningxia. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(13): 2643-2654.
- [45] ELBERSEN H W, WEST C P. Growth and water relations of field-grown tall fescue as influenced by drought and endophyte. *Grass and Forage Science*, 2010, 51(4): 333-342.
- [46] YOUNG C A, HUME D E, MCCULLEY R L. Forages and pastures symposium: Fungal endophytes of tall fescue and perennial ryegrass: Pasture friend or foe? *Journal of Animal Science*, 2013, 91(5): 2379-2394.
- [47] ROZPADEK P, WEŻOWICZ K, NOSEK M, WAŻNY R, TOKARZ K, LEMBICZ M, MISZALSKI Z, TURNAU K. The fungal endophyte *Epichloë typhina* improves photosynthesis efficiency of its host orchard grass (*Dactylis glomerata*). *Planta*, 2015, 242(4): 1025-1035.
- [48] LIU J Y, LIU C H, ZOU W X, TIAN X, TAN R X. *Leptosphaerone*, a metabolite with a novel skeleton from *Leptosphaeria* sp. IV403, an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Helvetica Chimica Acta*, 2002, 85(9): 2664-2667.
- [49] SHAW M W, ROYLE D J. Estimation and validation of a function describing the rate at which *Mycosphaerella graminicola* causes yield loss in winter wheat. *Annals of Applied Biology*, 1989, 115(3): 425-442.
- [50] DOUANLA-MELI C, LANGER E, TALONTSI MOUAFI F. Fungal endophyte diversity and community patterns in healthy and yellowing leaves of *Citrus limon*. *Fungal Ecology*, 2013, 6(3): 212-222.
- [51] FRIES N. Physiological characteristics of *Mycosphaerella ascophylli*, a fungal endophyte of the marine brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Physiologia Plantarum*, 1979, 45(1): 117-121.
- [52] TANTIRUNGKIJ M, NASANIT R, LIMTONG S. Assessment of endophytic yeast diversity in rice leaves by a culture-independent approach. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2015, 108(3): 633-647.
- [53] LI X, HE X, HOU L, REN Y, WANG S, SU F. Dark septate endophytes isolated from a xerophyte plant promote the growth of *Ammopiptanthus mongolicus* under drought condition. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 7896.
- [54] DONG Q, DONG R, XING X, LI Y. A new antibiotic produced by the cyanobacterium-symbiotic fungus *Simplicillium lanosoniveum*. *Natural Product Research*, 2018, 32(11): 1348-1352.
- [55] RIJAVEC T, LAPANJE A, DERMASTIA M, RUPNIK M. Isolation of bacterial endophytes from germinated maize kernels. *Canadian Journal of Microbiology*, 2007, 53(6): 802-808.
- [56] ESPINOSA-URGEAL M, SALIDO A, RAMOS J. Genetic analysis of functions involved in adhesion of *Pseudomonas putida* to seeds. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(9): 2363-2369.
- [57] LIU Y, ZUO S, ZOU Y, WANG J, SONG W. Investigation on diversity and population succession dynamics of endophytic bacteria from seeds of maize (*Zea mays* L., Nongda108) at different growth stages. *Annals of Microbiology*, 2013, 63(1): 71-79.
- [58] MCINROY J A, KLOPPER J W. Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. *Plant and Soil*, 1995, 173(2): 337-342.
- [59] CLAY K, HOLAH J. Fungal endophyte symbiosis and plant diversity in successional fields. *Science*, 1999, 285: 1742-1744.
- [60] AMSELEM J, CUOMO C A, VAN KAN J A, VIAUD M, BENITO E P, COULOUX A, COUTINHO P M, DE VRIES R P, DYER P S, FILLINGER S. Genomic analysis of the necrotrophic fungal pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. *PLoS Genetics*, 2011, 7(8): e1002230.

- [61] CROMEY M G, GANEY S, BRAITHWAITE M, BODDINGTON H J. *Didymella exitialis* on wheat in New Zealand. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 1994, 22(2): 139-144.
- [62] MENDES R, KRUIJT M, DE BRUIJN I, DEKKERS E, VAN DER VOORT M, SCHNEIDER J H, PICENO Y M, DE SANTIS T Z, ANDERSEN G L, BAKKER P A. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science*, 2011, 332(6033): 1097-1100.
- [63] BILINGSLEY TOBIAS T, FARRER E C, ROSALES A, SINGSABAUGH R L, SUDING K N, PORRAS-ALFARO A. Seed-associated fungi in the alpine tundra: Both mutualists and pathogens could impact plant recruitment. *Fungal Ecology*, 2017, 30: 10-18.
- [64] SHAHZAD R, KHAN A L, BILAL S, ASAF S, LEE I. What is there in seeds? Vertically transmitted endophytic resources for sustainable improvement in plant growth. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 00024.
- [65] SÁNCHEZ-LÓPEZ A S, THIJIS S, BECKERS B, GONZÁLEZ-CHÁVEZ M C, WEYENS N, CARRILLO-GONZÁLEZ R, VANGRONSVELD J. Community structure and diversity of endophytic bacteria in seeds of three consecutive generations of *Crotalaria pumila* growing on metal mine residues. *Plant and Soil*, 2018, 422(1/2): 51-66.
- [66] HAMEED A, YEH M, HSIEH Y, CHUNG W, LO C, YOUNG L. Diversity and functional characterization of bacterial endophytes dwelling in various rice (*Oryza sativa* L.) tissues, and their seed-borne dissemination into rhizosphere under gnotobiotic P-stress. *Plant and Soil*, 2015, 394(1/2): 177-197.
- [67] LUNDBERG D S, LEBEIS S L, SUR HERRERA P, SCOTT Y, JASE G, STEPHANIE M, JULIEN T, ANNA E, VICTOR K, TIJANA G D R. Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. *Nature*, 2012, 488: 86-90.
- [68] BULGARELLI D, ROTT M, SCHLAEPPI K, THEMAAT E V L V, AHMADINEJAD N, ASSENZA F, RAUF P, HUETTEL B, REINHARDT R, SCHMELZER E, PEPLIES J, GLOECKNER F O, AMANN R, EICKHORST T, SCHULZE-LEFERT P. Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature*, 2012, 488(7409): 91-95.
- [69] WU L, LIU R, NIU Y, LIN H, YE W, GUO L, HU X. Whole genome sequence of *Pantoea ananatis* R100, an antagonistic bacterium isolated from rice seed. *Journal of Biotechnology*, 2016, 225: 1-2.
- [70] SHEIBANI-TEZERJI R, NAVEED M, JEHL M A, SESSITSCH A, RATTEI T, MITTER B. The genomes of closely related *Pantoea ananatis* maize seed endophytes having different effects on the host plant differ in secretion system genes and mobile genetic elements. *Frontiers in Microbiology*, 2015(5): 00440.
- [71] KEINATH A P, ZITTER T A. Resistance to benomyl and thiophanate-methyl in *Didymella bryoniae* from South Carolina and New York. *Plant Disease*, 1998, 82(5): 479-484.
- [72] SHIN H, PARK J, YANG J. Continuous production of galacto-oligosaccharides from lactose by *Bullera singularis* β -galactosidase immobilized in chitosan beads. *Process Biochemistry*, 1998, 33(8): 787-792.
- [73] NOGALES M, HELENO R, RUMEU B, GONZÁLEZ CASTRO A, TRAVESET A, VARGAS P, OLESEN J M. Seed-dispersal networks on the Canaries and the Galápagos archipelagos: Interaction modules as biogeographical entities. *Global Ecology and Biogeography*, 2016, 25(7): 912-922.
- [74] GOPAL M, GUPTA A. Microbiome selection could spur next-generation plant breeding strategies. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 01971.
- [75] HARDOIM P R, VAN OVERBEEK L S, BERG G, ANNA MARIA PIRTILÄ, COMPANT S, CAMPISANO A, DÖRING M, SESSITSCH A. The hidden world within plants: Ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2015, 79(3): 293-320.
- [76] BERG G, RAAIJMAKERS J M. Saving seed microbiomes. *The International Society for Microbial Ecology Journal*, 2018, 12(5): 1167-1170.

(责任编辑 武艳培)