



黄萎病对棉花根内细菌组成和群落构建的影响

蔡洋, 李凯旋, 赵紫, 章凤玲, 王凤花, 孙瑞波

The impact of Verticillium wilt on community composition and assembly of cotton root endotrophic bacteria

QI Yang, LI Kaixuan, ZHAO Ziyue, ZHANG Fengling, WANG Fenghua, and SUN Ruibo

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12357/cjea.20240026>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

棉花根系和叶片质外体汁液分离方法的改进

Improved methods for separating apoplastic washing fluid from roots and leaves in cotton seedlings

中国生态农业学报(中英文). 2020, 28(6): 852–859

盐地碱蓬根际土壤细菌群落结构及其功能

The bacterial community structure and function of *Suaeda salsa* rhizosphere soil

中国生态农业学报(中英文). 2020, 28(10): 1618–1629

盐碱胁迫对黄瓜嫁接苗根际土壤细菌和真菌群落结构及丰度的影响

Effects of saline-alkali stress on structure and abundance of bacteria/fungi community in rhizosphere soil of grafted cucumber seedlings

中国生态农业学报(中英文). 2017, 25(11): 1626–1635

桑轮纹病发生区桑叶表面细菌群落结构在冠层内的分异

Differentiation in the bacterial community structure of mulberry leaf surfaces in the canopy where mulberry ring rot disease occurs

中国生态农业学报(中英文). 2021, 29(3): 520–530

设施种植模式对土壤细菌多样性及群落结构的影响

Effect of facility management regimes on soil bacterial diversity and community structure

中国生态农业学报(中英文). 2017, 25(11): 1615–1625

不同施肥方式下土壤氨氧化细菌的群落特征

Community characteristics of soil ammonia oxidizing bacteria after different fertilizer applications

中国生态农业学报(中英文). 2019, 27(1): 11–19



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

DOI: 10.12357/cjea.20240026

綦洋, 李凯旋, 赵紫玥, 章凤玲, 王凤花, 孙瑞波. 黄萎病对棉花根内细菌组成和群落构建的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2024, 32(7): 1183–1192

QI Y, LI K X, ZHAO Z Y, ZHANG F L, WANG F H, SUN R B. The impact of Verticillium wilt on community composition and assembly of cotton root endotrophic bacteria[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2024, 32(7): 1183–1192

## 黄萎病对棉花根内细菌组成和群落构建的影响\*

綦洋<sup>1†</sup>, 李凯旋<sup>1†</sup>, 赵紫玥<sup>1</sup>, 章凤玲<sup>1</sup>, 王凤花<sup>2</sup>, 孙瑞波<sup>1\*\*</sup>

(1. 安徽农业大学资源与环境学院/农田生态保育与养分资源高效利用安徽省重点实验室/自然资源部江淮耕地资源保护与生态修复重点实验室 合肥 230036; 2. 河北师范大学地理科学学院 石家庄 050024)

**摘要:** 大丽轮枝菌是一种土传半活体营养型植物病原真菌,其引起的黄萎病是影响我国乃至世界棉花生产的最主要因素之一。植物根内微生物种类繁多,对病原菌有重要的抵御作用。但目前对于病原菌感染影响植物根内微生物组成和群落构建的生态机制尚缺乏深入了解。本研究通过结合可培养和不可培养技术,研究了健康棉花植株和患黄萎病棉花植株根内细菌物种组成、多样性和群落构建的变化。结果发现,发病棉花根际细菌群落多样性与健康菌株相比无显著变化,但是物种组成发生了显著改变,表现为变形菌门、拟杆菌门与厚壁菌门相对丰度的增加和放线菌门、疣微菌门与粘菌门相对丰度的减少。在所有检测到的 4579 个 zOTU 中,83% 的 zOTU 是两个处理共有的,但是它们的相对丰度在两个处理中发生了较大变化,这是引起根内细菌群落变化的主要因素。指示物种分析(ISA)结果显示,健康棉花植株根内富集了假单胞菌属、红环菌科、莫拉氏菌科等类群,而患病植株根内富集了假单胞菌属、贪噬菌属和丛毛单胞菌科的物种和根瘤农杆菌等。在两组处理的棉花根内均检测到了大丽轮枝菌的拮抗菌 ABLF-8 菌株,但其相对丰度在患病植株中显著低于健康植株。Beta-NTI 和 beta 零模型分析结果显示确定性过程主导了棉花根内微生物群落的构建,但是其贡献在患病植株中显著降低,说明患病植株根内微生物群落组成的随机性更强。以上结果说明,大丽轮枝菌感染直接或间接地降低了棉花对根内微生物群落构建的影响,引起了大丽轮枝菌拮抗菌相对丰度的显著降低,从而导致根内微生物菌群的失衡,降低了根内微生物群落对大丽轮枝菌的拮抗能力,这可能是棉花黄萎病进一步发展的重要作用机制之一。

**关键词:** 棉花黄萎病; 大丽轮枝菌; 根内生细菌; 群落构建

**中图分类号:** Q89

## The impact of Verticillium wilt on community composition and assembly of cotton root endotrophic bacteria\*

QI Yang<sup>1†</sup>, LI Kaixuan<sup>1†</sup>, ZHAO Ziyue<sup>1</sup>, ZHANG Fengling<sup>1</sup>, WANG Fenghua<sup>2</sup>, SUN Ruibo<sup>1\*\*</sup>

(1. College of Resources and Environment, Anhui Agricultural University / Anhui Province Key Lab of Farmland Ecological Conservation and Nutrient Utilization / Key Laboratory of Jianghuai Arable Land Resources Protection and Eco-restoration, Ministry of Natural Resources, Hefei 230036, China; 2. School of Geographical Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China)

**Abstract:** *Verticillium dahliae* is a soil-borne, semi-living, vegetative, plant pathogenic fungus. Verticillium wilt, caused by *V. dahliae*,

\* 安徽省大学生创新创业训练计划项目(S202110364122)资助

\*\* 通信作者: 孙瑞波, 主要研究方向为微生物生态学、植物-微生物互作与微生物资源开发利用。E-mail: rbsun@ahau.edu.cn

† 共同第一作者: 綦洋, 主要研究方向为逆境与植物营养生理生态, E-mail: qiyang0528@163.com; 李凯旋, 主要研究方向为植物微生物互作机制与微生物资源开发, E-mail: kaixuanli@petalmail.com

收稿日期: 2024-01-18 接受日期: 2024-03-20

\* This study was supported by Anhui College Students Innovation and Entrepreneurship Training Program (S202110364122).

\*\* Corresponding author, E-mail: rbsun@ahau.edu.cn

† Equivalent contributors

Received Jan. 18, 2024; accepted Mar. 20, 2024

is one of the most important issues affecting cotton production worldwide. Root endophytes play an important role in plant resistance to pathogenic fungi. However, the impact of *Verticillium* wilt on the community composition and assembly of endophytic bacteria remains poorly understood. In this study, based on a long-term field experiment, changes in bacterial taxonomic composition, diversity, and community assembly processes in the roots of healthy and *Verticillium* wilt-diseased cotton plants were investigated using both cultivation-dependent and cultivation-independent technologies. High-throughput sequencing results showed that the diversity of the root endophytic bacteria was not significantly different between the two treatments. However, the taxonomic composition and community structure of the endophytic bacteria in diseased plant roots were significantly different from those in healthy plants. Compared with healthy plants, diseased plants contained significantly higher relative abundance of Proteobacteria, Bacteroidetota, and Firmicutes but lower relative abundance of Actinobacteriota, Verrucomicrobiota, and Myxococcota. Among the 4579 zOTUs detected in this study, 83% were shared between the two treatments; however, the relative abundance of these shared zOTUs was significantly different between the two treatments, which mainly contributed to the dissimilarity of bacterial communities between the two treatments. The biomarker species of the two treatments were identified using indicator species analysis (ISA). The healthy plants enriched zOTUs were assigned as *Pseudomonas*, Rhodocyclaceae, Moraxellaceae, and unidentified taxa in the roots, whereas the diseased plants enriched different zOTUs were assigned as *Pseudomonas*, *Variovorax*, *Comamonadaceae*, and *Agrobacterium tumefaciens*. An antagonistic bacterial strain, ABLF-8 (designated *Pseudomonas*), against *V. dahliae* was detected in the roots of both healthy and diseased cotton plants. However, its relative abundance was significantly lower in diseased plants than in healthy plants, indicating that the antagonistic effect against *V. dahliae* in the root endophytic bacterial community of diseased cotton plants was lower than that in healthy plants. The results of the beta-NTI and beta-null model analyses showed that the deterministic process dominated the bacterial community assembly in cotton roots; however, its contribution was significantly lower in diseased plants than in healthy plants, indicating that the randomness of bacterial community assembly in diseased plant roots was higher than that in healthy plant roots, and the regulation of endophytic bacterial communities by plant roots was weakened by *Verticillium* wilt. In summary, the results of this study indicated that *V. dahliae* infection directly or indirectly reduced the effect of cotton on the assembly of bacterial communities in roots and caused a significant decrease in the relative abundance of antagonistic taxa against *V. dahliae*. This led to an imbalance of microbial flora in roots and reduced the antagonism of the endophytic microbial community against *V. dahliae*, which may be one of the important reasons for the further development of *Verticillium* wilt.

**Keywords:** *Verticillium* wilt; *Verticillium dahliae*; Root endophyte; Community assembly

大丽轮枝菌 (*Verticillium dahliae*) 是一种土传半活体型病原真菌, 可侵染包括棉花 (*Gossypium* spp)、番茄 (*Solanum lycopersicum*)、橄榄 (*Canarium album*) 等在内的 600 多种植物, 对农业生产造成了巨大威胁<sup>[1]</sup>。棉花是世界上重要的油料和纤维作物, 大丽轮枝菌引起的黄萎病 (*Verticillium* wilt) 被称为“棉花癌症”, 已经成为影响棉花产量和品质的主要威胁之一<sup>[2-3]</sup>。中国是世界上棉花生产和消费最多的国家, 同时棉花也是仅次于谷类的第二大作物<sup>[4]</sup>。棉花通过棉籽、病株残体、土壤、肥料、水和农具等多种媒介感染大丽轮枝菌并引起黄萎病<sup>[5]</sup>。该病发生在棉花的整个生长期, 并在 7—8 月的开花结铃期达到高峰, 受感染的棉花叶片会逐渐变黄、枯萎和脱落, 从而导致棉铃小、落铃率高, 最终导致产量和品质下降<sup>[6]</sup>。2021 年, 黄萎病在中国造成的棉花损失占不同病害造成的损失总额的 32.49%, 是影响棉花生产的第一大病害<sup>[7]</sup>。同时, 棉田一旦发生黄萎病病害, 清除和恢复难度极大, 研究显示黄萎病棉花的 5 年平均损失挽回率远低于虫害和除棉铃病外的其他棉花病害<sup>[8]</sup>。另外, 近年来气候变化、长期单一栽培以及世界各个国家和地区棉花新品种或杂交品种的频

繁引进进一步加重了黄萎病危害<sup>[9]</sup>。因此, 防控棉花黄萎病已成为保证棉花生产的首要任务。

微菌核是大丽轮枝菌在土壤中的主要生存形态, 能耐极端温度和 pH 条件, 极难从土壤中清除<sup>[10-11]</sup>。微菌核萌发后, 触发植物根系的化学信号, 菌丝发育增殖, 部分菌丝分化形成一种特殊的菌丝层结构, 附着在根表面并穿透根皮。菌丝进入根内在伸长区迅速生长, 最终定殖并堵塞维管系统, 导致植株发育迟缓、萎蔫、变色和落叶等典型症状<sup>[12-14]</sup>。

植物在其组织内外都存在多样的微生物<sup>[15]</sup>。微生物的多样性和组成与植物抗病性密切相关<sup>[16]</sup>。其中, 内生微生物通常被定义为居住在植物内部的非致病性微生物<sup>[17]</sup>, 而植物根内生细菌 (*Endotrophic bacteria*) 是植物体内重要的微生物类群, 是植物健康和生产力的重要决定因素之一<sup>[18-20]</sup>。通常情况下, 根内生细菌对寄主植物的益处大于许多根际细菌, 当植物受到病原菌侵害时, 这种作用可能会更加显著<sup>[21]</sup>。由于病原菌与其他内生菌存在复杂的竞争和抑制等互作关系, 病原菌对植物体的入侵必然受到内生微生物的影响, 因此, 植物内生菌是植物抵御病原菌入侵或减轻病原菌危害的重要屏障之一。利用植物内

生菌抑制大丽轮枝菌是防控棉花黄萎病的重要手段。例如,有研究发现,用棉花根分离出的内生真菌 CEF818 (*Penicillium simplicissimum*) 和 CET-714 (*Lep-  
tosphaeria* sp.) 的真菌滤液对棉株种子进行浸泡 12 h 处理,可有效降低黄萎病发病率和病害指数<sup>[22]</sup>。Bai 等<sup>[23]</sup> 研究发现,从 48 株棉花内生枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 中筛选出的一株具有良好生防潜力的菌株 EBS03,能抑制大丽轮枝菌的生长和定殖水平,激活棉花对黄萎病的抗性,提高棉花产量。还有研究表明,用 4 株假单胞菌 (*Pseudomonas adaceae*) 和 HRO-C48 处理两种棉花种子,不仅使两种棉花的产量增加,而且降低了黄萎病的发生<sup>[24]</sup>。虽然我们在大丽轮枝菌生防微生物资源开发利用方面取得了长足进步,但是大多研究都是基于室内或小区实验,在实践生产中普遍存在适用性低、效果差的问题。

近些年来,随着微生物测序技术和生态分析方法的发展,对于内生菌的研究逐步转向了群落水平、微生物间的互作关系,以及病原菌、内生菌和宿主植物间的相互作用<sup>[25-27]</sup>。植物内生微生物通常会和植物建立相对稳定的互作关系,但是病原体的侵入,会通过改变植物组织结构、体内养分平衡等途径来改变植物和内生微生物的互作关系,进而影响植物内生微生物群落。例如,对健康水稻和感染稻瘟病水稻内生微生物群落的研究发现,在患病植株叶片和籽粒的组织中,微生物群落发生了显著变化,根瘤菌的相对丰度显著增加,而 *Tylospora*、*Clohesyomyces* 和青霉菌 (*Penicillium*) 相对丰度则显著减少<sup>[28]</sup>。Christakis 等<sup>[29]</sup> 从盐生植物内生菌群中鉴定了两个新的假单胞菌物种 (*Pseudomonas* spp.), 并发现二者能在植物体内抑制大丽轮枝菌的生长,还能通过促进作物生长和增强植物抗逆性来提高植物对病原菌的拮抗性。另外,病原菌与其他微生物也具有直接的相互作用,环境中存在多种对病原微生物具有抑制作用的微生物,病原微生物会通过分泌效应蛋白等方式来影响环境微生物群落,从而有利于其生存和侵染植物<sup>[30]</sup>。同时,有研究也发现,植物会招募益生微生物来调控自身免疫系统或富集拮抗菌来抑制病原微生物<sup>[31]</sup>。因此,研究病害对植物内生微生物群落的影响及其与病原菌的相互作用对植物病害防控至关重要。

土传病原体的生物防治长期以来一直是可持续农业的目标,但由于环境和微生物群落的复杂性,能够在实际生产中发挥效用的生物防治产品数量有限<sup>[32]</sup>。另外,环境本身就存在多种抑制病原微生物的菌株

资源,所以调控植物和环境的微生物群落构建,以发挥植物或环境本身微生物群落的抑菌效果被认为是更为有效的病害防控手段。这就要求我们必须充分了解植物或环境微生物群落构建机制及其他微生物与病原菌的互作机制。但目前对于病原体的侵染如何影响植物根内细菌群落构建和微生物间相互作用的认知还不够深入。本研究采用可培养和不可培养技术相结合的方法,分析了棉花黄萎病患病植株和健康植株根内细菌群落的差异,并解析了患病植株根内特征细菌类群及其与大丽轮枝菌的互作关系,同时分析了患病植株根内细菌群落构建过程的变化,研究结果将有助于了解植物内生微生物与植物健康的关系及内生微生物群落的构建机制,为防控植物病害、促进植物健康提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 样地与试验设计

试验样地位于新疆库尔勒市和什力克乡的农业部库尔勒农业有害生物观测试验站 (41°45'N, 85°48'E)。田间试验包括两个处理,分别为健康棉花苗圃和黄萎病患病苗圃。每个处理包含 5 个重复小区,小区间通过水泥墙隔开 (30 cm 高),防止病害传播。试验始于 2015 年,病圃每年进行大丽轮枝菌孢子接种,近 5 年棉花平均患病率为 99.85%。

### 1.2 样品采集及 DNA 提取

2022 年 7 月,分别采集健康苗圃和黄萎病患病苗圃棉花植株各 5 株,抖掉根部土壤,用清水冲洗根系两遍,再用纯水清洗两遍,后用 20% 的双氧水浸泡 30 min 杀菌。无菌水冲洗 4 次后晾干。液氮速冻后放入灭菌的研钵内研磨成粉末。将研磨后的粉末取适量并称重。采用 FastDNA SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, USA) 提取根系总 DNA。

### 1.3 细菌高通量测序和生物信息学分析

使用特异性引物对细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 区进行 PCR 扩增<sup>[33]</sup>。PCR 所用正向引物为 5'-GTGYCAGCMGCCGCGTAA-3',反向引物为 5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'。PCR 在 25 μL 体系中进行,包括: PCR premix 12.5 μL, DNA 模板 1 μL, 正反向引物各 1 μL, 无菌双蒸水 19.5 μL。扩增条件如下: 95℃ 预变性 10 min; 94℃ 变性 1 min, 55℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 30 个循环; 72℃ 后延伸 10 min。PCR 产物经电泳检测后使用 Illumina NovaSeq 平台进行高通量测序。

高通量数据的生物信息学分析主要使用 VSEARCH v2.27.0 软件完成<sup>[34]</sup>。使用 Cutadapt 4.7 软

件去除原始数据的接头序列和引物序列,然后拼接两端序列并去除低质量序列(平均碱基错误率不高于 0.001, fastq\_maxee\_rate=0.001)。使用 UNOISE3 算法(最低聚类序列数为 8)进行进一步去噪并生成 zOTU (zero-radius operational taxonomic unit), 使用 SINTAX (置信度 0.90) 对每个 zOTU 进行物种注释(数据库为 SILVA rRNA database, version 138)。删除非细菌 zOTU 后将 zOTU 表随机抽平至 76 000 条序列每样, 然后进行统计分析。以本样品的 zOTU 序列为数据库, 使用 VSEARCH 的全局搜索功能 (usearch\_global) 进行大丽轮枝菌拮抗菌 16S rRNA 序列与 zOTU 序列的相似性比对, 与拮抗菌序列相似度 100% 的 zOTU 认为是拮抗菌的 zOTU。

#### 1.4 统计分析

数据统计分析使用 R 4.0.2 软件完成。使用 Kruskal-Wallis 秩和检验确定变量在不同处理中的差异显著性。通过基于 Bray-Curtis 距离的非度量多维尺度分析 (non-metric multidimensional scaling, NMDS) 来比较处理间细菌群落的差异, 并使用 ANOSIM (analysis of similarity) 方法检验细菌群落差异的显著性。通过指示种分析 (indicator species analysis) 来确定各处理中的指示性物种。通过计算 beta-NTI (beta

nearest taxon index) 和 beta 零模型偏差来确定随机性过程和确定性过程对细菌群落构建的相对贡献。

## 2 结果与分析

### 2.1 黄萎病对棉花根内细菌群落组成和多样性的影响

健康和患病棉花植株根内细菌群落组成如图 1 所示。变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteriota) 和拟杆菌门 (Bacteroidota) 是棉花根内优势类群, 占到了总测序量的 93.31%。与健康棉花植株 (CK) 相比, 患病植株 (MB) 根内细菌群落发生了明显变化, 在门水平上表现为变形菌门、拟杆菌门和厚壁菌门 (Firmicutes) 相对丰度的增加和放线菌门、疣微菌门 (Verrucomicrobiota) 和粘菌门 (Myxococcota) 相对丰度的降低。NMDS 分析结果显示 (图 1b), 健康植株和患病植株呈现明显的分异, 同时 ANOSIM 结果显示两个处理的细菌群落具有显著差异 ( $R=0.4613$ ,  $P<0.05$ ), 说明黄萎病对棉花根内细菌群落产生了显著影响。使用 Chao1 指数评价两个处理细菌的多样性, 结果显示, 健康植株和患病植株细菌 Chao1 指数无显著差异 (图 1c), 说明黄萎病并未对棉花根内细菌  $\alpha$  多样性产生显著影响。

所有样品共检测到 4579 个 zOTU, 其中 3814 个

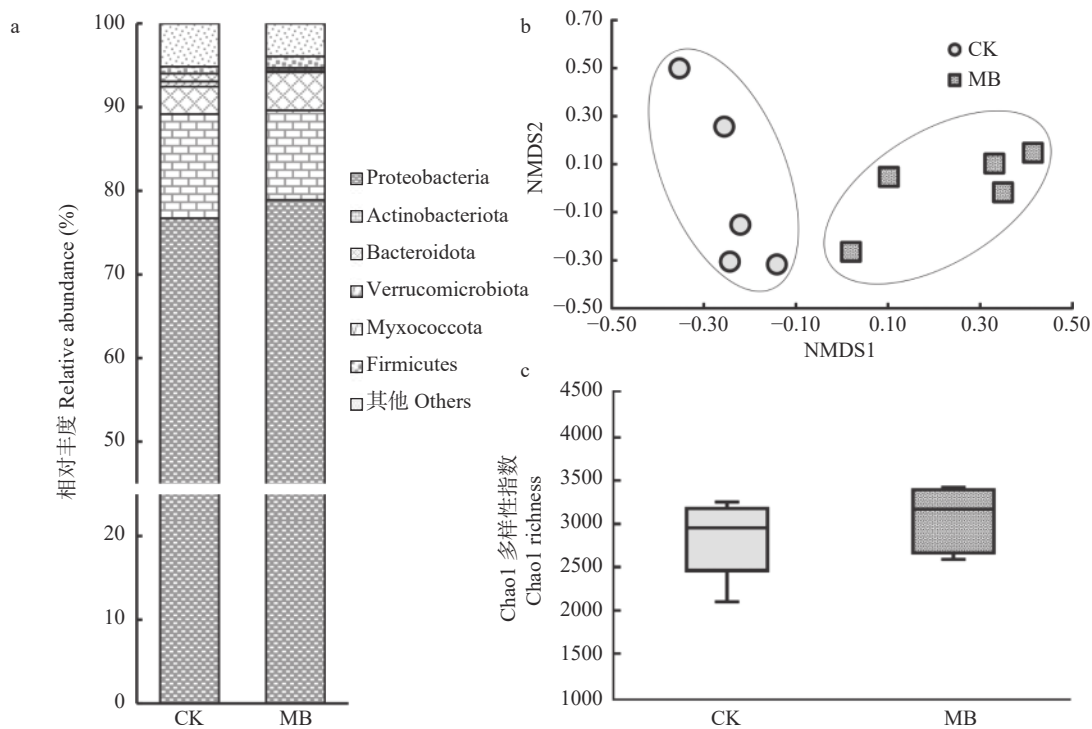


图 1 不同处理棉花根内细菌群落组成 (a)、NMDS 分析图 (b) 和多样性变化 (c)

Fig. 1 Community taxonomic composition (a), structure (b), and diversity (c) of endophytic bacteria in cotton root under different treatments

CK: 健康植株; MB: 患病植株。CK: healthy plant; MB: diseased plant.

zOTU 同时在健康和患病植株根内检测到, 说明这些 zOTU 在棉花根内的定殖没有受到棉花患病的影响, 是棉花根内的核心物种; 同时, 健康和患病植株根内分别具有 263 个和 502 个特有 zOTU (图 2a), 说明这些物种在棉花根内的定殖受棉花健康状况的影响。图 2b 显示了两个处理共有 (Shared) 和各自特有 (Unique) 的 zOTU 在健康和患病两个处理中的相对丰度。共有 zOTU 在健康和患病棉花植株根内细菌

群落中的相对丰度分别为 99.04% 和 98.44%, 而两个处理棉花特有的 zOTU 的相对丰度分别为 0.96% 和 1.56%。以上结果表明, 大部分检测到的细菌物种同时出现在健康和患病植株中, 但是患病植株根内具有较多的特有物种; 共有物种是根系细菌群落的优势核心物种, 不同处理细菌群落的变化主要是由共有物种的变化引起的, 特有物种对处理间群落差异的贡献度较低。

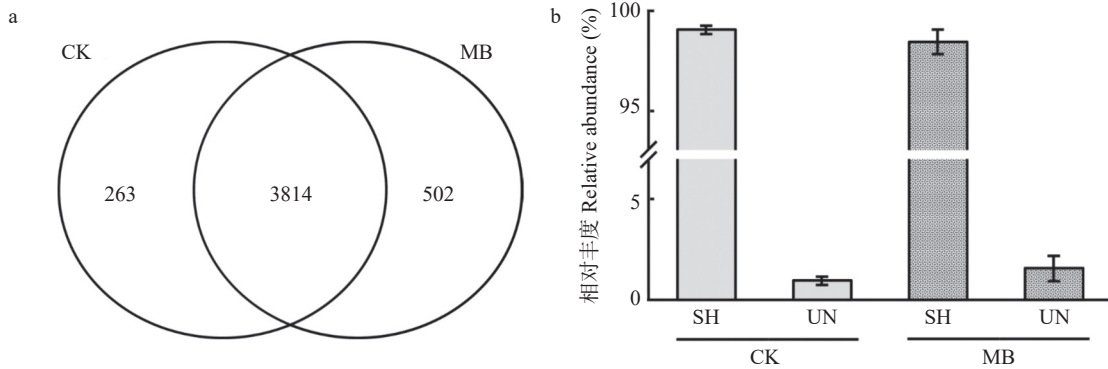


图 2 zOTU 在不同处理中的分布 (a) 以及共有 (SH) 和各自特有 (UN) 的 zOTU 在两个处理中的相对丰度 (b)  
Fig. 2 Distribution of zOTUs (a) and the relative abundance of the shared (SH) and unique (UN) zOTUs (b) under different treatments

CK: 健康植株; MB: 发病植株。CK: healthy plant; MB: diseased plant.

### 2.2 健康和患病棉花根内特征菌群

通过指示物种分析 (ISA) 解析了健康植株和患病植株根内细菌的特征菌群, 以确定两个处理间的关键差异物种 (图 3)。结果显示, 健康植株主要的指示物种包括假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、红环菌科 (Rhodocyclaceae)、莫拉氏菌科 (Moraxellaceae)、地下水假红育菌属 (*Pseudorhodiferax*)、包西氏菌属 (*Bosea*)、根瘤菌属 (*Rhizobium*)、柄杆菌属 (*Caulobacter*) 以及两个未鉴定的 zOTU。发病植株主要的指

示物种包括假单胞菌属、贪噬菌属 (*Variovorax*)、根瘤农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*)、根瘤菌科 (Rhizobiaceae)、丛毛单孢菌科 (Comamonadaceae)、根瘤菌属 (*Rhizobium*)、红环菌科 (Rhodocyclaceae) 以及一个未鉴定的 zOTU。

### 2.3 黄萎病对棉花根内大丽轮枝菌拮抗菌的影响

前期研究从样地土壤中分离获得了 88 株大丽轮枝菌的拮抗菌<sup>[35]</sup>, 通过序列比对, 在棉花根内检测到了属于假单胞菌属的拮抗菌 ABLF-8 菌株。体外拮

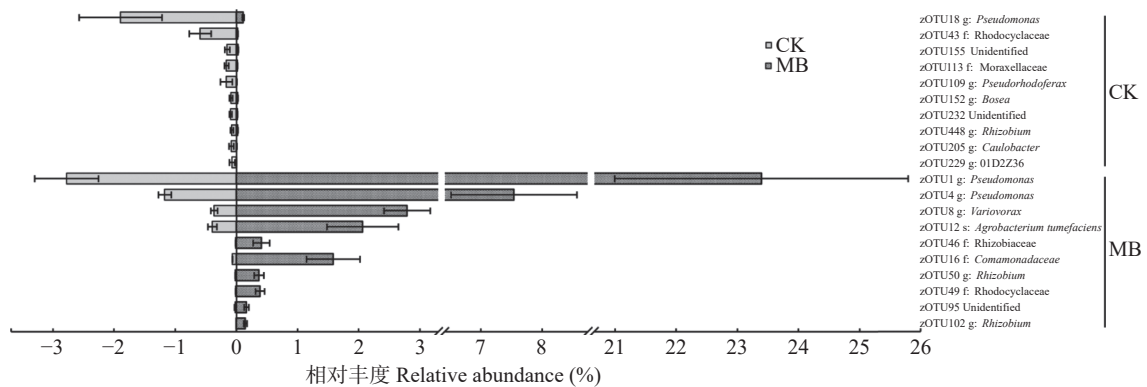


图 3 健康和发病棉花根内的指示物种及其相对丰度

Fig. 3 Indicator species and their relative abundances in healthy and diseased cotton root

CK: 健康植株; MB: 患病植株。f、g 和 s 分别表示科、属和种水平。CK: healthy plant; MB: morbid plant. f, g, and s indicate family, genus, and species, respectively.

抗实验表明,与单独培养的大丽轮枝菌 V991 菌株相比,与 ABLF-8 菌株共培养的 V991 菌株受到了明显的抑制作用(图 4)。健康和患病棉花植株根内均检测到了 ABLF-8 菌株,但其在健康棉花植株根内的相对丰度显著高于患病棉花植株,说明棉花患病后,植株根内抑制大丽轮枝菌的有益菌变少。

#### 2.4 黄萎病对棉花根内细菌群落构建的影响

为了研究棉花患病对根内细菌群落构建的影响,通过计算 beta NTI 和 beta 零模型偏差分析随机性过程和确定性过程在不同处理棉花植株根内细

菌群落构建中的贡献。结果显示, beta NTI 中位数(3.93)和均值(3.55)均大于 2(图 5A),说明确定性过程主导了健康和患病植株根内细菌群落的变化。健康和患病植株根内细菌群落的 beta-null 偏差值亦均为正值(图 5B),说明细菌群落与零模型构建的随机群落不同,表明确定性过程在棉花根内细菌群落构建中起重要作用;同时,患病植株根内细菌群落 beta-null 偏差值显著低于健康植株,说明确定性过程在患病植株根内细菌群落构建中的贡献显著低于健康植株。

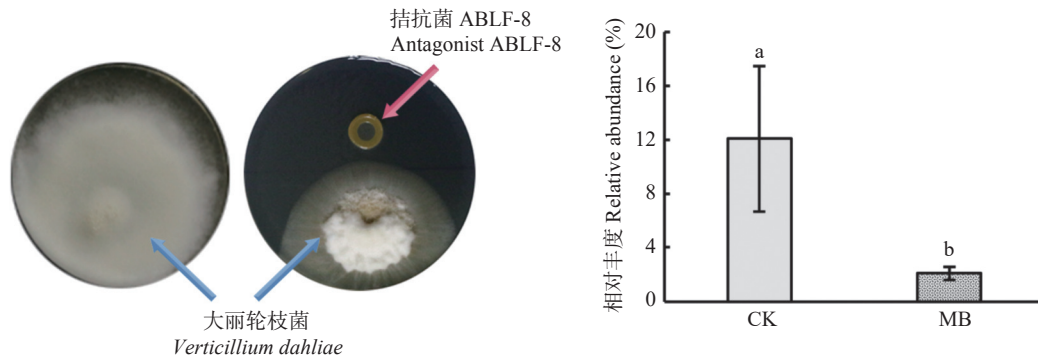


图 4 拮抗菌 ABLF-8 对大丽轮枝菌的拮抗作用及其在健康和发病棉花根内细菌群落的相对丰度

Fig. 4 Antagonistic effect of antagonist ABLF-8 against *Verticillium dahliae* and the relative abundance of ABLF-8 in healthy and diseased cotton root

CK: 健康植株; MB: 患病植株。小写字母表示处理间在  $P < 0.05$  水平差异显著。CK: healthy plant; MB: morbid plant. Different lowercase letters refer to significant differences between the two treatments at  $P < 0.05$  level.

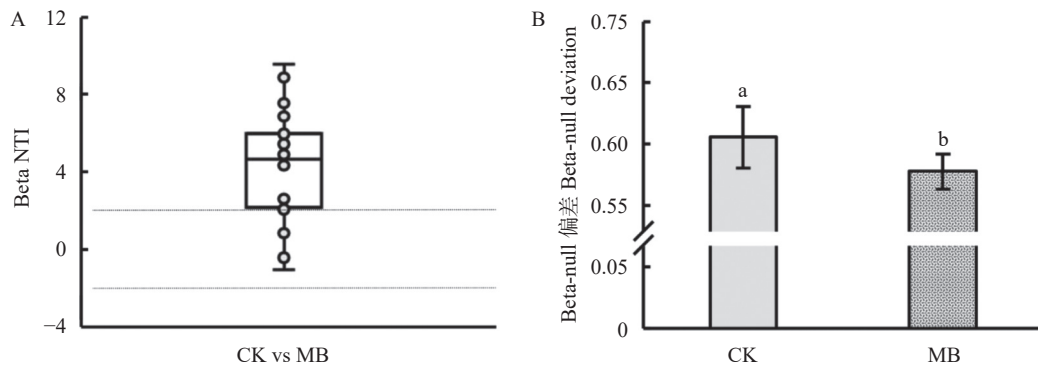


图 5 健康和患病棉花根内细菌群落的 Beta NTI 值 (A) 和 Beta-null 偏差 (B)

Fig. 5 Beta NTI (A) and abundance based beta-null deviation (B) for bacterial community in healthy and diseased cotton root

CK: 健康植株; MB: 患病植株; Beta NTI: Beta 最接近分类群指数。小写字母表示处理间在  $P < 0.05$  水平差异显著。CK: healthy plant; MB: morbid plant; Beta NTI: beta nearest taxon index. Different lowercase letters refer to significant differences between the two treatments at  $P < 0.05$  level.

### 3 讨论

棉花作为世界上重要的油料和纤维作物,具有很大的经济价值。棉花受到大丽轮枝菌侵染并引发黄萎病,导致棉花产量和品质严重下降<sup>[2-3]</sup>,每年造成巨大的经济损失<sup>[10]</sup>。大量研究表明,内生菌是植物病原体的潜在拮抗剂,它们在植物内部定殖、促进植

物生长和抑制病害的能力使其成为促进和保护作物生长的新工具<sup>[36]</sup>。了解植物内生菌的群落构建机制及内生菌与病原菌的互作关系将有利于促进植物内生微生物资源在植物病害防控方面的发展。

植物体生理活动是影响植物内生微生物群落的重要因素,而病原微生物的侵染会显著改变植物生

理活动。例如, 研究发现大丽轮枝菌在入侵初期, 会通过分泌几丁质脱乙酰酶 (VdPDA1) 来修饰几丁质寡糖, 以逃避宿主的免疫识别<sup>[37]</sup>; 在病原体定殖期间, 宿主体内的一些代谢过程可以被重新编程, 如在木质素和黄酮类化合物的合成过程中, 苯基丙烷类代谢产物起到对该代谢途径重新编程的作用, 以实现其在植物发育和植物-环境相互作用中的调节功能<sup>[38-39]</sup>。同时, 病原体侵染会诱导植物产生活性氧来进行防御<sup>[40]</sup>。病原菌侵染引起的代谢过程和代谢产物变化也显著改变植物根内微环境, 从而改变根内微生物群落组成。在本研究中, 患病棉花植株根内细菌群落与健康植株相比发生了显著变化, 可能与患病植株生理代谢的变化有关。

植物内生微生物对于植物健康具有重要意义。病原菌侵入植物体后, 也会和植物原有内生微生物产生复杂的相互关系。本研究发现, 患病棉花植株根内大丽轮枝菌拮抗菌的相对丰度显著降低 (图 4), 这意味着大丽轮枝菌侵染后, 棉花植株根内微生物群落对致病菌的拮抗能力下降, 从而导致黄萎病的进一步发展。另外, 患病棉花根内其他种类植物致病菌, 例如根癌农杆菌的相对丰度也显著提高, 说明不同种类的致病菌间可能存在协同作用。根癌农杆菌是土生植物病原体, 依靠由根组织渗透出的营养物质生存, 是普遍存在于土壤中的革兰氏阴性细菌, 能引起多种植物病害, 如根癌病, 其侵染植物时首先对受伤植物伤口部位分泌的酚类、糖类和酸类等物质产生趋化性, 在趋化作用的驱使下, 农杆菌会靠近并附着到受伤植物细胞表面, 进而侵入植物体并引起病害<sup>[41-42]</sup>。还有研究发现大丽轮枝菌侵染会导致植物根系分泌大量酚酸, 高浓度的酚酸对大丽轮枝菌生长具有明显的抑制作用<sup>[43]</sup>, 而根癌农杆菌可以利用酚酸类物质生长, 这可能促进了根癌农杆菌的繁殖和侵染, 同时, 根癌农杆菌对酚类物质的利用降低了酚酸浓度, 缓解了酚酸对大丽轮枝菌的抑制作用。

为了应对病原菌的侵染, 植物体也会通过一系列免疫反应来抑制病原体, 富集和招募益生菌也是其重要的策略之一。本研究发现患病棉花根内富集了高丰度的贪噬菌属菌株, 这是一种已被广泛报道的棉花内生细菌属<sup>[44-45]</sup>。虽然它们无法通过色氨酸合成植物激素 (IAA), 但研究发现它们参与调控植物-微生物的相互作用, 例如促进植物根际促生菌 (plant growth promoting rhizobacteria, PGPR) 的新陈代谢, 调控植物激素水平以影响根际微生物群落并促进根的生长。还有研究发现, 贪噬菌 (*Variovorax*

*paradoxus*) 可以增强植物抗病性和应激耐受性。例如, 贪噬菌在苏铁 (*Cycas revoluta* Thunb.) 的各个部位中均存在, 虽然相对丰度不高, 但可辅助苏铁在环境较为恶劣的地方生存<sup>[46]</sup>; 同时它作为植物生长促生菌, 在红烛 (*Anthurium andraeanum* Linden)<sup>[47]</sup>、大豆 [*Glycine max* (L.) Merr.]<sup>[48]</sup> 和甜菜 (*Beta vulgaris* L.) 等多种植物中均有发现, 可以增强寄主植物的抗病性和抗逆性<sup>[49-50]</sup>, 并有利于养分利用和同化<sup>[51-52]</sup>。患病棉花植株根内较高丰度的贪噬菌可能是棉花应对病原微生物侵染而调控内生微生物菌群的结果, 是为抵御病原菌采取的防御措施, 可能有利于棉花生长并促进对病原菌的抗性。假单胞菌是另一类被大量报道的植物促生菌<sup>[53-54]</sup> 和生防菌<sup>[55-58]</sup>, 可通过多种途径影响植物对病原菌的抗性。有研究发现, 从盐生植物新西兰菠菜 (*Spinacia oleracea* L.) 的叶和根中分离出的对大丽轮枝菌有拮抗活性的假单胞菌属, 能够合成 1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC) 脱氢酶来降低植物中乙烯含量<sup>[59]</sup>, 从而促进植物生长并提高植物抵御黄萎病的能力<sup>[60]</sup>。Montes-Osuna 等<sup>[61]</sup> 发现具有大丽轮枝菌拮抗作用的假单胞菌, 可以通过产生具有抗真菌活性和促进植物生长的挥发性有机物来发挥促生和提高植物抗病性的作用。本研究在棉花根内也发现了较高丰度的假单胞菌, 其中 ABLF-8 菌株具有明显的抑制大丽轮枝菌的能力, 但是其在发病植株根内相对丰度显著下降 (图 4), 同时, 我们也发现有的假单胞菌在患病植株根内显著富集 (图 3), 说明同属菌株可能存在生态位分异, 并对大丽轮枝菌侵染的响应不同, 进一步揭示植物和病原菌与这些菌株间的互作关系和机制将有利于黄萎病精准防控技术的开发。

植物内生微生物群落由植物内环境决定, 植物在其内生微生物群落构建中起着绝对的主导作用。微生物群落组装最初是由随机过程控制的, 局部环境的变化逐渐提高了确定性选择的重要性, 接着稳定环境的出现导致确定性选择的稳定水平, 植物在长期的进化过程中形成了复杂的免疫系统, 将有害微生物拒之门外, 允许共生和有益微生物定殖, 从而形成了植物与微生物间稳定的相互作用<sup>[62]</sup>。由于植物对内生微生物强烈的选择性作用, 导致植物内生微生物群落的构建由确定性过程决定。Beta NTI 和 beta 零模型的结果证实了棉花根内细菌群落的构建亦是确定性过程主导, 但是确定性过程的贡献在患病植株中显著降低, 说明患病棉花对根内细菌群落的调控能力下降, 所以导致了根内菌群的显著变化,



并使得原本在健康植株中不存在的细菌类群进入根内(图 2),这可能与患病后棉花根内生理代谢活动的变化有关。棉花植株对根内微生物调控能力的下降导致了根内菌群失调、微生态紊乱、原有拮抗菌丰度降低以及致病菌丰度增加,虽然植物增强了对某些益生菌的富集能力,但依然不足以改变植物根内整体菌群从健康免疫力强的状态转变为免疫力低的状态,无法逆转病害的进一步发展。

#### 4 结论

本研究解析了健康和黄萎病患病棉花植株根内细菌群落的差异。结果显示,患病植株根内细菌多样性与健康植株相比无显著差异,但是群落组成发生了显著变化,而且群落变化主要由优势菌群相对丰度的变化引起;患病植株根内富集了较高丰度的潜在致病菌,但是大丽轮枝菌拮抗菌的相对丰度则显著降低;进一步的分析发现,棉花根内细菌群落构建主要由确定性过程决定,但是确定性过程对患病植株根内细菌群落构建的贡献显著低于健康植株。以上结果说明大丽轮枝菌感染引起的黄萎病导致棉花对根内细菌群落构建的调控能力降低,使得病害菌富集,益生菌减少,从而使根内微生态失衡,这可能是黄萎病不断发展的重要机制之一。

#### 参考文献 References

- [1] FRADIN E F, THOMMA B P H J. Physiology and molecular aspects of *Verticillium* wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2006, 7(2): 71–86
- [2] HUISMAN O C. Interrelations of root growth dynamics to epidemiology of root-invading fungi[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1982, 20: 303–327
- [3] TSOROR L, LEVIN A G. Vegetative compatibility and pathogenicity of *Verticillium dahliae* kleb. isolates from olive in Israel[J]. *Journal of Phytopathology*, 2003, 151(7/8): 451–455
- [4] 卢秀茹, 贾肖月, 牛佳慧. 中国棉花产业发展现状及展望[J]. *中国农业科学*, 2018, 51(1): 26–36
- LU X R, JIA X Y, NIU J H. The present situation and prospects of cotton industry development in China[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(1): 26–36
- [5] 朱荷琴. 棉花主要病害研究概要[J]. *棉花学报*, 2007, 19(5): 391–398
- ZHU H Q. A summary of researches on main cotton diseases[J]. *Cotton Science*, 2007, 19(5): 391–398
- [6] AYELE A G, WHEELER T A, DEVER J K. Impacts of *Verticillium* wilt on photosynthesis rate, lint production, and fiber quality of greenhouse-grown cotton (*Gossypium hirsutum*)[J]. *Plants*, 2020, 9(7): 857
- [7] ZHU Y T, ZHAO M, LI T T, et al. Interactions between *Verticillium dahliae* and cotton: pathogenic mechanism and cotton resistance mechanism to *Verticillium* wilt[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1174281
- [8] 明坤, 闫硕. 近几年我国棉花主要病虫害发生及防控情况分析[J]. *棉花科学*, 2020, 42(3): 13–19, 26
- MING K, YAN S. Analysis of the occurrence and control of cotton main diseases and pests in China in recent years[J]. *Cotton Sciences*, 2020, 42(3): 13–19, 26
- [9] RANGA A D, KAK V, DARVHANKAR M S. Genetic and molecular research of resistance to wilt in cotton: a concise review[J]. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2020, 9(6): 2410–2422
- [10] WANG Y Q, LIANG C Z, WU S J, et al. Significant improvement of cotton *Verticillium* wilt resistance by manipulating the expression of *Gastrodia* antifungal proteins[J]. *Molecular Plant*, 2016, 9(10): 1436–1439
- [11] HEALE J B, ISAAC I. Environmental factors in the production of dark resting structures in *Verticillium albo-atrum*, *V. dahliae* and *V. tricorpus*[J]. *Transactions of the British Mycological Society*, 1965, 48(1): 39–IN7
- [12] KLOSTERMAN S J, ATALLAH Z K, VALLAD G E, et al. Diversity, pathogenicity, and management of *Verticillium* species[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2009, 47: 39–62
- [13] MOL L, VAN RIESSEN H W. Effect of plant roots on the germination of microsclerotia of *Verticillium dahliae*[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 1995, 101(6): 673–678
- [14] HU X P, BAI Y W, CHEN T, et al. An optimized method for in vitro production of *Verticillium dahliae* microsclerotia[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2013, 136(2): 225–229
- [15] VANDENKOOORNHUYSE P, QUAISER A, DUHAMEL M, et al. The importance of the microbiome of the plant holobiont[J]. *The New Phytologist*, 2015, 206(4): 1196–1206
- [16] WEI F, ZHAO L H, XU X M, et al. Cultivar-dependent variation of the cotton rhizosphere and endosphere microbiome under field conditions[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 1659
- [17] KOGEL K H, FRANKEN P, HÜCKELHOVEN R. Endophyte or parasite—What decides?[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2006, 9(4): 358–363
- [18] WANG S S, LIU J M, SUN J, et al. Diversity of culture-independent bacteria and antimicrobial activity of culturable endophytic bacteria isolated from different *Dendrobium* stems[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 10389
- [19] WANG Z S, ZHU Y Q, JING R X, et al. High-throughput sequencing-based analysis of the composition and diversity of endophytic bacterial community in seeds of upland rice[J]. *Archives of Microbiology*, 2021, 203(2): 609–620
- [20] WU Z Z, SU Q Q, CUI Y C, et al. Temporal and spatial pattern of endophytic fungi diversity of *Camellia sinensis* (cv. Shu Cha Zao)[J]. *BMC Microbiology*, 2020, 20(1): 270
- [21] CHANWAY C P, SHISHIDO M, NAIRN J, et al. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Forest Ecology and Management*, 2000, 133(1/2): 81–88
- [22] YUAN Y, FENG H J, WANG L F, et al. Potential of endophytic fungi isolated from cotton roots for biological control against

- Verticillium* wilt disease[J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0170557
- [23] BAI H Y, FENG Z L, ZHAO L H, et al. Efficacy evaluation and mechanism of *Bacillus subtilis* EBS03 against cotton *Verticillium* wilt[J]. *Journal of Cotton Research*, 2022, 5(1): 26
- [24] ERDOGAN O, BENLIOGLU K. Biological control of *Verticillium* wilt on cotton by the use of fluorescent *Pseudomonas* spp. under field conditions[J]. *Biological Control*, 2010, 53(1): 39–45
- [25] ANDREOTE F D, AZEVEDO J L, ARAÚJO W L. Assessing the diversity of bacterial communities associated with plants[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2009, 40(3): 417–432
- [26] BULGARELLI D, SCHLAEPPI K, SPAEPEN S, et al. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2013, 64: 807–838
- [27] GAIERO J R, MCCALL C A, THOMPSON K A, et al. Inside the root microbiome: bacterial root endophytes and plant growth promotion[J]. *American Journal of Botany*, 2013, 100(9): 1738–1750
- [28] DASTOGEER K M G, YASUDA M, OKAZAKI S. Microbiome and pathobiome analyses reveal changes in community structure by foliar pathogen infection in rice[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 949152
- [29] CHRISTAKIS C A, DASKALOGIANNIS G, CHATZAKI A, et al. Endophytic bacterial isolates from halophytes demonstrate phytopathogen biocontrol and plant growth promotion under high salinity[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 681567
- [30] SNELDERS N C, BOSHOVEN J C, SONG Y, et al. A highly polymorphic effector protein promotes fungal virulence through suppression of plant-associated Actinobacteria[J]. *The New Phytologist*, 2023, 237(3): 944–958
- [31] LIU H W, LI J Y, CARVALHAIS L C, et al. Evidence for the plant recruitment of beneficial microbes to suppress soil-borne pathogens[J]. *The New Phytologist*, 2021, 229(5): 2873–2885
- [32] MAZZOLA M, FREILICH S. Prospects for biological soilborne disease control: application of indigenous versus synthetic microbiomes[J]. *Phytopathology*, 2017, 107(3): 256–263
- [33] SUN R B, DING J K, LI H Y, et al. Mitigating nitrate leaching in cropland by enhancing microbial nitrate transformation through the addition of liquid biogas slurry[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2023, 345: 108324
- [34] ROGNES T, FLOURI T, NICHOLS B, et al. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics[J]. *PeerJ*, 2016, 4: e2584
- [35] SU X F, WU S Y, LIU L, et al. Potential antagonistic bacteria against *Verticillium dahliae* isolated from artificially infested nursery[J]. *Cells*, 2021, 10(12): 3588
- [36] KANDEL S L, FIRRINCIELI A, JOUBERT P M, et al. An *in vitro* study of bio-control and plant growth promotion potential of Salicaceae endophytes[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 386
- [37] GAO F, ZHANG B S, ZHAO J H, et al. Deacetylation of chitin oligomers increases virulence in soil-borne fungal pathogens[J]. *Nature Plants*, 2019, 5: 1167–1176
- [38] DONG N Q, LIN H X. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant-environment interactions[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2021, 63(1): 180–209
- [39] LANOT A, HODGE D, LIM E K, et al. Redirection of flux through the phenylpropanoid pathway by increased glucosylation of soluble intermediates[J]. *Planta*, 2008, 228(4): 609–616
- [40] TORRES M A. ROS in biotic interactions[J]. *Physiologia Plantarum*, 2010, 138(4): 414–429
- [41] 李莹莹. 大连地区大樱桃根癌病的研究[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2008
- LI Y Y. The research on root-cancer disease of cherry in region of Dalian[D]. Dalian: Liaoning Normal University, 2008
- [42] 黄菁华. 西安灞桥区樱桃根癌病原菌鉴定及药剂防治研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016
- HUANG J H. Research on identification and control of cherry crown gall pathogen in Baqiao District, Xi'an[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2016
- [43] ZHANG G Y, RAZA W, WANG X H, et al. Systemic modification of cotton root exudates induced by arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus vallismortis* HJ-5 and their effects on *Verticillium* wilt disease[J]. *Applied Soil Ecology*, 2012, 61: 85–91
- [44] MCINROY J A, KLOEPPER J W. Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn[J]. *Plant and Soil*, 1995, 173(2): 337–342
- [45] KÄMPFER P, BUSSE H J, MCINROY J A, et al. *Variovorax gossypii* sp. nov., isolated from *Gossypium hirsutum*[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2015, 65(Pt\_12): 4335–4340
- [46] ZHENG Y, GONG X. Niche differentiation rather than biogeography shapes the diversity and composition of microbiome of *Cycas panzhihuaensis*[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 152
- [47] SARRIA-GUZMÁN Y, CHÁVEZ-ROMERO Y, GÓMEZ-ACATA S, et al. Bacterial communities associated with different *Anthurium andraeanum* L. plant tissues[J]. *Microbes and Environments*, 2016, 31(3): 321–328
- [48] DE ALMEIDA LOPES K B, CARPENTIERI - PIPOLO V, ORO T H, et al. Culturable endophytic bacterial communities associated with field - grown soybean[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2016, 120(3): 740–755
- [49] ZHOU N, ZHAO S, TIAN C Y. Effect of halotolerant rhizobacteria isolated from halophytes on the growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under salt stress[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2017, 364(11): fnx091
- [50] ZHAO S, ZHOU N, ZHAO Z Y, et al. Isolation of endophytic plant growth-promoting bacteria associated with the halophyte *Salicornia europaea* and evaluation of their promoting activity under salt stress[J]. *Current Microbiology*, 2016, 73(4): 574–581
- [51] HAN J I, CHOI H K, LEE S W, et al. Complete genome sequence of the metabolically versatile plant growth-promoting endophyte *Variovorax paradoxus* S110[J]. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(5): 1183–1190
- [52] SCHMALENBERGER A, HODGE S, BRYANT A, et al. The role of *Variovorax* and other Comamonadaceae in sulfur

- transformations by microbial wheat rhizosphere communities exposed to different sulfur fertilization regimes[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(6): 1486–1500
- [53] BOSSIS E, LEMANCEAU P P, LATOUR X, et al. The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision[J]. *Agronomie*, 2000, 20(1): 51–63
- [54] SUTRA L, RISÈDE J M, GARDAN L. Isolation of fluorescent pseudomonads from the rhizosphere of banana plants antagonistic towards root necrotizing fungi[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2000, 31(4): 289–293
- [55] LAHLALI R, MCHACHTI O, RADOUANE N, et al. The potential of novel bacterial isolates from natural soil for the control of brown rot disease (*Monilinia fructigena*) on apple fruits[J]. *Agronomy*, 2020, 10(11): 1814
- [56] SANTOYO G, OROZCO-MOSQUEDA M C, GOVINDAPPA M. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review[J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2012, 22(8): 855–872
- [57] COUILLEROT O, PRIGENT-COMBARET C, CABALLERO-MELLADO J, et al. *Pseudomonas fluorescens* and closely - related fluorescent pseudomonads as biocontrol agents of soil - borne phytopathogens[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2009, 48(5): 505–512
- [58] GERBORE J, BENHAMOU N, VALLANCE J, et al. Biological control of plant pathogens: advantages and limitations seen through the case study of *Pythium oligandrum*[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, 21: 4847–4860
- [59] EGAMBERDIEVA D, ALIMOV J, SHURIGIN V, et al. Diversity and plant growth-promoting ability of endophytic, halotolerant bacteria associated with *Tetragonia tetragonioides* (Pall.) Kuntze[J]. *Plants*, 2021, 11(1): 49
- [60] WANG T, SHABAN M, SHI J, et al. Attenuation of ethylene signaling increases cotton resistance to a defoliating strain of *Verticillium dahliae*[J]. *The Crop Journal*, 2023, 11(1): 89–98
- [61] MONTES-OSUNA N, CERNAVA T, GÓMEZ-LAMA CABANÁS C, et al. Identification of volatile organic compounds emitted by two beneficial endophytic *Pseudomonas* strains from olive roots[J]. *Plants*, 2022, 11(3): 318
- [62] BAI B, LIU W D, QIU X Y, et al. The root microbiome: community assembly and its contributions to plant fitness[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, 64(2): 230–243