

## 植物种子际微生物生态学研究进展

刘琳<sup>1</sup> 刘洋<sup>1</sup> 邱服斌<sup>1,2</sup> 张晓霞<sup>1,3</sup> 宋未<sup>1\*</sup>

(1. 首都师范大学生命科学学院 北京 100048)

(2. 山西医科大学公共卫生学院 太原 030001)

(3. 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所 北京 100081)

**摘要:** 种子际(Spermosphere)是植物微生态系统的重要组成部分,在种子萌发的短暂时间内富于微生物群落的形成和功能的瞬时演替特性。萌发种子分泌物的瞬时演替释放对种子际固有和接种微生物的群落多样性、增殖和活性具有调控作用;种子际微生物的趋化性对于微生物的定殖和对病原菌的拮抗能力以及生物防治效果有重要影响;在种子际微生物生态学研究,应注意把握种子际分泌物释放的短暂时间框架和测试条件的统一性;将微生物传统培养方法和非培养方法相结合,该领域的深入研究将为根际微生物的起源以及有益微生物接种剂的合理应用提出新的见解和科学依据。

**关键词:** 植物种子际, 种子分泌物, 微生物群落, 瞬时演替

## Advances of Studies on Micro-ecology in the Spermosphere

LIU Lin<sup>1</sup> LIU Yang<sup>1</sup> QIU Fu-Bin<sup>1,2</sup> ZHANG Xiao-Xia<sup>1,3</sup> SONG Wei<sup>1\*</sup>

(1. College of Life Sciences, Capital Normal University, Beijing 100048)

(2. School of Public Health of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001)

(3. Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract:** The spermosphere as an important habitat in plant micro-ecosystem is rich in temporal succession of microbial communities form and function. The indigeous and inoculated microbial community diversity, proliferation and activity could be regulated by the temporal succession and exudation of germinating seed exudates. The microbial chemotaxis in spermosphere is essential for their colonization, antagonistic activity to pathogens and bio-control of plant diseases. It should be assured that all the determination carried out are within the ephemeral time frame of germinating seed exudation and microbial activity with the unique experimental conditions in studies on the spermosphere micro-ecology. And some new insights would be proposed for the origin of microbes in rhizosphere and the reasonable application of beneficial microbial inoculants in further investigation with the culture-independent as well as culture-dependent approaches in this area.

**Keywords:** Plant spermosphere, Seed exudates, Microbial community, Temporal succession

## 1 种子际(Spermosphere)概念和研究简史

种子际(Spermosphere)<sup>[1]</sup>是指距种子表面1 mm~10 mm内受到种子萌发影响的区域。当种子吸水后,种子的营养物质会释放出来并支持周围微生物的生长。随着种胚末端营养物质释放的增强,胚根会破种皮而露现,而在种子上定殖的细菌种群就会随之定殖到根部。本文以“种子际”译释“Spermosphere”,以期与“Rhizosphere”(根际)的译释相呼应。

人们对种子际的了解,只是近期的事。“根际”(Rhizosphere)的概念是二十世纪初提出的,而对种子在促进植物与微生物相互关系中所起的作用,直到二十世纪四五十年代才被Slykhuis<sup>[2]</sup>发现。到20世纪50年代末和60年代初期,“种子际”(Spermosphere)的概念由Verona<sup>[3]</sup>进一步发展:种子际是围绕萌发的种子周围微生物高度活跃的区域,种子际微生物有其独特性质并可能对根际微生物群落有促进作用。60年代中期Watson<sup>[4]</sup>又扩展了种子际的概念,将种子表面也纳入种子际范围。自此以后,种子际生物学的研究相对较少,只有少量关于种子际状态的描述,远远落后于根际生物学的研究。在种子际微生物学研究领域,生物化学和生态学方面更缺乏现代的详细研究。直到近期,人们对种子际的重要性又有了新的认识。种子际作为植物微生态系统的组成部分,是与植物联合的微生物的重要栖居部位,富于微生物群落的形成和功能的瞬时演替特性,对根际微生物的定殖和植物的生长、健康具有独特的生态学意义<sup>[5]</sup>。

## 2 萌发种子的分泌物及其对种子际范围的影响

种子吸收水分萌发后会释放各种营养物质,如糖类、有机酸类、脂肪族氨基酸、芳香族氨基酸、脂肪酸和其它脂类、类黄酮和酚类化合物、挥发类物质及其它细胞内含物质等小分子物质,同时也有肽类和蛋白质等大分子物质<sup>[5,6]</sup>。不同种类植物的种子萌发过程中分泌物的性质和数量会有所不同,这些分泌物一般在播种后一定时间内陆续瞬时演替释放,而且对种子际的性质有至关重要的影响<sup>[7-10]</sup>。在靠近萌发的胚根处的微生物活性高于邻近的种子表面,种子际对某些微生物的影响在一定程度上具有时间、品种和环境的特异性<sup>[11]</sup>。至今种子际生物学

的研究大都是从植物病理学的途径进行的,与种子际对植物病原菌的影响相联系<sup>[12,13]</sup>。而大多数植物种子际栖居部位联合的微生物,特别是与致病性和病害防治相关的微生物活性的调控水平,还需要进行全面深入的研究<sup>[5]</sup>。

## 3 种子际固有(Indigenous)微生物群落多样性的研究

已有诸多研究证实植物种子表面及种子内蕴藏着多种微生物群落<sup>[5]</sup>,在种子萌发过程中,这些固有的和土壤中的微生物群落也会受到促进作用<sup>[14,15]</sup>。其中有些和植物协同互作的微生物对植物的健康生长和土壤肥力等都有显著影响<sup>[16]</sup>。Walker等<sup>[13]</sup>从豌豆(*Pisum sativum* L.)和矮小法国豆(*Phaseolus vulgaris* L.)分离到能够抵抗灰霉菌和腐霉菌的芽孢杆菌(*Bacillus*)。Kutschera等<sup>[17]</sup>研究了向日葵(*Helianthus annuus* L.)种子萌发过程中细菌在子叶中的定殖,通过琼脂印模和扫描电镜观察,发现大多数细菌定殖在种皮外表面。Ugoji等<sup>[18]</sup>采用扫描电镜观察芽孢杆菌在玉米(*Zea mays* L.)种子际和根面的定殖,发现种子际的90%被芽孢杆菌定殖,并向萌发的胚根处移动。

除植物病原菌外,关于种子本身定殖的固有微生物类群已有少量报导。Normander等<sup>[19]</sup>在大麦种子萌发早期检测到包括不动杆菌(*Acinetobacter*)、芽孢杆菌、伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia*)、泛菌(*Pantoea*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)等数种与植物联合的细菌(Plant-associated bacteria<sup>[11]</sup>)。McKellar等<sup>[20]</sup>发现在棉花种子萌发早期,定殖在种子的细菌主要有肠杆菌(*Enterobacter*)、微杆菌(*Microbacterium*)、短小杆菌(*Curtobacterium*)等,同时还有放线菌(*Actinobacteria*),在播种后的几个小时内,这些细菌和放线菌的定殖密度都可以达到 $10^5\sim 10^7$ 菌细胞/种子。这些定殖在萌发的种子上的微生物活性可能会对接种的有益菌株(固氮、促生和生防等菌株)在种苗的长期定殖和植株的健康有重要影响,但目前对种子际的固有微生物群落还缺乏详细的了解<sup>[19,20]</sup>。

研究表明,在种子萌发过程中,土壤微生物群落对种子际微生物群落和根际微生物群落的建立具有重要作用。Smalla等<sup>[21]</sup>研究发现,在草莓(*Fragaria ananassa* Duch)、油菜(*Brassica napus* L.)

和马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)的种植地散土中的细菌优势种群通常会成为植株根际细菌的优势种群。Green等<sup>[22]</sup>发现, 种植于盛有堆肥的盆栽土中的黄瓜(*Cucumis sativus* L.)种子表面的细菌群落主要来自盆栽土中。同时, 宿主植物的基因型也会影响定殖在种子内和种子际的固有细菌群落的建立<sup>[23-25]</sup>。Adams等<sup>[23]</sup>发现不同棉花栽培品种种子在萌发过程中, 其内生细菌的群落也有差异。Simon等<sup>[24]</sup>将接种了生防菌株*Ba. cereus* UW85 和*Ps. Fluorescens* 2-79的番茄重组自交系(RIL)的种子分别种植于土壤中, 发现在不同基因型的种子上, 接种的生防菌、种子固有的芽孢杆菌和假单胞菌的数量以及种子的总体细菌种群量都有所不同。

早期对种子微生物的研究过程中, 大多数学者广泛采用的还是传统的微生物培养和分离技术<sup>[23,26]</sup>, 近年来微生物生态学的研究已深入到DNA水平, 在实际工作中, 往往将传统培养方法与多种非培养(Culture-independent)方法相结合, 更客观地分析各种生态系统和农田系统中微生物群落多样性及其结构和功能。Jeffrey等<sup>[27]</sup>采用脂肪酸分析和Biolog微量板分析技术, 研究了两种类型土壤中种植的玉米、黄瓜、萝卜(*Raphanus sativus* L.)、大豆(*Glycine max* Merrill.)和向日葵等作物的种子萌发过程中的微生物群落结构, 发现土壤类型对微生物群落结构的影响大于作物种类的影响, 种子际微生物群落的功能变化(物质利用)大于群落结构变化。Cottyn等<sup>[28]</sup>通过rep-PCR、脂肪酸甲酯图谱分析(FAME)和Biolog微量板分析发现种植于菲律宾的IR64等6个水稻品种的种子中主要的优势菌为肠杆菌Enterobacteriaceae(25%)、芽孢杆菌*Bacillus* spp.(22%)、假单胞菌*Pseudomonas* spp.(14%), 其它的代表菌还有黄单胞菌*Xanthomonas* spp.、产黄纤维单胞菌*Cellulomonas flavigena*、密执安棍状杆菌*Clavibacter michiganense*等。近年来, 微生物诊断芯片(Microbial diagnostic microarrays, MDMs)技术已经广泛地应用于微生物群落的检测, 更加促进了微生物生态系统的研究<sup>[29]</sup>。本研究组近年来探索了应用16S rDNA文库和PCR-DGGE等非培养方法和传统培养方法相结合研究水稻(*Oryza sativa* L.)根内生细菌群落多样性<sup>[30,31]</sup>, 为水稻种子际微生物的研究奠定了基础。新近已通过构建16S rDNA克隆文库的方式对水稻种子内生细菌和种子际固有细菌群落多

样性进行了研究, 结果表明种子际固有细菌中不仅有变形杆菌、芽孢杆菌、类芽孢杆菌, 还含有部分放线菌等, 说明水稻种子内生细菌具有一定的多样性(数据尚未发表)。

## 4 种子际对微生物行为的调节

研究发现, 种子分泌物的瞬时释放在很大程度上控制着种子际微生物群落的动态变化, 在播种后数十小时内, 伴随着种子分泌物的迅速变化, 微生物行为的相应变化往往也同样迅速, 包括种子际固有微生物的瞬时演替、接种微生物的生长、增殖和活性发挥以及侵染种子和幼苗的病原菌的生长变化等<sup>[5,32,33]</sup>。了解这些动态变化对预测和利用种子际特定微生物的活性是十分必要的。

### 4.1 种子际微生物的趋化性

种子际是具有高度竞争性的微生物栖居部位, 快速占据营养物质对微生物的定殖和存活至关重要。种子际固有和接种的微生物的定殖能力以及利用种子际资源的能力是保持它们的持久存活的前提, 而趋化性(Chemotaxis)在这方面可能是一个尤为重要的特性。Begonia等<sup>[34]</sup>研究发现百脉根(*Lotus corniculatus* L.)种子际细菌在24 h的短时间内可以游动2 cm到达种子。Macario等<sup>[35]</sup>曾报导水稻内生细菌对其种子分泌物较其它植物的内生细菌或土壤细菌有更高的趋化性。研究发现, 趋化反应可发生在较宽的温度和pH值范围内, 生长在对数期的细菌比在静止期的更具趋化性<sup>[36]</sup>。巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*)、荧光假单胞菌(*P. fluorescens*)和恶臭假单胞菌(*P. putida*)的某些菌株仅对大豆和马铃薯种子分泌物的多种氨基酸和有机酸成分有趋化反应, 但对蔗糖没有趋化反应, 并发现这些细菌对大豆种子分泌物的趋化性对其在种子上的定殖和拮抗病原菌的能力有显著影响<sup>[36-38]</sup>。

### 4.2 种子际病原菌的反应及其对病害生物防治的重要性

早在上世纪60年代, 人们就发现种子分泌物会刺激卵菌和病原真菌的增殖, 某些卵菌的游动孢子和病原真菌对种子分泌物也具有与细菌类似的趋化性<sup>[39]</sup>。这些反应代表着植物致病机理的关键步骤, 如果改变这些反应, 随后的病害发生过程也会有很大改变。

大部分萌发的种子在12 h~24 h的短暂的时间

内容易受到病原菌的侵染<sup>[33]</sup>, 因此接种的生防菌株是否可控制在 12 h~24 h 内表达其生防作用十分重要。Gallery 等<sup>[40]</sup>研究发现号角树属(*Cecropia*) 植物种子在萌发过程中被病原菌侵染与其本身固有的真菌群落和病原菌与植物的亲和力有明显的关联。Parke<sup>[41]</sup>将豌豆种子分别用生防菌株 *P. cepacia* AMMD 和杀菌剂甲霜灵处理后, 发现种子被腐霉菌 *Pythium* 侵染的机率均降低了 44%~60%, 生防菌株在豌豆种子际定殖速率很快, 在 24 h 内密度就可以倍增, 而且接种高密度的生防菌可以更有效地抑制腐霉菌的侵染。由于微生物对病原菌的抑制作用或植物的防卫反应的活化都会在如此短暂的时间框架内表达, 所以研究各类植物种子分泌物对种子际微生物行为的作用时, 十分关键的问题是要在数十小时内收集分泌物进行测定分析, 如果超出了这一时间范围, 对该类微生物生态学的研究工作就会失去意义。

#### 4.3 接种菌株在种子际的定殖

细菌和真菌在种子际定殖并往往在种子萌发后 12 h~24 h 内达到高种群密度, 这对于它们的接种、生长和保护种子不受病原菌的侵染以及随后在根际的定殖十分重要<sup>[5]</sup>。同一属的不同菌种和同一菌种的不同菌株在种子际的定殖能力也是有所差别的<sup>[24]</sup>。此外, 直接接种到种子的菌株, 特别是生长速度快的菌株比种子际固有的菌株具有更强的在种子定殖的竞争力, 并比源于土壤的菌株能更好地在种子际增殖, 在种子萌发后 12 h~24 h 内, 其密度可达到  $10^7 \sim 10^8$  菌细胞/粒种子<sup>[41]</sup>。研究发现宿主植物的品种特性对接种菌株的定殖影响也十分明显, 如将枯草芽孢杆菌 *B. subtilis* GB03 接种在 4 种不同品种的棉花种子上, 定殖在种子际和根际的 *B. subtilis* GB03 群体数量也有很大差异<sup>[42]</sup>。

种子际的环境会影响种子际和根际潜在细菌的定殖, 也会影响接种的生防菌或者植物促生细菌 (plant growth-promoting bacteria, PGPB<sup>[43]</sup>) 接种剂的定殖以及种子固有微生物群落的变化。目前, 这方面的某些研究工作已深入到分子生态学水平。Mavrodi 和 Weller 等<sup>[44-46]</sup>发现荧光假单胞菌 *P. fluorescens* Q8r1-96 能够分泌 2,4-DAPG 而对各种植物病害有较高的抑制作用, 通过 RT-PCR 对 2,4-DAPG 进行的定量分析发现, 细菌多聚体细胞结构对菌株在根部的定殖也有一定的关系。Andreote 等<sup>[47]</sup>将遗传改良的

阴沟肠杆菌 (*E. cloacae*) PR2/7 接种于藏报春柑 (*Citrus sinensis* Osbeck) 幼苗中, 结果发现幼苗中主要的内生菌群与未接种的幼苗相比, 发生了一定的变化, 而且在植物不同组织中的分布也有所区别。Molina 等<sup>[48]</sup>还发现 *P. putida* KT2440 的分泌蛋白 HlpA 和 HlpB 对其在植物根表面定殖有很大的影响。探索抑制病害的生防菌、植物促生细菌等有益菌的接种及其在植物种子际或根际的定殖规律, 在生产中将具有很大的应用潜力。

## 5 种子际研究中应把握的主要问题

目前在种子际生物学研究中, 最为缺乏的知识是对种子际固有微生物群落的种类、演替和活性, 特别是对其瞬时动态 (Temporal dynamic) 的了解, 因为这种动态表征了种子与微生物联合的全过程, 反映出种子分泌物和种子际微生物活性的惊人的迅速变化, 造就了种子际部位的特色<sup>[5]</sup>。种子际系统提供了一个简单而变化迅速的试验模型, 在较短的时间框架内可以观察到相关微生物的演替行为和植物或微生物的生长过程; 同时由于微生物的行为与种子分泌物的特性密切相关, 大多数诱导微生物活性的物质存在于种子萌发后的数十小时内的分泌物中, 而且大部分萌发的种子在这个十分短暂的时间段内易受到病原菌的侵染, 所以在试验研究过程中, 应当把握好两个问题: 1) 需要在种子萌发后数十小时的时间框架内, 对于种子分泌物的释放进行瞬时定量测定, 并与所研究的微生物同步推断其生物学活性; 对于不同种类的植物, 需要摸索适宜的种子萌发时间段来研究种子际微生物行为。2) 由于温度、植物品种、种子渗透压等因素都会影响种子分泌物的定量, 因此需要设计统一的试验测试条件以保证所获得数据的可比较性。虽然该方面的详细研究还鲜有报道, 然而可以推断, 这两种活性的同步结合研究将为获得栖居在种子际的各种微生物的功能的生物化学过程提供新的概念和见解。本研究组最近采用一定离子强度的低渗溶液浸泡水稻种子, 并模拟种子际环境, 探索了对种子际相关细菌群落的瞬时演替动态的初步研究方法 (数据尚未发表)。在实验室条件下采用水培方法来构建的简单的种子际模型, 与种子在土壤中萌发形成的种子际的实际环境还是有一定差距的, 因此种子际微生态环境研究模型的确定还需要进一步改进, 以促进种子际固有微

生物群落的种类、演替和活性的研究。

## 6 展望

植物种子际是与植物联合的微生物的重要栖居部位, 富于微生物群落的形成和功能的瞬时演替动态变化特性。尽管种子际具有“短命(Short-lived)”的特点, 然而在土壤中距萌发的种子 10 mm 以内的范围, 微生物的活性对植物的影响, 包括其分布、生长和健康却具有长效性(Long-lasting impacts)<sup>[5]</sup>。植物种子际与多种有益和有害的微生物联合的生态学重要性是毋庸置疑的, 但目前种子际的研究远落后于根际的研究, 然而在根际研究方面所得到的知识将会促进对种子际的了解。

植物种子是多种有益微生物和病原菌的传递载体。接种菌株和种子际固有细菌群落的相互作用对它们随后在根际的定殖和促生、生防作用表达的影响以及根际微生物群落的起源问题都有待回答, 从种子中分离到的大量有益细菌也将促进种子际微生物生态学的研究。目前, 有益细菌接种剂在不同土壤条件和不同植物品种上的应用效果往往不稳定, 并且在很大程度上还难以控制, 因此, 加强种子际微生物生态学方面的研究必将为这些问题的解决起到推动作用。

总之, 种子际对植物微生物学的重要性已日益彰显, 随着种子际生物学的推进, 通过微生物生态学, 植物病理学和农学等多学科的交叉协同研究, 将为深入揭示根际微生物群落的起源, 促进种子际、根际与微生物联合关系的改善, 从而为提高微生物接种剂的应用效果提出新的见解和科学依据。

## 参考文献

[1] Samuel SG. Plant-associated bacteria. Netherlands: Springer, 2006, pp.1-56.  
 [2] Slykhuis JT. Studies on *Fusarium culmorum* blight of crested wheat and brome grass seedlings. *Can J Res*, 1947, **25**: 155-180.  
 [3] Verona O. Interaction entre la graine en germination et les microorganismes telluriques. *Ann Inst Pasteur*, 1963, **105**: 75-98.  
 [4] Watson AG. Seasonal variation in inoculum potentials of spermosphere fungi. *NZ J Agric Res*, 1966, **9**: 956-963.  
 [5] Nelson EB. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere. *Ann Rev Phytopathool*, 2004, **42**: 271-309.  
 [6] Casey CE, O'Sullivan OB, O'Garab F, et al. Ion chro-

matographic analysis of nutrients in seed exudate for microbial colonization. *Journal of Chromatography*, 1998, **804**(1-2): 311-318.  
 [7] Simon EW, Mathavan S. The time-course of leakage from imbibing seeds of different species. *Seed Sci Technol*, 1986, **14**: 9-13.  
 [8] Spaeth SC. Pressure-driven extrusion of intracellular substances from bean and pea cotyledons during imbibition. *Plant Physiol*, 1987, **85**: 217-223.  
 [9] Klejduš B, Kuban V. High performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in seed exudates of *Festuca arundinacea* and *F. pratense*. *Phytochem Anal*, 2000, **11**: 375-379.  
 [10] Zheng SH, Watabe R. Relationship between sugar exudation from imbibing seeds and seedling emergence in soybean. *Jpn J Crop Sci*, 2000, **69**: 520-524.  
 [11] Stanghellini ME, Hancock JG. Radial extent of the bean spermosphere and its relation to the behavior of *Pythium ultimum*. *Phytopathology*, 1971, **61**: 165-168.  
 [12] Tatiana L Rose, Alexandre da Silva Conceicao, Jose Xavier-Filho. Defense proteins from *Vigna unguiculata* seed exudates: characterization and inhibitory activity against *Fusarium oxysporum*. *Plant Soil*, 2006, **286**: 181-191.  
 [13] Walker R, Powell AA. Seddon *Bacillus* isolates from the spermosphere of peas and dwarf French beans with antifungal activity against *Botrytis cinerea* and *Pythium* species. *Journal of Applied Microbiology*, 1998, **84**: 791-801.  
 [14] Bacilio JM, Aguilar FS, del Valle MV, et al. Endophytic bacteria in rice seeds inhibit early colonization of roots by *Azospirillum brasilense*. *Soil Biol Biochem*, 2001, **33**: 167-172.  
 [15] Cottyn B, Regalado E, Lanoot B, et al. Bacterial populations associated with rice seed in the tropical environment. *Phytopathology*, 2001, **91**: 282-292.  
 [16] Jose MB, Maria JP, Rosario A, et al. Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 2005, **56**(417): 1761-1778.  
 [17] Kutschera U. Bacterial colonization of sunflower cotyledons during seed germination. *Journal of Applied Botany*, 2002, **76**: 96-98.  
 [18] Ugoji EO, Laing MD, Hunter CH. Colonization of *Bacillus* spp. on seeds and in plant rhizoplane. *J Environ Biol*, 2005, **26**(3): 459-466.  
 [19] Normander, Bo Prosser JI. Bacterial origin and community composition in the barley phytosphere as a function of habitat and presowing conditions. *Appl Environ Microbiol*, 2000, **66**(10): 4327-4377.  
 [20] McKellar ME, Nelson EB. Compost-induced suppression of *Pythium* damping-off is mediated by fatty-acid-metabolizing seed-colonizing microbial communities. *Appl Environ Microbiol*, 2003, **69**: 452-460.  
 [21] Smalla K, Wieland G, Buchner A, et al. Bulk and

- rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**(10): 4742–4751.
- [22] Green SJ, Inbar E, Michel FC Jr, *et al.* Succession of bacterial communities during early plant development: transition from seed to root and effect of compost amendment. *Appl Environ Microbiol*, 2006, **72**(6): 3975–3983.
- [23] Adams PD, Kloepper JW. Effect of host genotype on indigenous bacterial endophytes of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Plant and Soil*, 2002, **240**: 181–189.
- [24] Simon HM, Smith KP, Dodsworth JA, *et al.* Influence of tomato genotype on growth of inoculated and indigenous bacteria in the spermosphere. *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**(2): 514–520.
- [25] Bergsma VM, Prins ME, Raaijmakers JM. Influence of plant species on population dynamics, genotypic diversity and antibiotic production in the rhizosphere by indigenous *Pseudomonas* spp.. *FEMS Microbiol Ecol*, 2005, **52**(1): 59–69.
- [26] Kloepper JW, Scher FM, Laliberte M, *et al.* Measuring the spermosphere colonizing capacity (spermosphere competence) of bacterial inoculants. *Can J Microbiol*, 1985, **31**: 926–929.
- [27] Jeffrey SB, Daniel PR, Russek CE. Microbial community structure and function in the spermosphere as affected by soil and seed type. *Can J Microbiol*, 1999, **45**(2): 138–144.
- [28] Cottyn B, Regalado E, Lanoot B, *et al.* Bacterial population association with rice seed in the tropical environment. *Bacteriology*, 2001, **91**(3): 282–292.
- [29] Sessitsch A, Hackl E, Wenzl P, *et al.* Diagnostic microbial microarrays in soil ecology. *New Phytol*, 2006, **17**(4): 719–735.
- [30] 孙磊, 宋未. 非培养方法在植物内生和根际细菌研究中的应用. *自然科学进展*, 2006, **16**(2): 140–145.
- [31] Sun L, Qiu FB, Zhang XX, *et al.* Endophytic bacterial diversity in rice (*Oryza sativa* L.) roots estimated by 16S rDNA sequence analysis. *Microb Ecol*, 2008, **55**: 415–424.
- [32] Schippers B, Voetberg JS. Germination of chlamydospores of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* race 1 in the rhizosphere, and penetration of the pathogen into roots of a susceptible and a resistant pea cultivar. *Neth J Pl Pathol*, 1969, **75**: 241–258.
- [33] Short GE, Lacy ML. Germination of *Fusarium solani* f. sp. *pisi* chlamydospores in the spermosphere of pea. *Phytopathology*, 1974, **64**: 558–562.
- [34] Begonia MF, Kremer RJ. Chemotaxis of deleterious rhizobacteria to birdsfoot trefoil. *Appl Soil Ecol*, 1999, **11**: 35–42.
- [35] Macario BJ, Sara AF, Elsa VZ, *et al.* Chemical characterization of root exudates from rice (*Oryza sativa*) and their effects on the chemotactic response of endophytic bacteria. *Plant and Soil*, 2003, **249**: 271–277.
- [36] Zheng XY, Sinclair JB. Chemotactic response of *Bacillus megaterium* strain B153-2-2 to soybean root and seed exudates. *Physiol Mol Plant Pathol*, 1966, **48**: 21–35.
- [37] Scher FM, Kloepper JW. Chemotaxis of fluorescent *Pseudomonas* spp. to soybean seed exudates *in vitro* and in soil. *Can J Microbiol*, 1985, **31**: 570–574.
- [38] Gamliel A, Katan J. Chemotaxis of fluorescent *Pseudomonas* towards seed exudates and germinating seeds in solarized soil. *Phytopathology*, 1992, **82**: 328–332.
- [39] Osburn RM, Schroth MN. Effect of osmopriming sugar beet seed on exudation and subsequent dampingoff caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology*, 1988, **78**: 1246–1250.
- [40] Gallery RE, Dalling JW, Arnold AE. Diversity, host affinity, and distribution of seed-infecting fungi: a case study with *Cecropia*. *Ecology*, 2007, **88**(3): 582–288.
- [41] Parke JL. Population dynamics of *Pseudomonas cepacia* in the pea spermosphere in relation to biocontrol of *Pythium*. *Phytopathology*, 1990, **80**: 1307–1311.
- [42] Mahaffee, WF, Backman PA. Effects of seed factors on spermosphere and rhizosphere colonization of cotton by *Bacillus subtilis* GB03. *Phytopathology*, 1993, **83**: 1120–1125.
- [43] Glick BR, Patten CL, Holguin G, *et al.* Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria. London: Imperial College Press, 1999, pp.1–13.
- [44] Mavrodi OV, Mavrodi DV, Park AA, *et al.* The role of *dsbA* in colonization of the wheat rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens* Q8r1-96. *Microbiology*, 2006, **152**: 863–872.
- [45] Mavrodi OV, Mavrodi DV, Thomashow LS, *et al.* Quantification of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* strains in the plant rhizosphere by real-time PCR. *Appl Environ Microbiol*, 2007, **73**(17): 5531–5538.
- [46] Weller DM, Landa BB, Mavrodi OV, *et al.* Role of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in the defense of plant roots. *Plant Biol (Stuttg)*, 2007, **9**(1): 4–20.
- [47] Andreote FD, Gullo MJ, de Souza Lima AO, *et al.* Impact of genetically modified *Enterobacter cloacae* on indigenous endophytic community of *Citrus sinensis* seedlings. *J Microbiol*, 2004, **42**(3): 169–173.
- [48] Molina MA, Ramos JL, Manuel EU. A two-partner secretion system is involved in seed and root colonization and iron uptake by *Pseudomonas putida* KT2440. *Environmental Microbiology*, 2006, **8**(4): 639–647.