

绿农林®31 复合微生物菌剂性能评价及其对海南大叶种茶 茶饼病发生和叶片内生细菌群落的影响

周 游¹, 李晓霞², 刘 建³, 邓 涛⁴, 黄俊生¹, 杨腊英¹, 符红文⁵, 汪 军^{1*}

1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/国家肥料微生物种质资源库(海南), 海南海口 571101; 2. 中国热带农业科学院科技信息研究所, 海南海口 571101; 3. 中华人民共和国菏泽海关, 山东菏泽 274000; 4. 江西省科学院微生物研究所, 江西南昌 330096; 5. 海南宝绿春农业开发有限公司, 海南海口 571100

摘 要: 探究绿农林®31 复合微生物菌剂活性及其对海南大叶种茶茶饼病发生和茶叶内生细菌群落结构的影响, 为合理应用微生物制剂绿色防控茶饼病提供理论依据。通过测试室内抗菌谱、激光共聚焦显微镜观察形态、测试病原真菌孢子萌发抑制率评价绿农林®31 复合微生物菌剂(LNL31)活性, 开展田间随机区组试验测试 LNL31 不同稀释倍数对海南大叶种茶茶饼病的防效, 以及对海南大叶种茶茶树芽长、芽密度、鲜重和叶绿素的影响; 采用 16S rDNA 测序技术, 探究施用微生物菌剂条件下茶树叶部内生细菌群落结构的差异。结果表明: LNL31 稀释液对坏损外担菌 ER01、胶孢炭疽菌 CG02、尖孢镰刀菌 FOC4、柑橘黄单胞杆菌 XC01、大肠杆菌 DH5 α 5 种病原菌的抑制作用明显, 对 ER01、CG02 和 FOC4 的孢子萌发抑制率达 89.04%~93.00%。田间施用 LNL31 500 倍稀释液处理的防病促生作用最显著, 与化学药剂吡唑醚菌酯处理相当, LNL31 1000 倍稀释液次之。施药后 14 d, LNL31 500 倍液、1000 倍液对茶饼病的防效分别达 91.98%和 89.17%。LNL31 对芽长、芽密度、鲜重和叶绿素的促生作用分别达 23.14%~36.17%、32.10%~51.38%、27.66%~40.00%和 28.88%~36.14%。喷施不同浓度的 LNL31 后, 茶树叶部内生细菌群落的丰富度和均匀度均增加, 主坐标分析(PCoA)结果表明, 喷施 LNL31 对叶内细菌群落有显著影响; 在目分类水平上, 根瘤菌目(Rhizobiales)和鞘脂单胞菌目(Sphingomonadales)是较占优势的细菌目; 在属分类水平上, 甲基杆菌属(*Methylobacterium*)是最优势的内生细菌属, 其次是 1174_901_12、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和根瘤菌属(*Rhizobium*); 线性判别分析(LEfSe)结果显示, 喷施 LNL31 的处理中具有 9~14 个指示菌群, 而对照指示细菌属只有 7 个; 物种丰度聚类分析表明, 喷施 LNL31 的处理中独有优势属拜叶林克氏菌属(*Beijerinckia*)与伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)的丰度相似, 根瘤菌属与 1174_901_12 的丰度相似。相关性网络分析表明, 芽孢杆菌属(*Bacillus*)与真杆菌属(*Eubacterium*)和副拟杆菌属(*Parabacteroides*)呈正相关, 与甲基杆菌属、拜叶林克氏菌属和藤黄色杆菌属(*Luteibacter*)呈负相关; Bugbase 菌群功能预测表明, LNL31 处理的好氧菌、生物膜形成、革兰氏阴性菌、耐受压力、可移动元件、兼性厌氧菌丰度增幅达到 3.24%~14.78%, 潜在致病菌下降 5.70%。该研究结果表明, LNL31 表现出良好的防病促生作用, 能显著改变茶叶内生细菌群落结构和功能特性, 使少数抗病相关物种优势生长, 为茶饼病的生物防治提供依据。

关键词: 绿农林®31 复合微生物菌剂; 茶饼病; 内生细菌; 群落结构

中图分类号: S31 文献标志码: A

Evaluation of the Performance of Lvnonglin® 31 Compound Bacterial Agent and Its Effect on the Occurrence of Blister Blight and Endophytic Bacterial Community in Leaves of *Camellia sinensis* var. *assamica* in Field

收稿日期 2024-08-19; 修回日期 2024-09-02

基金项目 江西省重点研发计划项目(No. 20223BBF61015); 海南省自然科学基金项目(No. 322RC750, No. 721RC631)。

作者简介 周 游(1983—), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 植物病害生物防治。*通信作者(Corresponding author): 汪 军(WANG Jun), E-mail: wjhns@163.com。

ZHOU You¹, LI Xiaoxia², LIU Jian³, DENG Tao⁴, HUANG Junsheng¹, YANG Laying¹, FU Hongwen⁵, WANG Jun^{1*}

1. Institute of Environment and Plant Protection, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / National Fertilizer Microbial Germplasm Resource Bank (Hainan), Haikou, Hainan 571101, China; 2. Institute of Scientific and Technical Information, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101, China; 3. Heze Customs, people's Republic of China, Heze, Shandong 274000, China; 4. Institute of Microbiology, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang, Jiangxi 330096, China; 5. Hainan Baolvchun Agricultural Development Co., Ltd., Haikou, Hainan 571100, China

Abstract: The purpose of this study is to explore the relationship between the activity of Lvnonglin[®]31 compound microbial agent (LNL31), the occurrence of blister blight and the structure of endophytic bacterial communities in tea, and to provide a theoretical basis for the rational application of microbial agents for green control of blister blight in *Camellia sinensis* var. *assamica*. The activity of LNL31 was evaluated through indoor antibacterial spectrum testing, laser confocal microscope morphology observation, pathogenic fungus spore germination inhibition rate test, and transparent circle detection enzyme activity methods. Field randomized block trials were carried out to test the disease prevention and growth promotion effects of LNL31 with different dilution ratios. Then the tea tree bud length, bud density, fresh weight and chlorophyll were respectively measured. Using 16S rDNA sequencing technology, the differences in the occurrence of the blister blight in *C. sinensis* var. *assamica* and the community structure of endophytic bacteria in leaves under LNL31 were investigated. The diluted LNL31 had obvious inhibitory effect on five pathogens, such as *Exobasidium vexans* EV01, *Colletotrichum gloeosporioides* CG02, *Fusarium oxysporum* FOC4, *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* XC01 and *Escherichia coli* DH5 α , which caused the hyphae to break, expand and digest. The inhibition rate of LNL31 on spore germination of pathogenic fungi EV01, CG02 and FOC4 reached 89.04%–93.00%. In field randomized block trials, the application of 500-fold dilution of LNL31 had the most significant disease prevention and growth promotion effect, which was similar to the treatment of the pyraclostrobin, followed by 1000-fold dilution of LNL31. The averages of bud length, germination density, hundred bud weight and chlorophyll of the plants in the treatment of LNL31 increased by 23.14%–36.17%, 32.10%–51.38%, 27.66%–40.00% and 28.88%–36.14%, respectively, in comparison with the control. After spraying different concentrations of LNL31, the richness and uniformity of endophytic bacterial communities increased, and the results of principal coordinate analysis (PCoA) showed that there was a significant impact on bacterial communities in leaves. At the taxonomic level, Rhizobiales and Sphingomonadales were the dominant bacterial orders; *Methylobacterium* was the dominant bacterial genus, followed by 1174_901_12, *Sphingomonas* and *Rhizobium*. Linear discriminant analysis (LEfSe) showed that there were 9–14 indicator bacterial groups in the treatment sprayed with LNL31, compared with only 7 indicator bacterial genera in the control. Cluster analysis of species abundance showed that the unique dominant genus *Baierinkia* and *Burkholderia* in the treatment of LNL31 were similar in abundance, while *Rhizobium* and 1174_901_1 were similar in abundance. Correlation network analysis *Bacillus* is positively correlated with *Eubacterium* and *Parabacteroides*, and negatively correlated with *Methylobacterium*, *Beijerinckia* and *Luteibacter*. Bugbas's functional prediction showed that the abundance of aerobic bacteria, biofilm forming, gram-negative bacteria, stress-tolerant bacteria, movable elements, and facultative anaerobic bacteria treated by the composite microbial agent increased by 3.24%–14.78%, and potential pathogenic bacteria dropped by 5.70%. LNL31 showed a good effect of preventing diseases and promoting growth, and significantly changed the community structure and functional characteristics of endophytic bacteria in tea, enabling a few disease-resistant related species to grow in an advantageous way, which provided a basis for biological control of blister blight of tea.

Keywords: Lvnonglin[®] 31 compound microbial agent; blister blight of tea; endophytic bacterial; community structure

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.12.016

茶树是海南重要的经济作物。海南省五指山是海南大叶种茶 (*Camellia sinensis* var. *assamica*) 核心产区, 该地区高湿的气候有利于茶树生长, 但也有利于病虫害的滋生蔓延^[1]。由坏损外担菌 (*Exobasidium vexans* Masee) 引起的茶饼病是危害茶树最严重的病害之一^[2], 主要为害嫩叶和嫩

梢, 潜育期较短, 对茶叶产量的影响远远超过其他病害, 导致茶叶严重减产和品质下降^[3-4]。茶饼病属于低温高湿型病害, 在海南一般是春茶期发生严重。当前生产中绝大多数茶树栽培品种对茶饼病均表现为易感, 在气候适宜发病的茶区病害发生严重^[2]。目前化学药剂防治茶饼病虽然直接

有效^[4-5], 但易导致茶叶农药残留大, 易产生抗性, 影响品质和食品安全。为保障茶产业健康发展, 研究和推广病虫害绿色防控技术为大势所趋。生物防治具有安全环保的优势, 如芽孢杆菌 (*Bacillus* spp.)、假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*)、苍白杆菌 (*Ochrobactrum anthropi*) 和黄单胞菌 (*Xanthomonas* sp.) 等生防菌能降低茶饼病的发病率^[2, 6-7], 其中芽孢杆菌的抗逆性好、货架期长, 具有广阔的应用前景^[8-9], 其防病机制主要为定殖到植株后通过营养竞争、分泌拮抗物质、降解病原菌和提升植物抗病性等方式共同作用, 具体表现为抑制病原菌孢子萌发, 导致细胞肿胀变形、原生质解体或收缩^[10-13]。

内生细菌群落结构是反映植物抗病、感病的重要指标。研究生防菌制剂对发病植物内生细菌群落结构的影响和病害防治至关重要。崔明秦等^[14]认为植物内生微生物与植物长期共存, 二者协同进化, 互惠互利, 发现炭疽菌侵染油茶后病叶片中甲基杆菌属 (*Methylobacterium*, 1.91%) 相对丰度最高, 健康叶片中海洋杆菌属 (*Pontibacter*, 1.41%) 相对丰度最高。RAHMA 等^[15]发现内生细菌 LmB1、LmA6 菌株是控制水稻白叶枯病和促进植物生长的潜在生物制剂, 对病害抑制和促进作用分别为 35.82% 和 69.56%。UWAREMWE 等^[16]发现抑制枸杞根腐病的解淀粉芽孢杆菌 HSB1 和 FZB42 对枸杞根际固有菌群的丰度及其功能产生了积极影响。YADAV 等^[17]研究发现与丙环唑和对照相比, 枯草芽孢杆菌 W9 喷雾处理番茄斑点病后叶片内生伯克霍尔德里氏菌目 (*Burkholderiales*)、根瘤菌目 (*Rhizobiales*) 和假单胞菌目 (*Pseudomonadales*) 等相对丰度较高, 分泌、应激、趋化和矿物质营养相关的代谢途径得到增强, 发病率降低。FENG 等^[18]发现施用芽孢杆菌 ME9 防治木薯细菌性枯萎病使木薯内生细菌群落多样性提高, 在优势菌群的葡萄糖代谢途径中, 厚壁菌门与其他门呈显著正相关, 而变形菌门呈显著负相关。

由于茶饼病病原菌坏损外担菌难以离体培养, 限制了其防控技术等方面的研究^[2]。芽孢杆菌具有稳定、广谱的防病促生功能^[19-24], 但目前微生物活菌制剂在田间防治茶饼病方面极少报道。绿农林®31 复合微生物菌剂是本团队研发的正式登记产品, 由生防菌解淀粉芽孢杆菌 (*B. amyloliquefaciens*) HW05 专利菌株 (ZL2018-

10578016.9)、巨大芽孢杆菌 (*B. megaterium*) BM03 和载体复配制备, 但其田间应用稳定性和防病促生作用尚不明确。本研究以茶饼病为防控对象, 以茶园常用的化学杀菌剂吡唑醚菌酯为对照, 探讨绿农林®31 复合微生物菌剂活性及其对茶饼病的防病促生功效和内生细菌群落的影响, 为茶饼病的绿色防控提供有效药剂和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

茶树品种: 海南大叶种茶 (*C. sinensis* var. *assamica*)。

指示病原菌: 茶饼病病原菌坏损外担菌 EV01, 茶树炭疽病病原菌胶孢炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*) CG02、香蕉枯萎病病原菌尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) FOC4 (携带 GFP)、柑橘溃疡病病原菌柑橘黄单胞杆菌 (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*) XC01 和大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DH5 α , 均由国家肥料微生物种质资源库 (海南) 提供。

供试生防菌: 解淀粉芽孢杆菌 HW05 专利菌株、巨大芽孢杆菌 BM03, 均由国家肥料微生物种质资源库 (海南) 提供。

供试绿农林®31 复合微生物菌剂 (以下简称 LNL31): 登记证号为微生物肥 (2019) 准字 (7526) 号, 由中国热带农业科学院环境与植物保护研究所研制, 海南宝绿春农业开发有限公司生产。制备方法: 将新鲜的 HW05 和 BM03 菌株分别转接至 LB 液体培养基, 在 37 °C, 180 r/min 条件下培养 24 h 获得种子液, 以体积分数为 5% 的接种量接入装有 LB 培养基的 GUJS-100L A 型机械搅拌不锈钢发酵罐中, 于 37 °C, 通气量 30 L/min, 压力为 0.3 Mpa, 180 r/min 培养 48 h 获得发酵液, 取发酵液经 LPG-10 离心喷雾干燥机喷雾干燥后获得 HW05 和 BM03 纯菌粉, 参照农用微生物菌剂标准 GB 20287—2006 与聚乙烯醇和可溶性玉米粉复配获得 LNL31 (粉剂, 芽孢率 $\geq 95\%$, 有效活菌数 ≥ 100 亿个/g, 其中 HW05 ≥ 82 亿个/g, BM03 ≥ 18 亿个/g)。

供试化学药剂: 25% 吡唑醚菌酯乳油 [巴斯夫植物保护 (江苏) 有限公司]。

1.2 方法

1.2.1 LNL31 抗菌谱测试 取 0.1 g LNL31 用无菌水稀释 1000 倍, 混匀。将直径为 6 mm 的指示

病原菌胶孢炭疽菌 CG02、尖孢镰刀菌 FOC4 菌饼接种到 LB 平板中央, 距离平板中心 0.8 cm 处接 5 μ L LNL31 1000 倍稀释液, 以仅接种病原菌为对照, 于 28 $^{\circ}$ C 培养, 72 h 后测量抑菌带宽度, 观察对病原菌的拮抗效果; 取新鲜的地毯草黄单胞杆菌 XC01、大肠杆菌 DH5 α 菌液 (10^6 个/mL) 涂布于 LB 平板, 距离平板中心 0.8 cm 处接 5 μ L LNL31 1000 倍稀释液, 平板中心接入等量清水作为对照, 于 28 $^{\circ}$ C 培养, 48 h 后测量抑菌圈直径, 观察 LNL31 对病原菌的拮抗效果。每个处理重复 3 次。

1.2.2 LNL31 对病原真菌 EV02、CG02、FOC4 孢子萌发的影响 由于坏损外担菌 EV01 难以离体培养, 因此从茶树叶片的茶饼病病斑上挑取坏损外担菌孢子。参照文献[25-26]的方法, 分别制备含有 LNL31 不同稀释倍数[500 倍 (t_1)、1000 倍 (t_2)、2000 倍 (t_3)、4000 倍 (t_4)]和浓度为 1×10^6 个/mL 的病原真菌 EV01、CG02、FOC4 分生孢子的混合液。上述各处理的混合液分别接种到疏水玻片上。以添加无菌水的分生孢子液接种作为对照 (CK), 每个处理 3 个重复, 每个重复统计 100 个孢子。于 28 $^{\circ}$ C 恒温黑暗条件下保湿培养 24 h, 在显微镜下观察并计算孢子萌发率。

1.2.3 LNL31 对病原真菌 EV01 和 FOC4 菌丝和形态的影响 用移液枪吸取 1.2.2 中处理 24 h 的 EV01 和 LNL31 的混合液, 置于普通光学显微镜观察并拍照 EV01 孢子的萌发情况; 利用牙签挑取 1.2.1 中抑菌带周围 FOC4 的菌体组织, 固定到载玻片后, 置于激光共聚焦显微镜 (FV1000, Olympus) 观察暗场和明场下 FOC4 菌丝和孢子形态。

1.2.4 LNL31 对茶饼病的田间防治作用 于 2023 年 1 月 25 日在海南省五指山市水满乡茶园进行试验。大叶种茶树龄 15 a。试验共设 4 个处理, 按照推荐用量稀释: 吡唑醚菌酯稀释 1000 倍 (T_1), LNL31 稀释 1000 倍 (T_2)、500 倍 (T_3), 以清水为对照 (CK)。按照每 667 m^2 喷水量 40 kg, 各处理均为背负式喷雾器喷雾。每个处理重复 3 次, 面积 30 m^2 , 各处理间采用完全随机区组排列。间隔 7 d 后, 按相同方法进行第 2 次喷施。

(1) 防治效果测定。参照文献[4]的方法, 分别于施药前、第 1 次施药后 7 d、第 2 次施用 LNL31 7 d 后, 调查病情指数和计算防效。各处理小区选取芽下第 2 片叶, 调查 50 片叶, 分级记录。病害分级标准: 0 级, 叶片无病斑; 1 级, 病斑占叶面积 25% 以下; 2 级, 零星病斑占叶面积 26%~50%;

3 级, 病斑占叶面积 51%~75%; 4 级, 叶片上病斑密集, 占叶面积 76% 及以上。按以下公式计算病情指数和防治效果: 病情指数 = Σ (各级病叶数 $\times$ 相对级数值)/(调查总叶数 $\times 4$) $\times 100$; 防治效果 = $[1 - (\text{对照区药前病情指数} \times \text{处理区药后病情指数}) / (\text{对照区药后病情指数} \times \text{处理区药前病情指数})] \times 100\%$ 。

(2) 茶树主要生长指标测定。田间试验结束后, 参照文献[27]的方法测定生长指标。

芽长: 在各处理小区内, 设 3 个重复, 每个重复为随机选取的 100 cm $\times$ 100 cm 方形区域, 采集该区域内 1 芽 2 叶的芽头, 测定顶芽至第 2 片叶的长度。

芽密度: 在各处理小区内, 设 3 个重复, 每个重复为随机选取的 30 cm $\times$ 30 cm 范围内的健康芽头, 记录芽头个数。

鲜重: 在各处理小区内, 设 3 个重复, 每个重复为随机选取的 100 cm $\times$ 100 cm 方形区域, 采集该区域内所有 1 芽 2 叶的芽头, 采摘当天立即进行称重。

叶绿素相对含量: 在自然光下分别从每株上、下部分选取健康叶片, 用叶绿素测定仪 TYS-4N 测定叶片叶绿素相对含量, 即 SPAD 值。

(3) 叶片内生细菌微生物多样性测定。田间试验结束后, 参考文献[14]的方法, 略作修改, 随机采集茶树 3 片嫩叶, 表面消毒。提叶片 DNA 后, 基于 Illumina NovaSeq 测序平台, 利用双末端测序 (Paired-End) 的方法, 构建小片段文库, 对 16S rDNA 的 V3-V4 区域进行测序。由北京百迈客生物科技有限公司测序。

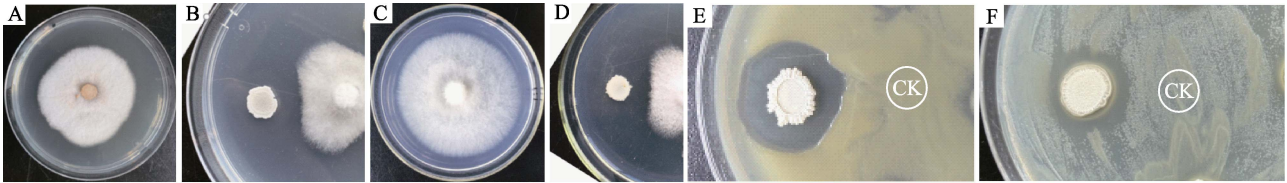
1.3 数据处理

采用 Excel 2016、SAS 9.0 软件进行试验数据的统计分析, 采用 Duncan's 新复极差法进行差异显著性分析。使用北京百迈客生物科技有限公司云平台的 Usearch、QIIME2、R 语言、Python 语言、BugBase 等软件对测序结果进行分析。

2 结果与分析

2.1 LNL31 的抗菌谱

LNL31 稀释 1000 倍后对 4 种病原菌的拮抗效果显著, 对胶孢炭疽菌 CG02 和尖孢镰刀菌 FOC4 的抑菌圈分别达 1.22、1.15 cm; 对柑橘黄单胞杆菌 XC01 和大肠杆菌 DH5 α 的抑菌圈均达 1.5 cm 以上 (图 1)。



A: CG02 对照; B: LNL31 对 CG02 的抑制; C: FOC 对照; D: LNL31 对 FOC 的抑制;
E: LNL31 对 XC01 的抑制; F: LNL31 对 DH5 α 的抑制。
A: CK of CG02; B: Inhibition of CG02 by LNL31; C: CK of FOC; D: Inhibition of FOC by LNL31;
E: Inhibition of XC01 by LNL31; F: Inhibition of DH5 α by LNL31.

图 1 LNL31 的抗菌谱

Fig. 1 Antibacterial spectrum of LNL31

2.2 LNL31 对孢子萌发的影响

通过测定 LNL31 不同稀释倍数对 EV01、FOC4 和 GC02 萌发率的影响表明, 与 CK 相比, 各处理间差异显著, LNL31 稀释 500 倍处理的孢子萌发抑制率最高, 其次为 1000 倍、2000 倍和 4000 倍。500 倍、1000 倍、2000 倍、4000 倍处理对 EV01 孢子萌发的抑制率分别为 92.01%、74.43%、59.78%和 47.06%; 对 FOC4 孢子萌发的

抑制率分别为 93.00%、78.87%、67.26%和 54.71%; 对 CG02 孢子萌发的抑制率分别为 89.04%、73.52%、61.90%和 45.90% (表 1)。

2.3 LNL31 对病原真菌孢子和菌丝的影响

通过普通显微镜观察发现, CK 的 EV01 孢子正常萌发 (图 2A), 而 LNL31 抑制了坏损外担菌 EV01 的孢子萌发 (图 2B); 通过激光共聚焦显微镜观察发现, CK 的 FOC4 菌丝和孢子呈现平

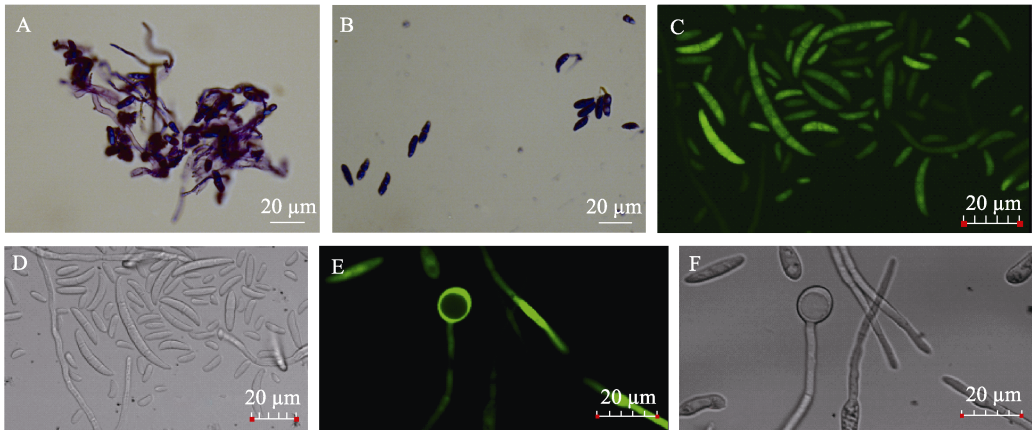
表 1 LNL31 不同稀释倍数对病原真菌孢子萌发的影响

Tab. 1 Effects of different dilution ratios of LNL31 on spore germination of pathogenic fungi %

处理 Treatment	EV01		FOC4		CG02	
	萌发率 Germination rate	抑制率 Inhibition rate	萌发率 Germination rate	抑制率 Inhibition Rate	萌发率 Germination rate	抑制率 Inhibition Rate
CK	83.67		96.00		94.67	
t ₁	6.67	92.01 $\pm$ 1.97 ^a	6.67	93.00 $\pm$ 1.87 ^a	10.33	89.04 $\pm$ 2.46 ^a
t ₂	21.33	74.43 $\pm$ 3.80 ^b	20.33	78.87 $\pm$ 2.66 ^b	25.00	73.52 $\pm$ 3.50 ^b
t ₃	33.67	59.78 $\pm$ 1.43 ^c	31.33	67.26 $\pm$ 4.69 ^c	34.67	61.90 $\pm$ 4.23 ^c
t ₄	44.33	47.06 $\pm$ 2.64 ^d	45.33	54.71 $\pm$ 3.76 ^d	51.33	45.90 $\pm$ 1.98 ^d

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).



A: EV01 对照; B: LNL31 对 EV01 的抑制; C: FOC4 对照 (暗场); D: FOC4 对照 (明场); E: LNL31 对 FOC4 的抑制 (暗场); F: LNL31 对 FOC4 的抑制 (明场)。

A: CK of EV01; B: Inhibition of EV01 by LNL31; C: CK of FOC4 (dark field); D: CK of FOC4 (bright field);
E: Inhibition of FOC4 by LNL31 (dark field); F: Inhibition of FOC4 by LNL31 (bright field).

图 2 LNL31 对病原真菌孢子萌发和菌丝生长的影响

Fig. 2 Effect of LNL31 on spore germination and mycelial growth of pathogenic fungi

滑和饱满形态（图 2C，图 2D），而加入 LNL31 后引起 FOC4 菌丝扭曲、消解和断裂，FOC4 的孢子数量也急剧减少，细胞破裂（图 2E，图 2F）。

2.4 LNL31 对茶饼病的防治效果

与 CK 相比，LNL31 稀释 500 倍处理（T₃）与化学药剂吡唑醚菌酯（T₁）的防治效果相当，喷施 LNL31 的茶树叶片茶饼病病斑显著减少（图 3），同时 LNL31 稀释 1000 倍（T₂）和 500 倍（T₃）

对茶饼病防效无显著性差异，分别在第 1 次、2 次药后 7 d 调查，各处理均未发现药害，说明菌剂施用方法对茶树安全。

第 1 次药后 7 d，LNL31 500 倍液处理（T₃）的防效达到 86.11%，LNL31 1000 倍液处理（T₂）的防效为 82.05%。第 2 次药后 7 d，防效较优的处理仍为 T₃ 和 T₁，防效分别达 91.98%和 94.63%，茶饼病病斑生长缓慢；其次为 T₂，防效为 89.17%（表 2）。



图 3 LNL31 对茶饼病的田间防效
Fig. 3 Field efficacy of LNL31 against blister blight

表 2 LNL31 对茶饼病的防效
Tab. 2 Control effects of LNL31 on blister blight

处理 Treatment	药前 Before spraying	第 1 次药后 After the first dose		第 2 次药后 After the second dose	
	病情指数 Disease index	病情指数 Disease index	防效 Control effect/%	病情指数 Disease index	防效 Control effect/%
CK	15.00	31.67		38.33	
T ₁	13.63	3.00	90.09±3.90 ^a	1.83	94.63±1.46 ^a
T ₂	14.50	5.50	82.05±1.84 ^b	4.00	89.17±3.90 ^{ab}
T ₃	13.83	4.17	86.11±3.44 ^{ab}	2.83	91.98±2.19 ^a

注：同列不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05）。
Note: Different lowercase letters in the same column represent significant difference (*P*<0.05).

2.5 LNL31 对茶树的促生作用

由表 3 可知，喷施不同稀释倍数的 LNL31 对茶树植株的促生效果有一定差异，与 CK 相比，LNL31 500 倍液处理的促生效果最为显著，芽长、芽密度、鲜重和 SPAD 均显著提高，分别提高了 36.17%、51.38%、40.00%和 36.14%；LNL31 稀释 1000 倍喷施处理次之，上述指标分别提高了 23.14%、32.10%、27.66%和 28.88%。

2.6 LNL31 对茶叶内生细菌群落的影响

2.6.1 多样性指数 与 CK 比较，T₁、T₂ 和 T₃ 处理的物种丰度指标 Ace 指数分别提高了 13.20%、20.93%、107.68%，Chao1 指数分别提高了 13.09%、20.94%、107.74%；与 CK 比较，T₃ 处理的多样性指标 Simpson 指数无显著差异，T₁ 和 T₂ 处理的 Simpson 指数分别降低了 2.40%、0.62%，Shannon 指数降低了 17.93%、7.86%，而 T₃ 处理的 Shannon 指数则提高了 4.68%（表 4）。

在 OTU 水平对不同处理叶片细菌群落进行 PCoA 分析（图 4），其中 PC1 的贡献率为 28.60%，PC2 的贡献率为 25.14%，二者累积贡献率为 53.74%。CK 分别与 T₁、T₂ 和 T₃ 处理间能明显分开，说明相同处理样品的细菌群落结构差异较小，不同处理样品的细菌群落结构差异较大。

表 3 LNL31 对茶树的促生作用
Tab. 3 Effects of LNL31 on the growth of tea trees

处理 Treat- ment	芽长 Bud length/ cm	芽密度 Bud density/ (个·m ⁻²)	鲜重 Fresh weight/ (g·m ⁻²)	SPAD
CK	1.57±0.21 ^c	72.67±2.08 ^c	16.64±1.87 ^c	31.27±1.10 ^c
T ₁	1.83±0.06 ^{abc}	78.00±5.20 ^c	18.12±1.26 ^{bc}	33.77±1.63 ^d
T ₂	1.93±0.15 ^{ab}	96.00±4.58 ^b	21.24±2.33 ^{ab}	40.30±0.90 ^b
T ₃	2.13±0.21 ^a	110.00±8.00 ^a	23.30±1.85 ^a	42.57±0.47 ^a

注：同列不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05）。
Note: Different lowercase letters in the same column represent significant difference (*P*<0.05).

表 4 Alpha 多样性指数
Tab. 4 Alpha diversity index of bacteria

处理 Treatment	特征数 Feature	Ace 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	Simpson 指数 Simpson index	Shannon 指数 Shannon index
CK	1059.67±5.51 ^d	1063.22±5.15 ^d	1060.65±5.22 ^d	0.9950±0.00 ^a	8.9761±0.05 ^b
T ₁	1195.67±33.62 ^c	1203.56±31.71 ^c	1199.46±31.72 ^c	0.9707±0.00 ^c	7.3663±0.07 ^d
T ₂	1281.00±30.64 ^b	1285.71±30.11 ^b	1282.75±29.67 ^b	0.9889±0.00 ^b	8.2706±0.15 ^c
T ₃	2201.00±20.30 ^a	2208.13±19.33 ^a	2203.43±19.49 ^a	0.9940±0.00 ^a	9.3957±0.05 ^a

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters in the same column represent significant difference ($P<0.05$).

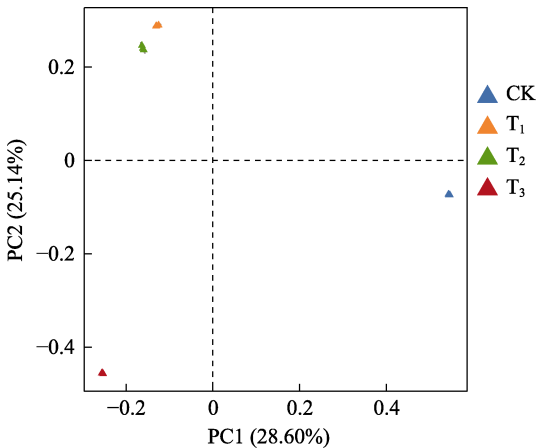


图 4 不同处理的细菌群落 PCoA 分析
Fig. 4 PCoA of bacterial community in different treatments

2.6.2 目和属水平上菌群结构组成分析 目水平丰度相对含量 (OTU 数相对丰度前 20) 排名前 5 的细菌目中, 根瘤菌目 (Rhizobiales)、鞘氨醇单胞菌目 (Sphingomonadales) 为各处理的共有优势目, 伯克氏目 (Burkholderiales) 为 CK、T₂ 和 T₃ 处理的共有优势目, 鞘氨醇杆菌目 (Sphingobacteriales) 为 T₂ 和 T₃ 处理的优势目, 微球菌目 (Micrococcales)

为 T₁ 和 T₃ 处理的优势目, 拟杆菌目 (Bacteroidales) 和毛螺菌目 (Lachnospirales) 为 CK 的独有优势目, 假单胞菌目 (Pseudomonadales) 和黄单胞菌目 (Xanthomonadales) 为 T₁ 处理的独有优势目; 丙酸杆菌目 (Propionibacteriales) 为 T₂ 处理的独有优势目 (图 5A)。

进一步对各分组样品在属水平 (OTU 数相对丰度前 20) 的相对丰度进行分析 (图 5B), 结果表明, 不同处理的细菌群落结构存在明显差异, 排名前 5 的细菌属中, 1174_901_12、甲基杆菌属 (*Methylobacterium*) 和鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*) 是各处理的共有优势属, 甲基细胞菌属 (*Methylocella*) 为 CK、T₂ 和 T₃ 处理的共有优势属; *unclassified_Bacteria* 为 CK 的独有优势属 (2.51%); 寡氧单胞菌属 (*Stenotrophomonas*) 和假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 为 T₁ 处理的独有优势属 (分别为 13.31% 和 7.23%), 拜叶林克氏菌属 (*Beijerinckia*) 为 T₂ 处理的独有优势属 (4.83%), 根瘤菌属 (*Rhizobium*) 为 T₃ 处理的独有优势属 (4.24%)。

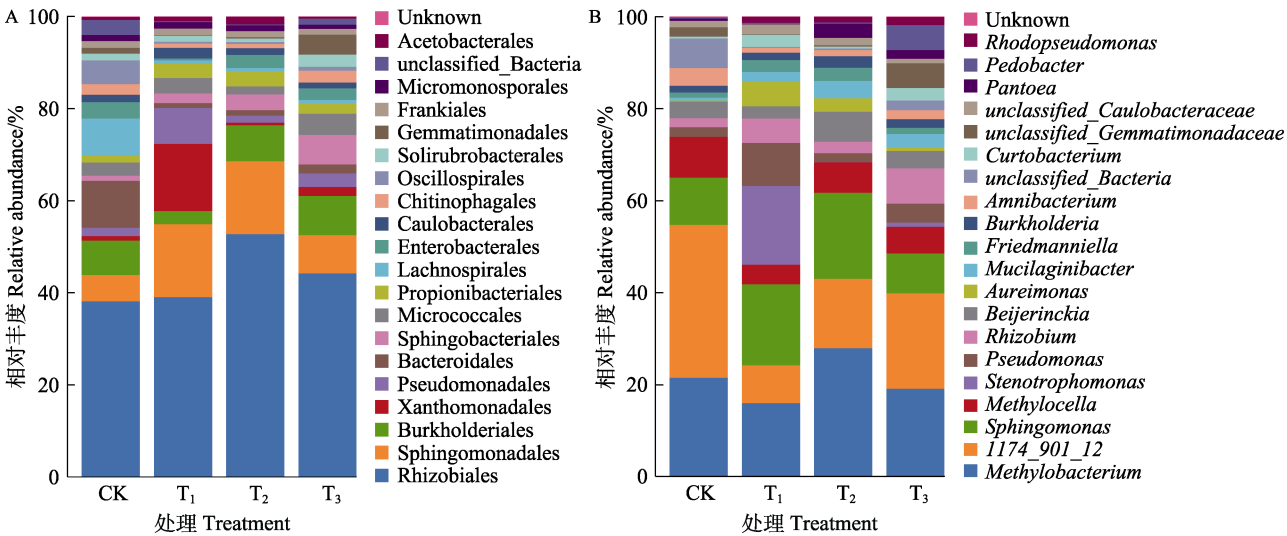


图 5 叶片内生细菌群落在目 (A) 和属 (B) 水平上的相对丰度
Fig. 5 Relative abundance of endophytic bacterial communities in leaves at order (A) and genus (B) level

2.6.3 差异物种分析 基于效应大小线性判别分析 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe) 方法, 分析了不同处理显著性差异的标志性物种

(图 6A)。设置线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA, $LDA \geq 4.0$), 共筛选出 39 个 biomarkers (图 6B)。T₁ 处理在目水平有黄色单胞

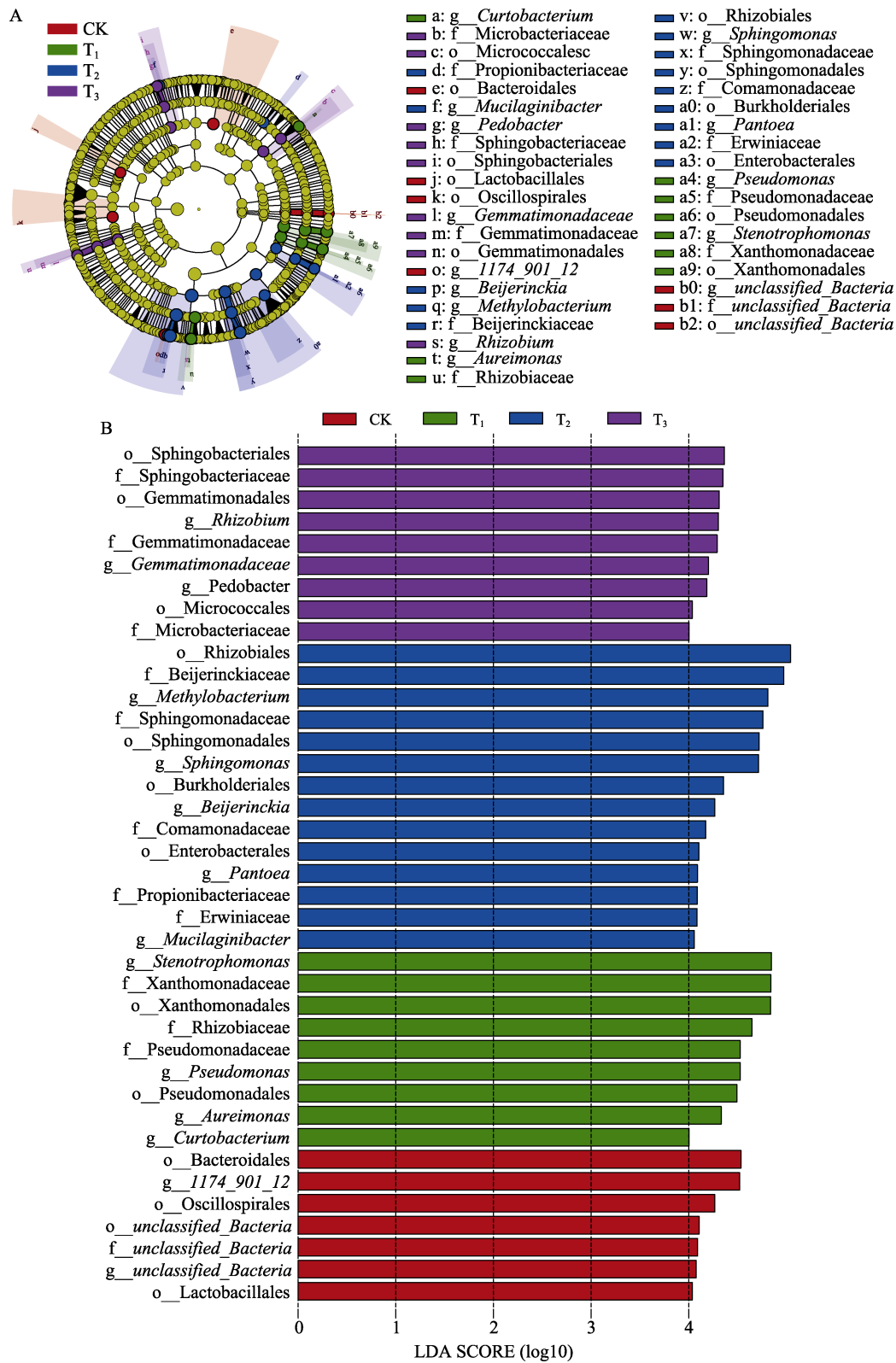


图 6 不同处理叶内差异物种 LEfSe 分析聚类图 (A) 和 LDA 分数图 (B)

Fig. 6 LEfSe analysis cluster diagram (A) and LDA score diagram (B) of different species in leaves under different treatments

菌目和假单胞菌目;科水平有黄单胞菌科(Xanthomonadaceae)、根瘤菌科(Rhizobiaceae)和假单胞菌科(Pseudomonadaceae);属水平有寡氧单胞菌属、假单胞菌属、金色单胞菌属(Aureimonas)、短小杆菌属(Curtobacterium);有 9 类物种显著高于其他处理。T₂ 处理在目水平有根瘤菌目、鞘脂单胞菌目、伯克氏目、肠杆菌目(Enterobacterales);科水平有拜叶林克氏菌科(Beijerinckiaceae)、鞘脂单胞菌科(Sphingomonadaceae)、丛毛单胞菌科(Comamonadaceae)、丙酸杆菌科(Propionibacteriaceae)、欧文菌科(Erwinaceae);属水平有甲基杆菌属、鞘氨醇单胞菌属、拜叶林克氏菌属、泛菌属(Pantoea)、黏液杆菌属(Mucilaginibacter),有 14 类物种显著高于其他处理;T₃ 处理在目水平有鞘氨醇杆菌目、芽单胞菌目(Gemmatimonadales)、微球菌目;科水平有鞘氨醇杆菌科(Sphingobacteriaceae)、芽单胞菌科(Gemmatimonadaceae)和拟杆菌科(Microbacteriaceae);属水平有根瘤菌属、芽单胞菌属(Gemmatimonadaceae)、地杆菌属(Pedobacter);有 9 类物种显著高于其他处理。

2.6.4 物种丰度聚类热图 在物种丰度聚类热图中,横向聚类表明不同物种在 T₃ 与 T₂ 处理的枝长较短,2 个处理间丰度相似;T₁ 与 CK 的枝长较短,丰度相似。纵向聚类显示,T₁ 处理的独有优势属寡氧单胞菌属和假单胞菌属分别与鞘氨醇单胞菌属和红假单胞菌属(Rhodopseudomonas)的丰度相似;T₂ 处理的独有优势属拜叶林克氏菌属与伯克霍尔德菌属的丰度相似;T₃ 处理的独有优势属根瘤菌属与 1174_901_1 的丰度相似(图 7)。

2.6.5 相关性网络图 基于 R 语言绘制相关性网络图(图 8),结果表明,芽孢杆菌属与真杆菌属、副拟杆菌属呈正相关,与甲基杆菌属、拜叶林克氏菌属和藤黄色杆菌属呈负相关。

2.6.6 内生细菌群落功能预测 基于 Bugbase 数据库对叶片内生细菌表型进行预测分析,共检测到 9 种微生物表型(图 9)。与 CK 相比,T₁ 处理的好氧菌(aerobic)、生物膜形成(forms biofilms)、可移动元件(contains mobile elements)、压力耐受(stress tolerant)、潜在致病菌(potentially pathogenic)、革兰氏阴性菌(Gram negative bacteria)的丰度增幅较大,达到 0.47%~29.01%;T₂ 处理的生物膜形成、压力耐受、革兰氏阴性菌、好氧菌、可移动元件、兼性厌氧菌(facultative

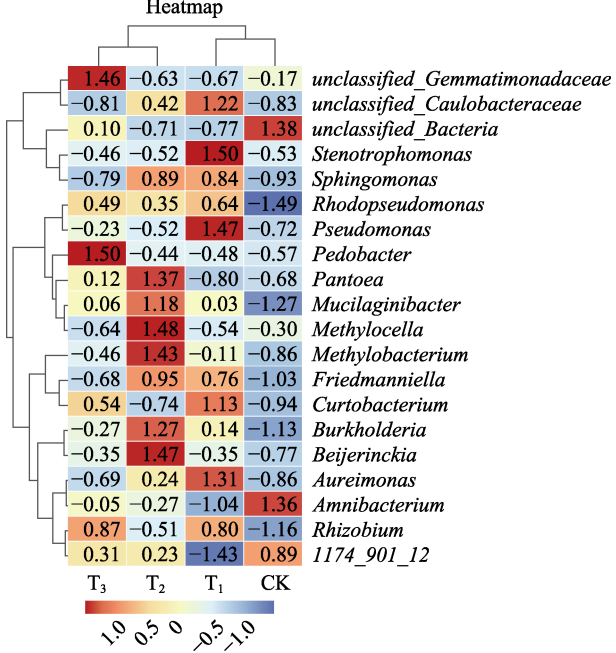


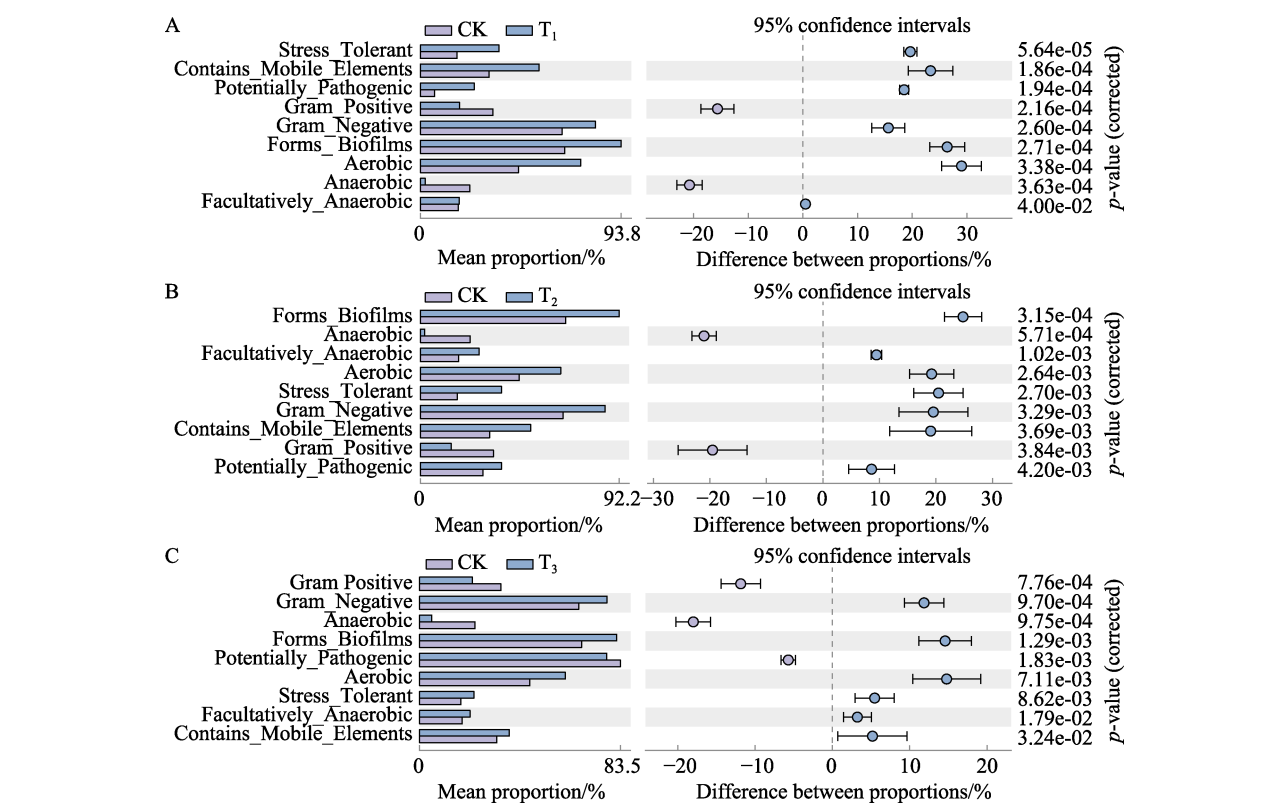
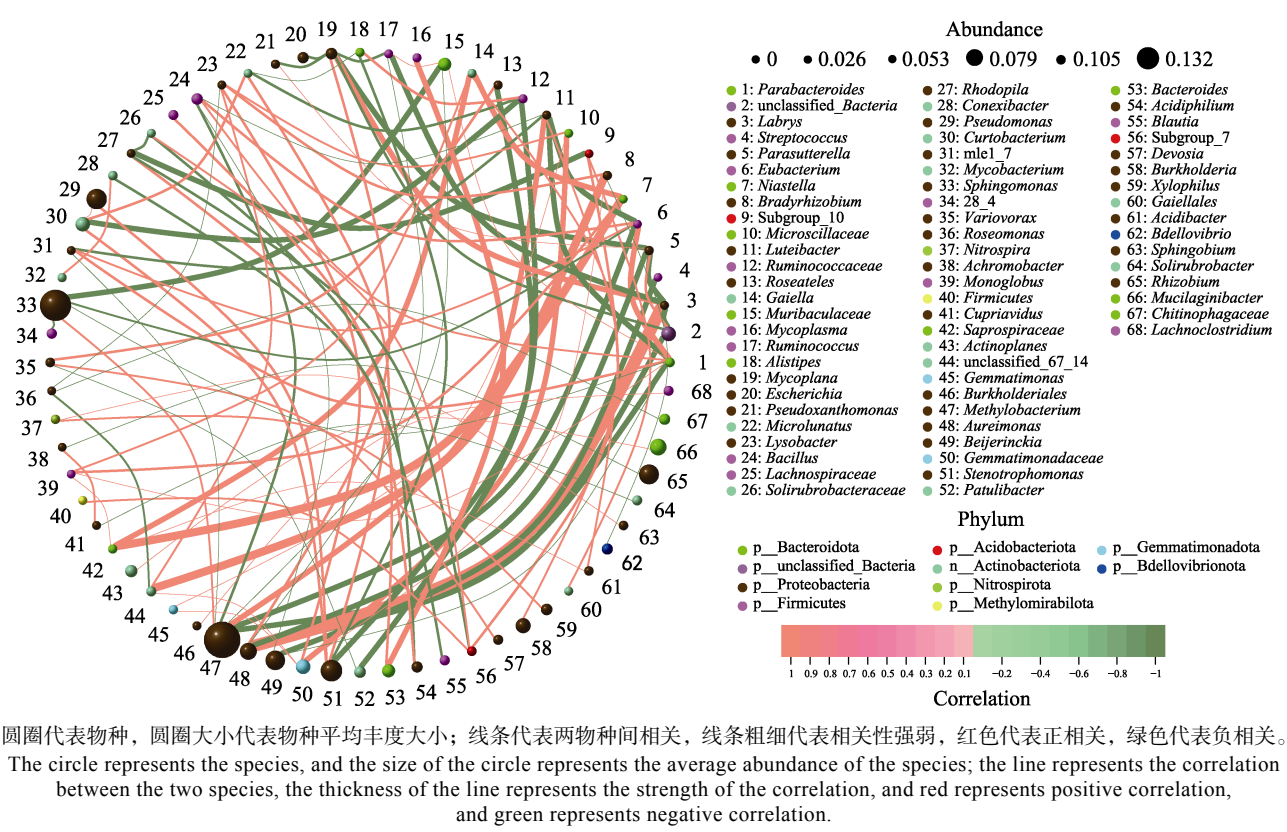
图 7 属水平物种丰度聚类热图
Fig. 7 Cluster heat map of species abundance at the genus level

anaerobic bacteria)、潜在致病菌的丰度增幅较大,达到 8.61%~24.79%;T₃ 处理的好氧菌、生物膜形成、革兰氏阴性菌、耐受压力、可移动元件、兼性厌氧菌的丰度增幅达到 3.24%~14.78%,潜在致病菌下降 5.70%。

3 讨论

目前针对田间茶饼病防治的药剂以化学药剂吡唑醚菌酯、苯醚甲环唑等为主^[4-5],防效达 80.80%,生防药剂为植物源提取物补骨脂乙素的防效达 61.72%^[28],申嗪霉素和多抗霉素的防效达 78.16%和 68.17%^[4]。而以活菌为有效成分的生物制剂防治茶饼病的报道较少。芽孢杆菌、放线菌等对茶饼病菌丝生长具有抑制作用^[8],本研究 LNL31 对 5 种病原菌坏损外担菌、胶孢炭疽菌、尖孢镰刀菌、地毯草黄单胞杆菌、大肠杆菌菌丝的抑制作用明显,对病原真菌的孢子萌发抑制率达 89.04%~93.00%,推测 LNL31 中的功能菌株具有良好分泌拮抗物质能力。

巨大芽孢杆菌 L2 可湿性粉剂对茶饼病的田间防效达 49.01%,增产达 19.02%^[9]。本研究的田间试验中发现 LNL31 的田间防效达 91.98%,茶树茶饼病病斑生长缓慢,说明该制剂能有效抑制茶饼病菌丝生长。生防菌的田间功效取决于定殖能力,影响其定殖的因子包括施用方式、田间



A、B 和 C 分别为 T₁、T₂ 和 T₃ 处理与 CK 的显著差异表型。
A, B and C represent significant phenotypic difference between T₁, T₂ and T₃ treatment and CK, respectively.

环境因子(如光照、温湿度、植物表面和内部结构和其他微生物等多种因素)^[24]。本研究中, LNL31 的 500 倍、1000 倍液对茶树芽长、芽密度、鲜重和叶绿素的促生作用分别为 23.14%~36.17%、32.10%~51.38%、27.66%~40.00% 和 28.88%~36.14%, 由此推断该菌剂施用于茶树叶后, 菌剂中的功能菌株芽孢杆菌利用叶部营养和湿度等适宜的理化因子, 分泌了促生物质。

内生菌对植物的生长和健康至关重要。鞘氨醇单胞菌属、根瘤菌属、摩根氏菌属(*Morganella*)和甲基杆菌属是茶树的常见优势内生细菌^[29]。CAO 等^[30]研究发现茶饼病发病植株的叶内生细菌丰度和多样性均低于健康植株。本研究也发现喷施以解淀粉芽孢杆菌和巨大芽孢杆菌为功能菌株的 LNL31 后, 茶树叶片内生细菌中的芽孢杆菌属并不是排名前 20 的优势属, 内生细菌群落的丰富度和均匀度增加, 叶内细菌群落有显著影响; 甲基杆菌属、1174_901_12、鞘氨醇单胞菌属和根瘤菌属等是优势属, 从而提高了指示菌群数量, 优势属拜叶林克氏菌属与伯克霍尔德菌属度相似, 根瘤菌属与 1174_901_12 丰度相似, 由此推断微生物菌剂中的芽孢杆菌菌体主要在茶树叶部表面定殖后, 分泌拮抗和促生等活性物质传导至叶内, 抑制茶饼病的发生, 改善叶内细菌群落丰度和多样性。

Bugbase 主要进行细菌的表型预测, 通过表型情况预测微生物群落生态功能^[14]。YANG 等^[31]研究发现施用多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*) KN-03 菌株能降低柑橘黄龙病菌含量, 同时提高移动元件、生物膜形成、耐受压力等类群的相对丰度。本研究通过 Bugbase 功能预测得知, 在喷施微生物菌剂 LNL31 500 倍液处理的好氧菌、生物膜形成、革兰氏阴性菌、耐受压力、可移动元件、兼性厌氧菌增幅较大, 潜在致病菌下降。需要注意的是在喷施化学药剂 25%吡唑醚菌酯 1000 倍液和微生物菌剂 LNL31 1000 倍液处理的潜在致病菌数量增加, 这些变化对茶树健康的影响尚不清楚, 需进一步研究。今后应进一步探索其生防机理, 发掘具有较强抗茶饼病作用的有益微生物, 使其在茶饼病绿色防控领域发挥更好的作用。

茶饼病一般在高湿、低温的环境条件下发生, 29℃是适宜茶饼病发生的上限^[4], 可酌情减少药剂用量。本研究的田间试验说明施用 LNL31 的时

机应在茶饼病发病前或早期, 施药次数以 2~3 次为宜, 间隔 2~3 d。根据微生物制剂特性和植株发病特点, 应均匀喷施, 同时避免在烈日下施用, 应选择傍晚或阴天施用。

本研究发现 LNL31 能抑制多种病原菌, 田间施用 LNL31 对茶饼病防效明显, 同时对茶树促生作用显著, 因此, LNL31 具有良好的应用前景, 可改善茶叶内生细菌群落结构, 为茶饼病的生物防治提供科学依据。而对茶树的防病促生机制有待深入研究。

参考文献

- [1] 周游, 赵冬香, 宁国栋, 崔江虎, 杨腊英. 海南大叶种茶树病虫害发生种类和发生程度调查[J]. 中国植保导刊, 2023, 43(11): 30-35.
ZHOU Y, ZHAO D X, NING G D, CUI J H, YANG L Y. Investigation of diseases and pests affecting Hainan large-leaf tea[J]. China Plant Protection, 2023, 43(11): 30-35. (in Chinese)
- [2] 张瑾, 王志博, 郭华伟, 孙晓玲, 肖强. 茶饼病研究进展[J]. 植物病理学报, 2023, 53(6): 1003-1013.
ZHANG J, WANG Z B, GUO H W, SUN X L, XIAO Q. Research progresses on blister blight in tea plant[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2023, 53(6): 1003-1013. (in Chinese)
- [3] HAN Y, DENG X, TONG H, CHEN Y. Effect of blister blight disease caused by *Exobasidium* on tea quality[J]. Food Chemistry: X, 2024, 21: 1-11.
- [4] 杨文波, 向芬, 刘红艳, 李维, 银霞, 欧高财, 王沅江, 曾泽萱, 周凌云. 不同药剂对茶饼病的田间防效评价[J]. 中国植保导刊, 2022, 42(12): 81-84.
YANG W B, XIANG F, LIU H Y, LI W, YIN X, OU G C, WANG Y J, ZENG Z X, ZHOU L Y. Evaluation of field control effect of different pesticides on tea blister blight disease[J]. China Plant Protection, 2022, 42(12): 81-84. (in Chinese)
- [5] 吴庆丽, 秦刚, 李慧, 刘玮, 杨林. 助剂激健与杀菌剂混用对 3 种茶树病害的防效[J]. 中国植保导刊, 2020, 40(8): 69-71, 77.
WU Q L, QIN G, LI H, LIU W, YANG L. Effect of mixed use of adjuvant stimulant and fungicide on three tea tree diseases[J]. China Plant Protection, 2020, 40(8): 69-71, 77. (in Chinese)
- [6] SOWNDHARARAJAN K, MARIMUTHU S, MANIAN S. Biocontrol potential of phylloplane bacterium *Ochrobactrum anthropi* BMO 11 against blister blight disease of tea[J]. Journal of Applied Microbiology, 2013, 114(1): 209-218.

- [7] GUNASEKERA T S, PAUL N D. Ecological impact of solar ultraviolet - B (UV - B: 320–290 nm) radiation on *Corynebacterium aquaticum* and *Xanthomonas* sp. colonization on tea phyllosphere in relation to blister blight disease incidence in the field[J]. Letters in Applied Microbiology, 2007, 44(5): 513-519.
- [8] 韦思梅, 彭丽娟. 抑制茶饼病菌放线菌及细菌的筛选与鉴定[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(1): 73-76, 80.
WEI S M, PENG L J. Screening and identification of actinomycete and bacteria strains with inhibition function against *Exobasidium vexans*[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2015, 43(1): 73-76, 80. (in Chinese)
- [9] 雷丹. 巨大芽孢杆菌可湿性粉剂的研制和生防效果研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2022.
LEI D. Preparation of *Bacillus megaterium* wettable powder and study on biocontrol effect[D]. Guiyang: Guizhou University, 2022. (in Chinese)
- [10] 戴青冬, 汪军, 邢益范, 陈平亚, 毛超, 王飞燕, 黄俊生. 两株抗香蕉枯萎病生防菌的筛选与生防效应研究[J]. 广东农业科学, 2014, 41(11): 73-77.
DAI Q D, WANG J, XING Y F, CHEN P Y, MAO C, WANG F Y, HUANG J S. Screening and biological control effect of two antagonistic bacteria against banana *Fusarium wilt*[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2014, 41(11): 73-77. (in Chinese)
- [11] 刘磊, 梁昌聪, 杨腊英, 薛玉潇, 郭立佳, 王国芬, 黄俊生. 生防芽孢杆菌与化学杀菌剂混配对抗香蕉枯萎病菌室内毒力测定[J]. 中国南方果树, 2013, 42(6): 66-68.
LIU L, LIANG C C, YANG L Y, XUE Y X, GUO L J, WANG G F, HUANG J S. Indoor toxicity test of biocontrol *Bacillus* and chemical fungicides on banana *Fusarium oxysporum*[J]. China Southern Fruit Tree, 2013, 42(6): 66-68. (in Chinese)
- [12] 刘磊, 梁昌聪, 曾迪, 杨腊英, 郭立佳, 丁兆建, 黄俊生. 芽孢杆菌次生代谢产物及其在土传病害防控中的应用研究进展[J]. 热带作物学报, 2017, 38(4): 775-782.
LIU L, LIANG C C, ZENG D, YANG L Y, GUO L J, DING Z J, HUANG J S. Research progress on secondary metabolites of *Bacillus* spp. and their applications in biocontrol of soil-borne diseases[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2017, 38(4): 775-782. (in Chinese)
- [13] 曹智淳, 汪军, 王国芬, 杨腊英, 郭立佳, 黄俊生. 一株拮抗香蕉枯萎病芽孢杆菌的液体发酵培养基优化[J]. 分子植物育种, 2016, 14(4): 1003-1008.
CAO Z C, WANG J, WANG G F, YANG L Y, GUO L J, HUANG J S. Optimization of liquid fermentation medium of an antagonistic *Bacillus* sp. against banana *Fusarium wilt*[J]. Molecular Plant Breeding, 2016, 14(4): 1003-1008. (in Chinese)
- [14] 崔明秦, 张东华, 闫晓慧, 洪英娣, 马焕成, 伍建榕, 刘丽. 油茶炭疽菌侵染对油茶叶片内生细菌群落结构的影响[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(4): 911-919.
CUI M Q, ZHANG D H, YAN X H, HONG Y D, MA H C, WU J R, LIU L. Effects of *Colletotrichum* sp. infection on endophytic bacterial community in leaves of *Camellia oleifera*[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2022, 38(4): 911-919. (in Chinese)
- [15] RAHMA H, BUSNIAH M, KRISTINA N, LARASATI Y. The potential of endophytic bacteria to suppress bacterial leaf blight in rice plants[J]. Biodiversitas: Journal of Biological Diversity, 2022, 23(2): 775-782.
- [16] UWAREMWE C, YUE L, WANG Y, TIAN Y, ZHAO X, LIU Y, ZHOU Q, ZHANG Y, WANG R. An endophytic strain of *Bacillus amyloliquefaciens* suppresses *Fusarium oxysporum* infection of Chinese wolfberry by altering its rhizosphere bacterial community[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 12: 1-15.
- [17] YADAV U, BANO N, BAG S, SRIVASTAVA S, SINGH P C. An insight into the endophytic bacterial community of tomato after spray application of propiconazole and *Bacillus subtilis* strain NBRI-W9[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(5): 1-16.
- [18] FENG Y, ZHANG Y, SHAH O U, LUO K, CHEN Y. Isolation and identification of endophytic bacteria *Bacillus* sp. ME9 that exhibits biocontrol activity against *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*[J]. Biology, 2023, 12(9): 1-23.
- [19] CAWOY H, DEBOIS D, FRANZIL L, PAUW E D, THONART P, ONGENA M. Lipopeptides as main ingredients for inhibition of fungal phytopathogens by *Bacillus subtilis* / *amyloliquefaciens*[J]. Microbial Biotechnology, 2015, 8(2): 281-295.
- [20] 邓涛, 郭立佳, 杨腊英, 周游, 汪军, 柳志强, 黄俊生. 香蕉枯萎病拮抗芽孢杆菌脂肽类抗生素基因引物筛选[J]. 分子植物育种, 2020, 18(24): 8196-8205.
DENG T, GUO L J, YANG L Y, ZHOU Y, WANG J, LIU Z Q, HUANG J S. Screening of primer sets for amplification cyclic lipopeptide gene of *Bacillus* against banana *Fusarium wilt*[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(24): 8196-8205. (in Chinese)
- [21] 胡君妍. 复合拮抗菌组合筛选及覆盖和深施模式下对香蕉枯萎病的防控作用研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2021.
HU J Y. Study on the screening of compound antagonistic antibacterial combinations and their effects on banana *Fusarium wilt* under mulching and deep application modes[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2021. (in Chinese)
- [22] 汪军, 符小发, 王国芬, 杨腊英, 黄俊生. 枯草芽孢杆菌

- 防治甜瓜白粉病效果及对甜瓜生长的影响[J]. 中国植保导刊, 2017, 37(5): 71-73.
- WANG J, FU X F, WANG G F, YANG L Y, HUANG J S. Effect of *Bacillus subtilis* on controlling melon powdery mildew and its effect on melon growth[J]. China Plant Protection, 2017, 37(5): 71-73. (in Chinese)
- [23] 周游, 杨腊英, 汪军, 郭立佳, 梁昌聪, 刘磊, 黄俊生. 枯草芽孢杆菌和绿色木霉协同促进芹菜生长的研究[J]. 中国土壤与肥料, 2020(2): 213-219.
- ZHOU Y, YANG L Y, WANG J, GUO L J, LIANG C C, LIU L, HUANG J S. Study of synergistic-enhanced effect on promoting celery growth by *Bacillus subtilis* and *Trichoderma viride*[J]. Chinese Soil and Fertilizers, 2020(2): 213-219. (in Chinese)
- [24] 汪军, 周游, 杨腊英, 刘磊, 符红文, 黄俊生. 施用复合菌肥与套作对香蕉枯萎病控病作用的影响[J]. 中国果树, 2019(6): 69-72.
- WANG J, ZHOU Y, YANG L Y, LIU L, FU H W, HUANG J S. Effects of compound microbial fertilizer application and intercropping on controlling *Fusarium* wilt of banana[J]. Chinese Fruit, 2019(6): 69-72. (in Chinese)
- [25] 刘涵斐, 徐婷婷, 李锡宏, 邱梦娟, 张艺千, 郑露, 黄俊斌, 黎妍妍. 贝莱斯芽孢杆菌 F85 对烟草炭疽病的生防作用研究[J]. 中国烟草科学, 2023, 44(3): 47-52, 61.
- LIU H F, XU T T, LI X H, QIU M J, ZHANG Y Q, ZHENG L, HUANG J B, LI Y Y. Study on the biocontrol effect of *Bacillus velezensis* F85 against tobacco anthracnose[J]. Chinese Tobacco Science 2023, 44(3): 47-52, 61. (in Chinese)
- [26] 李丹, 李茸梅, 秦伟英, 周宇, 尚巧霞, 任争光, 魏艳敏, 赵晓燕. 两株解淀粉芽孢杆菌对西瓜枯萎病的防治作用及其相关生防因子检测[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(5): 729-737.
- LI D, LI R M, QIN W Y, ZHOU Y, SHANG Q X, REN Z G, WEI Y M, ZHAO X Y. Control effects and related biocontrol factors detection of two *Bacillus amyloliquefaciens* strains on watermelon *Fusarium* wilt[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2018, 34(5): 729-737. (in Chinese)
- [27] 钟圣赞, 陈国德, 张伟, 吴海霞, 符生波, 符溶. 不同遮荫处理对海南大叶种茶叶产量和品质季节变化的影响[J]. 现代农业科技, 2019(17): 5-7, 9.
- ZHONG S Y, CHEN G D, ZHANG W, WU H X, FU S B, FU R. Effect of different shading treatments on seasonal change of tea yield and quality of *C. sinensis* var. *assamica*[J]. Modern Agricultural Technology, 2019(17): 5-7, 9. (in Chinese)
- [28] YANG X J, CAO K Q, REN X L, CAO G Y, XUN W Z, QIN J Y, ZHOU X, JIN L H. Field control effect and initial mechanism: a study of isobavachalcone against blister blight disease[J]. International Journal of Molecular Sciences. 2023, 24(12): 1-16.
- [29] LIN H, LIU C, PENG Z, TAN B, WANG K, LIU Z. Distribution pattern of endophytic bacteria and fungi in tea plants[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1-12.
- [30] CAO R, DONG X, ZHAO, Y, YIN J. Effects of blister blight disease on endophytic microbial diversity and community structure in tea (*Camellia sinensis*) leaves[J]. 3 Biotech, 2023, 13(12): 421.
- [31] YANG Y, WANG F, JIANG J, JIANG L. Inhibition of citrus Huanglongbing disease by *Paenibacillus polymyxa* KN-03 and analysis with transcriptome and microflora[J]. Agronomy, 2023, 13: 1-23.