

# 米修链霉菌 TF78 对香蕉枯萎病的田间防效及根际土壤微生物的影响

黄穗萍<sup>1</sup>, 李其利<sup>1</sup>, 韦绍龙<sup>2</sup>, 唐利华<sup>1</sup>, 陈小林<sup>1</sup>, 黄素梅<sup>2</sup>, 郭堂勋<sup>\*1</sup>

1 广西壮族自治区农业科学院植物保护研究所 广西作物病虫害生物学重点实验室, 广西 南宁 530007

2 广西壮族自治区农业科学院生物技术研究所, 广西 南宁 530007

黄穗萍, 李其利, 韦绍龙, 唐利华, 陈小林, 黄素梅, 郭堂勋. 米修链霉菌 TF78 对香蕉枯萎病的田间防效及根际土壤微生物的影响[J]. 微生物学通报, 2022, 49(9): 3693-3708

Huang Suiping, Li Qili, Wei Shaolong, Tang Lihua, Chen Xiaolin, Huang Sumei, Guo Tangxun. Effects of *Streptomyces misionensis* TF78 on fusarium wilt of field-grown banana and rhizosphere soil microorganisms [J]. Microbiology China, 2022, 49(9): 3693-3708

**摘要:**【背景】香蕉枯萎病是香蕉生产上的毁灭性病害, 生物防治是遏制该病害发生的有效手段。在前期的研究中, 从健康香蕉根际土壤中分离获得一株对香蕉枯萎病具有良好盆栽防治效果的生防菌——米修链霉菌(*Streptomyces misionensis*) TF78, 但其对香蕉枯萎病的田间生防潜力和对土壤微生物环境的影响尚不清楚。【目的】评价米修链霉菌 TF78 对香蕉枯萎病的田间防治效果, 明确其对香蕉根际土壤微生物群落的影响。【方法】选取两块发病香蕉园, 测定该生防菌株对香蕉枯萎病的防治效果, 并利用扩增子测序技术分析施用菌剂组和空白对照组共 12 份香蕉根际土壤的微生物多样性和丰度。【结果】米修链霉菌 TF78 对两块香蕉园的田间防效分别达 55.30% 和 45.32%。该生防菌株处理组的物种稀释曲线坡度大于空白对照组, 并显著富集了优势种群梳霉门(*Kickxellomycota*), 消减了绿弯菌门(*Chloroflexi*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)和苔藓杆菌(*Bryobacter*)的丰度, 对土壤中优势种群变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)及木霉属(*Trichoderma*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)的相对丰度影响不显著。【结论】米修链霉菌 TF78 塑造了不利于香蕉枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* 存活的土壤环境, 有效降低了田间香蕉枯萎病的发生, 同时对土壤中大部分具有重要生态功能和抑菌功能

基金项目: 广西壮族自治区科技重大专项(桂科 AA18118028-6); 广西农业科学院科技发展基金(2015JZ40, 2015JZ43, 2015JZ56); 广西农业科学院基本科研业务专项(桂农科 2022YM06)

**Supported by:** Science and Technology Major Project of Guangxi Zhuang Autonomous Region (AA18118028-6); Science and Technology Development Fund of Guangxi Academy of Agricultural Sciences (2015JZ40, 2015JZ43, 2015JZ56); Guangxi Academy of Agricultural Sciences Basic Scientific Research Project (2022YM06)

\*Corresponding author: E-mail: guotangxun@gxaas.net

Received: 2022-01-24; Accepted: 2022-03-15; Published online: 2022-04-25

的优势微生物种群影响不显著。该研究结果为米修链霉菌 TF78 的进一步开发应用奠定了基础。

**关键词：**链霉菌；香蕉枯萎病；田间防治；土壤微生物群落结构

## Effects of *Streptomyces misionensis* TF78 on fusarium wilt of field-grown banana and rhizosphere soil microorganisms

HUANG Suiping<sup>1</sup>, LI Qili<sup>1</sup>, WEI Shaolong<sup>2</sup>, TANG Lihua<sup>1</sup>, CHEN Xiaolin<sup>1</sup>, HUANG Sumei<sup>2</sup>, GUO Tangxun<sup>\*1</sup>

1 Guangxi Key Laboratory of Biology for Crop Diseases and Insect Pests, Plant Protection Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, Guangxi, China

2 Biotechnology Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, Guangxi, China

**Abstract:** [Background] Fusarium wilt of banana is a devastating disease in banana production. Biological control is an effective means to prevent the occurrence of this disease. In previous studies, *Streptomyces misionensis* TF78, a biocontrol strain, was isolated from the rhizosphere soil of healthy bananas, which showed good control effect on fusarium wilt of potted bananas. However, the biocontrol potential of *S. misionensis* TF78 against fusarium wilt of banana in the field and its impact on soil microbial environment are still unclear. [Objective] The paper was designed to evaluate the control effect of *S. misionensis* TF78 on fusarium wilt of banana in the field and determine its influence on the microbial communities in the rhizosphere soil of bananas. [Methods] The control effect of the biocontrol strain on fusarium wilt of banana was measured in two banana plantations. Microbial diversity and abundance of 12 rhizosphere soil samples from the inoculation group and the blank control group were analyzed by amplicon sequencing. [Results] The field control efficiency of *S. misionensis* TF78 on the two banana plantations were 55.30% and 45.32%. The slope for rarefaction curve of the inoculation group was larger than that of the blank control group, and *Kickxellomycota* was significantly enriched, while the abundances of *Chloroflexi*, *Acidobacteria* and *Bryobacter* were reduced. The biocontrol strain had no marked effect on the relative abundances of the dominant *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Trichoderma*, *Sphingomonas*, *Stenotrophomonas* and *Bacillus* in the soil. [Conclusion] *S. misionensis* TF78 shaped the unfavorable soil environment to the survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, and reduced the occurrence of fusarium wilt of banana in the field. Additionally, the strain failed to affect most of the dominant microbial populations with important ecological and bacteriostatic functions in the soil. The results lay a foundation for further development and application of *S. misionensis* TF78.

**Keywords:** *Streptomyces*; fusarium wilt of banana; field control; soil microbial community structure

我国是世界上最早种植香蕉的国家之一，也是世界香蕉主产国，香蕉已经成为我国热带亚热带地区的重要经济作物<sup>[1]</sup>。近年来，由尖孢镰刀

菌古巴专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, FOC) 侵染引起的香蕉枯萎病重创了我国乃至全球的香蕉产业，造成严重的产量损失，

亟须寻找有效的防治技术控制其发生。然而香蕉枯萎病是一种极难防治的土传病害, 目前缺乏可商品化的抗性品种<sup>[2]</sup>, 也缺少有效防控香蕉枯萎病的化学药剂。以生物防治为基础的综合防治技术是目前应用最广泛的香蕉枯萎病防控手段<sup>[3-4]</sup>。实践证明, 生防菌剂与有机肥混合制成的生物有机肥可以显著降低香蕉枯萎病的发生<sup>[5]</sup>。生防菌剂在田间土壤中发挥的作用受土壤环境影响巨大, 基于不同生境获得新的有效的生防资源对于防控香蕉枯萎病具有重要的意义。土壤微生物间存在拮抗、促进、共存等相互作用, 在土壤中人为添加特定微生物种类会引起土壤微生物群落的变化<sup>[6]</sup>。研究生防菌田间施用后对土壤微生物群落的影响, 可揭示生防菌抑菌作用的土壤微生物学机制并评估生防菌的生态安全, 为生防菌进一步开发应用奠定基础。

利用高通量测序技术和生物信息学分析方法研究土壤微生物群落, 包括土壤微生物群落的丰度、多样性水平和组成, 能在不同分类水平比较土壤微生物群落组成的差异, 极大地推动了微生物生态研究进程并成为研究的热点<sup>[7]</sup>。

链霉菌属(*Streptomyces*)可以产生大量的抗生素, 也会产生具有抑菌活性的挥发性物质和裂解酶如几丁质酶, 能诱导植株抗性, 在土壤中具有较强的竞争和拮抗优势<sup>[8]</sup>。研究表明, 链霉菌属(*Streptomyces*)是良好的生防微生物类群。张涵等<sup>[9]</sup>从土壤样品中分离获得一株对苦瓜枯萎病菌具有稳定拮抗活性的链霉菌 WLU210, 田间防治效果可达 68.89%。

链霉菌对香蕉枯萎病菌也具有良好的拮抗作用。Wang 等<sup>[10]</sup>从海洋软珊瑚中分离获得一株链霉菌(*Streptomyces* sp.) WHL7, 盆栽试验发现菌株 WHL7 可以显著增加香蕉植株对枯萎病的抗性。秦涵淳等<sup>[11]</sup>从香蕉根围土壤中筛选拮

抗 FOC 的放线菌, 其中 4 株放线菌抑制 FOC 菌丝生长, 8 个菌株抑制 FOC 孢子萌发, 6 个菌株的盆栽防治效果超过 85%。周登博等<sup>[12]</sup>从香蕉根际土壤中分离到一株卢娜林瑞链霉菌(*S. lunalinharesii*), 盆栽防治效果达到 72.72%。Cao 等<sup>[13]</sup>从健康和患病的香蕉植株叶片和根内分离到拮抗 FOC 的链霉菌属(*Streptomyces*)微生物。然而上述研究只停留在盆栽试验阶段, 关于链霉菌田间防治香蕉枯萎病以及链霉菌对香蕉根际土壤微生物群落影响的研究鲜见报道。

在前期的研究中, 本实验室从广西发病香蕉园的健康香蕉根际土壤中分离获得一株对香蕉枯萎病具有良好盆栽防治效果的米修链霉菌(*S. misionensis*) TF78, 本文通过研究该生防菌株对香蕉枯萎病的田间防效和根际土壤微生物群落的影响, 以期确定其对香蕉枯萎病的田间防治潜力和生态风险, 同时揭示该菌株田间遏制香蕉枯萎病菌的土壤微生物学机制, 为其进一步的商品化开发提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 试验地

广西壮族自治区南宁市金陵镇金陵村(N22°55'12.30", E108°02'42.33")和坛洛镇群南村(N22°53'4.24", E107°58'3.50"), 香蕉枯萎病发病 2 年, 种植前香蕉枯萎病发病率分别为 28% 和 32%, 两块试验地的理化性质见表 1。

#### 1.1.2 生防菌株

米修链霉菌 TF78 分离自香蕉根际土壤, 由广西壮族自治区农业科学院植物保护研究所果树病害研究团队分离并保存(保藏于广东省微生物菌种保藏中心, 保藏号为 GDMCC60254)。

#### 1.1.3 供试香蕉品种

当地主栽香蕉品种威廉斯 B6 (*Musa* AAA *Cavendish*), 广西香蕉组培苗有限公司。

表 1 试验地土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of soil in two experimental lands

理化性质 Physical and chemical properties	金陵镇金陵村 Jinling town Jinling village	坛洛镇群南村 Tuanluo town Qunnan village
水解性氮 Hydrolytic nitrogen (mg/kg)	94.20	101.3
有效磷 Available phosphorus (mg/kg)	252.4	64.60
速效钾 Available potassium (mg/kg)	436.6	406.50
有机质 Organic matter (g/kg)	19.20	30.30
交换性钙 Exchangeable calcium (g/kg)	1.98	3.25
交换性镁 Exchangeable magnesium (mg/kg)	249.60	88.80
pH	6.38	4.82

### 1.1.4 主要试剂和仪器及培养基

基因组 DNA 提取试剂盒 DP180427 和 Universal DNA 纯化回收试剂盒 DP214, 天根生化科技有限公司; PCR Master Mix with GC Buffer 和 DNA Polymerase, New England Biolabs 公司; 文库构建试剂盒 Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns, Thermo Scientific 公司。

电泳仪, 北京六一生物科技有限公司; 梯度 PCR 仪, Bio-Rad 公司; 核酸分析仪, PerkinElmer 公司; 高通量测序分析仪, Thermo Fisher 公司。

ISP1 液体培养基: 胰蛋白胨 5.0 g, 酵母浸出粉 3.0 g, 蒸馏水 1 L, pH 7.0–7.2; ISP2 培养基平板: 酵母浸出粉 4.0 g, 麦芽浸出粉 10.0 g, 葡萄糖 4.0 g, 琼脂粉 18.0 g, 蒸馏水 1 L, pH 7.3。

## 1.2 米修链霉菌 TF78 粉剂制备

### 1.2.1 米修链霉菌 TF78 种子液制备

将保存于-80 °C 冰箱的米修链霉菌 TF78 室温放置 2 h, 吸取 50  $\mu$ L 保存液加入 ISP2 培养基平板, 涂布均匀, 28 °C 培养 4 d, 获得菌株 TF78 的单菌落。挑取菌株 TF78 的单菌落到 ISP1 液体培养基, 28 °C、180 r/min 振荡培养 3 d, 获得菌株 TF78 的种子液。

### 1.2.2 米修链霉菌 TF78 固体发酵

参照穆燕魁等<sup>[14]</sup>的方法制备米修链霉菌 TF78 固体发酵培养基, 以 10% 的接种量将米修

链霉菌 TF78 种子液接种到固体发酵培养基中, 30 °C 发酵 4 d。待培养基中有大量链霉菌生长后, 将容器盖取下, 用灭菌的四层纱布罩住容器口, 30 °C 继续培养 5 d, 促进米修链霉菌 TF78 孢子的产生。将培养好的米修链霉菌 TF78 固体培养物自然风干后粉碎成粉末状, 4 °C 冰箱中保存备用。

## 1.3 米修链霉菌 TF78 对香蕉枯萎病的田间防治效果及香蕉产量测定

2018 年 2 月, 将金陵镇金陵村和坛洛镇群南村两块香蕉种植地土壤翻耕混匀, 田间起垄后, 挖 10–15 cm 深、直径约 30 cm 的穴, 在穴底和穴四周撒施生防菌剂米修链霉菌 TF78 ( $7.0 \times 10^9$  CFU/g) 施用量为 20 g/穴, 对照组不施生防菌剂, 每穴种植一株 25–30 cm 高的香蕉组培苗, 处理组和对照组设 3 个重复, 每个重复 10 株香蕉组培苗, 田间随机区组排列。

香蕉种植后 10 个月(香蕉果实膨大期), 调查香蕉枯萎病的发病率并计算防效。

发病率(%)=香蕉枯萎病发病株数/调查总香蕉株数 $\times$ 100;

防病效果(%)=(对照发病率-处理发病率)/对照发病率 $\times$ 100。

在香蕉采收期统计每个重复的总产量, 并折算成亩产量(按照一亩种植香蕉 120 株算)。

## 1.4 米修链霉菌 TF78 对田间香蕉根际微生物群落的影响

### 1.4.1 香蕉根际土壤的采集

采用抖动法采集供试的香蕉根际土壤,先去除表面 5 cm 的土壤,将离地面 10 cm 左右的香蕉根系挖出,抖落大土块,收集附着在根系上的土壤作为根际土壤,每株香蕉取一个点,每个重复香蕉根际土壤混合成一份样本。采集的土壤样品立即用无菌袋密封放进冰盒带回实验室,将大块的样品捣碎,过 2 mm 筛后,放 -80 °C 备用。

### 1.4.2 土壤基因组 DNA 的提取和测序

由北京诺禾致源科技股份有限公司完成土壤基因组 DNA 提取、基因组扩增和测序工作,具体操作如下:使用磁珠法土壤和粪便基因组 DNA 提取试剂盒对采集样本的 DNA 进行提取,之后利用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度,取适量的样本 DNA 于离心管中,使用超纯水稀释 DNA 样本至 1 ng/μL。以合适浓度的基因组 DNA 为模板,依据选择的测序区域,采用带条形码的特异引物<sup>[15-16]</sup>,使用 PCR Master Mix with GC Buffer 和高效高保真酶 DNA Polymerase 进行 PCR 扩增。测序的区域和特异引物见表 2。使用 2% 的琼脂糖凝胶对 PCR 产物进行电泳检测;依据 PCR 产物浓度进行等量混样,然后使用 2% 的琼脂糖凝胶电泳(1×TAE)纯化 PCR 产物,剪切回收目标条带。使用 Universal DNA 纯化回收试剂盒 DP214 回收纯化产物。使用 Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns 建库试剂盒进行文库的构建,然后经过 Qubit 定量和文库检测,

使用 Ion S5 XL 进行上机测序。

### 1.4.3 测序数据处理

使用软件 Cutadapt V1.9.1<sup>[17]</sup>先对测序短序列的低质量部分进行剪切,再依据条码技术从得到的短序列中拆分出各样品数据,移去条码技术和引物序列初步质控后获得原始数据。经过以上处理后得到的短序列进行去除嵌合体序列的处理,短序列通过 VSEARCH (<https://github.com/torognes/vsearch/>)<sup>[18]</sup>与物种注释数据库进行比对,检测嵌合体序列,并最终去除其中的嵌合体序列<sup>[19]</sup>,得到最终的有效数据。

利用 UPARSE 软件(V 7.0.1001)<sup>[20]</sup>对所有样品的全部有效数据进行聚类,默认以 97% 的一致性将有效序列聚类成为一个分类操作单元 (operational taxonomic unit, OTU),选取 OTU 的代表性序列,对 OTU 代表性序列进行物种注释,用 Mothur 方法与 SILVA132 (<http://www.arb-silva.de/>)<sup>[21]</sup>的 SSUrRNA 数据库<sup>[22]</sup>进行物种注释分析(设定阈值为 0.8–1.0),获得分类学信息并分别在各个分类水平统计各样本的群落组成。使用 MUSCLE<sup>[23]</sup>(V3.8.31, <http://www.drive5.com/muscle/>)软件进行快速多序列比对,得到所有 OTU 序列的系统发生关系。最后对各样品的数据进行均一化处理,以样品中数据量最少的为标准进行均一化处理,后续的  $\alpha$  多样性分析和  $\beta$  多样性分析都是基于均一化处理后的数据。

使用 QIIME 软件计算群落丰度(Chao1 指数, Shannon 指数)和群落多样性(Simpson 指数,

表 2 微生物测序区域和特异引物

Table 2 Sequencing region and specific primers of microorganism

测序区域	引物名称	引物序列
Sequencing region	Primer name	Primer sequence (5'→3')
16S V3-V4	341F	CCTAYGGGRBGCASCAG
	806R	GGACTACNNGGTATCTAAT
ITS1-5F	ITS5-1737F	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG
	ITS2-2043R	GCTGCGTTCTTCATCGATGC

ACE 指数);使用 R 软件(V2.15.3)绘制稀释曲线,并使用 R 软件进行  $\alpha$  多样性指数组间差异分析。

根据物种注释结果,选取每个样本或分组在各分类水平上最大丰度前 10 的物种,生成物种相对丰度柱形累加图。

### 1.5 统计分析

利用 DPS 软件计算生防菌剂对香蕉枯萎病的发病率、防效、亩产和土壤微生物丰度和多样性指数的平均值、标准误差和差异显著性分析;利用  $t$  检验比较两组间差异显著( $P \leq 0.05$ )的物种。

## 2 结果与分析

### 2.1 米修链霉菌 TF78 对香蕉枯萎病的田间防治效果

由表 3 可知,在金陵镇和坛洛镇 2 块试验地,米修链霉菌 TF78 处理的发病率均比空白对照组的发病率低( $P \leq 0.05$ ),防效分别为 55.30% 和 45.32%。在 2 块试验地,米修链霉菌 TF78 处理的香蕉亩产量显著高于空白对照组。该结果表明,米修链霉菌 TF78 不仅能显著降低香蕉枯萎病的发病率,而且能显著提高香蕉的亩产。

### 2.2 测序数据分析及 OTU 聚类概况

金陵镇、坛洛镇 2 块试验地的空白对照(J-CK 和 T-CK)和米修链霉菌 TF78 处理(J-TF78 和 T-TF78)的真菌测序数据,去嵌合体后序列数目在 63 146–80 230 之间,有效率在 94.33%–97.77% 之间,有效率大于 90%。细菌测序数据去嵌合体后序列数目在 80 046–83 852 之间,有效率在 90.21%–97.04% 之间,有效率大于 90%。

J-CK、J-TF78、T-CK 和 T-TF78 这 4 组样本的土壤真菌 OTU 数量范围在 3 407–4 892,细菌 OTU 数量范围在 5 007–6 262。土壤真菌序列中,J-CK、J-TF78、T-CK 和 T-TF78 处理组能注释 OTU 的比例分别为 56.95%、56.01%、64.57% 和 62.92%;土壤细菌序列中,J-CK、J-TF78、T-CK 和 T-TF78 处理组能注释 OTU 的比例分别为 49.17%、44.03%、49.29% 和 51.36%。

### 2.3 物种多样性稀释曲线分析

稀释曲线是反映各个土壤样本测序深度和多样性的曲线。曲线坡度越大,说明物种多样性越高。从图 1 可以看出,当真菌和细菌测序的序列数量分别超过 40 000 和 20 000 时,虽然后面会有新的 OTU 出现,但是曲线不会急剧上升,已趋于平缓,表明 2 块试验地的样品取样基本合

表 3 米修链霉菌 TF78 对香蕉枯萎病的田间防治效果

Table 3 Effects of *S. misionensis* TF78 on *Fusarium* wilt of field-grown banana

处理 Treatment	金陵镇 Jinling town			坛洛镇 Tanluo town		
	发病率 Incidence rate (%)	防效 Control effect (%)	亩产 Yield per mu (kg)	发病率 Incidence rate (%)	防效 Control effect (%)	亩产 Yield per mu (kg)
空白对照组 Blank control group	55.56±10.18a	–	1 600.00±366.61b	64.44±8.39a	–	1 280.00±301.99b
米修链霉菌 TF78 <i>S. misionensis</i> TF78	24.44±5.09b	55.30±10.74	2 720.00±183.30a	35.56±8.39b	45.32±6.63	2 320.00±301.99a

注:数据为平均值±标准误,同一列不同小写字母表示处理间存在显著性差异( $P \leq 0.05$ )

Note: Data were presented as mean±SE, different lowercase letters in the same column indicate that there is a significant difference between treatments ( $P \leq 0.05$ ).

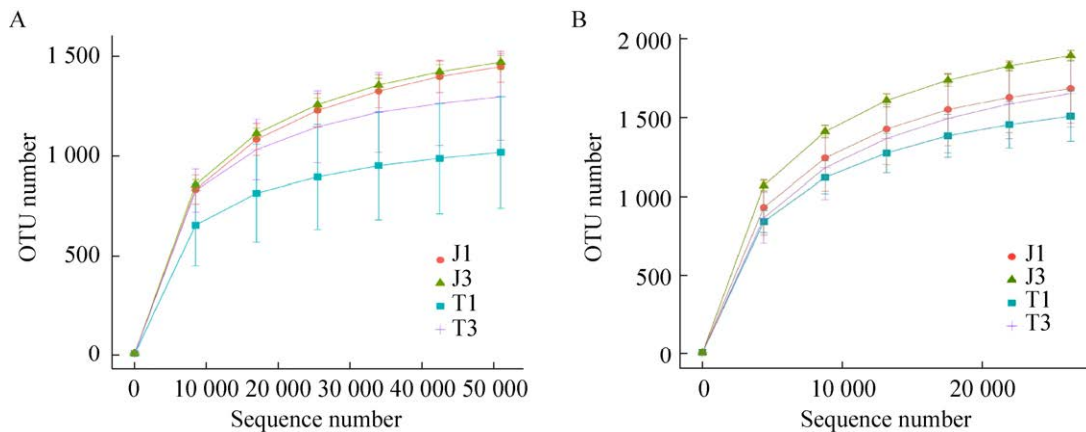


图 1 不同处理的香蕉根际土壤微生物的稀释曲线 A: 香蕉根际土壤真菌的物种稀释曲线; B: 香蕉根际土壤细菌的物种稀释曲线; J1: 金陵镇空白对照组; J3: 金陵镇米修链霉菌 TF78 处理组; T1: 坛洛镇空白对照组; T3: 坛洛镇米修链霉菌 TF78 处理组

Figure 1 Rarefaction curve of banana rhizosphere soil microorganisms under different treatments. A: Rarefaction curve of soil fungi in rhizosphere of banana; B: Rarefaction curve of soil bacteria in rhizosphere of banana; J1: Control treatment in Jinling town; J3: *S. misionensis* TF78 treatment in Jinling town; T1: Control treatment in Tanluo town; T3: *S. misionensis* TF78 treatment in Tanluo town.

理, 当前测序深度能够反映 2 块试验地的群落样本所包含的微生物群落多样性。图 1A 和图 1B 中金陵镇米修链霉菌 TF78 处理组土壤真菌和细菌的稀释曲线坡度均大于金陵镇空白对照组的稀释曲线坡度, 坛洛镇米修链霉菌 TF78 处理组土壤真菌和细菌的稀释曲线坡度均大于坛洛镇空白对照组的稀释曲线坡度, 结果表明米修链霉菌 TF78 增加了香蕉根际物种的多样性。

#### 2.4 香蕉根际土壤微生物多样性分析

利用  $\alpha$  多样性指数分析土壤中微生物群落的丰富度和多样性, Chao1 指数和 ACE 指数表示土壤群落丰富度, Shannon 指数和 Simpson 指数表示土壤群落多样性, Chao1 指数和 ACE 指数值越大则说明其群落丰富度越高, Shannon 指数和 Simpson 指数值越大则表明群落的多样性水平越高。

由表 4 可知, 在金陵镇试验地, 施用米修链霉菌 TF78 的土壤(J-TF78)真菌的 Chao1 指数、ACE 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数比空白

对照组(J-CK)分别增加了 1.57%、0.86%、5.34% 和 2.37%; 坛洛试验地, 施用米修链霉菌 TF78 的土壤(T-TF78)真菌的 Chao1 指数、ACE 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数比空白对照组(T-CK)分别增加了 22.31%、22.08%、17.54% 和 6.36%。除了 T-TF78 的 Simpson 指数与空白对照 T-CK 的 Simpson 指数在 0.05 水平上差异显著, 其他差异不显著。

由表 5 可知, 在金陵镇试验地, 施用米修链霉菌 TF78 土壤(J-TF78)细菌的 Chao1 指数、ACE 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数比对照组(J-CK)分别增加了 10.65%、10.75%、9.11% 和 0.95%; 坛洛镇试验地, 施用米修链霉菌 TF78 的土壤(T-TF78)细菌的 Chao1 指数、ACE 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数比对照组(T-CK)分别增加了 7.39%、7.52%、1.06% 和 0.21%, 但是差异不显著。

综上所述, 米修链霉菌 TF78 对香蕉根际土壤微生物总丰度和多样性的影响不显著。

表 4 香蕉根际土壤样本中真菌的丰富度和多样性指数

Table 4 Richness and diversity index of fungi in rhizosphere soil samples of banana

样品编号 Sample No.	Chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index
J-CK	1 480.57±61.07ab	1 450.23±59.13a	7.20±0.32 ab	0.96±0.01ab
J-TF78	1 504.12±48.04a	1 462.79±35.98a	7.61±0.18a	0.98±0a
T-CK	1 037.14±208.21b	1 009.07±196.91b	6.01±0.76b	0.91±0.03b
T-TF78	1 334.92±161.4ab	1 295.02±156.09 ab	7.29±0.18ab	0.97±0.01a

注：数据为平均值±标准误，同一列不同的小写字母表示处理间存在显著性差异( $P \leq 0.05$ )，下同

Note: Data were presented as mean±SE, different lowercase letters in the same column indicate that there is a significant difference between treatments ( $P \leq 0.05$ ), the same below.

表 5 香蕉根际土壤样本中细菌的丰富度和多样性指数

Table 5 Richness and diversity index of bacterial in rhizosphere soil samples of banana

样品编号 Sample No.	Chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index
J-CK	1 590.95±156.31a	1 620.3±149.63a	8.36±0.59a	0.99±0.01a
J-TF78	1 780.67±28.38a	1 815.53±28.91a	9.19±0.09a	1.00±0.00a
T-CK	1 424.48±95.4a	1 457.03±98.32a	8.15±0.32a	0.97±0.02a
T-TF78	1 538.11±161.75a	1 575.53±157.42a	8.24±0.49 a	0.97±0.02a

## 2.5 米修链霉菌 TF78 对香蕉根际优势土壤微生物物种丰度的影响

本研究对 4 种土壤样品的菌群组成进行了研究，由图 2A 可知，在门水平上，米修链霉菌 TF78 和空白对照的香蕉根际土壤真菌相对丰度前 10 个门分别是子囊菌门(*Ascomycota*)、担子菌门(*Basidiomycota*)、被孢霉门(*Mortierellomycota*)、毛霉门(*Mucoromycota*)、球囊菌门(*Glomeromycota*)、隐真菌门(*Rozellomycota*)、壶菌门(*Chytridiomycota*)、梳霉门(*Kickxellomycota*)、捕虫霉门(*Zoopagomycota*)和 *Aphelidiomycota*，前 10 个门的相对丰度总和占所有物种相对丰度的 60%以上。由图 2B 可知，在属水平上，米修链霉菌 TF78 和空白对照的香蕉根际土壤真菌相对丰度前 10 个属分别是 *Vanrija*、田头菇属(*Agrocybe*)、镰刀菌属(*Fusarium*)、锥盖伞属(*Conocybe*)、侧耳属(*Pleurotus*)、*Cercophora*、腐质霉属(*Humicola*)、青霉菌属(*Penicillium*)、小皮伞属(*Marasmius*)和木霉属(*Trichoderma*)。

由图 2C 可知，在门水平上，米修链霉菌 TF78 和空白对照的香蕉根际土壤细菌相对丰度前 10 个门分别是变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、奇古菌门(*Thaumarchaeota*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)、蓝藻门(*Cyanobacteria*)和疣微菌门(*Verrucomicrobia*)，前 10 个门的相对丰度总和占所有物种相对丰度的 90%以上。由图 2D 可知，在属水平上，米修链霉菌 TF78 和空白对照的香蕉根际土壤细菌相对丰度前 10 个属分别是鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、Unidentified\_Prevotellaceae、拟杆菌属(*Bacteroides*)、粪杆菌属(*Faecalibacterium*)、楚贾杆菌属(*Chujaibacter*)、*Blautia*、*Bryobacter*、Unidentified\_Lachnospiraceae 和芽孢杆菌属(*Bacillus*)。



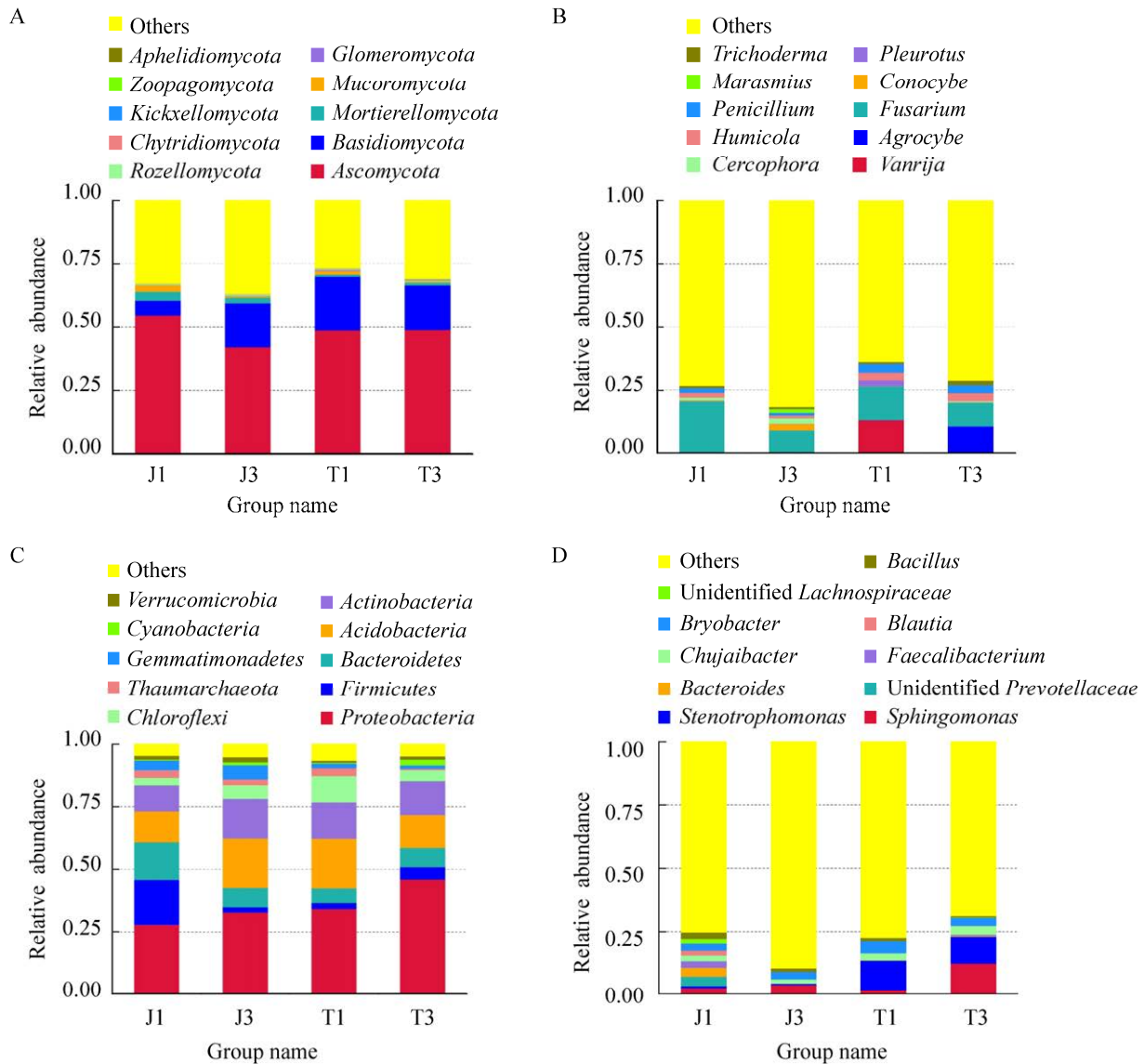


图 2 香蕉根际土壤微生物中物种丰度前 10 个门和属 A: 米修链霉菌 TF78 处理和空白对照的香蕉根际土壤中相对丰度前 10 个真菌门; B: 米修链霉菌 TF78 处理和空白对照的香蕉根际土壤中相对丰度前 10 个真菌属; C: 米修链霉菌 TF78 处理和空白对照的香蕉根际土壤中相对丰度前 10 个细菌门; D: 米修链霉菌 TF78 处理和空白对照的香蕉根际土壤中相对丰度前 10 个细菌属; 图中的 Others 表示除了 10 个优势物种外的其他所有物种的相对丰度之和

Figure 2 Top 10 phyla and genera of species abundance in soil microorganisms of banana rhizosphere. A: The top 10 phyla of fungi in relative abundance in the rhizosphere soil of banana treated with biocontrol agent TF78 and blank control; B: The top 10 genera of fungi in relative abundance in the rhizosphere soil of banana treated with biocontrol agent TF78 and blank control; C: The top 10 phyla of bacteria in relative abundance in the rhizosphere soil of banana treated with biocontrol agent TF78 and blank control; D: The top 10 genera of bacteria in relative abundance in the rhizosphere soil of banana treated with biocontrol agent TF78 and blank control; "Others" in the figure represents the sum of relative abundance of all species except 10 dominant species.

将 2 块试验地的米修链霉菌 TF78 和空白对照的香蕉根际土壤真菌和细菌的相对丰度在门和属水平上分别做组间的  $t$  检验, 在门和属水平上找到米修链霉菌 TF78 和空白对照的香蕉根际土壤微生物相对丰度差异显著 ( $P \leq 0.05$ ) 的物种 (表 6 和表 7)。相对丰度前 10 且差异显著的真菌有梳霉门 (*Kickxellomycota*), 细菌有酸杆菌门 (*Acidobacteria*)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*) 和苔藓杆菌属 (*Bryobacter*)。米修链霉菌 TF78 施用土壤后, 显著增加了真菌梳霉门 (*Kickxellomycota*) 的丰度, 显著减少了细菌绿弯菌门 (*Chloroflexi*)、酸杆菌门 (*Acidobacteria*) 和 *Bryobacter* 的丰度。然而相对丰度前 10 的物种中, 真菌变形菌门 (*Proteobacteria*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、木霉属 (*Trichoderma*) 和细菌放线菌门 (*Actinobacteria*)、芽单胞菌门 (*Gemmatimonadetes*)、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 的相对丰度在米修链霉菌 TF78 和空白对照组中差异不显著。

由表 6 和表 7 可知, 米修链霉菌 TF78 施用后, 显著影响了金陵镇 1 个真菌门、5 个真菌属和 13 个细菌属的相对丰度, 显著影响了坛洛镇 5 个真菌属和 2 个细菌门、8 个细菌属的相对丰度。金陵镇试验地相对丰度受影响的物种与坛洛镇试验地相对丰度受影响的物种各不相同, 说明米修链霉菌 TF78 塑造的香蕉根际微生物群落结构具有地域差异性。在物种相对丰度受显著影响的 3 个门和 33 个属中, 1 个门和 21 个属的微生物相对丰度增加, 而 2 个门和 12 个属的微生物相对丰度降低, 但相对丰度增加的微生物数量比相对丰度降低的微生物数量多。

## 2.6 米修链霉菌 TF78 对香蕉根际土壤的 *F. oxysporum* 相对丰度差异分析

由图 3 可知, 土壤真菌相对丰度前 10 个种中, *F. oxysporum* 的相对丰度在金陵镇试验地的空白对照组中最高, 坛洛镇试验地的空白对照处理组中占第 2 位, 说明在香蕉枯萎病发病土壤中, 在真菌种的水平上 *F. oxysporum* 是最主要的

表 6 米修链霉菌 TF78 与空白对照组间相比相对丰度具显著差异的香蕉根际土壤真菌 ( $P \leq 0.05$ )

Table 6 Banana rhizosphere soil fungi with a significant difference in relative abundance between *S. misionensis* TF78 and blank control group ( $P \leq 0.05$ )

试验地点 Test site	物种 Species	物种分类水平 Level of species classification	空白对照中物种的相对丰度 Relative abundance of species in blank controls	米修链霉菌 TF78 处理中物种的相对丰度 Relative abundance of species treated with biocontrol agent TF78	显著差异水平 $P$ 值 Significant difference level $P$ value	物种相对丰度的升/降 The rise/fall of relative abundance of species
金陵镇 Jinling town	<i>Kickxellomycota</i>	Phylum	0.003 3±0.004 1	0.030 1±0.009 3	0.023 5	↑
	<i>Cladosporium</i>	Genus	0.330 2±0.154 2	0.759 1±0.034 0	0.035 3	↑
	<i>Mycoarthritis</i>	Genus	0.011 1±0.003 0	0.029 4±0.006 8	0.028 0	↑
	<i>Brevistachys</i>	Genus	0.119 0±0.025 2	0.026 2±0.023 4	0.009 6	↓
	<i>Peroneutypa</i>	Genus	0.002 6±0.004 5	0.024 2±0.009 3	0.038 2	↑
	<i>Hydropisphaera</i>	Genus	0.008 5±0.002 3	0.000 7±0.001 1	0.013 3	↓
坛洛镇 Tanluo town	<i>Diaporthe</i>	Genus	0.007 2±0.012 5	0.084 3±0.034 4	0.047 1	↑
	<i>Albifimbria</i>	Genus	0.003 9±0.006 8	0.032 7±0.006 3	0.005 9	↑
	<i>Metacordyceps</i>	Genus	0.002 0±0.003 4	0.017 0±0.003 0	0.004 8	↑
	<i>Cystofilobasidium</i>	Genus	0.000 0±0.000 0	0.004 6±0.001 1	0.019 8	↑
	<i>Corynascus</i>	Genus	0.010 5±0.003 0	0.000 7±0.001 1	0.019 3	↓

表 7 米修链霉菌 TF78 与空白对照组间相比相对丰度具显著差异的香蕉根际土壤细菌( $P \leq 0.05$ )Table 7 Banana rhizosphere soil bacteria with a significant difference in relative abundance between *S. misionensis* TF78 and blank control group ( $P \leq 0.05$ )

试验地点 Test site	物种 Species	物种分类 Level of species classification	空白对照中物种 的相对丰度 Relative abundance of species in blank controls	<i>S. misionensis</i> TF78 处理中物种的 相对丰度 Relative abundance of species treated with <i>S. misionensis</i> TF78	显著差异 水平 <i>P</i> 值 Significant difference level <i>P</i> value	物种相对丰 度的升降 The rise/fall of relative abundance of species
金陵镇 Jinling town	<i>Candidatus_Solibacter</i>	Genus	1.286 5±0.767 8	2.903 9±0.468 5	0.046 2	↑
	<i>Gaiella</i>	Genus	0.271 3±0.015 4	0.490 5±0.053 2	0.013 6	↑
	<i>Solirubrobacter</i>	Genus	0.200 3±0.069 3	0.418 3±0.049 7	0.014 2	↑
	Unidentified_ <i>Rhizobiaceae</i>	Genus	0.225 6±0.024 4	0.161 0±0.031 0	0.049 9	↓
	<i>Kribbella</i>	Genus	0.083 7±0.013 7	0.134 4±0.019 1	0.024 2	↑
	<i>Massilia</i>	Genus	0.046 9±0.022 9	0.133 1±0.023 1	0.010 2	↑
	<i>Amycolatopsis</i>	Genus	0.024 1±0.019 1	0.087 5±0.010 1	0.014 4	↑
	<i>Flaviaesturariibacter</i>	Genus	0.005 1±0.008 8	0.069 7±0.018 8	0.014 3	↑
	<i>Polycyclovorans</i>	Genus	0.015 2±0.006 6	0.050 7±0.004 4	0.002 6	↑
	<i>Dietzia</i>	Genus	0.013 9±0.011 0	0.040 6±0.007 9	0.031 4	↑
	<i>Sandaracinus</i>	Genus	0.007 6±0.007 6	0.030 4±0.010 1	0.038 7	↑
	<i>Serratia</i>	Genus	0.020 3±0.005 8	0.003 8±0.003 8	0.019 9	↓
	<i>Cutibacterium</i>	Genus	0.008 9±0.002 2	0.002 5±0.002 2	0.024 1	↓
坛洛镇 Tanluo town	<i>Acidobacteria</i>	Phylum	19.926 7±1.975 5	13.088 4±1.563 1	0.010 5	↓
	<i>Chloroflexi</i>	Phylum	10.412 7±0.811 0	4.405 9±0.783 3	0.000 8	↓
	<i>Bryobacter</i>	Genus	4.720 3±0.623 3	3.144 7±0.657 6	0.039 6	↓
	<i>Candidatus_Solibacter</i>	Genus	2.262 5±0.304 7	1.381 6±0.362 7	0.033 6	↓
	<i>Acidibacter</i>	Genus	1.076 1±0.109 1	0.600 8±0.066 3	0.005 6	↓
	<i>Methylobacterium</i>	Genus	0.005 1±0.005 8	0.076 1±0.019 8	0.018 3	↑
	<i>Luteimonas</i>	Genus	0.007 6±0.006 6	0.024 1±0.005 8	0.032 1	↑
	<i>Gemmatirosa</i>	Genus	0.007 6±0.003 8	0.020 3±0.005 8	0.041 9	↑
	<i>Desemzia</i>	Genus	0.000 0±0.000 0	0.008 9±0.002 2	0.019 8	↑
	Unidentified_ <i>Sphingobacteriales</i>	Genus	0.008 9±0.002 2	0.002 5±0.002 2	0.024 1	↓

优势种群。米修链霉菌 TF78 处理后, *F. oxysporum* 的相对丰度明显减少, 在金陵镇和坛洛镇分别降低了 73.99% 和 68.94%, 在金陵镇试验地达到显著差异水平( $P \leq 0.05$ ) (表 8), 说明米修链霉菌 TF78 施用后减少了土壤中 *F. oxysporum* 的数量, 减弱了 *F. oxysporum* 在土壤中的种群优势。

### 3 讨论与结论

链霉菌是土壤微生物的重要组成部分, 其中很多属种可以产生抗生素和抑菌相关的酶, 是土

壤中重要的生防微生物<sup>[8]</sup>。据报道, 链霉菌属对香蕉枯萎病菌也具有良好的拮抗效果<sup>[10-11]</sup>, 但是大多数研究仅停留在盆栽试验阶段。香蕉是多年连作且单一栽培的种植模式, 而地上物种的单一性会引起土壤微生物多样性的缺失<sup>[24]</sup>, 导致土壤微生物系统的不稳定性。运用各种方法引入病原菌的拮抗菌群, 有利于削弱或者打破病原菌在土壤中的竞争优势, 重构土壤微生物结构, 增加土壤微生物的多样性, 塑造不利于病原菌存活的土壤环境。研究发现在土壤中引入香蕉枯萎

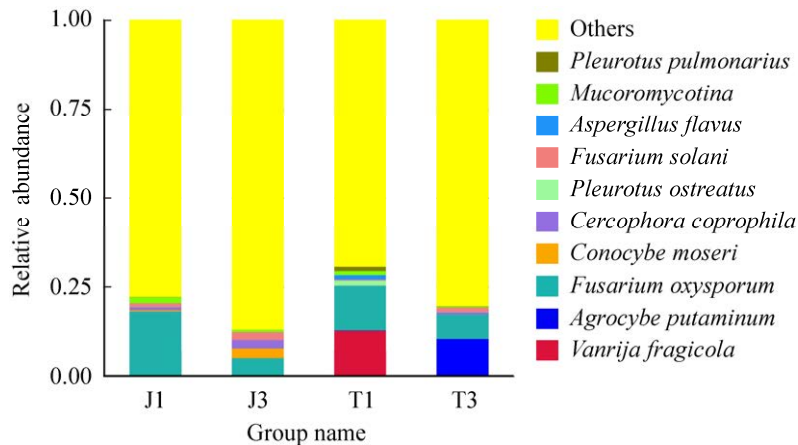


图 3 香蕉根际土壤中相对丰度前 10 个真菌种

Figure 3 Top 10 fungal species in relative abundance in rhizosphere soil of banana.

表 8 米修链霉菌 TF78 处理组和空白对照组的香蕉根际土壤中 *F. oxysporum* 的相对丰度

Table 8 Relative abundance of *F. oxysporum* in banana rhizosphere soil of *S. misionensis* TF78 and blank control

试验处理 Samples	试验地点 Test site	<i>F. oxysporum</i> 相对丰度 Relative abundance of <i>F. oxysporum</i> (%)
空白对照 CK	金陵镇 Jinling town	23.22±0.12a
	坛洛镇 Tanluo town	18.03±11.04ab
	金陵镇 Jinling town	6.04±0.62b
米修链霉菌 TF78 <i>S. misionensis</i> F78	坛洛镇 Tanluo town	5.60±0.78b
	金陵镇 Jinling town	6.04±0.62b
	坛洛镇 Tanluo town	5.60±0.78b

病菌的拮抗菌群，可有效抑制和减缓香蕉枯萎病的发生<sup>[25-26]</sup>。然而在土壤中施用生防菌或者生物有机肥，是人为在土壤中引入数量巨大的单一群落，对土壤微生物多样性和微生物群落结构会产生影响<sup>[27]</sup>。土壤生防菌对土壤微生物群落的影响是评估其生态安全的重要依据<sup>[7]</sup>。因此，研究链霉菌田间防治香蕉枯萎病的效果及链霉菌的施用对土壤微生物群落的影响，对实际生产上防治香蕉枯萎病具有重要的意义。

据报道，*Bacillus* 和 *Pseudomonas fluorescens* 等生防细菌<sup>[28-29]</sup>和 *Trichoderma* 等生防真菌<sup>[25]</sup>对香蕉枯萎病具有良好的田间防治效果，但关于

链霉菌田间防治香蕉枯萎病的研究鲜见报道。本研究结果发现，田间施用米修链霉菌 TF78 可显著降低香蕉枯萎病的发病率，防效可达 55.30%，与已报道的木霉 *Trichoderma* sp. NRCB3 和 *Trichoderma asperellum* Prr2 的田间防效相当<sup>[25]</sup>。

本研究发现，在发病的香蕉根际土壤中，*F. oxysporum* 是占主导地位的优势微生物种，其相对丰度在 2 块试验地的优势种中分别排第 1 位和第 2 位。米修链霉菌 TF78 使得香蕉根际土壤的 *F. oxysporum* 相对丰度分别降低了 73.99% 和 68.94%。Fu 等<sup>[30]</sup>研究也发现，连续施用含 *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 的生物有

机肥降低了香蕉根际土壤中 *F. oxysporum* 的丰度, 抑制了香蕉枯萎病的发生; Shen 等<sup>[4]</sup>用氨气熏蒸含香蕉枯萎病菌的土壤, 再施用生物有机肥, 可明显减少 *F. oxysporum* 的数量并减轻香蕉枯萎病的发生; 桂莎等<sup>[31]</sup>研究结果也发现, 复合菌剂(非致病性镰刀菌、淡紫拟青霉和木霉)的施用显著减少了香蕉根际土壤 *F. oxysporum* 的数量。可见, 米修链霉菌 TF78 及其他生防菌剂的施用可以削弱香蕉根际土壤中 *F. oxysporum* 的种群优势, 抑制香蕉枯萎病的发生。

土壤微生物多样性水平对土壤功能的开展和实施至关重要<sup>[32-33]</sup>。Fu 等<sup>[30]</sup>和桂莎等<sup>[31]</sup>研究发现在土壤中连续添加含 *B. amyloliquefaciens* 的生物菌肥和复合菌剂(非致病性镰刀菌、淡紫拟青霉和木霉), 能增加香蕉根际土壤微生物群落的丰度和多样性。Shen 等<sup>[34]</sup>也研究发现, 抑制香蕉枯萎病菌的土壤微生物丰度和多样性水平明显比有利于病原菌存活的土壤高。本研究的物种多样性稀释曲线分析结果表明, 米修链霉菌 TF78 增加了香蕉根际物种的多样性, 但是在分析  $\alpha$  多样性指数时发现, 米修链霉菌 TF78 处理土壤的 Chao1、ACE、Shannon 和 Simpson 指数均有增加, 但是未达到显著差异水平。可能是米修链霉菌 TF78 施用的次数和时间长度不够, 对土壤微生物丰度和多样性的影响不够明显。

本研究发现米修链霉菌 TF78 显著富集了香蕉根际土壤中有益的优势群落梳霉门(*Kickxellomycota*), 显著消减了优势群落酸杆菌门(*Acidobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)和 *Bryobacter* 的丰度。梳霉门(*Kickxellomycota*)中的一些属种可以通过觅食菌丝侵入其他真菌的组织营寄生生活, 是一类真菌寄生菌<sup>[35-36]</sup>, 被富集的梳霉门(*Kickxellomycota*)对香蕉枯萎病菌可能起到拮抗作用。绿弯菌门(*Chloroflexi*)是一类光合细菌, 可以产生醋酸<sup>[37]</sup>, 本研究发现绿弯

菌门(*Chloroflexi*)是香蕉根际优势门, 而米修链霉菌 TF78 降低了其相对丰度, 意味着米修链霉菌 TF78 通过影响土壤中其他微生物的活动来破坏香蕉根际偏酸的土壤环境。本研究结果显示酸杆菌门(*Acidobacteria*)和 *Bryobacter* 是香蕉根际优势门和属, 而酸杆菌门(*Acidobacteria*)中的大多数属种是土壤嗜酸细菌<sup>[38]</sup>, *Bryobacter* 是酸杆菌门(*Acidobacteria*)的一个属, 寄居在酸性土壤中<sup>[39]</sup>, 米修链霉菌 TF78 施用后酸杆菌门(*Acidobacteria*)和 *Bryobacter* 的相对丰度显著降低, 说明香蕉根际偏酸的土壤环境可能受到了破坏。据报道, 香蕉枯萎病菌适合在偏酸的环境中存活和繁殖<sup>[40-41]</sup>。由此可见, 米修链霉菌 TF78 塑造了一个不利于香蕉枯萎病菌存活的土壤微生物环境。

同时本研究结果显示, 米修链霉菌 TF78 对香蕉根际具有重要生态及抑菌功能的优势微生物群落如变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)、木霉属(*Trichoderma*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)的相对丰度影响不大。变形菌门(*Proteobacteria*)对整个生态环境中碳、氮和硫的循环利用起着重要的调控作用<sup>[42-43]</sup>。厚壁菌门(*Firmicutes*)具有耐旱和对抗极端气候的特性, 对被酸化或者重金属污染的土壤具有生物修复和除污功能<sup>[44-46]</sup>。放线菌门(*Actinobacteria*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)、木霉属(*Trichoderma*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)能抑制真菌病害的发生<sup>[47-48]</sup>, 芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)的主要属种还具有降解根际土壤中的纤维素和木质素、增加土壤有机质含量和促进根际微生物固氮的作用<sup>[49-50]</sup>。由此可见, 米修链霉菌 TF78 对土壤的有益微生物生

态影响不大。

综上所述,米修链霉菌 TF78 显著增加了具有寄生真菌功能的梳霉门(*Kickxellomycota*)的相对丰度,降低了产酸和嗜酸细菌绿弯菌门(*Chloroflexi*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)和 *Bryobacter* 的相对丰度,塑造了不利于香蕉枯萎病菌存活的香蕉根际土壤微生物环境,降低了香蕉枯萎病的发生,同时对香蕉根际多种具有重要生态功能和抑菌作用的优势种群影响不显著,可见米修链霉菌 TF78 具有开发成商品制剂来防治香蕉枯萎病的潜力和良好的生态安全。本研究结果揭示了米修链霉菌 TF78 田间防治香蕉枯萎病的土壤微生物学机制,为其他生防资源的土壤微生物学机制研究提供了参考。

## REFERENCES

- [1] 李玉萍, 方佳. 中国香蕉产业现状与发展对策研究[J]. 中国农学通报, 2008, 24(8): 443-447  
Li YP, Fang J. A survey on status and countermeasures of banana industry in China[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008, 24(8): 443-447 (in Chinese)
- [2] Pegg KG, Coates LM, O'Neill WT, Turner DW. The epidemiology of *Fusarium* wilt of banana[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 1395
- [3] Dita M, Barquero M, Heck D, Mizubuti ESG, Staver CP. *Fusarium* wilt of banana: current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 1468
- [4] Shen Z, Xue C, Penton CR, Thomashow LS, Zhang N, Wang B, Ruan Y, Li R, Shen Q. Suppression of banana Panama disease induced by soil microbiome reconstruction through an integrated agricultural strategy[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 128: 164-174
- [5] 汪军, 梁昌聪, 周游, 王国芬, 杨腊英, 刘磊, 黄俊生. 复合微生物肥料对香蕉枯萎病防控作用研究[J]. 热带农业科学, 2017, 37(8): 36-41  
Wang J, Liang CC, Zhou Y, Wang GF, Yang LY, Liu L, Huang JS. Effect of compound microbial fertilizer on controlling of *Fusarium* wilt of banana[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2017, 37(8): 36-41 (in Chinese)
- [6] 刘丹, 张丽萍, 史延茂, 尹淑丽, 崔少飞. 生防细菌对植物根围微生态效应的研究进展[J]. 中国农学通报, 2014, 30(7): 260-265  
Liu D, Zhang LP, Shi YM, Yin SL, Cui SF. Advances on micro-ecological effects of antagonistic bacteria on rhizosphere[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(7): 260-265 (in Chinese)
- [7] Bubici G, Kaushal M, Prigigallo MI, Gómez-Lama Cabanás C, Mercado-Blanco J. Biological control agents against *Fusarium* wilt of banana[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 616
- [8] Bubici G. *Streptomyces* spp. as biocontrol agents against *Fusarium* species[J]. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 2018, 13(50): 1-15
- [9] 张涵, 习慧君, 赵玉华, 万鑫茹, 张园园, 赵莹, 文才艺. 杨浦链霉菌 WLU210 的筛选、鉴定及其对苦瓜枯萎病的生防作用研究[J]. 中国生物防治学报, 2021, 37(5): 1058-1065  
Zhang H, Xi HJ, Zhao YH, Wan XR, Zhang YY, Zhao Y, Wen CY. Screening, identification of *Streptomyces yangpuensis* WLU210 and its biocontrol effect on *Fusarium* wilt of Bitter Gourd[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2021, 37(5): 1058-1065 (in Chinese)
- [10] Wang J, Cai B, Li K, Zhao Y, Li C, Liu S, Xiang D, Zhang L, Xie J, Wang W. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* tropical race 4 in banana plantlets using newly isolated *Streptomyces* sp. WHL7 from marine soft coral[J]. Plant Disease, 2022, 106(1): 254-259
- [11] 秦涵淳, 杨腊英, 李松伟, 谢玉萍, 黄俊生. 香蕉镰刀菌枯萎病拮抗放线菌的分离筛选及其抑制效果的初步评价[J]. 中国生物防治, 2010, 26(02): 174-180  
Qin HC, Yang LY, Li SW, Xie YP, Huang JS. Isolation of antagonistic *Actinomyces* against banana *Fusarium* wilt disease and primary evaluation on their inhibition effects[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2010, 26(02): 174-180 (in Chinese)
- [12] 周登博, 井涛, 起登凤, 冯仁军, 段雅捷, 陈宇丰, 王飞, 张锡炎, 谢江辉. 抗香蕉枯萎病菌的卢娜林瑞链霉菌的分离及防效鉴定[J]. 园艺学报, 2017, 44(4): 664-674  
Zhou DB, Jing T, Qi DF, Feng RJ, Duan YJ, Chen YF, Wang F, Zhang XY, Xie JH. Isolation and identification of *Streptomyces lunalinharesii* and its control effect on the banana *Fusarium* wilt disease[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2017, 44(4): 664-674 (in Chinese)

- [13] Cao L, Qiu Z, Dai X, Tan H, Lin Y, Zhou S. Isolation of endophytic actinomycetes from roots and leaves of banana (*Musa acuminata*) plants and their activities against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2004, 20(5): 501-504
- [14] 穆燕魁, 王占武, 张翠绵, 李洪涛, 田洪涛, 贾楠. 根际益生菌链霉菌 S506 固体发酵条件优化[J]. 微生物学通报, 2008, 35(10): 1600-1605  
Mu YK, Wang ZW, Zhang CM, Li HT, Tian HT, Jia N. Optimum of solid fermentation parameters for *Streptomyces* sp. S506[J]. Microbiology, 2008, 35(10): 1600-1605 (in Chinese)
- [15] Lu L, Yin S, Liu X, Zhang W, Gu T, Shen Q, Qiu H. Fungal networks in yield-invigorating and-debilitating soils induced by prolonged potato monoculture[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 65: 186-194
- [16] Berg J, Brandt KK, Al-Soud WA, Holm PE, Hansen LH, Sørensen SJ, Nybroe O. Selection for Cu-tolerant bacterial communities with altered composition, but unaltered richness, via long-term Cu exposure[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(20): 7438-7446
- [17] Aßhauer KP, Wemheuer B, Daniel R, Meinicke P. Tax4Fun: predicting functional profiles from metagenomic 16S rRNA data[J]. Bioinformatics, 2015, 31(17): 2882-2884
- [18] Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads[J]. EMBnet Journal, 2011, 17(1): 10
- [19] Rognes T, Flouri T, Nichols B, Quince C, Mahé F. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics[J]. PeerJ, 2016, 4: e2584
- [20] Haas BJ, Gevers D, Earl AM, Feldgarden M, Ward DV, Giannoukos G, Ciulla D, Tabbaa D, Highlander SK, Sodergren E, et al. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons[J]. Genome Research, 2011, 21(3): 494-504
- [21] Edgar RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998
- [22] Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM, Cole JR. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(16): 5261-5267
- [23] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41(D1): D590-D596
- [24] Venter ZS, Jacobs K, Hawkins HJ. The impact of crop rotation on soil microbial diversity: a meta-analysis[J]. Pedobiologia, 2016, 59(4): 215-223
- [25] Thangavelu R, Gopi M. Combined application of native *Trichoderma* isolates possessing multiple functions for the control of *Fusarium* wilt disease in banana cv. Grand Naine[J]. Biocontrol Science and Technology, 2015, 25(10): 1147-1164
- [26] Thangavelu R, Gopi M. Field suppression of *Fusarium* wilt disease in banana by the combined application of native endophytic and rhizospheric bacterial isolates possessing multiple functions[J]. Phytopathologia Mediterranea, 2015, 54(2): 241-252
- [27] 郁雪平, 朱伟杰, 高观朋, 王伟. 生防木霉菌 Th2 和 T4 对甜瓜根围土壤微生物生态的影响[J]. 植物保护学报, 2009, 36(6): 522-528  
Yu XP, Zhu WJ, Gao GP, Wang W. Influences of biocontrol agents *Trichoderma harzianum* Th2 and T4 on microecosystem of rhizosphere soil in melon[J]. Acta Phytopylacica Sinica, 2009, 36(6): 522-528 (in Chinese)
- [28] Wang B, Shen Z, Zhang F, RAZA W, YUAN J, Huang R, Ruan Y, Li R, Shen Q. *Bacillus amyloliquefaciens* strain W19 can promote growth and yield and suppress *Fusarium* wilt in banana under greenhouse and field conditions[J]. Pedosphere, 2016, 26(5): 733-744
- [29] Kavino M, Manoranjitham SK. *In vitro* bacterization of banana (*Musa* spp.) with native endophytic and rhizospheric bacterial isolates: novel ways to combat *Fusarium* wilt[J]. European Journal of Plant Pathology, 2018, 151(2): 371-387
- [30] Fu L, Ruan Y, Tao C, Li R, Shen Q. Continuous application of bioorganic fertilizer induced resilient culturable bacteria community associated with banana *Fusarium* wilt suppression[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 27731
- [31] 桂莎, 刘芳, 张立丹, 樊小林. 复合菌剂防控香蕉枯萎病的效果及其微生物学机制[J]. 土壤学报, 2020, 57(4): 995-1007  
Gui S, Liu F, Zhang LD, Fan XL. Effects of complex anti-fungal agents biocontrolling *Fusarium* wilt on banana and its microbiological mechanism[J]. Acta Pedologica Sinica, 2020, 57(04): 995-1007 (in Chinese)
- [32] Nitta T. Diversity of root fungal floras: its implications

- for soil-borne diseases and crop growth[J]. Jarq-Japan Agricultural Research Quarterly, 1991, 25: 6-11
- [33] Abawi GS, Widmer TL. Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops[J]. Applied Soil Ecology, 2000, 15(1): 37-47
- [34] Shen Z, Ruan Y, Xue C, Zhong S, Li R, Shen Q. Soils naturally suppressive to banana *Fusarium* wilt disease harbor unique bacterial communities[J]. Plant and Soil, 2015, 393: 21-33
- [35] Hibbett DS, Binder M, Bischoff JF, Blackwell M, Cannon PF, Eriksson OE, Huhndorf S, James T, Kirk PM, Lücking R, et al. A higher-level phylogenetic classification of the fungi[J]. Mycological Research, 2007, 111(5): 509-547
- [36] Adl SM, Simpson AG, Lane CE, Lukeš J, Bass D, Bowser SS, Brown MW, Burki F, Dunthorn M, Hampl V, et al. The revised classification of eukaryotes[J]. Journal of Eukaryotic Microbiology, 2012, 59(5): 429-493
- [37] Rivière D, Desvignes V, Pelletier E, Chaussonnerie S, Guermazi S, Weissenbach J, Li T, Camacho P, Sghir A. Towards the definition of a core of microorganisms involved in anaerobic digestion of sludge[J]. The ISME Journal, 2009, 3(6): 700-714
- [38] Dedysh SN, Damsté JSS. *Acidobacteria*[J]. eLS, 2018: 1-10
- [39] Dedysh SN. Bryobacter[M]. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, 2015: 1-5
- [40] Huang JF, Pang YW, Zhang FB, Huang Q, Zhang M, Tang S, Fu H, Li P. Suppression of *Fusarium* wilt of banana by combining acid soil ameliorant with biofertilizer made from *Bacillus velezensis* H-6[J]. European Journal of Plant Pathology, 2019, 154(3): 585-596
- [41] 桂莎, 刘芳, 樊小林. 碱性肥料和生防菌制剂配合施用对香蕉枯萎病的防效[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2019, 47(11): 104-113  
Gui S, Liu F, Fan XL. Preventing effects of combined application of alkaline fertilizer and biocontrol actinomycetes agent on banana *Fusarium* wilt[J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2019, 47(11): 104-113 (in Chinese)
- [42] Mendes LW, DeLimaBrossi MJ, Kuramae EE, Tsai SM. Land-use system shapes soil bacterial communities in southeastern Amazon region[J]. Applied Soil Ecology, 2015, 95: 151-160
- [43] Li WX, Zhang YP, Mao W, Wang C, Yin S. Functional potential differences between *Firmicutes* and *Proteobacteria* in response to manure amendment in a reclaimed soil[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2020, 66(12): 689-697
- [44] Rodrigues JLM, Pellizari VH, Mueller R, Baek K, da C Jesus E, Paula FS, Mirza B, Hamaoui GS Jr, Tsai SM, Feigl B, et al. Conversion of the Amazon rainforest to agriculture results in biotic homogenization of soil bacterial communities[J]. PNAS, 2013, 110(3): 988-993
- [45] Battistuzzi FU, Hedges SB. A major clade of prokaryotes with ancient adaptations to life on land[J]. Molecular Biology and Evolution, 2009, 26(2): 335-343
- [46] Gupta A, Dutta A, Sarkar J, Panigrahi MK, Sar P. Low-abundance members of the *Firmicutes* facilitate bioremediation of soil impacted by highly acidic mine drainage from the malanjhand copper project, India[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2882
- [47] Huang Z, Liu B, Yin Y, Liang F, Xie D, Han T, Liu Y, Yan B, Li Q, Huang Y, et al. Impact of biocontrol microbes on soil microbial diversity in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe)[J]. Pest Management Science, 2021, 77(12): 5537-5546
- [48] Yin C, Casa Vargas JM, Schlatter DC, Hagerty CH, Hulbert SH, Paulitz TC. Rhizosphere community selection reveals bacteria associated with reduced root disease[J]. Microbiome, 2021, 9(1): 86
- [49] Xie F, Zhang G, Zheng Q, Liu K, Yin X, Sun X, Saud S, Shi Z, Yuan R, Deng W, et al. Beneficial effects of mixing Kentucky bluegrass with red fescue via plant-soil interactions in black soil of northeast China[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 556118
- [50] Hu HY, Li H, Hao MM, Ren YN, Zhang MK, Liu RY, Zhang Y, Li G, Chen JS, Ning TY, et al. Nitrogen fixation and crop productivity enhancements co-driven by intercrop root exudates and key rhizosphere bacteria[J]. Journal of Applied Ecology, 2021, 58(10): 2243-2255