

引用格式:

林海燕, 刘昌伟, 杨勇, 张志旭, 曾超珍, 伍岗, 刘仲华. 茶树根和叶内生细菌的多样性及来源分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(6): 675–683.

LIN H Y, LIU C W, YANG Y, ZHANG Z X, ZENG C Z, WU G, LIU Z H. Diversity and source analysis of endophytic bacteria in tea roots and leaves[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2023, 49(6): 675–683.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



茶树根和叶内生细菌的多样性及来源分析

林海燕^{1,3,4}, 刘昌伟^{1,3,4}, 杨勇⁵, 张志旭^{3,4}, 曾超珍⁶, 伍岗², 刘仲华^{1,3,4*}

(1.教育部茶学重点实验室, 湖南 长沙 410128; 2.云南省农业科学院茶叶研究所, 云南 西双版纳 666100; 3.植物功能成分利用省部(教育部)共建协同创新中心, 湖南 长沙 410128; 4.国家植物功能成分利用工程技术研究中心, 湖南 长沙 410128; 5.长沙学院体育学院, 湖南 长沙 410022; 6.中南林业科技大学生命科学与技术学院, 湖南 长沙 410004)

摘要: 以碧香早和茗丰作为研究对象, 采用高效液相色谱等方法测定茶叶中的化学成分, 并运用高通量测序技术对比分析不同茶树品种的鲜叶和根部的微生物群落。结果显示: 碧香早和茗丰茶鲜叶的优势细菌门为 Proteobacteria、Bacteroidetes 等, 优势细菌属为 *Chryseobacterium*、*Sphingomonas*、*Rhizobium*、*Methylobacterium* 和 *Aureimonas* 等; 茶树根系中的优势细菌门主要是 Proteobacteria、Actinobacteria 和 Firmicutes 等, 优势细菌属为 *Planococcaceae*、*Rhizobium* 和 *Sphingomona*; 碧香早叶片中内生菌群的丰富度高于茗丰的, 茗丰根系中的内生菌丰富度高于碧香早的; 茶树根系内生细菌的多样性高于茶鲜叶的; 茶树根和叶的内生菌 OTU 数少于土壤微生物的; 同源性分析表明, 茶树叶片内生菌主要来源于叶表, 而根部内生细菌主要来自土壤; 茗丰鲜叶中的茶氨酸、氨基酸、可可碱、咖啡碱、儿茶素、没食子儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯、麦芽糖含量均显著高于碧香早的, 碧香早鲜叶中的表没食子儿茶素、蔗糖含量和酚氨比显著高于茗丰的; 相关性分析结果显示, 部分关键细菌属的相对丰度与茶叶中的部分化学成分的含量呈显著正相关或负相关, 推测不同的内生菌群可能参与了茶树品质成分的合成, 从而影响茶叶的品质。

关键词: 茶树; 内生细菌; 根际土壤细菌; 化学成分; 茶叶品质

中图分类号: S571.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2023)06-0675-09

Diversity and source analysis of endophytic bacteria in tea roots and leaves

LIN Haiyan^{1,3,4}, LIU Changwei^{1,3,4}, YANG Yong⁵, ZHANG Zhixu^{3,4},
ZENG Chaozhen⁶, WU Gang², LIU Zhonghua^{1,3,4*}

(1.Key Laboratory of Tea Science of Ministry of Education, Changsha, Hunan 410128, China; 2.Yunnan Province Academy of Agricultural Sciences Institute of Tea, Xishuangbanna, Yunnan 666100, China; 3.Hunan Co-Innovation Center for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Changsha, Hunan 410128, China; 4.National Research Center of Engineering Technology for Utilization of Functional Ingredients from Botanicals, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 5.School of Physical Education, Changsha college, Changsha, Hunan 410022, China; 6.College of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004, China)

Abstract: With Bixiangzao and Mingfeng as experimental materials the chemical components of tea were determined by high performance liquid chromatography, and the microbial communities of fresh leaves and roots of different tea

收稿日期: 2023-03-18

修回日期: 2023-12-18

基金项目: 云南省茶学重点实验室开放基金项目(2021YNCX003); 湖南省教育厅科学研究重点项目(21A0148); 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系(CARS-19); 湖南省自然科学基金面上项目(2021JJ31139)

作者简介: 林海燕(1981—), 女, 湖南会同人, 博士, 副教授, 主要从事茶叶内生菌及生物化学研究, linhy668@163.com; *通信作者, 刘仲华, 博士, 教授, 主要从事茶叶深加工及功能成分化学研究, zhonghua-liu-ms@hunau.edu.cn

cultivars were analyzed by high throughput sequencing technology. The results included the predominant bacteria in the fresh leaves of Bixiangzao and Mingfeng tea were Proteobacteria, Bacteroidetes at the level of phylum and *Chryseobacterium*, *Sphingomonas*, *Rhizobium*, *Methylobacterium* and *Aureimonas*, etc. at the level of genus. The dominant bacteria in tea root were Proteobacteria, Actinobacteria and Firmicutes at the level of phylum, and *Planococcaceae* and *Rhizobium* and *Sphingomonas* at the level of genus. The abundance of endophytic bacteria in the leaves of Bixiangzao was higher than that of Mingfeng, while the abundance of endophytic bacteria in the roots of Mingfeng was higher than that of Bixiangzao. The diversity of endophytic bacteria in tea roots was higher than that in fresh tea leaves. The number of endophytic bacteria OTU in tea roots and leaves was less than that of soil microorganisms. Homology analysis showed that the endophytic bacteria mainly came from the leaf surface, while the root endophytic bacteria mainly came from the soil. The contents of theanine, amino acid, theobromine, caffeine, catechin, gallic acid, epigallocatechin gallate and maltose in fresh leaves of Mingfeng were significantly higher than those of Bixiangzao, while the contents of epigallocatechin, sucrose and phenolamine ratio in fresh leaves of Bixiangzao were significantly higher than those of Mingfeng. Correlation analysis showed that the numbers of some key bacteria genera were significantly positively or negatively correlated with the contents of some chemical components in tea, suggesting that different endophytic bacteria might be involved in the synthesis of quality components of tea trees, thus affecting the quality of tea.

Keywords: tea tree; endophytic bacteria; rhizosphere soil bacteria; chemical components; tea quality

茶树内生细菌分布于茶树的组织和器官^[1-3], 如根系、叶片和茎, 形成了一个复杂而协调的内生微生物群落^[4-6]。不同地区和品种茶树的内生细菌存在差异, 不同器官和组织中内生菌的种类和数量也有一定的差异^[7]。汪立群等^[8]分离 2 个茶树品种的内生细菌, 发现 *Herbaspirillum* 为绝对优势种群, 其次为 *Staphylococcus*、*Acinetobacter*、*Burkholderia*、*Geobacillus* 和 *Microbacterium*。朱育菁等^[9]对采自福建宁德的大白毫和福云六号茶叶进行内生菌的分离, 共分离到 16 株细菌, 分别属于红杆菌属 (*Rhodobacter*)、微杆菌属 (*Microbacterium*)、根瘤菌属 (*Rhizobium*) 和贪噬菌属 (*Variovorax*)。黄晓琴等^[10]通过对茶树内生菌的筛选, 获得了对冰核细菌具有拮抗作用的内生芽孢杆菌属菌株 (*Bacillus amyloliquefaciens*)。戴清良^[11]研究发现, 内生炭疽菌在茶树枝条和叶片中分布较多, 而在茎、根、花和果实等部位分布较少。

有关茶树内生菌的研究主要集中在茶树根际微生物的组成、影响因素及对茶树生长的影响等方面。研究^[12]表明, 茶树根际微生物包括细菌、真菌和放线菌等, 对茶树的生长和茶叶品质有影响。高旭辉^[13]发现, VA 菌根可提高茶树对磷的吸收, 促进生长, 影响茶叶的叶绿素和咖啡碱含量。茶树根际微生物可提高茶树的抗逆性, 部分真菌与植物根系形成联合共生体, 有助于提高植物在恶劣环境下的抵抗力^[14-15]。除根际土壤外, 茶叶表面也是茶树内生菌的重要来源^[16-17]。ARNOLD 等^[18]研究表明, 茶树叶片内生真菌通过空气沉降或雨水黏附在叶

片上, 并侵入植物组织。DALLING 等^[19]认为茶树内生菌可能是茶树内在的。

目前茶树内生菌的来源及其与茶叶品质的关系尚不明确。鉴于此, 本研究以碧香早和茗丰为材料, 采用微生物测序对比分析 2 个茶树品种根和叶的内生细菌的种群结构, 以期了解茶树内生菌的分布特征和来源, 并通过相关性分析, 研究优势内生细菌与茶叶品质成分的关系, 以期利用内生菌提高茶叶品质提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选择 3 年生、管理方式和长势一致的茶树品种碧香早和茗丰茶树各 15 株, 于 2019 年 5 月, 每株采集完全展开的第 3 叶作为茶鲜叶样品, 同时采集茶树根系和根际土壤样品。

1.2 方法

1.2.1 茶树各部位样品处理

将茶鲜叶浸泡于无菌 PBS 溶液, 以 180 r/min 的速度孵育 20 min, 重复 3 次, 分别收集洗涤液和茶鲜叶; 3 次洗涤液混合后用 0.2 μm 滤膜过滤, 收集滤液用于提取茶鲜叶表面微生物的总 DNA。除去树根的粘附土壤, 用无菌水和 70% 无菌乙醇洗涤树根。将经表面无菌化处理的茶鲜叶和根速冻后研磨成粉, 用于提取茶树鲜叶和根内生细菌的 DNA。提取的 DNA 置于 -80 °C 冰箱保存, 备用。

1.2.2 化学成分的检测

参照 GB/T 8304—2013^[20]测定茶鲜叶水分含量；参照 GB/T 8305—2013^[21]测定水浸出物含量；参照 GB/T 8313—2018^[22]测定茶多酚含量；参照 GB/T 8314—2013^[23]测定游离氨基酸含量；采用蒽酮比色法测定可溶性糖含量；采用 HPLC 测定 EGGC(表没食子儿茶素没食子酸酯)、EGC(表没食子儿茶素)、ECG(表儿茶素没食子酸酯)、EC(表儿茶素)、GCG(没食子儿茶素没食子酸酯)、DL-C(儿茶素)、没食子酸和 3 种生物碱(咖啡碱、可可碱和茶碱)的含量。检测条件：色谱柱为 ECOSIL C₁₈；流动相 A 为超纯水，流动相 B 为 N,N-二甲基甲酰胺、甲醇、冰醋酸(体积比为 39.5 : 2 : 1.5)；检测波长为 278 nm；柱温 30 ℃；流速 1 mL/min；进样体积 10 μL。梯度洗脱：0 min, 91%A, 9%B；10 min, 86%A, 14%B；15 min, 77%A, 23%B；27 min, 64%A, 36%B；31 min, 64%A, 36%B；32 min, 91%A, 9%B；34 min, 停止。

4 种糖组分(果糖、葡萄糖、麦芽糖和蔗糖)的检测条件：色谱柱 Alltech chrom Prevail Carbohydrate ES (4.6 mm×250 mm, 5 μm)；上样量为 10 μL；柱温 35 ℃；流速 1.0 mL/min；漂移管温度 90 ℃；气流 2 L/min；A 相为水，B 相为乙腈。等梯度洗脱。

1.2.3 样品总 DNA 的提取、测序和生物信息学分析

采用 Fast DNA Spin Kit For Soil 试剂盒提取茶鲜叶、叶表、茶树根及根际土壤中的微生物总 DNA；采用 NanoDrop 2000 检测 DNA 的浓度与纯度；采用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性。质控合格后，采用两步法对微生物在 16S rDNA V3、V4 可变区进行 PCR 扩增，扩增引物为 799F(5'-AACMGGATTAGTAGATACCKG-3')、1392R(5'-ACGGGCGGTGTGTRC-3')、1193R(5'-ACGTCATCCACCTTCC-3')，利用 PCR 产物进行荧光定量。最后将不同样品的 PCR 产物等质量混匀，委托上海美吉生物医药有限公司进行 Illumina 测序，平台为 Miseq-PE300。测序分为碧香早鲜叶组(BZX)、碧香早叶表组(BZM)、碧香早树根组(BZR)、碧香早根际土壤组(BZ)、茗丰鲜叶组(MFX)、茗丰叶表组(MFM)、茗丰树根组(MFR)、茗丰根际土壤组(MF)。每组 3 次重复。

测序完成后，采用 QIIME 平台(1.90 版本)对数据进行质控过滤，筛选出有效序列。按照 97% 相似

性对非重复序列进行 OTU 聚类。利用 RDP classifier 对代表序列进行物种分类注释，评估茶树微生物丰富度与多样性。运用 RDP classifier 贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进行分类学分析，分别在门和属水平统计各样本的群落组成。

1.3 数据统计与分析

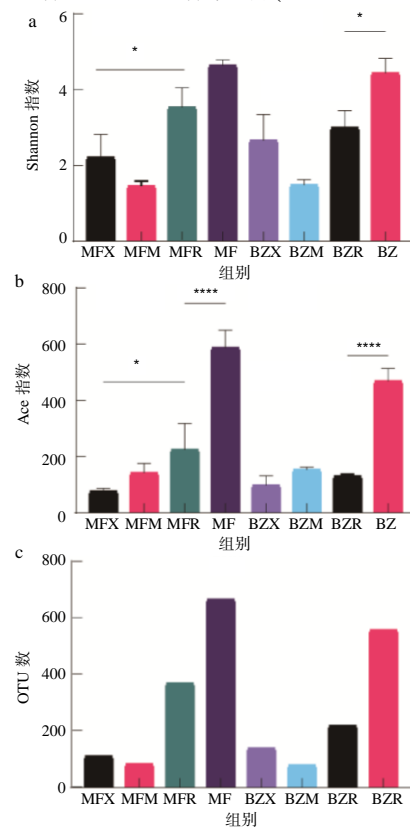
采用 R 语言、GraphPad Prism 9.0 软件进行统计分析和作图；多组间数据分析先进行 ANOVA 单因素方差分析，再进行 Fisher 的 LSD 检验，以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 不同品种茶树优势内生细菌的多样性

对碧香早和茗丰的鲜叶、叶表、根系和根际土壤进行 16S rRNA 高通量测序，得到了 204 912 条有效序列，平均每个样品 8538 条序列。以 97% 的序列相似度为阈值，共检测到 943 个内生细菌操作性分类单元(OTU)。这些细菌涵盖了 24 个门、40 个纲、92 个目、188 个科和 517 个属。

对碧香早和茗丰叶片和根系中的内生菌进行 Shannon 指数和 Ace 指数分析(图 1-a、图 1-b)，发



****、*****分别示 0.05、0.000 1 水平不同组间的差异有统计学意义。

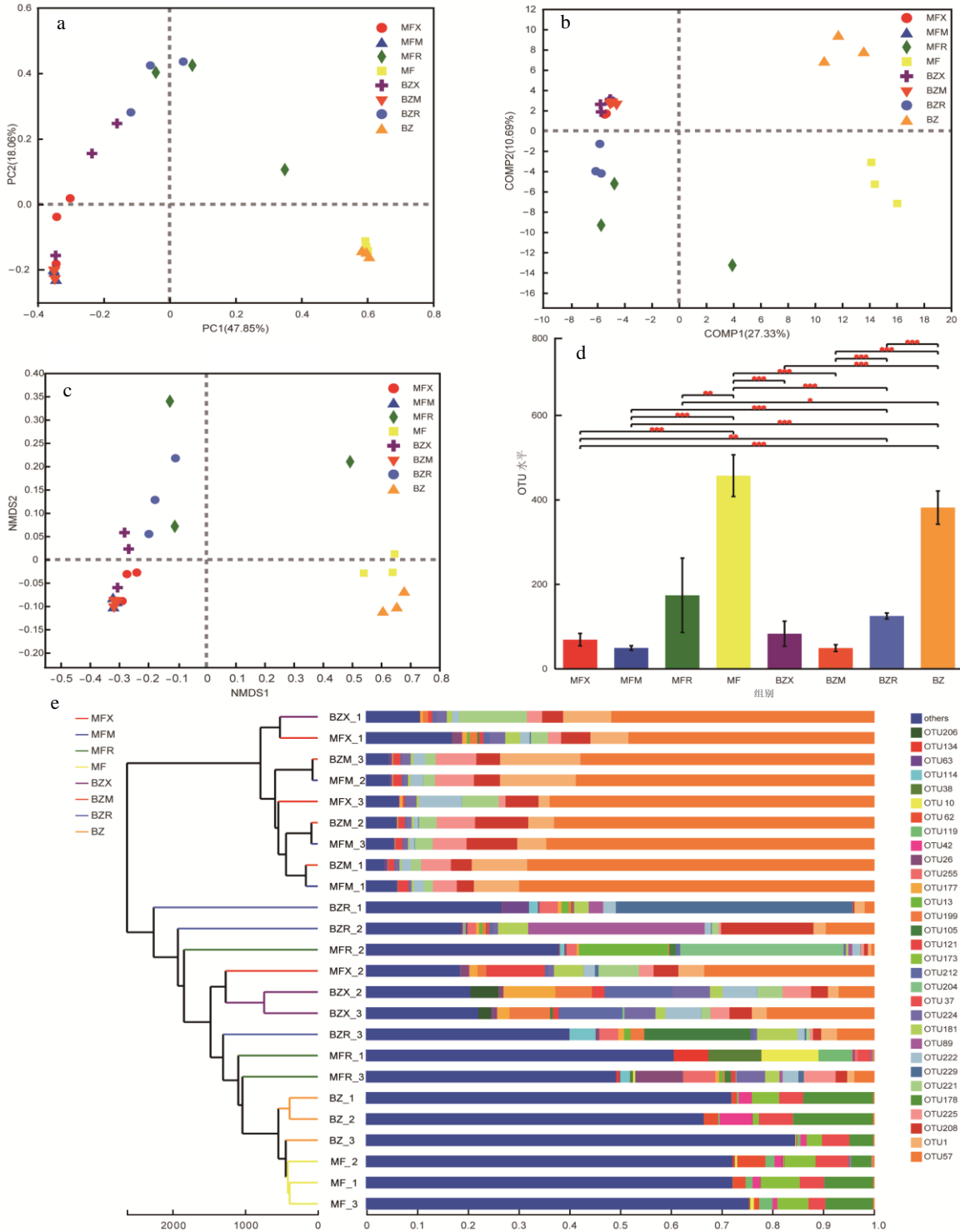
图 1 茶树各组织细菌 α 多样性指数

Fig.1 α diversity index of bacterial populations in various tissues of tea plant

现它们的丰富度和均匀度都低于土壤微生物的;碧香早叶片中内生菌群的丰富度高于茗丰的,茗丰根系中的内生菌丰富度高于碧香早的;茗丰根际土壤中的细菌丰富度与多样性最高。由图 1-c 可知,碧香早茶鲜叶的内生菌 OTU 数(139)略高于茗丰茶

鲜叶的(110);茗丰的内生菌 OTU 数(368)高于碧香早树根的(218);茶树根和叶的内生菌 OTU 数少于土壤微生物的。3 种分析结果一致。

基于 OTU 的 PCoA、PLS-DA 和 NMDS 的分析结果(图 2-a、图 2-b、图 2-c),可以看出:土壤、



a 茶树各组织细菌的 PCoA 分析结果; b 茶树各组织细菌的 PLS-DA 分析结果; c 茶树各组织细菌的 NMDS 分析结果; d 茶树各组织细菌的 *t* 检验分析结果; e 茶树各组织细菌的层级聚类分析结果; “*” “**” “***” 分别示 0.05、0.01、0.001 水平,不同组间存在显著性差异。

图 2 茶树各组织细菌 β 多样性

Fig.2 Analysis results of β diversity of bacterial populations in various tissues of tea plant

根系、茶叶和叶表微生物在 PCA1 方向上明显分离,同时茶树叶片和根系微生物在 PCA2 方向上也呈现分离趋势。表明叶表、茶叶和根部微生物的内生菌差异显著,且茶树内生细菌与土壤微生物之间的差异也显著。经 t 检验(图 2-d)发现,根际微生物数明显高于叶表微生物数。层级聚类结果(图 2-e)显示,茶鲜叶内生菌的结构与叶表微生物的接近,而根际内生菌的结构与土壤微生物的更为接近。

2.2 不同品种茶树优势内生细菌的差异性

结果表明,2 品种茶树内生菌群落组成结构因组织部位的不同而呈现一定差异,部分细菌门的相对丰度差异较大。在茗丰茶鲜叶中,Proteobacteria 的相对丰度为 44.60%,Bacteroidetes 为 48.6%,Actinobacteria 为 5.72%,Acidobacteria 为 0.02%,Firmicutes 为 0.97%;在碧香早鲜叶中,Proteobacteria 的相对丰度为 66.78%,Bacteroidetes 为 26.7%,Actinobacteria 为 5.94%,Firmicutes 为 0.46%。可见,茗丰和碧香早茶鲜叶的优势内生菌主要是 Bacteroidetes、Proteobacteria 等细菌门。在茗丰茶树根中,Proteobacteria 的相对丰度为 71.27%,Bacteroidetes 为 1.75%,Actinobacteria 为 19.88%,Acidobacteria 为 1.51%,Firmicutes 为 4.75%;碧香早根系中 Proteobacteria 的相对丰度为 57.95%,Bacteroidetes 为 6.56%,Actinobacteria 为 20.32%,Acidobacteria 为 0.52%,Firmicutes 为 14.25%。2 个品种茶树根系优势细菌门是 Proteobacteria、Actinobacteria 和 Firmicutes 等。总体上,茶树根系的内生细菌多样性高于茶鲜叶。

茗丰和碧香早的内生细菌多样性相似,但两者内生细菌种群的属组成结构存在差异。碧香早根系内生菌主要包括 *Morganella*(17.55%)、*Planococcaceae*(12.54%)、*Rhizobium*(6.52%)、*Acidovorax*(6.71%)、*Curtobacterium*(7.09%)、*Chryseobacterium*(6.10%)、*Methylobacterium*(4.79%)、*Sphingomonas*(4.68%);而茗丰根系内生菌主要包括 *Roseomonas*(11.52%)、*Massilia*(8.51%)、*Planococcaceae*(7.39%)、*Rhizobium*(7.16%)、*Sphingomonas*(4.71%)、*Pseudomonas*(3.24%)、*Propionibacterium*(3.02%)和 *Ralstonia*(3.35%)。可

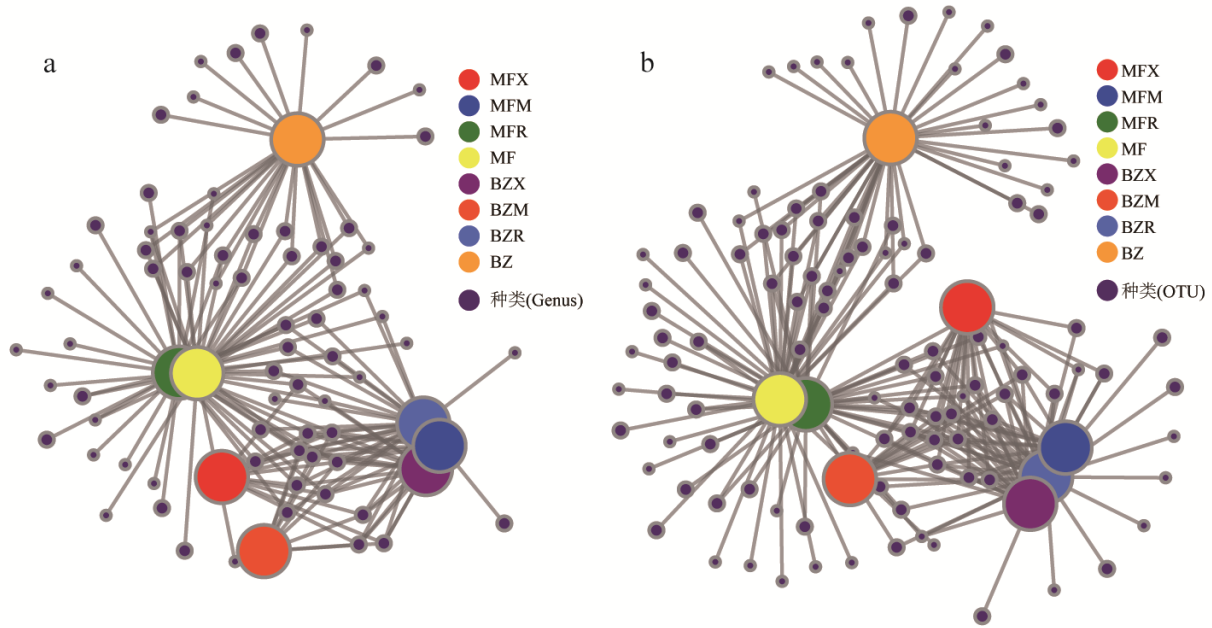
见, *Planococcaceae*、*Rhizobium* 和 *Sphingomonas* 为 2 个品种茶树根系中的优势菌属。碧香早茶鲜叶内生细菌主要包括 *Chryseobacterium*(26.55%)、*Methylobacterium*(15.34%)、*Sphingomonas*(19.52%)、*Aureimonas*(7.87%)、*Rhizobium*(5.97%)和 *Acidovorax*(3.95%)等 6 个属,占内生细菌总数的 79.20%;茗丰鲜叶中 *Methylobacterium*、*Sphingomonas*、*Aureimonas*、*Rhizobium*、*Chryseobacterium*、*Devosia* 和 *Herbaspirillum* 的相对丰度分别为 5.11%、10.72%、2.14%、5.36%、48.61%、6.20%和 3.25%。由此可见,茶树鲜叶中的优势细菌属为 *Chryseobacterium*、*Sphingomonas*、*Rhizobium*、*Methylobacterium* 和 *Aureimonas* 等。

2.3 不同品种茶树优势内生细菌的同源性

运用共生网络进行茶树内生菌与环境的同源性分析,结果(表 1)显示,茶树不同部位的内生菌种类存在差异。碧香早根际土壤和叶表内生细菌的 OTU 数分别为 49 个和 35 个,占内生细菌 OTU 总数的 22.17%和 15.84%;而在茗丰的根系中,64.67%的内生细菌来源于根际土壤;表明茶树根系中的内生细菌主要来自根际土壤。碧香早和茗丰的叶表内生细菌 OTU 数量均高于根际土壤的,表明鲜叶中的优势内生细菌主要来源于叶表。内生菌和环境菌在属和 OTU 水平上的共生网络分析结果(图 3)显示,2 品种的茶鲜叶的内生菌与叶表微生物有更多的交点,且距离更近;茶树根中的内生菌与土壤微生物有更多的交点,距离更近。表明茶鲜叶中的内生细菌主要来源于叶表,根系中的内生细菌主要来源于土壤。

表 1 茶树不同部位内生细菌与叶表和根际细菌 OTU 来源数

品种	部位	不同来源的 OTU 数		不同来源 OTU 比例/%	
		叶表	根际	叶表	根际
碧香早	根系	35	49	15.84	22.17
	叶片	38	23	26.95	16.31
茗丰	根系	17	238	4.62	64.67
	叶片	23	21	20.72	18.92



a 属水平共现性分析结果; b OTU 水平共现性分析结果; 网络中节点代表样本节点与物种节点(细菌种群); 样本节点与物种节点的连线代表样本中包含该物种; 图中显示的连接物种为平均丰度大于 1 的样本与物种。

图 3 茶树根和叶内生细菌与环境细菌的共现性

Fig. 3 Analysis results of co-occurrence of endophytic bacteria of tea tree roots and leaves and environmental bacteria

2.4 茗丰和碧香早茶鲜叶的常规化学成分

从表 2 可以看出,茗丰鲜叶中茶氨酸、氨基酸、可可碱、咖啡碱、D-LC、EGCG、GCG 和麦芽糖含量均显著高于碧香早的;碧香早鲜叶中 EGC、蔗

糖含量和酚氨比显著高于茗丰的; 2 个品种的没食子酸、EC、ECG、茶多酚、果糖和葡萄糖含量均无显著差异;此外,2 个品种的鲜叶中均未检测到茶碱。

表 2 茗丰和碧香早茶鲜叶的常规化学成分相对含量

Table 2 Relative contents of conventional chemical components in fresh leaves of Mingfeng and Bixiangzao tea %									
品种	茶氨酸	氨基酸	可可碱	茶碱	咖啡碱	没食子酸	D-LC	EC	EGC
碧香早	0.510±0.002	2.69±0.002	0.132±0.001	—	2.215±0.002	0.060±0.001	0.600±0.001	0.559±0.003	3.630±0.002
茗丰	(0.640±0.001)*	(2.96±0.005)*	(0.165±0.001)*	—	(2.694±0.003)*	0.062±0.002	(0.725±0.001)*	0.526±0.001	(3.435±0.004)*
品种	EGCG	GCG	ECG	茶多酚	酚氨比	果糖	葡萄糖	蔗糖	麦芽糖
碧香早	5.616±0.006	1.756±0.002	1.133±0.001	17.588±0.119	16.285±0.05	0.150±0.001	0.857±0.001	2.182±0.003	1.271±0.005
茗丰	(6.489±0.008)*	(2.378±0.004)*	1.161±0.001	17.749±0.157	(13.147±0.08)*	0.171±0.001	0.853±0.001	(1.899±0.004)*	(1.534±0.002)*

“*”示同一指标品种间的差异有统计学意义(P < 0.05)。

2.5 茶树叶片优势内生细菌的功能预测

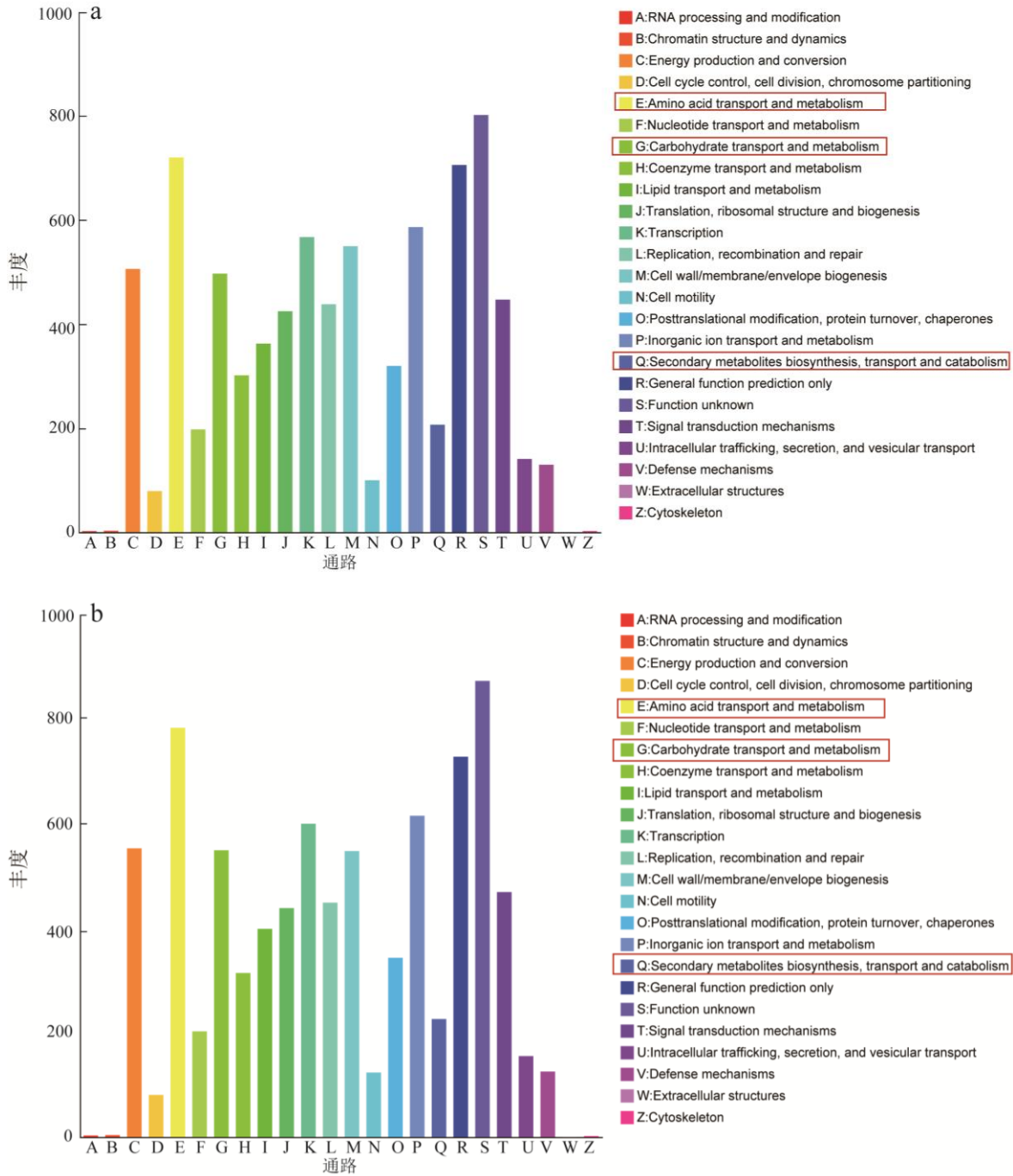
通过 PICRUS1 对茶鲜叶内生细菌种群进行功能预测,结果(图 4-a、图 4-b)显示,茶树内生细菌富集的通路主要包括氨基酸、碳水化合物、核苷酸和脂肪酸的转运和代谢以及辅酶转运与代谢、次级代谢产物的生物合成、能量产生与转换等,表明茶树组织中内生细菌代谢功能丰富。

对茶叶品质化学成分与优势内生细菌进行相关性分析,结果(图 5)显示, *Devosia*、*Sphingomonas*、

Chryseobacterium、*Microbacterium*、*Acidovorax*、*Rhizobium* 和 *Herbaspirillum* 等细菌属的相对丰度与茶叶中的氨基酸总量以及茶氨酸、麦芽糖、没食子酸、可可碱、咖啡碱的含量呈显著正相关; *Enterococcus*、*Ralstonia*、*Bradyrhizobium* 和 *Burkholderia-Paraburkholderia* 等细菌属的相对丰度与茶叶中的氨基酸总量以及茶氨酸、麦芽糖、没食子酸、可可碱、咖啡碱的含量呈显著负相关,与蔗糖和葡萄糖含量呈显著正相关。此外,

Methylobacterium 的相对丰度与茶叶中的多酚和儿茶素组分 EGC、EC、EGCG、ECG 等含量呈显著正相关,而 *Streptococcus* 和 *Ralstonia* 等细菌属的相

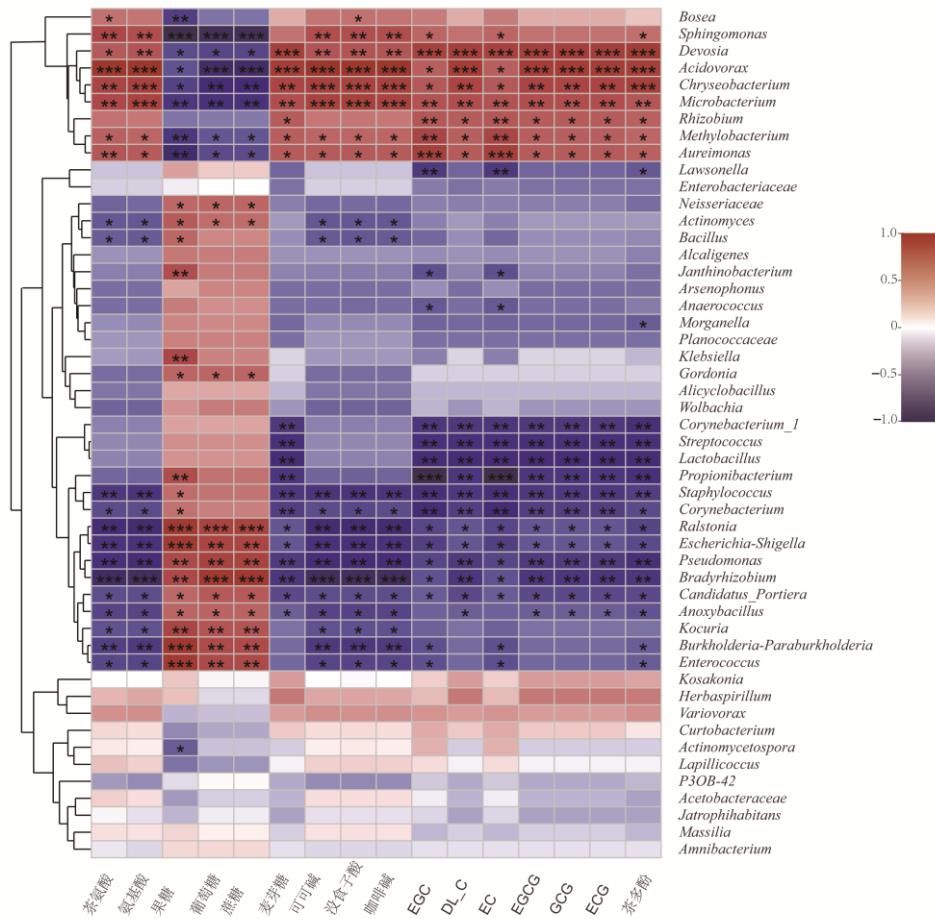
对丰度与这些组分含量呈显著负相关。推测不同的优势内生菌种群可能参与了茶树中化学成分的合成与代谢。



a 茗丰鲜叶内生细菌的功能预测; b 碧香早鲜叶内生细菌的功能预测。

图 4 茶鲜叶内生细菌的功能预测

Fig.4 Function prediction of endophytic bacteria in fresh tea leaves



*** ** * 分别示 0.05、0.01、0.001 水平相关性显著。

图 5 茶叶内生菌与茶叶主要化学成分的相关性

Fig.5 The correlation analysis results between endophytic bacteria and main chemical components of tea leaves

3 结论与讨论

目前已分离到的植物内生细菌约有 120 多种，涵盖了 54 个属^[24-27]。不同植物包含的内生细菌存在差异。本研究发现 *Planococcaceae*、*Rhizobium* 和 *Sphingomonas* 等是碧香早和茗丰 2 个茶树品种根系中的优势细菌属；*Chryseobacterium*、*Sphingomonas*、*Rhizobium*、*Methylobacterium* 和 *Aureimonas* 等细菌属在 2 个茶树品种的鲜叶中广泛存在。

不同植物和不同内生菌群的来源也存在差异。相比在无菌环境中生长的植株，在土壤中生长的植株具有更多的内生菌多样性^[28]。本研究分析了 2 个茶树品种的内生细菌群落与根际土壤和叶面的内生细菌群落的来源。结果显示，茶鲜叶内生细菌大部分来自叶表的一些细菌群落。茶树作为多年生木本植物，具有较长的生长周期，这使得经空气传播的细菌通过植物表皮进入植物的机会增加，茶叶中内生细菌的组成可能更易受空气环境的影响。茶树

的根部直接接触土壤环境，土壤出的一些细菌群有更多的机会进入茶树根部，并扩散到茎或其他部位。对比门和属水平的细菌多样性，结果显示，叶片内生细菌与叶表面微生物相似，根际内生细菌与土壤微生物相似，茶树叶片内生菌与土壤微生物的组成存在差异，说明土壤微生物对茶树叶片内生菌的影响相对较小。

茶树是富含次级代谢产物的多年生常绿木本植物，包括茶多酚、儿茶素、咖啡碱、茶氨酸等。内生菌存在于宿主植物中，可参与宿主植物的次生代谢途径，诱导合成多种代谢产物^[29-31]。本研究发发现，茶鲜叶内生菌参与了部分关键通路，包括氨基酸、碳水化合物、核苷酸和脂肪酸的转运和代谢以及次级代谢产物的生物合成、能量产生与转换等。在关键内生细菌与茶叶品质化学成分的相关性分析中发现，部分关键细菌属的相对丰度与茶叶中的部分化学成分的含量呈显著正相关或负相关，推测茶叶内生菌对茶叶风味物质的形成起到一定的作用。

参考文献:

- [1] 张华琳, 王科翰, 陈雪冰, 等. 茶树内生菌的研究进展[J]. 农业技术与装备, 2022(2): 9–11.
- [2] 郑世仲, 周子维, 陈晓慧, 等. 拮抗炭疽病的茶树内生菌筛选、鉴定及培养条件优化[J]. 茶叶科学, 2023, 43(2): 205–215.
- [3] 曾秀丽, 王志, 罗利, 等. 茶树内生草螺菌 ZXN111 生长素合成及其对云抗-10 号植物的促生功能[J]. 微生物学报, 2020, 60(10): 2198–2210.
- [4] 常慢慢. 茶树内生菌参与茶氨酸合成代谢研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2019.
- [5] 符钟丹. 茶叶风味物质茶氨酸的大肠杆菌微生物合成[D]. 成都: 成都大学, 2023.
- [6] LIN H Y, LIU C W, PENG Z, et al. Distribution pattern of endophytic bacteria and fungi in tea plants[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 872034.
- [7] 游见明. 茶树中内生菌的动态分布[J]. 广西植物, 2008, 28(1): 82–85.
- [8] 汪立群, 颜小梅, 郭小双, 等. 紫娟、云抗 10 号两个茶树品种内生菌多样性研究[J]. 安徽农业大学学报, 2016, 43(1): 1–5.
- [9] 朱育菁, 陈璐, 蓝江林, 等. 茶叶内生菌的分离鉴定及其生防功能初探[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2009, 38(2): 129–134.
- [10] 黄晓琴, 张丽霞, 刘会香, 等. 抗茶树冰核细菌内生菌的筛选及鉴定[J]. 茶叶科学, 2015, 35(1): 97–102.
- [11] 戴清良. 茶树内生真菌的相互作用、内生性及抗菌活性研究[D]. 福州: 福建师范大学, 2008.
- [12] 黄芳芳, 李勤, 黄建安. 茶树根际微生物研究进展[J]. 茶叶科学, 2020, 40(6): 715–723.
- [13] 高旭晖. 茶树根际微生物与根际效应[J]. 茶叶通讯, 2000, 27(1): 35–38.
- [14] 章顺成, 武平安, 李静, 等. 茶树根系耐铝内生真菌的筛选鉴定[J]. 安徽农业大学学报, 2021, 48(5): 744–749.
- [15] XU P, FAN X Y, MAO Y X, et al. Temporal metabolite responsiveness of microbiota in the tea plant phyllosphere promotes continuous suppression of fungal pathogens[J]. *Journal of Advanced Research*, 2022, 39: 49–60.
- [16] CHEN H, SONG Y J, WANG S S, et al. Improved phyllosphere microbiome composition of tea plant with the application of small peptides in combination with rhamnolipid[J]. *BMC Microbiology*, 2023, 23(1): 302.
- [17] 黄友谊, 方欣, 隋梦圆, 等. 茶叶微生物研究现状与展望[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(5): 24–32.
- [18] ARNOLD A E, MEJÍA L C, KYLLO D, et al. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(26): 15649–15654.
- [19] DALLING J W, DAVIS A S, SCHUTTE B J, et al. Seed survival in soil: interacting effects of predation, dormancy and the soil microbial community[J]. *The Journal of Ecology*, 2011, 99(1): 89–95.
- [20] GB/T 8304—2013 茶叶水分含量测定[S].
- [21] GB/T 8305—2013 茶叶水提取物含量测定[S].
- [22] GB/T 8313—2018 茶叶中总多酚和儿茶素含量的测定[S].
- [23] GB/T 8314—2013 茶叶游离氨基酸含量的测定[S].
- [24] MURESU R, PORCEDDU A, CONCHERI G, et al. Legumes of the Sardinia island: knowledge on symbiotic and endophytic bacteria and interactive software tool for plant species determination[J]. *Plants*, 2022, 11(11): 1521.
- [25] MITTER B, PFAFFENBICHLER N, FLAVELL R, et al. A new approach to modify plant microbiomes and traits by introducing beneficial bacteria at flowering into progeny seeds[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 11.
- [26] PETKOVA Z, ANTOVA G. Proximate composition of seeds and seed oils from melon (*Cucumis melo* L.) cultivated in Bulgaria[J]. *Cogent Food & Agriculture*, 2015, 1(1): 1018779.
- [27] DUDEJA S S, SUNEJA-MADAN P, PAUL M, et al. Bacterial endophytes: molecular interactions with their hosts[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2021, 61(6): 475–505.
- [28] FRANK A C, SALDIERNA GUZMÁN J P, SHAY J E. Transmission of bacterial endophytes[J]. *Microorganisms*, 2017, 5(4): 70.
- [29] HARDOIM P R, VAN OVERBEEK L S, VAN ELSAS J D. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth[J]. *Trends in Microbiology*, 2008, 16(10): 463–471.
- [30] HARDOIM P R, HARDOIM C C P, VAN OVERBEEK L S, et al. Dynamics of seed-borne rice endophytes on early plant growth stages[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30438.
- [31] REINHOLD-HUREK B, HUREK T, GILLIS M, et al. *Azoarcus* gen. nov., nitrogen-fixing proteobacteria associated with roots of kallar grass (*Leptochloa fusca* (L.) Kunth), and description of two species, *Azoarcus indigenus* sp. nov. and *Azoarcus communis* sp. nov.[J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1993, 43(3): 574–584.

责任编辑: 毛友纯

英文编辑: 柳正