

研究报告

微生物类群在叶际微生物群落构建过程中的主导作用

白农恩^{1,2}, 邓巍^{1,2}, 程依婷^{1,2}, 钟欣媛^{1,2}, 袁彩莲^{1,2}, 杨晓燕^{*1,2,3}

1 大理大学 东喜玛拉雅研究院, 云南 大理 671003

2 三江并流区域生物多样性保护与利用云南省创新团队, 云南 大理 671003

3 中国三江并流区域生物多样性协同创新中心, 云南 大理 671003

白农恩, 邓巍, 程依婷, 钟欣媛, 袁彩莲, 杨晓燕. 微生物类群在叶际微生物群落构建过程中的主导作用[J]. 微生物学通报, 2025, 52(4): 1587-1599.

BAI Nong'en, DENG Wei, CHENG Yiting, ZHONG Xinyuan, YUAN Cailian, YANG Xiaoyan. The dominant role of microbial groups in the community assembly process of phyllospheric microorganisms[J]. Microbiology China, 2025, 52(4): 1587-1599.

摘要: 【背景】叶际微生物群落构建研究对于厘清其多样性的形成和维持机制具有重要意义, 但研究进展缓慢。【目的】探究园林植物叶际微生物群落的构建过程及决定叶际微生物群落构建过程的主要因素。【方法】在大理苍山国家自然保护区下沿, 选择 50 m 半径范围内的 3 种园林植物, 采集同一朝向的 3 种不同大小叶片, 基于高通量测序技术和群落构建理论模型, 分别分析了整体微生物、不同植物种类、不同叶片大小和不同微生物类群的叶际微生物群落构建过程。【结果】整体叶际微生物群落、不同植物种类和不同大小叶片上的叶际微生物群落构建过程相似, 即都由确定性过程的同质选择主导, 但细菌和真菌的群落构建存在差异, 即叶际真菌与细菌的群落分别由随机性过程的漂变和确定性过程的同质选择主导。通过广义线性模型分析显示, 植物种类对叶际微生物的群落构建过程有显著的影响, 尤其是微生物类群和微生物类群与植物种类变量组合对叶际微生物群落构建过程有极显著的影响, 而叶片大小对叶际微生物群落构建过程有影响但不显著。【结论】微生物类群是叶际微生物群落构建过程中的主导因素。

关键词: 叶际微生物; 植物种类; 叶片大小; 高通量测序; 群落构建过程

资助项目: 国家自然科学基金(32371557)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32371557).

*Corresponding author. E-mail: yangxy@eastern-himalaya.cn

Received: 2024-07-12; Accepted: 2024-11-30; Published online: 2025-01-08

The dominant role of microbial groups in the community assembly process of phyllospheric microorganisms

BAI Nong'en^{1,2}, DENG Wei^{1,2}, CHENG Yiting^{1,2}, ZHONG Xinyuan^{1,2}, YUAN Cailian^{1,2},
YANG Xiaoyan^{*1,2,3}

1 Institute of Eastern-Himalaya Biodiversity Research, Dali University, Dali 671003, Yunnan, China

2 The Provincial Innovation Team of Biodiversity Conservation and Utility of the Three Parallel Rivers Region, Dali 671003, Yunnan, China

3 Collaborative Innovation Center for Biodiversity and Conservation in the Three Parallel Rivers Region of China, Dali 671003, Yunnan, China

Abstract: **[Background]** The research on the community assembly of phyllospheric microorganisms is of great significance to clarify the formation and maintenance mechanism of microbial diversity, while it presents slow progress. **[Objective]** To explore the community assembly processes of phyllospheric microorganisms in garden plants and determine the main influencing factors. **[Methods]** Three species of garden plants located within a 50-m radius from the lower edge of the Cangshan National Nature Reserve in Dali were selected, and leaves of varying sizes in the same orientation were collected. High-throughput sequencing and the theoretical model of community assembly were employed to analyze the community assembly process of phyllospheric microorganisms on different scales, including the entire microorganism community, different plant species, different leaf sizes, and different microbial groups. **[Results]** The community assembly processes of all the phyllospheric microorganisms, different plant species, and different leaf sizes were similar. That is, they were all dominated by the homogenous selection of deterministic process. However, there was a distinction in the community assembly processes between bacteria and fungi. Specifically, the community assembly of phyllospheric fungi and phyllospheric bacteria were dominated by the drift of stochastic process and the homogenous selection of deterministic process, respectively. The generalized linear model analysis showed that plant species had a significant impact on the community assembly process of phyllospheric microorganisms. Particularly, the microbial groups and the combination of microbial groups and plant species had highly significant impacts on the community assembly process of phyllospheric microorganisms, while leaf size had an insignificant impact. **[Conclusion]** Therefore, microbial groups are the decisive factor in the community assembly process of phyllospheric microorganisms.

Keywords: phyllospheric microorganisms; plant species; leaf size; high-throughput sequencing; community assembly process

叶际是指整个植物地上部分(包括叶片、花、茎、果实)的内部和外部;生存和定殖在叶际表面的微生物即为叶际微生物^[1-4]。已有研究表明叶际微生物不仅在促进植物生长、降低植

物病虫害、分解植物体内残留农药、固氮、生物修复和生物防治等方面发挥着关键作用,且在更大的范围内,即生物地球化学循环中也发挥着重要作用^[5-9]。此外,叶际微生物也会对植

物产生许多负面作用,如某些叶际微生物可引起植物病害,甚至引起人畜中毒、过敏和感染等^[10]。虽然叶际微生物对植物的影响研究已有10多年,但对叶际微生物的群落构建机制的了解,却远落后于根际微生物^[11]。

整体上,叶际微生物的研究存在一定技术和方法上的困难和限制。在技术层面上,对叶片样品的微生物DNA/RNA/蛋白的提取存在一定困难,基于16S rRNA基因的细菌分类分析中,常规方法提取的微生物DNA样品中存在大量的植物线粒体和质体来源的16S rRNA基因污染^[12],影响了叶际细菌的群落结构分析,阻碍了其形成和维持机制的解析。二代大规模测序技术、生物信息学分析流程和人工可控的植物-微生物系统等功能性研究手段,以及群落构建理论和模型的发展,为叶际微生物群落构建研究提供了支持^[13-15]。基于这些技术的研究发现,叶际微生物的多样性和群落组成受生物因素(如微生物的基因型、植物的年龄和种类等)和非生物因素(如地理位置、空间距离、土壤类型和性质、气候、采样的时间及季节等)的双重影响^[16-19]。遗憾的是,叶际微生物多样性如何形成和维持,即叶际微生物的群落构建机制依旧没有阐释清楚。

本质上,生物因素和非生物因素通过影响群落构建过程来改变叶际微生物多样性和群落组成,因此,解析叶际微生物群落构建(community assembly)过程即生物多样性形成和维持的关键因素,对叶际微生物群落的研究具有重要意义。而植物种类、叶片大小和微生物类群可能是影响叶际微生物群落构建并决定叶际微生物多样性及群落组成的最主要影响因素^[20]。因为不同植物种类具有不同的叶片结构和资源分泌物(如叶龄和表面粗糙度、初级和次级代谢物),这些特征会吸引和选择特定类型

的微生物,从而影响叶际微生物的最终群落组成^[21-22];同时,不同的叶片大小代表着不同的生境面积,而生境面积大小会影响微生物的物种多样性^[23-24];最后,微生物类群间的差异与微生物之间的互作也都是影响叶际微生物群落的重要因素^[25]。除此之外,非生物因素也会影响叶际微生物群落结构,如地理位置和空间距离可以影响微生物的迁移和扩散,从而导致不同地区的植物叶际微生物群落存在差异^[26-27]。土壤类型和性质,例如土壤质地、有机质含量和酸碱度等,也会对叶际微生物群落组成产生影响^[28-29]。此外,采样的时间及季节、微生物收集和分析方法等都会产生较大的采样误差和系统误差,最终对解析叶际微生物群落构建的关键因素造成干扰^[30-31]。因此,需要在排除上述干扰因素的情况下,分别探究植物种类、叶片大小、微生物类群对叶际微生物群落构建过程的影响。

基于以上分析,我们假设在较小空间尺度下,集中采集不同植物、不同大小的叶片,整体采集叶际微生物,分类群开展群落结构分析,可以较好规避上述非生物因素干扰的问题,能更好地回答影响叶际微生物群落构建的关键因素。因此,本研究在大理苍山国家自然保护区下沿的50 m半径样方内选择栽培条件一致且各自有特点的3种园林植物,以排除环境因素对叶际微生物群落构建过程产生的影响。基于高通量测序技术,通过Vellend (2010)的理论框架即物种形成、扩散、选择、漂变的群落构建理论和R语言中iCAMP包里的Stegen框架^[32-33],分别分析了整体微生物、不同植物种类、不同叶片大小和不同微生物类群的叶际微生物群落构建过程,并进一步通过广义线性模型中一般线性模型方法分析植物种类、叶片大小和微生物类群3种影响因子各自对叶际微生物群落构

建过程的影响。进而探究园林植物叶际微生物群落构建机制及决定叶际微生物群落构建机制的主要因素。

1 材料与方法

1.1 样品

2021年3月6日,以大理苍山国家自然保护区下沿(25°40'19"N, 100°9'17"E)为研究区域,该研究区域的土壤为棕壤,年平均气温为14.9℃,年日照时数2 227.5 h,无霜期227 d,年平均降水量1 051.1 mm,属高原地方性气候,四季温差不大,干湿季分明。以大青树(*Ficus hookeriana* Corner)、广玉兰(*Magnolia grandiflora* L.)和枇杷树(*Eriobotrya japonica* L.)这3种植物为研究对象。采样时,以该研究区域内最大的一棵大青树为中心,在其50 m半径圆内同一朝向再分别选择一棵广玉兰和枇杷树。使用无菌剪刀和镊子按叶片长度大小(小:5–10 cm;中:10–15 cm,大:约15 cm)分别采集3种植物不同大小叶片各3份,共采集27份树叶样品,将叶片置于一次性自封袋中,贴上标签后立即送至实验室处理^[34]。

1.2 主要试剂和仪器

E.Z.N.A.[®] Soil 试剂盒, Bio-Tek 公司; 琼脂糖, Biowest 公司; *FastPfu* 聚合酶, 北京全式金生物技术有限公司; AxyPrep DNA Gel Extraction Kit, 爱思进生物技术(杭州)有限公司; TruSeqDNA PCR-Free Library Preparation Kit 建库试剂盒, 北京柏奥泰科技有限公司; Qubit 荧光仪, 赛默飞世尔科技公司。

NanoDrop 微量分光光度计, Thermo Fisher Scientific 公司; 电泳仪, 北京市六一生物技术有限公司; PCR 仪, 应用生物系统公司; PBS 缓冲液粉剂, 北京索莱宝科技有限公司; 超声波清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司;

旋涡混合器, 海门其林贝尔仪器制造有限公司; 移液器、小型离心机和高速台式冷冻离心机, Eppendorf 公司; pH 仪, 奥豪斯仪器有限公司; 测序仪, Illumina 公司。

1.3 样品预处理

在样品袋中加入25 mL PBS 缓冲液(将1袋PBS 缓冲液粉剂溶解于1 000 mL 蒸馏水中, pH 8.02), 随后放入超声清洗机中在25℃和40 kHz 条件下, 超声洗涤1 min 和涡旋10 s, 以同样的条件重复超声洗涤和涡旋3次, 将洗涤液收集于50 mL 无菌离心管中。重新向样品中加入25 mL 无菌 PBS 缓冲液, 重复上述操作1次。将2次操作所得洗涤液置于50 mL 无菌离心管中, 8 000 r/min 离心10 min, 获得沉淀样品, 液氮速冻, 干冰保存送样至深圳微科盟科技集团有限公司进行高通量测序^[35]。

1.4 高通量测序

使用 Illumina NovaSeq 平台对细菌 16S rRNA 基因 V3–V4 可变区及真菌 ITS1 区进行测序以评估微生物多样性。

PCR 扩增及测序工作均委托深圳微科盟科技集团有限公司完成。测序包括 DNA 提取, PCR 扩增和 Illumina NovaSeq 测序3个流程, 根据 E.Z.N.A.[®] Soil 试剂盒说明书提取叶片样品总 DNA。利用 NanoDrop 微量分光光度计检测 DNA 浓度和纯度, 用1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量。细菌用引物 338F (5'-ACTCCTACGG GAGGCAGCAG-3')和 806R (5'-GGACTACHV GGGTWTCTAAT-3')对16S rRNA 基因 V3–V4 可变区进行扩增。PCR 反应体系(20 μL): 5×*FastPfu* 缓冲液4 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μL, 正、反向引物(5 μmol/L)各0.8 μL, *FastPfu* 聚合酶0.4 μL, DNA 模板(1.5 μmol/L) 1 μL, ddH₂O 补足20 μL^[36–37]。真菌用引物 ITS1-1F-F (5'-CTTGGTCATTAGA GGAAGTAA-3')和 ITS-1F-R (5'-GCTGCGTTCT

TCATCGATGC-3')对 ITS1 区进行 PCR 扩增^[34]。

使用 2%琼脂糖凝胶回收 PCR 产物,利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit 对 PCR 产物进行纯化,纯化后使用 TruSeqDNA PCR-Free Library Preparation Kit 建库试剂盒构建文库,经过 Qubit 定量和文库检测合格后上机测序^[37]。

1.5 数据分析

运用 QIIME 2 dada2 插件对测序结果序列进行质控、修剪、去噪、拼接及去除嵌合体后,得到了最终的扩增子测序变体(amplicon sequence variants, ASV)表格。接着将 ASV 的代表序列比对到 Greengenes 数据库,得到物种的分类信息表。之后用 QIIME 2 feature-table 插件剔除所有污染性的线粒体和叶绿体序列,再使用 QIIME 2 core-diversity 进行 α 多样性和 β 多样性分析^[35]。在所有样品中,分别获得了 1 549 867 条 16S rRNA 基因高质量序列和 2 184 791 条 ITS 高质量序列,每个样品平均检测到 57 402 条序列(细菌)和 80 918 条序列(真菌),各处理样品文库覆盖率均达到 100%。

同时,为了探究植物种类、叶片大小、微生物类群各自对叶际微生物群落构建机制的影响。采用基于 R 语言的 'iCAMP' 包里提供的 Stegen (2013)群落构建分析框架分解和量化选择、扩散、物种形成和漂变这 4 个基本生态过程分别在叶际真菌与细菌群落构建中的相对重要性^[38-40]。首先,分析整体叶际微生物群落的群落构建过程,将得到的 3 种植物 3 种大小叶片上的真菌与细菌的群落构建结果进行合并;其次,分析不同植物种类上的叶际微生物群落构建过程,合并 3 种不同大小叶片上的真菌与细菌的群落构建结果而拆解出不同植物种类上的叶际微生物群落构建结果;同时,为了分析不同大小叶片上的叶际微生物群落构建过程,

先合并 3 种不同植物种类上的真菌与细菌的群落构建结果,再按 3 种植物的不同大小叶片拆解分析叶际微生物群落构建结果;最后,分别合并叶际真菌与细菌在植物种类和叶片大小上的群落构建结果,再分析不同微生物类群即叶际真菌与细菌的群落构建过程,并进一步通过广义线性模型中的一般线性模型方法分别分析植物种类、叶片大小和微生物类群这 3 种影响因素对叶际微生物群落构建过程的影响。

2 结果与分析

2.1 不同植物的叶际微生物群落结构存在差异

2.1.1 叶际真菌和细菌群落的 α 多样性分析

三种植物的真菌群落的 α 多样性差异显著 ($P<0.01$),多样性从高到低依次为广玉兰、枇杷树和大青树(图 1A)。细菌群落的 α 多样性从高到低依次为枇杷树、广玉兰和大青树(图 1B),但差异不显著。三种植物的叶际细菌群落 α 多样性均高于叶际真菌群落(图 1)。

2.1.2 叶际真菌和细菌群落的 β 多样性分析

三种植物叶际真菌和细菌群落基于 β 多样性分析的主坐标分析(principal coordinate analysis, PCoA)结果显示,不同树种的细菌和真菌群落均分别聚类。而组间差异中,枇杷树和广玉兰叶际细菌和真菌群落组成相似度更高(图 2)。

2.2 叶际微生物群落构建机制分析

2.2.1 整体叶际微生物群落构建过程分析

通过 Stegen 群落构建分析框架分析整体叶际微生物群落构建过程。结果显示,整体叶际微生物群落主要受确定性过程的同质选择和随机性过程的生态漂变影响,同时还受随机性过程的扩散限制和确定性过程的异、同质选择影响(图 3)。

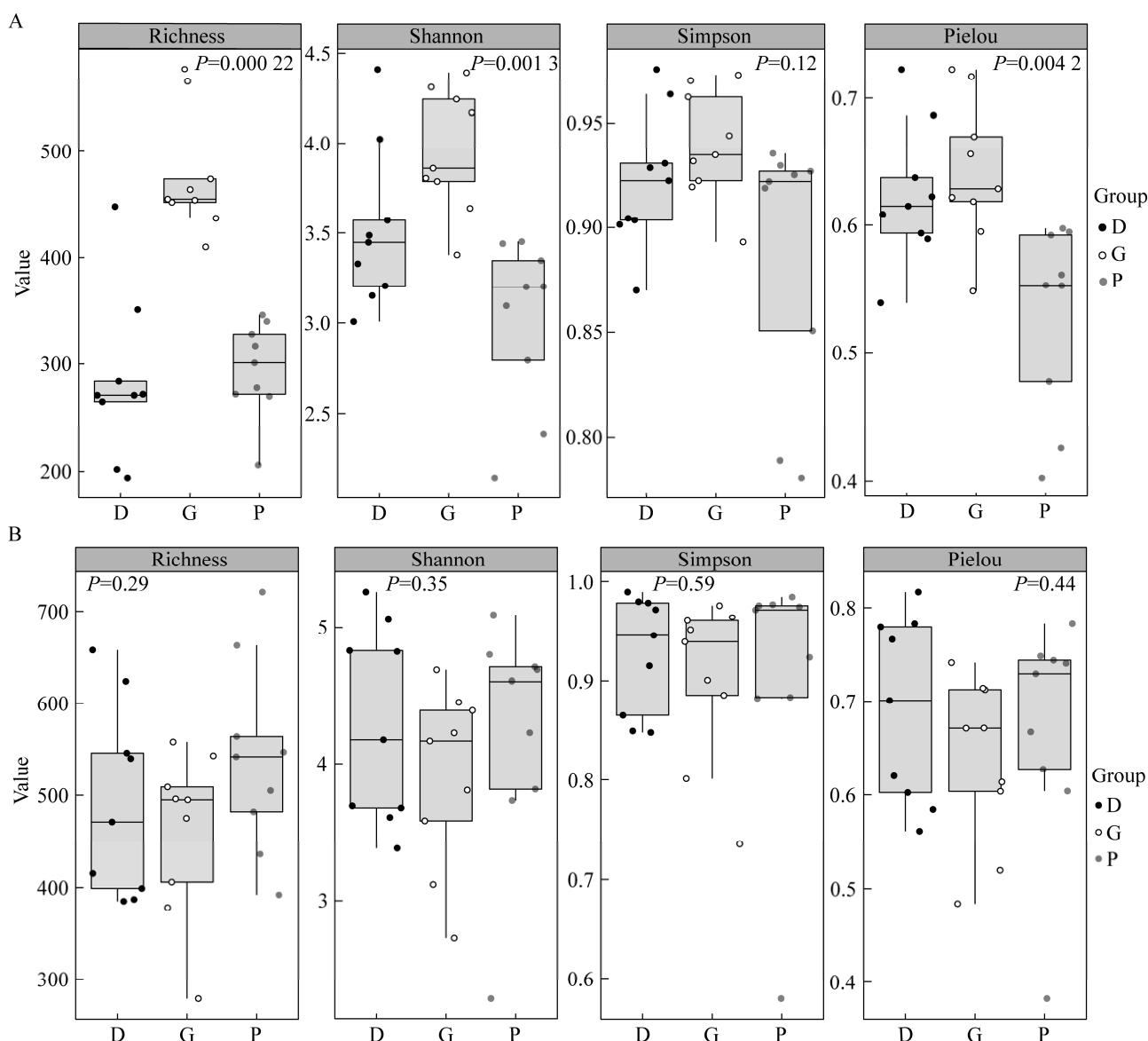


图 1 三种园林植物叶际真菌(A)和细菌(B)群落的 α 多样性分析 D: 大青树(*Ficus hookeriana* Corner); G: 广玉兰(*Magnolia grandiflora* L.); P: 枇杷树(*Eriobotrya japonica* L.)。下同。

Figure 1 Alpha diversity analysis of phyllospheric fungi (A) and bacteria (B) communities of three garden plants. D: *Ficus hookeriana* Corner; G: *Magnolia grandiflora* L.; P: *Eriobotrya japonica* L. The same below.

2.2.2 不同植物种类上的叶际微生物群落构建过程差异分析

通过 Stegen 群落构建分析框架分析 3 种植物上的叶际微生物群落构建过程。结果显示: 3 种植物上的叶际微生物群落都主要受到确定性过

程的同质选择和随机性过程的生态漂变影响(图 4A、4B), 但它们对 3 种植物上的叶际微生物群落贡献度不一样。同质选择对大青树和枇杷树叶际微生物群落构建比广玉兰贡献多, 而生态漂变对广玉兰叶际微生物群落影响更大(图 4C)。

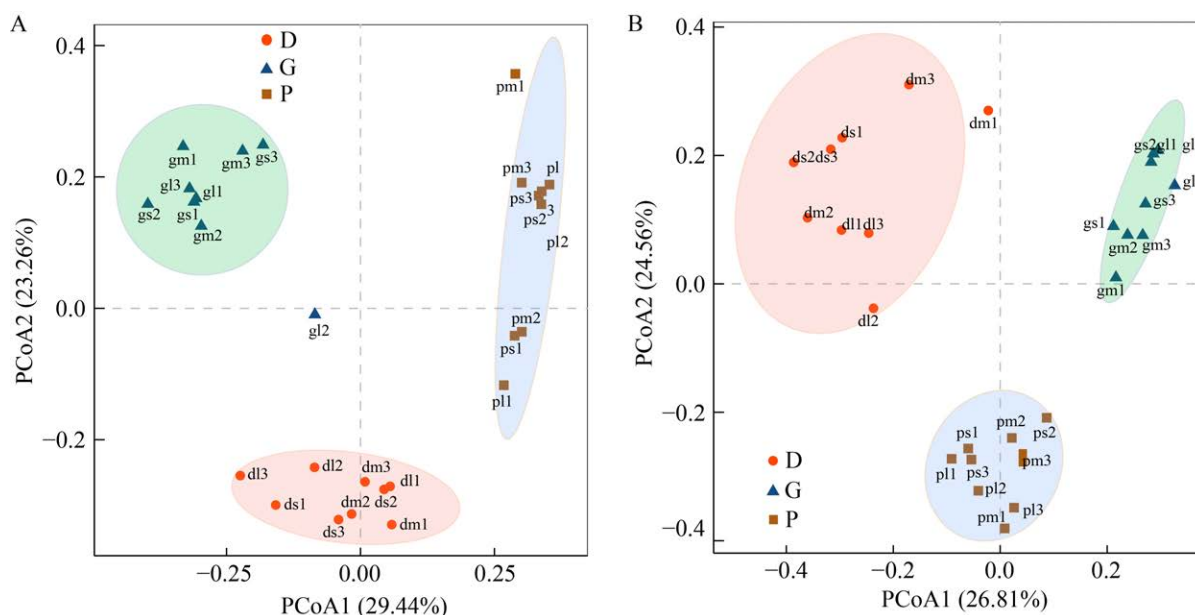


图 2 三种园林植物叶际真菌(A)和细菌(B)群落的 β 多样性分析

Figure 2 Analysis of beta diversity in phyllospheric fungi (A) and bacteria (B) communities of three garden plants.

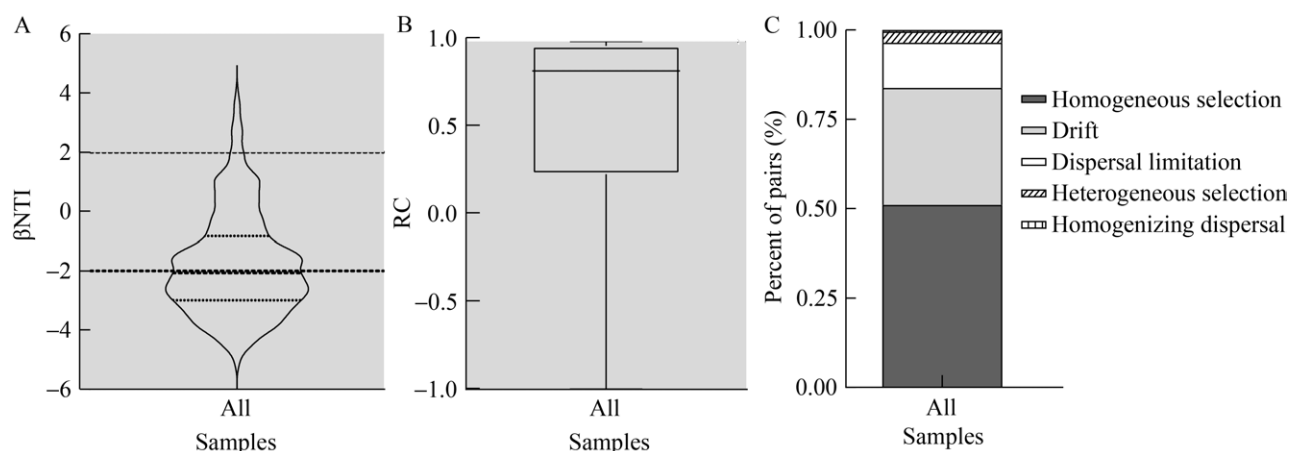


图 3 整体叶际微生物的群落构建过程 评估指标为最近系统发育指数(β -Nearest Taxonomy Index)即 β NTI 值和 RCBray 值(Bray-Curtis Richness Curve Similarity Index)即 RC 值。A: β NTI<-2 为确定性的同质选择, β NTI>2 为确定性的异质选择, $-2<\beta$ NTI<2 为随机性选择; B: RC<-0.95 为随机性的同质扩散, RC>0.95 为随机性的扩散限制, $-0.95<RC<0.95$ 为随机性的生态漂变; C: 叶际微生物 5 种群落构建过程(同质选择, 异质选择, 同质扩散, 扩散限制, 漂变)的具体占比。下同。

Figure 3 The community assembly processes of all the phyllospheric microorganisms. The evaluation indexes are β -Nearest Taxonomy Index, also known as the β NTI value and Bray-Curtis Richness Curve Similarity Index, also known as the RC value. A: β NTI<-2 is deterministic homogeneous selection, while β NTI>2 is deterministic heterogeneous selection, and $-2<\beta$ NTI<2 is stochastic selection; B: RC<-0.95 is stochastic homogenizing dispersal, RC>0.95 is stochastic dispersal limitation, and $-0.95<RC<0.95$ is stochastic drift; C: The specific proportions of the five community assembly processes of the phyllospheric microorganisms (homogeneous selection, heterogeneous selection, homogenizing dispersal, dispersal limitation, drift). The same below.

另外,大青树和广玉兰上的叶际微生物群落还受到了确定性过程的异质选择和随机性过程的扩散限制(图 4C)。

2.2.3 不同大小叶片上的叶际微生物群落构建过程差异分析

通过 Stegen 群落构建分析框架分别分析不同大小叶片上的叶际微生物群落构建过程。结果显示:3 种大小叶片上的叶际微生物群落都主要受到确定性过程的同质选择(图 5A)和随机性过程的生态漂变影响(图 5B),并且都由确定性过程的同质选择主导,但大叶和中叶不同于

小叶,分别还受到了随机性过程的扩散限制和确定性过程的异质选择(图 5C)。

2.2.4 叶际真菌与细菌的群落构建过程差异分析

通过 Stegen 群落构建分析框架分析叶际真菌与细菌群落的群落构建过程。结果发现,叶际真菌与细菌的群落都受到了确定性过程的同质选择、随机性过程的生态漂变和扩散限制影响(图 6A、6B),但 2 个群落受到的同质选择、生态漂变和扩散限制影响的占比不一样。另外,叶际真菌群落还受到了确定性过程的异质选择,

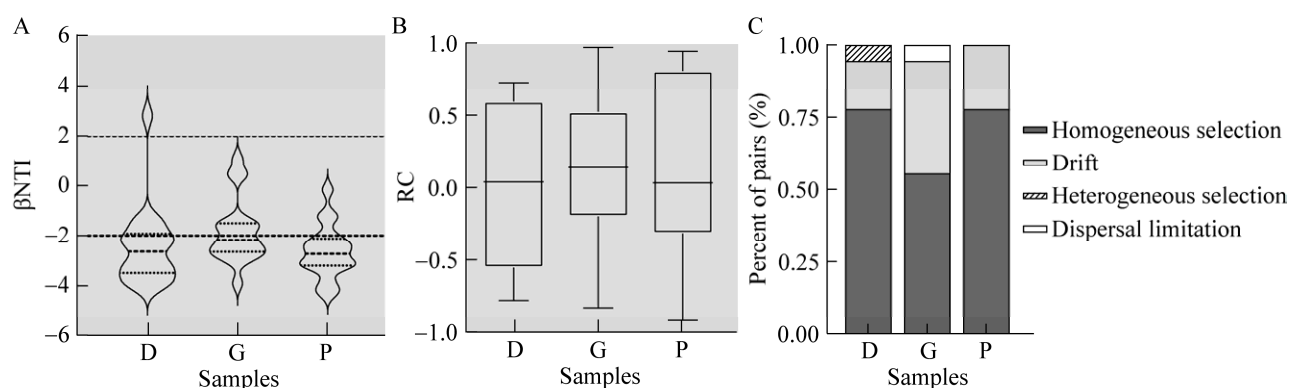


图 4 三种植物叶际微生物的群落构建过程

Figure 4 Community assembly process of phyllospheric microorganisms in three plants.

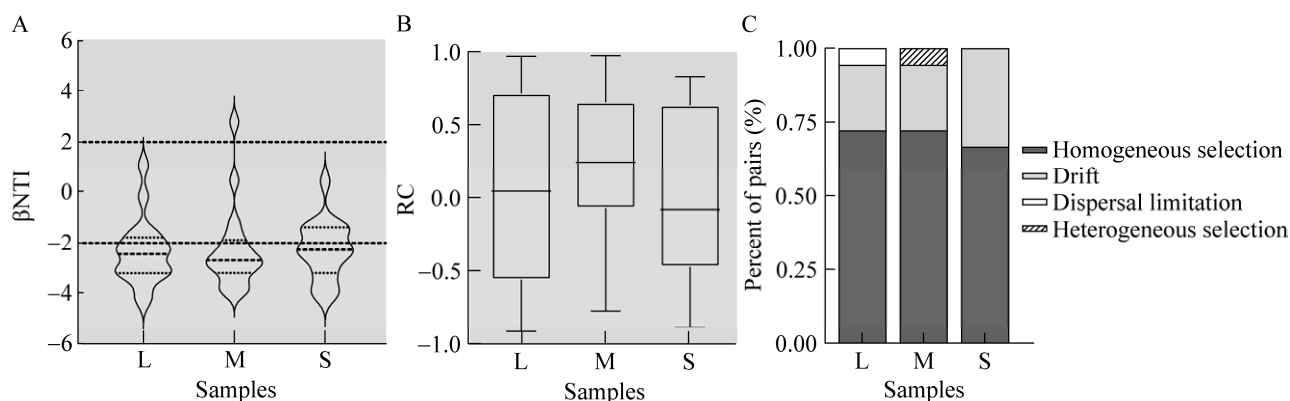


图 5 三种不同大小叶片上的叶际微生物群落构建过程 S: 小叶, 5–10 cm; M: 中叶, 10–15 cm; L: 大叶, 约 15 cm。

Figure 5 Community assembly process of phyllospheric microorganisms on leaves of three different sizes. S: Small leaves, 5–10 cm; M: Middle leaves, 10–15 cm; L: Large leaves, about 15 cm.

以及它们的群落构建的主导过程也不一样，叶际真菌与叶际细菌的群落分别由随机性过程的生态漂变(57.23%)和确定性过程的同质选择(80.63%)主导(图 6C)。

2.2.5 微生物类群、植物种类和叶片大小对叶际微生物群落构建过程的影响

通过广义线性模型中的一般线性模型方法分析了微生物类群、植物种类和叶片大小这 3 种影响因子分别以及不同变量组合对叶际微生物群落构建过程的影响，其显著性差异结果显示：微生物类群和微生物类群与植物种类变量组合对叶际微生物群落的群落构建过程有极显著的影响($P=0.000<0.001$)；植物种类对叶际微生物群

落的群落构建过程有显著的影响($P=0.002<0.01$)；叶片大小和其余不同变量组合对叶际微生物群落的群落构建过程有影响但不显著(表 1)。

3 讨论

本研究首次系统地分析了影响叶际微生物群落构建过程的主要生物因素，即微生物类群、植物种类和叶片大小 3 种影响因子，分别对不同变量组合对叶际微生物群落构建过程的影响。分析结果发现，不管是微生物类群、植物种类、叶片大小，还是不同变量组合，对叶际微生物的群落构建过程都存在影响，但叶片大小和绝大部分不同变量组合影响不显著，而植

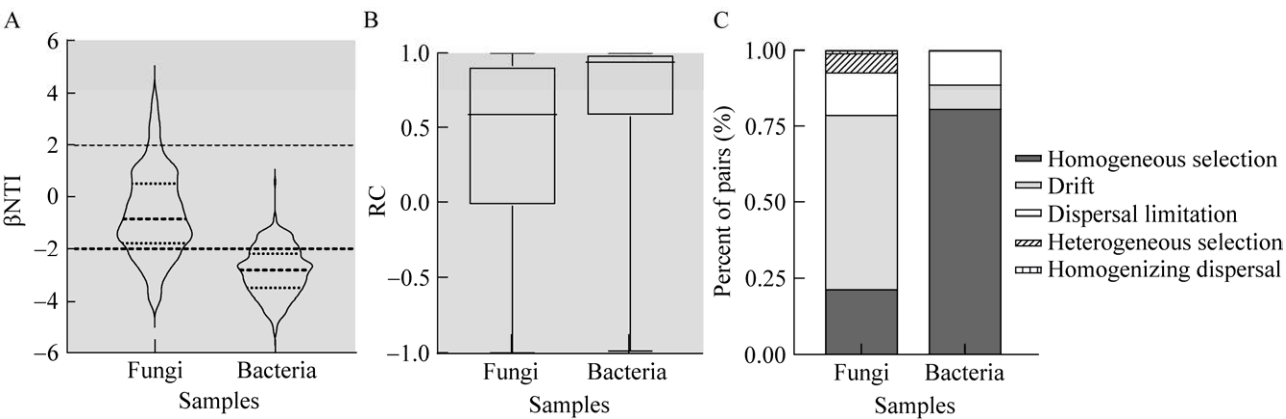


图 6 叶际真菌与细菌的群落构建过程
Figure 6 Community assembly process of phyllospheric fungi and bacteria.

表 1 不同因素对叶际微生物群落的 βNTI 值的影响分析
Table 1 Comparison of βNTI values of phyllospheric microbial communities by different factors

影响因素	<i>P</i> 值	差异显著性
Influencing factor	<i>P</i> value	Significant difference
微生物类群 Microbial groups	0.000	***
植物种类 Plant species	0.002	**
叶片大小 Leaf size	0.541	
微生物类群×植物种类 Microbial groups×plant species	0.000	***
微生物类群×叶片大小 Microbial groups×leaf size	0.012	*
植物种类×叶片大小 Plant species×leaf size	0.093	
微生物类群×植物种类×叶片大小 Microbial groups×plant species×leaf size	0.060	

***: $P<0.001$; **: $P<0.01$; *: $P<0.05$.

物种对叶际微生物的群落构建过程有显著的影响,尤其是微生物类群和微生物类群与植物种类变量组合对叶际微生物群落构建过程有极显著的影响。

3.1 微生物类群对叶际微生物群落构建过程的影响

微生物类群对叶际微生物群落构建过程有极显著的影响(表 1),并且其群落构建过程结果显示,叶际真菌与细菌群落构建过程完全不同,即叶际真菌与细菌的群落构建过程分别主要由随机性过程的生态漂变和确定性过程的同质选择主导。这与先前的研究报告一致,即确定性过程,尤其是同质选择,在塑造细菌群落中起着关键作用,而诸如生态漂变、扩散限制等随机过程主要控制真菌群落的构建^[41]。细菌与真菌群落构建的差异主要是因为真菌和细菌的生活史策略、生态位宽度存在差异^[42]。大量研究都发现它们在大、小尺度上的装配机制都不同,如:Wang 等发现在大尺度上,真菌的群落构建由随机性过程的同质扩散主导,细菌群落构建由确定性过程的同质选择主导;而在小尺度上,细菌的群落构建由随机性过程的生态漂变主导,真菌的群落构建由随机性过程的扩散限制主导^[43-46]。Huang 等^[47]的研究则发现在相同环境梯度下细菌和真菌随机组装过程存在差异。进一步通过广义线性模型分析发现,微生物类群和微生物类群与植物种类变量组合对叶际微生物群落构建过程有极显著的影响,这说明细菌与真菌的自身差异决定了微生物的群落构建机制。

3.2 植物种类对叶际微生物群落构建过程的影响

植物种类对叶际微生物群落的构建过程有显著的影响(表 1),并且在多样性和群落结构上,3 种植物的多样性和群落结构存在较大的差异,这可能是由植物本身特性决定的。多样性上,广

玉兰和枇杷树上的叶际细菌和真菌 α 多样性均高于大青树。群落组成上,广玉兰和枇杷树叶际细菌和叶际真菌群落组成较广青树更相似,这与 3 种植物本身的特性相关。枇杷树叶面有褶皱和蜡质层且双面被毛;广玉兰叶片蜡质最多且叶片背面有短绒毛;大青树叶片双面光滑且富含蜡质,幼嫩部分稍被毛;叶片蜡质层厚度的差异会影响其对微生物的吸附能力,并且被毛的多少间接影响微生物与植物的接触面积及其栖息环境,从而影响叶际微生物多样性和群落结构^[35]。其次,广玉兰和枇杷树属于常绿植物,而大青树属于落叶植物。这也说明了植物种类是影响叶际微生物多样性和群落结构的主要因素,同样会反过来影响叶际微生物群落构建过程。

3.3 叶片大小对叶际微生物群落构建过程的影响

叶片大小对叶际微生物的群落构建过程有影响但不显著(表 1)。其群落构建过程结果显示,确定性过程的同质选择和随机性过程的生态漂变主导了 3 种大小叶片上的叶际微生物群落,并且都由确定性过程的同质选择主导(图 5)。这说明了叶片大小并不像微生物类群和植物种类那样在叶际微生物群落构建过程中起关键作用。

这有可能因为叶片大小与叶龄之间存在一定的关系,即同一大小的叶片,其叶龄不一定是相同的,这种关系可能会影响到叶片大小对叶际微生物群落构建过程的实际影响情况。由于无法准确判断叶龄,本研究没有作深入分析。需要注意的是,本研究是基于排除非生物因素即 50 m 半径样方内同样环境条件下探究植物种类、叶片大小和微生物类群对叶际微生物群落构建过程的影响。为了深入了解叶际微生物的群落构建机制,在未来的研究中,应扩大研究范围,全面解析生物因素与非生物因素在叶际微生物群落构建过程中的主导作用。

4 结论

在影响叶际微生物群落构建过程的生物因素中,微生物类群起着主导因素,植物种类也发挥着关键性的作用,而叶片大小对叶际微生物群落构建过程中的影响不大。本研究结果促进了对叶际微生物群落构建机制的认识,能够为叶际微生物资源开发和植物的健康管理提供参考。

REFERENCES

- [1] 杨宽,王慧玲,叶坤浩,王佩,孟广云,罗成,郭力维. 叶际微生物及与植物互作研究进展[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2021, 36(1): 155-164.
- [2] YANG K, WANG HL, YE KH, WANG P, MENG GY, LUO C, GUO LW. Advances in research on phyllosphere microorganisms and their interaction with plants[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2021, 36(1): 155-164 (in Chinese).
- [3] RUINEN J. Occurrence of *Beijerinckia* species in the 'phyllosphere'[J]. Nature, 1956, 177: 220-221.
- [4] LINDOW SE, BRANDL MT. Microbiology of the phyllosphere[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(4): 1875-1883.
- [5] 陈琳,祁静,李祖明,白志辉,高丽萍. 白菜叶际细菌多样性与毒死蜱降解菌筛选及分离鉴定[J]. 食品工业科技, 2018, 39(22): 107-112, 120.
- [6] CHEN L, QI J, LI ZM, BAI ZH, GAO LP. Diversity of bacteria, isolation and identification of chlorpyrifos-degradating strains on the phyllosphere of *Brassica chinensis*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(22): 107-112, 120 (in Chinese).
- [7] PENG DY, WANG ZH, TIAN JY, WANG W, GUO SJ, DAI X, YIN HQ, LI LZ. Phyllosphere bacterial community dynamics in response to bacterial wildfire disease: succession and interaction patterns[J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1331443.
- [8] 傅小伟,项曼秋,王安. 叶菜类蔬菜叶际微生物菌落的动态变化分析[J]. 北方园艺, 2018(14): 48-52.
- [9] FU XW, XIANG MQ, WANG A. Dynamic variation of microorganisms in leafy vegetables phyllosphere[J]. Northern Horticulture, 2018(14): 48-52 (in Chinese).
- [10] 何涛,杜鸿燕,孙家秀,陈吉越,邓维萍,朱书生,何霞红,杜飞. 烯酰吗啉对葡萄叶际微生物区系影响研究[J]. 植物病理学报, 2022, 52(3): 443-458.
- [11] HE T, DU HY, SUN JX, CHEN JY, DENG WP, ZHU SS, HE XH, DU F. Effects of dimethomorph on the microflora of grape leaf[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2022, 52(3): 443-458 (in Chinese).
- [12] KIM H, LEE YH. The rice microbiome: a model platform for crop holobiome[J]. Phytobiomes Journal, 2020, 4(1): 5-18.
- [13] CHOI K, KHAN R, LEE SW. Dissection of plant microbiota and plant-microbiome interactions[J]. Journal of Microbiology, 2021, 59(3): 281-291.
- [14] HUANG SL, ZHA XJ, FU G. Affecting factors of plant phyllosphere microbial community and their responses to climatic warming-a review[J]. Plants, 2023, 12(16): 2891.
- [15] 阚望,许姗姗,杨太源,刘悦,王连春,李红祥,谭元花,吴德喜,李成云. 西双版纳热带雨林植物叶际细菌群落研究[J]. 西南农业学报, 2020, 33(3): 631-636.
- [16] KAN W, XU SS, YANG TY, LIU Y, WANG LC, LI HX, TAN YH, WU DX, LI CY. Study on bacterial community of plant interleaf in Xishuangbanna tropical rain forest[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2020, 33(3): 631-636 (in Chinese).
- [17] GONG TY, XIN XF. Phyllosphere microbiota: Community dynamics and its interaction with plant hosts[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2021, 63(2): 297-304.
- [18] KAUL S, SHARMA T, DHAR MK. "Omics" tools for better understanding the plant-endophyte interactions[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 955.
- [19] BOLYEN E, RIDEOUT JR, DILLON MR, BOKULICH NA, ABNET CC, AL-GHALITH GA, ALEXANDER H, ALM EJ, ARUMUGAM M, ASNICAR F, BAI Y, BISANZ JE, BITTINGER K, BREJNROD A, BRISLAWN CJ, BROWN CT, CALLAHAN BJ, CARABALLO-RODRÍGUEZ AM, CHASE J, COPE EK, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2[J]. Nature Biotechnology, 2019, 37(8): 852-857.
- [20] LIU YX, QIN Y, CHEN T, LU MP, QIAN XB, GUO XX, BAI Y. A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data[J]. Protein & Cell, 2021, 12(5): 315-330.
- [21] 宋文宇,李学友,ONDITI Kenneth Otieno,蒋学龙. 基于生态位理论研究群落构建的方法进展[J]. 兽类学报, 2022, 42(3): 312-324.
- [22] SONG WY, LI XY, OTIENO O, JIANG XL. Methodological advances in explaining community assembly with niche-based theory[J]. Acta Theriologica Sinica, 2022, 42(3): 312-324 (in Chinese).
- [23] ZHOU JZ, NING DL. Stochastic community assembly: does it matter in microbial ecology?[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2017, 81(4): e00002-17.
- [24] 吴林坤,陈军,杨波,肖志刚,路翠红,王娟英,林文雄. 地黄连作对叶际细菌群落结构及多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2019, 30(10): 3509-3517.
- [25] WU LK, CHEN J, YANG B, XIAO ZG, LU CH, WANG JY, LIN WX. Effects of *Rehmannia glutinosa* consecutive monoculture on the community structure and diversity of phyllosphere bacteria[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(10): 3509-3517 (in Chinese).
- [26] ZHU YG, XIONG C, WEI Z, CHEN QL, MA B, ZHOU SYD, TAN JQ, ZHANG LM, CUI HL, DUAN GL. Impacts of global change on the phyllosphere microbiome[J]. New Phytologist, 2022, 234(6): 1977-1986.
- [27] XU NH, ZHAO QQ, ZHANG ZY, ZHANG Q, WANG Y, QIN G, KE MJ, QIU DY, LU T, QIAN HF. Phyllosphere microorganisms: sources, drivers, and their interactions with plant hosts[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022(16): 70.
- [28] 刘宇星,董醇波,邵秋雨,张芝元,韩燕峰,梁宗琦.

- 叶际微生物与植物健康研究进展[J]. 微生物学杂志, 2022, 42(2): 88-98.
- LIU YX, DONG CB, SHAO QY, ZHANG ZY, HAN YF, LIANG ZQ. Advances on phyllosphere microorganisms and their association with plant health[J]. Journal of Microbiology, 2022, 42(2): 88-98 (in Chinese).
- [22] 张妃, 冯乃宪, 宾慧, 李彦文, 赵海明, 向垒, 蔡全英, 莫测辉. 内生菌定殖、促生及降低作物有机污染的机理研究(I): 定殖与促生[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(8): 1619-1628.
- ZHANG F, FENG NX, BIN H, LI YW, ZHAO HM, XIANG L, CAI QY, MO CH. Research advances in colonization of endophytes and their role in promoting plant growth and minimizing organic pollution in crop plants: Part I: colonization and plant growth promotion[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2022, 41(8): 1619-1628 (in Chinese).
- [23] 陈伟东, 温东辉. 污水处理系统微生物群落时空分布和构建机制研究进展[J]. 环境工程, 2022, 40(8): 1-13, 39.
- CHEN WD, WEN DH. Advances in spatial-temporal distribution and assembly mechanisms of microbial community in wastewater treatment systems[J]. Environmental Engineering, 2022, 40(8): 1-13, 39 (in Chinese).
- [24] 邓巍. 基于微生物微宇宙实验的种面积关系形成机制解析[D]. 大理: 大理大学硕士学位论文, 2023.
- DENG W. Analysis of the mechanism of species-area relationship formation based on microbial microcosm experiments[D]. Dali: Master's Thesis of Dali University, 2023 (in Chinese).
- [25] HUNTER PJ, HAND P, PINK D, WHIPPS JM, BENDING GD. Both leaf properties and microbe-microbe interactions influence within-species variation in bacterial population diversity and structure in the lettuce (*Lactuca* species) phyllosphere[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(24): 8117-8125.
- [26] FINKEL OM, BURCH AY, LINDOW SE, POST AF, BELKIN S. Geographical location determines the population structure in phyllosphere microbial communities of a salt-excreting desert tree[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(21): 7647-7655.
- [27] ZARRAONAINDIA I, OWENS SM, WEISENHORN P, WEST K, HAMPTON-MARCELL J, LAX S, BOKULICH NA, MILLS DA, MARTIN G, TAGHAVI S, van der LELIE D, GILBERT JA. The soil microbiome influences grapevine-associated microbiota[J]. mBio, 2015, 6(2): e02527-14.
- [28] WANG SH, FU G. Modelling soil moisture using climate data and normalized difference vegetation index based on nine algorithms in alpine grasslands[J]. Frontiers in Environmental Science, 2023, 11: 1130448.
- [29] ZHANG XZ, SHEN ZX, FU G. A meta-analysis of the effects of experimental warming on soil carbon and nitrogen dynamics on the Tibetan Plateau[J]. Applied Soil Ecology, 2015, 87: 32-38.
- [30] XING L, ZHI QQ, HU X, LIU LL, XU H, ZHOU T, YIN HQ, YI ZX, LI J. Influence of association network properties and ecological assembly of the foliar fungal community on crop quality[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 783923.
- [31] BELL JK, MAMET SD, HELGASON B, SICILIANO SD. *Brassica napus* bacterial assembly processes vary with plant compartment and growth stage but not between lines[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2022, 88(10): e0027322.
- [32] VELLEND. Conceptual synthesis in community ecology[J]. Quarterly Review of Biology, 2010, 85(2): 183-206.
- [33] STEGEN JC, LIN XJ, FREDRICKSON JK, CHEN XY, KENNEDY DW, MURRAY CJ, ROCKHOLD ML, KONOPKA A. Quantifying community assembly processes and identifying features that impose them[J]. The ISME Journal, 2013, 7(11): 2069-2079.
- [34] 袁彩莲, 张朝志, 邓巍, 姜林, 余容, 杨晓燕. 基于高通量测序的三种园林植物叶际真菌多样性及群落结构解析[J]. 四川林业科技, 2023, 44(1): 24-31.
- YUAN CL, ZHANG CZ, DENG W, JIANG L, SHE R, YANG XY. Phyllosphere fungal diversity and community structure of three garden plants based on high-throughput sequencing[J]. Journal of Sichuan Forestry Science and Technology, 2023, 44(1): 24-31 (in Chinese).
- [35] 白农恩, 刘李蕾, 邓巍, 姜林, 杨晓燕. 小生境范围内 3 种园林植物叶际细菌群落结构及多样性分析[J]. 广东农业科学, 2022, 49(6): 43-50.
- BAI NE, LIU LL, DENG W, JIANG L, YANG XY. Analysis on phyllosphere bacterial community structure and diversity of three garden plants in niche area[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2022, 49(6): 43-50 (in Chinese).
- [36] 姜林, 邓巍, 张淑霞, 杨晓燕. 野生鸟类趾爪携带细菌多样性及其潜在致病性种群分析[J]. 中国公共卫生, 2023, 39(1): 36-41.
- JIANG L, DENG W, ZHANG SX, YANG XY. Species diversity and potential pathogenicity of bacteria carried by wild birds' claws in Yunnan province[J]. Chinese Journal of Public Health, 2023, 39(1): 36-41 (in Chinese).
- [37] 朱见深, 王进文, 张庆, 骆延波, 李璐璐, 胡明, 宋新慧, 戴美学, 齐静, 刘玉庆. SPF 鸡粪菌移植对雏鸡肠道菌群和大肠杆菌抗药性的影响[J]. 山东农业科学, 2018, 50(7): 6-12.
- ZHU JS, WANG JW, ZHANG Q, LUO YB, LI LL, HU M, SONG XH, DAI MX, QI J, LIU YQ. Effect of fecal microbiota transplantation from SPF chickens on intestinal flora and *E. coli* resistance to antibiotics in chicks[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2018, 50(7): 6-12 (in Chinese).
- [38] NING DL, YUAN MT, WU LW, ZHANG Y, GUO X, ZHOU XS, YANG YF, ARKIN AP, FIRESTONE MK, ZHOU JZ. A quantitative framework reveals ecological drivers of grassland microbial community assembly in response to warming[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 4717.
- [39] BURNS AR, STEPHENS WZ, STAGAMAN K, WONG S, RAWLS JF, GUILLEMIN K, BOHANNAN BJ. Contribution of neutral processes to the assembly of gut microbial communities in the zebrafish over host

- development[J]. The ISME Journal, 2016, 10(3): 655-664.
- [40] SLOAN WT, LUNN M, WOODCOCK S, HEAD IM, NEE S, CURTIS TP. Quantifying the roles of immigration and chance in shaping prokaryote community structure[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(4): 732-740.
- [41] ZHANG S, LI KX, HU JM, WANG F, CHEN DH, ZHANG ZJ, LI T, LI LF, TAO J, LIU D, CHE RX. Distinct assembly mechanisms of microbial sub-communities with different rarity along the Nu River[J]. Journal of Soils and Sediments, 2022, 22(5): 1530-1545.
- [42] WU WX, LU HP, SASTRI A, YEH YC, GONG GC, CHOU WC, HSIEH CH. Contrasting the relative importance of species sorting and dispersal limitation in shaping marine bacterial versus protist communities[J]. The ISME Journal, 2018, 12(2): 485-494.
- [43] CAO JX, PAN H, CHEN Z, SHANG H. Bacterial, fungal, and archaeal community assembly patterns and their determining factors across three subalpine stands at different stages of natural restoration after clear-cutting[J]. Journal of Soils and Sediments, 2020, 20(7): 2794-2803.
- [44] CHEMIDLIN PRÉVOST-BOURÉ N, DEQUIEDT S, THIOULOUSE J, LELIÈVRE M, SABY NPA, JOLIVET C, ARROUAYS D, PLASSART P, LEMANCEAU P, RANJARD L. Similar processes but different environmental filters for soil bacterial and fungal community composition turnover on a broad spatial scale[J]. PLoS One, 2014, 9(11): e111667.
- [45] SCHMIDT SK, NEMERGUT DR, DARCY JL, LYNCH R. Do bacterial and fungal communities assemble differently during primary succession?[J]. Molecular Ecology, 2014, 23(2): 254-258.
- [46] WANG PD, LI SP, YANG X, ZHOU JZ, SHU WS, JIANG L. Mechanisms of soil bacterial and fungal community assembly differ among and within islands[J]. Environmental Microbiology, 2020, 22(4): 1559-1571.
- [47] HUANG LB, BAI JH, WANG JJ, ZHANG GL, WANG W, WANG X, ZHANG L, WANG YQ, LIU XH, CUI BS. Different stochastic processes regulate bacterial and fungal community assembly in estuarine wetland soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2022, 167: 108586.