

辣椒不同生态位内生微生物群落差异及关联

姚苏航^{1,2,3}, 周诗晶^{1,2}, 周池^{1,2}, 张竹青^{1,2}, 陈文超^{1,2}, 董志雪^{1,2}, 李雪峰^{1,2}, 陶禹^{1,2}, 邹学校³, 李鑫^{1,2*}

1 湖南省蔬菜研究所, 湖南 长沙 410125

2 植物内生微生物资源挖掘与利用湖南省工程研究中心, 湖南 长沙 410125

3 湖南农业大学 园艺学院, 湖南 长沙 410125

姚苏航, 周诗晶, 周池, 张竹青, 陈文超, 董志雪, 李雪峰, 陶禹, 邹学校, 李鑫. 辣椒不同生态位内生微生物群落差异及关联[J]. 微生物学报, 2025, 65(1): 169-181.

YAO Suhang, ZHOU Shijing, ZHOU Chi, ZHANG Zhuqing, CHEN Wenchao, DONG Zhixue, LI Xuefeng, TAO Yu, ZOU Xuexiao, LI Xin. Differences and associations of endophytic microbial communities in different ecological niches of chili pepper[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(1): 169-181.

摘要: 【目的】探究辣椒不同生态位间内生微生物群落的差异及其潜在关联, 以期为辣椒内生微生物资源的挖掘和应用提供理论依据。【方法】采用 16S rRNA 基因和内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)基因测序技术, 比较分析 91 份辣椒材料不同生态位(根、茎、叶和果)内生细菌和真菌的群落结构特征, 并进行功能注释; 此外, 针对内生细菌群落进行共现网络分析和溯源分析。【结果】四个生态位点内生微生物群落的操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)高度共享, 其中, 细菌的共享 OTUs 占比 46.36%, 真菌的共享 OTUs 占比 29.66%。不同生态位间, 辣椒内生细菌和真菌群落的多样性差异显著, 根部的内生细菌和真菌群落与其他 3 个生态位显著分离($P < 0.05$); 内生细菌群落的 Shannon 指数在不同生态位间差异显著, 而内生真菌则相对稳定。辣椒中的优势内生细菌为变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*), 其中, 变形菌门在根部富集, 而厚壁菌门和拟杆菌门则在果中占据优势。子囊菌门(*Ascomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*)作为主要的内生真菌优势菌群, 在 4 个生态位中的相对丰度差异较小。功能注释结果显示, 辣椒含有多种具有次生代谢物生物合成和抗生素生物合成功能的内生细菌; 而在真菌群落中, 病原真菌的相对丰度最高。此外, 辣椒中超过 80%的内生细菌来源于与其直接相连的形态学下方生态位, 具有复杂的相互作用网络、较强的群落稳定性和模块结构。【结论】相较于内生真菌, 辣椒内生细菌的群落组成对生态位的变化更为敏感, 而真菌的

资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-23-G-29); 邹学校院士创新工作站平台建设支撑项目(TL2023YF007)
This work was supported by the National Modern Agricultural Industrial Technology System (CARS-23-G-29) and the Innovation Workstation Platform Construction Support Project of ZOU Xuexiao Academician (TL2023YF007).

*Corresponding author. E-mail: s2007203272@yeah.net

Received: 2024-08-21; Accepted: 2024-11-01; Published online: 2024-11-22

生态位特异性较弱。辣椒各生态位的内生细菌主要源自其形态学下方生态位，表现出显著的生态位富集作用，且根部在内生细菌群落塑造中起着至关重要的作用。

关键词：辣椒；内生微生物；群落结构；生态位；溯源分析

Differences and associations of endophytic microbial communities in different ecological niches of chili pepper

YAO Suhang^{1,2,3}, ZHOU Shijing^{1,2}, ZHOU Chi^{1,2}, ZHANG Zhuqing^{1,2}, CHEN Wenchao^{1,2}, DONG Zhixue^{1,2}, LI Xuefeng^{1,2}, TAO Yu^{1,2}, ZOU Xuexiao³, LI Xin^{1,2*}

1 Hunan Vegetable Research Institute, Changsha 410125, Hunan, China

2 Hunan Engineering Research Center on Excavation and Utilization of the Endophytic Microbial Resources of Plants, Changsha 410125, Hunan, China

3 College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha 410125, Hunan, China

Abstract: [Objective] To explore the differences and potential associations of endophytic microbial communities in different niches of chili pepper and provide a theoretical basis for the exploration and application of endophytic microbial resources in chili pepper. **[Methods]** The 16S rRNA and internal transcribed spacer (ITS) genes sequencing were employed to study the community structure characteristics of endophytic bacteria and fungi in different ecological niches (roots, stems, leaves, and fruits) of 91 pepper germplasm accessions, along with functional annotations. Additionally, co-occurrence network analysis and traceability analysis were performed on the endophytic bacterial communities. **[Results]** The operational taxonomic unit (OTU) of endophytic microbial communities were highly common among the four ecological niches, including 46.36% common bacterial OTUs and 29.66% common fungal OTUs. The diversity of endophytic bacterial and fungal communities in chili pepper exhibited variations across different ecological niches, with the endophytic communities in roots being distinctly separated from those in the other three niches ($P < 0.05$). The Shannon index of endophytic bacteria varied significantly among niches, whereas that of endophytic fungi remained relatively stable. The dominant endophytic bacteria in chili pepper were *Proteobacteria*, *Firmicutes*, and *Bacteroidota*, with *Proteobacteria* being enriched in the roots and *Firmicutes* and *Bacteroidetes* being predominant in the fruits. *Ascomycota* and *Basidiomycota*, the dominant endophytic fungal phyla, exhibited minimal differences in relative abundance across the four ecological niches. Functional annotation results indicated that chili pepper harbored various endophytic bacteria capable of synthesizing secondary metabolites and antibiotics. Within the fungal community, pathogenic fungi were found to have the highest relative abundance. Additionally, more than 80.0% of the endophytic bacteria in chili pepper originated from their directly associated morphologically lower niches, exhibiting

complex interaction networks, strong community stability, and a modular structure. **[Conclusion]** Compared with the endophytic fungal community, the endophytic bacterial community in chili pepper is sensitive to changes in ecological niches, while the niche specificity of the fungi is comparatively weak. The endophytic bacteria associated with each niche of chili pepper primarily originate from the niche located beneath, exhibiting significant niche enrichment, where the roots serving as a crucial source in shaping the endophytic bacterial community.

Keywords: chili pepper; endophytic microbe; community structure; ecological niche; source tracing analysis

辣椒(*Capsicum annuum* L.)作为我国饮食文化中不可或缺的蔬菜和调味品, 其种植面积约占我国蔬菜总种植面积的 10%, 居于各类蔬菜之首^[1]。近年来, 随着辣椒育种、栽培、病虫害防治等技术的集成创新, 辣椒的产量和品质得到显著提升^[2]。植物的农艺性状不仅受自身基因和栽培措施等的影响, 还与植物微生物组(内生微生物、叶际微生物和根际微生物等)的调控密切相关^[3-5]。这些微生物被称为植物的第二基因组, 在生态系统中扮演着重要的角色^[6]。通过与宿主植物形成共生关系^[7], 促进植物的生长、增强植物抗逆性、提高对病原菌的抵抗力及提升植物对营养元素的摄取能力^[8-9]。

不同植物具有不同的内生微生物菌群, 同一植物的不同组织部位(如根、茎、叶、花和果实), 其优势菌群也存在差异^[9-11], 宿主植物的生境等也会影响其群落结构和多样性^[12]。这些微生物在植物体内占据着不同的生态位并相互作用, 共同维持着生态平衡^[13]。目前, 辣椒内生微生物的研究主要聚焦于具有特殊生理作用菌株的分离和筛选, 以及土壤、根际和叶际微生物群落的研究^[14-16]。此外, 针对植物某一组织单一生态位内生微生物群落的研究也取得了显著进展^[17-18], 而对于不同生态位内生微生物群落差异的研究较少, 特别是跨生态位的关联

研究略显匮乏。深入研究多组织生态位的内生微生物群落组成及其跨生态位相互作用, 有助于发现植物特异性的“核心微生物”^[19], 对于揭示、挖掘并利用辣椒内生微生物的复杂性和功能性至关重要。

本研究采用 16S rRNA 基因和内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)基因测序技术, 深入分析不同生态位下辣椒内生微生物群落的结构和功能, 探究植物不同生态位间微生物群落的相互作用和潜在关联, 以期为辣椒内生微生物资源的挖掘和应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

本研究试验地点位于海南省三亚市崖州区南繁基地(18.30°N, 109.41°E), 地势平坦, 土壤类型为砖红壤, 属热带海洋季风气候, 年均气温 25.4 °C, 年均日照 2 572.8 h, 年均降水量 1 200 mm, 7-10 月为雨季, 11 月至次年 4 月为旱季。

1.2 样品采集及处理

2021 年 9 月 25 日, 采用苗床撒播或孔穴盘进行辣椒育苗, 待幼苗达到 5-6 叶 1 心阶段后进行移栽定植(10 月 25 日左右); 在第一批红果采收期进行取样, 线椒、牛角椒、螺丝椒第

一批红果采收期约为 12 月中旬,朝天椒为次年 1 月 20 日。选取无明显病害、生长情况良好的辣椒植株,用 75%乙醇灭菌处理过的铁锹挖掘吸收根(深度 15–30 cm),同时,用 75%乙醇灭菌处理过的剪刀采集茎(10 cm 长主干)、叶(第 3–4 节间新叶)和果实(随机剪取成熟果实)样本^[20]。采集后的植物样品装入自封袋,立即用保温箱保存,随后尽快带回实验室 4 °C 冰箱储存,一周内完成表面消毒和序列提取处理。

将无损伤的根、茎、叶和果实分别切成约 2 cm 长的小段,随后进行表面消毒。消毒步骤如下:首先用 75%乙醇冲洗 2 次,每次 2 min;而后用 5%次氯酸钠溶液处理 4 min,最后迅速用无菌水冲洗干净。同时,将消毒过程中最后一次漂洗的无菌水涂布于 PDA^[21]培养基,28 °C 培养 7 d,若无菌落生长则证明本次表面消毒彻底,表面消毒后的样品用于后续高通量测序。本研究共采集 91 份辣椒种质材料,每份材料分为根、茎、叶和果 4 个生态位,3 次重复,共 1 092 份样品(附表 1,数据已提交国家微生物科学数据中心,编号:NMDCX0001724)。

1.3 高通量测序

本研究委托百迈客生物云科技(武汉)有限公司对辣椒内生细菌和内生真菌进行测序。将表面消毒后的植物样品迅速在液氮中无菌研磨,使用 TGuide S96 磁性 DNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]提取样品 DNA。辣椒内生细菌 16S rRNA 基因高变区域 V3–V4 扩增所用引物为 341F (5'-ACTCCTACGGGAGGC AGCAG-3')和 806R (5'-GGACTACHVGGGTW TCTAAT-3');内生真菌 ITS 区扩增所用引物为 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS2R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')。PCR 产物经过琼脂糖凝胶检测后,采用 Omega DNA 纯化试剂盒(Omega Bio-Tek 公司)纯化,

收集纯化后的 PCR 产物在 Illumina NovaSeq 6000 平台上进行双端测序(2×250 bp)。

1.4 生物信息学分析

采用 Trimmomatic v0.33 对 Raw reads 进行过滤,随后使用 Cutadapt v1.9.1 去除引物序列,使用 Usearch v10 对得到的 Clean reads 进行拼接并过滤。采用 UCHIME v4.2 去除嵌合体序列,使用 USEARCH v10.0 以 97%相似性阈值将合格序列分配至操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)。通过 SILVA 数据库(v138.1)和朴素贝叶斯分类器,以 70%置信阈值对 OTU 进行分类注释。原始数据已上传至 NCBI,登录号:PRJNA1149504。

1.5 数据分析及可视化

采用 R v4.3.2 和百迈客云平台(北京百迈客云科技有限公司)^[21]进行细菌真菌群落组成、功能注释及溯源分析,使用 Excel 2019 进行试验数据的统计整理。采用 R 软件包 Venn diagram 绘制 OTU 分布韦恩图;使用 R 软件包 vegan,基于属水平计算并评估样本内的生物多样性,微生物 α 多样性以香农指数(Shannon)表示, β 多样性基于样本间的 Bray-Curtis 距离矩阵,采用非度量多维尺度法(non-metric multidimensional scaling, NMDS)进行降维分析和可视化;使用 R 软件包进行线性判别分析(linear discriminant analysis effect size, LEfSe),当 LDA score 大于 4 且 P 值小于 0.05 时,相应的分类单元被视为具有显著差异的标记生物(biomarkers);采用 igraph 软件包进行属间共现网络分析,筛选 Pearson 相关系数绝对值大于 0.7 且 P 值小于 0.05 的节点和边,并使用 Gephi v0.10.1 绘制网络图;通过 sourcetracker 软件包进行微生物群落的溯源分析;在百迈客云平台的 Circos v0.66-7 软件环境中绘制物种丰度圈图;使用 BugBase 和 FUNGuild 数据库,对细菌和真菌类群进行功能注释。

2 结果与分析

2.1 辣椒不同生态位内生微生物测序结果及多样性分析

内生细菌群落测序共获得 87 324 207 对 reads, 经质控、拼接后共产生 84 557 928 条 clean reads, 每样品至少产生 41 001 条 clean reads, 平均产生 77 434 条 clean reads。内生真菌群落共获得 90 318 996 对 reads, 经质控、拼接后共产生 70 188 300 条 clean reads, 每样品至少产生 2 121 条 clean reads, 平均产生 64 275 条 clean reads。在 97% 的序列相似度水平上, 辣椒内生细菌高通量测序结果可聚类为 70 867 个 OTUs; 真菌共获得 41 966 个 OTUs。

韦恩图显示, 辣椒内生细菌群落的大部分 OTUs 由 4 个生态位共享, 为 32 852 个, 占总

OTUs 数目的 46.36%; 其中, 果实特有的 OTUs 数目最多, 为 3 673 个, 茎部特有的 OTUs 数目最少, 为 1 714 个(图 1A)。对真菌群落而言, 4 个生态位共有 OTUs 数目为 12 447 个, 占总 OTUs 数目的 29.66%, 以果中特有的 OTUs 最多, 为 4 028 个; 茎部特有的 OTUs 最少, 仅 2 383 个(图 1B)。相较于细菌, 辣椒内生真菌各生态位共有的 OTUs 数目较少, 而各生态位中特有的 OTUs 数目较多, 而真菌群落的分布较为随机、分散, 生态位对其影响较小。

对不同生态位的辣椒内生菌群落 OTU 进行多样性分析, 采用 Shannon 指数评估各生态位之间内生菌群落 α 多样性的差异, 基于 Bray-Curtis 距离的 NMDS 分析方法评估其 β 多样性。结果显示, 辣椒内生细菌群落的 Shannon 指数在各生态位间均差异显著(图 1C), 并表现

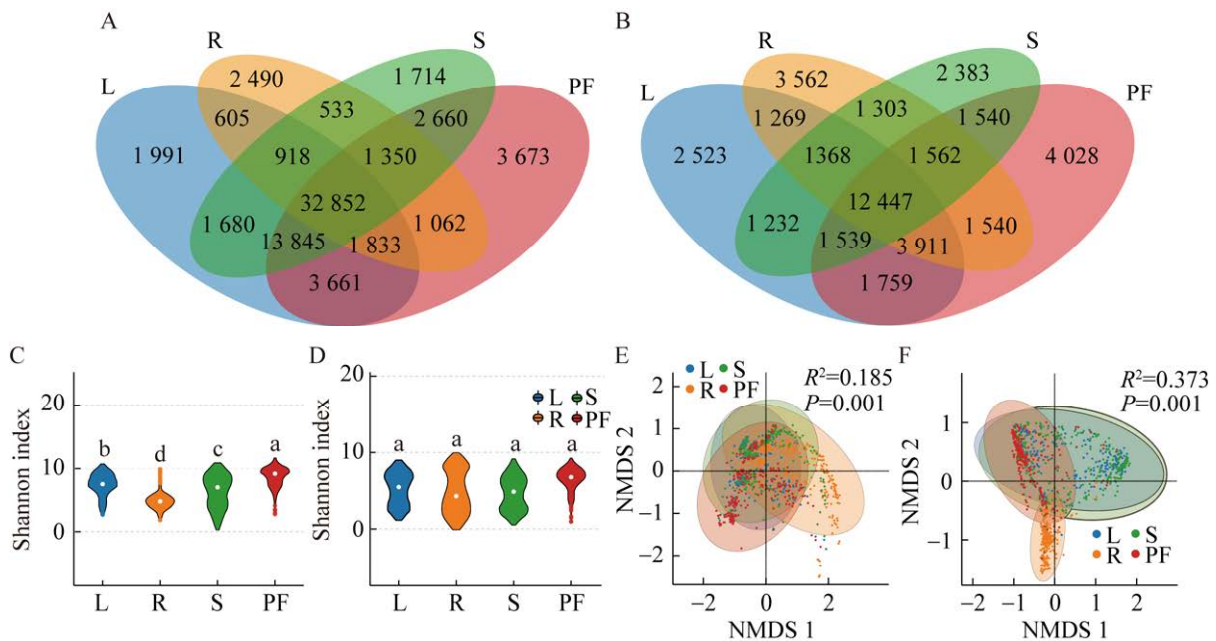


图 1 辣椒不同生态位内生细菌(A, C, E)和内生真菌(B, D, F)的 OTUs 分布和多样性分析

Figure 1 OTUs distribution and diversity analysis of endophytic bacteria (A, C, E) and endophytic fungi (B, D, F) in different niches of chili pepper. A: Distribution of bacterial OTUs; B: Distribution of fungal OTUs; C: Shannon index of bacteria; D: Shannon index of fungi; E: NMDS analysis of bacteria; F: NMDS analysis of fungi. L: Leaves; R: Roots; S: Stems; PF: Pepper fruits. The Shannon diversity index employs LSD testing to detect significance.

为果>叶>茎>根；对真菌群落而言，其 Shannon 指数的变化趋势与细菌相似，但各生态位间的差异并不显著(图 1D)。辣椒不同生态位点间的 β 多样性分析结果显示，茎、叶和果实部分的内生细菌和真菌群落不能彼此分开，而根部的内生细菌群落在 NMDS 1 轴上与其他 3 个生态位显著分离($R^2=0.185$, $P<0.05$) (图 1E)，真菌群落在 NMDS 2 轴上与其他 3 个生态位之间均显著分离($R^2=0.373$, $P<0.05$) (图 1F)。相比于茎、叶和果实，辣椒根部内生微生物群落组成更加独特。

2.2 辣椒不同生态位内生微生物群落特征

由图 2A 可知，辣椒内生细菌群落中，变形菌门(*Proteobacteria*)的占比最高，在根、茎、叶、果中的相对丰度分别为 80.8%、59.7%、48.0%、39.9%；其次是厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)，厚壁菌门在根、茎、叶、果中的相对丰度分别为 5.1%、20.8%、25.6%、33.2%，拟杆菌门在根、茎、叶、果中的相对丰度分别为 11.1%、9.2%、11.3%、12.9%。其中，变形菌门主要在根部富集，而厚壁菌门和拟杆菌门则主要分布在果实部分，表明随着生态位向形态学上方变化，辣椒内变形菌门的相对丰度迅速下降，而厚壁菌门的相对丰度迅速上升。对于辣椒内生真菌群落而言，其相对丰度最高的门为子囊菌门(*Ascomycota*)、担子菌门(*Basidiomycota*)和 unclassified-fungi (图 2B)。子囊菌门在根、茎、叶、果中的相对丰度分别为 80.0%、87.7%、84.3%、69.4%；担子菌门在根、茎、叶、果中的相对丰度分别为 10.3%、5.1%、5.8%、9.1%。相较于细菌，辣椒内生真菌门水平的相对丰度在不同生态位间的差异较小，未表现出明显的变化趋势。

基于 LEfSe 分析(LDA score>4)，在属水平

识别不同生态位微生物类群发现，辣椒内生细菌中有 23 个细菌属存在显著差异(图 3A)；其中，辣椒根部的标记生物数量最多，共 14 个属，包括新鞘氨醇菌属(*Novosphingobium*)、不黏柄菌属(*Asticcacaulis*)、鞘氨醇盒菌属(*Sphingopyxis*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、柄杆菌属(*Caulobacter*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、马赛菌属(*Massilia*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、unclassified_*Comamonadaceae*、短波单胞菌属(*Brevundimonas*)、异根瘤菌属(*Allorhizobium*)、土地杆菌属(*Pedobacter*)和食酸菌属(*Acidovorax*)。其次为果实，4 个细菌属分别为毛罗菌(*Lachnospiraceae_NK4A136_group*)、unclassified_*Lachnospiraceae*、无色杆菌(*Achromobacter*)和 unclassified_*Muribaculaceae*。茎部有 2 个细菌属存在显著差异，分别为泛菌(*Pantoea*)和假单胞菌(*Pseudomonas*)；叶部 3 个细菌属分别为甲基杆菌属(*Methylobacterium*)、unclassified_bacteria 和栖苏打菌属(*Nitrincola*)。其中，辣椒茎部假单胞菌属细菌的相对丰度达 24.7%，显著高于其他生态位；而根部的假单胞菌属细菌相对丰度在 4 个生态位中最低，仅 0.2%。假单胞菌作为 4 个生态位共有的核心微生物，倾向于自下而上地被招募并富集。

辣椒内生真菌的 LEfSe 分析结果如图 3B 所示，共有 9 个真菌属被鉴定为标记生物(LDA score>4)。其中，根部有 2 个真菌属，分别为镰刀真菌(*Fusarium*)和小不整球壳属(*Plectosphaerella*)；茎部和叶部均仅有 1 个真菌属，分别为枝孢菌属(*Cladosporium*)和交链孢霉属(*Alternaria*)；辣椒果中的内生真菌标记生物数目最多，5 个真菌属分别为 unclassified-fungi、unclassified-*Ascomycota*、曲霉属(*Aspergillus*)、毕赤酵母属(*Millerozyma*)和青霉属(*Apiotrichum*)。

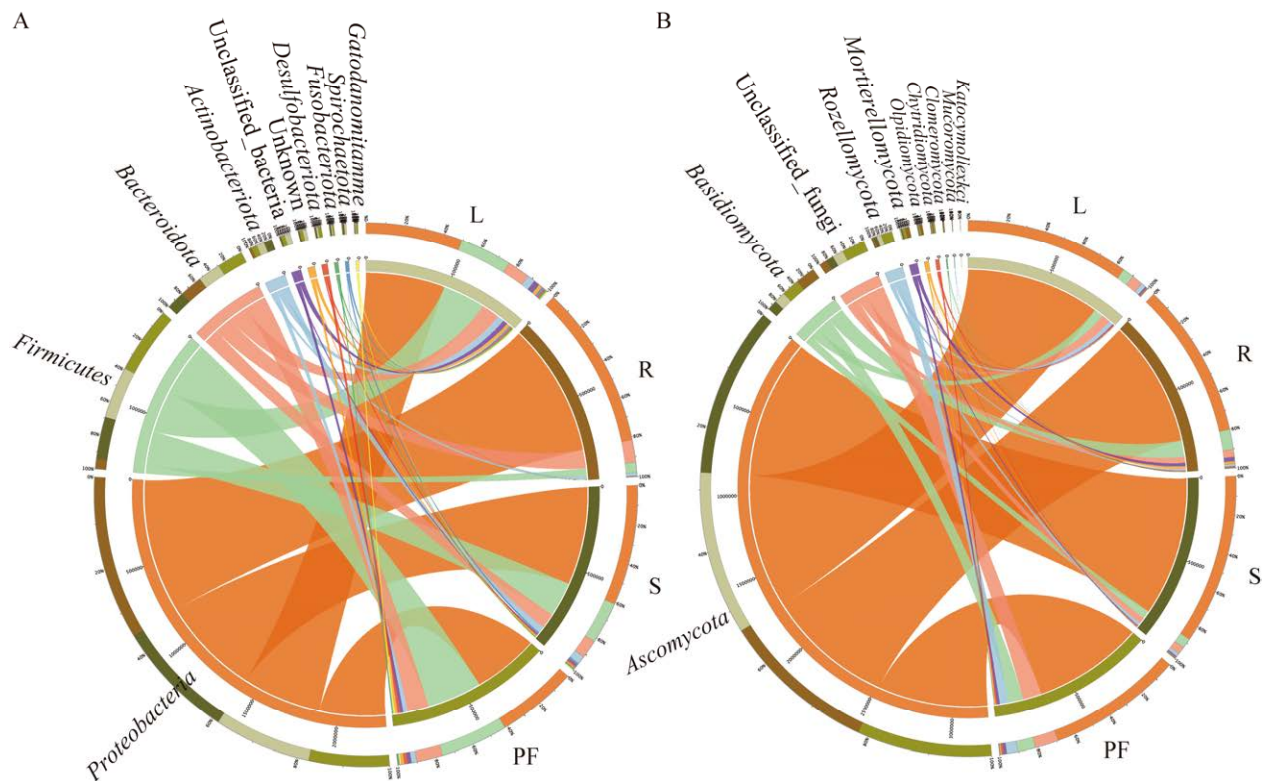


图 2 辣椒不同生态位内生细菌(A)和内生真菌(B)门水平物种丰度圈图

Figure 2 Circle diagram of species abundance at the phylum level for endophytic bacteria and endophytic fungi in different ecological niches of chili pepper. A: Bacteria; B: Fungi. L: Leaves; R: Roots; S: Stems; PF: Pepper fruits.

与细菌相似，真菌也表现出果实和根部标记生物的数量最多，茎、叶部较少的规律；但整体而言，内生真菌种的标记生物数量远少于内生细菌。

2.3 辣椒不同生态位内生微生物群落的功能注释

基于 BugBase 数据库对辣椒 4 个生态位中的内生细菌群落进行功能注释，结果显示，相较于其他生态位，辣椒内生细菌生物膜形成 (forms biofilms) 和需氧功能 (aerobic) 在根部显著富集，分别占比 23.4% 和 26.7%；革兰氏阴性菌在根部的占比较高，达 28.6%，而在茎、叶和果中分别仅占 18.0%、18.0% 和 17.4% (图 4A)。基于 FUNGuild 数据库对辣椒内生真菌群落功能进行注释，结果显示，辣椒内生真菌群

落在各生态位之间丰度变化最大的功能被注释为植物病原菌 (plant pathogen)，其在根中的占比最高，达到 37.0%，而在果中占比仅 18.2% (图 4B)。

2.4 辣椒不同生态位内生细菌共现网络分析

本研究先将辣椒根、茎、叶、果 4 个生态位按“形态学下方生态位-形态学上方生态位”的方法关联为“根-茎(R-S)”“茎-叶(S-L)”和“茎-果(S-F)”3 组，进行跨生态位关联研究，并针对辣椒内生细菌进行共现网络和溯源分析。

共现网络分析结果显示(图 5, 表 1)，不同生态位分组的内生细菌群落共现网络差异较大，其中茎-果分组的模块化程度最高，为 0.848，而根-茎分组的模块化程度仅 0.781。所

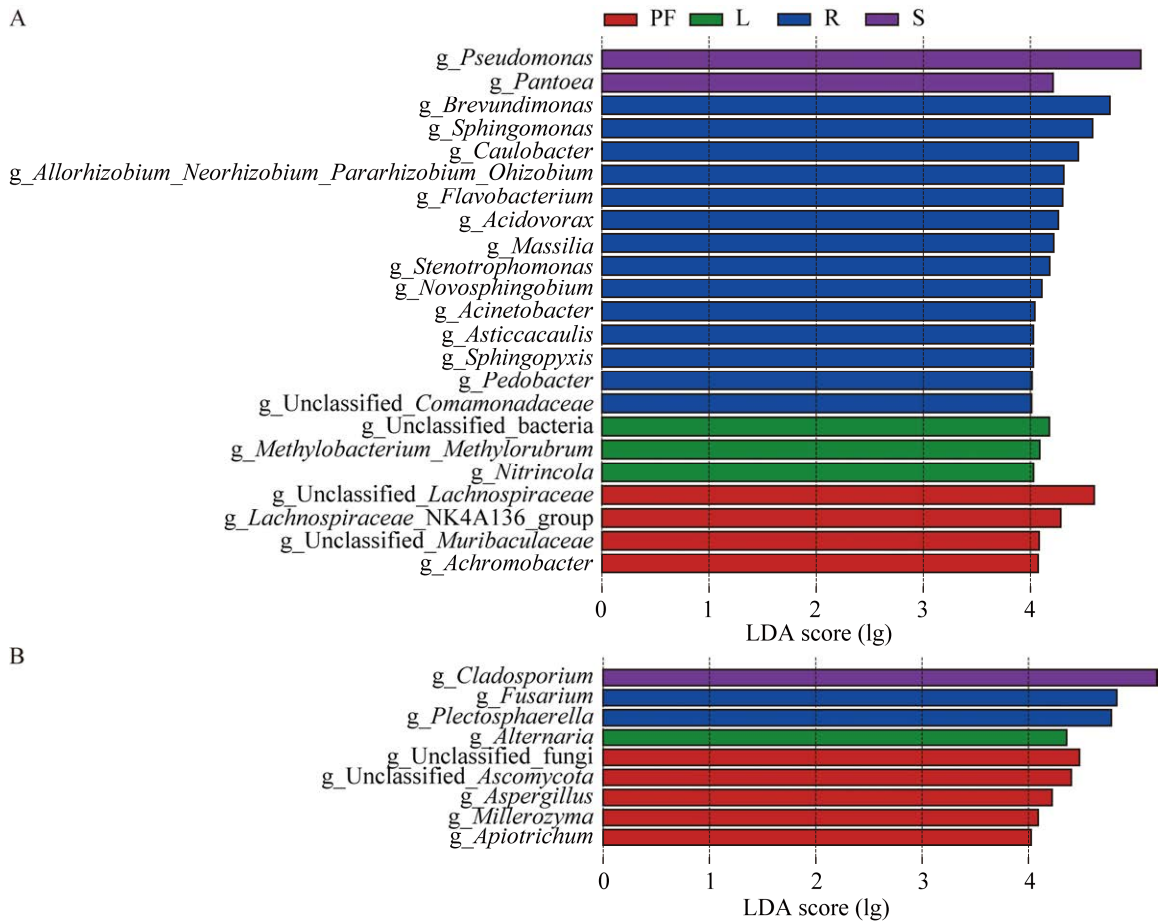


图 3 辣椒不同生态位内生细菌(A)和内生真菌(B)线性判别分析
 Figure 3 Linear discriminant analysis of endophytic bacteria and endophytic fungi in different ecological niches of chili pepper (LDA score>4). A: Bacteria; B: Fungi. L: Leaves; R: Roots; S: Stems; PF: Pepper fruits.

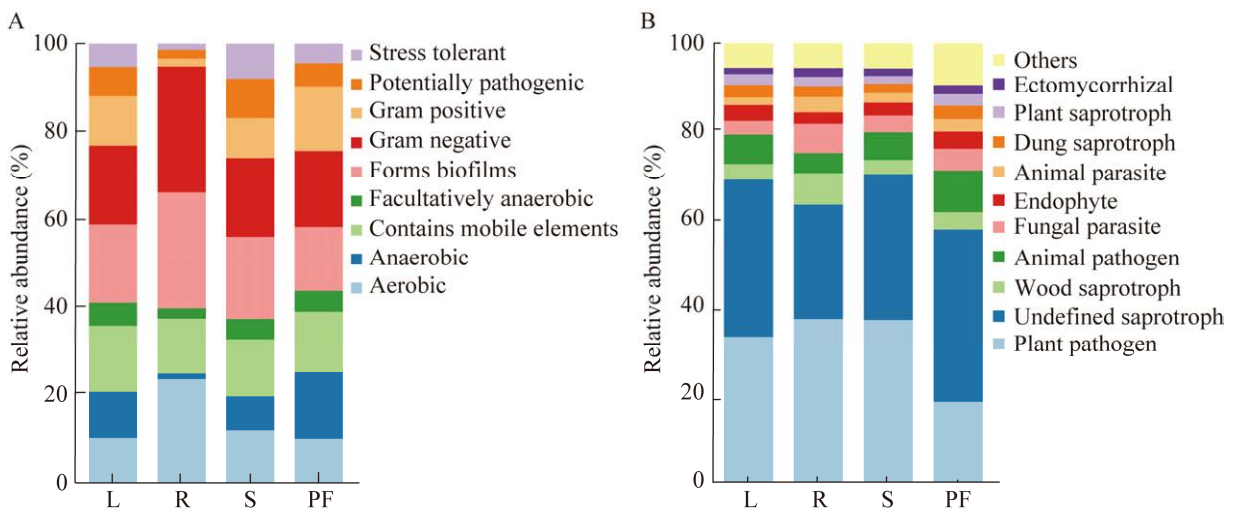


图 4 辣椒不同生态位内生细菌(A)和内生真菌(B)功能注释结果
 Figure 4 Functional annotation results of endophytic bacteria and endophytic fungi in different ecological niches of chili pepper. A: Bacteria; B: Fungi. L: Leaves; R: Roots; S: Stems; PF: Pepper fruits.

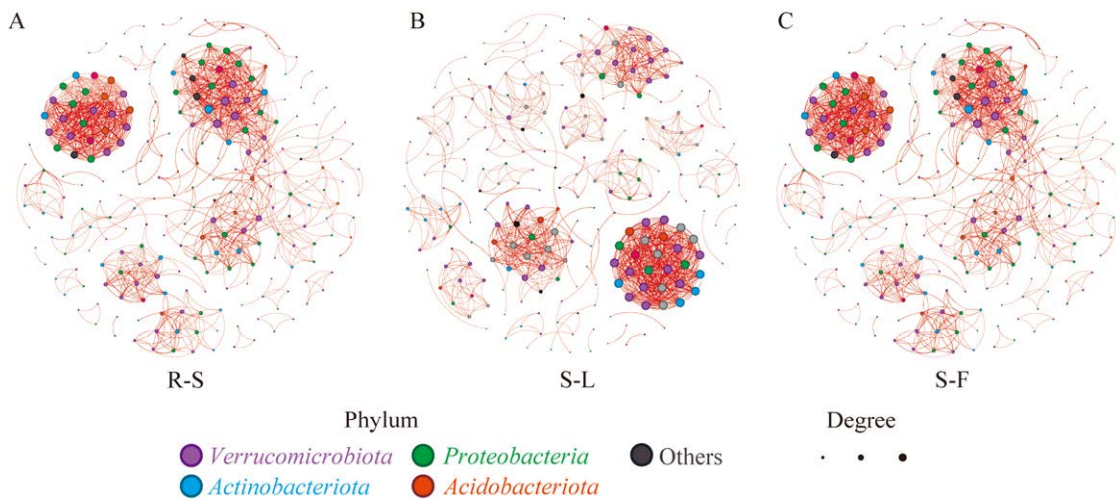


图 5 辣椒内生细菌群落共现网络分析

Figure 5 Co-occurrence network analysis of endophytic bacteria communities of chili pepper. A: Root and stem; B: Stem and leaf; C: Stem and fruit.

表 1 共现网络拓扑指数

Table 1 Topology index of co-occurrence network

分组	平均度	模块化	聚类系数	连通度	正相关边	负相关边
Groups	Average degree	Modularity	Clustering coefficient	Connectance	Positive edge	Negative edge
R-S	8.217	0.781	0.804	0.034	986	0
S-L	7.725	0.802	0.844	0.032	927	0
S-F	7.907	0.848	0.840	0.026	1 190	0

R-S: Root and stem; S-L: Stem and leaf; S-F: Stem and fruit.

有分组中，辣椒内生细菌间的相关性边均为正相关边，即总体上辣椒内生细菌互作网络表现出明显的共生关系。其中，茎-果的网络边数和模块化均最高，分别为 1 190 和 0.848，表明茎-果间的网络具有较高的复杂度和稳定性；自下而上的生态位分区的模块化程度增加，组成稳定性增加。根-茎共现网络的平均度和连通度分别达到 8.217 和 0.034，为 3 组分组中最高，相比其他两分组，根-茎间的网络连接更紧密，具有更强的微生物相互作用。三对生态位分组的网络聚类系数均大于 0.800，表明辣椒内生细菌倾向于与形态学上相连的群落形成紧密相连的群体。

2.5 细菌群落溯源分析

本研究基于形态学分布位置，对辣椒内生细菌群落进行了溯源分析。结果显示，辣椒内生细菌群落的来源与其形态学下方生态位群落存在一定的相关性，无论是茎、叶还是果实，超过 80.0%的内生细菌群落来源为其形态学下方生态位的细菌群落，仅不足 20.0%来自其他未知来源。其中，茎中有 83.2%的细菌来源于根，叶、果中分别又有 82.6%和 89.9%的细菌来源于茎(图 6)。即辣椒根部内生细菌群落为“源”，随着形态学向上的方向移动，进入茎、叶或果实等“库”中，形态学下方的生态位中的细菌群落是形态学上方生态位细菌群落最主要的来源。

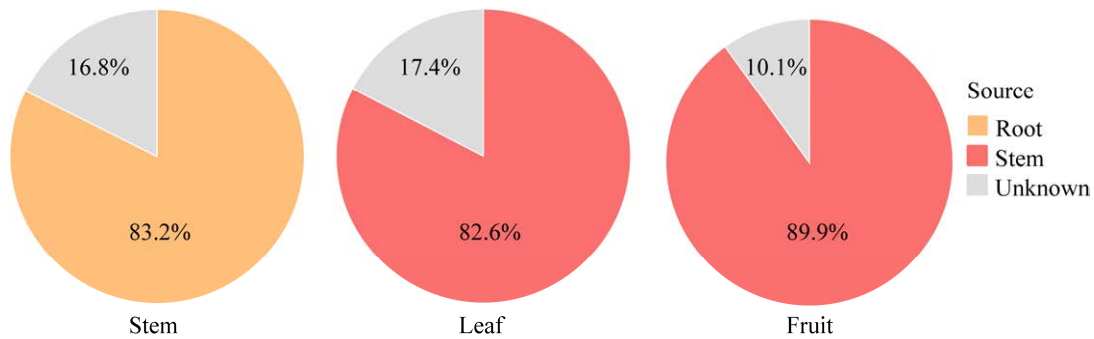


图 6 辣椒内生细菌群落溯源分析

Figure 6 Source tracking analysis of endophytic bacterial communities of chili pepper.

3 讨论

植物相关微生物的群落组装过程是由生态位理论(如植物遗传因素和组织水平选择)和中性过程理论所驱动的^[22-23]。内生微生物在植物不同组织器官中的定殖,既有共同性也存在特异性,其中,特异性存在的内生菌能针对性地参与植物生长代谢过程^[24]。本研究通过对辣椒根、茎、叶和果实中的内生菌进行高通量测序发现,在门水平上,辣椒的优势内生细菌为变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门,其中变形菌门在根部更为富集,而厚壁菌门和拟杆菌门则主要富集在果。变形菌门作为土壤中丰度最高的细菌门之一^[25-26],其在辣椒根内高丰度富集表明,辣椒根部内生细菌与土壤细菌之间高度关联。随着生态位从根部向形态学上方(茎、叶和果)上升,变形菌门的丰度逐渐下降而厚壁菌门和拟杆菌门的丰度逐渐上升,这可能是由内生菌在适应植物不同生理条件的过程中产生的差异所导致的^[27]。对真菌而言,其优势菌群子囊菌门和担子菌门在不同生态位中相对丰度变化较小,这可能是由于其大量存在于自然界中,具有更多的随机定殖机会^[26]。

NMDS 分析结果显示,本研究中辣椒茎、叶和果实的内生细菌和真菌群落无法彼此分开,而根部的内生细菌和真菌群落则与其他 3 个

生态位显著分离,地下部和地上部之间表现出显著差异。这与孔德婷等^[3]研究结果一致,多年生水稻地下部和地上部形成了不同的内生细菌群,相较于地上部,多年生稻地下部特异内生细菌扩增子序列变体(amplicon sequence variants, ASVs)数量和显著差异代谢功能较多。这主要是因为植物根部内生细菌能够频繁地与根际微生物和土壤微生物进行交流和互动,导致根部内生细菌群落和功能更加复杂^[17]。土壤作为一个庞大的微生物资源库^[28],是植物内生微生物的主要来源^[29-31]。土壤中的微生物首先被植物根系招募,随后通过微生物之间的相互作用定殖于植物内部各生态位,从而塑造植物内生微生物群落^[32],这在一定程度上解释了本研究中辣椒根部具有更加独特的内生菌群落的现象。

本研究发现,辣椒内生细菌和真菌群落 4 个生态位共有的 OTUs 数目远多于各生态位特有的 OTUs 数目,这些 OTUs 的种类和数量可能与其所在环境的条件和所处生态位有关。内生真菌群落 4 个生态位共享的 OTUs 数目远少于细菌,这可能是由于真菌具有随机传播的定殖方式,也在一定程度上解释了其跨生态位的关联少于内生细菌。LEfSe 分析结果显示,本研究在内生真菌中仅鉴定到 9 个标记生物,而在

内生细菌中鉴定到 23 个, 同样证明了辣椒内生真菌的生态位特异性远弱于内生细菌。本研究对辣椒内生细菌和真菌群落进行了功能注释, 结果显示, 代谢通路、次生代谢物生物合成和抗生素生物合成 3 种功能均在 4 个生态位高度富集, 表明除摄取宿主代谢物和参与宿主的生物合成过程等功能外^[33], 辣椒富集的内生细菌还具有分泌大量抗生素的能力。这种功能除了帮助宿主抗病以外, 也参与内生细菌群落结构的调控过程^[34], 包括生态位内和跨生态位的群落结构调控。此外, 辣椒根部内生细菌中还富集到了大量需氧功能和生物膜构建功能, 这可能是由于环境微生物需要适应土壤中的富氧环境, 并在根系形成生物膜才能进入辣椒内生环境^[35]。在真菌群落功能注释中, 病原真菌是变化最大的功能, 这是因为植物不同生态位的特性各不相同, 被侵染的可能性也因此发生变化, 如果实表皮上有较为厚实的蜡质层, 这可以削弱病原菌的入侵。相较于内生真菌, 辣椒内生细菌的群落组成对生态位的变化更为敏感, 真菌的生态位特异性较弱。这一现象的背后机制可能有 2 方面原因: (1) 真菌由于其较大的分子量, 在内生微环境中移动受限; (2) 真菌作为真核生物, 其分子机制错综复杂, 使得其生长发育过程相较于细菌而言, 更能抵御或独立于外界环境的干扰, 从而表现出对内生环境调节机制的不同响应。

基于以上结果, 本研究针对辣椒内生细菌进行了跨生态位关联研究。溯源分析结果显示, 辣椒各生态位的内生细菌 80.0% 以上来源于与其直接相接的形态学下方生态位, 表明辣椒各生态位点之间的联系十分紧密。这一发现与党柯柯等^[36]提出的观点一致, 即作物微生物组主要来自土壤环境, 并逐步被宿主植物富集和过滤。此外, 对其共现网络进行更深入的分析发

现, 根-茎、茎-叶和茎-果这 3 组的网络模块性均大于 0.400, 表明辣椒内生细菌跨生态位存在典型的模块结构和较强的环境适应能力^[37]。同时, 所有分组网络中的相关性均呈现正相关, 表明辣椒在不同生态位中的内生细菌之间存在着明显的共生关系, 参与植株代谢过程^[38], 具有较强的群落稳定性。根-茎共现网络的平均度和连通度最高, 说明相较于茎-叶和茎-果, 辣椒内生细菌在根-茎间的网络连接最为紧密, 具有更好的整体连通性^[39]。

4 结论

本研究通过高通量测序和生态位分析, 揭示了辣椒内生微生物群落的组装过程、生态位差异与关联及其功能特性。研究结果显示, 辣椒各生态位内生细菌大部分来源于其形态学下方的生态位, 根系是塑造辣椒内生微生物群落的关键“源”, 其核心内生微生物假单胞菌倾向于自下而上地被招募并富集。

本研究明确了辣椒不同生态位内生微生物群落的共性与差异, 为辣椒内生微生物群落构建的选择作用、潜在来源及富集过程提供了理论指导, 有助于深入了解辣椒-内生微生物的互作机制。

致谢

感谢三亚南繁基地对野外采样的支持。

作者贡献声明

姚苏航: 数据分析和论文起草; 周诗晶: 论文起草和修改; 周池: 论文框架设计; 张竹青: 提供技术支持; 陈文超: 提供技术支持; 董志雪: 提供技术支持; 李雪峰: 提供技术支持; 陶禹: 提供技术支持; 邹学校: 提供技术支持; 李鑫: 研究构思和设计。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] 王立浩, 张宝玺, 张正海, 曹亚从, 于海龙, 冯锡刚. “十三五”我国辣椒育种研究进展、产业现状及展望[J]. 中国蔬菜, 2021(2): 21-29.
WANG LH, ZHANG BX, ZHANG ZH, CAO YC, YU HL, FENG XG. Status in breeding and production of *Capsicum* spp. in China during ‘the thirteenth five-year plan’ period and future prospect[J]. *China Vegetables*, 2021(2): 21-29 (in Chinese).
- [2] 乔立娟, 赵帮宏, 宗义湘, 寇春雨, 董雨涵. 我国辣椒产业发展现状、趋势及对策[J]. 中国蔬菜, 2023(11): 9-15.
QIAO LJ, ZHAO BH, ZONG YX, KOU CY, DONG YH. Development current situation, tendency, and countermeasure for China’s pepper industry[J]. *China Vegetables*, 2023(11): 9-15 (in Chinese).
- [3] 孔德婷, 齐笑含, 刘兴蕾, 李丽萍, 胡凤益, 黄立钰, 秦世雯. 不同多年生稻品种内生细菌群落多样性比较分析[J]. 生物技术通报, 2024, 40(5): 225-236.
KONG DT, QI XH, LIU XL, LI LP, HU FY, HUANG LY, QIN SW. Comparison and analysis of endophytic bacteria communities in different perennial rice varieties[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2024, 40(5): 225-236 (in Chinese).
- [4] CORDOVEZ V, DINI-ANDREOTE F, CARRIÓN VJ, RAAIJMAKERS JM. Ecology and evolution of plant microbiomes[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2019, 73: 69-88.
- [5] WHITE JF, KINGSLEY KL, ZHANG QW, VERMA R, OBI N, DVINSKIKH S, ELMORE MT, VERMA SK, GOND SK, KOWALSKI KP. Review: endophytic microbes and their potential applications in crop management[J]. *Pest Management Science*, 2019, 75(10): 2558-2565.
- [6] WANG HT, ZHANG FJ, ZHANG YL, WANG MN, ZHANG YQ, ZHANG J. Enrichment of novel entomopathogenic *Pseudomonas* species enhances willow resistance to leaf beetles[J]. *Microbiome*, 2024, 12(1): 169.
- [7] CHE JL, WU YQ, YANG H, WU WL, LYU LF, WANG XM, LI WL. Beneficial ecological networks dominate the dynamic root endosphere microbiome during long-term symbiosis with host plants[J]. *Plant and Soil*, 2024, 501(1): 289-305.
- [8] ZHOU JY, STRINGLIS IA, WEN J, LIU YF, XU S, WANG R. Interplay between *Amaryllidaceae* alkaloids, the bacteriome and phytopathogens in *Lycoris radiata*[J]. *New Phytologist*, 2024, 241(5): 2258-2274.
- [9] FRACCHIA F, GUINET F, ENGLE NL, TSCHAPLINSKI TJ, VENEVAULT-FOURREY C, DEVEAU A. Microbial colonisation rewires the composition and content of poplar root exudates, root and shoot metabolomes[J]. *Microbiome*, 2024, 12(1): 173.
- [10] DUBEY A, MALLA MA, KUMAR A, DAYANANDAN S, KHAN ML. Plants endophytes: unveiling hidden agenda for bioprospecting toward sustainable agriculture[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2020, 40(8): 1210-1231.
- [11] 王颜波, 张伟溪, 丁昌俊, 苏晓华. 不同生态环境下银中杨内生菌群落结构及生态位变异[J]. 林业科学, 2020, 56(2): 48-60.
WANG YB, ZHANG WX, DING CJ, SU XH. Community structure and niche differentiation of endophytic microbiome in *Populus alba*×*P. berolinensis* under different ecological environment[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2020, 56(2): 48-60 (in Chinese).
- [12] XIONG C, SINGH BK, ZHU YG, HU HW, LI PP, HAN YL, HAN LL, ZHANG QB, WANG JT, LIU SY, WU CF, GE AH, ZHANG LM, HE JZ. Microbial species pool-mediated diazotrophic community assembly in crop microbiomes during plant development[J]. *mSystems*, 2024, 9(4): e0105523.
- [13] ZHANG Y, DING CT, JIANG TY, LIU YH, WU Y, ZHOU HW, ZHANG LS, CHEN Y. Community structure and niche differentiation of endosphere bacterial microbiome in *Camellia oleifera*[J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(6): e0133523.
- [14] 李莹, 刘兰英, 姜宇杰, 何肖云, 邱胤辉, 任丽花, 傅建炜. 辣椒连作对土壤细菌群落的影响[J]. 微生物学报, 2023, 63(1): 297-318.
LI Y, LIU LY, JIANG YJ, HE XY, QIU YH, REN LH, FU JW. Effect of continuous cropping of hot pepper on soil bacterial community[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(1): 297-318.
- [15] 李莹, 刘兰英, 何肖云, 邱胤辉, 任丽花, 黄锐敏, 傅建炜. 连作年限对辣椒根际土壤真菌群落结构的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2023, 52(3): 400-407.
LI Y, LIU LY, HE XY, QIU YH, REN LH, HUANG RM, FU JW. Effect of continuous cropping on fungal community structure in rhizosphere soil of pepper[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2023, 52(3): 400-407 (in Chinese).
- [16] 韩永琴, 陈新建, 罗路云, 金德才, 刘勇, 张卓, 张德咏. 生防菌剂多黏类芽胞杆菌对辣椒根际土壤细菌群落的影响[J]. 植物保护, 2020, 46(2): 135-142.
HAN YQ, CHEN XJ, LUO LY, JIN DC, LIU Y, ZHANG Z, ZHANG DY. Effects of the biocontrol agent *Bacillus polymyxa* on the bacterial community in the rhizosphere of pepper[J]. *Plant Protection*, 2020, 46(2): 135-142 (in Chinese).
- [17] BECKERS B, de BEECK MO, WEYENS N, BOERJAN W, VANGRONSVELD J. Structural variability and niche differentiation in the rhizosphere and endosphere bacterial microbiome of field-grown poplar trees[J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 25.
- [18] MATSUMOTO H, FAN XY, WANG Y, KUSSTATSCHER P, DUAN J, WU SL, CHEN SL, QIAO K, WANG YL, MA B, ZHU GN, HASHIDOKO Y, BERG G, CERNAVA T, WANG MC. Bacterial seed endophyte shapes disease resistance in rice[J]. *Nature Plants*, 2021, 7(1): 60-72.
- [19] FITZPATRICK CR, COPELAND J, WANG PW, GUTTMAN DS, KOTANEN PM, JOHNSON MTJ. Assembly and ecological function of the root

- microbiome across angiosperm plant species[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(6): 1157-1165.
- [20] 黄雅丹, 付灿, 李强. 喀斯特石漠化治理区钙果种植年限对根内细菌群落的影响[J]. 微生物学报, 2024, 64(6): 2057-2070.
HUANG YD, FU C, LI Q. Planting years affect endophytic bacterial community of *Cerasus humilis* (Bge.) Sok. from karst rocky desertification control areas[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(6): 2057-2070 (in Chinese).
- [21] 任明霞, 李静, 艾加敏, 柳晓东, 姜影影, 邓振山. 白刺花根瘤中分离细菌的物种多样性及其促生效应[J]. 微生物学报, 2024, 64(8): 2940-2954.
REN MX, LI J, AI JM, LIU XD, JIANG YY, DENG ZS. Species diversity and plant growth-promoting effects of bacteria isolated from the root nodules of *Sophora davidii*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(8): 2940-2954 (in Chinese).
- [22] EMERSON BC, GILLESPIE RG. Phylogenetic analysis of community assembly and structure over space and time[J]. Trends in Ecology & Evolution, 2008, 23(11): 619-630.
- [23] 葛蕾, 王璐瑶, 郭官清, 宋丽莉, 王翠, 汪小福, 毛婵娟, 李鹏. *Bt* 和 *Bar* 基因转化对水稻不同组织生态位微生物群落组成及潜在功能影响[J]. 微生物学报, 2024, 64(5): 1607-1625.
GE L, WANG LY, GUO GQ, SONG LL, WANG C, WANG XF, MAO CJ, LI P. Effects of *Bt* and *Bar* transformation on microbial community composition and potential functions in different tissues of rice plants[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(5): 1607-1625 (in Chinese).
- [24] ALY AH, DEBBAB A, PROKSCH P. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 90(6): 1829-1845.
- [25] 王明柳, 曹乾斌, 陆梅, 左倩倩, 赵爽, 陈闰昆, 王平. 热带森林恢复过程中氨氧化细菌群落季节变化[J]. 应用生态学报, 2024, 35(5): 1242-1250.
WANG ML, CAO QB, LU M, ZUO QQ, ZHAO S, CHEN MK, WANG P. Seasonal changes of ammonia-oxidizing bacterial communities during tropical forest restoration[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2024, 35(5): 1242-1250 (in Chinese).
- [26] HAMONTS K, TRIVEDI P, GARG A, JANITZ C, GRINYER J, HOLFORD P, BOTHA FC, ANDERSON IC, SINGH BK. Field study reveals core plant microbiota and relative importance of their drivers[J]. Environmental Microbiology, 2018, 20(1): 124-140.
- [27] RODRIGUES KF, SAMUELS GJ. Fungal endophytes of *Spondias mombin* leaves in Brazil[J]. Journal of Basic Microbiology, 1999, 39(2): 131-135.
- [28] NWACHUKWU BC, AYANGBENRO AS, BABALOLA OO. Elucidating the rhizosphere associated bacteria for environmental sustainability[J]. Agriculture, 2021, 11(1): 75.
- [29] de SOUZA RS, OKURA VK, ARMANHI JSL, JORRÍN B, LOZANO N, da SILVA MJ, GONZÁLEZ-GUERRERO M, de ARAÚJO LM, VERZA NC, BAGHERI HC, IMPERIAL J, ARRUDA P. Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 28774.
- [30] COLEMAN-DERR D, DESGARENNES D, FONSECA-GARCIA C, GROSS S, CLINGENPEEL S, WOYKE T, NORTH G, VISEL A, PARTIDA-MARTINEZ LP, TRINGE SG. Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species[J]. New Phytologist, 2016, 209(2): 798-811.
- [31] FONSECA-GARCÍA C, COLEMAN-DERR D, GARRIDO E, VISEL A, TRINGE SG, PARTIDA-MARTÍNEZ LP. The cacti microbiome: interplay between habitat-filtering and host-specificity[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 150.
- [32] TRIVEDI P, LEACH JE, TRINGE SG, SA TM, SINGH BK. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health[J]. Nature Reviews Microbiology, 2020, 18(11): 607-621.
- [33] YU JB, BAI M, WANG CY, WU H, LIANG XX. Regulation of secondary metabolites accumulation in medicinal plants by rhizospheric and endophytic microorganisms[J]. Medicinal Plant Biology, 2024, 3(1): e011.
- [34] XU J, ZHANG YZ, ZHANG PF, TRIVEDI P, RIERA N, WANG YY, LIU X, FAN GY, TANG JL, COLETTA-FILHO HD, CUBERO J, DENG XL, ANCONA V, LU ZJ, ZHONG BL, ROPER MC, CAPOTE N, CATARA V, PIETERSEN G, VERNIÈRE C, et al. The structure and function of the global citrus rhizosphere microbiome[J]. Nature Communications, 2018, 9: 4894.
- [35] LEVY A, SALAS GONZALEZ I, MITTELVIÉFHAUS M, CLINGENPEEL S, HERRERA PAREDES S, MIAO JM, WANG KR, DEVESCOVI G, STILLMAN K, MONTEIRO F, RANGEL ALVAREZ B, LUNDBERG DS, LU TY, LEBEIS S, JIN Z, McDONALD M, KLEIN AP, FELTCHER ME, RIO TG, GRANT SR, et al. Genomic features of bacterial adaptation to plants[J]. Nature Genetics, 2018, 50: 138-150.
- [36] 党柯柯, 侯金凤, 刘洪, 董元华, 李建刚. 生姜根系不同生态位细菌群落多样性特征、组成及结构差异[J]. 生态学报, 2023, 43(4): 1691-1702.
DANG KK, HOU JF, LIU H, DONG YH, LI JG. Characteristics of bacterial community diversity, composition and structure in different niches of ginger root[J]. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(4): 1691-1702 (in Chinese).
- [37] BAI R, WANG JT, DENG Y, HE JZ, FENG K, ZHANG LM. Microbial community and functional structure significantly varied among distinct types of paddy soils but responded differently along gradients of soil depth layers[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 945.
- [38] TAN L, ZENG WA, XIAO YS, LI PF, GU SS, WU SL, ZHAI ZG, FENG K, DENG Y, HU QL. Fungi-bacteria associations in wilt diseased rhizosphere and endosphere by interdomain ecological network analysis[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 722626.
- [39] ZHANG Z, GE SB, FAN LC, GUO S, HU Q, AHAMMED GJ, YAN P, ZHANG LP, LI ZZ, ZHANG JY, FU JY, HAN WY, LI X. Diversity in rhizospheric microbial communities in tea varieties at different locations and tapping potential beneficial microorganisms[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1027444.