

doi:10.11937/bfyy.20224757

尹淑丽,梁然,马璐璐,张俊花,温佩瑶,王一鸣.基于16S rDNA高通量测序技术的龟裂秃马勃(*Handkea utriiformis*)根围土壤细菌群落结构及功能分析[J].北方园艺,2023(20):61-68.

# 基于16S rDNA高通量测序技术的龟裂秃马勃(*Handkea utriiformis*)根围土壤细菌群落结构及功能分析

尹淑丽<sup>1</sup>,梁然<sup>2</sup>,马璐璐<sup>1</sup>,张俊花<sup>3</sup>,温佩瑶<sup>3</sup>,王一鸣<sup>3</sup>

(1.河北省科学院生物研究所,河北石家庄050081;2.石家庄市鹿泉区农业技术推广中心,河北石家庄050200;  
3.河北北方学院,河北张家口075032)

**摘要:**以黑龙江省双鸭山市龟裂秃马勃生长的退化土壤、正常土壤为试材,采用Illumina高通量测序的方法,研究了退化土壤和正常土壤样品中16S rDNA V4~V5区细菌的群落结构及功能差异,探究退化土壤中马勃不再出菇的原因,以为马勃人工驯化提供参考依据。结果表明:土壤样品测定细菌可操作分类单元归类于2界、44门、128纲、299目、508科、1048属。退化土壤细菌群落的丰富度指数(Chao1和ACE)、多样性指数(Shannon和InvSimpson)均降低;土壤中拟杆菌门、芽单胞菌门、浮霉菌门及假节杆菌属、RB41、土单胞菌属的丰富度降低,疣微菌门及酸杆菌属、罗丹诺杆菌属的丰富度升高。LEfSe分析结果显示,退化土壤中(LDA>4)的12个优势细菌包括门水平的 $\alpha$ -变形菌门、AD3、酸杆菌门,目水平的纤维杆菌目、根瘤菌目、盖勒氏菌目、微胃蛋白目,科水平的微蛋白科、纤维杆菌科、罗丹诺杆菌科;属水平的HSB OF53-F07、*Candidatus Solibacter*;涉及代谢、有机系统2个一级功能层代谢通路,其它次级代谢产物的生物合成、能量代谢、辅因子和维生素的代谢、萜类化合物和聚酮类化合物的代谢、循环系统、消化系统6个二级代谢通路;较正常土壤中减少了3个一级代谢通路、8个二级代谢通路。退化土壤中细菌菌群结构变化及伴随的代谢功能变化,是导致马勃不能继续生长的重要原因。

**关键词:**龟裂秃马勃;高通量测序;细菌;群落结构;功能类群

**中图分类号:**Q939.96 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2023)20-0061-08

龟裂秃马勃(*Calvatia utriiformis*, *Handkea utriiformis*),别称浮雕秃马勃、龟裂马勃<sup>[1]</sup>,子实体不仅可以食用,还具有一定的药用价值<sup>[2-3]</sup>,具

有止血、消毒、解毒等药用功效<sup>[4]</sup>。

BRZIN等<sup>[5]</sup>研究表明龟裂秃马勃具有抑制细菌生长和降低细菌溶血性的作用。LAM等<sup>[6]</sup>从龟裂马勃中分离出一种由76个氨基酸残基组成的泛素样活性多肽CULP,能够抑制人乳腺癌MDA-MB-231细胞的增殖。NG等<sup>[7]</sup>从龟裂马勃的新鲜子实体中分离出一种具有抑制肿瘤细胞有丝分裂和增殖生长能力的活性蛋白Calcaelin,还具有抗鼠脾细胞分裂原活性。XU等<sup>[8]</sup>发现龟裂秃马勃水提取多糖具有强抗氧化能力、还原能

**第一作者简介:**尹淑丽(1979-),女,硕士,研究员,现主要从事食用菌野生资源驯化、栽培育种及农业废弃物食用菌栽培资源利用等研究工作。E-mail:174243369@qq.com。  
**基金项目:**河北省科学院重点研发计划资助项目(22314);河北省科技厅省重点研发计划资助项目(21373804D)。  
**收稿日期:**2022-11-21

力。DRAGANA 等<sup>[9]</sup>利用龟裂秃马勃的皮下组织经碱处理、羟基磷灰石修饰后,可以去除水溶液中  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$ 。龟裂秃马勃的最适碳源为淀粉,最适氮源为尿素,最适碳氮比为20:1,最适温度为 28℃,最适生长因子为维生素 B6,最适 pH 为 5.0<sup>[10]</sup>。

目前,龟裂秃马勃源于野生,随着过度采集及环境变化,其野生资源日渐匮乏。该研究通过高通量测序技术,对比退化土壤与正常生长龟裂秃马勃土壤的细菌群落结构及功能特点,探究马勃在退化土壤中不再生长的原因,以期为早日实现马勃的人工驯化栽培提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2021 年 7—10 月采集黑龙江省双鸭山市龟裂秃马勃(*Handkea utriiformis*)根围土壤样品,采集退化土壤(2 年前生长龟裂秃马勃)作为对照(CK),采集龟裂秃马勃正常生长的土壤记为 T1、T2,3 个生物学重复,样品信息见表 1。

表 1 土壤样品信息  
Table 1 Soil sample data

| 采集地         | 海拔          | 北纬                  | 东经                  | 样品编号        | 分组    |
|-------------|-------------|---------------------|---------------------|-------------|-------|
| Sample site | Altitude /m | North latitude /(°) | East longitude /(°) | Sample code | Group |
| 双鸭山         | 115.0       | 133.076 9           | 46.564 3            | 1-1,1-2,1-3 | CK    |
| Shuangya-   | 65.0        | 133.915 6           | 47.683 9            | 2-1,2-2,2-3 | T1    |
| shan        | 101.9       | 133.029 3           | 46.573 9            | 3-1,3-2,3-3 | T2    |

1.2 试验方法

使用 MO BIO 强力土壤 DNA 提取试剂盒(MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA, USA)对样本的基因组 DNA 进行提取,利用 1%琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop(NANODROP 2000, Thermo SCIENTIFIC)检测 DNA 的纯度和浓度。

以稀释后的基因组 DNA 为模板,根据测序区域的选择,使用带 Barcode 的特异引物,和高效高保真的酶(TaKaRa, Dalian)进行 PCR,确保扩增效率和准确性。细菌 16S rDNA 的扩增引物采用 515F 和 909R,反应体系及反应条件见表 2。对目的条带使用擎科公司的胶回收试剂盒(DNA Gel Extraction Kit)回收产物。

表 2 PCR 反应体系和反应条件

Table 2 PCR reaction system and reaction conditions

| 反应体系 Reaction system         |         | 反应条件 Reaction condition |     |        |
|------------------------------|---------|-------------------------|-----|--------|
| 2×Taq MasterMix              | 12.5 μL | 初始变性                    | 94℃ | 3 min  |
| 上游引物 Reverse primer          | 1.0 μL  | 30 个循环                  | 94℃ | 40 s   |
| 下游引物 Forward primer          | 1.0 μL  |                         | 56℃ | 60 s   |
| ddH <sub>2</sub> O           | 9.5 μL  |                         | 72℃ | 60 s   |
| DNA(10 ng·μL <sup>-1</sup> ) | 1.0 μL  | 延伸                      | 72℃ | 10 min |
| 总量 Total                     | 25.0 μL | 每个样品进行 2 次 PCR          |     |        |

PCR 回收产物浓度进行等量混样,使用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 建库试剂盒进行文库构建,构建好的文库经过 Qubit 和 qPCR 定量,文库合格后,使用 Illumina 测序平台进行上机测序。

1.3 数据分析

使用 FLASH(version 1.2.7)软件对原始序列进行拼接,参照 Qiime (Version 1.9.0)对拼接后的序列进行指控过滤,利用 Usearch 软件(Version 8.0)去除嵌合体,最终得到高质量的有效序列。在相似性 97%的水平上,使用 Qiime 软件进行操作分类单元(OTU)聚类并与 OTU 代表序列进行物种注释,使用 UNITE version 8.0 软件作为参考数据库。基于 OTU 的分析结果,用 microeco包的 trans\_alpha 类<sup>[11]</sup>计算样品 Shannon index、Simpson index 等 alpha 多样性指数。LEfSe 分析<sup>[12]</sup>使用 trans\_diff 类完成,功能预测使用 Tax4Fun2<sup>[13]</sup>完成。

2 结果与分析

2.1 稀释曲线

由图 1 可知,每个处理的测序数量为 50 000 条,细菌群落聚类后,CK 得到 2 895~5 401 个 OTU,T1 得到 7 347~7 912 个 OTU,T2 得到 7 184~7 392 个 OTU,归类于 2 界、44 门、128 纲、299 目、508 科、1 048 属。随着测序数量的增加,稀释曲线趋于平稳,说明测序深度合理。

2.2 Alpha 多样性指数

对不同土壤样品处理的土壤细菌群落 OTU 进行 alpha 多样性分析,分别用 Chao1 指数、ACE

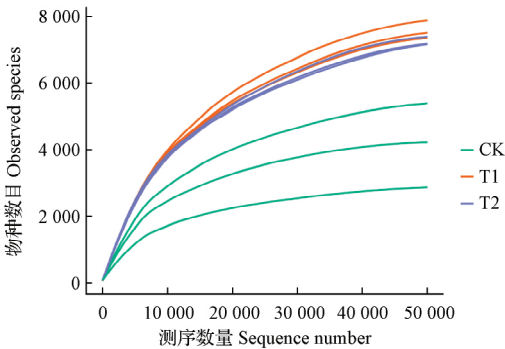


图 1 稀释曲线

Fig. 1 Rarefaction curve

表 3 不同土壤样品真菌丰富度和多样性指数

Table 3 Diversity of the fungi at different soil samples

| 处理        | 物种数目指数                 | Chao1 指数           | ACE 指数             | Shannon 指数    | InvSimpson 指数    |
|-----------|------------------------|--------------------|--------------------|---------------|------------------|
| Treatment | Observed species index | Chao1 index        | ACE index          | Shannon index | InvSimpson index |
| CK        | 5 010.33±1 596.14b     | 6 331.67±2 070.19b | 6 547.03±2 294.82b | 7.10±0.45b    | 377.98±122.86b   |
| T1        | 9 271.67±385.01a       | 11 518.26±462.04a  | 12 146.46±611.92a  | 8.08±0.04a    | 824.55±151.61a   |
| T2        | 8 997.00±234.36a       | 12 049.34±627.72a  | 12 615.53±601.79a  | 8.06±0.01a    | 1 082.32±107.97a |

注:不同小写字母表示显著差异( $P<0.05$ )。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences ( $P<0.05$ ).

2.3.1 门水平细菌群落组成

由图 2A 可知,土壤中细菌门水平的丰度和大于 90% 的 8 个细菌门分别为变形菌门(Pro-

teobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、芽单胞菌门(Gemmatimon-

2.3 土壤细菌群落组成

为研究不同土壤中细菌组成多样性,将所有有效序列进行聚类,以 97% 的序列相似性将序列聚类成为 OTU,根据 OTU 统计出从门到属水平的物种丰度。

teobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、芽单胞菌门(Gemmatimon-

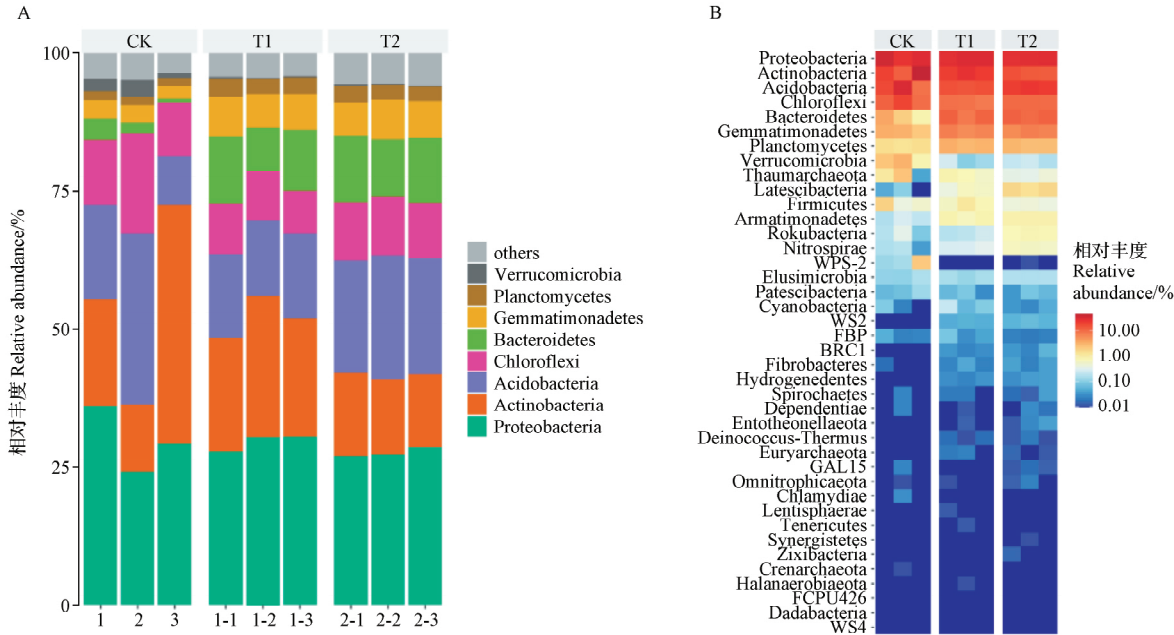


图 2 门水平上的细菌群落结构(A)和结构热图(B)

Fig. 2 Bacteria community structure (A) and heat map (B) at phylum level

adetes)、浮霉菌门(Planctomycetes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)。CK 土壤中的拟杆菌门、芽单胞菌门、浮霉菌门丰度降低,疣微菌门丰度提高。

由图 2B 可知,土壤中细菌门水平的丰度在 0.01%~10.00% 的细菌门有 40 个。CK 土壤中的广古菌门(Euryarchaeota)、恐球菌栖热菌(Deinococcus-Thermus)、肠杆菌门(Enterobacteriales)、螺旋体门(Spirochaetes)、食氢菌门(Hydrogenedentes)、BRC1、WS2、棒状杆菌门(Rokubacteria)、装甲菌门(Armatimonadetes)、匿杆菌门(Latescibacteria)、浮霉菌门(Planctomycetes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)的丰度降低;WPS-2、疣微菌门(Verrucomicrobia)、绿弯菌门(Chloroflexi)的丰度升高。T1、T2 土壤中除棒状杆菌门(Rokubacteria)、GAL15 外,其细菌门的丰度差异不大。

### 2.3.2 属水平细菌群落组成

由图 3A 可知,土壤中细菌属水平的丰度之和大于 10% 小于 25% 的属有 8 个,分别为假节杆菌属(*Pseudarthrobacter*)、RB41、土单胞菌属(*Terrimonas*)、酸杆菌属(*Acidothermus*)、芽单胞

菌属(*Gemmatimonas*)、罗丹诺杆菌属(*Rhodanobacter*)、HSB OF53-F07、Ellin6067。CK 土壤中假节杆菌属、RB41、土单胞菌属的丰富度降低,酸杆菌属、罗丹诺杆菌属的丰度升高。

由图 3B 可知,土壤中细菌属水平的丰度在 0.01%~10.00% 的有 40 个属,CK 土壤中假节杆菌属(*Pseudarthrobacter*)、RB41、土单胞菌属(*Terrimonas*)、*Haliangium*、黄色土源菌属(*Flavisolibacter*)、Subgroup 10、MND1、砂单胞菌属(*Arenimonas*)、碱铁杆菌属(*Ferruginibacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、UTCFX1、溶杆菌属(*Lysobacter*)、土壤红杆菌属(*Solirubrobacter*)、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)、*Flavitalea* 共 16 个属的丰富度降低;酸杆菌属(*Acidothermus*)、罗丹诺杆菌属(*Rhodanobacter*)、HSB OF53-F07、*Pseudolabrys*、*Candidatus Solibacter*、缓生根瘤菌(*Bradyrhizobium*)、颗粒链菌属(*Granulicella*)、鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)、*Candidatus Udaeobacter*、*Candidatus Koribacter* 共 10 个属的丰富度升高。T1、T2 土壤中除芽孢球菌属(*Blastococcus*)、卡诺氏属(*Nocardioideis*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、大理石雕菌属(*Marmoricola*)外,其它属的丰富度差异不大。

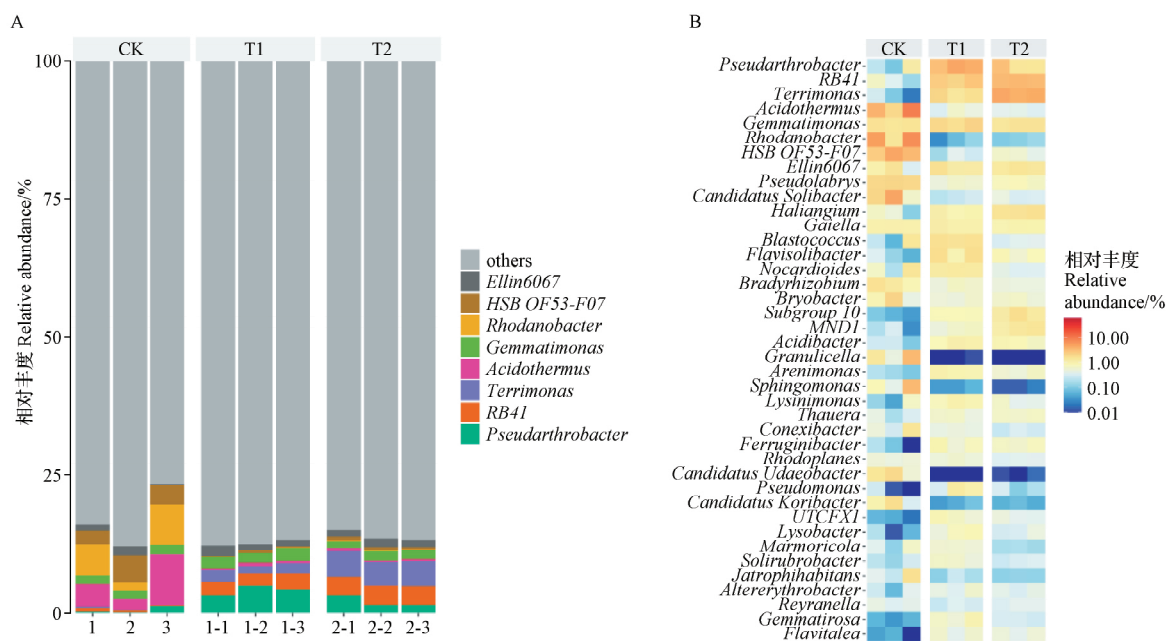


图 3 属水平上的细菌群落结构(A)和结构热图(B)

Fig. 3 Bacteria community structure (A) and heat map (B) at genus level

## 2.4 不同土壤中细菌群落 LEfSe 分析

### 2.4.1 LEfSe 聚类图分析

在 LEfSe 聚类树中,绿色节点表示 CK 土壤中起到重要作用的细菌群;红色节点表示 T1 土壤中起到重要作用的细菌群;紫色节点表示 T2

土壤中起到重要作用的细菌群,在不同分组中没有发挥重要作用的微生物类群用圆圈节点表示。由内向外,各圈代表的物种水平依次是门、纲、目、科、属(图 4)。

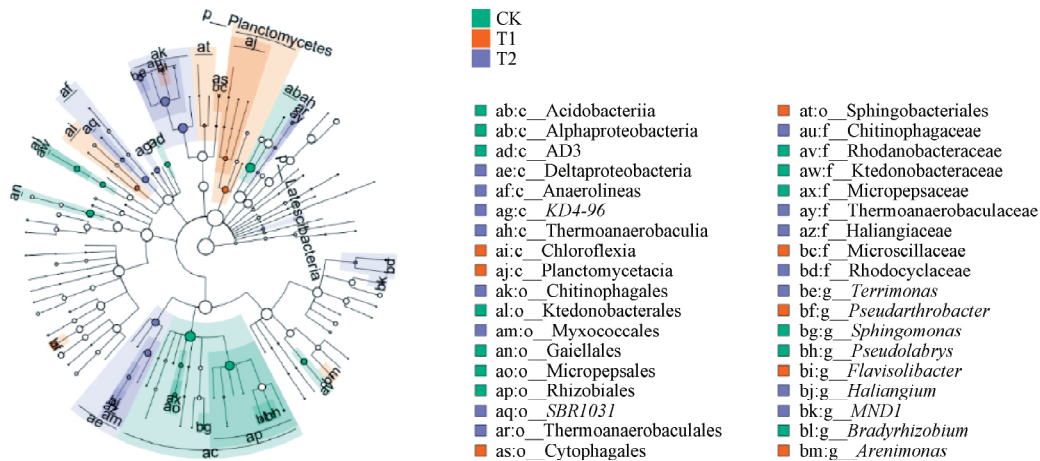


图 4 LEfSe 分析聚类图

Fig. 4 Linear discriminant analysis effect size grouping chart

### 2.4.2 LEfSe 分析 LDA 图分析

LEfSe(LDA Effect Size)是用于发现和解释高维度生物标识,先检测并找到具有显著丰度差异特征的类群,然后采用线性判别分析 LDA 来估算每个组分丰度对差异效果影响的大小。由图 5A 可知,在 LDA 阈值为 3 的条件下,土壤中细菌有 50 个分类存在显著差异;CK 土壤中有 12 种细菌类群明显偏高 ( $LDA > 4$ ),包括门水平的  $\alpha$ -变形菌门(Alphaproteobacteria)、AD3、酸杆菌门(Acidobacteriia),目水平的纤维杆菌目(Ktedonobacteriales)、根瘤菌目(Rhizobiales)、盖勒氏菌目(Gaiellales)、微胃蛋白目(Micropepsales),科水平的微蛋白科(Micropepsaceae)、纤维杆菌科(Ktedonobacteraceae)、罗丹诺杆菌科(Rhodanobacteraceae),属水平的 HSB OF53-F07、*Candidatus Solibacter*。T1 土壤中有 2 种细菌类群明显偏高 ( $LDA > 4$ ),分别为假节杆菌属(*Pseudarthrobacter*)、氧化假节杆菌(*Pseudarthrobacter oxydans*)。T2 土壤中有 11 种细菌类群明显偏高 ( $LDA > 4$ ),包括纲水平的  $\delta$ -变形菌纲(Deltaproteobacteria)、厌氧绳菌纲(Anaerolineae)、Subgroup6、Blastocatellia,目水平的噬几丁

质菌目(Chitinophagales)、Pyrinomonadales、黏细菌目(Myxococcales),科水平的梭菌科(Pyrinomonadaceae)、噬几丁质菌科(Chitinophagaceae),属水平的 RB41、土单胞菌属(*Terrimonas*)。

### 2.4.3 土壤中细菌群落功能预测

由图 5B 可知,CK 土壤细菌参与其它次级代谢产物阿卡波糖(acarbose and validamycin)、吩嗪毒素(phenazine)、星形孢菌素(staurosporine)的生物合成;参与能量代谢(energy metabolism)中的氧化磷酸化(oxidative phosphorylation)、脂肪酸生物合成(fatty acid biosynthesis);参与辅因子和维生素的代谢,包括生物素(biotin)、维生素 B<sub>6</sub>(vitamin B<sub>6</sub>)的代谢及泛酸和壳聚糖(pantothenate and CoA)的生物合成;参与萜类和聚酮类化合物代谢,包括 II 型聚酮物(type II polyketide products)、聚酮骨架(type II polyketide backbone)、四环素(tetracycline)的生物合成。

T1 土壤细菌参与碳水化合物抗坏血酸和醛糖酸盐(ascorbate and aldarate metabolism)的代谢、外源性物质乙苯(ethylbenzene degradation)的降解;参与脂质酮体(ketone bodies)的合成与

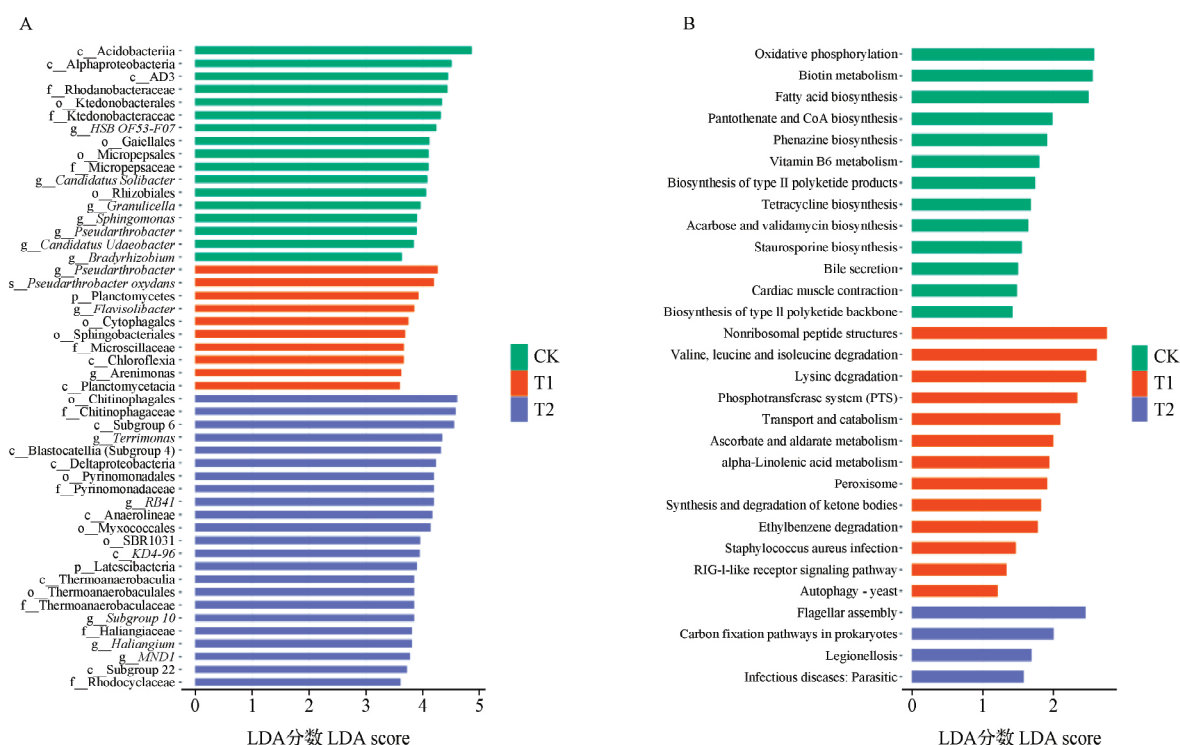


图5 土壤细菌群落的线性判别分析(A)和三级代谢功能分析(B)

Fig. 5 Analysis of linear discriminant (A) and metabolic function at third level of bacteria communities (B) in soil samples

降解,缬氨酸(valine)、亮氨酸(leucine)、异亮氨酸(isoleucine)和赖氨酸降(lysine)的降解;具有核苷类和多酮类化合物代谢的非核糖体多肽结构(nonribosomal peptide structures),具有膜转运功能的磷酸转移酶系统(phosphotransferase system),具有转运和分解代谢功能的酵母自噬体(autophagy-yeast)、过氧化物酶体(peroxisome),免疫系统的RIG-I受体信号通路(RIG-I-like receptor signaling pathway)。T2土壤细菌具有参与能量代谢的原核生物的碳固定途径(carbon fixation pathways in prokaryotes)。

### 3 讨论与结论

土壤微生态的重要组成成分是土壤微生物,细菌是土壤中数量最多的微生物种类<sup>[14-15]</sup>,该研究表明,龟裂秃马勃生长可显著增加土壤细菌的多样性和丰富度,CK土壤中的细菌多样性和丰富度降低,与王启兰等<sup>[16]</sup>报道的黄绿卷毛菇圈上细菌数量多于圈外细菌数量相一致,与郭璟等<sup>[17]</sup>报道的黄绿卷毛菇的存在增加了土壤细菌

的多样性结果相一致。

该研究发现,CK土壤中的拟杆菌门、芽单胞菌门、浮霉菌门及假节杆菌属、RB41、土单胞菌属的丰富度降低,疣微菌门及酸杆菌属、罗丹诺杆菌属的丰富度升高。于方明等<sup>[18]</sup>研究发现拟杆菌门的丰度与土壤中铅、锌、镉和铜的含量呈正相关,芽单胞菌门和浮霉菌门的丰度与土壤pH呈正相关。BERGMANN等<sup>[19]</sup>发现疣微菌门在土壤中普遍存在,拥有多种多样、连接稀疏的非核糖体肽合成酶系统及合成抗生素潜能的基因簇<sup>[20]</sup>;可降解利用岩藻多糖、聚丙烯酰胺、瓜尔胶等复杂碳水化合物,参与硫循环<sup>[21]</sup>;在干旱土壤中可产生brGDGTs(枝化甘油二烷基甘油四醚)<sup>[22]</sup>。

LEfSe分析结果显示,CK土壤中有3个门( $\alpha$ -变形菌门、AD3、酸杆菌门)、4个目(纤维杆菌目、根瘤菌目、盖勒氏菌目、微胃蛋白目)、3个科(微蛋白科、纤维杆菌科、Rhodanobacteraceae)、2个属(HSB OF53-F07、Candidatus Solibact)的优势细菌类群;涉及一级功能层的代谢、有机系统2个代谢通路,分属于其它次级代谢产物的生物

合成、能量代谢、辅因子和维生素的代谢、核苷化合物和聚酮类化合物的代谢、循环系统、消化系统 6 个子功能。T1、T2 土壤,增加了环境信息处理、细胞过程、人类疾病 3 个一级代谢通路,分属子功能增加了免疫系统、碳水化合物代谢、外源性物质的降解和代谢、脂质代谢、氨基酸代谢、膜转运、转运和分解代谢、传染性疾病 8 个代谢通路。RAHMAN 等<sup>[23]</sup>研究发现代谢功能的主要作用是通过摄取氨基酸、碳水化合物、维生素等营养物质来保证细菌的生长,通路的增强利于细菌多样性繁殖。环境信息处理相关的三级代谢层,土壤细菌增加了在磷酸转移酶系统、转运代谢土壤中养分含量等功能,可以运输化学物质和信号交换<sup>[24-25]</sup>,促进土壤细菌膜运输系统和信号转导系统功能得以加强。

地上植物的消失可能会限制某些土壤微生物群落的发展和种群的组成<sup>[26-27]</sup>,源于投入到土壤中的凋落物减少导致微生物底物有效性下降<sup>[28]</sup>。YANG 等<sup>[29]</sup>指出土壤微生物群落功能结构的变化受地上植被、土壤碳氮比和铵态氮含量的控制,细菌群落结构与植被群落结构显著正相关<sup>[30]</sup>。马勃生长的消失,可能与土壤细菌群落的变化相关,增加的细菌群落可能不利于马勃菌丝及子实体的生长,减少的细菌菌落可能利于马勃菌丝及子实体的生长;土壤中细菌菌群结构变化及伴随的代谢功能变化,可能是导致马勃不能继续生长在退化土壤中的原因。T1 与 T2 土壤细菌群落的差异可能与植被、土壤理化性状、经纬度、海拔等条件有关,为探究马勃生长繁殖条件实现人工驯化,仍需要进行大量深层次的相关研究。

## 参考文献

- [1] 彭卫红,甘炳成,谭伟,等.四川省龙门山区主要大型野生经济真菌调查[J].西南农业学报,2003,16(1):36-41.
- [2] 戴玉成,杨祝良.中国药用真菌名录及部分名称的修订[J].菌物学报,2008,27(6):801-824.
- [3] PATEL S,GOYAL A. Recent developments in mushrooms as anti-cancer therapeutics: A review[J]. Biotech, 2012, 2(1): 1-15.
- [4] 刘波.中国药用真菌[M].太原:山西人民出版社,1984.
- [5] BRZIN B,DEZMAN B. The effect of the fungus *Clavatia utriformis* on the morphological picture and physiological behaviour of bacteria[J]. Zentralbl Bakteriell Naturwiss 1978, 133(7/8):738-744.
- [6] LAM Y W,NG T B,WANG H X. Antiproliferative and antimitogenic activities in a peptide from puffball mushroom *Calvatia caelata*[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2001, 289(3):744-7490.
- [7] NG T B,LAM Y W,WANG H X. Calcaelin, a new protein with translation-inhibiting, antiproliferative and antimitogenic activities from the mosaic puffball mushroom *Calvatia caelata*[J]. Planta Medica, 2003, 69(3):212-217.
- [8] XU L J,WANG Q G,WANG G Q, et al. Contents and antioxidant activities of polysaccharides in 14 wild mushroom species from the forest of northeastern China[J]. Int J Med Mushrooms, 2015, 17(12):1161-1170.
- [9] DRAGANA M,STEVA L,SLAVICA L, et al. Hybrid material based on subgleba of mosaic puffball mushroom (*Handkea utriformis*) as an adsorbent for heavy metal removal from aqueous solutions[J]. J Environ Manage, 2021, 297:113358.
- [10] 田亚琴,牛玉蓉,刘宇,等.龟裂壳马勃的分子鉴定及生物学特性[J].江苏农业科学,2017(4):109-112.
- [11] LIU C,CUI Y M,LI X Z, et al. Microeco: An R package for data mining in microbial community ecology[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2021, 97(2):255.
- [12] SEGATA N,IZARD J,WALDRON L, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation[J]. Genome Biology, 2021, 12(6):60.
- [13] FRANZISKA W, JESSICA A, TAYLOR R D, et al. Tax4Fun2: Prediction of habitat-specific functional profiles and functional redundancy based on 16S rRNA gene sequences[J]. Environmental Microbiome, 2020(15):11.
- [14] REVILLINI D,GEHRING C A,JOHNSON N C. The role of locally adapted mycorrhizas and rhizobacteria in plant-soil feedback systems[J]. Functional Ecology, 2016, 30(7):1086-1098.
- [15] 荆佳强,萨仁其力莫格,秦洁,等.利用方式对贝加尔针茅草原土壤微生物群落结构与土壤酶活性的影响[J].中国草地学报, 2022, 44(2):33-40.
- [16] 王启兰,姜文波,陈波.黄绿密环菌菇圈生长对土壤及植物群落的影响[J].生态学杂志,2005(3):269-272.
- [17] 郭璟,欧为友,唐永鹏,等.黄绿卷毛菇对其生境土壤微生物群落结构的影响[J].菌物学报,2023,42(5):1063-1076.
- [18] 于方明,姚亚威,谢冬煜,等.酒顶矿区 6 种土地利用类型土壤微生物群落结构特征[J].中国环境科学,2020(5):2262-2269.
- [19] BERGMANN G T,BATES S T,EILERS K G, et al. The under-recognized dominance of *Verrucomicrobia* in soil bacterial communities[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(7): 1450-1465.
- [20] CRITS-CHRISTOPH A,DIAMOND S,BUTTERFIELD C N, et al. Novel soil bacteria possess diverse genes for secondary metabolite biosynthesis[J]. Nature, 2018, 558(7710):440-454.
- [21] 冯希.海洋疣微菌的分离、鉴定及疣微菌门分离体系整理[D].济南:山东大学,2018.
- [22] GUO J J,MA T,LIU N N, et al. Soil pH and aridity influence distributions of branched tetraether lipids in grassland soils along an aridity transect[J]. Organic Geochemistry, 2021, 164:

104347.

[23] RAHMAN M S, QUADIR Q F, RAHMAN A, et al. Screening and characterization of phosphorus solubilizing bacteria and their effect on rice seedlings[J]. Research in Agriculture Livestock and Fisheries, 2015, 1(1): 27-35.

[24] LI P, LUO T, PU X J, et al. Plant transporters: Roles in stress responses and effects on growth and development[J]. Plant Growth Regulation, 2021, 93: 253-266.

[25] JEVKELMANN J M, ERNI B. Transporters of glucose and other carbohydrates in bacteria [J]. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology, 2020, 472: 1129-1153.

[26] ZHANG Y, CAO C Y, PENG M, et al. Diversity of nitrogen-fixing, ammonia-oxidizing, and denitrifying bacteria in biological soil crusts of a revegetation area in horqin sandy land, North-east China[J]. Ecological Engineering, 2014, 71: 71-79.

[27] YIN Y L, WANG Y Q, LI S H X, et al. Soil microbial character response to plant community variation after grazing prohibition for 10 years in a Qinghai-Tibetan alpine meadow[J]. Plant Soil, 2021, 458: 175-189.

[28] 王小平, 杨雪, 杨楠, 等. 凋落物多样性及组成对凋落物分解和土壤微生物群落的影响[J]. 生态学报, 2019, 39: 6264-6272.

[29] YANG Y F, WU L W, LIN Q Y, et al. Responses of the functional structure of soil microbial community to livestock grazing in the Tibetan alpine grassland[J]. Global Change Biology, 2013(19): 637-648.

[30] LUO Z M, LIU J X, JIA T, et al. Soil bacterial community response and nitrogen cycling variations associated with subalpine meadow degradation on the Loess Plateau, China[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86(9): e00180-20.

## Analysis on the Structure and Function of Bacterial Community in the Soil Around the Root of *Handkea utriiformis* Based on 16S rDNA High Throughput Sequencing Technology

YIN Shuli<sup>1</sup>, LIANG Ran<sup>2</sup>, MA Lulu<sup>1</sup>, ZHANG Junhua<sup>3</sup>, WEN Peiyao<sup>3</sup>, WANG Yiming<sup>3</sup>

(1. Biology Institute, Hebei Academy of Sciences, Shijiazhuang, Hebei 050081; 2. Agricultural Technology Extension Center of Luquan District, Shijiazhuang, Hebei 050200; 3. Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075032)

**Abstract:** Taking degraded soil and normal soil from Shuangyashan City, Heilongjiang Province as test materials, the community structure and functional differences of 16S rDNA V4 — V5 bacterial communities in degraded soil and normal soil samples were studied using Illumina high-throughput sequencing method, in order to investigate the reasons why *Handkea utriiformis* can not grow in degraded soil and provide reference for artificial domestication of *Handkea utriiformis*. The results showed that the operational taxonomic units belong to 2 kingdoms, 44 phyla, 128 classes, 299 orders, 508 families, 1 048 genera. Richness index (Chao1 and ACE) and diversity index (Shannon and InvSimpson) of degenerated soil bacterial communities all decreased. In the degenerated soil, the relative abundances of Bacteroidetes, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, *Pseudarthrobacter*, *RB41*, *Terrimonas* decreased, and the relative abundances of Verrucomicrobia, *Acidothermus*, *Rhodanobacter* increased. LEfSe analysis results showed that in CK soil, 12 dominant bacteria were Alphaproteobacteria, AD3, Acidobacteria, Ktedonobacterales, Rhizobiales, Gaiellales, Micropepsales, Micropepsaceae, Ktedonobacteraceae, Rhodanobacteraceae, *HSB OF53-F07*, *Candidatus Solibacter*. 2 metabolic pathways of the primary functional layers were the metabolism and organic system, 6 sub function layers were biosynthesis of other secondary metabolites, energy metabolism, metabolism of cofactors and vitamins, metabolism of terpenoids and polyketones, circulatory system and digestive system. Compared with normal soil, 3 primary metabolic pathways and 8 secondary metabolic pathways were reduced. The structural changes of bacterial community structure in the degenerated soil and the accompanying changes in metabolic function were the important reasons for the inability of the *Handkea utriiformis* continue to grow.

**Keywords:** *Handkea utriiformis*; high throughput sequencing; bacterial community structure; functional groups