

亚洲兰茂牛肝菌菌塘与非菌塘土壤细菌的差异

和耀威, 黄 静, 刘忠玄, 向 准

(贵州省生物研究所 贵阳 550001)

摘 要:为探究亚洲兰茂牛肝菌(*Lanmaoa asiatica*)菌塘与非菌塘土壤细菌群落的差异,采集梵净山野生亚洲兰茂牛肝菌菌塘及非菌塘土壤,采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术,比较两者细菌群落结构、物种组成及代谢功能。结果表明,菌塘与非菌塘土壤细菌 α -多样性和 β -多样性均无显著差异,群落结构高度相似;优势菌门均为酸杆菌门和变形菌门,但优势属存在分化,菌塘土壤以 *Bryobacter* 为主,非菌塘土壤以慢生根瘤菌属为主;非优势类群 *HSB_OF53-F07* 和伯克霍尔德氏菌复合群在菌塘土壤中相对丰度显著高于非菌塘土壤,但两者相对丰度均低于 2%;LEfSe 分析显示,菌塘土壤富集 3 个生物标志物(*HSB_OF53-F07*、*JG30a-KF-32* 和 *B12_WMSP1*),非菌塘土壤富集 3 个生物标志物(*Gaiella_sp_EBR4_RS1*、小孢类芽孢杆菌和酸微菌纲),两者在生物标志物上存在差异;Tax4Fun 功能预测表明,两者代谢功能无明显差异,均以碳水化合物和氨基酸代谢为主。综上所述,菌塘与非菌塘土壤细菌整体相似,但菌塘土壤中富集了 *HSB_OF53-F07*、*JG30a-KF-32* 等低丰度特有类群,这些类群可能是潜在的促生功能菌。本研究系统描述了亚洲兰茂牛肝菌菌塘土壤细菌群落的核心特征,为该物种促生菌筛选及人工保育提供了理论依据。

关键词:亚洲兰茂牛肝菌;菌塘土壤;非菌塘土壤;细菌群落;差异分析

中图分类号:S646.3

文献标志码:A

文章编号:1673-2871(2026)09-033-08

Differences in bacteria between colonized and non-colonized soils of *Lanmaoa asiatica*

He Yaowei, Huang Jing, Liu Zhongxuan, Xiang Zhun

(Guizhou Institute of Biology, Guiyang 550001, Guizhou, China)

Abstract: To investigate the differences in bacterial communities between colonized and non-colonized soils of *Lanmaoa asiatica*, this study collected colonized and non-colonized soil samples from wild *L. asiatica* from Fanjingshan. Illumina MiSeq high-throughput sequencing technology was employed to compare the bacterial community structure, species composition, and metabolic functions of the two soil samples. The results showed that there were no significant differences in α -diversity or β -diversity between the colonized and non-colonized soils, indicating highly similar community structures. The dominant phyla in both soils were Acidobacteria and Proteobacteria, but differentiation was observed at the genus level: *Bryobacter* dominated in colonized soil, while *Bradyrhizobium* dominated in non-colonized soil. Among the non-dominant taxa, *HSB_OF53-F07* and the *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* complex were significantly more abundant in colonized soil than in non-colonized soil, although both had relative abundances below 2%. LEfSe analysis identified three biomarkers enriched in colonized soil (*HSB_OF53-F07*, *JG30a-KF-32*, and *B12_WMSP1*) and three in non-colonized soil (*Gaiella_sp_EBR4_RS1*, *Paenibacillus kobensis*, and *Acidimicrobiia*), and the two groups differed in their biomarker taxa. Tax4Fun functional prediction revealed no significant differences in metabolic functions between the two groups, with both dominated by carbohydrate and amino acid metabolism. In conclusion, although the soil bacterial communities of colonized and non-colonized soils were largely similar, colonized soil enriched specific low-abundance taxa such as *HSB_OF53-F07* and *JG30a-KF-32*, which may represent potential growth-promoting bacteria. This study systematically characterizes the core bacterial community characteristics of the soil colonized by *L. asiatica*, and provides theoretical support for the screening of growth-promoting bacteria and the artificial conservation of this fungus.

Key words: *Lanmaoa asiatica*; Colonized soil; Non-colonized soil; Bacterial community; Differential analysis

收稿日期:2025-10-12;修回日期:2026-03-27

基金项目:黔科合平台(ZSYS(2025)029);黔科合平台(YWZ(2024)005)

作者简介:和耀威,男,助理研究员,研究方向为微生物学。E-mail:1142964916@qq.com

通信作者:向 准,男,副研究员,研究方向为植物资源学和微生物学。E-mail:564375391@qq.com

作为大型真菌的一个重要类群,牛肝菌在生态系统和经济领域均具有重要价值^[1]。因为风味鲜美,牛肝菌深受意大利、德国和法国等国家消费者的青睐,是中国出口的主要食用菌之一。在2024年,牛肝菌总出口量达到2.24万t,平均出口价格为34.33美元·kg⁻¹,创造了7.69亿美元的出口收入。牛肝菌多样性丰富,已记录的种类约有2080个物种,约119属^[2]。其人工驯化和栽培已取得一定进展。例如,暗褐网柄牛肝菌^[3]和牛肝菌新品种中菌黄见手青1号^[4]已实现全人工栽培,而远东疣柄牛肝菌则在模拟自然条件下成功栽培^[5]。然而,珍稀食药真菌亚洲兰茂牛肝菌(*Lanmaoa asiatica*)是一种典型的外生菌根真菌。其生命周期依赖于与宿主植物(如壳斗科和松科)根系形成的共生结构——外生菌根(EM)。该结构通过真菌鞘和哈氏网促进真菌与植物之间的碳氮交换。尽管部分菌丝可以在纯培养基上形成原基,但在人工驯化和栽培方面仍存在巨大障碍。通过人工方法建立其与宿主植物的共生关系尤为困难,这主要归因于菌根真菌、宿主植物与环境三者间复杂的特性与相互作用。

共生型牛肝菌的生长依赖于一种被称为“菌塘”的独特结构——由菌丝、植物根系和土壤颗粒交织形成的团聚体。作为建立共生关系和促进菌丝体与宿主植物间养分交换的基础介质,菌塘不仅为牛肝菌的核配、分化和原基形成提供了必要支持,也是确保外生菌根真菌成功完成整个生命周期的关键组成部分。然而,菌塘结构相对脆弱,容易发生菌丝退化,从而降低与宿主植物形成菌根的效率。由于这一特性,许多研究者对菌塘的生物学特性进行了研究。例如,秦余等^[6]利用高通量测序技术,系统分析了远东疣柄牛肝菌、小孢粉孢牛肝菌及美味牛肝菌菌塘的微生物群落特征。结果表明,这三种菌塘中的优势细菌主要隶属于酸杆菌门、变形菌门、拟杆菌门和放线菌门。张举龙等^[7]采用变性梯度凝胶电泳(DGGE)技术研究了点柄乳牛肝菌的宿主菌塘,发现变形菌门和酸杆菌门占据绝对优势,其相对丰度显著高于其他细菌门。伍燕等^[8]利用高通量测序技术分析华丽牛肝菌菌塘的细菌群落,揭示其主要优势细菌门为变形菌门、酸杆菌门、芽单胞菌门和厚壁菌门,核心优势属包括伯克氏菌属、沙雷氏菌属、鞘氨醇单胞菌属及缓生根瘤菌属等。

在对菌塘细菌群落分析的基础上,一些研究者进一步探索了促生细菌的筛选、鉴定与应用。于富

强等^[9]在分离培养基中加入了牛肝菌生长环境关键组分(如松针)的浸提液。结果显示,牛肝菌的分离成功率为36.4%~57.6%,而外生菌根真菌的分离成功率高达75.8%。他们指出,含有天然基质的培养基比合成培养基更有利于目标菌株的生长。此外,使人工培养基的营养条件与牛肝菌自然生境保持一致被认为是提高分离成功率的关键因素。郭霞等^[10]通过对美味牛肝菌菌塘中促生细菌的筛选与鉴定,确定了蜡样芽孢杆菌是其菌根促生细菌。此外,近期研究表明,植物根际促生细菌(PGPR)不仅能提高菌根真菌对植物根系的侵染效率^[11],还能通过与外生菌根真菌的相互作用改善土壤结构,促进植物养分吸收^[12]。现有研究已证实,这类促生细菌通过多种机制促进菌根发育。例如,吡咯伯克霍尔德氏菌通过分泌铁载体来增强真菌对铁的吸收^[13],而据报道缓生根瘤菌属与根瘤菌属则通过固氮提供氮源,从而促进菌根真菌的生长^[14-15]。

前人的研究表明,牛肝菌菌塘的细菌群落主要由酸杆菌门和变形菌门等门类构成,在门水平上具有较高的相似性,但在属水平上存在差异。分析菌塘的细菌群落是筛选和应用菌根辅助细菌的基础。由于不同物种的促生细菌存在差异,研究特定菌根真菌的微生物组成与结构具有重要意义。然而,关于亚洲兰茂牛肝菌菌塘与非菌塘土壤在细菌群落结构和代谢功能上的差异研究仍较为匮乏。目前,尚不清楚这两种土壤中存在哪些细菌类群,以及它们的优势微生物群落有何不同。因此,笔者以位于武陵山脉核心区梵净山的亚洲兰茂牛肝菌为研究对象,聚焦其菌塘和非菌塘土壤。笔者采用高通量测序技术,旨在调查这两种土壤类型的细菌群落结构并预测其代谢功能,探究它们之间的差异,以期理解共生型牛肝菌菌塘的细菌群落组成、生态功能、促生细菌筛选,以及菌根苗的培育提供理论依据。

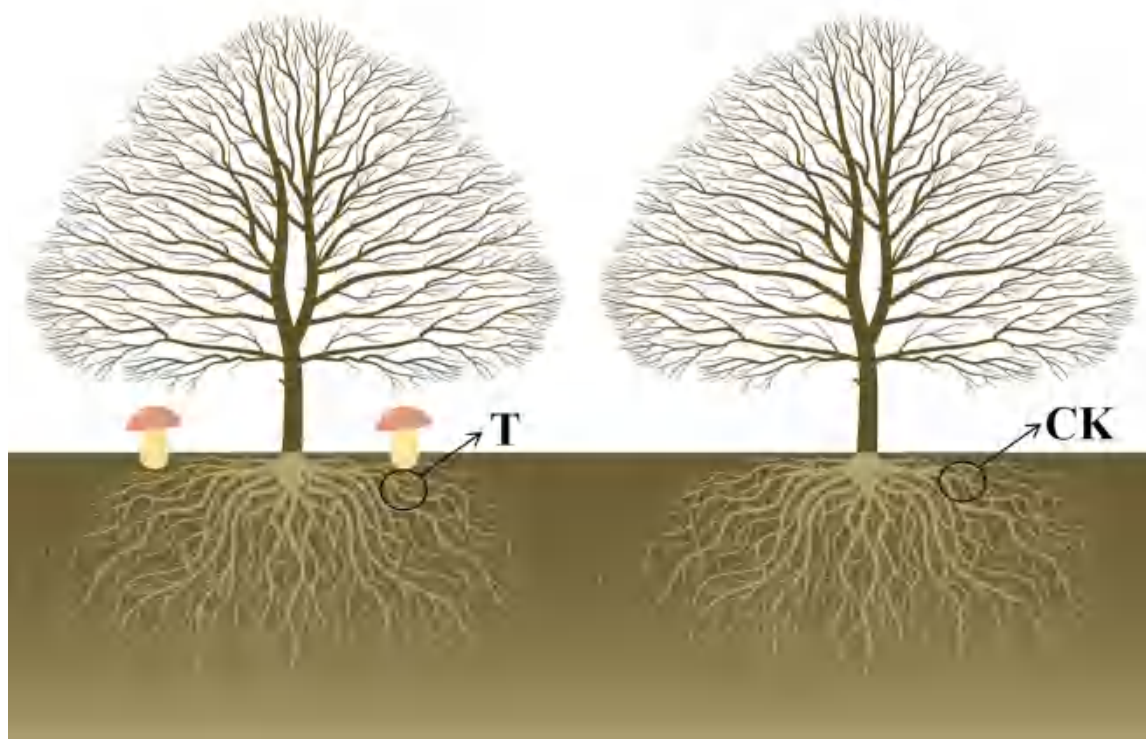
1 材料与方法

1.1 研究区概况与样本采集

研究区位于梵净山国家级自然保护区内的落叶阔叶林带,年均温13.1℃,年均降水量1600mm,土壤类型为山地黄壤,pH 4.5~5.5,有机质含量(w) 26.6~113.4 g·kg⁻¹^[16]。宿主植物为青冈(*Cyclobalanopsis glauca*),其根系与亚洲兰茂牛肝菌形成典型的外生菌根,菌丝呈黄棕色,密集分布于根表1~3mm土层。

2024 年 8 月在亚洲兰茂牛肝菌子实体成熟阶段,于其菌塘正下方 5~10 cm 处采集土壤样本。操作时先用灭菌的锋利小刀轻轻拨开表层土,再以无菌镊子夹取核心菌塘土,装入无菌布袋中混匀,随即置于冰盒内低温保存并尽快送回实验室。本研究共采集 24 份样本。非菌塘土为在距子实体 5~

10 m 处未生长牛肝菌的土壤,土壤采集方法和后期处理同菌塘土壤,合计采集 24 份。到实验室后,每 3 份菌塘土壤混合成 1 份菌塘土壤样品(T),共形成 8 份菌塘土壤样品,每 3 个非菌塘土混合成 1 份非菌塘土壤样品(CK),共形成 8 份非菌塘土样品,混合后的土壤用于 DNA 提取(图 1)。



注:T 是指具有子实体的菌塘土壤,CK 是指没有子实体的非菌塘土壤。

Note: T refers to colonized soil (habitat for boletes) with fruiting bodies, and CK refers to non-colonized soil without fruiting bodies.

图 1 样地示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the sampling plot

1.2 微生物组学分析

1.2.1 DNA 提取、PCR 扩增和文库构建方法 采用 CTAB 法提取样本中的总基因组 DNA,在 1%琼脂糖凝胶上监测 DNA 浓度和纯度,用无菌水将 DNA 稀释至 $1 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 。使用带条形码的特异性引物 515F/806R 扩增 16S rRNA 基因 V3~V4 可变区^[17]。PCR 反应使用 15 μL 的 Phusion™ High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs); 0.2 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的正向和反向引物,以及约 10 ng 的模板 DNA。PCR 循环条件为:98 °C 初始变性 1 min,随后 30 个循环(98 °C 变性 10 s,50 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s),最后 72 °C 延伸 5 min。之后将等体积的 1×上样缓冲液(含 SYBR 绿色荧光染料)与 PCR 产物混合,在 2%琼脂糖凝胶上进行电泳检测,PCR 产物按等密度比例混合,然后使用 Qiagen Gel

Extraction Kit(Qiagen, Germany)纯化混合后的 PCR 产物。测序文库的构建采用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit(Illumina, 美国)试剂盒,并添加索引代码。使用 Qubit@2.0 Fluorometer (Thermo Scientific)和 Agilent Bioanalyzer 2100 系统评估文库质量。最后,在 Illumina NovaSeq 平台上对文库进行测序,生成 250 bp 的配对末端 reads。

1.2.2 测序数据处理和信息分析 原始测序数据经 Trimmomatic v0.39 去除接头和低质量序列(截断质量值 Q20,删除长度<200 bp 的片段),使用 FLASH (V1.2.7, <http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>)拼接成对末端 reads,得到原始 Tags^[18]。通过 QIIME (V1.9.1, http://qiime.org/scripts/split_libraries_fastq.html)过滤嵌合体(UCHIME 算法,参考 Silva 数据

库, <https://www.arb-silva.de/>)^[19], 之后以 97% 相似度聚类为 OTUs, 选取丰度最高的序列作为 OTU 代表序列。基于 Silva 数据库 (Release 138), 使用 RDP Classifier v2.2 进行物种注释 (置信度阈值 0.8~1.0)。获得在各个分类水平上的物种信息, 最后统计各样本物种组成。

1.3 统计分析

1.3.1 多样性指数计算 基于 NovoMagic (<https://magic.novogene.com>) 平台, 使用 Qiime 软件 (Version 1.7.0) 计算 α -多样性指数: Chao1 指数 (群落丰富度)、Shannon 指数和 Simpson 指数 (群落多样性); β -多样性采用 Bray-Curtis 距离矩阵, 通过主坐标分析 (PCoA) 和 Adonis 检验 (置换次数 999 次) 评估组间差异。

1.3.2 差异菌群筛选 基于 NovoMagic (<https://magic.novogene.com>) 平台, 采用 LEfSe (LDA Effect Size) 分析筛选组间差异显著的物种 (LDA 阈值 > 3.0, $P < 0.05$), 通过 Cladogram 进化分支图可视化差异菌群的分类学分布。

1.3.3 功能预测 基于 NovoMagic (<https://magic.novogene.com>) 平台, 利用 Tax4Fun v2.0 基于 16S 序列预测细菌群落的功能代谢通路, 注释到 KEGG 第一层级和第二层级功能类别。

2 结果与分析

2.1 菌塘与非菌塘土壤间细菌群落多样性差异

2.1.1 α -多样性差异 α -多样性主要用于评估单个样本内部的细菌群落结构, 通过单样本分析可揭示

其中物种的丰富度 (物种总数) 与均匀度 (各物种相对丰度的分布情况), 并借助 Chao1、Shannon、Simpson 等多种统计学指数进行量化比较^[20]。其中, Chao1 指数主要反映物种丰富度, 数值越高表示物种数量越多; Shannon 和 Simpson 指数则同时兼顾丰富度与均匀度, 其数值越大通常意味着群落多样性越高^[21]。如表 1 所示, 菌塘土壤和非菌塘土壤的 Chao1 指数平均值分别为 2 142.43 和 2 215.29, Shannon 指数均为 8.34, Simpson 指数均为 0.989。结果表明, 非菌塘土壤的细菌群落丰富度略高于菌塘土壤, 细菌群落多样性相同, 但菌塘与非菌塘土壤间细菌丰富度和多样性均无显著差异。

表 1 细菌群落 α -多样性指数差异

Table 1 Differences in α -diversity indices of bacterial communities			
样品 Sample	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	Chao1 指数 Chao1 index
T	8.34±0.66 a	0.989±0.005 a	2 142.43±531.85 a
CK	8.34±0.70 a	0.989±0.004 a	2 215.29±615.34 a

注: 同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level.

2.1.2 β -多样性差异 利用 Bray-Curtis 距离进行 PCoA 分析, 以说明各采样点微生物的群落结构 (图 2)。PC1 和 PC2 累计解释 48.14% 的群落变异 (PC1=27.06%, PC2=21.08%); 通常情况下, 样品在图中分布较为紧密表明空间上距离较近, 菌塘与非菌塘土壤与上述特征一致。通过 ADONIS 分析发现菌塘与非菌塘土壤的细菌群落结构无显著差异

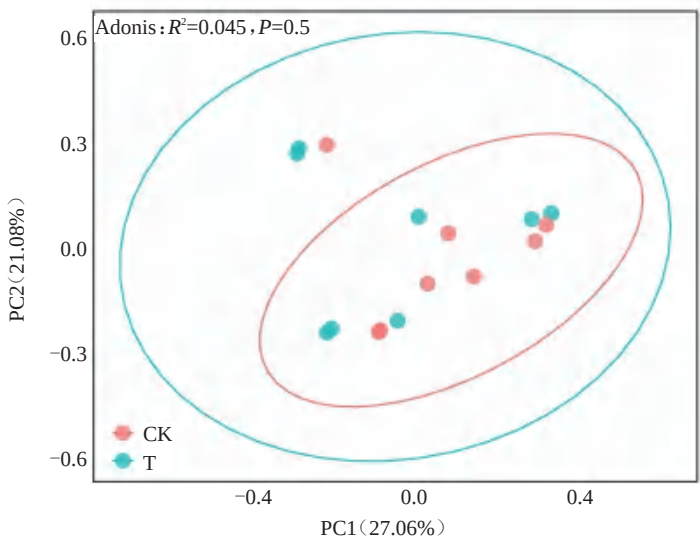


图 2 基于 OTU 水平 Bray-Curtis 距离的细菌主坐标分析图
Fig. 2 Bacterial PCoA plot based on Bray-Curtis distance at OTU level

($P=0.5, R^2=0.045$)。这一现象可能与研究区土壤母质均质性高、宿主植物种类单一有关,在特定生境下,外生菌根对根际细菌群落的招募作用可能弱于根系分泌物的普遍影响。

2.2 菌塘与非菌塘土壤间细菌群落结构与组成差异

2.2.1 门水平结构差异 图3展示了菌塘与非菌塘土壤中细菌在门水平的相对丰度分布。该分析基于物种丰度排名前10的门类,通过生成相对丰度堆叠柱状图进行可视化比较。可以看出,菌塘和非菌塘土壤中前10的物种排名相似,菌塘土和非菌塘土中优势菌门均为酸杆菌门(*Acidobacteria*, 29.934 8%和 28.126 4%),其他主要细菌门类依次为:未识别的细菌门(*Unidentified_Bacteria*, 22.126 7%和 21.494 4%),变形菌门(*Proteobacteria*, 16.115 2%和 20.721 4%)和绿弯菌门(*Chloroflexi*, 4.775%和 1.534 8%)等。未识别的细菌门丰度仅次于酸杆菌门,表明有很多未知菌群在兰茂牛肝菌生长区具有重要作用,有待挖掘;绿弯菌门(*Chloroflexi*)在菌塘土壤中占比较高,其余细菌门无较大差异,绿弯菌门可能是菌塘微环境构建的重要因子。

2.2.2 属水平结构差异 由表2可知,菌塘与非菌塘土壤中相对丰度>1%的共有9个属,其中丰度>3%的依次为慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*, 3.48%和 5.06%)、酸热菌属(*Acidothermus*, 2.68%和 3.35%)、*Bryobacter* (3.53%和 3.59%)、*Candidatus_Solibacter* (3.35%和 3.88%);*Bryobacter* 为菌塘

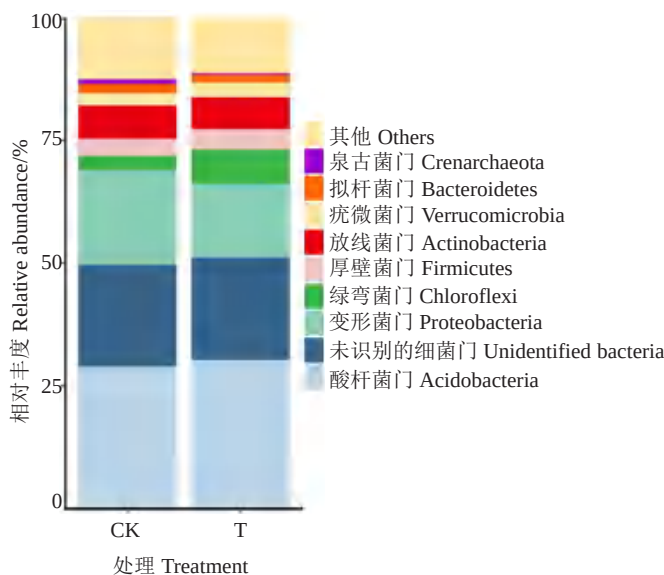


图3 菌塘和非菌塘土壤细菌群落在门水平上的相对丰度
Fig. 3 Relative abundance of bacterial communities in colonized soil and non-colonized soil at the phylum level

土壤的优势属,慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)为非菌塘土壤的优势属。差异分析结果表明,根际土壤中 *HSB_OF53-F07* (隶属于绿弯菌门)和伯克霍尔德氏菌复合群(*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*)的相对丰度分别是非根际土壤的 48.3 倍和 1.8 倍,均达到显著差异水平,其余菌群均未达到显著差异水平。

表2 菌塘和非菌塘土壤细菌群落在属水平上的相对丰度
Table 2 Relative abundance of bacterial communities in colonized soil and non-colonized soil at the genus level

属 Genus	相对丰度 Relative abundance/%		P 值
	T	CK	
慢生根瘤菌属 <i>Bradyrhizobium</i>	3.48±0.01	5.06±0.02	0.19
酸热菌属 <i>Acidothermus</i>	2.68±0.01	3.35±0.02	0.54
<i>Bryobacter</i>	3.53±0.02	3.59±0.01	0.95
<i>Candidatus_Solibacter</i>	3.35±0.01	3.88±0.01	0.48
粒状胞菌属 <i>Granulicella</i>	1.94±0.02	1.19±0.01	0.37
<i>Acidipila-Silvibacterium</i>	1.39±0.01	1.31±0.01	0.90
<i>HSB_OF53-F07</i>	1.45±0.01*	0.03±0.01	0.04
酸杆菌属 <i>Acidibacter</i>	1.35±0.01	1.81±0.01	0.19
伯克霍尔德氏菌-卡巴拉氏菌-拟伯克霍尔德氏菌属 <i>Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia</i>	1.57±0.01*	0.86±0.01	0.03

注:*表示不同处理在 0.05 水平差异显著。

Note: * indicates significant difference between different treatments at 0.05 level.

2.2.3 细菌群落组成差异 通过线性判别分析(LDA)结合效应值(LDA score),探究菌塘与非菌塘土壤微生物群落的差异类群。以 LDA 得分(log10 转换)衡量类群判别能力(图4-A),结果显示,菌塘土壤中 *HSB_OF53-F07*、*JG30a-KF-32* 和 *B12_WM-SP1* 等类群具有显著判别优势;而非菌塘土壤中酸微菌纲(*Acidimicrobiia*)、小孢类芽孢杆菌(*Paenibacillus kobensis*)和 *Gaiella_sp_EBR4_RS1* 等类群为差异显著类群。基于 cladogram 进一步可视化菌塘与非菌塘土壤间的差异微生物类群进化关系及分组特异性(图4-B),结果表明名为 *B12_WMSP1* 的目为菌塘土壤的特征类群,酸微菌纲(*Acidimicrobiia*)为非菌塘土壤的特征类群,两种特征类群在进化分支上呈现明显的分组聚类特征。

2.3 菌塘与非菌塘土壤细菌群落代谢功能差异

Tax4Fun 是一款基于 R 语言的工具,专门用于预测细菌群落的代谢功能。在本研究的分析流程中,研究人员首先根据数据库的注释结果,在各个功能层级上筛选出每个样本或分组中丰度排名前

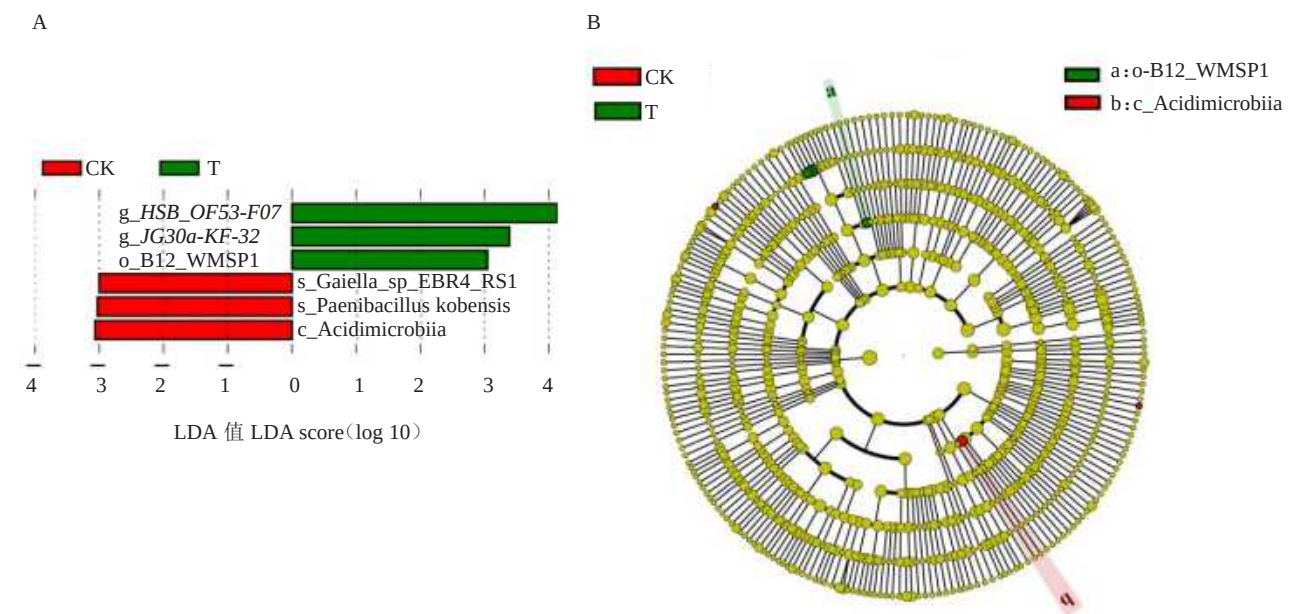


图 4 菌塘土壤和非菌塘土壤的 LDA 值分布柱状图(LDA>3.0)(A)和进化分支图(B)

Fig. 4 Histogram of LDA value distribution (LDA > 3.0) (A) and cladogram (B) of colonized soil and non-colonized soil

10 的功能类别,然后基于这些数据生成了功能相对丰度的堆叠柱状图(图 5)。菌塘与非菌塘土壤的细菌群落,在第一层级的代谢功能上表现出高度一致性,具体如下:最高的为代谢(metabolism),其次为遗传信息处理(genetic information processing),再次为环境信息处理(environmental information-processing),三种功能占比超过 80%,剩下的依次为细胞进程(cellular process)、未分类(Unclassified)、人类疾病(human diseases)、有机体系统(organis-mal-system)以及其他(others)。为深入解析其功

能差异,研究采用基于 KEGG 二级代谢途径数据库的 Tax4Fun 预测结果,分析结果表明,两类土壤在核心代谢功能上亦高度重合,其中最高的为碳水化合物代谢(carbohydrate metabolism),其次是氨基酸代谢(amino acid metabolism),再次为膜转运(membrane transport),剩余的依次为翻译(translation)、复制与修复(replication and repair)、能量代谢(energy metabolism)、信号转导(signal transduc-tion)、脂质代谢(lipid metabolism)、辅因子和维生素代谢(metabolism of cofactors and vitamins)、核苷酸

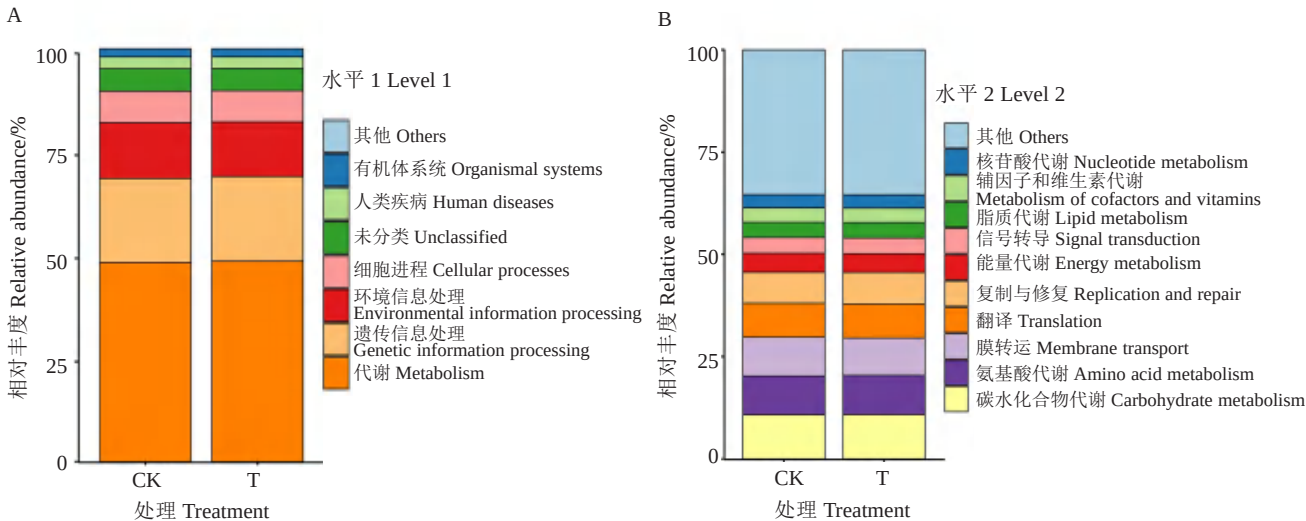


图 5 菌塘土壤和非菌塘土壤细菌在一级(A)和二级(B)功能代谢通路差异分析

Fig. 5 Difference analysis of bacterial level 1 (A) and level 2 (B) functional metabolic pathways in colonized soil and non-colonized soil

代谢(nucleotide metabolism)及其他(others)等,值得注意的是,其他(others)功能占比超过 30%。综上所述,碳水化合物代谢和氨基酸代谢丰度最高,是土壤微生物群落中的核心代谢功能。菌塘和非菌塘土壤的功能相对丰度无明显差异。

3 讨论与结论

本研究结果表明,亚洲兰茂牛肝菌菌塘与非菌塘土壤细菌群落相似度高,多样性无明显差异。但针对褐环乳牛肝菌的研究发现,菌根际细菌多样性显著高于非菌根际土壤,排除取样误差后可判定不同属牛肝菌菌塘细菌多样性存在种属差异^[22]。两类土壤优势细菌门均以酸杆菌门、变形菌门、未分类细菌门为主,与已有结论吻合^[6-8,22],说明酸杆菌门、变形菌门具备极强环境适应能力。在本研究中检出大量未明确鉴定的优势细菌类群,这类未知菌群或在林地生态系统中具有特殊功能,具备较高后续研究价值。

两类土壤优势属存在分化:菌塘土壤优势属为酸杆菌门的 *Bryobacter*,非菌塘土壤以变形菌门慢生根瘤菌属为主;差异分析显示 *HSB_OF53-F07*、伯克霍尔德氏菌复合群在菌塘土壤中相对丰度显著增高,但两类菌群总相对丰度均不足 2%。对比其他牛肝菌菌种,属水平优势菌群差异明显,远东疣柄牛肝菌、小孢粉孢牛肝菌、美味牛肝菌菌塘土壤优势属多为未知类群,辅以伯克氏菌属、*Candidatus Solibacter*^[6];华丽牛肝菌菌塘土壤以伯克氏菌属为主^[8];褐环乳牛肝菌菌塘土壤则富集伯克霍尔德氏菌与缓生根瘤菌^[21]。本研究非菌塘土壤缓生根瘤菌属分布与前人报道一致,而菌塘土壤特有优势属 *Bryobacter* 区别于其他牛肝菌研究。已有文献证实 *Bryobacter* 可提升重金属污染土壤修复潜力、参与根际有机碳分解^[23-24],推测其与兰茂牛肝菌生长、菌塘微环境稳态存在协同适配关系,二者互作机制仍待深入验证。

菌塘与非菌塘土壤细菌标志物分属不同类群,且差异显著。菌塘土壤特有标志物为绿弯菌门 *HSB_OF53-F07*、*JG30a-KF-32*、*B12_WMSP1*,绿弯菌门整体丰度显著高于非菌塘土壤。已有研究表明, *HSB_OF53-F07* 可耐受铜、镉等重金属胁迫,且能参与调控碳氮循环与群落互作。相关性分析显示,该菌群的相对丰度与碳固定、硝化及反硝化功能基因丰度呈显著正相关,表明其在推动土壤碳氮周转中可能发挥重要生态作用;同时可响应微生

物捕食竞争,驱动有机质分解与养分循环^[25-26]。在亚洲兰茂牛肝菌菌塘中, *HSB_OF53-F07* 可能具有相似的功能。非菌塘土壤标志物为 *Gaiella_sp_EBR4_RS1*、小孢类芽孢杆菌和酸微菌纲, *Gaiella_sp_EBR4_RS1* 多见于沉积物,参与有机质降解与养分循环^[27]。综上所述,推测两类土壤专属功能菌群可能通过养分调控提升宿主植物营养吸收效率,优化共生体系并促进牛肝菌子实体发育,但仍需后续试验验证。

微生物群落是土壤生态功能的核心载体,可表征土壤功能基因动态变化^[28]。本研究预测结果表明,菌塘、非菌塘土壤细菌整体代谢功能无显著区别,一级功能以代谢、遗传信息处理、环境信息处理为主,二级功能集中于碳水化合物与氨基酸代谢,该规律与刘晓华等^[29]的研究结论一致,印证了代谢通路是土壤细菌核心功能模块。细菌依靠碳水化合物、氨基酸等物质维持生命活动,使代谢相关基因在基因组中占主导地位^[30];土壤细菌通过固氮、解磷等代谢作用驱动物质转化,提升植物根系氮、磷吸收效率^[31],且菌群结构与功能基因表达高度耦合^[32],与本研究结果相互印证。碳水化合物、氨基酸代谢匹配牛肝菌共生体系养分需求:宿主供给葡萄糖、菌根合成色氨酸,菌塘细菌一方面降解大分子有机物供给菌根,另一方面代谢氨基酸可作为信号分子诱导菌根建成^[33]。两类土壤代谢功能无显著差异,推测源于梵净山原生生态优良、全域植被根系活动相近,使得大范围根际周边土壤细菌群落结构、多样性趋于同质化。

本研究系统解析了兰茂牛肝菌菌塘与周边非菌塘土壤细菌群落组成、多样性及代谢功能特征,整体规律表明两类土壤细菌群落基础特征高度趋同:二者细菌 α 、 β 多样性均无统计学显著差异,优势菌门统一为酸杆菌门、变形菌门与未分类细菌门,菌群一级、二级代谢功能组成也基本重合,核心功能均集中于碳水化合物、氨基酸代谢等基础物质转化过程。两类土壤仅在低丰度细分菌群层面出现特异性分化:菌塘土壤优势属为 *Bryobacter*,非菌塘土壤以慢生根瘤菌属占优; *HSB_OF53-F07*、伯克霍尔德氏复合群在菌塘土壤中丰度显著提升,但两类群整体丰度均不足 2%。LEfSe 分析筛选得到两类土壤各自专属差异生物标志物,亚洲兰茂牛肝菌主要定向富集微量特异菌群。

参考文献

- [1] Xue R, Zhang X, Xu C, et al. The subfamily xerocomoideae

- (Boletaceae, Boletales) in China[J]. *Studies in Mycology*, 2023, 106:195-197.
- [2] 吴刚, 武揆, 徐鑫, 等. 基因组时代下牛肝菌科分类系统的可能变动[C]//中国菌物学会. 中国菌物学会 2025 年学术年会论文摘要: 菌物多样性及系统学, 2025: 15.
- [3] 刘静, 何明霞, 王文兵, 等. 暗褐网柄牛肝菌仿生栽培研究[J]. *西南农业学报*, 2017, 30(5): 1176-1182.
- [4] 昆明食用菌研究所公众号. 我国首个见手青类牛肝菌新品种“中菌黄见手青 1 号”通过鉴定[J]. *中国食用菌*, 2024, 43(6): 90.
- [5] 陈宇航, 陈政明, 林国华. 远东疣柄牛肝菌仿生栽培[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2002, 31(4): 532-535.
- [6] 秦余, 李茜茜, 郑雨煊, 等. 3 种野生牛肝菌的菌塘土壤细菌多样性[J]. *微生物学通报*, 2016, 43(10): 2148-2153.
- [7] 张举龙, 陈青君, 秦岭, 等. 油松林地网柄牛肝菌菌塘细菌群落动态(英文)[J]. *应用与环境生物学报*, 2015, 21(5): 974-980.
- [8] 伍燕, 杜俊希, 张娟, 等. 华丽牛肝菌菌塘土壤细菌多样性的高通量测序分析[J]. *中国食用菌*, 2021, 40(1): 84-90.
- [9] 于富强, 纪大千, 刘培贵. 云南松外生菌根真菌分离培养研究[J]. *植物研究*, 2003, 23(1): 66-71.
- [10] 郭霞, 郑雨煊. 美味牛肝菌菌塘中菌根促生菌的筛选与鉴定[J]. *菌物学报*, 2018, 37(12): 1802-1807.
- [11] 盛江梅, 吴小芹, 侯亮亮, 等. 一株黑松-美味牛肝菌菌根辅助细菌的筛选及鉴定[J]. *应用与环境生物学报*, 2010, 16(5): 701-704.
- [12] Huayong W. Understanding drought stress resilience in the *Fagus sylvatica* - *Cenococcum geophilum* ectomycorrhizal symbiosis[D]. Nancy: Université de Lorraine, 2024.
- [13] 陈艳彬, 韩燕燕, 王斐, 等. 吡咯伯克霍尔德氏菌 JK-SH007 产嗜铁素的相关基因克隆及条件优化[J]. *中国生物防治学报*, 2019, 35(4): 630-641.
- [14] Coleman D M, Berch S, Bonito G, et al. Status of truffle science and cultivation in North America[J]. *Plant and Soil*, 2024, 508(1): 1-37.
- [15] Ben-Laouane R, Baslam M, Ait-El-Mokhtar M, et al. Potential of native arbuscular mycorrhizal fungi, rhizobia, and/or green compost as alfalfa (*Medicago sativa*) enhancers under salinity[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(11): 1695.
- [16] 张珍明, 石磊, 张玉武, 等. 梵净山固氮优势维管植物垂直分布及土壤性状特征[J]. *西南农业学报*, 2015, 28(6): 2624-2629.
- [17] Yuka K, Takuma T, Makoto K, et al. Whole-genome sequencing of *Pseudoalteromonas* sp. Strain KAN5, an agar-degrading bacterium isolated from the gut of an alga-eating fish[J]. *Microbiology Resource Announcements*, 2022, 11(8): e0039822.
- [18] Davis B C, Connor B, Suraj G, et al. Recommendations for the use of metagenomics for routine monitoring of antibiotic resistance in wastewater and impacted aquatic environments[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2023, 53(19): 1731-1756.
- [19] Heena S, Kandarp J, Upasana M, et al. Next-generation sequencing technology: Current trends and advancements[J]. *Biology*, 2023, 12(7): 997.
- [20] 翟杰, 杨树青, 刘月, 等. 微生物菌肥施用下微咸水灌溉对盐碱土壤理化性质与细菌群落的影响[J]. *中国环境科学*, 2025, 45(12): 6749-6761.
- [21] Zhang W W, Xue W Y, Liu J L, et al. Molecular diversity of ectomycorrhizal fungi in relation to the diversity of neighboring plant species[J]. *Microorganisms*, 2024, 12(8): 1718-1718.
- [22] Zhou Y X, Shi Z C, Pang Q L, et al. Responses of bacterial community structure, diversity, and chemical properties in the rhizosphere soil on fruiting-body formation of *Suillus luteus*[J]. *Microorganisms*, 2022, 10(10): 2059.
- [23] Ge L Q, Xin Y, Zhang L L, et al. Uncovering the relationship between soil bacterial community and heavy metals in a copper waste pile[J]. *Minerals*, 2024, 14(12): 1237.
- [24] Lin L, Tsyusko O V, Unrine J M, et al. Pristine and sulfidized zinc oxide nanoparticles promote the release and decomposition of organic carbon in the legume rhizosphere[J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, 57(24): 02071.
- [25] Guo Y F, Cheng S L, Fang H J, et al. Copper and cadmium co-contamination affects soil bacterial taxonomic and functional attributes in paddy soils[J]. *Environmental Pollution*, 2023, 329: 121724.
- [26] Wang F Y, Xu Y J, Liu L Z, et al. Biological interactions mediate soil functions by altering rare microbial communities[J]. *Environmental Science & Technology*, 2024: 00375.
- [27] Li X M, Meng Z H, Chen K, et al. Comparing diversity patterns and processes of microbial community assembly in water column and sediment in Lake Wuchang, China[J]. *PeerJ*, 2023, 11: e14592.
- [28] 刘坤和, 薛玉琴, 竹兰萍, 等. 嘉陵江滨岸带不同土地利用类型对土壤细菌群落多样性的影响[J]. *环境科学*, 2022, 43(3): 1620-1629.
- [29] 刘晓华, 魏天兴. 高通量测序分析黄土高原退耕还林区土壤细菌群落特征[J]. *环境科学*, 2021, 42(9): 4489-4499.
- [30] 马欣, 罗珠珠, 张耀全, 等. 黄土高原雨养区不同种植年限紫花苜蓿土壤细菌群落特征与生态功能预测[J]. *草业学报*, 2021, 30(3): 54-67.
- [31] 杨盼, 翟亚萍, 赵祥, 等. 丛枝菌根真菌和根瘤菌互作对苜蓿根际土壤细菌群落结构的影响及 PICRUST 功能预测分析[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(11): 3868-3879.
- [32] Liang Y T, Xian X, Nuccio E E, et al. Differentiation strategies of soil rare and abundant microbial taxa in response to changing climatic regimes[J]. *Environmental Microbiology*, 2020, 22(4): 1327-1340.
- [33] Paul S, Parvez S S, Goswami A, et al. Exopolysaccharides from agriculturally important microorganisms: Conferring soil nutrient status and plant health[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 262(2): 129954.