

引物选择影响环境微生物组中微生态模式的评估

何金涛^{1, 2}, 周通³, 沈晓强^{1, 2}, 张楠^{1, 2},
孙超⁴, 吕世鹏⁵, 邵勇奇^{1, 2, 6, 7, *}

¹浙江大学农业生命环境学部蚕蜂所

²中德马普学会伙伴小组

³中国科学院海洋研究所

⁴浙江大学农生环测试中心

⁵江苏省中国科学院植物研究所

⁶浙江省蚕蜂资源利用与创新研究重点实验室

⁷动物分子营养学教育部重点实验室



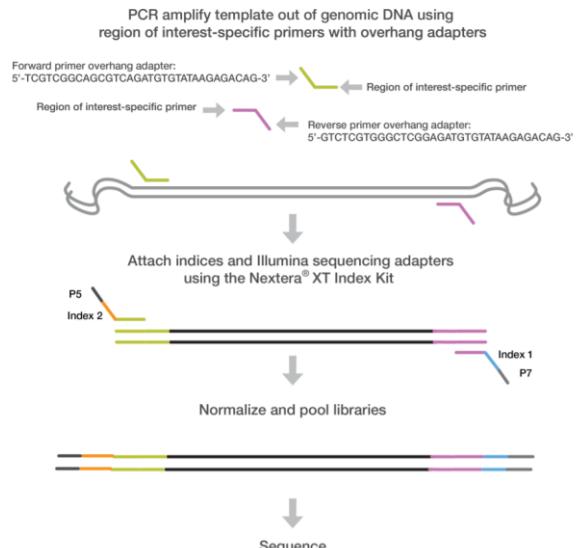
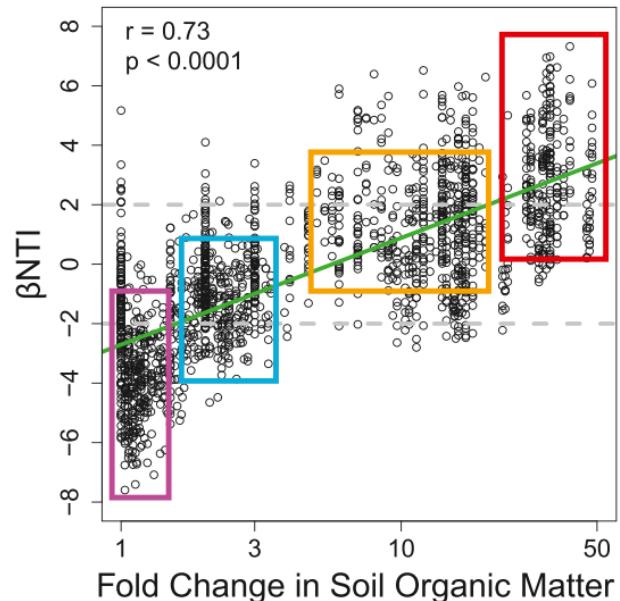
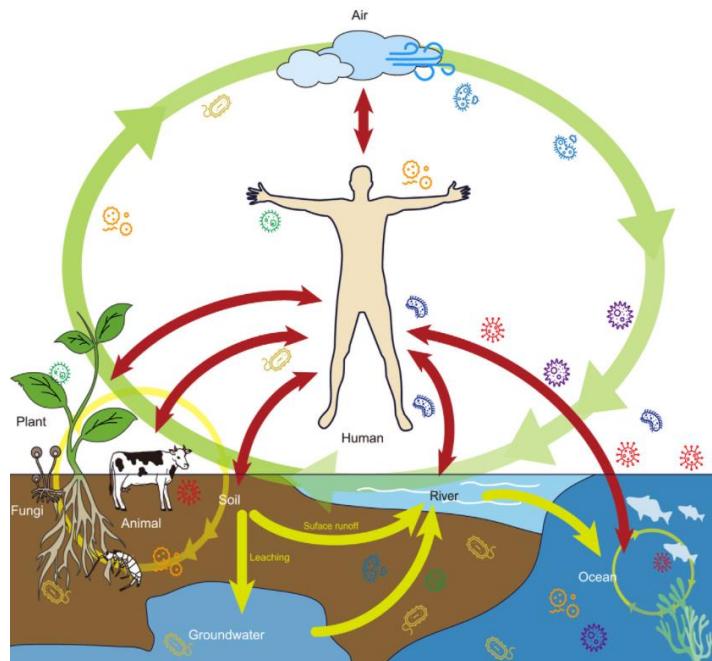
He, Jintao, Tong Zhou, Xiaoqiang Shen, Nan Zhang, Chao Sun, Shipeng Lu, and Yongqi Shao. 2023.
“Primer Selection Impacts the Evaluation of Microecological Patterns in Environmental Microbiomes.”
iMeta. e135. <https://doi.org/10.1002/imt2.135>

背景

综合探索生态系统中**多生境微生物组**（物种，功能，群落构建）对于揭示和保护地球生物多样性和稳定性具有重要意义。

群落构建过程（如随机性过程和确定性过程）已成为微生物学的研究热点。

高通量扩增子测序利用标记基因引物对，实现对微生物群落的大规模监测以及对生态过程的阐述。



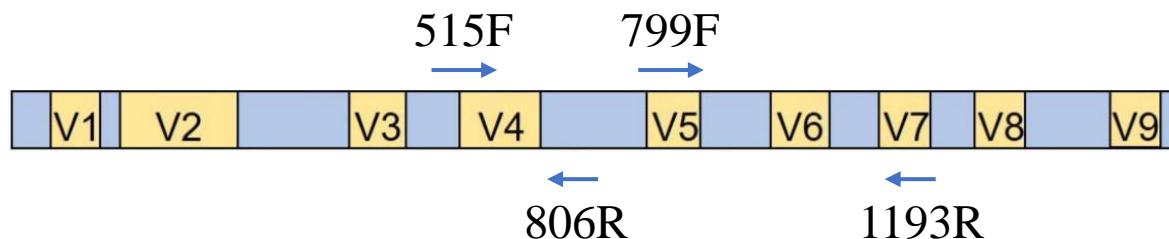
Yong-Guan Zhu et al. mLife 2023
Dini-Andreote et al. PNAS 2015
Chase et al. Science 2010

背景

仅2021年，有超过60种靶向16S rRNA基因的引物对被用于各种生境的微生物学研究。

515F/806R (V4) 广泛应用于环境微生物组研究中。799F/1193R (V5-V7) 可减少对宿主细胞器DNA (如叶绿体) 的扩增，常用于研究植物内生菌，也在叶际、土壤和肠道等研究中使用。

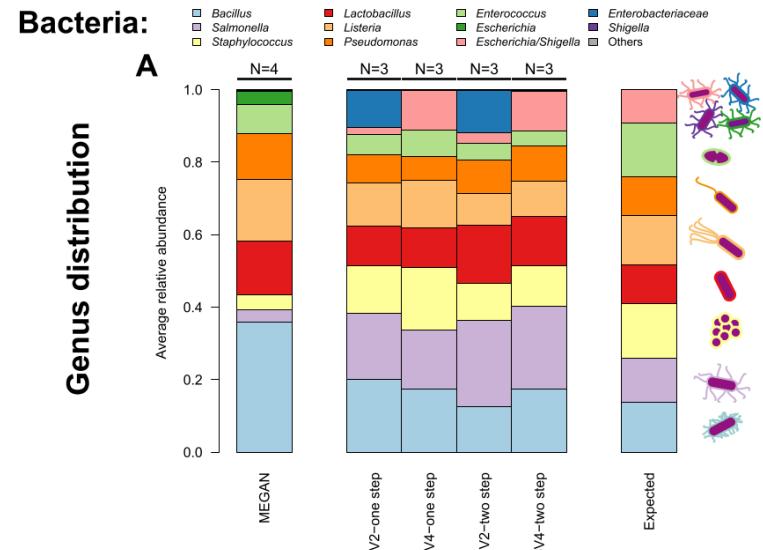
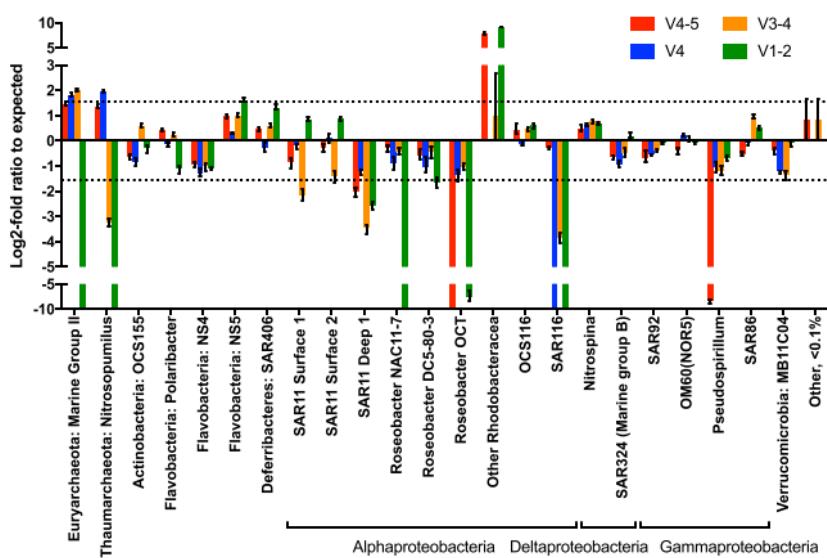
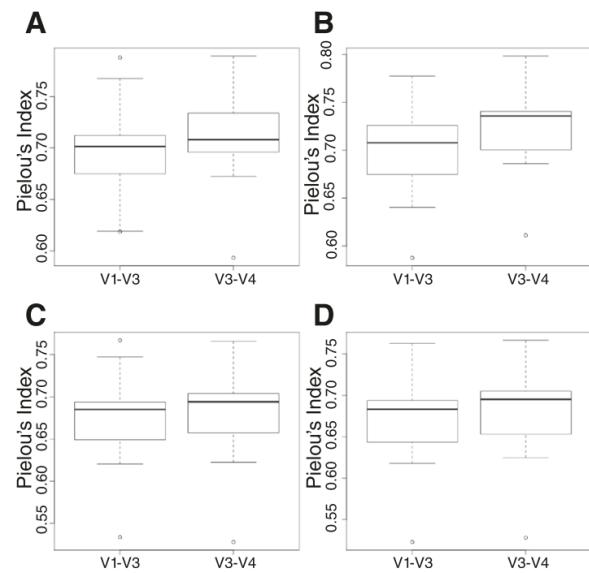
引物偏倚可能导致不同的研究结论，并影响对不同来源数据的整合分析（通常基于有参聚类）。



	A Metadata categories						
Light	91	94	91	92	91	91	89
Laboratory or Field	90	89	91	90	91	88	89
Water or Sediment	88	87	88	89	88	88	90
Environment	77	76	86	81	86	86	84
Primer pair	75	79	85	83	83	85	83
Incubation or Collection	77	75	82	80	82	80	82
DNA extraction method	72	73	81	79	78	80	77
Incubation time (general)	70	74	74	79	80	73	77
Study	67	70	78	76	75	79	77
Longitude	63	62	67	71	70	75	72
Incubation time (specific)	66	59	47	63	56	66	77
Latitude	58	54	60	67	68	59	64
Season	54	60	59	63	64	64	61
Source	56	64	59	57	57	56	58
Salinity	46	52	54	49	57	58	60
Plastic type (specific)	43	45	42	46	48	48	48
Plastic type (general)	39	39	44	42	45	46	45
Material type	34	34	36	37	34	39	36
Temperature	31	34	38	31	36	32	40
Depth	17	7	-19	9	-15	10	21

背景

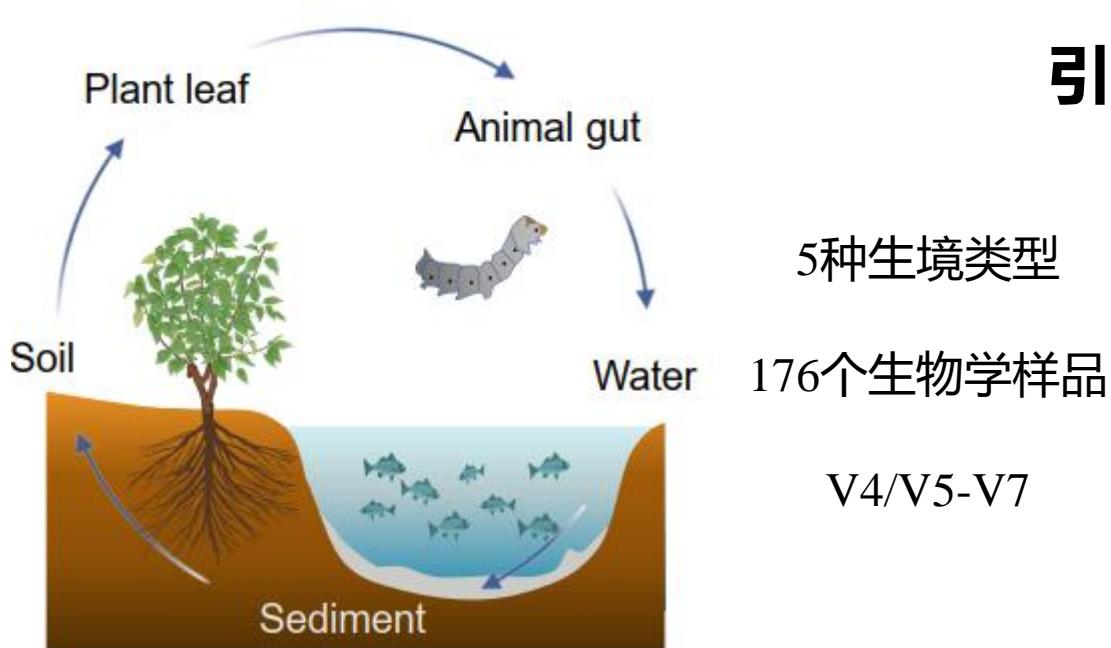
以往对引物偏倚的研究主要集中于单一生境或物种丰度高低。然而，对多生境微生物模式中的引物偏倚仍不清楚，阻碍了对复杂环境微生物组的生态学解析。



Zheng et al. 2015 Microbiome
Wear et al. 2018 Environ. Microbiol.
Rausch et al. 2019 Microbiome

背景

桑基鱼塘系统提供了一个稳定受控的模型用于揭示多种生境类型中的引物偏倚，包括陆地/水生和环境/植物/动物相关的生境。



5种生境类型

176个生物学样品

V4/V5-V7

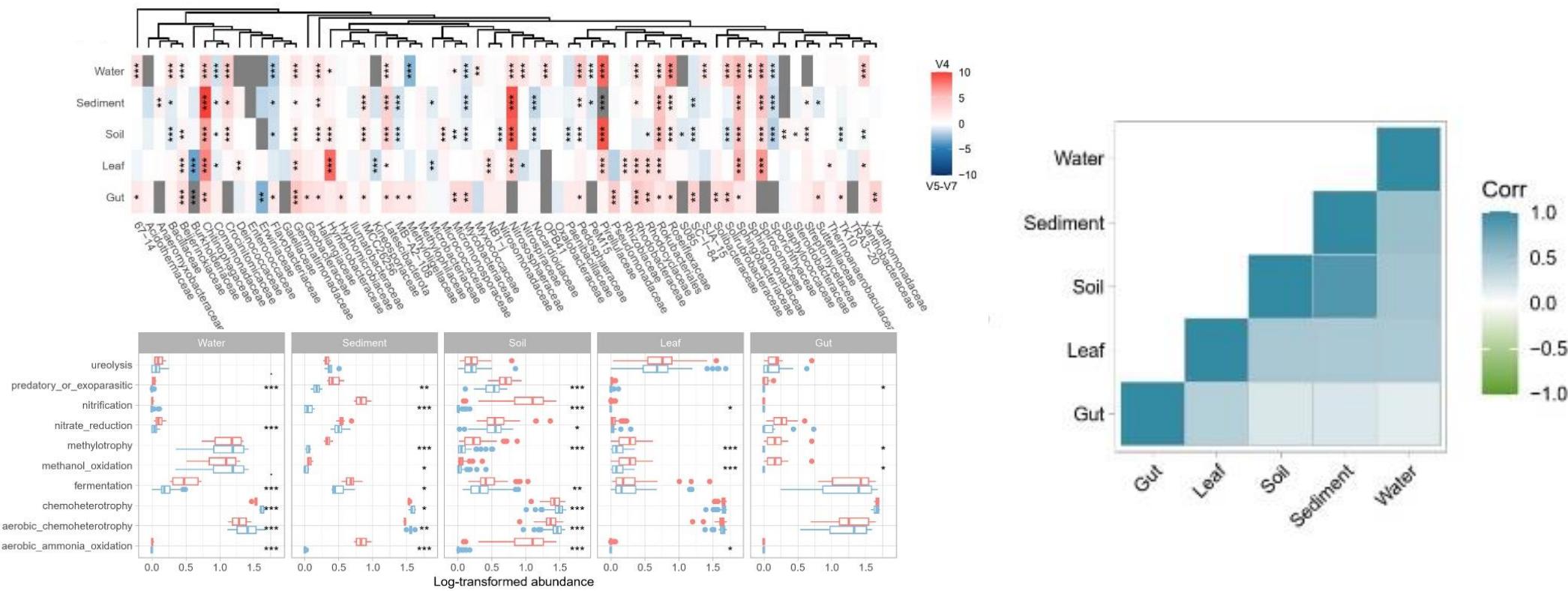
引物效应?

有参聚类?

物种组成/功能预测

微生态模式

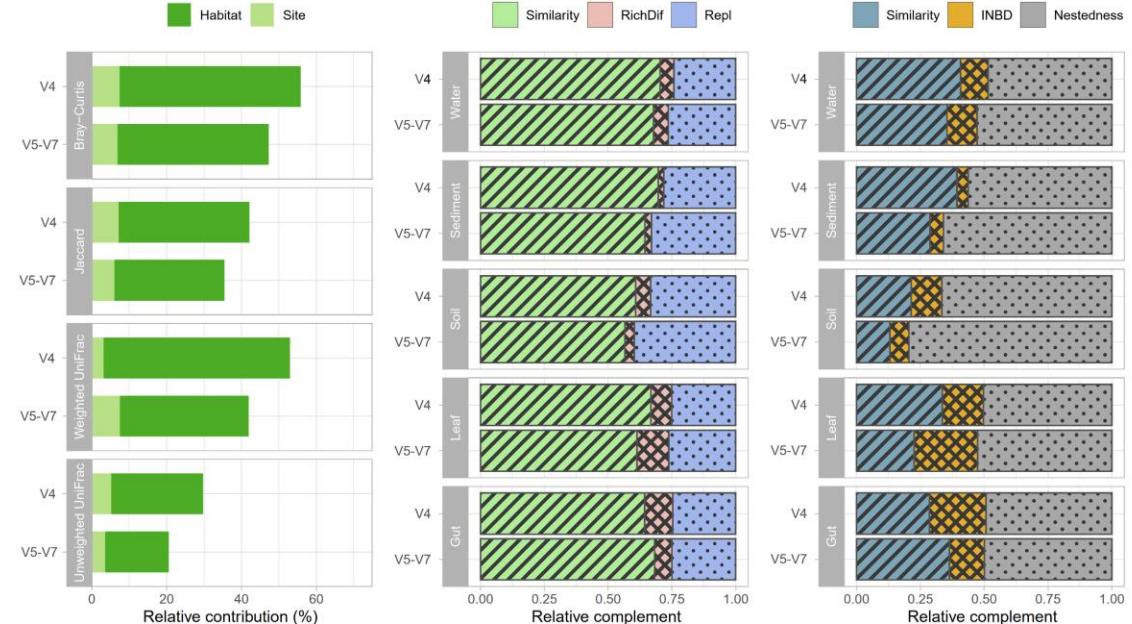
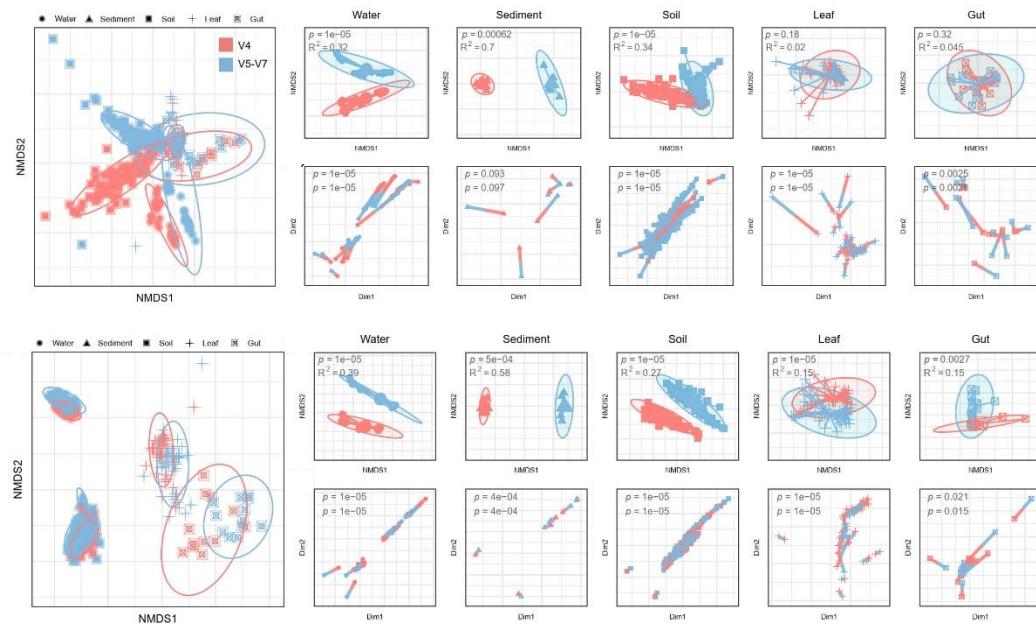
多生境物种分类组成和功能预测中的引物偏倚



由于扩增特异性不同，V4和V5-V7获得显著不同的物种丰度。例如Sphingomonadaceae和Rokubacteriales在V4中丰度更高，而Comamonadaceae和Burkholderiaceae在V5-V7中丰度更高。

虽然生境间组成不同，但分类群的引物偏倚程度一致。表明可通过校正因子缓解引物偏倚。

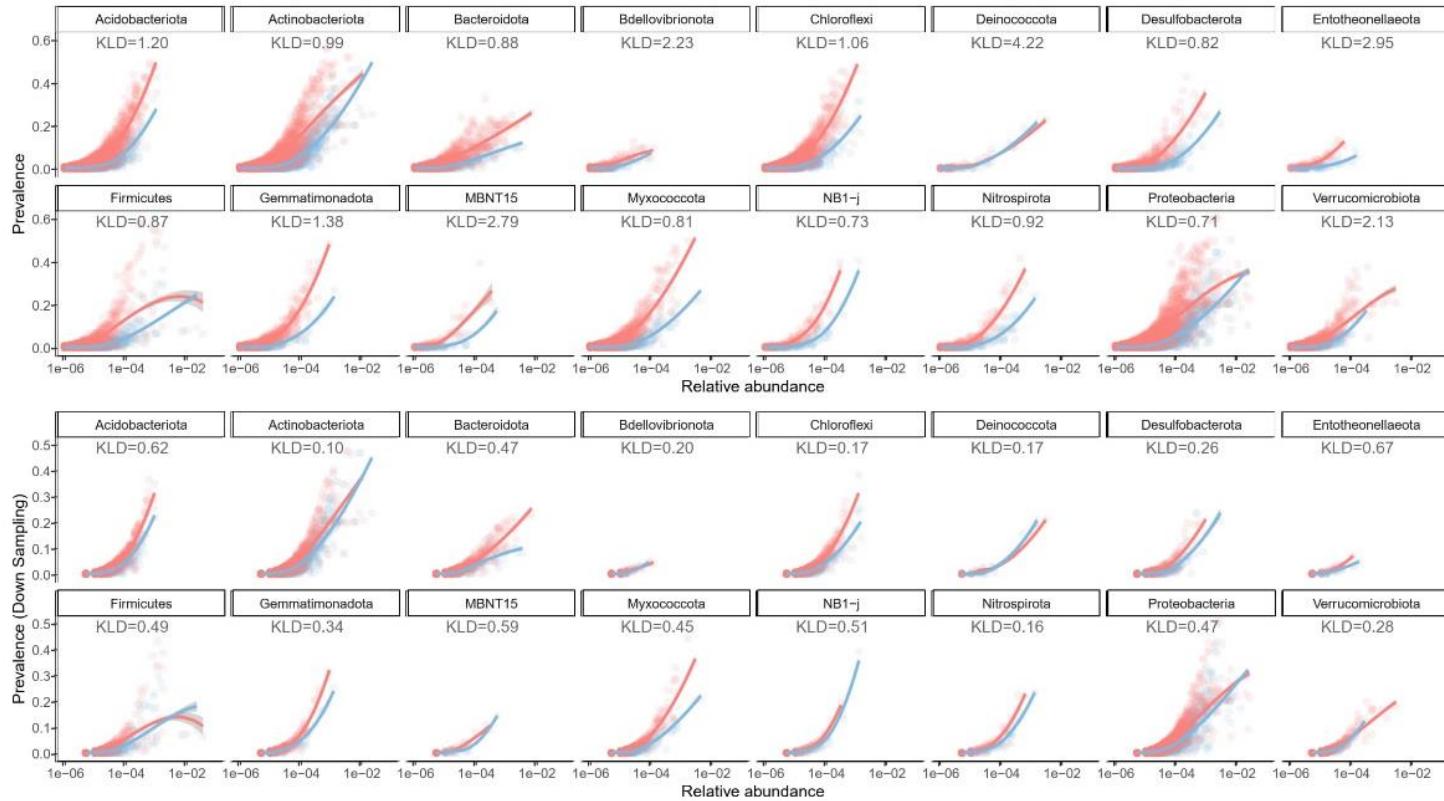
多生境物种分类组成和功能预测中的引物偏倚



在群落水平上，物种分类和功能预测组成在不同生境中均受到引物的显著影响。

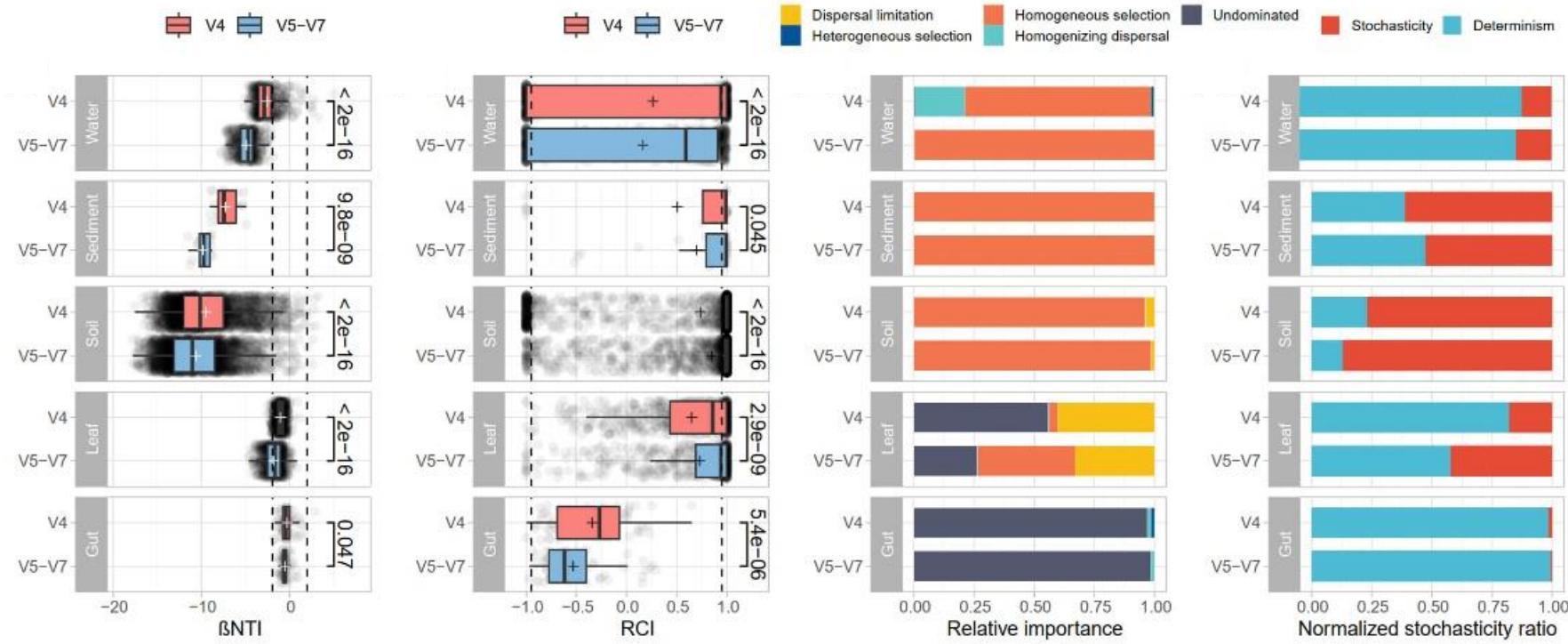
虽然不同引物数据集具有相似的样本分布，但在群落差异量化和beta多样性划分中同样发现引物偏倚，暗示引物选择不仅影响群落结构，也可能在微生态模式中引入偏倚。

多生境微生物模式中的引物偏倚



V4和V5-V7生成了不同的物种丰度分布的微生物模式（SAD）。计算机模拟分析发现该差异归因于引物间**特异性和扩增效率差异**。

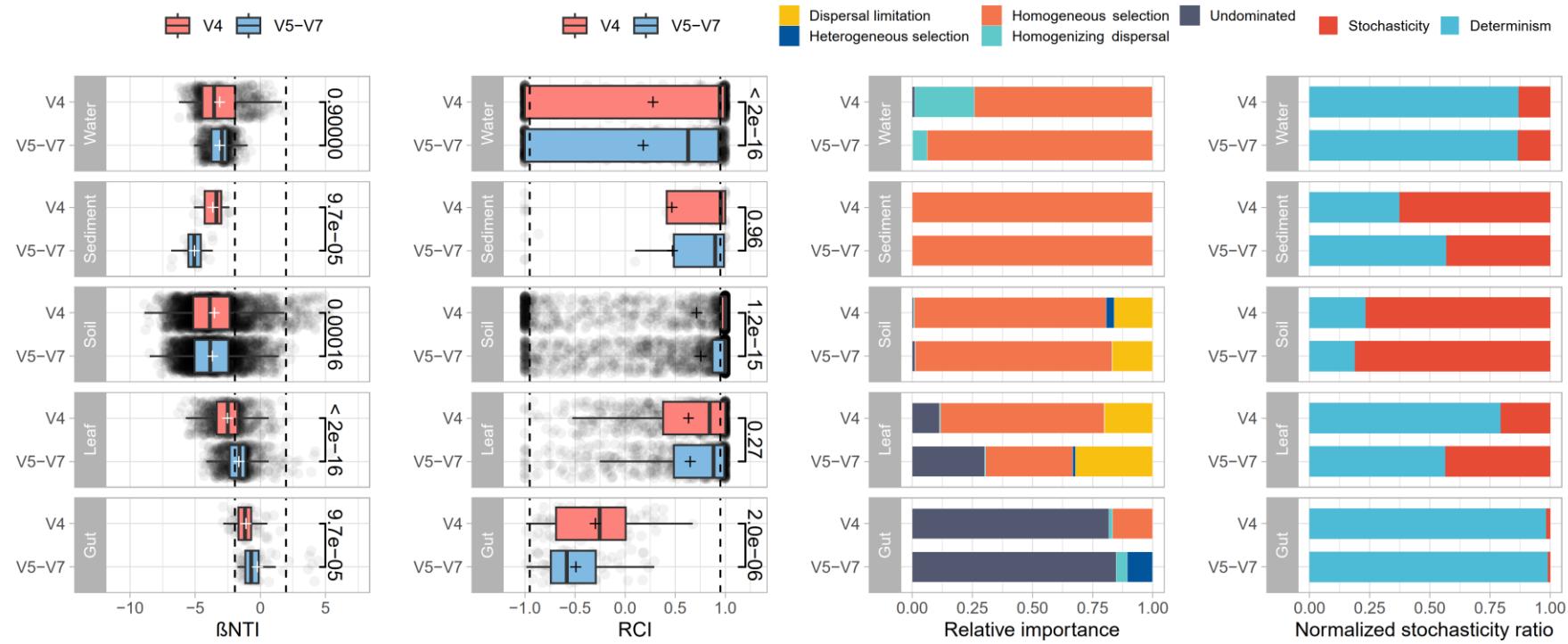
多生境微生物模式中的引物偏倚



群落构建分析发现，不同引物得到的构建过程存在显著差异。这些差异可能来源于群落结构和区域分辨率。V5-V7较大的扩增区域和较高的熵提供了比V4更高的分辨率，从而影响系统发育结构 (β NTI) 和群落构建过程划分。

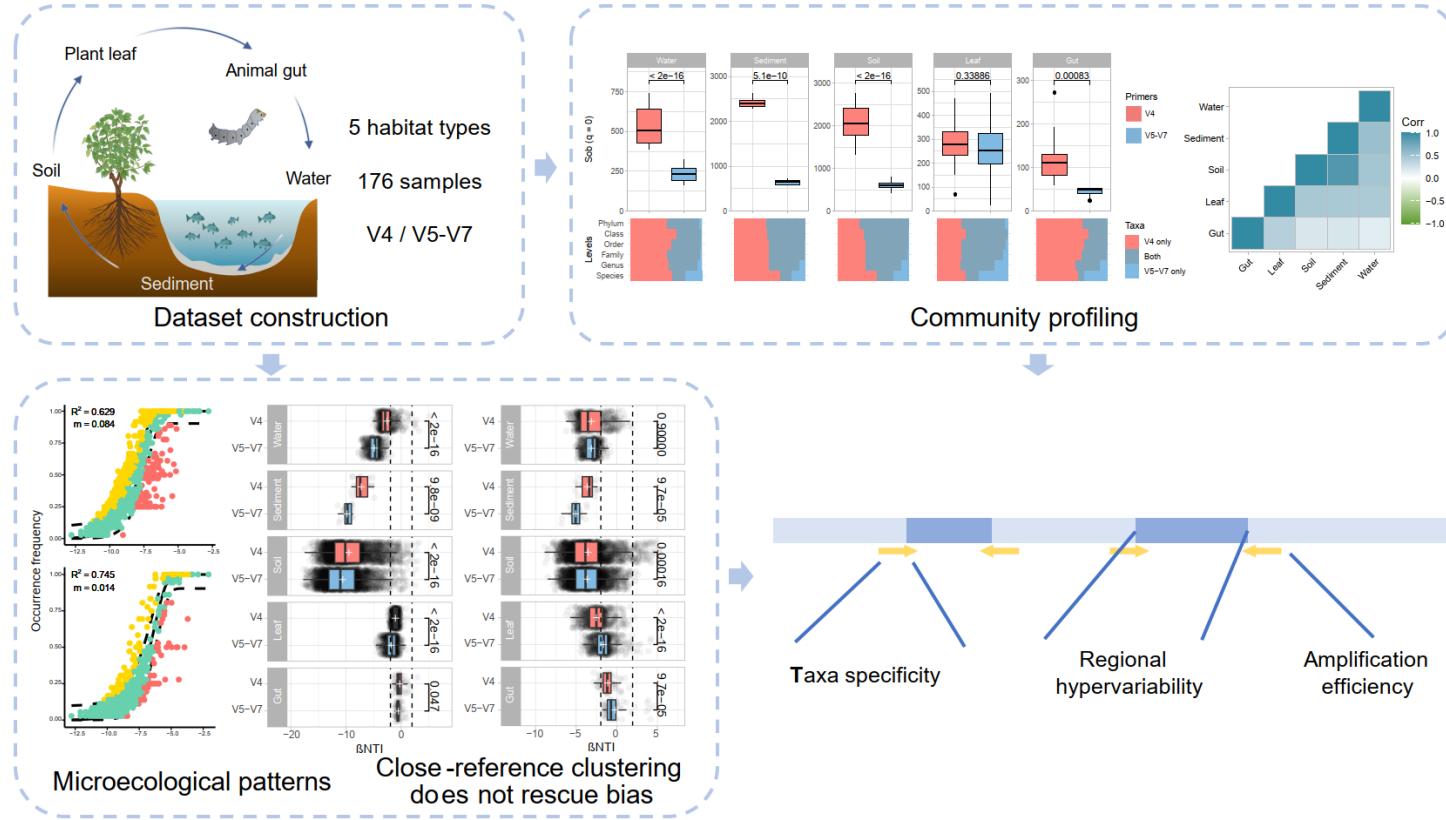
由于群落结构和模型构建均受引物偏倚影响，不同生境的引物偏倚不一致。

有参聚类未减少引物偏倚



有参聚类未显著减少引物偏倚。因此，使用有参聚类分析来源于不同引物的数据集时应纳入引物效应，同时采取必要的策略减少引物偏倚，如丰度校准，信息尺度校正和样本配对。

总结



引物选择影响群落分析和微生态模式

生境间微生态模式的引物偏倚不同

有参聚类无法有效缓解引物偏倚

He, Jintao, Tong Zhou, Xiaoqiang Shen, Nan Zhang, Chao Sun, Shipeng Lu, and Yongqi Shao. 2023.
“Primer Selection Impacts the Evaluation of Microecological Patterns in Environmental Microbiomes.”
iMeta. e135. <https://doi.org/10.1002/imt2.135>



“iMeta”是由成立、肠菌分会和本领域数百位华人科学家合作出版的开放获取期刊，主编由中科院微生物所刘双江研究员和荷兰格罗宁根大学傅静远教授共同担任。目的是发表原创研究、方法和综述以促进宏基因组学、微生物组和生物信息学发展。目标是发表前10%(IF > 15)的高影响力论文。期刊特色包括视频投稿、可重复分析、图片打磨、青年编委、前3年免出版费、50万用户的社交媒体宣传等。2022年的三月、六月和九月期已正式在线出版发行！



主页: <http://www.imeta.science>

出版社: <https://wileyonlinelibrary.com/journal/imeta>

投稿: <https://mc.manuscriptcentral.com/imeta>



office@imeta.science



[iMeta](#)

[宣传片](#)

