

研究报告

凉山州龙肘山锈红杜鹃与薄叶马银花根部真菌分子检测

黄彩微 廖映辉 张琪 丁琼*

(海南大学园艺园林学院 海南 海口 570100)

摘要:【目的】为检验直接分子检测法用于揭示杜鹃花属(*Rhododendron*)植物根部真菌(Root-associated fungi, RAF)组成的有效性。【方法】采用不依赖于培养分子检测技术直接从锈红杜鹃(*R. bureavii*)与薄叶马银花(*R. leptothrium*)的发根(Hair root)提取DNA,用真菌特异性引物扩增rDNA-ITS区、经克隆后测序,对获得的ITS序列进行分析;通过收集NCBI中与本研究的RAF相似性97%以上的所有序列对应的真菌来源(土壤或根系的身份)数据,分析真菌的生态学特性,并用FUNGuild软件提供的方法划分真菌的生态类型。【结果】从两种杜鹃花根部共检测到15种真菌,其中担子菌门(Basidiomycota)真菌3种,子囊菌门(Ascomycota)真菌12种。柔膜菌目(Helotiales)真菌在两种杜鹃花RAF群落中占据优势,并且在两种杜鹃花根系中均检测到该类真菌。此外,两种杜鹃花根部有多种生态类型的RAF共存,包括曾被频繁报道的杜鹃花类菌根菌*Oidiodendron* sp.和*Rhizoscyphus* sp.、内生真菌*Phialocephala fortinii*、共生一致病过渡型真菌*Pezoloma ericae*、外生菌根共生菌*Meliniomyces* sp.,以及腐生型真菌*Myceana* sp.、*Lachnum virgineum*、*Herpotrichia* sp.。【结论】直接分子检测法从两种杜鹃花属植物根部检测到的真菌谱系多样性较高、生态类型复杂,这一方法能较为全面地反映杜鹃花属植物RAF多样性。

关键词: 内转录间隔(ITS)区, 杜鹃花属, 根系共生菌, 序列分析, 系统综述法

Molecular diagnosis of root-associated fungi of *Rhododendron bureavii* and *R. leptothrium* in Longzhou mountain of Liangshan autonomous prefecture

HUANG Cai-Wei LIAO Ying-Hui ZHANG Qi DING Qiong*

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, Haikou, Hainan 570100, China)

Abstract: [Objective] Plant root-associated fungi (RAF) are essential to the ecological processes involving organic matter decomposition, nutrients cycling of ecosystem, and density-dependent regulation of plant populations. Molecular and culture-dependent diagnosis is commonly used to study RAF community. To evaluate the effectiveness of culture-independent molecular technique on depicting the species composition of *Rhododendron* RAF communities. [Methods] DNA was extracted

Foundation item: Natural Science Foundation of Hainan Province (No. 317086)

*Corresponding author: E-mail: dingqiong@hainu.edu.cn

Received: July 28, 2016; **Accepted:** November 15, 2016; **Published online** (www.cnki.net): December 05, 2016

基金项目: 海南省自然科学基金面上项目(No. 317086)

*通讯作者: E-mail: dingqiong@hainu.edu.cn

收稿日期: 2016-07-28; 接受日期: 2016-11-15; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-12-05

from hair roots of *R. bureavii* and *R. leptothrium*, and then fungal ITS region was amplified using fungus-specific primers ITS1F and ITS4. ITS-PCR products were cloned, sequenced, and analyzed. Putative trophic mode and guild of RAF were assigned by linking sequences with metadata obtained from a systematic review of published works on RAF ecology from multiple independent studies, and by functional analysis provided by FUNGuild software. **[Results]** A total of 15 fungal species were identified from hair roots of both *Rhododendron* species. Of these fungi, 3 species are Basidiomycota and 12 species are Ascomycota. The dominant fungal group Helotiales sp. was detected in RAF community of both *Rhododendron* species. Fungal taxa on the two *Rhododendron* plant roots can be assigned to multiple trophic modes and guilds including known ericoid mycorrhizal symbionts *Rhizoscyphus* sp. and *Oidiodendron* sp., as well as repeatedly documented endophyte *Phialocephala fortinii*, symbiotic fungi *Pezoloma ericae*, and ectomycorrhizal *Meliniomyces* sp. In addition, saprotrophs *Myceana* sp., *Lachnum virgineum*, *Herpotrichia* sp. were also common in the RAF community of the two *Rhododendron*. These finding suggests that phylogenetically distant and multiple trophic modes and guilds of fungi co-existing on the *Rhododendron* roots. **[Conclusion]** Culture independent molecular diagnosis used here is fast and reliable for fully revealing the *Rhododendron* plant RAF diversity.

Keywords: Internal transcribed spacer (ITS) region, *Rhododendron*, Root-associated fungi (RAF), Sequence analysis, Systematic review

在自然生境中,植物根系与多样性的土壤真菌互动,这些真菌被称为根部真菌(Root-associated fungi, RAF)^[1]。RAF 不仅能直接或间接地影响植物的生长与适应性,还能参与生态系统的有机质分解、养分循环,以及植物群落的密度制约等过程^[2-3]。早期有关植物 RAF 多样性与功能的认识主要采用基于纯培养的方法鉴定真菌获得^[4-5],然而,由于大多数 RAF 难以在人工培养基上生长,这种方法检测到的真菌谱系与生态类型相对较为单一。直接从环境样品如根系、土壤提取 DNA,并扩增真菌 DNA 条形码片段的技术,被广泛地应用于真菌群落生态学研究^[6-7]。采用这一分子检测技术,近期的研究发现根系与真菌关系的复杂性超出预料:仅从单株植物根系就能检测到多种真菌^[8];同一种植物的 RAF 不仅谱系多样性极高,而且涉及多种生态类型的真菌^[2,9],如温带与北极地区多支系的内生真菌(Endophytic fungi)与菌根真菌(Mycorrhizal fungi)同时侵染植物根系^[10]。公共数据库中核酸数据随分子检测技术发展而快速累积,如何解析基于海量核酸序列而鉴定的真菌分类单元的生态学特性与功能,是近期真菌群落生态学研究中的热点问题之一^[11]。

将基于真菌的核酸序列的分类信息与其对应的环境因子,或标本、纯培养菌株、宿主表型等数据(Metadata)进行关联分析,成为解析环境样品中真菌生态学特性的有效手段^[12],如 Nguyen 等(2016)开发的 FUNGuild 软件,将基于核酸序列的分类信息与对应真菌的 Metadata 相关联,用以推断真菌生态学特性^[13]。如将这一方法应用于划分 RAF 的生态型,将有助于揭示 RAF 群落功能多样性,以及不同层次,如群落(Community)、共位群(Guild)的真菌-宿主互作关系。

杜鹃花科(Ericaceae)植物主要分布在高海拔、冷凉、土壤养分贫瘠的山区。RAF 可以缓解杜鹃花科植物的营养胁迫,增强其环境适应性^[14],进而为其在多物种混合的植物群落中带来竞争优势^[15-16]。杜鹃花科植物 RAF 的有关研究主要集中在欧洲与北美洲地区的帚石楠属(*Calluna*)、欧石楠属(*Erica*)以及越橘属(*Vaccinium*)植物。杜鹃花属(*Rhododendron*)是杜鹃花科中物种最丰富的属,当前对杜鹃花属植物的 RAF 生态学研究主要采用传统的依赖于纯培养的真菌检测技术,并且通常集中于生态功能相似的真菌类群,如菌根真菌或内生真

菌。至今尚不清楚杜鹃花属植物 RAF 是否也包括较高的谱系多样性、多种生态类型的真菌。本研究以我国凉山州的锈红杜鹃(*R. bureavii*)与薄叶马银花(*R. leptothrium*)为材料,采用直接的分子检测法鉴定两种杜鹃花的 RAF 物种组成;采用系统综述(Systematic review)法^[17],从多个独立的研究中收集对应的 Metadata,用以分析真菌的生态类型,同时采用 FUNGuild 软件划分真菌的生态类型,进而评估不依赖于培养的分子检测技术是否能全面反映杜鹃花属植物 RAF 的谱系与功能多样性,为今后全面开展杜鹃花属植物 RAF 群落生态学研究提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 样品采集地

采样地为我国四川省会理县龙肘山(N26°30′–27°30′, E102°06′–102°4′),海拔 3 580 m,位于四川西南部横断山脉南段,西边邻接金沙江河谷,南边为云贵高原,是几个自然地理区的交界处;此区域还处于中国-日本植物区系与中国-喜马拉雅植物区系的交界线附近,是世界杜鹃花最大的分布中心。山体基本为南北走向,属中亚热带西部半湿润气候区,光热条件丰富,日照时数多(年均日照达 1 700 多 h,无霜期达 300 d 左右),蒸发旺盛;雨量集中,干湿季分明(每年的 6–10 月的降雨量可达全年降雨量的 90%左右)。因山体垂直落差大(最大的垂直高差达 2 000 m 以上),其气候的垂直变化也很大,山顶气候较为寒冷、冬季常有积雪,年平均气温在 7 °C 左右^[18]。

1.2 样品采集

在杜鹃花群落中,选取薄叶马银花与锈红杜鹃的成年植株各 1 株,去除地表的枯枝落叶,沿植株的主干追踪到末端发根(Hair root)较多的侧根。因为真菌侵染植物根系可能存在空间自相关性,从以主杆为中心点的 8 个不同的方向追踪发根较多的侧根,以最大限度抽检到多样性的 RAF。将侧根剪下后抖掉表面附着的土壤,分别置于装有 75%酒精的 200 mL 离心管常温保存,带回实验室后置于–80 °C

保存,直到提取根系 DNA。每种杜鹃花采集 8 份根系样品,两种杜鹃花共采集到 16 份样品。

1.3 主要试剂和仪器

Taq DNA 聚合酶、DNA 纯化试剂盒、*Escherichia coli* DH5 α 感受态细胞和 pMD19-T 载体,均购自宝生物工程(大连)有限公司。高通量多样品组织研磨仪,南京先欧仪器制造有限公司;PCR 扩增仪,力康生物医疗科技控股有限公司;电泳仪,北京君意东方电泳设备有限公司;紫外凝胶成像系统,北京五洲东方科技发展有限公司。

1.4 真菌分子检测

1.4.1 DNA 提取:将保存的侧根从离心管中取出后,用流水洗净表面附着的泥土,用无菌水清洗两遍。为最大限度抽检到多样性的 RAF,从每份侧根样品的不同方位剪下 20 段长度约 1 cm 的发根,再用无菌水清洗两遍,放灭菌的滤纸上吸干多余的水分,转移到 1.5 mL 离心管后,分别加入 50 μ L CTAB 提取缓冲液,置于–80 °C 冷冻 2 h 后取出,在粉碎仪上研磨。毛根 DNA 提取中,水浴、抽提、漂洗等环节参照 Sun 等^[19]的方法。

1.4.2 ITS 扩增:采用 PCR 法扩增真菌的内转录间隔区,扩增引物为 ITS1F (5′-CTTGGTCATTAGAG GAAGTAA-3′)和 ITS4 (5′-TCCTCCGCTTATTGAT ATGC-3′)。25 μ L PCR 反应体系:1 μ L 模板 DNA,1 μ L (2.5 mmol/L) dNTPs, 2.5 μ L 10 \times PCR 缓冲液,ITS1F 与 ITS4 引物(10 μ mol/L)各 1 μ L, 1.5 U Taq DNA 聚合酶。PCR 反应程序:95 °C 5 min; 94 °C 40 s, 55 °C 40 s, 72 °C 55 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。将 ITS-PCR 产物在 0.8%的琼脂糖凝胶上电泳,用凝胶成像仪观察、拍照。

1.4.3 PCR 产物克隆及测序:将每种杜鹃花的 8 份 PCR 产物混合后电泳、切胶回收。将回收的 PCR 产物作为外源 DNA,克隆到 pMD19-T 载体,在 16 °C 连接过夜,用 *E. coli* DH5 α 感受态细胞进行转化。从每个真菌克隆文库中随机挑选 48 个呈白斑的克隆,用引物 ITS1F 和 ITS4 扩增;PCR 产物在 0.8%的琼脂糖凝胶上电泳检测。电泳检测呈阳性的 PCR

产物委托生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

1.5 数据分析

在 BioEdit 软件中对真菌的 ITS1-5.8S-ITS2 全序列进行编辑和比对。ITS 序列一致性 (Identity) $\geq 97\%$ 的真菌被视为同一个分类单元 (Operational taxonomical unit, OTU)^[20]。在 NCBI 数据库中检索与 OTUs 代表序列亲缘关系最近的真菌序列, 并采用 MEGA 5.0 构建 NJ 系统发育树 (Neighbor-Joining tree), 结合真菌在系统树上的地位最终推断真菌的分类地位。检测到的真菌 ITS 序列已提交 GenBank, 序列号为 KX609407-KX609421。

为了验证直接分子检测法用于杜鹃花科植物 RAF 研究的有效性, 采用系统综述 (Systematic review) 的方法, 从多个独立的研究结果出发, 全面归纳、总结这些真菌的生态特性。具体而言, 首先在 NCBI 数据库中检索截止至 2016 年 10 月 10 日以前提交的、与本研究检测到的真菌 OTUs 代表序列相似性高达 97% 以上的真菌, 然后, 从 NCBI 数据库和 Web of Science 文献中查询对应真菌的来源, 如宿主身份或土壤等信息的 Metadata, 以推测真菌的生态类型。来自于同一研究、相同宿主或土壤的相同 OTUs 序列不重复计算。与此同时, 采用基于核酸与 Metadata 数据关联分析的 FUNGuild 软件, 将两种杜鹃的 RAF 划到不同的营养型 (Trophic mode) 和共位群 (Guild)。营养型包括: 共生型 (Symbiotroph)、腐生-共生过渡型 (Saprotroph-Symbiotroph)、腐生型 (Saprotroph) 及致病型 (Pathotroph); 共位群包括: 杜鹃花菌根真菌、外生菌根真菌、丛枝菌根真菌、兰科植物菌根真菌、内生真菌 (真菌的菌丝体只局限在植物组织内部, 并且被侵染的植物不表现明显病症)、病原真菌、腐生真菌^[12-13]。

用软件 Estimate S 9 中提供的 Bootstrap 方法估计宿主植物 RAF 物种丰富度, 并用物种累积曲线

评估检测的克隆数是否足以全面地反映两种杜鹃花 RAF 克隆文库中的物种。

2 结果与分析

2.1 两种杜鹃花根系真菌谱系分析

从锈红杜鹃与薄叶马银花 RAF 的 ITS 序列克隆文库中共检测了 96 个克隆, 真菌序列被划分为 15 个分类单元 (OTUs), 其中 8 个 OTUs 来自于薄叶马银花根系, 7 个 OTUs 来自于锈红杜鹃根系。基于真菌 ITS 序列构建的 NJ 系统发育树表明, 15 个 OTUs 分别聚为子囊菌门 (Ascomycota) 及担子菌门 (Basidiomycota) 两大支系 (图 1)。其中子囊菌门有 12 个 OTUs, 担子菌门有 3 个 OTUs。11 个 OTUs 与 NCBI 数据库参考序列一致性 $\geq 97\%$ (表 1)。在子囊菌门中, OTU01 与 *Ascomycota* sp. (JQ272357) 的相似性达 93%, 并且两种真菌在系统发育树上聚为同类的支持率 (Bootstrap 值) 达 100%, 虽然该真菌为未知的子囊菌, 但在系统发育树上与已命名的柔膜菌目类真菌聚为同一支系, 由此推断该真菌可能是柔膜菌目真菌。同时 OTU03 与 *Ascomycota* sp. (GU559096) 有高达 99% 的相似性, 两者在谱系聚类中有 100% 的支持率, 由于其在谱系树中与锤舌菌纲支系聚集, 推断该真菌可能为锤舌菌纲真菌。OTU08 与 OTU13 分别与锤舌菌纲的 *Meliniomyces* sp. (HM230868) 及 *Rhizoscyphus ericae* (JQ272407) 有 99%、95% 的一致性, 两种真菌分别与参考序列聚集在系统发育树上支持率达 100%; 在担子菌门中, OTU14、OTU15 分别与 *Sebacinales* sp. (HQ850092)、*Sebacinales* sp. (HQ850117) 相似性达 95%、98%, 并且在系统发育树上聚为同一支系的支持率高达 100%, 由此鉴定 OTU14 及 OTU15 为亲缘关系较近的两种蜡壳耳目真菌。在 15 种 RAF 中, 80% 真菌能鉴定到目及以下水平, 其中 3 种真菌能鉴定到种, 5 种能到属水平, 1 种能到科水平, 3 种到目水平, 还分别有 3 种仅鉴定到门水平 (图 1、表 1)。

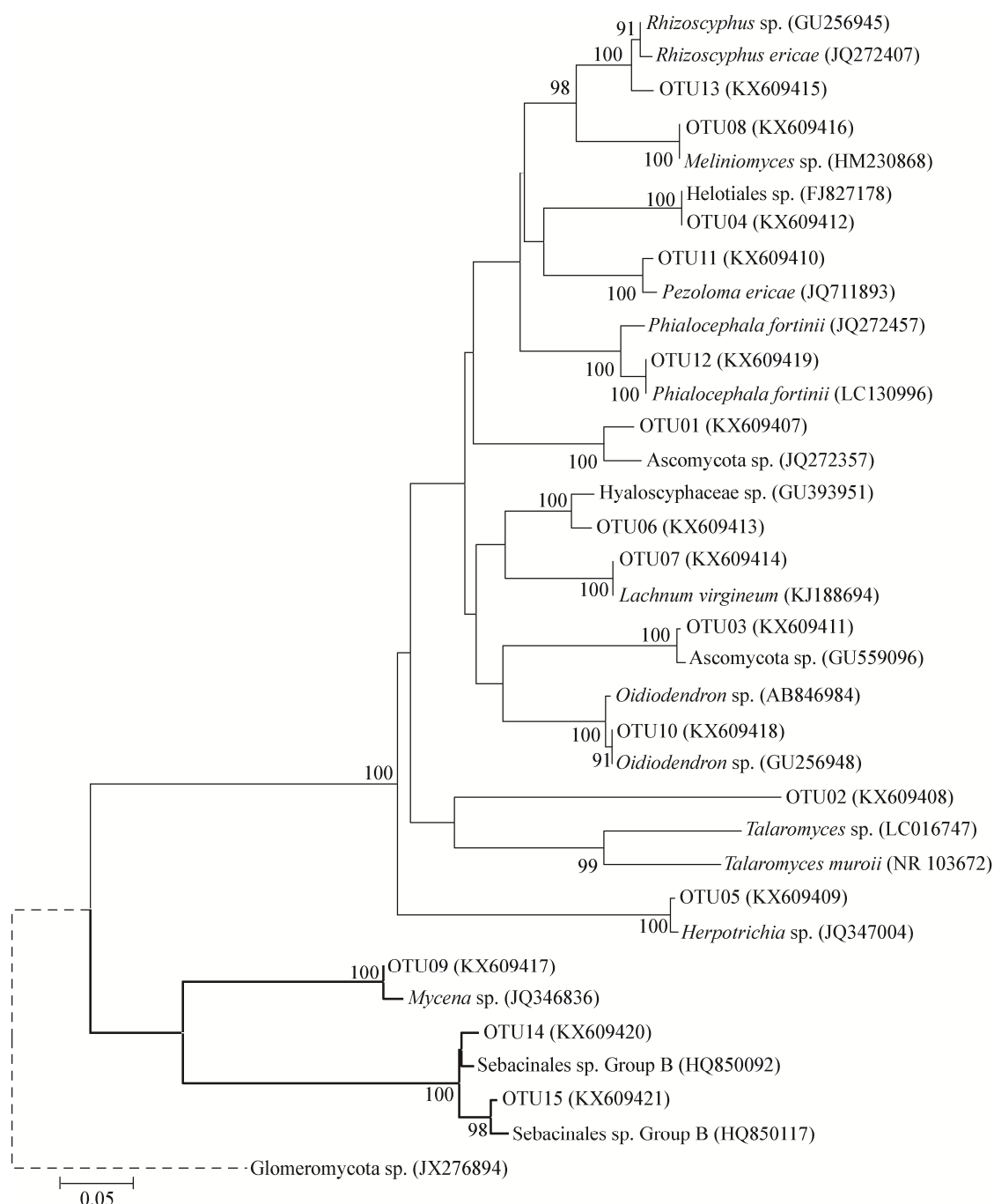


图 1 基于 ITS 序列构建的两种杜鹃花 RAF 的 NJ 系统发育树

Figure 1 NJ phylogenetic tree based on rDNA-ITS sequences of fungi associated with hair roots of *R. bureavii* and *R. leptothrium*

注: Glomeromycota sp. (JX276894) 表示外群; 0.05 指每单位核苷酸的变化; 节点处的数值指 Bootstrap 值, 仅显示高于 85% 的 Bootstrap 值; 括号中的序号表示序列号; 加粗实线: 担子菌门; 不加粗实线: 子囊菌门。

Note: Glomeromycota sp. fungus is used as out group; 0.05 substitutions/site; Numbers at the nodes are bootstrap values which are more than 85%; The number in brackets is the sequence number; Bold solid lines: Basidiomycota; Light solid lines: Ascomycota.

表 1 根部真菌的 ITS 序列分析、真菌的生态型和宿主来源						
Table 1 ITS sequence identity, ecological type and host plant species of root-associated fungi						
分类单元 OTU	鉴定名 Name	BLAST 最接近比对 Closest BLAST match	一致性 Identity (%)	真菌生态学特性		
				Ecological characteristic of fungi		
				营养型 Trophic mode	共位群 Guild	可靠度 Confidence ranking
OTU01	Ascomycota sp.1	Ascomycota sp. (JQ272357)	484/519 (93%)	-	-	-
OTU02	Ascomycota sp.2	Talaromyces sp. (LC016747)	173/188 (92%)	-	-	-
OTU03	Ascomycota sp.3	Ascomycota sp. (GU559096)	498/503 (99%)	-	-	Pinus sylvestris ¹ (ECM); Soil ²
OTU04	Helotiales sp.	Helotiales sp. (FJ827178)	550/553 (99%)	-	-	Carex sp. ³ (AM); Picea abies ⁴ (ECM); Potentilla sp. ³ (AM); Pseudotsuga menziesii ⁵ (ECM); Soil ⁶
OTU05	Herpotrichia sp.	Herpotrichia sp. (JQ347004)	478/482 (99%)	Saprotroph	Undefined Saprotroph	Probable Calamagrostis purpurea ⁶ (AM); Calluna vulgaris ⁷ (ERM); Carex bigelowii ⁸ (AM); Cedrus libani ⁷ (AM); Colobanthus quitensis ⁸ (AM); Festuca Dryas octopetala ⁹ (AM); Equisetum arvense ¹⁰ (AM); Festuca paniculata ⁹ (AM); Juniperus sp. ¹¹ (AM); Lycopodium sp. ¹² (AM); Microthlaspi perfoliatum ¹³ (AM); Picea abies ^{4,14,*} (ECM); Pinus arizonica ¹⁵ (ECM); P. monticola ¹⁶⁻¹⁷ (ECM); P. mugo ¹¹ (ECM); P. nigra ¹⁸ (ECM); P. sylvestris ³ (ECM); Polygonum sp. ³ (AM); Rhododendron ferrugineum ¹⁹ (ERM); Salix arctica ¹⁸ (ECM); Salix sp. ¹⁹ (ECM); Sanionia uncinata ²⁰ (ECM); Soil ^{21-26,***}
OTU06	Hyaloscyphaceae sp.	Hyaloscyphaceae sp. (GU393951)	491/510 (96%)	-	-	-
OTU07	Lachnum virgineum	Lachnum virgineum (KJ188694)	500/508 (98%)	Saprotroph	Undefined Saprotroph	Probable Betula ermanii ² (ECM); Carex sp. ³ (AM); Decalepis arayalpathra (AM); Deschampsia flexuosa ²⁷⁻²⁹ (AM); Dryas octopetala ⁹ (AM); Enkianthus cernuus ³⁰ (ERM); Epacris microphylla ³¹ (ERM); Erica caffra ³² (ERM); E. glumiflora ³⁰ (ERM); E. nemorosa ³² (ERM); Fagus sylvatica ³² (ECM); Festuca paniculata ⁹ (AM); Kobresia sp. ³³ (AM); Ledum palustre ³⁴ (ERM); Lithocarpus densiflorus ³⁴ (ECM); Nyssa sylvatica (AM); Pinus pinaster ³⁶ (ECM); P. sylvestris ³⁵ (ECM); Poaceae sp. ³⁶ (AM); Polygonum sp. ³ (AM); Populus trichocarpa ³⁷ (ERM); Potentilla sp. ³ (AM); Pseudorchis albid ³⁷ (ERM); Pyrola sp. ³⁸ (ERM); Rhododendron dauricum ³⁹ (ERM); R. lochiae ³⁹ (ERM); R. moulinense ⁴⁰ (ERM); Rhododendron sp. ⁴¹ (ERM); Trientalis europaea ²⁹ (AM); V. membranaceum ⁴² (ERM); Vaccinium spp. ^{43,*} (ERM); Soil ^{22,44}

(待续)

OTU08	<i>Meliniomyces</i> sp. (HM230868)	504/506 (99%)	Saprotroph- Symbiotroph	Ectomycorrhizal	Probable	(续表)
OTU09	<i>Mycena</i> sp. (JQ346836)	640/646 (99%)	Saprotroph	Undefined	Probable	
OTU10	<i>Oridodendron</i> sp. (GU256948)	510/512 (99%)	Pathotroph- Symbiotroph	Ericoid Mycorrhizal	Probable	
OTU11	<i>Pezoloma ericae</i> (JQ711893)	519/532 (98%)	Pathotroph- Symbiotroph	Biotroph- Undefined	Probable	
OTU12	<i>Phialocephala fortinii</i> (LC130996)	491/494 (99%)	Pathotroph- -Symbiotroph	Undefined Endophyte	Highly Probable	
OTU13	<i>Rhizoscyphus</i> sp. <i>Rhizoscyphus ericae</i> (JQ272407)	452/476 (95%)	Pathotroph- Symbiotroph	Ericoid Mycorrhizal	Highly Probable	(待续)

(续表)			
OTU14	Sebacinales sp.1 (HQ850092)	584/624 (95%)	—
OTU15	Sebacinales sp.2 (HQ850117)	620/627 (98%)	—
<i>Rhododendron decorum</i>⁴⁵ (ERM); <i>R. neriflorum</i>⁸⁸ (ERM)			

Note: Bold fonts indicate the plants of Ericaceae; *: Unpublished research; 1–88: Published research. 1. Lindahl et al, 2010. *International Society for Microbial Ecology*, 4(7): 872-881; 2. Taylor et al, 2014. *Ecology*, In press; 3. Gao et al, 2016. *Mycologia*, 108(2): 281-91; 4. Menkis et al, 2005. *Mycorrhiza*, 16(1): 33-41; 5. Benucci et al, 2016. *Mycorrhiza*, In press; 6. Jensen et al, 2011. *Methods in Ecology and Evolution*, 2(2): 197-201; 7. Oskay et al, 2011. *Plant Disease*, 95(2): 222; 8. Rosa et al, 2010. *FEMS Microbiology Ecology*, 73(1): 178-189; 9. Bjorbaekmo et al, 2010. *BMC Plant Biology*, 10: 244; 10. U'Ren et al, 2012. *American Journal of Botany*, 99(5): 898-914; 11. Schneider et al, 2009. *Mycological Research*, 113(8): 887-896; 12. Pawlowska et al, 2014. *Symbiosis*, 63(2): 87-97; 13. Glynou et al, 2015. *Environmental Microbiology*, In press; 14. Menkis et al, 2006. *Plant pathology*, 55(1): 117-129; 15. U'ren et al, 2010. *Microbial Ecology*, 60(2): 340-353; 16. Larkin et al, 2012. *Fungal Ecology*, 5: 252-260; 17. Ganley & Newcombe, 2006. *Mycological Research*, 110(3): 318-327; 18. Hirose et al, 2013. *Polar Biology*, 36: 919-924; 19. Osono et al, 2014. *Polar Science*, 8(2): 207-216; 20. Zhang et al, 2013. *Extremophiles*, 17(5): 757-765; 21. Taylor et al, 2016. *Ecology Letters*, In press; 22. Cox et al, 2016. *Ecology Letters*, 9(10): 1127-1135; 24. Hartmann et al, 2009. *Environmental Microbiology*, 11(12): 3045-3062; 25. Kuhnert et al, 2012. *Microbial Ecology*, 64(1): 79-90; 26. Timling et al, 2014. *Molecular Ecology*, 23(13): 3258-3272; 27. Poosakkannu et al, 2015. *Environmental Microbiology Reports*, 7(1): 111-122; 28. Vralstad et al, 2002. *New Phytologist*, 155(1): 131-148; 29. Tejesvi et al, 2013. *Mycorrhiza*, 23(1): 1-10; 30. Obase & Matsuda, 2014. *Mycorrhiza*, 24(8): 635-644; 31. Williams et al, 2004. *Australian Mycologist*, 23: 94-104; 32. Floren et al, 2015. *PLoS One*, 10(11): E0143566; 33. Gao & Yang, 2010. *Mycorrhiza*, 20(4): 281-287; 34. Bergemann & Garbelotto, 2006. *Canadian Journal of Botany*, 84(9): 1380-1394; 35. Yarwood et al, 2009. *FEMS Microbiology Ecology*, 70(1): 151-162; 36. Luo et al, 2014. *PLoS One*, 9(7): E103753; 37. Kohout et al, 2013. *Fungal Ecology*, 6(1): 50-64; 38. Hynson & Bruns, 2009. *Proceedings Biological Sciences*, 276(1675): 4053-4059; 39. Bougoure & Cairney, 2005. *Environmental Microbiology*, 7(11): 1743-1754; 40. Liao et al, 2016. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 44(6): 432-437; 41. Baird et al, 2014. *Southeastern Naturalist*, 13(1): 1-25; 42. Gorzelak et al, 2012. *Fungal Ecology*, 5(1): 36-45; 43. Ishida & Nordin, 2010. *Soil Biology and Biochemistry*, 42: 234-243; 44. Waldrop et al, 2006. *Ecology Letters*, 9(10): 1127-1135; 45. Sun et al, 2012. *PLoS ONE*, 7(11): E49867; 46. Ogura-Tsujita et al, 2009. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 276: 761-767; 47. Kinoshita et al, 2016. *American Journal of Botany*, 103(2): 207-220; 48. Wu et al, 2013. *Current Microbiology*, 66(1): 40-48; 49. Taylor et al, 2007. *Environmental Microbiology*, 9(5): 1329-1334; 50. Taylor et al, 2008. *Molecular Ecology Resources*, 8(4): 742-752; 51. Edwards & Zak, 2010. *Molecular Ecology*, 19(7): 1469-1482; 52. Kjoller et al, 2010. *Fungal Ecology*, 3: 205-214; 53. Buscardo et al, 2012. *Soil Biology and Biochemistry*, 46: 136-144; 54. Diedhiou et al, 2009. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(10): 2206-2213; 55. Bzdzyk et al, 2016. *Forests*, In press; 56. Zheng et al, 2010. *Biodiversity Science*, 18(1): 76-82; 57. Zhang et al, 2009. *Mycorrhiza*, 19(6): 417-23; 58. Wurzbarger et al, 2012. *Evolutionary Ecology*, 2(1): 65-79; 59. Usuki et al, 2003. *Mycoscience*, 44(2): 97-102; 60. Vohnik et al, 2005. *Symbiosis*, 40: 87-96; 61. Okuda et al, 2011. *Mycoscience*, 52: 425-430; 62. Baird et al, 2014. *Southeastern Naturalist*, 13(6): 219-237; 63. Hambleton et al, 1998. *Mycologia*, 90(5): 854-869; 64. Baba et al, 2016. *Microbes and Environments*, In press; 65. Sigler & Gibas, 2005. *Studies in Mycology*, 53: 63-74; 66. Vallino et al, 2010. *FEMS Microbiology Ecology*, 75(2): 321-31; 67. Kernaghan & Patriquin, 2011. *Microbial Ecology*, 62(2): 460-473; 68. Kernaghan & Patriquin, 2011. *Microbial Ecology*, 62(2): 460-473; 69. Hazard et al, 2014. *FEMS Microbiology Ecology*, 87(3): 586-600; 70. Bougoure et al, 2007. *Molecular Ecology*, 16(21): 4624-36; 71. Korkama et al, 2006. *New Phytologist*, 171(4): 815-824; 72. Stenstrom et al, 2013. *Scandinavian Journal of Forest Research*, In press; 73. Jones et al, 2012. *Applied Soil Ecology*, 60: 29-40; 74. Artz et al, 2007. *Microbio Ecology*, 54(3): 508-522; 75. Grunig et al, 2004. *Fungal Genetics and Biology*, 41(7): 676-687; 76. Vohnik et al, 2013. *Fungal Ecology*, 6(4): 281-292; 77. Menkis et al, 2002. *Canadian Journal of Botany*, 80(12): 1239-1249; 78. Menkis et al, 2002. *Canadian Journal of Botany*, 80(12): 1239-1249; 79. Bent et al, 2011. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(10): 3351-3359; 80. Teste et al, 2012. *Plant and Soil*, 360(1): 333-347; 81. Pickles et al, 2015. *Mycorrhiza*, 25(7): 517-531; 82. Kiyuna et al, 2012. *Mycoscience*, 53: 446-459; 83. Grelet et al, 2010. *New Phytologist*, 188(1): 210-22; 84. Uroz & Heinonsalo, 2008. *FEMS Microbiology Ecology*, 65(2): 271-278; 85. Girlanda et al, 2002. *New Phytologist*, 155(3): 481-498; 86. Gorfer et al, 2007. *Mycological Research*, 111(7): 850-855; 87. Timling et al, 2012. *Ecosphere*, 3(11): 111; 88. Selosse et al, 2007. *New Phytologist*, 174(4): 864-878.

2.2 两种杜鹃花 RAF 类群组成

锈红杜鹃与薄叶马银花根系检测的 15 种真菌可以划分到子囊菌门及担子菌门, 涉及 3 个纲 6 个目。其中, 在子囊菌门的 12 种真菌中, 锤舌菌纲(*Leotiomycetes*)的柔膜菌目(*Helotiales*) 5 种, 锤舌菌目(*Leotiales*) 1 种, 树粉孢属(*Oidiodendron*) 1 种, (*Meliniomyces*) 1 种; 座囊菌纲(*Dothideomycetes*)的格孢菌目(*Pleosporales*) 1 种, 还有 3 种是未知的子囊菌门真菌; 3 种担子菌门真菌均来自于伞菌纲(*Agaricomycetes*), 包括蜡壳耳目(*Sebacinales*) 2 种, 伞菌目(*Agaricales*) 1 种。其中, 在纲水平上, 锤舌菌纲为最大类群, 占 53%, 其次为伞菌纲, 占 20%, 座囊菌纲的真菌占 7%。在目水平上, 柔膜菌目是两种杜鹃花 RAF 物种的优势类群, 所占比例最高(33%), 其次是蜡壳耳目(13%), 伞菌目、格孢菌目、树粉孢属以及 *Meliniomyces* 各占 7% (图 2)。

2.3 两种杜鹃花 RAF 生态学特性

通过核酸序列检索, 检测到的 15 种 RAF 中有

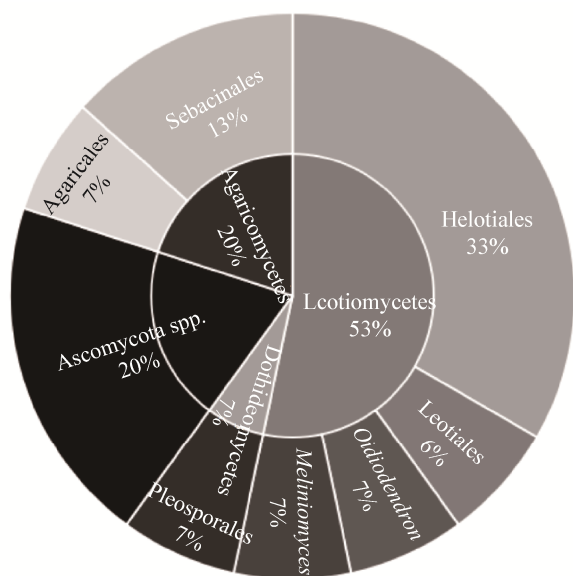


图 2 锈红杜鹃与薄叶马银花根部真菌类群组成

Figure 2 Compositional structure of root-associated fungal community of *R. bureavii* and *R. leptothrium*

注: 图中内圈为纲, 外圈为目。

Note: The inner circle in figure is grouped by class and the outer circle is grouped by order.

11 种真菌在 NCBI 中能检索到相似性高达 97% 以上的真菌序列, 这样的序列共 233 条, 来自于 154 个独立的研究。共有 6 种真菌在 NCBI 中的同源序列较多, 介于 18 至 48 条之间, 来源于根系和土壤, 根系涉及的植物类型有: 杜鹃花菌根(ERM)植物、外生菌根(ECM)植物、丛枝菌根(AM)植物、兰花菌根(ORM)植物。OTU10 *Oidiodendron* sp. 的真菌序列中, 杜鹃花宿主植物比例最高达 48.6%, 其次是 ECM 植物(28.6%), 此外尚有 5.7%、2.9% 及 14.3% 的真菌序列分别来自于 AM 植物、ORM 植物、及土壤(图 3A); OTU07 *Lachnum virgineum* 主要来自于 ERM 植物(37%), 其次是 AM 植物(35.1%) 和 ECM 植物(16.2%), 还有 2.7% 和 8.1% 的序列分别来自 ORM 植物和土壤(图 3B); OTU11 *Pezoloma ericae* 的宿主报道最多的是 ECM 植物(46.4%) 和 ERM 植物(25%), AM 植物和土壤来源分别占 10.7% 和 17.9% (图 3C); OTU12 *Phialocephala fortinii* 的宿主以 ECM 植物为主, ERM 也高达 20.8%, AM 植物与 ORM 植物分别占 6.2% 和 4.2%, 还有 12.5% 源自土壤(图 3D); OTU05 *Herpotrichia* sp. 主要源自 AM 植物(34.3%)、ECM 植物(34.3%) 以及土壤(25.7%), ERM 植物只占 5.7% (图 3E); OTU09 *Mycena* sp. 在 ERM 植物中没有报道过, 在 AM 植物、ECM 植物、ORM 植物及土壤的报道分别占 11.1%, 27.8%, 27.8%, 33% (图 3F)。

FUNGuild 软件分析结果表明, 从两种杜鹃花根部真菌群落检测到的 15 种真菌中, 有 5 种被认为有较高或很高的可能性是共生型真菌, 有 3 种被认为有可能或较高可能为腐生真菌。在 5 种共生型真菌中, 有两种真菌(OTU10 和 OTU13)为高度确定的杜鹃花菌根真菌, 还有一种真菌(OTU12)为高度确定的内生真菌, OTU08 极可能为菌根型真菌(表 1)。从检测到的真菌序列数来看, 共生型的真菌序列数占 24%; 腐生型真菌序列数占 15%; 营养型不确定的真菌序列数占 61%。被确定为杜鹃花科菌根真菌的序列数占 4%; 暗色有隔菌(OTU12)是极为确定的内生真菌, 其序列多达 11% (图 4)。

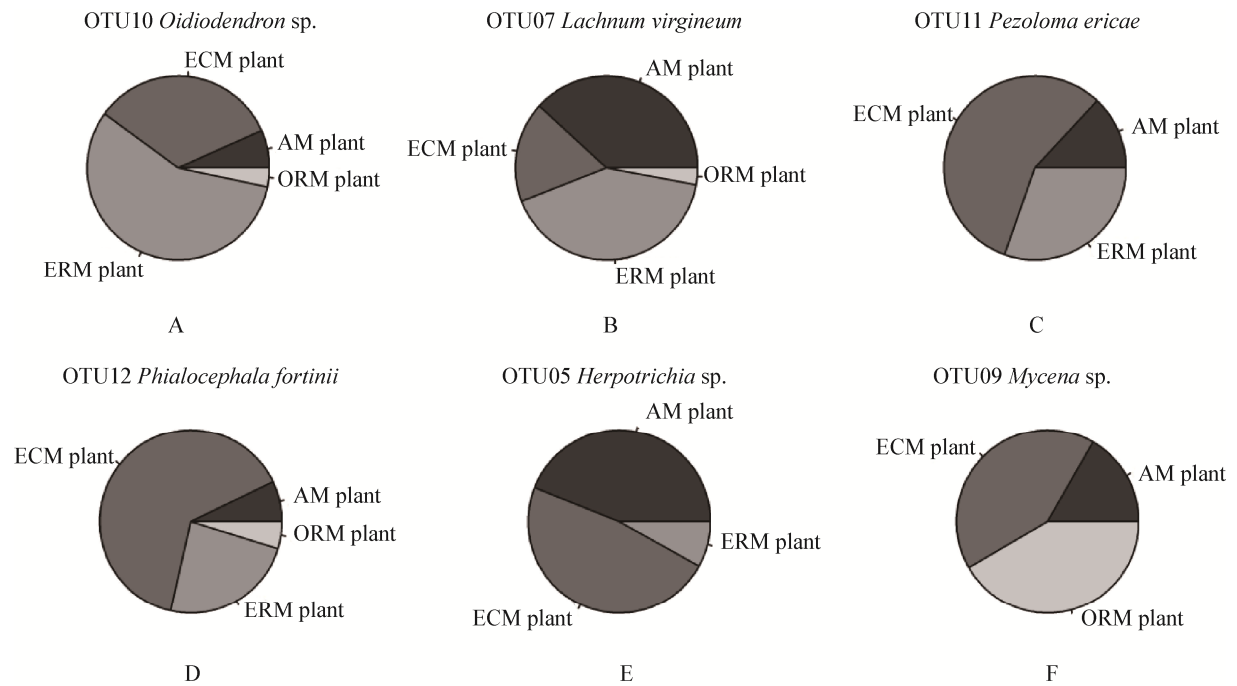


图3 NCBI 中与锈红杜鹃、薄叶马银花根部真菌 ITS 序列高相似性(97%)的真菌来源
Figure 3 The sources of fungi which displayed more than 97% sequences identity with target fungi associated with root of *R. bureavii* and *R. leptothrium*

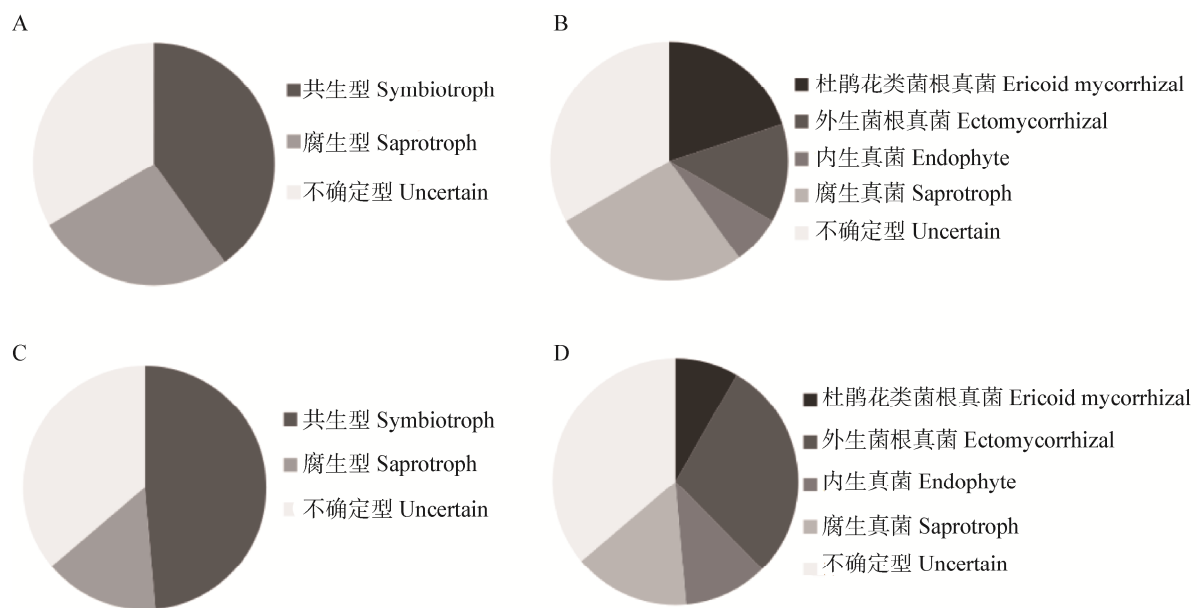


图4 两种杜鹃花根部真菌群落中不同营养型、共位群真菌物种数百分比与序列数百分比
Figure 4 Percentage of species and sequences in different trophic mode and guild of fungi associated with the two *Rhododendron*
注: A: 不同营养型真菌物种数百分比; B: 不同营养型真菌序列数百分比; C: 不同共位群真菌物种数百分比; D: 不同共位群真菌序列数百分比.

Note: A: Percentage number of species grouped by trophic mode; B: Percentage number of sequences grouped by trophic mode; C: Percentage number of species grouped by guild; D: Percentage number of sequences grouped by guild.

2.4 真菌克隆的物种累积曲线

锈红杜鹃与薄叶马银花根部检测的真菌分别为7种和8种,用Bootstrap法估计的物种数分别达8种和9种。物种累积曲线(图5)显示,随着检测的真菌克隆数增加,被检测到的真菌物种数增加。然而,当检测的真菌ITS序列克隆数达到30个以上,真菌物种数增加的趋势变平缓。可见,对于锈红杜鹃以及薄叶马银花的RAF的克隆文库,检测48个真菌克隆已能够较全面地反映各自的RAF物种组成。

3 结论与讨论

近期,采用不依赖于培养的分子检测技术发现植物根系与真菌关系的复杂性超出预料,同一种植物的RAF不仅谱系多样性极高,而且涉及多种生态类型的真菌^[2,9-10,21]。本研究采用不依赖于培养的直接分子检测技术在两种杜鹃花属植物根部检测到15种真菌,这些真菌的谱系多样性较高,既有子囊菌门真菌(12种),也有担子菌门真菌(3种);此外,检测到的真菌的生态类型较为丰富,包括曾被频繁报道的ERM共生菌 *Oidiodendron* sp.和 *Rhizoscyphus* sp.、内生真菌 *Phialocephala fortinii*、外生菌根共生菌 *Meliniomyces* sp.,腐生型真菌 *Myceana* sp.、*Lachnum virgineum*、*Herpotrichia* sp.。

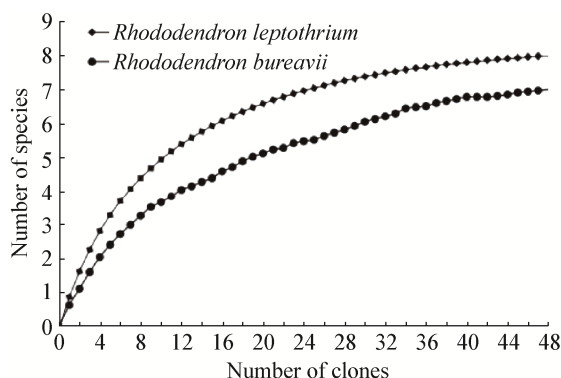


图5 基于克隆数的根系真菌物种累积曲线

Figure 5 Accumulation curves of fungal species based on the number of clones of root-associated fungi of *R. bureavii* and *R. leptothrium*

其中, *Oidiodendron* sp.与 *Rhizoscyphus* sp.占本研究的RAF克隆文库总序列的4%,这两种真菌在以往的研究中通过纯培养及回接实验证实是典型的杜鹃花类菌根真菌^[22],并且在澳大利亚的杜鹃花属(*Rhododendron*)^[23],以及加拿大的越橘属(*Vaccinium*)^[24]等植物根系中均分离培养到这两类真菌;本研究检测到的共生型真菌 *P. fortinii* (OTU12),占RAF克隆文库总序列的11%。该真菌又被称为暗色有隔真菌(Dark septate endophytes, DSE),是一种典型的内生真菌,在杜鹃花科不同属,如越橘属(*Vaccinium*)^[25]、鹿蹄属(*Pyrola*)^[20]、以及未发表的帚石楠属(*Calluna*)、杜鹃花属(*Rhododendron*)等植物根系中均有报道,并且有回接实验证实 *P. fortinii* 与杜鹃花根系共生^[26],此外,这种真菌在未发表的兰科植物 *Chloraea gaviu* 以及外生菌根宿主植物 *Norway spruce* 中有报道^[27]。担子菌门的蜡壳耳目真菌 *Sebacinales* spp. (OTU14, OTU15)是两杜鹃花RAF群落的优势种之一,该类真菌在欧洲的火红杜鹃(*R. neriiflorum*)^[28]、我国的大白杜鹃(*R. decorum*)^[19]、银叶杜鹃(*R. argyrophyllum*)^[29]的根系中被检测到,这类真菌也常被报道与外生菌根植物共生。被划为腐生型的3种真菌中, *Mycena* sp. (OTU09)在多种兰科植物^[30-31]、松科植物^[27]中均有报道,该真菌在我国海南尖峰岭地区的海南杜鹃与毛绵杜鹃根部也检测到^[32]。有稳定性同位素研究证实, *Mycena* 可以成为兰科植物的菌根共生伙伴^[30]。上述研究表明,RAF群落物种丰富、生态类型多样。由于只有少数RAF能培养,并且采用传统纯培养法的研究只关注一类真菌,如内生真菌或菌根真菌^[33-34],从而不能相对完整地揭示RAF组成。未来的杜鹃花RAF研究有必要采用直接的分子检测技术,无偏好地检测所有RAF,以期全面揭示地下植物与真菌互作的多样性与复杂性。

随着公共数据库中核酸序列数据的累积,微生物学家正致力于推动基于核酸序列的分类单元与相应的Metadata直接关联,进而能从生态学的角度系统地解析环境微生物分类单元的生态功能^[11]。例

如, Nguyen 等(2016)将真菌的分类信息直接与环境因子、培养物、宿主表型等信息的 Metadata 关联, 进而将海量的核酸序列划分成有生态学意义的真菌组群, 如营养型、共位群^[12]。本研究采用这一方法划分两种杜鹃花 RAF 的生态型, 得到与 Systematic review 法分析的相似结果。未来的杜鹃花 RAF 研究中, 如应用这一方法划分 RAF 的生态型, 将有助于推动 RAF 群落生态学研究从多样性扩展到功能特性解析, 以及揭示不同层次(群落、功能群)的真菌-宿主互作关系。值得注意的是, 杜鹃花科植物根部的某些真菌-宿主互作关系严格上来讲可能非菌根共生关系, 但是这些 RAF 可能通过促进有机质分解并释放养分为植物带来间接的利益。Wurzburger 等(2012)在杜鹃花的 ERM 子囊菌中观察到一些 MCO 基因序列, 这些基因与漆酶相关, 这类氧化酶可能有助于 ERM 真菌从有机质丰富的土壤中获得养分^[35]。采用直接的分子检测技术, 全面开展我国杜鹃花 RAF 多样性研究, 必将有助于揭示与 RAF 有关的生态系统功能及多样性维持机制。

参 考 文 献

- [1] Vandenkoornhuyse P, Husband R, Daniell TJ, et al. Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem[J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11(8): 1555-1564
- [2] Toju H, Sato H, Yamamoto S, et al. How are plant and fungal communities linked to each other in belowground ecosystems? A massively parallel pyrosequencing analysis of the association specificity of root-associated fungi and their host plants[J]. *Ecology and Evolution*, 2013, 3(9): 3112-3124
- [3] Wehner J, Powell JR, Muller LAH, et al. Determinants of root-associated fungal communities within Asteraceae in a semi-arid grassland[J]. *Journal of Ecology*, 2014, 102(2): 425-436
- [4] Ahlich K, Sieber TN. The profusion of dark septate endophytic fungi in non-ectomycorrhizal fine roots of forest trees and shrubs[J]. *New Phytologist*, 1996, 132(2): 259-270
- [5] Girlanda M, Ghignone S, Luppi AM. Diversity of sterile root-associated fungi of two Mediterranean plants[J]. *New Phytologist*, 2002, 155(3): 481-498
- [6] Anderson IC, Cairney JWG. Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques[J]. *Environmental Microbiology*, 2004, 6(8): 769-779
- [7] Peay KG, Kennedy PG, Bruns TD. Fungal community ecology: a hybrid beast with a molecular master[J]. *Bioscience*, 2008, 58(9): 799-810
- [8] Vandenkoornhuyse P, Baldauf SL, Leyval C, et al. Extensive fungal diversity in plant roots[J]. *Science*, 2002, 295(5562): 2051-2051
- [9] Newsham KK. A metaanalysis of plant responses to dark septate root endophytes[J]. *New Phytologist*, 2011, 190(3): 783-793
- [10] Curlevski NJA, Chambers SM, Anderson IC, et al. Identical genotypes of an ericoid mycorrhiza-forming fungus occur in roots of *Epacris pulchella* (Ericaceae) and *Leptospermum polygalifolium* (Myrtaceae) in an Australian sclerophyll forest[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 67(3): 411-420
- [11] Herr JR, Opik M, Hibbett DS. Towards the unification of sequence-based classification and sequence-based identification of host-associated microorganisms[J]. *New Phytologist*, 2015, 205(1): 27-31
- [12] Tedersoo L, Bahram M, Polme S, et al. Global diversity and geography of soil fungi[J]. *Science*, 2014, 346(6213), DOI: 10.1126/science.1256688
- [13] Nguyen NH, Song ZW, Bates ST, et al. FUNGuild: an open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild[J]. *Fungal Ecology*, 2016, 20: 241-248
- [14] Cairney JWG, Meharg AA. Ericoid mycorrhiza: a partnership that exploits harsh edaphic conditions[J]. *European Journal of Soil Science*, 2003, 54(4): 735-740
- [15] Genney DR, Alexander IJ, Hartley SE. Exclusion of grass roots from soil organic layers by Calluna: the role of ericoid mycorrhizas[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(347): 1117-1125
- [16] Read DJ, Leake JR, Perez-Moreno J. Mycorrhizal fungi as drivers of ecosystem processes in heathland and boreal forest biomes[J]. *Canadian Journal of Botany*, 2004, 82(8): 1243-1263
- [17] Hillebrand H, Gurevitch J. Meta-Analysis and Systematic Reviews in Ecology[M]. New York, USA: Stony Brook University, 2016
- [18] Tu WG. Floristic and biodiversity studies of vascular plants in the west slope of Mt. Jiuding and Mt. Longzhou, western Sichuan, China[D]. Chengdu: Doctoral Dissertation of Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, 2008 (in Chinese)
涂卫国. 四川九顶山西坡及龙肘山维管植物区系和植物多样性研究[D]. 成都: 中国科学院成都生物研究所博士学位论文, 2008
- [19] Sun LF, Pei KQ, Wang F, et al. Different distribution patterns between putative ericoid mycorrhizal and other fungal assemblages in roots of *Rhododendron decorum* in the Southwest of China[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e49867
- [20] Vincenot L, Tedersoo L, Richard F, et al. Fungal associates of *Pyrola rotundifolia*, a mixotrophic Ericaceae, from two Estonian boreal forests[J]. *Mycorrhiza*, 2008, 19(1): 15-25
- [21] Kohout P, Sýkorová Z, Ctvrtlíková M, et al. Surprising spectra of root-associated fungi in submerged aquatic plants[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, 80(1): 216-235
- [22] Obase K, Matsuda Y. Culturable fungal endophytes in roots of *Enkianthus campanulatus* (Ericaceae)[J]. *Mycorrhiza*, 2014, 24(8): 635-644
- [23] Bougoure DS, Cairney JWG. Fungi associated with hair roots of *Rhododendron lochiaie* (Ericaceae) in an Australian tropical cloud forest revealed by culturing and culture-independent molecular methods[J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(11): 1743-1754
- [24] Gorzelak MA, Hambleton S, Massicotte HB. Community structure of ericoid mycorrhizas and root-associated fungi of *Vaccinium membranaceum* across an elevation gradient in the Canadian Rocky Mountains[J]. *Fungal Ecology*, 2012, 5(1): 36-45
- [25] Hazard C, Gosling P, Mitchell DT, et al. Diversity of fungi associated with hair roots of ericaceous plants is affected by land use[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 87(3): 586-600
- [26] Wilson BJ, Addy HD, Tsuneda A, et al. *Phialocephala sphaeroides* sp. nov., a new species among the dark septate endophytes from a boreal wetland in Canada[J]. *Canadian Journal of Botany*, 2004, 82(5): 607-617

- [27] Korkama T, Pakkanen A, Pennanen T. Ectomycorrhizal community structure varies among Norway spruce (*Picea abies*) clones[J]. New Phytologist, 2006, 171(4): 815-824
- [28] Selosse MA, Setaro S, Glatard F, et al. Sebaciales are common mycorrhizal associates of Ericaceae[J]. New Phytologist, 2007, 174(4): 864-878
- [29] Zheng Y, Gao B, Sun LF, et al. Diversity of fungi associated with *Rhododendron argyrophyllum* and *R. floribundum* hair roots in Sichuan, China[J]. Biodiversity Science, 2010, 18(1): 76-82 (in Chinese)
郑钰, 高博, 孙立夫, 等. 银叶杜鹃和繁花杜鹃根部真菌的多样性[J]. 生物多样性, 2010, 18(1): 76-82
- [30] Ogura-Tsujita Y, Gebauer G, Hashimoto T, et al. Evidence for novel and specialized mycorrhizal parasitism: the orchid *Gastrodia confusa* gains carbon from saprotrophic *Mycena*[J]. Proceedings of the Royal Society B, 2009, 276(1657): 761-767
- [31] Kinoshita A, Ogura-Tsujita Y, Umata H, et al. How do fungal partners affect the evolution and habitat preferences of mycoheterotrophic plants? A case study in *Gastrodia*[J]. American Journal of Botany, 2016, 103(2): 207-220
- [32] Liao YH. Diversity and community structure of root-associated fungi of five *Rhododendron* species[D]. Haikou: Master's Thesis of College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, 2016 (in Chinese)
廖映辉. 5种杜鹃花属植物根系真菌多样性与群落结构[D]. 海口: 海南大学园艺园林学院硕士学位论文, 2016
- [33] Liu ZH, Li LB, Dong FP, et al. Isolation and identification of mycorrhizal fungi from *Rhododendron hippophaeoides* and application of DGGE[J]. Hunan Forestry Science & Technology, 2012, 39(4): 16-20 (in Chinese)
刘振华, 李璐滨, 童方平, 等. 灰背杜鹃菌根真菌的分离与鉴定及 DGGE 的应用[J]. 湖南林业科技, 2012, 39(4): 16-20
- [34] Chen Z, Yang B, Zhang CY, et al. Molecular analysis and inoculation effect of mycorrhizal fungi isolated from hair roots of *Rhododendron pulchrum*[J]. Mycosystema, 2011, 30(5): 729-737 (in Chinese)
陈真, 杨兵, 张春英, 等. 锦绣杜鹃菌根真菌 rDNA ITS 序列分析及接种效应研究[J]. 菌物学报, 2011, 30(5): 729-737
- [35] Wurzbarger N, Higgins BP, Hendrick RL. Ericoid mycorrhizal root fungi and their multicopper oxidases from a temperate forest shrub[J]. Ecology and Evolution, 2012, 2(1): 65-79

编辑部公告

邀请您关注《微生物学通报》公众微信号

为了更好地与读者、作者、审稿专家和编委朋友们及时沟通、方便服务,《微生物学通报》已开通公众微信服务号。作者通过微信能及时收到稿件各流程通知,第一时间了解稿件进程并及时处理;审稿专家和编委可通过微信及时收到审稿邀请,还可通过手机审稿;读者通过微信可了解《微生物学通报》文章目录,查找阅读感兴趣的文章。

关注办法:

- 1、在微信公众号搜索“微生物学通报”或“wswxtb”;
- 2、用微信扫右边二维码:

