

研究报告

基于高通量测序的两种典型忽地笑栽培土壤
根际真菌群落多样性全妙华^{1,2*} 余朝文^{1,2} 陈东明^{1,2} 胡朝曦¹ 赵丽娟¹

(1. 怀化学院生物与食品工程学院 湖南 怀化 418008)

(2. 民族药用植物资源研究与利用湖南省重点实验室 湖南 怀化 418008)

摘要:【背景】忽地笑为传统中药材,可用于治疗老年性痴呆症、重症肌无力等疾病,具有重要的药用价值。腐殖土(壤土)适宜忽地笑的生长与栽培,黄棕壤(粘性土)对其生长不利。根际微生物可促进或抑制植物生长,直接影响药用植物产量和有效成分含量的变化,因此近年来对药用植物与根际微生物关系的研究得到了高度重视。【目的】通过2种栽培土壤根际真菌的群落结构及多样性研究,旨在探讨根际真菌对忽地笑生长发育的影响。【方法】提取土壤总DNA,采用高通量测序及生物信息统计分析等方法进行研究。【结果】腐殖土和黄棕壤分别获得真菌ITS1序列42130和30176条;腐殖土和黄棕壤根际真菌类群分别划分为6门25纲61目123科208属和5门20纲48目85科138属,最优势门类均为子囊菌Ascomycota(相对丰度>70%),但主要优势属及多样性指数等存在较大差异,其中腐殖土的主要优势类群有Ascomycota_unclassified、Fusarium、Zopfiella、Chaetomiaceae_unclassified、Ceratobasidium、Mortierella等,而黄棕壤的主要优势类群为Sordariomycetes_unclassified、Fusarium、Acremonium、Rhizoctonia、Nectriaceae_unclassified、Hymenoscyphus等;通过SPSS统计软件分析表明,腐殖土的Ascomycota_unclassified、Zopfiella、Ceratobasidium、Mortierella等优势类群与忽地笑鳞茎中石蒜碱含量之间呈极显著正相关性。【结论】适宜栽培忽地笑的腐殖土根际真菌的遗传多样性比黄棕壤更丰富;腐殖土根际主要优势类群Ascomycota_unclassified、Zopfiella、Ceratobasidium等可能有利于忽地笑生长发育及其石蒜碱等生物碱积累。

关键词: 中药材, 根际土壤, 真菌, 高通量测序, 遗传多样性

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (31470403)

***Corresponding author:** E-mail: hhqmh100@163.com

Received: April 27, 2018; **Accepted:** July 31, 2018; **Published online** (www.cnki.net): August 02, 2018

基金项目: 国家自然科学基金(31470403)

***通信作者:** E-mail: hhqmh100@163.com

收稿日期: 2018-04-27; **接受日期:** 2018-07-31; **网络首发日期**(www.cnki.net): 2018-08-02

Fungal diversity in two typical types of rhizosphere cultivation soil of *Lycoris aurea* based on high-throughput sequencing

QUAN Miao-Hua^{1,2*} SHE Chao-Wen^{1,2} CHEN Dong-Ming^{1,2}
HU Chao-Tun¹ ZHAO Li-Juan¹

(1. College of Biological and Food Engineering, Huaihua University, Huaihua, Hunan 418008, China)

(2. Key Laboratory of Hunan Province for Study and Utilization of Ethnic Medicinal Plant Resources, Huaihua University, Huaihua, Hunan 418008, China)

Abstract: [Background] *Lycoris aurea* is a traditional Chinese medicinal herb plant commonly used to treat several diseases including Alzheimer's disease and myasthenia gravis etc. which has important medicinal value. The plant grows vigorously in humus soil (loam), but its growth performance in yellow-brown (clay) soil is very poor. In the recent years, increasing attention has been given to the investigations on the interrelations between medicinal plants and their rhizospheric microorganisms because the microorganisms played important roles for the growth, development and accumulation of biological active components of medicinal plants. [Objective] To study the effects of rhizospheric fungi on growth of *L. aurea*, we analyzed fungal community structure and genetic diversities cultivated in two soils. [Methods] Soil microbial total DNA was extracted. The community structure and diversity were analyzed by using high-throughput sequencing etc. [Results] Total of 42 130 and 30 176 fungal ITS1 sequences were obtained from humus soil and yellow-brown soil, respectively. Rhizospheric fungi in humus soil and yellow-brown soil could be classified as follows: 6 Phyla, 25 classes, 61 orders, 123 families, 208 genera and 5 phyla, 20 classes, 48 orders, 85 families and 138 genera, respectively; among which, the most predominant Phyla both were Ascomycota (relative abundance > 70%). The dominant genera and their diversity indexes etc. were different between humus soil and yellow-brown soil. Ascomycota_unclassified, *Fusarium*, *Zopfiella*, *Chaetomiaceae_unclassified*, *Ceratobasidium*, *Mortierella*, etc. were predominant groups in humus soil. But there were significant differences in predominant groups of yellow-brown soil, including *Sordariomycetes_unclassified*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Rhizoctonia*, *Nectriaceae_unclassified*, *Hymenoscyphus* etc. Among which, there was a significant positive correlation among Ascomycota_unclassified, *Zopfiella*, *Ceratobasidium*, *Mortierella* etc. predominant groups in humus soil and lycorine content in bulbs of *L. aurea* by using SPSS statistical software. [Conclusion] The genetic diversity of rhizospheric fungi in humus soil that is favorable for cultivation of *Lycoris aurea* were richer and higher as compared to those of yellow-brown soil. Its predominant fungal groups such as Ascomycota_unclassified, *Zopfiella* and *Ceratobasidium* etc. may be favorable for the growth and lycorine accumulation of *Lycoris aurea*.

Keywords: Chinese medicinal herb, Rhizospheric soil, Fungi, High-throughput sequencing, Genetic diversity

忽地笑 [*Lycoris aurea* (L'Her.) Herb.] 又名黄花石蒜, 为石蒜属多年生草本植物, 是一种传统的中药材^[1]。其鳞茎内富含石蒜碱(Lycorine)、加兰他敏(Galanthamine)、力克拉敏(Lycoramine)等多种生物碱, 可用于治疗阿尔茨海默病、重症肌无力等疾病, 并且对癌症具有一定疗效, 具有重要的药用价值^[2]。近年来, 由于生态环境的破坏及人为地过度采挖, 致使忽地笑野生资源日益短缺。因此, 开展忽地笑

的引种驯化及人工栽培研究, 对该野生资源的保护和利用具有重要的理论和实践指导意义。

土壤微生物是陆地生态系统中有有机物的主要分解者和转化者^[3], 其群落结构在很大程度上决定着土壤的生物活性^[4]。研究药用植物及其根际微生物, 不仅有助于分析并阐明药用植物与根际有益微生物及有害微生物相互作用的机制等基础理论, 而且也有助于解决药用植物病害防治及解决连作障

碍等实际生产应用问题,提高药用植物的产量和品质。因此,近年来对药用植物与根际微生物关系的研究得到了高度重视。目前关于中药材忽地笑的研究主要集中在化学成分、生理生化、药理药效以及分子生物学等方面^[5-9],而有关忽地笑人工栽培方面的研究则很少。忽地笑性喜阴湿,在山涧溪边、富含腐殖质的林下坡地等生态环境比较常见。作者在前期研究4种土壤类型对忽地笑生长发育及品质的影响发现,腐殖土中忽地笑的农艺性状、生理生化特性(含光合能力、生物量、石蒜碱含量)等方面综合表现最优,但黄棕壤中的最差,其中腐殖土中忽地笑鳞茎的石蒜碱含量是黄棕壤的1.56倍^[10]。为探讨有利于忽地笑生长及生物碱积累相关的真菌类群,本研究通过高通量测序技术研究了2种典型忽地笑栽培土壤——腐殖土(壤土,适宜栽培基质)和黄棕壤(粘性土,不宜栽培基质)根际真菌群落,分析比较其组成、丰度和遗传多样性,以期挖掘优良真菌资源,阐明忽地笑生长发育及生物碱积累与根际真菌的相互关系提供基础。

1 材料与方法

1.1 栽培样地设置与土样采集

忽地笑(*Lycoris aurea*)材料属湖南怀化同一驯化栽培品系。为探讨不同土壤类型对忽地笑生长发育及药材质量的影响,结合野生忽地笑的自然分布特点,于2012年8月至2015年12月期间,设置了腐殖土和黄棕壤的忽地笑栽培试验样地。2015年11月,于忽地笑旺盛生长期,选择最适宜栽培忽地笑的腐殖土和不宜栽培的黄棕壤,分别采集其根际土壤,每样地3份样品。采样时,挖取忽地笑植株,抖动去掉容易脱落的土壤,收集粘附于根系表面的土壤作为根际土壤。取样后,将土样装入无菌塑料袋,随即带回实验室处理。两种忽地笑栽培土壤的基本理化性质如下,腐殖土:壤土,质地疏松,pH 7.37,有机质 216.35 g/kg,碱解氮 415.94 mg/kg,速效磷 144.16 mg/kg,速效钾 438.87 mg/kg, Ca^{2+} 67.61 g/kg, Mg^{2+} 33.15 g/kg;黄棕壤:粘性土,质地

紧密,pH 5.16,有机质 9.15 g/kg,碱解氮 46.25 mg/kg,速效磷 20.43 mg/kg,速效钾 177.14 mg/kg, Ca^{2+} 5.34 g/kg, Mg^{2+} 4.82 g/kg^[10]。

1.2 方法

1.2.1 土壤微生物总 DNA 提取与测序

土壤微生物总 DNA 的提取采用 E.Z.N.A. Soil DNA Kit,采用 0.8% 琼脂糖凝胶检测提取的土壤微生物总 DNA。以各样品总 DNA 为模板,进行融合引物 PCR。PCR 扩增引物为扩增真菌 ITS1 区的特异性引物(F: 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'; R: 5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')^[11-12]。PCR 反应体系: 10×Buffer 2.5 μL , 模板 DNA (20 ng/L) 2.0 μL , dNTPs (2.5 mmol/L) 1.5 μL , 特异引物 (10 mmol/L) 1.5 μL , *Taq* 聚合酶(5 U/ μL) 0.25 μL , ddH₂O 补齐至 20 μL 。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 50 °C 30 s, 72 °C 40 s, 25 个循环; 72 °C 7 min。对扩增产物进行纯化、定量及均一化形成测序文库。由上海美吉生物医药科技有限公司通过 Illumina MiSeq 测序平台进行高通量测序^[13]。每个样本 3 个重复。

1.2.2 数据处理

(1) 有效序列和优化序列数据统计

采用 Trimmomatic 等软件平台筛选出有效序列,并将测序接头和 Barcode 序列去除及去杂处理,得到优化序列后再进行数据统计^[14]。

(2) 基于 OTU (Operational taxonomic units) 的分类学分析

为了得到每个 OTU 对应的物种分类信息,采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进行分类学分析^[15]。

(3) 群落多样性分析

群落物种的丰富度(Richness)和多样性(Diversity)分别用 Ace、Chao1 指数和 Shannon、Simpson 指数表示,测序深度指数用覆盖率(Coverage)表示^[4]。Ace、Chao1 指数是对菌群丰度进行评估,Shannon 和 Simpson 指数是对菌群多样性进行评估,Shannon 值越大,表明菌落多样性越高,Simpson 值越大,

表明菌落多样性越低。采用 Mothur (Version 1.30.1) 等软件进行真菌群落多样性指数分析^[4,11,16]；利用 QIIME 软件分析两种根际土壤样品差异性^[17]，即 Weighted UniFrac 距离。

(4) 群落结构及相关性分析

将优化序列根据数据库中的参考序列在门和属的水平进行鉴定，分析比较其组成、丰度和多样性情况^[13]；采用 SPSS 统计软件对忽地笑根际主要优势真菌类群与其石蒜碱含量等进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 根际土壤真菌 ITS1 序列的稀释曲线

通过高通量测序等技术流程，获得了腐殖土和黄棕壤真菌群落的优化序列及其属或种类数 (OTUs) 等信息。分别随机抽取真菌测序样品的 ITS1 序列读数 (Reads)，以其属或种类数 (OTUs) 为纵坐标，ITS1 序列读数 (Reads) 为横坐标，获得真菌的稀释曲线 (图 1)。由图 1 可知，真菌的 ITS1 序列读数超过 10 000，即 OTUs 值达到 300 后，曲线逐渐趋于平缓，说明本次试验的测序量达到饱和，表明 PCR 扩增的序列基本能体现出土壤生态系统中真菌群落组成。

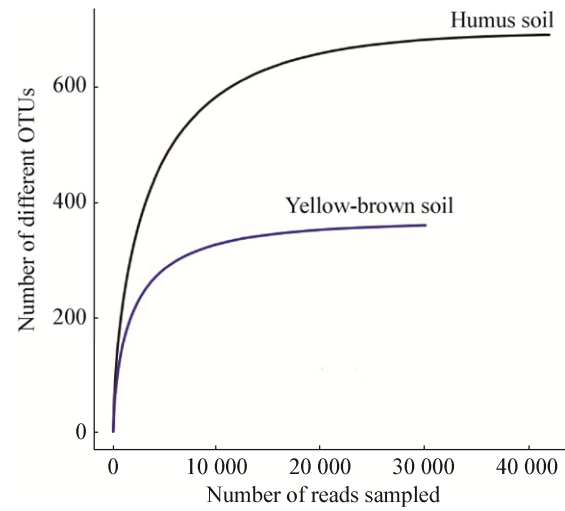


图 1 腐殖土和黄棕壤根际真菌高通量测序结果的的稀释曲线

Figure 1 The dilution curves of rhizospheric fungi in humus soil and yellow-brown soil

2.2 ITS1 序列的测序质量及多样性统计分析

通过高通量测序及生物信息学分析表明，腐殖土和黄棕壤的真菌有效序列分别为 42 130 条和 30 176 条，其菌群多样性及其样品之间的 Weighted UniFrac 距离如表 1、2。由表 1 可知，各样品测序覆盖率均在 0.999 6 以上，说明样品中未被测到的

表 1 腐殖土和黄棕壤根际真菌的物种丰富度和多样性指数

Table 1 The species richness and diversity index of rhizospheric fungi in humus soil and yellow-brown soil

样品 Samples	序列数 Sequences	OTU 数 OTUs	Ace 指数 Ace index	Chao1 指数 Chao1 index	覆盖率 Coverage (%)	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index
腐殖土 Humus soil	42 130	691	693	694	99.97	4.78	0.021 9
黄棕壤 Yellow-brown soil	30 176	361	363	365	99.96	3.86	0.051 9

表 2 腐殖土和黄棕壤根际真菌的 Weighted UniFrac 距离

Table 2 Weighted UniFrac distances of rhizospheric fungi in humus soil (Hms) and yellow-brown soil (Ybs)

样品 Samples	Hms1	Hms2	Hms3	Ybs1	Ybs2	Ybs3
Hms1	0					
Hms2	0.05	0				
Hms3	0.337	0.335	0			
Ybs1	0.374	0.376	0.391	0		
Ybs2	0.357	0.339	0.432	0.039	0	
Ybs3	0.468	0.478	0.372	0.260	0.302	0

序列概率很低,测序量足以覆盖样品菌落组成。97%相似性归并后,腐殖土和黄棕壤所含真菌 OTU 个数分别为 691 和 361,腐殖土和黄棕壤的真菌可分别划分为 6 门 25 纲 61 目 123 科 208 属和 5 门 20 纲 48 目 85 科 138 属。由表 2 可知,腐殖土真菌之间的 Weighted UniFrac 距离变化范围在 0.05–0.337,黄棕壤的真菌之间 Weighted Unifrac 距离为 0.039–0.302。可见,腐殖土根际土壤真菌的 Weighted UniFrac 距离均显著高于黄棕壤($P<0.05$)。因此,腐殖土根际真菌类群及数量多样性均比黄棕壤更丰富。

2.3 门水平群落结构

由图 2 可知,腐殖土和黄棕壤根际真菌群落在门类水平上可划分为 5 大类群,其最主要类群均为子囊菌门 Ascomycota,相对丰度分别为 71.06%和 80.71%;其次是担子菌门 Basidiomycota,相对丰度分别为 16.28% 和 14.42%;接合菌门 Zygomycota 含量均相对较少,分别为 4.16%和 0.99%。另外还有相对丰度约为 7.80% (腐殖土)和 3.79% (黄棕壤)的待定真菌 Fungi_unclassified 等类群在 GenBank 中没有被明确分类。

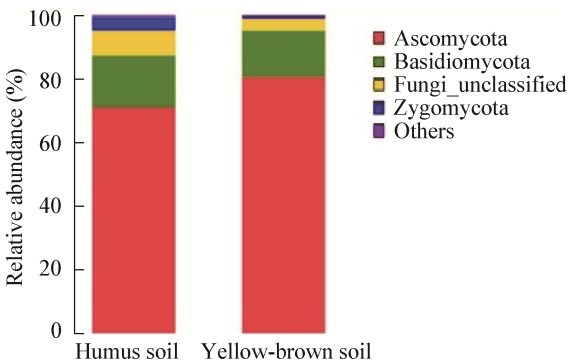


图 2 腐殖土和黄棕壤根际真菌群落在门水平上的分布
Figure 2 The phylum distribution of rhizospheric fungi in humus soil and yellow-brown soil

2.4 属水平群落结构及相关性分析

腐殖土和黄棕壤所含真菌分别为 208 属和 138 属。按丰度排序,真菌前十五优势属丰度之和占 58.57%–75.26%,如表 3 所示。在属水平上,腐殖土的忽地笑根际真菌主要有 Ascomycota_unclassified、Fusarium、Zopfiella、Chaetomiaceae_unclassified、Ceratobasidium、Mortierella 等优势类群(相对丰度>4%);黄棕壤的忽地笑根际真菌主要有 Sordariomycetes_unclassified、Fusarium、Acremonium、

表 3 腐殖土和黄棕壤根际真菌群落在属水平上的分布
Table 3 The dominant genus distribution of rhizospheric fungi in humus soil and yellow-brown soil

腐殖土 Humus soil		黄棕壤 Yellow-brown soil	
属 Genus	相对丰度 Relative abundance (%)	属 Genus	相对丰度 Relative abundance (%)
Ascomycota_unclassified	11.25	Sordariomycetes_unclassified	18.90
Fusarium	10.73	Fusarium	10.71
Zopfiella	5.52	Acremonium	10.61
Chaetomiaceae_unclassified	5.35	Rhizoctonia	8.35
Ceratobasidium	5.15	Nectriaceae_unclassified	7.80
Mortierella	4.11	Hymenoscyphus	5.05
Sordariomycetes_unclassified	3.07	Chaetomiaceae_unclassified	4.98
Sordariales_unclassified	2.99	Ascomycota_unclassified	2.15
Haematonectria	2.09	Cyphellophora	1.85
Hannaella	1.90	Chaetomium	1.25
Trichosphaeriales_unclassified	1.48	Hannaella	1.01
Cladosporium	1.25	Mortierella	0.87
Phoma	1.24	Phoma	0.65
Chaetomium	1.23	Cladosporium	0.56
Leptosphaerulina	1.21	Myrmecridium	0.52

Rhizoctonia、*Nectriaceae_unclassified*、*Hymenoscyphus* 等优势类群(丰度>5%)。通过二者前十五优势真菌属比较可知,腐殖土和黄棕壤共有 9 属: *Ascomycota_unclassified*、*Fusarium*、*Chaetomiaceae_unclassified*、*Mortierella*、*Sordariomycetes_unclassified*、*Hannaella*、*Cladosporium*、*Phoma* 和 *Chaetomium*, 其中丰度变化较大的有 *Ascomycota_unclassified* 和 *Mortierella*, 分别为腐殖土的第 1 (11.25%) 和第 6 优势属(4.11%), 在黄棕壤中分别降至第 8 (2.15%) 和第 12 (0.87%); *Sordariomycetes_unclassified* 为黄棕壤的第 1 优势属(18.90%), 在腐殖土中位居第 7 (3.07%)。但 *Fusarium* 在这 2 种土壤中丰度均较大, 均为第 2 优势属。另外, 腐殖土的优势属第 3 位 *Zopfiella* (5.52%) 和第 5 位 *Ceratobasidium* (5.15%) 等在黄棕壤前十五优势属中未出现, 但黄棕壤的优势属第 3 位 *Acremonium* (10.61%)、第 4 位 *Rhizoctonia* (8.35%)、第 5 位 *Nectriaceae_unclassified* 和第 6 位 *Hymenoscyphus* (5.05%) 等在腐殖土前十五优势属中均未出现。应用 SPSS 统计软件将主要优势属真菌的相对丰度与忽地笑鳞茎中石蒜碱含量进行相关性分析可知, 忽地笑鳞茎中石蒜碱含量与 *Ascomycota_unclassified*、*Zopfiella*、*Ceratobasidium*、*Mortierella* 之间呈极显著正相关性($P<0.01$), 与 *Fusarium*、*Chaetomiaceae_unclassified* 呈正相关性, 但与 *Sordariomycetes_unclassified*、*Acremonium*、*Rhizoctonia*、*Nectriaceae_unclassified*、*Hymenoscyphus* 呈显著或极显著负相关性。

3 讨论与结论

通过高通量测序技术从最适宜栽培忽地笑的腐殖土(壤土)和不宜栽培的黄棕壤(粘性土)分别获得真菌 ITS1 序列 42 130 和 30 176 条, 分别隶属 6 门 25 纲 61 目 123 科 208 属和 5 门 20 纲 48 目 85 科 138 属。在门分类水平上, 腐殖土和黄棕壤的最优势菌门均为子囊菌门 *Ascomycota*, 其相对丰度分别为 71.06% 和 80.71%; 在属分类水平上, 不仅腐殖土和黄棕壤根际主要优势菌属种类存在较大差异,

如腐殖土的主要优势菌属包括 *Ascomycota_unclassified*、*Zopfiella*、*Ceratobasidium* 等, 黄棕壤的主要优势菌属包括 *Sordariomycetes_unclassified*、*Acremonium*、*Rhizoctonia* 等类群, 而且腐殖土根际真菌的类群数量比黄棕壤高出约 50.7%, 同时腐殖土根际样品的真菌类群差异性也更大。可见, 不同土壤类型中忽地笑根际真菌种类及数量均存在明显差异, 与黄棕壤相比, 土壤质地疏松、富含有机质及矿质元素等营养因子的腐殖土根际真菌的遗传多样性更丰富。这与贺纪正等报道的植物和土壤类型是影响药用植物根际微生物群落结构形成的主要因子, 一般在稳定良好的生态环境中微生物数量增加且种群丰富的研究结论基本一致^[18-20]; 同时腐殖土中忽地笑生长旺盛, 并且其根际 *Ascomycota_unclassified*、*Fusarium* 等优势类群相对丰度极高, 这与常见的子囊菌 *Ascomycota*、*Fusarium* 等类群是多种植物根际真菌优势类群的研究结论也基本一致^[21-22]。

土壤微生物能够释放土壤酶, 催化氧化还原、有机质矿化、污染物降解、腐殖质在土壤中的合成以及生长活性物质的释放等多种生物化学反应, 对土壤结构和质地的形成、肥力的提高及土壤微生物区系的平衡等方面发挥着重要的作用^[23]。根际微生物可直接作用于植物, 促进或抑制其生长, 直接影响药用植物产量和有效成分量的变化^[24-25]。研究表明, 腐殖土的主要优势真菌属未分类的 *Ascomycota_unclassified*、*Zopfiella*、*Ceratobasidium*、*Mortierella* 等类群(相对丰度>4%)与忽地笑鳞茎中石蒜碱含量呈极显著正相关性, 其中 *Zopfiella*、*Ceratobasidium* 等主要优势菌属在黄棕壤的前十五位主要类群中均未出现, 提示这些优势真菌类群可能与忽地笑生长发育及其鳞茎中生物碱积累存在密切关系。由于腐殖土质地疏松, 并且含有丰富的有机质、矿质元素等营养因子, 为土壤真菌等微生物繁殖提供了良好的生态环境, 它们可能通过释放多种土壤酶, 驱动有机质降解与矿化, 对改善植物根际土壤养分(如

N、P、K 等)以及提高土壤肥力等具有促进作用,从而促进了腐殖土中忽地笑生长发育以及石蒜碱等生物碱积累。但这 2 种典型忽地笑栽培土壤根际均具有各自特有的优势菌属,如腐殖土的 *Zopfiella*、*Ceratobasidium* 等(相对丰度>5%),黄棕壤的 *Acremonium*、*Rhizoctonia* 等类群(相对丰度>8%),它们对忽地笑生长发育的影响机制还有待深入研究。

REFERENCES

- [1] Qian XH, Xu Y, Hu ZB, et al. Flora Reipublicae Popularis Sinicae[M]. Beijing: Science Press, 1985: 16-27 (in Chinese)
钱嘯虎, 徐垠, 胡之璧, 等. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 16-27
- [2] Ji YB, Xin GS, Qu ZY, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of alkaloids from plants of *Lycoris* Herb[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2016, 47(1): 157-164 (in Chinese)
季宇彬, 辛国松, 曲中原, 等. 石蒜属植物生物碱类化学成分和药理作用研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(1): 157-164
- [3] Kennedy AC, Smith KL. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils[J]. Plant and Soil, 1995, 170(1): 75-86
- [4] Zhang DY, Zhao J, Yang SP, et al. Influence of tobacco-Chuanminshen violaceum rotation on microbe community in soil[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2016, 41(24): 4556-4563 (in Chinese)
张东艳, 赵建, 杨水平, 等. 川明参轮作对烟地土壤微生物群落结构的影响[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(24): 4556-4563
- [5] Zhao YN, Song K, Peng S, et al. Purification of lycorine from *Lycoris aurea* using zeolite molecular sieve[J]. Natural Product Research and Development, 2016, 28(2): 289-292,299 (in Chinese)
赵艺楠, 宋科, 彭胜, 等. 沸石分子筛吸附分离忽地笑中石蒜碱[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(2): 289-292,299
- [6] Xu S, Jiang MM, Fu JY, et al. Physiological and antioxidant parameters in two *Lycoris* species as influenced by water deficit stress[J]. Hortscience, 2015, 50(11): 1702-1708
- [7] Ren ZM, Xia YP, Zhang D, et al. Cytological analysis of the bulblet initiation and development in *Lycoris* species[J]. Scientia Horticulturae, 2017, 218: 72-79
- [8] Wang R, Xu S, Jiang YM, et al. De novo sequence assembly and characterization of *Lycoris aurea* transcriptome using GS FLX titanium platform of 454 Pyrosequencing[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e60449
- [9] Wang R, Xu S, Wang N, et al. Transcriptome analysis of secondary metabolism pathway, transcription factors, and transporters in response to methyl jasmonate in *Lycoris aurea*[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 7: 1971
- [10] Quan MH, Liang J. The influences of four types of soil on the growth, physiological and biochemical characteristics of *Lycoris aurea* (L'Her.) Herb[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 43284
- [11] Schloss PD, Gevers D, Westcott SL. Reducing the effects of PCR amplification and sequencing artifacts on 16S rRNA-based studies[J]. PLoS One, 2011, 6(12): e27310
- [12] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41: D590-D596
- [13] Oberauner L, Zachow C, Lackner S, et al. The ignored diversity: complex bacterial communities in intensive care units revealed by 16S pyrosequencing[J]. Scientific Reports, 2013, 3: 1413
- [14] Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM, et al. Naïve Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(16): 5261-5267
- [15] Kõljalg U, Nilsson RH, Abarenkov K, et al. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi[J]. Molecular Ecology, 2013, 22(21): 5271-5277
- [16] Wang Y, Sheng HF, He Y, et al. Comparison of the levels of bacterial diversity in freshwater, intertidal wetland, and marine sediments by using millions of illumina tags[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(23): 8264-8271
- [17] Li TT, Long M, Gatesoupe FJ, et al. Comparative analysis of the intestinal bacterial communities in different species of carp by pyrosequencing[J]. Microbial Ecology, 2015, 69(1): 25-36
- [18] He JZ, Li J, Zheng YM. Thoughts on the microbial diversity-stability relationship in soil ecosystems[J]. Biodiversity Science, 2013, 21(4): 411-420 (in Chinese)
贺纪正, 李晶, 郑袁明. 土壤生态系统微生物多样性-稳定性关系的思考[J]. 生物多样性, 2013, 21(4): 411-420
- [19] Salles JF, Van Veen JA, Van Elsas JD. Multivariate analyses of *Burkholderia* species in soil: effect of crop and land use history[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(7): 4012-4020
- [20] Garbeva P, Van Elsas JD, Van Veen JA. Rhizosphere microbial community and its response to plant species and soil history[J]. Plant and Soil, 2008, 302(1/2): 19-32
- [21] Karthikeyan B, Jaleel CA, Lakshmanan GM, et al. Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2008, 62(1): 143-145
- [22] Horinouchi S. Combinatorial biosynthesis of plant medicinal polyketides by microorganisms[J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2009, 13(2): 197-204
- [23] Ye XF, Zhang YJ, Lu XM, et al. Research advance on relationship between the soil microbes and soil nutrition[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2009, 40(6): 237-241 (in Chinese)
叶协锋, 张友杰, 鲁喜梅, 等. 土壤微生物与土壤营养关系研究进展[J]. 土壤通报, 2009, 40(6): 237-241
- [24] Compant S, Duffy B, Nowak J, et al. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(9): 4951-4959
- [25] Whipps JM. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere[J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 52(S1): 487-511