

研究报告

## 应用高通量技术分析 F446 饱水木漆器中微生物群落结构多样性

幸晶晶<sup>1</sup> 雷琼<sup>2</sup> 邱祖明<sup>2</sup> 章俊<sup>3</sup> 马立安<sup>1\*</sup>

(1. 长江大学生命科学学院 湖北 荆州 434025)

(2. 湖北省荆州文物保护中心 湖北 荆州 434020)

(3. 广东省微生物研究所 广东 广州 510070)

**摘要:**【背景】饱水保藏木漆器的环境中,微生物数量多、种类丰富,木漆器易受到微生物的腐蚀。【目的】研究木漆器上的微生物群落结构,分析饱水木漆器的微生物病害信息。【方法】采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术对木漆器和保藏水样中的细菌进行群落结构分析。【结果】木质样品与水样品中的微生物群落多样性较丰富并在分布上存在一定差异。门水平上,木质样品共有 7 个优势菌门(相对丰度>1%),分别为 Proteobacteria (64.00%)、Acidobacteria (14.70%)和 Actinobacteria (3.83%)等;水样共有 6 个优势菌门,分别为 Proteobacteria (61.26%)、Acidobacteria (8.25%)和 Planctomycetes (4.88%)等。属水平上木质样品共有 8 个优势菌属(相对丰度>1%),分别为 *Phenylobacterium* (16.24%)、*Acidobacteria-Gp6* (9.68%)和 *Rhodoplanes* (6.45%)等;水样共有 10 个优势菌属,分别为 *Naxibacter* (9.03%)、*Acidobacteria-Gp6* (3.84%)和 *Nevskia* (3.27%)等。未分类菌在门和属上,木质样品分别占 8.70%和 50.68%;水样品分别占 12.83%和 59.35%。【结论】木漆器饱水保藏环境中木质样品与水样品的微生物群落结构均比较丰富,在门和属水平上水样品比木质样品复杂。另外,被测样品中可能含有大量潜在新菌。

**关键词:** Illumina MiSeq, 饱水木漆器, 群落结构, 多样性

**Foundation item:** Open Project of Key Scientific Research of Excavated Wood and Lacquer Conservation, State Administration for Cultural Heritage

**\*Corresponding author:** E-mail: malian@yangtzeu.edu.cn

**Received:** October 31, 2017; **Accepted:** January 25, 2018; **Published online** (www.cnki.net): March 27, 2018

基金项目: 出土木漆器保护国家文物局重点科研基地开放课题

**\*通信作者:** E-mail: malian@yangtzeu.edu.cn

收稿日期: 2017-10-31; 接受日期: 2018-01-25; 网络首发日期(www.cnki.net): 2018-03-27

## Microbial community structure and diversity in waterlogged wood and lacquer named F446 by Illumina MiSeq technology

XING Jing-Jing<sup>1</sup> LEI Qiong<sup>2</sup> QIU Zu-Ming<sup>2</sup> ZHANG Jun<sup>3</sup> MA Li-An<sup>1\*</sup>

(1. College of Life Sciences, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China)

(2. Cultural Relic Protection Center of Jingzhou, Jingzhou, Hubei 434020, China)

(3. Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou, Guangdong 510070, China)

**Abstract:** [Background] The wood lacquer is vulnerable to microbial corrosion in the environment of water preserved wood lacquer because of microorganisms. [Objective] In order to study the microbial community structure and microbial disease information of wood lacquer ware. [Methods] The community structure of bacteria in wood lacquer and water samples was analyzed by Illumina MiSeq high throughput sequencing technology. [Results] There were differences between wood samples and water samples in the microbial community structure on the gate level, wood samples of a total of 7 dominant bacteria (relative abundance, gate>1%) were Proteobacteria (64.00%), Acidobacteria (14.70%) and Actinobacteria (3.83%). There were 6 dominant phyla detected at the phylum level, Proteobacteria (61.26%), Acidobacteria (8.25%) and Planctomycetes (4.88%), respectively. A total of 8 dominant species (relative abundance>1%) were found in the woody samples, which were *Phenylobacterium* (16.24%), *Acidobacteria-Gp6* (9.68%) and *Rhodoplanes* (6.45%), respectively. There were 10 dominant genera in water samples, which were *Naxibacter* (9.03%), *Acidobacteria-Gp6* (3.84%) and *Nevskia* (3.27%), respectively. The unclassified bacteria in wood samples accounted for 8.70% and 50.68%, respectively. The unclassified bacteria in water samples accounted for 12.83% and 59.35% respectively in the door and genus. [Conclusion] The microbial community structure of wood samples and water samples is abundant in the water preservation environment of wood lacquerware, but the microbial diversity is more complex than that of wood samples in the water samples of the door and genus level. In addition, a large number of potential new bacteria were detected in the tested samples.

**Keywords:** Illumina MiSeq, Waterlogged wood and lacquer, Community structure, Diversity

在我国中南部,大量的木质文物出土于地下水丰富的陆地饱水环境中<sup>[1]</sup>,饱水木质文物出土后一般被浸泡于水中保存。刘亮<sup>[2]</sup>认为饱水木质文物出土后主要受到微生物的腐蚀。微生物种类繁多、代谢活动旺盛、代谢类型复杂,对木质文物破坏极大。饱水保藏木漆器环境中,微生物以木漆器中含有的纤维素、半纤维素和木质素为唯一碳源进行生命活动<sup>[3]</sup>。此外,微生物生命活动产生的代谢产物也对木漆器内的有机质具有分解作用<sup>[1,4]</sup>。但是微生物在自然界以群落的形式存在,多种微生物共同生活于一定区域<sup>[5]</sup>,凭借传统的分离培养鉴定方法,依靠形态学、培养特征、生理生化特性的比较进行分类鉴定和计数,对环境微生物群

落结构及多样性的认识是不全面和有选择性的,方法的分辨水平低<sup>[6]</sup>。DNA 指纹图谱技术、磷脂脂肪酸分析法、基因芯片等微生物群落检测方法应运而生,但是这些方法相比较近年发展起来的第二代测序方法而言,有通量低和信息量小的缺点<sup>[7]</sup>。高通量测序技术堪称测序技术发展历程的一个里程碑,该技术可以对数百万个 DNA 分子进行同时测序<sup>[8]</sup>,也被称为深度测序(Deep sequencing)或下一代测序技术(Next generation sequencing, NGS)<sup>[9-10]</sup>,这使得对一个物种的转录组和基因组进行细致全貌的分析成为可能。

为研究饱水保存过程中出土木漆器中的微生物群落结构,采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术

对饱水保存的木漆器和水样中的细菌进行群落结构分析, 该结果对评估微生物对木漆器的病害程度具有重要的指导意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

样品来自 1978 年荆州江陵天星观一号楚墓出土的饱水保存的彩绘木漆几(编号为 F446), 该文物出土后被保存在荆州博物馆地下室水池中。取样时以灭菌镊子伸入池底, 夹取饱水彩绘木漆几残片, 用刀片轻轻刮下边缘破损的小块木片, 迅速装入灭菌三角瓶中, 封口后放入冰盒。以 5 mL 移液器分别在保藏木漆器的饱水池中四角及中间吸取共 100 mL 水于灭菌三角瓶中。木漆器样品编号分别为 MaF446wood.1、MaF446wood.2、MaF446wood.3、MaF446wood.4, 水样编号分别为 MaF446water.5、MaF446water.6、MaF446water.7、MaF446water.8。

### 1.2 DNA 的提取

用无菌水洗涤木质样品 3 次后, 称取 0.3 g 碾磨一段时间后加入于 65 °C 预热的 2% SDS 提取液快速碾磨成粘稠糊状, 转入离心管中。取 40 mL 水样以 12 000 r/min 离心 8 min, 去掉上清, 加入 65 °C 预热的 2% SDS 抽提液, 转入离心管中。将离心管放入 65 °C 振荡 1–1.5 h, 以使其充分裂解。12 000 r/min 离心 10 min 取上清。加入等体积的 5% CTAB 沉淀液, 混合均匀后放入 65 °C 振荡 10 min。加入等体积苯酚/氯仿/异戊醇(25:24:1), 混匀后 12 000 r/min 离心 10 min 取上清。加入等体积的氯仿/异戊醇(24:1), 混匀后 12 000 r/min 离心 10 min 取上清。加入等体积异丙醇混匀, 置-20 °C 沉淀 30 min 以上。12 000 r/min 离心 15 min 去上清。加入 300  $\mu$ L 75% 乙醇至离心管中, 温和洗涤, 12 000 r/min 离心 15 min 弃上清, 再加入无水乙醇洗涤, 去上清, 在通风干净的地方干燥 30 min 以上。每管加入 30  $\mu$ L TE 缓冲液, 用手指小心轻弹离心管壁, 使 DNA 溶解。使用 16S rRNA 基因 V4 区特异引物 515F 和 806R 进行 PCR 反应。0.8% 琼脂糖凝胶电泳, 观察 DNA

提取情况。

### 1.3 Illumina MiSeq 测序及数据分析

将样品 DNA 送至北京诺禾致源生物信息科技有限公司进行 Illumina MiSeq 2500 高通量测序。测序结果与 NCBI 的基因库进行基因比对, 基于 97% 的同源性将所测的细菌分成不同的 OTU。为了评估微生物群落组成的差异, 基于 Bray-Curtis 距离对检测到的 OTU 进行聚类分析。利用 QIIME 软件计算样品的 Alpha 多样性指数, 包括 Chao1 值和 Shannon 指数<sup>[11]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 测序结果质量分析

样品经高通量测序, 共获得 178 312 个原序列, 经过筛选后, 选取 177 847 个平均长度为 251–254 bp 的高质量 16S rRNA 基因序列。如图 1 所示, 所有被测样本曲线趋于平滑, 说明实际测序量足以覆盖群落物种组成, 能够真实反映群落各物种间的相对比例关系。

### 2.2 微生物群落的 $\alpha$ 多样性分析

通过单样品的多样性分析( $\alpha$  多样性)可以反映微生物群落的丰度和多样性, 研究群落生态学的微生物多样性。Chao1 值为样本中 OTU 数目估值, Chao1 值越大微生物群落结构多样性越大。Shannon

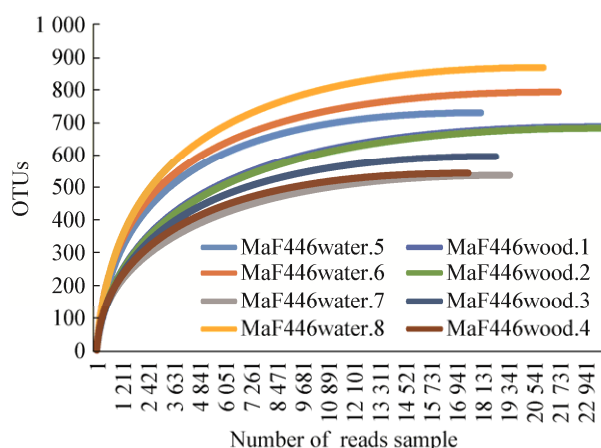


图 1 样品稀释曲线图

Figure 1 Samples rarefaction curves

指数代表群落微生物分布的均匀度,数值越大,则群落多样性越丰富。Simpson 指数表示了群落的丰富度及均匀度,该指数与物质丰富度呈正相关。Good's coverage 是一个间接判断测序数据是否足够的指标,Good's coverage 越接近于 1,说明测序深度越接近于真实值。从表 1 中可以看出,Chao1 值与被测 OTU 数目相似,且 Good's coverage 接近于 1,说明此次测序结果真实有效。样品中各指标如 OTU 总数、Chao1 值、Simpson 指数与 Good's coverage 内均没有显著性差异( $P<0.05$ ),说明被测样品具有较高的丰富度。被测样品中 Shannon 指数存在显著性差异( $P<0.05$ ),表明微生物在水环境和木质环境分布不均匀,优势菌群有所不同。

## 2.3 样品群落组成分析

### 2.3.1 样品在门水平上的群落多样性分析

如图 2 所示,被测样品共有 8 个优势菌门(相对丰度 $>1\%$ ), 占所有微生物比例为 97.35%。其中木质样品的优势菌门只有 7 个(相对丰度 $>1\%$ ), 分别为 Proteobacteria (64.00%)、Acidobacteria (14.70%)、Actinobacteria (3.83%)、Firmicutes (3.83%)、Planctomycetes (1.72%)、Bacteroidetes (1.51%)、Chloroflexi (1.23%)。水样品的优势菌门(相对丰度 $>1\%$ )共有 6 个, 分别为 Proteobacteria (61.26%)、Acidobacteria (8.25%)、Planctomycetes

(4.88%)、Actinobacteria (4.08%)、Bacteroidetes (2.96%)、Nitrospira (2.76%)。被测样品中 Acidobacteria 酸杆菌门在木质样品中的相对丰度显著大于水样品( $P<0.05$ )。Planctomycetes 浮霉菌门和 Nitrospira 硝螺化菌门在水样品中的相对丰度显著大于木质样品( $P<0.01$ )。

### 2.3.2 样品在纲水平上的群落多样性分析

Heatmap 可以用颜色变化来反映二维矩阵或表格中的数据信息,热图中每小格代表所在样品中某种菌的相对丰度,颜色越红代表相对丰度越高。由图 3 可知,被测样品在纲水平上 Alphaproteobacteria (28.19%)、Betaproteobacteria (16.23%)相对丰度较高。经检查,样品中变形菌门主要由 Alphaproteobacteria、Betaproteobacteria、Gammaproteobacteria 组成,酸杆菌门主要由 Acidobacteria-Gp6 组成。木质样品中 Alphaproteobacteria、Betaproteobacteria、Gammaproteobacteria 为明显优势菌纲,水质样品中物种分布相对较为均匀,且木质样品中 Alphaproteobacteria 的相对丰度明显大于水质样品。

### 2.3.3 样品在属水平上的群落多样性分析

如表 2 所示,被测样品共有 11 个优势菌属(相对丰度 $>1\%$ ), 11 个优势菌属共占微生物比例为 88.01%。其中木质样品共有 8 个优势菌属(相对丰

表 1 样品的  $\alpha$  多样性

Table 1 Alpha diversity of samples

Samples	OTUs	Chao1	Shannon	Simpson	Good's coverage
MaF446water.5	728.82	729.2	6.432 9	0.945 5	0.999 383 0
MaF446water.6	786.16	798.3	6.391 0	0.989 6	0.996 527 5
MaF446water.7	534.45	537.4	6.296 4	0.978 9	0.998 353 1
MaF446water.8	862.08	873.1	6.870 7	0.976 4	0.996 368 0
MaF446wood.1	673.54	696.3	7.007 4	0.957 8	0.995 322 8
MaF446wood.2	667.19	692.4	7.835 5	0.952 1	0.995 041 6
MaF446wood.3	593.21	594.7	6.742 6	0.951 6	0.998 776 1
MaF446wood.4	542.00	542.0	7.608 5	0.981 0	1.000 000 0
<i>P</i> value	0.206	0.252	0.031 0	0.347 0	0.804

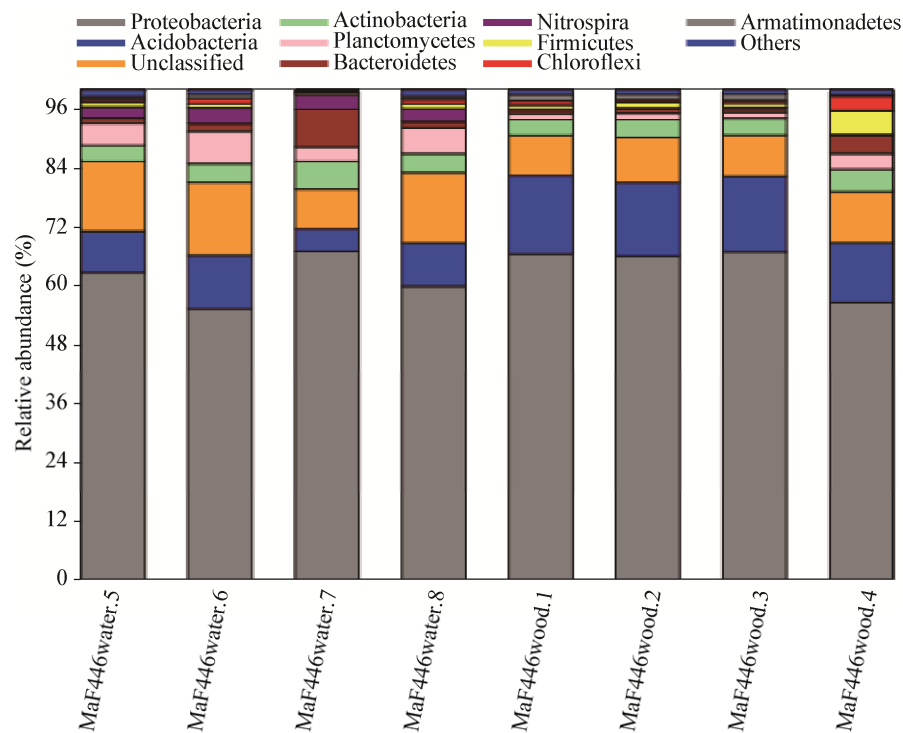


图 2 样品在菌门上的群落结构分析图  
Figure 2 Analysis of community structure of samples on bacteria phylum

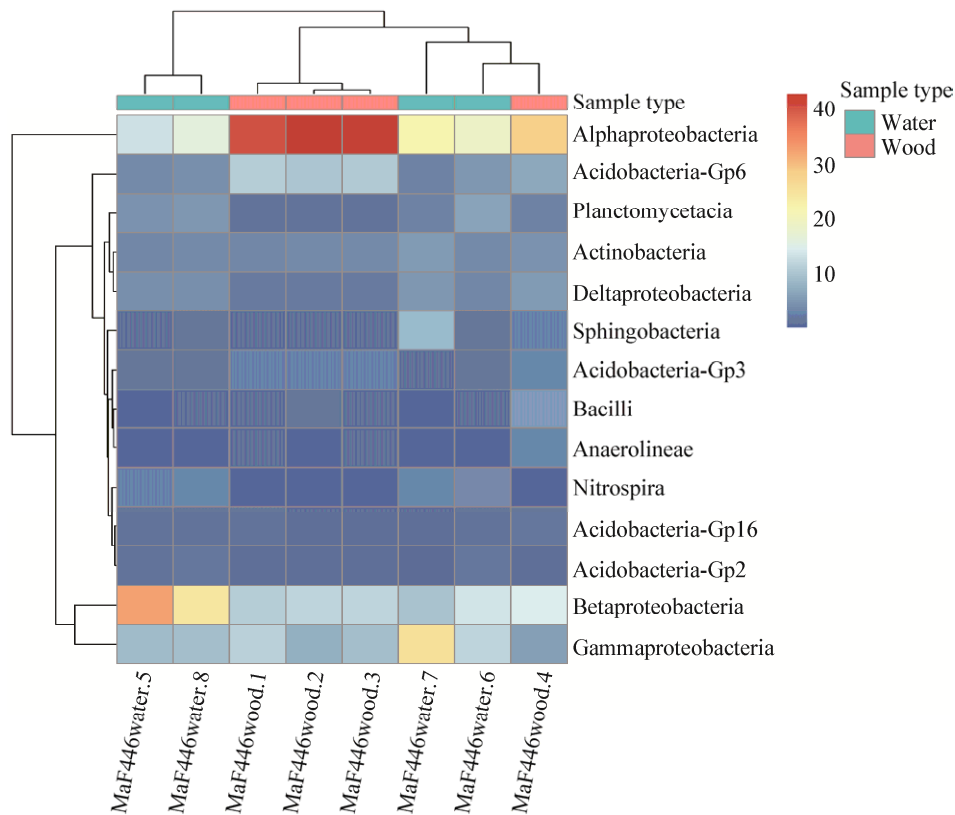


图 3 Heatmap 聚类分析图  
Figure 3 Heatmap cluster analysis chart

表 2 样品在菌属上的优势菌群分布及其所占比例

Table 2 The distribution of dominant bacteria and their proportion in the genus

总优势菌属 Dominant bacteria	占有所有样品菌属比例 Proportion of all samples (%)	水样所占菌属比例 Proportion of water samples (%)	木样所占菌属比例 Proportion of wood samples (%)	P 值 P value
Unclassified	55.02	59.35	50.68	0.002
<i>Phenylobacterium</i>	8.79	1.35	16.24	0.182
<i>Acidobacteria-Gp6</i>	6.76	3.84	9.68	0.015
<i>Naxibacter</i>	4.52	9.03	0.00	0.241
<i>Rhodoplanes</i>	3.37	0.30	6.45	0.002
<i>Hyphomicrobium</i>	2.49	2.56	2.42	0.677
<i>Acidobacteria-Gp3</i>	1.84	1.13	2.54	0.298
<i>Nevskia</i>	1.64	3.27	0.00	0.008
<i>Nitrospira</i>	1.47	2.76	0.18	0.407
<i>Acidobacteria-Gp16</i>	1.07	1.04	1.10	0.002
<i>Pasteuria</i>	1.04	0.24	1.83	0.000
<i>Hydrocarboniphaga</i>	1.02	2.04	0.00	0.004
<i>Porphyrobacter</i>	0.58	0.00	1.15	0.085

度>1%), 分别为: *Phenylobacterium* (16.24%)、*Acidobacteria-Gp6* (9.68%)、*Rhodoplanes* (6.45%)、*Acidobacteria-Gp3* (2.54%)、*Hyphomicrobium* (2.42%)、*Pasteuria* (1.83%)、*Porphyrobacter* (1.15%)、*Acidobacteria-Gp16* (1.10%)。水样品共有 10 个优势菌属(相对丰度>1%), 分别为 *Naxibacter* (9.03%)、*Acidobacteria-Gp6* (3.84%)、*Nevskia* (3.27%)、*Nitrospira* (2.76%)、*Hyphomicrobium* (2.56%)、*Hydrocarboniphaga* (2.04%)、*Phenylobacterium* (1.35%)、*Acidobacteria-Gp3* (1.13%)、*Acidobacteria-Gp16* (1.04%)、*Acidobacteria-Gp2* (1.05%)。*Nevskia*、*Hydrocarboniphaga* 在水样品中的相对丰度显著大于木质样品( $P<0.05$ )。*Acidobacteria-Gp6*、*Rhodoplanes*、*Acidobacteria-Gp16* 在木质样品中的相对丰度显著大于水样品( $P<0.05$ )。

## 2.4 $\beta$ 多样性分析

被测样品基于 UniFrac 的样品相似度树分析, 有利于直观显示不同环境样品中微生物进化上的相似性及差异性, 通过树枝的距离和聚类的远近可以直接观察样品间的进化距离。由图 4 可知, 木质样品在  $\beta$  分类上被分为一类, 水样品被分为一类, 木质样品与水样品在微生物群落结构上存在一定差异。

## 3 讨论

Illumina MiSeq 是新型的高通量测序平台之一, 其中 250PE (2×250)应用最广泛。该测序方法不仅克服了传统测序方法的初期读长较短、误差较大等缺陷, 而且可获得更准确的微生物群落信息<sup>[12-13]</sup>。基于 Illumina MiSeq 高通量测序, 检测出木质样品中的细菌主要属于 Proteobacteria (64.00%)、Acidobacteria (14.70%)、Actinobacteria (3.83%)等 18 个菌门, Alphaproteobacteria (38.80%)、Betaproteobacteria (12.29%)、Acidobacteria-Gp6 (9.68%)等 34 个菌纲和 *Phenylobacterium* (16.24%)、*Acidobacteria-Gp16* (9.68%)、*Rhodoplanes* (6.45%)等 106 个菌属。水样品中细菌主要属于 Proteobacteria (61.26%)、Acidobacteria (8.25%)、Planctomycetes (4.88%)等 21 个菌门, Alphaproteobacteria (17.58%)、Betaproteobacteria (20.18%)、Gammaproteobacteria (13.84%)等 40 个菌纲和 *Naxibacter* (9.03%)、*Acidobacteria-Gp6* (3.84%)、*Nevskia* (3.27%)等 170 个菌属。Planctomycetes、Acidobacteria、Nitrospira 在 2 个样品中均为优势菌门, 但是 Planctomycetes 在 2 个样品中的相对丰度具有显著性差异( $P<0.05$ ), Acidobacteria、Nitrospira 在 2 个样品中的相对丰度具有极显著差异( $P<0.01$ )。属水平的优势菌属中,

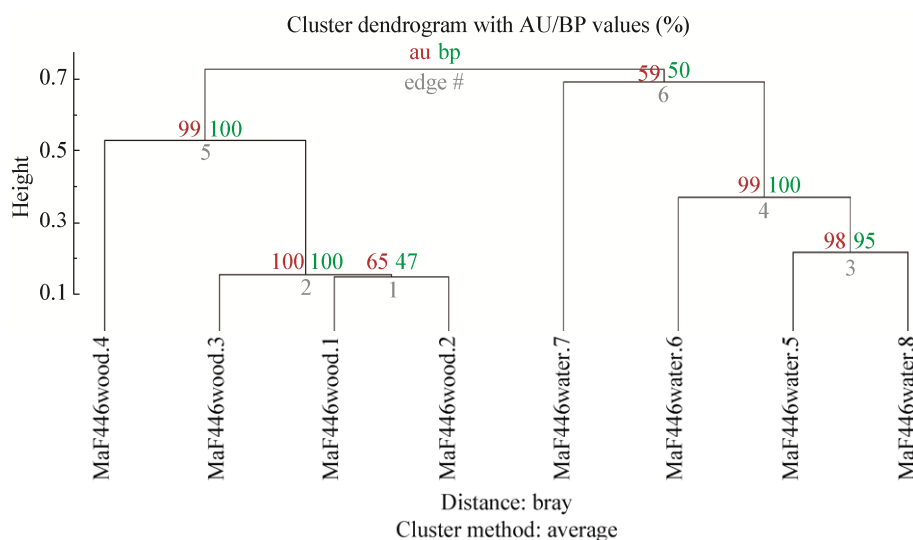


图 4 基于 UniFrac 的样品相似度树分析

Figure 4 Samples' similarity tree analysis based on UniFrac

Nevskia、Hydrocarboniphaga 在水样品中的相对丰度显著大于木质样品( $P<0.05$ )。Acidobacteria-Gp6、Rhodoplanes、Acidobacteria-Gp16 在木质样品中的相对丰度显著大于水样品( $P<0.05$ )。

范晓丹等<sup>[14]</sup>对 F446 饱水木漆器及保藏水环境进行微生物调查,结果显示木质样品中细菌数量为 1 250 CFU/g,水样中细菌数量为 1 590 CFU/L。雷琼等<sup>[15]</sup>对 F446 的细菌进行分离培养,从 F446 木质样中分离到的细菌菌株分属于 5 个属,优势菌为芽孢杆菌;从水样中分离到的细菌有 9 个属,优势菌为短杆菌。章俊等<sup>[16]</sup>从 F455 木漆器筛选的 32 株细菌中共有 4 个属,优势菌属为芽孢杆菌属。水样品中细菌有 9 个属,其中短杆菌属(*Brevibacterium*)有 9 株,为优势菌属。赵振鐸等<sup>[17]</sup>通过分离鉴定筛选到假单胞菌属、黄杆菌属、变形杆菌属、纤维单胞菌属、诺卡氏菌属和小单胞菌属。外国学者对从 1 700 年前的饱水木质文物上分离出的菌群进行了分子水平上的鉴定,该菌群主要成分为螺旋体(*Spirochaeta*)、 $\alpha$ -变形菌( $\alpha$ -Proteobacteria)、 $\beta$ -变形菌( $\beta$ -Proteobacteria)、 $\delta$ -变形菌( $\delta$ -Proteobacteria)以及 Geobacteriaceae<sup>[18]</sup>。Landy 等<sup>[19]</sup>通过 RNA 克隆和 DGGE 的方法研究饱水木漆器的细菌降解特性,结果显示有嗜黄杆菌、假单胞菌属、单胞菌属、纤维

弧属在 108 份被测样品中均有出现。

根据前人的研究结果,发现分离培养筛选得到的菌属多为变形菌门或厚壁菌门。变形菌门广泛分布于各种自然或人工环境下,代表了整个细菌域中最为庞大的一个类群,其物种和遗传多样性极为丰富<sup>[20]</sup>。厚壁菌门的主体为芽孢杆菌纲和梭菌纲,其中芽孢杆菌纲内的物种由于大多可形成抗逆性极强的芽孢而具有极强的环境适应性<sup>[21]</sup>。本研究检测结果显示,木质样品与水样品的优势菌属也大都属于变形菌门,部分属于厚壁菌门。但是木质样品中未被鉴定的菌属的相对丰度为 50.68%,水样品中未被鉴定的菌属相对丰度为 59.35%,说明人工培养的菌仍占自然界的小部分,且该被测样品可能含有大量的潜在新菌。

## 4 结论

(1) 木质样品中的细菌属于 18 个菌门 34 个菌纲 106 个菌属;水样品中细菌属于 21 个菌门 40 个菌纲 170 个菌属。

(2) 木质样品共有 7 个优势菌门,8 个优势菌属;水样品有 6 个优势菌门,10 个优势菌属。

(3) 木质样品与水样品中微生物均具有多样性,但是水样品中微生物多样性大于木质样品中的微生物多样性。

(4) 被测样品中可能含有大量的潜在新菌。



## REFERENCES

- [1] Chen JC, Huang X, Chen XL, et al. Corrosion type and conservation of archaeological waterlogged wood[J]. *Materials Review*, 2015, 29(6): 96-101 (in Chinese)  
陈家昌, 黄霞, 陈晓琳, 等. 出土饱水木质文物的腐蚀病害类型与保护研究进展[J]. *材料导报*, 2015, 29(6): 96-101
- [2] Liu L. Microbial corrosion and anti-corrosion measures for waterlogged wood objects[J]. *China Cultural Heritage Scientific Research*, 2014(4): 83-85 (in Chinese)  
刘亮. 出土饱水木质文物的微生物腐蚀及防腐措施[J]. *中国文物科学研究*, 2014(4): 83-85
- [3] Xu RL. Research on bacteria causing damage in water-saturated archaeological wood and their identification[J]. *Sciences of Conservation and Archaeology*, 2013, 25(3): 104-110 (in Chinese)  
徐润林. 饱水木质文物的细菌病害及其诊断技术的进展[J]. *文物保护与考古科学*, 2013, 25(3): 104-110
- [4] Jordan BA. Site characteristics impacting the survival of historic waterlogged wood: a review[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2001, 47(1): 47-54
- [5] Chen XQ, Yin HW. Progress on analytical methods used in microbial community diversity[J]. *Shanghai Environmental Sciences*, 2003, 22(3): 213-217 (in Chinese)  
陈晓倩, 殷浩文. 微生物群落多样性分析方法的进展[J]. *上海环境科学*, 2003, 22(3): 213-217
- [6] Che YL, Wang H, Hu HY, et al. Research progresses on analytical technologies used in microbial community structure and diversity[J]. *Ecology and Environment*, 2005, 14(1): 127-133 (in Chinese)  
车玉伶, 王慧, 胡洪营, 等. 微生物群落结构和多样性解析技术研究进展[J]. *生态环境*, 2005, 14(1): 127-133
- [7] Lou J, Liu Y, Li Y. Review of high-throughput sequencing techniques in studies of soil microbial diversity[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, 30(15): 256-260 (in Chinese)  
楼骏, 柳勇, 李延. 高通量测序技术在土壤微生物多样性研究中的应用[J]. *中国农学通报*, 2014, 30(15): 256-260
- [8] Wang XC, Yang ZR, Wang M, et al. High-throughput sequencing technology and its application[J]. *China Biotechnology*, 2012, 32(1): 109-114 (in Chinese)  
王兴春, 杨致荣, 王敏, 等. 高通量测序技术及其应用[J]. *中国生物工程杂志*, 2012, 32(1): 109-114
- [9] Sultan M, Schulz MH, Richard H, et al. A global view of gene activity and alternative splicing by deep sequencing of the human transcriptome[J]. *Science*, 2008, 321(5891): 956-960
- [10] Schuster SC. Next-generation sequencing transforms today's biology[J]. *Nature Methods*, 2008, 5(1): 16-18
- [11] Oren A, Jiao ZW, Janbolat, et al. Determination of bacteria diversity of degraded grassland in Xinyuan county by high-throughput sequencing technology[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(3): 545-553 (in Chinese)  
吾尔恩·阿合别尔迪, 焦子伟, 江波拉提, 等. 高通量测序技术分析新疆新源县过度放牧土壤细菌多样性[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(3): 545-553
- [12] Frey KG, Herrera-Galeano JE, Redden CL, et al. Comparison of three next-generation sequencing platforms for metagenomic sequencing and identification of pathogens in blood[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15(1): 96
- [13] Weinstock GM. Genomic approaches to studying the human microbiota[J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 250-256
- [14] Fan XD, Lei Q, Qiu ZM, et al. Investigation of microbial species and quantity of waterlogged wood and lacquer excavated from Ancient Chu Tomb No.1 at Tianxingguan in Jingzhou[J]. *Journal of Yangtze University (Natural Science Edition)*, 2015, 12(15): 51-53 (in Chinese)  
范晓丹, 雷琼, 邱祖明, 等. 江陵天星观一号楚墓出土饱水木漆器微生物种类及数量调查[J]. *长江大学学报: 自然科学版*, 2015, 12(15): 51-53
- [15] Lei Q, Zhang J, Qiu ZM, et al. Identification of cultured bacteria separated from an excavated waterlogged wood and lacquer[J]. *Microbiology China*, 2018, 45(4): 753-761 (in Chinese)  
雷琼, 章俊, 邱祖明, 等. 一件出土饱水木漆器文物中可培养细菌的鉴定及对木材的腐蚀作用[J]. *微生物学通报*, 2018, 45(4): 753-761
- [16] Zhang J, Lei Q, Qiu ZM, et al. Study of wood degradation by bacteria from the archaeological waterlogged wood F455 excavated at Chu Tomb No.1 at Tianxingguan[J]. *Sciences of Conservation and Archaeology*, 2017, 29(4): 19-26 (in Chinese)  
章俊, 雷琼, 邱祖明, 等. 江陵天星观一号楚墓出土饱水木漆器 F455 中细菌对硬松木的腐蚀研究[J]. *文物保护与考古科学*, 2017, 29(4): 19-26
- [17] Zhao ZJ, Xiao L, Sun J. Study on microorganism of ship coffin and single coffin site in Chengdu Commercial Street[A]/The Fourth Annual Conference of Chinese Cultural Relics Protection Technology Association[C]. Jingzhou: Chinese Cultural Relics Protection Technology Association, 2005: 381-393 (in Chinese)  
赵振鐸, 肖璘, 孙杰. 成都商业街船棺、独木棺遗址微生物研究[A]/中国文物保护技术协会第四次学术年会[C]. 荆州: 中国文物保护技术协会, 2005: 381-393
- [18] Helms AC, Martiny AC, Hofman-Bang J, et al. Identification of bacterial cultures from archaeological wood using molecular biological techniques[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2004, 53(2): 79-88
- [19] Landy ET, Mitchell JJ, Hotchkiss S, et al. Bacterial diversity associated with archaeological waterlogged wood: ribosomal RNA clone libraries and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2008, 61(1): 106-116
- [20] Song ZQ, Wang L, Liu XH, et al. The diversities of Proteobacteria in four acidic hot springs in Yunnan[J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2016, 50(3): 376-382 (in Chinese)  
宋兆齐, 王莉, 刘秀花, 等. 云南 4 处酸性热泉中的变形菌门细菌多样性[J]. *河南农业大学学报*, 2016, 50(3): 376-382
- [21] Song ZQ, Wang L, Liu XH, et al. Diversities of Firmicutes in four hot springs in Yunnan and Tibet[J]. *Biotechnology*, 2015, 25(5): 481-486 (in Chinese)  
宋兆齐, 王莉, 刘秀花, 等. 云南和西藏四处热泉中的厚壁菌门多样性[J]. *生物技术*, 2015, 25(5): 481-486