

· 资源与质量评价 ·

基于 ITS 序列的丹参连作根际土壤真菌群落组成及多样性分析

刘伟^{1,2}, 周冰谦¹, 王晓^{1*}, 卢恒¹, 郭兰萍², 李奉胜³

(1. 齐鲁工业大学(山东省科学院)山东省分析测试中心,
山东省中药质量控制技术重点实验室(筹), 济南 250014;

2. 中国中医科学院中药资源中心, 中国中医科学院博士后科研流动站, 北京 100700;

3. 莱芜紫光生态园有限公司, 山东莱芜 271100)

[摘要] 目的:该文研究了丹参连作根际土壤真菌群落组成及多样性变化,有利于阐述丹参-土壤-真菌根际微环境的变化,为揭示连作障碍形成的原因提供理论基础。方法:基于高通量测序技术,分别对未种植丹参(CK),连作1年(Y1)及连作两年(Y2)的根际土壤进行转录间隔区(ITS)测序,3种处理中分别得到14 153,19 024及7 622条有效序列,注释为1 027,1 095及712种真菌可操作分类单元(OTU)。结果:随着连作年限的增加,真菌群落多样性呈现出先下降后上升的变化趋势。在纲分类水平上,优势菌群分别为伞菌纲(Agaricomycetes),锤舌菌纲(Leotiomycetes)及银耳纲(Tremellomycetes),在3种处理中所占比例大小分别为Y1 > CK > Y2, Y2 > Y1 > CK, CK > Y2 > Y1;在属分类水平上,CK中优势菌属为耐冷酵母(Guehomyces),Y1及Y2较CK相比分别下降96.13%和90.21%,异常威克汉姆酵母(Wickerhamomyces)在Y2中所占比例增幅明显(6.64%),较CK及Y1相比分别增加290.59%及564.00%。结论:CK及Y1样品中根际土壤真菌在属水平上群落结构上具有更高的相似性,Y2样品群落结构分布热图显示炭疽菌属(*Cryptosporiopsis*)等致病真菌成为优势菌属,推测与连作丹参病害率高有一定相关性。研究结果为阐述丹参连作障碍形成、发展绿色种植提供理论支撑。

[关键词] 丹参;连作;高通量测序;真菌群落;多样性

[中图分类号] R284.1;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)09-0130-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190715

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181219.1355.003.html>

[网络出版时间] 2018-12-21 11:26

Analysis of Rhizosphere Soil Fungal Community Composition and Diversity of *Salvia miltiorrhiza* Based on ITS Sequences

LIU Wei^{1,2}, ZHOU Bing-qian¹, WANG Xiao^{1*}, LU Heng¹, GUO Lan-ping², LI Feng-sheng³

(1. Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Shandong Analysis and Test Center, Shandong Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine (TCM) Quality Control Technology, Ji'nan 250014, China;

2. China Academy of Chinese Medical Sciences, National Resource Center for Chinese Materia Medica, Post-Doctoral Research Station of Chinese Academy of TCM, Beijing 100700, China;

3. Laiwu Ziguang Ecological Company, Laiwu 271100, China)

[Abstract] **Objective:** To study rhizosphere soil fungal community composition and diversity of *Salvia*

[收稿日期] 20180528(015)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2017YFC1702701,2017YFC1700703);国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-21);山东省科技发展计划项目(2016GSF202011);山东省自然科学基金项目(ZR2017LH069,ZR2017LH071)

[第一作者] 刘伟,博士,副研究员,中药资源及栽培研究,E-mail:liuwei0074@163.com

[通信作者] *王晓,博士,研究员,从事中药资源学研究,Tel:0531-68606191,E-mail:wxjn1998@126.com

miltiorrhiza, in order to explain the changes of the rhizosphere microenvironment of *S. miltiorrhiza*, and provide theoretical basis for revealing the reasons for the formation of continuous obstacles. **Method:** Based on the high-throughput sequencing technology, three kinds of soil samples were collected, namely soil of non-plant (CK), soil for cultivating for one year (Y1) and soil for cultivating for two years (Y2), respectively. According to the sequencing of the internal transcribed space of nuclear ribosomal DNA (ITS) region of fungal rRNA gene, 14 153, 19 024 and 7 622 valid sequences were obtained and annotated as 1 027, 1 095 and 712 varieties of OTUs. The diversity of fungal communities showed a trend of decreasing first and then increasing. Agaricomycetes, Leotiomycetes and Tremellomycetes were the dominant bacterial communities at the class level, their orders in three treatments were Y1 > CK > Y2, Y2 > Y1 > CK, CK > Y2 > Y1. At the genus level, Guehomyces was dominant species in CK, and both Y1 and Y2 had a decrease of 96.13% and 90.21%, respectively. Wickerhamomyces had a significantly increase in Y2 (6.64%), 250.59% and 564.00% compared with CK and Y1, respectively. **Result:** The results of cluster analysis showed that CK and Y1 had a higher similarity at the genus level in soil fungal community composition compared with Y2. **Conclusion:** *Cryptosporiopsis* and other pathogenic fungal communities were dominant genres according to the heatmap analysis in Y2, suggesting a correlation with the incidence of *S. miltiorrhiza*. The findings provide theoretical basis for the formation of continuous cropping obstacle.

[**Key words**] *Salvia miltiorrhiza*; continuous cropping; high-throughput sequencing; fungal community; diversity

丹参来源于唇形科鼠尾草属植物丹参(*Salvia miltiorrhiza*)的干燥根及根茎^[1],为临床上治疗心脑血管的首选药物之一^[2],具有活血祛瘀、痛经止痛、清心除烦等功效,常用于治疗胸痹心痛、心烦不眠、痛经经闭。目前,丹参药材基本靠人工栽培获得,随着其种植面积的增加和品种单一等问题的出现,连作障碍已成为限制丹参生产上的关键因素^[3]。但关于解决连作障碍的研究主要集中在农作物方面^[4],丹参连作障碍的研究较少。刘伟等^[3]研究了连作年限对丹参生长及活性成分含量的影响,郭俊霞等^[5]考察了连作土壤水提物对丹参幼苗生长的影响,张辰露等^[6]研究表明连作危害丹参的生长,从而影响丹参质量。丹参作为忌连作植物,每年因连作障碍引起的减产十分严重,前期研究表明,连作 2 年可造成减产 54.2%,连作 3 年可减产 51.58%,连作 4 年丹参减产可达到 85.6%;同时丹参根系生长下降明显,其中连作 2~4 年障碍重度区的丹参根粗可下降 29.8%~30.3%^[6]。

目前,连作障碍已成为制约我国中药农业生产发展的重大问题^[7],绝大部分的根和根茎类药材存在不同程度的连作障碍,如三七^[8]、人参^[9]、地黄^[10]、丹参^[11]和穿山龙^[12]等,严重影响了药材产量及质量。目前有关丹参连作障碍的焦点主要集中在土壤理化性质劣变、土传病害及根系分泌物的自毒作用^[13-14]等方面,而由此引起的根际土壤中微

生物变化的研究报道较少。董林林等^[9]发现人参中连作体系下土壤微生物多样性及组成发生变化,致病群落丰度增加,导致发生连作障碍,因此本研究以山东道地药材丹参为研究对象,采用高通量测序技术及 Miseq 测序平台对连作丹参根际土壤真菌菌进行测定,通过研究丹参连作根际土壤中真菌群落及组成的变化,为阐明丹参连作障碍发生机制、药材的栽培及规范化种植提供理论依据。

1 材料

土壤样品采集于山东省莱芜紫光生态园丹参种植基地(暖温带季风气候,年平均温度 25.6℃),本试验共设 3 个处理,空白组为区域内未种植丹参的地块(CK),移栽后丹参种植年限 1 年(3 月份移栽,12 月份收获,头茬)和 2 年(第一年收获后第二年重新在同一地块种植丹参种苗,重茬)的土壤,分别设为处理 1(Y1)及处理 2(Y2)。根际土壤的采集方法为,CK 除去表层土后采取棋盘式取样法,使用土钻在土壤(0~20 cm)各区选取 8~10 点,Y1 和 Y2 采用网点法随机选取 20 株丹参,抖落收集附着在根部的土壤(0~0.5 cm)。将土壤样品过 80 目筛,去除植物杂质,存放于 -80℃超低温冰箱,备用。

TIANamp Soil DNA Kit 型 DNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司,批号 CAT# D5625-02),TY10Biospec-nano ZX21 型核酸蛋白分析仪(德国 Elementar 公司),ETS30 型琼脂糖凝胶电泳(上海

天能)。

2 方法

2.1 土壤微生物基因组 DNA 的提取 分别取 3 个处理的土壤样品,采用天根土壤基因组 DNA 提取试剂盒(TIANamp Soil DNA Kit)进行土壤微生物总 DNA 的提取,核酸蛋白分析仪进行浓度测定,利用琼脂糖凝胶电泳进行纯度检测。

2.2 聚合酶链式反应(PCR)扩增及高通量测序 本实验采用内转录间隔区(ITS)1 引物对根际土壤中真菌多样性进行鉴定,引物序列为 1 743F(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')及 2 043R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'),将扩增产物在 Illumina Miseq 平台上进行高通量测序。

2.3 对根际土壤真菌群落分析 对 Illumina Miseq 测序所得数据进行处理,得到优质序列进行下游分析。采用 Uparse 软件以 97% 相似度进行操作分类单元(OTU)划分,挑选丰度最大的序列作为代表序列进行分类注释及分类学分析,采用 Mothur 软件进行稀释性曲线构建^[15]。通过多样性分析,计算各种物种多样性指数,用来衡量不同连作年限丹参根际土壤中真菌多样性^[16]。

3 结果

3.1 不同连作年限丹参根际土壤真菌测序数据统计与 OTU 分析 将不同连作年限丹参根际土壤真菌测序结果进行分析,统计结果表明,CK, Y1 及 Y2 分别得到拼接序列的数目为 14 231, 19 210 及 7 660 个,有效序列数目为 14 153, 19 024 及 7 622 条,有效率依次为 99.45%, 99.03% 和 99.50%。对各样本中 OTU 种类进行统计后,CK 样品中有 1 027 种, Y1, Y2 中分别有 1 095 和 712 种。见表 1。

表 1 不同连作年限丹参根际土壤真菌测序数据统计
Table 1 Data statistics of fungus communities in rhizosphere soil of *Salvia miltiorrhiza* with different years of continuous cropping

样品	拼接序列 / 个	有效序列 / 个	有效率 / %	平均长度 / bp	OTU 种类数 / 种
CK	14 231	14 153	99.45	279.24	1 027
Y1	19 210	19 024	99.03	284.43	1 095
Y2	7 660	7 622	99.50	230.09	712

对以上 3 个处理所得 OTU 进行分析,统计其在界、门、纲、目、科、属不同分类水平上的注释,在界水平上 CK, Y1 及 Y2 注释的 OTU 种类分别为 933, 1 002 及 585 种,其在门水平上分类分别为 724, 636 及 543 种,在纲水平 OTU 分别为 589, 460 及 380

种,在目水平上 OTU 分别为 545, 444 及 371 种,CK, Y1 及 Y2 在科水平上分类分别为 426, 233 及 274 种,在属水平上 OTU 分类分别为 373, 189 及 247 种。见表 2。

表 2 不同连作年限丹参根际土壤真菌群落 OTU 注释的统计
Table 2 Results of OTU annotation of rhizosphere soil fungus in *Salvia miltiorrhiza* with different continuous cropping years

样品	界	门	纲	目	科	属
CK	933	724	589	545	426	373
Y1	1 002	636	460	444	233	189
Y2	585	543	380	371	274	247

3.2 不同连作年限丹参根际土壤真菌群落 OTU 分析 将以上 3 种处理样品中所得根际土壤真菌群落 OTU 进行分析,维恩图显示 3 种样品中共有的 OTU 种类数为 58 种,CK 与 Y1 共有的 OTU 种类数为 178 种,与 Y2 共有的 OTU 种类数目为 90 种, Y2 中共有的 OTU 数目较 Y1 相比减少 49.44%; Y1 和 Y2 样品中共有的 OTU 为 87 种,即随着连作年限的增长,共有的 OTU 种类数目不断减少,特异性的真菌 OTU 种类数目增加导致真菌群落组成分布发生改变。见图 1。

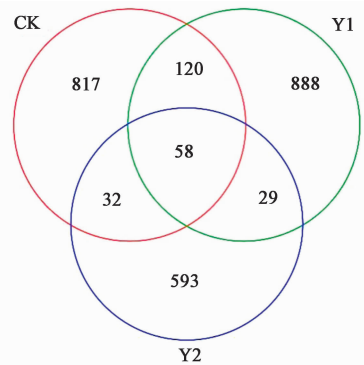


图 1 不同连作年限丹参土壤真菌群落种类 OTU 统计
Fig. 1 Statistics of fungus OTUs in *Salvia miltiorrhiza* with different continuous cropping years

3.3 不同连作年限丹参根际土壤真菌群落多样性指数分析 参照 Garland 和 Mills^[17]方法,计算 3 种处理样品中对应的 Chao1 指数,香农-威纳(Shannon-Wiener)指数及 Simpson 指数,分析不同连作年限丹参根际土壤真菌群落多样性。结果表明,Chao1 指数在 CK, Y1 及 Y2 样品中呈现出先降低后升高的趋势,其中 Y2 样品为 2 996.88,与 CK 和 Y1 相比分别提高了 26.04% 和 103.72%,即 Y2 样品中真菌群落多样性最高。Shannon 及 Simpson 指数与

Chao1 指数变化趋势相同,即在 3 种处理样品中变化趋势均呈现出先下降后上升的趋势。CK, Y1 及 Y2 样品中 Shannon 指数分别为 5.47, 4.79 及 5.63, 其中 Y2 指数最高,较 CK 及 Y1 分别高出 2.92% 及 17.54%; Simpson 指数在 3 个样品中为 Y2 > Y1 > CK。见表 3。

表 3 不同连作年限丹参根际土壤真菌群落多样性指数分析
Table 3 Analysis of rhizosphere soil fungus community diversity in *Salvia miltiorrhiza* with different continuous cropping years

样品	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
CK	2 377.67	5.47	0.93
Y1	1 471.04	4.79	0.85
Y2	2 996.88	5.63	0.94

3.4 不同连作年限丹参根际土壤真菌群落结构组成

3.4.1 不同连作年限丹参根际土壤真菌群落组成在纲水平上的变化 丹参根际土壤真菌群落组成在纲水平上发生变化。选取 3 个处理中真菌群落检测丰度的优势菌(TOP15)进行分析,结果显示,3 种处理中真菌群落结果组成中变化最大的为伞菌纲(Agaricomycetes),其在 CK, Y1 及 Y2 中所占比例分别为 9.83%, 39.85% 及 9.26%, Y1 中比例最高,较 CK, Y2 分别高出 305.39% 和 330.35%; 其次为锤舌菌纲(Leotiomycetes),在 3 种样品中所占比例依次为 4.04%, 6.40% 和 19.56%, Y2 样品中与 CK 和 Y1 相比分别增比 384.16% 和 205.63%; 银耳纲(Tremellomycetes)在 3 种样品中比例变化明显,所占比例依次为 13.09%, 0.84% 及 1.47%, 其中 Y1, Y2 较 CK 相比,分别减少 93.58% 和 88.77%; 酵母菌纲(Saccharomycetes)在 3 种处理中变化较大,其在 Y2 中增幅明显,分别较 CK 及 Y1 增加 317.65% 和 322.62%。见图 2。

3.4.2 不同连作年限丹参根际土壤真菌群落组成在属水平上的变化 对不同连作年限丹参根际土壤真菌群落组成在属水平上变化分析。分析结果表明 CK, Y1 及 Y2 3 个处理中优势菌属(TOP15)的种类及组成变化较大。CK 中优势菌属为耐冷酵母(*Guehomyces*),所占比例为 11.64%,而在 Y1 和 Y2 中比例下降明显,分别仅为 0.45% 和 1.14%,较 CK 相比分别下降 96.13% 和 90.21%。异常威克汉姆酵母(*Wickerhamomyces*) 在 Y2 中所占比例增幅明显(6.64%),较 CK, Y1 相比分别增加 290.59% 和 564.00%。其次为锈革菌属(*Hymenochaete*)所占

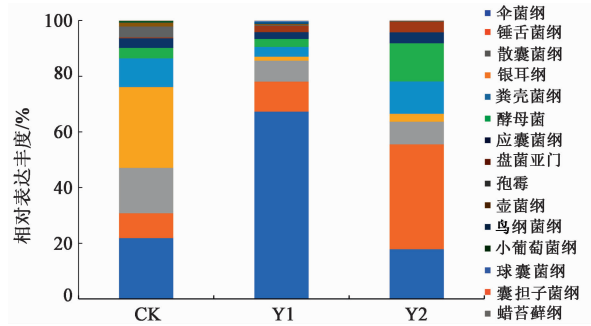


图 2 不同连作年限丹参根际土壤真菌群落组成在纲水平上的变化
Fig. 2 Varieties of rhizosphere soil fungus community composition at class level in *Salvia miltiorrhiza* with different continuous cropping years

比例为 CK > Y2 > Y1,在 3 种处理中呈现出先下降后上升的趋势;*Delicatula* 在 3 种处理样品中所占比例呈现逐渐上升的趋势,即 Y2 > Y1 > CK,其中 CK 中未检测到相应表达丰度, Y2 中所占比例较 Y1 提高 489.74%。与 *Delicatula* 变化趋势相反的为青霉菌属(*Penicillium*),其在 CK, Y1 及 Y2 中所占比例分别为 1.75%, 0.26% 及 0.01%, Y1, Y2 较 CK 分别下降 99.43% 和 85.14%。见图 3。

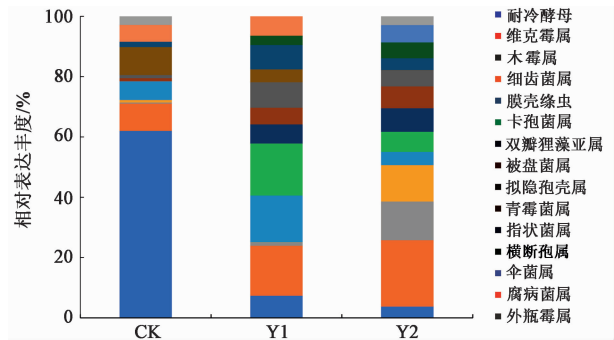


图 3 不同连作年限丹参根际土壤真菌群落组成在属水平上的变化
Fig. 3 Varieties of rhizosphere soil fungus community composition at genus level in *Salvia miltiorrhiza* with different continuous cropping years

3.5 不同连作年限丹参根际土壤真菌群落结构分布 Heatmap 对 3 种处理的根际土壤真菌测序所得的 OTU 结果进行注释分类后汇总,根据各个菌属的总分类及相对丰度信息绘制 Heatmap。对 CK, Y1 及 Y2 优势菌(TOP 30)在属水平上进行聚类分析,结果表明 CK 与 Y1 样品聚为一类,即两者在群落结构分布上相差较小,CK, Y1 与 Y2 样品中的真菌群落结构分布有明显差别。见图 4。

3 个处理中真菌群落的优势种属集中在子囊菌门(Ascomycota),担子菌门(Basidiomycota)及接合菌门(Zygomycota)中,但其在相对丰度上差异显著。

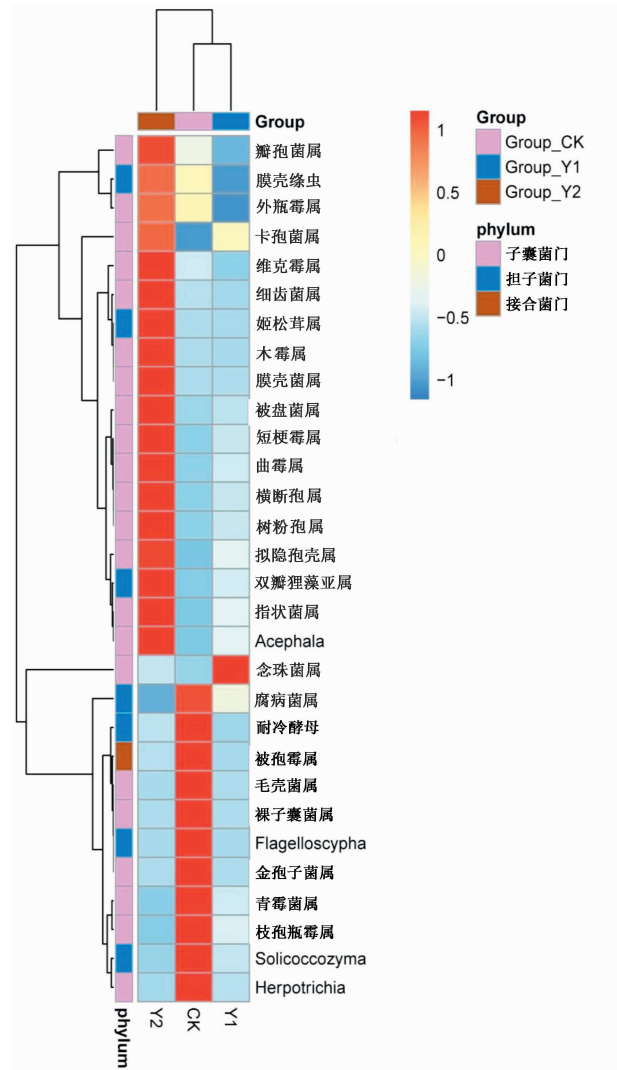


图 4 不同连作年限丹参根际土壤真菌群落结构分布在属水平上的热表现

Fig. 4 Heatmap of rhizosphere soil fungus community composition at genus level in *Salvia miltiorrhiza* with different continuous cropping years

CK 中相对丰度较高的为耐冷酵母属 (*Guehomyces*), 被孢霉属 (*Mortierella*), 毛壳菌属 (*Chaetomium*), 裸囊菌属 (*Gymnoascus*) 等, 以上各属在 Y1 样品中相对丰度降低, 而念珠菌属 (*Candida*) 相对丰度提高, 成为 Y1 中的优势菌属, 但二者在其他菌属上相差较小。Y2 样品中炭疽菌属 (*Cryptosporiopsis*), 指状菌属 (*Dactylaria*), 树粉孢属 (*Oidiodendron*), *Strelitziana* 等属表达丰度提高且 CK 中的优势菌属下降显著, 其在群落组成分布上有较大差别。

4 讨论

根际土壤是靠近植物根系的微域土区, 作为植物-土壤-微生物的有机组合, 其形成的微生态系统是植物与环境相互作用并发挥功能的重要组成

部分^[18], 与连作障碍的产生密切相关, 目前普遍认为土壤根际微生态系统中土壤营养成分变化、根系分泌物及微生物群落组成的变化是引起连作障碍产生的主要原因^[19]。研究发现人参连作的发生伴随着真菌群落多样性的下降及群落组成的变化^[9]; 李坤等^[20]研究表明长期连作造成葡萄种植土壤真菌种群分类及数量发生较大改变, 因此研究根际土壤真菌群落组成及多样性分析将有助于揭示连作障碍的形成机制。近年来随着丹参需求量不断增加, 其种植面积也在逐渐扩大, 但受耕地制度及种植条件等因素的限制, 丹参生产中出现连作的现象也日益严重, 连作可引起药材生长发育不良、应答逆境能力减弱, 最终造成药材质量受到直接影响^[21]。

本研究利用 ITS 序列测序技术, 对不同连作年限土壤真菌群落组成及结构变化进行分析, 结果表明, 丹参连作年限对根际土壤真菌在界、纲及属不同分类水平上均有较大影响。多样性指数分析显示真菌的多样性随着连作年限的增加呈现出先下降后上升的趋势, 且连作两年后真菌优势菌群变化显著, 连作两年后其多样性高于未种植丹参的土壤区域, 这与徐红梅等^[22]研究结果一致。在属水平上的聚类分析结果表明随着连作年限的增加, 真菌群落组成的相似性降低, 连作两年 Y2 中炭疽菌属 *Cryptosporiopsis* (一类植物病原真菌) 种群数量增多, 这可能与丹参连作后病害加重相关, 连作土壤中这类真菌的增加并积累成为了优势菌种, 破坏了根际土壤微生态的平衡, 造成其生长环境的恶化。因此, 深入研究丹参连作土壤真菌群落组成及多样性, 有利于阐释丹参-土壤-真菌之间的相互作用, 有助于进一步揭示丹参连作障碍产生的原因。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 76.
- [2] 王雪, 陈美兰, 杨光, 等. 丛枝菌根真菌与哈茨木霉菌合用对连作丹参生长及质量的影响[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(9): 1574-1578.
- [3] 刘伟, 魏莹莹, 孙鹏, 等. 须根自然腐解对白花丹参生长及其活性成分含量的影响[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(13): 2548-2552.
- [4] 赵磊, 余弦, 宋玉丹, 等. 川牛膝不同种植模式比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(8): 86-88.
- [5] 郭俊霞, 李青苗, 杨玉霞, 等. 丹参连作土壤水提液对其幼苗生长的影响[J]. 甘肃中医学院学报, 2013, 30(3): 76-79.

- [6] 张辰露,孙群,叶青. 连作对丹参生长的障碍效应[J]. 西北植物学报,2005,25(5):1029-1034.
- [7] 李俊仁,陈秀珍,曾湘达,等. 连作对穿心莲基因组 DNA 甲基化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(15):65-71.
- [8] 谭勇,崔尹贍,季秀玲,等. 三七连作的根际、根内微生物变化与生态学研究进展[J]. 中草药,2017,48(2):391-399.
- [9] 董林林,牛玮浩,王瑞,等. 人参根际真菌群落多样性及组成的变化[J]. 中国中药杂志,2017,42(3):443-449.
- [10] 张重义,陈慧,杨艳会,等. 连作对地黄根际土壤细菌群落多样性的影响[J]. 应用生态学报,2010,21(11):2843-2848.
- [11] 刘伟,张琳,章云云,等. 不同连作年限对白花丹参生长及其活性成分含量的影响[J]. 中国中药杂志,2013,38(24):4252-4256.
- [12] 姚佳,尹海波,赵容,等. 基于连作障碍条件下穿山龙无机元素吸收规律及总皂苷含量分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(24):61-64.
- [13] 刘伟,章云云,魏莹莹,等. 耕作模式对白花丹参连作土壤理化性质及酶活性的影响[J]. 作物杂志,2015(1):72-77.
- [14] 章云云,朱端卫,王晓,等. 植物根系分泌物的作用及其与药用植物连作障碍的关系[J]. 湖北农业科学,2014,53(6):1241-1245.
- [15] Bokulich N A, Sathish S, Faith J J, et al. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from *Illumina* amplicon sequencing[J]. Nat Methods, 2012, 10(1): 57-59.
- [16] Quast C, Priesse E, Yilmaz P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(Database issue):590-596.
- [17] Jay L G, Aaron L M. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization[J]. Appl Environ Microbiol, 1991, 57(8): 2351-2359.
- [18] 孟品品,刘星,邱慧珍,等. 连作马铃薯根际土壤真菌种群结构及其生物效应[J]. 应用生态学报,2012,23(11):3079-3086.
- [19] 张子龙,王文全. 植物连作障碍的形成机制及其调控技术研究进展[J]. 生物学杂志,2010,27(5):69-72.
- [20] 李坤,郭修武,孙英妮,等. 葡萄连作对土壤细菌和真菌种群的影响[J]. 应用生态学报,2009,20(12): 3109-3114.
- [21] 严铸云,王海,何彪,等. 中药连作障碍防治的微生物研究模式探讨[J]. 中药与临床,2012,3(2):5-9.
- [22] 徐红梅,倪方方,宋腾蛟,等. 高通量测序揭示杭白芍根际真菌群落年际变化[J]. 浙江中医药大学学报,2016,40(12):942-947.

[责任编辑 顾雪竹]