

蜜环菌与天麻共生分子机制的转录组分析

谭或文, 包 焱, 操璟璟, 张恒丽, 陈丽梅, 徐慧妮, 李昆志*

昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500

摘要: 目的 以蜜环菌和昭通乌天麻营养繁殖茎为实验材料, 通过转录组测序比较分析, 初步揭示蜜环菌天麻共生的分子机制。方法 采用 Trizol Reagent (Invitrogen) 提取营养繁殖茎样品中的 RNA, 建立测序文库并进行测序。结果 蜜环菌与天麻共生时有 38 838 条序列得到注释, 在 FDR (False Discovery Rate) < 0.05 和 $\log_2 |FC| > 1$ 筛选条件下, 共有 23 333 条基因发生显著差异表达, 其中 1 595 条基因呈上调表达, 21 738 条呈下调表达。基于转录组数据分析结果, 与胞外酶纤维素酶、木聚糖酶、漆酶以及多聚半乳糖醛酸酶相关的 Unigene 分别有 21、6、39 和 6 个, 集中差异表达基因分别有 9、3、23 和 4 个, 除 1 个纤维素酶基因上调表达外, 其他均呈下调表达; 与抗氧化酶超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶有关的 Unigene 基因分别有 13、7 和 17 个, 其中差异表达的基因分别有 6、7 和 7 个, 都呈下调表达。此外, RT-qPCR 分析验证了这些基因呈下调表达。结论 蜜环菌侵染天麻与其共生的过程中, 蜜环菌的生命活动减弱, 同时未受到天麻胁迫作用。这为进一步研究天麻蜜环菌共生分子机制提供了大量有价值的基因资源。

关键词: 蜜环菌; 天麻; 转录组测序; 基因表达; 共生

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)17-4125-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.17.024

Transcriptome analysis on symbiotic molecular mechanism of *Armillaria mellea* and *Gastrodia elata*

TAN Yu-wen, BAO Yi, CAO Jing-jing, ZHANG Heng-li, CHEN Li-mei, XU Hui-ni, LI Kun-zhi

College of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China

Abstract: Objective In this study, *Armillaria mellea* and Zhaotong *Gastrodia elata* vegetative stems were used as the experimental material to reveal the symbiosis molecular mechanism of *A. mellea* infecting *G. elata* through comparative transcriptome sequencing analysis. **Methods** Trizol reagent (Invitrogen) was used to extract RNA from vegetative propagation stem samples, and the sequencing library was established and sequenced. **Results** The results showed that 38 838 sequences were annotated when *G. elata* symbiosis with *A. mellea*. Under false discovery rate (FDR) < 0.05 and $\log_2$ value (fold change) > 1 screening conditions, there were significant differences in expression levels among the 23 333 genes, in which 1 595 genes up-regulated and 21 738 down-regulated expression. Based on the transcriptome analysis, unigenes associated with the extracellular enzyme gene cellulase, xylanase, laccase, and polygalacturonase genes were 21, 6, 39, and 6 genes, respectively, in which the number of corresponding differentially expressed genes were 9, 3, 23, and 4, respectively. The expression of all these unigenes were down-regulated except for one cellulase genes. The number of unigenes related to anti-oxidant enzymes superoxide dismutase, peroxidase, and catalase were 13, 7, and 17, respectively. The differentially expressed genes respectively were 6, 7, and 7, all of which were down-regulated. In addition, these genes were selectively confirmed by real-time PCR. **Conclusion** The life activities of *A. mellea* which infect and symbiosis with *G. elata* declined, meanwhile *G. elata* did not produce biological stress for *A. mellea*. This study provides a lot of valuable genetic resources for further studying the symbiosis molecular mechanism of *A. mellea* and *G. elata*.

Key words: *Armillaria mellea*; *Gastrodia elata* Bl.; transcriptome sequencing; gene expression; symbiosis

天麻 *Gastrodia elata* Bl. 是中国传统名贵中药材, 是一种无根无叶分化的兰科植物, 不能进行光合作用和通过根吸收营养, 需要与蜜环菌共生才能

生长^[1]。蜜环菌以菌索形式侵入天麻的营养繁殖茎后被天麻消化吸收成为营养, 是天麻生长繁殖的直接营养来源, 决定着天麻生长、产量和品质。因此,

收稿日期: 2018-04-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31560351, 31260297)

作者简介: 谭或文 (1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物逆境分子生物学。Tel: 15969451020 E-mail: 15969451020@163.com

*通信作者 李昆志, 博士生导师, 教授, 主要从事植物生理分子生物学。E-mail: likzk@163.com

研究天麻与蜜环菌的共生关系成为天麻生产领域的研究热点。许多研究报道天麻与蜜环菌之间存在共生关系^[2-6],但这些报道仅限于蜜环菌侵染天麻后在天麻体内各种形态的变化以及天麻细胞中各种细胞器变化,局限于生理层面的研究。邹宁等^[7]研究表明,在蜜环菌与天麻的共生关系中,蜜环菌对天麻的促进作用主要来自于细胞内。因此,要真正了解蜜环菌与天麻的共生方式不能只关注它们的生理变化,必须从分子机制入手。本研究利用转录组测序技术研究蜜环菌与昭通天麻共生时蜜环菌中胞外酶基因、抗氧化酶基因及各种基因表达水平变化,以期解释蜜环菌与天麻的共生分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

采用从昭通野生乌天麻中分离出的优质蜜环菌 Am01 接种于苹果树枝,待长出蜜环菌菌索后接种昭通乌天麻营养繁殖茎米麻,接种 3 个月后分别取蜜环菌 *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm.、蜜环菌天麻共生区 (Symbiotic region of *Armillaria mellea* and *Gastrodia elata*) 和乌天麻 *Gastrodia elata* Bl. f. *glauca* S. Chow 3 种样品,立即放入液氮中冷冻,然后储存在 -80 °C 冰箱中用于提取 RNA 进行转录组分析和实时定量 PCR (RT-qPCR) 分析。

1.2 RNA 提取及质量检测

采用 Trizol Reagent (Invitrogen) 提取蜜环菌 (A)、天麻样品 (GA) 和蜜环菌天麻共生区 (GA-A) 的 RNA。取样品约 0.1 g,加入 1 mL 的 Trizol 提取液在研钵中研磨,室温静置 5 min 后移入离心管,加入 0.2 mL 氯仿,振荡混匀,离心 15 min (12 000 r/min),转移上清液至新管,加入 0.5 mL 异丙醇,混匀室温放置 10 min,4 °C 离心 10 min (12 000 r/min),弃上清,沉淀用 75%乙醇 1 mL 清洗,4 °C 离心 5 min (7 500 r/min),弃乙醇真空干燥沉淀或自然晾干,用 20 μ L 焦碳酸二乙酯 (DEPC) 处理水溶解 RNA,用分光光度计测量样品 RNA 的纯度和浓度,并检测 RNA 样品的完整性。

1.3 转录组测序样品制备及文库建立

提取样品总 RNA 后,用带有 Oligo (dT) 的磁珠富集真核生物 mRNA,加入破碎缓冲液将 mRNA 打断成短片段,以 mRNA 为模板,用六碱基随机引物合成第 1 条 cDNA 链,然后加入缓冲液、dNTPs、RNase H 和 DNA 聚合酶 I 合成第 2 条 cDNA 链,在经过 QiaQuick PCR 试剂盒纯化并加 EB 缓冲液洗

脱之后做末端修复、加 poly (A) 并连接测序接头,然后用琼脂糖凝胶电泳进行片段大小选择,最后进行 PCR 扩增,建好的测序文库用 Illumina HiSeq2000 进行高通量测序分析。

1.4 数据分析

测序结束后,在蜜环菌天麻共生区 (GA-A) 结果中过滤掉天麻的测序结果,只留下共生区蜜环菌的测序结果。经过统计 A 和 GA-A 分别获得 29 766 532 和 97 497 046 条原始测序序列 (raw reads)。对 raw reads 过滤测序引物、接头等人工序列和低质量数据,得到 clean reads。对过滤处理得到的 clean reads 进行 Trinity 组装生成单基因簇 (Unigene) 和转录本 (transcript)。将 Unigene 与 NR、Swiss-Prot、KOG 和 KEGG 数据库比对,获得 Unigene 功能注释信息。

1.5 差异表达量分析

使用 FPKM 值表示 Unigene 的表达丰度,差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs) 的筛选标准为 FDR (false discovery rate) < 0.05 且 $\log_2|FC| > 1$ 其中 FC (fold change) 表示两样品间表达量的比值。对差异表达基因做 GO 功能富集分析。

1.6 RT-qPCR

为了验证转录组数据中基因的差异表达的正确性,选取转录组基因文库内胞外酶基因和抗氧化酶基因中 7 个具有代表性的基因纤维素酶 (Unigene 0003140)、木聚糖酶 (Unigene 0003979)、漆酶 (Unigene 0008131)、多聚糖半乳糖醛酸酶 (Unigene 0005760)、超氧化物歧化酶 (Unigene 0005766)、过氧化物酶 (Unigene 0021256)、过氧化氢酶 (Unigene 0004169) 和内参基因 18 S (Unigene 0002280) 进行 RT-qPCR 相对表达分析,根据其 cDNA 片段设计特异性引物 (表 1)。

提取总 RNA 根据反转录 PrimeScript II cDNA 合成试剂盒 (Takara) 说明书反转录合成 cDNA。用 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒 (Takara 公司) 和特异引物进行 PCR 反应,18 S 用作内参基因,通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算基因相对表达量^[8]。

2 结果与分析

2.1 转录组测序及初步分析

测序后, A 样本中获得 29 233 595 的高质量 clean reads,占 raw reads 的 98.21%;在 GA-A 样本中获得 95 504 543 的高质量 clean reads,占 raw reads 的 97.96% (表 2)。对片段进行拼接得到 38 838

表 1 RT-qPCR 扩增特异引物

Table 1 Specific primers of RT-qPCR amplification

基因	引物 (3'-5')	产物/bp
纤维素酶 (Unigene 0003140)	F-CGTTCTTATGGACAGGTGCTA R-ATTATCTCGTGGCGGATGATG	256
木聚糖酶 (Unigene 0003979)	F-AGTGTATGCGTGGGATGTCA R-GATGCCGATGCCGTCATAG	250
漆酶 (Unigene 0008131)	F-TCTTGCGACTCCATCCTGC R-GCGACAACCGTGCTTCTGA	142
多聚糖半乳糖醛酸酶 (Unigene 0005760)	F-TACCTCTCACCGCTCCTCAC R-TTCGCAATCCTCGCACCTC	321
超氧化物歧化酶 (Unigene 0005766)	F-TGAAGCAGTTGAACGAGGAA R-GTGACGAGCCAGACATACC	310
过氧化物酶 (Unigene 0021256)	F-AAGTCCGCTTCGCTTCATTG R-GGTGGCTTGTAAGTTGGTCAG	214
过氧化氢酶 (Unigene 0004169)	F-TCATCCACACGCAGAAGAGG R-CACGGTCGCTGAACAGAATC	120
内参基因 18 S (Unigene 0002280)	F-TGTCTCGTTCGGTTGGCTAT R-GCGTCACCGTTCGTATCAG	138

表 2 数据过滤统计

Table 2 Data filter statistics

样品	过滤前 reads 数目	过滤后 reads 数目 (占比/%)	reads 长度	GC/%	接头个数 (占比/%)	低质量个数 (占比/%)
A	29 766 532	29 233 595 (98.21)	150	51.69	9 519 (0.03)	523 263 (1.76)
GA-A	97 497 046	95 504 543 (97.96)	150	46.84	52 748 (0.05)	1 938 870 (1.99)

表中数据为 2 次生物学重复的平均值

Data in the table 2 is average of two biological repetitions

个 Unigene 转录物。

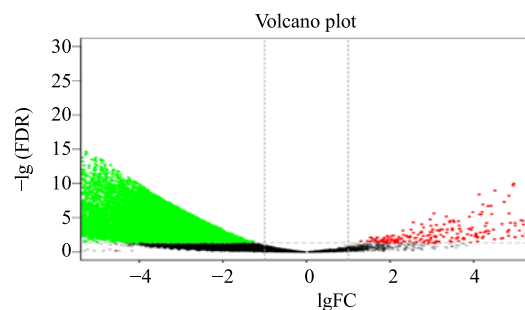
2.2 转录物功能注释及分类

为了了解转录物 Unigene 序列信息, 将总共 38 838 个 Unigenes 分别注释到 4 个数据库 Nr、Swissprot、KOG 和 KEGG 中, Unigenes 注释成功最多的为 Nr 和 Swissprot 数据库, 分别为 20 868 和 10 839 个。注释在 KOG 和 KEGG 数据库中的 Unigenes 个数分别为 9 128 和 6 267。其中在 4 个数据库中都能找到注释的 Unigenes 为 4 908 个 (图 1)。

2.3 基因差异表达分析

比较对照组 (A) 与实验组 (GA-A) 2 组数据的测序结果, 以 $FDR < 0.05$, 差异倍数 2 倍以上为

判断标准, 检测到共有 23 333 条基因发生显著差异表达, 其中 1 595 条基因上调表达, 21 738 条下调表达。下调基因占绝大部分, 达到所有差异表达基因的 93.16%; 上调基因仅有 6.84%。差异表达直观展示火山图见图 2。



红色 (GA-A 相对于 A 表达量上调) 和绿色 (表达量下调) 的点表示基因的表达量有显著差异, 黑色的点为没有差异
The red point (up-expression of *Armillaria mellea* in symbiotic area relative to *Armillaria mellea* in Control) and green point (down-expression) indicates that the expression of the gene is different (the criterion is $FDR < 0.05$, the difference multiple is more than twice), the black point is no difference

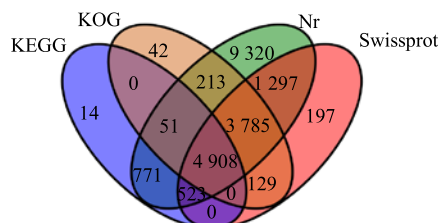


图 1 4 大数据库注释韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of four database annotations

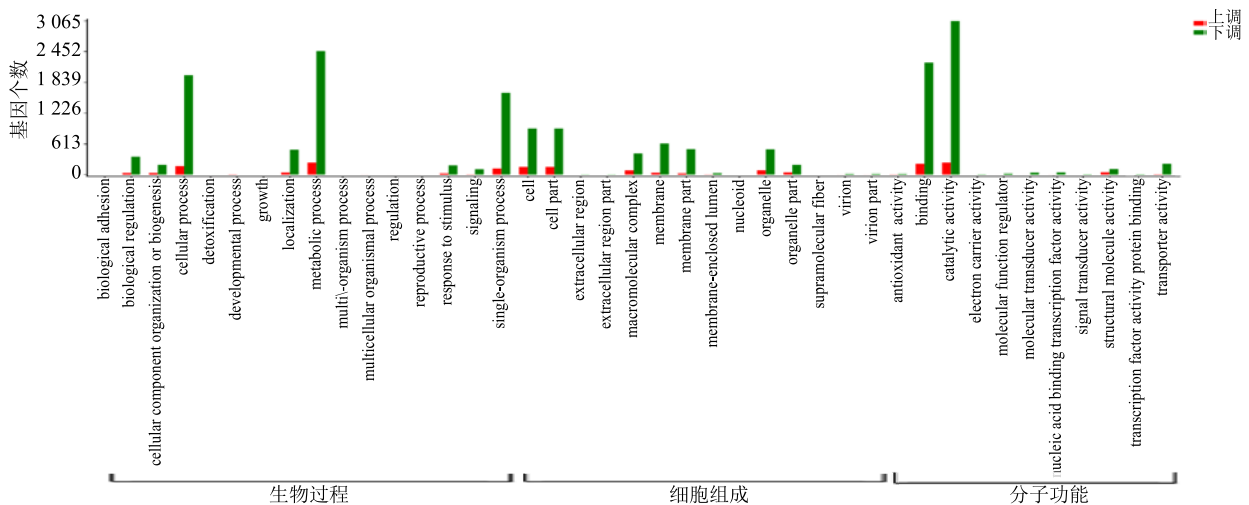
图 2 差异表达基因火山图

Fig. 2 Volcanic map of differential expressed genes

将 23 333 条差异表达的基因进行 GO 分类,如图 3 所示,有 19 207 条差异表达基因成功进行了 GO 分类。在 GO 分类的 3 个大类中与生物学过程有关的差异表达基因为 8 118 条,与细胞成分有关的差异表达基因有 4 773 条,而与分子功能有关的差异表达基因有 6 316 条,分别占比为 42.27%、24.85%和 32.88%。

在这 3 大类差异表达基因中,与生物学过程有关的差异表达基因主要分布在代谢过程、细胞过程和单一的生物过程,分别为 2 697、2 159 和 1 757 条;其中代谢过程上调基因有 239 条,下调基因有 2 458 条,细胞过程中上调基因有 173 条,

下调基因有 1 986 条,单一的生物过程中上调基因有 124 条,下调基因有 1 633 条。与细胞成分有关的差异表达基因主要分布在细胞(1 073 条)、细胞组分(1 073 条)和细胞膜(659 条);细胞和细胞组分中基因的差异表达量是相同的,上调基因都有 154 条,下调基因都有 919 条;细胞膜的 659 条差异表达基因中有 37 条基因上调,622 条基因下调。而与分子功能有关的差异表达基因主要分布在催化活性(3 302 条)、装配(2 455 条)和转运活性(230 条),这 3 部分的上调基因数分别为 240、219 和 11 条,下调基因数分别为 3 062、2 236、219 条。



横坐标为 GO 3 个大类的下一层级的 GO 术语,纵坐标为注释到该术语下(包括该术语下的子术语)的基因个数

The abscissa is the GO level of the next level of GO, and the ordinate is the number of genes annotated to the term (including the sub-term under the term)

图 3 差异基因的 GO 分类

Fig. 3 Classification of differentially expressed GO genes

2.4 胞外酶和抗氧化酶相关基因的差异表达

分析转录组数据获得 21 个纤维素酶 Unigene 基因(表 3),在这些 Unigene 中 9 个基因发生差异表达,其中上调表达只有 1 个,其他 8 个下调表达;木聚糖酶 Unigene 基因只有 6 个,其中 3 个存在差异表达且全部为下调;漆酶 Unigene 基因有 39 个,其中具有差异表达的 Unigene 为 23 个,全部呈下调表达;多聚半乳糖醛酸酶 Unigene 有 6 个,其中 4 个 Unigene 发生了差异表达,且都呈下调表达。这 4 个胞外酶差异表达基因的表达趋势一致,都呈下调表达。这些结果说明蜜环菌侵染天麻与天麻共生过程中其生命活动在减弱。

抗氧化酶基因超氧化物歧化酶具有的特殊生

表 3 蜜环菌和共生区蜜环菌胞外酶和抗氧化酶基因表达统计分析

Table 3 Gene expression analysis of extracellular enzyme and anti-oxidant enzyme of *A. mellea* and symbiosis *A. mellea* of *A. mellea* and *G. elata*

基因	Unigene 基因数	上调表达基因数	下调表达基因数
纤维素酶	21	1	8
木聚糖酶	6	0	3
漆酶	39	0	23
多聚半乳糖醛酸酶	6	0	4
超氧化物歧化酶	13	0	6
过氧化物酶	7	0	7
过氧化氢酶	17	0	7

理活性,是生物体内清除自由基的关键酶。从转录组数据库中筛选到 13 个超氧化物歧化酶 Unigene 基因,其中有 6 个基因存在显著差异表达,且都呈下调表达;7 个过氧化物酶 Unigene,都呈下调表达;17 个过氧化氢酶 Unigene,其中 7 个基因具有差异表达,且均为下调表达。结果表明在蜜环菌侵染天麻共生后蜜环菌中的抗氧化酶相关基因全部为下调表达,说明蜜环菌侵染天麻后没有受到天麻产生的生物胁迫。

2.5 胞外酶基因和抗氧化酶基因相对表达水平 qRT-PCR 分析

选取胞外酶基因和抗氧化酶基因进行 qRT-PCR 分析,提取蜜环菌和天麻蜜环菌共生区中的蜜环菌 RNA,RT-qPCR 分析这些基因的相对表达水平,结果见图 4。由 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值计算 FC 值并分析结果,表明这些基因在蜜环菌与天麻共生区中的表达水平与对照蜜环菌比较都呈相对下调表达,与转录组分析结果一致。因此,认为在转录组分析中从 RPKM 推断的基因表达水平是可靠的。

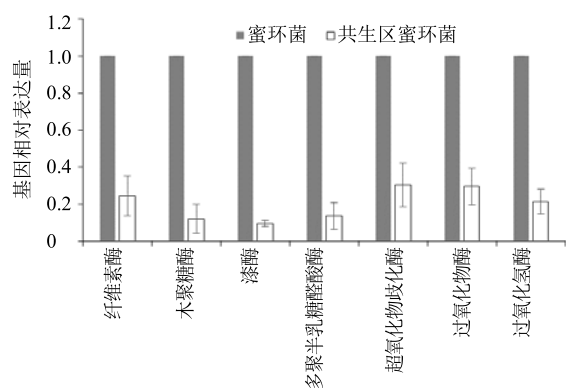


图 4 蜜环菌和天麻蜜环菌共生区中的蜜环菌胞外酶和抗氧化酶基因相对表达水平分析

Fig. 4 Relative expression levels of extracellular enzyme gene and antioxidase gene in *A. mellea* and symbiosis *A. mellea* of *G. elata* and *A. mellea*

3 讨论

在蜜环菌与天麻的共生过程中,蜜环菌通过分泌与纤维素和木质素分解有关的酶来消化分解菌材中的纤维素和木质素成为葡萄糖为自身提供营养物质^[9],与此同时,蜜环菌通过消化天麻基部皮层细胞壁侵染天麻后与天麻共生。组织培养结果显示天麻可以从周围环境中吸收营养物质,但是没有蜜环菌,天麻不能生长。在自然条件下天麻主要通过消化分解侵入其体内的蜜环菌菌丝来获得营养

进行生长。本研究利用 Illumina 测序技术对实验组共生区蜜环菌和对照组蜜环菌进行测序,通过数据组装获得 38 838 条高质量的 Unigene。在 $FDR < 0.05$ 和 $\log_2|FC| > 1$ 的条件下,比较两组测序数据的结果,发现 23 333 条差异表达基因,上调基因 1 595 条,下调基因 21 738 条。通过转录组数据的差异表达结果分析可知,蜜环菌侵入天麻体内以后基因表达主要呈下调表达,表明蜜环菌的细胞活性与未侵入天麻前相比较在减弱。在差异表达的基因中,筛选到的蜜环菌胞外酶纤维素酶、木聚糖酶和漆酶基因都呈下调表达。定量 PCR 分析结果也表明这些基因都呈下调表达。蜜环菌的生长与胞外酶的活性呈正相关,胞外酶活性强,蜜环菌生长快^[9-11]。当蜜环菌侵入到天麻体后,胞外酶活性减弱,天麻会消解蜜环菌成小分子物质供给天麻营养。

果胶酶是参与果胶降解的一组复合细胞壁降解酶,能将高等植物的初生细胞壁和中胶层的果胶多聚物降解成聚合度逐步减低的寡聚半乳糖醛酸链和半乳糖醛酸单体。根据果胶酶的作用底物和方式不同,可将果胶酶分为果胶水解酶、果胶裂解酶、果胶酯酶和原果胶酶。多聚半乳糖醛酸酶是果胶水解酶类的一种,可以降解植物细胞壁中的果胶,破坏细胞的完整性。蜜环菌在侵染天麻时,首先是分解天麻的细胞壁,侵入其表皮层到达营养细胞。基于转录组测序比较分析结果,在这一阶段侵入天麻的蜜环菌多聚半乳糖醛酸酶基因呈下调表达,说明在这一时期蜜环菌对天麻的侵染达到一个平衡状态,没有进一步侵入天麻的趋势。

一般情况下,生物受到生物胁迫和非生物胁迫,为了防御胁迫作用,生物体内的抗氧化酶活性呈上调表达,清除逆境胁迫所产生的活性氧,提高生抗逆境胁迫能力^[12]。本研究转录数据显示,侵入天麻中的蜜环菌抗氧化酶、超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶基因的差异表达均呈下调表达,说明天麻对侵入到天麻的蜜环菌未产生生物胁迫,天麻与蜜环菌存在共生关系。

蜜环菌侵染天麻与其共生时胞外酶基因和过氧化氢酶基因都呈下调表达,表现出生命活动减弱,不能进一步侵染天麻,同时天麻对蜜环菌也不产生胁迫作用,蜜环菌与天麻生长达到一个动态平衡,形成一个共生关系。这些研究结果有助于理解蜜环菌侵染天麻形成共生的分子机制,为进一步研究其分机制提供大量有价值的基因资源。

文献报道天麻与蜜环菌是一种共生关系^[24,67,13-14]。观察发现幼嫩黄白色的菌索能够侵入处于休眠和萌发阶段天麻原生球茎和块茎,但不能侵染旺盛期天麻和新生的天麻块茎,衰老的蜜环菌菌索不具备侵入天麻块茎的能力。这说明基因表达水平高具有活力的蜜环菌菌丝才能侵染天麻,基因表达弱的衰老蜜环菌不能侵染天麻。此外,处于休眠和萌发阶段的天麻由于代谢活动弱,基因表达水平低,蜜环菌容易侵入,而基因表达水平高代谢旺盛的旺盛期天麻和新生天麻蜜环菌不能侵入。这些现象说明蜜环菌和天麻的共生关系是蜜环菌和天麻之间基因表达水平调控的代谢动态平衡关系。本研究在蜜环菌侵染天麻后天麻处于旺盛生长期采样进行转录组分析,结果揭示侵入到天麻体内的蜜环菌 93%的基因呈下调表达,蜜环菌活性弱,不能进一步入侵天麻,使蜜环菌和天麻处于共生状态。今后需要进一步研究天麻处于休眠和萌发阶段蜜环菌侵染时天麻和蜜环菌中基因的表达水平以及蜜环菌侵染天麻后天麻经过旺盛生长后,随着外界环境温度降低生长趋于停止时天麻与蜜环菌基因的表达水平,阐明蜜环菌和天麻共生关系。

参考文献

- [1] 谢果珍, 申爱荣, 谭著明, 等. 天麻共生菌研究进展 [J]. 湖南中医杂志, 2015, 31(4): 206-208.
- [2] 兰进, 徐锦堂, 李京淑. 蜜环菌和天麻共生营养关系的放射性自显影研究 [J]. 真菌学报, 1994, 13(3): 219-222.
- [3] Kusano S. *Gastrodia elata* and its symbiotic association with *Armillaria mellea* [J]. *J Coll Agric Univ Tokyo*, 1911, 4(1): 1-66.
- [4] 郭顺星, 徐锦堂. 天麻消化紫萁小菇及蜜环菌过程中细胞超微结构变化的研究 [J]. 真菌学报, 1990, 9(3): 218-225.
- [5] 徐锦堂, 冉砚珠, 郭顺星. 天麻生活史的研究 [J]. 中国医学科学院学报, 1989, 11(4): 237-241.
- [6] 徐锦堂, 牟春. 天麻原球茎生长发育与紫萁小菇及蜜环菌的关系 [J]. 植物学报, 1990, 32(1): 26-31.
- [7] 邹宁, 柏新富, 吕剑涛, 等. 组织培养中天麻与蜜环菌共生机理的研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(34): 19312-19313.
- [8] Guterman I, Shalit M, Menda N, *et al.* Rose scent: Genomics approach to discovering novel floral fragrance-related genes [J]. *Plant Cell*, 2002, 14(10): 2325-2338.
- [9] 李福后, 王伟霞. 5株蜜环菌产几种胞外酶活性比较 [J]. 淮海工学院学报: 自然科学版, 2006, 15(3): 58-61.
- [10] 王玉万, 徐文玉. 构菌栽培过程中对木质纤维素的降解和几种多糖分解酶活性的变化 [J]. 微生物学通报, 1989, 16(3): 137-140.
- [11] 包燚, 狄永国, 操璟璟, 等. 四株昭通乌天麻共生蜜环菌的生理生化特征及其分子鉴定 [J]. 中国微生态学杂志, 2017, 29(7): 761-770.
- [12] 杨舒贻, 陈晓阳, 惠文凯, 等. 逆境胁迫下植物抗氧化酶系统响应研究进展 [J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2016, 45(5): 481-487.
- [13] 徐锦堂, 范黎. 天麻种子/原球茎和营养繁殖茎被菌根真菌定殖后的细胞分化 [J]. 植物学报, 2001, 43(10): 1003-1010.
- [14] 赵香娜, 胡亚平, 张鹏, 等. 蜜环菌的特性及其对天麻生长的影响 [J]. 中国果菜, 2016, 36(6): 57-59.