

崔凯, 葛静, 柴阳阳, 等. 噻虫嗪对水稻内生真菌群落组成的影响[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(4): 802-808.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2017.04.012

噻虫嗪对水稻内生真菌群落组成的影响

崔凯^{1,2}, 葛静², 柴阳阳^{1,2}, 杨丽璇², 程江峰¹, 余向阳²

(1. 青岛科技大学化工学院, 山东 青岛 266042; 2. 江苏省农业科学院食品质量与安全检测研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 为了研究噻虫嗪胁迫对水稻内生真菌的影响, 采用室内盆栽、土壤处理的方法, 利用 Illumina MiSeq 高通量测序技术分析了水稻根、茎和叶的内生真菌群落变化。噻虫嗪土壤处理浓度为 0 mg/kg、1 mg/kg、10 mg/kg, 分别标记为 CK、FR、10×FR。本研究获得用于分析的优质序列和操作分类单元(OTU)数分别为 757 058 和 456。 α 多样性指数分析结果表明, 水稻根部真菌多样性随噻虫嗪处理浓度的增加而增加, 而其茎、叶的真菌多样性只在高浓度噻虫嗪处理下增加, 低浓度处理下则无明显变化。在属的水平上对代表性 OTU 进行注释, 发现水稻根、茎、叶中内生真菌组成受噻虫嗪影响发生了明显变化。表明噻虫嗪对水稻内生真菌群落组成的影响显著。

关键词: 噻虫嗪; 水稻; 内生真菌; 高通量测序

中图分类号: S511.2⁺2

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2017)04-0802-07

Changes of endophytic fungal community in rice plants exposed to thiamethoxam

CUI Kai^{1,2}, GE Jing², CHAI Yang-yang^{1,2}, YANG Li-xuan², CHENG Jiang-feng¹, YU Xiang-yang²

(1. College of Chemical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266042, China; 2. Institute of Food Safety and Inspection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: A pot experiment was carried out to study the impact of thiamethoxam on endophytic fungal community changes in rice roots, stems and leaves by Illumina MiSeq high-throughput sequencing technique. Three levels of thiamethoxam were applied, 0 (CK), 1 mg/kg (FR), 10 mg/kg (10×FR). Totally 757 058 effective sequences and 456 operational taxonomic units (OTUs) were identified. Alpha diversity index revealed that the fungal diversities were getting higher as the concentration of thiamethoxam went up. However, the fungal diversities of rice stems and leaves increased only when exposed to high concentration of thiamethoxam. The annotation of representative OTU showed that thiamethoxam altered the structure of endophytic fungal communities in roots, stems and leaves of rice at the genus level.

Key words: thiamethoxam; rice; endophytic fungi; high-throughput sequencing

植物内生真菌是指其生活史的一定阶段或全部阶段定殖在宿主植物体内, 但是不会导致植物发生

明显病变的一类真菌的总称^[1-2]。几乎所有植物中均存在内生真菌, 并且其中 1 种或几种真菌处于优势地位^[3]。植物内生真菌长期生活在植物体内这个特殊的环境中, 并且与宿主植物协同进化, 在促进植物生长, 增强植物抗性, 促进植物修复、生物防治以及联合修复重金属污染、有毒污染等方面都发挥巨大的作用^[4]。

内生真菌在植物中的分布受到多种因素影响。薛庆婉^[3]采用平板培养方法分析了不同植物内生

收稿日期: 2017-03-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31601660、31572032); 江苏省农业自主创新基金项目[CX(14)2060]

作者简介: 崔凯(1991-), 男, 山东临沂人, 硕士研究生, 主要从事微生物多样性研究工作。(Tel) 15895845930; (E-mail) ck1991ly@163.com

通讯作者: 余向阳, (E-mail) yuxy@jaas.ac.cn

真菌的群落组成,发现不同宿主作物中内生真菌的类群存在差异,且同一类群的内生真菌在不同宿主植物中的分布情况也有显著差异。即使是同一植物的不同部位,内生真菌菌群组成同样具有多样性和显著差异性^[5]。除此之外,生长环境、季节、气候等也是影响内生真菌多样性的因素^[6-7]。土壤中的菌群可通过根部进入植株体内,并在植株体内发生迁移^[8]。Hameed等^[9]发现,在不同类型土壤的培育下,水稻内生菌群的分布和其多样性均存在差异,外源污染物不仅影响植物的生存环境,被植物吸收进入植株体内还会影响内生真菌的群落组成。李东伟等^[10]发现,铅锌矿周围植物中金属耐受型的内生真菌分布更为广泛。Zhou等^[11]发现,杀虫剂溴氰菊酯的使用可以显著改变大白菜中内生真菌群落结构的组成。

噻虫嗪是1991年由诺华公司开发的新烟碱类杀虫剂,属于第二代烟碱类杀虫剂。目前,噻虫嗪已成为防治水稻稻飞虱、稻蓟马、烟粉虱、二化螟、卷叶螟等多种害虫的常用药剂^[12-13],已在全球50多个国家110多种作物上登记使用,2011年超过吡虫啉成为销售额最大的杀虫剂。随着噻虫嗪的大量使用,在带来水稻增产的同时,必然会残留在稻田土壤和植株中并不断地积累,对环境产生污染。噻虫嗪的不断积累,可能会对水稻内生真菌的群落组成产生影响,甚至有可能打破原有生态系统的平衡,影响水稻产量,存在巨大的潜在隐患。本文拟以噻虫嗪为供试农药,采用室内盆栽的方式,研究该农药胁迫下水稻内生真菌群落组成的变化,明确该农药对生态环境的潜在危害和影响,以期对有机污染物的生态风险评估提供科学依据和实践指导。

1 材料与方法

1.1 供试土壤的处理

供试土壤:取自江苏省农业科学院大田未施药地块,去除大块杂物后,过10目筛,待用。土壤质地干燥,含沙量30%,淤泥53%,黏土15%,有机质2%。

土壤处理:称取1 kg土壤,添加用乙腈溶解好的噻虫嗪原药(TC含量97.9%,济南绿霸农药有限公司产品),充分搅拌均匀,置于塑料盆中。浓度设置参照Cycon等^[14]方法,2个不同的处理为田间推

荐剂量(FR,1 mg/kg)和10倍推荐剂量(10×FR,10 mg/kg),以土壤中添加等体积乙腈的处理作为空白对照(CK),每个处理设3个重复。

1.2 供试植物的栽培

水稻品种为南粳9108,种子由江苏省农业科学院粮食作物研究所提供。水稻种子恒温(28℃)浸种1 h后,在培养箱中(30℃)黑暗催芽3 d,待种子发芽后,移种到经过3种不同噻虫嗪浓度处理(CK、FR、10×FR)的土壤中,每盆种植25株水稻,每个处理3盆。在水稻整个生长期均按常规方法进行水肥和病虫害管理。

1.3 样品采集

在水稻种植后的第60 d,对植株进行随机采样,每个处理采集植株的数量不少于10株,用剪刀分成根、茎、叶3部分,立即对其进行表面消毒。

1.4 样品表面消毒

水稻植株表面消毒方法根据文献[9]优化得到:样品浸入75%乙醇中1 min,然后用无菌水冲洗3次,再用1%次氯酸钠分别处理叶1 min、根2 min,最后用无菌水清洗3次,将最后一轮的灭菌水涂布平板,检验是否灭菌完全。所有样品经液氮冷冻后,置于-80℃冰箱冻存。

1.5 DNA提取与扩增

各样品经液氮研磨后,采用试剂盒(Plant Genomic DNA Kit)提取总DNA,1%琼脂糖电泳检测DNA样品是否降解以及是否有杂质,NanoPhotometer分光光度计检测样品纯度,Qubit 2.0 Fluorometer检测DNA样品浓度。取用10 ng的DNA模板,采用ITS1区通用引物对目的区域进行扩增,使用TaKaRa公司的EX-taq酶扩增序列以确保扩增效率和准确性。

1.6 文库构建和上机测序

参照Illumina文库构建试剂盒(Illumina©TruSeq™ DNA Sample Preparation Kit)指南进行文库构建,构建好的文库经过Qubit和QPCR定量,合格后使用MiSeq进行上机测序。

1.7 生物信息学分析

通过去除低质量碱基和接头污染序列等完成数据过滤,得到可信的目标序列,利用PEAR序列拼接方法^[15]进行拼接,对拼接后的序列利用软件QIIME 1.8.0进行分析^[16-17],包括分类操作单元(OTUs)的提取、聚类分析、Alpha多样性分析^[18]。利用SPSS 22.0软件进行相关性分析,采用Office软件制作图表。

2 结果与分析

2.1 测序结果

通过对高通量测序结果进行统计分析,共获得有效序列786 522条,然后对原始序列进行质量控制过滤分析,得到高质量的优质序列共757 058条。对过

滤后的序列进行拼接,排除错误序列和过长片段后共获得389 703条序列,将相似度大于 97%的序列归为同一分类操作单元,可分为 456 OTU(表 1),拼接后序列平均长度在 200 bp 左右。从 OTU 的分类水平来看,同一处理下,根部的 OTU 数量明显高于叶和茎的 OTU 数量,与之前报道的结果^[19-20]一致。

表 1 水稻根、茎、叶器官内生真菌测序结果

Table 1 The sequencing of the endophytic fungi in rice roots, stems and leaves

器官	处理	有效序列 (条)	优质序列 (条)	覆盖率 (%)	成功拼接序列 (条)	OTU	序列平均长度 (bp)
根	CK	86 282	81 730	94.72	40 862	67	194.54
	FR	83 786	80 294	95.83	40 104	72	223.22
	10×FR	84 140	80 746	95.97	40 371	71	210.56
茎	CK	109 750	107 318	97.78	53 610	32	210.19
	FR	85 242	81 330	95.41	39 748	33	200.22
	10×FR	84 776	81 678	96.35	40 825	61	239.06
叶	CK	84 200	81 820	97.17	53 610	32	210.19
	FR	82 508	78 588	95.25	39 748	39	200.22
	10×FR	85 838	83 554	97.34	40 825	49	239.06

CK:空白对照;FR:施用噻虫嗪田间推荐剂量(1 mg/kg)的处理;10×FR:施用 10 倍噻虫嗪田间推荐剂量(10 mg/kg)的处理。

2.2 噻虫嗪对水稻不同器官内生真菌多样性的影响

Chao1 指数和 Observed species 指数反映了物种的丰富度,二者均是指数越大,物种丰富度越高。Shannon 指数和 Simpson 指数反映了物种的多样性,Shannon 指数越大,物种多样性越高,Simpson 指数越大,则物种多样性越低。样品的 α 多样性分析结果(表 2)显示,FR 处理和 10×FR 处理的水稻根部 Chao1 指数、Observed species 指数和 Shannon 指数的值均显著大于对照,而

Simpson 指数的值显著小于对照,综合分析结果表明,加药后根部内生真菌的物种丰富度和多样性均呈现增加的趋势。在茎、叶中,FR 处理和对照的 Chao1 指数、Observed species 指数和 Shannon 指数均无明显差异,但其值均显著小于 10×FR 处理,而 Simpson 指数在不同处理下无明显差异,综合来看,高浓度噻虫嗪可以使水稻茎、叶内生真菌的物种丰富度和多样性升高,而低浓度则无明显影响。

表 2 不同样品的 α 多样性指数

Table 2 The alpha diversity index of the endophytic fungi in rice roots, stems and leaves

器官	处理	Chao1 指数	Observed species 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
根	CK	56.69±7.05d	39.50±4.95c	2.13±0.18a	0.84±0.04c
	FR	72.19±1.40e	59.40±0.71d	2.68±0.05b	0.72±0.01b
	10×FR	81.78±1.62f	59.70±2.83d	3.30±0.42d	0.54±0.04a
茎	CK	27.16±4.77a	20.55±2.90a	2.48±0.02b	0.78±0.02b
	FR	25.79±2.01a	20.80±0.01a	2.48±0.01b	0.75±0.01b
	10×FR	49.37±5.61c	37.45±0.92c	2.90±0.54c	0.81±0.06b
叶	CK	26.15±3.55a	22.05±3.18a	2.39±0.40a	0.79±0.05b
	FR	30.39±2.09a	20.15±1.87a	2.37±0.04a	0.75±0.02b
	10×FR	35.18±4.45b	27.35±2.47b	2.62±0.08b	0.75±0.01b

CK、FR、10×FR 见表 1 注。同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

2.3 噻虫嗪对水稻不同器官内生真菌群落组成的影响

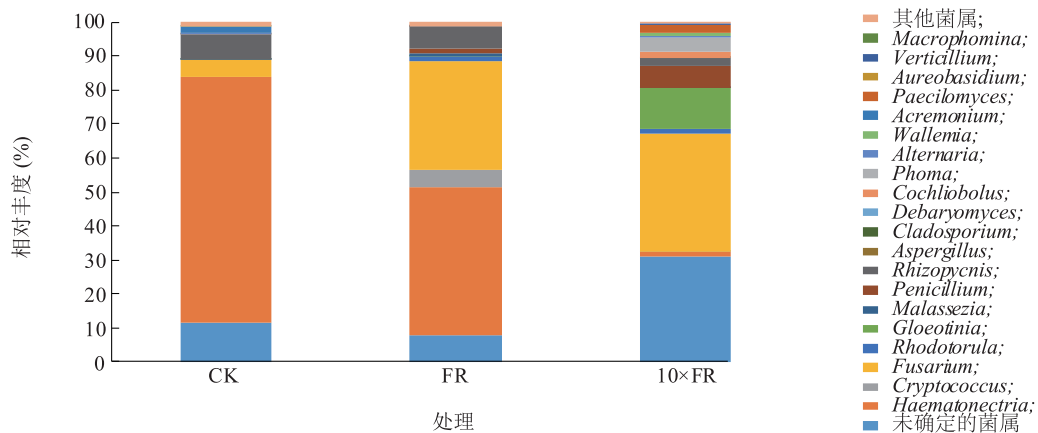
图 1 显示,在水稻根部,对照的优势菌属为 *Haematonectria* (72.50%),其次为 *Rhizopycnis* (7.11%)、*Fusarium* (5.09%)、*Acremonium* (1.97%),FR 处理的水稻根部的优势菌属为 *Haematonectria* (43.38%) 和 *Fusarium* (31.77%),其次为 *Rhizopycnis* (6.34%)、*Cryptococcus* (5.24%)、*Penicillium* (1.50%),10×FR 处理的水稻根部的优势菌属为 *Fusarium* (34.88%) 和 *Gloeotinia* (11.77%),其次为 *Penicillium* (6.35%)、*Phoma* (4.04%)、*Rhizopycnis* (2.45%)、*Paecilomyces* (2.32%)。不同处理下,根部真菌菌属存在着明显差异,随着土壤中噻虫嗪浓度的不断升高,*Haematonectria*、*Rhizopycnis* 和 *Acremonium* 的相对丰度逐渐降低,尤其是 *Haematonectria* 的相对丰度由对照的 72.50% 降到 10×FR 处理下的 1.20%,*Acremonium* 在 10×FR 处理中检测不到。*Fusarium*、*Gloeotinia*、*Penicillium*、*Phoma* 等的相对丰度则随土壤中噻虫嗪浓度的升高而升高,尤其是 *Fusarium*,在对照中其相对丰度为 5.09%,而在 FR 处理和 10×FR 处理中其相对丰度分别为 31.77%、34.88%。*Paecilomyces* 只存在于 10×FR 处理的水稻根中,FR 处理下 *Cryptococcus* 的相对丰度较高,可能是低浓度噻虫嗪对其有促生作用。

图 2 显示,在水稻茎部,对照的优势菌属是 *Rhodotorula* (18.65%) 和 *Gloeotinia* (19.67%),其次为 *Malassezia* (3.68%)、*Verticillium* (0.80%)、*Cladosporium* (0.24%),FR 处理的优势菌属是 *Gloeotinia* (38.10%) 和 *Cryptococcus* (32.68%),其次为 *Verticillium* (1.21%)、*Fusarium* (1.12%),10×FR 处理的优势菌属是 *Gloeotinia* (26.07%),其次是 *Cryptococcus* (4.66%)、*Rhodotorula* (3.06%)、*Malassezia* (2.80%)、*Alternaria* (0.96%)。不同处理下,茎部真菌菌属同样存在着明显差异,对照中 *Rhodotorula* 的相对丰度为 18.65%,而在 FR 处理和 10×FR 处理中其相对丰度分别为 0.12%、3.06%。在对照、FR 处理和 10×FR 处理中 *Gloeotinia* 均为优势均属,但在 FR 处理和 10×FR 处理中其相对丰度要高于对照。FR 处理的 *Cryptococcus* 相对丰度为 32.68%,而对照和 10×FR 处理的相对丰度较低。*Alternaria*、*Penicillium*、*Aspergillus* 仅在 10×FR 处理中检测到。

图 3 显示,在水稻叶部,对照的优势菌属为 *Gloeotinia* (19.85%),其次为 *Malassezia* (9.71%)、

Rhodotorula (7.23%)、*Candida* (3.19%),FR 处理的优势菌属为 *Cryptococcus* (40.90%),其次为 *Candida* (19.91%)、*Rhodotorula* (18.02%)、*Gloeotinia* (7.42%),10×FR 处理的优势菌属为 *Cryptococcus* (42.68%) 和 *Rhodotorula* (26.43%),其次为 *Candida* (8.55%)、*Aureobasidium* (5.93%)、*Eurotium* (5.36%)、*Malassezia* (4.48%)。叶部菌属分布同样存在着差异,在对照中未检测到 *Cryptococcus*,而在 FR 处理和 10×FR 处理中其相对丰度分别高达 40.90%、42.68%。*Gloeotinia* 在对照中的相对丰度为 19.85%,在 FR 处理和 10×FR 处理中的相对丰度分别为 7.42%、0.71%,随噻虫嗪处理浓度升高相对丰度呈现递减趋势,而 *Rhodotorula* 则与之相反,随噻虫嗪浓度升高相对丰度呈现递增趋势。*Candida* 仅在水稻叶中被检测到,根、茎中未见分布,且在 FR 处理下的相对丰度最高 (19.91%)。*Aureobasidium* 和 *Eurotium* 只在 10×FR 处理的叶中有分布,在对照和 FR 处理下的叶中则未见分布。

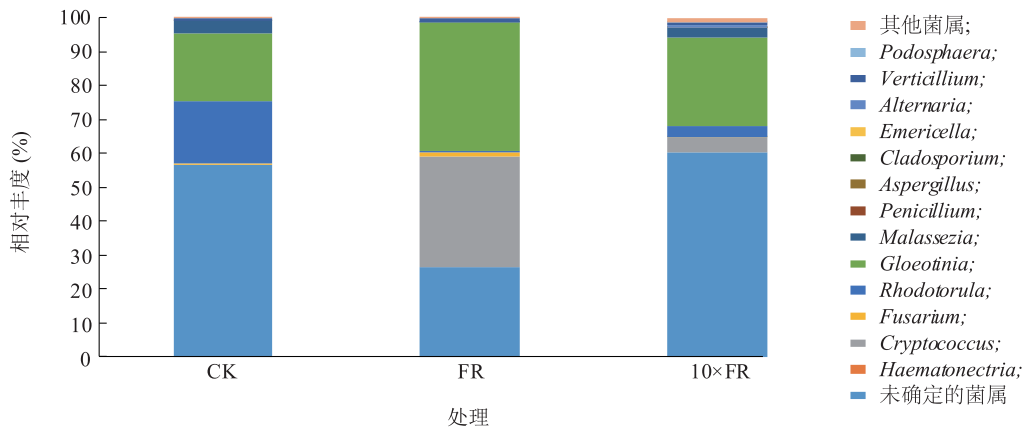
不同真菌属在水稻不同器官和不同处理下的分布情况如表 3 显示。*Haematonectria*、*Rhizopycnis* 仅在水稻根部发现有分布,对噻虫嗪比较敏感,相对丰度随处理浓度的升高而降低。*Cryptococcus* 在根、茎、叶的对照中均未见分布,而在 FR 处理和 10×FR 处理的根、茎、叶中均有分布,尤其是叶中 FR 处理和 10×FR 处理下,其相对丰度均超过 40%,该菌属可能对噻虫嗪存在着抗性,甚至可能以其为碳源进行生长,之前也有报道称该菌属的某些菌株具有降解苯酚^[21]、二甲苯^[22]、重金属^[23]等功能。*Fusarium* 主要存在于根部和茎部,与薛庆婉等^[3]的研究结果一致,在根部,该菌属在 FR 处理和 10×FR 处理下的相对丰度远高于对照,同样可能对噻虫嗪存在着抗性,据报道该菌属在马拉硫磷^[24]、氯氰菊酯^[25]、多环芳烃^[26]等的降解方面均展现出较强能力。*Penicillium*、*Phoma*、*Paecilomyces* 主要分布在水稻根部,且相对丰度在 10×FR 处理下最高,噻虫嗪的存在刺激了它们的生长。*Eurotium* 和 *Aureobasidium* 仅在 10×FR 处理的叶中有分布,同样展现了对噻虫嗪的抗性。值得注意的是,*Rhodotorula*、*Gloeotinia* 在不同器官对噻虫嗪胁迫的响应存在着差异,例如,在根部 FR 处理和 10×FR 处理下 *Gloeotinia* 相对丰度比对照高,而在叶部则相反,除了真菌对于宿主器官的偏好性之外,还可能与噻虫嗪在水稻根、茎、叶中的残留浓度有关。



CK、FR、10×FR 见表 1 注。

图 1 水稻根中内生真菌属水平分类

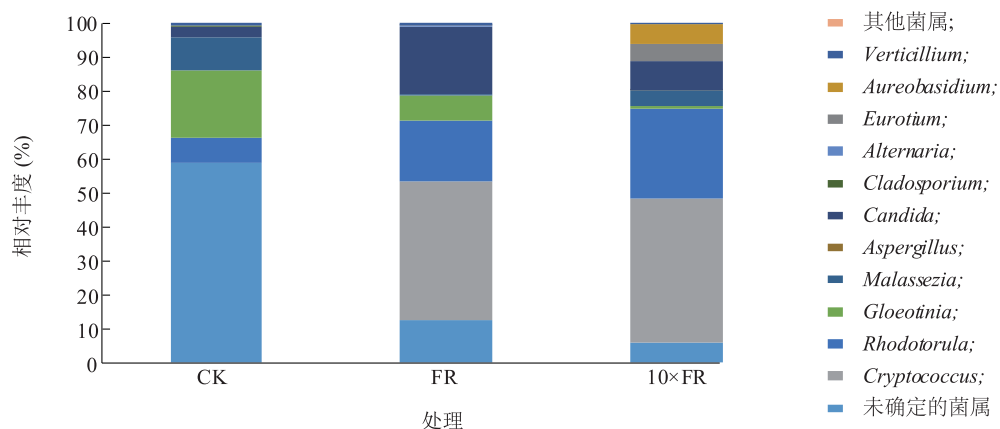
Fig.1 Abundance of endophytic fungi genus in rice roots exposed to three thiamethoxam treatments



CK、FR、10×FR 见表 1 注。

图 2 水稻茎中内生真菌属水平分类

Fig.2 Abundance of endophytic fungi genus in rice stems exposed to three thiamethoxam treatments



CK、FR、10×FR 见表 1 注。

图 3 水稻叶中内生真菌属水平分类

Fig.3 Abundance of endophytic fungi genus in rice leaves exposed to three thiamethoxam treatments

表 3 主要真菌属在不同部位的相对丰度

Table 3 Relative abundance of the dominant endophytic fungi genus in different parts of rice

属分类	相对丰度(%)								
	根			茎			叶		
	CK	FR	10×FR	CK	FR	10×FR	CK	FR	10×FR
<i>Haematonectria</i>	72.50	43.38	1.20	0	0	0	0	0	0
<i>Cryptococcus</i>	0	5.24	0.12	0	32.68	4.66	0	40.90	42.68
<i>Fusarium</i>	5.09	31.77	34.88	0.13	1.12	0.08	0	0	0
<i>Rhodotorula</i>	0.02	1.37	1.52	18.65	0.12	3.06	7.23	18.02	26.43
<i>Gloeotinia</i>	0.01	0.21	11.77	19.67	38.10	26.07	19.85	7.42	0.71
<i>Penicillium</i>	0	1.50	6.35	0	0	0.03	0	0	0
<i>Rhizopycnis</i>	7.11	6.34	2.45	0	0	0	0	0	0
<i>Candida</i>	0	0	0	0	0	0	3.19	19.91	8.55
<i>Phoma</i>	0	0.05	4.04	0	0	0	0	0	0
<i>Paecilomyces</i>	0	0	2.32	0	0	0	0	0	0
<i>Eurotium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	5.36
<i>Aureobasidium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	5.93
其他菌属	15.27	10.14	35.35	61.55	27.98	66.10	69.73	13.75	10.34

CK、FR、10×FR 见表 1 注。

3 讨论

在噻虫嗪的胁迫下,水稻内生真菌的多样性会有所改变。噻虫嗪对水稻不同器官内生真菌的影响存在差异,通过对不同处理下水稻不同部位的 Chao1 指数、Observed species 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数综合分析发现,噻虫嗪的加入可以增加水稻根部内生真菌的多样性,同时高浓度噻虫嗪处理可以增加水稻茎、叶内生真菌的多样性,低浓度处理则无明显影响。

在属的水平上,水稻不同器官(根、茎、叶)内生真菌的组成存在着明显差异。以对照为例,*Haematonectria* 为水稻根部的优势菌属,相对丰度为 72.5%,而在茎、叶中没有分布。*Gloeotinia* 在茎、叶中的相对丰度均为 20.0% 左右,在根中分布极少。*Candida* 仅在叶部存在,茎、根中未见分布。结果显示,除了一些在作物各个器官均有分布的内生真菌外,部分内生真菌对于水稻宿主的寄生部位具有一定的选择性,甚至有一部分真菌只存在于特定的组织器官中,这与之前报道的结论^[19,27]一致。

噻虫嗪影响水稻不同器官内生真菌属的分布。以内生真菌在叶部的分布为例,*Cryptococcus* 为 FR 处理和 10×FR 处理下的优势菌群,其相对丰度均超

过 40%,而对照组叶中却没有发现其分布。随着土壤中噻虫嗪浓度的增大,*Gloeotinia* 相对丰度在叶部呈现递减的趋势,而 *Rhodotorula* 相对丰度在叶部则呈现递增的趋势,FR 处理下 *Candida* 相对丰度在叶部接近 20%,对照和 10×FR 处理下其相对丰度均不足 9%。结果表明,土壤中存在噻虫嗪时,除少部分菌属外,大部分菌属的组成均发生明显变化。目前关于农药对内生真菌群落影响的报道相对较少,Zhou 等^[11]研究了农药溴氰菊酯对大白菜内生真菌的影响,施药组与对照组的相似指数仅为 29%,内生真菌群落发生了巨大变化。

传统培养方法鉴定的微生物只占微生物总数的 0.1%~10.0%^[28],相对于传统手段,高通量测序技术可以保证每个样品测定 $4\times 10^4\sim 6\times 10^4$ 个序列,覆盖深度极大,大大拓宽了微生物的研究范围,对物种多样性的分析十分有利。本研究采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术对水稻不同器官内生真菌群落进行了分析,在一定程度上揭示了在噻虫嗪胁迫下水稻根、茎、叶内生真菌的多样性和群落组成。试验过程中,某些菌属受噻虫嗪影响发生显著变化,对这些菌进行分离鉴定,研究其对噻虫嗪的抗性或者降解作用,评估它们在噻虫嗪胁迫下对宿主生长的影响,是下一步要开展的工作。

参考文献:

- [1] LI H Y, WEI D Q, SHEN M, et al. Endophytes and their role in phytoremediation[J]. Fungal Diversity, 2012, 54(1): 11-18.
- [2] 宁 玮,李艳玲,周国英,等. 青海上北山林场野生桃儿七根部内生真菌群落组成及多样性研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(7): 1227-1234.
- [3] 薛庆婉,牛永春,邓 晖. 常见瓜类植物的内生真菌多样性[J]. 菌物学报, 2015, 34(2): 196-203.
- [4] 王志伟,陈永敢,王庆臻,等. 中国植物内生微生物研究的发展和展望[J]. 微生物学通报, 2014, 41(3): 482-496.
- [5] 吴晓茵,李文超,秦路平. 天目山山胡椒不同部位内生真菌组成及多样性分析[J]. 植物资源与环境学报, 2012, 21(2): 107-113.
- [6] HOFFMAN M T, ARNOLD A E. Geographic locality and host identity shape fungal endophyte communities in cupressaceous trees[J]. Mycological Research, 2008, 112(3): 331-344.
- [7] 毛光瑞,翟梅枝,史冠昭,等. 陕西不同生境核桃内生真菌多样性[J]. 微生物学通报, 2016, 43(6): 1262-1273.
- [8] TAHTAMOUNI M E, KHRESAT S E, LUCERO M, et al. Diversity of endophytes across the soil-plant continuum for *Atriplex* spp. in arid environments[J]. Journal of Arid Land, 2016, 8(2): 241-253.
- [9] HAMEED A, YEH M W, HSIEH Y T, et al. Diversity and functional characterization of bacterial endophytes dwelling in various rice (*Oryza sativa* L.) tissues, and their seed-borne dissemination into rhizosphere under gnotobiotic P-stress[J]. Plant and Soil, 2015, 394(1): 177-197.
- [10] 李东伟,徐红梅,梅 涛,等. 云南会泽铅锌矿废弃矿渣堆常见植物内生真菌多样性[J]. 生态学报, 2012, 32(7): 2288-2293.
- [11] ZHOU S, QIU H, FENG C, et al. Impact of deltamethrin on the endophytic fungal community of a Chinese cabbage, *Brassica chinensis*[J]. Chemistry and Ecology, 2016, 32(3): 259-269.
- [12] 刘景坤,武春媛,贾明明,等. 液质联用法测定辣椒中噻虫嗪残留[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(4): 934-938.
- [13] 熊战之,汪立新,付佑胜,等. 2015年苏北地区稻飞虱的抗药性监测及治理[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(10): 191-195.
- [14] CYCON M, MARKOWICZ A, BORYMSKI S, et al. Imidacloprid induces changes in the structure, genetic diversity and catabolic activity of soil microbial communities[J]. Journal of Environmental Management, 2013, 131(14): 55-65.
- [15] ZHANG J, KOBERT K, FLOURI T, et al. PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End read mergeR [J]. Bioinformatics, 2014, 30(5): 614-620.
- [16] AHN J, SINHA R, PEI Z, et al. Human gut microbiome and risk of colorectal cancer[J]. Journal of the National Cancer Institute, 2013, 105(24): 1907-1911.
- [17] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods, 2010, 7(5): 335-336.
- [18] ADLER C J, DOBNEY K, WEYRICH L S, et al. Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and Industrial revolutions[J]. Nature Genetics, 2013, 45(4): 450-455.
- [19] TIAN X L, CAO L X, TAN H M, et al. Study on the communities of endophytic fungi and endophytic actinomycetes from rice and their antipathogenic activities *in vitro*[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2004, 20(3): 303-309.
- [20] 田新莉,蔡爱群,曹理想,等. 水稻内生真菌类群分析及其拮抗病原菌活性研究[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2005, 44(2): 69-73.
- [21] KRALLISH I, GONTA S, SAVENKOVA L, et al. Phenol degradation by immobilized cold-adapted yeast strains of *Cryptococcus terreus* and *Rhodotorula creatinivora*[J]. Extremophiles, 2006, 10(5): 441-449.
- [22] MURAKAMI-NITTA T, KIRIMURA K, KINO K. Oxidative degradation of dimethyl sulfoxide by *Cryptococcus humicolus* WU-2, a newly isolated yeast[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2003, 95(1): 109-111.
- [23] KWON H K, WOO S H, PARK J M. Degradation of tetracyanonickelate (II) by *Cryptococcus humicolus* MCN2[J]. FEMS Microbiology Letters, 2002, 214(2): 211-216.
- [24] PETER L, GAJENDIRAN A, MANI D, et al. Mineralization of malathion by *Fusarium oxysporum* strain JASA1 isolated from sugarcane fields[J]. Environmental Progress & Sustainable Energy, 2015, 34(1): 112-116.
- [25] 秦 坤. 氯氰菊酯降解真菌的筛选及其降解特性研究[J]. 环境工程学报, 2010, 4(4): 950-954.
- [26] 孙姗姗,魏 然,倪进治,等. 多环芳烃降解真菌 *Fusarium solani* 对苳的吸收存储和降解特性研究[J]. 环境科学学报, 2016, 36(7): 2408-2414.
- [27] BAYMAN P, LEBRÓN L L, TREMBLAY R L, et al. Variation in endophytic fungi from roots and leaves of *Lepanthes* (Orchidaceae)[J]. New Phytologist, 1997, 135(1): 143-149.
- [28] AMANN R I, LUDWIG W, SCHLEIFER K H. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation[J]. Microbiological Reviews, 1995, 59(1): 143-169.

(责任编辑:王 妮)