

---

## AMPLIFIKASI GEN CAPSAICIN SEBAGAI GEN PENANDA PADA MIKROBA ENDOFIT BUAH CABE RAWIT

**Qonita Aliya K., Milha Husna Rezqita, Anggita Fauziah**

Department of Pharmaceutical Biotechnology, Bhakti Kencana University, Jl. Soekarno-Hatta No. 754,  
40614, Bandung, Indonesia

Email: [qonitaaliya07@gmail.com](mailto:qonitaaliya07@gmail.com)

Received: 18 Juli 2020; Revised: 18 Juli 2020; Accepted: 28 Agustus 2020; Available online: 31 Agustus 2020

---

### ABSTRACT

*Endophytic bacteria are microorganisms that live in plant tissues. Endophytic bacteria are known to have genetic similarities with their host plants. Amplification of the capsaicin coding gene using endophytic bacterial DNA is one of the method to study the genetic similarity pattern of endophytic bacterial groups with chili pepper. The purpose of this study was to amplify DNA of endophytic bacteria from chili pepper using the capsaicin gene to see the potential endophytic bacteria producing capsaicin. Furthermore is to study the pattern of genetic similarity with the band on the amplicon. The method of isolation of endophytic bacteria using the pour plate method then subcultured the pure isolates by using the streak plate method. The DNA was extracted from pure isolates of endophytic bacteria using the phenol-chloroform method and DNA purification kit. The DNA of endophytic bacteria was amplified using specific primers. The results showed that four endophytic bacterial isolates of chili pepper were BE1, BE2, BE3, and BE4. Then performed amplification using a specific primer. The amplification results did not show any amplicons, so further optimization was carried out using touchdown PCR. After optimization, there was amplification between the primers and the template DNA which became the target DNA. From the amplification results, it was found that the target DNA was not attached to a specific primer for the capsaicin gene.*

**Keywords:** *amplification, endophytic microbes, polymerase chain reaction (PCR)*

### ABSTRAK

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang hidup pada jaringan tanaman. Bakteri endofit diketahui memiliki kemiripan genetik dengan tanaman inangnya. Amplifikasi gen pengkode capsaicin dengan menggunakan DNA bakteri endofit merupakan salah satu metode untuk melihat pola kemiripan genetik kelompok bakteri endofit dengan buah cabai rawit. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan amplifikasi DNA bakteri endofit buah cabai rawit dengan menggunakan gen pengkode capsaicin untuk dilihat bakteri endofit potensial penghasil capsaicin. Selanjutnya, dilihat pola kemiripan genetiknya dengan adanya pita pada hasil amplicon. Metode Isolasi bakteri endofit dengan menggunakan metode cawan tuang. Kemudian disubkultur isolat murni menggunakan metode cawan gores. Isolat murni bakteri endofit diekstraksi DNA dengan metode fenol-kloroform dan Kit *DNA purification*. Kemudian DNA bakteri endofit di amplifikasi dengan menggunakan primer spesifik. Dari hasil penelitian didapatkan empat isolat bakteri endofit buah cabai rawit yaitu BE1, BE2, BE3, dan BE4. Kemudian dilakukan amplifikasi dengan menggunakan primer spesifik. Hasil amplifikasi tidak menunjukkan adanya amplicon, untuk itu dilakukan optimasi lanjutan menggunakan *touchdown* PCR. Setelah optimasi terjadi amplifikasi antara primer dengan DNA templat yang menjadi DNA target. Dari hasil amplifikasi diketahui bahwa DNA target tidak menempel dengan primer spesifik gen pengkode capsaicin.

**Kata Kunci:** *amplifikasi gen, mikroba endofit, polymerase chain reactiom (PCR)*

## PENDAHULUAN

Mikroba endofit diketahui berperan dalam kelangsungan hidup tanaman dengan membantu pertumbuhan dan meningkatkan daya tahan tanaman terhadap penyakit (Amaresan dkk, 2016). Mikroba endofit diketahui dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya (Jasim dkk, 2016). Hal ini merupakan potensi besar dalam bidang teknologi farmasi menggunakan bahan alam. Dimana endofit yang berhasil diidentifikasi dapat dijadikan sebagai sumber metabolit sekunder baru, senyawa yang berkhasiat (Irabor dan Mmbaga, 2017).

Identifikasi mikroba endofit merupakan tahap penting untuk menentukan identitas masing-masing isolate (Paul dkk, 2013). Metode identifikasi berbasis molekuler diketahui dapat memberikan hasil yang lebih akurat hingga tahap spesies (Jingwen dkk, 2012). Salah satu metode yang dapat digunakan adalah dengan mengamplifikasi gen penanda (*marker*) dari isolat endofit. Amplifikasi gen pengkode capsaicin dapat digunakan untuk melihat pola kemiripan genetik yang dimiliki oleh kelompok bakteri endofit dalam cabai rawit. Dengan menggunakan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan primer spesifik, maka akan diperoleh segmen gen penanda yang terlibat dalam jalur biosintesis capsaicin (Kim dkk, 2009). Metode amplifikasi gen penanda dapat mengidentifikasi keragaman mikroba endofit dengan lebih spesifik, akurat dan mendetil, jika dibandingkan dengan metode 16S rRNA (Prasad dkk, 2007). Dalam penelitian ini akan dilakukan amplifikasi gen pengkode capsaicin *Csy1*, *Pun1* dan *pAMT* menggunakan primer spesifik dengan teknik PCR. Hasil amplifikasi akan dianalisa untuk melihat pola kemiripan genetik yang dimiliki oleh bakteri endofit yang terdapat pada buah cabai rawit.

Capsaicin merupakan metabolit sekunder kelompok alkaloid yang terdapat pada cabai rawit (Gerrardo dkk, 2016). Capsaicin memiliki banyak efek farmakologi seperti antikanker. Menurut Handoko (2017) menyatakan, umumnya cabai segar mengandung 0,1-1,0 % *Capsaicin*. Rendahnya kandungan capsaicin pada cabai rawit membuat pentingnya usaha untuk menemukan sumber metabolit sekunder baru contohnya salah satunya menggunakan endofit.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui amplifikasi DNA yang dimiliki oleh bakteri endofit yang terdapat pada buah cabai rawit dengan gen yang mengatur biosintesis capsaicin. Sehingga dalam penelitian yang mendatang dapat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri endofit penghasil metabolit sekunder baru.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, alat sentrifuga, autoklaf, vortex, *laminar air flow*, bunsen, rak tabung reaksi, kaca preparat, cover preparat, cawan petri, botol semprot, sarung tangan, keras cokelat, plastik tahan panas, *shaker incubator*, pipet, tabung PCR (Eppendorf®), mikropipet 1-10 mikron dan 100-1000 mikron (Eppendorf®), Thermal Cycler (Thermo Scientific®), tabung reaksi, jarum *ose*, gel agarose flask, Erlenmeyer (Pyrex®) hotplate, tip pipet steril, *microcentrifuge tube*

### Bahan

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah cabai rawit (*Capsicum frutescens* L). Bahan-bahan yang digunakan antara lain etanol 70%, air, *aquadest steril*, *sodium hipoklorit*, Nutrient Broth (NB), Nutrient Agar (NA), reagen kristal violet, reagen safranin, Wizard(R) Genomic DNA Purification Kit Promega, nitrogen cair, isopropanol, *TBE*, dan *Nuclei Free Water*, *Qiagen Master mix Multiplex PCR*

### Penyiapan Bahan

Bahan tanaman yang digunakan adalah organ buah cabai dari perkebunan Manoko utama kabupaten Lembang, Jawa Barat. Kemudian sampel dideterminasi botani untuk pengujian kebenaran bahan alam.

### Desain Primer

Perancangan primer pada penelitian ini menggunakan studi literatur terhadap gen marker capsaicin *Csy1* (Prasad dkk, 2007), *Pun1* (Ogawa dkk, 2014) dan *pAMT* (Kim dkk, 2009). Desain primer menggunakan primer 3' untuk mengawali pendekatan primer bakteri uji untuk dilihat ada, selanjutnya menggunakan *SnapGene* untuk pengujian primer dan menentukan penempelan primer *annealing* (Kini dkk, 2018).

### Sterilisasi Buah Cabai dan Isolasi bakteri endofit

Sampel disterilisasi dengan 2% natrium hipoklorit selama 10 menit dan 70% alkohol selama satu menit dan dibilas lima kali dalam air suling steril. Pemeriksaan sterilitas permukaan dilakukan untuk masing-masing sampel untuk memantau efisiensi dari prosedur desinfeksi (Arravind dkk, 2009).

Sampel buah cabai rawit steril dipotong- potong kurang lebih 1 cm. Kemudian dihancurkan dalam larutan NaCl. Suspensi buah cabai rawit diambil 1 mL kemudian ditumbuhkan media NA (*Nutrient Agar*) dalam cawan petri dan metode *pour plate*. Inkubasi dilakukan selama 3 x 24 jam pada suhu 37°C. Koloni bakteri endofit yang muncul pada media isolasi kemudian dilakukan pemurnian (Jasim dkk, 2017).

### Identifikasi endofit dengan pewarnaan Gram

Identifikasi bakteri endofit secara makroskopis morfologi meliputi koloni (bentuk koloni dan tepian koloni, serta warna koloni) dan morfologi sel yaitu bentuk sel dan pewarnaan Gram (Patel dkk, 2017).

### Isolasi DNA bakteri endofit

Isolasi DNA bakteri endofit dilakukan dengan menggunakan Kit DNA Purification Promega dan kit Trisure menggunakan metode fenol – kloroform (Pena- Yam dkk, 2016). Kuantifikasi DNA dilakukan untuk menghiung kadar konsentrasi DNA hasil isolasi dengan menggunakan *NanoQuant plate* dirancang untuk kuantifikasi asam nukleat, mis. dsDNA, ssDNA, cDNA, Oligos dan RNA, dan menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Yong-hong, 2018).

### Amplifikasi DNA bakteri endofit menggunakan gen pengkode capsaicin

Proses PCR dilakukan dengan volume total 50 µL dengan DNA hasil isolasi dari masing – masing bakteri endofit digunakan sebagai *template* dalam proses PCR mengandung 50 ng DNA, 20 pico mol dari setiap primer (forward & reverse primer), 1X Buffer PCR (Promega), 2.5mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5 U/µL *Taqpolymerase*. Reaksi PCR didalam *Thermal cycler* untuk 35 siklus dengan denaturasi awal 94°C selama 15 menit, masuk ke siklus denaturasi pada 94°C selama 30 detik, Annealing 57°C selama 90 detik, Elongasi 72°C selama 90 detik dan final elongasi selama 10 menit pada suhu 72°C (Kini dkk, 2014).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui suku dan jenis dari buah cabai rawit (*Capsicum frutescens* L). Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan benar merupakan tanaman bcabai rawit (*Capsicum frutescens* L).

Tabel 1. Hasil Desain primer

Gen	Primer	Spesifikasi	
		%GC	Tm
Csy1 Prasad dkk, 2007	F (5'- CGG TGA AAT ACC CGG AGA GG -3')	52.9	59.1
	R (5'- TTG CCG CTG GAA TAA CA CCT -3')	52.9	59.2
Pun1 Ogawa dkk, 2015	F (5- GTGGTTTTACAACGTGACTGGG-3' )	50.0	56.7
	R (5 - CGGGATCCCGAAATAATATATGCTGCTG-3' )	44.8	60
pAMT Kim dkk, 2009	F (5'- TTT CTG CTG GTC TCT CTG GG -3')	64.7	60.2
	R (5'- TCG GCA ATG AAA GCA GCT A-3')	43.8	53.6
Universal16S rDNA Galkiewicz dkk, 2008	F (5' – GAG TTT GAT CCT GGC TCA G – 3')	50.0	56.0
	R (5' – GAT ATT ACC GCG GCG CCT G – 3')	44.4	58.3

Keterangan:

(f) : *forward*

(r) : *reverse*

Sebelumnya dilakukan studi literatur tentang bakteri endofit yang terdapat dalam buah cabai rawit dan gen pengkode capsaicin pada tumbuhan. Dari literatur yang ditemukan dari bakteri endofit dalam buah cabai rawit maka dilakukan blasting menggunakan untuk mengetahui seberapa jauh hubungan antara keduanya. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa isolat bakteri endofit tertentu dari tumbuhan dapat memiliki gen yang identik dengan tanamannya. Dari hasil penelusuran tersebut diketahui adanya hubungan antara bakteri pseudomonas, Bacillus terhadap capsaicin. Seperti gen Csy1, pAMT, Pun1.

**Tabel 2.** Hasil Sterilisasi

Metode Sterilisasi	C2H5OH 70%	NaOCl 5 %	C2H5OH, 70%	Ref.
I	1''	1''	30''	Irawati dkk, 2017
II	3''	3''	1'	Amaesan dkk, 2014
III	10''	10''	1''	Aravind dkk, 2009

Sterilisasi permukaan sampel merupakan tahap awal isolasi bakteri endofit. Jika sterilisasi permukaan buah cabai tidak berhasil dengan baik maka bakteri endofit yang menjadi target tidak dapat diperoleh. Buah cabai rawit harus dalam keadaan steril untuk dapat ditumbuhkan pada medium kultur karena adanya mikroorganisme di dalam buah cabai akan menyebabkan mikroba lain selain endofit mengalami pertumbuhan. Sterilisasi dapat dilakukan dengan berbagai bahan kimia. Bahan kimia yang umum digunakan adalah Etanol dan NaOCl dimana keduanya memiliki sifat bakterisida. Pengujian sterilisasi dilakukan setelah air bilasan terakhir dari proses sterilisasi cabai rawit. Buah cabai ini dikatakan steril ketika tidak ada bakteri yang tumbuh setelah inkubasi air bilasan cabai.

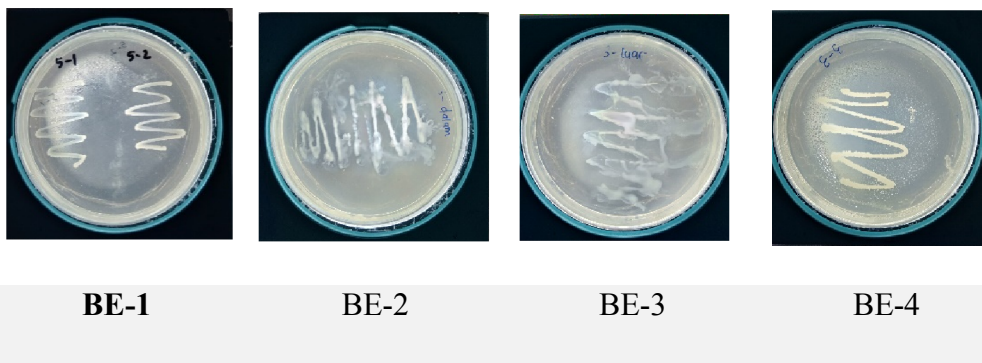
Isolasi bakteri dilakukan dengan menumbuhkan suspensi sel buah cabai rawit steril. Dilakukan pengeceran bertingkat dalam proses isolasinya. Kemudian isolat di subkultur dan didapatkan 4 isolat murni bakteri endofit dari buah cabai rawit.

**Tabel 3.** Hasil. Isolasi bakteri endofit dan pewarnaan Gram

Endofit	karakteristik			Sel
	Koloni	tepi	pewarnaan Gram	
	Bentuk koloni	tepi	pewarnaan Gram	Bentuk Sel
BE 1	Circular	Berlekuk	-	Basil
BE 2	Circular	Rata	+	Basil
BE 3	irregular	Tak beraturan	+	Kokus bulat
BE 4	Circular	Berombak	-	Basil

Pada pengujian identifikasi bakteri endofit dengan menggunakan metode tepi koloni dan bentuk koloni. Didapatkan hasil bahwa sebagian besar koloni yang didapat berbentuk sirkular atau lingkaran dan 25% berbentuk tidak beraturan. Sedangkan bentuk tepinya BE 1, BE 2, BE3, dan BE4.

Pewarnaan Gram dilakukan untuk melihat Gram isolat dan bentuk sel nya. Sebagian bentuk sel dari bakteri yang didapat berbentuk batang. Berarti bakteri endofit yang didapat dalam cabai rawit berbentuk basil.



**Gambar 1.** Hasil Isolasi bakteri endofit.

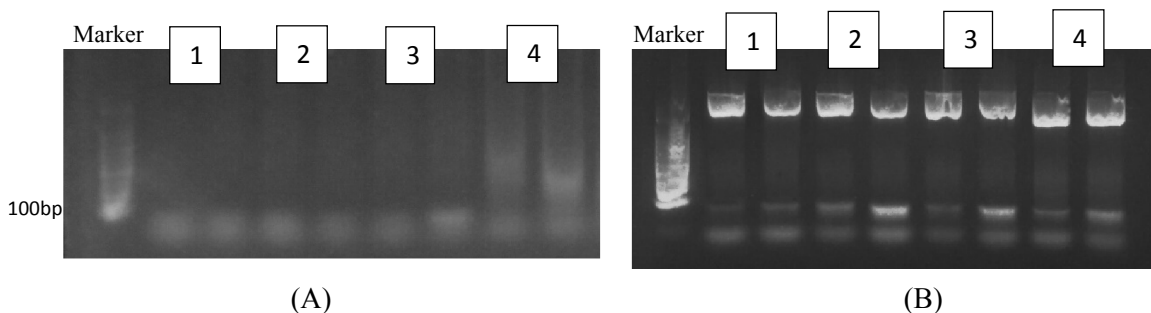
Hasil kuantifikasi DNA bakteri endofit

Endofit	Konsentrasi DNA (ng/μl)	
	Promega reagent	TriSure Reagent
BE 1	12,9	1076,8
BE 2	9,6	483,2
BE 3	16,6	199,7
BE 4	8,6	312,4

Isolasi DNA dari isolat bakteri endofit dilakukan dengan menggunakan protokol dari Wizard genomic purification DNA promega. Didalamnya terdapat proses pemanasan dengan suhu tinggi untuk melisis sel bakteri. Kemudian proses presipitasi RNA dalam bakteri, dan menghidrasi DNA murni.

Metode isolasi kedua dengan menggunakan isolasi fenol-kloroform dengan reagent Trisure dari Bioine Metode isolasi ini merupakan metode isolasi dingin karena tidak menggunakan pemanasan sama sekali. Dengan proses lisis sel menggunakan reagent berisi fenol-kloroform, dilanjutkan dengan proses presipitasi DNA dengan isopropanol, proses purifikasi DNA dengan menggunakan alkohol .

Perbedaan dari kedua metode ini adalah rasio kemurnian DNA dan Jumlah DNA yang didapatkan. Pada kit Promega didapatkan tingkat kemurnian yang lebih tinggi dengan jumlah DNA yang sedikit. Sedangkan pada isolasi menggunakan Trisure didapatkan rasio yang tinggi namun sedikit lebih rendah dari kit Promega dengan jumlah DNA yang lebih banyak.



**Gambar 3.** Hasil elektroforesis DNA hasil amplifikasi dilakukan duplo. Terdapat pita smear dari hasil amplifikasi menggunakan suspensi sel bakteri pengenceran  $10^{-1}$  dengan primer *csyI* (A); Terdapat pita dari hasil amplifikasi menggunakan primer universal 16S rDNA (B)

Dari hasil amplifikasi DNA isolat bakteri endofit dari buah cabai terlihat bahwa ada jejak pita pada agarose elektroforesis namun sangat samar pada *csyI*(A) namun hasil ini didapatkan dari suspensi sel bakteri endofit di tahap awal sebelum dilakukan pemurnian isolat. Sedangkan pada primer lain tidak menunjukkan adanya ampikon. Pada primer universal memiliki pita yang jelas dengan besar 1500bp. Lalu kemudian dilakukan optimasi seperti optimasi suhu, primer,  $MgCl_2$ , dNTPs. Kemudian dioptimasi kembali menggunakan touchdown PCR. Tetapi hasilnya tetap menunjukkan tidak ada amplifikasi pada primer spesifik lain.

Hasil amplifikasi didapatkan pita dari primer universal, untuk primer spesifik karena menggunakan suspensi bakteri dan menghasilkan pita smear. Hal ini memiliki banyak kemungkinan, salah satunya adalah bahwa isolat endofit yang teramplifikasi dapat berupa kapang ataupun bakteri endofit.

**KESIMPULAN**

Isolat endofit yang didapat sebanyak 4 isolat murni bakteri endofit yaitu BE1, BE2, BE3 dan BE4. Karakteristik isolat murni yang didapat mayoritas berbentuk basil dan sebagiannya merupakan bakteri Gram positif.

Hasil amplifikasi yang dilakukan pada primer universal 16S rDNA mendapatkan pita yang jelas pada 1500 bp. Namun, pada amplifikasi menggunakan primer *CsyI*, *PunI* dan *pAMT* tidak

menghasilkan amplifikon. Untuk itu dilakukan amplifikasi menggunakan suspensi sel pada pengenceran 10<sup>-1</sup> dan didapatkan hasil pita smear.

Pita smear yang didapatkan pada amplifikasi menggunakan suspensi sel pengenceran 10<sup>-1</sup> dengan primer *CsyI* menghadirkan banyak kemungkinan. Seperti endofit yang merupakan kapang atau bakteri dengan spesies lain. Untuk penelitian lebih jauh dapat dilakukan penambahan isolat yang digunakan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Amasesan, N., Jayakumar, V., and Thajuddin, N. (2014). Isolation of endophytic bacteria associated with chili (*Capsicum annuum*) grown in coastal agricultural ecosystem. *Indian Journal of Biotechnology*, Vol.13, pp. 247-255
- R, Aravind & Antony, Dinu & Eapen, Santhosh & Aundy, Kumar & Ramana, K.. (2009). Isolation and evaluation of endophytic bacteria against plant parasitic nematodes infesting black pepper (*Piper nigrum* L.). *Indian Journal of Nematology*. 39. 211-217.
- Galkiewicz, Julia & Kellogg, Christina. (2008). Cross-Kingdom Amplification Using Bacteria-Specific Primers: Complications for Studies of Coral Microbial Ecology. *Applied and environmental microbiology*. 74. 7828-31. 10.1128/AEM.01303-08.
- Gerardo Fernández Barbero, Ali Liazid, Latifa Azaroual, Miguel Palma & Carmelo García Barroso (2016) Capsaicinoid Contents in Peppers and Pepper-Related Spicy Foods, *International Journal of Food Properties*, 19:3, 485-493, DOI: 10.1080/10942912.2014.968468
- Handoko, L. Pebri, Yeni Variyana dan Mahfud. (2017). Studi Efektivitas Ekstraksi (*Capsaicin*) dari Cabai (*Capsicum*) dengan Metode MASE (*Microwave Assisted Soxhlet Extration*). *Jurnal Teknik ITS*, Vol.6, No.2, ISSN : 2337-3539
- Irabor A. and Mmbaga MT. (2017). Evaluation of Selected Bacterial Endophytes for Biocontrol Potential against *Phytophthora Blight* of Bell Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, pp 8-10
- Irawati, Ana Feronika Cindra, Kikin Hamzah Mutaqin, Maggy Tenawidjaja Suhartono Yudi Sastro, Sulastri, dan Widodo. (2017). Eksplorasi dan Pengaruh Cendawan Endofit yang Berasal dari Akar Tanaman Cabai Terhadap Pertumbuhan Benih Cabai Merah (*The Exploration and Effect of Endophytic Fungus Isolated from Chilli's Root to Growth of Chilli Seedling*). *J. Hort.* Vol. 27 No. 1 halaman: 105-112
- Jasim, B., Jyothis Mathew and E.K. Radhakrishnan. (2016). Identification of a novel endophytic *Bacillus* sp. From *Capsicum annuum* with highly efficient and broad spectrum plant probiotic effect. doi: 10.1111/jam.13214
- Jing Wen, Chaoqun Hu, Lvping Zhang, Sigang Fan. (2012). Identification of 11 sea cucumber species by species-species PCR method. *Food control* 27, Pp 380-384
- Kim, June-Sik, Minkyu Park, Dong Ju Lee, and Byung-Dong Kim. (2006). Characterization of putative capsaicin synthase promoter activity. *Molecular Cells* 28, 331-339, DOI/10.1007/s10059-009-0128-6
- , Kossi; Raoul Agnimonhan, Rachele Dossa, Drissa Silue, and Ralf Koenbik. (2018). A Diagnostic Multiplex PCR scheme for identification of plant-associated of the genus *Pantoea*. *bioRxiv Journal*, doi: <http://dx.doi.org/10.1101/456806>
- Ogawa, K., Murota, K., Shimura, H., Furuya, M., Togawa, Y., Matsumura, T., & Masuta, C. (2015). Evidence of capsaicin synthase activity of the Pun1-encoded protein and its role as a determinant of capsaicinoid accumulation in pepper. *BMC plant biology*, 15, 93. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0476-7>
- Patel, Ghansyam G., Vaidehi Patel, Mukund Chandra Thakur. (2017). Study of Microbial Diversity in *Ulva latuca* From Northwest Coast of Gujarat, India. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research (IJPSR)*, 9(3) : 1201-1212
- Paul, N. Chandra, Seung Hyun Ji, Jian Xin Deng, and Seung Hun Yu. (2013). Assemblages of endophytic bacteria in chili pepper (*Capsicum annuum* L.) and their antifungal activity against phytopathogens in vitro. *Plant Omics Journal*, Volume 6, No.6, pp. 441-448 ISSN : 1836-3644
- Peña-Yam, L. P., Ruiz-Sánchez, E., Barboza-Corona, J. E., & Reyes-Ramírez, A. (2016). Isolation of Mexican *Bacillus* Species and Their Effects in Promoting Growth of Chili Pepper (*Capsicum*

- annuum L. cv Jalapeño). *Indian journal of microbiology*, 56(3), 375–378.  
<https://doi.org/10.1007/s12088-016-0582-8>
- Prasad, B. C. Narasimha, Vinod Kumar, H. B. Gururaj, R. Parimalan, P. Giridhar, and G. A. Ravishankar. (2007). Characterization of capsaicin synthase and identification of its gene (csy1) for pungency factor capsaicin in pepper (*Capsicum* sp.). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)* vol. 103 no. 36 13315–13320
- Yong-hong, Huang. (2018). Comparison of Rhizosphere and endophytic microbial communities of Chinese leek through high-throughput 16S rRNA gene illumina sequencing. *Journal of Integrative Agriculture*, 17, 266109