

马 林, 曲绍轩, 王晓强, 等. 食用菌木霉的生防细菌鉴定及相关基因功能预测[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(3): 528-533.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2016.03.007

食用菌木霉的生防细菌鉴定及相关基因功能预测

马 林^{1,2}, 曲绍轩¹, 王晓强³, 邓 鹏⁴, 林金盛¹, 李辉平¹, 侯立娟¹, 蒋 宁¹,
宋金梯¹, LU Shi-en⁴

(1.江苏省农业科学院蔬菜研究所, 江苏 南京 210014; 2.江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 江苏 南京 210014; 3.山东农业大学植物保护学院, 山东 泰安 271018; 4.美国密西西比州立大学生物化学、分子生物学、昆虫学与植物病理学学院, 美国 密西西比州 39762)

摘要: 采用抑菌圈法筛选出 12 株对绿色木霉有明显抑制作用的生防细菌, 其中抑菌效果较好的为 12C2-4 和 MS82 菌株。通过对峙培养法发现 MS82 菌株对双孢蘑菇菌丝生长几乎没有影响。通过 API20 NE、API50 CH 生理生化指标测定及基于 16S rDNA 基因片段的系统进化分析对 MS82 菌株进行分类鉴定, 结果显示 MS82 属于假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)。为了明确 MS82 中参与抗真菌活性相关的基因, 利用 Tn5 转座子随机插入的方式构建 MS82 菌株的突变体库, 获得完全失去绿色木霉抗性的突变体 MS82MT31。通过对抗菌失活突变体中突变基因定位, 发现突变基因为 *rpoB* 基因, 与已知菌株 Pf0-1 的 *rpoB* 基因相似性为 96%, 说明 *rpoB* 基因与 MS82 抑菌活性物质合成密切相关。

关键词: 食用菌; 绿色木霉; 拮抗细菌; 抑菌活性; 假单胞菌

中图分类号: S482.2⁺92 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2016)03-0528-06

Identification of an antifungal bacterium against mushroom pathogen *Trichoderma viride* and characterization of genes associated with antifungal activity

MA Lin^{1,2}, QU Shao-xuan¹, WANG Xiao-qiang³, DENG Peng⁴, LIN Jin-sheng¹, LI Hui-ping¹,
HOU Li-juan¹, JIANG Ning¹, SONG Jin-di¹, LU Shi-en⁴

(1. Institute of Vegetable, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014, China; 3. Department of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China; 4. Department of Biochemistry, Molecular Biology, Entomology and Plant Pathology, Mississippi State University, MS 39762, USA)

Abstract: To find soil antifungal strains against *Trichoderma*, the first competitive contaminant in mushroom cultivation, 12 isolates of biocontrol bacteria inhibiting the growth of *Trichoderma viride* significantly were selected using inhibition zone method. Strains 12C2-4 and MS82 presented distinct antifungal activities against *T. viride*, among which, strain MS82 showed no inhibition against the mycelial growth of *Agaricus bisporus* by confronting incubation. Biological and bio-

chemical characteristics of strain MS82 were identified by API20 NE and API50 CH systems. Together with the phylogenetic analysis of 16S rDNA gene of MS82, it was showed that strain MS82 is a member of *Pseudomonas* sp.. To characterize the genes of MS82 dedicated to antifungal activity, a mini MS82 mutant library was constructed using

收稿日期: 2015-09-26

基金项目: 江苏省青年基金项目[BK20150547]; 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS24)项目

作者简介: 马 林(1982-), 女, 山西平定人, 博士, 副研究员, 主要从事食用菌栽培和病虫防控方面的研究。(E-mail) malin1590@sina.com

Tn5 transposome kit. Mutant MS82MT31 was defective in antifungal activity against *Trichoderma* sp. completely. BLAST analyses revealed that Tn5 transposon was inserted into the *rpoB* gene which shared a high similarity (96%) to the *rpoB* gene of *P. fluorescens* Pf0-1 (GenBank accession no. CP000094. 2). These results suggested that *rpoB* gene is closely associated with the synthesis of antifungal compounds of MS82 strain.

Key words: mushroom; *Trichoderma viride*; antifungal bacterium; antifungal activity; *Pseudomonas*

木霉(*Trichoderma* sp.)可侵染双孢菇、平菇、茶树菇、香菇、银耳、杏鲍菇、毛木耳和灵芝等多种食用菌的培养料、菌丝和子实体,是食用菌栽培中的第一大污染菌^[1]。Park等^[2]认为不同的产地,其感染的木霉种类并不一致,其中绿色木霉与哈茨木霉是优势菌种^[3]。木霉侵染主要表现为产生绿色、青绿色或者黄绿色霉层,它不仅污染菌种和培养料,造成菌种或菌袋报废,同时还可寄生在食用菌菌丝和子实体上引起寄生性病害^[4]。据报道,由木霉造成的食用菌病害每年平均发病率为8%,食用菌损失率40%~50%,有时高达80%,甚至绝收^[5]。

食用菌生产中土壤是一种最常用的基质,而土壤中有多种有益微生物可产生多种杀菌活性物质,对植物病害有明显的生物防效。荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)就是其中一类,它产生的代谢产物对防治植物病害的研究报道较多^[6-7],而防治食用菌病害的报道较少^[8],尤其是对木霉的防治还未见报道。本研究拟通过对土壤生防细菌的筛选、鉴定,希望发现对木霉有明显抑制作用的荧光假单胞菌菌株,为寻找新型的食用菌生物杀菌剂奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试菌株与培养基

供试土壤生防细菌和绿色木霉(*T. viride*)均来自美国密西西比州立大学植物病理学生物防治实验室。双孢蘑菇(*Agaricus bisporus*)分离于美国密西西比州沃尔玛超市双孢菇子实体。NBY培养基:营养肉汤粉8 g/L,酵母粉2 g/L,1 mol/L K_2HPO_4 5.8 ml/L,1 mol/L KH_2PO_4 3.7 ml/L,琼脂粉16 g,121℃高压灭菌后冷却至50℃,10%无菌葡萄糖50 ml/L,1 mol/L无菌 $MgSO_4$ 1 ml/L;LB培养基:胰蛋白胨10 g/L,酵母粉5 g/L,NaCl 5 g/L,琼脂粉15 g/L,1 mol/L NaOH 2.5 ml/L;PDA培养基:土豆葡萄糖琼脂粉39 g/L,维生素分析酪蛋白水解物4 g/L。

1.2 抗真菌活性生物测定方法

抗真菌活性生物测定采用抑菌圈法^[9]。取NBY琼脂培养基上培养的生防拮抗细菌单菌落放入5 ml NBY液体培养基中28℃振荡培养24 h,将菌液用无菌水稀释为1 ml 2×10^8 细胞浓度的菌悬液,取10 μ l分别置于NBY和PDA琼脂培养基的中心,待菌液晾干后倒置培养3 d(28℃)。将绿色木霉孢子用无菌水稀释成1 ml 2×10^8 细胞浓度的菌悬液,均匀喷雾于培养基上,静置培养3 d后观察抑菌圈大小。每处理重复3次,抑菌圈半径采用Duncan's新复极差法进行差异显著性比较^[10]。在抑菌圈处取一小块无绿色木霉菌丝和细菌菌落的培养基,倒置于NBY培养基上,静置培养3 d观察是否有绿色木霉菌丝生长,若有菌丝生长,即为抑菌作用;若无菌丝生长,即为杀菌作用。以双孢蘑菇为指示菌时采用对峙培养^[11],观察细菌对蘑菇菌丝的影响。每处理重复3次。

1.3 拮抗细菌的分类鉴定

1.3.1 生理生化鉴定 生理生化特征采用细菌鉴定系统API20 NE和API50 CH^[12],将抑菌作用最明显的一株细菌菌悬液浓度调为1 ml 2×10^8 细胞,加入API20 NE和API50 CH细菌鉴定试剂盒中,25℃静置培养48 h后观察菌悬液颜色变化情况。

1.3.2 分子生物学鉴定 用Wizard® Genomic DNA Purification Kit提取上述细菌基因组DNA,以引物27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGC-3')和1492R(5'-GCTACCTTGTTACGACTT-3')扩增16S rDNA^[13]序列,PCR产物通过Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System纯化后由Eurofins MWG Operon公司测序。细菌的16S rDNA基因序列拼接后在NCBI上进行比对。用BLAST将细菌的16S rDNA测序结果与GenBank中登录的序列进行比对,并选取相近菌株作为参比序列。将细菌序列与参比序列用软件DNAMAN进行同源性分析。使用MEGA5.0软件构建系统发育树,分析分离株与参比株的亲缘关系,鉴定分离株的种属^[14]。

1.4 突变菌株的筛选

为了明确与抗真菌活性相关的基因,将 EZ-Tn5 (R6K γ ori/KAN-2) Tnp 转座子随机插入到上述细菌菌株的基因组 DNA 中。具体方法为:细菌单菌落在 LB 液体培养基中培养至对数生长期 ($OD_{600} = 0.8 \sim 1.0$) 时,以 0.3 mol/L 蔗糖溶液作为电转培养液制备细菌菌株感受态细胞^[15],以电转化的方式 ($25 \mu\text{F}$, 200Ω , 1.8 kV) 将 EZ-Tn5 转座子插入细菌基因组 DNA,恢复培养 2 h 后将菌悬液均匀涂布在含有 $50 \mu\text{g/ml}$ 卡那霉素的 LB 培养基上,过夜培养后,筛选完全失去或 80% 失去抑菌活性的单菌落,并且确认其在基础培养基上可以正常生长。以 EzTn5F (5'-TTACGAAACACGGAAACC-3') 和 EzTn5R (5'-TCTAATACCTGGAATGCTGTT-3') 为引物扩增 Tn5 转座子序列并测序,以确认获得的突变株包含转座子,同时扩增 16S rDNA 基因并测序确认突变株来自同一细菌菌株。

1.5 目的基因的序列分析

用 Wizard® Genomic DNA Purification Kit 提取

细菌突变株基因组 DNA,用限制性内切酶 *Sal* I 进行剪切、自连,电转到大肠杆菌 JM109 中,提取质粒,以 KAN-2FP-1 和 KAN-2RP-1 为引物对质粒进行测序后在 NCBI 上进行比对,确认 Tn5 转座子插入的位置,预测插入位置处蛋白对抗真菌活性的作用。

2 结果与分析

2.1 绿色木霉拮抗细菌的筛选

2.1.1 拮抗细菌对绿色木霉菌丝的抑制作用 以双孢菇生产中侵染严重的绿色木霉为指示菌,从密西西比州立大学植物病理学生物防治实验室保存的 300 多株对植物病原真菌和细菌都有不同程度拮抗作用的拮抗细菌中筛选出 12 株有明显抑制作用的菌株。从表 1 可以看出,同一菌株在不同培养基上表现不同的抑菌或杀菌活性,这可能与细菌在不同培养基上产生的代谢产物种类不同有关。在 12 株细菌中,MS82 和 12C2-4 两个菌株在 NBY 和 PDA 培养基上对绿色木霉都有明显的抑制效果,且在不同培养基上均表现为稳定的杀菌作用。

表 1 12 株细菌对绿色木霉的抑制作用

Table 1 The inhibition of 12 bacteria against mycelium growth of *Trichoderma viride*

菌株	NBY		PDA		菌株	NBY		PDA	
	抑菌圈半径 (mm)	对真菌作用	抑菌圈半径 (mm)	对真菌作用		抑菌圈半径 (mm)	对真菌作用	抑菌圈半径 (mm)	对真菌作用
12A5-7	11.00e	抑菌	0e	抑菌	12C7-5	11.33e	杀菌	11.33bc	杀菌
12A7-6a	13.67d	抑菌	3.33d	抑菌	12C9-1a	11.67de	杀菌	11.00bc	杀菌
12B10-5	19.33a	杀菌	2.67d	抑菌	12D13-10a	17.33bc	杀菌	10.33c	杀菌
12C1-1	9.67e	杀菌	11.33bc	杀菌	MS82	18.67ab	抑菌	18.33a	抑菌
12C2-4	11.67de	杀菌	11.67bc	杀菌	13B5-11	17.33bc	抑菌	13.00b	抑菌
12C3-6	10.00e	杀菌	11.33bc	杀菌	13C13-5	16.33c	抑菌	11.33bc	抑菌

同列数据中不同小写字母代表差异达 0.05 显著水平。

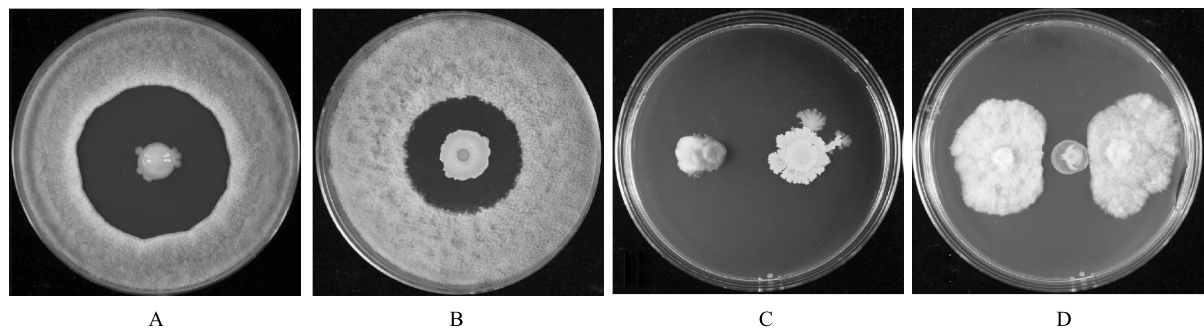
2.1.2 拮抗细菌对绿色木霉和食用菌菌丝的影响 以抑菌效果明显的 12C2-4 和 MS82 菌株作为供试菌株,观察 2 株拮抗细菌对绿色木霉和双孢蘑菇菌丝的影响。从图 1 中可以看出,MS82 菌株对绿色木霉的抑菌效果明显优于 12C2-4 菌株(图 1A、图 1B);12C2-4 菌株对双孢蘑菇菌丝有明显的抑制作用(图 1C),而 MS82 菌株对双孢蘑菇菌丝几乎没有影响(图 1D)。因此,选择 MS82 菌株作为后续研究的生防菌株。

2.2 MS82 菌株的鉴定

2.2.1 生理生化鉴定 采用 API20 NE 和 API50

CH 细菌鉴定系统对 MS82 菌株的生理生化特性进行测定,测定结果显示 MS82 菌株的生化反应颜色及状态与荧光假单胞菌属完全吻合,而与其他假单胞菌属都有差异(表 2)。

2.2.2 分子生物学鉴定 通过在 NCBI 数据库中 BLAST 发现,MS82 菌株 16S rDNA 基因序列 (1 387 bp) 与假单胞菌属同源性达到 99% (图 2)。结合菌株形态特征和生理生化特征鉴定结果,确定 MS82 菌株属于假单胞菌属。



A:MS82 菌株对绿色木霉菌丝的抑菌圈;B:12C2-4 菌株对绿色木霉菌丝的抑菌圈;C:12C2-4 菌株对双孢菇菌丝生长的影响,培养基左侧菌落为双孢菇,右侧菌落为 12C2-4;D:MS82 菌株对双孢菇菌丝生长的影响,培养皿中心菌落为 MS82,两侧菌落为双孢菇。

图 1 菌株 12C2-4 和 MS82 对绿色木霉和双孢蘑菇菌丝的影响
Fig.1 The inhibitions of strains 12C2-4 and MS82 against mycelia growth of *T. viride* and *Agaricus bisporus*

表 2 MS82 菌株生理生化特征
Table 2 Biological and biochemical characteristics of strain MS82

特 征	MS82	荧光假单胞菌	恶臭假单胞菌	韩国丛毛假单胞菌	铜绿假单胞菌
硝酸盐 ^a	+	+	-	-	+
精氨酸水解酶 ^a	+	+	+	+	V
乙酰葡萄糖胺 ^a	+	+	-	+	+
苯乙酸 ^a	-	-	+	-	-
L-阿拉伯糖 ^b	+	+	-	+	-
D-核糖 ^b	+	+	-	+	+
D-木糖 ^b	-	-	-	-	-
D-半乳糖 ^b	+	+	-	+	-
D-甘露糖 ^b	+	+	-	+	-
D-甘露醇 ^b	+	+	-	+	+
七叶苷 ^b	-	-	-	-	+
D-海藻糖 ^b	-	-	-	-	-
D-阿拉伯醇 ^b	+	+	-	+	ND

^a:API20 NE 系统;^b:API50 CH 系统。+:阳性反应;-:阴性反应;V:多种反应;ND:未测定。

2.3 Tn5 突变菌株的鉴定

从 EZ-Tn5 转座子随机插入突变体库中得到的 10 000 多个带有卡那霉素抗性标记的单克隆中筛选到 28 株完全失去或 80% 失去抑制绿色木霉活性的突变体。MS82MT31 是其中一株完全失去抑制绿色木霉活性的突变体(图 3),并且通过突变体中 EZ-Tn5 片段和 16S rDNA 序列分析确定这些突变体都来自 MS82 菌株。MS82MT31 突变株 *Sal* I 酶切、自连、转化后获得质粒 pMT31E1,通过 BLAST 比对后发现 Tn5 插入位置为 *rpoB* 基因,与已知菌株 Pf0-1 的 *rpoB* 基因相似性为 96% (GenBank 登录号 CP000094. 2)。*rpoB* 基因插入 Tn5 转座子后基因功能发生了改变,导致 MS82 抗绿色木霉活性物的合

成途径中断,丧失了抑菌活性,说明 *rpoB* 基因与 MS82 抑菌活性物质合成密切相关。

3 讨论

土壤中有多种微生物,国内外已发现 20 多个种属的微生物具有防病促生的潜能,如假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、芽胞杆菌属 (*Bacillus*)、农杆菌属 (*Agrobacterium*)、埃文氏菌属 (*Eriwinia*)、黄杆菌属 (*Flavobacterium*)、巴斯德氏菌属 (*Pasteuria*)、沙雷氏菌属 (*Serratia*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*) 等^[16]。对食用茵绿霉有明显拮抗作用的菌株 MS82 是从土壤中分离得到,荧光假单胞菌 MS82 对双孢蘑菇菌丝无影响,而董晓雅等^[17]从小麦根际分离到 1 株荧光

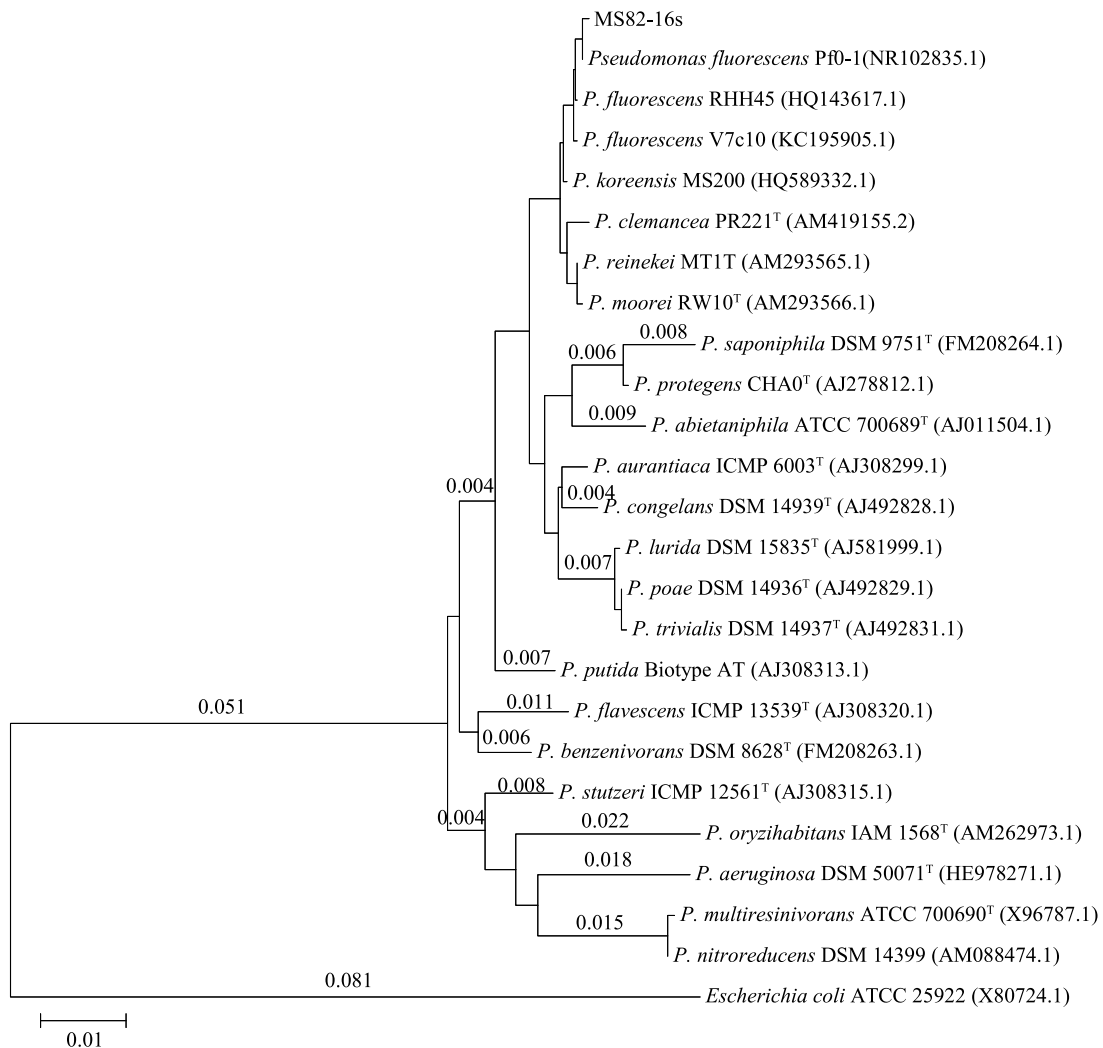
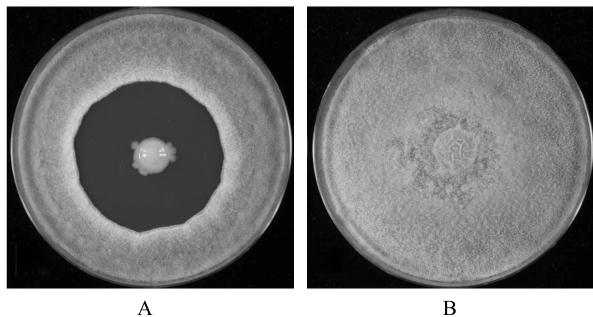


图 2 MS82 菌株 16S rDNA 基因序列系统进化树

Fig.2 Phylogenetic tree of MS82 based on the 16S rDNA gene sequences



A: MS82 菌株对绿色木霉菌丝的抑菌圈, B: 突变菌株 MS82MT31 对绿色木霉菌丝的抑菌圈。

图 3 菌株 MS82 及其突变菌株 MS82MT31 对绿色木霉菌丝生长的抑制

Fig. 3 The inhibitions of strain MS82 and the mutant MS82MT31 against mycelia growth of *T. viride*

假单胞菌 P2-10 可显著提高食用菌菌丝生长速度并诱导促进子实体的形成和发育。细菌分泌次生产物抗生素与细菌的生长状态和生长环境有着极大的联系^[18], 因此在不同的培养基上同一菌株表现出不同的抑菌活性。

在细菌中, RNA 聚合酶的核心酶只执行转录延伸和终止功能。转录因子 σ 对核心酶识别特定启动子的专一性序列和转录起始起着关键作用^[19]。其蛋白的编码基因常用“*rpoX*”来表示, 现今发现的转录因子编码基因有 *rpoA*、*rpoB*、*rpoC*、*rpoD*、*rpoS*、*rpoN* 等。在不同外界环境条件下以及在菌体生长和发育的各个时期, 各种特异性表达的基因利用不同的 σ 因子起始转录。徐汪节等^[20] 研究结果表明

rpoD 和 *rpoS* 基因能调控荧光假单胞菌吩嗪-1-羧酸 (PCA, 吩嗪类抗生素) 和藤黄绿菌素 (Plt, 聚酮类抗生素) 等抑菌物质的合成。本研究中 Tn5 转座子随机插入 *rpoB* 基因后抑制了荧光假单胞菌 MS82 抗真菌活性物质的合成, 可能是由于 *rpoB* 基因的破坏导致核心酶不能识别特定启动子, 从而阻止了抑菌物质的合成。但 *rpoB* 基因调控抑菌物质合成的具体机制还不明确。

荧光假单胞菌虽然可以防治植物的病害, 但本身却是一种环境污染菌, 有些菌株对动植物存在致病风险^[21-23]。在日常生活中, 荧光假单胞菌是奶类、蛋类在低温保存条件下导致腐败变质的主要细菌之一。在菌类生产中, 可以通过对农业环境中尤其是来源于植物根际的具有生防作用的荧光假单胞菌致病性及毒力进行比较研究^[24], 同时优化其代谢产物培养条件和加强对抑菌活性物质的分离纯化条件, 从而避免有害物质对食用菌的危害。

参考文献:

- [1] 宋金佛, 曲绍轩, 马 林. 食用菌病虫识别与防治原色图谱 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2013: 1-4.
- [2] SOO P M, KYUNG B, HUN Y S. Molecular and morphological analysis of *Trichoderma* isolates associated with green mold epidemic of oyster mushroom in Korea [J]. Journal of Huazhong Agricultural, 2004, 23(1): 157-164.
- [3] BENHAMOU N, CHET I. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process [J]. Phytopathology, 1993, 83: 1062-1071.
- [4] 马 林, 宋金佛, 曲绍轩. 福美双与噻菌灵混配对照食用菌木霉和疣孢霉的协同作用 [J]. 江苏农业科学, 2013, 41(8): 139-141.
- [5] 张福元, 韩贵桂, 刘兴元, 等. 香菇不同杀菌剂的比较试验 [J]. 食用菌, 1999(1): 33-34.
- [6] YANG F, CAO Y J. Biosynthesis of phloroglucinol compounds in microorganisms [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 93(2): 487-495.
- [7] KEUM S Y, ZHU Y Z, KIM J H. Structure-inhibitory activity relationships of pyrrolnitrin analogues on its biosynthesis [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 89(3): 781-789.
- [8] BERENDSEN R L, KALKHOVE S I C, LUGONES L G, et al. Effects of fluorescent *Pseudomonas* spp. isolated from mushroom cultures on *Lecanicillium fungicola* [J]. Biological Control, 2012, 63: 210-221.
- [9] GU G, SMITH L, LIU A, et al. Genetic and biochemical map for the biosynthesis of occidiofungin, an antifungal produced by *Burkholderia contaminans* strain MS14 [J]. Applied and environmental microbiology, 2011, 77: 6189-6198.
- [10] 张有林, 张润光, 王鑫腾. 甘薯采后生理、主要病害及贮藏技术研究 [J]. 中国农业科学, 2014, 47(3): 553-563.
- [11] 申顺善, 赵玉华, 张利敬, 等. 绿针假单胞菌 HG28-5 对辣椒疫病的抑制活性及其根际定殖特性的研究 [J]. 园艺学报, 2013, 40(8): 1574-1582.
- [12] TVRZOVA L, SCHUMANN P, SPROER C, et al. *Pseudomonas moraviensis* sp. nov. and *Pseudomonas vranovensis* sp. nov., soil bacteria isolated on nitroaromatic compounds, and emended description of *Pseudomonas asplenii* [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006, 56: 2657-2663.
- [13] CHELIUS M K, TRIPLETT E W. Immunolocalization of dinitrogenase reductase produced by *Klebsiella pneumoniae* in association with *Zea mays* L [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66: 783-787.
- [14] TAMURA K, PETERSON D, PETERSON N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28: 2731-2739.
- [15] CHOI K H, KUMAR A, SCHWEIZER P H. A 10-min method for preparation of highly electrocompetent *Pseudomonas aeruginosa* cells: Application for DNA fragment transfer between chromosomes and plasmid transformation [J]. Journal of Microbiological Methods, 2006, 64: 391-397.
- [16] BURDMAN S, TURKEVITCH E, HOFTE M. Recent advances in the use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in agriculture [J]. Microbial Interactions in Agriculture and Forestry, 2000, 2: 229-250.
- [17] 董晓雅, 周巍巍, 张继英, 等. 荧光假单胞菌对食用菌的促生作用及其机理 [J]. 生态学报, 2010, 30(17): 4685-4690.
- [18] 朱栋华, 徐汪节, 耿海峰, 等. 荧光假单胞菌 M18 *rpoD* 克隆及其对抗生素合成的影响 [J]. 微生物学报, 2003, 43(3): 315-323.
- [19] BURGESS R P, TRAVERSA A, DUNN J J, et al. Factor stimulating transcription by RNA polymerase [J]. Nature, 1969, 221: 43-46.
- [20] 徐汪节, 朱栋华, 张雪洪, 等. 荧光假单胞菌 M18 的 *rpoS* 基因克隆及其功能分析 [J]. 微生物学报, 2004, 44(3): 309-314.
- [21] 杜宗君, 黄小丽, 邓永强, 等. 人工养殖大鲵病原荧光假单胞菌的分离鉴定 [J]. 四川农业大学学报, 2011, 29(1): 103-107.
- [22] 吕祝邦, 李敏权, 惠娜娜, 等. 甘肃省定西市当归“水烂病”病原鉴定及致病性测定 [J]. 植物保护, 2013, 39(2): 45-49.
- [23] 滕 涛, 梁利国, 谢 骏. 大宗淡水鱼细菌性疾病研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2015, 43(11): 8-12.
- [24] 孙广正, 姚 拓, 赵桂琴, 等. 荧光假单胞菌防治植物病害研究现状与展望 [J]. 草业学报, 2015, 24(4): 174-190.

(责任编辑: 孙 宁)