

一种新型生防细菌菌株 13-1 鉴定及其生物学特性

姬广海^{1*} 魏兰芳² 吴亚鹏¹

(1. 云南农业大学农业生物多样性应用技术国家工程中心 云南 昆明 650201)

(2. 云南农业大学农科基础实验教学中心 云南 昆明 650201)

摘要: 13-1 是从魔芋根际土壤中筛选得到的一株革兰氏阴性生防细菌, 抑菌试验结果表明它对 7 种植物病原细菌和 8 种病原真菌具有拮抗作用。形态和常规生理生化特征鉴定, 发现该菌株与溶杆菌属 *Lysobacter* 特征很相近。Biolog 鉴定和 16S rDNA 基因序列分析表明, 菌株 13-1 与已报道的抗生素溶杆菌 *Lysobacter antibioticus* DSM 2044(=ATCC29479) 同源性高达 99%。二者在所建系统发育树中处于同一分枝, 将 13-1 菌株鉴定为抗生素溶杆菌(*L. antibioticus*)。

关键词: Biolog 鉴定, 16S rDNA 测序, 抗生素溶杆菌(*L. antibioticus*)

Identification and Biological Characteristics on a Novel Strain 13-1 from Rhizosphere of *Amorphophallus konjac*

Ji Guang-Hai^{1*} WEI Lan-Fang² WU Ya-Peng¹

(1. National Center for Agro-biodiversity, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China)

(2. Experimental Agriculture Center, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China)

Abstract: Strain 13-1 was gram negative biocontrol bacterial strains isolated from *Amorphophallus konjac*. In vitro antagonistic assay showed that strain could suppress the growth of seven plant bacterial pathogens and eight pant fungal pathogens. The results of phenotypic and general physiological and biochemical properties showed that strain 13-1 homologized with which described for genus *Lysobacter*. 16S rDNA determination and analysis was used for further identification, which showed that 16S rDNA sequence of strain 13-1 shared 99% homologies with published sequence of *L. antibioticus* DSM2044 from GenBank, and both sequences constituted a branch in phylogenetic tree. Based on these results, it is considered that the strain 13-1 belongs to one strain of *L. antibioticus*.

Keywords: Identification, Biocontrol strain 13-1, 16S rDNA, *L. antibioticus*

软腐病是造成很多园艺和花卉如魔芋、马蹄莲和马铃薯等作物的重要病害, 常造成种球腐烂、黑胫、田间植株软腐和贮藏期种球的腐烂^[1]。软腐病常造成巨大损失, 1980 年, 由软腐病造成的世界损失高达 1 亿美元。新西兰种球损失每年达 200 万新

元。在环境有利的条件下, 由于病害爆发流行, 贮藏期种球腐烂率达 15%~20%, 田间损失率高达 100%。软腐病的控制主要通过栽培措施(如轮作、间作等), 而化学防治由于病原菌抗药性和易对环境造成污染, 往往防治效果偏低。因此, 土壤中生防菌的应用已

引起全球的高度重视。目前已报道的生防细菌有荧光假单胞菌 *P. fluorescens*、枯草芽孢杆菌 *B. subtilis*、草生欧文氏菌 *E. herbicola* Eh252、*E. carotovora* subsp. *betavascularum* Ecb168、胡萝卜软腐欧文氏菌软腐变种无毒菌株和链霉菌, 这些菌对 *E. carotovora* subsp. *carotovora* 都具有抑制活性^[2-7]。

溶杆菌属 *Lysobacter* 具有滑移性, 该属细菌发现于水体和土壤中, 目前已知共有 4 个种, 分别为 *L. enzymogenes*、*L. antibioticus*、*L. brunescens* 和 *L. gummosus*^[8]。随后, 几个新种相继添加进来, 它们分别是 *L. koreensis*、*L. daejeonensis*、*L. yangpyeongensis* 和来自于韩国温室土壤的 *L. niabensis*^[9]。随着时间的发展, 还会有更多的新种报道。产酶溶杆菌菌株 C3 是已报道的一类田间有效的生防因子, 对多种真菌病害具有防治作用, 如草坪草褐斑病、高羊茅草叶斑病和小麦赤霉病等^[10]。

该属的溶杆菌 3.1T8、N4-7、*Lysobacter* sp. XL1、*Lysobacter* sp. SB-K88 以及 *L. lactamgenus* YK90 已经在防治土传真菌病害上取得较好的防治效果, 防治的真菌病害主要有甜菜、菠菜猝倒病、黄瓜猝倒病、羊茅草叶斑点、小麦赤霉病、牧草斑点病和蚕豆锈病^[11-15]; 防治的细菌病害主要是水稻白叶枯病^[16]。上述证据表明溶杆菌属菌株是一类较好的生防因子, 可以控制植物土传病害, 但是, 很少有此类菌株控制魔芋细菌性软腐病的报道。

本研究报道了一个从富源魔芋根际土壤中分离获得的一个新菌株, 对细菌性软腐病表现出离体抑菌作用, 本文从表型特征、生理生化及系统发育等方面鉴定细菌, 以及明确其抑菌谱及其生物学特性。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

菌株 13-1 是由本实验室采用平板稀释法从魔芋根际土壤中分离得到的拮抗细菌。植物病原真菌、病原细菌详见表 1, 均由本试验室保存。

1.2 平板抑菌作用测定

植物病原真菌采用对峙培养法测定菌株 13-1 对上述病原菌的抑菌作用。即在 PDA 平板中心接入直径为 5 mm 生长旺盛的病原菌菌块, 再在距离菌块中心 2.5 cm 处点接细菌, 每皿接种细菌 3 点, 重复 2 皿, 28°C 培养 5 d 测量抑菌圈半径。

病原细菌采用将目标病原细菌制成 3×10^8 CFU/mL 菌悬液, 与 NA 培养基混合制备含菌平板, 冷却后将生防细菌 13-1 点接到平板上, 每皿接种细菌 4 点, 重复 2 皿, 28°C 培养 2 d~3 d, 测量抑菌圈半径。

1.3 培养性状和菌体形态特征观察

将生防细菌 13-1 分别在 NA、R₂A 培养基上培养, 观察菌落形态、颜色、质地和色素等。革兰氏染色采用氢氧化钾(KOH)溶解法、结晶紫草铵染色法, 鞭毛采用电子显微镜观察法, 菌体培养 18 h 后 PTA 复染, 用 EM-1200EX 型透射电子显微镜观察, 拍照。

芽孢染色: 用牛肉汁培养基斜面培养 48 h 的菌落制成菌悬液, 采用孔雀绿染色法进行染色, 用显微镜 100×10 倍油镜观测。滑行运动观察参照文献[17]。生防菌株 13-1 常规的生理生化鉴定参照文献[18]。

1.4 Biolog 微生物自动鉴定仪鉴定

菌株的扩大培养: 挑取生防菌 13-1 的单菌落, 在 BUG 培养基上划“十”字线, 28°C 培养 20 h~24 h。用无菌棉签轻擦菌苔于接种液中(Biolog 公司), 制成菌悬液, 浊度调整: 通过增加接种液或添加菌落可以降低或升高菌悬液的浊度, 直至浊度达到 $61\% \pm 2\%$ 的范围。再用 8 孔移液器将菌悬液分加在 Biolog GN 鉴定板的各孔中。每孔各 150 μ L, 共 96 孔。盖上鉴定板盖, 置于 30°C 的培养箱中培养, 分别在培养 4 h 和 24 h 后取出鉴定板, 置于读数仪上读取结果。自动检索数据库, 比较鉴定结果。

1.5 16S rDNA 的序列测定及其系统发育学分析

细菌总 DNA 的提取, 采用裂解法提取菌株 13-1 基因组总 DNA, 用引物 27 f (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492 r (5'-GGCTACCTIGTACGACTT-3') 进行 PCR 扩增。PCR 反应体系如下(50 μ L): 10×缓冲液 5 μ L, dNTPs (2.5 mmol/mL) 4 μ L, 引物 27 f (10 μ mol/mL) 2 μ L, 引物 1492 r (10 μ mol/mL) 2 μ L, 模板 DNA 2 μ L, DNA 聚合酶(5 U/ μ L) 0.25 μ L, 超纯水 ddH₂O 34.75 μ L。PCR 扩增程序为: 95°C 3 min; 94°C 1 min, 55°C 1 min, 72°C 1.5 min, 30 个循环; 72°C 8 min。扩增产物从琼脂糖凝胶上切下, 采用上海华舜胶回收试剂盒进行回收、纯化后, 送上海博亚生物技术有限公司进行 PCR 产物的直接测序, 测序为双向引物测序, 测序仪器为 ABI PRISM 377~96 自动测序仪, 测序用引物为 27 f 和 1492 r。

将测得的基因序列通过 Blast 程序与 GenBank 中核酸数据库进行对比分析。

1.6 16S rDNA 序列分析和系统发育树的构建

所测序列递交 GenBank 数据库, 使用 Blastn 程序进行相似性比较 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>), 调取 GenBank 数据库中与之同源性较高的一些细菌 16S rDNA 序列, 使用软件 Clustal X 进行多序列匹配排列, 删除序列匹配排列中出现的插入和缺失。用邻接法(Neighbor-joining method)获得分支系统发育树, 从而得知各菌株间的亲缘关系远近。设定 bootstrap 为 1000, 用于构建系统发育树的菌株名称、编号及其它它们之间的亲缘关系, 见图 2。

2 结果与分析

2.1 菌株平板抑菌作用

结果(表 1) 表明, 生防细菌 13-1 不仅对魔芋细菌性软腐病菌 My9、ECC2、WM2 具有较强的抑菌作用, 其抑菌圈直径为 11.4 mm~13.0 mm 之间, 而且对其它病原细菌如植物青枯病菌、水稻白叶枯病菌及病原真菌如烟草赤星病菌等都具有较好的抑菌效果, 表明该生防细菌 13-1 具有广谱的抑菌作用。

2.2 培养性状及形态特征观察

在 NA 培养基上菌落呈圆形, 有光泽、光滑、不透明稀液状, 产生黑褐色色素, 培养初期为暗黄色, 后期转为棕褐色菌落, 菌体杆状、单生、无鞭毛、

表 1 生防细菌 13-1 对不同病原菌的抑菌圈直径
Table 1 Inhibition zone diameter of bio-control bacteria strain 13-1 against various pathogens

植物病原细菌(真菌) Plant bacterial(fungal) pathogen	菌株编码 Strain code	抑菌圈直径(mm) Diameter of inhibition zone	寄主 Host plants
魔芋细菌性软腐病菌 <i>Pectobacterium carotovorum</i> ssp. <i>carotovora</i>	My9	5.0 ± 0.2	魔芋 Konnyaku
	ECC2	7.0 ± 0.5	白菜 Cabbage
	Wm2	4.6 ± 0.3	马蹄莲 Zantedeschia
水稻白叶枯病菌 <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	53	21.5 ± 0.2	水稻 Rice
植物青枯病菌 <i>Ralstonia solanacearum</i>	Tb23	15.6 ± 0.2	多种植物 Various plants
烟草青枯病菌 <i>P. syringae</i> pv. <i>tabaci</i>	CX10	11.5 ± 0.2	烟草 Tobacco
香料烟细菌性斑点病菌 <i>P. syringae</i> pv. <i>tabaci</i>	T5	11.4 ± 0.1	香料烟 Orientia tobacco
水稻细菌性条斑病菌 <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzicola</i>	Rs68	7.4 ± 0.7	水稻 Rice
红掌细菌性疫病病菌 <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>dieffenbachiae</i>	XCD-S	20.7 ± 1.3	红掌 Anthurium
甘蓝黑腐病菌 <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	8004	9.7 ± 0.9	白菜 Cabbage
稻瘟病菌 <i>Pyricularia grisea</i> (Cooke) Sacc.	Y2	4.3 ± 0.2	水稻 Rice
腐霉菌 <i>Pythium</i> sp.	SQ1	6.5 ± 0.8	Panax notoginseng
香荚兰根腐病菌 <i>Fusarium oryzenum</i> <i>Schlf.</i> sp. <i>Vanillae</i> (Tucker) Gordon	F1	7.5 ± 0.5	香荚兰 Vanilla
芦荟根腐病菌 <i>F. solani</i> (Mart.) Appel & Wollenw. emend Snyd. & Hans	LH5	6.7 ± 0.4	芦荟 Aloe barbadensis
玉米大斑病菌 <i>Exserohilum turcicum</i> (pass.) Leonard & Suggs	DB	15.7 ± 0.6	玉米 Maize
玉米小斑病菌 <i>Bipolaris maydis</i> (Nishik & Miyabe) Shoem	XB	12.0 ± 0.3	玉米 Maize
烟草黑胫病菌 <i>Phytophthora nicotianae</i>	97007, 97008	28.7 ± 0.2	烟草 Tobacco
烟草赤星病菌 <i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler	CX	11.5 ± 0.7	烟草 Tobacco

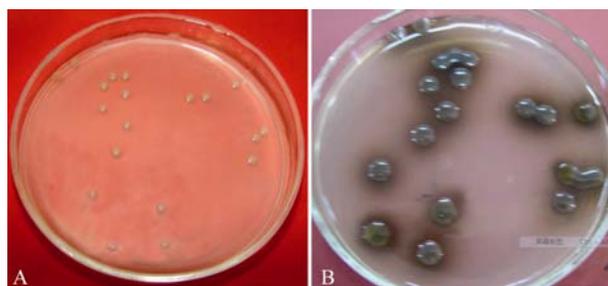


图 1 菌株 13-1 菌落形态

Fig. 1 Colony of strain 13-1

注: A: 培养初期; B: 培养后期。

Note: A: Early time; B: Later time.

不形成荚膜和芽孢。大小为 $(0.6\sim 0.9)\mu\text{m}\times(1.5\sim 2.0)\mu\text{m}$ 。革兰氏染色反应呈阴性。有滑动现象。

2.3 常规生理生化特征鉴定

试验结果见表 2, 其中对照菌株为红掌细菌性疫病菌(*Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* X_{CD})。革兰氏反应为阴性, 严格好气, 不产生 H_2S , 利用过氧化氢酶、氧化酶和葡萄糖产酸, 葡萄糖产气, 不能与硝酸盐产生还原反应, V.P 试验为阴性反应, 不能水解淀粉和吐温 80, 水解酪蛋白, 能使明胶液化产生果聚糖, 在 2% NaCl 中生长良好, 但在浓度大于 5% NaCl 中生长受到抑制, 能利用阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖、蔗糖、海藻糖和山梨醇, 不能利用果糖、甘露糖和纤维二糖。

2.4 Biolog 微生物鉴定系统鉴定

将生防菌 13-1 细菌悬浮液接种到 95 种碳源的

表 2 菌株的生理生化性状
Table 2 Physiological and biochemical characteristics of bacterial strains

测试项目 Test items	测试菌株 Strain test		测试项目 Test items	测试菌株 Strain test	
	13-1	X _{CD}		13-1	X _{CD}
革兰氏染色 Gram stain	-	-	果聚糖产生 Levan formation	+	+
严格好气 Aerobic growth	+	+	NaCl 中 2% 生长 Growth on 2% NaCl	+	+
兼性厌氧或微好气 Anaerobic growth	-	-	NaCl 中 5% 生长 Growth on 5% NaCl	-	+
H_2S 产生 Produce H_2S	-	+	NaCl 中 10% 生长 Growth on 10% NaCl	-	-
过氧化氢酶 Catalase	+	+	果糖 Fructose	-	+
氧化酶试验 Oxidase	+	-	阿拉伯糖 Arabinose	+	+
葡萄糖酸化 Glucose acidification	+	+	葡萄糖 Glucose	+	+
脲酶 Urease	-	-	组氨酸 Histidine	-	-
精氨酸双水解 Arginine dihydrolase	-	-	甘露糖 Mannose	-	+
硝酸盐还原 Nitrate deoxidization	-	-	脯氨酸 L-Proline	+	-
V.P 试验 Voges-Proskauer test	-	-	半乳糖 D-Galactose	+	+
淀粉水解 Hydrolysis of starch	-	+	蔗糖 Sucrose	+	+
酪蛋白水解 Casein hydrolysis	+	-	D-木糖 D-Xylose	N	+
明胶液化 Hydrolysis of gelatin	+	+	海藻糖 Trehalose	+	+
			纤维二糖 Cellobiose	-	+

注: +: 阳性反应; -: 阴性反应。

Note: +: Positive; -: Negative.

Biolog 板微孔中, 培养 24 h 后, 测定菌株代谢情况, 以下为生防细菌 13-1 对 95 种碳氮源底物的利用能力。

能利用 N-乙酰-D-半乳糖、N-乙酰-D-葡糖胺、D-甘露糖、 α -D-葡萄糖、D-海藻糖、柠檬酸、3-羟基乙酸、 α -丁酮酸、 α -酮戊二酸、丙酸、琥珀酸、溴琥珀酸、丙氨酸、L-脯氨酸和 L-苏氨酸; 不能利用 L-丝氨酸、L-组氨酸、阿拉伯糖、麦芽糖、密二糖、组氨酸和纤维二糖等。该菌株在利用糖原 Glycogen、麦芽糖 Maltose、 α -D-葡萄糖和柠檬酸盐上与 *L. antibioticus* DSM 2044 菌株具有差异。

经 Biolog 微生物鉴定系统分析生防菌 13-1 的代谢指数, 相似性低于 50%, 与 *Stenotrophomonas maltophilia* 标准菌株最相近, 也仅为 46.1%。

2.5 16S rDNA 的序列测定及其系统发育学分析

2.5.1 生防细菌 13-1 16S rDNA 的序列测定: 用引物 27 f 和 1492 r 对生防细菌 13-1 的 16S rDNA 进

行 PCR 扩增, 得到约 1.5 kb 的 PCR 产物, 经测序得到生防细菌 13-1 菌株的 16S rDNA 部分序列大小为 1268 bp, GenBank 登录号为 DQ188260。

2.5.2 系统发育学分析: GenBank 序列同源性比对结果显示, 生防菌 13-1 与 *L. antibioticus* DSM 2044(ATCC29479)同源性高达 99%, 通过 N-J 法构建系统发育进化树(图 2), 结果显示, 生防菌 13-1 与 *L. antibioticus* OC5、DSM 2044(ATCC29479)聚类在一起, 构成一个分支, 可信度达到 91%。结合其培养特征与生理生化反应(见表 2), 将生防菌 13-1 鉴定为抗生素溶杆菌(*L. antibioticus* 13-1)。其分类地位为: 黄单胞菌科 (*Xanthomonadaceae*), 溶杆菌属 (*Lysobacter*), 抗生素溶杆菌(*L. antibioticus*)。

3 讨论

13-1 是一株从魔芋根际土壤中筛选得到的生防细菌, 该菌株典型特征是在 NA 平板上菌落颜色为

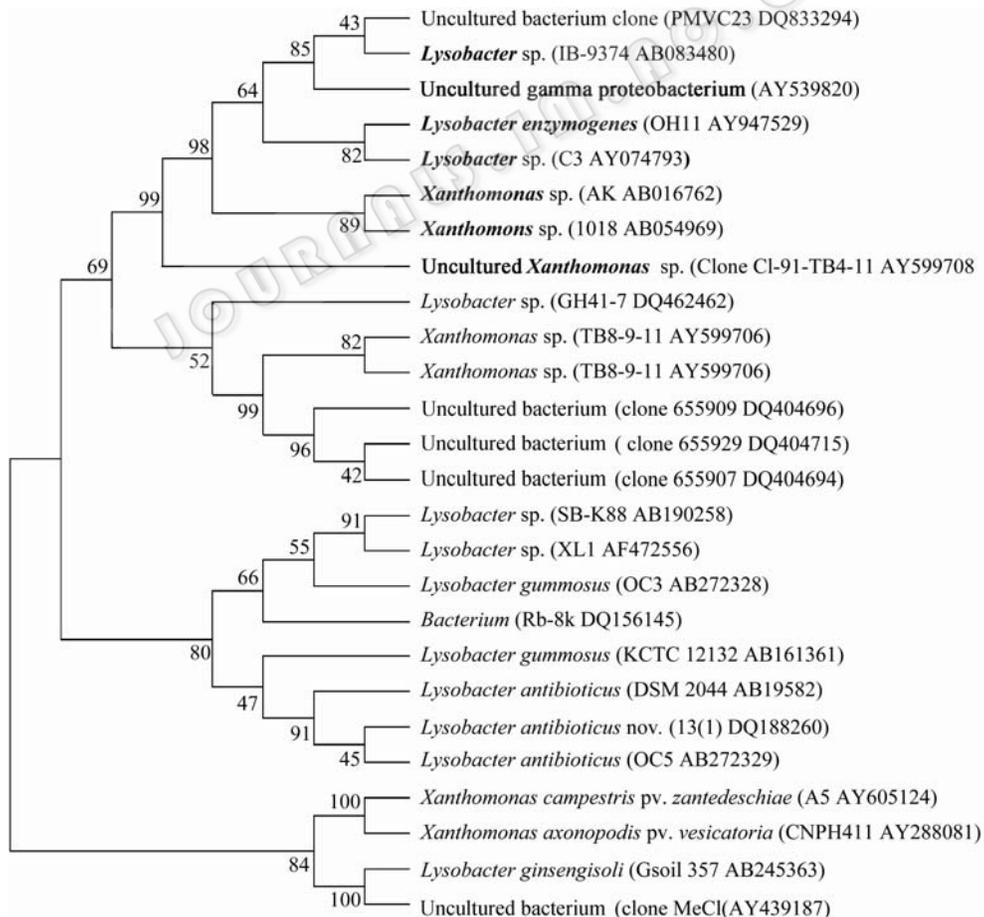


图 2 生防菌 13-1 的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree constructed based on strain 13-1 16S rDNA gene sequence

注: 分支点的数字代表 bootstrap1000 对该支的支持百分数; 括号中代表菌株号和 GenBank 16S rDNA 登录号。

Note: The number at each branch points is percentage supported by bootstrap; Strain No. and GenBank accession number.

浅黄色至黄褐色, 产生可溶性黑褐色色素, 菌龄越老产生色素越多。常规的生理生化试验结果与伯杰氏手册第九版的报道基本一致^[20], 但伯杰氏手册记载 *L. antibioticus* ATCC29479 可以利用 D-纤维二糖。然而, 本研究中菌株 13-1 Biolog 系统鉴定结果与之不同, 可能是利用效率降低的原因。

Biolog microStation 微生物自动鉴定仪是根据菌株对碳源的利用率及其与各属之间的相似系数进行同源性分析, 是传统分类方法及数值分类法的结合, 具有快速、经济、准确、高效的特点, 但对数据库中不常见的属、种及新出现的种缺乏比对数据。在本研究中, 采用 Biolog 对生防细菌 13-1 的鉴定结果表明, 鉴定结果与 *Stenotrophomonas* 的相似程度最高(SIM 值为 0.46), 但均未达到鉴定结果的临界值(革兰氏阴性菌培养 16 h~24 h 的 SIM 0.5)。由于 Biolog 数据库中无该菌的相应参数, 因此无法精确鉴定, 但对各种碳源利用情况提供了详尽资料。

利用 16S rDNA 序列同源性和系统发育分析进行细菌鉴定是国际上通用的鉴定技术, 通常 16S rDNA 序列同源性小于 98%, 认为种不同; 同源性小于 93%~95%, 可以认为属不同^[20]。根据这一结论, 生防菌 13-1 与 *L. antibioticus* DSM 2044(ATCC29479) 同源性高达 99%, 可以得出菌株 13-1 为溶杆菌属抗生素种的一个新菌株, 命名为抗生素溶杆菌 *L. antibioticus* 13-1。

溶杆菌属主要存在于土壤和水生环境, 已有研究发现, 该属菌株可以产生抗生素并具有较好的定殖活性, 已在多种植物真菌病害的生物防治过程中得以利用。而我们的研究表明, 抗生素溶杆菌 *L. antibioticus* 13-1 同样可以产生抗生素, 对多种病原细菌、真菌也都具有较好的抑菌作用。有关其抗菌物质的组分、结构研究正在进行中。

参 考 文 献

[1] Perombelon MCM, Kelman A. Blackleg and other potato disease caused by soft *Erwinia* proposal for revision of terminology. *Plant Dis*, 1987, **71**(3): 283-285.
 [2] Costa JM, Joyce EL. Derivation of Mutants of *Erwinia carotovora* subsp. *betavasculorum* deficient in export of pectolytic enzymes with potential for biological control of potato soft rot. *Applied and Environmental Microbiology*,

1994, **60**(7): 2278-2285.
 [3] Folman LB, De Klein MJEM, Postma J, *et al.* Characterization of *Lysobacter enzymogenes* (Christensen and Cook, 1978) strain 3.1T8, a powerful antagonist of fungal disease of cucumber. *Microbiology Research*, 2003, **158**(2): 107-115.
 [4] Hendawy HE, Zeid IM, Mohamed, *et al.* The biological control of soft rot disease in melon caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* using *Pseudomonas fluorescens*. *Microbiological research*, 1998, **153**(11): 55-60.
 [5] Seo ST, Furuya S, Iiyama K, *et al.* Characterization of an antibacterial substance produced by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* Ecc 32. *Journal of General plant pathology*, 2004, **70**(5): 273-277.
 [6] Vanneste JL, Yu J, Cornish DA. Biological Control of bacterial soft rot. ISHS Acta Horticulturæ **96**: International Postharvest Science Conference Postharvest, 1996, p.464.
 [7] Zamanian S, Shahidi GH, Saadoun I. First report of antibacterial properties of a new strain of *Streptomyces plicatus*(strain 101) against *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* from Iran. *Biotechnology*, 2005, **4**(2): 114-120.
 [8] Christensen P, Cook FD. *Lysobacter*, a new genus of non-fruiting, gliding bacteria with a high base ratio. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1978, **28**(2): 367-393.
 [9] Lee JW, Im WT, Kim MK, *et al.* *Lysobacter koreensis* sp. nov. isolated from a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2006, **56**(1): 231-235.
 [10] Jochum CC, Osborne LE, Yuen GY. *Fusarium* head blight biological control with *Lysobacter enzymogenes* C3. *Biological Control*, 2006, **39**(3): 336-344.
 [11] Md TI, Yasuyuki H. Possible role of xanthobaccins produced by *Stenotrophomonas* sp. strain SB-K88 in suppression of sugar beet damping-off disease. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**(10): 4334-4339.
 [12] Giesler LJ, Yuen FY. Evaluation of *Stenotrophomonas maltophilia* strain C3 for biocontrol of brown patch disease. *Crop Protection*, 1998, **17**(6): 509-513.
 [13] Yuen GY, Steadman JR, Lindgren DT, *et al.* Bean rust biological control using bacterial agents. *Crop Protection*, 2001, **20**(5): 395-402.
 [14] Islam MT, Hashidoko Y, Deora A, *et al.* Suppression of damping-off disease in host plants by rhizoplane bacterium *Lysobacter* sp. strain SB-K88 in linked to plant colonization and antibiosis against soilborne peronosporomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(7): 3786-3796.
 [15] Folman LB, De Klein MJEM, Postma J, *et al.* Production

- of antifungal compounds by *Lysobacter enzymogenes* isolate 3.1 T8 under different conditions in relation to its efficacy as a biocontrol agent of *Pythium aphanidermatem* in cucumber. *Biological Control*, 2004, **31**(2): 145–154.
- [16] JI GH, Wei LF, He YQ, *et al.* Biocontrol of rice bacterial blight by *Lysobacter antibioticus* strain 13-1. *Biological control*, 2008, **45**(3): 288–296.
- [17] Murray RGE, Doetsch RN, Robinow CF. Determinative and cytological light microscopy. In: *Methods for General and Molecular Bacteriology*. ed. Gerhardt P, Murray RG, Wood WA, *et al.* Washington DC: American society of Microbiology, pp.22-41.
- [18] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001, pp.84–90.
- [19] Holt JG, Krieg NR, Pha S, *et al.* *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. William and Wilkins, Baltimore, USA, 1994, p.151.
- [20] Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, *et al.* 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 1991, **173**(2): 697–703.

稿件书写规范

高校教改纵横栏目简介及撰稿要求

“高校教改纵横”栏目，原“高等院校教学”，是中国微生物学会主办的科技期刊中唯一的教学类栏目，也是中国自然科学核心期刊中为数不多的教学栏目。该栏目专为微生物学及其相关学科领域高校教师开辟，一方面为高校微生物学学科的教师提供一个发表论文的平台，同时微生物关联学科的一部分确实优秀的论文也可以在此发表，是微生物学及相关领域教学研究、交流、提高的园地。

本栏目的文章有别于其它实验类研究报告，特色非常鲜明。要求作者来自教学第一线，撰写的稿件内容必须要有新意、要实用，不是泛泛地叙述教学设计与过程，而是确实有感而发，是教学工作中的创新体会，或者在教学中碰到的值得商榷的、可以与同行讨论的有价值的论题。在内容选材上应该有鲜明的特点和针对性，做到主题明确、重点突出、层次分明、语言流畅。教师的教学思路应与时俱进，注意将国内外新的科技成果和教学理念贯穿到教学之中，只有这样才能真正起到教与学的互动，促进高校生物学教学的发展，更多更好地培养出国家需要的高科技创新人才。这也是本栏目的目的所在。

同时，为了给全国生物学领域的教学工作者提供一个更广阔更高层次的交流平台，本栏目还开辟了“精品教学”版块，原“名师讲堂”。邀约相关生命科学领域，如微生物学、分子生物学、生物医学、传染病学、环境科学等的教学名师、知名科学家就教学和学生培养发表观点，推荐在教学改革、教学研究、引进先进教学手段或模式以及学生能力培养等方面有突出成绩的优秀论文，为高校教师以及硕士、博士研究生导师提供一个可资交流和学习的平台，促进高校教学和人才培养水平的提高。

欢迎投稿！欢迎对本栏目多提宝贵意见！