

粤、闽、贵烟草青枯病菌分离株及其致病力

谢锐鸿¹ 巫升鑫² 罗正友³ 马柱文¹ 李集勤¹ 张振臣¹ 罗静⁴ 张维祥⁵
陈远平⁵ 袁清华^{1*}

(1. 广东省农业科学院作物研究所 广东 广州 510640)

(2. 福建省烟草农业科学研究所 福建 福州 365001)

(3. 贵州省烟草研究所 贵州 贵阳 550000)

(4. 广东烟草南雄市有限公司 广东 南雄 512400)

(5. 广东烟草梅州市有限公司 广东 梅州 514011)

摘要:【目的】从粤、闽、贵3地烟草青枯病株中分离青枯病菌,测定其致病力并探讨判断致病力的方法。【方法】采用氯化三苯基四氮唑(简称 TTC)培养基和蛋白质电泳相结合对青枯病菌致病力进行测定,并分析菌株生化型。【结果】已分离出烟草青枯病菌 59 株,依据致病力进行划分,无致病力菌株 5 株,有致病力菌株 54 株。不同致病力菌株蛋白电泳特定条带存在差异。粤、闽、贵3地烟草青枯病菌有致病力菌株均占主导地位,广东有致病力菌株比例略大,福建次之,贵州最小。按生化型划分,59 株青枯病菌中 1 株属于生化型 IV 外,其他 58 株属于生化型 III 或其亚型生化型 III-1。【结论】烟草青枯病菌致病力存在差异,SDS-PAGE 蛋白指纹中的特定条带可作为判定青枯病菌有无致病力的依据。

关键词:烟草,青枯病菌,蛋白质电泳,生化型,致病力

Pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* isolated from tobacco in Guangdong, Fujian and Guizhou Province

XIE Rui-Hong¹ WU Sheng-Xin² LUO Zheng-You³ MA Zhu-Wen¹ LI Ji-Qin¹
ZHANG Zhen-Chen¹ LUO Jing⁴ ZHANG Wei-Xiang⁵
CHEN Yuan-Ping⁵ YUAN Qing-Hua^{1*}

(1. Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Crops Research Institute, Guangzhou, Guangdong 510640, China)

(2. Institute of Tobacco Agricultural Science of Fujian, Fuzhou, Fujian 365001, China)

(3. Tobacco Science Institute of Guizhou Province, Guiyang, Guizhou 550000, China)

(4. Nanxiong Branch of Guangdong Tobacco Company, Nanxiong, Guangdong 512400, China)

(5. Meizhou Branch of Guangdong Tobacco Company, Meizhou, Guangdong 514011, China)

Abstract: [Objective] In order to isolate *Ralstonia solanacearum* from Guangdong, Fujian, Guizhou tobacco, determine its virulence and to explore ways to determine virulence. [Methods]

基金项目: 广东省烟草专卖局科技计划项目(No. 201106); 广东省农业科学院院长基金项目(No. 201408)

*通讯作者: Tel: 86-20-87596595; ✉: qinghua654321@126.com

收稿日期: 2013-10-12; 接受日期: 2014-02-12; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-02-18

Triphenyltetrazolium chloride culture medium and protein electrophoresis were used to distinguish the virulence of the bacteria. **[Results]** Fifty-nine *R. solanacearum* were isolated from bacterial wilt tobacco samples. We used SDS-PAGE to identify bacterial wilt virulence. The specific band in the SDS-PAGE was considered to be a certification for the virulence of *R. solanacearum*. The 59 strains were divided into 2 types according to their virulence. Five strains were non-virulent whereas 54 were virulent. All virulent strains were dominators in Guangdong, Fujian and Guizhou province. Among these regions, Guangdong has a slightly large proportion of virulence strains, followed by Fujian and Guizhou. Among of these strains, one strain belongs to type IV bacterial wilt, the other 58 belong to biotype III or subtype biochemical III-1. **[Conclusion]** Virulence of *R. solanacearum* has differentiated, and specific protein band in SDS-PAGE can be used as an evidence to judge whether the bacteria has virulence or not.

Keywords: Tobacco, *Ralstonia solanacearum*, Protein electrophoresis, Biovar, Virulence

烟草青枯病是由青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的一种病害,广泛存在于热带、亚热带地区及其它一些气候温暖的地方,可危害多种作物^[1]。我国南方地区尤其是青枯病的高发区,一旦发病严重将对作物生产造成致命性威胁。然而不同青枯病菌菌株对作物生长的影响不同^[2]。青枯病菌的分类方法多样,通常根据其寄主范围或对3种二糖、3种己醇氧化能力的差异分别划分为5个生理小种和5个生化型^[3]。菌株间的致病力差异是对作物造成不同影响的根本原因。研究表明,烟草的青枯病菌与其它作物的青枯病菌存在明显的致病性差异^[4]。

自然界中青枯病菌存在致病力强弱的分化已经得到证实,报道的鉴定方法有很多,但TTC培养基的方法目前应用得最广泛。TTC培养基中含有2,3,5-氯化三苯基四氮唑,可与青枯病菌发生生化反应,使之在该培养基上呈现典型的流动、平滑、带白色晕圈的红色菌落,可以此区分青枯病菌和其他细菌^[5]。青枯病菌在TTC培养基上划线培养,可出现两类菌落:A类菌落较小,圆形,流动性不强,中心为深红,乳白色边缘较小或没有,这是弱致病力或无致病力的突变型菌株;B类是不规则圆形,流动性强,中心粉红或淡红,乳白色边缘较宽,这是强致病力的野生型菌株。

为探讨不同烟区青枯病菌的致病力差异,本课题组从广东、福建、贵州三地分别采集烟草青枯病

标本对青枯病菌进行分离、纯化和鉴定,利用SDS-PAGE蛋白电泳进行蛋白组分研究,利用感病对照长脖黄对青枯病菌菌株进行致病力测定,并测定青枯病菌对乳糖、麦芽糖、纤维二糖、甘露醇、山梨醇、甜醇的利用情况。对烟区青枯病菌种类特性的清晰理解有助于对烟草青枯病防治的指导。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2012–2013年先后从广东、福建以及贵州3省的主要产烟地区采集烟草青枯病植株样品。

1.2 病原菌的分离和保存

采用组织浸泡划线分离法^[6],在TTC培养基上分离青枯病菌。经过2–3次的划线分离,得到纯化的菌株,加入甘油使终浓度为25%,置于–80℃长期保存。

1.3 菌株蛋白质电泳

活化菌种,挑单菌落接入1 mL牛肉膏蛋白胨液体培养基中,28℃摇菌24 h。将摇好的菌液离心,弃去上清,加入200 μL 1×Loading buffer旋涡振荡以破碎细胞,95℃加热10 min上样。电泳采用4%浓缩胶和12%的分离胶,每次上样10 μL,每块胶都用青枯病标准菌株(B-2)作为参照。标准菌株是由华南农业大学刘琼光老师提供的中等致病力的烟草青枯病菌,编号B-2。

1.4 16S rRNA 基因序列测定

用原核生物16S rRNA基因引物27F(5'-AGA

GTTTGATCMTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-TACG GYTACCTTGTACGACTT-3')对各菌株的菌液进行 PCR 扩增。用无菌枪头从平板中单菌落直接吸取少量菌液,加入 10 μ L 无菌水中,旋涡混匀后用于 PCR 扩增。扩增反应体积 50 μ L,反应条件 95 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 1 min, 55 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 2 min, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 7 min。取 5 μ L 反应液在 0.8% 的琼脂糖凝胶上进行电泳检测。PCR 产物送华大基因公司测序。

1.5 生物型测定

(1) 培养基的配制。配制基础培养基:蛋白胨 1.0 g, $\text{NH}_4\cdot\text{H}_2\text{PO}_4$ 1.0 g, KCl 0.2 g, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, 1.6%溴百里酚蓝乙醇溶液 3.0 mL, 琼脂粉 15 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0。将 3 种双糖和 3 种己醇配制成 10% 的溶液。其中乳糖、甘露醇、山梨醇和甜醇溶液 6.8×10^4 Pa 灭菌 15 min, 纤维二糖和麦芽糖过滤灭菌。分别加入基础培养基中,使 3 种双糖和 3 种己醇终浓度为 1%, 分装试管, 摆斜面。

(2) 将待测菌株分别接种于 6 种生化型测定培养基上, 28 $^{\circ}$ C 培养, 观察 2-3 周。

1.6 青枯病菌致病力测定

将保存的菌液取 10 μ L 在 TTC 平板上划线, 28 $^{\circ}$ C 活化培养, 待长出单菌落, 挑单菌落在 NA 平板上 28 $^{\circ}$ C 培养 36 h, 将菌苔刮下, 用无菌水配成浓度为 3×10^8 CFU/mL 的菌悬液用于接种。在光照培养箱盆栽烟草品种长脖黄, 待长到 5、6 片叶后用剪刀伤根, 每株灌菌悬液 5 mL。以无菌水为对照。每菌株接种 3 株烟株, 栽培温度 28 $^{\circ}$ C、湿度 90%、光照和黑暗各 12 h, 常规方法管理。接种后每天观察并记录症状。

依据《中华人民共和国烟草行业标准——烟草病害分级及调查方法》烟株发病情况进行分级。菌株致病力划分如下: 0 级时为无致病力; 1、2 级时为弱致病力; 3 级时为中等致病力; 4 级时为强致病力。

2 结果与分析

2.1 青枯病菌的分离纯化结果

从广东、福建、贵州 3 地共收集到 267 株菌株, 青枯病菌有 59 株, 如表 1 所示。

根据青枯病菌在 TTC 培养基上的菌落形态, 将 59 个菌株分为两类(图 1): A 类是菌落较小, 圆形, 流动性不强, 中心为深红, 乳白色边缘较小或没有; B 类是不规则圆形, 流动性强, 中心粉红或淡红, 乳白色边缘较宽。目前只对 36 株菌株测定致病力, 属于 A 类的有 12、29、55、204、206、208、205 和 217 共 8 株, 其它 28 株属于 B 类。

2.2 SDS-PAGE 蛋白电泳指纹图谱鉴定结果

将从病株分离到的所有菌株进行 SDS-PAGE 蛋白电泳, 以标准菌株为对照, 选取蛋白电泳指纹图谱相似性达 80% 以上菌株归为一类, 以贵州所采集的菌株为代表进行说明, 如图 2 所示。图 2 中菌株均为同一类且与对照菌株带型相似, 为疑似青枯病菌。按照 SDS-PAGE 蛋白指纹图谱的带型, 这些菌株分为 2 小类, 图 2 黑框内条带有明显差异, 203 均有条带 A 和条带 B, 204 仅有条带 B。以 203、204 两株菌株为代表, 分为两种带型: 带型 I、带型 II。图中菌株 SDS-PAGE 带型属于带型 I 的菌株有 201、202、203、205、207、209; 属于带型 II 的菌株有 204、206、208。

根据带型对所有青枯病菌进行统计, 来源于广东的样品共分离出 15 株烟草青枯病菌, 带型 I 有 14 株, 占 93.3%, 带型 II 有 1 株, 占 6.7%。来源于福建的样品共分离出青枯病菌 26 株, 带型 I 有 23 株, 占 88.5%, 带型 II 有 3 株, 占 11.5%。来源于贵州的样品共分离出青枯病菌 18 株, 带型 I 有 14 株, 占 77.8%, 带型 II 有 4 株, 占 22.2%。

其中有测定致病力的 36 株菌株中属于带型 I 的有 12、14、15、16、17、29、30、48、49、50、52、54、201、202、203、205、207、209、210、211、212、213、214、215、216、218、F10-1、F10-2、F21-1、B-2; 属于带型 II 的有 55、204、206、208、217。

表 1 供试菌株								
Table 1 Details of <i>R. solanacearum</i>								
菌株 Strains	来源 Source	致病力 Virulence	菌株 Strains	来源 Source	致病力 Virulence	菌株 Strains	来源 Source	致病力 Virulence
12	广东大埔	弱	207	贵州	强	F16-3	福建	—
14	广东大埔	强	208	贵州	无	6F1-1	福建三明	—
15	广东大埔	强	209	贵州	中	6F3-1	福建三明	—
16	广东大埔	强	210	贵州	弱	6F5-1	福建三明	—
17	广东大埔	中	211	贵州	弱	6F5-2	福建三明	—
29	广东大埔	弱	212	贵州	强	6F5-3	福建三明	—
30	广东大埔	强	213	贵州	弱	6F6-1	福建三明	—
48	广东大埔	强	214	贵州	强	6F7-1	福建泰宁	—
49	广东南雄	强	215	贵州	弱	6F8-1	福建泰宁	—
50	广东南雄	强	216	贵州	弱	6F9-1	福建泰宁	—
52	广东南雄	弱	217	贵州	无	6F9-2	福建泰宁	—
53	广东南雄	中	218	贵州	弱	6F10-1	福建泰宁	—
54	广东南雄	强	F10-1	福建	弱	6F10-2	福建泰宁	—
55	广东南雄	无	F10-2	福建	弱	6F11-1	福建泰宁	—
201	贵州	强	F21-1	福建泰宁	弱	6F13-1	福建邵武	—
202	贵州	弱	B-2	广州基地	中	JY1	福建建阳	—
203	贵州	强	F11-1	福建	—	JY2	福建建阳	—
204	贵州	无	F13-3	福建	—	JY5-1	福建建阳	—
205	贵州	弱	F14-1	福建	—	JY5-2	福建建阳	—
206	贵州	无	F14-2	福建	—			

注：—：未测定。
Note: —: Not been determined.

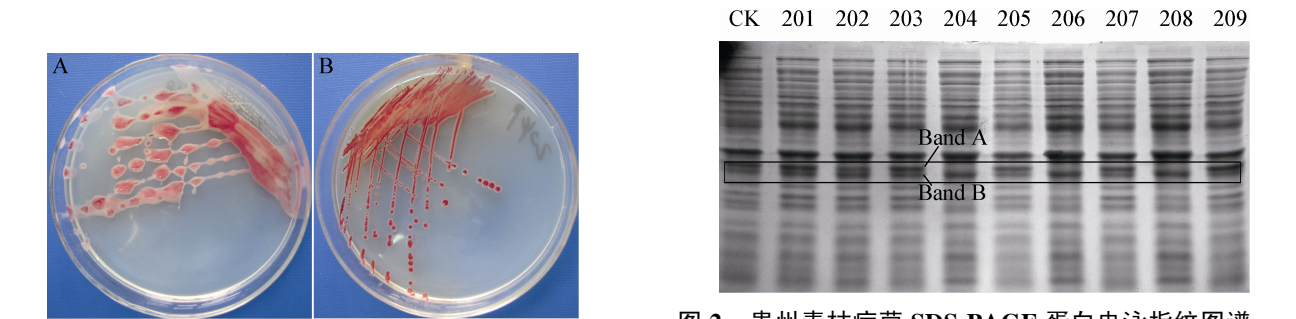


图 1 两种不同青枯病菌菌落形态
Figure 1 Colony morphology of the two types of *R. solanacearum*
注：A：A 类菌株；B：B 类菌株。
Note: A: The strain called type A; B: The strain called type B.

图 2 贵州青枯病菌 SDS-PAGE 蛋白电泳指纹图谱
Figure 2 SDS-PAGE of *R. solanacearum* isolated from Guizhou
注：203 和 204 的带型明显不同，203 有条带 A 和条带 B，而 204 只有条带 B。
Note: 203 and 204 were significantly different. The 203 has A band and B band, and the 204 has only B band.

2.3 16S rRNA 基因序列测定结果

通过比对 SDS-PAGE 蛋白指纹图谱,以青枯菌标准菌株为对照,蛋白指纹图谱与之相似的菌株可能为青枯病菌。为进一步确定其生物学分类地位,扩增 203、204 菌株的 16S rRNA 基因,将序列通过 BLAST 程序(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)与 GenBank 中核酸数据进行比对,与数据库中 *R. solanacearum* 的菌株相似性均达到 99%以上,因此可以确定 203、204 为 *R. solanacearum*。而 203 与 204 致病力不同,显然 16S rDNA 序列和致病力无相关性。

2.4 致病力测定结果

把 59 株青枯病菌中的 36 株菌株回接到烟草品种长脖黄烟苗上,根据烟苗的发病情况评价菌株的致病力,结果见表 1。表现出无致病力的有 55、204、206、208、217;表现出弱致病力的有 12、29、52、202、205、210、211、213、215、216、218、F10-1、F10-2、F21-1;表现出中致病力的有:17、53、209、B-2;表现出强致病力的有 14、15、16、30、48、49、50、54、201、203、207、212、214。

2.5 生化型测定结果

根据 Harward^[7]和何礼远等^[8]制定的标准,测定 59 株青枯病菌株对乳糖、麦芽糖、纤维二糖和甘露醇、山梨醇、甜醇的利用能力,结果见表 2。菌株 16 (分离自广东大埔县)可利用山梨醇和甘露醇,不能利用麦芽糖、乳糖、纤维二糖和甜醇,属于典型的生化型 IV;24 个菌株(20 株来源于福建,3 株来源于广东和 1 株来源于贵州)能利用 3 种双糖和 3 种己醇,为典型生化型 III;另外有 34 个菌株能利用 3 种双糖和甘露醇、山梨醇,不能利用甜醇,不完全符合划分标准,根据王国平等^[9]的研究,划定为生化型 III-1,其中有 11 株来源于广东,17 株来源于贵州,6 株来源于福建。

3 讨论

青枯病菌有致病力和无致病力菌株菌落形态

存在差异。根据 Harward 的研究,菌落较小,圆形,流动性不强,中心为深红,乳白色边缘较小或没有(A 类)的为弱致病力或无致病力青枯病菌;菌落不规则圆形,流动性强,中心粉红或淡红,乳白色边缘较宽(B 类)的为强致病力青枯病菌。本研究 36 株测定致病力的菌株中属于 A 类的菌株有 12、29、55、204、206、215、217,其中 55、204、206、208、217 表现出无致病力,而 12、29、215 表现为弱致病力。这和 Harward 的研究结论一致。而 B 类菌株表现出强中弱不同致病力,如 203 等表现出强致病力,17 等表现出中等致病力,202 等表现出弱致病力。判断红斑的大小比较主观,且没有一个明显的界限,可能是造成出现菌落判断致病力结果与接种烟株不符的原因。刘波等^[10]在判断青枯病菌致病力时引入了弱化指数的概念,即在 TTC 培养基上青枯病菌菌落红斑直径除以青枯病菌的总直径的商。当弱化指数 >0.8 时,表现为无致病力菌株,当弱化指数 <0.6 表现为强致病力菌株,弱化指数介于 0.60–0.80 之间菌株的致病力为不确定性。在本研究中,通过 TTC 培养基上的菌落形态不能特异的识别出无致病力菌株,但仍然可以通过菌落和接种试验相结合判断致病力强弱。

青枯病菌有致病力和无致病力菌株蛋白电泳带型存在差异。其中有测定致病力的 36 株菌株中属于带型 I 的有 12、14、15、16、17、29、30、48、49、50、52、54、201、202、203、205、207、209、210、211、212、213、214、215、216、218、F10-1、F10-2、F21-1、B-2;属于带型 II 的有 55、204、206、208、217。两种带型中,带型 I 的菌株有致病力,但致病力强弱没有规律。而带型 II 菌株则全部表现为无致病力。电泳图中带型 II 比带型 I 明显缺失了一条条带,接种烟株均不发病,可判断该条带对应的蛋白质可能跟菌株的致病力有关。依据该特点就可以区分有致病力菌株和无致病力菌株,蛋白电泳有该条带的为有致病力菌株,没有该条带的为无致病力菌株。对该条带中的蛋白进行后续鉴定、研究具有重要意义。

表 2 供试青枯病菌株的生化型							
Table 2 Biovar identification for <i>R. solanacearum</i>							
生化型 Biovar identification	乳糖 Lactose	麦芽糖 Maltose	纤维二糖 Cellobiose	甘露醇 Mannitol	山梨醇 Sorbitol	甜醇 Dulcitol	菌株 Strains
III	+	+	+	+	+	+	6F1-1、6F3-1、6F5-1、6F5-2、6F5-3、6F6-1、6F7-1、 6F8-1、6F9-1、6F9-2、6F10-1、6F10-2、6F11-1、 6F13-1、JY1、JY2、JY5-1、JY5-2、B-2、F13-3、 F11-1、12、48、203
III-1	+	+	+	+	+	-	14、15、17、29、30、49、50、52、53、54、55、 201、202、204、205、206、207、208、209、210、 211、212、213、214、215、216、217、218、F10-1、 F10-2、F21-1、F14-1、F14-2、F16-3
IV	-	-	-	+	+	-	16

注：+：能利用糖或氧化醇；-：不能利用糖或氧化醇。

Note: +: Can be used; -: Can not be used.

徐进等^[11]从福建分离的 45 个烟草青枯病菌中 43 个菌株属于青枯菌生化型Ⅲ,1 个菌株属于生化型Ⅳ,1 个菌株属于非标准型生化型(能利用山梨醇和甜醇,不能利用 3 种双糖和甘露醇)。郑向华等^[12]从广东韶关和梅州分离的 38 个烟草青枯病菌全部为生化型Ⅲ。相关研究已证实我国的烟草青枯菌可分为生化型Ⅲ和Ⅳ,其中以生化型Ⅲ为主。本研究分离到的 59 株烟草青枯病菌,除了 1 株属于生化型Ⅳ外,其他 59 株属于生化型Ⅲ或其亚型生化型Ⅲ-1,与前人研究结果一致。结合致病力结果表明青枯病菌生化型与致病性并无相关性。根据青枯菌演化型分类框架,生化变种Ⅲ和Ⅳ均属于演化型Ⅰ菌株^[13]。徐进等^[11]认为我国烟草青枯病抗性种质资源多来自美国和津巴布韦,多为针对演化型Ⅱ或Ⅲ菌株选育出来的,是造成引进品种抗性下降或丧失的原因。

TTC 培养基作为一种专用的分离青枯病菌的选择性培养基,已经得到无数专家学者的认可。对分离强致病力菌株准确率很高,但对分离无致病力的菌株(如本文菌株 204)容易误认为是其他杂菌。本试验使用全蛋白电泳的方法,直接对所分离的菌株进行电泳,借助对照菌株,将青枯病菌鉴别出来。致病力测定结果证实 SDS-PAGE 蛋白电泳指纹图谱中特定条带包含的蛋白可能是引起烟苗发病的

物质。因此通过该条带的有无可初步判断青枯病菌的致病力。已有研究将无致病力青枯菌用于防治番茄、烟草青枯病,取得较好效果^[14],因此无致病力青枯病菌的研究具有重要的意义。

4 结论

本研究从粤、闽、贵三地共分离到 59 株烟草青枯病菌,仅通过菌落形态较难识别无致病力菌株,蛋白电泳指纹图谱可分为两类,经 16S rRNA 基因序列鉴定均为青枯病菌,接种烟草确定一类为有致病力菌株,另一类为无致病力菌株。有致病力菌株较无致病力菌株多了一条条带,该条带可能与致病力有密切关系,并依此建立了快速识别无致病力青枯病菌的方法。对发现的与致病力相关的特异蛋白质条带,后续将对其进行深入研究。粤、闽、贵三地烟草青枯病菌有致病力菌株均占主导地位,广东有致病力菌株比例略大,福建次之,贵州最小。59 株青枯病菌菌株除了 1 株属于生化型Ⅳ外,其他 59 株属于生化型Ⅲ或其亚型生化型Ⅲ-1,生化型与致病性并无相关性。

青枯病危害严重,迄今为止采用药物防治的方法效果尚不尽人意,生物防治也处于试验阶段,选育抗青枯病的烟草品种仍然是防治青枯病的有效方法。但同一品种在不同地域抗性会有差异,因此

对不同地区青枯病菌进行系统的研究,对烟草青枯病的抗病育种具有指导作用。

参 考 文 献

- [1] Mole BM, Baltrus DA, Dangel JL, et al. Global virulence regulation networks in phytopathogenic bacteria[J]. Trends in Microbiology, 2007, 15(8): 363-371.
- [2] 何礼远, 康耀卫. 植物青枯病菌的致病机理[A]//何礼远. 植物病虫害生物学研究进展[C]. 北京: 中国农业科技出版社, 1995: 3-13.
- [3] 徐进, 冯洁. 植物青枯菌遗传多样性及致病基因组学研究进展[J]. 中国农业科学, 2013, 46(14): 2902-2909.
- [4] 卢同. 我国作物细菌性青枯菌的研究进展[J]. 福建农业学报, 1997, 13(2): 33-40.
- [5] Kelman A. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a terrazolium medium[J]. Phytopathology, 1954, 44(12): 293-295.
- [6] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 195-197.
- [7] Hayward AC. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1964, 27: 265-277.
- [8] He LY, Sequeira L, Kelman A. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum* from China[J]. Plant Disease, 1983, 67: 1357-1361.
- [9] 王国平, 罗宽, 廖晓兰, 等. 湖南烟草青枯病菌的致病性及生物型研究[J]. 湖南农业大学学报, 1996(4): 59-62.
- [10] 刘波, 蓝江林, 车建美, 等. 青枯雷尔氏菌脂肪酸型与致病性的关系[J]. 中国农业科学, 2009, 42(2): 511-522.
- [11] 徐进, 顾钢, 潘哲超, 等. 福建烟草青枯菌演化型及生化变种鉴定研究[J]. 中国烟草学报, 2010, 16(6): 66-71.
- [12] 郑向华, 邓海滨, 刘琼光, 等. 广东省烟草青枯菌的菌系和遗传多样性[J]. 华中农业大学学报, 2007, 26(4): 463-468.
- [13] Fegan M, Prior P. How complex is the *Ralstonia solanacearum* species complex[A]//Allen C, Prior P, Hayward AC. Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex[M]. St. Paul: APS, 2005: 449-461.
- [14] 朱圣杰, 丁克坚, 檀根甲. 植物细菌性青枯病的生物防治研究进展[J]. 安徽农业科学, 2003, 31(4): 606-607.

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,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他实验类研究报告,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“名课讲堂”版块,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!