

# 拮抗大豆根腐病细菌的 Biolog 鉴定

许艳丽<sup>1</sup>, 刘海龙<sup>2</sup>, 李春杰<sup>1</sup>, 潘凤娟<sup>1</sup>, 李淑娴<sup>3</sup>, 刘新晶<sup>4</sup>

(1. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所 黑土区农业生态院重点实验室 黑龙江 哈尔滨 150081;

2. 黑龙江倍丰农业生产资料集团有限公司 黑龙江 哈尔滨 150020; 3. United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service( USDA/ARS) ,Crop Genetics Research Unit( CGRU) ,Stoneville ,MS 38776 ,USA; 4. 黑龙江生态工程职业学院 黑龙江 哈尔滨 150025)

**摘要:**为明确 2 株生防细菌的分类地位,采用传统形态学方法结合 Biolog 微生物自动分析系统,鉴定了大豆根腐病的 2 株生防细菌。结果表明,菌株 B021a 与塔式弧菌相似度值为 0.634,可能性是 86%,遗传距离为 4.00。菌株 B04b 与海藻巴斯德菌相似度值为 0.610,可能性是 75%,遗传距离为 2.77。综合形态学和 Biolog 鉴定结果,认为菌株 B021a 是塔式弧菌,菌株 B04b 是海藻巴斯德菌。

**关键词:**大豆;根腐病;拮抗细菌;Biolog 自动分析系统;鉴定

中图分类号:S432 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2012)02-0234-05

## Identification of Biocontrol Bacteria against Soybean Root Rot with Biolog Automatic Microbiology Analysis System

XU Yan-li<sup>1</sup>, LIU Hai-long<sup>2</sup>, LI Chun-jie<sup>1</sup>, PAN Feng-juan<sup>1</sup>, LI Shu-xian<sup>3</sup>, LIU Xin-jing<sup>4</sup>

(1. Key Laboratory of Mollisols Agroecology, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China; 2. Heilongjiang Beifeng Agricultural Production Means Group, Harbin 150020, China; 3. United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service( USDA/ARS) , Crop Genetics Research Unit( CGRU) , Stoneville, MS 38776, USA; 4. Heilongjiang Vocational Institute of Ecological Engineering, Harbin 150025, China)

**Abstract:** In order to identify the systematic position of taxonomy of two biocontrol bacteria against soybean root rot. Traditional morphological identification and BIOLOG automatic microbiology analysis system were used to identify strain B021a and B04b. The results showed that similarity value of strain B021a with *Vibrio tubiashii* was 0.634, possibility to 86% and genetic distance to 4.00, and similarity value of strain B04b with *Pasteurella trehalosi* was 0.610, probability to 75% and genetic distance to 2.77. Strain B021a was identified as *Vibrio tubiashii* and strain B04b as *Pasteurella trehalosi* by colony morphological properties and BIOLOG analysis system.

**Key words:** Soybean; Root rot disease; Antagonistic bacteria; Biolog automatic microbiology analysis system; Identification

细菌作为重要的植物病害生防因子,近年倍受关注<sup>[1-3]</sup>。因为生防细菌种类多和数量大,在植物根际和地上部均有存在,对病原菌的作用方式多,繁殖速度快,易于在植物上定殖,生防效果持久,大多可以人工培养,且有些细菌不仅能防治病害还有促生作用<sup>[4]</sup>,所以利用细菌进行作物土传根腐病防治研究发展很快<sup>[3,5-6]</sup>。目前,开发利用的生防细菌主

要有假单胞杆菌属(*Pseudomonas* spp.)、芽孢杆菌属(*Bacillus* spp.)、链霉菌属(*Streptomyces* spp.)和产碱菌属(*Alcaligenes* spp.)等<sup>[7-10]</sup>。细菌的鉴定对于开发和利用非常重要,传统的细菌鉴定主要是依据形态特征和生理特性。形态学鉴定方法由于操作较繁杂,对于疑难菌和少见菌等鉴定较为困难,常规的生理特性分析耗材、耗时、耗力。随着分子生物学

收稿日期:2011-11-20

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD21B01-45);黑龙江省“十一五”科技攻关项目(GA06B101-4-5)

作者简介:许艳丽(1958-),女,辽宁本溪人,研究员,博士,博士生导师,主要从事作物病虫害生物生态控制研究。

技术、仪器分析技术的发展和计算机广泛应用,人们开发了多种 DNA 分析技术和基于仪器自动化分析的微生物鉴定系统,如 VITEK 系统、MIDI 系统、Biolog 系统、SENSITITRE 系统等<sup>[11-12]</sup>,其中,碳源利用分析的 Biolog 系统和 DNA 序列分析的 16 s rRNA 基因技术已成为国际上细菌分类鉴定常用技术手段<sup>[13-14]</sup>。与传统方法相比,Biolog 系统操作标准化、快捷、菌库数据多,鉴定范围广,自动化程度和准确率也很高,适合于多种细菌的鉴定工作<sup>[15]</sup>。

试验采用传统形态学鉴定方法结合 Biolog 系统鉴定技术,对 2 株从大豆根际分离的可有效控制大豆根腐病的生防细菌进行了鉴定。该细菌对尖孢镰孢菌(*Fusarium oxysporum*)、茄腐镰孢菌(*Fusarium solani*)、半裸镰孢菌(*Fusarium semitectum*)、燕麦镰孢菌(*Fusarium avenaeum*)、黄瓜猝倒病菌(*Phthium aphanidermatum*)、大豆紫斑病菌(*Cercospora kikuchii*)、大豆灰斑病菌(*Cercospora sojae*)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、番茄叶霉病(*Fulvia fulva*)、番茄早疫病菌(*Alternaria solani*)、玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum*)、玉米小斑病菌(*Bipolaris maydis*)、烟草赤星病菌(*Alternaria alternata*)、大豆菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)和立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*) 15 种病原真菌具有很好的抑菌作用,抑菌率为 15.6%~67.5%。对大豆根腐病病原菌尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和茄腐镰刀菌(*Fusarium solani*)盆栽试验显示了较好的防效<sup>[5]</sup>。研究明确了该菌适宜生长温度、pH 值、氧气、渗透压和生长速度等生物学特性<sup>[6]</sup>,通过鉴定将进一步推进这些非常有应用前景的生防细菌的制剂研发和应用的程度。

1 材料和方法

1.1 试验材料 IHR

供试生防细菌:从 8 株具有较好生防效果的细菌 B01c、B021a、B04b、B06、B072b、B09、B131 和 B1 中选出 B021a 和 B04b 进行鉴定<sup>[5]</sup>,由中国科学院东北地理与农业生态研究所黑土区农业生态院重点实验室农田有害生物控制学科组分离保存。

试验仪器:细胞破碎仪、Biolog 微生物自动分析仪(BIO-TEK Instruments INC,USA),包括:读数仪、数据库软件、浊度仪、菌落放大灯、八头电动加液器以及计算机等配件)。细菌专用培养箱、真菌专用培养箱、电热鼓风干燥箱、紫外分光光度计、酸度计、恒温空气震荡摇床、水浴锅、微波炉、显微镜、无菌操作台和离心机等。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株鉴定 目标菌选取 B021a 和 B04b 进行形态学和结合 Biolog 微生物自动分析仪鉴定。

1.2.2 形态学和培养性状鉴定 肉眼观察培养基菌落大小、形状、高度、边缘、颜色、表面状态、密度、硬度、气味<sup>[16]</sup>。

1.2.3 革兰氏染色 菌种:NA 培养基培养 24 h 的生防菌株 B021a 和 B04b。

主要步骤:参照文献[17-18]:制片(涂片、干燥、固定)→初染(草酸铵结晶紫染 1 min,水洗)→媒染(加碘液覆盖涂面染 1 min,水洗,用吸水纸吸去水分)→脱色(加 95% 酒精数滴,并轻轻摇动进行脱色 20 s 后水洗,用吸水纸吸去水分)→复染(蕃红复染约 1 min,水洗)→干燥→镜检。

1.2.4 Biolog 微生物自动鉴定仪鉴定 根据革兰氏染色结果,对待测生防菌株 B021a 和 B04b 选择 Biolog 培养板,试验中采用的是 GN 培养板。二菌株先在 BUG+M+T 的平板培养基上划线培养 24 h。用无菌棉签轻擦下菌苔于接种液中,制成菌悬液,用浊度计调整至浊度为 28%,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 μL,共 96 孔。盖上鉴定板盖,置于 30℃ 的培养箱中培养,分别在培养的 6、18 h 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<sup>[11,19]</sup>。

2 结果与分析

2.1 形态学鉴定

培养 48 h 时观测菌株 B021a 和 B04b 形态学鉴定结果(表 1)。

表 1 形态学观测结果

Tab.1 The results of B021a and B04b observed by morphologic

特征 Characteristics	B021a	B04b
直径大小/mm Diameter	6	8
形状 Shape	圆形	圆形
高度 Elevation	扁平	扁平
边缘 Margin	整齐	啮蚀状
颜色 Color	白色	白色
表面状态 Surface appearance	光滑	光滑
密度 Density	不透明	不透明
硬度 Consistency	黏的	柔软的
气味 Odor	无	无

2.2 革兰氏染色

生防细菌 B021a 和 B04b 革兰氏染色结果通过油镜观察二菌株又被染上了复染液(蕃红)的颜色,即呈现红色,均为革兰氏阴性细菌,因此,进一步鉴

定的 Biolog 微生物自动分析仪鉴定时,选择阴性培养板,即 GN 培养板。

表 2 菌株 B021a 和 B04b 对 Biolog GN2 95 种碳源的利用结果

Tab. 2 Substrates in Biolog GN2 plates for utilization of 95s by B021a and B04b

测试项目 Test items	供试菌株 Strains	
	B021a	B04b
A <sub>2</sub> α-环化糊精 α-Cyclodextrin	-	-
A <sub>3</sub> 糊精 Dextrin	-	+
A <sub>4</sub> 糖原 Glycogen	-	b
A <sub>5</sub> 吐温 40 Tween 40	b	-
A <sub>6</sub> 吐温 80 Tween 80	+	-
A <sub>7</sub> N 乙酰-D-半乳糖胺 N-Acetyl-Dgalactosamin	-	-
A <sub>8</sub> N 乙酰-D-氨基葡萄糖 N-Acetyl-Dglucosamine	b	b
A <sub>9</sub> 侧金盏糖醇 Adonitol	-	-
A <sub>10</sub> L-阿拉伯糖 L-Arabinose	-	+
A <sub>11</sub> D-阿拉伯糖醇 D-Arabitol	-	-
A <sub>12</sub> D-纤维二糖 D-Cellobiose	-	+
B <sub>1</sub> i-赤藓糖醇 i-Etythritol	-	-
B <sub>2</sub> D-果糖 D-Fructose	-	+
B <sub>3</sub> L-岩藻糖 L-Fucose	-	-
B <sub>4</sub> D-半乳糖 D-Galactose	-	-
B <sub>5</sub> 龙胆二糖 Gentiobiose	-	b
B <sub>6</sub> α-D-葡萄糖 α-D-Gluwse +	+	-
B <sub>7</sub> m-肌醇 m-Inositol	-	-
B <sub>8</sub> α-D-乳糖 α-D-Lactose	-	-
B <sub>9</sub> 乳果糖 Lactulose	-	-
B <sub>10</sub> 麦芽糖 Maltose	-	+
B <sub>11</sub> D-甘露醇 D-Mannitol	-	b
B <sub>12</sub> n-甘硯精 n-Mannnce	-	+
C <sub>1</sub> D-蜜二糖 D-Melibiose	-	b
C <sub>2</sub> β-甲基-D-糖普 β-Methyl-D-Glucoside	-	b
C <sub>3</sub> D-阿洛酮糖 D-Psicose	-	+
C <sub>4</sub> D-蜜三糖 D-taffinose	-	b
C <sub>5</sub> L-鼠李糖 Lrlthamnose	-	-
C <sub>6</sub> D-山梨糖醇 D-Sorbitol	-	+
C <sub>7</sub> 蔗糖 Sucrose	-	+
C <sub>8</sub> D-海藻糖 D-Trehalose	-	+
C <sub>9</sub> 松二糖 Turanose	-	b
C <sub>10</sub> 木糖醇 Xylitol	-	-
C <sub>11</sub> 甲基丙酮酸盐 Methyl Pyruvate	-	+
C <sub>12</sub> N-甲基琥珀酸 Mono-Methyl-Succinate	-	-
D <sub>1</sub> 乙酸 Acetic Acid	-	-
D <sub>2</sub> 珠顺乌头酸 Cis-Aconitic Acid	-	-
D <sub>3</sub> 柠檬酸 Citric Acid	-	b
D <sub>4</sub> 甲酸 Formic Acid	-	-
D <sub>5</sub> D-半乳糖酸内脂 D-Galactonic Acid Lactone	-	-
D <sub>6</sub> D-半乳糖醛酸 D-Galacturonic Acid	-	-
D <sub>7</sub> D-葡糖酸 D-Gluconic Acid	-	b
D <sub>8</sub> D-葡糖胺酸 D-Glucosanunic Acid	-	-
D <sub>9</sub> D-葡糖醛酸 D-Glucuronic Acid	-	-
D <sub>10</sub> α-羟丁酸 α-Hydroxy Butyric Acid	-	-
D <sub>11</sub> β-羟丁酸 β-Hydroxy Butyric Acid	-	-
D <sub>12</sub> γ-羟丁酸 γ-Hydroxy Butyric Acid	-	-

续表 2:

测试项目 Test items	供试菌株 Strains	
	B021a	B04b
E <sub>1</sub> β-羟基苯乙酸 β-Hydroxy Phenylacetic Acid	-	-
E <sub>2</sub> 衣康酸 Itaconic Acid	-	-
E <sub>3</sub> α-丁酮酸 a-Keto Butyric Acid	-	b
E <sub>4</sub> α-酮戊二酸 a-Keto Glutaric Acid	-	-
E <sub>5</sub> α-酮戊酸 a-Keto Valeric Acid	-	-
E <sub>6</sub> D,L-乳酸 D,L-Lactic Acid	-	b
E <sub>7</sub> 丙二酸 Malonic Acid	-	-
E <sub>8</sub> 丙酸 Propioaic Acid	-	-
E <sub>9</sub> 奎尼酸 Quinic Acid	-	-
E <sub>10</sub> D-糖二酸 D-Saccharic Acid	-	-
E <sub>11</sub> 癸二酸 Sebacic Acid	-	-
E <sub>12</sub> 琥珀酸 Succinic Acid	-	-
F <sub>1</sub> 溴代琥珀酸 Bromo Succinic Acid	-	b
F <sub>2</sub> 丁酰胺酸 Succinamic Acid	-	-
F <sub>3</sub> 葡萄糖醛酰胺 Glucuronamide	-	-
F <sub>4</sub> L-丙胺酸胺 L-Alaninamide	-	-
F <sub>5</sub> D-丙胺酸 D-Alanine	-	-
F <sub>6</sub> L-丙胺酸 L-Alanine	-	-
F <sub>7</sub> L-丙胺酰甘氨酸 L-Alanyl-glycine	+	-
F <sub>8</sub> L-天冬酰胺 L-Asparagine	-	-
F <sub>9</sub> L-天冬氨酸 L-Aspartic Acid	-	-
F <sub>10</sub> L-谷氨酸 L-Glutamic Acid	-	-
F <sub>11</sub> 甘氨酸-L-天冬氨酸 Glycyl-IrAspartic	+	-
F <sub>12</sub> 甘氨酸-L-谷氨酸 Glycyl-L-Glutamic Ac	-	-
G <sub>1</sub> L-组氨酸 L-Histidine	-	-
G <sub>2</sub> 羟基-L-脯氨酸 Hydroxy-L-Proline	-	-
G <sub>3</sub> L-亮氨酸 L-Leucine	-	-
G <sub>4</sub> L-鸟氨酸 L-Ornithine	-	-
G <sub>5</sub> L-苯丙氨酸 L-Phenylalanine	-	-
G <sub>6</sub> L-脯氨酸 L-Proline	-	-
G <sub>7</sub> L-焦谷氨酸 L-Pyroglutamic	-	-
G <sub>8</sub> D-丝氨酸 D-Serine	-	-
G <sub>9</sub> L-丝氨酸 L-Serine	-	-
G <sub>10</sub> L-苏氨酸 L-Threonine	-	-
G <sub>11</sub> D,L-肉毒碱 D,L-Camitine	-	-
G <sub>12</sub> γ-氨基丁酸 γ-Amino Butyric	-	-
H <sub>1</sub> 尿刊酸 Urocanic Acid	-	-
H <sub>2</sub> 次黄苷 Inosine	-	+
H <sub>3</sub> 尿苷 Uridine	-	+
H <sub>4</sub> 胸苷 Thyznidine	-	b
H <sub>5</sub> 凡苯乙胺 Phenylethylamine	-	-
H <sub>6</sub> 丁二胺 Putreacine	-	-
H <sub>7</sub> 2-氨基乙醇 2-Aminoethanol	-	-
H <sub>8</sub> 2,3-丁二醇 2,3-Butanediol	+	-
H <sub>9</sub> 甘油 Glycerol	-	-
H <sub>10</sub> D,L-a-磷酸甘油 D,L-a-Glycerol Phosphate	-	-
H <sub>11</sub> 葡萄糖-1-磷酸 Glucose-1-Phosphate	-	-
H <sub>12</sub> 葡萄糖-6-磷酸 Glucose-6-Phosphate	-	-

注 “+”. 阳性 “-”. 阴性 “b”. 居于阳性阴性之间。  
Noté “+”. Positivé “-”. Negativé “b”. Intermediate.

2.3 Biolog 鉴定

Biolog 细菌鉴定系统通过在一块含有多种脱水碳源的 96 孔微平板上进行氧化实验和同化实验,其

中 A - C 行基于显色反应原理, D - H 行基于浊度差异原理。生防细菌 B021a 和 B04b 利用碳源结果显示(表 2), 菌株 B021a 利用碳源数量较少, 24 h 只能对 L-丙胺酞甘氨酸和甘氨酸-L-天冬氨酸等 7 种碳源进行利用; B04b24h 可利用 N 乙酰-D-氨基葡萄糖等 28 种碳源。

Biolog 系统鉴定结果主要有 3 个参数, 即可能性(Probability, PROB)、相似性(Similarity, SIM)和距离(Distance, DIST), 其中, SIM 值和 DIST 值是两个重要参数, DIST 值表示测试结果与数据库相应数据条的位置, SIM 值表示测试结果与数据库相应数据条的相似程度。Biolog 系统规定: 细菌培养 4 ~ 6 h, 其  $SIM \geq 0.75$ ,  $DIST \leq 5.00$ , 培养 16 ~ 24 h,  $SIM \geq 0.5$ ,  $DIST \leq 5.00$  时, 系统自动给出鉴定结果为种名, SIM 值越接近 1.00, 表明鉴定结果的可靠性越高。

菌株 B021a 鉴定结果与塔式弧菌(*Vibrio tubiashii*) 相似度值为 0.634, 大于临界值 0.5, 遗传距离

为  $4.00 \leq 5.00$ , 可认为是塔式弧菌。塔式弧菌属于弧菌科弧菌属, 特征为菌体短小、弯曲成弧形, 革兰阴性菌, 多生于水中。该菌多数来自于海洋, 在植物根围也可分离到该菌<sup>[20]</sup>。当前对该菌的研究多集中在海洋动物方面<sup>[21-23]</sup>, 它可高效产生琼胶酶<sup>[24]</sup>, 琼胶酶是一种海藻工具酶。其琼胶水解产物琼胶寡糖具有多种生理活性, 在医药上具有重要的应用潜力, 关于该菌作为生防细菌应用尚未见报道。

菌株 B04b 鉴定结果与海藻巴斯德菌(*Pasteurella trehalosi*) 相似度值为 0.610, 大于临界值 0.5, 遗传距离为  $2.77 \leq 5.00$ , 可认为是海藻巴斯德菌。海藻巴斯德菌属于巴斯德氏菌属(*Pasteurella trevisan*, 1887), 细胞呈圆形、卵圆形或杆状, 直径为  $0.3 \sim 1.0 \mu\text{m}$ , 长度  $1.0 \sim 2.0 \mu\text{m}$ , 常为单个, 有时成对或短链, 革兰氏阴性, 不运动, 兼性厌氧。该菌属多数报道为动物病原菌<sup>[25-26]</sup>, 该菌作为生防细菌也未见报道(表 3)。

表 3 Biolog 鉴定结果

Tab. 3 The results of B021a and B04b identified by Biolog

菌株 Strains	匹配菌株 Suited strains	可能性/% Probability	相似度 Similitude degree	遗传距离 Distance of descendibility
B021a	<i>Vibrio tubiashii</i>	86	0.634	4.00
	<i>Burkholderia glumae</i>	7	0.050	4.84
	<i>Empedobacter brevis</i>	4	0.029	5.02
B04b	<i>Pasteurella trehalosi</i>	75	0.610	2.77
	<i>Pasteurella multocida ss multocida</i>	10	0.078	3.46
	<i>Mannheimia haemolytica</i>	5	0.034	3.73

### 3 结论与讨论

综合生防细菌 B021a 和 B04b 的形态学鉴定与 Biolog 鉴定结果可知, 2 个菌株的形态学鉴定结果与 Biolog 鉴定结果均相吻合。菌株 B021a 为塔式弧菌(*Vibrio tubiashii*), 菌株 B04b 为海藻巴斯德菌(*Pasteurella trehalosi*)。

目前随着细菌鉴定系统、仪器设备的不断更新, 分子技术的飞速发展, 细菌的鉴定更加方便快捷。然而, 细菌的传统鉴定不容忽视, 细菌鉴定离不开形态学检查, 形态学检查对鉴定细菌有“导航”作用。由于细菌种类颇多, 其生物学性状复杂, 要鉴定一种细菌, 确定其科、属、种、型, 往往不能仅凭一种鉴定方法就得出最终结论, 而要系统综合几种方法的结果, 才能得出最后的结论。目前, 各学科相互渗透、融合, 多学科的交叉日益增多, 极大推动了科学技术的发展。细菌鉴定方法和技术的发展, 涉及微生物学、生物化学、免疫学、分子生物学、计算机科学等多门学科, 是多学科、多层次、多方位系统研究综合的成果。

本研究鉴定的生防细菌 B021a 鉴定结果为塔式弧菌, 该菌属多数在海洋中存在, 该研究为探讨该菌作为新的农用抗生素资源的可能性提供了一定的理论基础, 其有效抑菌物质和抑菌途径有待于进一步研究和开发。B04b 鉴定结果为海藻巴斯德菌, 该菌多数报道为动物病原菌, 其分泌物及其作用有待深入研究。

致谢: 感谢中国科学院黑土区农业生态院重点实验室王光华研究员学科组提供仪器并协助 Biolog 微生物鉴定系统测定。

### 参考文献:

- [1] Baker R. Diversity in biological control [J]. Crop Protection, 1991, 10: 85 - 94.
- [2] 郭荣君, 刘杏忠, 杨怀文. 大豆根际细菌拮抗大豆根腐病研究 [J]. 大豆科学, 1998, 17(1): 53 - 58.
- [3] 郭荣君, 刘杏忠, 杨怀文, 等. 芽孢杆菌 BHI 防治大豆根腐病的效果及机制 [J]. 中国生物防治, 2003, 19(4): 180 - 184.
- [4] 程亮, 游春平, 肖爱萍. 拮抗细菌的研究进展 [J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(5): 732 - 737.
- [5] 刘海龙, 李春杰, 许艳丽. 生防细菌的抑菌谱和对大豆

- 根腐病的防治[J]. 大豆通报 2008 92(1): 10-13.
- [6] 李春杰, 刘海龙, 许艳丽. 大豆根腐病拮抗细菌的生物学特性研究[J]. 大豆科学 2011 30(5): 809-812.
- [7] Walther D. Biological control of damping off of sugar beet and cotton with chaetomium globosum or a fluorescent pseudomonas Sp1 [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1988 34: 631-637.
- [8] 余建, 张志元, 高必达. 细菌在植物病害生物防治中的应用[J]. 江西农业学报 2007 19(8): 53-55.
- [9] 杨秀荣, 刘水芳, 孙淑琴, 等. 生防细菌防治土传病害的研究进展[J]. 天津农业科技 2008 14(4): 38-42.
- [10] 段永照, 刘歆, 潘竟军. 拮抗生防细菌对土传性病害的抑菌机理及应用现状[J]. 新疆农业科技 2010 (3): 60.
- [11] 程池, 杨梅, 李金霞, 等. Biolog 微生物自动分析系统-细菌鉴定操作规程的研究[J]. 食品与发酵工业 2006 32(5): 50-54.
- [12] 潘见, 黄训端, 谢慧明, 等. 草莓采后卫生微生物学检查及细菌 VITEK 鉴定实验[J]. 食品科学 2007 28(3): 320-323.
- [13] Stager C E, Davis J R. Automated systems for identification of microorganisms [J]. Clinical Microbiology Reviews 1992 5: 302-307.
- [14] 焦玲, 程英, 田刚. 全自动微生物分析系统简介及应用[J]. 检验医学与临床 2010 7(18): 2043-2044.
- [15] 刘鹏, 魏亚东, 崔铁军. Biolog 系统和 16SrDNA 序列分析方法在植物病原细菌鉴定中的应用[J]. 植物检疫 2006 20(2): 86-87.
- [16] Isenberg H D. Interpretation of aerobic bacterial growth on primary culture media [M]//Isenberg H D. Clinical microbiology procedures handbook (Vol1). Washington DC: ASM, 1992: 1-9.
- [17] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社 2001.
- [18] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 第3版. 北京: 高等教育出版社 2004.
- [19] 王光华, 金剑, 徐美娜, 等. 生防细菌 BRF-1 和 BRF-2 鉴定及生物学特征[J]. 中国生物防治 2007 23(1): 49-54.
- [20] Hosoda A, Sakai M. Isolation and characterization of agar-degrading *Paenibacillus* spp. associated with the rhizosphere of spinach. biosci. biotechnol [J]. Biochem 2003 67(5): 1048-1055.
- [21] Castro D, Pujalte M J, Lopez-Cortes L et al. Vibrios Isolated from the cultured manila clam (*Ruditapes philippinarum*): numerical taxonomy and antibacterial activities [J]. Journal of Applied Microbiology 2002 93(3): 437-443.
- [22] Delston R B, Kothary M H, Shangraw K A et al. Isolation and characterization of a zinc-containing metalloprotease expressed by *Vibrio tubiashii* [J]. Canadian Journal of Microbiology 2003 49(8): 525-529.
- [23] Kunihiro Y, Keisuke G T, Tohru S. Identification and tissue expression analysis of C-type lectin and galectin in the Pacific Oyster, *Crassostrea Gigas* [J]. Biochemistry and Molecular Biology 2008 149(1): 168-175.
- [24] 杜宗军, 王鹏, 李筠, 等. 两株琼脂酶高产细菌的筛选和鉴定[J]. 海洋科学 2002 26(3): 1-4.
- [25] Heather J M, Patricia E S, Reggie Y C L. Novel protease produced by a *Pasteurella trehalosi* serotype 10 isolate from a pneumonic bighorn sheep: characteristics and potential relevance to protection [J]. Veterinary Microbiology 2003 93: 145-152.
- [26] Villard L, Gauthier D, Lacheretz A et al. Serological and molecular comparison of *Mannheimia* *molytica* and *Pasteurella trehalosi* strains isolated from wild and domestic ruminants in the French Alps [J]. Veterinary Microbiology 2006 171: 545-550.