

应用高效离子交换色谱分析青枯菌的致病力分化*

林娟 刘树滔 高珍娜 饶平凡**

(福州大学生物科学与工程学院 福州 350002)

摘要 应用高效离子交换色谱和激光光散射仪检测器对不同致病力的青枯菌进行分析,建立了一种快速检测青枯菌致病力分化的新方法.青枯菌纯培养物经过高效离子交换色谱分离得到3个致病力不同的特征峰,大小依次为峰3组分>峰2组分>峰1组分.对10株青枯菌进行色谱分析,并结合番茄组培苗感染试验检测其致病力,结果发现,强致病力菌株经过色谱分离只在峰3的保留时间位置出现单一特征峰,在9 d内即可引起100%的番茄组培苗发病;若菌株经过色谱分离形成3个特征峰,则峰3所占的面积比越大,该菌株的致病性相对就越强.25株不同致病力青枯菌的验证试验表明了该方法的可行性,番茄组培苗发病率 x 与峰3面积比 y 之间呈现出良好的线性关系,回归方程 $y = 0.9581x + 5.4984$,相关系数 $r = 0.986$.通过对青枯菌色谱行为、致病力、细胞表面黏附的EPSI含量三者之间相互关系的进一步研究,发现青枯菌的致病力越强,则细胞表面黏附的EPSI越多,峰3所占的面积比就越大.图3 表6 参15

关键词 青枯菌;致病力;高效离子交换色谱;激光光散射仪

CLC Q93-31 : S476

Analysis of Different Virulent *Ralstonia solanacearum* Strains Using High Performance Ion Exchange Chromatography*

LIN Juan, LIU Shutao, GAO Zhenna & RAO Pingfan**

(College of Biological Science and Technology, Fuzhou University, Fuzhou 350002, China)

Abstract High performance ion exchange chromatography (HPLC) coupled with laser light scattering instrument was employed for analyzing different virulent *Ralstonia solanacearum* strains, and a new method for rapidly detecting the pathogenicity of *R. solanacearum* was established. The pure culture of *R. solanacearum* was successfully separated into three characteristic fractions of different virulences by HPLC. The virulence of peak 3 fraction was the strongest and that of peak 1 fraction the weakest. Ten strains were analyzed by HPLC and applied to infect tomato tissue culture plantlets using leaf-cutting method to further determine their virulence. The results showed that strong virulent strains formed only one characteristic peak at the retention time of peak 3, which could make 100% of tissue culture plantlets die within nine days. If the strains were separated into three characteristic peaks, the area ratio of peak 3 was increasing with the virulence of *R. solanacearum*. Furthermore, twenty-five *R. solanacearum* strains with different virulent activities were analyzed by HPLC to validate the feasibility of this method. The correlation between infection mortality of tomato tissue culture plantlets (x) and peak 3 area ratio (y) was linear, with the regression equation of $y = 0.9581x + 5.4984$, and correlation coefficient $r = 0.986$. The relationships among chromatographic behaviors, virulence and EPSI contents of cell surface were further investigated and a positive correlation was observed among them. Fig 3, Tab 6, Ref 15

Keywords *Ralstonia solanacearum*; virulence; high performance ion exchange chromatography; laser light scattering detector

CLC Q93-31 : S476

利用离子交换色谱分析细菌完整细胞的研究始于20世纪70年代,其方法是将微生物悬浮液与树脂混合一段时间后,利用不同浓度的洗脱液将不同的细菌组分间歇地洗脱并分离. Marquis等利用阳离子交换层析柱Bio-Rex70分步洗脱,成功地实现了金黄色葡萄球菌和大肠杆菌混合菌的分离^[1].

收稿日期: 2008-11-11 接受日期: 2009-02-18

*国家自然科学基金项目(No. 20475010),福建省自然科学基金项目(No. 2008J0066),福建省高等学校新世纪优秀人才支持计划项目(No. XSJRC2007-09)和福州大学人才基金项目资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 20475010), the Natural Science Foundation of Fujian, China (No. 2008J0066), the Program for Distinguished Young Scholars of Universities of Fujian, China (No. XSJRC2007-09), and the Fund for Distinguished Young Scholars of Fuzhou University

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: pingfan.rao@gmail.com; pfrao@fzu.edu.cn)

但当时对细菌的分离一般采用常压色谱柱,分离时间长,容易染菌;同时由于分离材料上的局限,80~90年代用离子交换树脂分离细菌的研究趋于停止.近年来,随着色谱技术和各种新型分离材料的研究和开发,又为应用色谱技术分离细菌提供了可能.

目前本课题组以传统的高效液相色谱系统为分离体系,以激光光散射仪为检测器,以强阴离子交换树脂Toyopearl TSKgel SuperQ-650C(粒径大小为90~150 μm)为分离介质,以具有完整构造和正常生理功能的细菌活细胞为研究对象,在国内首次建立起一套细菌高效离子交换色谱连接激光光散射仪检测器的分析体系,并应用于细菌活细胞的分离分析^[2].

青枯菌,全称青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*),

是全球主要的植物致病菌之一,可侵染44个科的300多种植物,其中包括许多具有重要经济价值的栽培植物,它所引起的细菌性青枯病是一种毁灭性的土传维管束病害,是世界上分布最广、危害最重且最难防治的重大细菌性病害之一^[3-5]。青枯菌在自然状态下,菌株混杂,致病力分化严重,对不同致病力青枯菌的分析,对于研究青枯菌的发生危害、种群动态、微生态关系具有重要意义。本研究根据不同致病力青枯菌细胞表面化学组成与结构不同,带电性质不同,与离子交换树脂的吸附能力不同,利用高效离子交换色谱和激光光散射仪检测器对不同致病力青枯菌进行分析,建立了一种快速检测青枯菌致病强度的新方法。该方法的建立,将为检测生防菌对青枯菌的致弱效果、筛选高效稳定的生防菌提供一种快速分析方法。

1 材料与方法

1.1 菌种

青枯菌强致病力模式菌株GMI1000由法国INSTITUT NATIONAL de la RECHERCHE AGRONOMIQUE提供;青枯菌实验菌株(分离自番茄植物)由福建省农业科学院农业生物资源研究所提供。

1.2 培养基

青枯菌活化培养基(NA固体培养基)($\rho/g L^{-1}$)^[6]:蛋白胨5.0,葡萄糖10,牛肉膏3.0,酵母浸膏1.0,琼脂15, pH 7.2~7.4。

青枯菌发酵培养基(SPA液体培养基)($\rho/g L^{-1}$)^[6]:蔗糖20,蛋白胨5.0, K_2HPO_4 0.5, $MgSO_4$ 0.25, pH 7.2~7.4。

1.3 缓冲液

平衡缓冲液(A液):0.02 mol/L 哌嗪-HCl (pH 8.0);洗脱缓冲液(B液):0.02 mol/L 哌嗪-HCl (pH 8.0)+1 mol/L NaCl。

1.4 ELISA检测试剂

0.2 mol/L PBS缓冲液:KCl 0.02%, KH_2PO_4 0.02%, Na_2HPO_4 0.358%, NaCl 0.8%, pH 7.2;完全弗氏佐剂:羊毛脂和石蜡油($\phi = 2/3$),卡介苗(加入量约为羊毛脂量的1/1000);不完全弗氏佐剂:羊毛脂和石蜡油($\phi = 2/3$);凹孔板洗涤液:PBS-T [T: $\phi = 0.05\%$ Tween-20]。

1.5 主要仪器设备

高效液相色谱仪(Beckman Golden System, 美国Beckman公司);激光光散射仪(Dawn Enhanced Optical System, 美国Wyatt Technology公司);高速冷冻离心机(Agella型, 美国Beckman公司);紫外-可见分光光度计(UV1700型, 日本岛津);荧光酶标仪(Varioskan, 美国Thermo Labsystems公司);超纯水机(MILLI-Q型, 美国Millipore公司);超净工作台(1285型, 美国Thermo Forma公司);恒温培养箱(PYX-PHS-X型, 上海跃进医疗器械厂);

恒温气浴摇床(CHA-S型, 江苏常州国华电器有限公司)。

1.6 实验方法

1.6.1 青枯菌的培养方法 见文献[6]。

1.6.2 青枯菌样品的制备方法 见文献[7]。

1.6.3 青枯菌高效离子交换色谱分析方法 见文献[7]。

1.6.4 检测系统 为消除蛋白质、核酸等生物大分子物质对细菌检测的干扰,本研究采用激光光散射仪(检测波长:600 nm;检测角度:90°;信号扩增倍数:1.00)作为检测器。

1.6.5 激光光散射仪检测图峰面积的计算 采用激光光散射仪软件ASTRA (Version 4.73.04),对各色谱峰面积进行积分。

1.6.6 番茄组培苗感染试验^[8] 将青枯菌按 $\phi = 1\%$ 接种量($D_{600\text{ nm}} = 0.1$)转接于SPA液体培养基中,30 °C、200 r/min摇床培养48 h;取培养液调整菌体浓度 $n = 1.2 \times 10^9 \text{ mL}^{-1}$,采用剪叶法回接番茄组培苗。

1.6.7 荚膜染色(Anthony氏法) 取经SPA液体培养基培养24 h的青枯菌培养液,离心洗涤处理后,挑取1小环菌体涂片,置于空气中自然干燥,用1%的结晶紫水溶液染色2 min,以20%的硫酸铜水溶液冲洗,用吸水纸吸干残液,干燥后用油镜观察。

1.6.8 青枯菌细胞表面胞外酸性多糖(EPSI)含量的测定 见文献[9],采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测。

2 结果与讨论

2.1 青枯菌的色谱分析

青枯菌在自然状态下或传代培养过程中,容易发生致病力分化,强弱菌株混杂。我们的前期研究结果^[10]表明,在色谱柱饱和和吸附范围内,青枯菌纯培养物经过高效离子交换色谱分离得到3个特征峰(图1),分别收集3个色谱峰组分和上样品染色后,用光学显微镜观察,没有发现呈聚集状态的细胞存在,表明这3个色谱峰的形成与青枯菌细胞的表面特性有关;进一步结合番茄组培苗感染试验,结果发现3个色谱

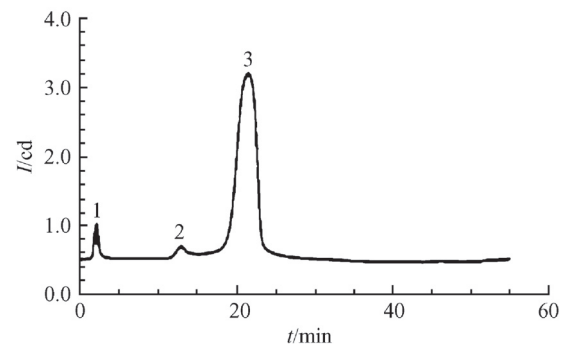


图1 青枯菌的激光光散射仪检测图^[10]
Fig. 1 HPLC spectrum of *R. solanacearum* detected by laser light scattering instrument^[10]
Peaks 1~3 are *R. solanacearum*

表1 不同色谱峰组分青枯菌回接番茄组培苗的发病率^[10]

Table 1 Mortality of tomato tissue culture plantlets infected with different peak fractions^[10]

样品 Sample	每日发病率 Infection mortality of different days after inoculation (r/%)								
	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5	D 6	D 7	D 8	D 9
Peak 1 fraction	0	0	0	10	15	25	30	45	65
Peak 2 fraction	0	0	5	10	10	20	45	55	75
Peak 3 fraction	0	10	20	35	40	50	75	100	100
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0

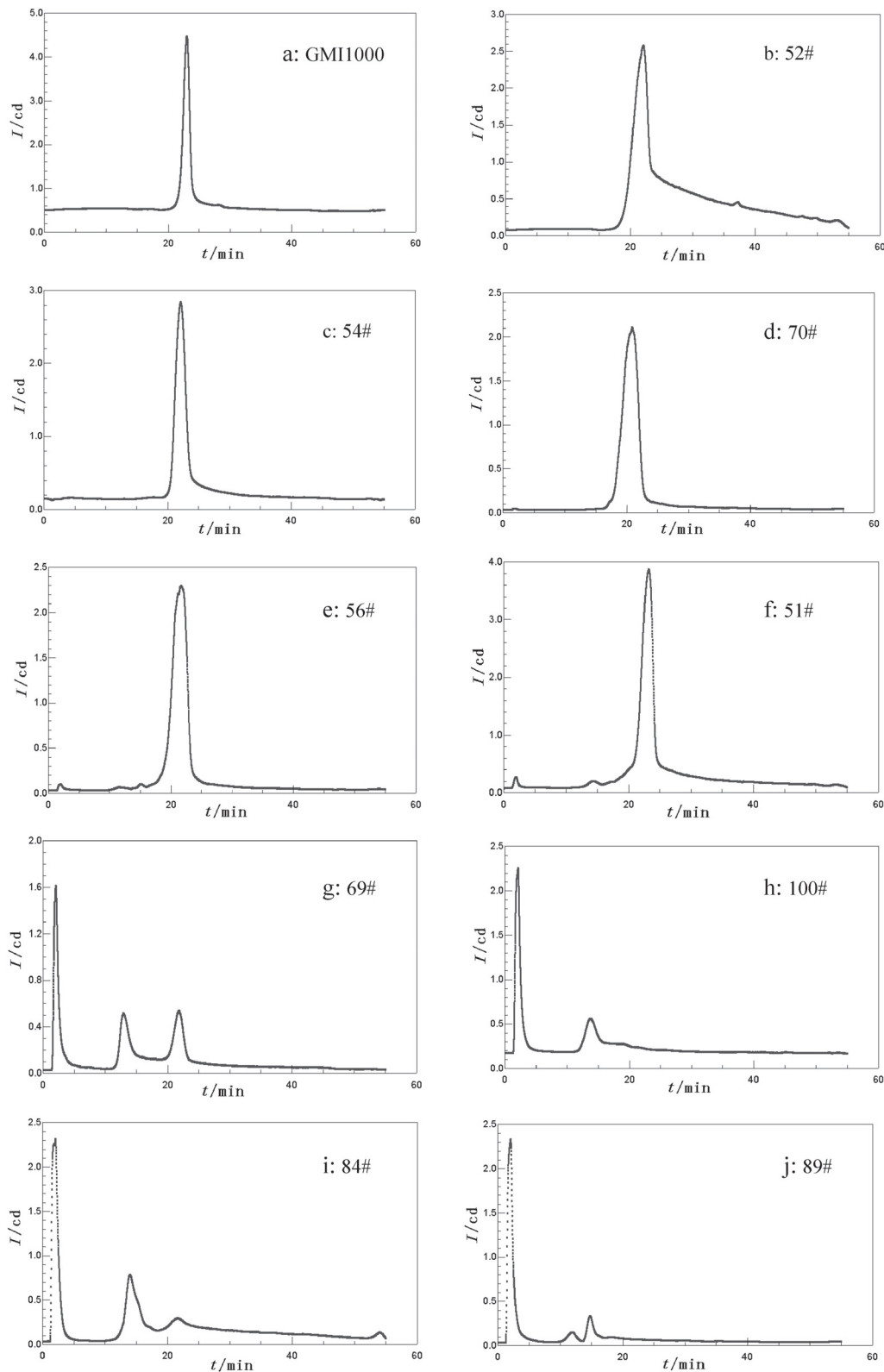


图2 青枯菌不同菌株的色谱图

Fig. 2 HPLC spectra of different *R. solanacearum* strains

峰组分在致病力方面存在差异, 大小依次为峰3组分>峰2组分>峰1组分(表1). 该研究结果为利用色谱方法快速分析检测青枯菌的致病强度奠定了基础.

2.2 青枯菌不同致病力菌株的色谱分析

取10株不同致病力的青枯菌(GMI1000、52#、54#、70#、56#、51#、69#、100#、84#、89#)进行色谱分析(图2), 其中

GMI1000为法国Institut National de la Recherche Agronomique提供的青枯菌强致病力模式菌株。

利用激光光散射仪软件ASTRA (Version 4.73.04), 对青枯菌不同菌株的各色谱峰面积进行积分, 具体统计结果见表2。

表2 青枯菌不同菌株的各色谱峰面积比¹⁾
Table 2 Area ratio of three chromatographic peaks of *R. solanacearum*¹⁾

菌株 Strain	峰1面积比 Peak 1 area ratio (r/%)	峰2面积比 Peak 2 area ratio (r/%)	峰3面积比 Peak 3 area ratio (r/%)
GMI1000	0	0	100
52#	0	0	100
54#	0	0	100
70#	0	0	100
56#	0.67	1.35	97.98
51#	1.46	2.36	96.18
69#	37.36	27.59	35.05
100#	68.45	31.55	0
84#	49.35	33.87	16.78
89#	78.83	7.16	14.01

1) Peak area ratio = each peak area / total peak area × 100%

2.3 青枯菌不同菌株的致病力检测

分别取上述青枯菌按1.6.6方法进行番茄组培苗感染试验, 每个菌株接种30株组培苗, 以无菌水作对照, 从接种之日起连续10 d, 逐日统计发病率(表3)。

结合图2、表2和表3数据进行分析:

表3 青枯菌各菌株回接番茄组培苗的发病率
Table 3 Mortality of tomato tissue culture plantlets infected by *R. solanacearum*

菌株 Strain	每日发病率 Infection mortality of different days after inoculation (r/%)									
	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5	D 6	D 7	D 8	D 9	D 10
GMI1000	0	33.3	56.7	73.3	96.7	100	100	100	100	100
52#	0	23.3	50.0	56.7	90.0	93.3	100	100	100	100
54#	0	16.7	16.7	66.7	90.0	90.0	100	100	100	100
70#	0	0	3.3	36.7	70.0	73.3	96.7	100	100	100
56#	0	0	23.3	50.0	53.3	66.7	66.7	83.3	90.0	90.0
51#	0	13.3	23.3	53.3	86.7	86.7	86.7	86.7	86.7	86.7
69#	0	0	0	20.0	50.0	66.7	66.7	66.7	66.7	66.7
100#	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
84#	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
89#	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(1) 青枯菌GMI1000、52#、54#和70#菌株回接番茄组培苗后, 分别在接种后的d 6、d 7、d 7、d 8达到100%的发病率; 进行高效离子交换色谱分析时, 只在峰3的保留时间位置上出现单一特征峰。

(2) 56#、51#和69#菌株经过色谱分离形成3个特征峰。从致病强度看, 56#>51#>69#; 从峰3所占的面积比看, 56#>51#>69#, 呈现出“菌株的致病性越强, 峰3所占的面积比相对越大”的规律。

(3) 无致病力菌株100#、84#、89#经过色谱分离形成的特征峰主要以峰1和峰2为主。

2.4 新方法的可行性验证试验

另取25株青枯菌进行色谱分析, 同时回接番茄组培苗进行感染试验, 每个菌株分别接种30株组培苗, 以无菌水作对照, 在回接后d 8统计组培苗发病率, 观察青枯菌色谱行为与

致病力之间的相关性。以强致病力模式菌株GMI1000作参照。

从表4可以看出, 25株实验菌株中有23株的番茄组培苗发病率(x)与峰3面积比(y)之间表现出良好的线性关系, 回归方程为 $y = 0.9581x + 5.4984$, 相关系数 $r = 0.986$, 呈现出“青枯菌的致病性越强, 则峰3所占的面积比相对越大”的规律; 其中85#和87#菌株的组培苗感染试验结果与色谱行为不相符, 这可能与组培苗试验以及青枯菌培养过程操作不当有关。

我们在前期研究中发现, 当青枯菌的进样菌数在 $9 \times 10^6 \sim 9 \times 10^8$ 时, 青枯菌菌数(x)与色谱峰面积(y)之间呈现出良好的线性关系, $y = 0.0183 \times 10^{-6}x$, 相关系数 $r = 0.99$ ^[10]。因此通过统计色谱峰面积, 并根据峰面积与菌数的线性回归方程, 可实现不同致病强度青枯菌的定量。

2.5 青枯菌色谱行为与其细胞表面组分的关系

青枯菌细胞呈长椭圆形, 近杆状, 革兰氏阴性好氧菌, 极生鞭毛1~4根, 不形成芽孢和荚膜, 但在光学显微镜下却观察到了类似荚膜的构造存在(图3)。据报道, 胞外酸性多糖EPSI是青枯菌的主要致病因子之一, 青枯菌分泌产生EPSI, 其中85%以游离的、不与菌体细胞黏附的状态存在, 但有15%的EPSI保持着呈荚膜状黏附在细胞表面^[11], 因此在显微镜下看到了青枯菌细胞表面由EPSI形成的类似荚膜的结构。

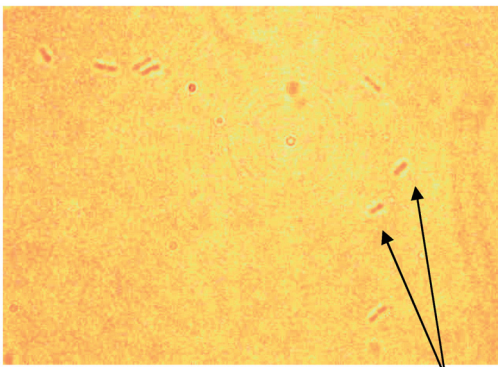
取上述不同致病强度的3株青枯菌GMI1000、51#、84#(色谱图见图2, 致病力见表3), 调整到相同的菌体浓度, 采用酶联免疫吸附法(ELISA方法)检测细胞表面黏附的EPSI含

量, 用酶标仪测定 $D_{595\text{nm}}$ (表5)。表5显示, 青枯菌的致病性越强(GMI1000>51#>84#), 则在相同的培养时间内产生的EPSI越多(GMI1000>51#>84#)。

据相关文献报道, EPSI是青枯菌的主要致病因子之一, EPSI的存在会增加菌体细胞表面的电负性^[12]。因此青枯菌的致病性越强, 则细胞表面黏附的EPSI越多, 即细胞表面携带的负电荷越多, 与阴离子交换树脂的结合力就越强, 色谱峰的保留时间就越长。为了进一步验证青枯菌色谱行为、致病力、细胞表面黏附的EPSI含量三者之间的相互关系, 收集51#菌株经过色谱分离得到的3个色谱峰组分, 调整到相同的菌体浓度, 采用ELISA方法检测细胞表面黏附的EPSI含量(表6)。表6的数据也显示, 青枯菌的致病性越强(峰3组分>峰2组分>峰1组分), 则细胞表面黏附的EPSI含量越多(峰3组分>峰2组分>峰1组分), 二者呈正相关关系。

表4 番茄组培苗发病率与色谱峰面积比之间的关系
Table 4 Relation between infection mortality of tomato tissue culture plantlets and chromatographic peak area ratio

菌株 Strain	发病率 Infection mortality (r/%)	峰面积比 Peak area ratio (r/%)		
		峰1 Peak 1	峰2 Peak 2	峰3 Peak 3
GMI1000	100	0	0	100
48#	100	0	0	100
67#	100	0	0	100
75#	100	0	0	100
78#	100	0	0	100
79#	100	0	0	100
81#	100	0	0	100
90#	100	0	0	100
91#	100	0	0	100
92#	100	0	0	100
93#	100	0	0	100
94#	100	0	0	100
95#	100	0	0	100
99#	100	0	0	100
102#	100	0	0	100
104#	100	0	0	100
77#	100	0.35	0	99.65
86#	96.7	0	0	100
97#	96.7	0	0	100
49#	86.7	1.42	4.94	93.64
50#	83.3	4.07	1.48	94.45
98#	83.3	0.83	3.73	95.44
103#	66.7	29.14	3.61	67.25
59#	0	71.51	26.28	2.20
*85#	63.3	10.87	6.39	82.74
*87#	16.7	10.98	1.58	87.44



类似荚膜的构造
Structure similar to capsule

图3 青枯菌采用Anthony氏荚膜染色法染色后的显微镜图(1000×)
Fig. 3 Micrograph of *R. solanacearum* using Anthony capsule staining method (1000×)

表5 GMI1000、51#、84#菌株细胞表面EPS I含量的比较
Table 5 Comparison of EPS I contents on cell surface

菌株 Strain	GMI1000	51#	84#
$D_{595\text{ nm}}$	0.992	0.704	0.283

表6 青枯菌51#菌株3个色谱峰组分细胞表面EPS I含量的比较
Table 6 Comparison of EPS I contents of three chromatographic fractions of 51# strain

色谱峰组分 Chromatographic fraction	峰1组分 Peak 1 fraction	峰2组分 Peak 2 fraction	峰3组分 Peak 3 fraction
$D_{595\text{ nm}}$	0.552	0.647	0.946

3 讨论

细菌细胞表面形态结构特殊,比表面积大,且覆盖着许多物质如多糖类、肽聚糖、脂类、蛋白质等,在不同条件下,其表面基团的电离状态不同,从而使细菌细胞表面带上不同的电荷^[13],因此细菌与蛋白质等其它生物大分子物质有着相

似的荷电性质,可以借助离子交换色谱方法,以保留时间和峰面积为基础,对不同种类的细菌作定性和定量分析。

青枯菌胞外酸性多糖EPS I等致病因子的表达受LysR家族转录调节因子PhcA蛋白控制, *phcA*基因的表达又受*phcB*基因编码产生的胞外群体感应信号因子3-羟棕榈酸甲酯(3-OH PAME)的调控。当细胞浓度大于 $n=10^8\text{ mL}^{-1}$,且3-OH PAME累积达到5 nmol/L时, PhcA蛋白表达量增加,诱导EPS I等致病因子的大量产生^[14, 15]。我们在前期研究中,对不同生长阶段(延滞期,对数生长期前期,对数生长期中期,稳定期)青枯菌的色谱行为进行跟踪分析,结果发现,随着培养时间的延长,细胞表面黏附的EPS I含量增加,峰3的面积比也呈递增趋势^[9],与本实验的结果相吻合。

目前检测青枯菌致病性的方法主要有TTC平板鉴定、组培苗或盆栽苗感染试验、田间试验等。TTC平板只能对青枯菌的致病强度进行初步鉴定,不能定量,更不能将群体中不同致病强度的青枯菌进行分离;而组培苗感染实验或田间实验耗时费力。本研究根据不同致病强度青枯菌细胞表面特性的差异,建立了一种快速分析检测青枯菌致病力分化的新方法——高效离子交换色谱方法,为研究生防菌的致弱效果、快速筛选高效稳定的生防菌奠定了良好的基础。

致谢 感谢福建省农业科学院农业生物资源研究所刘波博士和王秋红为本研究提供实验菌种和培养方法。

References

- Marquis RE, Mayzel K, Carstensen EL. Cation exchange in cell walls of gram-positive bacteria. *Can J Microbiol*, 1976, **22** (7): 975~982
- Chen ZJ (陈章捷), Shi XZ (时祥柱), Lin J (林娟), Liu ST (刘树滔), Ye XY (叶秀云), Chen GR (陈躬瑞), Rao PF (饶平凡). Separation and analysis of animal intestinal flora by high performance ion-exchange chromatography. *Chin J Appl Environ Biol (应用与环境生物学报)*, 2006, **12** (2): 278~282
- Hayward AC. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu Rev Phytopathol*, 1991, **29**: 65~87
- Denny TP. *Ralstonia solanacearum*-a plant pathogen in touch with its host. *Trends Microbiol*, 2000, **8** (11): 486~489
- Genin S, Boucher C. *Ralstonia solanacearum*: Secrets of a major pathogen unveiled by analysis of its genome. *Mol Plant Pathol*, 2002, **3** (3): 111~118
- Lin J (林娟), Ma C (马骋), Liu ST (刘树滔), Xie Z (谢智), Rao PF (饶平凡). Optimization of *Ralstonia solanacearum* preparation methods by HPLC analysis. *China Biotech (中国生物工程杂志)*, 2006, **26** (5): 63~68
- Lin J (林娟), Rao PF (饶平凡), Ma C (马骋), Liu ST (刘树滔), Xie Z (谢智). Study on the separating conditions of *Ralstonia solanacearum* by high performance ion exchange liquid chromatography analysis. *J Fuzhou Univ Nat Sci Ed (福州大学学报自然科学版)*, 2006, **34** (3): 448~452
- Liu Bo (刘波), Lin YZ (林营志), Zhu YJ (葛慈斌), Ge CB (葛慈斌), Cao Y (曹宜). Attenuation characteristics of bacterial-wilt-disease biocontrol strain anti-8098A (*Bacillus cereus*) to *Ralstonia solanacearum*. *J Agric Biotech (农业生物技术学报)*, 2004, **12** (3): 322~329

- 9 Lin J (林娟), Ma C (马骋), Liu ST (刘树滔), Rao PF (饶平凡). Characterization of *Ralstonia solanacearum* in different growth phases by high performance ion exchange liquid chromatography analysis. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), 2007, **47** (1): 145~149
- 10 Lin J (林娟), Ma C (马骋), Liu ST (刘树滔), Wu LL (吴玲玲), Rao PF (饶平凡). High speed separation and quantitation of *Ralstonia solanacearum* of different virulences using high performance ion exchange chromatography. *Chin J Chromatogr* (色谱), 2007, **25** (1): 70~74
- 11 Orgambide G, Montrozier H, Servin P, Roussel J, Trigalet DD, Trigalet A. High heterogeneity of the exopolysaccharides of *Pseudomonas solanacearum* strain GMI1000 and complete structure of the major polysaccharide. *J Biol Chem*, 1991, **266** (13): 8312~8321
- 12 Wilson WW, Wade MM, Holman SC, Champlin FR. Status of methods for assessing bacterial cell surface charge properties based on zeta potential measurements. *J Microbiol Methods*, 2001, **43** (3): 153~164
- 13 Dickson JS, Koohmaraie M. Cell surface charge characteristics and their relationship to bacterial attachment to meat surface. *Appl Environ Microbiol*, 1989, **55** (4): 832~836
- 14 Clough SJ, Lee K, Schell MA, Denny TP. A two-component system in *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* modulates production of PhcA-regulated virulence factors in response to 3-hydroxypalmitic acid methyl ester. *J Bacteriol*, 1997, **179** (11): 3639~3648
- 15 Huang JZ, Carney BF, Denny TP. A complex network regulates expression of *eps* and other virulence genes of *Pseudomonas solanacearum*. *J Bacteriol*, 1995, **177** (5): 1259~1267

中国黄渤海海藻

曾呈奎 主编 科学出版社出版(2009年8月)

978-7-03-024996-8 ¥128.00

内容简介

大型底栖海藻是海洋中极为常见的植物类群,自古以来人们就广泛地利用海藻作为食物、药材、动物饲料、农业肥料和制胶原料,它们是海洋生物资源的重要组成部分,也是海洋中尚待开发、利用和保护的对象。本书系统论述了我国黄渤海海区的大型底栖海藻共3门34目78科136属311种,其中4属49种是我国发现的新的分类单元。本书是首部大型底栖海洋红藻、褐藻及绿藻类的综合性、地域性专著。每个种都有详细的形态、内部构造、生殖结构的描述以及产地和分布。

本书可供大专院校、养殖生产单位的生物学、植物学和藻类学研究者以及有关学科的科研、教学、生产人员参考。

邮购地址: 北京东黄城根北街16号 科学出版社科学出版中心生命科学分社 邮编: 100717

联系人: 周文字 李韶文 联系电话: 010-64031535, 64000849 网址: <http://www.lifescience.com.cn>

