

# 一株新的胡萝卜软腐欧文氏菌的分离和鉴定

远 方<sup>1,2</sup> 屈淑平<sup>1,3</sup> 崔崇士<sup>3</sup> 曹鸣庆<sup>1,2</sup> 马荣才<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup> 北京农业生物技术研究中心 北京 100089)

(<sup>2</sup> 首都师范大学生物系 北京 100037)

(<sup>3</sup> 东北农业大学园艺学院 哈尔滨 150030)

**摘 要** :从大白菜软腐组织中分离出一株软腐病细菌 BC1,经过形态观察、生理生化特性分析、致病性检测和 16S rDNA 序列分析,该分离物被鉴定为胡萝卜软腐欧文氏菌胡萝卜亚种(*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Ecc*)的一个新菌株,编号为 BC1。这是首次从 16S rDNA 序列水平上对在我国分布的软腐欧文氏菌进行鉴定。*Ecc* BC1 的 16S rDNA 序列与其它软腐欧文氏菌株的 16S rDNA 序列之间同源性达 98.7%~99.3%,而且在系统发育树中独立于 *Ecc* 其它菌株。序列分析结果表明,*Ecc* BC1 具有至少 2 种不同的 16S rDNA 序列,它们都在第 459 位和 473 位(相对于大肠杆菌 16S rDNA 序列)发生碱基突变,同一基因中两个突变位点之间彼此互补,处于 16S rRNA 螺旋 H17 颈部,而且这两处碱基变异只存在于 BC1 菌株中。通过与其它软腐欧文氏菌亚种和菌株 16S rDNA 序列进行比对分析,还进一步鉴定出一些 BC1 菌株特异的 16S rDNA 碱基突变位点。本文报道的 *Ecc* BC1 两个 16S rDNA 序列在 GenBank 中的登录号分别为 AY309068 和 AY309069。

**关键词** :16S rDNA, 突变, 系统发育分析, 软腐欧文氏菌, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, 大白菜, *Brassica rapa* subsp. *pekinensis*

**中图分类号** :Q939 **文献标识码** :A **文章编号** :0001-6209(2004)02-0136-05

植物细菌软腐病是一种世界范围内的重要植物病害,胡萝卜软腐欧文氏菌(*Erwinia carotovora*)是其主要病原物,危害胡萝卜、烟草、黄瓜、茄子、番茄、辣椒、大白菜、甘蓝、马铃薯等,同时引起贮藏期蔬菜腐烂<sup>[1]</sup>。引起大白菜软腐病的病原为胡萝卜软腐欧文氏菌胡萝卜亚种[*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones)Bergey et al., *Ecc*]或变种(*E. carotovora* var. *carotovora* Dye., *Ecc*)<sup>[2]</sup>。在我国,大白菜软腐病最早于 1899 年报道,主要发生在黑龙江、吉林、辽宁等省。自本世纪 30 年代以来,对该病的研究逐渐增多。50 年代初,该病在我国大白菜主要产区流行,白菜产量严重下降,人们将其列为白菜“三大病害”之一<sup>[2]</sup>。目前软腐病仍然是我国大白菜的主要病害。

在分子水平上对胡萝卜软腐欧文氏菌的鉴定主要有 AFLP 分子标记技术<sup>[3]</sup>及 16S-23S rDNA 转录间隔区<sup>[4]</sup>和 16S rDNA 序列分析<sup>[5-7]</sup>。由于细菌 16S rDNA 的核苷酸序列及其在基因组中的拷贝数相当稳定,利用 16S rDNA 序列高度保守区设计 PCR 引物,扩增和分析不同细菌种、亚种或菌株之间的序列差异,已成为对细菌鉴定和定量分析的基本技术。

我国科研人员在 20 世纪 50~90 年代对白菜软腐欧文氏菌进行了许多研究,如细菌分离鉴定、致病机理等<sup>[8-11]</sup>。但是,对该菌的鉴定只是停留在形态观察和生理生化特征分析,对在我国分布的软腐欧文氏菌一直没有从 DNA 水平上进行分类鉴定。我们在工作中了解到,由于种种原因,现在国内所分离的白菜软腐欧文氏菌除中国科学院微生物研究所在 20 世纪 70 年代保存的菌株以外,其他实验室都已经不再保存,也没有新的菌株报道。为了进一步研究白菜软腐欧文氏菌的分子生物学和软腐病致病分子机理,我们从白菜软腐组织中分离了软腐病细菌,并且从形态、生理生化特性、16S rDNA 序列分析和致病性测定等方面进行了鉴定,确定该菌为胡萝卜软腐欧文氏菌胡萝卜亚种(*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Ecc*)的一个新菌株,编号为 BC1。

## 1 材料和方法

### 1.1 软腐病细菌的分离<sup>[12]</sup>

白菜软腐病组织取自北京蔬菜研究中心大白菜

基金项目:国家“863 计划”(2001AA23108)

\* 通讯作者。Tel 86-10-51503831 Fax 86-10-51503980 E-mail: marongcai@mail.baafs.net.cn

作者简介:远 方(1975-),女,黑龙江人,博士研究生,从事植物分子病理学研究。E-mail: yuanfang0603@yahoo.com.cn

收稿日期:2003-06-02,修回日期:2003-10-14

试验地,从具有典型发病症状的腐烂组织的边缘比较硬的部位分离软腐病细菌。将带有病斑的组织用锋利刀片切下,在 70% 的酒精中浸 2~3s 后,用灭菌去离子水洗 3 次。转移到含有 0.5mL 无菌的生理盐水(0.85% NaCl)无菌培养皿中,用灭菌的玻璃棒将病组织捣碎,无菌条件下于室温静置 10~15min,使病组织中的细菌流入水中,形成细菌悬浮液。然后用灭菌的移植环蘸取菌悬液在 LB 平板上划线培养,放在 28℃ 培养 16~20h。从中挑取不同的单菌落进一步划线培养,转接纯化 6~7 次。根据软腐欧文氏菌能在结晶紫果胶培养基(CVP)上产生很深凹陷的特征,从凹陷中心挑取典型菌落在肉汁胨培养基上划线纯化,进一步挑取单菌落纯化,用于下面的菌株鉴定。

## 1.2 白菜软腐欧文氏菌的初步鉴定<sup>[12,13]</sup>

大白菜软腐病菌的鉴定首先是通过形态观察,包括大小测定、革兰氏染色反应、鞭毛染色,然后进行生理生化鉴定。

## 1.3 致病性测定<sup>[12]</sup>

将经过初步鉴定的白菜软腐欧文氏菌活化后用无菌生理盐水稀释到  $2 \times 10^6$  CFU/mL 浓度。在灭菌的土中栽培大白菜幼苗,待白菜幼苗长到 5~6 片真叶时,将其移入人工气候箱中,进行接种。接种时先用锋利的刀片在叶柄基部轻轻划几道小伤口,然后用注射器缓慢地把 0.01mL 菌液(液体 LB 培养基悬浮)注入到伤口表面,形成悬浮滴。发病温度为 28℃、相对湿度为 100%。定时观察发病情况。同时设置对照,对照的材料也用解剖刀轻轻划几道伤口,将无菌生理盐水滴在上面。

## 1.4 白菜软腐欧文氏菌 16S rDNA 片段的扩增和序列分析

**1.4.1 软腐欧文氏菌基因组 DNA 的提取:**方法参考文献<sup>[14,15]</sup>

**1.4.2 16S rDNA 片段的扩增:**实验所用 PCR 引物是根据已经发表的胡萝卜软腐欧文氏菌 16S rDNA 序列<sup>[6]</sup>,使用 DNAStar 软件(LASERGENE software, DNAstar Inc., Madison, WI)设计的。正向引物 yf1: 5'-TGATGGAGGGGATAACTACTGGA-3';反向引物 yr1: 5'-CCCCTACGGTTACCTTGTTACGAC-3'。PCR 反应体系为 50μL,包括 5μL 10 × Buffer, 1.5mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 0.2mmol/L dNTP, 20pmols 引物 yf1, 20pmols 引物 yr1, 0.3μg 模板 DNA。扩增反应条件为:94℃ 2min, 94℃ 1min, 56℃ 1min, 72℃ 2min, 30 个循环; 72℃ 10min。扩增产物大小约 1.38kb,对应 *E. coli*

16S rDNA 基因中 137~1517bp 处(下文所提各个核苷酸位置均以大肠杆菌 16S rDNA 序列为参照)。

**1.4.3 DNA 序列测定:**在本实验室的 DNA 序列分析仪(Beckman CEQ2000)上进行。PCR 扩增产物被克隆进入 pGEM-T-easy 载体(Promega, USA),转化大肠杆菌 DH5α 后,阳性克隆中的插入片段使用 EcoR I 进行酶切分析。为排除 PCR 扩增的错误和保证序列测定的准确性,选取 9 个阳性克隆,使用 T7 和 Sp6 引物分别从两端测序。根据所测定的两端序列进一步设计一个内部测序引物(5'-TAATCG-GAATGACTGGGCGTAAAG-3'),以完成该片段的全序列测定。

## 1.5 欧文氏菌 16SrDNA 序列系统发育树构建

文中引用的已经发表的欧文氏菌 16S rDNA 序列均来自于 GenBank 数据库。DNA 序列的比对和 16S rDNA 序列系统进化树构建采用 DNAStar 软件 Multiple Sequence Alignment 程序。应用 DNAStar 软件作 DNA 序列比对和基于 16S rDNA 序列的系统进化树构建时,选取所有序列中位置相对应的片段,先用 ClustalV 程序进行比对,以找出插入和缺失突变,用“-”补齐,再用 ClustalW 的 Slow-Accurate 程序进行精确比对,然后采用近邻法构建系统进化树。

# 2 结论

## 2.1 白菜软腐病细菌的分离与初步鉴定

所分离的白菜软腐病细菌的形态如图 1 所示。其形态特征为:革兰氏阴性,菌体两端钝圆、呈短杆状,散在,大小(0.5~0.7)μm × (1.0~2.0)μm,形状

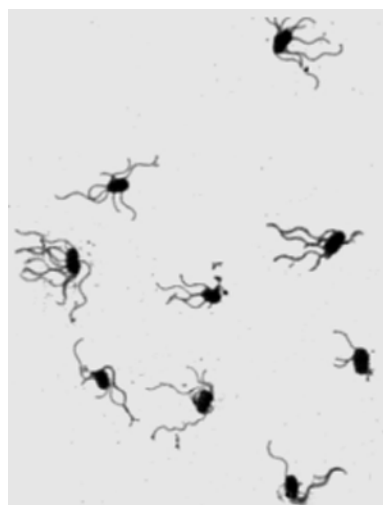


图 1 白菜软腐病细菌 *Ecc BC1* 的形态(1000 ×)

Fig.1 The morphology of *Ecc BC1* under microscope (1000 ×)

为圆或短杆状,菌落圆形或不规则、稍凸起、呈灰白色、有光泽、半透明、表面光滑,有周生鞭毛 2~8 根。对该菌进行生理生化特性分析后,结果总结如表 1。根据这些结果可以认为所分离的菌株为胡萝卜软腐欧文氏菌胡萝卜亚种(*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) 编号为 BC1。

表 1 白菜软腐病细菌 *Ecc* BC1 的生理生化特性

Table 1 Biochemical and physiological characteristics of *Ecc* BC1

Characteristics	Strain BC1
Oxidative glucose-fermentation	+
Pectate hydrolysis	+
Anaerobic growth	Facultatively anaerobic
Fluorescence on King's B medium	-
Growth at 37℃	+
Gas production from D-glucose	-
Acid production from amyloamaltose	-
Acid productin from sucrose	+
Acid production from glycerol	+
Acid production from inositol	+
Acid production from glucose	+

+ : Positive ; - : Negative.

## 2.2 软腐欧文氏菌 BC1 致病性测定

将所分离的白菜软腐欧文氏菌 BC1 在大白菜上进行回接试验表明,在接种 4h 后白菜接种部位就表现软腐症状,在 6~24h 内随着时间的延长软腐病症状明显加重,与田间观察到的软腐病发病症状一致。这一实验证明新分离到的软腐欧文氏菌 BC1 能引起大白菜软腐病(图略)。

## 2.3 软腐欧文氏菌 BC1 16S rDNA 片段序列分析

白菜软腐病细菌 *Ecc* BC1 的 16S rDNA 序列测定结果表明,扩增的 DNA 序列全长 1381 bp。从 9 个克隆的 DNA 序列测定结果可以看出,在 *Ecc* BC1 菌株中至少存在 2 种 16S rDNA 转录区序列,它们与已经发表的 6 株胡萝卜软腐欧文氏菌胡萝卜亚种、7 株胡萝卜软腐欧文氏菌其它亚种、15 种欧文氏菌 16S rDNA 序列之间的同源性分别在 98.7%、97.5% 和 94.7% 以上。这两个序列在 GenBank 中的登录号分别为 AY309068 和 AY309069。9 个克隆的 16S rDNA 部分序列比对结果如图 2 所示,该图只示出了 *Ecc* BC1 菌株两种 16S rDNA 序列之间发生突变的一段 DNA 序列。

从图2可以看出,克隆2-3、2-4、5-2和5-18含有

459473

5-9T7	5'-TTTCAGGGGGAGGAAGGCGGTaAGGTTAATAACCTtATCGATTGACGTT-3'
2-4T7	5'-TTTCAGGGGGAGGAAGGCGGTgAGGTTAATAACCTtATCGATTGACGTT-3'
3-4T7	5'-TTTCAGGGGGAGGAAGGCGGTaAGGTTAATAACCTtATCGATTGACGTT-3'
5-15Sp6	5'-TTTCAGGGGGAGGAAGGCGGTaAGGTTAATAACCTtATCGATTGACGTT-3'
5-18T7	5'-TTTCAGGGGGAGGAAGGCGGTgAGGTTAATAACCTtATCGATTGACGTT-3'
5-19T7	5'-TTTCAGGGGGAGGAAGGCGGTaAGGTTAATAACCTtATCGATTGACGTT-3'
5-22T7	5'-TTTCAGGGGGAGGAAGGCGGTaAGGTTAATAACCTtATCGATTGACGTT-3'
5-2T7	5'-TTTCAGGGGGAGGAAGGCGGTgAGGTTAATAACCTtATCGATTGACGTT-3'
2-3Sp6	5'-TTTCAGGGGGAGGAAGGCGGTgAGGTTAATAACCTtATCGATTGACGTT-3'

图 2 *Ecc* BC1 菌株 16S rDNA 部分序列比较

Fig.2 Partial sequence alignment of the BC1 16S rDNA sequences from the 9 positive clones

相同的 16S rDNA 序列(BC1-1),克隆 3-4、5-9、5-16、5-19 和 5-22 含有另一个序列(BC1-2)。所以,本工作所分离的胡萝卜软腐欧文氏菌胡萝卜亚种的 16S rDNA 序列共有两种,都在第 459 位和 473 位(对应于大肠杆菌 16S rDNA 序列)发生突变,同一 DNA 片段上的两个突变的碱基互补,在 16S rRNA 二级结构中位于螺旋 H17 颈部。*Ecc* BC1 菌株与胡萝卜软腐欧文氏菌其它亚种或菌株比较,主要存在以下特征性碱基:G<sub>445</sub>、C<sub>489</sub>、G<sub>1001</sub>、C<sub>1006</sub>、A<sub>1009</sub>、C<sub>1011</sub>、G<sub>1018</sub>、T<sub>1020</sub>、G<sub>1023</sub>、C<sub>1039</sub>;其碱基配对情况为:螺旋 H17,G<sub>445</sub>-C<sub>489</sub>;螺旋 H33,G<sub>1001</sub>-C<sub>1039</sub>;螺旋 H33a,C<sub>1006</sub>-G<sub>1023</sub>、A<sub>1009</sub>-T<sub>1020</sub>和 C<sub>1011</sub>-G<sub>1018</sub>。这些碱基变异在 *Ecc* BC1 的两种 16S rDNA 序列中是相同的。

从系统进化树上可以看出,我们从白菜软腐组织上所分离的 *Ecc* BC1 与其它胡萝卜软腐欧文氏菌聚为一类(图 3)。但是 BC1 菌株又独立于其它胡萝卜软腐欧文氏菌各个亚种或菌株,表明 BC1 与分离自欧洲和北美洲(加拿大和美国)的胡萝卜软腐欧文氏菌各个亚种或菌株不同,为一株新的胡萝卜软腐欧文氏菌胡萝卜亚种。

## 3 讨论

本工作对从大白菜软腐组织中分离的软腐病细菌通过形态学观察、生理生化特性分析、病原菌回接试验和 16S rDNA 序列分析确证其为胡萝卜软腐欧文氏菌胡萝卜亚种的一个新菌株。据我们所知,这是首次从 16S rDNA 序列水平上对从我国分离的软腐欧文氏菌进行鉴定。

通过 16S rDNA 序列分析发现在嗜盐古菌 *Halo-arcu-la marismortui* 的基因组中存在着两个 16S rDNA 基因<sup>[6]</sup>。对胡萝卜软腐欧文氏菌黑腐亚种(*E. ca-rotovora* subsp. *atroseptica*, *Eca*) ATCC BAA-672 菌株基因组中的 16S rDNA 序列进行分析发现该菌有 7 个 16S rDNA 拷贝(<http://www.sanger.ac.uk/>)。根据

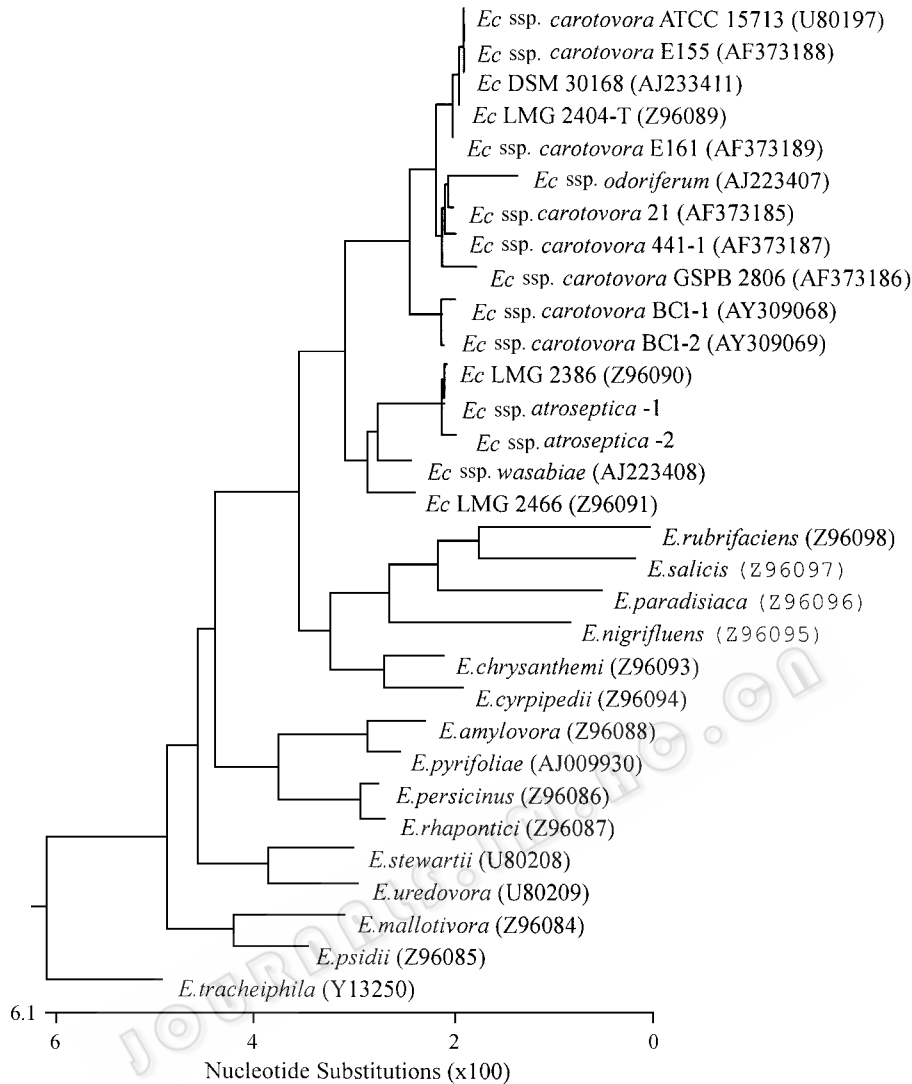


图 3 欧文氏杆菌 16S rDNA 序列系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree of *Erwinia* 16S rDNA sequences

转录区序列可将它们分为 2 类,突变位点仅发生在第 1133 和 1142 位核苷酸处,分别为 G→A 和 C→T 突变。在所测定的 *Ecc* BC1 16S rDNA 序列中也存在与 *Eca* 类似的碱基突变情况。本研究为了避免 PCR 扩增过程中可能存在的碱基插入错误,我们测定了多个阳性克隆的 16S rDNA 序列,从而保证了序列测定的准确性。而且,由于同一序列两个突变位点之间的互补性,可以确定所克隆的序列属于两个不同的基因。

胡萝卜软腐欧文氏菌 16S rDNA 序列在种内、种间都有特异性位点,位于 16S rRNA 的不同结构域。16S rRNA 的空间结构在维持核糖体 30S 亚基的结构和功能方面扮演极为重要的角色,参与核糖体 A、P 和 E 位的构建及 30S 与 50S 亚基间的作用<sup>[17]</sup>。16S rRNA 的二级结构主要包括 5'区、核心区、3'大区

和 3'小区 4 部分<sup>[18]</sup>。与其它胡萝卜软腐欧文氏菌 16S rDNA 相比,*Ecc* BC1 菌株有 10 个特异性碱基,位于多个颈环结构的颈部并彼此配对,所以这种碱基突变没有改变其二级结构,但可以改变颈环结构的自由能,可能会影响结构的稳定性。其中,一对碱基突变位于螺旋 H17 A 对位于螺旋 H33。H33 位于 3'大区,是 30S 亚基头部的组成部分<sup>[19]</sup>。

在欧文氏菌 16S rDNA 序列系统发育树中,*Ecc* BC1 与胡萝卜软腐欧文氏菌胡萝卜亚种聚为一类,序列同源性在 98.7%~99.3% 间,但是独立于分离自加拿大、美国和欧洲国家的各个菌株,这可能与它们不同的地理分布有关。相信随着对在我国分布的更多 *Ecc* 菌株的分离和鉴定将进一步揭示出其特有的遗传特性,从而认识 *Ecc* 不同菌株的起源和进化关系。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Perombelon M C M, Kelman A. Ecology of the soft rot *Erwinias*. *Ann Rev Phytopathol*, 1980, **18**: 361 – 387.
- [ 2 ] 刘宜生. 中国大白菜. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [ 3 ] Avrova A O, Hyman L J, Toth R L. Application of amplified fragment length polymorphism fingerprinting for taxonomy and identification of the soft rot bacteria *Erwinia carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68**(4): 1449 – 1508.
- [ 4 ] Toth I K, Avrova A O, Hyman L J. Rapid identification and differentiation of the soft rot *Erwinias* by 16S-23S intergenic transcribed Spacer-PCR and restriction fragment length polymorphism analyses. *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**(9): 4070 – 4076.
- [ 5 ] William G, Weisburg, Susan M, et al. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J Bacteriol*, 1991, **173**(2): 697 – 703.
- [ 6 ] Kwon S W, Go S J, Kang H W, et al. Phylogenetic analysis of *Erwinia* species based on 16S rRNA gene sequences. *Inter J System Bacteriol*, 1997, **47**(4): 1061 – 1067.
- [ 7 ] Hauben L, Moore E R B, Vauterin L, et al. Phylogenetic position of phytopathogens within the *Enterobacteriaceae*. *System Appl Microbiol*, 1998, **21**: 384 – 397.
- [ 8 ] 裴维蕃, 张纪增, 陶国华. 中国大白菜品种对于软腐细菌 *Erwinia aroideae* 抗病力的差异. 植物病理学报, 1955, **1**(1): 61 – 67.
- [ 9 ] 董汉松, 王金生, 方中达. 从叶片侵入的大白菜软腐病菌在植株间的系统感染. 南京农业大学学报, 1987, **1**: 46 – 49.
- [ 10 ] 董汉松, 王金生, 方中达. 大白菜软腐病菌的运动状态与吸附的关系. 山东农业大学学报, 1990, **21**(4): 8 – 13.
- [ 11 ] 王金生, 董汉松, 方中达. 大白菜软腐病菌从幼根侵染的组织病理学研究. 植物病理学报, 1986, **16**: 185 – 191.
- [ 12 ] 方中达. 植病研究方法. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [ 13 ] 王金生. 植物病原细菌学. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [ 14 ] Hauben L, Vauterin L, Swings J, et al. Comparison of 16S ribosomal DNA sequences of all *Xanthomonas* species. *Inte J System Bacteriol*, 1997, **47**(2): 328 – 335.
- [ 15 ] 林雅兰, 黄秀梨. 现代微生物学与实验技术. 北京: 科学出版社, 2000.
- [ 16 ] Mylvaganam S, Dennis P P. Sequence heterogeneity between the two genes encoding 16S rRNA from the Halophilic Archaeobacterium *Haloarcula marismortui*. *Genetics*, 1992, **130**: 399 – 410.
- [ 17 ] Newcomb L F, Noller H F. Directed hydroxyl radical probing of 16S rRNA in the ribosome: Spatial proximity of RNA elements of the 3' and 5' domains. *RNA*, 1999, **5**: 849 – 855.
- [ 18 ] Amarantos I, Zarkadis I K, Kalpaxis D L. The identification of spermine binding sites in 16S rRNA allows interpretation of the spermine effect on ribosomal 30S subunit functions. *Nucl Acids Res*, 2002, **30**(13): 2832 – 2843.
- [ 19 ] Montpetit A, Payant C, Nolan J M, et al. Analysis of the conformation of the 3' major domain of *Escherichia coli* 16S ribosomal RNA using site-directed photoaffinity crosslinking. *RNA*, 1998, **4**: 1455 – 1466.

A New Strain of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* Isolated from Soft-rotted Chinese CabbageYUAN Fang<sup>1,2</sup> QU Shu-Ping<sup>1,3</sup> CUI Chong-Shi<sup>3</sup> CAO Ming-Qing<sup>1,2</sup> MA Rong-Cai<sup>1,2\*</sup><sup>(1)</sup> Beijing AgroBiotechnology Research Center, Beijing 100089, China )<sup>(2)</sup> Biology Department, Capital Normal University, Beijing 100037, China )<sup>(3)</sup> College of Horticultural Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China )

**Abstract**: A new strain, BC1, of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* was isolated from soft-rotted Chinese cabbage. The strain was characterized by morphological observation, biochemical and physiological identification, pathogenicity determination and 16S rDNA sequence analysis. 16S rDNA sequence of the BC1 showed 98.7% ~ 99.3% sequence identity with those of other *Erwinia carotovora* subspecies and strains. At least two different 16S rDNA sequences are present in the BC1 genome, each having two mutation sites located at positions 459 and 473, respectively. The two mutations occur at the stem of helix H17 in the 16S rRNA secondary structure and are complementary to each other in each of the two sequences. DNA sequence alignment showed that the two mutations are *Ecc* BC1-specific, and further analysis has detected more BC1-specific mutations among the 16S rDNA sequences of *Ecc*. Phylogenetic analysis of the 16S rDNA sequences indicated that the BC1 is distinct from other strains within the *Ecc* group. The *Ecc* BC1 16S rDNA sequences reported here have the accession numbers AY309068 and AY309069 in GenBank.

**Key words**: *Erwinia carotovora*, 16S rDNA, Point mutation, Phylogenetic tree, Chinese cabbage, *Brassica rapa* ssp. *pekinensis*

Foundation item: Chinese National Programs for High Technology Research and Development (2001AA23108)

\* Corresponding author. Tel 86-10-51503831; Fax 86-10-51503980; E-mail: marongcai@mail.baafs.net.cn

Received date: 06-02-2003

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn