

微囊藻毒素对大型溞摄食行为的影响

唐超智¹, 于 淼¹, 阮 瑞², 张榜军¹

(1 河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007; 2 中国科学院 水生生物研究所, 湖北 武汉 430072)

【摘 要】 【目的】探讨微囊藻毒素(MC)对大型溞摄食行为的影响。【方法】采用急性毒性试验确定 MC 对大型溞的半数致死浓度(LC_{50}), 以此为依据, 设计含 0.00(正常组), 24.49, 36.74, 55.11, 82.67 和 124.00 $\mu\text{g/L}$ MC 的培养液培养大型溞, 并以小球藻饲喂, 检测处理前后及恢复条件(在不含 MC 的培养液中培养)下, 母代和子代大型溞滤水率和摄食率的变化。【结果】MC 处理可显著降低大型溞母代和子代的滤水率及摄食率, 且降低程度与 MC 质量浓度呈正相关, 其中对子代摄食强度的抑制大于母代; 恢复条件下大型溞子代的摄食强度有所回升, 但与正常组相比仍明显偏低。MC 对大型溞母代、子代第 1 胎、子代第 3 胎的滤水率和摄食率达到半数抑制时的质量浓度分别为 54.75 和 75.61 $\mu\text{g/L}$, 44.42 和 52.78 $\mu\text{g/L}$, 39.47 和 47.01 $\mu\text{g/L}$ 。【结论】MC 可严重抑制大型溞的摄食行为。

【关键词】 微囊藻毒素; 大型溞; 滤水率; 摄食率

【中图分类号】 S946.3

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)06-0181-06

Effects of microcystin on the feeding behavior of *Daphnia magna*

TANG Chao-zhi¹, YU Miao¹, RUAN Rui², ZHANG Bang-jun¹

(1 College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007, China;

2 Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, Hubei 430072, China)

Abstract: 【Objective】 This article investigated the effects of microcystin (MC) on feeding behavior of *Daphnia magna*. 【Method】 Initially an acute toxicity test was conducted to determine the median lethal concentration (LC_{50}) values of MC to *D. magna* (age < 24 h). Then the organisms were exposed to different concentrations of MC (0.00 (control), 24.49, 36.74, 55.11, 82.67 and 124.00 $\mu\text{g/L}$) with *Chlorella vulgaris* as the food to examine the filtration and ingestion rates of F_0 and F_1 generations of *D. magna*. A contrast experiment of transferring the F_1 generation to recovery medium (MC-free) was also carried out. 【Result】 The results showed that MC could significantly inhibit the filtration and ingestion rates of *D. magna*, following higher MC concentrations with stronger inhibition. And the inhibition on F_1 generation was more significant than F_0 generation. Additionally, the feeding intensity of F_1 generation cultured in recovery medium decreased significantly than that in the control. The median effective concentrations (EC_{50}) of MC on filtration and ingestion rates of F_0 , F_1 1st and 3rd generations of *D. magna* were 54.75 and 75.61 $\mu\text{g/L}$, 44.42 and 52.78 $\mu\text{g/L}$, 39.47 and 47.01 $\mu\text{g/L}$, respectively. 【Conclusion】 These results suggest that MC can strongly influence the feeding behavior of *D. magna*.

Key words: microcystin; *Daphnia magna*; filtration rate; ingestion rate

随着工农业生产的不断发展, 全球范围内水体富营养化的现象日益严重, 蓝藻水华的暴发日趋频

繁。蓝藻水华的发生不仅会破坏水体景观, 而且水华中的藻毒素还会污染水质, 限制其他水生生物的

* [收稿日期] 2009-12-13

[基金项目] 河南省动物学重点学科基金项目; 河南师范大学青年科学基金项目(2009qk18)

[作者简介] 唐超智(1980—), 男, 河南潢川人, 讲师, 硕士, 主要从事淡水资源保护生物学研究。E-mail: chaozhi1980@126.com

生存和发展。微囊藻毒素(microcystin, MC)是由有毒微囊藻产生的一种胞内毒素,其在水华消解时大量释放入水,导致许多水体生物中毒死亡,该物质可经食物链蓄积于鱼类和人体,导致肝脏疾病,因此又称肝毒素^[1-2]。1984 年, Botes 等^[3]测出了 MC 的化学结构,证明其属于单环七肽;之后, Miura 等^[4]和 Eriksson 等^[5]从生理生化水平阐明了 MC 通过胆汁酸转运系统侵入肝细胞,专一性抑制蛋白磷酸酶 1 和蛋白磷酸酶 2A 的活性,导致多种蛋白质过磷酸化,打破了细胞内蛋白磷酸化/过磷酸化平衡,造成肝细胞损伤;近年来,从生态学角度评价 MC 危害成为蓝藻毒理学研究的新热点,但相关研究尚处于起步阶段^[6]。

大型溞(*Daphnia magna*)是国际上毒理学研究的模式动物,也是最常见的淡水枝角类之一,作为水体消费者,它们滤食藻类、细菌和原生动物,而其本身又是鱼类的优质饵料^[7]。在生态系统中,藻类—大型溞—鱼类—人类构成了食物链。本研究以大型溞为试验材料,检测 MC 对其摄食强度的影响,从行为生态学角度探讨了 MC 对大型溞种群发展的可能影响,这对于全面评估蓝藻水华的生态毒性具有较强的现实意义,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 小球藻、微囊藻和大型溞的培养及微囊藻粗毒素的提取

小球藻(*Chlorella vulgaris*)、铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa* PCC7806)和大型溞,均由中国科学院水生生物研究所提供。小球藻和微囊藻的培养参考文献[8]的方法进行,培养结束后,4 ℃离心(3 000 r/min 离心 10 min)收集藻细胞。小球藻细胞直接保存于 4 ℃冰箱内备用。按 Jones 等^[9]的方法提取微囊藻细胞粗毒素,于-80 ℃冰箱内保存备用。经 Waters 600 型高效液相色谱仪分析,本试验制备的粗毒素中 MC 含量为 251.96 μg/mL,主要成分为 LR 型藻毒素(MC-LR)。使用前将粗毒素用去离子水适当稀释后,加入大型溞培养液配成 MC 试验液。

大型溞参考 Gerald 等^[10]的方法驯化培养。每天以小球藻饲喂 2 次,每 2 d 更换 1 次培养液并分离幼溞。

1.2 急性毒性试验

取出生后 6~24 h 健康大型溞 250 只,分为 5 组,每组 5 个平行,每个平行 10 只。将 MC 以等比

质量浓度(0.27, 0.47, 0.82, 1.43, 2.50 mg/L)对大型溞进行 48 h 急性毒性试验,记录每个质量浓度组试验动物的死亡数,依据寇氏法^[11]计算 MC 对大型溞的半数致死浓度(Median lethal concentration, LC_{50})。

1.3 摄食强度试验

依据测定的 48 h LC_{50} 值,设计 6 个 MC 质量浓度(0.00, 24.49, 36.74, 55.11, 82.67, 124.00 μg/L)组和相应的无大型溞对照组(培养液中不投入大型溞),每组 5 个平行,每个平行均使用 100 mL 容量的烧杯,内盛 50 mL 试验液,投入出生 6~24 h 的大型溞 10 只(无大型溞对照组除外),并以小球藻饲喂,其初始密度为 5×10^5 /mL。在 20 ℃下黑暗培养 5 h 后计数各组小球藻密度,参考 Brita 等^[12]的方法,计算大型溞的滤水率(即每只大型溞单位时间内滤过试验液的平均体积, μL/(只·h))和摄食率(即每只大型溞单位时间内摄取的小球藻细胞的平均数量, 个/(只·h))。滤水率和摄食率计算公式如下:

$$F = \frac{V}{n} \cdot \frac{\ln C_0 - \ln C_t}{t} - A;$$

$$A = \frac{V}{n} \cdot \frac{\ln C_0 - \ln C_t'}{t};$$

$$I = F \sqrt{C_0 \cdot C_t'}.$$

式中: F 为滤水率, V 为试验液体积, n 为每个平行的大型溞只数, C_0 为初始小球藻密度, C_t 为大型溞摄食后的小球藻密度, t 为试验时间, A 为校正因子(由无大型溞对照组求得), C_t' 为无大型溞对照组试验后的小球藻密度, I 为摄食率。

本试验进行时,先将出生 6~24 h 的大型溞(F_0 代)置于不同质量浓度(0.00, 24.49, 36.74, 55.11, 82.67, 124.00 μg/L) MC 培养液中培养,测其滤水率和摄食率;待其成熟产幼后,立即(产幼 24 h 以内)分离子代第 1 胎(F_1 1st generation)和第 3 胎(F_1 3rd generation)的部分幼溞,将其置于与母代相同质量浓度的 MC 培养液中培养,测其滤水率和摄食率;同时,另分离一部分子代第 1 胎和第 3 胎幼溞转入不含 MC 的培养液中培养(即恢复条件下培养),测其滤水率和摄食率。

1.4 数据分析

采用 SPSS 13.0 对各组数据进行单因素方差分析,以比较各组大型溞摄食强度的差异性,用 Excel 对数据表作图;并用 SPSS 13.0 对大型溞摄食强度抑制率(摄食强度抑制率为处理前后的摄食强度降低值与处理前摄食强度值之比)与 MC 质量浓度的

相关性进行回归分析,求出回归方程,由方程计算出摄食强度半数抑制时的 MC 质量浓度 (Median effective concentration, EC_{50})。

2 结果与分析

2.1 MC 对大型溞的急性毒性试验

经测试并计算,经过 48 h 处理,MC 对大型溞的 LC_{50} 为 1.24 mg/L,其 95%置信限为 1.11~1.37 mg/L。

2.2 MC 对大型溞母代和子代摄食强度的影响

经 MC 处理后,大型溞母代和子代的滤水率和

摄食率变化见图 1 和图 2。由图 1 和图 2 可知,与 MC 质量浓度为 0.00 $\mu\text{g/L}$ 时相比,其他 MC 处理组大型溞母代和子代的滤水率和摄食率均明显降低,且其降低程度与 MC 质量浓度呈正相关。当 MC 质量浓度为 124.00 $\mu\text{g/L}$ 时,母代、子代第 1 胎、子代第 3 胎的滤水率和摄食率分别降低了 78.03%和 72.97%,84.25%和 80.28%,88.56%和 85.56%。当 MC 质量浓度相同时 (0.00 $\mu\text{g/L}$ 除外),3 代大型溞摄食强度受抑制的程度为子代第 3 胎>子代第 1 胎>母代。

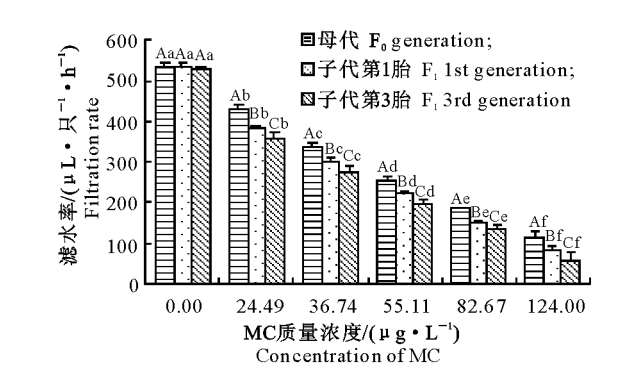


图 1 MC 对 3 代大型溞滤水率的影响

标不同小写字母表示 MC 各质量浓度组间差异显著 ($P<0.05$),
标不同大写字母表示各代间差异显著 ($P<0.05$)

Fig. 1 Effects of MC on filtration rates of three generations of *D. magna*

Lowercase letters show significant differences ($P<0.05$) among different concentrations of MC, capital letters show significant differences ($P<0.05$) among F_0 , F_1 1st and 3rd generation of *D. magna*

2.3 恢复条件下大型溞子代摄食强度的变化

母代置于含 MC 培养液的大型溞,其子代转入

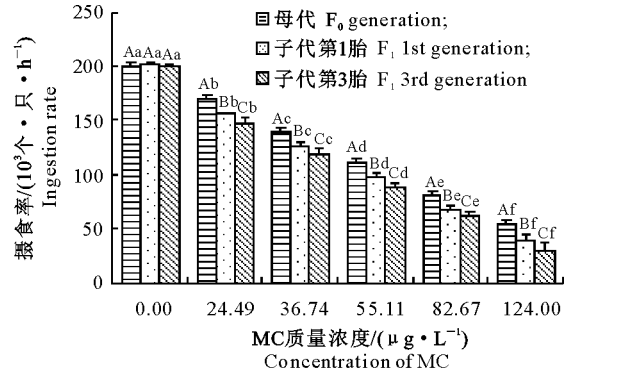


图 2 MC 对 3 代大型溞摄食率的影响

标不同小写字母表示 MC 各质量浓度组间差异显著 ($P<0.05$),
标不同大写字母表示各代间差异显著 ($P<0.05$)

Fig. 2 Effects of MC on ingestion rates of three generations of *D. magna*

Lowercase letters show significant differences ($P<0.05$) among different concentrations of MC, capital letters show significant differences ($P<0.05$) among F_0 , F_1 1st and 3rd generation of *D. magna*

不含 MC 的培养液 (即恢复条件) 中后,其滤水率和摄食率的变化见图 3 和图 4。

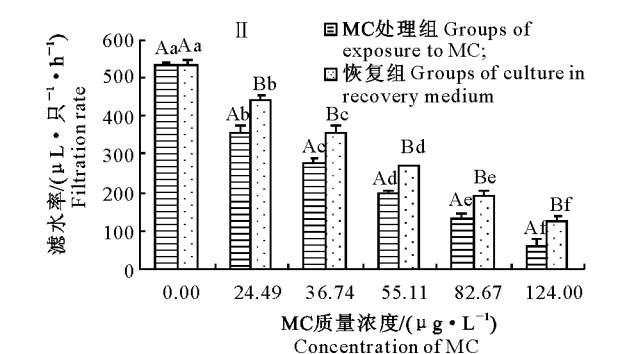
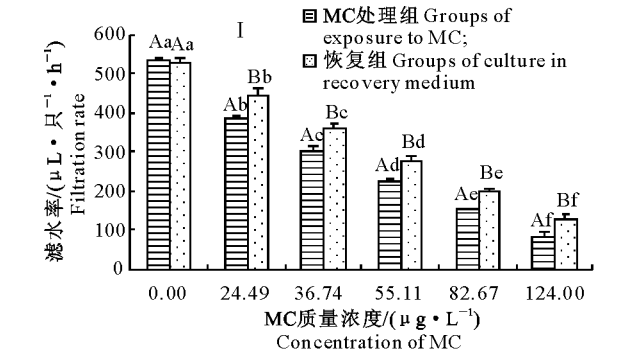


图 3 子代第 1 胎 (I)、第 3 胎 (II) 大型溞的 MC 处理组与恢复组滤水率的比较

标不同小写字母表示 MC 各质量浓度组间差异显著 ($P<0.05$),标不同大写字母表示大型溞 MC 组与恢复组间差异显著 ($P<0.05$)。图 4 同

Fig. 3 Filtration rates of F_1 1st (I) and 3rd (II) generation of *D. magna* of exposure to MC and culture in recovery medium

Lowercase letters show significant differences ($P<0.05$) among different concentrations of MC, capital letters show significant differences ($P<0.05$) between exposure to MC and culture in recovery medium. Fig. 4 is the same

图 3 和图 4 显示,与继续置于 MC 培养液的处理组子代相比,恢复组子代第 1 胎和第 3 胎大型蚤的滤水率和摄食率显著提高。但与母代未置于 MC

培养液培养的子代组相比,恢复组所有子代的滤水率和摄食率仍受到明显抑制,且随着 MC 质量浓度的增大,子代受抑制的程度越显著。

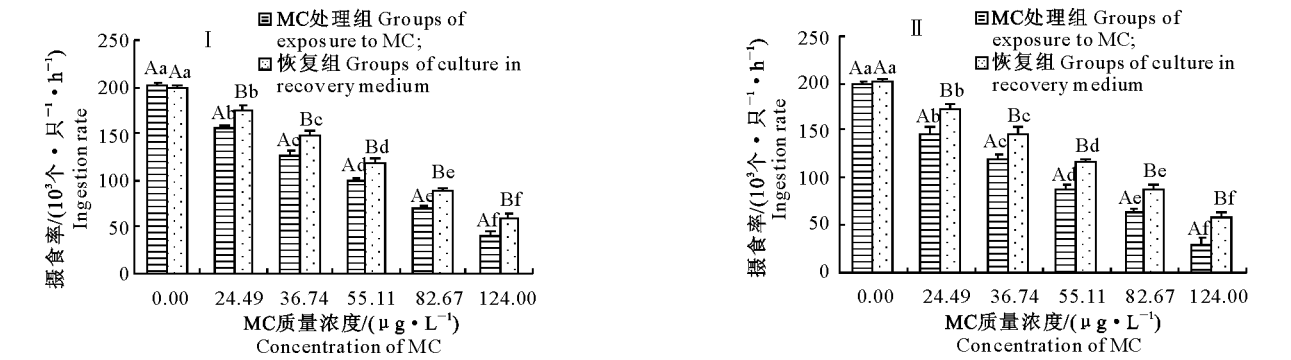


图 4 子代第 1 胎(I)、第 3 胎(II)大型蚤的 MC 处理组与恢复组摄食率的比较
Fig. 4 Ingestion rates of F₁ 1st (I) and 3rd (II) generation of *D. magna* of exposure to MC and culture in recovery medium

2.4 MC 对大型蚤摄食强度影响的 EC₅₀

表 1 列出了大型蚤摄食强度抑制率与 MC 质量浓度间的相关性回归方程,由回归方程求得的 MC 对大型蚤母代、子代第 1 胎、子代第 3 胎的滤水率和

摄食率抑制的 EC₅₀ 分别为 54.75 和 75.61 μg/L, 44.42 和 52.78 μg/L,39.47 和 47.01 μg/L。可见,大型蚤摄食强度受抑制的程度为子代第 3 胎>子代第 1 胎>母代。

表 1 MC 对 3 代大型蚤摄食强度抑制率影响的 EC ₅₀				
Table 1 EC ₅₀ of MC on filtration and ingestion rates of three generations of <i>D. magna</i>				
世代 Generation	指标 Index	回归方程 Regression equation	回归系数 Regression coefficient	EC ₅₀ / (μg · L ⁻¹)
母代 F ₀ generation	滤水率抑制率 Inhibition rate of filtration	y=0.361x-0.945	0.997	54.75
	摄食率抑制率 Inhibition rate of ingestion	y=0.357x-0.988	0.999	75.61
子代第 1 胎 F ₁ 1st generation	滤水率抑制率 Inhibition rate of filtration	y=0.344x-0.805	0.998	44.42
	摄食率抑制率 Inhibition rate of ingestion	y=0.355x-0.908	0.999	52.78
子代第 3 胎 F ₁ 3rd generation	滤水率抑制率 Inhibition rate of filtration	y=0.342x-0.757	0.998	39.47
	摄食率抑制率 Inhibition rate of ingestion	y=0.361x-0.890	0.999	47.01

注:y 为摄食强度抑制率,x 为 MC 质量浓度的自然对数值,EC₅₀指 y=0.50 时的 MC 质量浓度。
Note:y is the inhibition rate of feeding intensity,x is the natural logarithm of MC concentration,EC₅₀ is the median effective concentration.

3 讨 论

3.1 MC 对大型蚤的急性毒性

本研究测定了 MC 对大型蚤的 LC₅₀,其主要目的是以其作为参考值,设计摄食强度试验的 MC 质量浓度。Lindsay 等^[13]测定了 MC-LR 对大型蚤的 LC₅₀(1.26 mg/L),与本试验测定的 LC₅₀(1.24 mg/L)相近。

3.2 MC 对大型蚤摄食强度的影响

Villarroel 等^[14]研究了除草剂毒死蜱对大型蚤摄食强度的影响,结果发现,亚致死浓度的毒死蜱会显著降低大型蚤的滤水率和摄食率,并提出这种方法可用于评价环境污染物对生物安全的影响。本研

究参考了 Villarroel 等^[14]的方法,依据 48 h 的 LC₅₀ 值,设计了不同质量浓度(24.49,36.74,55.11,82.67,124.00 μg/L)下,MC 对大型蚤摄食强度的影响,结果表明,受 MC 的影响,大型蚤母代和子代的摄食强度均有明显下降。应用回归分析法求得 MC 对大型蚤滤水率和摄食率的 EC₅₀ 远远低于 48 h 的 LC₅₀,这表明在亚致死浓度下,MC 对大型蚤的摄食行为已产生了不利影响。由于大型蚤在取食丰足时营孤雌生殖,种群数量呈指数级增长;而取食不足时营两性生殖,产休眠卵,种群数量呈负增长^[7],所以摄食行为受到抑制必然会导致大型蚤种群数量下降。

已有研究^[15-17]指出,大型蚤摄食强度的大小主

要与其运动捕食能力、食物是否适口和外界环境条件(主要指光照和温度)3 个因素相关。本试验饲喂的小球藻是大型溞的适口食物^[7];环境条件由光照培养箱控制,也适合其生长。因此,可认为导致大型溞摄食强度减弱的根本原因在于 MC 抑制了大型溞的运动捕食能力。由 Porter 等^[16]的研究结果可知,大型溞的运动捕食主要与其胸肢上较粗的网状结构对食物的收集相关;Ware^[17]指出,一些杀虫剂可通过毒害大型溞的神经系统来限制其附肢划动,降低大型溞的滤水能力,引起摄食不足。结合本研究结果可进一步推知,MC 可能先对大型溞的附肢发育或神经发育产生干扰作用,进而导致大型溞的运动捕食能力下降,最终抑制大型溞的摄食行为。

本研究比较了 MC 处理后各代大型溞摄食强度受抑制的程度,表明受抑制程度依次为子代第 3 胎>子代第 1 胎>母代。笔者推测这可能由 2 种原因造成:一是 MC 对大型溞的生殖系统有影响,导致其产生的后代配子先天弱质,以致后代摄食行为减弱程度更甚于母代,这与 Geng 等^[18]发现 MC 对轮虫的繁殖力有明显抑制作用的结论一致;二是 MC 对大型溞的胚胎发育过程有影响,通过遏制正常胚胎发育过程中一些基因的表达,导致子代附肢或神经系统发育不完善,从而引起其摄食能力减弱,这与 Claire 等^[19]研究 MC 影响青鳉胚胎发育的结论相似。但 Oberemn 等^[20-21]研究发现,MC 在低质量浓度下对斑马鱼胚胎无急性毒性,因为斑马鱼胚胎内的抗氧化酶可与 MC-LR 反应,将其降解吸收。

本研究在恢复试验中发现,与继续受 MC 处理的子代相比,恢复组大型溞的摄食强度虽有提高,但与母代未受 MC 处理的对照组子代相比仍明显偏低,表明 MC 对大型溞的毒性可得到一定恢复,但恢复程度有限。

4 结 论

在亚致死浓度(24.49,36.74,55.11,82.67,124.00 $\mu\text{g/L}$)下,MC 即可严重抑制大型溞的摄食行为并难以恢复,这必将引发大型溞种群数量大幅减少,最终导致水体生物群落结构失衡。这可作为评价蓝藻水华导致水体生物多样性减少的一个支持材料。

〔参考文献〕

[1] Hallegraeaf G M. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase [J]. *Phycologia*,1993,32:79-99.

[2] Figueiredo D R,Azeiteiro U M,Esteves S M,et al. Microcystin-producing blooms;a serious global public health issue [J]. *Eco-toxicol Environ Safe*,2004,59:151-163.

[3] Botes D P,Tuiman A A,Wessels P L,et al. The structure of cyanoginosin-LA, a cyclic peptide from cyanobacterium *M. aeruginosa* [J]. *J Chem Trans*,1984,1:2311.

[4] Miura G A,Robinson N A,Lawrence W B,et al. Hepatotoxicity of microcystin-LR in fed and fasted rats [J]. *Toxicon*,1991,29(3):337-346.

[5] Eriksson J E,Gronberg L,Nygard S,et al. Hepatocellular uptake of 3H-dihydromicrocystin-LR,a cyclic peptide toxin [J]. *Biochim Biophys Acta*,1990,1025(1):60-66.

[6] 胡智泉,李敦海,刘永定,等. 微囊藻毒素对水生生物的生态毒理学研究进展 [J]. *自然科学进展*,2006,16(1):14-20.

Hu Z Q,Li D H,Liu Y D,et al. Advances in research on ecotoxicity of microcystin to aquatic organism [J]. *Advances in Natural Science*,2006,16(1):14-20. (in Chinese)

[7] 蒋燮治,堵南山. 中国动物志:节肢动物门甲壳纲:淡水枝角类 [M]. 北京:科学出版社,1979:12-78.

Chiang S C,Du N S. *Fauna sinica; Crustacea; Freshwater Cladocera* [M]. Beijing: Science Press,1979:12-78. (in Chinese)

[8] 李效宇,王莹,李真爱. 口服微囊藻对泥鳅的亚慢性毒性效应 [J]. *河南师范大学学报:自然科学版*,2008,36(1):92-95.

Li X Y,Wang Y,Li Z A. Subchronic toxicity of microcystin in loach (*Misgurnus mizolepis*) and bioaccumulation of microcystin in the tissues of loach [J]. *Journal of Henan Normal University: Natural Science Edition*,2008,36(1):92-95. (in Chinese)

[9] Jones G J,Orr P T. Release and degradation of microcystin following algicide treatment of a *M. aeruginosa* bloom in a recreational lake,as determined by HPLC and protein phosphates inhibition assay [J]. *Wat Res*,1994,28:871-876.

[10] Gerald A,Mu X Y,Cynthia V,et al. Embryotoxicity of the alkylphenol degradation product 4-Nonylphenol to the crustacean *D. magna* [J]. *Environ Health Prospect*,2000,108(12):1133-1137.

[11] 孟紫强. 环境毒理学 [M]. 北京:中国环境科学出版社,2000:506-508.

Meng Z Q. *Environmental toxicology* [M]. Beijing:China Environmental Science Press,2000:506-508. (in Chinese)

[12] Brita T A,Karel A C,Colin R. Mechanisms of chronic waterborne Zn toxicity in *D. magna* [J]. *Aquat Toxicol*,2006,77:393-401.

[13] Lindsay J,Metcalfe J S,Codd G A. Protection against the toxicity of microcystin-LR and cylindrospermopsin in *Artemia salina* and *Daphnia* spp. by pre-treatment with cyanobacterial lipopolysaccharide (LPS) [J]. *Toxicon*,2006,48:995-1001.

[14] Villarreal M J,Sancho E,Ferrando M D,et al. Acute,chronic and sublethal effects of the herbicide propanil on *D. magna* [J]. *Chemosphere*,2003,53:857-864.

[15] 王岩. 枝角类摄食生物学研究中的几个问题 [J]. *动物学杂*

志,1997,32(6):45-48.

Wang Y. Research on the feeding biology of Cladocera [J]. Chinese Journal of Zoology,1997,32(6):45-48. (in Chinese)

[16] Porter K G,Orcutt J D,Gerritsen J. Functional response and fitness in a generalist filter feeder, *D. magna* (Cladocera: Crustacea) [J]. Ecology,1983,64:735-742.

[17] Ware G W. Pesticides,theory and application [M]. San Francisco:Freeman,1983:308.

[18] Geng H,Xie P. Experimental studies on the effects of toxic *M. aeruginosa* PCC7820 on the survival and reproduction of two freshwater rotifers *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus rubens* [J]. Ecotoxicol,2008,17(8):709-715.

[19] Claire J,Violette T,Amaury L,et al. Effects of microcystin-LR on development of medaka fish embryos (*Oryzias latipes*) [J]. Toxicon,2004,43:141-147.

[20] Oberemn A,Fastner J,Steinberg C W. Effects of microcystin-LR and cyanobacterial crude extracts on embryolarval development of zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Wat Res,1997,31(11):2918-2921.

[21] Oberemn A,Becker J,Godd G A,et al. Effects of cyanobacterial on the development of fish and amphibians [J]. Environ Toxicol,1999,14:77-88.

(上接第 180 页)

[5] Lee I M,Zhao Y,Davis R E,et al. Prospects of DNA-based systems for differentiation and classification of phytoplasmas [J]. Bulletin of Insectology,2007,60(2):239-244.

[6] Smart C D,Schneider B,Blomouist C L,et al. Phytoplasma speciefic PCR primers based on sequences of the 16S—23S rRNA spacer region [J]. Applied and Experimental Microbiology,1996,63(8):2988-2993.

[7] Lee I M,Gundersen R D E,Davis R E,et al. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFL panalyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences [J]. Int J Syst Acteriology,1998,48:1153-1169.

[8] 顾沛雯,安凤秋,吴云锋,等. 小麦蓝矮病植原体 16S rDNA 基因片段的比较分析 [J]. 植物病理学报,2005,35(5):403-411.

Gu P W,An F Q,Wu Y F,et al. Comparison and analysis of 16S rDNA fragment of phytoplasma of wheat blue dwarf [J]. Acta Phytophylacica Sinica,2005,35(5):403-411. (in Chinese)

[9] Seemuller E,Schneider B,Maurer R,et al. Phylogenetic classification of phytopathogenic mollicutes by sequence analysis of 16S ribosomal DNA [J]. Int J Syst Acteriology,1994,44:440-446.

[10] Lee I M,Davis R E,Gundersen D E. Phytoplasma;Phtopathogenic mollicutes [J]. Annu Rev Microbiol,2000,54:221-225.

[11] Martini M,Lee I,Zhao Y,et al. Ribosomal protein gene-based phylogeny:a basis for phytoplasma classification [J]. International Organization for Mycoplasmology,2004,11:156.

[12] Kollar A,Seemuller E,Bonnet F,et al. Isolation of the DNA of various plant pathogenic mycoplasmalike organisms from infected plants [J]. Phytopathology,1990,80(3):233-237.

[13] Yu Y L,Yeh K W,Lin C P. An antigenic protein gene of a phytoplasma associated with sweet potato witches' broom [J]. Microbiology,1998,144:1257-1262.