

钟薇馨, 石珂弋, 陈意群, 等. 小番茄内生菌耐药基因检测及种植模型中 GFP 标记菌转移研究[J]. 华南农业大学学报, 2018, 39(4): 55-60.

小番茄内生菌耐药基因检测及种植模型中 GFP 标记菌转移研究

钟薇馨[†], 石珂弋[†], 陈意群, 王晓佩, 陶皖豫, 马凯雄, 孙永学
(广东省兽药研制与安全评价重点实验室/国家兽药安全评价(环境评估)实验室/
华南农业大学 兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】调查广州市售小番茄内生菌中常用抗菌药物耐药基因流行情况及基于绿色荧光蛋白 (GFP) 标记的大肠埃希菌人工栽种模型探讨耐药基因转移进入小番茄果实内的可能性。【方法】采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 法分离鉴定市售小番茄内生菌, PCR 定性检测内生菌中氯霉素类 (*cmlA*)、四环素类 (*tetA* 和 *tetM*)、磺胺类 (*sul1*、*sul2* 和 *sul3*) 和喹诺酮类 (*oqxA*、*oqxB*、*qnrB*、*qnrS* 和 *qepA*) 等药物耐药基因的流行情况; 采用 GFP 标记-大肠埃希菌人工种植模型检测小番茄果实、叶片和根系中目标 GFP 菌, 探讨内生菌及 GFP 标记进入小番茄内部的可能性。【结果】市售小番茄分离的 52 株内生菌菌株中, 肠杆菌属 *Enterobacter* 和克雷伯菌属 *Klebsiella* 占有较高比例, 几乎所有菌株均携带 *oqxB* 基因 (总阳性率达 92.31%), 在人工种植模型第 27 天采集的果实中分离出含有 GFP 标记的内生菌。【结论】小番茄内生菌中 *oqxB* 基因最为流行, 耐药基因可通过根系浇灌的方式转移到小番茄果实内。

关键词: 小番茄; 种植模型; 耐药基因; GFP 标记-大肠埃希菌; 内生菌
中图分类号: S859 文献标识码: A 文章编号: 1001-411X(2018)04-0055-06

Detection of antibiotic resistant genes in cherry tomato entophytic bacteria and transfer of GFP marked bacteria in plantation model

ZHONG Weixin[†], SHI Keyi[†], CHEN Yiquan, WANG Xiaopei, TAO Wanyu, MA Kaixiong, SUN Yongxue
(Guangdong Provincial Key Laboratory for Veterinary Pharmaceutics Development and Safety Evaluation/National
Laboratory of Veterinary Drug Safety Evaluation (Environment Estimation)/College of Veterinary, South China
Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the prevalence of antibiotic resistant genes of endophytic bacteria in cherry tomatoes sold in Guangzhou, and discuss the possibilities of resistant genes transferring into cherry tomatoes based on GFP-tagged *Escherichia coli* artificial plantation model. 【Method】The endophytic bacteria in commercially available cherry tomatoes was identified by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS). Polymerase chain reaction was used to qualitatively detect the prevalence of resistant genes including chloromycetin (*cmlA*), tetracycline (*tetA* and *tetM*), sulfonamide (*sul1*, *sul2* and *sul3*) and quinolones (*oqxA*, *oqxB*, *qnrB*, *qnrS* and *qepA*). The GFP-tagged *E. coli* artificial plantation

收稿日期: 2017-11-24 网络首发时间: 2018-06-12
网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20180611.1417.030.html>
作者简介: 钟薇馨 (1993—), 女, 硕士, E-mail: 729477674@qq.com; 石珂弋 (1995—), 男, E-mail: huanongshiky@163.com; [†]对本
文贡献相同; 通信作者: 孙永学 (1969—), 男, 教授, 博士, E-mail: sunyx@scau.edu.cn
基金项目: 广东省自然科学基金重点项目 (2016A030311029); 广东省大学生科技创新训练项目 (201610564121)

model was used to detect target GFP-bacteria in cherry tomato fruits, leaves and roots, and explore the possibilities of entophytic bacteria and GFP tag transferring into cherry tomatoes. 【Result】 *Enterobacter* and *Klebsiella* accounted for a relatively high proportion in 52 endophytic bacterial strains, and almost all strains carried *oqx*B gene with a total positive rate of 92.31%. The endophytic bacterial strain containing GFP tag was isolated from the fruit collected on the 27th day in artificial plantation model. 【Conclusion】 *oqx*B gene is most prevalent in cherry tomato endophytic bacteria. The antibiotic resistant genes can transfer into cherry tomato fruits through root irrigation.

Key words: cherry tomato; plantation model; antibiotic resistant gene; GFP-*Escherichia coli*; entophytic bacterium

食品安全一直备受人们的广泛关注。微生物等通过污染肉制品、蔬菜和水果等感染人体，从而引发胃肠道疾病，常见的胃肠道疾病致病菌有沙门菌和大肠埃希菌等。这些致病菌不仅可以粘附于蔬果表面，还可能进入到蔬果内部。朱育菁等^[1]从龙眼中分离出 1 株大肠埃希菌菌株和 3 株鼠伤寒沙门氏菌菌株。这些果蔬内部的致病菌难以通过表面清洗的方法清除，一旦食入很可能引发胃肠道疾病。同时内生菌的潜在威胁不限于此，携带抗菌药物耐药基因的内生细菌进入到胃肠道，很可能诱发肠道细菌产生耐药性。本文对市售小番茄内生细菌进行了分离鉴定，采用 PCR 法检测其中氯霉素类、四环素类、磺胺类和喹诺酮类等几种养殖场常用抗菌药物耐药基因的残留情况，并设计 GFP 标记-大肠埃希菌和构建种植模型对小番茄内生菌中耐药基因的转移进行了初步探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 培养基与仪器 麦康凯琼脂、BS 琼脂、XLD 琼脂等培养基及相关试剂购自青岛海博生物技术有限公司；次氯酸钠和无水乙醇购自北京普博欣公司；*rTaq* DNA 聚合酶、DL1000 DNA Marker 和 dNTP Mixture 等试剂购自 TaKaRa 宝成生物工程有限公司；基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 (Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS) 为岛津公司 Performance ID Plus 型；PCR 扩增仪为 Fisher 公司 ZHWY-200H 型。

1.1.2 工程菌 采用大肠埃希菌 BL21 (DE3) 感受态细胞，含绿色荧光蛋白 (Green fluorescent protein, GFP) 基因片段的 ET28a-EGFP 质粒作为载体，构建目标工程菌，经诱导剂诱导可产生绿色荧

光。质粒由淼灵质粒平台提供。

1.2 方法

1.2.1 市售小番茄样品采集 2016 年 8 月至 12 月从广州市 9 个农贸市场和水果店共采集 61 批小番茄果实样品，每批约 1 kg。

1.2.2 人工种植模型建立与采样 种植小番茄植株，于结果期在外源添加菌液。分别设置对照组、表面喷洒组及根系组，每组 3 次重复，组间交叉间隔 10 m，防止交叉污染。根系组采用专用加菌器于土壤下环根加菌；表面喷洒组采用与根系组等量的菌液喷雾接种于植株果实和叶片等部位；对照组在根系施加等量的纯水。每个处理组每棵植株每 3 天施加 1 次 1×10^6 cfu·mL⁻¹ GFP 标记-大肠埃希菌菌液，每次 100 mL，共施加 9 次，对照组用等量的纯水代替。在试验处理完成后第 15、21 和 27 天采样，分别采集果实、叶片及根系。

1.2.3 样品处理 采集的果实、叶片和根系样品分别用自来水清洗表面污垢后，置于流动自来水中冲洗 1 min，并用无菌超纯水冲洗 3 遍，放于无菌平皿中备用。在超净工作台内将番茄样品置于 φ 为 75% 的乙醇溶液浸泡 1 min、 φ 为 5% 的次氯酸钠溶液浸泡 3 min、无菌超纯水浸泡 2 min。消毒好的番茄样品在无菌条件下自然风干，按以下步骤检查消毒是否彻底。

1) 于麦康凯平板及 LB 平板中做平板印迹检查：将消毒后的样品整个表面在平板上轻轻按压后，将平板置于 37 ℃ 恒温培养箱培养 48 h，若无菌生长则为消毒彻底；

2) 将消毒后的样品浸泡在 LB 肉汤中轻微震荡 10 s 后取出，再将肉汤置于 37 ℃ 条件下，120 r·min⁻¹ 震荡培养 48 h，若肉汤清澈，无菌生长，则为消毒彻底；

3) 取消毒后最后一次无菌超纯水冲洗液

200 μL, 涂布于 LB 培养基上, 再将培养基置于 37 ℃ 恒温培养箱培养 48 h, 若无菌生长则为消毒彻底。

4) 采摘 6 颗对照组番茄果实, 室温浸泡于与根系组、表面喷洒组相同浓度的 GFP 标记-大肠埃希菌菌液中 24 h, 再按照“1.2.3”中消毒步骤消毒后, 按照上述 1)、2)、3) 步骤检查, 若无菌生长, 证明上述消毒方法可完全去除表面残留的 GFP 标记-大肠埃希菌。

1.2.4 内生菌的分离鉴定 取消毒后的小番茄果实、叶片和根系样品各 2 g 分别置于 5 mL EP 管中, 置于冰上, 使用电动研磨器充分研磨样品, 每管加 3 mL LB 肉汤, 在 37 ℃ 条件下 120 r·min⁻¹ 震荡培养 24 h 后涂布于麦康凯琼脂平板, 分别挑取培养基中表现不同的单个菌落于麦康凯培养基上培养, 直至无杂菌生成, 纯化, 将纯化后的细菌保存。使用 MALDI-TOF-MS 法对纯化后的细菌进行鉴定, 将

待测菌液与基质分别点在点样板上, 溶剂挥发后形成共结晶, 在激光照射下基质吸收能量, 样品解吸, 基质与样品之间发生电荷转移使样品分子电离。根据到达检测器飞行时间的不同, 通过测定离子质荷比 (m/z) 与离子飞行时间的正比关系测量离子分子量, 通过专业软件分析, 确定特异性指纹图谱, 进而鉴定待测细菌^[2]。

1.2.5 基因检测 PCR 反应体系总体积为 25 μL, 反应程序为 95 ℃ 预加热 5 min; 95 ℃ 变性 30 s, 退火温度如表 1 所示, 时间为 45 s, 72 ℃ 延伸 1 min, 35 个循环; 72 ℃ 充分延伸 10 min。氯霉素类、四环素类、磺胺类、喹诺酮类药物耐药基因及 GFP 基因片段的引物如表 1 所示。市售样品检测表 1 中的耐药基因, 种植模型采集的样品在检测 GFP 基因片段的同时使用 ERIC-PCR 及 *Ava*I 质粒酶切法分别鉴别内生菌与 BL21 大肠埃希菌的相似性及内生菌质粒同工程菌质粒是否相同。

表 1 耐药基因和 GFP 基因片段的引物类型及序列
Table 1 Primer types and sequences of antibiotic resistant genes and GFP gene fragment

抗菌药物	耐药基因	引物序列(5'→3')	片段大小/bp	退火温度/℃	参考文献
氯霉素类	<i>cmlA</i>	F: GCCAGCAGTGCCGTTTAT	158	55.0	[3]
		R: GGCCACCTCCCAGTAGAA			
四环素类	<i>tetM</i>	F: ACAGAAAGCTTATTATATAAC	171	55.0	[4]
		R: TGGCGTGTCTATGATGTTTCAC			
	<i>tetA</i>	F: GCTACATCCTGCTTGCCCTTC	210	55.0	[5]
		R: CATAGATCGCCGTGAAGAGG			
磺胺类	<i>sul1</i>	F: CACCGGAAACATCGCTGCA	158	57.5	[6]
		R: AAGTTCCGCCGCAAGGCT			
	<i>sul2</i>	F: TCCGGTGGAGGCCGGTATCTGG	190	60.8	[7]
		R: CGGGAATGCCATCTGCCTTGAG			
喹诺酮类	<i>sul3</i>	F: TCCGTTACAGCAATTGGTGCAG	128	60.0	[7]
		R: TTCGTTACGCCTTACACCAGC			
	<i>qnrB</i>	F: GGMATHGAAATTCGCCACTG	264	54.0	[8]
		R: TTTGCGYGYCGCCAGTCGAA			
	<i>qnrS</i>	F: GCAAGTTCATTGAACAGGGT	428	54.0	[8]
		R: TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG			
	<i>oqxA</i>	F: CTCGGCGCGATGATGCT	392	61.0	[9]
		R: CCACTCTTCACGGGAGACGA			
	<i>oqxB</i>	F: TCCTGATCTCCATTAACGCCCA	131	61.0	[8-9]
		R: ACCGGAACCCATCTCGATGC			
	<i>qepA</i>	F: CCAGCTCGGCAACTTGATAC	570	60.0	[10]
		R: ATGCTCGCCTTCCAGAAAA			
GFP 基因片段		F: TAATACGACTCACTATAGGG	264	62.0	[10]
		R: TGCTAGTTATTGCTCAGCGG			

2 结果与分析

2.1 市售小番茄内生菌的分离鉴定及耐药基因的检测

广州市 9 个采样点采集的小番茄果实样品中共分离出 52 株内生细菌菌株,经 MALDI-TOF-MS 鉴定后,分别属于肠杆菌属 *Enterobacter*、泛菌属 *Pantoea*、克雷伯菌属 *Klebsiella*、阪崎肠杆菌属 *Cronobacter* 和伯克霍尔德菌属 *Burkholderia*。肠杆菌属、克雷伯菌属、泛菌属、阪崎肠杆菌属和伯克霍尔德菌属各分离出 18、17、8、8 和 1 株内生菌菌株,所占比例分别为 34.6%、32.7%、15.4%、15.4% 和 1.9%。其中 3 个采样点的小番茄果实样品均检测出各类耐药基因,且均存在较高的内生菌菌株分离率。

52 株已鉴定的内生菌菌株中各耐药基因的总阳性率如下:磺胺类药物耐药基因 *sul1*、*sul2* 和 *sul3* 总阳性率分别为 19.23%、34.61% 和 0;氯霉素类药物耐药基因 *cmlA* 总阳性率为 9.62%;四环素类药物耐药基因 *tetM* 和 *tetA* 总阳性率均为 7.69% 和 7.69%;喹诺酮类药物耐药基因 *qnrS*、*qnrB*、*oqxA*、*oqxB* 和 *qepA* 总阳性率分别为 1.92%、0、57.69%、

92.31% 和 7.69%。从整体耐药基因阳性率结果发现, *oqxA* 和 *oqxB* 基因的检出率较其他耐药基因高,提示小番茄内生菌中 *oqxA* 和 *oqxB* 基因较为流行。

对 52 株已鉴定的内生菌菌株进行各菌属不同耐药基因阳性率的分析,结果如图 1 所示。肠杆菌属主要含有耐药基因 *sul1*、*sul2*、*oqxA* 和 *oqxB*, 阳性率分别为 22.22%、33.33%、44.44% 和 94.44%;克雷伯菌属主要含有耐药基因 *cmlA*、*oqxA* 和 *oqxB*, 阳性率分别为 17.65%、76.47% 和 94.12%;泛菌属主要含有耐药基因 *sul1*、*sul2*、*tetA*、*oqxA*、*oqxB* 和 *qepA*, 阳性率分别为 62.50%、75.00%、37.50%、75.00%、75.00% 和 25.00%;阪崎肠杆菌属主要含有耐药基因 *sul2*、*cmlA*、*tetM*、*oqxA* 和 *oqxB*, 阳性率分别为 50.00%、12.50%、25.00%、25.00% 和 100%;伯克霍尔德菌属同时检出 *sul2*、*qnrS*、*oqxA* 和 *oqxB* 4 种耐药基因,阳性率均为 100%。*oqxA* 和 *oqxB* 耐药基因在分离菌株中分布较广,在多个菌属中同时出现,如在克雷伯菌属同时出现的阳性率为 76.47%(13/17),在泛菌属同时出现的阳性率为 75.00%(6/8),在肠杆菌属同时出现的阳性率也高达 44.44%(8/18)。

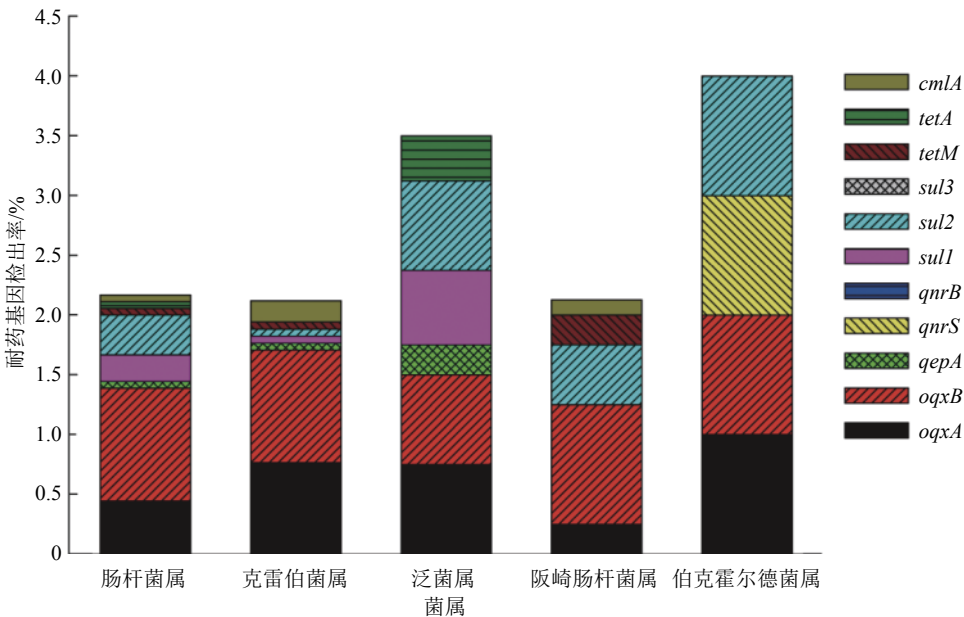


图 1 耐药基因在各个菌属中的分布及检出率

Fig. 1 The distributions and detection rates of antibiotic resistant genes in each positively detected genus

2.2 人工种植模型中 GFP 基因片段检测结果

试验样品表面消毒结果如下: 1) 表面印迹检查无菌; 2) 消毒后的番茄样品浸泡在肉汤中轻微震荡 10 s 取出, 将肉汤置于 37 °C 条件下 120 r·min⁻¹ 震荡培养 48 h, 无菌; 3) 取消毒后最后一次超纯水冲

洗液, 涂布于 LB 培养基在 37 °C 条件下 120 r·min⁻¹ 震荡培养 48 h, 无菌; 4) 6 颗对照组小番茄分别浸泡于相同浓度的 GFP 标记-大肠埃希菌菌液 1 d 后分离的内生菌中未检测到 GFP 基因片段。

样品中内生菌 GFP 基因片段 PCR 检测结果见 <http://xuebao.scau.edu.cn>

表 2。在施加菌液后的第 15 天, 仅在根系样品中分离到含 GFP 基因片段的内生菌; 第 21 天, 叶片和根系样品中均分离到含 GFP 基因片段的内生菌; 第 27 天, 表面喷洒组与根系组的果实样品中均分离到了含 GFP 基因片段的内生菌。ERIC-PCR 显示果实

中的阳性菌与 BL21 大肠埃希菌具相似性, 如图 2 所示。AvaI 质粒酶切法获得 1 500 和 5 000 bp 2 种条带, 与原 GFP 质粒相同, 为同一种质粒。因此果实内阳性菌极有可能与 GFP 标记的 BL21 大肠埃希菌为同一种菌。

表 2 小番茄内生菌 GFP 基因片段的 PCR 检测结果¹⁾
Table 2 PCR detection results of GFP gene fragment of endophytic bacteria in cherry tomato

采样时间	采样部位	对照组			表面喷洒组			根系组		
		样品1	样品2	样品3	样品1	样品2	样品3	样品1	样品2	样品3
第 15 天	果实	+	-	-	-	-	+	-	-	+
	叶片	-	-	-	-	+	+	-	-	-
	根系	+	+	+	+	+	+	+G	+	+
第 21 天	果实	+	-	-	+	+	-	-	-	+
	叶片	+	-	-	-	-	-	+G	+G	+G
	根系	-	+	-	+	+G	+	+G	+G	+G
第 27 天	果实	-	-	+	+G	+	+	+G	-	+
	叶片	-	-	-	+	+	-	+	+	+
	根系	+	-	+	+	+	+	+	-	-

1) “-”表示无菌; “+”表示有菌; “+G”表示有含GFP标记的内生菌

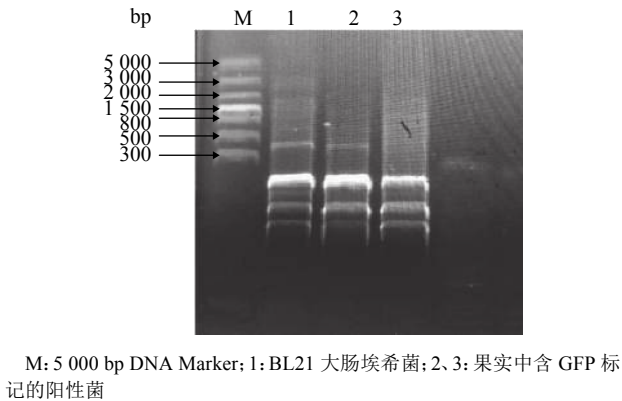


图 2 ERIC-PCR 结果
Fig. 2 Results of ERIC-PCR

3 讨论与结论

本试验采用麦康凯平板进行分离鉴定, 主要分离革兰阴性肠杆菌科内生菌, 经 MALDI-TOF-MS 鉴定, 分离到的 52 株内生菌菌株分别属于肠杆菌属、泛菌属、克雷伯菌属、阪崎肠杆菌属和伯克霍尔德菌属, 这些菌属均属于常见的植物内生菌。李金霞等^[11]从西沙野生尼诺果内同样分离出了泛菌属和伯克霍尔德菌属细菌。值得注意的是本试验喹诺酮类耐药基因 *oqxA* 和 *oqxB* 在各菌属中的总阳性率分别达 57.69% 和 92.31%。杨铜等^[12]发现 2004—2011 年间动物源大肠埃希菌的 *oqxAB* 基因阳性率

http://xuebao.scau.edu.cn

存在明显上升趋势, 2010—2011 年猪中分离的大肠埃希菌 *oqxAB* 基因阳性率最高, 接近 60%。近年来, 肺炎克雷伯菌中 *oqxAB* 基因的阳性率处于较高水平, 李瑞华等^[13]分别在 72 株大肠埃希菌和 49 株肺炎克雷伯菌中检测 *oqxAB* 基因的阳性率, 发现大肠埃希菌中仅为 9.7%, 肺炎克雷伯菌中为 69.4%, Yuan 等^[14]临床分离的肺炎克雷伯菌中 *oqxAB* 的阳性率为 100%。本试验虽然未确定 *oqxA* 和 *oqxB* 的耐药基因含量, 但过量食用含有该基因的小番茄果实极有可能带来风险。

植物内生菌是指在其生活史的某一阶段生活在健康植物的各种组织内, 但没有引起植物组织发生明显病害症状的真菌或细菌。内生菌的产生有 3 种假说^[15]: 1) 通过植物种子传递; 2) 通过降解植物细胞纤维素, 破坏细胞壁, 进入植物体内; 3) 根际菌通过植物侧根的裂缝进入植物。本试验模型采用 GFP 标记排除了从种子进入的可能, 通过 4 种方法的验证, 证明样品表面消毒结果可信。第 27 天表面喷洒组果实样品中分离到的含 GFP 基因片段的内生菌很可能是通过破损的植物组织进入植物内部, 根系处理组分离到的含 GFP 基因片段的内生菌可能是通过根系微生物的内生化作用, 从根系进入植株内部, 再定殖于果实中。蔡学清等^[16]用 GFP 基因标记的内生细菌菌株 BS-2-gfp 和 TB2-gfp 喷雾接

种于荔枝叶片、花和幼果,发现 2 种内生细菌均能在荔枝叶片、花和幼果上定殖,并在各组织内繁殖和在花和幼果间传导,与本文结果相似。ERIC-PCR 和质粒酶切试验结果显示,人工种植模型果实样品中的阳性菌与 GFP 标记的 BL21 大肠埃希菌为同一种菌。结合上述试验结果,揭示了 GFP 标记的 BL21 大肠埃希菌从根系进入植株再转移到果实内部的潜在可能性。

耐药基因的传播以质粒介导传播最为广泛,尤其是喹诺酮类耐药基因,采样调查发现市售番茄果实受喹诺酮类耐药基因污染严重,故设计以 GFP 基因片段标记质粒的大肠埃希菌模拟实际生产生活中质粒携带耐药基因的人畜共患菌,探究其是否能通过植物内生生化等作用进入可生食性果实中。试验结果表明,携带 GFP 标记的大肠埃希菌可通过根系进入植株,在植株不同部位定殖,生食携带耐药基因的果蔬对人类健康有潜在的威胁作用。

本文通过对广州市 9 个市场采集的小番茄分离其内生菌,检测磺胺类、四环素类、氯霉素类和喹诺酮类等药物耐药基因,发现小番茄内生菌中喹诺酮类耐药基因 *oqx*A 和 *oqx*B 的检出率高;建立 GFP 标记-大肠埃希菌小番茄人工种植模型研究耐药基因的转移,表明 GFP 标记-大肠埃希菌可通过某种途径转移到小番茄内,揭示耐药基因有可能通过施肥等方式进入到农作物、果蔬等植物内,通过食物链影响人类健康。

参考文献:

[1] 朱育菁,王秋红,陈璐,等. 龙眼内生菌的分离与脂肪酸鉴定[J]. 亚热带植物科学, 2008, 37(4): 22-25.

[2] 陈信忠,龚艳清,郭书林. MALDI-TOF-MS 在病原微生物鉴定中的研究进展[J]. 生物技术通报, 2012(6): 43-48.

[3] LI J, SHAO B, SHEN J, et al. Occurrence of chloramphenicol-resistance genes as environmental pollutants from swine feedlots[J]. Environ Sci Technol, 2013, 47(6): 2892-2897.

[4] YOU Y, HILPERT M, WARD M J. Detection of a common and persistent *tet*(L)-carrying plasmid in chicken-

waste-impacted farm soil[J]. Appl Environ Microbiol, 2012, 78(9): 3203-3213.

[5] NG L K, MARTIN I, ALFA M, et al. Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes[J]. Mol Cell Probes, 2001, 15(4): 209-215.

[6] HE T, SHEN J, SCHWARZ S, et al. Characterization of a genomic island in *Stenotrophomonas maltophilia* that carries a novel *floR* gene variant[J]. J Antimicrob Chemother, 2015, 70(4): 1031-1036.

[7] PEI R, KIM S C, CARLSON K H, et al. Effect of river landscape on the sediment concentrations of antibiotics and corresponding antibiotic resistance genes (ARG)[J]. Water Res, 2006, 40(12): 2427-2435.

[8] CATTOIR V, WEILL F X, POIREL L, et al. Prevalence of *qnr* genes in *Salmonella* in France[J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 59(4): 751-754.

[9] KIM H B, WANG M, PARK C H, et al. *oqxAB* encoding a multidrug efflux pump in human clinical isolates of Enterobacteriaceae[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(8): 3582-3584.

[10] XIA L N, LI L, WU C M, et al. A survey of plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes from *Escherichia coli* isolates and their dissemination in Shandong, China[J]. Foodborne Pathog Dis, 2010, 7(2): 207-215.

[11] 李金霞,曹艳花,白飞荣,等. 西沙野生诺尼果内生菌的分离与鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(3): 68-75.

[12] 杨铜,刘健华. 不同来源大肠埃希菌中质粒介导的喹诺酮类耐药基因的流行性调查[C]//中国药理学会第十一届全国化疗药理学术研讨会论文集. 北京:《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社, 2012: 290-293.

[13] 李瑞华,刘亮,聂大平,等. *oqxAB* 基因在大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌中的流行及传播[J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(6): 456-459.

[14] YUAN J, XU X, GUO Q, et al. Prevalence of the *oqxAB* gene complex in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* clinical isolates[J]. J Antimicrob Chemother, 2012, 67(7): 1655-1659.

[15] 徐亚军. 植物内生菌资源多样性研究进展[J]. 广东农业科学, 2011(24): 149-152.

[16] 蔡学清,陈炜,林娜,等. 内生细菌在荔枝体内的定殖及其防病保鲜功能[J]. 应用生态学报, 2011, 22(8): 2140-2146.

【责任编辑 李庆玲】