

高温处理构建不感染内生真菌 羽茅种群的方法探讨

李夏 韩荣 任安芝 高玉葆*

(南开大学生命科学学院 天津 300071)

摘要: 为了寻求构建禾草内生真菌不感染种群的方法, 选用羽茅为试验材料, 研究了高温处理对内生真菌和宿主活力的影响。结果表明: 60°C 高温处理种子能有效杀灭种子内的内生真菌, 处理时间为 30 d 时, 所有检测幼苗均不感染内生真菌。同时高温处理对种子发芽率、发芽势和发芽指数均无显著影响, 且在幼苗生长初期对根的生长有促进作用。与其他杀菌方法相比, 高温处理的方法具有成本低、技术简单、环境友好等优点, 是一种理想的构建羽茅无菌种群的方法。

关键词: 内生真菌, 高温处理, 羽茅

Using High-temperature Treatment to Construct Endophyte-free *Achnatherum sibiricum*

LI Xia HAN Rong REN An-Zhi GAO Yu-Bao*

(College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: In this study high temperature (60°C) treatment was used to construct endophyte-free populations of *Achnatherum sibiricum* (L.) Keng. The results indicated that high temperature treatment was effective in killing the endophyte in the seeds. After 30 days' treatment, seedlings were all uninfected. At the same time, high temperature treatment had no adverse effect on germination rate, germinating potential and germination index of treated seeds. On the contrary, high temperature improved initial root growth of the treated seedlings. Compared to other methods, high temperature treatment had some advantages such as cost low, procedure simple and environment friendly. Therefore, this method was an effective way to construct endophyte-free populations of *Achnatherum sibiricum*.

Keywords: Endophyte, High temperature treatment, *Achnatherum sibiricum* (L.) Keng

早在 19 世纪, 人们已经在禾本科植物体内发现了内生真菌, 之后人们对更多的植物进行了研究, 现已发现感染内生真菌的植物在自然界是普遍存在的^[1-2]。内生真菌和植物共生首先对真菌是有利的,

在许多情况下对植物也有益处^[3]。大量研究表明, 内生真菌不仅可以促进高羊茅和黑麦草等禾草宿主的生长、提高宿主植物对干旱等非生物胁迫的抵抗能力, 而且还可以起到阻抑食草动物和昆虫的采食、

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 30970460, 30770348); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金项目(No. 20090031110026); 教育部留学回国人员科研启动基金项目(No. 2009-2011)

* 通讯作者: Tel: 86-22-23508249; 信箱: ybgao@mail.nankai.edu.cn

收稿日期: 2010-03-10; 接受日期: 2010-05-19

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

抑制病原真菌侵染的作用^[4-6]。

为了阐明内生真菌对宿主植物的作用,首先必须获得内生真菌感染和非感染的实验植物种群,而在自然界中,禾本科植物内生真菌的感染率往往比较高,有时甚至达到 100%^[7],构建这些植物的实验种群,需要通过物理、化学等人工手段杀灭内生真菌以获得不感染种群。目前国际上通用的化学方法是杀真菌剂法,只是不同研究者所采用的杀真菌剂有所不同。常用的杀菌剂有苯菌灵、敌力脱 25%乳油(Tilt 250EC)、苯丙咪唑酮和麦角醇合成抑制剂(EBI)等^[8]。杀菌剂的使用虽然杀灭了禾草中的内生真菌,实现了构建非感染实验种群的目的,但杀菌剂对植物本身多有一定的不良影响^[9],尽管目前研究者多采用处理后 2 代以上的无性系构建种群以消除杀菌剂对宿主植物的影响,然而杀菌剂的使用依然存在着其他一系列的生态问题,如农药残留、污染栽培基质、影响其他物种及人类健康等^[6,9]。

Whelty 等^[10]研究表明,湿热作用可以杀死高羊茅种子中的内生真菌。在高湿环境下,高温对内生真菌的伤害性增强^[11-12], Rolston 等^[13]发现真菌比植物种子对高温更敏感。因此研究者们提出采用水浴加热的方法进行内生真菌的灭活,遗憾的是宿主植物活力下降也很明显^[14-15]。考虑到种子活力对湿度的反应比对温度更为敏感^[16],本研究将采取单一的高温处理,通过对不同的高温持续时间下内生真菌的活力和种子本身活力的比较研究,寻求既能有效杀灭宿主体内的内生真菌,又对种子本身活力影响小,而且环境友好的杀菌方法。

本研究选取内蒙古草原常见伴生种羽茅 [*Achnatherum sibiricum* (L.) Keng] 为试验材料,羽茅是禾本科芨芨草属中的一种多年生草本植物,生态幅较宽,多见于我国东北、华北和黄土高原,内蒙古的各类草场中也较为常见。我们课题组连续多年的调查发现,分布于内蒙古中东部草原的不同地理种群的羽茅均感染内生真菌,而且感染率普遍很高,接近 100%^[7],要获得不感染内生真菌的羽茅种群只有通过人工灭菌的方法。

1 试验方法

1.1 试验材料

本试验所用的植物材料羽茅 [*Achnatherum sibiricum* (L.) Keng] 取自中国农业科学院呼伦贝尔草

原生态系统国家野外实验站。种子的采集采取随机方式,在采集前首先对植株的叶鞘进行内生真菌的检测,以确定染菌状况。内生真菌的检测参考 Latch 等的苯胺兰染色法^[17]。撕取羽茅叶鞘内侧上表皮,撕裂面朝下置于载玻片上,滴 1-2 滴苯胺兰溶液于叶表皮上,然后将盖玻片置于液滴上轻压,染色 5 min 后置于光学显微镜下观察。若发现沿植物细胞间隙纵向生长、呈波浪状或线状且极少分枝的菌丝出现,则认为该羽茅含有内生真菌。若 3 个分蘖中均不含有上述形态的内生真菌,则认为该植物未被感染。采集染菌植株的所有成熟种子,并对种子的内生真菌感染情况进行进一步检测,以确保供试种子全部感染内生真菌。

1.2 试验方法

本研究采取单一的高温处理方式,处理温度为 60°C,高温持续时间分别为 5、10、15、20、25、30 d 共 7 个处理。达到预定处理时间后,将种子从烘箱取出,随机挑取 100 粒用 50%硫酸和次氯酸钠(有效氯浓度不低于 0.5%)表面消毒,然后摆放于内有湿润滤纸的、直径 11 cm 的培养皿中,于 25°C 温箱中进行培养,每个处理设 4 个重复。同时,本研究也对实验种子进行了目前通用的水浴加热处理,以与高温处理进行比较,水浴处理流程为:43°C 水浴 15 min,然后再 57°C 水浴 25 min^[18]。对照为放于 4°C 冰箱中保存的种子。

1.3 生长指标的测定

每天对实验种子的发芽情况进行观察,分别统计开始发芽时间和每天发芽数,并计算发芽率、发芽势、发芽指数和平均发芽日数等指标,其中发芽指数和平均发芽日数分别按以下公式计算^[19-20]:

发芽指数(GI) = $\Sigma Gt/Dt$, 平均发芽日数(d) = $\Sigma (Gt \times Dt) / \Sigma Gt$, 其中 Σ 是积加符号, Gt 为 t 日发芽数, Dt 为相应的天数。

待种子萌发后的第 10 和 30 天,每组供试幼苗中随机选取 20 株,分别对其根长和茎叶长进行测量。

1.4 染菌率的测定

在种子萌发后的第 10 天,将幼苗移栽至装有蛭石的塑料盆内,在种子发芽后的第 50 天,对幼苗进行内生真菌感染率的首次检测,3 个月之后,所有的幼苗均长出新的分蘖,此时对新生的分蘖又逐株进

行了检测,此外我们还对染菌幼苗和高温处理后的不染菌幼苗的叶鞘进行了内生真菌的分离,以确保检测结果的准确性。染菌率的检测使用苯胺蓝染色光镜观察法^[17]。

1.5 数据处理

试验结果用 SPSS 软件进行方差分析。

2 结果

2.1 高温处理对宿主植株染菌率的影响

不同高温处理时间对幼苗染菌率的影响见图 1。从图中可以看出,短时间高温处理对幼苗染菌率基本没有影响,处理 5 d 的植株染菌率与对照相同。随着处理天数的增加,幼苗的染菌率显著下降,到处理 15 d 时,染菌率已低于 40%,而到 30 d 时,所有检测幼苗均为无菌。染菌率和高温处理时间之间具有显著的线性负相关关系。

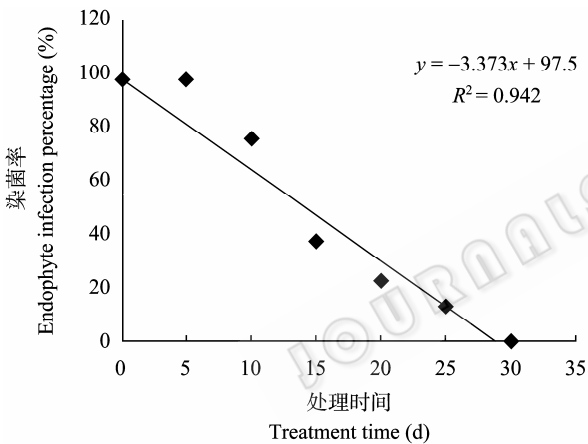


图 1 高温处理对幼苗染菌率的影响

Fig. 1 The effect of high temperature treatment on endophyte infection percentage of seedlings

3 个月之后,所有的幼苗均长出新的分蘖,此时我们对新生的分蘖又逐株进行了检测,在染菌植株叶鞘中检测到内生真菌。此外我们还对染菌幼苗和高温处理后的不染菌幼苗的叶鞘进行了内生真菌的分离,结果与我们的检测结果吻合(图 2)。

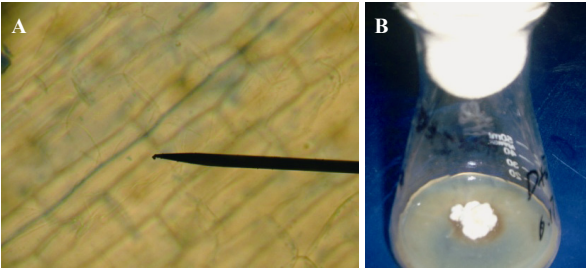


图 2 与羽茅共生的内生真菌

Fig. 2 *Neotyphodium* endophyte associated with *Achnatherum sibiricum*

注: A: 存在于叶鞘中的菌丝(× 400); B: 从叶鞘分离出的内生真菌菌落。

Note: A: Mycelium in the sheath of endophyte-infected plant (× 400); B: Endophyte colony isolated from the sheath.

2.2 对种子发芽参数的影响

不同温度处理对羽茅种子发芽参数的影响见表 1。从表中可以看出,60℃ 高温处理对羽茅的种子发芽率、发芽势和发芽指数在所有处理时间内均无显著影响。而对平均发芽日数,高温的影响随着处理时间的不同而不同,短时间处理有使平均发芽日数增加的趋势,但随着处理时间的延长,这一负效应趋于减弱,到处理 30 d 时,平均发芽日数与对照已无显著差异。

与之相对照,水浴处理使种子的发芽率、发芽势和发芽指数显著下降,并且显著增加了平均发芽日数。

表 1 不同高温处理时间和水浴对种子发芽参数的影响					
Table 1 The effect of high temperature treatment and water bath on germination parameters of seeds of <i>Achnatherum sibiricum</i>					
试验处理 Treatment		发芽率 Germination rate (%)	发芽势 Germinating potential (%)	平均发芽日数 Mean germination time (d)	发芽指数 Germination index
60℃	对照 Control	97.8 ± 0.00a	97.5 ± 0.01a	7.82 ± 0.06f	88.61 ± 3.19a
	5 d	95.0 ± 0.02a	90.3 ± 0.03a	9.30 ± 0.09d	65.78 ± 4.81b
	10 d	96.3 ± 0.01a	93.0 ± 0.02a	11.25 ± 0.16c	71.64 ± 6.90ab
	15 d	95.5 ± 0.03a	93.0 ± 0.04a	11.99 ± 0.14b	83.13 ± 8.40ab
	20 d	97.3 ± 0.01a	94.3 ± 0.02a	11.07 ± 0.15c	80.28 ± 6.63ab
	25 d	98.8 ± 0.01a	96.0 ± 0.02a	8.54 ± 0.10e	79.85 ± 4.00ab
	30 d	95.8 ± 0.01a	94.3 ± 0.01a	8.04 ± 0.07f	75.48 ± 3.11ab
水浴 Water bath		81.0 ± 0.06b	81.0 ± 0.06b	12.43 ± 0.07a	40.07 ± 4.23c

注: 同一列中不同小写字母代表不同处理组差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same row represent significant ($P < 0.05$) differences between treatment groups.

2.3 对宿主植物幼苗生长的影响

高温处理对幼苗生长的影响与幼苗的生长发育阶段有关(表 2), 在幼苗生长初期(10 d), 高温处理显著促进了幼根的生长, 而对茎叶的生长无显著影响。随着幼苗的生长, 高温处理对根长的正效应趋于消失, 除处理 25 d 时根长高于对照外, 其他时间

处理对幼苗根的生长均没有显著影响; 而对于茎叶长而言, 除高温 20 d 的处理显著高于对照外, 其他时间处理与对照均无显著差异。

与之相对照, 水浴处理对幼苗早期的茎叶生长有显著的不良影响, 但随着幼苗生长时间的延长, 这一负效应趋于消失。

表 2 不同高温处理时间和水浴对幼苗生长的影响				
Table 2 The effect of high temperature treatment and water bath on seedling growth of <i>Achnatherum sibiricum</i>				
试验处理 Treatment		10 d (cm)		30 d (cm)
		根长 Root length	茎叶长 Stem and leaf length	根长 Root length
对照 Control		3.1 ± 0.19de	4.3 ± 0.27a	13.0 ± 0.55bcd
	5 d	3.9 ± 0.06bc	4.3 ± 0.13a	12.3 ± 0.57cd
	10 d	3.5 ± 0.33cd	4.9 ± 0.19a	13.2 ± 0.30bcd
	60°C 15 d	4.9 ± 0.29a	5.2 ± 0.43a	13.3 ± 0.21bc
	20 d	4.6 ± 0.15ab	5.0 ± 0.21a	14.7 ± 0.25ab
	25 d	4.6 ± 0.31ab	4.8 ± 0.29a	15.0 ± 0.67a
	30 d	4.5 ± 0.29ab	4.7 ± 0.43a	13.8 ± 0.66abc
水浴 Water bath		2.6 ± 0.13e	3.2 ± 0.08b	10.9 ± 0.63d
				11.2 ± 0.20cd

注: 同一列中不同小写字母代表不同处理组差异显著($P < 0.05$).
Note: Different lowercase letters in the same row represent significant ($P < 0.05$) differences between treatment groups.

3 结论与讨论

3.1 烘烤对内生真菌及其宿主的影响

3.1.1 对宿主的影响: 发芽率、发芽势和发芽指数均是种子活力的标志, 上述参数高, 则表明种子活力高。而平均发芽日数值愈小, 表明种子发芽愈快, 种子活力愈高。本研究中高温处理在所有处理时间内对宿主种子的发芽率、发芽势和发芽指数均无显著影响, 平均发芽日数在处理 30 d 时与对照也无显著差异。相似结果也为其他学者所报道, 如 Dayamba 等^[21]发现热激对禾本科物种的发芽参数无影响。董晓飞等^[22]也发现, 70°C 干热处理既可在一定程度上起到杀灭表面菌的目的, 又不影响种子的生活力。

3.1.2 对内生真菌的影响: 大量研究表明, 环境条件对内生真菌的影响很大。Gandel 等^[23]研究发现, 在较低的温度下, 内生真菌和种子的活力都较高, 而高温和高湿条件下, 内生真菌和植物种子活力都下降很快, 但对内生真菌的影响更大。Rolston 等^[24]研究不同储藏条件下黑麦草内生真菌活力时发现, 温度和种子含水量的控制对保持内生真菌的活力都是十分重要的, 内生真菌比种子对高温更敏感。本

研究中除处理 5 d 的染菌率与对照相同外, 随着处理时间的增加, 内生真菌的感染率不断降低。而高温处理除对种子的平均发芽日数有影响外, 对种子的其他发芽指标均无显著影响, 说明内生真菌比种子对温度更敏感, 且 60°C 高温处理能有效地杀灭茅体内的内生真菌。

环境条件对内生真菌的影响通常是通过检测植物体内内生真菌的感染状况来决定的, 关于植物体内内生真菌的检测方法, 目前通用的是苯胺蓝染色法, 为了保证检测结果的准确性, 研究者也采用 2 种方法互相验证或采用一种检测方法进行多次检测。其他的检测方法包括孟加拉红染色法^[25-26]、酶联免疫检测法^[27-28]以及 PCR 检测法^[29], 本研究虽只采用了一种检测方法, 但对高温处理过的种子长出的实生幼苗以及新生分蘖分别进行了 2 次检测, 并取叶鞘对其中的内生真菌进行了分离, 因而能够保证检测的准确性。

3.2 高温处理与其他处理方法的比较

目前国际上有很多关于剔除宿主内生真菌的研究, 概括起来可分为化学杀菌法和物理杀菌法两种。化学杀菌法选择用杀菌剂进行杀菌。Leyronas 等^[9]使用 4 种杀菌剂对高羊茅和黑麦草的种子进行

了杀菌实验,发现灭菌唑是最有效的杀菌剂,但是毒性太大,种子发芽率从 98%降低到 89%;双苯三唑醇和氯唑唑对发芽的负效应较小,但杀菌效果也较差;咪鲜胺能较好地平衡高杀菌率和低毒性,杀菌率达到了 80%以上,且在试验中对一些种子发芽率没有影响,另一些种子发芽率降低到 80%以下,是较适合的杀菌剂。尽管如此,采用杀菌剂只能获得低感染种群,而不是不感染种群,同时化学药剂的毒性也不可忽略。

物理杀菌法中目前被较多采用的是水浴加热法。水浴加热的方法虽然能杀灭内生真菌,但也显著影响了种子的发芽和幼苗生长^[14-15]。较长时间湿热作用对种子生活物质也有一定的破坏。Williams^[14]对杀灭高羊茅内生真菌的种子处理方法进行了研究,发现 55℃ 水浴 20 min,有 95%的内生真菌被杀死,但发芽率也显著降低,从 94.8%降到 83.1%。本研究中水浴处理同样显著降低了羽茅种子的活力,因此水浴加热法也不是一种理想的方法,尤其在种源紧缺的情况下更为如此。

本研究发现 60℃ 高温处理能有效杀灭种子内的内生真菌,高温处理种子 15 d 后,宿主染菌率已低于 40%,而处理 30 d 时,所有检测幼苗均为无菌。同时,高温处理对种子发芽率、发芽势和发芽指数没有显著影响,且在幼苗生长初期对根的生长有促进作用,与干热处理相比,湿热对幼苗会产生更大的影响^[14]。此外,温度处理与杀菌剂相比具有成本低、技术简单的优点。因此,就目前来看,高温处理是最具有应用潜力的一种杀菌方法。

参 考 文 献

- [1] Leyronas C, Raynal G. Presence of *Neotyphodium*-like endophytes in European grasses. *Annals of Applied Biology*, 2001, **139**(1): 119–127.
- [2] Clay K, Schardl C. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *American Naturalist*, 2002, **160**(4): 99–127.
- [3] Canals RM, San Emeterio L, Oreja A. Chances of loss of fungal endophytes in agronomic grasses: a case-study for *Lolium rigidum*. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2008, **127**(1/2): 146–152.
- [4] Carroll G. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology*, 1988, **69**(1): 2–9.
- [5] Kalburtji K, Mosjidis JA. Effects of *Sericea lespedeza* residues on cool-season grasses. *Journal of Range Management*, 1993, **46**(4): 315–319.
- [6] Siegel MR. *Acremonium* endophytes: our current state of knowledge and future direction for search. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1993, **44**(1/4): 301–321.
- [7] 张欣, 李熠, 魏宇昆, 等. 内蒙古中东部草原羽茅 *Epichloë* 属内生真菌的分布及 rDNA-ITS 序列系统发育. *生态学报*, 2007, **27**(7): 2904–2910.
- [8] Saiga S, Kodama Y, Takahashi H, et al. Endophyte removal by fungicides from ramets of perennial ryegrass and tall fescue. *Grassland Science*, 2003, **48**(6): 504–509.
- [9] Leyronas C, Mériaux B, Raynal G. Chemical control of *Neotyphodium* spp. endophytes in perennial ryegrass and tall fescue seeds. *Crop Science*, 2006, **46**(1): 98–104.
- [10] Welty RE, Azevedo MD. Survival of endophyte hyphae in seeds of tall fescue stored one year. *Phytopathology*, 1985(75): 1331.
- [11] Latch GCM, Christensen MJ. Ryegrass endophyte, incidence, and control. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 1982(25): 443–448.
- [12] Welty RE, Azevedo MD, Cooper TM. Influence of moisture content, temperature, and length of storage on seed germination and survival of endophytic fungi in seeds of tall fescue and perennial ryegrass. *Phytopathology*, 1987(77): 893–900.
- [13] Rolston MP, Stewart AV, Latch GCM, et al. Endophytes in New Zealand grass seeds: occurrence and implications for conservation of grass species. *New Zealand Journal of Botany*, 2002(40): 365–372.
- [14] Williams MJ, Backman PA, Clark EM, et al. Seed treatments for control of the tall fescue endophyte *Acremonium coenophialum*. *Plant Disease*, 1984(68): 49–52.
- [15] Siegel RM, Latch GCM, Johnson MC. *Acremonium* fungal endophytes of tall fescue and perennial ryegrass: significance and control. *Plant Disease*, 1985, **69**(2): 179–183.
- [16] Hanley ME, Lamont BB. Heat pretreatment and the germination of soil-and canopy-stored seeds of south-western Australian species. *Acta Oecologica*, 2000, **21**(6): 315–321.
- [17] Latch C, Christensen M. Artificial infection of grasses with endophytes. *Annals of Applied Biology*, 1985, **107**(1): 17–24.
- [18] 任安芝, 高玉葆, 周芳, 等. 黑麦草-内生真菌共生体对磷缺乏的生理生态反应. *生态学报*, 2007, **27**(12): 5433–5440.
- [19] 文卿琳, 王兴鹏. 温度对棉花种子萌发的影响. *安徽农业科学*, 2008, **36**(9): 3513–3515.
- [20] 史威威, 董宽虎, 侯志兵, 等. PEG-6000 引发对白羊草种子发芽的影响. *草原与草坪*, 2007(6): 26–28.
- [21] Dayamba SD, Tigabu M, Sawadogo L, et al. Seed germi-

- nation of herbaceous and woody species of the Sudanian savanna-woodland in response to heat shock and smoke. *Forest Ecology and Management*, 2008, **256**(3): 462–470.
- [22] 董晓飞, 李明, 姜英, 等. 干热处理对番茄种带病菌的防治效果. *山西农业科学*, 1998, **26**(1): 49–51.
- [23] Gundel PE, Martínez-Ghersa MA, Garibaldi LA, *et al.* Viability of *Neotyphodium* endophytic fungus and endophyte-infected and noninfected *Lolium multiflorum* seeds. *Botany*, 2009, **87**(1): 88–96.
- [24] Rolston MP, Hare MD, Moore KK, *et al.* Viability of *Lolium* endophyte fungus in seed stored at different seed moisture contents and temperatures. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 1986(14): 297–300.
- [25] Saha DC, Jackson MA, Johnson-Cicalese JM. A rapid staining method for detection of endophytic fungi in turf and forage grasses. *Phytopathology*, 1988, **78**(2): 237–239.
- [26] Belanger FC. A rapid seedling screening method for determination of fungal endophyte viability. *Crop Science Society of America*, 1996, **36**(2): 460–462.
- [27] Johnson MC, Pirone TP, Siegel MR, *et al.* Detection of *Epichloë typhina* in tall fescue by means of enzyme-linked immunosorbent assay. *Phytopathology*, 1982, **72**(6): 647–650.
- [28] Welty RE, Milbrath GM, Faulkenberry D, *et al.* Endophyte detection in tall fescue seed by staining and ELISA. *Seed Science and Technology*, 1986, **4**(1): 105–116.
- [29] 苏丹, 任安芝, 高玉葆. 黑麦草内生真菌感染状况的检测及定量分析. *微生物学通报*, 2006, **33**(5): 12–16.

征订启事

2011 年部分生物、农林类学术期刊联合征订表(2-2)

刊物名称	邮发代号	刊 期	年价(元)	网 址	E-mail
微生物学通报	2-817	月刊	576	http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn	tongbao@im.ac.cn
微生物学报	2-504	月刊	660	http://journals.im.ac.cn/actamicrocn/	actamicro@im.ac.cn
武汉植物学研究	38-103	双月刊	180	http://whzwxxyj.cn	editor@rose.whiob.ac.cn
畜牧兽医学报	82-453	月刊	360	www.xmsyxb.com	xmsyxb@263.net
遗传	2-810	月刊	600	www.chinagene.cn	yczz@genetics.ac.cn
遗传学报	2-819	月刊	600	www.jgenetgenomics.org	jgg@genetics.ac.cn
云南植物研究	64-11	双月刊	150	http://journal.kib.ac.cn	bianji@mail.kib.ac.cn
植物遗传资源学报	82-643	双月刊	120	www.zwyczy.cn	zwyczyxb2003@163.com
植物学报	2-967	双月刊	480	www.chinbullbotany.com	cbb@ibcas.ac.cn
中国实验动物学报	2-748	双月刊	120	www.calas.org.cn	A67761337@126.com
中国生态农业学报	82-973	双月刊	210	www.ecoagri.ac.cn	editor@sjziam.ac.cn
中国生物工程杂志	82-673	月刊	960	www.biotech.ac.cn	biotech@mail.las.ac.cn
中国水产科学	18-250	双月刊	180	www.fishscichina.com	zgscckx@cafs.ac.cn
中国水稻科学	32-94	双月刊	120	www.ricesci.cn	cjrs@263.net
作物学报	82-336	月刊	600	www.chinacrops.org/zwxp	xbzw@chinajournal.net.cn