

喜树内生放线菌多样性及抗菌活性评价

朱文勇¹ 李洁¹ 赵国振¹ 黄海玉¹ 秦盛^{1,2} 赵立兴¹ 徐丽华^{1*}

(1. 云南大学 云南省微生物研究所 云南省生物资源保护与利用重点实验室 云南 昆明 650091)

(2. 徐州师范大学 江苏省药用植物生物技术重点实验室 江苏 徐州 221116)

摘要: 从采集于云南大学的喜树中分离到了 90 株内生放线菌, 经 16S rRNA 基因序列分析鉴定, 分布于 6 个科 10 个属。对所有分离到的菌株进行抗菌活性检测, 发现 33.4% 的菌株有抗菌活性。通过 PCR 方法, 检测了 PKS I、PKS II 和 NRPS 基因, 阳性检出率分别为 31.1%、48.9% 和 45.6%。

关键词: 喜树, 内生放线菌, 多样性, 活性

Diversity and Antimicrobial Activities of Endophytic Actinomycetes Isolated from *Camptotheca acuminata* Decne.

ZHU Wen-Yong¹ LI Jie¹ ZHAO Guo-Zhen¹ HUANG Hai-Yu¹ QIN Sheng^{1,2}
ZHAO Li-Xing¹ XU Li-Hua^{1*}

(1. Yunnan Institute of Microbiology and Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-resources,
Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091, China)

(2. The Key Laboratory of Biotechnology for Medicinal Plant of Jiangsu Province, Xuzhou Normal University,
Xuzhou, Jiangsu 221116, China)

Abstract: Ninety endophytic actinomycetes were isolated from surface-sterilized samples of *Camptotheca acuminata* Decne. collected from Yunnan University. Results of 16S rRNA gene sequences analysis showed that they belong to 10 genera, 6 families. Among them, 33.4% of endophytic actinomycete cultures presented antimicrobial activity. The polyketide synthases I (PKS-I), polyketide synthases II (PKS-II) and non-ribosomal peptide synthase (NRPS) sequences were respectively detected by PCR in 31.1%, 48.9% and 45.6% of tested strains.

Keywords: *Camptotheca acuminata* Decne., Endophytic actinomycetes, Diversity, Activities

喜树(*Camptotheca acuminata* Decne.), 为珙桐科(Nyssaceae)喜树属(*Camptotheca*) 多年生亚热带落叶阔叶乔木, 此属仅喜树一种植物, 是我国特有种^[1], 从中发现了抗癌物质喜树碱(Camptothecin, CPT), 具有独特的抗癌机理而倍受关注。但有限的喜树资源限制了喜树碱及其衍生物的应用。1993 年

Stierle 等^[2]从短叶紫杉中发现产紫杉醇的内生真菌, 表明植物内生菌具有产生与宿主同样次生代谢产物的能力。微生物因其易培养控制、成本低、生长快等特点, 使大规模工业生产成为可能, 从而可以解决植物资源短缺的问题。近年来的大量研究表明, 绝大多数植物中都存在内生菌, 具有丰富的生物多

样性和活性多样性^[3-4], 并且从植物内生菌代谢产物中分离到的活性物质, 大约 51%是未知的新化合物, 而从土壤微生物代谢产物中分离新化合物的几率只有 38%^[5]。目前, 植物内生菌的研究主要集中在内生真菌, 对内生放线菌的报道较少, 而放线菌是一类产生抗生素及生物活性物质最多的微生物资源, 当前临床和农牧业上应用的抗生素有 60%以上是放线菌生产的^[6]。放线菌在植物中也广泛存在^[7-8], 并且内生放线菌因其所处的特殊环境很可能产生新型的天然活性产物^[9]。我们通过对喜树内生放线菌的进行分离, 物种多样性分析和抗菌活性评价, 以及 PKS I、PKS II 和 NRPS 基因检测, 为新型天然产物的寻找与发现提供物种基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品: 喜树的根、茎、叶, 于 2008 年 11 月采自云南大学东陆院。

1.1.2 主要试剂和仪器: 溶菌酶、蛋白酶、dNTPs、*Taq* 酶等购自上海生工生物工程技术服务有限公司, Marker 购自宝生物工程(大连)有限公司, 其余试剂为国产分析纯试剂。电泳仪购自 Bio-Rad 公司, PCR 仪购自德国 Biometra 公司。

1.1.3 引物: 聚酮类 I 型(PKS I): K1F (5'-TSAAGT CSAACATCGGBCA-3'), M6R (5'-CGCAGGTTSCSG TACCAGTA-3')^[10]; II 型(PKS II): KSaF (5'-TSGCST GCTTGGAYGCSATC-3'), KSaR (5'-TGGAANCCGC CGAABCCTCT-3')^[11]; 非核糖体含硫多肽类(NRPS): A3F (5'-GCSTACSYSATSTACACSTCSGG-3'), A7R (5'-SASGTCVCCSGTSCGGTAS-3')^[10]。引物购自上海生工生物工程技术服务有限公司。

1.1.4 指示菌株: 大肠杆菌(*Escherichia coli*) Ym 1011、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) Ym 1030、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) Ym 1005、白色念珠菌(*Candida albicans*) Ym 2005、串珠镰孢菌(*Fusarium moniliforme*) Ym 3067、苹果炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*) Ym 3084, 由云南大学云南省微生物研究所提供。

1.1.5 分离培养基: 丙酸钠培养基: 丙酸钠 2 g, NH_4NO_3 0.1 g, KCl 0.1 g, MgSO_4 0.05 g, FeSO_4 0.05 g, 琼脂 15 g, 去离子水 1 L, pH 7.2。柠檬酸盐培养基: 柠檬酸 0.12 g, 柠檬酸铁胺 0.12 g, NaNO_3 1.5 g, K_2HPO_4 0.4 g, MgSO_4 0.1 g, CaCl_2 0.05 g, EDTA 0.02 g, Na_2CO_3 0.2 g, 琼脂 15 g, 去离子水 1 L, pH 7.2。

TWYE 培养基^[12]: 酵母浸膏 0.25 g, K_2HPO_4 0.5 g, 琼脂 15 g, pH 7.2。每种培养基中均加入如下抑制剂(均为终浓度): 制霉菌素 50 mg/L, 萘啶酮酸 25 mg/L, 重铬酸钾 50 mg/L。

1.1.6 摇瓶发酵培养基: 可溶性淀粉 5.0 g, 葡萄糖 10.0 g, 蛋白胨 5.0 g, 酵母浸膏 5.0 g, NaCl 4 g, K_2HPO_4 0.5 g, MgSO_4 0.5 g, CaCO_3 2 g, 去离子水 1 L, pH 7.0。

1.1.7 抗菌实验培养基: 细菌: LB 培养基^[13]; 真菌: PDA 培养基^[14]。

1.2 方法

1.2.1 分离方法: 将 1 g 植物样品用自来水彻底清洗植物表面的泥土, 装入三角瓶并用超声波清洗, 直到水澄清为止, 洗净后将三角瓶内水倒干, 然后进行表面消毒(0.01% Tween 20 处理 1 min, 有效氯含量为 4.5%~5%的次氯酸钠处理 3~8 min, 无菌水清洗, 75%乙醇处理 5 min, 无菌水再清洗), 将最后一遍清洗的无菌水取 0.2 mL 涂布于 ISP2^[15]固体培养基上, 于 28°C 培养 3 周以上, 以检验消毒结果。消毒后的样品用滤纸充分吸干植物表面水分, 100°C 干热处理 30 min 后, 转入无菌搅拌杯(佛山市顺德区方胜电器实业有限公司)搅碎, 加无菌水稀释到 10^{-2} 。取 0.2 mL 涂布于分离培养基上, 于 28°C 培养 30 d 后, 挑取单菌落于 ISP2 培养基斜面上。

1.2.2 喜树内生放线菌的系统发育分析: (1) 样品 DNA 的提取: 将分离得到的菌株进行表型去重复后, 每一类群选取代表菌株采用 Li^[16]等人的方法提取 DNA。(2) 16S rRNA 基因测序及构建系统进化树: 用细菌通用引物进行扩增 16S rRNA 基因, 测定其序列。用 PA (8-27f: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCA G-3')做正向引物, 测定了 16S rRNA 基因 5'端部分序列(953~1134 bp)。通过 BLAST 程序, 从 GenBank、EMBL、NCBI 等公共数据库中进行相似性搜索, 调出相似性最高且是有有效发表的典型菌株的序列, 用 ClustalX 进行序列比对, 用 MEGA3.1 的 Neighbor-joining 法^[17](Saitou & Nei, 1987)构建系统进化树, 确定放线菌的分类地位。

1.2.3 抗菌活性检测: 将 ISP2 培养基斜面上的菌株接种到装有 100 mL 发酵培养液的 500 mL 三角瓶中, 于 28°C 摇瓶培养 7 d, 取发酵液备用。采用琼脂扩散法, 每孔(孔径 4 mm)加样 80 μL 发酵液, 细菌、真菌分别于 37°C、28°C 培养 3 d, 观察记录抗菌圈直径。

1.2.4 化合物合成相关功能基因检测：PKS I、PKS II 和 NRPS 基因扩增条件均照文献[10]进行，产物用 1.2%的琼脂糖凝胶电泳检测，电压为 100 V。

2 结果

2.1 内生放线菌的多样性

从喜树样品中获得的分离菌株，根据表型特征，如：气丝、基丝、色素颜色和孢子丝吸水情况等去重复得到 90 株放线菌，代表菌株 16S rRNA 基因测序后经 BLAST 比对，MEGA4.0 构建 Neighbor-joining 系统进化树(图 1)，可以看到它们分属于 5 个亚目，6 个科，10 个属：链霉菌亚目(Suborder Streptomycineae)中链霉菌科(Streptomycetaceae)的链霉菌属(*Streptomyces*)；假诺卡氏菌亚目(Suborder Pseudonocardineae)中假诺卡氏菌科(Pseudonocardiaceae)的假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)、产孢放线菌属(*Actinomycetospora*)、糖单孢菌属(*Saccharomonospora*)和糖多孢菌属(*Saccharopolyspora*)；小单孢菌亚目(Suborder Micromonosporineae)中小单孢菌科

(Micromonosporaceae)的小单孢菌属(*Micromonospora*)和植物生孢放线菌属(*Plantactinospora*)；弗兰克氏菌亚目(Suborder Frankineae)中嗜地皮菌科(Gedodermatophilaceae)的芽球菌属(*Blastococcus*)；棒杆菌亚目(Suboder Corynebacterineae)中戈登氏菌科(Gordoniaceae)的戈登氏菌属(*Gordonia*)，冢村氏菌科 (Tsukamurellaceae) 的冢村氏菌属 (*Tsukamurella*)。其中，链霉菌属为优势类群有 71 株，占 78.9%，其次为小单孢菌属只有 6 株(表 1)。其中，产孢放线菌属和植物生孢放线菌属是新近发表的属，前者来源于土壤^[18]，后者来源于植物^[19]。经 16S rRNA 基因全序列测定，YIM 68245 与 *Actinomycetospora chiangmaiensis* YIM 0006 相似性 97.4%，YIM 68236 与 *Blastococcus aggregatus* DSM 4725 相似性为 98.1%，都可能为潜在新种，而 YIM 68255 与 *Plantactinospora mayteni* YIM 61359 相似性虽然高达 99.3%，但在表型上差异比较大，也可能为潜在新种。结果表明，喜树植物具有丰富的放线菌物种多样性。

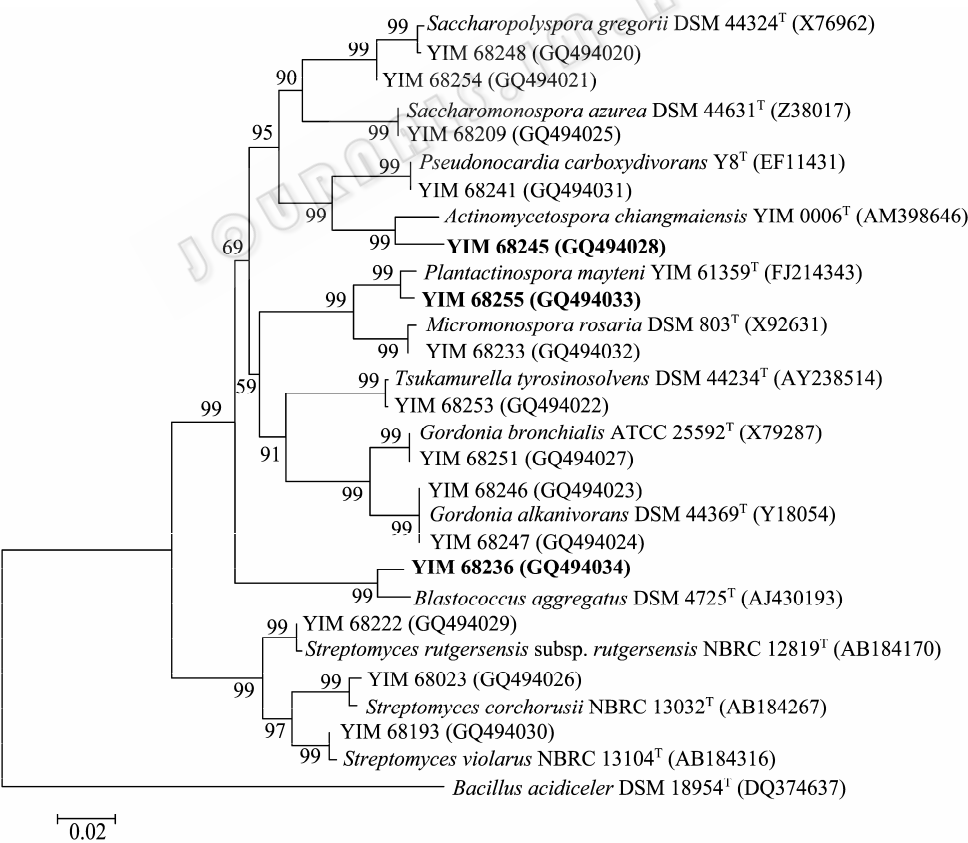


图 1 根据 16S rRNA 基因序列构建部分菌株系统进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree showing the relationships among reference strains and experimental trains based on 16S rRNA gene sequences

Note: Bar: 2% sequence divergence. The numbers at the nodes indicate the bootstrap values (> 50%) based on neighbour-joining analyses of 1000 resampled data sets. Numbers in parentheses represent the sequences accession number in GenBank.

2.2 抗菌活性检测

抗菌活性结果见表 1, 在所检测 90 株放线菌中, 有 32 株至少有 1 种抗菌活性, 占检测菌株的 34.4%, 这些活性菌株中有 28 株(87.5%)属于链霉菌属, 稀有放线菌大部分都未表现出活性, 所以链霉菌仍旧是寻找活性物质的主要菌源, 这可能也与菌株的发酵条件有关。表 2 中, 抑制真菌尤其是串珠镰孢菌、苹果炭疽菌的放线菌较多, 而抑制细菌的比

较少。其中, YIM 68193 对所测 3 株真菌指示菌白色念珠菌、串珠镰孢菌、苹果炭疽菌都具有非常好的抗性(抑菌直径分别为 40 mm、31 mm、28 mm), YIM 68213 对所有示菌株都有明显的抗性, 而 YIM 68202、YIM 68206、YIM 68215、YIM 68222 也都对 3 种以上指示菌有抗性, 它们为进一步的开发利用和寻找抗菌活性物质提供了良好的研究材料。

表 1 抗菌活性及 3 个化合物合成基因筛选阳性菌株数 Table 1 Antimicrobial activities and distribution of biosynthetic genes									
属(菌株数目) Genera (Strain No.)	A	B	C	D	E	F	G	H	I
链霉菌属(71) <i>Streptomyces</i> (71)	1	2	2	7	21	19	26	37	33
小单孢菌属(6) <i>Micromonospora</i> (6)	0	0	0	1	1	0	0	3	0
假诺卡氏菌属(2) <i>Pseudonocardia</i> (2)	0	0	0	0	0	0	0	1	1
糖单孢菌属(1) <i>Saccharomonospora</i> (1)	0	1	1	0	0	0	0	0	0
糖多孢菌属(2) <i>Saccharopolyspora</i> (2)	0	0	0	0	0	0	1	1	2
冢村氏菌属(1) <i>Tsukamurella</i> (1)	0	0	0	1	0	0	0	0	1
戈登氏菌属(3) <i>Gordona</i> (3)	0	0	0	0	1	0	1	0	2
芽球菌属(1) <i>Blastococcus</i> (1)	0	0	0	0	0	0	0	1	1
产孢放线菌属(1) <i>Actinomycetospora</i> (1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
植物生孢放线菌属(2) <i>Plantactinospora</i> (2)	0	0	0	0	0	0	0	1	1
合计(90) Total (90)	1	3	3	9	24	19	28	44	41
百分比(%) Percentage (%)	1.1	3.3	3.3	10	26.7	21.1	31.1	48.9	45.6

注: A: 大肠杆菌; B: 金黄色葡萄球菌; C: 枯草芽孢杆菌; D: 白色念珠菌; E: 串珠镰孢菌; F: 苹果炭疽菌; G: PKS I; H: PKS II; I: NRPS.
Note: A: *Escherichia coli*; B: *Staphylococcus aureus*; C: *Bacillus subtilis*; D: *Candida albicans*; E: *Fusarium moniliforme*; F: *Colletotrichum gloeosporioides*; G: PKS I; H: PKS II; I: NRPS.

表 2 活性菌株抑菌强弱的分布 Table 2 The distribution of antimicrobial activities of the endophytes			
指示菌 Indicator strains	d ≥ 20 mm	10 mm ≤ d < 20 mm	0 < d < 10 mm
A	—	—	YIM 68213
B	YIM 68213	YIM 68202, YIM 68209	—
C	—	YIM 68216	YIM 68209, YIM 68213
D	YIM, 68193, YIM 68215, YIM 68222, YIM 68233, YIM 68353	YIM 68202	YIM 68206, YIM 68210, YIM 68213
E	YIM 68189, YIM 68193, YIM 68199	YIM 68002, YIM 68013, YIM 68015, YIM 68023, YIM 68119, YIM 68124, YIM 68202, YIM 68204, YIM 68206, YIM 68213, YIM 68215, YIM 68216, YIM 68217, YIM 68218, YIM 68221, YIM 68222, YIM 68223, YIM 68231, YIM 68233	YIM 68194, YIM 68253
F	YIM 68013, YIM 68193, YIM 68217	YIM 68194, YIM 68195, YIM 68196, YIM 68202, YIM 68204, YIM 68206, YIM 68213, YIM 68214, YIM 68215, YIM 68218, YIM 68222, YIM 68223, YIM 68225, YIM 68231, YIM 68246	YIM 68192

注: A: 大肠杆菌; B: 金黄色葡萄球菌; C: 枯草芽孢杆菌; D: 白色念珠菌; E: 串珠镰孢菌; F: 苹果炭疽菌; d: 抗菌圈直径; —: 未检测到活性。
Note: A: *Escherichia coli*; B: *Staphylococcus aureus*; C: *Bacillus subtilis*; D: *Candida albicans*; E: *Fusarium moniliforme*; F: *Colletotrichum gloeosporioides*; d: Diameter of inhibition transparent circle; —: Negative.

2.3 化合物合成相关功能基因的检测

目前已报道的微生物天然产物有数千种, 其中聚酮类 (Polyketides) 和非核糖体聚肽类 (Non-ribosomal polypeptides) 占了相当大的比例^[20], 大多数抗生素和其他一些重要药物, 如抗癌药、免疫抑制剂均属此类, 而负责编码这两类化合物的基因为 PKS I、PKS II 和 NRPS 基因。通过这些基因的检测, 可以评价分离菌株合成此类化合物的潜力。从基因检测结果来看, PKS I、PKS II 和 NRPS 基因的阳性率分别为 31.1%、48.9% 和 45.6%, 至少有 1 个功能基因为阳性的菌株有 57 株 (63.3%), 3 个功能基因均为阳性的有 15 株 (16.7%)。PKS、NRPS 基因广泛分布于所分离菌株的大部分类群中 (表 1)。

3 讨论

研究表明喜树内存在着多样性丰富的内生放线菌, 测序结果发现超过 80% 的菌株与已知土壤放线菌相似性很高甚至高达 100%, 但也有部分相似性小于 99%, 这提示植物内生菌可能主要来源于土壤, 但经过与植物宿主的长期协同进化有部分内生菌产生了与土壤菌的差异, 而这些差异就有可能致使内生菌产生独特的成分, 成为发现天然活性产物的重要来源。本实验结果与刘宁等^[21]报道的分离自西双版纳药用植物 150 株内生放线菌的抗菌活性达 42.4% 相比活性率偏低, 体现了不同宿主植物内生放线菌生理活性的特异性。从表 1、2 中我们可以发现, 抗真菌的菌株要远远多于抗细菌的菌株, 这可能是因为植物组织中内生病原真菌类群占优势^[22], 表现了内生菌与其宿主植物之间互惠互利的共生关系。功能基因的检测结果显示, 这些内生放线菌大部分都含有聚酮类和非核糖体类化合物合成功能基因。由于对内生菌生理和发酵条件等的基础研究不足, 导致功能基因的检测结果与其活性不呈一致性, 但我们认为可以在分子水平上对菌株某些化合物合成功能基因的检测来评价其合成此类化合物的潜力, 同时也可以通过这些合成基因的克隆、测序等工作等研究发现新的基因, 并在其指导下发现新的化合物^[23], 对重复化合物的产生菌进行早期鉴别和剔除。又因为功能基因检测简单、方便、廉价, 已经成为发现先导化合物的重要手段。因此, 利用功能基因检测发现含有新功能基因的物种资源将可能成

为今后研究的重点之一。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志, 1982, 52(2): 144–145.
- [2] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science*, 1993(260): 214–216.
- [3] Strobel GA, Daisy B, Castillo U, et al. Natural products from endophytic microorganisms. *J Nat Prod*, 2004(67): 257–268.
- [4] Strobel GA. Harnessing endophytes for industrial microbiology. *Curr Opin Microbiol*, 2006(9): 240–244.
- [5] Strobel GA. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes Infect*, 2003, 5(6): 535–544.
- [6] 陈云, 曹艳茹, 蔡祥凤, 等. 植物内生菌发酵培养基的初探. 中国抗生素杂志, 2008, 33(9): 524–527.
- [7] Cao L, Qiu Z, You J, et al. Isolation and characterization of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots. *Lett Appl Microbiol*, 2004(39): 425–430.
- [8] Conn VM, Franco CMM. Analysis of the endophytic actinobacterial population in the roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) by terminal restriction fragment length polymorphism and sequencing of 16S rRNA clones. *Appl Environ Microbiol*, 2004(70): 1787–1794.
- [9] Igarashi Y, Miura SS, Fujita T, et al. Pterocidin, a cytotoxic compound from the endophytic *Streptomyces hygroscopicus*. *J Antibiot*, 2006(59): 193–195.
- [10] Ayuso Sacido A, Genilloud O. New PCR primers for the screening of NRPS and PKS-I systems in Actinomycetes: detection and distribution of these biosynthetic gene sequences in major taxonomic groups. *Microbial Ecology*, 2005(49): 10–24.
- [11] Mikko MK, Virpi S, Laura H, et al. An efficient approach for screening minimal PKS genes from *Streptomyces*. *FEMS Microbiology Letters*, 1999(180): 1–6.
- [12] Coombs JT, Franco CMM. Isolation and identification of actinobacteria from surface-sterilized wheat roots. *Appl Environ Microbiol*, 2003(69): 5603–5608.
- [13] Bertani G. Studies on lysogenesis I.: The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 1951(62): 293–300.
- [14] 戴水莲, 林警, 高丽. PDA 培养基中加入青霉素、链霉素的抗菌作用试验简报. 中国食用菌, 2007, 26(4): 53–54.
- [15] Shirling EB, Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int J Syst Bacteriol*, 1966(16): 313–340.
- [16] Li WJ, Xu P, Schumann P, et al. *Georgenia ruanii* sp. nov.,

- a novel actinobacterium isolated from forest soil in Yunnan (China), and emended description of the genus *Georgenia*. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2007(57): 1424–1428.
- [17] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*, 1987(4): 406–425.
- [18] Yi Jiang, Jutta Wiese, Shu-Kun Tang, *et al.* *Actinomyces* *chiangmaiensis* gen. nov., sp. nov., a new member of the family *Pseudonocardiaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2008(58): 408–413.
- [19] Sheng Qin, Jie Li, Yu-Qin Zhang, *et al.* *Plantactinospora mayteni* gen. nov., sp. nov., a new member of the family *Micromonosporaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009(59): 2527–2533.
- [20] 王岩, 虞沂, 赵群飞, 等. 天然产物的生物合成和组合生物合成研究进展. 国外医药抗生素分册, 2008, 29(6): 275–282.
- [21] 刘宁, 张辉, 郑文, 等. 药用植物内生放线菌的生物活性及菌株 D62 的代谢产物分析. 微生物学报, 2007, 47(5): 823–827.
- [22] Strobel GA. Harnessing endophytes for industrial microbiology. *Curr Opin Microbiol*, 2006(9): 240–244.
- [23] Alongkorn A, Suranat P, Nattapong S, *et al.* Discovery of insect-specific polyketide synthases, potential PKS-NRPS hybrids, and novel PKS clades in tropical fungi. *Appl Environ Microbiol*, 2009(75): 3721–3732.

征订启事

欢迎订阅《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于 1974 年, 是中国微生物学会和中国科学院微生物研究所主办, 国内外公开发行人, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括: 基础微生物学研究; 农业微生物学研究; 工业微生物学研究; 医学微生物学研究; 食品微生物学研究; 环境微生物学研究; 微生物功能基因组研究; 微生物蛋白组学研究; 微生物模式菌株研究; 微生物工程与药物研究; 微生物技术成果产业化及微生物教学研究改革等。

本刊为中国生物科学类核心期刊。曾获国家级优秀科技期刊三等奖, 中国科学院优秀科技期刊三等奖, 北京优秀科技期刊奖, 2000 年再获中国科学院优秀期刊三等奖, 2001 年被选入新闻出版署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

自 2008 年本刊已经全新改版, 由双月刊改为月刊, 更换了彩色封面, 纸张改用铜版纸, 由原来的小 16 开本改为标准大 16 开本 (210×297), 发表周期缩短, 内容更加丰富详实。欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买, 2010 年的每册定价为 48 元, 全年 576 元, 我们将按期免费邮寄。

另, 本刊编辑部现存有少量过期期刊, 如有需要者可直接与编辑部联系, 款到即免费寄上。(请事先与编辑部联系, 获悉每册售价。敬请在汇款单上注明所购刊物的年代、卷、期和数量。)

邮购地址: (100101) 北京朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部

Tel: (010) 64807511; E-mail: tongbao@im.ac.cn; bjb@im.ac.cn; <http://journals.im.ac.cn>

国内邮发代号: 2-817; 国外发行代号: BM413