

红海榄根际土壤来源的青霉属真菌 XGH2321 及其抑菌活性

许婷婷 吴 垠 贾阳阳 刘 冰 叶波平*

(中国药科大学生命科学与技术学院 江苏 南京 210009)

摘 要: 本研究根据形态学和 ITS 序列分析结果, 将一株分离自海南东寨港红树林保护区红海榄根际土壤的菌株 XGH2321 鉴定为青霉属的一种真菌。通过对培养基中的碳源、氮源和盐度的优化, 确定了适合该真菌菌株分泌抑菌活性物质的改良查氏培养基(4%玉米浆, 0.3% NaNO₃, 0.05% KCl, 0.1% K₂HPO₄, 0.05% MgSO₄, pH 7.4, 9%盐度)。将活化后的菌株 XGH2321 接种到该培养基中, 按 28℃、160 r/min 振荡培养 7 d, 获得的发酵液水萃取物对金黄色葡萄球菌、藤黄八叠球菌和枯草芽孢杆菌的生长具有明显的抑制作用(MIC 为 400 µg/mL), 而发酵液的乙酸乙酯萃取物对上述微生物的生长也具有一定的抑制作用(MIC 为 800 µg/mL); 同时, 上述 2 种萃取物对植物病原菌立枯丝核菌的生长也具有明显的抑制作用, MIC 分别为 200 µg/mL 和 400 µg/mL。

关键词: 红海榄, 根际土壤, 青霉属, 抑菌活性

A *Penicillium* sp. XGH2321 Isolated from the Rhizospheric Soil of *Rhizophora stylosa* Griff and Its Antibacterial Activity

XU Ting-Ting WU Yin JIA Yang-Yang LIU Bing YE Bo-Ping*

(School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

Abstract: The isolate XGH2321, which isolated from the rhizospheric soil of *Rhizophora stylosa* Griff in Dongzhaigang Mangrove Nature Reserve in China, was identified as a fungus in the genera of *Penicillium* based on its morphological characteristics and internal transcribed spacer(ITS) sequence analysis. After inoculated in the modified Czapek-DoX medium(consisted of 4% corn steep, 0.3% NaNO₃, 0.05% KCl, 0.1% K₂HPO₄, 0.05% MgSO₄, pH 7.4, 9% salinity), and cultured under the condition of 28℃ in a rotary shaker at 160 r/min for 7 days, the extracts of ethyl acetate and water-soluble from the fermentation broth showed the apparent antibacterial activities against the growth of *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, and *Bacillus subtilis* with the minimum inhibitory concentration (MIC) of 800 µg/mL and 400 µg/mL, respectively. While at the same time, these two extracts could also suppress the growth of the plant pathogen, *Rhizoctonia solani* with MIC of 400 µg/mL and 200 µg/mL, respectively.

Keywords: *Rhizophora stylosa* Griff, Rhizospheric soil, *Penicillium*, Antibacterial activity

基金项目: 教育部“新世纪优秀人才支持计划”项目(No. NCET-05-0496); 教育部高等学校科技创新工程重大项目培育资金项目(No. 130105)资助

* 通讯作者: Tel: 86-25-83271016; Fax: 86-25-83271249; ✉: yebp2001@yahoo.com.cn

收稿日期: 2009-04-20; 接受日期: 2009-06-05

分布在热带和亚热带沿海潮间带的红树林因长期生长在咸淡水交汇和周期性海水浸淹的特殊环境中, 逐渐形成了有别于海洋和陆地生态系统的特点, 其中蕴藏着丰富的微生物资源^[1-4]。近年来, 红树共附生微生物及其相关活性代谢产物的研究引起了较多的关注, 已从一些红树植物的根际土壤、叶面、茎皮中鉴定出多种细菌^[5,6]、真菌^[7-9]和放线菌^[10], 它们分泌的次生代谢产物具有抑菌和抗肿瘤等多种生物活性^[11], 成为药物研制中重要的先导化合物来源^[12-14], 开展红树林共附生微生物的研究已成为相关研究领域的热点^[15-18]。

在前期研究中, 本实验室从中国海南东寨港红树林保护区来源的木榄和红海榄根际土壤、叶面、树皮以及茎的木质部等部位分离到数千株共附生微生物, 初步的研究结果显示其中一些微生物的发酵液具有抑菌和抑制肿瘤细胞增殖的活性, 如从红海榄根际土壤中分离到的一株曲霉属真菌 F3 在 SDA 培养基上培养时获得的发酵液乙酸乙酯萃取物具有广谱抑菌活性, 并对一些肿瘤细胞株的增殖也具有明显的抑制作用^[19]。进一步开展对上述微生物菌株的菌种鉴定工作, 分离纯化其活性代谢产物, 将为相关药物的筛选提供更多的先导化合物。在本研究中, 我们对其中一株来自于红海榄根际土壤的真菌菌株 XGH2321 进行了鉴定, 初步探讨了其发酵液的抑菌活性, 为后续相关活性化合物的筛选提供了较好的条件。

1 材料与方法

1.1 微生物菌株

真菌菌株 XGH2321 分离自中国海南东寨港红树林保护区的红海榄根际土壤, 经纯培养后, 用盐度为 3% 的 SDA 斜面固体培养基中 4℃ 下保存于本实验室。

活性测试菌株藤黄八叠球菌(*Sarcina lutea*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)以及立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)由本实验室保存。

1.2 培养基及试剂

本研究中使用的沙氏液体培养基(Sabourand's medium)和肉汤培养基(Broth medium)的配方参照《微生物学实验与指导》的方法^[20], 查氏培养基(Czapek's medium)的配方参照《中国真菌志》的方

法^[21]。除特别注明的试剂外, 其它试剂均为国产分析纯试剂。

1.3 菌株的形态学分析^[21]

取菌株孢子接种于查氏培养基的平板上, 28℃ 下培养, 待刚长出菌丝时, 将无菌的盖玻片斜插入平板内(插片法), 继续培养至孢子成熟时, 将玻片取出固定菌体并喷金后, 在扫描电镜下观察其形态。挑取菌丝体制作成水镜片, 在显微镜下观察其形态。

1.4 真菌 DNA 的分离纯化及 ITS 序列分析

真菌 DNA 的提取参照 CTAB 法^[22]。ITS 序列扩增的引物为 White^[23]等设计的通用引物 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')和 ITS5 (5'-GGA AGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'), 上述引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。50 μL PCR 反应体系中含 2.5 μmol/L dNTP(上海生工)、250 μmol/L 上游(ITS4)/下游引物(ITS5)、3 U *Taq* plus DNA 聚合酶(上海生工)、1×PCR 反应缓冲液(含 2.5 mmol/L 的 MgCl₂, 上海生工)以及 50 ng~100 ng 模板 DNA。PCR 反应条件: 94℃ 5 min; 94℃ 1.5 min, 56℃ 1.5 min, 72℃ 2.5 min, 30 个循环; 72℃ 10 min。

PCR 产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 用 V-gene 凝胶试剂盒(V-gene, USA)回收 DNA 片段, 然后连接到 pGEM T-Easy 载体(Promega, USA)中, 4℃ 连接过夜, 转化到大肠杆菌 DH5α感受态细胞中, 酶切鉴定阳性克隆, 将阳性质粒送上海生工生物工程技术有限公司进行测序。测序后获得的序列提交 GenBank 后, 利用 NCBI 的 Blastn 软件(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>)进行相似序列搜索, 采用 Clustal X 进行多序列联配分析, 并利用 Phylip 3.65 软件进行系统发育分析, 进一步采用 N-J 法(Neighbor-joining)构建不同物种间的系统发育树, 系统发育树的评估采用自举法(Bootstrapping), 自举次数设置为 1000 次。

1.5 发酵液的制备及样品处理

从沙氏固体斜面培养基上挑取菌丝接种于装有 100 mL 液体沙氏培养基的锥形瓶中, 28℃、160 r/min 恒温振荡培养 1 d 后成种子液, 按 3% 的接种量将种子液接种于液体沙氏培养基中, 28℃、160 r/min 振荡培养 7 d 后, 6000 r/min 离心 10 min, 分别收集菌体和发酵液上清。发酵液用乙酸乙酯萃取, 减压旋蒸得到乙酸乙酯萃取物, 萃取后剩余发酵液减压旋

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

蒸得到水萃取物。

1.6 抑菌活性检测及最低抑菌浓度(MIC)测定

将上述制备的萃取物分别配制成 800 $\mu\text{g/mL}$ 的样品母液,以肉汤液体培养基按一定比例稀释成 6 个样品浓度(800 $\mu\text{g/mL}$ 、400 $\mu\text{g/mL}$ 、200 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 和 25 $\mu\text{g/mL}$)。参照 Castillo 等的方法^[24]测定样品对藤黄八叠球菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的最低抑菌浓度。

2 结果

2.1 菌株 XGH2321 为青霉属的一种真菌

真菌 XGH2321 在 CYA 培养基上 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 7 d 后的直径大小为 34 mm~38 mm,絮状或兼绒状菌落中部稍厚,中心有脐状突起;菌丝体白色,渗出液较多,呈橘黄色;分生孢子大量产生,孢子面嫩黄色;分生孢子梗发生于气生菌丝或基质,帚状枝三轮生,呈现一定程度的叉开,孢子梗壁近于平滑;分生孢子呈现球形或近球形,大小介于 2.5 μm ~3.3 μm ,推测该菌株为青霉属的一种真菌^[21],见图 1。

Blastn 分析结果显示真菌菌株 XGH2321 的 ITS 序列(GenBank 中的序列号为 FJ214374)与青霉属真菌 *Penicillium chrysogenum* 的 ITS 序列(GenBank 中的序列号为 EU128591)的同源性为 99%,两者在以 N-J 法构建的系统发育树上聚为同一簇群(图 2)。

结合形态学分析结果,将真菌菌株 XGH2321

鉴定为青霉属的一种真菌,命名为 *Penicillium* sp. XGH2321。

2.2 碳源和氮源对青霉属真菌 XGH2321 分泌抑菌活性物质的影响

鉴于在前期研究中显示该真菌菌株 XGH2321

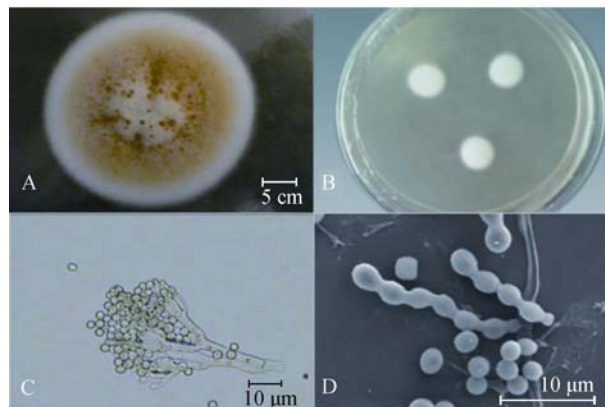


图 1 真菌菌株 XGH2321 的形态特征

Fig. 1 Morphological character of the fungus strain XGH2321

注: A: CYA 上 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 7 d 的菌落形态(标尺: 5 cm); B: CYA 上 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 3 d 的菌落形态; C: 分生孢子梗形态(标尺: 10 μm); D: 分生孢子形态(标尺: 10 μm).

Note: A: Morphological character of the clone cultured on CYA medium at the 7th day (bar = 5 cm); B: Morphological character of the clones cultured on CYA medium at the 3st day; C: Morphological character of the conidiophore (bar = 10 μm); D: Morphological character of the conidia(bar = 10 μm).

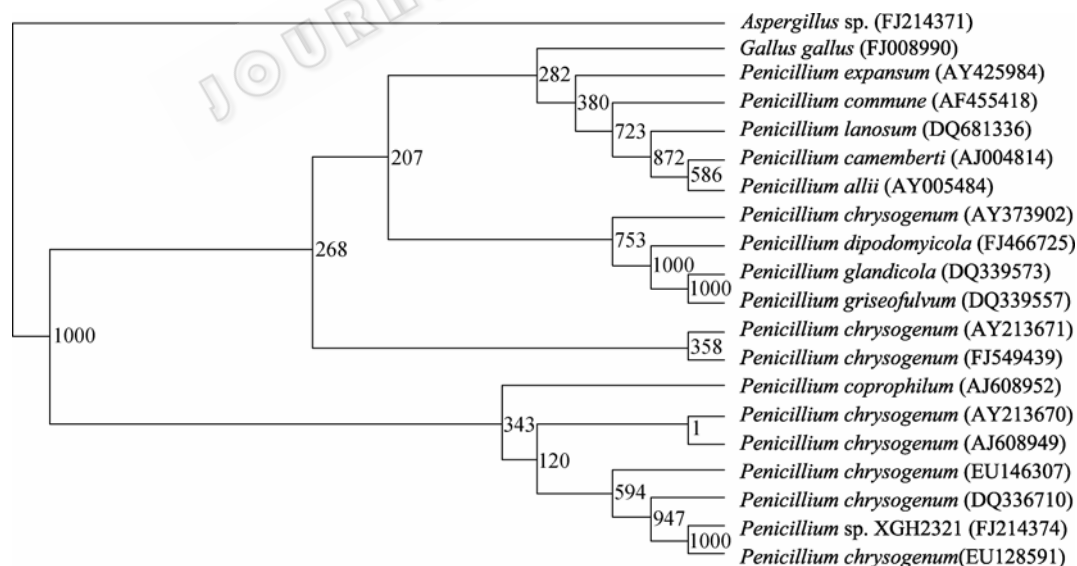


图 2 基于 ITS 序列分析基础上的聚类分析结果表明菌株 XGH2321 为青霉属的一种真菌

Fig. 2 Clustering analysis of strain XGH2321 based on ITS sequence showed this strain belong to the genera *Penicillium*
注: 分支上的数值: Bootstrap 检验的支持百分率(%); 菌种后的括号中是该菌株的 ITS 序列在 GenBank 中的序列号。

Note: The numbers on the tree: Bootstrap values (%); Accession number of the ITS from these fungus strains in GenBank is in the parenthesis.

仅在查氏培养基中培养时才具有分泌抑菌活性的特征(数据略), 在本研究中, 以查氏液体培养基为基础, 以藤黄八叠球菌为指示菌株考察了不同碳源(蔗糖、乳糖、玉米浆、麦芽糖、可溶性淀粉和葡萄糖, 浓度均为 4%)和氮源(尿素、硝酸钠、蛋白胨、酵母膏和硫酸铵, 浓度均为 0.3%)对 *Penicillium* sp. XGH2321 分泌活性物质的影响, 结果表明: 4%的玉米浆和 0.3%的硝酸钠有利于该真菌菌株分泌抑菌活性产物(表 1)。

2.3 培养基盐度对 *Penicillium* sp. XGH2321 的生长和分泌抑菌活性物质的影响

真菌菌株 XGH2321 分离自红海榄的根际土壤, 其具有适应盐生环境的特点。为考察盐度对其分泌抑菌活性物质的影响, 本研究进一步探讨了该菌株在不同盐度的查氏培养基中培养 7 d 后的生物量和抑菌活性的变化, 结果表明培养基盐度对真菌生物量的积累有比较大的影响, 当培养基盐度在 9%(相当于 3 倍的海水盐度)时, 生物量达到最

高(10 mg/mL); 同时, 在 5%~11%的盐度范围内, 发酵液的抑菌活性相对较高(图 3)。

2.4 *Penicillium* sp. XGH2321 发酵产物的生物活性分析

在优化查氏培养基的碳源、氮源以及培养基盐度的基础上获得了 *Penicillium* sp. XGH2321 在改良查氏培养基(4% 玉米浆, 0.3% NaNO₃, 0.05% KCl, 0.05% MgSO₄·7H₂O, 0.001% FeSO₄, 0.1% K₂HPO₄, pH 7.4, 9%盐度)中培养 7 d 后的发酵液, 比较了发酵液乙酸乙酯萃取物和水萃取物的抑菌活性, 结果表明: 该菌株发酵液的水萃取物对金黄色葡萄球菌、藤黄八叠球菌和枯草芽孢杆菌的生长具有明显的抑制作用(MIC 为 400 μg/mL), 而发酵液乙酸乙酯萃取物对上述微生物的生长也具有一定的抑制作用(MIC 为 800 μg/mL); 同时, 该菌株的发酵液乙酸乙酯萃取物和水萃取物还显示出很强的抑制植物致病菌立枯丝核菌生长的作用, MIC 分别为 400 μg/mL 和 200 μg/mL(表 2)。

表 1 碳源和氮源对 *Penicillium* sp. XGH2321 抑菌活性的影响

Table 1 Effect of carbon source and nitrogen source on the antibacterial activity of *Penicillium* sp. XGH2321

碳源 Carbon source (4%)	抑菌圈直径(mm) Antibacterial plaque diameter (mm)	氮源 Nitrogen source (0.3%)	抑菌圈直径(mm) Antibacterial plaque diameter (mm)
葡萄糖 Glucose	13	尿素 Urea	23
可溶性淀粉 Starch Soluble	9	硝酸钠 NaNO ₃	34
乳糖 Lactose	12	蛋白胨 Peptone	30
玉米浆 Corn Steep	34	酵母膏 Yeast Extract	30
蔗糖 Sucrose	10	硫酸铵(NH ₄) ₂ SO ₄	30
麦芽糖 Maltose	9	—	—

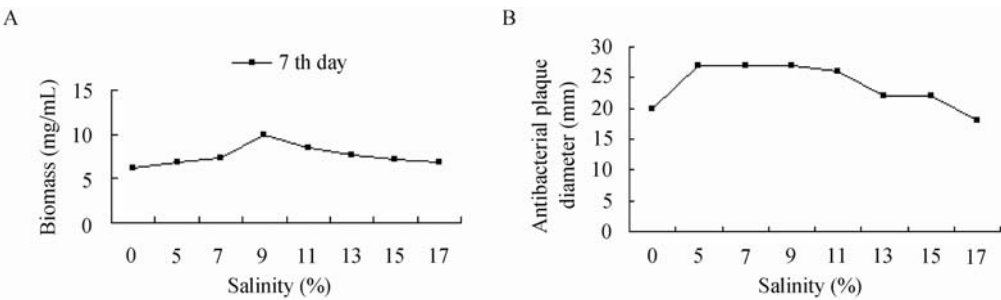


图 3 *Penicillium* sp. XGH2321 在不同盐度的 CYA 培养基中培养 7 d 后生物量(A)和抑菌活性(B)的变化
Fig. 3 The influence of salinity on the biomass (A) and antibacterial activity (B) of *Penicillium* sp. XGH2321 cultured on CYA medium for 7 days

表 2 *Penicillium* sp. XGH2321 发酵液的抑菌活性
Table 2 Antimicrobial activities of the fermentation broth of *Penicillium* sp. XGH2321

测试菌 Test organism	万古霉素 (MIC, $\mu\text{g/mL}$) Vancomycin (MIC, $\mu\text{g/mL}$)	乙酸乙酯萃取物(MIC, $\mu\text{g/mL}$) The EtOAc extracts (MIC, $\mu\text{g/mL}$)	水萃取物(MIC, $\mu\text{g/mL}$) Water extracts (MIC, $\mu\text{g/mL}$)
<i>Staphylococcus aureus</i>	400	800	400
<i>Sarcina lutea</i>	400	800	400
<i>Bacillus subtilis</i>	400	800	400
<i>Rhizoctonia solani</i>	/	400	200

3 讨论

本研究将从中国海南东寨港红海榄根际土壤中分离得到的具有分泌抑菌活性代谢产物能力的真菌菌株 XGH2321 鉴定为青霉属(*Penicillium* sp.)的一种真菌, 该真菌在优化后的查氏培养基中培养时获得的发酵液水萃取物对几种细菌的生长具有一定的抑制作用, 并对植物致病真菌立枯丝核菌的生长也有明显的抑制作用。

尽管 *Penicillium* sp. XGH2321 与生产上常用的产黄青霉菌 *P. chrysogenum* 在 ITS 序列上的同源性高达 99%以上, 但从形态上来看, 两者间具有明显的不同, 主要表现在: 后者在 CYA 中 28°C 培养 7 d 后的菌落较大(直径 35 mm~55 mm), 分生孢子面蓝绿色或微灰绿色^[21], 而本菌株在相同培养条件下的菌落较小(直径 25 mm~29 mm), 分生孢子面嫩黄色, 渗出液较多, 呈淡黄色或橘黄色。

自 1928 年发现青霉属真菌具有分泌抑菌活性物质的能力以来, 已从青霉属真菌中分离到包括生物碱类^[25-27]、三萜类^[28]、灰黄霉素^[29]以及喹诺酮类^[30]等多种具有抗菌、抗肿瘤和抗氧化活性的化合物。菌株 XGH2321 是从红海榄根际土壤中分离到的一株青霉属真菌, 与其它来自于深海沉积物^[27]、红树植物桐花树^[28]、海绵^[26]以及富含贝类的海水^[29]的青霉属真菌相比, 在原生态上具有一定的差异, 这些差异有可能导致其代谢途径上具有不同的特点, 从而产生不同类型的代谢产物。进一步开展对菌株 XGH2321 发酵液中活性化合物的分离纯化工作, 将有望分离到一些新的活性化合物, 相关工作正在进行中。

参 考 文 献

- [1] Kathiresan K, Bingham BL. Biology of mangroves and mangrove ecosystems. *Advances in Marine Biology*, 2001, **40**: 181-251.
- [2] Komiyama A, Ong JE, Pongparn S. Allometry, biomass, and productivity of mangrove forests: A review. *Aquatic Botany*, 2008, **89**: 128-137.
- [3] Triest L. Molecular ecology and biogeography of mangrove trees towards conceptual insights on gene flow and barriers: a review. *Aquatic Botany*, 2008, **89**: 138-154.
- [4] Cannicci S, Burrows D, Fratini S, *et al.* Faunal impact on vegetation structure and ecosystem function in mangrove forests: a review. *Aquatic Botany*, 2008, **89**: 186-200.
- [5] 梁静娟, 庞宗文, 詹 萍. 红树林海洋细菌的分离鉴定及其活性物质初步分析. *热带海洋学报*, 2006, **25**(6): 47-51.
- [6] 陈振明, 何进坚, 何 红, 等. 红树林内生细菌的分离及拮抗菌筛选. *微生物学通报*, 2006, **33**(3):18-23.
- [7] Huang ZJ, Cai XL, Shao CL, *et al.* Chemistry and weak antimicrobial activities of phomopsins produced by mangrove endophytic fungus *Phomopsis* sp. ZSU-H76. *Phytochemistry*, 2008, **69**: 1604-1608.
- [8] Berenguer B, Sanchez LM, Quilez A, *et al.* Protective and antioxidant effects of *Rhizophora mangle* Lagainst NSAID-induced gastric ulcers. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, **103**: 194-200.
- [9] Lin X, Huang Y, Fang M, *et al.* Cytotoxic and antimicrobial metabolites from marine lignicolous fungi, *Diaporthe* sp.. *FEMS Microbiol Lett*, 2005, **251**: 53-58.
- [10] 肖 静, 许 静, 谢庶洁, 等. 红树林放线菌的分离及其抗菌和抗肿瘤细胞活性. *应用与环境生物学报*, 2008, **14**: 244-248.
- [11] 叶波平, 吴梧桐. 现代生物技术在海洋药用生物资源开发中的应用. *中国天然药物*, 2006, **4**: 5-9.
- [12] Peterson SW. Multilocus sequence analysis of *Penicillium* and *Eupenicillium* species. *Revista Iberoamericana de Micología*, 2006, **23**: 134-138.
- [13] Frisvad JC, Andersen B, Thrane U. The use of secondary metabolite profiling in chemotaxonomy of filamentous fungi. *Mycological Research*, 2008, **112**: 231-240.
- [14] Liu AR, Wu XP, Xu T. Research advances in endophytic fungi of mangrove. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*, 2007, **18**: 912-918.
- [15] Lin ZJ, Zhu TJ, Fang YC, *et al.* Polyketides from *Penicillium* sp. JP-1, an endophytic fungus associated with the

- mangrove plant *Aegiceras orniculatum*. *Phytochemistry*, 2008, **69**: 1273–1278.
- [16] Han L, Huang X, Sattler I, *et al.* New aromatic compounds from the marine mangrove *Bruguiera gymnorrhiza*. *Planta Medica*, 2005, **71**: 160–164.
- [17] Isaka M, Suyarnsestakorn C, Tanticharoen M, *et al.* Aigialomycins A-E, new resorcylic macrolides from the marine mangrove fungus *Aigialus parvus*. *The Journal of Organic Chemistry*, 2002, **67**: 1561–1566.
- [18] Rahim AA, Rocca E, Steinmetz J, *et al.* Antioxidant activities of mangrove *Rhizophora apiculata* bark extracts. *Food Chemistry*, 2008, **107**: 200–207.
- [19] 王治维, 窦莹颖, 祝兴伟, 等. 盐度和 pH 对红树根际土壤来源的曲霉属真菌 F3 的生长及分泌活性物质的影响. *微生物学通报*, 2008, **35**(12): 1873–1878.
- [20] 周长林. *微生物学实验与指导*. 中国医药科技出版社, 2004, pp.229–230.
- [21] 孔华忠. *中国真菌志*(第 35 卷 青霉属及其相关有性型属). 北京: 科学出版社, 2007, p.35.
- [22] Guo LD, Hyde KD, Liew EY. Detection and taxonomic placement of endophytic fungi within frond tissues of *Livistona chinensis* based on rDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2001, **20**: 1–13.
- [23] White TJ, Bruns TD, Lee S. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In “PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications” (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JS, *et al.* Eds.). Academic Press, 1990, pp.315–322.
- [24] Castillo GAS UF, Ford EJ, Hess WM, *et al.* Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, endophytic on *Kennedia nigriscans*. *Microbiology*, 2002, **148**: 2675–2685.
- [25] Grabley S, Granzer E, Hutter K, *et al.* Secondary metabolites by chemical screening. 80 Decarestrictines, a new family of inhibitors of cholesterol biosynthesis from *Penicillium*-Strain description, fermentation, isolation and properties. *Antibiot*, 1992, **45**: 56–65.
- [26] Bringmann G, Lang G, Gulder TAM, *et al.* The first sorbicillinoid alkaloids, the antileukemic sorbicillactones A and B, from a sponge-derived *Penicillium chrysogenum* strain. *Tetrahedron*, 2005, **61**: 7252–7265.
- [27] Du L, Li DH, Zhu TJ, *et al.* New alkaloids and diterpenes from a deep ocean sediment derived fungus *Penicillium* sp.. *Tetrahedron*, 2009, **65**: 1033–1039.
- [28] Xu MJ, Gessner G, Groth I, *et al.* Shearinines D–K, new indole triterpenoids from an endophytic *Penicillium* sp. (strain HKI0459) with blocking activity on large-conductance calcium-activated potassium channels. *Tetrahedron*, 2007, **63**: 435–444.
- [29] Petit KE, Mondeguer F, Roquebert MF, *et al.* Detection of griseofulvin in a marine strain of *Penicillium waksmanii* by ion trap mass spectrometry. *Journal of Microbiological Methods*, 2004, **58**: 59–65.
- [30] Silva MG, Furtado NA, Pupo MT, *et al.* Antibacterial activity from *Penicillium corylophilum* Dierckx. *Microbiological Research*, 2004, **159**: 317–322.

稿件书写规范

专论与综述论文的撰写要点

专论与综述是本刊重要栏目之一, 主要反映国内外微生物学及相关领域学科研究最新成果和进展, 其内容要求新颖丰富, 观点明确, 论述恰当, 应包含作者自己的工作内容和见解。因此, 作者在动笔之前必须明确选题, 一般原则上应选择在理论和实践中具有重要意义的学科专题进行论述。围绕专题所涉及的各个方面, 在综合分析和评价已有资料基础上提出其演变规律和趋势, 即掌握其内在的精髓, 深入到专题研究的本质, 论述其发展前景。作者通过回顾、观察和展望, 提出合乎逻辑并具有启迪性的看法和建议。另外, 作者也可以采用以汇集文献资料为主的写作方法, 辅以注释, 客观而有少量评述, 使读者对该专题的过去、现在和将来有一个全面、足够的认识。

需要特别说明的是: 在专论与综述中引用的文献应该主要是近 5 年国内外正式发表的研究论文, 引用文献数量不限。

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>