

一株抗香蕉枯萎病内生细菌的分离鉴定及其抗病促生作用

陈博^{1,2Δ} 朱军^{1Δ} 孙前光¹ 郑业辉³ 黄惠琴¹ 鲍时翔^{1*}

(1. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所 海南 海口 571101)

(2. 海南大学 海南 海口 570228)

(3. 海南正维尔生物科技有限公司 海南 海口 571101)

摘要: 从巴西蕉中分离到一株能够明显抑制尖孢镰刀菌古巴专化型4号生理小种(FOC4)的内生细菌DB09208, 通过生理生化、形态特征及16S rDNA序列同源性比较, 初步认为它和类芽孢杆菌(*Paenibacillus*)比较接近。该菌株能够显著抑制FOC4菌丝生长, 抑菌率为74.09%。盆栽试验表明, 该菌株能够抑制香蕉枯萎病的发生, 防治效果达为65.2%, 该菌同时能显著促进香蕉苗生根, 促生效果与植物生长素IAA相似, 显示出良好的开发前景。

关键词: 香蕉枯萎病, 内生细菌, 16S rDNA, 分离鉴定

A bacterial endophyte from banana: its isolation, identification, activity to *Fusarium Wilt* and PGPR effect to banana seedlings

CHEN Bo^{1,2Δ} ZHU Jun^{1Δ} SUN Qian-Guang¹ ZHENG Ye-Hui³
HUANG Hui-Qin¹ BAO Shi-Xiang^{1*}

(1. Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, CATAS, Haikou, Hainan 571101, China)

(2. Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

(3. Hainan Zhengweier biotechnology Co., Ltd., Haikou, Hainan 571101, China)

Abstract: Strain DB09208, an endophytic bacterium exhibited strong inhibitory activity *in vitro* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* FS-0704 (race 4: FOC4) was isolated from *Musa* AAA, cv. Baxi grown in Hainan. Based on the morphological, physiological and biochemical properties, and the 16S rDNA sequence analysis, this strain was identified as *Paenibacillus* sp.. The strain DB09208 obviously

基金项目: 中央级公益性科研院所基金项目(No. ITBBZX2008-2-4); 海南省重点科技计划项目(No. 080146); 海口市重点科技计划项目(No. 2009-045)

* 通讯作者: Tel: 86-898-66890671; ✉: bsxhhq@yahoo.com.cn

Δ 对本文有同等贡献

收稿日期: 2010-06-17; 接受日期: 2010-11-19

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

inhibited the mycelial growth of FS-0704, with an inhibitory rate of 74.09%, pot experiments indicated the strain suppressed Fusarium wilt of bananas, the control efficiency reached 65.2%. It could significantly promoted the generation of roots with the effect was similar to that of IAA. These demonstrated that strain DB09208 should be useful in biological control bananas Fusarium wilt.

Keywords: Fusarium wilt, Endophytic bacteria, 16S rDNA, Isolation and identification

香蕉是热带和亚热带地区最重要的经济作物之一,在全世界范围内种植量仅次于水稻、小麦和玉米,有着举足轻重的地位。然而,在全球香蕉产业迅猛发展的同时,也遭遇到有史以来枯萎病最严重的威胁和挑战^[1]。有专家警告:香蕉可能会因为镰刀菌枯萎病第4号生理小种的危害而从地球逐渐消亡^[2]。

香蕉枯萎病(Banans Fusarium wilt)又名巴拿马病(Panama disease),是由尖孢镰刀菌古巴专化型4号生理小种(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4, FOC4)引起的一种土传病害。我国台湾省早在1967年就有香蕉枯萎病的报道^[3],自20世纪70年代,在广东、福建、广西和海南等省区陆续发现该病^[4],并有迅速蔓延的趋势^[5]。目前对于香蕉镰刀菌枯萎病防治主要依靠农业防治和化学防治,但农业防治难以大面积普及并且只能短期内局部控制病菌的蔓延。另外,大量使用化学农药不但会污染土壤,也会对水资源产生严重污染,对当地生态环境造成严重破坏。生物防治作为一条安全有效的防治途径,越来越受到人们的重视。

目前已有大量防治植物病害的生防菌株被开发成商品上市销售,如哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)、粘帚霉(*Gliocladium*)、青霉菌(*Penicillium*)、毛壳菌(*Chaetomium*)等属的真菌均已被开发为真菌杀菌剂用于多种植物病害的防治。植物内生细菌由于其生态位等方面的特殊优势,可能对植物土传病害和植物维管束病害具有独特的作用和防治效果,已被认为是植物病害,尤其是化学防治较为困难的植物病害生物防治的天然资源^[6-8]。本文报道了一株拮抗香蕉枯萎病内生细菌的分离、筛选、鉴定及其抗病促生作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料: 巴西蕉(*Musa* AAA, cv. Baxi), 采

自海南省金江香蕉种植园。

1.1.2 病原菌: 尖孢镰刀菌古巴专化型4号生理小种(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4, FOC4)由本实验室于2007年4月从带病香蕉植株上分离得到,编号FS-0704。具体过程如下:从金江发病蕉园选择发病的植株作为分离材料,从其病健交界处切取组织,先在70%酒精液中浸泡1-3 min,再用0.1%升汞进行表面消毒,接着用灭菌水冲洗3次,再将其切成4 mm-5 mm的小块,然后移在PDA选择性平板(含50 mg/L 链霉素、100 mg/L 青霉素)上,置于28 °C培养箱中培养5 d。从菌落边缘部分挑取菌丝转接到PDA培养基上培养,经2次纯化后,采用稀释法进行单孢分离,28 °C培养2 d,待菌丝长出后进行斜面保存,4 °C保藏。

1.2 方法

1.2.1 内生细菌的分离、纯化和保存: 分别称取香蕉的球茎、假茎、叶(球茎取离土表10 cm内的材料,假茎选取离外表7 cm-10 cm内的材料,叶部则用打孔器随机选取各部材料)各10 g。经清水冲洗后置于95%的乙醇3-5 min,转入含0.1%升汞液中消毒15 min。消毒结束后立即用无菌水漂洗4次,取最后一次清洗液0.5 mL转入无菌培养皿,倒入肉汁胨培养基,于28 °C-30 °C混菌培养3-4 d,以检测消毒是否彻底,3次重复。用灭菌剪刀将表面无菌材料剪成2 cm-3 cm的小段后,转入盛有少量无菌水的无菌研钵,将植物组织分别研碎至汁液流出。用无菌纱布将汁液过滤至100 mL无菌水的三角瓶中,得到第一个稀释度 10^{-1} ,然后按10倍的梯度稀释到 10^{-6} ,取不同稀释度的菌悬液0.5 mL加入无菌培养皿中,倒入肉汁胨培养基,于28 °C-30 °C温箱中混菌培养3-4 d,重复3次,记数。挑取形态不同的菌落,在固体肉汁胨平板上划线纯化、培养,然后将其转入含30%甘油的塑料离心管中,于-70 °C保存备用^[10]。

1.2.2 内生性测定: 利用抗链霉素标记菌株接种香蕉后第 3 天和第 5 天, 按照方法 1.2.1 在抗性平板上进行回收测定并计算回收菌落数^[11]。

1.2.3 菌株稳定性检测: 将菌株在肉汁胨培养基上进行传代培养 10 次, 每代在 28 °C 下培养 3 d, 测定菌株对 FOC4 的抑制率的变化情况。

1.2.4 抗菌作用和抗病作用的测定: (1) 平板对峙法测定: 在平板中心接入直径约 5 mm 的 FS-0704 菌块, 挑取活化的内生细菌在 PDA 平板两侧沿一直线对称划线接种, 与 FS-0704 菌块相距 3 cm 左右, 置 28 °C 培养 5 d, 观察 FS-0704 菌落生长情况, 并测量 FS-0704 菌落直径, 同时, 挑取抑菌带边缘菌丝, 在显微镜下观察菌丝形态变化情况。以不接内生细菌分离物平板作为对照, 设 3 个重复^[12]。

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{\text{对照组菌落直径} - \text{处理组菌落直径}}{\text{对照组菌落直径}} \times 100$$

(2) 盆栽实验: 将消毒土壤按每 300 mL FS-0704 孢子液(10^6 CFU/mL)混合 5 kg 土壤的比例翻拌均匀, 装入 230 mm×200 mm 的塑料花盆中。4 叶期香蕉苗根部洗净, 用菌株 DB09208 的菌悬液(10^8 CFU/mL)浸根接种 24 h 后, 移栽到花盆中。以施 50%多菌灵可湿性粉剂(WP) 800 倍稀释液对为阴性空白对照, 以清水作阳性空白对照。每处理 23 盆, 重复 3 次, 每盆一株香蕉苗。90 d 后根据植株病变情况, 参照病情指数分级标准计算不同处理的病情指数和防效^[13]。

$$\text{病情指数(\%)} = \frac{\sum[\text{各级病株数} \times \text{相对级数值}]}{\text{调查总株数} \times \text{最高病级}} \times 100$$

$$\text{防效(\%)} = \frac{\text{阳性对照的病情指数} - \text{处理的病情指数}}{\text{阳性对照的病情指数}} \times 100$$

1.2.5 促生作用测定: 将菌株 DB09208 接种在 PDB 中振荡培养 72 h 后, 将无菌香蕉组培苗在发酵液中浸根 4 h 接种后用植物营养液培养, 分别以清水和浓度为 0.05 mg/L 的 IAA (吲哚乙酸)为阴性和阳性对照, 每处理 6 个重复, 21 d 后观察茎和根的生长情况。

1.2.6 生理生化及形态鉴定: 按照东秀珠^[14]的方法, 测定菌株的生理生化特征。

1.2.7 16S rDNA 序列测定及系统发育分析: 提取 DNA 参照文献[15], 采用正向引物 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')和反向引物 1492R (5'-CTACGGCTACCTTGTACGA-3')进行 16S rDNA 的 PCR 扩增^[16]。PCR 产物测序由北京三博远志生物公司完成。将该序列通过 BLAST 程序与 GenBank 中核酸数据进行比对分析, 检索同源性高的菌株用于系统发育学分析, 并用 Clustal X1.8 软件包进行多序列匹配排列, 用 MEGA 2 软件包中的 Kimura2-Parameter Distance 模型计算进化距离, 用 Neighbor-Joining 法构建系统发育树, 1 000 次随机抽样, 计算自引导值 (Bootstrap)以评估系统发育树的置信度。

2 结果与分析

2.1 菌株 DB09208 的拮抗效果

筛选到内生细菌 157 株, 对 FS-0704 有拮抗效果的 5 株, 其中拮抗效果最强的菌株 DB09208 (图 1A), 拮抗抑制率达到 74.09%。和菌株 DB09208 平板对峙培养 5 d 后, 抑菌带上的 FS-0704 菌丝中原生质凝集, 菌丝发生膨大, 凸起变形, 有的原生质外渗造成菌丝中空干枯(图 1B 箭头所示)。选取抑菌带

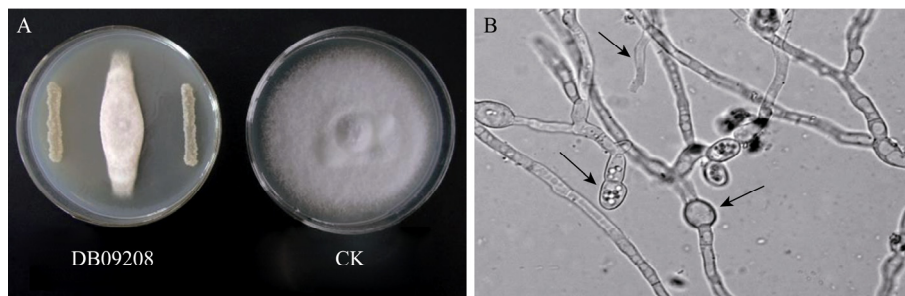


图 1 菌株 DB09208 对 FS-0704 的影响
Fig. 1 Affection of strain DB09208 to FS-0704

边缘菌丝转接到新鲜的 PDA 培养基上培养, 3 d 后无菌丝生长。

2.2 盆栽防治效果

人工伤根接病菌 7 d 后, 有的蕉苗开始出现黄叶等症状。随接种时间的延长, 香蕉苗发病症状加重, 主要表现为叶片由下至上、由外至里出现黄色斑块、萎蔫, 最后死亡。

在温室盆栽中, 经过菌株 DB09208 处理的香蕉苗发病率低于清水空白对照 41.4%, 病情指数降低到 27.6%, 防效达到 65.2%; 而与多菌灵处理相比, 菌株 DB09208 处理香蕉后发病率比多菌灵处理香蕉后的发病率低了 11.4%, 防效也提高了 7.8% (表 1), 由此可见菌株 DB09208 对香蕉枯萎病不仅有良好的防治效果, 同时还大大降低了植株的发病率, 与平板对峙实验表现出较好的一致性。

2.3 菌株 DB09208 稳定性

菌株 DB09208 传代 5 次后对 FS-0704 的抑制效果基本保持不变, 到传代 10 次后抑菌率仍稳定在 72.1% 左右。

2.4 菌株 DB09208 的内生性

对菌株 DB09208 进行链霉素标记后, 获得一株稳定的抗性菌株(DB09208Sm^r), 利用 DB09208Sm^r 接种香蕉后进行再分离实验, 第 3 天在香蕉根部分离到目标菌株, 数量为 2.0×10^2 CFU/mL, 说明菌株 DB09208 到第 3 天已经侵入植物根部。到第 5 天在球茎、假茎内部也分离到了该菌株, 数量分别为 2.5×10^2 、 2.7×10^2 CFU/mL。结果说明 DB09208 不仅可以在体内繁殖, 并具有一定的可转移性。

2.5 菌株 DB09208 对香蕉的促生作用

经菌株 DB09208 处理的香蕉组培苗, 从茎和根的长度和长势来看, 都明显高于对照, 其中茎平均高出 20 mm, 根平均长出 52 mm, 促生效果与植物生长刺激素 IAA 处理的对照相比无显著差异(图 2)。

2.6 菌株 DB09208 的鉴定

2.6.1 形态学及生理生化特征: 菌株 DB09208 在普通细菌培养基上生长良好, 菌落不规则, 淡黄色, 表面粗糙, 呈褶皱凸起, 边缘不光滑。生理生化特征见表 2。

表 1 菌株 DB09208 对香蕉枯萎病的盆栽防效实验

Table 1 The inhibition of strain DB09208 to Fusarium Wilt in pots experiment

菌株编号 Strain code	实际植株数 Real plant numbers	发病株数 Plant numbers being infected	发病率 Infected rate (%)	病死株数 Dead numbers	病死率 Dead rate (%)	病情指数 Disease index (%)	防效 Prevention rate (%)
多菌灵 Carbendazim	70	43	61.4	1	1.4	33.7	57.4
DB09208	70	35	50.0	0	0	27.6	65.2
CK	70	64	91.4	8	11.4	79.2	\

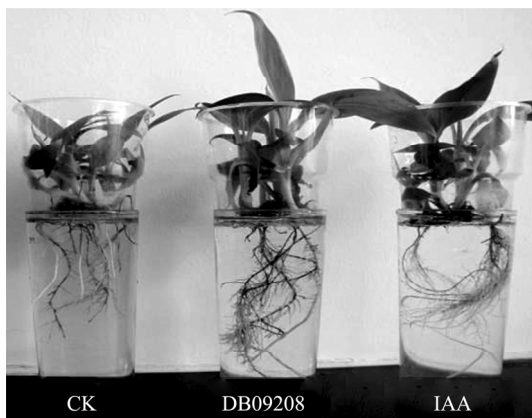


图 2 菌株 DB09208 对香蕉苗的促生作用

Fig. 2 Promoting to banana seedlings of strain DB09208

2.6.2 16S rDNA 序列分析: 对菌株 DB09208 的 16S rDNA 的扩增片段进行测序, 长度为 1.4 kb 左右, GenBank 登录号为 HM037043。将该序列与 GenBank 相关数据进行 BLAST 相似性分析, 选取同源性较高的模式菌株, 用 Neighbor-Joining 构建系统发育树(图 3), 结果显示, 系统发育树上与菌株 DB09208 16S rDNA 同源性较高的均为类芽孢杆菌属, 与 *Paenibacillus elgii* 菌株 NBRC 100335^T (AY090110) 同源性达到 99.1%, 在发育树上聚为一簇。结合生理生化鉴定结果, 初步鉴定为类芽孢杆菌。

表 2 菌株 DB09208 的生理生化特征
Table 2 Physiological and biochemical characteristics of strain DB09208

试验项目 Test item	Strain DB09208	试验项目 Test item	Strain DB09208
革兰氏染色 Gram staining	V	L-阿拉伯糖 Pectinose	-
硝酸盐 Nitrate reduction	+	葡萄糖氧化 Glucose oxidation	+
氧化酶 Oxidase	-	厌氧生长 Anaerobic growth	+
接触酶 Catalase	+	VP 测定 VP determination	+
芽孢染色 Spore staining	+	D-木糖产酸 Acid production of D-xylose	+
形状 Shape	杆状	5% NaCl 生长 Growth under 5% NaCl	-
产生吲哚 Indole production	+	生长 pH 5.6 Growth under pH 5.6	+
运动性 Motility	+	50 °C 生长 Growth at 50 °C	-
酪素水解 Casein hydrolysis	+		

注: +: 阳性反应; -: 阴性反应.

Note: +: Positive reaction; -: Negative reaction.

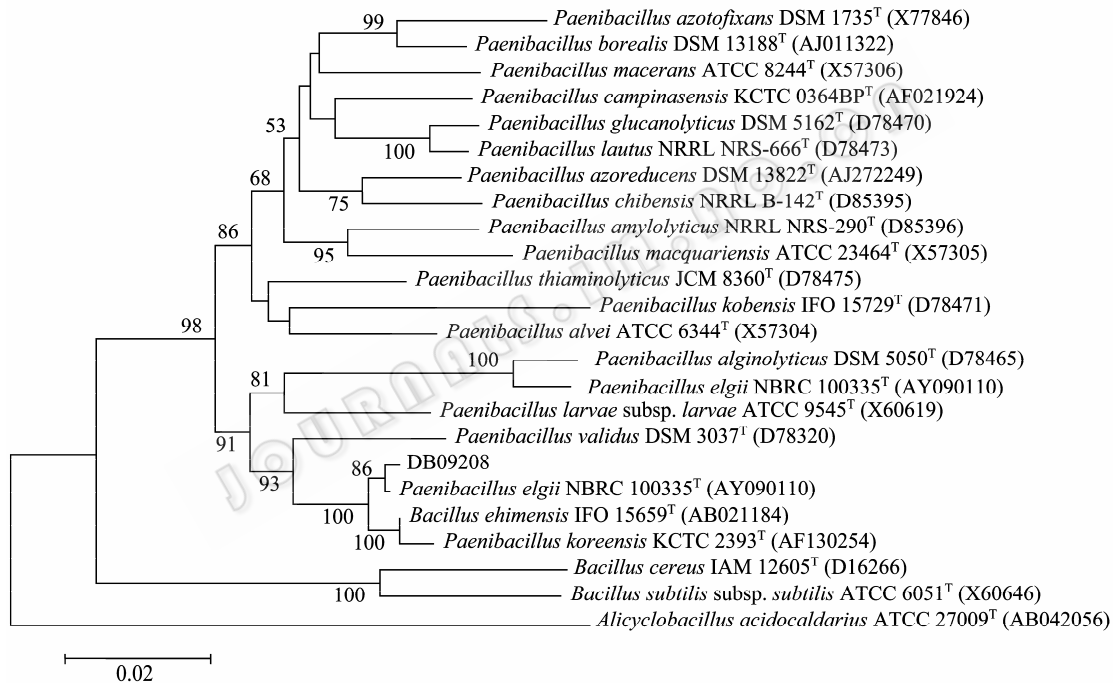


图 3 依据 16S rDNA 序列构建的菌株 DB09208 与相关菌株的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of stain DB09208 and related strains based on 16S rDNA

3 讨论

植物内生细菌(Endophytic bacteria)是指能在健康植物组织内栖居而对植物不造成实质性危害,并与植物建立了和谐联合关系的细菌。内生细菌对寄主植物的生物学作用,到 20 世纪 80 年代才引起人们的注意。大量研究表明,内生细菌不仅将植物作为其栖息场所,而且对寄主植物的生长发育也具有

多方面的影响^[17]。在生物防治方面,内生细菌生防机制主要有产生抗生素、竞争生态位和营养、诱导寄主产生系统抗性、灭活病菌萌发因子、产生胞外酶溶解病原菌细胞壁和降解毒素等几种方式^[18]。内生细菌对化学农药难以发挥作用的植物土传病害、维管束病害和系统性病害的防治具有独特的优势^[19-21]。芽孢杆菌和类芽孢杆菌广泛存在于自然界中,能够产生芽孢,通常耐受一定高温,在液体培

培养基中生长迅速、形态稳定并在长期储存过程中存活率高。这些特征有利于微生物农药的发展和应^[22]。

植物内生细菌对由镰刀菌引起的作物枯萎病的防治研究,国内外均已有许多报道,主要集中在棉花^[23]、马铃薯^[24]、番茄^[25]等植物。在香蕉内生菌研究方面,曹理想等人^[10]分离获得的内生放线菌玫瑰浅灰链霉菌对香蕉尖孢镰刀菌表现出明显的拮抗作用,付业勤等人^[26]从香蕉中分离到 9 株对香蕉尖孢镰刀菌抑制效果较强的内生细菌。本文从海南金江香蕉种植园中分离到一株对 FS-0704 具有明显抑制作用,同时能促进组培香蕉苗生长的内生类芽孢杆菌 DB09208,实验证明经菌株处理的 FS-0704 菌丝细胞膨大,细胞质凝集,菌丝枯萎,这与王智文等人报道的结果相类似^[27]。该菌对香蕉组培苗具有显著的促生作用,这可能是由于该菌株能够通过固氮和溶磷来提供植物自身难以吸收的氮源和磷源,并在植物根尖定殖形成“生物膜”来加速植物对营养物质吸收的缘故^[28],同时该菌在盆栽实验中防效达到 65.2%,能够很快定殖到香蕉中,并有一定转移能力,具有良好的开发前景。

参 考 文 献

- [1] Pearce F. Going bananas[J]. *New Scientist*, 2003(177): 26-30.
- [2] Ploetz RC. Banana diseases in the subtropics: a review of their importance, distribution and management[J]. *Acta Horticulturae*, 1997, 490: 263-276.
- [3] Jain SM, Swennen R. Banana improvement: *cellular, molecular biology and induced mutations*[J]. 2004, 400(216): 454-458.
- [4] 舒肇苏. 台湾香蕉病害的防治[J]. 柑桔与亚热带果树信息, 2000, 16(2): 43-44.
- [5] 高乔婉. 香蕉枯萎病[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [6] 胡莉莉, 窦美安, 谢江辉, 等. 香蕉枯萎病抗病性研究进展[J]. *广西热带农业*, 2006(1): 16-18.
- [7] Sturz AV, Christie BR, Nowak J. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2000, 19(1): 1-30.
- [8] 文才艺, 吴元华, 田秀玲. 植物内生菌研究进展及其存在的问题[J]. *生态学杂志*, 2004, 23(2): 86-91.
- [9] 辜运富, 张云飞, 张小平. 一株抗玉米纹枯病内生细菌的分离鉴定及其抗病促生作用[J]. *微生物学通报*, 2008, 35(8): 1240-1245.
- [10] Cao LX, Qiu ZQ, You JL, et al. Isolation and characterization of endophytic *Streptomyces* antagonists of Fusarium wilt pathogen from surface-sterilized banana roots[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2005, 247(2): 147-152.
- [11] 黄青云, 陈金顶, 任涛, 等. 禽大肠杆菌耐药性标记弱毒菌株 O₂ (Nor^r, Chl^r) 和 O₇₈ (Chl^r, Nor^s) 的培育[J]. *华南农业大学学报*, 1997, 18(2): 89-92.
- [12] Sariah M. Potential of *Bacillus* spp. as a biocontrol agent for anthracnose fruit rot of chilli[J]. *Mal Appl Biol*, 1994, 23(1/2): 53-60.
- [13] 方中达. 植病研究方法[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 177-197.
- [14] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 349-398.
- [15] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 DW. 分子克隆实验指南[M]. 第 3 版. 黄培堂, 等译. 北京: 科学出版社, 2002: 26-32.
- [16] Lane DJ, Stackebrandt E, Goodfellow M. 16S/23S rRNA sequencing[M]. New York, USA: John Wiley & Sons, Inc., 1991: 115-175.
- [17] Sturz AV, Christie BR, Matheson BG, et al. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth[J]. *Biol Fertil Soils*, 1997, 25: 13-19.
- [18] Keel C, D'efago G. Interactions Between Beneficial Soil Bacteria and Root Pathogens: Mechanisms and Ecological impact[M]. London, United Kingdom: Blackwell Scientific Publishers, 1997: 27-46.
- [19] 林兰稳, 奚伟鹏, 黄赛花. 香蕉镰刀菌枯萎病防治药剂的筛选[J]. *生态环境*, 2003, 12(2): 182-183.
- [20] 杨海莲, 孙晓璐, 宋未. 植物内生细菌的研究[J]. *微生物学通报*, 1998, 25(4): 224-227.
- [21] Chanway CP. Bacterial endophytes: ecological and practical implications[J]. *Sydowia*, 1998, 50(2): 149-170.
- [22] Emmert EAB, Handelsman J. Biocontrol of plant disease: a (gram-) positive perspective[J]. *FEMS Microbiology Lett*, 1999, 171(1): 1-9.
- [23] Chen C, Bauske EM, Musson G, et al. Biological control of fusarium wilt on cotton by use of endophytic bacte-

- ria[J]. Biol Control, 1995, 5(1): 83-91.
- [24] Sturz AV, Christie BR, Matheson BG, et al. Endophytic bacterial communities in the periderm of potato tubers and their potential to improve resistance to soil-borne plant pathogens[J]. Plant Pathol, 1999, 48(3): 360-369.
- [25] Sharma VK, Nowak J. Enhancement of verticillium wilt resistance in tomato transplants by *in vitro* co-culture of seedlings with a plant growth promoting rhizobacterium[J]. Can J Microbiol, 1998, 44(6): 528-165.
- [26] 付业勤, 蔡吉苗, 刘先宝, 等. 香蕉内生细菌分离、活性评价及数量分布[J]. 热带作物学报, 2007, 28(4): 78-83.
- [27] 王智文, 刘训理, 何亮, 等. Cp-S316 菌株发酵培养基的优化及其对烟草赤星病菌的抑制作用[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(2): 723-728.
- [28] Timmusk S, Grantcharova N, Wagner EGH. *Paenibacillus polymyxa* invades plant roots and forms biofilms[J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(11): 7292-7300.

征 稿 简 则

1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的,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:工业微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、基础微生物学、农业微生物学、食品微生物学、兽医微生物学、药物微生物学、医学微生物学、病毒学、酶工程、发酵工程、代谢工程等领域的最新研究成果,产业化新技术和新进展,以及微生物学教学研究和改革等。设置的栏目有:研究报告、专论与综述、生物实验室、高校教改纵横、名课讲堂、教学与科研成果展示、显微世界、专题专栏、专家论坛、书讯、会讯等。

2 投稿方式

投稿时请登陆我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>, 点击作者投稿区,第一次投稿请先注册,获得用户名和密码,然后依照提示提交稿件,详见主页“投稿、征稿须知”。

作者必须在网站投.doc 格式的电子稿,图与文字编好页码、图号后合成一个文件上传。凡不符合(投稿须知)要求的手稿,本部恕不受理。

3 写作要求

来稿要求论点明确,数据可靠,简明通顺,重点突出。

3.1 篇幅

以 A4 纸 5 号字计算,综述、教学和方法类文章最好在 4 页以内,研究报告 4-7 页(以上均包括图表)。

3.2 图表

文中的图表须清晰简明,文字叙述应避免与图表重复。所有小图的宽度应小于 8 cm (占半栏),大图的宽度应小于 17 cm (通栏)。

3.3 参考文献及脚注

参考文献按文内引用的先后顺序排序编码,未公开发表的资料请勿引用。我刊的参考文献需要注明著者(文献作者不超过 3 人时全部列出,多于 3 人时列出前 3 人,后加“等”或“et al.”,作者姓前、名后,名字之间用逗号隔开)、文献名、刊名、年卷期及页码。国外期刊名可以缩写,但必须标准,不加缩写点,不用斜体。参考文献数量不限。

参考文献格式举例:

期刊: [1] 刘杰,成子强,史宣玲. SARS 冠状病毒 *nsp14* 基因的克隆和表达[J]. 微生物学通报, 2007, 34(2): 1-3.

[2] Kajiura H, Mori K, Tobimatsu T, et al. Characterization and mechanism of action of a reactivating factor for adenosylcobalamin-dependent glycerol dehydratase[J]. J Biol Chem, 2001, 276(39): 36514-36519.

图书: [3] 钱存柔,黄仪秀. 微生物实验教程[M]. 北京: 北京大学出版社, 2000: 4.

[4] 董志扬,张树政,方宣钧,等. 海藻的生物合成及抗逆机理//华路等. 核农学进展[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 115-120.

脚注(正文首页下方):

基金项目: 基金项目(No.)

*通讯作者: Tel: ; Fax: ; E-mail:

收稿日期: 2011-00-00; 接受日期: 2011-00-00

(下转 p.213)