

## 一株抗水稻纹枯病菌的解淀粉芽胞杆菌分离与鉴定

朱晓飞<sup>1</sup>, 张晓霞<sup>3</sup>, 牛永春<sup>3</sup>, 胡元森<sup>1</sup>, 闫艳春<sup>2</sup>, 王海胜<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>河南工业大学生物工程学院, 郑州 450001

<sup>2</sup>中国农业科学院研究生院, 北京 100081

<sup>3</sup>中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081

**摘要** 【目的】筛选对水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*) 具有强拮抗作用的细菌菌株。【方法】用指示菌法筛选拮抗菌株; 通过形态观察、生理生化实验、Biolog 及 16S rDNA 序列分析鉴定目标菌株; 利用平板双向培养法和滤纸片扩散法测定抑菌谱及拮抗性质。【结果】分离到一株高活力的水稻纹枯病菌拮抗菌株 YB-3, 该菌株属于解淀粉芽胞杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*); 菌株 YB-3 对常见的 14 株病原真菌和 7 株细菌具有较强的拮抗作用, 并发现其对亲缘关系较近的芽孢菌属有较强的拮抗作用; 该菌株的抑制活性具有温度稳定、耐酸、但对蛋白酶敏感的特点。【结论】通过指示菌法筛选到一株对水稻纹枯病菌有强拮抗作用的解淀粉芽胞杆菌(*B. amyloliquefaciens*) YB-3, 它具有广谱、高效的植物病原菌拮抗活性。

**关键词:** 解淀粉芽胞杆菌, 鉴定, 拮抗特性, 生物防治

**中图分类号:** Q939 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2011) 08-1128-06

水稻纹枯病是由一种全球性分布的土传性立枯丝核病菌(*Rhizoctonia solani*) 引起, 该菌能够分泌一些细胞壁水解酶, 主要侵害叶片、叶鞘, 影响光合产物的积累和运输, 导致谷粒严重减产<sup>[1-2]</sup>。化学农药一直是水稻纹枯病的主要防治措施, 但化学农药的过量施用对人类健康、环境污染和生态平衡构成了极大威胁<sup>[3]</sup>。因此, 开发替代化学杀菌剂的新型生物杀菌剂已成为必然<sup>[4]</sup>。近年来国内外研究人员在对水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*) 防治方面进行了大量研究, 已筛选的抗性菌株有蜡状芽胞杆菌(*Bacillus cereus*)、刺孢吸水链霉菌(*Streptomyces hygrospinosus*)、致黄假单胞菌(*Pseudomonas aureofaciens*)、木霉(*Trichoderma*) 及内

生炭疽菌(*Colletotrichum* sp.)<sup>[5-9]</sup>, 并构建转基因抗病株<sup>[10]</sup>。但是, 利用微生物水稻纹枯病防治存在防效不稳定<sup>[11]</sup>及转基因安全性问题。因此, 获得一株高活性且安全稳定的菌株是必要的。

本研究采用指示菌法筛选到一株解淀粉芽胞杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) YB-3。拮抗实验结果表明, YB-3 是一株广谱、高效的水稻纹枯病菌拮抗菌株, 这将为新型、高效微生物农药的创制奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 菌种:** 菌株 YB-3 为本研究筛选分离得到; 用

基金项目: 中国农业科学院基本科研业务基金项目(0042009001)

\* 通信作者。Tel: +86-40-82109694; Fax: +86-40-82106609; E-mail: wanghaisheng@caas.net.cn

作者简介: 朱晓飞(1985-), 男, 河南洛阳人, 硕士研究生, 主要从事微生物及代谢产物在生物防治方面的工作。E-mail: xiaodong8548@163.com

收稿日期: 2011-01-14; 修回日期: 2011-04-19

于抗性筛选实验的 *R. solani* ACCC36441 以及抑菌谱测定的其它菌株(表1)均由中国农业微生物菌种保藏管理中心提供。

**1.1.2 培养基:** 马铃薯固体培养基(PDA); 马铃薯液体培养基(PDB); 营养琼脂培养基<sup>[12]</sup>。

**1.1.3 主要试剂和仪器:** Himac CR-22G 高速离心机; Bio-Rad DNA Engine PCR 仪; Thermo LLC -70℃ 冰箱; OLYMPUS CKX41 荧光显微镜; 722 型可见分光光度计; HZ-9612K 高温振荡培养箱; 蛋白酶 K、蛋白酶 E、胰蛋白酶均购自于 sigma 公司。

## 1.2 菌种分离和筛选

从中国农科院示范田取土壤样品加无菌水配制为 0.1 g/mL 悬浮液,梯度稀释至  $10^{-6}$ 。分别取 0.1 mL 土壤悬浮液和水稻纹枯病菌液(于 PDB 培养基中 25℃、180 r/min 培养 2 d)混合均匀,涂布到直径为 9 cm 的 PDA 平板上,28℃ 倒置培养 2-4 d,观察抑菌圈形成。挑选产生明显抑菌圈的菌落,用划线法纯化菌株。

## 1.3 菌株鉴定

**1.3.1 菌体形态观察:** 生理生化实验及 Biolog 分析鉴定:参考文献[12]方法对 YB-3 菌株进行形态观察和生理生化实验;根据 Biolog 全自动鉴定仪说明书的规定程序对目的菌株进行鉴定。

**1.3.2 菌株(G+C) mol% 测定:** 依照参考文献<sup>[13]</sup>利用热变性温度法( $T_m$  值法)来测定 DNA (G+C) mol% 含量,利用公式  $(G+C) \text{ mol\%} = 2.44 \times (T_m - 69.3)$  计算。对照菌株为 *Escherichia coli* DH 5 $\alpha$ 。

**1.3.3 菌株 16S rDNA 序列测定及系统发育树的构建:** 用 CTAB 法<sup>[14]</sup>提取总 DNA 并以之为模板,对 16S rDNA 序列进行 PCR 扩增。引物序列: F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'); R (5'-GGCTAC-CTTGTTACGACT-3')。扩增反应体系为: 10  $\times$  PCR 缓冲溶液 ( $Mg^{2+}$ ) 2.5  $\mu$ L, dNTPs (各 2.5 mmol/L) 2.0  $\mu$ L, 引物 (5  $\mu$ mol/L) 各 2.0  $\mu$ L, 菌体 DNA (约 50 mg/L) 1.0  $\mu$ L, Taq DNA 聚合酶 (5 U/ $\mu$ L) 0.125  $\mu$ L, 加 ddH<sub>2</sub>O 至 25  $\mu$ L。反应条件: 95℃ 5 min; 94℃ 30 s, 54℃ 50 s, 72℃ 90 s, 30 个循环, 72℃ 8 min。PCR 产物由上海生工生物技术有限公司测序,序列 (GenBank accession HQ840645) 经 eZtaxon 网 (<http://147.47.212.35>:

8080/index.jsp) 比对分析,用 MEGA 4.0 软件进行构建系统发育树。

## 1.4 抑菌谱测定<sup>[15]</sup>

利用双向培养法和滤纸片扩散法对病原真菌和细菌进行抑菌测定:将病原真菌切成菌块置于平板中心,其对称两侧点种菌株 YB-3, 28℃ 恒温下培养 3-7 d 后测量菌落直径,计算抑菌率;将靶标细菌涂布于营养琼脂培养基,在其中心放置一片含有 YB-3 菌液的圆形滤纸片,置 30℃ 温箱中培养 2 d,测量抑菌圈直径。每组实验处理重复 3 次。

用下列公式计算菌丝生长抑制率(%):

菌落扩展直径(mm) = 测量菌落直径平均值(mm) - 5 mm (菌饼直径)

相对抑制率(%) = [对照菌落扩展直径(mm) - 处理菌落扩展直径(mm)] / 对照菌落扩展直径(mm)  $\times 100\%$

## 1.5 粗提液稳定性测定

**1.5.1 热稳定性:** 将等体积 YB-3 培养液分别在 20℃、40℃、60℃、80℃ 保持 1 h, 100℃、121℃ 下保持 30 min,室温冷却,以未经处理的培养液为对照,以地衣芽孢杆菌为指示菌测定拮抗性<sup>[16]</sup>。处理样品的活性定义为与对照活性比值的百分数,对照的抑菌活性为 100%。

**1.5.2 pH 稳定性:** 在试管中加入等体积培养液,用 1 mol/L NaOH 和 1 mol/L HCl 将样品溶液和培养基分别调至 pH3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0,室温保持 2 h,以各对应 pH 的蒸馏水作对照,测定拮抗性。经过酸碱处理的样品的活性定义为与对照活性的比值的百分数,对照的抑菌活性为 100%。

**1.5.3 蛋白酶稳定性:** 取等体积培养液,分别加入反应终浓度为 1  $\mu$ g/mL 的蛋白酶 K、胰蛋白酶、蛋白酶 E,以不加酶处理的培养液作为对照,测定拮抗性。酶处理后的样品的活性定义为与对照的活性的比值的百分数,对照的抑菌活性为 100%。

## 2 结果和讨论

### 2.1 菌株筛选与抑菌谱测定

从土壤中筛选到 3 株对水稻纹枯病菌有抑制效果的菌株,其中菌株 YB-3 (CGMCC No. 4318) 具有

较强的拮抗能力。

菌株 YB-3 对 14 株病原真菌、7 株细菌有一定程度的抑制作用( 表 1 ,图 1) 。其中 ,对水稻纹枯病菌、辣椒疫霉病菌、大豆炭疽病菌的抑制率达到

80% 以上;对棉花黄萎病菌、黄瓜炭疽病菌抑制率达到 70% 以上。此外 ,对地衣芽胞杆菌、巨大芽胞杆菌、枯草芽胞杆菌及水稻白叶枯病菌等都有明显的抑制效果。

表 1 菌株 YB-3 的拮抗谱

Table 1 Antimicrobial spectrum of strain YB-3

Test Fungus	Inhibition ratio/%	Test Bacterium	Diameter of inhibition zone/mm
<i>Rhizoctonia solani</i> ACCC36441	81. 18	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv <i>oryzae</i> ACCC05453	14. 3
<i>Fusarium vasinfectum</i> ACCC36879	50. 67	<i>Xanthomonas campestris</i> ACCC33913	14. 6
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ACCC 36084	54. 29	<i>Pseudomonas solancearum</i> ACCC01472	13. 5
<i>Colletotrichum orbiculare</i> ACCC36065	74. 07	<i>Bacillus subtilis</i> ACCC10243	16. 9
<i>Gibberella zeae</i> ACCC31059	50. 60	<i>Streptococcus</i> sp ACCC01344	16. 3
<i>Magnaporthe grisea</i> ACCC37632	41. 33	<i>Flavobacterium oryzae</i> ACCC10051	0
<i>Botrytis cinerea</i> ACCC30387	65. 00	<i>Staphylococcus aureus</i> ACCC10499	0
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ACCC36081	56. 76	<i>Bacillus licheniformis</i> ACCC10236	20. 7
<i>Phytophthora capsici</i> ACCC36278	84. 09	<i>Pseudomonas pyocynaea</i> ACCC10647	0
<i>Verticillium dahliae</i> ACCC30309	76. 92	<i>Bacillus megaterium</i> ACCC01509	18. 8
<i>Boerytis cinerea</i> ACCC36448	53. 66	<i>Escherichia coli</i> ACCC10034	0
<i>Fusarium oxysporum</i> ACCC36242	47. 73	<i>Serratia marcescens</i> ACCC10119	0
<i>Colletotrichum glycines</i> ACCC36201	80. 23		
<i>Ustilaginoides virens</i> ACCC36443	45. 83		

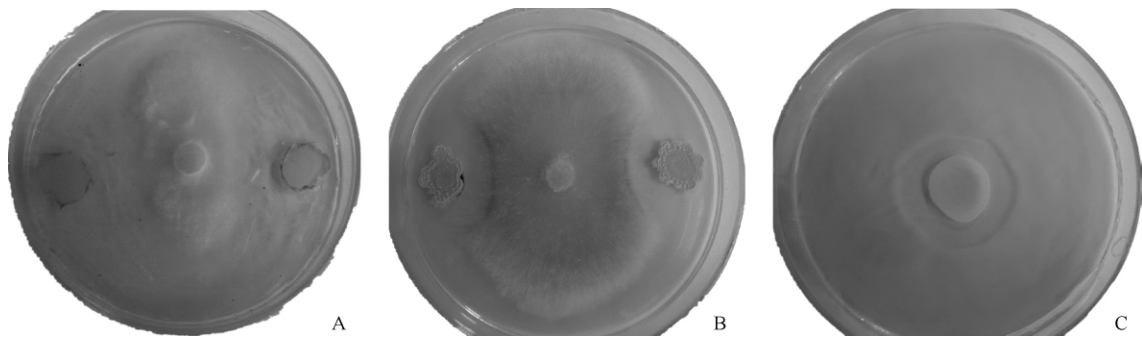


图 1 解淀粉芽胞杆菌对病原真菌及细菌的拮抗作用

Fig. 1 Antagonism of *B. amyloliquefaciens* YB-3 against pathogenic fungi and bacteria. A: antagonism toward *P. capsici*; B: antagonism toward *R. solani*; C: antagonism toward *B. licheniformis*.

2. 2 菌株鉴定

2. 2. 1 形态观察: 菌株 YB-3 在营养琼脂培养基上呈白色不透明菌落 ,表面粗糙 ,边缘不规则; 菌体呈短杆状 ,具有运动性 ,兼性厌氧菌 ,可形成内生芽孢 ,革兰氏染色阳性。

2. 2. 2 生理生化特征: V-P、接触酶、氧化酶、淀粉酶、O-硝基苯-β-D-吡喃半乳糖苷酶测定均为阳性 ,发酵葡萄糖产酸。

2. 2. 3 Biolog 鉴定: Biolog 自动系统鉴定结果为 *B. amyloliquefaciens* 。与系统数据库比较结果的可能性 ( Probability) 为 97、相似性 ( Similarity) 为 0. 91、位距 ( Distance) 为 0. 90 ,因此 ,此鉴定结果可信度较

高 ,初步认为菌株 YB-3 应为 *B. amyloliquefaciens* 。

2. 2. 4 G + C mol% 测定: 由热扫描曲线得出菌株 YB-3 的 Tm 值为 87. 8℃ ,由公式计算得 DNA 中的 “G + C mol% ” 值为 45. 1 mol% 。符合 *B. amyloliquefaciens* 的 “( G + C) mol% ” 值特征 ( 44 - 46 mol% ) 。

2. 2. 5 16S rDNA 同源分析: 以菌株 YB-3 总 DNA 为模板 ,经 PCR 扩增并对其产物进行序列测定 ,测定结果表明 YB-3 的 16S rDNA 长度为 1459 bp。经 eztaxon 网站 ( <http://147.47.212.35:8080/index.jsp>) 比对分析 ,菌株 YB-3 与 *Bacillus tequilensis* 的 Pairwise Similarity 值达到 99. 49% ,与 *B.*

*amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 的 Pairwise Similarity 值达到 98.42%。用 MEGA 4.0 软件进行多序列同源性分析,并构建系统发育树(图2),显示 YB-3 与 *B. amyloliquefaciens* 聚在一个分支。这与该

菌株的形态特征、生理生化特征、Biolog 分析及 G + C 含量分析结果一致,因此将菌株 YB-3 鉴定为解淀粉芽胞杆菌(*B. amyloliquefaciens*)。图2中分枝上的数值为自举500次的结果。

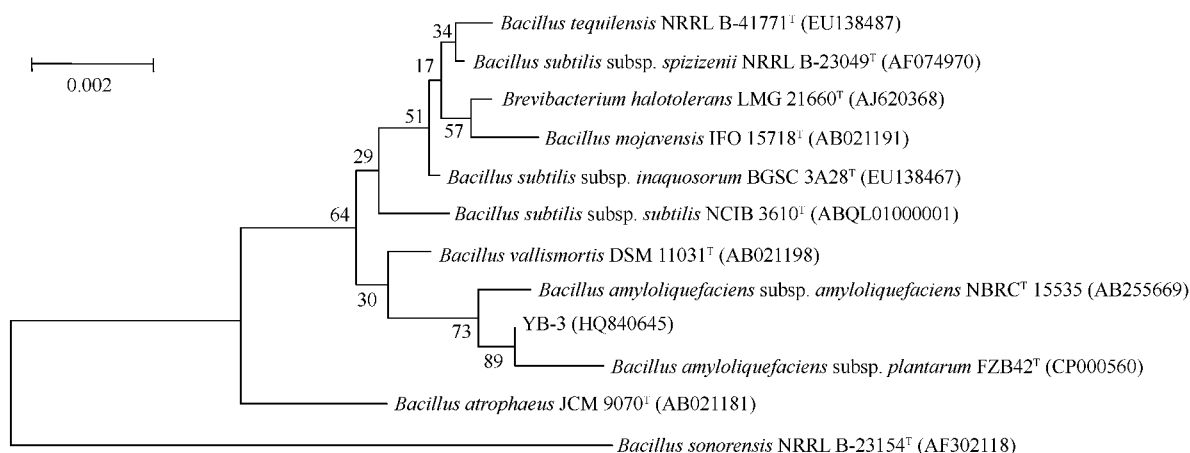


图2 以16S rDNA序列为基础的YB-3菌系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of the strain YB-3 based on 16S rDNA sequence homology. Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank. The number at each branch points is the percentage supported by bootstrap. Bar, 0.2% sequence divergence.

### 2.3 粗提液稳定性研究

菌株 YB-3 培养液对指示菌的抑菌活性随温度的变化整体改变量较大,低于60℃时保持较高活性,高于60℃时,活性几乎呈线性降低,直至121℃完全丧失活性;在 pH 4.0 - 10.0 之间抑菌活性比较稳定,且在偏酸条件下活性保持较好,在碱性条件下活性丧失程度较大,当 pH 值为 7.0 时,活性最大;经蛋白酶 K 处理后该菌株培养液仍保持较高拮抗活性,胰蛋白酶处理后拮抗活性降低了一半,而链霉蛋白酶处理后发现完全丧失拮抗活性。

## 3 讨论

芽胞杆菌类是目前研究比较广泛的一类生防微生物。已报道的生防芽胞杆菌有 *B. subtilis*、*B. cereus*、*B. polymyxa*、*B. megaterium*、*B. pumilus* 等<sup>[17]</sup>。近些年,又发现 *B. amyloliquefaciens* 也具有一定的拮抗活性,能够抑制一些植物病原真菌<sup>[18]</sup>。本研究采用便捷、高效的指示菌法筛选到一株 *B. amyloliquefaciens* YB-3,它对供试的14株植物病原

真菌都具有较强抑菌活性。此外,发现该菌株 YB-3 对一些植物病原细菌和革兰氏阳性菌也具有拮抗作用,尤其对该菌株亲缘关系较近的枯草芽孢效果较好,而枯草芽孢杆菌是目前三大食品污染菌之一<sup>[19]</sup>。因此,菌株 YB-3 不仅为创制新型微生物源杀菌剂奠定基础,而且其合成的拮抗物质具有开发为新型天然食品防腐剂的前景。

对菌株 YB-3 拮抗性质研究结果表明,菌株 YB-3 产生的拮抗物质对高温及部分蛋白酶敏感,推测菌株 YB-3 的拮抗物质可能是一种多肽类物质,这与 Peypoux 等研究的枯草菌脂肽(surfactin)<sup>[20]</sup>、芬枯草菌素(plipastatin fengycin)<sup>[21]</sup>一致。在蛋白酶处理过程中,拮抗物对蛋白酶 K、胰蛋白酶敏感,对蛋白 E 酶较为敏感,而蛋白酶 K、胰蛋白酶是特异性酶,蛋白酶 E 是一种非特异蛋白水解酶,有极强的蛋白消化和水解作用,能水解纤维蛋白、黏蛋白等构建生物网状骨架的蛋白质<sup>[22]</sup>。因此,此种拮抗物质可能是一种的多肽类物质,具有很强的市场应用前景。目前拮抗物质的分离纯化及抑制机理研究正在进行。

## 参考文献

- [ 1 ] 李明海, 杨迎青, 杨媚, 周而勋. 井冈霉素对水稻纹枯病菌细胞壁降解酶活性和可溶性蛋白的影响. 华中农业大学学报 ( *Journal of Huazhong Agricultural University* ), 2010 , 29( 3 ) : 272-276.
- [ 2 ] 夕军, 张红, 徐敬友. 水稻纹枯病菌细胞壁降解酶的产生及致病作用. 江苏农业学报 ( *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences* ), 2006 , 22( 1 ) : 24-28.
- [ 3 ] Russell PE. Fungicide resistance: occurrence and management. *Journal of Agricultural Science* , 1995 , 124: 317-323.
- [ 4 ] 关爱莹, 刘长令. 生物农药的现状与发展趋势. 农药科学与管理 ( *Pesticide Science and Administration* ) , 2002 , 23( 3 ) : 29-30.
- [ 5 ] 张亚, 廖晓兰, 曾晓楠, 黄璜, 高文娟, 薛正杰. 鸭粪中 1 株水稻纹枯病菌拮抗细菌的鉴定. 植物病理学报 ( *Acta Phytopathologica Sinica* ) , 2010 , 40( 5 ) : 517-521.
- [ 6 ] 陈宏州, 杨敬辉, 朱桂梅, 吴琴燕, 郭建, 肖婷, 潘以楼. 水稻纹枯病菌拮抗放线菌的筛选与生防潜能评价. 江苏农业科学 ( *Jiangsu Agricultural Sciences* ) , 2009 , 20( 5 ) : 141-143.
- [ 7 ] 郑爱萍, 李平, 王世全, 孙惠青. 水稻纹枯病菌强拮抗菌 B34 的分离与鉴定. 植物病理学报 ( *Acta Phytopathologica Sinica* ) , 2003 , 33( 1 ) : 81-85.
- [ 8 ] Muhammad A , Arne T , Veronique E , Linda GH , Cecile H , Christian S. Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani*. *Fungal Biology* , 2010 , 114( 6 ) : 691-701.
- [ 9 ] 丁婷, 周建, 丁克坚. 喜树内生真菌抗水稻纹枯病菌活性的研究. 生物学杂志 ( *Journal of Biology* ) , 2010 , 27( 5 ) : 22-25.
- [ 10 ] Liu M , Sun Z X , Zhu J , Xu T , Harman G , Lorito M. Enhancing rice resistance to fungal pathogens by transformation with cell wall degrading enzyme genes from *Trichoderma atroviride*. *Journal of Zhejiang University Science* , 2004 , 5( 2 ) : 133-136.
- [ 11 ] 刘薇, 杨超, 邹剑锋. 水稻纹枯病生物防治研究进展. 广西农业科学 ( *Guangxi Agricultural Sciences* ) , 2009 , 40( 5 ) : 512-525.
- [ 12 ] 周德庆. 微生物学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [ 13 ] Priest FG. , Goodfellow M , Shute LA , Berkeley RCW. *Bacillus amyloliquefaciens* sp. nov. nom. rev. *International Journal of Systematic Bacteriology* , 1987 , 37: 69-71.
- [ 14 ] Sambrook J , Fritsch EF. Molecular Cloning: A laboratory Manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press , 1989.
- [ 15 ] 方中达. 植病研究方法. 北京: 农业出版社, 1998.
- [ 16 ] 张成省, 孔凡玉, 关小红, 王静, 李多川. 烟草叶围细菌 Tpb55 菌株的鉴定及其抑菌活性. 中国生物防治 ( *Chinese Journal of Biological Control* ) , 2008 , 24( 1 ) : 63-68.
- [ 17 ] Shoda M. Bacterial control of plant diseases. *Journal of Bioscience Bioengineerin* , 2000 , 89( 6 ) : 515-521.
- [ 18 ] 权春善, 王军华, 徐洪涛, 范圣第. 1 株抗真菌解淀粉芽孢杆菌的分离鉴定及其培养条件的初步研究. 微生物学报 ( *Acta Microbiologica Sinica* ) , 2006 , 46( 1 ) : 7-12.
- [ 19 ] 肖新生, 林倩英. 枇杷叶提取物抑菌作用研究. 现代食品科技 ( *Modern Food Science and Technology* ) , 2010 , 26( 1 ) : 59-62.
- [ 20 ] Peypoux F , Bonmatin M , Wallach J. Recent trends in the biochemistry of surfactin. *Journal of Applied Microbiology Biotechnology* , 1999 , 51: 553-563.
- [ 21 ] Maget DR , Peypoux F. a special class of porertorming Lipopeptides: biological and physicochemical Properties. *Toxicology* , 1994 , 87: 151-174.
- [ 22 ] Kim PI , Chung KC. Production of an antifungal protein for control of *Colletotrichum lagenarium* by *Bacillus amyloliquefaeiens* MET0908. *FEMS Microbiology Letters* , 2004 , 234( 1 ) : 177-183.

## Isolation and identification of a *Bacillus amyloliquefaciens* YB-3 against *Rhizoctonia solani*

Xiaofei Zhu<sup>1</sup>, Xiaoxia Zhang<sup>3</sup>, Yongchun Niu<sup>3</sup>, Yuansen Hu<sup>1</sup>, Yanchun Yan<sup>2</sup>,  
Haisheng Wang<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Bioengineering of Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China

<sup>2</sup>Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

<sup>3</sup>Institute of Agricultural Resources and Regional Planning CAAS, Beijing 100081, China

**Abstract [Objective]** An antagonistic bacterial strain YB-3 against *Rhizoctonia solani* was isolated from soils. **[Methods]** Antagonistic strains were isolated by a reporter strain method. YB-3 was identified based on morphology observation, physiological and biochemical characterizations, Biolog, G + C content and 16S rDNA sequence analysis. The antagonistic spectrum and the properties of the inhibitor produced by *Bacillus amyloliquefaciens* YB-3 against plant pathogenic fungi and bacteria were investigated by means of plate two-way cultivation and disc diffusion method. **[Results]** The strain YB-3 against *Rhizoctonia solani* was identified as *Bacillus amyloliquefaciens*. The antagonistic results showed that it had distinctively inhibitive effects on 14 pathogenic fungi and 7 bacteria. In addition, it also had inhibitive effects on strains from genus *Bacillus* to which YB-3 belongs. Antagonistic properties of *B. amyloliquefaciens* YB-3 was thermostable, acid resistant, and protease sensitive. **[Conclusion]** *Bacillus amyloliquefaciens* YB-3 was isolated and characterized which had distinctively inhibitive effects on *Rhizoctonia solani* and had broad-spectrum, highly efficient to plant pathogens.

**Keywords:** *Bacillus amyloliquefaciens*, identification, antagonistic properties, biological control

( 本文责编: 王晋芳)

Supported by the Basic Research Fund of CAAS ( 0042009001)

\* Corresponding author. Tel: +86-40-82109694; Fax: +86-40-82106609; E-mail: wanghaisheng@caas.net.cn

Received: 14 January 2011 / Revised: 19 April 2011

### 《微生物学报》关于署名

经过本刊审查通过后即将发表的稿件,作者在修改时,如果对“作者或单位的署名”进行变更,与最初的投稿不同,本刊要求:作者必须再提供有关证明,否则不能生效! 此项规定早已公布在本刊的网页上、并且在本刊的纸质出版物中也多次公布。请作者登陆本刊网页( <http://journals.im.ac.cn/actamicrocn> ),在首页内、“常见问题”中有显示,点开左侧的“署名”,其中有详细的说明和办理方法。

- (1) 如变单位署名顺序,需要原研究内容所属单位(通常是第一署名单位)的证明信,证明内容:原署名顺序→现署名顺序→盖章。
- (2) 如变更作者署名顺序,需要通讯作者和第一作者同意的签字证明。证明内容:原作者姓名及顺序→修改之后的作者姓名及顺序。
- (3) 将此证明信返回编辑部( 邮寄原件或扫描后 E-mail 发来 ),新的变更即可生效。