

巴西固氮螺菌中 P_{II} 和 P_z 在固氮调节中的不同作用*

陈三凤^{1,2} 管乐¹ 应娇妍¹ 李周华¹ 王娟² 李季伦^{1,2}

(¹ 中国农业大学生物学院 北京 100094)

(² 中国农业大学农业生物技术国家重点实验室 北京 100094)

摘要:在巴西固氮螺菌(*Azospirillum brasiliense*)中,*glnB* 和 *glnZ* 是两个高度同源基因, 分别位于 3.7kb/*Eco*RI + *Pst*I 和 3.7kb/*Sal*I 的两个不同的染色体片段上。用卡那霉素盒(*Km'*-casette)插入法, 对 *glnB* 和 *glnZ* 分别进行定位诱变, 并获得相应的突变株, 即 *glnB*⁻ 和 *glnZ*⁻。研究表明, *glnB*⁻ 突变株丧失固氮酶活性, 表现为 *Nif*⁻, 而 *glnZ*⁻ 像野生型菌株一样具有固氮酶活性。为了进一步研究这两个基因的功能, 将 *glnB* 和 *glnZ* 分别构建在 pVK100 载体上形成重组质粒 pVK-II 和 pVK-Z, 对 *glnB*⁻ 和 *glnZ*⁻ 突变株进行互补实验, 进一步证明了 *glnB* 与固氮酶活有直接相关性, 而 *glnZ* 无此作用。同时, 通过三亲接合法将 pVK-II 和 pVK-Z 分别转移到巴西固氮螺菌野生型 Yu62 和具有一定抗铵能力的 *draT*⁻ 突变株中, 使 *glnB* 和 *glnZ* 的拷贝数增加, 进一步比较它们的固氮酶活性。结果表明多拷贝的 *glnB* 基因, 能显著提高固氮酶活性, 而多拷贝的 *glnZ* 对固氮酶活性无影响。同时, 将 pVK-II 和 pVK-Z 分别转移到 *nifA*⁻ 突变株中, 结果表明 *glnB* 和 *glnZ* 均不能恢复 *nifA*⁻ 的固氮酶活性。

关键词: 巴西固氮螺菌, *glnB* 基因, *glnZ* 基因, 突变株, 固氮酶活性

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2001) 05-0523-07

巴西固氮螺菌(*Azospirillum brasiliense*)是分布在禾本科作物根际的固氮微生物^[1]。其中的 P_{II} (*glnB* 基因产物)和 P_z (*glnZ* 基因产物)是分子量均为 1.12kD, 在氨基酸水平上有 66.0% 同源性的两种蛋白质。目前已从肺炎克氏杆菌(*Klebsiella pneumoniae*)^[2]、大肠杆菌(*Escherichia coli*)^[3]等许多细菌中分离到 P_{II} 和 P_z 蛋白及其基因。在这些细菌中, P_{II} 蛋白的统称是一样的, 而 P_z 蛋白在这些细菌中一般称为 GlnK 蛋白。

尽管 P_{II} 与 P_z (或 GlnK) 有高度同源性, 但它们的功能可能有很大差异。法国科学家报道, 在巴西固氮螺菌中, P_{II} 可以激活 *NifA* 的活性, 但 P_z 却无此功能^[4]。但相反, He 等^[5] 和 Jack 等^[6] 分别报道在肺炎克氏杆菌中, GlnK 可以与固氮负调节蛋白 *NifL* 相互作用, 解除 *NifL* 对 *NifA* 的抑制作用, 但 P_{II} 蛋白却无此功能。肺炎克氏杆菌和棕色固氮菌(*Azotobacter vinelandii*)中有固氮负调控基因^[7], 但迄今为止, 在巴西固氮螺菌中尚还没有发现负调控基因, 可能不同的固氮菌其固氮调控机理有所不同。因此, 本研究通过比较 *glnB*⁻ 和 *glnZ*⁻ 突变株在固氮活性上的差异外, 还首次将编码 P_{II} 和 P_z 的 *glnB* 和 *glnZ* 基因分别构建在 pVK100 载体上, 然后分别转移到野生型巴西固氮螺菌 Yu62、具有一定抗铵

* 国家 863(863-101-03-04-02) 和国家自然科学基金(30070407)资助项目

作者简介: 陈三凤(1961-), 女, 山西人, 中国农业大学生物学院微生物系教授, 博士, 博士生导师, 主要从事微生物学教学和科研工作。

收稿日期: 2001-01-08, 修回日期: 2001-04-08

能力的巴西固氮螺菌 Yu62 *draT*⁻ 突变株及其巴西固氮螺菌 *nifA*⁻ 突变株, 进一步确定 P_{II} 和 P_Z 这两个同源蛋白的作用。

1 材料和方法

1.1 菌种和质粒

实验用菌株和质粒见表 1。

表 1 菌株与质粒

Table 1 Strains and plasmids

Strains/Plasmids	Phenotypes and / or Genotypes	References
Strains:		
<i>A. brasiliense</i>		
Yu62	wild type	[1]
<i>glnB</i> ⁻	<i>glnB</i> null mutant	this study
<i>C-glnB</i>	<i>glnB</i> ⁻ (<i>glnB</i> : <i>Km</i>)/ <i>glnB</i>	this study
<i>glnZ</i> ⁻	<i>glnZ</i> null mutant	this study
<i>C-glnZ</i>	<i>glnZ</i> ⁻ (<i>glnZ</i> : <i>Km</i>)/ <i>glnZ</i>	this study
Yu62-II	containing <i>glnB</i> in Yu62	this study
Yu62-Z	containing <i>glnZ</i> in Yu62	this study
<i>draT</i> ⁻ II	containing <i>glnB</i> in <i>draT</i> ⁻	this study
<i>draT</i> ⁻ Z	containing <i>glnZ</i> in <i>draT</i> ⁻	this study
Sp7 <i>nifA</i>	<i>nifA</i> null mutant	[7]
<i>E. coli</i> HD10B	recA hsdR leu	[8]
<i>E. coli</i> S17-1	used as the recipient for plasmid transformation and as the donor for plasmid mobilization by conjugation into <i>A. brasiliense</i>	[9]
Plasmids:		
pGB	containing <i>glnB</i>	[8]
pUC19	cloning and sequencing vector	华美生物工程公司
pVK100	<i>Km</i> ^r <i>Tc</i> ^r	[9]
pBluscript	cloning and sequencing vector	[9]
pPHU281	<i>Tc</i> ^r , suicide plasmid	[9]
pUC4A	containing <i>Km</i> -cassette	[9]

1.1 培养方法

大肠杆菌用 LB 培养基 37℃ 培养。巴西固氮螺菌用 LD 培养基或 K-lactate 基本培养基(加 5g/L 乳酸钠)30℃ 培养。

1.2 酶和试剂

限制性内切酶和 T4DNA 连接酶购自华美生物工程公司和 Promega 公司。

1.3 巴西固氮螺菌 Yu62 基因组文库

本研究所用的巴西固氮螺菌 Yu62 基因组文库是由本室构建并保存的。该文库以 EMBL3A 为载体,将巴西固氮螺菌 Yu62 总染色体 DNA 9-23kb/*SalI* 片段插在载体两臂的 *BamHI* 位点^[10]。

1.4 探针标记

制备 pGB 质粒,经 *EcoRI* 和 *XbaI* 双酶切后,回收 340bp 的 *glnB* 片段作模板。模板的标记用 Boehringer Mannheim 公司的 Dig DNA labeling and detection kit 进行。

1.5 原位杂交

噬菌斑平板的制备和将噬菌斑转移到尼龙膜的操作参考分子克隆^[11]。核酸的预杂交和杂交均在 68℃ 下进行,杂交后的洗膜和显色按 Dig DNA labeling and detection kit 说明书进行。

1.6 阳性克隆的 Southern blot、亚克隆及 DNA 序列分析

提取阳性噬菌体 DNA,经 *SalI*、*EcoRI*、*BglII*、*PstI* 等多种限制性内切酶,然后转移到硝酸纤维素膜上进行 Southern blot,杂交方法同于原位杂交。然后将含有阳性信号的片段克隆到 pUC19 中直接进行 DNA 序列分析。

DNA 序列分析中所用的测序引物和 DNA 序列测序反应均由赛百盛生物工程公司完成。序列的分析采用 DNAMAN 和 BLAST 软件。

1.7 三亲杂交及突变株的筛选

将供体菌 *E. coli* S17-1 及受体菌 *A. brasilense* Yu62 分别接种于 3mL 无抗生素培养基中(*E. coli* 用 LB 培养基,37℃ 培养;*A. brasilense* 用 LD 培养基,30℃ 培养)振荡培养过夜。取上述两个菌各 500μL 培养液,混合于 Eppendorf 管中,离心,弃大部分上清,用剩余的 40~50μL 上清悬浮菌体。将菌液滴在 LB 或 LD 平板中央,30℃ 静置过夜或 24h。然后,从平板上刮菌到 1mL LB 或 LD 液体培养基中,混匀后涂抗性平板,培养 48~72h 后筛选抗性菌落^[9]。

1.8 固氮酶活性的测定

固氮酶活性的测定采用半固体和液体两种测定方法^[9],用乙炔还原法测定,用气相色谱测定乙烯生成量。

2 结果

2.1 *glnB* 和 *glnZ* 基因结构

我们从巴西固氮螺菌的基因文库中,分别克隆到 *glnB* 和 *glnZ* 基因,并进行了序列分析,*glnB* 基因下游是 *glnA*(谷氨酰胺合成酶,GS),上游是未知蛋白的 ORF。*glnZ* 基因下游是 *aat-like*(天门冬氨酸氨基转移酶)和 *fisK-like*(肽聚糖)基因,上游是 *ubiH-like*(辅酶 Q)基因,其结构示意图见图 1。*glnB* 和 *glnZ* 的编码区的长度都为 339bp,都编码 1.12kD 的蛋白,这两个基因在核酸水平上的同源性达到 70%。

2.2 *glnB* 和 *glnZ* 基因的定位诱变和固氮能力的测定

为了研究 *glnB* 和 *glnZ* 基因的功能,我们对它们分别进行了定位诱变,获得了相应的突变株,并对突变株的固氮酶活性进行了测定。

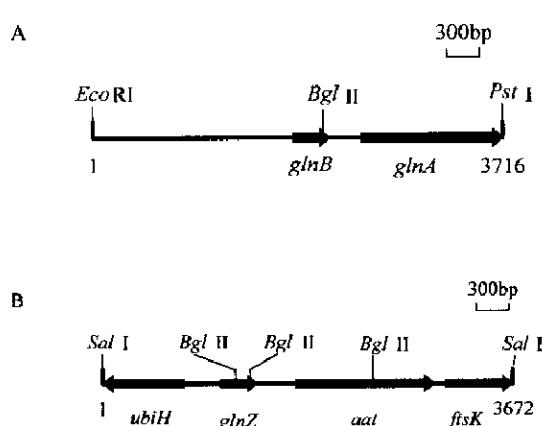


图1 巴西固氮螺菌中 *glnB* 和 *glnZ* 基因结构

Fig. 1 The organization of *glnB* and *glnZ* in *A. brasiliense*.
A. *glnB* and the other genes around *glnB*; B. *glnZ* and the other genes around *glnZ*.

2.2.1 *glnB* 基因定位诱变:在 *glnB* 基因的 *Bgl* II 位点,插入 1.3kb 卡那霉素片段(*Km*-casette),然后将插有卡那霉素基因的约 5kb 的外源片段(3.7kb/*Eco*RI + *Pst*I *glnB* 基因同源片段和 1.3kb 卡那霉素片段)亚克隆到自杀性质粒 pPHU-281 上,获得重组质粒 pPHU-B11。再将该重组质粒用电转化的方法转入 *E. coli* S17-1 中。然后,通过三亲结合方法,将重组质粒 pPHU-B11 转移到 *A. brasiliense* Yu62 中,通过抗性筛选,获得 *glnB*⁻ 突变株。

2.2.2 *glnZ* 基因定位诱变:同样在 *glnZ* 基因的 *Bgl* II 位点,插入卡那霉素片段,通过三亲结合法,获得了 *glnZ*⁻ 突变株。但值得指出的是,由于位于 *glnZ* 下游的 *aat* 基因内部也有一个 *Bgl* II 位点,因此,在进行 *glnZ* 基因突变研究时,我们采用部分酶切条件以获得只有 *glnZ* 基因突变的单突变株,同时通过核酸序列分析来验证 *Km*-cassette 只插人在 *glnZ* 基因内部,而不包括 *aat* 基因。

2.2.3 *glnB*⁻ 和 *glnZ*⁻ 突变株固氮酶活性的测定:在不同铵浓度的培养条件下,分别测定野生型 Yu62 与其它突变株的固氮酶活性,以 Yu62 在无氮条件下的固氮酶活性为 100%,结果见表 2。*glnB* 突变后丧失固氮酶活,表现为 Nif⁻。而 *glnZ* 突变后其固氮酶活性类似于野生型菌株。这一结果证明了 *glnB* 和 *glnZ* 基因虽然具有较高的同源性,但在固氮中的作用差异很大。

表2 巴西固氮螺菌 Yu62 *glnB*⁻ 和 *glnZ*⁻ 突变株在无铵培养条件下的固氮酶活性比较

Table 2 Nitrogenase activity of *A. brasiliense* *glnB*⁻ and *glnZ*⁻ while growing in nitrogen-free medium

Strains	Phenotypes and / or genotypes	Relative nitrogenase activity/%
<i>A. brasiliense</i> Yu62	wild type	100
<i>A. brasiliense</i> <i>glnB</i> ⁻	<i>glnB</i> null mutant	0
<i>A. brasiliense</i> <i>glnZ</i> ⁻	<i>glnZ</i> null mutant	100

2.3 *glnB*⁻ 和 *glnZ*⁻ 突变株的互补测验

为了进一步验证 *glnB* 和 *glnZ* 基因的功能,我们进行了下面的互补测验。

pVK100 是长度为 23kb、能在原核生物(G⁺ 细菌)中稳定存在的环状质粒。将含有完整的 *glnB* 编码区(从启动密码子 ATG 到终止密码子 TGA)339bp,用 *Eco*RI 和 *Bam*HI 从 pGB 质粒双酶切后克隆到中间载体 pBluscript 上,再用 *Xba*I 酶切获得外源片段,克隆到 pVK100 的 *Xba*I 位点,获得重组质粒 pVK-II。用限制性内切酶酶切和 PCR 方法筛选出 *glnB* 插入方向与 pVK100 的 Km 抗性转录方向相同的重组质粒,将该重组质粒通过三亲结合方法转移到 *glnB*⁻ 突变株中,构建成互补株,即: C-*glnB*。

用同样方法,构建成 pVK-Z 重组质粒,通过三亲接合方法获得 $glnZ$ 互补株,即: $C\text{-}glnZ$ 。对 $glnB$ 和 $glnZ$ 互补株进行了固氮酶活测定(表 3)。 $glnB$ 互补株的酶活接近于野生型菌株,进一步说明 $glnB$ 基因与固氮酶活有直接的相关作用。而 $glnZ$ 互补株的酶活与 $glnZ^-$ 突变株及野生型的都类似。

2.4 多拷贝 $glnB$ 和 $glnZ$ 在野生型巴西固氮螺菌 Yu62 和 $draT^-$ 突变株中的固氮酶活性

国内外研究表明,NifA 蛋白是固氮基因的激活蛋白,如果 $nifA$ 基因突变,则表现为 Nif $^-$,如果增加 $nifA$ 的拷贝数,则能提高固氮能力,这一研究结果已被成功的用在固氮菌工程菌的构建上。因此,本研究中,我们首次将含有 $glnB$ 的重组质粒 pVK-II 和含有 $glnZ$ 的重组质粒 pVK-Z 分别转移到野生型巴西固氮螺菌 Yu62 和 $draT^-$ 突变株中,形成多拷贝的 $glnB$ 和 $glnZ$ (pVK100 在细胞中的拷贝数一般在 2~3 个左右)。它们的固氮酶活见表 4。无论是在野生型 Yu62,还是 $draT^-$ 中, $glnB$ 都可以显著提高固氮酶活。相反,多拷贝 $glnZ$ 对固氮酶活几乎无影响。同时,对我室已构建的含有多拷贝的 $nifA$ 的 $draT^-$ 工程菌株(UB37)的固氮酶活进行了比较测定(表 4),含有多拷贝 $glnB$ 的 $draT^-$ 的酶活性水平还略高于 UB37。

2.5 $glnB$ 和 $glnZ$ 在 $nifA^-$ 中的固氮能力

从上述的研究结果和国外的研究表明, $glnB$ 基因在巴西固氮螺菌中的固氮过程中起着非常重要的作用,其作用机理目前尚不十分清楚。而且, $glnB$ 基因在其它固氮菌,如:*K. pneumoniae* 中却无此功能。法国科学家报道 $glnB$ 是通过其编码的产物 P_{II} 蛋白与 NifA 的

表 3 巴西固氮螺菌 Yu62 $C\text{-}glnB$ 和 $C\text{-}glnZ$ 互补株在无铵培养条件下的固氮酶活性比较

Table 3 Nitrogenase activity of *A. brasiliense* $C\text{-}glnB$ and $C\text{-}glnZ$ while growing in nitrogen-free medium

Strains	Phenotypes and / or genotypes	Relative nitrogenase activity / %
<i>A. brasiliense</i> Yu62	wild type	100
<i>A. brasiliense</i> $C\text{-}glnB$	$glnB^-$ ($glnB; Km$) / $glnB$	90
<i>A. brasiliense</i> $C\text{-}glnZ$	$glnZ^-$ ($glnZ; Km$) / $glnZ$	100

表 4 多拷贝 $glnB$ 和 $glnZ$ 在野生型巴西固氮螺菌 Yu62 和 $draT^-$ 中的固氮酶活性比较

Table 4 Nitrogenase activity of multiple $glnB$ and $glnZ$ in *A. brasiliense* Yu62 and $draT^-$

Strains	Phenotypes and / or Genotypes	Relative nitrogenase activity / %
<i>A. brasiliense</i> Yu62	wild type	100
<i>A. brasiliense</i> Yu62-II	containing $glnB$ in Yu 62	193
<i>A. brasiliense</i> Yu62-Z	containing $glnZ$ in Yu62	107
<i>A. brasiliense</i> Yu62 $draT^-$	$draT^-$ mutant	203
<i>A. brasiliense</i> Yu62 $draT^-$ II	containing $glnB$ in $draT^-$	272
<i>A. brasiliense</i> Yu62 $draT^-$ Z	containing $glnZ$ in $draT^-$	210
UB37	containing $Kp\ nifA$ in $draT^-$	224

N-端相互作用激活 NifA,从而对固氮进行正调节。在此理论基础上,我们首次将多拷贝的 $glnB$ 和 $glnZ$ 分别转移到 $nifA^-$ 突变体中,研究其调节机理,固氮酶活性见表 5。从中可以看出, $glnB$ 和 $glnZ$ 都对 $nifA$ 基因无互补作用,即仍表现为 Nif $^-$ 。

表 5 多拷贝 *glnB* 和 *glnZ* 在巴西固氮螺菌 *nifA*⁻ 中的固氮酶活性比较Table 5 Nitrogenase activity of multiple *glnB* and *glnZ* in *A. brasiliense nifA*⁻

Strains	Phenotypes and / or genotypes	Relative nitrogenase activity / %
<i>A. brasiliense</i> Yu62	wild type	100
<i>A. brasiliense</i> Sp7 <i>nifA</i> ⁻	<i>nifA</i> ⁻ mutant	0
<i>A. brasiliense</i> Sp7 <i>nifA</i> ⁻ -II	containing <i>glnB</i> in <i>nifA</i> ⁻	0
<i>A. brasiliense</i> Sp7 <i>nifA</i> ⁻ -Z	containing <i>glnZ</i> in <i>nifA</i> ⁻	0

3 讨论

虽然 *glnB* 和 *glnZ* 是两个具有高度同源性的基因,但前者突变后表现为 Nif⁻,而后者仍然具有固氮酶活性,即:Nif⁺。而且,多拷贝的 *glnB* 在野生型巴西固氮螺菌和 *draT*⁻ 突变株中,都能显著地提高固氮酶活性,而 *glnZ* 却对固氮酶活无影响。这些结果充分证明了在巴西固氮螺菌中, *glnB* 基因是固氮过程中所必需的。但相反,在肺炎克氏杆菌中, *glnB* 突变后,并不影响固氮酶活性,即表现为 Nif⁺。1997 年法国曾报道, *glnB* 在固氮中的调控作用可能是激活 NifA 蛋白^[12]。其作用机理可能是 *glnB* 的产物 P_I 蛋白与 NifA 相互作用,从而激活 NifA 的活性。我们的结果也证明,将 *glnB* 转入 *nifA*⁻ 突变株中,却仍然表现为 Nif⁻,说明 *glnB* 基因不能互补 *nifA*。有关 *glnB* 的基因产物与 *nifA* 的作用方式到底是直接的还是间接的呢? 我们研究室利用酵母双杂合系统首次证明 *glnB* 的基因产物 P_I 与 *nifA* 蛋白有直接的相互作用;同时也用该系统证明 *glnZ* 的基因产物 P_Z 与 *nifA* 无直接的相互作用。

致谢 在固氮酶活性测定过程中,姜伟和赵德华同志提供了很多帮助,在此表示感谢。

参 考 文 献

- [1] 杨洁彬,曹增良,李季伦.北京农业大学学报,1984,10(3):321~329.
- [2] Bueno R, Pahel G, Magasanik B. *J Bacteriol*, 1985, 164:816~822.
- [3] Merrick M J, Edwards R A. *Microbiol Rev*, 1995, 59:604~622.
- [4] Arsene F, Kaminski A P, Elmerich C. *J Bacteriol*, 1996, 178(16):4830~4838.
- [5] He L H, Soupene E, Ninfa A, et al. *J Bacteriol*, 1998, 180:6661~6667.
- [6] Jack R, De Zamaroczy M, Merrick M T. *J Bacteriol*, 1999, 181:1156~1162.
- [7] Drummond M, Clements J, Merrick M, et al. *Nature*, 1983, 301:302~307.
- [8] 陈三凤,杨红,王娟,等.中国农业大学学报,2000,5(1):9~13.
- [9] 马旅雁,吴粤,王娟,等.生物工程学报,1999,15(3):281~287.
- [10] 马旅雁,李季伦.生物工程学报,1997,13(3):227~235.
- [11] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. *Molecular Cloning: A laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- [12] Zamaroczy M D. *Molecular Microbiology*, 1998, 29(2):449~463.

THE DIFFERENT FUNCTIONS OF *glnB* AND *glnZ* FROM *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* YU62 IN THE CONTROL OF NITROGEN FIXATION*

Chen Sanfeng^{1,2} Guan Yue¹ Ying Jiaoyan¹ Li Zhouhua¹ Wang Juan² Li Jilun^{1,2}

(¹College of Biology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

(²National key laboratory for Agrobiotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: The *glnB* and *glnZ* genes of *A. brasiliense* have 70% homology at nucleotide sequence. *glnB* is located in a 3.7kb *Eco*RI + *Pst*I fragment and *glnZ* is located in a 3.7kb *Sal*I fragment. Both *glnB* and *glnZ* genes were mutagenized by *Km*^r cassette insertions and *glnB*⁻ and *glnZ*⁻ mutants were obtained. *glnB*⁻ mutant did not have any nitrogenase activity, while *glnZ*⁻ mutant still has nitrogenase activity. The coding regions of *glnB* and *glnZ* were cloned into pVK100 vectors and recombinant plasmids pVK-*B* and pVK-*Z* were obtained, respectively. The recombinant plasmids pVK-*B* and pVK-*Z* were introduced into *glnB*⁻ and *glnZ*⁻ to produce *C-glnB* and *C-glnZ*, respectively. *C-glnB* can restore nitrogenase activity and *C-glnZ* does not have effect on nitrogenase activity. When pVK-*B* and pVK-*Z* were introduced into *A. brasiliense* Yu62 and *draT*⁻, respectively, the Yu62-*B* (containing pVK-*B*) and *draT*-*B* (containing pVK-*B*) have higher nitrogenase activity than that of wild type Yu62. In contrast, Yu62-*Z* (containing pVK-*Z*) and *draT*-*Z* (containing pVK-*Z*) has no effect on nitrogenase activity. The *nifA*⁻-*B* (containing pVK-*B*) and *nifA*⁻-*Z* (containing pVK-*Z*) still have no nitrogenase activity.

Key words: *Azospirillum brasiliense* Yu62, *glnB* gene, *glnZ* gene, Mutant, Nitrogenase

* Project of Chinese National Programs for High Technology Research and development(863-101-03-04-02)

Project Grant by Chinese National Natural Science Fund(30070407)

致 读 者

感谢广大作者、读者多年来对《微生物学报》的关心和支持。为了适应改革开放的需要,使科研成果尽快得到交流,本刊自2001年41卷第1期开始继续扩版,双月刊,每册128面。全部道林纸印刷,内附进口铜版纸印制的黑白图版和彩色图版。发表周期缩短,内容丰富翔实,能及时反映我国微生物学学科前沿和最新研究水平。在新的一年里,《微生物学报》将更好的为科研工作者服务,为促进科技资源信息化最大限度的共享做出积极贡献。

欢迎投稿! 欢迎订阅! 欢迎提出宝贵意见!

《微生物学报》编辑部