

西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)致病性维氏气单胞菌的分离鉴定

马志宏¹, 杨慧², 李铁梁¹, 罗琳^{*}, 高俊莲^{2*}

(¹北京市农林科学院北京市水产科学研究所, 北京 100068)

(²北京市农林科学院北京农业生物技术研究中心, 北京 100097)

摘要 【目的】本研究旨在寻找引起养殖西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)病害的致病因子。【方法】从北京地区自然患病的西伯利亚鲟体内分离到致病菌株 X-1-06909, 采用生理生化鉴定结合 16S rRNA 基因序列的系统发育学分析确定该菌株的系统发育地位。同时采用琼脂扩散法对抗菌类药物的敏感性进行测定。【结果】菌株 X-1-06909 与 *Aeromonas veronii* ATCC 35624^T 的 16S rRNA 基因序列相似性达 99.6%, 结合形态特征与生理生化测定结果, 革兰氏阴性杆菌, 具极生单鞭毛。发酵葡萄糖产酸, 甲基红试验和乙酰甲基甲醇试验阳性, 精氨酸双水解阴性, 3% 氯化钠生长, 明胶水解阳性、七叶灵水解阳性等。在 21 种抗菌类药物对该菌的抑菌试验中, 其中, 头孢羟氨苄、新霉素等 11 种药物的抑菌效果较好。【结论】确定该菌株在分类上属于维氏气单胞菌(*Aeromonas veronii*)。为进一步防治鲟鱼养殖病害提供依据。

关键词: 鲟鱼; 维氏气单胞菌; 生理生化; 分离鉴定; 16S rRNA 基因序列分析; 药敏试验

中图分类号: Q939 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2009)10-1289-06

鲟形目鱼类(*Acipenseriformes*)是目前地球上最古老和最原始的软骨硬鳞鱼类, 在鱼类进化史上占有重要的地位, 有活化石之称^[1]。是一种兼有重要科研价值和经济价值的生物类群^[2]。西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)隶属于鲟科(*Acipenseridae*)鲟属(*Acipenser*), 是现存 26 种鲟类中的一种, 主要分布于俄罗斯西部的鄂毕河至东部的科雷马河之间的西伯利亚各河流之中^[3]。西伯利亚鲟具有生长速度快、适应性强、肉质好、鱼籽品质高等优点, 自 1996 年首次被中国引进后, 目前其养殖量居中国鲟鱼养殖产量的第 2 位^[4]。随着鲟鱼养殖集约化程度越来越高, 水质环境越来越差等诸多原因, 北京、河北等地先后出现了西伯利亚鲟和与其杂交的杂交鲟鱼的爆发性鱼病, 该病主要发生在 6~9 月份, 病鱼主要表现为行动迟缓, 少食至不食, 鳃发白, 体表局部出现红点, 有的皮肤脱落。剖检内脏发生不同

程度的病变。肝脏呈浅黄色或花肝; 心脏肿大, 外表呈不规则的凹凸瘤状, 动脉球红紫色; 肠道外壁无明显症状, 肠道弹性差, 有的形成结节。患病鲟鱼大量死亡, 死亡率高达 65% 以上, 且死亡速度较快。2006 年 6 月, 作者从北京房山区一个鲟鱼养殖场自然发病的西伯利亚鲟体上分离一株致病性病原菌, 采用测定生理生化特征、16S rRNA 序列分析构建系统发育树等方法, 对该菌进行了分类鉴定。同时通过药敏实验对该致病菌的敏感药物进行了筛选, 为该病的确诊与防治提供依据和参考。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 材料来源: 病鱼采自于北京市房山区某一鲟鱼养殖场养殖的西伯利亚鲟, 体重 400~700 g, 体长 28~65 cm 左右。

基金项目: 北京市科学技术委员会(Z080005032508019); 北京市农村工作委员会(20080502)

* 通信作者。罗琳, Tel: +86-10-67588781, E-mail: luo_lin666@sina.com; 高俊莲, Tel: +86-10-51503834, E-mail: gaojunlian@baafs.net.cn

作者简介: 马志宏(1966-)女, 河北人, 高级工程师, 主要从事水产养殖病害的研究。E-mail: mzh255@sohu.com

收稿日期: 2009-03-17; 修回日期: 2009-04-29

1.1.2 主要试剂和仪器:LB 营养固体培养基、药敏纸片购自于北京天坛药物生物技术开发公司。细菌生理生化试验药品购于北京康博顺达生物科技中心。TaqMix 购自北京美莱博医学科技有限公司。PCR 仪(Eppendorf Germany),凝胶成像系统(BioRAD Laboratories Segrate Italy),电泳仪(BioRAD U.S.A.),电子天平(Tokyo Japan),显微镜(Olympus),高压灭菌锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),生化培养箱(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司)。

1.2 致病菌的分离和菌落形态观察

取自然发病的典型症状的西伯利亚鲟,在无菌操作下挑取鳃、皮肤及肝组织,接种于营养琼脂平板表面,划线分离,28℃培养 24 h,待平板上出现形态一致的优势菌落时,选取单菌落反复划线纯化,纯化菌株于 4℃保存。

菌落形态 选择胰酪大豆琼脂(TSA)培养基,制成培养皿平板。划线接种菌株,28℃培养 24 h 后,观察菌落形态。

1.3 致病菌的人工回归感染试验

将菌株接种于营养琼脂斜面上,28℃培养 16~18 h,用无菌生理盐水洗下菌苔,制成菌悬液。用平板菌落计数法测定菌液的浓度。

1.3.1 注射感染:用无菌生理盐水将菌液稀释成 4.8×10^6 CFU/mL 菌悬液,对健康的西伯利亚鲟进行背鳍基部注射攻毒,每尾(150~200 g)注射剂量为 0.2 mL,空白对照组注射 0.2 mL 无菌生理盐水。实验组和对照组均设 3 个重复。每个重复放 8 尾鱼。攻毒后饲养在 23℃~25℃的水族箱中。

1.3.2 浸泡感染:将鱼体(150~200 g)体表划伤后放入含菌量为 4.8×10^6 CFU/mL 的水族箱中,另设空白对照组,实验组和对照组均设 3 个重复。每个重复放 5 尾鱼。水温保持在 23℃~25℃。

两种感染连续观察 10 天并记录其发病及死亡情况,同时对人工回归感染发病濒死的实验鱼进行病原菌再分离,观察再分离菌株与原菌株在形态和理化特性等方面是否一致。

1.4 16S rRNA 基因序列分析

1.4.1 16S rRNA 基因序列的 PCR 扩增与测序:采用菌落 PCR 进行 16S rRNA 基因序列的扩增,在 Eppendorf 管中加入 400 μ L 无菌水,挑取一接种环菌苔至管中,振荡均匀,沸水浴中加热 5 min 使菌体细胞裂解,冰浴冷却,以此细胞裂解液为模板,采用细菌通用引物对:正向引物 fd1:5'-AGAGTTTGATCC-TGGCTCAG-3';反向引物 rp2:5'-ACGGCTACCTTGT-

TACGACTT-3',进行 16S rRNA 基因 PCR 扩增。PCR 扩增反应体系(30 μ L):模板 3 μ L;引物 fd1/rp2 各 1.5 μ L(引物浓度均为 20 μ mol/L);双蒸水 9 μ L;2 * per TaqMix15 μ L。扩增条件:最初变性 95℃ 5 min;变性 95℃ 30 s,复性 55℃ 1 min,延伸 72℃ 2 min,30 个循环;最后延伸 72℃ 10 min。

16S rRNA 基因 PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖电泳检测正确,送交上海生工生物工程技术有限公司进行测序,测序结果提交 GenBank。

1.4.2 16S rRNA 基因序列系统发育树构建:获得菌株 16S rRNA 基因序列,用 NCBI-BLAST 软件将测序结果在 GenBank 数据库中进行同源性检索。根据返回的结果,从 GenBank 数据中调出与该序列相关性较高的核酸序列,在 ClustalX(1.83)软件包中进行多重序列匹配排列(multiple alignments)和聚类分析,最后形成一个多重序列匹配排列阵。之后使用 Mega4.0 软件,采用邻接法(Neighbor Joining Method)构建系统发育树。并通过自举分析(bootstrap)进行置信度检测,自举数据集为 1000 次。

1.5 主要生理生化性状测定

参照文献^[5-7]的相关属、种鉴定内容和方法,对供试菌株的水解活性、糖发酵、酶类产生等进行研究。将分离菌株鉴定到种。

1.6 药物敏感性测定

取 X-1-06909 菌株,采用 K-B 琼脂扩散法^[8]进行分离菌对 21 种抗菌类药物的敏感性测定,以出现的抑菌圈直径作为相应的敏感与耐药判定指标。

2 结果

2.1 细菌分离结果及菌落形态

剖检的 13 尾鲟鱼的鳃、肝、肾组织均有大量细菌,经分离纯化后获得一株细菌菌株,编号为 X-1-06909。该菌株革兰氏染色阴性,形态特征为杆状及短杆状,两端钝圆,散在或成双,无芽孢。该菌株在普通营养琼脂平板上菌落圆形、边缘整齐、灰白色较不透明,培养 24 h 直径多在 1.3 mm 左右。

2.2 人工感染试验

将分离的菌株 X-1-06909 接种到健康鲟鱼,注射组实验鱼感染 20 h 后表现为游动迟缓,鳃发白,24 h 后开始死亡。5 d 内死亡率达 87.5%~100%。浸泡组实验鱼感染 4 d 后鳃发白,游动迟缓,体表有腐烂,之后开始出现陆续地死亡,10 d 内死亡率达 80%~100%。对照组未见异常(见表 1)。剖解发现鳃上有白色坏死灶,肝脏发白或花肝,有的中后肠出

血。发病症状同自然发病症状基本一致。从感染死亡鱼的肝脏中分离到与 X-1-06909 形态和生理生化特性一致的细菌,表明 X-1-06909 是西伯利亚鲟的致病菌。

表 1 人工回归感染结果

Table 1 Results of artificial infection test of strain X-1-06909

Test group	Concentration (CFU/ml)	Number	Death number										Mortality (%)
			1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	
Injection Groups	4.8 × 10 ⁶	8	3	1	2		2						100
	4.8 × 10 ⁶	8	2	1	2	1	1						87.5
	4.8 × 10 ⁶	8	1	4	1	1	1						100
the control	0.75% NaCl	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.75% NaCl	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.75% NaCl	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Immersion groups	4.8 × 10 ⁶	5				1	2	1					80
	4.8 × 10 ⁶	5							1	2	1		80
	4.8 × 10 ⁶	5							2	1	1	1	100
the control	0.75% NaCl	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.75% NaCl	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.75% NaCl	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.3 16S rRNA 基因序列分析结果

如图所示, X-1-06909 为我们要鉴定的菌株。X-1-06909-liver 和 X-9-L-07 是经过攻毒实验后从具有相同症状的发病鱼体上取得的优势菌。从电泳图谱可以看出, 该三株菌扩增出的 16S rRNA 基因片段带单一, 大小约为 1.5 kb (图 1)。经测序得到长度为 1449 bp 的 16S rRNA 基因序列(GenBank 中的序列注册号: FJ653620)。将此序列用 BLAST 软件和 MEGA 软件处理, 并与 GenBank 中已发表的 16S rRNA 基因序列进行同源性比较, 选取同源性最高菌株的

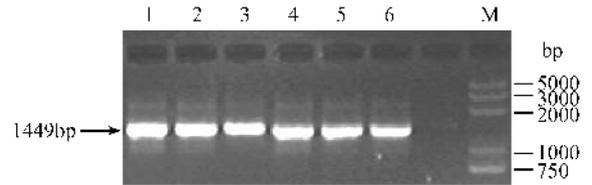


图 1 菌株 X-1-06909 16S rRNA 基因 PCR 扩增产物
Fig.1 PCR amplification of 16S rRNA gene in strain X-1-06909. 1. X-1-06909; 2. X-1-06909; 3. X-1-06909-liver; 4. X-1-06909-liver; 5. X-9-L-07; 6. X-9-L-07; M. DL2000 plus DNA Marker.

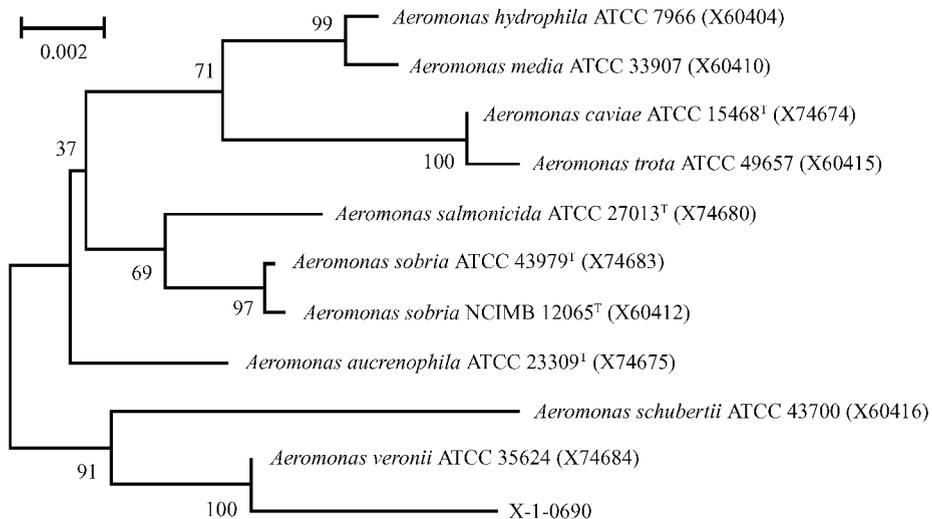


图 2 菌株 X-1-06909 的 16S rRNA 基因全序列系统发育树图

Fig.2 Phylogenetic tree of strain X-1-06909 constructed from complete sequences of 16S rRNA gene. 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.

16S rRNA 基因序列,采用 ClustalX(1.83)软件包进行多重序列比对分析,并使用 Mega4.0 软件构建系统发育树(图2)。从系统发育树中可以看出,致病菌株 X-1-06909 与已报道的维氏气单胞菌的模式菌株 ATCC 35624^T(*Aeromonas veronii* ATCC 35624^T)亲缘关系最近,有 99.6% 的相似性。

2.4 生理生化特征

病原菌 X-1-06909 的 M.R 和 V.P 试验反应阳性,柠檬酸盐利用试验阳性,精氨酸双水解阴性,发酵葡萄糖产酸,3% NaCl 生长,明胶水解、七叶灵水解阳性(表2)。上述生理生化特征与维氏气单胞菌的描述一致。

综上所述,根据菌株 X-1-06909 的 16S rRNA 基因序列与 *Aeromonas veronii* ATCC 35624^T 的序列同源性达 99.6% 结合形态特征与生理生化测定结果与维氏气单胞菌的描述一致,确定菌株 X-1-06909 在分类上属于气单胞菌属(*Aeromonas*)的维氏气单胞菌(*Aeromonas veronii*)。

表2 菌株 X-1-06909 与维氏气单胞菌生理生化特性比较

Table 2 Physiological and biological characteristics of X-1-06909 strain vs those of *Aeromonas veronii*

Characteristics	X-1-06909 strain	<i>A. veronii</i>
M-R test	+	+
citrate	+	+
arginine dihydrolase	—	—
glucose ferment	⊕	⊕
salicin	—	—
grow on 3% sodium chloride	+	+
esculin hydrolysis	+	+
V-P test	+	+
gelatin hydrolysis	+	+
Esterase	—	—

“—”reaction negative; “+”reaction positive; “⊕”producing acid.

2.5 药物敏感性试验

用 21 种药物对菌株 X-1-06909 进行药物抑菌试验,测量抑菌圈直径,计算平均值。将其对照“北京天坛药物生物技术开发公司”的药敏试验判断标准书,得到该菌株药敏试验结果见表3。

3 讨论

目前在细菌分类鉴定方法上,包括表型鉴定和分子遗传学鉴定两大类^[9]。细菌常规鉴定法是细菌形态和生理生化水平及蛋白质水平的鉴定,前者是最经典、最常用的分类鉴定指标,也是现代化分类鉴定的依据。结果准确,但鉴定时间长。近几十年来,分子生物学发展迅速,细菌的分类鉴定开始进入分子水平,各种基因型分类方法也应运而生,如

表3 菌株 X-1-06909 药敏试验结果

Table 3 Drug sensitive test of strain X-1-06909

antibiotics	diameter/mm	sensitivity
Cefadroxil	18	S
Neomycin	22	S
Tetracycline	12	R
Trimethoprim- Sulfamethoxazole	0	R
Cephalothin	27.5	S
Piperacillin	8	R
Levofloxacin	29.5	S
Floxacin	19	S
Rifampicin	15	I
Gentamicin	22.5	S
Amikacin	21	S
Piperacillin/Tazobactam	0	R
Doxycycline	15.5	I
Pefloxacin	21	I
Lomefloxacin	29	S
Fleroxacin	29	S
Polymyxin B	13	R
Tobramycin	22.5	S
Nalidixic Acid	0	R
Fosfomycin	31	S
Novobiocin	0	R

R: denotes low or no sensitivity; I: denotes moderate sensitivity; S: denotes high sensitivity.

(G + C)mol%、DNA 杂交、rDNA 指纹图、质粒图谱和 16S rDNA 序列分析等等。其中,16S rDNA 序列分析已经成为细菌种属鉴定和分类的标准方法,大约 2500 个种的 16S rDNA 全序列已经被报道^[10]。根据它们的序列同源性,已经构建了各种属的系统发育树。但由于 16S rDNA 序列在原核生物中的高度保守性,对于相近种或同一种内的不同菌株之间的鉴别分辨力较差。为了解决这些问题,本次实验我们采用了 16S rRNA 序列分析和细菌形态和生理生化鉴定两种方法相结合的技术路线。

本研究首先从自然发病西伯利亚鲟鱼体内分离到一株 G 杆菌 X-1-06909,通过人工接种试验证实为该病的病原菌。根据该菌 16S rRNA 基因序列在系统发育树中的位置并与 GenBank 数据库中维氏气单胞菌的 16S rRNA 基因序列比较,两者具较高的同源性(99.6%)。在分子生物水平上初步鉴定为维氏气单胞菌(*Aeromonas veronii*)。再结合该菌的形态学特征和生理生化特征进一步鉴定该菌为维氏气单胞菌。

维氏气单胞菌(*A. veronii*)隶属于弧菌科(*Vibrionaceae* Veron, 1965),气单胞菌属(*Aeromonas*, Kluyver and van Niel, 1936),是一类革兰氏阴性杆菌。该菌普遍存在于淡水、污水、淤泥及土壤中。近年来

也陆续报道了对维氏气单胞菌(*Aeromonas veronii*)及其所致的水产动物病害。如由维氏气单胞菌引起的丁溃疡病、中华鳖的穿孔病、腐皮病、口咽腔溃烂综合症、彩虹鲷急性死亡、中华绒螯蟹细菌感染等疾病^[11-18]。但维氏气单胞菌对鲟鱼的致病作用还未见报道。从西伯利亚鲟鱼体内分离到该致病菌尚属首次。本次从所检西伯利亚鲟鱼病鱼体上分离到维氏气单胞菌,经人工感染试验显示出较强的致病作用,可单独引起感染鲟鱼的发病和死亡,进一步提示了该菌在水产养殖动物中的病原学意义。对其它鲟鱼品种和其它鱼类是否也有较强的致病性,尚待今后进一步研究。

经以21种抗菌类药物对菌株X-1-06909的药敏测定,结果表明,此种维氏气单胞菌对头孢羟氨苄、新霉素、头孢噻吩、左氧氟沙星、氟哌酸、庆大霉素、丁胺卡那霉素、洛美沙星、氟罗沙星、妥布霉素、磷霉素11种药物敏感。对今后筛选出预防鲟鱼细菌性病的有效药物提供了可靠的技术参考。此外,本实验选取的药物并非均可用于生产,这提示养殖技术和生产人员在鲟鱼养殖过程中要慎重使用渔用药物。

本次西伯利亚鲟鱼维氏气单胞菌病发病率和死亡率都很高,对水产养殖业造成了较大损失。因此,该病的早期检测技术和防治研究应该引起相关学者的重视,应加大研究开发的力度。

参考文献

- [1] Gardiner BG. Sturgeons as living fossils //Eldredge N, Stanley SM. ed. Living Fossils. New York :Springer Verlag Press, 1984 :148 - 152.
- [2] Bemis WE, Kynard B. An introduction to Acipenseriformer biogeography and life history. *Environmental Biology of Fishes*, 1997, 48(1 - 4):167 - 183.
- [3] Ruban GI. Species structure, contemporary distribution and status of the Siberian sturgeon *Acipenser baerii*. *Environmental Biology of Fishes*, 1997, 48 : 221 - 230.
- [4] 曲秋芝,高艳丽.西伯利亚鲟的人工繁殖.中国水产科学(*Journal of Fishery Sciences of China*),2005,12(4):492 - 495.
- [5] 东秀珠,蔡妙英.常见细菌系统鉴定手册.北京:科学技术出版社,2001:106 - 120.
- [6] Sharon L. Abbott, Wendy KW Cheung. The genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes. *Journal Of Clinical Microbiology*. 2003(6) :2348 - 2357.
- [7] Holt JG, Krieg NR, Sneath PH A, et al. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994 :190 - 191, 253.
- [8] 王毓三,武建国.临床检验操作规程.南京:东南大学出版社,2005:172 - 176.
- [9] 李琳,李耀年,余为一.细菌分类鉴定方法的研究概况.安徽农业科学(*Journal of Anhui Agricultural Sciences*),2004,32(3):549 - 551.
- [10] Olsen GJ, Larsen N, Carl R Woese. The ribosomal RNA database project. *Nucleic Acids Research*, 1991, 19 (supplement):2017 - 2021.
- [11] Rahman M, Patricia Colque-Navarro, Inger K, et al. Identification and characterization of pathogenic *Aeromonas veronii* biovar Sobria associated with epizootic ulcerative syndrome in fish in Bangladesh. *Applied and Environmental Microbiology*, February 2002, 68(2):650 - 655.
- [12] Antonella Mencacci, Elio Cenci, Rosanna Mazzolla, et al. *Aeromonas veronii* biovar veronii septicaemia and acute suppurative cholangitis in a patient with hepatitis B. *Journal of Medical Microbiology* 2003, 52 :727 - 730.
- [13] 林启存,蔡丽娟,杨仲景,等.丁溃疡病的病原分离、鉴定与人工感染试验.水产科学(*Fisheries Science*), 2005, 24(11):21 - 24.
- [14] 李太元,金吉东,刘学龙.林蛙红腿病病原分离及鉴定.黑龙江畜牧兽医(*Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*) 2002(12):32 - 33.
- [15] 孙红祥,舒妙安.中华鳖几种常见疾病病原的分离鉴定.中国兽医学报(*Chinese Journal of Veterinary Science*),2002,22(2):140 - 145.
- [16] 李本旺,徐逸文.中华鳖口咽腔溃烂综合症病原的研究.水产科技情报(*Fisheries Science & Technology Information*),2000,27(5):210 - 214.
- [17] 秦国民,张晓君,陈翠珍,等.锦鲤维氏气单胞菌感染症及其病原生物学特性研究.安徽农业科学(*Journal of Anhui Agricultural Sciences*) 2008, 36(19):8115 - 8117.
- [18] 房海,陈翠珍,张晓君,等.中华绒螯蟹病原维氏气单胞菌的检验.中国人兽共患病学报(*Chinese Journal of Zoonoses*) 2008, 24(1):45 - 49.

Isolation and identification of pathogenic *Aeromonas veronii* isolated from infected Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*)

Zhihong Ma¹, Hui Yang², Tieliang Li¹, Lin Luo^{1*}, Junlian Gao^{2*}

(¹ Beijing Fisheries Research Institute, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100068, China)

(² Beijing Agro-Biotechnology Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract [Objective] Our study aimed at searching for the pathogenic factor causing Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) disease. **[Methods]** A pathogenetic bacterial strain X-1-06909 was isolated from naturally infected Siberian sturgeon in Beijing. The strain was identified according to its physiological and biochemical properties, and the sequence analysis of 16S rRNA gene. The drugs sensitivity was detected with Kirby-Bauer's agar diffusion method. **[Results]** Based on the result of 16S rRNA sequence analysis, the strain X-1-06909 shares 99.6% sequence identity with the type strain ATCC35624^T of *Aeromonas veronii*. The morphological characteristics of the strain were gram-negative, polar single-flagella. The results of physiological and biochemical tests were that the strain could ferment glucose and produce gas, methyl red (M-R) and Voges-Proskauer (V-P) tests were positive, arginine dihydrolase test was negative, it grew on 3% sodium chloride culture medium, the tests for hydrolysis of gelatin and hydrolysis of esculin were negative. The result for drug sensitive tests showed that among 21 antibiotics, cefadroxil, neomycin etc. had better inhibitive effect on the strain. **[Conclusion]** The isolated strain X-1-06909 was identified as *A. veronii*. The results will provide evidences for further caring the diseases of sturgeons.

Keywords : Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*); *Aeromonas veronii*; Isolation and Identification, physiological and biochemical characteristics; Sequences analysis of 16S rRNA gene; drug sensitive test

(本文责编 : 王晋芳)

Supported by the Beijing Municipal Science & Technology Commission (Z080005032508019) and the Beijing Rural Affair Committee (20080502)

* Corresponding author. Lin Luo, Tel : + 86-10-67588781, E-mail : luo_lin666@sina.com ; Junlian Gao, Tel : + 86-10-51503834, E-mail : gaojunlian@baafs.net.cn

Received : 17 March 2009/ Revised : 29 April 2009

1953 年创刊以来所有文章全文上网

2008 年 1 月中旬,《微生物学报》自 1953 年创刊以来的文章全文上网啦!欢迎广大读者登陆本刊主页(<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>)浏览、查询、免费下载全文!

建立全文数据库的工作是从 2007 年初开始的,经过多方人员的共同努力,历经半年多时间成功完成。由于《微生物学报》历史悠久,其间经历了刊期的变化,变化情况统计如下,以供读者查阅参考。

《微生物学报》刊、期统计表

2009 年 10 月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 ~ 1956	半年刊	1 ~ 4	1 ~ 2
1957 ~ 1958	季刊	5 ~ 6	1 ~ 4
1959	季刊	7	1 ~ 2
1959 ~ 1962	停刊 3 年		
1962	季刊	8	3 ~ 4
1963 ~ 1965	季刊	9 ~ 11	1 ~ 4
1966	季刊	12	1 ~ 2
1966 ~ 1972	停刊 6 年半		
1973 ~ 1988	季刊	13 ~ 28	1 ~ 4
1989 ~ 2007	双月刊	29 ~ 47	1 ~ 6
2008	月刊	48	1 ~ 12
2009	月刊	49	1 ~ 10