

内蒙古海拉尔地区碱湖嗜碱细菌的多样性

张伟周 毛文扬 薛燕芬 马延和* 周培瑾

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要:从内蒙古海拉尔地区碱湖样品中分离到 53 株嗜碱细菌, 其形态与生理生化等特征表现出丰富的多样性。其中 28 株细菌的 16S rRNA 基因的限制性内切酶图谱显示出分离菌株之间具有较大差异。根据其中 20 株菌的 16S rRNA 基因序列所进行的系统发育分析表明, 革兰氏阴性菌均属于 *Proteobacteria* 的 gamma 亚群。革兰氏阳性菌表现出更广泛的多样性, 但大部分属于芽孢杆菌谱系(*Bacillus* spectrum)。

关键词:嗜碱细菌, 系统发育, 生物多样性

中图分类号: Q 938 文献标识码: A 文章编号: 1005-0094(2001)01-0044-07

The diversity of Alkaliphiles from Hailaer Soda Lake, Inner Mongolia

ZHANG Wei-Zhou, MAO Wen-Yang, XUE Yan-Fen, MA Yan-He, ZHOU Pei-Jin

Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080

Abstract: Fifty three strains of organisms were isolated from Hailaer Soda Lake, Inner Mongolia and DNA was extracted followed by amplification of 16S rRNA genes and sequencing. The phenotypic characteristics and the subsequent ARDRA showed that these strains displayed great diversity. Phylogenetic analysis revealed that all of the Gram-negative isolates were confined to the Gamma subdivision of *Proteobacteria* and that the Gram-positive isolates showed great diversity, but most of them belonged to the *Bacillus* spectrum.

Key words: alkaliphiles, phylogeny, biodiversity

嗜碱菌是一类最适生长于 pH 值大于或等于 9 的环境中的微生物, 根据它们在 pH 7 条件下生长与否可分为专性嗜碱菌(obligate alkaliphiles)和兼性嗜碱菌(facultative alkaliphiles)两大类。嗜碱微生物较早的报道可追溯到 1923 年(Johnson, 1923), 系统研究起始于 1968 年日本的 Horikoshi 和 Grant 对土壤中嗜碱菌的研究, 并于 1971 年发表了第一篇关于嗜碱微生物酶学方面的文章(Horikoshi and Grant, 1971)。碱湖的形成有其独特的地质和气候条件, 高浓度的碳酸根和碳酸氢根可以导致碱湖的 pH 值高于 9, 甚至可达 11~12, 其中有大量的微生物存在, 仅有有机营养型好氧微生物就达 $10^5 \sim 10^6$ cfu/mL(Jones et al., 1998), 碱湖是嗜碱菌多样性较高的最典型区域。近年来, 对碱湖中嗜碱菌的多样性研究已引起重视, 在光合菌、嗜盐嗜碱古菌之后, 化能异氧嗜碱细菌的研究也有了很大的进展。其中已描述的革兰氏阴性菌几乎全部归属于 *Pro-*

teobacteria 的 gamma 亚群。革兰氏阳性菌分类范围更广泛, 可分为高 G + C mol% 和低 G + C mol% 两类。

中国有广泛的碱湖分布, 蕴藏着丰富的微生物资源, 对于嗜盐嗜碱古菌的分离鉴定工作已取得了一些成果, 但对于嗜碱细菌, 迄今还没有系统的研究。本文报道从内蒙古海拉尔地区碱湖样品中分离纯化的一批嗜碱细菌, 通过其生理生化特征、16S rRNA 基因扩增后酶切分析(ARDRA, amplified rDNA restriction analysis)以及系统发育分析, 揭示碱湖中嗜碱细菌的多样性, 以了解碱湖嗜碱细菌的分布, 丰富嗜碱菌的种类, 为以后嗜碱菌的认识与利用打下基础。

1 材料和方法

1.1 样品采集和菌株分离

样品采自内蒙古海拉尔地区新巴尔虎右旗碱湖的湖水及湖边泥土, pH 9~10。样品经稀释涂布平皿, 在37℃的温箱中培养48小时, 根据菌落大小、形态、颜色进行初步筛选分离并纯化。

1.2 培养基

修饰的 Horikoshi 培养基 I 和 II (Horikoshi and Grant, 1998)。以下药品所用单位为 g/L :

葡萄糖/淀粉 10.0, 聚合蛋白胨 5.0, 酵母提取物 5.0, K₂HPO₄ 1.0, MgSO₄ 0.2, Na₂CO₃ 10.0, NaCl 分别为 0、5.0、10.0、15.0、20.0, agar 20.0。

1.3 生理生化试验

生理生化试验参见 Gerhardt and Murray (1981), 革兰氏染色由 KOH 试验代替 Gregersen (1978)。

1.4 16S rRNA 基因扩增及酶切分析 (ARDRA)

1.4.1 菌体总 DNA 的提取

参见 Marmur (1961)。

1.4.2 16S rRNA 基因扩增引物

正向引物 1 (7 ~ 27, *E. coli* 顺序): 5'-GAGACTTGATCCTGGCTCAG-3'

反向引物 2 (1522 ~ 1541, *E. coli* 顺序): 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCCCA-3'

PCR 扩增条件 98℃ 预变性 5 min, 加酶后 95℃ 变性 45 s, 58℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 1.5 min, 30 个循环, 72℃ 延伸 10 min。

1.4.3 PCR 产物的酶切分析

内切酶为 *Sau 3A I*, 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测酶切产物。

1.5 16S rDNA 扩增产物测序

16S rDNA 扩增产物的直接测序分别由 GENECORE 公司和中国科学院微生物所技术室完成。测序引物:

27F : 5'-GAGACTTGATCCTGGCTCAG

704F : 5'-GTAGCGGTCAAATGCCTAGA

765R : 5'-CTGTTGCTCCCCACGCTTTC

1541R : 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCCCA

1.6 系统发育树的构建及分析

将所得的序列与从 GenBank、EMBL、DDBJ 等数据库中获得的 16S rRNA 基因序列, 采用 Clustal X 1.8 软件包进行多序列匹配排列, 通过 Treeconw(1.3 b)和 PHYLIP(v. 3572)软件包推测和分析系统发育树。

1.7 数据库存取号 (Accession number)

分离菌的 16S rRNA 基因序列在 EMBL 核苷酸数据库中的存取号为 AF275698 ~ AF275715, AF284789。其他相关菌株的数据库存取号如下: *Abiotrophia adiacens* AB022027^T, *Amphibacillus xyloanus* D82065^T, *Bacillus halmlapalus* X76447^T, *B. cohnii* AF140114, *B. flexus* AB021185, *B. pumilus* AB020208, *B. thermoleovorans* Z26923, *B. psychrophilus* X60634, *B. thermosphaericus* X90640^T, *B. alcalophilus* X76436^T, *B. alcalinulinus* AB018595^T, *B. vedderi* Z48306^T, *B. clarkii* X76444^T, *B. agaradhaerens* X76445^T, *B. marismoutui* AJ009793^T, *Cyclobacterium marinus* M62788, *Cytophaga hutchinsonii* M58768, *Exiguobacterium acetylicum* D55730, *Exiguobacterium aurantiacum* X70316, *Flexibacter tractuosus* M58789^T, *Gracilibacillus halotolerans* AF036922^T, *Halobacillus litoralis* X94558, *Halomonas salina* AJ243448, *H. cupida* L42615, *H. pantelleriense* X93493^T, *H. pacifica* L42616, *H. campusalis* AF054286^T, *H. desiderata* X92417^T, *H. halodurans* L42619, *H. meridiana* M93356, *H. variabilis* U85872, *H. elongata* M93355^T, *H. eurihalina* X87218^T, *H. marina* M93354^T, *Halorubrum vacuolatum* D87972^T, *Hymenobacter roseosalivarius* AA688^T Y18834, *Hymenobacter actinosclerus* Y18837, *Lactobacillus paracasei* D79212, *Lactobacillus casei* D86518, *Lactobacillus maltaromicus* M58825^T, *Lactospheera pasteurii* X87150^T, *Marinococcus caseolyticus* U75508^T, *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* Y16735^T, *Marinobacter articus* AF148811, *Marinospirillum megaterium* AB006770^T, *Marinospirillum minutulum* AB006769^T, *Microscilla sericea* M58794^T, *Microscilla furvescens* M58792^T, *Oceanospirillum multiglobuliferum* AB006764^T, *O. beijerinckii* AB006760^T, *O. limum* AF260752, *O. maris* AB006771^T, *Persicobacter diffluens* M58765, *Paracoccus halodenitrificans* L04942^T, *Pseudomonas beijerinckii* AB021386^T, *Pedobacter heparinus* M11657^T, *Salinicoccus roseus* X94559^T, *Shewanella alga* AF005249, *Sphingobacterium spiritivorum* M58778^T, *S. multivorum* AB020205, *S. canosus* AB009934^T, *Taxeobacter ocellatus* Tx01 Y18838, *Myx2105* Y18835, *Taxeobacter gelupurpurascens* Y18836^T, *Virgibacillus pantothenicus* D78447^T.

2 结果

2.1 表型特征

在碱湖的样品中初步分离出 53 株嗜碱细菌, 它

表 1 20 株嗜碱细菌的形态及生理特性

Table 1 Morphological and physiological characteristics of twenty alkaliphilic isolates

Isolate	Z1	Z3	Z4	Z6	Z8	F1	F5	F6	F8	F10	F16	F23	F24	F26	F27	T1	T2	T5	T8	T10
Morphology	R	R	H	R	C	R	R	R	C	R	C	R	R	R	R	R	R	R	C	R
Spore	+	-	-	+	-	-	N	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	N	-	+
Motility	-	-	+	-	+	N	+	+	N	N	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+
KOH test	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at NaCl(%)																				
0	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Optimum	0	0	0	0	0	5	5	5	5	10	10	5	5	5	10	10	10	10	10	10
Growth at Na ₂ CO ₃ (%)																				
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.1	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
0.5	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 7.0	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Production of																				
H ₂ S	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
Indole	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+
Catalase	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
Reduction of																				
Nitrate	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-
Hydrolysis of																				
Casein	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Starch	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+
Gelatin	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	N	N
Tween 20	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-
Tween 60	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+
Tween 80	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+
Acid from																				
Glucose	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
Maltose	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Galactose	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Sucrose	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-
Fructose	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-

Note : N : Not determined ; + : Positive ; - : Negative ; C : Coccus ; R : Rod ; H : Helical

们的共同特点是能在 pH 9.6 (Na₂CO₃ 1%) 的条件下生长良好,而且大多数必须要一定的 Na⁺ 才能生长。其中杆菌的数量很大,杆状的形态不一致,球菌的数量相对较少但形态较为一致,而在所有的分离菌中只有 1 株为螺旋状细菌。其中 20 株菌的基本形态及生理生化特性见表 1。根据对盐度的需求分为 3 个类群 Z 群、F 群、T 群。它们的生长对 pH 和钠离子的需求不尽相同,多数菌的最适生长 pH 在 9~10 之间,最适盐浓度在 5%~10% NaCl 之间。其中 Z 群菌需要的 Na⁺ 浓度很低,而 T 群菌和部分 F 群菌可以耐受高于 20% 的盐浓度,有些可达到 30%。根据 KOH 试验所反映的结果,革兰氏阳性菌

占多数,革兰氏阳性菌可以分为芽孢菌和非芽孢菌,而革兰氏阴性菌虽然只有 4 株,但在形态上有杆状、球状、螺旋状。

2.2 ARDRA

为更进一步了解分离菌之间的差异,我们用识别位点只有四个碱基(GATC)的 Sau 3A I 把 28 株菌的 16S rRNA 基因的扩增产物切成较小的片断,在其电泳图谱中(图 1)可以很清晰地看出,F24、F26、F1、F27、T6、Z1、Z6、Z9、F23、Z5 之间的差异较小,而其余的菌之间差异较大。

2.3 系统发育分析

根据酶切图谱,共选出 20 株菌测定其 16S

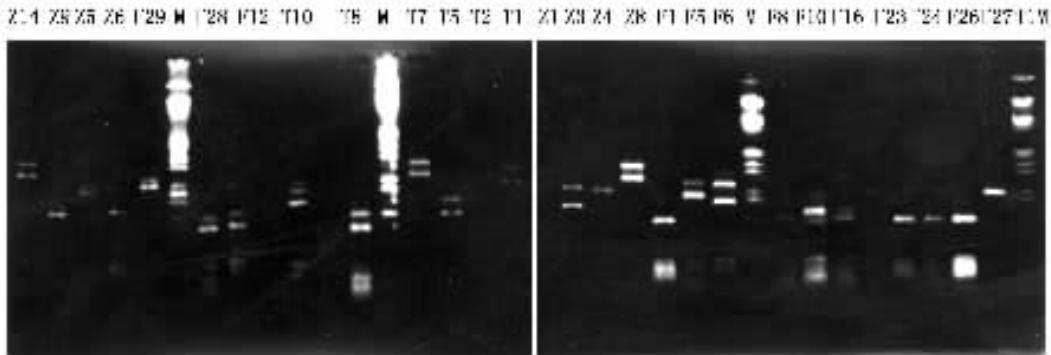


图 1 限制性内切酶 *Sau 3A I* 酶切 16S rDNA 的琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis analysis of restriction of amplified 16S rDNA with *Sau 3A I*

M 代表分子量标记(*EcoRI* 和 *HindIII* 酶切 λ DNA 的产物 , 分别为 21227 bp, 5184 bp, 4973 bp, 4268 bp, 3530 bp, 2027 bp, 1904 bp, 1584 bp, 1375 bp, 947 bp, 831 bp, 564 bp, 125 bp)

Lane M contains molecular weight markers(λ DNA restricted with *EcoR I* and *Hind III* (bp) 21227 , 5184 , 4973 , 4268 , 3530 , 2027 , 1904 , 1584 , 1375 , 947 , 831 , 564 , 125)

rDNA 的序列并进行了系统发育分析。根据革兰氏阳性菌和阴性菌 16S rDNA 序列所作的系统发育树分别见图 2 和图 3。革兰氏阳性菌有 16 株, 大部分是低 G + C mol% 的芽孢产生菌, 与芽孢杆菌属亲缘较近。比较 16S rRNA 的一级和二级结构可以看出, 嗜碱芽孢杆菌在 *Bacillus* RNA 群 7 和群 1 (Ash et al. , 1991 ; Niesen et al. , 1994) 中的所占比例较大。另有 2 株菌(T2 , F10)分别与从芽孢杆菌属分离出的 *Amphibacillus* (Komagata and Shida , 1997)和 *Gracilicoccus* (Wain et al. , 1999)两个属中的种较为接近(T2 与 *Amphibacillus xylinus* 相似性为 96% , F10 与 *Gracilicoccus haloolerans* 为 93%)。在革兰氏阳性菌中发现了一组嗜碱细菌(F1 , F27 , F24 , F26), 其分类地位与已明确鉴定的各属距离较远(<93%), 但与 Ntougias 未报道的属 *Alkalibacterium* (未正式发表, 但其 16S rDNA 序列已于 19997 年提交至 NCBI)有很近的亲缘关系(>98%)。高 G + C 含量的革兰氏阳性菌有 2 株(T10 , Z8), 分属于 *Salinococcus* 和 *Exiguobacterium*, 与 *Salinococcus roseus* 和 *Exiguobacterium aurantiacum* 的相似性分别为 96% 和 98% 。革兰氏阴性菌都属于 *Proteobacteria* 的 gamma 亚群, 2 株(F8 , F16)分别与中度嗜盐菌 *Halomonas* 属中的 *Halomonas pantelleriense* 和 *Halomonas desiderata* 较为接近(97% , 97%)。另外的 Z3 与 *Cyclobacterium marinus* 亲缘关系最近(92%)和 Z4 与 *Marinospirillum minutulum* 的 16S rRNA 同源性最高(96%)。

3 讨论

作为碱湖水生生态系统的组成之一, 原核生物

的多样性只是在近几年才得到较为系统的研究。其中比较深入的是东非裂谷的碱湖和盐碱湖 (Grant et al. , 1999 ; Duchworth et al. , 1996 ; Grant et al. , 1990)。较早的研究手段是以传统的表型分类为基础的数值分类, 而 Duchworth 等(1996)开始应用 16S rRNA 作为系统发育学的手段。迄今为止, 关于碱湖微生物多样性的最为系统的研究由 Duchworth 等 (1996)完成。本文的结果表明中国碱湖的嗜碱细菌也表现了丰富的多样性。革兰氏阴性菌中, 有 2 株菌分别接近 *Cyclobacterium* 和 *Marinospirillum* , 这在以往的嗜碱菌研究中没有发现。在革兰氏阳性菌中, 芽孢杆菌所占比例最大, 并且分离菌较为集中于 *Bacillus* RNA 群 1 和群 7 , 而不是曾经报道过的占统治地位的 RNA 群 6。还有一组可能会丰富以 WW2 - SN 为代表的 *Alkalibacterium* 属, 在这一组中共发现 4 株, 其中 16S rRNA 基因的相似性足以表明它们之间的差异在种水平上。在大的分类范围上, 本报告的结果与以往的研究基本相同。但具体到属或种的水平时, 与已经报道的相差甚远。得出的结果可以共同说明一个问题, 即碱湖的嗜碱细菌具有较为丰实的多样性。

我们分离的嗜碱细菌中芽孢杆菌占多数, 然而由于所用的培养基和培养条件的限制, 分离菌并不一定能完全反映碱湖中细菌的真实组成, 也不能因此确定碱湖中的优势菌群为芽孢菌。本工作采用含不同盐浓度的 Horikoshi 培养基, 目的是使结果尽量接近碱湖嗜碱细菌的组成。在碱湖中, 嗜碱细菌中芽孢菌是否占优势还有待进一步的研究。我们正采

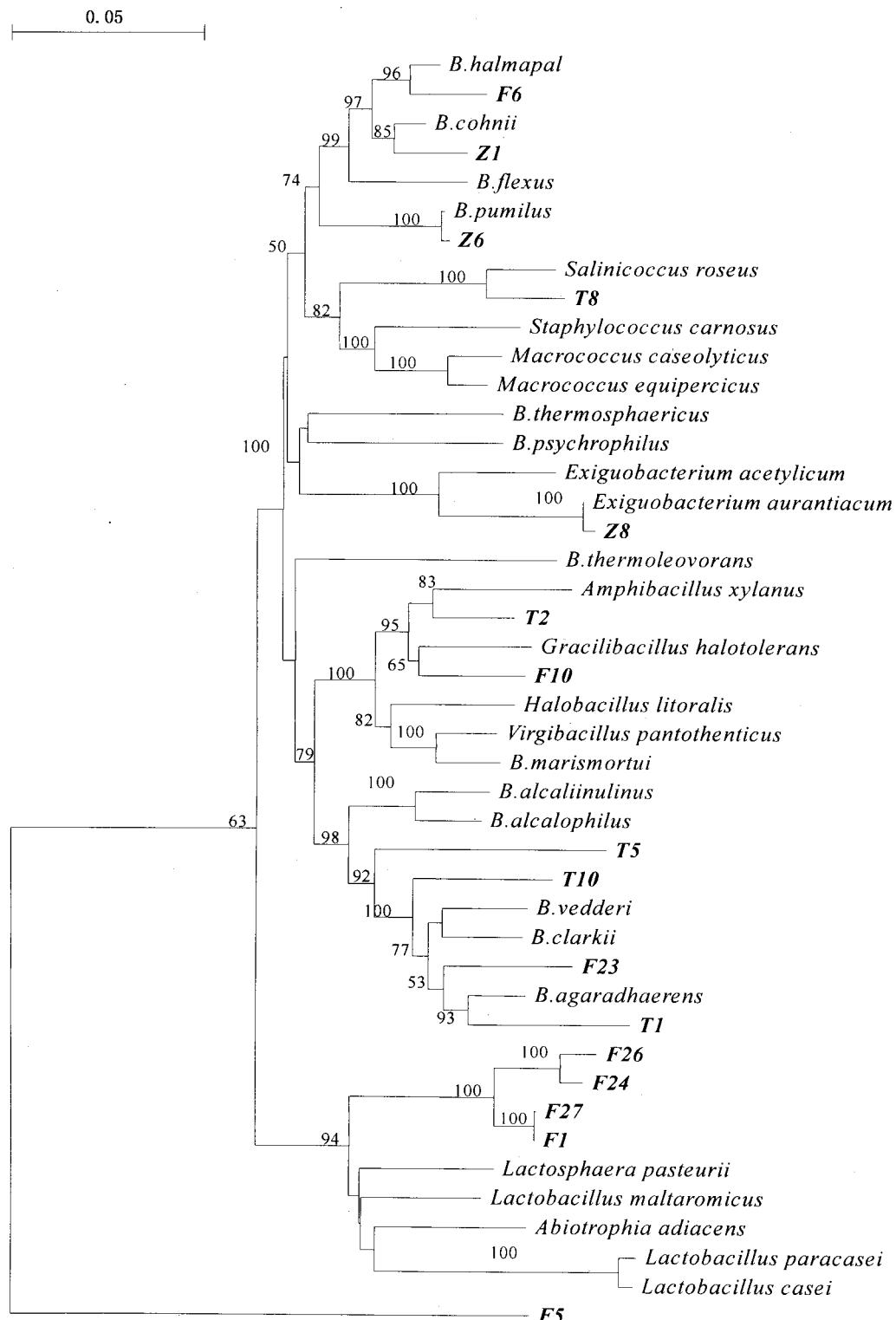


图 2 以 16S rDNA 序列为基础的革兰氏阳性嗜碱细菌的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of the Gram-positive isolates of alkaliphiles based on 16S rDNA sequences

进化距离的计算采用 Kimura(1980)双参数计算模型 ,树的拓扑形状采用 neighbor-joining 方法 ,经过 100 次 bootstrap 分析所得的结果。线段 0.05 代表 0.05 进化距离单位 ,B 代表 *Bacillus* 属

Evolutionary distances were calculated by the method with Kimura (1980) two-parameter calculation model and the topology was inferred by the neighbor-joining method based on bootstrap analysis of 100 replicates. Bar , 0.05 substitutions per nucleotide. B. = *Bacillus*

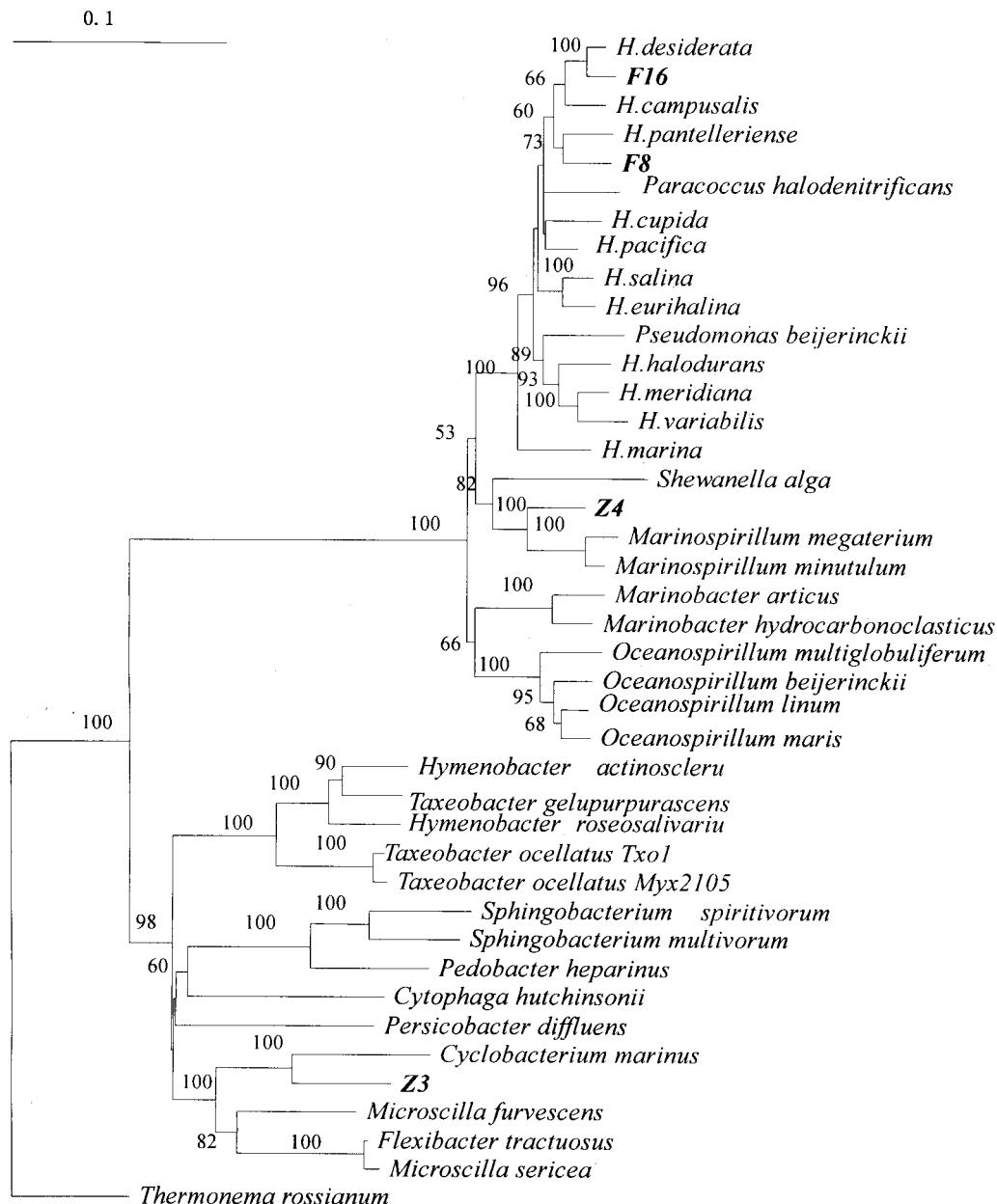


图3 以16S rDNA序列为基础上的革兰氏阴性嗜碱细菌系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of the Gram-negative isolates of alkaliphiles based on 16S rDNA sequences

进化距离的计算采用 Kimura(1980)双参数计算模型 树的拓扑形状采用 neighbor-joining 方法 经过 100 次 bootstrap 分析所得的结果 ,线段 0.1 代表 0.1 进化距离单位

Evolutionary distances were calculated by the method with Kimura(1980) two-parameter calculation model and the topology was inferred by the neighbor-joining method based on bootstrap analysis of 100 replicates. Bar ,0.1 substitutions per nucleotide. *H.* = *Halomonas*

用分子生态学的手段 ,直接提取样品中的总 DNA 并扩增、克隆、测序 16S rRNA 基因 ,从而了解样品中菌株的分类地位 ,已经得到了一些有价值的结果。当然 ,如果要了解菌的生理生化特性 ,确定它们的分类地位 ,只能寄希望于纯培养的获得。因此 ,如何采用合适的培养基与培养条件以获得更新更多的分

离菌是面临的重要挑战之一。

参考文献

- Ash C, Farrow A E, Wallbanks, Collins M D, 1991. Phylogenetic heterogeneity of the genus *Bacillus* revealed by comparative analysis of small-subunit-ribosomal RNA sequences. *Letter in Applied Microbiology*, 13: 202 ~ 206

- Duchworth A W, Grant W D, Jones B E, Steenbergen R van, 1996. Phylogenetic diversity of soda lake alkaliphiles. *FEMS Microbiology Ecology*, **19**: 181 ~ 191
- Gerhardt P, Murray R G E, Costilow R N, Nester E W, Wood W A, Krieg N R, Phillips G B, 1981. Manual of Methods for General Bacteriology. American Society for Microbiology.
- Grant W D, Jones B E, Mwatha W E, 1990. Alkaliphiles: ecology, diversity and applications. *FEMS Microbiology Review*, **75**: 255 ~ 270
- Grant S, Grant W D, Jones B E, Lina Li C K, 1999. Novel archaeal phylotypes from an East African alkaline saltern. *Extremophiles*, **3**: 139 ~ 145
- Gregersen T, 1978. Rapid method for distinction of Gram-negative from Gram-positive bacteria. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, **5**: 123 ~ 127
- Horikoshi K, 1971. Production of alkaline enzymes by alkalophilic microorganisms. Part I. Alkaline protease produced by *Bacillus* No. 221. *Agriculture Biological Chemistry*, **36**: 1407 ~ 1414
- Horikoshi K, Grant W D, 1998. Extremophiles. Ralph Mitchell, Division of Applied Sciences. Harvard University, **6**: 155 ~ 158
- Johnson H W, 1923. Relationships between hydrogen ion, hydroxyl ion and salt concentrations and the growth of seven soil molds. *Iowa Agriculture Experiment Stn Research Bulletin*, **76**: 307 ~ 344
- Jones B E, Grant W D, Duchworth A W, Owenson G G, 1998. Microbial diversity of soda lakes. *Extremophiles*, **2**: 191 ~ 200
- Marmur J, 1961. A procedure for the isolation of deoxy - ribonucleic acid from microorganisms. *Journal of Molecular Biology*, **3**: 208 ~ 212
- Niesen P, Rainey F A, Ontrup H, Priest F G, 1994. Comparative 16S rDNA sequence analysis of some alkaliphilic bacilli and the establishment of a sixth rRNA group within the genus *Bacillus*. *FEMS Microbiology Letters*, **117**: 61 ~ 66
- Wain M, Tindall B J, Schumann P, Ingrorsen K, 1999. *Gracilibacillus* gen. nov., with description of *Gracilibacillus halotolerans* gen. nov., sp. nov., transfer of *Bacillus diposalisaurito* to *Gracilibacillus dipsosaurito* comb. nov. and *Bacillus salexigens* to the genus *Salibacillus* gen. nov., as *Salibacillus salexigens* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **49**: 821 ~ 831

(责任编辑 : 时意专)

《生物多样性》2000 年度优秀论文奖

经我刊 2/3 以上编委投票 ,并经编委会讨论评选出 2000 年度优秀论文奖 ,公布如下 :

黄宏文 , 龚俊杰 , 王圣梅 , 何子灿 , 张忠慧 , 李建强 . 猕猴桃属(*Actinidia*)植物的遗传多样性. **2000 8(1)1 ~ 12**

东秀珠 , 沈德龙 , 辛玉华 . 16S rDNA 同源性所揭示的双歧杆菌与有关细菌的亲缘关系. **2000 8(2)146 ~ 152**

王剑伟 , 王伟 , 崔迎松 . 野生和近交稀有𬶋鲫的遗传多样性. **2000 8(3)241 ~ 247**

本刊将对以上作者颁发荣誉证书、赠送 2001 年全年刊物并给予一定的物质奖励。