

蝗翅上绿僵菌孢子萌发及附着胞观察*

曹月青** 朱祥先

(重庆大学生物工程学院基因工程中心, 重庆市杀虫真菌生物农药工程中心 重庆 400044)

摘要 孢子萌发及附着胞形成是昆虫病原真菌感染寄主过程中的关键步骤. 观察了绿僵菌CQMa102菌株孢子在蝗虫后翅上萌发及附着胞形成率、芽管及附着胞形态情况. 结果表明, 在蝗翅上培养8 h后孢子开始萌发, 附着胞通常培养16 h时出现, 20~36 h内大量生成. 营养丰富有利于孢子萌发, 但不利于附着胞形成. 与用玻璃作基质相比, 蝗翅有利于诱导附着胞形成, 且蝗翅上绿僵菌附着胞个体较大, 芽管短, 分枝少, 隔膜少. 图2 表1 参17

关键词 绿僵菌; 附着胞; 孢子; 萌发; 芽管

CLC S476+12

Conidium Germination and Appressorium Formation of *Metarhizium anisopliae* on Locust Wing*

CAO Yueqing** & ZHU Xiangxian

(Genetic Engineering Research Center, Institute of Bioengineering, Chongqing University;
Chongqing Engineering Research Center for Fungal Insecticides, Chongqing 400044, China)

Abstract Conidium germination and appressorium formation are key steps in the process of infecting insect hosts by entomopathogenic fungi. Conidial germination and appressorial development, as well as the properties of germ tube of *Metarhizium anisopliae*, CQMa102 were studied on locust wing. The results showed that conidial germination usually happened after cultivation for 8 h on locust wing. Appressoria appeared after cultured for 16 h and mostly formed during the period of 20~36 h after cultivation. Nutrient-rich media enhanced conidial germination, but negatively impacted appressorial formation. Compared with glass surface, there were more appressoria produced on locust wing. Moreover, larger sized appressoria with germ tubes having shorter length, fewer branches, and fewer septa were found on locust wing than those on the glass surface. Fig 2, Tab 1, Ref 17

Keywords *Metarhizium anisopliae*; appressorium; conidium; germination; germ tube

CLC S476+12

昆虫病原真菌成功感染寄主是一个复杂的过程. 病原真菌孢子首先附着于昆虫体表, 孢子萌发出芽后, 形成感染结构附着胞, 附着胞长出感染钉或感染菌丝, 穿过寄主体壁进入血淋巴, 然后真菌在寄主体内大量生长, 因产生毒素或耗竭昆虫营养最终使昆虫死亡^[1-3]. 其中感染结构附着胞的形成是整个感染过程中关键的一环. 孢子在寄主表皮萌发形成芽管后, 芽管顶端膨大分化形成附着胞, 产生膨压. 芽管和附着胞可分泌粘性物质, 一方面使昆虫病原真菌固着于昆虫体表, 另一方面也有助于胞外酶类的分泌, 如蛋白酶、几丁质酶、酯酶等. 在附着胞内部膨压产生的机械穿透力和胞外酶类降解昆虫表皮的作用下, 昆虫病原真菌穿透寄主昆虫体壁进入体内^[4].

昆虫病原真菌分生孢子萌发及附着胞的形成与很多因素有关, 如昆虫体表结构、营养条件、疏水性及菌株差异. 在低碳氮比的培养基中, 病原真菌孢子萌发会更快^[4-5], 营养比

较贫瘠的表面有利于附着胞的形成^[6-7]. 营养液pH较高时, 附着胞形成率较高^[8]. Butt等研究发现, 绿僵菌在甲虫体表比在蚜虫体表形成更多的附着胞^[9]. 亲水物质表面附着胞形成率较低^[10], 而疏水物质表面, 如含蜡质的蝗虫体表可大大刺激绿僵菌附着胞的形成^[6]. 绿僵菌ARSEF324孢子在非寄主昆虫体表可萌发, 但只在寄主昆虫蝗虫体表产生附着胞, 说明附着胞的产生与菌株寄主专一性有关, 可能介导昆虫病原真菌与寄主昆虫之间的识别^[11].

本研究观察了蝗翅上绿僵菌孢子萌发及附着胞形成, 并与玻璃板上的生长情况进行比较, 为进一步探讨昆虫病原真菌和寄主昆虫的互作关系, 研制新型杀虫真菌剂奠定基础.

1 材料与方法

1.1 菌株来源及培养

金龟子绿僵菌(*Metarhizium anisopliae* var. *acridum*)菌株CQMa102, 由重庆大学基因工程中心从竹脊飞蝗(*Ceracris kiansu* Tsai)染病虫尸上分离得到, 为蝗虫专杀菌株. 将供试菌株CQMa102接种于1/4SDAY培养基平板上, 28℃恒温培养12 d后待用.

1.2 试剂配制

1/4SDAY培养基: 10 g/L葡萄糖, 2.5 g/L蛋白胨, 5.0 g/L酵母浸膏, pH值调至6.0, 固体培养基再加入20 g/L琼脂. 荧

收稿日期: 2009-12-07 接受日期: 2010-02-10

*国家自然科学基金项目(No. 30800736)、教育部博士点新教师基金项目(No. 20070611043)及重庆大学“211工程”三期建设项目(No. S-09104)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30800736), the New Teachers of Doctoral Program of Higher Education of China (No. 20070611043), an the third stage of “211 Project” of Chongqing University (No. s-09104)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: yueqingcao@cqu.edu.cn)

光染色液: 溶液A, 含10% KOH、10%甘油水溶液; 溶液B, 0.001% Calcofluor White M2R染色液 (Sigma), 使用前将A、B两溶液等体积混匀。

1.3 孢子在蝗虫翅膀上萌发及附着胞形成

在普通光学显微镜下, 蝗虫翅膀的背景较深, 绿僵菌孢子及附着胞不易分辨清楚, 因此, 采用荧光染色剂Calcofluor White M2R染色后荧光显微镜观察. 以蒸馏水悬浮绿僵菌菌株CQMa102孢子, 用4层擦镜纸过滤, 用蒸馏水制备浓度为10⁶个孢子/mL的孢悬液. 取蝗虫后翅, 用清水冲洗干净并晾干后, 取适量孢悬液涂于翅膀表面, 小心置于玻璃板上展开, 将其置于铺有数层湿滤纸的培养皿中, 在28℃培养8、12、16、20、24和36 h后, 将涂有孢子的蝗翅置于荧光染色液(A、B等体积混合)中浸泡1 min, 用蒸馏水稍加冲洗, 荧光显微镜(Olympus, WU激发, 365 nm)观察孢子萌发及附着胞产生情况. 为避免边缘效应, 取蝗翅中心的位置进行观察, 依据Jarrold等的形态描述方法^[12], 略作修改, 确定萌发的孢子及附着胞, 当芽管长至与芽管宽相当时视为萌发, 芽管末端膨大超过芽管宽度时视为形成附着胞. 实验重复3次, 每次至少观察3个10×10倍视野, 统计总孢子数200个左右. 为避免观察时环境变化及染色对孢子萌发和附着胞形成造成影响, 每次观察后弃去样品, 不再用于后续观察.

1.4 孢子在玻璃板上萌发及附着胞形成

分别以蒸馏水、1% 1/4SDAY和1/4SDAY培养液制备孢悬液, 孢子浓度为10⁶/mL. 取10 μL孢悬液滴加在玻璃板上, 涂成直径约1 cm圆圈, 待水份蒸发殆尽时, 小心将其置于铺有数层湿滤纸的培养皿中, 28℃下保湿培养36 h后, 于普通光学显微镜下观察不同培养液中孢子萌发及附着胞形成情况, 并与蝗翅上的孢子生长做比较.

2 结果与分析

2.1 蝗翅上孢子萌发和附着胞形成

以蝗翅为基质时, 培养8 h后, 绿僵菌分生孢子已有部分萌发, 16 h后开始出现附着胞. 36 h内孢子萌发达到98.78%, 附着胞形成率为42.86%, 且在20~36 h内, 附着胞大量形成(表1).

表1 绿僵菌分生孢子在蝗翅上的萌发及附着胞的形成率
Table 1 Germination and appressorium formation rate of *M. anisopliae* conidia on locust wing

t/h	出芽率 Germination (r/%)*	附着胞形成率 Appressorium formation (r/%)**
8	12.21±2.93	0
12	21.87±3.56	0
16	32.33±2.58	1.35±0.56
20	40.30±4.72	10.37±3.53
24	69.12±4.04	25.98±4.75
36	98.78±1.02	42.86±3.98

*出芽孢子所占观察到孢子的比例; **长附着胞的出芽孢子所占观察到孢子的比例
*Percentage germination of the total number of counted spores; **Percentage appressorium formation of the total number of counted spores

2.2 蝗翅与玻璃板上孢子萌发和附着胞形成比较

与玻璃板基质相比, 蝗翅上分生孢子(蒸馏水悬浮孢子)萌发率与附着胞形成率均显著增加($P<0.001$)(图1),

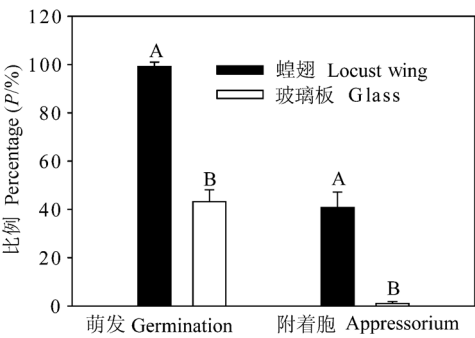


图1 绿僵菌孢子在蝗翅和玻璃板上的萌发及附着胞的形成率
Fig. 1 Comparisons of germination and appressorium formation of *M. anisopliae* conidia on locust wing and glass surface
采用孢子水悬浮液, 对蝗翅及玻璃板上生长36 h的数据进行统计分析($\alpha=0.05$). 图中不同字母代表差异显著
The data were collected when the conidia suspended in water had grown for 36 h on different matrixes ($\alpha=0.05$). Different letters indicate significant difference

说明蝗翅更有利于孢子的萌发和诱导附着胞形成.

2.3 蝗翅与玻璃板上芽管及附着胞比较

以蒸馏水配制的孢悬液, 在玻璃板为基质时, 芽管分叉较多, 每个孢子常产生几个附着胞(图2-A、B). 在蝗翅上, 孢子萌发后多产生一个芽管, 根部粗大, 逐渐变细, 末端产生一个附着胞, 芽管分叉现象较少, 根部隔膜明显(图2-D). 在以1% 1/4SDAY营养液配制的孢悬液中, 孢子在玻璃板上萌发产生的芽管较长, 芽管多隔膜(图2-B), 但在以1/4SDAY营养液配制孢悬液时, 孢子萌发后直接形成菌丝, 不见附着胞(图2-C). 在未水洗过的蝗翅上, 观察到一些孢子产生的芽管也较长(图2-E). 从孢悬液的营养丰富度看, 在营养不丰富时, 如玻璃板上水处理和水洗蝗翅上, 孢子萌发产生的芽管短, 少隔膜, 附着胞个体较大, 且孢子萌发和附着胞形成均一性好(图2-A、D)

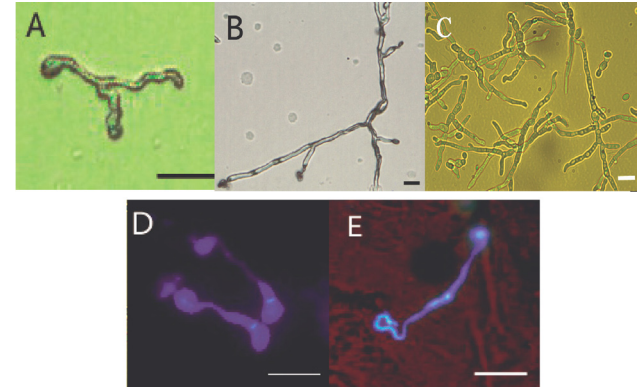


图2 不同处理中绿僵菌孢子产生的芽管和附着胞
Fig. 2 Germ tubes and appressoria of *M. anisopliae* conidia under different treatments

A: 玻璃板为基质, 水处理; B: 玻璃板为基质, 1% 1/4SDAY处理; C: 玻璃板为基质, 1/4SDAY处理; D: 水洗蝗翅为基质, 水处理; E: 未清洁蝗翅为基质, 水处理. 图中标尺为10 μm
A: Glass as matrix, conidia suspended with water; B: Glass as matrix, conidia suspended with 1% 1/4SDAY; C: Glass as matrix, conidia suspended with 1/4SDAY; D: Cleaned locust wing as matrix, conidia suspended with water; E: Uncleaned locust wing as matrix, conidia suspended with water. Bars indicate 10 μm

3 讨论

营养成分影响绿僵菌芽管及附着胞的形成和形态. 本研究采用最适合绿僵菌生长的培养基之一1/4SDAY作为其在玻璃板上生长的营养液. 用蒸馏水配制孢悬液时, 绿僵菌分生孢子在水洗蝗翅、未清洁蝗翅及玻璃板上均能形成附着胞; 用低营养的培养液(浓度为1%的1/4SDAY)配制孢悬液时, 绿僵菌分生孢子能够也能形成附着胞; 而营养丰富时(如1/4SDAY)则没有附着胞形成, 说明一定的营养成分有利于孢子萌发和附着胞的形成, 但营养丰富时, 不利于附着胞的形成, 此结果与其它营养液的研究结果^[8]一致. 在含有一定营养成分的环境中, 如1% 1/4 SDAY, 虽能够生成附着胞, 但附着胞个体小, 芽管长(图2-B). 未水洗的蝗翅上某些部位有可能黏附了一些营养物质, 芽管也较长(图2-E). 这个现象表明, 附着胞作为昆虫病原真菌的一种侵染结构, 除具有入侵寄主的功能外, 也是真菌在营养不足时探寻新营养来源的一种结构, 以满足其正常的生长繁殖. 因此, 在营养丰富时, 病原真菌可利用环境中的营养成分直接产生菌丝, 不形成附着胞. 营养贫乏时, 则生成侵染结构附着胞, 由于附着胞可分泌一些粘性物质及蛋白质和脂类水解酶^[1, 13~14], 增强了病原真菌探寻新营养来源时的进攻能力. 环境中营养贫乏程度直接影响了病原真菌主动探寻新营养的需求, 因此可能也影响了芽管的长短及附着胞的大小.

孢子附着基质影响芽管及附着胞的形成及形态. 玻璃平板上芽管多分叉, 而干净蝗翅上一般孢子萌发产生的芽管分叉少而短, 可能的原因是在蝗翅表面没有可直接利用的营养成分时, 受到蝗翅表面几丁质和蛋白质的诱导, 芽管很快找到合适的入侵点, 形成侵染结构附着胞, 通过减少每个孢子形成的芽管和附着胞的数量, 可以相应增大附着胞内的膨压, 提高绿僵菌穿透寄主体壁的能力. 在玻璃表面, 尽管有一定的疏水性, 但缺乏特殊成分和结构的诱导, 找不到没有合适的入侵点, 所以芽管生长分散, 分叉较多.

目前研究表明, 昆虫病原真菌孢子萌发及附着胞的形成与许多基因有关, 如*Mad1*^[15]和*Mpl1*^[16], 这些基因的缺失会导致孢子萌发及附着胞形成率降低, 导致绿僵菌毒力降低. 一些细胞外信号传导途径调控也可以调控附着胞的形成, 如cAMP-PKA(Protein kinase A)信号传导途径^[17]. 深入研究昆虫病原真菌孢子萌发及附着胞的形成及其侵入机理, 对于理解病原真菌的侵染机制、真菌和寄主昆虫之间的互作及害虫防治技术具有重要的理论和应用意义.

References

- Clarkson JM, Charnley AK. New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. *Trends Microbiol*, 1996, **4**: 197~203
- Samson RA, Evans HC, Latg JP. Atlas of entomopathogenic fungi. Berlin, Heidelberg, New York, USA: Springer, 1988
- Kershaw MJ, Moorhouse ER, Bateman R, Reynolds SE, Charnley AK. The role of destruxins in the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insect. *J Invertebr Pathol*, 1999, **74**: 213~223
- Schisler DA, Jackson MA, Bothast RJ. Influence of nutrition during conidiation of *Colletotrichum truncatum* on conidial germination and efficacy in inciting disease in *Sesbania exaltata*. *Phytopathology*, 1991, **81**: 587~590
- Shah FA, Wang CS, Butt TM. Nutrition influences growth and virulence of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *FEMS Microbiol Lett*, 2005, **251**: 259~266
- Jarrold SL, Moore D, Potter U, Charnley AK. The contribution of surface waxes to pre-penetration growth of an entomopathogenic fungus on host cuticle. *Mycol Res*, 2007, **111**: 240~249
- St. Leger RJ, Staples RC, Roberts DW. Cloning and regulatory analysis of starvation-stress gene, *ssgA*, encoding a hydrophobin-like protein from the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*. *Gene*, 1992, **120**: 119~124
- Fan M (樊美珍), Li Z (李增智). Impact of nutrients and culture conditions on appressorium formation of entomopathogenic fungi. *J Anhui Agric Univ* (安徽农业大学学报), 1994, **21**: 123~130
- Butt TM, Ibrahim L, Clark SG, Beckett A. The germination behavior of the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae* on the surface of the aphid and flea beetle cuticles. *Mycol Res*, 1995, **99**: 945~950
- Hajek AE, Filotas MJ, Ewing DC. Formation of appressoria by two species of lepidopteran-pathogenic Entomophthorales. *Can J Bot*, 2002, **80**: 220~225
- Wang C, St Leger RJ. Developmental and transcriptional responses to host and nonhost cuticles by the specific locust pathogen *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*. *Eukaryot Cell*, 2005, **4**: 937~947
- Jarrold SL, Moore D, Potter U, Charnley AK. The contribution of surface waxes to pre-penetration growth of an entomopathogenic fungus on host cuticle. *Mycol Res*, 2007, **3**: 240~249
- Nam JS, Lee DH, Lee KH, Park HM, Bae KS. Cloning and phylogenetic analysis of chitin synthase genes from the insect pathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *FEMS Microbiol Lett*, 1998, **159**: 77~84
- Joshi L, St Leger RJ, Roberts DW. Isolation of a cDNA encoding a novel subtilisin-like protease (Pr1B) from the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* using differential display-RT-PCR. *Gene*, 1997, **197**: 1~8
- Wang C, St Leger RJ. The MAD1 adhesin of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and the MAD2 adhesin enables attachment to plants. *Eukaryot cell*, 2007, **6**: 808~816
- Wang C, St Leger RJ. The *Metarhizium anisopliae* perilipin homolog MPL1 regulates lipid metabolism, appressorial turgor pressure and virulence. *JBC*, 2007, **282**: 21110~21115
- Fang W, Monica P, Wang S, St. Leger RJ. Protein kinase A regulates production of virulence determinants by the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*. *Fungal Gen Biol*, 2009, **46**: 277~285

Introduction to a New Journal *Asian Herpetological Research*

Asian Herpetological Research (AHR), an international English language journal, is published quarterly by the Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, and the Science Press of China, cooperated with the Asiatic Herpetological Research Society (AHRs). The scope of the journal includes all contemporary herpetological research areas including taxonomy, fauna, morphology, phylogeny, systematics, evolution, zoogeography, physiology, ecology, toxicology and conservation biology of amphibians and reptiles.

AHR quarterly publication was initiated in 2010. Historically, however, the AHR was preceded by the journal, *Acta Herpetologica Sinica* which the CIB began publishing in China in 1977 and ceased publishing in 1989. The *Acta Herpetologica Sinica* was then published by the Museum of Vertebrate Zoology, University of California, USA as an international journal for the Chinese Society for the Study of Amphibians and Reptiles (CSSAR). In 1990-2004, the journal was renamed *Asiatic Herpetological Research* and published by the AHRs and CSSAR at the same Museum. In 2008 Volume 11 of the AHS was published by the CIB and AHRs at the same Museum in the USA. AHR has an international Editorial Board consisting of specialists from many countries around the world.

AHR aims to provide a forum for herpetologists and related specialists interested in conducting international academic exchanges and joint studies, and a platform for introducing their newly made scientific and technological data, and publishing their research results and achievements as well.

The principal criteria of AHR for acceptance of articles for publication are the quality and significance of the research, breadth of interest of the work to the readership, and the clarity and effectiveness of communication. AHR welcomes submission of manuscripts from authors in all countries of the world, though with a focus on the herpetological studies in the Asian and Pacific regions including original articles, short notes, brief communications and review articles.

Editorial Office of AHR

Based at: Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences

Add: No. 9, Sect. 4, South Renmin Str., Chengdu 610041, Sichuan, China

Contact:

Wang Yuezhao (Editor-in-Chief)

Tel: 028 85217691 Mobile: 13688082364 Fax: 028 85222753 Email: arcib@cib.ac.cn

Zhong Shengxian (Director of Editorial Office)

Tel: 028 85238241 Mobile: 13808060305 Fax: 028 85222753 Email: zhongsx@cib.ac.cn

Submit to: ahr@cib.ac.cn

欢迎订阅 欢迎投稿

《应用与环境生物学报》(双月刊)

刊号: ISSN 1006-687X /CN 51-1482/Q 邮发代号: 62-15

《应用与环境生物学报》由中国科学院主管、中国科学院成都生物研究所主办、科学出版社出版,国内外公开发行,是我国应用生物学和环境生物学的核心刊物。主要报道生物学及相关学科在资源开发利用与可持续发展、环境整治、退化生态系统恢复与重建,以及在农、林、牧、医、能源、轻工、化工、食品等领域的基础研究、应用基础研究和应用研究的新成果、新技术、新方法和新进展。包括研究论文、研究简报和本刊邀约的综述或述评。读者对象主要为本学科的科研人员、大专院校师生和科研管理干部。

本刊为国内外多个知名数据库收录(国外如CA、BA、CSA、PЖ、ZR、EP等,国内如CSTPCD、CSCD、CBA、《中文核心期刊要目总览》、CAJCED、CJFD、《中国知识资源总库·科技精品期刊库》等),曾获得四川省一级学术期刊、中国期刊方阵双效期刊、中国农业期刊金犁奖学术类一等奖、中国精品科技期刊和RCCSE中国核心学术期刊等荣誉。

本刊创刊于1995年,1999年由季刊改为双月刊至今,双月25日出版,每期128页,全铜版纸印刷。每期定价25.00元,年定价150.00元。全国各地邮局(所)均可订阅。新订户可向本刊编辑部补购自1995年以来的各卷期,以及1999年增刊(环境微生物研究专辑)。

地址:四川省成都市人民南路4段9号 中国科学院成都生物研究所《应用与环境生物学报》编辑部;邮编:610041

电话:028-85237341(联系人:刘东渝);传真:028-85237341;E-mail: biojaeb@cib.ac.cn;网址: http://www.cibj.com

《应用与环境生物学报》征稿简则

一、本刊简介

由中国科学院主管,中国科学院成都生物研究所主办,科学出版社出版。中国科学院成都生物研究所所长吴宁担任主编,来自中国、美国、英国、加拿大、新西兰等国家的69位知名科学家和专家组成编委会、上千位相关领域的知名科学家和专家组成审稿队伍。

是中国精品科技期刊、中国科技核心期刊、中国核心学术期刊、中国期刊方阵双效期刊及四川省一级学术期刊,为国外CA、BA、CSA、ZR、EP、PJ等和国内CSTPCD、CSCD、中文核心期刊要目总览、CAJCED、CJFD等多个重要、核心、知名数据库收录。

是有关应用生物学和环境生物学基础研究、应用基础研究和应用研究的国内外公开发行的学术科技期刊(学报级),主要发表:(1)生物学及相关学科中的资源开发利用与可持续发展、环境污染评价及整治、退化生态系统的恢复与重建,以及在农、林、牧、医、能源、轻工、化工、食品等领域的生物学原始研究论文、研究快报和简报;(2)生物学相关新技术新方法研究论文;(3)生物学相关综述或述评。

二、本刊约定

采用网络在线投稿(网址: <http://www.cibj.com>),且稿件从投稿到发表整个流程通过网络在线完成。

编辑部在收到稿件后2个工作日内完成初审,并告知作者其稿件是否受理。要求作者就受理稿件办理版权协议(保证不涉及国家机密,无学术不端行为,无知识产权争议,允许本刊编辑和发表,同意随本刊整体进入收录本刊的所有中外数据库等),并酌收审稿费。在收到稿件后2个月内完成三审,并告知作者其稿件是否录用。对发表稿件,向作者酌收发表费,并酌付一次性稿费(不低于发表费的20%),同时赠送样刊2册、抽印本20份。

高创新性论文、重大学术价值论文以及优秀的国际论文、国际合作论文在本刊通过三审并录用后,优先发表。

三、稿件要求

稿件的文字、符号、计量、图表、参考文献等及其格式,依照国家有关标准、条例、法规和规范。本刊的相关要求如下:

1. 中文稿件须附英文题名、作者、单位、摘要和关键词,国内英文稿件须附中文题名、作者、单位、摘要和关键词。稿件按书写顺序由题名、作者、单位、摘要、关键词、中图法分类号(CLC)、上述内容相应的英文部分(中文稿件)或中文部分(英文稿件)、正文(含图表)、致谢、文献、图表等组成。
2. 题名须准确、简明。作者是稿件内容的主要责任者,中国作者的英译名用汉语拼音(见GB/T 16159-1996)。摘要具有独立引用的价值,第三人称行文,研究论文以“目的—方法—结果—结论”顺序表述,中文稿件的英文摘要适当详于中文摘要。关键词4~8个,具有规范词、主题性、代表性和检索性。
3. 前言简要说明研究背景、存在问题和研究目的。材料与方法具有足够信息,并具重复操作性。重要结果用“原始数据”,一般性结果用“总结数据”(如平均值、标准偏差)或“转换数据”(如百分数),正确进行统计分析。结果、讨论与结论侧重点分别在于描述说明、比较阐释和论点前景。
4. 图表具有“自明性”,中文稿件的图表文字采用中、英文对照或直接使用国际通用符号。表采用Word或Excel表格形式(不用划线或图片形式)。线条图(如函数图、直方图、示意图、流程图等)采用Word、Excel或相关软件制作的矢量图(不用扫描图或抓图形式)。照片图要非常清楚,其中文字重新植入,以线段比例尺表示实际尺寸(不用“×1000”类似形式)。图表一般在文中第一次提及段落最后插入。
5. 参考文献选用原则为充分必要、密切相关、公开出版、完整准确、亲自阅读,避免盲目多引、随意转引、过度自引、故意漏引等。采用“顺序编码制”,即按文献在文中出现先后编号和排序。未公开文献不进入参考文献,必要时可以脚注方式使用。各类参考文献著录格式如下:
 - a. 专著: 著者. 书名. 版次(1版不著). 出版地: 出版者, 出版年. (页码)
 - b. 期刊论文: 论文作者. 论文题名. 刊名, 年, 卷次(期): 论文起页码~止页码
 - c. 论文集或专著析出论文: 论文作者. 题名. 见(In): 编者[加“编”或“ed(s)"]. 文集名或书名. 出版地: 出版者, 出版年. 论文起页码~止页码
 - d. 报纸析出文献: 作者. 题名. 报纸名, 年-月-日(版次)
 - e. 专利文献: 专利申请者. 专利题名. 专利国别, 专利文献种类, 专利号. 出版日期
 - f. 技术标准: (起草责任者). 标准代号 标准顺序号-发布年 标准名称(出版地: 出版者, 出版年)
 - g. 学位论文: 作者. 题名: [博士或硕士学位论文]. 保存地: 保存者, 年份
 - h. 会议论文: 作者. 题名. 会议名称, 会址, 会议年份

要求: ① 参考文献作者全部列出(不用“等”或“*et al.*”省略),且作者姓前名后,姓全称名简写,不用缩写点,注意分清国外作者的姓和名;② 书名英文除专有名词外,首词、实词的首字母大写,论文题名英文除专有名词外,仅首词的首字母大写;③ 刊名英文斜体,按缩写规则缩写;④ 引用国内专著和期刊文献时,无论原文是中文还是英文,均采用英文数据著录(但原文无英文数据则保留中文、不必自行翻译),同时用“()”著录出作者中文姓名、中文刊名、中文地名和出版社名以与国外专著和期刊相区别。例:

Wu N (吴宁) ed in chief. *Restoration and Reconstruction of Degraded Mountain Ecosystem on the Upper Minjiang River. Chengdu, China: Sichuan Publishing House of Science & Technology* (成都: 四川科学技术出版社), 2007

Liu L (刘琳), Deng GB (邓光兵), Yi L (易玲), Li L (李林), Zhao LD (赵柳笛), Long H (龙海), Pan ZF (潘志芬), Yu MQ (余懋群). *Transmission of chromosome 6M* from Aegilops ventricosa in Sichuan wheat varieties. Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2010, 16 (1): 50~53

6. 稿件依照《GB 3100~3102-93 量与单位》使用计量单位名称和符号。如: 量符号用斜体, 图表中尽量用“量符号/单位符号”表示数据, 英文缩略语可在行文中使用, 但一般不作量符号, 故用正体; 组合单位各成分间、数值与单位符号(包括℃)间都要空1格等。此外, 表示物质构型、构象、旋光性、取代基位置的字母用斜体。拉丁学中属及以下的如属名、种名、变种名用斜体, 属名首字母大写, 但属以上(不含属)的拉丁名、定名人、“var.”、“sp.”、“ssp.”、“spp.”等用正体; 拉丁学名第一次出现时用全称, 以后使用可简写属名为首字母, 并加点。基因名称用斜体, 限制性酶前3个字母用斜体。

四、联系方式

地址: 四川省成都市人民南路4段9号 中国科学院成都生物研究所《应用与环境生物学报》编辑部

邮编: 610041; 电话: 028-85237341, 85229903; 传真: 028-85237341; 邮箱: biojaeb@cib.ac.cn; 网址: <http://www.cibj.com>