

南海底层鱼突额鹦嘴鱼 *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel, 1846 肠道产酶微生物研究

黄光祥^{1,2}, 周志刚², 何夙旭², 邵娜², 石鹏君², 刘玉春², 姚斌²

(1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430074; 2. 中国农业科学院饲料研究所, 北京 100081)

摘要:通过不同培养基对南海底层鱼突额鹦嘴鱼 *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel, 1846 肠道微生物进行分离与 16S、18S rDNA 鉴定, 并构建系统发育树, 然后结合选择性培养基进行产蛋白酶、甘露聚糖酶、木聚糖酶、纤维素酶、淀粉酶等微生物的筛选。结果表明, 从突额鹦嘴鱼肠道分离纯化出 23 株微生物, 其中 14 株产酶, 以产蛋白酶与淀粉酶为主, 部分产纤维素酶、甘露聚糖酶、木聚糖酶; 产酶微生物主要为 *Bacillus* sp.; 分离出 3 株菌 (H-16、J-13 与 Y-13G) 其 16S、18S rDNA 序列与模式种相似度低于 97%, 为潜在的新种。研究表明, 南海底层鱼突额鹦嘴鱼肠道含有大量产酶微生物。

关键词:突额鹦嘴鱼 *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel, 1846; 肠道; 产酶微生物

中图分类号: Q93-3 文献标识码: A 文章编号: 1008-0864(2007)05-0095-06

Studies on the Intestinal Enzyme-Producing Microflora in Typical Marine Finfish *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel, 1846 at Sublayer of the South China Sea

HUANG Guang-xiang^{1,2}, ZHOU Zhi-gang², HE Su-xu², SHAO Na²,
SHI Peng-jun², LIU Yu-chun², YAO Bin²

(1. Huazhong Agricultural University, Wuhan 430074;

2. Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: The intestinal microflora in *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel, 1846 at sublayer of the South China Sea were isolated and identified by 16S, 18S rDNA sequences as well as the neighbour-joining phylogenetic trees. And the enzyme-producing microflora such as protein enzyme, mannanase, xylanase, cellulose enzyme, and amylase were screened by selective culture medium. The results showed that 23 isolates of intestinal microflora were identified, in which 14 isolates were the enzyme-producing microflora and mainly excreted protein enzyme and partly excreted cellulose enzyme, mannanase and xylanase; the enzyme-producing microflora were mainly *Bacillus* sp.; the isolate of H-16, J-13 or Y-13G from the intestine of *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel, 1846 might represent new microflora due to the less than 97% similarity after the blast of its 16S or 18S rDNA sequence. The results indicated that rich enzyme-producing microflora existed in the intestine of the marine finfish *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel, 1846 at sublayer of the South China Sea.

Key words: *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel, 1846; intestine; enzyme-producing microflora

海洋底层鱼肠道微生物是一类特殊的微生物及功能基因资源库, 目前, 鲜有开发报道^[1]。突额鹦嘴鱼 *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel, 1846 是我国南海拖网作业典型渔获物, 为暖水性下层鱼类, 多栖息于珊瑚礁或礁海域, 成鱼表现为

杂食性。海洋底层鱼肠道产酶微生物不仅具有一般深海或近海微生物的特点, 而且具备抗宿主消化酶、宿主消化道生境适应性等特性, 对饲料工业用酶的调查与筛选具有实际意义。因此, 我们选择与饲料工业紧密相关的酶, 包括蛋白酶、甘露聚

收稿日期: 2007-08-29; 修回日期: 2007-09-12

基金项目: 中央级科研院所社会公益研究专项 (2005DIB4J038) 资助。

作者简介: 黄光祥, 硕士研究生。通讯作者: 姚斌, 研究员, 博士, 博士生导师, 从事微生物工程研究。Tel: 010-68975126; E-mail: yaobin@mail.caas.net.cn。周志刚, 副研究员, 博士, 硕士生导师, 从事水产微生物学研究。

糖酶、木聚糖酶、纤维素酶、淀粉酶等,从我国南海典型底层鱼(突额鹦嘴鱼)肠道微生物中进行产酶调查,为这一类特殊微生物及功能基因资源库的开发奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 试验鱼

选择南海拖网作业典型渔获物突额鹦嘴鱼 *Scarus oviifrons* Temminck et Schlegel, 1846 作为本研究普查对象。实验用 5 尾鱼样来自南海远洋捕鱼船,至实验室前均在 4℃ 条件下保存,转入实验室后保存在 -20℃ 低温冰柜至解剖分析。

1.2 菌液的制备

用 70% 酒精擦拭样本鱼体表进行消毒,进入无菌工作台。按无菌操作程序,从肛门处剪开,然后向上朝前剪成弧形,掀开游离腹壁,展现并分离消化道,用 70% 酒精棉球擦拭消化道外壁,并用 PBS 缓冲液 (NaCl 137 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, KCl 2.7 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, Na_2HPO_4 4.3 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 1.4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 值 7.2) 冲洗数遍后,用剪刀分离出整个肠道,并剪至小块,再用玻璃匀浆器匀浆,分别称取 0.1 g 各放入 3 个同样装有玻璃珠的三角瓶内,分别用 PBS 缓冲液稀释,得到 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 倍稀释液,备用。

1.3 微生物的分离培养及鉴定

选用如下培养基和培养条件进行细菌、真菌与放线菌的富集培养。

① 2216E 培养基。培养对象为海洋细菌,培养基组成为蛋白胨 0.5 g、酵母膏 0.1 g (或柠檬酸铁 0.1 g)、磷酸高铁 0.01 g、海水 100 mL, pH 值 7.2。

② LB 培养基。培养对象为常规细菌,培养基组成为氯化钠 1 g、蛋白胨 1 g、酵母提取物 0.5 g、海水 100 mL, pH 值 7.2。

③ 高氏培养基。培养对象为放线菌,培养基组成为可溶性淀粉 2 g、硫酸亚铁 0.001 g、硫酸镁 0.05 g、氯化钠 0.05 g、磷酸氢二钾 0.05 g、硝酸钾 0.1 g、海水 100 mL, pH 值 7.2。

④ PDF 培养基。培养对象为真菌,培养基组成为 20 g 去皮马铃薯切片水煮 30 min,四层纱布过滤,再加入葡萄糖 2 g、海水盐 0.3 g, pH 值 7.2。

使用上述培养基,每个鱼体样本稀释液样每次涂布 2 个平板。需氧, 28℃ 培养 3 d。

除放线菌外,细菌与真菌均生长良好。通过肉眼观察,挑取可能存在形态差异的单菌落,用 PBS 缓冲液稀释纯化得到单一菌种,将保存的菌种用相应的固体培养基复壮,参照姚斌等方法^[2]收集菌体,用细菌基因组试剂盒 (Tiangen Biotech (Beijing) Co., Ltd), 提取细菌 DNA, 用液氮冻融法提取真菌 DNA^[3]。结合 16S、18S rDNA 基因序列对分离纯化的微生物进行鉴定, PCR 引物、反应体系及程序如下:

细菌, 引物为 27f (5'-AGAGTTTGATCMTG-GCTCAG-3'), 1492r (5'-TACGGHTACCTTACGAC-TT-3')。反应体系为: ddH₂O 38.5 μL , 10 × Buffer 5.0 μL , dNTP 4.0 μL , 27f 1.0 μL , 1492r 1.0 μL , TaqE 0.5 μL , 模板 1.0 μL , 共 50 μL 。反应程序为: 94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 1.5 min, 30 个循环。

真菌, 引物为 NS1 (5'-GTAGTCATATGCTT-GTCTC-3'), ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')。反应体系为: ddH₂O 38.5 μL , 10 × Buffer 5.0 μL , dNTP 4.0 μL , NS1 1.0 μL , ITS4 1.0 μL , TaqE 0.5 μL , 模板 1.0 μL , 共 50 μL 。反应程序为: 94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 1.5 min, 30 个循环。

直接将 PCR 产物送北京三博公司测序, 所获序列通过 BLAST 程序进行比对^[4], 结合 ClustalX 1.83 与 Tree-View 1.6.6 软件分别构建突额鹦嘴鱼肠道微生物系统发育树^[5, 6]。

1.4 产酶微生物的筛选

本研究选择与饲料工业相关的酶为研究对象, 包括蛋白酶、甘露聚糖酶、木聚糖酶、纤维素酶与淀粉酶, 产酶筛选培养基配方如下^[7, 8]:

① 产蛋白酶菌株的筛选培养基: 酪蛋白 1.0 g、琼脂 1.5 g、氯化钠 1 g、蛋白胨 1 g、酵母提取物 0.5 g、海水 100 mL, pH 值 7.2。

② 产甘露聚糖酶筛选培养基: 魔芋粉 1 g、琼脂 1.5 g、氯化钠 1 g、蛋白胨 1 g、酵母提取物 0.5 g、海水 100 mL, pH 值 7.2。

③ 产木聚糖酶筛选培养基: 木聚糖 1 g、琼脂 1.5 g、氯化钠 1 g、蛋白胨 1 g、酵母提取物 0.5 g、海水 100 mL, pH 值 7.2。

④ 产纤维素酶菌株筛选培养基: 可溶性纤维素 1 g、琼脂 1.5 g、氯化钠 1 g、蛋白胨 1 g、酵母提取物 0.5 g、海水 100 mL, pH 值 7.2。

⑤产淀粉酶菌株的筛选培养基:可溶性淀粉 1 g、琼脂 1.5 g、蛋白胨 0.5 g、酵母提取物 1 g、琼脂 1.5 g、海水 100 mL, pH 值 7.2。

用灭菌牙签点种于预先准备好的产酶筛选平板上,置于 28℃ 培养箱培养 48 h 观察水解圈情况。产蛋白酶菌株水解现象可从平板上直接观察。筛选产纤维素酶、木聚糖酶、甘露聚糖酶菌株,将 0.5% 刚果红倒入平板中染色 30 min, 然后弃去刚果红,用 5% 氯化钠浸泡 1 h, 出现透明圈者为阳性。筛选产淀粉酶菌株,将卢哥氏碘液倒入平板中,出现不能被碘染色的水解圈者为阳性。

2 结果

突额鹦嘴鱼肠道微生物系统发育树见图 1, 产

酶情况见表 1。表 1 所示为分离纯化到的 23 株菌, 其中细菌 20 株, 真菌 3 株, 未分离到放线菌。

在 20 株细菌中, 16S rDNA 相似度低于 97% 的有 H-16 与 J-13 (96%), 其中 H-16 与 C-6 的亲源关系较近, 而 J-13 与 C-10 的关系较近, C-10 与 J-13 处于系统发育树的最底端, 显示出与其他分离菌株较远的遗传距离(图 1); *Bacillus* 属有 13 株, 占 65%, 绝大部分 *Bacillus* sp. (13 株里有 10 株) 为产酶菌, 其中产 3 种酶的有 2 株 (J1 和 X20), 产 2 种酶有 1 株 (X-15), 产 1 种酶有 7 株 (T-8、J-20、J-16、J-9、X-9、H-9 及 H-10), 仅 3 株不产任何本文所针对的酶 (X-3、J-11 与 C-4)。

在 3 株真菌中, Y-13 菌的 18S rDNA 相似度低于 97%; 所分离的 3 株真菌均不产任何本文所针对的酶。

表 1 突额鹦嘴鱼 *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel, 1846 肠道微生物及产酶情况
Table 1 The intestinal microflora and their excretion enzymes in *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel, 1846.

菌株编号 Microflora order	鉴定种属及 NCBI 登录号 Identified microflora genus and accession number	相似度 Similarity (%)	蛋白酶 Protein enzyme	甘露聚糖酶 Mannanase	木聚糖酶 Xylanase	纤维素酶 Cellulose enzyme	淀粉酶 Amylase
H-16	<i>Arthrobacter oxydans</i> (X83408.1)	96	√	-	-	-	-
T-8	<i>Bacillus thuringiensis</i> (EF638801.1)	99	-	-	-	-	√
J-20	<i>Bacillus aquimaris</i> (AY505499.1)	99	-	-	-	√	-
X-3	<i>Bacillus barbaricus</i> (AJ422145.1)	97	-	-	-	-	-
J-16	<i>Bacillus megaterium</i> (EF114346.1)	99	-	-	-	√	-
J-9	<i>Bacillus megaterium</i> (DQ789400.1)	100	√	-	-	-	-
X-9	<i>Bacillus megaterium</i> (EF159149.1)	99	-	-	-	-	√
J-11	<i>Bacillus megaterium</i> (EF522798.1)	100	-	-	-	-	-
H-9	<i>Bacillus megaterium</i> (EF159149.1)	99	√	-	-	-	-
H-10	<i>Bacillus megaterium</i> (DQ660362.1)	99	√	-	-	-	-
C-4	<i>Bacillus pumilus</i> (DQ523500.1)	99	-	-	-	-	-
J-1	<i>Bacillus pumilus</i> (EF178462.1)	100	-	√	√	√	-
X-15	<i>Bacillus subtilis</i> (EF423590.1)	99	√	-	-	-	√
X-20	<i>Bacillus subtilis</i> strain BCRC 10058 (DQ993674.1)	100	√	√	-	√	-
X-14	<i>Bacterium</i> str. (AF227837.1)	99	-	-	-	-	-
H-7	<i>Deinococcus</i> sp. (DQ003317.1)	99	-	-	-	-	√
C-10	<i>Glacial ice bacterium</i> (AF479347)	99	-	-	-	-	√
C-9	<i>Kocuria palustris</i> (AY881237.1)	99	-	-	-	-	√
C-6	<i>Micrococcus lylae</i> (AF057290)	99	-	-	-	-	-
J-13	<i>Vibrio vulnificus</i> (BA000037.2)	96	-	-	-	-	-
Y-13	<i>Clathrospora diplospora</i> (U43464.1)	96	-	-	-	-	-
Y-14	<i>Cladosporium tenuissimum</i> (DQ780941.1)	99	-	-	-	-	-
Y-5	<i>Phoma glomerata</i> (AY293783.1)	99	-	-	-	-	-

注:产酶种数所指酶包括蛋白酶、甘露聚糖酶、木聚糖酶、纤维素酶与淀粉酶。

Note: The microflora-producing enzymes included protein enzyme, mannanase, xylanase, cellulose enzyme and amylase.

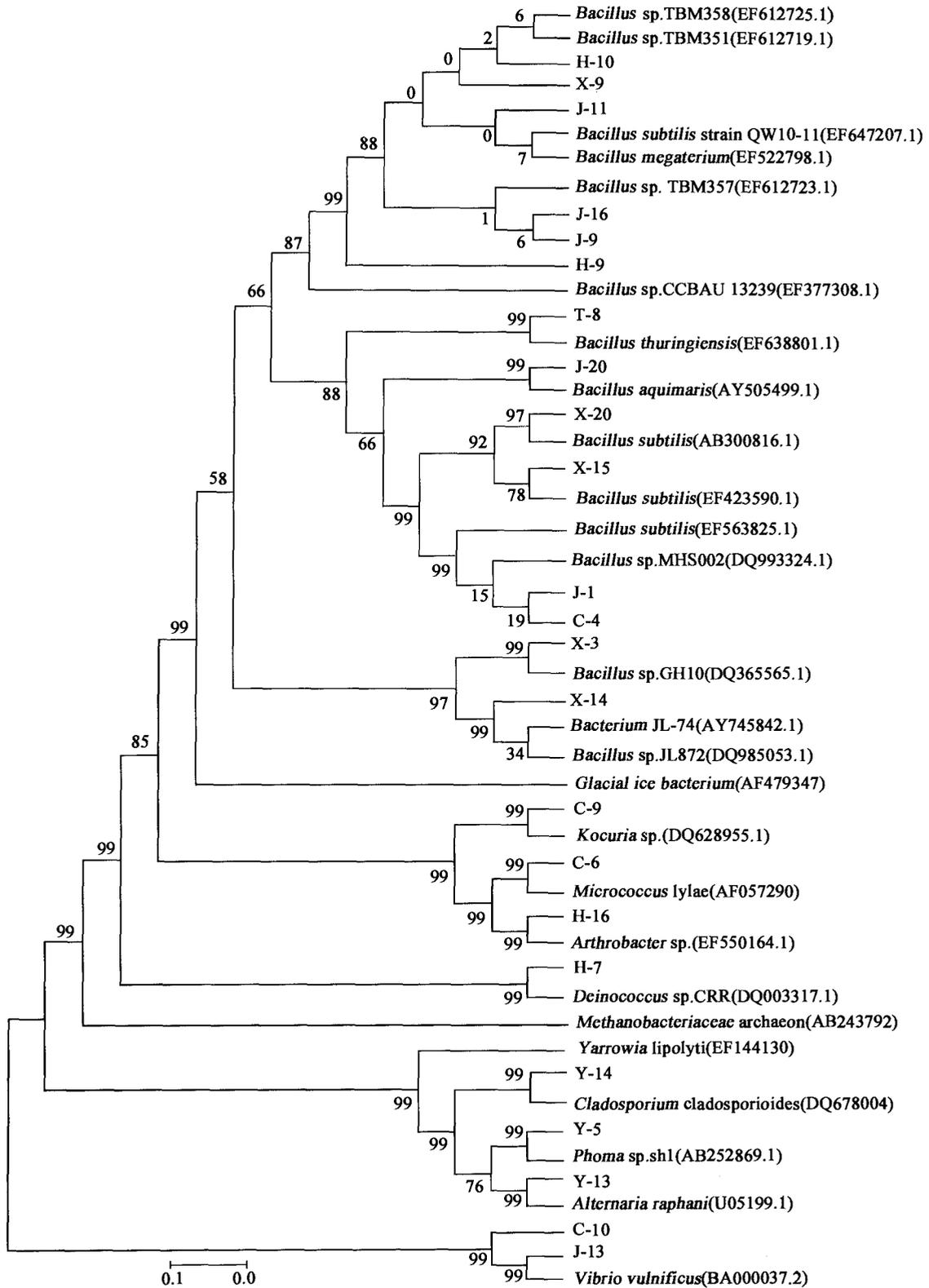


图1 突额鹦嘴鱼 *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel, 1846 肠道微生物系统发育树

Fig.1 The Neighbour-joining phylogenetic tree showing the relationship of 16,18S rDNA gene sequences retrieved from the intestines of *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel, 1846

3 讨论

鱼类消化道存在大量产酶微生物,通过分泌胞外酶对蛋白、脂肪或糖类等分解,促进机体对营养物质的消化吸收,以维护机体正常的生命活动^[1]。由香鱼、鲤鱼、斑点叉尾鮰、日本鳗及罗非鱼肠道优势菌群分泌的淀粉酶在一定程度上对淀粉的消化吸收起重要作用^[9];印度野鲮在添加分泌蛋白酶的细菌 *Bacillus circulans* (Lr 1.1)后,生长及饲料转化效率均得到改善^[10]。本研究从突额鹦嘴鱼肠道也筛选出丰富的产酶微生物(表1),其中以产蛋白酶与淀粉酶为主,其功能可能为促进鱼体对饵料的消化吸收。

当海水鱼类处于健康状态时,体内外环境会形成一个相对稳定的微生物菌群间的动态平衡,如 Liston 提出的肠道“弧菌肠道群”假说^[11],已有的关于海水鱼肠道菌群结构的分析结果均支持这一假说^[1]。在本研究中,我们从突额鹦嘴鱼肠道中鉴定出菌株 J-13 属 *Vibrio* sp. 属,但是否为优势菌群尚不得而知。另外,关于 *Bacillus* sp. 是否是海水鱼的肠道优势菌群,各种报道并不一致^[1],本研究从突额鹦嘴鱼肠道中分离鉴定出大量 *Bacillus* sp. (13 株,总 23 株),与欧洲鳎、大鲮鲆等其他海域的底层鱼关于肠道菌群结构的报道并不一致^[12-14],而与 Strøm 等关于大西洋鳕肠道菌群的分离鉴定结果相似^[15],这表明了海水鱼肠道菌群结构影响因素的复杂性^[1]。

本研究所依据的方法为常规的人工培养法,存在一定局限性^[16]:①自然界很多微生物不能人工培养;②绝大多数严格厌氧微生物尚未得到鉴定和描述;③人为培养的微生物在形态和特征上与其在自然状态下差异显著;④操作过程繁冗^[17]。例如:水环境(海水、淡水、中营养湖泊)可培养细菌占总数仅 1%^[18];鱼体表可培养微生物更不足总量 0.01%^[19];虹鳟肠道细菌 50%~89% 无法培养,可培养细菌中亦有 20% 无法定性分析^[20]。可以推断,常规的人工培养法无法获取海水鱼消化道菌群的全面信息,本研究十分必要引入诸如 PCR-DGGE(梯度凝胶电泳)等新的研究手段^[21]。

另外,即使通过常规培养方法,我们从突额鹦嘴鱼肠道中分离的菌株 H-16、J-13 与 Y-13G,与

已报道菌 16S、18S rDNA 序列相似度仍低于 97%,可能为新种,显示了南海底层鱼肠道微生物资源的未开发程度很高,值得进一步探索研究。

参 考 文 献

- [1] 周志刚,石鹏君,姚斌,等. 海水鱼消化道菌群结构研究进展[J]. 海洋水产研究, 2007, 刊印中.
- [2] 姚斌,袁铁铮,王元火,等. 来源于 *Bacillus subtilis* 的中性植酸酶基因的克隆及在大肠杆菌中的表达[J]. 生物工程学报, 2001, 17(1): 11-15.
- [3] 王亚茹,姚斌,罗会颖,等. 来源于 *Selenomonas ruminantium* 的高比活植酸酶基因在毕赤酵母中的高效表达[J]. 中国农业科学, 2004, 37(5): 762-768.
- [4] Altschul S F, Gish W, Miller W, et al. Basic local alignment search tool[J]. J. Mol. Biol., 1990, 215: 403-410.
- [5] Saitou N, Nei M. The neighbour-joining method: a new method for reconstruction of phylogenetic trees[J]. Mol. Biol. Evol., 1987, 4: 406-425.
- [6] Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap[J]. Evolution, 1985, 39: 783-791.
- [7] 樊海平,曾占壮,林煜,等. 养殖鳗鲡肠道益生菌的筛选[J]. 水产学报, 2006, 30(1): 97-102.
- [8] 汤伏生,朱晓燕,张兴忠. 鲤鱼肠道细菌及其淀粉酶对宿主消化的影响[J]. 水产学报, 1994, 18(3): 177-182.
- [9] Sugita H, Sawasaki J, Deguchi Y. Production of amylase by intestinal microflora in cultured freshwater fish[J]. Lett. Appl. Microbiol., 1997, 24: 105-108.
- [10] Ghosh K, Sen S K, Ray A K. Supplementation of an isolated fish gut bacterium, *Bacillus Circulans*, in formulated diets for rohu, *Labeo Rohita*, fingerlings [J]. The Israeli Journal of Aquaculture, 2003, 55(1): 13-21.
- [11] Liston J. The occurrence and distribution of bacterial types on flatfish[J]. J. Gen. Microbiol., 1957, 16: 205-216.
- [12] Gatesoupe F J. The continuous feeding of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, and control of the bacterial environment of rotifers[J]. Aquaculture, 1990, 89: 139-148.
- [13] Campbell A C, Buswell J A. The intestinal microflora of farmed dover sole (*Solea solea*) at different stages of fish development [J]. J. Appl. Bacteriol., 1983, 55: 215-223.
- [14] MacDonald N L, Stark J R, Austin B. Bacterial microflora in the gastro-intestinal tract of Dover sole (*Solea solea* L.) with emphasis on the possible role of bacteria in the nutrition of the host[J]. FEMS Microbiol. Lett., 1986, 35: 107-111.
- [15] Strøm E, Olafsen J A. The indigenous microflora of wild captured juvenile cod in net-pen rearing[A]. Lésel R. Microbiology in Poecilotherms[M]. Amsterdam: Elsevier Science Publisher (Biomedical Division), 1990, 181-185.
- [16] 冯仰廉. 反刍动物营养学[M]. 北京: 科学出版社, 2004, 114-130.
- [17] Ji N, Peng B, Wang G, Wang S, et al. Universal primer PCR with DGGE for rapid detection of bacterial pathogens[J]. Journal of Microbiological Methods, 2004, 57: 409-413.
- [18] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without

- cultivation [J]. *Microbiological Reviews*, 1995, 59: 143-169.
- [19] Bernadsky G, Rosenberg E. Drag-reducing properties of bacteria from the skin mucus of the cornfish (*Fistularia commersonii*) [J]. *Microbial Ecology*, 1992, 24: 63-74.
- [20] Huber I, Spanggaard B, Appel K F, *et al.* Phylogenetic analysis and *in situ* identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2004, 96:117-132.
- [21] 周志刚, 石鹏君, 姚斌, 等基于 PCR-DGGE 指纹图谱川纹笛鲷及圆白鲟消化道壁优势菌群结构比较分析[J]. *水生生物学报*, 2007, 5: 78-84.

欢迎订阅 2008 年《中国油料作物学报》

《中国油料作物学报》是中国农业科学院油料作物研究所主办的油料作物专业学术刊物。公开发刊, 季刊。本刊为全国优秀农业专业期刊、中国自然科学核心期刊、全国农口学会第三届优秀期刊、农学农作物类中文核心期刊和湖北省优秀期刊。主要刊登油菜、大豆、花生、芝麻、向日葵、胡麻、红花和其他油料作物有关品种资源、遗传育种、耕作栽培、生理生化、综合加工利用以及品质测试技术方面的论文、研究报告、应用技术、综述、动态等文稿。可供农业科研、教学

和生产部门的技术人员参考。每期定价 8.00 元, 全年定价 32.00 元。国内邮发代号: 38-13, 全国各地邮局均可订阅, 漏订者可直接向本刊编辑部订阅。

地 址: 武汉市武昌徐东二路 2 号
油料研究所学报编辑部
邮 编: 430062
电 话: 027-86813823
E-mail: ylx@public.wh.hb.cn

欢迎投稿 2008 年《草地学报》 欢迎订阅

《草地学报》是中国草学会主办、中国农业大学草地研究所承办的草学领域高级学术刊物, 主要刊登国内外草地科学研究及相关领域的新成果、新理论、新进展, 以研究论文为主, 兼发少量专稿、综述、简报和博士论文摘要, 为从事草地科学、草地生态、草地畜牧业和草坪业及相关领域的高校师生和科研院所的科研人员服务。稿件要求详见本刊《稿约》。

本刊为“中国科技核心期刊”、“中国农业核心期刊”, 《中国科学引文数据库》、《中国学术期刊综合评价数据库》源期刊, 同时为《万方数据-数字化期刊群》、《中国期刊全文数据库》、《中国学术期刊文摘》、《中国生物学文献数据库》、《CEPS 中文电子期刊》等收录, 并荣获首届《CAJ-CD 规范》执行优秀期刊奖。据中信所统计分析近 5 年数据, 本刊属于高被引指数期刊, 影响因子(1.253)在所属畜牧兽医学科中排名第 2。

《草地学报》为双月刊, 大 16 开本, 彩色四封, 逢单月下旬出版, 国内外公开发刊, 每期定价 20 元, 全年 120 元。国内邮发代号: 80-135; 国外代号: Q1949。若错过邮订时间, 可直接向本刊编辑部订购。

邮局汇款——
地 址: 北京市海淀区圆明园西路 2 号
中国农业大学动科楼 117 室
邮 编: 100094
电 话: 010-62733894
E-mail: cdxb@cau.edu.cn
网 址: <http://www.cau.edu.cn/dongke/cdxb>

银行汇款——
开 户 名: 中国草学会
开 户 银 行: 京农商行东北旺支行农大分理处
开 户 帐 号: 0407030103000000056