

研究报告

泥浸汁对太湖沉积物中的好氧可培养细菌多样性的影响

李晓丹 屈建航* 周佳 张璐洁 李海峰 田海龙

(河南工业大学生物工程学院 河南 郑州 450000)

摘要:【目的】研究添加泥浸汁与否对太湖沉积物中可培养细菌的影响。【方法】采用 R₂A 培养基和添加泥浸汁 R₂A 培养基对沉积物中细菌进行分离培养, 16S rRNA 基因系统发育分析比较种群结构。【结果】培养基中添加泥浸汁, 可使可培养细菌的种类数量增加到 1.6 倍。16S rRNA 基因序列分析表明, 培养的优势细菌类群存在明显差别。R₂A 培养基上生长的细菌主要为厚壁菌门(52%)、放线菌门(24%)、变形菌门(20%)和拟杆菌门(4%), 其中大部分细菌与芽孢杆菌属、假单胞菌属、节杆菌属等关系密切; 而添加泥浸汁的 R₂A 培养基上生长的细菌则主要为变形菌门(40%)、放线菌门(35%)、厚壁菌门(22.5%)和拟杆菌门(2.5%), 与鞘脂单胞菌属、芽孢杆菌属、副球菌属、节杆菌属等关系密切。【结论】添加泥浸汁原始营养因子可提高沉积物中可培养细菌的多样性, 提高菌种可培养效率。

关键词: 可培养细菌, 泥浸汁, 沉积物, 太湖, R₂A 培养基

Effect of sediment extract on the culturable aerobic bacterial diversity in the sediments of Taihu Lake

LI Xiao-Dan QU Jian-Hang* ZHOU Jia ZHANG Lu-Jie

LI Hai-Feng TIAN Hai-Long

(College of Biological Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou, Henan 450000, China)

Abstract: [Objective] The study is aimed to research the effect of adding sediment extract or not on the cultivable bacterial diversity in the sediment of Taihu Lake. [Methods] By using R₂A medium and sediment extract R₂A medium to isolate and culture the bacteria in the sediment. Phylogenetic analysis based on the 16S rRNA gene was used to identify the bacterial diversity. [Results] Results showed that the amount of the bacteria cultured on sediment extract R₂A increased up to 1.6 times more than that of on R₂A medium. Analysis based on the similarities of 16S rRNA gene sequences of isolates presented

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 31370147, 31400103); Program for Innovative Research Team (in Science and Technology) in University of Henan Province (No. 15IRTSTHN019); Fundamental Research Funds for the Henan Provincial Colleges and Universities (No. 2014YWQQ16)

*Corresponding author: Tel: 86-371-67756513; E-mail: qjh_bata@163.com

Received: September 29, 2016; **Accepted:** December 12, 2016; **Published online** (www.cnki.net): December 19, 2016
基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 31370147, 31400103); 河南省高校科技创新团队支持计划 (No. 15IRTSTHN019); 河南省属高校基本科研业务费专项资金 (No. 2014YWQQ16)

*通讯作者: Tel: 86-371-67756513; E-mail: qjh_bata@163.com

收稿日期: 2016-09-29; **接受日期:** 2016-12-12; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2016-12-19

effects on the dominant bacteria. On the R₂A medium, the dominant bacterial groups were Firmicutes (52%), Actinobacteria (24%), Proteobacteria (20%) and Bacteroidetes (4%), and most of the bacteria isolated from R₂A were closely related to genera *Bacillus*, *Pseudomonas* and *Archrobacter*. However, the dominant bacterial groups isolated from sediment extract R₂A were Proteobacteria (40%), Actinobacteria (35%), Firmicutes (22.5%), and Bacteroidetes (2.5%). They are closely related to *Sphingomonas*, *Bacillus*, *Paracoccus* and *Arthrobacter*. **[Conclusion]** Adding the original nutrient factors of the sediment extract could increase the diversity of bacteria in the sediment and help to increase the cultivable efficiency.

Keywords: Cultivable bacteria, Sediment extract, Sediment, Taihu Lake, R₂A agar medium

沉积物是水体在自然与人类相互作用下的产物和信息库,是一个物质交换频繁、生物活性高的特殊环境^[1],微生物资源丰富,其中磷及重金属铜、锌、铬等的存在一定程度上提高了沉积物中细菌的丰富度^[2],是环境研究者日益重视的重要信息载体之一^[3]。微生物是湖泊生态系统中的物质循环和能量流动的主要参与者,在水体生态系统中起着非常重要的作用^[4]。研究湖泊沉积物中可培养微生物,对微生物资源进行开发,可为生态系统的恢复和治理提供理论依据,为研究水污染防治提供参考。

环境中的微生物在进行分离培养时,仅有 1% 的微生物可培养利用,而大部分微生物因培养基成分单一不能进行人工培养^[5-6]。本研究基于添加原始营养来提高样品中微生物的可培养性,以 R₂A 和添加泥浸汁 R₂A 培养基对太湖沉积物中的细菌进行分离培养,并分析菌株的 16S rRNA 基因序列,为分离沉积物中细菌种质资源、提高细菌可培养效率提供思路。

1 材料与方法

1.1 沉积物样品采集

采用抓土漏斗法采集太湖表层沉积物样品,4 °C 运回实验室备用。

1.2 培养基

基础 R₂A 培养基(g/L)^[7-8]:其中蛋白胨以胰蛋白胨替代。固体 K₂HPO₄ 或 KH₂PO₄ 调 pH 至 7.0–7.2, 0.75×10⁵ Pa 高压蒸汽灭菌 30 min。

泥浸汁 R₂A 培养基:以上基础 R₂A 培养基同比配方中,以泥浸汁代替蒸馏水。其中泥浸汁制

作方法为 300 g 沉积物加入 1 L 水,煮沸 10 min, 1 200×g 离心 15 min 取上清。

1.3 主要试剂和仪器

PCR 试剂购自 TaKaRa 公司;其余试剂为国产生物试剂、国产分析纯试剂。C1000 Touch PCR 仪, Bio-Rad 公司。

1.4 菌种分离

沉积物样品制备菌悬液,十倍梯度稀释后,分别以 R₂A 培养基和泥浸汁 R₂A 培养基做涂布,28 °C 倒置恒温培养 5 d,定期观察并记录数据。

1.5 16S rRNA 基因序列分析

1.5.1 16S rRNA 基因 PCR 扩增:采用碱裂解法制备 DNA 模板,PCR 反应体系和反应条件参照文献^[9]进行。PCR 引物使用 27f (5'-GAGAGTTTGATCCTG GCTCAG-3', *E. coli* position 27–46f) 和 1495r (5'-CT ACGGCTACCTTGTTACGA-3', *E. coli* position 1476–1495r),由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.5.2 16S rRNA 基因比对及系统发育树构建:16S rRNA 基因 PCR 扩增产物(约 1 500 bp),测定核苷酸序列,完成 GenBank 数据库 BLAST 比对,下载相关序列,用 MEGA 7.0 软件^[10]以邻接法(Neighbor-Joining)^[11]构建系统发育树,Bootstrap 1 000 次评价进化树分支聚类的稳定性^[12]。

1.6 多样性分析

定义 16S rRNA 基因序列相似性小于 97% 的作为不同的分类单元^[13]。以香农-威纳(Shannon-Wiener)多样性指数评估两种培养基分离可培养细菌的多样性^[14]。

2 结果与分析

2.1 菌种分离结果

根据不同菌落形态,挑取单菌落并三区划线纯化培养,纯培养物进行斜面 and 甘油保藏。扩增细菌 16S rRNA 基因并进行核苷酸序列测定,16S rRNA 基因序列比对,剔除重复菌株后,R₂A 培养基和泥

浸汁 R₂A 培养基分别得到了 25 株和 40 株细菌。所有序列提交 GenBank 数据库,登录号见图 1 和图 2。

2.2 16S rRNA 基因系统发育分析

基于 R₂A 培养基分离细菌的 16S rRNA 基因序列系统发育分析结果(图 1),所得到的 25 种菌株,主要属于四大类群,即厚壁菌门(Firmicutes) (52%)、

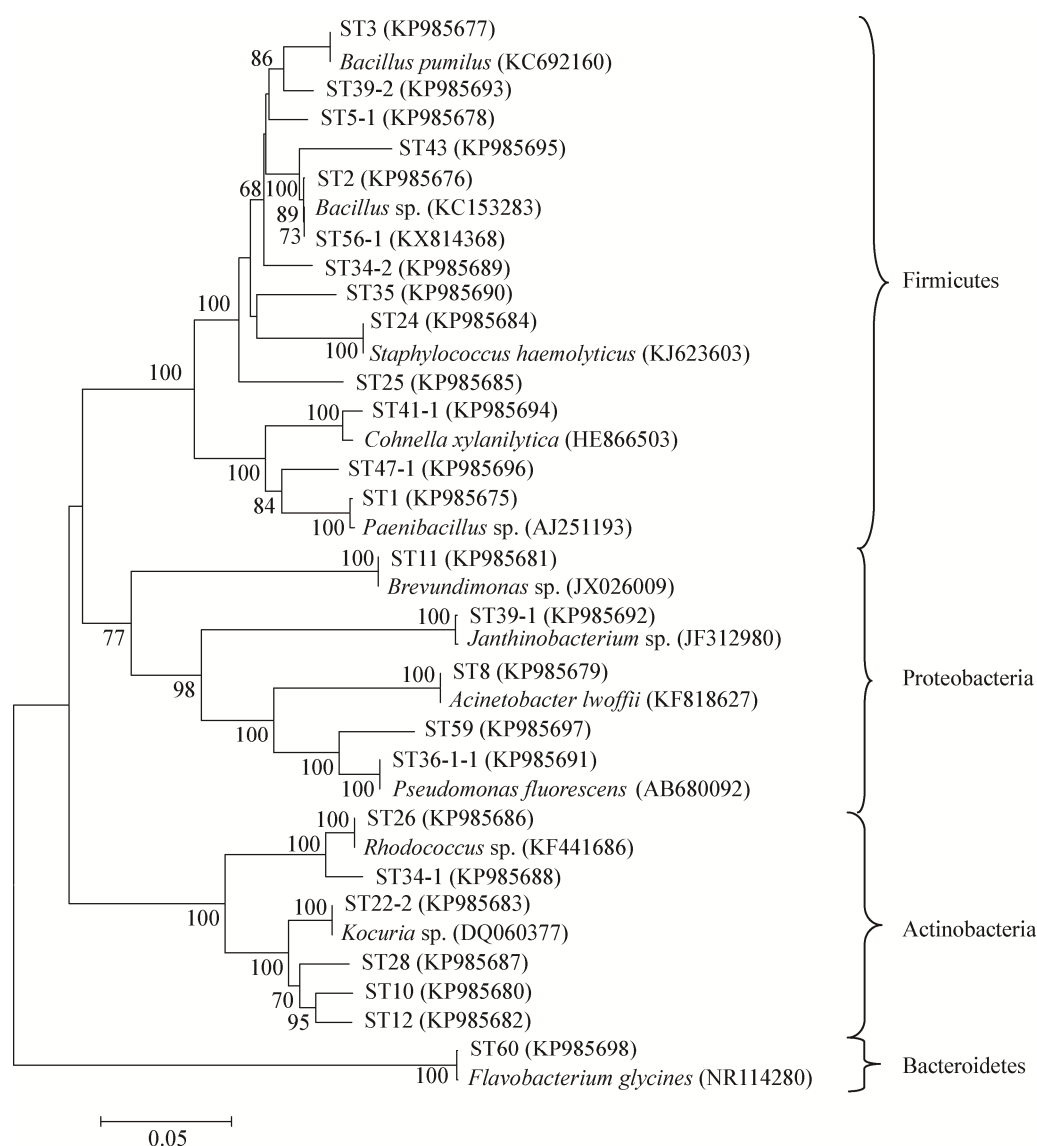


图 1 邻接法构建 R₂A 培养基分离细菌的 16S rRNA 基因序列系统发育树

Figure 1 Phylogenetic tree for strains isolated from R₂A medium based on 16S rRNA gene sequences

注: 括号中的序号代表序列 GenBank 登录号; 分支点数字代表步长值; 标尺代表序列间分歧度。

Note: Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank; Numbers at the nodes indicate the bootstrap values on Neighbor-Joining analysis of 1 000 resampled data sets; Bar 0.05 represents sequence divergence.

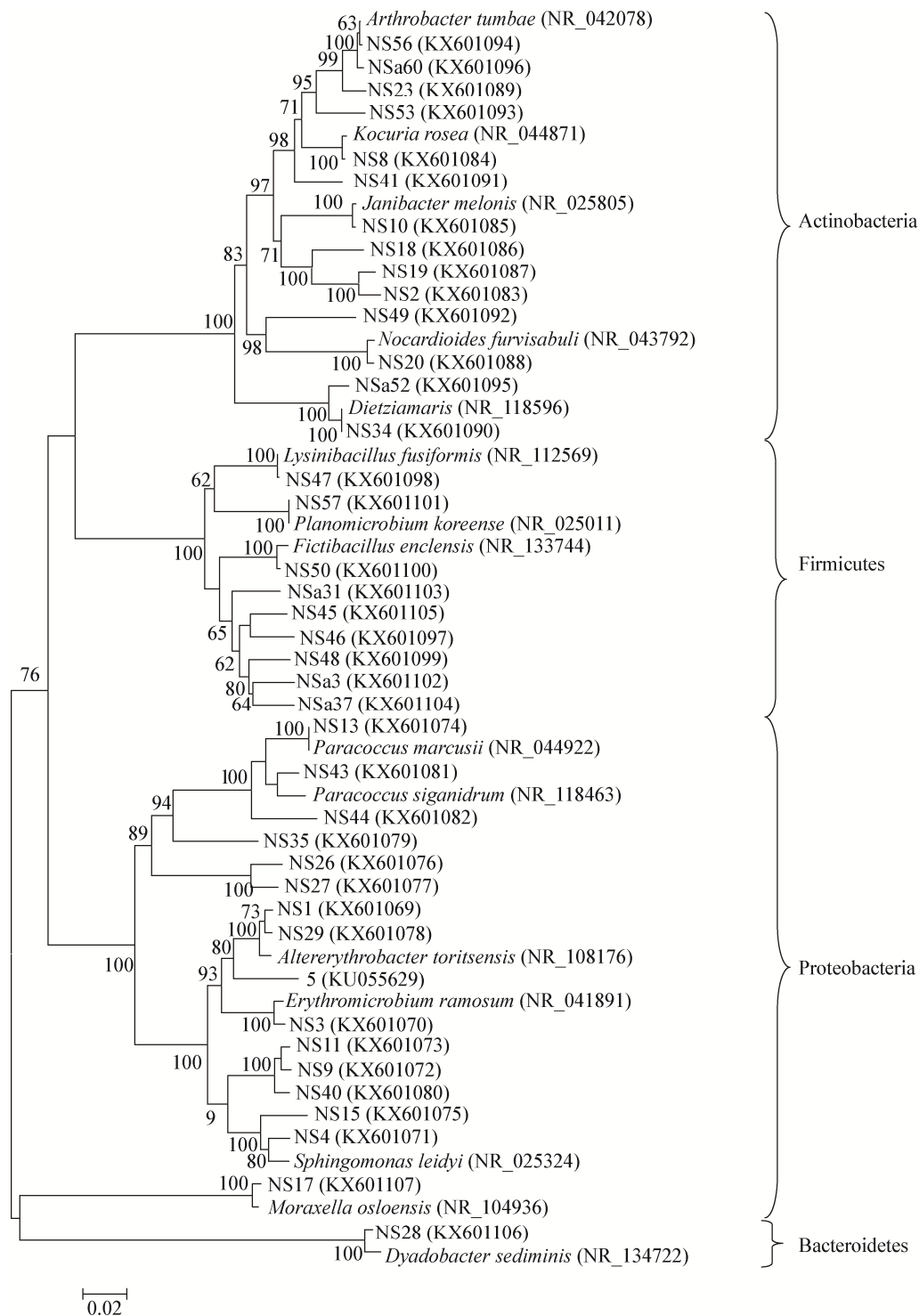


图 2 邻接法构建泥浸汁 R₂A 培养基分离细菌的 16S rRNA 基因序列系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree for strains isolated from sediment extract R₂A medium based on 16S rRNA gene sequences

注: 括号中的序号代表序列 GenBank 登录号; 分支点数字代表步长值; 标尺代表序列间分歧度。

Note: Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank; Numbers at the nodes indicate the bootstrap values on Neighbor-Joining analysis of 1 000 resampled data sets; Bar 0.02 represents sequence divergence.

放线菌门 (Actinobacteria) (24%)、变形菌门 (Proteobacteria) (20%) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) (4%)。属于厚壁菌门的 13 株细菌, 与芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 关系密切, 其次为类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*) 和葡萄球菌属 (*Staphylococcus*); 放线菌门的细菌主要密切相关于节杆菌属 (*Arthrobacter*)、红球菌属 (*Rhodococcus*)、考克氏菌属 (*Kocuria*) 的 6 株; 变形菌门为不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、短波单胞菌属 (*Brevundimonas*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、紫色杆菌属 (*Janthinobacterium*)。此外还分离到了一株拟杆菌门的细菌。

泥浸汁 R₂A 培养基分离细菌的 16S rRNA 基因系统发育分析结果(图 2)表明, 分离得到 40 株细菌, 主要属于四大类群, 即变形菌门 16 株, 其中 15 株为 α -变形菌纲 (Alphaproteobacteria), 1 株为 γ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria), 其次为放线菌门 14 株、厚壁菌门 9 株和拟杆菌门 1 株, 分别占分离菌株的 40%、35%、22.5% 和 2.5%。变形菌门是最大的, 主要包括鞘脂单胞菌属 (*Sphingomonas*)、副球菌属 (*Paracoccus*)、赤杆菌属 (*Altererythrobacter*)、短波单胞菌属、叶杆菌属 (*Phyllobacterium*) 等 8 个属, 其中鞘脂单胞菌属为分离的优势种属。放线菌门主要包括节杆菌属、迪茨氏菌属 (*Dietzia*)、细杆菌属 (*Microbacterium*) 等 9 个属, 优势种属为节杆菌属。厚壁菌门主要为芽孢杆菌属。

系统发育分析结果表明, 采用两种培养基分离到的菌株大多数与 GenBank 中已知序列具有较高的 16S rRNA 基因序列相似性 (>97%), 但泥浸汁 R₂A 培养基分离的菌株中有 4 个菌株与已知报导菌株之间的序列相似性较低, 可能代表了一些新的种属, 如菌株 NS26 与 *Brevundimonas abyssalis* TAR-001^[15] 相似性为 96%, NS1 与 *Altererythrobacter troitsensis* KMM 6042^[16] 相似性为 97%, NS35 与 *Phyllobacterium bourgognense* STM 201^[17] 相似性为 97%, NS43 与 *Paracoccus siganidrum* M26^[18] 相似性为 97%。

2.3 可培养细菌多样性比较

定义为 16S rRNA 基因序列相似性小于 97% 作为不同的分类单元, 结果表明 R₂A 分离得到的 25 株细菌, 可分为 24 个不同的分类单元, Shannon 多样性指数是 3.16; 泥浸汁 R₂A 培养基分离的 40 株细菌, 可划分为 34 个不同分类单元, 香农-威纳多样性指数是 3.47, 高于普通 R₂A 培养基。

3 讨论

本研究通过采用 R₂A 培养基和泥浸汁 R₂A 培养基研究太湖沉积物中可培养微生物, 分离得到的细菌都属于厚壁菌门、放线菌门、变形菌门、拟杆菌门四大类群的不同种属, 部分种属在 R₂A 培养基和泥浸汁 R₂A 培养基中都获得了分离培养, 所分离细菌与其系统发育密切的菌株之间的 16S rRNA 基因序列都有一定的差异, 揭示了太湖沉积物中可培养细菌的丰富多样性。 α -变形杆菌被认为是土壤、湖泊和海洋水体中的优势类群^[19], 泥浸汁 R₂A 培养基的分离结果表明它们在沉积物中数量和种类非常丰富; 泥浸汁 R₂A 对于高(G+C) mol% 的放线菌门也获得了很好的分离。有研究表明, 细菌的单个基因组内存在 16S rRNA 基因的多样性, 导致依据 16S rRNA 基因对环境样品中细菌的多样性评价时的高估^[20]。本文依赖于分离培养方法, 在观察菌落形态特征差异的基础上, 挑选不同形态的单菌落进行 16S rRNA 基因核苷酸序列测定, 同时对形态相近的菌落进行 16S rRNA 基因序列测定, 以剔除重复, 结果表明, 培养出的菌落形态相近的菌株, 16S rRNA 基因序列相同, 而菌落形态不同的菌株, 具有不同的 16S rRNA 基因序列。结合形态学特征和 16S rRNA 基因序列分析, 避免了对细菌多样性的高估。

目前, 土壤浸汁培养基的使用较为普遍, 如徐小雅等分离土壤中的小双孢菌时添加了土壤浸汁, 能有效地分离土壤中的微生物^[21]。土壤浸汁培养方法可借鉴于使用泥浸汁培养基分离沉积物中的微生物。本研究从分离的菌株多样性来看, 泥浸汁 R₂A 的香农-威纳指数高于普通 R₂A 培养基, 前者更能

有效分离太湖沉积物中的微生物。有研究表明太湖沉积物微生物主要受沉积物 TOC (有机碳)、TN (总氮)的影响,且沉积物 TOC/TN 的变化显著影响微生物群落结构^[22],泥浸汁是直接采用沉积物样品,加水煮沸一定时间后离心所得的上清液,泥浸汁中所含的碳或氮是人工合成培养基中无法添加的,且该营养物质可能恰好是某些微生物生长所必需的,添加泥浸汁可弥补人工培养基营养成分的单一,使培养基的营养更适合沉积物中微生物的生长。

由于培养条件有限,不能模拟自然环境来对太湖沉积物进行菌种的分离,细菌的可培养效率仍然较低^[23];高通量培养、原位培养和共培养是一些新型的方法^[24-25],这些培养方法多是基于某种装置对微生物进行理想状态培养,如研究者利用纳米微孔培养室培养样品中的细菌实现微生物的共培养,达到提高培养效率的目的^[26],这些技术大多仍需要进一步发展。目前水体沉积物中可培养细菌的研究多依赖于传统的分离培养,由于人工培养时存在富营养致死效应,采用 LB、牛肉膏等富营养培养基分离出的菌株种类相对单一、数量较少,且经比较大一部分均含在 R₂A 培养基可分离的细菌种类之内;同时 1/10 牛肉膏等相对寡营养的培养基前期也有使用,但不及 R₂A 全面。当前研究报道中,R₂A 培养基较常应用于环境微生物的分离。因此,本文使用 R₂A 作为基础培养基,结果表明添加泥浸汁能进一步提高细菌可培养效率,可操作性强,所需材料易获得且成本较低,更有利于提高微生物可培养性,挖掘微生物新资源。

参 考 文 献

- [1] Guan TW, Wu JY, Zhi XY, et al. Actinobacterial diversity of a sediment sample from Xiaokule Lake[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2008, 48(7): 851-856 (in Chinese)
关统伟, 吴晋元, 职晓阳, 等. 硝尔库勒比湖沉积物中非培养放线菌的多样性[J]. 微生物学报, 2008, 48(7): 851-856
- [2] Kou WB, Zhang J, Lu XX, et al. Identification of bacterial communities in sediments of Poyang Lake, the largest freshwater lake in China[J]. Springer Plus, 2016, 5: 401
- [3] Dai X, Wang BJ, Huang Y, et al. Bacterial diversity in the sediments of Taihu Lake by using traditional nutrient medium and dilution nutrient medium[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2005, 45(2): 161-165 (in Chinese)
- [4] 戴欣, 王保军, 黄燕, 等. 普通和稀释培养基研究太湖沉积物可培养细菌的多样性[J]. 微生物学报, 2005, 45(2): 161-165
- [5] Sun W, Xia CY, Xu MY, et al. Distribution and abundance of archaeal and bacterial ammonia oxidizers in the sediments of the Dongjiang River, a drinking water supply for Hong Kong[J]. Microbes and Environments, 2013, 28(4): 457-465
- [5] Fan NS, Qi R, Yang M. Current technical progresses in the cultivation for uncultured microorganism[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2016, 22(3): 524-530 (in Chinese)
范念斯, 齐嵘, 杨敏. 未培养微生物的培养方法进展[J]. 应用与环境生物学报, 2016, 22(3): 524-530
- [6] Zhou N, Jiang CY, Liu SJ. Cultivation of microorganisms from environments: nutrient level of the culture medium is of great importance[J]. Microbiology China, 2016, 43(5): 1075-1081 (in Chinese)
周楠, 姜成英, 刘双江. 从环境中分离培养微生物: 培养基营养水平至关重要[J]. 微生物学通报, 2016, 43(5): 1075-1081
- [7] Gu KZ, Qian C, Luo YP. To improve the detection rate of total bacteria count using R₂A cultural medium[J]. Water Purification Technology, 2004, 23(1): 42-44 (in Chinese)
顾孔珍, 钱纯, 罗岳平. 用 R₂A 培养基提高饮用水中细菌总数检出率[J]. 净水技术, 2004, 23(1): 42-44
- [8] Reasoner DJ, Geldreich EE. A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1985, 49(1): 1-7
- [9] Sambrook J, Russell DW. Molecular Cloning: A Laboratory Manual[M]. Translated by Huang PT. 3rd Edition. Beijing: Science Press, 2002: 27 (in Chinese)
萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 DW. 分子克隆实验指南[M]. 黄培堂, 译. 第3版. 北京: 科学出版社, 2002: 27
- [10] Filipiński A, Murillo O, Freydenzon A, et al. Prospects for building large time trees using molecular data with incomplete gene coverage among species[J]. Molecular Biology and Evolution, 2014, 31(9): 2542-2550
- [11] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874
- [12] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic tree[J]. Molecular Biology and Evolution, 1987, 4(4): 406-425
- [13] McCaig AE, Glover LA, Prosser JM. Molecular analysis of bacterial community structure and diversity in unimproved and improved upland grass pastures[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(4): 1721-1730
- [14] Hill TCJ, Walsh KA, Harris JA, et al. Using ecological diversity measures with bacterial communities[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 43(1): 1-11
- [15] Tsubouchi T, Shimane Y, Usui K, et al. *Brevundimonas byssalis* sp. nov., a dimorphic prosthecate bacterium isolated from deep-sea floor sediment[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2013, 63(6): 1987-1994
- [16] Nedashkovskaya OI, Cho SH, Joung Y, et al. *Altererythrobacter troitsensis* sp. nov., isolated from the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2013, 63(1): 93-97
- [17] Mantelin S, Saux MFL, Zakhia F, et al. Emended description of the genus *Phyllobacterium* and description of four novel species associated with plant roots: *Phyllobacterium bourgognense* sp. nov., *Phyllobacterium ifriqiense* sp. nov., *Phyllobacterium leguminum* sp. nov. and *Phyllobacterium brassicacearum* sp. nov.[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006, 56(4): 827-839
- [18] Liu Y, Xie QY, Hong K, et al. *Paracoccus siganidrum* sp. nov.,

- isolated from fish gastrointestinal tract[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2013, 103(5): 1133-1139
- [19] González JM, Moran MA. Numerical dominance of a group of marine bacteria in the α -subclass of the class Proteobacteria in coastal seawater[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(11): 4237-4242
- [20] Sun DL, Jiang X, Wu QL, et al. Intragenomic heterogeneity of 16S rRNA genes causes overestimation of prokaryotic diversity[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(19): 5962-5969
- [21] Xu XX, Lin HP, Ruan JS, et al. Selective isolation of *Microbispora* from rhizosphere soil of mangrove plants[J]. Microbiology China, 2009, 36(9): 1299-1304 (in Chinese)
徐小雄, 林海鹏, 阮继生, 等. 从红树植物根际土壤选择性分离小双孢菌[J]. 微生物学通报, 2009, 36(9): 1299-1304
- [22] Wang N, Xu DL, Guo X, et al. Microbial biomass and its correlations with carbon, nitrogen, and phosphorus in the sediments of Taihu Lake[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, 23(7): 1921-1926 (in Chinese)
- 王娜, 徐德琳, 郭璇, 等. 太湖沉积物微生物生物量及其与碳、氮、磷的相关性[J]. 应用生态学报, 2012, 23(7): 1921-1926
- [23] Peng LL, Wang Q, Xin MX. Advanced in uncultivable microorganisms in nature[J]. Journal of Microbiology, 2011, 31(2): 75-79 (in Chinese)
彭伶俐, 王琴, 辛明秀. 自然界中不可培养微生物的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2011, 31(2): 75-79
- [24] Cannon SA, Giovannoni SJ. High-throughput methods for culturing microorganisms in very-low-nutrient media yield diverse new marine isolates[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(8): 3878-3885
- [25] Steinert G, Whitfield S, Taylor MW, et al. Application of diffusion growth chambers for the cultivation of marine sponge-associated bacteria[J]. Marine Biotechnology, 2014, 16(5): 594-603
- [26] Ge ZF, Girguis PR, Buie CR. Nanoporous microscale microbial incubators[J]. Lab on a Chip, 2016, 16(3): 480-488

征订启事

欢迎订阅《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于1974年,月刊,是中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办,国内外公开发行,以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:工业微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、基础微生物学、农业微生物学、食品微生物学、兽医微生物学、药物微生物学、医学微生物学、微生物蛋白质组、微生物功能基因组、微生物工程与药物等领域的最新研究成果,产业化新技术和新进展,以及微生物学教学研究改革等。

本刊为中文核心期刊。曾获国家优秀科技期刊三等奖,中国科学院优秀科技期刊三等奖,北京优秀科技期刊奖,被选入新闻出版总署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

据中国科学技术信息研究所信息统计,本刊2012、2013、2014、2015年以国内“微生物、病毒学类期刊”综合评价总分第一名而连续4年获得“百种中国杰出学术期刊奖”,并入选300种“中国精品科技期刊”,成为“中国精品科技期刊顶尖学术论文(F5000)”项目来源期刊。2014年获得中国科学院科技期刊三等出版基金资助;2015年获得中国科协精品科技期刊工程项目资助。

欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买,2017年每册定价80元,全年960元,我们免邮费寄刊。

邮购地址:(100101)北京朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部

Tel: 010-64807511; E-mail: bjb@im.ac.cn, tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

国内邮发代号: 2-817; 国外发行代号: M413