

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
51(4):547-553; 4 April 2011
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

云南程海湖酵母菌多样性及应用

周新丽, 李治滢, 杨丽源, 董明华, 李绍兰*

云南大学微生物研究所, 昆明 650091

摘要:【目的】针对云南丽江永胜县境内程海湖环境的特殊性, 研究高原湖泊环境中酵母菌的多样性, 初步探索程海湖环境中酵母菌的利用价值。【方法】对程海湖的湖水和其周边土壤样品中的酵母菌进行分离; 应用 26S rDNA 的 D1/D2 区域序列分析, 并结合形态及生理生化指标对分离获得的酵母菌进行鉴定; 采用筛选培养基对已鉴定酵母菌进行产酶定性实验, 分析高原湖泊中酵母菌的多样性及可应用性。【结果】分离得到酵母菌 64 株, 对其中 63 株进行鉴定, 归属于 9 个属 22 个种 (包括 4 个疑似新种或新变种); 地霉属 *Geotrichum* 和隐球酵母属 *Cryptococcus* 是 2 种环境中的共有属; 在产酶活性筛选中发现有 9 株产胞外酶活性的菌株, 其中 YM24373 既产蛋白酶又可产淀粉酶。【结论】研究结果显示程海湖中酵母菌组成具有较为丰富的多样性, 其应用价值值得进一步研究。

关键词: 高原湖泊, 酵母菌多样性, 26S rDNA

中图分类号: Q939 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2011)04-0547-07

程海湖地处青藏高原与云贵高原的衔接部位, 东经 100°33' - 100°45', 北纬 26°25' - 24°40', 行政区划上属于丽江市永胜县。属于淡水湖泊, 海拔 1500 m, 水质呈碱性并且此湖属构造断陷湖, 汇水面积较小、无远源河流输入。长年平均气温 18.7℃, 水温 20℃, 极易适合藻类生长, 是世界上天然生长螺旋藻的三大湖泊之一, 也是云南九大高原湖泊之一^[1]。特殊的水质和环境, 满足了喜碱、喜温、高光照的微生物的生长条件。研究此环境中酵母菌的多样性, 可为云南特殊地理环境条件下酵母菌资源的开拓提供一定的理论及实际意义。也为进一步了解

云南省内高原湖泊水体酵母菌生物多样性提供了数据支持, 丰富了云南省酵母菌资源库。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源: 本研究 13 份样品于 2009 年 4 月采自云南永胜县境内的程海湖湖水及湖边土壤; 其中水体样品采样深度 1-2 m, 水温 19℃ - 20℃; 土壤样品的采集选取湖周 1-4 号位置, 5-9 号位置农田与住宅区密布, 人为干扰较大, 故未采集 (具体见表 1)。采集方式为从北顺时针绕程海一周。

基金项目: 云南省科技条件平台建设计划项目 (2009DA002)

* 通信作者。Tel: +86-871-5033540; Fax: +86-871-5034621; E-mail: shlli@ynu.edu.cn

作者简介: 周新丽 (1986 -), 女 (回族), 陕西宝鸡人, 硕士研究生, 主要从事酵母菌资源多样性及分子生物学研究。E-mail: zhouxinli05@yahoo.com.cn

收稿日期: 2010-10-15; **修回日期:** 2010-12-24

表 1 程海湖采样地名称

Table 1 The samples' name of Chenghai

Sample NO.	Collection place	Specific
NO. 1	Xingren(兴仁)	water, soil
NO. 2	Between Xingren and Qingcaowan(兴仁与青草湾之间)	water, soil
NO. 3	Qingcaowan(青草湾)	water, soil
NO. 4	Between Qingcaowan and Pumi(青草湾与蒲米之间,靠近蒲米)	water, soil
NO. 5	Between Qinjiapu and Xinghu(秦家铺与星湖之间)	water
NO. 6	Between Donghu and Hekou(东湖与河口之间)	water
NO. 7	Jinlan(金兰)	water
NO. 8	Between Erlang and Panlang(洱良与潘良之间)	water
NO. 9	Between Xiaoyangbao and Xingren(小阳保与兴仁之间)	water

1.1.2 主要试剂和仪器: *Taq* 酶、dNTP、DNAMarker、GoldView 购自大连宝生物有限公司; Tris、EDTA、SDS、Triton-100 购自昆明硕阳科技有限公司; 引物 NL1、NL4 由北京百泰克生物有限公司合成。凝胶成像仪(SYDR/1305 美国 Syngene 公司); 离心机(美国 Thermo 公司); PCR 扩增仪(PTC-200 美国 MJ Research 公司)。

1.2 菌株分离和保藏

1.2.1 菌株分离与保藏: 分离培养基为酸化的 YM 培养基(酵母膏 0.3%, 蛋白胨 0.5%, 麦芽汁 0.3%, 葡萄糖 1%, 琼脂 2%) 和 PDA 培养基(马铃薯 20%, 葡萄糖 2%, 琼脂 2%)。采用梯度稀释涂布平板法进行分离, 其中水样分别取原液和 10^{-1} 的浓度, 每皿加入 0.2 mL; 土壤样品称取 10 g 溶解于 90 mL 带玻璃珠的无菌水中, 震荡混匀 30 min, 分别取 10^{-2} 和 10^{-3} 两个浓度, 每皿 0.2 mL。28℃ 培养 48-72 h 后挑取形单菌落, 经多次划线纯化, 获得纯培养物。纯化菌株冻干保存。

1.3 形态及生理生化指标

根据酵母菌分类学研究标准方法^[2]对分离获得的菌株进行形态学观察和生理生化鉴定。结合形态学及生理生化指标^[2]将分离获得的酵母菌分为 5 大类, 每类中选代表性菌株对其进行 26S rDNA D1/D2 区序列分析^[2-3]。

1.4 酵母菌株 26S rDNA D1/D2 区基因的扩增及测序

1.4.1 基因组 DNA 的提取: 参照文献[4]方法进行。

1.4.2 PCR 扩增与测序: 26S rDNA D1/D2 区域序列的 PCR 扩增和测序参照文献[3]的方法稍作改动进行。用引物 NL1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAG-GAAAAG-3'), NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-

3') 扩增所分离菌株的 D1/D2 区域。改动后的 PCR 扩增程序为: 94℃ 5 min; 94℃ 1 min, 56℃ 1 min, 72℃ 1.5 min, 35 个循环; 72℃ 10 min。1% 琼脂糖凝胶检测扩增的目标产物。所得产物送北京百泰克生物公司测序。

1.5 序列分析和菌种鉴定

供试菌株 26S D1/D2 区测序结果采用 DNASTAR 软件进行图谱分析, 对序列进行人工校对, 校正后的序列在 GenBank 核酸序列数据库中进行同源序列搜索 (BLAST search), 选取与供试菌株关系较近的已知酵母菌种模式菌株的 D1/D2 区序列, 以比较测试菌株与已知酵母菌种模式菌株 D1/D2 序列的相似程度^[5]。应用 Clustal X 进行序列校准排齐, 用 Meg 4.0 软件的邻接法 Neighbor-Joining, 进行 1000 次 Bootstrap 检验后构建系统发育树^[5-7]。

1.6 产胞外酶菌株筛选实验

将所分离菌株在 YM 斜面培养基上进行活化, 脂肪酶, 纤维素酶, 淀粉酶和蛋白酶培养基的具体配方及实验操作参考文献[8-11]进行; 对初次筛选出来菌株进行了 2 次重复实验。

2 结果

2.1 酵母菌鉴定结果

本次研究共分离得到酵母菌 64 株, 45 株来自程海湖的湖水样本, 19 株来自程海湖周边土壤样本。根据目前酵母菌的分子分类标准, 若测试菌株的 D1/D2 序列与已知种的相似性为 99% 以上, 并有形态特征的支持时, 则可对其作出种的鉴定; 与最近缘的已知种的相似性为 98% 或以下时, 则可初步确定为新种; 在 98% - 99% 之间时, 则需要结合 ITS 序列分析和生理生化特征比较对其作出分类学处理^[5-7]。有 55 株菌经过序列比对与相应的模式菌

株同源率为 99%—100%, 这 55 株酵母菌经鉴定归为 8 个属的 18 个种^[2-3], 其中液化隐球酵母 *Cryptococcus liquefaciens* 1 株, *Cryptococcus podzolicus* 1 株, *Cryptococcus aerius* 1 株, *Cryptococcus uzbekistanensis* 2 株, 浅黄隐球酵母 *Cryptococcus luteolus* 1 株, *Cryptococcus zae* 1 株, *Cryptococcus terrestris* 1 株, 暹罗伊萨酵母 *Issatchenkia siamensis* 3 株, *Candida vartiovaarae* 2 株, 拟朗比可假丝酵母 *Candida pseudolambica* 4 株, 林木假丝酵母 *Candida silvae* 4 株, *Williopsis californica* 2 株, 土星拟威尔酵母 *Williopsis saturnus* 1 株, 林生地霉 *Geotrichum silvicola* 2 株, *Geotrichum vulgare* 20 株, 膜醭毕赤酵母

2.2 程海酵母菌种群分布及优势类群

本研究中程海湖的 9 个样点进行采样, 共采集土壤样品 4 份, 来自 1-4 号采集点, 5-9 号采集点人为因素干扰过大, 故未采集; 水体样品 9 份, 来自 9 个采集点。

本研究分离鉴定的酵母菌中子囊菌占 70%, 担子菌和类酵母的数目约为总数的 30%; 水体样品酵母菌中地霉属占 52%, 是总数的 38%, 可以看出地

母 *Pichia membranifacies* 2 株, 普鲁兰类酵母 *Aureobasidium pullulans* 1 株, 孢堆黑粉菌 *Sporisorium pulverulentum* 6 株; 其余 9 株菌中有 8 株可能为疑似种或变种^[13,14,15,16], 分别来自地霉属 *Geotrichum*、隐球属 *Cryptococcus*、短梗霉属 *Aureobasidium* 和原孢酵母属 *Sporopachydermia*, 与最近源种的相似性分别为 97%、98.2%、98% 和 94.4%; 1 株(YM24350)的测序结果, 经过比对与子囊壳菌属 *Coniochaeta* 和油瓶霉属 *Lecythophora* 较近, 相似度分别为 96.6% 和 96%, 分类学地位尚不明确; 这 9 株菌的相关研究另文发表。具体分类学地位见图 1。

霉属酵母可能是程海水体中的一个优势群体; 而 *Geotrichum vulgare* 占地霉属的 71%, 是程海的一个优势种; 19 株土壤中分离的酵母菌隐球酵母属共 8 株 6 个种, 占土壤分离酵母菌的 57%, 总菌株数的 15%, 虽然土壤环境中分离获得酵母菌数量较少, 但隐球酵母属仍是土壤环境中的优势菌群, 这与本实验室在云南其它生境中分离得到的土壤酵母菌的优势种属相一致。具体分布见表 2。

表 2 程海湖酵母菌种群数量分布图

Table 2 The yeasts from water and soil collected in Chenghai Lake, Yunnan

Species	Water samples' NO. (1-9)									soil samples' NO. (1-4)			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4
<i>Cryptococcus liquefaciens</i>				1									
<i>Cryptococcus podzolicus</i>						1							
<i>Cryptococcus aerius</i>										1			
<i>Cryptococcus uzbekistanensis</i>										2			
<i>Cryptococcus luteolus</i>											1		
<i>Cryptococcus zae</i>											1		
<i>Cryptococcus terrestris</i>													1
<i>Issatchenkia siamensis</i>					3								
<i>Candida pseudolambica</i>					1	2	1						
<i>Candida vartiovaarae</i>					2								
<i>Candida silvae</i>					2		1					1	
<i>Williopsis californica</i>					1		1						
<i>Williopsis saturnus</i>						1							
<i>Geotrichum . vulgare</i>					12	3	3						2
<i>Geotrichum silvicola</i>							2						
<i>Pichia. membranifacies</i>					1		1						
<i>Aureobasidium pullulans</i>												1	
<i>Sporisorium pulverulentum</i>										1	1	2	2
<i>Geotrichum sp.</i>						4							
<i>Aureobasidium pullulans var. sp.</i>												1	
<i>Cryptococcus sp.</i>										2			
<i>Spropachydermia sp.</i>						1							
Total				1	22	12	9			6	3	5	5

Not including YM24350.

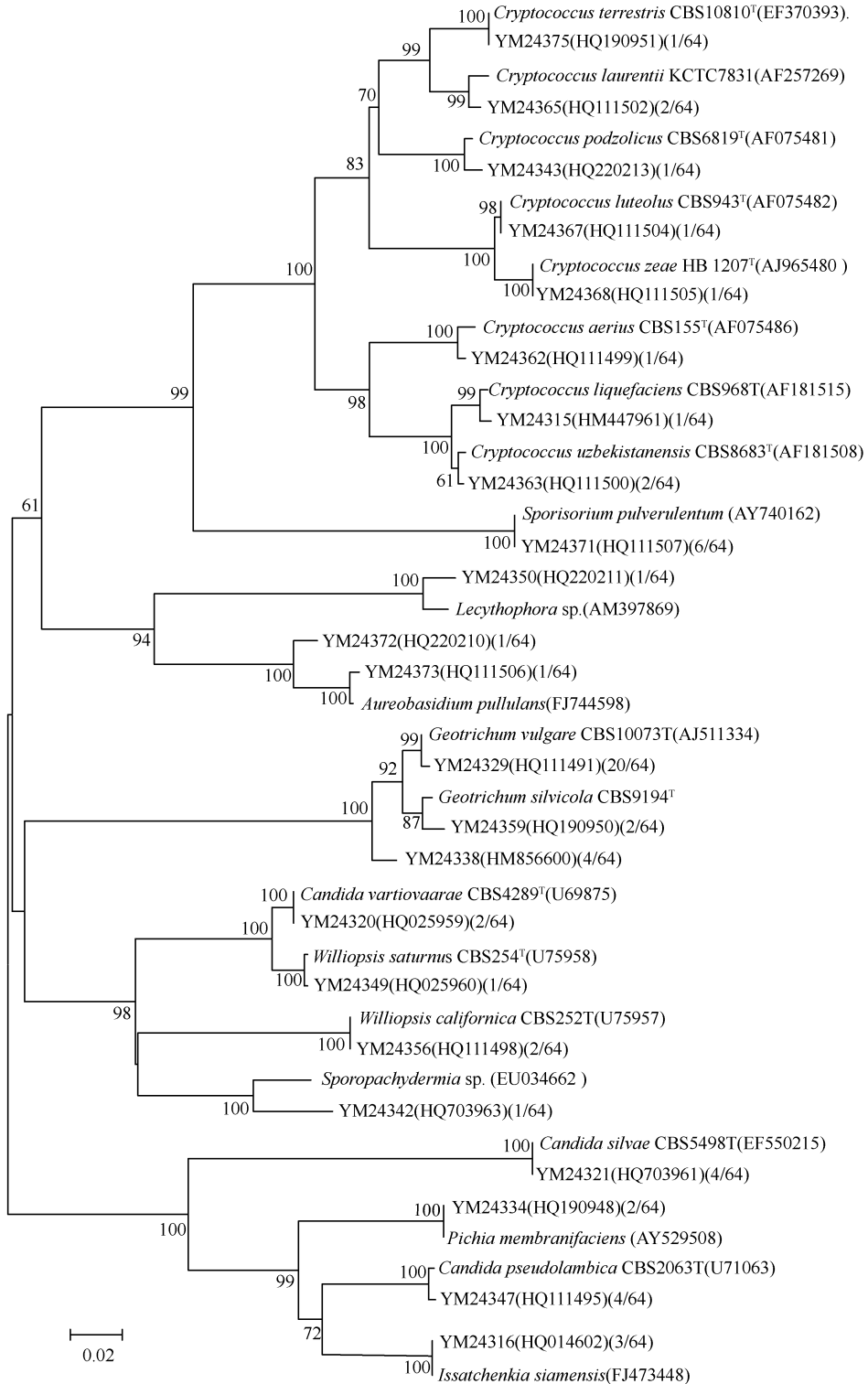


图 1 基于 26S rDNA D1/D2 区域序列和 Neighbor-Joining 分析绘制的系统树

Fig. 1 Phylogenetic tree drawn from neighbor-joining analysis based on the 26S rDNA D1/D2 domain sequence alignment. Numbers in parentheses represent the sequences, accession number in Genbank. Numbers in square bracket indicate the isolate number out of the total isolates' number. the number at each branch points is the percentage supported by bootstrap. Bar, 0.05 sequence divergence.

2.3 程海湖酵母菌产酶活性实验结果

此次研究分离所得的酵母菌中, 经过产酶筛选实验, 有 9 株在筛选培养基上产生透明的水解圈。

其中 1 株 (YM24373) 在水解蛋白酶和淀粉酶的培养基上均可产生透明圈, 具体结果见表 3。

表 3 程海湖酵母菌产酶活性筛选表

Table 3 Enzyme activities of yeast strains from Chenghai Lake, Yunnan

Species	Collection NO.	Proteinase	Amylase	Lipase	Cellulase
<i>Aureobasidium pullulans</i>	YM24373	+	+	-	-
<i>Aureobasidium var. sp.</i>	YM24372	+	-	-	-
<i>Sporisorium pulverulentum</i>	YM24371	+	-	-	-
	YM24378	+	-	-	-
<i>Cryptococcus sp.</i>	YM24365	+	-	-	-
	YM24366	+	-	-	-
<i>Cryptococcus liquefaciens</i>	YM24315	-	+	-	-
<i>Cryptococcus zeae</i>	YM24368	-	-	+	w
<i>Williopsis saturnus</i>	YM24349	-	-	-	+

Note: "+" the diameter of the clear halo is 1.5 - 2 cm; "-" negative; "w" the diameter of the clear halo is 1.0 cm

3 分析和讨论

3.1 程海湖酵母菌的多样性探索

此次研究程海湖的 9 个水体样点中, 只有 4、5、6 和 7 号 4 个样点分离到酵母菌株。这 4 个采样地位于程海湖东部, 顺时针从青草湾到金兰之间, 在这一区间内分布着较多居民村庄, 人为活动较多, 对水体的营养程度产生影响, 故存在着较丰富的酵母菌资源。而其余的 5 个样品点分布在程海北部与西部, 人烟较少, 水体营养化程度较低, 也可能是此次采样较少或几乎未分离到酵母菌的一个重要原因^[12]。而土壤样品来自水体 1、2、3 和 4 号样点附近, 周围人为干扰小, 分离所得酵母菌数量较少, 但种类较为丰富, 尤其是隐球属酵母菌资源, 占土壤分离种类数的 60%, 占总分离种数的 30%。地霉属与隐球属是两种环境中的共有属, 但各自种类却有所差异, 只有 *Geotrichum. vulgare* 这个类群在两种环境中均出现, 但其在水体中数量远远多于土壤中的数量, 这个种于 2006 年被 Michael Wuczowski 第一次描述^[16], 该种的第一次分离生境是被水冲刷的森林土壤和干涸的饮料厂排水通道, 可判定这个类群既是程海土壤环境的土著类群, 也是水体环境的土著类群。在此次分离所得的酵母菌中发现了两个疑似新种和两个疑似新变种, 分别属于地霉属、原孢酵母属隐球属和短梗霉属, 可以看出程海湖具有较为丰富的酵母菌物种。

程海湖水质属三类中度营养水质, 水体的污染源主要来自周围螺旋藻厂生产用水及居民的生活用

水的排污, 皮状丝孢酵母 *Trichosporum cutaneum* 经常出现在人类与动物粪便中, 所以它被一些学者作为水体污染的指示菌^[17], 但在本次研究中并未分离得到; 假丝酵母 *Candida*、隐球酵母 *Cryptococcus*、毕赤酵母 *Pichia* 和红酵母 *Rhodotorula* 是洁净水体中的常见属^[13,17], 在此次研究中仅分离得到前 3 个属的酵母菌; 红酵母是一般淡水及海水中的常见属, 在本次研究中尚未分离得到; 在此次研究中分离到的一些属种与海洋中分离到的一些类群相一致^[13,17-18], 由此可以说明程海水质与其它水质中的酵母菌类群具有一定的差异。

3.2 高原湖泊酵母菌的利用价值

目前蛋白酶在洗涤工业、皮革工业、医药工业、食品工业、饲料工业、化学工业和废水处理等方面有重要的用途; 通过纤维素酶降解纤维素也可以进一步应用到环境污染等问题中, 对环境保护具有重要意义; 淀粉酶在工业发酵、淀粉液化中也具有举足轻重的位置; 而脂肪酶广泛存在于自然界中, 但是因为微生物产生的脂肪酶产量高, 而且功能多样, 并且只有微生物产生的脂肪酶具有生产应用价值^[18], 而通过微生物生产酶, 更优于化学合成, 安全性更高。针对这些应用价值此次研究集中在筛选能产生胞外蛋白酶、纤维素酶、淀粉酶、脂肪酶活性的菌株。对酵母菌的应用价值研究中原湖酵母菌资源研究较少, 与已发表的文献比较, 目前陆地酵母菌中只有普鲁兰类酵母可产生纤维素酶^[19], 而本次研究中发现 1 株土星拟威尔酵母也可产生纤维素酶; 其他可产生水解酶的菌株与相关文献所报道种类一致; 此次

筛选到的活性菌株占分离总菌株数的 14.10%。可见程海湖中有应用价值的酵母菌资源较为丰富,并且为高原湖泊酵母菌应用价值探索提供了一定的理论依据。

参考文献

- [1] 董云仙,金玉,胡锦乾,关兆国,和熊祥. 程海冬季水华特征、成因及控制对策. 环境科学导刊 (*Yunnan Environmental Science*), 2010, 29(3): 28-31.
- [2] Kurtzman CP, Fell JW. The yeast : a taxonomic study . 4th ed. Amsterdam Elsevier, 1997, 1-107
- [3] C. P Kurtzman, C. J Robnett . Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. *Antonie van Leeuwenhoek* , 1998, 73: 331-371.
- [4] Nisiotou AA, Spiropoulos, Nychas G-JE AE. Yeast Community Structures and Dynamics in Healthy and Botrytis-Affected Grape Must Fermentations. *Applied and Environment Microbiology*. 2007, 73(21): 6705-6713.
- [5] 白逢彦,王辰. 海南热带雨林腐木上酵母菌物种多样性研究. 菌物学报 (*Mycosystema*), 2009, 28(3): 354-362.
- [6] Fell JW, Noekhout T, Fonseca A, Scorzetti G, Statzell-Tallman A. Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000, 50: 1351-1371.
- [7] Scorzetti G, Fell JW, Fonseca A, Statzell-Tallman A. Systematics of basidiomycetous yeasts: a comparison of large subunit D1/D2 and internal transcribed spacer rDNA regions. *FEMS Yeast Research*, 2002 2: 495-517.
- [8] 池振明,王晓红. 产淀粉酶海洋酵母菌的筛选及鉴定. 中国海洋大学学报 (*Periodical Of Ocean University Of China*), 2007, 37 (II), 95-100.
- [9] 宋炜,蒋丽娟,申爱荣,谭著明. 高产脂肪酶酵母菌株的分离筛选及紫外诱变. 中南林业科技大学学报 (*Journal of Central South University of Forestry & Technology*). 2009, 29(3) 55-59.
- [10] 张亮,池振明. 1株产纤维素酶海洋酵母菌的筛选、鉴定及发酵条件优化. 中国海洋大学学报 (*Periodical Of Ocean University Of China*). 2007, 37 (Sup. II) 101-107.
- [11] 陈嵘,关珊珊,吕国忠,高晓梅. 产蛋白酶毛霉菌株的初步筛选. 微生物学杂志 (*Journal Of Microbiology*). 2008 28(1) :101-104.
- [12] 徐美鑫,刘天明,相茂功,刘波,尹雪利,曾阳. 青海东部土壤中酵母物种多样性研究. 微生物学通报 (*Microbiology*). 2009 36(3): 360364.
- [13] Gabriel Russo, Diego Libkind, Jos 'e P, Sampaio , Maria R, van Broock. Yeast diversity in the acidic RioAgrio Lake Caviahue volcanic environment (Patagonia, Argentina). *FEMS Microbiol Ecol* 2008, 65: 415-424.
- [14] Pennapa Manitchotpitit, Timothy D, Leathers, Stephen W, peterson, Cletus P, Kurtzman, LI Xin-Liang, Douglas E. Eveleigh, Pongtharin Lotrakul, Sehanat Prasongsuk, Christopher A, Dunlap, Karl E. Vermillion, Hunsu Punnapayak. Multilocus phylogenetic analyses, pullulan production and xylanase activity of tropical isolates of *Aureobasidium pullulans*. *Mycological Research* . 2009 , 113: 1107-1120
- [15] Zalarl P, Gostinčar C, de Hoog G. S, Uršičl V, Sudhadham M, Gunde-Cimerman N. Redefinition of *Aureobasidium pullulans* and its varieties. *Studies in Mycology* 2008 61: 21-38.
- [16] Michael Wuczkowski, ChrisBond Hansjrog, Prillinger. *Geotrichum vulgare* sp. nov., a novel asexual arthroconidial yeast. *Internationa Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* . 2006, 56: 301-303.
- [17] Carlos A Rosa, Maria A, Resendel, Francisco AR Barbosa, Paula B, Morais, Sarah P, Franzot. Yeast diversity in a mesotrophic lake on the karstic plateau of Lagoa Sa MG-Brazil. *Hydrobiologia* 1995. 308: 103-108.
- [18] 池振明,龚方,李静,王祥红. 海洋酵母菌胞外酶及其基因的最新研究进展. 中国海洋大学学报 (*Periodical Of Ocean University Of China*). 2008 38(5): 766-774.
- [19] Kudanga T , Mwenje E. Extracellular cellulase production by tropical isolates of 479 *A ureobasidium pullulans* . *Microbiology* , 2005 , 51 : 773-776.

Identification of yeasts isolated from Chenghai Lake, a plateau lake in Yunnan province

Xinli Zhou, Zhiying Li, Liyuan Yang, Minghua Dong, Shaolan Li*

Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming 650091, China

Abstract: [**Objective**] The aims of this study were to investigate yeast diversity in the plateau lake and to explore the value of these yeasts in such ecological environment. [**Methods**] Yeasts were isolated from 9 water and 4 soil samples collected in Chenghai lake in Yunnan province. The isolates were identified by using large-subunit (26S) rDNA gene D1/D2 domain sequence analysis and traditional methods. The ability of the yeast strains to produced various enzymes was tested. [**Results**] In total 64 yeast strains were isolated, these strains were identified as 22 species in 8 genera, including 4 suspected new species or variety. Genera *Cryptococcus* and *Geotrichum* were shared in the water and soil samples. Nine strains with secreted enzyme activities were selected. One of them could produce both protease and amylase . [**Conclusion**] The preliminary result showed the biodiversity of yeasts in Chenghai lake and the application potential of the yeasts isolated.

Keywords: plateau lake, yeast diversity, 26S rDNA sequence analysis

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the Construction Project of Yunnan Science and Technology Platform. (2009DA002)

* Corresponding author. Tel: +86-871-5033540; Fax: +86-871-5034621; E-mail: shlli@ynu.edu.cn

Received :15 October 2010 /Revised: 24 December 2010

书讯

父亲和我们

——纪念中国首批青霉素的研制者和命名者樊庆笙教授百年诞辰

本书作者樊真美以女儿的视角叙述了父亲坎坷的不平凡的一生,也记录了儿女们受父母的影响和教育曲折的成长过程。凸显了父亲这样一个老一代知识分子赤诚的爱国之心,为实现强国梦付出毕生心血的奉献精神 and 历经磨难的不屈不挠的奋斗精神。

出版社:北京时代文献出版社;定价:38元

需购者请与作者樊真美直接联系

地址:南京嫩江路20号四季园23号402室

邮政编码:210036

电话:025-83418856

邮费:1本5.5元;2本7元;3本9元(一律另加挂号费3元)