

# 苦豆子根瘤内生细菌分离及其对棉花枯萎病的生物防治效果测定

龚明福<sup>1,2</sup> 韩松<sup>2</sup> 李超<sup>2</sup> 徐琳<sup>1,3</sup> 韦革宏<sup>1\*</sup>

- (1. 西北农林科技大学生命科学学院 陕西省农业分子生物学重点实验室 陕西 杨陵 712100)  
(2. 塔里木大学生命科学学院 新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室 新疆 阿拉尔 843300)  
(3. 河西学院生命科学与工程系 甘肃 张掖 734000)

**摘要:** 对从塔里木盆地苦豆子中分离得到的内生细菌进行皿内涂布拮抗实验、对峙培养法拮抗实验、胞外分泌物拮抗性测定和盆栽控病实验等研究, 结果表明塔里木盆地苦豆子根瘤中存在大量的棉花枯萎病菌拮抗性内生细菌。皿内涂布法筛选结果表明 60 株苦豆子根瘤内生细菌中有 48 株相对抑菌率超过 50%。对峙培养法对 48 株拮抗性内生细菌进一步筛选的结果表明, 对棉花枯萎病菌抑菌距离超过 20 mm 的菌株有 40 株。40 株拮抗性内生细菌胞外分泌物对棉花枯萎病菌的抑菌距离超过 5 mm 的有 26 株。KDRE12 和 KDRE41 对棉花枯萎病的盆栽控病平均防效分别为 67.11%和 72.65%, 具有应用潜力。

**关键词:** 苦豆子, 根瘤内生细菌, 棉花枯萎病, 生物防治, 拮抗

## Isolation of endophytic bacteria from nodule of *Sophora alopecuroides* and effect of biological control against *Fusarium wilt*

GONG Ming-Fu<sup>1,2</sup> HAN Song<sup>2</sup> LI Chao<sup>2</sup> XU Lin<sup>1,3</sup> WEI Ge-Hong<sup>1\*</sup>

- (1. College of Life Science, Shaanxi Key Laboratory of Molecular Biology for Agriculture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)  
(2. Key Laboratory of Protection & Utilization of Biological Resources in Tarim Basin of Xinjiang Production Construction Corps, College of Life Science, Tarim University, Alar, Xinjiang 843300, China)  
(3. Department of Life Science and Engineering, Hexi University, Zhangye, Gansu 734000, China)

**Abstract:** Lots of endophytic bacteria strains isolated from healthy *Sophora alopecuroides* were studied by using surface spread plate experiment, confront antibiotic culture experiment, antagonistic activities of extracellular secretions determination and disease-control experiment in greenhouse. The results in-

licated that there were a lot of endophytic bacteria resources isolated from nodule of *Sophora alopecuroides* antagonized against *Fusarium oxysporum*. 48 strains with the relative inhibition rate more than 50% of total 60 endophytic bacteria were selected with surface spread plate method. 48 antagonistic strains were then screened in confront antibiotic culture trial. The results showed that 40 strains had inhibits against *Fusarium oxysporum* with more than 20 mm inhibition zone, and 26 strains with more than 5 mm in extracellular secretions inhibitory activities testing experiment on 40 antagonistic strains. In disease-control experiments with *Fusarium oxysporum* carried out in greenhouses, two isolates (KDRE12 and KDRE41) gave satisfactory results, with 67.11% and 72.65% average control effect, respectively, which have good applied potential.

**Keywords:** *Sophora alopecuroides*, Nodule endophytic bacteria, Cotton Fusarium wilt, Biological control, Antagonism

近年来,从多种豆科植物的根瘤中分离得到非共生性细菌<sup>[1-7]</sup>,这些非共生细菌生活在根瘤中,但不引起植物产生明显的病害,为根瘤内生细菌。相对于植物其它组织部位的内生细菌而言,根瘤内生细菌研究相对较少。植物内生细菌不仅将植物作为其栖息场所,而且对宿主植物有促生、防病、内生联合固氮等广泛的生物学作用<sup>[8-10]</sup>,根瘤内生细菌也有类似的作用<sup>[5-7]</sup>。

苦豆子 *Sophora alopecuroides* 别名草本槐、苦豆根,为豆科多年生耐盐旱生草本植物。苦豆子含有多种单体生物碱,并具有抗菌、抗癌、提高免疫力等活性<sup>[11]</sup>。苦豆子各种组织中都有内生细菌分布,我们从苦豆子根瘤中分离得到60株内生细菌<sup>[12]</sup>,这些内生细菌具有丰富的多样性<sup>[13]</sup>,同时也可能具有其宿主植物一样的抗菌能力。

棉花枯萎病(Cotton Fusarium wilt)是由尖孢镰刀菌萎焉专化型 *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* 引起的,由于其防治困难而给棉花生产带来了巨大的危害,新疆棉花栽培面积很大,无法进行轮作,随着棉花连作年限增加,棉花枯萎病发病率有增加的趋势,尤其是对枯萎病敏感的长绒棉,损失更为严重。

针对新疆棉花生产中棉花枯萎病生物防治的需要,我们进行了苦豆子根瘤内生细菌对 *F. oxysporum* 的拮抗性研究,以期筛选到能用于棉花枯萎病生物防治的有效菌株,为新疆棉花生产的可持续发展服务。

## 1 材料与方法

### 1.1 培养基<sup>[14]</sup>

根瘤菌及根瘤内生细菌的分离和纯化培养基均采用 YMA 培养基,病原真菌培养及拮抗性实验培养基采用马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA),根瘤内生细菌培养采用营养琼脂培养基(NA)。

### 1.2 靶标菌株

*F. oxysporum* 由塔里木大学植物病理实验室提供。

### 1.3 供试根瘤内生细菌<sup>[15]</sup>

从温宿县、阿拉尔市和乌恰县采集健康苦豆子根瘤,分离获得编号 KDRE1-KDRE60 的共 60 株根瘤内生细菌用于本研究。

### 1.4 皿内涂布法筛选拮抗内生细菌

在直径为 9 cm 的 PDA 平板中加入 0.1 mL 制备好的豆科植物内生细菌菌液,涂布均匀后,在平板中央接入直径为 0.70 cm 的 *F. oxysporum* 菌饼,28 °C 黑暗培养 5 d,测量抑菌圈。取 0.1 mL 无菌培养液代替内生细菌菌液涂布平板后接种真菌菌丝块为对照。每处理重复 3 次。

内生细菌对病原真菌的相对抑菌率计算如下:相对抑菌率=(对照组病原真菌直径-试验组病原真菌直径)/对照组病原真菌直径×100%,相对抑菌率超过 50%认为有抑菌作用。

### 1.5 平板对峙培养法皿内筛选拮抗内生细菌

在直径为 9 cm 的 PDA 平板中心接种 *F. oxysporum* 菌块( $d=0.7$  cm),距中心 1.5 cm 处划线接种

待测内生细菌菌株, 每个菌株重复 3 次, 以划线接种无菌培养液代替内生细菌菌液做为对照, 待对照中 *F. oxysporum* 菌丝长至皿边缘时观察有无抑菌带并做记录。

内生细菌对病原真菌的拮抗性用抑菌距离来表示: 抑菌距离=对照组病原真菌半径-试验组病原真菌半径。

### 1.6 拮抗细菌胞外分泌物抗菌活性的测定

胞外分泌物的制备: 将 NA 平板上活化 24 h 的拮抗细菌移植于 NB 培养液中, 28 °C、160 r/min 振荡培养 48 h, 12 000 r/min 离心。取上清液, 经细菌过滤器( $\Phi 0.22 \mu\text{m}$ )过滤即得胞外分泌物原液。将胞外分泌物原液涂布于 NA 平板, 检测过滤除菌是否彻底。

在接种 *F. oxysporum* 的 PDA 平板上(菌饼已长至皿面积的 1/3)打 4 个直径 7 mm 的孔洞, 加入胞外分泌物原液 50  $\mu\text{L}$ , 以无菌培养液代替无菌胞外分泌物接种作为对照, 每个处理重复 3 次。28 °C 培养 2-7 d, 观察有无抑菌圈产生, 测定大小。

内生细菌胞外分泌物对病原真菌的拮抗性用抑菌距离来表示: 抑菌距离=对照组病原真菌半径-试验组病原真菌半径。

### 1.7 拮抗菌株的盆栽控病实验

试验设发病对照 CK1 (只接种 *F. oxysporum*)、不发病对照 CK2 (不接种) 及处理组(接根瘤内生细菌), 每处理 9 盆, 设 3 次重复, 每重复 10-12 株苗。

选用籽粒饱满的军海一号棉花种子, 表面消毒后按 10 粒/钵播于已灭过菌的钵土中, 棉花出苗后, 注意浇水保湿。培养 30 d 后, 苗 2-3 叶期(高 7 cm-8 cm)时, 处理组每苗灌入根瘤内生细菌菌悬液 2 mL ( $10^9$  CFU/mL), CK1、CK2 以无菌水处理替代。接种根瘤内生细菌 2 d 后, CK1 和处理组每钵灌入 50 mL ( $10^9$  CFU/mL) *F. oxysporum* 菌悬液, CK2 灌等量清水, 28 °C-32 °C 继续培养, 浇适量清水保湿, 以利发病。出现病株后, 观察记录发病株数。植株可见明显枯萎症状, 即记为发病株。以接种 *F. oxysporum* 为起点日, 出现病株开始每 10 d 观察一次, 共观察至 100 d。

病情严重度分级如下:

0 级=无症状, 植株健康;

1 级=1-2 片子叶局部发病;

2 级=子叶及一片真叶局部发病;

3 级=二片真叶发病或脱落仅剩心叶;

4 级=植株生长点或全株枯死。

发病率、病情指数及防效计算公式如下:

发病率(%)=  $\sum$  病株数/调查总株数 $\times 100\%$ ;

病情指数=  $\sum$  (每个病级的植株数 $\times$ 级别数) $\times 100$ /总植株数 $\times$ 最高级别数;

相对防效(%)=(对照病情指数-处理病情指数) $\times 100$ /对照病情指数。

## 2 结果与分析

### 2.1 皿内涂布法筛选拮抗内生细菌

按照相对抑菌率超过 50% 认为有抑菌作用的标准, 从 60 株苦豆子内生细菌中共筛选得到 48 株有抑菌作用的菌株, 用于平板对峙培养法皿内筛选。

### 2.2 平板对峙培养法皿内筛选拮抗内生细菌

28 °C 培养 7 d 后, 在内生细菌菌落的周围产生明显的抑菌圈, 宽度不一。从表 1 可以看出各菌株处理都可以抑制棉花枯萎病菌的生长, 但不同内生细菌菌株的抑菌效果存在明显差异。根据抑菌距离来看, 其中抑菌距离 10.0 mm-15.0 mm 的有 2 株, 15.1 mm-20.0 mm 的有 7 株, 20.1 mm-25.0 mm 的有 17 株, 25.1 mm-30.0 mm 的有 23 株, 最大值 30.0 mm。挑出拮抗菌株对棉花枯萎病菌抑菌效果较好的(抑菌距离大于 20.0 mm)共 40 株做胞外分泌物的抑菌活性的测定。

### 2.3 拮抗细菌胞外分泌物抗菌活性的测定

由表 2 可以看出内生拮抗细菌胞外分泌物对棉花枯萎病菌的抑菌活性存在明显差异, 其中拮抗能力不明显的有 3 株, 抑菌距离在 5.0 mm 以下的有 11 株, 5.1 mm-10.0 mm 的有 17 株, 10.1 mm-15.0 mm 的有 7 株, 15.1 mm-20.0 mm 的有 2 株, 最大值 19.3 mm。胞外分泌物对棉花枯萎病菌抑菌距离超过 15.0 mm 的 2 株根瘤内生细菌用于盆栽控病实验。

表 1 苦豆子根瘤内生细菌对棉花枯萎病菌的抑菌效果  
Table 1 Inhibitory effects of antagonistic nodule endophytic bacteria against *Fusarium oxysporum* in growth antagonism tests

菌株 Strain	抑菌距离 Antagonistic distance (mm)	菌株 Strain	抑菌距离 Antagonistic distance (mm)	菌株 Strain	抑菌距离 Antagonistic distance (mm)	菌株 Strain	抑菌距离 Antagonistic distance (mm)	菌株 Strain	抑菌距离 Antagonistic distance (mm)
KDRE01	22.0±0.0c	KDRE12	28.5±0.1d	KDRE24	29.5±0.2d	KDRE39	25.0±0.4d	KDRE50	24.0±0.0c
KDRE02	30.0±0.0d	KDRE13	23.5±0.1c	KDRE25	26.5±0.1d	KDRE41	22.5±0.1c	KDRE51	27.0±0.4d
KDRE03	26.0±0.0d	KDRE14	22.0±0.3c	KDRE26	25.5±0.4d	KDRE42	24.0±0.0c	KDRE53	19.0±0.1b
KDRE04	24.0±0.6c	KDRE15	28.5±0.2d	KDRE28	27.0±0.4d	KDRE43	25.0±0.1d	KDRE54	22.5±0.1d
KDRE05	22.0±0.3c	KDRE18	17.0±0.1b	KDRE29	19.0±0.1b	KDRE44	25.0±0.0c	KDRE55	18.0±0.0b
KDRE06	29.5±0.2d	KDRE19	22.5±0.1d	KDRE31	28.5±0.1d	KDRE45	17.5±0.1b	KDRE56	24.0±0.1c
KDRE07	30.0±0.0d	KDRE20	23.5±0.5c	KDRE32	25.5±0.5d	KDRE46	13.5±0.5a	KDRE57	18.0±0.3b
KDRE08	23.5±0.1c	KDRE21	27.5±0.2d	KDRE33	22.0±0.3c	KDRE47	21.0±0.1c	KDRE59	18.0±0.8b
KDRE09	29.5±0.5d	KDRE22	29.5±0.1d	KDRE34	29.0±0.1d	KDRE48	21.5±0.2c	KDRE60	22.5±0.1d
KDRE11	21.5±0.1c	KDRE23	25.5±0.5d	KDRE37	22.5±0.4c	KDRE49	12.5±0.1a	CK	-

注: - : 拮抗能力不明显或无拮抗现象(其中 CK 为-); 英文字母相同表示差异不显著; 不相同表示差异显著。

Note: - : No antagonistic activates to tested pathogens. Same letters presented in the data means no significant difference among tested isolates. Different letters means the difference was significant.

表 2 苦豆子内生细菌胞外分泌物对棉花枯萎病菌的血内抑菌效果  
Table 2 Inhibitory effects against *Fusarium oxysporum* of extracellular secretion of antagonistic nodule endophytic bacteria

菌株 Strain	抑菌距离 Antagonistic distance (mm)	菌株 Strain	抑菌距离 Antagonistic distance (mm)	菌株 Strain	抑菌距离 Antagonistic distance (mm)	菌株 Strain	抑菌距离 Antagonistic distance (mm)
KDRE1	11.7±0.6c	KDRE12	17.3±0.3d	KDRE25	-	KDRE42	0.3±0.3a
KDRE2	8.0±0.0b	KDRE13	13.0±0.7c	KDRE26	11.5±0.3c	KDRE43	7.3±0.1b
KDRE3	6.3±0.3b	KDRE14	11.7±1.3c	KDRE28	12.7±0.4c	KDRE44	5.3±0.4b
KDRE4	6.3±0.3b	KDRE15	4.7±0.1a	KDRE31	4.0±0.2a	KDRE47	5.0±0.6b
KDRE5	8.0±0.0b	KDRE19	8.3±0.3b	KDRE32	4.7±0.3a	KDRE48	9.3±0.3b
KDRE6	8.0±0.0b	KDRE20	3.3±0.3a	KDRE33	5.0±0.0a	KDRE50	7.7±0.1b
KDRE7	7.7±0.1b	KDRE21	-	KDRE34	3.7±0.1a	KDRE51	7.7±0.1b
KDRE8	7.3±0.1b	KDRE22	2.3±0.3a	KDRE37	4.0±0.2a	KDRE54	5.0±0.9b
KDRE9	11.7±0.6c	KDRE23	3.3±0.3a	KDRE39	4.7±0.3a	KDRE56	6.0±0.8b
KDRE11	14.0±1.7c	KDRE24	-	KDRE41	19.3±0.3d	KDRE60	8.3±0.8b

注: - : 拮抗能力不明显或无拮抗现象(其中 CK 为-); 英文字母相同表示差异不显著; 不相同表示差异显著。

Note: - : No antagonistic activates to tested pathogens. Same letters presented in the data means no significant difference among tested isolates. Different letters means the difference was significant.

#### 2.4 拮抗菌株的盆栽控病实验

从盆栽控病实验结果可以看出(表 3, 图 1), KDRE12 和 KDRE41 对棉花枯萎病均有较好的防治效果, 到接种棉花枯萎病菌 100 d 时对棉花枯萎病菌的相对防效分别为 59.30%和 80.49%, 但两菌株之间存在差异。KDRE12 从 80 d 到 100 d

之间相对防效呈下降趋势, 80 d 时最高, 为 72.01%, 平均防效为 67.11%; KDRE41 从 80 d 到 100 d 之间相对防效存在波动, 到 100 d 时达到最大, 为 80.49%, 平均防效为 72.65%。仅接种 *F. oxysporum* 的对照组棉花枯萎病发病率很高, 症状明显(图 1)。

表 3 根瘤内生细菌盆栽防治棉花枯萎病菌的效果  
Table 3 The control effects of antagonistic nodule endophytic bacteria against *Fusarium oxysporum* in pot tests

编号 No.	病情指数 Disease index			棉枯萎相对防效 Relative control effect (%)			平均防效 Mean control effect (%)
	80 d	90 d	100 d	80 d	90 d	100 d	
KDRE12	23.89	26.76	38.80	72.01	70.02	59.30	67.11
KDRE41	20.04	34.85	18.60	76.52	60.95	80.49	72.65
CK <sub>1</sub>	82.65	87.59	94.62	—	—	—	—
CK <sub>2</sub>	0	0	0	—	—	—	—



图 1 拮抗菌株的盆栽控病实验结果

Fig. 1 The result of antagonistic nodule endophytic bacteria against to *Fusarium oxysporum* in pot tests

注: CK: 对照, 仅接种 *Fusarium oxysporum*; KDRE12、KDRE41: 接种内生细菌后接种 *F. oxysporum*. C: 感病植株茎部剖面.

Note: CK: Control inoculated *Fusarium oxysporum*; KDRE12, KDRE41: Inoculating endophytic bacteria with *F. oxysporum*. C: Stems of cotton *Fusarium* wilt plant.

### 3 结论与讨论

本文研究结果表明, 苦豆子根瘤内生细菌中存在大量拮抗棉花枯萎病致病菌 *F. oxysporum* 的菌株, 40 个菌株在皿内对峙培养中对 *F. oxysporum* 抑菌距离超过 20 mm, 胞外分泌物对 *F. oxysporu* 抑菌距离超过 5 mm 的有 26 株。由于在皿内涂布、对峙培养和胞外分泌物的拮抗性实验中, 同一菌株对 *F. oxysporum* 拮抗能力大小表现不完全一致, 有理由相信这些根瘤内生细菌至少可以通过营养竞争和产生抗菌物质 2 种方式对 *F. oxysporum* 起拮抗作用<sup>[16]</sup>。

苦豆子中存在大量的内生细菌<sup>[12-13,15,17-18]</sup>, 很多菌株对枯萎病菌有拮抗作用<sup>[12,17-18]</sup>, 但从苦豆子根瘤内生细菌中筛选拮抗枯萎病菌的菌种资源未见文献报道。根瘤内生细菌相对于其他组织部位的内生细菌而言, 对土壤的适应性更强, 用于土传性病害的生物防治更具优势。本研究结果证实利用苦

豆子根瘤内生细菌来防治棉花枯萎病有很好的效果, 有较好的应用潜力。

苦豆子根瘤内生细菌的胞外分泌物对 *F. oxysporum* 有较强的拮抗作用, 表明可以产生抗菌物质。但产生什么性质的抗菌物质, 以及抗菌物质产生的条件等问题还有待进一步研究。本研究为今后苦豆子根瘤内生细菌抗菌物质的分离、纯化、生物防治机制的研究奠定了理论基础。

### 参考文献

- [1] de Lajudie P, Willems A, Nick G, et al. Agrobacterium bv. 1 strains isolated from nodules of tropical legumes[J]. Systematic and Applied Microbiology, 1999, 22: 119-132.
- [2] Gao JL, Terefework Z, Chen WX, et al. Genetic diversity of rhizobia isolated from *Astragalus adsurgens* growing in different geographical regions of China[J]. Journal of Biotechnology, 2001, 91(2/3): 155-168.
- [3] Kan FL, Chen ZY, Wang ET, et al. Characterization of symbiotic and endophytic bacteria isolated from root nodules of herbaceous legumes grown in Qinghai-Tibet Pla-

- teau and in other zones of China[J]. Archives of Microbiology, 2007, 188(2): 103-115.
- [4] Zakhia F, Jeder H, Willems A, et al. Diverse bacteria associated with root nodules of spontaneous legumes in Tunisia and first report for nifH-like gene within the genera Microbacterium and Starkeya[J]. Microbial Ecology, 2006, 51(3): 375-393.
- [5] Li JH, Wang ET, Chen WF, et al. Genetic diversity and potential for promotion of plant growth detected in nodule endophytic bacteria of soybean grown in Heilongjiang province of China[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2008, 40(1): 238-246.
- [6] Ibáñez F, Angelini J, Taurian T, et al. Endophytic occupation of peanut root nodules by opportunistic *Gammaproteobacteria*[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2009, 32(1): 49-55.
- [7] Palaniappan P, Chauhan PS, Saravanan VS, et al. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacterial isolates from root nodule of *Lespedeza* sp.[J]. Biol Fertil Soils, 2010, 46(8): 807-816.
- [8] 饶小莉, 沈德龙, 李俊, 等. 甘草内生细菌的分离及拮抗菌株鉴定[J]. 微生物学通报, 2007, 34(4): 700-704.
- [9] 邱服斌, 李雁津, 张晓霞, 等. 人参内生细菌 *ge21* 菌株的鉴定及抑菌活性测定[J]. 微生物学通报, 2010, 37(1): 43-47.
- [10] Zakhia F, Jeder F, Willems A, et al. Diverse bacteria associated with root nodules of spontaneous legumes in Tunisia and first report for nifH-like gene within the genera microbacterium and starkeya[J]. Microbial Ecology, 2006, 51(3): 375-393.
- [11] 秦学功, 元英进. 苦豆子生物碱的研究与苦豆子综合利用[J]. 中国野生植物资源, 2000, 19(4): 30-32.
- [12] 龚明福, 林世利, 贺江舟, 等. 苦豆子内生细菌的分离及拮抗菌的筛选[J]. 塔里木大学学报, 2006, 18(4): 68-70.
- [13] 龚明福, 马玉红, 李超, 等. 苦豆子根瘤内生细菌分离及表型多样性分析[J]. 西北植物学报, 2009, 29(2): 408-411.
- [14] 程丽娟, 薛泉宏. 微生物学实验教程[M]. 西安: 世界图书出版社, 2000: 383-385.
- [15] 林世利, 李真, 马玉红, 等. 阿拉尔地区几种豆科植物内生细菌种群动态研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(33): 10822-10823. 10827.
- [16] 梁启美, 齐东梅, 贾洁, 等. 棉花黄、枯萎病拮抗菌的筛选及抗菌蛋白 B110-a 的初步测定[J]. 植物保护, 2005, 31(5): 25-28.
- [17] 顾沛雯. 宁夏干旱荒漠区苦豆子内生细菌的筛选及其抑菌物质研究初报[J]. 中国植保导刊, 2009, 29(1): 5-8.
- [18] 顾沛雯. 苦豆子(*Sophora alopecuroides*)内生细菌的筛选及鉴定[J]. 农业科学研究, 2010, 31(1): 1-4.

## 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。

本书由北京时代文献出版社出版。

定价: 38 元

邮费: 1 本 5.5 元, 2 本 7 元, 3 本 9 元(一律加挂号费 3 元)

需购者请与作者樊真美联系。

地址: 南京嫩江路 20 号四季园 23 号 402 室

邮编: 210036

电话: 010-83418856