

# 锯缘青蟹血蓝蛋白酚氧化酶活性研究

陈锋菊<sup>1</sup>, 严芳<sup>2</sup>, 杨平<sup>2</sup>

(1 湖南科技大学生命科学学院, 湖南湘潭 411201; 2 汕头大学理学院, 广东汕头 515063)

**摘要:**以锯缘青蟹 *Scylla serrata* 为研究对象,运用亲和层析、聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)、十二烷基磺酸钠(SDS)-PAGE、Western-blot 以及酚氧化酶活性测定等方法研究了锯缘青蟹血蓝蛋白的酚氧化酶活性以及几种金属离子对其酚氧化酶活性的影响。研究表明,锯缘青蟹血蓝蛋白在没有任何诱导物作用的情况下表现出酚氧化酶活性,胰蛋白酶对此活性有轻微抑制作用;与对照组相比, $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Cu}^{2+}$  能使血蓝蛋白酚氧化酶活性显著增强,增强率分别为 281% 和 273%;EDTA 可显著抑制  $\text{Cu}^{2+}$  对血蓝蛋白酚氧化酶活性的激活作用,抑制率达 78.5%。由此可知,锯缘青蟹血蓝蛋白确有酚氧化酶活性,且受  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$  等金属离子作用的影响。

**关键词:**锯缘青蟹; 血蓝蛋白; 酚氧化酶活性

中图分类号:Q956

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2009)01-0046-05

## Studies on Phenoloxidase Activity of Hemocyanin in *Scylla serrata*

CHEN Feng-ju<sup>1</sup>, YAN Fang<sup>2</sup>, YANG Ping<sup>2</sup>

(1 School of Life Science, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China;  
2 College of Science, Shantou University, Shantou 515063, China)

**Abstract:**To investigate the phenoloxidase activity of hemocyanin from crab, *Scylla serrata*, and the effects of some metallic ions on it, the methods of affinity chromatography, PAGE, SDS-PAGE, Western-blot and phenoloxidase activity measurement were used. The results indicated that hemocyanin showed phenoloxidase activity without any inductor and trypsin could inhibit the activity slightly. Compared with control group,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Cu}^{2+}$  could enhance its phenoloxidase activity at an enhancement rate of 281% and 273%, respectively; EDTA could inhibit the activation by  $\text{Cu}^{2+}$  remarkably at an inhibitory rate of 78.5%. It is concluded that hemocyanin of *Scylla serrata* actually had phenoloxidase activity which was influenced by  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Cu}^{2+}$ .

**Key words:** *Scylla serrata*; hemocyanin; phenoloxidase activity

血蓝蛋白(Hemocyanin)是位于节肢动物和软体动物血淋巴中的含铜呼吸蛋白,脱氧状态为无色,结合氧状态为蓝色。一般认为,血蓝蛋白的主要生物学功能与机体内的输氧有关,它与血红蛋白(Hemoglobins)和蚯蚓血红蛋白(Hemerythreins)并称为动物界中的3种呼吸蛋白<sup>[1]</sup>。酚氧化酶(Phenoloxidase, PO)是甲壳动物防御系统的重要组成部分,在识别异物、促进血细胞吞噬、产生杀灭和排除异物等免疫功能方面发挥着重要的作用<sup>[2]</sup>。近年来研究发现,血

蓝蛋白在物理化学性质、基因序列以及蛋白质结构等方面与酚氧化酶非常相似<sup>[3-5]</sup>,Burmester<sup>[6]</sup>和 Immesberger 等<sup>[7]</sup>推断血蓝蛋白可能是在大约 55 亿年前由酚氧化酶进化而来。另有研究报道,血蓝蛋白在一定条件下可正反馈调节酚氧化酶活性<sup>[8]</sup>。一些研究也证实了血蓝蛋白在一些激活剂作用下可表现出酚氧化酶活性,如 Decker 等<sup>[9]</sup>报道狼蛛 *Tarantula* 血蓝蛋白在胰蛋白酶或胰凝乳蛋白酶水解下可表现出酚氧化酶活性;Pless 等<sup>[10]</sup>发现巨型深海大虱

收稿日期:2008-04-21

作者简介:陈锋菊(1973—),女,土家族,讲师,硕士,E-mail:chenfengju526@163.com

基金项目:广东省自然科学基金(06027212);汕头市科技计划项目(2006-148)

*Bathynomus giganteus* 血蓝蛋白在十二烷基磺酸钠 (Sodium dodecylsulfate, SDS) 诱导下可表现出 *o*-双酚氧化酶活性;严芳等<sup>[11]</sup> 研究发现凡纳滨对虾 *Litopenaeus vannamei* 血蓝蛋白在胰蛋白酶诱导下也可表现出酚氧化酶活性. 然而迄今为止,锯缘青蟹 *Scylla serrata* 血蓝蛋白是否具有酚氧化酶活性在国内外鲜见报道. 本研究以锯缘青蟹血蓝蛋白为研究对象,采用酚氧化酶活性测定方法,探讨血蓝蛋白的酚氧化酶活性及影响因素,为血蓝蛋白免疫学特性的进一步研究奠定基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料和试剂

1.1.1 试验材料 锯缘青蟹购于汕头市鮑浦农贸市场,平均体质量为(150±30)g.

1.1.2 试剂 兔抗血蓝蛋白抗血清由汕头大学理学院现代生物技术研究室免疫接种制备;溴化氰活化 Sepharose-4B: AMRESCO 公司产品;L-DOPA: Sigma 公司产品, $\beta$ -巯基乙醇、丙烯酰胺、双丙烯酰胺、三羟甲基氨基甲烷、SDS、考马斯亮蓝 G-250、二氨基联苯胺(DAB)、丽春红 S、胰蛋白酶等试剂:购于上海 Sangon 生物工程有限公司;其他所用试剂均为国产分析纯.

### 1.2 方法

1.2.1 锯缘青蟹血清的制备 按王雷等<sup>[12]</sup> 报道的方法进行. 将青蟹洗净擦干,剪肢放血,收集于 1.5 mL Eppendorf 管中,4℃静置过夜,3 000 r/min 离心 20 min, -20℃保存备用.

1.2.2 亲和层析纯化血蓝蛋白 按 Zhang 等<sup>[13]</sup> 报道的方法进行. 取血蓝蛋白抗血清适量,硫酸铵分级沉淀,将纯化所得抗体与溴化氰活化的 Sepharose-4B 偶联(质量比为 1:100),常规方法装柱,将适量锯缘青蟹血清加入柱床,依次进行孵育、洗脱、透析、浓缩和蛋白浓度测定,小量分装后 -20℃保存备用.

1.2.3 聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE) 取 1.2.2 制备的浓缩样品 20  $\mu$ L (50  $\mu$ g/mL),与加样缓冲液等体积混合,采用 3% 浓缩胶、10% 分离胶按常规方法电泳、染色和脱色.

1.2.4 SDS-PAGE 和 Western-blot 分析 取 1.2.2 制备的浓缩样品 20  $\mu$ L (50  $\mu$ g/mL),按常规方法进行 SDS-PAGE 电泳(3% 浓缩胶,8% 分离胶),待电泳结束后,50 V 恒压电转过夜,丽春红 S 总蛋白显色, TBS(20 mmol/L Tris,150 mmol/L NaCl,pH7.4)充分洗涤,*w* 为 5% 的脱脂奶粉 37℃封闭 1 h,分别与兔抗血蓝蛋白抗血清(1:100)和羊抗兔 IgG-HRP

(1:500) 室温摇床孵育 2 和 1 h, TBS 洗涤 3 次,每次 10 min, DAB 显色, GDS8000PC-凝胶成像及分析系统扫描和分析.

1.2.5 锯缘青蟹血蓝蛋白酚氧化酶活性的测定 参照 Ashida<sup>[14]</sup> 的方法进行. 分试验组和对照组,分别做 3 次重复. 对照组以蒸馏水替代血蓝蛋白,试验组将 80  $\mu$ L 0.1 mg/mL 锯缘青蟹血蓝蛋白与 100  $\mu$ L 0.1 mol/L pH 6.0 的磷酸钾缓冲液混匀,均经 37℃水浴 30 min,然后加入 3 mL 0.1 mol/L pH 6.0 的磷酸钾缓冲液与 100  $\mu$ L 0.01 mol/L 的 L-DOPA 混匀,每隔 1 min 读取  $D_{490\text{ nm}}$  值,以试验条件下每分钟  $D_{490\text{ nm}}$  增加 0.001 为 1 个酶活力单位(U). 然后,以 0.1 mol/L pH 6.0 的磷酸钾缓冲液替代胰蛋白酶作为对照组,以 80  $\mu$ L 0.1 mg/mL 血蓝蛋白与 100  $\mu$ L 1 mg/mL 的胰蛋白酶作为试验组,其他同上,测定胰蛋白酶对锯缘青蟹血蓝蛋白酚氧化酶活性的影响情况.

1.2.6 血蓝蛋白酚氧化酶活性影响因素分析 试验方法同 1.2.5,以血蓝蛋白加入 0.1 mol/L pH 6.0 的磷酸钾缓冲液作为对照组,以血蓝蛋白分别加入 5 mmol/L 的  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  等金属离子作为第 1 试验组,经 37℃水浴适量时间后,加入 3 mL 0.1 mol/L pH 6.0 的磷酸钾缓冲液与 100  $\mu$ L 0.01 mol/L 的 L-DOPA,混匀后读取  $D_{490\text{ nm}}$ ,分析血蓝蛋白酚氧化酶活性的变化情况. 在此基础上,以血蓝蛋白分别加入 5 mmol/L 的  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  以及 20 mmol/L 的 EDTA 分别联合  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  等作为第 2 试验组,其他同上,分析血蓝蛋白酚氧化酶活性的变化情况.

把对照组的酚氧化酶活性水平定为 100%,在此基础上,试验组所表现出的酚氧化酶活性水平即为其酚氧化酶的相对活性.

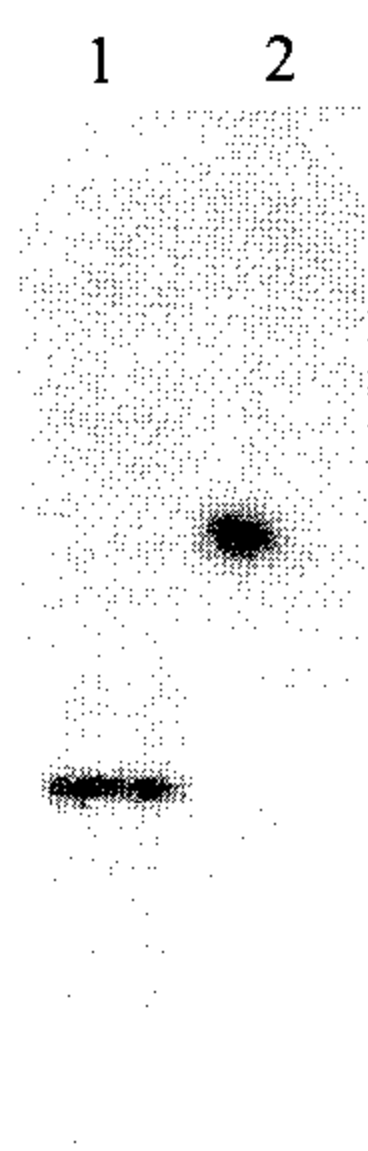
1.2.7 统计分析 所有测定结果均以平均数±标准差( $n \geq 3$ )表示,采用 *t*-检验进行统计学显著性分析.

## 2 结果与分析

### 2.1 血蓝蛋白的纯化与鉴定

由图 1 可知,亲和层析纯化蛋白 PAGE 电泳表现为单一条带,说明运用亲和层析纯化的蛋白成分单一. 为了进一步对该纯化产物进行鉴定,紧接着进行 SDS-PAGE 和 Western-blot 分析,结果如图 2 所示,纯化产物表现为相对分子质量为 98 400、83 200、79 400、75 900 和 64 600 的 5 个条带,说明此蛋白含 5 个不同的亚基,且与兔抗血蓝蛋白抗血清呈显著阳性,即可以发生特异性结合. 说明,该纯化蛋白确实

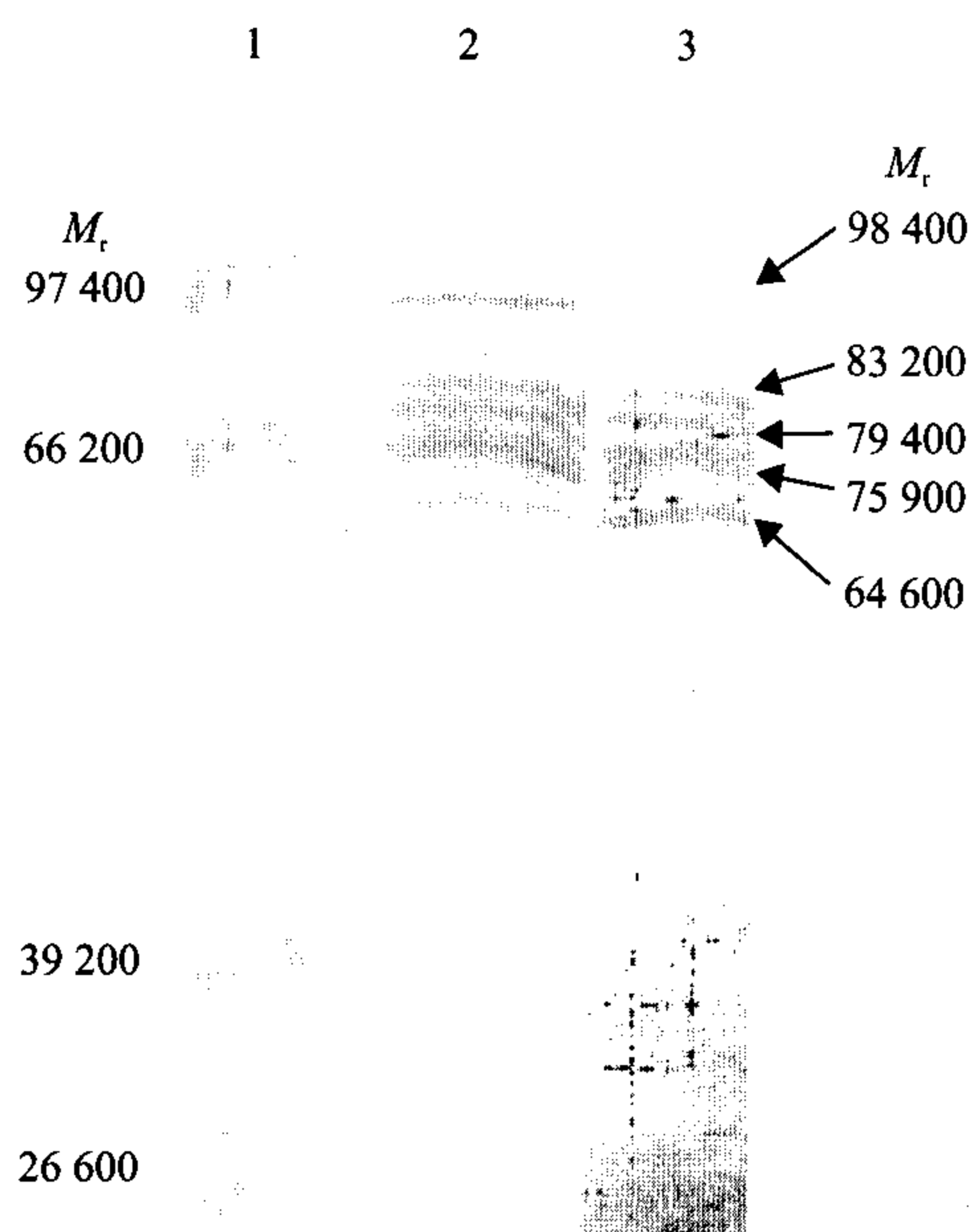
是锯缘青蟹血蓝蛋白.



1:标准蛋白质(牛血清白蛋白);2:亲和层析纯化蛋白

图1 锯缘青蟹血清的亲和层析纯化蛋白 PAGE 分析

Fig. 1 PAGE analysis of protein purified by affinity chromatography from *Scylla serrata* serum



1:标准蛋白质(牛血清白蛋白);2:亲和层析纯化蛋白 SDS-PAGE;  
3:亲和层析纯化蛋白 Western-blot 分析

图2 锯缘青蟹血清的亲和层析纯化蛋白 SDS-PAGE 和 Western-blot 分析

Fig. 2 SDS-PAGE and Western-blot analysis of protein purified by affinity chromatography from *Scylla serrata* serum

## 2.2 锯缘青蟹血蓝蛋白酚氧化酶活性的测定

由图3可知,在以蒸馏水替代血蓝蛋白作为对照组和不加任何诱导剂的条件下,锯缘青蟹血蓝蛋白经37℃水浴30min过程中其 $D_{490\text{nm}}$ 不断上升.经 $t$ -检验,试验组的酚氧化酶活性与对照组之间具有极显著性差异( $P < 0.01$ ).说明锯缘青蟹血蓝蛋白不需要任何诱导剂即可表现出较强的酚氧化酶活性.由图4可知,与不加胰蛋白酶的对照组相比,锯缘青蟹血蓝蛋白在胰蛋白酶诱导下的酚氧化酶活性有所下降,经 $t$ -检验,抑制作用不显著( $P > 0.05$ ).

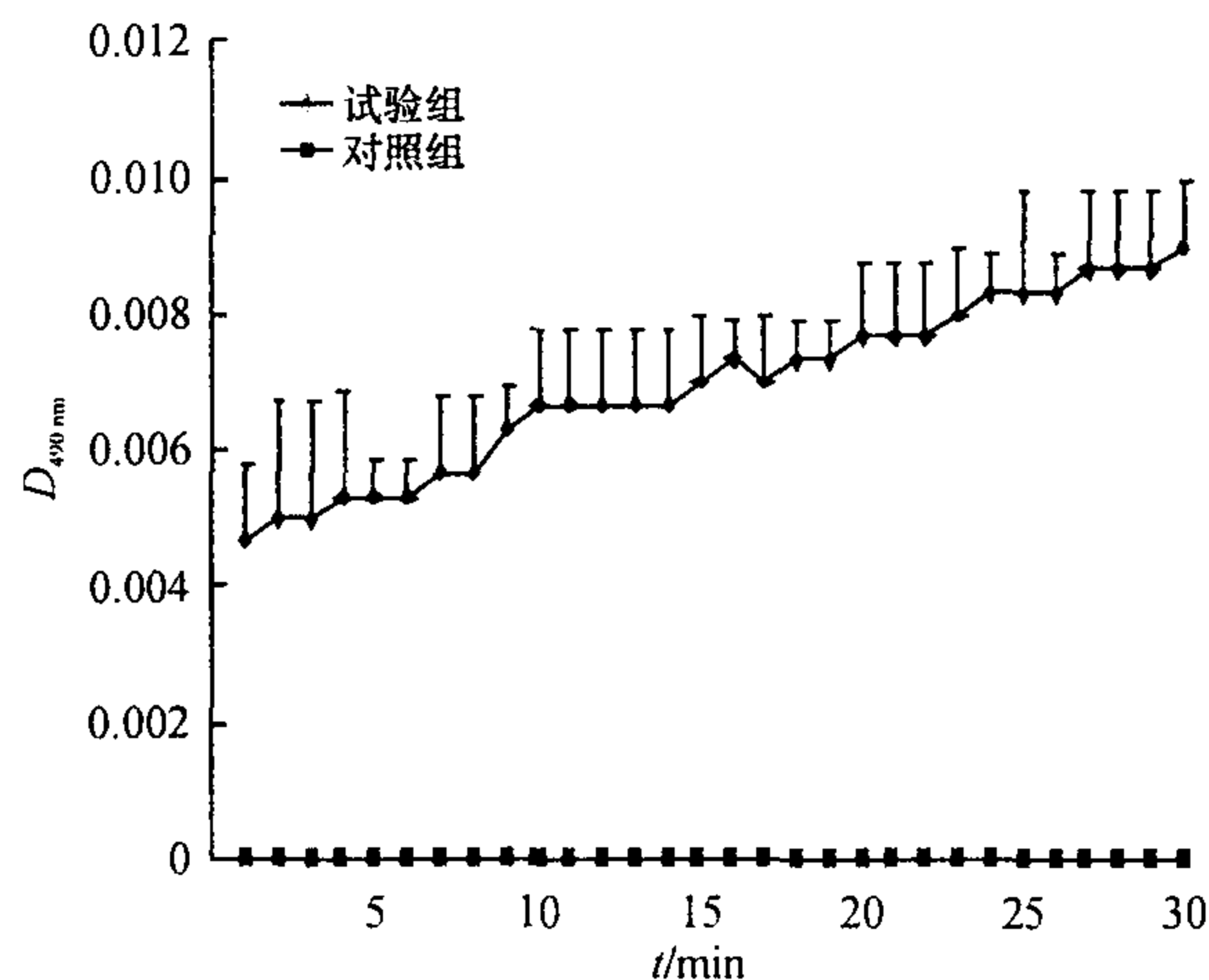


图3 锯缘青蟹血蓝蛋白酚氧化酶活性动力学曲线

Fig. 3 Kinetic curve of phenoloxidase activity of *Scylla serrata*'s hemocyanin

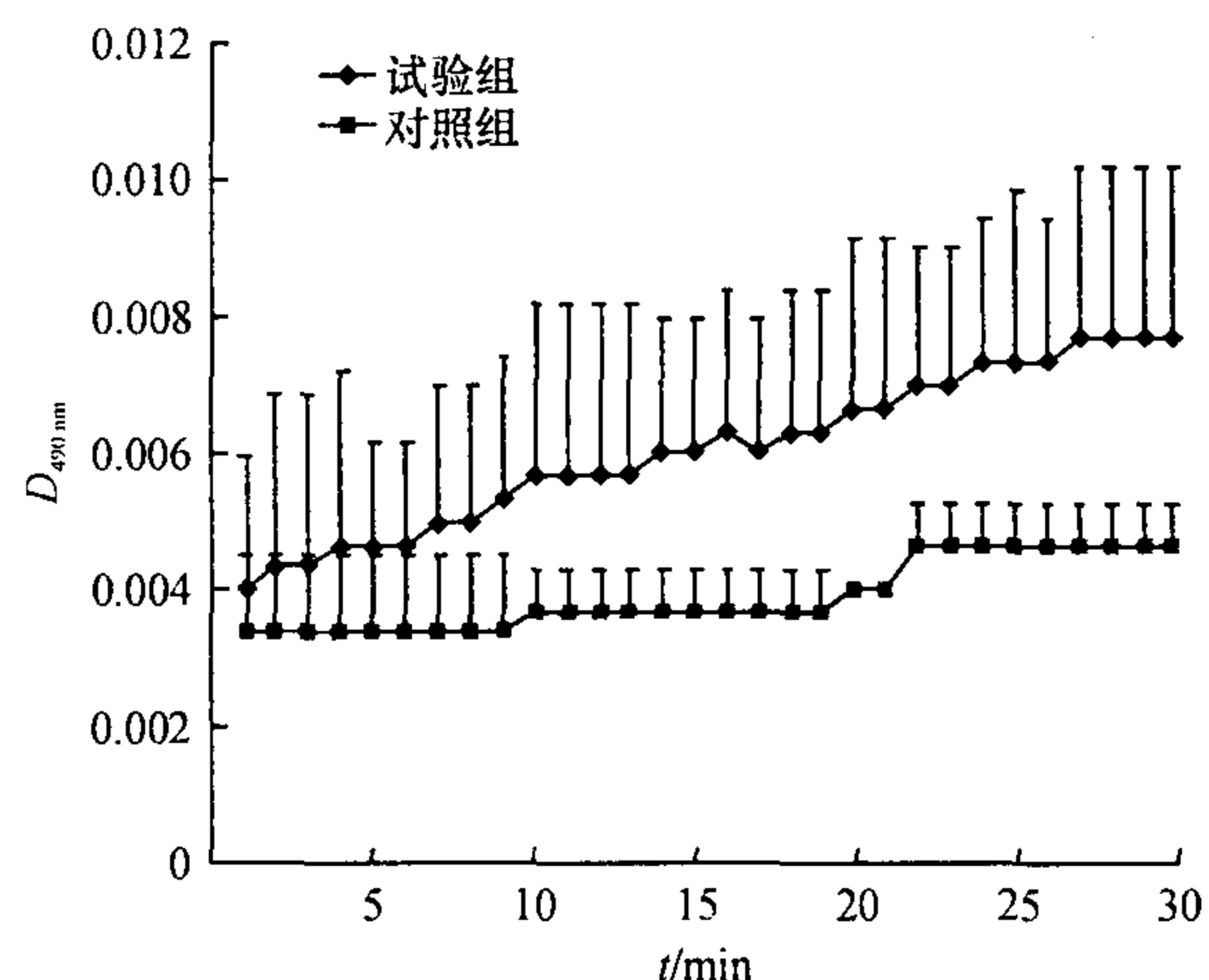


图4 胰蛋白酶对锯缘青蟹血蓝蛋白酚氧化酶活性影响的动力学曲线

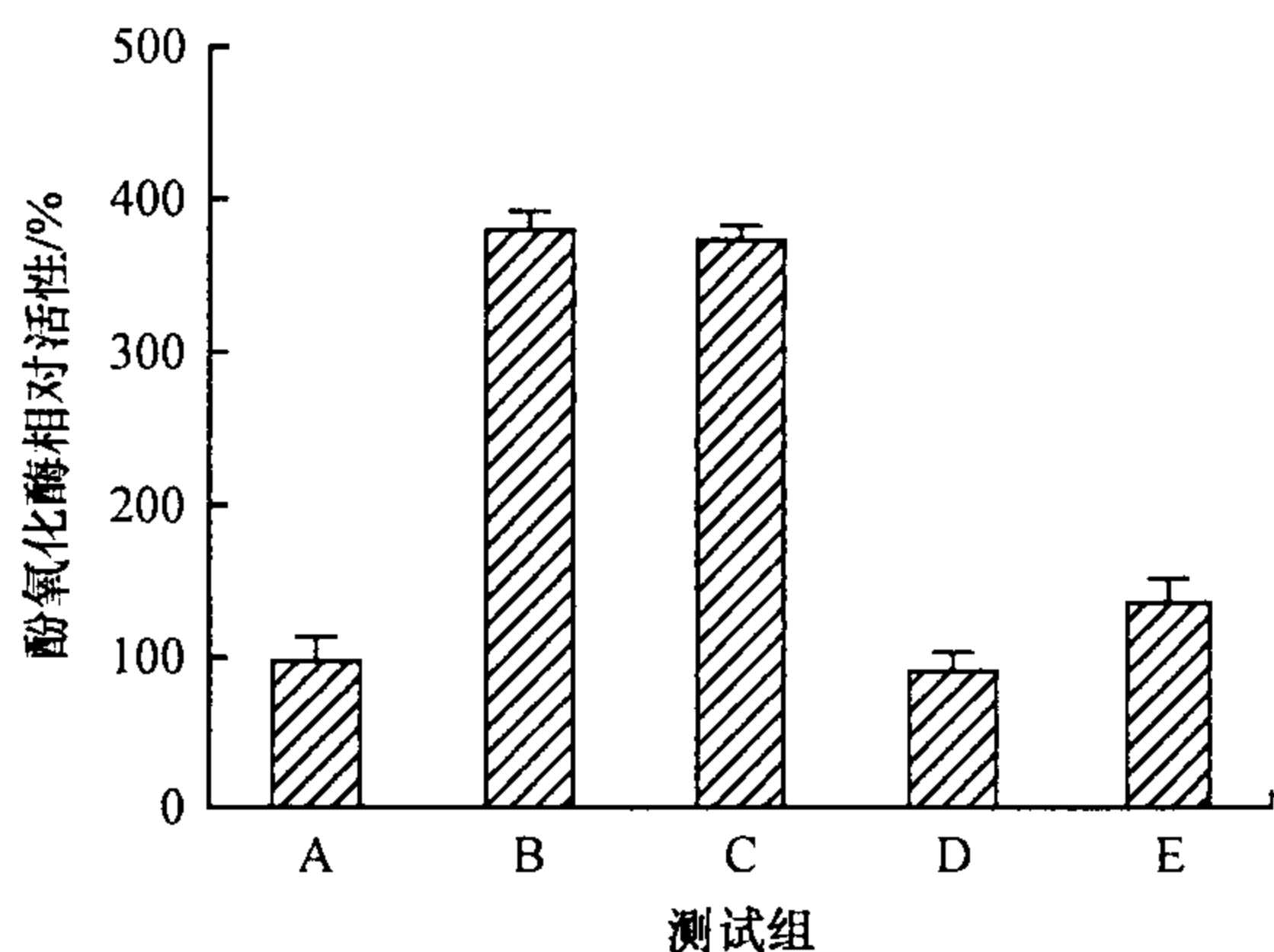
Fig. 4 Kinetic curve of phenoloxidase activity of *Scylla serrata*'s hemocyanin under trypsin

## 2.3 锯缘青蟹血蓝蛋白酚氧化酶活性影响因素分析

以 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 等为效应物,测定金属离子对血蓝蛋白酚氧化酶活性的影响(图5).结果发现,不同金属离子对血蓝蛋白酚氧化酶活性有不同的影响,其中 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Cu}^{2+}$ 能使血蓝蛋白酚氧化酶活性显著增强,增强率分别为281%和273%.经 $t$ -检验, $\text{Ca}^{2+}$ 组与对照组之间具有极显著性差异( $P < 0.01$ ), $\text{Cu}^{2+}$ 组与对照组之间具有显著性差异( $P < 0.05$ ); $\text{Zn}^{2+}$ 使该酶活性稍有增强, $\text{Mg}^{2+}$ 对该酶活性有轻微抑制作用,但两者的作用均不显著( $P > 0.05$ ).

为了进一步分析 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Cu}^{2+}$ 对锯缘青蟹血蓝蛋白酚氧化酶活性的激活作用,本研究选用EDTA对其进行考察,结果如图6所示,与只加 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 的组相比,添加EDTA后可不同程度地抑制 $\text{Ca}^{2+}$ 和

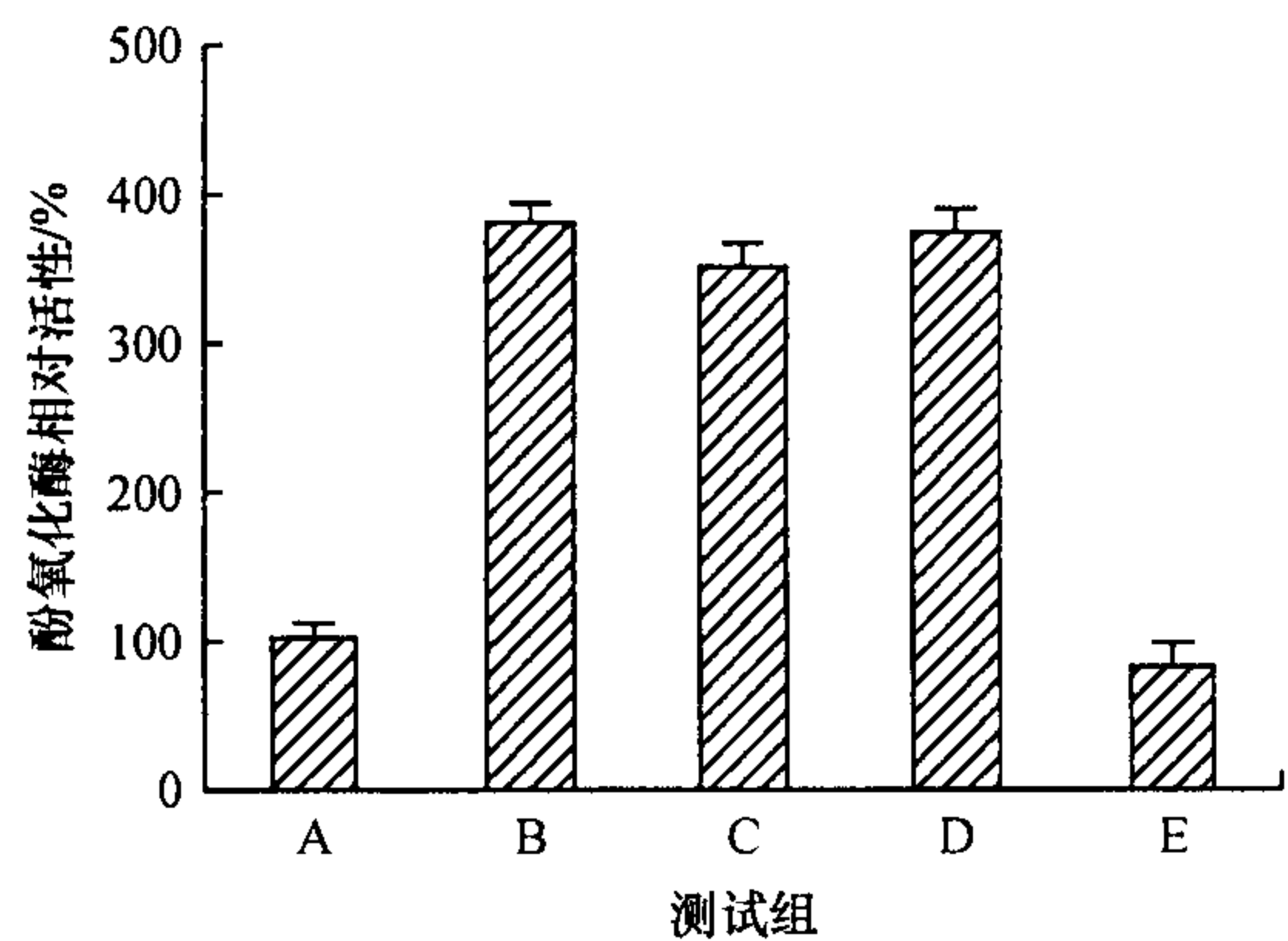
$\text{Cu}^{2+}$  对血蓝蛋白酚氧化酶活性的激活作用,抑制率分别为 8% 和 78.5%。经  $t$ -检验,添加了 EDTA 的  $\text{Cu}^{2+}$  组的抑制作用非常显著 ( $P < 0.01$ ),添加了 EDTA 的  $\text{Ca}^{2+}$  组的抑制作用不显著 ( $P > 0.05$ )。



A: 对照组; B:  $\text{Ca}^{2+}$  (5 mmol/L); C:  $\text{Cu}^{2+}$  (5 mmol/L); D:  $\text{Mg}^{2+}$  (5 mmol/L); E:  $\text{Zn}^{2+}$  (5 mmol/L)

图5 不同金属离子对锯缘青蟹血蓝蛋白酚氧化酶活性的影响

Fig. 5 Effect of different metallic ions on phenoloxidase activity of *Scylla serrata*'s hemocyanin



A: 对照组; B:  $\text{Ca}^{2+}$  (5 mmol/L); C:  $\text{Ca}^{2+}$  (5 mmol/L) + EDTA (20 mmol/L); D:  $\text{Cu}^{2+}$  (5 mmol/L); E:  $\text{Cu}^{2+}$  (5 mmol/L) + EDTA (20 mmol/L)

图6 EDTA 对不同金属离子激活锯缘青蟹血蓝蛋白酚氧化酶活性作用的影响

Fig. 6 Effect of EDTA on different metallic ions' phenoloxidase activation of *Scylla serrata*'s hemocyanin

### 3 讨论与结论

近年来研究表明,位于节肢动物和软体动物血淋巴中的血蓝蛋白是一种多功能蛋白,它不仅具有输氧功能,而且具有免疫防御功能以及酚氧化酶活性<sup>[9-10,15]</sup>。为此,血蓝蛋白的免疫学活性尤其是酚氧化酶活性的研究目前正引起学术界的高度关注。本研究选用锯缘青蟹为研究对象,在分离、纯化和鉴定其血蓝蛋白的基础上,采用酚氧化酶活性测定方法

考察其血蓝蛋白的酚氧化酶活性。发现锯缘青蟹血蓝蛋白确实具有酚氧化酶活性,与既往研究报道一致<sup>[9-11,15-18]</sup>。但本研究发现锯缘青蟹血蓝蛋白在没有任何诱导剂的条件下即表现出酚氧化酶活性,而在胰蛋白酶诱导下,其酚氧化酶活性反而有所下降,与 Decker 等<sup>[9]</sup>以及严芳等<sup>[11]</sup>报道的胰蛋白酶可激活血蓝蛋白酚氧化酶活性的结论不一致。这可能与血蓝蛋白的种属差异有关,也可能是一种新的作用机制,还可能是胰蛋白酶对其酚氧化酶活性中心进行了水解,从而引起其空间构象发生变化使其活性中心的活性降低所致,至于其确实情况还有待于进一步研究和探索。

本试验结果表明, $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Ca}^{2+}$  对锯缘青蟹血蓝蛋白酚氧化酶的活性均有显著影响,其中, $\text{Ca}^{2+}$  能使血蓝蛋白的酚氧化酶活性极显著地增强,此结果与陆宏达等<sup>[19]</sup>及杨进孙等<sup>[20]</sup>的报道相吻合; $\text{Cu}^{2+}$  也能使血蓝蛋白的酚氧化酶活性显著增强,这与汪小锋等<sup>[21]</sup>以及 Liu 等<sup>[22]</sup>的研究结果不一致,可能是血蓝蛋白发挥酚氧化酶活性与酚氧化酶发挥活性的作用机制不同所致。

本试验还发现,EDTA 可显著抑制  $\text{Cu}^{2+}$  对血蓝蛋白酚氧化酶活性的激活作用,而对  $\text{Ca}^{2+}$  引起的激活作用仅有轻微的抑制作用。提示,EDTA 作为一种代表性的二价阳离子螯合剂,对  $\text{Cu}^{2+}$  的络合力可能远远大于对  $\text{Ca}^{2+}$  的络合力,导致血蓝蛋白对  $\text{Cu}^{2+}$  的竞争处于劣势,而生成的 EDTA-铜盐严重抑制了含铜呼吸蛋白——血蓝蛋白的酚氧化酶活性。

综上所述,锯缘青蟹血蓝蛋白在没有任何诱导物的作用下即表现出酚氧化酶活性,且  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$  等能显著增强锯缘青蟹血蓝蛋白的酚氧化酶活力,可为青蟹养殖中免疫增强剂的研发与使用提供参考。

#### 参考文献:

- [1] TERWILLIGER N B. Function adaptations of oxygen-transport proteins [J]. J Exp Biol, 1998, 201: 1085-1098.
- [2] 肖克宇. 水产动物免疫与应用[M]. 北京:科学出版社, 2007:119-120.
- [3] PAUL R J, PIROW R. The physiological significance of respiratory proteins in invertebrates [J]. Zoology, 1998, 100:319-327.
- [4] SCHWEIKARDT T, JAENICKE E, DECKER H. Homology modelling of hemocyanins and tyrosinases: pitfalls in automated approaches [J]. Micron, 2004, 35: 97-98.

- [5] ASPAN A, HUANG T S, CERENIUS L, et al. cDNA cloning of prophenoloxidase from the fresh crayfish *Pacifastacus leniusculus* and its activation [J]. PNAS, 1995, 92:939-943.
- [6] BURMESTER T. Evolutionary history and diversity of arthropod hemocyanins [J]. Micron, 2004, 35:121-122.
- [7] IMMESBERGER A, BURMESTER T. Putative phenoloxidases in the tunicate *Ciona intestinalis* and the origin of the arthropod hemocyanin superfamily [J]. J Comp Physiol: B, 2004, 174(2): 169-180.
- [8] 章跃陵, 王三英, 刘光明, 等. 南美白对虾血蓝蛋白对酚氧化酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2005, 12(4): 402-406.
- [9] DECKER H, RIMKE T. Tarantula hemocyanin shows phenoloxidase activity [J]. J Biol Chem, 1998, 273: 25889-25892.
- [10] PLESS D, AGUILER M, FALCON A, et al. Latent phenoloxidase activity and N-terminal amino acid sequence of hemocyanin from *Bathynomus giganteus*, a primitive crustacean [J]. Arch Biochem Biophys, 2003, 409: 402-410.
- [11] 严芳, 章跃陵, 罗活强, 等. 凡纳滨对虾血蓝蛋白酚氧化酶活性的研究[J]. 水产科学, 2008, 27(1): 5-8.
- [12] 王雷, 李光友, 毛远兴. 口服免疫药物后中国对虾某些血淋巴因子的测定及方法研究[J]. 海洋与湖沼, 1995, 26(1): 34-41.
- [13] ZHANG Yue-ling, WANG San-ying, PENG Xuan-xian. Identification of a type of human IgG-like protein in shrimp *Penaeus vannamei* by mass spectrometry [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2004, 301: 39-54.
- [14] ASHIDA M. Purification and characterization of prophenoloxidase from hemolymph of the silk worm *Bombyx mori* [J]. Arch Biochem Biophys, 1971, 144: 749-762.
- [15] DECKER H, JAENICKE E. Recent findings on phenoloxidase activity and antimicrobial activity of hemocyanins [J]. Dev Comp Immuno, 2004, 28: 673-687.
- [16] NAGAI T, KAWABATA S. A link between blood coagulation and prophenol oxidase activation in arthropod host defense [J]. J Biol Chem, 2000, 275: 29264-29267.
- [17] ZLATEVA T, DIMURO P, SALVATO B, et al. The *o*-diphenol oxidase activity of arthropod hemocyanin [J]. FEBS Lett, 1996, 384: 251-254.
- [18] SIDDIQUI N I, PRÉAUX G, GIELENS C. Intrinsic and induced *o*-diphenoloxidase activity of  $\beta$ -hemocyanin of *Helix pomatia* [J]. Micron, 2004, 35: 91-92.
- [19] 陆宏达, 刘凯, 张明辉. 中华绒螯蟹血淋巴中酚氧化酶的部分生化特性[J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(3): 236-241.
- [20] 杨进孙, 唐小牛, 周书林. EDTA 与金属离子对钉螺酚氧化酶活性的影响[J]. 中国病原生物学杂志, 2007, 2(6): 457-459.
- [21] 汪小锋, 樊廷俊. 中国对虾酚氧化酶的部分生物化学特性的初步研究[J]. 海洋科学, 2003, 27(4): 71-75.
- [22] LIU Guang-xing, YANG Ling-ling, FAN Ting-jun. Purification and characterization of phenoloxidase from crab *Charybdis japonica* [J]. Fish & Shellfish Immuno, 2006, 20: 47-57.

【责任编辑 李晓卉】

## 欢迎订阅 2009 年《华南农业大学学报》

《华南农业大学学报》是华南农业大学主办的综合性农业科学学术刊物。本刊主要报道农业各学科的科研学术论文、研究简报、综述等, 设有农学·园艺·土壤肥料、植物保护、生物学、林业科学、动物科学与兽医学、农业工程与食品科学、信息科学、基础科学、综述、简报等栏目。本刊附英文目录和英文摘要。

本刊为《中国科学引文数据库》、《中国科技论文统计源(中国科技核心期刊)》及《中国学术期刊综合评价数据库》等固定刊源, 并排列在中国科学引文数据库被引频次最高的中国科技期刊 500 名以内。被《中文核心期刊要目总览》遴选为综合性农业科学核心期刊、植物保护类核心期刊。为美国《化学文摘》、美国《剑桥科学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、英国《CABI》、英国《动物学记录》、《中国生物学文摘》及国内农业类文摘期刊等国内外多家著名文摘固定刊源。

国内外公开发行人、季刊、A4 幅面。每期 124 页, 定价 5.00 元, 全年 20.00 元、自办发行, 参加全国非邮发报刊联合征订发行, 非邮发代号: 6573。

订阅办法: 订阅款邮汇至: 300385 天津市大寺泉集北里别墅 17 号, 全国非邮发报刊联合征订服务部。

《华南农业大学学报》编辑部