

橙色大白菜原生质体的游离和纯化

武云霞¹, 张鲁刚¹, 张华敏¹, 付文婷¹, 胥宇建¹, 关清华²

(1. 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨陵 712100; 2 太原市园林水系管理处, 山西 太原 030002)

摘要:以橙色大白菜金冠2号为试材,就其子叶及下胚轴原生质体游离、纯化方法及影响因素等进行了研究。结果表明:适宜金冠2号子叶原生质体游离的条件为CPW+DPD培养基+0.8%纤维素酶R-10+0.1%离析酶R-10+0.5 mol/L甘露醇+10 mM CaCl₂·2H₂O+0.7 mM KH₂PO₄+0.1% MES,酶解温度27℃,酶解时间2 h,产量达3.52×10⁶个/g·FW,活力60.3%;适宜金冠2号下胚轴原生质体游离的条件为CPW+DPD培养基+1.5%纤维素酶R-10+0.3%离析酶R-10+0.5 mol/L甘露醇+10 mM CaCl₂·2H₂O+0.7 mM KH₂PO₄+0.1% MES,酶解时间18 h,产量达2.20×10⁶个(g·FW),活力63.7%。而且以21%蔗糖,800 rpm等密度梯度法离心5 min纯化原生质体效果最佳。

关键词:橙色大白菜;原生质体;游离;纯化;活力

中图分类号:S 634.103.6 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2009)10-0016-05

植物原生质体即去掉细胞壁的细胞,高等植物的原生质体是遗传转化研究十分理想的受体,可以有目的地转入特定基因,改良作物的产量、品质、抗逆性等^[1];原生质培养是细胞工程的核心内容,也是植物细胞工程技术的重要组成部分,在植物的快速繁殖、实现植物远缘遗传重组,尤其是多基因控制的性状,以及创造新类型及品种改良上具有广阔的应用前景^[2]。原生质体培养再生植株过程中,往往会产生无性系变异,同时原生质体培养还可以用来进行突变体的分离和纯化、种质的超低温保存;原生质体也可以通过理化诱变,选出有利用价值的突变体^[5]。然而,应用原生质体操作必须建立在其原生质体有效分离技术基础之上。

现对橙色大白菜原生质体游离及纯化条件进行研究,旨在建立高效的原生体分离技术体系,为橙色大白菜原生质体培养、遗传转化和细胞融合等研究提供大量、优质的原生质体。

1 材料与方法

1.1 试验材料

第一作者简介:武云霞(1983-),女,山西临汾人,在读硕士,现主要从事蔬菜育种与生物技术研究工作。E-mail: wuyx2009@yahoo.cn。

通讯作者:张鲁刚(1963-),男,陕西岐山人,教授,博士生导师,现主要从事蔬菜育种与生物技术研究工作。E-mail: lurgangzh@163.com。

基金项目:农业部公益性行业科研专项资金资助项目(nyhyzx07-007);陕西省13115工程资助项目(2007ZDKG-05)。

收稿日期:2009-05-16

供试材料橙色大白菜(金冠2号)由西北农林科技大学园艺学院蔬菜花卉研究所白菜研究室提供。

1.2 试验试剂

质壁分离液和原生质体清洗液分别为CPW-13M和CPW-9M即CPW溶液附加13%和9%的甘露醇,pH 5.8。CPW液为水溶液,含KH₂PO₄ 27.2 mg/L、KNO₃ 101 mg/L、CaCl₂·2H₂O 1 480 mg/L、MgSO₄·7H₂O 240 mg/L、CuSO₄·5H₂O 0.025 mg/L、KI 0.16 mg/L,pH 5.7。酶解液为CPW-9M附加纤维素酶、离析酶和MES,pH 5.7。所有试剂及原生质体培养基、稀释培养基均经0.22 μm微孔滤膜抽滤灭菌,所有培养基pH调整为5.7(纤维素酶R-10、离析酶R-10购于西安沃尔森公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 无菌苗的培养 种子先流水冲洗10~20 min,用70%酒精消毒30 s,在10%的次氯酸钠溶液中浸25 min,浸泡过程中不断摇晃,使种子表面得到充分消毒,再用无菌水冲洗4~6次,接种于MS(蔗糖30 mg/L+琼脂7 mg/L,pH 5.8)培养基上,每个三角瓶接种30粒种子。培养室光照强度为2 250 lx,光照时间为16 h/d,温度为(25±1)℃。

1.3.2 原生质体的制备 原生质体游离及纯化:取萌发不同时间无菌苗的外植体1 g,切成约0.5 mm大小的细条,置于盛有CPW-13M(含13%甘露醇)溶液的培养皿(直径7.5 cm)中,在室温下质壁分离0.5~1.0 h。然后转入10 mL一定浓度的酶解混合液(pH 5.7)中,于(40 rpm)摇床上黑暗室温酶解2 h后,经2层孔径为300目纱布过滤,将滤液收集到10 mL的尖底螺旋盖离心管中,以50 rpm离心5 min,

弃上清液,再用 CPW-9M (含 9%甘露醇)溶液洗涤 2 次,将留下的原生质体悬浮于 2 mL CPW-9M 溶液中,然后在另一支 10 mL 的尖底刻度离心管中加入 8 mL CPW-21S(含 21%蔗糖),在此液面上缓缓加入上述的 2 mL 原生质体悬浮液,离心之后在两液面之间形成一绿色的原生质体带。用移液枪小心吸取漂浮于溶液界面间的原生质体于另外一离心管中,加入原生质体培养基离心,稀释到一定体积后收集原生质体备用^[4]。原生质体产量和活力的测定:用移液枪移取原生质体悬浮液于血球计数板上,压片后置于显微镜下观察计数。每处理重复 3 次,取平均值,最后按公式计算出原生质体产量,再经换算得原生质体的总数平均数及其标准差、每克鲜重子叶的原生质体数量。数据处理采用 SAS8.1 专业版本。

原生质体的浓度(个/mL)=5 个大格内原生质体总数/5×16×10⁴×稀释倍数;原生质体的产量[个/(g·FW)]=原生质体的浓度×稀释后体积/子叶的质量用甘露醇(W=9%)的 CPW 溶液配制 W=0.1%的 Evans Blue 染色液,过滤灭菌备用。取 1 μL 原生质体悬浮液滴在载玻片上,滴加 1 μL Evans Blue 染色液于原生质体上,盖上盖玻片,片刻后在显微镜下观察,被染上蓝色的是死原生质体,而活原生质体不染色,每个样品重复 3 次,按下式计算原生质体的活力:原生质体活力=(未被染上蓝色的原生质体数/观察的原生质体总数)×100%。原生质体活力以一个视野中有活力的原生质体占该视野中原生质体总数的百分数来表示,选取 3 个有代表性的视野进行统计^[5]。

2 结果与分析

2.1 酶的浓度对原生质体产量和活力的影响

酶是影响原生质体游离最重要的因素,主要降解构成植物细胞壁的纤维素、半纤维素和果胶质。而酶解处理就是要用最低的酶浓度和最短的酶解时间获得大量有活力的原生质体。在原生质体分离过程中,不同种类的酶及其浓度对原生质体产量和活力都有较大影响。用无菌苗 06J45 的子叶和金冠 2 号的下胚轴对不同的酶解浓度进行了研究,试验处理中酶液浓度的组合设计参照侯喜林^[5]等的研究。在同一纤维素酶浓度下,随离析酶 R-10 浓度的提高,原生质体活力降低,产量先增加而后降低,这可能是由于高浓度的离析酶对原生质体的毒害和损伤较为严重,从而导致完整的原生质体减少^[6]。表 1 所示,当酶液中含有 1% Macerozyme R-10 和 0.5% 离析酶 R-10 时,酶解物中存在大量碎片;在所试验的酶液组合中,以 0.8% Cellulase Onozuka R-10+0.1%离析酶 R-10 的酶液组合,金冠 2 号无菌苗子叶原生质体分离效果最好,产量可达 3.52×10⁶个/(g·FW),活力可高达 60.3%,且原生质体完整程度较好。

表 2 所示,以 1.5% Cellulase Onozuka R-10+0.3%离析酶 R-10 的酶液组合,金冠 2 号无菌苗下胚轴原生质体分离效果最好,产量可达 2.2×10⁶个/(g·FW),活力可高达 63.7%,且原生质体完整程度较一致。

表 1 不同酶液配比对子叶原生质体产量的影响

Table 1 Effects of different concentration of enzyme solution on the yield of cotyledon protoplasts

纤维素酶浓度 /%	离析酶浓度 /%	原生质体产量 /×10 ⁶ 个·(g FW) ⁻¹	活力/%
1	0.5	0.89cde	22.3de
1	0.3	1.70cd	29.0d
1	0.1	1.82c	37.7bc
0.8	0.5	1.45cde	26.3de
0.8	0.3	3.04b	43.7b
0.8	0.1	3.52a	60.3a
0.6	0.5	0.82de	19.0e
0.6	0.3	0.83de	25.7de
0.6	0.1	0.71e	30.0cd

注:9 种酶液均附加 10 mM CaCl₂·2H₂O+0.7 mM KH₂PO₄+0.5 M 甘露醇+0.1%MES,酶解 2 h。

表 2 不同酶液配比对下胚轴原生质体产量的影响

Table 2 Effects of different concentration of enzyme solution on the yield of hypocotyl protoplasts

纤维素酶浓度 /%	离析酶浓度 /%	原生质体产量 /×10 ⁶ 个·(g FW) ⁻¹	活力/%
2	0.1	1.17c	49.3bc
1.5	0.5	0.78cd	42.3c
1.5	0.3	2.20a	63.7a
1.5	0.1	1.23c	53.0b
1	0.5	1.73b	51.0bc
1	0.3	1.03cd	46.3bc
1	0.1	0.64d	32.7d

注:9 种酶液均附加 10 mM CaCl₂·2H₂O+0.7 mM KH₂PO₄+0.5 M 甘露醇+0.1%MES,酶解 18 h。

2.2 不同苗龄对原生质体产量和活力的影响

用不同苗龄金冠 2 号的子叶和下胚轴对原生质体产量和活力进行了研究。结果如表 3,萌发 6 d 的无菌苗子叶的原生质体的产量和活力都较低,体积较小,且细胞碎片较多。随着无菌苗苗龄的延长,原生质体的产量和活力相应提高,8 d 无菌苗子叶原生质体活力(60.3%)与产量(3.52×10⁶个/(g·FW))分别达到最高,10 d 的无菌苗子叶原生质体产量和活力开始下降。

下胚轴分离原生质体的适宜苗龄与子叶不同。萌发 4 d 的无菌苗下胚轴所分离的原生质体很小,叶绿体多;8、10、12 d 所分离出的原生质体比较大,容易破碎,活力较低,且大小不均一;而 6 d 苗龄所分离的原生质体产量和活力都高于其他天数。

2.3 酶解时间对原生质体产量和活力的影响

比较了酶解 1~4 h 对于大白菜子叶原生质体及 16~24 h 对于大白菜下胚轴原生质体的解离效果。结果如表 4 所示,酶解时间在 1~2 h 范围内,随酶解

时间的增加, 子叶原生质体产量提高, 酶解 2 h 时原生质体产量可达 3.52×10^6 个/(g · FW), 继续增加酶解时间原生质体产量下降, 同时可以观察到酶液中原生质体碎片增多。酶解时间在 16 ~ 18 h 内, 下胚轴原生质体的产量和活力也呈增长趋势, 18 h 时达 2.20×10^6 个/(g · FW), 之后逐渐降低。可见, 酶解时间过长会导致原生质体解体, 对原生质体活力也会造成不利影响。

表 3 不同苗龄对原生质体的影响

Table 3 Influences of different seedling age on the protoplasts			
外植体	培养时间/d	原生质体产量/ $\times 10^6$ 个 · (g FW) ⁻¹	活力/%
子叶	6	2.52b	42.0b
	8	3.52a	60.3a
	10	2.40b	37.0b
	12	0.86c	26.0c
	14	0.53c	18.3d
下胚轴	6	2.20a	63.7a
	8	1.77b	48.7b
	10	1.05c	29.7c
	12	0.52d	17.0d

注: 表 2 所用酶液组合为 0.8% 纤维素酶 + 0.1% 离析酶 R-10, 附加 10 mM CaCl₂ · 2H₂O + 0.7 mM KH₂PO₄ + 0.5 M 甘露醇 0.1% MES。

2.4 渗透压对原生质体产量和活力的影响

酶液中适当浓度的稳渗剂能防止脱壁的原生质体发生破裂, 起到保护作用。另外, 加入适量 CaCl₂ 也具有保护质膜作用。MES 可保持酶液中 pH 稳定性^[7]。在含 0.8% 纤维素酶 + 0.1% 离析酶 R-10 + 10 mM CaCl₂ · 2H₂O + 0.7 mM KH₂PO₄ + 0.5 M 甘露

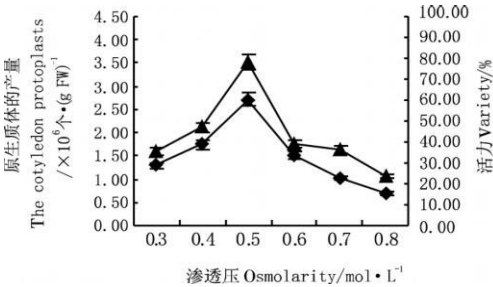


图 1 渗透压对子叶原生质体分离的影响

Fig.1 Influences of osmolarity on the cotyledon protoplasts

2.5 离心对原生质体产量和活力的影响

对试验材料金冠 2 号的子叶游离出的原生质体采用过滤-离心-漂浮的方法进行纯化。纯化原生质体所需的蔗糖浓度、离心速度、离心时间采用 3 × 3 复拉丁方设计筛选。

结果如表 5 所示, 18%、25% CPW-蔗糖溶液漂浮效果不如 21% CPW-蔗糖溶液漂浮效果好。以 1 000 rpm 离心所得原生质体破碎较严重, 有活力的原生质体较少; 500 rpm 离心形成的界面不明显, 产量较低; 800 rpm 离心较好。离心时间过长也会对原生质体的

醇 + 0.1% MES 的 CPW 酶液条件下, 试验了不同甘露醇浓度对分离原生质体的影响。

表 4 酶解时间对原生质体的影响

Table 4 Influences of different enzymolysis time on the protoplasts

外植体	酶解时间/h	原生质体产量/ $\times 10^6$ 个 · (g FW) ⁻¹	活力/%
子叶	1	1.79bc	36.0c
	2	3.52a	60.3a
	3	2.41b	50.0b
	4	1.36c	25.7d
下胚轴	16	1.04c	24.3d
	18	2.20a	63.7a
	20	1.63b	55.3b
	24	1.37bc	43.0c

注: 表 3 所用酶液组合为 0.8% 纤维素酶 + 0.1% 离析酶 R-10, 附加 10 mM CaCl₂ · 2H₂O + 0.7 mM KH₂PO₄ + 0.5 M 甘露醇 0.1% MES。

用试验材料金冠 2 号以不同的渗透压对原生质体产量和活力进行了研究。图 1、2 表明, 在一定范围 (0.3 ~ 0.5 mol/L) 内, 随着甘露醇浓度的提高, 原生质体产量明显上升, 游离的原生质体圆球形, 胞质浓, 内含物丰富。当渗透压为 0.5 mol/L 时, 子叶原生质体的产量和活力达到最高, 分别为 3.52×10^6 个/(g · FW) 和 60.3%; 下胚轴原生质体的产量和活力也达到最高, 分别为 2.20×10^6 个/(g · FW) 和 63.7%。随着渗透压的进一步升高, 产量和活力都有所降低。

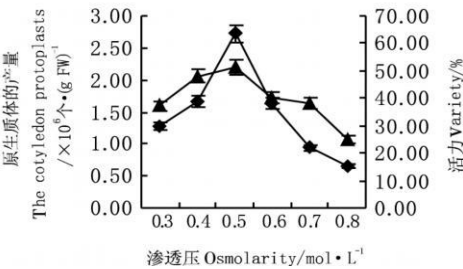


图 2 渗透压对下胚轴原生质体分离的影响

Fig.2 Influences of osmolarity on the hypocotyl protoplasts

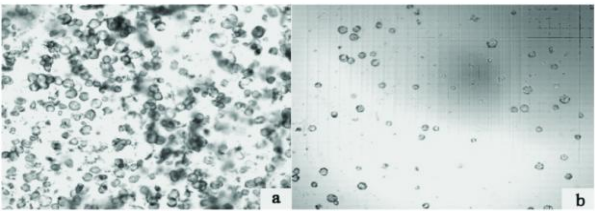


图 3 彩色大白菜原生质体的游离和纯化

注: a. 分离纯化前的原生质体, $\times 100$; b. 分离纯化后的原生质体, $\times 100$ 。

Fig.3 Isolation and purification of mesophyll protoplasts of orange-heading chinese cabbage

Note: a. Protoplasts before purification, $\times 100$; b. Protoplasts after purification, $\times 100$ 。

产量和活力造成一定的影响。因此,以 21% CPW-蔗糖溶液、800 rpm 离心 5 min,收集得到的原生质体破碎较少,杂质也较少。

表 5 纯化条件对子叶原生质体的影响

Table 5 Influences of purification condition on the cotyledon protoplasts

外植体	蔗糖浓度 / %	离心速度 / r · min ⁻¹	离心时间 / min	原生质体产量 / × 10 ⁵ 个 · (g FW) ⁻¹	活力 / %
子叶	18	1 000	9	0.40e	8.7f
	18	800	7	1.30de	17.7e
	18	500	5	1.93d	27.3cd
	21	1 000	9	0.97de	31.7c
	21	800	5	8.53a	63.7a
	21	500	7	5.33b	47.3b
	25	1 000	7	1.43d	21.7de
	25	800	9	4.80b	48.3b
	25	500	5	3.67c	25.0d

该试验用同样的方法对金冠 2 号无菌苗下胚轴所分离的原生质体进行了纯化离心,结果发现 21% CPW-蔗糖溶液、800 rpm 离心 5 min 同样适合于下胚轴原生质体的纯化。

3 讨论

橙色大白菜原生质体分离、纯化及活力检测是开展原生质体培养,进而进行基因转化、细胞融合研究的基础,获得大量优质、有活力的原生质体是橙色大白菜原生质体培养成败的关键条件之一^[8]。

植物材料原生质体分离和纯化与分离材料的类型和生理状态密切相关^[9]。在该试验条件下,原生质体得率是金冠 2 号材料子叶的产量高于下胚轴。子叶游离的原生质体较小、叶绿体多,而从下胚轴分离原生质体较大,较均匀。下胚轴切段应取靠子叶端 0.8~1.0 cm 长的苍白部分,超过 1 cm 长的下胚轴,原生质体少,细胞大而空,活力较低,易破裂,这与张兰英等^[10]在菜心上所得的结果一致。

不同的外植体用来分离原生质体所用的苗龄不同。萌发 8 d 的子叶原生质体产率高,10 d 以后子叶过老,造成原生质体解体死亡;萌发 6 d 的下胚轴分离原生质体的效果最好,萌发超过 8 d 后,其分离的原生质体产量和活力大幅度降低,不宜作为分离原生质体的材料。

对分离原生质体的材料作适宜的预处理,对保持原生质体的完整性及提高原生质体产量有促进作用,利于保持原生质体的良好状态^[11]。试验对外植体进行 0.5~1 h 质壁分离,一方面可缩短酶解时间、减小切割时间不一致对结果造成的误差,另一方面可以有效地减轻游离过程对原生质体的损伤,提高原生质体产量和活力。

原生质体分离过程中,酶种类搭配和浓度是最重要的。此外,酶解温度、酶解液的 pH 也会影响原生质体的产量和活力。该试验结果表明酶解温度为 (26 ± 1) °C、pH 5.7 时,酶解较好,原生质体活力较高。

酶液以 CPW 盐溶液和 DPD 培养液等体积配制,有助于保护细胞膜,保持其活性,对原生质体的进一步培养有很重要的作用。此结果与景艳春等^[12]对新疆杨叶肉原生质体游离和纯化的研究一致。

分离得到的原生质体失去细胞壁的保护作用,易于破裂。因此,需要一定的渗透剂来保持原生质体的活力。维持在高渗状态下,导致质壁分离,有利于酶解。较高浓度的甘露醇即较高的渗透压,可以阻止原生质体破裂和出芽,更有利于保持分离得到的原生质体的完整性,但是同时抑制原生质体的分裂^[14]。马锋旺^[14]等对中国李原生质体分离时发现,酶解液中低浓度的甘露醇 (0.3~0.4 mol/L) 分离的原生质体因过分吸胀而易破裂,高浓度 (0.8 mol/L) 时,原生质体有所收缩,活力下降,而 0.5~0.7 mol/L 的甘露醇分离的原生质体形态完整饱满。该试验结果表明,0.5 mol/L 的甘露醇适宜于大白菜原生质体的分离和纯化。

原生质体的纯化方法是影响原生质体产量及活力的重要因素之一。因为在纯化过程中要损失大量的原生质体,同时不适宜的离心速度、离心时间会大大地降低原生质体的活力。该试验采用拉丁方设计对纯化所需的条件进行了系统的研究,结果表明,以 21% CPW-蔗糖溶液、800 rpm 离心 5 min,收集得到的原生质体破碎较少,杂质也较少。此结果与范春丽^[4]等对甘蓝型黄籽油菜的纯化研究结果基本一致。

参考文献

- [1] 许智宏,卫志明.植物原生质体培养和遗传操作[M].上海:上海科学技术出版社,1997:2-6.
- [2] 李俊明.植物组织培养教程[M].北京:中国农业出版社,1992:274-275.
- [3] 孙勇如,安锡培.植物原生质体培养[M].北京:科学出版社,1991:7-10.
- [4] 范春丽,陶澜.甘蓝型黄籽油菜原生质体的游离和纯化[J].中国农学通报,2005,21(2):43-45.
- [5] 侯喜林,曹寿椿.不结球白菜子叶原生质体培养再生植株[J].南京农业大学学报,2000,23(4):17-20.
- [6] 陈泽雄,刘奕清.卡特兰叶片原生质体分离条件的研究[J].西南大学学报(自然科学版),2007,29(8):97-101.
- [7] 张学英,葛会波.草莓原生质体分离条件的研究[J].分子植物育种,2006,6(4):147-152.
- [8] 文仁来,阎文燕.玉米花冠愈伤组织原生质体分离纯化及活力检测[J].广西农业科学,2000(5):226-228.
- [9] Jourdan P S. Improved protoplast culture and stability of cytoplasmic traits in plants regenerated from leaf protoplasts of cauliflower (*Brassica Loeraces* ssp. botrytis)[J]. Plant, Cell, Tiss and Org. Cult, 1990, 21: 227-236.
- [10] 张兰英,李耿光.菜心下胚轴原生质体培养和植株再生[J].植物学报,1994,36(2):105-110.
- [11] 黄百渠.植物体细胞遗传学简明教程[M].长春:东北师范大学出版社,1991:121.
- [12] 景艳春,康向阳.新疆杨叶肉原生质体游离和纯化的研究[J].西北植物学报,2007,27(3):0509-0514.

[13] 韩清霞, 沈火林. 芹菜胚性细胞悬浮系原生质体分离及再生植株[J]. 园艺学报, 2007, 34(3): 665-670.

[14] 马锋旺, 李嘉瑞. 中国李原生质体培养及植株再生[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(3): 61-65.

The Proplast Isolation and Purification of Orange-heading Chinese Cabbage

WU Yun-xia¹, ZHANG Lu-gang¹, ZHANG Hua-ming¹, FU Wen-ting¹, XU Yu-jian¹, GUAN Qing-hua²

(1. College of Horticulture, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shanxi 712100, China; 2. Park River system of Taiyuan, Taiyuan, Shanxi 030002, China)

Abstract: Protoplasts of orange-heading chinese cabbage were isolated from cotyledons and hypocotyls. The different factors affecting the protoplasts yield and different methods of purification were investigated. The best enzyme solution of cotyledons contained CPW salts, DPD medium, 0.8% cellulase R-10, 0.1% macerozyme R-10, 0.5 mol/L mannitol incubated at 27 °C for 2 hours. The protoplasts yield was 3.52×10^6 /(g FW) and the viability was 60.3% under the condition. The best enzyme solution of hypocotyls contained CPW salts, DPD medium, 1.5% cellulase R-10, 0.3% macerozyme R-10, 0.5 mol/L mannitol incubated at 27 °C for 18 hours. The protoplasts yield was 2.20×10^6 /(g FW) and the viability was 63.7% under the condition. Moreover, the best protoplasts purification method was rising method with sucrose isodensity centrifugation at concentration of 30%, with the centrifugal speed of 800 rpm, and the centrifugal time of 5 min.

Key words: Orange-heading chinese cabbage; Proplast; Isolation; Purification; Viability

中国南方果树(双月刊)

农业部主管, 中国农业科学院柑桔研究所主办, 是我国南方和我国西部唯一的全国性果树技术类期刊。本刊坚持突出技术性, 兼顾学术性和综合性的办刊原则, 重点刊发报道我国柑桔及南方常绿果树和落叶果树新理论、新技术、新成果、新发展等相关学术论文和技术简介, 大力传播包括柑桔在内的南方果树科技创新新知识、提质增效新措施和产业良性发展新经验, 积极推进果树产业的技术进步和可持续发展。本刊也是我国发行量和广告发布量最大的果业期刊之一, 深受业界欢迎。欢迎

订阅, 欢迎投稿, 欢迎刊登广告。

本杂志为 16 开本, 72 页, 逢单月 20 日出版。每年 6 期, 每期定价 5 元, 全年价 30 元。邮发代号 78-13, 全国各地邮局(所)均可订阅。在邮局漏订者, 全年均可随时汇款到编辑部邮购, 平寄免收邮寄费, 挂号每册加收 3 元。年末可以代为制作合订本, 每册 50 元。

编辑出版:《中国南方果树》编辑部

联系电话:(023)68349196, 68349198(兼传真)

通信地址:重庆市北碚区歇马镇柑桔研究所 邮编:400712

投稿 E-mail:tougao@southfruit.com.cn

广告专用 E-mail:gg@southfruit.com.cn

中国果业信息(月刊)

★中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊

★中国期刊全文数据库全文收录期刊

★中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊

农业部主管, 中国农业科学院柑桔研究所主办, 中国第一本全方位报道中国果业产前、产中、产后的全产业链信息的综合指导类期刊, 是目前国内唯一国家级果树指导信息类刊物。本刊拥有覆盖全国果树产区 and 主要市场的庞大果树信息员、通讯员和专业作者队伍, 具有国际国内广泛、及时、全面、客观的果业信息源, 善于开展深入透彻的产业和产销形势分析, 读者群覆盖上至国家机关下至一线果农, 开设的产业论坛、决策探讨、国际视点、标准化建设、产业动态、市场行情、新品种新技术等栏目, 融新闻性、实用性、指导性、可读性于一体, 信息

量和专业服务特色在国内独树一帜, 是果树行业各级管理人员, 科研及技术推广人员, 专业户, 企业、协会工作人员, 水果生产者与经营者等业界人士的必备刊物; 是涉农企业展示形象、推销产品的理想平台。

本刊为大 16 开本, 64 页, 每月 20 日出版。全年 12 期, 每期定价 4 元, 全年价 48 元。邮发代号 78-10, 全国各地邮局(所)均可订阅。全年均可随时汇款到编辑部邮购, 平寄免收邮寄费, 挂号每册加收 3 元。年末可以代为制作合订本, 每册 60 元。

编辑出版:《中国果业信息》编辑部

联系电话:(023)68349199, 68349198(兼传真)

通信地址:重庆市北碚区歇马镇柑桔研究所

邮编:400712

投稿 E-mail:tougao@southfruit.com.cn

广告专用 E-mail:gg@southfruit.com.cn