

马铃薯晚疫病菌高灵敏性PCR检测技术研究

杨 帅, 闵凡祥, 高云飞, 郭 梅, 王文重, 魏 琪, 董学志, 吕典秋, 白艳菊*

(黑龙江省农业科学院植物脱毒苗木研究所, 哈尔滨 150086)

摘 要:由致病疫霉菌引起的马铃薯晚疫病是马铃薯生长期和储藏期的一种毁灭性病害。PCR检测技术已成为检测晚疫病致病菌的一种常规方法。本研究利用9对国内外已发表的晚疫病检测引物,通过对致病疫霉菌和其他5种常见的感染马铃薯的病原真菌进行PCR检测,筛选出Primer-4-2和Primer-5对晚疫病菌的特异性较好,而其他7对引物特异性较差或不具有特异性。在对带病薯块、植株及组培苗的样品检测中,引物Primer-4-2特异性优于Primer-5,能够实现对不同晚疫病样品的检测,其引物灵敏度检测为10 pg/μL。

关键词:马铃薯晚疫病;PCR检测;特异性;灵敏度

中图分类号:S435.32

文献标识码:A

文章编号:1003-8701(2016)04-0079-07

Studies on High Sensibility PCR Detection Technology for Potato Late Blight

YANG Shuai, MIN Fanxiang, GAO Yunfei, Guo Mei, WANG Wenzhong, WEI Qi, DONG Xuezhi, LYU Dianqiu, BAI Yanju*

(Virus-free Seedling Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: Potato late blight is a devastating disease which caused by *Phytophthora infestans* during the growth and storage period. Up to now, PCR detection technology has become a routine way to detect the pathogen. In the present study, nine detecting primers of *Phytophthora infestans* which have been published in China and abroad were used to detect the specificity of *Phytophthora infestans* with other 5 common pathogens which also could infect potato by PCR technology. The results showed that both Primer-4-2 and Primer-5 have a good specific to distinguish the pathogen, and the specificity of other 7 primers was poor or not. Compared with these two primers, the specificity of primer-4-2 was better than primer-5, and it could give a good detection on different diseased samples included tubers, plant tissues and plantlets. The sensitivity of primer-4-2 reached to 10 pg/μL.

Key words: Potato late blight; PCR detection; Specificity; Sensitivity

马铃薯晚疫病是马铃薯生产上具有毁灭性危害的一种世界性病害^[1],每年给全球的马铃薯生产造成巨大经济损失^[2]。其病原致病疫霉菌[*Phytophthora infestans*(Mont.)de Bary]通过孢子侵染不仅可以引起生长季马铃薯植株茎叶萎蔫、枯死,而且还能潜存于块茎中引起腐烂,成为次年晚疫病发生的主要初侵染源^[3]。自1840年该病造成爱尔兰大饥荒以来^[4],对马铃薯晚疫病的研究一直是国内外学者关注的焦点和热点。近年来,随着对晚疫病菌表现型和基因型研究的更加深入,

致病疫霉菌A2交配型在世界各国被陆续发现是马铃薯晚疫病再度频繁发生和流行的主因^[5],并再次引起了国际社会的极大关注^[6]。

随着致病疫霉菌的群体结构日趋复杂,其在马铃薯生产上造成的危害也日益严重。其不仅在生长季节造成危害,在储藏期引发的贸易纠纷也日趋频繁,其原因可能是感病薯块初期无明显症状而往往被当做健康薯进行储藏,但在库房温湿度条件适宜时导致晚疫病发生,并通过薯块伤口扩大侵染,使薯块表现出干腐、湿腐、软腐等复合侵染病症。对于这种样品,单单使用目测、镜检等传统的形态学方法很难进行区分,因此,在生产上急需一种快速、准确的晚疫病检测方法。目前,基于真菌rDNA中ITS区的特殊性^[7],检测真菌的rDNA-ITS已经成为一种广泛应用的病害检测技术。在马铃薯晚疫病检测方面,关于常规PCR、nest PCR、RT-qPCR等技术的应用相关报道较多,

收稿日期:2016-03-17

基金项目:现代农业产业技术体系(CARS-10-P14);科技部“十二五”农村领域国家科技计划研究课题(2012BAD06B02);国际合作项目(2014DFG32260)

作者简介:杨 帅(1982-),男,助理研究员,博士,主要从事马铃薯真菌病害研究。

通讯作者:白艳菊,女,研究员,E-mail: yanjubai@163.com

但由于在检测对象、检测范围、准确性以及灵敏度方面各有不同,且其中部分方法对仪器设备、操作技术要求较高,使得马铃薯生产者很难真正将相关技术应用于晚疫病检测环节中。因此,为了充分发挥PCR技术在病害检测中的重要作用,解决马铃薯生产者实际需求,本研究在查阅国内外相关文献基础上,通过比较常规PCR方法,对收集的9对马铃薯晚疫病检测引物进行筛选,并应用最佳引物用于不同样品状态的晚疫病病原检测,以期建立一套经济成本低、检测效果好且易于推广应用的检测方法,从而为我国马铃薯生产中晚疫病的预测防控提供指导。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试样品:供试马铃薯晚疫病样品于2013年采自黑龙江省马铃薯主要生产田。用消毒小刀在健康薯块上切一小口,然后将病叶的单个病斑剪

下并夹入薯块中,再用吸水纸和线绳包扎好后放入纸袋中带回实验室。具体信息见表1。

供试菌株:对表1中列出的29份马铃薯晚疫病叶片样品的病原致病疫霉菌(*Phytophthora infestans*)进行常规分离纯化后,采用单孢分离法于18℃下黑麦培养基中避光培养,备用^[8]。

对照菌株:选用马铃薯生产中主要的病原真菌作为对照菌株。包括引起溃疡病的立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*),引起早疫病的茄链格孢菌(*Alternaria solani*),引起干腐病的接骨木镰刀菌(*Fusarium sambucinum*)、燕麦镰刀菌(*Fusarium avenaceum*)及茄镰孢蓝色变种镰刀菌(*Fusarium solani* var. *coeruleum*)。以上菌株为本实验室保存的菌株,使用时用PDA培养基活化。

1.2 供试引物

通过查阅国内外文献,收集马铃薯晚疫病检测引物9对,具体见表2。

表1 马铃薯晚疫病检测样品信息表

样品类型	数量	采集时间	地点	品种	症状描述
叶片	5	2013年6月	呼兰庆平村	Favorita	叶缘具有明显褐色水浸状病斑,且叶背有白色霉层的带病叶片
	4	2013年6月		克新-13	
	7	2013年7月	肇东五里明	Favorita	
	5	2013年7月	克山农场	克新-13	
	4	2013年7月		Favorita	
	4	2013年7月		尤金-885	
块茎	6	2013年10月	克山农场	Favorita	具有典型晚疫病症状的薯块和具有复合侵染症状的薯块
	2	2013年10月		克新-13	
	4	2013年10月	呼兰庆平村	Favorita	
	4	2013年10月		尤金-885	
	5	2013年10月	肇东五里明	Favorita	
	3	2013年10月		尤金-885	
带病组培苗	11	2014年1月	哈尔滨	Favorita	接种晚疫病菌组培苗1周后未表现出症状的叶片(有部分叶片叶缘变为红褐色)

表2 马铃薯晚疫病菌PCR检测引物表

名称	引物序列(5'-3')	引物原名	条带(bp)	文献
Primer-1-F	AAGATGATGTTGGATGATTG	08-1	245	[9]
Primer-1-R	TGCCTGATTCTACCTTCT	08-2	245	
Primer-2-F	GAAAGGCATAGAAGGTAGA	08-3	258	
Primer-2-R	TAACCGACCAAGTAGTAAA	08-4	258	
Primer-3-F	GCCGCCGACATATTGAAT	AE7-1	171	[10]
Primer-3-R	CAAATCTGCGAACGAGACAT	AE7-2	171	
Primer-4-F	GCGTTGGGACTCCGGTCTGAGC	Pi1S-1	350/550	
Primer-4-R-1	CGCAAGACACTTCACATCTGGG	Pi2A-1	350	
Primer-4-R-2	CGCCACAGGAGGAAAATCAC	Pi2A-2	550	

续表 2

名称	引物序列(5'-3')	引物原名	条带 (bp)	文献
Primer-5-F	CGATTCAAATGCCAAGCTAAAG	PINF2	456	[11]
Primer-5-R	GCATCGATGAAGAACGCAGC	ITS3	456	
Primer-6-F	TGGGCGAGCCCTATCAAAA	Forward	613	[12]
Primer-6-R	CGATTCAAATGCCAAGCTAA	Reverse	613	
Primer-7-F	CGGTTGGTTTTTCGGACCGA	INF1	324	[13]
Primer-7-R	CATTTCCTCAAATGGATCGACC	INF2	324	
Primer-8-F	CTCGCTACAATAGGAGGGTC	PINF	600	[14]
Primer-8-R	GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG	ITS5	600	

1.3 总 DNA 的提取及检测

将实验室分离纯化的致病疫霉菌,以及 5 种对照菌株在适宜条件下培养,参照 Goodwin 等的方法^[15],并稍做改进提取菌株总 DNA,同时提取健康的马铃薯 DNA。提取 DNA 经微量分光光度计测定浓度和纯度后,以比值 A_{260}/A_{280} 在 1.8~2.0 之间(无蛋白污染)的 DNA 为 PCR 扩增的模板。

1.4 PCR 扩增及产物检测

PCR 反应条件:首先,94℃预变性 5 min;然后 94℃变性 30 s,各引物设定退火温度下退火 30 s,72℃延伸 90 s,32 个循环,最后 72℃延伸 10 min;4℃保存。

PCR 反应体系:依据 TransGen 生物技术有限公司的 2×PCR Mix 说明书,设置 25μL 反应体系,包括:由 2×PCR buffer 12.5μL、ddH₂O 9.5μL、DNA 模板 1μL、上下游引物(10 pmol/μL)各 1μL,混匀后置于 TaKaRa-TP600 PCR 仪中扩增。

电泳检测:PCR 扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳后利用凝胶成像仪在紫外光下检测并拍照。

1.5 特异性引物筛选及样品验证

分别使用 1.2 中的 9 对引物对经纯化后的致病疫霉菌及其他 5 种主要病原真菌进行 PCR 检测,初步筛选出对晚疫病特异性好的引物。

初筛获得的引物经退火温度优化后,分别用于检测带病植株、带病薯块及实验室内人工接菌的组培苗,进一步筛选和验证所选引物的实际检测效果。同时,将获得的 PCR 扩增特异性目的片段送上海生物工程技术服务有限公司测序,并通过 BLAST 进行序列验证。

1.6 引物灵敏度测定

采用 10 倍浓度系列稀释法,将提取的致病疫霉菌 DNA 从 μg 逐级稀释至 fg 水平,浓度依次为 500 ng/μL,300 ng/μL,100 ng/μL,50 ng/μL,10 ng/μL,1 ng/μL,100 pg/μL,10 pg/μL,1 pg/μL,100 fg/μL,

10 fg/μL,1 fg/μL,然后在优化的 PCR 反应条件下对筛选引物进行灵敏度测定。

2 结果与分析

2.1 总 DNA 的提取

致病疫霉菌、立枯丝核菌、茄链格孢菌及引起马铃薯干腐病的 3 种镰刀菌菌株 DNA 和健康无病的马铃薯 DNA 提取后经电泳检测显示(图 1)纯度较好,没有杂带,经微量分光光度计检测其 A_{260}/A_{280} OD 比值均介于 1.8~2.0 之间。

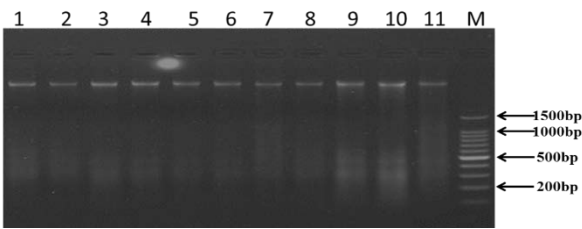


图 1 马铃薯及 6 种病原真菌的基因组 DNA

1~2: 健康马铃薯;3~4: 致病疫霉菌;5~6: 立枯丝核菌;7~8: 茄链格孢菌;9: 接骨木镰刀菌;10: 燕麦镰刀菌;11: 茄镰孢蓝色变种镰刀菌;M: 100 bp 梯度 DNA 分子量标准

2.2 致病疫霉菌检测引物的筛选

用 Primer-1~Primer-8 对致病疫霉菌进行 PCR

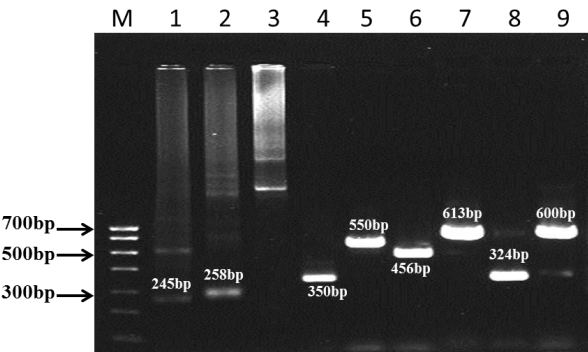


图 2 9 对引物对马铃薯晚疫病病菌的检测结果

M: 700 bp 梯度 DNA 分子量标准;1: Primer-1;2: Primer-2;3: Primer-3;4: Primer-4-1;5: Primer-4-2;6: Primer-5;7: Primer-6;8: Primer-7;9: Primer-8

扩增,结果显示(图2),9对引物均能扩出特异性条带,但Primer-1~Primer-3的扩增条带存在弥散和非特异性扩增,因此被排除,选择其他6对引物进行进一步筛选。

选择引物Primer-4~Primer-8对致病疫霉菌菌株及其他5种病原真菌进行扩增,以健康马铃薯DNA为阴性对照,结果表明(图3),只有引物primer-4-2和primer-5从致病疫霉中扩增出单一

扩增产物,其片段分别为550 bp和456 bp,无其他非特异性条带出现,而其他4对引物在从致病疫霉菌中扩增出特异性目的条带的同时,也不同程度的在其他5种病原真菌DNA中扩增出大小相同PCR产物,因此,从检测效果上看,可以初步确定引物Primer-4-2和Primer-5在晚疫病检测中具有较高特异性,可用于进一步筛选。

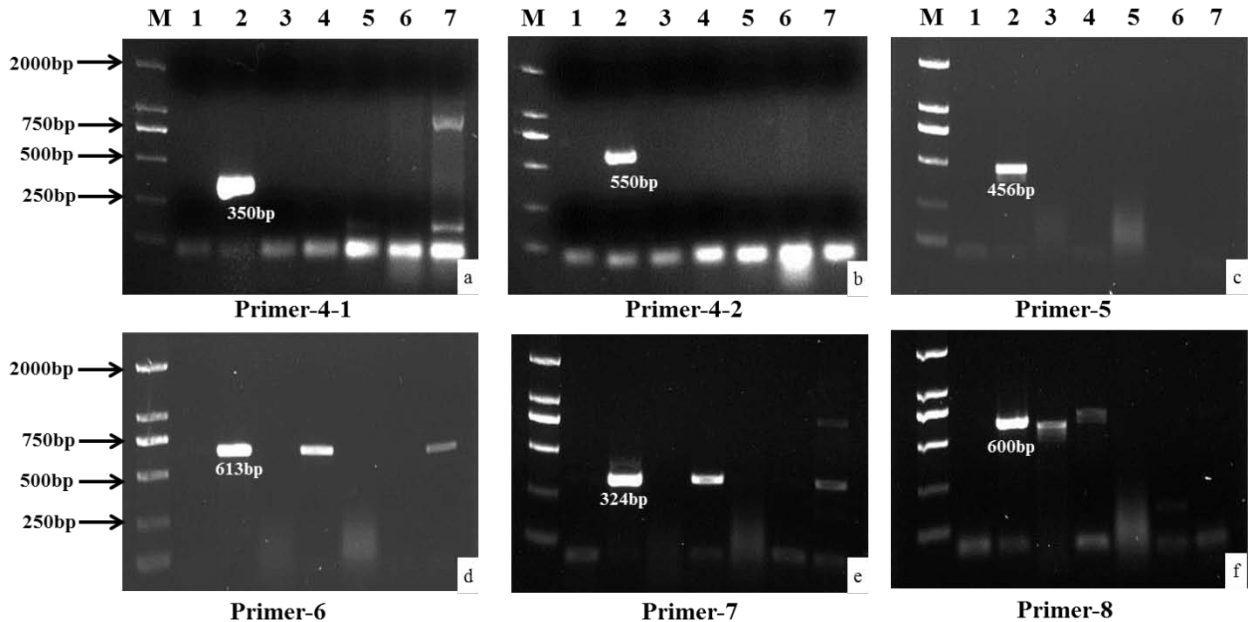


图3 引物primer-4~primer-8对6种马铃薯致病真菌检测电泳图

M:DL2000 DNA分子量标准;1:阴性对照;2:致病疫霉菌;3:立枯丝核菌;
4:茄链格孢菌;5:接骨木镰刀菌;6:茄科变种镰刀菌;7:燕麦镰刀菌

2.3 样品检测及序列验证

2.3.1 引物退火温度的优化

以文献中退火温度为参考,分别设置引物primer-4-2和primer-5的退火温度梯度为:48,50,52,54,56,58,60℃和55,57,59,61,63,65,67℃,

电泳结果显示(图4),两引物在所设7个温度梯度下,均能获得目的片段,其中,primer-4-2在设定范围内均表现出强特异性,primer-5在57~65℃之间特异性好。本试验选择54℃和59℃作为下一步样品验证的最佳退火温度。

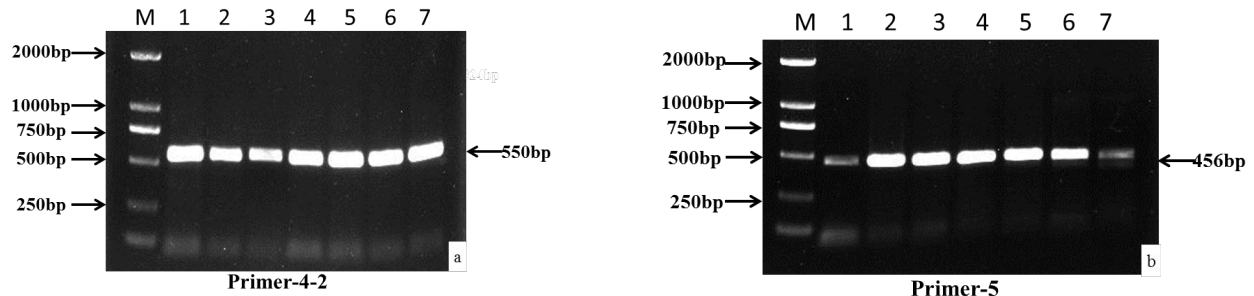


图4 Primer-4-2和Primer-5退火温度优化

M:DL 2000 DNA分子量标准;a:1~7的退火温度依次为48,50,52,54,56,58,60℃;
b:1~7的退火温度依次为55,57,59,61,63,65,67℃

2.3.2 特异性引物样品验证

利用引物primer-4-2和primer-5分别对采自不同地点的带病薯块、植株病叶及实验室人工接

种晚疫病菌的组培苗进行检测,部分电泳对比结果见图5~图7,引物primer-4-2对带病薯块、植株和试管苗均具有很好的检测效果,不仅能得到特

异性目的条带,而且产物扩增效率较高、条带清晰可见。而引物 primer-5 只能够从部分带病薯块和试管苗中检测出目的条带,且扩增产物效率较

低,条带明显弱于引物 primer-4-2,因此,引物 primer-4-2 更适合作为晚疫病检测特异性引物。

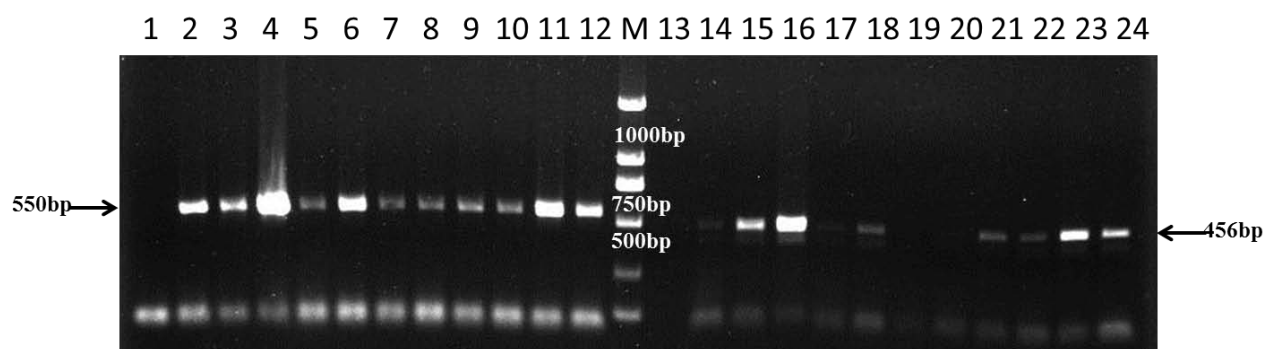


图5 Primer-4-2和Primer-5对11个带病薯块的检测

M:DL2000 DNA 分子量标准;1和13:阴性对照;2~12:Primer-4-2;14~24:Primer-5

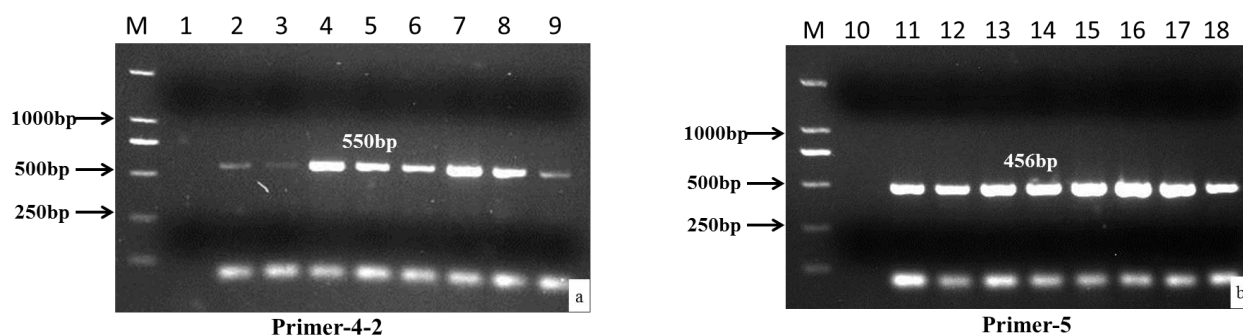


图6 引物Primer-4-2和Primer-5对带病植株的检测

M:DL2000 DNA 分子量标准;1:阴性;2~9:Primer-4-2;10:阴性;11~18:Primer-5

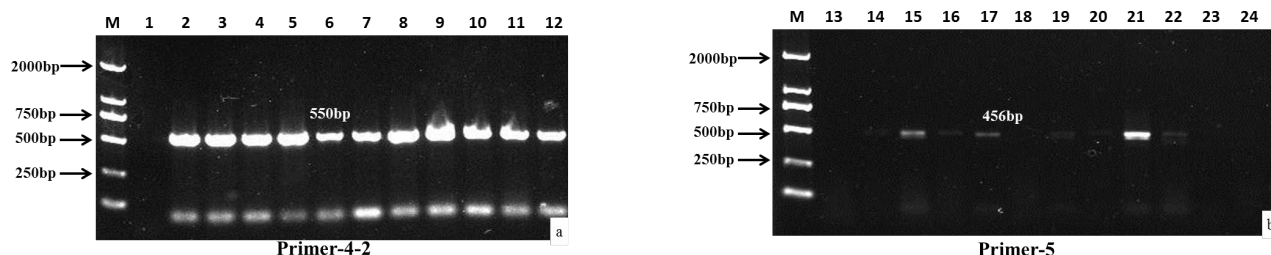


图7 引物Primer-4-2和Primer-5对11株带病试管苗的检测电泳图

M:DL2000 DNA 分子量标准;1:阴性;2~12:Primer-4-2;13:阴性;14~24:Primer-5

2.3.3 扩增片段的序列验证

取引物 Primer-4-2 对晚疫病样品的 PCR 产物进行测序,所得序列结果如下(下划线位置为引物):GCGTTGGGACTCCGCTCTGAGCTAGTAGCTTT TTTATTTTAAACCTTTACTTAATACTGATTATACT GTGGGACGAAAGTCTCTGCTTTTAACTAGATAGC AACTTTCAGCAGTGGATGTCTAGGCTCGCACATCG ATGAAGAACGCTGCGAACTGCGATACGTAATGCC AATTGCAGGATTCAGTGAGTCATCGAAATTTTGAA CGCATATTGCACTTCCGGGTTAGTCCTGGAAGTAT GCCTGTATCAGTGTCCGTACAACAACTTGGCTTT CTCCTTCCGTGTAGTCGCTGAGGAGATGCCAGA

TGTGAAGTGTCTTGGCGTTGGTTTTTCGGACCGACT GCGAGTCCTTTTAAATGTACTAACTGTACTTCTC TTTGCTCCAAAAGTGGTGGCATTGCTGGTTGTGGA CGCTGCTATTGTAGCGAGTTGGCGACCGGTTTGTG TGCTGCGGCGTTAATGGAGAAATGCTCGATTTCGTG GTATGGTTGGCTTCGGCTGAACAATGCGCTTATTG GGTGATTTTCTCCCTGTGGCG

序列分析结果表明,片段长度为 543 bp,经 BLAST 比对,与已知晚疫病病菌相关序列(GenBank: KR046913)同源性高达 99%,序列位于晚疫病病菌 rDNA 的 ITS 区,说明该引物扩增片段具有正确性和合理性。

2.4 引物灵敏度分析

用所建立的马铃薯晚疫病病菌PCR检测体系对逐级稀释后的致病疫霉菌DNA进行PCR扩增,结果显示(图8),引物 primer-4-2 的检测灵敏度随着DNA浓度的降低而降低,在10 pg/ μ L时达到最低,此后无目的条带出现,说明引物 primer-4-2 对晚疫病病菌的检测灵敏度为10 pg/ μ L。

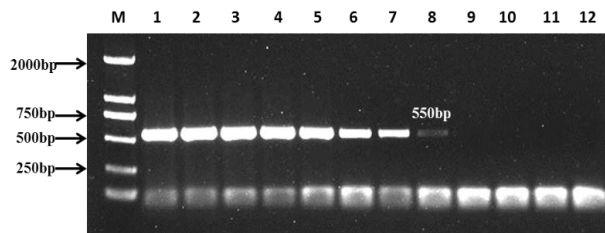


图8 PCR检测的灵敏度

M: DL2000 DNA 分子量标准; 1~12: 模板DNA浓度分别为500, 300, 100, 50, 10, 1 ng/ μ L, 100, 10, 1 pg/ μ L, 100, 10, 1 fg/ μ L

3 结论与讨论

鉴于马铃薯晚疫病在全球范围内造成的经济损失可达170亿美元之多,对其病原致病疫霉菌的检测及预防一直是人们研究的热点。随着分子生物学技术的快速发展,利用病原菌rDNA的ITS基因片段进行病原鉴定的诊断技术得到了广泛应用,尤其在植物真菌的病原检测方面,基于真菌rDNA的ITS区的PCR检测技术能够克服传统方法的不足,实现对复合样品的检测,如大豆疫霉^[16]、烟草疫霉^[17]等的检测。

本研究对已经报道的9对马铃薯晚疫病检测引物进行了筛选。其中,3对引物是根据晚疫病病菌全基因组中的33段DNA重复序列的O8序列和AE7设计的^[9],6对引物均是基于rDNA的ITS区进行设计。虽然Judelson等^[9]研究认为其引物 primer-2(O8-3和O8-4)的特异性比ITS区引物高出近100倍,检测灵敏度可达到10 fg/ μ L,但笔者在实际验证过程中发现,在DNA浓度水平相同时,其扩增产物中有非特异性条带产生,这可能与其退火温度较低有关。同时,鉴于Judelson等仅对26种疫霉属病害进行了特异性验证,并未对其他常见的侵染马铃薯的病原真菌进行验证,因此,接下来的引物特异性筛选将重点针对6对扩增效果较好的ITS区引物进行研究。

在引物特异性方面,虽然上述6对ITS区引物对疫霉属病原菌有较好的特异性,但为了验证这

些引物能否区分疫霉属病原菌和其他马铃薯病原真菌,笔者选取了马铃薯生产及储藏中最常见的6种病原菌作为检测对象。研究结果表明,引物 primer-6、primer-7和primer-8不能将致病疫霉菌与茄链格孢菌和燕麦镰刀菌分开,从而说明这3对引物在生产中不能用于复合样品检测,尽管ITS区既具有rDNA区段的保守性又具有科、属、种水平上的特异性,但因其片段较短,所以在实际检测过程中极易产生假阳性。同时,经查证这一结果与文献中引物设计者^[12-14]均未对其进行验证,其原因有可能与当地致病菌类型及发病程度有关。

此外,鉴于种薯带菌是马铃薯晚疫病发生的重要初侵染源之一,加强储藏期潜隐性马铃薯晚疫病的检测,不仅对预防次年晚疫病的发生具有至关重要的作用,而且对于腐烂样品病害鉴定和解决由此引发的纠纷进行仲裁作用重大。因此,在马铃薯晚疫病检测样品方面,本研究不仅用筛选引物对叶片、块茎、试管苗进行了对比、验证,还对复合侵染样品进行了验证,所选引物能够对马铃薯晚疫病潜隐、复合样品进行快速、有效检测,具有较好的检测效果。

参考文献:

- [1] Wang X D, Guo M, Min F X, et al. Virulence complexity and high levels of fungicide resistance suggest population change of *Phytophthora infestans* in the Heilongjiang Province of China [J]. Potato Research, 2012, 55(3): 217-224.
- [2] Chimote V P, Kumar M, Sharma P K, et al. Characterization of changes in phenotype and genotype of *phytophthora infestans* isolates from India [J]. Journal of Plant Pathology, 2010, 92 (3): 669-677.
- [3] Andrivon D. Biology, ecology, and epidemiology of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* in soil [J]. Phytopathology, 1995, 85(10): 1053-1056.
- [4] 王 鹤,朱杰华,杨志辉,等. 2009年黑龙江和吉林省马铃薯晚疫病病菌表型结构研究[J]. 植物保护, 2012, 38(1): 151-154.
- [5] 张铨哲,郝 璐,李 微,等. 黑龙江省马铃薯晚疫病菌交配型、瑞毒霉敏感性及mtDNA单倍型分析[J]. 吉林农业科学, 2015, 40(5): 58-62.
- [6] Fry W E, Goodwin S B. Re-emergence of potato and tomato late blight in the United States[J]. Plant Disease, 1997, 81(12): 1349-1357.
- [7] 张淑梅,李 晶,王玉霞,等. 植物病原真菌分子诊断技术研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(2): 597-599.
- [8] Caten C E, Jinks L L. Spontaneous variability of *phytophthora infestans*. I. Cultural variation[J]. Canadian Journal of Botany, 1968, 46(4): 329-348.

- [9] Judelson H S, Tooley P W. Enhanced polymerase chain reaction methods for detecting and quantifying *Phytophthora infestans* in plants[J]. Phytopathology, 2000, 90(10): 1112-1119.
- [10] Jyan M H, Huang L C, Ann P F, et al. Rapid detection of *Phytophthora infestans* by PCR[J]. Plant Pathology Bulletin, 2002 (11): 25-32.
- [11] Tooley P W, Bunyard B A, Carras M M, et al. Development of PCR primers from internal transcribed spacer region 2 for detection of *Phytophthora* species infecting potatoes[J]. Applied Environment Microbiology, 1997, 63(4): 1467-1475.
- [12] Hussain S, Lees A K, Duncan J M, et al. Development of a species-specific and sensitive detection assay for *Phytophthora infestans* and its application for monitoring of inoculums in tubers and soil [J]. Plant Pathology, 2005, 54(3): 373-382.
- [13] 陈庆河, 李本金, 兰成忠, 等. 双重PCR检测马铃薯晚疫病病菌和青枯病菌方法的建立及应用[J]. 植物病理学报, 2009, 39(6): 578-583.
- [14] Trout C L, Ristaino J B, Madrit C H, et al. Rapid detection of *Phytophthora infestans* in late blight infected potato and tomato using PCR [J]. Plant Disease, 1997, 81(9): 1042-1048.
- [15] Goodwin S B, Cohen B A, Fry W E. Panglobal distribution of a single clonal lineage of the Irish potato famine fungus[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 1994, 91 (24): 11591-11595.
- [16] 陈长卿, 康振生, 王晓杰, 等. 大豆疫霉的分子检测[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2005, 33(8): 73-77.
- [17] 谢 勇, 王云月, 陈建斌, 等. 烟草黑胫病菌分子检测[J]. 云南农业大学学报, 2000, 15(2): 176.
- (责任编辑: 范杰英)

欢迎订阅2017年《北方园艺》

全国自然科学(中文)核心期刊 中国农业核心期刊 全国优秀农业期刊

中国北方优秀期刊 黑龙江省优秀科技期刊 美国化学文摘社(CAS)收录期刊

黑龙江省农家书屋推荐目录 2015年期刊数字影响力100强

主管: 黑龙江省农业科学院 主办: 黑龙江省园艺学会、黑龙江省农业科学院 刊号: ISSN 1001-0009 CN 23-1247/S 邮发代号: 14-150 半月刊 每月15、30日出版 单价: 15.00元 全年: 360.00元

汇集前沿学术成果, 传播先进实用技术。本刊内容丰富、栏目新颖、技术实用、信息全面。涵盖园艺学的蔬菜、果树、瓜类、花卉、植保等研究领域的新成果、新技术、新品种、新经验。竭诚欢迎全国各地科研院所人员、大专院校师生, 各省、市、县、乡、镇农业技术推广人员、农民科技示范户等踊跃订阅。

地 址: 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路368号 《北方园艺》编辑部 邮 编: 150086

电 话: 0451-86674276 信 箱: bfybjb@163.com 网 址: www.haasep.cn