

白粉菌诱导的中国野生毛葡萄抑制消减文库 构建及 EST 序列分析

赵素平, 文志丰, 侯鸿敏, 肖 欢, 王跃进, 王西平

(西北农林科技大学 园艺学院, 农业部西北园艺植物种质资源应用重点开放实验室, 陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】构建白粉菌诱导下中国野生毛葡萄“商-24”的抑制消减文库, 获得抗白粉病差异表达基因 EST 序列。【方法】应用抑制消减杂交(Suppression subtractive hybridization, SSH)技术, 构建白粉菌诱导下高抗白粉病的中国野生毛葡萄“商-24”叶片 SSH-cDNA 文库, 通过生物信息学方法对文库中的 EST 序列进行分析。【结果】成功构建了白粉菌诱导的中国野生毛葡萄“商-24”抑制消减 cDNA 文库, 对消减文库测序后获得了 200 个 EST 序列, 大小为 300~1 000 bp; BLAST 分析表明, 其中 19 个 EST 序列与已知功能基因序列同源性很高, 分别参与了植物的防卫反应、胁迫反应、细胞解毒和信号转导等。【结论】获得了葡萄抗白粉病的 EST 序列, 这为进一步克隆抗葡萄白粉病基因、探明其抗病分子机理奠定了基础。

【关键词】 毛葡萄; 抗白粉病; 消减文库; EST

【中图分类号】 S436.631.1; Q785

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)11-0109-06

Construction and EST analysis of a suppressive subtraction cDNA library of Chinese Wild *Vitis quinquangularis* inoculated with powdery mildew

ZHAO Su-ping, WEN Zhi-feng, HOU Hong-min, XIAO Huan,
WANG Yue-jin, WANG Xi-ping

(College of Horticulture, Northwest A&F University, Key Laboratory of Northwest Horticulture Plant Germplasm and
Application of Agricultural Department in China, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 The study was to construct a suppressive subtraction cDNA library in Chinese Wild *Vitis quinquangularis* Shang-24 inoculated with powdery mildew and to obtain disease-resistance EST sequence related to powdery mildew. 【Method】 Suppression subtractive hybridization was employed to construct the SSH-cDNA library of Chinese Wild *V. quinquangularis* Shang-24 with powdery mildew, using bioinformatics method to analyses these ESTs. 【Result】 A suppressive subtraction cDNA library of Chinese Wild *V. quinquangularis* inoculated with powdery mildew were constructed successfully, 200 ESTs were obtained from the SSH library, the fragments were 300—1 000 bp in length. BLAST analysis revealed that 19 ESTs had high homology with known genes in GenBank involved in defense response, stress reaction, disease defense detoxification and signal transduction. 【Conclusion】 The ESTs of disease-resistant obtained from SSH library is the foundation for further cloning grape powdery mildew resistance genes and under-

* [收稿日期] 2010-03-12

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30671446, 30871701); 教育部新世纪优秀人才支持计划及国家葡萄现代产业技术体系项目(nycytx-30-zp-06)

[作者简介] 赵素平(1982—), 女, 甘肃秦安人, 在读硕士, 主要从事果树育种与生物技术研究。E-mail: zhsplhw@163.com

[通信作者] 王西平(1968—), 男, 陕西蒲城人, 教授, 博士生导师, 主要从事果树种质资源与生物技术研究。

E-mail: wangxiping@nwsuaf.edu.cn

standing the molecular mechanism of disease-resistant.

Key words: *Vitis quinquangularis*; resistance to powdery mildew; subtracted cDNA library; EST

葡萄白粉病(*Uncinula necator* (Schw.) Burr.) 是严重危害葡萄的一种世界性真菌病害,现分布于世界所有种植葡萄的国家和地区。欧洲葡萄的绝大多数品种不抗白粉病,而美洲种及其品种因具“狐臭味”,使其栽培有了很大的局限性。中国既是世界葡萄属植物重要的起源中心之一,也是世界葡萄属植物最重要的原产地之一,拥有丰富多样的野生葡萄资源,这些资源不仅丰产性好,且对主要真菌病害具有极强的抗性^[1-2]。贺普超等^[1]、王跃进等^[2]的研究表明,中国野生葡萄的一些种和株系对白粉病有极强的抗性,是抗白粉病的重要种质资源。随着现代生物技术的快速发展,研究者开始从分子水平上研究抗病基因的表达、抗病机制,以期寻找新的抗病基因。王西平^[3]利用 mRNA 差异显示技术结合 cDNA 末端快速扩增技术,获得了中国野生华东葡萄种抗白粉病相关基因。张剑侠等^[4]获得了葡萄感白粉病基因的 RAPD 标记 OPV0621100,并在欧洲葡萄、中国野生华东葡萄和美洲野生葡萄中进行了分析验证。国外关于葡萄白粉病的研究侧重于分子标记^[5]和遗传定位方面^[6],如 Dalbo 等^[7]利用 RAPD 标记对抗葡萄白粉病基因(PM)和抗黑腐病基因(BE)进行了 QTL 遗传定位研究,并认为葡萄抗白粉病是由多基因控制的。但截止目前,国内外还未见关于葡萄抗白粉病基因及其功能研究的报道。

本研究是在课题组前期研究获得高抗白粉病中国野生毛葡萄“商-24”的基础上^[1-3],利用抑制消减杂交(SSH)技术,构建白粉菌诱导下中国野生毛葡萄“商-24”的抑制消减文库,以期获得抗白粉病的差异表达基因 EST 序列,为进一步克隆抗葡萄白粉病基因、探索抗白粉病的分子机理奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

高抗葡萄白粉病的中国野生毛葡萄“商-24”和高感白粉病的欧洲葡萄“佳利酿”,均取自西北农林科技大学园艺学院葡萄种质资源圃。

1.2 试验方法

1.2.1 田间白粉病的人工诱导与样品采集 选取感染白粉病的“佳利酿”叶片,采用病叶压片法,将白粉病病原菌接种于高抗白粉病的中国野生毛葡萄“商-24”的幼嫩叶片上,分别于接种后 12, 24, 48, 72

和 120 h 取样,每个取样点上同时取未接种的“商-24”叶片作为试验对照组。叶片采集后迅速置于液氮灌中,带回实验室-80℃冻存储备用。

1.2.2 总 RNA 的提取与 mRNA 的纯化 葡萄叶片总 RNA 的提取参照张今等^[8]改进的 SDS 酚法。提取的总 RNA 中少量 DNA 用 DNase I (Promega, USA)去除,分别用 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳和核酸蛋白检测仪检测总 RNA 的完整性和纯度。采用 Qiagen Oligotex mRNA Kit 对 mRNA 进行纯化,具体操作步骤按照试剂盒说明书进行。

1.2.3 白粉菌诱导下毛葡萄“商-24”抑制消减文库的构建 等量混合毛葡萄“商-24”接种白粉病菌后 12, 24, 48, 72 和 120 h 的 mRNA,与未接种叶片的 mRNA 同时进行反转录,以未接种叶片 cDNA 作为试验驱动方(Driver),接种叶片 cDNA 作为试验方(Tester)进行消减杂交,杂交过程依照 Clontech 试剂盒(PCR-Select cDNA Subtraction Kit)说明书进行。

1.2.4 阳性克隆的筛选及测序 纯化回收 2 次 PCR 产物,与 pGEM-T easy Vector (Promega, USA)连接,连接产物用热激法转化大肠杆菌感受态细胞 DH5 α ,涂于含有 Amp/X-Gal/IPTG 的 LB 平板上,进行蓝白斑筛选。随机挑取部分生长良好的白色菌斑接种于含 100 μ g/mL Amp 的 LB 液体培养基中,于 37℃、180 r/min 振荡培养 10~12 h,以 M13⁺与 M13⁻为引物进行菌液 PCR 扩增。菌液 PCR 反应程序为:94℃预变性 10 min;94℃ 1 min, 57℃ 1 min, 72℃ 1.5 min,共 35 个循环;最后于 72℃延伸 10 min。将反应产物于 4℃保温,并用 12 g/L 琼脂糖凝胶进行电泳,选择片段大于 250 bp 的阳性克隆送上海美吉公司测序。

1.2.5 差异 cDNA 片段的序列分析 对测序得到的序列利用 NCBI(www.ncbi.nih.gov)的 VecScreen 程序识别并去除载体序列,用 DNASTAR 软件去除巢式引物序列,再利用 NCBI 的 BLAST 程序,对去除了载体序列和引物序列的测序结果进行同源性比对分析。

2 结果与分析

2.1 总 RNA 及 mRNA 的质量检测

取少量总 RNA 用 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测,结果(图 1)显示,28 S 和 18 S RNA 2 条带清晰

无拖尾,且 28 S 与 18 S RNA 的比介于 1~2。利用核酸蛋白检测仪测定总 RNA 在 230,260 及 280 nm 的 OD 值,结果显示,OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值为 1.9~2.1, OD₂₆₀/OD₂₃₀>2.0,说明提取的总 RNA 完整性好,纯度高,无蛋白及 DNA 污染,可进一步用于 SSH 文库构建、Real time PCR 分析及其他分子生物学试验等。分离所得 mRNA 弥散带长度为 500~3 000 bp,符合非哺乳动物 mRNA 分布范围,质量良好,可用于构建文库(图略)。

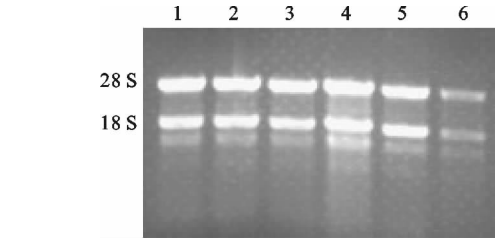


图 1 毛葡萄“商-24”未接种和接种白粉病菌后不同时间总 RNA 的检测

1. 未接种叶片的总 RNA;

2~6. 接种后 12,24,48,72,120 h 的叶片总 RNA

Fig. 1 Detection of *V. quinquangularis* Shang-24 total RNA of un-inoculated and different times inoculated with powdery mildew

1. Total RNA from un-inoculated leaves;2-6. Total RNA from leaves after inoculated 12,24,48,72 and 120 h

2.2 白粉菌诱导下毛葡萄“商-24”抑制消减文库的构建

巢式 PCR 产物电泳结果(图 2)显示,首轮 PCR

产量低,第 2 次 PCR 则出现集中分布于 300~1 000 bp 的弥散带,说明用巢式引物第 2 次扩增后差异表达片段得到了富集,符合文库构建的需要。

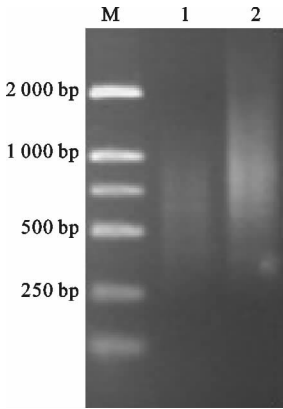


图 2 白粉菌诱导的毛葡萄“商-24”消减文库的巢式 PCR 检测

M. TaKaRa Marker DL2000;1. 第 1 次 PCR 产物;2. 第 2 次 PCR 产物

Fig. 2 Detection of the nested PCR of the SSH library of *V. quinquanga* laris Shang-24 inoculated with powdery mildew

M. TaKaRa Marker DL2000 1. Primary PCR product; 2. Second PCR product

2.3 消减文库转化后的菌液 PCR

12 g/L 琼脂糖凝胶电泳结果(图 3)显示,随机挑选的白色克隆均有插入片段,大多为 300~1 000 bp,选择大于 250 bp 的克隆进行测序,获得了 EST 序列 200 个。

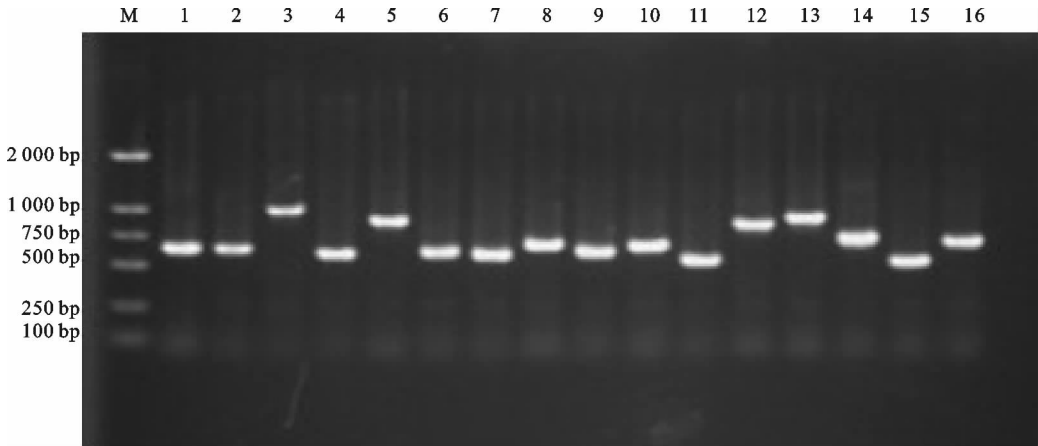


图 3 随机挑选阳性克隆菌液的 PCR 检测

M. TaKaRa Marker DL2000;1~16. 随机挑选的阳性克隆

Fig. 3 PCR detection of positive clones selected randomly

M. TaKaRa Marker DL2000;1-16. Positive clones selected randomly

2.4 EST 序列的比对分析

对所获得的 EST 序列在 GenBank 上进行

BLAST 比对,结果(表 1)显示,本研究中共获得的 19 条 EST 与已知功能序列表现出高度的同源性,如参

与防卫反应的查尔酮合酶、几丁质酶和病程相关蛋白;参与信号传导的信号互作蛋白激酶、ADP 核糖基化因子;参与细胞解毒反应的金属硫蛋白;胁迫条件下上调表达维持细胞正常生长发育的半胱氨酸蛋白酶、脯氨酸富集蛋白、脂质转移蛋白、核酮糖 1,5-

二磷酸羧化加氧酶、果糖二磷酸醛缩酶、乙醇酸氧化酶、甘氨酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶和无色花色素还原酶;其他胁迫条件下的 EST,如铝诱导蛋白、光诱导蛋白和干旱胁迫 EST 等。

表 1 中国野生毛葡萄“商-24”抗白粉病 EST 序列的 BLAST 结果

BLAST 序列相似性结果 Results sequence similarity	同源相关 EST 基因编号 Gene code of homologous ESTs	相似性/% Identities	得分 Score	E 值 E-value
查尔酮合酶 Chalcone synthase	XM_002276885.1	99(392/395)	386	0
几丁质酶 Class IV chitinase	AF532966.1	82(366/443)	366	7e-98
病程相关蛋白 1 Pathogenesis-related protein 1(PR1)	GU269634.1	89(483/537)	367	0
病程相关蛋白 10 Pathogenesis-related protein10(PR10)	XM_002274206.1	100(392/392)	392	0
信号互作蛋白激酶 05 CBL-interacting protein kinase	FJ901233.1	98(406/412)	396	0
ADP 核糖基化因子 ADP-ribosylation factor	XM_002264618.1	95(426/447)	384	0
金属硫蛋白 Metallothionein	XM_002265022.1	76(100/130)	100	7e-18
半胱氨酸蛋白酶 2 Cysteine protease Cp2	XM_002283246.1	99(338/341)	332	1e-172
脯氨酸富集蛋白 Proline-rich protein	XM_002285021.1	90(74/82)	106	6e-20
核酮糖 1,5-二磷酸羧化加氧酶 Ribulose-1,5-bisphosphatecarboxylase/oxygenase	DQ915975.1	86(289/335)	194	6e-96
果糖二磷酸醛缩酶 Fructose-bisphosphate aldolase	XM_002531462.1	83(459/548)	276	3e-141
脂质转移蛋白 Lipid transfer protein	XM_002271080.1	97(311/319)	293	5e-151
乙醇酸氧化酶 Ate oxidase-like (GOX)	XM_002278068.1	98(312/316)	304	4e-157
甘氨酸脱氢酶 Glycine dehydrogenase	XM_002516400.1	90(243/270)	188	1e-92
苹果酸脱氢酶 Malate dehydrogenase	XM_002275406.1	99(460/463)	821	0
无色花色素还原酶 Leucoanthocyanidin reductase 1 (LAR1)	XM_002281411.1	98(460/468)	444	0
铝诱导蛋白 Al-induced protein	XM_002280622.1	98(746/758)	721	0
光诱导蛋白 Light-induced protein	HM004362.1	97(425/436)	735	0
干旱胁迫 EST Drought-stressed EST	CU228469.1	81(443/543)	243	6e-118

3 讨 论

葡萄是世界第二大水果,而目前主栽的欧洲葡萄极易感白粉病,将抗病的中国野生葡萄抗白粉病基因导入欧洲葡萄提高其抗病性,是葡萄抗性育种的方向之一。目前,关于葡萄白粉病的研究主要集中在鉴定、分子标记、克隆、遗传定位等方面^[1-7],而对葡萄抗白粉病基因及其功能研究还未见报道。

基于转录水平的 SSH 技术,因其具有高效、灵敏、假阳性低且能成千上百富集差异基因的特点,近年来已广泛应用于植物与胁迫互作的研究中。应用 SSH 技术已经从小麦等多种植物中成功克隆了 48 个抗病基因^[9]。骆蒙等^[10]利用 SSH 技术建立了小麦抗白粉病相关基因的表达谱,得到了系统获得性抗性涉及的信号转导途径及抗病基因表达的种类与数量。Shiozaki 等^[11]利用 SSH 技术,成功构建了 NaCl 胁迫下水稻幼苗组织的消减文库,获得了 384 个与盐胁迫相关的片段。Jansen 等^[12]用小麦白粉菌 *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* race A6 (BghA6)诱导大麦抗性反应,利用 SSH 技术构建消

减文库,研究了 19 个抗病基因的表达差异。Han 等^[13]在研究水稻抗稻瘟病的机制时,采用 SSH 技术,从接种有水稻稻瘟病病原体的抗病突变株中分离到了 26 个差异表达基因。

植物的系统抗性可能包括多种机制,但是不论真菌、细菌或病毒,烟草对这些病原物的共同反应都是产生病程相关蛋白(Pathogenesis-relatedpro-teins,PRs),并且在具有获得性系统抗性(SAR)的未感染叶片上也出现这些蛋白,这说明 PRs 和植物的 SAR 之间有紧密的联系^[14]。本试验所分离获得的 EST 中,有 2 个分别与 PR1、PR10 有高度的同源性。而 Breda 等^[15]研究发现,苜蓿(*Medicago sati-va*)在受到假单胞杆菌(*Pseudomonas syringae* Pv. Pisi)浸润后,其叶片中能积累几种 mRNA,将其中 1 个命名为 MsPR10-1,其编码 1 个与 PR10 非常相似的多肽;MsPR10-1 的转录子在非亲和性互作时期叶片边缘中的含量特别高,用 Northern 和原位杂交方法测定 MsPR10-1 转录子在侵染区和非侵染区积累的结果表明,MsPR10-1 转录子在靠近和远离侵染点的维管束中都有表达,为系统表达类型。由

以上研究可推知,白粉菌感染后的中国野生毛葡萄“商-24”消减文库中诱导表达出的 2 个与 PR1、PR10 高度同源的 EST 序列,为抗病相关基因。

本试验所获得的 EST 中有 1 个与几丁质酶表现出高度的同源性(82%)。在高等植物中,在正常的环境条件下几丁质酶的含量较少,活性很低,当植物受到某些外界因素刺激时,几丁质酶可以被刺激物所诱导和积累。几丁质酶作为一种重要的与病程相关的蛋白,其对病原菌的抗性已得到许多间接和直接的证明,有研究者将几丁质酶基因转入到黑杨^[16]、油菜^[17]、马铃薯^[18]等植物中,结果显示,转基因植株抗真菌能力都获得了不同程度的提高;将几丁质酶转入到水稻中,可使水稻获得较高的抗叶鞘枯萎病的能力^[19]。左豫虎等^[20]对大豆接种疫霉菌后发现,其几丁质酶活性增强。故可推知,本试验结果中几丁质酶活性的增强,是由于中国野生毛葡萄“商-24”接种白粉菌后诱导了几丁质酶的表达,从而产生了病原防御反应。

另外,本试验还获得了 1 条干旱胁迫 EST 序列,以及 1 条与光诱导蛋白和 1 条与铝诱导蛋白有高度同源性的 EST 序列。由此可推知,不同胁迫条件可诱导产生相同基因,同一基因可对不同胁迫产生抗性。

[参考文献]

- [1] 贺普超,王跃进,王国英. 中国葡萄属野生种抗病性研究 [J]. 中国农业科学,1991,24(3):50-56.
He P C, Wang Y J, Wang G Y. Study on disease resistance to powdery mildew in Chinese native wild *Vitis* L. species [J]. Scientia Agricultura Sinica,1991,24(3):50-56. (in Chinese)
- [2] 王跃进,贺普超. 中国葡萄属野生种叶片抗白粉病遗传研究 [J]. 中国农业科学,1997,30(1):19-25.
Wang Y J, He P C. Study on the inheritance of resistance to powdery mildew in Chinese native wild *Vitis* L. species [J]. Scientia Agricultura Sinica,1997,30(1):19-25. (in Chinese)
- [3] 王西平. 中国葡萄属野生种抗白粉病基因克隆与序列分析 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2004.
Wang X P. Cloning and analysing for the gene sequences of resistance to *Uncinula necator* in Chinese wild *Vitis* species [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2004. (in Chinese)
- [4] 张剑侠,王跃进,徐伟荣,等. 葡萄感白粉病基因的 RAPD 标记及其序列分析 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2008,36(2):111-118.
Zhang J X, Wang Y J, Xu W R, et al. RAPD marker and its sequence analysis of susceptible gene to *Uncinula necator* in *Vitis* [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2008, 36(2): 111-118. (in Chinese)
- [5] Murat A, Leocir W, Erika M, et al. Development of SCAR markers linked to powdery mildew (*Uncinula necator*) resistance in grapevine (*Vitis vinifera* L. and *Vitis* sp.) [J]. Mol Breeding, 2007, 19: 103-111.
- [6] Fischer B M, Salakhutdinov I, Akkurt M, et al. Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine [J]. Theor Appl Genet, 2004, 108: 501-515.
- [7] Dalbo M A, Weeden N F, Reisch B I. QTL analysis of disease resistance in interspecific hybrids grapes [J]. Acta Horticulture, 2000, 1: 215-220.
- [8] 张今今,王跃进,王西平,等. 葡萄总 RNA 提取方法的研究 [J]. 果树学报,2003,20(3):178-181.
Zhang J J, Wang Y J, Wang X P, et al. An improve method for rapidly extracting total RNA from *Vitis* [J]. Journal of Fruit Science, 2003, 20(3): 178-181. (in Chinese)
- [9] Dilbirligi M, Gill K S. Identification and analysis of expressed resistance gene sequences in wheat [J]. Plant Molecular Biology, 2003, 53: 771-787.
- [10] 骆蒙,孔秀英,霍纳新. 基于抑制消减杂交方法的小麦抗白粉病相关基因表达谱 [J]. 科学通报,2002,47(16):1237-1241.
Luo M, Kong X Y, Huo N X. Gene expression profiling related to powdery mildew resistance in wheat with the method of suppression subtractive hybridization [J]. Chinese Science Bulletin, 2002, 47(16): 1237-1241. (in Chinese)
- [11] Shiozaki N, Yamada M, Yoshiba Y. Analysis of salt-stress-inducible ESTs isolated by PCR-subtraction in salt-tolerant rice [J]. Theor Appl Genet, 2005, 110: 1177-1186.
- [12] Jansen C, Korell M, Eekey C, et al. Identification and transcriptional analysis of powdery mildew-induced barley genes [J]. Plant Science, 2005, 168: 373-380.
- [13] Han C U, Lee C H, Jang K S, et al. Identification of rice genes induced in a rice blast-resistant mutant [J]. Mol Cells, 2004, 17(3): 462-468.
- [14] 刘利华,林齐英,谢华安,等. 病程相关蛋白与植物抗病性研究 [J]. 福建农业学报,1999,14(3):53-58.
Liu L H, Lin Q Y, Xie H A, et al. Pathogenesis-related proteins and plant disease resistance [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 1999, 14(3): 53-58. (in Chinese)
- [15] Breda C, Sallaud C, el-Turk J, et al. Defense reaction in *Medicago sativa*: A gene encoding a class 10PR protein is expressed in vascular bundles [J]. Molecular Plant Microbe Interactions, 1996, 9(8): 713-719.
- [16] 孟亮,李红双,金德敏,等. 转几丁质酶基因黑杨的获得 [J]. 生物技术通报,2004(3):48-51.
Meng L, Li H S, Jin D M, et al. Transformation of *Populus deltoids* with CH5B gene [J]. Biotechnology Bulletin, 2004 (3): 48-51. (in Chinese)
- [17] 蓝海燕,田颖川,王长海. 表达 β -1,3-葡聚糖酶及几丁质酶基因的转基因导入油菜的研究初报 [J]. 中国油料作物学报, 2000, 22(14): 6-10.
Lan H Y, Tian Y C, Wang C H. Studies of transgenic tobacco

plants expressing β -1, 3-glucanase and chitinase genes and their potential for fungal resistance [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2000, 22(14): 6-10. (in Chinese)

[18] 南相日. 菜豆几丁质酶基因转化马铃薯及后代表达 [J]. 中国农学通报, 2006, 22(2): 75-77.
Nan X R. Transformation and expression of chitinase in potato [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2006, 22(2): 75-77. (in Chinese)

[19] 曹必好, 宋洪元, 雷建军. 植物抗病基因研究进展 [J]. 天津农业科学, 2001, 7(4): 13-18.

Cao B H, Song H Y, Lei J J. Recent advance in studies on disease-resistant gene in plant [J]. Tianjin Agricultural Sciences, 2001, 7(4): 13-18. (in Chinese)

[20] 左豫虎, 康振生, 杨传平, 等. β -1, 3 葡聚糖酶和几丁质酶活性与大豆对疫霉根腐病抗性的关系 [J]. 植物病理学报, 2009, 39(6): 602-607.
Zuo Y H, Kang Z S, Yang C P, et al. Relationship between activities of β -1, 3-glucanase and chitinase and resistance to phytophthora root rot in soybean [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2009, 39(6): 602-607. (in Chinese)

欢迎订阅 2011 年《中国水土保持》

《中国水土保持》是水利部主管、黄河水利委员会主办的全国性水土保持业务与技术综合性期刊, 全国中文核心期刊、全国水利系统优秀科技期刊、河南省第一届自然科学二十佳期刊、《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊。本刊紧密围绕全国水土保持中心工作, 贯彻水土保持方针政策, 报道水土保持科技成果, 推广生态建设新鲜经验, 剖析监督执法案例, 介绍开发建设项目生态恢复技术, 探讨水土保持监测方法, 普及水土保持基础知识, 提供水土保持动态信息。近 30 年来, 杂志形成了融政策性、技术性、新闻性和实用性为一体的独特风格, 开设了 20 多个栏目, 深受读者欢迎。读者对象为从事水土保持管理、规划、设计、施工与科研的业务人员, 有关农、林、水、牧、地理、生态行业的管理者与科研、教学人员, 以及关心我国水土保持生态建设的社会各界人士。

本刊为大 16 开, 每月 5 日在郑州出版, 每册定价 8.00 元, 全年定价 96.00 元。本刊为杂志社自办发行(请直接汇款到杂志社), 订阅款可电汇也可邮汇。

电汇开户行: 郑州交行政二街支行; 银行户名: 黄河水利委员会新闻宣传出版中心
账 号: 411060200010149028852
邮汇地址: 郑州市金水路 11 号; 收款人: 《中国水土保持》杂志社; 邮政编码: 450003
联系电话: 0371-66022619, 66022338(含传真)
E-mail: swcc2000@sina.com; QQ: 838347450