

# 日本梨活体花柱内花粉 RNA 的降解

徐义流 张绍铃\*

(南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

**摘要:** 用  $^{32}\text{P}$  标记的花粉进行自花与异花授粉后, 提取含有花粉  $^{32}\text{P}$ -RNA 的授粉花柱 RNA 测定放射性活度, 并将授粉花柱 RNA 样品进行非变性琼脂糖电泳。结果表明, 授粉后 12 ~ 48 h, 自花授粉花柱 RNA 中花粉  $^{32}\text{P}$ -RNA 只占异花授粉花柱 RNA 中的 40.7% ~ 25.3%, 自花授粉花柱中花粉完整 RNA 的量特异性地减少, 表明自花花粉 RNA 在花柱中被特异性地降解。

**关键词:** 梨; 花柱; 花粉; RNA; 降解; 自交不亲和性

**中图分类号:** S 661.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 04-0599-05

## Degradation of Pollen RNA in Japanese Pear Style in Vitro

Xu Yiliu and Zhang Shaoling\*

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** The RNAs were isolated from styles that were self- and cross-pollinated with  $^{32}\text{P}$ -labelled pollens in vivo. The radioactivity of pollinated style RNA was determined with a liquid scintillation counter, and agarose gel electrophoresis was used to test the degradation of RNA from pollinated styles. Results were that the content of pollen  $^{32}\text{P}$ -RNA in self-pollinated style RNA is 40.7% - 25.3% that of pollen  $^{32}\text{P}$ -RNA in cross-pollinated style RNA after pollination 12 - 48 h, and that pollen intact RNA in self-pollinated style was specifically decreased. This indicated that pollen RNA in self-pollinated style was specifically degraded.

**Key words:** Pear; Style; Pollen; RNA; Degradation; Self-incompatibility

梨 (*Pyrus*) 是配子体型自交不亲和性果树, 自花授粉后, 花粉管在花柱内向子房方向生长过程中受到抑制而停止生长, 因此不能完成受精和结实过程。为了阐明梨自交不亲和性的机理, 以往的研究已经确定了梨自交不亲和基因 (*S* 基因) <sup>[1~3]</sup>, 分离纯化出了花柱 *S* 基因的蛋白产物—S糖蛋白, 鉴定了 S糖蛋白的生化特性 <sup>[4]</sup>, 证明了 S糖蛋白具有 RNase 活性而被称为 S-RNase <sup>[5]</sup>, 进而推测花柱 S-RNase 特异地降解了自花花粉 RNA, 导致自花花粉管不能合成蛋白质而停止生长, 表现出自交不亲和性 <sup>[6]</sup>。然而, 花柱 S-RNase 特异地降解自花花粉 RNA 的推论, 迄今尚缺乏实验证据。本研究在活体条件下, 应用  $^{32}\text{P}$  标记梨花粉, 然后进行自花与异花授粉, 通过检测授粉花柱 RNA 中  $^{32}\text{P}$ -RNA 的放射性活度, 分析自花与异花授粉后不同时间的授粉花柱 RNA 的电泳图谱, 以阐明在活体花柱中花粉管 RNA 的降解作用, 进一步完善梨花柱 S-RNase 降解花粉 RNA 的理论。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

采集开花前 4 d 的 ‘丰水’ (*Pyrus pyrifolia* Nakai ‘Housui’, *S* 基因型为 *S*<sub>3</sub>*S*<sub>5</sub>) 花枝 100 枝、‘幸水’ (*Pyrus pyrifolia* Nakai ‘Kousui’, *S* 基因型为 *S*<sub>4</sub>*S*<sub>5</sub>) 花枝 60 枝, 每花枝长 100 cm 左右, 用于分离花柱和花粉, 每处理 20 枝花枝。

收稿日期: 2004 - 10 - 15; 修回日期: 2005 - 03 - 28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30170651); 高校博士学科点专项科研基金项目 (20010307012); 江苏省高技术项目 (BG2002310)

\* 通讯作者 Author for correspondence

同位素<sup>32</sup>P购自中国原子能科学院同位素研究所,使用时原液比强度为 3.66 mCi,加入 300 mL 水,配成比强度为 0.0122 mCi处理液。

## 1.2 方法

1.2.1 <sup>32</sup>P标记的花粉分离及授粉 将 20枝‘丰水’花枝插入<sup>32</sup>P处理液中用于标记花粉,花粉的标记与分离方法参照徐义流等<sup>[7]</sup>的方法;用作母本的‘丰水’和‘幸水’花枝分开插入装有自来水的桶中,隔离放置,使其自然开花。授粉时去除已开花蕾,去除未开花蕾的雄蕊,然后用标记的‘丰水’花粉,分别进行自花(‘丰水’×‘丰水’)授粉和异花(‘幸水’×‘丰水’)授粉。

1.2.2 花柱样品的采集 在授粉 0、12、24、48 h后分别采取花朵,剥离花瓣,收集切去柱头的花柱(0 h的花柱未去柱头),称量质量后放入液氮中保存。

1.2.3 授粉花柱及<sup>32</sup>P标记花粉 RNA的提取及检测 从液氮中取出花柱样品,迅速放入研钵充分研磨,并注意补充液氮。将研磨好的花柱快速倒入已盛有 5 mL 提取液的 25 mL 离心管,室温下震荡 5 min,然后在 4、12 000 g条件下离心 20 min,取上清液入新离心管,弃沉淀。向上清液中分别加 1/3 体积的氯仿和水饱和酚,震荡 3 min,与上述相同条件下离心 15 min,取上清液,重复添加 1/3 体积的氯仿和水饱和酚及离心过程,直至中间无蛋白层。向最后获得的上清液中加 1/4 体积的 10 mol/L LiCl,使 LiCl 的终浓度为 2 mol·L<sup>-1</sup>,将溶液放在 4 条件下沉淀过夜后在 4、15 000 g离心 30 min,获 RNA 沉淀,用 30 μL 琥珀酸钠缓冲液溶解 RNA, -70 冷藏。用同样的方法提取<sup>32</sup>P标记的‘丰水’花粉 RNA,花粉质量为 0.441 g。RNA 样品质量检测与浓度测定参照奥斯伯等的方法<sup>[7]</sup>:取 5 μL RNA 溶液,加灭菌水至 2.5 mL,测 OD<sub>260</sub>值。RNA 浓度 (μg·mL<sup>-1</sup>) = OD<sub>260</sub> × 稀释倍数 × 37 (μg·mL<sup>-1</sup>), RNA 提取量 (μg) = RNA 浓度 (μg·mL<sup>-1</sup>) × V<sub>缓冲液</sub> (mL)。

1.2.4 授粉花柱 RNA 样品放射性活度的测定及其电泳 用液体闪烁计数器分别测定各授粉组合花柱 RNA 样品(总量)的放射性活度,然后换算成每 0.5 g 鲜质量花柱的放射性活度。取各授粉花柱 RNA 及‘丰水’花粉 RNA 样品 10 μg,进行 2% 非变性琼脂糖凝胶电泳,分析电泳条带。

## 2 结果与分析

### 2.1 授粉花柱中被标记的花粉管

应用被标记的花粉进行异花授粉,48 h后分离花柱进行放射自显影。结果表明,从柱头到花柱的基部,活体花柱内花粉管自显影影像清晰(图 1)。柱头花粉较多,放射自显影的亮度最强;花柱上部花粉管数较下部多;花柱中花粉管完整,这些说明花粉(花粉管壁、原生质)被完全标记。

### 2.2 授粉花柱 RNA、花粉 RNA 的提取量及提取率

应用同样的方法提取各样品的总 RNA,其提取量和提取率如表 1 所示。结果表明,各授粉花

柱样品 RNA 的提取率在 (0.0342 ± 0.00088) % ~ (0.03778 ± 0.00052) % 之间,花粉 RNA 的提取率为 (0.03171 ± 0.00122) %。

### 2.3 授粉花柱 RNA 的放射性活度

各样品的放射性活度检测的结果(表 2)表明,授粉后 0、12、24、48 h,自花授粉花柱 RNA 的放射性活度为 85、38、32、22 cpm,异花授粉花柱分别为 91、93、90、87 cpm。授粉花柱 RNA 的放射性活度来自于被标记的花粉<sup>32</sup>P-RNA,它的数值与授粉花柱 RNA 中含有<sup>32</sup>P-RNA 的量成正相关,据此,可以得出授粉后 0、12、24、48 h 自花授粉<sup>32</sup>P-RNA 占异花授粉<sup>32</sup>P-RNA 的比率分别为

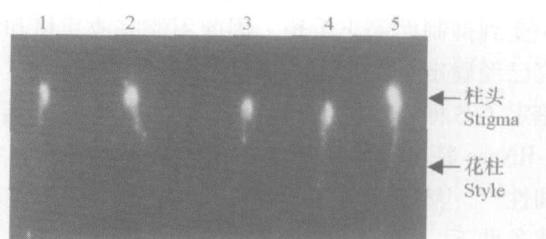


图 1 授粉花柱放射自显影

1~5: ‘幸水’×‘丰水’授粉后 48 h 的授粉花柱。

Fig 1 Autoradiograph of styles pollinated by <sup>32</sup>P-labelled pollen

1 - 5: Styles pollinated by <sup>32</sup>P-labelled pollen for ‘Kousui’ × ‘Housui’

93.4%、40.7%、35.6%和 25.3%。

表 1 各花柱、花粉样品 RNA 的提取量及提取率  
Table 1 Yield and collection rate of RNA from styles and pollen

授粉组合 Group of pollination	授粉后时间 Hours after pollination (h)	样品鲜样质量 FM of sample (g)	提取量 Yield (μg)	提取率 Rate of collection (%)
丰水 ×丰水 Housui ×Housui	12	0.479	170.94 ±2.04	0.03569 ±0.00042A
	24	0.564	197.03 ±4.10	0.03493 ±0.00072B
	48	0.451	170.39 ±2.36	0.03778 ±0.00052A
	0 (未去柱头 With stigma)	0.593	222.56 ±6.41	0.03753 ±0.00107A
幸水 ×丰水 Kousui ×Housui	12	0.683	251.42 ±3.41	0.03681 ±0.00049A
	24	0.595	211.45 ±3.27	0.03554 ±0.00075A
	48	0.613	221.45 ±5.77	0.03613 ±0.00095A
	0 (未去柱头 With stigma)	0.602	205.91 ±5.35	0.03420 ±0.00088B
丰水花粉 Pollen of Housui		0.441	139.86 ±5.40	0.03171 ±0.00122

注：表中数据为平均数 ±标准误，数据后附有的不同字母表示在 =0.01水平上差异显著。  
Note: The numbers in the table show average ±standard error Different letters in columns of the table show the significance at 1% level

表 2 授粉花柱 RNA 样品的放射性活度及自花授粉 <sup>32</sup>P-RNA 与异花授粉 <sup>32</sup>P-RNA 的比率

Table 2 Radioactivity of RNA from pollinated style and the percentage of <sup>32</sup>P-RNA of self-pollination in <sup>32</sup>P-RNA of cross-pollination

授粉组合 Group of pollination	授粉后时间 Hours after pollination (h)	RNA 放射性活度 Radioactivity of style RNA (cpm)	<sup>32</sup> P-RNA 比率 * Percentage of <sup>32</sup> P-RNA (%)
丰水 ×丰水 Housui ×Housui	0	85	93.4
	12	38	40.7
	24	32	35.6
	48	22	25.3
幸水 ×丰水 Kousui ×Housui	0	91	
	12	93	
	24	90	
	48	87	

\*：自花授粉花柱内 <sup>32</sup>P-RNA 与异花授粉花柱内 <sup>32</sup>P-RNA 的比值。  
\*： The rate of <sup>32</sup>P-RNA of self-pollination in <sup>32</sup>P-RNA of cross-pollination

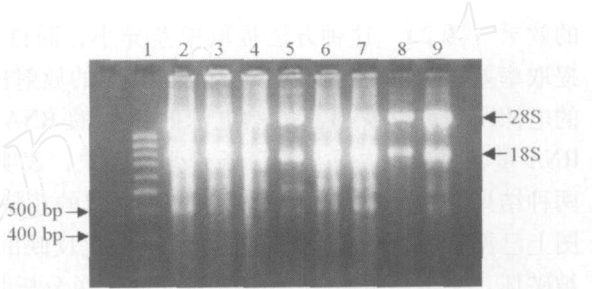


图 2 自花不亲和与亲和授粉后花柱中 <sup>32</sup>P-RNA 的降解

1: Marker; 2~5: ‘丰水’ × ‘丰水’ (2: 12 h, 3: 24 h, 4: 48 h, 5: 0 h); 6, 7: ‘幸水’ × ‘丰水’ (6: 12 h, 7: 48 h); 8: ‘丰水’ 花粉; 9: ‘幸水’ × ‘丰水’ (0 h)。

Fig 2 Degradation of <sup>32</sup>P-RNA from style pollinated by incompatible and compatible pollen

1: Marker; 2 - 5: Housui ×Housui (2: 12 h, 3: 24 h, 4: 48 h, 5: 0 h); 6, 7: Kousui ×Housui (6: 12 h, 7: 48 h); 8: Pollen of Housui; 9: Kousui ×Housui (0 h).

即自花授粉和异花授粉后 0 h 时，柱头上花粉 RNA 含量相似，而授粉后 12~48 h 时，自花授粉花柱中花粉 <sup>32</sup>P-RNA 的含量只占异花授粉的一半以下，说明在自花授粉的花柱中，花粉的 <sup>32</sup>P-RNA 发生了降解。

2.4 授粉花柱 RNA 的降解

对各花柱 RNA 样品进行琼脂糖电泳，结果表明，自花授粉后 12、24、48 h，随时间的延长，28S 和 18S 的条带逐渐变细（图 2 中 2~4），说明完整 RNA 的量减少，部分 RNA 被降解，且随授粉后时间延长，被降解的 RNA 的量逐渐增加；而异花授粉后 12、48 h 时，28S 和 18S 条带的粗细均没有变化（图 2 中 6、7），RNA 没有被明显降解，但条带出现了一些模糊、扩散现象，其确切原因尚不清楚；自花授粉与异花授粉后立即分离的花柱 RNA 的 28S、18S 的条带的粗细也均没有变化（图 2 中 5、9），说明 RNA 没有被明显降解。授粉过程中发生降解的 RNA 不是花柱 RNA 就是花粉 RNA，但授粉过程中花柱 RNA 不会被花柱本身降解，再结合上述放射性活度的研究结果，可以推断，在自花授粉花柱中被降解的 RNA 应为花粉的 <sup>32</sup>P-RNA。

3 讨论

笔者曾在室内应用 <sup>32</sup>P 溶液处理梨花枝，成功地标记了花粉，示踪了花粉管在花柱中生长的进

程<sup>[8]</sup>; McClure等人对烟草近花期植株饲喂  $\text{NaH}_2^{32}\text{PO}_4$  溶液的结果表明,  $^{32}\text{P}$  成为了花粉 RNA 的组分, 从而标记了花粉 RNA<sup>[9]</sup>。在本研究中, 同位素处理的花枝, 花期处于蕾期, 花粉是在同位素处理的过程中不断发育成熟的,  $^{32}\text{P}$  已进入花粉的各个部位。因此, 在授粉花柱内花粉管的放射自显影影像清晰, 花粉管完整, 花粉被完全标记; 授粉后花柱 RNA 的放射性活度的变化, 说明花粉 RNA 被  $^{32}\text{P}$  标记, 从而可以通过测定授粉花柱 RNA 的放射性活度来了解花柱中花粉 RNA 的降解情况。在花粉被标记的基础上, 影响授粉花柱样品 RNA 放射性活度的因素主要有两方面, 一是授粉花柱 RNA 中含有的  $^{32}\text{P}$ -RNA 是否真实地反映了花粉管 RNA 的量。已有的研究表明, 梨自交不亲和性反应主要发生在花柱中部<sup>[10]</sup>, 为了消除柱头上残留的被标记的花粉物质对授粉花柱 RNA 放射性活度的影响, 在授粉后不同时间的处理中, 除授粉后立即分离花柱的处理 (0 h) 外, 其余处理切去了授粉花柱的柱头, 使授粉花柱 RNA 的放射性活度真实地反映了花柱中花粉 RNA 的降解情况。二是授粉花柱样品 RNA 的提取率差异。本研究花柱样品 RNA 的提取方法, 是专门为提取富含 S-RNase 和酚类物质的花柱而设计的, 具有提取率高、RNA 完整性好、纯度高等优点; 应用这种方法提取花粉 RNA 也获得了同样的效果 (图 2)。这种方法提取率差异小, 而自花与异花授粉花柱 RNA 的放射性活度差异大, RNA 提取率差异对自花与异花授粉花柱 RNA 的放射性活度的差异性影响小。通过分析授粉花柱 RNA 样品的电泳图谱可以看出, 虽然电泳时添加的 RNA 量是相同的, 但在自花授粉后 48 h 时, 28S 和 18S RNA 量明显减少, 并出现了条带弥散现象, 表明部分 RNA 被降解 (完整性被破坏)。RNA 被降解有两种结果, 一是被彻底降解。被彻底降解的花粉管 RNA 在紫外比色分析时不参与形成 RNA, 在电泳图上已没有明显的印迹, 放射性活度变化反映的就是这部分被彻底降解的花粉管 RNA。二是完整性被破坏。完整性被破坏的 RNA 在紫外比色分析时参与形成了 RNA 的浓度及放射性活度的测定结果, 通过放射性活度的变化不能反映这部分花粉管 RNA, 只能通过电泳图谱来说明。在电泳图中, 完整性被破坏的 RNA 表现为不规则的 28S 和 18S 条带, 这就是本研究中电泳时用相同的授粉花柱 RNA 的量, 而电泳条带却表现出粗细差异的原因。此外, 电泳图中反映的只是完整性被破坏的 RNA, 而被完全降解的 RNA 已检测不到, 因此, 实际被降解的花粉管 RNA 的量比电泳图中反映的更多。通过检测放射性活度和电泳图谱, 可以较为准确地了解花柱中自花花粉管 RNA 的降解情况。分析自花授粉后花柱中花粉管 RNA 的降解, 还可以采用以花柱的量为检测依据、计算一定量的花柱中花粉管 RNA 量的变化的方法。本研究的放射性活度检测了各个样品 RNA 的总量, 采取了以花柱鲜样质量为依据的分析方法。电泳分析时, 虽然这种方法具有将彻底降解和完整性被破坏的花粉管 RNA 都在电泳图中表现出来的优点, 但电泳时 RNA 用量少, 以花柱鲜质量为依据进行比较容易产生较大实验误差, 电泳图表现的情况可能不够准确, 因此, 没有采用这种方法。

异花授粉后 12、48 h, 花柱 RNA 28S、18S 条带与授粉后立即分离的花柱 RNA 的相比, 出现了一些模糊、扩散现象 (图 2), 其确切原因尚不清楚, 但笔者联系在离体条件下进行的花柱 S-RNase 降解花粉 RNA 的研究结果 (尚未发表) 认为, 其原因可能是在异花授粉情况下也有少部分花粉 RNA 在花柱中被降解, 但降解的量比自花的小得多, 不影响特异性的表达。根据已有的研究结果<sup>[11, 12]</sup>和本研究中授粉花柱 RNA 放射性活度的变化情况, 可以认为, 授粉花柱中被降解的 RNA 为花粉 (管) RNA。为进一步明确授粉花柱中花粉 (管) RNA 被降解的情况, 可将琼脂糖凝胶泳带转到纤维膜上, 然后应用放射自显影方法, 显示授粉花柱 RNA 样品电泳图中花粉  $^{32}\text{P}$ -RNA 的对应条带 (自显影图), 要做到这一点, 需大幅增加用于处理的  $^{32}\text{P}$  的比强度。

本研究应用同位素标记示踪方法, 初步证实了梨自花授粉后, 花粉 (管) RNA 在花柱的柱头以下部分被特异地降解, 不仅为梨自交不亲和性机理的学术理论提供了实验证据, 而且为研究开花植物自交不亲和性提供了科学有效的方法, 研究结果与 Kao 等<sup>[6]</sup>曾针对同为配子体型自交不亲和性的茄科植物提出的自交不亲和性机理的理论模型及张绍铃等<sup>[4, 10]</sup>的研究结论一致。但在梨自交不亲和性反应中, 雌蕊与花粉 S 基因产物是如何相互作用的, 花柱中花粉 (管) RNA 降解的特异性的本质是什

么, 都还有待于进一步探讨。

### 参考文献:

- 1 Sassa H, Hirano H, Ikenhashi H. Identification and characterization of style glycoproteins associated with self-incompatibility genes of Japanese pear, *Pyrus serotina* Rehd. Springer-verlag Mol Gen Genet, 1993, 241: 17 ~ 25
- 2 Ishinizu T, Sato Y, Saito T. Identification and partial amino acid sequences of seven S-RNase associated with self-incompatibility of Japanese pear, *Pyrus pyrifolia* Nakai. Journal Biochemical, 1996, 120: 326 ~ 334
- 3 张绍铃, 周建涛, 徐义流, 陈迪新, 徐国华, 吴桂发. 梨花柱半离体培养法及品种自交不亲和基因型鉴定. 园艺学报, 2003, 30 (6): 703 ~ 706  
Zhang S L, Zhou J T, Xu Y L, Chen D X, Xu G H, Wu G F. Semi vitro culture of pear style and identification of the genotypes of pear self-incompatibility. Acta Horticulturae Sinica, 2003, 30 (6): 703 ~ 706 (in Chinese)
- 4 Zhang S L, Hiratsuka S. Cultivar and developmental differences in S-protein concentration and self-incompatibility in the Japanese pear. Hort Science, 2000, 35: 917 ~ 920
- 5 Hiratsuka S, Zhang S L, Nakagawa E. Selective inhibition of the growth of incompatible pollen tubes by S-protein in the Japanese pear. Sex Plant Reprod, 2001, 13: 209 ~ 215
- 6 Kao T H, McCubbin A G. How flowering plants discriminate between self and non-self pollen to prevent inbreeding. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 12059 ~ 12065
- 7 奥斯伯 F, 布伦特 R, 金斯顿 R E, 穆尔 D D, 塞德曼 J G, 史密斯 G A, 斯特拉尔 K. 精编分子生物学实验指南. 颜子颖, 王海林译. 北京: 科学出版社, 1998. 120 ~ 126  
Ausubel F, Brent R, Kingston R E, Moore D D, Seidman J G, Smith J A, Struhl K. Short protocols in molecular biology. Beijing: Science Press, 1995. 120 ~ 126 (in Chinese)
- 8 徐义流, 张绍铃. 以  $^{32}\text{P}$  示踪观察梨花粉管在自花与异花花柱中生长的方法. 植物生理学通讯, 2003, 51 (3): 238 ~ 239  
Xu Y L, Zhang S L. Method for observing radiotracer of pear tube growth in self and non-self styles with  $^{32}\text{P}$  in pear. Plant Physiology Communications, 2003, 51 (3): 238 ~ 239 (in Chinese)
- 9 McClure B A, Gray J E, Anderson M A. Self-incompatibility in *Nicotiana glauca* involves degradation of pollen rRNA. Nature, 1990, 347: 757 ~ 760
- 10 Zhang S L, Hiratsuka S. Variations in S-protein level in style of Japanese pears and the expression self-incompatibility. Journal Japan Society Horticultural Sciences, 1999, 68: 911 ~ 918
- 11 Hiratsuka S, Kito Y, Matsushima J. Induction of deformed pollen tube tips and their morphological characteristics in self-incompatible Japanese pear. Journal Japan Society Horticultural Sciences, 1991, 60: 257 ~ 265
- 12 Zhang S L, Hiratsuka S. Analysis of varietal differences in self- and cross-incompatibility reactions of Japanese pear using stylar culture technique. Journal Japan Society Horticultural Sciences, 1999, 68: 373 ~ 383

## 欢迎订阅 2006年下列期刊

《遗传学报》、《遗传》杂志是中国遗传学会和中国科学院遗传与发育生物学研究所主办、科学出版社出版的学术期刊, 内容涉及遗传学、发育生物学、基因组与生物信息学以及分子进化等领域, 读者对象为基础医学、农林牧渔、生命科学各领域的科研、教学、开发人员, 大学生、研究生、中学生物教师等。2004年起, 两刊全面实行网上投稿、网上审稿。网址: [www.Chinagene.cn](http://www.Chinagene.cn)。《遗传学报》(月刊) 邮发代号 2 - 819, 2006年定价 40元, 全年 480元。《遗传》(月刊) 邮发代号 2 - 810, 2006年定价 30元, 全年 360元。地址: 北京市安定门外大街, 中国科学院遗传与发育生物学研究所编辑室。邮政编码: 100101。主编: 薛勇彪 (E-mail: [ybxue@genetics.ac.cn](mailto:ybxue@genetics.ac.cn))。编辑室主任: 李绍武 (E-mail: [swli@genetics.ac.cn](mailto:swli@genetics.ac.cn))。电话/传真: 010 - 64889354, 010 - 64889348。

《中国园艺文摘》由中华人民共和国农业部主管、中国农业科学院农业信息研究所主办。创刊于 1985年, 荟萃百余种国内外科技期刊、报纸和网站等媒体的精华, 更增添了来自业内人士的原创文章、专家论坛、产业视点、行业分析、科技进展、市场动态、种植技术、病虫害防治、供求信息 and 短小精悍的趣闻杂谈呈现给读者。双月刊 64页, 大 16开, 每期 10元。国内邮发代号 80 - 273。国外代号: BM6766。欢迎订阅, 直接汇款本刊发行部者可优惠。联系人: 赵薇 孔令莉 (100081)。地址: 北京海淀中关村南大街 12号图书馆 111室。电话: 010 - 68975040, 62132809, 010 - 62132806 (兼传真)。http: //www.ch-yy.com (中国园艺科技网)。E-mail: [zggy@caas.net.cn](mailto:zggy@caas.net.cn), E-mail: [ZHAOWEI62132806@126.com](mailto:ZHAOWEI62132806@126.com)。