

实验方法与技术

Experimental Method & Technology

利用双标准曲线法检测刺萼龙葵 *SrDOG1* 基因的表达

王新果, 赵丹丹, 黄红娟*, 黄兆峰,
陈景超, 王慧敏, 张朝贤, 魏守辉*

(中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193)

摘要 双标准曲线法是基因表达定量研究中应用较广的一种相对定量检测方法。本研究结合绝对定量的原理, 对传统双标准曲线法进行了改进。以刺萼龙葵延迟萌发基因 *DELAY OF GERMINATION 1 (DOG1)* 的表达检测为例, 选择 β -actin 为内参基因, 分别将目的基因和内参基因片段插入 *pEASY-Blunt Zero* 载体, 制作标准质粒。提取冷藏或常温储藏种子的 RNA 进行荧光扩增, 同时将标准质粒梯度稀释液作为模板构建标准曲线, 以此计算 *SrDOG1* 的相对表达量。结果表明, 双标准曲线法能够灵敏地检测 *SrDOG1* 基因的差异表达, 发现冷藏种子中 *SrDOG1* 基因的表达量较常温储藏显著增高。双标准曲线法检测结果稳定, 重现性好, 数据处理简单, 适用于多种条件下基因表达水平的比较, 为进一步系统研究刺萼龙葵 *DOG1* 基因的表达特性和基因功能奠定了基础。

关键词 双标准曲线法; 刺萼龙葵; *DOG1* 基因; 相对定量; 表达检测

中图分类号: Q786 文献标识码: A DOI: 10.16688/j.zwbh.20171119

Detection of *DOG1* gene expression in *Solanum rostratum* by double standard curve method

WANG Xinguo, ZHAO Dandan, HUANG Hongjuan, HUANG Zhaofeng,
CHEN Jingchao, WANG Huimin, ZHANG Chaoxian, WEI Shouhui

(Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract Double standard curve method is a relative quantification method widely used in quantitative detection of gene expressions. Combined with the principle and method of absolute quantification, the traditional double standard curve method was improved. The fragment of target gene *DELAY OF GERMINATION 1 (SrDOG1)* and reference gene β -actin (*SrACT*) were cloned into *pEASY-Blunt Zero* vector to make the standard plasmid, respectively. The total RNA were extracted from *Solanum rostratum* seeds and the standard curves were achieved by real-time PCR reaction using the dilutions of standard plasmid as the template. According to the standard curve, the relative expression of *SrDOG1* was obtained. The results showed that *SrDOG1* transcript level in seeds under cold storage was significantly higher than that under room temperature, suggesting that double standard curve method has high sensitivity in quantification of expression differences of *DOG1* gene. This method is stable, reproducible and simple in data processing. It is suitable for the comparison of relative gene expression levels under various conditions and is useful to further determine the gene expression and gene function of *SrDOG1* in the future.

Key words double standard curve; *Solanum rostratum*; *DOG1*; relative quantification; expression detection

基因表达水平的检测方法大致可分为绝对定量和相对定量两类^[1-4]。绝对定量是样本中某基因的具

体表达量, 而相对定量是相对某一参照的表达水平。相对定量又分为 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法和双标准曲线法^[5-10]。相较

收稿日期: 2017-04-21 修订日期: 2017-05-25

基金项目: 国家自然科学基金(31572022, 31171867)

* 通信作者 E-mail: shwei@ippcaas.cn; hjhuang@ippcaas.cn

于 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法, 双标准曲线法计算简单, 对引物的扩增效率没有严格的要求。但传统的双标准曲线法得到的目的基因相对于内参基因的表达量并不能反映样本中真实的表达水平, 必须设定对照组, 结果表示为未知样本相对于对照样本表达量的倍数^[11-12]。因此, 在处理较多的试验中, 可能由于无法选择相同的对照组而导致无法对不同处理的结果进行比较。通过结合绝对定量的方法及原理, 对传统的双标准曲线法严格规范, 可无需设定对照组, 直接检测未知样本中目的基因相对内参基因的真实表达水平, 能够更加直观地得出多个处理之间的表达差异。

刺萼龙葵 *Solanum rostratum* Dunal 是一年生茄科茄属入侵杂草, 是一种高度危险的检疫性有害生物, 严重影响其入侵地的生态多样性^[13-15]。刺萼龙葵具有极强的入侵性, 我国已先后在辽宁、吉林、河北、北京、山西、内蒙古及新疆等地发现其扩散蔓延^[16-18]。刺萼龙葵主要由种子进行传播, 降低刺萼龙葵种源基数, 可以有效地控制其危害蔓延^[19-20]。刺萼龙葵种子具有极强的休眠特性, 而 *DOG1* (*DELAY OF GERMINATION 1*) 基因是种子休眠特异相关基因^[21-22]。建立稳定、可靠的刺萼龙葵 *DOG1* 基因表达的定量检测方法, 有利于今后深入研究 *SrDOG1* 基因的时空表达特性和基因功能。

1 材料与与方法

1.1 引物设计

以 β -actin 基因为内参基因, 根据刺萼龙葵 *SrDOG1* 和 β -actin (*SrACT*) 基因序列, 采用 Oligo 7 与 Primer 6 等软件分别设计用于克隆及荧光定量 PCR 的引物, 引物由北京六合华大基因科技股份有限公司合成。具体引物序列见表 1。

表 1 引物序列及扩增片段长度

Table 1 Primers and fragment size of the amplified sequences

基因 Gene	用途 Purpose	引物序列 Sequence of primer	片段长度/bp Fragment length
<i>SrDOG1</i>	克隆	GGCAAGTAATTCAAATAACAGTAAGCG CTACTGATTATGCTCCTGATCCCT	751
	荧光 定量	AGAAGAGAGGAGGATTACGACCA ATGCGTTTGCTAAGTTCATCAA	138
<i>SrACT</i>	克隆	TGACAATGGAAGTGAATGGT ACAATGAAAGCACAGCCTGGA	293
	荧光 定量	GGAATGGTTAAGGCAGGATTTG TTCATCACCCACATAGGCATC	129

1.2 质粒标准品的制备

分别扩增目的基因和内参基因片段, 产物纯化回收后连接至 *pEASY-Blunt Zero* 载体, 并转入大肠杆菌中扩繁, 之后使用菌液 PCR 进行验证, 筛选出的阳性克隆送至北京六合华大基因科技股份有限公司测序。分析测序结果, 从测序合格的菌液中提取质粒并纯化, 凝胶电泳及微量紫外分光光度计检测质粒的纯度和浓度。合格的质粒溶液 OD_{260}/OD_{280} 在 1.8 左右, OD_{260}/OD_{230} 在 2.2 左右。根据质粒拷贝数 ($\text{copies}/\mu\text{L}$) = 6.02×10^{23} (copies/mol) \times 质粒浓度 ($\text{g}/\mu\text{L}$)/质粒分子量 (g/mol) 得出各质粒拷贝数浓度, 之后稀释拷贝数浓度至 10^7 $\text{copies}/\mu\text{L}$ 左右作为荧光定量 PCR 反应的模板^[21-24]。

1.3 RNA 的提取及反转录

分别取 25~35 粒常温储藏和冷藏的刺萼龙葵种子, 参考植物总 RNA 提取试剂盒的操作步骤, 提取种子总 RNA, 经琼脂糖凝胶电泳及紫外分光光度计检测合格后, 使用反转录试剂盒合成 cDNA 备用。合格的 RNA 在电泳胶图中应无 DNA 杂带, OD_{260}/OD_{280} 在 1.8~2.0 之间, OD_{260}/OD_{230} 在 2.0 以上。

1.4 引物及质粒标准品扩增效率的荧光验证

引物验证以 cDNA 为模板, 将其进行 3 倍梯度稀释后进行荧光定量 PCR, 得到目的基因与内参基因荧光引物的标准曲线, 结合标准曲线的扩增效率、决定系数以及熔解曲线, 确定荧光引物的可用性。荧光 PCR 反应体系: SYBR Green I 荧光染料 12.5 μL , 上、下游引物各 1 μL , 模板 1 μL , 补 ddH₂O 至 25 μL 。荧光定量 PCR 反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 40 个循环; 从 60 $^{\circ}\text{C}$ 连续递增到 95 $^{\circ}\text{C}$, 收集荧光信号获取熔解曲线, 以确定 PCR 反应的特异性。每个梯度的样品在同一个 96 孔板上做 3 次技术重复, 并用无菌水代替模板作为对照。质粒标准品的验证过程同引物基本一致, 仅模板不同, 模板更改为梯度稀释的质粒。两次检测的扩增效率均需达 90%~110%, 决定系数 0.990 以上。

1.5 基因表达检测方法 & 数据处理

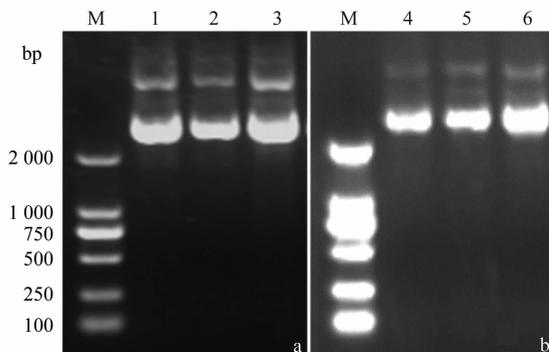
将含有目的基因和内参基因的质粒标准品与待测样本 (常温储藏和冷藏的种子总 RNA) 在同一 96 孔板上进行实时荧光定量 PCR 反应制作标准曲线, 质粒标准品进行 3 倍梯度稀释作为定量反应模板。未知样本分别检测目的及内参基因的表达水平, 每个样本设 3 个生物学重复, 每个处理设 3 个技术重

复,以无菌水为对照。根据目的和内参基因质粒标准品构建的标准曲线获取基因的拷贝数含量,通过内参基因的均一化处理,即可知未知样本中目的基因相对于内参基因的表达量。数据使用 SPSS 软件进行方差分析(邓肯法, $\alpha=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 质粒提取及浓度检测

经琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测,目的及内参基因质粒的提取较为完整,无杂质条带(图 1),且各质粒溶液浓度较高,OD₂₆₀/OD₂₈₀ 均在 1.8~2.0 之间,OD₂₆₀/OD₂₃₀ 基本大于 2.0(表 2)。可作为标准品构建标准曲线。



a: 目的基因 *SrDOG1*; b: 内参基因 *SrACT*。M: DL2000 DNA Marker; 1~3: *SrDOG1* 质粒条带; 4~6: *SrACT* 质粒条带

a: *SrDOG1*; b: *SrACT*。M: DL2000 DNA Marker; 1-3: *SrDOG1* standard plasmid; 4-6: *SrACT* standard plasmid

图 1 *SrDOG1* 基因和 *SrACT* 基因片段的质粒电泳图

Fig. 1 Electropherogram of *SrDOG1* and *SrACT* plasmid

表 2 质粒标准品的各项参数

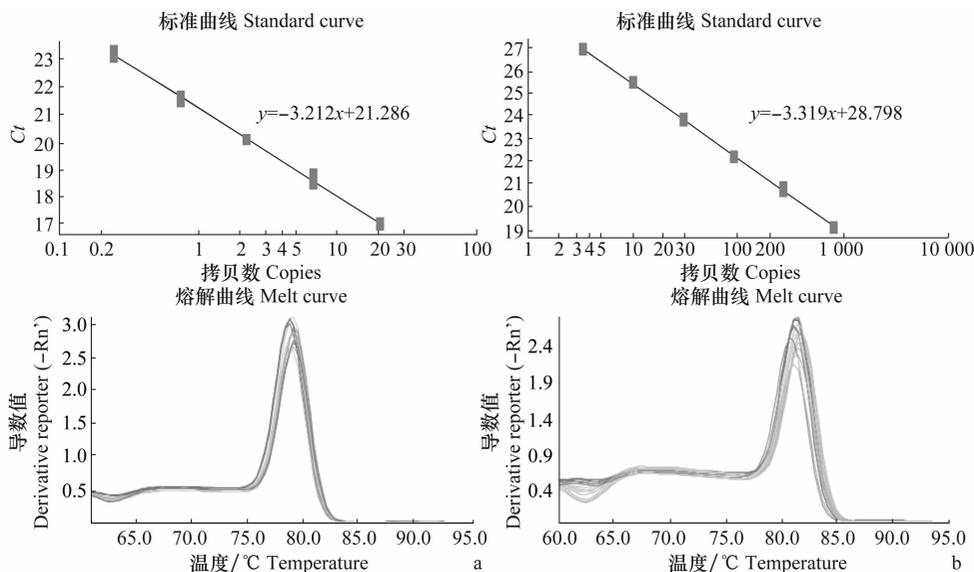
Table 2 Parameters of standard plasmid

基因 Gene	编号 Number	浓度/ng · μL^{-1}	Concentration	OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	OD ₂₆₀ /OD ₂₃₀	拷贝数/ $\times 10^{13}$ copies · μL^{-1}	Copies
<i>SrDOG1</i>	1	114.3		1.90	2.02	2.62	
	2	111.2		1.88	1.99	2.55	
	3	126.5		1.90	2.11	2.90	
<i>SrACT</i>	1	117.0		1.90	1.88	2.42	
	2	121.0		1.90	2.05	2.50	
	3	117.5		1.88	2.04	2.43	

2.2 引物及质粒标准品的荧光检测

通过梯度荧光定量 PCR,利用软件分析,得到引物在以 cDNA 为模板时的标准曲线以及溶解曲线(图 2)。结果表明,试验设计的引物均较为理想,

SrDOG1 引物的扩增效率为 104.78%,决定系数为 0.997,溶解曲线单峰,无非特异性产物;*SrACT* 引物的扩增效率为 100.13%,决定系数为 0.999,溶解曲线单峰,无非特异性产物。



a: *SrDOG1*; b: *SrACT*

图 2 引物验证的标准曲线和溶解曲线

Fig. 2 Standard curve and melt curve of primer verification

使用同样的方法,可得目的基因及内参基因质粒标准品的标准曲线及熔解曲线(图3)。目的基因质粒标准品的扩增效率为103.87%,决定系

数为0.999,内参基因质粒标准品的扩增效率为96.23%,决定系数为0.999。各质粒的熔解曲线均为单峰,反应均无非特异性产物。

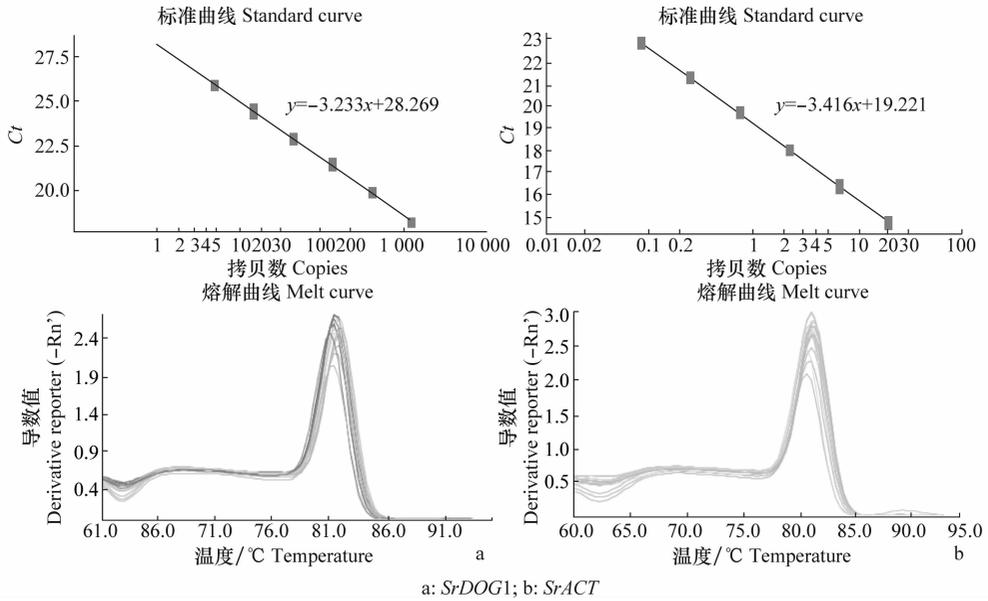


图3 *SrDOG1* 和 *SrACT* 质粒验证标准曲线及熔解曲线
Fig. 3 Standard curve and melt curve of plasmid verification

2.3 *SrDOG1* 基因的表达量检测

分别测定刺萼龙葵种子在常温和低温储藏条件下 *SrDOG1* 基因的相对表达量,结果表明,低温贮藏条件下种子中 *SrDOG1* 基因的表达水平是常温贮藏条件下的2.28倍,两者间差异达到显著水平(图4)。这一结果与前人对 *DOG1* 基因的表达特性研究较为一致,说明双标准曲线法可以检测出 *SrDOG1* 基因在不同条件下的表达差异。从具体检测数据上看,低温条件下 *SrDOG1* 基因的表达量是内参基因 *SrACT* 的0.919倍,数据标准误为0.122、变异系数为22.9%,在置信度0.95下其置信区间为0.680~1.157;而在常温储藏条件下, *SrDOG1* 基因的表达量是 *SrACT* 的0.403倍,标准误为0.040、变异系数为17.4%,在置信度为0.95下其置信区间为0.323~0.482。上述结果表明,双标准曲线法检测稳定性强、重复性好,结果较为可靠,检测精度较高,适用于刺萼龙葵 *SrDOG1* 基因表达水平的检测。

于参照设置的差异而难以对结果进行不同维度的比较。双标准曲线法的相对定量检测通过优化绝对定量的方法,对引物、质粒标准品、标准曲线等进行严格规范,基因表达水平可以简单地以目的基因为内参基因的倍数表示,因而能够比较多处理间目的基因的表达水平差异^[22,28]。

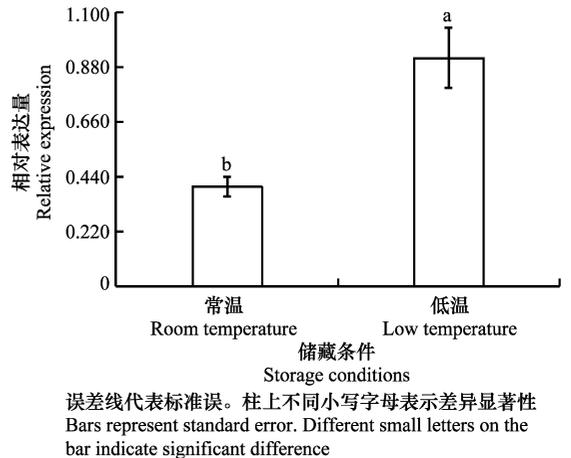


图4 *SrDOG1* 在常温和低温储藏种子中的相对表达量
Fig. 4 Relative expression of *SrDOG1* in seed under different storage temperature

3 讨论

实时荧光定量是一种特异性强、灵敏度高、重复性好的核酸定量分析技术,具有快速、准确、简便等优点^[25-27]。对于处理较多的研究,传统荧光定量由

应用双标准曲线法对刺萼龙葵种子中延迟萌发基因 *DOG1* 的表达进行了检测,结果显示,该方法检

测结果稳定、直观、重现性好,数据对比方便快捷,可以灵敏地检测出 *DOG1* 基因在不同条件下的表达差异,为进一步研究 *DOG1* 基因的表达特性及功能奠定了方法基础。

DOG1 基因是调控种子休眠的特异相关基因,通常在发育或成熟的种子中表达^[21-22]。种子的休眠程度与 *DOG1* 蛋白水平高度相关,*DOG1* 的表达水平越高,种子休眠程度越深,*DOG1* 的表达水平可以反映种子的休眠程度^[1]。本研究检测发现,刺萼龙葵低温储藏种子中 *DOG1* 基因的相对表达量几乎是常温储藏条件下的两倍,说明低温环境对 *DOG1* 基因的表达及种子休眠有显著影响。前人也认为 *DOG1* 基因可能是种子的环境信号感受器,可通过感知温度、水分或光照等环境信号,使种子在不同季节对环境做出不同的响应,调控开启种子萌发的适宜时间窗口^[22,29-30]。

杂草种子休眠的进化趋势是将种子萌发延迟到适于幼苗生长的季节,萌发时机的调节是杂草适应自然和农业生态系统的重要性状。目前,延迟萌发基因 *DOG1* 的具体功能和调控通路尚不明确,通过建立双标准曲线法的荧光定量检测技术,系统研究 *DOG1* 基因的表达特性和时空特征、季节性休眠过程中种子萌发与 *DOG1* 基因表达水平的相关性、*DOG1* 基因对环境因子信号的响应模式及与 *ABA* 和 *GA* 等激素信号通路的互作机理,有望深入揭示 *DOG1* 基因调控种子休眠的分子机制。

参考文献

- NAKABAYASHI K, BARTSCH M, XIANG Yong, et al. The time required for dormancy release in *Arabidopsis* is determined by delay of germination 1 protein levels in freshly harvested seeds [J]. *Plant Cell*, 2012, 24(7): 2826 - 2838.
- CHAN Chichao, CHEW E Y, SHEN Defen, et al. Expression of stem cells markers in ocular hemangioblastoma associated with von Hippel-Lindau (VHL) disease [J]. *Molecular Vision*, 2011, 11: 697.
- 克丙申,黄象艳,陈世敏,等. PCR 扩增试验的动力学数学模型 [J]. *遗传*, 2002, 24(1): 55 - 59.
- 王行,王惠民. 实时定量 PCR 技术的方法学分类 [J]. *临床检验杂志*, 2007, 25(1): 71 - 72.
- PARK D M, ZHUANG Zhengping, CHEN Ling, et al. von Hippel-Lindau disease-associated hemangioblastomas are derived from embryologic multipotent cells [J]. *PLoS Medicine*, 2007, 4(2): e60.
- ZHOU Min, SHEN Defen, HEAD J E, et al. Ocular clusterin expression in von Hippel-Lindau disease [J]. *Molecular Vision*, 2007, 13: 2129 - 2136.
- MOSONI P, CHAUCHEYRAS-DURAND F, BÉRA-MAILLET C, et al. Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates; effect of a yeast additive [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 103(6): 2676 - 2685.
- YU Lili, ZHANG Wenliang, LIU Tianju, et al. Global gene expression of *Trichophyton rubrum* in response to PH11B, a novel fatty acid synthase inhibitor [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 103(6): 2346 - 2352.
- LIU Weihong, SAINT D A. Validation of a quantitative method for real time PCR kinetics [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2002, 294(2): 347 - 353.
- LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402 - 408.
- 徐丽华,刘春雷,常玉梅,等. 双标准曲线相对定量 PCR 试验原理与方法 [J]. *生物技术通报*, 2011, 1: 70 - 75.
- 张吉宇,王彦荣,南志标. 相对定量和绝对定量——以 *CsSA-MDC* 基因表达分析为例 [J]. *中国生物工程杂志*, 2009, 29(8): 86 - 91.
- 高芳,徐驰. 潜在危险性外来物种——刺萼龙葵 [J]. *生物学通报*, 2005, 40(9): 11 - 12.
- 高芳,徐驰,周云龙. 外来植物刺萼龙葵潜在危险性评估及其防治对策 [J]. *北京师范大学学报*, 2005, 41(4): 420 - 424.
- 魏守辉,张朝贤,刘延,等. 外来杂草刺萼龙葵及其风险评估 [J]. *中国农学通报*, 2007, 23(3): 347 - 351.
- 林玉,谭敦炎. 一种潜在的外来入侵植物:黄花刺茄 [J]. *植物分类学报*, 2007, 45(5): 675 - 685.
- 贺俊英,哈斯巴根,孟根其其格,等. 内蒙古新外来入侵植物——黄花刺茄 (*Solanum rostratum* Dunal) [J]. *内蒙古师范大学学报(自然科学汉文版)*, 2011, 40: 288 - 290.
- 向俊,李翠妮,刘全儒,等. 北京外来入侵植物刺萼龙葵的生态状况 [J]. *生态学杂志*, 2011, 30(3): 453 - 458.
- BUHLER D D, HARTZLER R G, FORCELLA F. Implications of weed seedbank dynamics to weed management [J]. *Weed Science*, 1997, 45: 329 - 336.
- 魏守辉,强胜,马波,等. 土壤杂草种子库与杂草综合管理 [J]. *土壤*, 2005, 37(2): 121 - 128.
- BENTSINK L, JOWETT J, HANHART C J, et al. Cloning of *DOG1*, a quantitative trait locus controlling seed dormancy in *Arabidopsis* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(45): 17042 - 17047.
- CHIANG G C K, BARTSCH M, BARUA D, et al. *DOG1* expression is predicted by the seed-maturation environment and contributes to geographical variation in germination in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Molecular Ecology*, 2011, 20(16): 3336 - 3349.

- [23] 李丽, 赵成萍, 李宏, 等. 质粒制备绝对定量 PCR 标准曲线方法的建立[J]. 农业生物技术学报, 2011, 19(6): 1157-1162.
- [24] 李慧锋, 李丽, 张丽娟, 等. *PepT1* 基因绝对定量 PCR 标准曲线的建立[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2010, 30(4): 332-335.
- [25] DI M E, CANGEMI G, FILIPPETTI M, et al. Development and clinical validation of a real-time PCR using a unimolecular scorpion-based probe for the detection of *Mycoplasma pneumoniae* in clinical isolates [J]. The New Microbiologica, 2007, 30(4): 415-421.
- [26] MORSCZECK C, KORENKOV M, NAGELSCHMIDT M, et al. Total RNA-isolation of abdominal hernia of rats for quantitative real-time reverse transcription (RT) PCR assays [J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2008, 38(1): 87-93.
- [27] SOBAJIMA S, SHIMER A L, CHADDERDON R C, et al. Quantitative analysis of gene expression in a rabbit model of intervertebral disc degeneration by real-time polymerase chain reaction[J]. The Spine Journal, 2005, 5(1): 14-23.
- [28] 张驰宇, 徐顺高, 黄新祥. 一种新颖简便的荧光实时 RT-PCR 相对定量方法的建立[J]. 生物化学与生物物理进展, 2005, 32(9): 883-888.
- [29] FOOTITT S, DOUTERELO-SOLER I, CLAY H, et al. Dormancy cycling in *Arabidopsis* seeds is controlled by seasonally distinct hormone-signaling pathways [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(50): 20236-20241.
- [30] FOOTITT S, MÜLLER K, KERMODE A R, et al. Seed dormancy cycling in *Arabidopsis*; chromatin remodelling and regulation of *DOG1* in response to seasonal environmental signals [J]. Plant Journal, 2015, 81(3): 413-425.

(责任编辑: 杨明丽)



《植物保护》加入中国知网《中国学术期刊(网络版)》 录用定稿网络首发征稿启事

为了以规范的网络期刊出版方式更快更好地确立作者的科研成果首发权,全面提高学术论文的传播效率和利用价值,我刊现已与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司(简称电子杂志社)签署《CAJ-N网络首发学术期刊合作出版协议》,通过《中国学术期刊(网络版)》(CAJ-N)正式出版我刊网络版。从2018年1月1日起,凡经我刊审定录用的稿件(录用定稿)均将首先在我刊网络版上首发,后视编排情况发布排版定稿和整期汇编定稿,最后由我刊印刷版出版。针对我刊数字出版转型情况,特发布录用定稿网络首发征稿启事。

来稿要求详见我刊的《征稿简则》。为规范录用定稿发布版式,我刊对稿件的排版格式作如下规定:来稿为WORD格式,条目齐全,论文题目采用3号黑体,作者姓名采用小4号仿宋体,作者单位、摘要、参考文献等使用小5号宋体,正文中一级标题使用4号黑体,二级标题使用5号黑体,其他标题及正文文字采用5号宋体。表题采用小5号黑体,表格内容使用小5号宋体,表注使用6号宋体,图题使用小5号黑体,图注使用6号宋体。通栏版式,单倍行距,图表清晰,照片像素不低于300 dpi。

录用定稿网络首发之后,在后续的排版定稿、整期汇编定稿网络版和印刷版中,不得修改论文题目、作者署名、作者单位、基金项目以及其学术内容,只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

CAJ-N是国家新闻出版广电总局批准创办、国家教育部主管、清华控股有限公司主办、《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司出版的由我国各类学术期刊组成的连续型网络出版物,每篇网络首发论文将被赋予一个唯一的国际DOI编码,而且在版本变动中,其DOI维持不变。按国家有关网络连续型出版物管理规定,网络首发论文视为正式出版论文,我刊编辑部与电子杂志社共同为论文作者颁发论文网络首发证书。论文作者可以从“中国知网”下载或打印论文和证书,作为正式发表的论文提交人事、科研管理等有关部门。

我刊印刷版出版后,将一次性支付网络版(包括各版本)、光盘版和印刷版稿酬。同时,电子杂志社将以篇为单位,向论文作者提供多项免费服务,具体情况详见2017年10月16日出版的《中国新闻出版广电报》第5版与中国知网首页的期刊作者服务栏目。

竭诚欢迎海内外专家、学者赐稿!

通信地址:北京海淀区圆明园西路2号中国农业科学院植物保护研究所《植物保护》编辑部

网 址:www.plantprotection.ac.cn

电子信箱:zwbh1963@263.net

联系电话:010-62819059