

鸡蛋花花叶病毒 3' 端序列的克隆与分析

邓晓东, 费小雯, 黄俊生, 郑学勤

(中国热带农业科学院热带作物生物技术国家重点实验室, 海南 海口 571101)

摘要: 根据烟草花叶病毒组 (Tobamoviruses) 3' 端非编码区保守区域, 人工合成下游引物 P1, P2, P3, 分别以这些引物引导在反转录酶作用下合成双链 cDNA, 并克隆到 pBS 载体上。Hind III + Pst I 双酶切分析重组子后, 得到 15 个阳性重组子, 其中重组子 pBF3 含有 2432 bp 外源 DNA。序列分析结果表明: 该 2432 bp 的序列含 2 个开放读框, 即鸡蛋花花叶病毒移动蛋白基因序列和外壳蛋白基因序列。移动蛋白基因序列起始于 806 位 ATG, 中止于 1576 位 TAG。推导的氨基酸序列共 256 个氨基酸, 分子量为 28.5 kDa。外壳蛋白基因序列起始于 1635 位 ATG, 中止于 2158 位 TAA。推导的氨基酸序列共 174 个氨基酸, 分子量为 19.4 kDa。此外该片段还包含部分 180 kDa 蛋白和全部 3' 端非编码区核苷酸序列。

关键词: 鸡蛋花花叶病毒; 移动蛋白基因; 外壳蛋白基因; 3' 端非编码区; 序列分析

中图分类号: S432.41 文献标识码: A 文章编号: 1005-3395(2000)03-0185-08

CLONING AND SEQUENCING OF THE 3' -END OF FRANGIPANI MOSAIC VIRUS (FMV)

DENG Xiao-dong, FEI Xiao-wen, HUANG Jun-sheng, ZHENG Xue-qin

(National Key Biotechnology Laboratory of Tropical Crops, CATAS, Haikou 571101, China)

Abstract: Based on the 3'-end conserved regions among genomic RNA of tobamovirus, three primers P1, P2, P3 matching them were synthesized. ds-cDNA were synthesized to leading by these primers and cloned into the vector pBS. Fifteen positive recombinants were obtained after Hind III + Pst I were digested. Among them, pBF3 was sequenced. It showed that the fragment of 2432 bp had two open reading frames (ORF). The first ORF encoded the frangipani mosaic virus movement protein. It ranged from nucleotide 806 to 1576. The deducing protein consisted of 256 amino acids, with a calculated MW of 28.5 kilo dalton. The second ORF encoded the coat protein which ranged from nucleotide 1635 to 2158, and the deducing protein consisted of 174 amino acids, with a calculated MW of 19.4 kilo dalton. This fragment also included partial regions of 180 kDa protein and 3'-end non-coding regions.

Key words: Frangipani mosaic virus; Movement protein gene; Coat protein gene; 3'-end non-coding regions; Sequence analysis

鸡蛋花 (*Plumeria rubra* var. *acutifolia*) 为热带地区著名的观赏植物, 为老挝人民共和国国花。它受鸡蛋花花叶病毒 (Frangipani mosaic virus, FMV) 感染后, 其生长发育受到抑制, 并呈现花叶的症状, 严重影响其观赏价值^[1]。FMV 是烟草花叶病毒组 (Tobamovirus, TMV) 的成员。病毒基因组为单链正义 RNA。基因组 5' 端为帽子结构, 3' 端为 tRNA 结构。基因组编码病毒复制, 细胞间移动, 外壳蛋白等 4 个蛋白。180 kDa 蛋白是通过 126 kDa 蛋白琥珀密码子通读产生的, 二者与病毒的复制有关; 28.5 kDa 蛋白涉及病毒在细胞间的移动, 并涉及病毒 RNA 与植物细胞的胞间连丝相互作用^[2]; 外壳蛋白为病毒的结构蛋白, 与病毒在细胞中远距离传播及分子识别有关。

目前, 烟草花叶病毒组的主要成员如 TMV-U1^[3], ToMV^[4], PMMV^[5], TMGMV^[6], CGMMV^[7], ORSV(E04305)^[8] 等基因组 RNA 的序列已经报道, 却未见 FMV 各基因序列的报道。FMV 基因组序列的研究, 有助于了解它与已知 Tobamovirus 病毒组其他病毒基因结构的差异, 并为进一步阐明该组病毒对植物的致病机理, 基因结构差异与寄主关系等方面的作用。我们克隆了鸡蛋花花叶病毒 3' 端核苷酸序列, 并对其移动蛋白基因、外壳蛋白基因以及 3' 端非编码区核苷酸序列进行分析, 与同组已经报道的病毒进行同源性比较。这是国内外首次报道 FMV 移动蛋白基因及外壳蛋白基因序列。

1 材料和方法

材料 鸡蛋花花叶病毒由海南儋州分离。克隆载体 pBS 及反转录酶、限制性内切酶购自 Promega 公司。反转录试剂盒购自 Pharmacia 公司。

引物的设计合成 参照 Alonso 等^[9] 的方法, 根据已发表的 Tobamoviruses 3' 端非编码区保守序列, 应用序列分析软件设计了以下引物: P1: 5'-TGGGCCC(G)CT(A)ACCC(G)GC(G)GG-3'; P2: 5'-GGGG(A)GG(A)ATTCTGAAC(T)CC(T)CT-3'; P3: 5'-C(T)CG(C)TTC(A)G(T)ATTTAAATGG(A)-3'。其中, P1 对应于 PMMV 基因组 RNA 的 6342-6358 位, P2 对应于 PMMV 基因组 RNA 的 6320-6337 位, P3 对应于 PMMV 基因组 RNA 的 6233-6250 位。

病毒 RNA 的提取 参照刘志昕等^[9] 方法进行, 所用器皿经过焦碳酸二乙酯 (DEPC) 处理。

双链 cDNA 的合成 参照 Pharmacia 公司反转录试剂盒说明书, 用提纯病毒 RNA 为模板, 经反转录酶反应合成 cDNA 第一链, 第一链反应混合液加入第二链反应液 (含 RNase H, DNA 聚合酶 I) 于 14℃ 温育 2 h。65℃ 灭活 DNA 聚合酶 I, 反应液经酚, 氯仿抽提, 酒精沉淀, 最后溶于双蒸水中。

双链 cDNA 的克隆 双链 cDNA 经与 *EcoRI* 接头连接后, 经 T4 多核苷酸激酶在 5' 端加上磷酸, 与克隆载体 pBS (已经用 *EcoRI* 酶切, 碱性磷酸酯酶脱磷酸处理) 连接, 转化 DH5 α , 在含有 IPTG 和 X-gal 的平板上培养过夜。选择白色菌落, 用碱裂法小量提取质粒, *HindIII* + *PstI* 双酶切后, 电泳鉴定重组子。

序列分析 参照 Sambrook 等^[10] 的方法, 对阳性重组子进行大量提取, 纯化。用 M13 正反引物进行正反测序 (本实验室 ABI377A DNA 自动测序仪)。

2 结果

2.1 双链 cDNA 克隆的鉴定

随机挑选的白色菌落经电泳,初步鉴定阳性重组子,选择滞后的克隆以 *Hind*III + *Pst*I 双酶切分析,18个滞后的克隆中共有15个克隆含有插入片段。其中,pBF3的插入片段约2400 bp,pBF8的插入片段约1800 bp,pBF13的插入片段约1250 bp。pBF3,pBF8,pBF13经M13引物正反双向测序,测序策略如图1所示。测序结果显示,pBF3全长2432 bp,为引物P1引导合成。pBF8全长1820 bp,为引物P1引导合成。pBF13全长1243 bp,为引物P2引导合成。

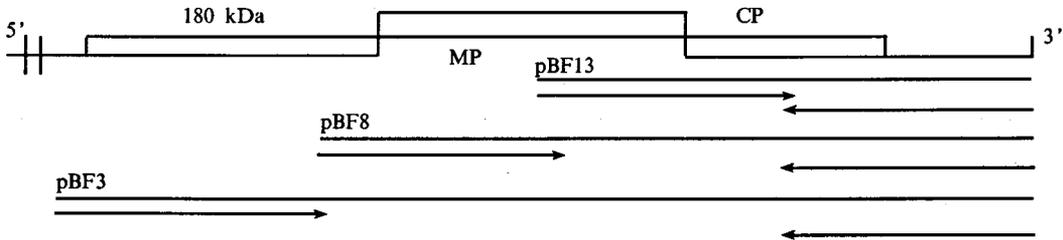


图1 FMV3'端序列测序策略

Fig. 1 Sequencing strategy for FMV 3' regions

方框代表移动蛋白基因序列、外壳蛋白基因序列、部分180 kDa蛋白和3'端非编码区核苷酸序列。箭头代表测序方向。
Open boxes represent the coding regions for movement protein, coat protein, partial 180 kDa protein and 3'-end non-coding regions. Arrows indicate the direction of sequencing.

2.2 插入片段核苷酸序列及推导的氨基酸序列

pBF3,pBF8,pBF13测序结果经整理用DNASTAR软件进行分析。结果全长2432 bp的序列含2个开放读框,即FMV移动蛋白基因序列和外壳蛋白基因序列。移动蛋白基因序列起始于806位ATG,中止于1576位TAG。推导的氨基酸序列共256个氨基酸,分子量为28.5 kDa。外壳蛋白基因序列起始于1635位ATG,中止于2158位TAA。推导的氨基酸序列共174个氨基酸,分子量为19.4 kDa。此外该片段还包含部分180 kDa蛋白和3'端非编码区核苷酸序列(Genbank登录号:AF280966 图2)。

2.3 FMV移动蛋白基因序列和外壳蛋白基因序列以及3'端非编码区序列同源性分析

自然界TMV移动蛋白只能在受侵染的植物中分离。有证据表明,从TMV中分离的移动蛋白分子量较核苷酸推导的大,并且已经过磷酸化。这说明移动蛋白已经过植物的加工修饰^[1]。与TMV-U1^[3],ToMV^[4],TMGMV^[6],CGMMV^[7]一样,FMV移动蛋白基因的起始与180 kDa蛋白的3'端编码序列相重叠(806-819,图1)。而CGMMV移动蛋白基因的3'端编码序列与外壳蛋白的起始相重叠。TMV移动蛋白被认为与病毒在侵染过程中寄主细胞间移动有关,具体过程已基本阐明^[11]。与TMV-U1,ToMV,PMMV^[5],TMGMV,CGMMV,ORSV^[8]移动蛋白蛋白质同源性分析结果显示,FMV移动蛋白与它们差异较大。与它们的同源率分别为24.5%,24.1%,27.6%,25.0%,33.1%和25.7%。但在被认为保守的区域(57-101),FMV与TMV的其他成员有较高的同源性(图3)。外壳蛋白同源性比较结果同样显示,除了在被认为

GAAAGCATAGATTCTGAAAGATTTCTTTTCTTCACAAGGAAAACCTCCGAGTGATGTTCAAGATTTCTTTTCGAATCTAAATTCAAAACAG 90
 E S I D S E R F L F F T R K T P S D V O D F F S N L N S K O
 GAATTGGATGCTATGAATTGGATGCTCCAAGTATGACAAATCCCAGAATGAATTCATTGTGCAGTTGAAATGAAGATCTGGGAAAGG 180
 E L D V Y E L D V S K Y D K S O N E F H C A V E M K I W E R
 TTGGGCTTTGACAAATATCTAAATATGTTTGGAAATGGGCATAAATTGACCACTATTACCGATTATTTCGCTGGTATCAAACGTC A 270
 L G F D K Y L K Y V W E M G H K L T T I T D Y S A G I K T S
 GTTGGTATCAGAGAAAAAGCGGTGATGTGACAACATTCATAGGGAATACTATCATTATTGCCGCGTGTCTGGCGTCATGTATGCCATG 360
 V W Y O R K S G D V T T F I G N T I I I A A C L A S C M P M
 GAAAAATCATTCAAAGCTGCGTTTTGTGGTATGATTCTATAGTATATATGCCAAAAGGTAAGTCCGTCGCGATAATGTTTCATGCTGGAGCG 450
 E K S F K A A F C G D D S I V Y M P K G T P C D N V H A G A
 AGCTTAATGTGGAAATTTTCAGCCAAGCTATACAGAAGGTCCTCAAGGATATTTTGTGGTAAATATAGTGAGACACCCGGTGGTTGC 540
 S L M W N F S A K L Y R S O G A Y T F C G K Y I V R H P G G C
 ATAGTATATCCTGATCCTTTAAAATTGATTTCAAACCTGGGAAATAAAGATCAAAAGATTGGAACCATTTAGAAGAGTTTAGAGTGTC 630
 I V Y P D P L K L I S K L G N K S I K D W N H L E E F R V S
 CTTTTTGTGTTTTAAGCCTTTGTCCAATAATTGTTATATATGTTTTTGGATGACGCAATTCGTGAGGTTTTCCCTCAGCCTTGCACT 720
 L F D V F K P L S N N C Y Y M F L D D A I R E V F P O A C S
 TGTCTTTTGTGTGCTTTGTATAAATTTGAGTGATCCTGTTCTTTTAGGTCCTTTGTTTATTGAGCCGAAAAGAATAATGCC 810
 C S F V L C A L Y K Y L S D P V S F R S L F I E P E K N N G
 MP M A
 ACTAGTTGAGCTAAAGGAACCTAAACAACCTCAAGGTCAATGATTTTCGTCAAAATGCTCTTTCGACACAAGATTTTGCCTAGATCGTTGAC 900
 T S
 L V E L K E P K O L K V N D F V K M S F A D K I L P R S L T
 AAGGTTCCGAACGGTCTCTATTAGTGAACGAATGTCGTTAAACTTTCTGGTTTAGGGTCTACCGTAAATTTAAATATTCTTAAAGGTGT 990
 R L R T V S I S E T N V V K L S G L G S T V N L N I L K G V
 TGTGCTAAATTCAGAGTCGAAGTATGCTACTATCAGGGGTGTCGTAATTTCTGGAGTGTGGATGGTTCTGAAGGTGGCGGTGGTGGTGC 1080
 V L N S E S K Y V T I R G V V I S G V W M V P E G G G G G A
 TACTGTTACACTGATGGATAGGAGGATGAAAGGATTTAAGAATGTTTAGTGTGAATTTAAACGAGAGCTCCTCTAGAGACTTCCA 1170
 T V T L M D R R M K G F K N G L V A E F K T R A S S R D F O
 GTTTAAGTTCATACCAAACTATTCTATGCTGTGGATGATGTTAAAGAGCCCATGGGAATTTGTTCTTTAAGCTCGTAGGGTGGCCGAT 1260
 F K F I P N Y S M C V D D V K R A P W L F F K L V F K N N F
 CGAAGATGGTTACTATCCATTAGCCATCGAGATAGCCACACTTGTGAGCAGTCAAGGACAATTATCAACCATGGTCTTAGAGCAACAAT 1350
 E D G Y Y P L A I E I A T L V E O S R T I I N H G L R A T I
 ATTGAAAAGGTGTGATGACATTTCTGATCTTGAACCTCTCTTCTGCGGATTTAGATGAGTCTATAGAATTAGTAAGTAATTCGAATATTGT 1440
 L K R C D D I S D L E L P S A D L D E S I E L V S N S N I V
 TTCAAAAAGAAAACTCATAAAAAAGGAAAAAGAGGAAAAATACAAAAACAGAGTCAAGAGTCTTCGGAAATTTGCTAGAGGTCCGAATTT 1530
 S K R K T H K K G K K R K N T K T E S E S E F A R G P N F
 CAGGGGTGATGATTTGAGTGAAGTGGAGATAATGAAGATATTTAGTGTGTTGTTAATTGAGTCTGAGAGTCTTGACAGCAGTACG 1620
 R G D D L S E S G D N E D I
 TATTCGATAAACAAATGTCGTACACTAATATATCAACAACGAATATTATATATTTTCGCTCGGTCAATATTCCTGGTGTGATTTTATAGA 1710
 CP M S Y T N I S T T N I I Y F A R S Y I P G V D F I D
 TTTAATAAATTTCTGGTTTGGGTGAGTCTTTTCAAACCTCAATCTGCTAGAGATGAGTTTAGGTCGCAGTTGATAGGTAGCTACAAGGTAGT 1800
 L I I S G L G O S F O T O Q S A R D E F R S O L I G S Y K V V
 GGTGTCGAAAACCTGAGGTTTCCCGAAAATCTATATACTTGTGGGCAATAATCCAACCATACGTCCTTTGTTGCATGCTGTGTTCCA 1890
 V S K T V R F P E N T I Y L W A N N P T I R P L L H A V F O
 GGGCTTGGATACTAGGAACCGTATCATTGAAGTGGAGTCAACTAATGTTGTTGAAATCCAACAAGTCTGAGACAAGGGAGGGACAGGAG 1980
 A L D T R N R I I E V E S T N V V N P T S S E T R E A T R R
 AGTTGACGATGCGACTGTGGCCGTAAGATCACAGTTGCAGTTGTTATTCGATGCACTTTCTGGAGGTTCTGGTCTTTATGACCCGAAAAGC 2070
 V D D A T V A V R S O L Q L L F D A L S G S G L Y D R K A
 TTTTGAAGATCTTCGGGTTGGTATGGGAAGAGGCTGCTGCAGTTGGAACCTGTTGGACCTTGGAAACGGGTACTACTACCCGCTAATA 2160
 F E D A S G L V W E E A A A V G T A G T S G T G T T T A
 AATATATAATAAAAACGTCATTTGTAGACGTTAAAATACAAAACGTGGGTTGACGATATGAACTAGTGTTTTTCTGTCCACTTAAATCG 2250
 AACAGAACAAACGTGGTGGTACGAAAACGCATAGTGTTCACGATCCACTTAAATAGAATCGGGGACAACCTCCGGGCTCTGCTGTGCA 2340
 GACGGAACCGAGGCCGCAAGTGTGGTCCATCATGACACGATGGATAAGAGAGGTGCAATTCCTCCCTTAACCCCGGTAGCGGCC 2430
 CA 2432

图 2 FMV 3' 端核苷酸序列, 以及各读框推导的氨基酸序列

Fig. 2 The 3' regions of FMV genome, shown as DNA, and deduced amino acid sequence of the ORFs 移动蛋白基因序列 (MP) 和外壳蛋白基因序列 (CP) 的起始已标明 Movement protein (MP) and coat protein (CP) have been noted.

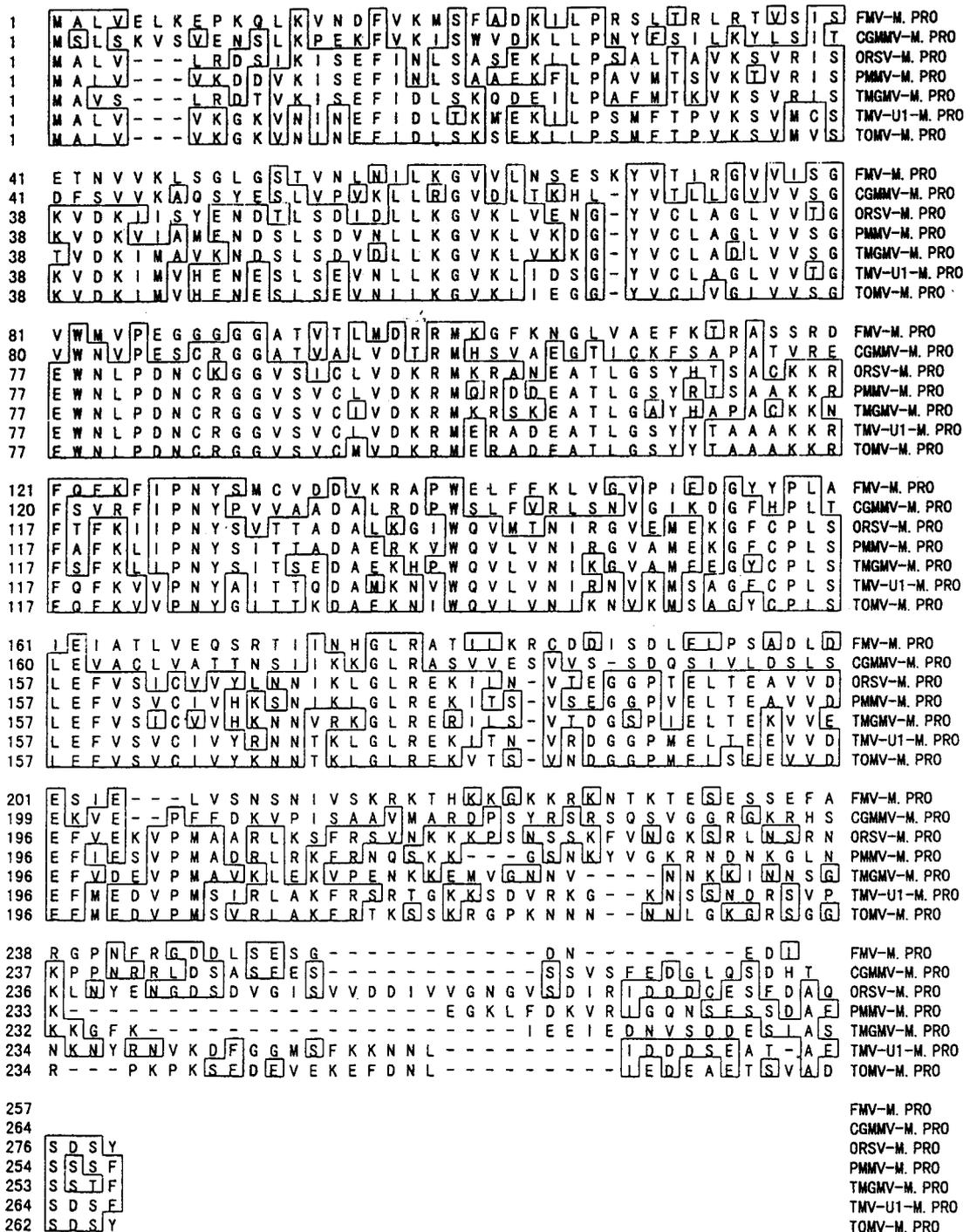


图3 FMV 移动蛋白与同组病毒氨基酸同源性比较

Fig. 3 Alignment of amino acid sequence of the movement protein of FMV with that from TMV group

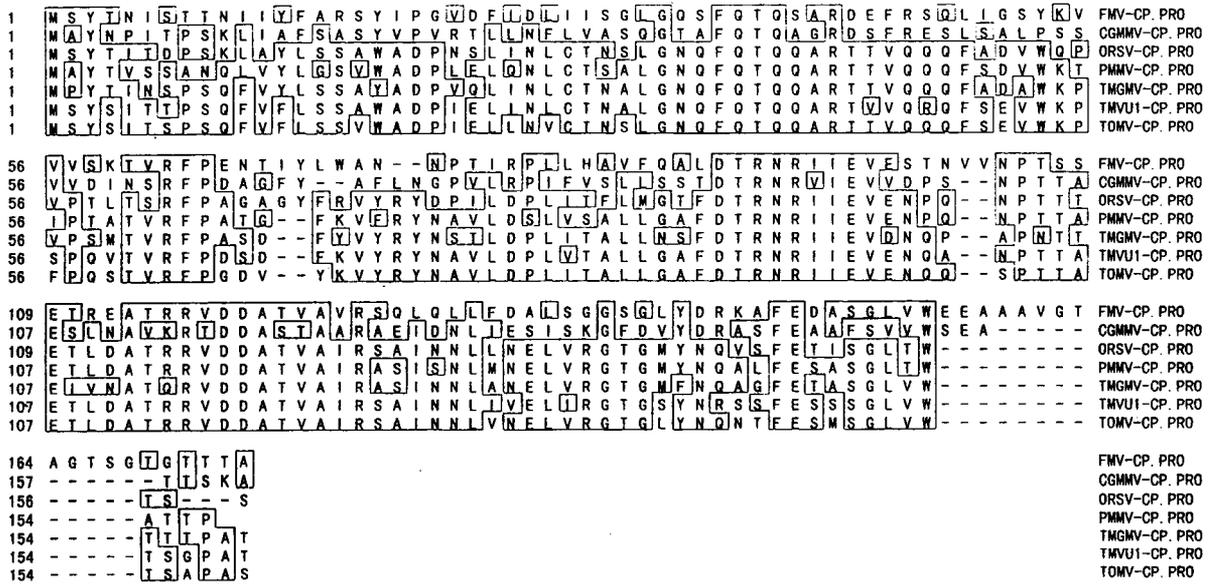


图 4 FMV 外壳蛋白与同组病毒氨基酸同源性比较

Fig. 4 Alignment of amino acid sequence of the coat protein of FMV with that from TMV group

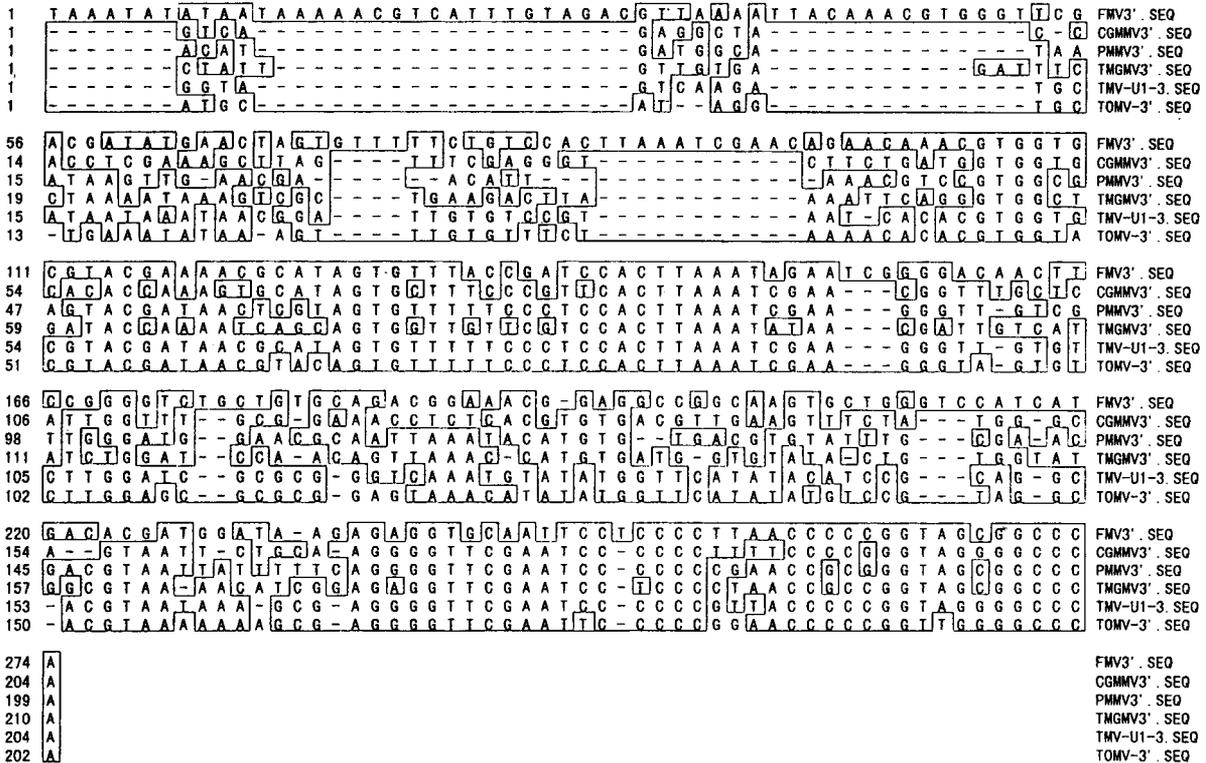


图 5 FMV 3' 端非编码区序列与同组病毒同源性比较

Fig. 5 Alignment of nucleotide sequence of the 3'-end non-coding regions of FMV with that from TMV group

保守的区域(34-41, 88-94, 113-120)^[5,6] FMV 外壳蛋白与 TMV 其他成员有较高的同源性外, 在 N 端和 C 端同源性较小。与 TMV-U1、ToMV、PMMV、TMGMV、CGMMV、ORSV 的同源率分别为 40.9%、40.3%、40.1%、40.9%、35.4%和 37.3%(图 4)。FMV 3' 端非编码区序列全长 274 bp, 与 TMV 其他成员 3' 端非编码区核苷酸序列同源性比较结果显示, 在 3' 端有较高的同源性, 与 TMV-U1、ToMV、PMMV、TMGMV、CGMMV 的同源率分别为 41.2%、42.6%、41.2%、37.1%和 36.3%(图 5)。

3 讨论

鸡蛋花花叶病毒为 TMV 成员里研究较少的病毒, 对其基因组的结构组成了解甚少, 对各基因的核苷酸序列以及蛋白质序列尤其一无所知。此次分离的鸡蛋花花叶病毒 3' 端核苷酸序列, 它包含鸡蛋花花叶病毒部分 180 kDa 蛋白核苷酸序列, 移动蛋白基因序列, 外壳蛋白基因序列, 以及全部 3' 端非编码区序列。移动蛋白基因序列和外壳蛋白基因序列以及 3' 端非编码区序列同源性分析结果还表明, FMV 在进化上与 TMV, ToMV 关系较远, 与 CGMMV 关系较近。根据已有报道, 不同 TMV 病毒在不同寄主植物上的症状形成分别由病毒基因组中不同基因决定的。Bao 等人证明, TMV-M 株系的 126 kDa 及 183 kDa 复制酶蛋白控制烟草花叶症状的形成^[12]。对 TMV 其它株系的研究也表明 126 kDa 及 183 kDa 复制酶蛋白与控制烟草花叶症状的产生有关^[13]。Banerjee 等证明 TMV-U1 株系 CP 基因上单一碱基的改变导致 TMV-U1 株系在烟草上症状的改变^[14]。Fenczik 等也报道 ORSV 移动蛋白决定病毒的致病性^[8]。由于 FMV 的寄主范围与 TMV 其它病毒不同, 因此对 FMV 病毒基因组中不同基因的研究及与 TMV 其它病毒的重组, 将使我们了解 FMV 对鸡蛋花致病的决定因子, 以及 TMV 病毒在不同寄主植物上的症状形成与病毒基因组何种序列的变化相关, 从而为弄清植物与病原物相互作用关系打下基础。目前, 我们正进行 FMV 全序列的分离和克隆研究。

参考文献:

- [1] 库尔斯塔克 E. 裴美云译. 植物病毒比较诊断指南 [M]. 北京: 农业出版社, 1991.
- [2] Citosky V, Knorr D, Schuster G, et al. The P30 movement protein of tobacco mosaic virus is a single-strand nucleic acid binding protein [J]. Cell, 1990, 60:637-647.
- [3] Goelet P, Lomonosoff G P, Butler P J G, et al. Nucleotide sequence of tobacco mosaic virus RNA [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1982, 79:5818-5822.
- [4] Ohno T, Aoyagi M, Yamanashi Y, et al. Nucleotide sequence of tobacco mosaic virus (tomato strain) genome and comparison with the common strain genome [J]. J Biochem, 1994, 96:1915-1923.
- [5] Alonso E, Garcia-Luque I, Dela C, et al. Nucleotide sequence of the genomic RNA of pepper mild mottle virus, a resistance-breaking tobamovirus in pepper [J]. J Gen Virol, 1991, 72:2875-2884.
- [6] Solis I, Gacia-Arenal F. The complete nucleotide sequence of the genomic RNA of the tobamovirus tobacco mild green mosaic virus [J]. Virology, 1990, 177:553-558.
- [7] Ugaki M, Tomiyama M, Kakutani T, et al. The complete nucleotide sequence of cucumber green mottle mosaic virus (SH strain) genome RNA [J]. J Gen Virol, 1991, 72:1487-1495.
- [8] Fenczik C A, Padgett H S, Holt C A, et al. Mutational analysis of the movement protein of *Odontoglossum* ringspot virus to identify a host range determinant [J]. Mol Plant-Microbe Interaction, 1995, 8:666-673.

- [9] 刘志昕, 潘俊松, 郑学勤. 侵染兰花的齿兰环斑病毒的分离, 鉴定及检测研究 [J]. 热带作物学报, 1994, 15(增刊): 41-48.
- [10] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T, et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual [M]. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.
- [11] Demo C M, Schubert K R, Beachy R N. Molecular characterization and biological function of movement protein of tobacco mosaic virus in transgenic plants [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87:3284-3288.
- [12] Bao Y, Carter S A, Nelson R S. The 126- and 183- kilo dalton protein of tobacco mosaic virus and not their common nucleotide sequence, control mosaic symptom formation in tobacco [J]. J Virol, 1996, 70:6378-6383.
- [13] Padgett H S, Beachy R N. Analysis of a tobacco mosaic virus strain capable of overcome N gene-mediated resistance [J]. Plant Cell, 1993, 5:577-586.
- [14] Banerjee N, Wang J Y, Zaitlin M. A single nucleotide change in the coat protein gene of tobacco mosaic virus is involved in the induction of severe chlorosis [J]. Virology, 1995, 207:234-239.

3500 种期刊联合征订暨国际互联网网站开通启事

本刊已参加“全国非邮发报刊联合征订”，并入编《全国非邮发报刊联合征订目录》。该目录编入了70%以上的非邮发报刊，覆盖了自然科学和社会科学的全部领域，分综合版、社科版、科技版和电脑版四种版本出版。电脑版又称“电子订单”，供计算机采编用，最好从网上下载。综合版即为社科版、科技版之和，需要者请向全国非邮发报刊联订服务部免费函索，一般读者，科技版、社科版择一提供，去信时务请注明。

联订服务部在国际互联网上的网站现已开通(网址: www.LHZD.com)，《联订目录》及本刊均已上网，该网站乃中国期刊的大型超市，集全面展示与统一收订为一体，含3500种期刊。欢迎上网查阅期刊、下载“电子订单”并订阅期刊。

《联订目录》中所列期刊均已全权委托该部收订，所有刊物均不破季订阅。本刊特此通告读者，请直接汇款向该部订阅，不必先索取《联订目录》，只须在汇款单附言栏注明即可。本刊全年订价26.4元。该部的地址及银行帐号如下：

户头全称：联合征订服务部

账 号：605248-1046196

开户银行：工商银行天津市尖山分理处

邮政编码：300220

电 话：(022) 23973378, 23962479; 传真：23973378

地 址：天津市陈塘庄岩峰路5号联合征订服务部

网址：www.LHZD.com Email: LHZD@public.tpt.tj.cn

《热带亚热带植物学报》编辑部