

# 胡萝卜 *WRKY69* 基因 (*DcWRKY69*) 的克隆及其对不同植物生长调节剂的响应

张榕蓉, 王雅慧, 李彤, 丁旭, 徐志胜, 熊爱生<sup>①</sup>

(南京农业大学园艺学院 作物遗传与种质创新国家重点实验室  
农业农村部华东地区园艺作物生物学与种质创新重点实验室, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 以胡萝卜品种‘黑田五寸’ (*Daucus carota* var. *sativa* ‘Heitian Wucun’) 为研究对象, 采用 RT-PCR 技术从叶片 cDNA 中克隆获得 *DcWRKY69* 基因片段, 并对该基因及其编码的氨基酸序列进行生物信息学分析; 同时, 采用 RT-qPCR 技术比较了 0.1 mmol · L<sup>-1</sup> 茉莉酸甲酯 (MeJA)、1.0 mmol · L<sup>-1</sup> 水杨酸 (SA)、0.1 mmol · L<sup>-1</sup> 赤霉素 (GA<sub>3</sub>) 和 0.1 mmol · L<sup>-1</sup> 脱落酸 (ABA) 处理 12 h 内叶中 *DcWRKY69* 基因相对表达量的差异。结果表明: *DcWRKY69* 基因包含 1 个长度为 783 bp 的开放阅读框 (ORF), 编码 260 个氨基酸; *DcWRKY69* 转录因子氨基酸序列在第 52 至第 110 位含有 1 个 WRKY 结构域, 其锌指结构类型为 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> 型, 理论相对分子质量为 30 030, 理论等电点为 pI 4.78; 该转录因子含有 34 个磷酸化位点, 无信号肽和跨膜结构, 亲水性氨基酸较多, 且酸性氨基酸比例最高 (27%); 该转录因子的二级结构由 α-螺旋、β-折叠、延伸链和随机卷曲组成, 比例分别为 21.92%、4.23%、11.92% 和 61.92%。序列比对和系统进化树分析结果表明: WRKY 转录因子在植物进化过程中具有高度的保守性。RT-qPCR 分析结果表明: 经 MeJA、SA、GA<sub>3</sub> 和 ABA 处理后, *DcWRKY69* 基因相对表达量的变化趋势不同, 分别在处理后 8、12、1 和 4 h 达到峰值, 且显著高于对照 (处理 0 h)。研究结果显示: *DcWRKY69* 转录因子属于 II 类 WRKY 转录因子, 为亲水性蛋白, 且可能属于非分泌蛋白; *DcWRKY69* 基因可能参与胡萝卜对不同植物生长调节剂的响应过程, 但其对不同植物生长调节剂的响应模式存在差异。

**关键词:** 胡萝卜; WRKY69 转录因子; 基因克隆; 序列分析; 植物生长调节剂; 基因表达

中图分类号: Q943.2; Q786; S631.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2019)04-0001-10

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2019.04.01

**Cloning of *WRKY69* gene in *Daucus carota* var. *sativa* (*DcWRKY69*) and its response to different plant growth regulators** ZHANG Rongrong, WANG Yahui, LI Tong, DING Xu, XU Zhisheng, XIONG Aisheng<sup>①</sup> (State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Laboratory of Biology and Germplasm Enhancement of Horticultural Crops in East China, College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2019, 28(4): 1-10

**Abstract:** Taking *Daucus carota* var. *sativa* ‘Heitian Wucun’ as research object, *DcWRKY69* gene fragment was cloned from cDNA in leaf by RT-PCR technology, and bioinformatic analysis of this gene and its coding amino acid sequence was carried out; meanwhile, difference in relative expression level of *DcWRKY69* gene in leaf treated by 0.1 mmol · L<sup>-1</sup> methyl jasmonate (MeJA), 1.0 mmol · L<sup>-1</sup> salicylic acid (SA), 0.1 mmol · L<sup>-1</sup> gibberellin (GA<sub>3</sub>) and 0.1 mmol · L<sup>-1</sup> abscisic acid (ABA) within 12 h was compared by RT-qPCR technology. The results show that *DcWRKY69* gene contains an open reading frame (ORF) with length of 783 bp, which encodes 260 amino acids. The amino acid sequence of *DcWRKY69* transcription factor contains a WRKY domain in position from 52nd to 110th, its zinc finger structure type

收稿日期: 2019-03-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31872098); 江苏省自然科学基金杰出青年基金项目(BK20130027); 江苏高校优势学科建设项目(PAPD)

作者简介: 张榕蓉(1996—), 女, 辽宁锦州人, 硕士研究生, 主要从事伞形科蔬菜分子生物学研究。

<sup>①</sup>通信作者 E-mail: xiongaisheng@njau.edu.cn

is C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> type, with theoretical relative molecular mass of 30 030 and theoretical isoelectric point of pI 4.78. This transcription factor contains 34 phosphorylation sites but without signal peptide and transmembrane structure, and has many hydrophilic amino acids with the highest percentage (27%) of acidic amino acid. The secondary structure of this transcription factor consists of  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -sheet, extended strand and random coil, their percentages are 21.92%, 4.23%, 11.92% and 61.92%, respectively. The sequence alignment and phylogenetic tree analysis results show that WRKY transcription factor is highly conserved in plant evolutionary process. RT-qPCR analysis result shows that after treatments of MeJA, SA, GA<sub>3</sub> and ABA, the change trend of relative expression level of *DcWRKY69* gene is different, which reaches the peak value after treatment for 8, 12, 1 and 4 h, respectively, and is significantly higher than the control (treatment for 0 h). It is suggested that *DcWRKY69* transcription factor belongs to type II WRKY transcription factor, it is hydrophilic protein and probably belongs to non-secretory protein. *DcWRKY69* gene may be involved in response process of *D. carota* var. *sativa* to different plant growth regulators, but there are differences in its response mode to different plant growth regulators.

**Key words:** *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm.; WRKY69 transcription factor; gene cloning; sequence analysis; plant growth regulator; gene expression

胡萝卜(*Daucus carota* var. *sativa* Hoffm.)为二年生草本植物,是全球十大蔬菜作物之一,栽培面积广阔<sup>[1]</sup>。胡萝卜的肉质根为其主要食用部位,含有丰富的蛋白质、维生素和类胡萝卜素等营养成分<sup>[2]</sup>。植物激素可直接或间接调控胡萝卜的生长发育过程,如物质积累、结构变化和基因调控等<sup>[3]</sup>。植物生长调节剂是一类人工合成的化合物,具有与天然植物激素相同的功能<sup>[4]</sup>,可通过调节植物的新陈代谢调控其生殖和生长<sup>[5]</sup>。已有研究表明:植物生长调节剂在胡萝卜生长发育过程中具有重要的调控作用<sup>[6-7]</sup>,因此,研究不同植物生长调节剂对胡萝卜生长发育的影响及探明胡萝卜对植物生长调节剂的分子响应机制具有重要的科学意义。

WRKY 转录因子是一类主要存在于植物体内的锌指型转录调控因子,除具有高度保守的 WRKYGQK 基序,通常还具有 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>(Cx<sub>4-5</sub>Cx<sub>22-23</sub>HxH)型或 C<sub>2</sub>HC(Cx<sub>7</sub>Cx<sub>23</sub>HxC)型锌指结构<sup>[8]</sup>。WRKY 转录因子可与启动子中的 W-box[(T)TGACC(A/T)]特异性结合,从而调控靶基因的表达,参与各种信号转导途径<sup>[9]</sup>。Eulgem 等<sup>[10]</sup>根据 WRKY 结构域数量和锌指结构类型将 WRKY 转录因子分成 I、II 和 III 类,其中, I 类 WRKY 转录因子含有 2 个 WRKY 结构域,锌指结构类型为 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> 型; II 类 WRKY 转录因子含有 1 个 WRKY 结构域,锌指结构类型为 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> 型; III 类 WRKY 转录因子含有 1 个 WRKY 结构域,锌指结构类型为 C<sub>2</sub>HC 型。迄今为止,研究者已在拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.]<sup>[8]</sup>、红薯 [*Ipomoea batatas* (Linn.) Lam.]<sup>[11]</sup>、水稻 (*Oryza*

*sativa* Linn.)<sup>[12]</sup>、玉米 (*Zea mays* Linn.)<sup>[13]</sup>、大豆 [*Glycine max* (Linn.) Merr.]<sup>[14]</sup> 和胡萝卜<sup>[15]</sup> 等植物中发现 WRKY 转录因子,该转录因子参与调控植物对多种生物和非生物胁迫的响应<sup>[16-17]</sup>,主要参与调控脱落酸(ABA)、水杨酸(SA)和茉莉酸甲酯(MeJA)信号转导途径<sup>[18]</sup>,进而调控植物的生长发育、物质代谢及抗病和抗逆过程,并通过参与赤霉素(GA)信号转导途径调控植物的衰老进程<sup>[19]</sup>。研究胡萝卜 WRKY 转录因子有助于深入了解胡萝卜对不同植物生长调节剂的分子响应机制。

为了深入开展胡萝卜 WRKY 转录因子相关研究,作者以胡萝卜品种‘黑田五寸’(‘Heitian Wucun’)为研究对象,根据 GenBank 中的 *DcWRKY69* 基因序列设计引物,采用 RT-PCR 技术从其叶片 cDNA 中克隆获得 *DcWRKY69* 基因片段,对该基因及其编码的氨基酸序列进行生物信息学分析;同时,采用 RT-qPCR 技术对不同植物生长调节剂处理下叶中 *DcWRKY69* 基因表达水平的差异进行了比较,为进一步开展胡萝卜 WRKY 转录因子对植物生长调节剂的分子响应机制研究提供基础资料。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

实验使用的胡萝卜品种‘黑田五寸’种子由南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室伞形科蔬菜课题组提供。于 2018 年 9 月在人工气候室内进行播种,并在昼温 25 ℃、夜温 18 ℃、光照时间 16 h · d<sup>-1</sup> 及光

照强度  $300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  的条件下进行培养。

## 1.2 方法

1.2.1 总RNA提取及cDNA第1链合成 待幼苗萌出60 d后,选取长势良好且无病虫害的完整叶片,将采集的叶片混匀后置于 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存、备用,采集叶片的总质量约10 g。采用植物总RNA提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]提取叶片的总RNA,使用One-Drop OD-1000<sup>+</sup>超微量核酸分析仪(南京五义科技有限公司)检测提取的总RNA样品的浓度,并采用HiScript II Q RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)试剂盒(南京诺唯赞生物科技有限公司)对提取的总RNA样品进行反转录,合成cDNA第1链。

1.2.2 基因克隆 基于Xu等<sup>[20]</sup>获得的胡萝卜转录组和基因组数据库检索获得*DcWRKY69*基因序列(GenBank登录号为XM\_017382173.1),根据检索到的*DcWRKY69*基因序列设计1对特异的克隆引物,正向引物DcWRKY69-F1的序列为5'-TCTCTCTAGC CAGCCAATAGC-3',反向引物DcWRKY69-R1的序列为5'-CAACAAAAGCAGTTTTATTT-3'。以cDNA第1链为模板进行PCR扩增反应,扩增体系总体积30.0  $\mu\text{L}$ ,包括PrimerStar Max Premix (2 $\times$ )高保真酶(含 $\text{Mg}^{2+}$ 和dNTPs)[宝生物工程(大连)有限公司]15.0  $\mu\text{L}$ ,100  $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  cDNA第1链2.0  $\mu\text{L}$ ,10  $\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 正向引物和反向引物各1.5  $\mu\text{L}$ , $\text{ddH}_2\text{O}$  10.0  $\mu\text{L}$ 。扩增程序为:98  $^{\circ}\text{C}$ 预变性10 s;98  $^{\circ}\text{C}$ 变性10 s,60  $^{\circ}\text{C}$ 退火10 s,72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s,共35个循环;72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸10 s。取5  $\mu\text{L}$ 扩增产物,用质量体积分数1.2%的琼脂糖凝胶进行电泳检测,确定得到目标基因片段后,将剩余的25  $\mu\text{L}$ 扩增产物交由滁州通用生物系统有限公司进行测序。

1.2.3 序列分析 在NCBI网站(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)上对获得的目的基因片段的核苷酸和氨基酸序列进行BLAST比较和保守域预测;采用DNAMAN 6.0软件进行不同植物WRKY转录因子氨基酸序列同源性比对和亲水性/疏水性分析;使用MEGA 7.0软件构建系统进化树并生成图形报告;运用BioXM 2.6软件及SMS序列处理在线工具包(<http://www.bio-soft.net/sms/>)分析不同植物WRKY转录因子的氨基酸组成及理化性质;使用TMHMM Server v. 2.0软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)预测分析DcWRKY69转录因子

的跨膜结构;使用SignalP 4.1 Server软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP-4.1/>)预测分析DcWRKY69转录因子的信号肽区域;使用NetPhos 3.1 Server软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>)预测分析DcWRKY69转录因子的磷酸化位点;在SOPMA网站([https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=/NPSA/npsa\\_sopma.html](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html))上预测分析DcWRKY69转录因子的二级结构。

1.2.4 植物生长调节剂处理方法及基因表达分析 分别配制0.1  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 茉莉酸甲脂(MeJA)<sup>[21]</sup>、1.0  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 水杨酸(SA)<sup>[22]</sup>、0.1  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 赤霉素( $\text{GA}_3$ )<sup>[23]</sup>和0.1  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 脱落酸(ABA)<sup>[24]</sup>,并向上述溶液中添加表面活性剂(体积分数0.1% Tween-20);待幼苗萌出60 d后,选取长势良好的植株,分别将植物生长调节剂溶液充分喷洒在植株的全部叶面上,每组设置3个生物学重复,每个重复8株。以处理0 h为对照(CK),在处理1、2、4、8和12 h选取植株上长势良好且无病虫害的完整叶片,将采集的同组植株叶片混匀后置于 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存、备用,每个时间点采集的各组叶片的总质量约10 g。

按照上述方法提取总RNA并合成cDNA第1链。使用Primer Premier 6.0软件设计1对荧光定量检测引物,正向引物DcWRKY69-F2的序列为5'-GGAAGAAGAGCAGGAAGAAGAAG-3',反向引物DcWRKY69-R2的序列为5'-AGCCACTCAACGGAG AATGTA-3'。以胡萝卜Actin基因为内参基因<sup>[25]</sup>,该基因正向引物Actin-F的序列为5'-CGGTATTGT GTTGGACTCTGGTGAT-3',反向引物Actin-R的序列为5'-CAGCAAGGTCAAGACGGAGTATGG-3'。使用Hieff<sup>TM</sup> qPCR<sup>®</sup> SYBR Green Master Mix(No Rox Plus)(上海翊圣生物科技有限公司)进行RT-qPCR反应,扩增体系总体积20.0  $\mu\text{L}$ ,包括Hieff<sup>TM</sup> qPCR<sup>®</sup> SYBR Green Master Mix(No Rox Plus)(含 $\text{Mg}^{2+}$ 和dNTPs)10.0  $\mu\text{L}$ ,100  $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  cDNA第1链2.0  $\mu\text{L}$ ,10  $\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 正向引物和反向引物各0.4  $\mu\text{L}$ , $\text{ddH}_2\text{O}$  7.2  $\mu\text{L}$ 。扩增程序为:95  $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min;95  $^{\circ}\text{C}$ 变性10 s,60  $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s,共40个循环。在65  $^{\circ}\text{C}$ 逐步升温至95  $^{\circ}\text{C}$ 的过程中连续测量荧光,绘制熔解曲线。采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法<sup>[26]</sup>计算DcWRKY69基因的相对表达量,并使用SPSS 20.0和EXCEL 2019软件进行差异显著性分析。

## 2 结果和分析

### 2.1 *DcWRKY69* 基因的克隆

以胡萝卜叶片 cDNA 第 1 链为模板,使用特异引物 *DcWRKY69*-F1 和 *DcWRKY69*-R1 扩增得到 1 条长度约 750 bp 的目的片段。测序及序列分析结果(图 1)表明:实验获得的 *DcWRKY69* 基因片段包含

```

1  ATGGATTGCTCCCTCCCAAGCCCTGGACCTCAAGATTCAGAAGAAAAATCAGATACTCAGACTTCAAAGAAAAGAAAATGTCAGAGAAGACTGTTGTGACAGTGAAGATAGAAGCC
   M D C S P S P S L D L K I S E E K S D T Q T S K K R K M S E K T V V T V K I E A
121 AATGAAAACAAGAACACAAGAATGAAGGGCCACCTTCTGATTCTTGGTCTTGAGAAAAATATGGGCAAAAACCCATCAAAGGATCCCTTATCCAGGGGATATTATAGATGTGACT
   N E N K K H K N E G P P S D S W S W R K Y G Q K P I K G S P Y P R G Y Y R C S T
241 TCAAAAGGTTGTTAGCCAAAAACAAGTGGAAAGATGCAGAACTGATGCTTCACTTCTTATTACTACTTACTTACTAGTCATAACCATCAAATCCTAAAGAGCTAAAAGAAGAACTG
   S K G C L A K K Q V E R C R T D A S L L I I T Y T S S H N H P N P K E L K E E L
361 GAACAAGAGAAGGAAGAGCAGGAAGAAGAAGTTAAAAATCGACAGTCTTGAGGAACCAGAAAGTCAAGAAAGTGAAGGATCAAGGGTACTCATTGTGAAAAATGTTGGT
   E Q E K E E E Q E E E V K I D S L E E P E D R K E V E V K D Q G Y S F D E N V G
481 AGTGAGAAAATTACTGGTGATTTCACTACATACATCTCCGTTGAGTGGCTCTGATCATCAAGTATCATTTCTGATATCAAGCAGGAAGAAGGATCCAGTTTACCGAGAATTCGAG
   S E K I T G D F H Y I H S P L S G S D H Q G I I S D I K Q E E G I Q F T E N F E
601 AATATTTTGTGATGAGAAGGAGAAACCCTCTGTTATCCCTCATCTGATGACCTTGGCCATCCAAAATCAGAGGAAAATGACTTCTTTGATGAGCTGGAGAAGCTCCACATCATCC
   N I L F D E K E K P L C Y P H L M T F A T P K S E E N D F F D E L G E L P T S S
721 TCTTCCACAGCTTCTGGAGGGGAATTCTTTGAGGACAGGATTCTTATTACTTGTCTTAG
   S F T S F W R G N F F E D R I L I H L S *
  
```

\*: 终止密码子 Stop codon.

图 1 胡萝卜 *WRKY69* 基因(*DcWRKY69*)的测序及序列分析结果

Fig. 1 Sequencing and sequence analysis results of *WRKY69* gene in *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm. (*DcWRKY69*)

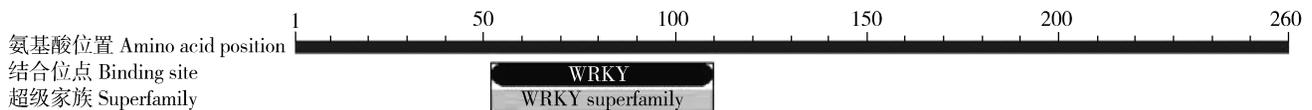


图 2 胡萝卜 *WRKY69* 转录因子(*DcWRKY69*)的保守域预测

Fig. 2 Prediction of conserved domain of *WRKY69* transcription factor in *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm. (*DcWRKY69*)

2.2.2 同源性比对分析 将 *DcWRKY69* 转录因子与 NCBI 数据库中西洋参 (*Panax quiquefolium* Linn.)、橡胶树 [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Muell. Arg.]、木薯 (*Manihot esculenta* Crantz.)、胡桃 (*Juglans regia* Linn.)、桃 [*Prunus persica* (Linn.) Batsch]、甜樱桃 (*P. avium* Linn.)、黄胡萝卜 [*Daucus carota* subsp. *sativus* (Hoffm.) Arcang.]、拟南芥和芜菁 (*Brassica rapa* Linn.) 9 种植物 *WRKY* 转录因子的氨基酸序列进行同源性比对。结果(图 3)表明:*DcWRKY69* 转录因子与这 9 种植物 *WRKY* 转录因子的氨基酸序列相似性较高,说明 *WRKY* 转录因子具有高度的保守性。*DcWRKY69* 转录因子含有 1 个 *WRKY* 结构域,其锌指结构类型属

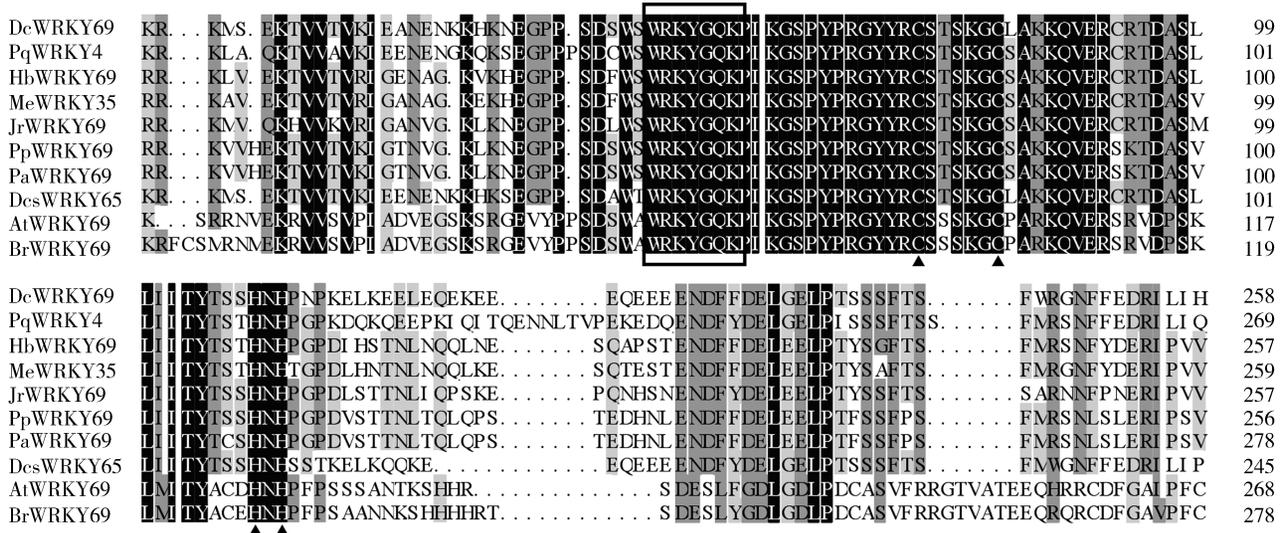
1 个长度为 783 bp 的开放阅读框(ORF),编码 260 个氨基酸。

### 2.2 *DcWRKY69* 转录因子的氨基酸序列分析

2.2.1 保守域预测 对胡萝卜 *WRKY69* 转录因子 (*DcWRKY69*)氨基酸序列的保守域预测结果(图 2)表明:*DcWRKY69* 转录因子的氨基酸序列在第 52 至第 110 位含有 1 个保守的 *WRKY* 结构域,据此认为该转录因子属于 *WRKY* 超级家族。

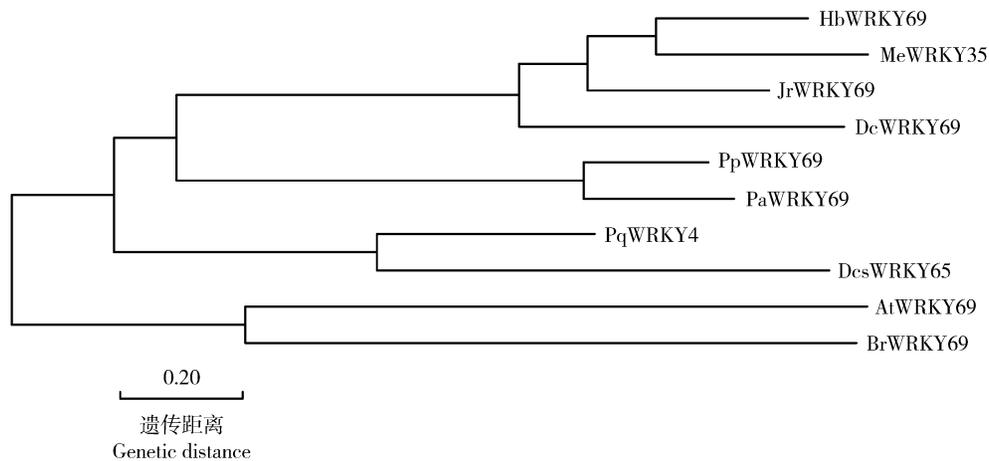
于  $C_2H_2$  型,据此判断该转录因子属于 II 类 *WRKY* 转录因子。

2.2.3 系统进化树分析 利用 *DcWRKY69* 转录因子与其他 9 种植物 *WRKY* 转录因子的氨基酸序列构建系统进化树。结果(图 4)表明:这 10 种植物的 *WRKY* 转录因子被分成 2 个分支,其中,十字花科 (*Brassicaceae*) 植物拟南芥的 *WRKY69* 转录因子 (*AtWRKY69*)与同科植物芜菁的 *WRKY69* 转录因子 (*BrWRKY69*)聚为一个分支,其余 8 种植物的 *WRKY* 转录因子聚为另一个分支。总体来看,同科植物的 *WRKY* 转录因子间亲缘关系较近,但 *DcWRKY69* 与同科植物黄胡萝卜 *WRKY65* 转录因子 (*DcWRKY65*)的亲缘关系并非最近。



DcWRKY69: 胡萝卜 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm.; PqWRKY4: 西洋参 WRKY4 转录因子 WRKY4 transcription factor in *Panax quiquefolium* Linn.; HbWRKY69: 橡胶树 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Muell. Arg.; MeWRKY35: 木薯 WRKY35 转录因子 WRKY35 transcription factor in *Manihot esculenta* Crantz.; JrWRKY69: 胡桃 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Juglans regia* Linn.; PpWRKY69: 桃 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Prunus persica* (Linn.) Batsch; PaWRKY69: 甜樱桃 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Prunus avium* Linn.; DcsWRKY65: 黄胡萝卜 WRKY65 转录因子 WRKY65 transcription factor in *Daucus carota* subsp. *sativus* (Hoffm.) Arcang.; AtWRKY69: 拟南芥 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.; BrWRKY69: 芜菁 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Brassica rapa* Linn. 方框示 WRKY 结构域 The box indicates WRKY domain; ▲: 锌指结构 Zinc finger structure.

图 3 胡萝卜 WRKY69 转录因子 (*DcWRKY69*) 与其他 9 种植物 WRKY 转录因子的氨基酸序列同源性比对结果  
 Fig. 3 Homology comparison result of amino acid sequences of WRKY69 transcription factor in *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm. (*DcWRKY69*) and WRKY transcription factors in other 9 species



HbWRKY69: 橡胶树 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Muell. Arg.; MeWRKY35: 木薯 WRKY35 转录因子 WRKY35 transcription factor in *Manihot esculenta* Crantz.; JrWRKY69: 胡桃 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Juglans regia* Linn.; DcWRKY69: 胡萝卜 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm.; PpWRKY69: 桃 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Prunus persica* (Linn.) Batsch; PaWRKY69: 甜樱桃 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Prunus avium* Linn.; PqWRKY4: 西洋参 WRKY4 转录因子 WRKY4 transcription factor in *Panax quiquefolium* Linn.; DcsWRKY65: 黄胡萝卜 WRKY65 转录因子 WRKY65 transcription factor in *Daucus carota* subsp. *sativus* (Hoffm.) Arcang.; AtWRKY69: 拟南芥 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.; BrWRKY69: 芜菁 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Brassica rapa* Linn.

图 4 胡萝卜 WRKY69 转录因子 (*DcWRKY69*) 与其他 9 种植物 WRKY 转录因子的系统进化树  
 Fig. 4 Phylogenetic tree of WRKY69 transcription factor in *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm. (*DcWRKY69*) and WRKY transcription factors in other 9 species

2.2.4 氨基酸组成及理化性质分析 不同植物 WRKY 转录因子的氨基酸组成及理化性质的分析结果(表1)表明: DcWRKY69 及其他9种植物 WRKY 转录因子的氨基酸数量为 247~296; 理论相对分子质量差异较小, 为 28 560~32 470; 理论等电点为 pI 4.53 至 pI 6.51。在氨基酸组成方面, 酸性氨基酸的比例最高, 为 21%~31%; 碱性氨基酸和脂肪族氨基酸的比例接近, 分别为 14%~17% 和 13%~17%; 芳香族氨基酸的

比例最低, 为 6%~9%。总体来看, 不同植物间 WRKY 转录因子的各类氨基酸比例差异较小。

由表1还可见: DcWRKY69 转录因子的理论相对分子质量为 30 030, 理论等电点为 pI 4.78, 酸性氨基酸比例最高(27%), 碱性和脂肪族氨基酸比例次之(分别为 17% 和 15%), 芳香族氨基酸比例最低(9%)。

2.2.5 亲水性和疏水性分析 DcWRKY69 转录因子氨基酸序列的亲水性和疏水性分析结果(图5)表

表1 不同植物 WRKY 转录因子的氨基酸组成及理化性质分析<sup>1)</sup>

Table 1 Analyses on amino acid composition and physicochemical property of WRKY transcription factors in different species<sup>1)</sup>

转录因子 Transcription factor	登录号 Accession No.	氨基酸数量 Number of amino acid	理论相对分子质量 Theoretical relative molecular mass	理论等电点 Theoretical isoelectric point (pI)	比例/% Percentage			
					碱性氨基酸 Basic amino acid	酸性氨基酸 Acidic amino acid	芳香族氨基酸 Aromatic amino acid	脂肪族氨基酸 Aliphatic amino acid
DcWRKY69	XM_017382173.1	260	30 030	4.78	17	27	9	15
PqWRKY4	AEQ29017.1	271	31 280	4.53	15	31	8	14
HbWRKY69	AFX83949.1	259	29 400	4.80	14	27	7	14
MeWRKY35	XP_021611426.1	261	29 620	5.08	15	26	8	13
JrWRKY69	XP_018822131.1	259	29 690	6.51	17	25	7	17
PpWRKY69	XP_007201365.1	258	29 300	5.25	16	24	7	16
PaWRKY69	XP_021805196.1	280	32 170	4.85	16	28	6	15
DesWRKY65	XP_017250159.1	247	28 560	4.67	16	30	8	15
AtWRKY69	OAP01678.1	278	30 930	4.96	16	22	8	14
BrWRKY69	AHB33864.1	296	32 470	4.82	15	21	8	13

<sup>1)</sup> DcWRKY69: 胡萝卜 WRKY69 蛋白 WRKY69 protein in *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm.; PqWRKY4: 西洋参 WRKY4 蛋白 WRKY4 protein in *Panax quiquefolium* Linn.; HbWRKY69: 橡胶树 WRKY69 蛋白 WRKY69 protein in *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Muell. Arg.; MeWRKY35: 木薯 WRKY35 蛋白 WRKY35 protein in *Manihot esculenta* Crantz.; JrWRKY69: 胡桃 WRKY69 蛋白 WRKY69 protein in *Juglans regia* Linn.; PpWRKY69: 桃 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Prunus persica* (Linn.) Batsch; PaWRKY69: 甜樱桃 WRKY69 转录因子 WRKY69 transcription factor in *Prunus avium* Linn.; DesWRKY65: 黄胡萝卜 WRKY65 蛋白 WRKY65 protein in *Daucus carota* subsp. *sativus* (Hoffm.) Arcang.; AtWRKY69: 拟南芥 WRKY69 蛋白 WRKY69 protein in *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.; BrWRKY69: 芜菁 WRKY69 蛋白 WRKY69 protein in *Brassica rapa* Linn.

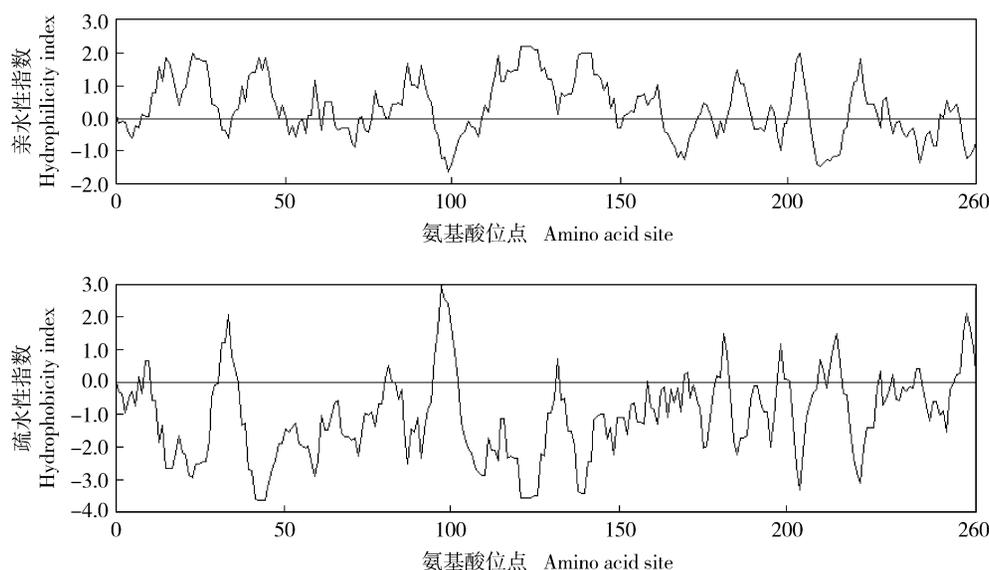


图5 胡萝卜 WRKY69 转录因子 (DcWRKY69) 氨基酸序列的亲水性和疏水性分析

Fig. 5 Analyses on hydrophilicity and hydrophobicity of amino acid sequence of WRKY69 transcription factor in *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm. (DcWRKY69)

明:在亲水性区域,第 123、第 125 和第 126 位的谷氨酸 (Glu) 及第 124 位的赖氨酸 (Lys) 的亲水性最强,第 142 位的天冬氨酸 (Asp) 和第 143 位的精氨酸 (Arg) 的亲水性较强;在疏水性区域,第 99 位的亮氨酸 (Leu) 的疏水性最强,第 101 和第 257 位的异亮氨酸 (Ile) 的疏水性较强。总体来看,*DcWRKY69* 转录因子氨基酸序列中的大部分氨基酸为亲水性氨基酸,据此推测 *DcWRKY69* 转录因子属于亲水性蛋白。

### 2.3 *DcWRKY69* 转录因子的预测分析

2.3.1 信号肽及跨膜结构预测分析 胡萝卜 *WRKY69* 转录因子 (*DcWRKY69*) 的信号肽及跨膜结构预测结果表明:*DcWRKY69* 转录因子的氨基酸序列不存在信号肽 (图 6) 和跨膜结构 (图 7)。由于构成蛋白质跨膜结构的氨基酸大部分为疏水性氨基酸,因此,该预测结果也说明 *DcWRKY* 转录因子属于亲水性蛋白。

2.3.2 磷酸化位点预测分析 *DcWRKY69* 转录因子的磷酸化位点预测结果 (图 8) 表明:*DcWRKY69* 转录因子的氨基酸序列中共有 34 个磷酸化位点,包括 23 个丝氨酸磷酸化位点、9 个苏氨酸磷酸化位点和 2 个酪氨酸磷酸化位点。

2.3.3 二级结构预测分析 *DcWRKY69* 转录因子的二级结构预测结果 (图 9) 表明:*DcWRKY69* 转录因子的二级结构由  $\alpha$ -螺旋 ( $\alpha$ -helix)  $\beta$ -折叠 ( $\beta$ -sheet)、

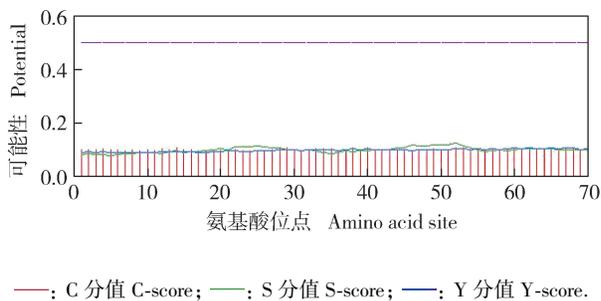
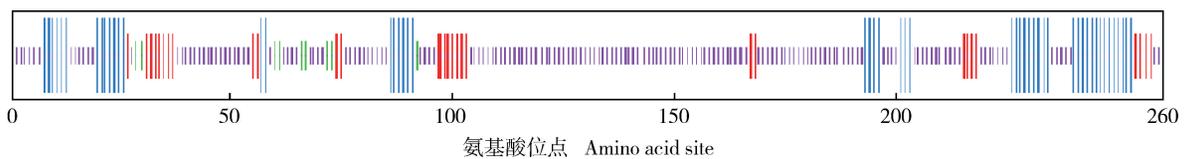


图 6 胡萝卜 *WRKY69* 转录因子 (*DcWRKY69*) 的信号肽预测结果  
Fig. 6 Prediction result of signal peptide of *WRKY69* transcription factor in *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm. (*DcWRKY69*)



|||||:  $\alpha$ -螺旋  $\alpha$ -helix; |||||:  $\beta$ -折叠  $\beta$ -sheet; |||||: 延伸链 Extended strand; |||||: 随机卷曲 Random coil.

图 9 胡萝卜 *WRKY69* 转录因子 (*DcWRKY69*) 的二级结构预测结果  
Fig. 9 Prediction result of secondary structure of *WRKY69* transcription factor in *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm. (*DcWRKY69*)

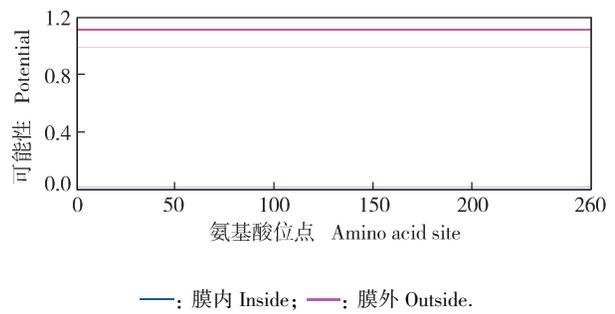


图 7 胡萝卜 *WRKY69* 转录因子 (*DcWRKY69*) 的跨膜结构预测结果  
Fig. 7 Prediction result of transmembrane structure of *WRKY69* transcription factor in *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm. (*DcWRKY69*)

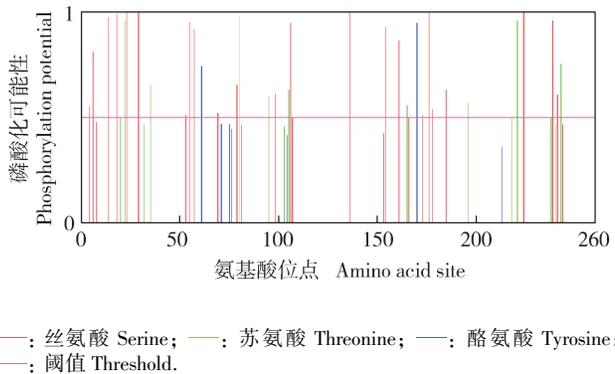


图 8 胡萝卜 *WRKY69* 转录因子 (*DcWRKY69*) 的磷酸化位点预测结果  
Fig. 8 Prediction result of phosphorylation site of *WRKY69* transcription factor in *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm. (*DcWRKY69*)

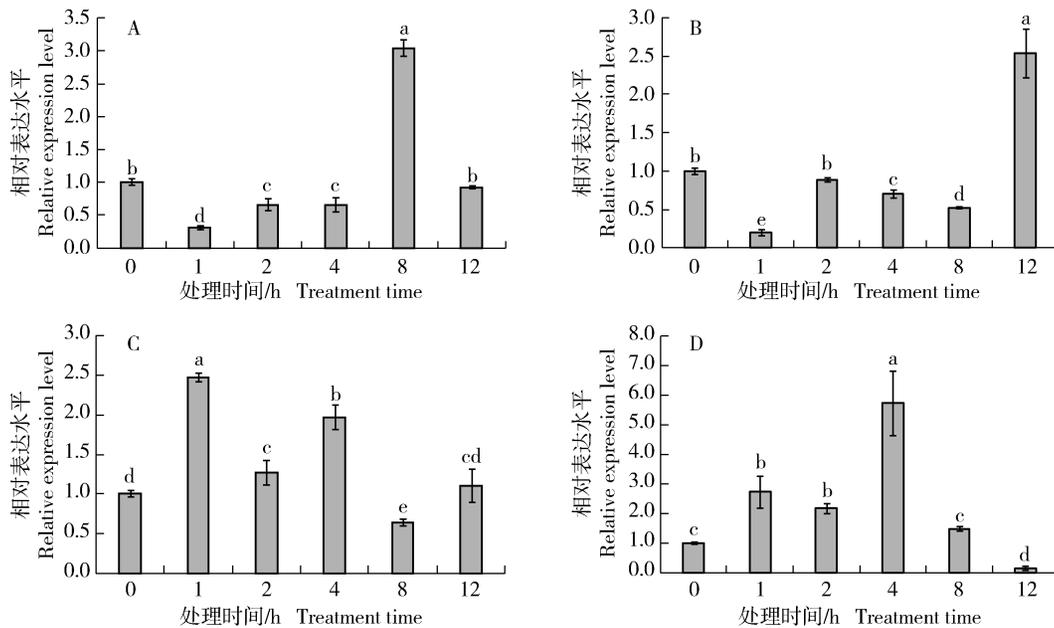
延伸链 (extended strand) 和随机卷曲 (random coil) 组成,比例分别为 21.92%、4.23%、11.92% 和 61.92%。

### 2.4 不同植物生长调节剂对 *DcWRKY69* 基因表达的影响

分别对 0.1 mmol · L<sup>-1</sup> 茉莉酸甲酯 (MeJA)、1.0 mmol · L<sup>-1</sup> 水杨酸 (SA)、0.1 mmol · L<sup>-1</sup> 赤霉素 (GA<sub>3</sub>) 和 0.1 mmol · L<sup>-1</sup> 脱落酸 (ABA) 处理 0、1、2、4、8 和 12 h 后胡萝卜 *WRKY69* 基因 (*DcWRKY69*) 在其

叶中的相对表达量进行比较,结果见图 10。由图 10 可见:4 种植物生长调节剂均能影响 *DcWRKY69* 基因的表达,但该基因相对表达量的变化存在明显差异。在 MeJA 处理下,*DcWRKY69* 基因的相对表达量在处理 1~4 h 显著低于对照(处理 0 h);在处理 8 h 显著高于对照,为对照的 3.03 倍;在处理 12 h 恢复至对照水平。在 SA 处理下,*DcWRKY69* 基因的相对表达量在处理 1、4 和 8 h 显著低于对照;在处理 2 h 与对照水平相近;

在处理 12 h 显著高于对照,为对照的 2.53 倍。在  $GA_3$  处理下,*DcWRKY69* 基因的相对表达量在处理 1、2 和 4 h 显著高于对照,并在处理 1 h 达到峰值,为对照的 2.47 倍;在处理 8 h 显著低于对照;在处理 12 h 略高于对照。在 ABA 处理下,*DcWRKY69* 基因的相对表达量在处理 1、2 和 4 h 显著高于对照,并在处理 4 h 达到峰值,为对照的 5.76 倍;在处理 8 h 与对照水平相近;在处理 12 h 很低,基本检测不到。



不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著 Different lowercases indicate the significant difference at 0.05 level.

A:  $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  茉莉酸甲酯  $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  methyl jasmonate; B:  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  水杨酸  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  salicylic acid; C:  $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  赤霉素  $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  gibberellin; D:  $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  脱落酸  $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  abscisic acid.

图 10 不同植物生长调节剂处理下胡萝卜 *WRKY69* 基因 (*DcWRKY69*) 在其叶中相对表达量的比较

Fig. 10 Comparison on relative expression level of *DcWRKY69* gene in *Daucus carota* var. *sativa* Hoffm. (*DcWRKY69*) in its leaf under different plant growth regulator treatments

### 3 讨论和结论

胡萝卜是重要的根菜类蔬菜,合理使用植物生长调节剂可调控其食用部位的品质<sup>[27]</sup>。*WRKY* 转录因子在植物各种激素信号传递途径中扮演重要角色,例如:*NPR1* 是水杨酸(SA)信号传递途径中最重要的蛋白之一,*NPR1* 可直接调控拟南芥体内至少 8 个 *WRKY* 转录因子的表达<sup>[28]</sup>; *WRKY* 转录因子的多数靶基因(如 *ABF2*、*ABI5*、*DREB1 $\alpha$*  等)与脱落酸(ABA)信号通路相关<sup>[29]</sup>; *OsWRKY51* 和 *OsWRKY71*

基因通过调控糊粉层细胞内 ABA 和赤霉素( $GA$ )信号传递途径间接调控水稻种子的萌发和休眠<sup>[30]</sup>; *PtrWRKY89* 基因在杨属(*Populus* Linn.) 植物 SA 防御信号通路中发挥作用<sup>[31]</sup>。本研究获得的 *DcWRKY69* 转录因子含有 1 个 *WRKY* 结构域,其锌指结构类型为  $C_2H_2$  型,属于 II 类 *WRKY* 转录因子,并且, *WRKY* 转录因子在进化过程中高度保守。

蛋白质磷酸化是蛋白质翻译后的一种重要修饰方式,在调节生命活动中起到“分子开关”的作用<sup>[32]</sup>; 信号肽是由 10~40 个氨基酸残基组成的短肽链,可以将蛋白质引导到细胞中具有不同膜结构的亚细胞

器内<sup>[33]</sup>。预测结果表明:*DcWRKY69* 转录因子共有34个磷酸化位点,这些磷酸化位点可能在维持蛋白质空间稳定性和调控植物生理生化反应过程中发挥重要作用;并且,*DcWRKY69* 转录因子是不含跨膜结构和信号肽的亲水性蛋白,据此推测 *DcWRKY69* 转录因子可能是非分泌蛋白。

迄今为止,已发现多种植物 WRKY 转录因子对植物生长调节剂的响应作用<sup>[34-36]</sup>。本研究结果表明:在 MeJA、SA、GA<sub>3</sub> 和 ABA 处理 0~12 h,胡萝卜叶中 *DcWRKY69* 基因的相对表达量存在明显差异,说明 *DcWRKY69* 基因表达对这 4 种植物生长调节剂均有响应,但在不同植物生长调节剂处理下该基因相对表达量的响应时间和强度存在差异,说明 *DcWRKY69* 基因可能参与胡萝卜对不同植物生长调节剂的响应过程,但其对不同植物生长调节剂的响应模式存在差异,具体作用机制有待进一步深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 欧承刚,庄飞云,赵志伟,等. 胡萝卜主要病害及抗病育种研究进展[J]. 中国蔬菜, 2009(4): 1-6.
- [2] 严怡红. 胡萝卜营养价值与功能食品加工[J]. 食品研究与开发, 2003, 24(6): 120-122.
- [3] 王广龙. 胡萝卜肉质根发育过程中激素和品质的变化规律研究[D]. 南京:南京农业大学园艺学院, 2016: 1-15.
- [4] 沈齐英,吕久琢,潘九堂. 植物激素和植物生长调节剂发展现状[J]. 北京石油化工学院学报, 2001, 9(1): 6-8.
- [5] 冯刚,李小飞,邓秋菊,等. 植物生长调节剂对薄壳山核桃品种‘波尼’枝条生长和叶片碳氮代谢物积累的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2018, 27(3): 49-55.
- [6] MCKEE J M T, MORRIS G E L. Effects of gibberellic acid and chlormequat chloride on the proportion of phloem and xylem parenchyma in the storage root of carrot (*Daucus carota* L.) [J]. Plant Growth Regulation, 1986, 4(3): 203-211.
- [7] 崔辉梅,樊新民,张永先. 几种外源激素浸种对胡萝卜种子发芽的影响[J]. 中国种业, 2006(11): 31-32.
- [8] 高国庆,储成才,刘小强,等. 植物 WRKY 转录因子家族研究进展[J]. 植物学通报, 2005, 22(1): 11-18.
- [9] 王娜,张振葆,黄凤珠,等. WRKY 转录因子参与植物非生物胁迫应答的研究进展[J]. 核农学报, 2014, 28(10): 1819-1827.
- [10] EULGEM T, RUSHTON P J, ROBATZEK S, et al. The WRKY superfamily of plant transcription factors [J]. Trends in Plant Science, 2000, 5(5): 199-206.
- [11] ISHIGURO S, NAKAMURA K. Characterization of a cDNA encoding a novel DNA-binding protein, SPF1, that recognizes SP8 sequences in the 5' upstream regions of genes coding for sporamin and  $\beta$ -amylase from sweet potato [J]. Molecular and General Genetics, 1994, 244(5): 563-571.
- [12] ZHANG Y, WANG L. The WRKY transcription factor superfamily: its origin in eukaryotes and expansion in plants [J]. BMC Evolutionary Biology, 2005, 5: 1.
- [13] WEI K F, CHEN J, CHEN Y F, et al. Molecular phylogenetic and expression analysis of the complete WRKY transcription factor family in maize [J]. DNA Research, 2012, 19: 153-164.
- [14] SCHMUTZ J, CANNON S B, SCHLUETER J, et al. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean [J]. Nature, 2010, 463(7278): 178-183.
- [15] LI M Y, XU Z S, TIAN C, et al. Genomic identification of WRKY transcription factors in carrot (*Daucus carota*) and analysis of evolution and homologous groups for plants [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 23101.
- [16] 李淑敏,茹振川,李蕾,等. 辣椒抗根结线虫相关 WRKY 基因的分离[J]. 园艺学报, 2008, 35(10): 1467-1472.
- [17] PANDEY S P, SOMSSICH I E. The role of WRKY transcription factors in plant immunity [J]. Plant Physiology, 2009, 150(4): 1648-1655.
- [18] 李冉,娄永根. 植物中逆境反应相关的 WRKY 转录因子研究进展[J]. 生态学报, 2011, 31(11): 3223-3231.
- [19] CHEN L, XIANG S, CHEN Y, et al. *Arabidopsis* WRKY45 interacts with the DELLA protein RGL1 to positively regulate age-triggered leaf senescence [J]. Molecular Plant, 2017, 10: 1174-1189.
- [20] XU Z S, TAN H W, WANG F, et al. CarrotDB: a genomic and transcriptomic database for carrot [J]. Database, 2014, 2014: bau096.
- [21] 付冰,叶霞,王会鱼,等. 枣 WRKY 转录因子的鉴定及其对枣炭病病原体和激素处理的应答[J]. 林业科学, 2018, 54(8): 65-78.
- [22] 蔡鞞鞞,刘涛,杨华丽,等. 榛 WRKY 同源基因的分离与表达分析[J]. 西北植物学报, 2017, 37(8): 1493-1499.
- [23] WANG G L, QUE F, XU Z S, et al. Exogenous gibberellin altered morphology, anatomic and transcriptional regulatory networks of hormones in carrot root and shoot [J]. BMC Plant Biology, 2015, 15: 290.
- [24] 郭俊红,王伟东,谷星,等. 茶树 WRKY 转录因子基因 *CsWRKY57* 的克隆及表达分析[J]. 茶叶科学, 2017, 37(4): 411-419.
- [25] TIAN C, JIANG Q, WANG F, et al. Selection of suitable reference genes for qPCR normalization under abiotic stresses and hormone stimuli in carrot leaves [J]. PLOS ONE, 2015, 10(2): e0117569.
- [26] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  method [J]. Methods, 2001, 25: 402-408.
- [27] 黄铭慧,冯舒涵,罗姗姗,等. 外源植物激素对园艺产品品质形成的调控作用[J]. 北方园艺, 2015(12): 178-182.
- [28] WANG D, AMORNSIRIPANITCH N, DONG X. A genomic

- approach to identify regulatory nodes in the transcriptional network of systemic acquired resistance in plants[J]. *PLOS Pathogens*, 2006, 2(11): e123.
- [29] RUSHTON D L, TRIPATHI P, RABARA R C, et al. WRKY transcription factors: key components in abscisic acid signalling [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2012, 10(1): 2-11.
- [30] ZHANG Z L, XIE Z, ZOU X, et al. A rice *WRKY* gene encodes a transcriptional repressor of the gibberellin signaling pathway in aleurone cells[J]. *Plant Physiology*, 2004, 134(4): 1500-1513.
- [31] JIANG Y, DUAN Y, YIN J, et al. Genome-wide identification and characterization of the *Populus* WRKY transcription factor family and analysis of their expression in response to biotic and abiotic stresses [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(22): 6629-6644.
- [32] ZHU M, ZHU N, SONG W Y, et al. Thiol-based redox proteins in *Brassica napus* guard cell abscisic acid and methyl jasmonate signaling[J]. *The Plant Journal*, 2014, 78(3): 491-515.
- [33] 郑 斌, 詹希美. 信号肽序列及其在蛋白质表达中的应用 [J]. *生物技术通讯*, 2005, 16(3): 296-298.
- [34] 王昭玉, 甄 珍, 李雅琳, 等. 大豆转录因子 GmWRKY4 分子克隆与表达分析[J]. *大豆科学*, 2018, 37(4): 539-544.
- [35] 王 玲, 刘 峰, 戴明剑, 等. 甘蔗 ScWRKY4 基因的克隆与表达特性分析[J]. *作物学报*, 2018, 44(9): 1367-1379.
- [36] 贾彩红, 王 卓, 张建斌, 等. 香蕉中 8 个 WRKY 转录因子的克隆及表达分析 [J]. *热带作物学报*, 2018, 39(11): 2193-2199.

(责任编辑: 佟金凤)

## 欢迎订阅 2020 年《植物资源与环境学报》

全国中文核心期刊 中国科技核心期刊  
中国科学引文数据库核心期刊 RCCSE 中国核心学术期刊(A<sup>-</sup>)  
双月刊, 单价 20 元, 邮发代号: 28-213, 国内统一连续出版物号: CN 32-1339/S

《植物资源与环境学报》为江苏省中国科学院植物研究所和江苏省植物学会联合主办的学术刊物, 国内外公开发行。本刊为全国中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库核心期刊(CSCD)和 RCCSE 中国核心学术期刊(A<sup>-</sup>), 并为 BA、CA、CAB、Elsevier's、中国生物学文摘、中国环境科学文摘、中国科学引文数据库、万方数据——数字化期刊群、中国学术期刊(光盘版)、超星期刊域出版平台和中文科技期刊数据库等国内外著名刊库收录。2013 年荣获“首届江苏省新闻出版政府奖·期刊奖”及江苏省精品科技期刊项目; 2015 年荣获“第六届江苏省科技期刊金马奖·精品期刊奖”及江苏省精品科技期刊Ⅲ类项目; 2016 年、2017 年、2018 年和 2019 年均荣获江苏省精品科技期刊 I 类项目。

本刊围绕植物资源与环境两个中心命题, 报道我国植物资源的考察、开发利用和植物物种多样性保护, 自然保护区与植物园的建设和管理, 植物在保护和美化环境中的作用, 环境对植物的影响以及与植物资源和植物环境有关学科领域的原始研究论文、研究简报和综述等。凡从事植物学、生态学、自

然地理学以及农、林、园艺、医药、食品、轻化工和环境保护等领域的科研、教学、技术人员及决策者均可以从本刊获得相关学科领域的研究进展和信息。

本刊自 2020 年起变更为双月刊, 单月月末出版, 大 16 开本, 每期 80 页。全国各地邮局均可订阅, 每期定价 20 元, 全年 120 元。若错过征订时间或需补齐 1992 年至 2020 年各期, 请直接与编辑部联系邮购。1992 年至 1993 年每年 8 元; 1994 年至 2000 年每年 16 元; 2001 年至 2005 年每年 24 元; 2006 年至 2008 年每年 40 元; 2009 年至 2011 年每年 60 元; 2012 年至 2019 年每年 80 元; 2020 年 120 元(均含邮资, 如需挂号另付挂号费 3 元)。

编辑部地址: 江苏省南京市中山门外 江苏省中国科学院植物研究所内(邮编 210014); 电话: 025-84347014; QQ: 2219161478; E-mail: zwzybjb@163.com。本刊只接收网站投稿, 投稿网址: <http://zwzy.cnbg.net>, 欢迎使用并提出宝贵意见。

欢迎订阅! 欢迎投稿!