

石榴 ATG 基因家族鉴定及其在非生物胁迫下的表达模式分析

刘司瑜, 林艺灵, 王令宇, 夏家欣, 杨毓贤, 房经贵, 王晨, 上官凌飞^①

(南京农业大学园艺学院 江苏省果树品种改良与种苗繁育工程中心, 江苏 南京 210095)

摘要: 利用生物信息学方法, 从石榴 (*Punica granatum* Linn.) 品种‘突尼斯’(‘Tunisia’) 基因组中鉴定自噬相关基因(ATG)家族成员, 并对其蛋白质理化性质、染色体定位、基因结构、系统进化、共线关系和表达模式进行了分析。结果表明: 从石榴基因组中共鉴定出 58 个 ATG 基因, 定位在 8 条染色体上。58 个石榴 ATG 家庭成员可分为 6 个亚族。58 个石榴 ATG 基因中 3 对基因存在共线关系; 石榴与拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.] 和葡萄 (*Vitis vinifera* Linn.) ATG 基因家族成员间分别存在 45 和 41 对共线关系。转录组数据挖掘显示: *PgVTII2b-1*、*PgATG1b-1*、*PgATG8h-1*、*PgATG8c-2* 和 *PgATG8c-3* 5 个基因在 ABA 缓解干旱胁迫的响应中差异表达; NaCl 胁迫下, 石榴根和叶中分别有 11 和 8 个 ATG 基因差异表达, 且 *PgATG6b*、*PgTORb* 和 *PgATG1b-2* 基因在根和叶中均差异表达。实时荧光定量 PCR 验证发现石榴 ATG 基因的表达模式与转录组结果基本一致。综合分析结果表明: *PgVTII2b-1*、*PgATG1b-1*、*PgATG8h-1*、*PgATG8c-2* 和 *PgATG8c-3* 基因参与石榴叶对 ABA 缓解干旱胁迫的响应, 而 *PgATG6b*、*PgTORb* 和 *PgATG1b-2* 基因则同时参与石榴根和叶对 NaCl 胁迫的响应。

关键词: 石榴; 自噬相关基因(ATG); 基因家族鉴定; 非生物胁迫; 表达模式

中图分类号: Q946-33; S665.4 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2022)05-0037-13

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2022.05.05

Identification of ATG gene family of *Punica granatum* and analysis on their expression pattern under abiotic stress LIU Siyu, LIN Yiling, WANG Lingyu, XIA Jiixin, YANG Yuxian, FANG Jinggui, WANG Chen, SHANGGUAN Lingfei^① (Jiangsu Engineering Center of Fruit Varieties Improvement and Seedling Breeding, College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2022, 31(5): 37-49

Abstract: The autophagy-related gene (ATG) family members were identified from the genome of cultivar ‘Tunisia’ of *Punica granatum* Linn. by using the bioinformatics method, and their protein physicochemical properties, chromosome location, gene structure, phylogeny, collinear relationship, and expression pattern were analyzed. The results show that 58 ATG genes are identified from the genome of *P. granatum* in total, which are located on 8 chromosomes. Fifty-eight ATG family members of *P. granatum* can be divided into 6 sub-families. Three pairs of genes among 58 ATG genes of *P. granatum* have collinear relationships; there are 45 and 41 pairs of collinear relationships between ATG gene family members of *P. granatum* and those of *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh. and *Vitis vinifera* Linn. respectively. The mining of transcriptomic data shows that 5 genes namely *PgVTII2b-1*, *PgATG1b-1*, *PgATG8h-1*, *PgATG8c-2*, and *PgATG8c-3* are differentially expressed in response to ABA-alleviating drought stress; under NaCl stress, 11 and 8 genes are differentially expressed in root and leaf of *P.*

收稿日期: 2022-05-19

基金项目: 江苏省自然科学基金面上项目(BK20201321); 江苏省博士后科研资助计划项目(2020Z052); 江苏省农业科技自主创新项目(CX(20)3016); 江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 刘司瑜(1998—), 女, 四川三台人, 硕士研究生, 主要从事果树逆境胁迫方面的研究。

^①通信作者 E-mail: shangguanlf@njau.edu.cn

引用格式: 刘司瑜, 林艺灵, 王令宇, 等. 石榴 ATG 基因家族鉴定及其在非生物胁迫下的表达模式分析[J]. 植物资源与环境学报, 2022, 31(5): 37-49.

granatum, and *PgATG6b*, *PgTORb*, and *PgATG1b-2* genes are all differentially expressed in root and leaf of *P. granatum*. The real-time fluorescence quantitative PCR validation shows that the expression patterns of *ATG* genes of *P. granatum* are basically consistent with the transcriptome result. The comprehensive analysis result shows that *PgVTH12b-1*, *PgATG1b-1*, *PgATG8h-1*, *PgATG8c-2*, and *PgATG8c-3* genes are involved in the response of leaf of *P. granatum* to ABA-alleviating drought stress, while *PgATG6b*, *PgTORb*, and *PgATG1b-2* genes are simultaneously involved in the response of root and leaf of *P. granatum* to NaCl stress.

Key words: *Punica granatum* Linn.; autophagy-related gene (*ATG*); gene family identification; abiotic stress; expression pattern

石榴 (*Punica granatum* Linn.) 为千屈菜科 (Lythraceae) 石榴属 (*Punica* Linn.) 的果树, 栽培历史悠久, 种质资源丰富^[1]。石榴是一种集观赏、经济、生态和保健于一体的优良果树, 因其果实富含维生素、蛋白质、矿物质、鞣质和类黄酮等, 越来越受到消费者的喜爱^[2]。与其他果树一样, 石榴在栽培过程中也常受高盐、干旱、营养缺乏和病原菌感染等胁迫影响, 干旱胁迫下植株的生长和生理功能, 尤其是光合特性等会发生一系列变化。王紫彤等^[3]研究发现, 干旱胁迫影响大蒜 (*Allium sativum* Linn.) 叶绿素的合成, 从而抑制叶绿体的发育, 光合效率降低, 使植株生长迟缓。石榴虽为一种较为耐旱的植物, 但卓热木·塔西等^[4]研究发现土壤相对含水量从 70% 自然降到 30% 期间, 植株光合等生理指标下降, 生长受到限制。细胞自噬是生物体降解蛋白质过程中一条非常重要的途径, 存在于真核单细胞生物、植物和动物中。调控细胞自噬形成与发生的基因称作自噬相关基因 (*autophagy-related gene, ATG*)^[5]。除了正常生长发育与衰老外, 当植物体受到外界环境的刺激而处在逆境条件下, 植物体内的细胞也会在 *ATG* 等基因的调控下, 形成自噬小体, 将受损的蛋白质或者细胞器包裹起来, 运输到液泡进行水解, 产生的物质和能量被植物体循环利用^[6]。

目前, 在非生物胁迫方面, 研究较多的是 *ATG5*、*ATG7*、*ATG8* 和 *ATG18* 等基因, 例如: 核桃 (*Juglans regia* Linn.) *ATG18a* 基因能响应逆境, 参与核桃适应不良环境^[7]; 小麦 (*Triticum aestivum* Linn.) *ATG18s* 基因及其参与的自噬过程与小麦对白粉菌侵染的免疫反应密切相关, 也与小麦响应非生物胁迫环境相关^[8]; 当番茄 (*Solanum lycopersicum* Linn.) 受到高温胁迫时, *ATG5* 和 *ATG7* 基因表达量上调, 而将 *ATG5* 和 *ATG7* 基因沉默后, 番茄株系对高温的耐受性显著下降^[9]。但到目前为止, 对石榴 *ATG* 基因家族的研

究还少见报道。脱落酸 (ABA) 可以调节植物对外界胁迫的响应^[10]。Qian 等^[11] 研究认为, 在干旱胁迫下, $60 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA 能够显著提高石榴对干旱胁迫的耐受性。

自 2017 年, 石榴品种 ‘大笨籽’ (‘Dabenzi’)、‘泰山红’ (‘Taishanhong’) 和 ‘突尼斯’ (‘Tunisia’) 的基因组测序陆续完成, 获得了更高质量的石榴基因组序列^[12-14], 也为在全基因组水平上鉴定与分析基因家族提供了可能性。本研究从目前基因组质量最高的石榴品种 ‘突尼斯’ 基因组中挖掘 *ATG* 基因, 并对其进行生物信息学分析, 同时探究其在不同非生物胁迫下的表达情况, 为后续深入分析 *ATG* 基因在石榴响应非生物胁迫中的功能奠定研究基础。

1 材料和方法

1.1 基因组数据来源

石榴基因组数据 (ASM220158v2)^[14] 下载自 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>), 拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.] 基因组数据下载自 EnsemblPlants 数据库 (http://plants.ensembl.org/Arabidopsis_thaliana/Info/Index), 葡萄 (*Vitis vinifera* Linn.) 基因组数据下载自 EnsemblPlants 数据库 (ftp://ftp.ensemblgenomes.org/pub/release-33/plants/gtf/vitis_vinifera)^[15]。石榴转录组数据下载自 NCBI-SRA 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Traces/sra>)^[11,16]。

1.2 方法

1.2.1 石榴 *ATG* 基因家族成员的鉴定 根据已报道的拟南芥和水稻 (*Oryza sativa* Linn.) *ATG* 基因核酸序列, 利用 BLASTx 程序 (<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/executables/blast+/LATEST/>) 从石榴蛋白质序列集中检索潜在的石榴 *ATG* 序列 ($E \leq 10^{-5}$); 利用

NCBI 网站的 CDD 在线工具 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 批量鉴定石榴 ATG 基因家族成员序列的功能域,筛选并剔除其中的假阳性序列,获得候选的石榴 ATG 基因家族成员。

1.2.2 石榴 ATG 家族成员的蛋白质理化性质分析 运用在线软件 ProtParam (<http://us.expasy.org/tools/protparam.html>) 对候选的石榴 ATG 家族成员进行蛋白质理化性质分析,获得石榴 ATG 家族成员氨基酸序列的氨基酸残基数、理论相对分子质量、理论等电点和不稳定系数。

1.2.3 石榴 ATG 基因家族成员染色体定位和基因结构分析 利用 MG2C 网站 (http://mg2c.iask.in/mg2c_v2.1/) 绘制石榴 ATG 基因家族成员染色体定位图。根据石榴全基因组的 GFF 格式的注释文件,提取石榴 ATG 基因家族成员序列中的非翻译区、编码序列和内含子的结构信息。利用 TBtools 软件^[17] 分析其基因结构,生成相应的基因结构图。

1.2.4 石榴 ATG 家族成员的氨基酸序列对比和系统进化树构建 使用 MEGA7.0 软件^[18] 中的 MUSCLE 方法对石榴和拟南芥 ATG 家族成员的氨基酸序列进行多序列比对,采用最大似然法(maximum likelihood, ML)生成进化树,设置校验参数 Bootstrap 的重复次数为1 000。使用 iTOL 在线软件^[19] (<https://itol.embl.de/>) 修饰美化进化树。

1.2.5 石榴 ATG 基因家族成员共线性分析 运用 MCSanX 软件^[20] 对石榴 ATG 基因家族成员进行共线性分析,选出具有显著共线性的成员。此外,利用 TBtools 软件绘制石榴、拟南芥和葡萄 ATG 基因家族成员的共线性图谱,并计算石榴具有显著共线性成员的 Ka/Ks 值,其中 Ka 为非同义替换率, Ks 为同义替换率。若 Ka/Ks 值大于 1,则认为存在正向选择;若 Ka/Ks 值等于 1,则认为存在中性选择;如果 Ka/Ks 值小于 1,则认为存在纯化选择。

1.2.6 石榴 ATG 基因家族成员在非生物胁迫下的表达信息挖掘 根据石榴 ATG 基因家族成员基因 ID 号,利用前人发表的转录组数据^[11,16] 分析石榴 ATG 基因家族成员在 ABA 缓解干旱胁迫和 NaCl 胁迫下的表达量,利用 TBtools 软件绘制热图。

1.2.7 石榴 ATG 基因家族成员在非生物胁迫下的表达验证 石榴品种‘突尼斯’2年生苗(购自山东振邦生态农业科技有限公司)种植于盆口直径20 cm、高25 cm 的塑料盆中,栽培基质为育苗专用基质(江苏

兴农基质科技有限公司),每盆1株,置于南京农业大学白马实践基地温室中进行培养。

参考 Qian 等^[11] 的实验设计,挑选长势基本一致的 12 株植株用于干旱胁迫处理,将 12 株植株随机分为 4 组,每组 3 株。干旱胁迫时间为 31 d(4 月 13 日至 5 月 13 日),胁迫期间保持土壤含水量为 30%~35%。在干旱胁迫的同时,其中 3 组每天分别全株喷洒 30、60 和 90 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA 溶液 10 mL,剩余 1 组作为对照,喷洒等体积的蒸馏水(即 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA 溶液)。处理结束后收集各植株的全部叶片,立即在液氮中冷冻后储存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,用于提取 RNA。

参考 Liu 等^[16] 的实验设计和获得的表达信息,发现 NaCl 胁迫第 6 天基因的应答强烈,同时根中响应基因较叶片中多,因此本研究的实时荧光定量 PCR (real-time fluorescence quantitative PCR, qRT-PCR) 以 0 和 6 d 根系为材料分析石榴 ATG 基因表达特点。参考 Liu 等^[16] 的实验设计,挑选长势基本一致的 6 株植株用于 NaCl 胁迫处理,将 6 株植株随机分为 2 组,每组 3 株。NaCl 胁迫时间为 6 d(4 月 13 日至 4 月 18 日),其中一组用 200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 溶液施肥 1 次,每盆施用 1 L;于 4 月 13 日收获未进行 NaCl 胁迫处理组植株的全部根系作为对照。实验期间 NaCl 胁迫处理组每盆下面放置 1 个碟子收集渗滤液并倒回塑料盆中。第 6 天(处理结束后)收集 NaCl 胁迫处理组各植株的全部根系,立即在液氮中冷冻后储存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,用于提取 RNA。

所有样品使用 CTAB 法^[21] 提取 RNA,使用 Nanodrop-100a 超微量分光光度计(美国赛默飞公司)检测 RNA 浓度,使用质量体积分数 1% 琼脂糖凝胶电泳检查完整性。利用 PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time) 试剂盒[宝生物工程(大连)有限公司]逆转录合成 cDNA。利用 Primer Premier 5.0 软件设计特异性引物(表 1)用于 qRT-PCR 分析,引物由通用生物股份有限公司合成,参照关晓弯等^[22] 的研究使用 *PgActin* 为内参基因。按照 SYBR Premix Ex TaqTM 试剂盒[宝生物工程(大连)有限公司]说明书,采用 qRT-PCR 测定基因的相对表达量。反应体系总体积 20.0 μL ,包括 cDNA 1.0 μL 、反应 MIX[宝生物工程(大连)有限公司] 10.0 μL 、正向和反向引物各 0.8 μL 、超纯水 7.4 μL 。反应程序:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s、58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 20 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,

表1 用于实时荧光定量PCR的引物
Table 1 Primers used for real-time fluorescence quantitative PCR

基因 Gene	正向引物序列(5'→3') Forward primer sequence (5'→3')	反向引物序列(5'→3') Reverse primer sequence (5'→3')
<i>PgATG1b-1</i>	TCTCCCGGAAAGTGCTTGATG	TCCCACCAGAACCACTACA
<i>PgATG1b-2</i>	CAGAGGACATTTCCCTCAAG	GGTGCTTCCACCAAAAAGAAA
<i>PgATG5a</i>	GGCAGCTGGTGTTCATTCA	ACTTACAGTCCTCACCCAGC
<i>PgATG5b</i>	GGCAGCTGGTGTTCATTCA	ACTTACAGTCCTCACCCAGCT
<i>PgATG6b</i>	CGCGATGTTCTTAGTGAGGCA	ATACCTCCCCTCCAGTTCCTTAA
<i>PgATG8c-3</i>	CTTGTGCCAGGGGATTTGACT	TCCTCGTCCTTGTTCTCTC
<i>PgATG8h-1</i>	TGGTCAGTTCATCCACCTGTTAAG	GCCAAAGGTCTTCTCAGTGCT
<i>PgATG18a-2</i>	CAAGGTCAATGCAGGAACCC	GGCACTGATAGAAGCTCCCATC
<i>PgATG18c-1</i>	TGCAAAACACGTCTGTCTTGGC	TCCTGTAAGCGAGTCCCATCC
<i>PgVTH12b-1</i>	CTTTCGAGGAAAGTGCTACGCA	TTGCCACCAGAAGTCAGTCTTT
<i>PgAT1a-4</i>	GCTGAATTGGCGTAGAAGG	CTCCTTGTCCGGGTTGTACTC
<i>PgTORb</i>	GATGTTACTCGTGTGCCAG	GAACGCATCCAAGACCCATCG
<i>PgActin</i>	AGTCTCTTCCAGCATCTC	CACCTGAGCACAAATGTTTCCA

循环40次。每个样品3次重复。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算方法,以对照计算相对表达量。

1.3 数据统计和处理

利用EXCEL 2010和LinReg PCR软件^[23]分析实验数据,利用GraphPad Prism 8.0软件作图。

2 结果和分析

2.1 石榴ATG基因家族鉴定及蛋白质理化性质分析

通过BLASTx检索和CDD批量鉴定和筛选,初步鉴定出58个石榴ATG基因家族成员,并对其进行命名。

蛋白质理化性质分析结果(表2)表明:石榴ATG家族成员的氨基酸残基数变化幅度较大,介于94~3708之间,其中PgATG5a的氨基酸残基数最多,PgATG12的氨基酸残基数最少。该家族成员的理论相对分子质量为10550~413118,其中PgATG5a的理论相对分子质量最大,而PgATG12的理论相对分子质量最小。该家族成员的理论等电点为pI 4.69~pI 9.39,其中35个家族成员的理论等电点小于pI 7,其余23个家族成员的理论等电点大于pI 7。该家族成员的不稳定指数介于30.41~70.17之间,其中PgATG2、PgATG8c-1、PgATG8c-2、PgATG8c-3、PgATG10和PgATG16这6个家族成员的不稳定指数

表2 石榴ATG基因家族成员编码氨基酸序列的理化性质
Table 2 Physicochemical properties of amino acid sequences encoded by ATG gene family members of *Punica granatum* Linn.

基因 Gene	GenBank 登录号 GenBank ID	氨基酸残基数 Amino acid residue number	理论相对分子质量 Theoretical relative molecular mass	理论等电点(pI) Theoretical isoelectric point (pI)	不稳定指数 Instability index
<i>PgATG1b-1</i>	XP_031375846.1	716	79 249	6.22	62.71
<i>PgATG1b-2</i>	XP_031397602.1	716	79 249	6.22	62.71
<i>PgATG2</i>	XP_031383096.1	847	93 292	5.67	39.25
<i>PgATG3</i>	XP_031380634.1	315	35 721	4.69	48.25
<i>PgATG4</i>	XP_031382439.1	468	51 358	5.47	50.59
<i>PgATG5a</i>	XP_031379987.1	3 708	413 118	5.75	44.19
<i>PgATG5b</i>	XP_031379988.1	3 694	411 638	5.78	44.18
<i>PgATG5c</i>	XP_031391463.1	363	41 071	4.85	46.04
<i>PgATG6a</i>	XP_031376309.1	570	64 768	5.79	44.84
<i>PgATG6b</i>	XP_031376311.1	551	62 640	5.62	43.58
<i>PgATG6c</i>	XP_031376313.1	535	60 689	5.77	42.14
<i>PgATG6d</i>	XP_031376314.1	516	58 499	5.67	43.75
<i>PgATG7</i>	XP_031397747.1	698	77 051	5.65	44.23
<i>PgATG8c-1</i>	XP_031376378.1	118	13 575	8.59	37.40

续表2 Table 2 (Continued)

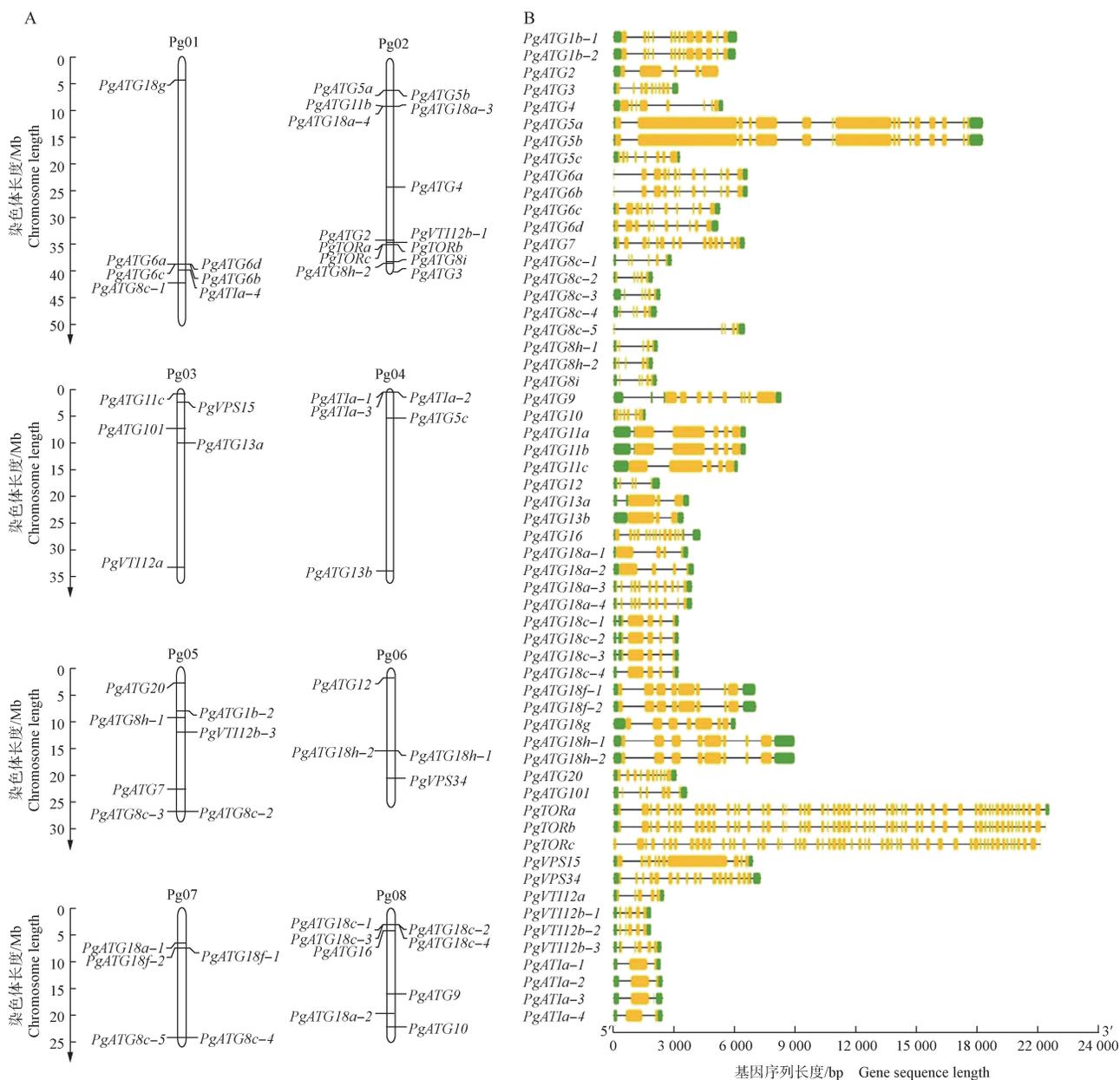
基因 Gene	GenBank 登录号 GenBank ID	氨基酸残基数 Amino acid residue number	理论相对分子质量 Theoretical relative molecular mass	理论等电点 (pI) Theoretical isoelectric point (pI)	不稳定指数 Instability index
<i>PgATG8c-2</i>	XP_031398161.1	136	15 363	8.83	31.59
<i>PgATG8c-3</i>	XP_031398162.1	123	13 918	8.78	32.12
<i>PgATG8c-4</i>	XP_031403138.1	124	14 140	7.88	43.21
<i>PgATG8c-5</i>	XP_031403140.1	124	14 161	8.78	48.80
<i>PgATG8h-1</i>	XP_031396343.1	120	13 902	9.21	56.13
<i>PgATG8h-2</i>	XP_031380887.1	125	14 542	6.60	50.98
<i>PgATG8i</i>	XP_031380663.1	119	13 686	8.80	52.94
<i>PgATG9</i>	XP_031372526.1	901	103 084	6.03	49.73
<i>PgATG10</i>	XP_031373088.1	234	26 533	4.71	38.45
<i>PgATG11a</i>	XP_031375421.1	1 127	127 612	5.43	51.91
<i>PgATG11b</i>	XP_031382210.1	1 127	127 612	5.43	51.91
<i>PgATG11c</i>	XP_031386579.1	1 146	129 177	5.59	53.00
<i>PgATG12</i>	XP_031399963.1	94	10 550	9.21	41.38
<i>PgATG13a</i>	XP_031386920.1	638	70 557	8.36	70.17
<i>PgATG13b</i>	XP_031391077.1	595	65 787	8.55	67.17
<i>PgATG16</i>	XP_031374591.1	458	51 420	9.36	30.41
<i>PgATG18a-1</i>	XP_031404689.1	430	47 158	7.64	55.65
<i>PgATG18a-2</i>	XP_031407661.1	440	47 841	6.27	48.08
<i>PgATG18a-3</i>	XP_031384432.1	369	40 224	7.62	45.98
<i>PgATG18a-4</i>	XP_031384433.1	331	36 063	6.83	42.84
<i>PgATG18c-1</i>	XP_031375095.1	442	48 799	8.04	42.81
<i>PgATG18c-2</i>	XP_031375096.1	441	48 670	8.04	42.65
<i>PgATG18c-3</i>	XP_031375097.1	430	47 563	7.62	43.02
<i>PgATG18c-4</i>	XP_031375098.1	417	45 921	7.15	45.57
<i>PgATG18f-1</i>	XP_031404379.1	984	106 713	5.79	55.75
<i>PgATG18f-2</i>	XP_031404380.1	983	106 585	5.79	55.60
<i>PgATG18g</i>	XP_031385837.1	881	96 075	6.50	41.33
<i>PgATG18h-1</i>	XP_031399991.1	993	107 399	6.00	45.64
<i>PgATG18h-2</i>	XP_031399992.1	992	107 243	5.96	45.51
<i>PgATG20</i>	XP_031397741.1	402	46 408	7.19	43.08
<i>PgATG101</i>	XP_031388600.1	218	25 610	6.26	40.15
<i>PgTORa</i>	XP_031383803.1	2 480	278 759	6.56	45.23
<i>PgTORb</i>	XP_031383804.1	2 472	278 003	6.56	45.23
<i>PgTORc</i>	XP_031383805.1	2 471	277 916	6.56	45.16
<i>PgVPS15</i>	XP_031387749.1	1 482	165 430	7.75	51.25
<i>PgVPS34</i>	XP_031401805.1	814	93 181	5.96	48.83
<i>PgVTH12a</i>	XP_031386371.1	222	25 406	8.47	50.27
<i>PgVTH12b-1</i>	XP_031380089.1	220	24 831	9.39	49.98
<i>PgVTH12b-2</i>	XP_031375504.1	220	24 831	9.39	49.98
<i>PgVTH12b-3</i>	XP_031395214.1	220	24 677	9.35	44.82
<i>PgAT1a-1</i>	XP_031393841.1	326	35 351	4.90	44.74
<i>PgAT1a-2</i>	XP_031393842.1	325	35 223	4.85	44.84
<i>PgAT1a-3</i>	XP_031393843.1	294	32 143	4.80	44.85
<i>PgAT1a-4</i>	XP_031376719.1	299	33 365	4.99	49.65

小于 40。

2.2 石榴 ATG 基因家族的染色体定位和基因结构分析

染色体定位分析结果(图 1-A)显示:58 个石榴

ATG 基因家族成员分布于 8 条染色体上。其中,Pg06 染色体上的石榴 ATG 基因家族成员数量最少,只有 4 个;Pg02 染色体上分布的石榴 ATG 基因家族成员最多,有 14 个。其余 6 条染色体上分布的石榴 ATG



Pg01-Pg08: 染色体 Chromosomes. ■: 非翻译区 Untranslated region; ■: 编码序列 Coding sequence; —: 内含子 Intron.

图1 石榴 ATG 基因家族成员的染色体定位 (A) 及基因结构 (B)

Fig. 1 The chromosome location (A) and gene structure (B) of ATG gene family members of *Punica granatum* Linn.

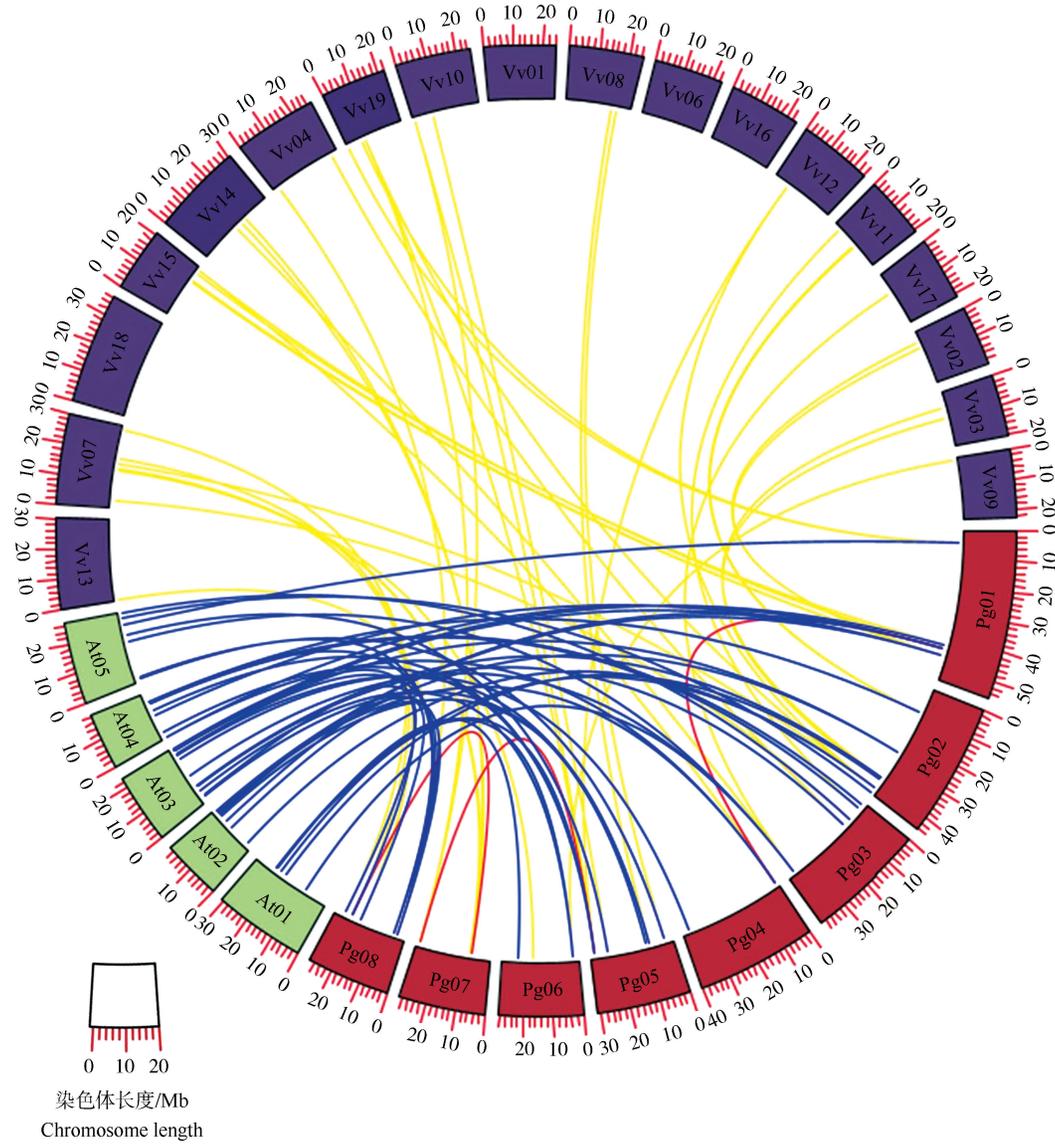
基因家族成员数量为 5~8。石榴 ATG 基因家族成员在同一条染色体上的分布是不均匀的,大多分布在各染色体的上端、中上端和下端,除了 Pg01、Pg02 和 Pg08 染色体上的 ATG 基因家族成员分布较为集中外,其余染色体上的 ATG 基因家族成员分布较为分散。此外, *PgATG1b-1*、*PgATG11a* 和 *PgVTI12b-2* 这 3 个基因的染色体定位信息不足。

基因结构分析结果 (图 1-B) 显示: 58 个石榴

ATG 基因家族成员均含有内含子。成员之间结构差异较大,其中 *PgTORa*、*PgTORb* 和 *PgTORc* 基因的结构最复杂,有 56 个外显子,而 *PgAT1a-3* 基因的结构最简单,仅有 1 个外显子。

2.3 石榴 ATG 家族的系统进化分析

系统进化分析结果 (图 2) 显示: 58 个石榴 ATG 家族成员可以分为 A、B、C、D、E 和 F 6 个亚族。其中 A 亚族是最大的亚族,含有 23 个石榴 ATG 家族成



Pg01-Pg08; 石榴染色体 Chromosomes of *Punica granatum* Linn.; At01-At05; 拟南芥染色体 Chromosomes of *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.; Vv01-Vv19; 葡萄染色体 Chromosomes of *Vitis vinifera* Linn. 红色线条为石榴种内的共线基因对, 蓝色线条为石榴和拟南芥间的共线基因对, 黄色线条为石榴和葡萄间的共线基因对 The red lines are the collinear gene pairs within *P. granatum*, the blue lines are the collinear gene pairs between *P. granatum* and *A. thaliana*, and the yellow lines are the collinear gene pairs between *P. granatum* and *V. vinifera*.

图 3 石榴、拟南芥和葡萄 ATG 基因家族成员的共线性分析
 Fig. 3 Collinearity analysis on ATG gene family members of *Punica granatum* Linn., *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh., and *Vitis vinifera* Linn.

表 3 石榴 ATG 基因家族成员中共线基因对的 Ka/Ks 分析
 Table 3 Ka/Ks analysis on collinear gene pairs of ATG gene family members of *Punica granatum* Linn.

共线基因对 Collinear gene pair	非同义替换率 Non-synonymous substitution rate (Ka)	同义替换率 Synonymous substitution rate (Ks)	Ka/Ks
<i>PgAT1a-4/PgAT1a-1</i>	0.36	1.69	0.21
<i>PgATG8c-2/PgATG8c-5</i>	0.08	1.27	0.06
<i>PgATG18a-1/PgATG18a-2</i>	0.17	1.49	0.11

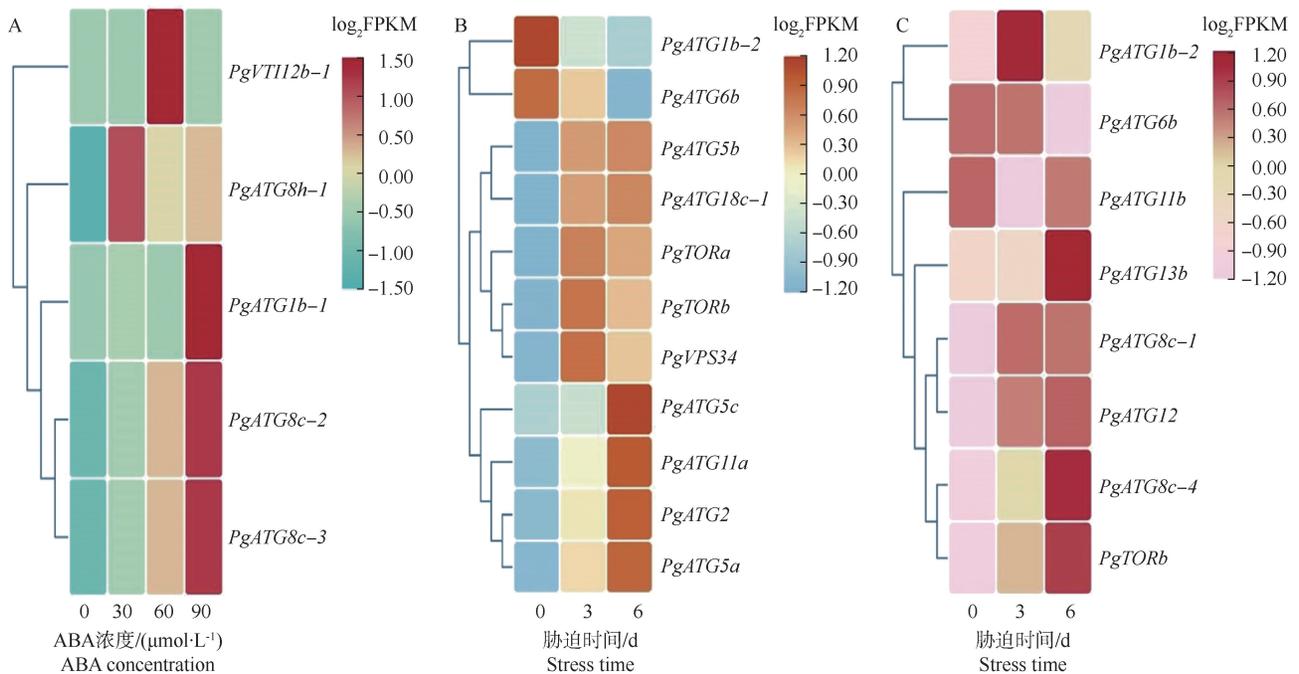
2.5 石榴 ATG 基因家族的表达分析

为了进一步了解石榴 ATG 基因在非生物胁迫下可能发挥的作用, 利用转录组数据分析石榴 ATG 基因在 ABA 缓解干旱胁迫和 NaCl 胁迫下的差异表达情况(图 4)。通过转录组数据挖掘后发现, 有 5 个石榴 ATG 基因参与 ABA 缓解干旱胁迫进程(图 4-A)。干旱胁迫下, 60 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA 处理的 *PgVTH12b-1* 基因表达量显著高于其他浓度 ABA 处理; *PgATG1b-*

PgATG8c-2 和 *PgATG8c-3* 基因的表达量随着 ABA 浓度的提高而不断上调,说明这 3 个基因的表达在干旱胁迫下受到 ABA 浓度的正调控;而 30 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA 处理的 *PgATG8h-1* 基因的表达量较高。

在 NaCl 胁迫下,石榴根和叶中分别有 11 和 8 个基因响应 NaCl 胁迫(图 4-B, C)。石榴根中响应 NaCl 胁迫的 11 个基因中,除了 *PgATG1b-2* 和 *PgATG6b* 基因下调外, *PgATG5b*、*PgATG18c-1*、*PgTORa*、*PgTORb*、*PgVPS34*、*PgATG5c*、*PgATG11a*、*PgATG2* 和 *PgATG5a* 9 个基因均上调,其中, *PgATG5c*、*PgATG11a*、*PgATG2* 和 *PgATG5a* 基因均随胁迫时间延长而不断上调, *PgTORa*、*PgTORb* 和

PgVPS34 基因则在胁迫第 3 天时出现更为明显的上调情况。石榴叶中响应 NaCl 胁迫的 8 个基因中,随着胁迫时间的延长, *PgATG13b*、*PgATG8c-1*、*PgATG12*、*PgATG8c-4* 和 *PgTORb* 基因不断上调, *PgATG6b* 基因则下调,而 *PgATG11b* 基因先下调后上调; *PgATG1b-2* 基因则在胁迫第 3 天出现较为明显的上调。同时, *PgATG6b*、*PgTORb* 和 *PgATG1b-2* 基因在根和叶中均差异表达,且 *PgTORb* 基因在根和叶中均上调,而 *PgATG6b* 基因则均下调,由此推测 *PgATG6b* 和 *PgTORb* 基因同时参与石榴根和叶对 NaCl 胁迫的响应。



FPKM: 表达丰度 Expression abundance.

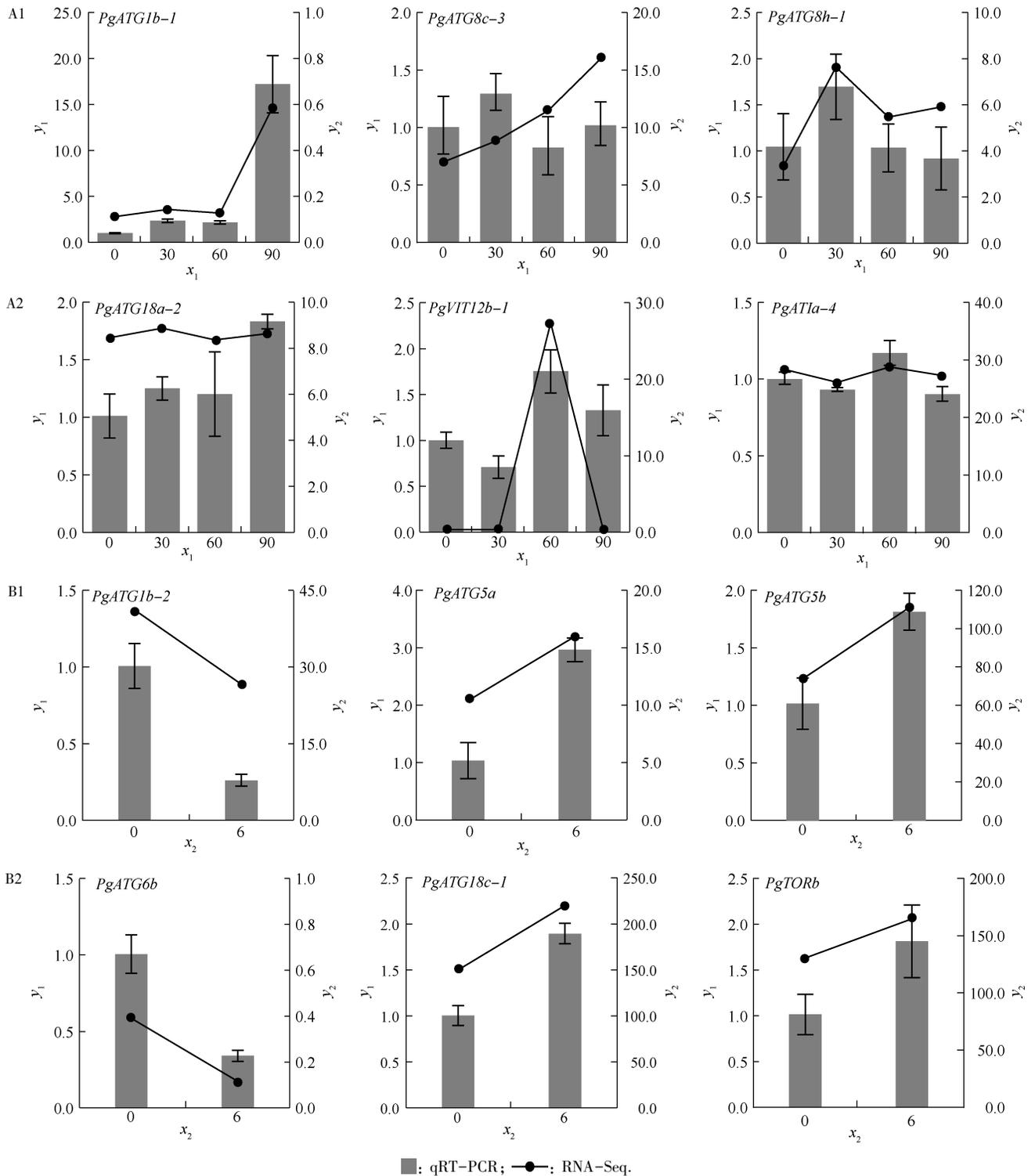
A: 干旱胁迫下不同浓度 ABA 处理 ABA treatments at different concentrations under drought stress; B: NaCl 胁迫处理(根) NaCl stress treatment (root); C: NaCl 胁迫处理(叶) NaCl stress treatment (leaf).

图 4 不同非生物胁迫下石榴 *ATG* 基因家族中差异表达基因的表达情况

Fig.4 The expression of differentially expressed genes in *ATG* gene family of *Punica granatum* Linn. under different abiotic stresses

利用 qRT-PCR 并结合转录组数据,在 ABA 缓解干旱胁迫和 NaCl 胁迫下各随机选取 6 个石榴 *ATG* 基因进行表达模式分析。结果(图 5)显示:干旱胁迫下,不同浓度 ABA 处理的 6 个石榴 *ATG* 基因中 *PgATG1b-1*、*PgATG8h-1*、*PgATG18a-2*、*PgVTH12b-1* 和 *PgAT1a-4* 基因的表达模式与其转录情况基本一致,而 *PgATG8c-3* 基因的表达模式则与其转录情况

不同,推测可能是本研究中的干旱胁迫时间(31 d)比获得转录组数据的时间(90 d)短造成的,可能 *PgATG8c-3* 基因需要较长的时间才能参与改善石榴响应 ABA 缓解干旱胁迫的进程。NaCl 胁迫处理下, *PgATG1b-2*、*PgATG5a*、*PgATG5b*、*PgATG6b*、*PgATG18c-1* 和 *PgTORb* 基因的表达模式则与其转录情况相似。



x_1 : ABA 浓度 ABA concentration ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); x_2 : 胁迫时间 Stress time (d); y_1 : 相对表达量 Relative express level; y_2 : \log_2 FPKM. FPKM: 表达丰度 Expression abundance.

A1, A2: 干旱胁迫下不同浓度 ABA 处理 ABA treatments at different concentrations under drought stress; B1, B2: NaCl 胁迫处理 (根) NaCl stress treatment (root).

图 5 不同非生物胁迫下石榴 ATG 基因家族中部分基因的实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 验证
 Fig. 5 Real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) validation of some genes in ATG gene family of *Punica granatum* Linn. under different abiotic stresses

3 讨 论

细胞自噬是生物进化和生长发育过程中一个不可缺少的重要机制,在稳定细胞内环境、提高细胞物料利用率、延缓细胞衰老以及增强植物抗逆性方面具有正向作用。ATG 基因在多种植物中都存在,如拟南芥中有 32 个 ATG 基因^[24],水稻中有 33 个 ATG 基因^[25],辣椒(*Capsicum annuum* Linn.)^[26]和葡萄^[15]中分别有 29 和 35 个 ATG 基因。本研究基于石榴品种‘突尼斯’全基因组数据,首次从石榴中鉴定出 58 个 ATG 基因家族成员,相对于其他植物较多,说明石榴 ATG 基因可能在进化过程中发生了基因复制。同时,ATG 基因家族成员编码氨基酸序列的氨基酸残基数介于 94~3 708 之间,理论相对分子质量在 10 550~413 118 之间,58 个 ATG 基因家族成员中有 52 个成员的不稳定系数均大于 40,因此,该基因家族整体较不稳定,这些与胡杨等^[27]对蚕豆(*Vicia faba* Linn.) ATG 基因鉴定中的蛋白质理化性质研究结果类似。58 个石榴 ATG 基因家族成员不均匀地分布在 8 条染色体上,这与拟南芥^[28]的研究结果类似,说明即使是同一家族的成员,在染色体上的定位也是不同的。系统进化树分析结果显示:58 个石榴 ATG 家族成员分为 A、B、C、D、E 和 F 6 个亚族,并且与拟南芥 ATG 家族成员的进化关系相似,表明石榴 ATG 家族成员与拟南芥亲缘关系较近,这与葡萄中发现的 ATG 基因与双子叶植物拟南芥的亲缘关系更近相同^[29]。同时,通过共线性分析发现,58 个石榴 ATG 基因家族成员中存在 3 对共线关系,石榴与拟南芥和葡萄 ATG 基因家族成员间分别存在 45 和 41 对共线关系,说明这些基因在进化上高度同源,且在进化过程中十分保守。

已有研究结果显示:蚕豆^[27]、拟南芥^[28]、番茄^[30]、苹果(*Malus pumila* Mill.)^[31]和水稻^[32]中响应干旱胁迫的 ATG8 和 ATG18 基因家族成员较多。例如:蚕豆中 *VfATG8a* 基因能够响应干旱胁迫^[27];拟南芥中 *ATG8f/At4g16520* 和 *ATG8i/At3g15580* 基因对低温、高温和干旱等外界环境极为敏感,且参与了整个植株对多种非生物胁迫的响应^[28]。本研究通过转录组数据分析了 58 个石榴 ATG 基因家族成员在 ABA 对干旱胁迫的缓解作用下的表达,初步鉴定出 *PgVTI12b-1*、*PgATG1b-1*、*PgATG8h-1*、*PgATG8c-2* 和

PgATG8c-3 基因可能是石榴响应 ABA 缓解干旱胁迫的基因,且不同基因的响应模式不同。 $60 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABA 能明显提高石榴耐旱性,且 *PgVTI12b-1* 基因是该浓度 ABA 缓解石榴干旱胁迫的响应基因。同时,*PgATG1b-1*、*PgATG8c-2* 和 *PgATG8c-3* 基因的表达量随 ABA 浓度的提高不断上调,说明这 3 个基因可能响应高浓度 ABA 对干旱胁迫的缓解。石榴在栽培过程中也受到高盐的影响。沈徐悦等^[33]对 3 种木兰科(Magnoliaceae)植物的研究发现,中低浓度 NaCl 胁迫下,3 种植物可通过自身调节减轻 NaCl 胁迫带来的伤害;而高浓度 NaCl 胁迫下叶片细胞膜受到不可逆损伤。由此推测,ATG 基因也有可能参与调节盐胁迫的分子机制,但具体情况有待进一步验证。本研究通过探索发现,石榴根中有 11 个 ATG 基因(包括 *PgATG1b-2*、*PgATG2*、*PgATG5a*、*PgATG5b*、*PgATG5c*、*PgATG6b*、*PgATG11a*、*PgATG18c-1*、*PgTORa*、*PgTORb* 和 *PgVPS34*)响应 NaCl 胁迫,叶中有 8 个 ATG 基因(包括 *PgATG1b-2*、*PgATG6b*、*PgATG8c-1*、*PgATG8c-4*、*PgATG11b*、*PgATG12*、*PgATG13b* 和 *PgTORb*)响应 NaCl 胁迫。苏万龙^[34]研究发现, $200 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 诱导杨树(*Populus* spp.)中 *PagATG18a* 基因的表达量升高,过表达 *PagATG18a* 基因的植株通过提高植物体内的抗氧化酶活性增强了转基因植物对 NaCl 胁迫的耐受性。孙鸿等^[8]研究发现,高盐($200 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl)、干旱、低温黑暗和缺氮培养等逆境处理均能够上调小麦中 *TaATG18s* 基因的表达。说明 ATG8 和 ATG18 基因在多种植物中响应 NaCl 胁迫,这也为进一步研究石榴耐盐 ATG 基因提供了候选基因及思路。黄成等^[35]研究发现,甘蓝型油菜(*Brassica napus* Linn.)*BnAPs* 家族成员中同源基因 *BnAP36.A04/C08* 和 *BnAP39.A06/C03* 均在花发育时期高表达,且具有相同的表达模式和 qRT-PCR 验证结果,推测二者在甘蓝型油菜中可能有相似的功能。通过共线性分析发现,58 个石榴 ATG 基因家族成员中存在 3 个共线基因对,同源性较高,分别为 *PgAT1a-4/PgAT1a-1*、*PgATG8c-2/PgATG8c-5* 和 *PgATG18a-1/PgATG18a-2*,但这 3 个共线基因对均未显示出石榴对 ABA 缓解干旱胁迫和 NaCl 胁迫的响应。

同时,本研究中 qRT-PCR 结果与转录情况相似,进一步证实了结果的准确性。但本研究未发现任何石榴 ATG 基因家族成员同时响应 ABA 缓解干旱胁迫和 NaCl 胁迫,推测在石榴中 ATG 基因家族不同的

成员参与不同非生物胁迫的响应,与拟南芥中 *ATG8f/At4g16520* 和 *ATG8i/At3g15580* 基因参与低温、高温、干旱等多种环境胁迫不同^[28]。结合系统进化树发现,响应 ABA 缓解干旱胁迫以及 NaCl 胁迫的 *PgATG8* 和 *PgATG5* 相关成员基因位于 A 亚族,由此可以推测 A 亚族在石榴应对非生物胁迫方面起着重要的调控作用,也可推测进化树对基因功能分类有一定参考作用^[36]。

4 结 论

基于石榴品种‘突尼斯’全基因组数据,初步鉴定了 58 个石榴 *ATG* 基因,明确了其蛋白质理化性质、系统进化关系、基因结构和基因表达等,且筛选出的 *PgVTI12b-1*、*PgATG1b-1*、*PgATG8h-1*、*PgATG8c-2* 和 *PgATG8c-3* 基因可能是石榴对 ABA 缓解干旱胁迫的响应基因。NaCl 胁迫下,石榴中 11 个 *ATG* 基因在根中响应,8 个 *ATG* 基因在叶中响应,且 *PgATG6b*、*PgTORb* 和 *PgATG1b-2* 基因同时在根和叶中响应 NaCl 胁迫,为后续开展 *ATG* 基因调控石榴干旱和盐胁迫机制研究与功能验证奠定了基础,并提供了靶标基因。

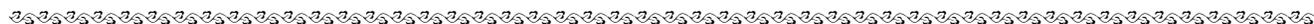
致谢: 本研究得到南京农业大学生物信息学中心高性能计算平台的支持,在此表示感谢!

参考文献:

- [1] 葛大朋,任媛,赵俊,等. 西藏石榴野生群体的 SSR 遗传多样性分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2022, 46(3): 127-133.
- [2] 刘安成,李慧,王亮生,等. 石榴类黄酮代谢产物的研究进展[J]. 植物学报, 2011, 46(2): 129-137.
- [3] 王紫彤,周倩怡,田洁. 干旱胁迫下大蒜叶绿素合成基因家族鉴定分析[J]. 植物资源与环境学报, 2022, 31(3): 54-64, 74.
- [4] 卓热木·塔西,木合塔尔·扎热,卢明艳,等. 自然干旱条件下 2 个石榴品种生长和光合等生理特性的变化[J]. 干旱地区农业研究, 2018, 36(6): 77-85.
- [5] TSUKADA M, OHSUMI Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. FEBS Letters, 1993, 333(1/2): 169-174.
- [6] 李乐兴,戴汉川. 细胞自噬调控的分子机制研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2015, 37(2): 263-270.
- [7] 陈淑雯,郝茜珣,贾彩霞,等. 核桃 *WD40* 转录因子 *JrATG18a* 基因的克隆及逆境响应[J]. 植物遗传资源学报, 2018, 19(5): 979-986.
- [8] 孙鸿,张微,卫晓静,等. 小麦重要自噬相关基因 *ATG18* 的鉴定和表达分析[J]. 中国农业科学, 2014, 47(9): 1657-1669.
- [9] 王健. 番茄自噬在高温抗性中的功能、作用机制和调控[D]. 杭州: 浙江大学农业与生物技术学院, 2013: 19-22.
- [10] 陈海元,朱晓妹,张所兵,等. 一个水稻斑马叶突变体的遗传分析和基因定位[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(1): 1-7.
- [11] QIAN J, ZHANG X, YAN Y, et al. Unravelling the molecular mechanisms of abscisic acid-mediated drought-stress alleviation in pomegranate (*Punica granatum* L.) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2020, 157: 211-218.
- [12] QIN G, XU C, MING R, et al. The pomegranate (*Punica granatum* L.) genome and the genomics of punicalagin biosynthesis [J]. The Plant Journal, 2017, 91(6): 1108-1128.
- [13] YUAN Z, FANG Y, ZHANG T, et al. The pomegranate (*Punica granatum* L.) genome provides insights into fruit quality and ovule developmental biology[J]. Plant Biotechnology Journal, 2018, 16(7): 1363-1374.
- [14] LUO X, LI H, WU Z, et al. The pomegranate (*Punica granatum* L.) draft genome dissects genetic divergence between soft-and hard-seeded cultivars[J]. Plant Biotechnology Journal, 2020, 18(4): 955-968.
- [15] SHANGGUAN L, FANG X, CHEN L, et al. Genome-wide analysis of autophagy-related genes (*ARGs*) in grapevine and plant tolerance to copper stress[J]. Planta, 2018, 247(6): 1449-1463.
- [16] LIU C, ZHAO Y, ZHAO X, et al. Transcriptomic profiling of pomegranate provides insights into salt tolerance[J]. Agronomy, 2020, 10(1): 44.
- [17] CHEN C, CHEN H, HE Y, et al. TBtools, a Toolkit for Biologists integrating various biological data handling tools with a user-friendly interface[J]. BioRxiv, 2018: 289660.
- [18] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [19] LETUNIC I, BORK P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation[J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49: W293-W296.
- [20] WANG Y, TANG H, DEBARRY J D, et al. MCSanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(7): e49.
- [21] 闫冬梅,薛美昭,仪慧兰,等. 成熟葡萄果实高质量总 RNA 提取方法的建立[J]. 山西农业科学, 2022, 50(1): 9-14.
- [22] 关晓弯,陈磊,涂佳丽,等. 石榴果肉 *PgF3'5'H* 基因克隆及不同温度处理下的表达分析[J]. 西北植物学报, 2016, 36(3): 435-443.
- [23] WANG C, HAN J, SHANGGUAN L, et al. Depiction of grapevine phenology by gene expression information and a test of its workability in guiding fertilization [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2014, 32(5): 1070-1084.
- [24] XIA T, XIAO D, LIU D, et al. Heterologous expression of *ATG8c*

- from soybean confers tolerance to nitrogen deficiency and increases yield in *Arabidopsis* [J]. PLOS ONE, 2012, 7(5): e37217.
- [25] XIA K, LIU T, OUYANG J, et al. Genome-wide identification, classification, and expression analysis of autophagy-associated gene homologues in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. DNA Research, 2011, 18(5): 363-377.
- [26] ZHAI Y, GUO M, WANG H, et al. Autophagy, a conserved mechanism for protein degradation, responds to heat, and other abiotic stresses in *Capsicum annuum* L. [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 131.
- [27] 胡 杨, 刘昌燕, 廖芳丽, 等. 蚕豆自噬基因鉴定及响应干旱胁迫分析[J]. 西南农业学报, 2021, 34(4): 689-696.
- [28] 张鸿哲, 朱 璐, 左泽远, 等. 拟南芥 ATGs 在发育和非生物胁迫中的表达特征和功能分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(6): 2671-2682.
- [29] 王 茜. 葡萄 ATG 基因家族的表达分析和 VvATG7 互作蛋白的筛选 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学园艺学院, 2017: 12-29.
- [30] WANG Y, CAI S, YIN L, et al. Tomato HsfA1a plays a critical role in plant drought tolerance by activating ATG genes and inducing autophagy [J]. Autophagy, 2015, 11(11): 2033-2047.
- [31] SUN X, WANG P, JIA X, et al. Improvement of drought tolerance by overexpressing *MdATG18a* is mediated by modified antioxidant system and activated autophagy in transgenic apple [J]. Plant Biotechnology Journal, 2018, 16(2): 545-557.
- [32] BU F, YANG M, GUO X, et al. Multiple functions of ATG8 family proteins in plant autophagy [J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2020, 8: 466.
- [33] 沈徐悦, 金荷仙, 陈蓉蓉, 等. NaCl 胁迫对 3 种木兰科植物幼苗叶片部分生理指标的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2020, 29(4): 75-77.
- [34] 苏万龙. 自噬相关基因和水通道蛋白基因在杨树应对高盐及干旱胁迫中的功能分析[D]. 北京: 北京林业大学生物科学与技术学院, 2021: 35-48.
- [35] 黄 成, 梁晓梅, 戴 成, 等. 甘蓝型油菜 *BnAPs* 基因家族成员全基因组鉴定及分析 [J]. 作物学报, 2022, 48(3): 597-607.
- [36] 马亚男, 卢 旭, 魏云春, 等. 葡萄 AKR 基因家族的鉴定和组织特异性表达分析 [J]. 生物技术通报, 2021, 37(8): 141-151.

(责任编辑: 张明霞)



欢迎订阅 2023 年《生态与农村环境学报》

《生态与农村环境学报》系生态环境部主管、生态环境部南京环境科学研究所主办的全国性学术期刊,是《中文核心期刊要目总览》入编期刊、中国科学引文数据库(CSCD)核心期刊、中国学术期刊评价研究报告(RCCSE)核心期刊、中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),被中国科技论文与引文数据库(CSTPCD)、中文社会科学引文索引(CSSCI)、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)、中国期刊全文数据库(CJFD)、中国核心期刊(遴选)数据库、CA、CABI、BA、BP、BD、UPD、GeoBase、ZR、EM、Scopus、AGRIS、JST、BIOSIS、GH、RB、EBSCO 等国内外重要刊库网收录。曾荣获全国优秀环境科技期刊、江苏省优秀期刊,荣获第二届江苏“十强科技期刊”、第三届江苏省新闻出版政府奖期刊奖提名奖及第七届华东地区优秀期刊奖,为中国期刊协会赠建全国百家期刊阅览室指定赠送期刊。

办刊宗旨:及时报道生态与农村环境保护领域创新性研究成果等。主要栏目:研究报告、研究简报、研究方法、专论与综述、学术讨论与建议等。主要内容:1)区域环境与发展,包括生态环境变化与全球环境影响、区域生态环境风险评价、环境规划与管理、区域生态经济与生态安全等;2)自然保护与生态,包括自然资源保护与利用、生物多样性与外来物种入侵、

转基因生物环境安全与监控、生态保护、生态工程与生态修复、有机农业与农业生态、气候变化与生态响应等;3)污染控制与修复,包括污染控制原理与技术、土壤污染与修复、水环境污染与修复、大气污染防治、农业废物综合利用与资源化、农用化学品风险评价与监控、化学品环境与健康等。主要读者对象:从事生态学、环境科学、农学、林学、地学、资源科学等研究、教学、生产的科技人员,相关专业的高等院校师生以及各级决策与管理人人员。

本刊为月刊,每月 25 日出版,A4 开本,每期 136 页,每期定价 30.00 元,全年定价 360.00 元,公开发行,国内邮发代号 28-114,全国各地邮局均可订阅;国外由中国国际图书贸易总公司(北京 399 信箱)负责发行,国外发行代号 Q5688。如漏订,可向本刊编辑部补订。编辑部地址:江苏省南京市蒋王庙街 8 号(邮编 210042);电话:025-85287052,025-85287092,025-85287053,025-85287036,025-85287601,025-85287630;网址:http://www.ere.ac.cn;E-mail:ere@vip.163.com,bjb@mies.org。

本刊已开通微信公众号,请扫码关注。

