

苦荞 *FtHSFA6b* 转录因子协同调控耐盐功能

左倩¹, 伍小方¹, 杨克理², 肖璐¹, 周美亮²

(¹ 湖南科技大学生命科学院, 湘潭 411201; ² 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 本研究从川荞1号中克隆到 *FtHSFA6b*。基因结构分析表明: *FtHSFA6b* 基因由2个外显子和1个内含子组成, 其CDS全长1047 bp, 编码349个氨基酸。进化关系分析表明: *FtHSFA6b* 蛋白与藜麦和棉花亲缘关系较近。启动子顺式作用元件分析表明: 该基因启动子顺式作用元件分为5类。生物多样性分析发现: *FtHSFA6b* 基因存在多样性。qRT-PCR分析表明: *FtHSFA6b* 基因在根、茎、叶中均有表达, 在茎中表达量最高。茉莉酸 (MeJA, methyl jasmonate) 和 NaCl 处理结果显示, *FtHSFA6b* 基因的表达量活性明显受 MeJA 和 NaCl 诱导。毛状根中总黄酮含量分析表明: *FtHSFA6b* 的过表达可增加毛状根对盐处理的耐受性, 其总黄酮含量也明显增加; 为了进一步研究 *FtHSFA6b* 影响毛状根类黄酮合成中的具体途径, 选择其中关键酶基因 *C4H*、*4CL*、*FLS*、*F3'H*、*RT1* 进行 qRT-PCR 分析, 结果显示, 过表达 *FtHSFA6b* 通过影响类黄酮中的芦丁合成途径, 来提高对盐的耐受性。转基因拟南芥中, *FtHSFA6b* 的过表达通过降低丙二醛 (MDA, malondialdehyde) 含量、增加过氧化氢酶 (CAT, Catalase) 和过氧化物酶 (POD, peroxidase) 的活性, 来提高拟南芥萌发过程中对盐处理的耐受性。

关键词: 荞麦; *FtHSFA6b*; 毛状根; 拟南芥; 抗盐分析

The Transcription Factor *FtHSFA6b* of Tartary Buckwheat Synergistic Regulation of Salt Tolerance

ZUO Qian¹, WU Xiao-fang¹, YANG Ke-li², XIAO Lu¹, ZHOU Mei-liang²

(¹ College of Life Sciences, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201;

² Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: In order to study the function of HSF transcription factor in Tartary buckwheat, a HSF family gene was cloned from Chuanqiao No.1 in this study. The open reading frame is 1047 bp in length encoding for 349 amino acids. The analysis of gene structure showed that *FtHSFA6b* gene is composed of two exons and one intron. The sequence alignment and phylogenetic analysis showed that *FtHSFA6b* protein was closely related to CQA-2C in *Chenopodium quinoa* and GHA-7A in *Gossypium hirsutum*. Cis-acting elements in the promoter of *FtHSFA6b* were predicted and divided into five categories. Biodiversity analysis revealed that there was diversity of *FtHSFA6b* gene. Furthermore, tissue-specific expression analysis showed that *FtHSFA6b* gene was expressed in roots and leaves, with the lowest expression in roots and the highest expression in stems. qRT-PCR showed that the expression of *FtHSFA6b* was induced under MeJA or NaCl treatments. The analysis of total flavonoids content in transgenic hairy roots showed that the overexpression of *FtHSFA6b* could increase the tolerance of hairy roots to salt treatment, and the total flavonoids content also increased significantly. In transgenic *Arabidopsis thaliana*, over-expressing *FtHSFA6b* can improve the salt tolerance at the germination stage, possibly by decreasing malondialdehyde content and increasing the activities of catalase and peroxidase.

Key words: buckwheat; *FtHSFA6b*; hairy root; *Arabidopsis thaliana* L.; salt resistance analysis

收稿日期: 2021-03-16 修回日期: 2021-04-13 网络出版日期: 2021-05-09

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20210316004>

第一作者研究方向为荞麦抗逆胁迫研究, E-mail: 2409620939@qq.com

通信作者: 周美亮, 研究方向为荞麦种质资源与品质抗逆机制解析, E-mail: zhumeiliang@caas.cn

基金项目: 国家重点研发计划 (2019YFD1001300, 2019YFD1001303)

Foundation project: The National Key Research and Development Program of China (2019YFD1001300, 2019YFD1001303)

目前在全世界广泛分布的荞麦有甜荞和苦荞。其中,苦荞即苦荞麦,属于双子叶蓼科一年生草本植物^[1]。苦荞不仅营养丰富,而且富含具有药用和保健价值的类黄酮物质。正因为苦荞的营养价值,所以提高苦荞的种植面积,可以更好地发挥苦荞的营养价值,大大降低现在人类存在的三高问题,对苦荞热激转录因子(HSF, heat shock factors)基因的研究可以验证基因的抗盐性,让苦荞能够更好地生长在盐碱地。

HSF 普遍存在于整个生物界中,在调控植物生长发育以及对环境的响应中起着重要的作用^[2-3]。荞麦中的 HSF 就命名为 *FtHSF*,本研究中的是 HSF 中的 A 类的一种,通过序列比对分析最终命名为 *FtHSEA6b*。从以往 HSF 的研究统计发现,研究者主要研究的是 HSF 能在高温胁迫下抵御高温,很少研究 HSF 对盐胁迫的耐受性。盐胁迫主要是通过破坏离子和渗透稳态,进而对植物生理和生长过程产生不利影响,而植物为了减缓这些不利条件又通过调节胁迫相关基因的表达来适应盐胁迫的影响^[4]。自 20 世纪 80 年代研究者首次在酵母中克隆 HSF 基因以来^[5],多种哺乳动物 HSF 基因相继被克隆。植物的第 1 个 HSF 基因在番茄中克隆得到,随着基因组测序工作的不断进行,研究者在大豆、玉米植物中发现分别至少具有 52、30 个 HSFs 基因,由此可知,植物 HSFs 基因是一个大的基因家族。随着水稻和玉米基因组测序的相继完成,热激转录因子大规模的克隆研究进展也比较迅速^[6]。但是荞麦目前还研究甚少,因此随着拟南芥等模式植物 HSF 基因的不断深入研究,有必要充分利用这些信息进行荞麦等重要作物中 HSF 家族基因的同源克隆和研究。

关于荞麦抗盐性分子机制的研究十分有限,所以如何利用分子生物学技术来提高荞麦的抗盐能力是一项重要任务。本研究通过对荞麦 *FtHSEA6b* 转录因子进行克隆,并进行基因抗盐功能初步分析,为后续深入研究荞麦的耐盐性和全面的了解 HSF 在荞麦中的作用做铺垫,也为后续更进一步研究 HSF 在其他作物中是否也有耐盐性提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料大肠杆菌(DH5 α)、农杆菌(A4 和 GV3101)、野生型 A4、空载 1307、植物材料(川荞

1 号和拟南芥野生型种子)均由中国农业科学院作物科学研究所荞麦基因资源创新研究组提供;3 个过表达 *FtHSEA6b*-1307 毛状根阳性根系命名为 HSF1、HSF2、HSF3,HSF 代表 HSF1、HSF2 和 HSF3 3 个根系的平均值;3 个 *FtHSEA6b*-1307 过表达拟南芥阳性株系命名为 HSF-OE1、HSF-OE2、HSF-OE3,HSF-OE 代表 HSF-OE1、HSF-OE2、HSF-OE3 3 个株系的平均值。

1.2 苦荞总 RNA 的提取与 *FtHSEA6b* 基因克隆

使用诺唯赞 RNA 提取和反转录试剂盒,提取川荞 1 号总 RNA 后反转录得到 cDNA。以该 cDNA 为模板,进行 *FtHSEA6b* 基因的 PCR 扩增,PCR 扩增程序为 95 °C 3 min;60 °C 30 s;72 °C 60 s;34 cycles。接着将 PCR 纯化产物连接到 T 载体上,获得中间载体。转化大肠杆菌涂板获得单克隆菌落,将菌液 PCR 鉴定正确的样品送由北京博迈德生物技术有限公司测序、分析和拼接后得到正确的中间载体 *FtHSEA6b*-T。用于 *FtHSEA6b* 基因克隆的引物序列见表 1。

1.3 苦荞 *FtHSEA6b* 基因的生物信息学分析

利用 GSDS (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) 在线网站对 *FtHSEA6b* 的基因结构进行预测和分析;通过 Plant CARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 在线网站对基因上游 2000 bp 序列进行分析;通过 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中 BLASTP 搜索与该基因同源性较高的序列,并利用 MegaX 软件构建进化树,采用的方法为邻接法,设置重复次数(bootstrap)为 1000 次。

1.4 苦荞 40 份材料的生物多样性分析

通过分析课题组重测序的数据库,我们选择 40 份 2019 年凉山收取的材料对苦荞 *FtHSEA6b* 基因(苦荞数据登录号: FtPinG0001727900.01)进行简单单核苷酸多态性(SNP, single nucleotide polymorphism)分析。

1.5 苦荞毛状根诱导与抗盐分析

1.5.1 植物表达载体构建 以 *FtHSEA6b*-T 载体为模板,*FtHSEA6b*-1307F/R 为引物扩增 *FtHSEA6b* 基因的全长序列,以 BamHI 和 KpnI 酶切扩增产物与 1307 载体,将 *FtHSEA6b* 基因全长序列正向插入 1307 载体的酶切位点中,连接转化后,挑取单克隆送由北京博迈德生物技术有限公司测序得到过表达载体 *FtHSEA6b*-1307。

表 1 引物序列汇总

Table 1 Primer sequences

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'-3')	用途 Function
<i>FtHSEA6b</i> -1307F	CTAGAACTAGTGATCCATGGATCCGTGGTATC	基因克隆
<i>FtHSEA6b</i> -1307R	GCGGAGTACCCGGGTACCTTATAATGATCTATGACTTC	Gene clone
<i>FtHSEA6b</i> -QF	GAAATTTCGAAGTACCAGAAGAG	实时荧光定量 PCR
<i>FtHSEA6b</i> -QR	CCAACAAGGTATGCCTCAGC	qRT-PCR
4CL-QF	GCAACCATAGACGCTCAGG	
4CL-QR	TGCATCGGCTATGGATGGAT	
FLS-QF	ACTAGGAATGTGATCGCACCA	
FLS-QR	TCAGAGGGATTAGTTTACGG	
RT1-QF	TCAAATAAGCTCGCCTCCCA	
RT1-QR	GCTGCATTTTGTCAAAGAGCG	
<i>FtH3</i> -QF	GCTGGATTTGCTGGAGATGATGC	
<i>FtH3</i> -QR	CTTCTCCATGTCATCCAGTTGCT	
C4H-QF	GTCCTGGTATCATCCTCGCA	
C4H-QR	GCGGTGGGCTTCATAACAAT	
F3H-QF	ATCTTGAGGAGCCAATTACGT	
F3H-QR	ACACAAGGAGTCTAAGCGATGA	
<i>Hygromycin</i> -F	GACGTCTGTCGAGAAGTTTCTG	转基因毛状根阳性检测
<i>Hygromycin</i> -R	GGCGTCGGTTCCACTAT	Positive detection of transgenic hairy roots

1.5.2 苦荞毛状根转化 为探究苦荞 *FtHSEA6* 转录因子如何调控耐盐功能,本研究选择转化效率高,稳定性强且生长速度快的毛状根系统验证其功能。采用谈天斌等^[7]描述的方法进行野生型 A4、空载体 1307 和过表达载体 *FtHSEA6b*-1307 毛状根的诱导。

1.5.3 *FtHSEA6b* 的 qRT-PCR 分析 为了研究 *FtHSEA6b* 的组织表达模式,选择生长一致的 10 d 苗龄川荞 1 号无菌苗,分别取川荞 1 号的根、茎、叶组织。为了进一步研究 MeJA 是否诱导 *FtHSEA6b* 的表达,取生长一致的 10 d 苗龄川荞 1 号无菌苗,置于含有 MS 液体培养基的三角瓶中,在转速 120 r/min 的摇床上预震荡培养 1 d,紧接着在实验组三角瓶中分别加入 50 $\mu\text{mol/L}$ 的茉莉酸甲酯 (MeJA),在激素处理后 0、3、6、9 和 12 h 取样,而对照组则添加二甲基亚砷 (DMSO)。接着研究 NaCl 对 *FtHSEA6b*-1307 过表达毛状根中基因 *FtHSEA6b* 表达量的影响,取生长一致的过表达毛状根,在 MS (含 100 mg/mL 头孢霉素) 液体培养基中分别都加入 50 mmol/L NaCl,将三角瓶置于转速 120 r/min 的摇床上震荡培养,取样时间分别为盐处理后 0、3、6、12 h。再选择生长一致过表达毛状根 3 个根系 HSF1、HSF2 和 HSF3,将其转移至含

有不同浓度 NaCl (0、50、100、150 mmol/L) 的 MS 固体培养基上,22 $^{\circ}\text{C}$ 光下培养 10 d,每个浓度处理分别各自取样,HSF 对应 3 个根系的平均值。最后为了研究盐处理对关键酶基因表达量的影响^[8],对苦荞 5 种关键酶基因肉桂酸 4-羟化酶 (C4H, Cinnamate 4-hydroxylase)、4-香豆酸 CoA 连接酶 (4CL, 4-coumarate: CoA ligase)、黄酮醇合酶 (FLS, flavonol synthetase)、类黄酮 3'-羟化酶 (F3'H, flavonoid 3'-hydroxylase)、鼠李糖基转移酶 (RT1, rhamnosyltransferase) 进行表达量分析,取生长一致 10 d 苗龄的川荞 1 号无菌苗。将上述样品迅速液氮速冻,用于后续 RNA 的提取。

提取上述各样品的 RNA,反转录成 cDNA,选择苦荞 *FtH3* 基因为内参基因,用于 qRT-PCR 的引物序列见表 1。用 7500 Real Time PCR System 进行实时荧光扩增,反应程序:预变性为 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s;循环反应为 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环;溶解曲线分析为 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s。每个样品设置 3 个技术重复,使用 $\text{RQ}=2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 公式计算基因的相对表达量。

1.5.4 转基因毛状根总黄酮含量测定 为了进一步研究 NaCl 对过表达 *FtHSEA6b*-1307 毛状根总黄酮含量的影响,取生长状态一致的已转化野生型 A4、

空载体 1307 和过表达载体 *FtHSEA6b*-1307 诱导的毛状根在 MS (含有 100 mg/mL 头孢霉素) 液体培养基的三角瓶中。将三角瓶置于转速 120 r/min 的摇床上震荡培养 14 d, 之后取出毛状根烘干磨粉称其干重, 于室温保存, 用于总黄酮含量的测定, 3 个统计学的重复。

毛状根总黄酮含量的测定采用三氯化铝法^[9], 毛状根中总黄酮的含量用分光光度计在波长为 420 nm 处进行测定。先绘制芦丁标准曲线: $Y_1=31.857X_1-0.0058$ ($R^2=0.9974$), 以吸光度值 A 为横坐标, 芦丁浓度 (mg/mL) 为纵坐标, 再用分光光度计测定毛状根样品在 420 nm 处的吸光度值, 最后用芦丁标准曲线方程计算总黄酮含量。

1.6 拟南芥转化体系的构建与抗盐性功能验证

1.6.1 转基因拟南芥阳性苗的获得与抗盐性鉴定

将含有 *FtHSEA6b*-1307 的 GV3101 农杆菌通过蘸花法转化拟南芥, 转化后 30 d 左右收获 T₀ 代种子, 拟南芥 T₀ 代种子长到 3 叶期, 提取 DNA, PCR 鉴定以得到拟南芥阳性苗 (*FtHSEA6b*-1307 载体转入成功的拟南芥), 单株收获阳性苗种子, 获得拟南芥 T₁ 代种子。

为了进行转基因拟南芥的耐盐性研究, 取 3 个 *FtHSEA6b*-1307 转基因拟南芥株系 HSF-OE1、HSF-OE2、HSF-OE3 的 T₁ 代株系种子和转空载 1307 拟南芥种子, 经过消毒、春化后分区将其均匀点到 1/2 MS 培养基上培养 7 d 后和转空载 1307 拟南芥移栽到营养土中生长 7 d, 再用 50 mmol/L NaCl 处理 3 d 后观察拟南芥植株的萎蔫情况, 在 0 (CK)、50、100、150 mmol/L NaCl 盐胁迫条件下测定空载 1307 拟南芥和过表达 *FtHSEA6b*-1307 拟南芥鲜重。为了研究盐胁迫对拟南芥总根长 (胚芽与胚根长总和) 的影响, 将 5 d 转空载 1307 和 *FtHSEA6b*-1307 转基因拟南芥幼苗转移到含 0 (CK)、50、100 和 150 mmol/L NaCl 的 1/2 MS 琼脂培养基上, 垂直培

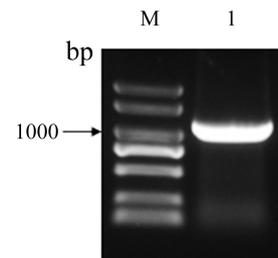
养 7 d 后测量根的生长并拍照。为了研究 NaCl 处理对 *FtHSEA6b*-1307 转基因拟南芥生理生化方面的影响, 向其拟南芥叶片表面分别喷洒 0 (CK)、50、100 和 150 mmol/L 的 NaCl 溶液进行盐胁迫处理 7 d, 对不同处理的拟南芥幼苗进行取样, 取材用于丙二醛 (MDA, malondialdehyde)、过氧化氢酶 (CAT, catalase) 和过氧化物酶 (POD, peroxidase) 含量的测定。每份处理做 3 个统计学的重复。

2 结果与分析

2.1 *FtHSEA6b* 的克隆与生物信息学分析

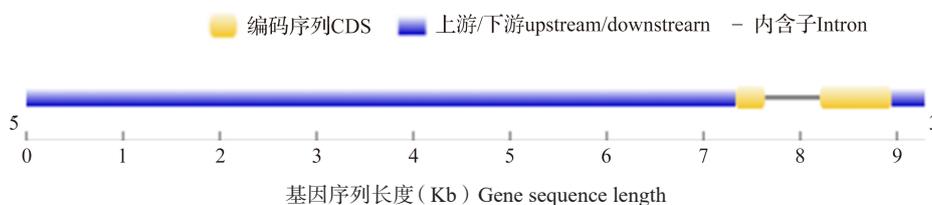
川荞 1 号总 RNA 提取, RNA 反转录成 cDNA, 以反转录后的 cDNA 作为模板, 进行目的片段基因扩增, PCR 扩增结果见图 1, 扩增出的目的片段与基因预期 CDS 长度 1047 bp 相一致, 因此目的基因克隆成功。

GSDS 基因结构分析结果表明 (图 2), *FtHSEA6b* 基因由 2 个外显子和 1 个内含子组成。使用 Plant CARE 软件对基因上游 2000 bp 序列分析, 发现存在 4 个顺式作用元件 (启动子核心元件、光照响应元件、非生物胁迫响应元件、激素响应元件), 结果如表 2 所示。



M: DL2000 bp marker; 1: *FtHSEA6b* 基因扩增结果
M: DL2000 bp Marker, 1: the PCR amplification of *FtHSEA6b* gene

图 1 苦荞 *FtHSEA6b* 基因 CDS 序列扩增
Fig.1 CDS sequence amplification of *FtHSEA6b* gene in Tartary buckwheat



基因序列长度 (Kb) Gene sequence length

图 2 *FtHSEA6b* 基因结构
Fig.2 Gene structure of *FtHSEA6b*

表 2 *FtHSA6b* 启动子序列中的顺式作用元件Table 2 Cis-acting elements in the promoter sequence of *FtHSA6b*

分类 Classification	元件名称 Cis-acting elements	序列 Sequence	数目 Number	功能 Function
启动子核心元件 Promoter core element	TATA-box	TATA TATATA ATTATA TATAAAA	74	TATA 框, 转录起始必须元件
	CAAT-box	CAAT CAAAT CCAAT	44	CAAT 框, 转录增强元件
节律; 光照响应元件 Rhythm, Light response element	AT1-motif	AATTATTTTTTATT	1	光照响应元件
	GATA-motif	AAGGATAAGG	1	光照响应元件
	G-box	CACGTC TACGTG	4	光照响应元件
		TAACACGTAG		
	ATCT-motif	AATCTAATCC	1	光照响应元件
	Box 4	ATTAAT	5	光照响应元件
	TCT-motif	TCTTAC	1	光照响应元件
非生物胁迫响应元件 Abiotic stress response element	MYB	TAACCA CAACCA	4	转录因子结合位点
	WRE3	CCACCT	1	损伤诱导元件
	LTR	CCGAAA	1	低温响应元件
	ARE	AAACCA	1	厌氧诱导元件
激素响应元件 Hormone responsive element	CGTCA-motif	CGTCA	1	响应茉莉酸甲酯
	TCA-element	TCAGAAGAGG	1	响应水杨酸
	TGACG-motif	TGACG	1	响应茉莉酸甲酯
	ABRE	TACGTGTC ACGTG	4	响应脱落酸

2.2 *FtHSA6b* 蛋白同源比对及进化分析

利用 NCBI 在线数据库, 选取多条相似度较高的蛋白与 *FtHSA6b* 进行比对, 进一步构建系统发育树 (图 3), 结果表明 *FtHSA6b* 与藜麦 *CqA-2c* 和棉花 *GhA-7a*、*GdE288* 亲缘关系较近。

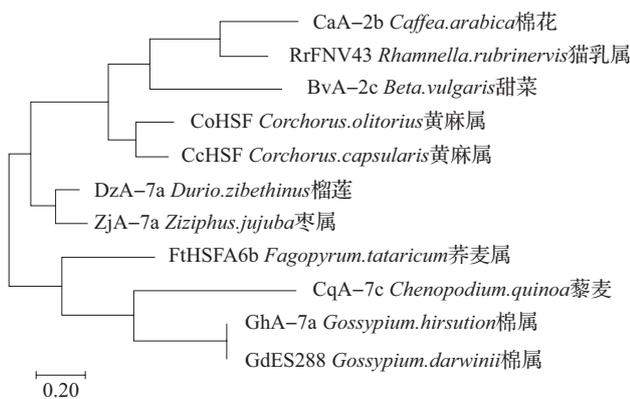


图 3 *FtHSA6b* 及其同源蛋白的系统发育树
Fig.3 Phylogenetic tree of *FtHSA6b* and the homologous proteins

2.3 *FtHSA6b* 基因的多样性分析

本实验只选择苦荞的 2 号染色体编码区的 3 个

SNP 位点 37898046、37898203、37899329 进行分析, 结果见表 3, 3 个位点的碱基多样性表现为 37898046 (A/G)、37898203 (A/G)、37899329 (A/C), 说明 *FtHSA6b* 基因存在生物多样性。

2.4 *FtHSA6b* 的组织特异性表达分析

取川荞 1 号的根、茎和叶组织为材料, 对 *FtHSA6b* 进行组织特异性表达分析 (图 4), *FtHSA6b* 基因在茎中的表达量最高, 是根中的 14.4 倍; 其次是在叶中, 是根中的 2.22 倍; 而在根中表达量最低, 表明 *FtHSA6b* 基因具有组织表达特异性。

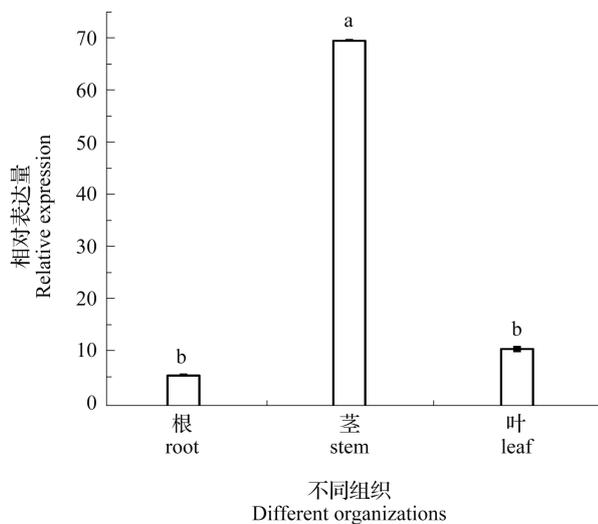
2.5 *FtHSA6b* 在毛状根中的功能分析

2.5.1 毛状根的诱导及转基因根系的鉴定

诱导得到毛状根, 提取 6 个根系的 DNA, 通过 PCR 分子鉴定筛选转基因毛状根阳性根系 (图 5), 2~7 号 6 个根系中, 2 为阴性根系 (*FtHSA6b*-1307 基因未转入成功的毛状根), 3~7 都为阳性根系 (*FtHSA6b*-1307 基因转入成功的毛状根)。阳性根系可进一步用于 *FtHSA6b*-1307 在毛状根中的试验, 其中图 B 中的 3、4、5 根系分别对应 3 个表达 *FtHSA6b*-1307 毛状根根系 HSF1、HSF2、HSF3。

表 3 *FtHSEF6b* 基因的多样性分析Table 3 Diversity analysis of *FtHSEF6b* gene

荞麦材料编号 Buckwheat material number	37898046 位置 Location 37898046	37898203 位置 Location 37898203	37899329 位置 Location 37899329	荞麦材料编号 Buckwheat material number	37898046 位置 Location 37898046	37898203 位置 Location 37898203	37899329 位置 Location 37899329
LN1	A	A	A	XZ17	G	G	C
NMG2	A	A	A	XZ19	G	G	C
NMG3	A	A	A	XZ20	G	G	C
NX6	A	A	A	XZ22	G	G	C
QH8	A	A	A	SX-33	G	G	C
QH9	A	A	A	SX-51	G	G	C
XZ10	A	A	A	HB63	G	G	C
XZ11	A	A	A	HB68	G	G	C
XZ12	A	A	A	HB74	G	G	C
XZ13	A	A	A	HB82	G	G	C
XZ15	A	A	A	XZ94	G	G	C
GS190	A	A	A	YN101	G	G	C
XZ21	A	A	A	YN273	G	G	C
SX-23	A	A	A	YN296	G	G	C
SX-24	A	A	A	XZ313	G	G	C
SX-25	A	A	A	JPN325	G	G	C
SX-26	A	A	A	JPN327	G	G	C
SX-27	A	A	A	JPN328	G	G	C
SX-28	A	A	A	JPN329	G	G	C
SX-29	A	A	A	SC439	G	G	C

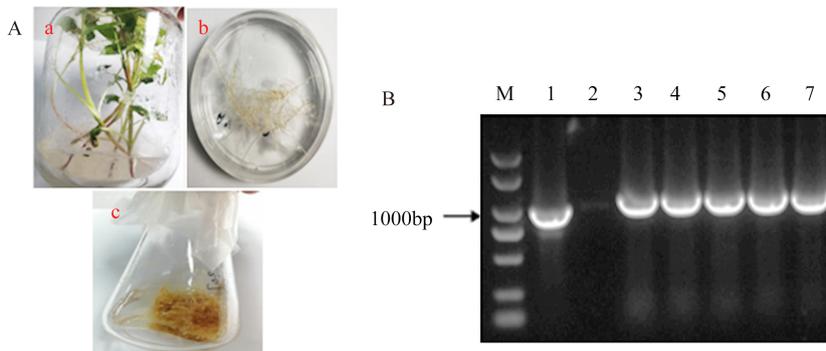


a 表示在 $P < 0.01$ 水平上差异显著;
 b 表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著, 下同
 a significant at $P < 0.01$ level,
 b significant at $P < 0.05$ level, the same as below

图 4 *FtHSEF6b* 组织特异性表达分析Fig.4 Tissue specific expression analysis of *FtHSEF6b*

2.5.2 NaCl 和 MeJA 激素处理条件下基因的表达分析

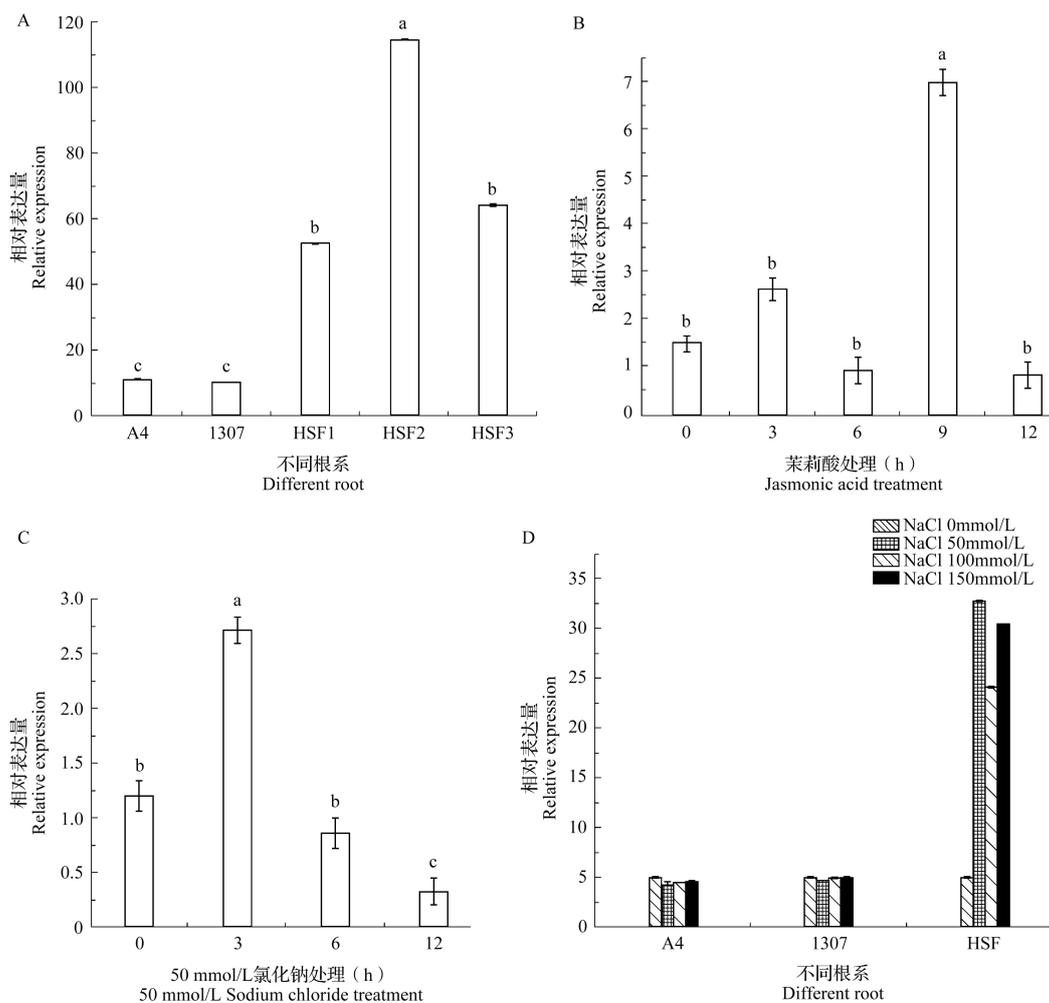
qRT-PCR 结果表明, 在 *FtHSEF6b*-1307 过表达的 3 个根系 (HSF1、HSF2、HSF3) 中, 过表达载体基因表达量为野生型 A4 的 5.26 倍、11.13 倍、6.54 倍, 而转空载 1307 的基因表达量与野生型 A4 无显著性差异 (图 6A)。过表达载体随着茉莉酸处理时间的推移, 基因的表达量在茉莉酸处理 9 h 时达最高表达量 (图 6B), 是 0 h 的 4.76 倍。50 mmol/L NaCl 处理的 *FtHSEF6b*-1307 过表达材料表达水平为先升高后下降 (图 6C), 且在处理 3 h 时表达水平达到最高, 为 0 h 的 2.26 倍。而在 50、100、150 mmol/L 不同 NaCl 处理条件下, HSF 基因的表达量明显比无 NaCl 处理的表达量高, HSF 中 50、100、150 mmol/L NaCl 处理情况下与无 NaCl 处理的比值分别是 6.59、4.78、6.05 倍 (图 6D)。野生型 A4 和转空载 1307 的基因表达量没有因为盐和茉莉酸的处理而变化, 因此根系中其他可能存在的 HSFs 基因不会影响本研究中 *FtHSEF6b* 基因的表达量结



A: 苦荞毛状根的诱导过程图片; a: 培养 10 d 的苦荞无菌苗; b: 农杆菌侵染后 10 d 的毛状根; c: MS 液体培养基中培养 14 d 的毛状根; B: 转基因毛状根的分子鉴定; M: DL2000 bp DNA marker; 1: *FtHSA6b-1307* 质粒, 阳性对照; 2~7: 转基因毛状根根系
A: Induction process of Tartary buckwheat hairy roots, a: Tartary buckwheat vaccine was cultured for 10 days, b: Hairy roots 10 days after Agrobacterium infection, c: The hairy roots were cultured in MS liquid medium for 14 days, B: Molecular identification of transgenic hairy roots, M: DL2000 bpDNA Marker, 1. *FtHSA6b-1307* Plasmid, positive control, 2~7: Transgenic hairy root system

图 5 苦荞毛状根的诱导过程与分子鉴定

Fig.5 Induction process and molecular identification of hairy roots of Tartary buckwheat



A4: 野生型毛状根根系; 1307: 转空载毛状根根系; HSF1/2/3: 转 1307-*FtHSA6b* 毛状根根系,
HSF: HSF1、HSF2 和 HSF3 3 个根系的平均值, 下同。c: 无显著性差异
A4: Wild type hairy root system, 1307: no load hairy root system, HSF1/2/3: Transferred 1307-*FtHSA6b* hairy root system,
HSF: Average value of HSF1, HSF2, and HSF3 root systems, the same as below.c: No significant difference

图 6 不同处理下 *FtHSA6b* 的表达模式

Fig.6 Expression patterns of *FtHSA6b* under different treatments

果, 而 *FtHSEA6b*-1307 过表达根系中 *HSF* 基因的表达量的升高, 说明盐和茉莉酸的处理提高了 *FtHSEA6b* 基因的表达, 即 *FtHSEA6b* 基因响应盐和茉莉酸的诱导。

2.5.3 过表达 *FtHSEA6b* 对总黄酮的影响 选择生长状态一致的野生型 A4、转空载 1307 及 *FtHSEA6b*-1307 过表达毛状根进行总黄酮的测定, 结果如图 7 所示, 在过表达 *FtHSEA6b*-1307 3 个株系 (HSF1、HSF2、HSF3) 中总黄酮含量明显高于野生型 A4, 分别是野生型 A4 的 2.95、2.78、2.84 倍, 而转空载 1307 的总黄酮含量是野生型的 1.61 倍, 说明空载 1307 能一定程度上提高总黄酮的含量, 但是过表达 *FtHSEA6b*-1307 三个株系 (HSF1、HSF2、HSF3) 能显著提高毛状根的总黄酮含量。

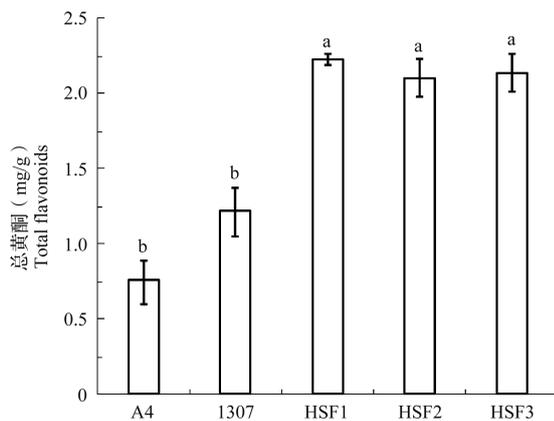


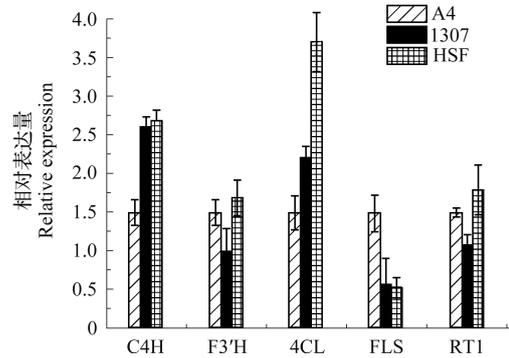
图 7 毛状根总黄酮含量测定

Fig.7 Determination of total flavonoids in wild type and transgenic hairy roots before and after NaCl treatment

2.5.4 总黄酮合成途径关键酶基因表达量的检测 为了进一步研究 *FtHSEA6b* 在总黄酮合成途径中提高毛状根耐盐性的具体路径, 对总黄酮关键酶基因表达量进行检测, 结果如图 8 所示, 除 *FLS* 之外, *C4H*、*4CL*、*F3'H* 和 *RTI* 酶基因在过表达 *FtHSEA6b*-1307 毛状根中相对于野生型 A4 和空载 1307 的表达量升高。而 *C4H*、*4CL*、*F3'H* 和 *RTI* 酶含量的升高, 增加了总黄酮合成途径中芦丁的合成, 所以 *FtHSEA6b* 基因可能是通过影响总黄酮合成途径中芦丁的合成途径来提高抗盐性。

2.6 *FtHSEA6b* 在拟南芥中的功能分析

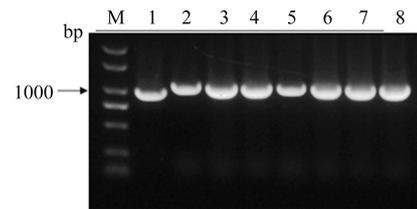
2.6.1 拟南芥转基因阳性植株的鉴定 将转化 *FtHSEA6b*-1307 载体的拟南芥移栽到营养土中生长至 3 叶期, 取拟南芥叶片, 提取 DNA 鉴定拟南芥阳性苗, 鉴定结果见图 9 所示, 鉴定到 2~8 号拟南芥株系全部是阳性株系 (*FtHSEA6b*-1307 基因转入成功的拟



C4H: 肉桂酸羧化酶; F3'H: 类黄酮 3'-羟化酶; 4CL: 4-香豆酰 CoA 连接酶; FLS: 黄酮醇合成酶; RTI: 鼠李糖基转移酶
C4H: cinnamate carboxylase, F3'H: Flavonoid 3'-hydroxylase, 4CL: 4-coumaryl CoA ligase, FLS: Flavonol synthase, RTI: Rhamnosyl transferase

图 8 类黄酮合成途径中的关键酶表达量分析

Fig.8 Expression levels of key enzymes in the flavonoid biosynthesis pathway



M: DL2000 DNA marker; 1: *FtHSEA6b*-1307 质粒, 阳性对照; 2~8: 转基因拟南芥株系

M: DL2000 DNA Marker, 1: *FtHSEA6b*-1307 Plasmid, positive control, 2-8: Transgenic Arabidopsis plants

图 9 拟南芥转基因阳性植株的鉴定

Fig.9 Identification of *Arabidopsis thaliana* transgenic positive plants

南芥植株)。结果表明, 2~8 根系可用于 *FtHSEA6b*-1307 进一步在拟南芥中的研究试验, 拟南芥的 3 个 *FtHSEA6b*-1307 过表达株系 HSF-OE1、HSF-OE2、HSF-OE3 分别对应图 9 中的 2、3、4 株系。

2.6.2 拟南芥耐盐性表型验证 将 3 个 T₁ 代 *FtHSEA6b*-1307 过表达拟南芥株系 HSF-OE1、HSF-OE2、HSF-OE3 与转空载 1307 拟南芥同时浇灌等量的 50 mmol/L NaCl 溶液, 3 d 处理后发现转空载 1307 拟南芥和 3 个过表达株系都发生不同程度萎蔫, 但是转空载 1307 拟南芥较 *FtHSEA6b*-1307 转基因株系萎蔫程度更加严重 (图 10A)。测定其鲜重, 在 0、50、100、150 mmol/L NaCl 盐胁迫条件下, HSF-OE1、HSF-OE2、HSF-OE3 过表达植株的鲜重高于空载 1307 植株, 但在正常生长条件下, 转空载 1307 拟南芥与 *FtHSEA6b*-1307 过表达植株 (HSF-OE1、HSF-OE2、HSF-OE3) 之间没有多大变化 (图 10B)。为了研究 *FtHSEA6b* 在盐胁迫下的功能, 将

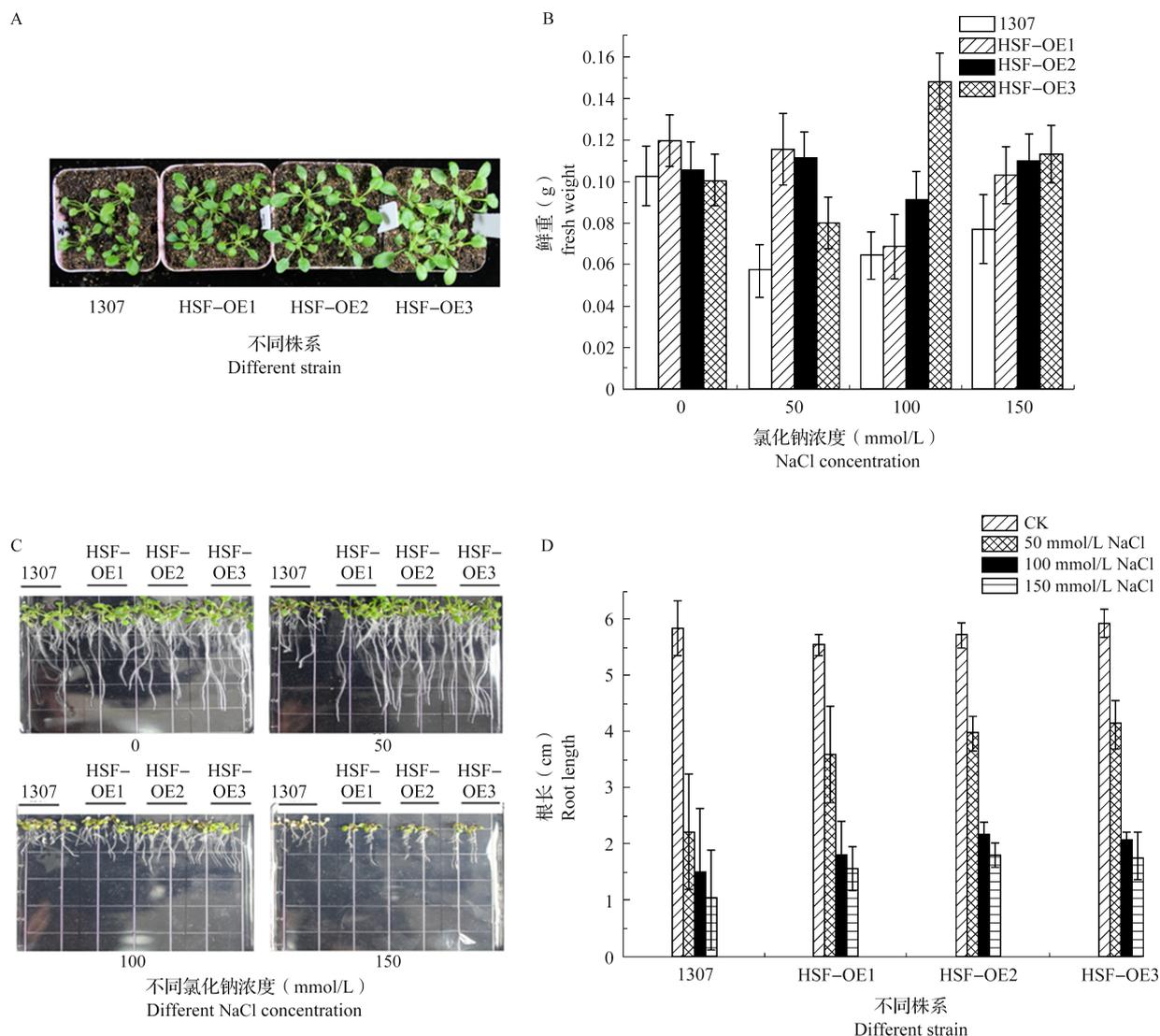


图 10 转基因拟南芥的耐盐性表型验证

Fig. 10 Salt tolerance phenotypic validation of transgenic *Arabidopsis thaliana*

5 d 的转空载 1307 拟南芥和 *FtHSA6b-1307* 过表达拟南芥 (HSF-OE1、HSF-OE2、HSF-OE3) 幼苗转移到含 0、50、100、150 mmol/L NaCl 的 1/2 MS 琼脂培养基上, 垂直培养 14 d 后测量根的长度。从图 10C 根长表型图和图 10D 根长统计柱形图可以看出, 在 50 mmol/L NaCl 处理下 *FtHSA6b-1307* 过表达植株 (HSF-OE1、HSF-OE2、HSF-OE3) 的主根明显长于转空载 1307 拟南芥, 而在 NaCl 控制条件 (0 mmol/L) 下, 转空载 1307 拟南芥和 *FtHSA6b-1307* 过表达植株 (HSF-OE1、HSF-OE2、HSF-OE3) 的根基本相同。这表明过表达 *FtHSA6b* 确实增强了拟南芥的盐胁迫抗性。

2.6.3 拟南芥抗盐性相关生理生化指标分析 丙二醛的测定结果表明, 在拟南芥未经处理的转空载 1307 和 *FtHSA6b-1307* 过表达株系 HSF-OE 中, 丙

二醛含量没有显著性差异, 转空载 1307 拟南芥丙二醛含量为 2.58 nmol/g, HSF-OE 中丙二醛含量为 2.666 nmol/g; 而在拟南芥用 50 mmol/L NaCl 处理情况下, HSF-OE 中丙二醛含量显著低于转空载 1307, 而植物中丙二醛含量越低表明植物对盐胁迫具有更好的抵御作用 (图 11A)。过氧化氢酶的测定结果表明, 转空载 1307 拟南芥随着 NaCl 浓度的升高过氧化氢酶含量一直在升高, 而 HSF-OE 在 NaCl 浓度升高的时候过氧化氢酶含量先升高后降低再升高, 且在 50 mmol/L NaCl 处理下过氧化氢酶含量最高, 降低的情况可能是因为高 NaCl 浓度使拟南芥植株已不能正常生长而引起过氧化氢酶表达量下降 (图 11B)。过氧化物酶的测定结果表明, HSF-OE 与转空载 1307 拟南芥过氧化氢酶含量比值在 150 mmol/L 处理下为最低, 是空载 1307 的 2.75 倍 (图 11C)。

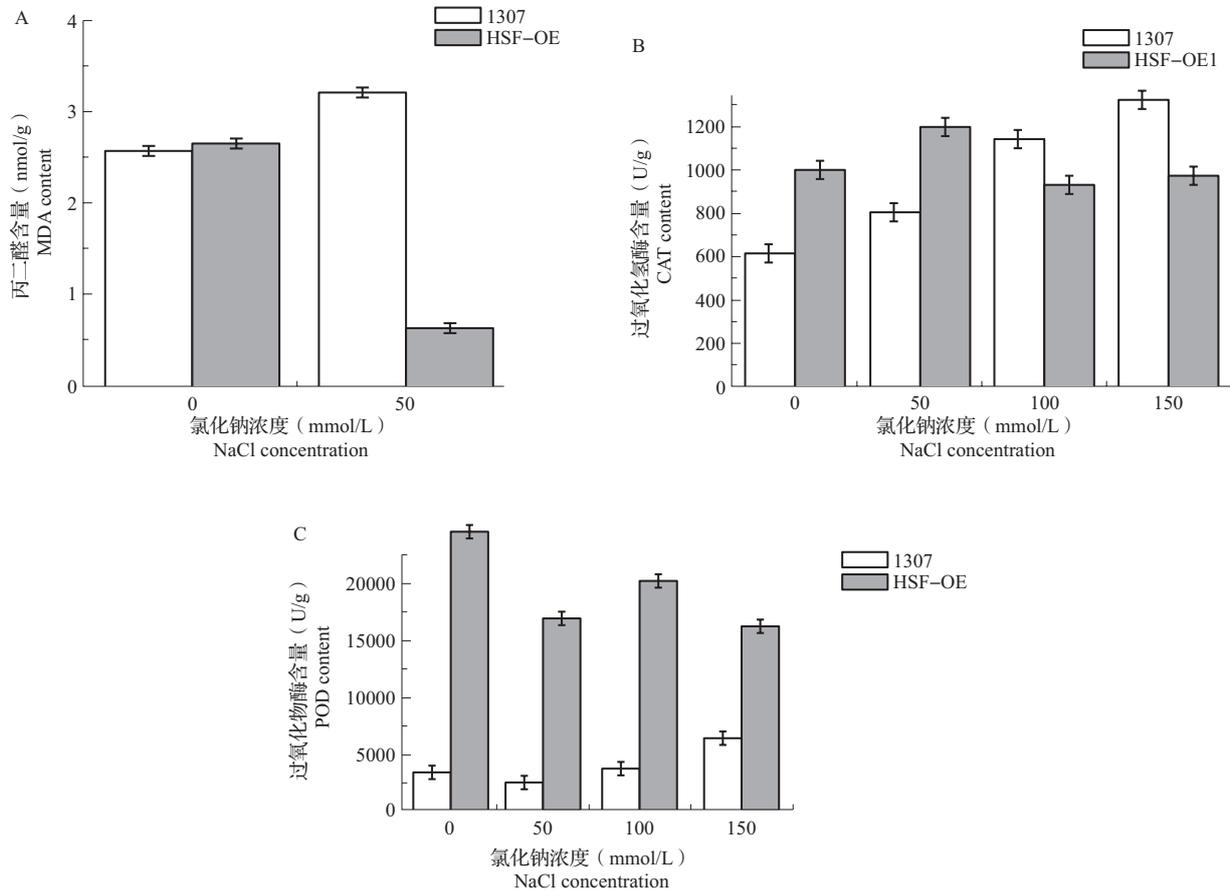


图 11 拟南芥的抗盐性相关生理生化指标分析

Fig.11 Analysis of physiological and biochemical indexes related to salt resistance of *Arabidopsis thaliana*

3 讨论

植物 HSF 转录因子广泛参与了如高温、干旱和高盐等多种非生物胁迫调控,从而提高有效植物的抗逆性。一系列研究表明, *HSFs* 参与包括温度、盐碱、干旱等多种逆境响应^[10-11]。辣椒 *CaHSA2*、玉米 *ZmHSF*、拟南芥 *AtHSA1* 类基因都参与多种逆境胁迫的调控。

试验比对发现 *FtHSA6b* 与藜麦 *CqA-2c* 和棉花 *GhA-7a*、*GdE288* 亲缘关系较近(图 3)。白丽丽等^[12]研究藜麦中 *CqA* 基因发现, *CqA* 基因在藜麦受到干旱胁迫与盐胁迫时,通过增加 *CqA* 基因在根中的表达量来提高藜麦对于干旱与盐胁迫的耐受性。棉花中还没有研究 *GhA* 基因的耐性。本研究对 *FtHSA6b* 调控苦荞耐盐功能行了初步探究,为后续研究其他作物中 *HSF* 的耐盐性提供理论基础。

本研究中, *FtHSA6b* 基因的表达量明显受茉莉酸诱导(图 6),且对 *FtHSA6b* 研究发现在根中表达量最高具有明显的组织表达特异性(图 4),说明

荞麦中 *FtHSA6b* 基因为奢侈基因。毛佳昊等^[13]研究发现茉莉酸在调控植物应对生物胁迫(虫害、病原菌)及非生物胁迫(干旱、盐碱、重金属、农药)等方面有重要的作用,即茉莉酸能提高植物胁迫耐受性。因此可以推测该基因受茉莉酸诱导且基因的表达与根的生长发育密切相关,进而可以调节植物本身的耐药性。

植物体内的激素会在遭受逆境影响后发生一系列的变化来适应新环境,而茉莉酸介导的信号途径就参与植物高盐逆境胁迫。为了进一步验证 *FtHSA6b* 在转基因的毛状根中是如何提高耐盐性的,测定了毛状根的总黄酮含量,试验结果为过表达毛状根中总黄酮含量高于对照(图 7),接着为了研究 NaCl 主要影响总黄酮合成途径中的哪个合成途径,对关键酶基因(*C4H*、*4CL*、*F3'H* 和 *RT1*)分析得知 *FtHSA6b* 主要使芦丁相对表达量上升(图 8),李国峰等^[14]研究发现芦丁有抗氧化的功能,抗氧化功能的提高可以增加植物的耐性。所以与类黄酮合成途径结合分析得知,过表达 *FtHSA6b* 主要影响了毛状根中类黄酮合成途径中的芦丁合

成,进而提高了对盐的耐受性。拟南芥为模式植物,接着本研究又在拟南芥中研究了 *FtHSEFA6b* 基因的耐盐性,试验结果为转基因拟南芥提高苗期根长过程且转基因拟南芥的鲜重比野生型高,苗期的根长与植株的鲜重都是为了减缓盐胁迫对自身的损害(图 10)。其他研究者对于 HSF 在拟南芥耐盐性中的研究可以发现,有研究表明,当在拟南芥中过量表达番茄 *SlHsfA3* 基因,在发芽阶段转基因植株对盐胁迫的敏感度增强,拟南芥种子发芽率升高,且在发芽阶段转基因拟南芥对盐胁迫的耐受性增强^[15]。此外,当在拟南芥中过表达小麦 *TaHsfA2d* 基因,将其在 300 nmol/L NaCl 条件下与野生型植株和拟南芥 *AtHsfA2* 缺失突变体植株一起进行盐胁迫处理,结果发现野生型种子的发芽率明显低于 *TaHsfA2d* 超表达拟南芥植株,而野生型种子发芽率高于拟南芥 *AtHsfA2* 缺失突变体植株,这些结果表明 *TaHsfA2d* 和 *AtHsfA2* 基因能够提高植株耐盐性,在调控盐胁迫响应中发挥着重要作用^[16]。所以可以推测 *FtHSEFA6b* 通过提高拟南芥种子萌发和增加根长以应对盐胁迫的影响,增加在盐胁迫下自己的存活率。

为了更加进一步研究拟南芥中 *FtHSEFA6b* 基因对生理生化的影响,在 NaCl 处理下对丙二醛、过氧化氢酶和过氧化物酶的含量进行测定(图 11),试验结果为过表达拟南芥株系中丙二醛表达量降低,而过氧化氢酶和过氧化物酶含量增加。Liu 等^[17]利用长时间高盐浓度对日本晴野生型和 *OsHsfA7* 转基因植株进行处理,然后进行 4 d 的恢复,发现野生型植株完全卷曲,而 *OsHsfA7* 过表达植株只有部分卷曲,恢复 10 d 后发现,野生型植株已经完全干枯死亡,而 *OsHsfA7* 过表达植株依然长势良好,只在叶边缘有一点枯萎。进一步研究盐处理对日本晴细胞膜内丙二醛含量的影响得出结论,盐处理下野生型植株体内丙二醛含量明显高于 *OsHsfA7* 过表达植株,且在高盐处理下日本晴根长和株高所受到的影响也高于 *OsHsfA7* 超表达植株^[17]。丙二醛含量的降低能使植物的毒害作用降低^[18],而过氧化氢酶和过氧化物酶的作用是降低自由基对细胞膜的损伤^[19]。所以推测,在盐胁迫条件下, *FtHSEFA6b* 过表达植株通过降低丙二醛、增加过氧化氢酶和过氧化物酶的含量,提高植物的耐盐性。

本研究在毛状根中研究总黄酮合成途径,发现 *FtHSEFA6b* 基因通过增加芦丁含量来提高植物耐盐性。又研究了拟南芥中 *FtHSEFA6b* 基因的耐盐性,对表型和生理生化方面进行研究,得出结果过

表达拟南芥通过增加发芽率、增加根长、降低丙二醛含量、增加过氧化氢酶和过氧化物酶的含量来增加基因耐盐性。这些试验的目的都为研究耐盐性提供一部分依据,但是还存在很多不足,比如本研究用的拟南芥种子 T₁ 代为杂合子,不能特别好地反应出 *FtHSEFA6b* 基因的耐性,后续的研究可以以拟南芥 T₃ 代纯合子为材料进行试验。接下来的研究者可以从多样性方面接着研究不同苦荞材料中 *FtHSEFA6b* 基因对抗盐性的影响,得出怎样的基因序列对抗盐性的效果更加显著。

参考文献

- [1] 唐宇,邵继荣,周美亮. 中国荞麦属植物分类学的修订. 植物遗传资源学报, 2019, 20(3): 646-653
Tang Y, Shao J R, Zhou M L. Revision of the taxonomy of *Fagopyrum* L. in China. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(3): 646-653
- [2] 李丽,刘双清,杨远航,戴良英,李魏. 热激转录因子在植物抗非生物胁迫中的功能研究进展. 生物技术进展, 2018, 8(3): 214-220
Li L, Liu S Q, Yang Y H, Dai L Y, Li W. Research progress of heat shock transcription factors in plant resistance to abiotic stress. Advances in Biotechnology, 2018, 8(3): 214-220
- [3] 翁锦周,洪月云. 植物热激转录因子在非生物逆境中的作用. 分子植物育种, 2006(1): 88-94
Weng J Z, Hong Y Y. The role of plant heat shock transcription factors in abiotic stress. Molecular Plant Breeding, 2006(1): 88-94
- [4] 王康君,樊继伟,陈凤,李强,孙中伟,郭明明,张广旭,郑国良. 植物对盐胁迫的响应及耐盐调控的研究进展. 江西农业学报, 2018, 30(12): 31-40
Wang K J, Fan J W, Chen F, Li Q, Sun Z W, Guo M M, Zang G X, Zheng G L. Research progress in plant response to salt stress and regulation of salt tolerance. Acta Agriculturae Jiangxi, 2018, 30(12): 31-40
- [5] 王婷婷,仇有文,王沛文,陈宏宇,杨俊颖,王赛逗,伍森,王傲雪. 番茄热激转录因子 HSF 家族的系统进化分析. 江苏农业科学, 2016, 44(1): 48-53
Wang T T, Qiu Y W, Wang P W, Chen H Y, Yang J W, Wang D D, Wu M, Wang A X. Phylogenetic analysis of heat shock transcription factor family in tomato. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44(1): 48-53
- [6] 秦丹丹,彭惠茹,倪中福,许甫超,董静,张俊成,孙其信,李梅芳. 植物热激转录因子及其与耐热性关系的研究进展. 麦类作物学报, 2012, 32(1): 178-183
Qin D D, Peng H R, Ni Z F, Xu F C, Dong J, Zhang J C, Sun Q X, Li M F. Research progress of plant heat shock transcription factors and its relationship with heat tolerance. Journal of Triticeae Crops, 2012, 32(1): 178-183
- [7] 谈天斌,卢晓玲,张凯旋,丁梦琦,廖志勇,周美亮. *TrMYB308* 基因的克隆及在苦荞毛状根中的功能分析. 植物遗传资源学报, 2019, 20(6): 1542-1553
Tan T B, Lu X L, Zhang K X, Ding M Q, Liao Z Y, Zhou M L. Cloning of *TrMYB308* gene and analysis of its function in *Fagopyrum tataricum* hairy root. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(6): 1542-1553

- [8] 伍小方, 高国应, 左倩, 赵辉, 张凯旋, 严明理, 周美亮. *FtMYB1* 转录因子调控苦荞毛状根黄酮醇合成的机理研究. 植物遗传资源学报, 2020, 21 (5): 1270-1278
Wu X F, Gao G Y, Zuo Q, Zhao H, Zhang K X, Yan M L, Zhou M L. Deciphering the functional basis of *FtMYB1* transcription factor in flavonol biosynthesis of tartary buckwheat hairy root. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21 (5): 1270-1278
- [9] 李为喜, 朱志华, 李国营, 刘方, 李燕, 刘三才. $AlCl_3$ 分光光度法测定荞麦种质资源中黄酮的研究. 植物遗传资源学报, 2008, 9 (4): 502-505
Li W X, Zhu Z H, Li G G, Liu F, Li Y, Liu S C. Determination of flavonoids in buckwheat germplasm resources by $AlCl_3$ spectrophotometry. Journal of Plant Genetic Resources, 2008, 9 (4): 502-505
- [10] 李丽, 刘双清, 杨远航, 戴良英, 李魏. 热激转录因子在植物抗非生物胁迫中的功能研究进展. 生物技术进展, 2018, 8 (3): 214-220
Li L, Liu S Q, Yang Y H, Dai L Y, Li W. Research progress of heat shock transcription factors in plant resistance to abiotic stress. Advances in Biotechnology, 2018, 8 (3): 214-220
- [11] 却枫, 黄莹, 王枫, 徐志胜, 王广龙, 熊爱生. 胡萝卜中 *DcDofD1* 转录因子基因的克隆及其对非生物逆境胁迫的响应分析. 植物遗传资源学报, 2015, 16 (5): 1073-1079
Que F, Huang Y, Wang F, Xu Z S, Wang G L, Xiong A S. Cloning of *DcDofD1* transcription factor gene from carrot and analysis of its response to abiotic stress. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16 (5): 1073-1079
- [12] 白丽丽, 史军辉, 刘茂秀, 王新英. 藜麦特性研究进展综述. 植物医生, 2020, 33 (5): 22-27
Bai L L, Shi J H, Liu M X, Wang X Y. Review of the research progress on the characteristics of *Chenopodium quinoa* Willd. Lant Doctor, 2020, 33 (5): 22-27
- [13] 毛佳昊, 熊晓辉, 卢一辰. 茉莉酸调控植物应对逆境胁迫作用的研究进展. 生物加工过程, 2021, 4 (13): 1-8
Mao J H, Xiong X H, Lu Y C. Research progress of jasmonic acid in regulating plant response to stress. Bioprocess Research, 2021, 4 (13): 1-8
- [14] 李国峰, 陈海芳, 杜文迪, 郭莹帆, 蔡锦洪, 张武岗. 超声辅助离子液体提取柚子皮总黄酮及其抗氧化研究. 江西中医药大学学报, 2021, 33 (1): 84-88
Li G F, Chen H F, Du W D, Guo Y F, Cai J H, Zhang W G. Ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids from grapefruit peel by ionic liquid and its antioxidant activity. Journal of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 2021, 33 (1): 84-88
- [15] Li Z, Zhang L, Wang A, Xu X, Li J. Ectopic overexpression of *SlHsfA3*, a heat stress transcription factor from tomato, confers increased thermotolerance and salt hypersensitivity in germination in transgenic *Arabidopsis*. PLoS ONE, 2013, 8 (1): e54880
- [16] Chauhan H, Khurana N, Agarwal P, Khurana J P, Khurana P. A seed preferential heat shock transcription factor from wheat provides abiotic stress tolerance and yield enhancement in transgenic *Arabidopsis* under heat stress environment. PLoS ONE, 2013, 8 (11): e79577
- [17] Liu A L, Zou J, Liu C F, Zhou X Y, Zhang X W, Luo G Y, Chen X B. Over-expression of *OsHsfA7* enhanced salt and drought tolerance in transgenic rice. BMB Reports, 2013, 46 (1): 31-96
- [18] 翟晓虎, 杨海峰, 陈慧英, 何卫华, 杨俊花. 丙二醛的毒性作用及检测技术研究进展. 上海农业学报, 2018, 34 (1): 144-148
Zhai X H, Yang H F, Chen H Y, He W H, Yang J H. Toxicity of malondialdehyde and its detection technology. Shanghai Journal of Agricultural Sciences, 2018, 34 (1): 144-148
- [19] 刘银萍. ‘洛阳红’花期花瓣抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 活性的研究. 河南林业科技, 2020, 40 (3): 13-15, 41
Liu Y P. Studies on the activities of antioxidant enzymes SOD, POD and CAT in petals of ‘Luoyanghong’ during flowering period. Henan Forestry Science and Technology, 2020, 40 (3): 13-15, 41

欢迎订阅 2022 年《北方农业学报》

《北方农业学报》是内蒙古自治区农牧业科学院主管与主办的综合性农业学术期刊, 主要服务于农业高等院校师生和农业科研机构的研究人员, 为中国农林核心期刊 (2020 版)、全国优秀农业期刊、中国期刊方阵“双效”期刊、《中国核心期刊 (遴选) 数据库》来源期刊、美国《乌利希期刊指南 (网络版)》(Ulrichsweb) 收录期刊、英国《食品科技文摘》(FSTA) 收录期刊、美国艾博思科 (EBSCO) 学术数据库全文收录期刊、英国《国际农业与生物科学研究中心数据库 (CABI)》来源期刊。国内统一连续出版物号: CN 15-1375/S, 国际标准连续出版物号: ISSN 2096-1197。双月刊, 双月 20 日出版, 国际标准大 16 开本, 134 页, 每期定价 15.00 元, 全年 90.00 元。邮发代号: 16-70。全国各地邮局均可订阅。

本刊栏目: (1) 作物遗传育种、作物栽培、种质资源、分子生物学; (2) 生理生化、土壤肥料、节水灌溉; (3) 植物保护、农业生态环境、农业气象; (4) 园艺、草业; (5) 水产、农产品加工; (6) 农业经济、农业信息技术。

地址: 呼和浩特市玉泉区昭君路 22 号内蒙古自治区农牧业科学院《北方农业学报》编辑部

邮编: 010031

电话: 0471-5297032 5900622

E-mail: bfnxb@126.com

微信公众号: 北方农业学报

网址: <http://nmng.chinajournal.net.cn>; <http://bfnxb.imaaahs.ac.cn>