

从北极环境中筛选并鉴定产 EPA 的细菌资源

彭云峰¹, 彭方³, 万霞^{1,2*}
(1. 中国农业科学院油料作物研究所, 湖北 武汉, 430062; 2. 农业部油料作物生物学与遗传育种重点实验室, 湖北 武汉, 430062; 3. 武汉大学生命科学学院, 中国典型培养物保藏中心, 湖北 武汉, 430072)

摘要:为筛选出高产二十碳五烯酸(EPA, C20: 5)野生型菌株,以采自北极地区的176株细菌为材料,通过TTC(2,3,5-氯化三苯基四氮唑)显色法和气相色谱两种方法筛选出4株疑似产EPA的细菌,并通过气质联用进一步确认其产物为EPA。其中编号6-42的菌株EPA占总脂肪酸百分比含量最高(4.9%),经16S rDNA进化分析鉴定为希瓦氏菌(*Shewanella baltica*),并命名为*S. baltica* 6-42。通过研究温度和浅蓝菌素等培养条件对其EPA含量的影响,发现加入3 μg/mL的浅蓝菌素后,0℃静置培养其EPA的总脂肪酸百分比含量和单位干菌含量最高,分别为11.5%和6.7 mg/g,10℃振荡培养其单位体积培养液EPA含量最高为3.6 mg/L。

关键词:EPA(二十碳五烯酸);希瓦氏菌;浅蓝菌素;气相色谱

中图分类号:Q939.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-9084(2016)05-0649-09

Screening and characterization of EPA – producing Arctic bacteria
PENG Yun – feng¹, PENG Fang³, WAN Xia^{1,2*}
(1. Oil Crops Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China;
2. Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture, Wuhan 430062, China;
3. College of Life Sciences, Wuhan University, China Center for Type Culture Collection, Wuhan 430072, China)

Abstract:To identify wild bacteria with high yield of eicosapentaenoic acid (EPA), gas chromatography and 2,3,5 – triphenyltetrazolium chloride (TTC) methods were used to select 176 strains from the Arctic area. Four EPA – producing bacteria strains were obtained and further confirmed by gas chromatography and mass spectrometry (GC – MS). Among them, strain 6 – 42 had the highest EPA content (up to 4.9% of total fatty acids) which was identified as *Shewanella baltica* by 16S rDNA sequencing. The strain was named as *S. baltica* 6 – 42. Temperature and cerulenin effects were investigated. Results showed that in 3 μg/mL cerulenin at 0℃, the EPA content and EPA titer of *S. baltica* 6 – 42 reached 11.5% and 6.7 mg/g, respectively. When cultured at 10℃ with shaking, 3.6 mg/L EPA were yielded.

Key words:EPA (eicosapentaenoic acid); *Shewanella*; Cerulenin; Gas chromatography

EPA(二十碳五烯酸, C20: 5)和DHA(二十二碳六烯酸, C22: 6)都属于ω-3系列超长链多不饱和脂肪酸(very long chain polyunsaturated fatty acids, VLC – PUFA),它们对于人体健康具有重要意义^[1]。DHA是人体大脑和视网膜组织中磷脂的重要组成部分^[2],EPA在人体内可转化为前列腺素、血栓素和白三烯等类二十烷酸活性物质^[3]。目前商业上这些VLC – PUFA的主要来源是深海鱼油,但是鱼油的生产受鱼的种类、季节和地点限制,加工成本高且具有鱼腥味,特别是海洋生态环境的污染和渔业资源的匮乏,使鱼油很难满足人们的需求^[4]。因此,寻找其他替代资源已成为新的研究热点。

微生物拥有生长速度快、营养需求低且代谢调控简单等优势,是一种比较理想的替代资源,深海鱼类也是由于最初摄食海洋微生物经食物链富集,最终形成高含VLC – PUFA的鱼油^[5]。目前,富含

收稿日期:2016-02-27
基金项目:中国农业科学院创新工程;农业部948项目(2015Z3)
作者简介:彭云峰(1990-),男,湖北襄阳人,硕士研究生,从事微生物油脂代谢工程研究
* 通讯作者:万霞(1981-),女,湖北武汉,副研究员,从事应用微生物和脂质化学与营养研究, E-mail: wanxia@oilcrops.cn

DHA 的微生物,如破囊壶菌(*Thraustochytrium*)和裂殖壶菌(*Schizochytrium*)已经被用于商业化大规模生产 DHA,其代表公司如美国的马泰克(Martek)和中国的嘉必优(Cabio)。然而,还没有发现可用于商业化生产 EPA 的野生型高产菌株。虽然,杜邦公司(DuPont)运用代谢工程将耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)EPA 占细胞干重含量提高到 15%^[6],但在中国及许多其他国家,转基因生物来源的产物是禁止应用于食品或食品添加剂的,因此我们试图筛选出符合商业需求的高产 EPA 野生型菌株。

前期研究发现特定的微藻如三角褐脂藻(*Phaeodactylum tricornutum*)和微绿球藻(*Nannochloropsis oculata*)可以合成 EPA,但同时还会进一步通过 $\Delta 4$ 延长酶和 $\Delta 4$ 去饱和酶的作用,继续合成少量或微量 DHA^[7],因而分离到的产物往往是 EPA 和 DHA 的混合物。海洋细菌不同于这类微藻,他们不通过常规的去饱和酶/延长酶途径,而是通过独特的聚酮合酶(polyketide synthase,PKS)途径来合成 VLCPU-FA。这类细菌合成的产物往往是单一类型的 EPA、DHA 或 ARA^[8]。目前已报道的产 EPA 的细菌包括希瓦氏菌(*Shewanella* sp. SCRC2738)、发光杆菌(*Photobacterium profundum* SS9)和弧菌(*Vibrio marinus* MP-1)等^[9~11],它们大多分离自深海或南极区域等极地环境,这可能是由于 EPA 可提高生物膜的流动性从而适应低温高压环境^[12]。本文以采自挪威(Norway)斯瓦尔巴群岛(Svalbard Archipelago)附近的土样为材料,经分离鉴定后通过 TTC 显色和气相色谱两种方法来筛选产 EPA 菌株,并研究了温度和浅蓝菌素对其脂肪酸组分的影响,特别是 EPA 含量的变化。

1 材料与方法

1.1 菌株和培养条件

1.1.1 菌株 所筛选的共 6 批菌株由中国典型培养物保藏中心(China Center for Type Culture Collection,CCTCC)提供,均采自挪威斯瓦尔巴群岛新奥尔松地区(Ny-Alesund,Svalbard Archipelago,Norway)。第一和第二批采自冰川前端土壤,地理坐标分别为 78°54'N,12°06'E 和 78°53'N,12°10'E;第三批采自苔原冻土带土壤,位于 78°53'N,12°09'E;第四和第五批采自 Stuphallet 悬崖断层,分别位于 78°57.575'N,11°36.288'E 和 78°57.521'N,11°36.447'E;第六批采自 Midtre Lovenbreen 冰川前端溶出区域,位于 78°53.704'N,12°5.262'E。大肠杆菌 DH5 α 购自 Invitrogen 公司。

1.1.2 培养基 R2A 培养基(g/L):酵母提取物 0.5g,蛋白胨 0.5g,酪蛋白水解物 0.5g,葡萄糖 0.5g,可溶性淀粉 0.5g,丙酮酸钠 0.3g,磷酸氢二钾 0.3g,七水硫酸镁 0.049g,琼脂 18g(固体培养基),pH 7.3 $\pm$ 0.2,121℃灭菌 20min,用于北极细菌的分离鉴定和摇瓶发酵。

LB 培养基(g/L):酵母提取物 5g,蛋白胨 10g,氯化钠 10g,琼脂 18g(固体培养基),pH 7.0,121℃灭菌 20min,用于大肠杆菌的培养。

1.1.3 培养条件 R2A 固体平板倒置于 20℃温箱培养用于菌株分离,R2A 液体摇瓶置于 10℃摇床 180r/min 振荡培养用于菌株的筛选与鉴定。加入浅蓝菌素(cerulenin,Sigma-Aldrich)至其终浓度依次为 0、1、2、3、4、5 μ g/mL,随后置于 10℃摇床 180r/min 振荡培养用于研究浅蓝菌素对产 EPA 菌株脂肪酸合成的影响。将接完种的 R2A 液体培养基分别置于 0、5、10、15、20℃环境下静置培养,用于探讨温度对产 EPA 菌株脂肪酸组分的影响。

1.2 菌株的分离与鉴定

将所采集的样品溶于无菌水中稀释,随后涂布于 R2A 固体平板上并放置于 20℃温箱培养,挑取单菌落进行编号和斜面保存。

采用细菌基因组提取试剂盒(Minibest Bacterial Genomic DNA Extraction Kit,TaKaRa)提取菌株基因组 DNA,以 27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R(5'-TACGGCTACCTTGTACGACTT-3')为引物,采用高保真酶(Phusion High-Fidelity DNA Polymerase,Thermo)扩增菌株的 16S rDNA 片段。50 μ L PCR 反应体系中含有酶 0.5 μ L,DNA 模板 1 μ L,10mmol/L 的 dNTP 1 μ L,10 μ mol/L 的引物各 2 μ L,5 $\times$ HF Buffer 10 μ L,ddH₂O 补齐;PCR 反应程序为 98℃预变性 30s;98℃变性 10s,55℃复性 30s,72℃延伸 60s,30 个循环;72℃终延伸 10min,4℃保存。随后用纯化回收试剂盒(Minibest DNA Fragment purification Kit,TaKaRa)回收 PCR 扩增产物,用平末端克隆试剂盒(Zero Blunt PCR Cloning Kit,Life)将回收的 16S rDNA 片段连接到 Top 0 质粒上(连接体系为 16S rDNA 片段 2 μ L、ddH₂O 2 μ L、Salt Solution 1 μ L、Top 0 质粒 1 μ L),室温下静置 10min,随后将 6 μ L 反应液加入大肠感受态细胞 DH5 α 进行化学转化并通过菌落 PCR 检测筛选阳性克隆。挑取至少 5 个阳性克隆进行测序(武汉擎科创新生物科技有限公司),确定测序结果的一致性后将获得的 16S rDNA 序列在 NCBI 数据库上进行 BLAST 同源性比对。

1.3 产 EPA 菌株的筛选

本次实验采用 TTC(2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride, Sigma-Aldrich) 显色和气相色谱(GC)两种方法来筛选产 EPA 菌株,前者是新近报道的一种快速筛选方法而后者是较为通用且最直接的筛选方式。前期报道显示在产 EPA 的菌株培养液中加入 0.1% (m/V) 的 TTC 会发生显色反应^[13],依据菌液颜色的变化从而初步筛选出可能产 EPA 的菌株,同时利用 GC 进一步测定是否产 EPA。

挑取斜面保存的菌株接种至含 3mL 新鲜 R2A 液体培养基的无菌具塞试管,置于 10℃ 摇床 180r/min 活化菌株,随后按 1% (V/V) 接种量转接至 250mL 摇瓶,相同条件下发酵。待生长至对数期($OD_{600}=0.5\sim0.6$)取 1.5mL 菌液至无菌 EP 管,加入 TTC 母液至其终浓度为 0.1% (m/V),随后在相同条件下培养 0.5~1h,观察颜色变化。收集摇瓶中的剩余菌体,先经过 GC 分析其脂肪酸组成,在完全相同的分析条件下,以 EPA 甲酯标品(Larodan, 瑞典)为对照,当测试菌株脂肪酸 GC 色谱峰与 EPA 标品出峰时间相同或非常相近时,初步认为该菌株含有 EPA。随后对疑似产 EPA 菌株进行进一步的 GC-MS 分析,当其质谱图与 EPA 标品质谱图相同则确定该菌株产 EPA。

1.4 脂肪酸分析

将收集的菌体真空冷冻干燥后研磨成粉,用改良后的酸法进行脂肪酸的甲酯化反应,称取 10mg 菌体干粉置于 4mL 具塞玻璃瓶中,加入 0.75mL 的 1mol/L 盐酸甲醇溶液和 10 μ L 的 5mg/mL 二十一烷酸内标(heneicosanoic acid, Larodan)并漩涡振荡,密封瓶盖置于 80℃ 水浴 2h,冷却至室温后分别加入 0.5mL 的 1% (m/V) 氯化钠水溶液和 0.4mL 的正己烷并漩涡振荡,静置待溶液分层后取上清至 1.5mL 离心管 8 000r/min 离心 10min,含甲酯化脂肪酸的上清一部分用于后续硅烷化反应,剩余部分可直接用于 GC 及 GC-MS 分析。为了分离检测羟基脂肪酸需要对甲酯化脂肪酸进行硅烷化反应,取甲酯化脂肪酸氮气吹干后加入等体积的硅烷化试剂 RC-2 (99% BSTFA + 1% TMCS, REGIS),置于 90℃ 反应 1h,冷却至室温后可直接用于气相分析。

本次试验采用安捷伦 7890A 气相色谱仪,氢离子火焰化检测器(Flame Ionization Detector, FID); HP-FFAP (30m $\times$ 0.25mm $\times$ 0.25 μ m) 色谱柱;载气为高纯氮气,进样口压力为 25psi,进样量 1 μ L,分流比 30:1;程序升温:初始温度 150℃ 保持 1min,然后以 5℃/min 升温至 230℃ 并保持 8min,进样口和检

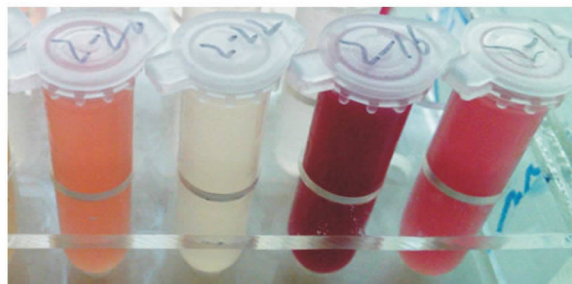
测器温度分别保持在 250℃ 和 280℃。采用面积归一法计算脂肪酸的相对百分含量。GC-MS 采用相同的仪器、分离柱和分离条件,质谱型号为安捷伦 5975C。

2 结果与分析

2.1 筛选并鉴定合成 EPA 的北极细菌

前期实验采自挪威斯瓦尔巴群岛的 6 批材料共分离出 176 个菌株,经 16S rDNA 初步鉴定发现主要包含 24 株假单胞菌属(*Pseudomonas*)、18 株黄杆菌属(*Flavobacterium*)、14 株节杆菌属(*Arthrobacter*) 和 10 株地杆菌属(*Pedobacter*) 以及其它种属细菌。

首先采用 TTC 快速鉴定方法来筛选产 EPA 菌株。在菌液中加入 0.1% 的 TTC 培养一段时间后发现部分菌液颜色会发生变化,如图 1 所示按其颜色变化程度分为深红(+++)、红色(++)、粉色(+)和无变化(-)四类。综合 TTC 显色结果发现共有 68 个菌株发生显色反应,其中深红色 7 株、红色 17 株及橙色 44 株,在这 68 个显色菌株中黄杆菌属 12 株、假单胞菌属 11 株、节杆菌属 10 株及 4 株地杆菌属,可以看出该四个属占总显色菌株一半以上,黄杆菌属和节杆菌属多半发生显色反应。



注:从左至右依次标记为粉红色(+)、无色(-)、深红色(+++)和红色(++)

Note: The color was marked as pink(+), colourless(-), deep red(+++) and red(++) from left to right

图 1 TTC 显色反应

Fig.1 TTC chromogenic reaction

为了进一步确证合成 EPA 的细菌,我们同时进行 GC 筛选。首先运用 GC 测定脂肪酸组成并与 EPA 标品出峰时间比对(图 2),初步确定是否含有 EPA。若 GC 结果显示有 EPA 的合成,再将该样品进行 GC-MS 分析并与脂肪酸数据库比对(图 3),最终确定该菌株是否产 EPA。运用该方法共筛选出 4 株产 EPA 菌株,如表 1 所示,该 4 株菌分别为 *Nocardioideis plantarum*、*Compostimonas suwonensis*、*Flavobacterium omnivorum* 和 *Shewanella baltica*, 10℃ 下 180r/min 振荡培养至对数期,测定 EPA 占总脂肪酸(total fatty acid, TFA)百分比依次为 1.1%、2.3%、

0.9% 和 4.9%。

表1 确认合成 EPA 的 4 株北极菌株
Table 1 Four identified EPA –producing Arctic bacteria

菌株编号 Strain code	种属名称 Identified genus	TTC 显色 TTC reaction	EPA 含量/% EPA content
1 –1	<i>Nocardioides plantarum</i>	+	1.1
2 –37	<i>Compostimonas suwonensis</i>	–	2.3
2 –42	<i>Flavobacterium omnivorum</i>	+	0.9
6 –42	<i>Shewanella baltica</i>	–	4.9

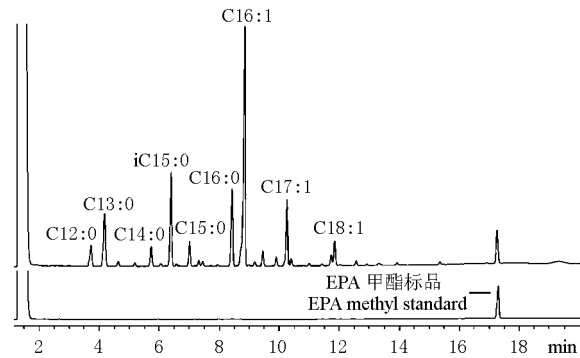


图2 菌株 6 –42 及 EPA 甲酯标品 GC 图谱
Fig.2 Gas chromatogram of strain 6 –42 and EPA methyl standard

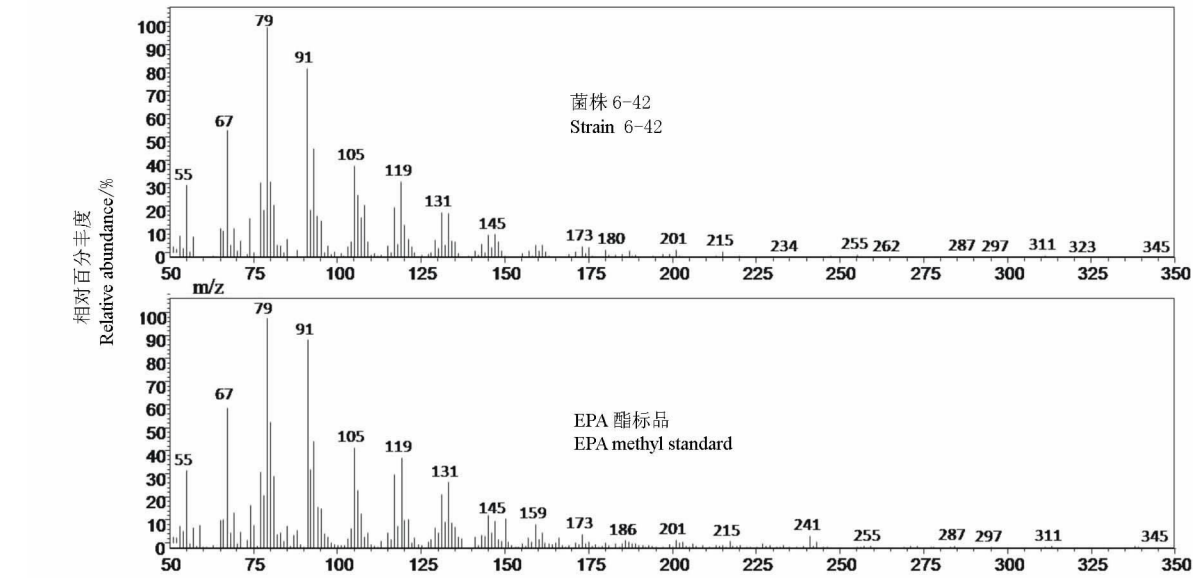


图3 菌株 6 –42 及 EPA 甲酯标品质谱图
Fig.3 Mass spectrum of strain 6 –42 and EPA methyl standard

表2 温度对 *S. baltica* 6 –42 EPA 含量的影响
Table 2 Effect of temperature on EPA content of *S. baltica* 6 –42

温度 Temperature/℃	EPA 百分比含量 EPA/ TFA/ %	EPA 含量 EPA content/(mg/g DCW)	生物量 Biomass/(g/L)	EPA 产量 EPA yield/(mg/L)
0	8.8 ±0.1	6.2 ±0.4	0.3 ±0.0	2.0 ±0.2
5	7.5 ±0.1	4.9 ±0.3	0.4 ±0.0	2.1 ±0.0
10	5.8 ±0.1	4.0 ±0.3	0.5 ±0.0	2.2 ±0.3
15	4.2 ±0.0	2.8 ±0.1	0.6 ±0.0	1.6 ±0.1
20	3.4 ±0.0	2.2 ±0.1	0.5 ±0.0	1.1 ±0.1

注:DCW 表示细胞干重(Dry cell weight);表中数据用 mean ±SD(n=3)表示。下同
Note:DCW, Dry cell weight. Data in mean ±SD (n=3). Same as below

2.2 温度对 *S. baltica* 6 –42 合成 EPA 的影响

微生物会通过调节自身脂肪酸的合成来影响生物膜的流动性,从而适应外界环境温度的变化。实验设置 0、5、10、15 和 20℃ 五个温度,研究在不同温度下 *S. baltica* 6 –42 脂肪酸组分的变化。其 EPA 含量的变化如表 2 所示,随着温度的降低 EPA 占总脂肪酸的百分比由 20℃ 时的 3.4% 逐步升高到 0℃ 时的 8.8%,相应的单位菌体含量由 2.2mg/g 升到 6.2mg/g。同时由于温度的降低其生物量也随之由初始的 0.5g/L 降到 0.3g/L,因此单位体积培养基 EPA 的产量在 10℃ 时最高达 2.2mg/L。进一步分析其脂肪酸各组分的变化(表 3),可以看出随着温度的降低直链饱和脂肪酸中短链脂肪酸 C12: 0 和 C14: 0 含量增加,中长链脂肪酸 C16: 0、C17: 0 和 C18: 0 含量减少,直链饱和脂肪酸总量先增后减而支链饱和脂肪酸总量先减后增,饱和脂肪酸总量随着温度的降低而减少。单不饱和脂肪酸 C16: 1 含量随着温度降低而增加,总量变化趋势不明显;多不饱和脂肪酸 EPA 含量随着温度的降低呈现增长趋势,因此不饱和脂肪酸总量与饱和脂肪酸总量变化趋势相反。

表 3 温度对 *S. baltica* 6-42 脂肪酸组分的影响
Table 3 Effect of temperature on fatty acid profile of *S. baltica* 6-42

脂肪酸 Fatty acid		温度 Temperature/℃				
		0	5	10	15	20
直链饱和脂肪酸 Saturated straight-chain fatty acids (SCFA)	C12: 0	3.7 ± 0.1	3.4 ± 0.0	3.4 ± 0.1	3.2 ± 0.0	3.1 ± 0.0
	C13: 0	0.2 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0
	C14: 0	6.0 ± 0.1	4.8 ± 0.0	4.3 ± 0.1	3.5 ± 0.0	2.9 ± 0.0
	C15: 0	0.6 ± 0.1	1.9 ± 0.0	1.7 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.5 ± 0.0
	C16: 0	9.2 ± 0.2	10.9 ± 0.1	13.3 ± 0.1	13.8 ± 0.4	14.2 ± 0.0
	C17: 0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.5 ± 0.0
	C18: 0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.5 ± 0.0
支链饱和脂肪酸 Branched-chain fatty acids (BCFA)	iC13: 0	8.6 ± 0.1	8.4 ± 0.1	8.1 ± 0.0	8.4 ± 0.1	9.1 ± 0.1
	iC14: 0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0
	iC15: 0	14.9 ± 0.2	14.1 ± 0.1	12.4 ± 0.2	13.3 ± 0.0	15.1 ± 0.0
	iC17: 0	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.9 ± 0.0
羟基脂肪酸 Hydroxy fatty acids (HFA)	3OH-C12: 0	1.5 ± 0.0	1.6 ± 0.1	1.9 ± 0.0	1.9 ± 0.1	2.0 ± 0.0
	3OH-C13: 0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0
	3OH-C14: 0	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0
单不饱和脂肪酸 Monounsaturated fatty acids (MUFA)	C16: 1	39.2 ± 0.1	36.3 ± 0.1	36.8 ± 0.3	35.8 ± 0.2	33.6 ± 0.1
	C17: 1	3.1 ± 0.1	4.6 ± 0.0	4.4 ± 0.1	4.8 ± 0.3	4.8 ± 0.0
	C18: 1	2.8 ± 0.0	3.5 ± 0.1	4.9 ± 0.0	5.9 ± 0.1	6.6 ± 0.1
多不饱和脂肪酸 Polyunsaturated fatty acid (PUFA)	C20: 5	8.8 ± 0.1	7.5 ± 0.1	5.8 ± 0.1	4.2 ± 0.0	3.4 ± 0.0
	Others	0.4 ± 0.0	0.9 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.0
	ΣSCFAs	19.8 ± 0.1	21.9 ± 0.0	23.6 ± 0.2	23.4 ± 0.1	22.9 ± 0.0
	ΣBCFAs	23.9 ± 0.1	23.2 ± 0.0	21.3 ± 0.1	22.7 ± 0.0	25.5 ± 0.0
	ΣHFAs	2.0 ± 0.0	2.1 ± 0.0	2.4 ± 0.0	2.6 ± 0.0	2.6 ± 0.0
	ΣMUFAs	45.1 ± 0.1	44.4 ± 0.1	46.1 ± 0.2	46.4 ± 0.2	44.9 ± 0.1
	ΣUFAs	54.0 ± 0.1	51.9 ± 0.1	51.9 ± 0.2	50.6 ± 0.2	48.3 ± 0.1

2.3 浅蓝菌素对 *S. baltica* 6-42 合成 EPA 的影响

为了探究浅蓝菌素对 *S. baltica* 6-42 EPA 合成的影响,设置了 0、1、2、3、4、5 μg/mL 各浓度在 10℃ 下进行摇瓶发酵。各浓度下 EPA 的含量如表 4 所示,可以看出浅蓝菌素处理后 EPA 含量均有所提高,其中浅蓝菌素浓度为 3 μg/mL 时达到最大,EPA 占 TFA 含量、EPA 单位干菌和单位体积培养基含量分别达到 7.6%、4.5mg/g 和 3.6mg/L。对比 10℃ 时静置和振荡两种培养条件,可以看出静置时 EPA 占 TFA 含量和 EPA 单位干菌中含量较高,但振荡培养生物量较高,因此 EPA 单位体积培养基产量高于

静置培养。进一步分析其脂肪酸各组分的变化(表 5),可以看出,直链饱和脂肪酸中碳链长度在 15 碳及其以下含量增加,而 15 碳以上含量减少;支链饱和脂肪酸中 C13: 0 含量增加,而 C15: 0 和 C17: 0 含量减少;直链和支链饱和脂肪酸总量均增加但后者变化幅度较小。羟基脂肪酸整体变化较小,而单不饱和脂肪酸含量均减少,相反 EPA 含量先增后减。整体来说短链脂肪酸含量增加,单不饱和脂肪酸含量减少,羟基脂肪酸含量不变,而 EPA 含量均有所增加。

表 4 浅蓝菌素对 *S. baltica* 6-42 EPA 含量的影响
Table 4 Effect of cerulenin on EPA content of *S. baltica* 6-42

浅蓝菌素浓度/(mg/L) Cerulenin concentration	EPA 百分比含量 EPA/TFA/%	EPA 含量 EPA content/(mg/g DCW)	生物量 Biomass/(g/L)	EPA 产量 EPA yield/(mg/L)
0	4.9 ± 0.0	3.0 ± 0.0	0.8 ± 0.0	2.3 ± 0.0
1	6.3 ± 0.2	3.7 ± 0.1	0.8 ± 0.0	2.9 ± 0.1
2	7.2 ± 0.5	4.3 ± 0.3	0.8 ± 0.0	3.4 ± 0.3
3	7.6 ± 0.3	4.5 ± 0.2	0.8 ± 0.0	3.6 ± 0.2
4	7.4 ± 0.3	4.3 ± 0.2	0.8 ± 0.0	3.3 ± 0.2
5	7.0 ± 0.2	4.0 ± 0.2	0.8 ± 0.0	3.1 ± 0.1

表 5 浅蓝菌素对 *S. baltica* 6-42 脂肪酸组分的影响
Table 5 Effect of cerulenin on fatty acid profile of *S. baltica* 6-42

脂肪酸 Fatty acid	浅蓝菌素浓度 Cerulenin concentration/($\mu\text{g/mL}$)						
	0	1	2	3	4	5	
SCFA	C12: 0	3.2 $\pm$ 0.1	3.7 $\pm$ 0.1	3.9 $\pm$ 0.1	4.1 $\pm$ 0.1	4.4 $\pm$ 0.1	4.6 $\pm$ 0.0\
	C13: 0	0.7 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.1	1.4 $\pm$ 0.1	1.5 $\pm$ 0.1	1.8 $\pm$ 0.2
	C14: 0	2.5 $\pm$ 0.0	4.8 $\pm$ 0.0	6.4 $\pm$ 0.4	7.4 $\pm$ 0.2	8.2 $\pm$ 0.4	8.7 $\pm$ 0.4
	C15: 0	2.9 $\pm$ 0.0	3.9 $\pm$ 0.1	4.2 $\pm$ 0.2	4.3 $\pm$ 0.1	4.2 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.2
	C16: 0	10.4 $\pm$ 0.2	10.5 $\pm$ 0.3	9.8 $\pm$ 0.4	9.2 $\pm$ 0.3	9.1 $\pm$ 0.3	8.5 $\pm$ 0.4
	C17: 0	1.2 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0
	C18: 0	0.3 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0
BCFA	iC13: 0	7.8 $\pm$ 0.0	9.8 $\pm$ 0.2	10.7 $\pm$ 0.2	11.3 $\pm$ 0.1	11.8 $\pm$ 0.0	12.2 $\pm$ 0.1
	iC14: 0	0.5 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.0
	iC15: 0	11.6 $\pm$ 0.1	10.6 $\pm$ 0.2	9.8 $\pm$ 0.1	9.2 $\pm$ 0.2	8.7 $\pm$ 0.1	8.2 $\pm$ 0.1
	iC17: 0	0.6 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0
HFA	3OH-C12: 0	1.9 $\pm$ 0.0	1.9 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.0	2.0 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.1
	3OH-C13: 0	0.3 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.0
	3OH-C14: 0	0.5 $\pm$ 0.0	0.6 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.0	0.6 $\pm$ 0.0	0.6 $\pm$ 0.0
MUFA	C16: 1	35.6 $\pm$ 0.4	35.0 $\pm$ 0.2	34.0 $\pm$ 0.2	33.5 $\pm$ 0.1	33.1 $\pm$ 0.2	32.9 $\pm$ 0.1
	C17: 1	9.1 $\pm$ 0.4	6.5 $\pm$ 0.2	5.4 $\pm$ 0.2	5.0 $\pm$ 0.1	4.6 $\pm$ 0.2	4.5 $\pm$ 0.2
	C18: 1	4.6 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.1	1.4 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.1
PUFA	C20: 5	4.9 $\pm$ 0.0	6.3 $\pm$ 0.2	7.2 $\pm$ 0.5	7.6 $\pm$ 0.3	7.4 $\pm$ 0.3	7.0 $\pm$ 0.2
	Others	1.5 $\pm$ 0.0	2.0 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.2	2.3 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.2	2.4 $\pm$ 0.2
	Σ SCFAs	21.1 $\pm$ 0.1	24.5 $\pm$ 0.2	26.0 $\pm$ 0.2	26.7 $\pm$ 0.1	27.7 $\pm$ 0.1	28.1 $\pm$ 0.3
	Σ BCFAs	20.4 $\pm$ 0.0	21.1 $\pm$ 0.1	21.1 $\pm$ 0.1	21.0 $\pm$ 0.2	21.1 $\pm$ 0.0	21.0 $\pm$ 0.0
	Σ HFAs	2.7 $\pm$ 0.0	2.8 $\pm$ 0.1	2.7 $\pm$ 0.0	2.7 $\pm$ 0.0	2.8 $\pm$ 0.0	3.0 $\pm$ 0.0
	Σ MUFAs	49.4 $\pm$ 0.3	43.4 $\pm$ 0.2	40.8 $\pm$ 0.1	39.6 $\pm$ 0.1	38.7 $\pm$ 0.1	38.4 $\pm$ 0.1
	Σ UFAs	54.2 $\pm$ 0.2	49.7 $\pm$ 0.3	48.0 $\pm$ 0.2	47.2 $\pm$ 0.2	46.2 $\pm$ 0.2	45.4 $\pm$ 0.3

结合浅蓝菌素实验结果,在 0℃ 和 10℃ 下用 3 $\mu\text{g/mL}$ 的浅蓝菌素处理。其结果如表 6 所示,可以看出 0℃ 下加入 3 $\mu\text{g/mL}$ 的浅蓝菌素静置培养,EPA 占 TFA 百分比含量和单位干菌含量达到最大,

分别为 11.5% 和 6.7 mg/g ;但是由于低温对生物量的影响,所以在 10℃ 下加入 3 $\mu\text{g/mL}$ 的浅蓝菌素振荡培养,单位体积培养基 EPA 含量最高为 3.6 mg/L 。

表 6 温度和浅蓝菌素对 *S. baltica* 6-42 EPA 含量的影响
Table 6 Effect of cerulenin on EPA content of *S. baltica* 6-42

培养条件 Culture condition	EPA 百分比含量 EPA/TFA/%	EPA 含量 EPA content/(mg/g DCW)	生物量 Biomass /(g/L)	EPA 产量 EPA yield/(mg/L)
0℃	8.8 $\pm$ 0.1	6.2 $\pm$ 0.4	0.3 $\pm$ 0.0	2 $\pm$ 0.2
0℃ + Ce	11.5 $\pm$ 0.0	6.7 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.0	2.3 $\pm$ 0.1
10℃	5.8 $\pm$ 0.1	4.0 $\pm$ 0.3	0.5 $\pm$ 0.0	2.2 $\pm$ 0.3
10℃ + Ce	7.9 $\pm$ 0.1	4.6 $\pm$ 0.2	0.6 $\pm$ 0.0	2.5 $\pm$ 0.2
10℃ *	4.9 $\pm$ 0.0	3.0 $\pm$ 0.0	0.8 $\pm$ 0.0	2.3 $\pm$ 0.0
10℃ * + Ce	7.6 $\pm$ 0.3	4.5 $\pm$ 0.2	0.8 $\pm$ 0.0	3.6 $\pm$ 0.2

注: * 表示振荡培养,其它为静置培养
Note: * Cells cultured with shaking, the others were cultured instatic

3 讨论与结论

目前市场上针对 VLC-PUFA 开发的产品越来越多以微生物为原料来提取制备,如从裂殖弧菌和破囊弧菌中提取制备 DHA。但由于尚未发现高产 EPA 的野生型或突变型菌株,因此从微生物来源制备单一 EPA 领域尚属空白。结合已报道的有能力合成 VLC-PUFA 的微生物,发现大多来源于极端嗜冷环境如深海和极地地区^[12,14,15],因此本文以采

自北极区域的细菌为材料,以期筛选出新的高产 EPA 的野生型菌株。在筛菌方法的选择上,参考 Ryan 等^[13]报道的一种 TTC 显色快速筛选方法,同时结合虽然耗时耗力但相对更为准确的 GC 法来筛选产 EPA 菌株。对初筛菌株的终产物最后进行 GC-MS 确认,得到四株 EPA 产生菌分别是 *Nocardio-ides plantarum*、*Compostimonas suwonensis*、*Flavobacte-rium omnivorum* 和 *Shewanella baltica*,其中 *Flavobac-terium*, *Nocardioides* 和 *Compostimonas* 属尚未报道产

EPA 的菌株。对比 EPA 占总脂肪酸百分比可以看出 *S. baltica* 6-42 的 EPA 含量最高,10℃ 下达到 4.9%,虽然低于 *Shewanella pneumatophore* SCRC27-38(25%~40%,20℃ 培养),但高于 *S. baltica* MAC1(1.5%,10℃ 培养),*S. oneidensis* MR-1(0.57%,4℃ 培养)^[9,16,17]。

对比两种筛选方法的结果,我们注意到 TTC 显色结果表明,*S. baltica* 6-42 和 *Compostimonas suwonensis* 未发生显色反应,这与 Ryan 等^[13]所描述的检测结果有所差异。以本实验结果为依据,我们认为 TTC 法虽然简单快速,但是准确率不如 GC 方法高。有报道推测 TTC 显色是由于产 EPA 菌株含有 $\Delta 5$ -去饱和酶,该酶将 TTC 还原成 TF 从而发生显色反应^[18]。根据现有的报道,海洋细菌一般是通过聚酮合酶途径(polyketide synthase,PKS)来合成 VL-CPUFA,而不是常规的去饱和/延长酶途径。我们对已报道的其他亚种的 *Shewanella* sp 基因组进行分析,未发现去饱和酶和延长酶,但是有参与 PKS 途径的 *pfa* 基因簇,因此推测我们分离到的这株细菌很可能也是通过 PKS 途径来合成 EPA^[19]。

温度的改变会影响微生物脂肪酸组分的变化,一般而言随着温度的降低多不饱和脂肪酸的含量会有所增加,特别是南极和北极等产 EPA 的耐低温菌,其 EPA 含量和低温适应性存在一定的联系。David^[20]研究表明菌株 651 在 2℃ 培养下 EPA 总脂肪酸百分比含量和单位干菌含量由 15℃ 时的 2.6% 和 0.2mg/g 升至 12.2% 和 0.5mg/g。Elke^[21]的研究显示 *Shewanella* sp. NB72 在 10℃ 培养下 EPA 占 TFA 百分比含量由 30℃ 的 0.3% 提高到 4%。结合本次实验结果,EPA 占总脂肪酸百分比和单位干菌含量随着温度的降低逐步增加,在 0℃ 时达到最高,相对 20℃ 时的 3.4% 和 2.2mg/g 提高至 8.8% 和 6.2mg/g。但是由于随着温度的降低,其生物量也随之降低,所以 EPA 产量(单位体积培养基含量)在 0℃ 为 2.0mg/L,在 10℃ 时最高为 2.2mg/L。此外我们还分析 *S. baltica* 6-42 脂肪酸谱的变化,发现直链饱和脂肪酸中的短链脂肪酸含量随着温度的降低而增加而中长链脂肪酸含量减少,支链脂肪酸无明显变化,羟基脂肪酸含量减少,单不饱和脂肪酸总量无明显变化,其中 C16:1 含量增加而 C17:1 和 C18:1 含量减少。结合 EPA 含量的变化发现 *S. baltica* 6-42 低温下脂肪酸组分的变化与王峰^[22]的研究结果一致,王峰的研究表明当温度由 20℃ 下降到 4℃ 时,*S. piezotolerans* WP3 的 EPA 含量由 7.5% 上升到 14.1%,而单不饱和脂肪酸含量变化不明显。

随后他还发现 EPA 合成缺陷菌株在低温下生长受到明显的抑制,而当外源添加 EPA 后又恢复一定的生长特性,由此推测 EPA 是其低温下生长必须脂肪酸。

浅蓝菌素作为一种脂肪酸合成抑制剂,可抑制脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FAS)途径中 FabB(β -ketoacyl-ACP synthases I)和 FabF(β -ketoacyl-ACP synthases II)的活性,导致单不饱和脂肪酸合成受阻^[23,24];但是发现于海洋细菌中的聚酮酶(Polyketide Synthase,PKS)途径不受其影响,因此拥有 PKS 途径的海洋细菌经浅蓝菌素处理后,其单不饱和脂肪酸含量减少而 VLC-PUFA 含量增加^[10,25]。我们研究了不同浓度浅蓝菌素对 *S. baltica* 6-42 EPA 合成的影响,结果显示:加入浅蓝菌素后 EPA 含量均有所提高,且当浅蓝菌素浓度为 3 μ g/mL 时 EPA 百分比含量、单位干菌含量及单位体积培养液含量均达到最高,分别为 7.6%、4.5mg/g 和 3.6mg/L。有报道称 *Shewanella* sp 经由 PKS 途径从头合成 EPA^[19],而 PKS 和 FAS 途径都是以乙酰辅酶 A(Acetyl-CoA)和丙二酸单酰辅酶 A(Malonyl-CoA)为底物从头合成脂肪酸,因而 FAS 途径被抑制反倒可能会使底物更多地用于 EPA 合成以满足脂肪酸不饱和度的需求。分析其他脂肪酸含量变化发现,直链饱和脂肪酸中碳链长度在 15 碳及其以下含量增加而 15 碳以上含量减少,支链饱和脂肪酸中 C13:0 含量增加而 C15:0 和 C17:0 含量减少。羟基脂肪酸整体变化较小,而单不饱和脂肪酸含量均减少,这与 Morita 研究结果^[25]一致。

综合温度和浅蓝菌素对 *S. baltica* 6-42 脂肪酸组分的影响,推测其含有 PKS 途径来合成 EPA。*S. baltica* 6-42 细胞内的脂肪酸合成底物 Acetyl-CoA 和 Malonyl-CoA 流经 FAS 和 PKS 途径分别合成中长链脂肪酸和 EPA;在外界温度和浅蓝菌素的作用下,其脂肪酸组分发生相应的变化。在 0℃ 和 10℃ 下用 3 μ g/mL 的浅蓝菌素处理,发现静置培养条件下 EPA 的总脂肪酸百分比和单位干菌含量高于振荡条件下培养,但生物量及 EPA 单位体积培养基含量较低。因而 0℃ 静置培养时加入 3 μ g/mL 的浅蓝菌素,其 EPA 的总脂肪酸百分比含量和单位干菌含量最高,分别为 11.5% 和 6.7mg/g;10℃ 振荡培养时加入 3 μ g/mL 的浅蓝菌素,其单位体积培养液 EPA 含量最高达 3.6mg/L。El razak^[26]报道其筛选的 *Shewanella* sp. 717 在 20℃ 下摇瓶发酵 EPA 的总脂肪酸百分比和单位干菌含量依次为 8% 和 9mg/g,经发酵罐及发酵条件优化后其相应含量增至 25%

和 46mg/g, 由于我们尚未使用发酵罐来精确控制 pH 和含氧量等条件, 因此 *S. baltica* 6-42 的 EPA 含量有进一步提高的可能。

本次实验筛选出四株产 EPA 的北极细菌, 丰富了产 EPA 的极地细菌资源。随后研究了温度和浅蓝菌素等培养条件对一株希瓦氏菌 *S. baltica* 6-42 合成 EPA 的影响, 发现静置培养和低温可促进 EPA 合成但抑制菌体生长, 3μg/mL 的浅蓝菌素促进 EPA 合成且不影响菌体生长, 为今后产 EPA 菌株发酵提供参考依据。同时结合 TTC 显色结果及脂肪酸组分分析推测 *S. baltica* 6-42 经由 PKS 途径合成 EPA, 且对其脂肪酸谱分析发现含有多种羟基脂肪酸和支链脂肪酸, 为研究这些脂肪酸的生物合成途径提供了新的菌种材料。

参考文献:

[1] Swanson D, Block R, Mousa S A. Omega-3 fatty acids EPA and DHA; health benefits throughout life [J]. Adv-Nutr, 2012, 3: 1-7.

[2] Salem Jr N, Litman B, Kim H Y, et al. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system [J]. Lipids, 2001, 3: 945-959.

[3] Miyajima T, Tsujino T, Saito K, et al. Effects of eicosapentaenoic acid on blood pressure, cell membrane fatty acids, and intracellular sodium concentration in essential hypertension [J]. Hypertens Res, 2001, 24: 537-542.

[4] 朱路英, 张学成. n-3 多不饱和脂肪酸 EPA、DHA 研究进展 [J]. 海洋科学, 2007, 31(11): 78-85.

[5] Gong Y M, Wan X, Jiang M L, et al. Metabolic engineering of microorganisms to produce omega-3 very long-chain polyunsaturated fatty acids [J]. Progress in Lipid Research, 2014, 56: 19-35.

[6] Xue Z X, Sharpe P L, Hong S P, et al. Production of omega-3 eicosapentaenoic acid by metabolic engineering of *Yarrowia lipolytica* [J]. Nature Biotechnology, 2013, 31(8): 734-741.

[7] Tonon T, Harvey D, Larson T R, et al. Long chain polyunsaturated fatty acid production and partitioning totriacylglycerols in four microalgae [J]. Phytochemistry, 2002, 61: 15-24.

[8] 万 霞, 江木兰. 细菌通过聚酮合成酶途径合成多不饱和脂肪酸的研究进展 [J]. 中国油料作物学报, 2011, 31(1): 68-73.

[9] Orikasa Y, Yamada A, Yu R, et al. Characterization of the eicosapentaenoic acid biosynthesis gene cluster from *Shewanella* sp. strain SCRC-2738 [J]. Cell Mol Biol, 2004, 50: 625-630.

[10] Allen E E, Facciotti D, Bartlett D H. Monounsaturated

but notpolyunsaturated fatty acids are required forgrowth of the deep-sea bacterium *Photobacterium profundum* SS9 at high pressure and lowtemperature [J]. Appl EnvrMicrobiol, 1999, 65: 1 710-1 720.

[11] Tanaka M, Ueno A, Kosei Kawasaki K, et al. Isolation of clustered genes that are notably homologous to the eicosapentaenoic acid biosynthesis gene cluster from the docosahexaenoic acid producing bacterium *Vibrio marinus* strain MP-1 [J]. Biotech Lett, 1999, 21: 939-945.

[12] Bianchi A C, Olazabal L, Torre A, et al. Antarctic microorganisms as source of the omega-3 polyunsaturated fatty acids [J]. World J Microbiol Biotech, 2014, 30: 1 869-1 878.

[13] Ryan J, Farr H, Visnovsky S, et al. A rapid method for the isolation of eicosapentaenoic acid producing marine bacteria [J]. Microbiol Methods, 2010, 82: 49-53.

[14] Yazawa K. Production of eicosapentaenoic acid from marine bacteria [J]. Lipids, 1996, 31: 297-300.

[15] Russell N, Nichols. Polyunsaturated fatty acids in marine bacteria - a dogma rewritten [J]. Microbiol, 1999: 145: 767-779.

[16] Amiri-Jami M, Griffiths MW. Recombinant production of omega-3 fatty acids in *Escherichia coli* using a gene cluster isolated from *Shewanella baltica* MAC1 [J]. J Appl Microbiol, 2010, 109(6): 897-905.

[17] Lee S J, Jeong Y S, Kim D U, et al. Eicosapentaenoic acid (EPA) biosynthetic gene cluster of *Shewanella oneidensis* MR-1: cloning, heterologous expression and effect of temperature and glucose on the production of EPA in *Escherichia coli* [J]. Biotech Bioproc Eng, 2006, 11: 510-515.

[18] Zhu M, Liu Z, Xu H B, et al. Isolating *Mortierella alpina* strains of high yield of arachidonic acid [J]. Lett Appl Microbiol, 2004, 39: 332-335.

[19] Metz J G, Roessler P, Facciotti D, et al. Production of polyunsaturated fatty acids by polyketide synthases in both prokaryotes and eukaryotes [J]. Science, 2001, 293: 290-293.

[20] David S, Nichols, Brown J L, et al. Production of eicosapentaenoic and arachidonic acids by an Antarctic bacterium: response to growth temperature [J]. Microbiol Lett, 1997, 152: 349-354.

[21] Elke Freese, Heike Rutters. Gammaproteobacteria as a possible source of eicosapentaenoic acid in anoxic intertidal sediments [J]. Microbiol Ecol, 2009, 57: 444-454.

[22] 王 峰. 深海细菌 *Shewanella piezotolerans* WP3 极端环境适应性机理的研究—脂肪酸系统与深海噬菌体 SW1 在环境适应中的作用和调控 [D]. 厦门: 厦门大学

学,2008.

[23] Price A C, Choi K H, Heath R J, et al. Inhibition of β -ketoacyl - acyl carrier protein synthases by thiolactomycin and cerulenin[J]. J Biolog Chem,2001 ,276(9) : 6 551 - 6 559.

[24] Heath R J, White S W, Rock C O. Lipid biosynthesis as a target for antibacterial agents[J]. Prog Lipid Res, 2001 ,40:467 - 497.

[25] Morita N, Nishida T, Tanaka M Y, et al. Enhancement of polyunsaturated fatty acid production by cerulenin treatment in polyunsaturated fatty acid - producing bacteria[J]. Biotechnol Lett,2005 ,27 :389 - 393.

[26] El razak A A, Ward A C, Glassey J. Process development of eicosapentaenoic acid production [J]. Biochem Eng J,2014 ,82(1) :53 - 62.

(责任编辑:肖唐华)

《植物遗传资源学报》征订启事

《植物遗传资源学报》是中国农业科学院作物科学研究所和中国农学会主办的学术期刊,为中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库来源期刊(核心期刊)、中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊,又被《中国生物学文摘》和中国生物学文献数据库、中文科技期刊数据库收录。2015 年本刊影响力大幅提升,在农艺学类期刊排名中均提前。据《中国科技期刊引证报告》(核心版)统计:《植物遗传资源学报》影响因子为 1.149,比 2014 年提高了近 10%,在农艺学类期刊中排名第 3。据 CNKI《中国学术期刊影响因子年报》统计:《植物遗传资源学报》复合影响因子为 1.695,在 48 种农艺学类期刊排名第 4,期刊综合影响因子 1.146。

报道内容为大田、园艺作物,观赏、药用植物,林用植物、草类植物及其经济植物的有关植物遗传资源基础理论研究、应用研究方面的研究成果、创新性学术论文和高水平综述或评论。诸如,种质资源的考察、收集、保存、评价、利用、创新,信息学、管理学等;起源、演化、分类等系统学;基因发掘、鉴定、克隆、基因文库建立、遗传多样性研究。

双月刊,大 16 开本,196 页。定价 20 元,全年 120 元。各地邮局发行。
邮发代号:82 - 643。国内刊号 CN11 - 4996/S,国际统一刊号 ISSN1672 - 1810。
本刊编辑部常年办理订阅手续,如需邮挂每期另加 3 元。

地址:北京市中关村南大街 12 号《植物遗传资源学报》编辑部
邮编:100081 电话:010 - 82105794 010 - 82105796(兼传真)
网址:www. zwyczy. cn
E - mail:zwyczyxb2003@ 163. com zwyczyxb2003@ caas. cn