

钝齿棒杆菌精氨酸生物合成相关 基因簇 *argCJBDFR* 的扩增及序列分析*

陈雪岚 许正宏 陶文沂**

王正祥

(江南大学教育部工业生物技术重点实验室 无锡 214036) (江南大学工业微生物研究中心 无锡 214036)

摘要 采用 PCR 方法扩增钝齿棒杆菌精氨酸生物合成基因簇 *argCJBDFR*, 其序列长为 6080bp, 其中含有 *argJ*、*argB*、*argD*、*argF* 和 *argR* 5 个完整的开放阅读框。序列和结构分析表明这 5 个结构基因编码的氨基酸序列与谷氨酸棒杆菌的相应基因编码的氨基酸高度同源, 同源性分别为 92%、95%、96%、97.5% 和 100%。

关键词 钝齿棒杆菌 精氨酸 基因簇 序列分析

Cloning and sequencing of the tandem arginine biosynthetic genes *argCJBDFR* from *Corynebacterium crenatum* A.S1.542. CHEN Xue-Lan, XU Zheng-Hong, TAO Wen-Yi (Key Laboratory of Industry Biotechnology, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China), WANG Zheng-Xiang (The Research Center of Industry Microbiology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China), *CJEA*, 2006, 14(2): 32 ~ 36

Abstract The tandem arginine biosynthetic genes *argCJBDFR* from *Corynebacterium crenatum* were amplified by PCR. Sequence analysis indicates that there are five open reading frames, including *argJ*, *argB*, *argD*, *argF* and *argR* in the 6080bp stretch. The amino acid sequences coded by *argCJBDFR* genes show 92%, 95%, 96%, 97.5% and 100% identity to those of *Corynebacterium glutamicum*, respectively.

Key words *Corynebacterium crenatum*, Arginine, Tandem genes, Sequence analysis

(Received Nov.10, 2004; revised Dec.22, 2004)

精氨酸是生物体尿素循环的一种重要中间代谢产物, 具有多种独特的生理和药理作用。正常情况下机体能自身合成 L-Arg, 但在饥饿、损伤、疾病、应急状态及生长阶段机体对 L-Arg 的需求超过了自身合成能力, 因此及时补充外源性 L-Arg 有利于提高机体免疫能力。此外研究发现 L-Arg 对氨中毒性肝昏迷及病毒性肝炎有显著疗效, 对于恶性肿瘤、脂肪肝、外科创伤和男性无精症等有明显抑制、减轻或治疗作用; 随着 L-Arg-NO 途径在临床上研究的不断深入, 发现 L-Arg 还具有抗动脉粥样硬化、防治高血压及心力衰竭等作用^[1~3]。精氨酸在医药、食品、饲料及化妆品行业有着越来越广泛的应用, 但精氨酸生产量远不能满足市场需求, 我国目前主要依赖于进口。

在原核微生物中, L-Arg 的合成是从谷氨酸开始, 经历了 8 种酶催化而成。根据脱乙酰基团方式的不同, L-Arg 的代谢途径分为两种: 一种称之为线形途径, 即乙酰鸟氨酸在由 *argE* 基因编码的乙酰鸟氨酸酶水解作用下形成精氨酸前体物——鸟氨酸^[4,5]; 另一种称之为循环途径, 即乙酰鸟氨酸在由 *argJ* 基因编码的鸟氨酸乙酰转移酶的作用下形成鸟氨酸的同时, 乙酰基团被转移至谷氨酸形成乙酰谷氨酸, 此途径中鸟氨酸乙酰转移酶具有乙酰鸟氨酸酶和乙酰谷氨酸合成酶二重功能, 故此途径又称为经济循环途径^[4,6~8]。目前国内外多采用以循环途径合成精氨酸的棒杆菌属菌作为生产菌株。棒杆菌生物合成精氨酸途径中受精氨酸反馈抑制的关键酶为 *argB* 基因编码的乙酰谷氨酸激酶, 此酶不仅被 Arg 反馈抑制亦被其反馈阻遏; 同时与 *argB* 基因串联的 *argJ* 基因编码的乙酰鸟氨酸转移酶决定精氨酸的代谢途径, *argR* 基因编码精氨酸阻遏蛋白, 对精氨酸的生物合成起调控作用。

钝齿棒杆菌 A.S1.542 (*Corynebacterium crenatum*) 是我国研究者分离得到的一种钝齿状、无芽孢的革兰氏阳性菌, 其突变株在国内氨基酸生产中被广泛应用, 但对其精氨酸代谢途径的特异性研究尚未见相关报

* “十五”江苏省科技攻关项目(BE2001041)资助

** 通讯作者

收稿日期: 2004-11-10 改回日期: 2004-12-22

道。本实验扩增了钝齿棒杆菌 A S1 542 中精氨酸生物合成途径中串联基因,为从分子水平改造钝齿棒杆菌 A S1 542、提高精氨酸产量以达到工业化大规模生产奠定基础。

1 实验材料与方法

供试试剂 Tap DNA 聚合酶购自上海生物工程技术服务公司,溶菌酶购自 Sigma 公司,蛋白酶 K 购自大连宝生生物有限公司, Wizard™ Plus Minipreps DNA purification Systems 购自 Promega 公司,引物由北京三博远志生物公司合成。实验用菌株为“*C. crenatum* A S1 542”,购自中国科学院微生物菌种保藏中心。实验将 *C. crenatum* 接种至牛肉汁液体培养基中,30、150r/min 恒温培养 48h。采用溶菌酶和蛋白酶 K 结合方法提取其基因组 DNA。根据序列同源性,参考已报道的 *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032^[6]、*Corynebacterium diphtheriae gravis* NCTC13129^[9]、*Corynebacterium efficiens* YS-314^[10] 和 *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551^[11] 生物合成精氨酸串联

基因 *argCJBDFR* 的高度保守序列,设计了 4 对特异引物,具体见表 1。PCR 反应体系为 10 × Taq Buffer (2.5 μL), dNTP (10mmol/L, 0.5 μL), Mg²⁺ (25mmol/L, 2 μL), 上游引物 (10 μmol/L, 1 μL), 下游引物 (10 μmol/L, 1 μL), 模板 DNA (1 μL, 约 10ng), 双蒸水 (16.5 μL), Taq 酶 (1U μL, 1 μL)。根据各对引物的 *T_m* 值,通过温度梯度 PCR 确定最佳退火温度。扩增 *argCJ* 片段 PCR 程序为 95 3 min;

95 1 min, 58 0.5 min, 72 2 min, 30 个循环; 72 10 min。扩增 *argJBD* 片段 PCR 程序为 95 3 min; 95 1 min, 55 0.5 min, 72 2 min, 30 个循环; 72 10 min。扩增 *argDF* 片段

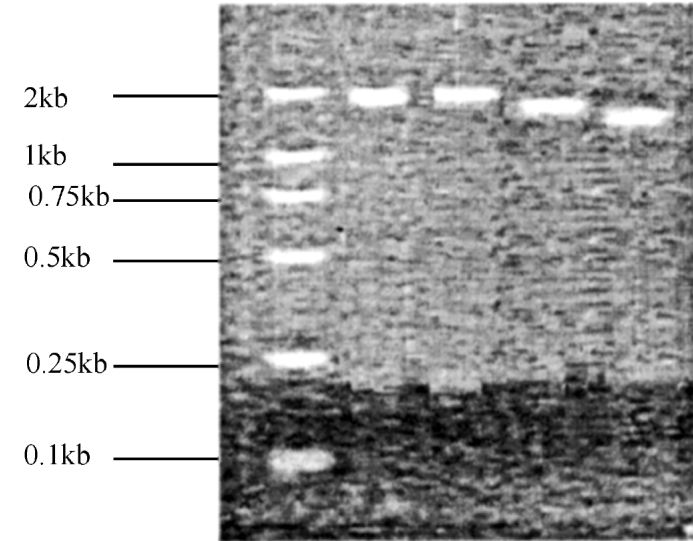


图 1 各对引物 PCR 扩增串联基因结果*

Fig 1 The result of tandem arginine biosynthetic genes amplified by PCR

*泳道 1 为 DL2000Marker, 泳道 2、3、4 和 5 分别为 *argCJ*、*argJBD*、*argDF* 和 *argFR*。

2.2 序列分析

长为 6.08kb 的序列包括 *argJ*、*argB*、*argD*、*argF* 和 *argR* 5 个完整的开放阅读框 (ORF), *argC* 获得部分 ORF。这 6 个 ORFs 的顺序、方向及 4 对引物位置见图 2。序列分析显示在 *argJ*、*argB*、*argD*、

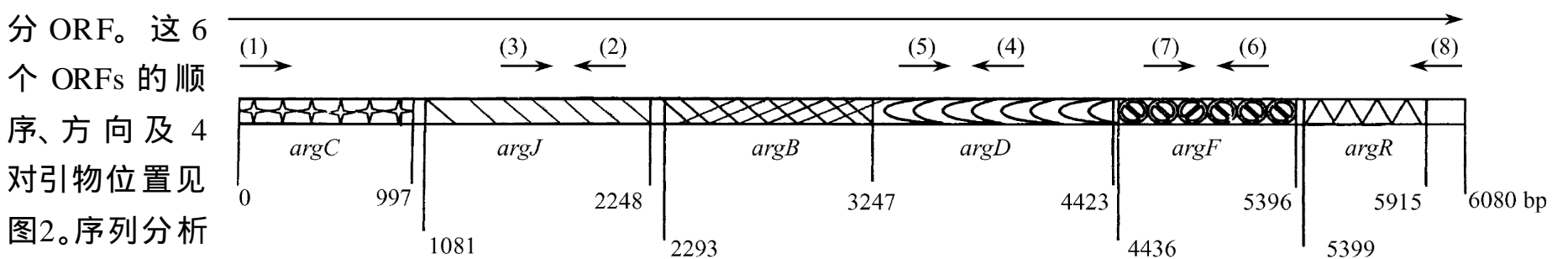


图 2 长 6.08kb 的钝齿棒杆菌 A S1 542 基因顺序及其限制性酶切图谱*

Fig 2 Genetic and restriction maps of the 6.08kb stretch of *C. crenatum* A S1 542 DNA

*箭头指示 ORFs 的方向,序号为各引物。

表 1 引物名称及其序列

Tab.1 Primer names and their sequence

| 引物名称 Primer names | 引物序列 Primer sequence | <i>T_m</i> |
|-------------------------|--------------------------------------|----------------------|
| Sense- <i>argC</i> | (1) 5' TCAAGGTTGCAATCGCAGGAGCCA 3' | 72 |
| Antisense- <i>argJ</i> | (2) 5' GCAACTCACCAATAAGACCAGTGGGA 3' | 72 |
| Sense- <i>argJ</i> | (3) 5' CCGCAGCGGCCGTGTTTACACG 3' | 70 |
| Antisense- <i>argJD</i> | (4) 5' GACAAGATTGTTGTCGTGAAATATC 3' | 64 |
| Sense- <i>argD</i> | (5) 5' ATCTTTGGAATCATGCCGGAATC 3' | 70 |
| Antisense- <i>argDF</i> | (6) 5' TCTTCGTCGGTGATCACCAGCGG 3' | 74 |
| Sense- <i>argF</i> | (7) 5' CATGCCAGATTCTGGCTGATCTGCAG 3' | 80 |
| Antisense- <i>argR</i> | (8) 5' GCAAGAACGATGCGGTTAGTCATG 3' | 72 |

2 结果与分析

2.1 各对引物 PCR 扩增

利用特异性引物,以 *C. crenatum* 基因组 DNA 为模板,采用 DNA 聚合酶进行 PCR 扩增其结果见图 1。测序完成后拼接获得全序列,在 GenBank 中通过 Blast 查询确认该片段为精氨酸生物合成的串联序列 *argCJBDFR*,其总长度为 6080bp。将获得的基因在 GenBank 登录,登录号为 AY509864。

argF 和 *argR* 5 个 ORFs 的上游区均存在与转录起始有关的典型 SD 序列。*argJ* (1081 ~ 2247) 上游 - 10bp 处有一核糖体结合区 GGAG; *argB* (2293 ~ 3246) 上游 - 11bp 处有一核糖体结合区 AGG, *argD* (3247 ~ 4422) 上游 - 12bp 处有一核糖体结合区 GGGGA, 此结合区位于 *argB* 基因序列内; *argF* (4436 ~ 5395) 上游 - 13bp 处有一核糖体结合区 AGGA; *argR* (5399 ~ 5914) 上游 - 10bp 处有一核糖体结合区 GAGG。这与在 *E. coli* 和枯草杆菌 (*Bacillus subtilis*) 中已证实核糖体结合区与转录起始位点的最适距离为 7 ~ 9bp 存在差异, 该差异可能与棒杆菌表达系统本身的特殊性或 *C. crenatum* 中串联序列 *argJBDFR* 的翻译效率有关。经分析这 5 个 ORFs 的结构基因下游均无固定特征, 且未发现 4 ~ 8 个 A 或 T 组成的序列 (*argB* 基因例外), 推测串联基因转录的终止依赖于 σ 因子的存在。

应用 TRANSFAC 中的 FastM PatSearch V1 .1 和 Mat Inspector V2 .2 程序以及 BCM HGSC 提供的 NNPP/ Prokaryotic 程序对串联基因序列进行分析预测, 寻找可能的启动子区域, 预测出 *argB* 基因上游具有潜在的启动子活性。Pribnow 盒在 *argB* 基因上游 - 134bp, Sextama 盒在 *argB* 基因上游 - 146bp, 二者间隔 12bp; *argB* 基因上游 - 91bp 至 - 126bp 存在一对长为 6bp 的反向重复序列, 推测是调控蛋白质识别的 DNA 序列, 即操纵子区域。

argJ 基因编码的氨基酸序列分析。*argJ* 基因编码一个由 389 氨基酸组成的分子量为 39.8kD 的鸟氨酸乙酰转移酶 (OAT), 富含丙氨酸 (15.7%); 其编码的 12 个精氨酸密码子中有 3 个稀有密码子 CGA (25%)。在 *C. glutamicum* ATCC13032 中 *argJ* 编码的蛋白酶也出现了这种偏好密码子, 12 个精氨酸密码子中有 4 个是稀有密码子^[6]。经 BLAST 比较分析, *C. crenatum* A.S1.542 的 *argJ* 基因编码的 OAT 与 *C. glutamicum*、*C. diphtheriae gravis* NCTC13129、*C. efficiens* YS-314 和 *M. tuberculosis* CDC1551 的分别享有 92%、67%、79% 和 53% 的同源性。

C. crenatum 的 OAT 与只具有乙酰鸟氨酸酶的功能、无乙酰转移酶活性的同属菌 *C. glutamicum*、*C. efficiens* 及 *C. diphtheriae* 的 OAT 比较, 相同氨基酸数为 270, 相同氨基酸均匀分布在整个氨基酸序列上; 且与 *C. glutamicum* 的 OAT 相同氨基酸数高达 357, 据此可认为 *C. crenatum* 的 *argJ* 结构基因编码的 OAT 亦为单功能酶。同时比较其他具有双功能的 OAT 菌株, 包括 *Lactococcus lactis*^[12]、*Bifidobacterium longum*^[13]、*Streptomyces clavuligerus*^[14]、*B. stearothermophilus*^[8]、*B. subtilis*^[15]、*M. tuberculosis*、*Neisseria meningitidis serogroup*^[16] 及 *Therm. tengcongensis*^[17], 得出 OTA 是否具有双功能与 OTA 的氨基酸数无关, 其中 *C. glutamicum*、*C. efficiens* 及 *C. diphtheriae* 与 *Lactococcus lactis*、*Bifidobacterium longum*、*Streptomyces clavuligerus* 和 *Therm. tengcongensis* 菌在 N 端均比其他菌少 8 ~ 13 个氨基酸, 这与前人认为的因为在 OTA 的 N 端少几个或十几个氨基酸而使 OTA 不具备乙酰转移酶活性^[6], 即 N 端缺失的氨基酸与转乙酰基团无关存在差异。

argB 基因编码的氨基酸序列分析。*argB* 基因编码一个由 313 氨基酸组成的 34.6kD 的蛋白酶——乙酰谷氨酸激酶 (AGK)。在 *argB* 基因中稀有的甘氨酸密码子 GGA 和 GGG 在 28 个甘氨酸密码子中有 7 个, 占甘氨酸密码子的 25%。BLAST 比较结果显示 *C. crenatum* A.S1.542 的 *argB* 基因编码的 AGK 多肽序列与 *C. glutamicum* ATCC13032 的序列同源性高达 95%; 与 *Bifidobacterium longum* NCC2705 的有 63% 的相同氨基酸, 与 *N. meningitidis serogroup B* 的有 48% 的相同氨基酸。

AGK 属于一类需 Mg^{2+} 激活的酶家族。研究表明不同种属来源的激酶存在着高度保守的区域。在序

| | | ### | 列的 C 端, 都存在一段 |
|---------------------------------|---------------------------------------|-----|--------------------------|
| <i>C. crenatum</i> -AGK | LNAVRRGGVSAAHVIDGRIHSAVLELLTMGGIGTMVL | 293 | 被认为是 ATP 结合位 |
| <i>C. glutamicum</i> -AGK | LNAVRRGGVSAAHVIDGRIHSAVLELLTMGGIGTMVL | 293 | 点的共同序列 GIG (其 |
| <i>C. efficiens</i> -AGK | ATEDRGGVNAAHVIDGRIHSAVLELLTMGGIGTMVL | 293 | 中 I 可为 K、S、A、T 或 |
| <i>E. coli</i> -AGK | NVNADQAATALAATLGADLILLSVSGILDGKQRIA | 194 | C)。 <i>C. crenatum</i> 的 |
| <i>C. diphtheriae</i> -AGK | VEGLYTDWPNKDSLVSVIGAERLREKLSALGSGMIPK | 251 | AGK 在 287、288 和 |
| <i>Mycobacterium bovis</i> -AGK | LRAVIGGVPSAHIIDGRVTHCVLVELFTDAGTGKVV | 292 | 289 有 ABC (ATP- |

图 3 具有 ATP 结合结构域蛋白*

Fig. 3 Putative ATP-binding domain protein

* # 指示 ATP 结合位点。

转运子核苷酸结合的氨基酸残基 GIG。图 3 列举了 *C. crenatum*

的 AGK 与其他几种菌的 AGK 蛋白的 ATP 结合位点。

argD 基因编码的氨基酸序列分析。*argD* 基因编码一个分子量为 43.8kD, 由 392 氨基酸组成的乙酰鸟氨酸转氨酶(AOAT), 富含丙氨酸(12.2%)、甘氨酸(10.5%)和缬氨酸(10.2%), 无明显偏好密码子。经 BLAST 分析, *argD* 基因编码的多肽序列与 *C. glutamicum* 的 AOAT 有 98.5% 相同氨基酸; 与 *C. efficiens* 的有 77.4% 相同氨基酸; 与 *C. diphtheriae* 的有 61.5% 相同氨基酸; 与 *M. tuberculosis* 的有 52.2% 相同氨基酸。

argF 基因编码的氨基酸序列分析。*argF* 基因编码一个分子量为 34.2kD, 由 320 氨基酸组成的鸟氨酸转氨甲酰酶(OCAT), 富含丙氨酸(11.6%), 无明显偏好密码子。经 BLAST 分析, *argF* 基因编码的 OCAT 与 *C. glutamicum* 的有 97.5% 相同氨基酸; 与 *C. efficiens*、*C. diphtheriae* 及 *M. tuberculosis* 的分别享有 84.95%、75.5% 和 58.1% 相同氨基酸。

argR 基因编码的氨基酸序列分析。*argR* 基因编码一个分子量为 18.2kD, 由 172 氨基酸组成的精氨酸抑制子(AR), 富含亮氨酸(14.5%)。*argR* 基因中稀有的甘氨酸密码子 GGA 和 GGG 在 15 个甘氨酸密码子中有 5 个, 达 33.3%。经 BLAST 分析, *C. crenatum* 的 *argR* 基因与 *C. glutamicum* 的 *argR* 基因虽存在 3 个碱基的差异, 但由于密码子的简并性, *C. crenatum* 的 *argR* 基因编码的精氨酸抑制子与 *C. glutamicum* 的氨基酸 100% 相同; 与 *C. diphtheriae*、*C. efficiens* 及 *M. tuberculosis* 分别有 63.7%、73.7% 和 49.1% 的相同氨基酸。AR 属于调控蛋白, 具有 DNA 结合结构域。*C. crenatum* 的 AR 结合 DNA 的结构域位于第 14~89 位氨基酸。

3 小结与讨论

本实验参照 *C. glutamicum*、*C. diphtheriae*、*C. efficiens* 和 *M. tuberculosis* 生物合成精氨酸基因簇序列, 设计 4 对特异性引物, 获得 *C. crenatum* 的相应基因, 并对其编码的氨基酸序列进行分析。*C. crenatum* 的相应基因序列及其推导的氨基酸序列与 *C. glutamicum* 同源性非常高, 说明二者的亲源关系密切。*C. crenatum* 的 *argJ* 基因编码的 OTA 只具有乙酰鸟氨酸酶的功能, 为单功能酶, OTA 是否具有双功能与 N 端少几个或十几个氨基酸无关。采用循环途径生物合成精氨酸的生物, *argJ* 编码的蛋白酶一般具有双功能, 棒杆菌属的菌属于这类代谢途径的特例。*argB* 基因上游有一启动子序列和阻遏蛋白结合区域。在 *C. crenatum* A.S1.542 的精氨酸生物合成串联序列中, *argB* 的终止密码子 TAA 和 *argD* 的起始密码子 ATG 紧密相邻, *argD* 与 *argF* 相距 13bp, *argF* 与 *argR* 相距 3bp, 提示这 4 个 ORFs 位于同一转录单元。

C. crenatum A.S1.542 产精氨酸的量按坂口试剂法检测几乎趋于零, 但本实验室已采用亚硝基胍诱变此菌, 使之产精氨酸的量达到 4mg/mL。通过与原始菌株基因的比较, 研究其诱变型 *C. crenatum* 生物合成精氨酸基因簇的变化, 可为采用基因工程手段探索改良 *C. crenatum* 提供线索, 从而为进一步提高精氨酸产量起到积极作用。

参 考 文 献

- 1 胡圣望, 胡望平, 胡松林. 中脑导血管周围灰质微量注射 N-硝基左旋精氨酸和硝普纳对大鼠血管的影响. 解剖学研究, 2002, 24(1): 43
- 2 Li W, Jia G, Guo W, et al. Nitric oxide opens second window of protect in ischemic preconditioning via indication of heat-shock protein 72. Chin. Med. J., 2003, 116(2): 258~262
- 3 Jaroszewski J J, Skarzynski D J, Blair R M, et al. Influence of nitric oxide on the secretory function of the bovine corpus luteum: dependence on cell composition and cell-to-cell communication. Exp. Biol. Med., 2003, 228(6): 741~748
- 4 Cunin R, Glansdorff N, Pierard A, et al. Biosynthesis and metabolism of arginine in bacteria. Micromol Rev., 1986, 50: 314~352
- 5 Rajagopal B S, Joseph deponete, Mendel Tuchman, et al. Use of inducible feedback-resistant N-acetylglutamate synthetase genes for enhanced arginine biosynthesis by genetically engineered *Escherichia coli* K-12 strains. Applied and Environmental Microbiol., 1998, 5: 1805
- 6 Vehary Sakanyan, Pavel Petrosyan, Michele Lecocq, et al. Genes and enzymes of the acetyl cycle of arginine biosynthesis in *Corynebacterium glutamicum*: enzyme evolution in the early steps of the arginine pathway. Microbiol., 1996, 142: 99~108
- 7 Van de Castele M, Demarez M, Legrain C, et al. Pathways of arginine biosynthesis in extreme thermophilic archaea and eubacteria. J Gen. Microbiol., 1990, 136: 1177~1183
- 8 Vehary Sakanyan, Daniel Charlier, Christianne Legrain, et al. Primary structure, partial purification and regulation of key enzymes of the acetyl cycle of arginine biosynthesis in *Bacillus stearothermophilus*: dual function of ornithine acetyltransferase. J Gen. Micro., 1993, 139: 393~402
- 9 Cerdeno-Tarraga A. M, Efstratiou A, Dover L. G, et al. The complete genome sequence and analysis of *Corynebacterium diphtheriae*

- NCTC13129 . J . Nucleic . Acids . Res , 2003 , 31(22) : 6516 ~ 6523
- 10 Nishio Y , Nakamura Y , Kawarabayasi Y , *et al* . Comparative complete genome sequence analysis of the amino acid replacements responsible for the thermostability of *Corynebacterium efficiens* . J . Genome Res , 2003 , 13(7) : 1572 ~ 1579
- 11 Cole S . T , Brosch R , Parkhill J , *et al* . Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence . J . Nature , 1998 , 393(6685) : 537 ~ 544
- 12 Bolotin A , Wincker P , Mauger S , *et al* . The complete genome sequence of the lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* ssp . *lactis* IL1403 . Genome Res , 2001 , 11(5) : 731 ~ 753
- 13 Schell M . A , Karmirantzou M , Snel B , *et al* . The genome sequence of *Bifidobacterium longum* reflects its adaptation to the human gastrointestinal tract . J . Proc . Natl . Acad . Sci . U . S . A . , 2002 , 99(22) : 14422 ~ 14427
- 14 Tahlan K , Park H . U , Wong A . , *et al* . Two sets of paralogous genes encode the enzymes involved in the early stages of clavulanic acid and clavam metabolite biosynthesis in *Streptomyces clavuligerus* . Antimicrob . Agents Chemother . , 2004 , 48(3) : 930 ~ 939
- 15 OpReilly M , Devine K . M . Sequence and analysis of the citrulline biosynthetic operon argC-F from *Bacillus subtilis* . Microbiol , 1994 , 140 : 1023 ~ 1028
- 16 Parkhill J , Achtman M , James K . D , *et al* . Complete DNA sequence of a serogroup A strain of *Neisseria meningitidis* Z2491 . J . Nature , 2000 , 404(6777) : 502 ~ 506
- 17 Bao Q , Tian Y , Li W , *et al* . A complete sequence of the *T . tengcongensis* genome . Genome Res . , 2002 , 12(5) : 689 ~ 700

中国生态农业学报 征稿启事

中国生态农业学报 (原刊名 **生态农业研究**) 由中国科学院遗传与发育生物学研究所和中国生态经济学会主办, 科学出版社出版, 系中国科技核心期刊和中国科学引文数据库源刊, 荣获第三届和第四届全国农业优秀期刊一等奖和首届中国北方优秀期刊奖。本刊为季刊, 季初月出版, 国际标准大 16 开本, 192 页, 国际刊号: ISSN1671-3990, 国内刊号: CN13-1315/S。国内外公开发行人, 国内新邮发代号: 82-973, 国外发行代号: Q1625, 全国各地邮局均可订阅, 敬请广大读者订户及时在报刊发行目录北京地区栏目寻找订购本刊。本刊旨在探索与研究生态农业的理论、方法、技术创新及其研究进展等, 推动学科发展, 主要刊登生态学、生态经济学、农林牧副渔及资源与环境保护等领域具有创新性的研究学术论文、研究技术报告(包括理论与应用研究、农业生态工程技术与实用生物技术、生物多样性保护、湿地保护、资源优化配置与开发及其效益研究、城镇绿地生态建设、无公害农产品生产技术、农业环境污染防治技术及生态农业产业化与循环经济、农业可持续发展研究等方面)、研究简报及综述、生态省(市)建设、生态农业建设和生态示范区典型模式与典型经验等, 欢迎国内外从事生态学、生态经济学、农林牧副渔、资源与环境保护等领域科技人员、教学和管理工作者以及基层从事生态农业建设的技术与管理人員踊跃投稿。来稿请按国家标准 GB7713—87 《科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式》撰写。来稿请注明科研项目来源, 本刊对国家自然科学基金资助项目、863 项目、973 项目、省(部)级以上重大攻关项目和国家开放实验室研究项目等论文将优先发表, 凡获省(部)级以上成果奖者请注明, 并提供获奖复印件及单位证明。来稿请寄: 石家庄市槐中路 286 号 **中国生态农业学报** 编辑部; 邮政编码: 050021; 电话: (0311) 85818007。网址: [http:// www .sjziam .ac .cn](http://www.sjziam.ac.cn) E-mail: editor@ms.sjziam.ac.cn

本刊编辑部