

球状轮藻叶绿体全基因组的组装与特征分析

方 琰, 胡莎莎, 张冬群, 吕 婕, 李 锐, 卿人韦, 兰利琼
(四川大学生命科学学院生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610065)

摘 要: 为揭示球状轮藻叶绿体全基因组的特征以及探究其在轮藻科内的系统发育关系, 本研究基于高通量测序技术对其叶绿体全基因组进行组装和序列分析. 结果表明: 球状轮藻叶绿体基因组全长 180 652 bp, GC 含量 26.6%, 具有典型的四分体环状结构, 与普生轮藻十分类似; 球状轮藻叶绿体基因组共注释出 137 个基因, 其中包括 94 个蛋白质编码基因、37 个 tRNA 基因和 6 个 rRNA 基因, 比无色丽藻多 2 个蛋白质编码基因和 3 个 tRNA 基因, 与高等植物相比具有 *rpl12*、*trnL(gag)*、*rpl19*、*ycf20* 四个特殊基因; 球状轮藻叶绿体全基因组共检测出 87 个 SSR 位点且绝大部分由 A 和 T 构成; 此外, 球状轮藻共包含 24 989 个密码子且密码子使用更偏好 A 和 T, 亮氨酸(Leu)是编码氨基酸最多的密码子; 通过邻近法(NJ)对包括球状轮藻在内的 5 个种的叶绿体全基因组构建系统发育树显示, 球状轮藻的亲缘关系与普生轮藻更为接近. 本研究对球状轮藻叶绿体全基因组进行了解析, 利用现有数据确立其系统发育学地位.

关键词: 球状轮藻; 叶绿体基因组; 简单重复序列; 密码子偏好性; 系统发育

中图分类号: Q949.21 **文献标识码:** A **DOI:** 10.19907/j.0490-6756.2021.046004

Assembly and characteristic analysis of
Chara globularis chloroplast whole genome

FANG Yan, HU Sha-Sha, ZHANG Dong-Qun, LÜ Jie, LI Rui, QING Ren-Wei, LAN Li-Qiong
(Key Laboratory of Bio-Resource and Eco-Environment of Ministry of Education,
College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract: In order to reveal the characteristics of the entire chloroplast genome of *Chara globularis* and explore its phylogenetic relationship in Characeae, high-throughput sequencing technology was used to assemble and sequence the entire chloroplast genome. The study showed that *C. gloublaris* is a circular molecule of 180 652 bp in length with a typical quadripartite structure and a 26.6% GC-content. 137 chloroplast genes were successfully annotated, including 94 protein-coding genes, 37 tRNA genes and 6 rRNA genes. There are 2 more protein-coding genes and 3 more tRNA genes than *Nitella hyalina*. Compared to land plants, *C. globularis* has four special genes: *rpl12*, *trnL(gag)*, *rpl19*, and *ycf20*. A total of 87 SSR loci were detected in the genome, and most of them were composed of A and T. In addition, *C. gloublaris* contains a total of 24 989 codons and the codon usage prefers A and T. Leucine (Leu) is the codon that encodes the most amino acids. The phylogenetic tree constructed by the Neighbor Joining(NJ) on the entire chloroplast genomes of 5 species including *C. gloublaris*. showed that the phylogenetic relationship of *C. gloublaris* was closer to that of *Chara vulgairs*. This study analyzed the

收稿日期: 2021-01-14
基金项目: 国家自然科学基金(30470143, 40976092)
作者简介: 方琰(1996—), 女, 河南南阳人, 硕士研究生, 从事轮藻植物分类研究. E-mail: 954238314@qq.com
通讯作者: 兰利琼. E-mail: lanlq@scu.edu.cn.

entire chloroplast genome of *Chara globularis*, and established its phylogenetic status by using the existing data.

Keywords: *Chara globularis*; Chloroplast genome; SSR; Codon usage bias; Phylogeny

1 引言

轮藻(Charophytes)是一种广布全球的大型水生藻类,形态高度分化,拥有与陆地植物最近的亲缘关系,两者共同构成链型植物门^[1](Streptophytes). 由于轮藻在植物进化史中的特殊分类地位,其可将其作为植物从水生到陆生环境的一种过渡适应机制模型^[2],轮藻对生境水质要求较高,可作为一种生物指示剂^[3]. 近年来,由于环境污染问题日益加剧,轮藻被许多国家纳入濒危物种名录^[4-5],然而我国对轮藻的研究和保护还未得到充分重视.

现生轮藻科(Characeae)分为轮藻族(*Chareae*)和丽藻族(*Nitelleae*). 如今基于形态和系统发育分析的分类矛盾争议点大多集中在种属间,如通过传统的形态学观察只能根据雌雄同株或异株来区分球状轮藻(*Chara globularis*)和弧枝轮藻(*Chara connivens*)两个种. Schneider 等人^[6]在系统分类研究中均发现利用单一叶绿体基因 *matK* 对二者无法进行有效区分; Nowak 等人^[7]通过 2 个核基因 18S rDNA, ITS1 和 3 个叶绿体基因 *rbcL*, *atpB*, *matK* 的联合数据对瑞典 14 种轮藻属植物进行系统发育关系研究,并结合形态学分类对比分析表明,种间遗传分化程度较低,物种的界定非常不明确,形态分类和分子分类结果存在冲突; Wood 的传统分类学认为灯枝藻属是轮藻属和丽枝藻属的姐妹群,拟丽藻属与前三者相比关系较远,但任玲萱等人通过对轮藻科植物 18S rDNA、*rbcL*、*atpB* 联合聚类分析表明,灯枝藻属与拟丽藻属具有很强的亲缘关系,与传统分类学观点存在分歧^[8]. 现今基于几个常用分子片段联合分析的轮藻科部分系统发育结果较为混乱,无法较好的解决轮藻科植物内部分类结构不清晰等问题,所以扩大数据量并利用基因组进行系统发育研究已成为大势所趋.

叶绿体是一种重要的植物细胞器,其 DNA 一般为双链环状结构,长约 120~180 kb,在光合作用等多种代谢途径中起到关键作用^[9]. 叶绿体起源于蓝藻的内共生学说,因其具有母系遗传的特性使其较核基因组和线粒体基因组更为保守^[10]. 叶绿体

基因组含有大量变异速率适中的功能基因,可用作 DNA 条形码广泛应用于系统发育、种群分析等方面的研究^[11-12]. 大多数叶绿体基因组具有典型的四分体结构,包括一个大的单拷贝(LSC)区,一个小的单拷贝(SSC)区和两个反向重复序列(IRa 和 IRb). 自从烟草(*Nicotiana tabacum*)^[13]和地钱(*Marchantia polymorpha*)^[14]叶绿体基因组序列公布以来,科研工作者们对叶绿体基因组的关注度不断增加. Rochaix^[15]于 1978 年得到了第一个衣藻叶绿体全基因组图谱. 此后藻类叶绿体基因组数据不断增长. 藻类叶绿体基因组大小差别较大,最小的刺松藻(*Codium fragile*)仅为 86 kb,最大的伞藻(*Acetabularia*)可达到 2 000 kb^[16].

Monique 等人^[17]对普生轮藻(*Chara vulgaris*)进行了测序并得到了完整的叶绿体全基因组序列,研究分析表明,在迄今为止测定的所有链型植物门叶绿体基因组数据中,轮藻具有最大的叶绿体基因组,最长的单拷贝区和最高的 A+T 含量,造成这种情况的主要原因是叶绿体基因组内基因间隔区的扩张和内含子长度的增加. 普生轮藻叶绿体基因组结构也与陆生植物有较大不同. Orton 等人^[18]利用三种轮藻植物并结合其他绿藻植物和有胚植物的叶绿体全基因组探究了叶绿体基因的保留和/或丢失模式,以了解陆地植物的祖先是如何进化出适应陆地的生存机制.

随着高通量测序技术的不断发展,植物叶绿体全基因组的测序变得越来越容易^[12]. 在众多轮藻科植物研究中,基于叶绿体全基因组的研究十分匮乏. 在这里,我们对球状轮藻叶绿体全基因组进行了测序、组装和拼接,旨在揭示球状轮藻叶绿体全基因组结构特征,丰富其叶绿体基因组信息,并为后续探究轮藻科植物物种鉴定和系统进化关系提供理论依据.

2 材料与方法

2.1 实验材料

本文所用的球状轮藻藻体采集于四川省成都市五凤溪. 将长势较好的新鲜藻体用流水洗净,清理表面杂质杂藻,去除假根及较老的结,再用双蒸水反复冲洗后液氮速冻并于-80℃冷藏保存待用.

2.2 方 法

2.2.1 DNA 提取及测序 采用植物基因组提取试剂盒 (Tiangen Biotech Co., Ltd, Beijing, PA, China)提取上述处理好的球状轮藻样品 DNA,送至北京诺和致源生物信息科技有限公司,检测合格后,利用 Covaris 超声波破碎仪随机打断叶绿体 DNA 生成 300~500 bp 的 DNA 小片段,在序列末端修复、加 A 尾、加测序接头,再经过纯化、PCR 扩增等一系列操作构建好整个球状轮藻文库,之后用 Qubit 2.0 进行初步定量,并稀释文库,再用 Agilent 2100 对文库的插入片段进行检测,当大小符合预期后,采用 Q-PCR 法对文库有效浓度进行准确定量分析以保证文库质量. 文库经检测合格后,根据目标下机数据量的需求和有效浓度把不同文库 pooling 至 flowcell 后使用 Illumina novaseq 6000 进行双末端测序,得到测序的原始读序(Raw Reads),最后使用 FastQC v0.11.7 软件评估并过滤掉低质量 reads 得到纯净读序(Clean Reads),从 NCBI(National Center for Biotechnology Information)上下载普生轮藻(*Chara vulgaris*)叶绿体全基因组作为参考序列,并将所有 reads 映射其上 进行最后质量分析.

2.2.2 叶绿体全基因组的组装、注释及物理图谱构建 我们采用 GetOrganelle 软件^[19]对 Clean Reads 进行组装,经过尝试,最终设定 word size 值为 101,其他参数值默认,利用软件 Geneious 11.0.4 将结果与 *Chara vulgaris* 进行比较,验证其组装效果并进行下一步注释^[20],之后对输出文件进行手动修正后将最终注释结果上传至在线网站 OGDRAW(<http://ogdraw.mpimp-golm.mpg.de>)得到球状轮藻叶绿体全基因组完整图谱^[21].

2.2.3 简单重复序列分析 使用 MISA (Micro-SATellite identification tool) 软件 (<http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa/>)对球状轮藻叶绿体全基因组进行简单重复序列分析,重复单元参数设置为单碱基重复、二碱基重复、三碱基重复、四碱基重复、五碱基重复、六碱基重复分别为 10、6、4、3、3、3. 设置 2 个 SSR 之间最小距离值为 100 bp^[22].

2.2.4 密码子偏好性分析 根据注释结果提取球状轮藻叶绿体全基因组所有的 CDS 序列,并依次写入 fasta 文件,使用 EMBOSS 6.4.0 (<http://emboss.open-bio.org/>)在线软件分析密码子使用率,使用软件 CodonW 1.4.2 计算同义密码子使用度^[23],所有参数均设定为默认值.

2.2.5 系统发育分析 选取从 NCBI 数据库中下载的轮藻族普生轮藻(*Chara vulgaris*)和丽藻族无色丽藻(*Nitella hyalina*)叶绿体全基因组数据,并以鞘毛藻科的 *Chaetosphaeridium globosum* 和双星藻科的 *Zygnema circumcarinatum* 作为外类群,与本研 究所得到的球状轮藻叶绿体全基因组共 5 个一起提取共有 CDS 基因,并使用 MEGA 7.0 软件采用邻接法(Neighbor-joining, NJ)构建系统发育进化树,自展值(Bootstrap, BS)重复抽样1 000次.

3 结果与分析

3.1 叶绿体基因组结构特征

本实验测序结果中, Clean Reads 占 Raw Reads 的 99.55%,该值大于 90%表明数据质量较为理想,可用于后续实验分析. 组装拼接得到的球状轮藻叶绿体基因组全长 180 652 bp,GC 含量 26.6%,其具有高度保守的典型四分体结构,其中 LSC(large single copy)区长 131 709 bp,GC 含量为 25.14%、SSC(small single copy)区长 27123 bp,GC 含量为 23.6%,IR(inverted repeat)区长 10 910 bp,GC 含量为 39.0% (表 1).

表 1 球状轮藻叶绿体全基因组特征
Tab.1 The feature of chloroplast genomes of *C. gloubularis*

Genome feature		<i>C. globularis</i>
Genome	length/bp	180 652
	GC content/%	26.6
LSC	length/bp	131 709
	GC content/%	25.14
SSC	length/bp	27 123
	GC content/%	23.6
IR	length/bp	10 910
	GC content/%	39.0
Number of total genes		137
Number of CDS		94
Number of tRNAs genes		37
Number of rRNAs genes		6

球状轮藻叶绿体基因组序列共注释出包括 9 对重复基因在内的 137 个基因,其中包括 94 个蛋白质编码基因、37 个 tRNA 基因和 6 个 rRNA 基因(表 2). LSC 区包括 78 个 CDS 和 26 个 tRNA; SSC 区包括 14 个 CDs 和 1 个 tRNA;而 IR 区则只有 2 个 CDS,5 个 tRNA 和 3 个 rRNA. 并且 *ndhF*

基因横跨 IRB 区和 SSC 区(图 1).

球状轮藻叶绿体基因组共有 17 个基因含有内含子,包括 10 个 CDS,6 个 tRNA 和 1 个 rRNA. 其中 *ycf3* 基因有两个内含子,*ndhB*、*atpF*、*rps16*、*trnK(uuu)*、*trnV(uac)*、*trnG(ucc)*、*trnL(uaa)*、

clpP、*petB*、*rpl16*、*rpl2*、*trnI(gau)*、*trnA(ugc)*、*rri1*、*ndhA* 基因均只具有一个内含子,基因 *matK* 位于基因 *trnK(uuu)* 的内含子区域,*rps12* 基因有一个反式剪接内含子.

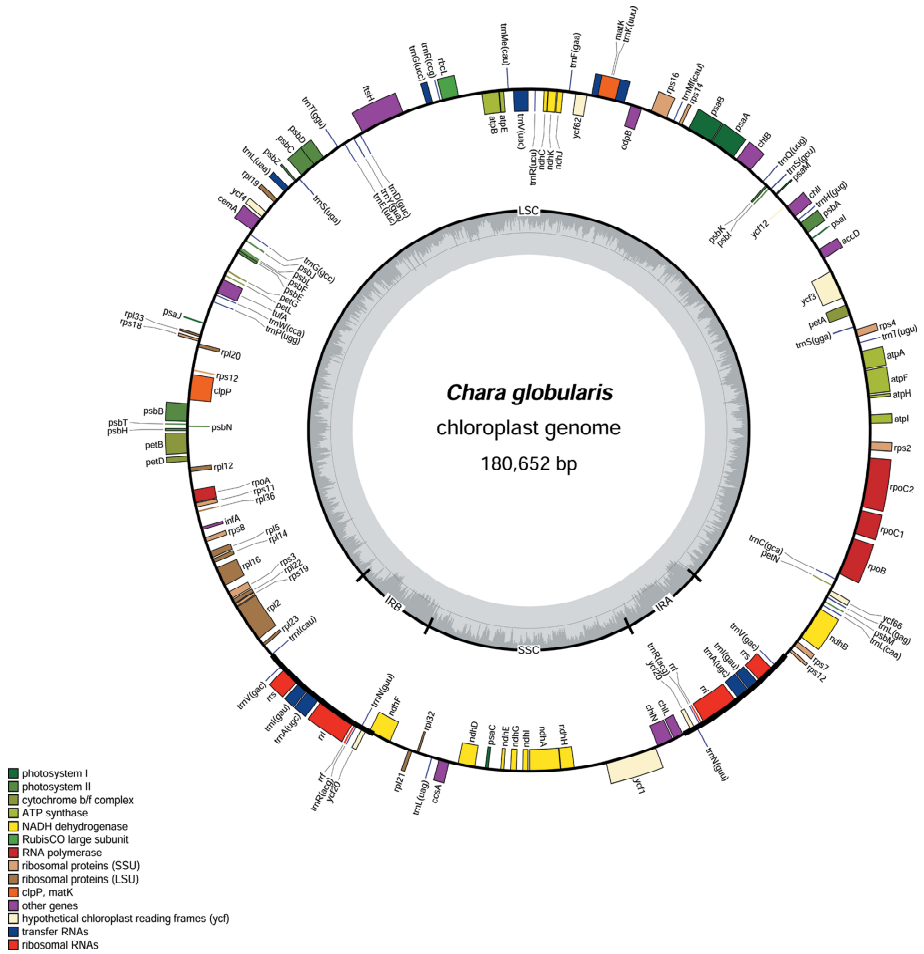


图 1 球状轮藻叶绿体基因组图谱
Fig.1 The gene map of *C. globularis*

表 2 球状轮藻叶绿体全基因组基因信息

Tab. 2 The chloroplast genome annotation gene information of <i>C. globularis</i>		
Category	Group	Name
Self replication	Ribosomal RNA	<i>rrs</i> ; <i>rri1</i> ; <i>rrf</i> ; <i>rrf</i> ; <i>rri1</i> ; <i>rrs</i>
	Transfer RNAs	<i>trnV(gac)</i> ; <i>trnI(gau)</i> ; <i>trnA(ugc)</i> ; <i>trnR(acg)</i> ; <i>trnN(guu)</i> ; <i>trnL(uag)</i> ; <i>trnN(guu)</i> ; <i>trnR(acg)</i> ; <i>trnA(ugc)</i> ; <i>trnI(gau)</i> ; <i>trnV(gac)</i> ; <i>trnL(caa)</i> ; <i>trnL(gag)</i> ; <i>trnC(gca)</i> ; <i>trnT(ugu)</i> ; <i>trnS(gga)</i> ; <i>trnH(gug)</i> ; <i>trnS(gcu)</i> ; <i>trnQ(uug)</i> ; <i>trnMf(cau)</i> ; <i>trnK(uuu)</i> ; <i>trnF(gaa)</i> ; <i>trnR(ucu)</i> ; <i>trnV(uac)</i> ; <i>trnMe(cau)</i> ; <i>trnR(ccg)</i> ; <i>trnG(ucc)</i> ; <i>trnD(guc)</i> ; <i>trnY(gua)</i> ; <i>trnE(uuc)</i> ; <i>trnT(ggu)</i> ; <i>trnS(uga)</i> ; <i>trnL(uaa)</i> ; <i>trnG(gcc)</i> ; <i>trnW(cca)</i> ; <i>trnP(ugg)</i> ; <i>trnI(cau)</i>
	Small subunit of ribosome	<i>rps19</i> ; <i>rps18</i> ; <i>rps12</i> ; <i>rps7</i> ; <i>rps2</i> ; <i>rps14</i> ; <i>rps16</i> ; <i>rps4</i> ; <i>rps3</i> ; <i>rps8</i> ; <i>rps11</i>
	Large subunit of ribosome	<i>rpl5</i> ; <i>rpl14</i> ; <i>rpl16</i> ; <i>rpl22</i> ; <i>rpl2</i> ; <i>rpl23</i> ; <i>rpl21</i> ; <i>rpl32</i> ; <i>rpl19</i> ; <i>rpl33</i> ; <i>rpl20</i> ; <i>rpl12</i> ; <i>rpl36</i> ; <i>rps11</i>
	DNA dependent RNA polymerase	<i>rpoB</i> ; <i>rpoC1</i> ; <i>rpoC2</i> ; <i>rpoA</i>

(续表 2)

Category	Group	Name
Photosynthesis	Photosystem I	<i>psaC; psaI; psaM; psaA; psaB; psaJ;</i>
	Photosystem II	<i>psbJ; psbL; psbF; psbE; psbM; psbB; psbT; psbN; psbH; psbD; psbC; psbZ; psbA; psbI; psbK;</i>
	Subunits of cytochrome	<i>petB; petD; petA; petN; petL; petG;</i>
	ATP synthase	<i>atpI; atpH; atpF; atpA; atpE; atpB;</i>
	ATP-dependent protease	<i>clpP;</i>
	Large subunit of Rubisco	<i>rbcL;</i>
	NADH dehydrogenase	<i>ndhF; ndhD; ndhE; ndhA; ndhG; ndhI; ndhH; ndhJ; ndhK; ndhC; ndhB;</i>
	Maturase	<i>matK;</i>
	Envelop membrane protein	<i>cemA;</i>
	light-independent protochlorophyllide reductase	<i>chlL; chlI; chlB; chlN;</i>
Other genes	elongation factor	<i>tufA;</i>
	Propionate dehydrogenase subunit	<i>odpB;</i>
	cell dividing protein	<i>ftsH;</i>
	Acetyl-Co A-carboxylase	<i>accD;</i>
	c-Type cytochrome synthesis	<i>ccsA</i>
	Translational initiation factor	<i>infA;</i>
Unknown	Conserved open reading frames	<i>ycf1; ycf20; ycf66; ycf3; ycf62; ycf4; ycf12;</i>

3.2 球状轮藻简单重复序列分析

简单重复序列(SSR)又称微卫星序列(Micro-satellite DNA),是基因组中由一到六个碱基重复组成的基本单位重复多次所构成的一段 DNA,普遍存在于真核生物的核、线粒体及叶绿体基因组中,因其具有良好的通用性而被广泛应用于物种鉴定及遗传差异性分析. 本研究根据所选参数,从球状轮藻叶绿体基因组中共检测出 87 个 SSR 位点,其中单碱基重复最多,有 24 个,占比 27.59%且均为 A/T 型;二碱基重复有 21 个,占比 24.14%;三碱基重复最少,只有 2 个,占比 13.5%;四碱基重复有 20 个,占比 22.99%;五碱基重复有 6 个,占比 6.90%;六碱基重复有 3 个,占比均为 3.45%;球状轮藻 SSR 类型中有 11 个复合型 SSR,占比 12.64%(表 3). 分析可知球状轮藻基因组中的 SSR 绝大部分由 A 和 T 构成.

在球状轮藻所有的 SSR 序列中,最长可达 117 bp,最短只有 10 bp,平均长度为 19.56 bp,其中单碱基重复的平均长度为 9.23 bp,二碱基重复的平均长度为 15.33 bp,三碱基重复的平均长度为 13.5 bp,四碱基重复的平均长度为 14 bp,五碱基重复的平均长度为 15 bp,六碱基重复的平均长度

为 18 bp,复合型 SSR 的平均长度为 23.44 bp,重复序列长度为 10~20 bp 的最多,有 72 个(占 82.75%),重复序列长度为 21~40 bp 的有 5 个(占 5.75%),重复序列长度大于 40 bp 的有 9 个(占 10.34%). SSR 重复单元的重复次数为 3~15 次(不计算复合型 SSR),其中重复次数为 3~10 次的有 68 个(占比 78.16%),重复次数为 11~15 次的有 19 个(占比 21.84%)(表 4).

表 3 球状轮藻叶绿体基因组 SSR 数据统计
Tab.3 Statistics of SSR in *C. gloublaris* chloroplast genome

Repeat type	Number	Proportion /%	Average length/bp
Mononucleotides	24	27.59	9.23
Dinucleotides	21	24.14	15.33
Trinucleotides	2	2.30	13.5
Tetranucleotides	20	22.99	14
Pentanucleotide	6	6.90	15
Hexanucleotides	3	3.45	18
Complex nucleotides	11	12.64	65.82

表 4 球状轮藻叶绿体基因组 SSR 预测

Tab. 4 Prediction of SSR in *C. gloubularis* chloroplast genome

No.	Repeat type	SSR	Size/bp	Origin	Stop	No.	Repeat type	SSR	Size/bp	Origin	Stop
1	p1	(A)10	10	24	33	45	p1	(A)10	10	99094	99103
2	p4	(TATT)3	12	923	934	46	p4	(AATA)3	12	100909	100920
3	p1	(T)10	10	2758	2767	47	p5	(ATATA)3	15	101329	101343
4	p2	(AT)7	14	3117	3130	48	p1	(T)10	10	101588	101597
5	p1	(A)11	11	4006	4016	49	p4	(ATAC)3	12	104839	104850
6	p4	(TTTA)3	12	4410	4421	50	p1	(A)10	10	105201	105210
7	c	(ATAAT)4atataat(ATATA)3	42	11670	11711	51	p1	(T)10	10	107406	107415
8	p1	(A)10	10	13870	13879	52	c	(AT)8aatcaataaatatataataa atataattagataataatcaataa tcaagtcaataataaagtagctatttatt gtactattattcttat(TAA)4	117	107710	107826
9	p1	(A)11	11	15938	15948	53	p5	(ATAAT)3	15	111685	111699
10	p1	(A)11	11	16239	16249	54	p1	(A)10	10	113093	113102
11	p2	(AT)6	12	22070	22081	55	p2	(TA)6	12	113705	113716
12	c	(ATTAT)3atgaataaaatatata (AT)15a(AT)6	74	24555	24628	56	p4	(TATT)3	12	114649	114660
13	c	(T)11gtaattctttttaccgtga ttctagaaattcattagaaagcaata ttttttttacg(T)10	78	29415	29492	57	p2	(TA)7	14	117652	117665
14	p2	(AT)6	12	29750	29761	58	p1	(A)10	10	118053	118062
15	p2	(AT)6	12	33021	33032	59	p2	(TA)6	12	118576	118587
16	p1	(A)10	10	33566	33575	60	c	(ATATT)3cttattctattctatattat attcttattctattcttaagta(ATT)5	72	118762	118833
17	p1	(T)10	10	34237	34246	61	p2	(AT)7	14	122754	122767
18	p4	(TAAA)3	12	34482	34493	62	p2	(AT)6	12	124687	124698
19	p4	(TATG)3	12	35682	35693	63	p6	(TAATAT)3	18	124906	124923
20	c	(TA)6gattttttaatta tatagattttttcttgaatttattatt attttat(TATTA)3	75	37325	37399	64	c	(ATA)4caatatgatataataagaata tttacaattctatatatagatacttcattaaa atagatacttcattaagactatcaag(TA)6	103	128363	128465
21	p1	(A)11	11	40169	40179	65	p1	(T)11	11	130510	130520
22	p3	(TTA)5	15	42021	42035	66	p1	(T)10	10	130698	130707
23	p4	(AATA)3	12	42157	42168	67	p2	(AT)10	20	131401	131420
24	c	(CTAT)3atagatagatgt ctaactataagataac aaaaaag(AAGA)3	60	42285	42344	68	p4	(TCAA)3	12	133383	133394
25	p4	(AATG)3	12	49658	49669	69	p4	(AGGT)3	12	139048	139059
26	p1	(A)10	10	52836	52845	70	p6	(TATTAC)3	18	144307	144324
27	c *	(ATAA)2 (ATA<A>T)(AT)7	27	54283	54309	71	c	(TAT)4gtatattatt atacatatc(AT)6	43	144492	144534
28	p4	(TAAT)3	12	55851	55862	72	p2	(TA)8	16	145775	145790
29	p5	(ATAAT)3	15	60103	60117	73	c	(TA)6atagttact(TA)6	33	147095	147127
30	p2	(AT)10	20	60335	60354	74	p2	(AT)6	12	147642	147653
31	p1	(T)10	10	71207	71216	75	p2	(AT)6	12	148087	148098
32	p6	(TATTTA)3	18	75116	75133	76	p1	(A)10	10	153296	153305
33	p4	(ATTC)3	12	77000	77011	77	p5	(TTATA)3	15	155385	155399
34	p1	(T)10	10	77383	77392	78	p4	(TTAT)3	12	155527	155538
35	p4	(AATA)3	12	80819	80830	79	p4	(AAAT)3	12	156384	156395
36	p2	(TC)6	12	81136	81147	80	p2	(AT)11	22	157086	157107
37	p4	(AAAT)3	12	81950	81961	81	p2	(AT)12	24	157425	157448
38	p2	(AT)10	20	82791	82810	82	p5	(ATATA)3	15	158193	158207
39	p5	(TTTAT)3	15	91631	91645	83	p1	(T)10	10	160653	160662
40	p2	(AT)13	26	93038	93063	84	p2	(TA)6	12	161168	161179
41	p2	(TA)6	12	94241	94252	85	p4	(TATT)3	12	161358	161369
42	p3	(TTA)4	12	96163	96174	86	p4	(CTAC)3	12	173301	173312
43	p1	(T)10	10	97107	97116	87	p4	(ATTG)3	12	178967	178978
44	p1	(T)10	10	97479	97488						

Note:pn is the number of bases in the SSR gene; c is the compound SSR.

表 5 球状轮藻叶绿体基因组密码子使用数据统计																
Tab. 5 Statistics of codon usage in <i>C. gloublaris</i> chloroplast genome																
CDS length		Codon number	Amino acid(max)			Amino acid(min)			Codon(max)			Codon(min)			Start codon	Stop codon
bp	%		Type	Number	%	Type	Number	%	Type	Amino acid	Number	Type	Amino acid	Number		
74967	41.50	24989	Leu	2776	11.1	Cys	309	1.2	AAA	Lys	1312	CGG	Arg	41	AUG (n=595)	TAA(n=60), TGA(n=22), TAG(n=11)

表 6 球状轮藻叶绿体基因组密码子使用率							
Tab. 6 Usage rate of codon usage in <i>C. gloublaris</i> chloroplast genome							
Amino acid	Codon	Number	RSCU	Amino acid	Codon	Number	RSCU
Ala	GCU	742	2.08	Leu	CUG	91	0.2
Ala	GCC	75	0.21	Ile	AUC	239	0.3
Ala	GCA	566	1.58	Ile	AUA	852	1.08
Ala	GCG	47	0.13	Lys	AAA	1312	1.65
Arg	CGU	333	1.63	Lys	AAG	283	0.35
Arg	CGC	57	0.28	Met	AUG	595	1
Arg	CGA	208	1.02	Phe	UUU	1214	1.63
Arg	CGG	41	0.2	Phe	UUC	276	0.37
Arg	AGA	517	2.52	Pro	CCU	538	2.23
Arg	AGG	73	0.36	Pro	CCC	51	0.21
Asn	AAU	1033	1.66	Pro	CCA	331	1.37
Asn	AAC	212	0.34	Pro	CCG	45	0.19
Asp	GAU	737	1.61	Ser	UCU	705	2.4
Asp	GAC	177	0.39	Ser	UCC	109	0.37
Cys	UGU	254	1.64	Ser	UCA	377	1.28
Cys	UGC	55	0.36	Ser	UCG	64	0.22
Gln	CAA	828	1.7	Ser	AGU	406	1.38
Gln	CAG	146	0.3	Ser	AGC	105	0.36
Glu	GAA	1052	1.67	TER	UAA	60	1.94
Glu	GAG	206	0.33	TER	UGA	11	0.35
Gly	GGU	538	1.4	TER	UAG	22	0.71
Gly	GGC	151	0.39	Thr	ACU	640	2.09
Gly	GGA	758	1.97	Thr	ACC	92	0.3
Gly	GGG	93	0.24	Thr	ACA	446	1.46
His	CAU	475	1.72	Thr	ACG	46	0.15
His	CAC	77	0.28	Trp	UGG	413	1
Ile	AUU	1271	1.61	Tyr	UAU	800	1.67
Leu	UUA	1322	2.86	Tyr	UAC	156	0.33
Leu	UUG	384	0.83	Val	GUU	485	1.49
Leu	CUU	561	1.21	Val	GUC	111	0.34
Leu	CUC	89	0.19	Val	GUA	607	1.86
Leu	CUA	329	0.71	Val	GUG	100	0.31

3.3 球状轮藻密码子使用偏好性分析

密码子由 mRNA 中 3 个相邻的核苷酸组成,在翻译时代表一种氨基酸. 由于密码子存在简并性,即不同的密码子可以编码相同的氨基酸,同义密码子出现频率的高低反应了密码子使用的偏好情况. 同义密码子使用度(RSCU)是衡量密码子偏好性的重要指标,如果密码子使用没有偏好,则该密码子的 RSCU 值等于 1. 当某一密码子的 RSCU 值大于 1,则表明其的使用频率相对较高,具有偏好性.

在组装得到的球状轮藻叶绿体全基因组编码序列中,去除掉 *ycf20* 基因的一个重复序列后利用 CodonW1. 4. 2 对剩下的 93 条 CDS 序列进行密码子组成和偏好性分析,球状轮藻叶绿体基因组的蛋白质编码基因全长 741 967 bp,共包含 24 989 个密码子. 密码子编码氨基酸最多的是亮氨酸(Leu),有 2 776 个(占 11. 1%),密码子编码氨基酸最少的是半胱氨酸(Cys),有 309 个(占 1. 2%). 这些密码子中使用使用最多的是 AAA,编码赖氨酸(Lys)并出现了 1 312 次,使用最少的是 CGG,编码精氨酸(Arg)并出现了 41 次(表 5). 除色氨酸(Trp)只有一个密码子外,其余的氨基酸均有 2~6 个密码子. 此外,起始密码子 AUG 没有偏性(RSCU=1);在终止密码子中,TAA 的使用最为频繁(RSCU>1),占终止密码子总数的 64. 52%. 通过结果分析发现,球状轮藻叶绿体基因组密码子偏好 A 和 T,编码同义密码子使用度(RSCU)大于 1 的密码子均以 A/U 结尾.

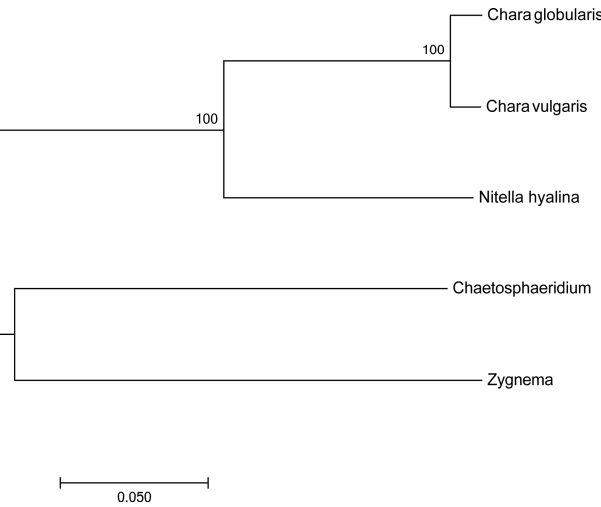


图 2 基于叶绿体全基因组 82 个共有 CDS 构建的 NJ 系统发育树("100"表示支持率为 100%)
Fig. 2 Neighbor Joining phylogenetic tree constructed by 82 common CDS of complete chloroplast genomes ("100" means the bootstrap values is 100%)

3.4 球状轮藻系统发育分析

选取包括球状轮藻在内的轮藻科三个种,并以鞘毛藻科的 *Chaetosphaeridium globosum* 和双星藻科的 *Zygnema circumcarinatum* 作为外类群,提取出五个叶绿体全基因组共有 CDS 序列 82 个,采用邻接(NJ)法进行系统发育树的构建(图 2). 结果显示进化树的置信度均为 100%,置信度大于 90%则表明聚类结果可信用度较高. 在系统发育树中,球状轮藻与普生轮藻聚在一起成为轮藻族,表明二者的亲缘关系更近,与同源性可达 100%;丽藻族的无色丽藻单独成为一个分支,轮藻族与丽藻族聚在一起成为姐妹群.

4 讨 论

轮藻植物因其独特的进化地位一直备受学者关注,但仅仅基于形态学和部分分子片段的分类学研究仍不能很好的解决部分种属间分类混乱的现象,叶绿体基因组具有母系遗传、序列保守和结构简单等特点,相比于几个分子片段,叶绿体全基因组可以反应更多的遗传信息.

本文首次揭示了球状轮藻叶绿体全基因组的结构特征,结果表明球状轮藻与大部分植物的叶绿体基因组结构相似,具有高度保守的四个区域结构,与已经报道的普生轮叶绿体藻基因组的结构、大小十分相似. 球状轮藻共注释出了 137 个基因,包括 94 个蛋白质编码基因,37 个 tRNA 和 6 个 rRNA,有 17 个基因具有内含子,其中 *matK* 基因位于 *trnK(uuu)* 的内含子区域,*rps12* 基因有一个反式剪接内含子,球状轮藻与其他链型植物叶绿体基因组在总体结构、基因数量和内含子含量上存在差别,例如 *Staurostrum* 和 *Zygnema* 的叶绿体基因组仅仅具有 8 和 13 个内含子,*Spirogyra maxima* 叶绿体基因组则丢失了一个 IR 区域^[18]. 与已报道的无色丽藻叶绿体全基因组相比,球状轮藻具有 2 个特殊蛋白质编码基因 *psaM*、*matK*,3 个 tRNA 基因包括 *trnK(uuu)*、*trnG(ucc)* 和 *trnL(uaa)*,但全长却比无色丽藻小 21 148 bp,主要是由于叶绿体基因组内基因间隔区的扩张造成的. 球状轮藻具有其他链型植物门植物所不具有的 *rpl12*、*trnL(gag)*、*rpl19*、*ycf20* 四个基因,*rpl12* 和 *rpl19* 分别编码 50S 核糖蛋白体 CL12 和 50S 核糖蛋白体 CL19;轮藻植物也是第一个报道 *rpl12* 基因的链型植物^[19]. 该基因是一个特殊的反式剪切基因,3'端和 5'端均位于 LSC 区域内,未知

功能基因 *ycf20* 在 IR 区有 2 个拷贝, *ndhF* 基因横跨 IRB 和 SSC 区. 因轮藻具有特殊的进化地位和基因特点, 后续可以加大样本量, 从特殊基因入手进行系统发育研究, 探究其对轮藻植物的影响.

叶绿体的简单重复序列既具有核基因组 SSR 的高多态性、多等位性、共显性等特点^[24], 又具有单亲遗传模式的结构简单、相对保守等特点^[25-26], 所以有较好的种间、种内遗传变异区分能力, 已成为区分物种的重要分子标记而被广泛应用^[27]. 球状轮藻叶绿体基因组中共检测出 87 个 SSR 位点, 且大部分 SSR 都位于非编码区, 只有少数位于编码区, 其中单碱基重复最多, 有 27.59% 均以 A/T 单碱基重复, 碱基偏好性明显; 其余所有的二碱基重复至六碱基重复中均含有 AT, 较多的 SSR 位点存在表明球状轮藻叶绿体基因组可能更易发生重排.

对球状轮藻的密码子偏好性进行分析得知, 球状轮藻包含 24 989 个密码子. 密码子编码氨基酸最多的是亮氨酸(Leu), 密码子编码氨基酸最少的是半胱氨酸(Cys). 这些密码子中使用使用最多的是 AAA, 编码赖氨酸(Lys), 使用最少的是 CGG, 编码精氨酸(Arg). 此外, 起始密码子 AUG 没有偏性, 同义密码子使用度(RSCU)为 1, 终止密码子中只有 UAA 的同义密码子使用度(RSCU)大于 1, 编码同义密码子使用度(RSCU)大于 1 的密码子均以 A/U 结尾.

在轮藻科内部研究物种间系统发育关系往往利用 DNA 条码进行单基因建树, 但由于其序列较短, 信息位点较少, 不同的基因建树的结果往往不同, 存在一定的局限性. 叶绿体是高等植物共有的细胞器, 含有足够信息位点的叶绿体基因组已被证明可有效判断系统发育关系, 甚至是在较低的分类学水平下植物之间也有较强的分类学意义, 为物种间系统发育的研究提供了新的思路^[28]. 本实验通过对球状轮藻叶绿体全基因组的系统发育研究表明, 球状轮藻与轮藻族的普生轮藻聚在一起成为一个姐妹群, 表明二者的亲缘关系更近, 这与任玲萱等人基于 18S rDNA、*rbcL*、*atpB* 联合聚类分析的结果一致^[8], 也符合球状轮藻的传统形态分类地位^[29], 但由于轮藻科植物的叶绿体全基因组信息较少, 现今具有详细基因信息的叶绿体全基因组只有 *C. vulgaris* 和 *N. hyalina*, 后续应扩大轮藻科植物叶绿体全基因组数据库, 以便更好的对其进行深入研究.

球状轮藻叶绿体全基因组结构与序列信息的揭示, 为其遗传背景的研究和系统进化关系的探索奠定了基础. 利用叶绿体结构基因组特征探究和验证轮藻系统发育与进化关系, 为解决轮藻科部分物种分类混乱的问题提供了新的解决方案. 后续作者将通过增加样本容量、加入更多有效分子片段并结合形态学分类特征等对轮藻科植物的分类学地位进行进一步探究, 以期解决轮藻植物部分分类混乱的问题.

参考文献:

- [1] Nishiyama T, Sakayama H, de Vries J, *et al.* The *Chara* genome: secondary complexity and implications for plant terrestrialization [J]. *Cell*, 2018, 174: 448.
- [2] Braun M, Foissner I, Schubert H, *et al.* Characean algae: still a valid model system to examine fundamental principles in plants [M]. Germany: Progress in Botany, 2007: 193.
- [3] Bastrup S L, Iversen L L, Dahl N J, *et al.* Seventy years of changes in the abundance of Danish Charophytes [J]. *Freshw Biol*, 2013, 58: 1682.
- [4] Azzella M. Italian Volcanic lakes: a diversity hotspot and refuge for European charophytes [J]. *J Limnol*, 2014, 73: 502.
- [5] Blindow I. Decline of charophytes during eutrophication: comparison with angiosperms [J]. *Freshw Biol*, 1992, 28: 9.
- [6] Schneider S C, Nowak P, Ammon U V, *et al.* Species differentiation in the genus *Chara* (Charophyceae): considerable phenotypic plasticity occurs within homogenous genetic groups [J]. *Eur J Phycol*, 2016, 51: 282.
- [7] Nowak P, Schubert H, Schaible R. Molecular evaluation of the validity of the morphological characters of three Swedish *Chara* sections: *Chara*, *Grovesia*, and *Desvauxia* (Charales, Charophyceae) [J]. *Aquat Bot*, 2016, 134: 113.
- [8] 任玲萱, 方琰, 孙双, 等. 基于 18S rDNA、*rbcL* 和 *atpB* 序列的轮藻科植物的系统发育研究 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2020, 57: 605.
- [9] Zoschke R, Bock R. Chloroplast translation: structural and functional organization, operational control, and regulation [J]. *Plant Cell*, 2018, 30: 745.
- [10] Kwang S C, Bong K Y, Young H Y, *et al.* Complete chloroplast genome sequence of tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) and comparative a-

- analysis with common buckwheat (*F. esculentum*) [J]. PLoS One, 2015, 10: e0125332.
- [11] Chen S L, Yao H, Han J P, *et al.* Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species [J]. PLoS One, 2010, 5: e8613.
- [12] Xi Z, Xiao Y W, Jin R L, *et al.* Complete chloroplast genome of *Sophora alopecuroides* (Papilionoideae): molecular structures, comparative genome analysis and phylogenetic analysis [J]. J Genet, 2020, 99: 573.
- [13] Shinozaki K, Ohme M, Tanaka M, *et al.* The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome [J]. EMBO J, 1986, 5: 2043.
- [14] Ohyama K, Fukuzawa H, Kohchi T, *et al.* Chloroplast gene organization deduced from complete sequence of liverwort *Marchantia polymorpha* chloroplast DNA [J]. Nature, 1986, 322: 572.
- [15] Rochaix J D. Restriction endonuclease map of the chloroplast DNA of *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. J Mol Biol, 1978, 126: 597.
- [16] 何培民, 张荣铤. 藻类叶绿体 DNA 和基因图谱 [J]. 上海水产大学学报, 2000, 9: 51.
- [17] Monique T, Christian O, Claude L, *et al.* The Chloroplast Genome Sequence of *Chara vulgaris* Sheds New Light into the Closest Green Algal Relatives of Land Plants [J]. Mol Biol Evol, 2006, 23: 1324.
- [18] Orton L M, Elisabeth F, Feng X, *et al.* Zygnemacircumcarinatum UTEX 1559 chloroplast and mitochondrial genomes provide insight into land plant evolution [J]. J Exp Bot, 2020, 71: 3361.
- [19] Jin J J, Yu W B, Yang J B, *et al.* GetOrganelle: a fast and versatile toolkit for accurate de novo assembly of organelle genomes [J]. Genome Biol, 2020, 21: 241.
- [20] Matthew K, Richard M, Amy W, *et al.* Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data [J]. Bioinformatics, 2012, 28: 1647.
- [21] Lohse M, Drechsel O, Kahlau S, *et al.* Organellar Genome DRAW-a suite of tools for generating physical maps of plastid and mitochondrial genomes and visualizing expression data sets [J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41: W575.
- [22] Thiel T, Michalek W, Varshney R, *et al.* Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2003, 106: 411.
- [23] Langmead B, Trapnell C, Pop M, *et al.* Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome [J]. Genome Biol, 2009, 10: R25.
- [24] 池伟, 池雷均, 潘贺威, 等. 浙江近无柄雅榕古树叶绿体基因组特征分析 [J]. 海南师范大学学报: 自然科学版, 2020, 33: 50.
- [25] Provan J, Powell W, Hollingsworth P M. Chloroplast microsatellites: new tools for studies in plant ecology and evolution [J]. Trends Ecol Evol, 2001, 16: 142.
- [26] Kaundun S S, Matsumoto S. Heterologous nuclear and chloroplast microsatellite amplification and variation in tea, *Camellia sinensis* [J]. Genome, 2002, 45: 1041.
- [27] Zhang X Y, Shiraishi S, Huang M R. Analysis of genetic structure in population of *Larix kaempferi* by chloroplast SSR markers [J]. Hereditas, 2004, 26: 486.
- [28] Tao Z, Hong H Z, Jian W, *et al.* Complete chloroplast genome sequence determination of *Rheum* species and comparative chloroplast genomics for the members of Rumiceae [J]. Plant Cell Rep, 2020, 39: 811.
- [29] Chen K X, Qing R W, Fu H L, *et al.* Identification of a new characteristic species of *Nitella* (Charophyceae) from southwestern China based on morphology and molecular phylogeny [J]. Plant Syst Evol, 2017, 304: 123.

引用本文格式:

中文: 方琰, 胡莎莎, 张冬群, 等. 球状轮藻叶绿体全基因组的组装与特征分析 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2021, 58: 046004.

英文: Fang Y, Hu S S, Zhang D Q, *et al.* Assembly and characteristic analysis of *Chara globularis* chloroplast whole genome [J]. J Sichuan Univ: Nat Sci Ed, 2021, 58: 046004.

《四川大学学报(自然科学版)》

征 稿 简 则

《四川大学学报(自然科学版)》是由国家教育部主管、四川大学主办的自然科学综合性学术期刊,双月刊,国内外公开发行。主要刊登在基础应用学科和高新技术科学领域具有创造性的学术论文,促进国内外学术交流。对国家和省部级基金项目成果给予优先发表。

1. 开设栏目

1.1 研究论文:透彻、完整、清晰地报导具有学术价值的新的实验、理论结果和进展。研究论文一般分引言、理论或实验方法、结果与讨论、结论等部分,不超过 8000 字。要求在引言及相关部分对该研究内容相关的背景及现状、本工作所解决的问题及意义有清楚、简洁、完整和客观的叙述。

1.2 快报:快速、简要地报道新的实验和理论结果。快报正文内容不分章节,一般不超过 6000 字。一旦被接受,将在 4 个月之内发表,作者可将其更为详细的内容投往国内外其它期刊。

1.3 综合评述:对变化较快的各相关领域的研究进展做出评述。综合评述一般不超过 10000 字,必须有作者对该领域的较为独到的和具有个人特色的批评性意见和展望。

2. 稿件要求

2.1 标题、作者、单位、摘要及关键词要求用中英双语表示。题目应以简明、确切的词语反映文中最重要的内容,避免使用非标准的缩略语以及结构式和公式。中国作者姓名采用汉语拼音。单位必须写出全称,所在城市和邮政编码。摘要应体现稿件的研究目的、方法、主要结果和结论等,不使用图表、公式,不采用非标准术语、缩写词等。应精选出反映稿件内容的中、英文关键词各 3~6 个,按其重要性排列,分别列于中、英文摘要后。另外,请注明中图分类号代码。

2.2 中文标准基金全称及批准号、作者简介、通讯作者信息一律在首页用中文脚注标注。作者简介内容包括:姓名、出生年、性别、民族(汉族可省)、籍贯、职称、最高学历(可省,但在读研究生需标注)、研究方向和 E-mail 地址等。通讯作者应标注其 E-mail 地址。

2.3 使用国际标准的缩略词、符号和计量单位系统时,全文要一致。摘要和正文中的缩略词在首次出现时须写出全称,后附缩略词,并用圆括号括起,此后可直接引用。应严格执行 GB3100~3102-93 有关法定计量和单位的规定。单位符号一律用正体,变量的符号(包括下标)需用斜体。

2.4 插图(照片)、表具有自明性,并按出现的先后次序顺序编号。在论述中应先文后图、表。中文稿件中,插图(照片)、表标题应同时采用中英文双语表示。插图(照片)、表头的量或用来标记图形轴线的量,用“量符号/单位标准化符号”形式标记。表应置于正文相应位置处,用三线表,必要时可加辅助线。若有表注,可写在表底线左侧。插图曲线要求墨色均匀、粗细均匀,照片要求清晰,黑白反差大。彩色插图(照片)需转化为灰度图。插图(照片)要精选,切忌与表及文中表达重复。

2.5 应引用与本工作有关的、近年的主要文献,未公开发表的资料请勿引用。引用时,参考文献序号须加[],一般置于右上角;若写成“文献[]”,则与正文平排。参考文献应按正文中引文出现的先后顺序列出。参考文献中,作者应以姓在前、名缩写在内的形式列出

(不加缩写点)。文献作者 3 名以内全部列出,4 名以上只列前 3 名,后加“,等”或“,et al”。英文稿件中的中文参考文献需在其后注明“(in Chinese)”。专著、期刊等文献格式按 GB/T 7714-2015 的规则执行,说明如下(详细说明请参考本刊网站投稿指南):

+ 专著(包括各种图书,学位论文,技术报告,文集,丛书等)

主要责任者. 题名:其他题名信息[文献类型标志]. 其他责任者. 版本项(初版不写). 出版地:出版者,出版年:起始页码。

+ 专著中的析出文献

析出文献主要责任者. 析出文献题名[文献类型标志]. 析出文献其他责任者//主要责任者. 专著题名:其他题名信息. 版本项(初版不写). 出版地:出版者,出版年:起始页码。

+ 连续出版物(包括期刊,报纸等)

主要责任者. 题名:其他题名信息[文献类型标志]. 年,卷(期)-年,卷(期). 出版地:出版者,出版年:起始页码。

+ 连续出版物中的析出文献

析出文献主要责任者. 析出文献题名[文献类型标志]. 连续出版物题名:其他题名信息,年,卷(期):起始页码。

+ 专利文献

申请专利者或所有者. 专利题名:专利国别,专利号[文献类型标志]. 公告日期或公开日期。

+ 电子文献

主要责任者. 题名:其他题名信息[文献类型标志/文献载体标志]. 出版地:出版者,出版年(更新或修改日期)[引用日期]. 获取或访问路径(其中文献类型标志/文献载体标志包括:[DB/OL]表示联机网上数据库,[DB/MT]表示磁带数据库,[M/CD]表示光盘图书,[CP/DK]表示磁盘软件,[J/OL]表示网上期刊,[EB/OL]表示网上电子公告)

3. 其 它

3.1 自 2007 年起,作者须通过网站投稿系统投稿。来稿刊登与否由编辑部根据专家审稿意见和编委会决议最后审定。拟刊登的稿件,作者需提供其最后定稿的方正或 Word 等电子文档;不拟刊登的来稿,编辑部将及时函告作者,但稿件不退还,请自留底稿。

3.2 稿件文责自负(包括政治、学术、保密等),编辑部有权进行技术性和文字性的修改。来稿一经排版,作者对清样稿不能再作大量的文字改动。编辑部对在本刊发表论文者,收取适量的发表费。稿件刊登后向作者寄送本期样刊 1 份、精装抽印本 10 份,并为作者提供该文的 PDF 文档。

3.3 作者须同意将该文的复制权、发行权、信息网络传播权、翻译权、汇编权等权力在全世界范围内转让给编辑部。

3.4 清样稿的 PDF 文档将通过 E-mail 发给通讯作者作最后的阅读和校对。编辑部在收到校对后的清样稿和发表费后再安排付印。

3.5 凡与编辑部的通讯,请注明稿件编号。来函请寄:610064 四川省成都市四川大学学报(自然科学版)编辑部。电话:(028) 85410393, E-mail:scdx@scu.edu.cn, 网址: <http://science.ijournals.cn>

本刊被下列国内外重要检索系统列为刊源：

- + 中国综合性科技类核心期刊(北大核心)
 - + 中国科学引文数据库(CSCD)
 - + 中国科技论文与引文数据库
 - + 中国学术期刊综合评价数据库
 - + 中国学术期刊(光盘版)数据库
 - + 万方数据系统科技期刊群数据库
 - + 维普中文科技期刊数据库
- + 中国知网数据库
 - + 美国《数学评论》(MR)
 - + 美国《化学文摘》(CA)
 - + 俄罗斯《文摘杂志》(PJK)
 - + 英国《动物学记录》(ZR)
 - + 美国《生物学文摘》(BA)
 - + 德国《数学文摘》(Zbl Math)

四川 大 学 学 报 (自 然 科 学 版)
Sichuan Daxue Xuebao (Ziran Kexue Ban)
(双月刊 1955 年创刊)
第 58 卷 第 4 期

Journal of Sichuan University
(Natural Science Edition)
(Bimonthly, Started in 1955)
Vol. 58 No. 4

主 办 单 位	四川大学	Sponsored by	Sichuan University
主 管 单 位	国家教育部	Managed by	National Education Ministry
编 辑 出 版	四川大学学报(自然科学版)编辑部 (四川省成都市武侯区望江路 29 号, 邮编: 610064) E-mail: scdx@scu.edu.cn	Edited by	Editorial Department of Journal of Sichuan University (Natural Science Edition) http://science.scu.edu.cn http://science.ijournals.cn
主 编	王玉忠 院士	Editor	Academician WANG Yu-Zhong
常务副主编	陈忠林 教授	Administrative Vice Editor	Professor CHEN Zhong-Lin
印 刷	成都市富生实业有限公司	Printed by	Chengdu Fusheng Co., Ltd
国 内 发 行	四川省报刊发行局	Distributed by	Sichuan Newspaper&Journal Publishing Bureau Domestic All Local Post Offices
国 内 订 购	全国各地邮政局		China International Book Trading Corporation
国 外 发 行	中国国际图书贸易总公司		
出 版 日 期	2021 年 7 月 28 日	Publishing Date	Jul. 28, 2021