

Identification and Characterization of APX Genes in Cucumber

Libin Li¹, Zhaojuan Meng¹, Yongqiang Wang¹, Guilan Yang¹,
Zonghui Yang¹, Fuqin Ji², Meixiang Han², Qiwei Cao^{1*}

¹Key Laboratory of Greenhouse Vegetable's Biology of the Shandong Province, Vegetable Science Observation and Experiment Station in Huang Huai District of Ministry of Agriculture (Shandong), Shandong Branch of National Improvement Center for Vegetables, Vegetable Institute of Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan Shandong

²Wanfeng Seed Company Limited in Ningyang County, Shandong Province, Ningyang Shandong
Email: libin224@126.com, *caoqiwei2004@sina.com

Received: Jun. 27th, 2018; accepted: Jul. 12th, 2018; published: Jul. 19th, 2018

Abstract

Plant ascorbate peroxidase (APX) genes play significant roles in environmental stress response and development. However, the knowledge about them in the important vegetable cucumber is scarce. In this paper, 6 APX genes in cucumber genome were identified through bioinformatics method. And their chromosome location, gene exon-intron structure, phylogeny, and cis-elements were systematically analyzed. The results showed that cucumber APX genes distribute in different chromosomes, and their putative coding sequence size ranges from 750 bp to 1425 bp. They all have 8 or more exons, and their putative encoded proteins are predicted to localize in cytosol or chloroplast. There are typical ascorbate peroxidase domain, myristoylation sites, and phosphorylation sites in APXs encoded proteins of cucumber. And also, multiple cis-elements responsive to different environmental stimuli and hormones are existed in cucumber APX upstream sequences, which suggests they may have some roles in environmental stress responses.

Keywords

Cucumis sativus L., Ascorbate Peroxidase Gene, Structure, Phylogeny, Cis-Element

黄瓜抗坏血酸过氧化物酶基因的鉴定和特征分析

李利斌¹, 孟昭娟¹, 王永强¹, 杨桂兰¹, 杨宗辉¹, 纪复勤², 韩梅香², 曹齐卫^{1*}

¹山东省农业科学院蔬菜花卉研究所, 国家蔬菜改良中心山东分中心, 农业部黄淮地区蔬菜科学观测实验

*通讯作者。

文章引用: 李利斌, 孟昭娟, 王永强, 杨桂兰, 杨宗辉, 纪复勤, 韩梅香, 曹齐卫. 黄瓜抗坏血酸过氧化物酶基因的鉴定和特征分析[J]. 计算生物学, 2018, 8(2): 33-39. DOI: 10.12677/hjcb.2018.82005

站(山东), 山东省设施蔬菜生物学重点实验室, 山东 济南

²山东宁阳万丰种业有限公司, 山东 宁阳

Email: libin224@126.com, caoqiwei2004@sina.com

收稿日期: 2018年6月27日; 录用日期: 2018年7月12日; 发布日期: 2018年7月19日

摘要

植物抗坏血酸过氧化物酶基因在逆境应答和发育过程中具有重要功能, 但是在我国重要蔬菜黄瓜中缺乏报道。本文通过生物信息学的方法, 从黄瓜基因组中鉴定出6个抗坏血酸过氧化物酶基因, 并对它们的染色体分布、基因结构、系统进化和顺式元件进行了系统分析。结果显示, 黄瓜APX分布在不同的染色体上, 编码区大小在750~1425 bp, 含有8个以上外显子, 预测编码蛋白定位在细胞质或者叶绿体中。它们都具有抗坏血酸过氧化物酶的特征结构域和磷酸化及豆蔻酰化位点。在它们的上游基因序列中, 存在多个逆境和激素应答顺式调控元件, 暗示它们在逆境应答中具有一定功能。

关键词

黄瓜, 抗坏血酸过氧化物酶基因, 结构, 系统进化, 顺式元件

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

维生素 C 过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)是植物 AsA-GSH 氧化还原途径的重要组分, 是清除 H₂O₂ (特别是叶绿体中的 H₂O₂)的关键酶[1] [2] [3]。植物 APX 基因家族由 4 个亚家族组成, 分别为细胞质、叶绿体、线粒体和过氧化物酶体基因亚家族。它们在植物非生物逆境和生物逆境应答、生长发育过程中具有重要功能, 并得到广泛研究[4]-[10]。有关植物 APX 基因的研究在模式植物拟南芥中最为系统和深入。例如, 拟南芥的 APX1 在氧化胁迫应答[11] [12]、盐胁迫应答[13]、重金胁迫应答和硒的应答等方面具有重要功能[14] [15], APX2 能够提高热胁迫下种子的产量[16], APX3 对植株的生长发育至关重要, 而且与分子伴侣蛋白结合起作用[17] [18], APX4 可调节种子活力和幼苗生长[19], APX6 能够保护种子免遭胁迫并介导活性氧、脱落酸和生长素信号的交叉应答[20], 而 TAPX 和 SAPX 在植物发育[21]、干旱和盐胁迫应答[22]、光保护等[23] [24] [25]过程中具有重要功能。

目前, 有关黄瓜 APX 生理水平的研究比较多[26] [27] [28], 但有关它们基因水平的研究还很缺乏。因此, 本文利用生物信息学的方法, 从黄瓜基因组中鉴定出 6 个 APX 基因, 并对这些基因的染色体分布、基因结构、遗传进化和顺式调控元件进行了系统分析, 为研究黄瓜 APX 基因在生长发育和逆境应答中的功能提供线索。

2. 研究方法

利用拟南芥的 APX 基因序列来搜索黄瓜基因组数据库

(<http://cucumber.genomics.org.cn/page/cucumber/blast.jsp>)和 NCBI 数据库

(http://blast.st-va.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?CMD=Web&PAGE_TYPE=BlastHome)中黄瓜 *APX* 基因。通过 blastX 来确定基因及其编码序列。根据它的编码区序列确定其所在染色体及位置。利用 Mega4.1 软件对这些基因进行遗传进化分析, 并与拟南芥的 *APX* 基因进行比较分析。利用 motif-Scan (http://myhits.isb-sib.ch/cgi-bin/motif_scan)对黄瓜的 *APX* 蛋白进行结构域预测和分析。通过 *APX* 编码区和基因组序列的比对来显示基因外显子和内含子的组成。根据编码区序列和其所在 scaffold 的序列得到黄瓜 *APX* 基因起始密码子 ATG 上游 1500 bp 的序列。利用 PLANTCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)对启动子区的顺式反应元件进行预测分析。遗传进化分析利用 MEGA4.1 进行, 采用 Bootstrap test-Neighbor Joining 方法, 重复 500 次运算。利用 WoLF PSORT (http://www.genscript.com/psort/wolf_psort.html)对黄瓜 *APX* 基因编码的蛋白进行亚细胞定位预测。

3. 结果与分析

3.1. 黄瓜 *APX* 的鉴定、系统进化和蛋白基序分析

利用生物信息学方法, 作者从黄瓜基因组中鉴定出 6 个 *APX* 基因, 编码区大小为 750~1425 bp, 外显子数为 8~13 个, 预测编码的蛋白分别位于细胞质、叶绿体或者线粒体中(见表 1, 图 1)。除 4 号染色体外, 其余染色体上各含有一个 *APX* 基因。系统进化分析发现, 黄瓜的 *Csa019442* 和 *Csa018312* 与拟南芥的 *APX1* 直系同源, *Csa013991* 与拟南芥的 *APX3* 直系同源, *Csa020418* 与 *AtTAPX* 直系同源, *Csa006095* 与 *AtAPX6* 直系同源, *Csa002249* 与 *AtAPX4* 直系同源(见图 2)。*Csa019442* 和 *Csa018312* 编码蛋白的序列一致性为 70.71%, *Csa019442* 和 *Csa018312* 与拟南芥 *APX1* 的序列一致性分别为 72.50%和 67.86%, *Csa013991* 与 *AtAPX3*, *Csa020418* 与 *AtTAPX*, *Csa006095* 与 *AtAPX6*, *Csa002249* 与 *AtAPX4* 的序列一致性分别为 69.35%, 63.15%, 54.28%和 62.70%。蛋白基序分析发现, 黄瓜 *APX* 基因编码的蛋白都含有 2~6 个豆蔻酰化位点, 一个特征结构域抗坏血酸过氧化物酶结构域, 2~9 个磷酸激酶 C 磷酸化位点。*Csa006095*, *Csa002249* 和 *Csa020418* 都含有糖基化位点, *Csa006095* 和 *Csa020418* 还含有一个乙酰化位点(见表 2)。亚细胞定位预测显示, *Csa019442* 和 *Csa018312* 的编码产物定位在细胞质中, *Csa006095*、*Csa002249* 和 *Csa013991* 定位在叶绿体上, 而 *Csa020418* 定位在线粒体上(见表 1)。

3.2. 黄瓜 *APX* 的顺式元件和功能预测

顺式调控元件分析对于基因功能的预测具有重要意义。笔者发现, 在黄瓜 *APX* 基因的上游序列中存在多个逆境和激素应答调控元件, 而且各不相同(见表 3)。其中, *Csa018312* 和 *Csa013991* 各有 2 和 3 个 ABA 应答元件 ABRE, *Csa019442*, *Csa006095* 和 *Csa002249* 各有一个生长素应答元件 AuxRR-core 或者

Table 1. Molecular feature of *APX* genes

表 1. 黄瓜 *APX* 基因的分子特征

基因	染色体	位置	编码区大小	外显子数	亚细胞定位预测
<i>Csa019442</i>	1	15807060-15809026	750 bp	8	细胞质
<i>Csa006095</i>	2	18735499-18738984	1017 bp	10	叶绿体
<i>Csa002249</i>	3	32554520-32557912	1047 bp	11	叶绿体
<i>Csa018312</i>	5	24613561-24617126	750 bp	8	细胞质
<i>Csa020418</i>	6	15451484-15459877	1425 bp	13	线粒体
<i>Csa013991</i>	7	5306127-5310946	1008 bp	10	叶绿体

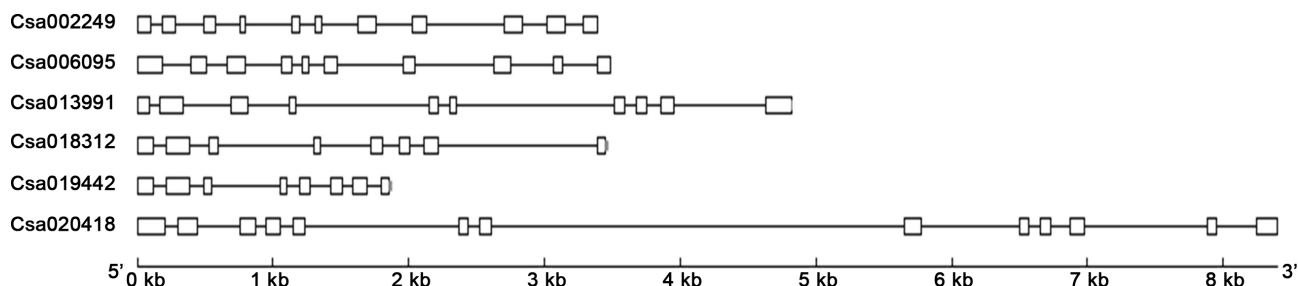


Figure 1. Exon-intron structure of cucumber *APX* genes: square frame substitutes exon, straight line substitutes intron
图 1. 黄瓜 *APX* 基因的外显子-内含子结构: 方框代表外显子, 直线代表内含子

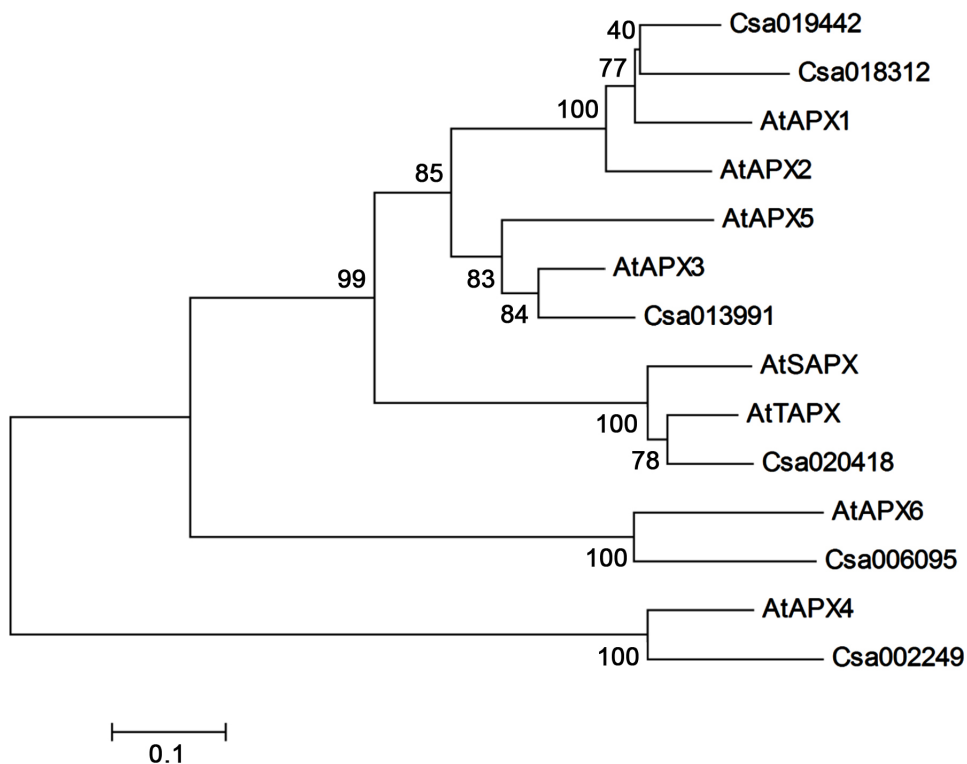


Figure 2. Phylogeny of cucumber and arabidopsis *APX* genes
图 2. 黄瓜和拟南芥 *APX* 基因的系统进化

Table 2. Motifs of cucumber *APX* encoded proteins
表 2. 黄瓜 *APX* 编码蛋白的基序

蛋白	豆蔻酰化位点	糖基化/乙酰化位点	抗坏血酸过氧化物酶结构域	蛋白激酶 C 磷酸化位点
Csa019442	2		1	2
Csa006095	5	3/1	1	6
Csa002249	6	1	1	4
Csa018312	2		1	2
Csa020418	4	2/1	1	9
Csa013991	4	/1	1	5

Table 3. Cis-elements of cucumber *APX* genes
表 3. 黄瓜 *APX* 基因的顺式元件

gene	ABRE	AuxRR -core/TGA element	Box -W1	CGTCA -motif	EIRE	ERE	GARE -motif/ p box	HSE	LTR	MBS	TC-rich repeats	TCA -element	W box
<i>Csa019442</i>		1		3	1	1		2	1		2	1	
<i>Csa006095</i>		/1			1				2	1	1		
<i>Csa002249</i>		/1		1			1				2	1	
<i>Csa018312</i>	2		1				1	3		1	2	2	1
<i>Csa020418</i>				1		3	/1	1		1	1	4	
<i>Csa013991</i>	3		1			2	1	1			3		1

注: ABRE 为脱落酸应答元件, CGTCA-motif 为茉莉酸甲酯(MeJA)应答元件, ERE 为乙烯应答元件, GARE-motif 和 P-ox 为赤霉素应答元件, HSE 为热胁迫应答元件, LTR 为低温应答元件, MBS 为干旱应答元件, TC-rich repeats 为逆境和防卫应答元件, TGA-element 为生长素应答元件, TCA-element 为水杨酸应答元件, W box 为病原物应答元件。

TGA-element, *Csa018312* 和 *Csa013991* 分别含有 1 个真菌应答元件的 Box-W1, *Csa019442*、*Csa002249* 和 *Csa020418* 都含有茉莉酸甲酯应答元件 CGTCA-motif, *Csa019442* 和 *Csa006095* 含有激发子互作元件 EIRE, *Csa019442*、*Csa020418* 和 *Csa013991* 都含有乙烯应答元件 ERE, *Csa002249*、*Csa018312*、*Csa020418* 和 *Csa013991* 含有赤霉素应答元件 GARE-motif 或者 P box, *Csa019442*、*Csa018312*、*Csa020418* 和 *Csa013991* 含有热胁迫应答元件 HSE, *Csa019442* 和 *Csa006095* 含有低温应答元件 LTR, *Csa006095*、*Csa018312* 和 *Csa020418* 含有干旱应答元件 MBS, 所有的 *APX* 基因都含有逆境和防卫应答元件 TC-richRepeats, *Csa019442*、*Csa002249*、*Csa018312* 和 *Csa020418* 都含有水杨酸应答元件 TCA-element, 而 *Csa018312* 和 *Csa013991* 含有防卫应答元件 W box。从以上分析可以看出, 黄瓜的 *APX* 基因不仅含有非生物逆境应答元件, 也含有生物逆境应答元件, 而且它们含有的应答元件的类型和数目都有所不同。结合进化分析和拟南芥 *APX* 的研究结果, 笔者认为, *Csa019442* 在温度胁迫应答和防卫反应中具有一定功能, 可响应生长素、茉莉酸甲酯、乙烯和水杨酸, *Csa018312* 在干旱、热胁迫应答和防卫过程中具有一定功能, 可响应 ABA、赤霉素和水杨酸信号, *Csa006095* 在干旱、冷胁迫应答和种子成熟萌发中具有一定功能, 可响应生长素信号, *Csa002249* 在种子活力和幼苗生长中具有一定功能, 可响应生长素、茉莉酸甲酯、赤霉素和水杨酸信号, *Csa020418* 在热和干旱应答中具有一定功能, 可响应多种激素信号, 而 *Csa013991* 可响应 ABA、乙烯、赤霉素信号, 在热胁迫和生物逆境应答中具有一定功能。

4. 结论

笔者从黄瓜基因组中鉴定出 6 个 *APX* 基因, 它们在染色体分布、基因和编码蛋白的结构、系统进化和顺式调控元件等方面存在明显差异, 说明它们在功能上存在分化。这与拟南芥的研究结果相一致。顺式元件分析结果表明, 黄瓜的 *APX* 基因可对干旱等多种逆境和脱落酸等多种植物激素信号做出应答, 可能具有复杂多样的生物学功能。至于它们在植物逆境和激素应答中的具体功能, 需要进一步结合分子生物学和生物化学的方法进行研究。

基金项目

本文受山东省农业良种工程项目(2016LZGC033)和山东省农业科学院农业科技创新工程项目(CXGC2018D05)资助。

参考文献

- [1] Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M. and Vitti, A. (2015) Ascorbate Peroxidase and Catalase Activities and Their Genetic Regulation in Plants Subjected to Drought and Salinity Stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, **16**, 13561-13578. <https://doi.org/10.3390/ijms160613561>
- [2] 李泽琴, 李静晓, 张根发. 植物抗坏血酸过氧化物酶的表达调控以及对非生物胁迫的耐受作用[J]. 遗传, 2013, 35(1): 45-54.
- [3] Yang, H., Mu, J., Chen, L., Feng, J., Hu, J., Li, L., Zhou, J.M. and Zuo, J. (2015) S-Nitrosylation Positively Regulates Ascorbate Peroxidase Activity during Plant Stress Responses. *Plant Physiology*, **167**, 1604-1615. <https://doi.org/10.1104/pp.114.255216>
- [4] 曾秀存, 孙万仓, 方彦, 刘自刚, 董云, 孙佳, 武军艳, 张鹏飞, 史鹏辉, 孔德晶, 张腾国, 何丽, 赵彩霞. 白菜型冬油菜抗坏血酸过氧化物酶(APX)基因的克隆、表达及其活性分析[J]. 作物学报, 2013, 39(8): 1400-1408.
- [5] 王竹青, 陈云, 杨玉婷, 苏亚春, 陈珊珊, 吴期滨, 许莉萍. 甘蔗抗坏血酸过氧化物酶基因(ScAPX)的克隆及表达分析[J]. 农业生物技术学报, 2015, 23(2): 170-180.
- [6] 赵雁, 车伟光, 毕玉芬. 高温胁迫下“德钦”紫花苜蓿 APX 活性和转录水平分析[J]. 分子植物育种, 2015, 13(7): 1611-1615.
- [7] 许传俊, 孙叙卓, 李玲, 茹志伟, 曾碧玉, 刘育梅, 黄珺梅. 蝴蝶兰抗坏血酸过氧化物酶基因克隆及其表达研究[J]. 园艺学报, 2012, 39(4): 769-776.
- [8] 龙娅丽, 朱白婢, 徐子健, 张文, 江雪飞. 西瓜 APX 基因的序列分析及其茉莉酸甲酯诱导表达特性[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 35(8): 2125-2132.
- [9] 陈莉, 辛海波, 孙向荣, 尹慧, 李晓昕, 义鸣放. 百合 APX 基因的克隆及转 LIAPX 提高拟南芥耐盐性[J]. 园艺学报, 2010, 37(1): 1983-1990.
- [10] Duan, M., Feng, H.L., Wang, L.Y., Li, D. and Meng, Q.W. (2012) Overexpression of Thylakoidal Ascorbate Peroxidase Shows Enhanced Resistance to Chilling Stress in Tomato. *Journal of Plant Physiology*, **169**, 867-877. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.02.012>
- [11] Davletova, S., Rizhsky, L., Liang, H., Shengqiang, Z., Oliver, D.J., Coutu, J., Shulaev, V., Schlauch, K. and Mittler, R. (2005) Cytosolic Ascorbate Peroxidase 1 Is a Central Component of the Reactive Oxygen Gene Network of Arabidopsis. *Plant Cell*, **17**, 268-281. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.026971>
- [12] Maruta, T., Inoue, T., Noshi, M., Tamoi, M., Yabuta, Y., Yoshimura, K., Ishikawa, T. and Shigeoka, S. (2012) Cytosolic Ascorbate Peroxidase 1 Protects Organelles against Oxidative Stress by Wounding- and Jasmonate-Induced H₂O₂ in Arabidopsis Plants. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1820**, 1901-1907. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.08.003>
- [13] Koussevitzky, S., Suzuki, N., Huntington, S., Armijo, L., Sha, W., Cortes, D., Shulaev, V. and Mittler, R. (2008) Ascorbate Peroxidase 1 Plays a Key Role in the Response of *Arabidopsis thaliana* to Stress Combination. *The Journal of Biological Chemistry*, **283**, 34197-34203. <https://doi.org/10.1074/jbc.M806337200>
- [14] Jiang, L., Wang, W., Chen, Z., Gao, Q., Xu, Q. and Cao, H. (2017) A Role for APX1 Gene in Lead Tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*, **256**, 94-102. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.11.015>
- [15] Jiang, L., Chen, Z., Gao, Q., Ci, L., Cao, S., Han, Y. and Wang, W. (2016) Loss-of-Function Mutations in the APX1 Gene Result in Enhanced Selenium Tolerance in Arabidopsis Thaliana. *Plant Cell Environment*, **39**, 2133-2144. <https://doi.org/10.1111/pce.12762>
- [16] Suzuki, N., Miller, G., Sejima, H., Harper, J. and Mittler, R. (2013) Enhanced Seed Production under Prolonged Heat Stress Conditions in *Arabidopsis thaliana* Plants Deficient in Cytosolic Ascorbate Peroxidase 2. *Journal of Experimental Botany*, **64**, 253-263. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers335>
- [17] Narendra, S., Venkataramani, S., Shen, G., Wang, J., Pasapula, V., Lin, Y., Korniyev, D., Holaday, A.S. and Zhang, H. (2006) The *Arabidopsis ascorbate* Peroxidase 3 Is a Peroxisomal Membrane-Bound Antioxidant Enzyme and Is Dispensable for Arabidopsis Growth and Development. *Journal of Experimental Botany*, **57**, 3033-3042. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl060>
- [18] Shen, G., Kuppu, S., Venkataramani, S., Wang, J., Yan, J., Qiu, X. and Zhang, H. (2010) Ankyrin Repeat-Containing Protein 2A Is an Essential Molecular Chaperone for Peroxisomal Membrane-Bound Ascorbate Peroxidase3 in Arabidopsis. *Plant Cell*, **22**, 811-831. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.065979>
- [19] Wang, Y.Y., Hecker, A.G. and Hauser, B.A. (2014) The APX4 Locus Regulates Seed Vigor and Seedling Growth in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, **239**, 909-919. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2025-2>
- [20] Chen, C., Letnik, I., Hacham, Y., Dobrev, P., Ben-Daniel, B.H., Vanková, R., Amir, R. and Miller, G. (2014) Ascor-

- bate Peroxidase6 Protects Arabidopsis Desiccating and Germinating Seeds from Stress and Mediates Cross Talk between Reactive Oxygen Species, Abscisic Acid, and Auxin. *Plant Physiology*, **166**, 370-383. <https://doi.org/10.1104/pp.114.245324>
- [21] Miller, G., Suzuki, N., Rizhsky, L., Hegie, A., Koussevitzky, S. and Mittler, R. (2007) Double Mutants Deficient in Cytosolic and Thylakoid Ascorbate Peroxidase Reveal a Complex Mode of Interaction between Reactive Oxygen Species, Plant Development, and Response to Abiotic Stresses. *Plant Physiology*, **144**, 1777-1785. <https://doi.org/10.1104/pp.107.101436>
- [22] Kangasjärvi, S., Lepistö, A., Hännikäinen, K., Piippo, M., Luomala, E.M., Aro, E.M. and Rintamäki, E. (2008) Diverse Roles for Chloroplast Stromal and Thylakoid-Bound Ascorbate Peroxidases in Plant Stress Responses. *Biochemistry Journal*, **412**, 275-285. <https://doi.org/10.1042/BJ20080030>
- [23] Awad, J., Stotz, H.U., Fekete, A., Krischke, M., Engert, C., Havaux, M., Berger, S. and Mueller, M.J. (2015) 2-Cysteine Peroxiredoxins and Thylakoid Ascorbate Peroxidase Create a Water-Water Cycle That Is Essential to Protect the Photosynthetic Apparatus under High Light Stress Conditions. *Plant Physiology*, **167**, 1592-1603. <https://doi.org/10.1104/pp.114.255356>
- [24] Maruta, T., Tanouchi, A., Tamoi, M., Yabuta, Y., Yoshimura, K., Ishikawa, T. and Shigeoka, S. (2010) Arabidopsis Chloroplastic Ascorbate Peroxidase Isoenzymes Play a Dual Role in Photoprotection and Gene Regulation under Photooxidative Stress. *Plant Cell Physiology*, **51**, 190-200. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcp177>
- [25] van Buer, J., Cvetkovic, J. and Baier, M. (2016) Cold Regulation of Plastid Ascorbate Peroxidases Serves as a Priming Hub Controlling ROS Signaling in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biology*, **16**, 163. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0856-7>
- [26] 高俊杰, 秦爱国, 于贤昌. 低温胁迫对嫁接黄瓜叶片抗坏血酸——谷胱甘肽循环的影响[J]. 园艺学报, 2009, 36(2): 215-220.
- [27] 郑俊骞, 孙艳, 韩寿坤, 张浩, 王益权. 土壤紧实胁迫对黄瓜抗坏血酸——谷胱甘肽循环的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(2): 433-440.
- [28] 徐向东, 孙艳, 郭晓芹, 孙波, 张坚. 褪黑素对高温胁迫下黄瓜幼苗抗坏血酸代谢系统的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21(10): 2580-2586.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-5426, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: hjcb@hanspub.org