

野生大豆胁迫应答 LRR 类受体蛋白激酶基因的克隆及其表达特性分析

杨 靛¹, 李翔宇², 高 鹏³, 陈庆园⁴, 郭玉双⁴

(1. 福建农林大学 植物病毒研究所, 福建省植物病毒学重点实验室, 福建 福州 350002; 2. 黑龙江省农业科学院 作物育种研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 3. 东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 4. 贵州省烟草科学研究所, 贵州 贵阳 550083)

摘要: 从前期构建的野生大豆在高盐、低温、干旱早期的基因表达谱中, 选取了在 4℃ 胁迫早期 (1 h) 上调表达的 LRR-RLK 的 EST, 通过 SMART 和 RACE 结合的方法获得了 GsLRPK 的全长序列; 该基因全长 2 264 bp, 共编码 714 个氨基酸。生物信息学分析表明其氮端含有 1 个 LRR N-terminal domain 及串联排列的 LRR-Motif; 碳端含有丝/苏氨酸蛋白激酶催化结构域的 11 个亚基。此外, GsLRPK 蛋白氮端 22 个氨基酸为可能的信号肽序列, 并且存在 1 个跨膜结构域, 很可能定位于细胞质膜或细胞器膜。半定量 PCR 分析显示该基因可受干旱、ABA、4℃ 低温及高盐胁迫的诱导, 可能作为一个“关键节点”在胁迫信号传导通路中发挥重要作用。

关键词: 野生大豆; LRR-RLK; 渗透胁迫

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2012)05-0718-07

Isolation and Expression Pattern Analysis of LRR Kinase Gene Response to Osmotic Stress from *Glycine soja*

YANG Liang¹, LI Xiang-yu², GAO Peng³, CHEN Qing-yuan⁴, GUO Yu-shuang⁴

(1. Key Laboratory of Plant Virology of Fujian Province, Institute of Plant Virology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian; 2. Crop Breeding Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Science, Harbin 150086, Heilongjiang; 3. College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang; 4. Guizhou Institute of Tobacco Science, Guiyang 550083, Guizhou, China)

Abstract: One EST induced by cold represents a leucine-rich repeat receptor-like kinase (LRR-RLK) gene was identified according to the gene expression profiles of *Glycine soja* leaves under osmotic stresses previously constructed in our laboratory. The full-length cDNA was successfully retrieved by RACE, which was 2 264 bp in length and contains a complete ORF encoding 714 amino acids. The bioinformatics analysis showed that, the GsLRPK protein had an N-terminal signal sequence (residues 1 to 22), extracellular leucine-rich repeats, a single transmembrane region, and a cytoplasmic catalytic domain, considered crucial for kinase activity. What's more, semi-quantity PCR result showed that the GsLRPK was regulated by different stresses treatment, such as drought, ABA, 4℃ cold and high salinity, and could function in the signaling of osmotic stresses.

Key words: *Glycine soja*; LRR-RLK; Osmotic stress

低温、干旱、盐碱等环境因子会限制植物对水分的吸收, 造成渗透势的改变, 导致非生物胁迫的产生, 由此对植物的生长发育、产量及品质造成严重的影响^[1]。通过转基因的方法将一些已鉴定的优良抗性基因导入作物中, 改良其耐胁迫能力已成为现代分子育种的重要途径^[2]。迄今, 已有很多通过转基因方法来增强植物抗逆性的报道, 但是, 植物对胁迫的耐受是分子水平上系统的调控过程, 需要众多基因和蛋白的协调作用。将单个下游的功能基因导入作物, 对其抗逆性的改良效果十分有限, 难以达到实际生产的要求。因此, 寻找优良的抗性基因是植物抗逆基因工程必须解决的首要任务。

野生大豆 (*Glycine soja*) 生长在野外自然条件下, 经常受到干旱、盐碱及低温等恶劣环境条件的

胁迫。在漫长的自然选择过程中, 积累了较强的胁迫耐受性, 含有丰富的抗逆基因, 是克隆耐胁迫基因的理想试材^[3]。

受体类蛋白激酶 (receptor-like kinases, RLK) 通过对底物蛋白的磷酸化在胁迫信号的感受、传递和级联放大等方面起到了非常重要的作用^[4-5]。其中富含亮氨酸重复区 (leucine-rich repeat, LRR) 的类受体蛋白激酶 (leucine-rich repeat receptor-like kinase, LRR-RLK) 是植物 RLKs 中最大的一类, Shiu 等^[6]通过对拟南芥和水稻全基因组序列的分析发现其中约一半的受体类激酶都含有 LRR 的结构域。一般而言, 植物 RLKs 包含胞外结构域 (extracellular domain)、跨膜结构域 (trans-membrane domain) 和胞内激酶结构域 (cytoplasmic kinase domain), 胞外结构域含有串联排列的 LRRs 基序, 胞内激酶区具有

收稿日期: 2012-07-09

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2011J05051); 福建省教育厅科技项目 (JA11080)。

第一作者简介: 杨靛 (1981-), 女, 博士, 讲师, 研究方向为分子病毒学。E-mail: yangliang.fafu@139.com。

通讯作者: 郭玉双 (1981-), 男, 博士, 研究方向为烟草生物技术。E-mail: yshguo@126.com。

丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性^[7-8]。

LRR-RLKs 在植物对多种信号的响应中发挥作用。如水稻受体激酶 Xa21 的胞外区含有 21 个 LRR 基序,参与在细胞表面识别水稻白叶枯病原菌的无毒基因产物,继而激活 Xa21 的自磷酸化,产生一系列的植物细胞内防卫反应^[9-10]。拟南芥 BRI1 也是一种 LRR 型 RPK,在调节植物类固醇(BR)的信号传导中起着关键作用^[11-12]。此外,研究证明,其他植物激素如脱落酸、赤霉素、乙烯等也可诱导 LRR 型 RPKs 的表达。拟南芥 RPK1 参与非生物胁迫适应性反应,在 ABA 信号转导主要途径和 ABA 信号的早期识别中发挥作用^[13]。Junga 等^[14]也发现辣椒的 CALRR1 不仅可以被炭疽病原菌诱导表达也可以在高盐、ABA 和机械损伤等非生物胁迫条件下表达。

本研究从本实验室前期构建的东北野生大豆在高盐、低温、干旱早期的基因表达谱中,选取了在 4℃ 胁迫早期(1 h)上调表达的 LRR-RLK 的 EST,通过 SMART/RACE 的方法获得了该基因的全长序列;利用生物信息学预测的方法初步分析了蛋白的性质、结构和功能;并采用 semi-PCR 分析了该基因的表达特性。通过后续在植物耐渗透胁迫反应中的作用及其调控机制的研究,可丰富抗逆分子育种的基因资源,并为植物抗渗透胁迫机理的研究奠定分子基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料 野生大豆:东北野生大豆 50109。

1.1.2 主要试剂 Trizol Reagent 购自 Promega;反转录酶、rTaq、LA Taq 酶均购自大连宝生物;胶回收试剂盒购自北京天根公司。

1.1.3 菌种和质粒 大肠杆菌 DH5 α 为本实验室保存;pGEM[®]-T vector 购自 Promega。

1.1.4 生物信息学软件及数据库 野生大豆 EST 数据库,下载自 NCBI;Linux 序列分析平台,由李勇等^[15]构建;蛋白性质分析采用 ExPASy Proteomics Server;引物设计采用 primer3;多重序列比对采用 ClustalX。

1.2 方法

1.2.1 渗透胁迫早期应答蛋白激酶 EST 的筛选

从 NCBI 的 dbEST 数据库中下载野生大豆所有 EST 的数据,与已构建的基因表达谱进行 BlastN 比对,

选取其中在低温、干旱、高盐胁迫处理下表达量上调(至少一种胁迫下),同时注释信息中含有蛋白激酶字样的 ESTs,再利用蛋白数据库 UniProt 和 Go 注释数据库进一步推断 ESTs 的功能,确定候选 LRR-RLK 的 ESTs 进行下步研究。

1.2.2 RACE 及全长序列的延伸 根据候选基因已知的 EST 序列设计巢式 PCR 的引物(Gene Specific Primers, GSPs),并利用巢式 PCR 延伸靶基因的未知序列;PCR 产物(稀释 100 倍)作为下一轮巢式 PCR 的模板,并设置单引物对照,2~3 次 PCR 扩增后进行电泳检测,若得到明显的扩增条带送交测序。判断测序结果是否含有完整的编码区,若并未到达候选基因的末端,则再根据新延伸的序列设计 GSPs,重复进行巢式 PCR 扩增,直至获得候选基因的完整序列。

1.2.3 基因产物的生物信息学分析 目的蛋白的保守结构域分析采用 NCBI 的 Blast、Conserved Domains;跨膜结构域分析采用 TMpred;信号肽分析采用 CBS Prediction Servers 的在线工具 Signal P。

1.2.4 目的基因的表达特性分析 采用 semi RT-PCR 分析候选基因在不同胁迫处理下的表达模式。内参基因采用 *actin*,扩增 25 个循环后电泳检测,并用 Image J 软件对产物的量进行半定量分析。

2 结果与分析

2.1 野生大豆渗透胁迫早期应答蛋白激酶 EST 的筛选

从 NCBI 的 dbEST 数据库中下载野生大豆所有的 EST 数据(18 511 条)。利用 Linux 序列分析平台去除其中冗余的数据,得到 unigene(9 983 条)并与 Affymetrix 大豆基因表达分析芯片探针组序列进行 BlastN 比对,利用已构建的野生大豆不同胁迫处理下的基因表达谱注释不同渗透胁迫早期(1 h) unigene 的表达情况,选取其中至少在一种胁迫处理下上调表达,同时注释中含有激酶字样的 Contigs。结果见表 1,获得低温胁迫 EST 12 个;NaCl 胁迫 EST 12 个;PEG 胁迫 EST 20 个。从中选择含有 LRR 结构域的 CL1238Contig1 作为下步研究的候选基因。

如图 1 所示,该候选 EST 与拟南芥 LRR 跨膜蛋白激酶(BAE99117)相似度较高,氨基酸的一致性达到 81%。但距离 3'端还差约 40 个氨基酸,距离 5'端还差约 440 个氨基酸,需进行 RACE 延伸。将其命名为 GsLRPK。

表 1 野生大豆渗透胁迫处理上调表达的激酶 ESTs

Table 1 The upregulated kinase ESTs in osmotic stresses treated *Glycine soja*

Unigenes 非重复序列	胁迫类型 Stress type	注释信息 Note information
BG042860	Cold	inositol 1,3,4-trisphosphate 56-kinase-like protein
BG044327	Cold	receptor-like protein kinase
BM521043	Cold	leucine-rich repeat transmembrane protein kinase 1
CA782699	Cold	protein kinase
CA783003	Cold	protein kinase
CL997Contig1	Cold	<i>HXK2_ARATH</i> hexokinase 2
CL1238Contig1	Cold	Leucine rich repeat transmembrane protein kinase 1
BG041234	PEG	pyrophosphate-dependent phosphofructokinase
BG041726	PEG	pyrophosphate-dependent phosphofructokinase
BG045572	PEG	phosphoglycerate kinase
BG047413	PEG	serinethreonine-specific protein kinase
BM522367	PEG	protein kinase
CL76Contig1	PEG	pyrophosphate-dependent phosphofructokinase
CL721Contig1	PEG	phosphoglycerate kinase
CL1183Contig1	PEG	phosphoglycerate kinase
BG044348	NaCl	receptor-like protein kinase
BM521010	NaCl	protein kinase 2 (<i>SPK-2</i>)
CL479Contig1	NaCl, PEG	protein kinase
CL680Contig1	NaCl, PEG	protein kinase
BG041366	NaCl, PEG	receptor-like serinethreonine kinase
BG042567	NaCl, PEG	choline kinase <i>GmCK1p</i>
BG044987	NaCl, PEG	protein kinase
BM524375	NaCl, PEG	serinethreonine-specific protein kinase
BM526232	NaCl, PEG	protein kinase
CL296Contig1	Cold, PEG	phosphoribulokinase
CL1779Contig1	Cold, PEG	phosphoribulokinase, chloroplast precursor (phosphopentokinase)
CL80Contig1	Cold, NaCl, PEG	<i>Glycine max</i> cv Prize protein kinase
CL129Contig1	Cold, NaCl, PEG	lectin-like protein kinase
CL1405Contig1	Cold, NaCl, PEG	<i>Glycine max</i> choline kinase <i>GmCK2p</i>

2.2 GsLRPK 全长序列的 RACE 延伸

2.2.1 5'-RACE 根据 CL1238Contig1 序列设计巢式 PCR 的 GSPs。引物序列为：

1-72; 5'-ACTACAAAATCGTCAGACATATCATT-3'

1-131; 5'-GATAACCTACAAGCTCTGTCACATT-3'

1-216; 5'-GACTCATCAGGTAGGTGAAGGAA-3'

用巢式 PCR 对 CL1238Contig1 进行 5'-RACE，上一轮 PCR 的产物，稀释后用于下一轮 PCR 的模板，3 轮反应完成后电泳检测（图 2）。

根据 *GsLRPK* 第 1 轮 5'-RACE 延伸的序列，设计用于第 2 轮 5'-RACE 的巢式 PCR GSPs。引物序列为：2-219; 5'-CCAAGCTTTTCAACATCATTAAAT-3'，2-442; 5'-GACATTTGTAGGAGCTGTTACGGT-3'，2-472; 5'-GAATCTGCAGGTCAGCTATAC-3'。3 轮巢式 PCR 电泳结果见图 3。

2.2.2 3'-RACE 3'-RACE 的巢式 PCR GSPs 序列为：3-999; 5'-GGTTGGTTTGTCTGGTCATTATACT-3'，3-1108; 5'-TCTCTGAGCAGGCGTTGGTT-3'。2 轮巢

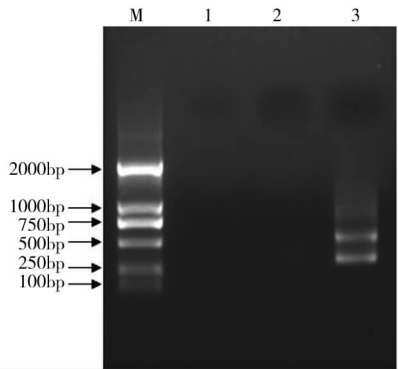
```
>[ref|NP_175777.1|] UG leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative [Arabidopsis thaliana]
sp|Q9CSM9.1|SRF6_ARATH Protein STRUBBELIG-RECEPTOR FAMILY 6 precursor (Leucine-rich repeat receptor kinase-like protein SRF6)
gb|AAG51974.1|AC024260.12 G leucine-rich repeat transmembrane protein kinase 1, putative; 10414-6710 [Arabidopsis thaliana]
gb|AAQ89622.1| G At1g53730 [Arabidopsis thaliana]
gb|AAR99674.1| G strubbelig receptor family 6 [Arabidopsis thaliana]
dbj|BAE99117.1| G LRR receptor-like protein kinase like protein [Arabidopsis thaliana]
Length=719

GENE ID: 841811 AT1G53730 | leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative [Arabidopsis thaliana]

Score = 405 bits (1042), Expect = 1e-111
Identities = 197/243 (81%), Positives = 221/243 (90%), Gaps = 1/243 (0%)
Frame = +3

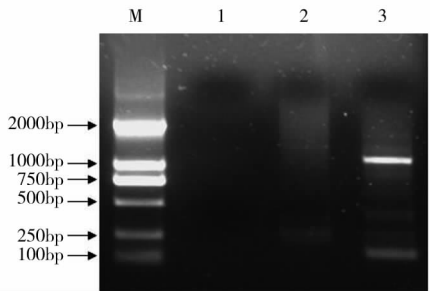
Query 3 KVLAVKKIDSSVLPN*****ALCVQPEPEFRPPM 731
KVLAVKKIDSS LP+*****ALCVQPEPEFRPPM
Sbjct 439 KVLAVKKIDSSALPH*****ALCVQPEPEFRPPM 680
```

图 1 CL1238Contig1 的 BlastX 结果
Fig.1 The BlastX result of CL1238Contig1



M:DL2000 Marker;1:5'-AP2;2:1-72;3:5'-AP2/1-72

图 2 *GsLRPK* 的 5'-RACE
Fig.2 The 5'-RACE for *GsLRPK* gene



M:DL2000 Marker;1:5'-AP2;2:2-219;3:5'-AP2/2-219

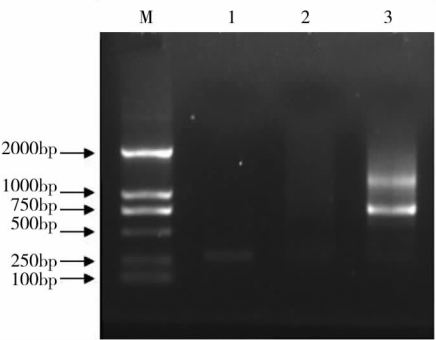
图 3 *GsLRPK* 的第 2 轮 5'-RACE
Fig.3 The second time 5'-RACE result for *GsLRPK* gene

式 PCR 电泳结果见图 4。

2.2.3 *GsLRPK* 全长基因的获得 用 DNAMAN 软件将 2 轮 5'-RACE,1 轮 3'-RACE 的序列拼接成完整序列,并用高保真酶进行 PCR 扩增,电泳结果见图 5。

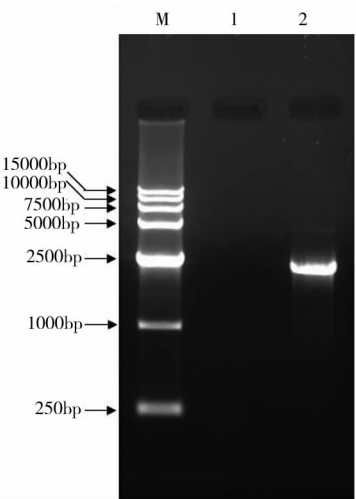
2.3 *GsLRPK* 蛋白产物的生物信息学分析

利用 NCBI 的保守结构域分析程序 (Conserved Domain Database, CDD) 及多重序列分析软件 ClustalX 对 *GsLRPK* 蛋白进行保守结构域分析 (图 6、图 7);*GsLRPK* 蛋白氮端含有 1 个 LRR N-terminal do-



M:DL2000 Marker;1:3'-AP;2:3-1108;3:3'-AP/3-1108

图 4 *GsLRPK* 的 3'-RACE
Fig.4 The 3'-RACE result for *GsLRPK* gene



M:DL2000 Marker;1:水对照;2:*GsLRPK* 全长基因扩增
M:DL2000 Marker;1: H₂ O negative control;2: Amplification product of *GsLRPK* gene

图 5 *GsLRPK* 全长基因扩增
Fig.5 Amplification of full length *GsLRPK* gene

main 及串联排列的 LRR-Motif,已有报道表明该位点与植物的抗逆功能相关;碳端含有丝/苏氨酸蛋白激酶催化结构域的 11 个亚基。其中包含 ATP 结合区 I 和保守的丝/苏氨酸蛋白激酶激活位点 (图

7:VVHKNIKSANILL, CDD Feature 1 中#号标注的氨基酸)。与其他丝/苏氨酸蛋白激酶一样, GsLRPK 蛋白也含有 DFG/APE 的保守结构域(图 7: CDD Feature 2 中#号标注的氨基酸)。此外, GsLRPK 蛋白氮端 22 个氨基酸为可能的信号肽序列, 并且存

在 1 个跨膜结构域, 很可能定位于细胞质膜或细胞器膜。具体的结果还需要通过荧光依赖的亚细胞定位实验来进行验证。综上, GsLRPK 蛋白含有胞外的 LRR 基序、跨膜结构域、丝/苏氨酸蛋白激酶催化结构域, 符合 LRR 受体类酶的结构特征。

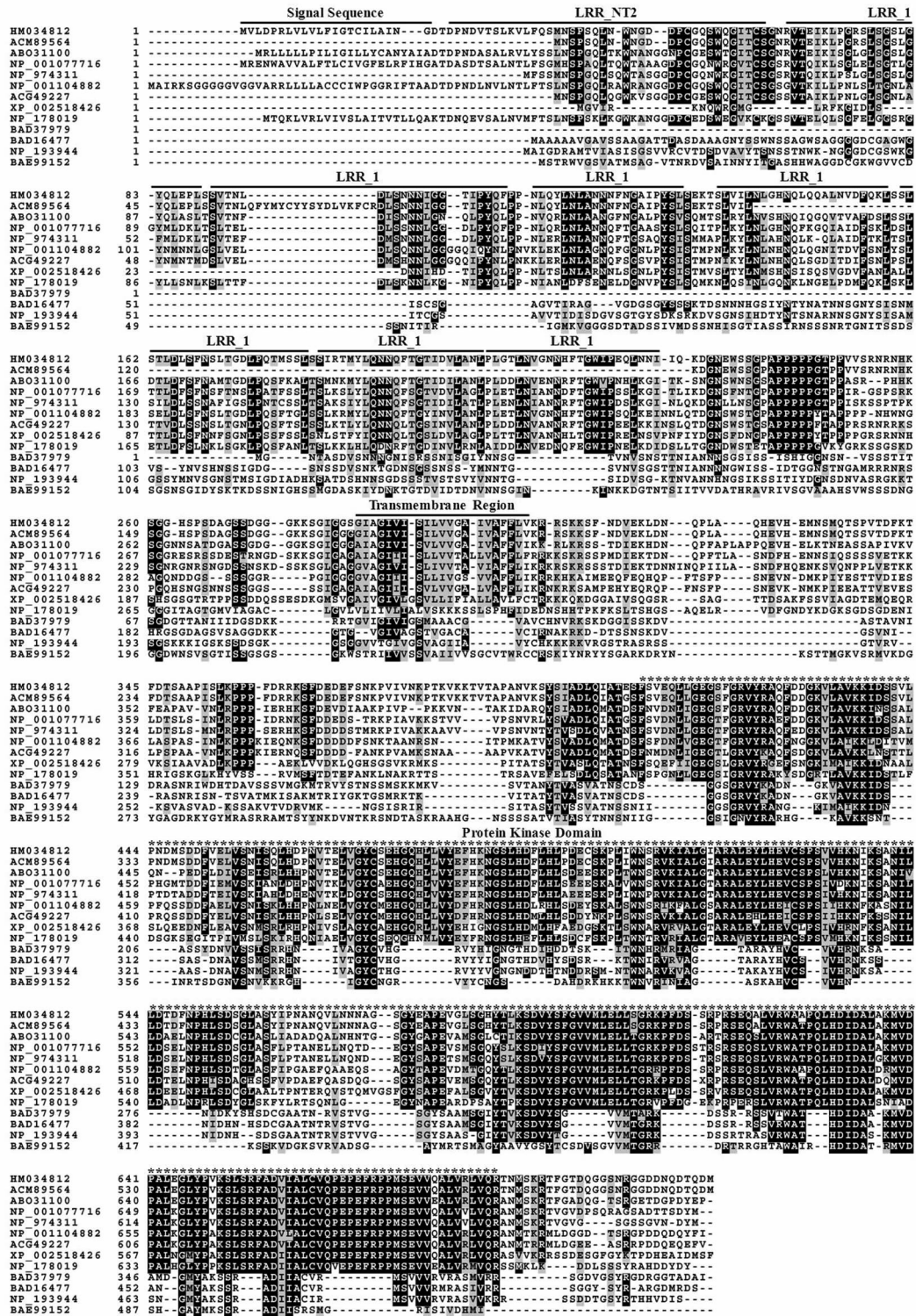


图 6 LRR-RLKs 多重序列分析

Fig. 6 Alignment of the conserved domains of LRR-RLKs

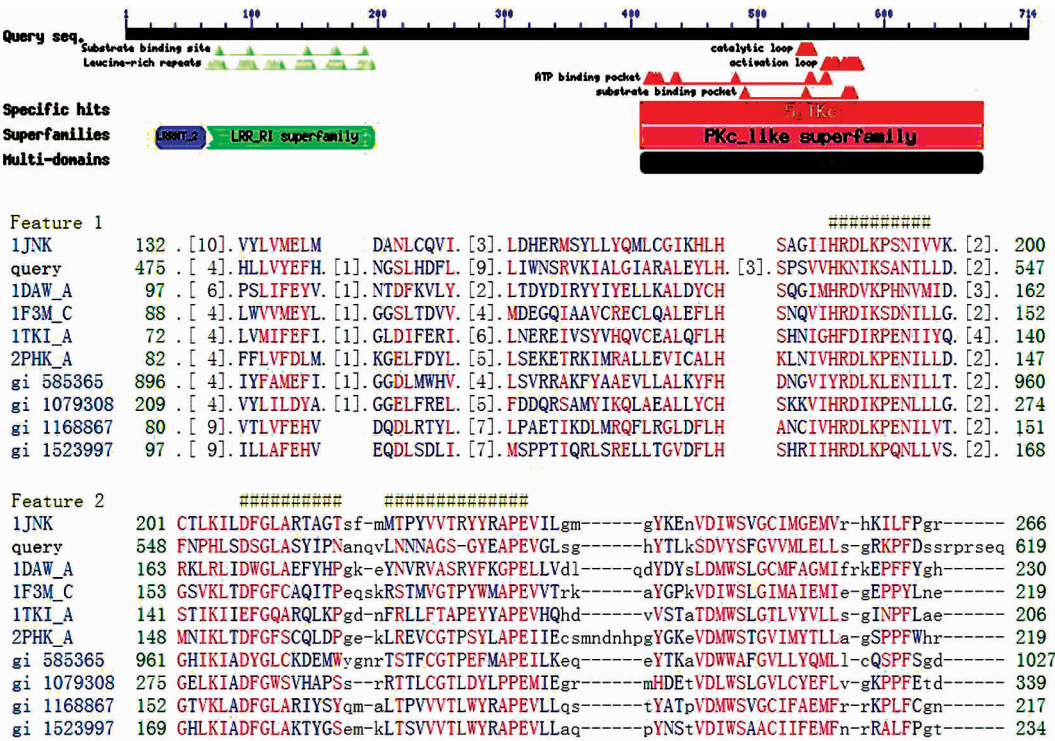


图 7 GsLRPK 基因编码产物的保守结构域分析

Fig. 7 Analysis of the conserved domains of GsLRPK protein

2.4 GsLRPK 的表达模式分析

利用 Semi RT-PCR 分析了 GsLRPK 在不同的胁迫处理条件下的表达模式(图 8),结果表明:GsLRPK 基因均受干旱(PEG 模拟)和 ABA 胁迫的诱导,

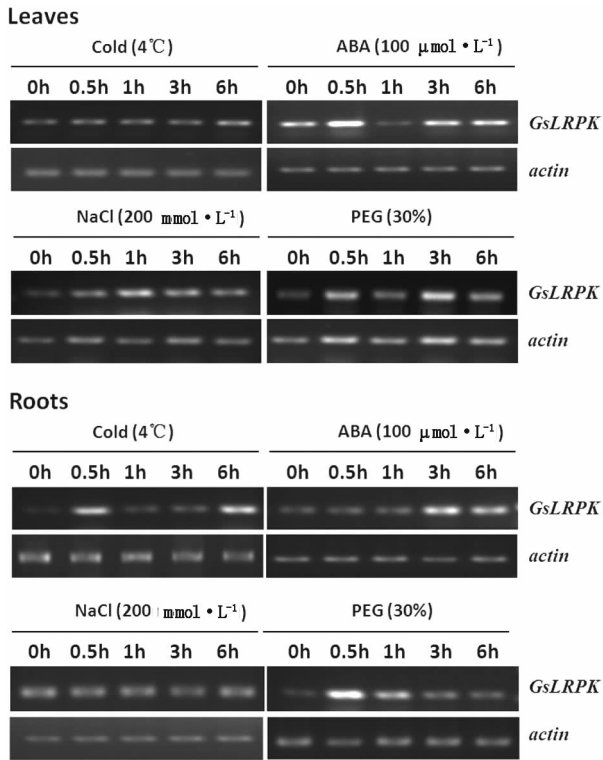


图 8 不同胁迫处理下激酶基因的表达特性分析
Fig. 8 Expression patterns of GsLRPK gene under different stress treatments

但在 4℃ 处理下叶中和高盐(NaCl)处理下根中的表达量与对照相比基本保持不变。根据目标基因在不同胁迫处理下的表达特性可以预测它们很可能作为一个“关键节点”在胁迫信号传导通路中参与到 ABA 依赖的途径。并且由于叶和根中存在组织特异性的表达,暗示了在这两种组织部位的调控机制可能不同。

3 讨论

近年来,随着植物逆境分子生物学研究的迅速发展,通过分子育种提高作物的胁迫耐性成为耐盐植物品种选育的新途径^[16-17]。然而,植物对胁迫的耐受反应是一个系统的调控网络,其分子机制比较复杂,已知的可用于作物耐胁迫分子育种的基因种类非常有限,如何利用现有的芯片和测序结果,从大量的转录本信息中挖掘胁迫相关的基因,是基因资源挖掘中的亟待解决的核心问题。也是获得充足的、具有独立自主知识产权的基因资源,培养转基因品种的重要前提^[18-19]。

蛋白激酶是信号传导通路中的关键组分,可以把外界信号带入胞内,并进行级联放大,传递给转录因子蛋白后,调控下游功能基因的表达。富亮氨酸重复区的类受体蛋白激酶(LRR-RLKs)在植物对多种信号的响应中发挥作用,既参与病原菌的识别,环境信号的感受又对激素的信号传导过程起到重要的调控作用^[20-21],是个多功能的调控热点区。

本研究以东北野生大豆为试材,利用栽培大豆与野生大豆序列上的高度同源性,借助 Affymetrix 大豆表达分析芯片分析野生大豆 ESTs 在渗透胁迫条件下的表达情况,并选择在 4℃ 低温处理下表达上调的 LRR-RLK 基因进行了克隆,利用 semi RT-PCR 分析了其在不同胁迫处理条件下表达特性。本研究获得的 *GsLRPK* 基因是一个全新的野生大豆基因,笔者所在实验室已经构建了该基因的植物表达载体,并对拟南芥进行遗传转化,希望通过后期的抗逆性分析,对 *GsLRPK* 基因的抗逆功能进行全面的评价。

参考文献

- [1] Yang L, Ji W, Gao P, et al. GsAPK an ABA-activated and calcium-independent SnRK2-type kinase from *G. soja* mediates the regulation of plant tolerance to salinity and ABA stress[J]. PLoS ONE, 2012, 7(3): e33838. doi:10.1371/journal.pone.0033838.
- [2] Zhou Q Y, Tian A G, Zou H F, et al. Soybean WRKY-type transcription factor genes, *GmWRKY13*, *GmWRKY21* and *GmWRKY54*, confer differential tolerance to abiotic stresses in transgenic *Arabidopsis* plants [J]. Plant Biotechnology Journal, 2008, 6(5): 486-503.
- [3] Yang L, Ji W, Zhu Y M, et al. GsCBRLK, a calcium/calmodulin-binding receptor-like kinase, is a positive regulator of plant tolerance to salt and ABA stress[J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(9): 2519-2533.
- [4] Yoshioka K, Shinozaki K. Signal crosstalk in plant stress responses [M]. Wiley-Blackwell, Malden, 2009.
- [5] Morris E R, Walker J C. Receptor-like protein kinases; the keys to response[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2003, 6: 339-342.
- [6] Shiu S H, Karlowski W M, Pan R, et al. Comparative analysis of the receptor-like kinase family in *Arabidopsis* and rice[J]. Plant Cell, 2004, 16: 1220-1234.
- [7] Kobe B, Kajava A V. The leucine-rich repeat as a protein recognition motif [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2001, 11: 725-732.
- [8] Belkhabir Y, Subramaniam R, Dangl J L. Plant disease resistance protein signaling: NBS-LRR proteins and their partners[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2004, 7: 391-399.
- [9] Song W Y, Wang G L, Chen L L, et al. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene *Xa21* [J]. Science, 1995, 270: 661-667.
- [10] Wang G L, Wu C, Zeng L, et al. Isolation and characterization of rice mutants compromised in *Xa21*-mediated resistance to *X. oryzae* pv. *Oryzae* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108: 379-384.
- [11] Wang Z Y, Seto H, Fujioka S, et al. BRI1 is a critical component of a plasma-membrane receptor for plant steroids [J]. Nature, 2001, 410(6826): 380-383.
- [12] He Z, Wang Z Y, Li J, et al. Perception of brassinosteroids by the extracellular domain of the receptor kinase BRI1 [J]. Science, 2000, 288(3): 2360-2363.
- [13] Yuriko O, Kyonoshin M, Motoaki S Y, et al. Leucine-rich repeat receptor-like kinase1 is a key membrane-bound regulator of abscisic acid early signaling in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2005, 17: 1105-1119.
- [14] Junga E H, Junga H W, Lee S C, et al. Identification of a novel pathogen-induced gene encoding a leucine-rich repeat protein expressed in phloem cells of *Capsicum annuum* [J]. Biochimica et Biophysica Acta. 2004, 1676(3): 211-222.
- [15] 李勇, 朱延明, 李杰, 等. 基于 Linux 的 cDNA 文库序列分析平台的构建与应用[J]. 生物信息学, 2005, 3: 124-127. (Li Y, Zhu Y M, Li J, et al. Construction and application of cDNA library sequence analysis platform based on Linux [J]. China Journal of Bioinformatics, 2005, 3: 124-127).
- [16] 周宜君, 冯金朝, 马文文, 等. 植物抗逆分子机制研究进展[J]. 中央民族大学学报(自然科学版), 2006, 15(2): 169-176. (Zhou Y J, Feng J C, Ma W W, et al. Progress of molecular mechanism of stress resistance in plants[J]. Journal of the Central University for Nationalities (Natural Sciences Edition), 2006, 15(2): 169-176).
- [17] 杨晓慧, 蒋卫杰, 魏珉, 等. 提高植物抗盐能力的技术措施综述[J]. 中国农学通报, 2006, 22(1): 88-91. (Yang X H, Jiang W J, Wei M, et al. The technical approaches of Improving the plant salt-resistant ability [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2006, 22(1): 88-91).
- [18] 葛瑛. 野大豆碱胁迫转录谱与基因组整合分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010. (Ge Y. Integration of microarray and genome analysis in alkaline-stressed *Glycine soja* [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2010).
- [19] 周国安. 大豆抗逆基因 *GmUBC2*, *GmPK* 和 *GmNHX2* 分离与功能研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2009. (Zhou G A. Isolation and function analysis of stress-responsive genes *GmUBC2*, *GmPK* and *GmNHX2* from soybean (*Glycine Max* L. Merr.) [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2009).
- [20] Hwang S G, Kim D S, Jang C S. Comparative analysis of evolutionary dynamics of genes encoding leucine-rich repeat receptor-like kinase between rice and *Arabidopsis* [J]. Genetica, 2011, 139(8): 1023-1032.
- [21] Huang C F, Yamaji N, Ono K, et al. A leucine-rich repeat receptor-like kinase gene is involved in the specification of outer cell layers in rice roots[J]. The Plant Journal, 2012, 69(4): 565-576.