

大豆 CML 家族基因的生物信息学分析

陈 超,端木慧子,朱 丹,刘艾林,肖佳雷,朱延明

(东北农业大学 农业生物功能基因重点实验室,黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:CMLs 蛋白是一类具有 Ca^{2+} 结合的 EF-hand 保守结构域蛋白,广泛参与钙依赖的信号传导途径,在植物生长发育及生物胁迫与非生物胁迫响应中起着重要的作用。通过 NCBI 和植物基因组注释数据库等筛选并获得了 68 个大豆 GmCML 蛋白;分析了所有蛋白的基本特性;通过与拟南芥 CMLs 基因的进化树分析表明,GmCML 家族基因属于 8 个亚类;对 GmCML 家族基因进行了染色体定位与重复基因进化关系分析,发现其具有较高的进化速率;序列比对发现 GmCML 类蛋白含有 2~4 个保守的 EF-hand 结构域;利用芯片数据对野生大豆在碱胁迫下的叶和根中的 CMLs 基因表达模式进行了分析,得到 26 个 GsCML 基因在碱胁迫下有显著的差异表达,且在根和叶中的差异表达模式不同,表明这些基因参与植物碱胁迫应答,且具组织表达特异性。

关键词:大豆;CMLs;EF-hand;生物信息学;进化分析

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2015.06.0957

Bioinformatics Analysis of GmCML Genes in Soybean Genome

CHEN Chao, DUANMU Hui-zi, ZHU Dan, LIU Ai-lin, XIAO Jia-lei, ZHU Yan-ming

(Key Laboratory of Agricultural Biological Functional Genes, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: CMLs is a kind of calcium-binding proteins with conserved EF-hand motifs, play an important role in calcium-dependent signaling pathway and play a key role in response to plant development and abiotic and biotic stresses. In this study, we identified and characterized 68 soybean CML through plant genome annotation and NCBI database. Phylogenetic analysis suggested that these GmCML genes could be classified into eight groups, combining with Arabidopsis CMLs. Furthermore, physical locations and gene duplications showed a higher evolution rate of GmCML. Sequence alignment confirmed that this family proteins contain 2-4 conserved EF-hand motifs. Expression profiles of all CML transcripts from bicarbonate stress treated G. soja showed that there were 26 differently expressed GmCMLs. The transcript pattern in leaves and in roots was different. These results suggest that those genes may play important roles in plant environmental stress responses and adaptation, with different function in leaf and root.

Keywords: Soybean; CMLs; EF-hand; Bioinformatics; Evolution analysis

钙受体蛋白是一类广泛存在于植物界的含有 Ca^{2+} 结合的 EF-hand 结构域的蛋白,能调控植物的多种生物学过程^[1]。在植物中,钙受体蛋白分为以下几类:钙调素蛋白(CaM)、类钙调素蛋白(CMLs)、钙依赖的蛋白磷酸酶(CDPKs)、钙调磷酸酶 B-like 蛋白(CBLs)和钙调磷酸酶 B-like 相互作用激酶(CIPKs)^[2-3]。CMLs 是一类类钙调素(CaMs)钙受体蛋白,与钙调素蛋白氨基酸的相似性不少于 16%,每个蛋白有 2~6 个保守的 EF-hand 结构域,每个 EF-hand 结构域为螺旋-环-螺旋结构且只能结合一个 Ca^{2+} ^[4]。除了 EF-hand 结构域,没有其它已被证明的保守结构域。当 CMLs 等钙受体蛋白结合 Ca^{2+} 后,蛋白的空间构象发生变化,然后与下游受体蛋白结合,启动 Ca^{2+} 依赖的级联信号放大反应^[5]。

在水稻与拟南芥中,分别已鉴定出 32 个^[6]和 50 个^[7] CMLs 基因,它们广泛参与细胞的生物学过程,包括生物胁迫与非生物胁迫。如在拟南芥中,CML24 积极响应 ABA 与盐的胁迫,其拟南芥的超表达植株提高了对 CoCl_2 、 ZnSO_4 和 MgCl_2 的耐受性^[8]。CML42 在细胞毛状体的形成过程中起着重要的作用^[9]。CML9 不仅可以通过调节 ABA 途径增强对盐和干旱的耐受性,而且影响拟南芥根的发育^[10]。

大豆是植物蛋白和植物油的主要来源,是重要的粮食作物。但是,大豆的产量及品质在自然环境中易受生物及非生物因素的影响。以上研究表明 CMLs 是一类积极参与植物生长发育及生物胁迫与非生物胁迫的钙受体蛋白。然而,关于大豆中 CMLs 基因研究的报道较少。本研究通过生物信息学方法,利用 NCBI 和植物基因组注释数据库等筛选并

收稿日期:2014-12-30
基金项目:转基因生物新品种培育重大专项(2011ZX08004-002);国家自然科学基金(31171578);黑龙江省高校科技创新团队建设计划(2011TD055);国家基础科学人才培养基金(J1210069)。
第一作者简介:陈超(1988-),男,硕士,主要从事植物分子生物学与基因工程研究。E-mail:chenchaochenchao09@163.com。
通讯作者:朱延明(1955-),男,教授,博导,主要从事植物分子生物学与基因工程研究。E-mail:ymzhu2001@neau.edu.cn。

获得了 68 个大豆 GmCML 蛋白,并对其进化关系,保守结构域、以及在碱胁迫下野生大豆根和叶中的表达模式等进行了分析。该研究为 GmCML 家族蛋白后续具体的功能研究提供了一定的理论依据和参考。

1 材料与方法

1.1 GmCML 序列的搜索与蛋白的分析

根据 GmCML-01 蛋白的保守结构域从 GenBank 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) 及大豆基因组注释数据库 (Phytozome v10.9, <http://www.phytozome.net/>) 中进行 GmCML 序列相似性搜索,利用 PFAM 工具对候选蛋白质进行分析并去除冗余序列。利用 (http://web.expasy.org/compute_pi/) 和 (Phytozome v10.9) 对保留的蛋白进行基本特性分析。

1.2 GmCML 同源序列比对与进化分析

通过 Clustal X 软件^[11]对 GmCML 蛋白进行序列比对和保守结构域分析。利用 MEGA 5.0 软件^[12]对其进行系统进化树构建,进化树生成算法采用邻接法 (Neighbor-Joining)。

1.3 GmCML 的染色体定位与重复基因进化关系分析

利用 MapInspect 软件对 GmCML 蛋白在大豆 20 条染色体上进行物理定位,并运用 MapDraw 软件作

图。符合重复基因进化关系有两点标准^[13-14]: (1) 较短基因的长度覆盖长基因长度比大于 80%; (2) 两个基因的相似性大于 70%。

1.4 野生大豆 CMLs 基因的碱胁迫表达特性分析

利用本实验室野生大豆在 NaHCO₃胁迫下根和叶的芯片表达谱数据^[15-16],运用软件 MATLAB 作图对其进行表达聚类分析。

2 结果与分析

2.1 GmCML 家族蛋白序列的获得及基本特性分析

根据大豆 CML 家族蛋白的保守结构域 (EF-hand 结构域),从 NCBI 和大豆基因组注释数据库 (Phytozomev10.9) 中搜索到相似性序列 78 条,通过 SMART 在线网站工具去冗余后共保留对应蛋白序列 68 条 (表 1)。根据对 GmCML 家族蛋白基本特性分析得: (1) 该家族蛋白氨基酸残基长度在 131 ~ 229 个范围内,为小分子蛋白; (2) 除 GmCML-01 蛋白的等电点 (pI) 大于 7 之外,其余蛋白的等电点均小于 7,表明 GmCML 家族蛋白氨基酸大部分为中性或酸性氨基酸; (3) 通过 SMART 在线网站工具分析得该家族蛋白的保守结构域是钙离子结合的 EF-hand 结构域,每条蛋白序列拥有 2 ~ 4 个保守的 EF-hand 结构域,且该家族基因随机分布于大豆的 20 条染色体上。

表 1 GmCML 家族蛋白基本特性分析
Table 1 GmCML protein information

编号 Number	基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	氨基酸数 Amino acid No.	相对分子量 MW	EF-hand 结构域 Number of EF-hands	等电点 pI	染色体编号 Chromosome No.
1	GmCML-01	Glyma01g39240	187	21203.16	4	7.65	1
2	GmCML-02	Glyma01g34570	214	24265.70	4	5.22	1
3	GmCML-03	Glyma01g42090	147	16534.77	3	4.75	1
4	GmCML-04	Glyma01g05970	187	21452.45	3	4.66	1
5	GmCML-05	Glyma02g06680	193	21997.38	4	4.98	2
6	GmCML-06	Glyma02g00450	150	17001.86	4	3.94	2
7	GmCML-07	Glyma02g44350	149	16861.70	4	4.12	2
8	GmCML-08	Glyma02g41300	141	15896.77	4	4.62	2
9	GmCML-09	Glyma02g12090	186	21554.64	3	4.51	2
10	GmCML-10	Glyma02g15000	185	21121.94	4	6.75	2
11	GmCML-11	Glyma02g16220	149	17190.07	4	4.28	2
12	GmCML-12	Glyma03g28650	219	23931.74	4	4.60	3
13	GmCML-13	Glyma03g02590	214	24327.00	4	5.66	3
14	GmCML-14	Glyma03g31430	148	16866.85	4	4.16	3
15	GmCML-15	Glyma03g28260	152	17000.16	4	4.32	3

续表 1

编号 Number	基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	氨基酸数 Amino acid No.	相对分子量 MW	EF-hand 结构域 Number of EF-hands	等电点 pI	染色体编号 Chromosome No.
16	<i>GmCML-16</i>	Glyma03g40690	149	17078. 18	4	4. 12	3
17	<i>GmCML-17</i>	Glyma04g37040	140	15524. 92	3	4. 50	4
18	<i>GmCML-18</i>	Glyma04g17650	141	16041. 27	3	4. 44	4
19	<i>GmCML-19</i>	Glyma04g17710	141	16053. 26	3	4. 39	4
20	<i>GmCML-20</i>	Glyma05g15870	216	24226. 48	4	4. 99	5
21	<i>GmCML-21</i>	Glyma05g07720	161	17579. 06	4	4. 35	5
22	<i>GmCML-22</i>	Glyma06g17950	140	15564. 90	3	4. 50	6
23	<i>GmCML-23</i>	Glyma06g03780	187	20833. 43	4	4. 29	6
24	<i>GmCML-24</i>	Glyma06g23210	160	17443. 94	4	4. 33	6
25	<i>GmCML-25</i>	Glyma07g11384	179	19459. 20	4	4. 26	7
26	<i>GmCML-26</i>	Glyma07g33460	185	21204. 93	4	6. 84	7
27	<i>GmCML-27</i>	Glyma08g05810	180	19704. 47	4	4. 32	8
28	<i>GmCML-28</i>	Glyma08g18940	147	17179. 22	3	5. 32	8
29	<i>GmCML-29</i>	Glyma09g40740	183	20521. 13	3	4. 48	9
30	<i>GmCML-30</i>	Glyma10g00470	150	16897. 89	4	4. 01	10
31	<i>GmCML-31</i>	Glyma10g03580	149	17127. 12	4	4. 25	10
32	<i>GmCML-32</i>	Glyma10g30380	149	17218. 63	4	4. 32	10
33	<i>GmCML-33</i>	Glyma10g32190	150	17017. 94	4	4. 04	10
34	<i>GmCML-34</i>	Glyma11g25660	141	16134. 34	3	4. 32	11
35	<i>GmCML-35</i>	Glyma11g13620	150	16987. 21	4	4. 22	11
36	<i>GmCML-36</i>	Glyma11g06030	183	21048. 87	3	7. 69	11
37	<i>GmCML-37</i>	Glyma11g18920	159	17783. 04	4	4. 80	11
38	<i>GmCML-38</i>	Glyma11g25670	141	16132. 31	3	4. 32	11
39	<i>GmCML-39</i>	Glyma11g03280	147	16554. 78	3	4. 73	11
40	<i>GmCML-40</i>	Glyma12g09550	163	18112. 33	4	4. 60	12
41	<i>GmCML-41</i>	Glyma12g05610	150	17093. 32	3	4. 32	12
42	<i>GmCML-42</i>	Glyma12g02830	140	15387. 90	4	4. 49	12
43	<i>GmCML-43</i>	Glyma13g09550	164	18842. 23	3	4. 24	13
44	<i>GmCML-44</i>	Glyma13g22810	229	25582. 18	4	4. 75	13
45	<i>GmCML-45</i>	Glyma13g41930	169	19462. 06	4	4. 65	13
46	<i>GmCML-46</i>	Glyma13g02550	157	16944. 76	4	4. 05	13
47	<i>GmCML-47</i>	Glyma14g39660	141	15892. 70	4	4. 62	14
48	<i>GmCML-48</i>	Glyma14g21420	131	14085. 03	3	5. 42	14
49	<i>GmCML-49</i>	Glyma14g24810	163	18548. 91	3	4. 24	14
50	<i>GmCML-50</i>	Glyma14g09430	144	16276. 86	3	4. 32	14
51	<i>GmCML-51</i>	Glyma15g03460	211	23934. 34	4	4. 90	15
52	<i>GmCML-52</i>	Glyma15g06060	170	19791. 05	4	4. 92	15
53	<i>GmCML-53</i>	Glyma16g25720	192	21941. 26	4	4. 96	16
54	<i>GmCML-54</i>	Glyma16g06390	140	15965. 98	3	4. 49	16
55	<i>GmCML-55</i>	Glyma16g19190	160	17610. 93	4	4. 23	16
56	<i>GmCML-56</i>	Glyma17g12040	229	25837. 42	4	4. 63	17

续表 1

编号 Number	基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	氨基酸数 Amino acid No.	相对分子量 MW	EF-hand 结构域 Number of EF-hands	等电点 pI	染色体编号 Chromosome No.
57	<i>GmCML-57</i>	Glyma17g20160	190	20993.62	4	4.79	17
58	<i>GmCML-58</i>	Glyma17g13820	140	16018.60	1	4.63	17
59	<i>GmCML-59</i>	Glyma18g45350	223	25418.73	2	4.68	18
60	<i>GmCML-60</i>	Glyma18g04450	139	15621.61	4	4.98	18
61	<i>GmCML-61</i>	Glyma18g22870	160	17402.74	2	4.12	18
62	<i>GmCML-62</i>	Glyma19g30140	149	16860.71	4	4.15	19
63	<i>GmCML-63</i>	Glyma19g31010	152	16957.97	4	4.25	19
64	<i>GmCML-64</i>	Glyma19g43370	149	17094.14	4	4.09	19
65	<i>GmCML-65</i>	Glyma19g31395	218	24040.91	2	4.69	19
66	<i>GmCML-66</i>	Glyma19g34280	148	16708.67	4	4.17	19
67	<i>GmCML-67</i>	Glyma20g35440	150	17003.91	4	4.03	20
68	<i>GmCML-68</i>	Glyma20g10820	137	15466.16	3	4.07	20

2.2 GmCML 家族基因的进化分析

在拟南芥中,根据 *CMLs* 基因与 *CaMs* 的相似性的不同,把拟南芥的 50 个 *CMLs* 基因分为 8 个亚家族^[17]。为了确定 *GmCML* 基因家族的进化关系,本研究采用 NJ(neighbor-joining)法构建系统进化树对 *GmCML* 家族 68 个蛋白和拟南芥 *AtCML* 家族 50 个

蛋白进行系统发育分析。进化树如图 1 所示,依据拟南芥 *CMLs* 基因的进化关系及序列相似性,把 *GmCML* 基因分为 A ~ H 8 个亚族,每个亚族有较近的进化关系,序列比对(图 2)也显示每个亚族的基因有较高的同源性。

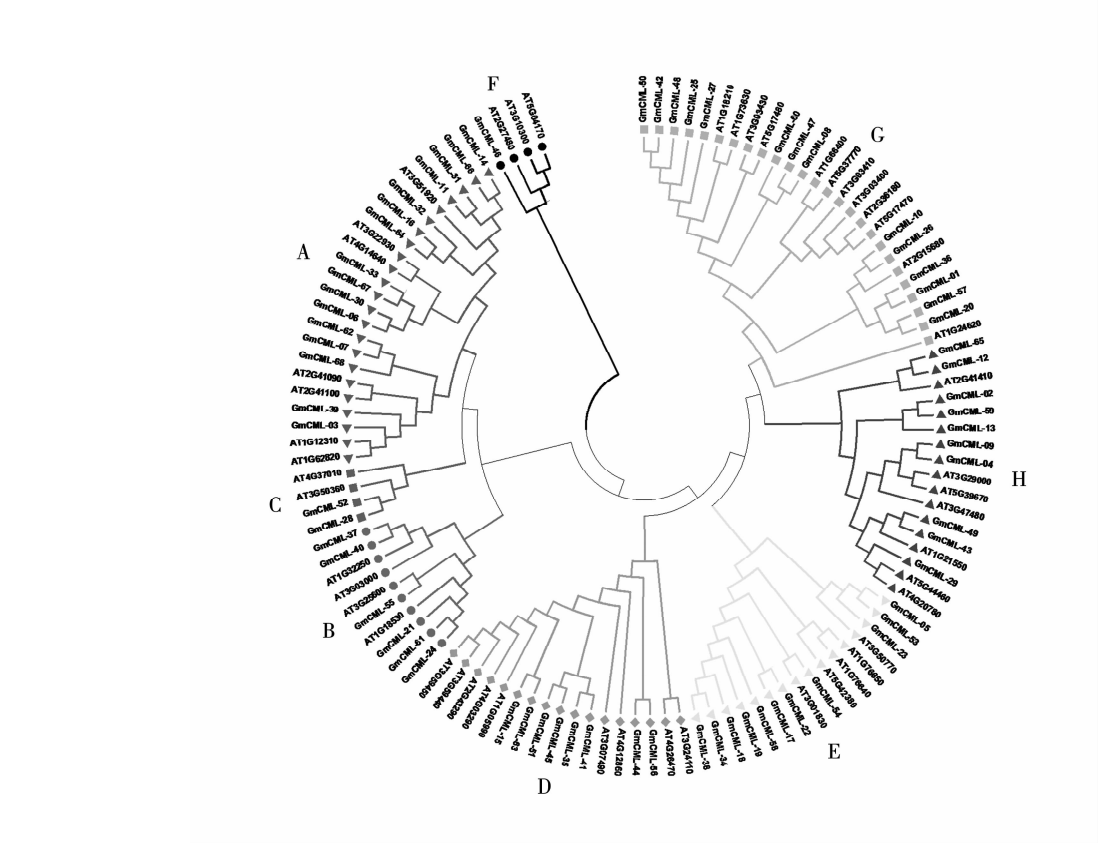


图 1 GmCML 基因家族系统进化树
Fig. 1 Phylogenetic tree of GmCML

2.3 GmCML 家族基因的染色体定位及基因复制分析

为了分析 *GmCML* 基因家族在大豆基因组中的进化关系,本研究确定了 68 个 *GmCML* 基因家族成员在大豆染色体中的定位及重复基因进化关系。如图 3 所示,该家族基因分布于大豆的 20 条染色体上,且每条染色体上分布的基因数明显不同,例如第 9 号染色体上只分布了 1 个基因 (*GmCML*-29),而第 2 号染色体分布了 7 个基因 (*GmCML*-5、*GmC*-

ML-6、*GmCML*-7、*GmCML*-8、*GmCML*-9、*GmCML*-10 和 *GmCML*-11)。在 *GmCML* 基因家族中除了 9 个基因外,其余 59 个基因都具有重复基因进化关系,如 *GmCML*-14 有 7 个同源基因,分别为 *GmCML*-06、*GmCML*-11、*GmCML*-31、*GmCML*-33、*GmCML*-30、*GmCML*-66 和 *GmCML*-67。以上结果说明 *GmCML* 家族基因可能在表达上有较大的分化,并且具有较高的进化速率。

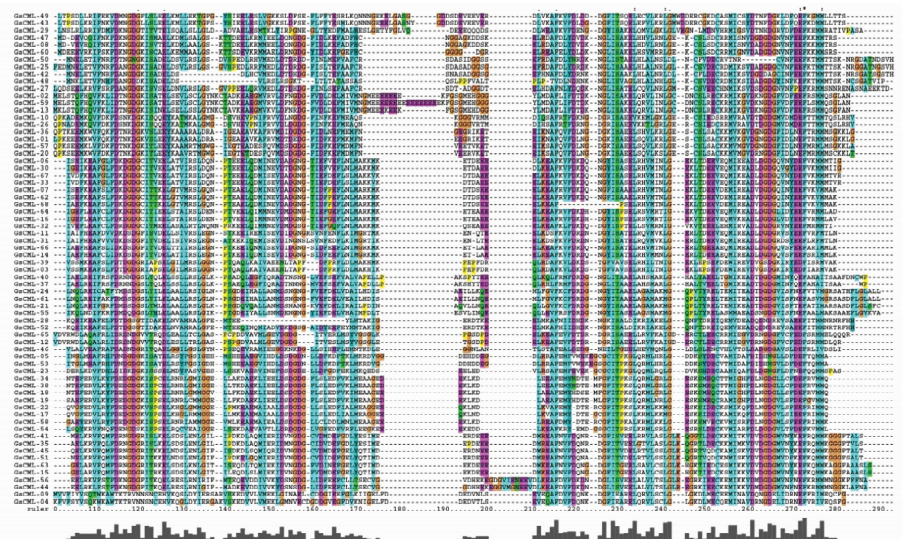


图 2 GmCML 家族蛋白的保守序列比对

Fig. 2 Multiple sequence alignment of GmCML

2.4 GmCML 家族蛋白序列的保守结构域分析

CMLs 蛋白家族的保守结构域已在拟南芥、水稻等多个模式植物中被鉴定分析。拟南芥中的 50 个 CMLs 蛋白家族成员都具有保守的 EF-hand 结构域^[7]。为了分析大豆 CML 蛋白家族的保守结构域的特点,本研究通过 Clustal X 对其 68 个家族蛋白进行序列比对。序列比对结果如图 2 所示,该家族

蛋白具有高度保守的 EF-hand 结构域,为螺旋-环-螺旋结构,每个螺旋-环-螺旋结构大约 26~29 个氨基酸残基,其中 45 个蛋白具有 4 个 EF-hand 结构域,21 个蛋白具有 3 个 EF-hand 结构域,2 个蛋白具有 2 个 EF-hand 结构域。除保守的 EF-hand 环结构域外,均无其它已知功能的结构域。

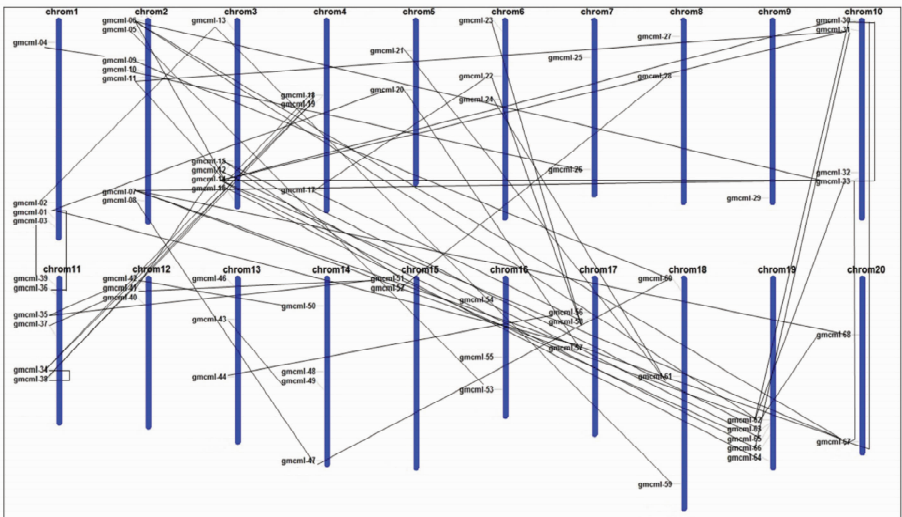


图 3 GmCML 家族基因在大豆染色体上的定位及重复基因进化关系分析

Fig. 3 Physical locations and duplications of GmCML genes in soybean genome

2.5 野生大豆 *GsCML* 基因的碱胁迫表达聚类分析

CMLs 基因广泛参与植物的信号传导与新陈代谢,在不同胁迫下表达量与组织定位各不相同,并且野生大豆与栽培大豆具有较高的亲缘性,相同家族间基因具有高度的同源性。因此,为了探究 *CMLs* 基因的组织表达特异性,本研究根据 NaHCO_3 胁迫下野生大豆叶和根中基因表达的芯片数据分析 *CMLs* 基因的表达情况。在 68 个基因中,发现只有 26 个基因在 NaCHO_3 胁迫下差异表达,且在叶中和根中的基因表达情况不同(图 4)。从图 4 中基因在不同时间点下的表达模式可以得出:(1)在 0.5,1,

3,6,12 和 24 h NaCHO_3 胁迫下 26 个基因分别在叶中或根中的的表达量均不同。如在叶中的 0.5 h 时间点, *GsCML*-67、*GsCML*-41、*GsCML*-08 和 *GsCML*-05 等多个基因均是上调表达,而 *GsCML*-06、*GsCML*-58、*GsCML*-23 和 *GsCML*-31 等基因均是下调表达;(2)在叶中上调表达的基因数量要明显多于根中上调表达的基因数量;(3)在叶和根中,相同的基因也具有不同的表达模式。如 *GsCML*-67 基因,在叶中的 1,3,6 和 12 h 等时间点均上调表达,但是在根中该基因在 12 和 24 h 均显著的下调表达。总之,以上结果显示此 26 个 *CML* 基因以不同的方式参与碱胁迫应答,且具组织特异性。

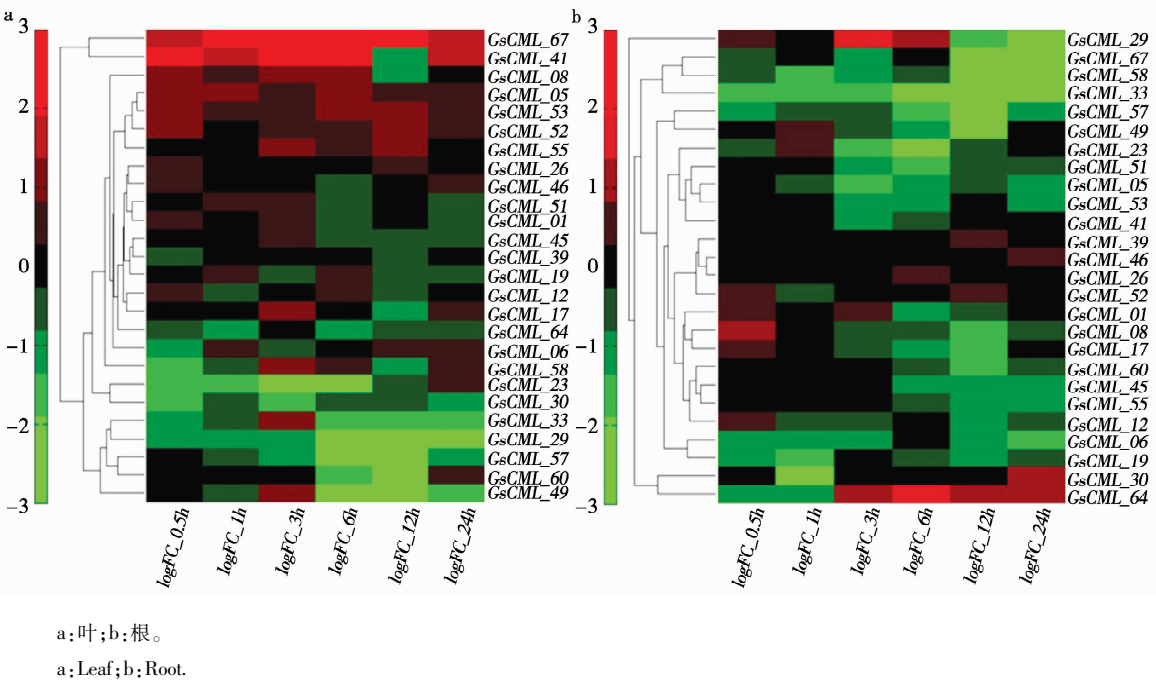


图 4 *GsCML* 的表达聚类分析
Fig. 4 Cluster analysis of *GsCML*

3 结论与讨论

CMLs 家族基因是一类钙离子结合的类钙调素基因,其广泛存在于植物中,在植物生长发育和胁迫应答中起着重要的作用,并且该基因家族已在多个物种中有了较深入的研究^[1,18]。但是,大豆中的 *CMLs* 家族基因及其功能还未有较多的文献报道。

本研究通过 GenBank 与 Phytozome V10.9 等软件鉴定得到大豆中 68 条非冗余的 *GmCMLs* 家族蛋白。该家族蛋白多为酸性氨基酸含量较高的小分子蛋白(表 1),序列比对显示其具有 2~4 个 EF-hand 的保守结构域(图 2)。这些蛋白的特点与拟南芥中 *CMLs* 蛋白的特点类似。因此,通过与拟南芥中已知的 50 个 *CMLs* 蛋白进行进化树分析,根据拟南芥 *CMLs* 蛋白与 *CAMs* 蛋白的相似性比例及

GmCML 蛋白序列比对的同源性把 *GmCML* 划分为 8 个亚家族(图 1),暗示该家族蛋白成员众多,且功能多样化。

同一家族基因的重复基因进化关系反映了该家族基因的进化速率和在表达上的分化^[19]。通过对 *GmCML* 基因在染色体上的定位及进化关系的确定,说明该基因家族有较大的进化速率(图 3),其可能在植物生物学过程中起着越来越重要的作用。

在拟南芥中, *AtCML* 具有显著的组织表达特异性,且响应盐、碱和干旱等多种非生物胁迫^[20]。本研究通过 NaHCO_3 胁迫下野生大豆叶和根中基因表达的芯片数据分析了 *CMLs* 基因的表达情况,结果显示了在碱胁迫下的野生大豆中,有 26 个 *CMLs* 基因响应碱胁迫并在不同组织及同一组织不同时间点的表达具有较大的差异性(图 4)。本研究初步阐

明了大豆 CML 基因的基本特点,为后期该家族基因的功能分析奠定了研究基础。但是,针对具体基因的功能分析还需相应的分子生物学手段。

参考文献

[1] Day I S, Reddy V S, Shad G A, et al. Analysis of EF-hand-containing proteins in *Arabidopsis* [J]. *Genome Biology*, 2002, 3 (10):1-24.

[2] Hashimoto K, Kudla J. Calcium decoding mechanisms in plants [J]. *Biochimie*, 2011, 93: 2054-2059.

[3] Reddy A S. Calcium: Silver bullet in signaling[J]. *Plant Science*, 2001,160:381-404.

[4] Kretsinger R H, Nockolds C E. Carp muscle calcium-binding protein. II. Structure determination and general description[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1973,248: 3313-3326.

[5] Perochon A, Aldon D, Galaud J P, et al. Calmodulin and calmodulin-like proteins in plant calcium signaling [J]. *Biochimie*, 2011, 93: 2048-2053.

[6] Boonburapong B, Buaboocha T. Genome-wide identification and analyses of the rice calmodulin and related potential calcium sensor proteins[J]. *BMC Plant Biology*, 2007, 7: 4.

[7] McCormack E, Braam J. Calmodulins and related potential calcium sensors of *Arabidopsis* [J]. *New Phytologist*, 2003, 159: 585-598.

[8] Delk N A, Johnson K A, Chowdhury N I, et al. CML24, regulated in expression by diverse stimuli, encodes a potential Ca²⁺ sensor that functions in responses to abscisic acid, daylength, and ion stress[J]. *Plant Physiology*, 2005,139: 240-253.

[9] Dobney S, Chiasson D, Lam P, et al. The calmodulin-related calcium sensor CML42 plays a role in trichome branching[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009,284: 31647-31657.

[10] Magnan F, Ranty B, Charpentreau M, et al. Mutations in AtCML9, a calmodulin-like protein from *Arabidopsis thaliana*, alter plant responses to abiotic stress and abscisic acid[J]. *Plant Jour-*

nal, 2008, 56: 575-589.

[11] Larkin M A, Blackshields G, Brown N P, et al. Higgins DG: Clustal W and Clustal X version 2.0[J]. *Bioinformatics*, 2007, 23:2947-2948.

[12] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. Kumar S;MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2011,28:2731-2739.

[13] Yang S, Zhang X, Yue J X, et al. Recent duplications dominate NBS-encoding gene expansion in two woody species[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2008,280:187-198.

[14] Gu Z, Cavalcanti A, Chen F C, et al. Extent of gene duplication in the genomes of *drosophila*, nematode, and yeast[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2002,19:256-262.

[15] Ge Y, Li Y, Zhu Y M, et al. Global Transcriptome profiling of wild soybean (*Glycine soja*) roots under NaHCO₃ treatment [J]. *BMC Plant Biology*, 2010, 10:153.

[16] Ge Y, Li Y, Lyu D K, et al. Alkaline-stress response in *Glycine soja* leaf identifies specific transcription factors and ABA-mediated signaling factors [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2011, 11:369-379.

[17] McCormack E, Braam J. Calmodulins and related potential calcium sensors of *Arabidopsis* [J]. *New Phytologist*, 2003, 159: 585-598.

[18] Boonburapong B, Buaboocha T. Genome-wide identification and analyses of the rice calmodulin and related potential calcium sensor proteins[J]. *BMC Plant Biology*, 2007, 7:4.

[19] 孙红正,葛颂. 重复基因的进化—回顾与进展[J]. *植物学报*, 2010, 45(1): 13-22. (Sun H Z, Ge S. The evolution of the duplicated genes - review and progress[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2010,45(1):13-22.)

[20] Thomas A D, Kyle W B, Wayne A S. Breaking the code: Ca²⁺ sensors in plant signaling[J]. *Biochemical Journal*, 2010, 425: 27-40.

立足黑龙江 辐射全中国 聚焦大农业 促进快发展

2016 年《黑龙江农业科学》征订启事

《黑龙江农业科学》是黑龙江省农业科学院主办的综合性科技期刊。是全国优秀期刊、黑龙江省优秀期刊。现已被中国核心期刊(遴选)数据库、中国学术期刊综合评价数据库等多家权威数据库收录。

本刊内容丰富,栏目新颖,信息全面,可读性强。月刊,每月 10 日出版,国内外公开发行。国内邮发代号 14-61,每期定价 12.00 元,全年 144.00 元;国外发行代号 M8321,每期定价 12.00 美元,全年 144.00 美元。

热忱欢迎广大农业科研工作者、农业院校师生、国营农场及农业技术推广人员、管理干部和广大农民群众踊跃订阅。全国各地邮局均可订阅,漏订者可汇款至本刊编辑部补订。汇款写明订购份数、收件人姓名、详细邮寄地址及邮编。

另有合订本珍藏版欢迎订购。2007 年合订本每册定价 80.00 元,2008~2009 年合订本每册定价 90.00 元,2010~2014 年合订本每册定价 180.00 元,邮费各 10.00 元,售完为止。

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告

地址:哈尔滨市南岗区学府路 368 号《黑龙江农业科学》编辑部 邮编:150086

电话:0451-86668373 投稿网址:www. haasep. cn