农业生物技术

水稻 OsCIPK10 基因的克隆和功能分析

章俊丽^{1,3},杨鵑²,张玉满¹,颜永胜^{1,3},赵志强^{1,3},方荣祥¹,孙宗修⁴,傅亚萍⁴,陈晓英¹

1 中国科学院微生物研究所 植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101 2 电子科技大学 生命科学与技术学院, 成都 610054

3 中国科学院研究生院,北京 100039

4 中国水稻研究所 水稻生物学国家重点实验室, 杭州 310006

摘 要:利用反向遗传学的方法对水稻 OsCIPK10 基因的功能进行了分析。结果表明,过量表达 OsCIPK10 基因的转基 因水稻与野生型水稻在株型、抗高盐和耐低钾能力方面没有明显差异,但是小 RNA 干扰表达 OsCIPK10 基因的转基因 水稻表现出显著的抗盐性。在缺钾胁迫条件下 OsCIPK10 基因的表达升高,推测该基因在应答高盐和低钾的非生物胁迫 过程中起作用。OsCIPK10基因启动子与报告基因 GUS 融合表达的转基因水稻的染色结果显示: OsCIPK10基因呈组成 00°.00 型表达, 但是在维管组织表达水平更高。

关键词: 水稻, CIPK, 信号转导

Identification and characterization of rice OsCIPK10 gene

Junli Zhang^{1,3}, Kun Yang², Yuman Zhang¹, Yongsheng Yan^{1,3}, Zhiqiang Zhao^{1,3}, Rongxiang Fang¹, Zongxiu Sun⁴, Yaping Fu⁴, and Xiaoying Chen¹

1 State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

2 School of Life Science and Technology, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610054, China

3 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

4 State Key Laboratory of Rice Biology, National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China

Abstract: The preliminary role of calcineurin B-like protein-interacting protein kinases (CIPKs) in stress response is defined but the exact function of OsCIPK10 gene in rice stress response and its expression pattern yet unclear. In this study we explored the possible functions of OsCIPK10 gene by reverse genetics approaches and also revealed its expression pattern by GUS staining. From the preliminary study of this gene we presumed its function to assist plant to resist stress but over-expressed OsCIPK10 rice transgenic lines showed no significant phenotypic differences from the wild type either under high salt or low potassium conditions, however the gene knockdown plants using inverted repeat strategy presented meaningful healthy plants compared to wild type under the stress of salt. Further we checked the expression profile under high salt and low potassium conditions in wild type and found that OsCIPK10 decreases under high salt and increases on low potassium conditions. So we speculate that OsCIPK10 is actually going to function in response to high salt and low potassium stress. We also explored the expression pattern of this gene using Gus staining and found that gene expresses in all plant tissues, the only exception observed was its higher expression in the vascular tissues.

Keywords: rice, CIPK, signal transduction

Received: May 11, 2009; Accepted: June 4, 2009

Supported by: Knowledge Innovation Program of Chinese Academy of Sciences (No. KSCXZ-YW-N-025).

Corresponding author: Yaping Fu. Tel: +86-571-63370377; E-mail: cnrrifuyp@hotmail.com

Xiaoying Chen. Tel: +86-10-64861838; E-mail: chenxy@sun.im.ac.cn

中国科学院知识创新工程项目(No. KSCXZ-YW-N-025)资助。

Calcineurin B-like [CBL] protein interaction protein kinases(CIPKs)是植物中普遍存在的磷酸激 酶, 与 calcineurin B-like [CBL] protein 互作并被 CBL 磷酸化后在钙离子信号转导过程中起作用, 其 中 CBL 感知细胞中钙离子浓度的变化,结合 CIPK 蛋白并磷酸化激活该蛋白, 激活的 CIPKs 随即通过 磷酸化下游信号分子转导钙离子信号[1-2]。植物 CIPK 都含一个特异的 Ser/Thr 蛋白激酶结构域, 此结构域通过结合 CBL 蛋白被激活, 而 CBL 蛋白 则是通过自身的 4 个 EF 手性域结合 Ca^{2+} 被激活。 关于植物 CIPKs 基因功能的研究在拟南芥中比较 成熟, 其功能主要包括应答环境胁迫信号以及感 应和适应环境营养成分变化 2 个方面。如 AtCIPK24 在盐胁迫过程中发挥抗盐作用^[3-5]; AtCIPK3在种子萌发时应答 ABA^[6-7]; AtCIPK23^[8-9] 和 AtCIPK9^[10]在低钾胁迫中起作用。水稻中的 CIPK 基因是个大家族, 在水稻生长发育和抗逆过 程中有很重要的作用。目前报道的水稻 CIPK 基因 共有 30 个,但有关该家族各基因功能的报道很 少。Yong Xiang 等^[11]对水稻的 30 个 CIPK 基因做 了初步的调查,发现 OsCIPK03 在冷胁迫中起作用, 〇 OsCIPK12 在干旱胁迫中起作用, OsCIPK15 在盐 胁迫中起正调控作用,其中对 OsCIPK10 基因的 mRNA 表达水平在不同诱导条件下(包括干旱胁 迫、高盐胁迫、ABA 和 PEG 诱导、冷胁迫)的变化 做了调查,发现该基因表达受高盐胁迫诱导[11]。另 外与拟南芥中的 AtCIPK24 同源的 OsCIPK24 在水 稻中也起到抗盐的作用^[12]。在植物生长发育过程 中, 维持细胞的 K⁺/Na⁺平衡具有重要意义, 已知 *OsKAT1*^[13]和 *OsHKT2;1*^[14]在水稻细胞维持 K⁺/Na⁺ 平衡的过程中起到了很重要的作用。本实验对水 稻(日本晴)的 OsCIPK10 进行分析发现: 在高盐胁 迫条件下,该基因在根中的表达水平没有明显变 化,但根上部分基因表达水平有所降低,这与 Yong Xiang 等^[10]发现的该基因表达水平受高盐胁 迫后表达水平升高的结果不同。在低钾胁迫下,水 稻根中该基因表达水平也没有明显变化,但根上 部分该基因表达水平升高。在对转基因水稻进行 检测时发现:在高盐胁迫条件下,OsCIPK10 的小

RNA 沉默表达株系抗盐表现比对照野生型好。将 *OsCIPK10* 基因启动子与报告基因 *GUS* 连接,转 化水稻,并对转基因水稻进行 GUS 染色,结果显 示该基因的组织表达很普遍,根、叶、花中都有, 但维管组织表达更为明显,这些实验结果证明该 基因可能同矿物质的运输有关,并且可能在植物 针对高盐和低钾胁迫的调控中起作用。

1 材料与方法

1.1 植物材料及培养条件

以粳稻品种日本晴 Oryza sativa L. ssp. Japonica (CV. Nipponbare)为基本研究材料和转基因受体。用 于各种处理的水稻幼苗在温箱中用 1/2×Hoagland 培 养基进行水培种植,各组分浓度分别为 2 mmol/L Ca(NO₃)₂, 2.5 mmol/L KNO₃, 0.5 mmol/L NH₄NO₃, 0.5 mmol/L KH₂PO₄, 2 mmol/L MgSO₄; 50 µmol/L EDTA-Fe; 1/2×MS 微量元素液, NaOH 调 pH 到 5.5。 从种子发芽播种到三叶期,一直在 25°C、16 h/8 h(光 照/黑 暗)的条件下培养。缺钾营养液成分是 1/2×Hoagland 并略做修改: 2 mmol/L Ca(NO₃)₂, 2.5 mmol/L NaNO₃, 0.5 mmol/L NH₄H₂PO₄, 0.5 mmol/L NaH₂PO₄, 2 mmol/L MgSO₄, 50 µmol/L EDTA-Fe; 1/2×MS 微量元素液, NaOH 调 pH 到 5.5。

水稻苗期和开花期的 GUS 组织化学染色材料 分别取自转基因 T₀代的苗期小苗和试验田中生长的 正在抽穗开花的转基因成熟水稻。

1.2 转基因水稻的获得及阳性株系的检测
 1.2.1 目的基因启动子的克隆和植物表达载体的构建

过表达 OsCIPK10 基因的植物表达载体的构建: OsCIPK10 的 GenBank 登录号是 AK066541, 位于第 3 条染色体上。在 KOME 数据库 (http://cdna01.dna. affrc.go.jp/cDNA/)中的全长 cDNA 序列号为 J013070E20。根据此序列设计引物, 同时 5'末端分 别加上 Xba I 和 Sac I 酶切位点和保护碱基: (5'-GCTCTAGACCGGGATCAGTATTAGGCTTTT TG-3'和 5'-TCGAGCTCGCACATACAACACATCA ACACATT-3')。以野生型日本晴的 cDNA 为模板, PCR 得到的 DNA 片段先连接入 pGEM-T 载体(Promega)中, 测序正确后经 Xba I 和 Sac I 酶切转接到 pCambial300-

MCS 载体上(图 1),目的质粒命名为: OPK。

干扰 OsCIPK10 基因表达的载体的构建:利用 小 RNA(siRNA)干扰原理, 通过在植物细胞中表达 针对 OsCIPK10 基因转录的 mRNA 的双链小 RNA, 引起该基因转录后沉默。首先设计与 OsCIPK10 基 因 cDNA 序列配对的 2 对引物, 2 对引物序列相同但 是末端引入不同的酶切位点: 第一对引入了 EcoR I 和 Kpn I 酶切位点和保护碱基: (5'-CGGAATTCAGC TTTTGCGACGTATTCTTGAT-3'和 5'-GGGGTACC GTAAATTCTTCGCAACATCCTC-3'); 第二对引入 了 Bgl II 和 Xba I 酶切位点和保护碱基: (5'-GCTCTA GAGCTTTTGCGACGTATTCTTGAT-3'和 5'-GAAG ATCTCGTAAATTCTTCGCAACATCCTC-3')。以野 生型日本晴的 cDNA 为模板, PCR 得到的 DNA 片段 接入 pGEM-T 载体(Promega)中, 测序正确后经酶切 转接到植物表达载体上(图 1),相同序列的 DNA 片 段以正向和反向接入 35S 启动子下游, 两片段中间 由 Intron 分开, 目的质粒命名为: IPK。

启动子片段的克隆及与报告基因融合的表达载 体的构建:以KOME数据库预测的最长ORF,在对 应的起始密码子上游取1829 bp作为OsCIPK10启动 子序列,根据其序列分别设计引物并在末端引入 Hind III和 BamH I 酶切位点和保护碱基: (5'-AAA AAAGCTTCCGAACGAATCTGATGGTATT-3'和 5'-AAAAGGATCCCTTATCAAATGCCTTATGTATTC AGAAAGC-3')。以日本晴基因组DNA 为模板进行 PCR,胶回收后连接至 pGEM-T 载体(Promega)中, 测序正确后,用 *Hind* III 和 *BamH* I 酶切并接入pCambia1300-pBI221 载体以替换其中的 35S 启动子(图 1),目的质粒命名为: PKP。

1.2.2 农杆菌介导的水稻幼胚转基因方法

将上述构建好的质粒通过电击转化到农杆菌 EHA105 中, PCR 检测阳性克隆。农杆菌介导的水稻 基因转化过程参照 Hiei 等^[15]的方法。

1.2.3 转基因幼苗的萌发和筛选

因为本实验中的 OsCIPK10 过量表达和沉默 表达载体都是以 pCambial300-MCS 载体为基本骨 架(图 1),均可用潮霉素 B 筛选法。选取饱满的种子, 将其直接浸泡在 50 μg/mL 潮霉素 B(hygromycin B) 中,28°C 暗培养 48 h,种子露白后,换取新鲜的潮 霉素 B 溶液浸泡,最后可发芽长大的便是转基因 植株,而非转基因杂种则不能发芽并长大。将获 得的转基因植株用于 RNA 表达水平检测和表型 鉴定。

1.2.4 转基因植物OsCIPK10的RNA 表达水平的检测

将上述筛选到的转基因植株用 1/2×Hoagland 培 养液培养至三叶期, 然后取样,用 Trizol(Invitrogen) 法提取 RNA, 经 DNaseI (TaKaRa)消化 DNA 后取相 同量 RNA,用 Superscript (Invitrogen)反转录, PCR 检测。其中 OsCIPK10 检测引物为 5'-TTTATGT ACTATTGGCTGGTT-3'和 5'-TTCAGCATTGATGG ACATTACACCT-3'。内参基因为 Actin 基因,其引 物序列为 5'-TTATGGTTGGGATGGGACA-3'和 5'-A GCACGGCTTGAATAGCG-3'。



图 1 本实验中的各个表达载体构建示意图

Fig. 1 Schemes of various expression constructions. Note: the IPK vector this picture shows is inverted repeat. After transcription, the hair-pin RNA will be produced. And then after cleavage of Dicer, siRNAs specific to *OsCIPK10* mRNA will be produced.

1.2.5 高盐胁迫条件下转基因水稻的表现鉴定

将用以上方法选取对 OsCIPK10 表达干涉较彻 底的株系和对照株系进行 50 mmol/L NaCl 的 1/2×Hoagland 营养液处理。其中一部分选取株高 2 cm 的幼苗处理,3 周后观察表型。一部分选取刚露白 的种子处理,10 d 后观察表型。还有一部分刚露白的 种子经 NaCl 出理 15 d 后,将水稻换取新鲜 1/2×Hoagland 营养液恢复5 d 后,统计存活率。

1.2.6 缺钾和高盐胁迫对 OsCIPK10 转录水平的影响

将在完全营养液生长至三叶期的水稻转移至缺 钾营养液中,同时以同一批在全营养液中的水稻为 对照,不同时间点取根和根上部分,提取 RNA,依 照同上的方法反转录后,用 Real-time PCR 的方法检 测 RNA 表达水平差异。其中 *OsCIPK10* 检测引物为 5'-GCTTTTGCGACGTATTCTTGA-3'和 5'-CTGCTT CTTGTTTTCCTTCATT-3',内参基因同上。同样, 将在完全营养液生长至三叶期的水稻转移至含 200 mmol/L NaCl的1/2×Hoagland营养液中处理,同 时以同一批在全营养液中的水稻为对照,不同时间 点取根和根上部分,依照以上同样方法取样检测 RNA 表达水平差异。

1.2.7 生物统计学分析方法

利用软件 DPS 数据处理系统进行分析。其中分 析方法是完全随机设计中的单因素试验统计分析, Turkey 分析法。



取 T₀代转基因植株进行 GUS 染色。染色液的 组成为: 50 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH 7.0), 10 mmol/L Na₂EDTA (pH 8.0), 0.5 mmol/L K₃[Fe(CN)]₆, 0.5 mmol/L K₄[Fe(CN)₆], 5%(V/V)甲醇, 0.1%(V/V) (Triton-100), 1.5 mmol/L X-Gluc 在 37°C 下染色后用 75%乙醇脱色,观察结果,用体视镜 Olympus SZX9 拍摄。

2 实验结果

2.1 野生型日本晴水稻中 OsCIPK10 基因在不同 组织中的表达水平

用半定量 PCR 和 Real-time PCR 的方法检测了 日本晴苗期和开花期时 OsCIPK10 基因在不同组织 的表达水平(图 2)。

结果显示该基因无论在苗期(营养生长阶段)还 是花期(生殖生长阶段),都呈组成型表达,与 GUS 组织染色的结果基本上一致。苗期时根和根上部分 表达量都较高,根上组织表达稍低。而该基因花期 时在旗叶中的表达较高,但在穗中的表达明显低于 其他部位。

2.2 高盐胁迫对野生型日本晴水稻中 OsCIPK10 基因表达水平的影响

在不同时间点取对照和高盐处理的水稻的根和 根上部分,利用 Real-time PCR 检测 OsCIPK10 表达



图 2 OsCIPK10 基因在各个组织的表达

Fig. 2 Tissue specific expression of *OsCIPK10*. (A, C) The expression of *OsCIPK10* in seedling stage. (B, D) The expression of *OsCIPK10* in floral stage. A and B are results of semi-quantative RT-PCR, C and D results of Real-time PCR.

水平。结果显示在根中该基因的表达受高盐影响不 明显,但根上部分该基因的表达则明显下降(图 3)。

2.3 缺钾胁迫对野生型日本晴水稻中 OsCIPK10 基因表达水平的影响

依照实验方法所述,对苗期水稻进行缺钾处理, 对处理后水稻中 *OsCIPK10* 基因表达水平的检测结 果显示:在根中 *OsCIPK10* 的表达水平变化很小。根 上部分,24 h时 *OsCIPK10* 的表达水平明显升高(图 4),达到对照表达水平的约 30 倍。

2.4 转基因植株中 OsCIPK10 基因的 mRNA 表达 水平检测

取转基因植株和野生型的根检测 OsCIPK10 的 表达水平,其中检测了9个OPK 株系,8个IPK 株系, 图 5 是部分结果,显示出株系 IPK-13、IPK-35 和 IPK-39 中该基因的 mRNA 表达水平同野生型相比明 显降低, OPK-20 和 OPK-24 中该基因表达水平升高。 2.5 高盐胁迫条件下的表型鉴定

选取 OsCIPK10 基因沉默表达株系 IPK-13、 IPK-35 和 IPK-39, 过表达株系 OPK-20、OPK-24 和野 生型水稻, 依照试验方法所述同时进行盐胁迫处理, 结果显示, OsCIPK10 沉默表达株系在高盐胁迫下的表 现优于野生型, 而过表达株系的表现与野生型接近。 盐胁迫处理后, 与野生型水稻幼苗相比, 基因沉默表 达株系的植株较高, 死亡率低, 干枯程度低。刚露白 的种子盐胁迫处理后, 基因沉默表达株系的植株也 比野生型植株更高, 根系更发达, 干枯程度低, 而 且存活率更高(图 6)。

2.6 T₀代转基因水稻苗期和花期时各个组织 GUS 染色情况

如图 7 所示,取 PKP 转基因幼苗期的根和叶子、 开花期的穗的顶部枝梗(其中包括未开花的颖鞘、开 花已经打开的颖鞘、旗叶)进行 GUS 组织化学染色。





Fig. 3 Expression of OsCIPK10 under high salt treatment. (A) The real-time PCR analysis of expression levels of OsCIPK10 in rice seedling root. (B) The real-time PCR analysis of expression levels of OsCIPK10 in rice seedling shoot. The asterisks indicate there are significant differences in those time points after biostatistics analysis(P 5%).



图 4 缺钾胁迫对野生型日本晴 OsCIPK10 表达水平的影响

Fig. 4 Expression of OsCIPK10 under potassium starvation. (A) The real-time PCR analysis of expression levels of OsCIPK10 in rice seedling root. (B) The real-time PCR analysis of expression levels of OsCIPK10 in rice seedling shoot. The asterisk indicates there is significant difference in the time point of 24 h after biostatistics analysis(P = 5%).



图 5 OPK 和 IPK 转基因株系中 OsCIPK10 基因表达水平的检测

Fig. 5 *OsCIPK10* gene expression levels in transgenic lines of OPK and IPK. WT: wild type; IPK-13, IPK-35, IPK-39, IPK-40 and IPK-41: the small RNA interference transgenic lines; OPK-20, OPK-24: *OsCIPK10* over-expression transgenic lines.



图 6 高盐胁迫下 OsCIPK10 干涉表达株系与野生型的表型比较

Fig. 6 Phenotypes of OsCIPK10 small RNA interference transgenic line and wild type under high salt treatment. (A) Phenotypes of seedlings treated with 50 mmol/L NaCl for three weeks. (B) Phenotypes of new geminated seed treated with 50 mmol/L NaCl for 10 days, the control is wild type untreated. (C) Survival rate of new geminated seed treated with 50 mmol/L NaCl for 15 days.



图 7 PKP 转基因水稻各个组织的 GUS 染色情况

Fig. 7 GUS staining for various tissues of PKP transgenic rice. (A) Seedling stage. 1: root; 2: top of leaf; 3: middle part of leaf. (B) Floral stage. 1: flag leaf; 2: flowering glum; 3: glum before flowering; 4: stamen from the glum in B2; 5: anther from the stamen in B4; 6: gynoecium from the glum in B2.

结果这些组织都被染成蓝色,说明该基因在水稻植 株中的组成型表达,同时可以观察到微管组织着色 更加明显,如叶,根的微管系统,颍壳的主脉,花丝 维管束,花粉囊内部的药隔维管束中,染色程度都 较深,但雌蕊没被染蓝。

3 讨论

作为一种植物中普遍存在的、在 Ca²⁺信号转导 途径中起重要作用的激酶, CIPKs 已知的功能主要 包括应答环境胁迫信号以及感应和适应环境营养成 分变化 2 个方面。研究证明 CIPK 家族在植物应答 盐胁迫过程中起很重要的作用、如拟南芥的 AtCIPK24 蛋白和水稻的 OsCIPK24 蛋白^[4-6,12], 这 2 个激酶在高盐胁迫条件下起正调控作用,这2个激 酶的基因表达量降低不利于植物的抗盐。本研究证 明 OsCIPK10 是一个负调控激酶, 在高盐胁迫下该 激酶基因的表达降低, 尤其在植物的根上部分降低 明显, 与 Yong Xiang 等^[10]发现的该基因表达水平受 高盐胁迫后表达水平升高的结果不同, 为此多次重 复了盐胁迫试验,得到同样的结果,结果显示该基 因可能同 Na⁺的运输有关,而不是单纯与 Na⁺的吸收 相关。GUS 组织染色和该基因表达谱的检测进一步 印证了该推测,该基因呈组成型表达,但是报告基 因染色最为明显的部位是维管组织。如果单纯跟离 子的吸收有关, 那么该基因会主要在离子的吸收部 位根中表达, 而不是根上部分。对转 RNA 干扰载体 的转基因水稻的检测发现,利用 RNA 干扰策略降低 该激酶基因表达有利于水稻在高盐胁迫下生存。

本研究还证明, 在缺钾低 Na⁺(3 mmol/L)的条件 下 *OsCIPK10* 基因表达水平升高, 在 24 h 时达到对 照表达量的约 30 倍, 这个结果显示该基因的另一个 可能的功能, 即维持稳定的细胞中的 K⁺/Na⁺平衡。

一般情况下植物细胞以吸收 K⁺为主,以维持细胞的 正常形态和代谢,但在植物处于 K⁺饥饿状态时,可 能会吸收 Na⁺以替代 K⁺的一部分功能,可是过高 Na⁺又会对植物产生毒性。据报道植物中存在 K⁺-Na⁺ 协同转运蛋白如 AtHKT1。Toshihiro Obata 等^[13]和 Tomoaki Horie 等^[14]的报道进一步证明了水稻中 K⁺/Na⁺平衡稳定的重要性和许多基因参与该比例平 稳的维持。本研究结果显示 OsCIPK10 可能在维持 稳定的 K⁺/Na⁺方面起很重要的作用,在缺钾低 Na⁺ (3 mmol/L)的条件下 OsCIPK10 可能通过提高自身 表达水平促进 K⁺或 Na⁺吸收运输以维持水稻正常生 长,而在高盐胁迫条件下,则通过降低表达量来抑 制 Na⁺的吸收和运输,但在对苗期的水稻进行低钾 胁迫试验后,发现没有明显的表型差异,确切的结 论还需要进一步验证。

REFERENCES

- [1] Luan S. The CBL-CIPK network in plant calcium signaling. *Trends Plant Sci*, 2009, **14**: 37–42.
- [2] Zhang HC, Ye CY, Xia XL, et al. The mechanism of CBL-CIPK signal transduction under stresses in plants. Mol Plant Breed, 2009, 7(1): 143-148.
 张和臣,叶楚玉,夏新莉,等. 逆境条件下植物 CBL-CIP 信号途径转导的分子机制. 分子植物育种, 2009, 7(1): 143-148.
- [3] Chinnusamy V, Schumaker K, Zhu JK, et al. Molecular genetic perspectives on crosstalk and specificity in abiotic stress signaling in plants. J Exp Bot, 2004, 55: 225–236.
- [4] Quan RD, Lin HX, Guo Y, et al. SCABP8/CBL10, a putative calcium sensor, interacts with the protein kinase SOS2 to protect Arabidopsis shoots from salt stress. Plant Cell, 2007, 19: 1415–1431.
- [5] Kim BG, Rainer W, Luan S, *et al.* The calcium sensor CBL10 mediates salt tolerance by regulating ion homeostasis in *Arabidopsis. Plant J*, 2007, **52**: 473–484.
- [6] Kim KN, Cheong YH, Luan S, et al. CIPK3, a calcium sensor-associated protein kinase that regulates abscisic acid and cold signal transduction in Arabidopsis. Plant Cell, 2003, 15: 411–423.
- [7] Pandey GK, Grant JJ, Luan S, *et al.* The calcineurin B-like protein CBL9 and its interacting kinase CIPK3 functions in ABA-regulated seed germination. *Mol Plant J*, 2008, 1(2): 238–248.
- [8] Cheong YH, Pandey G, Luan S, et al. Two calcineurin B-like calcium sensors, interacting with protein kinase CIPK23, regulate leaf transpiration and root potassium uptake in *Arabidopsis*. Plant J, 2007, 52: 223–239.
- [9] Xu J, Li HD, Wu WH, et al. A protein kinase, interacting with two calcineurin B like proteins, regulates K⁺ transporter AKT1 in Arabidopsis. Cell, 2006, 125: 1347–1360.
- [10] Pandey GK, Cheong YH, Luan S, et al. CIPK9: a calcium

sensor-interacting protein kinase required for low-potassium tolerance in *Arabidopsis*. *Cell Res*, 2007, **17**: 411–421.

- [11] Xiang Y, Huang Y, Xiong LZ, et al. Characterization of stress-responsive CIPK genes in rice for stress tolerance improvement. *Plant Physiol*, 2007, **144**: 1416–142.
- [12] Martı'nez-Atienza J, Jiang XY, Garciadeblas B, *et al.* Conservation of the salt overly sensitive pathway in rice. *Plant Physiol*, 2007, **143**: 1001–1012.
- [13] Obata T, Kitamoto HK, Nakamura A, et al. Rice shaker

potassium channel OsKAT1 confers tolerance to salinity stress on yeast and rice cells. *Plant Physiol*, 2007, **144**: 1978–1985.

- [14] Horie T, Costa A, Kim TH, et al. Rice OsHKT2;1 transporter mediates large Nat influx component into K-starved roots for growth. EMBO J, 2007, 26: 3003–3014.
- [15] Hiei Y, Ohta S, Komari T, *et al.* Efficient transformation of rice (*Oryza sativa* L.) mediated by Agrobacterium and sequence analysis of the boundaries of the T-DNA. *Plant J*, 1994, **6**: 271–282.

 \mathbf{c}

刊物名称	邮发 代号	刊期	年价(元)	网址	E-mail
大豆科学	14-95	双月刊	60	http://ddkx.periodicals.net.cn/gyjs.asp? ID=4606693	dadoukx@sina.com
动物学研究	64-20	双月刊	150	www.zoores.ac.cn	zoores@mail.kiz.ac.cn
动物学杂志	2-422	双月刊	210	http://dwxzz.ioz.ac.cn	journal@ioz.ac.cn
激光生物学报	42-194	双月刊	120	www.jgswxb.net	jgswxb@hunnu.edu.cn
菌物学报	2-499	双月刊	480	http://journals.im.ac.cn/jwxtcn	jwxt@im.ac.cn
昆虫知识	2-151	双月刊	150	www.ent-bull.com.cn	entom@ioz.ac.cn
林业科学	82-6	月刊	300	www.linyekexue.net	linykx@forestry.ac.cn
人类学学报	2-384	季刊	100	www.ivpp.ac.cn	acta@ivpp.ac.cn
山地农业生物学报	66-66	双月刊	100	http://web.gzu.edu.cn/jou/jou/	Sd.xb@163.com
生命科学	4-628	月刊	360	www.lifescience.net.cn	cbls@sibs.ac.cn
生物工程学报	82-13	月刊	780	http://journals.im.ac.cn/cjbcn	cjb@im.ac.cn
生物技术通报	18-92	月刊	300	http://swjstb.periodicals.net.cn/gyjs.asp? ID=4615630	biotech@mail.caas.net
生物技术通讯	82-196	双月刊	150	http://swtx.chinajournal.net.cn	swtx@263.net
生物信息学	14-14	季刊	48	xxsw.chinajournal.net.cn	cjbioinformatics@yahoo.cn
微生物学报	2-504	月刊	660	http://journals.im.ac.cn/actamicrocn	actamicro@im.ac.cn
微生物学通报	2-817	月刊	576	http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn	tongbao@im.ac.cn
武汉植物学研究	38-103	双月刊	180	http://whzwxyj.cn	editor@rose.whiob.ac.cn
畜牧兽医学报	82-453	月刊	240	www.xmsyxb.com	xmsyxb@263.net
遗传	2-810	月刊	600	www.chinagene.cn	yczz@genetics.ac.cn
遗传学报	2-819	月刊	600	www.jgenetgenomics.org	jgg@genetics.ac.cn
营养学报	6-22	双月刊	108	http://yyxx.chinajournal.net.cn	yyxx@chinajournal.net.cn
云南植物研究	64-11	双月刊	150	http://journal.kib.ac.cn	bianji@mail.kib.ac.cn
植物遗传资源学报	82-643	双月刊	120	http://www.zwyczy.cn	Zwyczyxb2003@sina.com Zwyczyxb2003@163.com
中国农业科学(中文)	2-138	半月刊	1188	www.ChinaAgriSci.com	zgnykx@mail.caas.net.cn
中国农业科学(英文)	2-851	月刊	432	www.ChinaAgriSci.com	zgnykx@mail.caas.net.cn
中国实验动物学报	2-748	双月刊	120	www.calas.org.cn	A67761337@126.com
中国生态农业学报	82-973	双月刊	210	www.ecoagri.ac.cn	editor@sjziam.ac.cn
中国生物工程杂志	82-673	月刊	960	www.biotech.ac.cn	biotech@mail.las.as.cn
中国水产科学	18-250	双月刊	180	www.fishscichina.com	zgsckx@cafs.ac.cn
中国水稻科学	32-94	双月刊	90	www.ricesci.cn	cjrs@263.net
作物学报	82-336	月刊	600	www.chinacrops.org/zwxb	xbzw@chinajournal.net.cn

2010年部分生物、农林类学术期刊联合征订表