

## 沙田柚类蛋白激酶基因的鉴定及生物信息学分析

陈锦玲, 徐媛, 陈玉梅, 李璐璐, 李惠敏, 秦新民\* (广西师范大学生命科学学院, 广西桂林 541004)

**摘要** [目的] 研究沙田柚类蛋白激酶基因编码的蛋白质序列所包含的生物信息学。[方法] 利用高通量测序对沙田柚自交和异交花柱进行转录组测序, 通过差异分析得到沙田柚类蛋白激酶基因序列。采用生物信息学方法, 对其编码的蛋白质从序列特征、理化性质、跨膜结构域、高级结构以及功能域等方面进行预测和分析。[结果] 该基因全长为 2 323 bp, 开放阅读框(ORF)全长为 1 560 bp (GenBank 登录号: MG925820), 共编码 519 个氨基酸, 分子质量为 57.39 kD, 等电点 PI 为 8.55。该蛋白质含有 1 个植物 STKc IRAK 蛋白家族的保守结构域, 为亲水性稳定蛋白。氨基酸序列分析表明, 其编码的氨基酸与克莱门柚和甜橙的同源性分别为 100%、99%。系统进化树表明沙田柚类蛋白激酶基因与克莱门柚和甜橙亲缘关系很近, 属于同一进化分支。[结论] 该研究结果可为今后深入研究沙田柚自交不亲和和机理提供参考。

**关键词** 沙田柚; 类蛋白激酶基因; 生物信息学分析

**中图分类号** S 188 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)16-0088-05

**Identification and Bioinformatics Analysis of Receptor-like Protein Kinases Gene from *Citrus grandis* var. *Shatinyu* Hort**  
CHEN Jin-ling, XU Yuan, CHEN Yu-mei et al (College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi 541004)

**Abstract** [Objective] To study the biological information contained in the protein sequence encoded receptor-like protein kinases gene. [Method] The transcriptome of the self-pollinated style and cross-pollinated style of *Citrus grandis* var. *Shatinyu* Hort were sequenced by high-throughput sequencing technology. Receptor-like protein kinases gene sequence of *C. grandis* var. *Shatinyu* Hort was obtained through differential analysis method, and some characters of the receptor-like protein kinases protein were analyzed and predicted by bioinformatics method, including the composition of amino acid sequence, physicochemical parameters, hydrophobicity, transmembrane domain, secondary structure and function of protein, etc. [Result] Receptor-like protein kinases gene was 2 323 bp in length with an open reading frame (ORF) of 1 560 bp, encoding 519 amino acids with deduced molecular weight of 57.39 kD, and theoretical pI value of 8.55, and contained a STKc IRAK domain. Bioinformatics analysis showed that receptor-like protein kinases protein was a hydrophobic and stable protein. The homology analysis of amino acid sequence indicated that the receptor-like protein kinases protein shared high homology with that of *Citrus clementina* (100%) and *Citrus sinensis* (99%). Phylogenetic analysis revealed that receptor-like protein kinases gene showed closer kinship with that of *C. clementina* and *C. sinensis*, indicating that they belong to the same evolutionary branch. [Conclusion] The results could provide a theoretical reference for further study of self-incompatibility molecular mechanism in *C. grandis* var. *Shatinyu* Hort.

**Key words** *Citrus grandis* var. *Shatinyu* Hort; Receptor-like protein kinases gene; Bioinformatics

沙田柚 (*Citrus grandis* var. *Shatinyu* Hort) 隶属于芸香科柑橘属, 具有配子体自交不亲和的特性。植物自交不亲和 (self-incompatibility, SI) 是指具有完全花且能够产生雌雄配子, 雌蕊的柱头或花柱能特异性识别与自体基因型相同的花粉, 导致花粉不萌发或花粉管停止生长的一种现象<sup>[1]</sup>。这种现象在避免植物近亲繁殖方面具有重要的意义。目前, 关于芸香科植物的自交不亲和性机理尚不明确, 但在沙田柚自交不亲和的形态学、细胞学和蛋白质化学等方面的研究已取得了一定进展<sup>[2]</sup>。秦新民等<sup>[3]</sup>分离并鉴定了沙田柚花粉管特异蛋白; 杨继华等<sup>[4-5]</sup>利用 IEF/SDS-PAGESHUA 双向电泳的方法测定了沙田柚自交花柱特异蛋白的分子量、等电点以及 N-末端氨基酸序列; 薛妙男等<sup>[6-7]</sup>确定了沙田柚自交花粉管在花柱中生长的受阻部位; 秦新民等<sup>[8-9]</sup>还确定了花柱通道细胞中特异蛋白和花粉管中特异蛋白的产生部位及分布。

植物中的类蛋白激酶通过磷酸化和去磷酸化作用调节植物的代谢, 这些过程几乎涉及所有的生理和病理过程<sup>[10]</sup>, 主要作用于植物的细胞抗逆反应<sup>[11]</sup>、生长发育<sup>[12-13]</sup>、抗病防卫<sup>[14-15]</sup>、自交不亲和<sup>[16]</sup>以及胞外信号转导<sup>[17]</sup>等方面。笔者通过对沙田柚自交和异交花柱进行转录组测序, 获得了沙田

柚类蛋白激酶基因, 并对该基因编码的蛋白质理化特征和基因表达进行了分析, 旨在为深入研究沙田柚自交不亲和的分子机理提供分子理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 所用材料为广西灵川县潮田乡大山口村果园内 10 年生的沙田柚果树花柱, 分别采集使用人工自交 (沙田柚×沙田柚) 和异交 (酸柚×沙田柚) 方式授粉后 1~3 d 的花柱, 立即放置于液氮中, 随后存放到低温冰箱 (-80 °C) 中备用。

## 1.2 方法

**1.2.1 RNA 的提取。** 根据改良的 Trizol 法对植物总 RNA 进行提取<sup>[18]</sup>。

**1.2.2 测序。** 通过检测选择合格 RNA 送至深圳华大基因科技服务有限公司进行建库和测序。用 Illumina HiSeq™ 2000 对制备好的文库进行测序。

**1.3 序列分析和系统树构建** 将得到的测序结果序列在 NCBI 的 Blast 程序上进行基因序列的同源性比较分析; 并利用 DNAMAN、Finder、TMpred、Swiss-model、NetPhos2.0 等软件进行序列和蛋白质理化分析; 在 GenBank 上下载与该序列同源性相近的其他物种的序列, 用 DNAMAN 软件对类蛋白激酶基因编码的氨基酸序列构建系统进化树。

## 2 结果与分析

**2.1 基因的生物信息学分析** 沙田柚类蛋白激酶基因 (*Uni-gene10208\_All*) 序列全长 2 323 bp (GenBank 登录号:

**基金项目** 国家自然科学基金项目 (31360477); 广西教育厅项目 (2013YB036)。

**作者简介** 陈锦玲 (1994—), 女, 广西浦北人, 硕士研究生, 研究方向: 植物分子生物学。\* 通讯作者, 教授, 博士, 硕士生导师, 从事植物分子生物学研究。

**收稿日期** 2018-02-25

MG925820), 在 NCBI 在线数据库 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 中进行比对, 寻找该基因的开放阅读框 (ORF), 用 DNAMAN 软件对该基因进行翻译, 结果显示: 该序

列有 1 个 1 560 bp 的开放阅读框, 编码的蛋白质含 519 个氨基酸 (图 1)。

```

1      GCTTACCATTAATCCATGTTACAAGCTATGTA AAAAATCTTTTACTTTATATAGCAA
61     CCCAGATAACTTTTTCAAGTTTGGCATCAGAAAAGCTTTGTCAGCAAGCATGTTGAAAGTCT
121    TGGAAGGTGTCAAAAAGTTCACCTCAATGATCCTCAACGGAAAGCTAAGTTCATGGAGTTTTC
181    GTAACCTCTACAATTGGTTTCATATGCCAATTTGTTGGAGTTTCATGTTGGAATGACAAAAG
241    AAAAATCGAATCCTCAACTTGGAAATTAACAGAAAATCAAGTTGTCAGGCCAAAATTCGGCAGC
      M K L S G Q I P E
301    CTTTGAAGTTTTGTA AAAAGCATGCAGAGACTGATCTTTCAGCTAACGATCTTCTCGTGA
P L K F C K S M Q R L D L S A N D L S G
361    ACATTCCGCCCAGATATGTGATTGGTTGCCCTTATTTAGTACTGCTCGATCTTTCAAATA
N I P A Q I C D W L P Y L V L D L S N
421    ATGATCTTTTCAGGTCCTATCCAGCTGATCTTGGTAATTGTACTATTTTGAATACCTTTGA
N D L S G P I P A D L G N C T Y L N T L
481    TTCTTTCAAATAAAGCTTTTCAGGACCTATCCCATATCAGTTGCAAAATTTAGGCAGCC
I L S N N K L S G P I P Y Q L S N L G R
541    TTAAGAAAATTTCTGTTGCTAATAATGATCTTACGGGTACAATTCCTCATCCATAAAG
L K K F S V A N N D L T G T I P S S F K A
601    GATTTGACAAGGCTGATTTTGTGGAATAAGTACCTTTGTTGGGGGGCTTTGGGATCAA
G F D K A D F D G N S D L C G G P L G S
661    AGTGTGGAGGTTGAGCAAGAAGAATCTTGCATCATATAATTGCTGCTGGTATATTCGGTG
K C G G L S K K N L A I I I A A G I F G
721    CCGCAGCATCAATGTTGTTAGCTTTTGGGCTATGGTGGTGGTACCATTGAGATGGGTTA
A A A S M L L A F G L W W W Y H L R W V
781    GGAGCAGGAAGAGAGGTTATGTTATGCAAGAGATGATGATGATAGCCGTGGCTTGAAA
R R R K R G Y G I G R D D D S R W L E
841    GGTTGAGGTTCCACAGCTTGCCTCAAGTTTCATTGTTTCAAAAACCTCTGTTTAAGGTTA
R L R S H K L A Q V S L F Q K P L V K V
901    AATTAGCTGATTTAATGGCGCTTCAAACAGCTTTTGTTCAGAAAATGTTATAATTTCCA
K L A D L M A A S N S F C S E N V I S
961    CTAGAACAGGGACCCTATAAGGCCATGCTTCTCGATGGGTCAGTACTGCTGTCAACG
T R T G T T Y K A M L P D G S V L A V K
1021   GGTTGAATACTTGAAGCTTGTGAGAGAAGCTTTCGTAATGAGATGAACCGATTAGGAC
R L N T C K L G E K K F R N E M N R L G
1081   AGCTCAGGCATCCAAATTTGGCACCCTTTTGGGATACTGTGTTGTCGAGGAAGAGAAGC
Q L R H P N L A P L L G Y C V V E E E K
1141   TTTTGATTATAAGTACATGCTAGTGAACCTTTGATTCTTTGTTGCAAGGAAAATGCTA
L L I Y K Y M S S G T L Y S L L Q R N A
1201   CTGAAGTAGATTGGCCAAACAGGTTTAGGATCGGTTTGGGAGCAGCCAGGCTAGCTT
T E L D W F T R F R I G L G A A R G L A
1261   GGCTTCACCATGGGTCAGCCAGCCTCCATTTCTGCATCAAAAACATATGCTCAAAATGATTC
W L H H G C Q P P F L H Q N I C S N V I
1321   TTGTCGATGAGGACTTTGATGCTCGGATAATGGATTTTGGATTGGCCAAAGCTTATGACTT
L V D E D F D A R I M D F G L A K L M T
1381   CTTCTGATGAGAGTAGTTTGTGAATGGTATTTGGGTGAATTTGGTTATATAGCCCTG
S S D E S S F V N G D L G E F Y I A P
1441   AGTACTCTAGCACAATGGTTGCTTCATTGAAGGGAGATGTGTATGGAATCGGGGTTGTC
E Y S S T M V A S L K G D V Y G I G V V
1501   TTCTGGAGTTGTCACAGGCCAAAACCGCTTGAACCTCGGCATGCTAGGCAGGATTCA
L L E L V T G R K P L E L G T A E A G F
1561   AGGGAATTTGTTGGATTGGGTGAATCAACTCTAGTCTGCGCCAGCAAGGAGGTTCA
K G N L V D W V N Q L S S S G R S K E V
1621   TTGACAAGGCTCTTTGCGGTAAGGGCTACGATGAGGAAAATTTGCAGTTTCTGAAAGTTG
I D K A L C G K G Y D E E I L Q F L K V
1681   CATGTAATTTGTTGCTCTAGGCCTAAGGACAGATGGTCTATGTACCAAGTTTATCAGT
A C N C V V S R P K D R W S M Y Q V Y Q
1741   CATTGAATAGCATTGCGGCACAACATGTTTCTCAGAACGGTATGATGAATTTCCGCTAA
S L N S I A A Q H G F S E R Y D E F P L
1801   TTTTTCACAGGCAAGATGGTGGCTCAGTGAATAAGAAGTTCTACATTTTGGTGGTAAGTC
I F H R Q D G C S V *
1861   ATCAAAATGCTATTTGATGTAATGGTTTGGATTGCCATTTATGCTGCATTTTCTGTTTGT
1921   TCTATATATACCTGTATGATACAATAAAAATATCAAAAGTTCTTGAATGTTTGAGGAATCT
1981   ATTTGTTGAACCTTGCATTTTGTGCCCTTCACTGCTTGTAGCCTTACAATTTT

```

图 1 类蛋白激酶基因序列和推测氨基酸序列

Fig.1 Nucleotide sequence of receptor-like protein kinases gene and the deduced amino sequence

**2.2 编码蛋白质的分析和疏水性预测** 将类蛋白激酶基因编码的蛋白质序列放入理化性质在线预测网站 (<http://web.expasy.org/protparam/>) 中进行蛋白质理化性质的预测分析, 结果显示: 该基因编码的蛋白质分子式为  $C_{2569}H_{4044}N_{698}O_{745}S_{24}$ , 分子质量为 57.39 kD, 等电点 PI 为 8.55。构成该蛋白质的氨基酸中, 亮氨酸 (Leu) 所占比例最大, 达 13.7%, 组氨酸 (His) 所占比例最少, 仅为 1.5%。蛋白质不稳定性系数 (instability index) 为 33.94 (<40), 表明该蛋白质为稳定蛋白。其中, 该蛋白质携带的负电荷氨基酸 (Asp + Glu) 总数为 52, 正电荷氨基酸 (Arg + Lys) 总数为 58。利用 DNAMAN 软件对该

蛋白质进行疏水性分析, 结果见图 2。从图 2 可以看出, 该基因编码的肽链中疏水性最大值约为 3.48, 位于第 141 位氨基酸, 最小值约为 -3.71, 位于第 172 位氨基酸。该蛋白质疏水性平均值为 -0.12, 鉴定该蛋白质为亲水性蛋白。

**2.3 跨膜预测** 运用跨膜蛋白数据库 TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 对沙田柚类蛋白激酶跨膜区域进行预测, 结果表明该蛋白质属于跨膜蛋白, 其中 1~141 位部分位于膜外, 142~164 位部分跨膜, 165~519 位部分位于膜内 (图 3)。

**2.4 蛋白质磷酸化位点预测** 蛋白质磷酸化位点采用在线

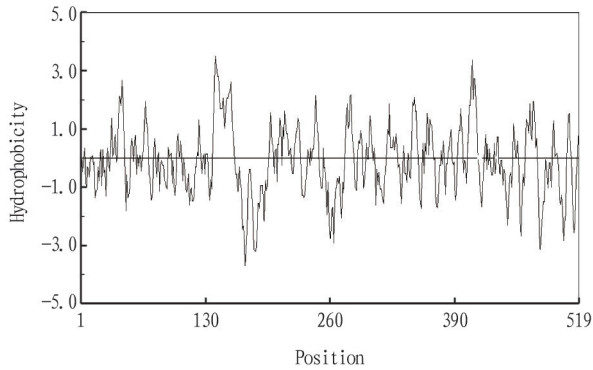


图2 类蛋白激酶基因蛋白疏水性分析

Fig.2 Hydrophobicity analysing of receptor-like protein kinases protein

预测软件 NetPhos 3.1 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>) 进行预测,结果显示,类蛋白激酶基因编码的蛋白质共有 39 个可能的磷酸化位点,其中丝氨酸(Ser)磷酸化位点共有 26 个,分别位于蛋白质的第 4、23、53、77、85、94、107、135、183、191、200、220、244、297、298、303、370、371、374、375、398、442、443、446、483、493 位;苏氨酸(Thr)磷酸化位点共有 9 个,分别位于蛋白质的第 68、103、230、232、234、235、253、300 和 415 位;酪氨酸(Tyr)磷酸化位点仅 4 个,分别位于蛋白质的第 236、386、391、404 位。可知此蛋白质的磷酸化以丝氨酸磷酸化为主,其次为苏氨酸和酪氨酸。

**2.5 功能结构域分析** 将编码的氨基酸序列用NCBI上的

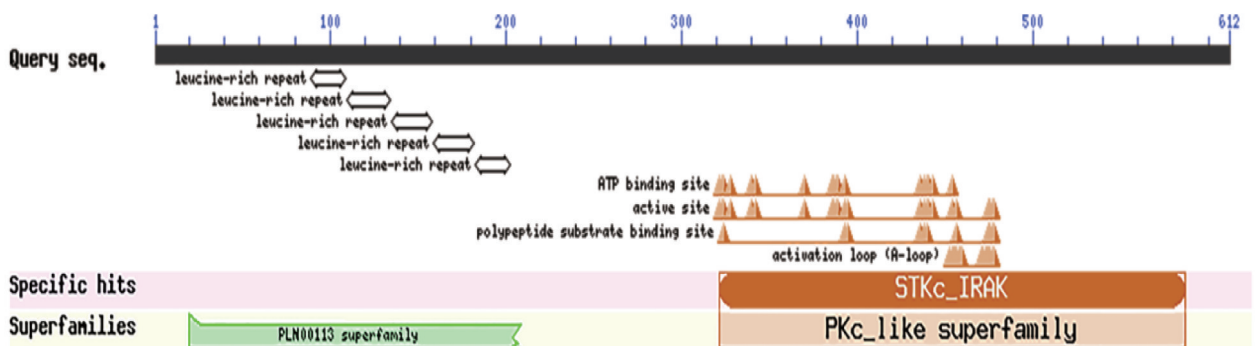


图4 类蛋白激酶基因蛋白保守结构域

Fig.4 Conserved domains of porcine receptor-like protein kinases protein

**2.7 同源性分析** 从 NCBI 上下载其他 9 种植物的类蛋白激酶基因编码的氨基酸序列,利用 DNAMAN 构建系统发育树,结果表明沙田柚类蛋白激酶基因编码的蛋白质与芸香科的克莱门柚(*Citrus clementina*)和甜橙(*Citrus sinensis*)的类蛋白激酶基因编码的蛋白质相似性很高,相似度约为 100% 和 99%。该同源树显示该物种与克莱门柚和甜橙亲缘关系很近,属于同一分支(图 7)。

**2.8 类蛋白激酶基因在沙田柚自交和异交花柱中的表达** 该研究克隆的类蛋白激酶在沙田柚自交花柱和异交花柱中的表达有较为明显的差异:在未授粉花柱中其表达量(reads per kb per million reads, RPKM)<sup>[20]</sup> 为 0.01,自交 1 d 花柱中的表达量上升至 1.61,自交 2 d 花柱中的表达量继续

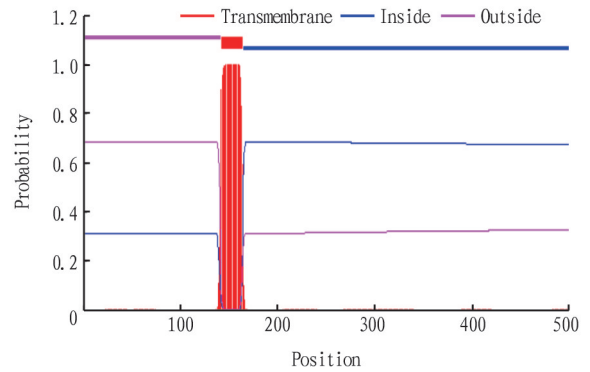


图3 类蛋白激酶基因序列跨膜区预测

Fig.3 Result of TMpred prediction on receptor-like protein kinases protein

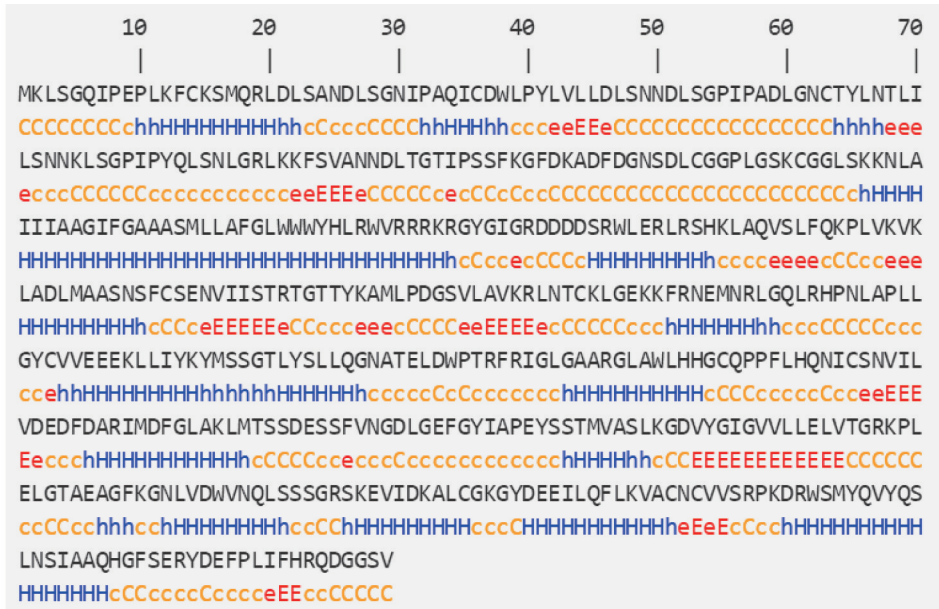
Conserved Domain Search (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 进行分析,发现该蛋白质具有 1 个与 STKc IRAK 蛋白相同的保守结构域,属于 PKc like 超家族,预测结果如图 4 所示。

**2.6 蛋白质二级以及三级结构的预测** 运用在线分析软件 SOPMA ([https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/secpred\\_sopma.pl](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/secpred_sopma.pl)) 对类蛋白激酶蛋白二级结构进行预测,结果表明,在该蛋白质的二级结构中, $\alpha$ -螺旋所占比例为 38.54%,延伸链 13.29%,无规则卷曲 48.17%,二级结构预测结果如图 5 所示。

利用在线软件 Phyre2<sup>[19]</sup> 对 RING Finger 蛋白氨基酸序列三级结构进行预测,结构见图 6。

上升至 5.97,自交 3 d 的其表达量上升至 6.23。而在异交 1 d 花柱中的表达量上升至 4.06,异交 2 d 花柱中的表达量继续上升至 6.41,但异交 3 d 花柱中的表达量迅速下降至 1.81。从上述结果可以看出无论自交授粉还是异交授粉,第 1 天花柱中类蛋白激酶基因的表达都表现为迅速升高,利用 RPKM 对该基因在自交和异交花柱中的表达水平进行估算,设定错误检测率(false discovery rate, FDR)  $\leq 0.001$  且差异倍数  $\geq 2$  倍的基因视作显著差异表达基因,以 RPKM 值取 2 的对数值(log2)对自交 1 d/异交 1 d、自交 2 d/异交 2 d,以及自交 3 d/异交 3 d 花柱中类蛋白激酶基因的表达水平进行统计,其数值分别为-1.33、-0.10、1.78。





注:h.α-螺旋;c.无规则卷曲;e.延伸链  
 Note:h.α-helix;c.Random coil;e.Extended strand

图5 类蛋白激酶蛋白的二级结构预测

Fig.5 The secondary structure prediction of receptor-like protein kinases protein

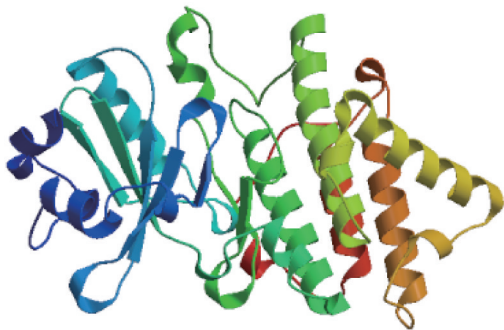


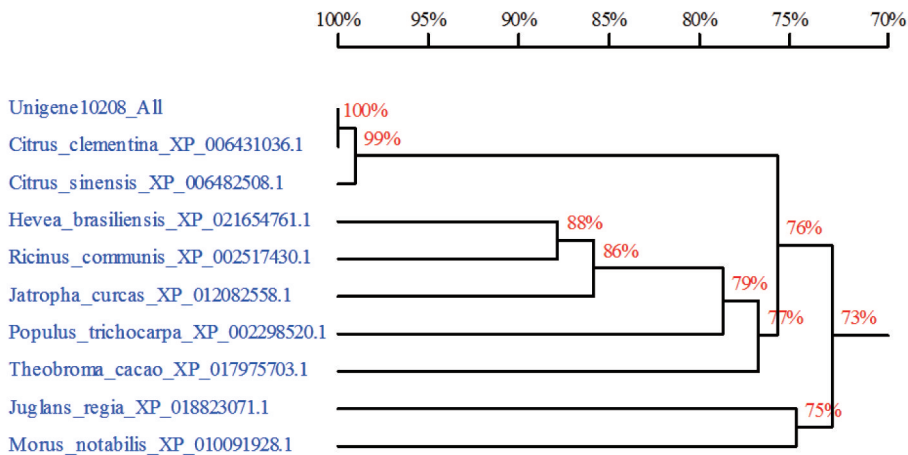
图6 类蛋白激酶蛋白的三级结构

Fig.6 The tertiary structure of receptor-like protein kinases protein

### 3 讨论

蛋白激酶是一类催化蛋白质磷酸化反应的酶,能将腺苷三磷酸(ATP)上的γ-磷酸转移到蛋白质分子的氨基酸残基上<sup>[21]</sup>。类蛋白激酶蛋白的磷酸化以丝氨酸磷酸化为主,其次为苏氨酸和酪氨酸,且与STKc IRAK蛋白有相同的保守结构域,属于PKc like超家族。该研究通过序列同源性分析,沙田柚类蛋白激酶基因编码的氨基酸与克莱门柚(*Citrus clementina*)和甜橙(*Citrus sinensis*)的同源性分别为100%、99%,表明Unigene10208\_All为类蛋白激酶基因。

植物蛋白激酶在植物体内起着信号转导的作用<sup>[17,22-23]</sup>。杜秀贞等<sup>[10]</sup>发现小麦类蛋白激酶基因片段TA50-10可以诱导植物抗病,且具有谱性。蛋白激酶在生长发育方面也有显



注:Unigene10208\_All(沙田柚),Citrus\_clementina\_XP\_006431036.1(克莱门柚),Citrus\_sinensis\_XP\_006482508.1(甜橙),Hevea\_brasiliensis\_XP\_021654761.1(橡胶树),Ricinus\_communis(蓖麻),Jatropha\_curcas\_XP\_012082558.1(麻风树),Populus\_trichocarpa\_XP\_002298520.1(毛果杨),Theobroma\_cacao\_XP017975703.1(可可树),Juglans\_regia\_XP\_018823071.1(核桃),Morus\_notabilis\_XP010091928.1(川桑)

图7 基于氨基酸序列的类蛋白激酶蛋白系统发育树

Fig.7 Phylogenetic tree based on amino acid sequence of receptor-like protein kinases protein

著的作用。李涛等<sup>[24]</sup>发现类蛋白激酶基因 *OsAGW1* 可以通过控制水稻颖壳表皮细胞以及维管束的发育来实现对籽粒大小的控制。该研究获得的类蛋白激酶基因自交 1 d 花柱中的表达量上升至 1.61, 自交 2 d 花柱中的表达量继续上升至 5.97, 自交 3 d 的表达量仍上升至 6.23。而在异交 1 d 花柱中的表达量上升至 4.06, 异交 2 d 花柱中的表达量也继续上升至 6.41, 但异交 3 d 花柱中的表达量却下降至 1.81。自交 1 d/异交 1 d、自交 3 d/异交 3 d 花柱的  $\log_2(\text{RPKM ratio})$  分别为 -1.33, 1.78, 达到差异表达的水平。此外, 该基因与沙田柚授粉相关, 在未授粉花柱中其表达量非常低 (0.01), 自交授粉 1 d 时达 1.61, 异交授粉 1 d 也达 4.06。但该基因与沙田柚自交不亲和性的关系尚待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] DE NETTANCOURT D. Incompatibility in angiosperms [J]. *Sexual plant reproduction*, 1997, 10(4): 185-199.
- [2] 秦新民, 张渝, 刘玉洁, 等. 沙田柚 S-RNase 基因的克隆及序列分析 [J]. *广西师范大学学报(自然科学版)*, 2015, 33(1): 139-145.
- [3] 秦新民, 李惠敏, 薛妙男, 等. 沙田柚自交、异交花粉管蛋白的双向电泳分析 [J]. *广西植物*, 2004, 24(6): 566-569.
- [4] 杨继华, 李红艳, 薛妙男. 沙田柚花柱 S-糖蛋白的分离及鉴定 [J]. *广西师范大学学报(自然科学版)*, 2000, 18(4): 66-70.
- [5] 杨继华, 饶桂荣, 薛妙男. 沙田柚花柱 S-糖蛋白的纯化和 N-端序列测定 [J]. *广西师范大学学报(自然科学版)*, 2001, 19(1): 72-79.
- [6] 薛妙男, 陈腾土, 杨继华. 沙田柚自交和异交亲和性观察 [J]. *园艺学报*, 1995, 22(2): 127-132.
- [7] 薛妙男, 李义平, 张杏辉, 等. 沙田柚自交花柱中识别蛋白的免疫金定位 [J]. *园艺学报*, 2001, 28(1): 59-61.
- [8] 秦新民, 莫花浓, 万珊, 等. 沙田柚花粉管特异蛋白的免疫细胞化学研究 [J]. *广西师范大学学报(自然科学版)*, 2008, 26(4): 112-115.
- [9] 秦新民, 莫花浓, 石菁萍, 等. 沙田柚花粉管 S1-RNase 免疫胶体金定位研究 [J]. *广西农业科学*, 2009, 40(5): 483-485.
- [10] 杜秀贞, 李培培, 潘小政, 等. 小麦类蛋白激酶基因片段 *T450-10* 的克隆及其 TMV 抗性诱导功能 [J]. *江苏农业学报*, 2011, 27(6): 181-185.

- [11] KOMATSU S, YANG G X, KHAN M, et al. Over-expression of calcium-dependent protein kinase 13 and calreticulin interacting protein 1 confers cold tolerance on rice plants [J]. *Molecular genetics & genomics*, 2007, 277(6): 713-723.
- [12] MIZUNO S, OSAKABE Y, MARUYAMA K, et al. Receptor-like protein kinase 2 (RPK 2) is a novel factor controlling anther development in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant journal*, 2007, 50(5): 751-766.
- [13] BECRAFT P W. Receptor kinases in plant development [J]. *Trends in plant science*, 1998, 3(10): 384-388.
- [14] YOSHIMURA S, YAMANOUCHEI U, KATAYOSE Y, et al. Expression of *Xa1*, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(4): 1663-1668.
- [15] CHEN X W, SHANG J J, CHEN D X, et al. A B-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance [J]. *Plant journal*, 2006, 46(5): 794-804.
- [16] MORILLO S A, TAX F E. Functional analysis of receptor-like kinases in monocots and dicots [J]. *Current opinion in plant biology*, 2006, 9(5): 460-469.
- [17] TORII K U. Leucine-rich repeat receptor kinases in plants; Structure, function, and signal transduction pathways [J]. *International review of cytology*, 2004, 234: 1-46.
- [18] 孙德权, 郭启高, 胡玉林, 等. 改良 Trizol 法提取香蕉叶片总 RNA [J]. *广东农业科学*, 2009(5): 162-164.
- [19] KELLEY L A, MEZULIS S, YATES C M, et al. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis [J]. *Nature protocols*, 2015, 10(6): 845-858.
- [20] MORTAZAVI A, WILLIAMS B A, MCCUE K, et al. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq [J]. *Nature methods*, 2008, 5(7): 621-628.
- [21] 张春宝, 赵丽梅, 赵洪锬, 等. 植物蛋白激酶研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2011(10): 17-23.
- [22] NAKAGAMI H, PITZSCHKE A, HIRT H. Emerging MAP kinase pathways in plant stress signaling [J]. *Trends in plant science*, 2005, 10(7): 339-346.
- [23] STONE J M, WALKER J C. Plant protein kinase families and signal transduction [J]. *Plant physiology*, 1995, 108(2): 451-457.
- [24] 李涛, 江洁明, 张盛春, 等. 类蛋白激酶基因 *OsAGSW1* 调控水稻籽粒发育的研究 [C]//广东省遗传学会. 广东省遗传学会第九届代表大会暨学术研讨会论文及摘要汇编. 广州: 广东省遗传学会, 2014: 1.

(上接第 84 页)

和土壤结构系数上升, 呼吸速率提高 20%, 降低了化肥使用。水稻种植的稻田进行水产品养殖, 虾、鱼等水生动物摄食与活动, 土壤温度降低 0.04~0.50 °C, 氧化还原电位提高 20%, 水体溶解氧含量增加 50%, 有利于鱼虾生长, 改善了土壤通透性, 促进水稻根系发育, 稻田土壤脲酶活性提高 5%、脱氢酶活性提高 10%、蛋白酶活性提高 7%, 土壤菌相的改变有效抑制了 20% 的 CH<sub>4</sub> 等稻田温室气体排放。同时, 田间杂草密度降低, 裸藻和枝角类的优势度显著增加, 圆蛛类、狼蛛类和跳蛛类等有益昆虫种群数量也明显提高, 降低了农药的使用量, 减少了病害的发生<sup>[3,8]</sup>。

#### 4 讨论

该试验中水稻的品种筛选有待研究, 提高稻虾田水稻品质将会提高其经济效益。稻田在虾养殖结束后, 鳊鱼粗养的养殖密度有进一步提高的空间, 关键是饵料鱼的配套和鳊鱼水质调节技术, 若提高到 1500 kg/hm<sup>2</sup>, 将会提升效益。

关于稻田稻-虾-鳊鱼的轮作模式是一个开放性系统, 还需要进一步的数据研究与检测跟踪, 作为一种循环经济模式、一种种养结合的营利模式具有深化研发和试验示范推广

价值。现代环境价值理念要求技术与科技“生态化”, 将是否有利于自然资源节约、利用和再生, 是否有利于生态环境的稳定与完善, 作为衡量科技成败得失的重要指标。这是深生态学 (Deep ecology) 对浅生态学 (Shallow ecology) 的突破<sup>[7]</sup>。农业稻作系统和水产养殖系统的耦合, 对科技工作者和生产经营者的物质观、生态观、人文观和价值观都提出了新要求和新挑战。

#### 参考文献

- [1] 倪达书, 汪建国. 稻田养鱼的理论与实践 [M]. 北京: 农业出版社, 1990: 1-87.
- [2] 倪达书, 汪建国. 稻鱼共生理论的研究 [J]. *水产科技情报*, 1981(6): 1-3.
- [3] 戴振炎. 稻金鱼复合生态系统甲烷排放规律及土壤理化因子的研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2004: 56-60.
- [4] 向安强. 稻田养鱼起源新探 [J]. *中国科技史料*, 1995(2): 62-74.
- [5] 高光明, 袁建明. 稻田生态综合种养理论与实践 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2016: 2-110.
- [6] 游修龄. 稻田养鱼: 传统农业可持续发展的典型之一 [J]. *农业考古*, 2006(4): 222-224.
- [7] HUBER D, GOMER ČIĆ T, KUSAK J. Fundamentals of ecology [J]. *Yale journal of biology & medicine*, 2015, 45(6): 605.
- [8] 曾和期. 浅论“稻田养鱼, 稻鱼双丰收”的生态学原理 [J]. *淡水渔业*, 1979(6): 20-24.