

许园园, 李晓刚, 李 慧, 等. 梨 *CDPK* 基因家族全基因组序列鉴定分析[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(3): 659-666.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.03.031

## 梨 *CDPK* 基因家族全基因组序列鉴定分析

许园园, 李晓刚, 李 慧, 蔺 经, 常有宏

(江苏省农业科学院园艺研究所, 江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 江苏 南京 210014)

**摘要:** *CDPK* 是植物特有的一类丝氨酸/苏氨酸型蛋白激酶, 在介导植物生育信号和逆境信号转导中具有重要作用。为揭示 *CDPK* 基因在梨生长发育与抗逆防御机制中的作用, 本研究通过生物信息学手段, 结合梨基因组注释信息, 鉴定梨基因组中 *CDPK* 家族基因成员, 利用 MEGA6.0 程序进行多序列比对、分类并构建系统进化树; 利用 perl 程序以及 GSDS 工具进行基因结构与保守性分析, 为植物 *CDPK* 基因功能分析与利用提供依据。结果表明, 本研究成功鉴定出 26 个 *CDPK* 家族成员, 根据系统发育树分析, 所有 *PbCDPK* 被分为 4 类; 基因结构预测结果表明, 大多数 *PbCDPK* 均含有 6 ~ 7 个内含子; 且预测的 *PbCDPK* 氨基酸序列绝大多数含 4 个 EF-hand 功能域; 为了深入分析梨与其他物种的同源进化关系, 构建了梨与拟南芥、水稻的 *CDPK* 基因系统进化树, 进化树聚类分析结果将所有的 *CDPK* 蛋白分为四类。综上所述, 目前已初步获得 26 个梨 *CDPK* 基因, 为在基因组范围内研究 *CDPK* 基因在梨生长发育与逆境响应中的功能奠定了基础。

**关键词:** 梨; *CDPK* 家族基因; 全基因组鉴定; 系统进化

**中图分类号:** S661.2      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-4440(2015)03-0659-08

## Identification of calcium-dependent protein kinase( *CDPK* ) gene family in pear( *Pyrus bretschneideri* Rehd )

XU Yuan-yuan, LI Xiao-gang, LI Hui, LIN Jing, CHANG You-hong

(Institute of Horticulture, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** Calcium-dependent protein kinases ( *CDPKs* ), classified into one kind of Ser/Thr kinases in plants, play important roles in various physiological processes, including plant growth and development, abiotic and biotic stress responses and plant hormone signalling. The annotation information of the pear genome was analyzed using bioinformatics tools to identify the sequence information of *CDPK* family members. The

MEGA 6.0 software was used for multiple sequence alignment, classification, and construction of the phylogenetic tree. Perl software and GSDS were adopted to analyze gene structure and conservation. 26 *CDPK* gene family members, named *PbCDPK1*–*PbCDPK26*, were successfully identified. Most *PbCDPKs* consisted of 6 to 7 introns, and contained four EF-hand domains. The phylogenetic relationship revealed that *CDPK* proteins were grouped into four categories. This study established a foundation for a ge-

收稿日期: 2014-10-13

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目[ CX(14)5018 ]; 国家自然科学基金项目( 31372051 ); 江苏省博士后基金项目( 1302006B )

作者简介: 许园园( 1985- ), 女, 山东潍坊人, 博士, 助理研究员, 主要从事果树逆境生理与分子生物学。( Tel ) 15951956519; ( E-mail ) xuyuan850903@ hotmail. com

通讯作者: 蔺 经, ( E-mail ) lj84390224@ 126. com; 常有宏, ( E-mail ) cyh@ jaas. ac. cn

genome-wide study of *CDPK* functions in the growth and development of pear under adverse environmental conditions.

**Key words:** pear; calcium-dependent protein kinase (*CDPK*) gene family; genome-wide identification; phylogenetic analysis

梨是重要的温带果树之一,属于蔷薇科苹果亚科,大多数的栽培品种都是二倍体( $2n=34$ )。作为国际市场上受欢迎的水果之一,梨在 6 个大洲都有广泛的种植,梨的主产国家有中国、美国、意大利、阿根廷、西班牙、韩国、土耳其、南非、日本和比利时,其中,中国为梨世界第一大生产国,年产量超过世界总产量的 60%<sup>[1-3]</sup>。

钙依赖性蛋白激酶(*CDPK*)是植物和一些原生生物所特有的一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可不需钙调素而被钙信号直接激活,在植物中,*CDPK*基因以翻译后形成的单肽链形式存在,典型的 *CDPK* 蛋白分子由 1 条多肽链组成,从 N 端到 C 端存在 4 个功能域<sup>[4-6]</sup>。在植物的器官水平上,*CDPK*基因广泛存在于根、茎、叶、果实和种子等器官,在植物钙信号转导中具有重要作用,在细胞水平上,分生细胞、木质部细胞、花粉细胞、保卫细胞和胚细胞中也均发现 *CDPK* 蛋白组分的存在,且越来越多的研究结果表明,在植物碳氮代谢、离子和水分跨膜运输、气孔运动、细胞骨架与生长发育调节中均有 *CDPK* 基因的参与,*CDPK* 在植物耐非生物胁迫的伤害应答和抗真菌的防卫应答中也发挥重要作用<sup>[7]</sup>。*CDPK* 基因在植物中数量众多,在模式植物拟南芥的基因组中,迄今已鉴定了 34 个 *CDPK* 基因,分布位于所有 5 条染色体上<sup>[8]</sup>;在水稻中,也已鉴定出 29 ~ 31 个 *CDPK* 家族成员<sup>[9]</sup>;据推测,小麦基因组中也至少存在 20 个 *CDPK* 基因<sup>[10]</sup>;另外,在大豆<sup>[11]</sup>、玉米<sup>[12]</sup>、番茄<sup>[13]</sup>、烟草<sup>[14]</sup>和棉花<sup>[7]</sup>中也鉴定了一些 *CDPK* 基因;尽管对 *CDPK* 基因的研究有了重大进展,但大多局限于模式植物中,而且仍有大部分的 *CDPK* 基因未得到分离与功能鉴定。梨基因组序列的公布为利用生物信息学手段研究该重要果树作物成为可能,但是目前在全基因组水平上对梨 *CDPK* 基因家族成员进行分离鉴定的工作尚未见报道。

本研究利用生物信息学分析方法,基于已公布的梨基因组全序列信息,分离鉴定出全部 *CDPK* 基因家族成员,从基因组水平上分析了梨 *CDPK* 基因的数目,基因结构与进化,为在基因组范围内研究

*CDPK* 基因家族的生物学功能奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

梨全基因组序列,基因及其注释信息均下载于梨基因组数据库(<http://peargenome.njau.edu.cn:8004/>)。拟南芥 *CDPK* 基因(34 个)序列和蛋白序列下载于 TAIR(<http://www.arabidopsis.org/>)。水稻 *CDPK* 基因根据 Asano 等<sup>[15]</sup>的研究结果,下载自 <http://rgp.dna.affrc.go.jp/E/IRGSP/rap-db1.html> 数据库,共得到 31 条 *CDPK* 蛋白序列。

试验于 2014 年在江苏省农业科学院园艺研究所高效园艺作物遗传改良重点实验室进行。

### 1.2 *CDPK* 基因家族成员鉴定

利用现有梨注释基因的蛋白序列,与拟南芥、水稻 *CDPK* 蛋白序列进行本地 blastp 比对,*E*-value 值为  $1e-5$ ,输出最优比对结果,根据比对长度(>400 aa)和相似度(>40%)筛选梨候选 *CDPK* 基因。同时结合 Pfam 数据库,采用 hmmscan 鉴定候选 *CDPK* 基因蛋白结构域,筛选含有 *CDPK* 蛋白典型结构域丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶区以及 EF-手型结构区(PF07714, PF00036)的蛋白序列<sup>[16]</sup>。综合上述结果,去除重复基因,得到 26 条梨 *CDPK* 基因,根据其拟南芥 *CDPK* 基因的相似性来命名。利用 ExPASy Proteomics Server(<http://expasy.org/>)对所有的 *CDPK* 蛋白氨基酸序列进行分子量、等电点预测<sup>[17]</sup>。氨基酸修饰,同样采用在线工具进行,Myristoylator 工具(<http://prosite.expasy.org/scanprosite/>)用于进行 N-myristoylation 预测(<http://prosite.expasy.org/scanprosite/>)<sup>[18]</sup>,palmitoylation 预测工具为 CSS-Plam program<sup>[19]</sup>,在线工具 [http://www.ebi.ac.uk/Tools/pfa/ps\\_scan/](http://www.ebi.ac.uk/Tools/pfa/ps_scan/)用于进行 EF-手型结构预测<sup>[20]</sup>。

在梨 26 个 *CDPK* 基因中进行重复基因对筛选,筛选标准为:(1)比对长度大于两个基因中最长基因序列长度的 80%;(2)比对相似性>80%;(3)只有一个重复事件才被认为是紧密关联的基因对。重复 *CDPK* 基因对的 *Ka*、*Ks* 值计算采用 DnaSP5.0 软件,

最后根据  $Ka/Ks$  值来判断每对基因的选择压力<sup>[21]</sup>。

### 1.3 系统发育树的构建与蛋白保守域序列比对分析

通过 ClustalW 模块对拟南芥、水稻、梨 CDPK 蛋白进行多序列联配比对分析,多序列比对结果使用 MEGA6.0 (<http://megasoftware.net>) 程序<sup>[22]</sup>采用邻接法 (Neighbor-Joining, NJ) 生成 CDPK 基因的无根系统进化树,校验参数 *Bootstrap* 重复 1 000 次。CDPK 基因家族保守性分析采用 ClustalX 生物学软件进行多序列比对,并参照 Schneider 等<sup>[23]</sup>的方法进行蛋白序列保守性分析。

### 1.4 CDPK 基因结构分析

根据预测结果,利用 perl 程序从梨基因组注释信息 (pear. gene. gff) 中提取梨 CDPK 基因的基因组注释信息 (gff),得到梨 CDPK 基因的基因组 (Scaffold) 位置信息。基于 CDPK 的基因和 CDS 序列,选取 GSDS (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) 工具进行基因结构分析,绘制外显子-内含子结构图。

### 1.5 梨 CDPK 基因与水稻、拟南芥的无根系统进化树构建

采用 MEGA6.0 程序中的 ClustalW 模块对梨、拟南芥和水稻的 CDPK 蛋白序列进行多序列比对,采用邻接法 (Neighbor-Joining, NJ) 生成无根进化树。

## 2 结果

### 2.1 梨 PbCDPKs 基因家族成员鉴定

利用生物信息学方法,从梨全基因组中鉴定获得 26 个候选 CDPK 基因家族成员,根据与拟南芥 CDPK 基因的同源性分别命名为 PbCDPK1 ~ PbCDPK26 (表 1)。通过 ExPASy 工具,对梨 CDPK 基因进行了蛋白质长度、分子量及等电点等生化属性分析。基因组序列分析结果表明梨 CDPK 基因非常保守,最长的梨 CDPK 蛋白 (PbCDPK6, Pbr010446.1) 编码 811 个氨基酸,最短的 CDPK 蛋白 (PbCDPK24, Pbr027545.1) 仅编码 499 个氨基酸。蛋白质生化属性分析发现,其等电点范围从 4.79 (PbCDPK22, Pbr028710.1) 到 8.77 (PbCDPK16, Pbr007825.1) (表 1)。

### 2.2 梨 PbCDPK 家族成员氨基酸序列保守性分析

利用 PFAM 及 NCBI-CDD 工具对 CDPK 家

族成员进行蛋白质结构分析发现,在与  $Ca^{2+}$  结合的调控区,CDPK 成员均含有一段结构和功能类似于 CaM 的氨基酸序列,这段序列中除 PbCDPK16 含有 3 个与  $Ca^{2+}$  结合的 EF-手型结构,其余均包含 4 个 EF 手型结构 (图 1)。此外,部分 CDPK 成员 N 端还发现了含有与蛋白质定位 (膜定位) 相关的豆蔻酰化和十六烷酰化所需的保守序列 MGXXC (S/Q) XXT 位点 (表 1)。

### 2.3 梨 PbCDPKs 家族基因结构与系统进化分析

为了解梨 CDPK 蛋白系统进化关系,利用梨 CDPK 蛋白全长序列构建了系统进化树,结果显示,26 个 CDPK 基因可以分为 4 类,参考拟南芥的研究结果,将 4 类亚家族命名为 Class I、Class II、Class III 和 Class IV,分别含 10 个、4 个、10 个和 2 个 CDPK 基因。此外,26 个 CDPK 基因形成 11 个旁系同源基因对,其中只有 1 对基因步长值低于 90,为 PbCDPK17/PbCDPK15 (图 2)。对家族成员的基因结构分析显示,梨 CDPK 基因结构相对复杂,有 18 个 CDPK 基因内含子数目为 6 ~ 7 个,仅有 1 个成员含有 5 个内含子 (PbCDPK3),1 个成员含有 10 个内含子 (PbCDPK16),3 个成员含有 8 个内含子 (PbCDPK6、PbCDPK14),2 个成员含有 9 个内含子 (PbCDPK1、PbCDPK22),另有 2 个 CDPK 基因不含内含子 (PbCDPK7、PbCDPK24)。对 CDPK 成员聚类结果的进一步分析发现,位于同一旁系同源基因对中的基因其结构同样类似 (图 2)。另外,对 PbCDPK 家族成员编码序列与基因组序列进行比较分析发现,在 9 个 PbCDPK 家族成员基因序列中存在 UTR 非翻译区域 (图 2)。

为了深入分析梨与其他物种的同源进化关系,构建了梨与拟南芥、水稻的 CDPK 基因系统进化树 (图 3),根据进化树聚类,可将所有的 CDPK 蛋白分为四类,分别为 CDPK I, CDPK II, CDPK III, CDPK IV。CDPK I 包含了 10 个 AtCDPK, 8 个 OsCDPK 和 10 个 PbCDPK; CDPK II 中分别包含 13 个 AtCDPK, 5 个 OsCDPK 和 4 个 PbCDPK; CDPK III 中分别包含 8 个 AtCDPK, 8 个 OsCDPK 和 10 个 PbCDPK; CDPK IV 中在四类分组中含有基因数目最少,分别包含 3 个 AtCDPK, 2 个 OsCDPK 和 2 个 PbCDPK。

表 1 梨 *CDPK* 基因家族成员信息  
Table 1 The information of *CDPK* gene family in pear

基因	基因 ID	编码序 列长度 (bp)	编码的氨基酸序列							
			染色体	氨基酸数目 (aa)	分子量	等电点	EF-手型 结构数目	N 端氨基酸	N-豆蔻 酰化	N-十六 (烷)酰化
<i>PbCDPK1</i>	Pbr033365.1	2 220	scaffold609.0	550	82 600	5.04	4	MGNTCVGP	No	Yes
<i>PbCDPK2</i>	Pbr010307.1	1 944	scaffold17.0	648	71 600	5.98	4	MGNNCVGN	No	Yes
<i>PbCDPK3</i>	Pbr001308.2	1 647	scaffold103.0	549	61 000	6.23	3	MGNTCVGP	No	Yes
<i>PbCDPK4</i>	Pbr040137.1	1 566	scaffold874.0	522	58 600	5.17	4	MKKALHSQ	No	Yes
<i>PbCDPK5</i>	Pbr001322.2	1 974	scaffold103.0	658	73 600	5.93	4	MGNNCVGS	No	Yes
<i>PbCDPK6</i>	Pbr010446.1	2 433	scaffold170.2	811	90 900	6.88	3	MGFCGNLD	No	Yes
<i>PbCDPK7</i>	Pbr033411.1	1 509	scaffold61.0	503	55 900	5.22	4	MSSKSSSV	No	Yes
<i>PbCDPK8</i>	Pbr006943.1	1 602	scaffold138.0	534	59 800	6.08	4	MGNCCVTL	No	Yes
<i>PbCDPK9</i>	Pbr000148.1	1 632	scaffold1.0	544	60 800	6.73	4	MGCHSSKE	Yes	Yes
<i>PbCDPK10</i>	Pbr011500.1	1 650	scaffold180.0	550	62 000	7.04	4	MGNCNVCV	No	Yes
<i>PbCDPK11</i>	Pbr018253.1	1 566	scaffold271.0	522	58 600	5.71	4	MKKGLHSQ	No	Yes
<i>PbCDPK12</i>	Pbr011659.1	1 602	scaffold182.0	534	59 600	6.08	4	MGNCCVTL	No	Yes
<i>PbCDPK13</i>	Pbr028878.1	1 584	scaffold480.0	528	59 300	6.23	4	MGNCCRSP	No	Yes
<i>PbCDPK14</i>	Pbr017041.1	1 554	scaffold251.0	518	58 200	6.23	4	MGNCCVTP	No	Yes
<i>PbCDPK15</i>	Pbr024654.1	1 578	scaffold389.0	526	58 900	6.26	4	MGNNCSSG	Yes	Yes
<i>PbCDPK16</i>	Pbr007825.1	1 809	scaffold144.0	603	67 300	8.77	3	MGQCYGKT	Yes	Yes
<i>PbCDPK17</i>	Pbr029596.1	1 605	scaffold5.0	535	59 800	5.79	4	MGNCCSQR	Yes	Yes
<i>PbCDPK18</i>	Pbr017213.1	1 602	scaffold257.0	534	59 600	6.08	4	MGNCCVTL	No	Yes
<i>PbCDPK19</i>	Pbr023408.1	1 596	scaffold359.0	532	59 800	5.85	4	MGNCCATP	Yes	Yes
<i>PbCDPK20</i>	Pbr010295.1	1 815	scaffold17.0	605	67 200	5.91	4	MGNTCVGP	No	Yes
<i>PbCDPK21</i>	Pbr031892.1	1 641	scaffold57.0	547	61 000	6.38	4	MGCCSSKQ	Yes	Yes
<i>PbCDPK22</i>	Pbr028710.1	1 743	scaffold48.0	581	65 200	4.79	4	MHHLAGHP	No	No
<i>PbCDPK23</i>	Pbr036114.1	1 647	scaffold708.0	549	62 300	7.47	4	MGNCNVCV	No	Yes
<i>PbCDPK24</i>	Pbr027545.1	1 497	scaffold452.0	499	55 600	5.18	4	MSSKSSSA	No	Yes
<i>PbCDPK25</i>	Pbr037537.1	2 265	scaffold766.0	755	84 900	6.66	4	MGNCCATP	Yes	Yes
<i>PbCDPK26</i>	Pbr021635.1	1 584	scaffold322.0	528	59 400	6.13	4	MGNCCRSP	No	Yes

3 讨 论

目前,基因家族分析已在多种作物中有类似报道,如苹果 *SDH* 和 *IPT* 基因家族<sup>[24-25]</sup>,大豆 *LEA* 与 *ARF* 基因家族<sup>[26-27]</sup>,番茄 *LBD* 基因家族等<sup>[28]</sup>,为各个基因家族的功能分析提供了理论基础。*CDPK* 是

植物体内含有 *Ser/Thr* 激酶活性的一类蛋白激酶,研究表明,*CDPK* 是介导植物生长发育与逆境信号的关键信号传递体<sup>[7,29-30]</sup>。在植物体内,*CDPK* 基因以家族基因的形式存在,在对模式植物拟南芥基因组的搜索中发现 *CDPK* 含有 34 个成员,杨树基因组中被鉴定含有 30 个成员<sup>[31]</sup>,在其他植物如马



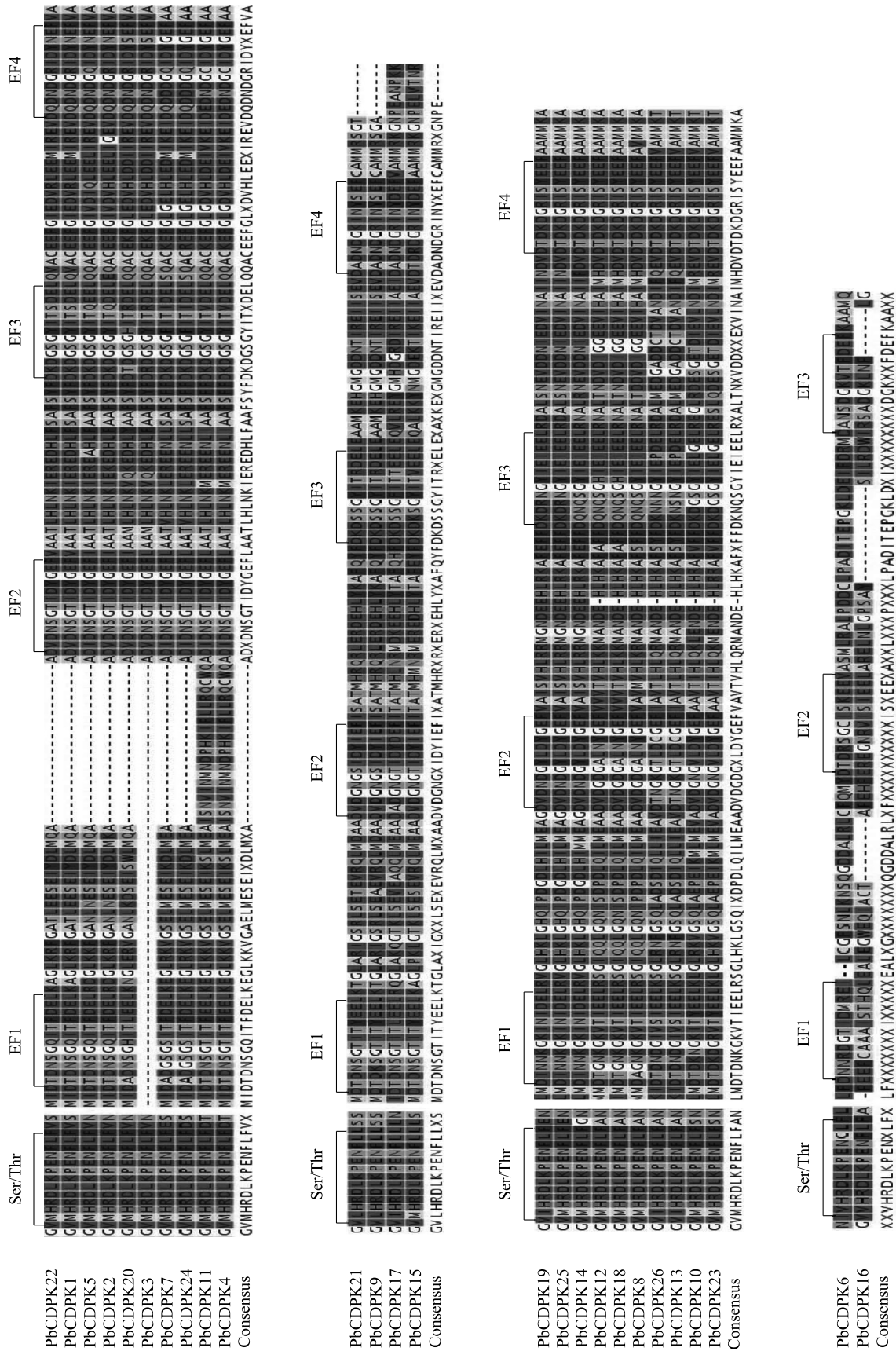


图1 *PbCDPK*编码的氨基酸序列比对  
Fig.1 Multiple sequence alignment of *PbCDPKs* putative amino acids sequences

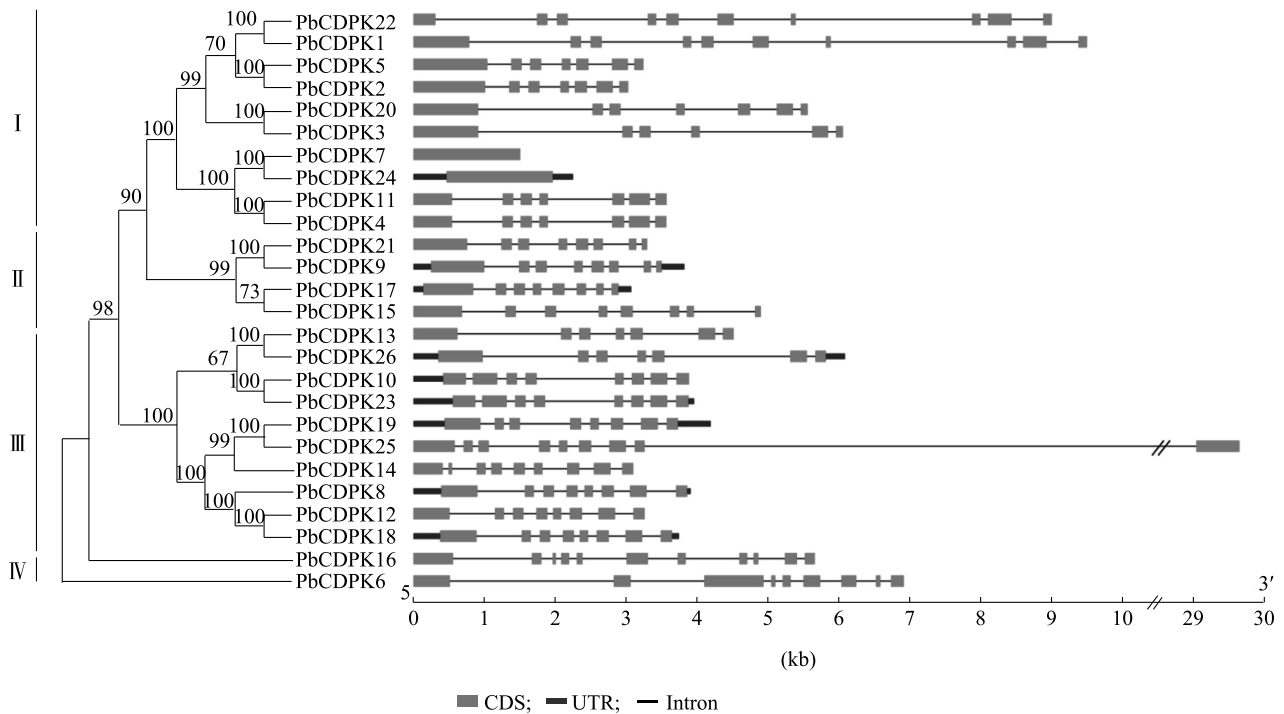


图2 梨 *CDPK* 基因内含子外显子结构与家族进化树分析

Fig.2 The intron-exon structures and the phylogenetic tree of *CDPK* genes in pear

铃薯、豌豆等作物中也发现了部分 *CDPK* 基因家族成员。梨作为一种重要的果树作物,基因组测序完成后,有关梨 *CDPK* 家族基因的分析研究尚未见报道。本研究通过对梨进行全基因组扫描分析,从梨基因组中成功鉴定出 26 个 *CDPK* 家族成员,通过对其进行基因结构、系统进化等生物信息学分析,以期深入揭示该基因家族在梨生长发育与信号转导中的功能和作用机制奠定基础。

总体来说,梨 *CDPK* 基因结构较为复杂,外显子数目较多(6~11 个),这种复杂的基因结构可能会导致基因结构不稳定,且复制时容易产生可变剪切。研究报道,大多数的 *CDPK* 基因在调控区含有 4 个保守的与  $\text{Ca}^{2+}$  结合的 EF-手型结构,少数 *CDPK* 含有 3 个 EF-手型结构,本研究中,还发现了 2 个 *CDPK* 成员含有 6 个 EF-手型结构。通过这些手型结构可使 *CDPK* 在不依赖于 *CaM* 的条件下与  $\text{Ca}^{2+}$  高度亲和。另外,部分 *CDPK* 成员 N 端存在与蛋白质定位(膜定位)相关的豆蔻酰化和十六烷酰化所需的保守序列 *MGXXC* (*S/Q*) *XXT* 位点,推测这些结构可能在参与蛋白质与质膜的可逆结合或蛋白间相互作用过程中

发挥重要作用。

通过系统进化树的构建,可以分析基因之间的起源关系,预测基因的功能。同一亚家族或小的分枝往往具备相似的功能,依据聚类分析,梨 26 个 *CDPK* 蛋白成员划分为 4 组(*CDPK* I、*CDPK* II、*CDPK* III 和 *CDPK* IV),表明梨 *CDPK* 蛋白来自于不同的祖先,另外研究结果显示,*CDPK* I、*CDPK* III 和 *CDPK* IV 在 3 个物种(梨、拟南芥和水稻)中分别含有大致相同数量的 *CDPK*,而较另外两个物种(梨和水稻),*CDPK* II 则仅在拟南芥中含有数量较多的 *CDPK* 成员,该聚类结果与棉花 *CDPK* 蛋白分类相一致<sup>[7]</sup>,由于植物种属的 *CDPK* 可能来自于蛋白激酶和 *CaM* 基因的融合,因此,*CDPK* 各成员的结构与序列组成上的较大差异,可能与蛋白激酶或 *CaM* 在序列上存在的差异有关。3 个物种的亲缘关系聚类分析结果表明,所有的 *CDPK* 蛋白在 3 个物种中均被分成不同的 4 个类别,暗示这些分组在单子叶植物与双子叶植物分化前就已存在,该结论同样支持了在藻类和陆生植物分化前 *CDPK* 家族基因就已被分为 4 类的假设<sup>[32]</sup>。

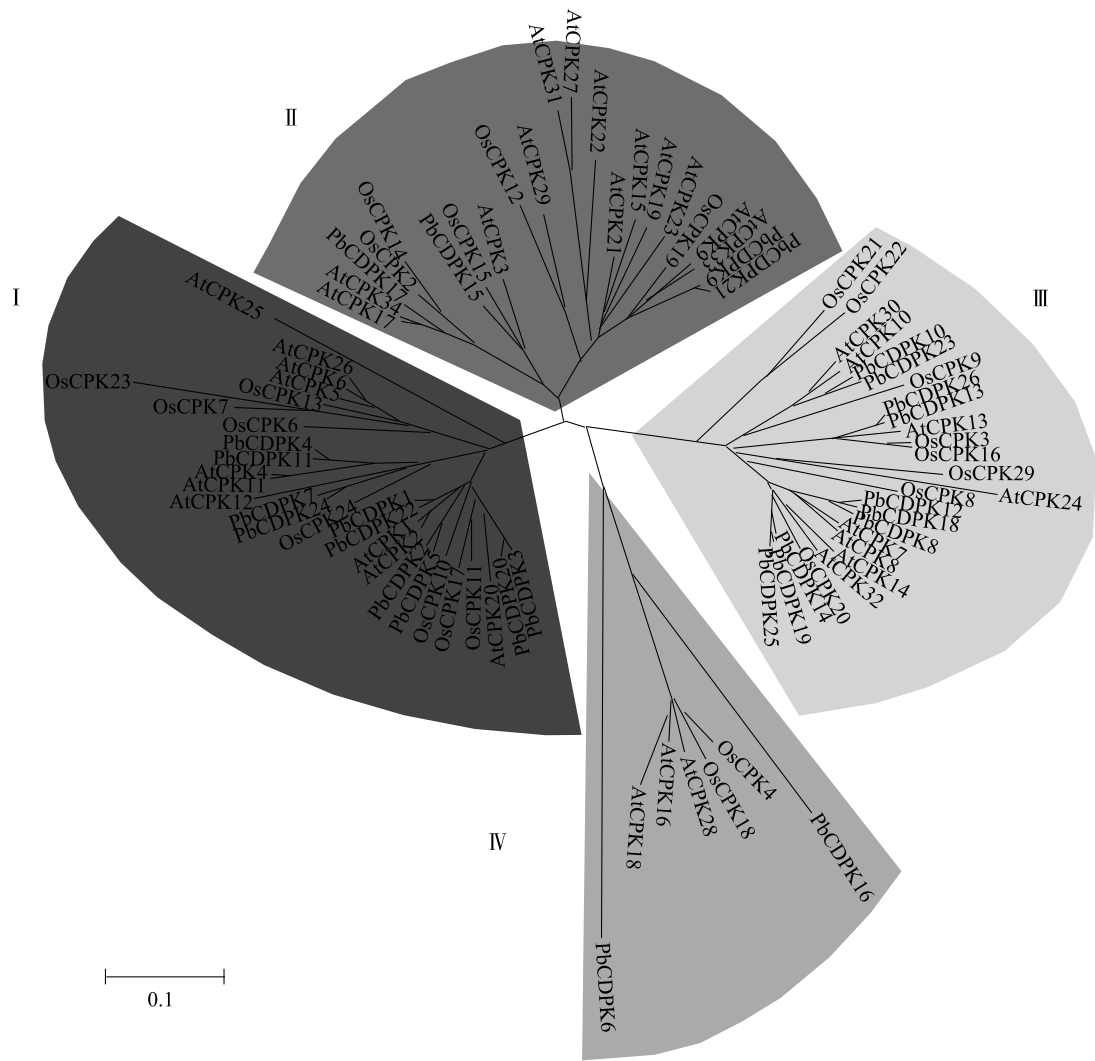


图3 梨 CDPK 蛋白与拟南芥、水稻 CDPK 蛋白的亲缘关系  
Fig.3 Phylogenetic relationships of CDPK proteins in *Arabidopsis*, rice and pear

随着研究深入,可能会发现更多的梨 CDPK 同源基因,这些 CDPK 家族基因如何响应激素信号调控梨生长发育,如何参与对逆境反应的信号传导等都将成为今后研究的重点。

参考文献:

[1] 李刚波,李 慧,丛 郁,等. 非生物胁迫下杜梨 *PbCBL4* 基因的表达[J]. 江苏农业学报,2014,30(5):1132-1138.  
[2] 蔺 经,李晓刚,李 慧,等. 沙梨新品种苏翠1号组培快繁体系研究[J]. 江苏农业科学,2014,42(11):66-67.  
[3] 王程亮,徐丽君,倪 萌,等. 无锡地区桃园梨小食心虫发生规律[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):117-119.  
[4] HARMON A C, GRIBSKOV M, GUBRIUM E, et al. The CDPK

superfamily of protein kinases [J]. New Phytologist, 2001, 151: 175-183.  
[5] HARPER J F, SUSSMAN M R, SCHALLER G E, et al. A calcium-dependent protein kinase with a regulatory domain similar to calmodulin [J]. Science, 1991, 252: 951-954.  
[6] HRABAK E M, CHAN C W, GRIBSKOV M, et al. The arabidopsis CDPK-SnRK superfamily of protein kinases [J]. Plant Physiology, 2003, 132: 666-680.  
[7] LIU W, LI W, HE Q, et al. Genome-wide survey and expression analysis of calcium-dependent protein kinase in *Gossypium raimondii* [J]. PLoS One, 2014, 9(6): e98189.  
[8] CHENG S H, WILLMANN M R, CHEN H C, et al. Calcium signaling through protein kinases the Arabidopsis calcium-dependent protein kinase gene family [J]. Plant Physiology, 2002, 129(2):

- 469-485.
- [9] RAY S, AGARWAL P, ARORA R, et al. Expression analysis of calcium-dependent protein kinase gene family during reproductive development and abiotic stress conditions in rice (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2007, 278: 493-505.
- [10] LI A L, ZHU Y F, TAN X M, et al. Evolutionary and functional study of the CDPK gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Plant Molecular Biology, 2008, 66: 429-443.
- [11] LEE J Y, YOO B C, HARMON A C. Kinetic and calcium-binding properties of three calcium-dependent protein kinase isoenzymes from soybean [J]. Biochemistry, 1998, 37: 6801-6809.
- [12] KONG X, LV W, JIANG S, et al. Genome-wide identification and expression analysis of calcium-dependent protein kinase in maize [J]. BMC Genomics, 2013, 14: 433.
- [13] CHICO J M, RAICES M, TERESA M T, et al. A calcium-dependent protein kinase is systemically induced upon wounding in tomato plants [J]. Plant Physiology, 2002, 128: 256-270.
- [14] 太帅帅, 刘贯山, 孙玉合, 等. 普通烟草 CDPK 基因家族的克隆及表达分析[J]. 中国农业科学, 2009, 42(10): 3600-3608.
- [15] ASANO T, TANAKA N, YANG G, et al. Genome-wide identification of the rice calcium-dependent protein kinase and its closely related gene families: comprehensive analysis of the CDPKs gene family in rice [J]. Plant Cell Physiology, 2005, 46(2): 356-366.
- [16] XU Q, DUNBRACK R L. Assignment of protein sequences to existing domain and family classification systems: Pfam and the PDB [J]. Bioinformatics, 2012, 28(21): 2763-2772.
- [17] ARTIMO P, JONNALAGEDDA M, ARNOLD K, et al. ExPASy: SIB bioinformatics resource portal [J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(Web Server issue): 597-603.
- [18] BOLOGNA G, YVON C, DUVAUD S, et al. N-Terminal myristoylation predictions by ensembles of neural networks [J]. Proteomics, 2004, 4: 1626-1632.
- [19] REN J, WEN L, GAO X, et al. CSS-Palm 2.0: an updated software for palmitoylation sites prediction [J]. Protein Engineering Design Selection, 2008, 21: 639-644.
- [20] DE CASTRO E, SIQRIST C J, GATTIKER A, et al. ScanProsite: detection of PROSITE signature matches and ProRule-associated functional and structural residues in proteins [J]. Nucleic Acids Research, 2006, 34 (Web Server issue): 362-365.
- [21] LIBRADO P, ROZAS J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 2009, 25: 1451-1452.
- [22] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. Molecular Biology Evolution, 2013, 30(12): 2725-2729.
- [23] SCHNEIDER T D, STEPHENS R M. Sequence logos: a new way to display consensus sequences [J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18: 6097-6100.
- [24] 梁东, 吴钊, 王素芳, 等. 苹果山梨醇脱氢酶基因家族的克隆及表达分析[J]. 中国农业科学, 2012, 45(1): 102-110.
- [25] 李皓, 张文, 赵旭勉, 等. 苹果异戊烯基转移酶基因家族(MdIPTs)的克隆与MdIPT5a功能分析[J]. 中国农业科学, 2011, 44(19): 4029-4036.
- [26] 李乐, 许红亮, 杨兴露, 等. 大豆LEA基因家族全基因组鉴定、分类和表达[J]. 中国农业科学, 2011, 44(19): 3945-3954.
- [27] HA C V, LE D T, NISHIYAMA R, et al. The auxin response factor transcription factor family in soybean: genome-wide identification and expression analyses during development and water stress [J]. DNA Research, 2013, 20(5): 511-524.
- [28] 王小非, 刘鑫, 苏玲, 等. 番茄LBD基因家族的全基因组序列鉴定及其进化和表达分析[J]. 中国农业科学, 2013, 46(12): 2501-2513.
- [29] DUBROVINA A S, KISELEV K V, KHRISTENKO V S. Expression of calcium-dependent protein kinase (CDPK) genes under abiotic stress conditions in wild-growing grapevine *Vitis amurensis* [J]. Journal Plant Physiology, 2013, 170: 1491-1500.
- [30] WITTE C P, KEINATH N, DUBIELLA U, et al. Tobacco calcium-dependent protein kinases are differentially phosphorylated *in vivo* as part of a kinase cascade that regulates stress response [J]. Journal Biological Chemistry, 2010, 285: 9740-9748.
- [31] ZUO R, HU R, CHAI G, et al. Genome-wide identification, classification, and expression analysis of CDPK and its closely related gene families in poplar (*Populus trichocarpa*) [J]. Molecular Biology Reporter, 2013, 40: 2645-2662.
- [32] CHEN F, FASOLI M, TORNIELLI G B, et al. The evolutionary history and diverse physiological roles of the grapevine calcium-dependent protein kinase gene family [J]. PLoS One, 2013, 8: 80818.

(责任编辑:陈海霞)