

引用:唐梦瑶,孙荣华,孙爽,等. 小麦钙调素结合蛋白基因鉴定与表达分析[J]. 聊城大学学报(自然科学版), 2026, 39(5): 746-755.

Citation: Tang Mengyao, Sun Ronghua, Sun Shuang, Nian Haomiao, Tian Geng, Qin Yuxiang. Identification and expression analysis of calmodulin binding protein gene in wheat[J]. Journal of Liaocheng University (Natural Science Edition), 2026, 39(5): 746-755.

文章编号 1672-6634(2026)05-0746-10

DOI 10.19728/j.issn1672-6634.2025120018

小麦钙调素结合蛋白基因鉴定与表达分析

唐梦瑶, 孙荣华, 孙爽, 年浩淼, 田庚, 秦余香

(济南大学 生物科学与技术学院, 山东 济南 250022)

摘要 钙调素结合蛋白(calmodulin-binding protein, CaMBP)在植物中通过与钙调素(CaM)结合,参与调节植物细胞的多种生理过程,如生长发育、逆境响应、气孔运动等。本研究对六倍体小麦(*Triticum aestivum*)的 *TaCaMBP* 基因进行了鉴定与表达分析。从小麦全基因组中鉴定出 21 个 *TaCaMBP* 基因,并对这些基因的序列及基因结构、蛋白保守基序、染色体分布、顺式作用元件以及各基因在 12 种组织和盐处理下的表达模式进行了分析。结果表明,21 个 *TaCaMBP* 基因分布在 18 条小麦染色体上,序列具有多样性,启动子区含有大量激素和非生物胁迫响应元件。*TaCaMBP* 基因成员在 12 种小麦不同组织中呈现出组织特异性表达模式。在盐处理下,多个 *TaCaMBP* 基因的表达水平发生显著变化,暗示其可能参与小麦对盐胁迫的响应。该研究结果为挖掘 *TaCaMBP* 基因的耐盐功能奠定了一定基础。

关键词 小麦;钙调素结合蛋白;基因分析;盐胁迫

中图分类号 S512.1

文献标志码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Identification and expression analysis of calmodulin binding protein gene in wheat

TANG Mengyao, SUN Ronghua, SUN Shuang, NIAN Haomiao,
TIAN Geng, QIN Yuxiang

(School of Biological Science and Technology, University of Jinan, Jinan 250022, China)

Abstract Calmodulin-binding proteins (CaMBPs), by virtue of their binding to calmodulin (CaM), are involved in regulating a variety of physiological processes in plant cells, such as growth and development, stress response, and stomatal movement. In this study, we conducted identification and expression analysis of the *TaCaMBP* genes in hexaploid wheat (*Triticum aestivum*). A total of 21 members of the *TaCaMBP* gene were identified from the whole wheat genome, followed by comprehensive analyses of their gene sequences and structures, conserved protein motifs, chromosomal distributions, cis-acting elements, as well as expression patterns across 12 different tissues and under salt treatment. The results demonstrated that these 21 *TaCaMBP* genes were located on 18 wheat chromosomes and exhibited se-

收稿日期:2025-12-23

基金项目:山东省重点研发计划(农业良种工程)项目(2024LZGC007)资助

通信作者:秦余香,女,汉族,博士,教授,研究方向:小麦基因组学,E-mail:chm_qinyx@ujn.edu.cn.

quence diversity. A large number of hormone-responsive and abiotic stress responsive elements were found in the promoter regions of the *TaCaMBP* genes. Members of the *TaCaMBP* gene family displayed tissue-specific expression patterns in 12 different wheat tissues. Under salt treatment, the expression levels of multiple *TaCaMBP* genes changed significantly, implying that they may be involved in the response of wheat to salt stress. Collectively, the findings of this study lay a foundation for the functional study of *TaCaMBPs* responding to salt stress in wheat.

Keywords *Triticum aestivum*; *TaCaMBP*; gene analysis; salt stress

0 引言

土壤盐渍化是当前全球面临的重要环境问题之一^[1],也是农业生产面临的重大挑战。土壤中含盐量过高会诱导植物体内离子胁迫、渗透胁迫及氧化胁迫的协同发生^[2]。这些胁迫协同作用,通过破坏膜系统稳定性、干扰代谢平衡及诱发氧化损伤等途径,抑制作物的生长发育^[3-4]。小麦是世界第三大粮食作物,在盐渍化条件下其生长发育受到的影响,导致小麦整体产量和品质的大幅下降。

Ca^{2+} 是广泛存在于细胞内的第二信使^[5],参与植物细胞中诸多信号转导过程。 Ca^{2+} 信号通路是植物适应盐胁迫的重要信号途径之一。在盐胁迫条件下,植物细胞内的钙离子浓度会迅速升高形成钙信号,这些信号通过钙离子结合蛋白(又称钙离子传感器)进行解码和传递,从而激活下游的生理响应。钙调素(CaM)是真核细胞中高度保守且广泛存在的一种钙离子传感器^[6]。因CaM/CML自身缺乏活性,需通过与靶蛋白结合才能调节植物对环境信号的响应,故CaM介导的信号传递主要是通过结合下游靶蛋白——钙调素结合蛋白(CaMBP)来实现对细胞生理功能的调控^[7]。

CaMBP是指能够借助钙调素结合结构域(CaMBD)与CaM/CML结合的蛋白质^[8],包括体外或体内可与CaM/CML相互作用的蛋白,以及多种受CaM/CML调控的酶类^[9]。CaMBD的氨基酸序列无同源性或同源性极低,但其结构相似,大多是由16~35个氨基酸残基构成的带有正电荷的两亲性 α 螺旋结构^[10]。根据与CaM的结合方式,CaMBPs可以分成两类,分别是 Ca^{2+} 依赖型的钙调素结合蛋白,如MKPs蛋白^[11]和 Ca^{2+} 不依赖型的钙调素结合蛋白,如含有IQ基序的蛋白^[12]。

CaMBP受非生物胁迫(如干旱、高温和盐碱等)和激素信号的诱导表达,参与激素信号转导、离子运输、基因转录等过程,在植物响应逆境胁迫中发挥关键调控功能。例如,*SmCBP60A1*在盐胁迫下起正调节作用,可以提高植物对盐的耐受性^[13]; *AtCBP60g*、*CaMLO2*过表达可以提升植株对干旱环境的适应能力^[14-15]。少量研究表明CaMBP参与植物对盐胁迫的响应,如*AtMKP1*可提高耐盐性^[16]。小麦是异源六倍体,含有丰富的CaMBP成员,但目前CaMBP在小麦中的研究有限^[17],限制其在小麦遗传改良中的应用。

本研究采用生物信息学的方法,在全基因组水平对小麦*TaCaMBP*基因进行了系统鉴定和表达分析,以期了解不同成员在盐胁迫下的表达模式,为小麦耐盐相关*TaCaMBP*基因克隆奠定基础。

1 材料与方法

1.1 数据来源

从Ensembl Plants数据库(<http://plants.ensembl.org/index.html>)获取六倍体小麦(*Triticum aestivum*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、水稻(*Oryza sativa*)、大麦(*Hordeum vulgare*)的全基因组数据,主要包括全基因组序列、CDS序列、氨基酸序列以及基因注释信息(gff3文件)。结合相关文献,确定*TaCaMBP*基因的Pfam号(PF07839)。从Pfam数据库(<http://pfam.xfam.org/>)中下载其隐马尔科夫模型。用于后续基因成员鉴定。

1.2 小麦*TaCaMBP*基因的鉴定

在Biolineux系统中,利用CaMBP基因的隐马尔科夫模型,对小麦的蛋白质序列进行hmmer搜索进行基因成员的初步鉴定。利用搜索到的信息构建新的隐马尔科夫模型进行二次搜索,设定E-value小于0.001,并挑选第一个转录本ID作为基因代表,随后将候选基因成员提交至Pfam(<http://pfam.xfam.org/>).

org/), NCBI CDD(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/>), SMART (<http://smart.embl.de/>)三大数据库中进行钙调素结合结构域最后的确认, 去除没有目标结构域或可信度不高的基因, 最终得到小麦 *TaCaMBP* 基因成员。后续使用 BioLinux 分析基因成员蛋白的分子量、等电点等理化性质。

1.3 小麦 *TaCaMBP* 基因多序列比对及进化树的构建

利用 MEGA7 软件中的 Clustal W 程序进行多序列比对。采用邻接法(Neighbor-Joining NJ)构建进化树, 将 Bootstrap 值设为 1 000, 并将生成的进化树保存为 nwk 格式的文件, 最后借助在线网站 evolview(<https://evolgenius.info/evolview-v2/>)进行注释和美化。

1.4 小麦 *TaCaMBP* 基因的基因结构及 motif 分析

利用 gff3 文件和已确定的基因成员的 ID, 通过 Biolinux 的脚本提取每个成员的 UTR、外显子以及内含子信息, 并使用 GSDS 在线工具(<http://gsds.gao-lab.org/>)绘制基因结构图。借助 MEME 工具对小麦 *TaCaMBP* 基因序列的 motif 进行分析, 参数设置如: motif 搜索的总数为 10; 最短长度为 6; 最长长度为 100, 并利用 TBtools 软件进行可视化绘图。

1.5 小麦 *TaCaMBP* 基因的染色体定位分析和共线性分析

借助脚本从 gff3 文件中获取 *TaCaMBP* 基因成员的位置信息。利用 MapChart (<https://mapchart.net/>)进行染色体可视化分析, 展示基因成员在染色体上的位置。使用 MCScanX 在基本的参数下分析 *TaCaMBP* 在小麦基因组中的共线性关系。利用相同的方法进行小麦、水稻以及大麦中 *CaMBP* 的共线性关系分析。

1.6 小麦 *TaCaMBP* 基因的启动子中顺式作用元件分析

利用 gff3 注释文件和已确定的基因成员 ID, 在 TBtools 中提取出启动子上游 2 000 bp 的非编码序列, 使用植物顺式作用调节元件数据库 PlantCARE(<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)^[18]进行顺式作用元件的预测与分析, 并用 TBtools 进行可视化分析。

1.7 小麦 *TaCaMBP* 基因不同组织部位及盐胁迫下的表达分析

利用 ExpVIP 网站(<http://www.wheat-expression.com/>)查询 *TaCaMBP* 基因成员在小麦不同组织部位的表达信息。盐胁迫表达模式热图构建: 选取中国春(Chinese Spring)和青麦六号(Qing Mai)这两个典型的小麦品种, 从 Genevestigator 网站中获取所有 *TaCaMBP* 基因成员在盐胁迫下(150 mmol/L NaCl) 6、12、24、48 h 下表达量的数据信息, 并用 TBtools 进行表达热图的绘制。

1.8 *TaCaMBP-01*、*TaCaMBP-05*、*TaCaMBP-15* 盐胁迫下的表达分析

以小麦品种中国春为材料。将种子消毒萌发后, 在标准培养条件(光周期 16 h/8 h、温度 25 ± 2 °C、湿度 50%~60%)下用 1/2 Hoagland 营养液培养至两叶一心期时用 150 mmol/L NaCl 进行盐处理, 分别于 0、0.5、3、6、12、24 h 进行小麦根部取样(每样品含三个单株, 三个生物学重复), 液氮速冻后放入 -80 °C 保存。使用 Trizol 法提取总 RNA, 随后用 FastKing cDNA 第一链合成试剂盒(天根)将 RNA 反转录为 cDNA。以小麦 *TaActin* 基因作为内参, 使用 SYBR Green qPCR Master Mix(索莱宝)在荧光定量 PCR 仪(CFX 96 touch)上进行 qRT-PCR。反应程序: 预变性 95 °C 15 min; 变性 95 °C 10 s; 退火 60 °C 30 s; 延伸 60 °C 32 s, 40 个循环。每个样品进行三个技术重复, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因的相对表达量^[19], 并使用 GraphPad Prism 9 进行作图与统计学分析(t 检验, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$)。

2 结果与分析

2.1 小麦 *TaCaMBP* 基因鉴定

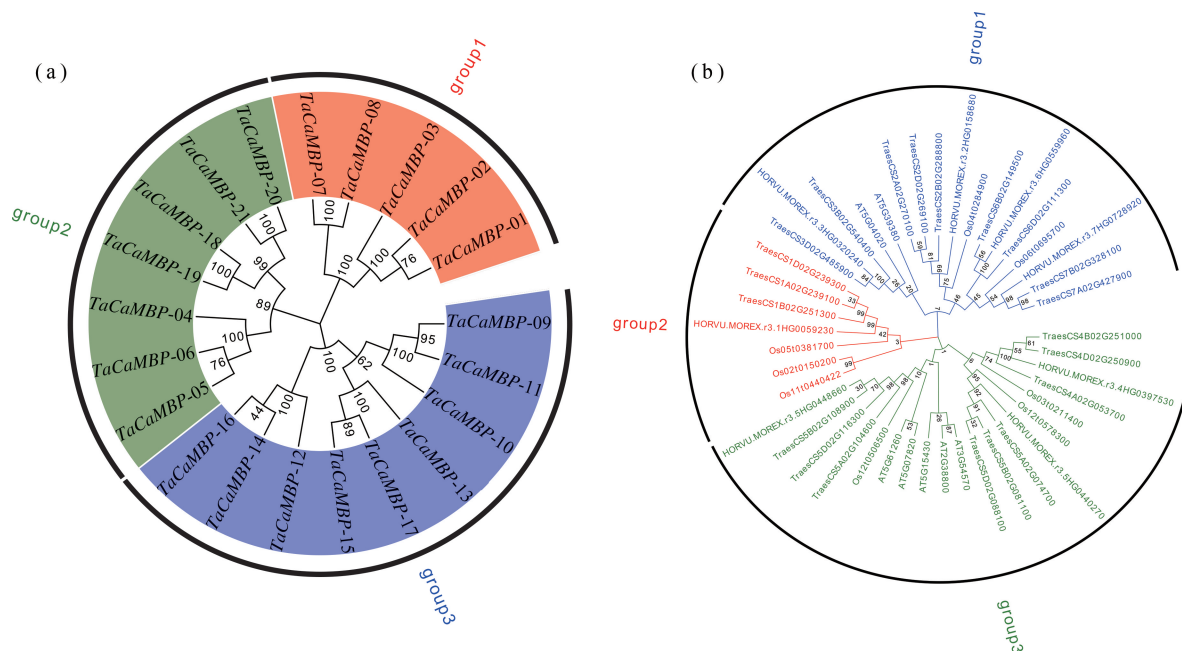
利用 *CaMBP* 基因的 PF07839 隐马尔科夫模型在小麦基因组中进行 hmmer 搜索及结构域验证, 最终鉴定到 21 个 *TaCaMBP* 基因成员(表 1)。21 个 *TaCaMBP* 基因编码蛋白质长度介于 329 至 1215 个氨基酸之间; 相对分子质量为 34.39 kDa 至 130.87 kDa; 等电点(pI)在 3.75 到 11.52 之间, 展现出理化性质的多样性。

表 1 小麦 *TaCaMBP* 基因成员的基本信息Tab. 1 Basic information of *TaCaMBP* gene in hexaploidy wheat

基因序号	基因 ID	染色体	基因位置	蛋白长度/aa	分子量/kDa	等电点
<i>TaCaMBP</i> -01	TraesCS1A02G239100	1A	150664852—150666616	1 215	130 877. 5	3. 85
<i>TaCaMBP</i> -02	TraesCS1B02G251300	1B	443994274—443999122	1 115	120 198. 4	3. 75
<i>TaCaMBP</i> -03	TraesCS1D02G239300	1D	77862963—77864929	1 143	122 851	3. 92
<i>TaCaMBP</i> -04	TraesCS2A02G270100	2A	437975377—437977623	380	39 915. 8	10. 31
<i>TaCaMBP</i> -05	TraesCS2B02G288800	2B	399353059—399355396	378	39 568. 4	10. 54
<i>TaCaMBP</i> -06	TraesCS2D02G269100	2D	94051277—94061471	329	34 394. 9	10. 94
<i>TaCaMBP</i> -07	TraesCS3B02G540400	3B	330751162—330752289	452	46 966. 6	8. 43
<i>TaCaMBP</i> -08	TraesCS3D02G485900	3D	87982462—87986634	441	45 968. 7	9. 08
<i>TaCaMBP</i> -09	TraesCS4A02G053700	4A	45334269 — 45339256	829	90 692. 2	4. 79
<i>TaCaMBP</i> -10	TraesCS4B02G251000	4B	517272871—517275387	838	91 473. 1	4. 77
<i>TaCaMBP</i> -11	TraesCS4D02G250900	4D	419312025—419316721	841	92 012. 7	4. 73
<i>TaCaMBP</i> -12	TraesCS5A02G074700	5A	329307188—329310778	610	66 369. 5	10. 79
<i>TaCaMBP</i> -13	TraesCS5A02G104600	5A	168863548—168865504	389	42 672. 4	11. 43
<i>TaCaMBP</i> -14	TraesCS5B02G081100	5B	779365902—779368378	608	66 103. 1	10. 75
<i>TaCaMBP</i> -15	TraesCS5B02G108900	5B	149329737—149331728	388	42 358	11. 52
<i>TaCaMBP</i> -16	TraesCS5D02G088100	5D	582700378—582702135	610	66 582. 6	10. 74
<i>TaCaMBP</i> -17	TraesCS5D02G116300	5D	136349190—136351231	388	42 208. 7	11. 52
<i>TaCaMBP</i> -18	TraesCS6B02G149500	6B	93631186—93633240	349	38 080. 7	6. 97
<i>TaCaMBP</i> -19	TraesCS6D02G111300	6D	426518618—426523264	366	39 444. 5	8. 22
<i>TaCaMBP</i> -20	TraesCS7A02G427900	7A	621017402—621019213	603	64 238. 5	9. 44
<i>TaCaMBP</i> -21	TraesCS7B02G328100	7B	101408193—101411999	554	59 070. 7	9. 78

2.2 小麦 *TaCaMBP* 基因成员的系统进化分析

为进一步了解 *CaMBP* 成员的进化关系,利用邻位归并法构建小麦及小麦、水稻、大麦和拟南芥



注:Ta 小麦;Os: 水稻;;At: 拟南芥;Hv: 大麦。(a) 小麦物种内的 *TaCaMBPs* 进化树分析;(b) 小麦、水稻、拟南芥和大麦中 *CaMBPs* 的进化关系。

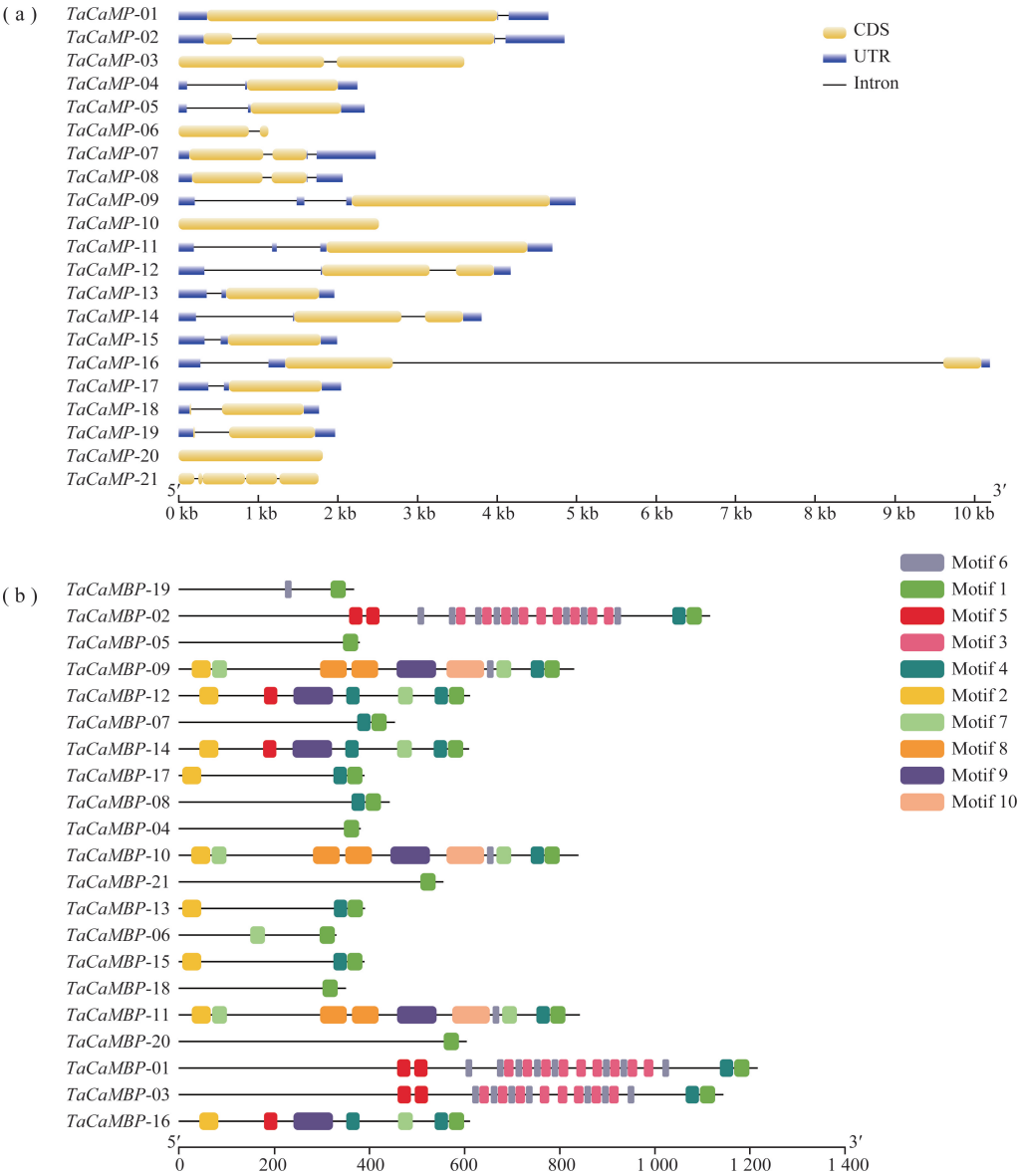
图 1 *CaMBP* 基因进化树分析Fig. 1 Phylogenetic tree of *CaMBP* genes

CaMBP 成员之间的进化树。结果表明,21 个小麦 *TaCaMBP* 基因分为 3 个亚家族,见图 1(a)。其中

group 1 包含 5 个成员,group 2 包含 7 个成员,group 3 包含 9 个成员。小麦(21 个)、大麦(8 个)、水稻(8 个)和拟南芥(7 个)共 44 个基因成员同样分为 3 个亚家族,如图 1(b),有些拟南芥的 *CaMBP* 与小麦、水稻和大麦的 *CaMBP* 在进化树中属于同一个分支,表明这些成员之间亲缘关系较近,这些成员可能在单子叶与双子叶植物分化前就已存在,并在进化中保持了一定的保守性。

2.3 小麦 *TaCaMBP* 基因结构及保守基序分析

基因结构分析显示(图 2a),*TaCaMBP* 基因成员含有 1~4 个外显子不等。其中大部分基因含有 1~2 个外显子,仅 *TaCaMBP*-21 含有多外显子。*TaCaMBP*-03、*TaCaMBP*-06、*TaCaMBP*-10、*TaCaMBP*-20、*TaCaMBP*-21 不含有 UTR 区。保守基序分析发现,*TaCaMBP* 基因成员含有多个 motif,如图 2(b)。其中 motif 1 在所有 *TaCaMBP* 成员中都存在,表明该基序可能在 *CaMBP* 蛋白中发挥重要功能。仔细分析发现,该 motif 为钙离子结合结构域(CaMBD)。有些 motif 仅在少数成员中出现,如 motif 3 和 motif 6 只在 *TaCaMBP*-01、*TaCaMBP*-02、*TaCaMBP*-03 中出现,推测这些 motif 可能在不同成员发挥基因特异性功能中发挥作用。与进化树结果对比分析发现,亲缘关系较近的基因通常具有相同或相似的基序,如图 1(a),图 2(b),例 *TaCaMBP*-01、*TaCaMBP*-02、*TaCaMBP*-03,这暗示它们可能具有相似的功能。



注:(a) *TaCaMBPs* 的基因结构;(b) *TaCaMBPs* 保守基序分析。

图 2 小麦 *TaCaMBPs* 基因结构和保守基序分析
Fig. 2 Gene structure and motif analysis of *TaCaMBPs*

2.4 小麦 *TaCaMBP* 基因成员的染色体定位及共线性分析

染色体定位分析显示,21个 *TaCaMBP* 基因不均匀的分布在除3A、6A、7D外的18条染色体上(图3)。共线性分析发现 *TaCaMBPs* 存在17对共线性基因,如图4(a),分别为 *TaCaMBP*-01/ *TaCaMBP*-02、*TaCaMBP*-02/ *TaCaMBP*-03、*TaCaMBP*-01/ *TaCaMBP*-03、*TaCaMBP*-04/ *TaCaMBP*-05、*TaCaMBP*-05/ *TaCaMBP*-06、*TaCaMBP*-04/ *TaCaMBP*-06、*TaCaMBP*-07/ *TaCaMBP*-08、*TaCaMBP*-09/ *TaCaMBP*-10、*TaCaMBP*-10/ *TaCaMBP*-11、*TaCaMBP*-09/ *TaCaMBP*-11、*TaCaMBP*-12/ *TaCaMBP*-16、*TaCaMBP*-13/ *TaCaMBP*-15、*TaCaMBP*-14/ *TaCaMBP*-16、*TaCaMBP*-18/ *TaCaMBP*-19、*TaCaMBP*-18/ *TaCaMBP*-21、*TaCaMBP*-19/ *TaCaMBP*-21、*TaCaMBP*-20/ *TaCaMBP*-21。涉及20个基因,在这20个基因中共包含3组三联体基因,如 *TaCaMBP*-01, *TaCaMBP*-02, *TaCaMBP*-03。这些结果表明,在小麦基因组和遗传系统进化过程中,发生了 *TaCaMBP* 基因的重复。同时,在多倍体小麦中基因组加倍是小麦 *CaMBP* 基因数目扩张的重要动力。此外,为研究 *CaMBP* 在物种间的进化关系,在分别获得小麦、水稻、大麦21个、8个、8个 *CaMBPs* 的基础上,分析了物种间 *CaMBPs* 的共线性,结果表明已克隆的 *CaMBPs* 在小麦、水稻和大麦中存在较好的共线性,如图4(b)。

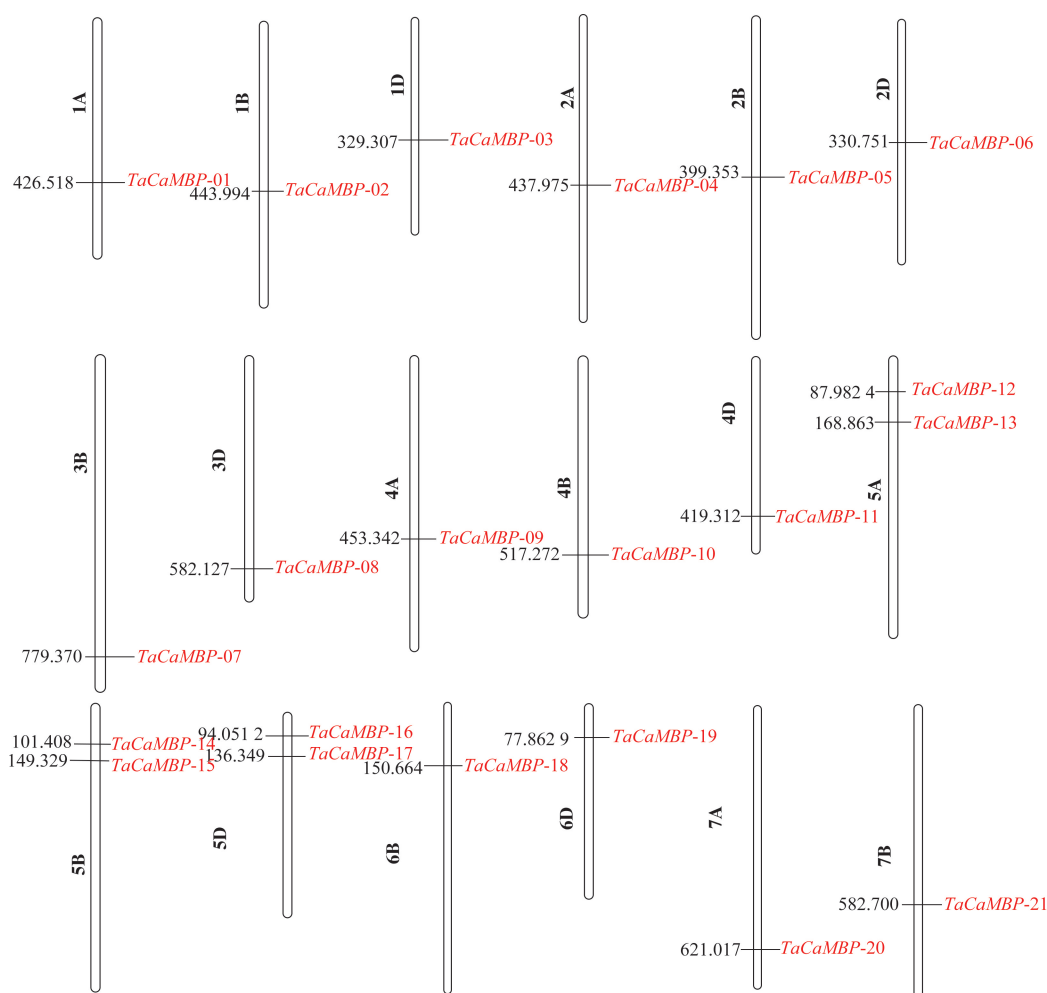


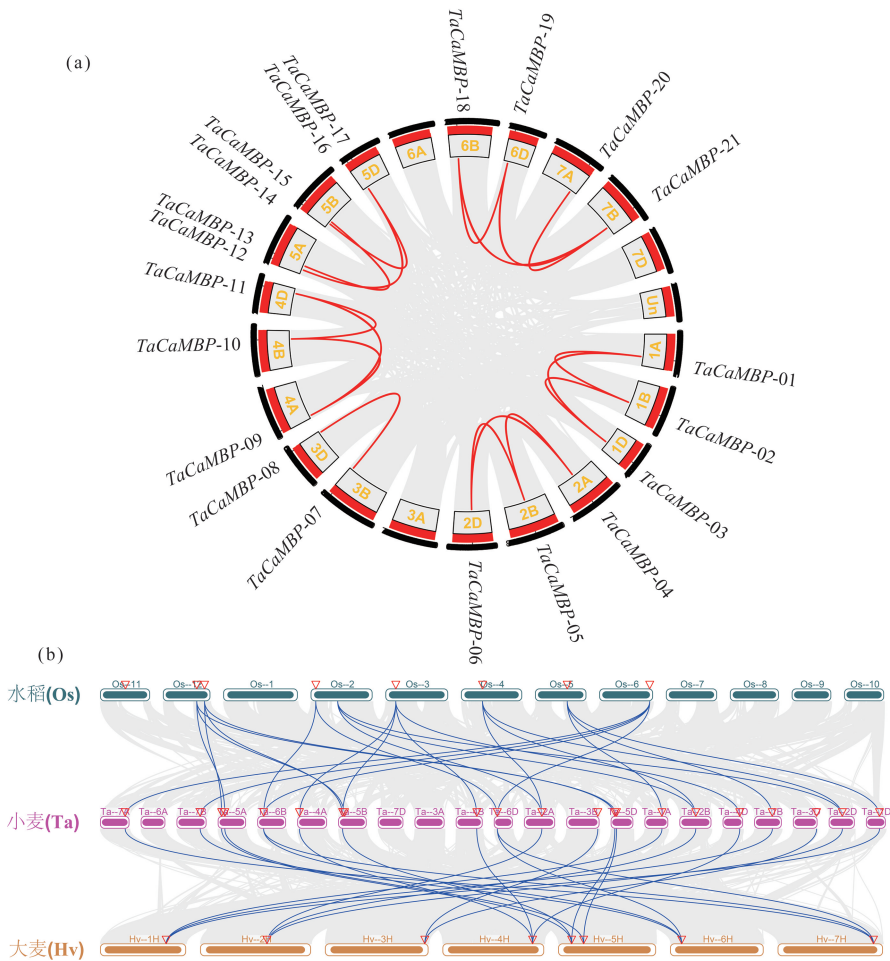
图3 *TaCaMBPs* 在小麦染色体中的位置

Fig. 3 Chromosome location of *TaCaMBP* genes in wheat

2.5 小麦 *TaCaMBP* 基因的启动子区顺式作用元件分析

为进一步分析小麦 *TaCaMBP* 基因的表达调控机制,我们对鉴定出的21个基因成员上游2000 bp的启动子区进行顺式作用元件分析(图5)。结果表明,除基本的TATA-box和CAAT-box元件外, *TaCaMBP* 启动子区含有丰富的顺式作用元件,大致可分为4组,即光响应元件、激素响应元件、非生物胁迫响应元件和生长发育元件。其中,光响应及非生物胁迫响应元件存在于大部分基因中;激素响应元件主要

包括茉莉酸甲酯(MeJA)响应元件、脱落酸(ABA)响应元件,水杨酸响应元件、赤霉素响应元件和生长素响应元件等。值得注意的是脱落酸响应元件存在于所有基因中,非生物胁迫响应元件存在于大部分基因中,表明 *TaCaMBP* 可能在激素响应和非生物胁迫中发挥重要作用。



注:基因组中所有共线性关系,小麦基因组中共线性基因对,小麦、水稻、玉米间 *CaMBPs* 的共线性基因对,各物种中 *CaMBP* 基因;(a) *TaCaMBPs* 物种内共线性分析;(b) *CaMBPs* 物种间共线性分析。

图 4 *TaCaMBPs* 基因物种内及物种间共线性分析

Fig. 4 Intra- and interspecific collinearity analysis of *TaCaMBP* genes

2.6 小麦 *TaCaMBP* 基因在不同组织及盐胁迫下的表达分析

为了解 *TaCaMBPs* 的功能,在 ExpVIP 和 Genevestigator 网站上分别获取小麦 12 种不同组织和盐处理下转录组数据的基础上,对 *TaCaMBPs* 进行了不同组织和盐处理下的表达模式分析。结果表明,21 个小麦 *TaCaMBPs* 成员在 12 种组织中的表达模式存在显著差异(图 6)。如 *TaCaMBP*-20、*TaCaMBP*-21 在所有组织中表达水平均较低,*TaCaMBP*-05 在雌蕊中高表达但在糊粉层和旗叶中的表达量极低,*TaCaMBP*-01 在所选取组织中均有不同程度的表达。这种组织特异性表达模式表明,在进化过程中 *TaCaMBP* 成员在功能上发生了分化。

在 150 mmol/L NaCl 处理条件下,*TaCaMBPs* 不同成员也表现出表达模式的差异,以在中国春幼苗根中的表达为例,NaCl 处理后,有 6 个 *TaCaMBPs* (*TaCaMBP*-01、*TaCaMBP*-02、*TaCaMBP*-03、*TaCaMBP*-09、*TaCaMBP*-13、*TaCaMBP*-15)被诱导上调表达,3 个基因(*TaCaMBP*-04、*TaCaMBP*-05、*TaCaMBP*-06)下调表达,剩余 12 个基因在盐处理后表达水平无显著差异。同时,*TaCaMBPs* 在中国春〔盐敏,图 7(a)〕和青麦 6 号〔耐盐,图 7(b)〕根中的表达模式相似,但表达水平出现差异,如 *TaCaMBP*-01、*TaCaMBP*-02、*TaCaMBP*-03 在两个品种都受 NaCl 诱导表达,但三者在中国春中的诱导表达倍数高于其

在青麦 6 号中的诱导表达倍数。而 *TaCaMBP*-04 在两种小麦中盐处理后都下调表达,但在青麦 6 号中的下调倍数远远高于在中国春中的表达倍数。这表明, *TaCaMBPs* 可能在盐胁迫过程中发挥不同功能;在两个小麦品种中存在差异表达的 *TaCaMBP* 基因可能对这两种小麦的不同耐盐性发挥一定功能。

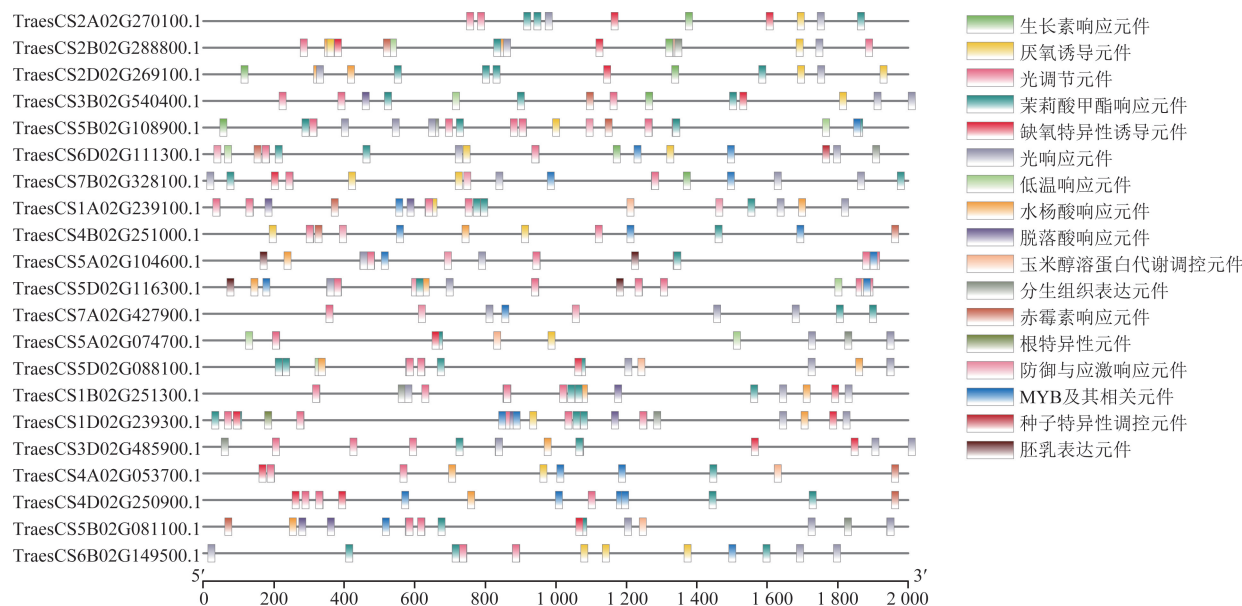


图 5 *TaCaMBP* 基因启动子顺式作用元件分析

Fig. 5 Analysis of cis-acting elements in the promoters of *TaCaMBPs*

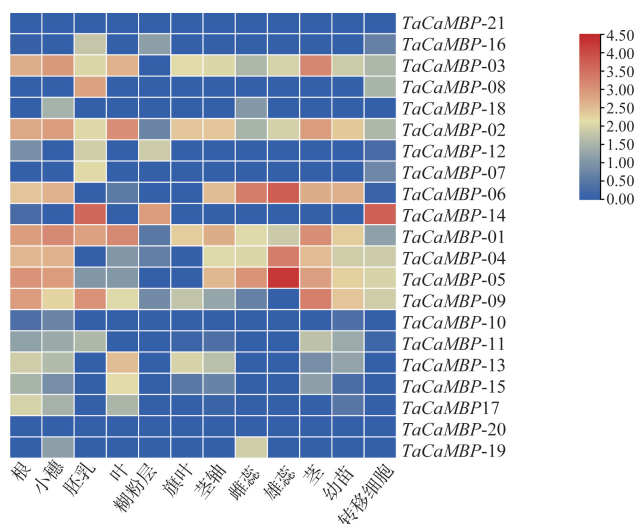
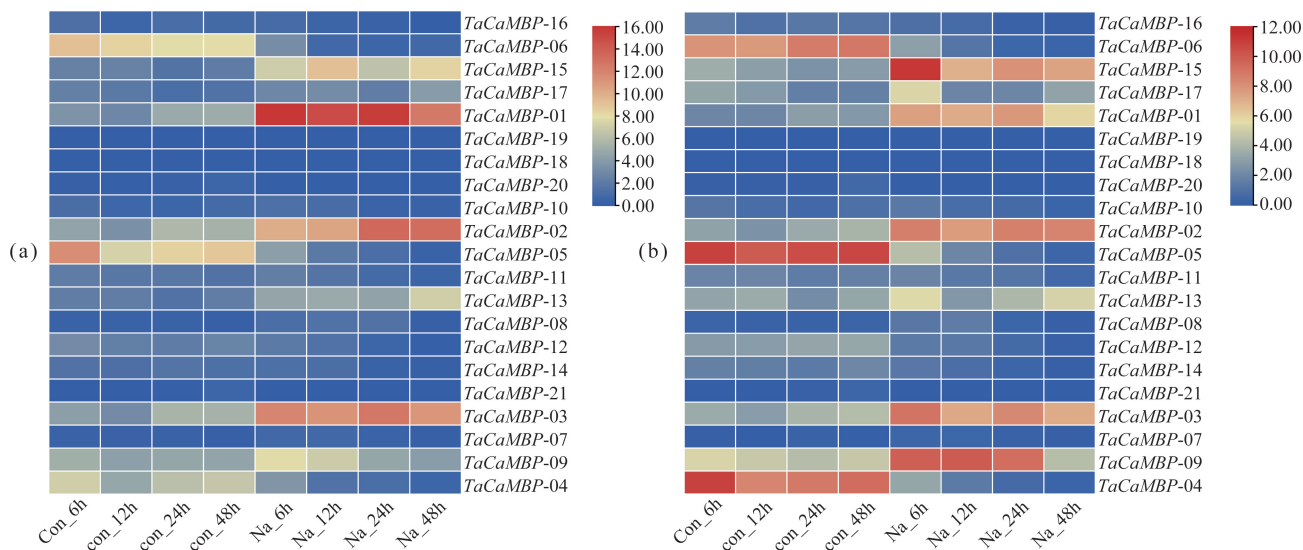


图 6 基于 ExpVIP 数据库中 RNA-seq 数据的 *TaCaMBP* 成员在不同组织中的表达模式

Fig. 6 Expression analysis of *TaCaMBPs* in different tissues based on RNA-seq data from the ExpVIP database

2.7 小麦 *TaCaMBP*-01、*TaCaMBP*-05、*TaCaMBP*-15 在盐胁迫下的表达模式分析

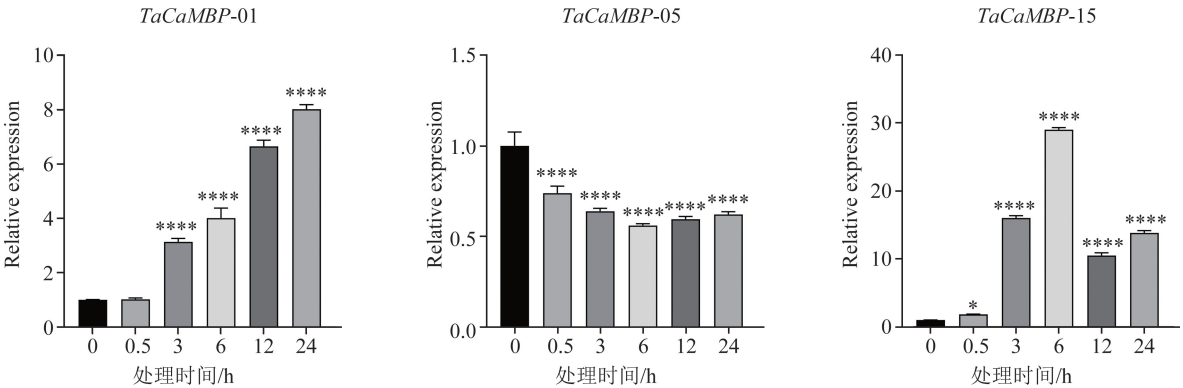
为进一步验证 *TaCaMBPs* 在盐处理下的表达模式,我们选取 3 个不同亚家族中的 3 个代表性基因 (*TaCaMBP*-01、*TaCaMBP*-05、*TaCaMBP*-15) 进行实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 分析。结果表明(图 8),在 150 mmol/L NaCl 处理下, *TaCaMBP*-01 与 *TaCaMBP*-15 基因的表达量总体呈现显著上升趋势,而 *TaCaMBP*-05 基因的表达量则随处理时间延长逐渐下降。该结果与图 7 表达结果一致,表明 *TaCaMBP* 基因在盐处理下的表达模式(图 7)具有可靠性,为后续筛选盐响应 *TaCaMBP* 基因和研究其在小麦适应盐胁迫中的功能奠定了基础。



注:Con 对照;Na 盐处理;(a) 中国春中 *TaCaMBPs* 的表达模式;(b) 青麦 6 号中 *TaCaMBPs* 的表达模式。

图 7 基于 Genevestigator 数据库 RNA-seq 数据的 *TaCaMBPs* 在盐胁迫下的表达模式

Fig. 7 Expression pattern analysis of *TaCaMBP* genes under salt stress based on RNA-seq data from the genevestigator database



注:* $p < 0.05$,** $p < 0.01$,*** $p < 0.001$,**** $p < 0.0001$ 。

图 8 *TaCaMBP-01*,*TaCaMBP-05*,*TaCaMBP-15* 在盐处理下中国春小麦幼苗根部的表达模式

Fig. 8 Expression patterns of *TaCaMBP-01*, *TaCaMBP-05* and *TaCaMBP-15* in roots of Chinese spring wheat under salt stress

3 讨论

近年研究表明 CaMBP 广泛参与植物的生长发育、代谢调节网络、细胞骨架稳态的维持、激素信号传导、逆境响应等。在植物生长发育和适应环境响应方面都发挥重要功能^[20]。但目前其在小麦中的研究有限^[16]。本研究在小麦全基因组水平上对小麦中的 *TaCaMBP* 基因进行了鉴定和表达分析,共鉴定出 21 个钙调素结合蛋白(CaMBP)基因成员,这些成员在编码蛋白序列、染色体分布、含有基序及表达模式上呈现出丰富的多样性,为解析该类基因在小麦生长发育和逆境响应中的作用奠定了一定基础。

生物的进化常常伴随基因数量的增多。基因组加倍、大片段重复和串联重复是基因重复的重要机制^[21]。物种内共线性分析显示,在 20 个 *TaCaMBP* 共线性基因中,9 个是部分同源基因,表明基因组加倍在小麦 *CaMBP* 扩张中具有重要作用。本研究中高达 42.8%(9/21)的基因以 A、B、D 部分同源基因的形式存在,显著高于小麦基因组的平均水平(35.8%)^[22],表明 *TaCaMBP* 基因在六倍体小麦形成后被强烈选择保留,可能对其适应复杂环境具有重要价值。部分染色体(3A、6A、7D)上同源基因的缺失,则可能反映了多倍化后基因组重排与基因丢失的动态过程。物种间共线性分析表明 *TaCaMBPs* 与水稻以及大麦中的 *CaMBPs* 均存在良好的共线性关系,说明该基因在禾本科作物中具有较高的保守性。顺式作用元件可以预测基因的潜在功能^[23]。小麦 *TaCaMBPs* 启动子区含有丰富的光、激素和非生物胁迫响应元件,暗示其表达

可能受到激素与光周期的双重调控,进而协同调控小麦的生长发育及对逆境的适应。

基因表达模式的不同在一定程度上预示了基因功能的差异。组织表达分析表明, *TaCaMBP* 不同成员在小麦 12 种组织中表达模式存在差异(图 6),组成型高表达的基因可能参与小麦生长发育的全过程;而组织特异性表达的基因暗示其可能在小麦特异组织的发育和功能中发挥功能。盐胁迫处理下不同 *TaCaMBP* 成员的表达模式同样存在差异(图 7),这表明这些差异表达的 *TaCaMBP* 可能在盐胁迫过程中发挥不同功能。盐胁迫处理下在两个小麦品种中差异表达的 *TaCaMBP* 可能对两种小麦不同的耐盐性也发挥一定功能。

TaCaMBP 基因在不同组织和盐处理下的表达差异为后续筛选耐盐候选 *TaCaMBP* 基因提供了一定参考,并为研究 *TaCaMBP* 基因的耐盐功能奠定了一定基础。

参 考 文 献

- [1] 邵雪娟. 盐碱地改良技术研究综述[J]. 种子科技, 2021, 39(6): 71-72.
- [2] 王伟伟, 赵振杰, 王志, 等. 盐胁迫下与小麦生理响应相关的耐盐基因研究进展[J]. 生物技术通报, 2025, 41(5): 14-22.
- [3] Tanveer M, Shah A N. An insight into salt stress tolerance mechanisms of *Chenopodium album*[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24(19): 16531-16535.
- [4] Zhao S S, Zhang Q K, Liu M Y, et al. Regulation of plant responses to salt stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(9): 4609.
- [5] 韦慧彦, 郭振清, 崔素娟. 钙不依赖性钙调素结合蛋白的研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2007, 34(2): 124-131.
- [6] 顾志敏, 张海良, 陈析丰, 等. 植物中钙解码机制的研究进展[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 2013, 36(1): 11-16.
- [7] Zeng H, Xu L, Singh A, et al. Involvement of calmodulin and calmodulin-like proteins in plant responses to abiotic stresses[J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 600.
- [8] 吴春婷, 范甜, 吕天晓, 等. 钙调素结合蛋白参与调控植物逆境胁迫的研究进展[J]. 热带亚热带植物学报, 2022, 30(6): 823-834.
- [9] McCormack E, Braam J. Calmodulins and related potential calcium sensors of *Arabidopsis*[J]. The New Phytologist, 2003, 159(3): 585-598.
- [10] James P, Vorherr T, Carafoli E. Calmodulin-binding domains: just two faced or multi-faceted [J]. Trends in Biochemical Sciences, 1995, 20(1): 38-42.
- [11] Yamakawa H, Katou S, Seo S, et al. Plant MAPK phosphatase interacts with calmodulins[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(2): 928-936.
- [12] Oday D H. CaMBOT: profiling and characterizing calmodulin-binding proteins[J]. Cellular Signalling, 2003, 15(4): 347-354.
- [13] Lei S, Jie H, Xu Y. Genome-wide identification of calmodulin-binding protein 60 gene family and function of *SmCBP60A1* in eggplant response to salt stress[J]. Scientia Horticulturae, 2023, 322: 112448.
- [14] Wan D L, Li R L, Zou B, et al. Calmodulin-binding protein CBP60g is a positive regulator of both disease resistance and drought tolerance in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell Reports, 2012, 31(7): 1269-1281.
- [15] Lim C W, Lee S C. Functional roles of the pepper MLO protein gene, CaMLO₂, in abscisic acid signaling and drought sensitivity[J]. Plant Molecular Biology, 2014, 85(1-2): 1-10.
- [16] Ulm R, Ichimura K, Mizoguchi T, et al. Distinct regulation of salinity and genotoxic stress responses by *Arabidopsis* MAP kinase phosphatase 1[J]. The EMBO Journal, 2002, 21(23): 6483-6493.
- [17] Zaïdi I, Ebel C, Touzri M, et al. TMKP1 is a novel wheat stress responsive MAP kinase phosphatase localized in the nucleus[J]. Plant Molecular Biology, 2010, 73(3): 325-338.
- [18] Lescot M, Déhais P, Thijs G, et al. PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences[J]. Nucleic Acids Research, 2002, 30(1): 325.
- [19] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [20] 左娜, 陈洁, 吕莹果. 植物钙调素及其结合蛋白的结构生物学进展[J]. 粮食与油脂, 2016, 29(9): 1-5.
- [21] Liu Z J, Fu M C, Li H, et al. Systematic analysis of NAC transcription factors in *Gossypium barbadense* uncovers their roles in response to *Verticillium wilt*[J]. Peer Journal, 2019, 7: e7995.
- [22] Appels R, Eversole K, Stein N, et al. Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome[J]. Science, 2018, 361(6403): eaar7191.
- [23] Sheshadri S A, Nishanth M J, SIMON B. Stress-mediated cis-element transcription factor interactions interconnecting primary and specialized metabolism in planta[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1725.

(责任编辑:刘庆松)