

无花果 *FcCaM* 基因的克隆与表达分析

聂菲¹, 房海灵^{2,①}, 刘慧萍², 亓希武², 于旻², 李莉², 梁呈元^{1,2,①}

[1. 南京林业大学林草学院、水土保持学院, 江苏 南京 210037; 2. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014]

摘要: 基于无花果 (*Ficus carica* Linn.) 基因组数据克隆到 5 个 *FcCaM* 基因, 这 5 个 *FcCaM* 基因的开放阅读框 (ORF) 长度为 447~453 bp, 编码 148~150 个氨基酸, 含有 1 或 3 个内含子, 且分布在 4 条染色体上。5 个 *FcCaM* 蛋白的理论相对分子质量为 16 847.67~17 039.07, 理论等电点为 pI 4.00 至 pI 4.12, 总平均亲水系数为 -0.619~-0.385, 三级结构均为哑铃状, 并具有 4 个可与 Ca^{2+} 结合的 EF-hand 结构域, 并且, *FcCaM1* 和 *FcCaM2* 的基本理化性质完全一致。系统进化树显示 5 个 *FcCaM* 聚在 2 个分支中, 其中, *FcCaM1* 和 *FcCaM2* 聚在一个分支中, *FcCaM3*、*FcCaM4* 和 *FcCaM5* 聚在另一个分支中, 且 *FcCaM4* 和 *FcCaM5* 聚在同一亚支中。启动子顺式作用元件分析结果显示 5 个 *FcCaM* 基因的启动子区含有多种激素、光和非生物胁迫响应元件。亚细胞定位结果表明 *FcCaM1*、*FcCaM2* 和 *FcCaM5* 定位于细胞核和细胞质, *FcCaM3* 和 *FcCaM4* 定位于细胞质。实时荧光定量逆转录 PCR 结果表明: 总体上, *FcCaM1* 和 *FcCaM2* 的相对表达量在低温 (4 °C)、干旱 (质量体积分数 30% PEG6000)、光照 (暗适应 9 h 后持续光照) 和激素 (100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 脱落酸) 处理下升高; *FcCaM3*、*FcCaM4* 和 *FcCaM5* 的相对表达量在低温、干旱和脱落酸处理下升高 (*FcCaM4* 在脱落酸处理下的表达水平除外), 在光照处理下降低。综上所述, 无花果 *FcCaM* 蛋白序列较为保守, *FcCaM* 基因可参与低温、干旱等非生物胁迫和光响应过程, 并受脱落酸诱导。

关键词: 无花果; 钙调蛋白; 基因克隆; 非生物胁迫; 表达模式; 亚细胞定位

中图分类号: Q785; Q943.2; S663.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2024)06-0001-10

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2024.06.01

Cloning and expression analysis on *FcCaM* genes from *Ficus carica* NIE Fei¹, FANG Hailing^{2,①}, LIU Huiping², QI Xiwu², YU Xu², LI Li², LIANG Chengyuan^{1,2,①} [1. College of Forestry and Grassland, College of Soil and Water Conservation, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen), Nanjing 210014, China], *J. Plant Resour. & Environ.*, 2024, 33(6): 1-10

Abstract: Five *FcCaM* genes were cloned based on the genomic data of *Ficus carica* Linn. The length of open reading frames (ORF) of the five *FcCaM* genes are 447-453 bp, encoding 148-150 amino acids, containing one or three introns and distributing on four chromosomes. The theoretical relative molecular masses of the five *FcCaM* proteins are 16 847.67-17 039.07, their theoretical isoelectric points are pI 4.00 to pI 4.12, their grand averages of hydropathicity are -0.619--0.385, their tertiary structures are all dumbbell shapes, and all of them possess four EF-hand domains which can bind Ca^{2+} . Moreover, the basic physicochemical properties of *FcCaM1* and *FcCaM2* are completely consistent. The phylogenetic tree shows that the five *FcCaMs* are clustered into two branches, in which, *FcCaM1* and *FcCaM2* are clustered into one branch, *FcCaM3*, *FcCaM4*, and *FcCaM5* are clustered into the other branch, and *FcCaM4* and *FcCaM5* are clustered into the same subbranch. The promoter *cis*-acting element analysis result shows that the promoter regions of the five *FcCaM* genes contain various hormones, light, and

收稿日期: 2024-05-29

基金项目: 中央财政林业科技推广示范资金项目(苏[2024]TG01)

作者简介: 聂菲(1999—), 女, 江苏丹阳人, 硕士研究生, 主要从事林木资源方面的研究。

①通信作者 E-mail: fanghailing2013@163.com; liangcy618@cnbg.net

引用格式: 聂菲, 房海灵, 刘慧萍, 等. 无花果 *FcCaM* 基因的克隆与表达分析[J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(6): 1-10.

abiotic stress response elements. The subcellular localization result shows that FcCaM1, FcCaM2, and FcCaM5 are localized in nucleus and cytoplasm, while FcCaM3 and FcCaM4 are localized in cytoplasm. The result of reverse-transcription quantitative real-time fluorescence PCR shows that, in general, the relative expression levels of *FcCaM1* and *FcCaM2* increase under low temperature (4 °C), drought (PEG6000 with mass volume fraction of 30%), light (continuous light after dark adaptation for 9 h), and hormone (100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ abscisic acid) treatments; the relative expression levels of *FcCaM3*, *FcCaM4* and *FcCaM5* increase under low temperature, drought, and abscisic acid treatments (except the expression level of *FcCaM4* under abscisic acid treatment), but decrease under light treatment. In conclusion, the sequences of FcCaM proteins from *F. carica* are relatively conserved, and *FcCaM* genes can respond to abiotic stress (such as low temperature and drought) and light response processes, and they are induced by abscisic acid.

Key words: *Ficus carica* Linn.; calmodulin; gene cloning; abiotic stress; expression pattern; subcellular localization

在自然界中,植物常常会遭受高温、低温、干旱、盐碱等非生物胁迫,这些胁迫不仅限制了植物的分布范围,而且会影响植物的生长发育。钙是植物体内一种必要的微量元素^[1],也是细胞信号转导和调节应激反应的第二信使^[2],在植物应答各种胁迫过程中起到关键作用^[3]。植物体内的 Ca^{2+} 浓度会随环境改变而发生瞬时变化, Ca^{2+} 在被钙感受器感知后能够激活下游的生理反应,实现植物体对环境胁迫的响应^[4-5]。目前,在植物体内发现的钙感受器主要有4类,即钙调蛋白(CaM)、类钙调蛋白(CML)、钙调磷酸酶B类蛋白(CBL)和钙依赖蛋白激酶(CDPK)^[6]。CaM是研究最广泛的钙感受器,含有4个EF-hand结构域,在所有真核生物中高度保守^[7]。近年来,CaM基因已在拟南芥[*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.]^[8]、水稻(*Oryza sativa* Linn.)^[9]、番茄(*Solanum lycopersicum* Linn.)^[10]等多种植物中被鉴定出来。研究发现,拟南芥中AtCaM4与PATL1蛋白互作,抑制CBF基因表达,负调控植株耐冷性^[11];番茄钙调蛋白CaM6通过影响低温信号转导途径中的关键转录因子ICE1来调控下游冷响应基因的表达,进而负调控番茄的低温抗性^[12];黄瓜(*Cucumis sativus* Linn.)CsCaM3基因表达可提高HSP70和HSP90基因的表达水平,从而提高黄瓜的耐热性,同时缓解细胞膜损伤^[13];闽楠[*Phoebe bournei* (Hemsl.) Yen C. Yang]PbCaM3基因能够响应干旱胁迫,其表达受脱落酸和茉莉酸甲酯诱导^[14]。可见,CaM蛋白在植物应答非生物胁迫及激素诱导过程中具有重要的调节作用,CaM基因可参与植物响应高温、低温、干旱、盐胁迫等多种非生物胁迫及激素诱导过程,并行不同的功能。

无花果(*Ficus carica* Linn.)为桑科(Moraceae)榕属(*Ficus* Linn.)的重要经济果树^[15]。无花果果实皮薄软糯、口味甜美,富含多糖、黄酮、花青素等多种生物活性成分^[16-18],具有抗氧化、抗癌、增强免疫力、降血糖等功效^[19-21]。近年来,随着消费者对无花果营养价值和经济价值认识的提高,国内无花果产业发展态势良好。但是,无花果在栽培过程中常受到低温、干旱等非生物胁迫,植株很难正常生长发育,果实产量和品质受到很大影响^[22-24]。因此,提高无花果对逆境胁迫的耐受性是目前其育种的一个主要目标。

本研究根据已报道的无花果基因组数据^[25],对无花果的CaM基因进行克隆和测序,在此基础上,对这些基因进行了生物信息学分析(包括蛋白质基本理化性质、蛋白质三级结构、氨基酸序列比对和结构域分析、同源蛋白系统进化分析、基因启动子顺式作用元件分析和蛋白质亚细胞定位),并采用实时荧光定量逆转录PCR(RT-qPCR)技术对无花果CaM基因在低温(4 °C)、干旱(质量体积分数30%PEG6000)、光照(暗适应9 h后持续光照)和激素(100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 脱落酸)处理0、3、6、12和24 h后的表达情况进行了比较,以期深入研究CaM基因在无花果响应非生物胁迫和激素诱导中的功能提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为江苏省中国科学院植物研究所无花果种植基地内无花果品种‘玛斯义陶芬’(‘Masui Dauphine’)长势旺盛、健康的6月龄扦插苗。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 提取及反转录 随机采集扦插苗上的幼嫩叶片,按照 FastPure Plant Total RNA Isolation Kit (南京诺唯赞生物科技股份有限公司)的操作流程提取总 RNA;使用质量体积分数 1% 琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 2000 超微量分光光度计 (美国 Thermo Fisher 公司)检测提取的总 RNA 样品的质量和浓度;检测合格后,按照 HiScript® II 1st Strand cDNA Synthesis Kit (南京诺唯赞生物科技股份有限公司)的操作流程将总 RNA 反转录成 cDNA,置于 -20 °C 冰箱中保存、备用。

1.2.2 基因克隆及测序 以拟南芥 CaM 家族成员蛋白序列为探针,利用 Ttools 比对工具在无花果基因组数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/565858>) 中进行同源比对,获得 5 个无花果 *CaM* 基因序列,同时记录这些基因的内含子数及其所在染色体

位置。根据这 5 个基因的核苷酸序列设计特异性引物 (表 1),以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。扩增体系总体积 50 μL ,包括 2 \times Phanta Max Buffer 25 μL ,正向和反向引物 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 各 2 μL ,dNTP Mix 1 μL ,Phanta Max Super - Fidelity DNA Polymerase 1 μL ,cDNA ($100 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) 1 μL ,ddH₂O 18 μL 。扩增程序:94 °C 预变性 4 min;94 °C 变性 30 s,55 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 1 min,共 35 个循环;72 °C 延伸 10 min。扩增产物经质量体积分数 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后,切取目的条带;使用 SanPrep Column DNA Gel Extraction Kit [生工生物工程(上海)股份有限公司]回收扩增产物;连接 pMD19-T 载体后,转化至大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DH5 α 感受态细胞中;使用含 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 氨苄青霉素 (Amp) 的 LB 平板进行阳性克隆筛选,将阳性克隆交给生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

表 1 用于基因克隆、亚细胞定位及实时荧光定量逆转录 PCR (RT-qPCR) 的引物序列

Table 1 Primer sequences used for gene cloning, subcellular localization, and reverse-transcription quantitative real-time fluorescence PCR (RT-qPCR)

引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')	引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')	引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')
基因克隆 Gene cloning		亚细胞定位 Subcellular localization		RT-qPCR	
FcCaM1-F	ATGGCGGATCAGCTCACTG	FcCaM1-GFP-F	CACGCTCGAGATGGCGGATCAGCTCACTG	qFcCaM1-F	GCCTTCAGCCTCTTCG
FcCaM1-R	TCACTTCGCCATCATAACCT	FcCaM1-GFP-R	ATTCTCGAGCTTCGCCATCATAACCT	qFcCaM1-R	GCCTCCGTTGGTTCT
FcCaM2-F	ATGGCGGATCAGCTCACCG	FcCaM2-GFP-F	CACGCTCGAGATGGCGGATCAGCTCACCG	qFcCaM2-F	ATGGCTTCATTTCTGCT
FcCaM2-R	TCACTTCGCCATCATAACT	FcCaM2-GFP-R	ATTCTCGAGCTTCGCCATCATAACT	qFcCaM2-R	TCTCGTCAACCTCTCTCA
FcCaM3-F	ATGGCAGATGTAAGTGTG	FcCaM3-GFP-F	CACGCTCGAGATGGCAGATGTAAGTGTG	qFcCaM3-F	AGAAGCCTTTTGTCTGTTT
FcCaM3-R	TCAATCAATGTCATCATCAT	FcCaM3-GFP-R	ATTCTCGAGTCCAATGTCATCATCAT	qFcCaM3-R	TGACCTTATTACCGTTGC
FcCaM4-F	ATGGGAGAAGTCTTGACAG	FcCaM4-GFP-F	CACGCTCGAGATGGGAGAAGTCTTGACAG	qFcCaM4-F	GAGGCTTTCTGTCTGCTT
FcCaM4-R	TCAAACAGCCAACATCATT	FcCaM4-GFP-R	ATTCTCGAGAACAGCCAACATCATT	qFcCaM4-R	GATCATGCTTTGCACTTCT
FcCaM5-F	ATGGCGGATGCATTGACGG	FcCaM5-GFP-F	CACGCTCGAGATGGCGGATGCATTGACGG	qFcCaM5-F	AGAGTTCGGAGAAGCATT
FcCaM5-R	TCAGCTAAGCATCATGATT	FcCaM5-GFP-R	ATTCTCGAGGCTAAGCATCATGATT	qFcCaM5-R	GAATTTCTTCCCCCTGGCA

1.2.3 生物信息学分析 利用 BioEdit v7.2.6.1 软件预测基因的氨基酸序列,利用 ExPASy 在线网站 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 中的 ProtParam 模块分析蛋白质的理论相对分子质量、理论等电点和总平均亲水系数。利用 SWISS MODEL 在线网站 (<http://swissmodel.expasy.org/>) 预测蛋白质的三级结构;利用 SMART 在线网站 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 分析蛋白质的氨基酸序列和结构域。利用 DNAMAN 软件对无花果与拟南芥、水稻、番茄等 10 种植物同源蛋白的氨基酸序列进行比对,并采用 MEGA 11.0 软件中的邻接法 (neighbor-joining, NJ) 构建系统进化树。利用 Ttools 从无花果基因组数据库中提取 *CaM* 基因起始密码子 (ATG) 上游 2 000 bp

的序列作为基因启动子区,采用 PlantCARE 在线软件 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 预测基因启动子区顺式作用元件。

1.2.4 蛋白质亚细胞定位分析 以含无花果 *FcCaM* 的 pMD19-T 载体为模板,利用含同源臂的引物 (表 1) 扩增目的片段并纯化;利用同源重组技术将目的片段与限制性内切酶 *Xho* I 酶切后的 pHellsgate-GFP 载体连接,转化至大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞中;经 PCR 鉴定和测序验证后,得到 35S: pHellsgate - *FcCaM*-GFP 表达载体;参考郑晓薇等^[26]的方法,利用冻融法将表达载体转化至根癌农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) GV3101 感受态细胞中,并配制成 OD₆₀₀ 值约为 0.8 的侵染菌液;选取长势良好

的5或6叶龄本氏烟草 (*Nicotiana benthamiana* Domin) 植株,用注射器将侵染菌液注入成熟叶下表皮;室温下暗培养48 h后,用稀释50~100倍的4',6-二脒基-2-苯基吡啶 (DAPI) 染液将侵染的叶片染色1~2 h;使用LSM900激光共聚焦显微镜(德国Zeiss公司)在波长488和405 nm激发光下观察绿色荧光和DAPI信号在细胞中的分布情况,并拍照记录。

1.2.5 基因表达分析 选取生长状态一致、健壮的无花果扦插苗,单株种植于盛有V(蛭石):V(营养土)=1:3混合基质的营养钵(长7 cm、宽6 cm、高8 cm)中,置于人工气候箱(培养条件为温度25℃、光照度20 000 lx、光照时间16 h·d⁻¹、空气相对湿度65%)中培养30 d;分别进行低温(4℃)^[27]、干旱(质量体积分数30% PEG6000)^[28]、光照(暗适应9 h后持续光照)^[29]和激素(100 μmol·L⁻¹脱落酸)^[30]处理。每处理3个生物学重复,每处理3株扦插苗。

分别在处理0、3、6、12和24 h采集植株顶端幼叶,液氮速冻后,使用FastPure Plant Total RNA Isolation Kit提取总RNA,使用HiScript II 1st Strand cDNA Synthesis Kit将总RNA反转录成cDNA,根据无花果CaM基因序列设计RT-qPCR引物(表1),并按照2×ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)说明书的操作流程进行RT-qPCR反应。扩增体系总体积10.0 μL,包括2×GS AntiQ qPCR SYBR Fast Mix 5.0 μL,正向和反向引物(10 μmol·L⁻¹)各0.4 μL,cDNA(100 ng·μL⁻¹) 1.5 μL,ddH₂O 2.7 μL。扩增程序:95℃预变性30 s;95℃变性5 s,60℃退火30 s,共45个循环。以无花果β-actin基因(PQ153991)为内参基因(正向引物序列为5'-TTGAACCCCTAAGGCTAACA-3',反向引物序列为5'-TACGACCACTGGCGTAAA-3'),以处理0 h的基因表达量为基准,采用2^{-ΔΔC_T}法^[31]计算基因的相对表达量。

1.3 数据统计分析

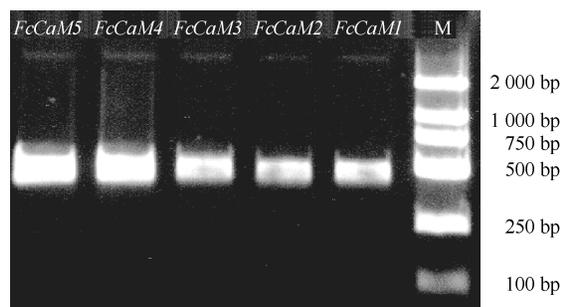
采用IBM SPSS 26.0软件进行数据统计,并采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和学生t检验(student's t-test)对相关数据进行显著性分析。

2 结果和分析

2.1 基因克隆及测序结果分析

以无花果cDNA为模板,扩增到5个目的基因条

带(图1),分别命名为*FcCaM1*、*FcCaM2*、*FcCaM3*、*FcCaM4*和*FcCaM5*。测序结果(表2)显示:这5个*FcCaM*基因的开放阅读框(ORF)长度为447~453 bp,编码148~150个氨基酸。*FcCaM1*和*FcCaM2*均只含有1个内含子,分别位于13号和3号染色体;*FcCaM3*、*FcCaM4*和*FcCaM5*均含有3个内含子,分别位于8号、3号和10号染色体。



M: DL2000 DNA 分子量标准 DL2000 DNA marker.

图1 以cDNA为模板的无花果*FcCaM*基因的克隆结果

Fig. 1 Cloning result of *FcCaM* genes from *Ficus carica* Linn. by using cDNA as template

2.2 生物信息学分析

2.2.1 蛋白质基本理化性质分析 对无花果*FcCaM*蛋白的基本理化性质进行分析,结果(表2)表明:*FcCaM1*和*FcCaM2*的理论相对分子质量(16 847.67)、理论等电点(pI 4.11)和总平均亲水系数(-0.619)均相同,理论相对分子质量在5个*FcCaM*中最小,但理论等电点较大;*FcCaM4*的理论相对分子质量(17 039.07)和理论等电点(pI 4.12)均最大;*FcCaM5*的理论相对分子质量较小(16 894.72),理论等电点最小(pI 4.00)。另外,这5个*FcCaM*蛋白的总平均亲水系数均为负数,说明这5个蛋白均为亲水性蛋白。

2.2.2 蛋白质三级结构及氨基酸序列和结构域分析 蛋白质三级结构预测结果(图2)显示:5个*FcCaM*蛋白的三级结构均为哑铃状,即两端为球形结构域,中间为α螺旋,且球形结构域均由α螺旋和β折叠构成的“螺旋-环-螺旋”结构两两结合形成含2个Ca²⁺的类似骨棒状结构。值得注意的是,*FcCaM1*和*FcCaM2*的三级结构完全一致。氨基酸序列及结构域分析结果(图3)表明:*FcCaM1*和*FcCaM2*的氨基酸序列完全相同,且5个*FcCaM*均含有4个可与Ca²⁺结合的EF-hand结构域。

表 2 无花果 *FcCaM* 基因序列分析及其编码蛋白的基本理化性质

Table 2 Sequence analysis on *FcCaM* genes from *Ficus carica* Linn. and basic physicochemical properties of their encoding proteins

基因 Gene	登录号 Accession No.	ORF 长度 ¹⁾ ORF length ¹⁾	氨基酸数 Amino acid number	内含子数 Intron number	染色体号 Chromosome number	理论相对分子质量 Theoretical relative molecular mass	理论等电点 Theoretical isoelectric point	总平均亲水系数 Grand average of hydropathicity
<i>FcCaM1</i>	PQ159139	450	149	1	13	16 847.67	pI 4.11	-0.619
<i>FcCaM2</i>	PQ159140	450	149	1	3	16 847.67	pI 4.11	-0.619
<i>FcCaM3</i>	PQ159141	453	150	3	8	16 991.98	pI 4.01	-0.385
<i>FcCaM4</i>	PQ159142	450	149	3	3	17 039.07	pI 4.12	-0.456
<i>FcCaM5</i>	PQ159143	447	148	3	10	16 894.72	pI 4.00	-0.527

¹⁾ ORF: 开放阅读框 Open reading frame.

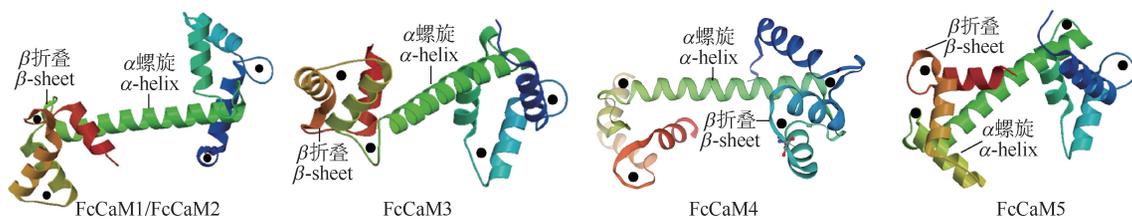


图 2 无花果 *FcCaM* 蛋白三级结构预测结果

Fig. 2 Predicted result of tertiary structures of *FcCaM* proteins from *Ficus carica* Linn.

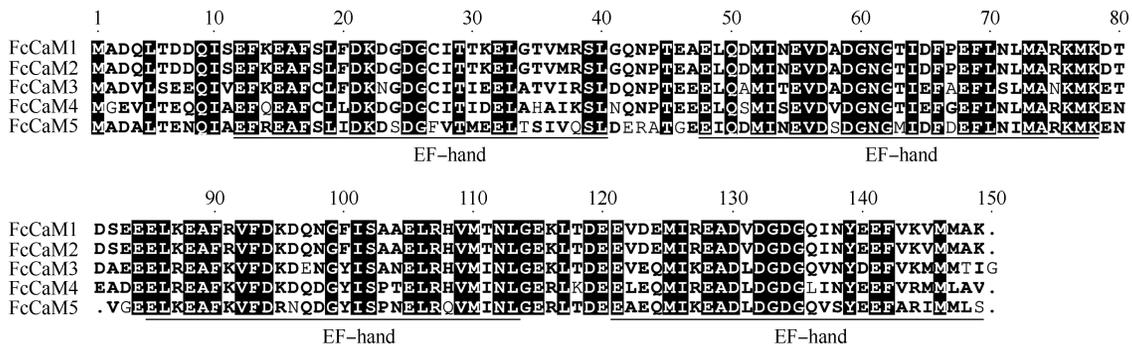


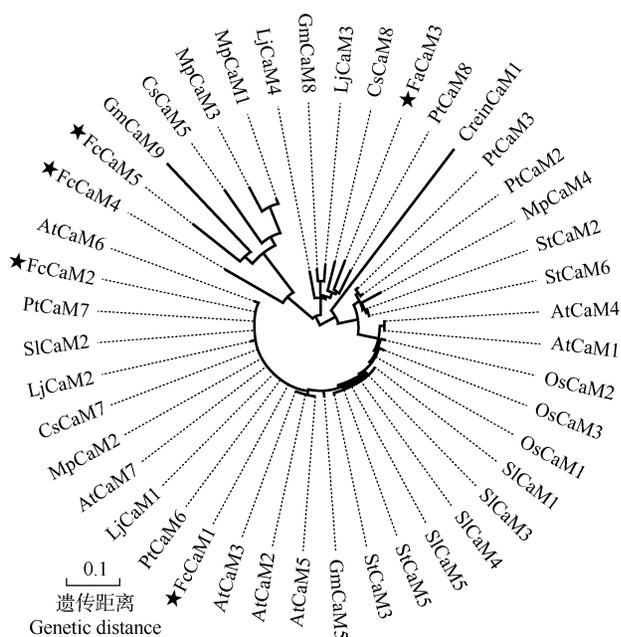
图 3 无花果 *FcCaM* 蛋白氨基酸序列及结构域分析

Fig. 3 Analysis on amino acid sequences and domains of *FcCaM* proteins from *Ficus carica* Linn.

2.2.3 同源蛋白系统进化分析 以莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii* Linn.) CreinCaM1 为外类群,对无花果 *FcCaM* 与其他物种的 CaM 氨基酸序列进行系统进化分析,结果见图 4。

由图 4 可以看出,莱茵衣藻 CreinCaM1 与其他物种 CaM 分隔较远,说明莱茵衣藻与其他植物的亲缘关系较远,此聚类结果与这些物种的经典分类结果相符。无花果的 5 个 *FcCaM* 聚在 2 个分支中。*FcCaM1* 和 *FcCaM2* 与拟南芥 AtCaM1 至 AtCaM7,光叶百脉根 [*Lotus corniculatus* subsp. *japonicus* (Regel) H. Ohashi] LjCaM1 和 LjCaM2,水稻 OsCaM1 至 OsCaM3,番茄 SlCaM1 至 SlCaM6,苹果 (*Malus pumila* Mill.) MpCaM2 和 MpCaM4,马铃薯 (*Solanum tuberosum*

Linn.) StCaM2、StCaM3、StCaM5,毛果杨 (*Populus trichocarpa* Torr. et A. Gray) PtCaM2、PtCaM3、PtCaM6、PtCaM7,甜橙 [*Citrus sinensis* (Linn.) Osbeck] CsCaM7,大豆 [*Glycine max* (Linn.) Merr.] GmCaM5 聚在同一分支中,并且支长相对较短,说明这些植物 CaM 蛋白的氨基酸序列同源性较高,高度保守。*FcCaM3*、*FcCaM4* 和 *FcCaM5* 聚在另一分支中,其中 *FcCaM3* 与毛果杨 PtCaM8,光叶百脉根 LjCaM3、LjCaM4,甜橙 CsCaM8,大豆 GmCaM8 聚在一个亚支; *FcCaM4* 和 *FcCaM5* 与苹果 MpCaM1、MpCaM3,甜橙 CsCaM5,大豆 GmCaM9 聚在另一个亚支,并且支长相对较长,说明该分支 CaM 蛋白的氨基酸序列在进化过程中有一定分化。



At: 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.; Lj: 光叶百脉根 *Lotus corniculatus* subsp. *japonicus* (Regel) H. Ohashi.; Os: 水稻 *Oryza sativa* Linn.; Sl: 番茄 *Solanum lycopersicum* Linn.; Mp: 苹果 *Malus pumila* Mill.; St: 马铃薯 *Solanum tuberosum* Linn.; Pt: 毛果杨 *Populus trichocarpa* Torr. et A. Gray; Cs: 甜橙 *Citrus sinensis* (Linn.) Osbeck; Gm: 大豆 *Glycine max* (Linn.) Merr.; Fc: 无花果 *Ficus carica* Linn.; Crein: 莱茵衣藻 *Chlamydomonas reinhardtii* Linn.

图4 无花果 FcCaM 蛋白与其他物种同源蛋白的系统进化树
Fig. 4 Phylogenetic tree of FcCaM proteins from *Ficus carica* Linn. and homologous proteins from other species

表3 无花果 FcCaM 基因启动子区顺式作用元件预测

Table 3 Prediction of *cis*-acting elements in the promoter regions of FcCaM genes from *Ficus carica* Linn.

顺式作用元件 <i>Cis</i> -acting element	功能注释 Functional annotation	在不同基因启动子区的数量 Number in promoter region of different genes				
		<i>FcCaM1</i>	<i>FcCaM2</i>	<i>FcCaM3</i>	<i>FcCaM4</i>	<i>FcCaM5</i>
CAAT-box	启动子区常见顺式作用元件 Common <i>cis</i> -acting element in promoter region	30	26	42	30	46
TATA-box	转录起始-30 核心启动子元件 Core promoter element around-30 of transcription start	83	38	72	111	85
ABRE	脱落酸响应元件 Abscisic acid response element	3	3	2	1	2
AuxRR-core	生长素响应元件 Auxin response element	1	1	1		
CGTCA-motif	茉莉酸甲酯响应元件 Methyl jasmonate response element	1	1	1	1	
TGACG-motif	茉莉酸甲酯响应元件 Methyl jasmonate response element	1	1	1	1	
P-box	赤霉素响应元件 Gibberellin response element		3			3
TCA-element	水杨酸响应元件 Salicylic acid response element		2		1	
ERE	乙烯基响应元件 Vinyl response element	7				
ARE	厌氧诱导元件 Anaerobic inducing element	3	2		2	2
MBS	干旱响应元件 Drought response element			1	1	2
LTR	低温响应元件 Low temperature response element	3	1	1	1	
TC-rich repeats	防御和胁迫元件 Defense and coercion elements	1	2			1
WUN-motif	伤口诱导元件 Wound induction element	2			3	
AE-box	光响应元件 Light response element	1	1	1		
AT1-motif	光响应元件 Light response element	1				

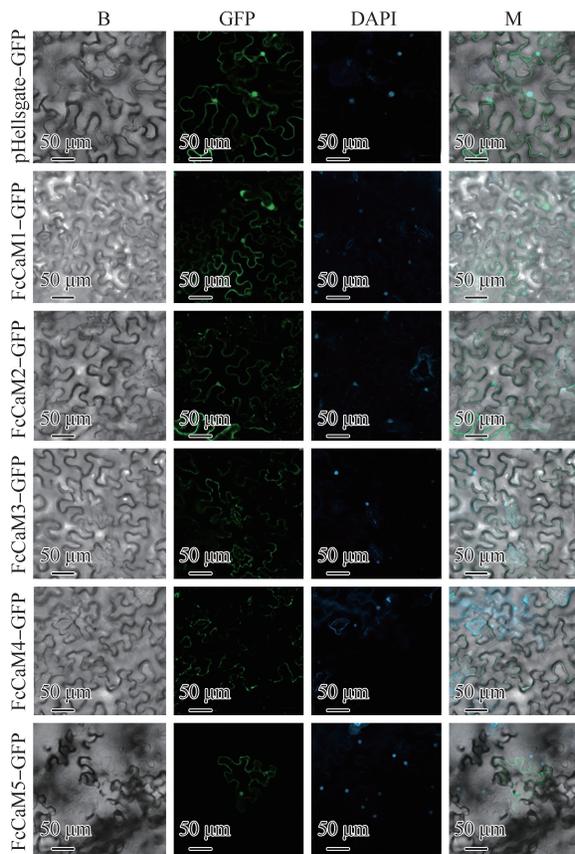
2.2.4 基因启动子区顺式作用元件分析 无花果 *FcCaM* 基因启动子区顺式作用元件预测结果(表3)表明:*FcCaM* 基因的启动子区除含有真核生物必需核心元件 CAAT-box 和 TATA-box 外,还含有激素响应元件 ABRE、AuxRR-core、CGTCA-motif、TGACG-motif、P-box、TCA-element、ERE, 环境响应元件 ARE、MBS、LTR、TC-rich repeats、WUN-motif、AE-box、AT1-motif、BOX4、G-box、GATA-motif、GT1-motif、TCT-motif。5 个 *FcCaM* 基因中,*FcCaM1* 基因启动子区的激素和环境响应元件最多(31),*FcCaM3* 基因启动子区的激素和环境响应元件最少(17)。

2.3 蛋白质亚细胞定位分析

蛋白质亚细胞定位结果(图5)显示:含 pHellsgate-GFP 空载体的本氏烟草叶表皮细胞的细胞质和细胞核均具有绿色荧光信号,含 pHellsgate-FcCaM1-GFP、pHellsgate-FcCaM2-GFP 和 pHellsgate-FcCaM5-GFP 融合蛋白的本氏烟草叶表皮细胞的细胞质和细胞核也具有明显的绿色荧光信号,而含 pHellsgate-FcCaM3-GFP 和 pHellsgate-FcCaM4-GFP 融合表达蛋白的本氏烟草只在叶表皮细胞的细胞质中具有明显的绿色荧光信号,说明 FcCaM1、FcCaM2 和 FcCaM5 定位于细胞质和细胞核,而 FcCaM3 和 FcCaM4 定位于细胞质。

续表3 Table 3 (Continued)

顺式作用元件 <i>Cis</i> -acting element	功能注释 Functional annotation	在不同基因启动子区的数量 Number in promoter region of different genes				
		<i>FcCaM1</i>	<i>FcCaM2</i>	<i>FcCaM3</i>	<i>FcCaM4</i>	<i>FcCaM5</i>
BOX4	光响应元件 Light response element	1		5	11	4
G-box	光响应元件 Light response element	2	3	2	1	1
GATA-motif	光响应元件 Light response element	1	2			
GT1-motif	光响应元件 Light response element	2	1		1	2
TCT-motif	光响应元件 Light response element	1		2		2



B: 明场 Bright; GFP: 绿色荧光蛋白 Green fluorescent protein; DAPI: 4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (细胞核荧光染色) 4',6-diamidino-2-phenylindole (nucleus fluorescent staining); M: 叠加视野 Merged field; pHellsgate-GFP: 空载体 Empty vector.

图 5 无花果 *FcCaM* 蛋白的亚细胞定位
Fig. 5 Subcellular localization of *FcCaM* proteins from *Ficus carica* Linn.

2.4 基因表达分析

比较无花果 5 个 *FcCaM* 基因的相对表达量在低温 (4 °C)、干旱 (质量体积分数 30% PEG6000)、光照 (暗适应 9 h 后持续光照) 和激素 (100 μmol · L⁻¹ 脱落酸) 处理 0、3、6、12 和 24 h 的差异, 结果 (表 4) 表明: 5 个 *FcCaM* 基因在不同处理条件下的表达模式存在明显差异。

低温胁迫下, *FcCaM1* 的相对表达量随着处理时间延长持续显著 ($P < 0.05$) 升高, 在处理 24 h 的相对表达量较处理 0 h 高 50 多倍; *FcCaM2* 的相对表达量在处理 6 h 最低, 仅为处理 0 h 的 65%, 并在处理 12 和 24 h 略有上升; *FcCaM3* 的相对表达量随着处理时间延长显著波动变化, 在处理 3、12 和 24 h 的相对表达量显著高于处理 0 h, 并在处理 12 h 达到峰值; *FcCaM4* 和 *FcCaM5* 的相对表达量均随着处理时间延长呈先升高后降低再升高的变化趋势, 且均在处理 6 h 达到峰值。

干旱胁迫下, *FcCaM1* 和 *FcCaM2* 的相对表达量变化相对较小, 分别在处理 12 和 3 h 达到峰值, 且显著高于处理 0 h; *FcCaM3* 和 *FcCaM5* 的相对表达量变化趋势相似, 大表现为随处理时间延长呈先升高后降低的变化趋势, 且峰值均出现在处理 12 h; *FcCaM4* 的相对表达量随处理时间延长显著波动变化, 在处理 3、12 和 24 h 的相对表达量显著高于处理 0 h, 并在处理 3 h 达到峰值。

光照处理下, *FcCaM1* 和 *FcCaM2* 的相对表达量总体上表现为随处理时间延长呈先升高后降低的变化趋势, 在处理 3~24 h 的相对表达量显著高于处理 0 h, 且均在处理 12 h 达到峰值; *FcCaM3* 的相对表达量随处理时间延长呈先降低后升高的变化趋势, 在处理 6 h 降到谷值, 并在处理 24 h 达到峰值, 且显著高于处理 0 h; *FcCaM4* 和 *FcCaM5* 的相对表达量总体上随处理时间延长呈先降低后趋于稳定的变化趋势, 在处理 6、12 和 24 h 的相对表达量显著低于处理 0 h。

脱落酸诱导下, *FcCaM1*、*FcCaM3* 和 *FcCaM5* 的相对表达量均随处理时间延长呈先升高后降低的变化趋势, 分别在处理 6、12 和 3 h 达到峰值; *FcCaM2* 的相对表达量在处理 3 h 显著降低, 之后随处理时间延长逐渐升高, 并在处理 24 h 达到峰值; *FcCaM4* 的相对表达量随处理时间延长呈先降低后升高的变化趋势, 在处理 6 h 降到谷值, 并在处理 24 h 达到峰值, 且显著高于处理 0 h。

表4 不同处理下无花果 *FcCaM* 基因相对表达量的变化 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾Table 4 Variation of relative expression of *FcCaM* genes from *Ficus carica* Linn. under different treatments ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

基因 Gene	低温(4℃)处理不同时间的相对表达量 Relative expression under low temperature (4℃) treatment at different times					干旱(质量体积分数30%PEG6000)处理不同时间的相对表达量 Relative expression under drought (PEG6000 with mass volume fraction of 30%) treatment at different times				
	0 h	3 h	6 h	12 h	24 h	0 h	3 h	6 h	12 h	24 h
<i>FcCaM1</i>	1.00±0.03e	4.83±0.67d	8.52±0.19c	17.38±1.26b	51.45±3.21a	1.00±0.07b	1.08±0.02b	1.51±0.16a	1.58±0.12a	1.06±0.13b
<i>FcCaM2</i>	1.00±0.06ab	2.84±0.15a	0.65±0.07b	1.58±0.06ab	1.88±0.32ab	1.00±0.07c	1.90±0.06a	0.99±0.14c	1.46±0.05b	0.92±0.01c
<i>FcCaM3</i>	1.00±0.12c	6.12±0.89b	2.24±0.24c	8.70±0.35a	4.67±0.66b	1.00±0.03d	1.04±0.07d	1.98±0.16c	9.48±0.48a	2.43±0.04b
<i>FcCaM4</i>	1.00±0.06d	2.97±0.40cd	22.33±1.29a	3.78±0.64c	10.37±0.33b	1.00±0.03d	8.98±0.16a	0.80±0.07d	3.41±0.19b	2.08±0.14c
<i>FcCaM5</i>	1.00±0.02d	2.30±0.26d	137.51±1.45a	4.81±0.64c	21.23±0.50b	1.00±0.07c	1.13±0.19c	1.02±0.05c	6.93±0.48a	1.93±0.18b

基因 Gene	光照(暗适应9h后持续光照)处理不同时间的相对表达量 Relative expression under light (continuous light after dark adaptation for 9 h) treatment at different times					激素(100 μmol·L ⁻¹ 脱落酸)处理不同时间的相对表达量 Relative expression under hormone (100 μmol·L ⁻¹ abscisic acid) treatment at different times				
	0 h	3 h	6 h	12 h	24 h	0 h	3 h	6 h	12 h	24 h
<i>FcCaM1</i>	1.00±0.10d	8.22±0.60b	8.32±0.89b	16.63±0.84a	2.60±0.20c	1.00±0.06c	6.70±0.24a	6.89±0.38a	2.68±0.32b	2.57±0.17b
<i>FcCaM2</i>	1.00±0.05c	3.28±0.14b	3.24±0.08b	4.64±0.07a	2.98±0.26b	1.00±0.03c	0.37±0.08d	1.31±0.05bc	1.41±0.06b	2.17±0.05a
<i>FcCaM3</i>	1.00±0.08b	0.95±0.08b	0.36±0.02d	0.56±0.02c	11.05±1.20a	1.00±0.11c	3.71±0.25b	3.48±0.15b	4.98±0.35a	0.44±0.04d
<i>FcCaM4</i>	1.00±0.04a	0.27±0.03b	0.06±0.01c	0.06±0.01c	0.07±0.01c	1.00±0.07b	0.82±0.07bc	0.62±0.03c	0.88±0.05bc	1.39±0.03a
<i>FcCaM5</i>	1.00±0.09a	0.69±0.07a	0.26±0.04b	0.29±0.02b	0.28±0.01b	1.00±0.05d	4.15±0.17a	2.03±0.16b	1.61±0.05c	1.11±0.06d

¹⁾ 同行中不同小写字母表示在不同时间差异显著($P < 0.05$) Different lowercases in the same row indicate the significant differences ($P < 0.05$) between different times.

3 讨论和结论

本研究克隆到5个无花果 *FcCaM* 基因,其编码的蛋白质均含有4个EF-hand结构域(CaM家族特有结构域^[32])。值得注意的是,*FcCaM1*和*FcCaM2*的核苷酸序列不同,但编码的氨基酸序列完全相同,这种蛋白被称为同工型蛋白^[33]。同工型蛋白普遍存在于植物的CaM家族中^[11-12]。

从系统进化树看,莱茵衣藻CaM1单独为一组,无花果、拟南芥等10种高等植物的CaM蛋白为另一组,并进一步分成2个分支,表明这些高等植物的CaM蛋白可能由2个不同祖先进化而来^[34]。“内含子晚现”假说认为内含子的插入可以促进真核细胞的基因进化^[35],无花果5个*FcCaM*的聚类结果支持这一假说,表现为*FcCaM1*和*FcCaM2*的编码基因均仅含有1个内含子,聚在同一分支中,而*FcCaM3*、*FcCaM4*和*FcCaM5*的编码基因均含有3个内含子,聚在另一分支中。

基因的特异性表达与基因启动子顺式作用元件密切相关^[36-37]。无花果*FcCaM*基因启动子区共含有19种顺式作用元件,包括7种激素响应元件和12种环境(如干旱、低温、光等)响应元件,表明*FcCaM*

基因可能参与无花果抵御低温、干旱等多种非生物胁迫过程以及激素诱导响应过程。

CaM蛋白通常被预测为核蛋白和胞质蛋白^[4,38]。本研究在*FcCaM*蛋白C端融合GFP,检测结果显示含有*FcCaM1*、*FcCaM2*和*FcCaM5*的融合蛋白在本氏烟草叶表皮细胞的细胞核和细胞质中具有明显的绿色荧光信号,而含有*FcCaM3*和*FcCaM4*的融合蛋白在本氏烟草叶表皮细胞的细胞质中具有明显的绿色荧光信号,由此推测无花果*FcCaM*蛋白主要位于细胞核和(或)细胞质。

基因的表达模式被广泛用于筛选植物响应非生物胁迫的候选基因^[12,35]。总体来看,*FcCaM1*和*FcCaM2*在低温(4℃)、干旱(质量体积分数30%PEG6000)、光照(暗适应9h后持续光照)和激素(100 μmol·L⁻¹脱落酸)处理3~24h的相对表达量高于处理0h,说明这2个基因能够响应低温、干旱、光照和脱落酸处理;*FcCaM3*、*FcCaM4*和*FcCaM5*在低温和干旱处理3~24h,*FcCaM3*在脱落酸处理3~12h,以及*FcCaM5*在脱落酸处理3~24h的相对表达量均高于处理0h,而这3个基因在光照处理3~24h以及*FcCaM4*在脱落酸处理3~12h的相对表达量均低于处理0h,说明这3个基因能够响应低温、干旱和光照处理,*FcCaM3*和*FcCaM5*还受脱落酸诱导。

值得一提的是, *FcCaM1* 和 *FcCaM2* 在光照处理 3~24 h 的相对表达量显著高于处理 0 h; *FcCaM3* 在光照处理 3~12 h 低于或显著低于处理 0 h, 但在光照处理 24 h 急速升高; *FcCaM4* 和 *FcCaM5* 随光照处理时间延长呈先下降后趋于平稳的变化趋势。以上结果表明 5 个 *FcCaM* 基因在响应光照处理时具有不同的分工, 推测同一基因家族成员在响应胁迫时可能存在联动调控现象^[37]。此外, *FcCaM1* 与 *FcCaM2* 基因编码的氨基酸序列一致, 但二者在低温、干旱、光照和脱落酸处理下的表达模式存在差异, 如低温胁迫下 *FcCaM1* 的相对表达量随处理时间延长持续升高, 而 *FcCaM2* 的相对表达量随处理时间延长呈先升高后降低再升高的趋势。这可能与转录后修饰或翻译调控网络有关^[39], 具体原因有待后续研究。

综上所述, 无花果 *FcCaM* 的蛋白序列较为保守; *FcCaM* 基因能够响应低温、干旱等非生物胁迫和光响应过程, 并受脱落酸诱导。

参考文献:

- [1] 李彩侠. 钙对植物生长的影响研究进展[J]. 河北农业, 2024 (4): 86-87.
- [2] MAO K, YANG J, WANG M, et al. Genome-wide analysis of the apple CaCA superfamily reveals that MdCAX proteins are involved in the abiotic stress response as calcium transporters[J]. BMC Plant Biology, 2021, 21: 81.
- [3] PAREEK A, KHURANA A, SHARMA A K, et al. An overview of signaling regulons during cold stress tolerance in plants[J]. Current Genomics, 2017, 18: 498-511.
- [4] DEFALCO T A, BENDER K W, SNEDDEN W A. Breaking the code: Ca²⁺ sensors in plant signalling[J]. Biochemical Journal, 2010, 425: 27-40.
- [5] 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.
- [6] BOUCHÉ N, YELLIN A, SNEDDEN W A, et al. Plant-specific calmodulin-binding proteins[J]. Annual Review of Plant Biology, 2005, 56: 435-466.
- [7] TANG M, XU C, CAO H, et al. Tomato calmodulin-like protein SICML37 is a calcium (Ca²⁺) sensor that interacts with proteasome maturation factor SIUMPI and plays a role in tomato fruit chilling stress tolerance[J]. Journal of Plant Physiology, 2021, 258/259: 153373.
- [8] MCCORMACK E, BRAAM J. Calmodulins and related potential calcium sensors of Arabidopsis[J]. New Phytologist, 2003, 159: 585-598.
- [9] BOONBURAPONG B, BUABOCHA T. Genome-wide-identification and analyses of the rice calmodulin and related potential calcium sensor proteins[J]. BMC Plant Biology, 2007, 7: 4.
- [10] ZHAO Y, LIU W, XU Y P, et al. Genome-wide identification and functional analyses of calmodulin genes in *Solanaceous* species[J]. BMC Plant Biology, 2013, 13: 70.
- [11] CHU M, LI J, ZHANG J, et al. AtCaM4 interacts with a Sec14-like protein, PATL1, to regulate freezing tolerance in Arabidopsis in a CBF-independent manner[J]. Journal of Experimental Botany, 2018, 69(21): 5241-5253.
- [12] LIN R, SONG J, TANG M, et al. CALMODULIN6 negatively regulates cold tolerance by attenuating ICE1-dependent stress responses in tomato[J]. Plant Physiology, 2023, 193 (3): 2105-2121.
- [13] YU B, YAN S, ZHOU H, et al. Overexpression of *CsCaM3* improves high temperature tolerance in cucumber[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 797.
- [14] FU N, WANG L, HAN X, et al. Genome-wide identification and expression analysis of calmodulin and calmodulin-like genes, revealing *CaM3* and *CML13* participating in drought stress in *Phoebe bournei*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25: 545.
- [15] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第二十三卷第一分册[M]. 北京: 中国科学出版社, 1998: 124-125.
- [16] 房致远, 倪孟祥. 无花果多糖的提取工艺、结构特征及生物活性[J]. 化学与生物工程, 2021, 38(10): 11-15.
- [17] 董丽梅, 孔令熙, 陈玳欣, 等. 无花果中黄酮类化学成分及抗氧化活性研究[J]. 食品安全导刊, 2023(34): 93-95, 99.
- [18] 李静. 无花果果皮花青苷积累的转录组分析及调控机理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2020: 23.
- [19] 王静, 王修杰, 林苹, 等. 无花果果浆对肿瘤细胞增殖抑制和诱导凋亡作用[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(5): 760-764.
- [20] 李文婕, 杨小明, 张赫男, 等. 无花果多糖的纯化及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(14): 161-165.
- [21] 许秋霞, 张吟, 黄丹丹, 等. 无花果叶提取物对糖尿病大鼠血糖及抗氧化能力的影响[J]. 福建医科大学学报, 2013, 47(3): 146-149.
- [22] 黎肇业. 低温胁迫对无花果生理化的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2017: 24.
- [23] AMMAR A, AISSA I B, MARS M, et al. Comparative physiological behavior of fig (*Ficus carica* L.) cultivars in response to water stress and recovery[J]. Scientia Horticulturae, 2020, 260: 108881.
- [24] SADDER M T, ALSHOMALI I, ATEYYEH A, et al. Physiological and molecular responses for long term salinity stress in common fig (*Ficus carica* L.)[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2021, 27(1): 107-117.
- [25] USAI G, MASCAGNI F, GIORDANI T, et al. Epigenetic patterns within the haplotype phased fig (*Ficus carica* L.) genome[J]. The Plant Journal, 2020, 102(3): 600-614.
- [26] 郑晓薇, 柏杨, 亓希武, 等. 薄荷 *McZFPI* 基因克隆及表达

- 分析[J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(1): 35-46, 58.
- [27] 杨朝伟, 安明珠, 任 伟, 等. 两个黑麦品种种子萌发期和幼苗期耐寒性差异及其生理机制[J]. 中国草地学报, 2024, 46(6): 1-9.
- [28] 冯 蕊, 周 琪, 吴令上, 等. PEG6000 模拟干旱胁迫对铁皮石斛幼苗生理和叶绿素荧光特性的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2024, 41(1): 132-144.
- [29] 岳 伟, 金珊珊. 不同光照处理对玉米种子萌发与生长的影响[J]. 农业工程技术, 2024, 44(10): 26-27.
- [30] 吴志清, 亓希武, 房海灵, 等. 蒲公英 *TmRAVI* 基因克隆及其响应脱落酸信号表达分析[J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(1): 47-58.
- [31] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25: 402-408.
- [32] PEROCHON A, ALDON D, GALAUD J-P, et al. Calmodulin and calmodulin-like proteins in plant calcium signaling[J]. *Biochimie*, 2011, 93: 2048-2053.
- [33] MCCORMACK E, BRAAM J. Calmodulins and related potential calcium sensors of Arabidopsis[J]. *New Phytologist*, 2003, 159(3): 585-598.
- [34] LI Q, GAO L, YU F, et al. Evolution and diversification of *CaM/CML* gene family in green plants [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, 202: 107922.
- [35] CHO G, DOOLITTLE R F. Intron distribution in ancient paralogs supports random insertion and not random loss [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1997, 44: 573-584.
- [36] YANG M, CHEN J, LIU T, et al. Genome-wide identification and expression analysis of calmodulin-like gene family in *Paspalum vaginatum* revealed their role in response to salt and cold stress [J]. *Current Issues in Molecular Biology*, 2023, 45: 1693-1711.
- [37] 王 鹏, 田哲娟, 赵雪芳, 等. 番茄 *SlCaM3*, *SlCaM4* 和 *SlCaM5* 基因的克隆及低温胁迫下的表达分析[J]. 华北农学报, 2023, 38(2): 75-84.
- [38] LI C, MENG D, ZHANG J, et al. Genome-wide identification and expression analysis of calmodulin and calmodulin-like genes in apple (*Malus × domestica*) [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 139: 600-612.
- [39] EL MAHI H, PÉREZ-HORMAECHE J, DE LUCA A, et al. A critical role of sodium flux via the plasma membrane Na^+/H^+ exchanger SOS1 in the salt tolerance of rice[J]. *Plant Physiology*, 2019, 180: 1046-1065.

(责任编辑: 佟金凤)

欢迎订阅 2025 年《植物资源与环境学报》

《植物资源与环境学报》为江苏省中国科学院植物研究所和江苏省植物学会联合主办的学术刊物, 国内外公开发行。本刊为全国中文核心期刊(北大核心)、中国科技核心期刊和中国科学引文数据库核心期刊(CSCD 核心), 并为 BA(预评)、CAB/BCI/JST/EBSCO、中国生物学文摘、中国环境科学文摘、中国科学引文数据库、万方数据——数字化期刊群、中国学术期刊(光盘版)、超星期刊域出版平台、长江文库和中文科技期刊数据库等国内外著名刊库收录。2013 年荣获“首届江苏省新闻出版政府奖·期刊奖”及江苏省精品科技期刊项目; 2015 年荣获“第六届江苏省科技期刊金马奖·精品期刊奖”; 2015 年至 2023 年均荣获江苏省精品科技期刊项目; 2021 年荣获第三届江苏省新闻出版政府奖·期刊奖提名奖。1 篇论文入选第二届江苏省科技期刊优秀论文; 2 篇论文入选第三届江苏省科技期刊优秀论文。

本刊围绕植物资源与环境两个中心命题, 报道我国植物资源的考察、开发利用和植物物种多样性保护, 自然保护区与植物园的建设和管理, 植物在保护和美化环境中的作用, 环境对植物的影响以及与植物资源和植物环境有关学科领域的原始研究论文、研究简报和综述等。凡从事植物学、生态学、自然地理学以及农、林、园艺、医药、食品、轻化工和环境保护等

领域的科研、教学、技术人员及决策者均可以从本刊获得相关学科领域的研究进展和信息。

本刊为双月刊, 大 16 开本, 每期 120 页。全国各地邮局均可订阅, 邮发代号 28-213, 每期定价 30 元, 全年定价 180 元。国内统一连续出版物号 CN 32-1339/S, 国际标准连续出版物号 ISSN 1674-7895。若错过征订时间或需补齐, 请直接与编辑部联系。1992 年至 1993 年每年 8 元; 1994 年至 2000 年每年 16 元; 2001 年至 2005 年每年 24 元; 2006 年至 2008 年每年 40 元; 2009 年至 2011 年每年 60 元; 2012 年至 2019 年每年 80 元; 2020 年至 2021 年每年 120 元; 2022 年至 2023 年每年 156 元; 2024 年至 2025 年每年 180 元(均含邮资, 如需挂号另付挂号费 3 元; 快递到付)。

编辑部地址: 江苏省南京市中山门外前湖后村 1 号 江苏省中国科学院植物研究所内; 邮编: 210014; 电话: 025-84347014; QQ: 2219161478; E-mail: zwzybjb@163.com; 网址: <http://zwzy.cnbg.net>。

欢迎扫码关注本刊微信公众号。

