



钙调素结合蛋白参与调控植物逆境胁迫的研究进展

吴春婷, 范甜, 吕天晓, 周玉萍, 田长恩

引用本文:

吴春婷, 范甜, 吕天晓, 周玉萍, 田长恩. 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): 823-09-1.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4711>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

海南岛滨海沙生植物叶片功能性状分异及其与土壤因子的关系

Difference of Leaf Functional Traits of Coastal Psammophytes in Hainan Island and Its Relationship with Soil Chemical Properties
热带亚热带植物学报. 2022, 30(5): 708-717 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4519>

5种野牡丹属植物花色成分及影响花色呈色因子分析

Analysis of Anthocyanin Composition and Color Factors in Five Species of *Melastoma*
热带亚热带植物学报. 2022, 30(5): 687-696 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4534>

光呼吸研究进展

Research Advances in Photorespiration

热带亚热带植物学报. 2022, 30(6): 782-05-1 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4718>

低光下薇甘菊茎的伸长特征及其生理基础

Stem Elongation Characteristics of *Mikania micrantha* and Its Physiological Basis under Low Light Condition
热带亚热带植物学报. 2022, 30(1): 70-78 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4393>

硅提高植物抗旱性的生理机制研究进展

Research Progress on Physiological Mechanism of Silicon on Enhancing Plant Drought Resistance
热带亚热带植物学报. 2022, 30(6): 813-08-1 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4558>

向下翻页, 浏览PDF全文

钙调素结合蛋白参与调控植物逆境胁迫的研究进展

吴春婷, 范甜, 吕天晓, 周玉萍, 田长恩*

(广州大学生命科学学院, 广东省植物适应性与分子设计重点实验室, 广州 510006)

摘要: Ca^{2+} 是植物体内重要的第二信使, 当植物受到各种环境刺激时, 细胞内的 Ca^{2+} 浓度瞬间产生变化, 并被 Ca^{2+} 信号效应器识别, 通过与下游的靶蛋白结合并调节其活性, 参与调控植物各种生理活动。钙调素结合蛋白以依赖 Ca^{2+} 或不依赖 Ca^{2+} 的方式结合钙调素。对目前已经鉴定的植物钙调素结合蛋白结构特点进行了综述, 并着重介绍了钙调素结合蛋白是如何参与调节植物对生物胁迫和非生物胁迫的反应, 为提高作物抗病抗逆能力研究提供理论基础。

关键词: 钙调素结合蛋白; 逆境胁迫; 植物钙调素

doi: 10.11926/jtsb.4711

Recent Advances in Calmodulin Binding Protein Involved in Plant Responses to Adversity Stresses

WU Chunting, FAN Tian, LÜ Tianxiao, ZHOU Yuping, TIAN Chang'en*

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Adaptation and Molecular Design, School of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Calcium (Ca^{2+}) is an important second messenger in plants. The intracellular concentration of Ca^{2+} is often elevated instantaneously under various kinds of biotic and abiotic stresses, and which is recognized by Ca^{2+} signal effectors. By binding to downstream target proteins and regulating their activities, Ca^{2+} participates in the regulation of various physiological activities of plants. Calmodulin binding proteins bind calmodulin in a Ca^{2+} -dependent or Ca^{2+} -independent manner. The structure characteristics of calmodulin binding proteins identified in plants were reviewed, and emphasizing on how calmodulin binding proteins are involved in regulating plant responses to biotic and abiotic stresses was focused, which would provide a theoretical basis for study of improve disease-tolerance and stress-tolerance of crops.

Key words: Calmodulin binding protein; Adversity stress; Plant calmodulin

干旱、低温、盐、重金属离子和病原菌等胁迫条件对植物的生长发育有严重影响, 而植物体也具有一系列迅速感知并对逆境胁迫进行防御应答的信号转导机制^[1]。 Ca^{2+} 作为植物体内广泛存在的第二信使, 在植物感受到外界刺激时会短暂提高胞质的 Ca^{2+} 浓度, 从而形成钙信号, 不同刺激造成的 Ca^{2+} 浓度的变化时间、频率和幅度均不相同^[1]。在不同的逆境胁迫下, 植物细胞通过 Ca^{2+} 内流产生钙信号, 在完成信号传递功能后, 胞质内的 Ca^{2+} 会被

$\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶重新转运回到钙库, 从而终结胁迫信号的传导^[1]。 Ca^{2+} 效应器主要有 3 种: 钙调素(calmodulin, CaM)及其类似蛋白(calmodulin-like protein, CML)、钙依赖型蛋白激酶(Ca^{2+} dependent protein kinases, CDPK)、钙调磷酸酶 B 样蛋白(complexes of calcineurin-B-like proteins, CBL)^[2]。CaM/CML 是 Ca^{2+} 浓度波动的主要感受器, 由于其本身并没有催化活性, 只能通过与下游的钙调素结合蛋白(calmodulin binding proteins, CaMBPs)互相

收稿日期: 2022-08-03

接受日期: 2022-08-22

基金项目: 广东省自然科学基金项目(2020A1515011423)资助

This work was supported by the Project for Natural Science in Guangdong (Grant No. 2020A1515011423).

作者简介: 吴春婷(1999 生), 女, 硕士, 主要从事植物分子遗传学研究。E-mail: 1977027331@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: changentian@aliyun.com

作用并调节其活性来发挥功能^[2]。本文主要介绍 CaM/CML 的下游结合蛋白在植物胁迫信号响应中的作用。

1 钙调素与其结合蛋白的结构特点与种类

CaM 是一种广泛存在于植物中的钙结合蛋白,具有多种亚型,其氨基酸序列两端各含有 1 对能与 Ca^{2+} 结合的 EF-hand 结构,中间以螺旋管结构相连^[3]。1 个 CaM 蛋白可以与 4 个 Ca^{2+} 结合,形成复合物后 CaM 构象会发生显著变化,EF-hand 螺旋间的相对方向发生变化,使一些疏水残基暴露于 CaM 表面以增大暴露面积,形成容易与靶蛋白结合的疏水表面和疏水穴^[3]。而没有 Ca^{2+} 结合的 CaM 称为 ApoCaM,可以在低浓度或者缺乏 Ca^{2+} 的条件下与靶蛋白结合并发挥活性,与 Ca^{2+} /CaM 复合物的构象变化相比,ApoCaM 在 N 端始终关闭的情况下,C 端则保持半开和关闭的动态变化,从而保证在没有 Ca^{2+} 的情况下也能与靶蛋白结合^[3]。在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中有 7 个基因(*CaM1*~*CaM7*)编码 4 种 CaM 亚型,分别为 *CaM1*/*CaM4*、*CaM2*/*CaM3*/*CaM5*、*CaM6* 和 *CaM7*;除此之外,还发现了 50 个编码 CML 的基因,其中 *CaM7* 具有转录活性,其余的 CaM/CML 均要与下游靶蛋白结合才能发挥功能^[4]。

CaMBPs 是指能与 CaM/CML 结合的蛋白,包括在体外或体内能和 CaM/CML 结合的蛋白以及各种受 CaM/CML 调控的酶类^[4],CaMBPs 通过 CaM 结合结构域(CaM-binding domain, CaMBD)与 CaM 结合。IQ 基序是第 1 个发现的不依赖 Ca^{2+} 的 CaMBD,1-5-10 基序和 1-8-14 基序是依赖于 Ca^{2+} 的结合结构域,故通过与 CaM 结合方式的不同将 CaMBPs 分为 Ca^{2+} 依赖型和 Ca^{2+} 不依赖型^[5]。 Ca^{2+} 依赖型 CaMBPs 主要包括 CBP60s (calmodulin-binding protein 60s)、MLO (mildew resistance locus Os)、MKPs (mitogen-activated protein kinase phosphatases)及其他与 CaM/CML 结合的转录因子和转运蛋白等;而 Ca^{2+} 不依赖型 CaMBPs 在植物中主要是指含有 IQ 基序的蛋白,主要包括 myosins、CAMTAs (calmodulin-binding transcription activators)、CNGCs (cyclic nucleotide-gated channels)、IQDs (IQ67-domain containing

proteins)和 IQMs (IQ-motif containing proteins)^[2]。

已经在植物中鉴定出许多种类的 CaMBPs,功能已经明确的超过 50 个,主要种类包括代谢酶类、转录因子、离子通道等^[2],不仅参与调控植物的多种生理过程,还参与植物胁迫防御反应调控过程。研究表明 CaMBPs 的表达可以被各种非生物胁迫(高温、干旱、和寒冷等)、生物胁迫(各种病原菌和食草性昆虫)和水杨酸(salicylic acid, SA)、乙烯和茉莉酸(jasmonic acid, JA)等激素诱导,调节下游靶基因并参与激素信号、离子运输、基因转录等途径,从而对植物的抗逆响应起到关键的调控作用^[6-11]。

2 Ca^{2+} 依赖型的钙调素结合蛋白参与调控植物胁迫响应

2.1 钙调素结合蛋白 60 (CBP60)家族

CBP60s 是植物中特有的可以结合 CaM 的转录因子家族,在拟南芥筛选 CaMBP 中最早被发现^[12]。拟南芥中该家族有 8 个成员(CBP60a~CBP60g 和 SARD1),均含有 1 个 CaMBD,大多数位于 C 端,只有 CBP60g 的 CaMBD 位于 N 端附近,但 SARD1 的 CaMBD 突变,不能与 CaM 结合^[12]。

CBP60s 在植物的免疫响应中具有重要作用,CBP60g 主要通过调控异分支酸合酶 1 (isochorismate synthase 1, ICS1)来调节受到病原菌侵害的植物中产生 SA,从而引起植物的防御反应^[8,12]。研究表明 CBP60g 是植物免疫的正调节因子,CBP60g 过表达促进拟南芥 SA 的积累,同时诱导病程相关(pathogenesis-related, PR)基因和 ICS1 基因的表达,从而提高了对丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)的抗病性^[8],而 *cbp60g* 突变增强了拟南芥对丁香假单胞菌的敏感性,降低了植物体内的 SA 水平^[12]。CBP60b 可以直接激活 CBP60g 和 SARD1 的转录,*cbp60b* 的突变会使拟南芥植株 SA 含量升高,从而增加了植物抗病性^[14]。除了参与调控植物对丁香假单胞菌的抵抗力,大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)的分泌蛋白 VdSCP41 可以直接靶向结合拟南芥 CBP60g、SARD1 和棉花(*Gossypium hirsutum*)的 GhCBP60b,抑制转录因子活性,从而降低植物抗病性^[15]。

与 CBP60b/CBP60g 不同,该家族的另 1 个成员 CBP60a 被认为是一个免疫抑制因子,其突变会导致病原菌生长减慢,CBP60a 能够与 CML46、

CML47 结合, 抑制 SA 在被病原菌感染的拟南芥中的积累, 表明 SA 依赖的钙调素信号在植物免疫中具有一个复杂的模式^[16]。

除了应对各种病原菌的侵袭, CBP60 家族同时也参与调节植物的多种非生物胁迫, 对拟南芥进行热激处理后, *AtCBP60g* 过表达的植株表现对高温胁迫更为敏感的表型, 其比野生型更为矮小, 出现黄化现象^[13]。而在干旱胁迫下, *AtCBP60g* 过表达还可以提高 *ICS1* 基因的表达量, 增强了对干旱的耐受能力^[8]。

2.2 白粉病抗性基因(MLO)家族

MLO 是一类植物特有的抗病蛋白, 在 C 末端存在 CaMBD, 可以在 Ca^{2+} 存在下与 CaM 形成复合物^[17]。该家族中大多数成员作为白粉病的感病因子, 均会降低植物对白粉病的抵抗力, MLO 蛋白作为白粉病菌入侵植物体所必需的条件^[18], 当特定的 *mlo* 基因的缺失突变, MLO 蛋白失去负调控白粉菌抗性的功能, 使烟草(*Nicotiana tabacum*)^[18]、大麦(*Hordeum vulgare*)^[19]和番茄(*Lycopersicon esculentum*)^[20]等植物引发对白粉病的广谱抗性。

MLO 基因最初在大麦中发现, 当大麦受到白粉菌侵染时, CaM 可以通过与 MLO 蛋白相互作用从而抑制植物的防御反应^[19]。在辣椒(*Capsicum annuum*)中, CaMLO2 和 CaCaM1 特异性结合可以抑制由辣椒疮痂病菌(*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*)引起的细胞死亡和植物免疫防御, 而沉默 *CaMLO2* 基因的表达会增加植物体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的含量以及增强抗病性^[21], 过表达 *CaMLO2* 会增强拟南芥对丁香假单胞菌和对卵菌病原灰霉病(*Hyaloperonospora arabidopsidis*)的敏感性^[22], 同时可以恢复番茄突变体对白粉菌的敏感性^[20]。*CsMLO1* 和 *CsCaM3* 的过表达均降低了黄瓜(*Cucumis sativus*)子叶对棒孢叶斑病菌(*Corynespora cassicola*)的抗性和防御相关基因的表达, 证明 *CsMLO1* 与 *CsCaM3* 的相互作用能够负调控黄瓜的抗病防御反应^[23]。

MLO 蛋白不仅可以负调控植物对病原体感染的防御反应, 在植物响应干旱胁迫的应答中也有重要作用。有研究表明, 干旱处理 12 d 后, 沉默 *CaMLO2* 基因的辣椒叶片组织鲜重损失较小, 丙二醛含量降低, 而过表达 *CaMLO2* 基因的拟南芥植株, 干旱胁迫 12 d 后的地上部分生物量的相对减少量显著高于

野生型, 证明 CaMLO2 作为 ABA 的负调控因子参与调控了植物的抗旱性^[24]。

2.3 MAPK 磷酸酶(MKP)家族

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)是一类保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 广泛参与植物对各种生物和非生物胁迫的响应, 如重金属、低温和盐等^[25]。MAPK 磷酸酶(MAPK phosphatases, MKPs)是 MAPK 信号途径重要的负调控因子, 作为一种双特异性磷酸酶, 对丝氨酸/苏氨酸和酪氨酸残基去磷酸化使 MAPKs 失活, 从而使 MAPKs 的信号传导可以受到严格的调控^[26]。在拟南芥基因组中, 只鉴定到 5 种 MKPs, 包括 AtMKP1、PHS1、IBR5、MKP2 和 DsPTP1, 其中 CaM 结合型 MAPK 磷酸酶 MKP1 和 DsPTP1 可以在 Ca^{2+} 存在下和 CaM 结合, 从而调节其活性, 在生物和非生物胁迫过程中均有重要作用^[27-28]。

烟草 NtMKP1 是最早被鉴定可以与 CaM (Nt-CaM1, NtCaM3 和 NtCaM13)结合的 MAPK 磷酸酶, *NtMKP1* 过表达会抑制伤口诱导的蛋白激酶(wound-induced protein kinase, WIPK)和 SA 诱导的蛋白激酶(salicylic acid-induced protein kinase, SIPK)的表达^[26]。*NtMKP1* 表达被抑制的转基因烟草 NtMKP1-AS 植株中 SIPK 和 WIPK 表达增强, 且在接种灰霉菌(*Botrytis cinerea*)后的烟草叶片坏死率显著小于对照, 同时也降低了甘蓝夜蛾(*Mamestra brassicae*)和夜蛾(*Spodoptera litura*)在烟草叶片上的存活率^[10], 证明 NtMKP1 作为一种负调控因子参与调控植物的损伤反应和对病虫害的抗性^[10,26]。

TMKP1 是目前唯一被鉴定到的小麦(*Triticum aestivum*) MAPK 磷酸酶, 参与调节小麦对盐胁迫和渗透胁迫的响应^[29]。*TMKP1* 在拟南芥中异源表达可以提高盐胁迫下种子发芽率和幼苗的抗氧化活性^[30]。

在拟南芥中, CaM 通过 2 个 CaMBD 与 AtMKP1 结合并调节其活性^[27]。*atmkp* 突变及其磷酸酶活性的缺失提高了植物耐盐性, 提示 MKP1 在渗透调节中具有关键作用^[31]。而在植物免疫反应中, AtMKP1 作为负调控因子调控 ROS 的产生和植物对不同病原体的敏感性^[32]。AtDsPTP1 作为 1 个 CaM 结合型的双特异性磷酸酶, 与 CaM2 的结合仅会调节其对酪氨酸的去磷酸化活性^[28]。在 *atdsptp1* 突变体中, 脯氨酸含量和渗透应答基因表达均显著增加, 用甘露醇处理后, *atdsptp1* 突变的种子也较野生型有更高的

发芽率^[33]。

2.4 其他 Ca²⁺依赖型的钙调素结合蛋白

除以上3个依赖 Ca²⁺的 CaMBP 家族外,植物中,还有一些依赖 Ca²⁺的 CaMBPs 作为酶、转录因子和转运蛋白等在植物的胁迫响应中起重要作用。

酶参与调节植物体内生长发育过程中的各种生理活动,而一些酶类可以结合 CaM 在植物响应逆境胁迫中发挥重要作用^[34]。AtPP7 是植物中最先发现的 CaM 结合型丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶, *atpp7* 缺失突变体降低了拟南芥幼苗的耐热性^[35]。龙须菜 (*Gracilaria lemaneiformis*) 的肌醇-1-磷酸合酶(myo-inositol-1-phosphate synthase, MIPS)也是一种 CaMBP, 可参与响应植物的高温胁迫^[36]。

CaM 结合型激酶在逆境响应中同样发挥重要作用, AtCBK3 是拟南芥中的一种 CaM 结合型激酶, 可以促进 AtHSFA1a 的磷酸化和激活 HSFs (heat-shock transcription factors) 与 HSEs (heat-shock elements) 的结合, 从而正向调节拟南芥的热休克反应^[37]。CRLK1 是一种 CaM 结合型类受体蛋白激酶, 正常生长条件下, *crkl1* 突变体与野生型并无特别表型差异, 但处于低温条件中, *crkl1* 突变体表现出更高的敏感性^[9]。OsDMI3 是一种 Ca²⁺/CaM 依赖性蛋白激酶(Ca²⁺/CaM-dependent protein kinase, CCaMK), 作为 ABA 信号传导的正调节因子, 在盐胁迫下, 可以正向调控水稻根系对盐的耐受性以及侧根的生长^[38-39]。

CaM 除了可以调节酶的活性之外, 还能够与转录因子相互作用^[2]。MYB2 是最大的植物转录因子 MYB (v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog) 家族成员之一, GmCaM4 通过结合 AtMYB2 增强 AtMYB2 的 DNA 结合活性, 过表达 *GmCaM4* 增加了脯氨酸的积累, 从而增强植物的耐盐性^[40]。在 GTL (GT-2 LIKE) 转录因子家族中, AtGTL1 能与 CaM 结合, 是植物抗旱性的负调节因子, *gtl1* 可以在干旱胁迫下保持更高的存活率^[41]; 同样地, 从杨树 (*Populus sp.*) 中鉴定的 PtaGTL1 也能与 CaM 结合, 在干旱胁迫下可以调节水分利用率和增强植物的耐旱性^[42]。在拟南芥中, 另一种转录因子 AtABF2/AREB1 也被鉴定为 CaMBP, 可以正向调控植物的抗旱性, 其突变体 *atabf2* 在干旱胁迫下成活率明显降低^[43]。

WRKY 家族中的 WRKY7/WRKY11/WRKY17

都能与 CaM 互作^[44], 作为拟南芥病原菌相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMP) 触发免疫的调节因子, 参与调控植物对丁香假单胞菌的抗性^[45]。AtTGA3 是第1个被发现能与 CaM 结合的碱性亮氨酸拉链(basic leucine zipper, bZIP) 类型的转录因子, 其突变体 *attga3* 会增加拟南芥对丁香假单胞菌的敏感性^[46]。

除此之外, CaM 还可将 Ca²⁺传递到与其结合的转运蛋白, 从而对跨膜运输进行调节, 在拟南芥的 P2A 型钙离子 ATP 转运蛋白(autoinhibited Ca²⁺-ATPase, ACA) 家族中, ACA2/ACA4/ACA8/ACA11 均被鉴定为 CaMBP^[34,47], *aca4/aca11* 突变激活了由 SA 诱导的细胞程序性死亡, 而 *aca8* 及其同源物 *aca10* 突变则会增加植物对病菌的敏感性^[48], 同时 *aca8* 和 *aca10* 双突变体会减少由细菌鞭毛蛋白 flg22 诱导的 ROS 和钙离子的爆发, 提示 ACA4/ACA8/ACA11 均参与调节植物的免疫应答^[48-49]。PEN3 是 PDR (pleiotropic drug resistance) 型 ABC (ATP-binding cassette) 转运蛋白家族成员, 可以与 CaM7 结合, 调节拟南芥对病原菌的免疫响应, 但具体机制有待进一步研究^[50]。在拟南芥中的 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白 (Na⁺/H⁺ antiporter, NHX) AtNHX1 能与 CML18 互作, *AtNHX1* 过表达可以降低拟南芥对盐胁迫的敏感性^[51-52]。

3 Ca²⁺不依赖型的钙调素结合蛋白参与调控植物生物与非生物胁迫

3.1 钙调素结合转录激活因子(CAMTA/SR)家族

CAMTAs 是受 CaM 调控的一类转录因子, 由于可以响应多种信号分子, 所以也称为 SRs (signal-responsive genes)^[53]。CAMTAs 最早在烟草幼苗中作为 CaMBP 被分离出来^[54]。在拟南芥^[53]、番茄^[55]和 水稻^[56]中分别鉴定出 CAMTA/SR 家族成员 16、7 和 7 个。在真核生物中, 该家族的功能结构域较为保守, 均含有 CG-1 结构域、TIG 结构域、ANK 重复结构域、1 个 Ca²⁺依赖型 CaMBD 和串联重复的 IQ 基序^[56]。2 个 CaMBD 的存在提示不同物种的 CAMTA/SR 蛋白结合 CaM 的方式可能存在不同, 例如拟南芥 CAMTA1 和番茄 CAMTA 与 CaM 结合均依赖 Ca²⁺^[53,55], 而水稻的 OsCBT 中, 在 Ca²⁺缺乏时可以通过 IQ 基序与 CaM 结合, 在 Ca²⁺存在时通过另一个 Ca²⁺依赖型 CaMBD 与 CaM 结合^[56]。小

麦的 TaCAMTA4 也被证明以依赖 Ca^{2+} 的方式结合 CaM^[57]。

在大多数植物中, CAMTAs 参与调节植物对不同病虫害的防御反应。拟南芥 CAMTA3/SR1 被证明是植物免疫响应的负调控因子, 有研究表明, CAMTA3/SR1 可以通过识别和结合与抗病有关的靶基因 *EDS1*、*NDR1* 和 *EIN3* 的启动子区域, 抑制其表达来参与 SA 和乙烯反应通路, 从而负调控植物对丁香假单胞菌、白粉病菌和灰霉菌的抗性^[58-59]。拟南芥 *camta3-1*、*camta3-2* 在正常情况下出现严重的病变表型, 且该突变会导致植物体内 SA 的积累^[58,60]; 在拟南芥 *camta3* 突变植株中接种稻黄单胞菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)后, 提高了植物体内由 PAMP 诱导的 H_2O_2 和 ROS 含量, 且增强了病原体诱导的超敏反应^[61]。同时在接种核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)后, 突变体植株中 *AtJIN1* 基因的表达显著增强, 推测 *AtCAMTA3* 也可能通过直接靶向 *JIN1* 来调节 JA 信号通路, 从而负调节对核盘菌的抗性^[62]。*AtCAMTA3* 在水稻中的同源蛋白 *OsCBT* 也是植物防卫反应的负调控因子, *oscbt* 突变体会增强水稻对稻黄单胞菌和稻瘟菌(*Magnaporthe grisea*)的抵抗力^[56]。利用 VIGS 技术沉默小麦和番茄的 *CAMTA* 基因, 结果表明小麦的 TaCAMTA4 和番茄的 *SISR1*、*SISR3L* 也发挥负调控抗病响应的功能^[57,63]。

除了参与调控植物对病菌体的防御反应, CAMTA3 作为正调控因子与 CaM 结合参与调节植物对食草性昆虫的防卫反应^[64-65]。JA 是植物体内的一种重要的信号分子, JA 介导的信号传导通路促进植物对食草昆虫的抵抗, 虫咬会导致植物体内 JA 含量的增加, 而 *sr1* 突变体经虫咬后体内的 SA 含量增加而 JA 水平降低^[65]。*sr1* 突变均降低了拟南芥对食草昆虫真菌蚊(*Bradysia impatiens*)和粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*)的抗性^[64]。

CAMTA3 不仅参与调控植物的抗病虫害反应, 在植物响应盐胁迫中也起到负调节的作用。当用 100、150 mmol/L 的 NaCl 处理 *camta3* 突变体时, 2 个突变体 *sr1-1* 和 *sr1-2* 均表现出了对盐胁迫的耐受性^[66]。在种子萌发过程中, 另一个耐盐性的负调控因子 CAMTA6/SR3 直接或间接调控了大多数与盐胁迫有关的基因的表达, 且其突变体 *camta6-4* 和 *camta6-5* 在盐胁迫下的发芽率也高于野生型^[67]。在干旱条件下, 相比于野生型, 拟南芥 *camta1* 突变体表现出了生长缓慢, 光合作用效率和水分利用率均

降低等对干旱高敏感性的表型^[68]。番茄的 *SISR1L* 可能调控大量干旱胁迫应答基因的表达, 沉默 *SISR1L* 的番茄植株对干旱的耐受性下降^[63]。最近, CAMTA3 也被证明可以正调控植物对干旱胁迫的应答, *sr1-1* 和 *sr1-2* 缺失突变体对干旱的敏感性高于野生型, 过表达的 *SR1* 株系 SR1OX-4 和 SR1OX-5 在停止 14 d 的干旱胁迫, 复水后的存活率也高于野生型^[11]。在拟南芥中, CBF 寒冷响应途径被证明可以调节植物对低温的耐受性, 而 CAMTA3 是 *CBF2* 表达的正调控因子, 但 *camta3* 单突变体的耐冻性无显著变化, 而 *camta3* 和 *camta1* 双突变体对低温的抗性显著降低, 证明拟南芥的耐冷性依赖于 CAMTA3 和 CAMTA1 的共同作用^[69]。

3.2 IQD 结构域(IQD)家族

IQD 家族是植物特有的 CaMBP 家族, 最早在水稻和拟南芥中发现^[70], 分别有 29 和 33 个同源基因。该家族成员的特征是均含有 1 个由 67 个氨基酸残基组成的结构域, 也称为 IQD 结构域^[70]。该结构域不仅含有 1 个 IQ 基序, 还具有 2 个 Ca^{2+} 依赖型的 1-5-10 基序和 1-8-14 基序^[70]。故不同 IQD 结合 CaM 的方式有所不同, *AtIQD1* 与 CaM 的结合依赖 Ca^{2+} ^[71], 而 *AtIQD20* 和 *AtIQD26* 与 CaM 的结合均不依赖 Ca^{2+} ^[72]。

硫代葡萄糖苷是一种参与调控植物防御反应的次生代谢物, 拟南芥 *IQD1* 可以调控多种硫代葡萄糖苷代谢基因的表达, 作为正调控因子增加植物体内硫代葡萄糖苷的积累, 从而促进植物对食草性昆虫的抗性^[71]。最近研究表明, 拟南芥 *IQD1* 还参与了调控植物对病原菌的抗性, *iqd1-1* 对灰霉菌的敏感性增加而超表达的植株对灰霉菌的抗性增加^[73]。

在陆地棉(*Gossypium hirsutum*) *GhIQD31* 和 *GhIQD32* 基因敲除植株中, 抗氧化酶 SOD、CAT 活性降低, 从而提高了陆地棉对干旱和盐胁迫的敏感性^[74]。在大白菜(*Brassica rapa* var. *glabra*)中, 利用 VIGS 技术沉默 *BrIQD5* 基因, 正常情况下的表型与野生型一样, 但干旱处理 10 d 后, 沉默 *BrIQD5* 的植株出现了更严重的黄化和枯萎现象^[75]。而在烟草瞬时超表达 *BrIQD5* 和 *BrIQD35* 植株均提高了对干旱的耐受性^[75-76]。

3.3 IQ 基序(IQM)家族

在拟南芥 IQM 家族中共有 6 个成员(IQM1~

IQM6), N-端具有一段与豌豆重金属诱导蛋白 6A (pea heavy-metal induced protein 6A, PHMIP 6A) 同源性较高的序列, C-端与天花粉素具有较高的同源性, 每个成员均含有 1 个 IQ 基序, 与 CaM 的结合不依赖 Ca^{2+} [77]。而 IQM1 和 IQM4 的 IQ 基序发生突变后, 均不能与 CaM 结合[77-78]。同样地, 水稻中的 8 个 IQM 家族成员也均是通过 IQ 基序结合 OsCaM1, 缺失则不能结合[79], 证明 IQ 基序是 IQM 家族成员与 CaM 结合所必需的。

有研究表明, AtIQM1 可以直接结合 CATALASE2 (CAT2) 并促进其表达, 从而提高 CAT2 活性和间接提高与 JA 途径相关的 ACX2 和 ACX3 活性, 提高 JA 的含量。并且当 IQM1 与 CaM5 结合后, CAT2 活性会被进一步升高, 证明 IQM1 是在 CaM 介导下通过与 CAT2 的结合激活 JA 介导的植物病害反应信号传导途径, 从而提高拟南芥对灰霉菌的抗性[80]。棉花中的 IQM1 在植物抗病性上表现出了相反的作用, 接种黄萎病菌“V991”后 20 d, *GhIQM1* 沉默的植株出现叶片坏死黄化等表型显著轻于野生型[81], 与 SA 途径有关的 *NPR1*、*NPR3* 和 *PR5* 的表达量均提高, 而与 JA 途径有关的后 *AOC*、*AOS* 和 *PDF1.2* 表达均下降, 证明 *GhIQM1* 基因通过激活 JA 信号途径同时负调控 SA 信号和棉花对黄萎病的抗性[81]。

在拟南芥中, IQM4 被证明可以调节植物对非生物胁迫的响应, *iqm4* 在种子萌发和幼苗生长过程中均表现出 ABA 不敏感和盐超敏感表型, 而 *IQM4* 过表达株系则表现出 ABA 和渗透超敏感和盐不敏感表型[78]。

3.4 环核苷酸门控通道(CNGC)家族

CNGCs 是一种由 4 个亚基组成的非选择性阳离子通道, 首个报道的 *CNGC* 基因是在大麦的糊粉蛋白 cDNA 表达文库中筛选 CaM 结合转运蛋白中鉴定出来的[82]。在拟南芥[83]、小麦[84]和大白菜[85]等植物也报道了 *CNGC* 的同源序列。从结构来看, *CNGC* 含有 6 个 α -螺旋的跨膜结构域(S1~S6), 其中 S5 和 S6 间存在 1 个负责离子选择性过滤的 P 结构域(P loop), CaMBD 位于 *CNGCs* 的 C 端, 与位于 C 末端的环核苷酸结合结构域(CNBD)有部分重叠[85]。此外, 植物中的 *CNGCs* 还存在 1 个 IQ 基序, 部分 *AtCNGCs* 通过 IQ 基序与 CaM 结合, 如 *AtCNGC12* 的 N 端还存在 1 个 CaMBD[83], 证明 CaM 对 *CNGCs* 调控可能存在多种方式。

当病原体入侵植物细胞时会引起细胞胞质内 Ca^{2+} 浓度的改变, 而 *CNGC* 作为细胞信号转导级联系统的组分, 一方面可以通过与环核苷酸结合参与调控激活 Ca^{2+} 的内流, 另一方面其通道活性被增多的 Ca^{2+} /CaM 反馈抑制, 从而抑制 Ca^{2+} 的内流[86]。同时植物在防御病原体侵染时会产生超敏反应, 使被感染的细胞死亡, 从而阻止病原体在植物体内继续扩散。*cngc2* 和 *cngc4* 均产生了组成型激活自身免疫反应, 与野生型相比, 体内的 SA 含量提高, *PR* 的组成型表达, 均提高了拟南芥对病原菌的抗性[97]。*ATCNGC11* 和 *ATCNGC12* 的缺失导致拟南芥对灰霉菌和丁香假单胞杆菌无毒株系抵抗力降低, 而由这 2 个基因融合而成的功能突变体 *cpr22* (constitutive expresser of *PR* gene 22) 可以组成型表达 *PR* 基因, 且表型与 *cngc2* 和 *cngc4* 一致, 不同的是 *cpr22* 可以引发 Ca^{2+} 依赖的超敏反应, 且 *ATCNGC12* 过表达可以抑制该组成型免疫表型的产生[88-89]。而进一步研究表明 CaM1 发挥功能依赖的是 *CNGC12* 钙通道活性的激活而并非是 *CNGC11*[90]。*ngc20-4* 可以增强植物的 ETI 效应子触发免疫(effector-triggered immunity)和 PTI (PAMP-triggered immunity) 反应, 同时该单突变体也出现了自身免疫, 但与 *cngc2* 的生长缺陷不一样, 提示两者可能以不同方式调控 Ca^{2+} [91]。这证明 *CNGCs* 可以参与调控植物的免疫防御反应。

此外, *CNGCs* 还涉及调控植物对食草性昆虫的抗性。*AtCNGC19* 参与调控植物识别食草夜蛾并激活由其诱导产生的 Ca^{2+} 内流, *atcngc19* 中 Ca^{2+} 内流减弱, 茉莉酰基异亮氨酸含量、JA 响应基因的表达量和硫代葡萄糖苷积累量均降低, 从而降低了拟南芥对食草性昆虫的抗性。CaM2 作为植物抗虫害的正调节因子, *CNGC19* 可以与其结合从而调控细胞内 Ca^{2+} 浓度, 并将其与下游防御信号耦合[92]。

拟南芥 *CNGC2* 及其在小立碗藓(*Physcomitrella patens*) 的同源蛋白 PaCNGCb 被认为是陆地植物的热传感器, 两者的缺失均会使植株产生超热敏表型, PaCNGCb 的缺失导致植物体内 Ca^{2+} 内流, 产生热休克反应[93]。*cngc2-1* 和 *cngc2-2* 的耐热性增强, 幼苗中抗坏血酸过氧化物酶和热休克蛋白等热响应蛋白的积累增加[94]。而 *AtCNGC10*、*AtCNGC19* 和 *AtCNGC20* 都被证明参与调节拟南芥对盐胁迫的响应, 在 NaCl 处理下, *atcngc10* 突变增强了种子萌发和幼苗时期的拟南芥耐盐性[95]; *AtCNGC19* 和 *AtCNGC20* 在地上部的表达增强, *cngc19* 和 *cngc20* 突

变体植株和愈伤组织生长较迟缓, 而过表达的 *AtCNGC19* 和 *AtCNGC20* 使植株和愈伤组织出现对盐的耐受性^[96-97]。

3.5 肌球蛋白(Myosin)家族

肌球蛋白 Myosins 是个十分庞大的家族, 可分成 37 类, 与其他真核生物相比, 在植物中的数量较少, 只鉴定出 VIII 和 XI 两类植物特异性的肌球蛋白^[98]。肌球蛋白的结构较为保守, 由头、颈和尾三部分组成, 颈部含有 2 条轻链, 其中包含 1~6 个 IQ 基序^[100]。肌球蛋白作为一种分子马达, 能将 ATP 水解产生的化学能转化为供生命活动所需的机械能, 并能够沿着肌动蛋白丝运动。其已被报道的主要功能包括在细胞器运动、有丝分裂以及胞间连丝等起到重要作用^[98], 其成员在植物抗逆方面的研究较少。拟南芥 Myosins XI 共有 13 个成员(XI-1、XI-2、XI-A~XI-K), 其中 XI-2、XI-B 和 XI-F 的 IQ 基序可以轻链的形式与 CaM 结合^[99]。在病原体感染反应中, 5 个肌球蛋白 XI 基因(*XI-1*、*XI-2*、*XI-H*、*XI-I*、*XI-K*) 在叶片的表达量较高, 进一步构建单突和多突变体验证试验证明, 四突变体 *xi-1*、*xi-2*、*xi-i*、*xi-k* 植株对渗透胁迫具有较高的抗性, 用真菌病原体炭疽菌(*Colletotrichum destructivum*) 侵染后, 与野生型相比, 四突变体植株的叶片出现了大量孢子萌发和菌丝的形成, 表现出对病原体完全敏感的表现。提示拟南芥 Myosins XI 是提高植物抗病性的关键调控因子^[100]。

3.6 其他 Ca²⁺不依赖型的钙调素结合蛋白

拟南芥中的 *AtBAG6* 含有 1 个 BAG (BCL-2-associated athanogene) 结构域与 IQ 基序, 与 CaM 结合不依赖游离的 Ca²⁺。编码该蛋白的基因转录是由 SA、H₂O₂ 和高温特异性诱导。过表达 *AtBAG6* 基因会使酵母和植物细胞产生类似于超敏反应的程序性死亡, 且 IQ 基序是该蛋白诱导酵母细胞死亡所必需的, 证明 *AtBAG6* 是一个参与调控植物抗逆和细胞程序性死亡的 CaMBP^[13]。

4 展望

CaM/CML 是目前研究最广泛的 Ca²⁺效应器之一, 它能够通过与下游 CaMBPs 相互作用来参与调控植物的各种生理活动, 尤其是在对逆境胁迫的响

应中发挥重要功能。尽管目前已经鉴定了大量参与植物逆境响应的 CaMBP, 但仍存在一些有待解决的问题。首先, 鉴定新的 CaMBP 是当前最重要的任务之一, 不仅包括经典的 CaM 靶蛋白, 还有目前研究较少的 CML 家族调控的靶蛋白。综合应用多种方法对 CaMBP 进行筛选将会扩展对植物 Ca²⁺ 信号调控网络的认识; 其次, 需要确定 CaMBP 在参与调节下游信号转导途径时是否受到了 CaM/CML 的调控, 在植物抗逆过程中, CAMTA3、CBP60b 和 CBP60g 等 CaMBPs 与 CaM 的结合是它们发挥调控免疫功能所必需的, 其他的 CaMBPs 在植物免疫中的作用是否同样也依赖于 CaM 有待进一步研究; 第三, 需要了解 CaM/CML 及其相对应的 CaMBPs 调节植物抗逆的复杂性, 如 CAMTA3、CBP60b 和 CNGCs 等家族成员在调控植物抗逆中被证明不只是单个 CaMBP 发挥作用, 而是家族成员之间存在拮抗作用或者形成复合物从而共同调节, 且不同家族成员之间, 例如在拟南芥响应病原菌时 CAMTA3 对 CBP60g 和 S4RD1 存在抑制作用, 提示 CaMBPs 之间的作用也有利于完善对植物响应抗逆机制的研究。虽然目前已经研究了部分 CaMBPs 参与调控特定植物的抗逆反应, 但将这些 CaMBPs 用于培育抗逆作物的的工作才刚刚开始, 因此可利用分子标记辅助育种、基因编辑等技术将现有研究成果应用到作物栽培中, 从而获得各种抗逆的品种。

参考文献

- [1] XIONG L M, SCHUMAKER K S, ZHU J K. Cell signaling during cold, drought, and salt stress [J]. *Plant Cell*, 2002, 14(S1): S165-S183. doi: 10.1105/tpc.000596.
- [2] ZENG H Q, XU L Q, SINGH A, et al. Involvement of calmodulin and calmodulin-like proteins in plant responses to abiotic stresses [J]. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 600. doi: 10.3389/fpls.2015.00600.
- [3] FENG Y D, WEI Q. Diversity of the modes for calmodulin binding to its targets [J]. *Prog Chem*, 2012, 24(10): 2028-2039. 冯业丹, 魏群. 钙调素与靶蛋白结合模式的多样性 [J]. *化学进展*, 2012, 24(10): 2028-2039.
- [4] MCCORMACK E, BRAAM J. Calmodulins and related potential calcium sensors of *Arabidopsis* [J]. *New Phytol*, 2003, 159(3): 585-598. doi: 10.1046/j.1469-8137.2003.00845.x.
- [5] O'DAY D H. CaMBOT: Profiling and characterizing calmodulin-binding proteins [J]. *Cell Sign*, 2003, 15(4): 347-354. doi: 10.1016/S0898-6568(02)00116-X.

- [6] CONSONNI C, HUMPHRY M E, HARTMANN H A, et al. Conserved requirement for a plant host cell protein in powdery mildew pathogenesis [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(6): 716–720. doi: 10.1038/ng1806.
- [7] KANG C H, JUNG W Y, KANG Y H, et al. AtBAG6, a novel calmodulin-binding protein, induces programmed cell death in yeast and plants [J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13(1): 84–95. doi: 10.1038/sj.cdd.4401712.
- [8] 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 Rep*, 2012, 31(7): 1269–1281. doi: 10.1007/s00299-012-1247-7.
- [9] YANG T B, CHAUDHURI S, YANG L H, et al. A calcium/calmodulin-regulated member of the receptor-like kinase family confers cold tolerance in plants [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(10): 7119–7126. doi: 10.1074/jbc.M109.035659.
- [10] OKA K, AMANO Y, KATOU S, et al. Tobacco MAP kinase phosphatase (NtMKP1) negatively regulates wound response and induced resistance against necrotrophic pathogens and lepidopteran herbivores [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2013, 26(6): 668–675. doi: 10.1094/Mpmi-11-12-0272-R.
- [11] ZENG H Q, WU H C, WANG G P, et al. *Arabidopsis* CAMTA3/SR1 is involved in drought stress tolerance and ABA signaling [J]. *Plant Sci*, 2022, 319: 111250. doi: 10.1016/j.plantsci.2022.111250.
- [12] WANG L, TSUDA K, TRUMAN W, et al. CBP60g and SARD1 play partially redundant critical roles in salicylic acid signaling [J]. *Plant J*, 2011, 67(6): 1029–1041. doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04655.x.
- [13] ZHANG Y X, XU S H, DING P T, et al. Control of salicylic acid synthesis and systemic acquired resistance by two members of a plant-specific family of transcription factors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(42): 18220–18225. doi: 10.1073/pnas.1005225107.
- [14] LI L S, YING J, LI E, et al. *Arabidopsis* CBP60b is a central transcriptional activator of immunity [J]. *Plant Physiol*, 2021, 186(3): 1645–1659. doi: 10.1093/plphys/kiab164.
- [15] QIN J, WANG K L, SUN L F, et al. The plant-specific transcription factors CBP60g and SARD1 are targeted by a *Verticillium* secretory protein VdSCP41 to modulate immunity [J]. *eLife*, 2018, 7: e34902. doi: 10.7554/eLife.34902.
- [16] LU Y, TRUMAN W, LIU X T, et al. Different modes of negative regulation of plant immunity by calmodulin-related genes [J]. *Plant Physiol*, 2018, 176(4): 3046–3061. doi: 10.1104/pp.17.01209.
- [17] APPIANO M, PAVAN S, CATALANO D, et al. Identification of candidate *MLO* powdery mildew susceptibility genes in cultivated Solanaceae and functional characterization of tobacco *NtMLO1* [J]. *Transgen Res*, 2015, 24(5): 847–858. doi: 10.1007/s11248-015-9878-4.
- [18] PANSTRUGA R. Serpentine plant MLO proteins as entry portals for powdery mildew fungi [J]. *Biochem Soc Trans*, 2005, 33(2): 389–392. doi: 10.1042/Bst0330389.
- [19] BHAT R A, MIKLIS M, SCHMELZER E, et al. Recruitment and interaction dynamics of plant penetration resistance components in a plasma membrane microdomain [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(8): 3135–3140. doi: 10.1073/pnas.0500012102.
- [20] ZHENG Z, NONOMURA T, APPIANO M, et al. Loss of function in Mlo orthologs reduces susceptibility of pepper and tomato to powdery mildew disease caused by *Leveillula taurica* [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e70723. doi: 10.1371/journal.pone.0070723.
- [21] KIM D S, CHOI H W, HWANG B K. Pepper mildew resistance locus O interacts with pepper calmodulin and suppresses *Xanthomonas* AvrBsT-triggered cell death and defense responses [J]. *Planta*, 2014, 240(4): 827–839. doi: 10.1007/s00425-014-2134-y.
- [22] KIM D S, HWANG B K. The pepper *MLO* gene, *CaMLO2*, is involved in the susceptibility cell-death response and bacterial and oomycete proliferation [J]. *Plant J*, 2012, 72(5): 843–855. doi: 10.1111/tpj.12003.
- [23] YU G C, CHEN Q M, WANG X Y, et al. Mildew resistance locus O genes *CsMLO1* and *CsMLO2* are negative modulators of the *Cucumis sativus* defense response to *Corynespora cassiicola* [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(19): 4793. doi: 10.3390/ijms20194793.
- [24] LIM C W, LEE S C. Functional roles of the pepper MLO protein gene, *CaMLO2*, in abscisic acid signaling and drought sensitivity [J]. *Plant Mol Biol*, 2014, 85(1/2): 1–10. doi: 10.1007/s11103-013-0155-8.
- [25] RODRIGUEZ M C S, PETERSEN M, MUNDY J. Mitogen-activated protein kinase signaling in plants [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61: 621–649. doi: 10.1146/annurev-arplant-042809-112252.
- [26] YAMAKAWA H, KATOU S, SEO S, et al. Plant MAPK phosphatase interacts with calmodulins [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(2): 928–936. doi: 10.1074/jbc.M310277200.
- [27] LEE K, SONG E H, KIM H S, et al. Regulation of MAPK phosphatase 1 (AtMKP1) by calmodulin in *Arabidopsis* [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(35): 23581–23588. doi: 10.1074/jbc.M801549200.
- [28] YOO J H, CHEONG M S, PARK C Y, et al. Regulation of the dual specificity protein phosphatase, DsPTP1, through interactions with calmodulin [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(2): 848–858. doi: 10.1074/jbc.M310709200.
- [29] ZAÏDI I, EBEL C, TOUZRI M, et al. TMKP1 is a novel wheat stress responsive MAP kinase phosphatase localized in the nucleus [J]. *Plant*

- Mol Biol, 2010, 73(3): 325–338. doi: 10.1007/s11103-010-9617-4.
- [30] ZAIDI I, EBEL C, BELGAROU N, et al. The wheat MAP kinase phosphatase 1 alleviates salt stress and increases antioxidant activities in *Arabidopsis* [J]. J Plant Physiol, 2016, 193: 12–21. doi: 10.1016/j.jplph.2016.01.011.
- [31] ULM R, ICHIMURA K, MIZOGUCHI T, et al. Distinct regulation of salinity and genotoxic stress responses by *Arabidopsis* MAP kinase phosphatase 1 [J]. EMBO J, 2002, 21(23): 6483–6493. doi: 10.1093/emboj/cdf646.
- [32] BARTELS S, ANDERSON J C, BESTEIRO M A G, et al. MAP kinase phosphatase1 and protein tyrosine phosphatase1 are repressors of salicylic acid synthesis and SNC1-mediated responses in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2009, 21(9): 2884–2897. doi: 10.1105/tpc.109.067678.
- [33] LIU R, LIU Y G, YE N H, et al. AtDsPTP1 acts as a negative regulator in osmotic stress signaling during *Arabidopsis* seed germination and seedling establishment [J]. J Exp Bot, 2015, 66(5): 1339–1353. doi: 10.1093/jxb/eru484.
- [34] BONZA M C, MORANDINI P, LUONI L, et al. *At-ACA8* encodes a plasma membrane-localized calcium-ATPase of *Arabidopsis* with a calmodulin-binding domain at the N terminus [J]. Plant Physiol, 2000, 123(4): 1495–1506. doi: 10.1104/pp.123.4.1495.
- [35] LIU H T, LI G L, CHANG H, et al. Calmodulin-binding protein phosphatase PP7 is involved in thermotolerance in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell Environ, 2007, 30(2): 156–164. doi: 10.1111/j.1365-3040.2006.01613.x.
- [36] ZHANG X, ZHOU H Y, ZANG X N, et al. MIPS: A calmodulin-binding protein of *Gracilaria lemaneiformis* under heat shock [J]. Mar Biotechnol, 2014, 16(4): 475–483. doi: 10.1007/s10126-014-9565-0.
- [37] LIU H T, GAO F, LI G L, et al. The calmodulin-binding protein kinase 3 is part of heat-shock signal transduction in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 2008, 55(5): 760–773. doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03544.x.
- [38] NI L, WANG S, SHEN T, et al. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase OsDMI3 positively regulates saline-alkaline tolerance in rice roots [J]. Plant Sign Behav, 2020, 15(11): 1813999. doi: 10.1080/15592324.2020.1813999.
- [39] YANG J, JI L X, LIU S, et al. The CaM1-associated CCaMK-MKK1/6 cascade positively affects lateral root growth via auxin signaling under salt stress in rice [J]. J Exp Bot, 2021, 72(18): 6611–6627. doi: 10.1093/jxb/erab287.
- [40] YOO J H, PARK C Y, KIM J C, et al. Direct interaction of a divergent CaM isoform and the transcription factor, MYB2, enhances salt tolerance in *Arabidopsis* [J]. J Biol Chem, 2005, 280(5): 3697–3706. doi: 10.1074/jbc.M408237200.
- [41] YOO C Y, PENCE H E, JIN J B, et al. The *Arabidopsis* GTL1 transcription factor regulates water use efficiency and drought tolerance by modulating stomatal density via transrepression of *SDD1* [J]. Plant Cell, 2010, 22(12): 4128–4141. doi: 10.1105/tpc.110.078691.
- [42] WENG H, YOO C Y, GOSNEY M J, et al. Poplar GTL1 is a Ca²⁺/calmodulin-binding transcription factor that functions in plant water use efficiency and drought tolerance [J]. PLoS One, 2012, 7(3): e32925. doi: 10.1371/journal.pone.0032925.
- [43] YOSHIDA T, FUJITA Y, SAYAMA H, et al. AREB1, AREB2, and ABF3 are master transcription factors that cooperatively regulate ABRE-dependent ABA signaling involved in drought stress tolerance and require ABA for full activation [J]. Plant J, 2010, 61(4): 672–685. doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.04092.x.
- [44] PARK C Y, LEE J H, YOO J H, et al. WRKY group IId transcription factors interact with calmodulin [J]. FEBS Lett, 2005, 579(6): 1545–1550. doi: 10.1016/j.febslet.2005.01.057.
- [45] ARRAÑO-SALINAS P, DOMÍNGUEZ-FIGUEROA J, HERRERA-VÁSQUEZ A, et al. WRKY7, -11 and -17 transcription factors are modulators of the bZIP28 branch of the unfolded protein response during PAMP-triggered immunity in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Sci, 2018, 277: 242–250. doi: 10.1016/j.plantsci.2018.09.019.
- [46] CHOI J, HUH S U, KOJIMA M, et al. The cytokinin-activated transcription factor ARR2 promotes plant immunity via TGA3/NPR1-dependent salicylic acid signaling in *Arabidopsis* [J]. Dev Cell, 2010, 19(2): 284–295. doi: 10.1016/j.devcel.2010.07.011.
- [47] LEE S M, KIM H S, HAN H J, et al. Identification of a calmodulin-regulated autoinhibited Ca²⁺-ATPase (ACA11) that is localized to vacuole membranes in *Arabidopsis* [J]. FEBS Lett, 2007, 581(21): 3943–3949. doi: 10.1016/j.febslet.2007.07.023.
- [48] BOURSIAIC Y, LEE S M, ROMANOWSKY S, et al. Disruption of the vacuolar calcium-ATPases in *Arabidopsis* results in the activation of a salicylic acid-dependent programmed cell death pathway [J]. Plant Physiol, 2010, 154(3): 1158–1171. doi: 10.1104/pp.110.159038.
- [49] DIT F N F, MBENGUE M, KWAAITAAL M, et al. Plasma membrane calcium ATPases are important components of receptor-mediated signaling in plant immune responses and development [J]. Plant Physiol, 2012, 159(2): 798–809. doi: 10.1104/pp.111.192575.
- [50] CAMPE R, LANGENBACH C, LEISSING F, et al. ABC transporter PEN3/PDR8/ABCG36 interacts with calmodulin that, like PEN3, is required for *Arabidopsis* nonhost resistance [J]. New Phytol, 2016, 209(1): 294–306. doi: 10.1111/nph.13582.

- [51] APSE M P, AHARON G S, SNEDDEN W A, et al. Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter in *Arabidopsis* [J]. *Science*, 1999, 285(5431): 1256–1258. doi: 10.1126/science.285.5431.1256.
- [52] YAMAGUCHI T, AHARON G S, SOTTOSANTO J B, et al. Vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter cation selectivity is regulated by calmodulin from within the vacuole in a Ca²⁺- and pH-dependent manner [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(44): 16107–16112. doi: 10.1073/pnas.0504437102.
- [53] YANG T B, POOVAIAH B W. A calmodulin-binding/CGCG box DNA-binding protein family involved in multiple signaling pathways in plants [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(47): 45049–45058. doi: 10.1074/jbc.M207941200.
- [54] YANG T B, POOVAIAH B W. An early ethylene up-regulated gene encoding a calmodulin-binding protein involved in plant senescence and death [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(49): 38467–38473. doi: 10.1074/jbc.M003566200.
- [55] YANG T B, PENG H, WHITAKER B D, et al. Characterization of a calcium/calmodulin-regulated SR/CAMTA gene family during tomato fruit development and ripening [J]. *BMC Plant Biol*, 2012, 12: 19. doi: 10.1186/1471-2229-12-19.
- [56] KOO S C, CHOI M S, CHUN H J, et al. The calmodulin-binding transcription factor OsCBT suppresses defense responses to pathogens in rice [J]. *Mol Cells*, 2009, 27(5): 563–570. doi: 10.1007/s10059-009-0081-4.
- [57] WANG Y L, WEI F J, ZHOU H, et al. TaCAMTA4, a calmodulin-interacting protein, involved in defense response of wheat to *Puccinia triticina* [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 641. doi: 10.1038/s41598-018-36385-1.
- [58] DU L Q, ALI G S, SIMONS K A, et al. Ca²⁺/calmodulin regulates salicylic-acid-mediated plant immunity [J]. *Nature*, 2009, 457(7233): 1154–1158. doi: 10.1038/nature07612.
- [59] NIE H Z, ZHAO C Z, WU G H, et al. SR1, a calmodulin-binding transcription factor, modulates plant defense and ethylene-induced senescence by directly regulating *NDR1* and *EIN3* [J]. *Plant Physiol*, 2012, 158(4): 1847–1859. doi: 10.1104/pp.111.192310.
- [60] GALON Y, NAVE R, BOYCE J M, et al. Calmodulin-binding transcription activator (CAMTA) 3 mediates biotic defense responses in *Arabidopsis* [J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(6): 943–948. doi: 10.1016/j.febslet.2008.02.037.
- [61] RAHMAN H, YANG J, XU Y P, et al. Phylogeny of plant CAMTAs and role of AtCAMTAs in nonhost resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 177. doi: 10.3389/fpls.2016.00177.
- [62] RAHMAN H, XU Y P, ZHANG X R, et al. *Brassica napus* genome possesses extraordinary high number of *CAMTA* genes and *CAMTA3* contributes to PAMP triggered immunity and resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 581. doi: 10.3389/fpls.2016.00581.
- [63] LI X H, HUANG L, ZHANG Y F, et al. Tomato SR/CAMTA transcription factors SISR1 and SISR3L negatively regulate disease resistance response and SISR1L positively modulates drought stress tolerance [J]. *BMC Plant Biol*, 2014, 14: 286. doi: 10.1186/s12870-014-0286-3.
- [64] LALUK K, PRASAD K V S K, SAVCHENKO T, et al. The calmodulin-binding transcription factor SIGNAL RESPONSIVE1 is a novel regulator of glucosinolate metabolism and herbivory tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2012, 53(12): 2008–2015. doi: 10.1093/pcp/pcs143.
- [65] QIU Y J, XI J, DU L Q, et al. Coupling calcium/calmodulin-mediated signaling and herbivore-induced plant response through calmodulin-binding transcription factor AtSR1/CAMTA3 [J]. *Plant Mol Biol*, 2012, 79(1/2): 89–99. doi: 10.1007/s11103-012-9896-z.
- [66] PRASAD K V S K, ABDEL-HAMEED A A E, XING D H, et al. Global gene expression analysis using RNA-seq uncovered a new role for SR1/CAMTA3 transcription factor in salt stress [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 27021. doi: 10.1038/srep27021.
- [67] SHKOLNIK D, FINKLER A, PASMANIK-CHOR M, et al. Calmodulin-binding transcription activator 6: A key regulator of Na⁺ homeostasis during germination [J]. *Plant Physiol*, 2019, 180(2): 1101–1118. doi: 10.1104/pp.19.00119.
- [68] PANDEY N, RANJAN A, PANT P, et al. CAMTA 1 regulates drought responses in *Arabidopsis thaliana* [J]. *BMC Genom*, 2013, 14: 216. doi: 10.1186/1471-2164-14-216.
- [69] DOHERTY C J, VAN BUSKIRK H A, MYERS S J, et al. Roles for *Arabidopsis* CAMTA transcription factors in cold-regulated gene expression and freezing tolerance [J]. *Plant Cell*, 2009, 21(3): 972–984. doi: 10.1105/tpc.108.063958.
- [70] ABEL S, SAVCHENKO T, LEVY M. Genome-wide comparative analysis of the *IQD* gene families in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa* [J]. *BMC Evol Biol*, 2005, 5: 72. doi: 10.1186/1471-2148-5-72.
- [71] LEVY M, WANG Q M, KASPI R, et al. *Arabidopsis* IQD1, a novel calmodulin-binding nuclear protein, stimulates glucosinolate accumulation and plant defense [J]. *Plant J*, 2005, 43(1): 79–96. doi: 10.1111/j.1365-3113X.2005.02435.x.
- [72] WEI H Y, GUO Z Q, WANG Z J, et al. Isolation and characterization of calmodulin-binding protein AtQD26 in *Arabidopsis thaliana* [J].

- Prog Biochem Biophys, 2008, 35(6): 703–711. doi: 10.3321/j.issn:1000-3282.2008.06.015.
- 韦慧彦, 郭振清, 王振杰, 等. 拟南芥钙调素结合蛋白AtIQD26的分离鉴定 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2008, 35(6): 703–711. doi: 10.3321/j.issn:1000-3282.2008.06.015.
- [73] BARDA O, LEVY M. IQD1 Involvement in hormonal signaling and general defense responses against *Botrytis cinerea* [J]. Front Plant Sci, 2022, 13: 845140. doi: 10.3389/fpls.2022.845140.
- [74] YANG X, KIRUNGU J N, MAGWANGA R O, et al. Knockdown of *GhIQD31* and *GhIQD32* increases drought and salt stress sensitivity in *Gossypium hirsutum* [J]. Plant Physiol Biochem, 2019, 144: 166–177. doi: 10.1016/j.plaphy.2019.09.027.
- [75] YUAN J P, LIU T K, YU Z H, et al. Genome-wide analysis of the Chinese cabbage *IQD* gene family and the response of BrIQD5 in drought resistance [J]. Plant Mol Biol, 2019, 99(6): 603–620. doi: 10.1007/s11103-019-00839-5.
- [76] YUAN J, YU Z, LI Y, et al. Ectopic expression of *BrIQD35* promotes drought stress tolerance in *Nicotiana benthamiana* [J]. Plant Biol, 2022, 24(5): 887–896. doi: 10.1111/plb.13425.
- [77] ZHOU Y P, DUAN J, FUJIBE T, et al. AtIQM1, a novel calmodulin-binding protein, is involved in stomatal movement in *Arabidopsis* [J]. Plant Mol Biol, 2012, 79(4): 333–346. doi: 10.1007/s11103-012-9915-0.
- [78] ZHOU Y P, WU J H, XIAO W H, et al. *Arabidopsis* IQM4, a novel calmodulin-binding protein, is involved with seed dormancy and germination in *Arabidopsis* [J]. Front Plant Sci, 2018, 9: 721. doi: 10.3389/fpls.2018.00721.
- [79] FAN T, LV T X, XIE C P, et al. Genome-wide analysis of the *IQM* gene family in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plants, 2021, 10(9): 1949. doi: 10.3390/plants10091949.
- [80] LÜ T X, LI X M, FAN T, et al. The calmodulin-binding protein IQM1 interacts with CATALASE2 to affect pathogen defense [J]. Plant Physiol, 2019, 181(3): 1314–1327. doi: 10.1104/pp.19.01060.
- [81] LI M J, LEI J F, ZULPIYIYE-Tuoheniyazi, et al. Cloning and functional verification of *GhIQM1* gene of cotton in response to *Verticillium* wilt [J]. Acta Agron Sin, 2022, 48(9): 2265–2273. doi: 10.3724/SP.J.1006.2022.14109.
- 李名江, 雷建峰, 祖丽皮耶·托合尼亚孜, 等. 棉花 *GhIQM1* 基因克隆及抗黄萎病功能分析 [J]. 作物学报, 2022, 48(9): 2265–2273. doi: 10.3724/SP.J.1006.2022.14109.
- [82] SCHUURINK R C, SHARTZER S F, FATH A, et al. Characterization of a calmodulin-binding transporter from the plasma membrane of barley aleurone [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(4): 1944–1949. doi: 10.1073/pnas.95.4.1944.
- [83] DEFALCO T A, MOEDER W, YOSHIOKA K. Opening the gates: Insights into cyclic nucleotide-gated channel-mediated signaling [J]. Trends Plant Sci, 2016, 21(11): 903–906. doi: 10.1016/j.tplants.2016.08.011.
- [84] GUO J, ISLAM A, LIN H C, et al. Genome-wide identification of cyclic nucleotide-gated ion channel gene family in wheat and functional analyses of *TaCNGC14* and *TaCNGC16* [J]. Front Plant Sci, 2018, 9: 18. doi: 10.3389/fpls.2018.00018.
- [85] LI Q Q, YANG S Q, REN J, et al. Genome-wide identification and functional analysis of the cyclic nucleotide-gated channel gene family in Chinese cabbage [J]. 3 Biotech, 2019, 9(3): 114. doi: 10.1007/s13205-019-1647-2.
- [86] KÖHLER C, NEUHAUS G. Characterisation of calmodulin binding to cyclic nucleotide-gated ion channels from *Arabidopsis thaliana* [J]. FEBS Lett, 2000, 471(2/3): 133–136. doi: 10.1016/S0014-5793(00)01383-1.
- [87] GENGER R K, JURKOWSKI G I, MCDOWELL J M, et al. Signaling pathways that regulate the enhanced disease resistance of *Arabidopsis* “*Defense, No Death*” mutants [J]. Mol Plant Microbe Interact, 2008, 21(10): 1285–1296. doi: 10.1094/Mpmi-21-10-1285.
- [88] YOSHIOKA K, MOEDER W, KANG H G, et al. The chimeric *Arabidopsis* cyclic nucleotide-gated ion channel11/12 activates multiple pathogen resistance responses [J]. Plant Cell, 2006, 18(3): 747–763. doi: 10.1105/tpc.105.038786.
- [89] MOEDER W, URQUHART W, UNG H, et al. The role of cyclic nucleotide-gated ion channels in plant immunity [J]. Mol Plant, 2011, 4(3): 442–452. doi: 10.1093/mp/ssr018.
- [90] ZHANG Z L, HOU C C, TIAN W, et al. Electrophysiological studies revealed CaM1-mediated regulation of the *Arabidopsis* calcium channel CNGC12 [J]. Front Plant Sci, 2019, 10: 1090. doi: 10.3389/fpls.2019.01090.
- [91] ZHAO C H, TANG Y H, WANG J L, et al. A mis-regulated cyclic nucleotide-gated channel mediates cytosolic calcium elevation and activates immunity in *Arabidopsis* [J]. New Phytol, 2021, 230(3): 1078–1094. doi: 10.1111/nph.17218.
- [92] MEENA M K, PRAJAPATI R, KRISHNA D, et al. The Ca²⁺ channel CNGC19 regulates *Arabidopsis* defense against *Spodoptera herbivory* [J]. Plant Cell, 2019, 31(7): 1539–1562. doi: 10.1105/tpc.19.00057.
- [93] FINKA A, CUENDET A F H, MAATHUIS F J M, et al. Plasma membrane cyclic nucleotide gated calcium channels control land plant thermal sensing and acquired thermo-tolerance [J]. Plant Cell, 2012,

- 24(8): 3333–3348. doi: 10.1105/tpc.112.095844.
- [94] KATANO K, KATAOKA R, FUJII M, et al. Differences between seedlings and flowers in anti-ROS based heat responses of *Arabidopsis* plants deficient in cyclic nucleotide gated channel 2 [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2018, 123: 288–296. doi: 10.1016/j.plaphy.2017.12.021.
- [95] JIN Y K, JING W, ZHANG Q, et al. Cyclic nucleotide gated channel 10 negatively regulates salt tolerance by mediating Na⁺ transport in *Arabidopsis* [J]. *J Plant Res*, 2015, 128(1): 211–220. doi: 10.1007/s10265-014-0679-2.
- [96] KUGLER A, KÖHLER B, PALME K, et al. Salt-dependent regulation of a CNG channel subfamily in *Arabidopsis* [J]. *BMC Plant Biol*, 2009, 9: 140. doi: 10.1186/1471-2229-9-140.
- [97] ORANAB S, GHAFAR A, KIRAN S, et al. Molecular characterization and expression of cyclic nucleotide gated ion channels 19 and 20 in *Arabidopsis thaliana* for their potential role in salt stress [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2021, 28(10): 5800–5807. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.06.027.
- [98] FOTH B J, GOEDECKE M C, SOLDATI D. New insights into myosin evolution and classification [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(10): 3681–3686. doi: 10.1073/pnas.0506307103.
- [99] HARAGUCHI T, ITO K, DUAN Z R, et al. Functional diversity of class XI myosins in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2018, 59(11): 2268–2277. doi: 10.1093/pcp/pcy147.
- [100] YANG L, QIN L, LIU G S, et al. Myosins XI modulate host cellular responses and penetration resistance to fungal pathogens [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(38): 13996–14001. doi: 10.1073/pnas.1405292111.