

doi:10.11937/bfyy.20170580

## 西瓜 *CBL* 家族基因的鉴定与特征分析

朱强龙, 赵玉龙, 吕慧玲, 栾非时, 高 鹏

(东北农业大学 园艺园林学院, 农业部东北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘 要:** *CBL* 基因在植物逆境应答过程中具有重要作用,但在西瓜作物的抗逆育种研究中鲜有相关报道。该研究利用生物信息学的分析方法从已发表的西瓜全基因组中鉴定出 7 个 *CBL* 基因(*ClaCBL1*~*ClaCBL7*),并分析了它们在全基因组范围内的分布情况、分子结构特征、顺式元件以及系统进化等基本特征,为进一步研究西瓜 *CBL* 基因的功能提供参考。结果表明:西瓜 *CBL* 基因在全基因组中的分布是不均匀的,其中仅 *ClaCBL4* 基因有 9 个外显子,其余基因均为 8 个外显子,编码区序列大小在 639~738 bp。在进化上西瓜 *CBL* 基因分为 3 个不同的类群;它们编码区域内的氨基酸序列均含有能与 CIPK 互作的 FSPF 高保守性位点及能与钙离子结合的 3 个 EF-hand 结构;除了 *ClaCBL1* 预测定位在胞外基质中,其余的 *ClaCBL* 定位在细胞内的不同部位;在西瓜 *CBL* 基因启动子上游的序列中存在多个应答不同逆境和植物激素的顺式元件,而且 *CBL* 家族不同成员基因含有的顺式元件的种类和数目各不相同。上述分析显示,西瓜 *CBL* 可能参与多种生物学过程,而且不同成员存在功能上的分化。

**关键词:** 西瓜; *CBL* 基因; 分子结构特征; 蛋白结构域; 遗传多样性聚类; 顺式元件

**中图分类号:** S 651 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2017)15-0018-07

钙离子( $\text{Ca}^{2+}$ )作为真核生物中广泛存在的第二信使介导大量的信号传递,在植物的许多生命活动中发挥十分重要的作用<sup>[1]</sup>。植物类钙调磷酸酶 B 蛋白(Calcineurin-B like protein, CBL)是植物中主要钙离子传感器,与一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(CBL-interacting protein kinases, CIPK)互作来调控下游调控基因的表达,在植物应答生物胁迫(如病害、虫害、杂草)、植物激素(如

ABA、ET、GA)以及非生物逆境(如干旱、低温、高盐)等胁迫中均具有非常重要的作用<sup>[2-4]</sup>。目前,植物中有关 *CBL* 基因功能的研究在模式植物拟南芥中较为深入。拟南芥的 *CBL1* 基因正向调节植物响应盐胁迫、干旱胁迫,负向调节植物应答冷胁迫<sup>[5]</sup>,以及在拟南芥种子萌芽与成长过程中响应葡萄糖和赤霉素的胁迫<sup>[6]</sup>; *CBL2*/SCaBP1 和 CIPK11/PKS5 结合可以调控拟南芥对高 pH 的抗性<sup>[7]</sup>; *CBL2* 和 *CBL3* 与 CIPK3/9/23/26 相互作用调控植株生长、种子大小、胚珠发育及高浓度  $\text{Mg}^{2+}$  胁迫的应答<sup>[8-10]</sup>; *CBL4*/SOS3 和 *CBL10*/SCABP8 蛋白在拟南芥中可以和 CIPK24/SOS2 互作,进而调控下游基因 *SOS1* 的表达,促进细胞中钠离子的排出,维持细胞的离子稳态,从而提高植物的根对高盐胁迫的抗性<sup>[11-13]</sup>;过表达 *CBL5* 可以提高拟南芥的耐盐和抗旱能力,但不能主动地被高盐、干旱或低温等胁迫诱导表达<sup>[14]</sup>; *CBL9* 还参与 ABA 的合成及应

**第一作者简介:** 朱强龙(1990-),男,博士研究生,研究方向为西瓜分子遗传育种。E-mail: longzhu2011@126.com.

**责任作者:** 高鹏(1982-),男,博士,副研究员,硕士生导师,现主要从事西甜瓜分子遗传育种等研究工作。E-mail: gaopeng\_neau@163.com.

**基金项目:** 国家自然科学基金面上资助项目(31572144); 国家西甜瓜产业技术体系-分子育种岗位资助项目(CARS-26-02)。

**收稿日期:** 2017-03-30

答反应<sup>[4]</sup>;此外,CBL1 和 CBL9 在拟南芥中可以与 CIPK23 结合,激活并促进下游钾离子转运蛋白(AKT1)的表达,从而增强植物在低钾离子环境条件下的吸收更多的钾离子<sup>[15]</sup>。目前,有关 CBL 的研究还在水稻<sup>[16-17]</sup>、玉米<sup>[18-19]</sup>、豌豆<sup>[20]</sup>、高粱<sup>[21]</sup>、大白菜<sup>[22-23]</sup>、番茄<sup>[24]</sup>、甜瓜<sup>[25]</sup>等多种重要的农业作物中都有研究报道,CBL 基因的研究也日益受到植物研究者的越来越多关注。

西瓜(*Citrullus lanatus*)作为世界性重要的水果型蔬菜作物,最新的统计数据表明,西瓜的世界年总产量为 1 110 万 t,其中我国是西瓜生产量最大的国家,约占世界总产量的 67.6%(www.fao.org/faostat/en/)。因此,西瓜抗逆育种研究对于优质西瓜农业生产和育种具有重要意义。国内外的学者对西瓜的抗逆性也做了大量研究,取得很大进展,但有关西瓜 CBL 的研究报道很少。在低钾离子胁迫的西瓜根系转录组分析的研究中,随着低钾胁迫的处理时间延长,CBL-CIPK-AIP 复合体逐渐激活 AKT1,促进钾离子的吸收,从而调控钾离子代谢促进西瓜根系适应低钾环境<sup>[26]</sup>。

该研究利用生物信息学的分析方法从已发表的西瓜全基因组中鉴定出 7 个 CBL 基因,并分析了它们在基因组范围内的分布、分子结构特征、顺式元件以及系统进化关系,以期为进一步研究西瓜 CBL 的生物学功能提供参考依据。

## 1 材料与方法

利用已发表的拟南芥所有 CBL 基因编码序列<sup>[16]</sup>在葫芦科基因组数据库网站 ICuGI(<http://www.icugi.org/cgi-bin/ICuGI/index.cgi>)中以西瓜的所有基因集为数据库进行 Blast 搜索比对(E-value 为  $1e-10$ ,Identity 大于 60%),鉴别西瓜基因组中所有与拟南芥 CBL 同源的基因序列,再进行人工筛查矫正并返回到拟南芥基因组数据库 TAIR 中进行序列同源性比对验证。

对鉴定出的所有西瓜 CBL 基因进行结构分析,利用 GSDS(<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>)在线预测编码区序列和基因组序列<sup>[27]</sup>。根据编码的蛋白质序列进行系统进化分析,先利用 Clustalx v2.1 对蛋白质序列进行多重序列比对,

再用 MEGA v7.0 软件对其进行同源进化树的构建<sup>[28]</sup>,采用邻近法(Neighbor Joining, NJ)法,重复运算 1 000 次。CBL 基因编码蛋白序列的比对使用 DNAMAN v9.0 软件,其编码蛋白序列的基序(Motif)分析利用 PROSITE(<http://prosite.expasy.org/>)和 Motif Scan([http://hits.isb-sib.ch/cgi-bin/motif\\_scan/](http://hits.isb-sib.ch/cgi-bin/motif_scan/))在线按标准参数进行。CBL 基因编码蛋白的亚细胞定位分别在 TargetP(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>)和 WOLFPSORT(<http://www.genscript.com/wolf-psort.html>)中按标准参数进行在线预测<sup>[29-30]</sup>,然后取 2 种方法预测结果的交集。截取西瓜 CBL 基因组序列起始密码子上游 2 000 bp 序列进行顺式反应元件分析,利用 PLANT-CARE(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)在线进行<sup>[31]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 西瓜 CBL 基因的鉴定和序列特征

该研究利用生物信息学的分析方法,从已发表的西瓜全基因组中鉴别出 7 个 CBL 基因,按照它们在染色体上的分布和排列顺序依次命名为 *ClaCBL1*~*ClaCBL7*。这些基因的预测编码区差异不大,长度均在 639~738 bp,但是基因组序列大小差别很大,主要是内含子存在较大差异(表 1)。除了 *ClaCBL4* 含有 9 个外显子外,其余西瓜 CBL 基因外显子数均为 8 个。西瓜 1、8、9 号染色体含有 1 个 CBL 基因;5、10 号染色体上各有 2 个 CBL 基因;其余染色体没有(图 1、表 1)。亚细胞定位预测结果显示,西瓜 CBL 蛋白在细胞内的位置呈现多样性,*ClaCBL1* 定位在胞外基质中,细胞质中有 *ClaCBL3* 和 *ClaCBL4*,定位在细胞核中的是 *ClaCBL5*,*ClaCBL2* 和 *ClaCBL7* 在叶绿体中发挥功能,还有一个同时定位在细胞核和细胞质之中的是 *ClaCBL6*,没有 CBL 定位在线粒体中。这说明西瓜的 CBL 家族基因编码的蛋白质在不同的细胞器中行使功能。

### 2.2 西瓜 CBL 基因的系统进化及其编码氨基酸序列分析

由图 2 可知,7 个西瓜 CBL 基因主要分为 3 个大的类群。类群 1 含有 4 个 CBL 基因:

表 1  
Table 1  
西瓜 CBL 基因的特征分析  
Characteristics of watermelon CBL genes

基因 Gene	染色体 Chromosome	位置 Locus	编码区 Coding sequence/bp	外显子数 Number of exons	预测的亚细胞定位 Predicted subcellular localization
<i>ClaCBL1/Cla014375</i>	1	30 336 060~30 339 704	681	8	胞外基质
<i>ClaCBL2/Cla021155</i>	5	837 079~838 633	660	8	叶绿体
<i>ClaCBL3/Cla004253</i>	5	9 269 238~9 272 125	639	8	细胞质
<i>ClaCBL4/Cla022675</i>	8	25 648 147~25 652 224	738	9	细胞质
<i>ClaCBL5/Cla016110</i>	9	14 115 708~14 117 956	642	8	细胞核
<i>ClaCBL6/cia008761</i>	10	77 813~80 694	642	8	细胞质及细胞核
<i>ClaCBL7/Cla004434</i>	10	4 820 228~4 822 200	672	8	叶绿体

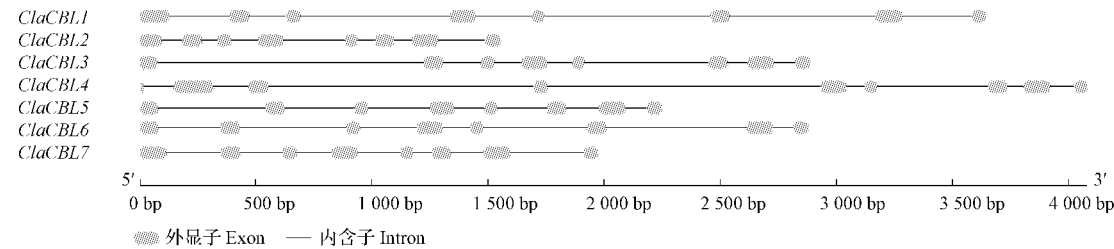


图 1 西瓜 CBL 基因的外显子-内含子结构  
Fig. 1 Exon-intron structure of watermelon CBL genes

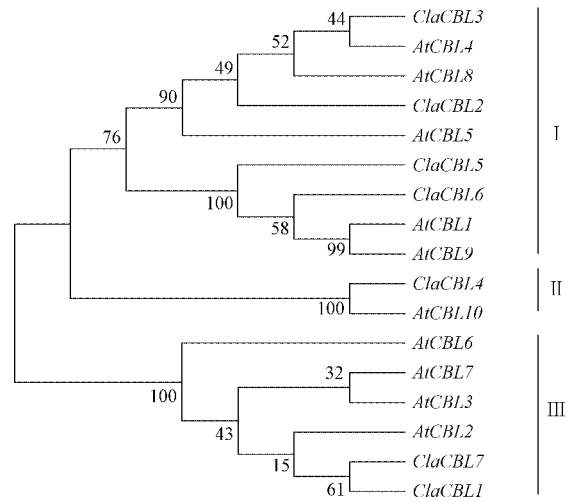


图 2 西瓜和拟南芥 CBL 基因的系统进化分析  
Fig. 2 Phylogeny of watermelon and  
*Arabidopsis* CBL genes

*ClaCBL2*、*ClaCBL3*、*ClaCBL5* 和 *ClaCBL6*；类群 II 只含有一个基因 *ClaCBL4*；而 *ClaCBL1* 和 *ClaCBL7* 为第 III 类。从西瓜和拟南芥 CBL 的比较进化分析来看，*ClaCBL1* 和 *ClaCBL7* 与 *AtCBL2* 同源，*ClaCBL2* 与 *AtCBL8* 同源，*ClaCBL3* 与 *AtCBL4* 同源，*ClaCBL4* 与

*AtCBL10* 同源，*ClaCBL5* 与 *ClaCBL6* 可能与 *AtCBL1* 和 *AtCBL9* 同源。编码氨基酸序列的多重序列比对分析的结果表明，西瓜 CBL 基因的蛋白编码序列含有多个保守位点(图 3)，其中包括可能与激酶 CIPK 相互作用的 FPSF 位点。不同方法对西瓜 CBL 编码蛋白序列的基序分析表明，它们都含有 3 个 EF-hand 蛋白结构(表 2)。从编码氨基酸序列分析上看，它们既能与 CIPK 相互作用，也能结合钙离子。

表 2 西瓜 CBL 编码蛋白的基序分析

Table 2 Motif analysis of protein coding sequence of watermelon CBL genes

基因 Gene	EF 手性结构 EF-hand	
	PROSITE	Motif Scan
<i>ClaCBL1/Cla014375</i>	3	3
<i>ClaCBL2/Cla021155</i>	3	3
<i>ClaCBL3/Cla004253</i>	3	3
<i>ClaCBL4/Cla022675</i>	3	3
<i>ClaCBL5/Cla016110</i>	3	3
<i>ClaCBL6/cia008761</i>	3	3
<i>ClaCBL7/Cla004434</i>	3	3

注：PROSITE 和 Motif Scan 为蛋白序列基序分析的在线工具。  
Note: The PROSITE and Motif Scan are the online analytics tools for identifying the motifs in protein sequence.

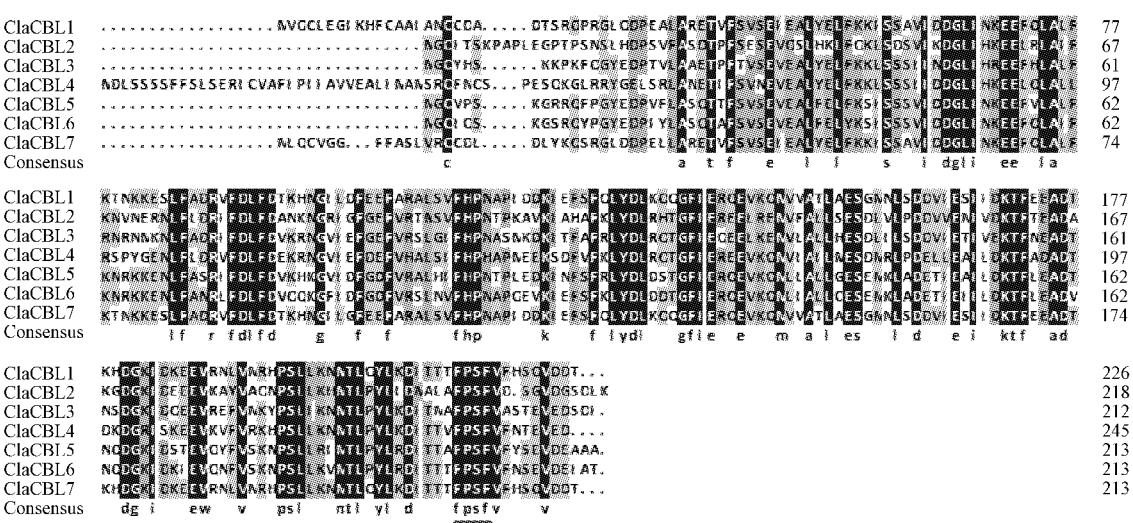


图 3 西瓜 CBL 基因预测编码蛋白质的序列比对

Fig. 3 Alignment of protein coding sequence of watermelon CBL genes

2.3 西瓜 CBL 基因的顺式元件分析

在转录水平上调控基因表达是植物及其它真核生物中基因调控的关键步骤,而顺式元件的预测可为研究基因的时空、组织特异性表达调控提供重要线索。对西瓜 CBL 基因起始密码子上游 2 000 bp 的基因组序列分析的结果表明,西瓜不同 CBL 成员基因上游序列中均含有多个能够应答非生物逆境胁迫和植物激素的顺式元件,并且它们含有的顺式元件的类型和数目各不相同(表 3)。多个 CBL 基因不仅含有非生物逆境胁迫应答元件,还含有植物激素胁迫的应答元件如 ClaCBL3、ClaCBL4 和 ClaCBL6,既含有脱落酸应答元件 ABRE,也有热胁迫应答元件 HSE。这表明西瓜 CBL 基因可能参与多种逆境胁迫和植物

激素应答过程,具有广泛的重要生物学功能。根据拟南芥 CBL 功能分析的结果,结合西瓜顺式元件分析和遗传进化分析,推测西瓜 ClaCBL1 参与赤霉素(GA)、水杨酸(SA)、热胁迫及生物逆境应答;ClaCBL2 参与茉莉酸甲酯(MeJA)、GA、热胁迫及防卫和逆境应答;ClaCBL3 参与脱落酸(ABA)、乙烯、GA、水杨酸、冷胁迫及生物逆境等应答;ClaCBL4 参与 ABA、MeJA、GA、SA、热胁迫和生物逆境应答;ClaCBL5 参与 MeJA、GA 等激素及热胁迫、干旱胁迫及生物逆境应答;ClaCBL6 参与 ABA、热胁迫、干旱胁迫、真菌病害等环境和生物逆境应答,ClaCBL5 和 ClaCBL6 可能与 AtCBL1 和 AtCBL9 一样可以促进钾离子的吸收;ClaCBL7 参与乙烯、GA、SA、干旱胁迫、热胁迫

表 3 西瓜 CBL 的顺式元件

Table 3 Cis-elements of watermelon CBL genes

基因 Gene	脱落酸 (ABA) 应答顺式元 件 ABRE	真菌病原 物应答顺 式元件 Box-W1	茉莉酸甲酯 (MeJA)应 答顺式元 件 CGTCA-motif	乙烯应 答顺式 元件 ERE	赤霉素(GA) 响应顺式元件 GARE-motif /P-box	热胁迫 应答顺 式元件 HSE	冷胁迫 应答顺 式元件 LTR	干旱胁迫 应答顺式 元件 MBS	防卫和逆 境应答顺 式元件 TC-rich repeats	水杨酸(SA) 应答顺式 元件 TCA-element	防卫应答 顺式元件 W box
ClaCBL1	—	—	—	—	1	3	—	—	4	1	—
ClaCBL2	—	—	2	—	1/1	2	—	—	4	—	—
ClaCBL3	2	—	—	1	1/1	—	2	—	5	1	—
ClaCBL4	3	—	1	—	2	1	—	—	3	1	—
ClaCBL5	—	1	1	—	1	2	—	1	1	—	1
ClaCBL6	3	1	—	—	—	2	—	2	1	—	1
ClaCBL7	—	2	—	1	—	2	—	2	2	1	2

迫及生物逆境信号应答。此外, ClaCBL1 和 ClaCBL2 可能具有可 AtCBL2 相似的功能, 如促进植株的生长、调节种子的大小等。但西瓜中这些 CBL 基因的实际生物学功能和意义, 仍需要进一步试验研究和验证。

### 3 讨论

钙离子作为植物中关键的第二信使, 与 CBL 蛋白结合将外界的信号传递到细胞内, 参与调控植物对生物和非生物逆境胁迫的应答, 在植物的许多生命活动中扮演着十分重要的角色<sup>[32]</sup>。因此, 研究西瓜 CBL 的作用机理有助于提高西瓜分子育种及转基因育种中西瓜新品种的抗逆性。在该研究中, 通过生物信息学分析, 从西瓜的全基因组范围内鉴定出 7 个 CBL 基因, 并对这些基因的染色体分布、结构和系统进化等特征进行了分析。结果表明, 西瓜的 7 个 CBL 基因在整个基因组中的物理图谱分布是无规律的: 在 1 号、8 号和 9 号染色体上分别含有 1 个 CBL 基因, 5 和 10 号染色体上都分别有 2 个 CBL 基因。西瓜 CBL 基因结构分析表明, CBL 基因编码区的大小差异较小, 这些基因大部分都是 8 个外显子, 只有 ClaCBL4 拥有 9 个外显子, 这与拟南芥、番茄和甜瓜等作物的 CBL 基因结构分析结果基本一致<sup>[16, 24-25]</sup>。从这些基因的亚细胞定位预测分析结果来看, 西瓜 CBL 基因的编码产物定位结果比较复杂, 2 个 CBL 基因定位在细胞质中, 2 个 CBL 基因定位在叶绿体中, 在细胞核和胞外基质中各有 1 个 CBL, 还用 1 个 CBL 基因同时定位在细胞核与细胞质之中, 然而却没有 CBL 基因定位在线粒体中, 甜瓜中也报道没有 CBL 基因的亚细胞定位在线粒体中<sup>[25]</sup>, 这说明西瓜不同的 CBL 成员可能执行不同的生物学功能。系统进化分析显示, 这些基因可以分为 3 个大的类群, 第 I 类群有 4 个基因, 第 II 类群有 1 个基因, 第 III 类群有 2 个基因, 可能这 3 个类群由不同的祖先基因进化而来。它们编码的蛋白都具有 FPSF 位点及 3 个 EF-hand 结构, FPSF 位点被认为是 CBL 与蛋白激酶 CIPK 互作的保守位点<sup>[25]</sup>, 而具有 EF-hand 结构是植物中钙离子感受器的关键特征之一<sup>[3]</sup>。从西瓜 CBL 顺式元件分析结果来看, 它们都含有多个应答不同逆境胁迫和植物激素的顺式元件,

且含有的顺式元件的类型和数目各不相同, 表明它们可能参与西瓜与环境互作的多种生物学过程, 而且在生物学功能上有一定差异。该研究为进一步克隆和研究西瓜 CBL 基因的重要生物学功能奠定了基础。

### 参考文献

- [1] LUAN S. The CBL-CIPK network in plant calcium signaling[J]. Trends Plant Sci, 2009(1): 37-42.
- [2] SANCHEZ-BARRENA M J, MARTINEZ-RIPOLL M, ALBERT A. Structural biology of a major signaling network that regulates plant abiotic stress: The CBL-CIPK mediated pathway[J]. Int J Mol Sci, 2013(3): 5734-5749.
- [3] KIM K N. Stress responses mediated by the CBL calcium sensors in plants[J]. Plant Biotechnol Rep, 2013(1): 1-8.
- [4] PANDEY G K, CHEONG Y H, KIM K N, et al. The calcium sensor calcineurin B-like 9 modulates abscisic acid sensitivity and biosynthesis in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 2004(7): 1912-1924.
- [5] CHEONG Y H, KIM K N, PANDEY G K, et al. CBL1, a calcium sensor that differentially regulates salt, drought, and cold responses in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 2003(8): 1833-1845.
- [6] LI Z Y, XU Z S, CHEN Y, et al. A novel role for *Arabidopsis* CBL1 in affecting plant responses to glucose and gibberellin during germination and seedling development[J/OL]. PLoS One, 2013(2): e56412.
- [7] FUGLSANG A T, GUO Y, CUIN T A, et al. *Arabidopsis* protein kinase PKS5 inhibits the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase by preventing interaction with 14-3-3 protein[J]. Plant Cell, 2007(5): 1617-1634.
- [8] TANG R J, ZHAO F G, GARCIA V J, et al. Tonoplast CBL-CIPK calcium signaling network regulates magnesium homeostasis in *Arabidopsis*[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015(10): 3134-3139.
- [9] ECKERT C, OFFENBORN J N, HEINZ T, et al. The vacuolar calcium sensors CBL2 and CBL3 affect seed size and embryonic development in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant J, 2014(1): 146-156.
- [10] TANG R J, LIU H, YANG Y, et al. Tonoplast calcium sensors CBL2 and CBL3 control plant growth and ion homeostasis through regulating V-ATPase activity in *Arabidopsis*[J]. Cell Res, 2012(12): 1650-1665.
- [11] MAO J, MANIK S M N, SHI S, et al. Mechanisms and physiological roles of the CBL-CIPK networking system in *Arabidopsis thaliana*[J]. Genes, 2016, 7(9): 62.
- [12] QUAN R, LIN H, MENDOZA I, et al. SCABP8/CBL10, a putative calcium sensor, interacts with the protein kinase SOS2 to protect *Arabidopsis* shoots from salt stress[J]. Plant Cell, 2007

- (4):1415-1431.
- [13] JI H, PARDO J M, BATELLI G, et al. The salt overly sensitive (SOS) pathway: Established and emerging roles[J]. *Mol Plant*, 2013(2):275-286.
- [14] CHEONG Y H, SUNG S J, KIM B G, et al. Constitutive overexpression of the calcium sensor CBL5 confers osmotic or drought stress tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Mol Cells*, 2010(2):159-165.
- [15] XU J, LI H D, CHEN L Q, et al. A protein kinase, interacting with two calcineurin B-like proteins, regulates K<sup>+</sup> transporter AKT1 in *Arabidopsis*[J]. *Cell*, 2006(7):1347-1360.
- [16] KOLUKISA OGLU U, WEINL S, BLAZEVIĆ D, et al. Calcium sensors and their interacting protein kinases: Genomics of the *Arabidopsis* and rice CBL-CIPK signaling networks[J]. *Plant Physiol*, 2004(1):43-58.
- [17] GU Z, MA B, JIANG Y, et al. Expression analysis of the calcineurin B-like gene family in rice (*Oryza sativa* L.) under environmental stresses[J]. *Gene*, 2008(1-2):1-12.
- [18] WANG M, GU D, LIU T, et al. Overexpression of a putative maize calcineurin B-like protein in *Arabidopsis* confers salt tolerance[J]. *Plant Mol Biol*, 2007(6):733-746.
- [19] 李利斌, 刘开昌, 王殿峰, 等. 玉米 CBL 基因的生物信息学分析[J]. 玉米科学, 2010(1):6-11.
- [20] MAHAJAN S, SOPORY S K, TUTEJA N. Cloning and characterization of CBL-CIPK signalling components from a legume (*Pisum sativum*) [J]. *FEBS J*, 2006(5):907-925.
- [21] 李利斌, 刘开昌, 王殿峰, 等. 高粱 CBL 家族基因的鉴定和初步分析[J]. 山东农业科学, 2009(6):1-5.
- [22] 李利斌, 王殿峰, 刘立峰, 等. 大白菜 CBL 家族基因的鉴定和遗传进化分析[J]. 山东农业科学, 2009(5):4-7.
- [23] 张永涛, 刘立峰, 李化银, 等. 三个新的大白菜 CBL 基因的鉴定和特征分析[J]. 山东农业科学, 2012(12):7-10.
- [24] 刘淑梅, 王施慧, 刘明毓, 等. 番茄 CBL 家族基因的鉴定和遗传进化分析[J]. 分子植物育种, 2015(10):2268-2273.
- [25] 刘明毓, 纪复勤, 马强, 等. 甜瓜 CBL 基因的鉴定和特征分析[J]. 山东农业科学, 2015(10):17-21.
- [26] FAN M, HUANG Y, ZHONG Y, et al. Comparative transcriptome profiling of potassium starvation responsiveness in two contrasting watermelon genotypes[J]. *Planta*, 2014(2):397-410.
- [27] HU B, JIN J, GUO A Y, et al. GSDS 2.0: An upgraded gene feature visualization server [J]. *Bioinformatics*, 2015(8):1296-1297.
- [28] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Mol Biol Evol*, 2013(12):2725-2729.
- [29] HORTON P, PARK K J, OBAYASGI T, et al. WoLF PSORT: Protein localization predictor[J]. *Nucleic Acids Res*, 2007 (Web Server issue):585-587.
- [30] EMANUELSSON O, BRUNAK S, VON H G, et al. Locating proteins in the cell using TargetP, SignalP and related tools [J]. *Nat Protoc*, 2007(4):953-971.
- [31] 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 Res*, 2002(1):325-327.
- [32] THODAY-KENNEDY E L, JACOBS A K, ROY S J. The role of the CBL-CIPK calcium signalling network in regulating ion transport in response to abiotic stress[J]. *Plant Growth Regul*, 2015, 76(1):3-12.

## Identification and Characterization of CBL Family Genes in Watermelon

ZHU Qianglong, ZHAO Yulong, LYU Huiling, LUAN Feishi, GAO Peng

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Northeast Agricultural University/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticulture Crops (Northeast region), Ministry of Agriculture, Harbin, Heilongjiang 150030)

**Abstract:** Plant CBL family genes play important roles in response to environmental stimuli. However, the available knowledge of CBL in watermelon is insufficient. In this study, seven CBL genes (*ClaCBL1*—*ClaCBL7*) were annotated in watermelon genome by bioinformatics method and their genomic distribution, molecular feature, phylogeny and *cis*-elements were also analyzed for providing valuable information for further functional dissection of watermelon CBL genes. The results showed that watermelon CBL genes were unevenly distributed in genome, and only one (*ClaCBL4*) had nine exons and the rest of them had eight exons. The putative coding sequence length of CBL ranges from 639 bp to 738 bp. On the basis of phylogeny, they were divided into three groups. Their coded proteins had FPSF motif, which interacted with CIPK kinases, and three EF-hand motifs, which could bind calcium ions. The putative proteins of *ClaCBL* were all localized into different subcellular locations

doi:10.11937/bfyy.20165158

# 干制辣椒雄性不育系与保持系间多态性 InDel 标记的筛选

姜 童, 王 辉, 杨延杰, 林 多

(青岛农业大学 园艺学院, 青岛市遗传改良与育种重点实验室, 山东 青岛 266109)

**摘 要:**以 3 对干制辣椒雄性不育系以及相应保持系(15005A, 15006B; 16011A, 16012B; 16063A, 16064B)为试材, 采用 InDel 标记的方法对干制辣椒雄性不育系与保持系间进行检测, 以期筛选出干制辣椒雄性不育与保持系间存在多态性的标记。结果表明: 在 44 个 InDel 标记中, 仅有一个标记 CIDH776 在 3 对不育系和保持系间存在一致的多态性, 该标记在不育系中分别扩增出约为 600 bp 和 650 bp 左右的 DNA 片段, 而在相应保持系中均未扩增出相应条带。初步认为, 分子标记 CIDH776 可用于干制辣椒雄性不育系与保持系间的分子标记辅助鉴定。

**关键词:**干制辣椒; 雄性不育; InDel 标记

**中图分类号:** S 641.303.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2017)15-0024-05

辣椒(*Capsicum annuum* L.)属茄科辣椒属一年生或有限多年生植物, 因其维生素 C 含量高

**第一作者简介:**姜童(1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向为蔬菜遗传育种。E-mail: 583944745@qq.com.

**责任作者:**林多(1973-), 女, 博士, 教授, 研究方向为蔬菜营养生理与品质育种。E-mail: linduo73@163.com.

**基金项目:**山东省农业重大应用技术创新资助项目(682214007); 山东省农业良种工程资助项目(6622315070); 青岛农业大学应用型人才培养特色名校建设工程教学研究资助项目(XJG2013006, XJG2013127); 青岛农业大学高层次人才科研基金资助项目(6631115041); 山东省自然科学基金资助项目(ZR2014CQ034)。

**收稿日期:**2017-04-01

而深受消费者欢迎。辣椒雄性不育是指植物花药不能产生正常有功能的花粉的现象, 通常包括花药无法产生花粉, 花粉败育以及花药无法开裂这几种现象。由于辣椒杂交优势明显, 目前市场上所用的大部分种子是杂交一代, 但是随着国内农资以及劳动力等价格的提高, 杂种一代的生产成本也逐渐增高, 而雄性不育是迄今为止能够降低这一成本的有效途径之一<sup>[1]</sup>。

InDel 即插入缺失, 是针对基因组中插入缺失位点而设计的 PCR 标记, 广泛分布于基因组, 数目众多, 经 PCR 扩增、电泳分离以及相应的染色技术检测, 得到的多态性 DNA 片段即为 InDel 标记, 具有分布广、重复性好、检测方便、呈共显性

except ClaCBL1 in extracellular matrix. In addition, there are several *cis*-elements existed in upstream sequences of watermelon *CBL* genes, which could response to different environmental stimuli and phytohormones. And the *cis*-element types and number of different watermelon *CBL* genes were not identical. These results indicated that watermelon *CBL* genes might involve in multiple biological processes and they had different functions.

**Keywords:** watermelon (*Citrullus lanatus*); *CBL* gene; sequence characterization; protein structure; phylogeny; *cis*-elements