

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2024.04.002

李桐舟, 章然风, 詹兰兰, 等. 甘蓝型油菜 IQM 基因家族成员全基因组鉴定和分析 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2024, 46(4): 13-23.

甘蓝型油菜 IQM 基因家族成员 全基因组鉴定和分析

李桐舟, 章然风, 詹兰兰, 夏吉春, 张凯,
王倩倩, 王文宁, 唐康, 徐新福

西部(重庆)科学城种质创制大科学中心/西南大学 农学与生物科技学院, 重庆 400715

摘要: IQM(IQ-Motif Containing) 基因家族是在拟南芥中被鉴定出的一类 Ca^{2+} 不依赖的钙调素结合蛋白 (CaMBP), 参与了拟南芥成花调控、气孔运动以及抗逆境胁迫等一系列重要生理活动。从拟南芥基因出发, 通过生物信息学方法, 在白菜 (*B. rapa*)、甘蓝 (*B. oleracea*)、黑芥 (*B. nigra*)、甘蓝型油菜 (*B. napus*)、芥菜型油菜 (*B. juncea*)、埃塞俄比亚芥 (*B. carinata*) 6 个芸薹属 (*Brassica*) 作物中鉴定了 26 个 IQM 基因家族成员, 其中甘蓝型油菜鉴定了 7 个 IQM 基因家族成员, 分布在 6 个染色体上。对 7 个甘蓝型油菜基因进行了全基因组分析, 将它们分为了 3 个亚家族, 确定了其基因结构、蛋白质保守基序、物理位置、进化关系。结果表明: 基因结构与蛋白质保守基序的分布相对保守, 进化的过程中发生了基因丢失, 4 对基因存在大片段复制事件, 受到的是自然选择。BnIQM 基因功能、蛋白互作网络分析的结果表明: 部分 BnIQM 基因可能参与了植物体生物和非生物胁迫响应。RNA-Seq 分析的结果发现: 多个 BnIQM 基因在叶片和花序等部位高度表达, 且不同基因在不同发育时期和不同组织中表现出不同的表达模式, 表明在进化过程中基因发生了功能分化。在对非生物胁迫的表达分析中发现: 大部分甘蓝型油菜基因对几类主要的非生物胁迫存在明显响应。

关键词: 甘蓝型油菜; IQM 基因; 钙信号通路; 非生物胁迫

中图分类号: S634.3

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2024)04-0013-11

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Genome-wide Analysis of the IQM Gene Family in Rapeseed (*Brassica napus* L.)

LI Tongzhou, ZHANG Ranfeng, ZHAN Lanlan,
XIA Jichun, ZHANG Kai, WANG Qianqian,
WANG Wengning, TANG Kang, XU Xinfu

收稿日期: 2022-04-15

基金项目: 财政部和农业农村部 国家现代农业产业技术体系项目 (CARS-12)。

作者简介: 李桐舟, 硕士研究生, 主要从事油菜育种研究。

通信作者: 徐新福, 副研究员, 硕士研究生导师。

Integrative Science Center of Germplasm Creation in Western China (Chongqing) Science City/College of Agronomy and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: *IQM* (IQ-Motif Containing) gene family is a Ca^{2+} independent calmodulin-binding protein (CaMBP) identified in *Arabidopsis thaliana*, which is involved in a series of important physiological activities such as flower formation regulation, stomatal movement, and resistance to stress. Based on *IQM* gene of *Arabidopsis thaliana*, this study, 26 *IQM* gene family members were identified from 6 species of *Brassica*, *B. rapa*, *B. oleracea*, *B. nigra*, *B. napus*, *B. juncea* and *B. carinata* by bioinformatic analysis, among them 7 *IQM* gene family members were identified in *B. oleracea*, which were distributed on six chromosomes. Whole genome analysis divided 7 *IQM* genes of *B. napus* into three sub-families, and determined their genetic structure, protein conservative motif, physical location, evolutionary relationships. The results showed that the genetic structure and the distribution of protein conservative motifs were relatively conservative, and gene loss occurred during the evolution. Large fragment replication events happened in 4 pairs of genes as a result of natural selection. The function of *BnIQM* gene was also studied. The results of protein interaction network analysis indicated that some *BnIQM* genes may be involved in the response of plant to biotic and abiotic stresses. RNA-seq analysis showed that several *IQM* genes were highly expressed in leaves and inflorescences of *B. napus* L., and different genes showed different expression patterns in different developmental stages and tissues, indicating that functional differentiation of genes occurred during the process of evolution. At the same time, analysis of gene expression under abiotic stress showed that most of the *IQM* genes in *B. napus* responded obviously to several kinds of abiotic stresses.

Key words: *Brassica napus* L.; *IQM* Gene; calcium signaling pathway; abiotic stress

甘蓝型油菜(*Brassica napus* L.)是世界上最重要的油料作物之一,对我国的油料供应至关重要,其产量受到各种生物和非生物胁迫的影响^[1]. Ca^{2+} 作为高等植物细胞中最重要的第二信使之一,在细胞生长、光合作用、气孔运动以及生物和非生物胁迫等一系列的生理生化活动中发挥着关键的作用^[2-3]. 在高等植物细胞中存在着一系列的钙离子传感器,外界环境的变化会改变细胞内钙离子的浓度,而不同种类的钙离子传感器通过感知钙离子浓度的变化从而引发细胞内一系列的生理生化反应,这就是存在于高等植物细胞中的钙信号通路^[4]. 研究钙信号通路及其传感器蛋白基因对培育抗逆型甘蓝型油菜品种、提升油菜产量至关重要.

目前高等植物细胞中已经报道的钙离子传感器主要有 4 类:钙依赖蛋白激酶(CDPK),钙调磷酸酶-互作蛋白激酶(CBL-CIPK),钙调素(CAM)和钙调素类似蛋白(CML)^[5]. CAM 蛋白是一种螺旋蛋白,包括两个配对的钙离子结合手型基序(Ca^{2+} -binding EF-hand motifs). 每个基序均含有保守的螺旋-环-螺旋(HLH)结构, CAM 在与 Ca^{2+} 结合后构象发生改变,通过与下游钙调素结合蛋白(calmodulin-binding protein, CaMBP)相互作用,激活广泛的靶蛋白,参与不同的细胞过程,从而调节植物的生理生化反应^[6-7].

CaMBP 依赖特定的基序与钙调素相互识别,目前已经报道的 3 类保守识别基序(1-8-14 基序,1-5-10 基序和 IQ 基序),其中 1-8-14 基序,1-5-10 基序为 Ca^{2+} 依赖型基序,而 IQ 基序为 Ca^{2+} 不依赖型基序. 目前具有 IQ 基序的蛋白家族主要分为 5 类:肌球蛋白家族、钙调素结合转录激活蛋白家族(CaMTA)、包含 IQ67 结构域的 IQD 家族、环核苷酸门控通道家族(CNGC)和 IQ 基序蛋白家族(*IQM*)^[8]. *IQM* 家族最早由 Zhou 等^[9]在拟南芥中鉴定出来,家族不同于之前在植物中报道的其他含 IQ 基序的蛋白家族,而是在具有 IQ 基序的同时,还存在豌豆重金属诱导蛋白 6 基序(HMIP6)和天花粉蛋白同源结构域,这是其家族成员的共有特征. 拟南芥家族成员有不同的功能,可能参与了高等植物中一系列的调控过程. 据报道,

ATIQM1 和 *ATIQM4* 参与了 ABA 信号调控的气孔运动, *ATIQM3*, *ATIQM5*, *ATIQM6* 参与了拟南芥花周期的成花调控^[10-12].

综上, *IQM* 基因家族在拟南芥的生理功能及其作用机制中得到了一定的揭示, 但在其他物种中该基因家族的研究较少. 我们以芸薹属的甘蓝型油菜(*B. napus* L.)为主要研究对象, 对其进行全基因组分析, 在 6 种芸薹属作物中共鉴定了 26 个基因, 其中甘蓝型油菜中鉴定了 7 个基因.

1 材料与方法

1.1 基因的鉴定

拟南芥 *IQM* 蛋白序列基于 Zhou 等^[9]鉴定的 6 个基因, 并从 TAIR10^[13]数据库([ftp. Arabidopsis. org](ftp://Arabidopsis.org))中下载其蛋白序列, 5 种芸薹属植物全基因组数据和全蛋白序列下载自 BRAD^[14]数据库([http: //brassicadb. cn](http://brassicadb.cn)), 埃塞俄比亚芥(*Brassica carinata*)全基因组数据和全蛋白数据来自 2021 年发布的埃塞俄比亚芥全基因组数据^[15-16]([https: //www. ncbi. nlm. nih. gov/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)). 通过 HMMER 3.0 程序^[17], 基于拟南芥基因全蛋白序列多序列比对结果, 构建了基因特异性的隐马尔科夫模型(The Hidden Markov Model, HMM)^[18]; 使用该模型在 HMMER 3.0 程序中搜索 6 种芸薹属植物中可能为 *IQM* 家族的成员, 筛选 *E* 值小于 0.001 的成员, 随后在 SMART([http: //smart. embl-heidelberg. de/](http://smart.embl-heidelberg.de/))和 PFAM([http: //www. pfam. org/](http://www.pfam.org/))^[19-20]数据库中进一步鉴定候选家族成员, 最终确定各物种的家族成员.

1.2 进化树分析

本研究基于 6 个芸薹属植物和拟南芥的基因家族成员全蛋白序列进行多序列比对和进化树分析, 使用的软件为 MEGA11(Department of Biological Sciences, Tokyo Metropolitan University, Tokyo, Japan)^[21], 并采用邻位相连法, 构建 7 个物种的无根系统发育树, Bootstrap 初始值为 1 000 次. 进化树的绘制使用 Evolvview 软件 2.0 版本([https: //evolgenius. info/evolview-v2](https://evolgenius.info/evolview-v2))^[22].

1.3 基因与蛋白质结构分析

从 BRAD 数据库^[14]下载甘蓝型油菜全基因组的 GFF 注释文件, 使用 GSDS v2.0([http: //gsds. cbi. pku. edu. cn/](http://gsds.cbi.pku.edu.cn/))软件^[23]进行基因结构分析, 通过 MEME 程序(Motif Education Multiple Expectation Maximization)^[24]分析甘蓝型油菜 *IQM* 蛋白的保守基序, motif 的最大数量定义为 10, 宽度设置为 6~200 个残基.

1.4 染色体定位和共线性分析

基于甘蓝型油菜基因组注释文件中的信息, 将所有基因定位到对应染色体上; 采用 MCScanX 算法^[25]进行共线性分析, 鉴定 *BnIQM* 基因间存在的串联重复和大片段复制; 使用 TBtools 工具^[26]进行可视化并计算同义替换率(*Ks*)、非同义替换率(*Ka*)和分歧时间(*t*).

1.5 顺势作用元件分析和亚细胞定位

根据甘蓝型油菜注释文件提供的基因位置信息, 提取了甘蓝型油菜 *IQM* 家族 2 000 bp 的 promoter 序列, 提交到 Plant CARE 服务器^[27], 分析 promoter 序列上具备的顺式作用元件并用 TBtools 工具^[26]可视化; 使用 wolf([https: //www. genscript. com/wolf-psort. html](https://www.genscript.com/wolf-psort.html))^[28]软件进行甘蓝型油菜基因的亚细胞定位预测.

1.6 蛋白互作网络分析

提取甘蓝型油菜基因全蛋白序列在 STRING 数据库([https: //string-db. org/](https://string-db.org/))^[29]中搜索与基因存在互作关系的甘蓝型油菜基因, 最低交互得分设定为 0.400; 在芸薹属作物基因表达数据库 BrassicaEDB([https: //brassica. biodb. org/](https://brassica.biodb.org/))^[30]中查询互作基因的功能注释, 根据搜索结果使用 Cytoscape^[31]软件绘制蛋白互作网络关系图.

1.7 组织表达分析

从 BrassicaEDB 数据库中查询甘蓝型油菜 *IQM* 基因家族成员在甘蓝型油菜 ZS11 生长周期各组织中和在胁迫下的表达量数据,使用 TBtools 工具^[26]将数据可视化.

2 结果与分析

2.1 *IQM* 基因的鉴定和进化关系分析

使用 6 个拟南芥基因全长蛋白序列^[9]作为模板,搜索了 6 个芸薹属栽培种中存在的基因家族成员,涵盖了 3 个二倍体种白菜(*B. rapa*)、甘蓝(*B. oleracea*)和黑芥(*B. nigra*)以及 3 个四倍体种甘蓝型油菜(*B. napus*)、芥菜型油菜(*B. juncea*)和埃塞俄比亚芥(*B. carinata*),分别鉴定到了白菜 5 个、甘蓝 4 个、黑芥 1 个、甘蓝型油菜 7 个、芥菜型油菜 5 个、埃塞俄比亚芥 4 个,共 26 个 *IQM* 基因家族成员(表 1).

为了更好地研究 *IQM* 家族成员在拟南芥和芸薹属作物中的分子进化及系统发育关系,建立了 *IQM* 家族成员的系统发育树(图 1). 根据系统发育树的结果, *IQM* 家族可分为 4 个亚家族,分别是 *IQM1*, *IQM2*, *IQM3* 和 *IQM4*, 其中 *IQM2* 是拥有最多成员的亚家族,共有 17 个成员,占总成员的 53.1%; *IQM3* 和 *IQM4* 分别拥有 5 个和 9 个成员,占 15.6%和 28.1%; *IQM1* 仅有 1 个成员(AT3G52870),占 3.2%(表 1).

在系统发育树中,我们发现甘蓝型油菜基因与白菜、芥菜型油菜和甘蓝存在直系同源(Orthologs)关系,并发现了 5 对直系同源基因对(*BnaA08g11930D/BjuA043707*, *BnaC03g66780D/BolC03g080690.2J*, *BnaC01g05180D/BraA01g004940.3C*, *BnaA04g15350D/BjuA016251*, *BnaC05g39710D/BolC05g053000.2J*),同时还发现 *BnaC01g37540D/BnaA01g37320D* 存在旁系同源关系.

表 1 拟南芥和 6 个芸薹属作物中 *IQM* 基因数量统计

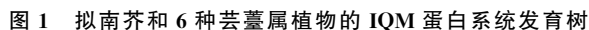
亚家族	拟南芥	黑芥	白菜	甘蓝	甘蓝型油菜	芥菜型油菜	埃塞俄比亚芥	总数
<i>IQM1</i>	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>IQM2</i>	2	1	2	1	4	5	2	17
<i>IQM3</i>	1	0	2	1	0	0	1	5
<i>IQM4</i>	2	0	1	2	3	0	1	9
总数	6	1	5	4	7	5	4	32

研究甘蓝型油菜 *IQM* 基因家族成员的基本特征,包括氨基酸数、等电点、蛋白分子量、编码序列长度和 wolf 亚细胞定位预测^[28],结果显示,所鉴定的家族成员预测蛋白分子量范围为 53 037.7~65 584.5 Da,氨基酸数范围为 463~575,预测的等电点范围为 6.02~9.01(表 2). 根据 wolf 数据库^[28]亚细胞定位的预测结果, *BnaA08g11930D* 定位在叶绿体,其余 6 个成员均定位于细胞核.

表 2 Bn*IQM* 蛋白理化特性

基因名	氨基酸数	蛋白分子量/Da	等电点	编码序列长度/bp	亚细胞定位
<i>BnaC05g39710D</i>	575	65 584.5	6.02	1 725	N ¹
<i>BnaA01g37320D</i>	463	53 037.7	7.38	1 389	N ¹
<i>BnaC03g66780D</i>	558	63 144.9	9.01	1 674	N ¹
<i>BnaA04g15350D</i>	524	59 372.7	8.19	1 572	N ¹
<i>BnaC01g37540D</i>	556	63 201.2	7.14	1 668	N ¹
<i>BnaA08g11930D</i>	516	58 659.9	8.50	1 548	CH ²
<i>BnaC01g05180D</i>	470	53 226.8	8.89	1 410	N ¹

注: 1 为细胞核, 2 为叶绿体.



基于 4 对存在大片段复制的基因对, 计算了这 4 对基因的非同义替换率(Ka)、同义替换率(Ks)和 Ka/Ks 值(表 3), 进一步研究了这些基因对所受到的进化选择情况. 结果显示, 4 对基因对的 Ka/Ks 均小于 1, 表明这些基因受到的是自然选择. 通过 Ks 值计算了这 4 对基因发生大片段复制的时间, 发现 *BnaC01g37540D/BnaC05g39710D* 是最早发生片段复制事件的基因对, 发生在距今 1 310 万年前, 而 *BnaA08g11930D/BnaC03g66780D* 的大片段复制事件发生在距今 289 万年前, 是距今最近发生的大片段复制事件.

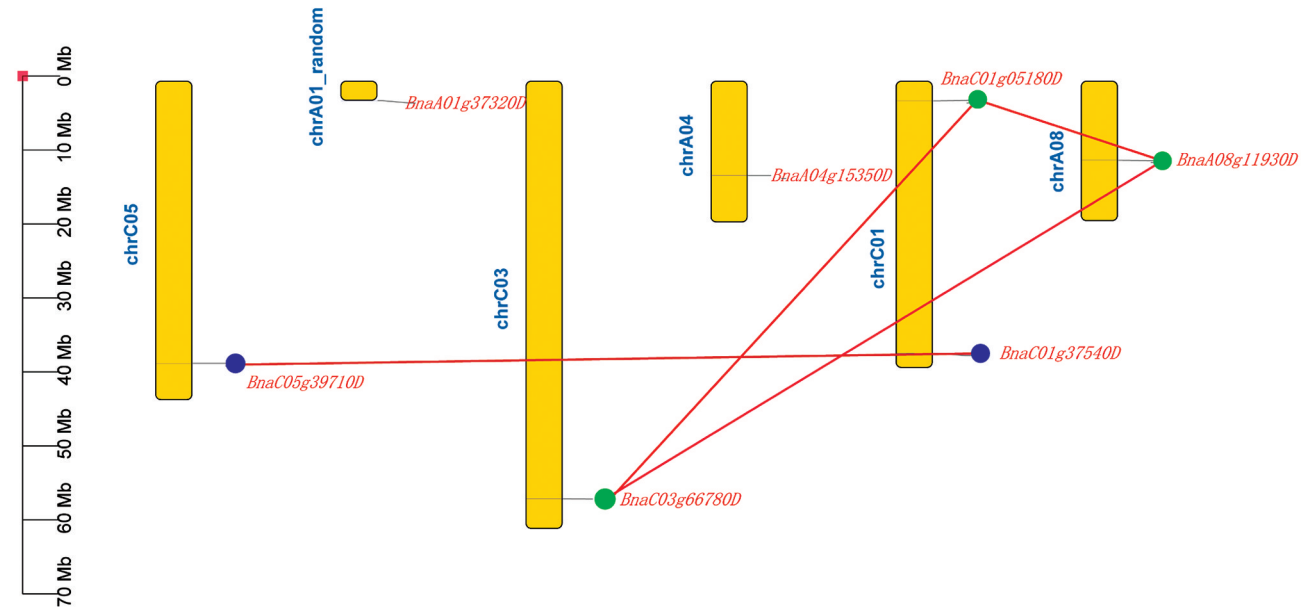


图 2 *BnIQM* 基因在甘蓝型油菜染色体上的分布和组内共线性分析

表 3 基因间的进化选择事件

基因 1	基因 2	$Ka/\%$	$Ks/\%$	Ka/Ks	分离事件距今时间/年
<i>BnaA08g11930D</i>	<i>BnaC03g66780D</i>	0.89	8.69	0.10	2.89×10^6
<i>BnaC01g05180D</i>	<i>BnaC03g66780D</i>	4.59	26.20	0.17	8.73×10^6
<i>BnaA08g11930D</i>	<i>BnaC01g05180D</i>	4.41	27.30	0.16	9.11×10^6
<i>BnaC01g37540D</i>	<i>BnaC05g39710D</i>	5.27	39.30	0.13	1.31×10^7

2.3 基因结构和保守基序分析

基因结构可以反映 *IQM* 基因的进化情况, 根据 BRAD^[14] 提供的甘蓝型油菜注释信息构建 7 个甘蓝型油菜 *IQM* 基因结构图(图 3), 并根据 *IQM* 基因的无根进化树进行排列. 无根进化树显示甘蓝型油菜 *IQM* 基因可分为 3 个亚家族, 这 3 个亚家族分别包含 3, 1, 3 个成员. 不同亚家族的外显子数量不同, 有 6~10 个不等, 其中属于亚家族 I 的 *BnaC03g66780D* 和 *BnaA08g11930D* 的外显子最多, 拥有 10 个外显子, 同一亚家族之间外显子结构相似. 使用 PFAM 和 SMART 数据库^[19-20] 对家族成员进行分析, 发现所有甘蓝型油菜 *IQM* 基因只含有 IQ 结构域, 且同一亚家族内 IQ 结构域的相对位置相似.

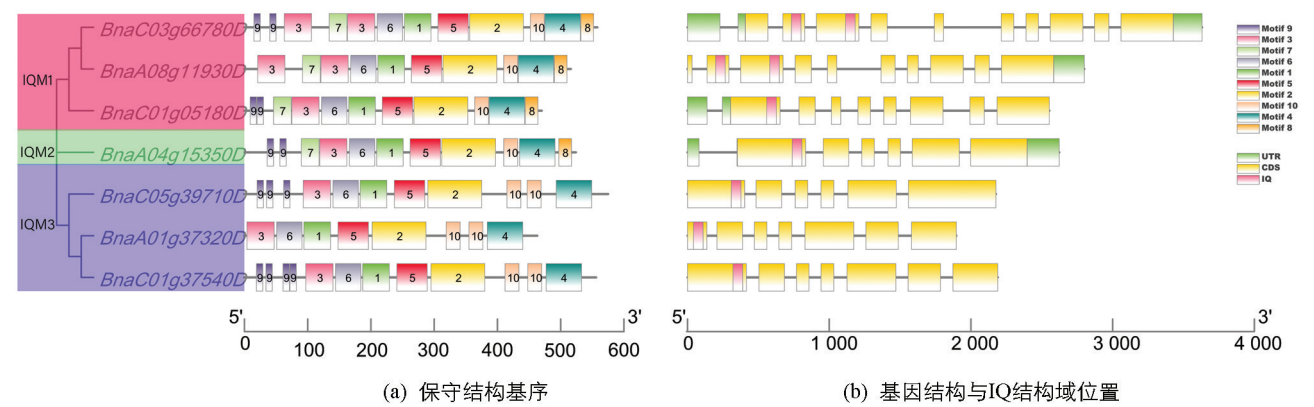


图 3 *BnIQM* 基因蛋白基序和保守结构域分析

2.4 顺势作用元件分析

为了研究甘蓝型油菜 *IQM* 基因在植物体内表达的调控机制和应激反应, 我们鉴定了甘蓝型油菜 *IQM* 家族 2 000 bp 的 promoter 序列上所具备的顺势作用元件(图 4). 检测到很多参与光响应的顺势作用元件, 如 G-box, GA-motif, ATCT-motif, GATA-motif, I-box, TCT-motif 和 GT1-motif. 这些 promoter 序列上还具备一些逆境响应元素, 主要有参与低温反应的顺式作用元件 LTR、厌氧诱导所必需的顺式作用的调节元件 ARE、干旱诱导 MYB 的结合位点 MBS.

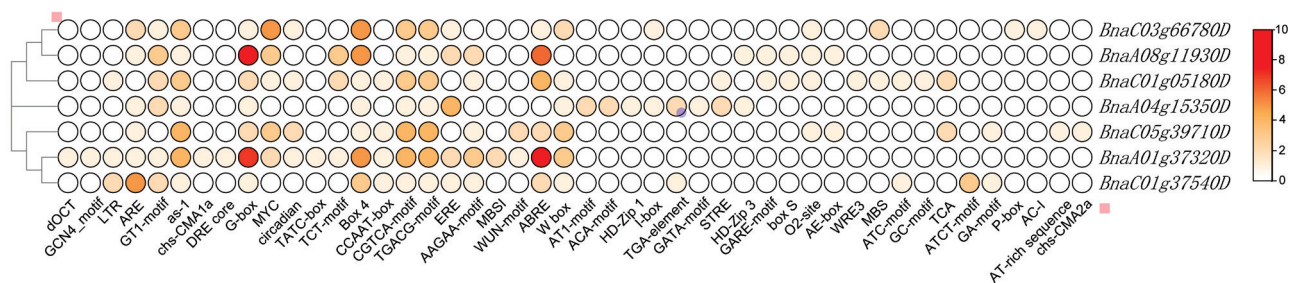
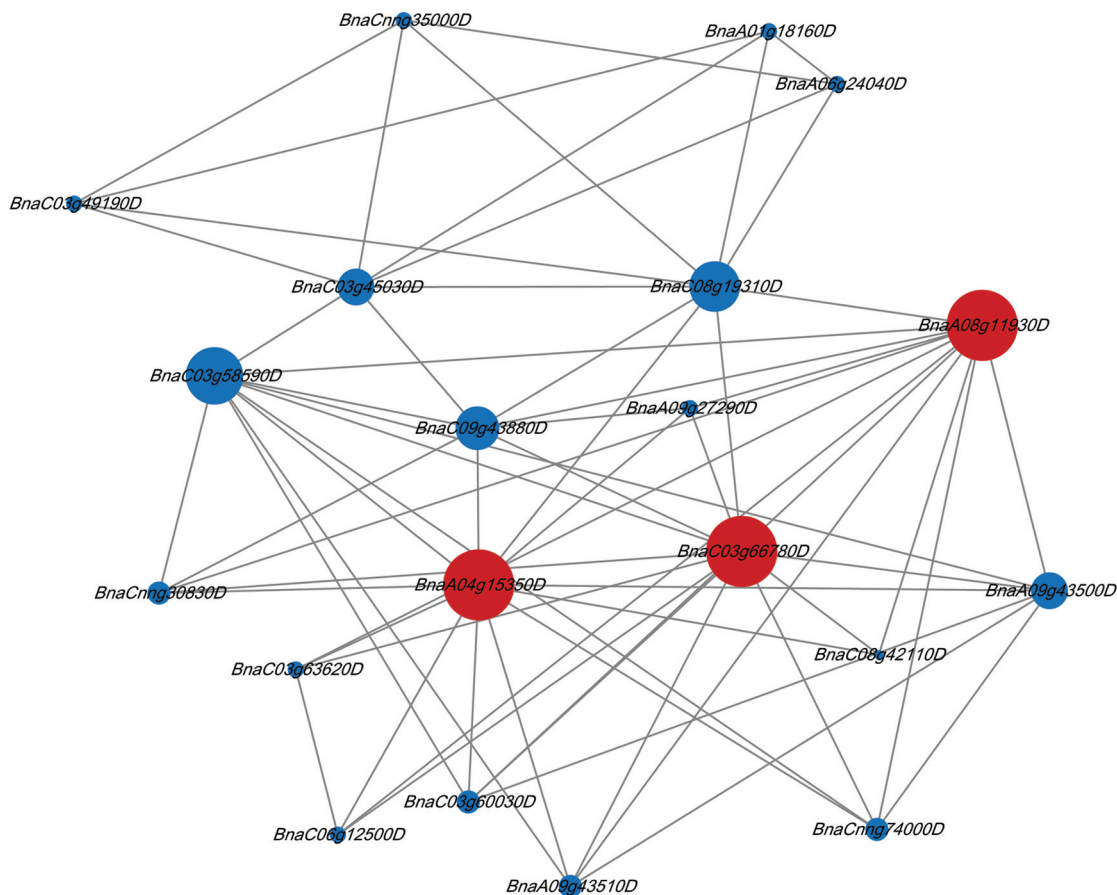


图 4 甘蓝型油菜启动子中的顺势作用元件分析热图

2.5 蛋白互作网络分析

绘制 *BnIQM* 基因的蛋白互作网络关系图(图 5), 研究 *IQM* 基因在甘蓝型油菜中参与的一系列生物过程。



红色圆圈为甘蓝型油菜 *IQM* 基因, 蓝色圆圈为与 *BnIQM* 基因存在互作的甘蓝型油菜基因.

图 5 *BnIQM* 基因蛋白互作网络

甘蓝型油菜中 3 个 *IQM* 基因(*BnaA04g15350D*, *BnaC03g66780D*, *BnaA08g11930D*)参与膜攻击复合体和穿孔素(MACPF)蛋白在植物体中的生理作用. 据报道该蛋白在植物体抗生物和非生物胁迫过程中发挥了显著作用^[32]. *BnaA04g15350D*, *BnaC03g66780D*, *BnaA08g11930D* 与 4-香豆酸-辅酶 a 连接酶(4-Coumarate-CoA ligase, 4CL)合成基因存在互作, 该酶是苯丙烷途径的一个重要分支, 在植物抗旱和渗透胁迫中有重要作用^[33]. *BnaA04g15350D*, *BnaC03g66780D*, *BnaA08g11930D* 与脂多糖诱导的肿瘤坏死因子- α (LITAF)蛋白存在互作, LITAF 蛋白在植物的生物/非生物胁迫响应信号中发挥作用^[34]. *BnaC05g39710D*, *BnaC01g37540D*, *BnaA01g37320D*, *BnaC01g05180D* 未发现互作映射.

2.6 *BnIQM* 基因表达分析

绘制甘蓝型油菜 *IQM* 基因各生长期表达模式热图(图 6), 研究 *IQM* 基因在整个甘蓝型油菜生活史中的表达情况. *BnaC03g66780D*, *BnaA08g11930D* 在整个生长发育过程中的叶片均有较高的表达量; *BnaC01g05180D* 在油菜盛花期的老叶, 以及成熟期的角果中有较高的表达; *BnaA04g15350D* 在苗期的真叶, 以及成熟期的老叶中均有较高的表达; *BnaC05g39710D*, *BnaA01g37320D* 和 *BnaC01g37540D* 的表达情况比较相似, 相对于其他成员在大部分受试器官和组织中表达水平相对较低, 但是在发芽期的幼根中表达量相对于其他器官和组织高. *BnaA01g37320D* 和 *BnaC01g37540D* 在盛花期花序顶端的表达量相对其他器官和组织高. 这些结果表明在甘蓝型油菜中不同亚家族的 *IQM* 基因表达模式存在差异, 且同一亚家族内表达模式相似.

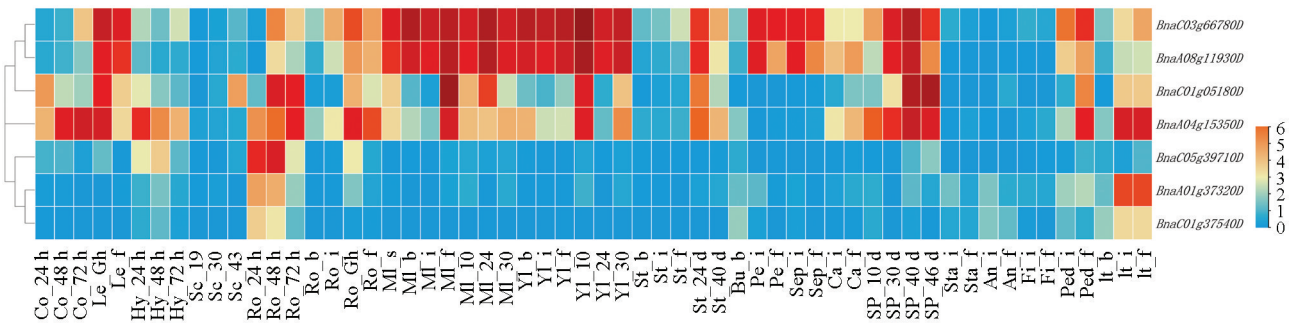


图 6 甘蓝型油菜 *IQM* 基因 ZS11 品种的 RNA-seq 表达谱分析

蛋白质互作网络分析的结果显示, 油菜 *IQM* 基因可能参与了植物体内多种抗逆境生理生化反应过程. 我们在 BrassicaEDB^[30] 中查询了甘蓝型油菜 *IQM* 基因在各种胁迫条件下的表达水平, 绘制 *BnIQM* 基因家族成员在 ZS11 的苗期叶片中干旱、高温以及低温胁迫下的表达谱热图(图 7).

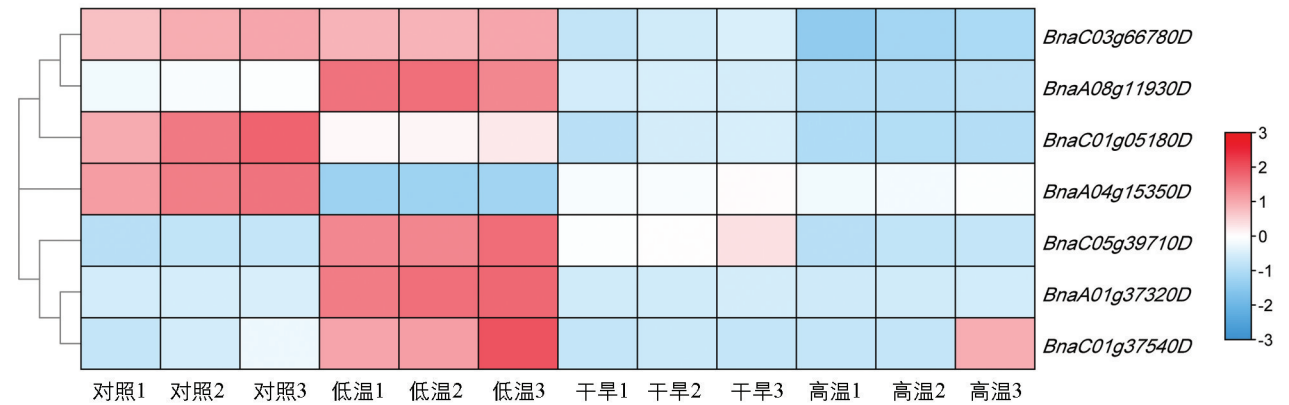


图 7 *BnIQM* 基因在不同胁迫处理下的表达量热图

发现所有甘蓝型油菜 *IQM* 基因在这些非生物胁迫下表达谱均发生了变化, 其中 *BnaC03g66780D*

在干旱条件以及热应激时表达量下调, 对冷应激不敏感. 与之相反, *BnaA08g11930D* 在冷应激条件下表达量上调, 对干旱胁迫以及热应激不敏感. *BnaC01g05180D* 和 *BnaA04g15350D* 在 3 种处理下表达量均下调, 但是 *BnaC01g05180D* 在冷应激时下调量相对较少, *BnaA04g15350D* 在冷应激时下调量相对较多; *BnaC01g05180D* 在干旱和高温环境下表达量下调较大, *BnaA04g15350D* 表达量下调相对较少. *BnaC05g39710D*, *BnaA01g37320D* 和 *BnaC01g37540D* 在非生物胁迫下的表达模式相似, 除了 *BnaC05g39710D* 在干旱胁迫下表达量上调外, 均表现为冷应激下表达量上调, 在干旱和热应激下表达量大多下调.

3 讨论与结论

甘蓝型油菜作为世界上最重要的油料作物之一, 同时也是世界上第二大经济作物, 是由白菜(*B. rapa*)和甘蓝(*B. oleracea*)自然杂交形成的异源多倍体^[35-37]. 甘蓝型油菜基因组的获得^[14]为系统分析甘蓝型油菜基因家族铺平了道路, 因而很多家族得到了研究^[38-41]. *IQM* 家族作为植物特异的基因家族广泛存在于许多植物中, 该家族自 2010 年在拟南芥中被鉴定^[9]以来, 已经有研究报道了其参与植物中许多重要的生物学过程^[10-12, 42-43], 但该家族在拟南芥以外物种中的研究, 除了水稻(*Oryza sativa* L.)外还鲜有报道^[44], 人们对于 *IQM* 家族的了解还不够全面.

对 *BnIQM* 进化分析结果表明, 芸薹属中基因数量少于预期^[45-46], 拟南芥基因在进化过程中发生了丢失事件. 在组内共线性分析中, 我们发现片段复制是 *BnIQM* 基因扩张的主要方式, 在组内进化过程中受到自然选择.

根据 *BnIQM* 的基因结构和蛋白保守基序结构, 可以将 *BnIQM* 分为 3 个亚家族, 同一亚家族之内结构相似度较高, 亚家族之间有一定的差异. 所有的 *IQM* 家族成员在编码 IQ 结构域的 Motif 3 上高度保守, 该基序与豌豆重金属诱导蛋白 6(HMIP6)^[9]相关, 存在 Motif 7 和 Motif 8 这种亚家族 I 和亚家族 II 特有的基序, 这在一定程度上反映了 *BnIQM* 基因间的进化关系.

据报道, 基因在拟南芥中参与了植物体的气孔运动和成花调控等生理活动^[10-12]. 在本研究中, *BnIQM* 基因 2 000 bp 的 promoter 序列上具备多种光响应元件、非生物胁迫的响应元件, 同时蛋白互作关系显示部分 *BnIQM* 基因参与了多个响应生物与非生物胁迫过程. 在表达分析中, 发现不同的甘蓝型油菜基因在甘蓝型油菜生活史中的表达模式存在一定差异, 具有明显的组织特异性, 并且亚家族内基因表达模式相似, *BnaA01g37320D* 和 *BnaC01g37540D* 在盛花期花序顶端的表达量相对其他成员明显较高, 这表明它们可能参与了甘蓝型油菜的成花调控; 同时 *BnIQM* 基因普遍对非生物胁迫存在响应. 结合以上结果, 我们认为甘蓝型油菜基因可能通过与拟南芥中相似的途径参与了甘蓝型油菜抗非生物胁迫的响应过程, 各基因在进化的过程中功能发生了一定的分化.

本研究系统研究了芸薹属(*Brassica*)植物中的 *IQM* 基因家族, 揭示了芸薹属中基因的进化情况, 初步研究了甘蓝型油菜基因的特性, 为后续进一步研究这些基因的功能提供了参考, 有利于人们利用这些基因的特性, 提升甘蓝型油菜的抗逆性和产量.

参考文献:

[1] 唐章林, 王霖, 张娅茹, 等. 甘蓝型油菜种质资源苗期耐湿性综合评价与筛选 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2022, 44(12): 19-28.

[2] AGURLA S, GAHIR S, MUNEMASA S, et al. Mechanism of Stomatal Closure in Plants Exposed to Drought and Cold Stress [J]. Advances in Experimental Medicine and Biology, 2018, 1081: 215-232.

[3] SCHWARTZ A. Role of Ca²⁺ and EGTA on Stomatal Movements in *Commelina Communis* L [J]. Plant Physiology,

- 1985, 79(4): 1003-1005.
- [4] NGC K Y, MCAINSH M R, GRAY J E, et al. Calcium-based Signalling Systems in Guard Cells [J]. New Phytologist, 2001, 151(1): 109-120.
- [5] DEFALCOT A, BENDER K W, SNEDDEN W A. Breaking the Code: Ca^{2+} Sensors in Plant Signalling [J]. Biochemical Journal, 2010, 425(1): 27-40.
- [6] ANDREWS C, XU Y T, KIRBERGER M, et al. Structural Aspects and Prediction of Calmodulin-binding Proteins [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 22(1): 308.
- [7] BOUCHÉ N, YELLIN A, SNEDDEN W A, et al. Plant-specific Calmodulin-binding Proteins [J]. Annual Review of Plant Biology, 2005, 56: 435-466.
- [8] LUAN S, KUDLA J, RODRIGUEZ-CONCEPCION M, et al. Calmodulins and Calcineurin B-like Proteins: Calcium Sensors for Specific Signal Response Coupling in Plants [J]. The Plant Cell, 2002, 14(suppl_1): 389-400.
- [9] ZHOU Y P, CHEN Y Z, YAMAMOTO K T, et al. Sequence and Expression Analysis of the Arabidopsis *IQM* Family [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2010, 32(1): 191-198.
- [10] 陈唯. 拟南芥 *IQM1* 和 *IQM4* 参与调控气孔运动的研究 [D]. 广州: 广州大学, 2020.
- [11] 冯奕嘉. 拟南芥 *IQM6* 参与年龄途径成花调控的初步研究 [D]. 广州: 广州大学, 2019.
- [12] 弓路平. 拟南芥 *IQM5* 参与成花调控的分子遗传学研究 [D]. 广州: 广州大学, 2017.
- [13] CHENG C Y, KRISHNAKUMAR V, CHAN A P, et al. Araport11: a Complete Reannotation of the Arabidopsis Thaliana Reference Genome [J]. The Plant Journal, 2017, 89(4): 789-804.
- [14] CHEN H X, WANG T P, HE X N, et al. BRAD V_{3.0}: an Upgraded Brassicaceae Database [J]. Nucleic Acids Research, 2022, 50(D1): 1432-1441.
- [15] SONG X M, WEI Y P, XIAO D, et al. *Brassica carinata* Genome Characterization Clarifies U's Triangle Model of Evolution and Polyploidy in Brassica [J]. Plant Physiology, 2021, 186(1): 388-406.
- [16] SCHOCH C L, CIUFO S, DOMRACHEV M, et al. NCBI Taxonomy: a Comprehensive Update on Curation, Resources and Tools [J]. Database, 2020: 62.
- [17] POTTERS C, LUCIANI A, EDDY S R, et al. HMMER Web Server: 2018 Update [J]. Nucleic Acids Research, 2018, 46(W1): 200-204.
- [18] MOUNTD W. Using Hidden Markov Models to Align Multiple Sequences [J]. Cold Spring Harbor Protocols, 2009(7): 41.
- [19] LETUNIC I, KHEDKAR S, BORK P. SMART: Recent Updates, New Developments and Status in 2020 [J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49(D1): 458-460.
- [20] MISTRY J, CHUGURANSKY S, WILLIAMS L, et al. Pfam: The Protein Families Database in 2021 [J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49(D1): 412-419.
- [21] TAMURA K, STECHER G, KUMAR S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11 [J]. Molecular Biology and Evolution, 2021, 38(7): 3022-3027.
- [22] HE Z L, ZHANG H K, GAO S H, et al. Evolview V2: an Online Visualization and Management Tool for Customized and Annotated Phylogenetic Trees [J]. Nucleic Acids Research, 2016, 44(W1): 236-241.
- [23] HU B, JIN J P, GUO A Y, et al. GSDS 2.0: an Upgraded Gene Feature Visualization Server [J]. Bioinformatics, 2015, 31(8): 1296-1297.
- [24] BAILEY T L, BODEN M, BUSKE F A, et al. MEME Suite: Tools for Motif Discovery and Searching [J]. Nucleic Acids Research, 2009, 37(suppl_2): 202-208.
- [25] WANG Y P, TANG H B, DEBARRY J D, et al. MCScanX: a Toolkit for Detection and Evolutionary Analysis of Gene Synteny and Collinearity [J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(7): e49.
- [26] CHEN C J, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: an Integrative Toolkit Developed for Interactive Analyses of Big Biological Data [J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [27] 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): 325-327.
- [28] HORTON P, PARKK J, OBAYASHI T, et al. WoLF PSORT: Protein Localization Predictor [J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35(suppl_2): 585-587.
- [29] SZKLARCZYK D, GABLEA L, LYON D, et al. STRING V11: Protein-protein Association Networks with Increased Coverage, Supporting Functional Discovery in Genome-wide Experimental Datasets [J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(D1): 607-613.
- [30] CHAO H Y, LI T, LUO C Y, et al. BrassicaEDB: a Gene Expression Database for Brassica Crops [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(16): 5831.
- [31] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks [J]. *Genome Research*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [32] YU L J, LIU D, CHEN S Y, et al. Evolution and Expression of the Membrane Attack Complex and Perforin Gene Family in the Poaceae [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(16): 5736.
- [33] CHEN X, SU W, ZHANG H, et al. Fraxinus mandshurica 4-Coumarate-CoA Ligase 2 Enhances Drought and Osmotic Stress Tolerance of Tobacco by Increasing Coniferyl Alcohol Content [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 155: 697-708.
- [34] CABREIRA-CAGLIARI C, FAGUNDESD S, DIAS N F, et al. GILP Family: a Stress-responsive Group of Plant Proteins Containing a LITAF Motif [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2018, 18(1): 55-66.
- [35] ZHAO J J, WANG X W, DENG B, et al. Genetic Relationships within Brassica Rapa as Inferred from AFLP Fingerprints [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2005, 110(7): 1301-1314.
- [36] LIU S Y, LIU Y M, YANG X H, et al. The Brassica Oleracea Genome Reveals the Asymmetrical Evolution of Polyploid Genomes [J]. *Nature Communications*, 2014(5): 3930.
- [37] CHENG F, SUN R F, HOU X L, et al. Subgenome Parallel Selection is Associated with Morphotype Diversification and Convergent Crop Domestication in Brassica Rapa and Brassica Oleracea [J]. *Nature Genetics*, 2016, 48(10): 1218-1224.
- [38] GHORBANI R, ZAKIPOUR Z, ALEMZADEH A, et al. Genome-wide Analysis of AP2/ERF Transcription Factors Family in *Brassica napus* [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2020, 26(7): 1463-1476.
- [39] LOHANI N, BABAEI S, SINGHM B, et al. Genome-wide in Silico Identification and Comparative Analysis of Dof Gene Family in *Brassica napus* [J]. *Plants (Basel)*, 2021, 10(4): 709.
- [40] XIA J C, WANG D, PENG Y Z, et al. Genome-wide Analysis of the YABBY Transcription Factor Family in Rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. *Genes*, 2021, 12(7): 981.
- [41] HE Y J, MAO S S, GAO Y L, et al. Genome-wide Identification and Expression Analysis of WRKY Transcription Factors under Multiple Stresses in *Brassica napus* [J]. *PLoS One*, 2016, 11(6): e0157558.
- [42] ZHOUY P, DUAN J, FUJIBE T, et al. At1, a Novel Calmodulin-binding Protein, is Involved in Stomatal Movement in Arabidopsis [J]. *Plant Molecular Biology*, 2012, 79(4): 333-346.
- [43] ZHOUY 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]. *Frontiers in Plant Science*, 2018(9): 721.
- [44] 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.
- [45] CHALHOUB B, DENOEUDE F, LIU S Y, et al. Plant Genetics. Early Allopolyploid Evolution in the Post-neolithic *Brassica napus* Oilseed Genome [J]. *Science*, 2014, 345(6199): 950-953.
- [46] MUNJ H, KWON S J, YANG T J, et al. Genome-wide Comparative Analysis of the Brassica Rapa Gene Space Reveals Genome Shrinkage and Differential Loss of Duplicated Genes after Whole Genome Triplication [J]. *Genome Biology*, 2009, 10(10): 111.