

# 白菜型油菜 BrBBX 家族的鉴定与 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 基因的胁迫响应分析

皮博艺, 聂治, 杜文平, 余桂容, 甘雨, 宋军  
(四川省农业科学院生物技术核技术研究所, 四川 成都 610066)

**摘要:** BBX 是一类重要的锌指蛋白转录因子家族, 包含 1~2 个高度保守位于蛋白质序列 N 端的 BBX 结构域, 在调控植物的生长发育和响应环境胁迫中发挥着重要作用。利用生物信息学分析手段, 在白菜型油菜中鉴定出 59 个 BrBBX 家族成员, 对它们的染色体定位、基因结构、蛋白保守结构域, 以及 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 基因的启动子进行了分析, 并用 qRT-PCR 技术鉴定了 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 基因在模拟干旱和盐胁迫下的表达水平。结果显示, 59 个 BrBBXs 不均匀地分布于白菜型油菜基因组的 10 条染色体。通过对系统进化、基因结构、蛋白保守结构域的分析, 59 个 BrBBXs 被分为 5 个亚族, 每个亚族的基因结构、蛋白结构域和保守基序均相对保守, 同一亚族的成员具有相似的基因结构和保守结构域。对启动子的分析结果显示, *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 基因的启动子中均含有大量的胁迫相关响应元件, 尤其是干旱胁迫响应元件, 二者均有 14 个; 在 40% PEG 和 120 mmol/L NaCl 处理下, 二者的表达水平均显著上升, 说明 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 基因能够响应干旱和盐胁迫的诱导, 可能在干旱和盐胁迫下发挥着重要功能。以上结果为进一步了解和利用 BrBBX 家族成员改良白菜型油菜耐旱耐盐新品种提供了良好的基因资源。

**关键词:** 白菜型油菜; BBX 家族; *BrBBX46*; *BrBBX53*; 生物信息学; 胁迫响应

中图分类号: S565.4

文献标志码: A

文章编号: 2097-2172(2024)01-0026-011

doi: 10.3969/j.issn.2097-2172.2024.01.005

## Identification of the BBX family in *B. rapa* and Stress Response Analysis of *BrBBX46* and *BrBBX53* Genes

PI Boyi, NIE Zhi, DU Wenping, YU Guirong, GAN Yu, SONG Jun

(Institute of Biotechnology & Nuclear Techniques, Sichuan Academy Agricultural Sciences, Chengdu Sichuan 610066, China)

**Abstract:** BBX is an important family of zinc finger protein transcription factors, containing one to two highly conserved BBX domains located at the N terminus of the protein sequence. It plays an important role in regulating plant growth and development and responding to environmental stress. In this study, 59 BrBBX family members were identified in *B. rapa* by bioinformatics analysis, and their chromosome location, gene structure, protein conserved domain, and promoters of *BrBBX46* and *BrBBX53* genes were analyzed. The expression levels of *BrBBX46* and *BrBBX53* were determined by qRT-PCR under simulated drought and salt stress. The result showed that 59 BrBBXs were unevenly distributed on 10 chromosomes of the *B. rapa* genome. Based on the analysis of phylogenetic evolution, gene structure and protein conserved domains, 59 BrBBXs were divided into five subfamilies. The gene structure, protein domain and conserved motifs of each subfamily were relatively conserved, and members of the same subfamily had similar gene structure and conserved domains. The results of promoter analysis showed that the promoters of *BrBBX46* and *BrBBX53* contained a large number of stress-related response elements, especially drought stress response elements, and there were 14 drought stress response elements in *BrBBX46* and *BrBBX53*, respectively. The expression levels of *BrBBX46* and *BrBBX53* were significantly increased under the treatment of 40% PEG and 120 mM NaCl, indicating that *BrBBX46* and *BrBBX53* can respond to the induction of drought and salt stress and may play important functions under drought and salt stress. These results provide good gene resources for further understanding of BrBBX family and using BrBBX family members to improve the drought and salt tolerant new varieties of *B. rapa*.

**Key words:** *B. rapa*; BBX family; Identification; *BrBBX46*; *BrBBX53*; Bioinformation; Stress response

收稿日期: 2023-11-20

基金项目: 四川省财政自主创新专项(2022ZZCX028)。

作者简介: 皮博艺(1993—), 女, 湖南澧县人, 助理研究员, 博士, 主要从事作物分子生物学及遗传育种研究工作。Email: boyipi@163.com。

通信作者: 宋军(1981—), 男, 四川眉山人, 副研究员, 硕士, 主要从事植物诱变及生物育种工作。Email: 39535047@qq.com。

转录因子(Transcription factor, TF)又称反式作用因子, 是一种 DNA 结合蛋白, 通过与靶基因的特定顺式元件相互作用, 激活或抑制下游基因的表达<sup>[1]</sup>。转录因子在植物生长发育、光周期调控、响应生物胁迫(如细菌、真菌和病毒攻击)以及非生物胁迫(干旱、盐、高渗透压、热或寒冷)中发挥重要作用<sup>[2-4]</sup>。

锌指蛋白(Zinc Finger Protein, ZFP)是植物应对逆境的重要转录因子, B-Box(BBX)型锌指蛋白包含 1~2 个位于 N 端的 BBX 结构域(C-X<sub>2</sub>-C-X<sub>8</sub>-C-X<sub>7</sub>-C-X<sub>2</sub>-C-X<sub>4</sub>-H-X<sub>8</sub>-H), 也有一些 BBX 家族成员在 C 端包含一个 CCT 结构域<sup>[5]</sup>。BBX 结构域可分为 2 种类型: BBX1 和 BBX2; CCT 结构域由 42~43 个氨基酸组成, 对转录和核蛋白转运具有重要作用<sup>[6-7]</sup>。Khanna 等<sup>[5]</sup>在拟南芥中鉴定出 32 个 BBX 蛋白, 并根据 AtBBX 蛋白成员的 BBX 结构域和 CCT 结构域是否存在, 将它们分为 5 个亚族, 分别为第 I 亚族、第 II 亚族、第 II 亚族、第 IV 亚族和第 V 亚族, 其中第 I 亚族和第 II 亚族均包含 2 个 BBX 结构域和 1 个 CCT 结构域, 第 III 亚族包含 1 个 BBX 结构域和 1 个 CCT 结构域, 第 IV 亚族包含 2 个 BBX 结构域, 而第 V 亚族仅包含 1 个 BBX 结构域。随着对 BBX 基因家族功能的研究, BBX 型锌指蛋白家族在其他植物中也被鉴定, 如水稻、玉米、大豆、茶树、巨桉、马铃薯等植物中分别有 30、36、42、31、21、30 个 BBX 成员<sup>[8-13]</sup>。近年来, BBX 家族成员在植物光形态形成、开花调控、激素信号转导和非生物胁迫中均有报道<sup>[2, 14-17]</sup>。

在拟南芥中, 多数 BBX 家族基因的功能已被报道, 第 1 个被发现的拟南芥 BBX 成员 CO (CONSTANS)在开花过程中发挥作用<sup>[18]</sup>。AtBBX4 (COL1) 和 AtBBX20-22 能够促进根的伸长, 在光响应途径中起着调控因子的作用, 促进拟南芥幼苗的光形态建成。也有一些 BBX 成员在拟南芥幼苗光形态建成过程中发挥相反的功能, 如 AtBBX18、AtBBX19、AtBBX25 和 AtBBX32 在拟南芥光形态建成过程中作为负调控因子, 抑制幼苗的光形态建成<sup>[19]</sup>。水稻中拟南芥 CO 的同源蛋白

Hd1(OsBBX家族蛋白)在光响应途径中调控水稻的花期, 在短日照条件下能够促进水稻开花<sup>[20]</sup>。拟南芥 CO 蛋白在水稻中的同源蛋白 OsCOL9 能正向调控抗原细胞抗性, 敲除水稻 *OsCOL9* 基因可增加水稻的产量, 提高转基因水稻植株对稻瘟病菌的敏感性, 使稻瘟病菌感染的可能性增大<sup>[21]</sup>。AtBBX20、AtBBX18 和 AtBBX16 分别参与了油菜素内酯(BR)、赤霉素(GA)和生长素信号的转导<sup>[22-24]</sup>。

BBX 成员除了参与植物的生长发育, 还参与了非生物胁迫响应, AtBBX24 在拟南芥耐盐性调控中起着调控因子的作用, 过表达 *AtBBX24* 基因能够增强拟南芥植株的耐盐性<sup>[16]</sup>; AtBBX5 能够响应干旱和盐的诱导, 通过增强 ABA 的生物合成以及胁迫响应基因的表达增强拟南芥对干旱和盐胁迫的耐受能力<sup>[25]</sup>; AtBBX18 通过调控热休克应答基因(*HSP*)参与了拟南芥植株对热胁迫的耐受性的调控<sup>[17]</sup>。Yang 等<sup>[26]</sup>在菊花(*Chrysanthemum morifolium*)中证明了 CmBBX24 可以提高植物对低温和干旱的耐受性水平, Liu 等<sup>[27]</sup>进一步在拟南芥中异源表达菊花 *CmBBX22* 基因, 发现其能显著延缓拟南芥叶片衰老、增强植株耐旱性。苹果 MdBBX10 在拟南芥中异位表达增强了转基因拟南芥植株的耐盐性和耐旱性<sup>[28]</sup>。

白菜型油菜(*Brassica rapa*, 2n=20, AA)是研究多倍体进化的模式生物, 是甘蓝型油菜(*B. napus*, 2n=38, AACC)A基因组的提供者, 也是重要的经济作物。目前在水稻、玉米、大豆、马铃薯等作物中已鉴定出 BBX 家族成员<sup>[8-10, 13]</sup>, 而白菜型油菜的 BBX 家族的鉴定还未见报道。为此, 本研究通过生物信息学分析方法和手段, 在全基因组范围内鉴定了白菜型油菜的 BBX 家族成员, 分析了 BrBBX 家族的染色体分布、系统进化关系、基因结构、蛋白结构与保守基序以及 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 基因对干旱胁迫和盐胁迫的响应, 以期为深入研究 *BrBBX* 基因家族的功能和耐盐耐旱新品种的改良提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试植物材料及培养条件

白菜型油菜在温度  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光照强度 100

$\mu\text{mol} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、空气湿度 60%~70%、光周期为 16 h 光照 / 8 h 黑暗的植物生长室中进行培养。

### 1.2 白菜型油菜 BrBBX 蛋白家族的鉴定

根据拟南芥 AtBBX 家族蛋白序列<sup>[5]</sup>，在白菜型油菜数据库 (<http://brassicadb.cn/#/>)中，利用 BLASTp 工具查找白菜型油菜 BBX 蛋白序列，随后在 <http://smart.embl-heidelberg.de/> 和 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi> 上进行鉴定，含有 1 个或 2 个 BBX 结构域的蛋白为白菜型油菜 BBX 家族成员。

### 1.3 BrBBX 基因在染色体上的分布

从白菜型油菜数据库中获取 BrBBX 成员的基因号及其在染色体上的位置信息，利用 Mapchart 2.2 软件绘制 BrBBX 成员在染色体上的分布图。

### 1.4 BrBBX 基因家族系统发育进化树的构建

根据已报道的拟南芥和水稻 BBX 蛋白序列，结合在数据库下载的白菜型油菜 BBX 家族成员蛋白序列，在 MEGA7 软件中采用邻近法 (Neighbor-Joining, NJ) 绘制 BrBBX 基因家族系统发育进化树，校验参数 Bootstrap Replications 设置为 1000。

### 1.5 BrBBX 家族的基因结构、蛋白保守结构域和保守基序分析

从数据库下载白菜型油菜 BBX 家族成员 DNA 序列和 CDS 序列，利用在线软件 GSDS 2.0 (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn>)分析外显子、内含子的数目及位置。利用从数据库获取的白菜型油菜 BBX 家族成员的蛋白序列，通过在线软件 Multiple Em for Motif Elicitation (MEME, <https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) 绘制 BrBBX 成员保守结构域图，分析 BrBBX 家族成员保守序列。

### 1.6 拟南芥 BBX24 同源基因 BrBBX46 和 BrBBX53 的胁迫响应分析

在数据库下载 AtBBX24 在白菜型油菜中同源

基因 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 起始密码子上游 2 000 bp 序列，作为 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 基因的启动子进行分析。利用 PlantCARE 在线工具对 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 基因启动子中的响应元件进行分析<sup>[29]</sup>。

为了研究 AtBBX24 在白菜型油菜中的同源基因 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 对于旱胁迫和盐胁迫的响应，首先用 75% 乙醇清洗白菜型油菜种子 3~5 min，再用去离子水漂洗 3 遍后浸种 3~4 h，随后播种于装有湿润的营养土、蛭石 (体积比为 1 : 1) 的小花钵中，在 4 °C 条件下低温处理 48 h 后置于生长室培养。待白菜型油菜植株生长至 2 片真叶完全展开时，用 120 mmol/L NaCl 和 40% PEG 处理 12 h，之后分别取对照条件 (未胁迫)、120 mmol/L NaCl 和 40% PEG 处理下的样品各 3 份，液氮速冻，-80 °C 条件下保存。

根据 Huang 等<sup>[30]</sup>的方法，用 Trizol 试剂 [Sangon Biotech (Shanghai) Co., Ltd.] 抽提白菜型油菜总 RNA，然后利用超微量分光光度计 (NanoDrop 2000, Thermo Fisher Scientific, USA) 测量 RNA 质量和浓度，使用反转录试剂盒 [Hifair® III 1st Strand cDNA Synthesis Kit (gDNA digester plus), Yeasen Biotech (Shanghai) Co., Ltd.] 将 1 ug RNA 反转录为 cDNA，以 *BraA02g003190* (*BrACTIN*) 为内参基因<sup>[31]</sup>，利用 qRT-PCR 技术对 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 的表达量进行鉴定，引物序列见表 1。最后采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 基因在干旱和盐胁迫处理下的表达水平<sup>[32]</sup>。

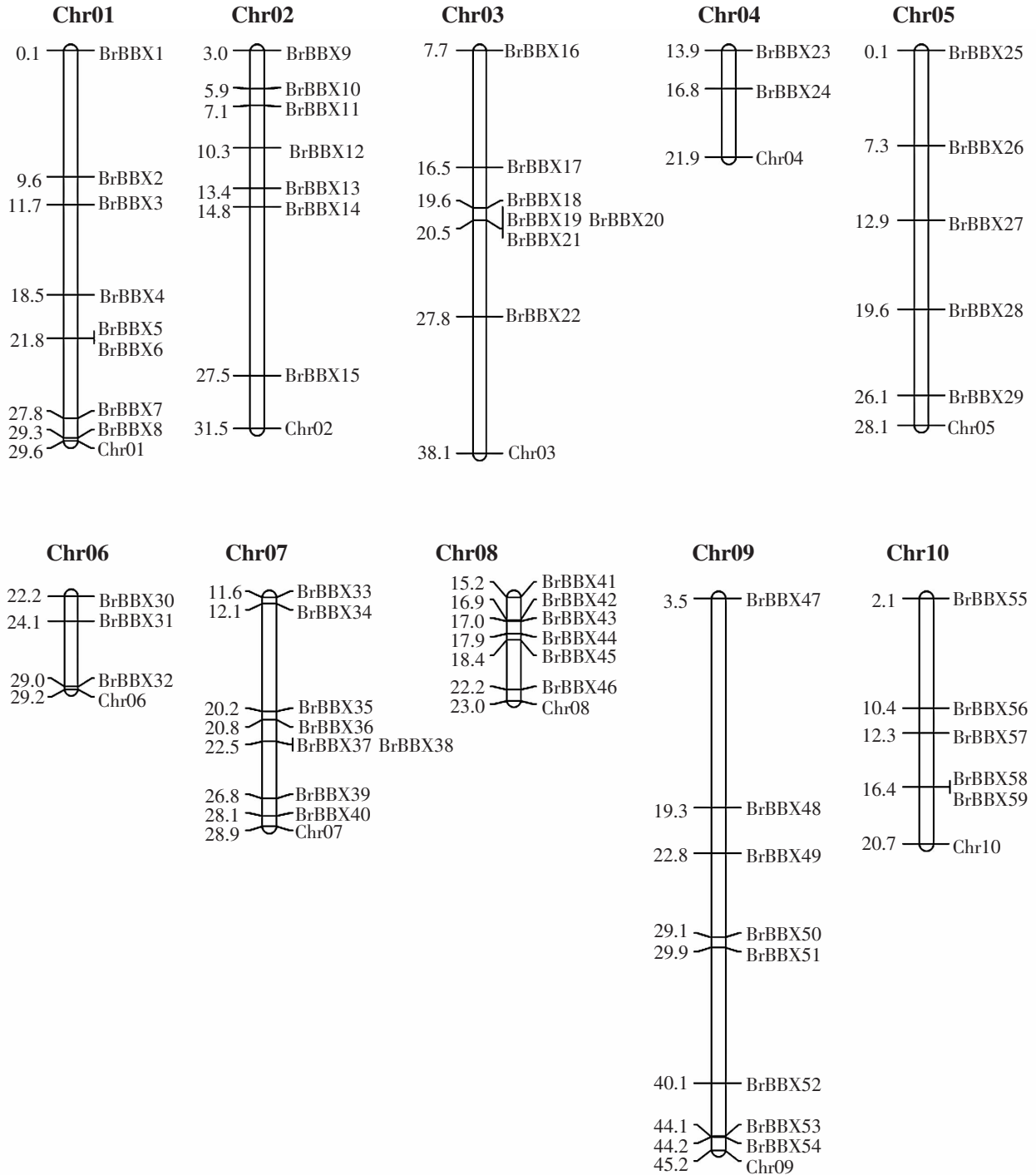
## 2 结果与分析

### 2.1 BrBBX 基因家族的染色体定位分析

利用拟南芥 AtBBX 家族蛋白序列，在白菜型油菜数据库共筛选鉴定到 59 个 *BrBBX* 基因家族成员。根据白菜型油菜数据库公布的染色体位置信息，利用 MapChart 2.2 软件绘制 *BrBBX* 家族基因

表 1 实验所用的引物序列

基因	引物F(5'-3')	引物R(5'-3')
<i>BrACTIN</i>	CTATCCTCCGTCTCGATCTCGC	CTTAGCCGTCTCCAGCTCTTGC
<i>BrBBX46</i>	TATGTTGTGCCGACGAAGCA	ATCGCAACGAGGGAAGCTTGG
<i>BrBBX53</i>	GCTACGACTCCTCTCCGTG	ATCGGAAACAGAAAGCTCCG

图1 *BrBBX* 家族成员的染色体定位

的染色体定位图谱(图1)。

从图1可知,白菜型油菜的基因组共10条染色体:Chr01~Chr10。其中Chr09染色体最长(45.2 M),Chr03染色体次之(38.1 M);长度最短的是Chr10染色体,只有20.7 M,有5个*BrBBX*基因位于该染色体;*BrBBX*基因在Chr01和Chr07

染色体上最多,均有8个,但Chr07染色体更短,因此,Chr07染色体上*BrBBX*的基因密度大于Chr01染色体。

## 2.2 *BrBBX* 蛋白的系统发育进化分析

利用已报道的32个AtBBX蛋白、30个Os-BBX蛋白序列和已鉴定的59个BrBBX蛋白进行





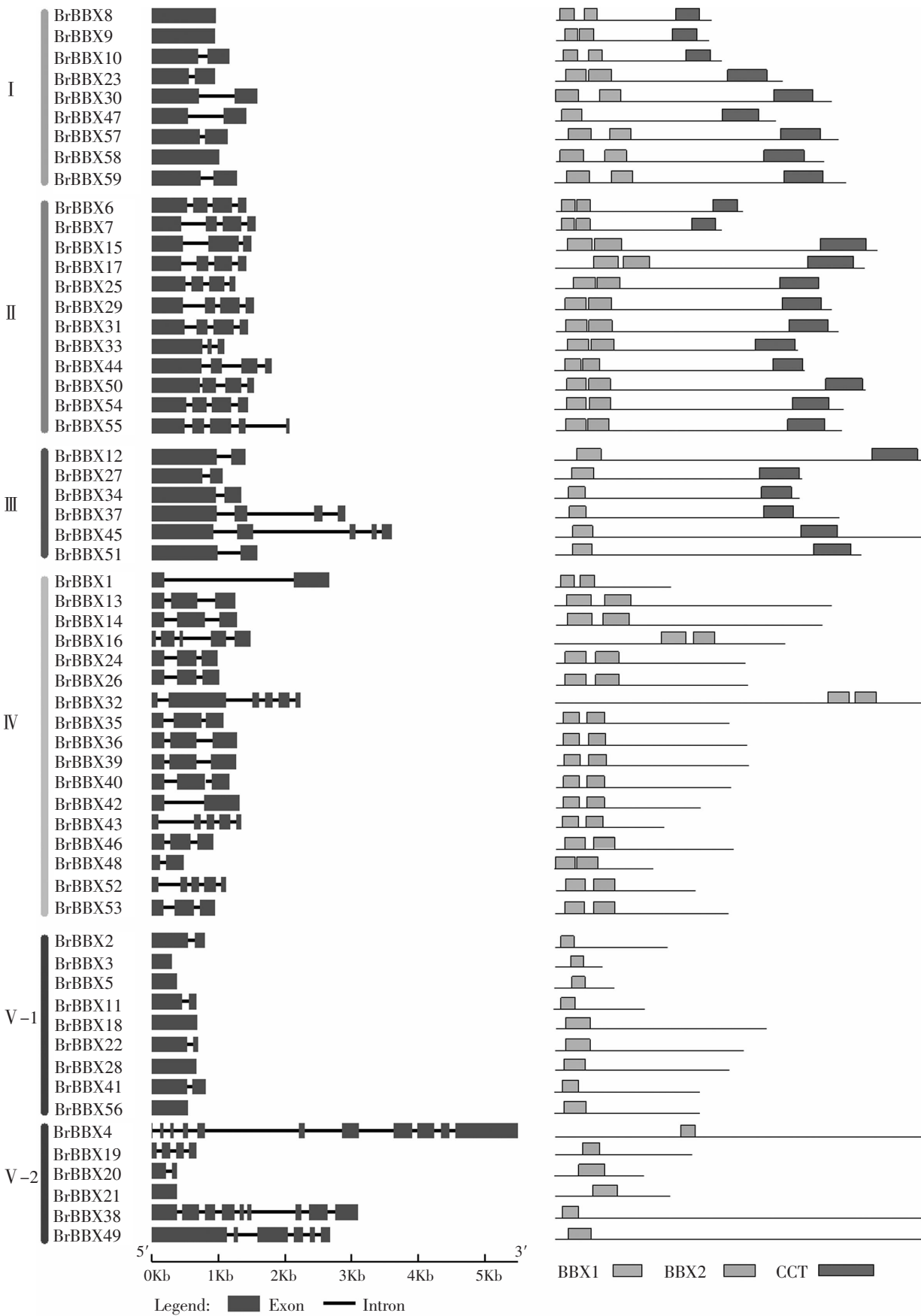


图3 BrBBX 家族的基因结构与蛋白结构域模式

下。在第 I 亚族中, *BrBBX* 基因仅有 1 个或 2 个外显子; 第 II 亚族中, 除了 *BrBBX55* 有 5 个外显子以外, 其他 *BrBBX* 基因的外显子个数均为 3~4 个; 基因组序列最长的基因 *BrBBX4* 和序列最短的基因 *BrBBX3* 均聚类在第 V 亚族。

为了研究 BrBBX 蛋白的保守结构域, 通过 MEME 在线工具对 59 个 BrBBX 的蛋白保守结构域进行了分析(图 3)。发现位于同一亚族的 BrBBX 成员具有相似的结构域和保守基序: 第 I 亚族和第 II 亚族中的 BrBBX 成员均包含 2 个 BBX 结构域 (BBX1 和 BBX2) 和 1 个 CCT 结构域; 第 III 亚族中的 BrBBX 成员包含 1 个 BBX1 结构域和 1 个 CCT 结构域; 第 IV 亚族中的 BrBBX 成员包含 2 个 BBX 结构域 (BBX1、BBX2); 第 V 亚族的 BrBBX 成员仅有 1 个 BBX 结构域, 不同的是, 在

拟南芥和水稻中, 该亚族中的 BBX 成员的 BBX 结构域类型均为 BBX1, 而在白菜型油菜中, 有的 BrBBX 成员含有 BBX1 结构域, 有的则具有 BBX2 结构域。对 BrBBX 家族蛋白的保守结构域基序序列进行分析的结果与前人的报道相似<sup>[5-7]</sup>: BrBBX 家族中的 BBX1 和 BBX2 结构域分别具有保守的 C-X2-C-X8-C-X7-C-X2-C 和 C-X7-C-X2-C-X4-H 基序 (图 4A、图 4B), 而 CCT 结构域包含了 42~50 个氨基酸残基, 也具有高度的保守性 (图 4C)。

#### 2.4 BrBBX46 和 BrBBX53 的胁迫响应分析

早期有研究显示, *AtBBX24* 正调控拟南芥的耐盐性<sup>[16]</sup>。通过系统发育和序列比对分析, 在白菜型油菜中鉴定出 2 个 *AtBBX24* 的同源基因 *BrBBX46* 和 *BrBBX53*, 通过在数据库下载的 *BrBBX46*

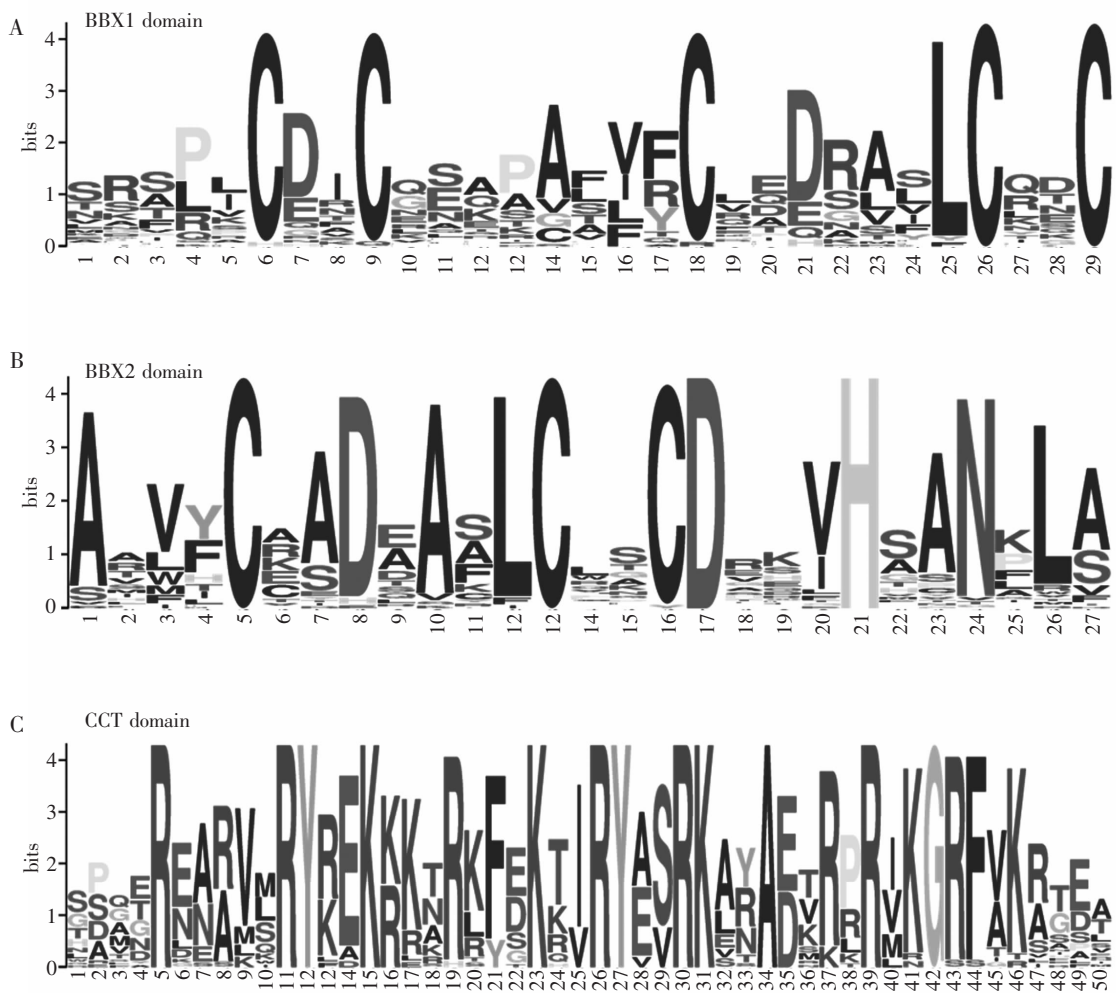


图 4 BrBBX 蛋白的保守结构域基序序列

和 *BrBBX53* 基因的启动子序列, 对 2 个基因的启动子元件进行统计分析。分析结果显示, 除了核心启动子元件以外, *BrBBX46* 基因的启动子中响应干旱胁迫元件最多, 有 14 个; *BrBBX53* 基因的启动子中光响应的元件数目最多(有 17 个), 其次为干旱胁迫响应元件, 与 *BrBBX46* 基因一样, 也有 14 个; *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 基因的启动子中还发现与厌氧胁迫、光、水杨酸、防御和胁迫相关的启动子元件。但响应低温、细胞周期调控、赤霉素和生长素的作用元件仅存在于 *BrBBX53* 基因的启动子中(图 5A)。上述结果说明 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 可能与干旱、厌氧等胁迫应答相关, *BrBBX53* 还可能响应低温和植物激素的诱导<sup>[33]</sup>。

利用 qRT-PCR 技术, 鉴定了 *BrBBX46* 和

*BrBBX53* 基因在模拟干旱和盐胁迫条件下的表达水平, 结果表明, *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 基因的表达水平受 PEG 和 NaCl 诱导均显著上调, 与对照未胁迫相比, *BrBBX46* 基因在 PEG 和 NaCl 处理下的表达水平上调了 6 倍左右(图 5B); *BrBBX53* 基因在 PEG 处理下上调了 12 倍, 在 NaCl 处理下上调了 9 倍(图 5C)。说明 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 基因既能响应 PEG 模拟干旱的诱导, 也可能参与 NaCl 诱导的盐胁迫响应。

### 3 结论与讨论

在白菜型油菜中共鉴定到 59 个 BrBBX, 分布于白菜型油菜基因组的 10 条染色体。与拟南芥相比, 白菜型油菜每个亚族中的 BrBBX 蛋白数量均介于 AtBBX 数量的 1.50 ~ 2.20 倍, 说明在进化过程中白菜型油菜 BrBBX 家族发生了基因

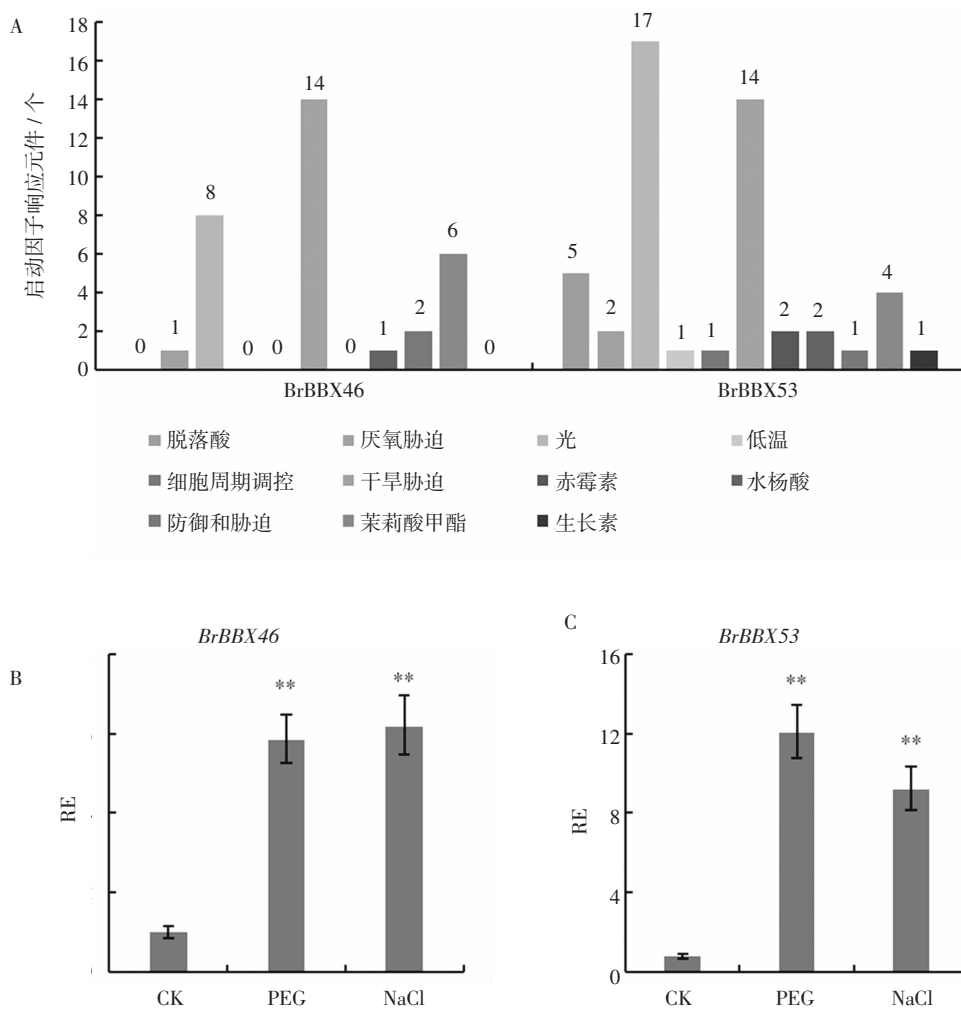


图 5 *BrBBX46* 和 *BrBBX53* 基因响应干旱和盐胁迫的表达



复制事件。水稻是单子叶植物进化分析的模式植物，与水稻相比，白菜型油菜每个亚族中的 BrBBX 蛋白数量是水稻中 OsBBX 数量的 1.28 ~ 5.00 倍，这说明了单子叶植物与双子叶植物之间的进化差异。白菜型油菜 BBX 家族基因在进化上相对保守，聚类于同一亚族的基因具有相似的基因结构与蛋白结构。前人报道拟南芥第 I 亚族和第 II 亚族中的 BBX 成员均包含 2 个 BBX 结构域，并且 BBX1 结构域位于 BBX2 结构域之前<sup>[5]</sup>，而本研究发现仅在第 II 亚族中与拟南芥结构域一致。在第 I 亚族中 BrBBX 蛋白的 BBX1 结构域在 BBX2 结构域之后；且在拟南芥中的第 V 亚族中仅发现了 BBX1 结构域，而在白菜型油菜的第 V 亚族中既发现了 BBX1 结构域，还发现了 BBX2 结构域的存在。这可能是在进化的过程中，白菜型油菜的 BrBBX 家族发生了 BBX 结构域改变或缺失<sup>[34-35]</sup>。

BBX 家族基因在响应生物和非生物胁迫方面发挥着重要作用<sup>[17, 21]</sup>。AtBBX24 正向调控拟南芥的耐盐性<sup>[16]</sup>，AtBBX5 正向调控拟南芥对干旱和盐胁迫的耐受性<sup>[25]</sup>，AtBBX18 负调控拟南芥耐热性<sup>[17]</sup>。通过系统进化分析，从进化保守的 BBX 结构域未发生改变的第四亚族中比对到拟南芥 AtBBX24 的同源基因：BrBBX46 和 BrBBX53，对其启动子元件进行了分析，发现这 2 个 BrBBX 基因的启动子中含有大量的干旱胁迫响应元件。模拟干旱和盐处理条件下，二者的表达量均显著上调，均能响应干旱和盐胁迫的诱导，说明 BrBBX46 和 BrBBX53 与二者在拟南芥中的同源基因 AtBBX24 相似，均能响应盐胁迫的诱导；BrBBX46 和 BrBBX53 基因启动子中富含的大量干旱胁迫响应元件，也使其在模拟干旱条件下通过上调基因的表达水平来应对干旱胁迫。方宝华等<sup>[14]</sup>的研究表明，水稻中也有部分 BBX 成员能够响应盐胁迫和干旱胁迫，如 OsBBX6、OsBBX7、OsBBX19、OsBBX28 等均能响应干旱胁迫，OsBBX1、OsBBX19、OsBBX26、OsBBX28 等能响应盐胁迫的诱导。但也有推测：水稻 BBX 可能不是作为干旱或盐胁迫中的重要因子参与逆境响应。根据系统进化分析，在水稻中 BrBBX46 和 BrBBX53 的同源基因是 OsBBX4，但在非生物胁迫的表达谱鉴定中，该基因

在干旱和盐处理下表达量略有上调，但未达到显著差异，这可能是由于 OsBBX4 与 BrBBX46 和 BrBBX53 的亲缘关系较远，导致了不同物种中同源基因的功能差异化。

本研究利用生物信息学分析手段在白菜型油菜全基因组水平上鉴定到 59 个 BrBBX 成员，系统地分析了 59 个 BrBBX 的染色体分布、系统发育、基因结构、蛋白保守结构域，以及 AtBBX24 的同源基因 BrBBX46 和 BrBBX53 对干旱胁迫（40% PEG 处理）、盐胁迫（120 mmol/L NaCl 处理）的响应，并利用 qRT-PCR 技术鉴定了 BrBBX46 和 BrBBX53 基因在模拟干旱胁迫和盐胁迫下的表达水平，结果显示，59 个 BrBBXs 不均匀地分布在白菜型油菜基因组的 10 条染色体上。通过对系统进化、基因结构、蛋白保守结构域的分析，将 59 个 BrBBXs 分为 5 个亚族，每个亚族的基因结构、蛋白结构域和保守基序都相对保守，同一亚族的成员具有相似的基因结构和保守结构域。启动子的分析结果显示，BrBBX46 和 BrBBX53 基因的启动子中均含有大量的胁迫相关响应元件，尤其是干旱胁迫响应元件，二者均有 14 个；在 40% PEG 和 120 mmol/L NaCl 处理下，二者的表达水平均显著上升，说明 BrBBX46 和 BrBBX53 基因能够响应干旱胁迫和盐胁迫的诱导，可能在干旱胁迫和盐胁迫下发挥着重要功能。为了解和研究白菜型油菜基因家族的成员提供了丰富的信息和理论基础，并且为进一步利用 BrBBX 家族成员改良白菜型油菜耐旱耐盐新品种提供了良好的基因资源。

#### 参考文献：

- [1] LATCHMAN D S. Transcription factors: an overview[J]. International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 1997, 29(12): 1305-1312.
- [2] GANGAPPA S N, BOTTO J F. The BBX family of plant transcription factors[J]. Trends in Plant Science, 2014, 19(7): 460.
- [3] BIRKENBIHL R P, LIU S, SOMSSICH I E. Transcriptional events defining plant immune responses[J]. Current Opinion Plant Biology, 2017, 38: 1-9.
- [4] LINDEMOSE S, O'SHEA C, JENSEN MK, et al. Structure, function and networks of transcription factors involved in abiotic stress responses[J]. International Jour-

- nal of Molecular Sciences, 2013, 14(3): 5842–5878.
- [5] KHANNA R, KRONMILLER B, MASZLE D R, et al. The *Arabidopsis* B-box zinc finger family[J]. *Plant Cell*, 2009, 21(11): 3416–3420.
- [6] ROBSON F, COSTA M M R, HEPWORTH S R, et al. Functional importance of conserved domains in the flowering-time gene *CONSTANS* demonstrated by analysis of mutant alleles and transgenic plants[J]. *Plant Journal*, 2001, 28: 619–631.
- [7] JANG S, MARCHAL V, PANIGRAHI K C, et al. *Arabidopsis* COPI shapes the temporal pattern of CO accumulation conferring a photoperiodic flowering response[J]. *EMBO Journal*, 2008, 27: 1277–1288.
- [8] HUANG J, ZHAO X, WENG X, et al. The rice B-box zinc finger gene family: genomic identification, characterization, expression profiling and diurnal analysis[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7: e48242.
- [9] XU X H, LI W L, YANG S K, et al. Identification, evolution, expression and protein interaction analysis of genes encoding B-box zinc-finger proteins in maize[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2023, 22(2): 371–388.
- [10] 殷丽丽, 邢宝龙, 陈晓亮, 等. 大豆 *BBX* 基因家族的鉴定及表达[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2022, 6(50): 35–45.
- [11] 叶一隽, 李佳敏, 曹红利, 等. 茶树 *CsBBX* 基因家族的鉴定与表达[J]. 2020, 26(6): 1508–1516.
- [12] 杨宁, 从青, 王晓荣, 等. 巨桉 *EgrBBX* 基因家族鉴定及其在非生物逆境处理下的表达分析[J]. *农业生物技术学报*, 2020, 28(4): 658–671.
- [13] 马文婧, 刘震, 李志涛, 等. 马铃薯 *BBX* 基因家族的全基因组鉴定及表达分析[J]. *作物学报*, 2022, 48(11): 2797–2812.
- [14] 方宝华, 王伟平, 赵杨, 等. 水稻 *BBX* 基因家族生物信息学及表达模式分析[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(20): 6586–6594.
- [15] VAISHAK K, YADUKRISHNAN P, BAKSHI S, et al. The B-box bridge between light and hormones in plants[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*, 2019, 191: 164–174.
- [16] NAGAOKA S, TAKANO T. Salt tolerance-related protein STO binds to a MYB transcription factor homologue and confers salt tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2003, 54(391): 2231–2237.
- [17] WANG Q, TU X, ZHANG J, et al. Heat stress-induced BBX18 negatively regulates the thermotolerance in *Arabidopsis*[J]. *Molecular Biology Reports*, 2013, 40(3): 2679–2688.
- [18] CHENG X F, WANG Z Y. Overexpression of COL9, a *CONSTANS*-LIKE gene, delays flowering by reducing expression of CO and FT in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Journal*, 2005, 43, 758–768.
- [19] WANG C Q, GUTHRIE C, SARMAST M K, et al. BBX19 interacts with *CONSTANS* to repress *FLOWERING LOCUS T* transcription, defining a flowering time checkpoint in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2014, 26: 3589–3602.
- [20] YANO M, KATAYOSE Y, ASHIKARI M, et al. Hd1, a major photoperiod sensitivity quantitative traits locus in rice, is closely related to the *Arabidopsis* flowering time gene *CONSTANS*[J]. *plant cell*, 2000, 12(12): 2473–2484.
- [21] LIU H, DONG S, SUN D, et al. *CONSTANS*-Like 9 (*OsCOL9*) interacts with receptor for activated C-Kinase 1 (*OsRACK1*) to regulate blast resistance through salicylic acid and ethylene signaling pathways[J]. *PLoS ONE*, 2016, 11: e166249.
- [22] SUN Y, FAN X Y, CAO D M, et al. Integration of brassinosteroid signal transduction with the transcription network for plant growth regulation in *Arabidopsis*[J]. *Developmental Cell*, 2010, 19: 765–777.
- [23] WANG Q, ZENG J, DENG K, et al. DBB1a, involved in gibberellin homeostasis, functions as a negative regulator of blue light-mediated hypocotylelongation in *Arabidopsis*[J]. *Planta*, 2011, 233: 13–23.
- [24] ZHANG Z, JI R, LI H, et al. *CONSTANS*-LIKE 7 (*COL7*) is involved in phytochrome B (phy B)-mediated light-quality regulation of auxin homeostasis[J]. *Molecular Plant*, 2014, 7: 1429–1440.
- [25] MIN J H, CHUNG J S, LEE K H, et al. The constance-like 4 transcription factor, *AtCOL4*, positively regulates abiotic stress tolerance through an abscisic acid-dependent manner in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2015, 57(3): 313–324.
- [26] YANG Y, MA C, XU Y, et al. A zinc finger protein regulates flowering time and abiotic stress tolerance in *Chrysanthemum* by modulating gibberellin biosynthesis[J]. *Plant Cell*, 2014, 26(5): 2038.
- [27] LIU Y N, HONG C, QI P, et al. The heterologous expression of *CmBBX22* delays leaf senescence and improves drought tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*

- Reports, 2019, 38: 15–24.
- [28] LIU X, LI R, DAI Y, et al. A B-box zinc finger protein, MdBBX10, enhanced salt and drought stresses tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Molecular Biology*, 2019, 99: 437–447.
- [29] 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): 325–7.
- [30] HUANG Y, MO Y, CHEN P, et al. Identification of SET domain-containing proteins in *Gossypium raimondii* and their response to high temperature stress [J]. *Science Reports*, 2016, 6: 32729.
- [31] PI B, HE X, RUAN Y, et al. Genome-wide analysis and stress-responsive expression of CCCH zinc finger family genes in *Brassica rapa* [J]. *BMC Plant Biology*, 2018, 18 (1) : 373.
- [32] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C(T)}$  method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402–8.
- [33] HUANG G T, MA S L, BAI L P, et al. Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants [J]. *Molecular Biology Reports*, 2012, 39(2): 969–87.
- [34] CROCCO, C D, BOTTO J F. BBX proteins in green plants: Insights into their evolution, structure, feature and functional diversification [J]. *Gene*, 2013, 531: 44–52.
- [35] YU L, LYU Z, LIU H, et al. Insights into the evolutionary origin and expansion of the BBX gene family [J]. *Plant Biotechnology Reports*, 2022, 16: 205–214.