

水稻IQD基因家族分析及进化研究

王絮^{1,2}, 方军³, 刘佳^{3*}, 唐中华^{1,2*}

¹东北林业大学化学化工与资源利用学院, 黑龙江 哈尔滨

²东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨

³中国科学院东北地理与农业生态研究所, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2022年12月16日; 录用日期: 2023年1月22日; 发布日期: 2023年1月29日

摘要

钙离子(Ca⁺)作为植物细胞中的一种信号分子, 通过其下游的Ca⁺受体蛋白, 即钙调素(CaM)与其靶蛋白结合, 在环境信号反应和植物的生长发育中具有重要的作用。对于细胞内钙瞬变的刺激特异性产生、钙信号的解码和信号转化为细胞反应是转导过程的组成模块。IQD蛋白是一类在高等植物中特有的钙调蛋白结合蛋白, 参与并调节钙调蛋白CaM (Calmodulin)与其他同源蛋白之间的相互作用。在这里, 我们筛选了水稻中钙调素靶蛋白的比较基因组分析。本研究通过使用生物信息学软件对水稻IQD家族, 进行结构分析、染色体位置、预测的蛋白质性质和基序、系统发育关系和进化史分析。在水稻基因组中, 共鉴定出22个IQD家族基因。IQD家族基因可以分为3个亚组, 位于一个亚组的IQD基因结构和基序组成相似。染色体定位分析, 22个IQD家族基因分布在8条染色体上。进化树分析, 发现水稻IQD家族基因与单子叶植物亲缘关系较近, 与双子叶植物亲缘关系较远, 在进化上出现物种间的差异性。GSE5属于IQD基因家族, 酵母双杂交指出蛋白POW1与GSE5不存在互作关系, 虽然这两种蛋白同时调控水稻籽粒大小, 但是并没有通过互作方式在水稻籽粒中发挥作用, 为深入研究IQD家族基因参与Ca⁺传导过程提供参考。

关键词

水稻, Ca⁺信号调节, 生长发育

Rice IQD Gene Family Analysis and Evolutionary Study

Xu Wang^{1,2}, Jun Fang³, Jia Liu^{3*}, Zhonghua Tang^{1,2*}

¹College of Chemistry, Chemical Engineering and Resource Utilization, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang

²The Key Laboratory of Forest Plant Ecology Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang

³Northeast Institute of Geography and Agroecology, CAS, Harbin Heilongjiang

*通讯作者。

Abstract

As a signaling molecule in plant cells, calcium ion (Ca^{2+}) binds to its target protein through its downstream Ca^{2+} receptor protein, calmodulin (CaM), which plays an important role in environmental signaling response and plant growth and development. Stimulus-specific production of intracellular calcium transients, decoding calcium signaling, and signal conversion into cellular responses are the building blocks of the transduction process. IQD proteins are a class of calmodulin-binding proteins unique to higher plants, which participate in and regulate the interaction between calmodulin CaM (Calmodulin) and other homologous proteins. Here, we screen for comparative genomic analysis of calmodulin target proteins in rice. In this study, the structure analysis, chromosome location, predicted protein properties and motif of the rice IQD family, phylogenetic relationships, and evolutionary history were analyzed by using bioinformatics software. In the rice genome, a total of 22 IQD family genes were identified. IQD family genes can be divided into 3 subgroups, and IQD gene structure and motif composition are similar in one subgroup. Chromosome mapping analysis, 22 IQD family genes were distributed on 8 chromosomes. Evolutionary tree analysis showed that rice IQD family genes were closely related to monocots and distantly related to dicots, and there were evolutionary differences between species. GSE5 belongs to the IQD gene family, and yeast double hybridization points out that the protein POW1 and GSE5 do not interact with each other, although these two proteins regulate rice grain size at the same time, but do not play a role in rice grain through interaction. This paper provides a reference for in-depth study of the participation of IQD family genes in the Ca^{2+} conduction process.

Keywords

Rice (*Oryza sativa L.*), Ca^{2+} Signal Conditioning, Growth and Development

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

干旱、冻害、高温、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[1]。植物短时间遭受干旱胁迫时，叶片出现暂时的下垂萎蔫现象，而长时间的干旱胁迫则会由短暂萎蔫变成永久性萎蔫甚至是死亡[2]。一般植物所需要的都是常年适宜的温度，当冷害发生时，植物可能会出现叶子卷曲、躯干受损、生长缓慢等一系列症状[3]。植物在受到高温伤害时可能会出现蛋白质变性，而间接伤害中也会造成代谢性饥饿[4]。

低温、干旱等多种逆境的胁迫会影响植物的生长发育[5]。钙离子作为细胞中的第二信使分子，参与植物逆境胁迫信号，在植物抵抗逆境环境中起着重要作用[6]。钙离子传递信号的过程，就是依靠其下游的钙离子受体蛋白作用，即钙调素(CaM)，它是一类广泛存在于植物体内的一种高度保守的钙离子受体蛋白[7]。CaM 介导信号传递需要与其下游的靶蛋白结合，即钙调素结合蛋白(CaMBPs)来调节植物的生长发育[8]。钙离子是通过钙调素介导传递信号，在没有钙或钙含量低时，可以不依赖钙离子与钙调素结合蛋白结合传递 2 信号[9]。目前发现，IQ 基序(IQxxxRGxxxR; Pfam 00612)被认为以不依赖 Ca^{2+} 的方式介导钙

调蛋白保留,而依赖于 Ca^+ 的相互作用可以通过两个相关的基序实现,成为 1-5-10 和 1-8-14,它们的区别在于它们的大容量疏水性和碱性氨基酸残基间的间距[10]-[15]。

水稻属于直接经济作物,是世界上重要的粮食产物之一[16]。钙信号途径主要影响水稻的生长发育[17]。研究表明,在拟南芥和水稻中,筛选到了一类具有 IQ67 结构域的钙调素结合蛋白,已被命名为 IQD 家族,分析结果表明 IQD 中含有依赖钙离子和不依赖钙离子的 CaMBP, IQD 家族是植物特有的 CaMBP 家族[18]。IQD1 是一类钙调素结合蛋白的编码基因, IQD26 存在不依赖钙离子结合的钙调素结合特性[19]。植物的生长发育会通过生物或非生物胁迫的影响,多种逆境胁迫也是限制水稻产量的重要原因,所以调控水稻籽粒大小从而影响水稻产量也具有重要意义。据报道, POW1 在水稻发育中调控籽粒大小[20],并发现水稻中 GSE5 也参与调控水稻的籽粒大小, GSE5 编码一种具有 IQ 结构域的质膜相关蛋白,它与水稻钙调蛋白 OsCaM1-1 相互作用[21]。为深入研究 POW1 与 IQD 基因的功能,对两个蛋白的互作进行了研究,得到对水稻籽粒大小调控的研究,从而丰富对水稻生长发育的研究,并进一步培育抗逆性强生长发育好的水稻提供可靠依据。

水稻作为禾本科单子叶模式植物,是植物遗传学科中的重要模式植物。IQD 是植物中重要的基因家族,并在信号转导中发挥重要作用,因此,在水稻中对 IQD 基因的进化研究具有重要意义。本研究通过生物信息学分析对水稻 IQD 基因家族的结构与基因水平的多样性分析,及对水稻与单子叶和双子叶不同种间关系的进化关系比较分析,为植物 IQD 基因的遗传进化方面提供理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 水稻 IQD 家族成员的基因组鉴定

首先在 Ensembl Plants 数据库(<http://plants.ensembl.org/index.thml>)中下载水稻的基因组数据。然后在 NCBI 中以“IQD”为关键词搜索 IQD 基因,并用 pfam 数据库(蛋白家族数据库, <http://pfam.janelia.org/search/sequence>)在线分析搜索到的 IQD 基因,获取 IQD 基因的 IQ 结构域保守序列的隐马尔可夫模型(HMM)。再将此模型作为查询(query)与已建立的水稻基因组氨基酸序列本地数据库进 Blastp (E-value = 0.001)序列比对,初步筛选出候选基因序列。将 BLAST 结果中得到的同源核苷酸序列的候选基因,分别通过 pfam (E-value = 1.0)进行分析,去除无 IQ 结构域的基因序列。再将候选 IQ 基因序列通过 MEGA 7.0 软件提供的 Clustal W 工具(多序列比对程序)进行多序列比对,去除重复序列。最终得出 IQD 基因家族的数量[22]。

2.2. 水稻 IQD 类型基因进化树的构建及分类

运用 Clustal W 方法对水稻所有的 IQD 基因进行多序列整合比对,然后利用 MEGA 4.0 进行邻接法(Neighbor-Joining method) (bootstrap = 1000)系统进化树的构建,从而可以分析水稻全基因组中 IQD 类型基因的进化关系。根据进化树的分支的远近程度不同,将 IQD 类型基因进行分类[23]。

2.3. 水稻 IQD 类型基因染色体物理位置的定位及命名

根据水稻基因组数据库(<http://plants.ensembl.org/index.thml>)提供的染色体 BLAST 工具进行水稻染色体的物理定位。将每个 IQD 基因与网站上公布的水稻基因组序列进行 BLAST,即可获得每个 IQD 基因在染色体上的起始位置。使用同样的方法获得所有 IQD 基因的起始位点,并根据他们在染色体上的不同位置进行命名。最后利用 MapInspect 软件将所有含有完整 IQD 结构的基因在水稻染色体上的物理位置绘制成图[24]。

2.4. 水稻 IQD 基因保守基序分析

采用 MEME 软件对玉米中所有的 IQD 类型基因进行完全序列保守基序的分析。MEME 软件是一套

用来寻找一组相关的 DNA 序列或者蛋白质序列的基序(motif)的程序,它可以根据每一条序列的排列方式来寻找基序的位置以及可能的字母矩阵,并根据所得结果进行统计学上的分析,从而更好的优化结果。为了研究 IQD 类型基因结构的多样性,我们对所获得的 IQD 类型基因的蛋白序列进行基序分析[25]。

2.5. 水稻与其他物种 IQD 类型基因进化树的构建及分析比较

为了研究水稻 IQD 基因与其他物种间的进化关系,将水稻与单、双子叶植物构建种间比较的进化树。由于基因结构复杂,数量较多,采用 Clustal X 软件进行比对构建[26]。

2.6. POW1 蛋白与 GSE5 蛋白相互作用验证

对 POW1 蛋白与 GSE5 蛋白相互作用验证。通过同源重组法,将 POW1 的 CDS 序列连接带有 DNA 结合结构域的载体 pGBKT7, GSE5 的 CDS 序列连接带有 DNA 结合结构域的载体 pGADT7。将 GSE5 的 CDS 序列连接带有 DNA 结合结构域的载体 pGBKT7, POW1 的 CDS 序列连接带有 DNA 结合结构域的载体 pGADT7。将构建好的目的质粒 pGBKT7-POW1 和 pGADT7-GSE5 以及 pGBKT7-GSE5 和 pGADT7-POW1 转入 Y2H 酵母感受态细胞(Frozen-EZ Yeast Transformation II Kit),涂布于营养缺陷型固体培养基 SD/-Trp/-Leu,稀释浓度为三个梯度,30℃倒置培养 60 h~80 h;挑取阳性转化酵母点涂于营养缺陷型 SD/-Ade/-His/-Trp/-Leu 固体培养基,30℃倒置培养 60 h~80 h,验证 POW1 和 GSE5 蛋白无自激活作用,得到 POW1 蛋白与 GSE5 蛋白是否发生互作作用。

3. 结果与分析

3.1. IQD 类基因系统发生学分析及分类

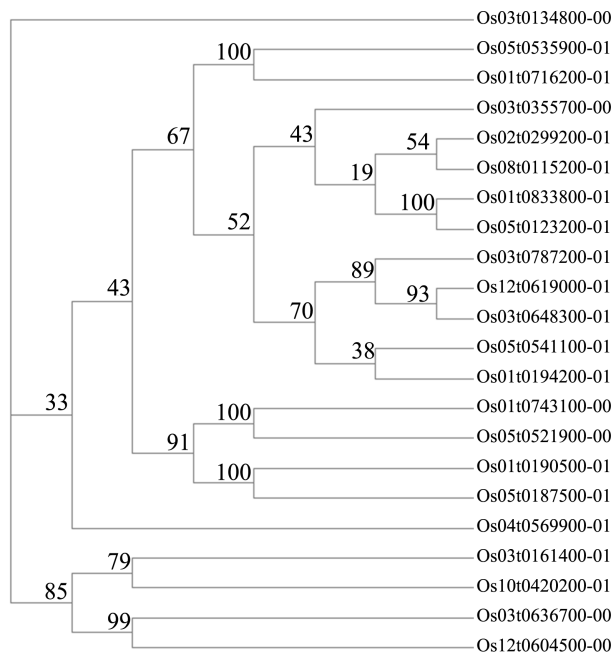


Figure 1. Phylogenetic analysis of the IQD genes in the rice genome

图 1. 水稻中 IQD 基因的系统进化树分析

通过水稻基因组比对搜索和分析后获得 22 个 IQD 类型基因的蛋白序列。这些 IQD 基因的 IQ 结构域具有相似的序列和基序,保守性和同源性较高。为了分析水稻中 IQD 基因的差异和亲缘关系,利用 MEGA

7.0 软件通过邻接法进行系统进化树的构建(图 1)。从图 1 中我们可以看出, 水稻 IQD 基因家族成员序列之间有一定的同源性, 但相似性不是很高。进化树将水稻 IQD 基因家族整体分为三分枝, 每个分枝上的 IQD 基因数量都不同。我们根据进化树显示的分枝关系, 将 22 个水稻 IQD 基因家族分为 3 个亚组。其中进化树中出现了几对同源关系较近的基因对, 例如: Os01t0190500-01 和 Os05t0187500-01。并已有报道, 这两个 IQD 家族基因在水稻中调控籽粒大小。在这三大分类中都包含着这样同源性相对较近两个基因组成的基因对, 但分布数量均不同。这也为研究基因家族复杂的复制现象提供依据。

3.2. IQD 基因家族及其系统发育

水稻作为单子叶模式作物, IQD 基因在不同物种间是否也存在亲缘关系, 为了更好的研究 IQD 基因在不同物种间的进化关系, 分别在水稻与单子叶植物和水稻与双子叶植物进行了比较, 探讨 IQD 基因家族在单子叶植物与双子叶植物中的进化关系(图 2)。在水稻中, 系统进化分析表明, 水稻 Os03t0161400 和水稻 Os05t0187500 与大麦的亲缘关系最近, 与高粱、谷物、玉米等禾本科植物具有较高的同源性, 其功能上说明 IQD 类基因在单子叶植物的亲源性较近, 与双子叶植物的亲源性相对较远, 在进化关系上出现物种间的差异。不同物种间基因高度保守, 说明 IQD 基因在不同物种间基因功能相似。

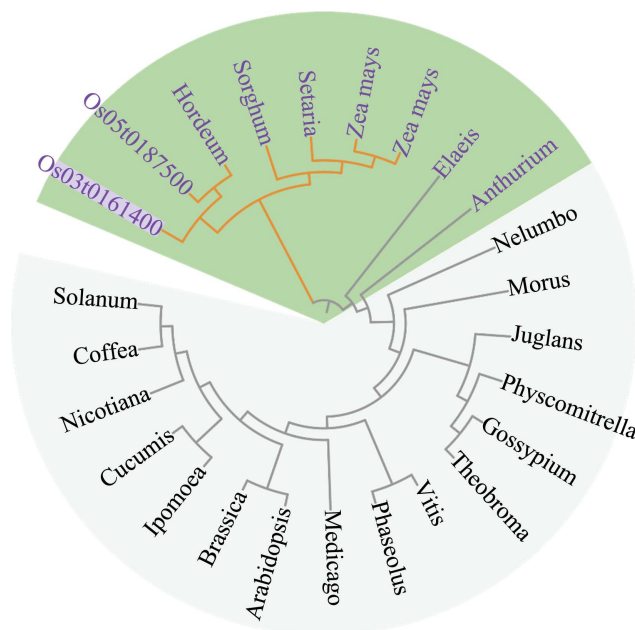


Figure 2. Phylogenetic tree of monocots, dicots and rice IQD genes
图 2. 单子叶, 双子叶植物和水稻 IQD 基因的进化树

3.3. IQD 家族基因演化聚类、保守蛋白结构与基因结构

为了分析水稻 IQD 家族成员内部间的亲缘关系, 通过最大似然法构建进化树。进化树结果表明: 22 个 IQD 蛋白可分为 3 个亚组(图 3)。为了获得关于 IQD 基因结构的信息, 分别对每个水稻 IQD 家族基因进行外显子/内含子结构分析。IQD 家族基因中同属一个亚组的 IQD 基因的基因结构较为相似, 所含内含子与外显子个数也基本相同。一般来说, 外显子长度, 外显子/内含子数量在各个进化支中是适度保守的, 表明生物学功能相似。使用 MEME 在线工具对 IQD 蛋白序列进行分析, 得到了 1~3 个保守的 Motif。有一些较短的结构基因, 例如: Os03t0134800-00, Os01t0743100-00 有较短的基序, 若在以后的研究中, 发现也在钙信号传导上具有作用, 它们所含有的基序就是发挥重要作用的基序。

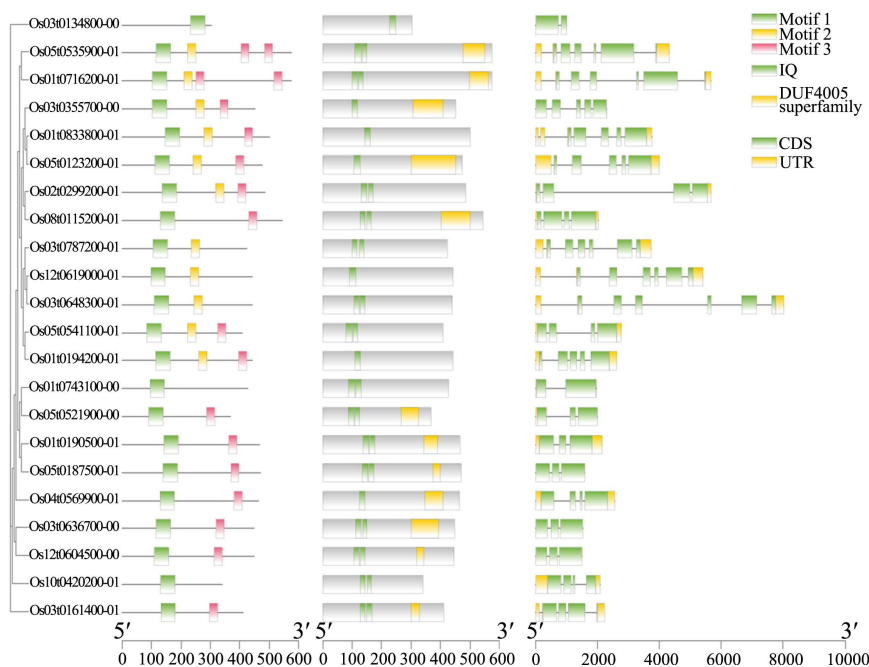


Figure 3. IQD gene phylogenetic tree, conserved motif of IQD protein, and IQD gene structure
图 3. IQD 基因系统发育树、IQD 蛋白的保守基序和 IQD 基因结构

3.4. IQD 基因染色体定位及选择压力

利用参考水稻基因组的基因结构注释文件对 IQD 家族基因进行染色体定位分析(图 4)。发现 IQD 家族基因分布在水稻的 8 条染色体上, 6 号、7 号、9 号和 11 号染色体上没有分布, 3 号染色体上最多, 有 6 个基因, 其次 1 号和 5 号分别有 5 个基因, 2 其余染色体上都只有 1 个基因分布。

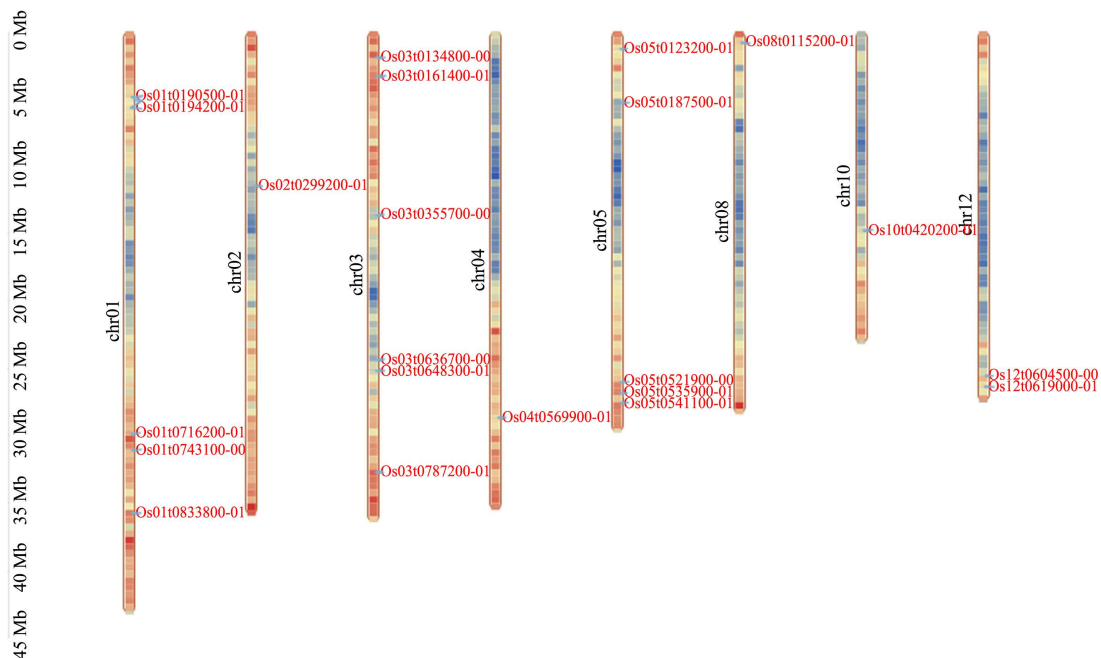


Figure 4. Chromosomal mapping of IQD family genes
图 4. IQD 家族基因染色体定位

3.5. POW1 蛋白与 GSE5 蛋白互作验证

在植物体内, 通常通过蛋白质相互作用参与植物生长发育, 和抵御逆境胁迫。POW1 可以调控水稻籽粒大小, GSE5 属于 IQD 家族与钙调蛋白相互作用, 并且也参与调控水稻籽粒。所以, 通过酵母双杂试验来验证 POW1 蛋白与 GSE5 蛋白的互作关系, 是否相互作用从而调节水稻的籽粒大小(图 5)。将 POW1 基因和 GSE5 基因分别连接到带有 DNA 结合结构域的载体 pGBKT7, 以及分别连接到带有 DNA 结合结构域的载体 pGADT7。结果表明, POW1 与 GSE5 蛋白均无自激活活性。pGBKT7-POW1 和 pGADT7-GSE5 在 SD/-Trp/-Leu/-Ade/-His 培养基上没有菌落生长, 同样, pGBKT7-GSE5 和 pGADT7-POW1 也同样没有生长。说明 POW1 和 GSE5 蛋白不存在互作作用。

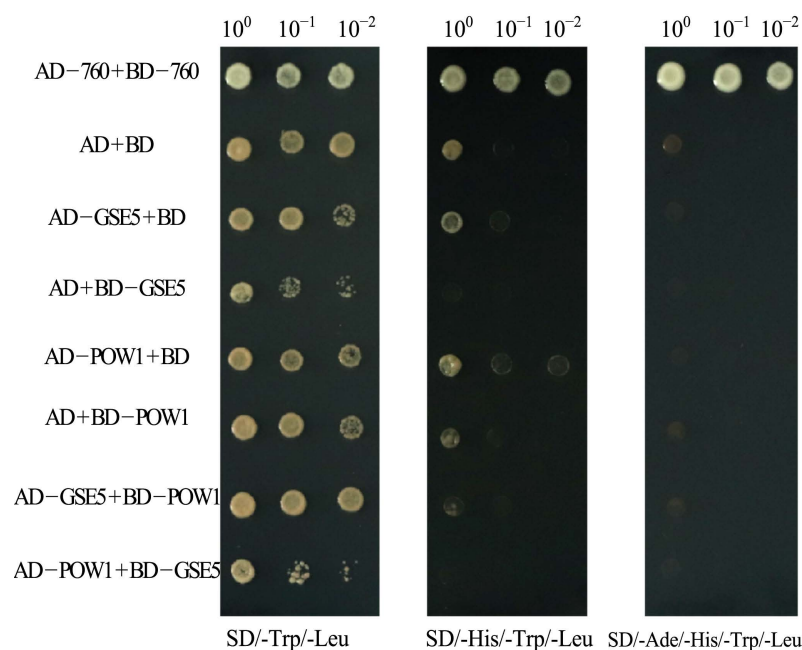


Figure 5. Interaction between POW1 protein and GSE5 protein
图 5. POW1 蛋白与 GSE5 蛋白互作验证

4. 讨论

水稻(*Oryza sativa* L)是一年生禾本科植物, 是亚热带广泛种植的重要谷物[27]。“民以食为天, 食以稻为先”水稻不仅是重要的粮食来源, 还有更重要的经济价值[28]。在中国水稻分布广泛, 生长条件适宜, 喜高温、多湿、短日照, 对土壤要求不严[29]。在科学上, 作为模式植物的研究倍受关注[30]。水稻基因组比较完整, 与大部分禾本科植物在遗传上具有相似性, 因此分析水稻的基因家族获取的信息的参考价值非常重要[10]。

IQD 家族基因参与钙信号调控植物生长发育, 在钙离子信号传导过程中, 直接影响钙调蛋白的表达[31]。现在的研究热点关注在 IQD 基因的研究, 对研究 IQD 家族基因的结构、功能、遗传进化方面具有重要意义[32] [33] [34]。目前, 已有研究报道, 在拟南芥中 IQD 基因家族具有多个保守结构域, 所以 IQD 家族成员的功能不同[35] [36]。随着水稻基因组的不断完善, 本研究分析了水稻中 IQD 家族基因, 采用生物信息学对水稻全基因组中 IQD 家族基因进行结构、功能、染色体定位、遗传进化、在单子叶、双子叶不同物种间的进化关系分析。结果表明, 在水稻 IQD 家族基因中, 各亚组之间的保守结构域不同, 在功能上有所差异。相对于双子叶植物, 水稻 IQD 基因在单子叶植物中相对保守。本研究中, 通过生物信

息学软件分析,最终确定了22个IQD类型基因,这与报道的拟南芥中33个IQD类型基因不同,这些不同的基因数量可能是在转录翻译后蛋白行使不同的功能,在一定程度上也可能存在功能上的冗余。

IQD家族基因不仅通过钙信号影响,从而提高植物在逆境下的胁迫作用[37][38][39][40],此外,在IQD家族基因中还存在其他调节植物生长发育的相应元件。GSE5在IQD家族中可以通过调控水稻籽粒大小来提高植物产量,影响植物生长,从而提高植物抵抗逆境胁迫。POW1在水稻发育中也同样影响水稻的籽粒大小。本研究通过酵母双杂试验,验证POW1与GSE5是否通过互作共同在水稻籽粒调控信号中发挥作用,结果表明,两个蛋白不存在直接的互作作用。所以,同一生物响应元件并不能协调作用来调控植物生长。因此IQD家族基因有复杂的调控网络,通过钙信号传导并结合钙调素结合蛋白,从而影响植物的抗胁迫作用,对深入研究水稻IQD家族基因调控植物生长发育具有重要意义。

5. 结论

本研究通过生物信息学方法对水稻IQD家族基因进行分析,共得到22个IQD家族基因,并且发现在进化过程中出现物种间的差异。IQD基因在钙信号转导途径中发挥作用,并通过调节钙信号从而提高植物在逆境中的胁迫作用,从而为进一步研究IQD家族基因提供参考依据。

基金项目

黑龙江省博士后科研启动金——香稻种质创新与香味退化机理研究(LBH-Q21049);中国科学院大豆分子设计育种重点实验室开放基金课题——水稻中类黄酮糖基转移酶筛选体系构建及功能验证(2021SMDB03)。

参考文献

- [1] 陈悦,孙明,哲贾博,为冷月,孙晓丽. 水稻 AP2/ERF 转录因子参与逆境胁迫应答的分子机制研究进展[J]. 作物学报, 2022, 48(4): 781-790.
- [2] Lafitte, H.R., Li, Z.K., Vijayakumar, C., Gao, Y.M., Shi, Y., Xu, J.L., *et al.* (2006) Improvement of Rice Drought Tolerance through Backcross Breeding: Evaluation of Donors and Selection in Drought Nurseries. *Field Crops Research*, **97**, 77-86. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.08.017>
- [3] Koseki, M., Kitazawa, N., Yonebayashi, S., Maehara, Y., Wang, Z.X. and Minobe, Y. (2010) Identification and Fine Mapping of a Major Quantitative Trait Locus Originating from Wild Rice, Controlling Cold Tolerance at the Seedling Stage. *Molecular Genetics & Genomics*, **284**, 45-54. <https://doi.org/10.1007/s00438-010-0548-1>
- [4] Prasad, P., Boote, K.J., Allen, L.H., Sheehy, J.E. and Thomas, J. (2006) Species, Ecotype and Cultivar Differences in Spikelet Fertility and Harvest Index of Rice in Response to High Temperature Stress. *Field Crops Research*, **95**, 398-411. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.04.008>
- [5] Huang, Y.M., Xiang, Y. and Xiong, L.Z. (2007) Characterization of Stress-Responsive CIPK Genes in Rice for Stress Tolerance Improvement. *Plant Physiology*, **144**, 1416-1428. <https://doi.org/10.1104/pp.107.101295>
- [6] Rudd, J.J. and Franklin-Tong, V.E. (2001) Unravelling Response-Specificity in Ca²⁺ Signalling Pathways in Plant Cells. *New Phytologist*, **151**, 7-33. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00173.x>
- [7] Evans, N.H., Mcainch, M.R. and Hetherington, A.M. (2001) Calcium Oscillations in Higher Plants. *Current Opinion in Plant Biology*, **4**, 415-420. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(00\)00194-1](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)00194-1)
- [8] Harper, J.F. (2001) Dissecting Calcium Oscillators in Plant Cells. *Trends in Plant Science*, **6**, 395-397. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(01\)02023-4](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(01)02023-4)
- [9] Snedden, W.A. and Fromm, H. (2010) Calmodulin as a Versatile Calcium Signal Transducer in Plants. *New Phytologist*, **151**, 35-66. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00154.x>
- [10] Abel, S., Savchenko, T. and Levy, M. (2005) Genome-Wide Comparative Analysis of the *iqd* Gene Families in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza Sativa*. *BMC Evolutionary Biology*, **5**, 72. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-5-72>
- [11] 马慧. 毛果杨全基因组 IQD 基因的鉴定及表达分析[D]: [硕士学位论文]. 合肥: 安徽农业大学, 2015.
- [12] 阮氏兴. 小麦 IQD 家族基因的克隆及功能研究[D]: [硕士学位论文]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015.

- [13] Martin, B. and Allen, R. (2002) Calmodulin Signaling via the iq Motif. *FEBS Letters*, **513**, 107-113.
- [14] Bürstenbinder, K., *et al.* (2013) Arabidopsis Calmodulin-Binding Protein IQ67-Domain 1 Localizes to Microtubules and Interacts with Kinesin Light Chain-Related Protein-1. *The Journal of Biological Chemistry*, **288**, 1871-1882. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.396200>
- [15] Rhoads, A.R. and Friedberg, F. (1997) Sequence Motifs for Calmodulin Recognition. *The FASEB Journal*, **11**, 331-340. <https://doi.org/10.1096/fasebj.11.5.9141499>
- [16] 卢宝荣, 蔡星星, 金鑫. 籼稻和粳稻的高效分子鉴定方法及其在水稻育种和进化研究中的意义[J]. 自然科学进展, 2009, 19(6): 11.
- [17] Yang, T. and Poovaiah, B.W. (2003) Yang t and Poovaiah Bwcalcium/Calmodulin-Mediated Signal Network in Plants. *Trends in Plant Science*, **8**, 505-512. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2003.09.004>
- [18] Stamm, G., Hause, G., Mitra, D., *et al.* (2017) The IQD Family of Calmodulin-Binding Proteins Links Calcium Signaling to Microtubules, Membrane Subdomains, and the Nucleus. *Plant Physiology*, **173**, 1692. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01743>
- [19] Liu, M. and Grigoriev, A. (2004) Protein Domains Correlate Strongly with Exons in Multiple Eukaryotic Genomes—Evidence of Exon Shuffling. *Trends in Genetics*, **20**, 399-403. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2004.06.013>
- [20] Yao, S., Zhang, L., Wang, R., Wang, Y. and Chu, J. (2019) Separable Regulation of POW1 in TAF2-Mediated Grain Development and BR-Mediated Leaf Angle Formation in Rice. Cold Spring Harbor Laboratory. <https://doi.org/10.1101/830620>
- [21] Duan, P.G., *et al.* (2017) Natural Variation in the Promoter of GSE5 Contributes to Grain Size Diversity in Rice. *Molecular Plant*, **10**, 685-694. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.03.009>
- [22] Yu, C.S. and Hwang, J.K. (2008) Prediction of Protein Subcellular Localizations. *Proceedings of the 2008 8th International Conference on Intelligent Systems Design and Applications*, Vol. 1, 165-170. <https://doi.org/10.1109/ISDA.2008.306>
- [23] Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. (2015) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, **33**, 1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- [24] Wang, Y.P., *et al.* (2012) MCScanX: A Toolkit for Detection and Evolutionary Analysis of Gene Synteny and Colinearity. *Nucleic Acids Research*, **40**, e49.
- [25] 杨泽峰, 顾世梁, 许花, 等. 拟南芥和水稻 cystatin 基因家族的生物信息学分析[J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2007, 28(3): 51-57.
- [26] Aiyar, A. (2000) The Use of Clustal W and Clustal X for Multiple Sequence Alignment. *Methods in Molecular Biology*, **132**, 221-241. <https://doi.org/10.1385/1-59259-192-2:221>
- [27] Tang, L., Zhu, Y., Hannaway, D., Meng, Y., Liu, L., Chen, L., *et al.* (2011) Ricegrow: A Rice Growth and Productivity Model. *NJAS: Wageningen Journal of Life Sciences*, **57**, 83-92. <https://doi.org/10.1016/j.njas.2009.12.003>
- [28] Ram, H., Singh, J.P., Bohra, J.S., Singh, R.K. and Sutaliya, J.M. (2014) Effect of Seedlings Age and Plant Spacing on Growth, Yield, Nutrient Uptake and Economics of Rice (*Oryza sativa*) Genotypes under System of Rice Intensification. *Indian Journal of Agronomy*, **59**, 256-260.
- [29] Flowers, T.J., Hajibagherp, M.A. and Yeo, A.R. (2010) Ion Accumulation in the Cell Walls of Rice Plants Growing under Saline Conditions: Evidence for the Oertli Hypothesis. *Plant, Cell & Environment*, **14**, 319-325. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1991.tb01507.x>
- [30] 毕学知, 宋运淳, 肖诩华. 水稻基因组研究进展[J]. 武汉植物学研究, 1998, 16(2): 177-187.
- [31] 尹倩倩, 李明, 丁博, 等. 植物钙调素结合蛋白 IQD 的研究概况[J]. 分子植物育种, 2016, 14(11): 3224-3231.
- [32] Wu, M., Li, Y., Chen, D., Liu, H., Zhu, D. and Xiang, Y. (2016) Genome-Wide Identification and Expression Analysis of the IQD Gene Family in Moso Bamboo (*Phyllostachys edulis*). *Scientific Reports*, **6**, Article No. 24520. <https://doi.org/10.1038/srep24520>
- [33] Wendrich, J.R., Yang, B.J., Mijnhout, P., Xue, H.W. and Weijers, D. (2018) IQD Proteins Integrate Auxin and Calcium Signaling to Regulate Microtubule Dynamics during Arabidopsis Development. Cold Spring Harbor Laboratory. <https://doi.org/10.1101/275560>
- [34] 金思. 玉米全基因组 IQD 基因的分析及进化研究[D]: [硕士学位论文]. 合肥: 安徽农业大学, 2012.
- [35] Dipannita, M., Sandra, K., Pratibha, K., Jakob, Q., Birgit, M., Yvonne, P., *et al.* (2018) Microtubule-Associated Protein IQ67 DOMAIN5 Regulates Interdigitation of Leaf Pavement Cells in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*.
- [36] Wei, H.Y., Guo, Z.Q., Wang, Z.J., Li, Z.W. and Cui, S.J. (2008) Isolation and Characterization of Calmodulin-Binding Protein ATIQD26 in *Arabidopsis thaliana*. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, **35**, 703-711.

-
- [37] Tsai, Y.C., McCormack, E. and Braam, J. (2013) Handling Calcium Signaling: Arabidopsis CaMs and CMLs.
- [38] Kudla, J. and Xu, Q. (1999) Genes for Calcineurin b-Like Proteins in Arabidopsis are Differentially Regulated by Stress Signals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **96**, 4718-4723. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.8.4718>
- [39] Sheen, J. (1997) Ca²⁺-Dependent Protein Kinases and Stress Signal Transduction in Plants. *Science*, **274**, 1900-1902. <https://doi.org/10.1126/science.274.5294.1900>
- [40] Romeis, T., Ludwig, A.A., Martin, R., *et al.* (2001) Calcium-Dependent Protein Kinases Play an Essential Role in a Plant Defence Response. *EMBO Journal*, **20**, 5556-5567. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.20.5556>