

网络出版时间: 2025-11-26

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20251125.1702.003>

小麦 PLD 基因家族鉴定及其表达分析

董海滨¹, 郝向阳², 付一涵², 齐学礼¹, 张煜¹, 胡琳¹, 许为钢¹

(1. 河南省作物分子育种研究院/河南省麦类种质资源创新与改良重点实验室, 河南郑州 450002; 2. 河南科技大学农学院, 河南洛阳 471000)

摘要: 磷脂酶 D(PLD) 作为一类重要的脂质代谢酶, 广泛参与信号转导、膜结构重塑、逆境响应等生理过程, 尤其在植物免疫防御和非生物胁迫中扮演关键角色。为了解小麦 PLD 家族成员的功能, 利用全基因组扫描结合保守结构域分析对小麦 PLD 基因家族成员进行鉴定并进行系统发育分析, 同时通过转录组数据对其表达模式进行了全面分析。结果表明, 在小麦中共鉴定出 51 个 *TaPLD* 基因, 这些基因可分为 α 、 β 、 φ 、 δ 、 κ 、 ζ 共 6 个亚族, 其中 α 亚族成员最多, 且序列保守性最高; 每个 *TaPLD* 蛋白中至少包含 1 个 HKD(His-Lys-Asp) 基序(PLD 特征结构域); 大多数 *TaPLD* 被预测定位于细胞质, 少数定位于叶绿体、内质网或液泡。*TaPLD* 基因主要分布在 1 号、5 号、7 号染色体上, 其在小麦基因组内部、物种间存在多种基因复制现象。通过转录组数据分析, 11 个 *TaPLD* 基因在花药中特异性表达, 接种小麦壳针孢菌、白粉病菌和条锈病菌后, *TaPLD α 9*、*TaPLD α 10*、*TaPLD α 11*、*TaPLD β 5* 等多个基因被诱导表达。低温处理后, *TaPLD ζ 1*、*TaPLD ζ 2* 和 *TaPLD ζ 3* 显著上调表达。干旱和高温处理后, *TaPLD α 9*、*TaPLD α 10*、*TaPLD α 11* 显著上调表达, 干旱处理后这 3 个基因的相对表达量更高。本研究首次预测了小麦 PLD 基因的分子特征及其在小麦生长发育、免疫防御和非生物胁迫中的作用, 可为小麦生长发育、抗病和抗逆分子机制研究提供新视角。

关键词: 小麦; PLD; 免疫防御; 非生物胁迫; 表达模式

中图分类号: S512.1; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2026)03-0279-14

Identification of PLD Gene Family and Expression Analysis in Wheat

DONG Haibin¹, HAO Xiangyang², FU Yihan², QI Xueli¹, ZHANG Yu¹, HU Lin¹, XU Weigang¹

(1. Institute of Crop Molecular Breeding, Henan Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Wheat Germplasm Resources Innovation and Improvement in Henan Province, Zhengzhou, Henan 450002, China; 2. College of Agriculture, Henan University of Science and Technology Luoyang, Henan 471000, China)

Abstract: Phospholipase D(PLD) is a type of important lipid metabolic enzyme that is widely involved in signal transduction, membrane structure remodeling, and stress responses, especially playing a crucial role in plant immune defense and abiotic stress. To understand the functions of the wheat PLD family members, this study utilized bioinformatics for genome-wide identification, combined with conservation domain analysis to identify and classify the wheat PLD gene family members. Phylogenetic analysis and the expression patterns analysis of these genes were comprehensively conducted. A total of 51 *TaPLD* genes were identified in wheat, which can be classified into 6 subfamilies: α , β , φ , δ , κ and ζ . Among them, the α subfamily has the most members and the highest sequence conservation. Each *TaPLD* contains a basic HKD(His-Lys-Asp) motif sequence of the PLD domain. Most *TaPLD* are predicted to be located in the cytoplasm, while a few of them are located in the chloroplast, endoplasmic reticulum, or vacuole. *TaPLD* genes are mainly distributed on chromosomes 1, 5, and 7. Moreover, there are various gene duplication phenomena within the wheat genome and among

收稿日期: 2025-05-19

修回日期: 2025-06-20

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD1201004)

第一作者 E-mail: donghb1021@163.com(董海滨); haoxiangyang001@163.com(郝向阳)

通讯作者 E-mail: xuwg1958@163.com(许为钢)

species. Transcriptome data analysis showed that 11 *TaPLD* genes are specifically expressed in anther. After inoculation with wheat powdery mildew fungus, powdery mildew pathogen and stripe rust pathogen, multiple genes such as *TaPLD α 9*, *TaPLD α 10*, *TaPLD α 11* and *TaPLD β 5* were induced to express. After low-temperature treatment, *TaPLD ζ 1*, *TaPLD ζ 2* and *TaPLD ζ 3* were significantly induced to express. After drought and high-temperature treatments, *TaPLD α 9*, *TaPLD α 10* and *TaPLD α 11* were significantly upregulated, and the relative expression levels of the three genes were higher under drought treatment. These data provide a systematic revelation of the molecular characteristics of wheat PLD genes and their potential roles in growth and development, immune defense and abiotic stresses, offering new perspectives for the study of the molecular mechanisms of wheat growth, disease resistance, and stress tolerance.

Keywords: Wheat; PLD; Immune defense; Abiotic stresses; Pattern of expression

磷脂酶是一类负责植物中磷脂代谢和合成的酶,根据其水解磷脂的位置,被分为磷脂酶 A1、磷脂酶 A2、磷脂酶 B、磷脂酶 C 和磷脂酶 D (PLD) 共 5 种类型^[1]。其中,PLD 通过催化磷脂水解生成 PA 和自由头部基团,在植物细胞中发挥核心调控作用^[2-3]。近年来,磷脂的信号转导功能逐渐成为研究热点,这其中包括磷脂酰肌醇 (PIs) 通过磷酸化级联反应调控细胞骨架重组,磷脂酸 (PA) 作为第二信使参与植物胁迫响应^[4-6]。这些功能的实现依赖于磷脂代谢酶(如磷脂酶、激酶和磷酸酶)的精准调控,其中 PLD 因其产物 PA 的多功能性而备受关注^[7]。

PLD 已在许多植物中得到鉴定,包括拟南芥^[8]、水稻^[9]、番茄^[10]、马铃薯^[1]和茶^[11]。根据结构差异,植物 PLD 可分为 α 、 β 、 φ 、 δ 、 κ 、 ζ 6 个亚族,其中 α 亚族在进化中最为保守;所有 PLD 均包含保守的 His-Lys-Asp 基序 (HKD, 又称 PLDc 结构域),大部分 PLD 包含 C2 结构域,其能够与 Ca^{2+} 结合,增强 PLD 与底物的亲和力^[12]。部分 PLD 携带 plekstrin 同源结构域 (PH domain) 或跨膜螺旋区^[2]。

研究表明,水稻 PLD 与水稻黄单胞菌抗性相关^[13]。*HvPLD δ* 可响应大麦白粉病信号^[14]。敲除水稻 *OsPLD β 1* 基因的植株对稻瘟病菌和水稻黄单胞菌表现出更高抗性^[15]。*AtPLD α 1* 缺失的拟南芥对干旱胁迫的耐受能力下降,而 *AtPLD α 1* 过表达可增强拟南芥的抗旱性^[16]。*AtPLD α 1* 和 *AtPLD δ* 在盐胁迫下被激活,二者的单敲除和双敲除突变体对高盐胁迫的敏感性增强^[17]。*AtPLD ζ 1* 和 *AtPLD ζ 2* 与拟南芥在磷胁迫期间的根伸长有关^[18]。大豆中,*GmPLD α 1* 单碱基敲除突变体种

子中脂肪酸含量增加,磷脂酸含量减少,种子活力显著提升,显著延缓了高温高湿导致的种子衰老^[19]。此外,ABA 可激活 *AtPLD α 1*, *AtPLD α 1* 衍生的 PA 与蛋白磷酸酶 2C ABI1 结合,而蛋白磷酸酶 2C ABI1 是 ABA 反应的负调节因子^[20-21]。*AtPLD ζ 2* 和 PA 通过 *AtPIN2* (pin-formed2) 循环正调控囊泡运输和生长素极性运输^[22]。这些研究表明,PLD 在植物生长发育中发挥关键作用。

尽管 PLD 在模式植物中已被广泛研究,但其在小麦中的功能解析尚处于起步阶段。本研究拟在全基因组水平鉴定小麦 PLD 基因,并结合系统发育和共线性分析及转录组数据分析,揭示 PLD 基因的进化特征及其与生长发育、抗病和抗逆的相关性,为解析小麦生长发育、抗病和抗逆分子机制提供新视角和理论基础。

1 材料和方法

1.1 小麦 PLD 基因的鉴定与理化性质分析

从 Ensembl 植物数据库 (<http://plants.ensembl.org/info/website/ftp/index.html>) 中获得 *T. aestivum* 的全基因组数据 (IWGSC RefSeq_v1.1),以 *Arabidopsis*^[8]、*O. sativa*^[9] 和 *Solanum. tuberosum*^[1] 的 PLD 蛋白序列作为查询序列,使用 BLASTP 程序 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) 对小麦蛋白数据集进行搜索,设置 E-value $< 1e^{-5}$ 为阈值。从 Pfam 数据库 (<http://pfam.xfam.org/>) 下载 PLD 结构域 C2 (pfam00168) 和 PLDc (pfam00614) 的隐马尔可夫模型 (HMM),使用 HMMER 搜索工具对所有小麦蛋白序列进行检测。利用 NCBI-Batch CD-Search^[23] (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>) 和

SMART 数据库 (<http://smart.embl.de/>) 对候选 PLD 基因进行进一步验证。这些物种的候选基因中还有其他剪接转录本,选择第一个剪接转录本作为代表进行后续分析。使用 ExPASy 服务器^[24]计算 TaPLDs 蛋白序列,获得理论等电点(pI)、分子量(MW)、不稳定指数(II)、脂肪指数(AI)和疏水性(GRAVY)。利用 Plant-mPLOC^[25] (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/cgi-bin/Plant-mPLOC.cgi>)预测 TaPLD 蛋白的亚细胞定位。

1.2 TaPLD 的系统发育分析

对拟南芥、水稻、马铃薯和小麦 4 个物种的 PLD 蛋白进行系统进化分析,采用默认参数的 MUSCLE 方法,使用 Jalview 2.11 软件 (<http://www.jalview.org/>) 进行多序列比对。在 MEGA X^[26] (molecular evolutionary genetics analysis) 软件中使用邻接法^[27]进行进化分析。在分支旁边显示相关类群在 bootstrap 测试(1 000 次重复)中聚集在一起的复制树的百分比。通过 iTOL 网站 (<http://itol.embl.de/>) 进行系统进化树可视化。

1.3 TaPLD 基因结构分析

利用 NCBI Batch CD-Search、PFAM 数据库和 TBtools 软件(v1.068)对基因结构和保守结构域进行分析和可视化。采用 MEME v5.3.1 (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 软件分析基因的保守基序,最适基序设置为 ≥ 10 、 ≤ 200 个氨基酸,最大基序数目为 10 个。从 Ensembl 植物数据库获得基因组 GFF3 (general feature format) 基因注释文件,从 GFF3 文件中提取小麦注释中的 PLD 基因。使用 TBtools 软件(v1.082) (<https://github.com/CJ-Chen/TBtools>) 确定并生成 PLD 基因的结构图。

1.4 TaPLD 的复制类型及共线性分析

根据已报道的方法检测 PLD 基因的复制类型^[11]。利用 MCSanX (multiple collinear scan toolkit)^[28] 软件检测 TaPLD 基因之间的共线区域及 TaPLD 与 3 个单子叶植物(大麦、玉米和水稻)和 3 个双子叶植物(拟南芥、雷蒙氏棉和白菜)的共线区。从 Ensembl 植物数据库 (<http://plants.ensembl.org/info/website/ftp/index.html>) 获得大麦、玉米、拟南芥、雷蒙氏棉和白菜的全基因组数据。利用 shinyCircos^[29] 对所有 TaPLD 基因定位。

使用 TBtools(v1.082)^[30] 软件对 TaPLD 的基因重复事件和物种间的共线性进行可视化分析。

1.5 TaPLD 蛋白的 GO 注释分析

将 TaPLD 蛋白的氨基酸序列上传至 KOBAS 数据库 (<http://kobas.cbi.pku.edu.cn/kobas3>)^[31] 原程序进行 GO 注释。使用在线工具 OmicStudio (<https://www.omicstudio.cn/tool>)^[32] 对 GO 注释结果进行可视化。

1.6 TaPLD 基因的表达分析

从小麦表达网站 (<http://www.wheat-expression.com/download>) 获得 TaPLDs 的转录数据^[33-34]。基于 TaPLD 基因转录本每百万拷贝数的 $\log^2$ (TPM) 值进行系统聚类分析,去除不表达的基因。使用 OmicStudio (<https://www.omicstudio.cn/tool>) 绘制表达模式热图。

2 结果与分析

2.1 小麦 PLD 基因家族成员的分布及其理化性质分析

基于小麦全基因组数据,使用 HMM 和 BLASTP 方法进行鉴定,再通过 NCBI-Batch CD-Search、PFAM 数据库和 SMART 数据库进行确认,最终在小麦中鉴定出 51 个 TaPLD 基因(表 1)。根据这些基因的染色体位置和物理位置以及进化关系,将其命名为 TaPLD α 1~TaPLD α 25、TaPLD β 1~TaPLD β 9、TaPLD δ 1~TaPLD δ 9、TaPLD κ 1~TaPLD κ 2、TaPLD ζ 1~TaPLD ζ 3 和 TaPLD ϕ 1~TaPLD ϕ 3 (表 1)。使用 ExPASy Server 在线工具分析 TaPLDs 蛋白特征发现,最短的蛋白质包含 515 个氨基酸(TaPLD ϕ 1、TaPLD ϕ 2),最长的蛋白质包含 1 131 个氨基酸(TaPLD ζ 2、TaPLD ζ 3)。TaPLDs 分子量在 57 648.35 Da (TaPLD ϕ 1)~128 701.22 Da (TaPLD ζ 3)之间,等电点为 5.27~9.27。其中,37 个 TaPLDs 为酸性蛋白(pI<7),14 个 TaPLDs 为碱性蛋白(pI>7)。22 个 TaPLDs 的不稳定指数大于 40,为不稳定蛋白;29 个 TaPLDs 不稳定指数小于 40,为稳定蛋白。51 个 TaPLDs 的脂肪指数为 66.90~84.15,疏水指数为-0.246~-0.464,表明这 51 个 TaPLDs 均为疏水性蛋白。利用 Plant-mPLOC 预测 TaPLDs 的亚细胞定位发现,少数 TaPLDs 定位于叶绿体、内质网或液泡,大多数成员定位于细胞质(表 1)。

表 1 小麦PLD家族基因的特性
Table 1 Properties of PLD genes in wheat

基因 ID Gene ID	名称 Name	染色体 Chromosomal location	等电点 Isoelectric point	相对分子质量 Molecular weight/Da	氨基酸长度 Amino acid length/aa	不稳定指数 Instability index	脂肪指数 Aliphatic index	亲水指数 Hydropathy index	亚细胞定位 Subcellular localization
TraesCS1A02G115300.1	<i>TaPLDa1</i>	1A	5.81	91 024.18	815	39.60	78.98	-0.372	Endoplasmic reticulum, Vacuole
TraesCS1A02G187400.1	<i>TaPLDβ1</i>	1A	7.82	91 235.32	1 107	51.95	66.90	-0.520	Nucleus
TraesCS1A02G228300.1	<i>TaPLDγ1</i>	1A	7.05	126 748.06	1 113	44.49	81.14	-0.464	Cytoplasm
TraesCS1A02G365100.1	<i>TaPLDβ2</i>	1A	8.41	90 659.24	808	40.37	82.56	-0.362	Cytoplasm
TraesCS1A02G373100.1	<i>TaPLDa2</i>	1A	6.59	91 468.48	826	35.94	81.39	-0.327	Endoplasmic reticulum, Vacuole
TraesCS1B02G050400.1	<i>TaPLDa3</i>	1B	5.89	92 553.28	828	39.74	79.28	-0.392	Cytoplasm
TraesCS1B02G135200.1	<i>TaPLDa4</i>	1B	5.64	91 215.45	818	41.22	78.57	-0.340	Endoplasmic reticulum, Vacuole
TraesCS1B02G195200.1	<i>TaPLDβ3</i>	1B	7.38	91 588.35	810	36.95	82.93	-0.357	Cytoplasm
TraesCS1B02G242500.1	<i>TaPLDγ2</i>	1B	6.72	128 678.22	1 131	44.31	81.66	-0.460	Cytoplasm
TraesCS1B02G382600.1	<i>TaPLDβ4</i>	1B	6.58	92 767.39	828	38.00	82.10	-0.344	Cytoplasm
TraesCS1B02G393300.1	<i>TaPLDa5</i>	1B	6.71	75 975.01	683	36.51	79.28	-0.372	Endoplasmic reticulum, Vacuole
TraesCS1D02G035800.1	<i>TaPLDa6</i>	1D	5.99	91 295.98	821	35.58	80.32	-0.355	Cytoplasm
TraesCS1D02G116700.1	<i>TaPLDa7</i>	1D	5.76	91 076.17	815	40.46	78.61	-0.379	Endoplasmic reticulum, Vacuole
TraesCS1D02G189300.1	<i>TaPLDβ5</i>	1D	7.66	91 717.49	810	36.64	81.84	-0.380	Cytoplasm
TraesCS1D02G230100.1	<i>TaPLDγ3</i>	1D	6.72	128 701.22	1 131	44.79	81.57	-0.464	Cytoplasm
TraesCS1D02G370600.1	<i>TaPLDβ6</i>	1D	7.18	93 058.84	828	40.90	83.38	-0.364	Cytoplasm
TraesCS1D02G379900.1	<i>TaPLDa8</i>	1D	6.38	91 787.68	828	40.10	79.65	-0.372	Endoplasmic reticulum, Vacuole
TraesCS3A02G130000.1	<i>TaPLDa9</i>	3A	5.27	92 062.26	812	39.46	83.82	-0.379	Endoplasmic reticulum, Vacuole
TraesCS3B02G149100.1	<i>TaPLDa10</i>	3B	5.30	92 048.28	812	39.25	83.82	-0.377	Endoplasmic reticulum, Vacuole
TraesCS3D02G130900.1	<i>TaPLDa11</i>	3D	5.29	92 014.21	812	38.78	82.73	-0.384	Endoplasmic reticulum, Vacuole
TraesCS4A02G347800.2	<i>TaPLDδ1</i>	4A	9.27	70 432.34	621	50.39	72.59	-0.510	Cytoplasm, Vacuole
TraesCS4B02G352300.1	<i>TaPLDβ7</i>	4B	6.51	96 296.06	857	35.38	80.43	-0.376	Cytoplasm
TraesCS4B02G377600.1	<i>TaPLDa12</i>	4B	6.09	91 847.17	821	40.78	84.15	-0.325	Endoplasmicreticulum, Vacuole
TraesCS4D02G346700.1	<i>TaPLDβ8</i>	4D	6.50	93 168.37	831	34.60	79.19	-0.377	Cytoplasm
TraesCS5A02G202000.1	<i>TaPLDδ2</i>	5A	6.64	94 827.79	839	40.49	78.55	-0.420	Cytoplasm

(续表 1 Continued table 1)

基因 ID Gene ID	名称 Name	染色体 Chromosomal location	等电点 Isoelectric point	相对分子质量 Molecular weight/Da	氨基酸长度 Amino acid length/aa	不稳定指数 Instability index	脂脂指数 Aliphatic index	亲水指数 Hydrophathy index	亚细胞定位 Subcellular localization
TraesCS5A02G223500.1	TaPLDα13	5A	6.22	90 782.44	826	37.19	79.85	-0.256	Cytoplasm
TraesCS5A02G337100.1	TaPLDδ3	5A	6.93	96 932.00	860	39.51	77.42	-0.438	Cytoplasm
TraesCS5A02G520900.1	TaPLDβ9	5A	6.32	92 996.16	831	35.84	79.09	-0.374	Cytoplasm
TraesCS5B02G200600.1	TaPLDδ4	5B	6.62	95 599.80	845	41.07	79.12	-0.388	Cytoplasm
TraesCS5B02G222500.1	TaPLDα14	5B	6.13	91 012.70	826	38.41	79.75	-0.262	Cytoplasm
TraesCS5B02G336100.1	TaPLDδ5	5B	7.08	97 133.28	862	38.31	77.81	-0.428	Cytoplasm
TraesCS5B02G525600.1	TaPLDδ6	5B	8.76	94 216.84	848	39.99	77.06	-0.353	Cytoplasm
TraesCS5D02G208300.2	TaPLDδ7	5D	6.63	95 602.68	845	41.51	79.03	-0.415	Cytoplasm
TraesCS5D02G231100.1	TaPLDα15	5D	5.89	91 215.81	830	36.37	79.48	-0.257	Cytoplasm
TraesCS5D02G341800.1	TaPLDδ8	5D	7.63	78 928.59	700	40.50	78.00	-0.425	Cytoplasm
TraesCS5D02G524600.1	TaPLDδ9	5D	8.86	93 927.67	840	43.14	78.37	-0.372	Cytoplasm
TraesCS6A02G071700.1	TaPLDκ1	6A	7.93	96 153.27	869	48.36	79.18	-0.378	Cytoplasm
TraesCS6B02G096200.1	TaPLDκ2	6B	6.92	96 207.38	865	47.98	79.88	-0.370	Cytoplasm
TraesCS7A02G376500.3	TaPLDα16	7A	6.51	91 906.24	820	38.92	80.30	-0.355	Endoplasmic reticulum, Vacuole
TraesCS7A02G506200.1	TaPLDϕ1	7A	6.84	57 648.35	515	43.59	81.63	-0.252	Chloroplast, Vacuole
TraesCS7A02G544900.1	TaPLDα17	7A	6.36	85 959.21	774	35.33	83.67	-0.323	Cytoplasm
TraesCS7A02G545000.1	TaPLDα18	7A	5.93	92 408.24	826	38.22	81.82	-0.333	Cytoplasm
TraesCS7B02G277900.2	TaPLDα19	7B	6.39	91 850.99	820	39.34	79.48	-0.371	Endoplasmic reticulum, Vacuole
TraesCS7B02G413700.1	TaPLDϕ2	7B	7.16	57 683.40	515	41.76	81.81	-0.265	Chloroplast, Vacuole
TraesCS7B02G468200.1	TaPLDα20	7B	6.23	92 147.01	826	35.33	81.22	-0.353	Cytoplasm
TraesCS7B02G468300.1	TaPLDα21	7B	6.1	92 161.00	824	37.32	82.50	-0.330	Cytoplasm
TraesCS7D02G372800.1	TaPLDα22	7D	6.56	91 918.12	820	40.76	79.24	-0.374	Endoplasmic reticulum, Vacuole
TraesCS7D02G494300.1	TaPLDϕ3	7D	8.05	57 849.83	516	42.48	82.79	-0.246	Chloroplast, Vacuole
TraesCS7D02G531200.1	TaPLDα23	7D	6.25	91 504.50	824	33.32	82.63	-0.299	Cytoplasm
TraesCS7D02G531300.1	TaPLDα24	7D	6.04	92 266.16	824	38.37	82.27	-0.331	Cytoplasm
TraesCSU02G145400.1	TaPLDα25	U	6.09	92 142.49	821	38.50	82.95	-0.349	Endoplasmic reticulum, Vacuole

2.2 TaPLD 蛋白序列比对和系统发育分析

对 51 个 TaPLDs 进行序列比对(图 1)发现,每个 TaPLD 至少存在 1 个 HKD 基序。对小麦、水稻、拟南芥和白菜的 PLD 构建系统发育树,结果(图 2)显示,供试 PLD 可分为 α 、 β 、 δ 、 κ 、 ζ 、 φ 6 个亚族, TaPLD 成员在 6 个亚族均有分布,其中在 α 亚族分布最多,有 43 个,在 κ 亚族中分布最少,只有 3 个。水稻 PLD 也在每个亚族都有分布,而 κ 和 φ 亚族中没有拟南芥和白菜的 PLD 分布。推测 PLD 基因家族成员在单子叶和双子叶植物间存在分化差异。

2.3 TaPLD 基因结构分析

对 51 个 TaPLD 基因的保守基序、结构域、外显子和内含子进行了分析,结果(图 3)发现,51 个 TaPLD 蛋白共存在 10 个 motif。除 φ 亚族外,其余 TaPLD 蛋白均含有 motif 3、motif 5 和 motif 6,表明这 3 个 motif 是 TaPLD 蛋白的重要组成

部分。不同亚族的 TaPLD 成员含有不同的 motif。例如, motif 3、motif 4、motif 5 和 motif 8 存在于 α 、 β 、 δ 和 κ 亚族的所有 TaPLD 成员中,而亚族 ζ 成员仅含有 motif 1、motif 2、motif 3、motif 5 和 motif 6,亚族 φ 成员仅含有 motif 1。结构域分析表明,除 TaPLD α 3、TaPLD α 6、TaPLD α 12、TaPLD α 13、TaPLD α 14、TaPLD α 15、TaPLD α 17、TaPLD α 18、TaPLD α 21、TaPLD α 23、TaPLD α 24、TaPLD δ 1 及 TaPLD ζ 亚族和 TaPLD φ 亚族成员外,其余所有的 TaPLD 都存在 C2 结构域。在 β 、 δ 和 κ 亚族成员中,除 TaPLD δ 1 外,所有 TaPLD 蛋白都有 PLDc 结构域。只有亚族 ζ 成员中存在 PH 结构域。外显子和内含子分析结果表明, α 和 κ 亚族 TaPLD 基因的外显子数量为 3~4 个, φ 、 β 和 δ 亚族的 TaPLD 基因则包含 7~10 个外显子, ζ 亚族成员外显子最多,达 20 个。相同亚族不同基因的外显子所在位置不尽相同。

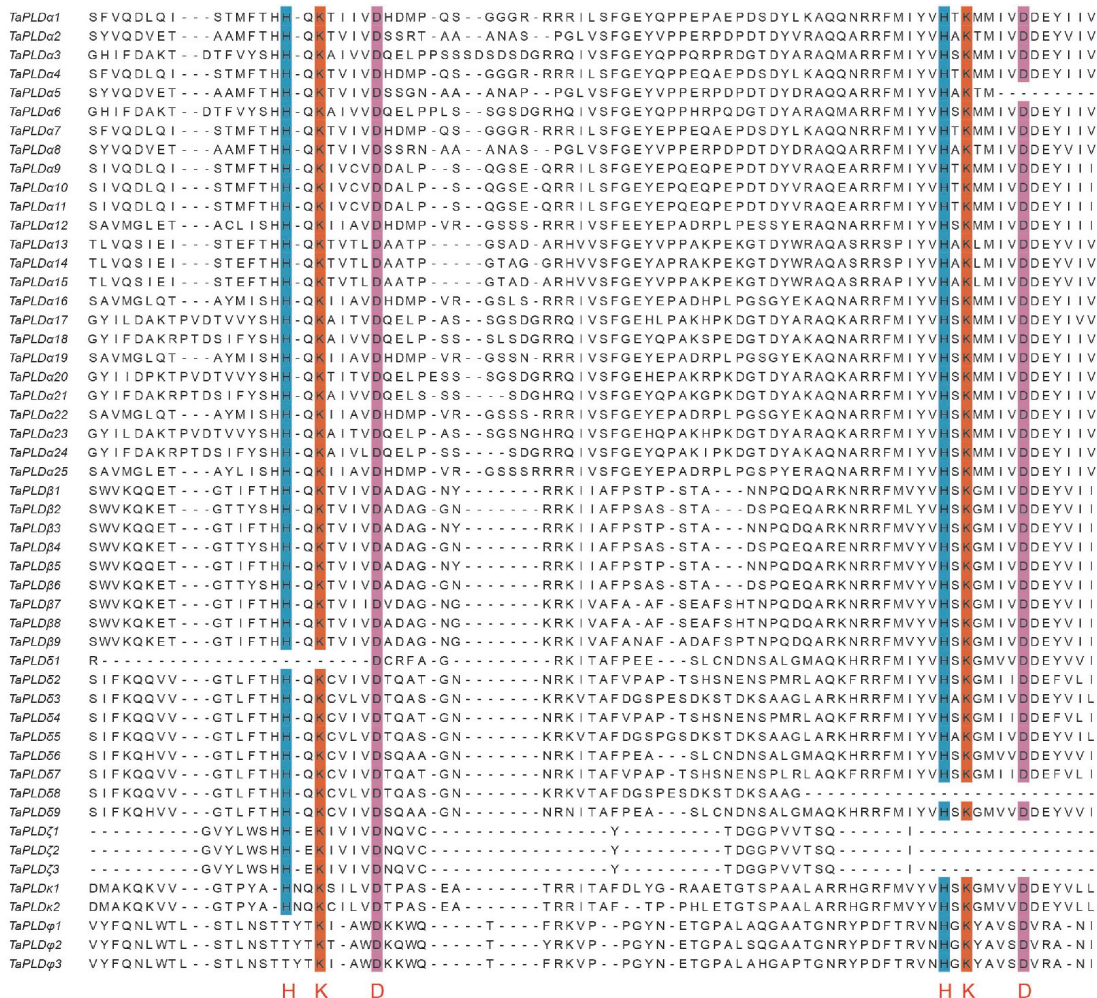


图 1 51 个 TaPLD 蛋白的序列分析

Fig. 1 Sequence analysis of 51 TaPLD proteins

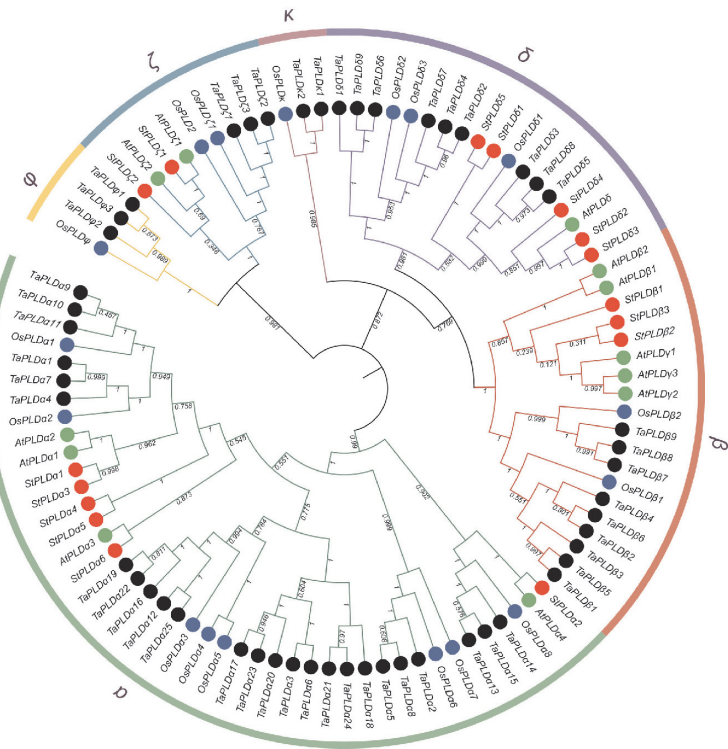


图 2 小麦、水稻、拟南芥和马铃薯 PLD 基因家族系统进化分析

Fig. 2 Phylogenetic analysis of PLD gene family in wheat, rice, *Arabidopsis thaliana*, and *Solanum tuberosum*

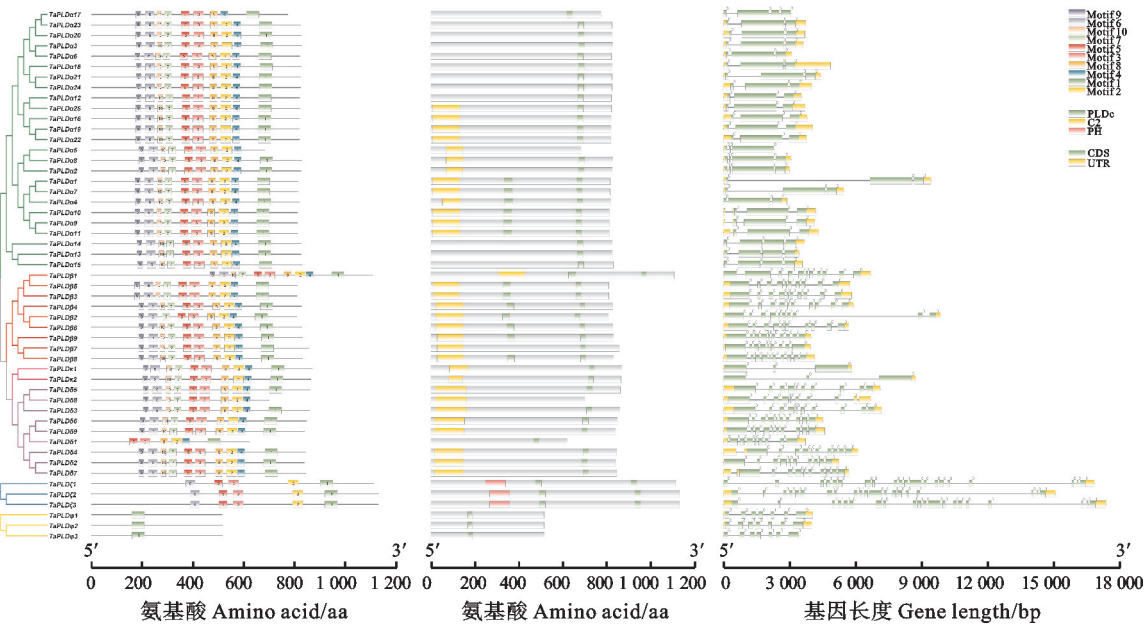


图 3 *TaPLD* 成员基序、结构域及结构分析

Fig. 3 Analyses on motifs, domains and structures of *TaPLD* members

2.4 *TaPLD* 基因的染色体定位、基因重复和共线性分析

参考 GFF3 文件,对 *TaPLD* 基因在染色体上的物理位置进行分析,结果(图 4)表明,除 6D 染色体外,51 个 *TaPLD* 基因在其他染色体上均有分布。大部分 *TaPLD* 基因均匀分布于 3 个亚基因组中,只有 *TaPLDδ1*、*TaPLDα12*、*TaPLDα25*

和 *TaPLDβ9* 存在不均匀分布的情况。不同亚族比较,α 亚族成员在染色体中分布最为广泛,除 6 号染色体外,其他染色体均有分布;β 亚族成员则主要分布在 1 号和 4 号染色体上;δ 亚族成员主要分布在 5 号染色体上;κ 亚家族成员分布在 6 号染色体上;φ 亚族成员分布在 7 号染色体上。

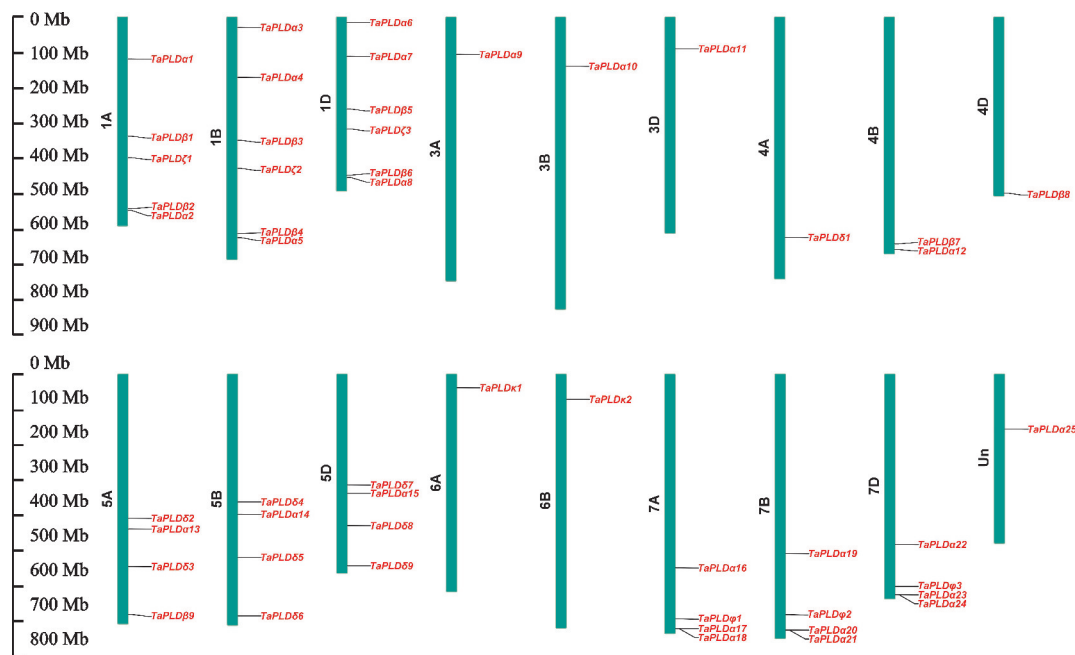


图 4 *TaPLD* 基因的染色体定位

Fig. 4 Chromosomal localization of *TaPLD* genes

对*TaPLD*基因的重复事件进行分析,发现共有 49 对共线性基因(图 5)。对 3 个单子叶植物(大麦、玉米和水稻)和 3 个双子叶植物(拟南芥、雷蒙氏棉和白菜)与小麦的 *PLD* 基因进行共线性分析,结果(图 6)表明,小麦与水稻间有 41

对共线性基因,与玉米间有 34 对共线性基因,与大麦间有 29 对共线性基因,与雷蒙氏棉间鉴定出 20 对共线性基因,与拟南芥之间仅鉴定出 1 对共线性基因,与白菜间没有鉴定出共线性基因。

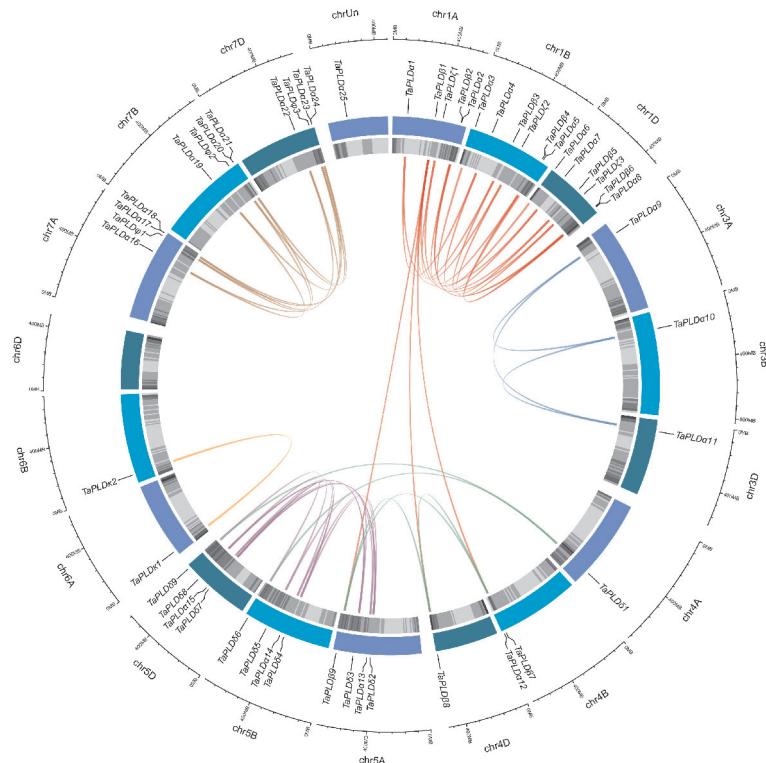


图 5 *TaPLD* 基因间共线性分析

Fig. 5 Colinearity analysis of *TaPLD* genes

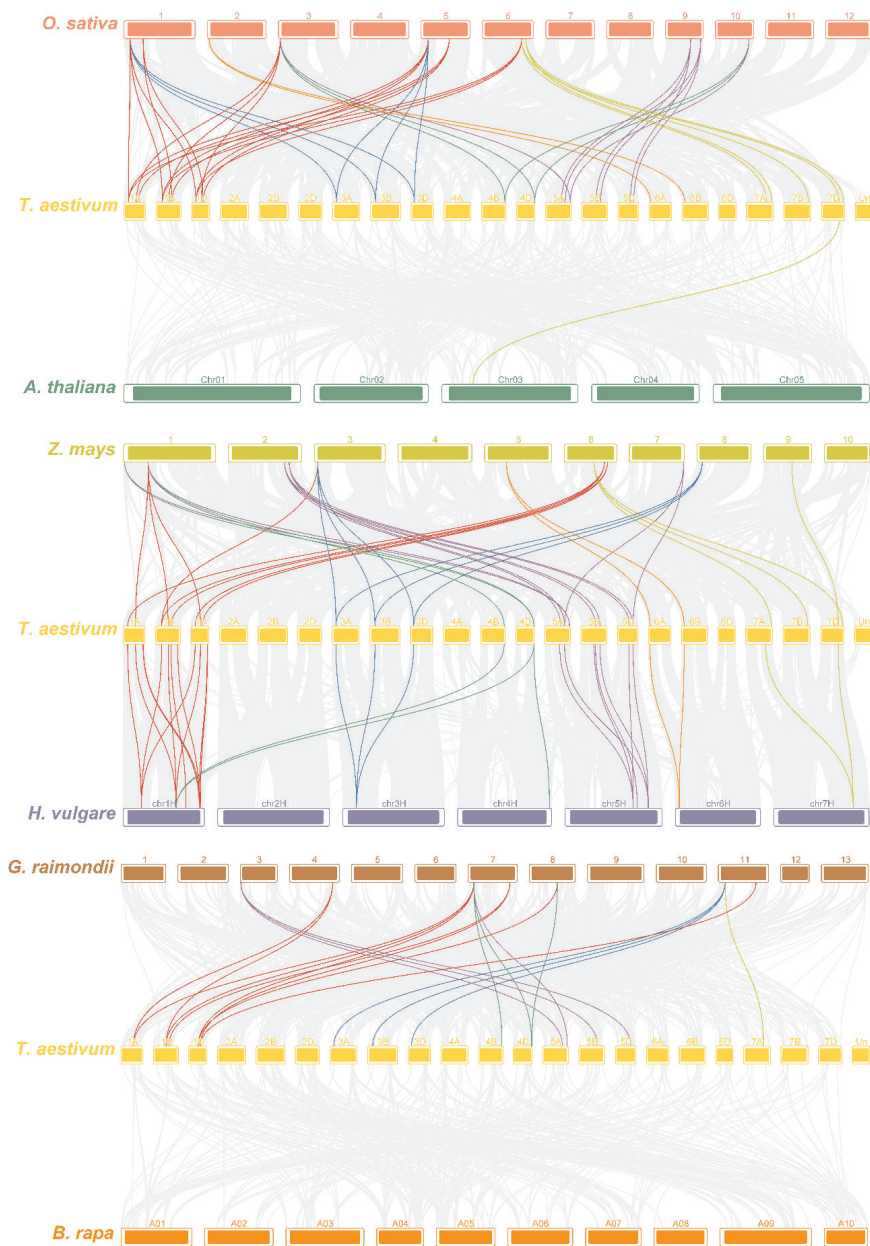


图 6 小麦与其他 6 个物种间 PLD 基因共线性分析

Fig. 6 Interspecific collinearity analysis of PLD gene between wheat and the other six species

2.5 TaPLD 蛋白的 GO 注释分析

对 51 个 TaPLD 蛋白进行 GO 注释分析,发现其被赋予 26 个 GO 项,主要参与细胞成分、分子功能和生物学过程(图 7)。在生物学过程中,3 个高度富集类别为脱落酸信号通路的正向调节、脂肪酸代谢过程和镉离子响应,种子发芽和气孔运动的调节富集度也较高。在细胞成分中,高度富集类别为胞间连丝和质膜,88.24%和 94.12%的 TaPLD 分别富集到其中,有 49.02%的 TaPLD 富集到细胞间质。分子功能方面,36 个 TaPLD 与钙离子结合相关,25 个 TaPLD 与

GTPase 活性相关,45 个 TaPLD 与蛋白质结合相关。

2.6 TaPLD 基因的表达分析

RNA 测序是探索基因转录模式的有力工具^[35]。基于公共数据库中的 RNA-seq 数据,对 TaPLDs 在小麦根、茎、叶、花、穗等多种组织中的表达谱进行分析,结果(图 8)表明,根据表达量可将 TaPLDs 分为 3 类。第一类在多个发育阶段的多个组织中广泛表达,如 TaPLDa9、TaPLDa10、TaPLDa11 在所有生长发育阶段和组织中均高表达。第二类只在特定生长发育阶段或组织高度表

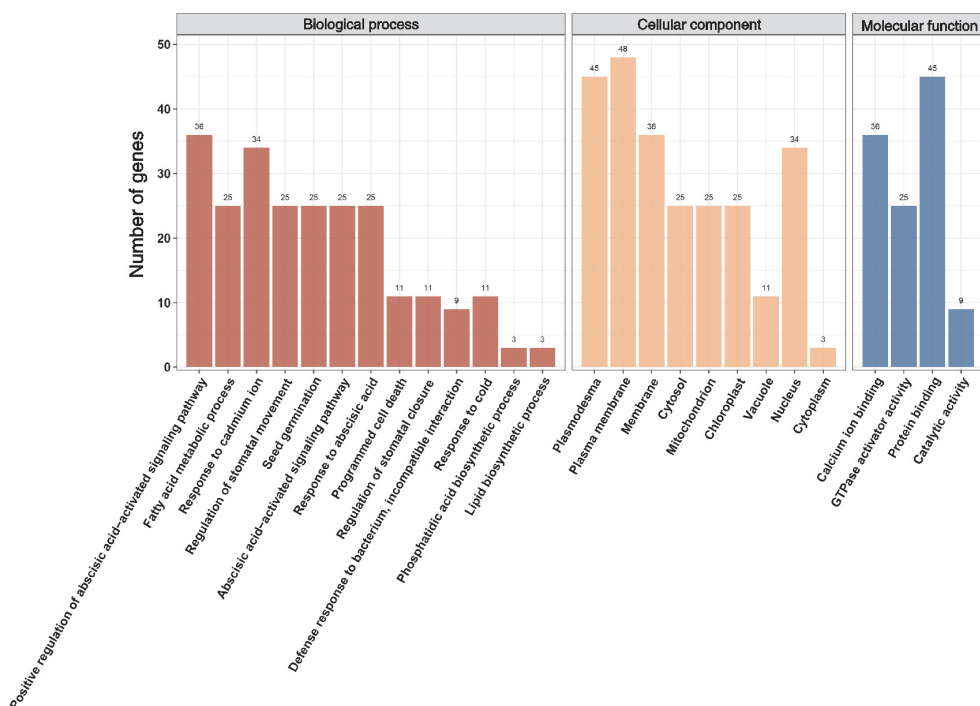


图 7 TaPLD 蛋白的功能注释

Fig. 7 Functional annotation analysis of TaPLDs

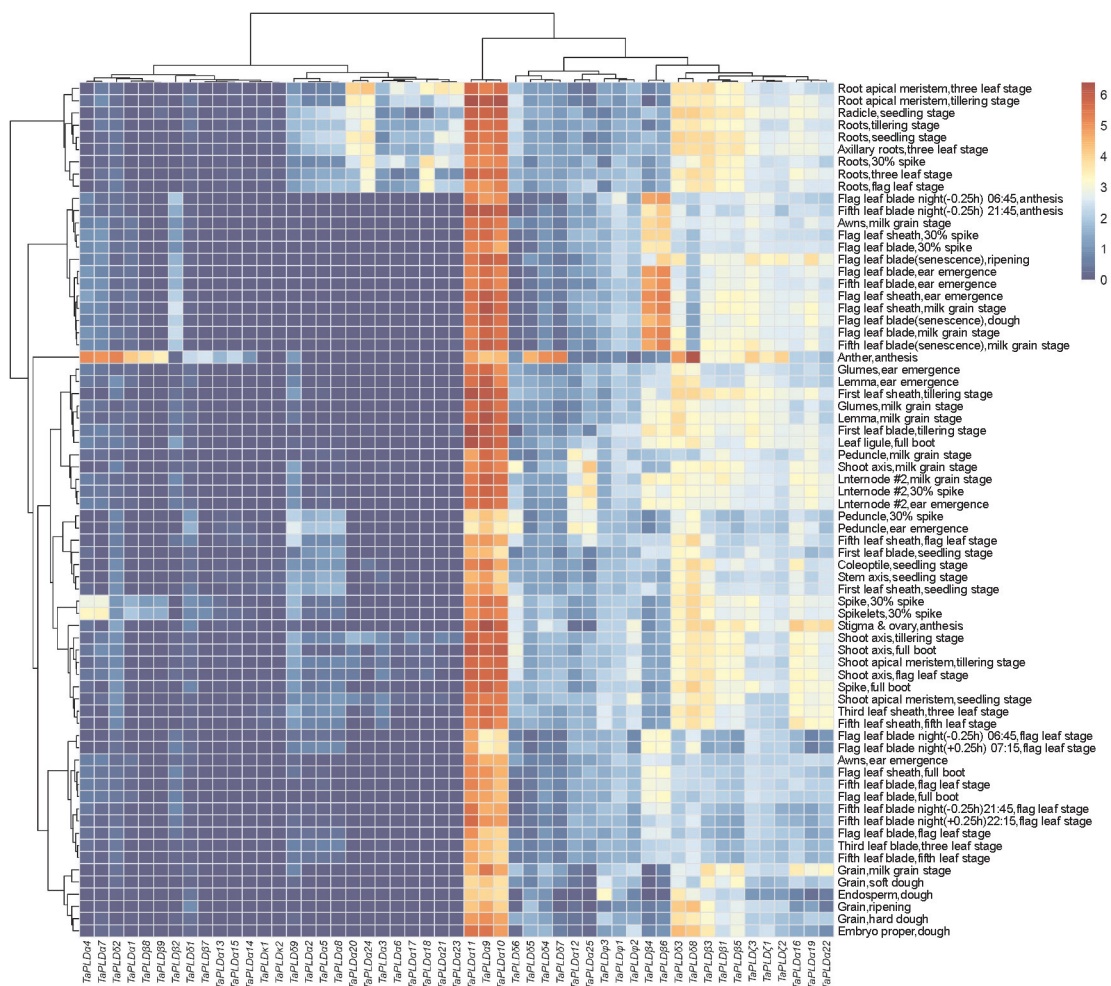


图 8 不同组织中*TaPLDs*的转录组分析
Fig. 8 Transcriptome analyses of *TaPLDs* in different tissues

达,如 *TaPLDβ4*、*TaPLDβ6* 在小麦生长发育中后期的旗叶和第五片叶中高表达,而 *TaPLDα3*、*TaPLDα6*、*TaPLDα17*、*TaPLDα18*、*TaPLDα20*、*TaPLDα21*、*TaPLDα23* 和 *TaPLDα24* 只在小麦各生育时期的根中高表达,很多 *TaPLD* 基因只在花药中高表达,如, *TaPLDα1*、*TaPLDα4*、*TaPLDα7*、*TaPLDα8*、*TaPLDα9*、*TaPLDδ2*、*TaPLDδ3*、*TaPLDδ4*、*TaPLDδ5*、*TaPLDδ7* 和 *TaPLDδ8*。第三类在所有生长发育阶段均不表达,如 *TaPLDκ1*、*TaPLDκ2*。使用 BAR 在线软件对 *TaPLDα9*、*TaPLDβ4* 和 *TaPLDδ8* 表达模式进行全生育期热图展示,发现 *TaPLDα9* 在小麦各生育时期均高表达, *TaPLDβ4* 在中后期的旗叶和第五片叶中高表达,而 *TaPLDδ8* 则在花药中高表达,这与转录组鉴定结果一致。

2.7 TaPLD 基因在胁迫条件下的表达模式分析

对 5 种生物胁迫(图 9)和 3 种非生物胁迫条件下的 51 个 *TaPLD* 的转录组数据进行分析,结

果(图 10)表明,使用小麦壳针孢菌感染小麦后,15 个 *TaPLD* 基因显著上调表达,其中 *TaPLDα9*、*TaPLDα10*、*TaPLDα11* 呈现高表达。接种白粉病菌后, *TaPLDα9*、*TaPLDα10*、*TaPLDα11* 和 *TaPLDβ3*、*TaPLDβ5* 显著上调表达。在接种条锈病菌后,13 个 *TaPLD* 基因显著上调表达,其中在第 1 天和第 11 天时表达量较高,而第 7 天时差异不显著。这说明不同 *TaPLD* 基因表达量随着时间的变化而变化。在接种禾谷镰孢菌后, *TaPLDα9*、*TaPLDα10*、*TaPLDα11*、*TaPLDα12*、*TaPLDα19*、*TaPLDα22*、*TaPLDα25* 均显著下调表达,而 *TaPLDβ1*、*TaPLDβ5* 和 *TaPLDδ5* 显著上调表达。这表明不同生物胁迫处理后 *TaPLD* 基因表达存在差异。

冷处理四周后, *TaPLDα* 亚族基因中除了 *TaPLDα22* 外,其余基因表达并没有显著变化;而 *TaPLDδ* 亚族基因和 *TaPLDζ* 亚族中的 *TaPLDδ5*、

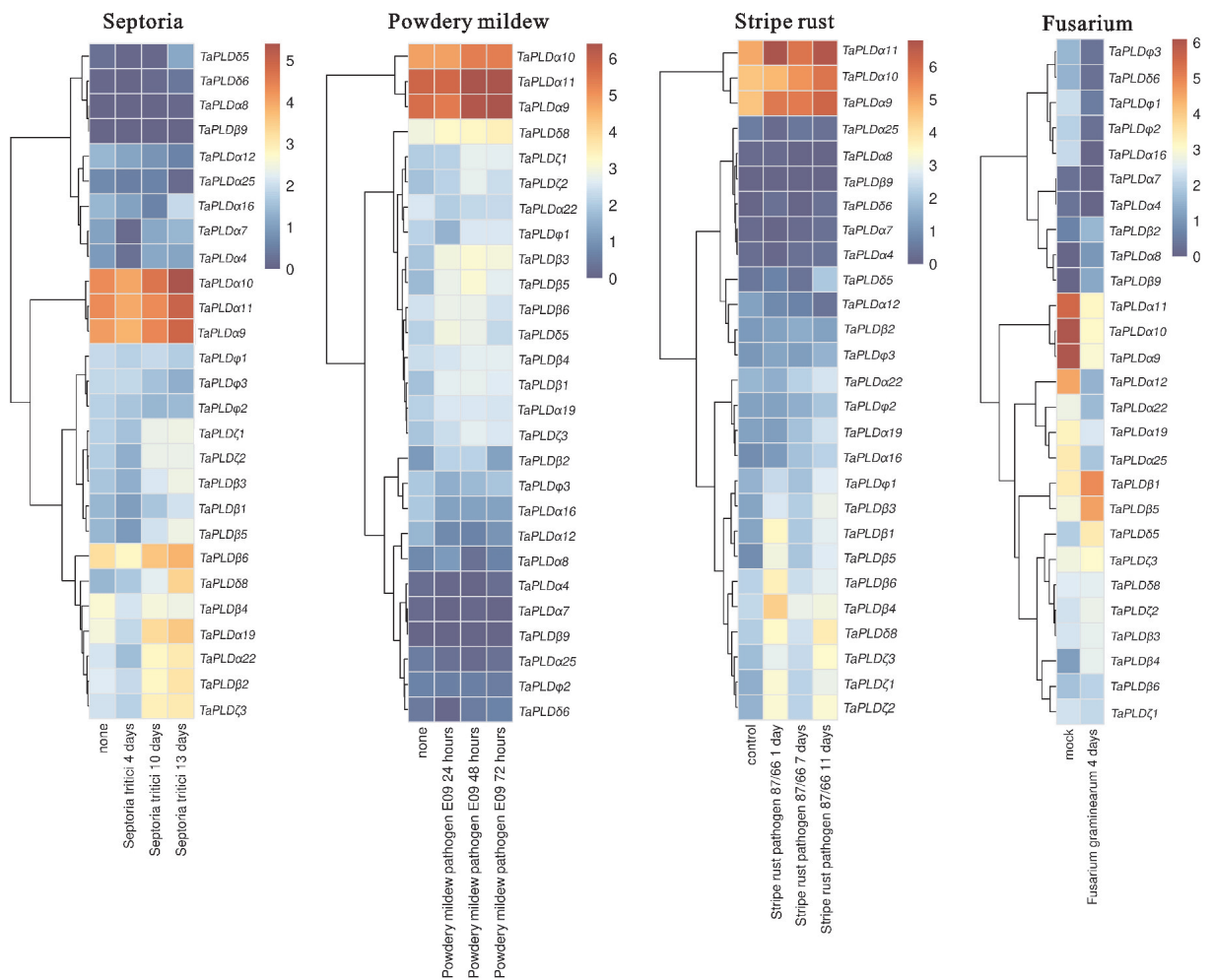


图 9 不同生物胁迫下TaPLDs 的表达热图

Fig. 9 Heat maps of *TaPLDs* expression under different biological stresses

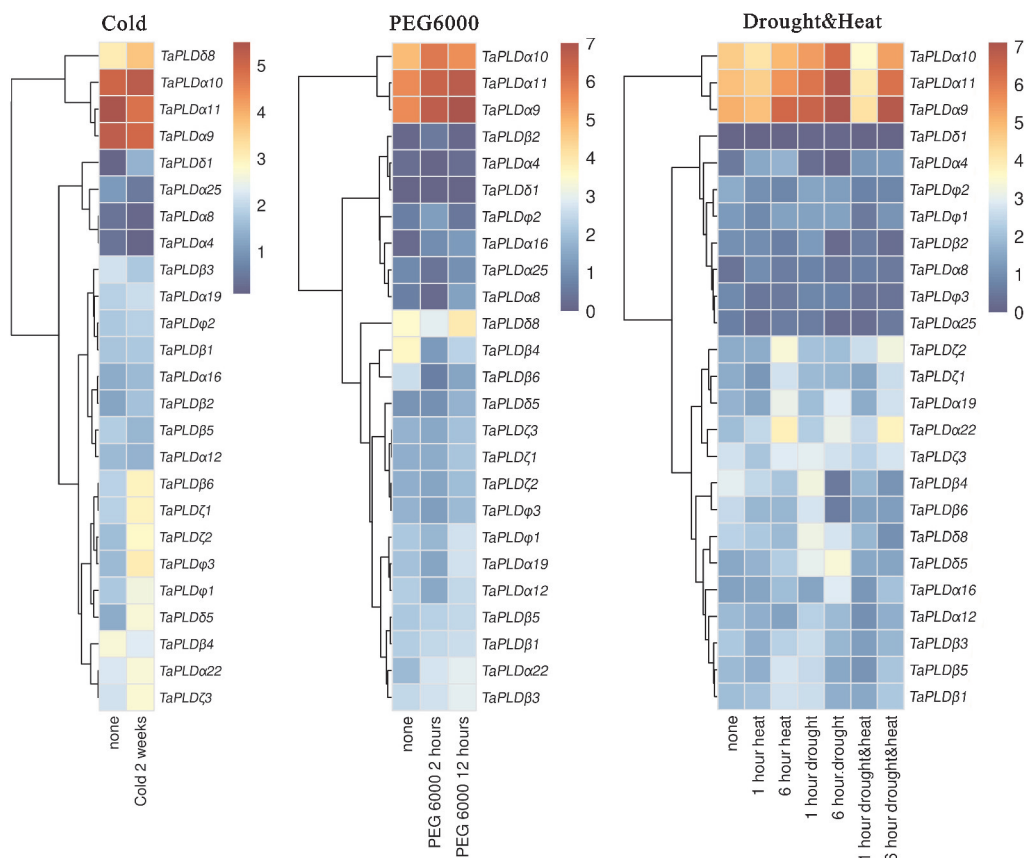


图 10 不同非生物胁迫下 *TaPLDs* 的表达热图

Fig. 10 Heat maps of *TaPLDs* expression under different abiotic stresses

TaPLDδ8、*TaPLDζ1*、*TaPLDζ2*、*TaPLDζ3* 显著上调表达, *TaPLDβ* 亚族基因和 *TaPLDφ* 亚族中的 *TaPLDβ6*、*TaPLDφ1* 和 *TaPLDφ3* 也显著上调表达。PEG6000 模拟干旱处理后, *TaPLDα9*、*TaPLDα10*、*TaPLDα11* 显著上调表达, 而 *TaPLDβ4* 显著下调表达。干旱和高温双重处理后, *TaPLDα9*、*TaPLDα10*、*TaPLDα11* 均显著上调表达, 且高温可诱导 *TaPLDζ1*、*TaPLDζ2*、*TaPLDα19* 和 *TaPLDα22* 的显著上调表达。这些结果表明, 高温、干旱与低温对不同 *TaPLD* 基因的表达水平影响不尽相同。

3 讨论

3.1 *TaPLD* 基因基本特征

蛋白质特性是影响其功能的关键因素之一。PLD 是植物最重要的磷脂酶 [36]。本研究在小麦中鉴定出 51 个 PLD 基因。通过生物信息学分析发现, 小麦 PLD 的分子量分布在 57.65~128.70 kDa 之间, 与水稻 [9] 相近, 均为疏水蛋白; 51 个小麦 PLD 基因分布在不同染色体上, 与水稻的 PLD 基因在染色体上的分布既有相似之处, 又存在差异。在亚细胞定位上, 小麦 PLD 被预测主要

定位于细胞质、内质网等部位。这与茶的 PLD 定位情况 [11] 基本一致, 说明 PLD 在不同物种中的功能具有保守性。但小麦有少量 PLD 蛋白 (如 *TaPLDα9*、*TaPLDα10*、*TaPLDα11*) 预测定位于叶绿体附近, 这在其他物种中报道较少, 其功能值得深入研究。

3.2 *TaPLD* 基因的进化特征

本研究基于 PLD 蛋白的序列将来自 4 个物种的 PLD 分为 α 、 β 、 δ 、 κ 、 ζ 、 ϕ 6 个亚族 (图 2), 发现单子叶植物小麦和水稻较双子叶植物拟南芥和白菜多了 ϕ 和 κ 两个亚族, 推测由于分化时间的远近, PLD 基因在单子叶植物中有着更为复杂的分化, 这还需进一步验证。在相似的蛋白序列长度中, α 和 κ 亚族拥有较少的外显子, ϕ 、 β 、和 δ 亚族拥有较多的外显子, 而 ζ 亚族则拥有最为复杂的外显子结构 (图 3), 表明外显子结构也遵循亚群的分化规律。而数量上, 即使细分到亚群中, PLD 基因也大致与水稻呈现 3 倍的关系, 这可能是因为小麦是异源六倍体, 其起源涉及两次多倍体化事件。在亚群中 PLD 基因与拟南芥和白菜则完全

不成3倍趋势,这再次证明了PLD的基因组进化遵循单子叶植物和双子叶植物的分化。

基因复制事件对小麦进化有重要作用^[37]。共线性分析表明,在小麦基因组内部PLD基因也不完全是简单的亚基因组复制的过程,这其中,*TaPLDβ1*基因同时存在亚基因组复制和非亚基因组间复制,而*TaPLDδ1*则仅有非亚基因组间复制。这种涉及更广的染色体区域基因复制事件可能导致小麦PLD家族基因功能更加多样化。不同物种间共线性分析表明,小麦PLD基因与单子叶植物水稻、玉米、大麦间均存在大量的基因复制事件,而与双子叶植物雷蒙氏棉、拟南芥、白菜存在少量的基因复制事件甚至没有基因复制。推测小麦PLD基因在单子叶植物水稻、玉米、大麦中功能更相似。

3.3 *TaPLD* 基因的表达模式及潜在功能

一般来说,基因在生物体中的表达模式反映了基因的功能^[38]。在小麦同一组织不同*TaPLD*基因之间、同一*TaPLD*基因在根、茎、叶、穗等不同组织中的表达水平均存在显著差异(图5)。例如,*TaPLDα9*、*TaPLDα10*、*TaPLDα11*几乎在所有生育时期均高表达,并显著高于其他*TaPLD*基因。推测*TaPLDα9*、*TaPLDα10*、*TaPLDα11*参与小麦的光合作用,是小麦生长发育的关键基因。本研究还发现,*TaPLDβ4*、*TaPLDβ6*在小麦生长发育中后期的旗叶和第五片叶中高表达,表明其在小麦发育后期的叶片中发挥作用;而*TaPLDα3*、*TaPLDα6*、*TaPLDα17*、*TaPLDα18*、*TaPLDα20*、*TaPLDα21*、*TaPLDα23*、*TaPLDα24*只在小麦的根中高表达,其可能主要在根中行使功能;还有部分*TaPLD*基因只在花药中高表达,如,*TaPLDα1*、*TaPLDα4*、*TaPLDα7*、*TaPLDα8*、*TaPLDα9*、*TaPLDδ2*、*TaPLDδ3*、*TaPLDδ4*、*TaPLDδ5*、*TaPLDδ7*、*TaPLDδ8*,表明这部分基因与小麦生殖生长有关。有研究表明,在花粉中特异性表达的*ZmPLDα3*功能丧失会导致玉米单倍体诱导^[39]。本研究推测*TaPLDα1*、*TaPLDα4*、*TaPLDα7*、*TaPLDα8*、*TaPLDα9*基因功能的丧失可能导致小麦单倍体诱导。这一假设还需要进一步验证。

本研究还分析了*TaPLD*基因在生物和非生物胁迫处理后的表达模式,发现接种小麦壳针孢菌、白粉病菌和条锈病菌后,多个*TaPLD*基因被诱导表达,如*TaPLDα9*、*TaPLDα10*、*TaPLDα11*、*TaPLDβ3*、*TaPLDβ5*等。在接种禾谷镰孢菌后,

TaPLDα9、*TaPLDα10*、*TaPLDα11*、*TaPLDα12*、*TaPLDα19*、*TaPLDα22*、*TaPLDα25*被显著诱导下调,而*TaPLDβ1*、*TaPLDβ5*和*TaPLDδ5*被显著诱导上调。这表明不同生物胁迫处理后,不同*TaPLD*基因表达存在差异。已有研究表明,PLD基因与植物抗性有关,如水稻*PLDβ1*基因敲除植株对稻瘟病菌和水稻黄单胞菌的感染表现出更高的抗性^[15]。因此,本研究推测*TaPLDα9*、*TaPLDα10*、*TaPLDα11*、*TaPLDβ5*等基因可能参与植物免疫防御过程。本研究发现,在冷胁迫一周后,*TaPLDα22*、*TaPLDδ5*、*TaPLDδ8*、*TaPLDζ1*、*TaPLDζ2*、*TaPLDζ3*、*TaPLDβ6*、*TaPLDφ1*和*TaPLDφ3*被显著诱导上调,其中*TaPLDζ1*、*TaPLDζ2*、*TaPLDζ3*较为突出,鉴于番茄中的*SIPLDζ1*在低温胁迫下显著上调^[40],推测ζ亚家族中*TaPLDζ1*、*TaPLDζ2*、*TaPLDζ3*可能在小麦耐低温方面发挥作用。干旱和高温处理后,*TaPLDα9*、*TaPLDα10*、*TaPLDα11*显著上调表达,特别是干旱处理后*TaPLDα9*、*TaPLDα10*、*TaPLDα11*表达水平更高,除此之外,高温也会显著提高*TaPLDζ1*、*TaPLDζ2*、*TaPLDα19*和*TaPLDα22*的表达。有研究表明,*PLDα1*缺失的植物表现出加速的蒸腾水分流失和对干旱胁迫的耐受能力下降,而*PLDα1*的过表达增强了叶片对脱落酸的敏感性^[16]。PLDα1在拟南芥干旱胁迫中通过积累PA激活SOS2激酶,增强离子稳态^[6]。由此推测,*TaPLDα9*、*TaPLDα10*、*TaPLDα11*在小麦干旱胁迫响应中扮演重要角色。综合以上表达模式分析,小麦PLD基因家族可能在植物生长发育、非生物胁迫响应和生物胁迫防御等多个方面发挥重要作用。未来需要通过基因敲除、过表达等技术,深入探究小麦PLD基因的具体功能,为小麦的遗传改良和农业生产提供理论支持。

参考文献:

- [1] LI L, ZHANG C, ZHANG M C, et al. Genome-wide analysis and expression profiling of the phospholipase D gene family in *Solanum tuberosum* [J]. *Biology*, 2021, 10(8): 741.
- [2] LI J W, WANG X M. Phospholipase D and phosphatidic acid in plant immunity [J]. *Plant Science*, 2019, 279: 45.
- [3] ALI U, LU S P, FADLALLA T, et al. The functions of phospholipases and their hydrolysis products in plant growth, development and stress responses [J]. *Progress in Lipid Research*, 2022, 86: 101158.
- [4] LIU D, TAO K, WU B, et al. A phosphoinositide switch mediates exocyst recruitment to multivesicular endosomes for exosome secretion [J]. *Nature Communications*, 2023, 14: 6883.
- [5] LI W Y, SONG T Z, WALLRAD L, et al. Tissue-specific accumulation of pH-sensing phosphatidic acid determines plant stress tolerance [J]. *Nature Plants*, 2019, 5(9): 1012.

- [6] LI J F, SHEN L K, HAN X L, *et al.* Phosphatidic acid-regulated SOS2 controls sodium and potassium homeostasis in *Arabidopsis* under salt stress [J]. *EMBO Journal*, 2023, 42(8): e112401.
- [7] YANG D, WANG W L, FANG Z F, *et al.* Genome-wide analysis of the phospholipase Ds in perennial ryegrass highlights LpABFs-LpPLD83 cascade modulated osmotic and heat stress responses [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2025, 48(2): 1115.
- [8] ELIÁS M, POTOCKÝ M, CVRČKOVÁ F, *et al.* Molecular diversity of phospholipase D in angiosperms [J]. *BMC Genomics*, 2002, 3: 2.
- [9] LI G, LIN F, XUE H W. Genome-wide analysis of the phospholipase D family in *Oryza sativa* and functional characterization of PLDβ1 in seed germination [J]. *Cell Research*, 2007, 17(10): 881.
- [10] TIWARI K, PALIYATH G. Cloning, expression and functional characterization of the C2 domain from tomato phospholipase Dα [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2011, 49(1): 18.
- [11] ROSHAN N M, ASHOURI M, SADEGHI S M. Identification, evolution, expression analysis of phospholipase D(PLD) gene family in tea (*Camellia sinensis*) [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2021, 27(6): 1219.
- [12] KOLESNIKOV Y S, NOKHRINA K P, KRETYNIN S V, *et al.* Molecular structure of phospholipase D and regulatory mechanisms of its activity in plant and animal cells [J]. *Biochemistry. Biokhimiia*, 2012, 77(1): 1.
- [13] YOUNG S A, WANG X, LEACH J E. Changes in the plasma membrane distribution of rice phospholipase D during resistant interactions with *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* [J]. *The Plant Cell*, 1996, 8(6): 1079.
- [14] XING J J, LI X J, WANG X H, *et al.* Secretion of phospholipase dδ functions as a regulatory mechanism in plant innate immunity [J]. *The Plant Cell*, 2019, 31(12): 3015.
- [15] YAMAGUCHI T, KURODA M, YAMAKAWA H, *et al.* Suppression of a phospholipase D gene, *OsPLDβ1*, activates defense responses and increases disease resistance in rice [J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(1): 308.
- [16] SANG Y, ZHENG S, LI W, *et al.* Regulation of plant water loss by manipulating the expression of phospholipase D alpha [J]. *Plant Journal*, 2001, 28(2): 135.
- [17] BARGMANN B O R, LAXALT A M, TER RIET B, *et al.* Multiple PLDs required for high salinity and water deficit tolerance in plants [J]. *Plant & Cell Physiology*, 2009, 50(1): 78.
- [18] LI M Y, QIN C B, WELTI R, *et al.* Double knockouts of phospholipases Dζeta1 and Dζeta2 in *Arabidopsis* affect root elongation during phosphate-limited growth but do not affect root hair patterning [J]. *Plant Physiology*, 2006, 140(2): 761.
- [19] ZHANG G Y, BAHN S C, WANG G L, *et al.* PLDα1-knockdown soybean seeds display higher unsaturated glycerolipid contents and seed vigor in high temperature and humidity environments [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2019, 12: 9.
- [20] MISHRA G, ZHANG W H, DENG F, *et al.* A bifurcating pathway directs abscisic acid effects on stomatal closure and opening in *Arabidopsis* [J]. *Science*, 2006, 312(5771): 264.
- [21] ZHANG W H, QIN C B, ZHAO J, *et al.* Phospholipase D alpha 1-derived phosphatidic acid interacts with ABI1 phosphatase 2C and regulates abscisic acid signaling [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(25): 9508.
- [22] LI G, XUE H W. *Arabidopsis* PLDζeta2 regulates vesicle trafficking and is required for auxin response [J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(1): 281.
- [23] MARCHLER-BAUER A, BO Y, HAN L Y, *et al.* CDD/SPARCLE: Functional classification of proteins via subfamily domain architectures [J]. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(D1): D200.
- [24] ARTIMO P, JONNALAGEDDA M, ARNOLD K, *et al.* ExPASy: SIB bioinformatics resource portal [J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(W1): W597.
- [25] CHOU K C, SHEN H B. Plant-mPLOC: A top-down strategy to augment the power for predicting plant protein subcellular localization [J]. *PLoS One*, 2010, 5(6): e11335.
- [26] KUMAR S, STECHER G, LI M, *et al.* MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6): 1547.
- [27] SAITOU N, NEI M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1987, 4(4): 406.
- [28] WANG Y P, TANG H B, DEBARRY J D, *et al.* MCSanX: A toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity [J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(7): e49.
- [29] YU Y M, OUYANG Y D, YAO W. shinyCircos: An R/Shiny application for interactive creation of Circos plot [J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(7): 1229.
- [30] 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.
- [31] XIE C, MAO X Z, HUANG J J, *et al.* KOBAS 2.0: A web server for annotation and identification of enriched pathways and diseases [J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39 (Web Server issue): W316.
- [32] YE J, ZHANG Y, CUI H H, *et al.* WEGO 2.0: A web tool for analyzing and plotting GO annotations, 2018 update [J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(W1): W71.
- [33] RAMÍREZ-GONZÁLEZ R H, BORRILL P, LANG D, *et al.* The transcriptional landscape of polyploid wheat [J]. *Science*, 2018, 361(6403): 6089.
- [34] BORRILL P, RAMÍREZ-GONZÁLEZ R, UAUY C. expVIP: A customizable RNA-seq data analysis and visualization platform [J]. *Plant Physiology*, 2016, 170(4): 2172.
- [35] WANG Z, GERSTEIN M, SNYDER M. RNA-Seq: A revolutionary tool for transcriptomics [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2009, 10(1): 57.
- [36] HONG Y Y, ZHAO J, GUO L, *et al.* Plant phospholipases D and C and their diverse functions in stress responses [J]. *Progress in Lipid Research*, 2016, 62: 55.
- [37] SONG S W, HAO L Y, ZHAO P, *et al.* Genome-wide identification, expression profiling and evolutionary analysis of auxin response factor gene family in potato (*Solanum tuberosum* group phureja) [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 1755.
- [38] ZHOU Q, ZHANG S S, CHEN F, *et al.* Genome-wide identification and characterization of the SBP-box gene family in *Petunia* [J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 193.
- [39] LI Y, LIN Z, YUE Y, *et al.* Loss-of-function alleles of Zm-PLD3 cause haploid induction in maize [J]. *Nature Plants*, 2021, 7(12): 1579.
- [40] GUO X D, ZHU W Y, WANG F, *et al.* Genome-wide investigation of the PLD gene family in tomato: Identification, analysis, and expression [J]. *Genes*, 2024, 15(3): 326.