

网络出版时间: 2026-04-02

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20260401.1026.003>

小麦谷氨酸脱羧酶基因家族鉴定和表达特征分析

罗序俊^{1,2}, 苏畅³, 吕欣倩¹, 黄亮², 李成云¹, 胡洋山¹

(1. 云南农业大学植物保护学院, 云南昆明 650201; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193;

3. 农业农村部长江中游作物绿色高效生产重点实验室(部省共建), 涝渍灾害与湿地农业湖北省重点实验室, 长江大学农学院, 湖北荆州 434025)

摘要: 谷氨酸脱羧酶(GAD)是催化谷氨酸脱羧的裂解酶, 在植物减轻活性氧积累、应对逆境胁迫等方面发挥重要作用。本研究对小麦*TaGAD*基因家族成员进行全基因组鉴定, 并分析其结构特征、miRNA靶向关系、外源激素 IAA、MeJA、ABA、SA 和 H_2O_2 处理的响应情况, 以及生物胁迫条锈菌侵染下诱导 GAD 基因家族的表达特征。结果表明, 小麦基因组中共有 19 个 *TaGAD* 基因, 分布于 7 条染色体上; 该家族多数含有吡哆醛(Pyridoxal_deC)保守结构域; 通过 miRNA 靶基因预测, *TaGAD* 的表达可能受到 miRNA 的翻译水平调控。经转录组分析, *TaGAD9-3B*、*TaGAD11-3D*、*TaGAD4-2B* 和 *TaGAD2-2A* 基因在小麦不同发育阶段和组织中呈现相对较高的表达, 且在干旱和高温胁迫下显著变化。通过实时荧光定量 PCR 分析发现, 小麦 *TaGAD* 基因表达量在外源物质处理和条锈菌侵染诱导下存在差异, 其中 *TaGAD4-2B* 在 IAA 诱导下表达量上调最明显, 超过 300 倍; *TaGAD7-3A* 在 SA 诱导下表达量变化最高, 上调 24 倍; 在条锈菌生理小种 CYR32 侵染诱导下, *TaGAD15-4A*、*TaGAD19-4D* 的表达量上调相对较高, 分别上调 13 倍和 12 倍, 显著高于其他家族成员。本研究通过对小麦 *TaGAD* 基因家族的系统鉴定、特征分析、表达谱分析和胁迫响应定量检测等, 为后续深入研究小麦 *TaGAD* 家族成员的功能奠定基础。

关键词: 小麦; 谷氨酸脱羧酶; 生物信息学; 生物胁迫与非生物胁迫

中图分类号: S512.1; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2026)05-0584-11

Identification and Expression Characteristics Analysis of the Glutamate Decarboxylase Gene Family in Wheat

LUO Xujun^{1,2}, SU Chang³, LÜ Xinqian¹, HUANG Liang², LI Chengyun¹, HU Yangshan¹

(1. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China; 2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 3. MARA Key Laboratory of Sustainable Crop Production in the Middle Reaches of the Yangtze River(Co-construction by Ministry and Province)/Hubei Key Laboratory of Waterlogging Disaster and Agricultural Use of Wetland, College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China)

Abstract: Gamma-aminobutyric acid(GABA) synthesis in plants is primarily catalyzed by glutamate decarboxylase(GAD), a key enzyme in GABA metabolism that is involved in regulating reactive oxygen species(ROS) accumulation and stress responses. In this study, genome-wide identification of the wheat *TaGAD* gene family members was performed, followed by analyses of their structural characteristics, miRNA targeting relationships, expression responses to exogenous hormones including IAA, MeJA, ABA, SA, and H_2O_2 , as well as expression profiles of the *GAD* gene family induced by biological stress from stripe rust infection. The results showed that a total of 19 *TaGAD* genes were identified in the wheat genome, distributed across 7 chromosomes. Analysis of gene structure and conserved motifs revealed that most members of this family contained the Pyridoxal_deC conserved

收稿日期: 2025-11-05 修回日期: 2026-02-05

基金项目: 云南省农业联合专项面上项目(2301BD070001-17); 植物病虫害综合治理全国重点实验室开放基金项目(SKLOF202413); 云南省植物病理重点实验室开放课题(szbkf2024003)

第一作者 E-mail: luoxujun2001@163.com(罗序俊)

通讯作者 E-mail: huyangshan@ynau.edu.cn(胡洋山)

domain. miRNA target gene prediction suggested that the expression of *TaGAD* genes might be regulated at the translational level by miRNAs. Transcriptome analysis indicated that *TaGAD9-3B*, *TaGAD11-3D*, *TaGAD4-2B*, and *TaGAD2-2A* exhibited relatively high expression levels at different developmental stages and in various tissues of wheat, and their expression was significantly altered under drought and high-temperature stresses. Quantitative real-time PCR analysis demonstrated that the transcript levels of *TaGAD* genes varied under exogenous substance treatments and stripe rust infection. Among them, the expression of *TaGAD4-2B* was most significantly up-regulated by IAA induction, with an increase of more than 300 fold, while *TaGAD7-3A* showed the highest expression change(24 fold up-regulation) under SA induction. Upon infection by the stripe rust physiological race CYR32, the expression levels of *TaGAD15-4A* and *TaGAD19-4D* were up-regulated more prominently, reaching 13 fold and 12 fold increases respectively, which were significantly higher than those of other family members. Through systematic identification, characteristic analysis, expression profiling and quantitative detection of stress responses of the wheat *TaGAD* gene family, this study lays a foundation for further in-depth research on the functions of *TaGAD* family members in wheat.

Keywords: *Triticum aestivum* L.; Glutamate decarboxylase; Bioinformatics; Biotic stress and abiotic stress

小麦是中国重要粮食作物之一,其消费量占全国粮食消费总量的一半以上^[1-2]。近年来,气候变化产生的非生物胁迫对小麦构成严峻威胁,直接影响到国家粮食安全^[3-4]。为应对非生物胁迫,植物产生了许多抗逆相关蛋白。 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)是一种在动物和植物体内发现的非蛋白质氨基酸,具有多样性的生理功能^[5],参与生物与非生物胁迫、衰老过程^[6-7]、三羧酸循环(Krebs 循环)、调节植物生长发育^[8]和重塑代谢与防御反应^[9]。

谷氨酸脱羧酶(glutamate decarboxylase, GAD)是植物中 GABA 合成途径的核心酶^[11],可激活胞质中 GAD 脱羧生成 GABA^[11]。研究发现,植物 GAD 含有与钙调蛋白(CaM)结合并提高酶活力的结构域^[12],GAD 活力提高后可激活 GABA 分流,增强植物在干旱条件下维持各种代谢和调节植物生长的能力^[13],同时参与胞质 pH 调节、介导碳流向三羧酸循环等^[14]。目前,GAD 基因家族在大豆、水稻、拟南芥、棉花、玉米、西瓜、苹果等植物中均有研究报道,其功能特征也得到明确^[15-19]。如在棉花中,GAD 受离子胁迫诱导上调表达,可缓解离子过多引起的氧化损伤^[20]。西瓜 GAD 响应多种非生物胁迫诱导表达,可提高西瓜在逆境的耐受性^[21]。这些研究表明,GAD 对植物响应非生物胁迫起关键作用。目前,只有少量小麦 GAD 的报道,但关于小麦 GAD 基因家族功能的研究尚未报道。有文献报道,5 个小麦品种和冬小麦 Dn1 GAD 基因表达增加,可分别增

强小麦对盐和低温胁迫的抗性^[22-23]。干旱和盐胁迫下硬粒小麦中 GAD 含量显著增加,可减少活性氧(reactive oxygen species, ROS)积累与光损伤^[24]。

尽管 GAD 基因在植物中的研究聚焦于干旱或盐胁迫等方向,但其在小麦不同发育阶段和多种胁迫条件下的表达模式、miRNA 调控网络与激素信号通路的交叉作用机制尚未明确。本研究利用基因家族分析、转录组分析及荧光定量(qRT-PCR)检测,系统解析 *TaGAD* 基因在条锈菌侵染、干旱胁迫、盐胁迫和高温等逆境条件以及外源物质处理下的表达特征,同时分析 miRNA 对 *TaGAD* 基因转录后调控模式,以期为阐明小麦抗逆性的分子机制提供新视角。

1 材料与方法

1.1 小麦 *TaGAD* 基因家族成员鉴定

从 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)上获得已知的 5 个拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)^[11]、5 个玉米(*Zea mays*)和 4 个水稻(*Oryza sativa*)^[25]的 GAD 蛋白质序列。从 Ensembl Plant 数据库(<https://plants.ensembl.org/index.html>)下载小麦蛋白序列,利用 HMMER 3.0(<http://www.hmmer.org/>)从小麦蛋白序列筛选 GAD 结构。综合以上数据序列作为搜索序列,构建本地 BLASTp(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)搜索以上数据库^[26],所选序列用 Pfam 进一步筛选^[27]。

1.2 GAD 基因的系统发育树构建

利用软件 MEGA V7.0 的最大似然法(maximum likelihood)构建水稻、玉米、拟南芥和鉴定得到的小麦 GAD 蛋白序列的系统发育树^[28]。通过交互式生命树软件(iTOL, <http://itol.embl.de>)进一步处理系统发育树。根据系统发育树分析和 GAD 基因所在的染色体对鉴定到 GAD 进行命名。

1.3 小麦 GAD 基因家族染色体分布、基因结构、保守基序及保守结构域预测

从小麦数据库 IWGSC V2.1 中对 *TaGAD* 的注释文件提取信息,进行基因染色体定位^[29],然后通过 MapInspect 软件绘制 *TaGAD* 基因在染色体上的分布图^[30]。使用 GSDS(<https://gsds.gao-lab.org/>)在线软件进行基因结构分析,使用 MEME V4.9.1(<http://meme-suite.org/index.html>)^[31] 和 Smart Motif(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)鉴定 *TaGAD* 蛋白的保守基序(motif)^[32]。

1.4 蛋白理化性质及结构预测

采用 ProtParam 工具(<https://web.expasy.org/protparam/>)预测 GAD 蛋白的基本理化性质。用 AlphaFold(<https://alphafold.ebi.ac.uk/>)预测蛋白的三级结构。

1.5 小麦 *TaGAD* 基因的转录组数据提取

从 NCBI (SRA) 数据库下载多个条件下 TAM107、Manitou、Chinese Spring、Gemmiza10 和 Giza168 的转录组原始 RNA-seq 数据,包括 NaHS 胁迫、盐胁迫、干旱胁迫、热胁迫等,通过 Hisat 2 定位到小麦参考基因组。原始读段数倍转换为每百万转录本(TPM)的表达量,用于后续分析^[33]。并使用 R Studio 软件中的“pheatmap”生成 *TaGAD* 的转录组分析图。

1.6 miRNA 靶基因的预测

根据上述从 NCBI 上获取的 *TaGAD* 参考基因组,基于 Web 的 psRNATarget 服务器,使用默认参数(<http://plantgrn.noble.org/psRNATarget/>)对靶向基因预测,排除了冗余的成熟 miRNA 序列,使用独特的成熟 miRNA 序列作为查询^[34],根据结果使用 R 绘图得到 miRNA 靶向图。

1.7 小麦种植、激素、接菌处理和 RNA 提取

本研究供试小麦品种孢子麦为长江中下游麦区农家品种(具有高温全生育期抗条锈性,田间抗条锈病等级为中抗),种植土壤为腐殖土、蛭石和珍珠岩按 3:1:1 比例混合基质。每盆播种 10 粒,

共种植 30 盆;将 30 盆植株按每 10 盆一组划分为 3 组,即处理组 1、处理组 2 和对照组。待小麦生长至二叶一心期时,对各组进行如下处理:

处理组 1:每盆喷施浓度为 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的外源物质 10 mL,包括水杨酸(salicylic acid, SA)、吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、脱落酸(abscisic acid, ABA)、过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)、茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA);处理组 2:采用喷雾接种法接种 6×10^6 孢子 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 条锈菌 CYR32 生理小种,并在接种后保湿 24 h;对照组不进行任何处理。所有植株均置于人工气候箱培养,培养条件设定为:白天 20°C 16 h,黑夜 15°C 8 h,相对湿度 80%^[35]。处理组 1 在喷施后 0、0.5、2、6、12、24 和 36 h 采样,处理组 2 在接种后 0、48、96 和 192 h 采样,立即液氮速冻, -80°C 保存备用。采用植物 RNA 提取试剂盒(全式金,北京)提取小麦叶片样本的总 RNA,随后使用反转录试剂盒(天根,北京)进行反转录反应。

1.8 荧光定量检测(qRT-PCR)

为进一步验证该基因在小麦中的表达水平,从 19 个 *TaGAD* 基因家族中选出 10 个 *TaGAD* 基因采用 qRT-PCR 检测基因的表达水平。使用 Primer premier 5 软件用于定量引物的设计,再用实时荧光定量 PCR 仪(QuantStudio 6, 美国)进行检测, *TaActin* 作为内参基因^[36]。通过实时荧光定量对每个 cDNA 进行 3 次技术重复和 3 次生物学重复检测,使用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法进行数据处理^[37]。

2 结果与分析

2.1 小麦 GAD 基因的系统发育分析、染色体分布和鉴定

为探究 GAD 基因的进化特征,以 19 个小麦、5 个拟南芥、4 个水稻和 5 个玉米中的 GAD 基因构建进化树(图 1A),并将这些基因分为 3 个亚组(Group I、II 和 III)。小麦 GAD 集中在 Group I 和 III 中,且 *TaGAD* 基因家族成员在小麦、拟南芥、水稻和玉米中具有明显的聚类趋势,表明 GAD 基因在不同物种之间高度保守。利用参考基因组 CFF3 文件提供的位置信息绘制染色体上 *TaGAD* 基因的分布图,结果表明 *TaGAD* 基因在 A、B、D 三个亚基因组中均匀分布在各染色体上(图 1B)。

表 1 *TaGAD* 基因家族引物序列

Table 1 Primer sequences of the *TaGAD* gene family

基因 Gene	引物序列 Primer sequence(5′—3′)	
	正向 Forward	反向 Reverse
<i>TaGAD1-2A</i>	CAATCAACAGTCTCCAAAACCC	TCGGCCTAAATCAGCCTATAAT
<i>TaGAD2-2A</i>	TCAAGAGGCGTTGGCAGAA	GGCGACGCAGATGGTGTT
<i>TaGAD3-2B</i>	GCCACGGCATCGAGGG	GGCCGGCACGATCCAG
<i>TaGAD4-2B</i>	TCTCCAAAGGTTCCAGCCA	TTGAGCACCATCGCGTTC
<i>TaGAD7-3A</i>	GCCACGGCATCGAGGG	GGCCGGCACGATCCAG
<i>TaGAD9-3B</i>	ACAAGGAAACAGGGTG	TGAGTTCGTCGGGCAGAT
<i>TaGAD11-3D</i>	CGGCTTCGAGGGGTACAAG	CACGATCCACCCGAACCTC
<i>TaGAD13-4A</i>	GGCGAAGAACAAGGAAACA	GCAGCTGAAGTCCATT
<i>TaGAD15-4A</i>	TGCCGCTCGTGGCTTTC	ACCACACGCATGACGGC
<i>TaGAD19-4D</i>	CACGACAAACCAACATC	CGTAGTACCCTTCCCTGA

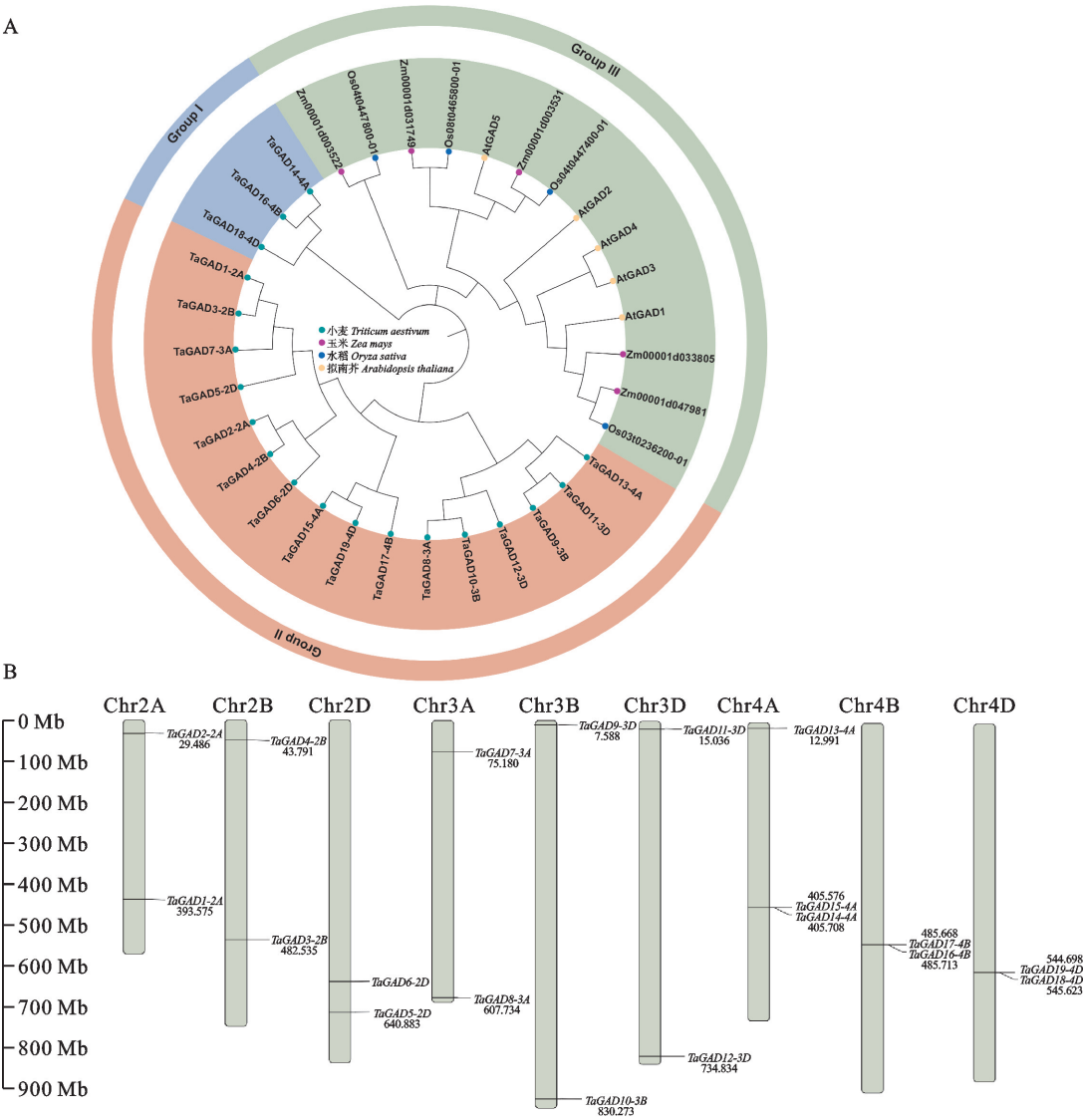


图 1 小麦、玉米、水稻和拟南芥 GAD 蛋白序列的系统发育树(A)和*TaGAD* 基因在染色体上分布(B)

Fig. 1 Phylogenetic tree(A) of GAD protein sequences of *Triticum aestivum* , *Zea mays* , *Oryza sativa* , and *Arabidopsis thaliana* and distribution of *TaGAD* genes on chromosomes(B)

2.2 TaGAD 家族的基因结构和与 Tae-miRNA 靶向调控关系及作用方式

基因结构和 motif 分析显示,全部TaGAD 均含有多个内含子结构,18 个TaGAD 的 5'端和 3'端含有完整的 UTR 区(图 2A),所有TaGAD 均含有与植物生长发育和逆境调控相关的 Pyridoxal_deC 基序(图 2B)。进一步对TaGAD 基因是否存在潜在 miRNA 的靶向调控进行预测。结果表明,多个 miRNA 靶向TaGAD 后通过翻译调控表达,只有 Tae-miR9666z 可通过切割方式调控TaGAD3-2B 表达(图 2C)。

2.3 TaGAD 的蛋白特征分析和结构预测

对 TaGAD 的蛋白质等电点、相对分子质量及不稳定性指数等生化特征进行分析。结果表明,TaGAD 碱基序列长度为 448~513 bp,蛋白平均相对分子质量为 55 kD,平均等电点为 5.69,

且所有蛋白均为亲水蛋白。只有 TaGAD14-4A、TaGAD16-4B、TaGAD18-4D 为不稳定蛋白(不稳定性指数<40),表明该家族整体具备稳定表达的特性(表 2)。根据稳定性将 TaGAD 蛋白结构分为 Group I 和 Group II 两组(图 3)。所有 TaGAD 均未检测到信号肽序列,为非分泌蛋白。亚细胞定位预测表明,II 组的 12 个和 I 组的 2 个 TaGAD 仅定位于线粒体;而 TaGAD18-4D、TaGAD13-4A、TaGAD11-3D、TaGAD12-3D 及 TaGAD10-3B 则同时定位于线粒体和叶绿体(表 2)。蛋白预测结果显示,该家族蛋白的主要结构元件包括 β 转角、 α 螺旋、延伸链及无规卷曲,但不同 TaGAD 蛋白中这 4 种结构的占比存在一定差异。此外, α 螺旋的比例(37.60%~47.33%)显著高于 β 转角(8.02%~10.22%),较高的 α 螺旋占比表明该蛋白可能具有良好的结构稳定性、特定的分子

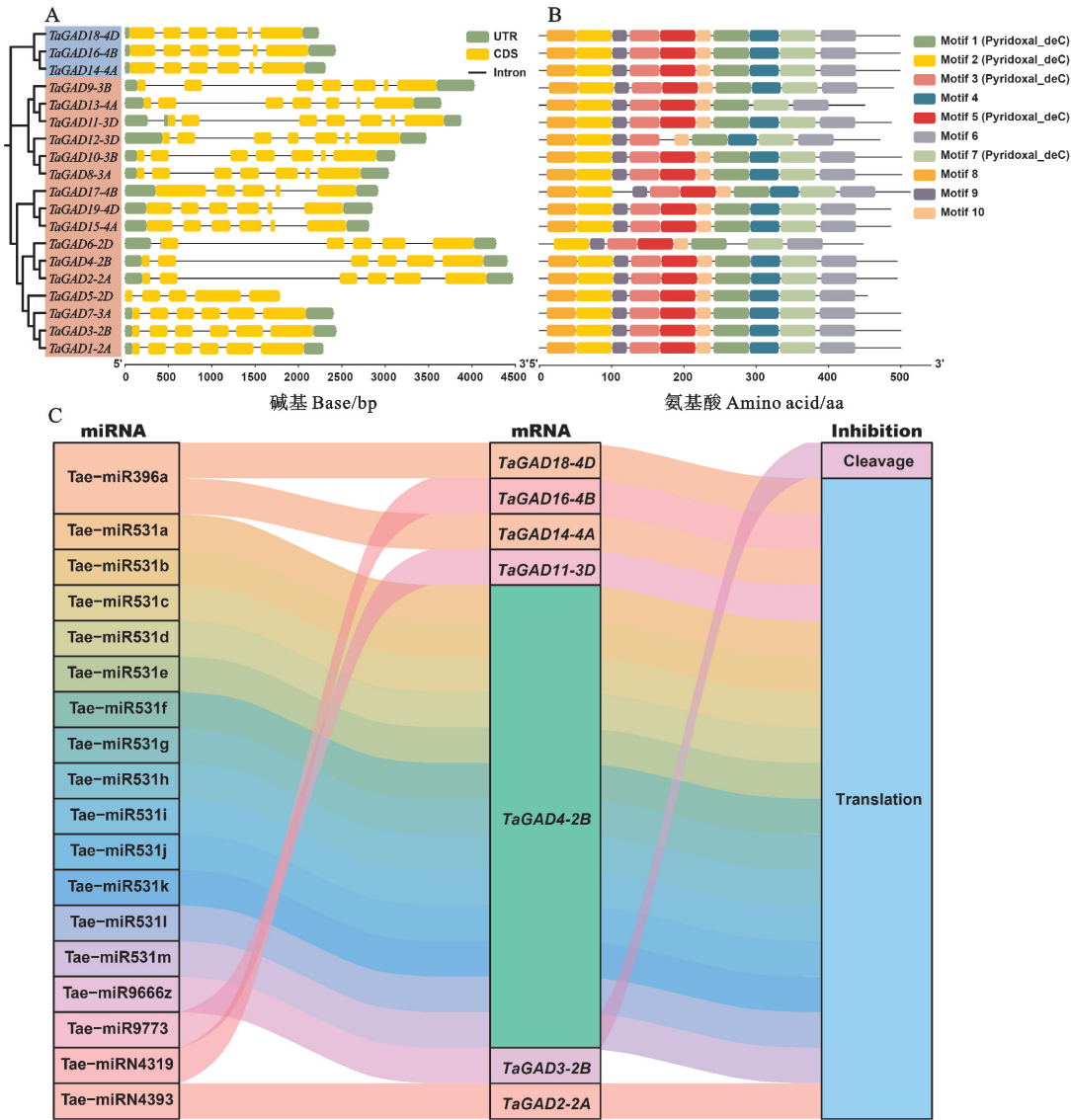


图 2 TaGAD 基因结构、保守基序及 miRNA 靶向分析

Fig. 2 Gene structure, conserved motifs, and miRNA target analyses of TaGAD

表 2 *TaGAD* 基因家族的预测信息

Table 2 Predicted information of the *TaGAD* gene family

基因 Gene	基因 ID Gene ID	碱基数 Number of amino acids	分子量 Molecular weight/kD	不稳定系数 Instability index	等电点 Isoelectric point	亲水指数 Hydrophilicity	亚细胞定位 Subcellular localization
<i>TaGAD18-4D</i>	TraesCS2A03G0782700.1	499	55.688	42.73	6.74	−0.132	叶绿体, 线粒体 Chloroplast, mitochondrion
<i>TaGAD13-4A</i>	TraesCS3A03G0046100.1	450	49.693	27.03	5.39	−0.054	
<i>TaGAD11-3D</i>	TraesCS3B03G0052400.1	487	54.107	29.36	5.55	−0.100	
<i>TaGAD12-3D</i>	TraesCS3A03G1214200.1	471	52.336	31.81	5.50	−0.193	
<i>TaGAD10-3B</i>	TraesCS3B03G1459100.1	501	55.944	31.00	5.46	−0.189	
<i>TaGAD16-4B</i>	TraesCS2B03G0868500.1	499	55.654	41.66	6.16	−0.129	线粒体 Mitochondrion
<i>TaGAD14-4A</i>	TraesCS2D03G0721300.1	499	55.760	43.31	6.16	−0.141	
<i>TaGAD9-3B</i>	TraesCS3D03G0041800.1	490	54.147	25.95	5.45	−0.064	
<i>TaGAD8-3A</i>	TraesCS3D03G1158300.1	501	56.030	31.52	5.39	−0.206	
<i>TaGAD17-4B</i>	TraesCS2B03G0868100.1	513	58.428	32.33	6.20	−0.195	
<i>TaGAD19-4D</i>	TraesCS2A03G0781400.1	486	55.052	28.53	6.00	−0.212	
<i>TaGAD15-4A</i>	TraesCS2D03G0720700.1	486	55.043	29.87	6.05	−0.207	
<i>TaGAD6-2D</i>	TraesCS4A03G0683400.1	448	50.500	41.10	5.16	−0.261	
<i>TaGAD4-2B</i>	TraesCS4B03G0113000.1	495	55.758	39.59	5.41	−0.231	
<i>TaGAD2-2A</i>	TraesCS4D03G0096100.1	495	55.744	39.59	5.40	−0.231	
<i>TaGAD5-2D</i>	TraesCS4A03G0908800.1	454	51.758	35.14	5.24	−0.263	
<i>TaGAD7-3A</i>	TraesCS4A03G0153700.1	500	56.563	37.68	5.73	−0.232	
<i>TaGAD3-2B</i>	TraesCS4B03G0632100.1	500	56.511	37.52	5.54	−0.239	
<i>TaGAD1-2A</i>	TraesCS4D03G0561600.1	500	56.582	36.92	5.61	−0.235	

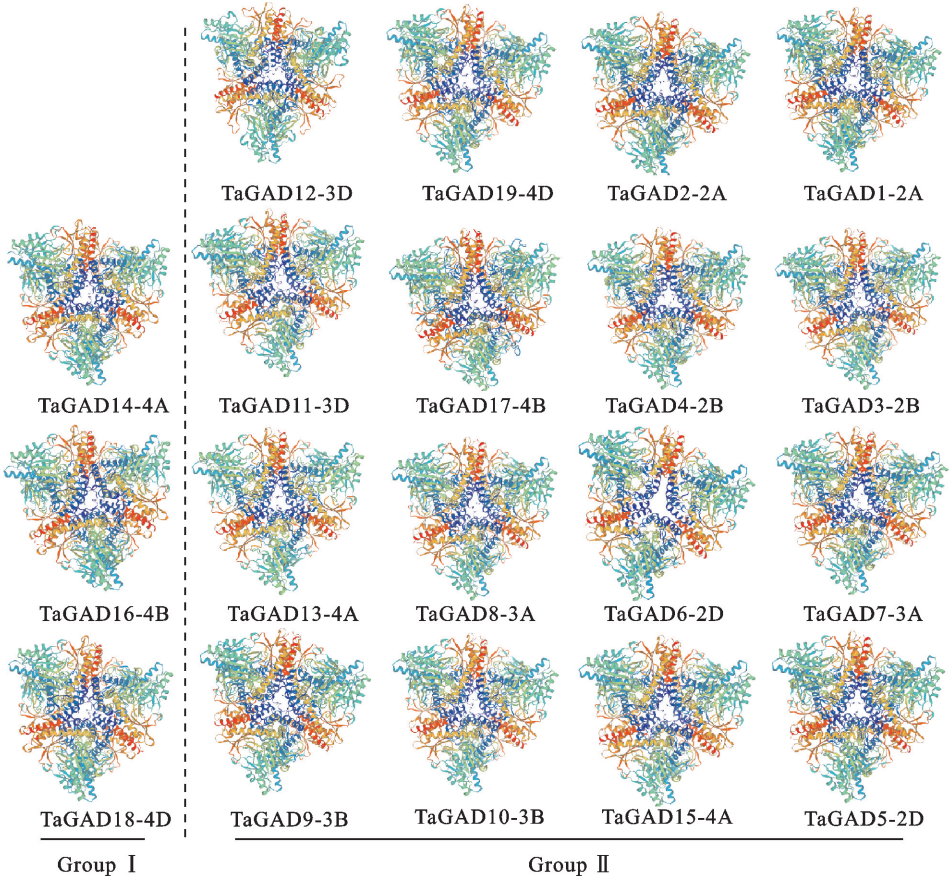


图 3 *TaGAD* 蛋白的三级结构预测

Fig. 3 Tertiary structure prediction of *TaGAD* proteins

互作能力及环境适应性。

2.4 TaGAD 基因转录组分析

表达模式分析显示, *TaGAD* 成员具有多样化的表达特征。其中, *TaGAD9-3B*、*TaGAD11-3D*、*TaGAD13-4A* 在小麦生长前期维持较高的表达水平, *TaGAD4-2B* 和 *TaGAD2-2A* 在非生物胁迫(干旱和高温)和生物胁迫(子囊菌 *Zymoseptoria tritici*、禾谷镰孢菌 *Fusarium graminearum* 和条锈菌)下有积极的响应。在非生物胁迫干旱和高温处理 1 和 6 h 后, 5 个小麦品种的 *TaGAD4-2B* 和 *TaGAD2-2A* 基因均有表达(图 4A)。在小麦的不同生长发育阶段, *TaGAD* 基因的表达呈现出动态变化: 如 *TaGAD2-2A*、*TaGAD4-2B*、*TaGAD9-3B*、*TaGAD11-3D*、*TaGAD13-4A* 主要在小麦发育前期的根、叶鞘和叶片有较高的表达量, 而 *TaGAD4-2B* 和 *TaGAD2-2A* 在不同生长时期均有相对较高的表达水平(图 4B), 表明 *TaGAD* 基因可能参与了小麦生长发育的多个过程。在生物胁迫下, *TaGAD4-2B*

和 *TaGAD2-2A* 基因的表达量明显高于其他 *TaGAD* 基因; *TaGAD9-3B*、*TaGAD11-3D* 和 *TaGAD13-4A* 基因在小麦一叶和二叶期上调表达, 说明部分 *TaGAD* 可能响应小麦条锈菌的侵染(图 4C)。

2.5 TaGADs 基因家族外源物质处理定量检测

为了进一步了解 *TaGAD* 基因的功能, 利用 IAA、ABA、SA、MeJA、 H_2O_2 等对小麦进行外源物质诱导处理, 选取胁迫条件下转录水平上调表达的基因 *TaGAD1-2A*、*TaGAD2-2A*、*TaGAD3-2B*、*TaGAD4-2B*、*TaGAD7-3A*、*TaGAD9-3B*、*TaGAD11-3D*、*TaGAD13-4A*、*TaGAD15-4A* 和 *TaGAD19-4D* 进行定量检测。结果(图 5)表明, 在 SA 处理下, *TaGAD7-3A*、*TaGAD11-3D*、*TaGAD15-4A* 显著上调表达, 其余基因的转录水平无显著差异; 在 MeJA 处理下 *TaGAD2-2A*、*TaGAD4-2B*、*TaGAD19-4D* 相比于其他基因上调表达更为强烈; 在 IAA 处理下, *TaGAD2-2A*、*TaGAD3-2B*、*TaGAD9-3B*、*TaGAD11-3D*、*TaGAD13-4A* 和 *TaGAD19-4D*

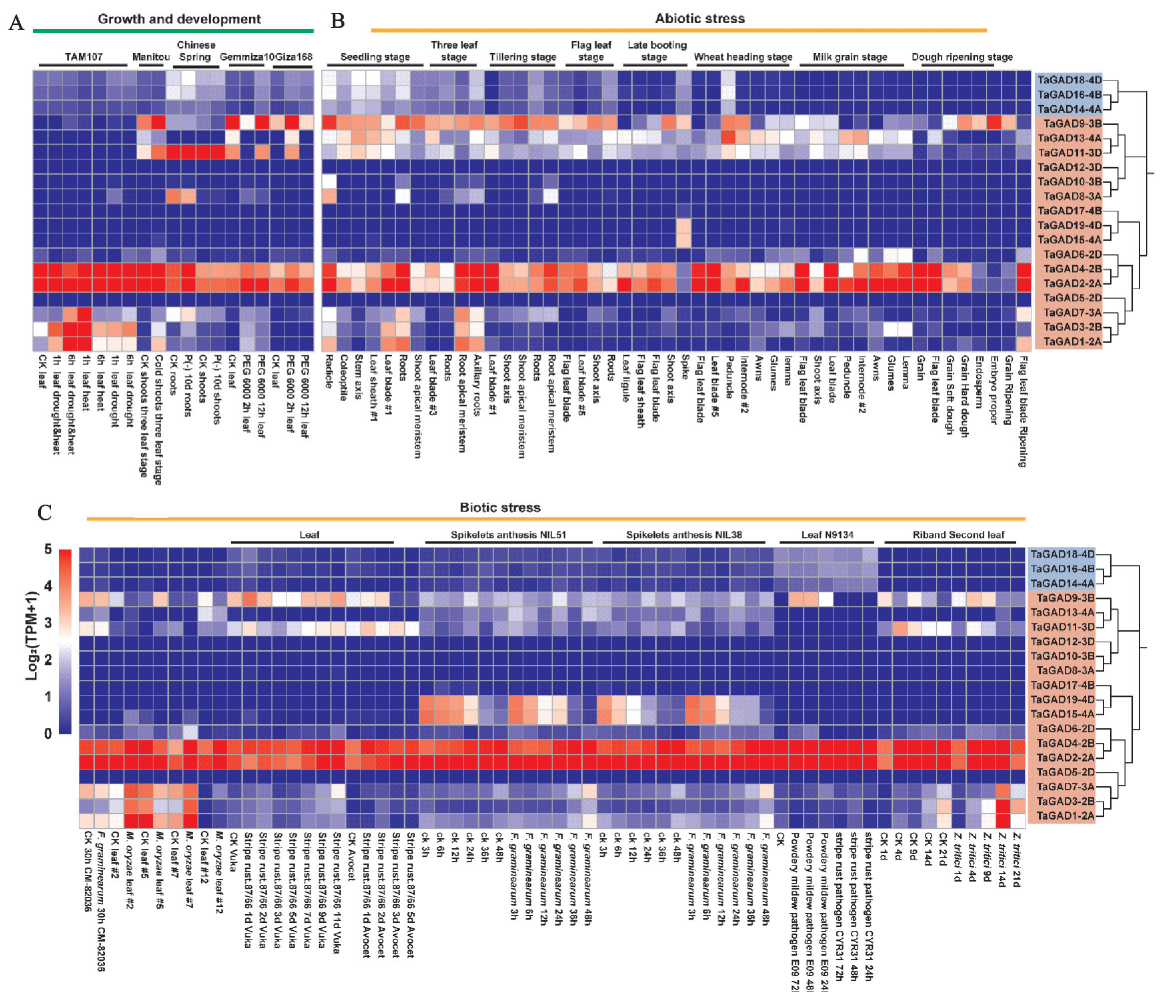
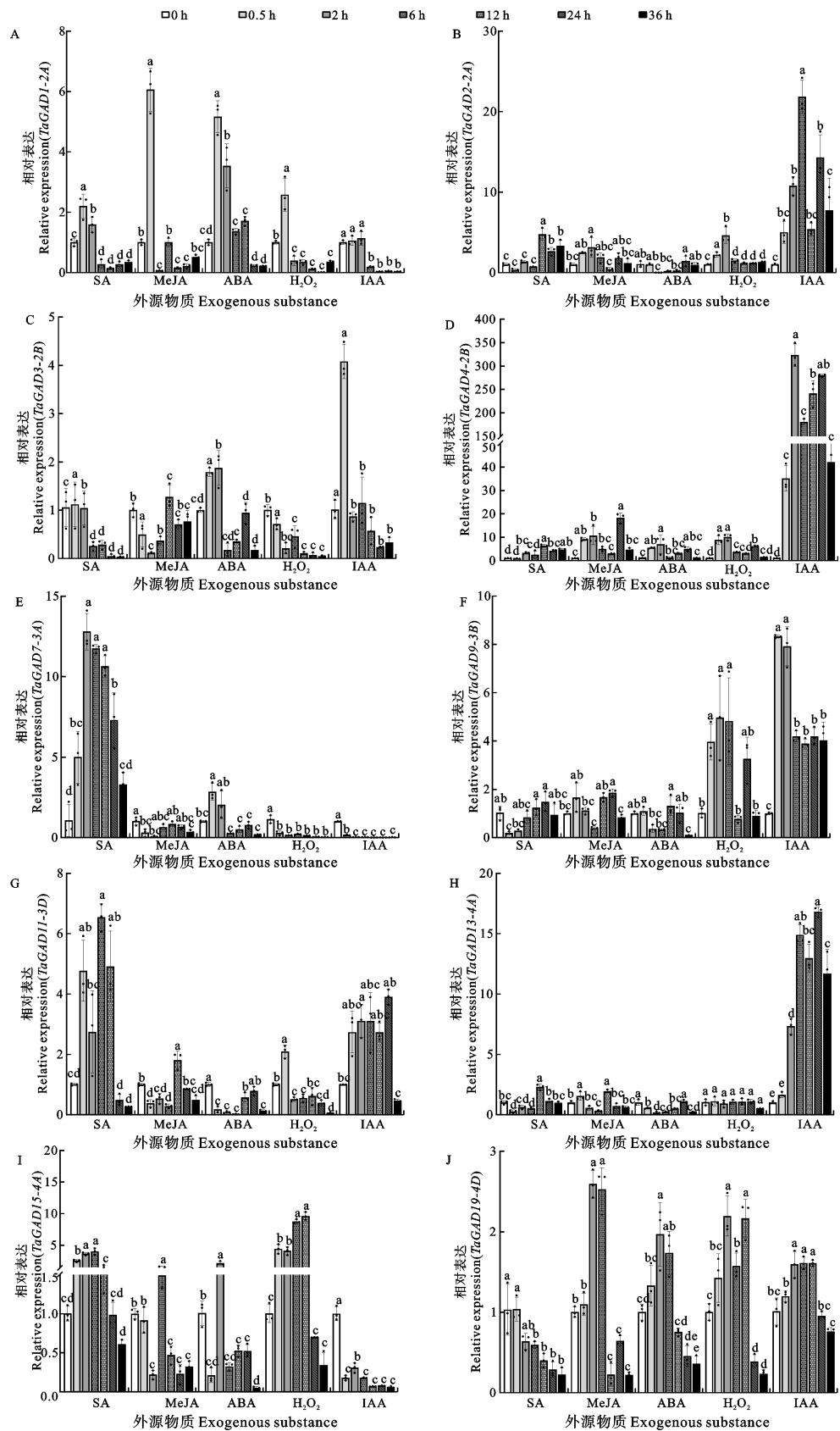


图 4 *TaGAD* 基因家族的转录组表达水平分析

Fig. 4 Transcriptome expression analysis of the *TaGAD* gene family



图柱上的不同字母表示同一外源物质处理下不同测定时间间的差异在 0.05 水平上的显著性。
Different letters on the columns indicate the significant difference among different measuring time under the same exogenous substance treatments at 0.05 level.

图 5 外源物质诱导下*TaGAD* 基因家族的相对表达
Fig. 5 Relative expression of the *TaGAD* gene family under exogenous substance treatments

表达量显著上调且相对较高。在 ABA 处理下, *TaGAD1-2A* 和 *TaGAD19-4D* 有较高的上调表达。

TaGAD1-2A 基因在 SA、MeJA 和 ABA 等喷施处理后 0.5 h 表达量较 0 h 有显著升高; *TaGAD7-3A* 在 SA 处理下前期均上调表达, 至 24 h 表达水平下降; *TaGAD9-3B* 在 H_2O_2 和 IAA 诱导下上调表达更为强烈, 最高上调倍数分别为 0 h 的 5 倍和 7 倍; *TaGAD11-3D* 在外源物质 SA 和 IAA 处理下表达量升高, 最高时分别是 0 h 的 6 倍和 3 倍; *TaGAD19-4D* 受到多种外源物质的诱导, 在 MeJA、ABA、 H_2O_2 和 IAA 处理后 2 h 均显著上调(图 5)。以上结果说明, *TaGAD* 基因家族能够响应外源物质的诱导, 且多数成员对 IAA 和 SA 两种外源物质有较强响应。

2.6 条锈菌侵染后 *TaGADs* 基因家族的表达

条锈菌侵染后小麦中 *TaGAD* 基因表达结果(图 6)显示, *TaGAD15-4A* 和 *TaGAD19-4D* 对条锈菌侵染均表现出积极的响应。在侵染 48 h 时, 二者的表达量达到峰值, 上调 12.5 和 15.2 倍(图 6)。 *TaGAD15-4A* 和 *TaGAD19-4D* 可能同时参与生物与非生物胁迫, 且在生物胁迫前期发挥功能。

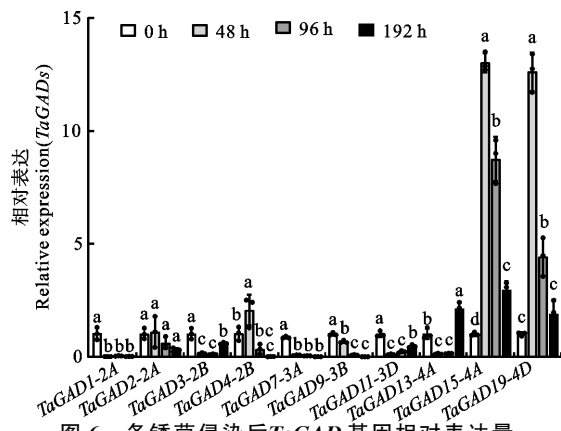


图 6 条锈菌侵染后 *TaGAD* 基因相对表达量
Fig. 6 Relative expression of *TaGAD* in response to *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* infection

3 讨论

在植物中, *GAD* 基因是一类大家族基因, 其与 GABA 合成、代谢和信号转导等过程相关^[38], 现有研究大多聚焦在大豆、水稻、拟南芥等。关于小麦 *GAD* 基因家族在抗逆方面的系统研究较为有限。因此, 本试验开展了小麦 *TaGAD* 基因家族的研究。

基因结构及外显子-内含子的数量是评估基因进化特征的重要指标^[39], 本研究共鉴定到 19 个 *TaGAD* 基因, 均匀分布在 9 条染色体上。保守

基序分析显示, *TaGAD* 具有结合辅酶磷酸吡哆醛(pyridoxal 5'-phosphate, PLP) 的保守结构域^[40], 该结构域可间接参与激素合成和信号传递, 调控植物生长发育及逆境适应等过程^[41-43]。在该家族中只有 *TaGAD13-4A*、*TaGAD12-3D* 和 *TaGAD6-2D* 有 PLP 缺失。因此, 推测核心保守基序的完整性可能对 *TaGAD* 基因的正常表达具有重要调控作用。

蛋白质是基因功能的直接执行者, 其理化性质与结构特征决定其生物学功能^[44]。本研究对小麦 *GAD* 蛋白性质分析发现, 只有 *TaGAD14-4A*、*TaGAD16-4B*、*TaGAD18-4D* 为不稳定蛋白外, 表明多数 *TaGAD* 蛋白可在小麦体内稳定存在并发挥生物学功能。miRNA 可通过切割或抑制方式调控基因表达, 参与植物逆境调控。在靶标预测分析发现仅 *Tae-miR9666z* 通过切割 *TaGAD3-2B* 来抑制蛋白合成; 调控 *TaGAD4-2B* 的 *Tae-miRNA* 数量最多。这些结果说明 *TaGAD* 的表达受多种 miRNA 的精细调控, 进一步揭示了其在小麦逆境应答中调控网络的多样性。此外, 转录组数据分析显示, *TaGAD2-2A*、*TaGAD4-2B*、*TaGAD5-2D*、*TaGAD9-3B*、*TaGAD11-3D* 和 *TaGAD13-4A* 在干旱、高温、盐等非生物胁迫下表达相对较高, 且在小麦不同发育阶段及组织中呈特异性的高表达, 而其余 *TaGAD* 成员则无明显表达特征。由上述结果推测 *TaGAD* 基因家族在参与植物逆境响应网络过程中可能发挥差异化作用。

植物激素调控网络是植物应对生物与非生物胁迫的重要防御机制^[45-47], 其中包括水杨酸(SA)、生长素(IAA)和脱落酸(ABA)等^[48]。为进一步阐明 *TaGAD* 在小麦抗逆过程中的作用, 本研究通过 qRT-PCR 分析了其在外源激素诱导下的表达模式。发现多数 *TaGAD* 成员在 IAA 处理下积极响应; *TaGAD7-3A* 和 *TaGAD15-4A* 在 SA 处理下上调显著, 分别为喷施后 0 h 的 13 倍和 7 倍。已有研究表明, 适宜浓度的 SA 不仅能够增强植物对非生物胁迫的耐受性, 还可参与植物对生物胁迫的防卫反应^[49-50]。由上述结果推测小麦 *TaGAD* 发挥抗逆性可能通过两种方式: 一是单独响应 IAA 或 SA 信号, 通过调控激素信号通路增强小麦抗逆性; 二是 SA 通路参与植物防卫体系相关, 其介导的 SA 积累可增强植株应对生物胁迫的能力, 从而间接提升植物对非生物胁迫的适应能力。此外, 本研究还发现, 在所有的 *GAD* 基

因家族中,只有*TaGAD15-4A*和*TaGAD19-4D*既能响应外源激素非生物胁迫的诱导,又能对条锈菌生物胁迫的侵染有强烈的反应变化。由此猜测这2个基因可能参与小麦对生物与非生物胁迫的双重响应。

本研究通过全基因组鉴定、生物信息学分析及表达模式验证,证实了小麦*TaGAD*基因家族在植物生长发育和抵御生物与非生物胁迫过程中发挥重要的作用,但*TaGAD*基因家族成员如何通过不同激素信号通路分别响应生物与非生物胁迫,其下游调控网络及关键节点的分子机制、调控机制尚不清楚,仍有待通过定向分子实验进一步解析。本研究为后续揭示*TaGAD*基因功能和探究其参与小麦抗逆性与激素相关的分子机制提供参考信息。

参考文献:

- [1]付雪丽,景琦,陈旭,等.我国小麦种子供需现状与产业发展趋势[J].中国种业,2023(2):20.
- [2]FU X L, JING Q, CHEN X, *et al.* Current situation of wheat seed supply and demand in China and its industrial development trend [J]. *China Seed Industry*, 2023(2):20.
- [3]何友,曾福生.中国粮食生产与消费的区域格局演变[J].中国农业资源与区划,2018,39(3):1.
- [4]HE Y, ZENG F S. The regional pattern evolution of China's grain production and consumption [J]. *Chinese Journal of Agricultural Resources and Regional Planning*, 2018,39(3):1.
- [5]ASSENG S, EWERT F, MARTRE P, *et al.* Rising temperatures reduce global wheat production [J]. *Nature Climate Change*, 2015,5(2):143.
- [6]EI SABAGH A, ISLAM M S, SKALICKY M, *et al.* Salinity stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) in the changing climate: Adaptation and management strategies [J]. *Frontiers in Agronomy*, 2021,3:661932.
- [7]AL-KHAYRI J M, ABDEL-HALEEM M, KHEDR E H. Harnessing GABA pathways to improve plant resilience against salt stress [J]. *Horticulturae*, 2024,10(12):1296.
- [8]MICHAELI S, FROMM H. Closing the loop on the GABA shunt in plants: are GABA metabolism and signaling entwined [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015,6:419.
- [9]SHELP B J, ALLAN W L, FAURE D. Role of γ -aminobutyrate and γ -hydroxybutyrate in plant communication [J]. *Plant-Environment Interactions*, 2009,978:73.
- [10]BOUCHE N, FROMM H. GABA in plants: Just a metabolite [J]. *Trends in Plant Science*, 2004,9(3):110.
- [11]PASQUALINA, CIARMIELLO, LOREDANA, *et al.* Durum wheat seedling responses to simultaneous high light and salinity involve a fine reconfiguration of amino acids and carbohydrate metabolism [J]. *Physiologia Plantarum*, 2017,159(3):290.
- [12]BREITKREUZ K E, ALLAN W L, VAN CAUWENBERGHE O R, *et al.* A novel γ -hydroxybutyrate dehydrogenase: identification and expression of an *Arabidopsis* cDNA and potential role under oxygen deficiency [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003,278(42):41552.
- [13]RENAULT H, ROUSSEL V, EL AMRANI A, *et al.* The *Arabidopsis* *pop2-1* mutant reveals the involvement of GABA transaminase in salt stress tolerance [J]. *BMC Plant Biology*, 2010,10(1):20.
- [14]CHEN Y, BAUM G, FROMM H. The 58-kilodalton calmodulin-binding glutamate decarboxylase is a ubiquitous protein in petunia organs and its expression is developmentally regulated [J]. *Plant Physiology*, 1994,106(4):1381.
- [15]SHELP B J, AGHDAM M S, FLAHERTY E J. γ -aminobutyrate (GABA) regulated plant defense: Mechanisms and opportunities [J]. *Plants*, 2021,10(9):1939.
- [16]LI L, DOU N, ZHANG H, *et al.* The versatile GABA in plants [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2021,16(3):1862565.
- [17]HYUN T K, EOM S H, JEUN Y C, *et al.* Identification of glutamate decarboxylases as a γ -aminobutyric acid (GABA) biosynthetic enzyme in soybean [J]. *Industrial Crops and Products*, 2013,49:864.
- [18]XU B, FENG X Y, PIECHATZAK A, *et al.* The GABA shunt contributes to ROS homeostasis in guard cells of *Arabidopsis* [J]. *New Phytologist*, 2024,241(1):73.
- [19]ZHENG J Y, ZHANG Z L, LIANG Y J, *et al.* Whole transcriptome sequencing reveals drought resistance-related genes in upland cotton [J]. *Genes*, 2021,13(7):1159.
- [20]ALJUAID B S, ASHOUR H. Exogenous γ -aminobutyric acid (GABA) application mitigates salinity stress in maize plants [J]. *Life*, 2022,12(11):1860.
- [21]FAN Y T, LI C Y, ZHU J, *et al.* Organic acids metabolism and GABA shunt involved in maintaining quality of *Malus domestica* by methyl jasmonate treatment [J]. *Food Research International*, 2022,160:111741.
- [22]HUANG H, HE Y, CUI A, *et al.* Genome-wide identification of GAD family genes suggests *GhGAD6* functionally respond to Cd²⁺ stress in cotton [J]. *Frontiers in Genetics*, 2022,13:965058.
- [23]李明轩,刘颖,杨柏明,等.西瓜谷氨酸脱羧酶 GADs 的克隆与表达分析[J].华北农学报,2023,38(6):18.
- [24]LI M X, LIU Y, YANG B M, *et al.* Cloning and expression analysis of glutamate decarboxylase GADs from watermelon [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2023,38(6):18.
- [25]AI-QURAAN N A, SARTAWA F A, QARYOUTI M M. Characterization of γ -aminobutyric acid metabolism and oxidative damage in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings under salt and osmotic stress [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2013,170(11):1003.
- [26]BAO Y, WANG S, GUAN Y, *et al.* Cloning of *TaGAD* and *TaGABA-T* from winter wheat and expression analysis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2023,70(3):29.

- [24] CARILLO P. GABA shunt in durum wheat[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9:100.
- [25] OUYANG S, ZHU W, HAMILTON J, *et al.* The TIGR rice genome annotation resource; Improvements and new features [J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35:D883.
- [26] COLINA F, AMARAL J, PINTO G, *et al.* Genome-wide identification and characterization of CKIN/SnRK gene family in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9:350.
- [27] ARON M B, BO Y, HAN L, *et al.* CDD/SPARCLE: functional classification of proteins *via* subfamily domain architectures [J]. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(D1):D200.
- [28] KUMAR S, STECHER G, SUDHIR K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7):1870.
- [29] HE Y Q, HUANG W D, YANG L, *et al.* Genome-wide analysis of ethylene-insensitive3 (EIN3/EIL) in *Triticum aestivum* [J]. *Crop Science*, 2020, 60(4):2019.
- [30] HU L, LIU S. Genome-wide identification and phylogenetic analysis of the ERF gene family in cucumbers [J]. *Genetics and Molecular Biology*, 2011, 34(4):624.
- [31] BAILEY T L, BODEN M, BUSKE F A, *et al.* MEME SUITE: Tools for motif discovery and searching [J]. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37:W202.
- [32] LETUNIC I, BORK P. 20 years of the SMART protein domain annotation resource [J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(D1):D493.
- [33] TRAPNELL C, ROBERTS A, GOFF L, *et al.* Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks [J]. *Nature Protocols*, 2012, 7(3):562.
- [34] AKPINAR B A, KANTAR M, BUDAK H. Root precursors of microRNAs in wild emmer and modern wheats show major differences in response to drought stress [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2015, 15(5):587.
- [35] 王圣龙, 张静, 袁家伟, 等. 280份小麦种质条锈病抗性鉴定及抗病基因检测[J]. *核农学报*, 2025, 39(9):1850.
- WANG S L, ZHANG J, YUAN J W, *et al.* Identification of resistance to stripe rust and detection of resistance genes in 280 wheat germplasm [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2025, 39(9):1850.
- [36] 王军娟, 陶飞, 安菲, 等. 温度与条锈病菌双胁迫下小麦内参基因的选择[J]. *植物病理学报*, 2014, 44(5):497.
- WANG J J, TAO F, AN F, *et al.* Selection of reference genes in wheat stressed by temperature and *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2014, 44(5):497.
- [37] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25(4):402.
- [38] 安翠环, 黄春贵, 郭泽安, 等. 番茄 GAD 基因家族鉴定与表达分析[J]. *广东农业科学*, 2025, 52(6):41.
- AN C H, HUANG C G, GUO Z A, *et al.* Identification and expression analysis of GAD gene family in tomato [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2025, 52(6):41.
- [39] 王静雅, 刘文娟, 吕祎馨, 等. 油桐 OFP 基因家族的全基因组鉴定及低温响应分析[J]. *植物生理学报*, 2020, 56(5):949.
- WANG J Y, LIU W J, LV Y X, *et al.* Genome-wide identification and low temperature response analysis of OFP gene family in tung tree (*Vernicia fordii*) [J]. *Plant Physiology Journal*, 2020, 56(5):949.
- [40] QUARANTA M, PASCARELLA S. Structural basis of molecular recognition of pyridoxal 5'-phosphate in a bacterial periplasmic binding protein [J]. *Biophysical Chemistry*, 2026:107547.
- [41] HAMASAKI N, OKUBO K. Band 3 protein: Physiology, function and structure [J]. *Cellular and Molecular Biology*, 1996, 42(7):1025.
- [42] PALMIERI L, AGRIMI G, RUNSWICK M J, *et al.* Identification in *Saccharomyces cerevisiae* of two isoforms of a novel mitochondrial transporter for 2-oxoadipate and 2-oxoglutarate [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(3):1916.
- [43] SHI H, XIONG L, STEVENSON B, *et al.* The *Arabidopsis* salt overly sensitive 4 mutants uncover a critical role for vitamin B6 in plant salt tolerance [J]. *The Plant Cell*, 2002, 14(3):575.
- [44] WANG D, CAO Z, WANG W, *et al.* Genome wide characterization of OFP family genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) reveals that *TaOPF29a-A* promotes drought tolerance [J]. *Biomed Research International*, 2020, 2020(1):9708324.
- [45] 曹鹏, 安玉艳, 崔浪军, 等. 茉莉酸途径在植物与病原菌互作中的作用和机制[J]. *生命科学*, 2025, 37(5):500.
- CAO P, AN Y Y, CUI L J, *et al.* Role and mechanisms of the jasmonic acid pathway in plant-pathogen interactions [J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2025, 37(5):500.
- [46] 吴德伟, 汪姣姣, 谢道昕. 茉莉素与植物生物胁迫反应[J]. *生物技术通报*, 2018, 34(7):14.
- WU D W, WANG J J, XIE D X. Jasmonate action and biotic stress response in plants [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(7):14.
- [47] KU Y S, SINTAHA M, CHEUNG M Y, *et al.* Plant hormone signaling crosstalks between biotic and abiotic stress responses [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(10):3206.
- [48] KAMIYA Y. Plant hormones are versatile regulators of plant growth and development [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2009, 5(5):301.
- [49] ESMAEILI M, HEIDARZADE A. Enhance the allelopathic potential of two rice cultivar (*Oryza sativa* L.) by foliar application of salicylic acid under salinity stress [J]. *International Journal of Biosciences*, 2015, 6(4):177.
- [50] 刘寒, 戴远兴, 吕明芳, 等. 外源水杨酸对水稻苗期生长与防卫相关基因表达的影响[J]. *浙江农业学报*, 2021, 33(10):1789.
- LIU H, DAI Y X, LV M F, *et al.* Effects of exogenous salicylic acid on growth and defense-related genes of rice seedlings [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2021, 33(10):1789.