生物技术通报
· 研究报告 · BIOTECHNOLOGY BULLETIN 2026, 42(10):98-107

藜麦*G6PDH*基因家族的鉴定及*CqG6PDH1*耐盐性分析

王亦学 刘佳慧 许帆 胡鑫 王育川 侯丽媛 吴慎杰 郝曜山* 董艳辉*
（山西农业大学生命科学学院，太原 030031）

摘 要： 【目的】基于藜麦基因组和转录组数据，鉴定藜麦*G6PDH*基因家族成员，并探究候选基因*CqG6PDH1*在耐盐方面的功能，为藜麦耐盐机制的研究提供理论依据和基因资源。【方法】根据拟南芥*AtG6PDH*和水稻*OsG6PDH*基因家族成员的蛋白序列和G6PDH对应的隐马尔可夫文件PF02781和PF00479，对*CqG6PDH*基因家族成员进行鉴定。利用TBtools、MEGA、MEME和WoLF PSORT等工具分析基因家族成员的理化性质、进化关系、基因结构、保守基序、染色体定位、亚细胞定位和表达模式。运用RT-qPCR分析*CqG6PDH1*在不同组织和盐胁迫下的表达模式，通过转化拟南芥对其耐盐性进行功能验证。【结果】鉴定获得6个*CqG6PDH*基因家族成员，编码蛋白的氨基酸数目为519-722，预测蛋白分子量为59.30-79.58 kD，理论等电点为5.24-8.69。*CqG6PDHs*在第4、5、11、12和14染色体上均有分布，预测其编码的蛋白定位于细胞质和叶绿体。RNA-Seq数据和RT-qPCR表明，*CqG6PDH1*响应盐胁迫。转基因结果显示，分别用175和250 mmol/L NaCl处理转基因拟南芥种子和幼苗，过表达*CqG6PDH1*拟南芥的萌发率和存活率均显著提高，失水速率和丙二醛含量降低，SOD和POD活性及细胞膜稳定性增强。【结论】从藜麦基因组中鉴定到6个*CqG6PDH*基因家族成员，其中，过表达*CqG6PDH1*增强转基因拟南芥的耐盐性，其在应答盐胁迫的调控过程中具有重要作用，是改良作物耐盐性的重要候选基因。

关键词： 藜麦；*G6PDH*基因家族；生物信息学分析；*CqG6PDH1*；耐盐性
DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2025-1388

Identification of *G6PDH* Gene Family in *Chenopodium quinoa* and Functional Analysis of *CqG6PDH1* in Salt Tolerance

WANG Yi-xue LIU Jia-hui XU Fan HU Xin WANG Yu-chuan HOU Li-yuan WU Shen-jie HAO Yao-shan* DONG Yan-hui*
(*College of Life Sciences, Shanxi Agricultural University, Taiyuan* 030031)

Abstract: 【Objective】 Based on the information of genome and transcriptome, the members of the *G6PDH* gene family in quinoa were identified through bioinformatics methods. The function of the candidate gene *G6PDH1* in salt tolerance was investigated. This study provides theoretical basis and gene resources for researching the salinity tolerance mechanisms in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). 【Method】 Based on the protein sequences of *AtG6PDHs* in *Arabidopsis thaliana* and *OsG6PDHs* in *Oryza sativa*, and the reported hidden markov model (HMM) files PF02781 and PF00479, the *CqG6PDH* gene family members were identified. Various bioinformatics tools such as TBtools, MEGA, MEME and WoLF PSORT were used to analyze the protein physicochemical properties, evolutionary relationships, gene structures, conserved motifs, chromosomal distribution, subcellular localization, and expression pattern of *CqG6PDH* gene family members. Additionally, RT-qPCR was used to analyze the expression pattern of *CqG6PDH1* in different tissues and under salt stress, and *A. thaliana* was used to transform for validating the function of *CqG6PDH1* in salt tolerance. 【Result】 Six *CqG6PDH* gene family members were identified, encoding proteins with 519-722 amino acids, with predicted molecular weights ranging from 59.30 to 79.58 kD and theoretical isoelectric points ranging from 5.24 to 8.69. *CqG6PDHs* were distributed on chromosomes 4, 5, 11, 12, and 14, and it is predicted that their encoded proteins were localized in the

收稿日期：2025-12-20
基金项目：山西省科技创新人才团队专项（202304051001040），山西省后稷实验室自主立项课题（202404010930003-Y20），山西农业大学生物育种工程（YZGC135），山西省育种联合攻关（NYGG28-02），山西农业大学科技创新提升工程（CXGC2025065）
*通信作者：郝曜山 haoyaoshan@163.com，董艳辉 dongfang5513@163.com

cytoplasm and chloroplast. RNA-Seq data and RT-qPCR indicated that *CqG6PDH1* responded to salt stress. The seeds and seedlings of transgenic *Arabidopsis* were treated with 175 and 250 mmol/L NaCl, respectively, the germination rate and the survival rate of *Arabidopsis* overexpressing *CqG6PDH1* significantly increased, accompanied by low water loss rate and malondialdehyde (MDA) content, as well as enhanced SOD activity, POD activity and cell membrane stability.【Conclusion】Six *CqG6PDH* genes are identified in the quinoa and overexpressing *CqG6PDH1* in *Arabidopsis* resulted in enhanced tolerance to salt. *CqG6PDH1* is an important candidate gene for improving crop tolerance to salt and plays an important role in the regulatory process of responding to salt stress.

Keywords: quinoa; *G6PDH* gene family; bioinformatics analysis; *CqG6PDH1*; salinity tolerance

藜麦（*Chenopodium quinoa* Willd.）为一年生苋科藜亚科藜属植物，起源于南美安第斯地区，已有7 000多年的种植历史[1]。20世纪90年代，藜麦引入中国，在青海、甘肃、山西、河北、内蒙古等省自治区推广种植。藜麦营养丰富，富含多种矿物质、维生素、膳食纤维、脂肪酸和蛋白质，被联合国粮农组织认定为最适宜人类的全营养食品[2]。此外，藜麦含有皂苷、黄酮、多酚等对人体有益的生物活性成分，能够预防心血管疾病，具有抗氧化和抗癌的作用[3]。藜麦是异源四倍体植物，具有丰富的遗传多样性，抗旱耐盐耐瘠薄，因此，发掘藜麦种质资源中优异的抗逆基因并进行功能研究，不仅对揭示藜麦抗逆机理具有理论价值，对于保障藜麦安全生产也具有重要的现实意义。

戊糖磷酸途径（pentose phosphate pathway, PPP）是植物体内葡萄糖氧化分解的一种很重要的有氧呼吸途径，为生物合成提供还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（triphosphopyridine nucleotide, NADPH），生成脂肪酸、氨基酸合成所需的中间产物，核酸代谢所需的磷酸戊糖，参与植物对胁迫的应答反应[4]。在PPP途径中，葡萄糖-6-磷酸脱氢酶（glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PDH）作为关键限速酶，控制PPP途径的反应速率，催化NADPH的生成，在植物生长发育和逆境胁迫响应过程中发挥重要作用[5-6]。近年来，植物中*G6PDHs*基因的鉴定和功能研究越来越多。小麦*TaG6PDH*在外源脱落酸和冷胁迫处理下，其表达和活性水平提高，冷胁迫处理过表达*Ta6PGDH*拟南芥，过表达植株具有更强的活性氧清除能力和更高的成活率[7]。玉米中有5个*ZmG6PGDHs*，敲除*ZmG6PDH1*则增强玉米对冷胁迫的敏感性，突变体在冷胁迫处理后，NADPH、抗坏血酸和谷胱甘肽的氧化还原状态发生了显著变化，从而导致氧化还原平衡破坏和活性氧的增加，使得细胞损伤和死亡[8]。大豆胞质型*GmG6PDH7*受盐胁迫诱导，过表达该基因的拟南芥在盐胁迫处理时种子的萌发率提高，根长变长，且盐胁迫诱导转基因植株G6PDH总活性和胞浆G6PDH活性均明显升高，活性氧水平显著降低[9]。甘蔗*ScG6PDH*在盐、干旱、重金属（$CdCl_2$）和低温（4 ℃）处理条件下，其转录水平显著上调，表明该基因可能参与以上环境胁迫的生理代谢过程[10]。过表达杨树胞质型*PsG6PDH*的转基因烟草表现出更强的耐寒性，转基因烟草的丙二醛含量和电解质渗漏含量较低，SOD和POD活性较高，此外，*PsG6PDH*激活转基因烟草中*NtERD10b*、*NtERD10c*、*NtSOD*等胁迫相关基因的表达[11]。

目前，已相继在拟南芥[12]、马铃薯[13]、大豆[14]、小麦[15]、橡胶树[16]、草莓[17]等植物中对*G6PDH*基因家族成员进行分离鉴定、表达分析和功能验证，其广泛参与了植物的生长发育和逆境胁迫响应过程。然而，藜麦*G6PDH*基因家族成员及其生物学功能仍不清楚。

本研究利用生物信息学方法鉴定藜麦*G6PDH*基因家族成员，并对其理化性质、进化关系、基因结构、保守基序、染色体位置、亚细胞定位等进行预测分析。通过RNA-Seq数据和表达模式分析筛选响应盐胁迫的候选基因，通过转基因拟南芥表型鉴定、生理生化指标测定等研究候选基因在耐盐方面的功能，为藜麦耐盐机制研究提供理论依据和基因资源。

1　材料与方法

1.1　材料

藜麦品种晋藜1号由山西农业大学生命科学学院藜麦种质创新课题组选育和保存，该品种已通过认定，编号晋认藜202001。拟南芥Col-0用于目标基因的遗传转化和功能验证。

1.2 方法

1.2.1 藜麦*G6PDH*基因家族成员的鉴定 从Ensembl Plants数据库（https://plants.ensembl.org/index.html）下载藜麦基因组文件；从TAIR（https://www.arabidopsis.org/）下载拟南芥*AtG6PDH*家族6个成员的蛋白序列；从Rice Genome Annotation Project（https://rice.uga.edu/）下载水稻*OsG6PDH*家族5个成员的蛋白序列。从Pfam数据库（http://pfam.xfam.org/）下载隐马尔可夫模型（HMM）文件，包括C端NADP依赖性G6PD结构域（PF02781）和N端NADP结合结构域（PF00479）。使用TBtools的HMM search搜索含有上述2个结构域的G6PDH蛋白，参数为默认值；以拟南芥[12]和水稻[15]的G6PDH蛋白序列为查询序列，在藜麦基因组蛋白数据库中本地BLASTP搜索，E-value值小于10^{-5}；结合HMM search和BLASTP 2种方法获得藜麦*G6PDH*基因家族成员，经删除重复及冗余后，进一步通过NCBI Batch CD-search（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi）确认结构域，最终获得候选*CqG6PDH*成员。

1.2.2 藜麦*G6PDH*基因家族蛋白的理化性质分析和亚细胞定位预测 提取*CqG6PDH*基因家族成员蛋白序列信息，利用TBtools软件protein paramter calc模块预测其氨基酸长度、相对分子量、理论等电点、不稳定系数和总平均亲水性等理化性质。利用在线网站WoLF PSORT（https://wolfpsort.hgc.jp/）对*CqG6PDH*基因家族成员亚细胞定位进行预测，生物类型为植物。

1.2.3 藜麦*G6PDH*基因家族系统进化树构建 利用拟南芥AtG6PDH家族6个成员的蛋白序列和水稻OsG6PDH家族5个成员的蛋白序列，以及藜麦CqG6PDH蛋白序列，MEGA6.0软件采用NJ（neighbor joining）法构建系统发育进化树，Bootstrap参数设置为1 000。

1.2.4 藜麦*G6PDH*基因家族的基因结构和保守基序分析 利用TBtools软件中的Visualize Gene Strcuture模块分析并可视化基因结构特征。通过在线网站MEME（https://meme-suite.org/meme/tools/meme）分析保守基序，最大参数设置为10，其余参数默认，利用TBtools软件中的Visualize Motif Pattern模块进行可视化。

1.2.5 藜麦*G6PDH*家族基因的表达分析 藜麦RNA-Seq数据来源于NCBI中Sequence Read Archive（SRA）转录组测序结果（http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra），包括不同组织和盐胁迫下的转录组（GenBank：SRP278144、SRP247883）[18]。将TPM（每百万读取转录本）形式的RNA-seq数据进行归一化并进行$\log_2$转换，利用TBtools生成热图。

挑选籽粒饱满的藜麦种子，经75%乙醇消毒后，于培养皿中进行催芽，待种子萌发出子叶时进行水培种植，六叶期，采取藜麦幼苗的叶、根和茎，同时对幼苗进行200 mmol/L NaCl处理，分别于0、0.5、1、3、6、9、12和24 h取幼苗的根，用于不同组织和盐胁迫条件下的基因表达分析。上述样品取样后液氮速冻，-80 ℃保存备用。提取上述样品的RNA并反转录成cDNA，以*CqPRN*为内参基因（附表1）进行RT-qPCR，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法进行数据分析。

1.2.6 藜麦*CqG6PDH1*的克隆和拟南芥转化 利用*CqG6PDH1*参考序列设计引物CqG6PDH1-F和CqG6PDH1-R，进行扩增并测序。将目标基因的氨基酸序列提交到NCBI数据库中，进行BLASTP比对后得到其他物种中的同源序列，利用DNAman进行蛋白序列比对分析。扩增产物经*Hin*d III和*Kpn* I双酶切后与植物过表达载体pCAMBIA1300连接，构建重组载体，通过热激法转化农杆菌GV3101，采用蘸花法进行拟南芥的转化[19]。拟南芥培养条件为23 ℃，光周期为16 h光照/8 h黑暗，经潮霉素抗性筛选和PCR检测后获得T_3纯合转基因株系，用于后续试验。

1.2.7 转*CqG6PDH1*拟南芥的耐盐性分析 将野生型（wild type, WT）和转基因拟南芥种子播种于MS培养基和添加175 mmol/L NaCl的MS培养基上，4 ℃春化处理2 d，随后在光照培养箱中培养1周，观察生长情况，计算萌发率，每个处理设3次重复。

分别取20株长势一致的WT和转基因拟南芥幼苗转移到经250 mmol/L NaCl浸泡过的滤纸上，12 h后，用ddH_2O充分漂洗并用纸吸干水分，放入装有5 mL ddH_2O的离心管中，用DDS-1型电导仪测定其煮前电导率（A），然后，沸水煮30 min，室温冷却后测其煮后电导率（B）。估算细胞膜稳定性（cell membrane stability, CMS），CMS（%）=（1–A/B）×

100%，每个样品重复3次[20]。

分别选取15株5周龄大小均匀一致的拟南芥幼苗（WT和转基因拟南芥），称其鲜重（A），每隔1 h连续称重（B），最后烘干至恒重（C），计算叶片失水速率（water loss rate, WLR），WLR（%）=（B–C）/（A–C）×100%，每个样品重复3次。

选取5周龄植株用250 mmol/L NaCl溶液进行盐胁迫处理，3 d后，用北京索莱宝科技有限公司试剂盒测定WT和转基因拟南芥的丙二醛（malondialdehyde, MDA）含量、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）和过氧化物酶（peroxidase, POD）活性。一周后观察生长情况并计算存活率，每个处理3次重复。

1.2.8　数据统计　利用Excel 2019软件进行数据整理和绘图。利用SPSS软件进行显著性分析。

2　结果

2.1　藜麦*G6PDH*基因家族成员的鉴定和特征分析

以拟南芥*AtG6PDH*成员和水稻*OsG6PDH*成员为原始序列，经过BLASTP鉴定和Pfam结构域PF02781和PF00479筛选，删除重复及冗余序列后，共得到6个*CqG6PDH*候选成员，其中5个分别位于5条染色体上（Chr.04、Chr.05、Chr.11、Chr.12和Chr.14），按照其在染色体上的位置，将其命名为*CqG6PDH1–CqG6PDH6*。理化性质分析表明，*CqG6PDH*基因家族成员的蛋白质长度为519–722 aa，分子质量为59.30–79.58 kD，理论等电点为5.24–8.69。蛋白质不稳定系数表明，所有成员不稳定系数大于40，均属于不稳定蛋白。所有蛋白总平均亲水性为负值，表明所有蛋白均为亲水蛋白。亚细胞定位预测，CqG6PDH1和CqG6PDH3定位于细胞质，其余成员定位于叶绿体（表1）。

表1　藜麦*G6PDH*基因家族成员信息

Table 1　Information about *G6PDH* gene family members of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)

基因 Gene	基因ID Gene ID	染色体位置 Chromosome distribution	长度 Length（aa）	分子量 MW（kD）	等电点 pI	不稳定系数 Instability index	总平均亲水性 GRAVY	亚细胞定位 Subcellular location
CqG6PDH1	AUR62018096-RA	Chr.04,36190960–36202858	519	59.42	6.71	42.68	-0.419	细胞质Cytoplasm
CqG6PDH2	AUR62006786-RA	Chr.05,76135361–76150678	722	79.58	7.24	43.99	-0.266	叶绿体Chloroplast
CqG6PDH3	AUR62031998-RA	Chr.11,28856918–28875861	578	65.58	5.24	43.16	-0.537	细胞质Cytoplasm
CqG6PDH4	AUR62000441-RA	Chr.12,4929849–4939869	652	72.92	6.18	47.43	-0.129	叶绿体Chloroplast
CqG6PDH5	AUR62005655-RA	Chr.14,55157363–55161143	569	64.48	8.04	43.28	-0.380	叶绿体Chloroplast
CqG6PDH6	AUR62029100-RA	Chr.00,39600961–39607326	527	59.30	8.69	46.13	-0.237	叶绿体Chloroplast

2.2　藜麦*G6PDH*基因家族的系统进化分析

通过对6个*CqG6PDHs*、6个*AtG6PDHs*和5个*OsG6PDHs*基因家族成员的蛋白序列进行系统进化分析。结果显示（图1），*CqG6PDHs*同其他2个物种一样，均被分为胞质型（cytosolic, Cy）和质体型（plastidial, P），质体型又被分为P0、P1和P2 3种类型。其中，*CqG6PDH1*和*CqG6PDH3*为Cy型；*CqG6PDH2*和*CqG6PDH4*为P0型；*CqG6PDH6*和*CqG6PDH5*分别为P1和P2 2个亚型。除了P0型以外，系统进化树中藜麦和拟南芥G6PDH蛋白单独聚类在更小的分支上，表明藜麦*G6PDH*与拟南芥*G6PDH*基因家族亲缘关系较近。

2.3　藜麦*G6PDH*基因家族基因结构和保守基序分析

*CqG6PDH*基因家族基因结构分析显示，不同成员外显子和内含子数量各不相同，外显子数量为8–15个，内含子数量为7–14个，其中，*CqG6PDH3*的外显子和内含子数量最多，胞质型*CqG6PDH*的外显子和内含子数量多于质体型*CqG6PDH*；在质体型*CqG6PDH*中，P0型的外显子和内含子数量最多，P2型次之，P1型最少（图2-A）。通过对*CqG6PDH*的保守基序进行分析，结果显示，P0型的*CqG6PDH2*和*CqG6PDH4*不含有Motif3，其余成员不含有Motif10。此外，Motif4含有底物结合位点，Motif1含有$NADP^+$结合位点（图2-B）。

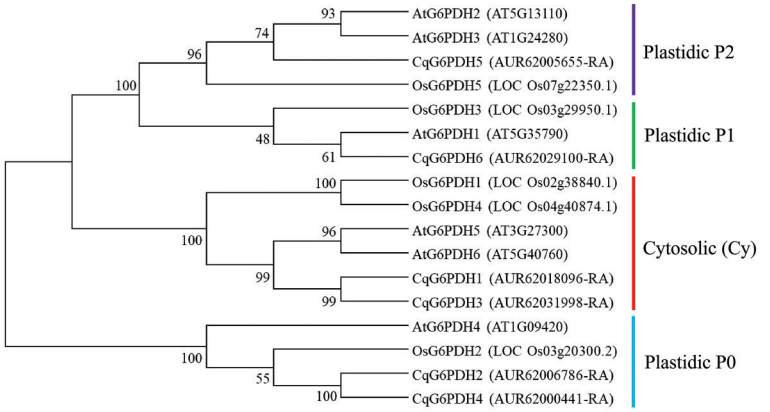


图1 藜麦、拟南芥和水稻*G6PDH*基因家族的系统发育进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree of *G6PDH* gene family in *Chenopodium quinoa*, *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*

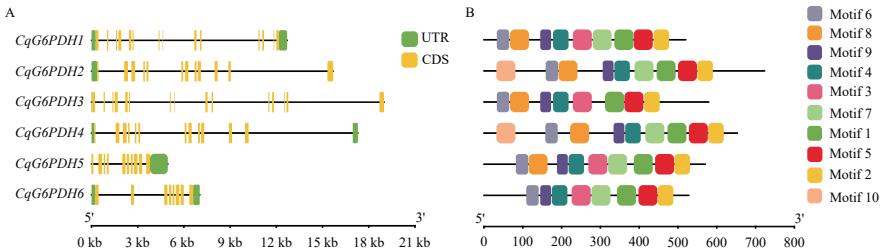


图2 藜麦*G6PDH*基因家族的基因结构(A)和保守基序(B)

Fig. 2 Gene structures (A) and conserved domains (B) of *G6PDH* gene family in *C. quinoa*

2.4 藜麦*G6PDH*基因家族的表达分析

基于已公布的藜麦在不同组织和盐胁迫下的RNA-Seq数据，绘制藜麦*G6PDH*基因家族成员的表达热图。按不同组织相对表达量的高低，6个*CqG6PDH*成员可分为2组，*CqG6PDH1*和*CqG6PDH2*在藜麦的根部表达量较高，在叶和茎部表达量较低；其他成员在这3种组织中表达量较低，其中，*CqG6PDH6*在叶和茎部的表达量高于根部（图3-A）。在盐胁迫下，6个*CqG6PDHs*的表达水平大致可分为3组，在盐敏感材料Q30和耐盐材料Q68中，*CqG6PDH6*在藜麦芽部的表达水平均显著高于根部；而*CqG6PDH1*和*CqG6PDH5*在根部的表达水平高于芽部，其中，*CqG6PDH1*在盐胁迫处理后，根部的表达水平在盐敏感材料Q30和耐盐材料Q68中均有响应，因此，选择*CqG6PDH1*进行下一步研究；其余3个成员在盐胁迫下表达量较低（图3-B）。

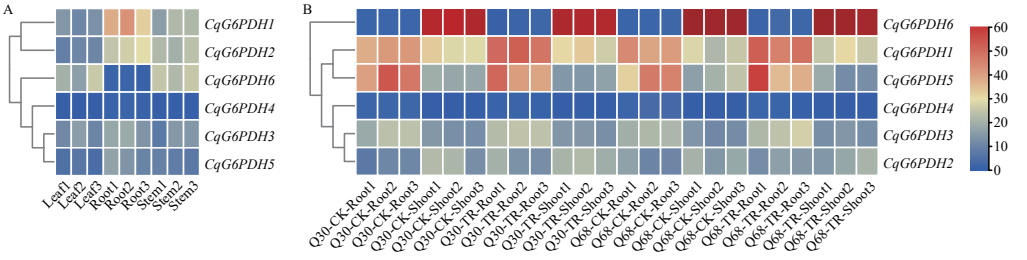


图3 藜麦*G6PDH*基因家族在不同组织(A)和盐胁迫(B)的表达热图

Fig. 3 Expression heat map of *CqG6PDH* gene family in different tissues (A) and salt stress (B) in *C. quinoa*

2.5　藜麦*CqG6PDH1*的克隆及表达分析

以晋藜1号的cDNA为模板扩增*CqG6PDH1*。结果表明，*CqG6PDH1*序列全长1 560 bp（图4-A），编码519个氨基酸，预测其蛋白分子量为59.42 kD，等电点为6.71，命名为*CqG6PDH1*。

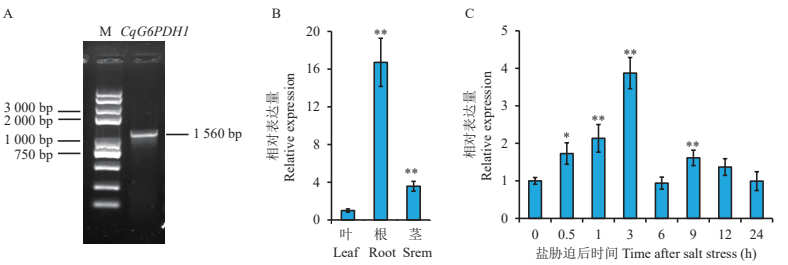
经组织特异性表达模式分析，*CqG6PDH1*在根部表达量最高，茎部次之，叶部最少，其根部的表达量是叶部的16.7倍（图4-B）。盐胁迫后，*CqG6PDH1*在根部的表达量呈现先升高后降低的趋势，在处理3 h时达到峰值，为处理前的3.9倍，表明该基因响应盐胁迫（图4-C）。

2.6　藜麦CqG6PDH1的序列比对

氨基酸序列比对显示，CqG6PDH1与其他物种氨基酸序列的相似性为79.23%–87.31%，与苋菜的相似性最高，达87.31%。CqG6PDH1存在保守的罗斯曼折叠GXXGXXG/A（Rossman fold），含有底物结合位点RIDHYLG和$NADP^+$结合位点NEFVMRLQP，其中，$NADP^+$结合位点的氨基酸序列与苋菜一致，而与其他物种则存在一个氨基酸残基的差异。相对于$NADP^+$结合位点，底物结合位点则更加保守，所有物种均一致（图5）。

2.7　转*CqG6PDH1*拟南芥的耐盐性分析

在MS培养基上，WT和转基因拟南芥（L1、L2和L3）的种子均可正常萌发生长，且长势基本一致；在添加175 mmol/L NaCl的MS培养基上，WT和转基因拟南芥的种子萌发后子叶均发黄，但转基因拟南芥的种子萌发速度快于WT（图6-A）。利用RT-qPCR检测T_3代转基因拟南芥（L1、L2和L3）中*CqG6PDH1*的表达量，结果显示，*CqG6PDH1*的表达量依次是WT的7.0、10.6和8.4倍（图6-B）。萌发率统计显示，在添加NaCl的MS培养基上，WT的萌发率为52.2%，而3个转基因拟南芥的萌发率依次为68.9%、69.4%和67.8%，显著高于WT，表明过表达*CqG6PDH1*拟南芥种子的耐盐性得到提高（图6-C）。



* P<0.05，** P<0.01. The same below

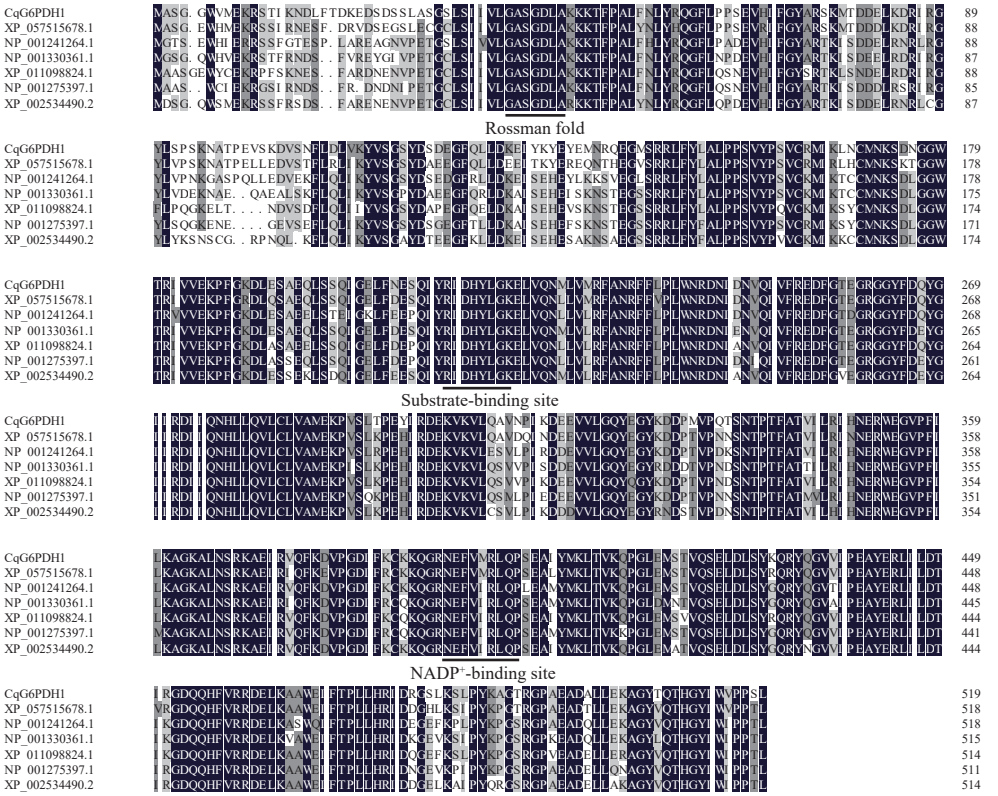
图4　藜麦*CqG6PDH1*的克隆(A)及组织(B)和盐胁迫(C)表达分析

Fig. 4　Gene cloning of *CqG6PDH1* in quinoa (A), and expression analysis in different tissues (B) and salt stress (C)

为进一步评价过表达*CqG6PDH1*拟南芥幼苗对盐胁迫的耐受能力，将5周龄WT和转基因拟南芥用250 mmol/L NaCl溶液进行盐胁迫处理。1周后，WT大部分植株黄化死亡，而转基因拟南芥虽出现植株黄化现象，但部分植株生长点并未死亡（图7-A）。存活率统计显示，WT的存活率为35.0%，而3个转基因拟南芥的存活率依次为63.3%、68.3%和66.7%，显著高于WT（图7-B）。与WT相比，转基因拟南芥在不同时间点的离体叶片失水速率均较低，具有较高的保水能力（图7-C）。NaCl溶液处理之前，转基因拟南芥和WT的细胞膜稳定性无显著差异，处理之后，转基因拟南芥的细胞膜稳定性（61.6%–66.1%）均显著高于WT（42.3%）（图7-D）。丙二醛含量反映膜脂过氧化程度，在盐胁迫处理3 d时，转基因拟南芥丙二醛含量（14.3–16.3 μmol/g FW）均显著低于WT（20.0 μmol/g FW）（图7-E）。SOD和POD是两类关键的抗氧化酶，转基因拟南芥在盐胁迫处理3 d时，SOD活性（314.9–362.7 U/g FW）显著高于WT（230.5 U/g FW）（图7-F）；POD活性（2 975.9–3 201.3 U/g FW）同样显著高于WT（2 129.9 U/g FW）（图7-G）。

3　讨论

G6PDH是戊糖磷酸途径的关键酶，广泛存在于各类高等植物的细胞质和质体中，在植物应对各种

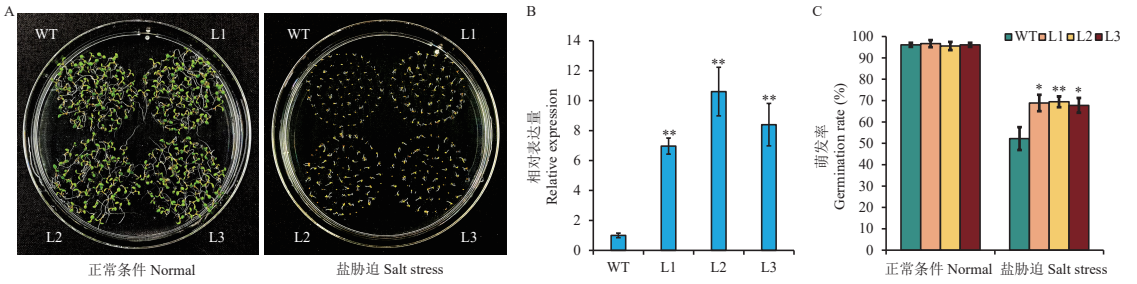


XP_057515678.1：苋菜；NP_001241264.1：大豆；NP_001330361.1：拟南芥；XP_011098824.1：芝麻；NP_001275397.1：马铃薯；XP_002534490.2：蓖麻

XP_057515678.1: *Amaranthus tricolor*; NP_001241264.1: *Glycine max*; NP_001330361.1: *Arabidopsis thaliana*; XP_011098824.1: *Sesamum indicum*; NP_001275397.1: *Solanum tuberosum*; XP_002534490.2: *Ricinus communis*

图5 CqG6PDH1与其他物种的氨基酸序列比对

Fig. 5 Amino acid sequence alignment of CqG6PDH1 with other species



A：萌发表型；B：*CqG6PDH1*的表达分析；C：萌发率统计

A: Germination phenotype. B: Expression analysis of *CqG6PDH1*. C: Statistics of germination rate

图6 过表达*CqG6PDH1*拟南芥种子在NaCl处理下的表型分析

Fig. 6 Phenotype analysis of *Arabidopsis* seeds with over-expressing *CqG6PDH1* under NaCl treatment

环境胁迫和调节生长发育方面具有重要作用。通过生物信息学鉴定和分析*G6PDH*基因家族成员的理化性质和结构特性，有助于解析G6PDH在植物中的作用。本研究鉴定出6个藜麦*G6PDH*基因家族成员，其中2个胞质型，4个质体型，质体型的数量多于胞质型，且均含有内含子，这与其他植物*G6PDH*基因家族成员的亚型分类和基因结构的规律一致[12-14]。蛋白质Motif是蛋白质序列中具有特定结构或功能的

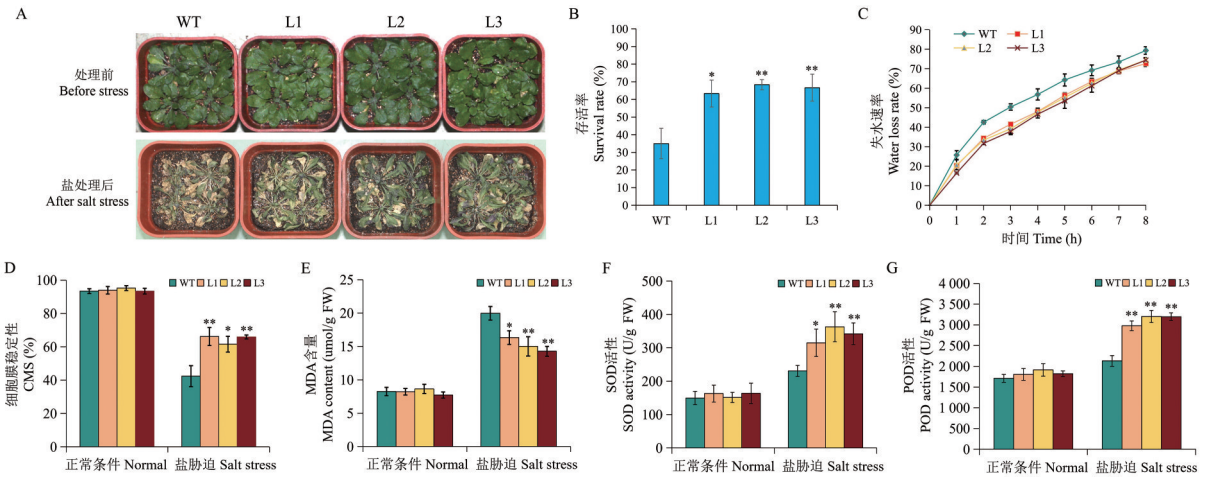


图7　过表达*CqG6PDH1*拟南芥幼苗在NaCl处理下的表型(A)及生理指标测定(B–G)

Fig. 7　Phenotypes (A) of *Arabidopsis* seedlings with over-expressing *CqG6PDH1* under NaCl treatment and determination of physiological indexes (B–G)

短序列，对蛋白的功能预测和分析至关重要[21]。6个藜麦*G6PDH*基因家族成员编码的蛋白均含有Motif4和Motif1，其中，Motif4含有底物结合位点，Motif1含有$NADP^+$结合位点，保证了藜麦G6PDH蛋白的基础功能。此外，P0型的藜麦G6PDH不含有Motif3，其余成员不含有Motif10，推测藜麦G6PDH分化出不同亚型以及各成员包含不同Motif可能是为了更好地响应各类胁迫，发挥不同的生理生化作用。

藜麦是一种兼性盐生植物，部分品种甚至能够耐受海水浓度的盐胁迫，因此，藜麦成为植物耐盐机理研究的重要研究对象[22]。在漫长的进化过程中，藜麦构建起一套复杂的基因调控网络来应对盐胁迫，其中多个基因家族通过调控离子平衡、抗氧化与应激防御响应、转录水平调控及代谢途径调节等过程发挥关键作用[23–24]。挖掘响应盐胁迫的特异表达基因并对其结构及功能进行研究，从分子水平认识藜麦对盐胁迫的适应机理显得尤为重要。本研究基于已公布的藜麦在盐胁迫下的RNA-Seq数据，筛选出响应盐胁迫的*CqG6PDH1*，其编码的蛋白存在保守的罗斯曼折叠、底物结合位点和$NADP^+$结合位点，属于典型的G6PDH蛋白。青稞基因组中鉴定了5个*HvG6PDH*基因，其中，*HvG6PDH1*–*HvG6PDH4*均受盐胁迫诱导[25]。本研究克隆得到的*CqG6PDH1*同样响应盐胁迫，在盐胁迫处理3 h时达到高峰，推测其在应对盐胁迫时发挥重要作用。植物中*G6PDH*基因在不同器官中的表达模式具有差异性，胞质型*G6PDH*广泛存在于所有植物组织中，尤其是在库组织中具有较高的表达丰度[14]。作为胞质型的*CqG6PDH1*在根部表达量显著高于其他组织，这与上述的研究结果一致。

大豆中鉴定了9个*GmG6PDH*成员，*GmG6PDH2*的过表达可以通过调节抗坏血酸和谷胱甘肽的氧化还原状态，抑制活性氧的产生，从而显著增强转基因大豆对盐胁迫的抗性[14]。本研究盐胁迫条件下过表达*CqG6PDH1*的拟南芥的种子萌发率和幼苗存活率均显著提高。细胞膜是保护植物细胞免受外界伤害的有力屏障，也是植物遭受逆境胁迫时首先遭到攻击的部位。丙二醛是植物在逆境中组织或器官受到伤害而产生的脂质氧化反应的最终代谢物，会引起核酸、蛋白质等大分子的交联聚合，是评价植物抗逆性的重要指标[26]。本研究中，盐胁迫条件下过表达*CqG6PDH1*拟南芥丙二醛含量降低，细胞膜稳定性增强，推测*CqG6PDH1*在维持盐胁迫下的氧化还原平衡中起重要作用。红芸豆G6PDH在盐胁迫下的抗氧化应激过程中起关键作用[27]。研究表明，G6PDH在植物抵御逆境胁迫过程中可能的作用机制是催化产生NADPH，使得抗氧化酶如SOD、POD等活性增强，维持氧化还原平衡，从而保护植物免受氧化胁迫伤害[28–29]。本研究中，过表达*CqG6PDH1*的拟南芥幼苗在盐胁迫条件下SOD和

POD活性增强，推测*CqG6PDH1*可降低细胞内的氧化应激水平，从而维持SOD和POD的活性和稳定性。胁迫可以诱导拟南芥G6PDH被糖原合成酶激酶（glycogen synthase kinase3, GSK3）磷酸化，从而维持拟南芥细胞的氧化还原平衡，提高胁迫耐受性[30]。CqG6PDH1是否可以被相关激酶磷酸化及其耐盐的分子机制，需进一步研究。

4 结论

共鉴定到6个藜麦*G6PDH*基因家族成员，分布于不同的染色体上，其中*CqG6PDH1*和*CqG6PDH3*为Cy型；*CqG6PDH2*和*CqG6PDH4*为P0型；*CqG6PDH6*和*CqG6PDH5*分别为P1和P2 2个亚型。筛选出响应盐胁迫基因*CqG6PDH1*。在盐胁迫条件下，转*CqG6PDH1*拟南芥的种子萌发率和幼苗存活率均显著提高，失水速率和丙二醛含量降低，SOD和POD活性及细胞膜稳定性增强。*CqG6PDH1*是改良作物耐盐性的重要候选基因。

文章所有附表数据请点击链接获取（https://biotech.aiijournal.com/fileup/1002-5464/NEWS/20260424171838_NewsFile_16.pdf）。

参考文献

[1] Jacobsen SE. The worldwide potential for quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) [J]. Food Rev Int, 2003, 19(1/2): 167-177.

[2] Angeli V, Miguel Silva P, Crispim Massuela D, et al. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): an overview of the potentials of the "golden grain" and socio-economic and environmental aspects of its cultivation and marketization [J]. Foods, 2020, 9(2): 216.

[3] 胡一晨, 赵钢, 秦培友, 等. 藜麦活性成分研究进展 [J]. 作物学报, 2018, 44(11): 1579-1591.
Hu YC, Zhao G, Qin PY, et al. Research progress on bioactive components of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) [J]. Acta Agron Sin, 2018, 44(11): 1579-1591.

[4] 于定群, 汤浩茹, 张勇, 等. 高等植物葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的研究进展 [J]. 生物工程学报, 2012, 28(7): 800-812.
Yu DQ, Tang HR, Zhang Y, et al. Research progress in glucose-6-phosphate dehydrogenase in higher plants [J]. Chin J Biotechnol, 2012, 28(7): 800-812.

[5] Wang XM, Ma YY, Huang CH, et al. Involvement of glucose-6-phosphate dehydrogenase in reduced glutathione maintenance and hydrogen peroxide signal under salt stress [J]. Plant Signal Behav, 2008, 3(6): 394-395.

[6] Scharte J, Schön H, Tjaden Z, et al. Isoenzyme replacement of glucose-6-phosphate dehydrogenase in the cytosol improves stress tolerance in plants [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(19): 8061-8066.

[7] Tian Y, Peng KK, Bao YZ, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase genes of winter wheat enhance the cold tolerance of transgenic *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol Biochem, 2021, 161: 86-97.

[8] Li X, Cai Q, Yu T, et al. ZmG6PDH1 in glucose-6-phosphate dehydrogenase family enhances cold stress tolerance in maize [J]. Front Plant Sci, 2023, 14: 1116237.

[9] Jin J, Li KK, Qin J, et al. The response mechanism to salt stress in *Arabidopsis* transgenic lines over-expressing of *GmG6PD* [J]. Plant Physiol Biochem, 2021, 162: 74-85.

[10] Yang YT, Fu ZW, Su YC, et al. A cytosolic glucose-6-phosphate dehydrogenase gene, *ScG6PDH*, plays a positive role in response to various abiotic stresses in sugarcane [J]. Sci Rep, 2014, 4: 7090.

[11] Lin YZ, Lin SZ, Guo H, et al. Functional analysis of PsG6PDH, a cytosolic glucose-6-phosphate dehydrogenase gene from *Populus suaveolens*, and its contribution to cold tolerance improvement in tobacco plants [J]. Biotechnol Lett, 2013, 35(9): 1509-1518.

[12] Wakao S, Benning C. Genome-wide analysis of glucose-6-phosphate dehydrogenases in *Arabidopsis* [J]. Plant J, 2005, 41(2): 243-256.

[13] 宋兵芳, 柳宁, 程新艳, 等. 马铃薯*G6PDH*基因家族鉴定及其在损伤块茎的表达分析 [J]. 生物技术通报, 2024, 40(9): 104-112.
Song BF, Liu N, Cheng XY, et al. Identification of potato *G6PDH* gene family and its expression analysis in damaged tubers [J]. Biotechnol Bull, 2024, 40(9): 104-112.

[14] Zhao Y, Cui YF, Huang SY, et al. Genome-wide analysis of the glucose-6-phosphate dehydrogenase family in soybean and functional identification of GmG6PDH2 involvement in salt stress [J]. Front Plant Sci, 2020, 11: 214.

[15] 车卓, 张沛沛, 陈涛, 等. 小麦*G6PDH*基因家族的鉴定与表达分析 [J]. 麦类作物学报, 2023, 43(8): 947-957.
Che Z, Zhang PP, Chen T, et al. Identification and expression analysis of *G6PDH* gene family in wheat [J]. J Triticeae Crops, 2023, 43(8): 947-957.

[16] Long XY, He B, Fang YJ, et al. Identification and characterization of the glucose-6-phosphate dehydrogenase gene family in the para rubber tree, *Hevea brasiliensis* [J]. Front Plant Sci, 2016, 7: 215.

[17] Zhang YT, Luo MW, Cheng LJ, et al. Identification of the cytosolic glucose-6-phosphate dehydrogenase gene from strawberry involved in cold stress response [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(19): 7322.

[18] Ding PC, Tang P, Li XF, et al. Genome-wide identification, phylogeny and expression analysis of the *R2R3-MYB* gene family in quinoa (*Chenopodium quinoa*) under abiotic stress [J]. Funct Plant Biol, 2024, 51: FP23261.

[19] Clough SJ, Bent AF. Floral dip: a simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 1998, 16(6): 735-743.

[20] Xu QF, Mao XG, Wang YX, et al. A wheat gene *TaSAP17-D* encoding an AN1/AN1 zinc finger protein improves salt stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. J Integr Agric, 2018, 17(3): 507-516.

[21] Smaili FZ, Tian SY, Roy A, et al. QAUST: protein function prediction using structure similarity, protein interaction, and functional motifs [J]. Genom Proteom Bioinform, 2021, 19(6): 998-1011.

[22] 李丽丽, 姜奇彦, 牛风娟, 等. 藜麦耐盐机制研究进展 [J]. 中国农业科技导报, 2016, 18(2): 31-40.
Li LL, Jiang QY, Niu FJ, et al. Research progress on salt tolerance mechanisms in quinoa [J]. J Agric Sci Technol, 2016, 18(2): 31-40.

[23] 鲍庆晗, 王洋. 藜麦响应盐碱胁迫的基因家族功能与信号通路研究进展 [J]. 吉林师范大学学报: 自然科学版, 2025, 46(4): 96-100.
Bao QH, Wang Y. Research progress on gene family functions and signaling pathways of quinoa in response to saline-alkali stress [J]. Jilin Norm Univ J Nat Sci Ed, 2025, 46(4): 96-100.

[24] 王洋, 潘晓为, 杜会石, 等. 藜麦植物资源开发利用与抗逆性研究进展 [J]. 吉林师范大学学报: 自然科学版, 2023, 44(4): 118-122.
Wang Y, Pan XW, Du HS, et al. Research progress in the utilization and stress resistance on the plant resource of quinoa [J]. J Jilin Norm Univ Nat Sci Ed, 2023, 44(4): 118-122.

[25] Feng RJ, Wang XM, He L, et al. Identification, characterization, and stress responsiveness of glucose-6-phosphate dehydrogenase genes in highland barley [J]. Plants, 2020, 9(12): 1800.

[26] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance [J]. Annu Rev Plant Biol, 2008, 59: 651-681.

[27] Liu Y, Wu R, Wan Q, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase plays a pivotal role in nitric oxide-involved defense against oxidative stress under salt stress in red kidney bean roots [J]. Plant Cell Physiol, 2007, 48(3): 511-522.

[28] Wang HH, Yang LD, Li Y, et al. Involvement of ABA- and H_2O_2-dependent cytosolic glucose-6-phosphate dehydrogenase in maintaining redox homeostasis in soybean roots under drought stress [J]. Plant Physiol Biochem, 2016, 107: 126-136.

[29] Liu J, Wang XM, Hu YF, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase plays a pivotal role in tolerance to drought stress in soybean roots [J]. Plant Cell Rep, 2013, 32(3): 415-429.

[30] Dal Santo S, Stampfl H, Krasensky J, et al. Stress-induced GSK3 regulates the redox stress response by phosphorylating glucose-6-phosphate dehydrogenase in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2012, 24 (8): 3380-3392.

（责任编辑　李楠）