

简子林,王自力,秦 畅,等. 小麦 TGA 转录因子家族全基因组鉴定及其响应非生物胁迫的表达分析[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(10):1873-1885.

doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2025.10.001

小麦 TGA 转录因子家族全基因组鉴定及其响应非生物胁迫的表达分析

简子林, 王自力, 秦 畅, 何 方, 任明见
(贵州大学农学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: TGA 转录因子属于碱性亮氨酸拉链(bZIP)家族的 D 亚组,在植物对病原体的防御、植物生长发育、植物应对不同逆境胁迫等多种生物进程和信号转导过程中发挥重要功能。本研究利用小麦全基因组数据鉴定小麦 TGA 转录因子家族,分析其基因结构、保守结构域、顺式作用元件和系统发育关系等多类生物信息学特性,并用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)技术探究部分小麦 TGA 转录因子基因在不同组织中和不同胁迫处理下的表达模式。结果表明,共鉴定出 38 个不均匀地分布在小麦 21 条染色体上的 *TaTGA* 转录因子基因,通过系统发育分析,将这些 *TaTGA* 分为 5 个亚家族,各亚家族内 *TaTGA* 转录因子基因的基因结构和保守基序及保守结构域的特征基本一致。顺式作用元件分析结果表明,*TaTGA* 包含多种类型的顺式作用元件,涵盖植物生长发育、对非生物胁迫的响应、激素作用等不同功能区域。qRT-PCR 结果显示,*TaTGA* 转录因子基因的相对表达量不同程度地受到逆境胁迫及激素作用的影响。本研究结果为小麦抗逆性分子育种提供了有益候选基因,并为进一步研究 TGA 转录因子在植物中的功能奠定了基础。

关键词: 小麦; TGA; 转录因子; 生物信息学; 表达分析

中图分类号: S512.101 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)10-1873-13

Genome-wide identification of the TGA transcription factor family and expression analysis under abiotic stress in *Triticum aestivum* L.

JIAN Zilin, WANG Zili, QIN Chang, HE Fang, REN Mingjian
(College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: TGA transcription factors belong to subgroup D of the basic leucine zipper (bZIP) family and are widely involved in various biological processes and signal transduction pathways, playing important roles in plant defense against pathogens, plant growth and development, and responses to different abiotic stresses. In this study, we identified the wheat TGA transcription factor family using whole-genome data of wheat and analyzed various bioinformatics characteristics, including gene structures, conserved domains, *cis*-acting elements, and phylogenetic relationships. Additionally, we explored the

收稿日期:2024-10-15

基金项目:国家自然科学基金项目(32260481);贵州省科技计划项目[黔科合支撑(2022)重点 026];贵州省粮油作物分子育种重点实验室项目[黔科合中引地(2023)008];贵州省高等学校功能农业重点实验室项目[黔教技(2023)007号]

作者简介:简子林(2001-),男,贵州贵阳人,硕士研究生,主要从事小麦育种研究。(E-mail)1395488225@qq.com

通讯作者:任明见,(E-mail)rmj72@163.com

expression patterns of some wheat TGA transcription factor genes in different tissues and under various stress treatments using quantitative real-time PCR (qRT-PCR). A total of 38 *TaTGA* transcription factor genes were identified, which were unevenly distributed across the 21 chromosomes of wheat. Phylogenetic analysis classified these *TaTGA* transcription factors into five subfamilies. Within each subfamily, the gene structures, conserved motifs,

and conserved domains of the TaTGA transcription factors were essentially consistent. The analysis of *cis*-acting elements revealed that *TaTGA* genes contain various types of *cis*-acting elements, covering functional regions related to plant growth and development, responses to abiotic stresses, and hormone actions. The qRT-PCR results indicated that the relative expression levels of *TaTGA* genes were differentially affected by abiotic stresses and hormone treatments. The findings of this study provide valuable candidate genes for molecular breeding of stress-resistant wheat and lay a foundation for further research on the functions of TGA transcription factors in plants.

Key words: wheat; TGA; transcription factors; bioinformatics; expression analysis

自然环境中的植物不断受到各类生物和环境压力,它们对非生物胁迫、生物胁迫的响应涉及分子、细胞、生化和生理水平的变化,因此植物需要通过各种复杂的防御机制、信号网络快速响应环境因子和激素的变化,并调控相关基因的表达,以维持自身的稳态^[1-2]。转录因子(TF)是信号转导过程中的重要组成部分,是基因表达的核心调控因子,在介导植物对其外部环境变化的反应中发挥着关键作用,参与并调节植物的代谢平衡、生长发育和防御途径等多种生物环节^[3-4]。在不同环境压力下,转录因子可以通过与特定 DNA 顺式调控元件序列结合,特异性激活或抑制相关基因的表达^[5]。深入了解转录因子的结构和功能,对于阐明植物生长发育的调控机制至关重要。

在植物中,碱性亮氨酸拉链(bZIP)是一类重要的转录因子^[6]。根据高度保守的结构域和基序,可将 bZIP 基因分为 10 个主要组别(A、B、C、D、E、F、G、H、I 和 S),此外,还有 2 个额外的类群 J、K^[3,7]。已有研究发现,bZIP 转录因子与不同生物活性相关,包括对生物胁迫、非生物胁迫的响应。TGA 转录因子属于 bZIP 家族的 D 亚组,用其同源的 DNA 结合基序(TGACG 基序)命名,对植物发育、病原体防御机制都至关重要^[8-9]。通常情况下,1 个典型的 TGA 转录因子包含二聚化的 bZIP、DOG1 2 种类型的结构域,其中 bZIP 结构域具有亮氨酸拉链结构,是特定目标启动子结合所必需的^[7]。此外,DOG1 结构域可以识别具有 TGACG 序列的特异性结合蛋白 TGA,但是该结构域缺乏 DNA 结合能力,已被证实参与 TGA 的调控过程^[10-12]。

越来越多的研究发现,TGA 转录因子参与多种生物过程,包括病原体防御和植物生长发育,以及对不同胁迫的响应^[8,13-14]。此外,TGA 转录因子也与不同植物激素信号通路密切相关,包括对水杨酸(SA)、茉莉酸甲酯(MeJA)信号的调控通

路^[11,15]。TGA 转录因子编码基因 *TGA1a* 首先在烟草(本氏烟草)中被克隆和鉴定出来^[16],随后,研究者在拟南芥、油菜、大豆、水稻等作物中发现了 *TGA1a* 基因的不同功能。目前,人们已经从拟南芥中鉴定出 10 个 *AtTGA* 基因,*AtTGA1* ~ *AtTGA7* 被证明参与基础抗病响应^[17],而 *AtTGA9*、*AtTGA10* 则在花器官发育中发挥关键作用^[18]。此外,研究发现,*AtTGA1*、*AtTGA4* 是拟南芥根系中硝酸盐反应的调节因子^[19],对 TGA 基因敲除突变体 *TGA1-1* 在 150 mmol/L NaCl 处理下萌发情况的影响进行分析发现,*TGA1-1* 突变体在萌发过程中对盐的敏感性明显高于野生型^[10]。研究发现,甘蓝型油菜中的 3 个 TGA 基因在干旱胁迫下的表现不同,*BnTGA14*、*BnTGA17* 的相对表达量较对照显著增加,而 *BnTGA23* 的相对表达量明显低于对照^[20]。在大豆中,*GmTGA13* 集中在根组织处表达,*GmTGA13* 与 *GmTGA17* 均在干旱胁迫、盐胁迫下显著表达;过表达 *GmTGA17* 的大豆株系表现出对干旱胁迫、盐胁迫相对更高的抗性^[21-22]。由此可见,不同 TGA 因子在不同作物中可作为转录调控因子发挥不同作用,但是目前对小麦 TGA 转录因子家族的研究甚少。

小麦(*Triticum aestivum* L.)是全球范围内重要的粮食作物之一,在保障中国粮食安全方面发挥着重要作用。近年来,随着恶劣极端气候和土壤盐渍化的加剧,环境压力逐渐成为影响小麦生长发育、产量、品质的主要因素^[23]。本研究旨在通过解析小麦 TGA 转录因子家族在应对非生物胁迫、激素作用下的表达模式和响应机制,为小麦分子育种挖掘优质基因,并为深入了解 TGA 转录因子在植物发育、信号感知过程中的作用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用小麦品种中国春由国家小麦改良中心

贵州分中心提供。选取饱满均匀的种子进行消毒后播种,在温度为 22 °C、光照度为 180 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、光/暗周期为 16 h/8 h 的人工气候箱中培养至三叶期。

1.2 小麦 TGA 家族全基因组的鉴定

本研究从 Ensembl Plants 网站 (<http://plants.ensembl.org/index.html>) 下载小麦的全基因组数据,并在 PFAM 数据库 (<http://pfam.xfam.org/>) 中下载具有 TGA 家族特征的隐马尔科夫模型作为本地 HMM 搜索的查询序列,设置 E 值 < 0.001 ,初步得到其家族成员。为了使鉴定结果准确,用拟南芥、水稻数据中已经公开的 TGA 家族成员账号 (ID),从美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中提取相应的蛋白质序列,与小麦全基因组数据进行本地 BLASTP 比对,以去除冗余序列。通过上述方式鉴定得到 TGA 蛋白序列后,基于 PFAM-search 数据库 (<http://pfam.xfam.org/search#tabview=tab1>)、NCBI-CDD 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.shtml>)、Smart 数据库 (<http://smart.embl.de/>) 对 TGA 序列进行验证,最终保留含有 TGA 特征结构域的家庭成员。

1.3 小麦 TGA 家族染色体定位及蛋白质理化性质分析

从 Ensembl Plants 数据库 (<http://plants.ensembl.org/index.html>) 中下载小麦全基因组结构注释 GFF3 文件,通过 TBtools 软件对基因在染色体上的位置进行可视化。用 ExPASy 数据库 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 来预测基因编码氨基酸序列的氨基酸数量、相对分子量、等电点、不稳定系数、脂肪指数、总平均亲水性指数等理化性质,并用 Wolf PSORT 进行亚细胞位置的预测。

1.4 小麦 TGA 家族保守基序、保守结构域及基因结构分析

利用小麦全基因组结构注释文件 GFF3 及小麦全基因组文件,提取 TGA 家族成员的编码区 (CDS)、非翻译区 (UTR) 位点信息,并用 TBtools 绘制基因结构示意图。用 MEME 在线网站对小麦 TGA 家族进行保守基序 (Motif) 分析,基序数值设置为 10。小麦 TGA 家族的保守结构域通过 NCBI-CD-Search、Smart 工具进行验证分析,特征位点用 TBtools 进行可视化处理。

1.5 小麦 TGA 家族的系统发育分析

序列比对使用 ClustalW 与默认参数进行分析处理,分析对象包含鉴定得到的小麦 TGA 家族蛋白质序列以及依据拟南芥、水稻 TGA 家族成员公开 ID 提取得到的蛋白质序列。系统发育分析使用 MEGA 11 软件,采用邻近法 (Neighbor-joining, NJ) 构建系统进化树,自举 (Boot-strap) 数值设定为 1 000,其他参数为默认值。通过 Evolview v2 网络服务器将生成的系统发育树进行可视化处理。

1.6 小麦 TGA 家族的共线性分析

为了验证小麦 TGA 转录因子家族在种内、种间的共线性关系,利用小麦、拟南芥、水稻的全基因组文件及基因注释 GFF3 文件,通过 TBtools 软件中的 OneStep MCSanX 进行共线性分析处理,分别鉴定得到小麦物种内的同源基因对以及小麦与拟南芥、玉米、水稻之间的共连基因对,通过 Advanced Circos 功能实现结果可视化。此外,通过 TBtools 检测串联重复基因的非同义替代率 (K_a)、同义替代率 (K_s) 并进行选择压力分析,选择压力的计算基于 K_a/K_s 值, $K_a/K_s > 1$ 、 $K_a/K_s = 1$ 和 $K_a/K_s < 1$ 分别表示正向选择、中性选择和纯化选择。

1.7 小麦 TGA 家族顺式作用元件分析

以小麦 TGA 家族成员的上游 2 000 bp 序列作为启动子区域,使用 PlantCARE 数据库 (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/>) 进行顺式作用元件预测,确定顺式作用元件的种类、数量,对结果进行可视化处理。

1.8 TGA 家族在小麦的不同组织中的表达模式分析

通过小麦表达数据库 expVIP (<https://www.wheat-expression.com/>) 研究小麦 TGA 家族成员在不同组织下的时空表达差异,表达结果基于每千个碱基的转录每百万映射读取的片段数 (FPKM)。数据库提供的小麦的 5 种不同组织包含根、茎、叶、籽粒、穗。最终结果通过将 FPKM 值取对数 ($\log_2 \text{FPKM}$) 进行标准化处理,并用 TBtools 软件中的 Heatmap 功能进行热图聚类。

1.9 小麦 TGA 家族在不同非生物胁迫及激素作用下的表达模式分析

分别用 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 脱落酸 (ABA)、100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ MeJA、200 mmol/L NaCl 和 20% PEG-6000 处理中国春小麦幼苗,并分别于 3 h、6 h、9 h、12 h、24 h、48 h

采集样品(每个时间节点设 3 个生物学重复)。将样品保存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,用于 RNA 的提取。用 qRT-PCR 方法测定部分小麦 TGA 家族成员在不同非生物胁迫、激素处理下的相对表达水平,所用引物见表 1,表达水平通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法测算,结果用 Graphpad Pism9.5 绘制成图。

表 1 qRT-PCR 所用引物序列

Table 1 Sequences of qRT-PCR primers

| 基因 | 正向引物序列(5'→3') | 反向引物序列(5'→3') |
|----------------|------------------------|-------------------------|
| <i>Actin</i> | GTGACGGGTGACGGAGAATT | CGACGGAGCGTCTTTGGAC |
| <i>TaTGA3</i> | TAATTACCCACAGGCGTGCTT | CGACGGAGCGTCTTTGGAC |
| <i>TaTGA7</i> | AATCCTCGGCAGCTACTGACT | ATCGATCGTTGCCAGAATATGGT |
| <i>TaTGA10</i> | CGCAACCGGGTGTGTCA | TGCCGCTAAGCTTGTGGATG |
| <i>TaTGA11</i> | GAAGTACGTACAACCATAGGGC | CATGATTGCCCCACCACITTTG |
| <i>TaTGA27</i> | GCTGGGTGTGAGCTGTGG | ATCTGTAGGCACGGGATCTTC |

2 结果与分析

2.1 小麦 TGA 家族全基因组鉴定、染色体定位及蛋白质理化性质分析

基于生物信息学技术手段和小麦全基因组序列,共筛选并鉴定得到 38 个 TGA 家族基因成员,命名为 *TaTGA1*~*TaTGA38*。根据小麦全基因组结构注释文件 GFF3 中提取到的位置信息,38 个 *TaTGA* 家族成员不均匀地分布在小麦的 21 条染色体上(图 1)。从表 2 可以看出,*TaTGA1*~*TaTGA38* 编码的蛋白质氨基酸数量为 332~570 aa,相对分子量为 36 600~62 200,等电点为 5.71~9.09,不稳定系数均大于 40.00,因此判定 TaTGA 蛋白均为不稳定蛋白。此外,*TaTGA1*~*TaTGA38* 编码的蛋白质的脂肪指数为 66.70~84.97,亲水性指数均低于 0,表明 TaTGA 蛋白均被预测为亲水性蛋白质。亚细胞定位预测结果显示,TaTGA 均被预测定位在细胞核内,这与 TGA 作为转录因子所表现出的功能、作用相一致。

2.2 小麦 TGA 家族保守基序、保守结构域及基因结构分析

分析保守基序、保守结构域及基因结构是阐明基因家族进化与功能分化之间联系的关键。本研究从 38 个 *TaTGA* 家族成员中共鉴定到 10 个保守基序(Motif),每个 *TaTGA* 家族成员中的基序数

量均在 8 个及以上,并且每个 *TaTGA* 家族成员均包含 8 个既定的基序,分别为 Motif1、Motif2、Motif3、Motif4、Motif5、Motif6、Motif7、Motif10,表明这 8 个基序在 TaTGA 蛋白中具有较高的保守性。此外,在 *TaTGA* 的同一分支中,Motif 的数量、组成和相对位置等特征高度一致,表明同一分支成员的基序高度保守,倾向于表达相同或相似功能。与此同时,Motif 在不同分支中表现出细微差异,除 Motif8、Motif9 仅出现在部分 *TaTGA* 家族成员中外,不同 Motif 在不同 *TaTGA* 成员中的相对位置也不尽相同,可能由于 *TaTGA* 家族的不同成员会表现出不同功能。从 38 个 *TaTGA* 家族成员中均发现 DOG1、bZIP 类型的结构域,其中位于 N 端的是 bZIP 结构域,位于 C 端的是 DOG1 结构域,这些结构域在 *TaTGA* 中的相对位置一致,表明 *TaTGA* 的结构域也高度保守,特别是位于 C 端的结构域。*TaTGA* 基因结构分析结果显示,*TaTGA* 家族成员中分布着不同数量的编码区域(CDS)与非翻译区(UTR)(图 2),表明该基因家族的基因结构具有多样性。但是,每个分支中依旧表现出相似的 CDS、UTR 组成,这与上述保守基序、保守结构域的研究结果对应。不同进化分支基序分布的差异及结构变化对不同进化分支之间的功能起着至关重要的作用。

2.3 小麦 TGA 家族系统发育分析

为了研究 TGA 转录因子家族在不同物种之间的进化路径与模式,对小麦(*Ta*)、水稻(*Os*)、玉米(*Zm*)、拟南芥(*At*)中的 TGA 家族成员进行系统发育分析。对 TaTGA、ZmTGA、OsTGA 及 AtTGA 蛋白序列进行多序列比对,并用邻近法(NJ法)构建系统进化树。由图 3 可以看出,通过系统发育分析将 TGA 家族分为 5 个不同的亚组,分别为 I 组、II 组、III 组、IV 组和 V 组,其中 III 组中的 TaTGA 成员较少,其他几个亚组中 TaTGA 成员的分布相对比较平均。TaTGA 的进化模式也高度保守,大部分 TaTGA 成员都被聚类成独特的小分支,如 TaTGA22、TaTGA25 和 TaTGA27。此外,小麦 TGA 家族与水稻、玉米 TGA 家族间的亲缘关系较近,进化路径比较相似,推测它们能表现出相似功能;小麦 TGA 家族与拟南芥(即 AtTGA 家族)的进化路径差异较大,认为 TGA 家族的演化应该发生在单子叶植物、双子叶植物分化之后。

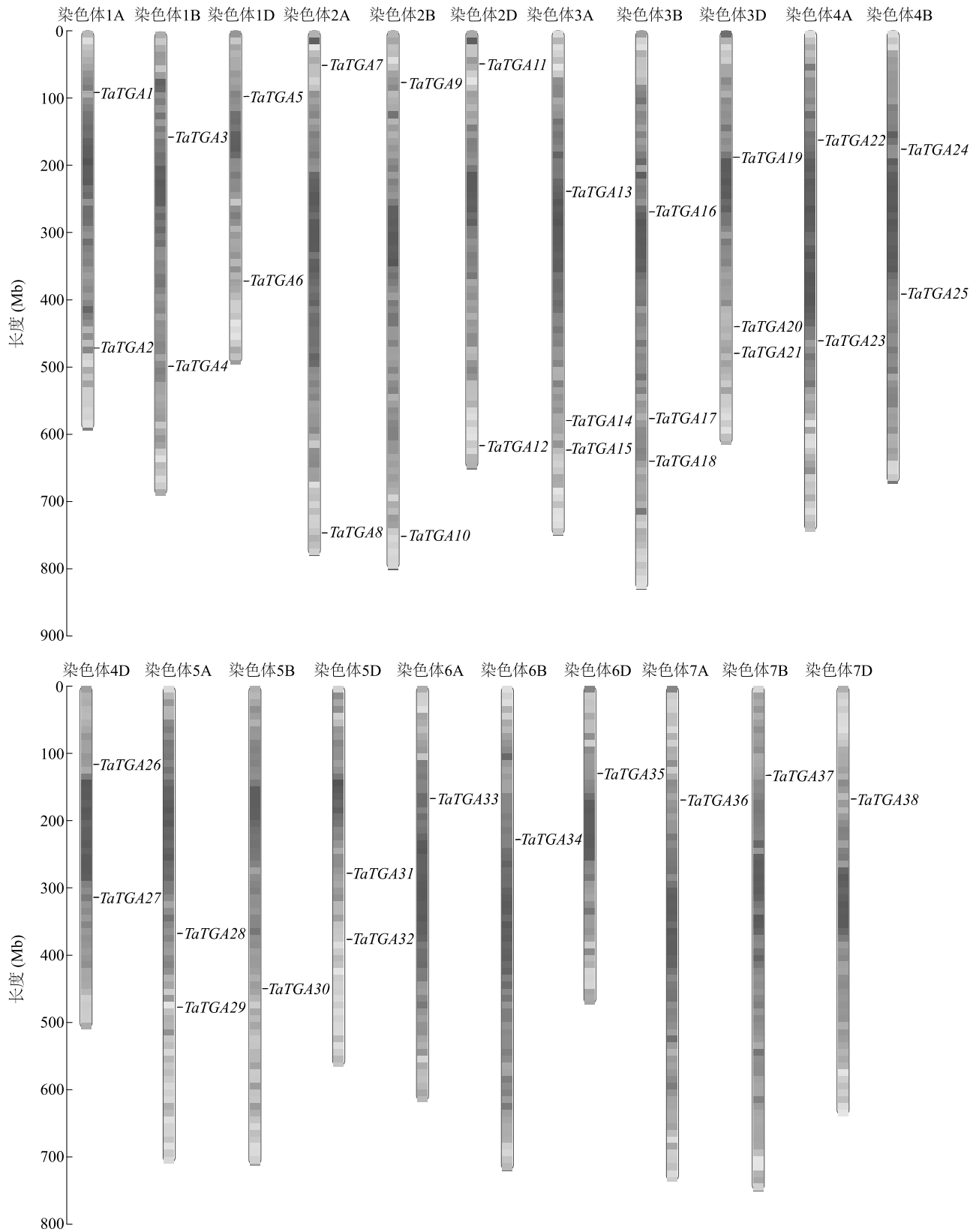
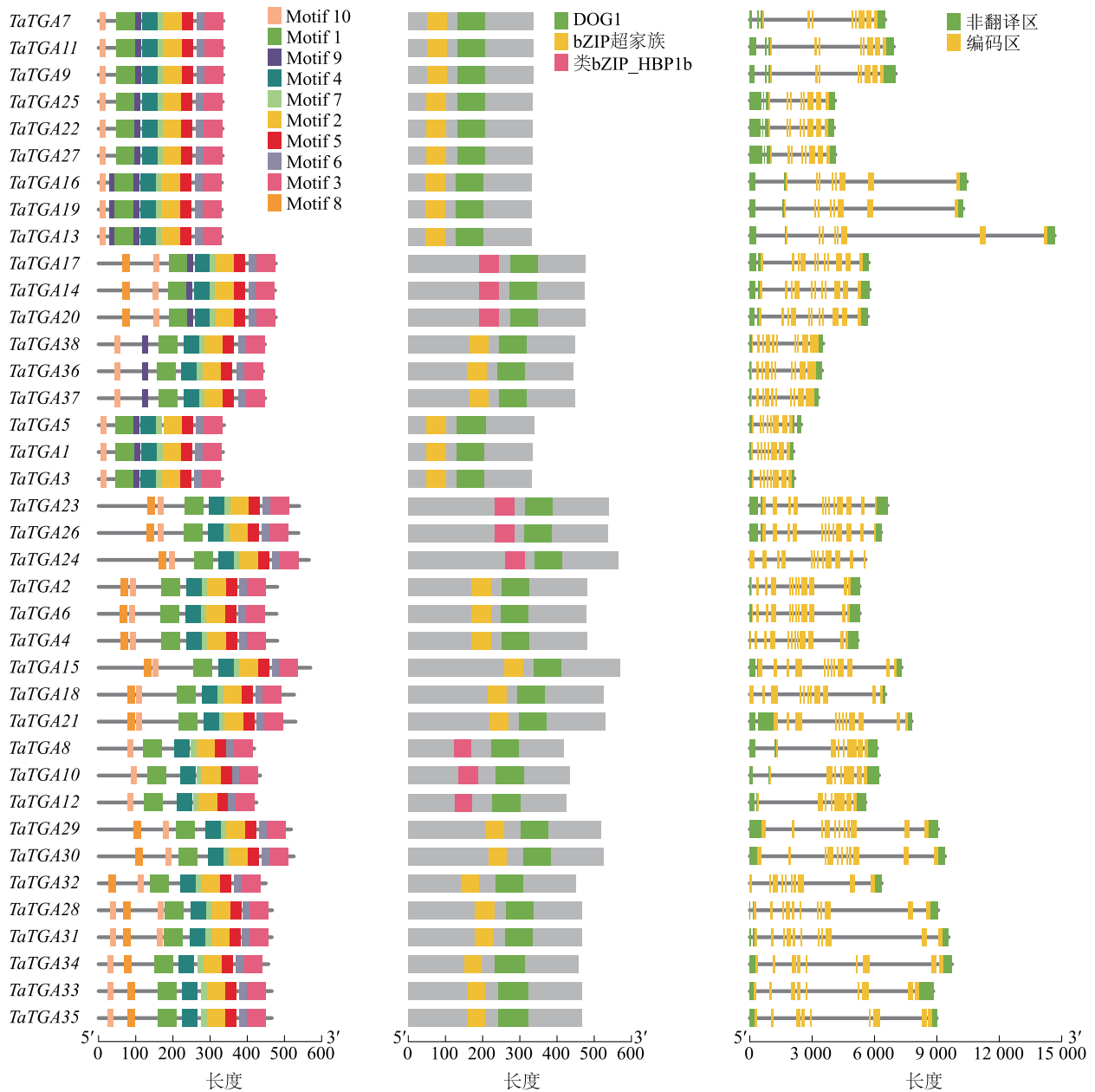


图1 *TaTGA* 的染色体定位

Fig.1 Chromosomal localization of *TaTGA*

表2 *TaTGA* 编码的蛋白质的理化性质Table 2 Physicochemical properties of the proteins encoded by *TaTGA* genes

| 基因编号 | 基因名称 | 氨基酸数量 (aa) | 氨基酸序列的 相对分子量 | 等电点 | 不稳定 系数 | 脂肪指数 | 亲水性指数 (<i>GRAVY</i>) | 亚细胞 定位 |
|----------------------|----------------|---------------|-----------------|------|-----------|-------|---------------------------|-----------|
| TraesCS1A02G096300.1 | <i>TaTGA1</i> | 335 | 36 700 | 5.71 | 57.88 | 82.27 | -0.438 | 细胞核 |
| TraesCS1A02G276600.4 | <i>TaTGA2</i> | 481 | 53 500 | 6.29 | 63.78 | 73.97 | -0.512 | 细胞核 |
| TraesCS1B02G127400.3 | <i>TaTGA3</i> | 333 | 36 600 | 6.14 | 54.41 | 83.60 | -0.416 | 细胞核 |
| TraesCS1B02G285800.4 | <i>TaTGA4</i> | 481 | 53 500 | 5.81 | 63.50 | 73.58 | -0.502 | 细胞核 |
| TraesCS1D02G105300.2 | <i>TaTGA5</i> | 338 | 37 000 | 6.56 | 58.57 | 84.97 | -0.371 | 细胞核 |
| TraesCS1D02G276100.5 | <i>TaTGA6</i> | 479 | 53 400 | 5.95 | 62.77 | 74.70 | -0.508 | 细胞核 |
| TraesCS2A02G097500.2 | <i>TaTGA7</i> | 336 | 37 500 | 9.09 | 54.87 | 83.75 | -0.520 | 细胞核 |
| TraesCS2A02G526300.1 | <i>TaTGA8</i> | 419 | 46 300 | 6.24 | 59.92 | 71.89 | -0.536 | 细胞核 |
| TraesCS2B02G113200.2 | <i>TaTGA9</i> | 336 | 37 500 | 9.09 | 54.54 | 83.75 | -0.512 | 细胞核 |
| TraesCS2B02G556600.1 | <i>TaTGA10</i> | 435 | 48 400 | 6.23 | 56.91 | 71.47 | -0.565 | 细胞核 |
| TraesCS2D02G096800.2 | <i>TaTGA11</i> | 336 | 37 500 | 9.09 | 54.99 | 84.05 | -0.513 | 细胞核 |
| TraesCS2D02G529000.1 | <i>TaTGA12</i> | 425 | 46 800 | 5.86 | 57.18 | 73.39 | -0.507 | 细胞核 |
| TraesCS3A02G190700.2 | <i>TaTGA13</i> | 332 | 36 900 | 7.79 | 58.54 | 77.71 | -0.605 | 细胞核 |
| TraesCS3A02G334100.1 | <i>TaTGA14</i> | 475 | 51 800 | 6.53 | 52.32 | 74.36 | -0.514 | 细胞核 |
| TraesCS3A02G372400.1 | <i>TaTGA15</i> | 570 | 61 800 | 6.55 | 57.58 | 69.00 | -0.516 | 细胞核 |
| TraesCS3B02G220400.2 | <i>TaTGA16</i> | 332 | 36 900 | 7.79 | 58.54 | 77.71 | -0.605 | 细胞核 |
| TraesCS3B02G365100.1 | <i>TaTGA17</i> | 477 | 51 900 | 6.78 | 50.58 | 75.68 | -0.494 | 细胞核 |
| TraesCS3B02G404800.1 | <i>TaTGA18</i> | 526 | 57 100 | 6.64 | 59.08 | 68.82 | -0.517 | 细胞核 |
| TraesCS3D02G194800.2 | <i>TaTGA19</i> | 332 | 36 900 | 8.49 | 58.21 | 77.71 | -0.609 | 细胞核 |
| TraesCS3D02G327600.1 | <i>TaTGA20</i> | 477 | 52 000 | 6.53 | 53.94 | 75.47 | -0.495 | 细胞核 |
| TraesCS3D02G365200.1 | <i>TaTGA21</i> | 530 | 57 600 | 6.66 | 58.76 | 68.28 | -0.545 | 细胞核 |
| TraesCS4A02G126300.3 | <i>TaTGA22</i> | 334 | 37 300 | 7.87 | 51.94 | 83.38 | -0.505 | 细胞核 |
| TraesCS4A02G183400.1 | <i>TaTGA23</i> | 540 | 59 000 | 6.44 | 54.89 | 69.00 | -0.569 | 细胞核 |
| TraesCS4B02G135000.1 | <i>TaTGA24</i> | 566 | 62 200 | 6.40 | 56.40 | 66.70 | -0.614 | 细胞核 |
| TraesCS4B02G178600.1 | <i>TaTGA25</i> | 334 | 37 300 | 7.87 | 50.04 | 82.22 | -0.513 | 细胞核 |
| TraesCS4D02G129900.1 | <i>TaTGA26</i> | 538 | 58 800 | 6.41 | 54.08 | 68.35 | -0.568 | 细胞核 |
| TraesCS4D02G180200.2 | <i>TaTGA27</i> | 334 | 37 300 | 7.87 | 51.94 | 83.38 | -0.505 | 细胞核 |
| TraesCS5A02G174200.1 | <i>TaTGA28</i> | 467 | 51 300 | 7.02 | 53.54 | 77.41 | -0.473 | 细胞核 |
| TraesCS5A02G265600.1 | <i>TaTGA29</i> | 518 | 57 900 | 6.51 | 68.93 | 77.30 | -0.550 | 细胞核 |
| TraesCS5B02G265300.2 | <i>TaTGA30</i> | 525 | 58 600 | 6.58 | 70.75 | 76.63 | -0.560 | 细胞核 |
| TraesCS5D02G178800.1 | <i>TaTGA31</i> | 466 | 51 000 | 7.83 | 55.34 | 77.58 | -0.466 | 细胞核 |
| TraesCS5D02G273500.2 | <i>TaTGA32</i> | 450 | 50 400 | 8.66 | 65.26 | 82.00 | -0.476 | 细胞核 |
| TraesCS6A02G165800.1 | <i>TaTGA33</i> | 466 | 50 900 | 7.01 | 52.94 | 76.39 | -0.452 | 细胞核 |
| TraesCS6B02G193200.1 | <i>TaTGA34</i> | 457 | 49 900 | 6.98 | 52.41 | 76.21 | -0.455 | 细胞核 |
| TraesCS6D02G154400.1 | <i>TaTGA35</i> | 466 | 51 000 | 7.01 | 52.18 | 74.10 | -0.500 | 细胞核 |
| TraesCS7A02G207100.1 | <i>TaTGA36</i> | 443 | 48 300 | 7.86 | 56.73 | 81.83 | -0.306 | 细胞核 |
| TraesCS7B02G114300.1 | <i>TaTGA37</i> | 448 | 48 500 | 7.36 | 56.89 | 82.01 | -0.285 | 细胞核 |
| TraesCS7D02G209800.1 | <i>TaTGA38</i> | 448 | 48 400 | 7.36 | 56.97 | 80.74 | -0.301 | 细胞核 |



Motif1 ~ Motif10: 基序 1~基序 10。bZIP: 碱性亮氨酸拉链。

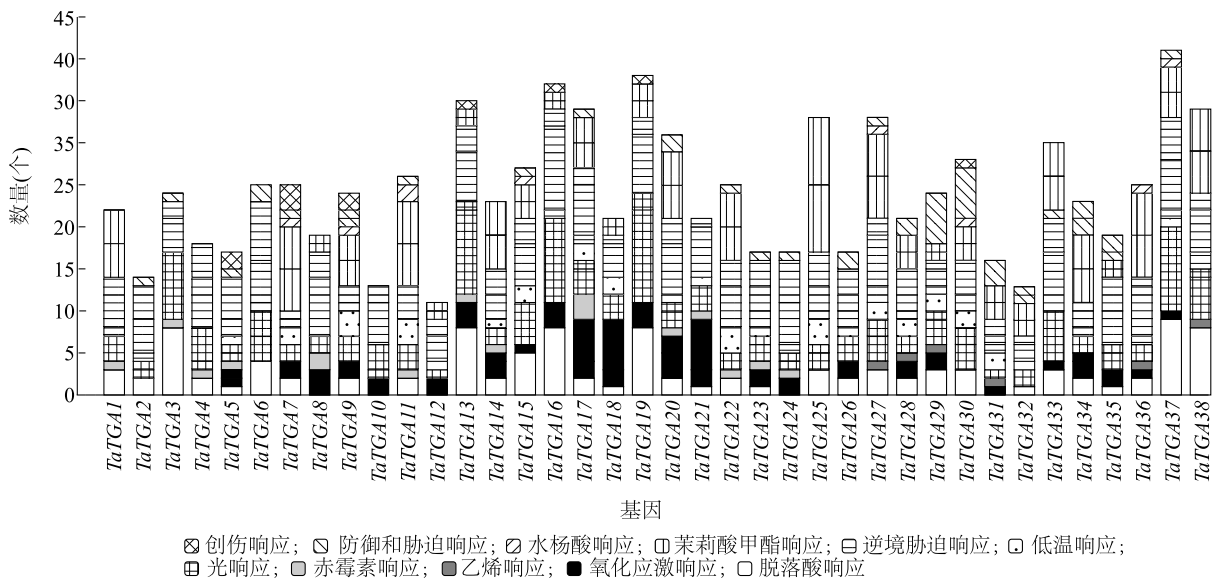
图2 *TaTGA* 保守基序、保守结构域及基因结构

Fig.2 Conserved motifs, conserved domains and gene structures of *TaTGA*

2.4 小麦 *TGA* 家族共线性分析

在生物体进化过程中,基因组及其包含的基因是不断变化的。为深入了解 *TaTGA* 的进化和扩增模式,用 MCSanX 进行 *TaTGA* 共线性分析,共鉴定到 46 组共连基因对(图 4A),其中包含多个三联体基因。三联体基因调控区域的不同可能是影响 *TaTGA* 各亚组成员偏好性表达的因素之一;在同源三联体中,*TaTGA* 成员具有相似的结构,推测具有相

似的表达模式。此外,对这些共线性基因对进行选择压力分析,发现 K_a/K_s 值均小于 1,表明 *TaTGA* 的进化模式受到纯化选择的作用。为了分析小麦与其他植物 *TGA* 家族的进化模式,本研究分析了小麦与 3 种不同植物(拟南芥、水稻、玉米)的共线性关系。由图 4B 可以看出,*TaTGA* 与水稻间存在 30 对共线性关系,与玉米间存在 33 对共线性关系,与拟南芥间无共连基因对。上述结果表明,*TaTGA* 在进化路

图 5 *TaTGA* 顺式作用元件分析Fig.5 Cis-acting element analysis of *TaTGA*

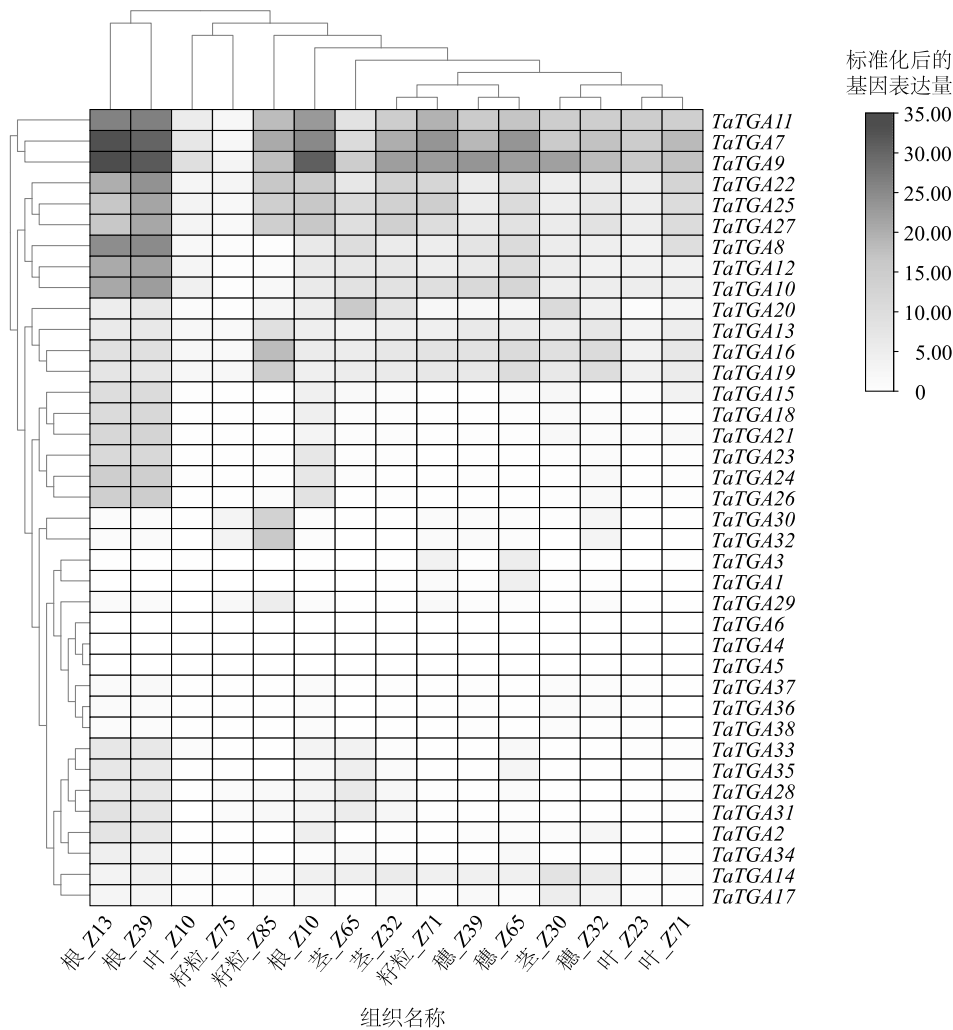
步研究 *TaTGA* 在不同胁迫处理及激素作用下的表达模式,以小麦中国春为材料,进行 100 $\mu\text{mol/L}$ ABA、100 $\mu\text{mol/L}$ MeJA、200 mmol/L NaCl 和 20% PEG-6000 处理。基于转录组数据、顺式作用元件分析,选取 5 个相对表达量较高且差异明显的 *TaTGA* 成员,通过 qRT-PCR 技术测定它们在不同胁迫处理和激素作用下的表达水平。由图 7 可以看出,在脱落酸(ABA)作用下,除 *TaTGA7* 外,其余 4 个 *TaTGA* 成员都在处理后一定时间被显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 诱导,并且 *TaTGA3*、*TaTGA10*、*TaTGA11* 在处理 24 h 内都能响应 ABA 的表达,而 *TaTGA27* 则在处理 48 h 的整个时段内基本上都表现为显著表达。在另一个激素茉莉酸甲酯(MeJA)的处理下,*TaTGA* 表现出相似特征,即除 *TaTGA7* 外,其余 4 个 *TaTGA* 成员在 MeJA 处理下表现出被显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 诱导的特征,但表达水平低于 ABA 激素作用。此外,在使用 PEG-6000 模拟干旱处理的条件下,不同 *TaTGA* 表现出响应差异,其中 *TaTGA3*、*TaTGA7*、*TaTGA10*、*TaTGA11* 在绝大部分时间节点的表达都受到抑制,*TaTGA27* 的表达则在大部分时间被显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 诱导,并在处理 6 h 时达到峰值(0 h 时的 7.12 倍)。在 NaCl 胁迫处理下,*TaTGA7* 于处理 12 h 及之前被抑制表达,并在之后恢复正常表达水平。其余 *TaTGA* 成员则不同程度地受到诱导,其中 *TaTGA3*、*TaTGA10*、*TaTGA11* 被诱导表达的水

平相近,其中 *TaTGA11* 在处理 3 h 时的相对表达量较高(0 h 时的 3.90 倍),*TaTGA3* 在处理 6 h 时的相对表达量较高(0 h 时的 2.70 倍),*TaTGA10* 在处理 24 h 时的相对表达量较高(0 h 时的 3.20 倍)。*TaTGA27* 在 NaCl 胁迫下 6~48 h 被极显著 ($P < 0.01$) 诱导表达,相对表达量于处理 24 h 时达到峰值(0 h 时的 25.20 倍)。综上所述,*TaTGA* 在植物生长发育过程中发挥着重要作用,在不同非生物胁迫、激素作用下表现出复杂的表达模式。

3 讨论

转录因子在介导植物对其外部环境变化的反应中起着关键作用,是控制植物对环境胁迫反应的复杂调控网络的重要组成部分,可以与其他信号分子、蛋白质相互作用,从而调节靶基因的表达,使植物能够快速应对环境挑战,如干旱、盐碱或病原体等^[24-26]。非生物胁迫也可诱导植物的一系列反应模式,不仅包括转录调控和信号转导,还包括功能特异性的表达和激活^[27-30]。因此,研究转录因子结构和功能,对于理解调控植物生长发育和响应环境压力的作用机制十分重要。

TGA 转录因子家族已被广泛证明在植物的多种生理过程中发挥作用并能增强植物对生物、非生物胁迫的抵抗力^[8]。在玉米中,*ZmTGA7*、*ZmTGA11* 基因的表达随着盐处理的不同而呈现显著变化,被



不同组织名称后的字母与数字表示发育周期。

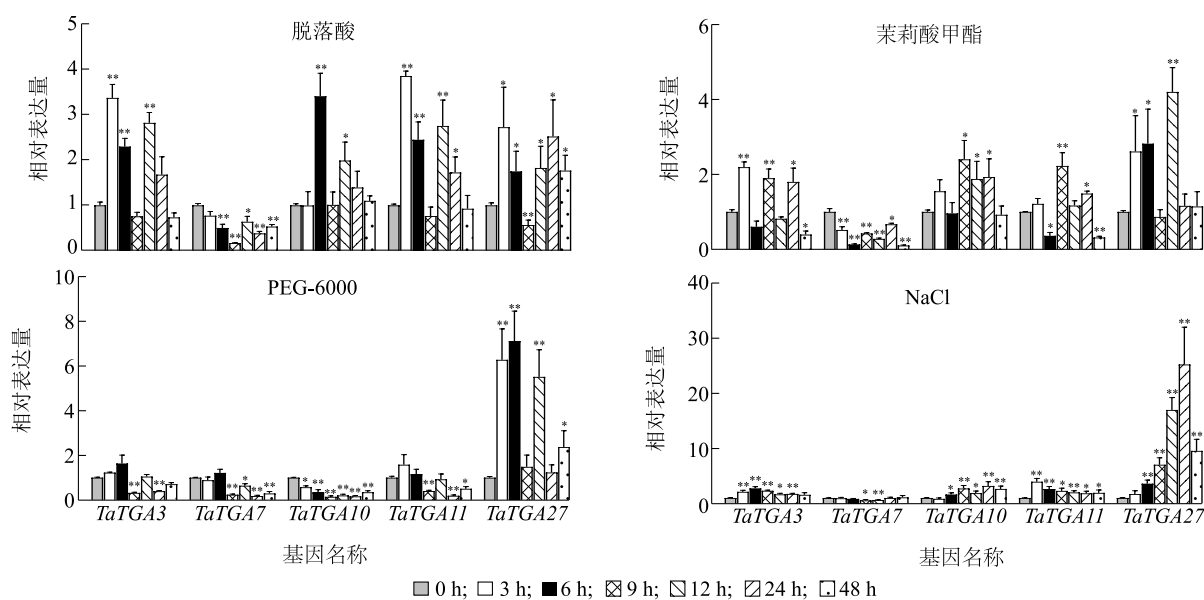
图6 TaTGA 在小麦不同组织中的表达模式

Fig.6 Expression patterns of TaTGA in different tissues of wheat

视为玉米盐胁迫响应研究中的重要候选功能基因^[31]。TaTGA 在逆境胁迫下表现出相似的表达模式和分子相似性,因此认为它们在增强植物抗逆性方面发挥着相同作用。在大豆中,GmTGA15、GmTGA17 可以增强大豆的抗旱性,并在盐胁迫下差异表达,而 GmTGA5、GmTGA7 的表达水平显著降低,GmTGA10、GmTGA13、GmTGA14、GmTGA17 和 GmTGA26 的表达水平则显著升高^[21]。本研究发现,TaTGA 转录因子基因在盐胁迫下也被不同程度地诱导表达。而在 PEG-6000 处理下,绝大部分 TaTGA 转录因子基因表现出响应差异,即在绝大部分时间节点被抑制表达。在植物的诸多调控系统中,转录因子的差异表达被认为是一种成熟的调控模式^[32],GmTGA 与 TaTGA 都表现出了这个特点。此外,

TGA 转录因子被证明在小麦抗条锈病中起着重要作用,TaTGA7、TaTGA8、TaTGA13、TaTGA16 在小麦感染条锈病后均表现为显著表达,TaTGA13 的沉默突变体负向调节对条锈病的抗性^[33]。但是,目前对于 TaTGA 抗逆性的研究很少。

AtTGA 转录因子已被证明与不同植物激素信号通路密切相关,可以通过水杨酸(SA)、茉莉酸甲酯(MeJA)信号转导途径提高植物的抗逆性^[11,15]。GmTGA17 过表达株系通过促进 ABA 生成,从而诱导气孔关闭、减少水分流失,进而提高植株的抗旱性^[22]。而在本研究中,在脱落酸、茉莉酸甲酯激素作用下,TaTGA 转录因子基因表现出相似的表达模式,即除 TaTGA7 外,其余 4 个 TaTGA 转录因子基因在各处理下均被不同程度地诱导表达。由此推测,



* 表示与 0 h 相比差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示与 0 h 相比差异极显著 ($P < 0.01$)。

图 7 *TaTGA* 基因在非生物胁迫和激素作用下的表达模式分析

Fig.7 Expression patterns of *TaTGA* genes under abiotic stresses and hormone treatments

TaTGA 也通过参与 MeJA、ABA 通路从而发挥作用。

TaTGA 是一种高度保守的转录因子家族,能在响应不利的环境条件和生长发育过程中发挥重要作用。本研究结果为进一步研究 TGA 转录因子家族在小麦生长、抗逆性机制中的调控作用奠定了基础,也为小麦抗逆性分子育种提供了可参考的优质候选基因,对于提高小麦抗逆能力和农业生产力有一定现实意义。

4 结论

本研究在小麦全基因组基础上鉴定得到 38 个 *TaTGA* 家族基因,它们不均匀地分布在小麦的 21 条染色体上,通过系统发育分析将 *TaTGA* 分为 I、II、III、IV、V 5 个亚家族,各亚家族内的 *TaTGA* 转录因子基因结构、保守基序及保守结构域特征基本一致。超过 70% 的 *TaTGA* 成员均包含逆境胁迫响应元件、脱落酸响应元件、茉莉酸甲酯响应元件作用元件。RNA 测序结果显示, *TaTGA* 具有组织表达特异性。结合 qRT-PCR 技术分析结果发现, *TaTGA* 转录因子基因在不同逆境胁迫及激素作用下差异表达,其中 *TaTGA27* 的相对表达量最高,推测其发挥了重要作用。本研究结果可为小麦抗逆性分子育种提供候选基因,并为进一步研究 TGA 转录因子在植物中的功能提供线索。

参考文献:

- [1] ARNAUD D, HWANG I. A sophisticated network of signaling pathways regulates stomatal defenses to bacterial pathogens[J]. *Molecular Plant*, 2015, 8(4): 566-581.
- [2] QI J S, SONG C P, WANG B S, et al. Reactive oxygen species signaling and stomatal movement in plant responses to drought stress and pathogen attack[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2018, 60(9): 805-826.
- [3] BAILLO E H, KIMOTHOR R N, ZHANG Z B, et al. Transcription factors associated with abiotic and biotic stress tolerance and their potential for crops improvement[J]. *Genes*, 2019, 10(10): 771.
- [4] SINGH K B, FOLEY R C, OÑATE-SÁNCHEZ L. Transcription factors in plant defense and stress responses[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2002, 5(5): 430-436.
- [5] SORNARAJ P, LUANG S, LOPATO S, et al. Basic leucine zipper (bZIP) transcription factors involved in abiotic stresses: a molecular model of a wheat bZIP factor and implications of its structure in function[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects*, 2016, 1860(1): 46-56.
- [6] AGARWAL P, BARANWAL V K, KHURANA P. Genome-wide analysis of bZIP transcription factors in wheat and functional characterization of a TabZIP under abiotic stress[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 4608.
- [7] JAKOBY M, WEISSHAAR B, DRÖGE-LASER W, et al. bZIP transcription factors in *Arabidopsis*[J]. *Trends in Plant Science*, 2002, 7(3): 106-111.
- [8] LU C F, LIU X Y, TANG Y Q, et al. A comprehensive review of

- TGA transcription factors in plant growth, stress responses, and beyond [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 258:128880.
- [9] NIJHAWAN A, JAIN M, TYAGI A K, et al. Genomic survey and gene expression analysis of the basic leucine zipper transcription factor family in rice [J]. *Plant Physiology*, 2008, 146 (2): 333-350.
- [10] MAGNANI E, DE KLEIN N, NAM H I, et al. A comprehensive analysis of microProteins reveals their potentially widespread mechanism of transcriptional regulation [J]. *Plant Physiology*, 2014, 165 (1):149-159.
- [11] GATZ C. From pioneers to team players; TGA transcription factors provide a molecular link between different stress pathways [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2013, 26 (2): 151-159.
- [12] IDROVO ESPÍN F M, PERAZA-ECHEVERRIA S, FUENTES G, et al. In silico cloning and characterization of the tga (tgacg motif-binding factor) transcription factors subfamily in *Carica papaya* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, 54:113-122.
- [13] 徐东东, 东琳, 邵丽, 等. TGA 转录因子在调控植物逆境应答和生长发育中的作用研究进展 [J]. *植物生理学报*, 2024, 60 (7):1079-1086.
- [14] 田义, 张彩霞, 康国栋, 等. 植物 TGA 转录因子研究进展 [J]. *中国农业科学*, 2016, 49 (4): 632-642.
- [15] XIANG C, MIAO Z H, LAM E. Coordinated activation of as-1-type elements and a tobacco glutathione S-transferase gene by auxins, salicylic acid, methyl-jasmonate and hydrogen peroxide [J]. *Plant Molecular Biology*, 1996, 32 (3): 415-426.
- [16] NIGGEWEG R, THUROW C, KEGLER C, et al. Tobacco transcription factor TGA2.2 is the main component of as-1-binding factor ASF-1 and is involved in salicylic acid- and auxin-inducible expression of as-1-containing target promoters [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275 (26): 19897-19905.
- [17] KESARWANI M, YOO J, DONG X N. Genetic interactions of TGA transcription factors in the regulation of pathogenesis-related genes and disease resistance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2007, 144 (1): 336-346.
- [18] MURMU J, BUSH M J, DELONG C, et al. *Arabidopsis* basic leucine-zipper transcription factors TGA9 and TGA10 interact with floral glutaredoxins ROXY1 and ROXY2 and are redundantly required for anther development [J]. *Plant Physiology*, 2010, 154 (3): 1492-1504.
- [19] ZHONG L, CHEN D D, MIN D H, et al. AtTGA4, a bZIP transcription factor, confers drought resistance by enhancing nitrate transport and assimilation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 457 (3): 433-439.
- [20] DUAN Y, XU Z S, LIU H, et al. Genome-wide identification of the TGA gene family and expression analysis under drought stress in *Brassica napus* L. [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25 (12): 6355.
- [21] KE D, HE Y, FAN L, et al. The soybean TGA transcription factor GmTGA13 plays important roles in the response to salinity stress [J]. *Plant Biology*, 2022, 24 (2): 313-322.
- [22] LI B, LIU Y, CUI X Y, et al. Genome-wide characterization and expression analysis of soybean TGA transcription factors identified a novel TGA gene involved in drought and salt tolerance [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10:549.
- [23] GUPTA P K, BALYAN H S, SHARMA S, et al. Genetics of yield, abiotic stress tolerance and biofortification in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133 (5): 1569-1602.
- [24] SONG L, LI W T, CHEN X W. Transcription factor is not just a transcription factor [J]. *Trends in Plant Science*, 2022, 27 (11): 1087-1089.
- [25] HRMOVA M, HUSSAIN S S. Plant transcription factors involved in drought and associated stresses [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22 (11): 5662.
- [26] JAVED T, SHABBIR R, ALI A, et al. Transcription factors in plant stress responses: challenges and potential for sugarcane improvement [J]. *Plants*, 2020, 9 (4): 491.
- [27] LIU T L, CHEN T Z, KAN J L, et al. The GhMYB36 transcription factor confers resistance to biotic and abiotic stress by enhancing *PR1* gene expression in plants [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20 (4): 722-735.
- [28] ZHANG Y, XIA P G. The *DREB* transcription factor, a biomacromolecule, responds to abiotic stress by regulating the expression of stress-related genes [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 243: 125231.
- [29] WANG X P, NIU Y L, ZHENG Y. Multiple functions of MYB transcription factors in abiotic stress responses [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22 (11): 6125.
- [30] ZHANG H, LIU S J, REN T M, et al. Crucial abiotic stress regulatory network of NF-Y transcription factor in plants [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24 (5): 4426.
- [31] 孟新超, 殷恒梅, 张兴政, 等. 玉米 TGA 转录因子家族全基因组鉴定及盐胁迫相关表达分析 [J]. *江西农业大学学报*, 2023, 45 (3): 631-642.
- [32] LAM E, LAM Y K. Binding site requirements and differential representation of TGF factors in nuclear ASF-1 activity [J]. *Nucleic Acids Research*, 1995, 23 (18): 3778-3785.
- [33] JIA J L, QING D Z, DE J H, et al. Genome-wide identification of TGA transcription factors in wheat: evolution, expression and verification [EB/OL]. *Research Square*, 2023 [2024-10-01]. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2693252/v1>.

(责任编辑:徐艳)