

• 农业生物技术 •

香蕉 *GLR* 基因家族全基因组鉴定及其响应低温与脱落酸/茉莉酸甲酯的表达分析

罗彬彬, 张慧, 李丹, 吴秋桢, 葛婉君, 朱田圆, 陈裕坤, 黄玉吉, 林玉玲, 赖钟雄*

福建农林大学 园艺植物生物工程研究所, 福建 福州 350002

罗彬彬, 张慧, 李丹, 吴秋桢, 葛婉君, 朱田圆, 陈裕坤, 黄玉吉, 林玉玲, 赖钟雄. 香蕉 *GLR* 基因家族全基因组鉴定及其响应低温与脱落酸/茉莉酸甲酯的表达分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2874-2896.

LUO Binbin, ZHANG Hui, LI Dan, WU Qiuzhen, GE Wanjun, ZHU Tianyuan, CHEN Yukun, HUANG Yuji, LIN Yuling, LAI Zhongxiong. Genome-wide identification of the banana *GLR* gene family and its expression analysis in response to low temperature and abscisic acid/methyl jasmonate[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2874-2896.

摘要: 植物类谷氨酸受体(glutamate receptor-like, GLR)是一类重要的 Ca^{2+} 通道蛋白, 在植物的生长发育以及响应生物和非生物胁迫等方面有着重要作用。本研究基于香蕉基因组数据, 对香蕉 *GLR* 基因家族进行全基因组鉴定, 分析基本理化性质、基因结构、保守基序、启动子顺式作用元件和进化关系, 并采用实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)验证 *GLR* 家族部分成员在 4 °C 低温和不同激素处理下的表达模式。研究结果表明: 香蕉 A (*Musa acuminata*)基因组有 19 个 *MaGLR* 家族成员、B (*Musa balbisiana*)基因组 16 个 *MbGLR* 家族成员、阿宽蕉(*Musa itinerans*)基因组有 14 个 *MiGLR* 家族成员; 大多数成员为稳定蛋白, 绝大多数成员具有信号肽, 均有 3–6 个跨膜结构; 亚细胞定位预测均定位于质膜上, 在染色体上无规则分布。进化树分析发现, 香蕉 *GLR* 分为 3 个亚族。启动子顺式作用元件和转录因子结合位点(transcription factor binding site, TFBS)预测结果显示, 香蕉 *GLR* 存在多种与激素、胁迫相关响应元件以及 18 种 TFBS。RT-qPCR 分析表明, *MaGLR1.1*、*MaGLR3.5* 在 4 °C 低温胁迫下积极响应且脱落酸、茉莉酸甲酯处理中均有显著表达。本研究结果表明 *GLR* 是一种高度保守的离子通道家族, 在香蕉生长发育过程和抗逆性方面可能发挥着重要作用。

关键词: 香蕉; *GLR*; 家族鉴定; 低温; 表达分析

资助项目: 国家重点研发计划(2019YFD1000900); 国家现代农业产业技术体系建设(香蕉)专项资金项目(GARS-31-15); 福建省高原学科建设经费项目(102/71201801101)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2019YFD1000900), the Special Fund of National Modern Agricultural Industrial Technology System (Banana) (GARS-31-15), and the Fund for Plateau Discipline Construction in Fujian Province (102/71201801101).

*Corresponding author. E-mail: laizx01@163.com

Received: 2022-12-05; Accepted: 2023-02-22; Published online: 2023-03-02

Genome-wide identification of the banana *GLR* gene family and its expression analysis in response to low temperature and abscisic acid/methyl jasmonate

LUO Binbin, ZHANG Hui, LI Dan, WU Qiuzhen, GE Wanjun, ZHU Tianyuan, CHEN Yukun, HUANG Yuji, LIN Yuling, LAI Zhongxiong*

Institute of Horticultural Plant Bioengineering, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China

Abstract: Glutamate receptor-like (GLR) is an important class of Ca^{2+} channel proteins, playing important roles in plant growth and development as well as in response to biotic and abiotic stresses. In this paper, we performed genome-wide identification of banana *GLR* gene family based on banana genomic data. Moreover, we analyzed the basic physicochemical properties, gene structure, conserved motifs, promoter *cis*-acting elements, evolutionary relationships, and used real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) to verify the expression patterns of some *GLR* family members under low temperature of 4 °C and different hormone treatments. The results showed that there were 19 *MaGLR* family members in *Musa acuminata*, 16 *MbGLR* family members in *Musa balbisiana* and 14 *MiGLR* family members in *Musa itinerans*. Most of the members were stable proteins and had signal peptides, all of them had 3–6 transmembrane structures. Prediction of subcellular localization indicated that all of them were localized on the plasma membrane and irregularly distributed on the chromosome. Phylogenetic analysis revealed that banana *GLRs* could be divided into 3 subclades. The results of promoter *cis*-acting elements and transcription factor binding site prediction showed that there were multiple hormone- and stress-related response elements and 18 TFBS in banana *GLR*. RT-qPCR analysis showed that *MaGLR1.1* and *MaGLR3.5* responded positively to low temperature stress and were significantly expressed in abscisic acid/methyl jasmonate treatments. In conclusion, the results of this study suggest that GLR, a highly conserved family of ion channels, may play an important role in the growth and development process and stress resistance of banana.

Keywords: banana; *GLR*; family identification; low temperature; expression analysis

植物类谷氨酸受体(glutamate receptor-like, GLR), 是一类重要的 Ca^{2+} 通道蛋白, 介导 Ca^{2+} 从胞外内流到细胞质, 从而引起 Ca^{2+} 浓度的变化^[1], 是一种结构域高度保守的离子通道家族, 主要在质膜上表达。进化上非常保守的谷氨酸受体基因编码感受冷的受体是首个被发现的低温冷受体^[2]。最先在动物中发现谷氨酸受体, 可分

为离子型(ionotropic glutamate receptors, iGluRs) 和代谢型^[3] (metabotropic glutamate receptors, mGluRs), 1998 年 Lam 等^[4]首次发现了与哺乳动物 iGluRs 高度同源的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)谷氨酸受体基因 *AtGLR*, 并将这 20 个 *AtGLR* 划分为 3 个系统发育上不同的分支 (*AtGLR*-I/-II/-III)^[5]。植物 *GLRs* 基因与动物

iGluRs 基因其离子通道结构相似,包含了 2 个谷氨酸受体结合区域(GlnH1 和 GlnH2)和 4 个跨膜区域(M1、M2、M3 和 M4)^[6-7]。

自植物谷氨酸受体被发现以来,其功能就开始被不断挖掘,目前,*GLR* 在拟南芥(20 个)^[4]、水稻(24 个)^[8]、梨(34 个)^[9]、苹果(32 个)^[10]、番茄(13 个)^[11]、玉米(16 个)^[12]、蒺藜苜蓿(29 个)^[13] 等植物中鉴定获得。在植物生长发育方面,已有的研究表明 *GLR* 参与种子萌发^[14]、根系发育^[15]、气孔开度^[14]、花粉管生长和形态发生^[16-17]、植物的感光/向光性^[18]、光信号转导^[19]、调节 C/N 平衡^[20]、水平衡^[21]等;在非生物胁迫和生物胁迫方面,参与抑制铝离子毒害^[22],介导伤口长距离信号传导^[23-24],*MtGLR* 在短期缺水胁迫下参与一氧化氮的产生^[13],*SIGLR3.3* 和 *SIGLR3.5* 提高番茄耐寒性^[25],外源茉莉酸(jasmonic acid, JA)减弱拟南芥 *glr1.2* 和 *glr1.3* 突变体的冷敏感性,而过表达 *GLR1.2* 或 *GLR1.3* 增加冷胁迫下内源 JA 水平来增强耐寒性^[26],*GLR* 也在干旱^[27]、盐胁迫^[28]、枯萎病^[29]等胁迫过程起作用。由此可见,*GLR* 在植物生长发育过程以及对生物和非生物胁迫的反应中起着关键作用。

香蕉(*Musa* spp.)是芭蕉科(Musaceae)芭蕉属(*Musa*)大型单子叶植物,现代栽培蕉大多起源于两个野生二倍体种 *Musa acuminata* (尖叶蕉, A 基因组)和 *Musa balbisiana* (长梗蕉, B 基因组)及其亚种的种间或种内的杂交,导致了不同品种中 A 和 B 基因组的各种组合^[30],使香蕉遗传性状的研究复杂化。世界范围内可食用的香蕉大部分为三倍体^[31],含有 A 染色体越多,果肉越甜,可生食,含 B 染色体越多,淀粉含量越高,需煮食^[32],经济上最重要的香蕉品种的有限遗传变异是克隆繁殖的不育多倍体,导致缺乏对一些主要真菌、细菌和病毒病原体以及几种害虫的抗性^[33],B 基因组因其活力、抗

寒性^[30]等特性而被用于育种计划,而 *Musa itinerans* (阿宽蕉)是两种香蕉祖先的近亲,被证明是芭蕉属中最具枯萎病抗性和最耐寒的物种之一,可作为香蕉育种的宝贵资源以提高抗病和抗寒能力^[34]。

福建省是香蕉生长的北缘地区,冬季寒潮来袭,气温骤降,严重影响了香蕉的正常生长发育,导致香蕉的质量和产量急剧下降。*GLR* 积极参与植物生长发育以及胁迫响应,但目前还未有香蕉中 *GLRs* 的研究,对香蕉 A 基因组的 *GLR* 基因进行鉴定,有助于保障食品安全,也为生食香蕉的研究提供新进展,香蕉 B 基因组 *GLR* 基因信息可以帮助指导香蕉育种计划,而香蕉阿宽蕉 *GLR* 基因可以开发抗性栽培品种为芭蕉属的多样化提供机会。因此本研究中基于香蕉基因组数据库,进行香蕉 *GLR* 基因家族成员全基因组鉴定和分析,基于转录组数据和启动子区域顺式作用元件,采用 RT-qPCR 研究部分家族成员在低温和不同激素处理下的表达模式,为今后进一步研究和应用香蕉 *GLR* 家族基因奠定基础。

1 材料与方法

1.1 香蕉 *GLR* 基因家族成员鉴定

从香蕉基因组中心(Banana Genome Hub, <https://banana-genome-hub.southgreen.fr/>)下载香蕉基因组序列和注释文件。从拟南芥基因组数据库(TAIR, <http://arabidopsis.org/>)下载 AtGLR 蛋白序列、水稻基因组注释数据库(RGAP, <http://rice.uga.edu/>)下载 OsGLR 蛋白序列,从 EnsemblPlants^[35]植物基因组数据库(<http://plants.ensembl.org/>)获取其他物种蛋白序列。使用拟南芥和水稻 GLR 蛋白序列作为参考序列,对香蕉蛋白序列进行本地 BLAST 搜索,同时在 Pfam 数据库(<http://pfam.xfam.org/>)下载 Lig_chan

(PF00060)^[9]的隐马尔可夫模型,利用 hmmer 3.0 (HMMsearch, Hidden Markov Model search)软件进行搜索^[36] (E value<e-5),去除两种方法的重复序列后,所获序列通过 InterProScan 数据库 (<http://www.ebi.ac.uk/interpro/>)进行结构域验证,删除不含 Lig_chan 的序列,最终获得香蕉 A 基因组 19 个 *MaGLR* 家族成员、B 基因组 16 个 *MbGLR* 家族成员、阿宽蕉基因组 14 个 *MiGLR* 家族成员。运用在线网站对 *MaGLR* 进行蛋白质基本理化性质 (ExPASy, <https://web.expasy.org/protparam/>)、信号肽 (SignalP 4.1 Server, <http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP-4.1/>)、跨膜结构 (TMHMM Server v.2.0, <http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)和亚细胞定位 (WoLF PSORT, <https://wolfpsort.hgc.jp/>)预测分析。

1.2 香蕉 *GLR* 家族基因结构和保守基序分析

使用在线软件 MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme>)分析香蕉 *GLR* 蛋白的保守基序,使用保守域数据库 CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>)获得香蕉 *GLR* 蛋白的结构域位置,使用 MEGA 7.0 软件构建系统进化树。利用香蕉基因组注释文件与上述文件通过 TBtools 绘制基因结构和保守基序图^[37]。

1.3 香蕉 *GLR* 家族系统发育进化关系分析

使用 MEGA 7.0 对香蕉、水稻、拟南芥 *GLR* 蛋白序列进行 ClustalW 多重序列比对,采用邻接法 (neighbor-joining, NJ)^[38]构建系统发育进化树,保存为 newick 格式后导入 iTOL 在线工具 (<https://itol.embl.de/>)美化进化树。

1.4 香蕉 *GLR* 家族染色体定位和共线性分析

使用 TBtools 软件中的 File Merge For MCScanX,分析香蕉 *GLR* 家族成员的复制事件^[37]。结合家族成员的染色体位置信息,利用 TBtools 软件中的 Advanced Circos 绘制基因染色体定位

和共线性图,使用 RIdiogram 绘制三元基因组共线性^[39]。使用 TBtools 软件下 Simple Ka/Ks Calculator (NG)算法计算香蕉 *GLR* 复制的非同义替换 (Ka)和同义替换 (Ks)值。

1.5 香蕉 *GLR* 家族启动子顺式作用元件及转录因子结合位点分析

使用 TBtools 提取香蕉基因组注释文件中香蕉基因转录起始位点上游 2 000 bp 序列,使用 PlantCARE 在线网页 (<http://bioinformaticspsb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)预测香蕉 *GLR* 基因家族启动子顺式作用元件,所获文件经过 Excel 制作数据透视表后生成柱形图,通过 PlantTFDB^[40]在线网页 (<http://plantfdb.gao-lab.org/>)预测香蕉 *GLR* 上的转录因子结合位点 (P -value $\leq 1e-6$),结果通过可视化图表展示。

1.6 基因表达分析

福建省野生蕉资源丰富,三明野生蕉 (*Musa itinerans*)是目前发现的最耐寒的香蕉种质之一,其半致死温度为 -1.776°C ,组培苗在 0°C 下处理 48 h 仍不会出现冻害表型^[41],是提高香蕉育种中耐寒性的宝贵资源。从本实验室前期建立 (SRA:SRS3320042)的三明野生蕉低温处理转录组^[42]中提取 *MaGLR* 的表达数据,利用 TBtools 绘制表达量热图,分析 *MaGLR* 家族成员在 28、13、4、 0°C 时的表达情况。

巴西蕉 (*Musa acuminata*, AAA)是我国主要栽培的香蕉品种,研究巴西蕉的冷害机理及提高其抗寒性具有重要意义。“巴西蕉”组培苗是福建农林大学园艺植物生物工程研究所培养,炼苗移栽后置于 12 h 光/12 h 暗, $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 的土培室培养 40 d,选择长势一致、四叶一心的健康香蕉苗进行处理,处理采用喷施法至叶片和假茎充分湿润但无水滴凝聚下落^[43]。脱落酸 (abscisic acid, ABA)和茉莉酸甲酯 (methyl jasmonate, MeJA)处理:分别采用 $100\text{ }\mu\text{mol/L}$

ABA 和 100 μmo/L MeJA 于处理后 4、8、12、24 h 取样；低温处理：将香蕉苗置于 4 °C 培养箱中培养，以 28 °C 为对照，分别于处理后 4、8、12、24 h 取样(上述处理均进行 3 次重复)。取从上往下第二片真叶置于液氮中速冻，使用 TIANGEN 多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒提取所获材料的 RNA，采用 TaKaRa 反转录试剂盒 PrimeScript™ RT reagent Kit (perfect real time) 构建 cDNA 文库，使用 Primer3 (<https://primer3.ut.ee/>)在线网页设计定量引物(表 1)，通过罗氏 LightCycler480 II 定量仪进行 RT-qPCR，将获取的数据整理于 Excel 中进行处理，利用 SPSS 26 软件进行显著性分析，采用 GraphPad Prism5 软件制图。

2 结果与分析

2.1 香蕉 *GLR* 基因家族成员信息

基于香蕉 A 基因组、香蕉 B 基因组和香蕉阿宽蕉基因数据库，鉴定获得 19 个 *MaGLR* 家族成员、16 个 *MbGLR* 家族成员和 14 个 *MiGLR* 家族成员(表 2)，根据 *GLR* 基因家族命名规则(*GLRX.Y*)^[5]分别命名为 *MaGLR1.1–MaGLR3.11*、*MbGLR1.1–MbGLR3.8* 和 *MiGLR1.1–MiGLR3.7*。对香蕉 *GLR* 蛋白质特性进行分析，*MaGLR* 的编码序列(coding sequence, CDS)区序列长度为 2 157–2 979 bp，编码包含 718–992 aa、分子量介于 79.96–109.94 kDa、等电点(isoelectric point, pI)位于 5.24–8.32 的蛋白质，*MbGLR* 的 CDS 区序列长度为 2 571–5 427 bp，编码包含

856–1 808 aa、分子量介于 95.07–198.71 kDa、等电点位于 5.22–8.06 的蛋白质，*MiGLR* 的 CDS 区序列长度为 2 070–5 625 bp，编码包含 689–1 874 aa、分子量介于 77.22–206.48 kDa、等电点位于 5.27–7.31 的蛋白质。香蕉 *GLR* 家族中大多数成员为稳定蛋白和疏水蛋白，绝大多数成员具有信号肽，所有成员均有跨膜结构，所有成员亚细胞定位预测结果均定位于质膜上。

2.2 *GLR* 蛋白系统进化分析

为进一步了解香蕉 *GLR* 蛋白的系统发育关系，采用 MEGA 7.0 中的邻接法对香蕉 A 基因组(19)、B 基因组(16)、阿宽蕉基因组(14)及两种模式植物水稻(24)和拟南芥(20)共 93 条 *GLR* 蛋白序列构建系统发育进化树。如图 1 所示，参考拟南芥和水稻中对 *GLR* 蛋白的分类，*GLR* 分为 Clade I、Clade II、Clade III 和 Clade IV 共 4 个亚家族，其中 Clade IV 中仅包含水稻 *GLR* 成员，香蕉 A 基因组中的 19 个成员分布在 Clade I (6 个)、Clade II (2 个)和 Clade III (11 个)，香蕉 B 基因组中的 16 个成员分布在 Clade I (6 个)、Clade II (2 个)和 Clade III (8 个)，香蕉阿宽蕉基因组中的 14 个成员分布在 Clade I (6 个)、Clade II (1 个)和 Clade III (7 个)，从系统进化树上可看出 Clade II 与 Clade I 由同一大分支分化且 Clade I 进化分支起源早于 Clade II，这与拟南芥中 Clade II 可能是由 Clade I 的基因副本进化而来的结论相同^[44–45]，Clade I 和 Clade III 亚族分布有大多数香蕉 *GLR* 蛋白，相较于 Clade II 可能有着更为丰富的功能。

表 1 *MaGLR* 定量 RT-qPCR 引物序列
Table 1 *MaGLR* quantitative RT-qPCR primer sequence

Gene name	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')
<i>CAC</i>	F: CTCCTATGTTGCTCGCTTATG	R: GGCTACTACTTCGGTTCTTTC
<i>MaGLR1.1</i>	F: TGACCTGCTCAAGAACGTCC	R: TTGGTGCGGAGAAGGAGA
<i>MaGLR3.5</i>	F: CAGTGGAGCCAGGTGATAGC	R: TCCATGATGTCACGCCTTGT

表 2 香蕉 *GLR* 基因家族成员信息
Table 2 The information of *GLR* gene family in banana

Genome	Gene name	Accession No.	CDS	Chromosome: location	Length	MW	pI	Instability index (II)	Gravy	Singal peptide	Transmembrane domain	Subcellular localization
<i>Musa acuminata</i>	<i>MaGLRL1.1</i>	Ma04_g02140	2 886	chr04: 1 880 906–1 885 306 (–)	961	105.54	5.8	37.80	0.021	Yes	4	PM
	<i>MaGLRL1.2</i>	Ma06_g03580	2 916	chr06: 2 610 023–2 614 839 (+)	971	107.19	7.0	42.78	–0.064	Yes	4	PM
	<i>MaGLRL1.3</i>	Ma06_g03590	2 865	chr06: 2 615 562–2 619 357 (+)	954	105.80	6.4	41.27	–0.106	Yes	4	PM
	<i>MaGLRL1.4</i>	Ma06_g28460	2 499	chr06: 30 145 703–30 148 704 (+)	832	91.76	8.3	35.85	0.136	Yes	4	PM
	<i>MaGLRL1.5</i>	Ma07_g16040	2 763	chr07: 12 418 340–12 421 826 (+)	920	101.86	6.8	30.16	0.001	Yes	3	PM
	<i>MaGLRL1.6</i>	Ma09_g21620	2 703	chr09: 33 059 004–33 062 445 (+)	900	100.31	6.3	34.23	–0.078	No	4	PM
	<i>MaGLRL2.1</i>	Ma03_g04810	2 856	chr03: 3 173 693–3 181 009 (–)	951	106.01	6.3	32.06	0.019	Yes	5	PM
	<i>MaGLRL2.2</i>	Ma09_g13130	2 961	chr09: 8 877 745–8 884 313 (–)	986	109.94	6.1	36.72	–0.024	Yes	4	PM
	<i>MaGLRL3.1</i>	Ma03_g28170	2 826	chr02: 24 232 129–24 235 216 (+)	941	104.21	6.1	32.34	0.075	No	3	PM
	<i>MaGLRL3.2</i>	Ma04_g37450	2 157	chr03: 31 309 743–31 316 046 (–)	718	79.96	5.4	43.01	0.157	No	4	PM
	<i>MaGLRL3.3</i>	Ma05_g00670	2 730	chr04: 35 353 936–35 356 863 (+)	909	100.80	6.9	34.12	0.13	Yes	4	PM
	<i>MaGLRL3.4</i>	Ma05_g00680	2 979	chr05: 405 933–413 914 (+)	992	109.08	6.9	36.64	0.018	No	3	PM
	<i>MaGLRL3.5</i>	Ma05_g21560	2 778	chr05: 414 684–419 792 (+)	925	102.69	5.3	38.31	0.098	Yes	3	PM
	<i>MaGLRL3.6</i>	Ma06_g02150	2 778	chr05: 33 243 203–33 250 840 (–)	925	102.17	5.2	37.94	–0.01	Yes	3	PM
	<i>MaGLRL3.7</i>	Ma09_g02690	2 802	chr06: 1 711 264–1 716 551 (+)	933	102.58	5.6	36.05	0.026	Yes	4	PM
	<i>MaGLRL3.8</i>	Ma09_g11330	2 796	chr09: 1 876 278–1 880 123 (–)	931	102.92	5.8	34.77	0.021	Yes	4	PM
	<i>MaGLRL3.9</i>	Ma09_g24360	2 757	chr09: 7 659 543–7 665 260 (+)	918	101.63	5.3	32.09	0.072	Yes	3	PM
	<i>MaGLRL3.10</i>	Ma09_g30780	2 799	chr09: 36 028 758–36 039 153 (+)	932	102.20	6.5	35.83	0.062	Yes	3	PM
<i>Musa balbisiana</i>	<i>MaGLRL3.11</i>	Ma02_g17220	2 388	chr09: 40 722 611–40 727 132 (–)	795	88.77	6.5	42.98	0.031	Yes	4	PM
	<i>MbGLRL1.1</i>	Mba03_g04780	2 859	Behr03: 3 411 833–3 415 529 (–)	952	105.13	5.2	42.18	0.037	No	5	PM
	<i>MbGLRL1.2</i>	Mba04_g02060	2 661	Behr04: 2 064 982–2 069 342 (–)	886	97.49	6.3	30.81	0.101	Yes	4	PM
	<i>MbGLRL1.3</i>	Mba06_g03250	2 853	Behr06: 2 821 563–2 827 267 (+)	950	104.76	7.3	45.13	–0.054	No	5	PM
	<i>MbGLRL1.4</i>	Mba06_g03260	2 865	Behr06: 2 828 071–2 831 972 (+)	954	105.84	6	40.93	–0.094	Yes	3	PM
	<i>MbGLRL1.5</i>	Mba06_g27530	2 592	Behr06: 33 354 604–33 357 648 (+)	863	95.07	8.1	37.49	0.152	Yes	4	PM
	<i>MbGLRL1.6</i>	Mba07_g14610	2 592	Behr07: 12 954 518–12 958 147 (+)	863	95.81	7	27.49	0.034	Yes	3	PM
	<i>MbGLRL2.1</i>	Mba03_g04770	2 643	Behr03: 3 400 894–3 407 266 (–)	880	98.69	6.5	30.06	–0.001	Yes	5	PM
	<i>MbGLRL2.2</i>	Mba09_g12360	2 976	Behr09: 9 029 189–9 037 057 (–)	991	110.10	6.1	35.97	–0.029	Yes	4	PM
												(待续)

(续表 2)

Genome	Gene name	Accession No.	CDS	Chromosome: location	Length	MW	pI	Instability index (II)	Gravy	Singal peptide	Transmembrane domain	Subcellular localization
<i>MbGLR3.1</i>	<i>Mba01_g04910</i>	2 802	2 802	Behr01: 3 645 318-3 651 812 (+)	933	103.44	5.7	34.38	0.059	Yes	3	PM
	<i>Mba02_g16130</i>	2 589	2 589	Behr02: 27 168 603-27 171 786 (+)	862	95.98	7.1	40.86	-0.014	Yes	5	PM
	<i>Mba04_g37690</i>	2 571	2 571	Behr04: 40 780 344-40 783 468 (+)	856	95.69	6.1	39.85	0.028	Yes	4	PM
	<i>Mba05_g00640</i>	5 427	5 427	Behr05: 415 755-430 872 (+)	1 808	198.71	6.1	34.28	0.108	Yes	6	PM
	<i>Mba05_g21070</i>	2 946	2 946	Behr05: 33 544 944-33 551 810 (-)	981	108.52	5.6	39.29	0.099	No	3	PM
	<i>Mba06_g01920</i>	3 696	3 696	Behr06: 1 825 223-1 834 121 (+)	1 231	136.64	6.4	33.14	0.022	No	4	PM
	<i>Mba09_g10770</i>	3 675	3 675	Behr09: 7 806 670-7 813 736 (+)	1 224	135.82	5.9	33.66	0.016	Yes	3	PM
	<i>Mba09_g26550</i>	2 778	2 778	Behr09: 37 096 248-37 100 869 (-)	925	101.33	6.6	36.33	0.092	Yes	3	PM
	<i>Mi_g014373</i>	2 136	2 136	scaffold2584: 12 706-15 257 (+)	711	79.21	7.3	28.79	0.060	No	4	PM
	<i>Mi_g014922</i>	2 640	2 640	scaffold2677: 16 021-19 473 (-)	879	98.12	6.2	32.43	0.004	Yes	5	PM
	<i>Mi_g020084</i>	2 568	2 568	scaffold3732: 100 205-103 007 (-)	855	94.06	6.5	38.82	0.193	Yes	4	PM
	<i>Mi_g023091</i>	2 814	2 814	scaffold463: 201 335-204 799 (-)	937	103.85	6.3	34.92	-0.135	No	4	PM
	<i>Mi_g023092</i>	2 952	2 952	scaffold463: 205 160-210 320 (-)	983	108.79	6.8	41.53	-0.014	No	5	PM
	<i>Mi_g024283</i>	2 715	2 715	scaffold5010: 19 802-23 735 (-)	904	99.87	7.1	37.49	0.03	Yes	4	PM
<i>MiGLR2.1</i>	<i>Mi_g026823</i>	2 874	2 874	scaffold613: 91 859-98 067 (-)	957	106.49	6.3	32.99	0.029	Yes	4	PM
	<i>Mi_g009029</i>	2 388	2 388	scaffold188: 141 150-144 299 (-)	795	88.70	6.6	41.34	0.042	Yes	4	PM
	<i>Mi_g018428</i>	5 625	5 625	scaffold328: 60 047-79 462 (-)	1 874	206.48	6.8	46.47	-0.245	No	4	PM
	<i>Mi_g018525</i>	2 751	2 751	scaffold3294: 106 418-111 594 (-)	916	101.25	5.8	33.24	0.087	Yes	3	PM
	<i>Mi_g019533</i>	2 757	2 757	scaffold357: 97 713-106 483 (-)	918	101.73	5.3	29.74	0.072	Yes	3	PM
	<i>Mi_g020545</i>	2 070	2 070	scaffold39: 38 153-40 689 (+)	689	77.22	5.6	39.86	0.075	No	3	PM
	<i>Mi_g022391</i>	2 769	2 769	scaffold428: 789 688-794 694 (-)	922	101.54	5.3	38.25	0.025	Yes	3	PM
	<i>Mi_g027862</i>	2 793	2 793	scaffold668: 59 578-64 639 (+)	930	102.72	5.8	34.16	0.033	Yes	3	PM

PM: Plasma membrane.

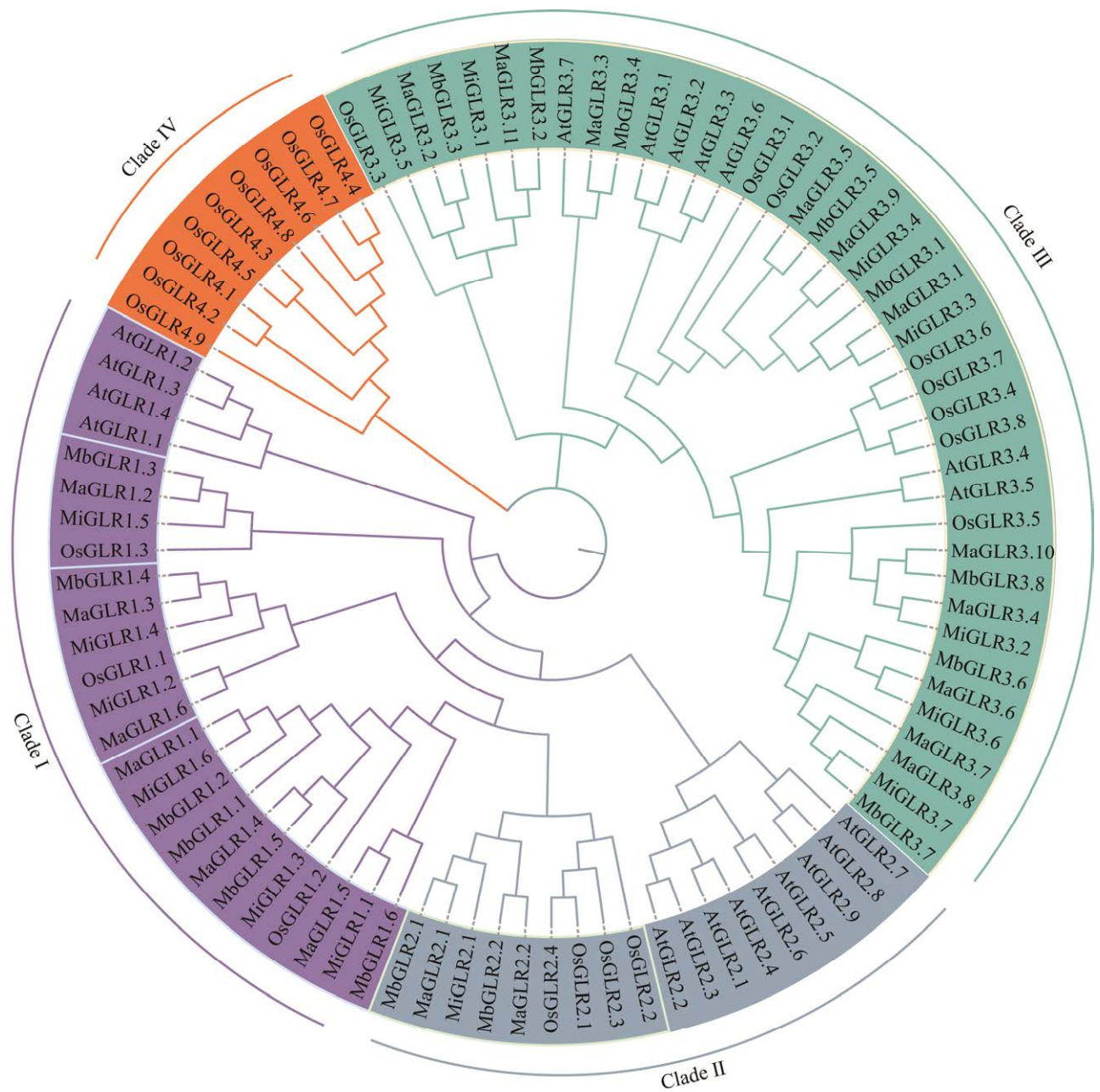


图 1 水稻(Os)、拟南芥(At)、香蕉 A (Ma)、香蕉 B (Mb)、阿宽蕉(Mi)基因组的 *GLR* 家族成员氨基酸序列系统进化分析

Figure 1 Phylogenetic analysis of *GLR* amino acid sequences of *Oryza sativa* (Os), *Arabidopsis thaliana* (At), *Musa acuminata* (Ma), *Musa balbisiana* (Mb), and *Musa itinerans* (Mi) genomes.

2.3 香蕉 *GLR* 家族成员基因结构及蛋白保守结构域和基序分析

对香蕉 A 基因组、B 基因组和阿宽蕉基因组的 *GLR* 家族成员进行基因结构分析发现(图 2A),

A 基因组 Clade I 和 Clade II 亚族中除 *MaGLR1.4* 含有 6 个外显子外, 其余 7 个成员均含有 4 或 5 个外显子, Clade III 亚族中除 *MaGLR3.2* 含有 5 个外显子外, 其余 10 个成员均含有 6 或 7 个

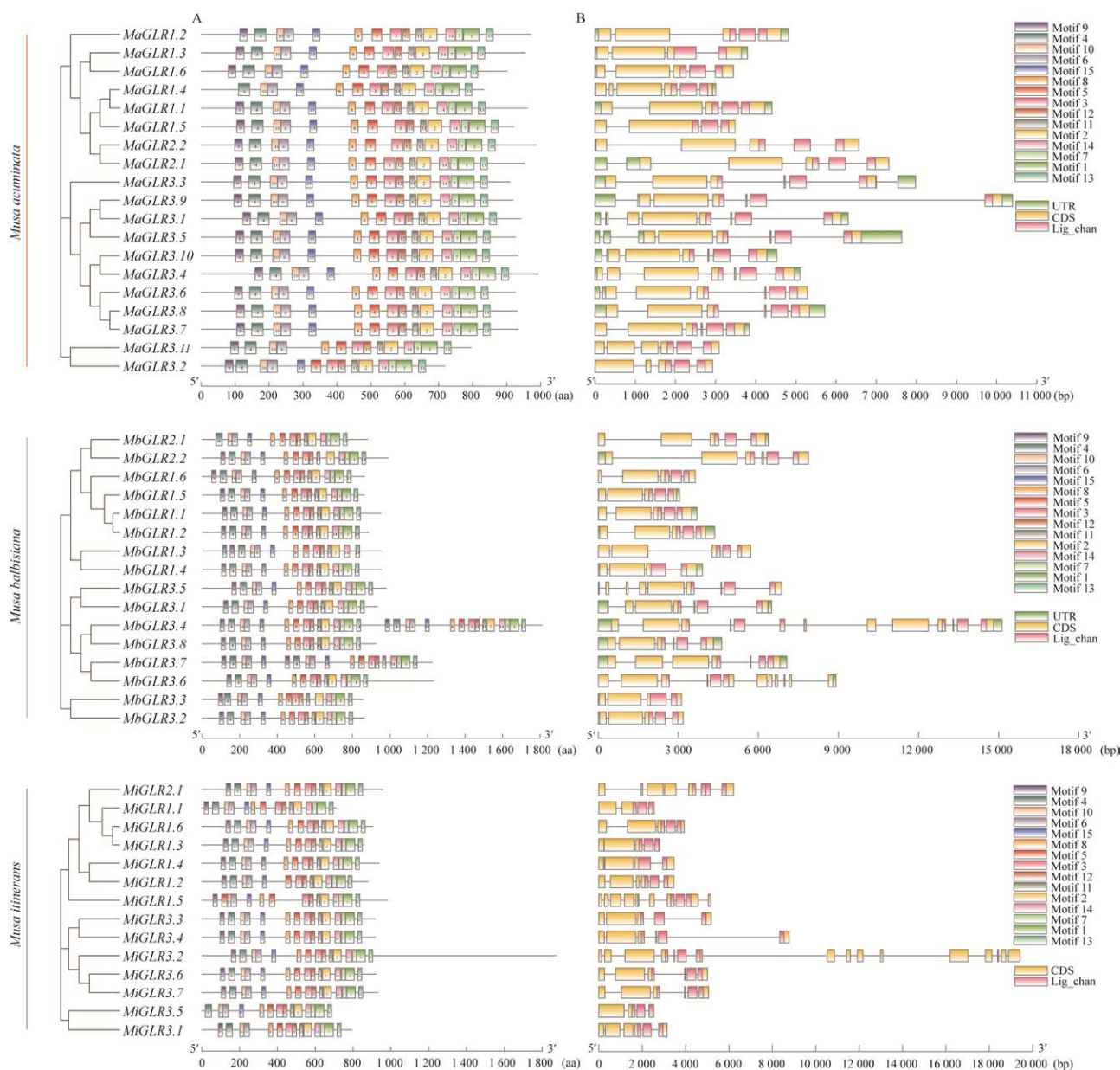


图2 香蕉 *GLR* 家族的基因结构及其蛋白保守基序分布图

Figure 2 Gene structure of *GLRs* and the conserved motifs in their encoded proteins.

外显子。B 基因组 Clade I 和 Clade II 亚族中除 *MbGLR1.4* 含有 4 个外显子、*MbGLR2.2* 含 6 个外显子外，其余 6 个成员均含有 5 个外显子，而 Clade III 亚族成员的外显子数在 4–13 个，其中 *MbGLR3.3* 含有 4 个外显子，*MbGLR3.4* 含有 13 个外显子。阿宽蕉基因组 *MiGLR* 成员的外

显子在 4–16 个，外显子数量差异较大，尤其是 Clade III 亚族成员的外显子数在 4–16 个，其中 *MiGLR3.2* 含有 16 个外显子，*MiGLR3.5* 含有 13 个外显子。在香蕉 A 基因组 *MaGLR* 三个亚族内，其外显子数量接近，而 *MbGLR* Clade III、*MiGLR* Clade I 和 Clade III，亚族内外显子数量

差异较大,可能出现基因功能的分化。结构域分析结果显示,除 *MbGLR3.4* 含有 2 个 Lig_chan 结构域外,其余香蕉 *GLR* 成员均只含有一个结构域。

为了解香蕉 *GLR* 家族基因的蛋白质保守性特点及分布情况,使用保守基序在线分析软件 MEME 以 15 个 motif 为条件对香蕉 *GLR* 家族蛋白序列进行分析(图 2B)。发现香蕉中 *GLR* 家族成员中仅少部分基因存在缺失个别 motif 的情况,其余成员均包含 15 个 motif,说明 *GLR* 是一种结构域高度保守的离子通道家族。

2.4 香蕉 *GLR* 基因家族启动子顺式作用元件预测及转录因子结合位点分析

2.4.1 香蕉 *GLR* 基因家族启动子顺式作用元件分析

对香蕉 *GLR* 启动子区进行顺式作用元件预

测分析(图 3),发现其启动子区域不仅存在大量 CAAT-box 和 TATA-box 核心元件,而且还含有光响应、激素响应、胁迫响应和植物生长发育相关的作用元件。香蕉 *GLR* 基因家族 49 个成员的启动子区共含有 5 种激素响应元件:脱落酸响应元件(44)、茉莉酸甲酯响应元件(40)、赤霉素响应元件(27)、生长素响应元件(18)和水杨酸响应元件(16)。推测 ABA 以及 MeJA 可能在 *GLR* 家族的激素调控途径中扮演重要角色。此外, *GLR* 基因家族成员的启动子区还含有 5 种胁迫响应元件:厌氧诱导(40)、低温胁迫(17)、干旱胁迫(25)、防御和应答(19)和缺氧特异性诱导(8)。*MaGLR3.1* 和 *MiGLR3.3* 富含上述 5 种响应元件,推测其可能在植物抵御胁迫过程中扮演重要角色。另外,香蕉 *GLR* 家族成员还包含多种与植物生长发育相关的元件,如分生组织

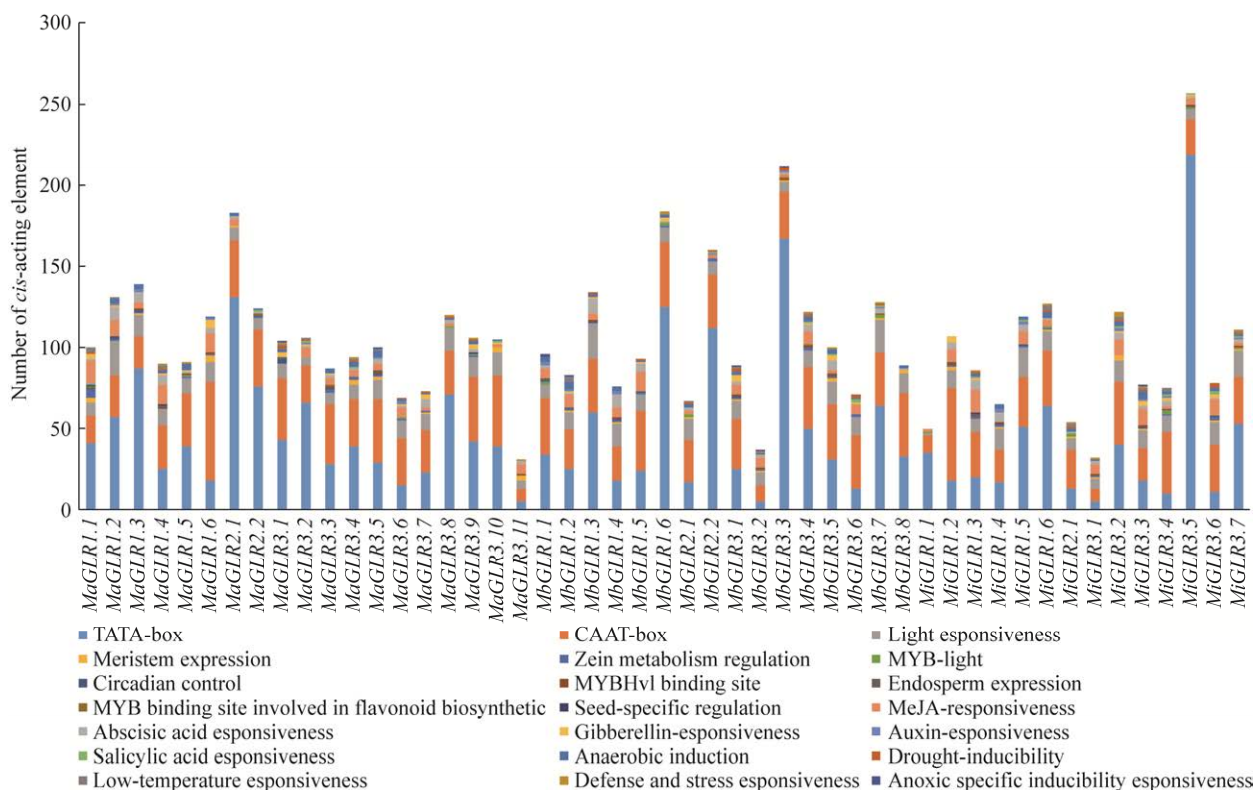


图 3 *GLR* 基因家族启动子顺式作用元件分析

Figure 3 Analysis of *cis*-acting elements of *GLR* gene family promoter.

表达、生理节律、玉米蛋白代谢、胚乳表达、种子特异性、类黄酮合成等功能元件。由上述结果推测,香蕉 *GLR* 生物学功能丰富,在光响应、激素响应、胁迫响应和植物生长发育相关方面起重要作用。

2.4.2 香蕉 *GLR* 基因家族启动子转录因子结合位点分析

为了研究转录因子与香蕉 *GLR* 基因家族的相互作用,对香蕉 *GLR* 启动子区域的转录因子结合位点(transcription factor binding site, TFBS)进行了预测分析。

如图 4 所示,在香蕉 *GLR* 启动子区中总共鉴定出 18 种转录因子结合位点,即 BBR-BPC、MIKC_MADS、AP2、Dof、TALE、bZIP、WRKY、C2H2、ERF、HSF、C3H、EIL、G2-like、GATA、HD-ZIP、MYB、NAC 和 WOX。*MaGLR* 启动子区含有 MIKC_MADS 结合位点的家族成员数最多为 8 个,其次为 Dof 和 bZIP 为 5 个。*MbGLR* 启动子区含有 C2H2 结合位点的家族成员数最多为 6 个,其次为 MIKC_MADS 和 TALE 为 5 个。*MiGLR* 启动子区含有 C2H2、Dof 和 MIKC_MADS 结合位点的家族成员数最多为 5 个。香蕉 *GLR* 启动子区域高度富含 BBR-BPC 和 MIKC_MADS,推测这 2 个转录因子可能和 *GLR* 基因有密切的交互作用。此外各个成员启动子上预测得的 TFBS 种类和数量也有很大差异,*MaGLR3.9* 启动子区含有 TFBS 种类最多为 7 种,*MbGLR1.4* 启动子存在 TFBS 数量最多为 144 个,而 10 个成员的启动子仅存在 1 个 TFBS,*MbGLR1.5*、*MbGLR2.2*、*MiGLR1.1* 和 *MiGLR3.3* 未预测到 TFBS。

2.5 香蕉 *GLR* 基因家族染色体定位和共线性分析

2.5.1 香蕉中 *MaGLR*、*MbGLR* 和 *MiGLR* 基因的扩增模式

图 5 所示,*MaGLR* 在香蕉 A 基因组染色体

上呈不均匀无规则分布。在 2、3、4、5、6、7、9 号染色体上均有分布,9 号染色体上分布最多,含有 6 个成员。*MbGLR* 在香蕉 B 基因组染色体上同样呈不均匀无规则分布。除 8、10、11 号染色体上其余均有分布。6 号染色体上分布最多,含有 4 个成员。香蕉阿宽蕉基因组处于 scaffold 水平(S),*MiGLR* 分布在 13 个 scaffold 上(S2584, S2677, S3732, S463, S5010, S613, S188, S328, S3294, S357, S39, S428, S668),除了 scaffold 463 上包含 2 个基因,其他 12 个 scaffold 上仅含有一个基因。

使用 TBtools 软件分析基因复制事件发现:*MaGLR* 基因家族有 3 对串联重复基因,*MbGLR* 基因家族有 2 对串联重复基因,*MiGLR* 基因家族有 1 对串联重复基因。此外还发现 *MaGLR* 基因家族中的 7 个基因被复制,共产生 7 对片段重复基因,其中 *MaGLR2.1* 和 *MaGLR2.2* 被复制了 3 次。*MbGLR* 基因家族中的 4 个基因被复制,共产生 4 对片段重复基因,其中 *MbGLR2.1* 和 *MbGLR2.2* 被复制了 3 次。*MiGLR* 基因家族中的 2 个基因被复制,产生 1 对片段重复基因。为进一步了解香蕉 *GLR* 基因家族中的进化作用力,对家族中的重复基因序列进行 Ka (非同义替换)和 Ks (同义替换)值计算(表 3)。结果显示,有 12 对同源基因对由于序列离散系数(high sequence divergence value)较大($pS \geq 0.75$),无法计算其 Ks 值,其余 7 对同源基因对的 Ka/Ks 值为 0.159 8–0.301 0,均 <1 ,表明香蕉 *GLR* 基因家族在进化选择过程中受到的是负向选择,即可能受到较强的净化选择压力。

2.5.2 香蕉 *MaGLR*、*MbGLR* 和 *MiGLR* 基因之间的同源区域

通过对香蕉 A 基因组、B 基因组以及阿宽蕉基因组 3 个基因组间进行共线性分析(图 6),发现 *MaGLR* 和 *MbGLR* 间有 27 个基因对,*MaGLR*

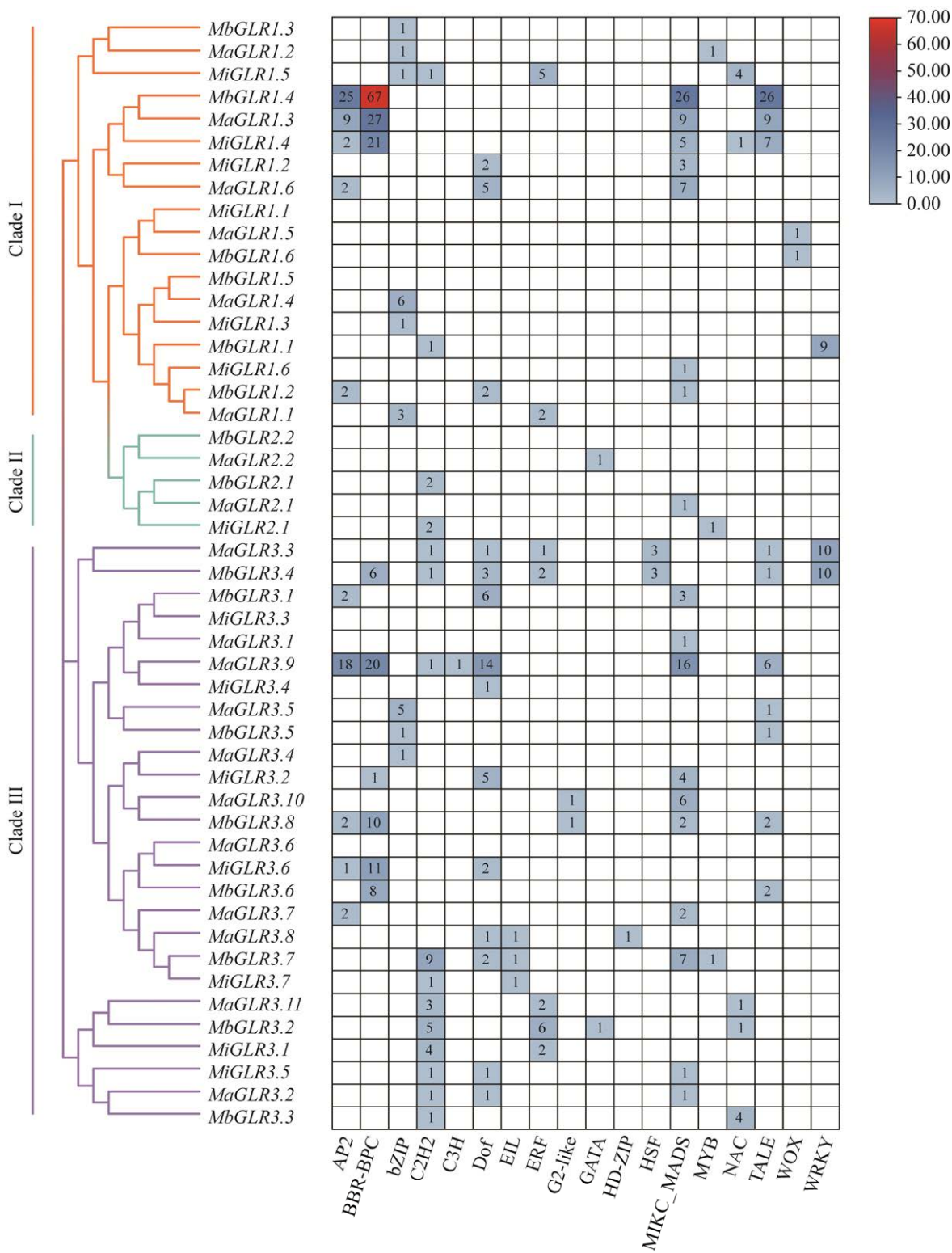


图 4 *GLR* 基因家族启动子的转录因子结合位点分布图
Figure 4 Distribution of transcription factor binding sites in the *GLRs* promoter.

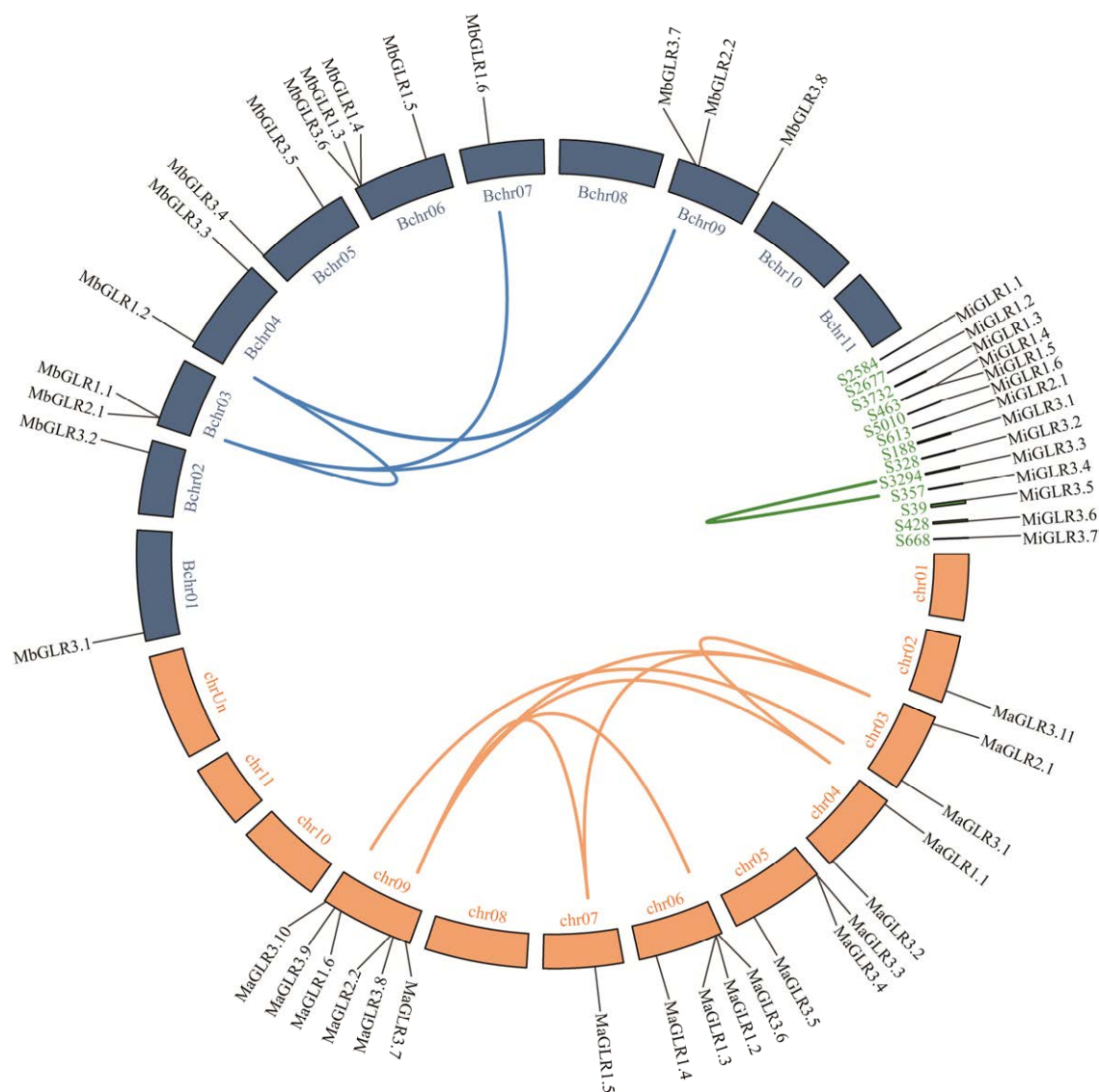


图5 香蕉 *GLR* 基因的染色体定位和共线性分布图

Figure 5 Chromosome localization and collinear distribution of banana *GLR* genes.

与 *MiGLR* 之间有 16 个基因对, *MbGLR* 与 *MiGLR* 之间有 10 个基因对。香蕉阿宽蕉基因组的序列组装是零散的且连续性较差, 处于 scaffold (S) 阶段, 与其他 2 个香蕉种的共线性关系有点难以理解。然而, *MbGLR* 与 *MiGLR* 之间的共线性基因对表明, 香蕉 B 基因组上分布有 *MbGLR* 基因的染色体除 7 号染色体外其他都与阿宽蕉 scaffold 有共线性区域, *MaGLR* 与

MiGLR 之间的共线性基因对表明, A 基因组上分布有 *MaGLR* 基因的染色体都与阿宽蕉 scaffold 有共线性区域, 通过香蕉种间同源性分析发现基因对的数量是保守的。此外, *GLR* 基因家族在香蕉不同基因组间保守性高, 香蕉 A 基因组中 12 个 *MaGLR* (*MaGLR1.1*、*MaGLR1.2*、*MaGLR1.5*、*MaGLR2.1*、*MaGLR3.1*、*MaGLR3.2*、*MaGLR3.3*、*MaGLR3.6*、*MaGLR3.8*、*MaGLR3.9*、

表 3 香蕉 *GLRs* 同源基因对 *Ka/Ks* 分析

Table3 *Ka/Ks* analysis of *GLRs* homologous genes

Duplication type	Gene name	Gene ID	Gene name	Gene ID	Ka	Ks	Ka/Ks
Segmental duplication	<i>MaGLR2.1</i>	Ma03_g04810	<i>MaGLR1.1</i>	Ma04_g02140	0.406 7	—	—
	<i>MaGLR2.1</i>	Ma03_g04810	<i>MaGLR1.5</i>	Ma07_g16040	0.388 6	—	—
	<i>MaGLR2.1</i>	Ma03_g04810	<i>MaGLR2.2</i>	Ma09_g13130	0.254 0	1.589 9	0.159 8
	<i>MaGLR3.1</i>	Ma03_g28170	<i>MaGLR3.9</i>	Ma09_g24360	0.081 1	0.449 0	0.180 7
	<i>MaGLR1.1</i>	Ma04_g02140	<i>MaGLR2.2</i>	Ma09_g13130	0.419 5	—	—
	<i>MaGLR1.2</i>	Ma06_g03580	<i>MaGLR2.2</i>	Ma09_g13130	0.446 8	—	—
	<i>MaGLR1.5</i>	Ma07_g16040	<i>MaGLR2.2</i>	Ma09_g13130	0.428 7	—	—
	<i>MbGLR2.1</i>	Mba03_g04770.1	<i>MbGLR1.2</i>	Mba04_g02060.1	0.387 0	—	—
	<i>MbGLR2.1</i>	Mba03_g04770.1	<i>MbGLR1.6</i>	Mba07_g14610.1	0.453 6	—	—
	<i>MbGLR2.1</i>	Mba03_g04770.1	<i>MbGLR2.2</i>	Mba09_g12360.1	0.260 9	1.505 7	0.173 3
	<i>MbGLR1.2</i>	Mba04_g02060.1	<i>MbGLR2.2</i>	Mba09_g12360.1	0.393 0	—	—
	<i>MiGLR3.3</i>	Mi_g018525	<i>MiGLR3.4</i>	Mi_g019533	0.092 9	0.465 6	0.199 6
Tandem duplication	<i>MaGLR1.2</i>	Ma06_g03580	<i>MaGLR1.3</i>	Ma06_g03590	0.454 4	1.590 1	0.285 8
	<i>MaGLR1.2</i>	Ma06_g03580	<i>MaGLR3.6</i>	Ma06_g02150	0.674 0	—	—
	<i>MaGLR1.3</i>	Ma06_g03590	<i>MaGLR3.6</i>	Ma06_g02150	0.683 8	—	—
	<i>MaGLR3.3</i>	Ma05_g00670	<i>MaGLR3.4</i>	Ma05_g00680	0.405 1	—	—
	<i>MbGLR1.1</i>	Mba03_g04780.1	<i>MbGLR2.1</i>	Mba03_g04770.1	0.383 6	—	—
	<i>MbGLR1.3</i>	Mba06_g03250.1	<i>MbGLR1.4</i>	Mba06_g03260.1	0.482 0	1.601 2	0.301 0
	<i>MiGLR1.4</i>	Mi_g023091	<i>MiGLR1.5</i>	Mi_g023092	0.430 9	1.445 5	0.298 1

MaGLR3.10、*MaGLR3.11*)与 B 基因组中的 *MbGLR* 及阿宽蕉基因组中的 *MiGLR* 均存在共线性关系。这些结果表明 *MiGLR* 基因和 *MbGLR* 基因更接近 *MaGLR* 基因，而非它们之间。

2.5.3 香蕉、拟南芥、水稻和玉米 *GLR* 基因之间的进化关系

对香蕉 A 基因组、拟南芥、水稻和玉米 *GLR* 基因之间进行了大规模共线性区域比较，如图 7 所示，发现 10 个 *MaGLR* 与上述植物具有直系同源性。*MaGLR* 中的 5 个基因与拟南芥中的 3 个基因存在 7 个基因对(*MaGLR1.5-AtGLR2.3*、*MaGLR2.2-AtGLR2.3*、*MaGLR2.1-AtGLR2.4*、*MaGLR1.1-AtGLR2.4*、*MaGLR3.5-AtGLR3.2*、*MaGLR1.5-AtGLR2.4*、*MaGLR2.2-AtGLR2.4*)；*MaGLR* 中的 7 个基因与玉米中的 5 个成员存在 11 个基因对(*MaGLR2.1-ZmGLR2.5*、*MaGLR3.1-*

ZmGLR3.7、*MaGLR2.1-ZmGLR2.7*、*MaGLR1.1-ZmGLR2.7*、*MaGLR3.6-ZmGLR3.2*、*MaGLR1.5-ZmGLR2.5*、*MaGLR1.5-ZmGLR2.7*、*MaGLR3.8-ZmGLR3.2*、*MaGLR2.2-ZmGLR2.1*、*MaGLR2.2-ZmGLR2.5*、*MaGLR2.2-ZmGLR2.7*)；*MaGLR* 中的 8 个基因和水稻中的 7 个基因存在 14 个基因对(*MaGLR2.1-OsGLR1.2*、*MaGLR3.1-OsGLR3.1*、*MaGLR2.1-OsGLR4.7*、*MaGLR2.1-OsGLR2.1*、*MaGLR1.1-OsGLR1.2*、*MaGLR1.1-OsGLR4.9*、*MaGLR3.3-OsGLR3.5*、*MaGLR1.5-OsGLR1.2*、*MaGLR1.5-OsGLR4.9*、*MaGLR1.5-OsGLR2.1*、*MaGLR2.2-OsGLR1.2*、*MaGLR3.10-OsGLR3.5*、*MaGLR3.8-OsGLR3.7*、*MaGLR2.2-OsGLR2.1*)。该分析表明，香蕉中 *GLR* 与玉米在进化上同源性更高。其中，在 *MaGLR* 中 Clade II 的两个成员 *MaGLR2.1*、*MaGLR2.2* 与拟南芥、水稻、

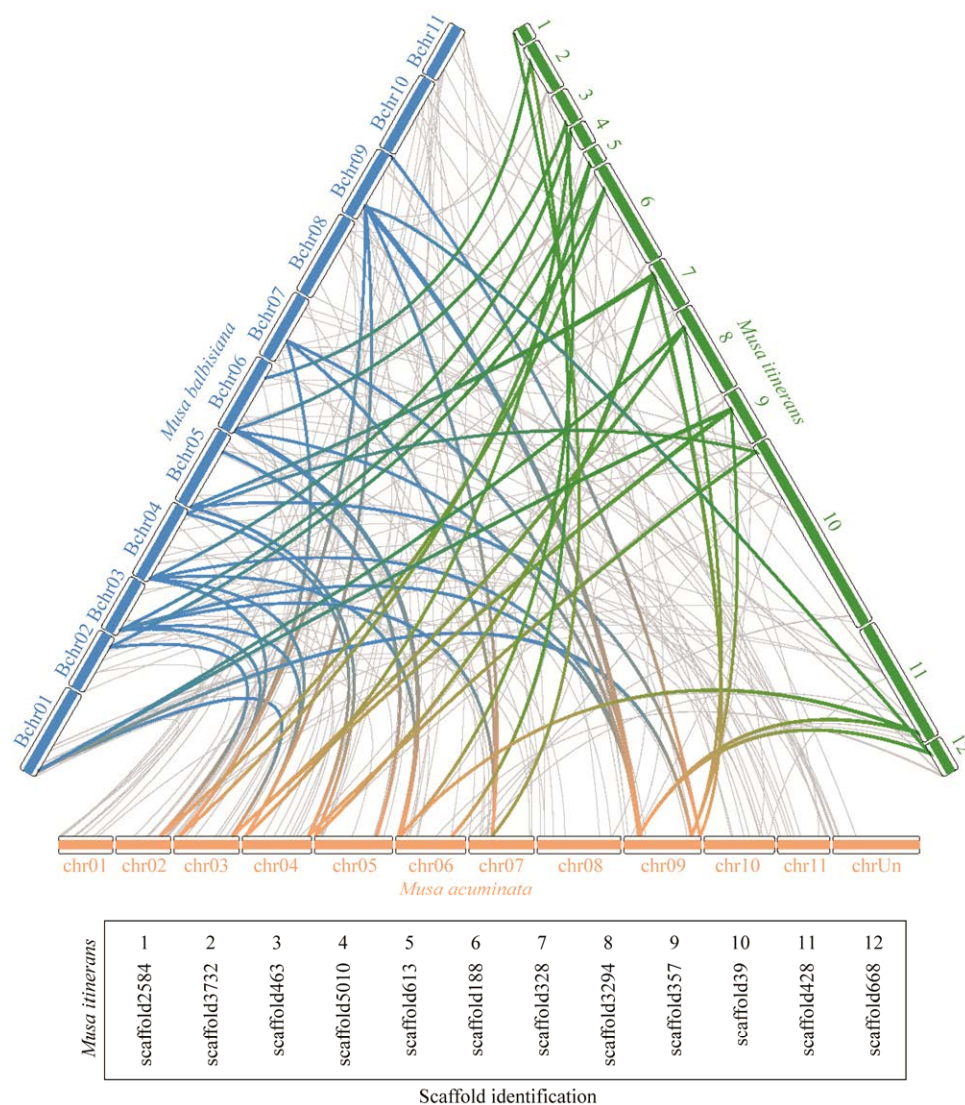


图6 *MaGLRs*、*MbGLRs* 和 *MiGLRs* 之间的共线性关系可视化

Figure 6 Collinearity visualization between *MaGLRs*, *MbGLRs* and *MiGLRs*.

玉米 *GLR* 分别产生了 6 个基因对和 7 个基因对, 表明香蕉 *GLR* 基因的 Clade II 比 Clade I 和 Clade III 与其他植物的 *GLR* 基因成员在进化上更为保守。

2.6 香蕉 *MaGLR* 家族成员在不同温度下表达模式的 FPKM 值分析

为了解 *MaGLR* 在低温胁迫下的表达模式情况, 从三明野生蕉低温转录组中提取 *MaGLR* 基因家族成员 FPKM (fragments per kilobase

million) 值(图 8)。

有一半基因在不同低温胁迫及对照下均不表达, 相较于 28 °C 对照, 4 °C 低温胁迫下 *MaGLR1.1*、*MaGLR1.3*、*MaGLR3.1*、*MaGLR3.5* 显著差异表达, 其他成员表达量变化差异不大, 其中 *MaGLR1.3*、*MaGLR3.1* 表达量显著下降, 而 *MaGLR1.1*、*MaGLR3.5* 表达量显著上升, 预测这两个基因可能在抵抗外界低温胁迫下发挥重要作用。

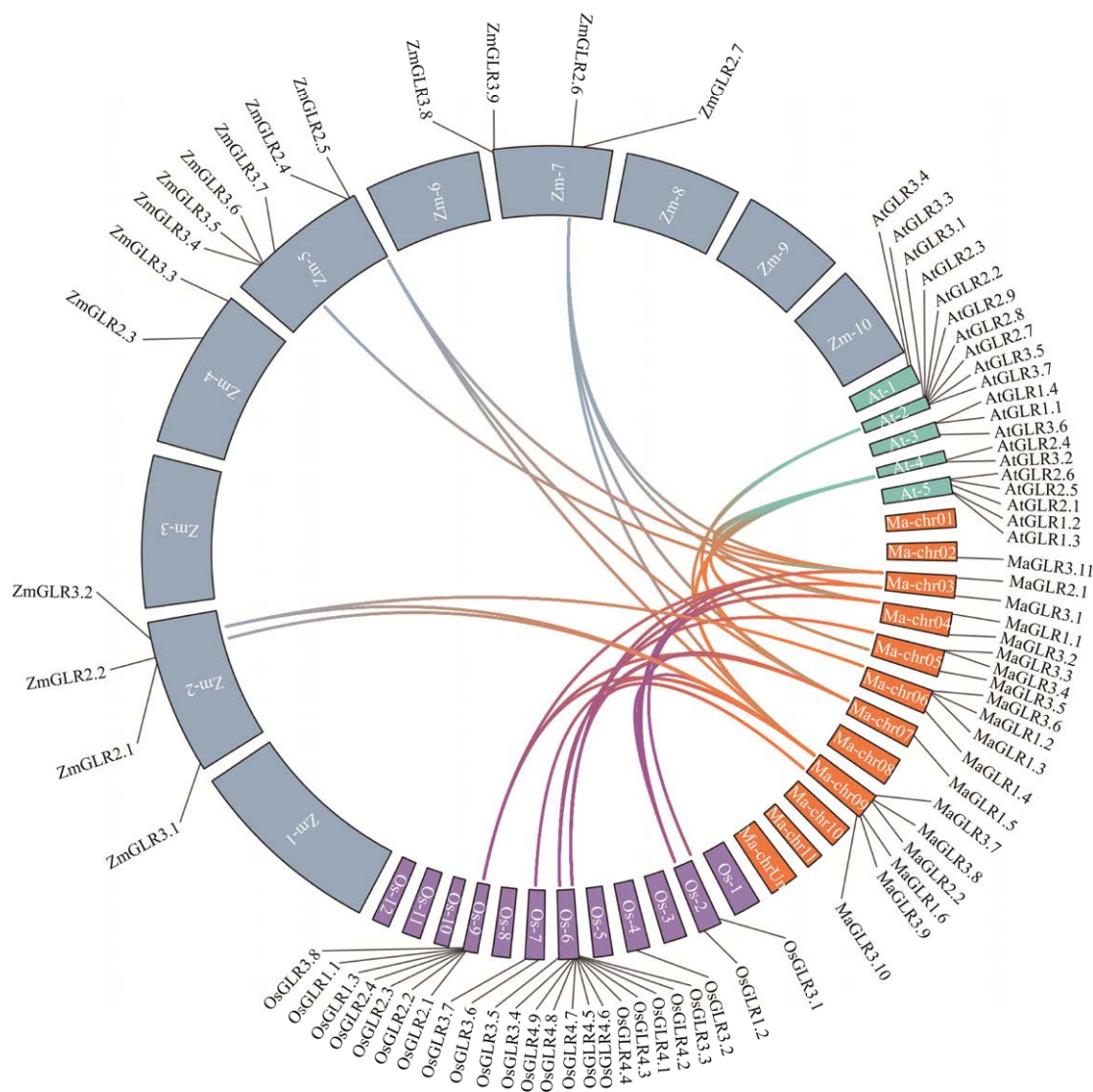


图 7 香蕉、拟南芥、水稻和玉米 *GLR* 基因之间的进化关系

Figure 7 Evolutionary relationships between banana, *Arabidopsis*, rice and maize *GLR* genes.

2.7 香蕉 *GLR* 基因在不同处理下的表达分析

根据三明野生蕉不同低温转录组数据(图 9),发现相较于 28 °C 对照,有 4 个基因在 4 °C 低温胁迫下有明显差异表达,即 *MaGLR1.1*、*MaGLR1.3*、*MaGLR3.1*、*MaGLR3.5*,根据其启动子区域顺式作用元件中激素响应元件和低温响应元件数量,发现 *MaGLR1.1* 和 *MaGLR3.5* 不仅在转录组数据中 4 °C 上调表达,而且其启动子区富含茉莉酸甲酯、脱落酸、低温响应元

件,通过 RT-qPCR 进行验证。

2.7.1 香蕉 *GLR* 基因在低温胁迫处理下的表达分析

通过 RT-qPCR 技术探究 *MaGLR1.1* 和 *MaGLR3.5* 在 4 °C 低温胁迫下不同时间(0、4、8、12、24 h)的表达特征。如图 10 所示,在 4 °C 低温胁迫下,*MaGLR1.1* 和 *MaGLR3.5* 表达量均呈上升趋势,*MaGLR1.1* 在 12 h 时达到表达高峰,在 24 h 时略有下降,*MaGLR3.5* 在 8 h 时达到

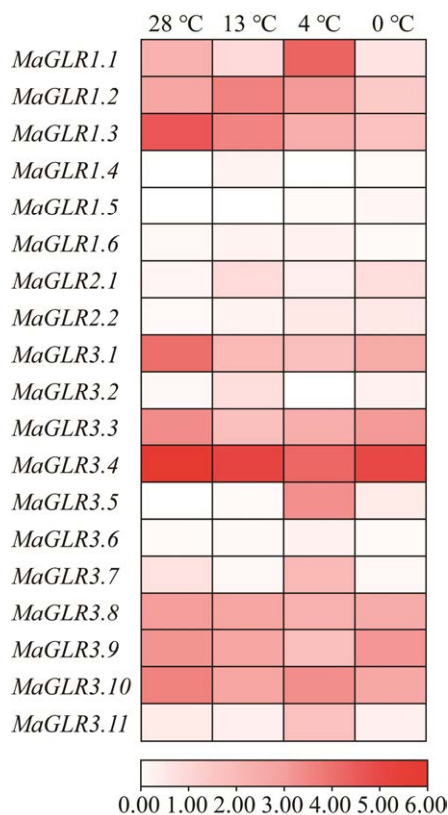


图 8 香蕉 *MaGLR* 家族在不同温度下的表达分析
Figure 8 Expression analysis of banana *MaGLR* family at different temperature.

	MeJA	ABA	GA	IAA	SA	LTR
MaGLR1.1	14	1	3			3
MaGLR1.3	4	6		2		
MaGLR3.1			3			1
MaGLR3.5	4	3		1		1

图 9 香蕉 *MaGLR* 部分成员启动子区域激素、低温响应元件数量
Figure 9 Number of phytohormone, low-temperature response elements of *MaGLR* gene family promoter.

表达高峰后开始下降趋势,但仍高于 4 h。通过 RT-qPCR 验证表明 *MaGLR1.1* 和 *MaGLR3.5* 在 4 °C 低温下均能积极响应,推测其在香蕉抵御低温胁迫过程中发挥重要作用。

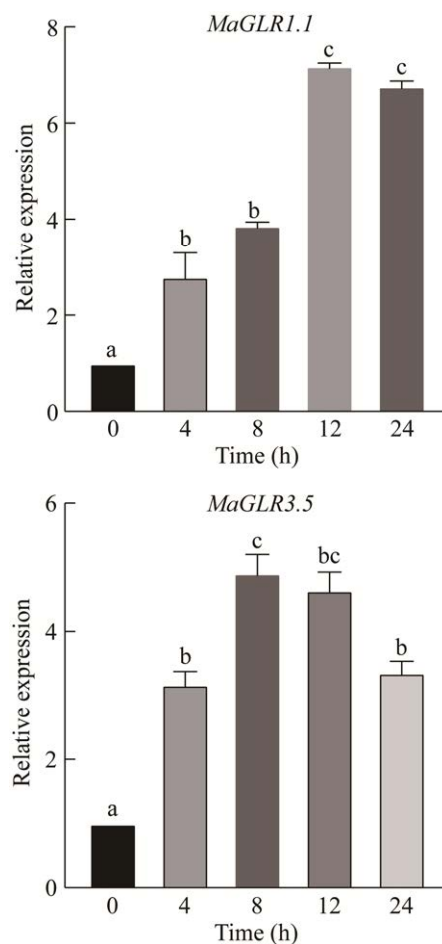


图 10 *MaGLR1.1*、*MaGLR3.5* 在 4 °C 低温处理下的表达分析
Figure 10 Expression analysis of *MaGLR1.1* and *MaGLR3.5* under low temperature treatment at 4 °C. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

2.7.2 香蕉 *GLR* 基因在 ABA、MeJA 处理下的表达分析

根据 *MaGLR* 家族成员的顺式作用元件和转录组数据分析筛选出 2 个基因,通过 RT-qPCR 技术探究 ABA、MeJA 处理在不同时间(4、8、12、24 h)这 2 个 *MaGLR* 成员基因的表达特征。由图 11 可知,ABA 处理下, *MaGLR1.1* 相对表达量在 4 h 时达到峰值后开始下降,在 24 h 再次上升, *MaGLR3.5* 相对表达

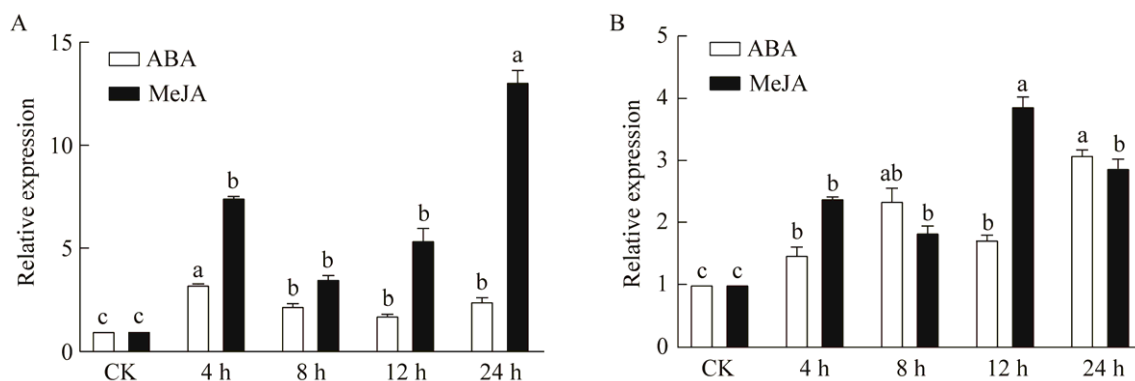


图 11 *MaGLR1.1* (A)、*MaGLR3.5* (B)在 ABA、MeJA 处理下的表达分析

Figure 11 Expression analysis of *MaGLR1.1* (A) and *MaGLR3.5* (B) under ABA and MeJA treatment. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

量整体呈上升趋势。在 MeJA 处理下, *MaGLR1.1* 积极响应, 在 24 h 时相对表达量是未喷施外源 MeJA 的 13 倍, *MaGLR3.5* 在 MeJA 作用下也呈上调表达, 在 ABA 和 MeJA 处理下 2 个基因总体呈上升表达, 表明外源 ABA 和外源 MeJA 促进其表达。

3 讨论

3.1 香蕉 *GLR* 家族成员鉴定与进化特性

GLR 在植物生长发育、响应生物和非生物胁迫中起重要作用, 在拟南芥^[4]、水稻^[8]、梨^[9]、苹果^[10]、番茄^[11]、玉米^[12]、蒺藜苜蓿^[13]等植物中均鉴定获得, 但香蕉 *GLR* 基因家族的研究还未见报道, 本研究从香蕉基因组数据库中鉴定获得香蕉 A 基因组有 19 个 *MaGLR* 家族成员、B 基因组 16 个 *MbGLR* 家族成员、阿宽蕉基因组 14 个 *MiGLR* 家族成员; 通过对蛋白基本理化性质分析发现大多数成员为稳定蛋白, 绝大多数成员具有信号肽, 所有成员均有 3–6 个跨膜结构, 亚细胞定位预测结果显示均定位于质膜上, 已有研究证实了 *GLR* 定位于质膜^[44-47], 这表明 *GLR* 作为 Ca^{2+} 通道上的重要门控离子通道在质膜上发挥作用^[48], *GLR* 受到相应配体的激

活后, 介导 Ca^{2+} 跨质膜流入, 以启动 Ca^{2+} 信号转导下游的一系列生理和发育等生物学过程^[49]。通过基因结构分析, 在香蕉 A 基因组 *MaGLR* 外显子数量接近, 而 *MbGLR* 和 *MiGLR* 部分亚族内外显子数量差异较大, 可能出现基因功能的分化。使用保守基序在线分析香蕉 *GLR* 家族基因的蛋白质保守性特点及分布情况发现, 只有个别成员出现 motif 缺失, *GLR* 是一种结构域高度保守的离子通道家族^[2]。染色体定位发现, *GLR* 在香蕉染色体上呈现不规则分布。在大多数已鉴定出的植物 *GLR* 家族都与拟南芥植物谷氨酸受体一致分为 3 个^[44]进化枝。人们在水稻基因组中发现 24 个 *OsGLR* 基因^[8]分 4 个亚家族, 其中亚家族 I 与 II 可能是姊妹家系, 亚家族 III、II、I 与拟南芥可能有共同的进化祖先, 但是亚家族 VI 是水稻特有的, Singh 等^[45]认为有可能是由上述 3 个亚家族基因中的一个在复制过程中产生的副本进化而来。通过系统进化树分析发现香蕉 *GLR* 与大多数植物 *GLR* 亚族数^[50-51]如拟南芥 *AtGLR-I/-II/-III* 一致分为 3 个亚族。

基因复制是新的蛋白质功能、新的发育和生理途径的重要来源, 基因复制给生物体带来了大量的新基因, 由于不同的选择压力, 这些

新产生的基因可能有不同的命运,如新功能化、亚功能化或去功能化^[52]。因此,基因复制增加了生物复杂性,为适应外部环境的变化提供了丰富的遗传物质基础^[53],以帮助物种适应不断变化的环境,基因复制是进化创新的主要驱动力^[54],也是新功能基因出现甚至是新物种进化的重要过程^[55]。通过分析基因复制事件发现香蕉 *GLR* 基因家族在进化选择过程中可能受到较强的净化选择压力,对香蕉 A 基因组、拟南芥、水稻和玉米 *GLR* 基因之间进行了大规模共线性区域比较,在 *MaGLR* 中 Clade II 成员与拟南芥、水稻、玉米 *GLR* 均产生了多个基因对,表明香蕉 *GLR* 基因的 Clade II 相较于 Clade I 和 Clade III 在进化上更为保守。

3.2 香蕉 *GLR* 可能参与激素代谢通路

通过对香蕉 *GLR* 启动子顺式元件的预测发现,香蕉 *GLR* 启动子富含植物激素响应相关元件(MeJA、ABA、SA、GA、IAA),且已有研究发现 *GLR* 积极响应多种激素调控。拟南芥 *glr3.4* 突变体的种子发芽对 ABA 更敏感,而 *AtGLR3.4* 过表达系的种子发芽对 ABA 的敏感性低于野生型植物^[56],*AtGLR3.7* 过表达株系在 ABA 处理的条件下表现出更高的种子萌发抑制^[57],*ZmBES1* 是油菜素内酯(Brassinolide, BR)信号通路中的关键转录因子,直接靶向并上调 *ZmGLR*,位于生长素信号通路中的 *ZmARF9* 也直接靶向 *ZmGLR* 但抑制其表达,BR 和生长素均通过调控 *ZmGLR* 介导玉米的叶片形态发生^[58]。*AtGLR* 控制成年植物中茉莉酸信号传导(*JAZ* 基因)的几个关键茉莉酸诱导调节的远端伤口刺激表达^[59]。BR 信号协同调节 *OsGLR3.4* 介导的全身伤口反应^[24]。*GLRs* 通过 SA 途径作用于植物的再生,水杨酸受体 *NPRI* 基因的功能缺失具有超强的再生能力,并且能够部分免疫 *GLRs* 的扰动^[60]。本研究中,通过 RT-qPCR 验证 ABA 和 MeJA 处理

下 *MaGLR1.1*、*MaGLR3.5* 总体呈上调表达,推测其可能参与 ABA 和 MeJA 激素信号转导。

3.3 香蕉 *GLR* 可能参与抵御逆境胁迫

香蕉 *GLR* 家族启动子区还富含多种逆境胁迫响应元件,如低温响应元件、缺氧诱导响应元件、厌氧诱导、防御和应答响应元件。研究表明 *GLR* 积极响应非生物胁迫如干旱^[27]、盐胁迫^[28,56,61-62]、低温胁迫^[25-26]等,生物胁迫如枯萎病^[29]、抗真菌感染能力^[63],以及非生物和生物胁迫引起的损伤长距离信号传导^[23-24,59,64-65],已有学者揭示了谷氨酸受体蛋白 *GLR3.3* 的羧基端区域在损伤刺激产生的长距离信号传递过程中的重要作用^[64]。Zheng 等^[26]研究发现 *AtGLR1.2* 和 *AtGLR1.3* 通过激活内源性茉莉酸积累并随后在冷胁迫期间促进下游 CBF/DREB1 冷响应途径以增强拟南芥的耐寒性。结合三明野生蕉低温转录组数据和 RT-qPCR 验证表明 *MaGLR1.1* 和 *MaGLR3.5* 在 4 °C 低温下均积极响应,为后续进一步研究 *GLR* 在香蕉低温胁迫过程中的调控机制奠定了基础。

REFERENCES

- [1] 晏密,陈莫,张薇,胡彦如,卢迎春,和四梅,王继勇,杨生超. 灯盏花 *GLRs* 基因家族鉴定及表达特性分析[J]. 分子植物育种, 2022, 20(9): 2842-2853.
YAN M, CHEN M, ZHANG W, HU YR, LU YC, HE SM, WANG JY, YANG SC. Identification and expression characteristics analysis of *GLRs* gene family of *Erigeron breviscapus*[J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(9): 2842-2853 (in Chinese).
- [2] GONG JK, LIU JZ, RONAN EA, HE FT, CAI W, FATIMA M, ZHANG WY, LEE H, LI ZY, KIM GH, PIPE KP, DUAN B, LIU JF, XU XZS. A cold-sensing receptor encoded by a glutamate receptor gene[J]. Cell, 2019, 178(6): 1375-1386.
- [3] FRANK JT, GANESH RP, MARC WA, PETER VB. The putative glutamate receptors from plants are related to two superfamilies of animal neurotransmitter receptors via distinct evolutionary mechanisms[J]. Molecular Biology and Evolution, 2001, 18(7):

- 1417-1420.
- [4] LAM HM, CHIU J, HSIEH MH, MEISEL L, OLIVEIRA IC, SHIN M, CORUZZI G. Glutamate-receptor genes in plants[J]. *Nature*, 1998, 396(6707): 125-126.
 - [5] LACOMBE B, BECKER D, HEDRICH R, DeSALLE R, HOLLMANN M, KWAK JM, SCHROEDER JI, Le NOVÈRE N, NAM HG, SPALDING EP, TESTER M, TURANO FJ, CHIU J, CORUZZI G. The identity of plant glutamate receptors[J]. *Science*, 2001, 292(5521): 1486-1487.
 - [6] DINGLELINE R, BORGES K, BOWIE D, TRAYNELIS SF. The glutamate receptor ion channels[J]. *Pharmacological Reviews*, 1999, 51(1): 7-61.
 - [7] WEILAND M, MANCUSO S, BALUSKA F. Signalling via glutamate and *GLRs* in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Functional Plant Biology*, 2016, 43(1): 1-25.
 - [8] LI J, ZHU SH, SONG XW, SHEN Y, CHEN HM, YU J, YI KK, LIU YF, KARPLUS VJ, WU P, DENG XW. A rice glutamate receptor-like gene is critical for the division and survival of individual cells in the root apical meristem[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(2): 340-349.
 - [9] 景迎辉. 梨谷氨酸受体家族分析及 *PbrGLR3.3* 的功能验证[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2016.
JING YH. Bioinformatics analysis of glutamate receptor-like gene and the functional identification of *PbrGLR3.3* in *Pyrus*[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Agricultural University, 2016 (in Chinese).
 - [10] 罗华, 胡大刚, 张连忠, 郝玉金. 苹果 *MdGLRs* 家族基因生物信息学鉴定和表达分析[J]. *园艺学报*, 2012, 39(3): 425-435.
LUO H, HU DG, ZHANG LZ, HAO YJ. Bioinformatics and expression analysis of apple *MdGLRs* genes family[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2012, 39(3): 425-435 (in Chinese).
 - [11] AOUMI A, MATSUKURA C, EZURA H, ASAMIZU E. Characterisation of 13 glutamate receptor-like genes encoded in the tomato genome by structure, phylogeny and expression profiles[J]. *Gene*, 2012, 493(1): 36-43.
 - [12] 周生辉, 张磊, 吕欣泽, 黄金光. 玉米 *GLR* 家族基因的鉴定与分析[J]. *玉米科学*, 2021, 29(2): 35-42.
ZHOU SH, ZHANG L, LÜ XZ, HUANG JG. Identification and analysis of *GLR* family genes in maize[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2021, 29(2): 35-42 (in Chinese).
 - [13] PHILIPPE F, VERDU I, MORÈRE-LE PAVEN MC, LIMAMI AM, PLANCHET E. Involvement of *Medicago truncatula* glutamate receptor-like channels in nitric oxide production under short-term water deficit stress[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2019, 236: 1-6.
 - [14] KONG DD, JU CL, PARIHAR A, KIM S, CHO D, KWAK JM. *Arabidopsis* glutamate receptor Homolog3.5 modulates cytosolic Ca^{2+} level to counteract effect of abscisic acid in seed germination[J]. *Plant Physiology*, 2015, 167(4): 1630-1642.
 - [15] SINGH SK, CHIEN CT, CHANG IF. The *Arabidopsis* glutamate receptor-like gene *GLR3.6* controls root development by repressing the Kip-related protein gene *KRP4*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(6): 1853-1869.
 - [16] MICHARD E, LIMA PT, BORGES F, SILVA AC, TERESA PORTES M, CARVALHO JE, GILLIHAM M, LIU LH, OBERMEYER G, FEIJÓ JA. Glutamate receptor-like genes form Ca^{2+} channels in pollen tubes and are regulated by pistil D-serine[J]. *Science*, 2011, 332(6028): 434-437.
 - [17] WUDICK MM, TERESA PORTES M, MICHARD E, ROSAS-SANTIAGO P, LIZZIO MA, NUNES CO, CAMPOS C, SANTA CRUZ DAMINELI D, CARVALHO JC, LIMA PT, PANTOJA O, FEIJÓ JA. Cornichon sorting and regulation of GLR channels underlie pollen tube Ca^{2+} homeostasis[J]. *Science*, 2018, 360(6388): 533-536.
 - [18] ROY BC, MUKHERJEE A. Computational analysis of the glutamate receptor gene family of *Arabidopsis thaliana*[J]. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 2017, 35(11): 2454-2474.
 - [19] HEBDA A, LISZKA A, LEWANDOWSKA A, LYCZAKOWSKI JJ, GABRYŚ H, KRZESZOWIEC W. Upregulation of *GLRs* expression by light in *Arabidopsis* leaves[J]. *BMC Plant Biology*, 2022, 22(1): 1-11.
 - [20] KANG JM, TURANO FJ. The putative glutamate receptor 1.1 (*AtGLR1.1*) functions as a regulator of carbon and nitrogen metabolism in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(11): 6872-6877.
 - [21] KANG JM, MEHTA S, TURANO FJ. The putative glutamate receptor 1.1 (*AtGLR1.1*) in *Arabidopsis*

- thaliana* regulates abscisic acid biosynthesis and signaling to control development and water loss[J]. Plant and Cell Physiology, 2004, 45(10): 1380-1389.
- [22] SIVAGURU M, PIKE S, GASSMANN W, BASKIN TI. Aluminum rapidly depolymerizes cortical microtubules and depolarizes the plasma membrane: evidence that these responses are mediated by a glutamate receptor[J]. Plant and Cell Physiology, 2003, 44(7): 667-675.
- [23] SHAO QL, GAO QF, LHAMO D, ZHANG HS, LUAN S. Two glutamate- and pH-regulated Ca^{2+} channels are required for systemic wound signaling in *Arabidopsis*[J]. Science Signaling, 2020, 13(640): eaba1453.
- [24] YU B, WU Q, LI XX, ZENG RF, MIN Q, HUANG JL. Glutamate receptor-like gene *OsGLR3.4* is required for plant growth and systemic wound signaling in rice (*Oryza sativa*)[J]. New Phytologist, 2022, 233(3): 1238-1256.
- [25] LI HZ, JIANG XC, LV XZ, AHAMMED GJ, GUO ZX, QI ZY, YU JQ, ZHOU YH. Tomato *GLR3.3* and *GLR3.5* mediate cold acclimation-induced chilling tolerance by regulating apoplastic H_2O_2 production and redox homeostasis[J]. Plant, Cell & Environment, 2019, 42(12): 3326-3339.
- [26] ZHENG Y, LUO LD, WEI JJ, CHEN Q, YANG YP, HU XY, KONG XX. The glutamate receptors *AtGLR1.2* and *AtGLR1.3* increase cold tolerance by regulating jasmonate signaling in *Arabidopsis thaliana*[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2018, 506(4): 895-900.
- [27] LU GH, WANG XP, LIU JH, YU K, GAO Y, LIU HY, WANG CG, WANG W, WANG GK, LIU M, MAO GF, LI BF, QIN JY, XIA M, ZHOU JL, LIU JM, JIANG SQ, MO H, CUI JT, NAGASAWA N, et al. Application of T-DNA activation tagging to identify glutamate receptor-like genes that enhance drought tolerance in plants[J]. Plant Cell Reports, 2014, 33(4): 617-631.
- [28] WANG PH, LEE CE, LIN YS, LEE MH, CHEN PY, CHANG HC, CHANG IF. The glutamate receptor-like protein *GLR3.7* interacts with 14-3-3 ω and participates in salt stress response in *Arabidopsis thaliana*[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 1169.
- [29] LIU SM, ZHANG XJ, XIAO SH, MA J, SHI WJ, QIN T, XI H, NIE XH, YOU CY, XU Z, WANG TY, WANG YJ, ZHANG ZN, LI JY, KONG J, AIERXI A, YU Y, LINDSEY K, KLOSTERMAN SJ, ZHANG XL, et al. A single-nucleotide mutation in a glutamate receptor-like gene confers resistance to *Fusarium* wilt in *Gossypium hirsutum*[J]. Advanced Science, 2021, 8(7): 2002723.
- [30] BAURENS FC, BOCS S, ROUARD M, MATSUMOTO T, MILLER RN, RODIER-GOUD M, MBÉGUIÉ-A-MBÉGUIÉ D, YAHIAOUI N. Mechanisms of haplotype divergence at the RGA08 nucleotide-binding leucine-rich repeat gene locus in wild banana (*Musa balbisiana*)[J]. BMC Plant Biology, 2010, 10(1): 1-16.
- [31] GAYRAL P, BLONDIN L, GUIDOLIN O, CARREEL F, HIPPOLYTE I, PERRIER X, ISKRA-CARUANA ML. Evolution of endogenous sequences of *Banana streak virus*: what can we learn from banana (*Musa* sp.) evolution?[J]. Journal of Virology, 2010, 84(14): 7346-7359.
- [32] 李瑞珍. 香蕉 1-氨基环丙烷-1-羧酸合成酶(ACS)反义基因植物表达载体的构建及转化香蕉的研究[D]. 海口: 华南热带农业大学硕士学位论文, 2001.
- LI RZ. Construction of plant expression vector of banana 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase (ACS) antisense gene and its transformation into banana[D]. Haikou: Master's Thesis of South China University of Tropical Agriculture, 2001 (in Chinese).
- [33] WU W, NG WL, YANG JX, LI WM, GE XJ. High cryptic species diversity is revealed by genome-wide polymorphisms in a wild relative of banana, *Musa itinerans*, and implications for its conservation in subtropical China[J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 1-11.
- [34] WU W, YANG YL, HE WM, ROUARD M, LI WM, XU M, ROUX N, GE XJ. Whole genome sequencing of a banana wild relative *Musa itinerans* provides insights into lineage-specific diversification of the *Musa* genus[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 31586.
- [35] YATES AD, ALLEN J, AMODE RM, AZOV AG, BARBA M, BECERRA A, BHAI J, CAMPBELL LI, CARBAJO MARTINEZ M, CHAKIACHVILI M, CHOUGULE K, CHRISTENSEN M, CONTRERAS-MOREIRA B, CUZICK A, Da RIN FIORETTO L, DAVIS P, de SILVA NH, DIAMANTAKIS S, DYER S, ELSER J, et al. Ensembl genomes 2022: an expanding genome resource for non-vertebrates[J]. Nucleic Acids Research, 2022, 50(D1): D996-D1003.
- [36] EDDY SR. Profile hidden Markov models[J]. Bioinformatics, 1998, 14(9): 755-763.
- [37] CHEN CJ, CHEN H, ZHANG Y, THOMAS HR,

- FRANK MH, HE YH, XIA R. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [38] 刘范, 田娜, 孙雪丽, 刘嘉鹏, 伍俊为, 黄玉吉, 程春振. 香蕉 *GLP* 基因家族全基因组鉴定及表达分析[J]. *园艺学报*, 2020, 47(10): 1930-1946.
- LIU F, TIAN N, SUN XL, LIU JP, WU JW, HUANG YJ, CHENG CZ. Genome-wide identification and expression analysis of banana *GLP* gene family[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2020, 47(10): 1930-1946 (in Chinese).
- [39] HAO ZD, LV DK, GE Y, SHI JS, WEIJERS D, YU GC, CHEN JH. RIdiogram: drawing SVG graphics to visualize and map genome-wide data on the idiograms[J]. *PeerJ Computer Science*, 2020, 6: e251.
- [40] JIN JP, TIAN F, YANG DC, MENG YQ, KONG L, LUO JC, GAO G. PlantTFDB 4.0: toward a central hub for transcription factors and regulatory interactions in plants[J]. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(D1): D1040-D1045.
- [41] 陈芳兰. 野生蕉 β -1,3 葡聚糖酶基因克隆及抗寒相关功能分析[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2016.
- CHEN FL. Cloning and cold resistance analysis of β -1,3 glucanase gene (*Mugsp*) from wild banana[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2016 (in Chinese).
- [42] LIU WH, CHENG CZ, LIN YL, XU XH, LAI ZX. Genome-wide identification and characterization of mRNAs and lncRNAs involved in cold stress in the wild banana (*Musa itinerans*)[J]. *PLoS One*, 2018, 13(7): e0200002.
- [43] 孙雪丽. 香蕉 *Aux/IAA* 家族鉴定及其在 *P. indica* 诱导的 FocTR4 抗性中的表达分析[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2019.
- SUN XL. Identification of banana *Aux/IAA* family and its expression analysis in *P. indica*-induced FocTR4 resistance[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2019 (in Chinese).
- [44] CHIU JC, BRENNER ED, DeSALLE R, NITABACH MN, HOLMES TC, CORUZZI GM. Phylogenetic and expression analysis of the glutamate-receptor-like gene family in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2002, 19(7): 1066-1082.
- [45] SINGH A, KANWAR P, YADAV AK, MISHRA M, JHA SK, BARANWAL V, PANDEY A, KAPOOR S, TYAGI AK, PANDEY GK. Genome-wide expressional and functional analysis of calcium transport elements during abiotic stress and development in rice[J]. *FEBS Journal*, 2014, 281(3): 894-915.
- [46] MEYERHOFF O, MÜLLER K, ROELFSEMA MRG, LATZ A, LACOMBE B, HEDRICH R, DIETRICH P, BECKER D. *AtGLR3.4*, a glutamate receptor channel-like gene is sensitive to touch and cold[J]. *Planta*, 2005, 222(3): 418-427.
- [47] TEARDO E, FORMENTIN E, SEGALLA A, GIACOMETTI GM, MARIN O, ZANETTI M, LO SCHIAVO F, ZORATTI M, SZABÒ I. Dual localization of plant glutamate receptor *AtGLR3.4* to plastids and plasmamembrane[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 2011, 1807(3): 359-367.
- [48] 谭艳秋, 孙姝璟, 董静云, 徐伟, 王玲玲, 王永飞. 植物细胞质膜离子通道研究进展[J]. *植物学报*, 2019, 54(1): 102-118.
- TAN YQ, SUN SJ, DONG JY, XU W, WANG LL, WANG YF. Advances in plasma membrane ion channels of plant cells[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2019, 54(1): 102-118 (in Chinese).
- [49] 何明洁, 孙伊辰, 程晓园, 时冬雪, 李迪秦, 陈益银, 冯永坤, 刘璐, 范腾飞, 杨超, 曹凤秋, 刘来华. 植物谷氨酸受体的研究进展[J]. *植物学报*, 2016, 51(6): 827-840.
- HE MJ, SUN YC, CHENG XY, SHI DX, LI DQ, CHEN YY, FENG YK, LIU L, FAN TF, YANG C, CAO FQ, LIU LH. Current research advances on glutamate receptors (*GLRs*) in plants[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2016, 51(6): 827-840 (in Chinese).
- [50] 陈庆. 拟南芥 *AtGLRI* 和 *AtGLRIII* 亚族的基因表达研究[D]. 宁波: 宁波大学硕士学位论文, 2010.
- CHEN Q. Study on gene expressions of *AtGLRI* and *AtGLRIII* subfamilies in *Arabidopsis thaliana*[D]. Ningbo: Master's Thesis of Ningbo University, 2010 (in Chinese).
- [51] 叶放. 拟南芥 *AtGLRII* 亚族的基因表达研究[D]. 宁波: 宁波大学硕士学位论文, 2010.
- YE F. Study on expressions of *AtGLRII* gene subfamily in *Arabidopsis thaliana*[D]. Ningbo: Master's Thesis of Ningbo University, 2010 (in Chinese).
- [52] NADEAU JH, SANKOFF D. Comparable rates of gene loss and functional divergence after genome duplications early in vertebrate evolution[J]. *Genetics*, 1997, 147(3): 1259-1266.

- [53] AMES RM, RASH BM, HENTGES KE, ROBERTSON DL, DELNERI D, LOVELL SC. Gene duplication and environmental adaptation within yeast populations[J]. *Genome Biology and Evolution*, 2010, 2: 591-601.
- [54] SINGH LN, HANNENHALLI S. Functional diversification of paralogous transcription factors *via* divergence in DNA binding site motif and in expression[J]. *PLoS One*, 2008, 3(6): e2345.
- [55] MUKHERJEE D, SAHA D, ACHARYA D, MUKHERJEE A, GHOSH TC. Interplay between gene expression and gene architecture as a consequence of gene and genome duplications: evidence from metabolic genes of *Arabidopsis thaliana*[J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2022, 28(5): 1091-1108.
- [56] CHENG Y, ZHANG XX, SUN TY, TIAN QY, ZHANG WH. Glutamate receptor Homolog3.4 is involved in regulation of seed germination under salt stress in *Arabidopsis*[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2018, 59(5): 978-988.
- [57] QIU XM, SUN YY, WANG JQ, XIANG RH, LI ZG. Involvement of osmoregulation, glyoxalase, and non-glyoxalase systems in signaling molecule glutamic acid-boosted thermotolerance in maize seedlings[J]. *Protoplasma*, 2022, 259(6): 1507-1520.
- [58] WANG CC, ZHANG H, XIA Q, YU JJ, ZHU DY, ZHAO Q. ZmGLR, a cell membrane localized microtubule-associated protein, mediated leaf morphogenesis in maize[J]. *Plant Science*, 2019, 289: 110248.
- [59] MOUSAVI SAR, CHAUVIN A, PASCAUD F, KELLENBERGER S, FARMER EE. Glutamate receptor-like genes mediate leaf-to-leaf wound signalling[J]. *Nature*, 2013, 500(7463): 422-426.
- [60] HERNÁNDEZ-CORONADO M, DIAS ARAUJO PC, IP PL, NUNES CO, RAHNI R, WUDICK MM, LIZZIO MA, FEIJÓ JA, BIRNBAUM KD. Plant glutamate receptors mediate a bet-hedging strategy between regeneration and defense[J]. *Developmental Cell*, 2022, 57(4): 451-465.e6.
- [61] CHEN PY, HSU CY, LEE CE, CHANG IF. *Arabidopsis* glutamate receptor *GLR3.7* is involved in abscisic acid response[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2021, 16(12): 1997513.
- [62] ZHANG H, ZHANG Q, ZHAI H, LI Y, WANG XF, LIU QC, HE SZ. Transcript profile analysis reveals important roles of jasmonic acid signalling pathway in the response of sweet potato to salt stress[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 40819.
- [63] KANG S, KIM HB, LEE H, CHOI JY, HEU S, OH C, KWON S, AN C. Overexpression in *Arabidopsis* of a plasma membrane-targeting glutamate receptor from small radish increases glutamate-mediated Ca^{2+} influx and delays fungal infection[J]. *Molecules and cells*, 2006, 21(3): 418-427.
- [64] WU Q, STOLZ S, KUMARI A, FARMER EE. The carboxy-terminal tail of *GLR3.3* is essential for wound-response electrical signaling[J]. *New Phytologist*, 2022, 236(6): 2189-2201.
- [65] KUMARI A, CHÉTELAT A, NGUYEN CT, FARMER EE. *Arabidopsis* H^{+} -ATPase AHA1 controls slow wave potential duration and wound-response jasmonate pathway activation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(40): 20226-20231.

(本文责编 郝丽芳)