

武兆云,孙聚涛,张智强,等. 普通烟草茉莉酸生物合成途径 3 个基因的分子克隆、表征和表达分析[J]. 江苏农业科学,2022,50(18):75-81. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.18.012

普通烟草茉莉酸生物合成途径 3 个基因的分子克隆、表征和表达分析

武兆云,孙聚涛,张智强,薛刚,杨铁钊

(河南农业大学烟草学院,河南郑州 450002)

摘要:以普通烟草(*Nicotiana tabacum* L.)为材料,同源克隆烟草 *NiLOX*、*NiAOS* 和 *NiAOC* 基因,对其序列进行分析,构建过表达载体并进行低钾胁迫表达分析。蛋白质序列比对和进化树分析结果表明,*NiLOX*、*NiAOS* 分别属于植物脂氧合酶(IPR001246)、细胞色素 P450(IPR002403)家族,其中 *NiAOC* 具有异构酶活性(GO:0016853)。根据氨基酸序列预测结果,*NiAOS*、*NiAOC* 定位于叶绿体,而 *NiLOX* 定位于细胞质。为了对基因功能进行研究,构建 3 个基因的过表达载体。qRT-PCR 分析结果表明,在缺钾条件下,与低钾不耐受(敏感)基因型烟草品种相比,耐低钾基因型中 *NiLOX* 在转录物水平升高得更早且持续时间更长。因此,*NiLOX* 的表达水平可能与烟草植物对低钾胁迫的抗性密切相关。研究结果为揭示 *NiLOX*、*NiAOS* 和 *NiAOC* 在低钾胁迫中的分子机制奠定了研究基础。

关键词:普通烟草;脂氧合酶;丙二烯氧化物合酶;丙二烯氧化物环化酶;分子克隆;生物信息学分析;表达分析

中图分类号:S572.03 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)18-0075-07

茉莉酸主要包括茉莉酸甲酯(MeJA)及其前体茉莉酸(JA)。作为植物生长调节剂,茉莉酸在植物生长发育过程中起着明显作用,如种子萌发、花粉发育等,并能应对病原体感染、机械和害虫、非生物胁迫等^[1-3]。JA 生物合成途径始于 α -亚麻酸^[1-4],由质体内的 13-脂肪氧化酶(LOX)催化,游离 α -亚麻酸转变成 13-氢-过氧十八碳三烯酸[13-(OOH)-18:3]。随后,丙二烯氧化合酶(AOS)将 13-(OOH)-18:3 转化为高度不稳定的丙二烯氧化中间体,随后该中间体受到丙二烯氧化环化酶(AOC)的作用,产生 12-氧代植物二烯酸(12-oxophytodienoic acid, 12-OPDA)。OPDA 随后从质体输送到过氧化物酶体中,在过氧化物酶体中,OPDA 被 OPDA 还原酶 3(OPR3)还原,然后经过 3 轮 β -氧化,产生 JA^[5-6]。

JA 与植物非生物胁迫密切相关。在非生物胁迫

中,干旱对农作物产量的制约最大。关于玉米的研究结果表明,在干旱胁迫下,4 个 LOX 转录本的表达量呈上调趋势,在伸长组织、成熟组织中的表达量最高。在干旱条件下,植物的整体 LOX 活性和丙二醛(MDA)含量与 LOX 转录水平之间存在密切关系。因此可见,茉莉酸含量可能会随脂质氧化胁迫而增加,因为茉莉酸的生物合成包含氧化脂合成^[7]。缺氧对植物生长有严重的不利影响,并会造成严重的农业损失。最近的研究结果表明,外源茉莉酸甲酯可以增强野生型拟南芥对再氧化的耐受性,并且在 JA 生物合成过程中的 *aos* 突变体对再氧化表现出更高的敏感性^[8]。铝毒性是限制酸性土壤作物生产的另一个主要因素。根据 JA 生物合成或信号传导中突变缺陷的表型分析结果,JA 在调节铝胁迫下的根生长抑制中发挥作用,外源施用 JA 增强了铝胁迫下的拟南芥根生长抑制^[9]。

作为植物生长和发育的关键大量营养元素,钾参与许多生理过程,包括酶激活、膜电势维持、电中和、气孔运动和渗透调节^[10]。迄今还没有文献阐明 JA 信号在植物缺钾中的作用,本研究旨在分析 *NiLOX*、*NiAOS* 和 *NiAOC* 基因的分子特性和表达模式,了解其在烟草低钾胁迫下的调控作用,从而揭示 JA 合成途径参与烟草低钾胁迫的分子机制。

收稿日期:2021-10-13

基金项目:中国烟草总公司特色优质烟叶开发重大专项(编号:Ts-01-2011003);河南农业大学科技创新基金(编号:KJGX2015A09);河南省高校重点科研项目(编号:17B210004)。

作者简介:武兆云(1979-),男,安徽马鞍山人,博士,讲师,主要从事烟草育种研究。E-mail:wuzhaoyun@henau.edu.cn。

通信作者:杨铁钊,硕士,教授,主要从事烟草育种研究。E-mail:yangtiezhao@outlook.com。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料和培养 将表面消毒的烟草种子(品种:ND202、NC89)播种在无菌培养皿中。NC89 属于耐低钾品种,ND202 属于低钾敏感品种。将烟草种子置于 K^+ 充足(Hoagland 配方, K^+ 浓度为 6 mmol/L)或低 K^+ (记为 LK, K^+ 浓度为 125 $\mu\text{mol/L}$)的培养基上。LK 培养基由 Hoagland 培养基改良而成,添加 1%(质量浓度)琼脂。

将幼苗置于相对湿度为 70% 的生长室中,在 28 $^{\circ}\text{C}$ 条件下光照培养 16 h,然后在 21 $^{\circ}\text{C}$ 条件下黑暗培养 8 h。光照度约为 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,7 d 后收获新鲜的根,用于基因克隆。本试验于 2021 年 3—8 月在河南农业大学烟草学院育种试验室开展。

1.2 方法

1.2.1 基因克隆 使用 *AtLOX2* (*At3g45140*)、*AtAOS* (*At5g42650*)、*AtAOC* (*At3g25760*) 核苷酸序列作为查询序列,进行 NCBI BLAST 搜索(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>),旨在识别烟草核苷酸收集 NR/NT 数据库中包含 *AtLOX2*、*AtAOS* 和 *AtAOC* 直向同源物的序列,从而搜寻出 *NiLOX1* (X84040)、*NiAOS* (AB778304)和 *NiAOC* (AJ308487)。

用 3 对引物进行 PCR 扩增:*NiLOX1*,上游引物 5' - CGTTTTTCTTGAAGGTTATTGAGAGAG - 3',下游引物 5' - ACAATTTAGAACTGGGCACTTTGTG - 3';*NiAOS*,上游引物 5' - ATGGCAGTAGCAACAGCAAC - 3',下游引物 5' - CTAAGCTCTCTTCAAAGAGGTTATAG - 3';*NiAOC*,上游引物 5' - CCAACACATTTGCAAGTTCATTCC - 3',下游引物 5' - AGAGGAAACCATGAACTTACATTGG - 3'。

从普通烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) cDNA 模板中扩增全长 cDNA,使用扩增整个 cDNA 序列的引物,然后将 *NiLOX*、*NiAOS* 和 *NiAOC* 的扩增片段克隆到 pMD - 19 Simple T 载体 (TaKaRa) 中进行测序分析。

1.2.2 生物信息学分析 用 ClustalW 进行多序列比对分析,用 MEGA 7 构建 *NiLOX*、*NiAOS* 和 *NiAOC* 进化树^[11],设 1 000 次重复,使用默认参数。用 ANTHROPROT 进行氨基酸序列分析^[12]。用 Interpro (<http://www.ebi.ac.uk/interpro/>)扫描蛋白质序列以获取结构信息,用 TargetP 1.1 服务器 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>)分析预

测包含 N 端前序的序列^[13]。用 WoLF PSORT (<https://wolfsort.hgc.jp/>)确认 3 种酶可能的亚细胞定位^[14]。采用全自动蛋白质结构同源建模服务器 SWISS - MODEL (<https://www.swissmodel.expasy.org/>)进行 *NiLOX*、*NiAOS* 和 *NiAOC* 的三级结构预测^[15]。

1.2.3 过表达载体的构建 PCR 生成的包含 *NiLOX* 开放阅读框(ORF)的 *KpnI* - *KpnI* 片段、包含 *NiAOS* 开放阅读框的 *Pst* I - *Pst* I 片段和包含 *NiAOC* 开放阅读框的 *Kpn* I - *Pst* I 片段已被亚克隆到质粒 pCambia1305.1 - GUSplus 上。使用的引物如下:*NiLOX*,上游引物 5' - GGGGTACCATGTTCTTTGGAGAAGATTGTG - 3',下游引物 5' - GGGGTACCCTATATGACACACTGTTAGG - 3';*NiAOS*,上游引物 5' - AACTGCAGATGGCAGTAGCAACAGCAAC - 3',下游引物 5' - AACTGCAGCTAAGCTCTCTTCAAAGAGGT - 3';*NiAOC*,上游引物 5' - GGGGTACCATGGCCACTGCCTCCTCAG - 3',下游引物 5' - AACTGCAGTCAATTAGTGAAATTTTTCAGG - 3'。引物 M13 - R 用于识别片段插入方向,基因融合表达由 CaMV35S 启动子控制。

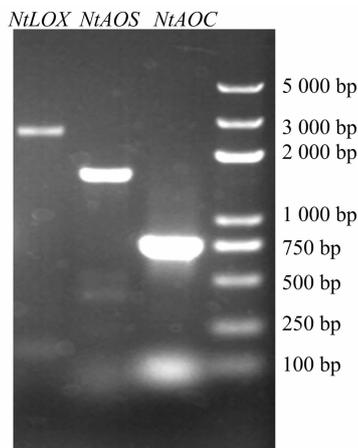
1.2.4 表达分析 在处理 3、4、5、6 周后(weeks after treatment, WAT)收获幼苗。TRIzol[®] 试剂 (Invitrogen 公司,美国)用于从植物样品中提取 RNA。用基因特异性引物对目的基因 *NiLOX*、*NiAOS*、*NiAOC* 和 *NiActin* (登录号:XM_016618658)进行 qRT - PCR。在 PCR 中,使用 SYBR[®] Premix Ex Taq II (TaKaRa Cat. RR820A)试剂盒配制反应溶液,使用 StepOnePlus[™] 系统(应用生物系统)进行 PCR,共设 3 次技术重复。将表达水平标准化为 *NiActin*,然后使用方法计算倍数变化^[16-17]。将以下基因特异性引物用于 qRT - PCR:*NiLOX*,5' - TGCCCTCAGTTCTTGATGGAGT - 3'和 5' - CTTTGCTGCGTTTCCCTTGT - 3';*NiAOS*,5' - GTTCGTCCCATTACTCTC - 3'和 5' - AGGATCGGAAAACCTCTGCC - 3';*NiAOC*,5' - CTCCACCAACTCCAAGTCAT - 3'和 5' - CCCCTTTCTTTTCTCTTCG - 3';和 *NiActin*,5' - AAGGGATGCGAGGATGGA - 3'和 5' - CAAGGAAATCACCGCTTTGG - 3'。

2 结果与分析

2.1 序列的克隆和生物信息学分析

在普通烟草中鉴定了 JA 合成途径中 3 个关键

的基因,分别为 *NtLOX*、*NtAOS* 和 *NtAOC*。*NtLOX* 长 2 831 bp,有 1 个可编码 862 个氨基酸的 ORF,其相对分子量为 97.6 ku。*NtAOS*、*NtAOC* 的长度分别为 1 569、983 bp(图 1)。*NtAOS*、*NtAOC* 分别编码 522、245 个氨基酸的 ORF,相对分子量为 58.9、26.5 ku。



泳道 1、2、3 分别表示 *NtLOX* (2 831 bp)、*NtAOS* (1 569 bp)、*NtAOC* (983 bp) 基因

图 1 烟草 JA 途径中 3 种酶 DNA 的凝胶电泳分析结果

NtLOX 与来自普通烟草、番茄 (*Solanum lycopersicum*)、辣椒 (*Capsicum annuum*) 和渐狭叶烟

草 (*N. attenuate*) 的脂肪氧化酶具有最大的相似度。烟草脂氧合酶与白黄麻 (*Corchorus capasularis*) 具有更高的同一性, *NtLOX* 与 *CeLOX* (登录号: OMO62561) 的氨基酸序列同一性为 73%。

NtAOS 与来自普通烟草、马铃薯 (*Solanum tuberosum*)、辣椒和渐狭叶烟草的丙二烯氧化合酶具有最高的相似度。*NtAOS* 与甜瓜具有较高的氨基酸序列同一性, *NtAOS* 与 *CmAOS1* (登录号: NP_001315375) 之间有 68% 的氨基酸序列同一性。

NtAOC 与来自普通烟草、马铃薯、番茄、苜蓿 (*Hyoscyamus niger*) 和长春花 (*Catharabthus roseus*) 的脂肪氧化酶具有最大的相似性。烟草 AOC 与蒺藜苜蓿 (*Medicago truncatula*) 的同一性更高, *NtAOC* 与 *MtAOC* (登录号 CAI29046) 的氨基酸序列同一性为 65%。

图 2 - A 显示了 *NtLOX* 与其他植物物种特征蛋白之间的关系,其中 *NtLOX* 与 *NbLOX* 之间的关系最密切。图 2 - B 显示了 *NtAOS* 与其他植物物种特征蛋白之间的关系,其中 *NtAOS* 与 *NaAOS* 之间的关系最密切。图 2 - C 显示了 *NtAOC* 与其他植物物种的特征蛋白之间的关系,其中 *NtAOC* 与 *StAOC*、*SIAOC*、*HnAOC*、*LcAOC* 之间的关系最密切。

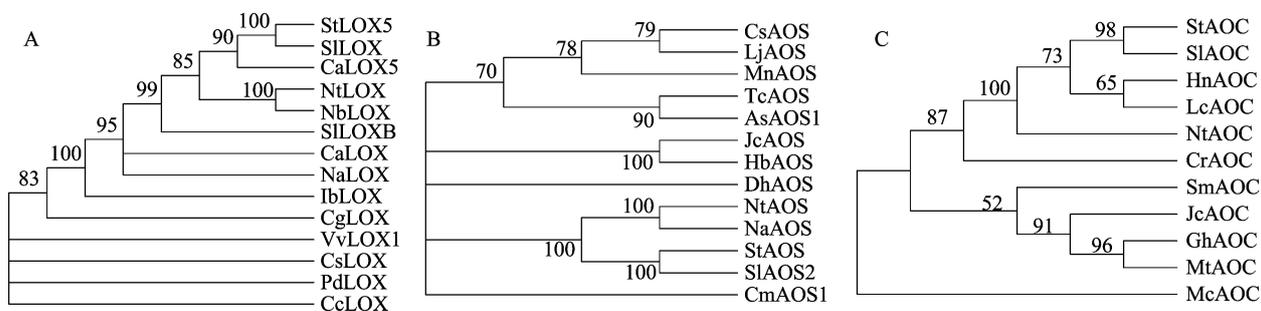


图 2 *NtLOX*(A)、*NtAOS*(B)、*NtAOC*(C)和相关植物蛋白之间的系统发育关系

2.2 *NtLOX*、*NtAOS* 和 *NtAOC* 的结构分析

Interpro 序列分析和分类结果显示, *NtLOX* 属于植物脂肪氧化酶家族 (结构域编号: IPR001246)。*NtLOX* 包含 3 个域: PLAT/LH2 域 (结构域编号: IPR001024, 17 ~ 173 位氨基酸)、结构域 3 (结构域编号: IPR027433, 289 ~ 378 位氨基酸) 和 C 端 (结构域编号: IPR013819, 163 ~ 862 位氨基酸) (图 3 - A)。此外,在 *NtLOX* 的 518 ~ 532 位氨基酸处发现了 1 个铁结合位点。GO 途径和分子功能预测结果^[18] 表明, *NtLOX* 参与氧化还原过程 (GO: 0055114、0016702)。*NtAOS* 是细胞色素 P450、E

类、IV 组 (结构域编号: IPR002403) 家族成员 (图 3 - B)。结构域分析结果表明, *NtAOS* 的 57 ~ 506 位氨基酸将其归类为 SSF48264 超家族的一部分。与 *NtLOX* 类似的是, *NtAOS* 参与氧化还原过程 (GO: 0055114、0016705)。结构域分析结果显示, *NtAOC* 的 73 ~ 245 位氨基酸可能编码属于 SSF141493 超家族的域。分子功能分析结果表明, *NtAOC* 具有异构酶活性 (GO: 0016853, 图 3 - C)。

蛋白激酶 C、酪氨酸激酶和酪蛋白激酶 II 诱导的磷酸化以及 N - 肉豆蔻酰化位点在 *NtLOX*、*NtAOS* 和 *NtAOC* 中高度保守。除了所有 3 种蛋白

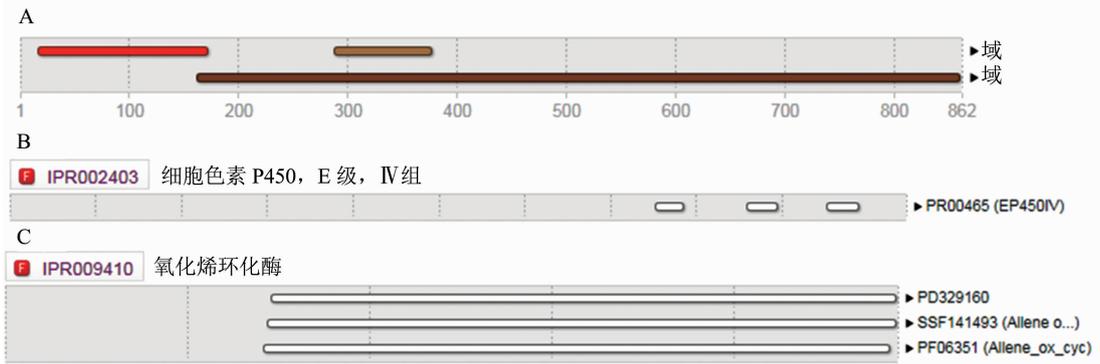


图 A 显示 NtLOX 包含 PLAT/LH2 域(橙色条)、域 3(浅棕色条)和 C-末端(深棕色条)的 3 个域。图 B 显示 NtAOS 是细胞色素 P450, E 级, IV 组 (IPR002403) 家族成员。图 C 显示 NtAOC 属于 SSF141493 超家族

图3 NtLOX (A)、NtAOS (B) 和 NtAOC (C) 的结构分析结果

质共有的位点外,笔者还在 NtLOX 中发现了另外 2 个位点,即 N-糖基化位点、依赖于 cAMP 和 cGMP 的蛋白激酶磷酸化位点。

使用 TargetP 1.1 服务器分析 NtLOX 的亚细胞定位,分别获得了概率值为 0.134、0.093 和 0.040 的叶绿体转运肽(cTP)、线粒体靶向肽(mTP)和信号肽(SP)。NtAOS 的 TargetP 1.1 分析得出的 cTP、mTP、SP 概率值分别为 0.802、0.148、0.127,表明 NtAOS 最有可能位于叶绿体上。NtAOC 的 TargetP 1.1 分析得出的 cTP、mTP、SP 概率值分别为 0.954、0.044、0.005,表明 NtAOC 位于叶绿体中。WoLF PSORT 被用于进一步预测蛋白质的亚细胞定位。结果显示,NtAOS、NtAOC 明确位于叶绿体上,而 NtLOX 定位于细胞质上。不同 LOX 蛋白在不同细胞器中发挥着不同的作用,拟南芥基因组至少包含 4 个 LOX 基因,其中 *AtLOX1* 位于细胞质中,*AtLOX2*

位于质体基质中。与 *AtLOX2* 类似的是,*AtLOX3*、*AtLOX4* 包含叶绿体转运肽序列,但它们被视为质体^[19]。在叶片衰老的过程中,*AtLOX1* 的表达量明显升高,而 *AtLOX2* 的表达量急剧下降^[19]。

NtLOX 的 SWISS-MODEL 预测结果表明,该蛋白质与大豆脂氧合酶(LOX-3) 1rrl.1 相似,在氨基酸模型-模板范围内具有 65.33% 的序列同一性(25~862 位氨基酸,图 4-A)。NtAOS 的全自动蛋白质结构同源性建模结果表明,该蛋白质与拟南芥 AOS 3dsi.1 具有结构相似性,在氨基酸模型-模板范围内(57~522 位氨基酸)中具有 68.63% 的序列同一性(图 4-B)。NtAOC 的蛋白质结构同源性建模结果表明,它在结构上与拟南芥 AOC2 4cq6.1 相似,在氨基酸模型-模板范围内(73~245 位氨基酸)具有 67.43% 的序列同一性(图 4-C)。

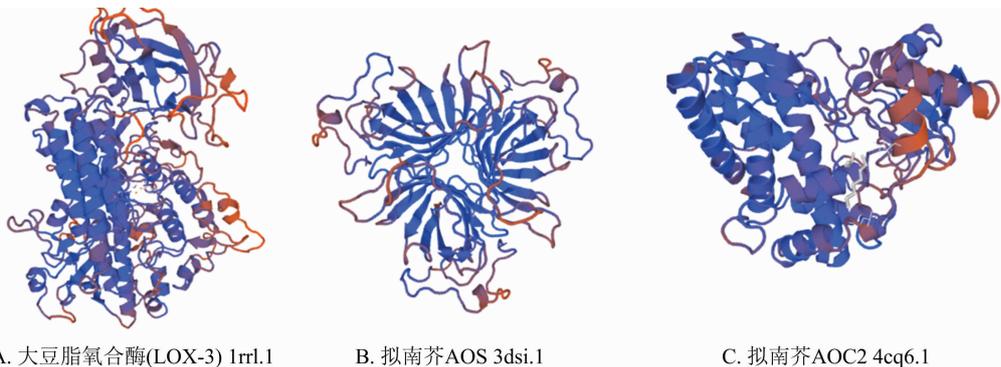


图4 对 NtLOX、NtAOS 和 NtAOC 的 SWISS-MODEL 模型预测结果

2.3 过表达载体的构建

将限制酶消化位点引入开放阅读框中,*Kpn I* - *Kpn I*、*Pst I* - *Pst I* 和 *Kpn I* - *Pst I* 位点分别被引入 *NtLOX*、*NtAOS* 和 *NtAOC*。每个基因序列通过 PCR 扩增(图 5-A),每个片段用相应的限制酶消

化(图 5-B)。将限制性片段亚克隆到质粒 pCambia1305.1-GUSPlus 中。用扩增基因序列的引物鉴定成功转化的含有所需质粒的菌落(图 5-C)。其中引物 M13-R 用于确定 *NtLOX*、*NtAOS* 的插入方向。存在扩增片段表明插入片段处于正向

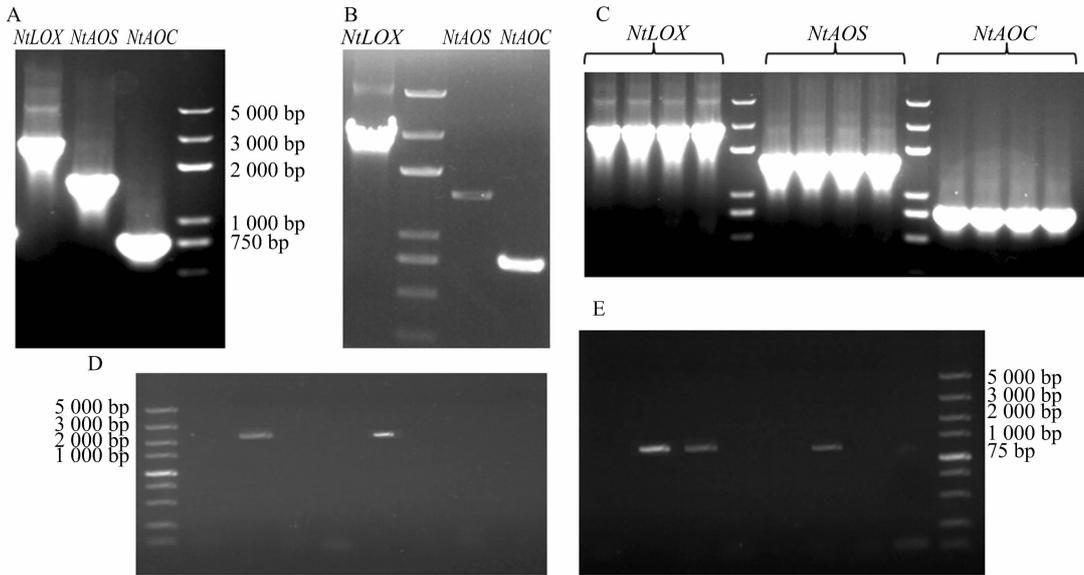


图5 *NiLOX*、*NiAOS* 和 *NiAOC* 的过表达载体构建

(*NiLOX* 对应图 5 - D, *NiAOS* 对应图 5 - E)。

2.4 *NiLOX*、*NiAOS* 和 *NiAOC* 的表达分析

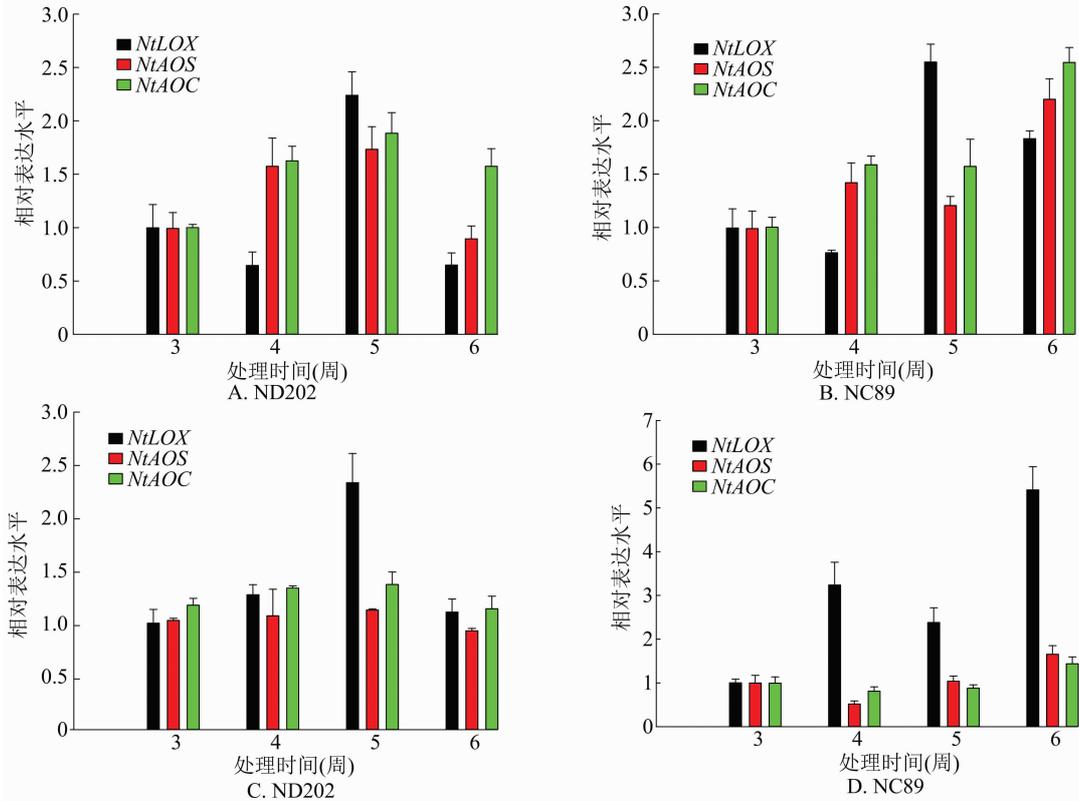
在钾充足的条件下,烟草 ND202 的基因型比 NC89 的基因型积累了更多的钾。然而,ND202 比 NC89 对低钾胁迫更敏感。有趣的是,在 ND202、NC89 植物中,*NiAOS*、*NiAOC* 在钾充足条件下的表达水平高于低钾条件(ND202 对应图 6 - A、图 6 - C;NC89 对应图 6 - B、图 6 - D)。在钾充足条件下,NC89 的 *NiLOX* 相对表达水平在 4、5、6 WAT 时分别是 0.76、2.55、1.83 倍(图 6 - B、图 6 - D)。在缺钾条件下,ND202 的 *NiAOS*、*NiAOC* 表达水平在 4、5、6 WAT 没有明显变化(图 6 - C)。然而,在相同条件下,*NiLOX* 在 5 WAT 转录水平下表达水平明显增加(图 6 - C),NC89 在 4 WAT 的 *NiLOX* 相对表达水平明显改变并持续到 6 WAT。值得注意的是,NC89 的 *NiLOX* 相对表达水平在 4、5、6 WAT 时分别是 3.24、2.38、5.41 倍(图 6 - D)。上述结果表明,无论植物的基因型如何,在钾充足的条件下,*NiAOS*、*NiAOC* 的表达量都会增加(图 6 - A、图 6 - B)。在缺钾条件下,与 ND202 敏感基因型相比,NC89 耐受基因型 *NiLOX* 的表达更为及时,并持续更长时间。由此可见,*NiLOX* 的表达水平可能与植物对低钾胁迫的抗性相关。

有文献报道了拟南芥铝胁迫 3 h 时,与根中 JA 合成相关的基因上调表达,如 *AOS*、*AOC3* 和 *OPR3*。

当铝胁迫持续 6 h 时,*AOS*、*AOC3* 和 *OPR3* 的表达水平下降。然而,铝胁迫对与 JA 生物合成相关的其他基因的表达没有影响,如 *LOX2*、*AOC1* 和 *AOC2*^[9]。据报道,缺钾植物中 JAs、羟基-12-氧代-十八碳二烯酸和 12-氧代-植物二烯酸的水平高于钾充足的植物。在低钾胁迫下,13-LOX 途径中的营养储存蛋白(vegetative storage protein, *VSP*)、*LOX2* 和其他酶的转录水平增加。与对照相比,在 N、P 或 Ca 缺乏条件下生长 2 周的植物中,*LOX2* 或 *VSP2* 的转录水平没有增加。然而,在缺钾植物中,*LOX2*、*VSP2* 转录本大大增加,分别编码 9-LOX 和另一种 13-LOX,同种型的 *LOX1*、*LOX3* 没有太大变化^[20]。本研究结果也表明,并非所有 JA 合成相关基因都对低钾胁迫能作出反应(图 6 - C、图 6 - D)。

3 结论与讨论

越来越多的研究发现,JA 在非生物胁迫中具有重要作用^[7,20-23]。淹水会导致植物缺氧,淹水后暴露于氧气(即再充氧)中称为复氧。参与茉莉酸合成途径的基因(包括 *LOX1-6*、*AOS* 和 *AOC1-4*)的转录水平在复氧过程中上调。外源性 MeJA 的应用提高了拟南芥对复氧胁迫的耐受性,而缺乏 JA 合成(如 *lox2-S* 和 *aos*)和信号通路(如 *jar1-1* 和 *coi1-2*)的突变体对复氧的敏感性增加。*MYC2* 编码 JA 信号传导所必需的关键转录因子。与野生型



A、C—与3 WAT植物相比,在钾充足(A)、缺钾(C)条件下生长的ND202中*NiLOX*、*NiAOS*和*NiAOC*的水平。B、D—与3WAT植物相比,在钾充足(B)、缺钾(D)条件下生长的NC89中*NiLOX*、*NiAOS*和*NiAOC*的水平。在所有qRT-PCR分析中,相对表达水平首先标准化为*NiActin*的表达水平,然后与3 WAT植物的表达水平进行比较(表示为1倍)。获得的结果表示为平均值 \pm SD($n=3$)

图6 *NiLOX*、*NiAOS*和*NiAOC*在钾充足、缺钾条件下的表达水平

相比,MYC2-OE显示出较少的损伤,而*jin1-9*、*myc2-2*突变体在再充氧4 d后显示出更多的损伤。这些发现表明,JA通过激活抗氧化防御系统,成为植物对淹没后复氧反应必不可少的主要上游信号分子,这反过来又有助于减轻复氧引起的氧化损伤,进而提高植物对复氧胁迫的耐受性^[8]。

干旱是作物生产力的主要限制因素。近期的研究发现,JA途径参与了玉米的干旱胁迫。关于玉米微阵列的研究发现,在干旱胁迫下,编码LOX同种型的6种LOX酶中的4种酶的基因(即*LOX2*、*LOX6*、*LOX10*和*LOX11*)的表达水平提高,在伸长、成熟组织中*LOX2*、*LOX10*的表达水平最高。总LOX活性和MDA含量紧随响应干旱的LOX转录谱,向叶的成熟部分增加,表明干旱在叶片的所有区域诱导氧化损伤,成熟组织表现出最强的反应。这些结果表明干旱胁迫会对叶片所有部分造成氧化损伤,在成熟组织中观察到最强的反应。有研究者观察到随着叶片的成熟脂质过氧化,部分LOX活性增强。这些结果可以支持茉莉酸的产生是因为

茉莉酸生物合成涉及通过脂质氧化合成脂氧合物(oxylipins),特别是*LOX6*,其转录水平在胁迫条件下被显著诱导,这是造成根中胁迫诱导茉莉酸积累的原因^[7]。

凭借与生长素、乙烯的相互作用,茉莉酸对调节环境胁迫下的根系生长发育极为有益。例如,由于盐分胁迫,水稻生长普遍受到限制。*aoc*突变体对盐胁迫表现出较弱的敏感性。*Os-cpm2*和*hebiba*突变体可以在其叶片中积累少量 Na^+ ,并且可以更好地清除盐胁迫所产生的活性氧。在应激传导中,野生型叶片及JA突变体可以积累相似数量的脱落酸。在宽型叶片中,JA及其氨基酸结合物(JA-异亮氨酸)的水平变化不大。相比之下,野生型强烈诱导JA前体12-OPDA对盐胁迫作出反应,这在突变体中没有出现。突变体中12-OPDA的缺失不仅与普遍增加的活性氧清除活性相关,而且与抗氧化途径中特定酶的更高活性相关^[24]。外源JA加强了对铝诱导的根生长的抑制。此外,根据JA生物合成或信号传导缺陷突变体的表型分析结果,JA参与调

节了铝诱导的根生长抑制^[9]。总之,JA 对于植物生长的调节是复杂的。

JA 对非生物胁迫具有重要意义。本试验基于 qRT-PCR 分析了在缺钾条件下 2 种基因型品种 JA 合成途径 3 个基因的表达模式,耐低钾基因型 *NiLOX* 表达水平升高更早且持续时间更长,表明 *NiLOX* 的表达水平可能与低钾胁迫的耐性相关。

参考文献:

- [1] Schaller F. Enzymes of the biosynthesis of octadecanoid - derived signalling molecules[J]. *Journal of Experimental Botany*,2001,52(354):11-23.
- [2] Wasternack C, Hause B. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development[J]. *Annals of Botany*,2013,111(6):1021-1058.
- [3] Song S S, Qi T C, Wasternack C, et al. Jasmonate signaling and crosstalk with gibberellin and ethylene[J]. *Current Opinion in Plant Biology*,2014,21:112-119.
- [4] Vick B A, Zimmerman D C. The biosynthesis of jasmonic acid: a physiological role for plant lipoxygenase [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*,1983,111(2):470-477.
- [5] Gomi K. Jasmonic acid pathway in plants 2.0 [J]. *International Journal of Molecular Sciences*,2021,22(7):3506.
- [6] Wasternack C, Song S S. Jasmonates: biosynthesis, metabolism, and signaling by proteins activating and repressing transcription [J]. *Journal of Experimental Botany*,2017,68(6):1303-1321.
- [7] Avramova V, AbdElgawad H, Zhang Z F, et al. Drought induces distinct growth response, protection, and recovery mechanisms in the maize leaf growth zone [J]. *Plant Physiology*,2015,169(2):1382-1396.
- [8] Yuan L B, Dai Y S, Xie L J, et al. Jasmonate regulates plant responses to postsubmergence reoxygenation through transcriptional activation of antioxidant synthesis [J]. *Plant Physiology*,2017,173(3):1864-1880.
- [9] Yang Z B, He C M, Ma Y, et al. Jasmonic acid enhances al - induced root growth inhibition [J]. *Plant Physiology*,2017,173(2):1420-1433.
- [10] Clarkson D T, Hanson J B. The mineral nutrition of higher plants [J]. *Annual Review of Plant Biology*,1980,31:239-298.
- [11] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. *Molecular Biology and Evolution*,2016,33(7):1870-1874.
- [12] Deléage G, Combet C, Blanchet C, et al. ANTHEPROT: an integrated protein sequence analysis software with client/server capabilities [J]. *Computers in Biology and Medicine*,2001,31(4):259-267.
- [13] Emanuelsson O, Brunak S, von Heijne G, et al. Locating proteins in the cell using TargetP, SignalP and related tools [J]. *Nature Protocols*,2007,2(4):953-971.
- [14] Horton P, Park K J, Obayashi T, et al. WoLF PSORT: protein localization predictor [J]. *Nucleic Acids Research*,2007,35:585-587.
- [15] Biasini M, Bienert S, Waterhouse A, et al. SWISS - MODEL: modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information [J]. *Nucleic Acids Research*,2014,42 (Web Server): w252-w258.
- [16] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real - time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method [J]. *Methods* 2001,25(4):402-408.
- [17] Schmittgen T D, Livak K J. Analyzing real - time PCR data by the comparative C_t method [J]. *Nature Protocols*,2008,3(6):1101-1108.
- [18] Finn R D, Attwood T K, Babitt P C, et al. InterPro in 2017 - beyond protein family and domain annotations [J]. *Nucleic Acids Research*,2017,45(D):D190-D199.
- [19] He Y H, Fukushige H, Hildebrand D F, et al. Evidence supporting a role of jasmonic acid in *Arabidopsis* leaf senescence [J]. *Plant Physiology*,2002,128(3):876-884.
- [20] Troufflard S, Mullen W, Larson T R, et al. Potassium deficiency induces the biosynthesis of oxylipins and glucosinolates in *Arabidopsis thaliana* [J]. *BMC Plant Biology*,2010,10(1):172.
- [21] Nikiforova V, Freitag J, Kempa S, et al. Transcriptome analysis of sulfur depletion in *Arabidopsis thaliana*: interlacing of biosynthetic pathways provides response specificity [J]. *Plant Journal*,2003,33(4):633-650.
- [22] Hirai M Y, Fujiwara T, Awazuwara M, et al. Global expression profiling of sulfur - starved *Arabidopsis* by DNA microarray reveals the role of *O* - acetyl - l - serine as a general regulator of gene expression in response to sulfur nutrition [J]. *Plant Journal*,2003,33(4):651-663.
- [23] Maruyama - Nakashita A, Inoue E, Watanabe - Takahashi A, et al. Transcriptome profiling of sulfur - responsive genes in *Arabidopsis* reveals global effects of sulfur nutrition on multiple metabolic pathways [J]. *Plant Physiology*,2003,132(2):597-605.
- [24] Hazman M, Hause B, Eiche E, et al. Increased tolerance to salt stress in OPDA - deficient rice ALLENE OXIDE CYCLASE mutants is linked to an increased ROS - scavenging activity [J]. *Journal of Experimental Botany*,2015,66(11):3339-3352.