

刘茹燕,魏炳峥,占昭宏,等. 水稻 *S*-腺苷甲硫氨酸合成酶基因响应病原菌及外源激素的表达分析[J]. 江苏农业科学,2025,53(4):64-72.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2025.04.008

水稻 *S*-腺苷甲硫氨酸合成酶基因响应病原菌及外源激素的表达分析

刘茹燕,魏炳峥,占昭宏,吴可建,李春霞,陶 均

(海南大学热带农林学院/海南省热带生物资源可持续利用重点实验室,海南海口 570228)

摘要:为了解 *S*-腺苷甲硫氨酸合成酶(SAMS)在水稻逆境响应过程中的作用,首先分析了水稻中 SAMS 的家族成员 *SAM2*(*ZBS2*)、*SAM1*、*METK3*、*ZBS2L* 和 *SAM5* 的同源性及其理化性质,其次分析了它们在水稻原生质体中的定位,最后分析了这些基因响应病原菌和植物激素的表达情况。试验结果表明,SAMS 蛋白具有高度同源性,在水稻细胞质、细胞膜和细胞核中均有表达。水稻白叶枯病菌感染下调 *ZBS2*、*SAM5* 表达,增强 *METK3*、*SAM1*、*ZBS2L* 表达。外源激素处理也影响 SAMS 表达:其中乙烯下调所有 SAMS 表达;赤霉素增强 *METK3* 表达,但减弱 *SAM1*、*SAM5* 表达;水杨酸诱导 *METK3* 表达,但抑制 *ZBS2*、*SAM1*、*ZBS2L* 和 *SAM5* 表达;脱落酸抑制 *ZBS2*、*METK3* 表达。因此,SAMS 家族成员可能调控水稻的抗性反应,但功能和机制存在差异。

关键词:*S*-腺苷甲硫氨酸合成酶(SAMS)基因家族;水稻;抗病响应;白叶枯病菌;外源激素;基因表达

中图分类号:S435.111;S511.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2025)04-0064-09

作为世界主要粮食之一,水稻(*Oryza sativa* L.)长期遭受生物和非生物胁迫。由水稻白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Xoo*)引起的白叶枯病是严重的水稻病害^[1]。在感知到病原体入侵时,植物会迅速激活一个复杂的植物激素信号网络来进行防御。水杨酸(SA)介导植物对生物营养和半

生物营养病原体的抗性,而茉莉酸(JA)则作用于对抗腐生性病原菌^[1-2]。然而脱落酸(ABA)参与植物的防御机制尚未完全探究清楚,有研究表明,JA 或 ABA 单一处理均可增强植物的抗性,但 JA 和 ABA 共处理下植物对于病原菌的防御效果不如 JA 或 ABA 单一处理有效^[3-4]。乙烯(ET)在病原菌与植物的相互作用中具有双重功能:一方面,它能够促进病原菌的侵染;另一方面,ET 也是高等植物抗病反应中的重要信号化合物,能够调控植物的防御反应^[5]。在高等植物中,ET 合成以甲硫氨酸为前体,通过 *S*-腺苷甲硫氨酸合成酶(SAMS)合成 *S*-腺苷甲硫氨酸(SAM),然后转化为 1-氨基环

收稿日期:2025-01-07

基金项目:国家自然科学基金(编号:32460643)。

作者简介:刘茹燕(1999—),女,江西抚州人,硕士研究生,主要从事植物与病原互作机制研究。E-mail:ruyanliu325@163.com。

通信作者:陶 均,博士,教授,主要从事植物与病原互作机制研究。E-mail:taoj2015@126.com。

Methods,2001,25(4):402-408.

[32]赵坤宇,陈甜甜. 棉花转录因子 SRS 基因家族的鉴定与分析[J/OL]. 分子植物育种,2022;1-11(2022-08-04)[2024-01-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220803.1704.014.html>.

[33] Bateman A, Coghill P, Finn R D. DUFs: families in search of function[J]. Acta Crystallographica,2010,66(10):1148-1152.

[34] Ye J, Zhang L L, Zhang X, et al. Plant defense networks against insect-borne pathogens[J]. Trends in Plant Science,2021,26(3):272-287.

[35] Fernandes L B, Ghag S B. Molecular insights into the jasmonate signaling and associated defense responses against wilt caused by *Fusarium oxysporum*[J]. Plant Physiology and Biochemistry,2022,174:22-34.

[36]王月雪,母景娇,王孜逸,等. 大麦 DUF668 家族基因鉴定及表达分析[J]. 麦类作物学报,2024,44(2):158-168.

[37] Li L X, Zhu T T, Song Y, et al. Salicylic acid fights against *Fusarium* wilt by inhibiting target of rapamycin signaling pathway in *Fusarium oxysporum*[J]. Journal of Advanced Research,2022,39:1-13.

[38] Pei Y K, Li X C, Zhu Y T, et al. GhABP19, a novel germin-like protein from *Gossypium hirsutum*, plays an important role in the regulation of resistance to *Verticillium* and *Fusarium* wilt pathogens[J]. Frontiers in Plant Science,2019,10:583.

[39] Zu Q L, Qu Y Y, Ni Z Y, et al. The chalcone isomerase family in cotton: whole-genome bioinformatic and expression analyses of the *Gossypium barbadense* L. response to *Fusarium* wilt infection[J]. Genes,2019,10(12):1006.

丙基-1-羧酸 (ACC), 最终通过 ACC 合成 ET^[6]。其中, S-腺苷甲硫氨酸合成酶 (SAMS) 负责 S-腺苷甲硫氨酸的合成, 在植物响应外界胁迫过程中发挥重要作用。

SAM 广泛存在于生物体中, 并参与多个生理生化过程。它不仅是 ET 和木质素的合成前体, 还能够响应环境胁迫^[7-8]。SAM 也可作为植物铁载体的前体, 参与植物体内铁物质的运输^[9]。此外, 经脱羧和转氨丙基的作用下, SAM 可生成亚精胺、精胺等多胺, 参与细胞生长、凋亡等生理过程^[10-12]。在植物受到病原体入侵时, 部分多胺被多胺氧化酶 (PAO) 氧化分解, 引起下游相关抗病基因和细胞死亡相关基因的表达, 进而响应生物胁迫^[13]。

SAMS 也参与植物对外界胁迫的响应。外施 ABA 可降低番茄 SAMS 基因的表达^[14]。野生大豆 *GsSAMS* 转入水稻后, 可提高水稻过氧化氢酶活性, 进而增强水稻的耐盐性^[15]。缺铁条件下可诱导拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 根部 2 个 SAMS 基因 *AtSAMI* 和 *AtSAM2* 表达, 导致 ET 产量增加^[16]。此外, 其他蛋白也可调控 SAMS, 影响 SAM 和 ET 含量^[17-18]。在水稻中, F-box 蛋白 OsFBK12 靶向降解 OsSAMS1, 影响 ACC 合成, 进而调节叶片衰老和种子大小^[19]。在不同植物中, SAMS 的生理生化功能有所差异, 如大麦 *HvSAM3* 可增强植物耐盐性和耐旱性, 拟南芥 *AtSAM3* 可促进花粉管的生长^[20-21]。

在抗病方面, 如 SA、JA 和 ET 等防御相关植物激素的生物合成可调控植物的抗病响应^[22]。作为植物激素 ET 生物合成的副产物, 氰化物可通过限制植物组织中病原菌的生长, 进而增强植物对稻瘟病菌的抗性^[23]。*SAMI* 不仅通过多胺和 H₂O₂ 增强番茄对碱胁迫的耐受性, 也可增加 ET 含量, 提高水稻抗稻瘟病的能力^[24-25]。然而, 不同物种所具有的 SAMS 基因种数有所不同, Ahmadizadeh 等认为, 水稻有 6 个 SAMS 基因^[26]。但是, 目前对于水稻中 SAMS 基因家族是否受外源激素调控、是否参与抗水稻白叶枯病仍不清楚。因此, 本研究通过生信分析、水稻原生质体亚细胞定位、基因差异表达等分析探究水稻 SAMS 基因家族成员在水稻抗病及激素响应中的作用, 为深入揭示该基因家族的调控功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 植物材料、菌株和质粒

试验于 2024 年

8—12 月在海南大学海南省热带生物资源可持续利用重点实验室中进行。水稻 TP309 和 ZH11 为笔者所在实验室种植并保存, 水稻白叶枯病菌 PXO99^A 由笔者所在实验室保存^[27], 大肠杆菌 DH5 α 购买于北京博迈德公司。本研究中所用质粒包括 pRTVnGFP、ZBS2-GFP、SAMI-GFP、METK3-GFP、ZBS2L-GFP、SAM5-GFP。

1.1.2 引物 本研究所用引物由生工生物科技有限公司合成, 如表 1 所示。

1.2 试验方法

1.2.1 水稻原生质体亚细胞定位 利用引物 92osBifcF/R、SAMS1BifcF/R、SAMS3BifcF/R 和 SAM5likeBifcF/R 分别扩增并纯化回收目的基因 *ZBS2*、*SAMI*、*METK3*、*ZBS2L* 和 *SAM5*。通过无缝克隆技术, 将目的片段连接在 *Kpn* I 酶切后的水稻原生质体亚细胞定位相关载体 pRTVnGFP 上, 获得正确的重组载体菌株 *ZBS2-GFP*、*SAMI-GFP*、*METK3-GFP*、*ZBS2L-GFP* 和 *SAM5-GFP*。利用天根生化科技(北京)有限公司的无内毒素质粒大提试剂盒提取重组质粒 *ZBS2-GFP*、*SAMI-GFP*、*METK3-GFP*、*ZBS2L-GFP* 和 *SAM5-GFP*, 并置于 -20℃ 保存。

以水稻 TP309 幼苗为材料, 参照 PEG 法制备水稻原生质体, 并进行适当修改^[28]。将剥壳消毒的水稻 TP309 种子置于 1/2MS 固体培养基 (2.15 g/L MS、10 g/L 蔗糖、8 g/L 琼脂, pH 值=5.8) 中, 暗培养 12~14 d。将水稻茎切片后, 先置于 109.302 g/L 甘露醇中平衡 10 min, 然后浸于酶解液 (109.3 g/L 甘露醇、1.9 g/L 2-吗啉乙磺酸、3 g/L 纤维素酶 RS、7.5 g/L 离析酶 R10、1 g/L 牛血清白蛋白、0.147 g/L CaCl₂·2H₂O 和 0.03% β -巯基乙醇) 50 r/min 下酶解 3.5 h。利用筛网过滤溶液, 获得滤液, 室温下 100 g 离心 5 min, 弃上清。加入 10 mL W5 (0.391 g/L 2-吗啉乙磺酸、0.373 g/L KCl、9 g/L NaCl 和 18.4 g/L CaCl₂·2H₂O) 润洗沉淀, 再次离心去上清。最后加入 2 mL MMG (109.302 g/L 甘露醇、3.05 g/L MgCl₂·6H₂O 和 0.781 g/L 2-吗啉乙磺酸), 重悬原生质体, 并置于室温暗处保存。

向 100 μ L 原生质体悬浮液中加入 10 μ L 的 0.5 g/L 质粒混合液 (1:1 混合), 轻摇混匀。然后, 加入 110 μ L PEG-CaCl₂ 溶液 (145.748 g/L 甘露醇、0.4 g/L 聚乙二醇 4000 和 0.781 g/L CaCl₂·2H₂O), 轻弹混匀, 室温暗处转化 15 min。加入 440 μ L

表 1 本研究所用引物

引物名称	序列(5'→3')	用途
SAMS1BiFcF	TCCCCGGGTGAGCTCGGTACCATGGCCGCACTTGATACCTT	水稻原生质体亚细胞定位
SAMS1BiFcR	CGCACTAGTAAGCTTGGTACCGGCAGAAGGCTTCTCCCACT	水稻原生质体亚细胞定位
SAMS3BiFcF	TCCCCGGGTGAGCTCGGTACCATGGCTGAGGTTGACACCTT	水稻原生质体亚细胞定位
SAMS3BiFcR	CGCACTAGTAAGCTTGGTACCTGCAGAAGGCTCCTCCCACT	水稻原生质体亚细胞定位
SAMSlikeBiFcF	TCCCCGGGTGAGCTCGGTACCATGGCGCGGAGACGTTTCCT	水稻原生质体亚细胞定位
SAMSlikeBiFcR	CGCACTAGTAAGCTTGGTACCGCGGCAGGTGCCGTTCTTGC	水稻原生质体亚细胞定位
92osBifcF	GGATCCCCGGGTGAGCTCGATGGCGCGGAGACGTTTCCT	水稻原生质体亚细胞定位
92osBifcR	GGCCGCACTAGTAAGCTTGAAGATGCCTTCTCATACT	水稻原生质体亚细胞定位
Osa4337733qF	CGAGACCAAGGCCCATCT	RT - qPCR
Osa4337733qR	GCTATCAACTGCGGCCATCT	RT - qPCR
Osa4326996qF	GTGCAGAAATCACACACGCCG	RT - qPCR
Osa4326996qR	GCCGCCATTTCTATCTGCC	RT - qPCR
Osa4325163qF	AAGCTCTCCGTTCAACCGT	RT - qPCR
Osa4325163qR	ATCTGCTCGCAGAGCTTGCTCTC	RT - qPCR
Osa4327097qF	GAGATCACCACCAAGGCCAG	RT - qPCR
Osa4327097qR	CTCGATGTTGACGAGCACCT	RT - qPCR
OsActin1qF	CCCAAGGCCAATCGTGAGAA	RT - qPCR
OsActin1qR	GCTGACACCATCACCAGAGT	RT - qPCR

W5 溶液,上下缓慢颠倒 2 次,室温下 100 g 离心 5 min,弃上清。加入 400 μL WI 溶液(109.302 g/L 甘露醇,0.298 g/L KCl 和 14.702 g/L 2-吗啉乙磺酸),重悬原生质体,室温培养 12~16 h,置于激光共聚焦显微镜观察。

1.2.2 野生型水稻 ZH11 接种 PXO99^A 从 -80℃ 冰箱中取出菌株 PXO99^A,并在 PSA 固体培养基(10 g/L 胰蛋白胨,10 g/L 蔗糖,1 g/L 谷氨酸钠,15 g/L 琼脂)上活化,28℃ 倒置培养 2 d。用无菌枪头挑取单克隆菌落接种于 5 mL PSA 液体培养基(10 g/L 胰蛋白胨、10 g/L 蔗糖、1 g/L 谷氨酸钠)中,28℃、200 r/min 过夜培养。用灭菌 ddH₂O 将菌液浓度调至 $D_{600\text{ nm}}=1.0$,通过剪叶法接种 ddH₂O、PXO99^A 于生长 30 d 且长势一致的野生型水稻 ZH11 叶片上。接种 0、1、8、48 h 后分别剪取 5 cm 水稻叶片,装于 10 mL 离心管中,液氮速冻,置于 -80℃ 保存。

1.2.3 野生型水稻 ZH11 激素处理 选取生长 30 d 且长势一致的野生型水稻 ZH11,分别喷施 150 mL/盆等体积的 ddH₂O、0.014 47 g/L 乙烯利(ETH)、0.034 64 g/L 赤霉素(GA)、0.013 81 g/L SA 和 0.026 43 g/L ABA 于水稻叶片上。为使激素附着于水稻叶片上,喷施液中各加入 75 μL Silwet L-77。0、1、3 h 后分别剪取 5 cm 水稻叶片,装于 10 mL 离心管中,液氮速冻,置于 -80℃ 保存。

1.2.4 RT - qPCR 利用购于艾科瑞公司的 SteadyPure RNA 提取试剂盒提取植物总 RNA,并使用赛默飞世尔科技公司的 RevertAid 第 1 链 cDNA 合成试剂盒反转录获取 cDNA。然后,使用诺唯赞公司的模板示踪型染料法定量 PCR 检测试剂盒配制 qPCR 反应体系(所用引物见表 1),分装于 96 孔板中,封板并离心。置于美国伯乐公司的 CFX Opus 96 实时荧光定量 PCR 仪进行检测分析,反应条件为:95℃ 预变性 30 s;95℃ 变性 10 s,60℃ 退火 30 s,循环 40 次。待扩增循环结束后,进入熔解曲线,即先升温至 95℃,15 s,再降温至 60℃,1 min,最后加热升温至 95℃,15 s。最后,采用循环阈值法(CT 值法,即 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法)分析基因在不同处理下的相对表达水平。

1.2.5 水稻中 SAMS 的同源性分析 使用 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 搜索并下载日本晴(*Oryza sativa* Japonica Group)中 SAMS 家族成员序列,运用 DNAMAN 软件对它们进行氨基酸序列比对分析。借助 MEGA 6 软件对 SAMS 进行同源分析,构建进化树。

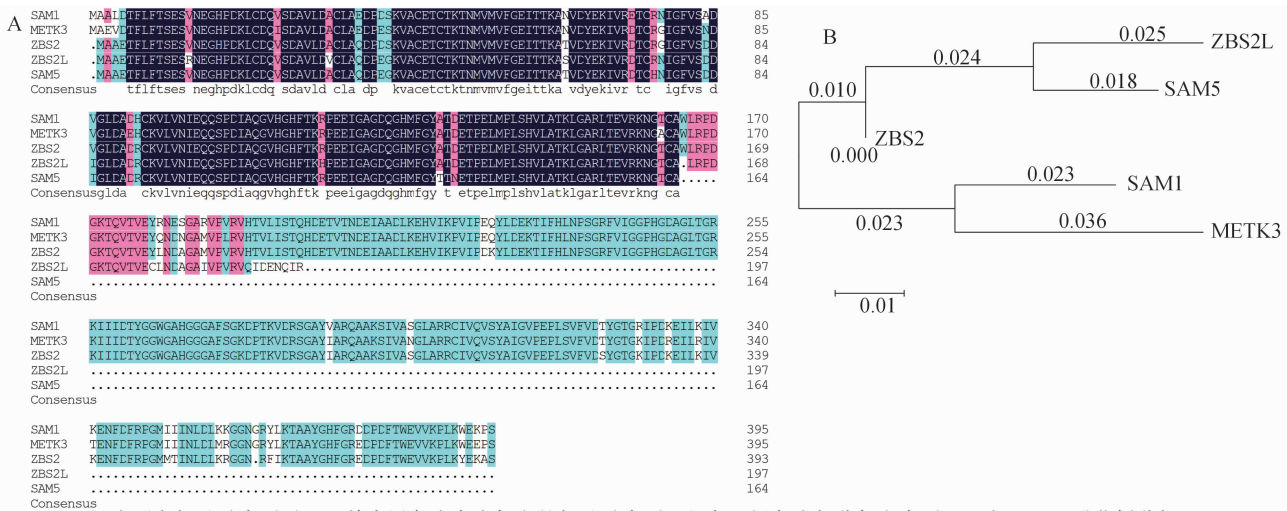
2 结果与分析

2.1 构建 SAMS 家族进化树

SAMS 对植物生长发育至关重要。本研究以水稻 ZBS2 的氨基酸序列为参考,发现水稻有多个

SAMS 基因,日本晴共有 *ZBS2*、*SAM1*、*METK3*、*ZBS2L*、*SAM5* 等 5 个 SAMS 基因。该结果与 Ahmadizadeh 等的研究结果^[26]相似,区别在于本研究所鉴定的 SAMS 以 SAM 合成结构域为基本结构,不含此结构域的被排除在外。序列比对发现它们

具有高度相似性,其高度保守区间位于 N 端(图 1 - A)。进化树分析结果显示,这 5 个蛋白大体分为 2 类: I 类包括 *SAM1* 和 *METK3*; II 类包括 *ZBS2*、*ZBS2L* 与 *SAM5*(图 1 - B)。



A 为蛋白氨基酸序列对比,其中黑色为完全保守的氨基酸序列,红色、绿色为部分保守序列;B 为 SAMS 进化树分析,其中线上数字表示遗传变异度

图1 SAMS 同源进化分析

水稻 SAMS 的分子量在 17.8 ~43.31 ku 之间,等电点 (pI) 小于 7,说明 SAMS 蛋白为酸性蛋白。此外,这 5 种蛋白的亲疏水性均为负值且脂肪族指数偏高,说明它们具有亲水性、可接受温度范围较

宽。*SAM5* 不稳定性指数 II 为 42.34,表明该蛋白不稳定 ($II \geq 40$),而其余蛋白均具有较好的稳定性(表 2)。

表 2 SAMS 蛋白的理化性质

蛋白	氨基酸数 (个)	分子量 (u)	理论等电点	不稳定性指数 II	脂肪族指数	亲疏水性
ZBS2	394	42 900.70	5.68	22.07	81.14	-0.264
SAM1	396	43 219.99	5.74	23.17	82.45	-0.289
METK3	396	43 309.97	5.22	24.46	82.7	-0.274
ZBS2L	197	21 476.23	4.79	37.55	81.12	-0.291
SAM5	164	17 804.05	4.77	42.34	75.49	-0.268

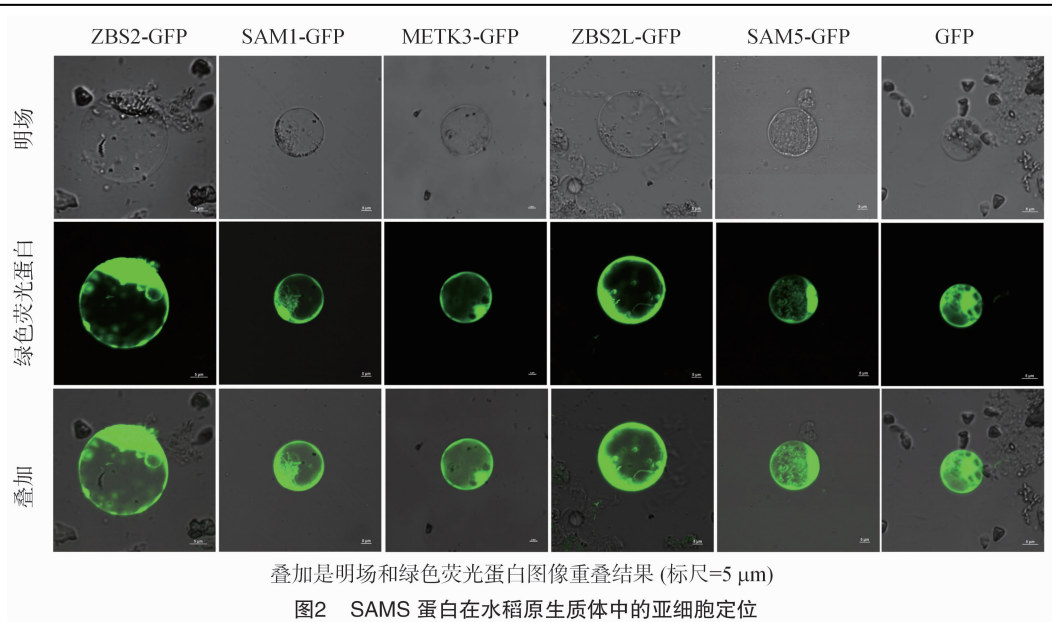
2.2 SAMS 蛋白定位位置

为确定 SAMS 蛋白在水稻细胞内的定位,笔者将目的片段 *ZBS2*、*SAM1*、*METK3*、*ZBS2L*、*SAM5* 与 *gfp* 序列融合的瞬时表达载体,转化水稻原生质体,用激光共聚焦显微镜观察绿色荧光信号。结果显示,在转入空载 GFP 的水稻细胞中,绿色荧光分布于整个细胞上。重组质粒 *ZBS2* - GFP、*SAM1* - GFP、*METK3* - GFP、*ZBS2L* - GFP 和 *SAM5* - GFP 转入水稻细胞内,绿色荧光分布与空载 GFP 没有明显差异,表明这 5 种 SAMS 蛋白在水稻细胞中无特异性定位,均存在于细胞质、细胞膜和细胞核中(图

2),与其他生物中的 SAMS 定位相似^[25,29]。

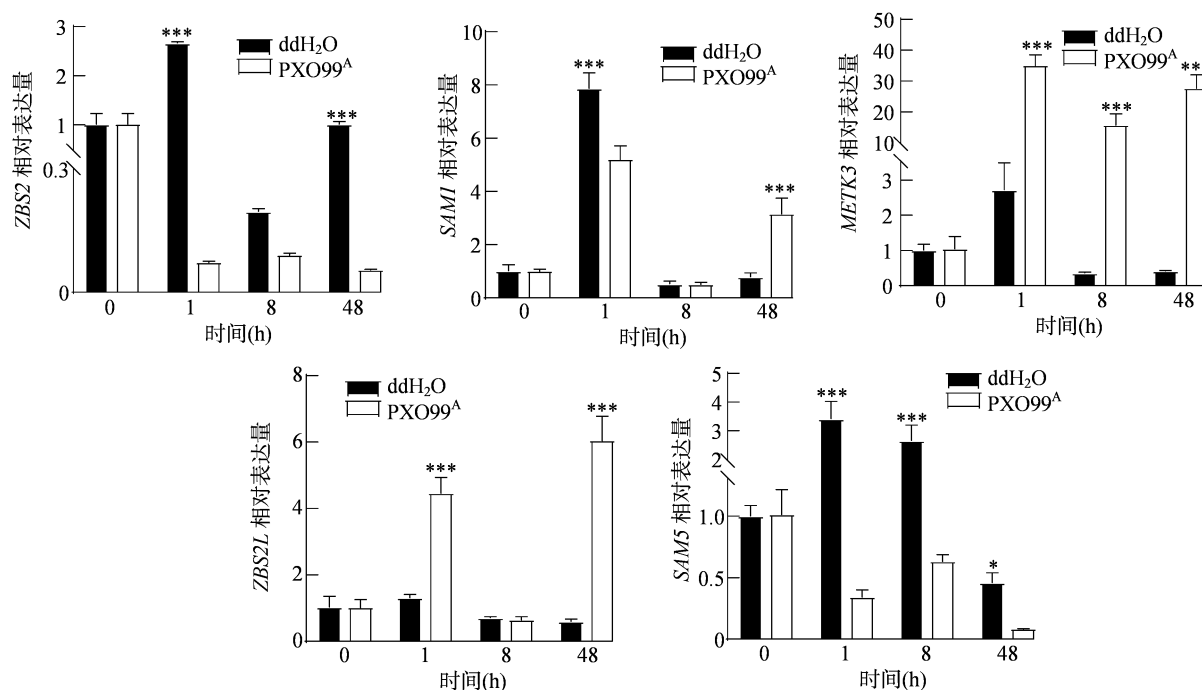
2.3 *Xoo* 侵染改变水稻叶片 SAMS 基因的表达水平

利用 *Xoo* 菌株 PX099^A 侵染野生型水稻 ZH11,分别于 0、1、8、48 h 后取样,提取 RNA,然后 RT - qPCR 分析 SAMS 基因表达变化(图 3)。与对照(接种水)相比,*Xoo* 侵染显著抑制了 *ZBS2* 基因的表达(图 3 - A)。*Xoo* 侵染 1 h 后几乎检测不到 *ZBS2* 的 mRNA,8 h 后虽然有所回升,但仍处于较低状态,且一直低于对照。*SAM1* 的 mRNA 水平仅在接种后 1 h 极显著低于水处理,8 h 与水处理相近,但在接



种后期极显著高于水处理。这暗示 *Xoo* 侵染先抑制水稻 *SAM1* 表达,然后在侵染后期诱导该基因表达(图 3-B)。在 0~48 h 期间,*Xoo* 侵染明显上调了 *METK3* 表达(图 3-C)。*ZBS2L* 的表达量显著高于对照,仅在侵染 8 h 无显著差异(图 3-D),说明 *Xoo* 侵染可诱导该基因表达。*SAM5* 的 RNA 水平在侵染

后均显著低于对照,但随着侵染时间的增加,差异性逐渐缩小,说明该基因表达受 *Xoo* 负调控。综上所述,水稻中 5 个 SAMS 基因可能均参与水稻抗病响应,但各个基因的具体作用可能是不一样的,有的可能正调控水稻抗性(如 *METK3*、*ZBS2L*),有的可能负调控水稻抗性(如 *ZBS2*、*SAM5*)。



*, **, *** 分别表示 *Xoo* 菌株 PXO99^A 侵染处理与水处理在 0.05、0.01、0.001 水平差异显著。图 4 同

图3 *Xoo* 菌株 PXO99^A 侵染引起的 SAMS 基因表达变化

2.4 ETH、GA、SA 和 ABA 调控水稻 SAMS 基因表达

外源激素可通过调控植物体内部分基因的表

达,进而影响酶活性,达到调节植物生长、耐受性等目的^[30-31]。本研究采用同一浓度的 ETH、GA、SA 和 ABA 处理野生型水稻 ZH11 叶片,并通过

RT-qPCR 检测了处理后不同时间点水稻叶片中 SAMS 基因表达的变化情况。

由图 4-A 可知,在不同激素处理下 *ZBS2* 基因的表达变化表现出明显的差异性。与水处理相比,ETH、SA 和 ABA 处理降低了 *ZBS2* 的表达量。具体而言,ETH 和 ABA 处理后 *ZBS2* 表达量随着处理时间的推移而逐渐降低。但 SA 处理后 *ZBS2* 表达量变化不是特别明显。GA 处理后 *ZBS2* 转录水平呈现先增加后降低的特征。这表明 ETH 和 ABA 对 *ZBS2* 基因表达具有显著的抑制作用,而 GA 可能在处理早期快速促进 *ZBS2* 的表达。ETH、GA 和 SA 处理后 *SAM1* 表达量均显著低于水处理,说明这些激素抑制了该基因的表达。但 ABA 处理下,*SAM1* 基因在 1 h 表现出较高的表达量,随后表达量逐渐下降,并显著低于水处理组(图 4-B)。这一变化表明,ABA 在调控 *SAM1* 基因的表达上可能具有一定的时效性。ETH 和 ABA 处理显著抑制了 *METK3* 表达,而 GA 和 SA 处理则显著上调 *METK3* 表达(图 4-C)。该结果暗示,ETH 和 ABA 可能通过抑制 *METK3* 的表达,干扰其相关的代谢途径,而 GA 和 SA 则可能通过激活该基因的表达,促进其代谢产物的合成。由图 4-D 分析可知,ETH 和 SA 处理后 *ZBS2L* 基因的表达量明显低于水处理;ABA 处理后 1 h 该基因表达量显著高于对照,随后才逐渐降低;GA 处理后 *ZBS2L* 的表达水平在初期显著低于水处理,随后逐渐上升,与 ABA 作用效果正好相反。ETH、GA 和 SA 处理后 *SAM5* 基因表达量均显著低于水处理。与水处理相比,在 ABA 处理后 1 h 时 *SAM5* 表达量较低,而在 3 h 后显著高于水处理(图 4-E)。这表明 ABA 可显著促进 *SAM5* 的表达,但响应速度较慢。综上所述,不同外源激素(ETH、GA、SA、ABA)对水稻 SAMS 基因的表达均具有显著的调控作用。

3 讨论与结论

SAM 在植物中参与多种重要生物途径,包括 ET 和多胺等的生物合成、甲硫氨酸代谢、转甲基化和转硫化等^[21,32]。作为植物体内合成 SAM 的关键酶,SAMS 由一个多基因家族编码,不同植物中的 SAMS 基因具有不同的表达模式,且其生理功能也存在差异。氨基酸多序列比对和系统进化树分析(图 1)表明,水稻的 *ZBS2*、*SAM1*、*METK3*、*ZBS2L*、*SAM5* 蛋白具有高度的同源性,可能具有相似的

理化功能。此外,这 5 种蛋白具有相似的理化性质,包括酸性、亲水性强,以及较宽的适用温度范围等(表 2)。*ZBS2*、*SAM1*、*METK3*、*ZBS2L* 和 *SAM5* 在水稻细胞中并未表现出特异性定位,均存在于细胞质、细胞膜和细胞核中(图 2),这表明 SAMS 可能在细胞内的多个部位发挥着功能。

有研究表明,植物 SAMS 受外界胁迫因子调控,并在植物免疫反应中发挥作用。水稻矮缩病(rice dwarf virus, RDV) 侵染可诱导水稻 *SAM1* 基因的表达,增加 *SAM1* 蛋白含量,从而诱导 ET 的合成,增强水稻感病性^[33]。因此,ET 通常被认为是促进植物感病性或加剧病害的信号分子。但是,针对不同病原物,同一个基因在免疫应答中的功能可能不同。例如,*SAM1* 基因缺失同样会削弱水稻对稻瘟病的抗性,但能增强水稻对矮缩病的抗性^[25,33]。本试验发现,接种 *Xoo* 后水稻 *ZBS2* 和 *SAM5* 基因的表达量明显下调,*METK3* 和 *ZBS2L* 的表达量明显上调,*SAM1* 表达量则先下调后上调(图 3)。这与 RDV 处理的结果较为一致,这表明 *ZBS2* 和 *SAM5* 可能通过激活与免疫反应相关的基因,增强水稻的免疫能力,而 *SAM1*、*METK3* 和 *ZBS2L* 则可能通过抑制免疫相关通路,削弱水稻的免疫能力,从而增加 *Xoo* 的侵染率。

作为植物免疫的重要调节因子,植物激素水平变化能够调节免疫系统,保护植物免受病原菌侵害。病原菌与植物互作方式不同,导致不同激素对植物抗病性的影响也存在差异。在小麦中,ET 的生物合成能够增强其对小麦白粉病菌(*Blumeria graminis*)的抗性^[34]。然而,*OsEDR1* 基因的过表达虽然正调控 ET 合成,但会降低水稻对 *Xoo* 的防御能力^[35]。此外,GA 失活酶 *EUI* 负调控 GA 水平和水稻抗病性,说明 GA 可能抑制水稻抗病力^[36]。SA 通过上调烟草 *PR1a*、*PAL* 等抗病相关基因表达,从而增强烟草对烟草花叶病毒的抗性^[37]。同时,SA 激活的 WRKY 转录因子正调控植物对丁香假单胞杆菌的抗性,但负调控植物对灰霉菌(*Botrytis cinerea*)的抗性^[38]。在拟南芥中,VQ1 过表达提高植物 ABA 水平,增强植物抗病性^[39]。然而,ABA 的信号传导也可负调控拟南芥的防御基因表达,削弱植物对黄瓜萎蔫菌的抗性,其中许多防御基因也受 ET 调控^[40]。不同植物激素信号之间相互作用,介导植物胁迫反应。例如,GA 通过降解 DELLA 蛋白来影响 ET 信号通路,SA 可通过降低 ACC 和 ACC 合成

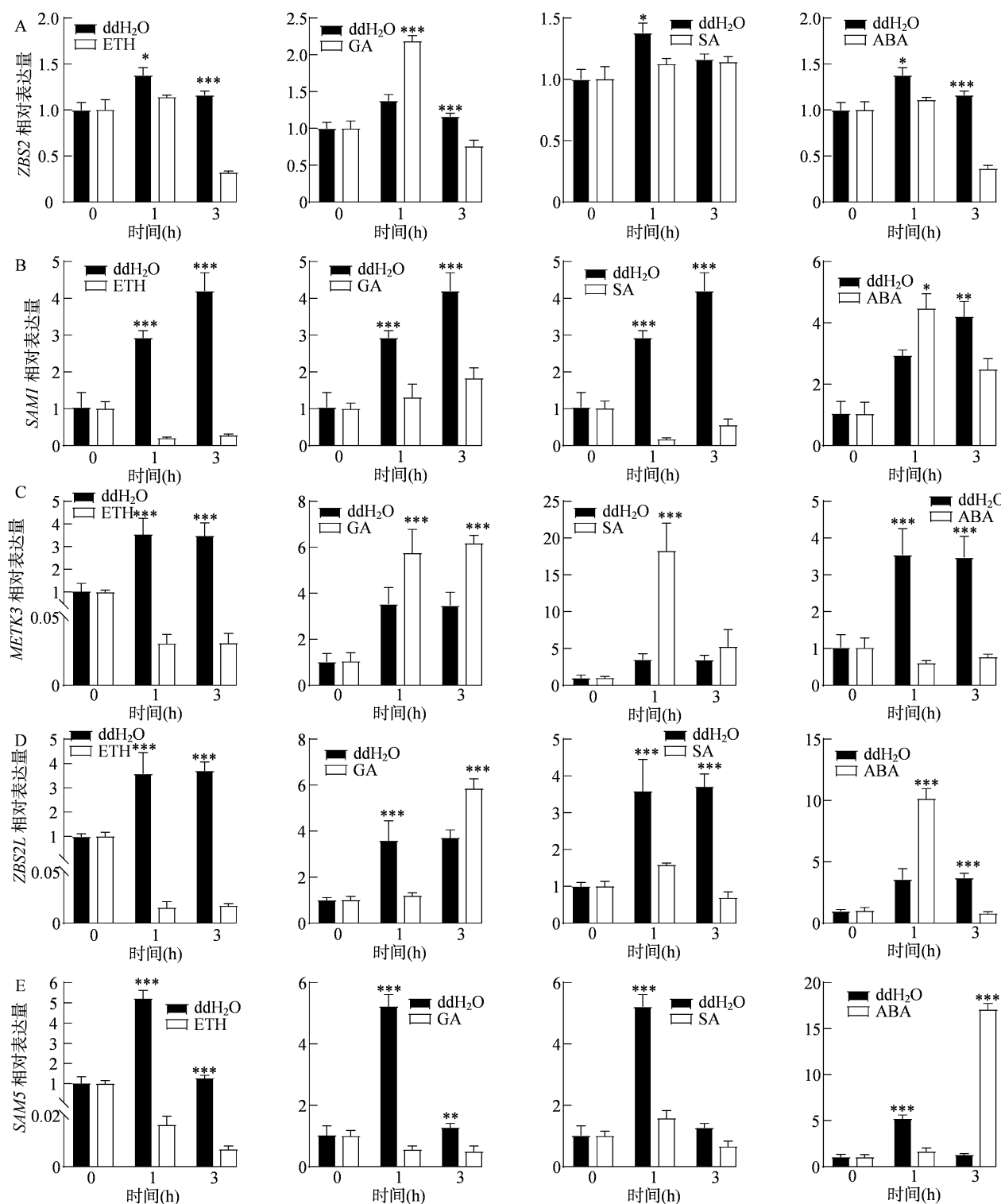


图4 激素处理引起的 SAMS 基因表达变化

酶活性来减少植物 ET 的合成, ABA 则可以抑制拟南芥 *ACS4* 和 *ACS8* 的转录来抑制 ET 的合成^[41-45]。本研究发现, 外源激素 ET、SA 和 ABA 能够下调 *ZBS2* 的表达(图 4-A), 表明这 3 种激素可能通过抑制 *ZBS2* 的表达, 影响 ET 的合成。作为 ET 合成

的正调控因子, *SAM1* 的表达受到 ET、GA 和 SA 的负调控(图 4-B), 这暗示 ET、GA 和 SA 可能通过抑制 ET 的合成, 进而影响植物的抗病性^[25]。此外, ET 和 ABA 可负调控 *METK3* 的转录水平, 而 GA 和 SA 则表现出相反的调控作用(图 4-C), 这表明

ET、ABA 与 GA、SA 之间可能存在拮抗作用。同时, ET 和 SA 通过抑制 *ZBS2L* 和 *SAM5* 的表达, 从而影响植物的抗病性。

总之, 外源激素能够调控水稻 *SAMS* 基因的表达, 影响植物 ET 的合成和抗病性。尽管这些结果为理解 *SAMS* 在水稻中的作用提供了重要的研究依据, 但外源激素是否通过调控 *SAMS* 基因的表达来影响植物的免疫反应, 仍需进一步的研究。

参考文献:

- [1] Zhou J M, Zhang Y L. Plant immunity: danger perception and signaling[J]. Cell, 2020, 181(5): 978–989.
- [2] Mur L A J, Kenton P, Atzorn R, et al. The outcomes of concentration – specific interactions between salicylate and jasmonate signaling include synergy, antagonism, and oxidative stress leading to cell death [J]. Plant Physiology, 2006, 140(1): 249–262.
- [3] Zheng L J, Yang P, Niu Z J, et al. Dissecting *in vivo* responses of phytohormones to *Alternaria solani* infection reveals orchestration of JA – and ABA – mediated antifungal defenses in potato [J]. Horticulture Research, 2022, 9: uhac188.
- [4] Thomas – Sharma S, Abdurahman A, Ali S, et al. Seed degeneration in potato: the need for an integrated seed health strategy to mitigate the problem in developing countries [J]. Plant Pathology, 2016, 65(1): 3–16.
- [5] Ha S T T, Kim Y T, Yeam I, et al. Molecular dissection of rose and *Botrytis cinerea* pathosystems affected by ethylene [J]. Postharvest Biology & Technology, 2022, 194: 112104.
- [6] 夏 婧, 饶玉春, 曹丹芸, 等. 水稻中乙烯生物合成关键酶 OsACS 和 OsACO 调控机制研究进展 [J]. 植物学报, 2024, 59(2): 291–301.
- [7] Fontecave M, Atta M, Mulliez E. S – adenosylmethionine: nothing goes to waste [J]. Trends in Biochemical Sciences, 2004, 29(5): 243–249.
- [8] Shen B J, Li C J, Tarczynski M C. High free – methionine and decreased lignin content result from a mutation in the *Arabidopsis* S – adenosyl – L – methionine synthetase 3 gene [J]. The Plant Journal, 2002, 29(3): 371–380.
- [9] Roje S. S – adenosyl – L – methionine: beyond the universal methyl group donor [J]. Phytochemistry, 2006, 67(15): 1686–1698.
- [10] Bistulfi G, Diegelman P, Foster B A, et al. Polyamine biosynthesis impacts cellular folate requirements necessary to maintain S – adenosylmethionine and nucleotide pools [J]. The FASEB Journal, 2009, 23(9): 2888–2897.
- [11] Corpas F J, del Río L A, Palma J M. Plant peroxisomes at the crossroad of NO and H₂O₂ metabolism [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2019, 61(7): 803–816.
- [12] Agudelo – Romero P, Bortolotti C, Pais M S, et al. Study of polyamines during grape ripening indicate an important role of polyamine catabolism [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2013, 67: 105–119.
- [13] Gholizadeh F, Mirzaghaderi G. Genome – wide analysis of the polyamine oxidase gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.) reveals involvement in temperature stress response [J]. PLoS One, 2020, 15(8): e0236226.
- [14] Heidari P, Mazloomi F, Nussbaumer T, et al. Insights into the SAM synthetase gene family and its roles in tomato seedlings under abiotic stresses and hormone treatments [J]. Plants, 2020, 9(5): 586.
- [15] 才晓溪, 沈 阳, 胡冰霜, 等. 过表达野生大豆 S – 腺苷甲硫氨酸合成酶基因 *GsSAMS* 提高水稻耐盐碱性 [J]. 核农学报, 2022, 36(1): 50–56.
- [16] García M J, Lucena C, Romera F J, et al. Ethylene and nitric oxide involvement in the up – regulation of key genes related to iron acquisition and homeostasis in *Arabidopsis* [J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(14): 3885–3899.
- [17] Ji D C, Cui X M, Qin G Z, et al. SIFERL interacts with S – adenosylmethionine synthetase to regulate fruit ripening [J]. Plant Physiology, 2020, 184(4): 2168–2181.
- [18] Mao D D, Yu F, Li J, et al. *FERONIA* receptor kinase interacts with S – adenosylmethionine synthetase and suppresses S – adenosylmethionine production and ethylene biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. Plant, Cell & Environment, 2015, 38(12): 2566–2574.
- [19] Chen Y, Xu Y Y, Luo W, et al. The F – box protein OsFBK12 targets OsSAMS1 for degradation and affects pleiotropic phenotypes, including leaf senescence, in rice [J]. Plant Physiology, 2013, 163(4): 1673–1685.
- [20] Ahmed I M, Nadira U A, Qiu C W, et al. The barley S – adenosylmethionine synthetase 3 gene *HvSAMS3* positively regulates the tolerance to combined drought and salinity stress in Tibetan wild barley [J]. Cells, 2020, 9(6): 1530.
- [21] Chen Y, Zou T, McCormick S. S – adenosylmethionine synthetase 3 is important for pollen tube growth [J]. Plant Physiology, 2016, 172(1): 244–253.
- [22] Lajeunesse G, Roussin – Léveillé C, Boutin S, et al. Light prevents pathogen – induced aqueous microenvironments via potentiation of salicylic acid signaling [J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 713.
- [23] Seo S, Mitsuhashi I, Feng J, et al. Cyanide, a coproduct of plant hormone ethylene biosynthesis, contributes to the resistance of rice to blast fungus (Article) [J]. Plant Physiology, 2011, 155(1): 502–514.
- [24] Seong E S, Jeon M R, Choi J H, et al. Overexpression of S – adenosylmethionine synthetase enhances tolerance to cold stress in tobacco [J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2020, 67(2): 242–249.
- [25] 杨德卫, 王 勋, 郑星星, 等. *OsSAMS1* 在水稻稻瘟病抗性中的功能研究 [J]. 作物学报, 2022, 48(5): 1119–1128.
- [26] Ahmadzadeh M, Chen J T, Hasanzadeh S, et al. Insights into the genes involved in the ethylene biosynthesis pathway in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa* [J]. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 2020, 18(1): 62.

- [27] Hopkins C M, White F F, Choi S H, et al. Identification of a family of avirulence genes from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* [J]. Molecular Plant – Microbe Interactions, 1992, 5(6): 451 – 459.
- [28] 赖叶林, 贺莹, 李欣欣, 等. 一种植物原生质体分离与瞬时转化的方法[J]. 植物生理学报, 2020, 56(4): 895 – 903.
- [29] Musabyimana J P, Distler U, Sassmannshausen J, et al. *Plasmodium falciparum* S – adenosylmethionine synthetase is essential for parasite survival through a complex interaction network with cytoplasmic and nuclear proteins [J]. Microorganisms, 2022, 10(7): 1419.
- [30] Wang C, Zhang J, Li J, et al. Exogenous methyl jasmonate regulates endogenous hormone synthesis of soilless cultivated Chinese chive to promote growth physiology and photosynthesis [J]. Scientia Horticulturae, 2024, 327: 112861.
- [31] Shyu C, Brutnell T P. Growth – defence balance in grass biomass production: the role of jasmonates [J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(14): 4165 – 4176.
- [32] Sauter M, Moffatt B, Saechao M C, et al. Methionine salvage and S – adenosylmethionine: essential links between sulfur, ethylene and polyamine biosynthesis [J]. Biochemical Journal, 2013, 451(2): 145 – 154.
- [33] Zhao S S, Hong W, Wu J G, et al. A viral protein promotes host SAMSI activity and ethylene production for the benefit of virus infection [J]. eLife, 2017, 6: e27529.
- [34] Zheng H Y, Dong L L, Han X Y, et al. The TuMYB46L – TuACO₃ module regulates ethylene biosynthesis in einkorn wheat defense to powdery mildew [J]. The New Phytologist, 2020, 225(6): 2526 – 2541.
- [35] Shen X L, Liu H B, Yuan B, et al. OsEDR1 negatively regulates rice bacterial resistance via activation of ethylene biosynthesis [J]. Plant, Cell & Environment, 2011, 34(2): 179 – 191.
- [36] Yang D L, Li Q, Deng Y W, et al. Altered disease development in the *eui* mutants and *Eui* overexpressors indicates that gibberellins negatively regulate rice basal disease resistance [J]. Molecular Plant, 2008, 1(3): 528 – 537.
- [37] Basit A, Farhan M, Mo W D, et al. Enhancement of resistance by poultry manure and plant hormones (salicylic acid & citric acid) against tobacco mosaic virus [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2021, 28(6): 3526 – 3533.
- [38] Kim C Y, Song H, Lee Y H. Ambivalent response in pathogen defense: a double – edged sword? [J]. Plant Communications, 2022, 3(6): 100415.
- [39] Liu S F, Wang Z C, Wu J, et al. The poplar *VQI* gene confers salt tolerance and pathogen resistance in transgenic *Arabidopsis* plants via changes in hormonal signaling [J]. G3 (Genes Genomes Genetics), 2022, 12(4): jkac004.
- [40] Sánchez – Vallet A, López G, Ramos B, et al. Disruption of abscisic acid signaling constitutively activates *Arabidopsis* resistance to the necrotrophic fungus *Plectosphaerella cucumerina* [J]. Plant Physiology, 2012, 160(4): 2109 – 2124.
- [41] Achard P, Vriezen W H, van der Straeten D, et al. Ethylene regulates *Arabidopsis* development via the modulation of DELLA protein growth repressor function [J]. The Plant Cell, 2003, 15(12): 2816 – 2825.
- [42] Achard P, Cheng H, De Grauwe L, et al. Integration of plant responses to environmentally activated phytohormonal signals [J]. Science, 2006, 311(5757): 91 – 94.
- [43] Khan I R M, Fatma M, Per T S, et al. Salicylic acid – induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants [J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6(6): 462.
- [44] Dong Z J, Yu Y W, Li S H, et al. Absciscic acid antagonizes ethylene production through the ABI4 – mediated transcriptional repression of ACS4 and ACS8 in *Arabidopsis* [J]. Molecular Plant, 2016, 9(1): 126 – 135.
- [45] Khan S, Alvi A F, Saify S, et al. The ethylene biosynthetic enzymes, 1 – aminocyclopropane – 1 – carboxylate (ACC) synthase (ACS) and ACC oxidase (ACO): the less explored players in abiotic stress tolerance [J]. Biomolecules, 2024, 14(1): 90.