

小麦蛋白激酶基因 *TaSnRK2.1* 介导植株 抵御干旱胁迫功能研究



倪晨阳, 肖凯*

河北农业大学农学院, 河北保定 071001

摘要: SnRK2 型蛋白激酶通过介导特定发育和逆境信号传递, 在调控植株生长发育和介导植株抵御非生物逆境胁迫中发挥着重要作用。本研究分析了小麦种属 SnRK2 蛋白激酶家族基因 *TaSnRK2.1* 分子特征、应答干旱表达模式和介导植株抵御干旱胁迫的生物学功能。结果表明, *TaSnRK2.1* 与波兰小麦和大麦等种属中 SnRK2 激酶基因序列高度同源, 编码蛋白含有 Ser/Thr 激酶具有的保守结构域 (aa 62-aa 318)。在 48 h 干旱处理下, *TaSnRK2.1* 在小麦根、叶中呈明显的干旱诱导表达模式, 均在处理 24 h 后表达量达到峰值, 以后至 48 h 该基因转录维持较高水平。将处理 48 h 植株转入正常恢复处理后, 该基因在根、叶中表达随处理进程不断下调。基因转化分析表明, 干旱处理下, 与野生型对照 (WT) 相比, *TaSnRK2.1* 正义表达烟草株系 (Sen 1) 植株长势增强、干质量增加, 气孔关闭加快, 脯氨酸、可溶性蛋白、可溶性糖等细胞渗透调节物质含量提高, 光合能力和细胞保护酶活性增强; 与此相反, 该基因反义表达株系 (Anti 1) 干旱处理下较 WT 长势减弱、干质量减小, 气孔关闭减慢, 细胞渗透调节物质含量下降, 光合能力和细胞保护酶活性降低。研究表明, *TaSnRK2.1* 通过在转录水平上对干旱胁迫产生应答, 参与植株气孔运动、细胞渗透调节、光合和细胞保护过程, 增强植株抵御干旱胁迫的能力。

关键词: 蛋白激酶; 转基因株系; 干旱胁迫

DOI: [10.57237/j.life.2023.02.002](https://doi.org/10.57237/j.life.2023.02.002)

Functional Characterization on Wheat Protein Kinase Gene *TaSnRK2.1* in Mediating Plant Resistance to Drought Stress

Ni Chenyang, Xiao Kai*

College of Agronomy, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China

Abstract: The protein kinase type of sucrose non-fermenting-1 related protein kinase 2 (SnRK2) plays an important role in regulating plant growth and development and in mediating plant resistance to abiotic stresses given that it involves transduction of distinct internal and abiotic stress signaling. In this study, *TaSnRK2.1*, a gene of SnRK2 family in wheat, was investigated focusing on its molecular characterization, expression pattern upon drought stress, and the biological function in mediating plant drought tolerance. At nucleic acid level, *TaSnRK2.1* is highly homologous to its counterparts of

基金项目: 中央引导地方科技发展资金项目 (216Z6401G); 国家自然科学基金项目 (31872869).

*通信作者: 肖凯, xiaokai@hebau.edu.cn

收稿日期: 2022-12-09; 接受日期: 2023-01-30; 在线出版日期: 2023-05-25

<http://www.lifescitech.org>

SnRK2 kinase family genes in species of Polish wheat and barley, whose translated protein harbors a conserved catalytic domain of Ser/Thr kinase domain (aa 62-aa 318). Under a 48 h-regime drought treatment, the transcripts of *TaSnRK2.1* showed obvious response in roots and leaves, with the highest expression level reached at 24 h after treatment and maintaining a high level to 48 h under drought condition. Meanwhile, the transcripts of *TaSnRK2.1* in both roots and leaves induced by drought were recovered following the normal recovery treatment. Gene transgene analysis indicated that compared with wild type control (WT), the tobacco line with sense-overexpression of *TaSnRK2.1* (Sen 1) enlarged plant growth phenotypes, increased dry weights, promoted stomata closing, increased contents of cellular osmotic-regulatory substances including proline, soluble protein, and soluble sugar, enhanced photosynthetic capacity and elevated cellular protective enzyme activities under drought treatment. In contrast, the line with antisense-expression of *TaSnRK2.1* (Anti 1) reduced plant growth phenotypes, decreased biomass, slowed stomata closing, decreased the contents of cellular osmotic-regulatory substances, photosynthetic capacity and protective enzyme activities compared with WT plants treated by drought stress. Our investigation suggested that *TaSnRK2.1* is sensitive in response to drought signaling at transcriptional level that confers enhanced plant drought resistance by regulating physiological processes associated with stomata movement, cellular osmotic-regulatory substance metabolism, photosynthesis, and protective enzyme activities.

Keywords: Wheat; SnRK2.1; Gene Expression; Drought Stress; Gene Function

1 引言

小麦是中国及世界上许多国家重要粮食作物。该作物生育过程中经常遭受干旱、高盐、寒冷和高温等各种非生物胁迫逆境,造成小麦生长发育不良和产量形成能力下降[1-3]。近年来研究表明,在分子水平上,植株通过对特定基因转录和蛋白质翻译效率进行调节,增强自身对不良环境的适应,维持逆境下细胞活性和植物体相对良好的生命活动[4]。

蛋白激酶通过调控蛋白质磷酸化和去磷酸化过程转导特定发育和逆境信号,在介导植株抵御渗透胁迫逆境过程中发挥着重要作用[5-6]。蔗糖非发酵型蛋白激酶(Sucrose non-fermenting-1-related protein kinase, SnRK) 归属于 Ser/Thr 类蛋白激酶,该类别进一步细分为 SnRK1、SnRK2 和 SnRK3 三个亚家族[7],上述激酶亚家族作为植物种属重要激酶成员,广泛参与植株各种生物学过程的调节过程。研究表明,SnRK1 亚家族成员与酵母 SNF1 和 AMPK 在序列组成上高度同源,SnRK2 亚家族成员含有激酶通常含有的高度保守域,包括 N 端激酶结构域和具有酸性氨基酸臂的 C 端调节结构域[8]。其中,SnRK2 亚家族成员由 C 端 40 个氨基酸组成亚结构,在植株响应渗透胁迫逆境诱发的脱落酸(ABA) 信号通路中发挥重要作用[9-10]。SnRK3 亚家族包含激酶保守结构域,广泛参与植株体内碳氮代谢相关的生物学过程的调节[9-10]。

研究发现,植物种属 SnRK2 家族成员主要通过磷酸化修饰对下游基因表达和蛋白质活性进行调节。其

中,部分 SnRK2 成员作为干旱等渗透胁迫诱发的 ABA 通路(ABA-PYR-PP2C-SnRK2) 重要信号传递组分[11],在逆境下由 PP2C-SnRK2 复合体释放而活化,进而对通路下游组分如细胞离子通道和逆境防御相关基因表达进行调控[12]。部分 ABA 非依赖性 SnRK2 成员还呈 ABA 不依赖特征,表现为 SnRK2 在渗透胁迫诱发 ABA 积累之前即被激活,参与植株对逆境响应过程[13]。

研究发现,部分 SnRK2 家族成员在转录水平上对干旱、高盐等非生物胁迫产生应答且在介导植株抵御渗透胁迫逆境中发挥重要功能。如大麦 SnRK2 家族基因 *PKABA1* 表达受 ABA 诱导[14];拟南芥 *SnRK2* 基因过表达参与植株干旱信号转导过程,提高干旱胁迫响应基因转录效率,增强植株耐旱能力[15];过表达水稻 SnRK2 基因 *SAPK4* 减少盐分处理下植株 Na^+ 和 Cl^- 积累,增强光合作用,改善盐胁迫下植株离子稳态和生长发育[16];大豆 SnRK2 基因 *SPK3* 和 *SPK4* 转录同时受干旱和盐胁迫诱导[17]。对小麦种属 SnRK2 基因 *TaSnRK2.3*、*TaSnRK2.4*、*TaSnRK2.7* 和 *TaSnRK2.8* 研究发现,过表达上述基因能促进拟南芥转化株系的根系建成和发育过程[18-21]。

尽管前人围绕植物种属 SnRK2 家族基因的分子特征开展了较多研究,但迄今有关小麦该蛋白激酶基因生物学功能研究仍有待深入探讨。基于此,本研究以前期开展小麦应答干旱胁迫转录组分析鉴定的 1 个 SnRK2 家族基因 *TaSnRK2.1* 为基础,对该基因分子特

征、应答干旱逆境表达模式及其介导植株抵御干旱逆境的能力进行了鉴定。本项研究旨在阐明 *TaSnRK2.1* 抵御干旱逆境的功能及生理机制，为今后小麦耐旱遗传改良提供基因资源和理论依据。

2 材料与方法

2.1 试验材料

用小麦（品种石新 828）幼苗研究供试基因表达模式，用烟草品系 Wisconsin 35 幼叶为供试基因遗传转化外植体。

2.2 *TaSnRK2.1* 分子特征研究

作者所在课题组前期开展小麦根系转录组应答干旱胁迫特征研究，鉴定了 1 个呈干早上调表达的 SnRK2 家族基因 *TaSnRK2.1*（GenBank 登录号：TraesCS2A02G493800）。因该基因呈明显的干旱诱导表达特征，故对其分子特征和生物学功能进行较系统研究。该基因序列通过 Ensembl Plants 网站（<http://plants.ensembl.org>）查找获得，基因编码蛋白氨基酸序列、等电点、分子量利用 ExPASy-Prot Program 工具预测获得，蛋白激酶保守结构域运用 NCBI（<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>）中 CDD（Conserved Domain Database）在线工具进行预测。利用 NCBI 数据库查找 *TaSnRK2.1* 植物种属同源基因，利用 MEGA7 工具建立 *TaSnRK2.1* 系统进化树。

2.3 *TaSnRK2.1* 应答干旱胁迫表达模式研究

取饱满小麦（石新 828）种子置于湿润培养皿于培养箱中萌发，7 d 后选取长势一致萌发幼苗，采用溶液培养法（Hogland 营养液）培养至三叶期，然后转入含有 10%（w/v）聚乙二醇（PEG-6000）营养液中进行干旱处理，在处理 6 h、12 h、24 h、48 h 后收获根、叶样品，采用实时定量 PCR（qRT-PCR）检测不同处理时间点供试基因转录本。此外，为明确供试基因对正常恢复生长的响应，将干旱处理 48 h 幼苗转入正常营养液中进行恢复处理，在恢复处理后 6 h、12 h、24 h、48 h 后收获根、叶样品，采用上述干旱处理下基因转录本检测的方法，分析恢复处理下供试基因在根、叶中的表达特征。其中，以干旱处理前（0 h）收获的根、

叶样本作对照。参照 Guo 等（2013）的方法进行 qRT-PCR 分析[22]。其中，采用 M5 SuperPure Total RNA Extraction Reagent 试剂（Invotrogen）使用说明书提取对照和不同处理时间点根叶样品总 RNA，采用 M-MLV 反转录酶（TaKaRa）进行 RNA 反转录和 cDNA 合成。用于扩增 *TaSnRK2.1* 的正向引物为 5'-GGGACATAGGAAGAAAGAGGG-3'，反向引物为 5'-GGAAGCATGACAAAACAGGGAT-3'。以小麦组成型表达基因 *Tatubulin* 作为供试基因转录本均一化内标（U76558，正向引物为：5'-AGAACACTGTTGTAAGGCTCAAC-3'，反向引物为：5'-GAGCTTTACTGCCTCGAACATGG-3'）。

2.4 *TaSnRK2.1* 烟草转化株系建立

参照 Sun 等[23]的方法，采用农杆菌介导基因遗传转化的方法建立正义和反义表达 *TaSnRK2.1* 烟草株系。其中，以干旱处理 48 h 小麦根系 cDNA 为模板，采用 RT-PCR 技术扩增 *TaSnRK2.1* 的正、反义序列。扩增正义序列的引物为 5'-GGGACATAGGAAGAAAGAGGG-3'（正向）和 5'-GGAAGCATGACAAAACAGGGAT-3'（反向）；扩增反义序列的引物为 5'-AAAAGATCTATGACAAAACAGGGATCC-3'（正向），5'-AAAGGTAACCAAGGAGCACTT-3'（反向）。

2.5 干旱处理下 *TaSnRK2.1* 烟草转化株系形态特征和相关参数测定

将建立的正义株系（Sen 1~Sen 4）和反义株系（Anti 1~Anti 3）在温室中繁殖，获得 T3 株系，进行初步干旱处理（5% PEG-6000），表明正义株系的植株长势均呈增强趋势，而反义株系长势均呈减弱趋势。其中以正义株系 Sen 1 和反义株系 Anti 1 长势较野生型对照（WT）的改变程度最为明显。因此，本研究以 Sen 1、Anti 1 为材料，鉴定 *TaSnRK2.1* 介导植株抵御干旱胁迫的能力。将 Sen 1、Anti 1 和 WT 种子在湿润培养皿中萌发，10 d 后转入正常 Hogland 营养液培养至 5 叶期。然后将部分植株继续正常培养，另将部分转化株系和 WT 幼苗转入含有 5% PEG-6000 的营养液中进行干旱处理，期间每 5 d 更换一次营养液。处理后 4 周，拍照记录烟草长势，另选取不同处理下转化株系和 WT 长势均匀植株 3 株，采用叶面积仪测定植株叶面积。通过将植株样本在 85 ℃

烘箱烘至恒重后称重，获得植株干质量。

2.6 干旱处理下 *TaSnRK2.1* 烟草转化株系气孔关闭特征和抗旱生理参数测定

选取正常生长 Sen 1、Anti 1 和 WT 植株，将植株转入含有 5%PEG-6000 营养液内进行干旱处理。利用显微镜观测处理前对照（0 h）和处理后不同时间点（0.25 h、0.5 h 和 1 h）叶片气孔开度。各材料不同处理时间点观测气孔样本数量均为 50 个，以典型气孔观测结果表示气孔开度特征。此外，以前述测定转化株系和 WT 正常培养和干旱处理后植株为样本进行抗旱相关生理参数测定，包括：光合参数、渗透调节物质含量和细胞活性氧（ROS）稳态参数。其中，参照 Du 等（2013）的方法测定细胞渗透调节物质含量，测定

内容包括脯氨酸含量、可溶蛋白含量和可溶性糖含量[24]；参照 Guo 等（2013）的方法测定光合参数，测定内容包括光合速率（Pn）、胞间 CO₂ 浓度（Ci）、光系统 II 光化学活性（ΨPSII）和非光化学淬灭系数（NPQ）[22]；参照 Huang 等（2012）的方法测定 ROS 相关参数，测定内容包括超氧化物歧化酶（SOD）活性、过氧化氢酶（CAT）活性、过氧化物酶（POD）活性和和细胞膜质过氧化物丙二醛（MDA）含量[25]。

2.7 数据统计学分析

采用 Microsoft Excel 和 DPS 7.05 软件进行数据处理和统计学显著性测试及分析。各测试性状数据均来自 3 次重复结果，采用 Dunn 多重比较试验分析方法，对源于转化株系和野生型各测试性状进行统计学显著性分析（P<0.05）。用符号*表示差异达到统计学 5% 显著水平。

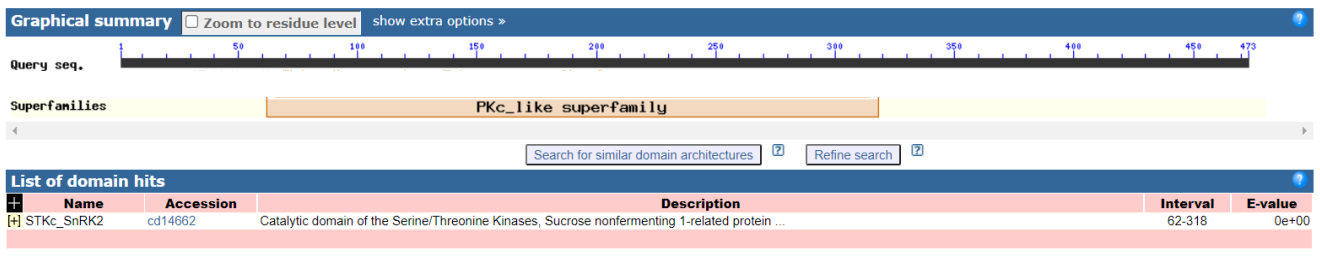


图 1 *TaSnRK2.1* 蛋白保守结构域

Figure 1 The conserved domain harboured in *TaSnRK2.1* protein

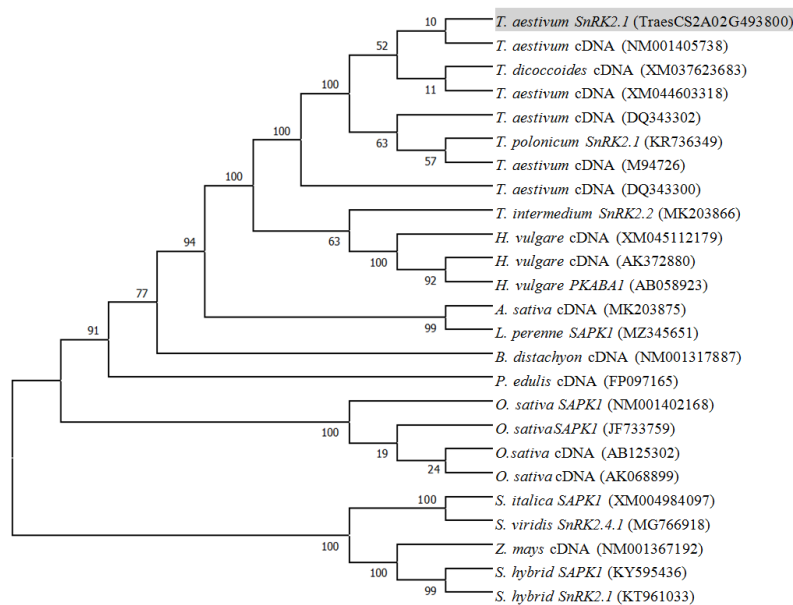


图 2 *TaSnRK2.1* 与植物种属同源基因的系统进化特征

Figure 2 Phylogenetic evolutionary characterization among *TaSnRK2.1* and its homologous genes in plant species

3 结果与分析

3.1 *TaSnRK2.1* 分子特征

TaSnRK2.1 的 cDNA 序列全长为 1422 bp, 含一个 1029 bp 开放阅读框, 编码 342 个氨基酸。编码蛋白化学式为 $C_{1717}H_{2695}N_{475}O_{512}S_{19}$, 分子量 38.79 kD, 等电点 (PI) 5.59, 原子总数为 5418。该基因编码蛋白含有 SnRK2.1 家族蛋白通常含有的 Ser/Thr 激酶催化结构域 (aa 62-aa 318, 图 1)。系统进化分析表明, 在核苷酸水平上, *TaSnRK2.1* 与波兰小麦、偃麦草和大麦等植物物种属的 SnRK2 家族基因具有序列高度一致特征 (图 2)。表明该小麦 *SnRK2.1* 可能与上述同源基因具有相似的进化途径。

3.2 *TaSnRK2.1* 应答干旱胁迫表达模式

干旱处理 (48 h) 及恢复处理 (R48 h) 下根系和叶片中 *TaSnRK2.1* 的转录本丰度检测结果见图 3。结果表明, 干旱处理下, 该小麦 SnRK2 家族基因在上述组织中的表达显著上调; 其中以处理后 24 h 表达水平最高, 以后至 48 h 基因表达维持高值水平 (图 3)。将处理 48 h 的植株转入正常恢复处理后, 根系和叶片中 *TaSnRK2.1* 转录本丰度下降, 且呈随着处理进程下降幅度不断增大特征 (图 3)。上述结果表明, *TaSnRK2.1* 在转录水平上对干旱逆境显著应答, 在介导植株抵御干旱胁迫过程中可能发挥重要生物学功能。

3.3 干旱处理下 *TaSnRK2.1* 转化株系植株长势和形态特征

正常生长条件下, 与野生型对照 (WT) 相比, *TaSnRK2.1* 转化株系 (正义株系 Sen 1 和反义株系 Anti 1) 植株长势未发生明显改变, 表现为正、反义株系与 WT 的植株表型相似, 单株干质量和叶面积相近 (图 4)。干旱处理下, 与 WT 比较, Sen 1 长势明显增强, 表现植株个体增大, 单株干质量提高, 叶面积增加; 而 Anti 1 长势较 WT 明显减弱, 表现为植株个体形态变小, 干质量下降, 叶面积减小 (图 4)。结果表明, 增强植株体内 *TaSnRK2.1* 表达具有显著改善干旱胁迫下植株生长和植株抵御干旱逆境能力。

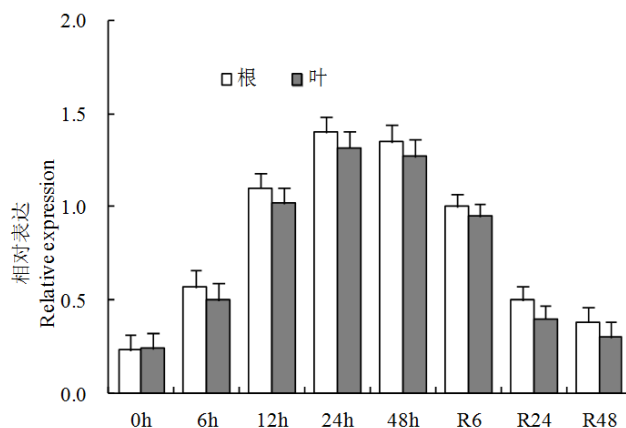
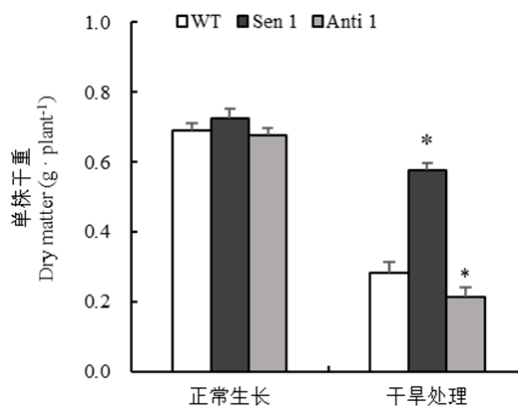
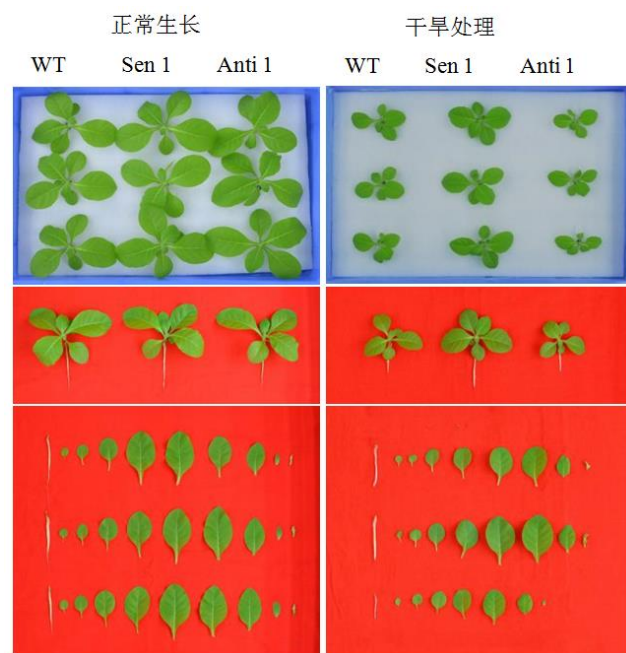


图 3 干旱处理下根叶中 *TaSnRK2.1* 表达模式

Figure 3 Expression patterns of *TaSnRK2.1* in roots and leaves under drought treatment



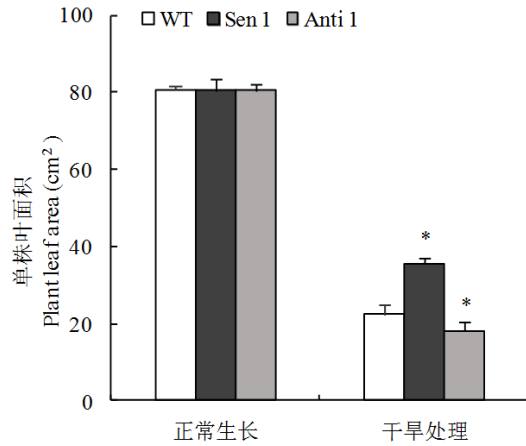


图4 正常生长和干旱处理下 *TaSnRK2.1* 转化株系形态特征

Figure 4 Morphological characterization of *TaSnRK2.1* transgenic lines under normal growth and drought treatment

WT 为野生型对照, Sen 1 为 *TaSnRK2.1* 正义株系, Anti 1 为 *TaSnRK2.1* 反义株系。符号*表示与 WT 相比达到显著水平 ($P<0.05$)。下文同。

WT, wild type acted as control; Sen 1, a typical line with *TaSnRK2.1* sense-expression; Anti 2, a typical line with *TaSnRK2.1* antisense-expression. Symbol * indicates to be significant with respect to WT ($P<0.05$). The same as follows.

3.4 干旱处理下 *TaSnRK2.1* 转化株系叶片气孔关闭特征

干旱处理下 *TaSnRK2.1* 转化株系(Sen 1 和 Anti 1) 和 WT 叶片气孔关闭特征见图 5。结果表明, WT 在干旱处理后 0.25 h、0.5 h 和 1 h 其气孔关闭比例与处理前 (0 h) 相比分别下降 51.4%、50.2%和 80.3%; Sen 1 在干旱处理后上述时间点气孔关闭速率与处理前 (0 h) 相比分别下降 58.0%、81.4%和 90.3%; Anti 1 在干旱处理后上述时间点气孔关闭速率与处理前 (0 h) 相比

分别下降 59.0%、52.5%和 39.6%(图 5)。表明 *TaSnRK2.1* 正义株系随着干旱处理气孔关闭速率加快, 而反义株系气孔关闭速率随着干旱处理进程明显减慢。因此, *TaSnRK2.1* 通过调控干旱胁迫下气孔运动, 增强植株持水能力, 对植株抵御干旱逆境发挥正向调控效应。

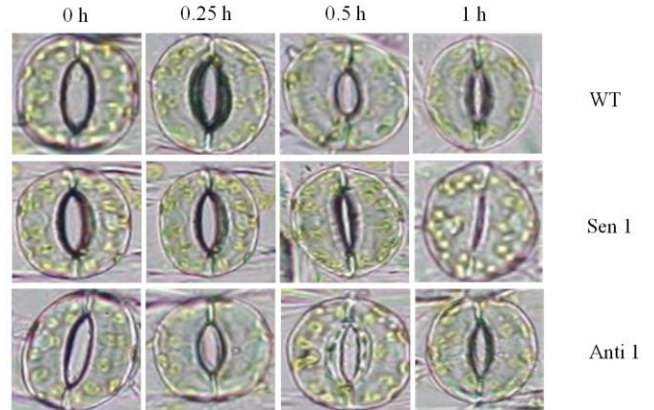


图5 干旱处理下 *TaSnRK2.1* 转化株系气孔关闭特征

Figure 5 Stomatal closure properties of the *TaSnRK2.1* transgenic lines under drought treatment

3.5 干旱处理下 *TaSnRK2.1* 转化株系干旱响应生理参数

在正常生长条件下, 与 WT 相比, Sen 1 和 Anti 1 植株渗透调节物质可溶性糖含量、可溶性蛋白含量和脯氨酸含量、光合参数 P_n 、 C_i 、 Ψ_{PSII} 和 NPQ 以及 ROS 稳态参数包括 SOD 活性、CAT 活性、POD 活性和 MDA 含量均无明显差异 (图 6~图 8)。

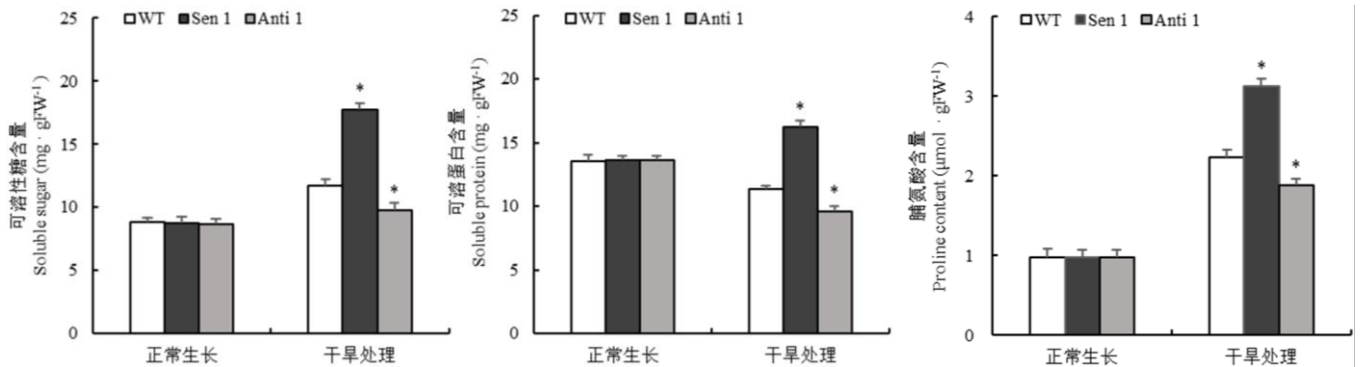
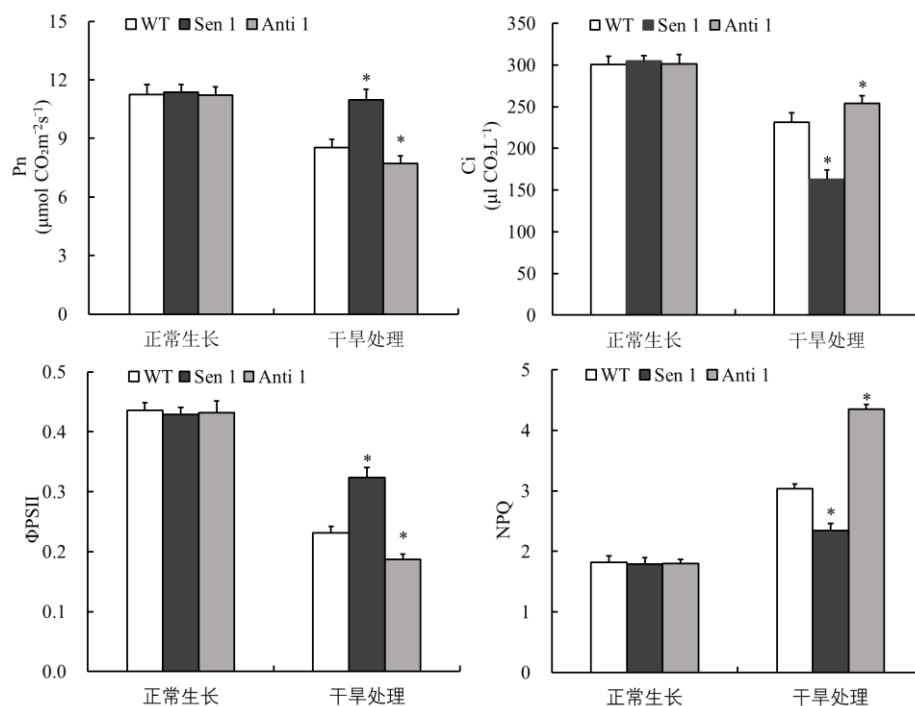
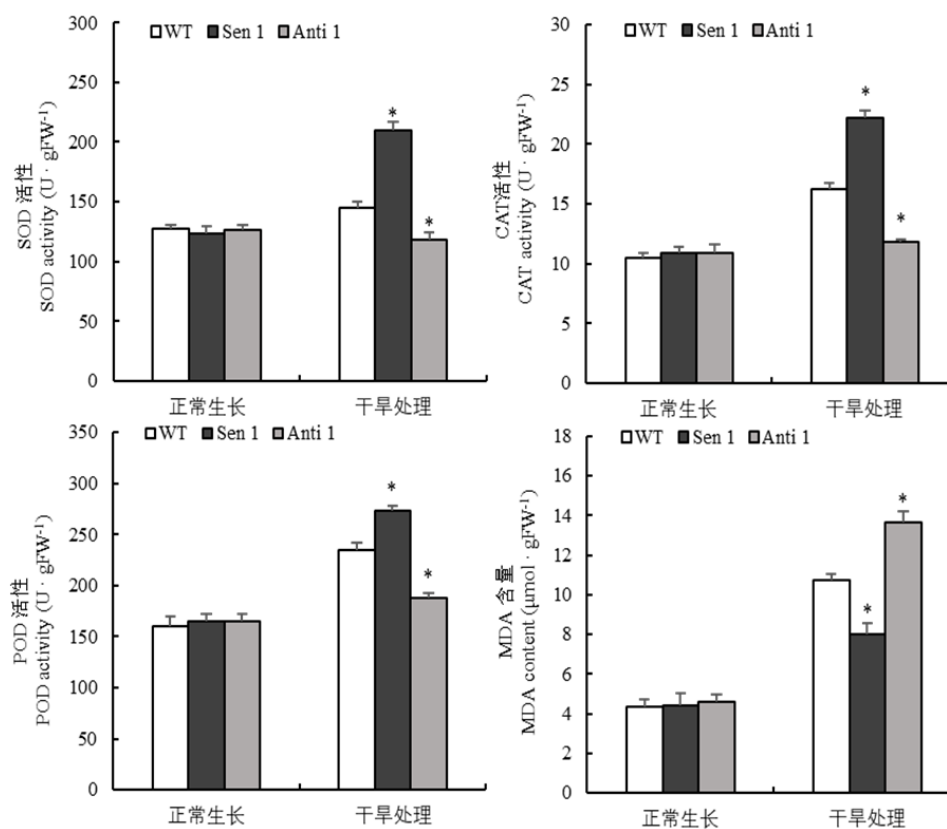


图6 正常生长和干旱处理下 *TaSnRK2.1* 转化株系渗透调节物质含量

Figure 6 Contents of osmotic regulators in *TaSnRK2.1* transgenic lines under normal growth and drought treatment

图7 干旱处理下 *TaSnRK2.1* 转化株系光合参数Figure 7 Photosynthetic parameters of the *TaSnRK2.1* transgenic lines under drought treatment图8 正常生长和干旱处理下 *TaSnRK2.1* 转化株系细胞活性氧稳态相关参数Figure 8 ROS-associated parameters of *TaSnRK2.1* transgenic lines under normal growth and drought treatment

干旱处理下,与 WT 相比,Sen 1 细胞渗透调节物质(可溶性糖、可溶蛋白和脯氨酸)含量、光合参数 P_n 、 C_i 和 $\Psi PSII$ 以及 ROS 稳态参数包括 SOD 活性、CAT 活性和 POD 活性明显提高,而光合参数 NPQ 和细胞膜质过氧化产物 MDA 含量显著下降。与 Sen 1 相反,与 WT 相比,Anti 1 细胞渗透调节物质(可溶性糖、可溶蛋白和脯氨酸)含量、光合参数 P_n 、 C_i 和 $\Psi PSII$ 以及 ROS 稳态参数包括 SOD 活性、CAT 活性和 POD 活性明显降低,而光合参数 NPQ 和细胞膜质过氧化产物 MDA 含量显著提高(图 6~图 8)。结果表明,上调表达 *TaSnRK2.1* 增强植株抵御干旱逆境能力,与其改善植株体内上述干旱响应/抵御相关的生理生化过程有关。

4 讨论

干旱响应基因在转录水平上对渗透胁迫逆境的应答,与其启动子中含有的干旱逆境响应顺式作用原件(cis-acting element)具有紧密联系[26]。迄今,已鉴定了参与基因应答干旱等渗透胁迫逆境的顺式作用元件,包括依赖 ABA 信号的 ABRE 元件(motif 核心序列 ACGTG)和 MYB 转录激活元件(序列 CCGTTG)等[27]。本研究对于干旱处理及恢复正常生长处理下小麦蛋白激酶基因 *TaSnRK2.1* 的表达模式研究表明,植株根系和叶片中该基因的转录本丰度与干旱处理时间具有紧密联系,表现为典型的处理及时间依赖特征。表明该基因启动子中含有特定的干旱响应顺式元件,参与基因在干旱处理下转录效率的调节。进一步鉴定该基因启动子中干旱响应元件,对于深入阐明小麦种属激酶家族基因响应干旱逆境的生物学过程具有重要理论价值和实践意义。

当植株遭遇干旱胁迫时,通过自身气孔运动如加快气孔关闭速率减少蒸腾作用,是维持植株体内较多含水量和增强植株适应渗透胁迫逆境的重要生理机制[28]。本研究通过对干旱处理下的 *TaSnRK2.1* 正义和反义株系气孔应答干旱处理下关闭特征研究发现,与野生型 WT 相比,随着干旱处理进程,该基因正义株系 Sen 1 和反义株系 Anti 1 的气孔关闭速率分别呈明显加快和减慢特征。表明上调表达 *TaSnRK2.1* 可促进干旱胁迫下植株调气孔关闭速率,增强植株逆境下细胞和组织持水能力,由此增强介导植株抵御干旱胁迫的能力。

改善干旱胁迫下植株细胞渗透调节物质生物合成代谢,如促进可溶性糖、可溶蛋白和脯氨酸生物合成能力,能有效改善遭遇干旱胁迫下植株细胞水势,维持功能蛋白质如信号蛋白传递特定逆境信号活性、改善膜蛋白调控物质转运能力和酶蛋白生化代谢效率,增强植株抵御渗透胁迫逆境的功能[29, 30]。本研究发现,干旱处理下,与 WT 相比, *TaSnRK2.1* 正义株系(Sen 1)的可溶性糖含量、可溶性蛋白含量和脯氨酸含量均显著增加;与此相反,基因反义株系(Anti 1)干旱处理下上述细胞渗透调节物质含量、光合速率和细胞保护酶活性则较 WT 明显降低。因此, *TaSnRK2.1* 对细胞渗透调节物质代谢具有重要影响。深入揭示 *TaSnRK2.1* 调控植物细胞渗透调节物质代谢的相关生物学过程,将深化 SnRK2 家族调控植株干旱逆境响应分子机理的认识。

光合作用是植株干物质生产和同化物质积累的重要生理基础[31]。干旱胁迫下,植株光合器官中光合底物 CO_2 传递、光化学反应和碳同化暗反应效率减弱,从而影响植株器官建成、干物质生产能力和分配过程[32]。本研究对于干旱处理下的 *TaSnRK2.1* 正义和反义株系光合参数研究表明,与 WT 相比, *TaSnRK2.1* 正义株系 Sen 1 的光合速率(P_n)、光合能力和碳代谢能力显著增强。这表明 *TaSnRK2.1* 能显著提高植株碳代谢和干物质分配效率,从而改善植物抵御干旱逆境功能。

干旱等非生物逆境胁迫诱发细胞活性氧(ROS)在细胞和组织中大量积累,造成细胞膜氧化损伤、膜脂过氧化以及生物大分子如核酸、脱氧核酸和蛋白质结构破坏,是上述逆境影响植物生长发育和产量形成能力下降的重要原因之一[33]。另一方面,植株经过长期的适应和演化,构建了在一定程度上缓解逆境诱发 ROS 对细胞和组织损伤机制,如增强细胞保护酶 SOD、POD 和 CAT 等抗氧化酶基因表达和催化活性[27, 34]。本研究对于干旱处理下 *TaSnRK2.1* 转化株系细胞 ROS 稳态相关参数研究发现,与 WT 相比,干旱处理下正义株系(Sen 1)的细胞保护酶(SOD、POD 和 CAT)活性显著增强,而细胞膜质过氧化产物(MDA)含量明显下降。因此, *TaSnRK2.1* 改善植株干旱逆境抵御能力,与其参与对干旱胁迫下植株细胞保护酶系统的调控密切相关。有关该小麦 SnRK2 家族成员通过介导干旱胁迫逆境信号传递及其调控的 SOD、CAT 和 POD 细胞保护酶家族基因转录/蛋白翻译及活性等相关机制,有待今后进一步研究。

5 结论

小麦种属 SnRK2 家族成员 *TaSnRK2.1* 与植物种属同源基因表现序列高度一致, 其编码蛋白含有激酶特有的保守 Ser/Thr 激酶催化结构域。*TaSnRK2.1* 在植株中表达呈典型的干旱应答模式。干旱处理下, 与 WT 相比, *TaSnRK2.1* 烟草正义株系长势增强, 气孔关闭速率加快, 渗透调节物质含量增加, 光合能力增强, 细胞活性氧稳态改善。因此, 上调表达 *TaSnRK2.1* 通过调控多种干旱胁迫响应相关生理生化过程, 增强植株抵御干旱逆境的能力。

参考文献

- [1] Zhu J K. Plant salt tolerance [J]. Trends in Plant Science, 2001, 6 (2): 66-71.
- [2] Xiong L, Schumaker K S, Zhu J K. Cell signaling during cold, drought, and salt stress [J]. The Plant Cell, 2002, 14 (suppl-1): S165-S183.
- [3] Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2002, 53: 247.
- [4] Xiong L, Zhu J K. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress [J]. Plant, Cell & Environment, 2002, 25 (2): 131-139.
- [5] Cheeseman J M. Mechanisms of salinity tolerance in plants[J]. Plant Physiology, 1988, 87 (3): 547-550.
- [6] Bohnert H J, Nelson D E, Jensen R G. Adaptations to environmental stresses [J]. The Plant Cell, 1995, 7 (7): 1099.
- [7] Halford N G, Hey S J. Snf1-related protein kinases (SnRKs) act within an intricate network that links metabolic and stress signalling in plants [J]. Biochemical Journal, 2009, 419 (2): 247-259.
- [8] Hrabak E M, Chan C W M, Gribskov M, et al. The Arabidopsis CDPK-SnRK superfamily of protein kinases [J]. Plant Physiology, 2003, 132 (2): 666-680.
- [9] Kobayashi Y, Yamamoto S, Minami H, et al. Differential activation of the rice sucrose nonfermenting1-related protein kinase2 family by hyperosmotic stress and abscisic acid[J]. The Plant Cell, 2004, 16 (5): 1163-1177.
- [10] Yoshida R, Umezawa T, Mizoguchi T, et al. The regulatory domain of *SRK2E/OST1/SnRK2.6* interacts with ABI1 and integrates abscisic acid (ABA) and osmotic stress signals controlling stomatal closure in Arabidopsis [J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281 (8): 5310-5318.
- [11] Zhang Z, Ali S, Zhang T, et al. Identification, evolutionary and expression analysis of PYL-PP2C-SnRK2s gene families in soybean [J]. Plants, 2020, 9 (10): 1356.
- [12] Sheard L B, Zheng N. Signal advance for abscisic acid[J]. Nature, 2009, 462 (7273): 575-576.
- [13] 刘子茜, 朱雅欣, 伍国强, 等. SnRK2 在植物响应逆境胁迫和生长发育中的作用[J]. 生物工程学报, 2022, 38 (1): 89-103.
- [14] Gómez-Cadenas A, Verhey S D, Holappa L D, et al. An abscisic acid-induced protein kinase, *PKABA1*, mediates abscisic acid-suppressed gene expression in barley aleurone layers [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 1999, 96 (4): 1767-1772.
- [15] Umezawa T, Yoshida R, Maruyama K, et al. SRK2C, a SNF1-related protein kinase 2, improves drought tolerance by controlling stress-responsive gene expression in Arabidopsis thaliana [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2004, 101 (49): 17306-17311.
- [16] Diǎthiou C J, Popova O V, Dietz K J, et al. The SNF1-type serine-threonine protein kinase *SAPK4* regulates stress-responsive gene expression in rice [J]. BMC Plant Biology, 2008, 8 (1): 1-13.
- [17] Mikołajczyk M, Awotunde O S, Muszyńska G, et al. Osmotic stress induces rapid activation of a salicylic acid-induced protein kinase and a homolog of protein kinase ASK1 in tobacco cells [J]. The Plant Cell, 2000, 12 (1): 165-178.
- [18] Mao X, Zhang H, Tian S, et al. TaSnRK2. 4, an SNF1-type serine/threonine protein kinase of wheat (*Triticum aestivum* L.), confers enhanced multistress tolerance in Arabidopsis [J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61 (3): 683-696.
- [19] Tian S, Mao X, Zhang H, et al. Cloning and characterization of *TaSnRK2 3*, a novel SnRK2 gene in common wheat [J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 64 (7): 2063-2080.
- [20] Zhang H, Mao X, Jing R, et al. Characterization of a common wheat (*Triticum aestivum* L.) *TaSnRK2.7* gene involved in abiotic stress responses [J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62 (3): 975-988.
- [21] Zhang H, Mao X, Wang C, et al. Overexpression of a common wheat gene *TaSnRK2.8* enhances tolerance to drought, salt and low temperature in Arabidopsis [J]. PloS One, 2010, 5 (12): e16041.
- [22] Guo C, Zhao X, Liu X, Zhang L, Gu J, Li X, Lu W, Xiao K. Function of wheat phosphate transporter gene *TaPHT2;1* in Pi translocation and plant growth regulation under replete and limited Pi supply conditions [J]. Planta, 2013, 237, 1163-1178.

- [23] Sun Z H, Ding C H, Li X J, et al. Molecular characterization and expression analysis of *TaZFP15*, a C2H2-type zinc finger transcription factor gene in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2012, 11 (1): 31-42.
- [24] Du X, Zhao X, Liu X, Guo C, Lu W, Gu J, Xiao K. Overexpression of *TaSRK2C1*, wheat SNF1-related protein kinase gene, increases tolerance to dehydration, salt, and low temperature in transgenic tobacco [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2013, 31, 810-821.
- [25] Huang XS, Liu J H, Chen X J. Overexpression of *PtrABF* gene, a bZIP tran-scription factor isolated from *Poncirus trifoliata*, enhances dehydration and drought tolerance in tobacco via scavenging ROS and modulating expression of stress-responsive genes [J]. BMC Plant Biology, 2010, 10, 230.
- [26] Li, W. X., Oono, Y. K., Zhu, J. H., He, X. J., Wu, J. M., Iida, K., Lu, X. Y., Cui, X. P., Jin, H. L., Zhu, J. K., 2008. The Arabidopsis NFYA5 transcription factor is regulated transcriptionally and post transcriptionally to promote drought resistance. The Plant Cell, 20 (8), 2238-2251.
- [27] Yingjia Zhao, Yanyang Zhang, Tianjiao Li, Chenyang Ni, Xinyang Bai, Ruize Lin, Kai Xiao. *TaNF-YA7-5B*, a gene encoding nuclear factor Y (NF-Y) subunit A in *Triticum aestivum*, confers plant tolerance to PEG-inducing dehydration simulating drought through modulating osmotic stress-associated physiological processes. Plant Physiology and Biochemistry, 2022, 188: 81-96.
- [28] 张丹, 马玉花. NAC 转录因子在植物响应非生物胁迫中的作用 [J]. 生物技术通报, 2019, 35 (12): 144-151.
- [29] Shinozaki K, Yamaguchishinozaki K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance[J]. Journal of Experimental Botany, 2007, 58 (2): 221.
- [30] 王金玲, 董心久, 田成军, 等. 水分胁迫对小黑麦生理生化特性和可溶性蛋白质的影响 [J]. 麦类作物学报, 2006, 26 (5): 138.
- [31] 靳容, 张爱君, 史新敏, 等. 干旱胁迫下钾对甘薯幼苗光合特性及根系活力的影响 [J]. 江苏农业学报, 2014, 30 (5): 5.
- [32] Jiao P, Wu Z, Wang X, et al. Short-term transcriptomic responses of *Populus euphratica* roots and leaves to drought stress [J]. Journal of Forestry Research, 2021, 32 (2): 841-853.
- [33] Chaves, M. M., Pereira, J. S., et al. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth [J]. Annual Botany, 2002, 89: 907-916
- [34] Cakmak I. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants [J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2005, 168 (4): 521-530.