

李民, 石娜. 小麦 *TaACO1* 基因克隆及对生物和非生物胁迫的响应[J]. 山西农业科学, 2025, 53(2): 142-150.

LI M, SHI N. Cloning of *TaACO1* gene in wheat and its responses to biotic and abiotic stress[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2025, 53(2): 142-150.

doi:10.3969/j.issn.1002-2481.2025.02.17

小麦 *TaACO1* 基因克隆及对生物和非生物胁迫的响应

李 民, 石 娜

(周口职业技术学院, 河南 周口 466000)

摘 要: 基因 *ACO1* 是植物乙烯合成的关键基因。为分析小麦中 *TaACO1* 同源基因对必需元素和白粉病的响应模式, 以水稻和拟南芥 *ACO1* 蛋白序列为基础, 通过序列比对和分子克隆获得了小麦 *TaACO1* 同源基因序列, 并分析了其在高硼、低硼、缺磷和白粉病条件下的表达模式。结果表明, 小麦基因组中共有 6 个 *TaACO1* 同源基因, 均位于第 5 同源群, 分别命名为 *TaACO1-5A1*、*TaACO1-5A2*、*TaACO1-5B1*、*TaACO1-5B2*、*TaACO1-5D1*、*TaACO1-5D2*。6 个 *TaACO1* 基因均含有 2 个外显子和 1 个内含子, 编码的蛋白均为疏水性蛋白, 预测定位于细胞质; 6 个 *TaACO1* 基因在叶片和茎中高表达, 而在根和籽粒中低表达。缺磷处理后, 6 个 *TaACO1* 基因的表达在根中受到抑制而在幼苗中受到诱导。不同浓度硼处理后, *TaACO1-5A1*、*TaACO1-5A2* 在根和幼苗中均受高浓度硼和低浓度硼诱导, *TaACO1-5B1*、*TaACO1-5B2*、*TaACO1-5D1* 和 *TaACO1-5D2* 在根中均受低浓度硼诱导, 而在幼苗中受高、低浓度硼诱导。白粉病菌接种后 6 h 和 24 h, *TaACO1-5D1* 和 *TaACO1-5D2* 表达量显著增加。综上, 小麦不同 *TaACO1* 基因参与缺磷、高浓度硼和低浓度硼响应, 而且 *TaACO1-5D1* 和 *TaACO1-5D2* 还可能参与抵抗白粉病。

关键词: 乙烯; *TaACO1* 基因; 表达模式; 缺磷处理; 硼处理; 白粉病

中图分类号: S512.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-2481(2025)02-0142-09

Cloning of *TaACO1* Gene in Wheat and Its Responses to Biotic and Abiotic Stress

LI Min, SHI Na

(Zhoukou Polytechnic, Zhoukou 466000, China)

Abstract: *ACO1* gene plays important roles in the synthesis of ethylene in plants. In this study, in order to analyze the response pattern *TaACO1* homologous genes in wheat to essential elements and powdery mildew stress, in this study, based on the *ACO1* protein sequences in rice and *Arabidopsis thaliana*, the homologous gene sequence of wheat *TaACO1* was obtained through sequence alignment and molecular cloning, and its expression patterns under the conditions of high boron, low boron, phosphorus deficiency, and powdery mildew were analyzed. The results showed that six *TaACO1* homologous genes were in the wheat genome and all of them were in the fifth homologous group, they were named *TaACO1-5A1*, *TaACO1-5A2*, *TaACO1-5B1*, *TaACO1-5B2*, *TaACO1-5D1*, and *TaACO1-5D2*, respectively. Each *TaACO1* gene possessed two exons and one intron. The proteins encoded by the genes were hydrophobic and predicted to be located in cytoplasm. The six *TaACO1* genes were highly expressed in leaves and stems, but low in roots and grains. After phosphorus starvation treatment, the expression of six *TaACO1* genes were induced in seedlings but suppressed in roots. After the treatments with different concentrations of boron, expression of *TaACO1-5A1* and *TaACO1-5A2* were induced by high concentration of boron and low concentration of boron in roots and seedlings. Expression of *TaACO1-5B1*, *TaACO1-5B2*, *TaACO1-5D1*, and *TaACO1-5D2* were induced by low concentration of boron in roots, while induced by high and low concentration of boron in seedlings. Moreover, after infection by powdery mildew for 6h and 24h, the expression of *TaACO1-5D1* and *TaACO1-5D2* was significantly increased. In conclusion, different *TaACO1* genes in wheat participated in the response to phosphorus starvation, high or low concentration of boron stress, and *TaACO1-5D1* and *TaACO1-5D2* might participate in defense powdery mildew.

收稿日期: 2024-11-28

基金项目: 河南省科技攻关项目(232102110239)

作者简介: 李 民, 副教授, 主要从事小麦遗传育种研究, E-mail: liying6067695@163.com

Keywords: ethylene; *TaACO1* gene; expression pattern; phosphorus starvation treatment; boron treatment; powdery mildew

小麦是我国最重要的粮食作物之一,通过遗传改良提升其对不良环境的适应性是提高小麦产量的有效途径。乙烯广泛参与植物胁迫响应^[1-3]。水渍胁迫下,喷施乙烯可以提高孕穗期小麦籽粒氮含量,降低水渍对产量的影响^[4]。低氧条件下,乙烯通过调控根系通气组织,促进根系发育^[5]。

有关植物体内乙烯合成途径已有较多报道^[6-7]。ACC 合成酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) synthase, ACS)和 ACC 氧化酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase, ACO)是调控乙烯合成的关键酶。ACS 是乙烯合成第 1 步的关键酶,而 ACO 则负责催化 ACC 转化为乙烯^[8]。生物和非生物胁迫可以诱导 ACO 基因的表达,从而启动乙烯合成^[9]。ACO 属于非血红素加氧酶超家族,由分散的多基因家族编码,且其表达受环境影响显著^[10]。ACO 基因的克隆及对胁迫的响应已被广泛报道^[11-14]。KESAWAT 等^[15]研究发现,在小麦中,共有 15 个 *TaACO* 基因,其中,冷胁迫处理下,*TaACO5*、*TaACO10*、*TaACO12* 表达量显著增加,热胁迫 6 h 后,*TaACO6*、*TaACO7*、*TaACO14*、*TaACO15* 表达量显著增加,而在干旱胁迫下,*TaACO14*、*TaACO15* 的表达量显著增加,表明不同 *TaACO* 基因的功能可能存在差异。LUO 等^[16]研究发现,在缺水条件下,*TaACO* 基因表达量增加。水稻受水淹后 *OsACO1* 转录水平和酶活性随着水淹深度的增加而增加^[17]。大麦中含有 2 个 *ACO1* 的同源基因,而在拟南芥和玉米中均存在 2 种类型的 *ACO1* 同源基因^[18-19]。CHEN 等^[20]在小麦高产品种 JN177 中克隆了 1 个 *ACO1* 同源基因 *TaACO1*,将其转化拟南芥之后发现,增加了拟南芥的盐胁迫耐受能力。

目前,对小麦中 *ACO1* 同源基因对必需元素以及白粉病胁迫响应的研究还鲜有报道。因此,本研究以水稻 *OsACO1* 和拟南芥 *AtACO1* 蛋白序列为基础,在小麦基因组中鉴定并克隆了 *ACO1* 的同源基因,分析了其基因结构和表达模式,以确定生物(白粉病)和非生物胁迫(高硼和低硼)下不同 *TaACO1* 基因的表达模式,旨在为进一步研究其功能提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验所用小麦百农矮抗 58 由河南科技学院小

麦中心提供。mRNA 提取试剂、逆转录试剂盒、DNA 回收试剂盒、T4 DNA 连接酶、感受态细胞均从 Takara 公司购买。荧光定量使用染料为 SYBRgreen (Takara),qRT-PCR 分析仪器型号为 ABI ViiA7(美国应用生物系统公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 硼处理和白粉病接种方法 高硼(1 mmol/L)和低硼(20 nmol/L)处理是将小麦种子发芽 5 d 后,移植于 2 L 的黑色塑料瓶中,分别用含有 20 nmol/L 和 1.0 mmol/L(对照)硼酸的霍格兰德培养液培养 7 d,每个处理设置 3 次重复^[21]。人工气候箱条件光照/黑暗为 16 h/8 h,温度为 20~25 °C,相对湿度为 60%~70%。将处理后的小麦幼苗组织进行转录组测序。

白粉病接种方法参考 ZHANG 等^[22]的方法。选取饱满一致的种子进行水培萌发,温度 22 °C,光照条件光照/黑暗为 16 h/8 h,生长至一叶一心时进行接种。首先用水雾将叶片喷湿,然后用带有白粉孢子的繁菌苗进行充分均匀地摩擦。

1.2.2 *TaACO1* 鉴定及生物信息分析 以水稻 *OsACO1*(LOC_Os09g27820.1)和拟南芥 *AtACO1*(AT2G19590.1)蛋白序列为基础,在小麦多组学网站(<http://wheatomics.sdau.edu.cn/>)中进行序列比对,获得小麦 *ACO1* 同源基因的蛋白和基因组序列。参照韦春等^[23]和王作日等^[24]生物信息预测方法,利用 MEGA11 构建蛋白序列进化树;利用 ProtParam 和 ProtScale 分别对蛋白质的基本理化性质和蛋白亲疏水性进行分析;利用在线软件 GSDS (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>)分析基因结构;利用 MEME (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>)分析小麦 *TaACO1* 蛋白的保守基序,并利用 Pfam (<http://pfam.xfam.org/search>)进行结构域功能注释。

1.2.3 *TaACO1* 表达模式分析 在小麦多组学网站(<http://wheatomics.sdau.edu.cn/>)下载 *TaACO1* 基因在根、茎、叶、穗和籽粒以及磷元素胁迫的表达谱数据,利用 Clustvis (<https://biit.cs.ut.ee/clustvis/>)构建其表达热图,并分析表达模式。

1.3 *TaACO1* 基因克隆

利用 Trizol 的方法提取幼苗根和叶片总 mRNA。植物基因组 DNA 提取采用 CTAB 的方法。引物(表 1)和测序工作由上海生物工程有限

公司完成。

表 1 扩增引物

Tab.1 Primers of gene amplification

引物名称 Primer	上游引物(5'—3') Forward primer(5'—3')	下游引物(5'—3') Reverse primer(5'—3')
<i>TaACO1-G1</i>	CGAGGCTATAAATTGCACCC	CATAAATTAGCTACCAAACAG
<i>TaACO1-G2</i>	CGAGGCTATAAATTGCACCC	ATCCTATGTGCTATCGTCCTC
<i>TaACO1C</i>	ATGGCATCGACATTGTCATTCCC	CAGTAGCGATGAGGTTGGA

1.4 qRT-PCR 分析

利用幼苗根和叶片提取总 RNA 并反转录为 cDNA,以 cDNA 为模版进行 qRT-PCR 试验。引物由北京擎科生物科技股份有限公司合成(表 2)。

扩增程序为:95 °C 预变性 5 min;95 °C 变性 10 s,60 °C 复性 1 min,40 个循环。以 *Actin* 为内参,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算表达量。

表 2 qRT-PCR 引物序列

Tab.2 Primer sequences for qRT-PCR

基因 Gene	上游引物(5'—3') Forward primer(5'—3')	下游引物(5'—3') Reverse primer(5'—3')
<i>Actin</i>	CGAAGCGACATACAATTCCATC	GAACCTTCCACTGAGAACAACAT
<i>TaACO-5A2</i>	CTACATGAAGCTGTACGTGCG	TGTGTGACTTGACACAGTTTTG
<i>TaACO-5A1</i>	ACTGGGGATTCTTCCAGGTC	CACCCTCTTGTAGTGCCCC
<i>TaACO-5B2</i>	TGAAGCAGTTCGCGTCAGAG	GGCCGAGGTTCTCACAGAG
<i>TaACO-5B1</i>	CGCCACAAGTTCGATGACAAG	AGCTTGGTGCTCTGGCTCTC
<i>TaACO-5D2</i>	CTGGGGCTTCTTCCAGGTTC	TCTCCCAGTCCAGGTTCTCC
<i>TaACO-5D1</i>	ACCGCTTAGAAGCAACCCCTT	AGCCAGTGGTCTAGCACGTA

1.5 数据分析

统计分析采用 SPSS 18.0 软件,数据处理采用 Excel 2011,制图使用软件 Origin 2018。

2 结果与分析

2.1 小麦中 *ACO1* 同源基因鉴定及理化性质分析

利用 Blast P 软件将水稻 *OsACO1* 和拟南芥 *AtACO1* 蛋白序列与小麦全基因组蛋白序列进行比对分析,共鉴定到 6 个小麦 *ACO1* 同源基因,并分别命名为 *TaACO1-5A1*、*TaACO1-5A2*、*TaACO1-*

5B1、*TaACO1-5B2*、*TaACO1-5D1*、*TaACO1-5D2*(表 3)。这 6 个基因均位于小麦第五同源群,染色体 5A、5B 和 5D 各有 2 个,位于 5A 染色体上的 *TaACO1-5A1*、*TaACO1-5A2* 编码序列均为 957 bp,均编码 319 个氨基酸,位于 5B 染色体上的 *TaACO1-5B1*、*TaACO1-5B2* 编码序列均为 951 bp,均编码 317 个氨基酸,位于 5D 染色体上的 *TaACO1-5D1*、*TaACO1-5D2* 编码序列分别为 951 bp 和 957 bp,分别编码 317、319 个氨基酸。它们的蛋白等电点变化范围为 5.18~5.48,分子质量变化范围为 35.50~35.98 ku。

表 3 *TaACO1* 基因鉴定及其编码蛋白的理化性质分析

Tab.3 Identification of *TaACO1* and analysis of physicochemical properties of *TaACO1*-encoded proteins

基因号 Gene ID	基因名称 Gene name	物理位置/bp Physical position	染色体 Chromosome	氨基酸数/个 Amino acid number	CDS/bp	内含子数/个 Intron number	外显子数/个 Exon number	等电点 Isoelectric point	分子质量/kDa Molecular weight
TraesCS5A01G234300	<i>TaACO1-5A1</i>	450540660—450542152	5A	319	957	1	2	5.27	35.66
TraesCS5A01G234200	<i>TaACO1-5A2</i>	450473511—450475262	5A	319	957	1	2	5.30	35.98
TraesCS5B01G232700	<i>TaACO1-5B1</i>	410722185—410723690	5B	317	951	1	2	5.29	35.50
TraesCS5B01G232600	<i>TaACO1-5B2</i>	410597591—410599090	5B	317	951	1	2	5.50	35.70
TraesCS5D01G241100	<i>TaACO1-5D1</i>	350219821—350221688	5D	319	951	1	2	5.18	35.91
TraesCS5D01G241000	<i>TaACO1-5D2</i>	349980431—349982139	5D	317	957	1	2	5.48	35.72

2.2 ACO1 基因系统进化分析

为了分析所鉴定的小麦中 *ACO1* 同源基因的进化规律,我们利用 Blast P 软件将水稻 *OsACO1* 蛋白序列与小麦祖先种粗山羊草小麦、乌拉尔图小麦、拟斯皮尔托小麦和大麦全基因组蛋白进行对比,结果发现,在每个祖先种中分别获得 2 个相似性较高的蛋白序列,其中,粗山羊草小麦为 AET5Gv20561200.2 和 AET5Gv20561300.2,乌拉尔图小麦中为 TuG1812G0500002671.01.P01 和 TuG1812G0500002672.01.P01,拟斯皮尔托小麦中为 (AE. SPELTOIDES. r1.5BG0439250.1 和 AE. SPELTOIDES. r1.5BG0439240.1,大麦为 HvACO1-5H1 和 HvACO1-5H2。利用所获得的 *ACO1* 同源蛋白的序列构建进化树,结果发现(图 1),*ACO1* 蛋白分为 2 类,其中小麦 *TaACO1-5A1*、*TaACO1-5B1*、*TaACO1-5D1* 与 HvACO1-5H1 聚为一类, *TaACO1-5A2*、*TaACO1-5B2*、*TaACO1-5D2* 和 HvACO1-5H2 聚为一类。

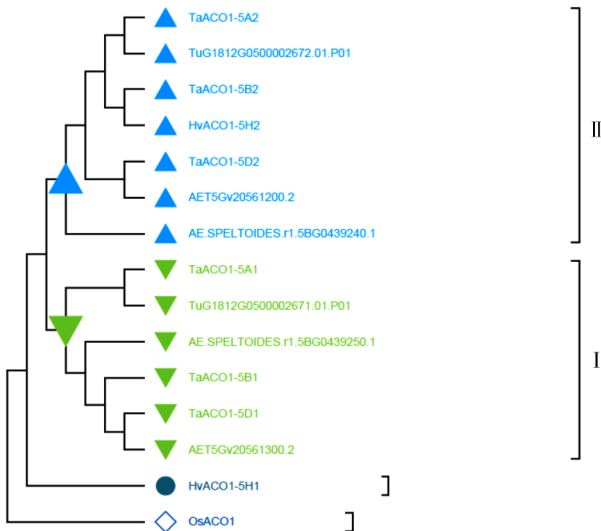


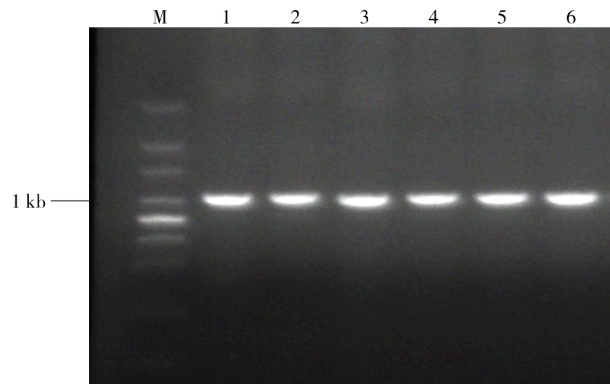
图 1 ACO1 系统进化分析

Fig.1 Phylogenetic analysis of ACO1

2.3 小麦 *TaACO1* 基因克隆及结构分析

根据基因组序列设计引物并扩增 *TaACO1* 基因 CDS 序列和基因组序列。利用引物 *TaACO1C* 进行扩增,测序后获得 6 条序列,分别与预测的 *TaACO1-5A1*、*TaACO1-5B1*、*TaACO1-5D1*、*TaACO1-5A2*、*TaACO1-5B2*、*TaACO1-5D2* 的核苷酸序列一致。核苷酸序列分为 2 类,*TaACO1-5A1*、*TaACO1-5A2* 和 *TaACO1-5D1* 为 957 bp, *TaACO1-5B1*、*TaACO1-5B2* 和 *TaACO1-5D2* 为

951 bp(表 3、图 2),与预测结果一致。利用引物 *TaACO1-G1* 和 *TaACO1-G2* 分别扩增获得 *TaACO1-5A1*、*TaACO1-5B1*、*TaACO1-5D1* 和 *TaACO1-5A2*、*TaACO1-5B2*、*TaACO1-5D2* 基因组序列,与 CDS 序列比对发现,*TaACO1-5A1*、*TaACO1-5B1*、*TaACO1-D1*、*TaACO1-A2*、*TaACO1-B2*、*TaACO1-D2* 这 6 个 *TaACO1* 基因均含有 2 个外显子和 1 个内含子,但内含子差异较大(图 3)



1. *TaACO1-A1* 2. *TaACO1-A2* 3. *TaACO1-B1* 4. *TaACO1-B2* 5. *TaACO1-D1* 6. *TaACO1-D2*

图 2 不同 *TaACO1* 基因 CDS 的 PCR 扩增
Fig.2 PCR amplification of CDS of different *TaACO1* genes

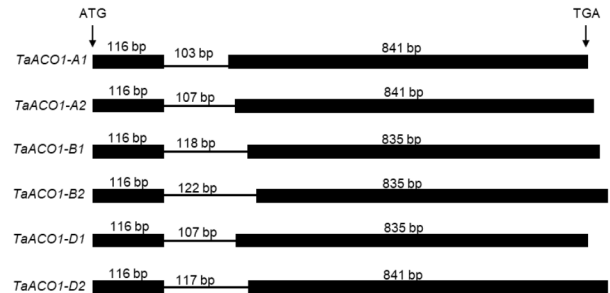


图 3 不同 *TaACO1* 基因结构分析

Fig.3 Structural analysis of different *TaACO1* genes

2.4 *TaACO1* 蛋白特性及保守基序分析

蛋白序列比较发现,与 *TaACO1-5A1*、*TaACO1-5A2* 和 *TaACO1-5D1* 相比,*TaACO1-5B1*、*TaACO1-5B2* 和 *TaACO1-5D2* 在第 269 个氨基酸处缺少缬氨酸和谷氨酸(图 4)。利用在线软件 ProtScale 分析了 *TaACO1* 蛋白的疏水性,结果表明(表 4),6 个 *TaACO1* 蛋白的疏水性变化范围为 -0.336~-0.237,所有 *TaACO1* 蛋白均为亲水性蛋白,亲水性最强氨基酸位于 264 位的脯氨酸和

265 位的丙氨酸,疏水性最强氨基酸位于 297 和 295 位,均为天冬氨酸。6 个 *TaACO1* 蛋白均不含信号肽和跨膜区域,全部预测定位于细胞质。利用在线分析软件 MEME(<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>)分析了小麦 6 个 *TaACO1* 蛋白序列的保守基序,发现每个蛋白均含有 9 个保守基

序(图 5)。在 Pfam(<http://pfam.xfam.org/search>)注释后,发现保守基序 1、2、3、4 分别为 20G-FellQxy、IPNS-like、20G-FellQxy、Clavamate synthase-like 基序,均为 20G-Fe(II)氧化酶超家族核心基序,其余 5 个基序未发现相匹配结构域。

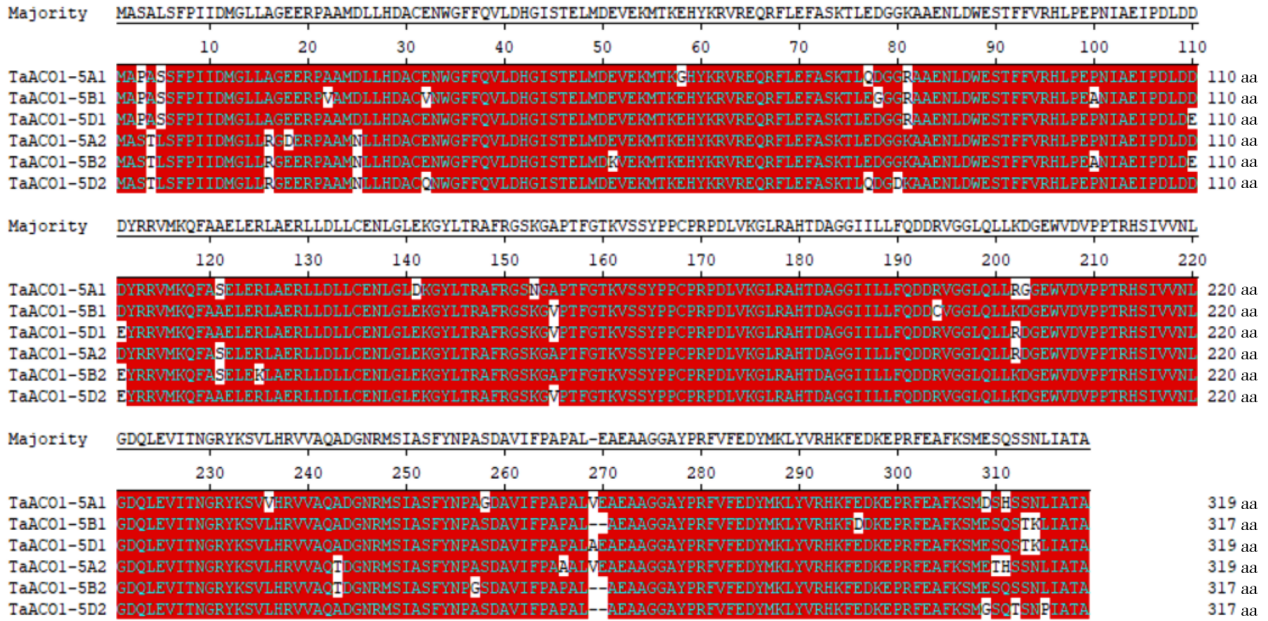


图 4 小麦 *TaACO1* 蛋白序列比较分析

Fig.4 Sequences alignment of wheat *TaACO1* proteins

表 4 小麦 *TaACO1* 蛋白疏水性及亚细胞定位分析

Table 4 Hydrophobicity and subcellular localization of wheat *TaACO1* protein

基因 Gene	亲水性最强氨基酸 The most hydrophilic amino acid	疏水性最强氨基酸 The most hydrophobic amino acid	亲疏水性 Hydrophilic	信号肽 Signal peptide	定位 Location
<i>TaACO-5A2</i>	P(265 位)	D(297 位)	-0.329	无	细胞质
<i>TaACO-5A1</i>	P(265 位)	D(297 位)	-0.300	无	细胞质
<i>TaACO-5B2</i>	P(264 位), A(265 位)	D(295 位)	-0.339	无	细胞质
<i>TaACO-5B1</i>	P(264 位), A(265 位)	D(295 位)	-0.237	无	细胞质
<i>TaACO-5D2</i>	P(264 位), A(265 位)	D(295 位)	-0.336	无	细胞质
<i>TaACO-5D1</i>	P(264 位), A(265 位)	D(295 位)	-0.317	无	细胞质

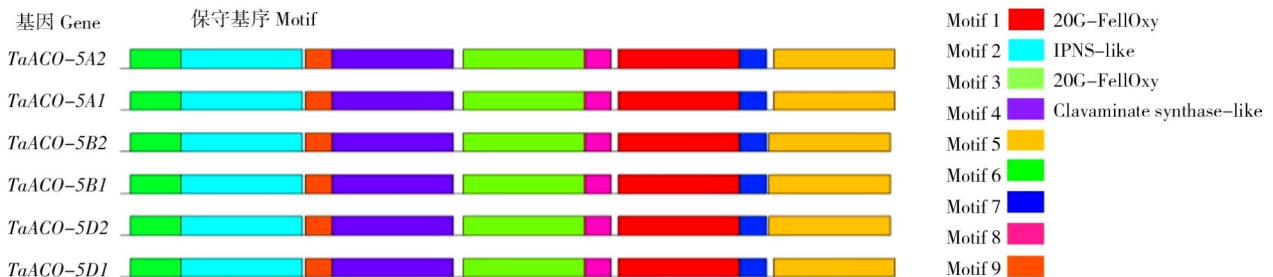


图 5 小麦 *TaACO1* 蛋白保守基序分析

Fig.5 Conserved motif analysis of wheat *TaACO1* protein

2.5 TaACO1 基因表达模式分析

从小麦多组学网站 (<http://wheatomics.sdau.edu.cn/>) 下载获得 6 个 *TaACO1* 在根 (Root_z10、Root_z13、Root_z39)、茎 (Stem_z30、Stem_z32、Stem_z65)、叶 (Leaf_z10、Leaf_z23、Leaf_z71)、穗 (Spike_z32、Spike_z39、Spike_z65) 和籽粒 (Grain_z71、Grain_z75、Grain_z85) 5 个组织的表达数据, 分析其表达模式, 结果表明 (图 6), *TaACO1-5A1* 在茎中表达量最高, 穗中次之, 籽粒 Grain_z75 和 Grain_z85 最低; *TaACO1-5A2* 在叶片表达量最高, 茎次之, 籽粒最低; *TaACO1-5B1* 在叶片中表达量最高, 茎次之, 籽粒和根最低; *TaACO1-5B2* 在茎中表达量最高, 叶片次之, 在籽粒和根中基本不表达; *TaACO1-5D1* 在穗子中表达量最高, 茎次之, 而籽粒 Grain_z75 和 Grain_z85 微量表达; *TaACO1-5D2* 在茎中表达量最高, 叶片次之, 籽粒和根中微量表达。综上, 6 个基因均在叶片和茎中高表达, 而在根和籽粒中低表达。

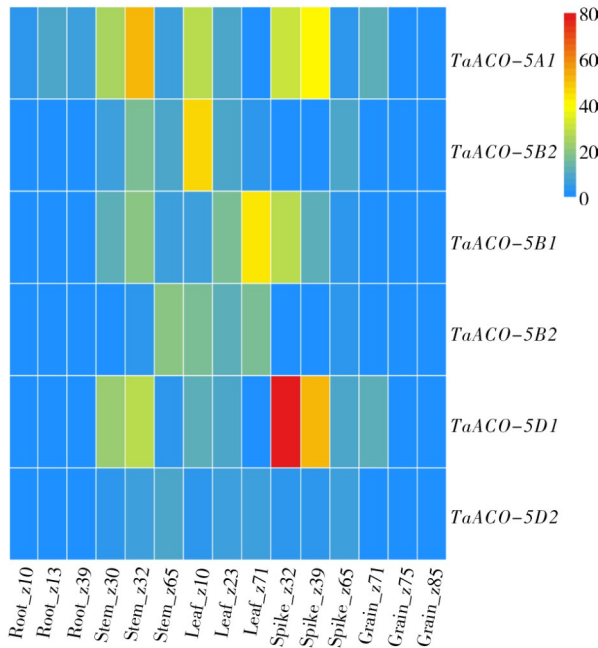


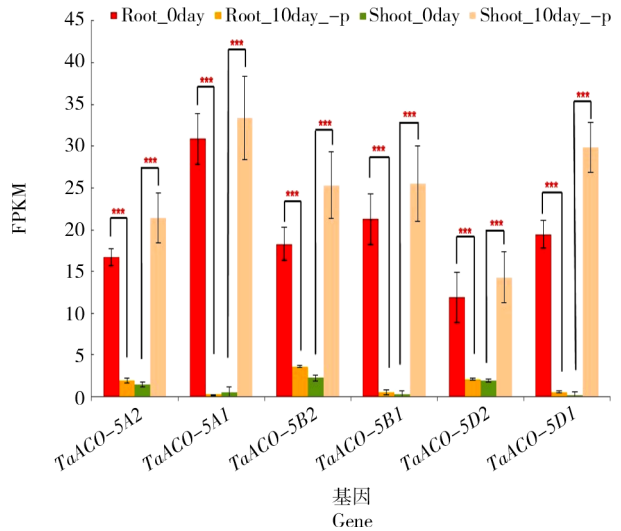
图 6 小麦 *TaACO1* 基因表达谱分析

Fig.6 Expression patterns of wheat *TaACO1* genes

2.6 小麦 *TaACO1* 基因对磷元素缺乏响应

从 *Wheatomics* (<http://wheatomics.sdau.edu.cn/>) 网站获得了小麦缺磷处理的转录组数据, 分析了缺磷条件下, *TaACO1-5A1*、*TaACO1-5A2*、*TaACO1-5D1*、*TaACO1-5B1*、*TaACO1-5B2* 和 *TaACO1-5D2* 在幼苗和根中的表达模式。结果发

现, 正常生长条件下, 6 个 *TaACO1* 在根中的表达量均显著高于幼苗 ($P < 0.01$); 缺磷处理 10 d 时, 6 个 *TaACO1* 基因在幼苗中的表达量显著增加 ($P < 0.01$), 而在根中的表达量显著降低 ($P < 0.01$)。在不缺磷的根中和缺磷的幼苗中, 均为 *TaACO1-5A2* 表达量最高和 *TaACO1-5D1* 最低 (图 7)。



***表示不同处理间在 0.01 水平上差异极显著

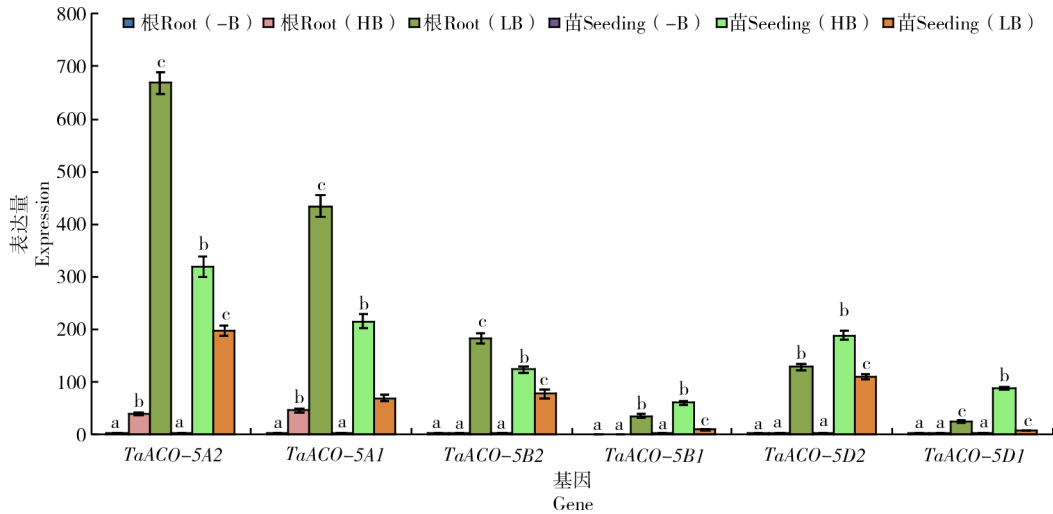
*** indicated significant differences between different treatments at the 0.01 level

图 7 小麦不同 *TaACO1* 基因对缺磷的响应

Fig.7 Response of different wheat *TaACO1* genes to phosphorus starvation

2.7 不同 *TaACO1* 基因对硼元素胁迫的响应

已有研究表明, *ACO1* 基因在植物逆境适应过程中发挥重要作用, 硼是植物生长发育所必须的微量元素, 高浓度的硼易致植物中毒, 而低浓度的硼则影响植物发育, 因此, 高浓度硼和低浓度硼均是重要的逆境胁迫。为了研究 *TaACO1* 基因对硼胁迫的响应规律, 本试验分析了在高浓度硼和低浓度硼条件下, 不同 *TaACO1* 在根和幼苗中的表达量, 结果表明 (图 8), 无论高浓度硼还是低浓度硼都可以诱导 *TaACO1-5A1* 和 *TaACO1-5A2* 在根和幼苗中的表达量增加; 低浓度硼条件下, *TaACO1-5B1* 和 *TaACO1-5B2* 在根中高表达, 而在幼苗中不表达, 高浓度硼条件下, *TaACO1-5B1* 和 *TaACO1-5B2* 在根和幼苗均有较高表达; 在幼苗中, 高浓度硼和低浓度硼均能诱导 *TaACO1-5D1* 和 *TaACO1-5D2* 表达, 而在根中只有低浓度硼可以诱导 *TaACO1-5D1* 和 *TaACO1-5D2* 表达。



不同小写字母表示不同处理间存在显著性差异($P < 0.05$)。图9同

Different lowercase letters indicated significant differences among different treatments($P < 0.05$). The same as Fig.9

图8 不同 *TaACO1* 基因硼胁迫的响应

Fig.8 Responses of different *TaACO1* genes to boron stress

2.8 不同 *TaACO1* 基因对白粉病菌的响应

白粉病是小麦的主要病害之一,严重威胁小麦产量。为了分析 *TaACO1* 基因对白粉病菌的响应,分析了小麦品种矮抗58接种白粉菌0、6、24 h后,6个 *TaACO1* 基因的表达模式,结果显示(图9),6个基因仅 *TaACO1-5D1* 和 *TaACO1-5D2* 在接种后6 h和24 h表达量增加,且接种后6 h和24 h与接种0 h表达量差异极显著($P < 0.01$)。 *TaACO1-5A1*、*TaACO1-5A2*、*TaACO1-5B1* 和 *TaACO1-5B2* 在接种后6 h和24 h后表达量与接种0 h的表达量没有显著差异。

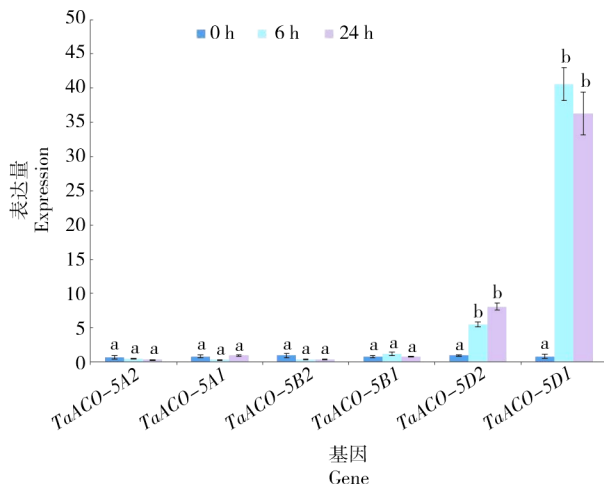


图9 不同 *TaACO1* 基因对白粉菌的响应

Fig.9 Responses of different *TaACO1* genes to powdery mildew stress

3 结论与讨论

干旱、水渍、高盐、病害等非生物与生物胁迫严重威胁全球粮食安全,乙烯作为一种气体激素,在植物非生物和生物胁迫调控过程中发挥重要作用^[25-26]。本研究从小麦中共鉴定到6个 *TaACO1* 基因,进化分析显示可以分成2类,序列分析与聚类结果一致,这与前人研究结果一致^[18]。拟南芥 *AtACO1*^[27]、苹果 *MdACO1*^[28]、甘薯 *SlACO1*^[29] 均含有2个外显子和1个内含子,本研究也表明6个 *TaACO1* 基因都具有2个外显子和1个内含子。6个 *TaACO1* 基因等电点和分子量变化范围均较小,且均预测定位于细胞质,表明6个 *TaACO1* 基因可能具有类似的生理功能。

已有研究表明,甘薯 *SlACO1* 在花期有少量表达,而在果实发育过程中表达量升高^[29]。 *AtACO1* 显示了与 *SlACO1* 明显不同的表达方式, *AtACO1* 在胚胎、籽粒形成和发芽过程中高表达,在根中也有较高的表达^[30]。本研究表明,5个组织中,6个 *TaACO1* 在茎和叶片中均高表达,在根中均低表达,这与 PARK 等^[30] 结果不一致,显示不同作物中 *TaACO1* 表达模式也不相同,仍需要进一步研究。

磷和硼元素分别是植物发育必需的大量元素和微量元素^[31]。本研究分析了6个 *TaACO1* 基因在磷胁迫下的表达模式,结果表明,在正常条件下,所有6个 *TaACO1* 在根中的表达量均显著高

于幼苗,而在缺磷时表达均受到抑制,表达量降低,这与 OONO 等^[32]研究结果一致。低浓度硼影响植物花和果实发育,甚至导致不育^[33],高浓度硼则易导致植物中毒^[34]。高浓度硼和低浓度硼处理后,*TaACO1-5A1*和*TaACO1-5A2*在根和幼苗中均高表达,表明二者受高浓度硼和低浓度硼诱导。低浓度硼条件下,*TaACO1-5B1*和*TaACO1-5B2*在根中高表达,而在高浓度硼条件下,他们在根和幼苗均有较高表达,表明*TaACO1-5B1*和*TaACO1-5B2*在不同的组织中对硼胁迫响应存在差异。*TaACO1-5D1*和*TaACO1-5D2*在根中受低浓度硼诱导表达,在幼苗中受高浓度硼和低浓度硼诱导表达,但高浓度硼诱导表达量更高。这些结果表明,不同*TaACO1*在高浓度硼和低浓度硼条件下,表达量存在差异,暗示其编码序列的改变可能导致功能分化,但这还需要进行进一步试验验证。

乌拉尔图小麦中,*TuACO3*与*TuMYB46L*相互配合,共同调控乌拉尔图小麦乙烯合成,并参与白粉病防御响应^[35]。本研究分析结果表明,接种白粉病菌 6 h 和 2 h 后,*TaACO1-5D1*和*TaACO1-5D2*表达量增加,而*TaACO1-5A1*、*TaACO1-5A2*、*TaACO1-5B1*和*TaACO1-5B2*表达量变化不显著,表明*TaACO1-5D1*和*TaACO1-5D2*参与小麦对白粉病菌的响应,揭示不同*TaACO1*基因在响应白粉病菌时,功能可能存在差异。

参考文献:

- [1] JOHNSON P R, ECKER J R. The ethylene gas signal transduction pathway: a molecular perspective[J]. Annual Review of Genetics, 1998, 32: 227-254.
- [2] WANG F F, CUI X K, SUN Y, et al. Ethylene signaling and regulation in plant growth and stress responses[J]. Plant Cell Reports, 2013, 32(7): 1099-1109.
- [3] WAN L Y, ZHANG J F, ZHANG H W, et al. Transcriptional activation of *OsDERF1* in *OsERF3* and *OsAP2-39* negatively modulates ethylene synthesis and drought tolerance in rice[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e25216.
- [4] 钟剑文. 乙烯对孕穗期和开花期小麦抗渍能力的影响及其生理机制[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
ZHONG J W. Effect of ethylene on waterlogging resistance of wheat at booting and flowering stages and its physiological mechanism[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.
- [5] 赵玉丹, 朱晓颖, 徐国娟, 等. 乙烯信号传导途径因子 *OsEIL6* 调控水稻抗稻瘟病反应[J]. 植物保护, 2020, 46(4): 12-18.
ZHAO Y D, ZHU X Y, XU G J, et al. *OsEIL6* is involved in regulating rice resistance to *Magnaporthe oryzae*[J]. Plant Protection, 2020, 46(4): 12-18.
- [6] 薛苒, 冯志明, 曹文磊, 等. 乙烯信号参与调控水稻纹枯病抗性的研究[J]. 植物病理学报, 2020, 50(4): 462-470.
XUE X, FENG Z M, CAO W L, et al. A study on ethylene signaling involving in regulating resistance to rice sheath blight[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2020, 50(4): 462-470.
- [7] WANY A, KUMARI A, GUPTA K J. Nitric oxide is essential for the development of aerenchyma in wheat roots under hypoxic stress[J]. Plant, Cell & Environment, 2017, 40(12): 3002-3017.
- [8] VAUGHAN-HIRSCH J, LID D, ROIG MARTINEZ A, et al. A 1-aminocyclopropane-1-carboxylic-acid (ACC) dipeptide elicits ethylene responses through ACC-oxidase mediated substrate promiscuity[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 995073.
- [9] 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.
- [10] BOLLER T, HERNER R C, KENDE H. Assay for and enzymatic formation of an ethylene precursor, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Planta, 1979, 145: 293-303.
- [11] 徐忠传. 成熟猕猴桃果实不同组织中 ACC 氧化酶基因的表达差异研究[J]. 中国科学技术大学学报, 2001, 31(2): 235-240.
XU Z C. Study on the differences for the expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase in different tissues of ripening kiwifruit[J]. Journal of University of Science and Technology of China, 2001, 31(2): 235-240.
- [12] 李鑫, 张美珍, 郑翘楚, 等. 盐碱胁迫下产 ACC 脱氨酶促生菌对绿豆插条生根的作用[J]. 河南农业科学, 2023, 52(7): 52-59.
LI X, ZHANG M Z, ZHENG Q C, et al. Effect of ACC deaminase-producing bacteria on rooting of mung bean cuttings under saline-alkali stress[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2023, 52(7): 52-59.
- [13] BINNIE J E, MCMANUS M T. Characterization of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase multi-gene family of *Malus domestica* Borkh[J]. Phytochemistry, 2009, 70(3): 348-360.
- [14] CHEN B C M, MCMANUS M T. Expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxidase genes during the development of vegetative tissues in white clover (*Trifolium repens* L.) is regulated by ontological cues[J]. Plant Molecular Biology, 2006, 60(3): 451-467.
- [15] KESAWAT M S, KHERAWAT B S, RAM C et al. Genome-wide identification and expression profiling of aconitase gene family members reveals their roles in plant development and adaptation to diverse stress in *Triticum aestivum* L.[J]. Plants, 2022, 11(24): 3475.
- [16] LUO L, ZHAO P, SU Z, et al. Characterization and potential action mode divergences of homologous *ACO1* genes during the organ development and ripening process between non-climacteric grape and climacteric peach[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(2): 789.

- [17] MEKHEDOV S I, KENDE H. Submergence enhances expression of a gene encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase in deepwater rice[J]. *Plant & Cell Physiology*, 1996, 37(4):531-537.
- [18] DAHLEEN L S, TYAGI N, BREGITZER P, et al. Developing tools for investigating the multiple roles of ethylene: identification and mapping genes for ethylene biosynthesis and reception in barley[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2012, 287(10):793-802.
- [19] HOUBEN M, VAN DE POEL B. 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase (ACO): the enzyme that makes the plant hormone ethylene[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10:695.
- [20] CHEN D H, MA X Y, LI C L, et al. A wheat aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase gene, *TaACO1*, negatively regulates salinity stress in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Cell Reports*, 2014, 33(11):1815-1827.
- [21] LEAUNGTHITIKANCHANA S, FUJIBE T, TANAKA M, et al. Differential expression of three *BOR1* genes corresponding to different genomes in response to boron conditions in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Plant & Cell Physiology*, 2013, 54(7):1056-1063.
- [22] ZHANG J C, ZHENG H Y, LI Y W, et al. Coexpression network analysis of the genes regulated by two types of resistance responses to powdery mildew in wheat[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6:23805.
- [23] 韦春, 宋小潘, 秦利军. 林烟草 (*Nicotiana sylvestris*) K⁺ 通道蛋白基因 *NsAKT 1* 克隆及生物信息学分析[J]. *种子*, 2020, 39(11):19-25.
- WEI C, SONG X P, QIN L J. Cloning and bioinformatics analysis of the K⁺ channel protein gene *NsAKT 1* of *Nicotiana sylvestris*[J]. *Seed*, 2020, 39(11):19-25.
- [24] 王作日, 王超, 赵懿琛, 等. 朝仓花椒 *CBL* 基因家族的鉴定及分析[J]. *种子*, 2020, 39(11):31-37.
- WANG Z R, WANG C, ZHAO Y C, et al. Identification and analysis of *CBL* gene family of *Zanthoxylum piperitum* DC. var. *inerme* Makino[J]. *Seed*, 2020, 39(11):31-37.
- [25] VAN DE POEL B, SMET D, VAN DER STRAETEN D. Ethylene and hormonal cross talk in vegetative growth and development[J]. *Plant Physiology*, 2015, 169(1):61-72.
- [26] WEN C K. Ethylene in Plants[M]. Dordrecht: Springer, 2015.
- [27] VANDENBUSSCHE F, VRIEZEN W H, SMALLE J, et al. Ethylene and auxin control the *Arabidopsis* response to decreased light intensity[J]. *Plant Physiology*, 2003, 133(2):517-527.
- [28] DANDEKARI A M, TEO G, DEFILIPPI B G, et al. Effect of down-regulation of ethylene biosynthesis on fruit flavor complex in apple fruit[J]. *Transgenic Research*, 2004, 13(4):373-384.
- [29] HAMILTON A J, BOUZAYEN M, GRIERSON D. Identification of a tomato gene for the ethylene-forming enzyme by expression in yeast[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1991, 88(16):7434-7437.
- [30] PARK C H, ROH J, YOUN J H, et al. *Arabidopsis* ACC oxidase 1 coordinated by multiple signals mediates ethylene biosynthesis and is involved in root development[J]. *Molecules and Cells*, 2018, 41(10):923-932.
- [31] VANCE C P, UHDE-STONE C, ALLAN D L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource[J]. *New Phytologist*, 2003, 157(3):423-447.
- [32] OONO Y, KOBAYASHI F, KAWAHARA Y, et al. Characterisation of the wheat (*Triticum aestivum* L.) transcriptome by *de novo* assembly for the discovery of phosphate starvation-responsive genes: gene expression in Pi-stressed wheat[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14:77.
- [33] CHEN H F, ZHANG Q, HE M L, et al. Molecular characterization of the genome-wide *BOR* transporter gene family and genetic analysis of BnaC04. BOR1; 1c in *Brassica napus*[J]. *BMC Plant Biology*, 2018, 18(1):193.
- [34] BRDAR-JOKANOVI. Boron toxicity and deficiency in agricultural plants[J]. *Int J Mol Sci*, 21:1-20.
- [35] HE H G, LIU R K, MA P T, et al. Characterization of Pm68, a new powdery mildew resistance gene on chromosome 2BS of Greek durum wheat TRI 1796[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2021, 134(1):53-62.