文章编号: 1005-0906(2021)04-0043-08

DOI: 10.13597/j.cnki.maize.science.20210406

玉米rboh基因家族鉴定及非生物逆境表达分析

赵长江^{1,2,3},彭晶晶^{1,2,3},董洁静^{1,2,3},王 超^{1,2}, 杨克军^{1,2,3},李佐同^{1,2,3},徐晶宇^{1,3}

(1.黑龙江八一农垦大学农学院,黑龙江 大庆 163319; 2. 黑龙江省秸秆资源化利用工程技术研究中心,黑龙江 大庆 163319;3. 黑龙江省现代农业栽培技术与作物种质改良重点实验室,黑龙江 大庆 163319)

摘 要:在玉米基因组水平鉴定13个rboh蛋白基因,分别定位于6条染色体上。家族蛋白被分成3个亚组,第 2亚组成员ZmrbohB、ZmrbohD和ZmrbohG基因均含有14个外显子、定位叶绿体;其余两个亚组成员具有不同亚细胞 定位,其中第1亚组基因间具有较强的正向选择压力。Zmrbohs基因在不同组织和发育阶段的表达模式不同,其中 ZmrbohD、ZmrbohE和ZmrbohM为组成型高表达,ZmrbohC和ZmrbohL在花药特异表达。通过转录测序数据分析, ZmrbohB、ZmrbohD、ZmrbohE、ZmrbohG、ZmrbohI、ZmrbohK和ZmrbohM等7个基因不同程度参与对低温、高温、盐、紫 外和干旱胁迫的应答。

关键词: 玉米;rboh;基因家族;活性氧;表达谱 中图分类号: S513.035.3

文献标识码: A

Analysis of Abiotic Stress Expression of rboh Gene Family Identified in Maize Genome

ZHAO Chang-jiang^{1,2,3}, PENG Jing-jing^{1,2,3}, DONG Jie-jing^{1,2,3}, WANG Chao^{1,2},

YANG Ke-jun^{1,2,3}, LI Zuo-tong^{1,2,3}, XU Jing-yu^{1,3}

(1. College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319;

2. Engineering Research Center for Crop Straw Utilization, Daging 163319;

3. Key Laboratory of Modern Agricultural Cultivation and Crop Germplasm Improvement,

Heilongjiang province, Daqing 163319, China)

Abstract: The respiratory burst oxidase homolog(rboh) is the main pathway for generating reactive oxygen species(ROS) in plants. It plays a vital role in plant growth and development and stress response. In this study, 13 rboh protein genes were identified at the genome of maize using bioinformatics analysis, located on 6 different chromosomes. The family proteins may be divided into three subgroups, and the members of the second subgroup, *ZmrbohB*, *ZmrbohD*, and *ZmrbohG*, contained 14 exons and chloroplast localization. The members of the other two subgroups have different subcellular localization, among which the first subgroup has intense positive selection pressure. The expression patterns of the *ZmrbohS* gene were different in various tissues and development stages, in which *ZmrbohD*, *ZmrbohE*, and *ZmrbohM* constitutively highly expressed, and *ZmrbohC* and *ZmrbohL* specifically expressed in anthers. Through transcription–sequencing data analysis, seven genes, including *ZmrbohB*, *ZmrbohD*, *ZmrbohI*, *ZmrbohK*, and *ZmrbohM*, were involved in response to low temperature, high temperature, salt, UV–B, and drought stress to varying degrees.

Key words: Maize; Rboh; Gene families; Reactive oxygen species; Expression profile

- 基金项目:黑龙江省自然基金重点项目(ZD2020C007)、黑龙江八一 农垦大学青年创新人才项目(CXRC2016-02)
- 作者简介:赵长江(1979-),博士,副教授,主要从事作物逆境生理及 秸秆炭还田利用。E-mail:zhaocj15@byau.edu.cn 徐晶宇为本文通讯作者。 E-mail:xujingyu2003@hotmail.com

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是生物体 有氧代谢的副产物,是一类化学性质活泼、具备较强 的氧化活性的含氧物质。生物体内活性氧具有双重 作用,一方面作为信号分子参与植物对生长发育的 调控、激素反应以及对生物和非生物逆境胁迫的应 答反应^[1,2];另一方面,ROS的过度积累导致膜损伤,

录用日期: 2020-10-12

蛋白质氧化和DNA损伤,甚至可以导致无法修复的 代谢功能障碍和细胞死亡^[3]。

活性氧在植物体内产生机制多样,主要由植物 呼吸爆发氧化酶(respiratory burst oxidase homologue, rboh,又称NADPH氧化酶)介导生成。该酶是一种 以胞质 NADPH为电子供体,催化胞外氧(O_2)生成超 氧阴离子(O_2^-)的氧化还原酶,并伴随着 H₂O₂ 的产 生^[4,5]。该类酶具备 NADPH 结合结构域、FAD 结合 结构域以及 6 个保守跨膜结构域等典型结构域,与 动物吞噬细胞 NADPH 氧化酶复合体催化亚基 gp91phox的保守结构域一致^[6]。

自从1996年在植物中第1次报道水稻*RbohA*基因^[7]以来,已有大量研究指出,该家族基因可整合钙、蛋白激酶、一氧化氮和脂质信号磷酸化等不同信号转导途径,参与植物根发育、保卫细胞功能等重要生物学过程的调控,以及对多种生物和非生物逆境的应答调控^[8-10]。目前已经在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)^[11-13]、水稻(*Oryza sativa*)^[11-13]、烟草(*Nicotiana tabacum*)^[14],棉花(*Gossypium hirsutum*)^[15]和柑橘(*Citrus reticulata*)^[16]等不同物种基因组水平陆续鉴定了rboh家族成员并对其进行了功能研究。尽管已有研究指出玉米(*Zea mays*) *Zmrboh*与水分胁迫和脱落酸(Abscisic acid, ABA)激素的抗氧化密切相关^[17,18],但是,关于Zmrboh家族基因系统分析鲜有报道。因此,本研究基于全基因组数据,对Zmrboh家族进行鉴定及表达分析。

1 材料与方法

1.1 基因家族成员鉴定

采用3种方法对基因家族成员进行鉴定,在NC-BI数据库(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)中搜索关键词 "maize"和"rboh";以拟南芥蛋白为种子序列在玉米 基因组数据库(http://www.maizegbd.org/)和NCBI数据 库中搜索靶蛋白;以典型的NADPH_Ox,Ferric_reduct,FAD结合和NAD结合保守结构域在上述数据 库搜索靶蛋白。然后,利用NCBI、SMART (http:// smart.embl-heidelberg.de/)和Pfam (http://pfam.sanger. ac.uk/)数据库对非冗余靶蛋白序列进行保守结构域 分析。

1.2 蛋白基因基本特征分析

通过 MaizeSequence (http://www.maizesequence. org/index.html)数据库获取基因登录号、编码序列长 度和氨基酸数量。通过 Expasy (http://web.expasy. org/cgi-bin/protaparam/protparam)获取分子式、分子 量和等电点。

1.3 蛋白进化及亚细胞定位预测分析

通过 Phytozome v11.0(https://phytozome.jgi.doe. gov)数据库获得水稻等其他物种家族蛋白,然后通 过 MEGA6.0软件构建系统发育树。采用 Server(http: //www.cbs.dtu.dk/ services/SignalP/)和 WolF PSORT (https://wolfpsort.hgc.jp/)进行亚细胞定位预测分析。

1.4 蛋白质结构分析

采用 MEME(http://meme-suite.org/opal-jobs/appMEME_4.11.21484372785819316597740/meme.ht ml)分析蛋白保守基序。采用(https://npsa-prabi.ibcp. fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)预 测蛋白二级结构,采用 SwissModel(http://swissmodel. expasy.org/)预测蛋白三级结构。

1.5 基因定位及进化选择分析

采用 RCircos 软件绘制染色体定位图。使用 DNAsp 软件计算非同义替换率ka、同义替换率ks 以 及比值(ka/ks)。

1.6 基因结构及其启动子顺式元件分析

利用 GSD (http://gsds.cbi.pku.edu.cn/)进行基因 结构分析。翻译起始位点上游 2000 bp 的启动子序 列提交至 PlantCARE(http://bioinformatics.psb.ugent. be/webtools/plantcare/html/)进行顺式作用元件鉴定。

1.7 基因表达分析

一方面,生育期表达数据来自 Maize eFP(http:// bar.utoronto.ca/efp_maize/cgi- bin/ efpWeb.cgi)数据 库,通过 Cluster version 3.0和 Tree View version 1.6 软件进行聚类分析;另一方面,NCBI数据库下载 B73和OH43两玉米品种幼苗逆境转录组数据^[19],进 行基因家族逆境表达谱分析。处理分别为低温(5℃) 处理 16 h;高温(50℃)处理4 h;盐(300 mmol/L NaCl) 处理 20 h;紫外(UV)处理2 h;干旱(播种4 d后进行 10 d缺水)处理。

2 结果与分析

2.1 Zmrbohs基因家族的鉴定和命名

本研究通过生物信息技术获得 Zmrboh 基因家 族蛋白成员 13个(表 1),分别命名为 ZmrbohA ~ ZmrbohM。其中, Zmrbohs 基因编码序列长度介于 2469~3030 bp,编码蛋白质氨基酸数量介于822~ 1009 aa,分子量介于92.76~112.870 1 kDa,蛋白等 电点介于9.01~9.61之间,均为碱性蛋白质。

亚细胞定位预测表明,除ZmrbohA唯一定位于 质膜外,其他家族蛋白具有多个亚细胞定位的可 能。按照最大可能性原则发现,ZmrbohC和ZmrbohJ 定位细胞核,ZmrbohH、ZmrbohI、ZmrbohL和ZmrbohM 定位细胞质,ZmrbohB、ZmrbohD、ZmrbohE、 ZmrbohF和ZmrbohG定位叶绿体。

2.2 Zmrbohs基因家族染色体定位分析

Zmrbohs家族基因染色体定位所示,ZmrbohB、 ZmrbohE、ZmrbohC和ZmrbohM基因定位于3号染色 体,ZmrbohF、ZmrbohH和ZmrbohJ定位于2号染色体,ZmrbohI和ZmrbohG基因定位于8号染色体,ZmrbohG、ZmrbohK、ZmrbohD和ZmrbohG基因分别定位于1、4、6和10号染色体。其中,ZmrbohF、ZmrbohH及ZmrbohJ基因在染色体上的位置很近。

表1	Zmrbohs基因及编码蛋白的基本特征
----	---------------------

Table 1 Characters of putative Zmrbohs

基因名 Gene name	登录号 Accession number	编码长度 (bp) Length of CDS	氨基酸(aa) Protein length	分子式 Molecular formula	分子量(KDa) Molecular weight	等电点 Theoretical PI	亚细胞定位 Subcellar location
ZmrbohA	GRMZM2G300965_T01	2 796	931	$C_{4663}H_{7267}N_{1315}O_{1308}S_{35}$	103.800 1	9.12	Pla
ZmrbohB	GRMZM2G138152_T02	2 832	943	$C_{4783}H_{7497}N_{1319}O_{1365}S_{32}$	106.345 0	9.28	Chl/nuc
ZmrbohC	GRMZM2G401179_T01	2 529	842	$C_{4293}H_{6703}N_{1169}O_{1194}S_{38}$	95.014 8	9.33	Nuc/cyt
ZmrbohD	GRMZM2G043435_T01	2 847	948	$C_{4808}H_{7555}N_{1331}O_{1368}S_{31}$	106.887 8	9.42	Chl/mit
ZmrbohE	GRMZM2G426953_T01	2 100	852	$C_{4325}H_{6763}N_{1185}O_{1204}S_{40}$	95.907 8	9.47	Chl/mit
ZmrbohF	GRMZM2G358619_T01	2 931	976	$C_{4892}H_{7608}N_{1386}O_{1392}S_{42}$	109.457 9	9.01	Chl/pla
ZmrbohG	GRMZM2G448185_T01	3 030	1 009	$C_{5027}H_{7867}N_{1461}O_{1426}S_{40}$	112.870 1	9.61	Chl/mit
ZmrbohH	GRMZM2G037993_T01	2 649	882	$C_{4479}H_{6987}N_{1259}O_{1254}S_{36}$	99.691 5	9.35	Cyt/pla
ZmrbohI	GRMZM2G022547_T02	2 649	897	$C_{4576}H_{7138}N_{1248}O_{1292}S_{30}$	101.270 4	9.24	Cyt/chl
ZmrbohJ	GRMZM2G065144_T01	2 847	948	$C_{4745}H_{7403}N_{1341}O_{1346}S_{38}$	105.990 4	9.26	Nuc/pla
ZmrbohK	GRMZM2G441541_T02	2 799	932	$C_{4676}H_{7274}N_{1336}O_{1328}S_{32}$	104.481 2	9.36	Pla/chl
ZmrbohL	GRMZM2G323731_T01	2 469	822	$C_{4181}H_{6523}N_{1141}O_{1171}S_{39}$	92.760 0	9.38	Cyt/nuc
ZmrbohM	GRMZM2G034896_T01	2 766	921	$C_{4676}H_{7258}N_{1290}O_{1320}S_{33}$	103.724 9	9.32	Cyt/nuc

注:Nuco为细胞核;Cyt为细胞质;Chl为叶绿体;Mi为线粒体;Pla为质膜。

Note: Nuc, nucleu; Cyt, cytoplasm; Chl, chloroplast; Mit, mitochondria; Pla, plasma membrane.

相对进化速率Ka/Ks分析表明,Zmrbohs家族中 ZmrbohF与ZmrbohI、ZmrbohF与ZmrbohG、ZmrbohH 与ZmrbohI、ZmrbohI与ZmrbohL、ZmrbohI与ZmrbohK 及ZmrbohI与ZmrbohG基因之间是正向选择关系, 其他各基因之间是纯化选择关系。

2.3 Zmrbohs基因家族进化关系分析

选择拟南芥、水稻、高粱(Sorghum bicolor)和二穗 短柄草(Brachypodium distachyon)rbohs家族蛋白,与 玉米蛋白构建进化树(图1)。玉米 rbohs家族蛋白被 分成3个亚组:I组包含7个Zmrbohs蛋白,可进一步 分为两个亚组,分别为ZmrbohK、ZmrbohH、ZmrbohF 和mrbohJ,以及ZmrbohA、ZmrbohI、ZmrbohH、II组包 含3个Zmrbohs蛋白,分别为ZmrbohB、ZmrbohD和 ZmrbohG,与3个Atrbohs蛋白同组;III组包含3个 Zmrbohs蛋白,分别为ZmrbohC、ZmrbohE和ZmrbohL,与2个Atrbohs蛋白同组。物种之间比较发 现,Zmrbohs和Sbrbohs蛋白同组。物种之间比较发 现,Zmrbohs和Sbrbohs蛋白高级、家美家更近,同源性达 到90%以上,其中ZmrbohK、ZmrbohA、ZmrbohD、ZmrbohG和ZmrbohE蛋白分别与高粱Sobic005G139700.2、Sobic008G118700.1、Sobic009G206500.1、Sobic007G148300.1和Sobic003G347520.1蛋白同源性高达100%,为直系同源基因。

2.4 Zmrbohs蛋白保守基序和基因结构分析

对Zmrbohs蛋白保守结构域进行分析(图2),基 因家族13个成员比较保守,均含有供试的10个保守 基序。同时,分析Zmrbohs家族基因的内含子和外 显子结构发现,根据基因结构将Zmrbohs基因分为 三大组,第一组含有外显子数在7~12个,其中一个 亚组ZmrbohF、ZmrbohJ、ZmrbohK和ZmrbohH基因 都有9个外显子,均为蛋白进化I组的同一亚组,表 明基因结构的保守性与蛋白的保守性相对应,另一 个亚组ZmrbohA、ZmrbohI和ZmrbohM基因外显子数 量变化较大;第二组含有ZmrbohG、ZmrbohB和ZmrbohD基因,外显子数为14个,均为蛋白进化II组的 同一亚组;第三组含有ZmrbohE、ZmrbohC和ZmrbohL基因,外显子数介于10~13个。

2.5 Zmrbohs家族蛋白高级结构预测分析

对Zmrbohs家族蛋白二级结构分析(图3),家族 蛋白以螺旋为主,其中蛋白N端和C端均有延长链, 尤其是C端延长链居多,中段主要为6个保守的跨 膜螺旋结构。虽然该类蛋白N端延长链不多,但是构成了植物特有的EF手性结构域。三级结构分析也表明,Zmrbohs蛋白结构含有多个螺旋、延长链和回折结构,三级结构大体相似。从三维结构看,Zmr-bohs蛋白螺旋区回折结构不尽相同。根据NCBI数据库分析,Zmrbohs家族蛋白都含有NADPH(PF01794)、Ferric(PF08022)、FAD(PF08030)和NAD

(PF08414)结构域以及EF手性结构域,其中,N端的 NADPH氧化酶结构域,C端的FAD结构域与NAD 结构域紧密相邻,结构相近。ZmrbohC、ZmrbohH和 ZmrbohL这3个成员N端无明显延长链结构,意味着 不存在EF手性结构域,NCBI结构域分析也表明不 存在EF手性结构域,可能存在不受钙离子调控的活 性氧产生机制。



注: 左图中数字代表对应的玉米染色体; 右图中 Zm 表示玉米 rbohs 基因, Os 表示水稻 rbohs 基因, At 表示拟南芥 rbohs 基因。

Note: in left figure, arabic numerals represent the corresponding maize chromosome; in right figure, Zm indicates maize rbohs gene, Os indicates rice rbohs gene, At indicates Arabidopsis rbohs gene.

图1 Zmrbohs基因在玉米染色体上分布及编码蛋白进化树

Fig.1 Chromosomal distributions of Zmrbohs genes in the maize genome and phylogenetic analysis of their coding proteins



注: 左图为蛋白保守基序, 其中数字代表不同保守基序; 右图为基因结构, 涉及内含子和外显子分布。

Note: The left figure shows the protein conserved motif, where the numbers represent different conserved domain; the right figure shows the gene structure involving intron and exon distribution.

图2 Zmrbohs蛋白保守基序及基因结构

Fig.2 Protein conserved domain and gene structure of Zmrbohs



注:图A中柱子高矮代表不同二级结构,从高到矮依次为螺旋、延长链和转角;柱子宽度表示数量。

Note: In figure A, the height and short of column represent different secondary structures, with helix, extended strand, and the turn; the column width indicates the number.

图3 Zmrbohs蛋白二级(A)和三级结构图(B)

Fig.3 Secondary structure(A) and putative tertiary structure(B) of Zmrbohs

2.6 Zmrbohs家族基因表达谱分析

Zmrbohs基因在不同组织和发育阶段的表达模式不同(图4)。3个亚家族各1个成员ZmrbohD、Zmr-

bohE和ZmrbohM在各组织和发育阶段表达量都较高,为组成型高表达;ZmrbohI和ZmrbohB在各组织和发育阶段表达量中等,为中等组成型表达;Zmrbo-



Fig.4 The expression profile of Zmrbohs gene in different tissues and developmental stage

hF、ZmrbohH和ZmrbohJ基因在玉米不同组织中表 达量都较低,均为蛋白进化I组的同一亚组。其中, ZmrbohD在种子形成过程中持续高表达,同时ZmrbohA基因也在种子和胚乳中较高表达。ZmrbohC和 ZmrbohL只在花药中表达较高,可能在该时期或组 织部位具有特殊的生物学功能。

2.7 Zmrbohs基因启动子顺式元件分析

在Zmrbohs启动子上检索已知脱落酸(ABA)、生长素(Auxin)、水杨酸(Salicylic acid,SA)和茉莉酸(Jasmonic acid,JA)4个激素相关元件,干旱(Drought)、盐(NaCl)和低温(Low temperature)等3个非生物逆境相

关元件,并进行数量统计分析(图5)。供试非生物逆 境相关元件在Zmrboh家族基因启动子上均有不同 程度的分布,其中ZmrbohE启动子干旱和盐相关元 件数量较多,ZmrbohI启动子干旱和低温相关元件 数量较多,ZmrbohD启动子上低温相关元件在数量 最多。供试激素相关诱导元件中,脱落酸诱导元件 在大部分家族基因启动子上普遍存在,生长素诱导 元件数量最少;基因启动子上SA和JA相关元件数 量产生明显分化,其中ZmrbohC、ZmrbohD、ZmrbohI 和ZmrbohHJ启动子SA诱导元件数量较多,ZmrbohA 和ZmrbohE基因启动子JA元件数量较多。



图5 Zmrbohs启动子激素及逆境相关顺式元件数量分布 Fig.5 Amount of cis-elements related to hormone and stress in Zmrbohs promoters

2.8 Zmrbohs基因非生物逆境表达谱分析

冷(cold)胁迫下,自交系 B73中4个 Zmrboh 基因 差异表达,自交系 OH43中5个基因差异表达(图6)。 其中,3个基因在两个品种中表达模式相同,包括 ZmrbohD显著上调,ZmrbohE和 ZmrbohK显著下调; 3个基因在两个品种间表达模式不同,包括 ZmrbohB 在 B73中冷诱导不明显、在 OH43中显著下调,ZmrbohG在 B73中变化不显著、在 OH43中显著降低, ZmrbohI在 B73中显著下调、在 OH43中差异不显著。

在热(heat)胁迫下,自交系 B73 中 5 个 Zmrboh 基 因差异表达,自交系 OH43 中仅1 个基因差异表达。 其中,ZmrbohB 基因表达量在两个玉米品种中均显 著提高;在 B73 中 ZmrbohE 和 ZmrbohG 基因表达量 显著提高,ZmrbohD 和 ZmrbohI 基因表达量显著降 低,而这些基因在 OH43 中表达量都没有显著变化。

紫外(UV)处理下,自交系B73和OH43中均有6 个Zmrboh基因差异表达,但表达模式不尽相同。其 中,4个基因在两个品种中表达模式相同,即两个玉 米品种ZmrbohD、ZmrbohE、ZmrbohI和ZmrbohK基因 表达量都显著提高;2个基因在两个品种间表达模 式不同,在B73中ZmrbohB和ZmrbohG基因表达量 显著升高,而在OH43中却显著下调。

在盐(NaCl)处理下,自交系B73中5个Zmrboh基 因差异表达,自交系OH43中4个基因差异表达。其 中,3个基因在两个品种中表达模式相同,两个玉米 品种ZmrbohK基因表达量显著提高,ZmrbohD和 ZmrbohI基因表达量都显著降低;3个基因在两个品 种间表达模式不同,包括ZmrbohB和ZmrbohE基因 在B73中分别显著上调和下调表达、在OH43中均无 明显变化,ZmrbohM在B73中变化不显著、在OH43 中显著增强。

干旱(drought)处理下,B73品种中ZmrbohB、ZmrbohD、ZmrbohE和ZmrbohI基因表达量显著降低, ZmrbohG基因表达量显著提高,其余ZmrbohK基因 干旱诱导表达变化不显著。



注:A和E为低温胁迫;B和F为热胁迫;C和G为紫外胁迫;D和H为盐胁迫;I为干旱胁迫。不同小写字母表示在0.05水平有显著差异。 Note: A and E were cold stress; B and F were heat stress; C and G were UV stress; D and H were salt stress; I was drought stress. Different lowercase letter representations differ significantly at the 0.05 level.

图6 Zmrbohs家族基因非生物逆境表达谱



3 讨 论

本研究在玉米基因组水平鉴定出13个Zmrbohs 蛋白,利用生物信息学方法对rbohs家族成员的进化 关系、基因结构、蛋白保守结构域、启动子元件和组 织部位表达模式进行综合分析,并利用低温、高温、 盐、紫外和干旱处理B73和OH43自交系幼苗的Solexa转录组测序数据,ZmrbohB、ZmrbohD、ZmrbohE、 ZmrbohG、ZmrbohI、ZmrbohK和ZmrbohM共7个基因 不同程度参与供试逆境的应答。在B73中,ZmrbohD和ZmrbohE在供试5个非生物逆境处理中均显著 差异表达,表现出对逆境调控的广谱性,同时ZmrbohA、ZmrbohC、ZmrbohF、ZmrbohH、ZmrbohJ和ZmrbohL共6个基因在逆境中弱表达或无表达,与这些 基因在组织部位和生长发育阶段的表达相一致,充 分表明该家族基因在逆境响应和生长发育调节中发 挥重要作用。另外,本研究中相同基因在不同品种 或品系中表达不尽相同,表明该类基因具有一定的 遗传依赖性,尤其是热处理差异基因数量在B73和 OH43两自交系间相差很大,值得深入探讨。

已有研究表明,外施不同激素包括脱落酸 (ABA)、生长素(IAA)、水杨酸(SA)和茉莉酸(IA)等植 物激素可诱导拟南芥和水稻rboh不同程度的差异表 达^[20]。植物防卫相关激素 SA 和茉莉酸甲酯(Methyl Jasmonate, MeJA)不仅可以诱导部分 OsRboh 基因增 强表达,而且水稻黄单胞菌致病菌株也诱导OsRbohA和OsRbohB的表达,表明水稻rboh可参与植物对 生物胁迫的应答。另外,拟南芥 AtRbohD 和 AtRbohF 双突变体中 ABA 诱导的气孔关闭、ROS 积累及 Ca²⁺通道的活跃程度均削弱,表明ABA 可诱导植物 Rboh 氧化酶产生 ROS 参与植株的生理调节过 程^[21]。本研究中ZmrbohB和ZmrbohD参与对低温、 高温、盐、紫外和干旱等非生物胁迫的广谱应答,而 且还可能与同一亚组水稻 OsRbohA 功能相近,参与 对生物胁迫的应答,以及对不同激素的应答;同时与 拟南芥 AtRbohF 在同一亚家族,表明这两个基因也 可能受到ABA的调控,从而实现对不同逆境的广谱 应答,而且可能通过植物激素平衡的方式协调逆境 和生长发育。

参考文献:

- Mittler R, Vanderauwera S, Suzuki N, et al. ROS signaling: the new wave?[J]. Trends Plant Sci, 2011(16): 300–309.
- [2] Torres M A, Dangl J L. Functions of the respiratory burst oxidase in biotic interactions, abiotic stress and development[J]. Curr Opin Plant Biol, 2005, 8(4): 397–403.
- [3] Mittler R. ROS are good[J]. Trends Plant Sci., 2016, 22(1): 11-19.
- [4] Foreman J, Demidchik V, Bothwell J H F, et al. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth[J]. Nature, 2003, 422: 442–446.
- [5] 刘秋圆,贺浩华,胡丽芳. 植物 Rboh 基因功能及其活性调节机制的研究进展[J]. 生物技术通报,2013(11):8-13.
 Liu Q, He H, Hu L. Research progress in plant Rboh genes function and activity regulation mechanism[J]. Biotechnology Bulletin, 2013, 11: 8-13. (in Chinese)
- [6] Oda T, Hashimoto H, Kuwabara N, et al. Structure of the N-terminal regulatory domain of a plant NADPH oxidase and its functional implications[J]. J Biol Chem, 2010, 285(2): 1435–1445.
- [7] Groom Q J, Torres M A, Fordham-Skelton A P, et al. rbohA, a rice homologue of the mammalian gp91phox respiratory burst oxidase gene[J]. Plant J, 1996, 10: 515–522.
- [8] Kadota Y, Shirasu K, Zipfel C. Regulation of the NADPH oxidase RBOHD during plant immunity[J]. Plant Cell Physiol, 2015, 56(8): 1472-80.
- [9] Chapman J M, Muhlemann J K, Gayomba S R, et al. RBOH-dependent ROS eynthesis and ROS scavenging by plant specialized metabolites to modulate plant development and stress responses[J]. Chem Res Toxicol, 2019, 32(3): 370–396.
- [10] Zhou X, Xiang Y, Li C, et al. Modulatory role of reactive oxygen species in root Development in model plant of *Arabidopsis thaliana*

[J]. Front Plant Sci, 2020, 11: 485932. doi: 10.3389/ fpls.2020. 485932.

- [11] Kaur G, Pati P K. Analysis of *cis*-acting regulatory elements of respiratory burst oxidase homolog(Rboh) gene families in Arabidopsis and rice provides clues for their diverse functions[J]. Comput Biol Chem, 2016, 62: 104–118.
- [12] Kaur G, Pati P K. In silico insights on diverse interacting partners and phosphorylation sites of respiratory burst oxidase homolog (Rbohs) gene families from Arabidopsis and rice[J]. BMC Plant Biol, 2018, 18(1): 161. doi: 10.1186/s12870-018-1378-2.
- [13] Kaur G, Pati P K. In silico physicochemical characterization and topology analysis of respiratory burst oxidase homolog(*Rboh*) proteins from Arabidopsis and rice[J]. Bioinformation, 2018, 14(3): 93–100. doi: 10.6026/97320630014093.
- [14] Yu S, Kakar K U, Yang Z, et al. Systematic study of the stress-responsive Rboh gene family in *Nicotiana tabacum*: genome-wide identification, evolution and role in disease resistance[J]. Genomics, 2019, 112(2): 1404–1418.
- [15] Wang W, Chen D, Liu D, et al. Comprehensive analysis of the Gossypium hirsutum L. respiratory burst oxidase homolog(Ghrboh) gene family[J]. BMC Genomics, 2020, 21(1): 91. doi: 10.1186/s12864– 020-6503-6.
- [16] 秦秀娟,祁静静,窦万福,等.柑橘Rboh家族鉴定及其对激素和 柑橘溃疡病的响应[J].中国农业科学,2020,53(20):4189-4203.

QIN X, QI J, DOU W, et al. Identification of Rboh family and the response to hormone and citrus bacterial canker in Citrus[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2020, 53(20): 4189–4203. (in Chinese)

[17] 赵 宇,蒋明义,张阿英,等.水分胁迫诱导玉米 Zmrboh 基因表达及 ABA 在其中的作用[J].南京农业大学学报,2008,31(3):26-30.

Zhao Y, Jiang M Y, Zhang A Y, et al. Water stress induced expression of maize *Zmrboh* genes and the role of ABA in the process[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2008, 31(3): 26–30. (in Chinese)

- [18] Jiang M, Zhang J. Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in abscisic acid- and water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings[J]. Planta, 2002, 215(6): 1022– 1030.
- [19] Makarevitch I, Waters A J, West P T, et al. Transposable elements contribute to activation of maize genes in response to abiotic stress [J]. PLoS Genetics, 2015, 11(1): e1004915.
- [20] 李 业,陈银华,吴家和,等. OsRboh 基因家族在水稻免疫应答中的表达及功能分析[J]. 生物工程学报,2011,27(11):1574-1585.

Li Y, Chen Y H, Wu J H, et al. Expression and functional analysis of *OsRboh* gene family in rice immune response[J]. Chin J Biotech, 2011, 27(11): 1574–1585. (in Chinese)

[21] Kwak J M, Mori I C, Pei Z M, et al. NADPH oxidase AtrbohD and AtrbohF genes function in ROS-dependent ABA signaling in Arabidopsis[J]. EMBO J, 2003, 22(11): 2623–2633.

(责任编辑:朴红梅)