

桃 *PpSnRK1α* 在番茄中过表达对营养胁迫下植株生长的影响

罗静静¹, 张亚飞¹, 彭妍², 彭福田^{1,*}, 赵永飞¹, 于雯¹

(¹山东农业大学园艺科学与工程学院, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018; ²华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070)

摘要: 以番茄 (*Solanum lycopersicum*) 超表达桃 SnRK1 (蔗糖非发酵蛋白激酶 - 1) 基因 *PpSnRK1α* 的株系及野生型为试材, 研究在养分供应不足时 SnRK1 对植株生长的影响。结果表明, 低营养条件下, 转基因番茄叶片和根系中的 SnRK1 酶活性比野生型高 41.55% 和 39.46%; 功能叶片的净光合速率平均比野生型高 18.98%; 低营养胁迫 12 d 的叶片 SOD、POD、CAT 活性比野生型高 35.56%、28.85% 和 14.90%; 根系活力比野生型高 26.39%; 茎和叶中氮磷含量显著高于野生型, 钾含量两者差别不大, 在根系中氮磷含量差别不大, 而钾含量显著高于野生型, 且氮素向地上部茎和叶中的分配比率增加。上述结果说明, 在营养缺乏条件下, 超表达 *PpSnRK1α* 可以提高番茄功能叶净光合速率, 促进植株对氮素的吸收利用, 从而延缓叶片衰老。

关键词: 桃; SnRK1; 营养胁迫; 番茄; 净光合速率; 养分含量; 抗氧化酶

中图分类号: S 662.1; S 641.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0513-353X (2017) 04-0644-09

Effects of Overexpressing *PpSnRK1α* on the Growth of Tomato Plants Under Nutrient Stress

LUO Jingjing¹, ZHANG Yafei¹, PENG Yan², PENG Futian^{1,*}, ZHAO Yongfei¹, and YU Wen¹

(¹College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an, Shandong 271018, China; ²College of Plant Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: *PpSnRK1α*-overexpressing tomato (T₂₋₃) and wild type tomato were used to study the effects of SnRK1 on the growth of tomato plants under nutrient stress. The results shows that: compared with wild type tomato, SnRK1 activity in leaves and roots increased by 41.55% and 39.46% of *PpSnRK1α*-overexpressing tomato under nutrient stress. The average photosynthetic rates increased by 18.98% in mature leaves of T₂₋₃ compared with wild type. After 12 days under low nutrient stress, the transgenic lines overexpressing *PpSnRK1α* showed better antioxidant enzymes and root activity. The SOD, POD, CAT activities and root activity were increased 35.56% 8.85% 14.90% and 26.39% compared with wild type. The content of N, P in the stem and leaf of T₂₋₃ was higher than that of wild type plants, while there was no obvious difference in the K content. In the roots, there were no significant difference in

收稿日期: 2016 - 11 - 10; 修回日期: 2017 - 04 - 13

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-31-3-03); 国家自然科学基金项目 (31672099)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: pft@sdau.edu.cn)

the N, P content, while the content of K of transgenic line is obviously higher than that of wild type. In addition, more N was distributed to aboveground parts. These results above show that overexpressing *PpSnRK1α* can improve the photosynthetic rates and promote the absorption of nitrogen, and then delay the leaf senescence.

Keywords: peach; SnRK1; nutrient stress; tomato; photosynthetic rate; nutrient content; antioxidant enzyme

SnRK1 是植物中的一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,它与酵母中的蔗糖非发酵蛋白激酶-1(sucrose non-fermenting 1, SNF1)以及哺乳动物中的 AMP 激活的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 同源 (Halford & Hardie, 1998)。SnRK1 作为一个能量的传感器,在植物中,糖饥饿、能量缺乏或是暗培养、氧气缺乏等都可以激活,一旦被激活,SnRK1 可以促进分解代谢、抑制合成代谢,广泛参与植物代谢、发育、以及胁迫应答等多种生理过程的调控 (Smeekens et al., 2010)。

反义表达 SnRK1 的豌豆种子会出现许多成熟缺陷,表现为减少了糖转变为储存物的数量、球蛋白含量较低,多数种子的子叶外观、形状、匀称性发生变化和早熟 (Radchuk et al., 2006)。在马铃薯中表达反义 SnRK1 复合体的 β 亚基 *StubGAL83* 引起根和块茎变小,并且根部分生区和伸长区细胞也比野生型的小,表明反义 SnRK1 导致了发育的延迟 (Lovas et al., 2003)。Baena-González 等 (2007) 研究发现在营养缺乏的培养基上, *KIN10* 超表达的拟南芥植株可以延缓衰老,并且在长日照条件下,开花延迟;将水稻的 *OsSnRK1* 转到拟南芥中也可以延缓叶片衰老 (Cho et al., 2012)。此外,SnRK1 结构的破坏还可引起苔藓原丝体和配子枝的发育异常和提前衰老 (Thelander et al., 2004)。

碳、氮代谢需协同作用来维持植物的正常生长发育 (Palenchar et al., 2004; Price et al., 2004)。体外研究发现,SnRK1 可以通过直接磷酸化或氧化还原激活相关代谢酶的活性调控碳水化合物代谢,抑制与碳水化合物代谢有关的 3 种重要酶[蔗糖磷酸合成酶 (SPS)、海藻糖磷酸合成酶 5 (TPS5)、ADP - 葡萄糖焦磷酸化酶 (AGPase)]的活性。在植物中 SnRK1 也可以通过磷酸化抑制硝酸还原酶 (NR) 的活性来实现对氮代谢的调控 (Douglas et al., 1997),比如饥饿处理的植物增加氮能够诱导硝酸还原酶基因的表达 (Wang et al., 2000, 2003)。SnRK1 还可以调控天冬酰胺合成酶基因的表达来影响氮代谢 (Baena-Gonzalez et al., 2007)。

本实验室前期研究了平邑甜茶 (*Malus hupehensis* Rehd. var. *pingyiensis* Jiang) 的 *MhSnRK1* 及桃的 *PpSnRK1α* 在番茄中的超表达,认为 *MhSnRK1* 参与调节番茄碳氮代谢, *MhSnRK1* 和 *PpSnRK1α* 超表达番茄叶片中 SnRK1 酶活性提高,净光合速率明显提高,且 SnRK1 酶活性受外源海藻糖抑制时净光合速率降低;叶片和果实中可溶性糖和淀粉含量显著增加,氮肥吸收利用率提高 (Wang et al., 2012; 王贵芳, 2014)。超表达 *PpSnRK1α* 的拟南芥株系也表现为开花时间延迟和衰老延缓 (王贵芳, 2014)。在这些研究的基础上,本研究中以超表达 *PpSnRK1α* 的番茄和野生型番茄为对象,研究在营养缺乏的条件下 SnRK1 对植株叶片衰老的影响。

1 材料与方 法

1.1 材料与 设计

2014 年培育得到超表达 *PpSnRK1α*(ppa004347m)的 5 个‘S 以 12 粉’番茄 (*Solanum lycopersicum*)

株系, 2015年3—8月对其后代进一步纯化得到超表达 *PpSnRK1a* (ppa004347m) 纯合的 T2 代株系 T₂₋₃。

2016年3月将超表达株系及野生型株系在 25 °C 下采用穴盘基质育苗, 在幼苗四叶一心时定植于水培箱中, 移栽前用清水洗净根部的育苗基质, 每个水培箱定植 12 株, 营养液为 1/2 Hoagland 营养液, 生长 5 d 后进行处理。试验设 4 个处理: (1) 野生型番茄, 1/2 Hoagland 营养液 (正常养分); (2) 野生型番茄, 1/20 Hoagland 营养液 (低养分); (3) 超表达番茄, 1/2 Hoagland 营养液 (正常养分); (4) 超表达番茄, 1/20 Hoagland 营养液 (低养分)。每个处理 3 次重复。每个水培箱 24 h 充气泵充气, 每 3 d 更换 1 次营养液。

1.2 SnRK1 酶活测定

处理 12 d 后测定各处理番茄叶片及根系中的 SnRK1 酶活性。称取 1 g 鲜样, 加入 1 mL 预冷的缓冲液, 充分研磨。提取缓冲液成分参照王贵芳等 (2014) 的文献, 其中二硫苏糖醇在提取当天加入, 蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂和苯甲基磺酰氟使用前加入。研磨悬浮液转移到两个预冷的离心管中, 4 °C、12 000 r · min⁻¹ 离心 5 min。取上清液 (750 μL) 至用平衡液处理过的 2.5 mL 离心柱 (Sephadex G-25 medium columns; GE Healthcare) 上脱盐, 洗脱液在液氮冷冻之前加入蛋白酶抑制剂和软脂肪酸至 2.5 μmol · L⁻¹, 然后液氮冷冻, -80 °C 保存备用。以 AMARA 多肽为底物 (Zhang et al., 2009; Debast et al., 2011), SnRK1 活性用试剂盒 Universal Kinase Activity Kit (R & D Systems, USA) 测定。

1.3 生理指标的测定

于处理 0、6、12 d 测定番茄叶片超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性和丙二醛 (MDA) 含量。每处理各随机选取 3 株进行取样, 重复 3 次, 结果取其平均值。SOD 活性采用氮蓝四唑 (NBT) 光化还原法 (陈贻竹和帕特森, 1988) 测定, 以抑制 NBT 光化还原的 50% 活性为 1 个酶活性单位 (U), SOD 总活性以每克鲜样质量酶单位表示; CAT 活性采用 Kar 和 Mishra (1976) 的方法, 以 1 min 内 OD₂₄₀ 变化 0.1 的酶量为 1 个酶活单位; POD 活性采用愈创木酚法 (Omran, 1980) 测定, 以每分钟 OD₄₇₀ 减少 0.1 个酶量为 1 个酶活性单位 (U); POD、CAT 活性以 U · min⁻¹ · g⁻¹FW 表示。MDA 含量采用硫代巴比妥酸法 (赵世杰等, 2002)。于处理后 12 d 采用 TTC 法测定根系活力 (邹琦, 2000)。每处理各随机选取 3 株进行取样, 其平均值, 重复 3 次。

于处理 10 d 采用 CIRAS-3 便携式光合仪 (PPSystems, 英国), 在晴天的上午 10:00—11:00 测定功能叶片的净光合速率 (P_n), 重复 7 次。于处理后 0、4、8、12 d 用叶绿素仪 (SPAD-502) 测定功能叶片的叶绿素相对含量 (SPAD)。

于处理 12 d 随机选取各处理番茄幼苗 3 株, 洗净后吸干水分, 分为地上部茎叶和地下部根系, 称鲜质量后放入烘箱 105 °C 杀青 30 min, 然后 75 °C 烘至恒重, 测量干质量。将烘干称质量后的样品用微型植物样品粉碎机粉碎, 浓 H₂SO₄ - H₂O₂ 消煮, 消煮液用于养分的测定。全氮含量采用凯氏定氮法, 磷含量采用钼锑抗比色法, 钾含量采用火焰分光光度计法测定。

2 结果与分析

2.1 *PpSnRK1a* 超表达番茄与野生型番茄的叶片表型

图 1 为处理 12 d 后番茄植株从顶端数第 3 片功能叶的表型。可以看出, 正常营养条件下, 超表

达 *PpSnRK1α* 的番茄叶片较野生型稍大, 颜色都呈现正常的绿色; 在营养供应不足的情况下, 两者叶片明显较小, 且颜色发黄, 但超表达 *PpSnRK1α* 的叶片明显比野生型叶片颜色绿, 而叶片衰老在外形上表现为叶色由绿变黄至全叶枯黄。

这说明 *PpSnRK1α* 可能影响了番茄叶片衰老的过程。

2.2 超表达 *PpSnRK1α* 番茄叶片及根系中 SnRK1 酶活性变化

由图 2 可以看出, 低营养水平下培养的番茄叶片和根系中 SnRK1 酶活性显著高于正常营养水平的番茄叶片和根系; 超表达 *PpSnRK1α* 的叶片和根系中的酶活性显著高于野生型叶片和根系。

在正常营养条件下, 超表达 *PpSnRK1α* 叶片和根系中 SnRK1 酶活性分别比野生型高 30.23% 和 27.83%; 在低营养水平下, 分别比野生型高 41.55% 和 39.46%。

可见, 在低营养水平下超表达株系 SnRK1 酶活性提高幅度大于野生型。

2.3 超表达 *PpSnRK1α* 对番茄叶片净光合速率及叶绿素含量的影响

由图 3 可见, 超表达 *PpSnRK1α* 的番茄功能叶片净光合速率均高于野生型, 正常养分供应下平均高 9.79%, 养分缺乏条件下在 8:30、10:30、12:30、14:30 和 16:30 分别高 19.11%、21.42%、14.72%、16.56% 和 23.10%, 平均比野生型提高 18.98%。

说明超表达 *PpSnRK1α* 番茄在养分缺乏时对叶片净光合速率的影响比养分充足时更加明显。

由图 4 可以看出, 超表达 *PpSnRK1α* 番茄叶片中 SPAD 显著高于野生型, 其中在养分不足条件下 12 d 后比野生型高 22.04%。

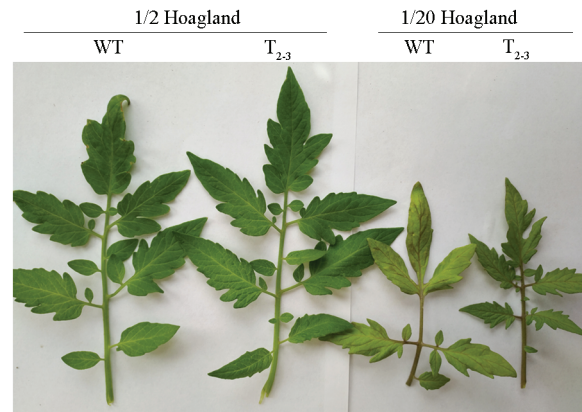


图 1 超表达 *PpSnRK1α* 番茄 ($T_{2.3}$) 与野生型 (WT) 叶片表型
 Fig. 1 Phenotypes of leaves of the *PpSnRK1α*-overexpressing line $T_{2.3}$ and wild type (WT) tomatoes

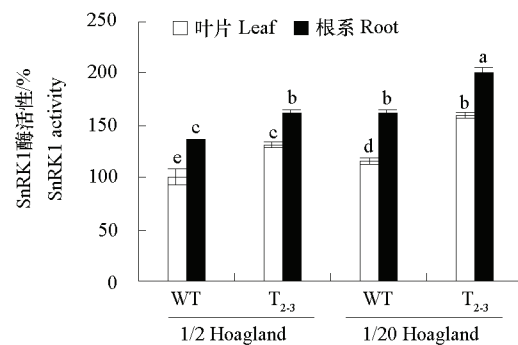


图 2 超表达 *PpSnRK1α* 番茄 ($T_{2.3}$) 及野生型番茄 (WT) 叶片和根系中的 SnRK1 酶活性

Fig. 2 SnRK1 activity in leaves and roots of *PpSnRK1α*-overexpressing line ($T_{2.3}$) and wild type (WT) tomatoes
 $P < 0.05$.

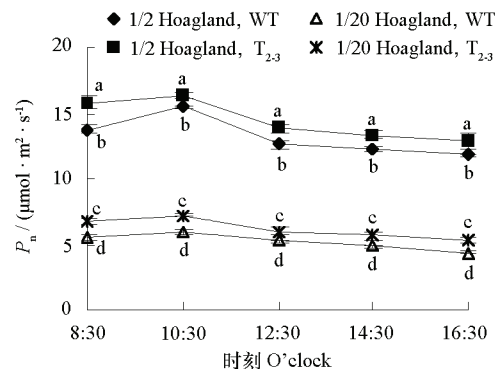


图 3 超表达 *PpSnRK1α* 番茄 ($T_{2.3}$) 及野生型番茄 (WT) 功能叶净光合速率日变化

Fig. 3 Photosynthetic rates in mature leaves of the *PpSnRK1α*-overexpressing line $T_{2.3}$ and wild type (WT) tomatoes
 $P < 0.05$.

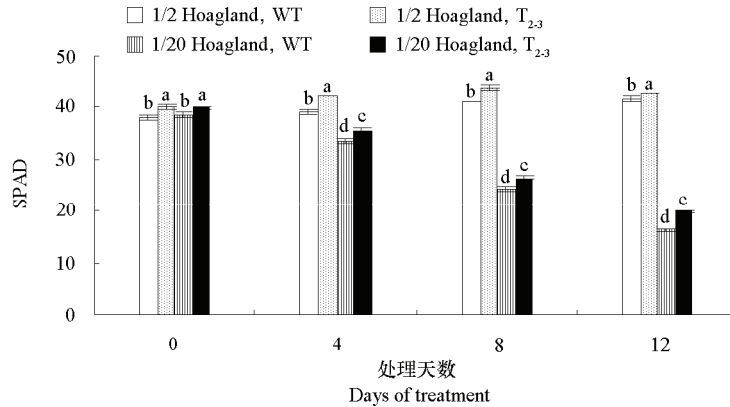


图4 超表达 *PpSnRK1a* 番茄 ($T_{2.3}$) 及野生型番茄 (WT) 功能叶片 SPAD 值动态变化

Fig. 4 The dynamics of leaf SPAD reading of the *PpSnRK1a*-overexpressing line $T_{2.3}$ and wild type (WT) tomatoes
 $P < 0.05$.

2.4 超表达 *PpSnRK1a* 对番茄叶片抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响

由图 5 可以看出, 超表达 *PpSnRK1a* 番茄叶片中的抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 活性显著高于野生型。在正常养分供应下, 随时间变化不大; 在养分不足时, 呈现先升高后降低的趋势, 说明在初始阶段, 植株通过提高抗氧化酶活性适应胁迫, 随着胁迫时间增长, 抗氧化酶活性降低。低养分处理 6 d 时, 超表达 *PpSnRK1a* 番茄叶片中 SOD、POD 及 CAT 活性比野生型高 36.36%、32.53%和 8.34%; 12 d 时, 高 35.56%、28.85%和 14.90%。

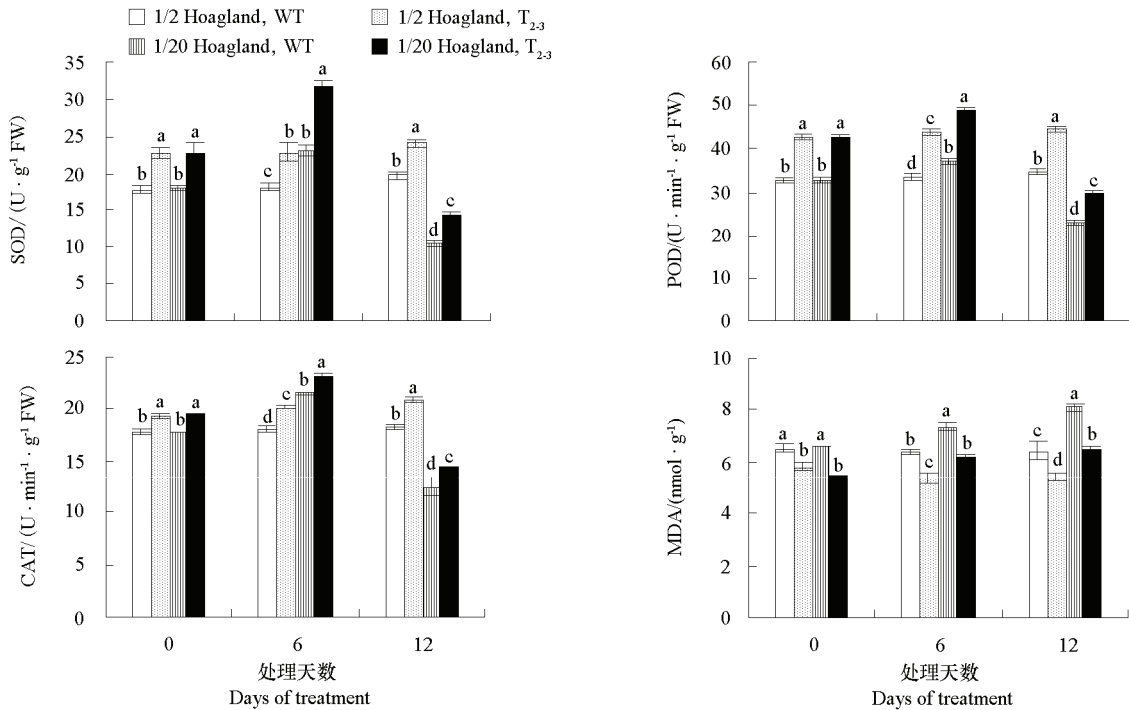


图5 不同养分水平超表达 *PpSnRK1a* 对番茄叶片抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响

Fig. 5 Effects of overexpressing *PpSnRK1* in tomatoes on SOD, POD and CAT activities and MDA content in leaves
under different nutrient conditions
 $P < 0.05$.

叶片中 MDA 含量在正常养分供应条件下基本保持不变, 超表达 *PpSnRK1a* 番茄比野生型番茄叶片中的 MDA 含量平均低 14.23%; 低养分处理 6 d 和 12 d 时, 两者均升高, 但升高幅度不同, 超表达 *PpSnRK1a* 番茄和野生型比正常养分水平下分别升高 20.88% 和 26.22%, 且超表达 *PpSnRK1a* 番茄比野生型低 15.66% 和 15.91%, 说明超表达 *PpSnRK1a* 番茄叶片的受伤害程度小于野生型。

2.5 超表达 *PpSnRK1a* 对番茄根系活力及植株养分吸收、分配的影响

由图 6 可知, 在正常养分供应条件下, 10 d 时超表达 *PpSnRK1a* 株系根系活力比野生型高 10.32%, 但在营养缺乏时却比野生型高 26.39%。可见养分不足时, 超表达 *PpSnRK1a* 对番茄根系活力的影响更大, 可能与营养缺乏可以激活 SnRK1 蛋白激酶活性有关。

由表 1 可以看出, 正常养分供应和低养分条件下, 超表达 *PpSnRK1a* 株系根系及茎和叶的鲜质量、干质量显著高于野生型, 且根系和茎叶中的氮含量显著高于野生型; 根系中磷含量没有明显差别, 但茎叶中磷含量显著高于野生型; 正常养分条件下超表达 *PpSnRK1a* 番茄根系和茎叶中的钾含量显著高于野生型, 但在养分不足时, 茎和叶中的钾含量相差不大。氮在地上部的分配率超表达 *PpSnRK1a* 番茄高于野生型, 磷的分配比率变化不大, 钾在地上部的分配率超表达 *PpSnRK1a* 番茄略低于野生型; 整体上, 在养分不足时, 氮向地上部茎叶分配比率增加, 而钾向地下根系的分配比率增加。

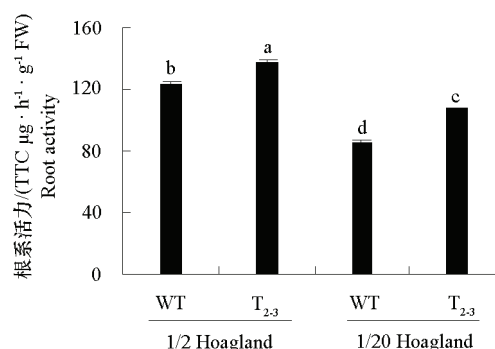


图 6 处理 10 d 时超表达 *PpSnRK1a* 番茄 (T₂₋₃) 及野生型番茄 (WT) 根系活力

Fig. 6 Root activity of the *PpSnRK1a*-overexpressing line T₂₋₃ and wild type (WT) tomatoes after 10 days
 $P < 0.05$.

表 1 处理 10 d 后番茄幼苗器官中 N、P、K 的含量和分配特性

Table 1 The contents and distributions of N, P, K in tomato seedling organs after 10 days

器官 Organ	Hoagland	材料 Material	鲜样质量/g Fresh weight		干样质量/g Dry weight			含量/(mg · g ⁻¹) Content		
			N	P	K	N	P	K		
根 Root	1/2	WT	6.27 ± 0.43 b	0.53 ± 0.02 b	29.66 ± 0.62 b	1.97 ± 0.02 a	8.56 ± 0.19 b			
		T ₂₋₃	8.77 ± 0.43 a	0.71 ± 0.03 a	31.25 ± 0.19 a	2.01 ± 0.09 a	10.00 ± 0.33 a			
	1/20	WT	4.01 ± 0.21 d	0.21 ± 0.03 d	15.57 ± 0.35 c	1.58 ± 0.05 b	7.78 ± 0.19 c			
		T ₂₋₃	4.93 ± 0.35 c	0.39 ± 0.02 c	16.01 ± 0.44 c	1.61 ± 0.03 b	8.56 ± 0.38 b			
茎、叶 Stem, leaf	1/2	WT	48.75 ± 0.86 b	3.78 ± 0.03 b	33.18 ± 0.88 c	3.46 ± 0.06 b	24.33 ± 0.33 b			
		T ₂₋₃	54.34 ± 0.57 a	4.57 ± 0.07 a	44.26 ± 0.28 a	3.84 ± 0.04 a	25.78 ± 0.51 a			
	1/20	WT	9.15 ± 0.12 d	1.58 ± 0.07 d	21.63 ± 0.15 d	2.14 ± 0.04 d	16.56 ± 0.69 c			
		T ₂₋₃	11.18 ± 0.22 c	1.91 ± 0.03 c	39.34 ± 0.47 b	2.59 ± 0.07 c	16.89 ± 0.19 c			
器官 Organ	Hoagland	材料 Material	分配率/% Distribution							
			N	P	K					
根 Root	1/2	WT	11.14 ± 0.41 a	7.36 ± 0.18 c	4.67 ± 0.06 c					
		T ₂₋₃	9.92 ± 0.11 b	7.53 ± 0.38 c	5.69 ± 0.26 b					
	1/20	WT	8.72 ± 0.22 c	9.10 ± 0.39 b	5.98 ± 0.11 b					
		T ₂₋₃	7.61 ± 0.26 d	11.39 ± 0.27 a	9.45 ± 0.34 a					
茎、叶 Stem, leaf	1/2	WT	88.86 ± 0.41 d	92.64 ± 0.18 a	95.33 ± 0.06 a					
		T ₂₋₃	90.08 ± 0.11 c	92.47 ± 0.38 a	94.31 ± 0.26 b					
	1/20	WT	91.28 ± 0.22 b	90.90 ± 0.39 b	94.02 ± 0.11 b					
		T ₂₋₃	92.39 ± 0.26 a	88.61 ± 0.27 b	90.55 ± 0.34 c					

注: 同列相同器官数据后不同小写字母表示在 5% 水平差异显著。

Note: Date followed by different small letters in the same column and same organs mean significant difference among treatments at 5% level.

3 讨论

SNF1/AMPK/SnRK1 蛋白激酶在真核生物中具有高度的保守性,由 α 、 β 和 γ 亚基共同组成三聚体复合物 (Polge & Thomas, 2007; Hedbacker & Carlson, 2008; Carling et al., 2012)。SnRK1 蛋白激酶在拟南芥中研究较多,在多年生的果树中研究较少。桃中 SnRK1 蛋白激酶的 α 亚基的氨基酸序列保守性极强,与苹果、草莓、拟南芥对应的氨基酸序列的相似率达 87.8% (王贵芳, 2014)。在拟南芥中,糖饥饿、能量缺乏或是暗培养、氧气缺乏都可以激活 SnRK1 蛋白激酶, Baena-Gonzalez 等 (2007) 曾报道拟南芥 SnRK1s 能被饥饿激活, Ananieva 等 (2008) 的研究显示低养分水平培养的拟南芥幼苗中 SnRK1 酶活性高于正常营养水平培养的幼苗。本试验中 SnRK1 酶活性测定表明,超表达 *PpSnRK1α* 番茄叶片和根系中 SnRK1 酶活性都高于野生型,与本实验室前期研究结果(王新亮, 2012; 王贵芳, 2014) 一致。在养分水平较低条件下,超表达 *PpSnRK1α* 番茄叶片和根系中 SnRK1 酶活性提高,也与前期的研究结果一致。同时本试验表明,在低养分条件下超表达 *PpSnRK1α* 番茄酶活性提高幅度大于野生型。

叶片的衰老在外形上主要表现为叶色由绿变黄至全叶枯黄。有研究显示,叶片衰老是由于细胞内活性氧的产生与清除之间的平衡遭到破坏,大量氧自由基积累引起的 (Asada, 1999),而一些抗氧化酶类 (SOD/POD/CAT) 对氧自由基具有清除作用 (Prochazkova et al., 2001; Zimmermann et al., 2006)。本试验中,超表达 *PpSnRK1α* 番茄叶片中抗氧化酶类的活性显著高于野生型,这在一定程度上延缓了叶片的衰老进程。

前人研究认为 SnRK1 在碳和氨基酸转化的信号途径中起重要的作用 (Halford et al., 2004; Hey et al., 2006; Radchuk et al., 2006; Baena-Gonzalez et al., 2007)。Li 等 (2009) 报道,拟南芥 *AKINβ1* 参与调节糖信号和氮信号, Wingler 等 (2000) 认为 SnRK1 蛋白激酶可以调控植株碳水化合物的代谢。SnRK1 还可以通过调节与蔗糖合成、淀粉合成和降解有关酶的基因的表达,间接调控碳水化合物的代谢 (Purcell et al., 1998; Laurie et al., 2003)。另外有研究发现 SnRK1 可以响应高浓度的蔗糖,激活 AGPase,从而参与淀粉的生物合成 (Geigenberger et al., 2004)。王贵芳 (2014) 研究发现 SnRK1 蛋白激酶对植物碳代谢中光合作用相关基因的表达、净光合速率有重要作用,且超表达 *PpSnRK1α* 番茄叶片中可溶性糖和淀粉含量比野生型有显著提高。本试验中,在养分不足时,叶片表型及一些抗氧化酶活性和丙二醛含量测定显示,超表达 *PpSnRK1α* 番茄比野生型番茄叶片衰老延迟,叶绿素相对含量及叶片净光合速率较野生型显著提高。

王新亮 (2012) 研究发现,超表达 *MhSnRK1* 番茄氮素的吸收利用率会有所提高,而氮素直接或间接影响着光合作用。在本试验中超表达 *PpSnRK1α* 番茄植株根系生物量及根系活力均显著高于野生型,根和茎叶中 N、P、K 含量较野生型显著提高,且在养分不足时,氮素向地上部的分配比率增加。说明超表达 *PpSnRK1α* 番茄植株在营养胁迫下其较高的根系活力和根系生物量可以使其能够吸收更多的养分供应地上部,尤其是氮素的积累量增加,使得番茄叶片衰老延缓。

本试验结合实验室前期研究结果认为在养分供应不足时,SnRK1 蛋白激酶活性提高,提高了转基因植株的叶片净光合速率和叶片中氮素的含量,增加了氮素向地上部的分配比率,从而提高抗氧化酶类的活性,延缓叶片的衰老,SnRK1 通过调控碳、氮代谢来影响植株生长发育进程。以上研究结果都表明,在营养缺乏条件下 SnRK1 蛋白激酶在延缓植株衰老进程中有一定影响。利用模式植物研究认识 SnRK1 蛋白激酶的功能,对以后在园艺作物中以 SnRK1 蛋白激酶为靶点进行生理调控与遗传改良提供了理论参考。

References

- Asada K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50: 601 - 639.
- Ananieva E A, Gillaspay G E, Ely A, Burnette R N, Erickson F L. 2008. Interaction of the WD40 domain of a myo-inositol polyphosphate 5-phosphatase with SnRK1 links inositol, sugar, and stress signaling. *Plant Physiol*, 148: 1868 - 1882.
- Baena-Gonzalez E, Rolland F, Thevelein J M, Sheen J. 2007. A central integrator of transcription networks in plant stress and energy signalling. *Nature*, (448): 938 - 942.
- Carling D, Thornton C, Woods A, Sanders M J. 2012. AMPK-activated protein kinase: new regulation, new roles? *Biochem*, 445 (1): 11 - 27.
- Chen Yi-zhu, Patterson B D. 1988. The effect of chilling temperature on the level of superoxide dismutase, catalase and hydrogen peroxide in some plant leaves. *Acta Phytophysiological Sinica*, 14: 323 - 328. (in Chinese)
- 陈贻竹, 帕特森 B. 1988. 低温对植物叶片中超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢水平的影响. *植物生理学报*, 14: 323 - 328.
- Cho Y H, Hong J W, Kim E C, Yoo S D. 2012. Regulatory functions of SnRK1 in stress-responsive gene expression and in plant growth and development. *Plant Physiol*, 158 (4): 1955 - 1964.
- Debast S, Nunes-Nesi A, Hajirezaei M R, Hofmann J, Sonnwald U, Fernie A R, Börnke F. 2011. Altering trehalose-6-phosphate content in transgenic potato tubers affects tuber growth and alters responsiveness to hormones during sprouting. *Plant Physiol*, (156) : 1754 - 1771.
- Douglas P, Pigaglio E, Ferrer A, Halford N G, Mackintosh C. 1997. Three spinach leaf nitrate reductase/3-hydroxy-3- methylglutaryl-CoA reductase kinases that are regulated by reversible phosphorylation and/or Ca²⁺ ions. *Biochem J*, 325: 101 - 109.
- Geigenberger P, Stitt M, Fernie A R. 2004. Metabolic control analysis and regulation of the conversion of sucrose to starch in growing potato tubers. *Plant Cell Environ*, 27: 655 - 673.
- Halford N G, Hardie D G. 1998. SNF1-related protein kinases: global regulators of carbon metabolism in plants? *Plant Mol Biol*, (37): 735-748.
- Halford N G, Hey S, Jhureea D, Laurie S, McKibbin R S, Zhang Y, Paul M J. 2004. Highly conserved protein kinase involved in the regulation of carbon and amino acid metabolism. *J Exp Bot*, 394: 35 - 42.
- Hedbacker K, Carlson M. 2008. SNF1/AMPK pathways in yeast. *Front Biosci*, (13): 2408 - 2420.
- Hey S J, Powers S J, Beale M, Hawkins N D, Ward J, Halford N G. 2006. Enhanced seed phytosterol accumulation through expression of a modified HMG-CoA reductase. *Plant Biotechnol J*, 4: 219 - 229.
- Kar M, Mishra D. 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57 (2): 315 - 319.
- Laurie S, McKibbin R S, Halford N G. 2003. Antisense SNF1-related (SnRK1) protein kinase gene represses transient activity of an α-amylase (α-Amy2) gene promoter in cultured wheat embryos. *J Exp Bot*, 54 (383): 739 - 747.
- Li X F, Li Y J, An Y H, Xiong L J, Shao X H, Sun Y. 2009. AKINβ1 is involved in the regulation of nitrogen metabolism and sugar signaling in *Arabidopsis*. *J Integar Plant Biol*, 51: 513 - 520.
- Lovas A, Bimbó A, Szabó L, and Bánfalvi Z. 2003. Antisense repression of StubGAL83 affects root and tuber development in potato. *Plant J*, 33 (1): 139 - 147.
- Omran R G. 1980. Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase, and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings. *Plant Physiology*, 65 (2): 407 - 408.
- Palenchar P M, Kouranov A, Lejay L V, Coruzzi G M. 2004. Genome-wide patterns of carbon and nitrogen regulation of gene expression validate the combined carbon and nitrogen (CN) -signaling hypothesis in plants. *Genome Biol*, 5: R91.
- Polge C, Thomas M. 2007. SNF1/AMPK/SnRK1 kinases, global regulators at the heart of energy control? *Trends Plant Sci*, 12 (1): 20 - 28.
- Price J, Laxmi A, St Martin S K, Jang J C. 2004. Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16: 2128 - 2150.
- Prochazkova D, Sairam R K, Srivastava G C, Singh D V. 2001. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. *Plant Science*, 161: 765 - 771.
- Purcell P C, Smith A M, Halford N G. 1998. Antisense expression of a sucrose non-fermenting-1-related protein kinase sequence in potato results in decreased expression of sucrose synthase in tubers and loss of sucrose-inducibility of sucrose synthase transcripts in leaves. *Plant J*, 14: 195 -

- 202.
- Radchuk R, Radchk V, Weschke W, Borisjuk L, Weber H. 2006. Repressing the expression of the *SUCROSE NONFERMENTING-1-RELATED PROTEIN KINASE* gene in pea embryo causes pleiotropic defects of maturation similar to an abscisic acid-insensitive phenotype. *Plant Physiol*, 140 (1): 263 - 278.
- Smeekens S, Ma J, Hanson J, Rolland F. 2010. Sugar signals and molecular networks controlling plant growth. *Curr Opin Plant Biology*, (13): 274 - 279.
- Thelander M, Olsson T, Ronne H. 2004. Snf1-related protein kinase is needed for growth in a normal day-night light cycle. *EMBO J*, 23: 1900 - 1910.
- Wang Gui-fang. 2014. Cloning and functional analysis of *Prunus* SnRK1 alpha and beta subunits genes [Ph. D. Dissertation]. Tai'an: Shandong Agricultural University. (in Chinese)
- 王贵芳. 2014. 桃 SnRK1 蛋白激酶 α 和 β 亚基编码基因的克隆及功能分析[博士论文]. 泰安: 山东农业大学.
- Wang Gui-fang, Peng Fu-tian, Zhang Ya-fei, Dang Zhu-qing, Wang Na-na. 2014. Effects of overexpressing Pingyi Tiancha *MhSnRK1* on carbohydrate metabolism in tomato. *Acta Horticulturae Sinica*, 41 (11): 2188 - 2195. (in Chinese)
- 王贵芳, 彭福田, 张亚飞, 党祝庆, 王娜娜. 2014. 平邑甜茶 *MhSnRK1* 在番茄中超表达对植株碳代谢的影响. *园艺学报*, 41 (11): 2188 - 2195.
- Wang R, Guegler K, LaBrie S T, Crawford N M. 2000. Genomic analysis of a nutrient response in *Arabidopsis* reveal diverse expression patterns and novel metabolic and potential regulatory genes induced by nitrate. *Plant Cell*, 12: 1491 - 1510.
- Wang R, Okamoto M, Xing X, Crawford N M. 2003. Microarray analysis of the nitrate response in *Arabidopsis* roots and shoots reveal over 1 000 rapidly responding genes and new linkages to glucose, trehalose-6-phosphate, iron and sulfate metabolism. *Plant Physiol*, 132: 556 - 567.
- Wang X L, Peng F T, Li M J, Yang L, Li G J. 2012. Expression of a heterologous SnRK1 in tomato increases carbon assimilation, nitrogen uptake and modifies fruit development. *Journal of Plant Physiology*, 4: 1 - 10.
- Wang Xin-liang. 2012. Cloning and functional characterization of key genes response to nitrate in fruit tree roots [Ph. D. Dissertation]. Tai'an: Shandong Agricultural University. (in Chinese)
- 王新亮. 2012. 果树根系硝态氮信号响应关键基因的克隆与功能分析[博士论文]. 泰安: 山东农业大学.
- Wingler A, Fritzius T, Wiemken A, Boller T, Aeschbacher R A. 2000. Trehalose induces the ADP-glucose pyrophosphorylase gene, *ApL3*, and starch synthesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 124: 105 - 114.
- Zhao Shi-jie, Shi Guo-an, Dong Xin-chun. 2002. Techniques of plant physiological experiment. Beijing: Chinese Agricultural Science and Technology Press. (in Chinese)
- 赵世杰, 史国安, 董新纯. 2002. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业科学技术出版社. (in Chinese)
- Zimmermann Petra, Christina Heinlein, Gabriele Orendi, Ulrike Zentgraf. 2006. Senescence-specific regulation of catalases in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant, Cell & Environment*, 29 (6): 1049 - 1060.
- Zou Qi. 2000. Guide of plant physiological experiments. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 邹琦. 2000. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社.