

邓云颢, 徐 灵, 李鲁华, 等. 小麦 *TaLFNRI-7A* 基因的生物信息学及表达分析[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(6): 1041-1049.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.06.001

小麦 *TaLFNRI-7A* 基因的生物信息学及表达分析

邓云颢^{1,2}, 徐 灵^{1,2}, 李鲁华^{1,2}, 宋 婵¹, 徐如宏^{1,2}

(1. 贵州大学农学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 国家小麦改良中心贵州分中心, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 铁氧还蛋白-NADP⁺氧化还原酶(*FNR*)是一种重要的酶,它在植物光合作用和细胞呼吸过程中发挥关键作用。本研究以普通小麦品种中国春为材料,利用 RT-PCR 技术克隆获得 *TaLFNRI-7A* 基因,对其进行生物信息学和基因表达分析,结果表明,*TaLFNRI-7A* 基因 CDS 序列长度为 1 086 bp,编码 361 个氨基酸;其编码的蛋白质为一个非跨膜的稳定的亲水性蛋白质,无信号肽,共含 39 个磷酸化位点;预测其定位于叶绿体;系统进化树以及氨基酸序列多重比对发现,基于 *TaLFNRI-7A* 基因普通小麦中国春与二粒小麦在亲缘性上更为接近,相似度为 97.01%。启动子顺式作用元件分析结果显示,*TaLFNRI-7A* 基因中共含有 17 种顺式作用元件,其中 7 个为光响应元件。经 qRT-PCR 分析发现,*TaLFNRI-7A* 基因在小麦叶片中表达量最高,其次是茎中和胚芽中,根中表达量最低。*TaLFNRI-7A* 基因响应多种非生物胁迫,这些非生物胁迫包括干旱(PEG-6000 处理)、茉莉酸甲酯(MeJA)、氯化钠(NaCl)和脱落酸(ABA)等。本研究结果为进一步探讨 *TaLFNRI-7A* 基因在小麦生长发育过程中的作用机制提供了重要参考。

关键词: 小麦; *TaLFNRI-7A* 基因; 生物信息学; 基因克隆; 表达分析

中图分类号: S512 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)06-1041-09

Bioinformatics and expression analysis of *TaLFNRI-7A* gene in wheat

DENG Yunhao^{1,2}, XU Ling^{1,2}, LI Luhua^{1,2}, SONG Chan¹, XU Ruhong^{1,2}

(1. College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Guizhou Branch of National Wheat Improvement Center, Guiyang 550025, China)

Abstract: Ferritin-NADP⁺ reductase (*FNR*) is an important enzyme that plays a crucial role in photosynthesis and cellular respiration processes. This study used common wheat Chinese Spring as the material and cloned the *TaLFNRI-7A* gene using RT-PCR technology. Bioinformatics and gene expression analysis were performed on it. The results showed that the CDS sequence length of *TaLFNRI-7A* gene was 1 086 bp, encoding 361 amino acids. The encoded protein was a non-transmembrane stable hydrophilic protein, without a signal peptide, containing a total of 39 phosphorylation sites. It was predicted to be localized in the chloroplast. Phylogenetic analysis and multiple amino acid sequence alignment revealed that common wheat (Chinese Spring) and emmer wheat exhibited closer phylogenetic proximity based on the *TaLFNRI-7A* gene, with a sequence similarity of 97.01%. Analysis of promoter *cis*-acting elements revealed that the *TaLFNRI-7A* gene contained 17 *cis*-acting elements, including seven light-responsive elements. The qRT-PCR analysis revealed that the expression of *TaLFNRI-7A* gene was highest in wheat leaves, followed by stems and germs, with the lowest level observed in

收稿日期: 2024-09-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(32360474, 32160456, 32360486); 贵州省科技支撑计划项目[黔科合支撑(2021)一般272]; 贵州省粮油作物分子育种重点实验室项目[黔科合中引地(2023)008]; 贵州省高等学校功能农业重点实验室项目[黔教技(2023)007号]

作者简介: 邓云颢(1999-), 男, 贵州遵义人, 硕士研究生, 主要从事小麦分子遗传育种研究。(E-mail) 953825981@qq.com

通讯作者: 徐如宏, (E-mail) xrhgz@163.com

roots. The *TaLFNRI-7A* gene responded to multiple abiotic stresses, including drought (PEG-6000 treatment), methyl jasmonate (MeJA), sodium chloride (NaCl), and abscisic acid (ABA). The findings of this study provide a significant foundation for further exploring the functional mechanisms of the *TaLFNRI-7A* gene in wheat growth and development.

Key words: wheat; *TaLFNRI-7A* gene; bioinformatics; gene cloning; expression analysis

小麦 (*Triticum aestivum* L.) 作为全球主要粮食作物之一,在世界范围内具有不可或缺的地位。作物的光合效率在农业生产中发挥着至关重要的作用,因为作物生长发育和产量的形成离不开光合作用,光合效率直接决定了作物的产量和品质,因而发掘、鉴定并利用与光合能力相关的主要功能基因,对小麦品种遗传改良具有重要作用。

铁氧还蛋白-NADP⁺氧化还原酶是一种重要的酶,广泛存在于植物、蓝藻和一些细菌中,它在光合作用和细胞呼吸中起到核心作用,主要负责催化铁氧还蛋白(FD)与 NADP⁺之间的电子传递。FNR 是一种包含黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)辅因子的黄素蛋白。FAD 在电子转移过程中起关键作用。植物中 FNR 蛋白可根据其功能和定位差异分为两类:一类是位于光合组织(主要是植物叶片的叶绿体)中的 LFNR(叶型 FNR 蛋白);另一类是存在于非光合组织(主要是根部质体)中的 RFNR 蛋白(根型 FNR 蛋白),这两类 FNR 蛋白各自有多个同源蛋白^[1-4]。根型 FNR 在非光合质粒中催化相反的反应(铁氧还蛋白的还原)^[5-8];叶型 FNR 主要催化光合作用中线性电子传递(LET)的最后一步反应,即促使电子从还原态的 FD 转移至 NADP⁺,生成的还原型辅酶 II 主要用于卡尔文循环中的 CO₂固定以及叶绿体内其他代谢过程^[9-10]。前人研究结果表明,在拟南芥中两种不同的核基因编码两种 LFNR 亚型,它们的等电点(pI)不同^[11],这两种 LFNR 蛋白(LFNR1 和 LFNR2)只在绿色组织中积累,并存在于 3 种不同的叶绿体区室(类叶绿体膜、基质和内膜)中。在拟南芥 *lfnr2* 突变体中,AtLFNR1 既以与类囊体膜结合的形式存在,也以可溶性蛋白的形式存在,而在 *lfnr1* 突变体中,AtLFNR2 仅以可溶性蛋白的形式存在于基质中,这表明在拟南芥中,AtLFNR1 对于 AtLFNR2 的膜附着至关重要,且 AtLFNR1-AtLFNR2 异源二聚体的形成可能介导了这种附着^[12]。在玉米中研究发现,其基因组中含有 3 个同源的 LFNR 基因,分别命名为 *ZmLFNR1*、*ZmLFNR2*、*ZmLFNR3*,这 3 种 LFNR 基因之间相似性达 83%~92%。然而,前人研究发现,3 个 *ZmLFNR* 具有不同的膜结合特征,*ZmLFNR1* 特异性定位在类囊体膜上,*ZmLFNR3* 蛋白不与膜结合,只存在于叶绿体基质中,而 *ZmLFNR2* 蛋白既能与膜结合,又存在于叶绿体基质中^[4,13]。在水稻中研究发现有 2 个同源的

LFNR 基因,分别命名为 *OsLFNR1* 和 *OsLFNR2*,两者的相似性达到 80%,有趣的是,这两个 LFNR 基因的表达具有拮抗现象,即当其中一个 LFNR 基因超表达时,另一个 LFNR 基因的表达不管是在转录水平还是在蛋白质水平都会受到明显的抑制^[14]。在小麦中研究发现有 4 个不同的 LFNR 同源蛋白。这些 LFNR 可以划分成 2 个组:LFNR I 和 LFNR II,每组都包括 2 个不同的 LFNR,2 个 LFNR 之间只在 N-端存在几个氨基酸的差异^[13,15],小麦 LFNR 蛋白 N-端的差异可能会导致其活性、叶绿体内分布以及对不同铁氧还蛋白亲和力的改变^[16]。在大肠杆菌中,FNR 是活性氧(ROS)清除所必需的^[17-18]。从小麦 *lfnr1* 基因突变体可见,小麦叶片黄化、光合作用受阻、生长发育不良,相关研究结果表明,这种现象是由于突变体中 NADPH/NADP⁺的比值显著下降所致,而 NADPH 参与叶绿体中活性氧的清除和氧化还原平衡的维持,其较差的活性氧清除能力导致小麦更容易遭受胁迫伤害。总而言之,LFNR 基因在植物抵抗胁迫的过程中非常重要。

综上所述,LFNR 基因在植物生长发育过程中以及在应对环境胁迫时均发挥至关重要的作用。本研究在中国春小麦中克隆 *TaLFNR1-7A* 基因并探究其在非生物胁迫中的响应,同时进行生物信息学分析并预测其相关功能,用 RT-PCR 和 qPCR 检测该基因在小麦各组织中的时空表达差异和在胁迫中的响应,初步解析 *TaLFNR1-7A* 基因在小麦中的生物学功能,为后期深入研究奠定基础,并为选育优良小麦品种提供候选基因。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验以普通小麦中国春种子胚芽以及 15 d 幼苗的根、茎、叶片为供试材料。

1.2 试验方法

1.2.1 植物总 RNA 提取与 cDNA 的合成 将中国春小麦胚芽以及幼苗的根、茎、叶片分别利用 RNA 提取试剂盒(广州飞扬生物工程有限公司生产的 OMEGA 试剂盒)提取 RNA,用紫外分光光度计测定 RNA 的浓度并检测其重量。利用南京诺唯赞生物科技股份有限公司提供的反转录试剂盒合成根、茎、叶片以及胚芽的 cDNA。

1.2.2 *TaLFNR1-7A* 基因的克隆 从本实验室

ZY96-3 转录组数据库中分析筛选获得 *TaLFNRI-7A* 基因,根据基因数据库已有的基因登录号从 Ensembl Plants 数据库中下载目的基因核苷酸序列,设计特异性引物(表 1),并委托生工生物工程(上海)股份有限公司合成引物。以中国春小麦 15 d 组培苗 cDNA 为模板,使用 2×Phanta Max Master Mix 以及特异性引物对基因进行 PCR 扩增,对扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳检测,并送至北京擎科生物科技股份有限公司对扩增产物进行测序。

表 1 特异性引物设计

Table 1 Design of specific primers

引物名称	引物序列(5'→3')	用途
<i>TaLFNRI-7A-F</i>	ATGCCCGCCGTCACGGC	基因克隆
<i>TaLFNRI-7A-R</i>	TCAGTAGACTTCGACGTTCCAT	基因克隆
<i>Actin-R</i>	GTTCTACAACGAGCTCCGTGTC	qRT-PCR
<i>Actin-F</i>	GACATACATTGCTGGGCAAC	qRT-PCR
<i>qTaLFNRI-7A-F</i>	TGCCTGCTCAACCAAGATCAC	qRT-PCR
<i>qTaLFNRI-7A-R</i>	GGGCTTGCCGTTCTGTCTCTG	qRT-PCR

1.2.3 生物信息学分析 使用在线软件对 *TaLFNRI-7A* 基因进行生物信息学分析。使用 ExPASy-ProtParam (<https://web.expasy.org/prot-param>)、Cell-PLoc 2.0 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2>)、TMHMM (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0>)、NCBI Conserved Domain Search (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)、SignalP 4.0 Server (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-4.1>)、Expasy ProtParam (<https://web.expasy.org/protscale/>)、PSIPRED (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>)、NetPhos 3.1 Server (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1/>)、Blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 和 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) 等在线软件,分别对蛋白质的理化性质、亚细胞定位、跨膜结构域、保守结构域等进行分析。Blast 在线获取 *TaLFNRI-7A* 的同源氨基酸序列,并对 *TaLFNRI-7A* 基因构建其系统进化树,筛选出与 *TaLFNRI-7A* 基因同源性比较高的基因,最后对基因序列进行比对。

1.2.4 组织表达分析 为了检测 *TaLFNRI-7A* 基因表达情况,利用中国春小麦种子胚芽以及幼苗的

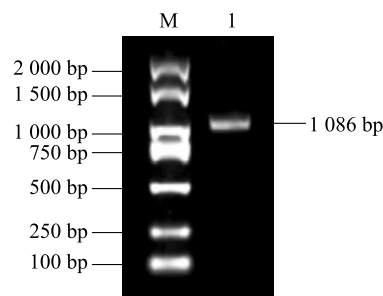
根、茎、叶片 cDNA 为模板并使用特异性引物进行 qRT-PCR 检测。反应体系为:1.0 μ L cDNA 模板、10.0 μ L Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix、上下游引物各 0.4 μ L(浓度为 10 μ mol/L)、8.2 μ L ddH₂O,总体积为 20.0 μ L。反应条件设置为:预变性 95 $^{\circ}$ C 3 min,接着进行 40 个循环,每个循环包括:95 $^{\circ}$ C 10 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算各组织中的相对表达量。

1.2.5 *TaLFNRI-7A* 基因对非生物胁迫的响应 分别对 15 d 苗龄中国春小麦施加 50 mmol/L 脱落酸(ABA)、100 mmol/L 茉莉酸甲酯(MeJA)、250 mmol/L 氯化钠(NaCl)以及 20% 聚乙二醇(PEG-6000)模拟干旱处理,分别在 0 h、3 h、6 h、12 h、24 h、48 h、72 h 取叶片提取植物总 RNA 并反转录成 cDNA,最后进行 qRT-PCR 检测基因表达量。

2 结果与分析

2.1 *TaLFNRI-7A* 基因的克隆

以普通小麦中国春 15 d 幼苗的叶片 cDNA 为模板,利用引物 *TaLFNRI-7A-F* 和 *TaLFNRI-7A-R* 进行 PCR 扩增,其扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳。由图 1 可见 *TaLFNRI-7A* 基因在 1 086 bp 处有明显条带,测序结果与基因组数据库中的基因序列一致。



M: D2000; 1: PCR 产物。

图 1 *TaLFNRI-7A* 的 PCR 扩增电泳图Fig.1 PCR amplification electrophoresis of *TaLFNRI-7A*

2.2 *TaLFNRI-7A* 基因编码蛋白质理化性质及亚细胞定位

利用 ExPASy-ProtParam 工具对 *TaLFNRI-7A* 基因编码蛋白质进行理化性质分析。结果显示,该基因编码的蛋白质共有 361 个氨基酸。其分子式为 C₁₇₇₆H₂₇₉₉N₄₆₉O₅₃₂S₁₉, 相对分子量为 39 842.73, 等电点为 8.48。此蛋白质包含 44 个带负电荷的氨基酸残基(Asp + Glu), 48 个带正电荷的氨基酸残基

(Arg+Lys)。据分析该蛋白质总原子数为5 595,脂溶性指数为74.04,而不稳定系数为34.36。综合推测该蛋白质属于稳定性蛋白质。使用 Cell-PLoc 2.0 在线工具进行预测分析,结果显示 *TaLFNR1-7A* 基因编码的蛋白质定位在叶绿体上。

2.3 *TaLFNR1-7A* 基因编码蛋白质的理化性质以及二级结构和三级结构

对 *TaLFNR1-7A* 基因编码蛋白质的跨膜结构域预测,结果(图2)发现其不含有跨膜结构域,说明 *TaLFNR1-7A* 蛋白为非跨膜蛋白。

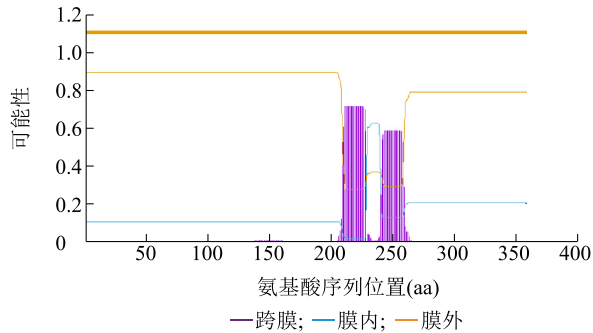


图2 *TaLFNR1-7A* 蛋白跨膜结构域预测

Fig.2 Prediction of transmembrane domain of *TaLFNR1-7A* protein

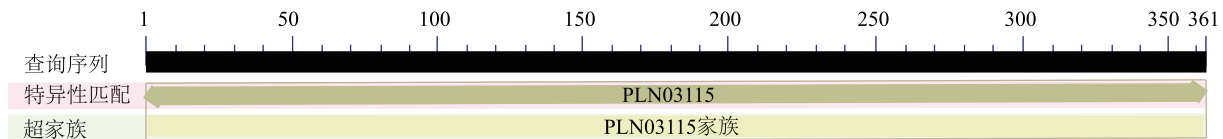


图4 *TaLFNR1-7A* 蛋白的保守结构域预测

Fig.4 Prediction of conserved domains of *TaLFNR1-7A* protein

根据 SignalP 4.1 Server 进行的蛋白质信号肽分析结果显示, *TaLFNR1-7A* 蛋白的信号肽可能性得分为0.261,这表明该蛋白质没有信号肽。此外,应用 SignalP 3.0 Server 预测显示 *TaLFNR1-7A* 蛋白为非分泌蛋白。

使用 ExPASy ProtScale 工具对 *TaLFNR1-7A* 蛋白进行亲疏水性分析,结果如图5所示,该蛋白质含361个氨基酸,氨基酸序列中第4个氨基酸表现出最大的疏水性,分值为2.067,第133个氨基酸表现出最大的亲水性,分值为-3.044,综合分析该蛋白质具有较强的亲水性。

使用在线工具 SOPMA 对 *TaLFNR1-7A* 蛋白进行二级结构预测分析,结果如图6所示,该蛋白质有

应用 NetPhos 3.1 Server 在线工具分析结果(图3)表明, *TaLFNR1-7A* 基因编码的蛋白质共含有39个磷酸化位点,其中有17个丝氨酸(Serine)、13个苏氨酸(Threonine)和9个酪氨酸(Tyrosine)磷酸化位点,这些磷酸化位点可能在调节蛋白质活性、稳定性和相互作用中发挥重要作用。

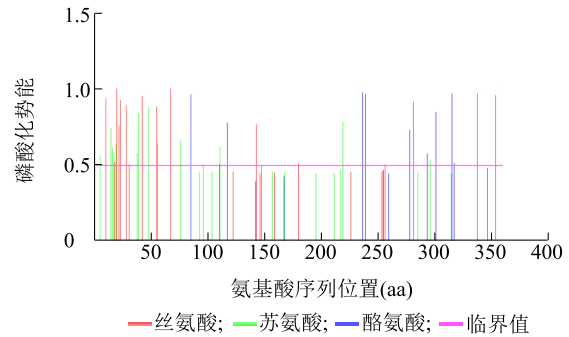


图3 *TaLFNR1-7A* 蛋白磷酸化位点预测

Fig.3 Prediction of phosphorylation sites of *TaLFNR1-7A* protein

保守结构域预测结果如图4所示, *TaLFNR1-7A* 基因编码蛋白质属于 PLN03115 家族蛋白质。其翻译的 LFNR 在叶绿体线性电子转移中起着很好的作用,也与光系统I(PSI)周围的循环电子转移有关。

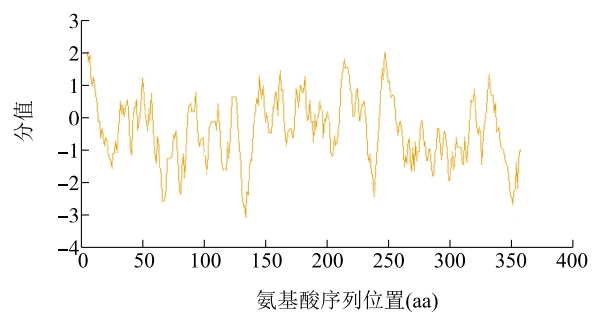


图5 *TaLFNR1-7A* 蛋白亲疏水性预测

Fig.5 Prediction of hydrophilicity and hydrophobicity of *TaLFNR1-7A* protein

136个 α -螺旋,占比为37.67%;184个无规则卷曲,占比达50.97%;41个延伸链,占比为11.36%。

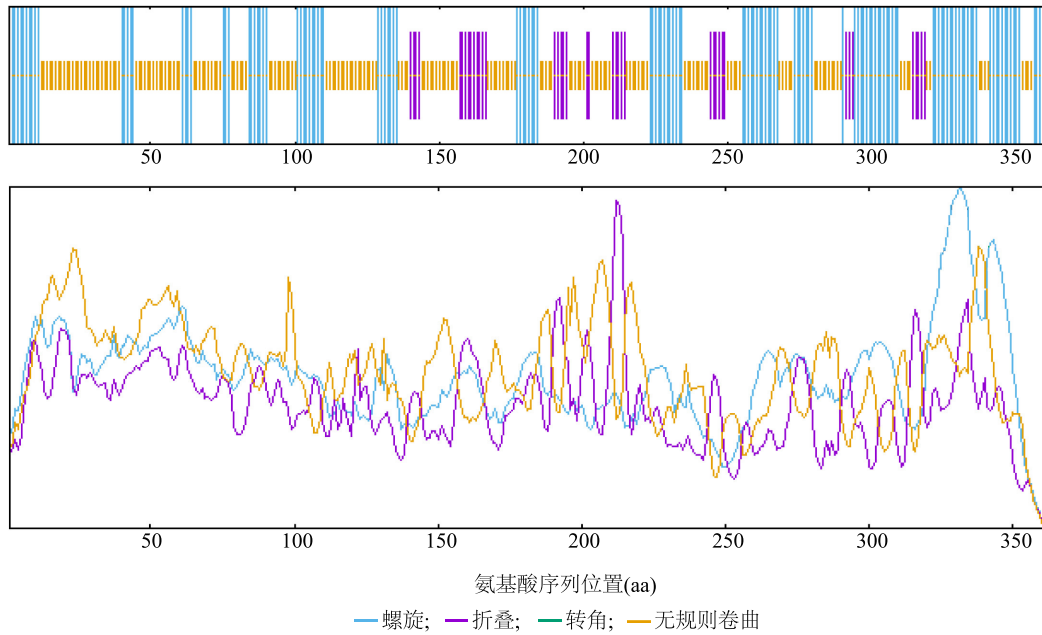


图 6 *TaLFNR1-7A* 蛋白二级结构预测

Fig.6 Prediction of secondary structure of *TaLFNR1-7A* protein

TaLFNR1-7A 蛋白三级结构预测结果见图 7, 预测其为一种叶片铁氧还蛋白-NADP⁺还原酶, 氨基酸序列一致性为 84.03%, 推测该蛋白质可能参与光合电子传递途径中的非环式电子传递。

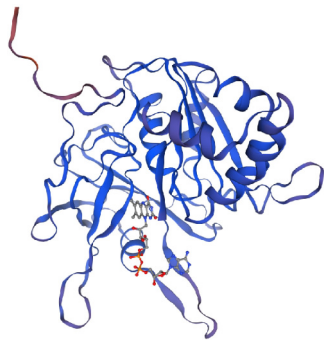


图 7 *TaLFNR1-7A* 蛋白三级结构预测

Fig.7 Prediction of the tertiary structure of *TaLFNR1-7A* protein

2.4 基于 *TaLFNR1-7A* 基因的同源关系

在 NCBI-BLAST 中得到乌拉尔图小麦 (*Triticum urartu*)、节节麦 (*Aegilops tauschii*)、水稻 (*Oryza sativa* L.) 等 22 个物种的 LFNR 蛋白氨基酸序列。使用 MEGA11 工具构建系统进化树 (图 8), 从图 8 可知, 基于 *TaLFNR1-7A* 基因普通小麦中国春与二粒小麦、乌拉尔图小麦、节节麦的同源关系较近。

使用 DNAMAN 软件进行蛋白质氨基酸序列同

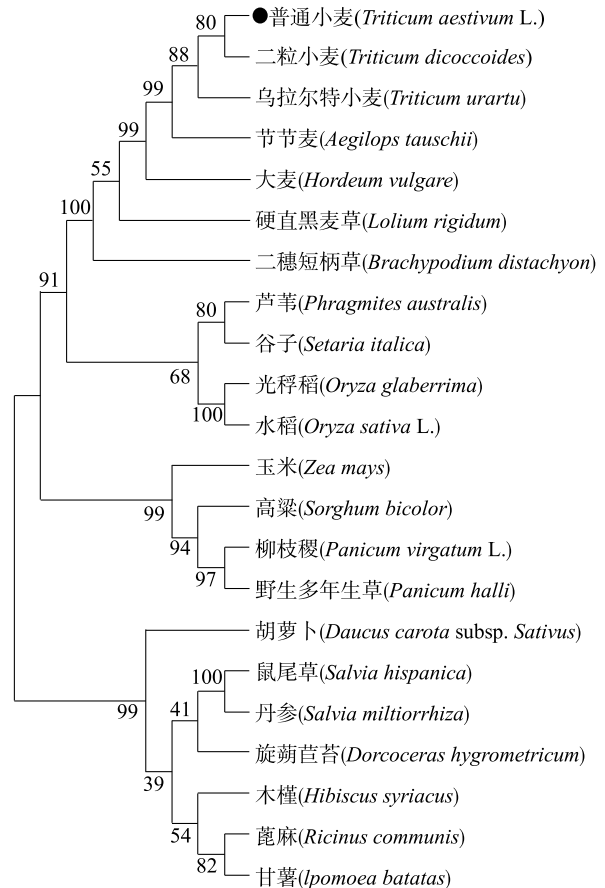


图 8 *TaLFNR1-7A* 基因的进化树

Fig.8 Phylogenetic tree of *TaLFNR1-7A* gene

源多重比对(图9),从图9可知,TaLFNR1-7A蛋白氨基酸序列与二粒小麦、大麦、高粱和玉米LFNR蛋白氨基酸序列相似性分别为97.01%、94.29%、

75.27%、71.47%。综合分析结果显示基于TaLFNR1-7A基因普通小麦中国春与二粒小麦在亲缘上更为接近。

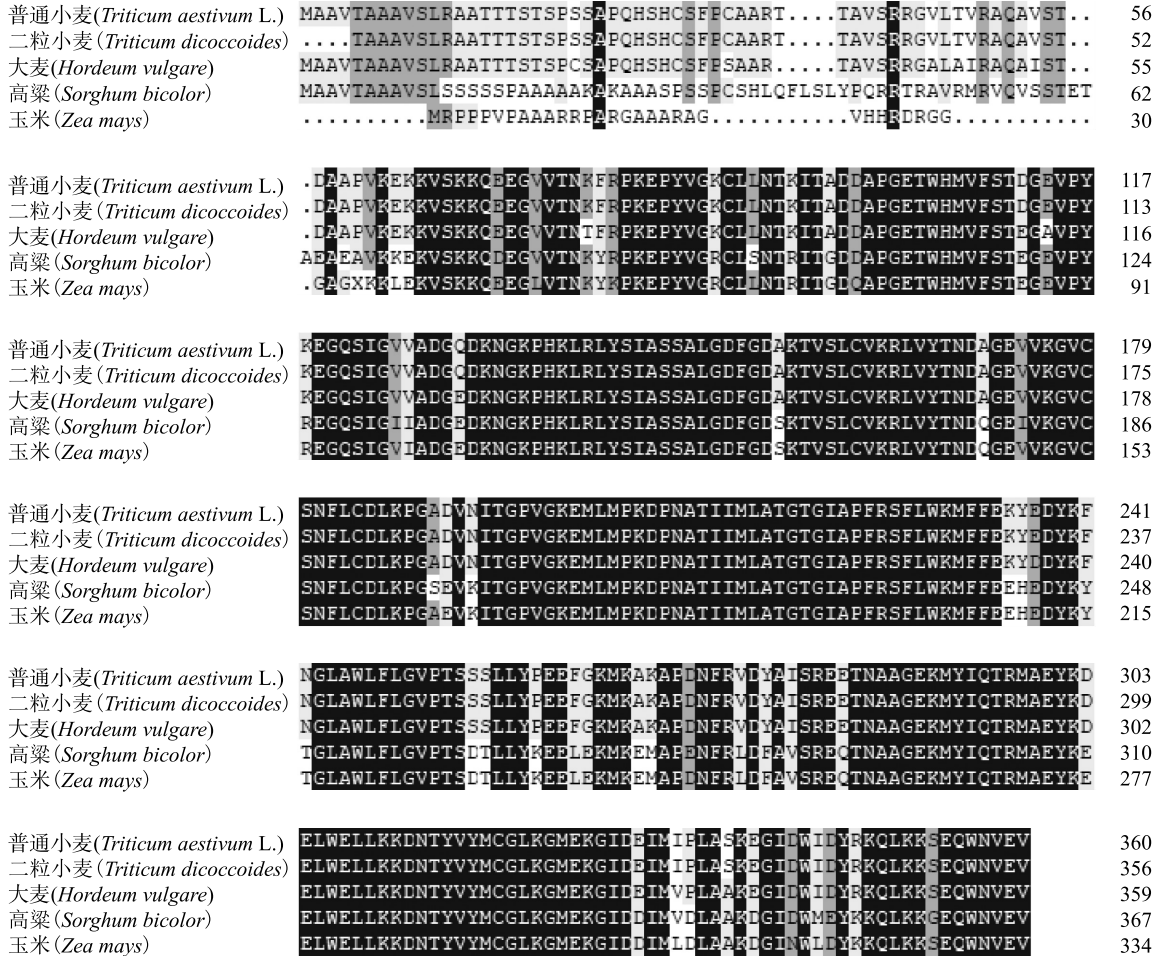


图9 TaLFNR1-7A蛋白氨基酸序列多重比对

Fig.9 Multiple sequence alignment of the amino acid sequences of TaLFNR1-7A protein

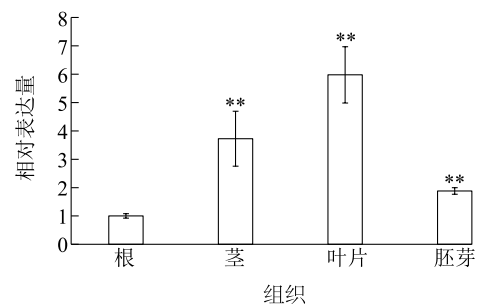
2.5 TaLFNR1-7A 顺式作用元件

利用 PlantCARE 在线工具进行 TaLFNR1-7A 基因启动子顺式作用元件预测,结果显示共有 17 种顺式作用元件,其中含赤霉素响应元件(P-box)、脱落酸响应元件(ABRE)、参与茉莉酸甲酯反应的顺式调控元件(CGTCA-motif、TGACG-motif)等,以及 7 个光响应元件(AE-box、GATA-motif、GT1-motif、Sp1、TCCC-motif、TCT-motif、ARE)和与分生组织表达相关的顺式调控元件(CAT-box)等。

2.6 TaLFNR1-7A 基因的组织表达

为比较 TaLFNR1-7A 基因在普通小麦中国春不同组织中的表达量,对 TaLFNR1-7A 基因进行 qRT-PCR 检测(图10)。利用中国春小麦幼苗根、茎、叶片以及种

子胚芽的 cDNA 为模板进行 qRT-PCR,以 Actin 为内参基因。结果显示,TaLFNR1-7A 基因在叶片中表达量最高,其次是在茎和胚芽中,表达量最低的为根部。



**表示与根中相对表达量相比差异达极显著水平(P<0.01)。

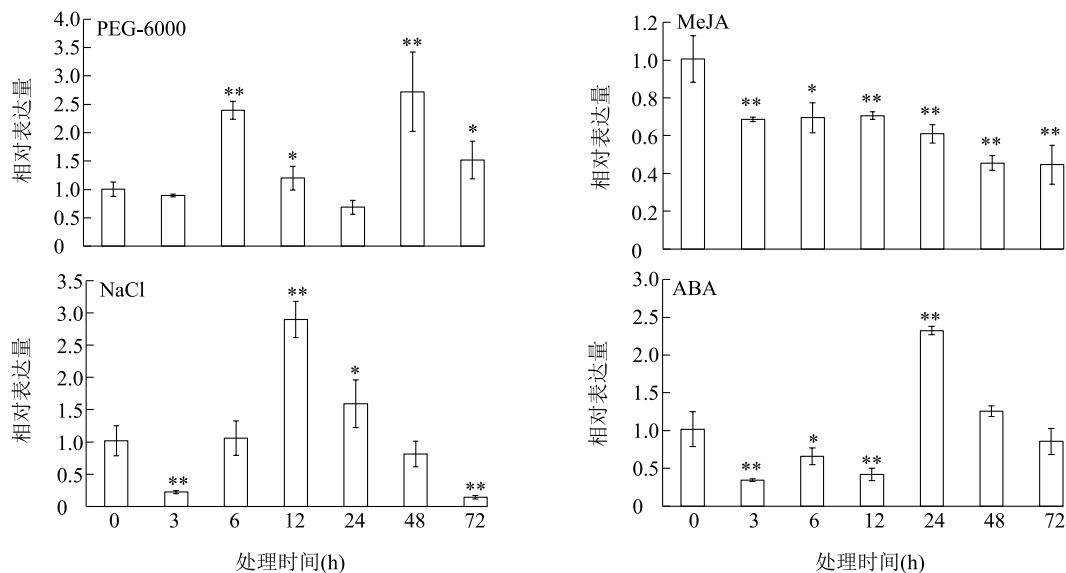
图10 TaLFNR1-7A 基因在小麦不同组织中的表达量

Fig.10 Expression of TaLFNR1-7A in different tissues of wheat

2.7 *TaLFNR1-7A* 基因在不同胁迫下的表达

15 d 苗龄的普通小麦中国春 *TaLFNR1-7A* 基因在 50 mmol/L ABA、100 mmol/L MeJA、250 mmol/L NaCl、20% PEG-6000 模拟干旱胁迫下不同时间的表达量如图 11 所示,在 PEG-6000 模拟干旱处理后 6 h 和 48 h 基因表达量与 0 h 相比极显著增高($P < 0.01$),12 h 和 72 h 与 0 h 相比显著增高($P < 0.05$);MeJA 胁迫 6 h 时 *TaLFNR1-7A* 基因表达量

显著低于 0 h ($P < 0.05$),其余胁迫时间极显著低于 0 h ($P < 0.01$);NaCl 胁迫处理 12 h 时基因表达量与 0 h 相比极显著增高,3 h 和 72 h 与 0 h 相比极显著降低;ABA 胁迫处理 24 h 基因表达量与 0 h 相比极显著增高,3 h 和 12 h 与 0 h 相比极显著降低。综上所述,*TaLFNR1-7A* 基因对 PEG-6000、MeJA、NaCl 和 ABA 胁迫均有一定程度的响应。



PEG-6000:模拟干旱胁迫处理;MeJA:茉莉酸甲酯处理;NaCl:盐胁迫处理;ABA:脱落酸处理。*表示与 0 h 相比差异达显著水平($P < 0.05$);**表示与 0 h 相比差异达极显著水平($P < 0.01$)。

图 11 *TaLFNR1-7A* 基因在非生物胁迫下的表达分析

Fig.11 Expression analysis of *TaLFNR1-7A* gene under abiotic stress

3 讨论

本研究结果表明,普通小麦中国春 *TaLFNR1-7A* 基因在叶片、茎和胚芽中的表达量极显著高于在根中的表达量,而且预测发现 *TaLFNR1-7A* 基因编码蛋白质定位于叶绿体,这与赵秀秀等^[19]的研究结果相同。由此可知 *TaLFNR1-7A* 基因编码叶型铁氧还蛋白-NADP⁺ 氧化还原酶,催化铁氧还蛋白和 NADP⁺ 之间的电子转移,在光合作用和细胞呼吸过程中发挥关键作用。本研究还发现,*TaLFNR1-7A* 基因 CDS 序列长度为 1 086 bp,共编码 361 个氨基酸,这一结果与吴晓佩^[20]对文心兰的研究结果有所不同。通过生物信息学分析特定基因编码的蛋白质,可以预测其相关生物学功能,有助于揭示基因的结构和功能,为进一步深入研究该基因的生物学功能

提供指导。

TaLFNR1-7A 蛋白属于非跨膜的稳定的亲水性蛋白质,无信号肽,这些与赵秀秀等^[19]对黄金芽茶树 *LFNR* 基因预测分析结果相同。通过对 *TaLFNR1-7A* 相近的多个基因序列及分子进化关系分析发现,*TaLFNR1-7A* 基因与来自于二粒小麦中的 *LFNR* 基因生物学功能比较接近。这些结果表明,*TaLFNR1-7A* 基因序列在不同小麦中相对保守。本研究中 *TaLFNR1-7A* 基因对 ABA、MeJA、NaCl 和 PEG-6000 模拟干旱等胁迫处理均有响应,MeJA 是广泛存在于植物中的植物生长调节剂,对植物生长发育以及抵抗不良影响有积极影响^[21-22],*TaLFNR1-7A* 在 100 mmol/L MeJA 胁迫下基因表达量与胁迫前相比显著下降,与文心兰 *LFNR* 基因在 0.2 mmol/L MeJA 胁迫下的表达趋势有所不同^[23]。

非生物胁迫条件下,植物细胞内活性氧(ROS)的稳态被破坏,导致 ROS 迅速积累,调控基因表达和细胞代谢,使植物迅速响应胁迫并作出调整以适应环境变化。而 *FNR* 基因的缺失则会导致植物内 ROS 的过度累积,本研究中,在 NaCl 胁迫处理下随着时间增加 *TaLFNR1-7A* 基因表达量出现先上升后下降的趋势,在 12 h 时达到最高,与李蓉等^[23]的研究结果一致。PEG-6000 模拟干旱处理在 6 h、48 h 表达量显著升高,维持 NADPH/NADP⁺ 的稳定,提高对 ROS 的清除能力以抵御胁迫对植物的侵害。本试验对 *TaLFNR1-7A* 基因的研究结果为今后更深层次研究提供了重要信息。

4 结论

普通小麦中国春 *TaLFNR1-7A* 基因的功能机制涉及多个复杂的调控网络。本研究成功克隆了中国春小麦中的 *TaLFNR1-7A* 基因,对其进行了系统的生物信息学和表达分析。结果表明,*TaLFNR1-7A* 蛋白属于非跨膜的稳定的亲水性蛋白质,定位于叶绿体。*TaLFNR1-7A* 基因在叶片中表达量最高,表明其在光合作用中发挥重要作用。系统进化分析显示,*TaLFNR1-7A* 基因与二粒小麦 *LFNR* 基因具有高度相似性,表明其在不同小麦物种中具有较高的保守性。此外,*TaLFNR1-7A* 基因响应多种非生物胁迫(如 PEG-6000 模拟干旱、NaCl、ABA 和 MeJA),表明其在植物应对环境胁迫中可能发挥重要的调控作用。这些结果为进一步解析 *TaLFNR1-7A* 基因在普通小麦生长发育和非生物胁迫响应中的分子机制提供了重要基础。今后可以通过功能验证试验(如基因敲除或过表达)进一步探索其具体调控机制,为小麦抗逆育种提供理论支持和分子靶点。

参考文献:

- [1] GREEN L S, YEE B C, BUCHANAN B B, et al. Ferredoxin and ferredoxin-NADP reductase from photosynthetic and nonphotosynthetic tissues of tomato[J]. *Plant Physiology*, 1991, 96(4): 1207-1213.
- [2] MORIGASAKI S, JIN T, WADA K. Comparative studies on ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductase isoenzymes derived from different organs by antibodies specific for the radish root-and leaf-enzymes [J]. *Plant Physiology*, 1993, 103(2): 435-440.
- [3] HANKE G T, KURISU G, KUSUNOKI M, et al. Fd:FNR electron transfer complexes; evolutionary refinement of structural interactions[J]. *Photosynthesis Research*, 2004, 81(3): 317-327.
- [4] OKUTANI S, HANKE G T, SATOMI Y, et al. Three maize leaf ferredoxin; NADPH oxidoreductases vary in subchloroplast location, expression, and interaction with ferredoxin[J]. *Plant Physiology*, 2005, 139(3): 1451-1459.
- [5] CONROY J P. Influence of elevated atmospheric CO₂ concentrations on plant nutrition[J]. *Australian Journal of Botany*, 1992, 40(5): 445.
- [6] JIN T, MORIGASAKI S, WADA K. Purification and characterization of two ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductase isoforms from the first foliage leaves of mung bean (*Vigna radiata*) seedlings[J]. *Plant Physiology*, 1994, 106(2): 697-702.
- [7] MORIGASAKI S, TAKATA K, SUZUKI T, et al. Purification and characterization of a ferredoxin-NADP oxidoreductase-like enzyme from radish root tissues[J]. *Plant Physiology*, 1990, 93(3): 896-901.
- [8] SUZUKI A, OAKS A, JACQUOT J P, et al. An electron transport system in maize roots for reactions of glutamate synthase and nitrite reductase: physiological and immunochemical properties of the electron carrier and pyridine nucleotide reductase[J]. *Plant Physiology*, 1985, 78(2): 374-378.
- [9] ARAKAKI A K, CECCARELLI E A, CARRILLO N. Plant-type ferredoxin-NADP⁺ reductases; a basal structural framework and a multiplicity of functions[J]. *FASEB Journal*, 1997, 11(2): 133-140.
- [10] CARRILLO N, CECCARELLI E A. Open questions in ferredoxin-NADP⁺ reductase catalytic mechanism[J]. *European Journal of Biochemistry*, 2003, 270(9): 1900-1915.
- [11] GUMMADOVA J O, FLETCHER G J, MOOLNA A, et al. Expression of multiple forms of ferredoxin NADP⁺ oxidoreductase in wheat leaves[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(14): 3971-3985.
- [12] BENZ J P, STENGEL A, LINTALA M, et al. *Arabidopsis* Tic62 and ferredoxin-NADP(H) oxidoreductase form light-regulated complexes that are integrated into the chloroplast redox poise[J]. *The Plant Cell*, 2009, 21(12): 3965-3983.
- [13] 杨超, 胡红涛, 吴平, 等. 高等植物铁氧还蛋白-NADP⁺氧化还原酶研究进展[J]. *植物生理学报*, 2014, 50(9): 1353-1366.
- [14] HIGUCHI-TAKEUCHI M, ICHIKAWA T, KONDOU Y, et al. Functional analysis of two isoforms of leaf-type ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductase in rice using the heterologous expression system of *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2011, 157(1): 96-108.
- [15] GRZYB J, GAGOS M, GRUSZECKI W I, et al. Interaction of ferredoxin; NADP⁺ oxidoreductase with model membranes [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2008, 1778(1): 133-142.
- [16] MOOLNA A, BOWSHER C G. The physiological importance of photosynthetic ferredoxin NADP⁺ oxidoreductase (FNR) isoforms in wheat [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, 61(10): 2669-2681.
- [17] BIANCHI V, HAGGÅRD-LJUNGQUIST E, PONTIS E, et al. In-

- terruption of the ferredoxin (flavodoxin) NADP⁺ oxidoreductase gene of *Escherichia coli* does not affect anaerobic growth but increases sensitivity to paraquat[J]. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(15):4528-4531.
- [18] KRAPP A R, RODRIGUEZ R E, POLI H O, et al. The flavoenzyme ferredoxin (flavodoxin)-NADP(H) reductase modulates NADP(H) homeostasis during the soxRS response of *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(5):1474-1480.
- [19] 赵秀秀, 范延良, 田月月, 等. 茶树‘黄金芽’叶绿体铁氧还蛋白-NADP⁺氧化还原酶基因的克隆与表达分析[J]. *分子植物育种*, 2021, 19(15):4959-4967.
- [20] 吴晓佩. 文心兰离体培养优化及转化铁氧还蛋白基因研究[D]. 福州:福建农林大学, 2017.
- [21] 谷云霞, 王梦琦, 张 婷, 等. 滇龙胆 C2H2 基因家族鉴定及响应茉莉酸甲酯诱导表达分析[J]. *江苏农业科学*, 2024, 52(9):51-57.
- [22] 陈 晨, 胡秋倩, 杨凯波, 等. 茉莉酸甲酯调控植物生长发育的研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2023, 51(12):1-11.
- [23] 李 蓉, 吴晓佩, 王雪晶, 等. 文心兰 *RFNR* 的克隆、亚细胞定位及其与 *LFNR* 不同的胁迫响应机制研究[J]. *园艺学报*, 2018, 45(11):2164-2176.

(责任编辑:黄克玲)