

网络出版时间: 2026-06-24

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20260624.1537.008>

TaNAK1.1 和 TaNAK1.2 对小麦农艺和产量相关性状及耐旱性的效应

龚悦, 胡昆芝, 吴保为, 杜迪迪, 马猛, 刘香利, 赵惠贤

(西北农林科技大学生命科学学院, 陕西杨陵 712100)

摘要:为探究小麦类受体激酶基因 *TaNAK1* 的两个可变剪接体对小麦农艺和产量相关性状的影响, 以冬小麦品种小偃 6 号、野生型春小麦品种 Fielder 及其 *TaNAK1.1* (OE1-1, OE1-9, OE1-11) 和 *TaNAK1.2* 转基因株系 (OE2-1, OE2-2, OE2-4) 为材料, 采用半定量 RT-PCR 和实时荧光定量 RT-qPCR 分别检测 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 在小麦中的表达模式, 并对转基因小麦株系的田间农艺和产量相关性状及幼苗耐旱性进行评估。结果表明, 小麦 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 在正常条件下的时空表达谱及其在干旱和低温处理下的表达模式均存在差异。正常条件下, *TaNAK1.1* 在花后 10 d 和 15 d 籽粒中表达水平相对较高, 而 *TaNAK1.2* 在幼苗叶片和旗叶中表达水平较高; 干旱和低温处理条件下, *TaNAK1.2* 的表达显著上调, 而 *TaNAK1.1* 的表达变化不明显。*TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 过表达对小麦田间农艺和产量相关性状的影响不同。与野生型 Fielder 相比, *TaNAK1.1* 转基因株系的抽穗、扬花时间和旗叶面积差异不大; 而 *TaNAK1.2* 转基因株系的抽穗和扬花时间均延后约 5 d, 旗叶面积减小 12.50%~14.45%; *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 转基因株系的株高、分蘖数、穗长、主穗小穗数、籽粒大小、千粒重、单株产量等性状均显著降低, 但二者间各性状降低幅度不尽相同, *TaNAK1.1* 转基因株系的单株产量和单株生物量的降幅更大。*TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 过表达均能显著提升小麦的耐旱性。在干旱胁迫下, 与野生型 Fielder 相比, *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 转基因株系叶片相对含水量、可溶性糖和脯氨酸含量均显著增加, H_2O_2 和 MDA 含量均显著降低; 经极度干旱胁迫处理后, 转 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 株系的存活率均显著提高。综上所述, *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 在调控小麦生长发育与抗非生物胁迫中有重要作用, 可为小麦抗逆分子育种提供新的基因资源。

关键词: 小麦; *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2*; 生长发育; 耐旱性

中图分类号: S512.1; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2026)07-0862-09

Effects of *TaNAK1.1* and *TaNAK1.2* on Agronomic and Yield-Related Traits and Drought Tolerance in Wheat

GONG Yue, HU Kunzhi, WU Baowei, DU Didi, MA Meng, LIU Xiangli, ZHAO Huixian

(College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: To investigate the effects of two alternative splicing variants of wheat receptor-like kinase gene *TaNAK1* on agronomic and yield-related traits, this study used the winter wheat cultivar Xiaoyan 6, the wild-type spring wheat cultivar Fielder, and its transgenic lines overexpressing *TaNAK1.1* (OE1-1, OE1-9, OE1-11) and *TaNAK1.2* (OE2-1, OE2-2, OE2-4). The expression patterns of *TaNAK1.1* and *TaNAK1.2* in wheat were examined using semi-quantitative RT-PCR (sqRT-PCR) and quantitative real-time RT-PCR (qRT-PCR), respectively. Agronomic and yield-related traits of the transgenic lines under field conditions, along with seedling drought tolerance, were evaluated.

收稿日期: 2026-01-11

修回日期: 2026-03-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32372103); 陕西省重点研发项目 (2025NC-YBXM-002); 陕西省自然科学基金基础研究计划项目 (2024JC-YBMS-171)

第一作者 E-mail: gongyue0214@nwafu.edu.cn (龚悦)

通讯作者 E-mail: hxzhao212@163.com (赵惠贤)

The results showed that *TaNAK1.1* and *TaNAK1.2* exhibited distinct spatiotemporal expression profiles across wheat organs and tissues under normal conditions; *TaNAK1.1* displayed relatively high expression levels in grains at 10 and 15 days post-anthesis, whereas *TaNAK1.2* showed relatively high expression levels in seedling leaves and flag leaves. Under drought and low-temperature stress conditions, *TaNAK1.2* was significantly up-regulated, while the expression of *TaNAK1.1* was not induced by these abiotic stresses. The overexpression of *TaNAK1.1* and *TaNAK1.2* differentially affected agronomic and yield-related traits under field conditions. Compared to wild-type wheat Fielder, *TaNAK1.1* transgenic lines showed no significant differences in heading and flowering time or flag leaf area. In contrast, heading and flowering time in *TaNAK1.2* transgenic lines were delayed by approximately 5 d, and flag leaf area was reduced by 12.50% to 14.45%. Both *TaNAK1.1* transgenic and *TaNAK1.2* lines exhibited significant reductions in plant height, tiller number, spike length, number of spikelets per spike, grain size, thousand-grain weight, and grain weight per plant; however, the extent of these reductions varied between the two types of overexpressing lines, with *TaNAK1.1* transgenic lines showing greater reductions in grain weight per plant and biomass per plant. The effects of *TaNAK1.1* and *TaNAK1.2* overexpression on wheat seedling drought tolerance were similar, with both significantly enhancing drought tolerance. Specifically, under drought stress, compared to the wild-type wheat Fielder, the leaves of *TaNAK1.1* transgenic and *TaNAK1.2* transgenic lines showed significantly increased contents of osmotic adjustment solutes (soluble sugars and proline) and relative water content, along with significantly decreased levels of H_2O_2 and the membrane lipid peroxidation product MDA. Furthermore, their survival rate was also significantly enhanced following extreme drought stress treatment. These results not only reveal the important roles of *TaNAK1* alternative splicing in regulating growth, development, and adaptation to abiotic stress in wheat, but also provide new genetic resources for molecular breeding of stress-tolerant wheat.

Keywords: Wheat; *TaNAK1.1* and *TaNAK1.2*; Growth and development; Drought tolerance

类受体激酶(RLK)在植物的生长发育和逆境响应中扮演着重要角色。许多 RLK 家族成员作为负调控因子,通过抑制过度生长或调整株型帮助植物适应环境变化^[1-2]。例如,拟南芥中 RLK 家族成员 *REKs* 通过负向调节细胞壁重塑相关基因的表达抑制根的生长^[3];水稻中的 *OsRLCK191* 通过调控细胞壁生物合成影响茎秆强度与株型稳定性^[4];玉米 *ZmRLK7* 基因通过限制细胞扩张和增殖影响株高及籽粒大小^[5];番茄 *SIER* 是叶片大小和数量的负调控因子^[6]。

可变剪接(alternative splicing, AS)是基因表达在转录后水平上的一种重要调控过程。通过该过程,单个基因转录产生的 mRNA 前体可以经由不同的剪接方式,产生多种序列结构和表达模式各异的成熟 mRNA 变体(剪接变体),从而提高转录组的可塑性、蛋白质组的多样性及功能的复杂性,甚至导致性状的多样性^[7]。植物在干旱、高盐、低温、病虫害等逆境胁迫时,迅速调整基因表达并合成胁迫响应蛋白是其适应环境的关键。

植物中广泛存在的 AS 现象是实现这一快速调整的策略之一。通过产生多样的转录本及功能各异的蛋白产物,AS 在分子层面为植物精细调控生长发育和响应逆境提供了重要手段^[8]。

小麦是世界上主要的粮食作物之一,是全球 35%~40% 人口的主食^[9]。有关 RLK 调控小麦生长发育、抗病性等方面的报道已有不少。例如,小麦凝集素型 RLK 基因 *TaSRK* 通过一个涉及去乙酰化和磷酸化的级联反应,负向调控小麦粒长^[10];小麦受体样激酶 *TaCrRLK1L16* 在条锈菌侵染早期发挥重要作用^[11]; *TaPK3A* 是一个响应水杨酸和纹枯病菌的关键基因,对小麦防御纹枯病至关重要^[12]。本课题组前期研究发现,小麦 *TaNAK1* 属于 RLK 类蛋白编码基因,该基因在小麦体内产生两个主要的 AS 变体即 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2*,长度分别为 2 442 和 2 646 bp;其编码蛋白的亚细胞定位不同,在拟南芥中表达时,对转基因植株的开花、株型和种子产量的效应也不同^[13]。但 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 对小麦生

长发育与非生物胁迫响应的生物学功能及其是否存在功能分化尚不明确。

本研究以野生型春小麦品种 Fielder 及其 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 转基因株系为供试材料,通过 PCR 技术对 *TaNAK1* 的两个剪接变体的表达模式及其在转基因株系中的表达水平进行检测,结合田间农艺性状和幼苗耐旱性,比较 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 过表达对小麦生长发育和干旱胁迫耐受性的影响,初步揭示这两个剪接变体的功能,为深入了解 *TaNAK1* 基因调控小麦生长与抗逆性的分子机制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料和种植条件

将冬小麦品种小偃6号于2023—2024年度种植于西北农林科技大学农一站试验田,在不同生育时期采集不同组织样品,包括三叶一心期的根(R)、茎(S)、叶(L),孕穗期的旗叶(FL)和幼穗(YS5),抽穗期的穗(YS15)以及扬花后5、10、15和20d的籽粒(GR5、GR10、GR15、GR20)。将样品液氮速冻后于-80℃保存,用于*TaNAK1.1*和*TaNAK1.2*的时空表达模式分析。用Hoagland营养液培养小偃6号至两叶一心期,进行低温和干旱胁迫处理(每种处理设3个重复)。低温处理:将小麦转移至4℃培养箱中,分别于0、1、3、6、12、24h采集叶片;干旱处理:用20%PEG6000溶液培养,分别于0、1、3、6、12、24h采集叶片。培养条件均为光/暗周期16h/8h,温度22℃/16℃(低温处理为4℃),相对湿度45%~55%。将采集的叶片液氮速冻后-80℃保存,用于*TaNAK1.1*和*TaNAK1.2*表达模式分析。

以野生型春小麦品种 Fielder 及其 *TaNAK1.2* 转基因 T₃ 代株系(OE2-1、OE2-2 和 OE2-4)和 *TaNAK1.1* 转基因 T₃ 代株系(OE1-1、OE1-9 和 OE1-11)为供试材料,将其于2023年10月—2024年6月种植于西北农林科技大学转基因植物园(34.297°N,108.075°E);田间采用随机区组设计,每个材料设5行,行长2m,行距0.25m,株距0.10m。田间管理均遵循试验站常规管理措施。

1.2 总 RNA 提取与 cDNA 合成

供试小麦幼苗叶片的总 RNA 提取采用 RNA 提取试剂盒(艾科瑞生物,中国)按照操作说明进行。使用核酸蛋白检测仪检测 RNA 的浓度与纯度,并通过0.8%琼脂糖凝胶电泳检测 RNA

的完整性。提取的 RNA 按照 Evo M-MLV 反转录预混型试剂盒 Ver. 2(艾科瑞,中国)合成 cDNA,每个样品3个生物学重复。

1.3 小麦 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 的表达模式分析

由于 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 序列相似性极高,无法设计特异性引物,因此,以 *TaNAK1* 基因序列设计特异性引物,通过 sqRT-PCR 检测小偃6号 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 的表达水平。以1.2部分中小麦样品的 cDNA 为模板,用 *TaNAK1* 基因引物(*TaNAK1*-sqPCR-F: 5'-TATTGTTGGATGATGATTGGGTAC-3'; *TaNAK1*-sqPCR-R: 5'-GATTCTCTTGGCGTGTAGGTG-3')进行 sqRT-PCR 分析^[14],以小麦 *Actin1* 基因(TraesCS1A01G020500)为内参(其引物序列为 *TaActin1*-sqPCR-F: 5'-AAATCTGGCATCACA CTTTCTAC-3'; *TaActin1*-sqPCR-R: 5'-GTCTCAAACATAATCTGGGTCATC-3')。每个样品3次重复。将 PCR 产物用琼脂糖凝胶电泳分离,利用凝胶成像仪观察并拍照。通过比较凝胶电泳图中不同样品间目的条带的相对亮度,评估 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 在各样品中的相对表达水平。

1.4 小麦中 *TaNAK1* 基因的相对表达量分析

利用 qRT-PCR 测定野生型 Fielder 及其转基因株系中 *TaNAK1* (即 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2*) 的相对表达水平。以正常生长条件下的 Fielder 和各转基因株系幼苗叶片的 cDNA 为模板,用 *TaNAK1* 基因特异引物(*TaNAK1*-qPCR-F: 5'-AGCACCTCACATCACTCAAG-3'; *TaNAK1*-qPCR-R: 5'-GCCTTCGATTGTTTTCCTGG-3')以及 SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒(艾科瑞,中国)进行 qRT-PCR;以小麦 *Actin1* 基因作为内参(引物序列: *TaActin1*-qPCR-F: 5'-CACTGGAATGGTCAAGGCTG-3'; *TaActin1*-qPCR-R: 5'-CTCCATGTCATCCCAGTTG-3')。qRT-PCR 在 CFX96 型实时荧光定量 PCR 仪(Bio-Rad,美国)上进行;每个样品3个生物学重复。PCR 反应条件:95℃ 30s;95℃ 5s,60℃ 30s,40个循环。目标基因表达水平按照 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行表达量分析^[15]。

1.5 农艺性状和产量相关性状测定

于2023—2024年小麦生长季节,对试验田种植的野生型 Fielder 和各转基因株系的抽穗和扬花时间、有效分蘖数进行调查统计;扬花期测量旗叶

长和宽,并计算旗叶面积(旗叶长×旗叶宽×0.83);成熟期测量株高、穗长、主穗小穗数、主穗粒数;收获后测定单株产量、单株生物量、千粒重。每个性状至少测定 30 株。

1.6 苗期耐旱性评价

挑选野生型 Fielder 和各转基因株系的饱满种子 100 粒,用 1%次氯酸钠溶液消毒 30 min、蒸馏水冲洗 3~4 次。消毒后的种子于蒸馏水中室温过夜,置于铺有湿润滤纸的培养皿中,于 25 ℃ 黑暗条件下萌发。将萌发一致的种子种在装有培养土(基质:沙子=2:1)的长方形培养盒(规格为 28 cm×20 cm×12 cm)中,每盒种 8 行,每行 15 粒,每个基因型两行。将培养盒置于温室培养,光/黑周期 16 h/8 h,温度 22 ℃/16 ℃,空气相对湿度 45%~55%。幼苗培养至两叶一心期时,将其分为两组:一组作为对照,正常浇水;另一组进行干旱处理,即停止浇水直至土壤严重干旱(土壤相对含水量降至最大持水量的 30%,约需 9~12 d),观察各基因型的生长状态。待植物呈现严重萎蔫时,恢复正常浇水。复水 7 d 后统计各基因型小麦幼苗存活株数,并计算其存活率。试验重复 3 次,每次 3 个重复。

在干旱处理组土壤严重干旱时,采集对照组和干旱处理组的各基因型小麦叶片,测定叶片相对含水量(RWC)^[16]、可溶性糖含量^[17]、脯氨酸(Pro)含量^[18]、H₂O₂ 含量^[19]和丙二醛(MDA)含量^[20],每种样品 9 个生物学重复。

1.7 数据处理

数据使用 Excel 2021 进行整理,统计分析在

SPSS 26.0 中进行,采用 ANOVA 进行单因素方差分析,运用 Duncan's 新复极差法及 *t* 检验进行显著性检验。图表绘制使用 GraphPad Prism 9.0 及 Origin 2022 完成。

2 结果与分析

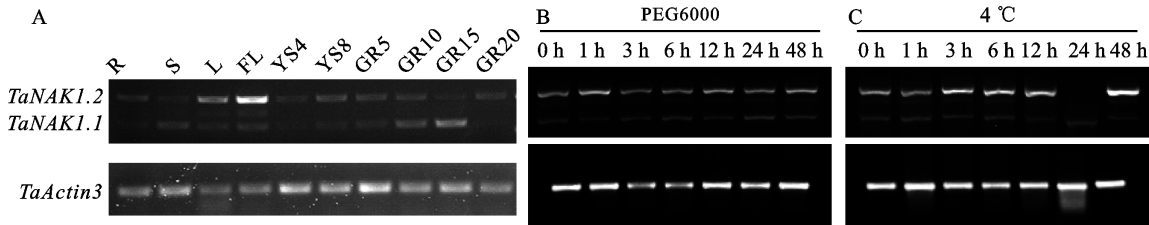
2.1 小偃 6 号中 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 的表达模式

使用 sqRT-PCR 对小偃 6 号中 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 表达模式进行分析,结果(图 1A)显示,在正常生长条件下, *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 时空表达谱不同; *TaNAK1.1* 在花后 10 d 和 15 d 的籽粒中扩增产物的电泳条带较其他组织样品更亮,表明其表达量相对较高;而 *TaNAK1.2* 在幼苗叶片和旗叶中扩增产物的条带比其他组织样品中的亮度高,表明其表达水平相对较高。

在干旱和低温胁迫处理下, *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 的表达模式不同。在干旱处理下, *TaNAK1.2* 上调表达,处理 1 h 时表达明显上调;而 *TaNAK1.1* 表达未受干旱诱导(图 1B)。在 4 ℃ 低温处理下, *TaNAK1.2* 呈上调表达趋势,在处理 3 h 时, *TaNAK1.2* 上调幅度明显;而 *TaNAK1.1* 的表达未受低温诱导(图 1C)。

2.2 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 在转基因小麦中的相对表达量

由图 2 可知,所有转基因株系中目标基因的表达量均显著($P<0.05$)或极显著($P<0.001$)高于野生型对照 Fielder,不同株系间存在不同程度差异。

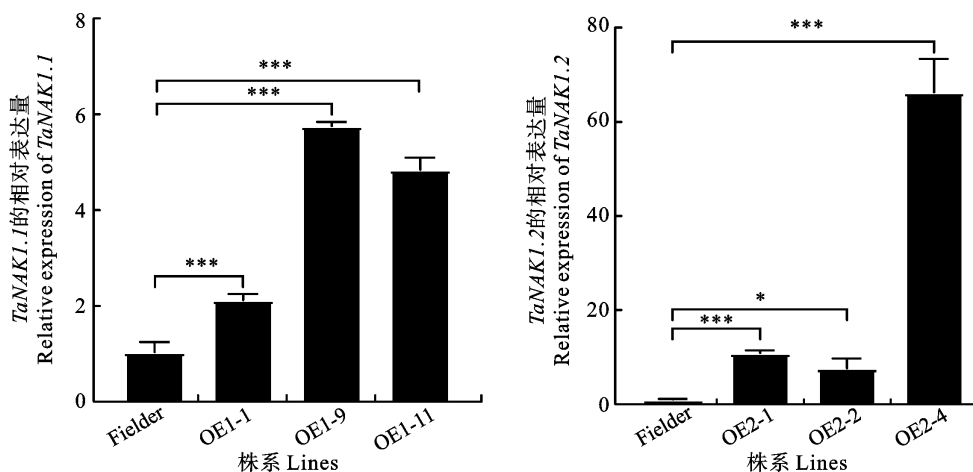


A: *TaNAK1* 在正常生长条件下的表达模式; R: 三叶一心期的根; S: 三叶一心期的茎; L: 三叶一心期的叶片; FL: 孕穗期的旗叶; YS4: 幼穗 4 cm 期; YS8: 穗长 8 cm 期; GR5、GR10、GR15 和 GR20 分别是扬花后 5、10、15 和 20 d 的籽粒。B: *TaNAK1* 在 PEG6000 处理不同时间下的表达模式。C: *TaNAK1* 在 4 ℃ 处理不同时间下的表达模式。

A: Expression patterns of *TaNAK1* under normal culture conditions; R: Root at three-leaf and one-heart stage; L: Leaf at three-leaf and one-heart stage; FL: Flag leaf at booting stage; YS4: 4 cm spike stage; YS8: 8 cm spike stage; GR5, GR10, GR15, and GR20: Grains at 5, 10, 15, and 20 d after flowering, respectively. B: Expression patterns of *TaNAK1* at different times of PEG6000 treatment. C: Expression patterns of *TaNAK1* at 4 ℃ for different treatment time.

图 1 小偃 6 号中 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 的表达模式

Fig. 1 Expression patterns of *TaNAK1.1* and *TaNAK1.2* in Xiaoyan 6



* : $P < 0.05$; * * * : $P < 0.001$.

图2 转基因株系中TaNAK1 相对表达水平

Fig. 2 Relative expression levels of TaNAK1 in transgenic lines

2.3 TaNAK1.1 和 TaNAK1.2 对小麦农艺和产量相关性状的影响

对野生型 Fielder 及其转TaNAK1.1 和TaNAK1.2 基因株系进行农艺及产量相关性状调查,结果(图3)表明,与Fielder 相比,TaNAK1.1 转基因株系的抽穗、扬花时间无显著变化;而TaNAK1.2 转基因株系的抽穗和扬花时间均延后5 d左右,旗叶长和宽分别降低7.18%~17.96%和3.22%~4.14%,导致旗叶面积降低12.50%~14.45%(图3D和3E)。携带TaNAK1.1 和TaNAK1.2 基因株系的株高、分蘖数、穗长、主穗小穗数、千粒重、单株产量和生物量均较Fielder 显著降低,但降低幅度不同;携带TaNAK1.1 株系的株高、分蘖数、穗长、主穗小穗数和主穗粒数分别降低了5.68%~8.11%、14.04%~19.78%、3.24%~4.53%、2.23%~4.32%和15.16%~16.46%;携带TaNAK1.2 株系的上述指标依次降低8.19%~10.38%、8.83%~11.61%、3.24%~5.83%、3.48%~4.46%和12.04%~17.79%(表1)。与Fielder 相比,携带TaNAK1.1 株系的千粒重、单株产量和单株生物量分别降低了4.47%~7.87%、10.61%~38.04%和23.92%~34.89%(图3F,表1);携带TaNAK1.2 株系的上述指标依次降低了2.77%~7.02%、15.89%~25.86%和15.41%~29.30%(图3G,表1)。

与Fielder 相比,携带TaNAK1 株系的粒长和粒厚均显著降低,其中TaNAK1.1 转基因株系

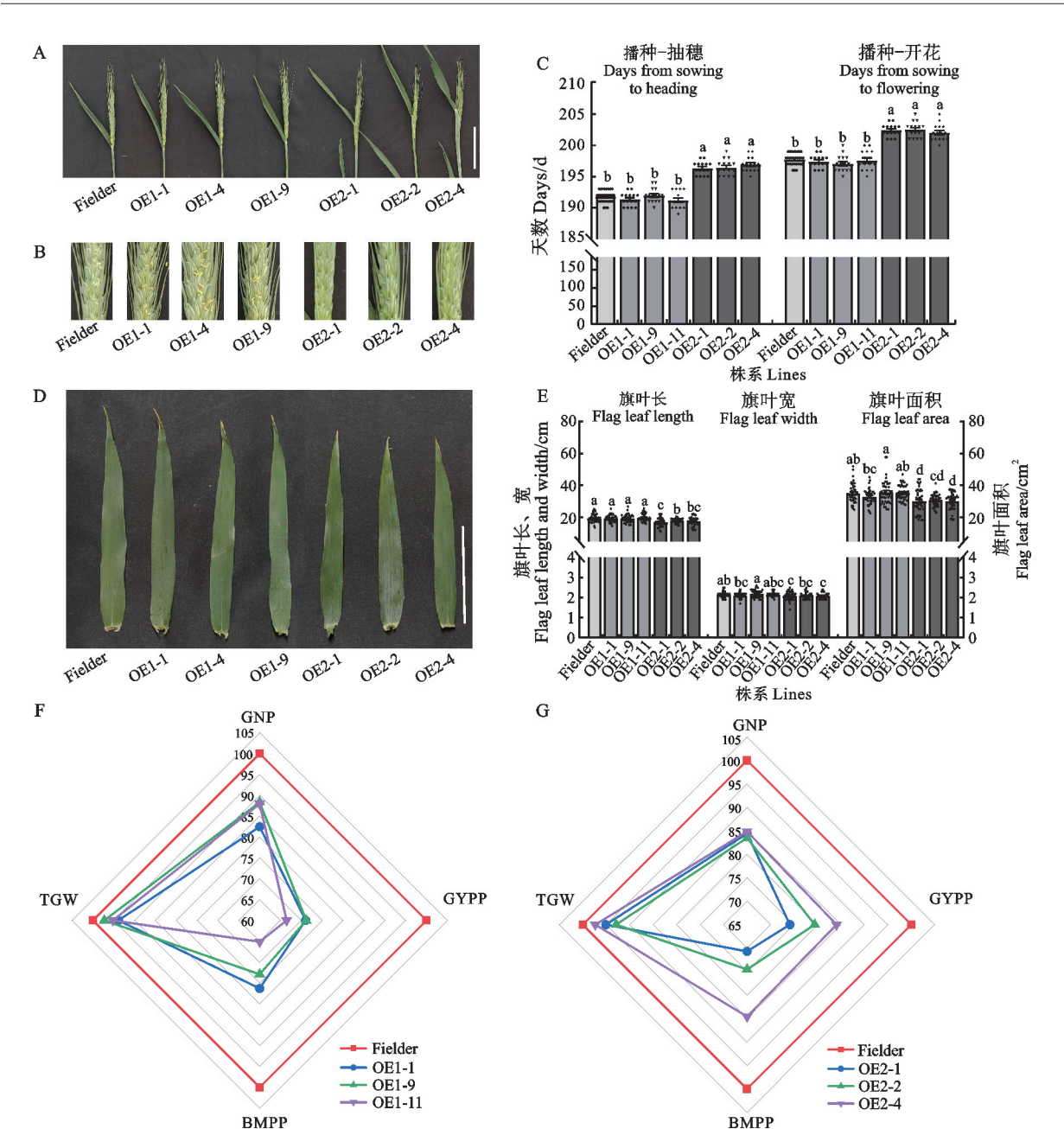
分别降低了3.67%~4.26%和1.29%~2.59%,携带TaNAK1.2 株系依次降低了5.14%~7.05%和1.62%~6.47%(表1),表明千粒重的降低主要源于籽粒长度和厚度降低。

2.4 TaNAK1.1 和 TaNAK1.2 对小麦幼苗耐旱性的效应

TaNAK1.1 和TaNAK1.2 过表达均能显著提高小麦的耐旱性(图4A和图5A)。在正常供水条件下,TaNAK1.1 和TaNAK1.2 株系的叶片相对含水量(RWC)、存活率及可溶性糖、Pro、 H_2O_2 、MDA含量与野生型Fielder 均无显著差异;当干旱处理12 d时,与野生型Fielder 相比,TaNAK1.1 株系的RWC提高了4.96%~5.90%(图4B);可溶性糖和Pro含量分别提高了15.32%~33.95%和51.58%~91.07%(图4C和4D); H_2O_2 和MDA含量分别降低了18.66%~33.34%和34.59%~60.10%(图4E和4F)。

干旱处理9 d时,与Fielder 相比,携带TaNAK1.2 株系的RWC提高了17.79%~42.88%(图5B);可溶性糖与Pro含量分别提高23.75%~38.06%和42.19%~106.95%(图5C和D); H_2O_2 与MDA含量分别降低20.68%~46.14%和41.64%~51.00%(图5E和F)。

小麦幼苗经极度干旱处理并恢复浇水后,与Fielder 相比,TaNAK1.1 转基因株系的存活率提高34.44%~37.77%(图4G);TaNAK1.2 转基因株系的存活率提高23.75%~38.06%(图5G)。



A: 抽穗表型, 标尺为 10 cm; B: 扬花表型; C: 抽穗扬花时间 ($n \geq 30$); D: 旗叶表型, 标尺为 10 cm; E: 旗叶长、宽、面积 ($n \geq 30$); F: *TaNAK1.1* 株系产量性状雷达图 ($n \geq 30$); G: *TaNAK1.2* 株系产量性状雷达图 ($n \geq 30$); GNP: 主穗粒数; TGW: 千粒重; GYPP: 单株产量; BMPP: 单株生物量;

A: Heading phenotype, scale bar=10 cm; B: Flowering phenotype; C: Heading and flowering time ($n \geq 30$); D: Flag leaf area phenotype, scale bar=10 cm; E: Flag leaf length, width, and area ($n \geq 30$); F: Radar chart of yield traits for *TaNAK1.1* lines ($n \geq 30$); G: Radar chart of yield traits for *TaNAK1.2* lines ($n \geq 30$); GNP: Grain number per main spike; TGW: Thousand-grain weight; GYPP: Grain yield per plant; BMPP: Biomass per plant.

图 3 小麦 Fielder 及其转 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 基因株系的农艺和产量相关性状比较

Fig. 3 Comparison of agronomic and yield-related traits between wheat Fielder and *TaNAK1.1* and *TaNAK1.2* lines

3 讨论

植物中的 AS 事件在其环境适应性、驯化和进化中发挥着重要作用。研究发现, 水稻编码

MADS-box 转录因子基因 *OsLG3b* 经过 AS 产生截短的蛋白质, 可正调节籽粒长度并增加籽粒产量^[21]。野生稻 (*Oryza officinalis* Wall. ex Watt) 中, 丝裂原活化蛋白激酶 3 基因 (*MKK3*) 经历 AS

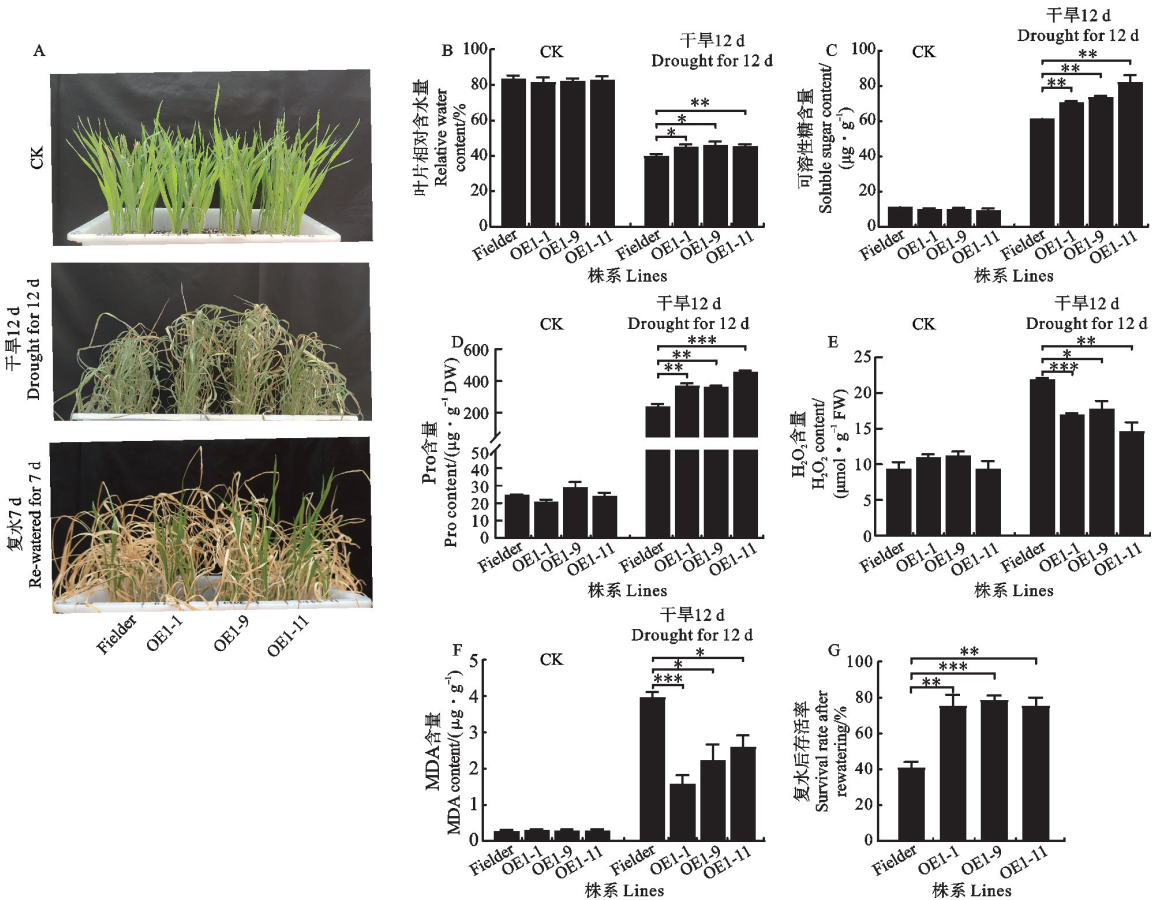
表 1 野生型 Fielder 及其携带*TaNAK1.1* 和*TaNAK1.2* 株系的农艺和产量相关性状

Table 1 Agronomic and yield-related traits of wild-eype Fielder and *TaNAK1.1* and *TaNAK1.2* transgenic lines

性状 Trait	Fielder	<i>TaNAK1.1</i>			<i>TaNAK1.2</i>		
		OE1-1	OE1-9	OE1-11	OE2-1	OE2-2	OE2-4
株高 Plant height/cm	104.64±5.14a	98.07±4.67b	96.15±5.03c	98.7±2.95b	95.39±4.38c	93.78±5.78d	96.07±4.84c
小穗数 Spikelet number per spike	21.53±1.36a	21.05±1.16b	20.6±0.92b	20.77±1.24b	20.78±1.80b	20.72±1.34b	20.57±1.25b
穗长 Spike length/cm	12.36±0.89a	11.96±0.78b	11.8±0.82b	11.92±0.71b	11.96±0.82b	11.96±0.77b	11.64±0.99b
分蘖数 Tiller number	22.65±5.20a	19.40±3.97bc	18.17±4.03c	19.47±4.30bc	20.65±4.67b	20.02±4.13b	20.02±3.81b
单株生物量 Biomass per plant/g	142.16±20.50a	108.16±15.20c	103.64±11.32cd	92.56±10.24e	100.51±14.05d	105.58±16.79cd	120.25±27.67b
主穗粒数 Grain number per main spike	83.47±4.61a	70.49±6.43c	69.73±4.80b	70.82±4.95b	68.62±4.04c	73.42±4.60c	73.00±6.08c
单株产量 Grain yield per plant/g	40.33±4.53a	24.58±3.72f	24.99±2.17f	36.05±3.88b	29.09±4.03e	32.04±5.09d	33.92±6.23c
千粒重 Thousand-grain weight/g	47.01±1.90a	43.35±2.63b	44.90±2.43c	43.96±2.33de	44.71±2.17cd	43.68±1.19e	45.77±2.20b
粒长 Grain length/mm	6.81±0.19a	6.56±0.19b	6.54±0.19b	6.52±0.15b	6.40±0.17d	6.33±0.13e	6.46±0.21c
粒宽 Grain width/mm	3.39±0.10a	3.36±0.090b	3.36±0.100b	3.41±0.12a	3.38±0.10a	3.36±0.070b	3.40±0.13a
粒厚 Grain thickness/mm	3.09±0.16a	3.05±0.13b	3.04±0.14bc	3.01±0.15c	2.95±0.13d	2.89±0.13e	3.04±0.14bc

数据为平均值±标准差($n\geq 30$)；同行数据后的不同小写字母表示不同株系间在 0.05 水平差异显著。

Data are presented as mean±standard deviation($n\geq 30$)；Different lowercase letters within the same row indicate significant differences among different lines at 0.05 level.



A: 正常浇水、干旱 12 d、复水 7 d 表型; CK: 正常浇水。*: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$ 。表 5 同。

A: Phenotype before drought, after 12 d of drought, and after 7 d of re-watering; CK: Well-watered. *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$. The same in figure 5.

图 4 野生型 Fielder 及其携带*TaNAK1.1* 株系苗期对干旱胁迫的响应

Fig. 4 Comparison of phenotypic, physiological and biochemical parameters between wild-type wheat Fielder and *TaNAK1.1* transgenic lines under drought stress at seedling stage

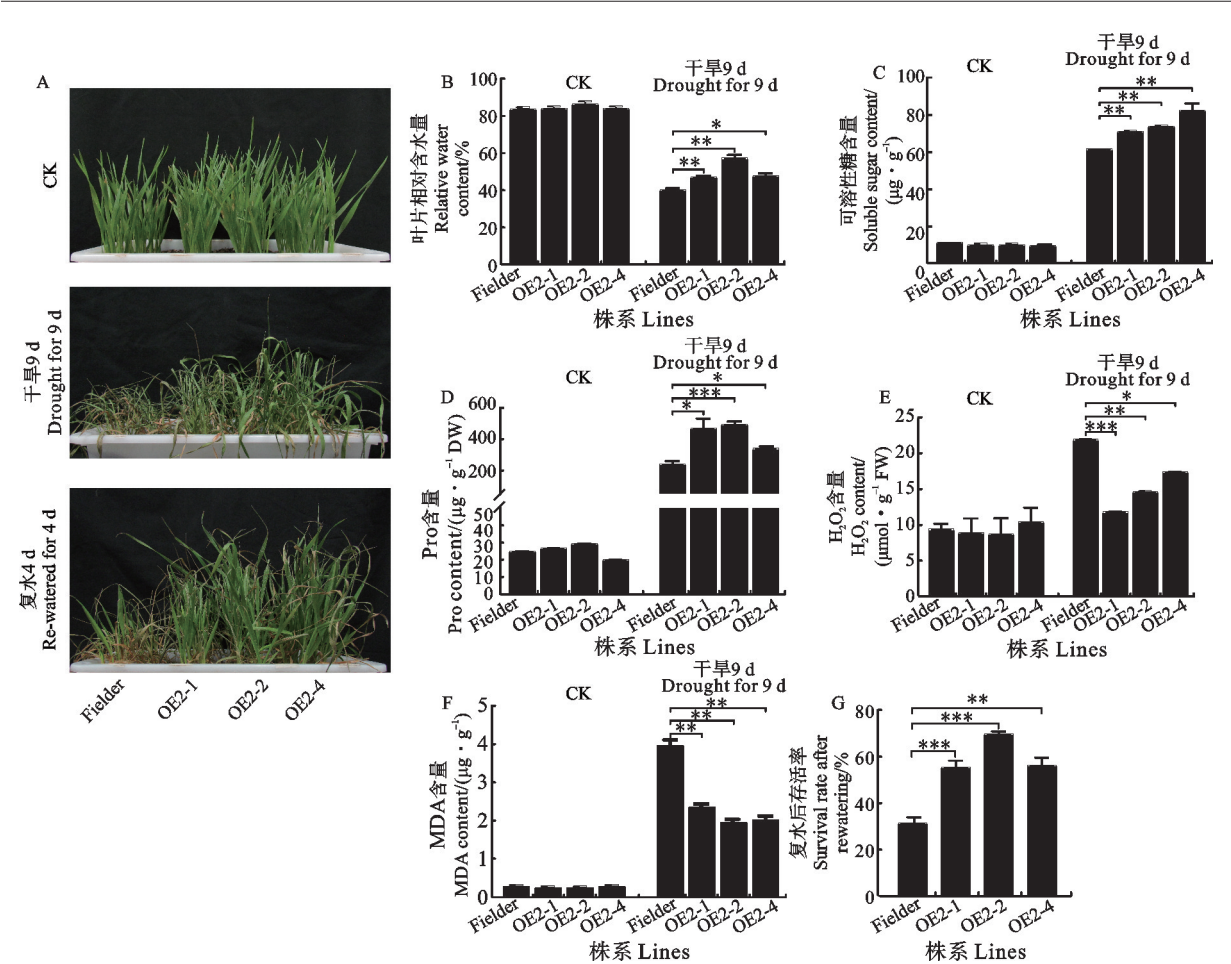


图 5 野生型 Fielder 及其携带 *TaNAK1.2* 株系苗期对干旱胁迫的响应
Fig. 5 Phenotypic, physiological and biochemical parameters between wild-type Fielder and *TaNAK1.2* transgenic lines at seedling stage under drought stress

产生 5 种剪接变体,超表达其中的 4 种剪接变体均导致籽粒长度和宽度减少^[22]。小麦全基因组 AS 分析发现,22% 的基因都发生 AS^[23]。AS 事件与小麦籽粒相关性状(包括多酚氧化酶活性、淀粉合成酶活性和籽粒大小及粒重等)密切相关^[24]。本课题组在小麦中鉴定出包含 NB-ARC 结构域的 RLK 基因 *TaNAK1*,其经历 AS 产生的 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 在激酶结构域及其附近的编码区序列不同,导致二者编码蛋白质的三维结构和亚细胞定位不同,意味着其功能可能有差异^[13]。本研究用 sqRT-PCR 方法检测表明, *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 在小麦中的时空表达谱和干旱及低温条件下表达动态均不同(图 1),暗示了二者在小麦生长发育和非生物逆境(干旱和低温)应答中的功能可能不同。对野生型 Fielder 及其携带 *TaNAK1.1* 及 *TaNAK1.2* 株系的农艺和产量相关性状调查结果显示, *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 过表达对小麦农艺和产量相关性状的影响不同, *TaNAK1.1* 过表达对小麦抽穗和扬

花时间及旗叶面积无显著影响(图 3);而 *TaNAK1.2* 过表达使抽穗和扬花时间均延后约 5 d,旗叶面积减小 12.50%~14.45%。此外, *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 过表达导致小麦其他农艺和产量相关性状(株高、分蘖数、穗长、每穗小穗数、籽粒大小、千粒重、单株粒重)均显著降低,但二者间各性状降低的幅度不同(图 3 和表 1)。这些结果相互佐证了 *TaNAK1* 的两个剪接变体 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 在小麦生长发育中有不同功能。

AS 作为基因转录后表达调控的一个关键环节,在植物对胁迫信号感知与响应中发挥着重要作用。水稻 *OsHLLH59* 在干旱诱导下生成 *OsHLLH59.2* 剪接本,能显著增强其抗旱性;但却伴随着生长受抑制和产量下降^[25];甘蔗 *ScMYBAS1* 的两个剪接异构体在提高叶片相对含水量方面功能相似,但对生物量积累产生相反效应^[26]。研究表明,在干旱和低温胁迫条件下,小麦 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 表达变化不同;在干旱和低

温条件下 *TaNAK1.2* 上调表达, *TaNAK1.1* 的表达不受这两种逆境诱导(图1); *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 过表达均可显著增强小麦幼苗的耐旱性。在干旱胁迫下,与野生型 Fielder 相比,携带 *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 株系的叶片可溶性糖和 Pro 含量和叶片相对含水量均显著增加, H_2O_2 和 MDA 含量均显著降低;经极度干旱胁迫再复水处理后,转基因株系的存活率均显著提高(图4和图5)。这些结果表明, *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 过表达均可提高小麦幼苗耐旱性。

综上所述, *TaNAK1.1* 和 *TaNAK1.2* 过表达对小麦农艺和产量相关性状的影响不尽相同: *TaNAK1.1* 过表达对小麦抽穗和扬花时间及旗叶面积无显著影响;而 *TaNAK1.2* 过表达显著延迟抽穗和扬花时间,并减小旗叶面积;二者均导致小麦产量相关性状显著下降,但下降幅度各异;二者均可显著增强小麦幼苗的耐旱性。研究结果不仅揭示了小麦 *TaNAK1* 可变剪接在调控生长发育与非生物逆境适应中重要作用,为小麦抗逆分子育种提供了新的基因资源。

参考文献:

- [1] WANG Z, GOU X P. Receptor-like protein kinases function upstream of MAPKs in regulating plant development [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(20):7638.
- [2] 王梦龙, 骆素微, 李晓诗, 等. 植物凝集素类受体激酶参与非生物胁迫响应的研究进展[J]. 广西植物, 2023, 43(11):2159. WANG M L, LUO S W, LI X S, et al. Research advances on plant lectin receptor-like kinases in abiotic stress response [J]. *Guihaia*, 2023, 43(11):2159.
- [3] WANG Y Z, CHEN W Y, OU Y, et al. *Arabidopsis* root elongation receptor kinases negatively regulate root growth putatively via altering cell wall remodeling gene expression [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, 64(8):1502.
- [4] CHANG H L, SHA H J, GAO S W, et al. A novel gene, *OsRLCK191*, involved in culm strength improving lodging resistance in rice [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(22):12382.
- [5] HE C M, WANG J, DONG R, et al. Overexpression of an antisense RNA of maize receptor-like kinase gene *ZmRLK7* enlarges the organ and seed size of transgenic *Arabidopsis* plants [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11:579120.
- [6] WANG R, LI C Y, LI Q H, et al. Tomato receptor-like cytosolic kinase RIPK confers broad-spectrum disease resistance without yield penalties [J]. *Horticulture Research*, 2023, 9(1):3778.
- [7] ZHU Z M, WU X M, HU Y, et al. Alternative splicing: Molecular mechanisms, biological functions, diseases, and potential therapeutic targets [J]. *MedComm*, 2025, 6(12):e70545.
- [8] LALOUM T, MARTÍN G, DUQUE P. Alternative splicing control of abiotic stress responses [J]. *Trends in Plant Science*, 2018, 23(2):140.
- [9] 赵广才, 常旭虹, 王德梅, 等. 小麦生产概况及其发展[J]. 作物杂志, 2018(4):1. ZHAO G C, CHANG X H, WANG D M, et al. General situation and development of wheat production [J]. *Crops*, 2018(4):1.
- [10] ZHANG N, LI S G, SUN Z P, et al. A lectin receptor-like kinase TaSRK that is deacetylated by TaHDA9 regulates wheat grain length by mediating the photosystem II protein TaPsbO [J]. *Science Bulletin*, 2025, 70(19):3120.
- [11] ZHAO G S, QIN S, WEI Z M, et al. Evolutionary characteristics, expression patterns of wheat receptor-like kinases and functional analysis of TaCrRLK1L16 [J]. *Stress Biology*, 2025, 5(1):24.
- [12] 苏强, 荣玮, 张增艳. 小麦类受体蛋白激酶基因 TaPK3A 的克隆与抗纹枯病功能初步分析[J]. 作物学报, 2019, 45(8):1158. SU Q, RONG W, ZHANG Z Y. Cloning and functional analysis of wheat receptor-like kinase gene *TaPK3A* [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2019, 45(8):1158.
- [13] WU B W, ZHANG X Y, HU K Z, et al. Two alternative splicing variants of a wheat gene *TaNAK1*, *TaNAK1.1* and *TaNAK1.2*, differentially regulate flowering time and plant architecture leading to differences in seed yield of transgenic *Arabidopsis* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13:1014176.
- [14] 王荣, 李红菊. 半定量 RT-PCR 法在检测基因表达水平中的应用[J]. 阜阳师范学院学报(自然科学版), 2007, 24(1):49. WANG R, LI H J. Application of semi-quantitative RT-PCR in analysis gene expression level [J]. *Journal of Fuyang Teachers College (Natural Science Edition)*, 2007, 24(1):49.
- [15] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25(4):402.
- [16] LU S Y, SU W, LI H H, et al. Abscicic acid improves drought tolerance of triploid bermudagrass and involves H_2O_2 - and NO-induced antioxidant enzyme activities [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2009, 47(2):132.
- [17] YEMM E W, WILLIS A J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone [J]. *Biochemical Journal*, 1954, 57(3):508.
- [18] BATES L S, WALDREN R P, TEARE I D. Rapid determination of free proline for water-stress studies [J]. *Plant and Soil*, 1973, 39(1):205.
- [19] ALEXIEVA V, SERGIEV I, MAPELLI S, et al. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2001, 24(12):1337.
- [20] HODGES D M, DELONG J M, FORNEY C F, et al. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds [J]. *Planta*, 1999, 207(4):604.
- [21] YU J P, MIAO J L, ZHANG Z Y, et al. Alternative splicing of *OsLG3b* controls grain length and yield in Japonica rice [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2018, 16(9):1667.
- [22] PAN Y H, GAO L J, LIANG Y T, et al. OrMKK3 influences morphology and grain size in rice [J]. *Journal of Plant Biology*, 2023, 66(3):269.
- [23] GAO Y F, LIU J K, ZHANG Z G, et al. Functional characterization of two alternatively spliced transcripts of tomato ABCISIC ACID INSENSITIVE3 (*ABI3*) gene [J]. *Plant Molecular Biology*, 2013, 82(1):131.
- [24] REN X L, ZHI L Y, LIU L, et al. Alternative splicing of *TaGS3* differentially regulates grain weight and size in bread wheat [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(21):11692.
- [25] NING M, LI Q Y, WANG Y, et al. Alternative splicing drives the functional diversification of a bHLH transcription factor in the control of growth and drought tolerance in rice [J]. *Science Bulletin*, 2025, 70(2):153.
- [26] FÁVERO PEIXOTO-JUNIOR R, MARA DE ANDRADE L, DOS SANTOS BRITO M, et al. Overexpression of ScMYBAS1 alternative splicing transcripts differentially impacts biomass accumulation and drought tolerance in rice transgenic plants [J]. *PLoS One*, 2018, 13(12):e0207534.