

## 盐胁迫下过表达*BoRACK1*基因对羽衣甘蓝种子萌发的影响

郭君洁<sup>1</sup>, 贵红霞<sup>2</sup>, 武欣<sup>3</sup>, 李鸿雁<sup>1</sup>, 李大红<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>黄淮学院生物与食品工程学院, 河南驻马店463000

<sup>2</sup>驻马店市南海公园, 河南驻马店463000

<sup>3</sup>广州南洋理工职业学院建筑工程学院, 广州510900

**摘要:** 蛋白激酶C1受体(RACK1)是一个高度保守的蛋白,它具有多种功能,对植物生长发育有重要的调控作用。本研究构建过表达*BoRACK1*转基因羽衣甘蓝植株,以阐明该基因在羽衣甘蓝中对盐胁迫的可能功能。转基因羽衣甘蓝对盐胁迫的耐受能力比野生型高,表现在其种子发芽率显著高于野生型;活性氧产生比野生型活跃, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>也可能参与*BoRACK1*调控的种子萌发过程。实时定量PCR分析表明,在过表达*BoRACK1*转基因植株中, *BoRboh*s基因的转录水平显著增强。这些结果表明,在种子萌发过程中,过表达*BoRACK1*正调控植物耐盐胁迫。

**关键词:** 羽衣甘蓝; 种子萌发; 盐胁迫; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

种子萌发是一个复杂的过程,受到内源和外源因素的联合控制。由于种子萌发是植物生命周期中的一个关键阶段,是植物成功建立的第一步。揭示种子萌发控制的生理和分子机制,对其进行基因调控具有重要意义。Bassel等(2011)从拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中找到了1 583个基因可能与种子休眠或萌发相关。He等(2011)在水稻(*Oryza sativa*)种子萌发过程发现有673个蛋白参与种子萌发。除了基因表达和代谢活性的强烈变化外,植物激素和许多信号分子,如活性氧(reactive oxygen species, ROS)、NO等,在种子发育和种子吸胀过程中也发生了很大变化。植物体内的ROS由NADPH氧化酶将氧催化生成的,而NADPH氧化酶是*Rboh*基因的表达产物(刘秋园等2013)。虽然ROS被认为是有害分子,但它们作为细胞信号的功能已经在植物中得到了广泛研究和认可(Huang等2017; Panngom等2018)。例如,越来越多的证据表明,活性氧可以作为种子萌发过程中信号通路的信使或传递物,并对种子萌发有积极的控制作用(Kong等2017; Ye等2012)。然而,目前很少有人知道ROS的生物化学功能、生理功能或在这些过程中的信号转导通路。

RACK1 (蛋白激酶C1受体, the receptor for activated C-kinase 1)是含有7个β-螺旋结构的多功能支架蛋白,是WD重复(色氨酸-天冬氨酸重复, tryptophan-aspartic acid repeat)蛋白家族中最重要的一员。RACK1参与多个信号转导通路和不同信号分子调节过程,例如cAMP信号转导、mRNA翻译调控、细胞骨架重构和蛋白质降解等(Bird等2016;

Guo等2009; Komatsu等2014)。研究表明,动物都只有单一的RACK1基因,但在某些植物中RACK1基因是有几个基因编码的家族,例如拟南芥基因组包含3个RACK1基因,在水稻基因组中有2个RACK1同源基因(Chen等2006)。在基因功能研究方面, RACK1基因可能参与植物的生物与非生物胁迫(Guo等2009)。Wang等(2014)采用PCR技术克隆了玉米(*Zea mays*) RACK1基因(*ZmRACK1*),发现*ZmRACK1*过表达能缓解由玉米叶片上的大斑病菌引起的症状。在模式植物水稻研究中, Nakashima等(2008)研究认为,水稻RACK1蛋白可能与其他蛋白相互作用形成复合体参与植物对病原体的响应,其机理可能是水稻RACK1过表达导致稻瘟菌感染后ROS增加和病程相关(pathogenesis-related, PR)基因表达增加,从而缓解引起的症状。在水稻种子萌发研究中, Zhang等(2014)发现RACK1可能通过调节H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>产量来参与种子萌发。RACK1也参与信号转导。例如, Nielsen等(2017)研究认为RACK1通过高度保守和特异性序列与核糖体紧密结合,从而证实RACK1是一个完整的核糖体蛋白,与蛋白质的翻译密切相关。Schmit等(2016)认为Asc1p/RACK1是与核糖体40S亚基相互作用的一个关键因子, RACK1可能是在核糖体翻译后加工过程中蛋白磷酸化信号调控过程中发挥作用。

收稿 2018-03-19 修定 2018-07-02

资助 河南省科技计划(172102310220)和河南省高校重点项目(16A210032)。

\* 通讯作者(149202467@qq.com)。

羽衣甘蓝是十字花科芸薹属植物, 是重要的观赏植物。在与拟南芥进行基因组比对时, 发现1个与拟南芥*RACK1*相似性非常高的基因序列, 推测其为*RACK1*同源基因。迄今, 虽然*RACK1*基因在拟南芥和水稻等模式植物中有一些研究, 但有关*BoRACK1*基因在盐胁迫下对羽衣甘蓝种子萌发影响的研究未见报道。本研究拟通过过表达*BoRACK1*基因, 分析其在盐胁迫下种子萌发过程中的控制机理, 为从分子水平上认识*RACK1*的功能奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

羽衣甘蓝‘名古屋’品种(*Brassica oleracea* var. *acephala* f. *tricolor*)为受体材料, 大肠杆菌DH5 $\alpha$ 为受体细菌, 通过农杆菌介导, 菌种为LBA4404, 表达载体pCAMBIA1301。DNA聚合酶和限制性内切酶分别购自TaKaRa公司; DNA凝胶提取试剂盒、质粒提取试剂盒购于上海捷瑞生物技术公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 *BoRACK1*基因的克隆

利用试剂盒(TRIZOL试剂, Invitrogen公司)提取羽衣甘蓝叶总RNA。DNase I处理方法, 对处理过的总RNA (2  $\mu$ g)进行变性处理并反转录, 使用第一链cDNA合成试剂盒进行总RNA反转录。过表达

引物(正义P1、反义P2, 表1)设计基于羽衣甘蓝基因库核苷酸序列(GenBank登录号: Loc106317602)。扩增后PCR产物由1%琼脂糖凝胶中回收。纯化的片段克隆到pMD18-T载体(TaKaRa公司), 通过测序确定cDNA插入片段。

#### 1.2.2 质粒的构建和羽衣甘蓝转化

为了获得羽衣甘蓝*BoRACK1*基因过表达植株, 用*Bam*HI和*Spe*I双酶切克隆片段后与表达载体相连, 组成一个过表达*BoRACK1*基因的质粒, 植物表达载体中有花椰菜花叶病毒35S启动子(CaM-V35S)和NOS终止子。酶切法验证*BoRACK1*基因。以同样的方式构建了RNA干扰(RNAi)载体(引物序列: 正义P3和反义P4)。把*BoRACK1*过表达和RNAi质粒分别导入根癌农杆菌LBA4404, 采用农杆菌介导转化方法(Gao等2015)导入到羽衣甘蓝无菌苗的下胚轴中。潮霉素抗性筛选。T<sub>1</sub>代种子种在含有150 mg·L<sup>-1</sup>潮霉素MS培养基中进行发芽。对T<sub>2</sub>代阳性植株采用PCR方法检测, 引物见表1。

#### 1.2.3 转基因羽衣甘蓝植株的Southern blot检测

参照闫玖英等(2017)改良CTAB法提取转基因羽衣甘蓝和对照基因组DNA。用P5和P6作为引物, 转基因和对照羽衣甘蓝基因组DNA作为模板, 对其进行PCR分析。Southern blot检测参考相关手册(DIG DNA Labeling and Detection Kit, Roche, 德国)进行操作。

表1 实验中所用的引物序列

Table 1 Primer sequence for the experiment

引物名称	序列(5'→3')	用途
P1	CGGATCCATGGCCGAGGACTCGTACTC	<i>BoRACK1</i> 过表达
P2	GTGATCATAGTAACGACCAATACCCAGC	<i>BoRACK1</i> 过表达
P3	CACGAGTGGTACCATGGCCGAGGGACTCGTAC	<i>BoRACK1</i> RNAi
P4	CGGATCCTGATCACACTCGCACACAAAGAACC	<i>BoRACK1</i> RNAi
P5	TTGCGATAAAGGAAAGGC	Southern杂交
P6	GAAACAATGGTGGGGACA	Southern杂交
RACK1-qRTF	TCTCCACCCGCAGATTCGT	qRT-PCR
RACK1-qRTR	TCTCCACCCGCAGATTCGT	qRT-PCR
RbohA-qRTF	TGTTGTTCCCTTTGATGATAGCC	qRT-PCR
RbohA-qRTR	ACAATGAGCAGCGAGTAGACGA	qRT-PCR
RbohD-qRTF	TTTCCTTCTCCGTAGCACCTC	qRT-PCR
RbohD-qRTR	CTTCGTCTTTGTCCACCATGTC	qRT-PCR
RbohC-qRTF	TGCTTTCACATTAGCCACTCC	qRT-PCR
RbohC-qRTR	TATCAACCTTTCGCACCCGTA	qRT-PCR
actinF	GGAAGGACTTGTACGGTAACATTG	内参
actinR	TGGACCTGCCTCATCATACTCA	内参

下划线为酶切位点。

### 1.2.4 转基因羽衣甘蓝植株的qRT-PCR检测

选T<sub>2</sub>代转基因羽衣甘蓝和野生型, 在150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl处理5 d后, 提取总RNA。qRT-PCR参照文献(Li等2009)进行, 用*actin*为内参。

### 1.2.5 植物生长条件、种子发芽试验和胁迫处理

以野生型羽衣甘蓝和转基因株系T<sub>2</sub>代种子进行实验。选择各基因型的饱满种子用70%酒精(V/V)浸泡30 s, 并用无菌水冲洗5次。消毒后种子播种在含有MS培养基的无菌滤纸(直径90 mm)上, 以蒸馏水为对照, 设计150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl、1 mmol·L<sup>-1</sup> Tu (钨酸钠, Sigma)+150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl、1 mmol·L<sup>-1</sup> Di (烯唑醇, Sigma)+150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl和20 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Sigma)+150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 4个组合。种子发芽在12 h光照和12 h黑暗28°C下进行。在指定的时间点记录发芽(以胚根长2 mm为发芽)。每个发芽试验, 每处理3次重复, 每重复70粒种子。

### 1.2.6 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量测定

另取上述消毒后羽衣甘蓝种子分别用蒸馏水和20 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浸泡, 分别于0、24和48 h取样, 称取1 g吸胀种子进行H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量测定, 具体参照高俊凤(2006)方法进行。

## 2 实验结果

### 2.1 转基因羽衣甘蓝的PCR检测

以导入植物中的启动子序列(35S)和目的基因(*BoRACK1*基因)为目标(目标片段长度约为750 bp), 对过量表达*BoRACK1*及RNAi *RACK1*的转基因羽衣甘蓝植株的DNA进行PCR检测, 所检测的植株均呈阳性(图1)。

### 2.2 转基因羽衣甘蓝Southern blot检测

从PCR检测阳性的叶子中提取总DNA。使用35S与*RACK1*嵌合基因作为杂交探针。总DNA用

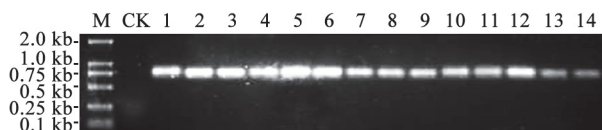


图1 转基因羽衣甘蓝PCR检测

Fig.1 PCR analysis of transgenic kale plants

M: 2000 DNA marker; 1~8: 过表达转基因植株; 9~14: RNAi *RACK1*植株; CK: 空白对照。

*EcoRI*酶解, 发现对照植物没有杂交条带, 而转基因羽衣甘蓝出现杂交条带, 且均为单拷贝(图2)。这说明*BoRACK1*基因已经整合到羽衣甘蓝的基因组中, 而且是插入了1个序列。

### 2.3 转基因羽衣甘蓝*BoRACK1*的qRT-PCR检测

在T<sub>2</sub>代转基因株系中*BoRACK1*表达的实时定量PCR分析显示(图3)。过表达株系Oe3、Oe4和Oe6的*BoRACK1*表达相对较高; 而在RNAi株系中, *BoRACK1*表达仍然能被检测, 与对照相比没有显著差异。这些结果表明, *BoRACK1*能有效过表达, 但RNAi株系却没有抑制表达。因此, 我们选择*BoRACK1*过表达的转基因株系进行后续研究。

### 2.4 羽衣甘蓝*BoRACK1*过表达株系种子在盐胁迫下的萌发

选择*BoRACK1*表达水平相对较高的株系Oe3、Oe4和Oe6作为研究对象, 把转基因T<sub>2</sub>种子与对照植物置于含150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl或不含NaCl的培养皿中进行实验。过表达种子在150 mmol·L<sup>-1</sup>的

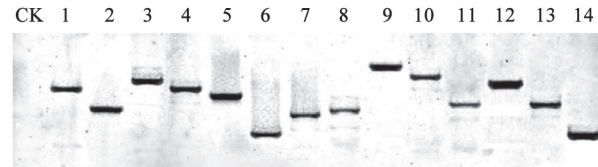


图2 转基因羽衣甘蓝Southern blot检测

Fig.2 Southern blot analysis of transgenic kales

CK: 空白对照; 1~8: 过表达转基因植株; 9~14: RNAi植株。

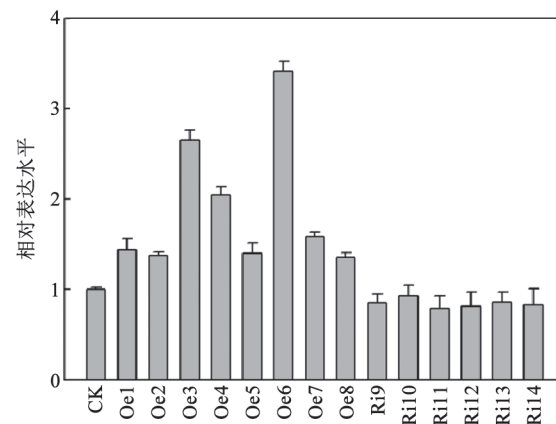


图3 转基因羽衣甘蓝*BoRACK1*基因qRT-PCR检测

Fig.3 *BoRACK1* gene expression in transgenic kales

CK: 对照; Oe1~8: 过表达转基因株系; Ri9~14: RNAi转基因株系。



NaCl溶液中基本能发芽, 只是个别种子发芽较弱。然而, 对照植物种子在该环境下发芽率较低。经过5 d处理后的表型差异如图4-A和B所示。结果表明, 过表达*BoRACK1*转基因植物的种子能够适应盐胁迫进行萌发。

## 2.5 *BoRACK1*影响ABA分解和 $H_2O_2$ 产量

为了阐明*BoRACK1*对盐胁迫的响应机制, 利用ABA生物合成抑制剂钨酸钠(Tu)和ABA分解代谢竞争性抑制剂烯唑醇(Di)进行种子萌发动力学测定。在仅含 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl (图4-B)和含

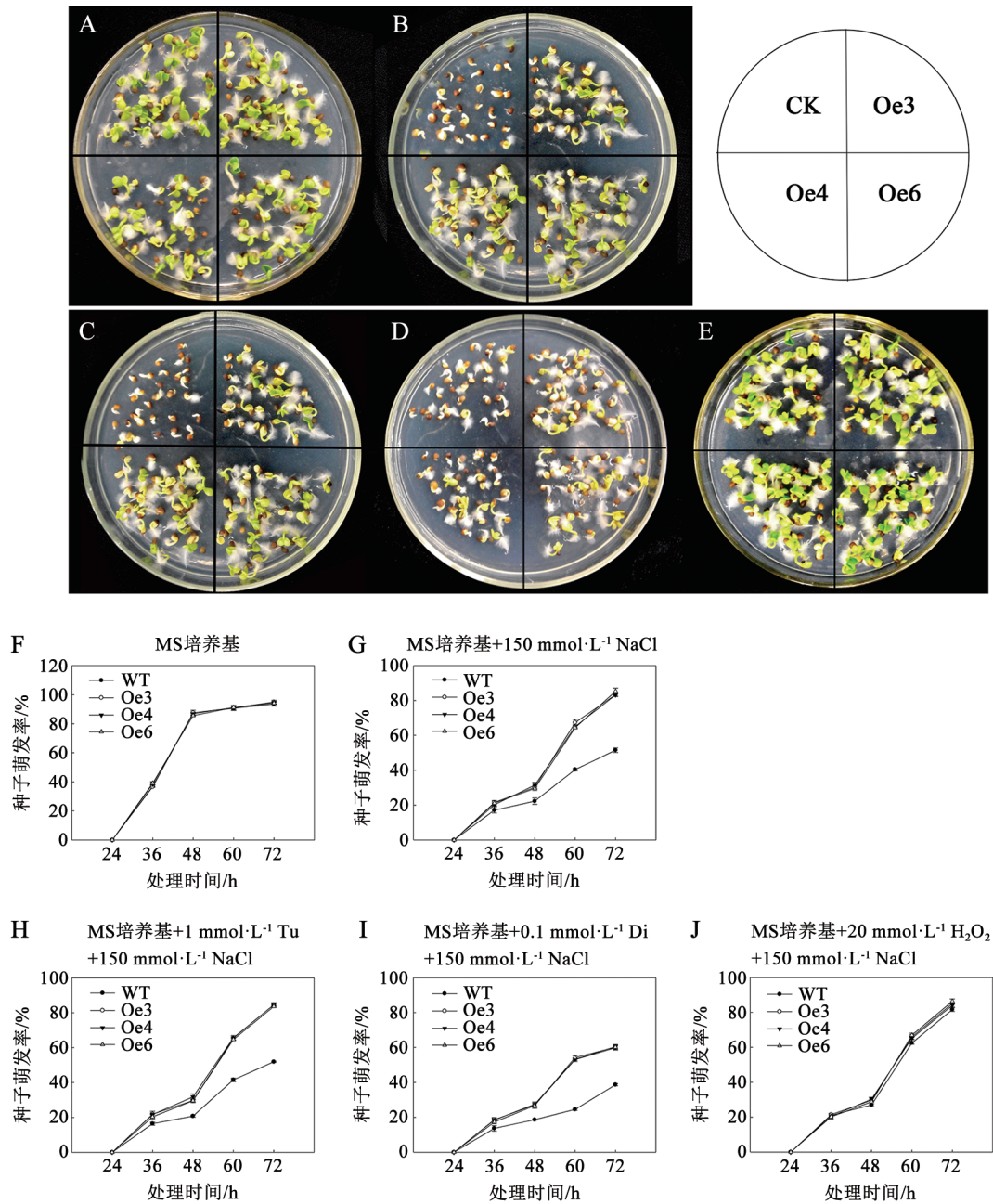


图4 羽衣甘蓝盐胁迫下种子萌发分析

Fig.4 Analysis of seed germination in kales exposed to salt stress

A~E: 种子萌发表型; F~J: 种子萌发率统计分析。其中, A和F: MS培养基; B和G: 含 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl的MS培养基; C和H: MS培养基中含 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tu和 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl; D和I: MS培养基中含 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Di和 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl; E和J: MS培养基中含 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $H_2O_2$ 和 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl。

1 mmol·L<sup>-1</sup> Tu的150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl(图4-C)的MS培养基中,发现两种处理之间种子的发芽率无显著差异(图4-G和H)。然而,烯唑醇处理则显著延缓各基因型的种子萌发(图4-D和I)。这些结果表明*BoRACK1*过表达转基因植物对盐胁迫的敏感性可能与ABA分解代谢有关。

ABA处理或者不利的环境因素容易诱导H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的产生, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>也可能参与种子萌发的调控。然而,盐胁迫下H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>调控种子萌发的分子机制还不清楚。在本研究中,我们评估了在150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl胁迫下外源性H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对羽衣甘蓝不同转基因株系的种子萌发的影响。结果表明,处理72 h后,外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理明显促进所有基因型植株的种子在盐胁迫下的萌发(图4-E和J),发芽率分别达到81.6%(CK)和85.5%(Oes)。结果表明外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能促进盐胁迫下野生型羽衣甘蓝种子萌发,对*BoRACK1*过表达转基因植株影响不大。

进一步研究*BoRACK1*过表达转基因羽衣甘蓝株系的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>水平发现,各转基因株系种子的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>水平显著增高(图5-A)。对用20 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理后的种子也进行H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>检测,结果各转基因株系种子的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>增高不显著,而野生型有较大的增加(图5-B)。这些结果表明,*BoRACK1*过表达转基因株系在盐胁迫下萌发率较高可能与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>产生有关。

## 2.6 *BoRACK1*调控*BoRobh*基因的表达

*BoRACK1*过表达转基因株系在盐胁迫下H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量增加可能与其代谢相关基因表达有关。采用qRT-PCR检测*BoRbohA*、*BoRbohC*和*BoRbohD*(羽

衣甘蓝目前发现有7个*Rboh*基因,其余4个没有显著变化)的转录水平。发现这3个基因的转录水平在过表达转基因株系的种子中显著高于野生型(图6)。这与转基因株系内源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量变化趋势一致(图5)。

## 3 讨论

在哺乳动物中, RACK1参与信号转导通路和激素信号的传输。在拟南芥和水稻研究中,发现RACK1与植物激素信号转导有关(Guo等2009)。然而目前还没有关于羽衣甘蓝RACK1蛋白的功能特性的报道,本研究对转基因羽衣甘蓝的生理生化指标进行了实验分析。在150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl胁迫下,过表达转基因植株的萌发率显著高于对照(图4)。表明*BoRACK1*是盐胁迫下在种子发育和萌发时发挥重要作用的基因。我们发现,*BoRACK1*通过增强ABA分解代谢和刺激H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>产生从而正向调节种子萌发,而ABA与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>二者对种子萌发的调控有交互作用。

这种情况与拟南芥种子萌发非常相似(Guo等2011)。然而,目前在盐胁迫下用RACK1调节种子萌发的研究很少。Zhang等(2014)已报道了水稻中OsRACK1蛋白在种子萌发时调节ABA的分解代谢。本研究发现*BoRACK1*在调节ABA介导的种子萌发中发挥了积极的作用。在盐胁迫下,与对照植株相比,过表达*BoRACK1*转基因株系的种子萌发能力更强(图4)。此外,ABA生物合成的抑制对萌发没有增强作用,而ABA分解作用的抑制显著抑

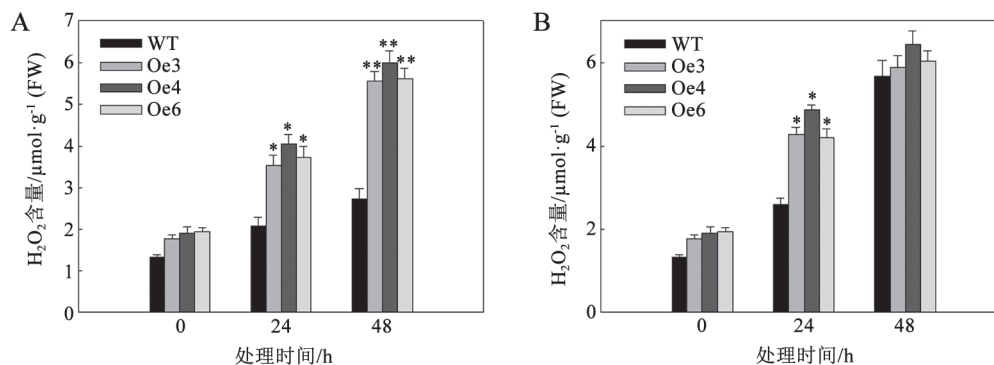


图5 羽衣甘蓝内源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>产量。

Fig.5 Endogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in kales

A: 蒸馏水处理; B: 20 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理。图中\*表示相同处理条件下不同转基因株系与对照有显著差异( $P < 0.05$ ), \*\*表示相同处理条件下不同转基因株系与对照有极显著差异( $P < 0.01$ ), 图6同此。

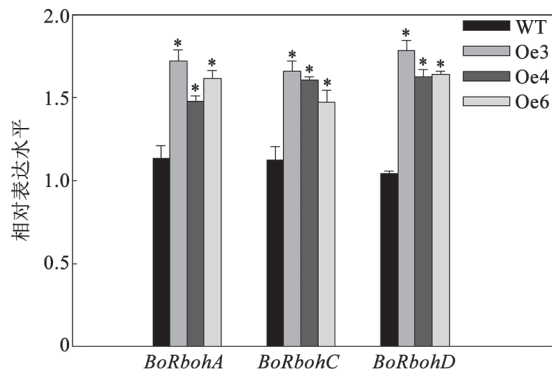


图6 羽衣甘蓝种子萌发时*BoRboh*s的表达分析  
Fig.6 Expression analysis of *BoRboh*s in germination of kales seeds

制盐胁迫下的萌发。以上结果表明, 转基因植株对盐胁迫不敏感性可能依赖于ABA的分解代谢。

ROS主要由 $O_2^-$ 和 $H_2O_2$ 组成, 是调节各种逆境耐受的重要信号转导分子(Zhang等2016)。将ROS调节到适当的水平是至关重要的, 因为它们过度积累会造成损害。虽然ROS的水平受ROS产生的ABA触发控制和ROS清除基因的调节, 在盐胁迫下通过ABA控制ROS信号的机制仍不清楚。本研究发现在植物中盐胁迫后过表达*BoRACK1*增强 $H_2O_2$ 积累(图4和5)。进一步研究表明, 盐胁迫下过表达*BoRACK1*转基因植株产生ROS相关基因的表达(*RbohA*、*RbohC*和*RbohD*)均显著高于野生型(图6)。上述结果表明, *BoRACK1*缓解盐胁迫可能是通过调节细胞内 $H_2O_2$ 水平和参与ROS信号而实现的。

#### 参考文献(References)

- Bassel GW, Lan H, Glaab E, et al (2011). Genome-wide network model capturing seed germination reveals coordinated regulation of plant cellular phase transitions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 9709–9714
- Bird RJ, Baillie GS, Yarwood SJ, et al (2016). Interaction with receptor for activated C-kinase 1 (RACK1) sensitizes the phosphodiesterase PDE4D5 towards hydrolysis of cAMP and activation by protein kinase C. *Biochem J*, 432: 207–216
- Chen JG, Ullah H, Temple B, et al (2006). RACK1 mediates multiple hormone responsiveness and developmental processes in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 57: 2697–2708
- Gao H, Gao YL, Li KH (2015). Optimization of Agrobacterium-mediated transformation system for *Brassica oleracea* var. *acephala* with hypocotyls as explants. *Biotech Bull*, 31: 111–115 (in Chinese with English abstract) [高航, 高玉亮, 李葵花(2015). 羽衣甘蓝下胚轴农杆菌介导遗传转化体系的优化. *生物技术通报*, 31: 111–115]
- Gao JF (2006). *Experimental Instruction of Plant Physiology*. Beijing: Higher Education Press, 214–216 (in Chinese) [高俊凤(2006). *植物生理学实验指导*. 北京: 高等教育出版社, 214–216]
- Guo JJ, Wang JB, Li X, et al (2009). RACK1 is a negative regulator of ABA responses in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 60: 3819–3833
- Guo JJ, Wang SC, Valerius O, et al (2011). Involvement of *Arabidopsis* RACK1 in protein translation and its regulation by abscisic acid. *Plant Physiol*, 155: 370–383
- He D, Han C, Yao J, et al (2011). Constructing the metabolic and regulatory pathways in germinating rice seeds through proteomic approach. *Proteomics*, 11: 2693–2713
- Huang YT, Lin C, He F, et al (2017). Exogenous spermidine improves seed germination of sweet corn via involvement in phytohormone interactions,  $H_2O_2$ , and relevant gene expression. *BMC Plant Biol*, 17: 1
- Komatsu S, Hiraga S, Nouri MZ (2014). Analysis of flooding-responsive proteins localized in the nucleus of soybean root tips. *Mol Biol Rep*, 41: 1127–1139
- Kong XQ, Luo Z, Zhang YJ, et al (2017). Soaking in  $H_2O_2$ , regulates ABA biosynthesis and GA catabolism in germinating cotton seeds under salt stress. *Acta Physiol Plant*, 39: 12–19
- Li DH, Liu H, Yang YL, et al (2009). Down-regulated expression of RACK1 gene by RNA interference enhances drought tolerance in rice. *Rice Sci*, 16 (1): 14–20
- Liu QY, He HH, Hu LF (2013). Research progress in plant *Rboh* genes function and activity regulation mechanism. *Biotech Bull*, 11: 8–13 (in Chinese with English abstract) [刘秋圆, 贺浩华, 胡丽芳(2013). 植物*Rboh*基因功能及其活性调节机制的研究进展. *生物技术通报*, 11: 8–13]
- Nakashima A, Chen LT, Thao NP, et al (2008). RACK1 functions in rice innate immunity by interacting with the Rac1 immune complex. *Plant Cell*, 20: 2265–2279
- Nielsen MH, Flygaard RK, Jenner LB (2017). Structural analysis of ribosomal RACK1 and its role in translational control. *Cell Signal*, 35: 272–281
- Pannongom K, Chuesaard T, Tamchan N, et al (2018). Comparative assessment for the effects of reactive species on seed germination, growth and metabolisms of vegetables. *Sci Hortic*, 227: 85–91
- Schmitt K, Smolinski N, Neumann P, et al (2016). Asc1p/RACK1 connects ribosomes to eukaryotic phosphosignaling. *Mol Cell Biol*, 37: e00279-16
- Wang BS, Yu JJ, Zhu DY, et al (2014). Maize ZmRACK1 is involved in the plant response to fungal phytopathogens. *Int J Mol Sci*, 15: 9343–9359
- Yan JY, Ma CQ, Chang B, et al (2017). A modified CTAB method for genomic DNA extraction from apple fruit. *Mol Plant Breeding*, 15 (9): 3610–3615 (in Chinese with

- English abstract) [闫玖英, 马长青, 常博等(2017). 改良CTAB法用于苹果果实基因组DNA的提取. 分子植物育种, 15 (9): 3610–3615]
- Ye NH, Zhu GH, Liu YG, et al (2012). Ascorbic acid and reactive oxygen species are involved in the inhibition of seed germination by abscisic acid in rice seeds. *J Exp Bot*, 63: 1809–1822
- Zhang DP, Chen L, Li DH, et al (2014). OsRACK1 is involved in abscisic acid- and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-mediated signaling to regulate seed germination in rice (*Oryza sativa* L.). *PLoS One*, 9: e97120
- Zhang JX, Wang XL, Vikash V, et al (2016). ROS and ROS-mediated cellular signaling. *Oxid Med Cell Longev*, 2016: 4350965

## Overexpression of *BoRACK1* affects seed germination of kale under salt stress

GUO Jun-Jie<sup>1</sup>, GUI Hong-Xia<sup>2</sup>, WU Xin<sup>3</sup>, LI Hong-Yan<sup>1</sup>, LI Da-Hong<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>*School of Biology and Food Engineering, Huanghuai University, Zhumadian, Henan 463000, China*

<sup>2</sup>*Nanhai Park of Zhumadian, Zhumadian, Henan 463000, China*

<sup>3</sup>*School of Architectural Engineering of Guangzhou Nanyang Polytechnic College, Guangzhou 510900, China*

**Abstract:** The receptor for activated C-kinase 1 (RACK1) is a highly conserved scaffold protein with versatile functions, and plays important roles in the regulation of plant growth and development. Transgenic kale plants, in which *BoRACK1* gene was overexpressed, were studied to elucidate the possible functions of *BoRACK1* in response to salt stress in kale. The tolerance to salt stress of the transgenic kale plants was higher as compared with the non-transgenic kale plants in the seed germination. Reactive oxygen species production was more active than in the wild-type. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> may also be involved in the regulation of *BoRACK1* during seed germination under salt stress. Quantitative real-time PCR analyses showed that the transcript levels of *BoRbohs* genes were significantly higher in overexpression of *BoRACK1* transgenic lines. These results indicated that overexpression of *BoRACK1* positively regulated kale tolerance to salt stresses.

**Key words:** kale; seed germination; salt stress; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Received 2018-03-19 Accepted 2018-07-02

This work was supported by the Science and Technology Project of Henan (172102310220) and Key Projects of Colleges and Universities in Henan (16A210032).

\*Corresponding author (149202467@qq.com).