

## 桃*PpSnRK1α*基因调控植株的生长发育进程

王贵芳<sup>1</sup>, 于雯<sup>2</sup>, 罗静静<sup>2</sup>, 王文茹<sup>2</sup>, 张淑辉<sup>2</sup>, 肖元松<sup>2</sup>, 彭福田<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>山东省果树研究所, 山东泰安271000

<sup>2</sup>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

**摘要:** 为探讨桃SnRK1蛋白激酶对植株生长发育进程的调控作用, 本研究从毛桃[*Prunus persica* (L.) Batsch]叶片中克隆到SnRK1蛋白激酶 $\alpha$ 催化亚基编码基因*PpSnRK1 $\alpha$* , 并通过农杆菌介导转化拟南芥(*Arabidopsis thaliana*), 获得超表达*PpSnRK1 $\alpha$* 的拟南芥株系4-1、4-2和4-3。研究发现, 在MS培养基中, 转基因株系幼苗的平均真叶数比野生型(WT)增多, 平均鲜重约是WT的2倍, 侧根数显著增加, 而主根的长度明显变短, 约是WT主根长度的1/2。在营养钵中, 超表达*PpSnRK1 $\alpha$* 的拟南芥株系4-2和4-3的花期及衰老进程比WT延迟, 与衰老相关的基因*SEN1*和*SEN5*的表达量显著降低。上述结果表明, 桃*PpSnRK1 $\alpha$* 基因促进拟南芥幼苗的生长, 延缓植株的花期及衰老进程。

**关键词:** 桃; *PpSnRK1 $\alpha$* ; 超表达; 生长; 花期; 衰老

SnRK1 (sucrose non-fermenting-1-related protein kinase 1)蛋白激酶是调控植物代谢和能量平衡的重要枢纽, 在植物生长发育过程中起重要的调节作用, SnRK1以 $\alpha$ 、 $\beta$ 和 $\gamma$ 亚基相结合形成复合体的形式存在(Smeekens等2010)。研究发现 $\alpha$ 亚基上T-loop保守的苏氨酸磷酸化是SnRK1保持活性状态所必需的(McCartney和Schmidt 2001; Shen等2009)。

在大麦植株中反义表达*SnRK1*致使花粉败育, 同时胚珠的发育也在一定程度上受到影响(Zhang等2001)。*SnRK1*反义表达的豌豆种子出现许多成熟缺陷, 表现为储存物的数量减少, 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, 并出现早熟现象(Radchuk等2006)。此外, 被*SnRK1*阻断新陈代谢的苔藓中出现丝状体和配子体异常生长和过早衰老的现象(Thelander等2005)。拟南芥 $\alpha$ 催化亚基编码基因*KIN10*和*KIN11*被沉默, 在持续光照的情况下, 植株花青苷积累, 并出现加速衰老的现象, 并且花的结构发生改变(Baena-González等2007), 而超表达*KIN10*的拟南芥和超表达*SnRK1*的水稻均表现出衰老进程被延迟(Baena-González等2007; Cho等2012)。可见, SnRK1蛋白激酶调节植物的生长发育进程。

目前, 对SnRK1蛋白激酶在植物生长发育过程中的作用研究主要集中在拟南芥及其他农作物上, 对多年生重要的经济作物果树SnRK1蛋白激酶的功能研究报道较少。本实验室在前期研究中发现平邑甜茶*MhSnRK1*在番茄中超表达能提高其光

合速率、淀粉含量及利用率, 响应海藻糖信号调节植株的碳代谢(Li等2010; Wang等2012; 王贵芳等2014)。在此基础上, 为进一步研究果树SnRK1蛋白激酶在植株生长发育中的功能, 本研究以重要的经济树种桃为试材, 对桃SnRK1蛋白激酶 $\alpha$ 催化亚基编码基因*PpSnRK1 $\alpha$*  (ppa004347m)进行克隆、转化, 在拟南芥中超表达*PpSnRK1 $\alpha$* , 探讨其对拟南芥植株的生长、根系的发育、开花及衰老进程的影响, 研究*PpSnRK1 $\alpha$* 在植株生长发育过程中的调节作用, 为进一步阐明果树SnRK1蛋白激酶在果树生长发育过程中的功能提供参考, 也为果树管理提供生理学和分子生物学方面的依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料 with 处理

毛桃[*Prunus persica* (L.) Batsch]种子层积催芽, 播种在细沙中, 待幼苗长至8~10片叶时, 取幼嫩叶片, 用液氮快速冷冻以备总RNA的提取及目的基因的克隆。取毛桃幼苗的根、茎、叶, 以及四年生桃树‘鲁星’ [*P. persica* var. *nectarina* ‘Luxing’]的叶、花和果实, 用液氮快速冷冻样品, 以备实时荧光定量PCR (real time PCR, RT-PCR)分析*PpSnRK1 $\alpha$* 在转录水平上的组织表达特异性。

收稿 2018-07-06 修定 2018-09-25

资助 国家自然科学基金(31672099)、国家现代农业产业技术体系(CARS-31-3-03)和山东省“双一流”建设奖补资金(SY-L2017YSTD10)。

\* 通讯作者(pft@sdau.edu.cn)。

野生型拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.] 种子蒸馏水浸泡30 min, 75%酒精消毒10 s, 5%次氯酸钠消毒15 min, 均匀地播种在MS固体培养基上, 4°C培养2~3 d, 然后转移到温度22°C、光照114  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、光周期16 h光/8 h暗的条件下培养5~6 d。待种子萌发, 幼苗具有2片子叶和2片真叶时将其移栽至装有基质的营养钵中。移栽成活后, 待拟南芥开花时通过农杆菌介导进行目的基因的遗传转化。

### 1.2 桃总RNA的提取及*PpSnRK1 $\alpha$* 的克隆和表达水平分析

植物组织总RNA的提取采用OMEGA RNA提取试剂盒, 反转录cDNA第一链采用宝生物反转录试剂盒PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time), 参照说明书进行操作。RT-PCR采用SYBR-Green染料法(宝生物科技有限公司), 具体操作步骤参照说明书进行。目的基因*PpSnRK1 $\alpha$*  (ppa004347m)的克隆引物、荧光定量引物(P- $\alpha$ )、桃参照基因*P-Actin*及拟南芥参照基因*A-tubulin*荧光定量分析引物(表1)由博尚生物有限公司合成。目的基因测序由华大基因完成。

### 1.3 桃*PpSnRK1 $\alpha$* 基因生物信息学分析

通过NCBI在线BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)对*PpSnRK1 $\alpha$* 基因的核苷酸及氨基酸序列进行同源序列基因搜索, 查找其同源基因, 用MEGA 4.1软件进行序列比对及系统进化分析。用SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de>)在线软件对该基因编码的氨基酸序列进行分析。

### 1.4 *PpSnRK1 $\alpha$* 表达载体的构建及遗传转化

将克隆到的目的基因(*PpSnRK1 $\alpha$* )片段与载体pMD18-T相连, 然后再与含有35S启动子的植物表达

载体pBI121连接, 形成重组植物表达载体pBI121-*PpSnRK1 $\alpha$* 。

光照培养箱中野生型拟南芥开花时, 通过农杆菌介导, 将含有目的基因的重组表达载体pBI121-*PpSnRK1 $\alpha$* 侵染拟南芥当天开放的花朵, 侵染过的拟南芥暗培养1 d, 第2天取出放到光下继续生长。依据侵染过的植株的长势, 隔5~7 d再侵染1次。侵染4~5次后的拟南芥植株正常生长, 收种子。

### 1.5 超表达*PpSnRK1 $\alpha$* 拟南芥株系的筛选与检测

将转化目的基因的拟南芥种子播种在含有卡那霉素的MS固体培养基上, 放于光照培养箱中, 待拟南芥幼苗长至3~4片真叶时, 选取生长健壮的绿色小苗移至含有基质的营养钵中继续培养。待幼苗长至8~10片真叶时, 选取1~2片真叶进行总RNA的提取及目的基因PCR检测, 有目的基因条带者初步定为阳性植株, 对其进一步进行目的基因RT-PCR定量测定, 确定超表达*PpSnRK1 $\alpha$* 基因的植株。超表达目的基因植株的种子为T<sub>1</sub>代, T<sub>1</sub>代种子播种后单株收种即为T<sub>2</sub>代。将T<sub>2</sub>代种子播种后筛选纯合株系。将超表达*PpSnRK1 $\alpha$* 拟南芥纯合株系的种子(4-1、4-2和4-3)用于后续试验。

### 1.6 拟南芥幼苗SnRK1酶的活性检测

拟南芥幼苗在MS培养基中生长2周, 取1.0 g鲜样进行SnRK1酶的活性检测, 参照王贵芳等(2014)的测定方法, 3次重复。

### 1.7 超表达*PpSnRK1 $\alpha$* 拟南芥株系生长指标测定、花期及衰老观测

将超表达*PpSnRK1 $\alpha$* 拟南芥纯合株系(4-1、4-2和4-3)及野生型拟南芥(WT)的种子播种于MS培养基中, 放于光照培养箱, 温度22°C、光照114  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、光周期16 h光/8 h暗的条件下培养, 2周后测定植株鲜重、真叶数量、主根长度、侧根数目、SnRK1酶活性、目的基因表达量。

将MS培养基上生长2周的拟南芥幼苗转至含有基质的营养钵中, 光照培养箱中继续培养, 观测转基因拟南芥株系及野生型拟南芥开花和衰老的进程。

### 1.8 统计分析

实时荧光定量PCR (RT-PCR)实验数据的分析方法为2<sup>- $\Delta\Delta\text{Ct}$</sup> 法, 采用Excel 2007软件处理数据和绘图, SPSS软件进行统计分析, 并运用邓肯氏检验法进行显著性差异( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )检测。

表1 目的基因及荧光定量基因引物序列

Table 1 Primer sequences of objective and fluorescent quantitative genes for cloning and RT-PCR

引物名称	序列(5'→3')
Ppa004347m-F	GCTCTAGAATGGATGGATCGGTTG
Ppa004347m-R	GCGTCGACTTAAAGGACCCG
P- $\alpha$ -F	CTCTTGGTATTGGTTCTT
P- $\alpha$ -R	TCTCTTCTCACTTTCTCT
P-Actin-F	GTTATTCTTCATCGGCGTCTTCG
P-Actin-R	CTTCACCAATCCAGTTCCATTGTC
A-tubulin-F	TGAGTGTATGGTTCTTGAC
A-tubulin-R	GCAGAGATGAGGTGATTC

## 2 实验结果

### 2.1 *PpSnRK1α*基因的克隆

根据桃预测基因*PpSnRK1α* (ppa004347m)的CDS序列从小桃苗叶片中进行目的基因的克隆, 得到一条1 548 bp基因片段(图1), 经测序目的基因片段的序列与预测基因完全一致。

### 2.2 *PpSnRK1α*的生物信息学特性

桃*PpSnRK1*蛋白激酶 $\alpha$ 亚基由515个氨基酸组成, 氨基酸序列的保守性极强, 与苹果、草莓、拟南芥同源的氨基酸序列相似率高达87.8% (图2)。

通过检索*PpSnRK1α*同源的其他物种的氨基酸序列, 进行聚类分析, 构建系统进化树, 结果表明,

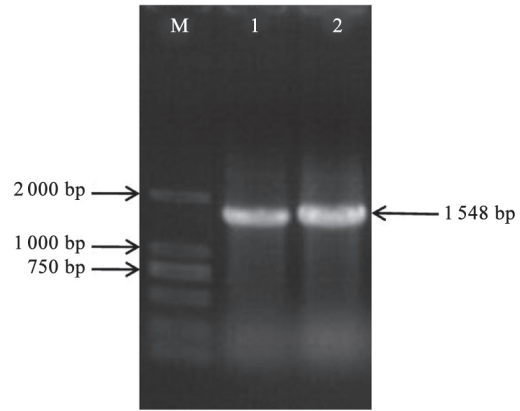


图1 *PpSnRK1α*基因PCR扩增产物电泳图  
Fig.1 Electrophoresis of PCR products for cloning of gene *PpSnRK1α*  
M: marker; 1 and 2: 目的基因PCR扩增产物加样孔。

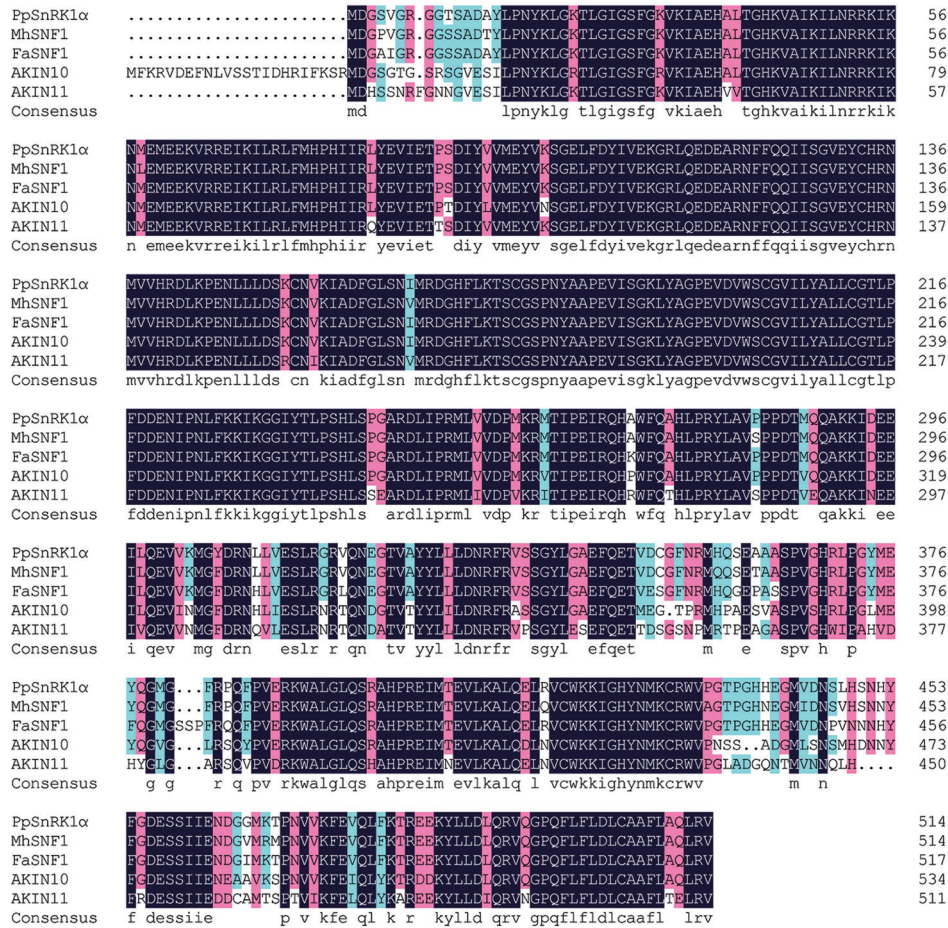


图2 桃与其他植物SnRK1蛋白激酶 $\alpha$ 亚基氨基酸序列同源性比较

Fig.2 Multiple alignment of conserved region of amino acid sequences of the  $\alpha$  subunit of SnRK1 protein kinase from peach and other plants

PpSnRK1 $\alpha$ : 桃(*Prunus persica*, XP\_007215236.1); MdSNF1: 苹果(*Malus domestica*, XP\_008365408.1); FaSNF1: 草莓(*Fragaria*, XP\_004304271.1); AKIN10: 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*, NP\_850488.1); AKIN11: 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*, CAA67671)。

桃PpSnRK1 $\alpha$ 的氨基酸序列与苹果(*Malus domestica*) SNF1的亲缘关系最近,其次是草莓(*Fragaria*) SNF1;而与酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) SNF1及线虫(*Caenorhabditis elegans*) AMPK的亲缘关系较远(图3)。

对PpSnRK1 $\alpha$ 的氨基酸序列进行结构和功能分析显示,在19~271位氨基酸之间的S\_TKc (Serine/Threonine protein kinases, catalytic domain)结构域属于激酶保守的丝氨酸/苏氨酸催化区域,是ATP的绑定域,对蛋白激酶的活性进行调节。在294~331位氨基酸之间的UBA (ubiquitin associated domain)结构域是泛素化相关区域,参与植物机体泛素化/蛋白酶体调节途径(图4和表2)。

### 2.3 PpSnRK1 $\alpha$ 的组织表达特性

通过RT-PCR技术分析桃PpSnRK1 $\alpha$ 在一年生实生小桃苗及四年生桃‘鲁星’不同组织中的表达水平,结果表明,在实生小桃苗根、茎和叶中PpSnRK1 $\alpha$ 均有表达,在叶中表达量最高(图5-A);在‘鲁星’桃叶、花和果中PpSnRK1 $\alpha$ 也均有表达,而在果中表达量最高(图5-B)。

### 2.4 超表达PpSnRK1 $\alpha$ 拟南芥株系的鉴定

对3个超表达PpSnRK1 $\alpha$ 的拟南芥株系进行目的基因PCR鉴定(图6-A)和RT-PCR检测(图6-B),结果显示PpSnRK1 $\alpha$ 在3个株系中均有较亮的目的基因条带,其中在4-3株系中PpSnRK1 $\alpha$ 基因的表达量最高,其次是4-2株系,在4-1株系中表达量稍低,对照WT中未检测到荧光信号。

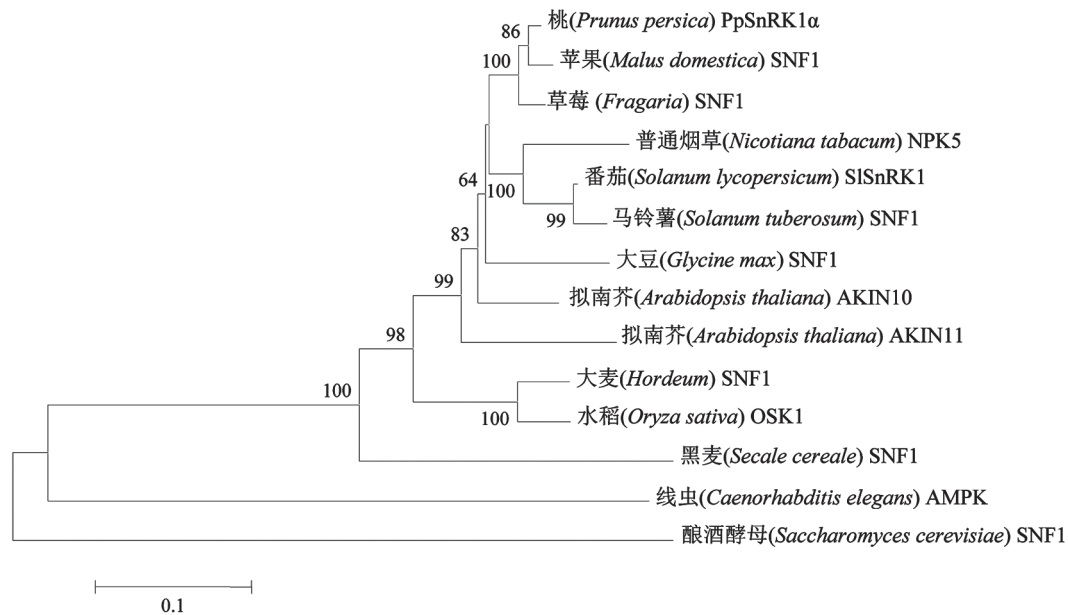


图3 SnRK1蛋白激酶 $\alpha$ 亚基蛋白进化树

Fig.3 Phylogenetic tree of the  $\alpha$  subunit of SnRK1 protein kinase

桃(*Prunus persica*) PpSnRK1 $\alpha$ : XP\_007215236.1; 苹果(*Malus domestica*) SNF1: XP\_008365408.1; 草莓 (*Fragaria*) SNF1: XP\_004304271.1; 普通烟草(*Nicotiana tabacum*) NPK5: BAA05649; 番茄(*Solanum lycopersicum*) SlSnRK1: NP\_001233965.1; 马铃薯(*Solanum tuberosum*) SNF1: AAB52224.3; 大豆(*Glycine max*) SNF1: AAD2358.1; 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) AKIN10: NP\_850488.1; 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) AKIN11: CAA67671; 大麦(*Hordeum*) SNF1: CAA57898; 水稻(*Oryza sativa*) OSK1: BAA36298; 黑麦(*Secale cereale*) SNF1: Q02723; 线虫(*Caenorhabditis elegans*) AMPK: Q952Q4.2; 酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) SNF1: AAB64904。

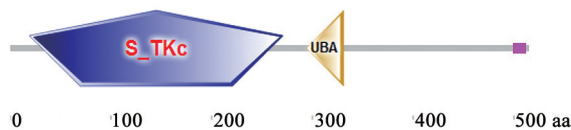


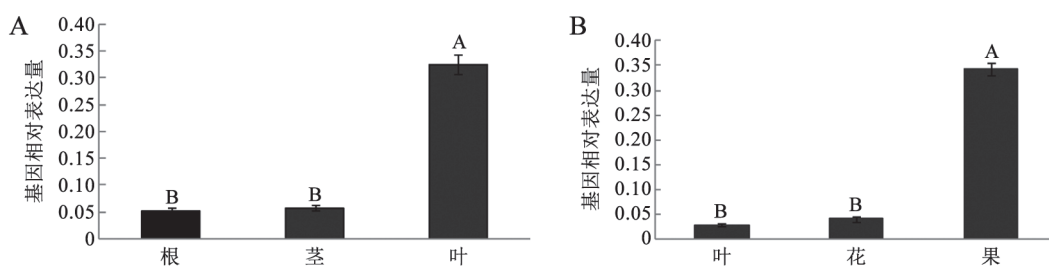
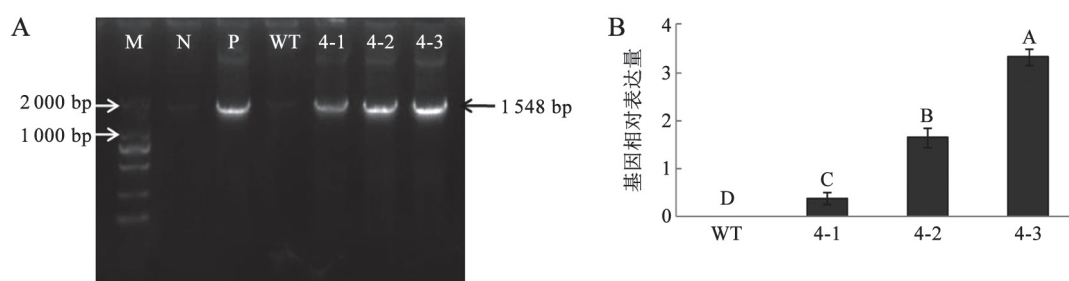
图4 桃PpSnRK1 $\alpha$ 蛋白的功能结构域

Fig.4 Functional structure domains of PpSnRK1 $\alpha$   
S\_TKc: 丝氨酸/苏氨酸结构域; UBA: 泛素化相关区域。

表2 桃PpSnRK1 $\alpha$ 功能结构域氨基酸的起始及结束位置

Table 2 Amino acids start and end positions of functional structure domains in PpSnRK1 $\alpha$

结构域名称	氨基酸起始位置/aa	氨基酸结束位置/aa
S_TKc	19	271
UBA	294	331

图5 *PpSnRK1α*在桃不同组织中的表达水平Fig.5 Gene expression level of *PpSnRK1α* in different tissues of peach图中不同的大写字母表示在 $P < 0.01$ 水平有显著差异, 图6-B和9同此。图6 超表达*PpSnRK1α*拟南芥株系的PCR鉴定及实时荧光定量PCR检测Fig.6 Identification of *PpSnRK1α*-overexpression *Arabidopsis thaliana* lines with PCR and real time PCRM: marker; N: 空白对照(水); P: 阳性对照(质粒); WT: 野生型拟南芥; 4-1、4-2和4-3: 超表达*PpSnRK1α*拟南芥株系, 下同。

## 2.5 超表达*PpSnRK1α*拟南芥株系SnRK1酶活性

对超表达*PpSnRK1α*拟南芥株系SnRK1酶活性进行测定, 结果显示, 与野生型拟南芥(WT)相比, 4-1、4-2和4-3拟南芥株系SnRK1酶活性均有不同程度的提高, 其中4-3株系与WT相比显著提高(图7)。

## 2.6 超表达*PpSnRK1α*拟南芥株系幼苗的生长状态

将超表达*PpSnRK1α*的拟南芥株系和野生型WT播种于MS培养基中, 放于光照培养箱中2周。与对照WT相比, 超表达*PpSnRK1α*的拟南芥株系幼苗的长势较强(图8); 4-1、4-2和4-3株系的真叶数显著增多, 平均分别为8.3、8.7和9.0片(图9-A); 平均每株的鲜重约是WT的2倍(图9-B); 侧根数量显著增多, 平均分别为7.3、6.3和8.3(图9-C); 而主根长度明显变小, 平均分别为2.7、2.4和2.4 cm(图9-D)。

## 2.7 超表达*PpSnRK1α*拟南芥株系的花期及衰老进程

超表达*PpSnRK1α*拟南芥株系及其野生型拟南芥种子播种于MS固体培养基中, 2周后将幼苗移栽至营养钵中, 放于光照培养箱中培养。与WT相比, 超表达*PpSnRK1α*拟南芥株系4-2和4-3的花期

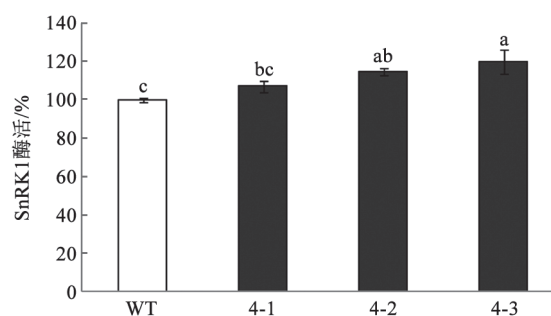
图7 超表达*PpSnRK1α*拟南芥株系的SnRK1酶活性Fig.7 SnRK1 activities of *PpSnRK1α*-overexpression *Arabidopsis thaliana* linesWT: 野生型拟南芥, 图中的小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平有显著差异, 图11同此。

图8 播种2周拟南芥的生长状态

Fig.8 Growth status of two weeks old *Arabidopsis thaliana* lines

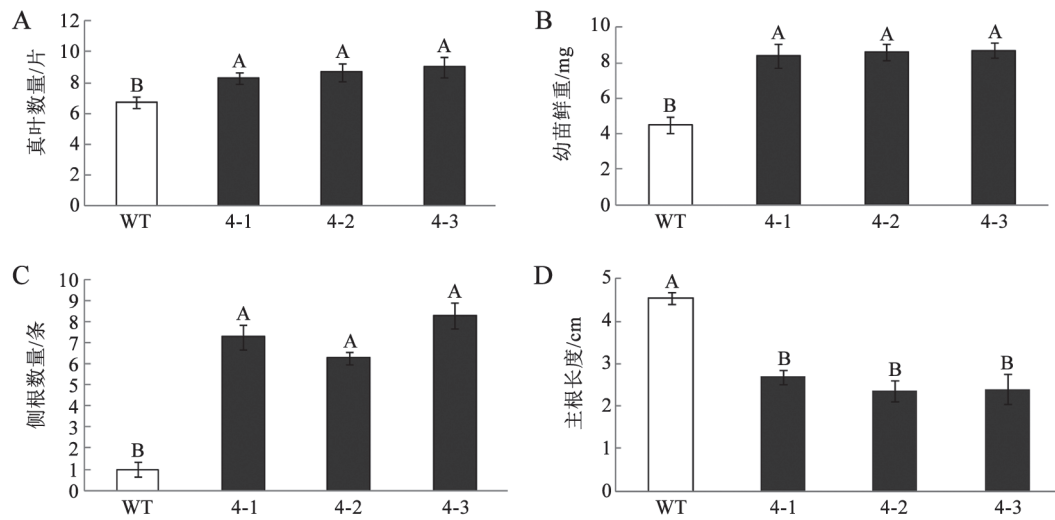


图9 播种2周拟南芥的生长指标

Fig.9 Growth index of two weeks old *Arabidopsis thaliana* lines

(图10-A)和衰老(图10-B)进程明显延迟,花期分别比WT延迟2和3 d,衰老进程分别延迟4和6 d,与衰老相关基因 $SEN1$ (图11-A)和 $SEN5$ (图11-B)表达量显著降低。超表达 $PpSnRK1\alpha$ 拟南芥株系4-1的花期及衰老进程与WT相比,差异不显著(图10)。

### 3 讨论

$SnRK1$ 蛋白激酶 $\alpha$ 亚基编码基因在植株不同组织中的表达具有特异性。研究表明,番茄 $SISnRK1$ 基因在根、茎、叶和花中均表达,花中表达量最高(沈庆汤 2010);豌豆 $SnRK1$ 基因在各组织中均有

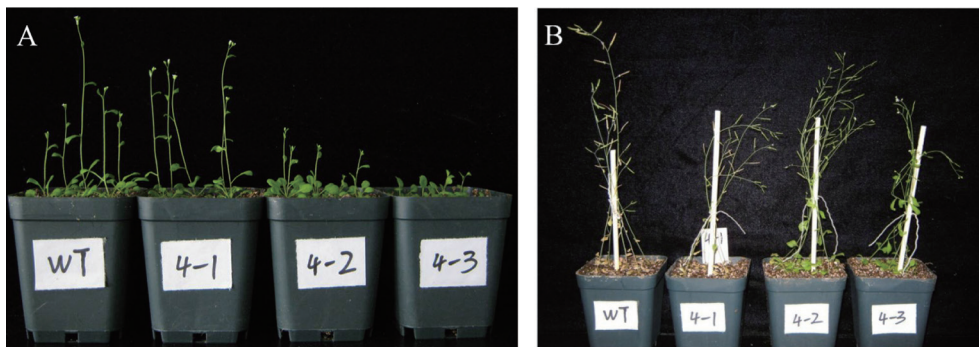
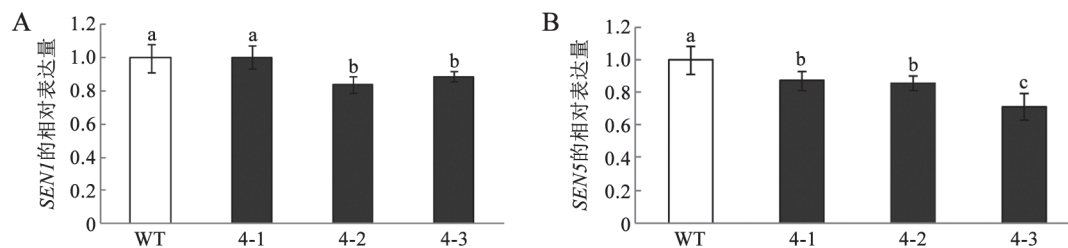


图10 拟南芥的开花及衰老

Fig.10 Blossom and senescence of *Arabidopsis thaliana*图11 拟南芥衰老相关基因 $SEN1$ 和 $SEN5$ 的表达量Fig.11 Genes expression levels of  $SEN1$  and  $SEN5$  which related with senescence in *Arabidopsis thaliana*

表达, 根中表达量最高(Radchuk等2006); 而烟草和马铃薯中*SnRK1*基因在不同组织也均表达, 但马铃薯未成熟的块茎中表达最高(Muranaka等1994; Man等1997); 平邑甜茶*MhSnRK1*在根、茎和叶中均有表达, 叶中表达量最高(李光杰2009)。本研究中桃*PpSnRK1α*在一年生实生小桃苗的根、茎和叶中均有表达, 在叶中表达量最高; 在四年生嫁接树(‘鲁星’桃)的叶、花和果中均有表达, 而在果中表达量最高。

为探讨桃*PpSnRK1α*基因在植株生长发育中的功能, 通过农杆菌介导将*PpSnRK1α*基因在拟南芥中过量表达, 获得纯合的转基因拟南芥株系4-1、4-2和4-3。与野生型(WT)相比, 目的基因表达量较高的4-2和4-3株系(图6-B)幼苗的SnRK1酶的活性(图7)也较高。在MS培养基中生长2周的转基因株系4-1、4-2和4-3幼苗的真叶数量、鲜重及侧根的数量与WT相比显著增加, 而主根长度显著变小(图9)。Baena-González等(2007)对超表达*KIN10*拟南芥研究发现, 弱光条件下, 在含有1%和3%蔗糖的培养基中, 与野生型相比, 超表达*KIN10*的拟南芥幼苗主根的伸长受到明显抑制, 根系的形成和地上部的生长也受抑制, 这与本研究的结果显著不同。在本研究中温度22°C, 光照强度114  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 光周期16 h光/8 h暗, MS培养基(含3%蔗糖)为拟南芥适宜的生长条件; 而Baena-González等(2007)的实验中, 生长在1%和3%蔗糖培养基中的拟南芥处于弱光胁迫下, 这可能是实验结果差异的原因。

为进一步研究桃*PpSnRK1α*基因在植株开花和衰老过程中的调节作用, 将MS培养基上生长2周的拟南芥幼苗转至含有基质的营养钵中, 光照培养箱中继续培养, 结果发现超表达桃*PpSnRK1α*拟南芥株系的花期和衰老进程比野生型明显延迟, 4-2和4-3株系的花期分别比WT延迟2和3 d, 衰老进程分别延迟4和6 d(图10), 并且与衰老相关的基因*SEN1*和*SEN5*的表达量明显降低(图11), 这与超表达*KIN10*拟南芥的表型类似(Baena-González等2007)。Jeong等(2015)进一步发现*KIN10*通过磷酸化抑制转录因子IDD8而延迟拟南芥的花期。AKIN10激活植株自噬途径(Soto-Burgos和Bassham 2017), 延缓植株的衰老进程(Chen等2017)。综上

可见, 不同物种间SnRK1蛋白激酶 $\alpha$ 亚基编码基因在调控植株的花期及衰老进程中的功能相似。

综上所述, 桃*PpSnRK1α*在不同的组织中广泛表达, 其中在果实中的表达量最高。在拟南芥中超表达*PpSnRK1α*基因提高了植株SnRK1酶的活性, 促进植株幼苗的生长, 延缓植株的花期及衰老进程。可见, 桃*PpSnRK1α*参与调控植株的生长发育进程, 其调节机制有待进一步的研究。

### 参考文献(References)

- Baena-González E, Rolland F, Thevelein JM, et al (2007). A central integrator of transcription networks in plant stress and energy signalling. *Nature*, 448 (7156): 938–942
- Chen L, Su ZZ, Huang L, et al (2017). The AMP-activated protein kinase KIN10 is involved in the regulation of autophagy in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci*, 8: 1201
- Cho YH, Hong JW, Kim EC, et al (2012). Regulatory functions of SnRK1 in stress-responsive gene expression and in plant growth and development. *Plant Physiol*, 158 (4): 1955–1964
- Jeong EY, Seo PJ, Woo JC, et al (2015). AKIN10 delays flowering by inactivating IDD8 transcription factor through protein phosphorylation in *Arabidopsis*. *BMC Plant Biol*, 15: 110
- Li GJ (2009). Cloning and expressing regulation of sucrose non-fermenting-1-related protein kinase-1 (*SnRK1*) from Pingyitiancha (*Malus hupehensis* Rehd.) and researching of its function (dissertation). Taian, Shandong: Shandong Agricultural University [李光杰(2009). 平邑甜茶*SnRK1*基因的克隆、表达及功能的研究(学位论文). 山东泰安: 山东农业大学]
- Li G, Peng F, Zhang L, et al (2010). Cloning and characterization of a SnRK1-encoding gene from *Malus hupehensis* Rehd. and heterologous expression in tomato. *Mol Biol Rep*, 37 (2): 947–954
- Man AL, Purcell PC, Hannappel U, et al (1997). Potato SNF1-related protein kinase: molecular cloning, expression analysis and peptide kinase activity measurements. *Plant Mol Biol*, 34 (1): 31–43
- McCartney RR, Schmidt MC (2001). Regulation of Snf1 kinase. Activation requires phosphorylation of threonine 210 by an upstream kinase as well as a distinct step mediated by the Snf4 subunit. *J Biol Chem*, 276 (39): 36460–36466
- Muranaka T, Banno H, Machida Y (1994). Characterization of tobacco protein kinase NPK5, a homolog of *Saccharomyces cerevisiae* SNF1 that constitutively activates expression of the glucose-repressible *SUC2* gene for a secreted invertase of *S. cerevisiae*. *Mol Cell Biol*, 14 (5): 2958–2965

- Radchuk R, Radchk V, Weschke W, et al (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
- Shen QT (2010). Mechanism of the interaction between TYL-CCNB  $\beta$ C1 and tomato host factor SlSnRK1 (dissertation). Hangzhou: Zhejiang University [沈庆汤(2010). 中国番茄黄化曲叶病毒卫星DNA编码的 $\beta$ C1与番茄寄主因子SlSnRK1的互作机制研究(学位论文). 杭州: 浙江大学]
- Shen W, Reyes MI, Hanley-Bowdoin L (2009). *Arabidopsis* protein kinases GRIK1 and GRIK2 specifically activate SnRK1 by phosphorylating its activation loop. *Plant Physiol*, 150 (2): 996–1005
- Smeekens S, Ma J, Hanson J, et al (2010). Sugar signals and molecular networks controlling plant growth. *Curr Opin Plant Biol*, 13 (3): 274–279
- Soto-Burgos J, Bassham DC (2017). SnRK1 activates autophagy via the TOR signaling pathway in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE*, 12 (8): e0182591
- Thelander M, Olsson T, Ronne H (2005). Effect of the energy supply on filamentous growth and development in *Physcomitrella patens*. *J Exp Bot*, 56 (412): 653–662
- Wang GF, Peng FT, Zhang YF, et al (2014). Effects of overexpressing Pingyi Tiancha *MhSnRK1* on carbohydrate metabolism in tomato. *Acta Horticult Sin*, 41 (11): 2188–2195 (in Chinese with English abstract) [王贵芳, 彭福田, 张亚飞等(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 XL, Peng FT, Li MJ, et al (2012). Expression of a heterologous SnRK1 in tomato increases carbon assimilation, nitrogen uptake and modifies fruit development. *J Plant Physiol*, 169 (12): 1173–1182
- Zhang Y, Shewry PR, Jones H, et al (2001). Expression of an antisense SnRK1 protein kinase sequence causes abnormal pollen development and male sterility in transgenic barley. *Plant J*, 28 (4): 431–441

## Peach *PpSnRK1 $\alpha$* gene regulates the growth and development processes of plants

WANG Gui-Fang<sup>1</sup>, YU Wen<sup>2</sup>, LUO Jing-Jing<sup>2</sup>, WANG Wen-Ru<sup>2</sup>, ZHANG Shu-Hui<sup>2</sup>, XIAO Yuan-Song<sup>2</sup>, PENG Fu-Tian<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Shandong Institute of Pomology, Taian, Shandong 271000, China

<sup>2</sup>College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, State Key Laboratory of Crop Biology, Taian, Shandong 271018, China

**Abstract:** In order to research the effects of sucrose non-fermenting-1-related protein kinase 1 (SnRK1) of peach (*Prunus persica*) on plant growth and development processes, in this study, the catalyzed subunit coding gene of SnRK1 protein kinase, named *PpSnRK1 $\alpha$* , was cloned from peach leaves. The *PpSnRK1 $\alpha$* -overexpression *Arabidopsis* lines 4-1, 4-2 and 4-3 were obtained by agrobacterium-mediated transformation. The study showed that, in MS medium, transgenic *Arabidopsis* lines had more true leaves than WT, the average fresh weight were about twice as much as WT, and the number of lateral roots increased significantly, while the tap roots length were significantly shorter, about half of the WT. In nutritional medium, flowering and aging processes of 4-2 and 4-3 *Arabidopsis* lines were more delayed than WT, and expression level of genes related with senescence, *SEN1* and *SEN5*, were significantly lower than WT. The above results showed that *PpSnRK1 $\alpha$*  could promote the growth of *Arabidopsis* seedlings, delay the flowering and aging processes of the plants.

**Key words:** peach; *PpSnRK1 $\alpha$* ; overexpression; growth; flowering; aging

Received 2018-07-06 Accepted 2018-09-25

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31672099), the China Modern Agriculture Industry System Construction Foundation (CARS-31-3-03) and the Construction of 'Double Top' Foundation of Shandong Province (SYL2017YSTD10).

\*Corresponding author (pft@sdau.edu.cn).