文章编号: 1005-0906(2021)06-0050-09

DOI: 10.13597/j.cnki.maize.science.20210608

缺氮胁迫下玉米组蛋白乙酰化 相关酶的动态表达特征

余娇娇,沈 涛,张晓东,王雅妮 (玉溪师范学院化学生物与环境学院,云南玉溪 653100)

摘要:研究缺氮对玉米自交系B73组蛋白修饰酶的影响,分析组蛋白修饰如何对玉米发育过程中土壤氮浓度的波动进行微调适应不同的氮浓度环境提供一定的理论依据。结果表明,吐丝后1~2周,缺氮雌穗的穗长和干重分别降低16.2%~19.7%和35.6%~44.4%,氮浓度在吐丝后第二周降低13.3%。利用qRT-PCR技术,对玉米苗期以及雌穗形成关键时期的组蛋白乙酰化酶(GCN5和HAT-B)和去乙酰化酶基因(HD1b,HD2,HDA101,HDA102,HDA106和HDA108)的表达进行分析,苗期缺氮8d,除HAT-B基因外,其余7个基因的表达水平均急剧上升;缺氮36h,HAT-B、HDA101、HD1b和HD2基因的表达量增加;缺氮处理2d,基因HDA106和HDA108的表达水平下调。吐丝期雌穗,除HAT-B、HD1b和HD2基因外,其余5个基因都有较高的表达水平;在吐丝期前1周,缺氮导致HDA101和HDA106基因的表达水平均显著上调;基因HD1b和HD2在吐丝期后第二周表达水平则明显下调。缺氮胁迫使ZmHATs和ZmHDACs的表达可能存在协同性、功能分化性、时空摆动性以及通过不同途径调控植物对缺氮胁迫的响应等特征,说明ZmHATs和ZmHDACs在玉米缺氮胁迫适应中发挥着重要作用。

关键词: 玉米;缺氮;HATs;HDACs;基因表达 中图分类号: \$513.035.3

文献标识码:A

Dynamic Expression Patterns of Corresponding Enzymes of Histone Acetylation Modification in Maize under Nitrogen Deficiency

YU Jiao-jiao, SHEN Tao, ZHANG Xiao-dong, WANG Ya-ni

(School of Chemical Biology and Environment, Yuxi Normal University, Yuxi 653100, China)

Abstract: HHistone acetylation modification as key epigenetic factors in regulating the expression of genes in multiple aspects of plant growth, development, and response to stresses. The results showed that ear was 16.2%–19.7% shorter from 1 to 2 weeks after silking under N limitation compared to that with sufficient N supply. During the same time, the dry weight(DW) of the N deficient ear was 35.6%–44.4% less than that of the N sufficient ear. The N concentration abruptly dropped in the maize ear at TAS, with an approximately 13.3% decrease. qRT–PCR amplification was conducted to analyze the expression level of histone acetylases(*GCN5* and *HAT–B*) and deacetylases (*HD1b*, *HD2*, *HDA101*, *HDA102*, *HDA106* and *HDA108*) under nitrogen deficiency. During the seedling stage, all HTAs and HDACs were up–regulated at 8 days, except *HAT–B*. The expression of *HAT–B*, *HDA101*, *HD1b* and *HD2* also increased at 36 h under nitrogen limitation. After low nitrogen treatment for 2 days, the expression of *HDA106* and *HDA106* were significantly up–regulated due to nitrogen deficiency. However, the expression of *HDA101* and *HDA106* were significantly up–regulated at two weeks after silking. The regular expression of histone acetylases and deacetylases under nitrogen deficiency indicated that an important role of histone acetylation modification in maize's adaptation to nitrogen deficiency stress during growth and development.

Key words: Maize; Nitrogen deficiency; HATs ; HDACs; Gene expression

录用日期: 2020-11-24

基金项目: 云南省地方本科高校基础研究联合专项面上项目 (2018FH001-041)

作者简介:余娇娇(1983-),女,云南保山人,讲师,博士,主要从事玉米营养生理与遗传研究。E-mail: jiaojiaoyu@yxnu.edu.cn

氮是一种重要的大量元素,在植物生长发育过 程中起着至关重要的作用。玉米是已知的对施氮 表现出高产量的作物之一,导致其生产中需大量氮 肥的投入四。不同氮素环境下,植物拥有多层感应 和适应机制以响应氮素的利用,其包括植物形态、生 理和分子机制上的反应³³。表观遗传调控就是植物 应答多变环境的调控机制之一,如组蛋白修饰—— 核小体核心组蛋白N-末端发生翻译后的各种修饰, 包括乙酰化、甲基化、磷酸化和泛素化等。植物中 的乙酰化、某些磷酸化和泛素化都与基因的转录激 活有关^[5]。组蛋白乙酰化作用受组蛋白乙酰化酶 (HATs)和去乙酰化酶(HDACs)调控,这两类酶参与大 量逆境胁迫相关基因的表达16~81,尤其是在植物生长 过程中氮素匮乏的情况下,表观修饰通过调控大量 与胁迫和生理作用相关的基因来响应外界缺氮的环 境压力。在拟南芥中,HATs由四个家族组成, GNAT(GCN5-type HATs)、MYST、CBP 和 TAF1 几乎 都能促进基因的转录¹⁹¹。玉米HAT-A类组蛋白乙酰 化酶位于细胞核,HAT-B类位于细胞质¹⁰¹。玉米 HAT-A 又分为 HAT-A1 和 HAT-A2^[11], 通过调控 8、 16、20号赖氨酸的乙酰化作用参与植物的转录激 活、DNA修复以及其他生物学过程^[12,13]。在玉米H4 组蛋白中,HAT-A或HAT-B通过调控5、12号赖氨酸 的乙酰化修饰参与DNA复制^[14, 15]。GCN5是Spt-Ada-Gcn5乙酰化酶亚基的一个催化剂和转录受体 (ADA)。在拟南芥中ADA和GCN5可以通过与CBF1 转录因子的作用提高植物对冷胁迫的耐受力。 CBF1 通过招募 ADA/SAGA-like 复合体来介导靶基 因染色体的重塑,从而激活下游冷胁迫基因的转 录。组蛋白乙酰化调节养分内稳态的研究显示,组 蛋白乙酰化转移酶 GCN5 基因突变导致铁从拟南芥 根到地上部的运输受阻¹⁶。此外,5个GCN5的靶基 因被鉴定出参与铁内稳态过程,如FRD3基因,1个 参与铁营养调节的关键基因,GCN5通过分别调控 这些基因的H3组蛋白的9号和14号赖氨酸乙酰化 水平(H3K9ac, H3K14ac), 进而调控它们的转录表 达。在拟南芥中,GCN5介导的组蛋白乙酰化修饰 通过At4-miR399-PHO2途径在磷饥饿反应调控中 发挥重要作用^[17]。植物 HDACs 主要包括 RPD3/ HDA1、SIR2、HD2三大家族,与基因的表达抑制相 关。在所有真核基因组中,RPD3/HDA1 是一个超家 族[18]。Rpd3类型组蛋白去乙酰化酶 HDA6,是一个 参与调控叶片衰老和非生物胁迫的关键表观遗传调 节器[19,20]。HDA6通过调节冷胁迫响应基因的表达, 在植物低温耐受性中发挥关键作用[21],也能通过调

控乙酸生物合成途径相关基因的表达,参与干旱胁 迫^[22]。在拟南芥中, HDA6和HDA19通过调控组蛋白 去乙酰化作用响应生物和非生物胁迫[23]。通过对拟 南芥HDA19的研究发现,组蛋白乙酰化参与磷的内 稳态[24]。拟南芥HDA19突变和超表达结果显示,在 缺磷和磷充足的条件下,HDA19都是控制根细胞伸 长的一个关键因素,同时参与调控磷饥饿诱导的一 些关键基因的表达,如磷的感受和信号传导基因。 AtHD2C是植物特有的HD2家族去乙酰化酶基因, 过表达HD2C株系通过调控ABA 应答基因提高拟南 芥对盐和干旱的耐受性^[25]。hd2c突变体在种子萌发 过程中对ABA和NaCl的敏感性增加,对盐胁迫的耐 受性则降低^[26]。水稻 HDAC 家族不同成员的表达水 平因不同非生物胁迫(冷胁迫、渗透、盐害以及激素 ABA、JA和水杨酸)而差异表达[27]。西红柿在不同的 非生物胁迫条件下(NaCl、脱水、高温和低温),9个Sl-HDACs的转录水平均受不同程度的诱导,其表达量 的差异说明,在不同的逆境胁迫应答中其可能发挥 不同的作用^[28]。此外,在玉米中已有15个HDAC基 因被证实,其基本功能与基因的转录抑制有关[29]。 本研究以自交系 B73 为试验材料,利用 qRT-PCR 技 术,分析研究玉米苗期(0、12h、24h、36h、2d、4d、6d、 8 d、10 d、12 d)以及雌穗形成关键时期(吐丝前一周、 吐丝期、吐丝后一周、吐丝后两周),缺氮影响玉米组 蛋白乙酰化酶基因(GCN5和HAT-B)和去乙酰化酶 基因 (HD1b, HD2, HDA101, HDA102, HDA106 和 HDA108)的表达水平的方式,研究缺氮通过调控组 蛋白乙酰化修饰作用影响玉米的生长发育的机理, 为提高玉米氮素利用效率(NUE),深入了解玉米是 如何感知氮素,组蛋白修饰是如何对其发育过程中 土壤氮浓度的波动进行微调,为适应不同的氮浓度 环境提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料种植

选取玉米自交系 B73 为实验材料。玉米在恒温 培养室采用水培方法进行种植,采用 14 h光照强度 为 300 µmol/(m²·s)和 10 h黑暗交替的长日照方式种 植(白天 28℃,夜晚 22℃),培养室相对湿度为 60%。 移栽前种子先在 10% H₂O₂中浸泡 30 min 消毒,随后 用去离子水冲洗 3~4次后浸泡在饱和硫酸钙溶液 中约 5 h,最后取出种子摆放在湿润的滤纸上于 28℃ 培养室避光萌发。待胚根长至 2 cm 左右时,用 40×20 cm 的湿润滤纸将种子卷成长筒状放置于去 离子水中继续避光生长,长至两叶一心时,选取长势

一致的幼苗移栽到培养罐中,每罐移栽5棵苗,目 保持罐内通气良好。培养罐内的营养液配方, 0.25 mmol/L KH₂PO₄, 2 mmol/L NH₄NO₃, 2 mmol/L $CaCl_{2}, 5 \times 10^{-6} \text{ mmol/L} (NH_{4})_{6}Mo_{7}O_{24}, 1 \times 10^{-3} \text{ mmol/L}$ ZnSO₄, 0.65 mmol/L MgSO₄, 0.2 mmol/L Fe-EDTA, 1×10⁻³ mmol/L MnSO₄, 0.1 mmol/L KCl, 1×10⁻⁴ mmol/L CuSO₄, 0.75 mmol/L K₂SO₄和 1×10⁻³ mmol/L H₃BO₃₀ 低氮处理除将NH4NO3浓度降低至0.1 mmol/L外,其 他营养元素浓度保持不变。营养液pH值统一调至 6. 目每隔两天更换1次新的营养液。待苗长至五叶 一心时取样,每个处理取3个生物学重复,取样时间 设置为0、12h、24h、36h、2d、4d、6d、8d、10d、12d: 当50%的植株花丝长至1~2 cm时为吐丝期,并标 记长势一致的植株用于吐丝后一周和吐丝后两周雌 穗的取样,每个处理取3个生物学重复。样品用铝 箔纸包裹后迅速冻于液氮中最后保存至-80℃冰箱 用于后续实验。

1.2 测定项目与方法

氮浓度测定采用H₂SO₄-H₂O₂消煮法。称取研 磨成细粉的烘干样品约0.1g置于消煮管中,并加入 5 mL浓H₂SO₄混匀后静止过夜。次日,向消煮管中 加入3 mLH₂O₂混匀后在300℃消煮炉上消煮30 min, 多次重复消煮至管中液体澄清。消煮液冷却后用去 离子水定容至75 mL,取5 mL混匀液体在凯氏定氮 仪中测定氮浓度。

玉米植株总 RNA 的提取根据 Trizol 试剂的操作 说明书进行(Invitrogen), RNA 提取后使用 DNase I (Fermentas)在37℃消化处理30 min进行纯化。纯化 后的RNA用M-MLV反转录酶(Invitrogen)逆转录成 cDNA。反转录程序:65℃加热5 min,37℃孵育50 min 和70℃加热 15 min。定量 PCR 引物序列见表 1,产 物长度大约为200 bp 左右, GC 含量为40%~60%, 退火温度60℃。Real-time PCR反应在Bio-Rad iCycler iQ5(Bio-Rad)定量仪中使用 SYBR Green Real Master Mix(Takara)试剂进行。RT-qPCR扩增程序: 94℃预变性 2 min, 40 个扩增循环(94℃变性 20 s, 60℃退火 20 s,72℃延伸 20 s)。数据分析使用 2-ΔΔC(i) 的方法计算基因的相对表达量^[30],即ΔC_T = $C_{T Treatment/Control} - C_{T Ubi}$, $\Delta\Delta C_{T} = \Delta C_{T Treatment} - \Delta C_{T Control}$, 倍数 变化 =2^{-ΔΔC()}。玉米的 Ubiquitin(GRMZM2G409726)基 因作为内参,为了排除生长发育对实验结果的影响, 统一将对照标准化1。每个实验处理有3个生物学 重复,每个生物学重复又设置两个技术重复,同时设 置阴性对照。

1.3 数据处理与分析

利用SAS(Statistical Analysis System)统计软件对 基因的相对表达量进行统计分析。

表1 荧光定量PCR的引物序列

Table 1The primer sequences for qPCR

基因名称	基因序列(5~-3′)
Gene name	Gene sequence
GCN5	GGACGGCTGAAGTTTCTCTG
	GCTTGCATAAGGGCGATAAG
HAT-B	CAGCTGACCTGATGGAGACT
	TTGGCATCTGCAACAGACGC
HDA101	GCCATACTCGAGCTGCTCAA
	TAGAGGGACATTCAGGGAGT
HDA102	TCATTGGCGAGGGATCGTTT
	TCTCATTTGGGAGTTCTGTG
HDA106	AGATAGTTCCGATGAAGAGC
	GAGTCATCTTCCTCAGACAT
HDA108	GCTTTAACGTCGGTGAGGAC
	GGCGAGGACGATGTCGTTGA
HD1b	CCACCTTTCGTGGTCTGTTT
	AGCGTGCAACATTTCTGATG
HD2	AGTTGCTGCACCCTCAAAAT
	CGGAACTTTCAGCAGGTCTC
ZmUbiquitin	TAAGCTGCCGATGTGCCTGCGTCG
	CTGAAAGACAGAACATAATGAGCACAG

2 结果与分析

2.1 缺氮胁迫抑制玉米的生长发育

缺氮一般会抑制穗的生长。吐丝后1~2周 (OAS,TAS),缺氮雌穗的穗长比对照缩短16.2%~ 19.7%。与此同时,缺氮雌穗的干重(DW)比氮充足 的雌穗降低35.6%~44.4%。在吐丝后第二周,缺氮 雌穗的氮浓度急剧降低,大约下降13.3%(图1)。

2.2 缺氮胁迫对玉米苗期组蛋白乙酰化相关酶表 达水平的影响

组蛋白乙酰化修饰作为一种重要的表观遗传调 控机制,主要由组蛋白乙酰化酶基因(GCN5和 HAT-B)和去乙酰化酶基因(HD1b、HD2、HDA101、 HDA102、HDA106和HDA108)调控。B73缺氮玉米幼 苗中,组蛋白乙酰化酶基因GCN5和HAT-B的表达 水平在0、12h、24h、2d、4d、6d、10d、12d均不受缺 氮胁迫影响。缺氮8d,GCN5基因上调表达4倍。 相反,HAT-B基因在缺氮36h表达水平已经达到峰 值,上调表达约5.3倍(图2)。

植物 HDACs 基因 HD1b、HD2、HDA101、 HDA102、HDA106和 HDA108,根据基因表达模式的 结果,将其划分为3类。



注:误差棒代表3个独立的生物学重复的标准误(*,P<0.05;**,P<0.01)。OBS表示吐丝期前一周;Silking表示吐丝期;OAS表示吐丝期后一周; TAS表示吐丝期后两周。CK表示对照;LN表示低氮处理。下表同。

Note: Each bar indicated mean + SE of three biological replicates (*, P<0.05; **, P<0.01). OBS, one week before silking; OAS, one week after silking; TAS, two weeks after silking. CK, control; LN, low nitrogen.



图1 缺氮对玉米生长的影响

Fig.1 N limitation inhibited maize growth in B73



Fig.2 Dynamic expression of histone acetyltransferases at maize B73 seedlings under low nitrogen

缺氮导致玉米幼苗中HDA101基因在36h上调 表达2.4倍,持续缺氮8d该基因的表达倍数急剧上 升,约为11.1倍;其余时间点,HDA101基因的表达 水平均未受缺氮胁迫影响(图3)。HD2作为植物特 有的HD2家族去乙酰化酶基因,其表达结果与 HDA101基因相似,缺氮36h表达倍数上调1.7倍; 缺氮8dHD2基因的表达水平达到1个峰值,上调表 达约4.3倍。基因HDA102、HDA106和HDA108缺氮 胁迫后表现出相似的表达模式。基因HDA102在缺 氮12h的幼苗中显著下调0.6倍,缺氮胁迫8d出现 急剧上升趋势,上调表达4.6倍。与HDA102基因相 似,HDA106基因在缺氮2d下调表达0.7倍,缺氮8d 显著上调表达5.6倍。HDA108基因除在缺氮12h下 调表达0.6倍、缺氮8d急剧上调表达14.6倍以外,缺 氮处理2d也出现表达下调的趋势,下调倍数约为

6期

0.5倍。HDA102、HDA106和HDA108表达水平在其 余时间点均未受缺氮影响。在缺氮处理36h、4d和 8d,基因HD1b的表达水平均呈上调趋势,尤其缺氮 处理8d表达水平迅速上升,3个时期的表达水平分 别为1.7,1.4和3.6倍。

玉米苗期缺氮处理第8天,除HAT-B基因外,其 余7个基因的表达水平都急剧上升;在缺氮12h,基 因HDA102和HDA108的表达水平显著下调,基因 HAT-B、HDA101、HD2和HD1b在缺氮处理36h表达 水平明显上调,此外,HD1b基因的表达水平在缺氮 第4d也显著上调;缺氮处理2d,基因HDA106和 HDA108的表达水平下调;其余时间点,基因的表达 水平均未受缺氮胁迫影响。结果表明,组蛋白乙酰 化修饰参与调控玉米苗期的缺氮胁迫响应。





Fig.3 Dynamic expression of histone deacetylases at maize B73 seedlings under low nitrogen

2.3 缺氮胁迫对雌穗中组蛋白乙酰化相关酶表达 水平的影响

玉米子粒发育的关键时期主要集中在吐丝前后 15~20 d,这个时期氮及同化物的获得决定了最终 子粒和产量的形成。采集吐丝期前一周(OBS)、吐丝 期(Silking)、吐丝期后一周(OAS)、吐丝期后两周 (TAS)的雌穗样品,分析其组蛋白乙酰化相关酶基因 的表达水平,结果显示,自交系 B73 缺氮雌穗中,组 蛋白乙酰化酶基因 GCN5和 HAT-B在吐丝前一周和 后两周表达水平均未受缺氮胁迫影响(图4)。吐丝 期,基因 GCN5表达水平上调2.4倍,基因 HAT-B未 受缺氮处理影响。雌穗中6个去乙酰化酶基因的表 达模式存在较大差异, HDA101基因除吐丝期后一周不表达,其他3个时期表达水平均上调,尤其在吐 丝期表达水平最高,表达倍数分别为1.3、4.9和1.3 倍;缺氮导致HDA102和HDA108基因的表达模式相 似,在吐丝期都急剧上调,上调倍数分别为2.9和5.2 倍,其他时期表达水平均未受缺氮影响;基因 HDA106在吐丝期前一周和吐丝期分别上调表达1.6 和4.1倍,吐丝期后一周下调表达0.6倍,吐丝后第二 周不受缺氮影响;HD1b基因只在吐丝后第二周下调 表达0.5倍,其余时期无显著性差异。基因HD2的 表达水平在吐丝期和吐丝后第二周都出现下调趋 势,下调倍数分别为0.6和0.4。





Fig.4 Relative expression levels of histone acetyltransferases and deacetylases at maize ear under low nitrogen

吐丝期雌穗中除 HAT-B和 HD1b 基因不表达、 HD2 基因下调表达以外,其余5个基因均有较高的 表达水平。在吐丝期前一周,缺氮导致 HDA101 和 HDA106 基因的表达水平均显著上调;基因 HD1b 和 HD2 在吐丝期后第二周表达水平明显下调;在吐丝 期后第二周缺氮雌穗中,HDA101 基因的表达水平 上调。此外,HDA106 基因的表达水平在吐丝期后 一周显著下调。组蛋白乙酰化和去乙酰化酶基因在 缺氮雌穗中规律性的表达说明,吐丝期可能是缺氮 雌穗发育时期组蛋白乙酰化修饰调控的关键时期。

3 结论与讨论

以自交系"B73"为实验材料,缺氮处理后采集 不同苗期以及雌穗形成关键时期的样品,分析缺氮 对玉米生长和组蛋白修饰酶表达的影响。缺氮抑制 玉米的生长,qRT-PCR结果显示,缺氮胁迫使Zm-HATs和ZmHDACs的表达可能存在协同性、功能分 化性、时空摆动性以及通过不同途径调控植物对缺 氮胁迫的响应等特征,说明ZmHATs和ZmHDACs在 玉米缺氮胁迫适应中发挥着重要的作用。

缺氮胁迫在生理和分子水平上对玉米发育的许 多方面都有负影响^[31,32]。玉米雌穗发育的关键时期 主要集中在吐丝前后15~20 d^[33],这期间氮的分配 在调控雌穗发育过程中贮藏蛋白的合成以及碳的分 割中起着至关重要的作用^[34]。缺氮明显抑制吐丝后 雌穗的生长和生物量的积累。缺氮导致雌穗氮浓度 降低13.3%,可能通过某些分子机制使雌穗库强度 降低,进而导致子粒产量下降。

HATs和HDACs与植物响应各种逆境胁迫密切 相关。高温胁迫后,GCN5基因转录水平上调,同时 能促进H3K9和H3K14乙酰化,激活热激转录因子 HSFA3和热应激反应基因UVH6的表达,从而提高 拟南芥的耐热性^[35]。盐胁迫后,GCN5通过改变纤维 素合成相关基因CTL1、PGX3和MYB54的表达,提 高细胞壁的完整性和耐盐性^[36]。本研究表明,缺氮 导致GCN5和HAT-B的表达水平在苗期36h和8d 发生明显变化,基因GCN5在缺氮8d上调表达4倍, HAT-B基因在缺氮36h表达水平出现峰值。玉米 经NaCl处理后,能促进HAT基因ZmHATB和 ZmGCN5的表达,组蛋白乙酰化与盐胁迫相关的细 胞壁松弛基因的上调有关^[37],这可能是玉米生长发 育期对缺氮胁迫的应答反应。缺氮雌穗中GCN5基 因在吐丝期有较高的表达水平。以ZmGCN5为探针 在授粉后5d的玉米子粒中进行原位杂交实验,结果 表明,ZmGCN5在快速分裂的细胞中有较高的表达 水平。转录组分析显示,在gcn5突变体中,888个 gcn5调控的候选基因可能参与了对磷饥饿的应 答。雌穗中GCN5基因的上调表达可能与激活氮胁 迫相关基因的表达有关。

HDACs参与植物对非生物胁迫的响应已经得 到证实[38]。番茄在高盐、脱水和不同高低温处理下, 均不同程度地诱导 SIHDACs 表达,说明 SIHDACs 可 能在不同的胁迫反应中发挥作用。ZmHDACs可能 通过选择性地调控冷胁迫应答基因的转录参与冷胁 迫反应^[39]。玉米 HDA101、HDA102 和 HDA108 都是 Rpd3类型ZmHDACs。在苗期,缺氮均不同程度地 诱导 HDA101、HDA102 和 HDA108 表达。3个基因在 缺氮雌穗中表达模式相似,再次证实了 Varotto 等 人^[40]研究。结果表明,3个玉米 Rpd3型 HDACs 基因 (HDA101、HDA102和HDA108)具有相似的表达谱,在 子粒胚乳中具有较高的表达量。此外,研究显示,冷 处理能诱导菜豆PvHDA6(Rpd3类型HDACs)表达量 增加,说明PvHDA6是一个参与调控植物非生物抗 逆性的冷胁迫响应基因[41]。本研究3个 Rpd3类型 ZmHDACs表达量的变化可能与缺氮胁迫有关。来 自HD2家族的HDACs被证实与拟南芥中的RPD3/ HDA1家族成员相互作用^[42,43]。本研究的qRT-PCR 结果显示, PRD3/HDA1家族中的 HDA101 和 HD2家 族的HD2在缺氮处理的苗期表达模式相似且表达 量增加,表明多种ZmHDACs可能在苗期缺氮胁迫 下存在协同作用。HDA19属于拟南芥Rdp3类型的 HDACs(为HD1)^[44]。有新的研究显示,在二穗短柄草 中过表达BdHD1基因,植株对ABA高度敏感,且在 干旱条件下有较高的存活能力,表明BdHD1在ABA 敏感性和干旱胁迫耐受性方面发挥着积极作用[45]。 此外,HDA19能调控磷饥饿诱导的一些关键基因的 表达,如磷的感受和信号传导基因,从而提高植物对 缺磷的耐受性。本研究中HD1b基因的表达量在苗 期一致性上调,缺氮雌穗中则下调表达,表明同一个 基因可能在缺氮胁迫下出现功能分化。最新研究报 道, hda19 植物表现出对高盐胁迫的耐受性, 而 hda5/14/15/18 植物则表现出对盐胁迫的超敏性,表明AtHDA19和AtHDA5/14/15/18 通过不同的途径调控植物对盐胁迫的响应^[46]。结果表明,缺氮胁迫均不同程度的诱导 Rdp3类型的 HDACs 的表达,且表达水平存在差异,反映了 Rdp3类型家族成员可能通过不同的途径调控植物对缺氮胁迫的响应。

最初先在玉米中发现的植物特异性HD2去乙 酷化酶不仅参与植物牛殖发育的调控,同时也参与 调控植物响应逆境胁迫^[47]。ABA 和 NaCl 处理后会 抑制拟南芥4个HD2家族成员HD2A、HD2B、HD2C 和HD2D的表达水平。HD2基因在吐丝期和吐丝后 第二周分别下调表达0.6和0.4倍,可能与环境中低 浓度的氮素有关。在缺氮36h和8d的幼苗中HD2 基因分别上调表达1.7倍和4.3倍。拟南芥中超表达 HD2D 基因导致植株对干旱和盐胁迫的耐受性增 加,说明HD2D参与了环境胁迫反应,玉米幼苗中 HD2基因的上调表达可能参与了缺氮胁迫反应。 HD2家族成员HDA106基因在缺氮8d幼苗、吐丝期 前一周和吐丝期的雌穗中表达量均增加;在缺氮2d 幼苗和吐丝期后一周的雌穗中下调表达,这说明该 基因的表达可能在对缺氮胁迫反应上存在时空摆动 性。此外,有研究报道,对花形成过程中的大豆进行 短日照处理,HD2家族成员Glyma12g30600.1和Glyma12g09000.1的表达量降低[48]。

研究表明,组蛋白乙酰化在植物发育过程中也 具有多种作用。组蛋白乙酰化转移酶(HATs)和去乙 酰化酶(HDACs)协同调控组蛋白乙酰化状态,参与 植物的发育[49]。组蛋白乙酰化酶 GCN5 参与细胞分 化、芽和花分生组织的形成[50.51],GCN5突变可导致 植株矮化、产生顶生花、种子发育畸形和育性降低等 多种生长缺陷^[52]。组蛋白去乙酰化酶(HDACs)参与 种子发育、休眠和萌发,根和叶的发育以及花期调 控^[53]。HDACs表达异常同样能导致植物生长缺陷, HD2A的沉默导致种子败育[54],HDA19的沉默导致幼 叶锯齿状和伸长^[55], OsHDAC1 过表达导致根变长^[56], HAC1/5/12突变体会出现开花延迟的表型^[57]。结果 表明,组蛋白乙酰化在植物发育相关基因表达中起 着重要的作用,以应对环境变化。缺氮胁迫影响植 物发育的可能原因是植物通过评估某些与营养状态 相关的关键化合物的相对丰度后,细胞通过HATs 和HDACs协同调控组蛋白乙酰化状态引起全基因 组或特异性基因表达的改变[58],从而促进植物的生 长发育以应对环境变化,如缺氮胁迫。

参考文献:

[1] Ota R, Ohkubo Y, Yamashita Y, et al. Shoot-to-root mobile CEPD-

like 2 integrates shoot nitrogen status to systemically regulate nitrate uptake in Arabidopsis[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 641.

- [2] Bi Y M, Meyer A, Downs G S, et al. High throughput RNA sequencing of a hybrid maize and its parents shows different mechanisms responsive to nitrogen limitation[J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 1– 12.
- [3] Ge M, Wang Y, Liu Y, et al. The MIN-like protein 5(*zmnlp5*) transcription factor is involved in modulating the nitrogen response in maize[J]. The Plant Journal, 2020, 102: 353–368.
- [4] Berger S L. The complex language of chromatin regulation during transcription[J]. Nature, 2007, 447(7143): 407–412.
- [5] Camporeale G, Oommen A M, Griffin J B, et al. K12-biotinylated histone H4 marks heterochromatin in human lymphoblastoma cells [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2007, 18(11): 760–768.
- [6] Lusser A, Loidl P. Histone acetylation: lessons from the plant kingdom[J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(2): 59–65.
- [7] Reyes J C, Hennig L, Gruissem W. Chromatin remodeling and memory factors. New regulators of plant development[J]. Plant Physiology, 2002, 130(3): 1090–1101.
- [8] Loidl P. A plant dialect of the histone language[J]. Trends in Plant Science, 2004, 9(2): 84–90.
- [9] Pandey R, Muller A, Napoli C A, et al. Analysis of histone acetyltransferase and histone deacetylase families of Arabidopsis thaliana suggests functional diversification of chromatin modification among multicellular eukaryotes[J]. Nucleic Acids Research, 2002, 30(23): 5036–5055.
- [10] Eberharter A, Lechner T, Goralik-Schramel M, et al. Purification and characterization of the cytoplasmic histone acetyltransferase B of maize embryos[J]. Febs Letters, 1996, 386(1): 75–81.
- [11] Lechner T, Lusser A, Brosch G, et al. A comparative study of histone deacetylases of plant, fungal and vertebrate cells[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1996, 1296(2): 181–188.
- [12] Stockinger E J, Mao Y, Regier M K, et al. Transcriptional adaptor and histone acetyltransferase proteins in Arabidopsis and their interactions with *CBF1*, a transcriptional activator involved in cold– regulated gene expression[J]. Nucleic Acids Research, 2001, 29(7): 1524–1533.
- [13] Bhat R A, Riehl M, Santandrea G, et al. Alteration of GCN5 levels in maize reveals dynamic responses to manipulating histone acetylation[J]. Plant Journal, 2003, 33(3): 455-469.
- [14] Georgieva E L, Lopez-Rodas G, Hittmair A, et al. Maize embryo germination[J]. Planta, 1994, 192(1): 118-124.
- [15] Chang L, Loranger S S, Mizzen C, et al. Histones in transit: cytosolic histone complexes and deacetylation of H4 during nucleosome assembly in human cells[J]. Biochemistry, 1997, 36(3): 469–480.
- [16] Xing J, Wang T, Liu Z, et al. General control nondepressed protein5-mediated histone acetylation of ferric reductase defective 3 contributes to iron homeostasis in arabidopsis[J]. Plant Physiology, 2015, 168(4): 1309–1320.
- [17] Wang T, Xing J, Liu Z, et al. Histone acetyltransferase GCN5-mediated regulation of long non-coding RNA At4 contributes to phosphate starvation response in Arabidopsis[J]. Journal of Experimental Botany, 2019, 70(21): 6337–6348.

- [18] Rossi V, Locatelli S, Varotto S, et al. Maize histone deacetylase hda101 is involved in plant development, gene transcription, and sequence-specific modulation of histone modification of genes and repeats[J]. Plant Cell, 2007, 19(4): 1145-1162.
- [19] Wu K, Zhang L, Zhou C, et al. *HDA6* is required for jasmonate response, senescence and flowering in Arabidopsis[J]. Journal of Experimental Botany, 2008, 59: 225–234.
- [20] Chen L T, Luo M, Wang Y Y, et al. Involvement of Arabidopsis histone deacetylase *HDA6* in ABA and salt stress response[J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61: 3345–3353.
- [21] Jung J H, Park J H, Lee S, et al. The cold signaling attenuator high expression of osmotically responsive gene1 activates flowering locus c transcription via chromatin remodeling under short-term cold stress in Arabidopsis[J]. Plant Cell, 2013, 25(11): 4378–4390.
- [22] Kim J, To T K, Matsui A, et al. Erratum: Acetate-mediated novel survival strategy against drought in plant[J]. Nature Plants, 2017, 3 (8): 17097–17119.
- [23] Zhou C, Zhang L, Duan J, et al. Histone deacetylase19 is involved in jasmonic acid and ethylene signaling of pathogen response in Arabidopsis[J]. Plant Cell, 2005, 17(4): 1196–1204.
- [24] Chen C Y, Wu K, Schmidt W. The histone deacetylase HDA19 controls root cell elongation and modulates a subset of phosphate starvation responses in Arabidopsis[J]. Scientific Reports, 2015, 5(1): 15708–15708.
- [25] Sridha S, Wu K. Identification of *AtHD2C* as a novel regulator of abscisic acid responses in Arabidopsis[J]. Plant Journal, 2006, 46(1): 124–133.
- [26] Luo M, Wang Y Y, Liu X C, et al. *HD2C* interacts with HDA6 and is involved in ABA and salt stress response in Arabidopsis[J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(8): 3297-3306.
- [27] Fu W, Wu K, Duan J. Sequence and expression analysis of histone deacetylases in rice[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2007, 356(4): 843–850.
- [28] Guo J E, Hu Z, Guo X, et al. Molecular Characterization of Nine Tissue-Specific or Stress-Responsive Genes of Histone Deacetylase in Tomato(*Solanum lycopersicum*) [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2017, 36(3): 566-577.
- [29] Demetriou K, Kapazoglou A, Tondelli A, et al. Epigenetic chromatin modifiers in barley: I. Cloning, mapping and expression analysis of the plant specific *HD2* family of histone deacetylases from barley, during seed development and after hormonal treatment[J]. Physiologia Plantarum, 2009, 136(3): 358–368.
- [30] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCT} method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402–408.
- [31] Liao C, Peng Y, Ma W, et al. Proteomic analysis revealed nitrogenmediated metabolic, developmental, and hormonal regulation of maize(*Zea mays* L.) ear growth[J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(14): 5275-5288.
- [32] Pan X, Hasan M M, Li Y, et al. Asymmetric transcriptomic signatures between the cob and florets in the maize ear under optimaland low-nitrogen conditions at silking, and functional characterization of amino acid transporters ZmAAP4 and ZmVAAT3[J]. Journal

of Experimental Botany, 2015, 66(20): 6149-6166.

- [33] Tollenaar M, Dwyer L M, Stewart D W. Ear and kernel formation in maize hybrids representing three decades of grain yield improvement in ontario[J]. Crop Science, 1992, 32(2): 432–438.
- [34] Seebauer J R, Moose S P, Fabbri B J, et al. Amino acid metabolism in maize earshoots. Implications for assimilate preconditioning and nitrogen signaling[J]. Plant Physiology, 2004, 136(4): 4326–4334.
- [35] Hu Z, Song N, Zheng M, et al. Histone acetyltransferase GCN5 is essential for heat stress responsive gene activation and thermotolerance in Arabidopsis[J]. Plant Journal, 2015, 84(6): 1178–1191.
- [36] Zheng M, Liu X, Lin J, et al. Histone acetyltransferase GCN5 contributes to cell wall integrity and salt stress tolerance by altering the expression of cellulose synthesis genes[J]. Plant Journal, 2018, 97(3): 587–602.
- [37] Li H, Yan S, Zhao L, et al. Histone acetylation associated up-regulation of the cell wall related genes is involved in salt stress induced maize root swelling[J]. BMC Plant Biology, 2014, 14(1): 105– 105.
- [38] Luo M, Liu X, Singh P, et al. Chromatin modifications and remodeling in plant abiotic stress responses[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2012, 1819(2): 129–136.
- [39] Hu Y, Zhang L, Zhao L, et al. Trichostatin a selectively suppresses the cold-induced transcription of the *ZmDREB1* gene in Maize[J]. Plos One, 2011, 6(7): e22132.
- [40] Varotto S, Locatelli S, Canova S, et al. Expression profile and cellular localization of Maize Rpd3- type histone deacetylases during plant development[J]. Plant Physiology, 2003, 133(2): 606-617.
- [41] Hayford R K, Ligabaosena A, Subramani M, et al. Characterization and expression analysis of common bean histone deacetylase 6 during development and cold stress response[J]. Comparative and Functional Genomics, 2017, 2017: 1–12.
- [42] Luo M, Wang Y Y, Liu X, et al. HD2 proteins interact with RPD3type histone deacetylases[J]. Plant Signaling & Behavior, 2012, 7 (6): 608-610.
- [43] Imran M, Shafiq S, Naeem M K, et al. Histone deacetylase (HDAC) gene family in allotetraploid cotton and its diploid progenitors:in silico identification, molecular characterization, and gene expression analysis under multiple abiotic stresses, dna damage and phytohormone treatments[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(1): 321, DOI: 10.3390/ijms21010321.
- [44] Benhamed M, Bertrand C, Servet C, et al. Arabidopsis GCN5, HD1, and TAF1/HAF2 interact to regulate histone acetylation required for light-responsive gene expression[J]. Plant Cell, 2006, 18(11): 2893–2903.

- [45] Song J, Henry H A L, Tian L. Brachypodium histone deacetylase bdhd1 positively regulates aba and drought stress responses[J]. Plant Science, 2019, 283: 355-365.
- [46] Ueda M, Matsui A, Tanaka M, et al. The distinct roles of class I and II RPD3-like histone deacetylases in salinity stress response[J]. Plant Physiology, 2017, 175(4): 1760-1773.
- [47] Han Z, Yu H, Zhao Z, et al. *AtHD2D* gene plays a role in plant growth, development, and response to abiotic stresses in Arabidopsis thaliana[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7(114): 310.
- [48] Liew L C, Singh M, Bhalla P L, et al. An RNA-seq transcriptome analysis of histone modifiers and RNA silencing genes in soybean during floral initiation process[J]. Plos One, 2013, 8(10): e77502.
- [49] Pandey R, Muller A E, Napoli C A, et al. Analysis of histone acetyltransferase and histone deacetylase families of Arabidopsis thaliana suggests functional diversification of chromatin modification among multicellular eukaryotes[J]. Nucleic Acids Research, 2002, 30(23): 5036–5055.
- [50] Laux T, Mayer K F, Berger J, et al. The WUSCHEL gene is required for shoot and floral meristem integrity in Arabidopsis[J]. Development, 1996, 122(1): 87–96.
- [51] Long J A, Ohno C, Smith Z R, et al. Topless regulates apical embryonic fate in Arabidopsis[J]. Science, 2006, 312(5779): 1520–1523.
- [52] Bertrand C, Bergounioux C, Domenichini S, et al. Arabidopsis histone acetyltransferase AtGCN5 regulates the floral meristem activity through the WUSCHEL/AGAMOUS pathway[J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(30): 28246–28251.
- [53] Liu X, Yang S, Yu C, et al. Histone acetylation and plant development[J]. The Enzymes, 2016: 173–199.
- [54] Wu K, Tian L, Malik K, et al. Functional analysis of *HD2* histone deacetylase homologues in Arabidopsis thaliana.[J]. Plant Journal, 2000, 22(1): 19–27.
- [55] Tian L, Chen Z J. Blocking histone deacetylation in Arabidopsis induces pleiotropic effects on plant gene regulation and development
 [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(1): 200–205.
- [56] Chung P J, Kim Y S, Jeong J S, et al. The histone deacetylase OsH-DAC1 epigenetically regulates the OsNAC6 gene that controls seedling root growth in rice[J]. Plant Journal, 2009, 59(5): 764–776.
- [57] Han S, Song J, Noh Y, et al. Role of plant CBP/p300-like genes in the regulation of flowering time[J]. Plant Journal, 2006, 49(1): 103-114.
- [58] Luo J J, Kuo M H. Linking nutrient metabolism to epigenetics[J]. Cell Science, 2009, 6(1): 1–6.

(责任编辑:姜媛媛)