

· 农业生物技术 ·

基于转录组测序分析沉默番茄中 RNA 结合蛋白基因 *SIRBP1* 对其光合作用的影响

周晞雯, 马力群, 朱鸿亮*

中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083

周晞雯, 马力群, 朱鸿亮. 基于转录组测序分析沉默番茄中 RNA 结合蛋白基因 *SIRBP1* 对其光合作用的影响[J]. 生物工程学报, 2024, 40(1): 150-162.

ZHOU Xiwen, MA Liqun, ZHU Hongliang. Investigating the impact of silencing an RNA-binding protein gene *SIRBP1* on tomato photosynthesis through RNA-sequencing analysis[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(1): 150-162.

摘要: 植物的光合作用直接影响有机物的合成与积累, 是农作物产量的直接影响因素。RNA 结合蛋白(RNA-binding proteins, RBPs)参与调控植物的多种生理功能, 而 RBPs 在光合作用中的功能尚未被明确阐述。为了探究番茄中一个甘氨酸富集的 RNA 结合蛋白(glycine-rich RNA-binding proteins, *SIRBP1*)对植物光合作用的影响, 使用人工小 RNA 干扰的方式通过植物组织培养获得 Alisa Craig 中稳定遗传的 *SIRBP1* 沉默植株, 发现番茄果实体积缩小, 叶片显著黄化。通过叶绿素含量测定、叶绿素荧光成像及叶绿体透射电镜观察, 发现番茄 *amiR-SIRBP1* 沉默植株叶片的叶绿体形态结构破坏, 叶绿素含量显著降低。对同时期的野生型和 *amiR-SIRBP1* 沉默植株测定光合速率, 发现 *amiR-SIRBP1* 沉默植株的光合速率显著降低。RNA-seq 数据分析表明沉默 *SIRBP1* 显著降低植株中 *PsaE*、*PsaL*、*PsbY* 等光合作用相关基因的表达量, 通过光合作用影响番茄果实产量。

关键词: 核糖核酸结合蛋白; 光合作用; 番茄; 转录组测序

资助项目: 国家自然科学基金(32202558, 31972472); 中国博士后科学基金(2022M723424)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32202558, 31972472) and the China Postdoctoral Science Foundation (2022M723424).

*Corresponding author. E-mail: hlzhu@cau.edu.cn

Received: 2023-05-22; Accepted: 2023-07-11

Investigating the impact of silencing an RNA-binding protein gene *SIRBP1* on tomato photosynthesis through RNA-sequencing analysis

ZHOU Xiwen, MA Liqun, ZHU Hongliang*

College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agriculture University, Beijing 100083, China

Abstract: Photosynthesis in plants directly affects the synthesis and accumulation of organic matter, which directly influences crop yield. RNA-binding proteins (RBPs) are involved in the regulation of a variety of physiological functions in plants, while the functions of RBPs in photosynthesis have not been clearly elucidated. To investigate the effect of a glycine-rich RNA-binding protein (*SIRBP1*) in tomato on plant photosynthesis, a stably inherited *SIRBP1* silenced plant in Alisa Craig was obtained by plant tissue culture using artificial small RNA interference. It turns out that the size of the tomato fruit was reduced and leaves significantly turned yellow. Chlorophyll(Chl) content measurement, Chl fluorescence imaging and chloroplast transmission electron microscopy revealed that the chloroplast morphology and structure of the leaves of tomato *amiR-SIRBP1* silenced plants were disrupted, and the chlorophyll content was significantly reduced. Measurement of photosynthesis rate of wild-type and *amiR-SIRBP1* silenced plants in the same period demonstrated that the photosynthetic rate of these plants was significantly reduced, and analysis of RNA-seq data indicated that silencing of *SIRBP1* significantly reduced the expression of photosynthesis-related genes, such as *PsaE*, *PsaL*, and *PsbY*, and affected the yield of tomato fruits through photosynthesis.

Keywords: RNA-binding protein; photosynthesis; tomato; RNA-seq

2050 年全球人口预计将超过 98 亿, 粮食需求预计将增长 70%。如今, 人类的食物主要来自农业, 提高农作物产量成为亟待解决的问题。番茄(*Solanum lycopersicum* L.)是典型的模式作物, 也是第二大商业消费蔬果。番茄果实含有多种营养成分, 包括维生素 C、番茄红素、有机酸、糖、膳食纤维和类胡萝卜素等, 日常摄入番茄有益于人体健康。然而, 番茄是一类需要高光照强度, 才能维持正常生长发育的喜光植物, 弱光和不适宜的光周期均会导致番茄果实品质劣变及产量降低^[1]。光合作用直接影响植物的有机物合成及积累, 通过对光合作用机理的深入探究, 有望获得提高光合转化效率、高效增产的农业作物。有研究提出通过 C3 和 C4 作物品种的潜在操纵靶

点增强叶片光合作用, 提高冠层光合作用, 进而提高作物的产量^[2]。尽管作物生长、发育动态和主要环境相互作用产生的反馈效应导致光合作用不一定直接影响作物产量, 但是增强光合作用仍然是提高植物产量最有效的途径之一^[3]。调控光照强度、红蓝光比例和光照时间都被证明对植物的有机物积累具有正向调控作用, 盐胁迫等条件则从另一角度影响植物的光合强度^[4-5]。一定范围内提高光强能够提高植物光合速率, 并提高叶片中纤维素、维生素 C、总酚、可溶性糖、可溶性蛋白和游离氨基酸含量^[6]。叶绿体是植物光合的主要场所, 发育中的叶片光合作用强度的变化与叶绿体的结构发育和光合作用所需酶和代谢物的积累有关。直到叶片发育成熟, 核酮

糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, Rubisco)蛋白、叶绿素、糖和淀粉才正常积累^[7]。因此要获得高产的植物,就需要解析光合机制,提高光合速率。

RNA结合蛋白(RNA binding proteins, RBPs)在植物产量、抗病性和耐旱性等农业性状中发挥关键作用^[8]。在植物中,甘氨酸富集的RNA结合蛋白(glycine-rich RNA binding protein, GRP)家族成员,如拟南芥的AtGRP2和AtGRP7^[9],水稻的OsGRP1、OsGRP4和OsGRP6^[10]等,参与许多细胞过程,如花粉水合和竞争、原木质部生长、细胞伸长、根长短决定、种子萌发、开花和昼夜节律^[11-12]。此外,它们还参与了对各种非生物胁迫的反应,包括寒冷、冷冻、干旱、盐胁迫和病原感染等^[13]。而RBPs在植物光合中的具体功能仍缺乏相关研究。SIRBP1是一种甘氨酸富集的RNA结合蛋白,本研究采用高通量测序技术及生物信息学方法探究在番茄中沉默SIRBP1对番茄植株的影响,并且对amiR-SIRBP1沉默植株中差异表达基因进行筛选,利用实时荧光定量PCR(real time quantitative PCR, RT-qPCR)验证基因差异表达规律。结合amiR-SIRBP1沉默植株的生理指标及表型,分析SIRBP1对植物光合造成的影响。本试验探索沉默SIRBP1影响植物光合作用的分子机制,为揭示光合作用对番茄产量影响提供理论和试验依据。

1 材料与方 法

1.1 植物材料

番茄品种选取Alisa Craig (AC),种子为本实验室保存。种植土壤是商业化的番茄培养土(含蛭石、黑土和黄土),于光周期16 h/8 h、温度22-26 °C、湿度40%-50%环境培养。番茄叶片材料取样于种植在土壤中发芽一月时的AC及amiR-SIRBP1沉默植株,表达量鉴定及测序样品为第5枝上3叶或4叶位完全展开的叶片,剪下后直接在液氮中冷冻。番茄果实材料均为经过疏花疏果后每穗保留的4枚果实。

1.2 实验方法

1.2.1 植物组织培养

植物组织培养方法采用叶盘法,参照已发表文章^[14]。经过植物组织培养共获得18株SIRBP1表达效率降低的T0代植株,选择其中沉默效率超过90%的植株的种子种植T1代后进行本文中的实验。amiR-SIRBP1沉默T1代植株种植于北京市小汤山特菜大观园,共种植36株。

1.2.2 株高及果形测定

株高:用卷尺测量从番茄茎基部到生长点的高度,保留两位小数(cm);

果径:利用游标卡尺测得番茄果实赤道处的直径(mm),每个果实测3次取平均值;

果实色差:使用色差仪对果实赤道处颜色进行测量,每个果实测3次取平均值。株高图片及果实图像均使用相机拍摄,实验使用的番茄均为同时期收获。

1.2.3 叶绿素含量测定

叶绿素的提取与测定参照国家标准NY/T 3082-2017。

液氮研磨新鲜的番茄果皮,称取1 g粉末加入15 mL离心管中,然后迅速加入10 mL提取液,涡旋10 s混匀。将离心管置于4 °C冰箱中,避光静置提取过夜。4 °C、5 000×g离心10 min。使用提取液作空白溶液进行调零,再吸取上清分别测定上清在470、645、663 nm的吸光值。每组测3个生物学重复,每个生物学重复取2次上清进行技术重复。

计算叶绿素a、叶绿素b以及叶绿素的总含量,公式如下:

$$\text{叶绿素 a 含量(mg/kg)} = [(12.72 \times A_1) - (2.59 \times A_2)] \times V/m$$

$$\text{叶绿素 b 含量(mg/kg)} = [(22.88 \times A_2) - (4.67 \times A_1)] \times V/m$$

$$\text{叶绿素总含量(mg/kg)} = [(8.05 \times A_1) + (20.29 \times A_2)] \times V/m$$

式中,A1:上清在663 nm处的吸光度值;A2:上清在645 nm处的吸光度值;V:试液的

体积, 单位为毫升(mL); m: 试液质量, 单位为克(g)。

1.2.4 叶绿素荧光成像

本试验叶绿素荧光成像参照已报道的方法^[15]。叶绿素荧光测量使用多相荧光闪光(multiphase fluorescence flash, MPF)测量技术, 植株整体需要经过 30 min 预黑暗处理。实验叶片为最年轻的完全展开叶, 即番茄植株第 5 枝上第 3 或第 4 叶位完全展开的叶片。测量光强为 $1 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 饱和光强为 $8\ 500 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。利用软件控制开关, 使用 ImagingWin 读取所拍摄图像中样品的 PSII 最大光化学效率(Fv/Fm)的参数值, 取叶片上随机 3 个点的平均值。

1.2.5 光合速率测定

方法参照 Zhang 等发表的文章并根据检测时环境条件稍作修改^[4]。使用 LI-6400XT 光合作用系统(Li-Cor Biosciences, Lincoln), 并配备叶室荧光计(Li-Cor Part No.6400-40, 封闭叶面积: 2 cm^2)对第 5 枝上 3 叶或 4 叶位完全展开的叶片进行光合气体交换和叶绿素荧光测量。所有测量均在叶温 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 、叶-空气蒸汽压差 $0.7\text{--}1.0 \text{ kPa}$ 、空气通过系统的流速为 $400 \mu\text{mol}/\text{s}$ 的条件下进行。

1.2.6 RT-qPCR 方法

野生型及 amiR-*SIRBP1* 沉默植株的叶片

RNA 使用 Omega R6827 RNA 提取试剂盒提取, 琼脂糖凝胶电泳确定 RNA 完整性。以 *Actin* 为内参基因, 利用 RT-qPCR 观察各基因表达量, 所需引物序列见表 1。

1.2.7 RNA-seq 数据分析

进行去除接头等处理后得到的 clean data 利用 FASTQC 确认 clean data 质量达到要求后, 通过 WinSCP 软件将 clean data 上传至服务器, 并使用服务器中的 bowtie2 软件建立番茄基因组(SL2.4)和基因组注释(SL2.4)之间的索引。通过 TopHat2 软件分别将不同样品的 clean data 比对到番茄基因组上; 利用 Feature Counts 程序包计算每个基因的表达值, 然后通过 DESeq2 程序进行基因表达量的归一化处理, 得到 csv 格式的基因列表, 以 $P\text{-adjust} < 0.05$ 且 $|\log_2(\text{fold change})| > 0$ 为标准进行差异基因的筛选, 得到野生型与沉默植株样品之间变化差异显著的基因列表。利用 GO 和 KEGG 数据库比对获得基因功能注释。

1.3 数据处理

所有试验均进行 3 次生物学重复, 使用 Excel 及 PowerPoint 进行数据统计和图表制作。本文试验结果的数据统计和差异分析及作图均使用 GraphPad Prism 8.3.0 软件, 其中两两比较采用独立样本 *t* 检验, 多重比较采用单因素方差分析中的 Duncan 检验。

表 1 用于 RT-qPCR 的引物序列

Table 1 Primer used for RT-qPCR

Gene	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')
<i>Actin-Solyc11g005330</i>	CAGCAGATGTGGATCTCAA	CTGTGGACAATGGAAGGAC
<i>PsaE-Solyc09g063130.2</i>	TTTTCTGGCAACTTCTCCCC	TTGGGGTTCTGATCATTCTTT
<i>PsbP-Solyc07g044860.2</i>	ATGGATTCAAGCTCCAAGTCC	GTAGTCGGTGATGGACTTCTTG
<i>PsbQ-Solyc02g079950.2</i>	GTTGCTAAAGCAGCTTTTGCT	TCCTTAACTCTCTGGGCTGC
<i>PsaL-Solyc06g082940.2</i>	GGTGATCCTTAGCATGTGTTTG	CCACCAGTGAATTTAGCCCAT
<i>PsbY-Solyc10g077120.1</i>	CCTCCCCAAAGGTCTCTTAACT	CCCTGTTATCTCCTCCTTCAGC
<i>L1-Solyc02g068740.2</i>	TGCTGTTGAAAGTGTCAAGGC	TCAGGGTCCATCAATGCTTTG
<i>L2-Solyc11g011380.1</i>	ATTGTTGACGCCATTACAAG	CAGCAATCTCTGCAATCTCTC
<i>L3-Solyc06g069730.2</i>	ACTTGAGATGTTTGTTCAGGC	TTGACGATGATGCAAAGTAGTCTG
<i>H1-Solyc10g055800.1</i>	GATAACACTGCACGAAAAAGGG	CAAGGCCATTGACTACTTGGT
<i>H2-Solyc00g174340.1</i>	AGCACAAAATATGCCAACTCA	ACCAACACATTGGTTGGTAGC
<i>H3-Solyc02g082920.2</i>	GGTATTGGTGTGGACAAGAGT	GGCGTCCATTGTCCAATGAT

L1-L3: Gene expression decreased groups; *H1-H3*: Gene expression increased groups.

2 结果与分析

2.1 沉默 *SIRBP1* 引起番茄果实形态缩小

实验室前期已发表的人工小干扰 RNA 载体使 micro-Tom 植株出现黄化表型,利用该载体在 AC 中实施植物组织培养,通过对其表型观察可知植物叶片黄化的表型具有稳定遗传能力(图 1A)。本研究对 32 株 *amiR-SIRBP1* 沉默植株的 T1 代植株中的第 2-4 穗果都进行疏花及疏果,使每一穗上均结出 4 个番茄。对沉默效率较高的 T1 代沉默植株番茄红熟时期的果实进行果径(mm)及果重(g)的测量(图 1E),发现敲低 *SIRBP1* 沉默植株的果实横径及纵径均显著减小。

果形指数(shape index)即果实纵径与横径的比值,是衡量果实形状指标。本研究表明 AC 果实和沉默植株果实的果形指数也具有差异,且果实重量也显著降低,沉默 *SIRBP1* 对番茄果实的整体发育具有负面影响。直接观察绿熟、破色及红熟等多时期果实(图 1B)也可得出番茄果实整体变小的结论。观察红熟野生型番茄与沉默植株果实的横剖面(图 1D)可知,*SIRBP1* 表达量降低后番茄果实中产生的种子数量也相应减少,且存在发育不良导致没有种子的果实。

2.2 沉默 *SIRBP1* 导致植株光合速率降低

植物的光合作用能够在植物体内进行有机物的储存,直接影响果实产量。沉默 *SIRBP1* 后,番茄植株出现叶片黄化表型,而正常番茄的成熟叶片主要由叶绿素 a/b 进行显色,故而对叶片的叶绿素分布进行探究。如图 2A 所示,在叶片的荧光成像图中选取 3 个等面积区域,利用 ImagingWin 读取 Fv/Fm 值,并作图。对同时期 AC 和 *amiR-SIRBP1* 植株叶片的叶绿素含量进行测量,见表 2,叶绿素 a、叶绿素 b 和胡萝卜素在 *amiR-SIRBP1* 中的含量显著低于 AC 中的含量。由叶绿素荧光成像可知,AC 叶片和 *amiR-SIRBP1* 沉默植株的叶片均没有坏死、病害等胁迫,是正常生长的健康叶片,那么这些叶片测量的 Fv/Fm 即为具有可信度的有效

数据。并且 AC 叶片中叶绿素分布均匀,Fv/Fm 稳定保持在 0.8-0.9 之间,参考已有报道是健康番茄叶片的正常值^[16]。而 *amiR-SIRBP1* 沉默植株叶片呈现叶绿素分布不均匀,且 Fv/Fm 仅为 AC 叶片的一半以下,约在 0.3-0.4 之间,可见其光合性能损伤程度高。透射电镜观察(图 2D)发现 *amiR-SIRBP1* 沉默植株的叶绿体形态变化,边缘不清晰且内部缺少成形的基粒。

对光合速率直接测定可知(图 2B),当单位面积叶片上单位时间内通过气体量一致时,*amiR-SIRBP1* 沉默植株的叶片气孔导度明显降低,光合速率也显著降低。以上情况均表明在 *amiR-SIRBP1* 沉默植株中仅能进行较弱的光合作用。

2.3 转录组数据分析及 GO 富集差异基因

转录组数据显示,以 $P\text{-adjust}<0.05$, $\log_2(\text{fold change})>0$ 作为筛选标准,*amiR-SIRBP1* 对比 AC 得到 514 个上调基因和 439 个下调基因。GO 富集分析(图 3)表明,差异基因主要富集到 10 个生物学过程、10 个细胞组分和 10 个分子功能条目中。生物学过程中,富集最多的 GO 条目是翻译、多肽生物合成过程和酰胺生物合成工艺。细胞组分中,富集基因最多的是核糖核蛋白复合物,而类囊体、光系统均在细胞组分中占据较多条目。分子功能中,差异基因主要富集在结构分子活性和 DNA 指导的 RNA 聚合酶活性这两类。在 GO 富集分析中,富集基因数量达到 51 个的有 3 类:翻译、多肽生物合成过程和酰胺生物合成,并筛选得到 22 个与光合作用相关的富集基因。

KEGG 通路富集以 $P\text{-adjust}<0.05$ 作为显著性富集的阈值,在 KEGG 通路富集的 20 类差异基因中,第 2 类光合作用(番茄)、第 12 类光合生物中的碳固定均与光合作用相关。其中,被富集到的基因数量最多的包括光系统 I 相关及类囊体相关基因。根据测序结果,富集得到的光合相关基因表达量均下降。为验证转录组测序结果的可靠性,挑选 KEGG 通路富集的基因中显著上调的

3 个与显著下调的 3 个设计引物进行 RT-qPCR。用 PEARSON 分析表中基因表达水平, RNA-seq 和 RT-qPCR 相对表达水平之间的相关系数达到

显著水平($r=0.743\ 0$, $P=0.008\ 8$), 表明 RNA-Seq 数据可靠, 转录组数据能反映 *SIRBP1* 沉默植株的基因表达水平变化。

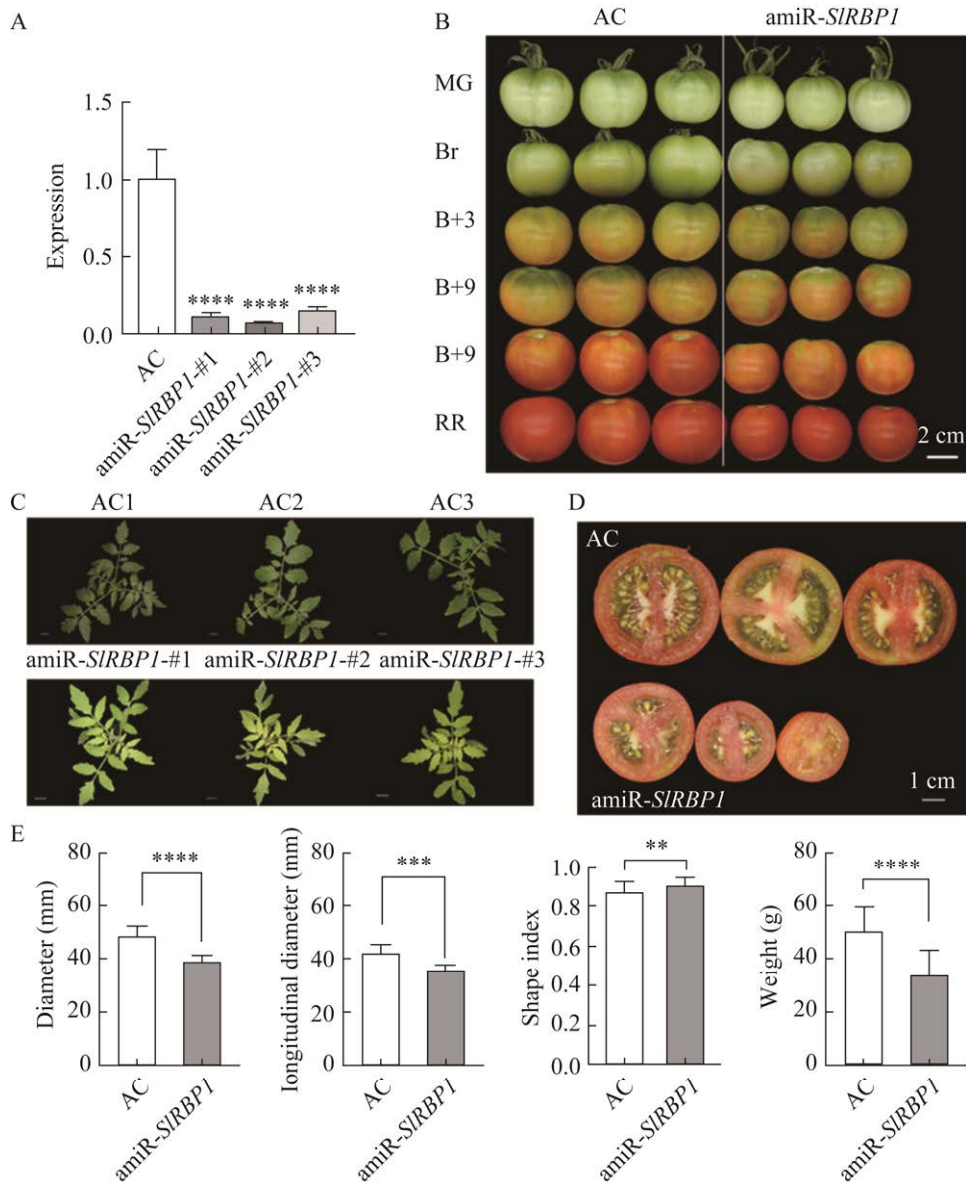


图 1 沉默 *SIRBP1* 使番茄果实变小 A: amiR-*SIRBP1* 沉默植株中 *SIRBP1* 表达量. ****: $P<0.000\ 5$; ***: $P<0.001$; **: $P<0.01$. B: AC 及 amiR-*SIRBP1* 沉默植株番茄果实对比(绿熟期: mature green, MG; 破色期: breaker, Br/B; 红熟期: red ripe, RR). C: 1 月龄 AC 及 T1 代 amiR-*SIRBP1* 沉默植株叶片表型图. D: 红熟时期 AC 及 amiR-*SIRBP1* 沉默植株果实横剖面图. E: 番茄果实横径、纵径、果形指数及质量 Figure 1 Silencing *SIRBP1* makes fruits smaller. A: The expression of gene *SIRBP1* in amiR-*SIRBP1* plants. ****: $P<0.000\ 5$; ***: $P<0.001$; **: $P<0.01$. B: Comparison of tomato fruit from AC and amiR-*SIRBP1* silenced plants (Mature green, MG; Breaker, Br/B; Red ripe, RR). C: Leaf phenotypes of 1-month-old AC and T1 amiR-*SIRBP1* silenced plants. D: Sectional views of red ripe fruits from AC and amiR-*SIRBP1* silenced plants. E: Diameter, longitudinal diameter, fruit shape index and quality of fruits from AC and amiR-*SIRBP1* silenced plants.

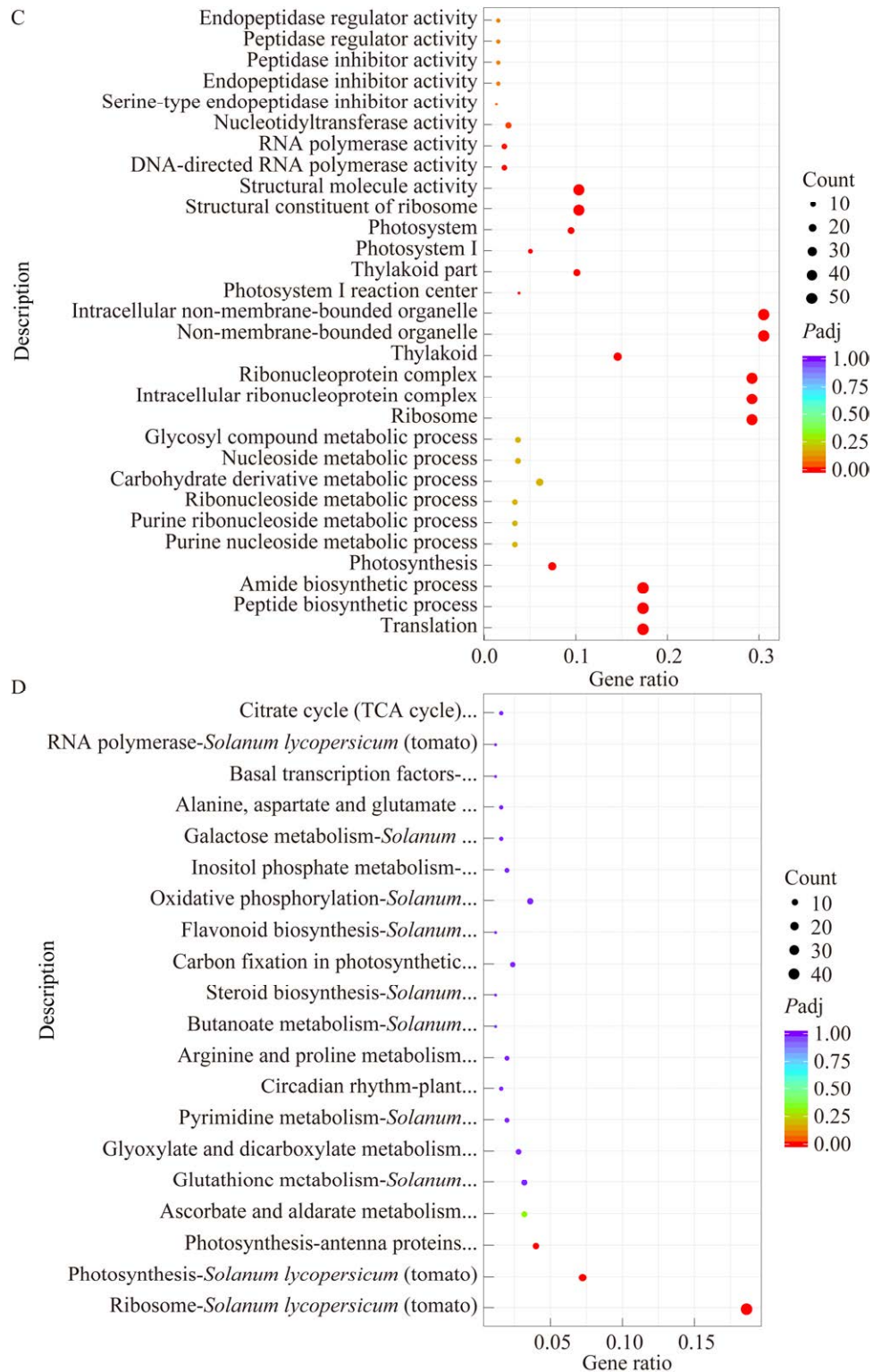


图3 转录组测序数据差异表达基因分析(differentially expressed genes, DEGs)分析 A: DEGs 的火山图. B: 差异基因 GO 分类. C: 差异基因 GO 富集气泡图, 图例中基因编号 1-20 同 B. D: 差异基因 KEGG 富集气泡图

Figure 3 Analysis of differentially expressed genes (DEGs) with RNA-seq data. A: Volcanic plot of DEGs. B: The GO terms of the DEGs. C: Bubble chart of DEG GO enrichment. D: Bubble chart of DEGs KEGG pathways.

光合相关显著下调基因 13 个, 包括光系统 I 反应中心亚基 IV A *PsaE*、光系统 II 氧演化复合体蛋白 *PsbP*、胞浆蓝蛋白(Solyc04g082010.1)、光系统 II 氧演化复合体蛋白 *PsbQ*、光系统 I 反应中心亚基 XI *PsaL*、铁氧化还原蛋白(Solyc11g068430.1)、光系统 II 核心复合体蛋白 *PsbY* 等。利用 RT-qPCR 对测序结果中表达量降低的光合系统的部分基因进行验证, 以 *Slactin* 作为内参基因, RT-qPCR 结果如图 4 所示。

3 讨论与结论

植物的光合作用是植物固定有机物的生理活动, 光合作用的效率直接影响农作物的产量。植物光合色素主要包括叶绿素和类胡萝卜素, 而色素含量决定叶片呈现的颜色。当叶绿体数量大

幅减少或结构被破坏可能导致白化突变体产生, 叶绿素的合成受到阻碍, 且类胡萝卜素含量过高则会引起植株叶片呈现黄化表型。叶绿素在光吸收中起关键作用, 光合能力随着叶绿素含量的增加而增加^[17]。叶绿素 a 和叶绿素 b 主要分布在叶绿体的类囊体膜上, 参与光合作用的光能吸收、传递与转换。本试验获得的 *SIRBP1* 沉默植株的叶绿体内类囊体数量极少、类囊体不能堆叠形成基粒、叶绿素含量显著降低, 从而展现黄叶表型。

前期研究表明, 番茄果实的产量和品质与叶片的光合作用强度紧密相关^[18]。通过补充光源能够加速植株生长和果实成熟, 给番茄植株补充冠层内 LED 照明, 发现下、中冠层叶片气孔导度和光合作用碳吸收/同化能力显著增强, 且果实

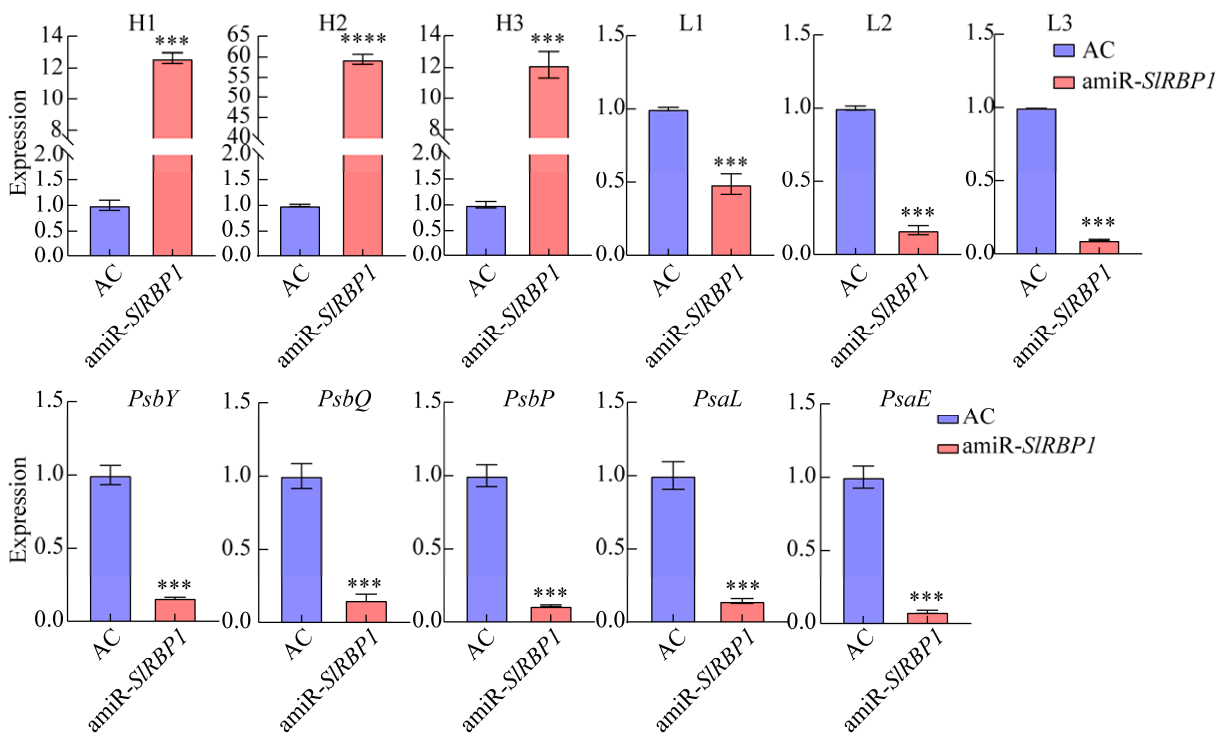


图 4 RT-qPCR 验证光合相关基因表达水平 使用 *t*-test 分析同一基因在 AC 和在 *amiR-SIRBP1* 沉默植株中的表达量, ****: $P < 0.0005$; ***: $P < 0.001$

Figure 4 Expression level of photosynthesis-related genes by RT-qPCR. Analysis of the expression of the same gene in AC and in *amiR-SIRBP1* silenced plants using *t*-test, ****: $P < 0.0005$; ***: $P < 0.001$.

产量显著提高^[19]。此外,果实鲜重也受到番茄的光合作用速率提高的正向影响^[20]。

光合系统由光合系统 I (photosynthetic system I, PSI) 和光合系统 II (photosynthetic system II, PSII) 组成。本研究中显著降低的基因包括 *PsaE*、*PsaL* 和两种铁氧还蛋白, *PsaE* 和 *PsaL* 都是光合系统 I 的组成部分。含氧光合作用包括光反应和暗反应,光反应从光子吸收开始,驱动光合作用中的电子传递链,一直到最终的电子载体蛋白铁氧化还原蛋白 1 (ferredoxin, Fd)^[21]。*PsaL* 在单体之间的界面处形成连接域,在结构上和功能上连接光合系统 I 单体。而 *PsaE* 是 PSI 的受体位点亚基,位于光合系统 I 基质外侧,含有一个可以与铁氧还蛋白独立结合的对位点。*PsaE* 在铁氧还蛋白的锚定和电子传输中具有重要功能^[22]。研究表明 *PsaE* 的存在有利于光合电子传递和光抑制条件下光合相关结构的稳定性^[23]。*PsaE* 与 *PsaL* 基因表达量的降低都表明光合系统 I 的光合水平下降。

RNA-seq 数据也表明光合系统 II 受到影响。光合系统 II 是一种嵌入在光合生物类囊体膜中的蛋白质复合物,它将光驱动的水氧化成启动光合过程的电子和氧分子^[24]。存在于绿色植物谱系中的 *PsbP*、*PsbQ* 和 *PsbR* 亚基组合有助于提高析氧能力。在高等植物 PSII 中, Ca^{2+} 和 Cl^- 在光合作用放氧中心 (oxygen-evolving center, OEC) 的进入和保留受到 *PsbP* (23 kDa) 和 *PsbQ* (17 kDa) 亚基的调节^[25]。*PsbY* 被证明位于 PSII 的外围,主要分布在细胞色素 B559 的两个 α 螺旋附近,其 N 端位于类囊体表面。拟南芥中的 *PsbY* 对 *Cytb559* 的氧化还原特性很重要,可能直接或间接地与其血红素基因相互作用^[26]。PSII 蛋白复合物的显著下调可能导致基粒的错误堆叠,本研究中的电镜结果符合该描述^[27]。

分子水平上的调控对植物的光合作用速率

造成影响。杨树中 *PtrCHLP3* 基因的沉默通过减少植物叶绿素的合成,阻碍了光合作用过程中的电子传递,从而抑制植株生长^[28]。本文中 *SIRBP1* 沉默植株的果实表现出体积减小、质量降低、种子数量减少的特征。这表明沉默 *SIRBP1* 对番茄果实的农产品价值造成负面影响,通过减弱光合作用使植物产量降低。

综上, *amiR-SIRBP1* 沉默番茄植株相较于相同光照条件下培养的 AC, 呈现出因光合作用减弱引起的发育受损,叶绿素含量降低导致叶片黄化以及番茄果实鲜重降低、体积减小、整体产量降低的表型。本试验揭示了 *SIRBP1* 对 AC 番茄产量造成的影响,进一步验证了番茄产量直接受到光合作用的影响,为进一步探究 RNA 结合蛋白与植物光合作用之间的联系提供了理论基础。

REFERENCES

- [1] 唐明佳, 徐进, 林锐, 宋珈凝, 喻景权, 周艳虹. 番茄响应光温逆境的生理分子机制研究进展[J]. 园艺学报, 2022, 49(10): 2174-2188.
TANG MJ, XU J, LIN R, SONG JN, YU JQ, ZHOU YH. Advances in physiological and molecular mechanism of tomato responses to light and temperature stress[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2022, 49(10): 2174-2188 (in Chinese).
- [2] WU A, DOHERTY A, FARQUHAR GD, HAMMER GL. Simulating daily field crop canopy photosynthesis: an integrated software package[J]. Functional Plant Biology, 2017, 45(3): 362-377.
- [3] WU A, HAMMER GL, DOHERTY A, CAEMMERER SV, FARQUHAR GD. Quantifying impacts of enhancing photosynthesis on crop yield[J]. Nature Plants, 2019, 5(4): 380-388.
- [4] ZHANG Y, KAISER E, ZHANG Y, YANG Q, LI T. Red/blue light ratio strongly affects steady-state photosynthesis, but hardly affects photosynthetic induction in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. Physiologia Plantarum, 2019, 167(2): 144-158.
- [5] ZHANG Y, KAISER E, MARCELIS LFM, YANG Q, LI T. Salt stress and fluctuating light have separate effects on photosynthetic acclimation, but interactively

- affect biomass[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2020, 43(9): 2192-2206.
- [6] 代绿叶, 顾益银, 韩莹琰. LED 光环境调控对植物影响的研究进展[J]. *分子植物育种*: 1-22.
DAI LY, GU YY, HAN YY. Research progress on the effects of LED light environmental control on plants[J]. *Molecular Plant Breeding*: 1-22 (in Chinese).
- [7] FU X, ZHANG J, ZHOU L, MO WM, WANG H, HUANG X. Characterizing the development of photosynthetic capacity in relation to chloroplast structure and mineral nutrition in leaves of three woody fruit species[J]. *Tree Physiology*, 2022, 42(5): 989-1001.
- [8] CZOLPINSKA M, RUREK M. Plant glycine-rich proteins in stress response: an emerging, still prospective story[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 302.
- [9] CAO S, JIANG L, SONG S, JING R, XU G. AtGRP7 is involved in the regulation of abscisic acid and stress responses in *Arabidopsis*[J]. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 2006, 11(4): 526-535.
- [10] KIM JY, KIM WY, KWAK KJ, OH SH, HAN YS, KANG H. Glycine-rich RNA-binding proteins are functionally conserved in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa* during cold adaptation process[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, 61(9): 2317-2325.
- [11] MANGEON A, PARDAL R, MENEZES-SALGUEIRO AD, DUARTE GL, SEIXAS RD, CRUZ FP, CARDEAL V, MAGIOLI C, RICACHENEVSKY FK, MARGIS R, SACHETTO-MARTINS G. AtGRP3 is implicated in root size and aluminum response pathways in *Arabidopsis*[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0150583.
- [12] KIM DS, KIM NH, HWANG BK. GLYCINE-RICH RNA-BINDING PROTEIN1 interacts with RECEPTOR-LIKE CYTOPLASMIC PROTEIN KINASE1 and suppresses cell death and defense responses in pepper (*Capsicum annuum*)[J]. *New Phytologist*, 2015, 205(2): 786-800.
- [13] WANG B, WANG G, SHEN F, ZHU SJ. A glycine-rich RNA-binding protein, CsGR-RBP3, is involved in defense responses against cold stress in harvested cucumber (*Cucumis sativus* L.) fruit[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 540.
- [14] MALQ, YANG YF, WANG YQ, CHENG K, ZHOU XW, LI JY, ZHANG JY, LI R, ZHANG LL, WANG KR, ZENG N, GONG YY, ZHU DM, DENG ZP, QU GQ, ZHU BZ, FU DQ, LUO YB, ZHU HL. *SIRBP1* promotes translational efficiency via SleIF4A2 to maintain chloroplast function in tomato[J]. *The Plant Cell*, 2022, 34(7): 2747-2764.
- [15] 张玉琪. 番茄幼苗动态光合特性及其对设施环境因子的响应研究[D]. 北京: 中国农业科学院博士学位论文, 2020.
ZHANG YQ. Study on dynamic photosynthetic characteristics of tomato seedlings and its response to environmental factors in facilities[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020 (in Chinese).
- [16] MOŽDŽEN K, BOJARSKI B, RUT G, MIGDALEK G, REPKA P, RZEPKA A. Effect of drought stress induced by mannitol on physiological parameters of maize (*Zea Mays* L.) seedlings and plants[J]. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2015, 4 (special issue 2 (Biotechnology)): 86-91.
- [17] BANTIS F, SMIRNAKOU S, OUZOUNIS T, KOUKOUNARAS A, NTAGKAS N, RADOGLIOU K. Current status and recent achievements in the field of horticulture with the use of light-emitting diodes (LEDs)[J]. *Scientia Horticulturae*, 2018, 235: 437-451.
- [18] YANG X, SUN H, HUA M, SONG L, DU P, TOONG Y, MA H, SONG Z. Effects of supplemental light on tomato growth and the mechanism of the photosystem II apparatus[J]. *PLoS One*, 2022, 17(5): e0267989.
- [19] LI Q, LIU Y, TIAN S, LIANG Z, LI S, LI Y, WEI M, ZHANG D. Effect of supplemental lighting on water transport, photosynthetic carbon gain and water use efficiency in greenhouse tomato[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 256: 108630.
- [20] LU N, MARUO T, JOHKAN M, HOHJO M, TSUKAGOSHI S, ITO Y, ICHIMURA T, SHINOHARA Y. Effects of supplemental lighting within the canopy at different developing stages on tomato yield and quality of single-truss tomato plants grown at high density[J]. *Environmental Control in Biology*, 2012, 50(1): 1-11.
- [21] LI J, HAMAOKA N, MAKINO F, KAWAMOTO A, LIN Y, RÖGNER M, NOWACZYK MM, LEE YH, NAMBA K, GERLE C, KURISU G. Structure of cyanobacterial photosystem I complexed with ferredoxin at 1.97 Å resolution[J]. *Communications Biology*, 2022, 5(1): 951.
- [22] CHEN M, PEREZ-BOEREMA A, ZHANG L, LI Y, YANG M, LI S, AMUNTS A. Distinct structural modulation of photosystem I and lipid environment

- stabilizes its tetrameric assembly[J]. *Nature Plants*, 2020, 6(3): 314-320.
- [23] KRIEGER-LISZKAY A, SHIMAKAWA G, SÉTIF P. Role of the two PsaE isoforms on O₂ reduction at photosystem I in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 2020, 1861(1): 148089.
- [24] ROOSE J L, FRANKEL L K, MUMMADISSETTI MP, BRICKER TM. The extrinsic proteins of photosystem II: update[J]. *Planta*, 2016, 243: 889-908.
- [25] HADDY A, LEE I, SHIN K, TAI H. Characterization of fluoride inhibition in photosystem II lacking extrinsic PsbP and PsbQ subunits[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2018, 185: 1-9.
- [26] von SYDOW L, SCHWENKERT S, MEURER J, FUNK C, MAMEDOV F, SCHRÖDER WP. The PsbY protein of *Arabidopsis* photosystem II is important for the redox control of cytochrome b559[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 2016, 1857(9): 1524-1533.
- [27] 熊兴伟, 王艺琴, 田怀志, 张素勤, 耿广东. 基于转录组测序解析南瓜子叶黄化的分子机理[J]. *浙江农业学报*, 2023, 35(1): 90-102.
XIONG XW, WANG YQ, TIAN HZ, ZHANG SQ, GENG GD. Molecular mechanisms of chlorophyll-reduced cotyledon based on transcriptome sequencing in pumpkin[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2023, 35(1): 90-102 (in Chinese).
- [28] HE F, SHI YJ, CHEN Q, LI JL, NIU MX, FENG CH, LU M, TIAN F, ZHANG F, LIN TX, CHEN LC, LIU QL, WAN X. Genome-wide investigation of the PtrCHLP family reveals that PtrCHLP3 actively mediates poplar growth and development by regulating photosynthesis[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 870970.

(本文责编 陈宏宇)