

引用格式: 郭罕年, 熊欣, 胡飞杨, 等. 桂花 *OfSAUR21* 基因的克隆及功能验证[J]. 浙江农林大学学报, 2025, 42(5): 1059–1067. GUO Hannian, XIONG Xin, HU Feiyang, et al. Cloning and functional verification of *OfSAUR21* gene in *Osmanthus fragrans*[J]. Journal of Zhejiang A&F University, 2025, 42(5): 1059–1067.

桂花 *OfSAUR21* 基因的克隆及功能验证

郭罕年¹, 熊欣¹, 胡飞杨¹, 邹晶晶^{1,2}, 蔡璇^{1,2}

(1. 湖北科技学院 国家林业草原桂花工程技术研究中心, 湖北 咸宁 437100; 2. 咸宁市高新桂花产业技术研究院, 湖北 咸宁 437100)

摘要: 【目的】桂花 *Osmanthus fragrans* 花期短、花瓣易衰老褐化, 制约了桂花经济价值的开发利用。探究桂花 *OfSAUR21* 基因对衰老的调控功能, 可为桂花花瓣衰老调控的分子机制研究提供理论依据。【方法】以桂花‘柳叶金桂’ *O. fragrans* ‘Liuye Jingui’ 为材料进行 *OfSAUR21* 基因的克隆, 利用生物信息学分析 *OfSAUR21* 蛋白的理化性质和系统进化关系, 采用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 分析 *OfSAUR21* 基因在不同花期的表达模式, 并通过瞬时转化桂花花瓣进行基因功能的鉴定。【结果】克隆得到 1 个长度为 294 bp 的 *OfSAUR21* 基因 cDNA 序列, 可编码产生 97 个氨基酸, 无信号肽与跨膜结构域, 亚细胞定位预测在叶绿体, 含有 Auxin_inducible superfamily 保守结构域。同源性比对及进化树分析发现: *OfSAUR21* 基因与野生油橄榄 *Olea europaea* var. *sylvestris* 亲缘关系最近。RT-qPCR 分析显示: *OfSAUR21* 基因在花瓣衰老期表达最高。经 RT-qPCR 与乙烯分析发现: 将 *OfSAUR21* 基因通过瞬时转化侵染到桂花花瓣中, 花瓣的褐化率提高, 乙烯的释放量增加。【结论】*OfSAUR21* 基因包含完整的 Auxin_inducible superfamily 保守结构域, 是生长素早期响应基因家族成员, 在盛花末期表达量最高, 对促进乙烯生成及调控桂花衰老具有正调节功能。图 6 表 1 参 36

关键词: 桂花; *SAUR* 基因; 乙烯; 基因克隆; 功能验证

中图分类号: S68 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2025)05-1059-09

Cloning and functional verification of *OfSAUR21* gene in *Osmanthus fragrans*

GUO Hannian¹, XIONG Xin¹, HU Feiyang¹, ZOU Jingjing^{1,2}, CAI Xuan^{1,2}

(1. National Forestry and Grassland Administration Engineering Research Center for *Osmanthus fragrans*, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100, Hubei, China; 2. Xianning Hi-tech Research Academy of *Osmanthus fragrans*, Xianning 437100, Hubei, China)

Abstract: [Objective] The short flowering period and the easy senescence and browning of petals restrict the development and utilization of the economic value of *Osmanthus fragrans*. Exploring the regulatory function of *OfSAUR21* gene on senescence can provide a theoretical basis for the study of the molecular mechanism of petal senescence regulation in *O. fragrans*. [Method] Using *O. fragrans* ‘Liuye Jingui’ as the material, the *OfSAUR21* gene was cloned. Bioinformatics analysis was conducted to explore the physicochemical properties and phylogenetic relationships of the *OfSAUR21* protein. Real-time fluorescent quantitative PCR (RT-qPCR) was used to analyze the expression pattern of the *OfSAUR21* gene at different flowering stages, and preliminary identification of gene function was performed through transient transformation of *O. fragrans* petals. [Result]

收稿日期: 2025-08-21; 修回日期: 2025-09-24

基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目 (2023AFB1063); 国家自然科学基金资助项目 (32271951); 湖北科技学院博士启动基金项目 (BK202002)

作者简介: 郭罕年 (ORCID: 0009-0006-5153-9489), 从事园林植物研究。E-mail: 2921277763@qq.com。通信作者: 蔡璇 (ORCID: 0000-0003-4653-7076), 副教授, 博士, 从事观赏植物品质生物学研究。E-mail: caixuan@hbust.edu.cn

A cDNA sequence of the *OfSAUR21* gene with a length of 294 bp was cloned, which could encode 97 amino acids. It had no signal peptide or transmembrane domain, and its subcellular localization was predicted to be in chloroplasts, containing a conserved domain of the Auxin_inducible superfamily. Homology alignment and phylogenetic tree analysis revealed that this gene had the closest genetic relationship with wild olive (*Olea europaea* var. *sylvestris*). The results of RT-qPCR analysis showed that the expression of this gene was the highest in the petal senescence stage. The *OfSAUR21* gene was introduced into *O. fragrans* petals through transient transformation. Confirmation by RT-qPCR and ethylene analysis showed that the browning rate of *O. fragrans* petals with the successfully introduced target gene increased, and the ethylene release amount also increased. [Conclusion] *OfSAUR21* contains a complete conserved domain of the auxin-inducible superfamily, is a member of the early auxin-responsive gene family, exhibits the highest expression level at the late full-bloom stage, and positively regulates ethylene production and senescence in *O. fragrans*. [Ch, 6 fig. 1 tab. 36 ref.]

Key words: *Osmanthus fragrans*; *SAUR* gene; ethylene; gene clone; functional verification

桂花 *Osmanthus fragrans* 是中国十大传统名花之一, 树形优美, 花香怡人, 兼具观赏、食用、药用、香用等价值, 被广泛应用于园林绿化以及食品和护肤品等加工产业^[1-2]。然而, 由于桂花花期较短, 最佳观赏期和采收期仅 2~3 d, 且花朵小, 易褐化, 制约了桂花价值的开发利用^[3]。因此, 研究桂花花瓣衰老及调控机制, 对延长花期、提升品质、促进产业应用具有重要意义。

有研究表明: 在花瓣衰老层面, 许多经济采收价值较高的不结实桂花品种对乙烯敏感, 乙烯参与了衰老过程中花瓣脱落和萎蔫、细胞结构变化、氧化还原系统及核酸降解等多个过程的调节, 是桂花衰老的重要调控因子^[4-7]。桂花开花多组学联合分析发现: 小生长素上调 RNA (small auxin up-regulated RNA, *SAURs*) 和乙烯响应因子 (ethylene-responsive transcription factors, *ERFs*) 分别在开花和衰老阶段富集, 可能参与调控衰老进程^[8]。*ERFs* 转录因子广泛参与植物衰老调控的机制也较为成熟^[9]。但在桂花中缺乏 *SAUR* 基因的相关报道。

SAUR 基因家族是植物特有的, 生长素早期响应基因中最大的 1 个家族, *SAUR* 基因广泛存在于各种植物中, 如拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 有 79 个, 水稻 *Oryza sativa* 有 58 个 (包括 2 个假基因), 高粱 *Orghum bicolor* 有 71 个, 马铃薯 *Solanum tuberosum* 有 134 个, 番茄 *Solanum lycopersicum* 有 99 个, 玉米 *Zea mays* 有 91 个, 棉花 *Gossypium hirsutum* 有 632 个, 苹果 *Malus domestica* 有 80 个, 甜樱桃 *Prunus avium* 有 86 个等^[10]。*SAUR* 被报道参与调节多种生物过程^[11]。研究发现: *SAUR* 与生长素介导的细胞扩增密切相关, 广泛参与生长素的合成和运输^[12], 改变顶沟和子叶发育^[13], 促进叶片生长和衰老^[14]、果实成熟或根生长和发育^[15]。在拟南芥中, *AtSAUR36* 和 *AtSAUR41* 的表达水平与细胞扩张密切相关, 过量表达会显著促进下胚轴表皮细胞的伸长^[16], 而且 *SAUR32*、*SAUR19* 和 *SAUR36* 主要与顶端弯钩的形成相关, 过量表达会使幼苗下胚轴较短^[17]。*AtSAUR41*、*AtSAUR76* 与根的发育相关, 它们的转录上调能促进主根伸长和侧根发育^[18]。杨树 *Populus tomentosa* 中 *SAUR12*、*SAUR34*、*SAUR54*、*SAUR67*、*SAUR91* 和 *SAUR97* 的上调表达提高了幼苗对低温的适应性^[19]。此外, *SAUR* 基因家族蛋白受 miR159 调控, 会增强小麦 *Triticum aestivum* 的耐旱性^[20]。而且, *SAUR30* 也与杨树的干旱适应相关^[21]。在番茄中, *SISAUR69* 基因的过表达增强了番茄对乙烯的敏感性, 从而促进了果实成熟^[22]。除生长素外, 乙烯、油菜素内酯、赤霉素、脱落酸、茉莉酸、光和渗透胁迫, 以及一些关键开花相关转录因子也调控 *SAUR* 基因的表达^[23], 表明 *SAUR* 参与了激素和环境因子介导的植物生长发育及开花调控。

前期对桂花开花衰老相关基因的多组学联合分析研究中, 已筛选获得 21 个 *SAUR* 家族基因, 其中 *OfSAUR21* (基因登录号: LYG019593) 是仅在花器官中特异表达的基因成员^[8]。本研究在此基础上, 首先对 *OfSAUR21* 基因进行克隆, 随后运用生物信息学分析基因分子特性, 构建该基因的超表达载体, 同时通过瞬时转化桂花花瓣的方式开展基因功能验证, 以期解析桂花开花衰老的调控机制提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

所用材料‘柳叶金桂’*O. fragrans* ‘Liuye Jingui’ 采自华中农业大学校园 (30°29'N, 114°21'E)。对桂花的 6 个开花时期 (铃梗期、初花期、盛花初期、盛花期、盛花末期、衰老期) 进行采样 (图 1)。对采集样品称量后, 密封保存于液氮中, 立即运回实验室保存在-80℃ 冰箱内, 以备后续分析。瞬时转化以四季桂 *O. fragrans* ‘Sijigui’ 为材料^[24]。

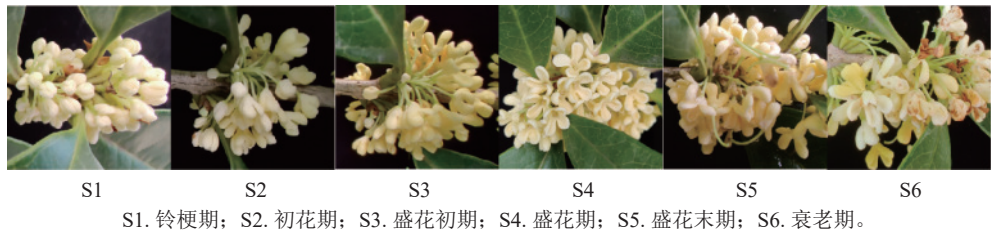


图 1 不同开花时期的桂花
Figure 1 Different flowering stages of *O. fragrans*

1.2 方法

1.2.1 目的基因克隆 根据桂花数据库获取 *OfSAUR21* 的编码序列 (CDS), 设计全长引物 (由武汉擎科生物有限公司合成, 表 1)。分别提取桂花不同开花时期的样品, 液氮研磨后, 按植物 RNA 小量提取试剂盒说明书提取 RNA, 再按 cDNA 逆转录试剂盒说明书获得 cDNA 后加无酶水稀释 10 或 20 倍。取 4 μL 6 个开花阶段混样 cDNA 模板配制 40 μL PCR 体系: 2×Trans Taq-T PCR Super Mix 20 μL, 目的基因上下游引物各 0.5 μL, 双氧水 (ddH₂O) 15 μL。PCR 反应程序: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 30 s, 68℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 2 min, 共 35 个循环。用琼脂糖凝胶电泳进行检测, 确定条带后, 用琼脂糖凝胶回收试剂盒回收目的 DNA。然后连接到 pTOPO-T 载体, 转化大肠埃希菌 *Escherichia coli* DH5α 感受态细胞, 筛选阳性克隆, 在武汉擎科生物有限公司进行基因测序。

表 1 引物信息

Table 1 Primers used in the study	
引物名称	引物序列 (5'→3')
<i>OfSAUR21</i> -F	GGTACCATGGCCATCCGCATGCCTCGTAT
<i>OfSAUR21</i> -R	GTCGACCTATATTACACCCAAGTGTGAAATGATA
<i>OfRAN1</i> -F	AGAACCGACAGGTGAAGGCAA
<i>OfRAN1</i> -R	TGGCAAGGTACAGAAAGGGCT
<i>OfSAUR21</i> -Q-F	TGACGGGAAACCAACAATGATAGAT
<i>OfSAUR21</i> -Q-R	TAATAAATGTATCCTCGCAACAGGGGA

1.2.2 基因生物信息学分析 用美国国家生物技术信息中心 (NCBI)、DNA 分析软件 (DNAMAN)、分子进化遗传分析软件 (MEGA7.0) 等, 查找 *OfSAUR21* 同源基因序列, 构建进化树, 进行氨基酸比对; 通过 ORFfinder 系统 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder>) 预测基因开放阅读框与保守结构域; 借助 IncLocator 在线工具 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/IncLocator/>) 分析基因亚细胞定位; 利用 ExPASy ProtParam 工具 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 解析该基因编码蛋白质的理化性质; 通过 SOPMA 在线程序 (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html) 预测蛋白质二级结构; 并通过 SWISS-MODEL 交互式平台 (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>) 构建 *OfSAUR21* 蛋白的三级结构模型。用 ProtScale 预测 *OfSAUR21* 氨基酸序列的疏水性与亲水性。

1.2.3 基因表达分析 根据获得的桂花 *OfSAUR21* 基因的序列非保守区域设计定量引物 (表 1), 利用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 技术分析不同开花时期的表达模式。参考之前的研究^[25], RT-qPCR 反应在 Line Gene 9600 荧光定量 PCR 检测系统上应用 SYBR®Premix Ex Taq™ 进行。PCR 反应的总体积为

20 μL , 包括 10 μL SYBR Green PCR 混合物、2 μL cDNA、0.8 μL 正向和反向引物、6.4 μL ddH₂O。PCR 反应遵循以下程序: 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s 1 个循环, 94 $^{\circ}\text{C}$ 10 s 和 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环, 桂花 *RAM1* 基因用作内参。将铃梗期样品的表达水平设定为 1, 用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法标准化相对表达水平^[26]。

1.2.4 植物表达载体构建 测序后, 将序列比对正确的菌液进行复苏, 提取目的基因和空载体 (P2300) 质粒。配制 50 μL 双酶切体系: 10 $\times$ Green Buffer 5 μL , Sal I 1 μL , Kpn I 1 μL , 质粒 25 μL , ddH₂O 18 μL , 将反应体系放入水浴锅中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 3 h 后进行切胶回收。配制 10 μL T4 连接酶体系: 1 μL 10 $\times$ Buffer, 1 μL T4 DNA 连接酶, 2 μL P2300 质粒, 6 μL 目的基因质粒, 在电子水浴锅 22 $^{\circ}\text{C}$ 恒温连接 1~2 h。取 50 μL 大肠埃希菌 DH5 α , 向其中加入 5 μL 连接产物, 提取质粒。将 1 μL 提取的质粒加入到 25 μL 农杆菌 *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 中, 经 PCR 验证正确后用于转化实验。

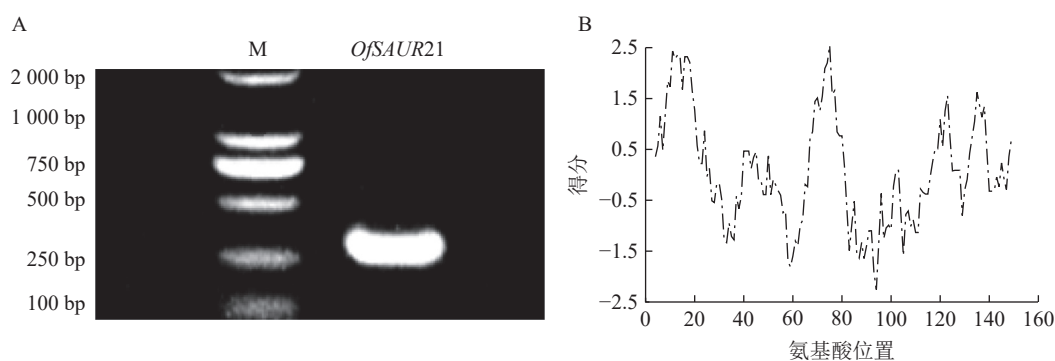
1.2.5 桂花花瓣瞬时转化 采集桂花初花期的花进行转基因实验。将 *OfSAUR21* 全长克隆到 pCambia2300s 载体中, 并以空的 pCambia2300s 载体作为阴性对照。转基因条件参照文献^[27], 接种后低温暗培 3 d, 立刻收集花瓣进行 RT-qPCR 和乙烯测定。RT-qPCR 方法参见 1.2.3。乙烯测定参照文献^[16], 用气相色谱分析仪测定乙烯释放量, 测定的乙烯标样浓度 (x) 与出峰面积 (y) 的标准曲线方程为 $y=81.539x-20.003$ 。

1.2.6 数据处理与统计分析 采用 SPSS 软件进行统计分析, 通过单因素方差分析 (one-way ANOVA) 检验组间差异显著性, 随后进行 Duncan 多重比较, 显著性水平为 0.05。本研究的桂花为自然花期 6 个开花阶段的基因组和转录组测序数据, 参考了 ZOU 等^[28]的研究。每个处理设 3 个重复。所有数据均以平均值 $\pm$ 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 基因克隆和蛋白特性分析

以桂花花瓣 cDNA 为模板, PCR 扩增获得长度为 294 bp 的 *OfSAUR21* 基因 cDNA 序列 (图 2A)。ProtParam 分析显示: *OfSAUR21* 基因编码的蛋白质含 97 个氨基酸, 分子式为 C₄₉₉H₇₇₅N₁₃₇O₁₃₈S₆, 分子量为 11 093.84 Da, 等电点为 6.57, 正/负电荷残基数为 8/9, 脂肪系数为 92.37, 总平均亲水性为 -0.063, 不稳定性系数为 43.73。ProtScale 预测显示: *OfSAUR21* 蛋白疏水峰大于 0 的氨基酸占比不足 50%, 整体呈亲水性 (图 2B)。在线软件 <https://wolfpsort.hgc.jp/> 预测其亚细胞定位在叶绿体。二级结构预测表明: α -螺旋占比 37.11%, β -转角占比 6.19%, 无规则卷曲占比 40.21%, 延伸链占比 16.49%。NCBI 预测 *OfSAUR21* 结构域属于生长素响应基因家族。



A. *OfSAUR21* (基因登录号: LYG019593) 全长序列克隆结果; B. *OfSAUR21* 蛋白的疏水性/亲水性预测图。

图 2 *OfSAUR21* 基因序列克隆及蛋白特性分析

Figure 2 Cloning of *OfSAUR21* gene sequence and analysis of protein characteristics

2.2 氨基酸序列比对与进化树分析

首先用 NCBI 上的 BLAST 进行序列同源性比对分析。从图 3 可以看出: 该序列与野生油橄榄 *Olea europaea* var. *sylvestris* XM_023040984.1、喜马拉雅凤仙花 *Impatiens glandulifera* XM_047477152.1 等 8 个同源序列及莲 *Nelumbo nucifera* XM_010273100.2 的同源性为 75.88%~80.82%, 其中与野生油橄榄树 XM_023040984.1 的同源性最高。利用 MEGA 7.0 软件对该基因与上述高同源性物种 (野生油橄榄、喜马

基因表达量最高,显著高于其他时期 ($P<0.05$)。而在其他 5 个时期中,除了铃梗期表达量最低外,其他时期花瓣中 *OjSAUR21* 基因表达量差异不显著(图 5)。由此可知:*OjSAUR21* 基因在开花中后期的表达量明显增加,表明其很可能参与了花瓣的衰老过程。

2.4 桂花瞬时转化基因功能分析

为探究 *OjSAUR21* 基因对桂花衰老的影响,开展了瞬时转化实验。如图 6A 所示:将 *OjSAUR21* 基因超表达载体、空载体分别导入桂花花瓣,并以未处理花瓣作为对照组,结果显示:与空载体、对照相比,超表达载体的褐化现象更为严重。3 组样品 RT-qPCR 分析发现:不同样本在桂花花瓣中的表达量存在显著差异 ($P<0.05$)。图 6B 表明:*OjSAUR21*

基因的表达量均高于空载体、对照。对 3 组样品的褐化率和乙烯释放量比较发现:*OjSAUR21* 超表达组与空载体、对照之间的褐化率(图 6C)和乙烯释放量存在显著差异(图 6D)($P<0.05$)。综上,*OjSAUR21* 基因的超表达提高了桂花花瓣的褐化率和乙烯释放量,促进了桂花的衰老进程。

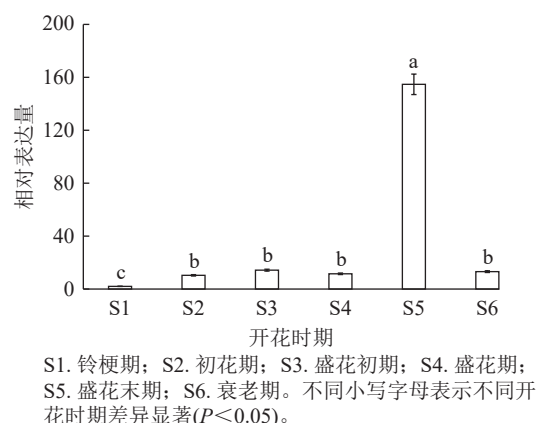
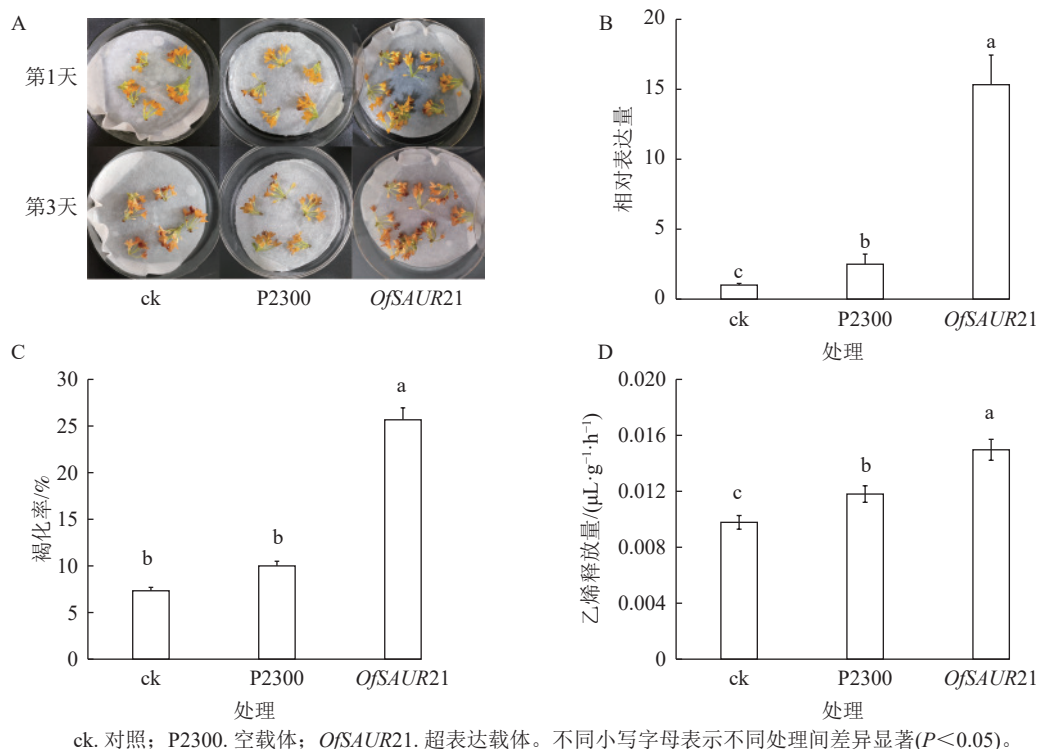


图 5 *OjSAUR21* 基因不同开花时期的表达量
Figure 5 Analysis of the expression level of *OjSAUR21* gene during natural senescence of *O. fragrans*



ck. 对照; P2300. 空载体; *OjSAUR21*. 超表达载体。不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。

图 6 桂花瞬时转化基因功能验证

Figure 6 Functional verification of instantaneous transformation genes in *O. fragrans*

3 讨论

SAUR 基因家族作为植物特有的家族,不仅是生长素早期响应基因中规模最大的家族,更在植物生长发育的复杂调控网络中占据关键地位,广泛参与植物的多种生命活动过程,包括器官发生、组织分化、逆境适应等^[10-15]。大量研究证实:*SAUR* 基因家族的核心作用是通过精准调控细胞的膨大与扩展过程,深刻影响植物的生长发育^[15]。在模式植物拟南芥中,SPARTZ 等^[29]研究发现:*AtSAUR19~AtSAUR24* 基因亚组能够通过显著促进细胞的膨大生长,直接调控幼苗下胚轴的伸长和叶片的扩展发

育, 揭示了 *SAURs* 在植物营养生长阶段的重要调控作用。此外, 拟南芥中其他 *SAURs* 成员的功能研究也呈现出丰富的生物学效应, 例如 *AtSAUR10*、*AtSAUR36*、*AtSAUR72* 等基因的过表达会引发植物出现明显的过早衰老表型, 包括叶片黄化加速、植株生命周期缩短等^[30-31], 暗示 *SAUR* 基因家族在植物衰老进程中可能扮演着复杂的调控角色。在单子叶模式植物水稻中, 相关研究同样印证了 *SAURs* 基因与衰老调控的密切关联。有研究发现: *OsSAUR39* 基因的过表达会导致水稻叶片叶绿素含量显著下降, 同时加速叶片的衰老进程, 表明 *SAUR* 基因家族成员在不同植物类群中可能保守地参与衰老调控^[32]。综合不同物种中 *SAUR* 基因家族成员的功能研究结果, 可以看出该家族基因在植物器官衰老调控过程中发挥的重要作用具有一定的普遍性, 这为探索植物衰老的分子机制提供了重要方向。

本研究显示: *OjSAUR21* 包含生长素响应家族蛋白的典型保守结构域, 这与 *SAUR* 基因家族成员的核心特征高度一致, 提示其可能通过响应生长素信号参与细胞生理活动的调控。*OjSAUR21* 基因与油橄榄 *SAUR21* 的高同源性, 不仅暗示了在进化历程中, 这一基因在木犀科 *Oleaceae* 植物中可能具有较近的共同祖先, 更提示其功能或许存在一定的保守性。油橄榄与桂花同属木犀科, 在生长习性、器官发育模式上存在诸多相似之处, 这种同源性为后续研究 *OjSAUR21* 在木犀科植物中的共性功能提供了重要的生物学基础。基因表达的时空特异性是功能行使的重要特征。本研究发现: *OjSAUR21* 在桂花开花后期的表达量显著上调, 这一结果与花瓣衰老进程呈现出高度的时间关联性有关。开花后期是桂花花瓣从完全绽放走向衰败的关键转折期, 此时花瓣细胞的生理代谢发生剧烈变化, 包括细胞膜透性增加、抗氧化系统失衡等^[4]。*OjSAUR21* 在这一时期的强势表达, 很可能是它参与调控这些生理过程的直接体现。

为验证这一推测, 进一步开展了桂花花瓣瞬时转化功能分析实验。本研究结果表明: 与对照相比, 成功侵染并过表达 *OjSAUR21* 基因的桂花花瓣, 褐化率明显提高, 同时花瓣组织中的乙烯释放量也显著增加。这一结果为 *OjSAUR21* 参与桂花花瓣衰老调控提供了直接的功能证据。朱诚等^[33] 研究指出: 植物花寿命的调控可能通过调节乙烯在植物体内的产生速率, 以及维持活性氧的产生与清除之间的动态平衡来实现的。而陈洪国等^[34] 研究发现: 在桂花开花和衰老的整个进程中, 乙烯释放量呈现明显的规律性变化, 因此乙烯释放量可作为判断桂花开花进程与衰老程度的重要生理指标。结合已有研究证实: 乙烯的产生是桂花开花和衰老的主要生理原因^[35], 本研究推测: *OjSAUR21* 基因可能通过促进乙烯的释放, 成为调控桂花花瓣衰老的正向调节因子。目前在拟南芥等模式植物中, 尚未发现 *SAUR21* 基因直接参与衰老调控的实验证据。此外, 已有研究表明: *SAUR21* 基因可能参与植物激素信号传导过程^[36], 这为解释本研究中过表达 *OjSAUR21* 能促进乙烯生成提供了潜在的分子机制线索, 暗示 *OjSAUR21* 基因可能通过整合生长素与乙烯等多种激素信号, 实现对花瓣衰老的精细调控。当然, 关于 *OjSAUR21* 基因的功能解析仍需深入。未来研究将通过建立稳定的遗传转化体系, 进一步阐明 *OjSAUR21* 基因与乙烯合成及信号传导通路之间的相互作用机制, 为揭示桂花花瓣衰老的分子调控网络提供更深入的理论依据, 同时也为通过基因工程手段调控桂花花期、延长观赏寿命提供潜在的应用靶点。

4 结论

本研究从桂花中克隆得到 1 条 *SAUR* 同源基因, 命名为 *OjSAUR21*。*OjSAUR21* 基因编码区长 294 bp, 编码 97 个氨基酸, 序列包含完整的 Auxin_inducible superfamily 保守结构域。不同开花时期的基因表达水平表明该基因在花瓣开花后期表达最高, 推测其可能与花瓣衰老有关。将 *OjSAUR21* 基因通过瞬时转化侵染到桂花花瓣中, RT-qPCR 与代谢物分析确认发现: 成功导入目的基因的桂花花瓣乙烯的释放量增加。因此, *OjSAUR21* 基因在促进乙烯生成及调控桂花衰老中起着正调节功能。

5 参考文献

- [1] 李莉, 庞天虹, 付建新, 等. 桂花番茄红素 β -环化酶基因 *LCYB* 上游 B2 亚组 ERF 转录因子的筛选和鉴定[J]. 浙江农林大学学报, 2025, 42(1): 86-93.
LI Li, PANG Tianhong, FU Jianxin, et al. Screening and identification of ERF transcription factors of B2 subgroup involved in regulating lycopene β -cyclase gene *LCYB* in *Osmanthus fragrans* [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2025, 42(1): 86-93.
- [2] WU Lipeng, LIU Junyi, HUANG Weisu, et al. Exploration of *Osmanthus fragrans* Lour.'s composition, nutraceutical

- functions and applications[J/OL]. *Food Chemistry*, 2022, **377**: 131853[2025-08-01]. DOI: [10.1016/j.foodchem.2021.131853](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131853).
- [3] CHEN Hongguo, ZENG Xiangling, YANG Jie, *et al.* Whole-genome resequencing of *Osmanthus fragrans* provides insights into flower color evolution[J/OL]. *Horticulture Research*, 2021, **8**: 98[2025-08-01]. DOI: [10.1038/s41438-021-00531-0](https://doi.org/10.1038/s41438-021-00531-0).
- [4] 阳韶昆, 蔡璇, 邹晶晶, 等. 桂花开放与衰老过程中花瓣蛋白酶活性与种类的变化[J]. 园艺学报, 2012, **39**(10): 1967–1974.
- YANG Shaokun, CAI Xuan, ZOU Jingjing, *et al.* The proteinase activity and types of *Osmanthus fragrans* petals during flower opening and senescence [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2012, **39**(10): 1967–1974.
- [5] 贺贝, 蔡璇, 曾祥玲, 等. ‘潢川金桂’花瓣衰老过程中细胞程序性死亡的生理机制[J]. 浙江农林大学学报, 2023, **40**(3): 475–480.
- HE Bei, CAI Xuan, ZENG Xiangling, *et al.* Programmed cell death events during the petal senescence of *Osmanthus fragrans* ‘Huangchuan Jingui’ [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2023, **40**(3): 475–480.
- [6] QIU Hui, CHEN Yiwen, FU Jianxin, *et al.* Expression of ethylene biosynthetic genes during flower senescence and in response to ethephon and silver nitrate treatments in *Osmanthus fragrans* [J]. *Genes & Genomics*, 2024, **46**(4): 399–408.
- [7] 张耀, 王家璇, 蔡璇, 等. 桂花 *OfACO*s 基因家族鉴定及表达分析[J]. 浙江农林大学学报, 2023, **40**(3): 492–501.
- ZHANG Yao, WANG Jiaxuan, CAI Xuan, *et al.* Identification and expression of *OfACO*s gene family in *Osmanthus fragrans* [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2023, **40**(3): 492–501.
- [8] ZOU Jingjing, CAI Xuan, YANG Jie, *et al.* DNA hypomethylation mediates flower opening and senescence in sweet *Osmanthus* through auxin and ethylene responsive pathways[J/OL]. *Postharvest Biology and Technology*, 2023, **198**: 112250[2025-08-01]. DOI: [10.1016/j.postharvbio.2023.112250](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2023.112250).
- [9] BINDER B M. Ethylene signaling in plants [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2020, **295**(22): 7710–7725.
- [10] JIA Chenhao, SHI Yujiao, WANG Hao, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of small auxin up RNA (*SAUR*) genes in rice (*Oryza sativa*)[J/OL]. *Plant Signaling & Behavior*, 2024, **19**(1): 2391658[2025-08-01]. DOI: [10.1080/15592324.2024.2391658](https://doi.org/10.1080/15592324.2024.2391658).
- [11] REN Hong, GRAY W M. *SAUR* proteins as effectors of hormonal and environmental signals in plant growth [J]. *Molecular Plant*, 2015, **8**(8): 1153–1164.
- [12] LI Ming, CHEN Rui, GU Hong, *et al.* Grape small auxin upregulated RNA (*SAUR*) 041 is a candidate regulator of berry size in grape[J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, **22**(21): 11818[2025-08-01]. DOI: [10.3390/ijms222111818](https://doi.org/10.3390/ijms222111818).
- [13] WANG Jiajun, SUN Ning, ZHANG Fangfang, *et al.* *SAUR17* and *SAUR50* differentially regulate PP2C-D1 during apical hook development and *Cotyledon* opening in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2020, **32**(12): 3792–3811.
- [14] WEN Zewen, MEI Yuanyuan, ZHOU Jie, *et al.* *SAUR49* can positively regulate leaf senescence by suppressing SSPP in *Arabidopsis* [J]. *Plant & Cell Physiology*, 2020, **61**(3): 644–658.
- [15] KONG Yingying, ZHU Yubin, GAO Chen, *et al.* Tissue-specific expression of SMALL AUXIN UP RNA41 differentially regulates cell expansion and root meristem patterning in *Arabidopsis* [J]. *Plant & Cell Physiology*, 2013, **54**(4): 609–621.
- [16] SPARTZ A K, LOR V S, REN Hong, *et al.* Constitutive expression of *Arabidopsis* SMALL AUXIN UP RNA19 (*SAUR19*) in tomato confers auxin-independent hypocotyl elongation [J]. *Plant Physiology*, 2017, **173**(2): 1453–1462.
- [17] STAMM P, KUMAR P P. Auxin and gibberellin responsive *Arabidopsis* SMALL AUXIN UP RNA36 regulates hypocotyl elongation in the light [J]. *Plant Cell Reports*, 2013, **32**(6): 759–769.
- [18] MARKAKIS M N, BORON A K, van LOOCK B, *et al.* Characterization of a small auxin-up RNA (*SAUR*)-like gene involved in *Arabidopsis thaliana* development[J/OL]. *PLoS One*, 2013, **8**(11): e82596[2025-08-01]. DOI: [10.1371/journal.pone.0082596](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082596).
- [19] HU Wenfang, YAN Hanwei, LUO Shuangshuang, *et al.* Genome-wide analysis of poplar *SAUR* gene family and expression profiles under cold, polyethylene glycol and indole-3-acetic acid treatments [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, **128**: 50–65.
- [20] GUPTA O P, MEENA N L, SHARMA I, *et al.* Differential regulation of microRNAs in response to osmotic, salt and cold stresses in wheat [J]. *Molecular Biology Reports*, 2014, **41**(7): 4623–4629.

- [21] CHEN Yuzhu, HAO Xi, CAO Jun. Small auxin upregulated RNA (*SAUR*) gene family in maize: identification, evolution, and its phylogenetic comparison with *Arabidopsis*, rice, and sorghum [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2014, **56**(2): 133–150.
- [22] HU Jing, YU Qiushi, JIANG Shengxiu, *et al.* Identification and expression analysis of the small auxin-up RNA (*SAUR*) gene family in *Lycium ruthenicum* [J/OL]. *PeerJ*, 2023, **11**: e15941 [2025-08-01]. DOI: [10.7717/peerj.15941](https://doi.org/10.7717/peerj.15941).
- [23] STORTENBEKER N, BEMER M. The *SAUR* gene family: the plant's toolbox for adaptation of growth and development [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2019, **70**(1): 17–27.
- [24] ZOU Jingjing, ZHANG Jun, WANG Xiaoqian, *et al.* Comprehensive transcriptome analysis of AP2/ERFs in *Osmanthus fragrans* reveals the role of OfERF017-mediated organic acid metabolism pathway in flower senescence [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, **15**: 1467232 [2025-08-01]. DOI: [10.3389/fpls.2024.1467232](https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1467232).
- [25] XIA Hui, ZHANG Yingting, CHEN Xiang, *et al.* Genome-wide identification of *Osmanthus fragrans* histone modification genes and analysis of their expression during the flowering process and under azacytidine and ethylene treatments [J/OL]. *Plants*, 2024, **13**(6): 777 [2025-08-01]. DOI: [10.3390/plants13060777](https://doi.org/10.3390/plants13060777).
- [26] 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): 402–408.
- [27] XI Wan, HE Yanhong, ZHU Linlin, *et al.* CPTA treatment reveals potential transcription factors associated with carotenoid metabolism in flowers of *Osmanthus fragrans* [J]. *Horticultural Plant Journal*, 2021, **7**(5): 479–487.
- [28] ZOU Jingjing, LIU Dongxu, CHEN Xiang, *et al.* A multi-omics database for the biological study of *Osmanthus fragrans* [J/OL]. *Horticultural Plant Journal*, 2024 [2025-08-01]. DOI: [10.1016/j.hpj.2024.05.011](https://doi.org/10.1016/j.hpj.2024.05.011).
- [29] SPARTZ A K, LEE S H, WENGER J P, *et al.* The *saur19* subfamily of small auxin up RNA genes promote cell expansion [J]. *The Plant Journal*, 2012, **70**(6): 978–990.
- [30] BEMER M, van MOURIK H, MUÑO J M, *et al.* FRUITFULL controls *SAUR10* expression and regulates *Arabidopsis* growth and architecture [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, **68**(13): 3391–3403.
- [31] 周洁, 温泽文, 梅圆圆, 等. *SAUR72* 在拟南芥叶片衰老调控中的作用机制 [J]. 植物生理学报, 2018, **54**(3): 379–385.
ZHOU Jie, WEN Zewen, MEI Yuanyuan, *et al.* The mechanism underlying the role of *SAUR72* in *Arabidopsis* leaf senescence regulation [J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, **54**(3): 379–385.
- [32] KANT S, BI Yongmei, ZHU Tong, *et al.* *SAUR39* a small auxin-up RNA gene, acts as a negative regulator of auxin synthesis and transport in rice [J]. *Plant Physiology*, 2009, **151**(2): 691–701.
- [33] 朱诚, 刘非燕, 郭达初, 等. 桂花开花和衰老过程中乙烯及脂质过氧化水平初探 [J]. 园艺学报, 1998, **25**(3): 275–279.
ZHU Cheng, LIU Feiyan, GUO Dachu, *et al.* A preliminary study on ethylene production and lipid peroxidation in florescence and flower senescence of *Osmanthus fragrans* Lour. [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 1998, **25**(3): 275–279.
- [34] 陈洪国, 刘顺枝. 湖北咸宁地区桂花开花和衰老过程中花瓣的某些生理生化指标变化 [J]. 植物生理学通讯, 2006, **42**(1): 112–114.
CHEN Hongguo, LIU Shunzhi. Changes in some metabolite on petal during florescence and senescence of *Osmanthus fragrans* Lour. [J]. *Plant Physiology Communications*, 2006, **42**(1): 112–114.
- [35] ZOU Jingjing, ZHOU Yuan, CAI Xuan, *et al.* Increase in DNA fragmentation and the role of ethylene and reactive oxygen species in petal senescence of *Osmanthus fragrans* [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2014, **93**: 97–105.
- [36] LI Yaoyao, ZHANG Juan, QI Chunyan, *et al.* lncRNA-encoded small peptide promotes viral infection [J/OL]. *Molecular Plant Pathology*, 2025, **26**(4): e70084 [2025-08-01]. DOI: [10.1111/mpp.70084](https://doi.org/10.1111/mpp.70084).