

· 热带作物 ·

DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20240145



主持人: 张洪亮, 徐 冉

木薯 *MeAux/IAA19* 基因的克隆及功能初探

刘小丽^{1#}, 韦运谢^{1,2*}

(1. 海南大学 热带农林学院/海南省耐盐作物生物技术重点实验室, 海南 海口 570228 中国; 2. 海南大学 三亚南繁研究院, 海南 三亚 572025 中国)

摘要: 为了探究 *Aux/IAA* 基因的初步功能, 本研究克隆并鉴定了木薯 (*Manihot esculenta*) *MeIAA19* 基因, 通过生物信息学分析发现, 该基因编码 244 个氨基酸, 具有典型 *Aux/IAA* 蛋白的 PB1 保守结构域。通过构建 *MeIAA19*-pET32a 原核表达载体, 诱导表达出该蛋白, 并通过外源施加蛋白促进木薯植株活性氧爆发和 *MePRs* 基因表达量。基因表达分析表明, *MeIAA19* 基因的表达量在 *Xam* 侵染过程中随着时间的延长而增加。本研究结果显示, 木薯 *MeIAA19* 基因可能参与了木薯免疫。

关键词: 木薯; *Aux/IAA* 蛋白; 原核表达; 表达分析; 功能分析

中图分类号: S533 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-7054(2025)03-0363-07

刘小丽, 韦运谢. 木薯 *MeAux/IAA19* 基因的克隆及功能初探 [J]. 热带生物学报, 2025, 16(3): 363-369. doi: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20240145

植物激素是植物生长和发育的关键调节因子, 广泛参与植物抵御环境胁迫^[1]。植物面对外界胁迫时, 一般会激活其体内复杂的免疫调控网络, 包括植物体内激素浓度的变化、活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 的爆发、丝裂原活化蛋白激酶 (Mitogen-activated protein kinases, MAPK) 的激活、胼胝质沉积增加和防御相关基因表达等^[2]。生长素几乎存在于所有植物中, 参与植物细胞发育的各个阶段。此外, 还作为植物免疫信号网络的调节因子参与调节植物发育和防御之间的平衡^[3]。*Aux/IAA* (*Auxin/indoleacetic acid*)、*SAUR* (*small auxin-up RNA*)、*GH3* (*Gretchen Hagen 3*) 3 个家族属于生长素早期应答基因家族^[4]。其中, *Aux/IAA* 家族在生长素早期响应中起核心作用, 调控生长素信号转导的整个过程^[5]。目前, *Aux/IAA* 蛋白已被证实是生长素反应的负调节因子, 其可通过与生长素反应因子 ARF (*Auxin response factor*) 相互作用进而调节其转录活性发挥作

用^[4]。在番茄 (*Solanum lycopersicum*)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、水稻 (*Oryza sativa*)、高粱 (*Sorghum bicolor*)、玉米 (*Zea mays*) 和马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 等植物中分别鉴定 26、34、31、25、31 和 26 个 *Aux/IAA* 基因成员^[6-11]。研究表明, 拟南芥的 *AtIAA3*, *AtIAA19*, *AtIAA28* 参与其侧根的形成^[12]。小麦 (*Triticum aestivum*) *TaIAA1* 参与调控其根、叶、花等器官的发育^[13]。而番茄的 *SlIAA27* 沉默植株可提高对生长素的感应, 导致胚珠和花粉的发育均明显下降^[14]。此外, 有研究报道, *Aux/IAAs* 在各种逆境胁迫中起着关键作用, 如 *OsIAA18* 通过调节 ABA 信号传导, 参与水稻的耐旱和耐盐性^[15]; *AtIAA5*, *AtIAA6*, *AtIAA19* 则通过调节脂肪族硫代葡萄糖苷 (Glucosinolate, GLS) 的水平进而调控拟南芥耐旱性^[16]。也有研究表明, *IAAs* 参与植物的生物胁迫应答反应, 如棉花 (*Gossypium hirsutum*) 的 *GhIAA43* 表达量受黄萎菌 *Verticillium dahliae* 侵染影响, 且通过调节水杨

收稿日期: 2024-09-14

修回日期: 2024-11-05

基金项目: 海南省研究生创新科研课题资助项目 (Qhys2023-252)

*第一作者: 刘小丽 (1999—), 女, 海南大学热带农林学院 2022 级硕士研究生。E-mail: dmyvsm5q@126.com

*通信作者: 韦运谢 (1989—), 女, 研究员, 博士生导师。研究方向: 热带作物分子生物学。E-mail: 994016@hainanu.edu.cn

酸合成和信号传导相关基因表达介导棉花对 *V. dahliae* 抗性^[17], 目前, 关于热带作物木薯(*Manihot esculenta*) *Aux/IAAs* 的相关研究鲜见报道, 在不同品种(‘SC124’、‘F01’、‘16P’、‘F9I’、‘KU50’和‘C4’)中, 通过脱落酸、盐、低温、高温、干旱胁迫仅处理分析了 *Aux/IAAs* 的表达量^[18], 具体功能有待进一步探究。

木薯(*Manihot esculenta*)是重要的粮食作物和经济作物, 是世界热带和亚热带地区近 10 亿人赖以生存的主粮^[19], 也被广泛用于制药、造纸及饲料加工等行业, 是我国生产饲料、乙醇和工业淀粉等的重要原材料。在农业生产中, 木薯产量受到诸多生物和非生物因素的制约。本研究从木薯‘SC124’品种克隆了 *MeIAA19* 基因, 通过生物学信息分析、蛋白亚细胞定位和蛋白的生物学功能分析, 初步明确了 *MeIAA19* 蛋白功能, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 试验材料为木薯品种‘SC124’(‘South China 124’)的后代, 种植于海南大学海甸校区热带农业试验基地(20°03'N, 110°19'E)。

1.2 木薯总 RNA 的提取与 *MeIAA19* 基因的克隆

取适量木薯叶片进行液氮速冻, 将其充分研磨至粉末, 使用 CTAB 法^[20]提取 RNA, 反转录为 cDNA 后, -80 °C 低温储存。

根据 Phytozome 数据库中木薯 *MeIAA19* 基因的序列信息, 设计全长扩增引物 *MeIAA19-F* (ATGGCGAGCGTGCTAGGAGGC)和 *MeIAA19-R* (TCAGGTTCTGCTCTTGCAATTT)。以木薯 cDNA 为模板, 扩增 *MeIAA19* 片段。产物经琼脂糖凝胶电泳检测后进行切胶回收, 并连接至 pEASY-T3 载体中。转化后经菌落 PCR 检测, 挑选条带单一的阳性克隆测序验证。将测序对比结果与目的片段一致的菌液低温保存备用。

1.3 木薯 *MeIAA19* 生物信息学分析 通过在线软件 ProtParam 分析 *MeIAA19* 编码蛋白的理化性质。使用在线网站 InterPro 鉴定 *MeIAA19* 蛋白序列内的保守结构域。通过数据库 Phytozome13 查找 *MeIAA19* 在其他物种中的同源序列, 并运用 DNAMAN 软件进行比对。

1.4 *MeIAA19* 蛋白的亚细胞定位 利用数据库

UniProt 对木薯 *MeIAA19* 蛋白进行亚细胞定位预测。构建植物表达载体 pEGAD-*MeIAA19*, 与空载 pEGAD 分别转入 GV3101 农杆菌感受态, 并侵染烟草叶片 48 h 后, 通过激光共聚焦显微镜观察侵染的叶片。

1.5 原核表达载体的构建及诱导蛋白 根据同源重组原理重新设计引物, 并在 R 端加 Flag 标签, 以测序正确 *MeIAA19-T3* 的质粒为模板扩增目的片段, 连接至 *Bam*HI 和 *Eco*RI 酶切回收后的 pET32a 载体上, 进一步挑取单菌落进行 PCR 并酶切验证。将验证成功的质粒转入 DE3 大肠菌株中, 并诱导蛋白。菌液 OD₆₀₀ 值为 0.6 左右时, 加入 IPTG, 并取 0、1、3、6 h 样品, 离心后弃上清, 留存菌体。最后使用磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffered Saline, PBS)重悬菌体后进行检测^[21]。

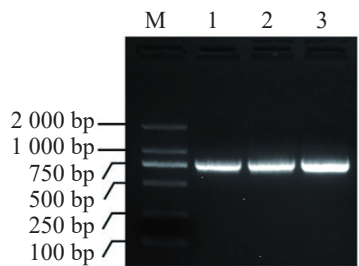
1.6 *MeIAA19* 重组蛋白的验证 将 37 °C 条件下诱导 0、1、3、6 h 的蛋白样品, 离心并重悬。在其中加入蛋白上样缓冲液, 涡旋充分, 进行 SDS-PAGE 电泳检测。电泳完成后, 分别进行考马斯亮蓝染色和 WB 检测^[22]。

1.7 *MeIAA19* 蛋白功能验证 按照 1.5 步骤摇菌诱导蛋白后, 测定 *MeIAA19*-pET32a 和 pET32a 蛋白浓度, 以 0.5 mg·mL⁻¹ 的浓度进行早晚喷施木薯叶片。3 d 后取样测活性氧并提 RNA 反转录 cDNA, 分析 *MePR1* 和 *MePR2* 的表达量。

1.8 *Xam* 侵染处理 所用 *Xam* 菌株由实验室自行分离鉴定。将 *Xam* 菌株活化后用无抗 LB 在 28 °C 条件下培养 12 h 后, 将菌液放入离心机中 4 000 r·min⁻¹, 离心 10 min 得到菌体, 用渗透液(100 mL ddH₂O 中含 1 mL 1 mol·L⁻¹ 的 MgCl₂, pH5.7)重悬菌体后接种处理木薯叶片。

2 结果与分析

2.1 *MeIAA19* 基因全长克隆 使用引物对 *MeIAA19-F/R* 对木薯叶片的 cDNA 进行 PCR 扩增, 获得约 750 bp 大小的特异亮带(图 1), 将目的片段进行回收纯化后连接 pEASY-T3 载体并转化至大肠杆菌中。通过单菌落 PCR 验证, 得到条带大小与目的片段一致的阳性克隆, 并将以上单克隆摇菌送测序。测序结果显示扩增序列片段长 732 bp, 序列比对后发现其与木薯基因组数据库中的 *MeIAA19* 基因序列一致。



M: DL2000 DNA Marker; 1 ~ 3: *MeIAA19* 的基因片段。
M: DL2000 DNA Marker; 1–3: The fragments of *MeIAA19*.

图 1 *MeIAA19* 全长扩增
Fig. 1 Amplification of full-length *MeIAA19*

表 1 *MeIAA19* 编码蛋白的理化性质

Tab. 1 The physical and chemical properties of *MeIAA19*

基因	蛋白分子量/kDa	等电点	GRAVY	脂肪系数	不稳定指数	氨基酸数量
Gene	Protein molecular weight/kD	Isoelectric point	亲水性平均值	Aliphatic index	Instability Index	Number of amino acids
IAA19	26.64	8.20	-0.515	67.90	37.71	244



图 2 *MeIAA19* 蛋白结构分析
Fig. 2 Structural analysis of *MeIAA19* protein

2.3 *MeIAA19* 蛋白同源序列分析 为了研究 *MeIAA19* 蛋白在不同植物中是否具有较高的同源性, 将 *MeIAA19* 与杨树 (*Populus deltoides*)、水稻、拟南芥、大豆 (*Glycine max*)、香蕉 (*Musa acuminata*)、番茄、马铃薯的 IAA 序列进行同源比对, 发现 IAA 蛋白在不同的植物中具有较高的特异性, 且在 C 端具有较高的保守性 (图 3)。 *MeIAA19* 与杨树中 IAA 蛋白的同源性最高, 同源性为 84.67%。

2.4 *MeIAA19* 蛋白的亚细胞定位分析 为了探究 *MeIAA19* 蛋白在植物体内的亚细胞定位, 对 *MeIAA19* 蛋白的定位进行预测, 结果表明: *MeIAA19* 蛋白定位于细胞核中 (图 4-A)。同时, 为了进一步确定其定位, 通过农杆菌侵染烟草观察荧光发现对照组 pEGAD 空载在细胞核和细胞质均分布较强的绿色荧光信号, 而融合表达载体 *MeIAA19*-pEGAD 只在细胞核观察到绿色荧光, 与 DAPI 染色结果一致, 说明 *MeIAA19* 蛋白定位于细胞核中 (图 4-B)。

2.5 原核表达载体构建及重组蛋白的诱导 提取测序正确的 *MeIAA19*-T3 菌株质粒, 并通过 PCR

2.2 *MeIAA19* 编码蛋白的生物信息学分析 使用在线工具 ProtParam 分析 *MeIAA19* 编码蛋白的理化性质, 结果显示: *MeIAA19* 编码 244 aa, 等电点为 6.63, 蛋白分子量为 26.64 kDa, 脂肪系数为 67.90, 亲水系数为 -0.515 (<0), 不稳定系数为 37.71 (<40), 属于稳定亲水蛋白 (表 1)。同时, 使用 InterPro 在线网站鉴定 *MeIAA19* 蛋白序列内的保守结构域, 发现 *MeIAA19* 蛋白在其 16 ~ 234 aa 中含有 AUX/IAA 结构域, 其中, 125 ~ 225 aa 处含有 1 个 PB1 保守结构域, 与 AUX/IAA 家族的特征一致 (图 2)。

扩增得到目的片段 (图 5-A), 通过同源连接法将 *MeIAA19* 连接到 pET32a 载体上, 再进行菌落 PCR 验证 (图 5-B), 进一步双酶切验证获得 4 个阳性克隆 (图 5-C), 表明 *MeIAA19*-pET32a 融合载体构建成功。将构建好的 *MeIAA19*-pET32a (DE3) 菌株置于 37 °C 诱导蛋白, 分别于诱导表达 0、1、3、6 h 取蛋白样品。

2.6 *MeIAA19* 重组蛋白验证 将不同时间点的蛋白样品进行超声破碎、离心, 通过考马斯亮蓝染色 (图 6-A) 和 Western blot (图 6-B) 进行验证。结果显示, 该温度下可以成功诱导目的蛋白, 并且随着诱导时间的增加, 其蛋白浓度也随之增加。

2.7 *MeIAA19* 蛋白功能验证分析 为了探究 *MeIAA19* 蛋白是否参与木薯的免疫反应, 将 *MeIAA19*-pET32a 和对照 pET32a 蛋白分别喷施于木薯叶片上, 发现喷施 *MeIAA19*-pET32a 蛋白后, 其活性氧爆发明显增加与对照组相比 (图 7-A)。同时, 实验组中 *MePRI* 的表达量是对照组 5 倍、*MePR2* 表达量是对照组的 2 倍 (图 7-B), 差异极显著, 推测该蛋白参与木薯免疫反应。

2.8 *MeIAA19* 基因在 *Xam* 处理下的表达分析 为进一步探究 *MeIAA19* 在响应生物胁迫中的功能, 分析其在 *Xam* 胁迫处理下的表达模式, 发现接种 *Xam* 后 *MeIAA19* 的转录水平在 0 ~ 24 h 内随时间的增加呈现上升的变化趋势 (图 8), 进一步表明 *MeIAA19* 可能参与木薯的免疫反应。

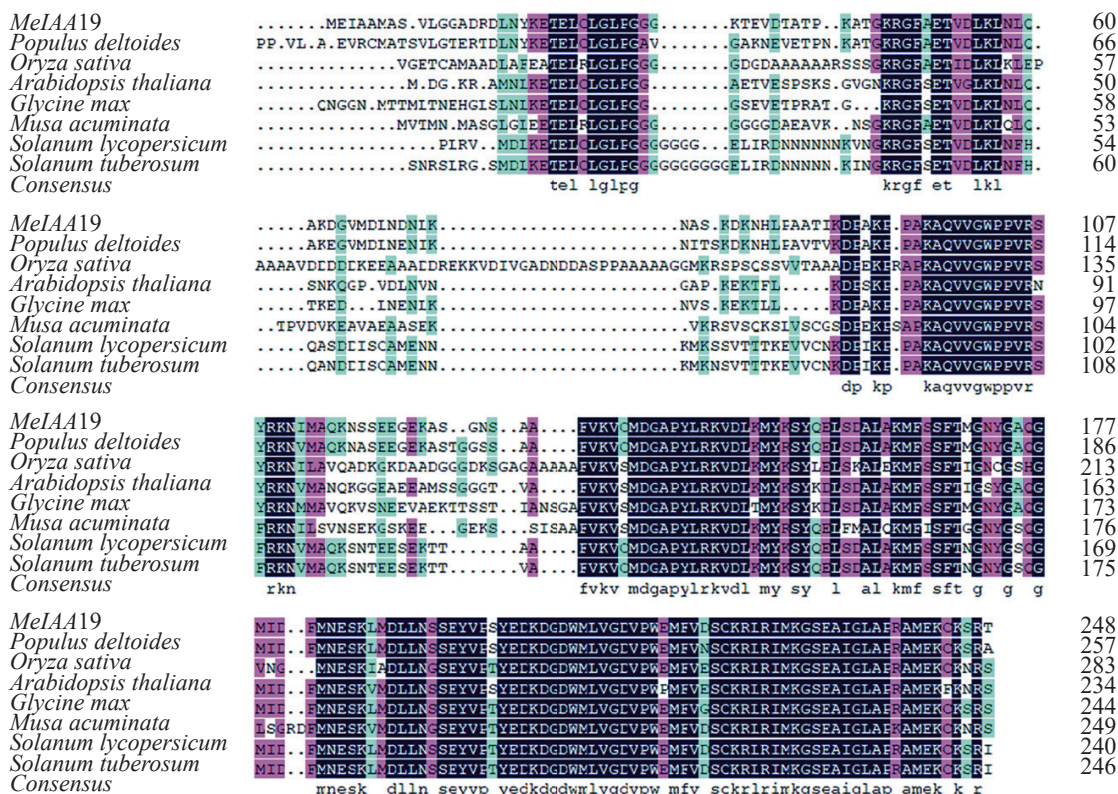


图3 MeIAA19 与不同植物中的同源基因序列比对

Fig. 3 The multiple sequence alignment of MeIAA19 with homologous genes from different plants

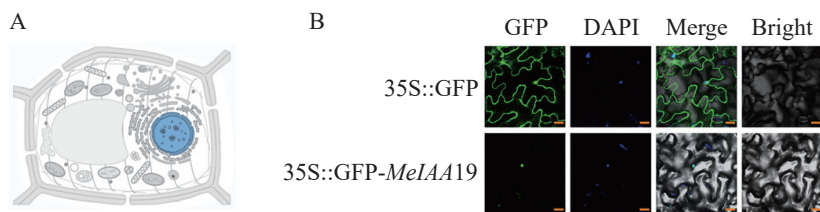
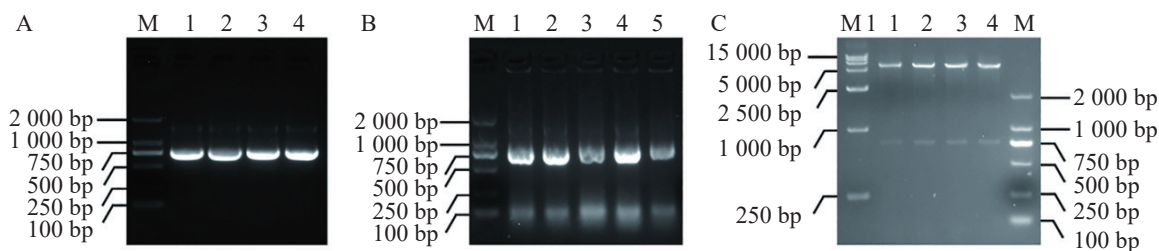


图4 MeIAA19 的亚细胞定位

Fig. 4 Subcellular localization of MeIAA19

A: MeIAA19 亚细胞定位预测; B: MeIAA19 亚细胞定位, DAPI 染色显示细胞核定位, 比例尺=20 μ m。

A: Prediction of the subcellular localization of MeIAA19; B: Subcellular localization of MeIAA19, DAPI staining showing the nuclei, scale bar = 20 μ m.



M: DL2000 DNA Marker; M1: 15 000 DNA Marker.

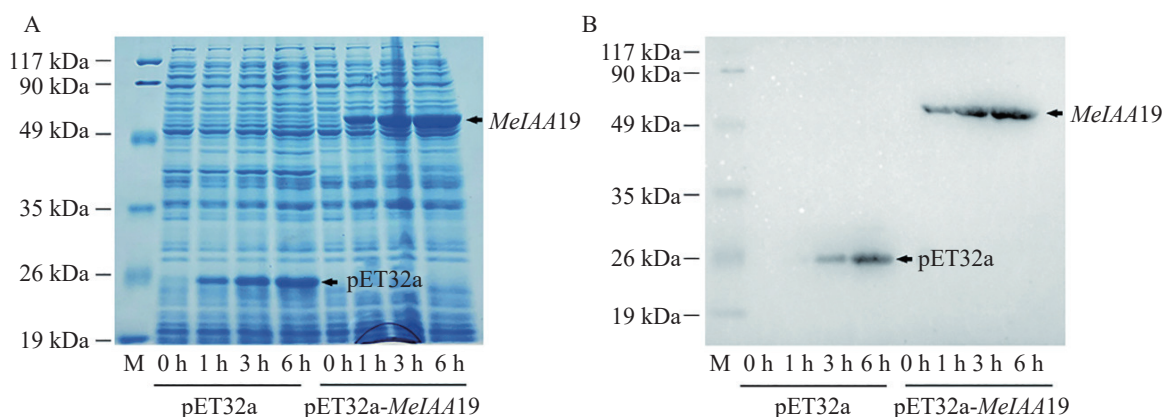
M: DL2000 DNA Marker; M1: 15 000 DNA Marker.

图5 MeIAA19-pET32a 原核表达载体构建

Fig. 5 Construction of the prokaryotic expression vector MeIAA19-pET32a

A: MeIAA19 扩增, 1~4: 以 MeIAA19-pEASY-T3 为模板扩增的 MeIAA19; B: 菌落 PCR 验证, 1~5: 不同克隆; C: 双酶切验证阳性克隆, 1~4: 不同阳性克隆。

A: Amplification of MeIAA19, 1-4: Amplification of MeIAA19 using MeIAA19-pEASY-T3 as template; B: PCR validation of the colonies, 1-5: Different clones; C: Verification of the positive clones via dual enzyme digestion, 1-4: Different positive clones.



M: 预染蛋白质分子量标准 (19~117 kDa), 箭头表示对照及目的蛋白。

M: Pre-stained color protein Marker (19–117 kDa) and the arrows indicate the control and target protein.

图6 *MeIAA19* 蛋白诱导表达

Fig. 6 Induced expression of *MeIAA19* protein

A: 考马斯亮蓝染色检验, 从左到右依次为对照蛋白的 0、1、3 和 6 h 样品, *MeIAA19*-pET32a 蛋白 0、1、3 和 6 h 的样品; B: Western blot 检验, 从左到右依次为对照蛋白的 0、1、3 和 6 h 样品, *MeIAA19*-pET32a 蛋白 0、1、3 和 6 h 的样品。

A: The test of coomassie brilliant blue staining, from left to right 0, 1, 3, and 6 h samples of control protein, and 0, 1, 3, and 6 h samples of *MeIAA19*-pET32a protein; B: The test of western blot, from left to right 0, 1, 3, and 6 h samples of control protein, and 0, 1, 3, and 6 h samples of *MeIAA19*-pET32a protein.

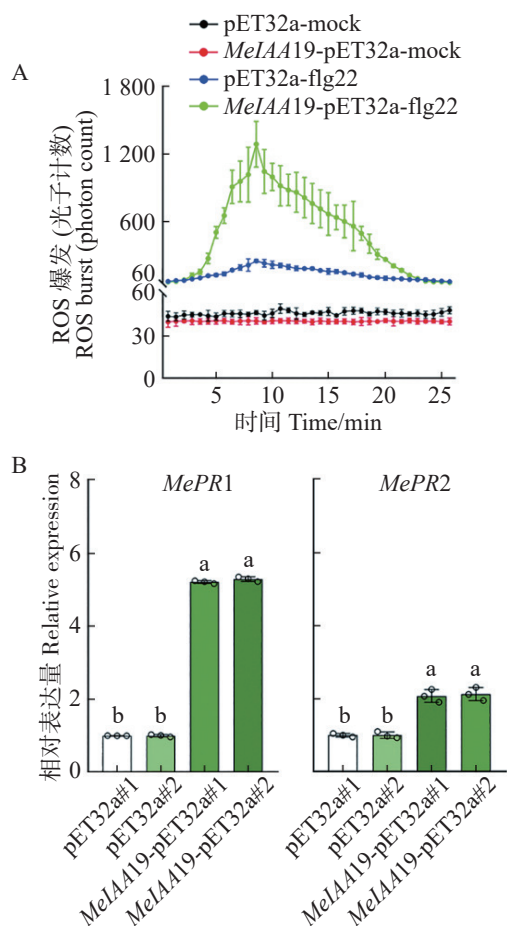
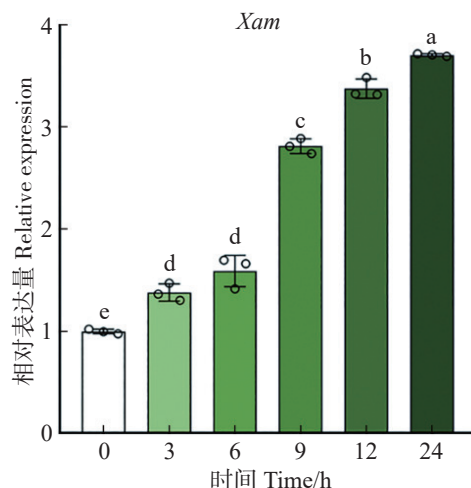


图7 *MeIAA19* 蛋白功能分析

Fig. 7 The function analysis of *MeIAA19* protein

A: Flg22 诱导的活性氧爆发, B: *MePR1* 及 *MePR2* 基因的表达分析。

A: Flg 22 induced the burst of reactive oxygen species, B: The transcript level of *MePR1* and *MePR2*.



MeIAA19 基因 0 h 的表达量设置为 1.0。所有数据至少包含三个生物重复, 每个生物重复中大约有 20 片叶子。采用双因素方差分析 (ANOVA) 和 *t* 检验计算, 不同字母表示 $P < 0.05$ 的显著差异。

The transcript level of *MeIAA19* at 0 h was set as 1.0. All data contain at least three biological replicates, with about 20 leaves each replicate. The data were subjected to two factor analysis of variance (ANOVA) and *t*-test. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) calculated by two-way ANOVA and student's *t*-test.

图8 *MeIAA19* 基因在 *Xam* 侵染下的表达分析

Fig. 8 The expression level of *MeIAA19* under *Xam* infection

3 讨论

生长素几乎在所有植物中都有存在, 广泛参与植物生长、发育及各种逆境胁迫等过程^[3, 23-24]。

AUX/IAA 家族是生长素早期响应的关键家族,是调控植物生长素反应的重要转录调节因子,与生长素反应因子相互作用发挥功能^[5-6]。

本研究从木薯中克隆并鉴定 *MeIAA19* 基因,其编码蛋白包含 1 个 Phox and Bem1p(PB1)保守结构域,该结构域促进 Aux/IAA 和 ARF 蛋白的相互作用^[25],推测 *MeIAA19* 可能与 ARF 蛋白互作,进而通过 IAA 信号介导木薯的生长发育和响应胁迫反应,还需进一步的深入探究。通过烟草瞬时转化证实 *MeIAA19* 定位于细胞核。此外,外源施加该蛋白可显著诱导木薯的活性氧爆发和免疫相关基因 *MePRs* 的表达。这些结果表明 *MeIAA19* 可能通过活性氧信号和水杨酸信号调节木薯的免疫反应,与前人的研究结果基本一致^[26]。本研究通过原核表达蛋白并分析该蛋白的功能,缩短研究周期,是一种快速研究基因功能的简单便捷的方法。

研究表明, *AUX/IAA* 基因家族参与植物免疫^[17],通过对木薯叶片进行 *Xam* 胁迫处理,发现 *MeIAA19* 转录水平随 *Xam* 侵染时间的增加呈现上升的变化趋势。在拟南芥中, *AUXIN RESISTANT2* (*AXR2*)(编码 IAA7 蛋白)和 *AUXIN RESISTANT3* (*AXR3*)(编码 IAA17 蛋白)的表达量在 *Fusarium oxysporum* 处理下被显著诱导表达,且负调控拟南芥对 *F.oxysporum* 的抗性^[27]。此外,棉花的 *GhIAA43* 通过调节水杨酸合成和信号传导相关基因(*PAL*、*PAD4*、*NPR1*、*EDS1*、*PR1*、*PR2*、*PR3* 和 *PR4*)表达介导棉花对 *V.dahliae* 抗性^[17]。同样,水杨酸通过稳定 IAA7 蛋白从而介导拟南芥对 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 (*Pst*DC3000) 的抗性^[28],推测 *MeIAA19* 可能通过介导多个信号通路参与木薯对细菌性枯萎病的抗性。同时,这些结果表明 *IAAs* 广泛参与介导植物对细菌性和真菌性病害的免疫反应。此外,研究表明 *MeIAA19* 主要在不同品种苗期和主根的形成期表达,且低温、高温、盐胁迫等非生物胁迫处理抑制其表达^[18],说明 *MeIAA19* 可能参与木薯苗期的发育和主根的形成。总之, *MeIAA19* 有望作为潜在的木薯抗病育种候选基因。这对后续探究木薯 *MeIAA19* 抗逆的调控机理奠定基础,也为发掘 *MeIAA19* 在木薯遗传改良或生物技术应用中的潜在价值提供参考。

参考文献:

- [1] ALI J, MUKARRAM M, OJO J, et al. Harnessing phytohormones: advancing plant growth and defence strategies for sustainable agriculture[J]. *Physiologia Plantarum*, 2024, 176(3): e14307.
- [2] WANG Z, LI X F, WANG X T, et al. Arabidopsis endoplasmic reticulum-localized UBAC2 proteins interact with PAMP-INDUCED COILED-COIL to regulate pathogen-induced callose deposition and plant immunity[J]. *The Plant Cell*, 2019, 31(1): 153 – 171.
- [3] KAZAN K, MANNERS J M. Linking development to defense: auxin in plant-pathogen interactions[J]. *Trends in Plant Science*, 2009, 14(7): 373 – 382.
- [4] RAMOS J A, ZENSER N, LEYSER O, et al. Rapid degradation of auxin/indoleacetic acid proteins requires conserved amino acids of domain II and is proteasome dependent[J]. *The Plant Cell*, 2001, 13(10): 2349 – 2360.
- [5] 冯寒骞, 李超. 生长素信号转导研究进展[J]. *生物技术通报*, 2018, 34(7): 24 – 30.
- [6] NEBENFÜHR A, WHITE T, LOMAX T L. The diageotropa mutation alters auxin induction of a subset of the Aux/IAA gene family in tomato[J]. *Plant Molecular Biology*, 2000, 44(1): 73 – 84.
- [7] LISCUM E, REED J W. Genetics of Aux/IAA and ARF action in plant growth and development[J]. *Plant Molecular Biology*, 2002, 49(3/4): 387 – 400.
- [8] JAIN M, KAUR N, GARG R, et al. Structure and expression analysis of early auxin-responsive *Aux/IAA* gene family in rice (*Oryza sativa*)[J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2006, 6(1): 47 – 59.
- [9] WANG Y J, DENG D X, BIAN Y L, et al. Genome-wide analysis of primary auxin-responsive *Aux/IAA* gene family in maize(*Zea mays* L.)[J]. *Molecular Biology Reports*, 2010, 37(8): 3991 – 4001.
- [10] WANG S K, BAI Y H, SHEN C J, et al. Auxin-related gene families in abiotic stress response in *Sorghum bicolor*[J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2010, 10(4): 533 – 546.
- [11] GAO J P, CAO X L, SHI S D, et al. Genome-wide survey of *Aux/IAA* gene family members in potato (*Solanum tuberosum*): identification, expression analysis, and evaluation of their roles in tuber development[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2016, 471(2): 320 – 327.
- [12] 司马晓娇, 郑炳松. 植物生长素原初响应基因 Aux/IAA 研究进展[J]. *浙江农林大学学报*, 2015, 32(2): 313 – 318.
- [13] SINGLA B, CHUGH A, KHURANA J P, et al. An early auxin-responsive *Aux/IAA* gene from wheat (*Triticum aestivum*) is induced by epibrassinolide and differentially regulated by light and calcium[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57(15): 4059 – 4070.

- [14] BASSA C, MILA I, BOUZAYEN M, et al. Phenotypes associated with down-regulation of *Sl-IAA27* support functional diversity among Aux/IAA family members in tomato[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2012, 53(9): 1583 – 1595.
- [15] WANG F B, NIU H F, XIN D Q, et al. *OsIAA18*, an Aux/IAA transcription factor gene, is involved in salt and drought tolerance in rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 738660.
- [16] SALEHIN M, LI B H, TANG M, et al. Auxin-sensitive Aux/IAA proteins mediate drought tolerance in *Arabidopsis* by regulating glucosinolate levels[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 4021.
- [17] SU Y X, WANG G L, HUANG Z Y, et al. Silencing *GhIAA43*, a member of cotton AUX/IAA genes, enhances wilt resistance via activation of salicylic acid-mediated defenses[J]. *Plant Science*, 2022, 314: 111126.
- [18] 庞祥宇. 木薯 *IAA/ARF* 基因家族预测、表达及功能分析[D]. 南宁: 广西大学, 2019.
- [19] 李远超, 李可, 王连南, 等. 木薯根组织特异性启动子的克隆及鉴定[J]. *南方农业学报*, 2023, 54(7): 1925 – 1932.
- [20] 关玲, 赵密珍, 王庆莲, 等. 改良 CTAB 方法提取果树不同组织的 RNA[J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(15): 19 – 22.
- [21] 董亚彬, 白玉晶. 木薯过氧化氢酶基因的克隆与原核表达[J]. *分子植物育种*, 2024, 22(15): 4912 – 4918.
- [22] 白玉晶, 韦运谢. 木薯金属硫蛋白基因的克隆和表达分析[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(8): 2439 – 2444.
- [23] MARTÍNEZ-DE LA CRUZ E, GARCÍA-RAMÍREZ E, VÁZQUEZ-RAMOS J M, et al. Auxins differentially regulate root system architecture and cell cycle protein levels in maize seedlings[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2015, 176: 147 – 156.
- [24] ZHANG Z J, RUNIONS A, MENTINK R A, et al. A WOX/auxin biosynthesis module controls growth to shape leaf form[J]. *Current Biology*, 2020, 30(24): 4857–4868. e6. DOI:10.1016/j.cub.2020.09.037.
- [25] LUO J, ZHOU J J, ZHANG J Z. *Aux/IAA* gene family in plants: molecular structure, regulation, and function[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(1): 259.
- [26] 樊书宏. 木薯 Aux/IAA 家族分离鉴定及其在木薯细菌枯萎病抗性反应的功能[D]. 海口: 海南大学, 2019. doi:10.27073/d.cnki.ghadu.2019.000885.
- [27] KIDD B N, KADDOO N Y, DOMBRECHT B, et al. Auxin signaling and transport promote susceptibility to the root-infecting fungal pathogen *Fusarium oxysporum* in *Arabidopsis*[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2011, 24(6): 733 – 748.
- [28] WANG D, PAJEROWSKA-MUKHTAR K, CULLER A H, et al. Salicylic acid inhibits pathogen growth in plants through repression of the auxin signaling pathway[J]. *Current Biology*, 2007, 17(20): 1784 – 1790.

Cloning and preliminary functional analysis of *MeIAA19* in cassava

LIU Xiaoli^{1#}, WEI Yunxie^{1,2*}

(1. School of Tropical Agriculture and Forestry/Key Laboratory of Biotechnology of Salt Tolerant Crops of Hainan Province, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Sanya Institute of Breeding and Multiplication, Hainan University, Sanya, Hainan 572025, China)

Abstract: Auxin is widely present in plants and plays an important role in mediating plant development and disease resistance. The *Aux/IAA* family are widely involved in the early response of auxin and regulate the entire process of auxin signal transduction. In order to study the characteristics of Aux/IAA and their roles in response to stresses, this study cloned and identified the *MeIAA19* from cassava, which encodes 244 aa with a typical PB1 conserved domain of Aux/IAA proteins. Additionally, *MeIAA19* protein, expressed and purified from DE3 strains, could significantly induced ROS burst and *MePR1* and *MePR2* expression. Moreover, the expression level of *MeIAA19* significantly increased with time under *Xam* infection. These results will provide a certain theoretical basis for exploring the function and mechanism of action of the *MeIAA19* in cassava.

Keywords: cassava; Aux/IAA proteins; prokaryotic expression; expression analysis; functional analysis

(责任编辑: 潘学峰)