

低温胁迫下水稻苗期低温失绿突变体 *cisc(ta)* 的 miRNA 表达谱分析

龚晓平, 张致力* (重庆市渝东南农业科学院, 重庆 408000)

摘要 [目的] 鉴定水稻耐冷相关功能基因、解析其调控耐冷性的分子机制。[方法] 以耐冷籼稻材料“P1211”和冷敏型籼稻突变体 *cisc(ta)* 为试验材料, 进行了低温胁迫处理和水稻幼苗转录组测序分析。[结果] 冷敏型突变体 *cisc(ta)* 低温胁迫处理后共有 4 542 个差异表达基因, 其中有 3 673 个基因上调, 869 个基因下调。在冷敏突变体 *cisc(ta)* 的差异表达基因中筛选到一些与低温胁迫相关的典型基因, 如基本的螺旋-环-螺旋(bHLH)、活性氧清除(SOD1)和富亮氨酸重复序列(LRR)等调控基因, 此外, 还筛选出一些与生长素、脱落酸(ABA)、赤霉素(GA)和冷应激反应调控(DREB/CBF)等相关的基因。为了确认 RNA-seq 数据, 随机选择差异表达基因进行实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)表达分析, 结果与这些基因的 RNA-seq 表达测定一致, 证实了 RNA-seq 数据的准确性。[结论] 该研究为水稻耐冷机理的研究和筛选水稻遗传改良有用的候选基因奠定基础。

关键词 水稻(*sativa* L.); 低温胁迫; 耐冷性; 表达分析

中图分类号 Q943.2 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)19-0090-05

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2021.19.022



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Analysis of miRNA Expression Profiles of a Cold-induced Seedling Chlorosis Gene(*cisc(ta)*) in Rice under Cold Stress

GONG Xiao-ping, ZHANG Zhi-li (Yudongnan Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 408000)

Abstract [Objective] To identify genes for cold tolerance and understand its underlying molecular mechanism of its regulation of cold tolerance. [Method] In the present study, a cold tolerance variety ‘P1211’ and a cold sensitive variety ‘*cisc(ta)*’ were used for transcriptomics analysis under low temperature stress. [Result] The results showed that in response to cold, a total of 4 542 differentially expressed genes (DEGs) were detected in *cisc(ta)*, including 3 673 up-regulated and 869 down-regulated genes. Many common and special DEGs were analyzed in *cisc(ta)*. Some typical genes related to cold stress such as the basic helix-loop-helix (bHLH) gene, superoxide dismutase (SOD1) and leucine-rich repeat (LRR) domain gene etc. In addition, some genes related to several plant hormones such as auxin, abscisic acid (ABA), gibberellic acid (GA) and dehydration responsive element binding protein/C-repeat binding factor (DREB/CBF) were identified. To confirm the RNA-seq data, qRT-PCR were performed on 7 randomly selected DEGs. The expression patterns of RNA-seq on these genes corresponded with the qRT-PCR method, which further confirmed the accuracy of RNA-seq results. [Conclusion] This study provides some insights into the cold tolerance mechanism and digging out useful candidate genes for genetic improvement in rice.

Key words Rice; Low temperature stress; Cold tolerance; Expression analysis

鉴定水稻耐冷性新的基因, 揭示水稻耐冷性可能的分子机制, 开展耐冷性新种质创制和新品种选育是解决水稻低温冷害的根本途径。水稻在长期的自然进化和人工驯化过程中形成了复杂而高效应对低温胁迫的内部调控机制, 以抵御和适应低温胁迫^[1]。近年来, 随着高通量测序技术的迅速发展, 全基因组表达分析已被广泛应用于水稻耐逆功能基因组学研究, 为植物耐逆相关基因鉴定和分子机制研究提供详实、深度的数据^[2]。Wang 等^[3]通过对耐寒水稻的转录组分析, 鉴定了 121 个冷胁迫处理诱导的基因, 发现活性氧(ROS)-bZIP1 调节因子在冷胁迫的早期反应中发挥重要作用。Zhang 等^[4]通过对耐寒水稻 LTH 和冷敏感水稻 IR29 转录组的比较, 发现耐寒基因型中许多抗逆基因的表达均在冷处理后上调。进一步分析表明, C-repeat binding factor (CBF) 和 MYB3 调节因子与水稻对冷胁迫的耐受性相关。Yang 等^[5]对耐寒水稻 TNG67 和耐寒水稻 TCN1 的低温响应进行了转录组比较分析。耐寒基因型比冷敏感基因型具有更快速的抗寒基因表达变化, 这与蛋白质的代谢、修饰、折叠和防御反应有关。TNG67 的转录因子 OsMyb、OsbHLH、OsIAA23、SNAC2 和 OsWRKY1v2 可能是水稻耐冷相关基因的良好候选基因。通过对一个特定耐寒水稻品种的比较芯片数据分析

析, 揭示了 CBF 和 ABA 响应元件(ABRE)调控因子之间的复杂交叉, 以及脱落酸(ABA)信号在水稻耐寒性中的作用^[6]。Shen 等^[7]利用 RNA 序列分析技术, 在冷胁迫下比较了 2 个耐寒野生稻品种, 结果表明共有 318 个差异表达基因是与耐寒性相关的常见差异表达基因。进一步研究表明, 钙信号转导可能在水稻的冷胁迫响应中起主导作用, RNA 解旋酶可能直接参与冷胁迫下水稻的温度感知。

为了进一步理解水稻的冷反应机制, 发掘新的耐冷基因并利用水稻分子育种手段提高水稻苗期耐冷性, 该研究以冷敏型籼稻突变体 *cisc(ta)* 为试材, 以耐冷籼稻材料“P1211”为对照, 对试材进行了低温处理, 依托 illumina 公司的 HiSeq4000, PE150 平台对低温处理后的水稻幼苗进行转录组差异分析, 然后利用 DEGs 的途径富集分析和基因本体(GO)富集分析来揭示水稻对冷胁迫响应的生物学过程, 以期鉴定出控制水稻突变体 *cisc(ta)* 耐冷缺失的潜在候选基因, 为全面、深入了解水稻耐冷性的分子机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料 将重庆渝东南农业科学院开展水稻育种过程中发现的 1 个苗期低温失绿突变体材料命名为 *cisc(ta)* (cold-induced seedling chlorosis)。经连续多代自交加代得到纯合的稳定遗传株系, 萌发期和苗期表现为对低温敏感叶片呈白色。在低温胁迫下, 对突变体 *cisc(ta)* 的全基因组表达谱分析均以选育的耐冷籼稻恢复系材料“P1211”为对照。该试验以突变体 *cisc(ta)* 和材料“P1211”(WT)为试验材料。

基金项目 重庆市基础研究及前沿探索项目(cstc2018jcyjAX0447)。

作者简介 龚晓平(1980—), 男, 重庆人, 副研究员, 博士, 从事水稻遗传育种、分子生物学研究。* 通信作者, 研究员, 从事水稻遗传育种研究。

收稿日期 2021-02-13

1.2 低温胁迫处理 各选取突变体 *cisc(ta)* 与“P1211”(WT)籽粒饱满的种子进行浸种、催芽,将萌发一致的芽谷分别播种于 8 个塑料盘中,每盘材料为 1 个生物学重复。在 28 °C/25 °C,14 h/10 h 光暗交替培养,植株生长到 3 叶期时,将植株分别置于 12 °C 和 28 °C 的人工气候箱,光子照度为 180 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 。光照 12 h 和黑暗 12 h 作低温处理,处理 14 d 后,分别取 50 株幼苗叶片作为 2 个温度处理样本,设置 2 个重复,取样后立即液氮冷冻,并置于 -80 °C 低温保存。

1.3 RNA 提取及 RNA-seq 分析 选用北京天根生化有限公司的 RNA 提取试剂盒分别提取“P1211”、*cisc(ta)* 幼苗在 12 °C 和 28 °C 处理 14 d 的组织样本, RNA 质量标准是 RIN 值大于 0.8,总量大于 3 μg 。使用带有 Oligo(dT) 的磁珠富集 mRNA 进行建库,得到上机用的 cDNA。采用 illumina 公司的 HiSeq4000, PE 150 平台上机测序。平均每个样本得到 6 g 以上 clean data, clean data 通过 HTSeq(v 0.5.4 p3) 软件对各样品进行基因表达水平分析,使用 DEGseq (2010) R 软件包对 2 个样本进行差异表达分析,筛选差异基因的标准是: logFC 值的绝对值大于 1, $P < 0.05$ 。

1.4 实时荧光定量 PCR 检测 随机选择差异表达基因进行 RT-qPCR 验证。根据转录组筛选的差异基因在 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 进行查询并根据其序列设计 RT-qPCR 特异性引物,样品和内参基因 (ACTIN) 各设 3 次重复,定量表达分析采用定量 PCR 仪自带软件 Bio-Rad CFX Manager V2.0 进行分析,收集样品的 C_t 值, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 公式在 Excell 中计算各基因的相对表达量。

2 结果与分析

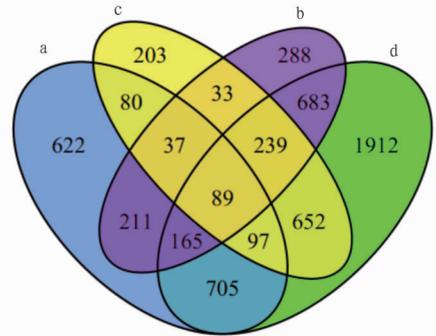
2.1 “P1211”和 *cisc(ta)* 转录组差异表达分析 在低温胁迫下对 2 个处理样本 WT (“P1211”) 和 *cisc(ta)* 差异表达基因 (DEG) ($P < 0.05$) 的数据进行分析,共 4 个差异比较组,分别为 *cisc(ta)*₁₂ vs WT₁₂ (表示 *cisc(ta)*₁₂ 处理与 WT₁₂ 处理的比较,若基因表达水平增高,则表示 *cisc(ta)*₁₂ 中的基因表达水平比 WT₁₂ 中的基因表达水平高,下同), *cisc(ta)*₁₂ vs *cisc(ta)*₂₈, *cisc(ta)*₂₈ vs WT₂₈ 和 WT₁₂ vs WT₂₈ (表 1)。在低温胁迫下,冷敏型突变体 *cisc(ta)* (*cisc(ta)*₁₂ vs *cisc(ta)*₂₈) 共有 4 542 个差异表达基因,其中有 3 673 (81%) 个基因上调, 869 (19%) 个基因下调,而 WT (WT₁₂ vs WT₂₈) 共有 2 006 个差异表达基因,其中有 1 384 (69%) 个基因上调, 622 (31%) 个基因下调 (表 1)。在 12 °C 条件下, *cisc(ta)*₁₂ vs WT₁₂ 组总共有 1 745 个差异表达基因被检测到,其中, 1 104 (63%) 个基因上调和 641 (37%) 个基因下调。在 28 °C 条件下, *cisc(ta)*₂₈ vs WT₂₈ 组总共有 1 430 个差异表达基因被检测到,其中, 338 (24%) 个基因上调和 1 092 (76%) 个基因下调 (表 1)。维恩图分析结果显示,在 12 °C 和 28 °C 处理下, WT 的差异表达基因和突变体 *cisc(ta)* 的差异表达基因存在重叠,共有 398 个重叠的差异表达基因,其中,只有 89 个差异表达基因可能参与响应低温环境胁迫、调控耐寒缺失突变基因的表达 (图 1)。这 89 个差异表达基因中存在与光合作用和前体物

质能量代谢相关的基因,这个结果表明 *CISC(ta)* 基因不仅仅是低温胁迫的响应因子,更可能是直接影响水稻光合作用和前体物质代谢相关的基因。

表 1 差异比较组表达基因及其上调与下调基因数量统计

Table 1 Number of up-regulated and down-regulated DEGs in different type of comparison

组别 Identifier	上调基因 Up-regulated DEGs	下调基因 Down-regulated DEGs	合计 Total
<i>cisc(ta)</i> ₁₂ vs WT ₁₂	1 104	641	1 745
<i>cisc(ta)</i> ₁₂ vs <i>cisc(ta)</i> ₂₈	3 673	869	4 542
<i>cisc(ta)</i> ₂₈ vs WT ₂₈	338	1 092	1 430
WT ₁₂ vs WT ₂₈	1 384	622	2 006



注: a. WT₁₂ vs WT₂₈; b. *cisc(ta)*₁₂ vs *cisc(ta)*₂₈; c. *cisc(ta)*₂₈ vs WT₂₈; d. *cisc(ta)*₁₂ vs WT₁₂

图 1 差异表达基因维恩图

Fig. 1 Venn diagram of DEGs

2.2 差异表达基因的 qRT-PCR 荧光定量表达验证 为了验证转录组测序结果的可靠性,选取 5 个上调差异表达基因, 2 个下调差异表达基因,在 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 进行查询并根据其序列设计 RT-qPCR 特异性引物,对转录组测序结果中差异基因表达模式进行验证,以对照组中各基因表达量为 1 来统计各处理组的基因表达量。结果显示,在 2 个品种中各基因的表达变化趋势与转录组测序的变化一致,尽管转录组测序分析与 RT-qPCR 分析获得的基因差异倍数在数值上不完全一致,但差异基因在 2 个试验材料的表达变化趋势基本相同,说明转录组分析获得的差异基因结果可靠 (图 2, 表 2)。

2.3 差异表达基因 GO 分类和显著性富集分析 借助 Gene Ontology (GO) 对 DEGs 进行功能分类分析^[8],结果显示, 6 016 个 DEGs 被聚类在 1 个或者多个功能类别中,如生物学过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF) 3 个大类 GO terms。进一步的分析表明,这些 DEGs 显著富集 ($P < 0.05$) 在 467 不同的小 GO terms 中。通过这种方法鉴定出许多调控蛋白和功能蛋白 (图 3)。其中涉及到信号传导的转录因子和蛋白激酶在各种胁迫条件下常常扮演着保护角色。进一步结合突变体的表型特征,从转录组数据中筛选到与响应低温环境胁迫、光合作用和前体物质能量代谢等调控的差异表达基

因。这些冷响应差异表达基因与生长素、脱落酸(ABA)等植物激素、活性氧清除(SOD1)、冷应激反应调控(DREB/CBF)、基本的螺旋-环-螺旋(bHLH)基因、冷胁迫相关的富亮氨酸重复(LRR)结构域基因以及一些转录因子有关,由表3可知,参与信号转导通路的植物激素有NAC1(Os02g0579000)、NAC6(Os03g081510)、SAPK1(Os03g0390200)、SAPK3(Os10g0564500)和SAPK5(Os04g0691100);参与活性氧清除的基因有SOD1(Os04g0573200)和OXS3(Os02g0684400);冷胁迫相关的富亮氨酸重复(LRR)结构域

基因有Os02g0138000、Os03g0637600和Os05g0406800;对冷胁迫响应最典型的转录因子有MYB基因的DEGs(Os10g0561400、Os01g0841500)、冷应激反应调控基因OsCBF3(Os02g0677300)、bHLH基因的DEGs(Os01g0952800、Os03g0741100)、WRKY基因的4个DEGs(Os03g0758900、Os11g0490900、Os05g0137500和Os01g0826400)。以上结果为鉴定分离出控制水稻突变体*cisc(ta)*耐冷缺失、叶绿体发育受阻引起叶片白化的潜在候选基因奠定了基础。

表2 差异表达基因实时定量引物序列

Table 2 RT-qPCR primers for DEGs

序号 No.	基因号 Gene ID	正向引物(5'—3') Forward primer(5'—3')	反向引物(5'—3') Reverse primer(5'—3')
1	OS12G0563200	TTGGGGACTCGCTAGACTTGC	GTGATGAAACGGGACGAGGC
2	OS02G0677300	GAGTCCGAGTACAAGTACCTCAG	CATTTCGTAACAAGGCTGATCTG
3	OS09G0522200	ACCTGTACTACGGAGCCTTG	AGTAGCTCCAGAGTGGAC
4	OS07G0545800	AACTCTGGCACAAACATCTACCG	TTTCAGATTTGCTCAAGGGACTC
5	OS06G0662200	ACTCGAATCACAGGTGCGAGCAACT	TGTCCTGACCCGCTGTATTGAACT
6	OsActin	GACCCAGATCATGTTTGAGACCT	CAGTGTGGCTGACACCATCAC

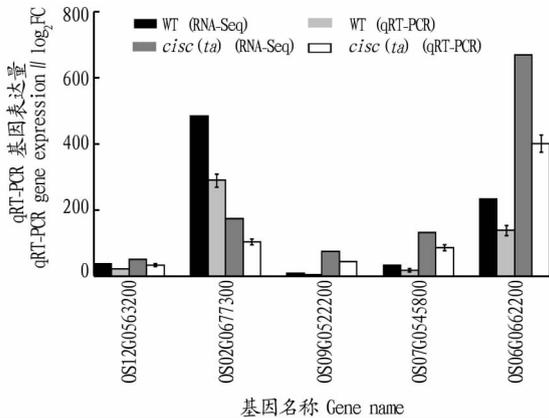


图2 RNA-Seq和RT-qPCR基因表达水平比较

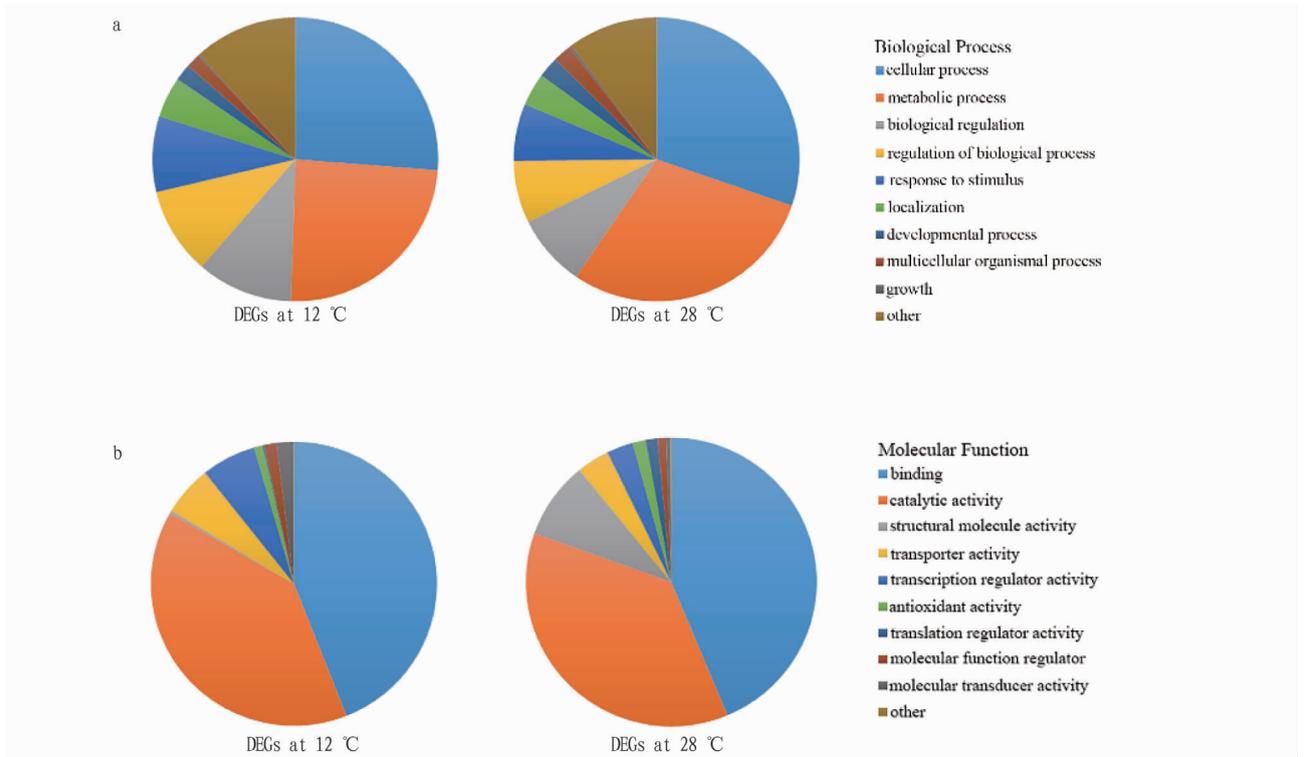
Fig. 2 Comparison of RNA-Seq and RT-qPCR gene expression levels

3 结论与讨论

冷胁迫是限制植物产量和品质的主要环境因素,研究植物对冷胁迫的响应机制对遗传改良植物品种耐冷性具有重要意义。当植物遭受低温胁迫时,能够通过信号传导使其体内在分子、细胞、生理和生化水平上作出相应调整,及时产生一系列的刺激应答以抵御和适应低温胁迫^[9]。植物耐冷机制涉及多个方面,包括膜脂组成的变化、抗氧化酶活性的提高以及低温相关基因的诱导表达变化等^[10]。近年来,随着新一代测序技术的发展,特别是高通量测序技术(High-throughput sequencing)的应用,为生物科研工作者提供了便利,为遗传信息的揭示和基因表达调控的研究提供了重要的数据信息。该研究以耐冷籼稻材料“P1211”为对照,对冷敏型籼稻突变体*cisc(ta)*和对照WT(“P1211”)进行了低温胁迫和转录组测序,结果表明,低温胁迫处理后有3673个基因上调,869个基因下调,而WT共有2006个差异表达基因,其

中有1384个基因上调,622个基因下调。维恩图分析结果显示,WT和突变体*cisc(ta)*在12℃和28℃处理下存在差异表达基因的重叠。WT和突变体*cisc(ta)*在2个温度下398个共同的差异表达基因中,只有89个差异表达基因可能参与响应低温环境胁迫。这89个差异表达基因中存在与光合作用和前体物质能量代谢相关的基因,这与突变体*cisc(ta)*耐冷性缺失、叶绿体发育受阻引起的叶片白化的突变体表型基本一致,这个结果表明*cisc(ta)*基因不仅仅是低温胁迫的响应因子,更可能是直接影响水稻光合作用和前体物质代谢相关的基因。为鉴定出控制水稻突变体*cisc(ta)*耐冷缺失的潜在候选基因奠定基础。

在差异表达基因背景下GO富集分析显示,大部分GO term主要集中在生物学功能(20个),其次是细胞组分(3个)和分子功能(10个)。这些结果表明,*cisc(ta)*在调节生物学功能方面起着重要作用。在*cisc(ta)*₁₂和WT₁₂之间差异表达基因显著富集:对含氧化合物的反应(GO:1901700)、对刺激的反应(GO:0050896)、防御反应的调节(GO:0031347)、信号转导(GO:0007165)、对温度刺激的反应(GO:0009266)、叶绿体(GO:0009507)、转移酶活性、转移己糖基(GO:0016758)、细胞碳水化合物代谢过程(GO:0044262)等。在*cisc(ta)*₂₈和WT₂₈之间差异表达基因显著富集:有机氮化合物的生物合成过程(GO:1901566)、有机物生物合成过程(GO:1901576)、光合作用(GO:0015979)、叶绿体(GO:0009507)等。这些涉及到信号传导的转录因子和蛋白激酶在各种胁迫条件下常常扮演着保护角色,这种保护角色的某些基因发生突变,就会导致响应低温环境胁迫、光合作用和前体物质能量代谢等调控功能失效,使水稻植株细胞功能受损甚至植株死亡。



注:a 生物学进程类别;b 分子功能类别

Note:a. The biological process category;b. The molecular function category

图3 通过 GO 富集分析方法鉴定在 12 °C 和 28 °C 条件下各自差异表达基因并分类
Fig. 3 The GO annotation of enriched proteins in DEGs at 12 °C and 28 °C, respectively

表3 低温胁迫下差异表达基因的注释信息

Table 3 The DEGs annotation information under low temperature stress

基因编号 Gene ID	转录变化 (Log ₂ 变化倍数) Transcriptional change (Log ₂ fold change)		基因功能注释 Annotation
	<i>cisc(ta)</i> ₁₂ vs <i>cisc(ta)</i> ₂₈	WT ₁₂ vs WT ₂₈	
Os02g0579000	5.993 7	2.964 3	NAC 家族转录因子(NAC1)
Os01g0826400	4.105 8	2.556 7	低温胁迫转录因子(WRKY 24)
Os05g0406800	2.822 6	2.953 8	富亮氨酸重复序列(LRR) 含 N-terminulll 结构域蛋白
OS12G0563200	2.486 1	1.705 0	质体核糖体小亚基蛋白 S6, 低温下叶绿体发育
OS09G0522200	2.479 9	0.864 2	元件结合蛋白(DREB1A)
Os04g0573200	2.006 0	2.039 0	超氧化物歧化酶, 含铜/锌结合结构域的蛋白质(SOD1)
Os07g0545800	1.798 5	2.462 0	类似于几丁质诱导的赤霉素反应蛋白
Os11g0490900	1.257 1	3.686 6	低温胁迫转录因子(WRKY 72)
Os02g0677300	10.080 0	-0.529 9	脱水反应元件结合蛋白 DREB/CBF (OsCBF3)
Os02g0138000	6.477 7	-2.391 7	富亮氨酸重复序列(LRR)的植物特异性蛋白质
Os03g0741100	5.134 6	-1.369 2	基本的螺旋-环-螺旋蛋白(bHLH)
Os03g0637600	4.600 2	-0.271 1	富亮氨酸重复序列(LRR)的植物特异性蛋白质
Os03g0758900	3.893 5	-0.852 4	低温胁迫转录因子(WRKY 4)
Os01g0952800	2.155 8	-2.296 6	基本的螺旋-环-螺旋蛋白(bHLH)
OS03G0815100	1.127 4	-2.052 4	类似于生长素 NAC6 蛋白
OS04G0578400	-2.240 6	5.501 0	类似于 β 环羟化酶
Os03g0390200	-1.818 6	0.478 8	ABA 应激蛋白(SAPK1)
Os10g0564500	-0.070 5	2.322 6	ABA 应激蛋白(SAPK3)
Os01g0841500	-0.336 1	0.412 2	耐冷调控转录因子(OsMYB3R2)
Os09g0481700	-3.314 8	-0.765 8	低温胁迫转录因子(WRKY 90)
Os02g0684400	-2.700 5	-2.675 8	氧化应激蛋白(OXS3)
Os10g0561400	-2.129 7	-1.105 5	类似于 Myb 转录因子(MYBS3)
Os04g0691100	-0.876 8	-0.352 8	ABA 应激蛋白(SAPK5)
Os05g0137500	-0.756 5	-0.285 4	低温胁迫转录因子(WRKY 5)
Os06g0612800	-0.298 3	-0.183 8	胁迫应激蛋白(OsSAP8)

植物已经建立了利用防御酶提高抗寒能力的高效活性氧清除体系,这些防御酶在植物细胞中对 ROS 的积累起着积极的抑制作用^[11]。在该研究中,还检测了参与活性氧清除的基因 SOD1 (Os04g0573200) 和 OXS3 (Os02g0684400)。与 Os04g0573200 同源的 AT1G12520 编码 SOD1 的铜伴侣蛋白,在响应铜和衰老时 SOD1 上调^[12],AT5G56550 (拟南芥 Os02g0684400 的同源基因) 编码 OXS3 参与重金属和氧化应激^[13]。许多激素如生长素,脱落酸(ABA)和赤霉素(GA)在植物对非生物胁迫的适应性反应中发挥重要作用^[14]。该研究检测到几个与生长素信号通路相关的 DEGs,如 NAC1 (Os02g0579000)。与水稻 NAC1 基因同源的甘蓝型油菜基因 AT1G56010 参与响应各种生物和非生物胁迫,如病原感染、物理伤害、低温和干旱^[15]。SnRK2 蛋白激酶(SAPK)家族通过 ABA 介导的信号通路参与冷胁迫应答^[16]。在该研究中,检测到 3 个编码这些蛋白的 DEGs。SAPK1 (Os03g0390200) 和 SAPK3 (Os10g0564500) 在 WT 中表达上调,而在突变体 *cisc (ta)* 中表达下调。SAPK5 (Os04g0691100) 同时在 WT 和 *cisc (ta)* 中表达下调。ABA 介导的信号通路是如何参与水稻冷胁迫应答仍有待进一步研究。转录因子及其相关调控基因对植物的耐寒性至关重要,在植物中具有复杂的调控网络,能调控酶蛋白和代谢产物^[17]。DREB/CBF 通过调节许多转录组和代谢变化参与冷应激反应^[3]。ICE1 是拟南芥中的 bHLH 蛋白,其与 CBF3 启动子区特异性结合并促进 CBF3 的表达,从而提高对冷胁迫的耐受性^[18]。在该研究中,在水稻中发现 CBF3 基因 (Os02g0677300) 在 *cisc (ta)* 中受到冷胁迫的诱导。这些基因是否与水稻耐冷机制有关,在低温环境下这些基因在水稻中是如何发挥作用来缓解低温带来的伤害有待进一步研究。该研究为鉴定控制水稻突变体 *cisc (ta)* 耐冷缺失的潜在候选基因奠定基础,同时为水稻抗寒育种提供了水稻耐低温胁迫的基因资源。

参考文献

- [1] 郭慧,李树杏,孙平勇,等. 水稻苗期耐冷性差异的转录组分析[J]. 分子植物育种,2020,18(6):1731-1739.
- [2] BASHIR K,MATSUI A,RASHEED S,et al. Recent advances in the char-

- acterization of plant transcriptomes in response to drought, salinity, heat, and cold stress[J]. F100 research,2019,8:1-8.
- [3] WANG D Z,JIN Y N,DING X H,et al. Gene regulation and signal transduction in the ICE-CBF-COR signaling pathway during cold stress in plants[J]. Biochemistry (Moscow),2017,82(10):1103-1117.
- [4] ZHANG T,ZHAO X Q,WANG W S,et al. Comparative transcriptome profiling of chilling stress responsiveness in two contrasting rice genotypes [J]. PLoS One,2012,7(8):1-12.
- [5] YANG Y W,CHEN H C,JEN W F,et al. Comparative transcriptome analysis of shoots and roots of *TNG67* and *TCN1* rice seedlings under cold stress and following subsequent recovery: Insights into metabolic pathways, phytohormones, and transcription factors[J]. PLoS One,2015,10:1-37.
- [6] HOSSAIN M A,CHO J I,HAN M,et al. The ABRE-binding bZIP transcription factor OsABF2 is a positive regulator of abiotic stress and ABA signaling in rice[J]. J Plant Physiol,2010,167(17):1512-1520.
- [7] SHEN C X,LI D,HE R H,et al. Comparative transcriptome analysis of RNA-seq data for cold-tolerant and cold-sensitive rice genotypes under cold stress[J]. J Plant Biol,2014,57(6):337-348.
- [8] ASHBURNER M,BALL C A,BLAKE J A,et al. Gene ontology: Tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium[J]. Nat Genet,2000,25(1):25-29.
- [9] 刘辉,李德军,邓治. 植物应答低温胁迫的转录调控网络研究进展[J]. 中国农业科学,2014,47(18):3523-3533.
- [10] 倪郁,宋超,王小清. 低温胁迫下拟南芥表皮蜡质的响应机制[J]. 中国农业科学,2014,47(2):252-261.
- [11] DUBEY A K,KUMAR N,KUMAR A,et al. Over-expression of *CarMT* gene modulates the physiological performance and antioxidant defense system to provide tolerance against drought stress in *Arabidopsis thaliana* L[J]. Ecotoxicol Environ Saf,2019,171:54-65.
- [12] KUO W Y,HUANG C H,JINN T L. Chaperonin 20 might be an iron chaperone for superoxide dismutase in activating iron superoxide dismutase (FeSOD)[J]. Plant Signal Behav,2013,8(2):1-4.
- [13] BLANVILLAIN R,KIM J H,WU S,et al. OXIDATIVE STRESS 3 is a chromatin-associated factor involved in tolerance to heavy metals and oxidative stress[J]. Plant J,2009,57(4):654-665.
- [14] PELEG Z,BLUMWALD E. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants[J]. Curr Opin Plant Biol,2011,14(3):290-295.
- [15] HEGEDUS D,YU M,BALDWIN D,et al. Molecular characterization of *Brassica napus* NAC domain transcriptional activators induced in response to biotic and abiotic stress[J]. Plant Mol Biol,2003,53(3):383-397.
- [16] KOBAYASHI Y,YAMAMOTO S,MINAMI H,et al. Differential activation of the rice sucrose nonfermenting1-related protein kinase2 family by hyperosmotic stress and abscisic acid[J]. Plant Cell,2004,16(5):1163-1177.
- [17] CUSHMAN J C,BOHNERT H J. Genomic approaches to plant stress tolerance[J]. Curr Opin Plant Biol,2000,3(2):117-124.
- [18] CHINNUSAMY V,OHTA M,KANRAR S,et al. ICE1: A regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in *Arabidopsis* [J]. Genes Dev,2003,17(8):1043-1054.