

引用格式:

张伏中, 蔡青, 宋江燕, 胡龙兴, 吴根义. 水稻幼苗响应氰化物胁迫的基因表达谱差异分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2022, 48(5): 528–535.

ZHANG F Z, CAI Q, SONG J Y, HU L X, WU G Y. Characterization of gene expression profiles of rice seedlings in response to cyanide stress[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2022, 48(5): 528–535.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



水稻幼苗响应氰化物胁迫的基因表达谱差异分析

张伏中¹, 蔡青¹, 宋江燕¹, 胡龙兴², 吴根义^{3*}

(1.湖南省环境保护科学研究院, 湖南 长沙 410004; 2.湖南农业大学农学院, 湖南 长沙 410128; 3.生态环境部华南环境科学研究所, 广东 广州 510655)

摘要: 为筛选水稻参与氰化物胁迫响应的关键基因, 采用 Agilent4×44 K 水稻全基因组芯片, 分析了氰化钾和铁氰化钾胁迫下水稻幼苗叶片和根系的基因表达特征。结果表明: 氰化钾和铁氰化钾处理下, 从水稻根系中分别筛选到 1841 和 3037 个差异表达基因, 从水稻叶片中分别筛选到 734 和 1805 个差异表达基因; 氰化钾处理下, 细胞壁代谢和抗逆相关的基因在根中显著上调表达; 铁氰化钾处理下, 水稻叶中解毒相关基因显著上调表达, 说明氰化物能诱导水稻基因差异表达; 与细胞解毒作用和抗逆相关的基因、与细胞壁和次生代谢途径相关的基因以及转录因子类基因的表达均显著上调, 表明 2 种氰化物处理下水稻根系和叶片均可能通过调节其体内的一些代谢途径和一些酶的催化活性来应对氰化物的胁迫, 积极诱导与防御相关的基因, 并通过主动吸收和转运等代谢过程将氰化物代谢解毒, 以降低对植物的伤害。

关键词: 水稻; 氰化物; 胁迫; 基因表达特征; 差异分析

中图分类号: S511.01

文献标志码: A

文章编号: 1007–1032(2022)05–0528–08

Characterization of gene expression profiles of rice seedlings in response to cyanide stress

ZHANG Fuzhong¹, CAI Qing¹, SONG Jiangyan¹, HU Longxing², WU Genyi^{3*}

(1.Hunan Research Academy of Environmental Sciences, Changsha, Hunan 410004, China; 2.College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 3.South China Institute of Environmental Sciences, Ministry of Ecology and Environment of the PRC, Guangzhou, Guangdong 510655, China)

Abstract: In order to screen out the key genes involved in the response of rice to cyanide stress and cyanide metabolism in rice plants, the gene expression characteristics of leaves and roots of rice seedlings under the stress of potassium cyanide and potassium ferricyanide were analyzed by Agilent 4×44 K rice genome chip. The results showed that 1841 and 3037 differentially expressed genes in rice roots and 734 and 1805 differentially expressed genes in rice leaves were found under potassium cyanide and potassium ferricyanide treatments, respectively. Under potassium cyanide treatment, the up-regulated expression multiples of genes related to cell wall metabolism and stress resistance in roots. Under potassium ferricyanide treatment, the up-regulated expression were the detoxification-related genes in rice leaves. The results showed that cyanide could induce the differential expression of genes in rice. There were great differences in the expression of genes related to detoxification and stress resistance, cell wall and secondary metabolic pathways and transcription factors. These results revealed detoxify cyanide metabolism through metabolic processes such as active

收稿日期: 2021–11–15

修回日期: 2022–09–12

基金项目: 国家自然科学基金项目(U20A2086); 郴州国家可持续发展议程创新示范区建设专项(2021SFQ26)

作者简介: 张伏中(1983—), 男, 湖南岳阳人, 博士, 高级工程师, 主要从事环境生态与修复研究, 78697415@qq.com; *通信作者, 吴根义, 博士, 教授, 主要从事农业环境保护研究, wugenyi99@163.com

absorption and transport to reduce plant damage. The roots and leaves of rice may serve the main organism for responding to cyanide stress by self-regulation.

Keywords: rice; cyanide; stress; genes expression characterization; variance analysis

氰化物(cyanide)对生物有机体和环境都有剧毒。自然环境中存在多种含氰化合物,如:游离氰化物、易分解的弱酸性氰化物、铁氰络合物和硫氰酸盐等^[1]。在环境中检测到的含氰根化合物中,铁氰化物是最常见、最稳定的化合物^[2],它与游离氰化物(CN⁻与 HCN)联系密切^[3]。研究^[1, 4-8]表明,植物在一定的浓度范围内可以吸收、运输和同化氰化物,但植物对非生物胁迫的响应非常复杂,包括一系列的信号转导途径和转录调控等过程,传统的分子生物学手段已经不能满足科研的需要。

基因芯片技术的发展开启了从全基因组水平检测基因表达的时代^[9-10]。常见的基因芯片包括表达谱芯片、miRNA 芯片、SNP 芯片、甲基化芯片等,可以用来检测基因表达谱、miRNA 表达谱、基因突变或者进行多态性分析等,为“后基因组计划”时期基因功能研究提供了强有力的工具。高通量基因芯片技术的基因表达谱分析是当前功能性基因研究的重要手段,已被广泛应用于植物对逆境胁迫的研究^[11-12]。许多物种的非生物胁迫研究中都采用了生物芯片技术,如 KREPS 等^[13]使用生物芯片技术对拟南芥盐胁迫、渗透胁迫和冷胁迫 3 种逆境中的根和叶片中转录组的变化进行研究。在水稻研究领域,也有不少利用基因表达谱芯片进行研究的报道,如郭小勤等^[14]、邢俊杰等^[15]研究了矮 64S 不同处理下减数分裂期不育幼穗和可育幼穗基因表达谱的差异;FUJII 等^[16]利用 Agilent 芯片研究了 CW 型细胞质不育系与其保持系成熟花粉基因型的差异。

本研究中,采用 Agilent 4×44 K 水稻全基因组芯片分析了氰化物胁迫下水稻幼苗叶片和根系的基因表达特征,以期筛选到水稻参与应答氰化物胁迫的关键基因或水稻植株内代谢氰化物的关键基因,为从分子水平揭示植物吸收、累积、转运氰化物以及植物对氰化物胁迫的响应机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料与培养

水稻种子(*Oryza sativa* L. cv. XZX 45)来源于湖南省农业科学院。将水稻种子用 5%次氯酸钠消毒 8 min 后用灭菌水清洗 3 次,播种于垫有双层灭菌滤纸

的培养皿中,25 °C 恒温条件下发芽,期间每天适量补充蒸馏水。水稻种子发芽(播种 15 d)后,将长势均匀一致的水稻幼苗转移至含有 1 mmol/L CaCl₂和 2 mmol/L 2-(N-吗啉)乙磺酸-三羟甲基氨基甲烷缓冲液溶液的锥形瓶中预处理 4 h,以去除细胞壁中的离子,然后将长势基本一致的 10 株幼苗转移至装有 50 mL Hoagland 营养液的锥形瓶中。将锥形瓶用锡纸包裹,以阻止水分的损失和抑制藻类的生长。将锥形瓶放置于(25 ± 0.5) °C、相对湿度(60 ± 2)%、光照强度 300 μmol/(m²·s)和光周期 14/10 h(昼/夜)的植物生长室进行培养。

1.2 试验设计

设置 3 种不同的处理:① CK,营养液不添加氰化物;②在营养液中添加氰化钾,其浓度为 2.0 mg/L;③在营养液中添加铁氰化钾,其浓度为 10.0 mg/L;每个处理设 6 次重复(6 个锥形瓶),处理 48 h 后取水稻叶片和根系于液氮中速冻后保存在 -80 °C 超低温冰箱中,用于 RNA 的提取。

1.3 基因芯片分析

1.3.1 RNA 的提取与纯化

采用 TRIZOL Reagent (Cat#15596-018, Life technologies, Carlsbad, CA, US)进行样品总 RNA 的提取,抽提所得总 RNA,经 Agilent Bioanalyzer 2100(Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)电泳质检合格后,使用 RNeasy micro kit (Cat#74004, QIAGEN, GmBH, Germany)和 RNase-Free DNase Set(Cat#79254, QIAGEN, GmBH, Germany)纯化总 RNA。纯化后的 RNA 采用 Agilent 表达谱芯片配套试剂盒和 Low Input Quick Amp Labeling Kit, One-Color (Cat.# 5190-2305, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)对样品总 RNA 中的 mRNA 进行放大和标记,并用 RNeasy mini kit(Cat.# 74106, QIAGEN, Ver: 201403 GmBH, Germany)纯化标记的 cDNA。

1.3.2 芯片杂交

试验基因芯片为 Agilent 水稻 4×44 K 全基因组芯片,单张玻片 4 个微阵列,寡核苷酸探针密度为

42 477, 代表约 41 005 个水稻基因。芯片试验在上海伯豪生物技术有限公司完成。按照 Agilent 基因芯片提供的杂交标准流程和配套试剂盒(Cat.# 5188-5242, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 在滚动杂交炉中(65 °C、10 r/min)滚动杂交 17 h。杂交 cDNA 上样量为 1.65 μ g, 并在洗缸中洗片, 洗片所用的试剂为 Gene Expression Wash Buffer Kit (Cat.# 5188-5327, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)。

1.3.3 芯片扫描

完成杂交的芯片采用 Agilent Microarray Scanner (Cat.# G2565CA, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 进行扫描, 软件设置 Dye channel: Green, Scan resolution=5 μ m, PMT 100%, 16 bit。用 Feature Extraction software 10.7(Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)读取数据, 采用 GeneSpring Software 11.0 (Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 进行归一化处理, 所用的算法为 Quantile。

1.3.4 差异基因的筛选

对照与处理间的荧光杂交信号归一化后的信

号比值均取以 2 为底的对数, 以信号比值 ≤ 0.5 或者 ≥ 2 倍的为差异表达基因的筛选标准。将筛选到的不同组间的差异基因通过散点图进行展示。

1.3.5 差异基因 Gene Ontology (GO)富集分析

借助在线工具 agriGO (<http://bioinfo.cau.edu.cn/agriGO/>)进行 GO 富集分析。

2 结果与分析

2.1 基因芯片的检测结果

基因芯片的原始数据经过标准化处理, 转化为以 2 为底的对数后, 在二维坐标系中绘制散点图来评估 2 组数据总体分布情况。在基因表达谱的散点图上, 每个点表示 1 个基因探针, X 轴和 Y 轴分别表示对照条件下水稻叶片或根系的信号强度与氰化物处理条件下水稻叶片或根系的信号强度(图 1)。基因芯片数据分析常用 2 倍表示基因差异表达, 图中红点表示上调表达的基因数量, 绿点表示下调表达的基因数量, 而在散点图中 ± 2 平行线以内的基因表达无显著差异。从图 1 可以看出, 在 2 和 -2 线外有较多的散点, 且分布较为分散, 表明氰化物处理导致水稻叶片和根系许多表达基因发生了改变。

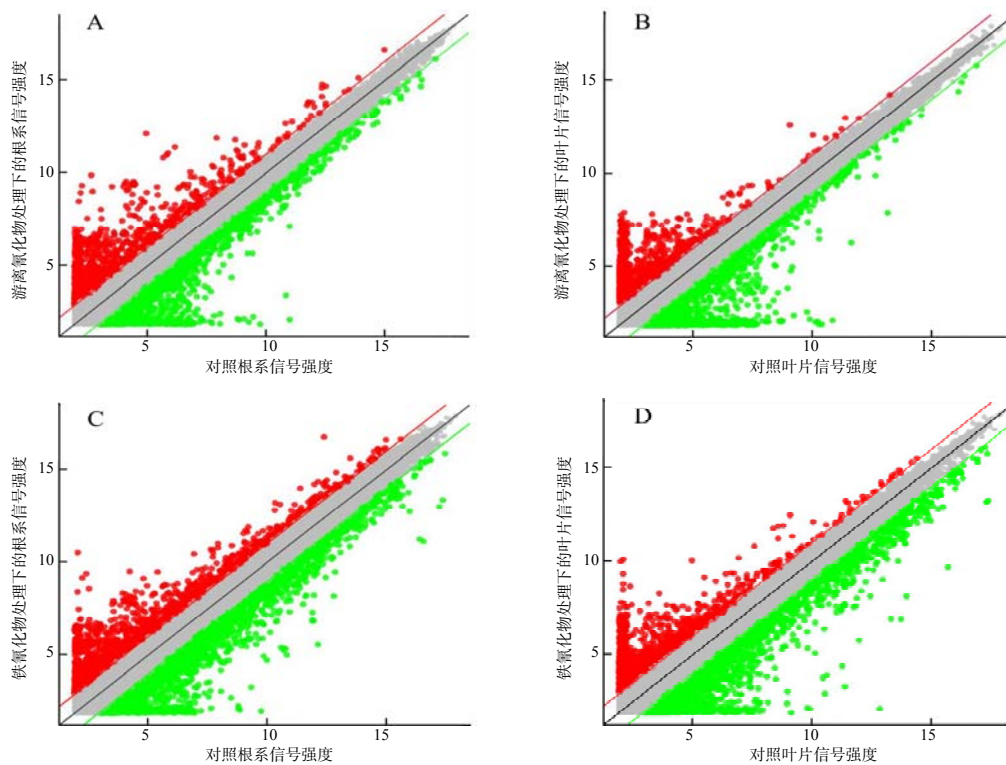


图 1 氰化物胁迫下水稻叶片和根系基因表达谱芯片杂交信号散点图

Fig.1 Scatter plots for hybridization signals by gene expression in leaves and roots of rice microarray under cyanide stress

2.2 氰化物胁迫下水稻叶片和根系差异基因表达分析

以未添加氰化物的营养液为对照，以添加氰化物为处理，按照表达强度变化在 2 倍或 2 倍以上($P < 0.05$)的基因被定义为差异基因的标准。从表 1 可以看出，氰化钾处理下，在水稻根系中共筛选到了 1841 个差异表达基因，其中 940 个上调基因表达，901 个下调表达基因；而在叶中差异表达的基因数显著低于根系中差异表达的基因数。在铁氰化钾处理下，水稻幼苗中差异表达的基因数远多于氰化钾处理下差异表达的基因数，根系中差异表达的基因数达 3037 个，其中上调表达 1476 个，下调表达 1561 个；而在叶中差异表达的基因数为 1805 个，其中 747 个上调表达基因，1058 个下调表达基因。

表 1 氰化物胁迫下水稻叶片和根系差异表达的基因数
Table 1 Differential expressed genes number in leaves and roots of rice under cyanide stress

处理	器官	差异表达 基因数	基因数	
			上调	下调
氰化钾	根	1841	940	901
	叶	734	431	303
铁氰化钾	根	3037	1476	1561
	叶	1805	747	1058

2.3 不同氰化物处理下水稻幼苗的差异表达基因分析

氰化物对植物的胁迫反映在一系列的生物学过程中，包括植物对氰化物胁迫信号的感知、氰化物诱导基因的表达与调控、氰化物诱导代谢的改变及植物对氰化物的适应等。从表 2 至表 5 可以看出，不同氰化物诱导水稻幼苗基因上调表达的差异倍数较大，而且同一氰化物对水稻不同组织间基因上调表达的差异也比较明显。在氰化钾和铁氰化钾处理下，水稻根中与解毒相关的基因，如细胞色素 P450 家族蛋白基因(LOC_Os03g55250.1)、NADPH 毒素还原酶基因(LOC_Os07g40974.2)、谷胱甘肽 s-转移酶 GST19 基因(LOC_Os07g28480.1)和细胞色素 P450 单加氧酶 CYP72A5 基因(LOC_Os01g43740.1)等显著上调表达；在氰化钾和铁氰化钾处理下，水稻叶片中与光合作用相关的基因，如光系统 II 蛋白基因(LOC_Os08g10020.2)、叶绿素 a/b 结合蛋白 III 型基因(LOC_Os02g10390.2)、光系统 I 反应中心亚基基因(LOC_Os12g08770.1)和聚光复合体 I 基因(LOC_Os06g21590.1)等显著上调表达。水稻根系中上调表达的基因，如与细胞壁代谢相关的基因(LOC_Os04g53950.3/木葡聚糖内糖基转移酶基因)和抗逆相关的基因(LOC_Os12g06820.1/热激蛋白 20 基因)分别上调表达 18.29 倍和 39.88 倍(表 2)。

表 2 氰化钾处理下水稻根中与解毒和抗逆相关的上调表达基因

Table 2 The up-regulated genes related to detoxification and stress tolerance in roots of rice under KCN treatment

基因识别号	基因相对表达量		变化倍数	基因名称
	处理	对照		
LOC_Os01g71630.2	7.972 460	2.127 721	57.47	多核苷酸转核苷酰酶基因
LOC_Os12g42040.1	7.534 710	1.971 341	47.29	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶基因
LOC_Os07g25360.1	7.518 717	1.987 742	46.24	整合酶基因，催化核心蛋白
LOC_Os12g06820.1	7.312 053	1.994 613	39.88	热激蛋白 20 基因
LOC_Os04g32190.1	7.313 768	2.046 803	38.50	富含谷氨酰胺蛋白基因
LOC_Os02g57110.1	7.268 123	2.081 392	36.42	脂(肪)酶基因
LOC_Os07g19460.1	7.342 959	2.159 653	36.34	线粒体载体蛋白基因
LOC_Os01g74590.1	7.165 177	2.047 607	34.72	MYB 相关蛋白基因
LOC_Os05g04600.1	6.909 126	2.008 359	29.87	ABC 转运子
LOC_Os07g25500.1	7.013 049	2.235 359	27.43	硒结合蛋白基因
LOC_Os03g55250.1	6.829 407	2.228 572	24.27	细胞色素 P450 家族蛋白基因
LOC_Os01g57270.2	6.638 758	2.172 986	22.10	类抗稻瘟病蛋白基因 Pi37
LOC_Os03g01870.1	6.533 075	2.153 198	20.82	类 NAC 结构域蛋白基因
LOC_Os01g19694.1	6.219 604	1.937 836	19.45	KNOX1 同源异型盒蛋白基因
LOC_Os04g53950.3	6.141 552	1.948 836	18.29	木葡聚糖内糖基转移酶基因

表3 氰化钾处理下水稻叶中与光合相关的上调表达基因

Table 3 The up-regulated genes related to photosynthesis in leaves of rice under KCN treatment

基因识别号	基因相对表达量		变化倍数	基因名称
	处理	对照		
LOC_Os01g43740.1	8.940 313	2.162 153	109.76	细胞色素 P450 单加氧酶 CYP72A5 基因
LOC_Os01g71630.2	8.483 517	2.085 758	84.31	多核苷酸转核苷酰酶基因
LOC_Os07g12080.1	9.013 733	2.666 951	81.39	α 淀粉酶抑制剂基因
LOC_Os10g10130.5	11.060 379	5.853 447	36.93	类钙结合蛋白 EGF 基因
LOC_Os10g10130.5	10.942 782	5.783 267	35.74	类钙结合蛋白 EGF 基因
LOC_Os04g12970.1	7.004 784	1.923 906	33.84	UDP 葡萄糖基转移酶家族蛋白
LOC_Os08g10020.2	8.038 567	3.016 466	32.49	光系统 II 蛋白基因
LOC_Os08g10020.2	9.070 218	4.104 593	31.24	光系统 II 蛋白基因
LOC_Os05g18294.2	6.791 526	2.030 084	27.12	类转运蛋白基因
LOC_Os02g10390.2	6.560 530	1.967 500	24.13	叶绿素 a/b 结合蛋白 III 基因
LOC_Os02g10390.2	6.520 505	1.931 710	24.06	叶绿素 a/b 结合蛋白 III 基因
LOC_Os08g10020.2	8.858 398	4.348 637	22.78	光系统 II 蛋白基因
LOC_Os02g10390.2	6.523 954	2.093 016	21.57	叶绿素 a/b 结合蛋白 III 基因
LOC_Os02g10390.2	6.336 618	1.970 337	20.62	叶绿素 a/b 结合蛋白 III 基因
LOC_Os03g39610.2	6.277 067	1.953 073	20.03	光系统 II 叶绿素 a/b 结合蛋白

表4 铁氰化钾处理下水稻根中与解毒和抗逆相关的上调表达基因

Table 4 The up-regulated genes related to detoxification and stress tolerance in roots of rice under ferri-CN treatment

基因识别号	基因相对表达量		变化倍数	基因名称
	处理	对照		
LOC_Os11g11000.1	10.003 160	1.974 362	261.16	ABC-1 结构域蛋白基因
LOC_Os11g11000.1	10.099 808	2.083 332	258.94	BC-1 结构域蛋白基因
LOC_Os07g40974.2	10.055 568	4.960 767	34.17	NADPH 毒素还原酶基因
LOC_Os12g37830.1	7.163 250	2.151 691	32.26	TTF 型锌指蛋白基因
LOC_Os11g20310.1	7.054 884	2.106 841	30.87	转座酶 Tn10 基因
LOC_Os08g28600.1	7.133 679	2.271 578	29.08	NB-ARC 结构域蛋白基因
LOC_Os07g28480.1	8.282 128	3.587 641	25.89	谷胱甘肽 s-转移酶 GST19 基因
LOC_Os11g43900.2	6.678 573	2.187 685	22.48	翻译调控肿瘤蛋白基因
LOC_Os04g10750.1	6.458 801	2.007 564	21.88	磷酸转运蛋白基因
LOC_Os04g56110.1	6.648 084	2.213 425	21.63	蛋白激酶核心蛋白基因
LOC_Os02g40710.1	6.497 514	2.152 519	20.32	铵转运蛋白 Amt1;2 基因
LOC_Os01g11660.1	6.246 554	1.973 840	19.33	脂(肪)酶 GDS 基因
LOC_Os11g30560.1	6.309 438	2.127 099	18.16	NAD(P)-结合蛋白基因
LOC_Os02g40180.1	6.075 345	2.002 541	16.83	蛋白激酶核心蛋白基因
LOC_Os10g29274.1	3.142 848	7.125 429	15.81	天冬氨酸蛋白酶基因

表5 铁氰化钾处理下水稻叶中与光合相关的上调表达基因

Table 5 The up-regulated genes related to photosynthesis in leaves of rice under ferri-CN treatment

基因识别号	基因相对表达量		变化倍数	基因名称
	处理	对照		
LOC_Os12g31850.3	8.427 901	2.025 192	84.61	酰脲渗透酶基因
LOC_Os05g12630.1	6.954 601	2.167 584	27.61	BURP 结构域蛋白基因
LOC_Os12g08770.1	6.907 462	2.136 127	27.31	光系统 I 反应中心亚基基因
LOC_Os10g22450.1	6.550 483	2.027 069	23.00	肌醇磷酸合成酶基因
LOC_Os01g59510.1	6.394 302	1.907 080	22.43	核糖核酸酶 III 基因
LOC_Os06g21590.1	8.354 159	3.918 825	21.64	聚光复合体 I 基因
LOC_Os03g61720.1	6.910 777	2.524 628	20.91	甘油-3-磷酸酰基转移酶基因
LOC_Os06g09870.1	16.758 684	12.377 958	20.83	富甘氨酸细胞壁结构蛋白基因
LOC_Os04g33830.1	9.141 219	4.793 963	20.35	光系统 I Psal 基因
LOC_Os06g21590.1	8.316 183	4.039 249	19.39	聚光复合体 I 基因

表 5(续)

基因识别号	基因相对表达量		变化倍数	基因名称
	处理	对照		
LOC_Os06g38450.1	6.336 021	2.073 581	19.19	半胱氨酸蛋白酶基因
LOC_Os03g39610.1	6.212 393	1.953 073	19.15	光系统 II 叶绿素 a/b 结合蛋白基因
LOC_Os03g22370.1	6.363 955	2.132 913	18.78	光系统 II 蛋白 PsbX 基因
LOC_Os02g07900.1	6.207 901	2.014 174	18.30	类表皮生长因子蛋白基因
LOC_Os10g29274.1	6.568 837	2.402 938	17.95	冬氨酸蛋白酶基因
LOC_Os06g21590.1	8.026 915	3.959 298	16.77	聚光复合体 I 基因
LOC_Os02g05470.1	6.630 045	2.590 171	16.45	CCT 结构域蛋白基因
LOC_Os08g33820.1	8.452 760	4.474 640	15.76	聚光复合体 I 叶绿素结合蛋白基因
LOC_Os08g33820.1	8.202 178	4.232 050	15.67	聚光复合体 I 叶绿素结合蛋白基因
LOC_Os12g32200.1	5.883 172	1.935 145	15.43	甲醯磷酸合成酶基因 ATP-结合蛋白基因
LOC_Os01g74590.1	5.839 775	1.962 748	14.69	MYB 相关蛋白基因

2.4 差异表达基因的 GO 功能富集分析

基因本体论(Gene Ontology, GO)包括 3 个部分,即分子功能(molecular function)、生物学过程(biological process)和细胞组分(cellular component)。

通过 ID 对应或者序列注释的方法,每个蛋白质或者基因均可以找到与之对应的 GO 号,进而对应到分类中,即功能类别或者细胞定位。如图 2 和图 3 所示,2 种氰化物处理后,在细胞组分层面,GO

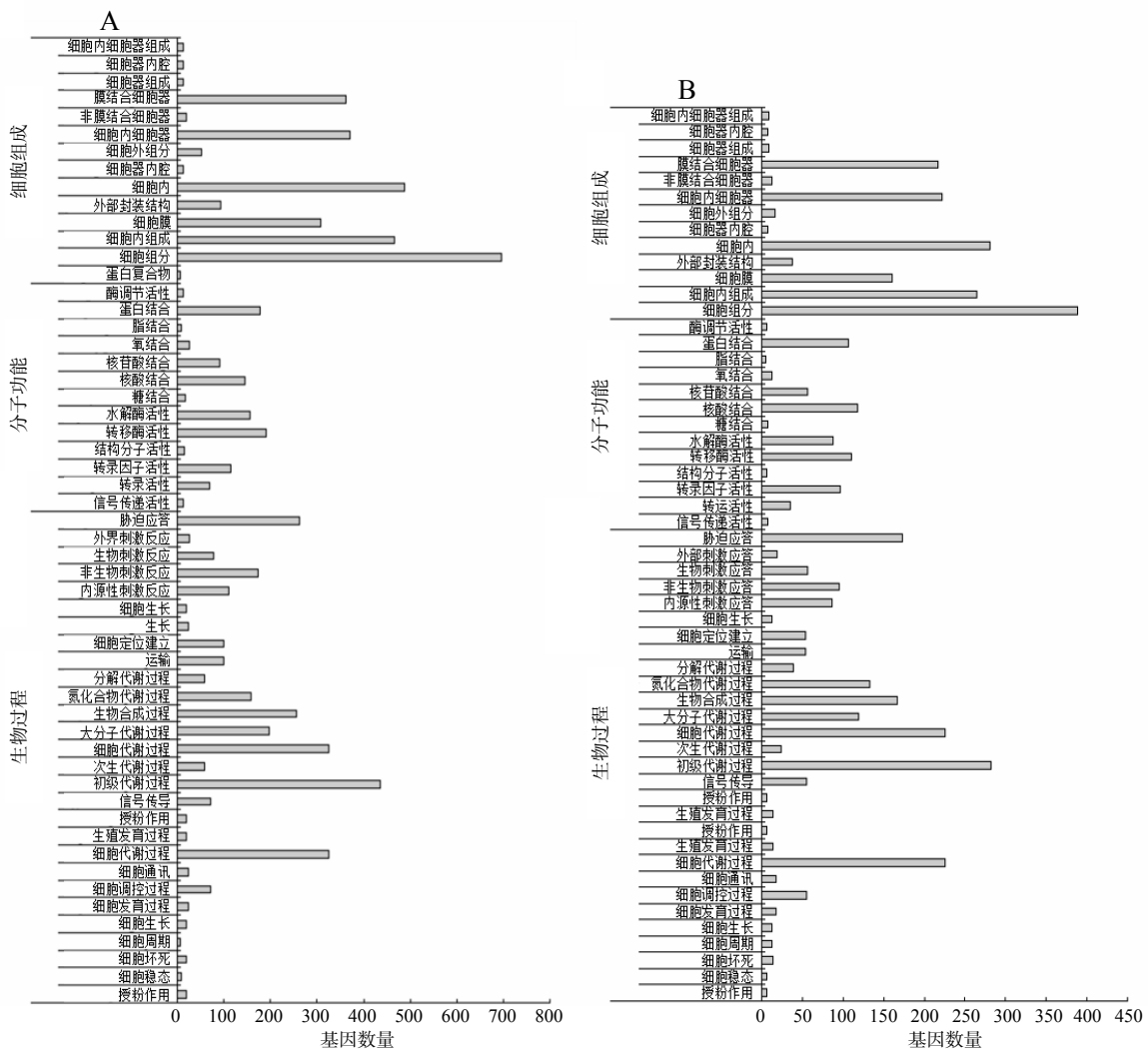


图 2 铁氰化钾处理下水稻根系(A)和叶(B)中差异表达基因的 GO 功能分类

Fig. 2 GO functional classification of differentially expressed genes in roots(A) and leaves(B) of rice under ferri-CN treatment

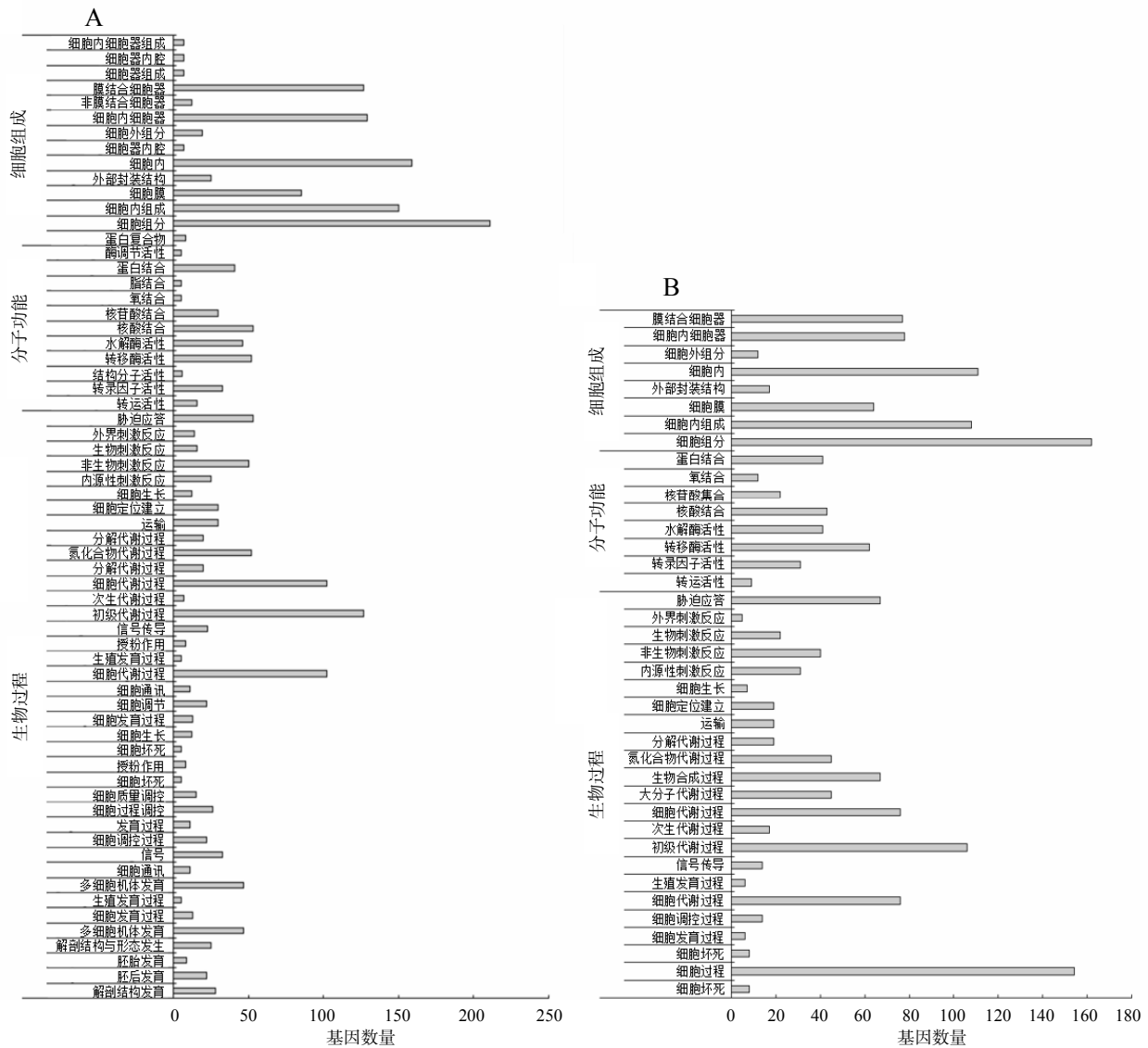


图 3 氰化钾处理下水稻根系(A)和叶(B)中差异表达基因的 GO 功能分类

Fig. 3 GO functional classification of differentially expressed genes in roots(A) and leaves(B) of rice under KCN treatment

类别中与“细胞组分”“细胞内”和“细胞间”相关的基因在水稻根和叶中均显著富集；在分子功能层面上，GO 类别中与“蛋白结合”“核酸结合”“水解酶活性”和“转移酶活性”相关的基因在水稻根系和叶片中显著富集；在生物学过程层面上，水稻根系和叶片中显著富集的 GO 类别主要为“初级代谢过程”和“细胞代谢过程”。这些结果表明，2 种氰化物处理下水稻根系和叶片均可能通过调节其体内的一些代谢途径和一些酶的催化活性来应对氰化物的胁迫，积极诱导与防御相关的基因，并通过主动吸收和转运等代谢过程将氰化物代谢解毒以降低对植物的伤害。

3 结论与讨论

本研究发现不同氰化物对水稻幼苗基因的表

达都具有诱导作用，但其诱导差异表达基因的数量和变化的倍数差异较大，具有一定的组织器官特异性。不论是氰化钾还是铁氰化钾，其诱导差异表达的基因数量和变化倍数均在根中表现较高，在叶中相对较低，表明根系作为直接与氰化物接触的组织器官，其对氰化物处理的响应更为敏感，这与 YU 等^[17-18]的研究结果一致。

在对差异表达的基因进行 GO 分类分析时发现，在细胞组分、分子功能和生物学过程类别中与“细胞组分”“细胞内”“细胞间”“水解酶活性”“转移酶活性”“初级代谢过程”和“细胞代谢过程”相关的基因在 2 种不同氰化物处理下均显著富集。不同氰化物处理下与细胞壁代谢相关的基因(LOC_Os04g53950.3/木葡聚糖内糖基转移酶基因)和抗逆相关的基因(LOC_Os12g06820.1/热激蛋白 20 基

因)、解毒相关基因(LOC_Os07g28480.1/谷胱甘肽 s-转移酶 GST19, LOC_Os07g40974.2/NADPH 毒素还原酶基因)均显著上调,说明在 2 种氰化物处理下,水稻根系和叶片均可能通过调节其体内的一些代谢途径和一些酶的催化活性来应对氰化物的胁迫,积极诱导与防御相关的基因,并通过主动吸收和转运等代谢过程将氰化物代谢解毒,以降低对植物的伤害。细胞色素 P450 家族蛋白基因、NADPH 毒素还原酶基因和谷胱甘肽 s-转移酶 GST19 基因可催化许多外源有毒物在细胞内的氧化和脱氢反应,从而降低有毒物的毒性。本研究中,细胞色素 P450 家族蛋白基因(LOC_Os03g55250.1)、细胞色素 P450 单加氧酶 CYP72A5(LOC_Os01g43740.1)、NADPH 毒素还原酶基因 (LOC_Os07g40974.2)和谷胱甘肽 s-转移酶 GST19 基因(LOC_Os07g28480.1)在氰化物处理的水稻中显著上调表达,表明这些基因可通过上调表达来降低氰化物对水稻的毒性,从而提高水稻的适应性^[19-21]。

植物抵抗氰化物胁迫或代谢氰化物的机制很复杂,涉及植物体内的多个代谢途径和解毒代谢过程,包括氧化还原酶系统、交替氧化酶、氨基酸和糖类物质的合成与降解等,目前其分子机理仍未得到解释。在今后的研究中需着重探索其分子机理,将分子机理和生理特性联系起来,以期破解植物抵抗氰化物胁迫和代谢氰化物的机理。

参考文献:

- [1] EBBS S D, PICCININ R C, GOODGER J Q D, et al. Transport of ferrocyanide by two eucalypt species and sorghum[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2008, 10(4): 343-357.
- [2] MANSFELDT T, LEYER H, BARMETTLER K, et al. Cyanide leaching from soil developed from coking plant purifier waste as influenced by citrate[J]. *Vadose Zone Journal*, 2004, 3(2): 471-479.
- [3] EBBS S D, KOSMA D K, NIELSON E H, et al. Nitrogen supply and cyanide concentration influence the enrichment of nitrogen from cyanide in wheat(*Triticum aestivum* L.) and sorghum(*Sorghum bicolor* L.)[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2010, 33(7): 1152-1160.
- [4] EBBS S D, BUSHEY J, POSTON S, et al. Transport and metabolism of free cyanide and iron cyanide complexes by willow[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2003, 26(9): 1467-1478.
- [5] SAMIOTAKIS M, EBBS S D. Possible evidence for transport of an iron cyanide complex by plants[J]. *Environmental Pollution*, 2004, 127(2): 169-173.
- [6] LARSEN M, TRAPP S. Uptake of iron cyanide complexes into willow trees[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(6): 1956-1961.
- [7] YU X Z, LI F, LI K. A possible new mechanism involved in ferro-cyanide metabolism by plants[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2011, 18(8): 1343-1350.
- [8] YU X Z, LU P C, YU Z. On the role of β -cyanoalanine synthase(CAS) in metabolism of free cyanide and ferri-cyanide by rice seedlings[J]. *Ecotoxicology*, 2012, 21(2): 548-556.
- [9] BARTELS D, SUNKAR R. Drought and salt tolerance in plants[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2005, 24(1): 23-58.
- [10] RIZHSKY L, LIANG H J, SHUMAN J, et al. When defense pathways collide. The response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress[J]. *Plant Physiology*, 2004, 134(4): 1683-1696.
- [11] MANTRI N L, FORD R, CORAM T E, et al. Transcriptional profiling of chickpea genes differentially regulated in response to high-salinity, cold and drought[J]. *BMC Genomics*, 2007, 8: 303.
- [12] UEDA A, KATHIRESAN A, BENNETT J, et al. Comparative transcriptome analyses of barley and rice under salt stress[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 112(7): 1286-1294.
- [13] KREPS J A, WU Y J, CHANG H S, et al. Transcriptome changes for *Arabidopsis* in response to salt, osmotic, and cold stress[J]. *Plant Physiology*, 2002, 130(4): 2129-2141.
- [14] 郭小勤, 董海涛, 郑康乐, 等. 水稻光温敏核不育系培矮 64S 在不同光周期/温度下表达谱的变化[J]. *科学通报*, 2005, 50(22): 2509-2513.
- [15] 邢俊杰, 李莉, 李磊, 等. 水稻光温敏核不育基因表达产物初步研究[J]. *生命科学研究*, 2008, 12(2): 126-130.
- [16] FUJII S, KOMATSU S, TORIYAMA K. Retrograde regulation of nuclear gene expression in CW-CMS of rice[J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, 63(3): 405-417.
- [17] YU X Z, GU J D, LI T P. Availability of ferrocyanide and ferricyanide complexes as a nitrogen source to cyanogenic plants[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 55(2): 229-237.
- [18] YU X Z, GU J D. Uptake, accumulation and metabolic response of ferricyanide in weeping willows[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2009, 11(1): 145-152.
- [19] YU X Z, GU J D. Differences in uptake and translocation of selenate and selenite by the weeping willow and hybrid willow[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2008, 15(6): 499-508.
- [20] YU X Z, GU J D, LI L. Assimilation and physiological effects of ferrocyanide on weeping willows[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, 71(3): 609-615.
- [21] YU X Z, ZHOU P H, YANG Y M. The potential for phytoremediation of iron cyanide complex by willows[J]. *Ecotoxicology(London, England)*, 2006, 15(5): 461-467.

责任编辑: 毛友纯
英文编辑: 柳 正