

高 鹏,王广达,魏兆根,等. 水稻热激转录因子家族基因对纹枯病病菌和植物激素的响应特征[J].江苏农业学报,2023,39(3):609-621.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2023.03.001

水稻热激转录因子家族基因对纹枯病病菌和植物激素的响应特征

高 鹏¹, 王广达², 魏兆根¹, 叶元妹¹, 冯志明^{1,2}, 赵剑华¹, 居 冉¹, 谢文亚^{1,2}, 陈宗祥^{1,2}, 胡珂鸣^{1,2}, 左示敏^{1,2}

(1.扬州大学农学院/江苏省作物基因组学和分子育种重点实验室/植物功能基因组学教育部重点实验室,江苏 扬州 225009;
2.扬州大学/江苏省粮食作物现代产业技术协同创新中心/江苏省作物遗传生理重点实验室,江苏 扬州 225009)

摘要: 解析水稻热激转录因子(Heat shock factors, Hsf)家族基因响应纹枯病病菌侵染和4种植物激素处理的表达特征,可为进一步解析 Hsf 调控水稻纹枯病抗性与对相关逆境的响应提供重要依据。利用生物信息学方法搜索并鉴定到25个水稻 Hsf 基因,对其系统进化树、相关分子特征、蛋白质结构域、基因结构及顺式作用元件进行预测和分析,用荧光定量PCR法分析它们对纹枯病病菌侵染的响应特征及4种激素[茉莉酸(Jasmonic acid,JA)、水杨酸(Salicylic acid,SA)、乙烯(Ethylene,ETH)和激动素(Kinetin,KT)]处理后的表达模式,同时分析它们在水稻组织中的表达情况。结果显示,水稻 Hsf 蛋白总体上可划分为5组,3个 OsHsf 亚家族基因在进化关系上的距离较远。25个 Hsf 蛋白的相对分子质量大小不一,且多数蛋白质的稳定性不高,但其基因结构较为保守。这些基因可能与激素响应及光信号通路相关。有5个基因呈组成型表达,另有7个基因呈组织特异性表达。水稻 Hsf 基因总体上受纹枯病病菌诱导的强度较低,其中11个上调表达的基因主要集中在 OsHsfA、OsHsfB 亚家族,4个下调表达的基因主要集中在 OsHsfC 亚家族,提示 Hsf 基因可能在调控水稻对纹枯病抗性的功能上存在分化。4个基因(OsHsfA2a、OsHsfA3、OsHsfB2a、OsHsfB2c)强烈响应纹枯病病菌的侵染,并且在叶鞘、叶片组织中的相对表达量较高,表明这些基因可能参与调控水稻对纹枯病的抗性。多数 Hsf 基因能够响应4种植物激素处理,总体来说,大部分 OsHsf 基因在JA、SA和ETH处理下呈下调表达,仅有少数基因呈上调表达;JA处理与SA处理相比,有1个 Hsf 基因受诱导表达的特征相反,SA处理和ETH处理相比,有3个 Hsf 基因受诱导表达的特征相反,JA处理和ETH处理相比,有3个 Hsf 基因受诱导表达的特征相反,JA处理与SA处理相比,SA处理与ETH处理相比,JA处理与ETH处理相比,表达特征相似的基因分别有18个、16个和13个。OsHsfA2a、OsHsfA3、OsHsfB2a、OsHsfB2c等4个水稻的 Hsf 基因可能参与调控水稻对纹枯病的抗性,研究结果明确了水稻中 Hsf 基因对不同激素处理的响应特征,为进一步研究 Hsf 在水稻逆境响应中的功能提供了参考依据。

关键词: 水稻; OsHsf 基因; 纹枯病; 防御相关激素

中图分类号: S435.111.4⁺2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2023)03-0609-13

Response characteristics of rice heat shock factors family genes to *Rhizoctonia solani* and plant hormones

GAO Peng¹, WANG Guang-da², WEI Zhao-gen¹, YE Yuan-mei¹, FENG Zhi-ming^{1,2}, ZHAO Jian-hua¹, JU Ran¹, XIE Wen-ya^{1,2}, CHEN Zong-xiang^{1,2}, HU Ke-ming^{1,2}, ZUO Shi-min^{1,2}

收稿日期:2023-02-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(31872858,32000362);江苏省政府种业振兴项目[JBGS(2021)001];江苏省自然科学基金资助项目(BK20200930);江苏省研究生科研创新计划资助项目(KYCX20_2985);扬州大学“青蓝工程”项目

作者简介: 高 鹏(1994-),男,江苏常州人,博士研究生,研究方向为水稻抗纹枯病分子育种。(E-mail) yzugaopeng@163.com。王广达为共同第一作者。

通讯作者: 左示敏, (E-mail) smzuo@yzu.edu.cn; 胡珂鸣, (E-mail) hukm@yzu.edu.cn

(1.Jiangsu Key Laboratory of Crop Genomics and Molecular Breeding/Key Laboratory of Plant Functional Genomics of Ministry of Education/College of Agriculture, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 2.Jiangsu Collaborative Innovation Center for Modern Industrial Technology of Grain Crops/Jiangsu Key Laboratory of Crop Genetics and Physiology/Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: Characterization of the expression of rice heat shock factors (Hsf) family genes in response to the

infection of *Rhizoctonia solani* and the treatment of four plant hormones can provide an important basis for further analysis of the regulation of sheath blight resistance and related stress response by *Hsf*. Twenty-five rice *Hsf* genes were identified by searching using bioinformatics methods, and their phylogenetic tree, molecular characteristics, protein domains, gene structure and *cis*-acting elements were predicted and analyzed, while the response characteristics to the infection of *R. solani* and the expression patterns of four plant hormones (jasmonic acid: JA, salicylic acid: SA, ethylene: ETH, kinetin: KT) after treatment, and the expression patterns in different tissues in rice were analyzed through qPCR. Overall, the rice *Hsf* proteins could be classified into five groups. The three *OsHsf* subfamily genes were evolutionarily distant from each other. The 25 *Hsf* proteins had different molecular weights and most of them were unstable, but their gene structures were relatively conserved. These genes might be associated with hormone response as well as light signaling pathways. Five genes were constitutively expressed and seven genes were tissue-specific. In general, rice *Hsf* genes were less induced by *R. solani*, with 11 up-regulated genes mainly in the *OsHsfA* and *OsHsfB* subfamily and four down-regulated genes mainly in the *OsHsfC* subfamily, suggesting a possible divergence in the evolution of *Hsf* genes in regulating resistance to sheath blight. Four genes (*OsHsfA2a*, *OsHsfA3*, *OsHsfB2a* and *OsHsfB2c*) were highly expressed mainly in leaves and leaf sheaths while strongly responding to sheath blight, suggesting that these genes might be involved in regulating resistance to sheath blight. Most *Hsf* genes were able to respond to the treatments of four plant hormones, and overall, most *OsHsf* genes showed down-regulated expression in JA, SA and ETH treatments, and only a few showed up-regulated expression. There were one, three and three *Hsf* with opposite induced expression characteristics in JA and SA, SA and ETH, and JA and ETH treatments, respectively, and 18, 16 and 13 were similarly expressed, respectively. Four rice *Hsf* genes, including *OsHsfA2a*, *OsHsfA3*, *OsHsfB2a*, *OsHsfB2c*, might be involved in regulating the resistance to rice sheath blight and the response characteristics of *Hsf* genes in rice to different plant hormones were clarified, which provided a reference for further studies on the function of *Hsf* in rice stress response.

Key words: rice; *OsHsf* gene; sheath blight; defense-related hormone

植物生长在复杂的环境中,无法规避不利环境因素对其生长的干扰,因此,为了适应恶劣的生存环境,植物已经形成了复杂的胁迫调节与反应网络^[1]。植物对各种胁迫的反应主要是通过各类信号元件对胁迫信号的感知与传导,由此激活大量胁迫相关基因的表达及功能蛋白质的合成^[2]。在面对外部胁迫时,许多功能蛋白质,如组织调节蛋白质、离子通道蛋白质、转运蛋白质和抗氧化蛋白质等大量合成并积累,而这些功能蛋白质主要受到特定转录因子调节^[3-4]。在上述植物转录因子中,热激转录因子(*Hsf*)是信号转导通路的终端元件,参与应对各种非生物/生物胁迫,对于维持植物生长发育是必不可少的^[5-6]。

自 *Hsf* 基因首次在番茄中克隆后^[7],其他植物中的 *Hsf* 基因也相继被确认并克隆,例如,拟南芥中有 21 个 *Hsf* 基因,小麦中有 78 个 *Hsf* 基因^[8],玉米中有 25 个 *Hsf* 基因^[9],水稻中有 25 个 *Hsf* 基因^[10]。尽管不同物种中的 *Hsf* 蛋白数量和序列有所不同,但是其蛋白质结构是相对保守的。根据植物 *Hsf* 蛋白结构,可将其分为 A、B、C 3 类^[11],其中 A 类 *Hsf* 含有 DNA 结合结构域(DBD)、寡聚结构域(OD)、

核定位/输出信号(NLS、NES)及转录激活结构域(AHA motif)^[5,11]。*HsfA1s* 被认为是拟南芥、番茄热激反应的主要调控因子^[12-13]。而 B 类、C 类 *Hsf* 缺乏 AHA 结构域,没有明显的转录激活因子功能^[5],大多数 B 类 *Hsf* 的 C 端存在 1 个抑制结构域,使其缺乏转录激活功能。目前,已知的 *Hsf* 可以识别并结合多个含有热激元件的热激基因的启动子序列(HSE)并调控其表达^[5,14]。

已有研究结果显示,*Hsf* 广泛参与了如高温胁迫、低温胁迫、盐胁迫、干旱胁迫、病原菌危害等多种非生物/生物胁迫的响应及对生长发育的调控,其在拟南芥、番茄中的报道较多。在非生物胁迫方面,AtHsfA2 是诱导高水平热激反应的转录激活因子,在拟南芥的耐热性中发挥了重要作用^[15];AtHsfA3 受到干旱、高温诱导表达^[16-17];AtHsf5 是 AtHsfA4 的特异性抑制因子^[18];AtHsfA6a 是拟南芥脱落酸(ABA)信号通路中关键的转录激活因子^[19];AtHsfB1、AtHsfB2b 是拟南芥中抑制热激基因表达的转录抑制因子^[11,20];过表达 *LpHsfA1a* 可强化番茄的耐热性^[21]。在生物胁迫方面,AtHsf1b 能够增强拟南芥对细菌(*Pst* DC3000)、卵菌(*Hpa* WAC09)的抗

性^[22]; *AtHsfB1*、*AtHsfB2b* 可通过调控防御相关基因 *AtPdl1.2* 的表达来增强植物对病原菌的抗性^[23]; *LpHsfA1a* 参与 *R* 基因介导的对线虫的抗性^[24]。在生长发育方面, *AtHsfB4* 可以控制根部细胞的分裂, 此前的研究表明, *AtHsfB4* 突变体 (*scz-2*) 主根长度显著变短^[25-26]。在正常生长条件下, 拟南芥 *hsfb1-1*、*hsfb2b-1* 双突变幼苗与野生型相比拥有更长的下胚轴; *AtHsfB2a* 是拟南芥配子体发育所必需的^[27]; *AtHsfA9* 在拟南芥种子萌发过程中高表达, 有助于胚胎生长及种子活化^[28]。

目前, *Hsf* 家族成员已在多种作物中被鉴定, 但是除了在拟南芥中的研究较多外, 在其他物种中缺乏深入的研究, 使得 *Hsf* 基因在相关抗逆机制中的功能研究进展缓慢。虽然目前研究者已经在水稻中鉴定到 25 个典型 *Hsf* 成员, 对其基因结构及进化关系也有了初步研究结果^[10, 29], 个别 *Hsf* 的功能也得到了初步研究。例如, *OsHsfB4d* 能够结合 *OsHsp18.0-CI* 的启动子并激活其表达, 最终增强水稻对白叶枯病的抗性^[30]; *OsHsfA4a* 基因过表达的水稻能够增强对金属镉的耐受性^[31]; *OsHsfA2c*、*OsHsfB4b* 蛋白可以相互作用, 结合在分子伴侣基因 *OsHsp100* 的启动子上并激活其转录, 调控水稻对多种胁迫的反应^[32]; 过表达 *OsHsfA7* 会使水稻的根毛、侧根长度显著变短, 说明 *OsHsfA7* 在水稻根系发育过程中起着重要作用^[33]; *OsHsfA1a*、*OsHsfA2a* 通过参与水稻乙烯通路来提高水稻的耐热性^[34]; 高温可以显著诱导 *OsHsfB2b* 的表达, 进一步研究发现, *OsHsfB2b* 能够正调控水稻的耐高温性, 负调控对高盐胁迫的耐受性^[35]。但总体而言, 目前关于大多数水稻 *Hsf* 基因的功能仍不清楚, 有待进一步研究。

由立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 引起的纹枯病是水稻最具破坏性的真菌性病害之一, 纹枯病菌主要通过侵染水稻的叶鞘、叶片组织及破坏水稻正常生长, 从而造成水稻产量损失、稻米品质下降^[36-37]。有研究发现, 植物激素在参与纹枯病抗性调控方面具有重要作用^[38-41]。例如, 水稻 WRKY 转录因子 WRKY30、WRKY80 能够通过调控 JA、ETH 的生物合成和代谢, 从而调节水稻对纹枯病的抗性^[42-43]。*OsACS2* 是重要的 ETH 合成相关基因, 相较于野生型, 其过表达植株体内的 ETH 大量合成, 增强了水稻对纹枯病的抗性^[44]。外源

喷施 SA 可以抑制纹枯病病菌的增殖, 从而提高水稻对纹枯病的抗性^[45]。*OsOSM1* 是水稻 JA 信号通路的相关基因, *OsOSM1* 的过表达被证实能够增强水稻对纹枯病的抗性^[46]。薛芎等^[47]发现, 外源施用 ETH 类物质能够增强水稻对纹枯病的抗性, 相反, 施用 ETH 合成抑制剂会降低水稻对纹枯病的抗性, 与野生型相比, ETH 受体突变体更易感纹枯病。Taheri 等^[48]研究发现, 维生素 B₂ (V_{B2}) 能够激活水稻体内 JA 或 ETH 信号通路并诱导相关防御基因的表达, 证明用 V_{B2} 处理水稻的确增强了其对纹枯病的抗性。另有研究发现, V_{B2} 增强水稻对纹枯病的抗性与其激活 JA 介导的苯丙烷代谢通路相关^[49]。然而, *Hsf* 基因是否参与水稻对纹枯病病菌的防御反应还未见报道。

为了明确哪些 *Hsf* 家族基因参与水稻对纹枯病病菌的防御反应并解析其可能参与的激素信号途径, 本研究拟系统分析 25 个水稻 *Hsf* 家族基因对纹枯病病菌侵染的响应特征及用 4 种激素 [茉莉酸 (Jasmonic acid, JA)、水杨酸 (Salicylic acid, SA)、乙烯 (Ethylene, ETH) 和激动素 (Kinetin, KT)] 处理后的表达模式, 同时分析它们在水稻不同组织中的表达情况。研究结果旨在进一步丰富 *Hsf* 家族基因在生物胁迫过程中的响应机制, 尤其是在水稻对纹枯病抗性方面的功能和机制。

1 材料与方法

1.1 水稻植株培养

本研究选取的水稻材料为 Dongjin。种子经浸种 (48 h)、催芽 (36 h) 后分别播种于 96 孔发芽盒、长条盆中, 发芽盒、长条盆分别放置在 28 ℃ 培养箱、人工气候室中, 湿度保持在 80%, 光照培养时间为 16 h, 黑暗培养时间为 8 h。

1.2 水稻纹枯病病菌的培养及人工接种

本研究所用水稻纹枯病病菌菌株 YN-7 由本实验室采集并保存。纹枯病病菌的培养及接种参照已报道的方法^[50-51]。首先将整张木片裁剪成长×宽=1 cm×2 mm 的小木片, 并将其均匀放置在塑料培养皿中, 向培养皿中加入 5 ml 马铃薯葡萄糖肉汤 (Potato dextrose broth, PDB) 培养液, 将培养好的纹枯病病菌菌块接种在培养皿中间, 于 28 ℃ 黑暗培养 3 d, 挑选长满纹枯病病菌菌丝的小木片作为接种物。在人工气候室中生长至分蘖末期的 Dongjin 植株为

接种对象,用镊子将上述接种物夹取到自上而下第3叶叶鞘内壁自上而下约2 cm处,分别在接种前与接种后6 h、9 h、12 h、24 h、48 h取以接种位置为中心的1 cm长的叶鞘组织并提取RNA。

1.3 激素喷施处理

以在培养箱中生长至4叶期的Dongjin植株为处理对象,分别配制并喷施100 $\mu\text{mol/L}$ 茉莉酸、10 mmol/L激动素、8 mmol/L水杨酸和500 $\mu\text{mol/L}$ 乙烯,同时设置空白对照(喷施清水),分别在喷施前与喷施后4 h、12 h、24 h取叶片并提取RNA。

1.4 系统进化树分析

从NCBI网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)下载水稻基因组序列文件及水稻基因组注释信息文件,用TBtools提取水稻的Hsf蛋白氨基酸序列,并用One Step Build a ML Tree工具软件进行系统进化树构建,Bootstrap设置为1 000次重复。

1.5 生物信息学分析

水稻Hsf蛋白特征、蛋白质结构域、基因结构和启动子顺式作用元件的分析借助TBtools软件完成。用TBtools软件对水稻Hsf的蛋白质氨基酸序列、基因碱基序列及启动子(2 000 bp)序列进行提取,用Protein Parameter Calc软件对水稻Hsf蛋白的各项理化性质进行分析;用Batch SMART软件对其蛋白质结构域进行分析;用Gene Structure View软件对其基因结构进行分析;结合Simple BioSequence Viewer与PlantCare(<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)在线网站对顺式作用元件进行分析。

1.6 RNA提取与荧光定量PCR分析

水稻各样品的RNA提取使用南京诺唯赞生物科技股份有限公司生产的RNA-easy Isolation Reagent试剂盒。cDNA的合成使用南京诺唯赞生物科技股份有限公司生产的HiScript III 1st Strand cDNA Synthesis Kit(+gDNA wiper)。以水稻Actin基因(登录号:LOC_Os01g12900)作为内参,各Hsf基因的荧光定量PCR引物见表1,设置3个生物学重复,每个生物学重复包含3次技术性重复。荧光定量PCR分析的体系配置及上机操作参照南京诺唯赞生物科技股份有限公司的ChamQ SYBR qPCR Master Mix说明书进行。参照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算各Hsf基因在不同处理下的相

对表达量。

2 结果与分析

2.1 水稻Hsf蛋白的系统进化分析

通过NCBI网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)对Hsf基因进行检索,最终从水稻全基因组中确定25个OsHsf基因,包括13个OsHsfA基因、8个OsHsfB基因和4个OsHsfC基因。进一步对这25个基因在水稻染色体上的物理位置进行汇总,发现OsHsf基因在染色体1~染色体10上均有分布,在染色体11、染色体12上不存在,其中染色体4、染色体5、染色体10上各有1个OsHsf基因,染色体3上的OsHsf基因最多,有6个(图1A)。

根据各OsHsf蛋白的氨基酸序列,进一步利用TBtools构建Hsf蛋白的系统进化树。由图1B可以看出,这些蛋白质可分为3个大组,即组I~组III,其中组I包含1个亚组,组II、组III各包含2个亚组。因此,总体上可将水稻Hsf蛋白划分为组I-1、组II-1、组II-2、组III-1和组III-2,其中8个OsHsfB均出现在组II-1,4个OsHsfC均出现在组III-1,组I-1、组II-2各包含1个OsHsfA,其余OsHsfA分布在组II-1、组III-1、组III-2中。表明3个OsHsf亚家族基因在进化关系上距离较远。此外,单独成组的OsHsfA9、OsHsfA1与其他OsHsfA可能存在某种差异。上述结果提示,OsHsf基因可能已经在功能上产生了分化。

2.2 水稻OsHsf家族基因的生物信息学分析

为了进一步了解OsHsf家族基因的相关分子特征,本研究利用生物信息学对其基因结构和启动子顺式作用元件以及编码的蛋白质特征、蛋白质结构域进行分析。结果显示,水稻中的OsHsf蛋白大小和相对分子质量分别为250~506 aa、27 220~55 280;18个Hsf蛋白的理论等电点(PI)为4.65~6.55(呈酸性),7个为7.05~9.36(呈碱性);不稳定系数(II)为32.05~69.49,仅OsHsfC2b的不稳定系数低于40.00,提示其稳定性较好;脂溶指数、亲水指数分别为57.39~79.76、-0.901~-0.265(表1)。

图2A所示,大多数Hsf蛋白包含热激因子结构域(HSF domain)、复合螺旋区域(Coiled coil region)和低复杂性区域(Low complexity region)等3种结构域。进一步结合Hsf蛋白系统进化树分析发现,3

个 *OsHsfA* (*OsHsfA4d*、*OsHsfA4b* 和 *OsHsfA2e*) 仅包含 HSF domain 和 Coiled coil region, 且前两者均属于组 II-1; *OsHsfB4a*、*OsHsfB4c*、*OsHsfC2a*、*OsHsfC2b*、*OsHsfC1a* 和 *OsHsfA7* 仅含有 HSF domain、Low complexity region, 4 个 *OsHsfC* 中仅有 *OsHsfC1b* 含有 3 种类型结构域; 多数 Hsf 蛋白包含 1 个 HSF domain、1 个 Coiled coil region 和多个 Low complexity region,

其中含有 3 个以上 Low complexity region 的 Hsf 蛋白均出现在组 II-1 中, 且多属于 *OsHsfB*; *OsHsfA*、*OsHsfC* 一般仅含有 3 个或 3 个以下 Low complexity region。上述结果显示, 对于不同类型的 Hsf 蛋白, 因其蛋白质结构不同, 在植物体内的功能亦可能有所不同。

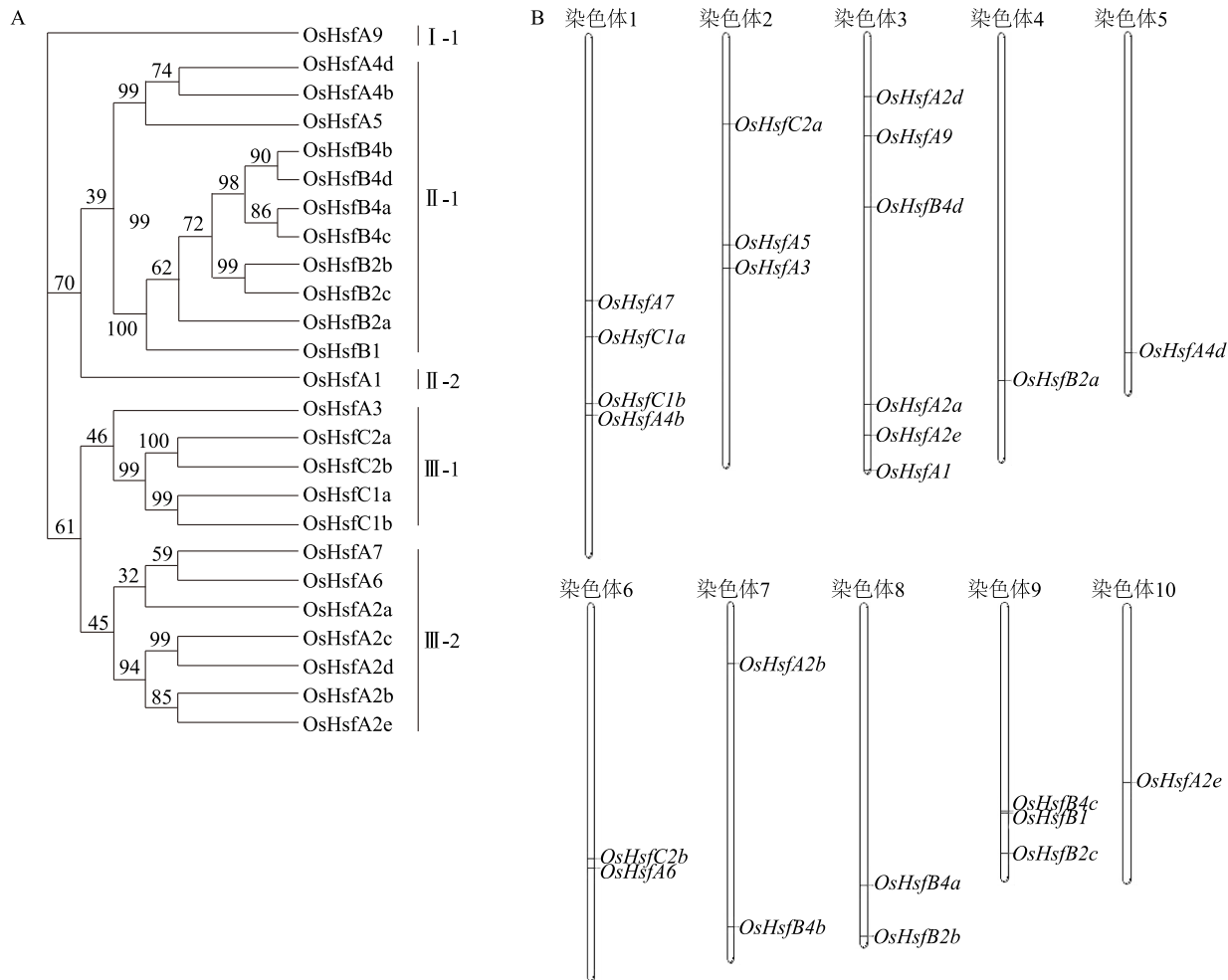


图 1 水稻 *OsHsf* 蛋白的系统发育树 (A) 及其基因在日本晴基因组染色体上的分布 (B)

Fig.1 Phylogenetic tree (A) and chromosomal distribution (B) of rice *OsHsf*

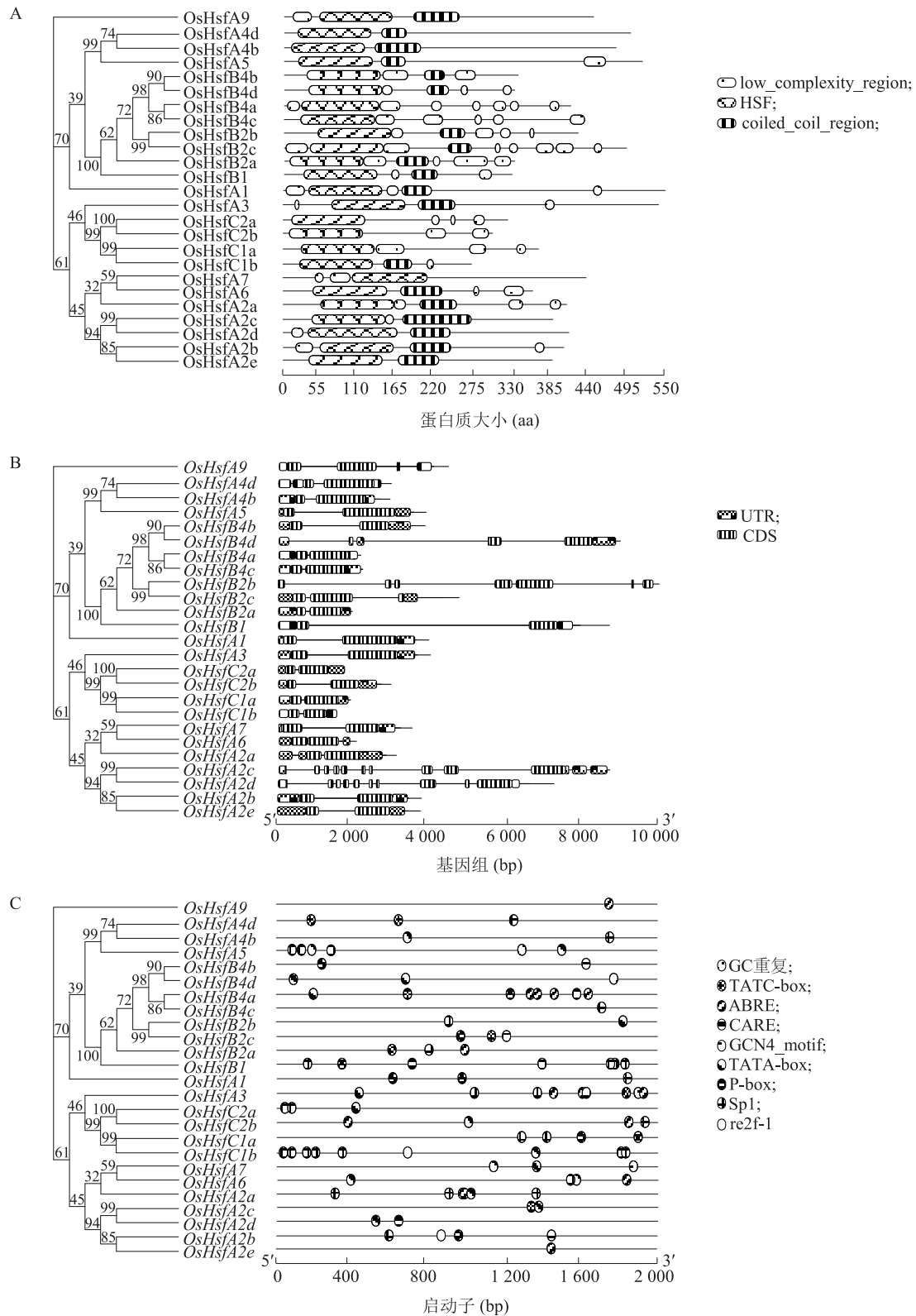
对 25 个 *OsHsf* 基因的外显子/内含子组成进行分析, 结果显示, *OsHsf* 基因的结构总体较为保守, 多数基因含有相似数量的外显子、内含子, 除 *OsHsfA9*、*OsHsfB2b*、*OsHsfB2c*、*OsHsfA2c* 和 *OsHsfA2d* 外, 其余基因均只含有 2 个外显子, 同时该家族基因的内含子数量整体较少, 大多数成员的内含子数量少于 4 个 (图 2B)。

进一步对 *OsHsf* 基因上游 2 kb 的启动子序列中

的顺式作用元件进行预测, 对预测结果中注释为水稻响应元件的部分进行汇总, 最终获得 8 种共计 95 个顺式作用元件。进一步分析发现, 有 4 种元件与激素反应有关且占比较高, 分别是 ABRE、CARE、P-box 和 TATC-box, 其中 ABRE 元件为脱落酸响应元件, 其余 3 种为赤霉素响应元件。此外, 光响应元件 Sp1 和转录核心元件 TATA-box 的出现频率也较高 (图 2C)。

表 1 水稻 *OsHsf* 家族基因荧光定量 PCR 引物及其编码的蛋白质分子特征Table 1 The qPCR primers of *OsHsf* family genes in rice and molecular characteristics of their encoded proteins

序号	基因号	基因	蛋白质大小 (aa)	蛋白质相对分子质量	等电点	不稳定系数	脂溶指数	亲水性指数	引物序列
1	LOC_Os03g63750	<i>OsHsfA1</i>	506	55 280	4.97	54.01	74.98	-0.434	F:5'-CTTTGCCCTGAAGAAGGTGATGA-3' R:5'-TAGCAGGAAGTTTCTGGGTGTCA-3'
2	LOC_Os03g53340	<i>OsHsfA2a</i>	376	40 850	4.97	50.91	69.31	-0.533	F:5'-CTTCTGGAATTTGCACCTAGTATCAG-3' R:5'-AGAGGCCACCACTTGCATATGG-3'
3	LOC_Os07g08140	<i>OsHsfA2b</i>	372	41 520	4.65	51.49	69.22	-0.697	F:5'-TTTGTAGTTGAATTTCTGTCTTGCTACTG-3' R:5'-TGGCCTAACAAACGAACAAATCA-3'
4	LOC_Os10g28340	<i>OsHsfA2c</i>	358	40 780	4.92	58.78	72.46	-0.802	F:5'-GCAGAAACAGGTCCAGATGATG-3' R:5'-TGTGCCAACTGCTGGAAGAA-3'
5	LOC_Os03g06630	<i>OsHsfA2d</i>	379	43 710	8.47	54.48	69.74	-0.725	F:5'-GTTGTGAAACTAAGGCACAAGCA-3' R:5'-CATGTTGCAGCCTCTCTTCCA-3'
6	LOC_Os03g58160	<i>OsHsfA2e</i>	357	40 260	5.64	53.04	62.18	-0.816	F:5'-AGGTCTCTCCCCCATGGT-3' R:5'-CGATGGTAATTATTGCGGCAAT-3'
7	LOC_Os02g32590	<i>OsHsfA3</i>	498	55 100	4.73	58.41	78.55	-0.569	F:5'-TGCTGCCAGAGAATATAGGACTT-3' R:5'-GTGTGTCAAATCCCTGAACCAA-3'
8	LOC_Os01g54550	<i>OsHsfA4b</i>	440	49 390	5.26	59.69	57.39	-0.901	F:5'-CTGGTCCATCAAGAGATCAACCT-3' R:5'-CCAGAAGCCATCGTTTGA-3'
9	LOC_Os05g45410	<i>OsHsfA4d</i>	459	51 160	5.14	55.36	67.58	-0.645	F:5'-AGGACGATGTAAAAGCAGAAATTAGG-3' R:5'-GCTCGGTGATCTGATCAACCTT-3'
10	LOC_Os02g29340	<i>OsHsfA5</i>	475	52 880	5.30	55.90	61.09	-0.739	F:5'-GGATGCACGAGTAGCCAGTGA-3' R:5'-AGGAAGTCTCCAGAACTTGTG-3'
11	LOC_Os06g36930	<i>OsHsfA6</i>	331	36 100	4.91	61.51	79.76	-0.348	F:5'-TTCGCTGATTTCTTGGTTAGTTTGA-3' R:5'-GCCCGCCGAGGAAGTC-3'
12	LOC_Os01g39020	<i>OsHsfA7</i>	402	43 910	7.05	50.38	69.40	-0.386	F:5'-CCTTGTGGTTGGTTGATGACT-3' R:5'-TCTTCTCATGCCTCTAGTGTTC-3'
13	LOC_Os03g12370	<i>OsHsfA9</i>	410	45 470	5.04	59.23	67.54	-0.676	F:5'-CATTAGTTCTTCGGTGACCAACCT-3' R:5'-CACCTGAGGACGCCATTT-3'
14	LOC_Os09g28354	<i>OsHsfB1</i>	302	32 800	9.36	56.30	64.34	-0.589	F:5'-ATACGTGCGGCCCTGTGTTA-3' R:5'-TCAGCCTTGACTCCTCGTACTGT-3'
15	LOC_Os04g48030	<i>OsHsfB2a</i>	305	32 810	5.19	61.47	61.84	-0.739	F:5'-TGAGAAAATTTGGATGGCACATG-3' R:5'-CTGTAAAGTGGCTGCAGTTGC-3'
16	LOC_Os08g43334	<i>OsHsfB2b</i>	390	41 370	5.21	55.30	65.67	-0.473	F:5'-AGTTGCGTACTTGGCTCAACA-3' R:5'-TGGGTAGGGACTTGGTCTCGTA-3'
17	LOC_Os09g35790	<i>OsHsfB2c</i>	454	47 010	5.12	58.70	61.65	-0.398	F:5'-ACAGAGCAACTTCGTGATGCA-3' R:5'-GTCTGCCATCACCATCCAAAA-3'
18	LOC_Os08g36700	<i>OsHsfB4a</i>	380	41 390	9.18	64.70	72.76	-0.391	F:5'-CCGCCAGCTCAACACATATG-3' R:5'-ACCCTTCAAGCTTCCATCAATG-3'
19	LOC_Os07g44690	<i>OsHsfB4b</i>	310	34 450	6.55	56.10	63.61	-0.593	F:5'-TGAGTGGCAGACAGTGAGACACT-3' R:5'-GCCATAGCTAGAAGAGGAGGAAGA-3'
20	LOC_Os09g28200	<i>OsHsfB4c</i>	394	42 040	8.65	64.44	65.79	-0.388	F:5'-CGAACAAGCAAAATCAGGTTTCT-3' R:5'-TCCAGTACCGAGTATGTACGTTATGTG-3'
21	LOC_Os03g25120	<i>OsHsfB4d</i>	305	33 950	5.94	69.49	66.59	-0.542	F:5'-GTGGCTGACAGGTGGGAGTT-3' R:5'-GACGACTTCTCCGGTGGAT-3'
22	LOC_Os01g43590	<i>OsHsfC1a</i>	339	36 860	6.21	55.14	69.14	-0.376	F:5'-GGATGCATGGACATTTCTTCTTG-3' R:5'-GCAGAGATTAATATAAGCACTTTGATGAA-3'
23	LOC_Os01g53220	<i>OsHsfC1b</i>	250	27 220	8.93	45.86	67.60	-0.368	F:5'-GAGCGCTTTTTTCTTATCTGTTTC-3' R:5'-CCGATCGTGAATTCCGAAGTAT-3'
24	LOC_Os02g13800	<i>OsHsfC2a</i>	298	31 920	6.08	46.49	69.77	-0.311	F:5'-TTTGCCCTCCCCAAAGTGT-3' R:5'-CAACATGGCTACTAGGAGAGCTACCTA-3'
25	LOC_Os06g35960	<i>OsHsfC2b</i>	278	28 970	7.81	32.05	62.63	-0.265	F:5'-GCACTGAATAAAGATGTGCTTAGCTATG-3' R:5'-AGAGGCCATTGCCACATCAT-3'



low_complexity_region: 低复杂性区域; HSF: 热激因子结构域; coiled_coil_region: 复合螺旋区域; UTR: 非翻译区; CDS: 编码区。

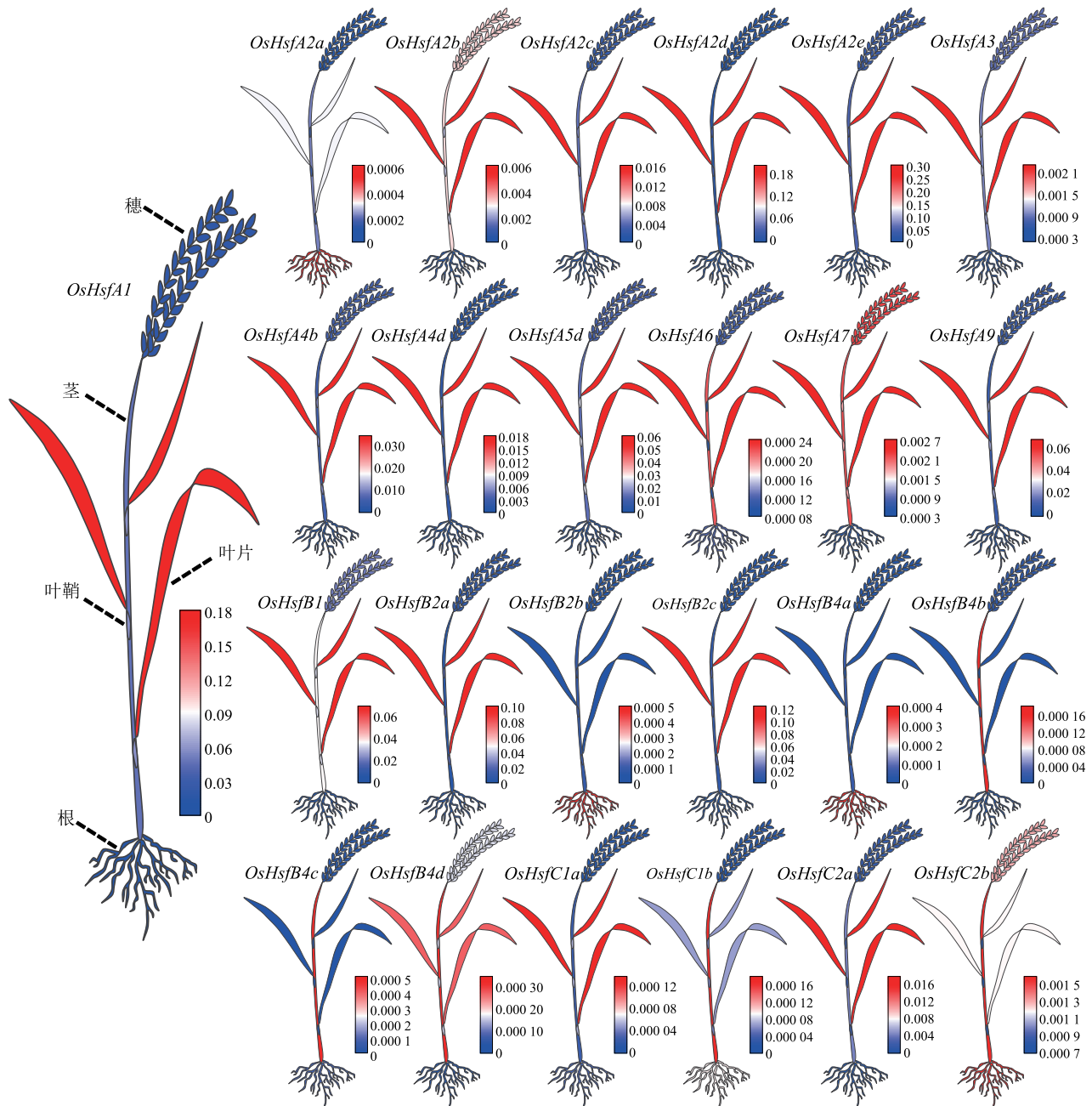
图2 水稻 OsHsf 家族成员的蛋白质结构域分析 (A) 以及 OsHsf 家族基因结构分析 (B) 和顺式作用元件分析 (C)

Fig.2 Analysis of protein domain of OsHsf family members (A), gene structure of OsHsf family (B) and cis-acting element (C) in rice

2.3 水稻 *OsHsf* 基因的组织表达模式分析

为了进一步分析 25 个 *OsHsf* 基因在水稻不同组织中的表达模式,本研究以 Dongjin 植株为材料,在孕穗早期分别选取根、茎、叶片、叶鞘及穗的组织样品,以检测 *OsHsf* 家族基因在水稻 5 个组织中的表达特征。图 3 结果显示,25 个 *OsHsf* 基因中有 5 个基因表现为组成型表达模式,其中 *OsHsfA7*、*OsHsfC2b* 在选取的 5 份组织样品中均有较高表达量,而

OsHsfA2a、*OsHsfA3* 和 *OsHsfA6* 的表达量相对较低。另外,有 7 个基因呈组织特异性表达,其中 *OsHsfA2d*、*OsHsfB2a* 和 *OsHsfB2c* 主要在叶片、叶鞘组织中表现出较高表达量;*OsHsfB2b*、*OsHsfB4a* 主要在根部表现出较高表达量;*OsHsfB4b*、*OsHsfB4c* 在茎中的表达量明显高于其他组织。上述结果表明,组织差异化表达的水稻 *Hsf* 基因可能在不同组织部位发挥相关功能。



图例数据表示各 *Hsf* 基因在各组织中的表达量。

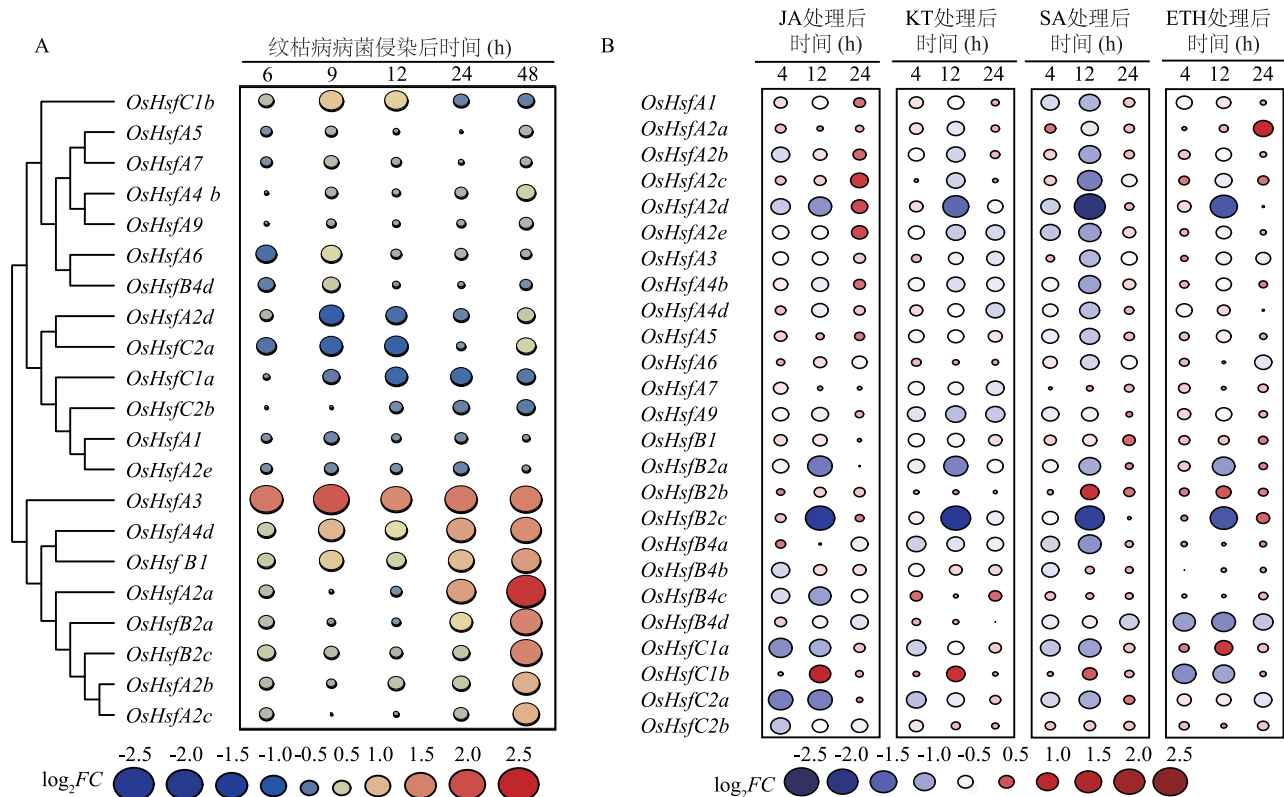
图 3 *OsHsf* 基因在水稻不同组织中的表达模式

Fig.3 Expression pattern of *OsHsf* in different rice tissues

2.4 水稻 *OsHsf* 基因响应纹枯病病菌侵染的表达特征

为研究水稻 *OsHsf* 基因响应纹枯病病菌侵染的表达特征,本研究检测并分析了各 *OsHsf* 基因在纹枯病病菌侵染后不同时间点(0 h、6 h、9 h、12 h、24 h、48 h)的表达特征。图 4A 显示,25 个基因中有 15 个对纹枯病病菌的侵染有响应,未响应的有 6 个,另外 4 个基因(*OsHsfB2b*、*OsHsfB4a*、*OsHsfB4b*、*OsHsfB4c*)未

检测到表达,可能与其主要在根部组织或茎 组织中特异性表达有关。在响应纹枯病病菌侵染的 15 个基因中,受诱导上调表达的基因有 11 个(*OsHsfA2a*、*OsHsfA2b*、*OsHsfA2c*、*OsHsfA3*、*OsHsfA4b*、*OsHsfA4d*、*OsHsfA6*、*OsHsfB1*、*OsHsfB2a*、*OsHsfB2c*、*OsHsfC1b*),下调表达的基因有 4 个(*OsHsfA2d*、*OsHsfC1a*、*OsHsfC2a*、*OsHsfC2b*),但总体受诱导表达的强度较低。



将各样品处理后表达量与处理前表达量相比,得到各基因在不同处理后的基因表达差异倍数(*FC*),进一步计算 $\log_2 FC$,当 $\log_2 FC$ 为负值时表明基因下调表达,为正值时表明基因上调表达。

图 4 水稻 *OsHsf* 基因对纹枯病病菌 (A) 和茉莉酸、水杨酸、激动素和乙烯 (B) 的响应

Fig.4 Responses of rice *OsHsf* to *Rhizoctonia solani* (A), jasmonic acid, salicylic acid, kinetin and ethylene (B)

就不同亚家族而言,4 个 *OsHsfC* 基因中仅有 *OsHsfC1b* 上调表达,其余 3 个 *OsHsfC* 均呈下调表达;8 个 *OsHsfB* 基因中,除了上述 4 个未检测到表达的基因外,另外 4 个 *OsHsfB* 中除 *OsHsfB4d* 未响应外,其余 3 个 *OsHsfB* 均受纹枯病病菌诱导而上调表达;13 个 *OsHsfA* 亚家族基因受纹枯病病菌诱导表达的模式相对均衡,其中 5 个不受纹枯病病菌诱导,7 个表现为上调表达,1 个表现为下调表达。根据响应时期,在纹枯病病菌接种早期(6~12 h)受诱导上调表达的基因为 *OsHsfA3*、*OsHsfA4d*、*OsHsfA6*、*OsHs-*

fB1 和 *OsHsfC1b*,下调表达的基因为 *OsHsfA2d*、*OsHsfC1a*、*OsHsfC2a*;在晚期(24~48 h)受诱导上调表达的基因为 *OsHsfA2a*、*OsHsfA2b*、*OsHsfA2c*、*OsHsfA4b*、*OsHsfB2a*、*OsHsfB2c*,下调表达的基因为 *OsHsfC2b*。

以上结果表明,*OsHsf* 家族基因间,尤其是各亚家族基因间响应纹枯病病菌诱导表达的特征存在一定差异。

2.5 水稻 *OsHsf* 基因响应植物激素的表达

JA、SA 和 ETH 广泛参与植物的抗病信号途径,近年来 KT 也被发现参与植物抵御腐生性病原菌

(如纹枯病病菌)的侵染响应^[38]。为此,本研究拟进一步分析各 *OsHsf* 基因在 JA、KT、SA 和 ETH 处理下及不同处理时间点(0 h、4 h、12 h、24 h)的表达情况。图 4B 结果显示,多数基因均响应上述 4 种激素处理。25 个基因中,对 JA 无响应的有 3 个(*OsHsfA2a*、*OsHsfA5*、*OsHsfB2b*),有响应的有 22 个,且只有 2 个基因(*OsHsfA2c*、*OsHsfC1b*)受到 JA 诱导而上调表达,其余均为下调表达;在 KT 处理中,有 4 个基因(*OsHsfA6*、*OsHsfB2b*、*OsHsfB4c*、*OsHsfB4d*)未表现出响应,响应的 21 个基因中,仅 *OsHsfC1b* 上调表达,其余 20 个均下调表达;在 SA 处理中,有 3 个基因(*OsHsfA7*、*OsHsfB4c*、*OsHsfC2b*)未响应,在响应的 22 个基因中,有 2 个基因(*OsHsfB2b*、*OsHsfC1b*)上调表达,其余 20 个下调表达;在 ETH 处理中,有 6 个基因(*OsHsfA7*、*OsHsfB1*、*OsHsfB4a*、*OsHsfB4b*、*OsHsfB4c*、*OsHsfC2b*)未响应,响应的 19 个基因中,3 个基因(*OsHsfA2a*、*OsHsfB2b*、*OsHsfC1a*)为上调表达,16 个基因为下调表达。总体来说,大部分 *OsHsf* 基因在上述 4 种植物激素处理下呈下调表达。对比发现,JA 处理与 SA 处理相比,有 1 个 *Hsf* 基因(*OsHsfA2c*)受诱导表达的特征相反,相似的有 18 个(*OsHsfA6*、*OsHsfA1*、*OsHsfA2b*、*OsHsfA2d*、*OsHsfA2e*、*OsHsfA3*、*OsHsfA4b*、*OsHsfA4d*、*OsHsfA9*、*OsHsfB1*、*OsHsfB4a*、*OsHsfB4b*、*OsHsfB4d*、*OsHsfB2a*、*OsHsfB2c*、*OsHsfC1a*、*OsHsfC1b*、*OsHsfC2a*);SA 处理和 ETH 处理相比,有 3 个 *Hsf* 基因(*OsHsfA2a*、*OsHsfC1a*、*OsHsfC1b*)受诱导表达的特征相反,相似的有 16 个(*OsHsfA5*、*OsHsfA2c*、*OsHsfA6*、*OsHsfA1*、*OsHsfA2b*、*OsHsfA2d*、*OsHsfA2e*、*OsHsfA3*、*OsHsfA4b*、*OsHsfA4d*、*OsHsfA9*、*OsHsfB2b*、*OsHsfB4d*、*OsHsfB2a*、*OsHsfB2c*、*OsHsfC2a*);JA 处理和 ETH 处理相比,有 3 个 *Hsf* 基因(*OsHsfA2c*、*OsHsfC1a*、*OsHsfC1b*)受诱导表达的特征相反,相似的有 13 个(*OsHsfA6*、*OsHsfA1*、*OsHsfA2b*、*OsHsfA2d*、*OsHsfA2e*、*OsHsfA3*、*OsHsfA4b*、*OsHsfA4d*、*OsHsfA9*、*OsHsfB4d*、*OsHsfB2a*、*OsHsfB2c*、*OsHsfC2a*)。

就不同亚家族而言,13 个 *OsHsfA* 中有 8 个基因(*OsHsfA1*、*OsHsfA2b*、*OsHsfA2d*、*OsHsfA2e*、*OsHsfA3*、*OsHsfA4b*、*OsHsfA4d*、*OsHsfA9*)在 4 种激素处理下的表达模式相同,均为下调表达,其余 5 个基因中,*OsHsfA2a* 未响应 JA 处理,但在 KT、SA 处理后表现为下调表达,在 ETH 处理后表现为上调表达;*OsHsfA5* 同样未响应 JA

处理,而在其余 3 种激素处理后表现为下调表达;*OsHsfA2c* 受到 JA 的诱导表现为上调表达,受到其余激素的诱导表现为下调表达;*OsHsfA6* 未响应 KT 处理,而在其余 3 种激素处理下表现为下调表达;*OsHsfA7* 不响应 SA、ETH 的诱导,而在 JA、KT 处理后表现为下调表达。8 个 *OsHsfB* 中,*OsHsfB2a*、*OsHsfB2c* 在 4 种激素处理下均表现为下调表达,另有 *OsHsfB1*、*OsHsfB4a* 和 *OsHsfB4b* 未响应乙烯处理,但在其余 3 种激素处理下表现为下调表达;*OsHsfB2b* 不响应 JA、KT 处理,而在 SA、ETH 处理下表现为上调表达;*OsHsfB4c* 仅在 JA 处理下表现为下调表达,未响应其余激素处理;*OsHsfB4d* 未响应 KT 处理,在其余 3 种激素处理下表现为下调表达。4 个 *OsHsfC* 中,*OsHsfC2a* 在 4 种激素处理下均表现为下调表达;*OsHsfC1a* 在 ETH 处理下表现为上调表达,在其余 3 种激素处理下表现为下调表达;*OsHsfC1b* 的表达模式则与 *OsHsfC1a* 相反,仅在 ETH 处理下表现为下调表达;*OsHsfC2b* 未响应 SA、ETH 处理,在 JA、KT 处理下表现为下调表达。上述结果表明,部分 *OsHsf* 家族基因可能参与到 JA、KT、SA 和 ETH 等 4 种植物激素调控的信号传导网络中,并且发挥了不同的作用。

3 讨论

水稻 *Hsf* 基因与植物的胁迫响应息息相关,通过近 30 年的研究与发展,越来越多的水稻 *Hsf* 基因功能和机制得到明确与解析,但这些研究多数围绕 *Hsf* 基因对非生物胁迫的响应,而对水稻病虫害等生物胁迫响应的功能研究不多见。纹枯病作为水稻最主要的病害之一,会对水稻产量、品质造成重大影响,为了探索 *Hsf* 基因与水稻纹枯病抗性间的关系,本研究首先构建了水稻 *Hsf* 家族基因的系统进化树,将水稻 *Hsf* 分为 I-1、II-1、II-2、III-1、III-2 等 5 组,并且 3 个 *OsHsf* 亚家族基因在进化关系上的距离较远,这与前人报道的结果^[10] 基本一致,暗示 *OsHsf* 亚家族基因在功能上可能已经产生了分化。结合 Hsf 蛋白结构域预测及系统进化树结果,本研究发现,不同 Hsf 蛋白包含的结构域类型及各类型的数量有所不同,同时,结构域类型、数量相同或某特定结构域数量相同的 Hsf 多集中在同一组中,暗示不同类型的 Hsf 蛋白因其蛋白质结构不同,可能在植物体内发挥不同功能,然而目前关于水稻 *Hsf* 基因的大多数生物学功能还未知,值得我们进一步研究。

水稻纹枯病的发生贯穿秧苗期至穗期,尤其是在抽穗期前后,纹枯病的发生最为严重。一般情况下,纹

枯病病菌主要侵染水稻的叶鞘、叶片,在重发病情况下甚至会蔓延至穗部^[47]。本研究对 25 个 *OsHsf* 基因的组织表达模式及其对纹枯病病菌的响应特征进行了分析,结果表明,*OsHsfA2d*、*OsHsfB2a* 和 *OsHsfB2c* 在叶鞘、叶片中表现为特异的高表达,此外,呈组成型表达的 5 个基因在叶鞘或叶片中均有较高的表达量。当被纹枯病病菌侵染后,25 个基因中有 15 个对纹枯病病菌的侵染有响应,但总体受诱导的强度较低,其中 11 个上调表达的基因主要集中在 *OsHsfA*、*OsHsfB* 亚家族,4 个下调表达的基因主要集中在 *OsHsfC* 亚家族,暗示不同 *Hsf* 基因对逆境响应的功能已发生了分化,部分 *Hsf* 基因可能参与调控水稻对纹枯病的抗性。鉴于纹枯病病菌主要侵染水稻叶鞘和叶片,因此既受纹枯病病菌侵染诱导表达且在叶鞘、叶片中表现为较强表达的基因才可能影响水稻对纹枯病的抗性。因此,结合响应纹枯病病菌侵染和组织表达结果,笔者推测 4 个基因(*OsHsfA2a*、*OsHsfA3*、*OsHsfB2a*、*OsHsfB2c*)最可能参与调控水稻对纹枯病的抗性,后期有必要通过基因敲除、过表达等方法进一步验证其在水稻纹枯病抗性中的功能。JA、KT、SA 和 ETH 是植物免疫信号转导通路中关键的信号分子,此前的研究结果也表明,这 4 种激素均参与调控水稻对纹枯病的免疫反应^[42-45]。上述 4 个候选基因中,除 *OsHsfA2a* 未响应 JA 处理且在 ETH 处理后表现为上调表达外,其余均受 JA、KT、SA 和 ETH 诱导下调表达,结合此前 Wu 等^[34]的报道,*OsHsfA2a* 通过参与水稻 ETH 通路来提高水稻的耐热性,因此我们推测 *OsHsfA2a* 可能通过 ETH 信号途径,同时介导水稻的耐热性及对纹枯病的抗性,后续可通过创制 *OsHsfA2a* 过表达及敲除转基因材料进一步验证此假设。对上述 *OsHsf* 基因进行深入研究并明确其是否参与水稻纹枯病的抗性调控,有利于进一步完善对植物免疫信号转导通路的研究,丰富人们对水稻抗纹枯病的信号传导网络的认识。

在植物细胞信号传导通路中,JA、SA 信号通路之间存在相互拮抗效应,但也能发挥协同作用^[38],此外,SA、ETH 信号的相互作用通常以协同为主,在部分情况下,这 3 种激素也可能共同参与到植物的免疫反应中^[52]。通过分析 *Hsf* 家族基因在 4 种激素(JA、SA、ETH 和 KT)处理下的表达模式,我们发现多数基因均能够响应 4 种激素处理,因而猜测这些基因可能参与到这 4 种植物激素调控的信号传导网络中。通过比较各 *Hsf* 基因对各激素的响应模式,我们发现在 JA、SA

处理后响应相反的基因有 1 个,响应相似的基因有 18 个,在 SA 和 ETH、JA 和 ETH 处理后响应相反的基因均有 3 个,响应相似的基因分别有 16 个、13 个,这些结果不仅印证了不同植物激素信号通路间存在的协同作用与拮抗效应,也说明这些 *OsHsf* 基因可能通过参与不同激素信号来调控相应的逆境响应或生长发育功能,研究结果将为进一步解析水稻 *Hsf* 基因的功能和作用机制提供参考。

参考文献:

- [1] NAKASHIMA K, TAKASAKI H, MIZOI J, et al. NAC transcription factors in plant abiotic stress responses[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1819(2): 97-103.
- [2] PIRKKALA L, NYKANEN P, SISTONEN L. Roles of the heat shock transcription factors in regulation of the heat shock response and beyond[J]. *FASEB J*, 2001, 15(7): 1118-1131.
- [3] ZHOU R G, LI B, LIU H T, et al. Progress in the participation of Ca^{2+} -calmodulin in heat shock signal transduction[J]. *Progress in Natural Science*, 2009, 19(10): 1201-1208.
- [4] LATA C, PRASAD M. Role of DREBs in regulation of abiotic stress responses in plants[J]. *J Exp Bot*, 2011, 62(14): 4731-4748.
- [5] NOVER L, BHARTI K, DÖRING P, et al. *Arabidopsis* and the heat stress transcription factor world: how many heat stress transcription factors do we need? [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2001, 6(3): 177-189.
- [6] MORIMOTO R I. Proteotoxic stress and inducible chaperone networks in neurodegenerative disease and aging [J]. *Genes Dev*, 2008, 22(11): 1427-1438.
- [7] SCHARF K D, ROSE S, ZOTT W, et al. Three tomato genes code for heat stress transcription factors with a region of remarkable homology to the DNA-binding domain of the yeast HSF[J]. *EMBO J*, 1990, 9(13): 4495-4501.
- [8] ZHOU M, ZHENG S G, LIU R, et al. Genome-wide identification, phylogenetic and expression analysis of the heat shock transcription factor family in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 505.
- [9] LIN Y X, JIANG H Y, CHU Z X, et al. Genome-wide identification, classification and analysis of heat shock transcription factor family in maize[J]. *BMC Genomics*, 2011, 12: 76.
- [10] CHAUHAN H, KHURANA N, AGARWAL P, et al. Heat shock factors in rice (*Oryza sativa* L.): genome-wide expression analysis during reproductive development and abiotic stress[J]. *Mol Genet Genomics*, 2011, 286(2): 171-187.
- [11] SCHARF K D, BERBERICH T, EBERSBERGER I, et al. The plant heat stress transcription factor (Hsf) family: structure, function and evolution[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1819(2): 104-119.
- [12] LIU H C, CHARNG Y Y. Acquired thermotolerance independent

- of heat shock factor A1 (HsfA1), the master regulator of the heat stress response[J]. *Plant Signal Behav*, 2012, 7(5): 547-550.
- [13] YOSHIDA T, OHAMA N, NAKAJIMA J, et al. *Arabidopsis* HsfA1 transcription factors function as the main positive regulators in heat shock-responsive gene expression [J]. *Mol Genet Genomics*, 2011, 286(5/6): 321-332.
 - [14] MITTAL D, ENOKI Y, LAVANIA D, et al. Binding affinities and interactions among different heat shock element types and heat shock factors in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *FEBS J*, 2011, 278(17): 3076-3085.
 - [15] CHARNG Y Y, LIU H C, LIU N Y, et al. A heat-inducible transcription factor, HsfA2, is required for extension of acquired thermotolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2007, 143(1): 251-262.
 - [16] ZHU M D, ZHANG M, GAO D J, et al. Rice OsHSFA3 gene improves drought tolerance by modulating polyamine biosynthesis depending on abscisic acid and ROS levels[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(5): 1857.
 - [17] CHEN H, HWANG J E, LIM C J, et al. *Arabidopsis* DREB2C functions as a transcriptional activator of *HsfA3* during the heat stress response[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 401(2): 238-244.
 - [18] BANIWAL S K, CHAN K Y, SCHARF K D, et al. Role of heat stress transcription factor HsfA5 as specific repressor of HsfA4[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(6): 3605-3613.
 - [19] HWANG S M, KIM D W, WOO M S, et al. Functional characterization of *Arabidopsis* HsfA6a as a heat-shock transcription factor under high salinity and dehydration conditions[J]. *Plant Cell Environ*, 2014, 37(5): 1202-1222.
 - [20] KUMAR M, BUSCH W, BIRKE H, et al. Heat shock factors HsfB1 and HsfB2b are involved in the regulation of *Pdfl.2* expression and pathogen resistance in *Arabidopsis* [J]. *Mol Plant*, 2009, 2(1): 152-165.
 - [21] MISHRA S K, TRIPP J, WINKELHAUS S, et al. In the complex family of heat stress transcription factors, HsfA1 has a unique role as master regulator of thermotolerance in tomato[J]. *Genes Dev*, 2002, 16(12): 1555-1567.
 - [22] BECHTOLD U, ALBIHLAL W S, LAWSON T, et al. *Arabidopsis* HEAT SHOCK TRANSCRIPTION FACTOR A1b overexpression enhances water productivity, resistance to drought, and infection [J]. *J Exp Bot*, 2013, 64(11): 3467-3481.
 - [23] IKEDA M, MITSUDA N, OHME-TAKAGI M. *Arabidopsis* HsfB1 and HsfB2b act as repressors of the expression of heat-inducible *Hsfs* but positively regulate the acquired thermotolerance[J]. *Plant Physiol*, 2011, 157(3): 1243-1254.
 - [24] ZHOU J, XU X C, CAO J J, et al. Heat shock factor HsfA1a is essential for R gene-mediated nematode resistance and triggers H₂O₂ production[J]. *Plant Physiol*, 2018, 176(3): 2456-2471.
 - [25] PERNAS M, RYAN E, DOLAN L. SCHIZORIZA controls tissue system complexity in plants[J]. *Curr Biol*, 2010, 20(9): 818-823.
 - [26] BEGUM T, REUTER R, SCHOFFL F. Overexpression of *AtHsfB4* induces specific effects on root development of *Arabidopsis* [J]. *Mech Dev*, 2013, 130(1): 54-60.
 - [27] WUNDERLICH M, GROSS-HARDT R, SCHOFFL F. Heat shock factor HSF2a involved in gametophyte development of *Arabidopsis thaliana* and its expression is controlled by a heat-inducible long non-coding antisense RNA [J]. *Plant Mol Biol*, 2014, 85(6): 541-550.
 - [28] ZINSMEISTER J, BERRIRI S, BASSO D P, et al. The seed-specific heat shock factor A9 regulates the depth of dormancy in *Medicago truncatula* seeds via ABA signalling[J]. *Plant Cell Environ*, 2020, 43(10): 2508-2522.
 - [29] MITTAL D, CHAKRABARTI S, SARKAR A, et al. Heat shock factor gene family in rice: genomic organization and transcript expression profiling in response to high temperature, low temperature and oxidative stresses[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2009, 47(9): 785-795.
 - [30] YANG W, JU Y H, ZUO L P, et al. OsHsfB4d binds the promoter and regulates the expression of OsHsp18.0-CI to resistant against *Xanthomonas oryzae* [J]. *Rice*, 2020, 13(1): 28.
 - [31] SHIM D, HWANG J U, LEE J, et al. Orthologs of the class A4 heat shock transcription factor HsfA4a confer cadmium tolerance in wheat and rice[J]. *Plant Cell*, 2009, 21(12): 4031-4043.
 - [32] SINGH A, MITTAL D, LAVANIA D, et al. OsHsfA2c and OsHsfB4b are involved in the transcriptional regulation of cytoplasmic OsClpB (Hsp100) gene in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2012, 17(2): 243-254.
 - [33] LIU A L, ZOU J, LIU C F, et al. Over-expression of OsHsfA7 enhanced salt and drought tolerance in transgenic rice [J]. *BMB Rep*, 2013, 46(1): 31-36.
 - [34] WU Y S, YANG C Y. Ethylene-mediated signaling confers thermotolerance and regulates transcript levels of heat shock factors in rice seedlings under heat stress[J]. *Bot Stud*, 2019, 60(1): 23.
 - [35] XIANG J H, RAN J, ZOU J, et al. Heat shock factor OsHsfB2b negatively regulates drought and salt tolerance in rice[J]. *Plant Cell Rep*, 2013, 32(11): 1795-1806.
 - [36] 左示敏, 张亚芳, 陈宗祥, 等. 水稻抗纹枯病遗传育种研究进展 [J]. *中国科学(生命科学)*, 2010, 40(11): 1014-1023.
 - [37] 李明友, 王嘉楠, 王广达, 等. 抗纹枯病数量性状基因 *qSB-11^{HJX}* 及 *qSB-9^{TQ}* 改良粳稻品种的抗性研究 [J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2018, 40(6): 1-7.
 - [38] YANG D L, YANG Y N, HE Z H. Roles of plant hormones and their interplay in rice immunity [J]. *Mol Plant*, 2013, 6(3): 675-685.
 - [39] DE VLEESCHAUWER D, SEIFI H S, FILIPE O, et al. The DELLA protein SLR1 integrates and amplifies salicylic acid- and jasmonic acid-dependent innate immunity in rice [J]. *Plant Physiology*, 2016, 170(3): 1831-1847.
 - [40] HE Y Q, ZHANG H H, SUN Z T, et al. Jasmonic acid-mediated

- defense suppresses brassinosteroid-mediated susceptibility to rice black streaked dwarf virus infection in rice [J]. *New Phytol*, 2017, 214(1): 388-399.
- [41] 章慧敏,冯志明,王 雨,等. 水稻 MAPK 家族基因对纹枯病菌和激素的响应特征研究[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2018, 39(4): 72-78.
- [42] PENG X X, HU Y J, TANG X K, et al. Constitutive expression of rice WRKY30 gene increases the endogenous jasmonic acid accumulation, PR gene expression and resistance to fungal pathogens in rice[J]. *Planta*, 2012, 236(5): 1485-1498.
- [43] PENG X, WANG H, JANG J C, et al. OsWRKY80-OsWRKY4 module as a positive regulatory circuit in rice resistance against *Rhizoctonia solani*[J]. *Rice*, 2016, 9(1): 63.
- [44] HELLIWELL E E, WANG Q, YANG Y N. Transgenic rice with inducible ethylene production exhibits broad-spectrum disease resistance to the fungal pathogens *Magnaporthe oryzae* and *Rhizoctonia solani*[J]. *Plant Biotechnol J*, 2013, 11(1): 33-42.
- [45] KOUZAI Y, KIMURA M, WATANABE M, et al. Salicylic acid-dependent immunity contributes to resistance against *Rhizoctonia solani*, a necrotrophic fungal agent of sheath blight, in rice and *Brachypodium distachyon*[J]. *New Phytol*, 2018, 217(2): 771-783.
- [46] XUE X, CAO Z X, ZHANG X T, et al. Overexpression of Os-OSM1 enhances resistance to rice sheath blight [J]. *Plant Dis*, 2016, 100(8): 1634-1642.
- [47] 薛 芎,冯志明,曹文磊,等. 乙烯信号参与调控水稻纹枯病抗性的研究[J]. *植物病理学报*, 2020, 50(4): 462-470.
- [48] TAHERI P, TARIGHI S. A survey on basal resistance and riboflavin-induced defense responses of sugar beet against *Rhizoctonia solani*[J]. *J Plant Physiol*, 2011, 168(10): 1114-1122.
- [49] TAHERI P, TARIGHI S. Riboflavin induces resistance in rice against *Rhizoctonia solani* via jasmonate-mediated priming of phenylpropanoid pathway[J]. *J Plant Physiol*, 2010, 167(3): 201-208.
- [50] 贺 闽,尹俊杰,冯志明,等. 水稻稻瘟病和纹枯病抗性鉴定方法[J]. *植物学报*, 2020, 55(5): 48-58.
- [51] 冯志明,王广达,赵剑华,等. 水稻富含半胱氨酸类受体激酶家族基因对纹枯病菌和植物激素的响应特征分析[J]. *中国水稻科学*, 2021, 35(5): 439-448.
- [52] YANG Y X, AHAMMED G J, WU C J, et al. Crosstalk among Jasmonate, Salicylate and Ethylene signaling pathways in plant disease and immune responses[J]. *Current Protein and Peptide Science*, 2015, 16(5): 450-461.

(责任编辑:徐 艳)