

李智博, 董世满, 李淑霞, 等. 木薯 SR45 亚家族基因鉴定及表达 [J]. 华南农业大学学报, 2022, 43(5): 20-28.
LI Zhibo, DONG Shiman, LI Shuxia, et al. Identification and expression of SR45 subfamily gene in *Manihot esculenta*[J]. Journal of South China Agricultural University, 2022, 43(5): 20-28.

木薯 SR45 亚家族基因鉴定及表达

李智博^{1,2}, 董世满^{1,2}, 李淑霞^{2,3}, 彭 明^{2,3}, 曾长英¹

(1 海南大学 热带作物学院, 海南 海口 570228; 2 中国热带农业科学院 热带生物技术研究, 海南 海口 571101;
3 中国热带农业科学院 海南热带农业资源研究院, 海南 海口 571101)

摘要:【目的】精氨酸和丝氨酸富集蛋白 (Arginine/serine-rich proteins, SR) 为剪接复合体的主要成员, 不仅参与植物前体 mRNA 可变剪接过程, 在植物非生物胁迫中也具有相当重要的作用。SR45 基因为 SR 基因亚家族成员之一。本研究旨在分析木薯 SR45 亚家族成员蛋白结构特征与表达模式, 为进一步了解该亚家族基因在木薯中的功能提供理论支持。【方法】利用生物信息学技术重新构建木薯 SR 基因家族进化树, 对木薯 SR45 亚家族蛋白理化性质、基因结构、保守结构域进行分析, 同时利用转录组数据分析低温与干旱胁迫下 SR 基因表达变化, 运用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR) 研究各基因成员在不同组织中的特异性表达以及对低温胁迫的响应。【结果】木薯 SR 基因家族共 7 个大类 26 个成员, SR45 亚家族共有 5 个成员; SR45 亚家族基因编码蛋白长度为 135~423 aa, 相对分子质量为 14970~47210, 等电点为 5.19~12.34; 预测其主要定位于细胞核和叶绿体; SR45 编码 RS 结构域和 RRM 结构域, 具有 Motif 3、Motif 6、Motif 2 和 Motif 1 保守基序。转录组数据和 RT-qPCR 分析表明, SR45 基因均响应木薯低温胁迫, 且 *MeSR45-2* 显著上调表达, *MeSR45-4*、*MeSR45-5* 在木薯根和叶中有较高表达量。【结论】木薯 SR45 亚家族基因显著响应低温胁迫; 将 *MeSR45-2* 基因列为调控低温逆境变化的候选基因, 将根和叶列为研究 SR45 基因亚类成员的主要组织。本研究为探索木薯 SR45 基因奠定了理论基础, 并为进一步研究木薯 SR45 基因逆境胁迫应答过程指明了方向。

关键词: 木薯; 可变剪接; SR 家族; SR45 基因; 低温胁迫
中图分类号: S533 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-411X(2022)05-0020-09

Identification and expression of SR45 subfamily gene in *Manihot esculenta*

LI Zhibo^{1,2}, DONG Shiman^{1,2}, LI Shuxia^{2,3}, PENG Ming^{2,3}, ZENG Changying¹

(1 College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou 570228, China; 2 Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; 3 Hainan Institute of Tropical Agricultural Resources, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract: 【Objective】As major members of the splicing complex, arginine/serine-rich proteins (SR) not only participate in the process of alternative splicing of plant precursor mRNA, but also play an important role in abiotic stress. SR45 gene is a member of SR gene subfamily, this study was aimed to analyze the structural

收稿日期: 2021-11-24 网络首发时间: 2022-01-13 10:16:53
网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20220112.1523.002.html>

作者简介: 李智博, 硕士研究生, 主要从事木薯耐低温的分子机理研究, E-mail: 1421452858@qq.com; 通信作者: 李淑霞, 副研究员, 博士, 主要从事植物应答逆境胁迫的分子机制、植物基因工程、利用现代生物技术进行木薯抗逆品质改良以及种质创新利用研究, E-mail: lishuxia@itbb.org.cn; 彭 明, 研究员, 博士, 主要从事木薯抗旱耐贫瘠的基因调控网络、低温敏感分子基础及耐低温育种、耐贫瘠分子机理、转基因种质创新等研究, E-mail: pengming@itbb.org.cn; 曾长英, 研究员, 博士, 主要从事热带作物逆境适应和养分高效利用的分子机制研究, E-mail: zengchangying@hainanu.edu.cn

基金项目: 海南省重大科技计划 (ZDKJ2021012); 海南省自然科学基金 (320MS097); 中国热带农业科学院热带生物技术研究基本科研业务费 (1630052021026)

characteristics and expression patterns of SR45 subfamily proteins in cassava, and provide a theoretical support for further understanding the functions of SR45 subfamily genes in cassava. 【Method】 The evolutionary tree of cassava SR gene family was reconstructed by bioinformatics, and the physical and chemical properties, gene structure and conserved domain of cassava SR45 subfamily protein were analyzed. At the same time, transcriptome data were used to analyze the changes of SR gene expression under low temperature and drought stress, quantitative real-time PCR (RT-qPCR) was used to study the specific expression of SR gene members in different tissues and their responses to low temperature stress. 【Result】 The cassava SR gene family consisted of 26 members in seven categories, and the SR45 subfamily consisted of five members. The length of proteins encoded by SR45 subfamily genes were 135–417 aa, with relative molecular mass being 14970–47210, PI being 5.19–12.34. It was predicted that they were mainly located in the nucleus and chloroplast. The RS domain and RRM domain encoded by SR45 had Motif 3, Motif 6, Motif 2 and Motif 1 conserved motifs. Transcriptional data and RT-qPCR analysis showed that all SR45 genes were responsive to low temperature stress in cassava, *MeSR45-2* was significantly up-regulated, *MeSR45-4* and *MeSR45-5* were highly expressed in roots and leaves of cassava. 【Conclusion】 SR45 subfamily genes of cassava significantly respond to low temperature stress. *MESR45-2* gene is selected as the candidate gene for regulating low temperature stress, root and leaf are the main tissues for SR45 subfamily gene research. This study lays a theoretical foundation for the exploration of cassava SR45 gene, and points out a direction for further research on cassava SR45 gene responsive to stress.

Key words: Cassava; Alternative splicing; SR gene family; SR45 gene; Low temperature stress

木薯 *Manihot esculenta* 是一种热带作物, 原产自非洲、南美洲热带亚热带地区, 木薯淀粉储存根是重要的粮食、动物饲料和工业原料。木薯在全球粮食安全和经济发展中发挥着重要作用^[1], 然而, 木薯被归为一种对低温敏感的物种, 所以木薯种植区域大多数在我国年平均气温较高的海南、广西等地区^[2]。低温和冻害是影响植物发育、限制作物地理分布和产量提高的重要环境因素之一^[3]。研究木薯在低温逆境中的适应机制, 提高其抗逆性, 对于提高木薯产量具有重要意义。

在植物中, 可变剪接 (Alternative splicing) 是一种重要的转录后调控机制, 通过选择不同的剪切位点产生具有改变稳定性、定位或翻译效率功能的不同 mRNA 转录物来调节基因表达^[3]。目前可变剪接已被证明在植物对非生物胁迫的反应中发挥作用, 包括热、干旱和冷胁迫^[4-7]。精氨酸和丝氨酸富集蛋白 (Arginine/serine-rich proteins, SR) 基因在冷和热胁迫下剪接模式的变化表明剪接变异体在应激反应中的比例改变可能在植物对这些应激的适应中发挥了作用^[8]。Li 等^[9]通过对木薯转录组测序的大规模分析揭示了可变剪接异构体的数量和丰富度受到低温应激的特异性调控。Leviatan 等^[3]通过平铺阵列揭示低温下新型冷应答基因, 基因表达水平未发生改变, 但是可变剪接模式的相对丰度却显示出变化。

SR 蛋白是一种非小核核糖核蛋白 (Non-small

nuclear ribonucleoprotein, Non-snRNP) 剪接体蛋白家族, 是前体 mRNA 组成型剪接和可变剪接中保守且关键的调控因子^[10-14]。SR 蛋白形成 1 个保守的 RNA 结合蛋白家族, 具有独特的结构域结构, 是由 1 个或 2 个 RNA 识别基序 (RRM) 和 C 端富含精氨酸/丝氨酸 (RS) 的 1 个特征性结构域组成, 而 SR-like (SR45) 蛋白中 RS 结构域的分布位置与 SR 基因家族其他成员不同, 其 RS 结构域位于 N 端^[15-16]。植物 SR 蛋白可分为 6 个亚家族: SR、RS、SCL、RSZ、RS2Z 和 SC35, 不包含 SR-like 亚类, 但具有类似 SR 蛋白特征且与 SR 蛋白系统发育关系密切的蛋白质被分类为 SR-like 蛋白^[15, 17]。在本文中, 为了方便起见, 我们用 SR 这一名称统称 7 大亚类 (包含 SR-like 亚类)。在拟南芥中鉴定出 18 种 SR 基因家族成员以及 SR-like (AtSR45 和 AtSR45a)。在木薯中, 前人报道 SR 基因家族有 18 个成员, 包含 SR、RS、SCL、RSZ、RS2Z、SC35 共 6 大亚类^[18-19], 缺少 SR-like 亚类, 为此, 本研究在前人工作的基础上对木薯 SR 基因家族 SR-like 亚类进行补充鉴定。值得注意的是, SR 家族在细胞对各种非生物胁迫的适应过程中发挥着重要作用^[13, 20-21]。例如, 在拟南芥中, SR 剪接因子基因的表达和剪接模式受到低温的差异调节^[11], AtSR45 基因的缺失导致盐胁迫敏感性增加, 调控盐胁迫的基因表达模式与剪接模式发生改变^[22]。

木薯是热带亚热带地区优质的粮食作物, 低温

与冻害成为限制扩大其种植面积的重要因素,因此提高木薯的抗低温能力和选育耐低温的木薯品种是减少木薯在低温逆境中受损的有效方法之一,近年来对木薯抗逆基因的研究具有一定的进展,但是SR蛋白尤其SR45蛋白抗低温逆境的研究相对较少。本研究通过转录组测序分析筛选出木薯SR45相关基因,并运用生物信息学的方法对其系统进化、理化性质以及结构特征进行深入分析,以及对SR-like亚类进行了补充;同时结合荧光定量PCR(RT-qPCR)分析MeSR45在木薯组织中的时空表达模式以及在低温胁迫下的表达模式,以期进一步了解木薯SR-like亚类中SR45基因的生物学功能以及在低温胁迫中的响应,同时为其他物种SR基因家族的生物信息学研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

研究材料为‘木薯 60444’组培苗,该品种由中国热带农业科学院热带生物技术研究功能基因组研究实验室提供。选取高度、长势大致相同的组培苗,平均分成2份,分别用于木薯低温胁迫试验、基因时空表达检测试验与干旱胁迫试验。在低温胁迫试验中,组培苗在4℃低温处理24 h,并以(24±2)℃室温处理为对照,取组培苗茎顶端组织(包含芽尖以及2片完全展开的功能叶);时空表达试验材料取组培苗根、茎、叶和芽4部分组织;在干旱胁迫试验中,采用20%(w)PEG6000处理木薯组培苗6 h。以上试验所取组织均用于RNA抽提,本试验中每个试验样品均取3次重复,试验结果以平均值呈现。

1.2 基因家族成员的序列

从JGI植物基因组数据库(https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html)获得木薯SR基因ID、编码区(CDS)长度和氨基酸长度,使用序列处理在线

工具包(http://www.bio-soft.net/sms/prot_mw.html)计算蛋白质相对分子质量,使用ExPASy网站(https://web.expasy.org/compute_pi/)计算木薯SR45相关蛋白成员理论等电点,亚细胞定位预测网址为http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/。

1.3 基因家族分析、氨基酸序列比对和结构特征分析

从JGI植物基因组数据库(https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html)下载拟南芥、木薯的SR蛋白序列。利用DNAMAN6.0软件对木薯SR45蛋白序列进行多序列比对。利用MEGA11对2个物种46条氨基酸序列构建系统进化树(Neighbor-joining法和1 000次迭代bootstrap测试)。利用TB-tools软件对木薯SR-like蛋白结构以及Motif基序进行绘制。

1.4 木薯总RNA提取

称取木薯组织样品1.0 g,用液氮冰冻后充分研磨,按照RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒(天根生化科技有限公司)的说明书,提取木薯总RNA,使用超微量分光光度计NanoDrop 2000检测总RNA的浓度和纯度。参照FastKing Gdna Dispelling RT SuperMix反转录试剂盒(TaKaRa公司)的说明书进行反转录,RNA抽提后存放于-80℃冰箱。

1.5 RT-qPCR分析

以木薯内参基因MeActin为参照,使用RT-qPCR分析基因的相对表达量,引物序列见表1。RT-qPCR所用试剂为TaKaRa公司TB Green® Premix Ex Taq™ II(Tli RNaseH Plus),使用的仪器为Applied Biosystems StepOne™ and StepOnePlus™ Real-Time PCR Systems,采用2^{-ΔΔCt}法计算分析基因相对表达量。本试验RT-qPCR基因特异性引物均利用NCBI网站设计,引物合成由北京擎科生物科技有限公司海口合成部(hk-synth@tsingke.

表 1 MeSR45 基因 RT-qPCR 引物序列
Table 1 Primer sequences of MeSR45 genes for RT-qPCR

基因名称 Gene name	上游引物(5'→3') Forward primer (5'→3')	下游引物(5'→3') Reverse primer (5'→3')
MeActin	TGATGAGTCTGGTCCATCCA	CCTCCTACGACCCAATCTCA
MeCOR	ACACGACAGGATCTGCCAAC	GGCCAGATGGAACATGAGCA
MeSR45-1	GTCACGCTCTTACTCCGGTT	TGAAGACGAAGAGAACGATCGAG
MeSR45-2	CTCCGCGACAGAAGGTTTCA	GTCGCCTTGAGGAGAAATGT
MeSR45-3	GGATGGGACCCAGATTGATGG	GCCTGACTTTACGAGCGAGG
MeSR45-4	TTCTGGCTCGGGTTCATTGT	AGCAGTAGGGCTGCGACTAA
MeSR45-5	TACCTCAGCTCTGTTAGCCG	GAGAACGACCTCGTTTAGCCA

1~SR45-5 组成, MeSR45-4 和 MeSR45-5 亲缘关系更近; SR45a 分支由 AtSR45a 和 MeSR45a-1~MeSR45a-3 组成, MeSR45a-1 和 MeSR45a-2 亲缘关系更近。

2.3 MeSR45 蛋白保守 Motif 结构分析和基因结构分析

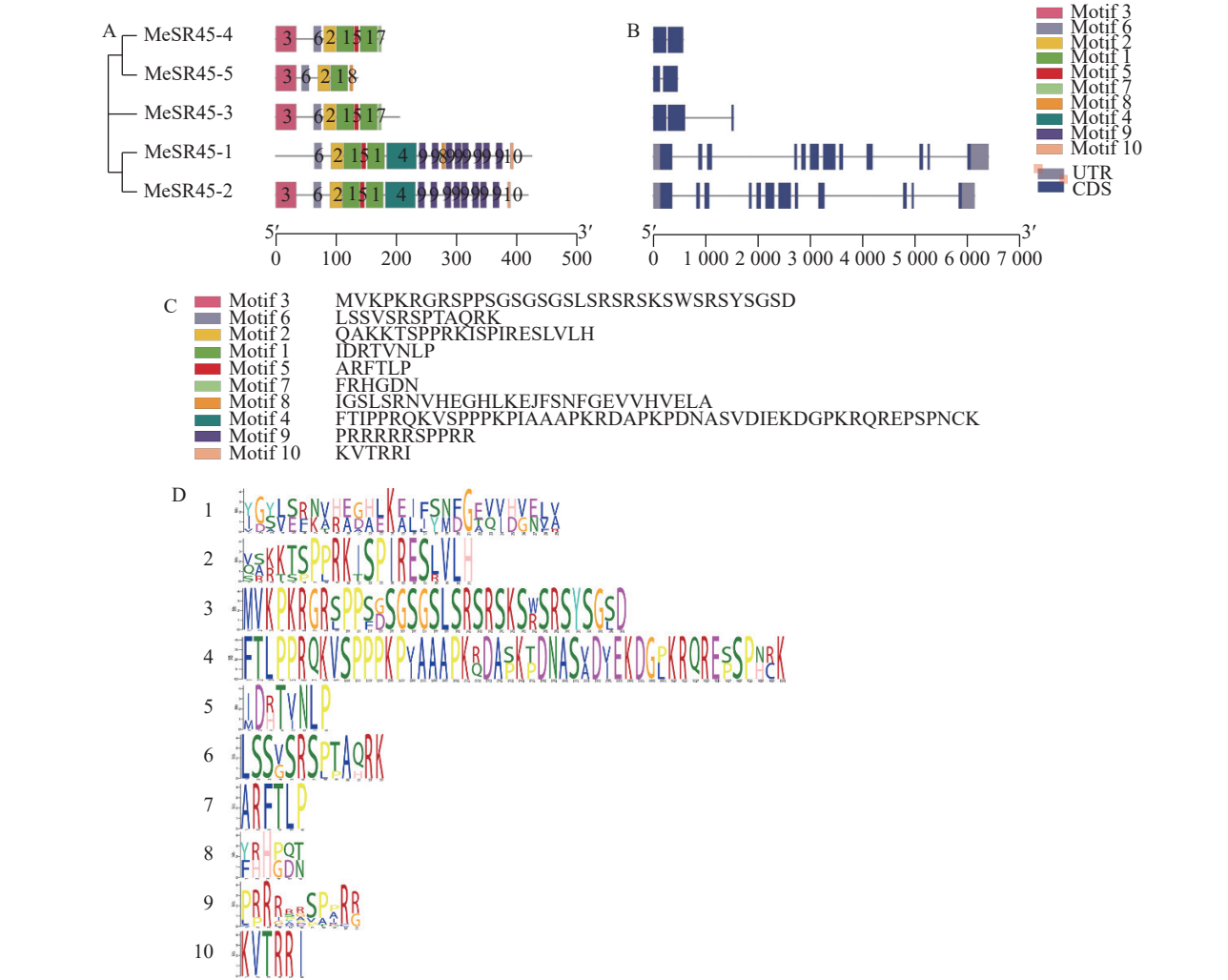
为了比较木薯 MeSR45 蛋白的相似性, 通过 MEME 网站构建 MeSR45 蛋白 Motif 并利用 TBtools 工具进行绘图。Motif 分析表明 Motif 3 和 Motif 6 基序共同组成 SR45 N 端 RS 结构域, Motif 2 和 Motif 1 基序共同组成 RRM 结构域。在木薯 SR45 亚类的 5 个成员中均有 Motif 6、Motif 2 和 Motif 1 基序, 表明这 3 个 Motif 是 MeSR45 蛋白序列的重要组成部分; 从基序结构上来看, MeSR45-3 与 MeSR45-4 蛋白具有相同基序, 证明其蛋白结构与功能可能相似; MeSR45-1 与 MeSR45-2 蛋白

基序差异较小, 与 MeSR45-2 相比, MeSR45-1 缺失 Motif 3 基序且在中间位置多出 Motif 8 基序; MeSR45-5 蛋白基序较少且相对保守, 在木薯中可能具有重要功能 (图 2A、2C、2D)。

从基因结构来看, 木薯 SR45 亚类 5 个基因中, 外显子与内含子分布差异较大, MeSR45-3、-4、-5 预测基因内含子较少, 其中 MeSR45-4、-5 被 1 个内含子分割成 2 个片段, MeSR45-3 有 3 个外显子; MeSR45-1 和 MeSR45-2 氨基酸序列中外显子与内含子较多, 且编码区零散分布在 7 kb 的基因组上 (图 2B)。

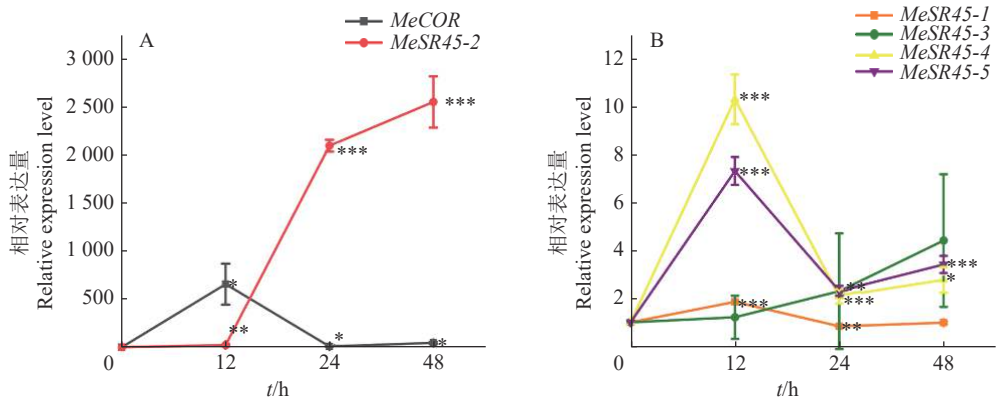
2.4 木薯 SR45 蛋白结构分析

利用 DNAMAN6.0 把木薯的 5 个氨基酸序列进行多序列比对 (图 3), 结果表明, 多序列相似性比对结果为 56.27%。MeSR45 N 端结构域较为保守, 有 RRM 结构域以及 RS 结构域, 而 C 端仅有 MeSR45-1



A: MeSR45 基因家族隐马尔可夫模型图案的位置; B: MeSR45 基因结构; C: MeSR45 蛋白保守 Motif 序列; D: MeSR45 基因家族隐马尔可夫模型图
A: Location of Hidden Markov model of MeSR45 gene family; B: MeSR45 gene structure; C: Conserved motif sequence of MeSR45; D: The map of Hidden Markov model of MeSR45 gene family

图 2 MeSR45 蛋白保守 Motif 结构和基因结构
Fig. 2 Conserved motif and gene structures of MeSR45 protein

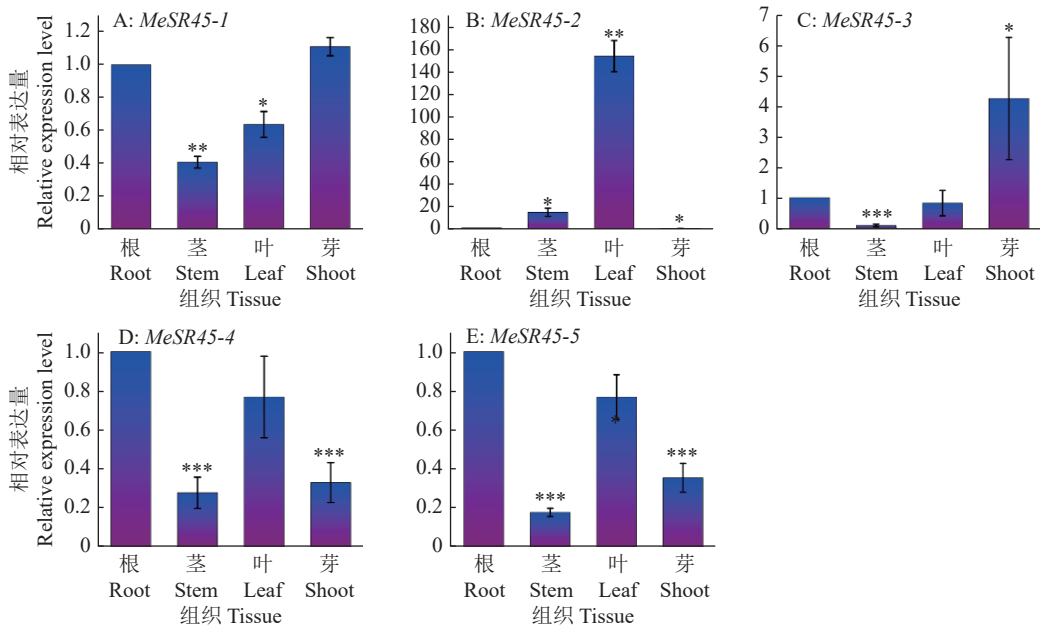


“*” “**” “***” 分别表示相关基因在不同处理时间与对照 (0 h) 在 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 和 $P < 0.001$ 水平差异显著 (t 检验)

“*” “**” and “***” indicate significant differences of the related genes between the treatment time and control (0 h) at the levels of $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$, respectively (t test)

图 5 低温胁迫下不同处理时间木薯 MeSR45 基因表达模式

Fig. 5 MeSR45 gene expression pattern in cassava under low temperature stress at different treatment time



“*” “**” “***” 分别表示相关基因在处理组织部位与对照 (根) 在 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 和 $P < 0.001$ 水平差异显著 (t 检验)

“*” “**” and “***” indicate significant differences of the related genes between the treatment tissue and control (root) at the levels of $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$, respectively (t test)

图 6 MeSR45 亚家族基因在木薯不同组织部位中的表达模式

Fig. 6 Expression patterns of MeSR45 subfamily gene in different cassava tissues

在芽中表达量较高,在其他组织中较低。这 5 个基因在木薯不同组织的表达模式差异较大,可能表明它们在不同组织中行使的功能具有差异。

3 讨论与结论

3.1 讨论

SR45 在植物细胞中是一类重要的剪接因子,可以参与植物生长发育过程并且具有应对非生物胁迫的作用^[12, 23]。在拟南芥中,SR45 蛋白通过与 mRNA 前体、U1-70K 和 U2AF^{35b} 相互作用,分别将 U1 snRNP 和 U2AF 招募到 5'和 3'剪接位点,并

调节可变剪接过程^[24];拟南芥 SR45 蛋白缺失突变体 SR45-1 普遍表现出发育迟缓、根生长缓慢以及叶和花形态改变。2 种拟南芥 SR45 可变剪接亚型具有不同的功能,一种亚型恢复根系生长,另一种亚型弥补突变体的花表型,这一过程表明 SR45 可变剪接具有重要功能意义^[12, 25-26]。在水稻中,OsFKBP20-1b 在体内与 OsSR45 在细胞核和细胞质中相互作用,表明这 2 种蛋白可能共同参与了植物细胞核和细胞质的 mRNA 加工^[27]。此外,SR45 蛋白在应对盐胁迫时具有重要的作用,拟南芥中 SR45 缺失突变体导致盐胁迫敏感性增强,调

控盐胁迫基因的表达与可变剪接发生变化, 可变剪接长亚型 SR45.1 可以挽救盐胁迫敏感特性^[22]。目前, 植物 SR45 蛋白研究具有一定的进展, 但是有关木薯 SR45 基因特性、系统进化与非生物胁迫响应的报道较少。

本研究在 Gu 等^[18]研究基础上进一步鉴定木薯 SR 基因家族, 补充 SR-like 亚类 SR45、SR45a 共 8 个基因; 补充 SC 亚类 MeSC35-2 蛋白并去除 RSZ 亚类中 MeRSZ23 蛋白, MeRSZ23 蛋白与 RSZ 亚类亲缘关系较远, 影响 SR 基因家族系统进化树的构建, 最终重新鉴定木薯 SR 基因家族为 7 大亚类 26 个成员。木薯基因结构与保守分析表明, *MeSR45-1* 和 *MeSR45-2* 拥有相似的基序, 并且外显子在基因中分布相似; 而 *MeSR45-3* 和 *MeSR45-4* 保守基序相同, 因此推测 *MeSR45-1* 和 *MeSR45-2*、*MeSR45-3* 和 *MeSR45-4* 可能存在基因复制事件。通过木薯 SR45 序列比对, 发现 5 个氨基酸序列均有 RRM 结构域和 N 端 RS 结构域, 但在 C 端 *MeSR45-3*、*MeSR45-4* 和 *MeSR45-5* 缺失 RS 结构域, 这可能表明 RS 结构域在两端具有不同的功能, 且 N 端 RS 结构域保守。有趣的是 Tanabe 等^[28]发现 AtSR45a 蛋白的 C 端 RS 结构域是与 U1-70K、U2AF^{35b}、AtSR45、AtSCL28、PRP38-like 蛋白及其自身相互作用所必需的, 而 N 端 RS 结构域则提高了相互作用的效率。因此, 木薯 SR45 蛋白保守结构域的差异性有待进一步研究。

关于植物 SR 亚家族 (SR45) 成员应对非生物胁迫的研究相对较少, 目前仅有部分模式作物在应对干旱胁迫与盐胁迫上具有相关研究进展^[29]。因此, 木薯作为一种热带低温敏感和耐贫瘠作物, 发掘木薯 SR45 基因资源, 对木薯以及其他热带作物应对低温、干旱胁迫以及其他非生物胁迫具有重要的意义。本研究发现木薯 SR45 基因与木薯应对低温胁迫具有密切的关系, 全部成员均响应木薯低温, 尤其是 *MeSR45-2* 基因, 在低温处理 48 h 后基因表达量比未处理木薯上调约 2 600 倍, 猜测 *MeSR45-2* 为 SR45 家族基因响应木薯低温胁迫最重要成员。基因组织特异性表达可以初步预测其相应的功能^[30], 在木薯组织表达中, *MeSR45-2* 基因在叶片中特异性表达, 而叶片为木薯响应低温胁迫的主要器官之一, 因此 *MeSR45-2* 基因功能有待深入研究。除此之外, 木薯根可能为木薯 SR45 蛋白响应其功能的重要组织。Zhang 等^[26]发现拟南芥 SR45-1 蛋白缺陷突变体相比正常拟南芥表现出根生长缺陷和花瓣缺陷表型, 而拟南芥过表达

SR45.2(SR45 蛋白亚型 2) 株系可以恢复根生长缺陷的表型。本试验研究发现 *MeSR45-1*、*MeSR45-4* 和 *MeSR45-5* 在木薯根中表达量较高。因此在接下来的研究中, 木薯的叶与根为主要研究器官。

3.2 结论

本研究通过生物信息学对木薯 SR45 基因亚家族成员进行分析, 确定了木薯 SR 基因家族的分类和进化关系。通过转录组测序分析了低温、干旱胁迫处理下的基因表达特性, 并通过 RT-qPCR 研究了低温胁迫条件下 SR45 基因的表达特性以及 SR45 基因的组织特异性表达模式。本研究表明 SR45 亚家族基因参与木薯低温和干旱胁迫应答和生长发育过程, 而木薯 SR45 亚家族基因中 *MeSR45-2* 基因对低温胁迫显著响应, 并且在木薯的叶片中表达量较高。该研究把 *MeSR45-2* 基因列为调控低温逆境变化的候选基因, 同时将木薯的根与叶列为研究 SR45 基因亚类成员的主要植物组织, 也为进一步研究木薯 *MeSR45* 基因应对低温等非生物胁迫提供了重要参考。

参考文献:

[1] COCK J H. Cassava: A basic energy source in the tropics[J]. *Science*, 1982, 218(4574): 755-762.

[2] HUANG L, YE Z, BELL R W, et al. Boron nutrition and chilling tolerance of warm climate crop species[J]. *Annals of Botany*, 2005, 96(5): 755-767.

[3] LEVIATAN N, ALKAN N, LESHKOWITZ D, et al. Genome-wide survey of cold stress regulated alternative splicing in *Arabidopsis thaliana* with tiling microarray[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66511.

[4] SHEN Y F, WU X P, LIU D M, et al. Cold-dependent alternative splicing of a Jumonji C domain-containing gene *MtJMC5* in *Medicago truncatula*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2016, 474(2): 271-276.

[5] IIDA K, SEKI M, SAKURAI T, et al. Genome-wide analysis of alternative pre-mRNA splicing in *Arabidopsis thaliana* based on full-length cDNA sequences[J]. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32(17): 5096-5103.

[6] THATCHER S R, DANILEVSKAYA O N, MENG X, et al. Genome-wide analysis of alternative splicing during development and drought stress in maize[J]. *Plant Physiology*, 2016, 170(1): 586-599.

[7] LIU Z S, QIN J X, TIAN X J, et al. Global profiling of alternative splicing landscape responsive to drought, heat and their combination in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2018, 16(3): 714-726.

[8] REDDY A S N, ALI G S. Plant serine/arginine-rich proteins: Roles in precursor messenger RNA splicing, plant development, and stress responses[J]. *Wiley Interdiscip-*

- linary Reviews: RNA, 2011, 2(6): 875-889.
- [9] LI S X, YU X, CHENG Z H, et al. Large-scale analysis of the cassava transcriptome reveals the impact of cold stress on alternative splicing[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71(1): 422-434.
- [10] LI Y, GUO Q, LIU P, et al. Dual roles of the serine/arginine-rich splicing factor SR45a in promoting and interacting with nuclear cap-binding complex to modulate the salt-stress response in *Arabidopsis*[J]. *New Phytologist*, 2021, 230(2): 641-655.
- [11] PALUSA S G, ALI G S, REDDY A S N. Alternative splicing of pre-mRNAs of *Arabidopsis* serine/arginine-rich proteins: Regulation by hormones and stresses[J]. *Plant Journal*, 2007, 49(6): 1091-1107.
- [12] CARVALHO R F, CARVALHO S D, DUQUE P. The plant-specific SR45 protein negatively regulates glucose and ABA signaling during early seedling development in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2010, 154(2): 772-783.
- [13] PANDIT S, ZHOU Y, SHIUE L, et al. Genome-wide analysis reveals SR protein cooperation and competition in regulated splicing[J]. *Molecular Cell*, 2013, 50(2): 223-235.
- [14] BARTA A, KALYNA M, LORKOVIC Z J. Plant SR proteins and their functions[J]. *Nuclear Pre-mRNA Processing in Plants*, 2008, 326: 83-102.
- [15] BARTA A, KALYNA M, REDDY A S. Implementing a rational and consistent nomenclature for serine/arginine-rich protein splicing factors (SR proteins) in plants[J]. *Plant Cell*, 2010, 22(9): 2926-2929.
- [16] CHEN S, LI J, LIU Y, et al. Genome-wide analysis of serine/arginine-rich protein family in wheat and *Brachypodium distachyon*[J]. *Plants*, 2019, 8(7): 188. doi: 10.3390/plants8070188.
- [17] KALYNA M, BARTA A. A plethora of plant serine/arginine-rich proteins: Redundancy or evolution of novel gene functions?[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2004, 32: 561-564.
- [18] GU J, MA S, ZHANG Y, et al. Genome-wide identification of cassava serine/arginine-rich proteins: Insights into alternative splicing of pre-mRNAs and response to abiotic stress[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2020, 61(1): 178-191.
- [19] 马思雅. 木薯 SR 蛋白家族的系统命名及表达分析[D]. 海口: 海南大学, 2018.
- [20] ZHAO C, ZAYED O, ZENG F, et al. Arabinose biosynthesis is critical for salt stress tolerance in *Arabidopsis*[J]. *New Phytologist*, 2019, 224(1): 274-290.
- [21] 顾进宝. 编码木薯 SR 蛋白基因的选择性剪接及其调控拟南芥盐胁迫响应中的作用研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2020.
- [22] ALBAQAMI M, LALUK K, REDDY A S N. The *Arabidopsis* splicing regulator SR45 confers salt tolerance in a splice isoform-dependent manner[J]. *Plant Molecular Biology*, 2019, 100(4/5): 379-390.
- [23] CRUZ T M D, CARVALHO R F, RICHARDSON D N, et al. Absciscic acid (ABA) regulation of *Arabidopsis* SR protein gene expression[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(10): 17541-17564.
- [24] DAY I S, GOLOVKIN M, PALUSA S G, et al. Interactions of SR45, an SR-like protein, with spliceosomal proteins and an intronic sequence: Insights into regulated splicing[J]. *Plant Journal*, 2012, 71(6): 936-947.
- [25] ALI G S, PALUSA S G, GOLOVKIN M, et al. Regulation of plant developmental processes by a novel splicing factor[J]. *PLoS One*, 2007, 2(5): e471.
- [26] ZHANG X N, MOUNT S M. Two alternatively spliced isoforms of the *Arabidopsis* SR45 protein have distinct roles during normal plant development[J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(3): 1450-1458.
- [27] PARK H J, YOU Y N, LEE A, et al. OsFKBP20-1b interacts with the splicing factor OsSR45 and participates in the environmental stress response at the post-transcriptional level in rice[J]. *Plant Journal*, 2020, 102(5): 992-1007.
- [28] TANABE N, KIMURA A, YOSHIMURA K, et al. Plant-specific SR-related protein atSR45a interacts with spliceosomal proteins in plant nucleus[J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, 70(3): 241-252.
- [29] XING D, WANG Y, HAMILTON M, et al. Transcriptome-wide identification of RNA targets of *Arabidopsis* serine/arginine-rich45 uncovers the unexpected roles of this RNA binding protein in RNA processing[J]. *Plant cell*, 2015, 27(12): 3294-3308.
- [30] XIAO J, HU R, GU T, et al. Genome-wide identification and expression profiling of trihelix gene family under abiotic stresses in wheat[J]. *BMC Genomics*, 2019, 20: 287. doi: 10.1186/s12864-019-5632-2.

【责任编辑 李庆玲】