网络出版时间:2025-11-26 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2026.05.018

# *OsCOLD*1基因过表达对青萍抗寒性和淀粉含量的影响

杨璞[1],贾榕[1],刘文英[1],何舒萍[1],刘静妍[2],许小凡[1],王海英[1],向蓓蓓[1]
(1 天津中医药大学 中药学院,天津 301617;2 天津农学院 农学与资源环境学院,天津 300384)

[摘 要] 【目的】探究*OsCOLD*1基因在青萍抗寒中的功能及其对低温胁迫和ABA处理的响应机制,为青萍的遗传改良及优异新种质创制提供参考。【方法】以天津中医药大学中药学院中药资源实验室保存的青萍(*Lemna turionifera*,品系5511)为研究材料,采用愈伤组织诱导获得再生能力强、状态良好的青萍愈伤组织,利用农杆菌介导的遗传转化技术在野生青萍中实现*OsCOLD*1基因过表达,系统分析低温胁迫和ABA处理对转基因青萍生长、抗寒性及淀粉合成的影响。【结果】筛选获得3个*OsCOLD*1基因过表达青萍株系,分别为*OsCOLD*1-4、*OsCOLD*1-7和*OsCOLD*1-8,其中*OsCOLD*1-4株系中*OsCOLD*1基因的相对表达量最高。低温胁迫下,*OsCOLD*1过表达株系的抗寒性显著增强,淀粉含量显著提高,表明*OsCOLD*1可能通过调控代谢途径增强了青萍的低温耐受性和能量储备能力。ABA处理下,野生型青萍和转基因青萍的生物量和淀粉含量均增加,但与野生型相比,*OsCOLD*1过表达青萍株系的生物量和淀粉含量提升更为显著,推测*OsCOLD*1可能通过GPCR结构域与ABA结合,激活下游信号通路,进而调控淀粉合成相关基因的表达。【结论】*OsCOLD*1基因在青萍抗寒性和淀粉合成中发挥重要作用,为青萍遗传改良和优异新种质创制提供了重要的基因资源和理论依据。

[关键词] 青萍;*OsCOLD*1基因;抗寒性;低温胁迫
[中图分类号] Q786 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)05-0173-08

# Effects of *OsCOLD*1 gene overexpression on cold resistance and starch content of *Lemna turionifera*

YANG Pu[1], JIA Rong[1], LIU Wenying[1], HE Shuping[1], LIU Jingyan[2], XU Xiaofan[1], WANG Haiying[1], XIANG Beibei[1]
(1 *School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin* 301617, *China*; 2 *School of Agronomy & Resources and Environment, Tianjin Agricultural College, Tianjin* 300384, *China*)

**Abstract**: 【Objective】 This research aims to investigate the role of *OsCOLD*1 gene in cold tolerance of *Lemna turionifera* and its response mechanism to low temperature stress and ABA treatment, to provide reference for the genetic improvement of *L. turionifera* and the creation of excellent new germplasm. 【Method】 With *L. turionifera* (strain 5511) preserved in the Laboratory of Traditional Chinese Medicine Resources of the School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine as the research material, the healing tissue induction was used to obtain *L. turionifera* healing tissues with strong regeneration ability and

[收稿日期] 2025-03-06 [修回日期] 2025-05-27
[基金项目] 国家自然科学基金项目(82074120);秦创原中医药产业创新聚集区项目(L2024-QCY-ZYYJJQ-X49)
[作者简介] 杨璞(1997—),女,云南曲靖人,在读硕士,主要从事合成生物学与分子生物学研究。E-mail:Yangpu1101@163.com
[通信作者] 王海英(1972—),女,河北保定人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事药用植物生理学和分子生物学研究。E-mail:haiyingwang-99@163.com
向蓓蓓(1983—),女,山东聊城人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事分子生物学及合成生物学研究。E-mail:xiangbeibei03230@163.com

in good condition. The overexpression of *OsCOLD*1 gene was realized in *L. turionifera* by using the *Agrobacterium*-mediated genetic transformation technology. The effects of low temperature and ABA treatments on the growth, cold resistance and starch synthesis of transgenic *L. turionifera* were systematically analyzed.【Result】Three overexpression lines of *L. turionifera*, namely *OsCOLD*1-4, *OsCOLD*1-7 and *OsCOLD*1-8, were obtained, among which *OsCOLD*1-4 showed the highest expression level of *OsCOLD*1 gene. Under low-temperature stress, *OsCOLD*1-4 overexpression lines showed significant increase in cold tolerance and starch content, suggesting that *OsCOLD*1 may enhance the low-temperature tolerance and energy reserve capacity of *L. turionifera* by regulating metabolic pathways. The biomass and starch content of wild-type and transgenic *L. turionifera* were increased under ABA treatment. However, compared to the wild type, the *OsCOLD*1 overexpressing lines showed significantly greater increases in biomass and starch content. It was hypothesized that *OsCOLD*1 might bind to ABA through the GPCR domain and activate the downstream signa-ling pathway, thus regulating the expression of starch synthesis-related genes.【Conclusion】*OsCOLD*1 gene plays an important role in cold resistance and starch synthesis of *L. turionifera*, which provides important genetic resources and theoretical basis for genetic improvement and creation of new germplasm of *L. turionifera*.

**Key words**: *Lemna turionifera*; *OsCOLD*1 gene; cold resistance; low-temperature stress

作为全球最小的开花水生植物,浮萍(*Lemnaceae*)隶属于天南星科,包含紫萍属(*Spirodela*)、少根紫萍属(*Landoltia*)、青萍属(*Lemna*)、扁无根萍属(*Wolffiella*)以及芜萍属(*Wolffia*)等5个属,共计36个种。因淀粉含量高、生物质转化效率高、生长快速、易培养以及木质素和纤维素含量低等优势,浮萍在环境保护、新能源开发及合成生物学等领域具有广泛的应用价值。目前,青萍属、紫萍属和芜萍属已成功建立遗传转化体系,其中青萍(*Lemna turionifera*)在遗传转化方面表现出显著优势[1]。此外,青萍已被广泛应用于异源蛋白表达,如人单克隆抗体、药用蛋白及工业酶等[2]。

低温胁迫对植物的生长发育、抗逆性及淀粉积累等具有显著影响。在抵御低温时,植物会启动冷适应防御系统,激活相关基因,诱导产生可溶性糖、脯氨酸、甜菜碱及多胺等冷诱导成分以增强抗寒能力。*COLD*1基因编码一种G蛋白偶联受体(GPCR)跨膜蛋白,由高尔基体pH受体(GPHR)和脱落酸连接的G蛋白偶联受体(ABA-GPCR)组成,主要定位于植物内质网膜上,能够响应寒冷等多种环境胁迫[3]。目前,已在多种植物中成功克隆并鉴定了多个*COLD*1同源基因,如*Osbzip46*[4]、*VaCOLD*1[5]、*ZmCOLD*1-10*A*[6]、*LeCOLD*1[7]和*OsCOLD*1[8],这些基因在低温胁迫中均发挥正调控作用。作为冷感应传感器,COLD1首先与G蛋白α亚基1(RGA1)相互作用,引起细胞内钙离子浓度升高,进而激活细胞膜蛋白激酶CRLK1/2,最终通过MEKK1-MKK2-MPK4信号通路诱导下游基因表达,从而调控植物的低温响应[9]。

*OsCOLD*1是从水稻中克隆并研究较为深入的一个基因。本研究将*OsCOLD*1基因在青萍中过表达,探究其在青萍中的功能及其对低温胁迫的响应机制,旨在为浮萍抗逆性改良及淀粉代谢调控提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料与试剂

以天津中医药大学中药学院中药资源实验室保存的青萍(*Lemna turionifera*,品系5511)为研究材料。青萍植株的继代培养采用DATKO培养液[10],培养条件为温度(25±1)℃、光照强度4 000 lx、光周期16 h光照/8 h黑暗。青萍愈伤组织的培养温度为(19±1)℃,光照强度及光周期与青萍植株培养条件一致。青萍愈伤组织的诱导与再生参考YANG等[10]的方法。

供试载体:植物双元表达载体pCAMBIA1301-*OsCOLD*1,由天津农学院刘静妍老师提供。

主要试剂:淀粉含量检测试剂盒和TAE缓冲液,均购自Solarbio公司;DNA提取试剂盒,购自TaKaRa公司;Eastep Super总RNA提取试剂盒,购自Promega公司;反转录试剂盒和荧光定量PCR试剂盒,均购自TIANGEN公司;琼脂糖购自Biowest公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 青萍愈伤组织诱导及转基因株系筛选 从DATKO培养液中选取生长状态良好的青萍叶状

体，使用无菌刀片在其表面轻划伤口，随后将叶状体接种于诱导培养基中进行培养。培养 20 d 后，伤口处逐渐形成小颗粒状愈伤组织，再将诱导的愈伤组织转移至继代培养基中继续培养 3 周，以获得状态良好、再生能力强的愈伤组织，确保其具备较高的遗传转化效率。

采用携带 *OsCOLD*1 基因的农杆菌菌株 EHA105-pCAMBIA1301-*OsCOLD*1 对愈伤组织进行侵染。侵染过程包括共培养、恢复培养及筛选等步骤。经过 4 周转化处理后，筛选出成功转化的愈伤组织，使其能够再生出叶状体。待再生叶状体发育出新根系后，将其转移至含潮霉素的 DATKO 培养基中进行筛选培养，以筛选出具有抗性的转基因青萍株系。

1.2.2　转基因青萍阳性植株检测　采用 DNA 提取试剂盒提取经潮霉素筛选获得具有抗性的青萍植株基因组 DNA。根据 *OsCOLD*1 基因序列及载体序列设计特异性检测引物，其中上游引物序列为 5′-ATGGGTTGGGGCGCGGT-3′，下游引物序列为 5′-TCAATCAATTGGGTGCTTGTCTG-3′。通过 PCR 扩增反应筛选阳性转基因青萍植株，以验证 *OsCOLD*1 基因的整合情况。

1.2.3　野生型和转基因青萍中 *OsCOLD*1 基因的表达　采用 Eastep Super 总 RNA 提取试剂盒提取青萍总 RNA，并利用反转录试剂盒合成第一链 cDNA，将 cDNA 稀释 10 倍后作为 RT-qPCR 模板，用于基因表达量分析。针对 *OsCOLD*1 基因设计特异性 RT-qPCR 引物 *OsCOLD*1-F（5′-TCAAGCAAAGATAGCTGCTGCG-3′）和 *OsCOLD*1-R（5′-CAATACCAATGTCAAAATGCCT-C-3′），并以 *Actin* 基因作为内参设计引物 *Actin*-F（5′-GGCTACTCCTTCACCACCAC-3′）和 *Actin*-R（5′-GCTCGTAGGTCTTCTCGACG-3′）。RT-qPCR 反应体系（20 μL）：2×SuperReal PreMix Plus 10 μL，10 μmol/L 上、下游引物各 0.6 μL，cDNA 模板 1 μL，*RN*ase-free $H_2O$ 7.8 μL。RT-qPCR 反应程序：95 ℃预变性 15 min；95 ℃变性 10 s，60 ℃变性 30 s，40 个循环；95 ℃延伸 15 s。每个基因设置 3 个技术重复。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法[11]对基因表达水平进行定量分析。

1.2.4　冷处理对过表达青萍株系生长的影响　将野生型青萍和 *OsCOLD*1 过表达青萍在 DATKO 培养基中预培养 10 d 后，每瓶分别挑选 20 株长势一致的青萍植株继续培养，分别设置为对照组和冷处理组，并分别用 WT-CK、WT-冷处理、*OsCOLD*1-4-CK、*OsCOLD*1-4-冷处理表示，从第 1 天开始，每天将冷处理组青萍置于 −20 ℃冰箱中冷冻 20 min，以模拟低温胁迫环境。分别在培养 0，3，6，9 和 12 d 取样，测定生物量（鲜质量、干质量）和相对生长速率，每组设置 3 个生物学重复。

1.2.5　脱落酸处理对过表达青萍株系生长的影响　将野生型青萍和 *OsCOLD*1 过表达青萍在 DATKO 培养基中预培养 10 d 后，每瓶分别挑选 20 株长势一致、生长状态良好的青萍叶状体继续培养，分别设置对照组和 ABA 处理组，并分别采用 WT-CK、WT-ABA、*OsCOLD*1-4-CK、*OsCOLD*1-4-ABA 表示。其中 ABA 处理组在 DATKO 培养基中加入 0.1 mg/L 脱落酸（ABA），对照组在相同条件下培养但不添加 ABA。分别在培养 0，3，6，9 和 12 d 取样，测定生物量（鲜质量、干质量）和相对生长速率，每组设置 3 个生物学重复。

### 1.3　测定指标及方法

1.3.1　根长和根冠比的测定　随机选取 10 株野生型青萍和 *OsCOLD*1 过表达青萍植株，用滤纸吸干表面水分。采用 ImageJ 软件对根长进行测量与分析，以评估转基因青萍株系与野生型青萍在根系发育方面的差异。同时，分别选取 40 株野生型青萍和 *OsCOLD*1 过表达青萍植株，将地上部分和地下部分分别装在信封袋置于 75 ℃烘箱内烘至质量恒定，分别测定地上部分和地下部分的干质量。计算根冠比：根冠比＝地下部分干质量/地上部分干质量。

1.3.2　生物量和相对生长速率的测定　从锥形瓶中取出青萍，用滤纸吸干表面水分，用分析天平称量青萍的鲜质量，然后在 80 ℃热风循环烘箱中烘至质量恒定，再使用分析天平称量青萍的干质量。根据 HOFFMANN 等[12]的方法计算其相对生长速率（relative growth rate，RGR）。

$$RGR=100\times(\ln W_t-\ln W_0)/t。$$

式中：$W_t$ 和 $W_0$ 分别表示培养 $t$ 和 0 d 时的鲜质量，$t$ 为培养时间。

1.3.3　淀粉含量的测定　将青萍样品研磨成粉末，采用淀粉含量检测试剂盒提取青萍中的淀粉，具体操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。使用分光光度计在波长 620 nm 下测定淀粉提取液的吸光度值，并根据标准曲线计算样品中的淀粉含量。

### 1.4　数据分析

使用 SPSS 25.0 软件对试验数据进行统计分

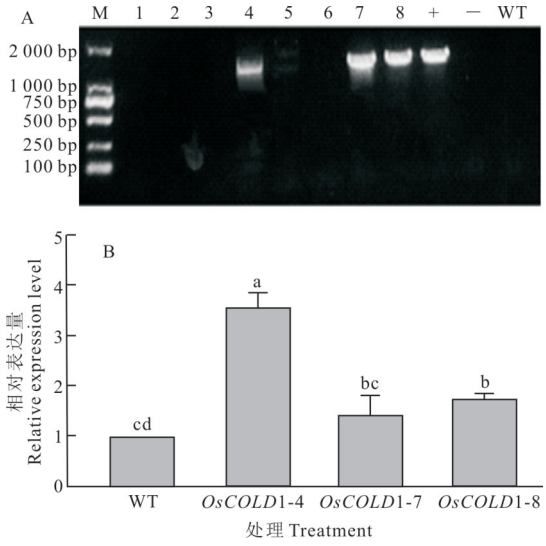
析,数据经正态性检验后,采用单因素方差分析(ANOVA)结合HSD法进行多组间差异显著检验,以$P<0.05$表示差异有统计学意义。所有试验数据均以3个生物学重复的"平均值±标准误"表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 *OsCOLD*1过表达青萍株系的获得与鉴定

通过农杆菌介导法将携带*OsCOLD*1基因的农杆菌菌株转化到青萍愈伤组织中,筛选获得8个抗性株系。提取这8个抗性株系的基因组DNA,并利用特异性引物对目的基因片段进行PCR验证。结果(图1-A)表明,以*OsCOLD*1-4、*OsCOLD*1-7和*OsCOLD*1-8株系的基因组DNA为模板进行PCR扩增时,在约1 600 bp处均检测到目的条带。

RT-qPCR分析结果(图1-B)显示,*OsCOLD*1-4、*OsCOLD*1-7和*OsCOLD*1-8株系中*OsCOLD*1基因的表达水平分别为野生型青萍的3.54,1.42和1.76倍,且*OsCOLD*1-4株系中*OsCOLD*1基因的相对表达量最高,因此,选择*OsCOLD*1-4株系进行后续试验。




M. DL2000 DNA Marker;WT. 野生型青萍;+. 质粒阳性对照;−. 质粒阴性对照;1~8. 以*OsCOLD*1基因组DNA为模板进行扩增的PCR产物。图柱上标不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下图同。

M. DL2000 DNA Marker;WT. Wild-type *Lemna turionifera*;+. Plasmid positive control;−. Plasmid negative control;1−8. PCR products amplified from *OsCOLD*1 genomic DNA emplates. Different lowercase letters above the bars indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). The same below.

图1 转基因青萍中*OsCOLD*1基因的PCR扩增和定量分析

Fig. 1 PCR amplification and quantitative analysis of *OsCOLD*1 in transgenic *Lemna turionifera*

### 2.2 *OsCOLD*1过表达对青萍生长的影响

已有研究表明,*OsCOLD*1基因能够促进水稻(*Oryza sativa*)[9]和番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill)[13]的株高及根长增加。为探究*OsCOLD*1基因在青萍生长中的功能,本研究对培养10 d后的*OsCOLD*1-4、*OsCOLD*1-7、*OsCOLD*1-8共3个过表达株系及野生型青萍的根长和根冠比进行测定。结果(图2)表明,*OsCOLD*1-4和*OsCOLD*1-7过表达青萍的根长均显著高于野生型青萍,而*OsCOLD*1-8过表达青萍的根长虽高于野生型青萍,但与野生型青萍差异不显著(图2-A)。由图2-B可知,*OsCOLD*1过表达对青萍根冠比无显著影响。上述结果表明,*OsCOLD*1基因过表达能够促进青萍根系的生长。

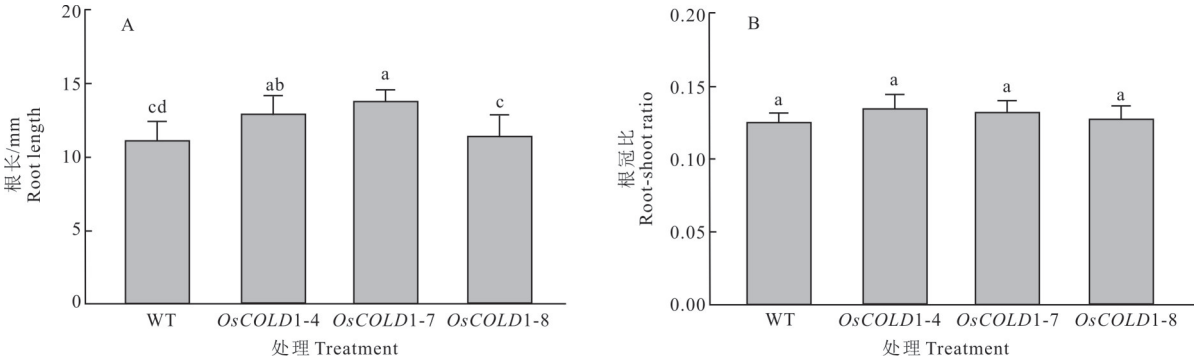



图2 *OsCOLD*1过表达对青萍生长的影响

Fig. 2 Effects of *OsCOLD*1 overexpression on the growth of *Lemna turionifera*

### 2.3 冷处理对*OsCOLD*1过表达青萍生长的影响

由表1可知,随着培养时间的延长,*OsCOLD*1-4过表达青萍株系及野生型青萍的生长速率均呈先升高后降低的趋势,且均在培养第6天时达到峰值,随后缓慢下降。在常温条件下培养至第6天时,*OsCOLD*1-4过表达青萍株系的鲜质量和干质量均低于野生型青萍;然而在冷处理条件下培养至第6天时,*OsCOLD*1-4过表达青萍株系的鲜质量和干质量均显著高于野生型青萍。表明*OsCOLD*1基因过表达显著增强了青萍的抗寒性。

研究表明，浮萍在营养限制、重金属胁迫、植物激素处理、温度变化及光照等非生物胁迫条件下会积累淀粉[14]。为探究*OsCOLD*1基因对青萍淀粉代谢的影响，本试验探究了*OsCOLD*1-4过表达青萍株系与野生型青萍在冷处理前后淀粉含量的变化。结果（表1）表明，随着培养时间的延长，所有处理青萍的淀粉含量均呈增加趋势，且均在培养第12天时达到峰值。在常温条件下，*OsCOLD*1-4过表达青萍株系的淀粉含量与野生型青萍无显著差异；而在冷处理条件下，培养至第6天后，*OsCOLD*1-4过表达青萍株系的淀粉含量均显著高于野生型青萍。

**表1　冷处理对*OsCOLD*1过表达青萍生长的影响**

Table 1　Effects of cold treatment on the growth of *Lemna turionifera* overexpressing *OsCOLD*1

| 培养时间/d Cultivation time | 处理 Treatment | 鲜质量/(g·瓶$^{-1}$) Freshness quality | 干质量/(g·瓶$^{-1}$) Dry quality | 相对生长速率/% Relative growth rate | 淀粉含量/(mg·g$^{-1}$) Starch content |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | WT-CK | 0.07±0.000 a | 0.004±0.000 a | 0 | 0.79±0.02 a |
| | *OsCOLD*1-4-CK | 0.08±0.003 a | 0.004±0.000 a | 0 | 0.72±0.02 a |
| | WT-冷处理 WT-cold treantment | 0.07±0.002 a | 0.004±0.000 a | 0 | 0.71±0.02 a |
| | *OsCOLD*1-4-冷处理 *OsCOLD*1-4-cold treantment | 0.07±0.001 a | 0.004±0.000 a | 0 | 0.70±0.05 a |
| 3 | WT-CK | 0.10±0.002 a | 0.005±0.000 a | 12.00±0.00 a | 1.07±0.07 b |
| | *OsCOLD*1-4-CK | 0.11±0.008 a | 0.006±0.000 a | 12.33±0.00 a | 1.12±0.02 ab |
| | WT-冷处理 WT-cold treantment | 0.10±0.005 a | 0.005±0.000 a | 11.33±0.00 a | 1.06±0.05 b |
| | *OsCOLD*1-4-冷处理 *OsCOLD*1-4-cold treantment | 0.10±0.003 a | 0.005±0.000 a | 12.00±0.00 a | 1.21±0.05 a |
| 6 | WT-CK | 0.22±0.001 a | 0.011±0.000 a | 19.00±1.00 a | 2.13±0.07 ab |
| | *OsCOLD*1-4-CK | 0.21±0.008 a | 0.010±0.000 a | 16.67±1.53 bc | 2.21±0.03 a |
| | WT-冷处理 WT-cold treatment | 0.19±0.001 b | 0.009±0.000 b | 15.67±1.53 c | 2.03±0.07 b |
| | *OsCOLD*1-4-冷处理 *OsCOLD*1-4-cold treatment | 0.22±0.010 a | 0.011±0.001 a | 18.00±1.00 ab | 2.20±0.01 a |
| 9 | WT-CK | 0.35±0.030 a | 0.018±0.002 a | 17.67±0.00 a | 2.51±0.00 c |
| | *OsCOLD*1-4-CK | 0.29±0.001 b | 0.014±0.001 bc | 14.33±0.58 b | 2.45±0.04 cd |
| | WT-冷处理 WT-cold treantment | 0.27±0.004 c | 0.013±0.000 c | 14.67±0.58 b | 2.64±0.14 b |
| | *OsCOLD*1-4-冷处理 *OsCOLD*1-4-cold treantment | 0.34±0.000 a | 0.017±0.000 a | 17.00±1.00 a | 2.83±0.03 a |
| 12 | WT-CK | 0.45±0.013 a | 0.023±0.001 a | 15.33±0.58 a | 3.21±0.04 b |
| | *OsCOLD*1-4-CK | 0.37±0.007 b | 0.019±0.000 b | 13.00±0.58 b | 3.17±0.01 b |
| | WT-冷处理 WT-cold treatment | 0.31±0.009 c | 0.015±0.000 c | 12.00±0.58 b | 3.22±0.01 b |
| | *OsCOLD*1-4-冷处理 *OsCOLD*1-4-cold treantment | 0.44±0.001 a | 0.022±0.000 a | 15.00±0.00 a | 3.36±0.04 a |

注：同列数据后标不同小写字母表示同一培养时间不同处理间差异显著（$P<0.05$）。表2同。

Note: Different lowercase letters following the same column of data indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). The same as in Table 2.

### 2.4　脱落酸处理对*OsCOLD*1过表达青萍生长的影响

作为G蛋白偶联受体（GPCR），COLD1可能参与ABA信号传导[15]。已有研究表明，拟南芥中的G蛋白偶联受体GCR2与ABA特异性结合，调控拟南芥ABA信号应答反应，调节根帽循环的可塑性和逆境适应性，该受体被认为可能是ABA受体[16]。另有研究表明，作为一种重要的植物激素，ABA会影响浮萍的淀粉积累[14]。基于上述研究，推测在青萍中稳定过表达来自水稻的耐寒基因*OsCOLD*1，不仅会响应冷胁迫，可能还会对ABA发生应答反应。

由表2可知，ABA处理后，*OsCOLD*1-4过表达

青萍株系的鲜质量和干质量显著高于野生型青萍,这与冷处理对*OsCOLD*1过表达青萍生长的影响结果一致。推测冷处理和ABA处理均可以激活*OsCOLD*1的表达,从而使*OsCOLD*1-4过表达青萍株系的生长显著优于野生型青萍。还有研究表明,多种植物激素(如生长素、细胞分裂素、脱落酸、赤霉素及油菜类固醇)对浮萍的淀粉积累均具有一定的促进作用[14]。由表2还可知,对照处理下,*OsCOLD*1-4过表达青萍株系与野生型青萍的淀粉含量无显著差异;但在ABA处理下,培养至第6天时,*OsCOLD*1-4过表达青萍株系的淀粉含量显著高于野生型青萍。综上可知,ABA处理能够促进野生型和*OsCOLD*1-4过表达青萍的淀粉积累,且对*OsCOLD*1-4过表达青萍株系的促进作用更为显著。

**表2 ABA处理对*OsCOLD1*过表达青萍生长的影响**

Tables 2 Effect of ABA treatment on the growth of *Lemna turionifera* overexpressing *OsCOLD1*

| 培养时间/d Cultivation time | 处理 Treatment | 鲜质量/(g·瓶$^{-1}$) Freshness quality | 干质量/(g·瓶$^{-1}$) Dry quality | 相对生长速率/% Relative growth rate | 淀粉含量/(mg·g$^{-1}$) Starch content |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | WT-CK | 0.08±0.001 a | 0.001±0.000 a | 0 | 0.99±0.01 a |
| | *OsCOLD*1-4-CK | 0.07±0.000 a | 0.001±0.001 a | 0 | 0.99±0.01 a |
| | WT-ABA | 0.09±0.000 a | 0.002±0.001 a | 0 | 0.98±0.01 a |
| | *OsCOLD*1-4-ABA | 0.10±0.001 a | 0.003±0.000 a | 0 | 0.98±0.01 a |
| 3 | WT-CK | 0.11±0.004 b | 0.003±0.000 b | 10.67±0.67 a | 1.27±0.04 b |
| | *OsCOLD*1-4-CK | 0.10±0.002 b | 0.003±0.000 b | 11.00±0.99 a | 1.32±0.01 b |
| | WT-ABA | 0.13±0.003 a | 0.006±0.048 a | 11.67±0.88 a | 2.13±0.02 ab |
| | *OsCOLD*1-4-ABA | 0.16±0.003 a | 0.006±0.048 a | 15.33±0.67 a | 2.20±0.04 a |
| 6 | WT-CK | 0.20±0.001 b | 0.015±0.000 b | 15.67±0.33 a | 2.33±0.04 c |
| | *OsCOLD*1-4-CK | 0.19±0.008 b | 0.015±0.095 b | 15.67±0.67 a | 2.41±0.02 c |
| | WT-ABA | 0.25±0.002 a | 0.019±0.095 a | 16.33±0.33 a | 2.57±0.03 b |
| | *OsCOLD*1-4-ABA | 0.28±0.005 a | 0.019±0.000 a | 17.33±0.33 a | 3.24±0.08 a |
| 9 | WT-CK | 0.37±0.002 c | 0.030±0.000 c | 17.00±0.00 ab | 2.71±0.00 c |
| | *OsCOLD*1-4-CK | 0.30±0.000 d | 0.027±0.143 d | 16.00±0.00 b | 2.65±0.02 c |
| | WT-ABA | 0.43±0.019 b | 0.033±0.143 b | 17.33±0.67 ab | 3.37±0.03 b |
| | *OsCOLD*1-4-ABA | 0.54±0.011 a | 0.037±0.000 a | 18.67±0.33 a | 4.42±0.04 a |
| 12 | WT-CK | 0.44±0.005 c | 0.038±0.001 c | 14.33±0.33 ab | 3.41±0.02 c |
| | *OsCOLD*1-4-CK | 0.41±0.001 d | 0.037±0.191 d | 14.00±0.00 b | 3.37±0.01 c |
| | WT-ABA | 0.55±0.001 b | 0.045±0.191 b | 15.00±0.00 ab | 4.32±0.02 b |
| | *OsCOLD*1-4-ABA | 0.66±0.031 a | 0.047±0.001 a | 16.00±0.58 a | 5.04±0.04 a |

## 3 讨 论

### 3.1 *OsCOLD*1基因过表达对青萍根系生长的影响

根系的生长与发育是植物适应环境胁迫的重要机制之一。本研究发现,与野生型青萍相比,过表达*OsCOLD*1基因的青萍株系的根长显著增加,表明*OsCOLD*1基因在调控青萍根系生长中具有重要作用。已有研究表明,紫萍根长的增加能够显著提高其对营养物质的吸收效率,从而促进其生长与繁殖[17];过表达*LeCOLD*1基因可显著增加番茄植株的高度和根长[7]。根长的增加与植物生长密切相关,尤其在胁迫条件下,较长的根系能够扩大植物对养分和水分的吸收范围,从而为植物生长提供更充足的资源[18]。因此推测*OsCOLD*1基因过表达可能通过增加青萍根长来增强其在胁迫条件下的抵抗作用,表现为更高的鲜质量和淀粉积累,说明*OsCOLD*1基因通过增强根系功能优化了植物的生理状态,使其在逆境条件下仍能保持较高的生长活力。

### 3.2 冷处理对*OsCOLD*1过表达青萍生长的影响

*OsCOLD*1基因编码G蛋白信号通路的调控因子,能够与G蛋白α亚基相互作用,激活钙离子通道,从而感知低温并加速G蛋白的GTP酶活性[19]。

本研究发现，冷处理后过表达*OsCOLD*1青萍株系的抗寒性显著增强，表现为更高的生物量和淀粉积累，推测*OsCOLD*1基因可能通过激活类似的钙离子信号通路及下游冷响应基因，增强植物的抗寒性。这与MA等[9]在水稻中的研究结果一致。此外，*OsCOLD*1基因还可能通过调节细胞内钙离子浓度，激活钙依赖蛋白激酶（CDPK），进一步增强植物的冷适应能力[20-21]。已有研究证实玉米中的同源基因*ZmCOLD*1能够通过调节钙离子内流和激活相关信号通路来增强玉米的耐寒性[3]。因此，笔者推测*OsCOLD*1基因在不同植物中可能具有相似的功能。

本研究还发现，在常温条件下，*OsCOLD*1-4过表达青萍株系与野生型青萍的淀粉含量无显著差异；而在冷处理条件下，*OsCOLD*1过表达青萍株系的淀粉含量显著高于野生型青萍。已有研究表明，在低温胁迫下，*OsCOLD*1基因通过激活下游信号通路（比如MEKK1-MKK2-MPK4）诱导相关冷响应基因的表达，优化淀粉合成过程，从而在一定程度上缓解低温对淀粉合成的抑制，提高淀粉积累能力[22]。还有研究表明，在低温条件下，过表达抗寒相关基因能够增加葡萄[5]、甘蓝型油菜[23]及番茄[24]等植物的淀粉含量。此外，水稻中*COLD*1基因通过调节G蛋白信号通路来增强植物的耐寒能力，并促进淀粉积累[9]。上述结果表明，激活抗寒相关基因能够在逆境条件下为植物生长提供物质基础，从而增强其适应能力。但*OsCOLD*1在青萍中如何激活冷响应基因及其调控网络尚不清楚，需进一步研究以揭示其抗寒机制。

### 3.3　ABA处理对*OsCOLD*1过表达青萍生长及淀粉含量的影响

作为一种关键的植物激素，ABA在植物抗逆性中发挥重要作用。本研究发现，外源ABA处理进一步增强了过表达*OsCOLD*1青萍的生长及淀粉积累。MA等[9]研究发现，在过表达*COLD*1水稻中，ABA通过调控钙离子和G蛋白信号，激活ABA受体及SnRK2激酶，增强ABA信号通路的活性，同时通过正反馈调节*COLD*1的表达，增强水稻的抗寒性。推测在过表达青萍中，ABA与*OsCOLD*1的协同作用可能是通过增强ABA信号传导及钙离子/G蛋白信号实现，共同提升植物的逆境适应能力。

本研究中，外源ABA处理后，野生型青萍和*OsCOLD*1-4过表达青萍的淀粉含量均显著升高，且ABA对*OsCOLD*1-4过表达青萍淀粉积累的促进作用更为显著。这可能与*OsCOLD*1基因编码蛋白GPCR结构域中包含ABA结合位点有关[25]。GPCR结构域通过二聚体形式调节信号通路的偏向性，影响细胞内多种信号级联反应（比如ERK1/2、p38 MAPK等）。这些信号通路及关键酶的激活能够调控光合作用相关基因的表达，进一步提高光合作用效率，从而为淀粉合成提供更多碳源[2]。

## 4　结　论

在低温胁迫及脱落酸（ABA）处理条件下，*OsCOLD*1基因过表达青萍株系的鲜质量、干质量、相对生长速率和淀粉含量均显著提升。表明在应对低温和ABA信号传导过程中，*OsCOLD*1基因过表达可能通过调控代谢途径及生理响应机制，显著提高了青萍的生长适应性和碳储存能力。

**[参考文献]**


[1] 杨晶晶，赵旭耀，李高洁，等. 浮萍的研究及应用[J]. 科学通报，2021，66(9)：1026-1045.
YANG J J，ZHAO X Y，LI G J，et al. Research and application of duckweed[J]. Chinese Science Bulletin，2021，66(9)：1026-1045.

[2] 杜小春，何正权，陈磊，等. 植物生物反应器表达药用蛋白研究新进展[J]. 中国生物工程杂志，2008，28(9)：135-143.
DU X C，HE Z Q，CHEN L，et al. Research progress in plant bioreactor expressing pharmaceutical proteins[J]. China Biotechnology，2008，28(9)：135-143.

[3] ZHOU Y，ZHANG H，ZHANG S M，et al. The G protein-coupled receptor *COLD*1 promotes chilling tolerance in maize during germination[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2023，253：126877.

[4] SUN Y，XIE Z Z，JIN L，et al. Histone deacetylase OsHDA716 represses rice chilling tolerance by deacetylating OsbZIP46 to reduce its transactivation function and protein stability[J]. The Plant Cell，2024，36(5)：1913-1936.

[5] ZHENG Q L，YU Q H，YAO W K，et al. Decoding *VaCOLD*1 function in grapevines：a membrane protein enhancing cold stress tolerance[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2023，71(49)：19357-19371.

[6] JIN Y N，CUI Z H，MA K，et al. Characterization of *ZmCOLD*1，novel GPCR-Type G protein genes involved in cold stress from *Zea mays* L. and the evolution analysis with those from other species[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants，2021，27(3)：619-632.

[7] ZHANG L，GUO X Y，QIN Y J，et al. The chilling tolerance divergence 1 protein confers cold stress tolerance in processing tomato[J]. Plant Physiology and Biochemistry，2020，151：34-46.

[8] LUO W，XU Y Y，CAO J，et al. COLD6-OSM1 module

senses chilling for cold tolerance via 2′, 3′-cAMP signaling in rice[J]. Molecular Cell, 2024, 84(21): 4224-4238.

[9] MA Y, DAI X Y, XU Y Y, et al. COLD1 confers chilling tolerance in rice[J]. Cell, 2015, 160(6): 1209-1221.

[10] YANG L, HAN H J, LIU M M, et al. Overexpression of the *Arabidopsis* photorespiratory pathway gene, serine: glyoxylate aminotransferase (*AtAGTl*), leads to salt stress tolerance in transgenic duckweed (*Lemna minor*)[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2013, 113(3): 407-416.

[11] PFAFFL M W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR[J]. Nucleic Acids Research, 2001, 29(9): e45.

[12] HOFFMANN W A, POORTER H. Avoiding bias in calculations of relative growth rate[J]. Annals of Botany, 2002, 90(1): 37-42.

[13] 王文文, 王美, 张丽, 等. 五种茄科植物*COLD*1基因生物信息学分析[J]. 分子植物育种, 2023, 21(15): 4895-4901.
WANG W W, WANG M, ZHANG L, et al. Bioinformatics analysis of *COLD*1 gene in five Solanaceae plants[J]. Molecular Plant Breeding, 2023, 21(15): 4895-4901.

[14] 魏莹, 杨琳, 朱晔荣, 等. 新型能源植物浮萍淀粉代谢的研究进展[J]. 植物生理学报, 2020, 56(12): 2543-2549.
WEI Y, YANG L, ZHU Y R, et al. Research advance on starch metabolism of new energy plant duckweeds[J]. Plant Physiology Journal, 2020, 56(12): 2543-2549.

[15] ZHANG X Y, ZHANG Z, PENG H, et al. GPCR-like protein ZmCOLD1 regulate plant height in an ABA manner[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(21): 11755.

[16] LIU X G, YUE Y L, LI B, et al. A G protein-coupled receptor is a plasma membrane receptor for the plant hormone abscisic acid[J]. Science, 2007, 315(5819): 1712-1716.

[17] 蔡树美, 诸海焘, 钱晓晴, 等. 不同磷初始浓度对紫萍生长及磷吸收效率的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2012, 28(1): 88-92.
CAI S M, ZHU H T, QIAN X Q, et al. Effect of initial phosphorus concentration on growth and phosphorus uptake of *Spirodela polyrrhiza*[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2012, 28(1): 88-92.

[18] 张鋆鋆, 刘冰洋, 王一凡, 等. 植物根系研究进展[J]. 天津农业科学, 2016, 22(11): 11-18.
ZHANG Y Y, LIU B Y, WANG Y F, et al. Research progress of plant roots[J]. Tianjin Agricultural Sciences, 2016, 22(11): 11-18.

[19] 权威, 薛文通, 赵天瑶, 等. 植物对低温胁迫的响应机制研究进展[J]. 中国农业大学学报, 2023, 28(2): 14-22.
QUAN W, XUE W T, ZHAO T Y, et al. A review on the response mechanism of plant to low temperature stress[J]. Journal of China Agricultural University, 2023, 28(2): 14-22.

[20] ZENG R, SHI Y T, GUO L, et al. A natural variant of *COOL1* gene enhances cold tolerance for high-latitude adaptation in maize[J]. Cell, 2025, 188(5): 1315-1329.

[21] PENG Y, MING Y H, JIANG B C, et al. Differential phosphorylation of $Ca^{2+}$-permeable channel CYCLIC NUCLEOTIDE-GATED CHANNEL20 modulates calcium-mediated freezing tolerance in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2024, 36(10): 4356-4371.

[22] LI J D, CHEN Y T, ZHANG R, et al. OsWRKY70 plays opposite roles in blast resistance and cold stress tolerance in rice[J]. Rice, 2024, 17(1): 61.

[23] 刘佳桢, 钟微, 杨慧, 等. *BnaHKL*1基因过量表达与转基因油菜叶片中可溶性糖的变化[J]. 农业科学, 2024, 14(12): 1307-1315.
LIU J Z, ZHONG W, YANG H, et al. Changes of soluble sugar in leaves of transgenic rapeseed overexpressing *BnaHKL*1 gene [J]. Journal of Agricultural Science, 2024, 14(12): 1307-1315.

[24] YE M H, WANG D Y, LI R X, et al. SlAN2 overexpression improves cold resistance in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by regulating glycolysis and ascorbic acid metabolism [J]. Genomics, 2025, 117(1): 110978.

[25] 李传宝, 黎晨卉, 薛礼. GPCR二聚体结构及功能[J]. 生物化学与生物物理进展, 2024, 51(11): 2787-2804.
LI C B, LI C H, XUE L. Structure and function of GPCR dimer[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2024, 51(11): 2787-2804.

(责任编辑: 陈丽)