中国水稻科学(*Chin J Rice Sci*), 2026, 40(1): 95－105
http://www.ricesci.cn
DOI: 10.16819/j.1001-7216.2026.241110

水稻种子耐储性基因的挖掘及不同老化方式的转录组分析

廖政明[1,#] 郭梁[2,3,#] 潘孝武[2,3] 黎用朝[2] 董铮[2,3] 李小湘[2,3,*]
([1]湖南农业大学 农学院，长沙 410128；[2]湖南省农业科学院 湖南杂交水稻研究中心，长沙 410125；[3]国家耐盐碱水稻技术创新中心，三亚 572019；[#]共同第一作者；*通信作者，email: xiaoxiang66196@126.com)

Identification of Genes for Rice Seed Storability and Transcriptome Analysis Under Different Aging Conditions

LIAO Zhengming[1,#], GUO Liang[2,3,#], PAN Xiaowu[2,3], LI Yongchao[2], DONG Zheng[2,3], LI Xiaoxiang[2,3,*]
(*[1]College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; [2]Hunan Hybrid Rice Research Center, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125, China; [3]National Center of Technology Innovation for Saline-Alkali Tolerant Rice, Sanya 572019, China; [#]These authors contributed equally to this work; [*]Corresponding author, email: xiaoxiang66196@126.com*)

Abstract: 【Objective】Seed storability is crucial for germplasm conservation, food security, and sustainable development. This study aims to identify QTLs associated with rice seed storability and explore the genetic basis of seed storability under different aging conditions. 【Method】A set of 131 *Oryza nivara* introgression lines in the genetic background of the *indica* variety 93-11 was used. Seeds were subjected to natural aging and artificial aging treatments, and germination rates were measured for QTL mapping. RNA sequencing was performed to analyze genome-wide gene expression patterns in embryos from the storage-tolerant line Ra32 (carrying the *O. nivara*-derived allele of *qASS1.1*/*qNSS1.1*) and the storage-sensitive line Ra146 (without the allele). GO and KEGG enrichment analyses were conducted to explore enriched pathways and to identify genes related to seed storability. 【Result】Six QTLs for seed storability were identified on chromosomes 1, 3, 6, 7, and 9, with individual QTLs explaining 3.3% to 21.0% of phenotypic variance. Among them, *qASS1.1*/*qNSS1.1* was consistently detected under both natural and artificial aging treatments, and the *O. nivara*-derived allele at this QTL enhanced seed storability. Transcriptome analysis revealed 2077 differentially expressed genes (DEGs) under artificial aging and 1468 DEGs under natural aging, with 733 shared DEGs between the two treatments. GO and KEGG analyses showed that DEGs under artificial aging were enriched in 1428 GO terms and 97 metabolic pathways, while DEGs under natural aging were enriched in 1199 GO terms and 85 pathways. Two biological processes (circadian regulation of translation and hydrogen peroxide catabolic process) and 12 metabolic pathways (including MAPK signaling pathway, zeatin biosynthesis, histidine metabolism, and ascorbate and aldarate metabolism) were commonly enriched in both treatments, suggesting that seed storability may be regulated by antioxidant systems, energy metabolism, and accumulation of seed storage substances. Based on functional annotation of DEGs near the *qASS1.1*/*qNSS1.1* locus, five candidate genes for *qASS1.1*/*qNSS1.1* were further identified. 【Conclusion】This study identified QTLs related to seed storability and screened multiple candidate genes, revealing that rice seeds enhance storability under different aging treatments mainly by regulating antioxidant defense, maintaining cellular stability, and modulating metabolic processes. These findings provide new genetic resources for improving seed storability in rice.
Key words: wild rice; introgression line; QTL; seed storability; transcriptome; differentially expressed gene

摘 要:【目的】水稻种子耐储性对种质资源保护、粮食安全和可持续发展具有重要意义。本研究旨在挖掘控制水稻种子耐储性的 QTL，并探索不同老化方式下耐储性的遗传基础。【方法】以籼稻 93-11 为背景的 131 个尼瓦拉野生稻渗入系为材料，分别采用自然老化和人工老化处理，测定发芽率进行 QTL 定位。通过转录组测序比较携带 *qASS1.1*/*qNSS1.1* 野生稻等位基因的耐储材料 Ra32 与不携带增效等位基因的不耐储材料 Ra146，筛选差异表达基因(Differentially expressed genes, DEGs)，并通过 GO 和 KEGG 分析挖掘候选基因。【结果】共检测到 6 个耐

收稿日期：2024-11-18；**修改稿收到日期：**2025-01-06。
基金项目：国家水稻产业技术体系资助项目(CARS-01-19)。

储性 QTL，分布在 1、3、6、7、9 号染色体上，每个 QTL 可解释 3.3%~21.0%的表型变异。其中，主效 QTL *qASS1.1*/*qNSS1.1* 在两种老化处理中均稳定检测到，且野生稻等位基因显著提高种子耐储性。转录组分析共鉴定出人工老化下 2077 个 DEG、自然老化下 1468 个 DEG，两种处理下共有 733 个 DEG。GO 富集和 KEGG 代谢途径分析显示，人工老化下 DEG 可富集到 1428 个 GO 条目和 97 个代谢途径；自然老化下分别为 1199 个条目和 85 个代谢途径。在最显著富集的 10 个生物学过程和 30 个代谢途径中，昼夜节律调控翻译和过氧化氢分解过程等生物学过程以及 MAPK 信号传导通路、细胞分裂素生物合成、组氨酸代谢、抗坏血酸和醛糖酸代谢等代谢是两种老化处理共有的富集通路，表明种子耐储性可能受抗氧化系统调控、能量代谢及种子储藏物质积累等机制影响。基于这些富集通路，经 RT-qPCR 验证，初步筛选到主效 QTL *qASS1.1*/*qNSS1.1* 的 5 个候选基因，包括 *Os01g0842400* 与 *Os01g0842500*(编码漆酶前体蛋白)、*Os01g0847800*(编码醛酮还原酶家族蛋白)、*Os01g0855900*(编码 CDC6-DNA 复制起始蛋白)和 *Os01g0860400*(编码糖基水解酶)。【结论】本研究挖掘到耐储性 QTL 并筛选出多个候选基因，揭示了不同老化处理下水稻种子主要通过调节抗氧化防御、维持细胞稳定性和代谢过程来提高其耐储性，为水稻耐储性改良提供了新的基因资源和理论支持。

关键词：野生稻；渗入系；QTL；耐储性；转录组；差异表达基因

水稻是全球重要的粮食作物，特别是在中国，稻谷的安全与高效储藏对国家粮食安全具有重要意义。种子耐储性是指种子在储藏过程中保持活力的能力，是衡量种子质量与储藏稳定性的重要指标。随着储藏时间的延长，种子活力和发芽率逐渐降低，影响播种质量和出苗率。我国稻谷储藏量约占总产量的 40%，但在长时间储藏过程中因霉变、虫害和陈化变质等导致的损失约占总储量的 3%[1]。因此，通过提高稻谷的耐储性来减缓种子活力降低、稻米陈化变质等问题，是当前保障水稻生产与国家粮食安全的重要研究方向。

水稻种子的耐储性受遗传背景和环境因素的共同作用。目前评估种子抗老化能力的常用指标包括发芽率、电导率、近红外光谱、低场核磁共振参数及代谢标志物等[2-7]。老化处理方法主要分为自然老化和人工加速老化两类。自然老化模拟常温储藏环境，能较真实反映种子在实际储藏中的衰变过程，但试验周期长且受环境因素影响较大；人工老化则在恒温恒湿条件下(一般 7~25 d)加速实现老化过程。两种方法所得种子活力变化趋势大致相同，即活力随老化时间延长呈“S”型曲线：初期下降缓慢，中期迅速降低，后期趋于稳定[8]。尽管两种老化方式表现出相似的总体趋势，但在影响种子耐储性的生理调控机制上可能存在显著差异。品种间比较，籼稻和粳稻耐储性有显著差异。吴方喜等[9]基于 456 份世界各地水稻种质资源分析发现，籼稻总体上比粳稻更耐储藏，但两者均存在极端耐储的代表材料。黄祎雯等[10]通过人工老化比较 33 份不同基因型水稻的耐储性，结果显示杂交籼稻普遍优于杂交粳稻，而籼粳杂交稻耐储性最低。

水稻种子耐储性属于典型的多基因控制数量性状。前人利用分离群体、重组自交系、回交自交系及自然群体等多种遗传材料，结合连锁定位与全基因组关联分析，已开展了多项研究[2-7, 11-15]。目前，部分耐储性 QTL 已被克隆，如位于 3 号染色体上控制合成脂氧合酶的 *sLOX3*[16]和位于 1 号染色体的吲哚-3-乙酸(IAA)-氨基合成酶基因 *OsFAH2*[17]。这些基因通过调节脂肪酸代谢和抗氧化途径，延缓种子老化进程。目前关于人工老化与自然老化处理下遗传调控差异的研究仍较少，尤其是在两种老化处理下耐储性 QTL 稳定性方面的研究相对不足。

野生稻具有丰富的遗传多样性，因长期适应复杂多变的生态环境，含有多种尚未充分利用的抗逆性状[18]，如利用东乡普通野生稻已定位到显著提高种子耐储性的 QTL *qSS4* 和 *qSS9.2*[19]。本研究基于尼瓦拉野生稻渗入系群体，旨在系统分析不同生态环境(三亚和长沙)及不同老化方式(人工老化和自然老化)下水稻种子耐储性的遗传基础。具体目标包括：1)在多环境条件下定位水稻种子耐储性 QTL；2)比较不同老化方式下 QTL 的稳定性；3)结合转录组数据筛选耐储性候选基因。通过比较携带野生稻增效等位基因的耐储材料与不含增效等位基因的不耐储材料的转录组差异，揭示水稻种子在不同老化方式下的分子调控机制，为水稻耐储性改良提供新的基因资源和理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料与田间试验

渗入系群体(Introgression line, IL)以尼瓦拉野生稻(*Oryza nivara*)W2014 为供体，籼稻 93-11 为受体，构建过程如下：选取 93-11 和 *O. nivara* 单株杂交获得 23 个 F_1 植株，经连续三次回交获得 256 个 BC_3F_1 单株。通过全基因组 120 个多态性 SSR 标记

筛选出 150 个 BC_3F_1 单株，并经 6 代自交构建包含 131 个株系的渗入系群体[19]。该群体于 2022 年 12 月 10 日在海南三亚播种(以下简称“三亚材料”)，每株系种植 2 行，每行 10 株，株行距为 20.0 cm×26.4 cm，种植两次重复，常规田间管理，始穗后 40 d 左右采收成熟种子。2024 年 4 月 30 日在湖南长沙重复种植(以下简称“长沙材料”)，种植与收获方式同三亚。通过在不同地点和时间的重复试验，有效降低环境因素对结果的影响，提高表型数据的稳定性和可靠性。

1.2 耐储性表型鉴定

自然老化处理：在 2023 年 4 月中下旬收获三亚材料，晒干后清选及破休眠处理(50℃烘干 70 h)。处理后的种子装入牛皮纸袋，放入纸箱中保存在湖南省农业科学院水稻研究所的自然储藏室。该储藏室位于顶楼，无空调调控，室内日高温变幅为 5~38℃，相对湿度为 60%~80%。在 2024 年 9 月，对 131 份渗入系种子进行自然老化后的表型鉴定，测定发芽率。

梯度老化试验：根据前期两年自然老化预实验结果，选取发芽率最高的 Ra32 和最低的 Ra146 为代表材料，每个株系的种子分装为 15 袋(3 个重复×5 个梯度)，置于人工老化箱(温度 42℃±1℃，湿度 85%±5%)中处理。老化时间分别设为 8、12、16、20 和 24 d，各梯度样品分层放置，对应不同老化时间。为确保处理均一性，每隔 1 d 按固定顺序更换各层样品位置。处理结束后，依次取样用于发芽率测定。

人工加速老化处理：2023 年 6 月−7 月对 2023 年 4 月三亚收获的材料进行人工老化处理；2025 年 3 月−4 月对 2024 年 10 月长沙收获的材料进行相同处理。老化前，所有种子经破休眠处理(50℃烘干 70 h)，并检测其初始发芽率，确认发芽率均在 98%以上。随后挑选无病斑、无裂颖的黄熟种子，每株系取 50 粒置于小网袋中，每个株系设 4 个重复。样品经 45℃烘干 30 h 后置入人工老化箱中(温度 42℃±1℃，相对湿度 85%±5%)持续处理 20 d。为确保处理条件一致，每隔 1 d 快速更换网袋位置，保持不同重复间的老化均一性。

发芽率测定：老化处理后的种子置于放有滤纸的培养皿内，加入适量纯净水，在光照培养箱内于 30℃条件下培养 7 d(光照强度 10 000 Lux，光/暗周期 12 h)。第 7 天记录活芽数并计算发芽率。每个株系取 4 个生物学重复的均值为最终结果。重复间的最大容许误差需符合 2.5%显著性水平的双尾检验要求。

1.3 QTL 分析

连锁图谱包括 1070 个 bin，每个 bin 平均长度约为 349 kb[20]。基于老化处理后的表型数据和遗传连锁图谱，利用软件 QTL IciMapping 4.2[21]的完备区间作图法(ICIM)开展耐储性 QTL 检测。通过 1000 次置换检验确定 95%置信水平下的 LOD 阈值，以判定显著性。QTL 命名遵循 McCouch 和 CGSNL[22]的统一规则：QTL+性状缩写+染色体编号+序号。

1.4 转录组测序

测序材料准备：选取三组样品进行测序分析。1）2024 年 9 月新收获并破休眠的 Ra32 和 Ra146(发芽率均为 100%)；2）2023 年收获并自然老化 17 个月的 Ra32 和 Ra146(发芽率分别为 100%和 50%)；3）经人工老化(温度 42℃±1℃，相对湿度 85%±5%)处理 16 d 的 Ra32 和 Ra146(发芽率分别为 95%和 17%)。

取样和组织处理：每个样品取 200~400 粒种子(依据发芽率调整)，去颖壳后等分成 3 个重复置于不同无菌培养皿中。加入适量无菌水，于 30℃条件下进行萌动培养(光照强度 10 000 Lux，光/暗周期 12 h)，持续 10~16 h;老化处理后的不耐储种子萌动时间适当延长。观察种胚轻微隆起后，用无菌小刀切取种胚，立即转入 1.5 mL 离心管中并用液氮速冻。每 10 粒种胚置于 1 管，每个样品共取 9 管，随机组合 3 管为 1 个生物学重复，随后保存在−80℃备用。

RNA 提取和文库构建：每个样品随机取 3 个离心管样本混合研磨，9 个离心管分为 3 个生物学重复。采用 TRIzol 试剂提取总 RNA。使用 NanoDrop 2000 分光光度计测定 RNA 纯度和浓度，并使用 Agilent 2100 Bioanalyzer 评估 RNA 完整性。随后使用 VAHTS 通用型 V5 RNA 测序文库构建试剂盒(VAHTS Universal V5 RNA-seq Library Prep Kit)构建转录组文库。

RNA 测序和差异表达基因分析：转录组测序由上海欧易生物技术有限公司完成。利用 Illumina Novaseq 6000 平台进行 150 bp 双端测序。使用 fastp[23]软件去除低质量数据，获得过滤后数据。利用 HISAT2[24]软件进行参考基因组比对，并计算 FPKM 值[25]。通过 HTSeq-count[26]获得每个基因的读数计数。利用 DESeq2[27]软件进行差异表达分析，筛选标准为 $q<0.05$ 且$|\text{foldchange}|>2$。基于超几何分布算法对 DEG 进行 GO 功能注释和 KEGG

通路富集分析，以筛选显著富集的功能类别和代谢通路。

1.5 候选基因预测

以蜀恢 498 为参考基因组(https://www.mbkbase.org/rice/genotype)，提取目标 QTL 两端 bin 的物理位置及上下游各延伸 500 kb，确定候选区域范围。基于转录组数据，比较携带野生稻增效等位基因的耐储材料与不含增效等位基因的不耐储材料的差异表达基因(DEG)。结合 GO 和 KEGG 富集分析结果，从富集程度最高的前 30 条通路里筛选差异表达基因，确定潜在候选基因。

1.6 RT-qPCR 验证候选基因表达差异

为验证转录组测序结果的可靠性，对筛选的候选基因进行 RT-qPCR 分析。选取自然老化后的耐储材料 Ra32 和不耐储材料 Ra146 作为检测对象。采用 TRIzol 试剂提取总 RNA，经纯化后利用反转录试剂盒(HiScript Q RT SuperMix for qPCR)合成 cDNA。根据目标基因 mRNA 序列设计特异性引物，以 *Ubiquitin* 为内参基因，每个处理设 3 个生物学重复。使用 ABI 7500 实时定量 PCR 仪进行检测，相对表达量计算采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法。

2 结果与分析

2.1 梯度老化试验结果

在老化箱温度 42℃±1℃，相对湿度 85%±5%的条件下，对同批次的耐储株系 Ra32 和不耐储株系 Ra146(初始发芽率均为 100%)分别进行 8、12、16、20、24 d 的人工老化处理，分析其发芽率变化趋势(图 1)。结果表明，两株系的发芽率随处理时间延长而显著下降，但下降速率存在明显差异。Ra32 在 8~16 d 内发芽率保持较高水平，至第 20 天仍超过 80%，第 24 天降至 31%；而 Ra146 的发芽率在 12 d 后急剧下降，16 d 时仅为 17%，20 d 起几乎完全丧失活力。两种材料在 20 d 时的发芽率差异达到最大，故确定人工老化最佳处理时长为 20 d。

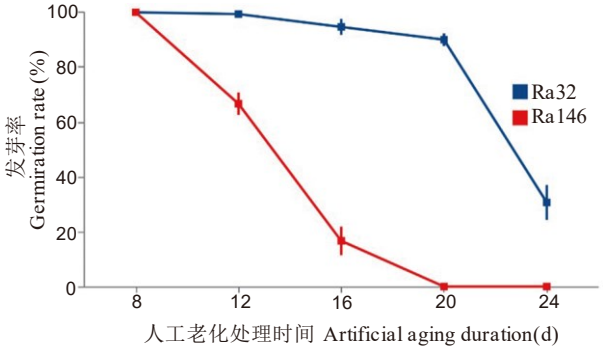


图 1 Ra32 和 Ra146 在不同人工老化时长下发芽率的变化趋势

Fig. 1. Changes in germination rate of Ra32 and Ra146 under different artificial aging durations

2.2 渗入系群体的表型分析

131 份渗入系在老化处理前表现出较高的种子活力，破休眠后平均发芽率为 98.2%。如图 2-A 所示，在不同老化情境下，渗入系群体的种子发芽率表型差异显著。长沙材料和三亚材料人工老化处理后的平均发芽率相近，分别为 41.5%和 41.4%，但变幅较大，分别为 0%~95.6%和 0%~86.0%，变异系数均超过 55%；而三亚材料自然老化处理后整体保持较高发芽率，均值为 81.8%，变幅为 0%~100.0%(图 2-B)，表明人工老化显著放大了材料间的表型变异。相关性分析结果表明，长沙和三亚人工老化的群体发芽率之间具有高度一致性(r = 0.71, P < 0.001)。三次老化试验结果中发芽率均在 85%以上的株系仅 Ra32 一份；发芽率在 80%~85%的株系共有 6 个，分别为 Ra28、Ra29、Ra46、Ra49、Ra85 和 Ra91。

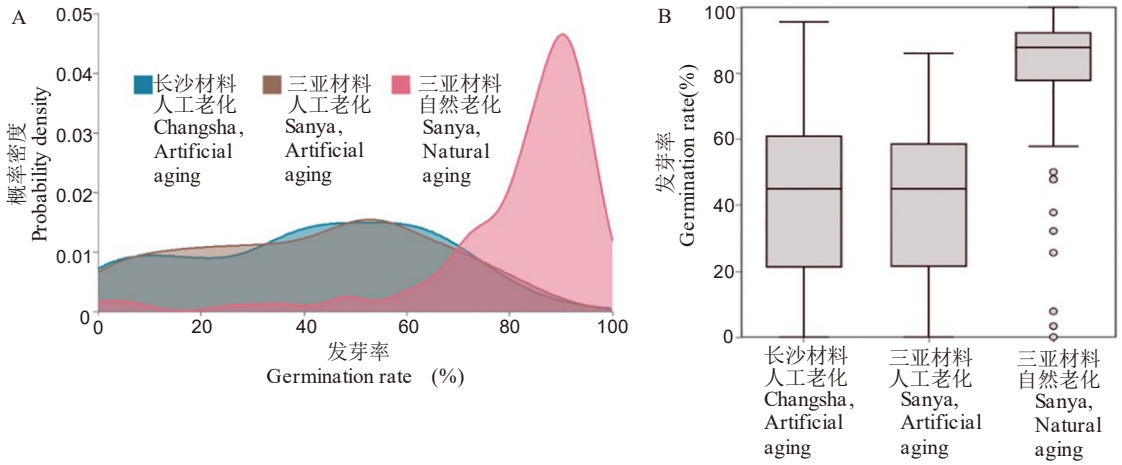
2.3 耐储性 QTL 分析

基于渗入系在人工和自然老化处理下的发芽率数据和高密度连锁图谱，共检测到 6 个与水稻种子耐储性相关的 QTL，分别位于 1、3、6、7 和 9 号染色体上，LOD 值为 2.50~19.00，贡献率为 5.6%~21.0%(表 1)。其中，2 个 QTL 在 2 次或 3 次实验中均被检测到。主效 QTL *qASS1.1*/*qNSS1.1* 在三亚材料的两种老化处理和长沙材料的人工老化处理中均被检测到，其贡献率分别为 19.0%、21.0%和 15.5%，加性效应为正值(0.13~0.16)，表明来自野生稻的等位基因可显著提高种子耐储性；微效 QTL *qASS1.2*/*qNSS1.2* 在长沙材料的人工老化和三亚材料的自然老化处理中均被检测到，其贡献率分别为 5.5%和 5.8%，来自籼稻 93-11 的等位基因提高发芽率 9%和 8%。另外，*qASS3*、*qNSS6*、*qNSS7* 和 *qASS9* 加性效应也均为正值，表明这些位点的野生稻等位基因同样有助于增强耐储性。

2.4 转录组分析

2.4.1 转录组数据质量与比对结果

针对三亚材料两种老化方式及长沙材料人工老化处理稳定检测到的主效 QTL *qASS1.1*/*qNSS1.1*，进一步采用转录组测序分析，以比较携带野生稻增效等位基因的耐储材料 Ra32 和不携带增效等位基因的不耐储材料 Ra146 在不同老化条件下的基因表达差异。实验共设置三组样品：老化



A：发芽率的核密度估计曲线；B：发芽率箱线图。

A, Kernel density estimation (KDE) curves of germination rates; B, Boxplots of germination rate.

图 2 不同老化方式与材料来源下种子发芽率的分布特征与统计概况

Fig. 2. Distribution and summary statistics of seed germination rate from different origins under different aging treatments

表 1 利用 IL 群体在人工或自然老化处理后检测到的耐储性 QTL

Table 1. Identified QTLs for seed storability under natural or artificial aging treatments in an IL population

染色体 Chr	QTL	处理 Treatment	标记区间 Marker region	物理区间 Interval (Mb)	LOD	R^2 (%)	加性效应 Additive effect	前人研究 Previous study
1	*qASS1.1*	人工老化（三亚）	Bin147-Bin152	37.73-38.68	7.28	19.0	0.13	*qSS1.1*[19]
1	*qASS1.1*	人工老化（长沙）	Bin147-Bin152	37.73-38.68	11.60	15.5	0.16	*qSS1.1*[19]
1	*qASS1.2*	人工老化（长沙）	Bin154-Bin160	38.73-40.29	3.90	4.5	−0.09	
1	*qNSS1.1*	自然老化（三亚）	Bin147-Bin152	37.73-38.68	19.04	21.0	0.13	*qSS1.1*[19]
1	*qNSS1.2*	自然老化（三亚）	Bin154-Bin160	38.73-40.29	7.19	5.8	−0.08	
3	*qASS3*	人工老化（长沙）	Bin333-Bin340	50.15-67.74	3.00	3.3	0.12	
6	*qNSS6*	自然老化（三亚）	Bin580-Bin612	1.56-13.19	9.76	9.2	0.40	*qSS-6*[15]
7	*qNSS7*	自然老化（三亚）	Bin662-Bin669	6.16-17.35	8.40	8.1	0.15	*qSS7.1*[17]
9	*qASS9*	人工老化（三亚）	Bin813-Bin819	8.04-10.05	6.96	17.7	0.16	*qRC9-2*[14], *qSS-9*[15]

前(Ra32 和 Ra146)、人工老化后(Ra32 和 Ra146)及自然老化后(Ra32 和 Ra146)。每组包含 6 个样本(Ra32 和 Ra146 各 3 个生物学重复)，共获得 36.83 Gb 的高质量数据，各样本的有效数据量在 5.64 至 6.99 Gb 之间。测序质量 Q30 比例在 96.73%至 97.00%之间，平均 GC 含量为 51.92 %。利用 HISAT2 将高质量数据与参考基因组蜀恢 498 比对，结果显示 98.36%以上的测序数据成功比对，表明测序数据质量可靠、覆盖度良好，可用于后续差异表达分析。

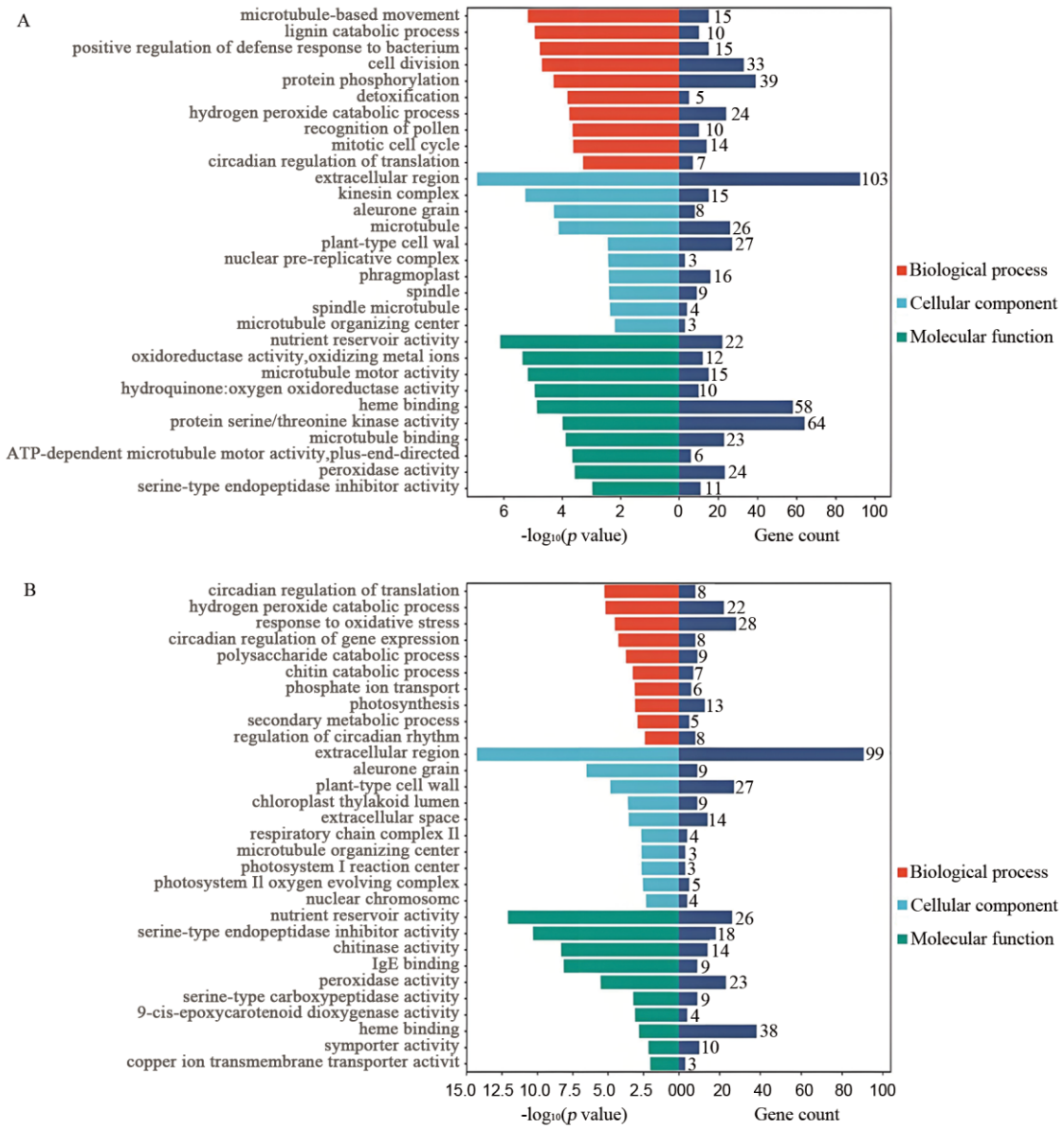
2.4.2 差异表达基因分析

在自然老化处理下，Ra32 与 Ra146 间共鉴定出 1468 个 DEGs，其中上调 517 个、下调 951 个；在人工老化处理下，共鉴定出 2077 个 DEG，上调 724 个、下调 1353 个。两种老化处理下共有 733 个 DEG，其中 428 个在两种条件下均表达下调，267 个均上调，表明这些基因可能参与了水稻种子在不同老化方式下的共响应过程。

2.4.3 差异表达基因的 GO 分析

在自然老化下，Ra32 与 Ra146 的 1468 个 DEG 中共有 872 个富集到 1199 个 GO 条目，其中生物学过程(biological process) 619 个、细胞组分(cellular component) 166 个、分子功能(molecular function) 414 个。富集程度最高的三个通路分别是昼夜节律调控翻译(circadian regulation of translation)、细胞外区域(extracellular region)和营养库活性(nutrient reservoir activity)。

在人工老化下，1241 个 DEG 富集到 1428 个 GO 条目，其中生物学过程 737 个、细胞组分 190 个、分子功能 501 个。富集程度最高的通路包括微管介导的运动(microtubule-based movement)、细胞外区域(extracellular region)和营养库活性(nutrient



A：人工老化后 Ra32 与 Ra146 的 DEGs；B：自然老化后 Ra32 与 Ra146 的 DEGs。

A, DEGs of Ra32 vs. Ra146 after artificial aging; B, DEGs of Ra32 vs. Ra146 after natural aging.

图 3 差异表达基因的 GO 富集分析

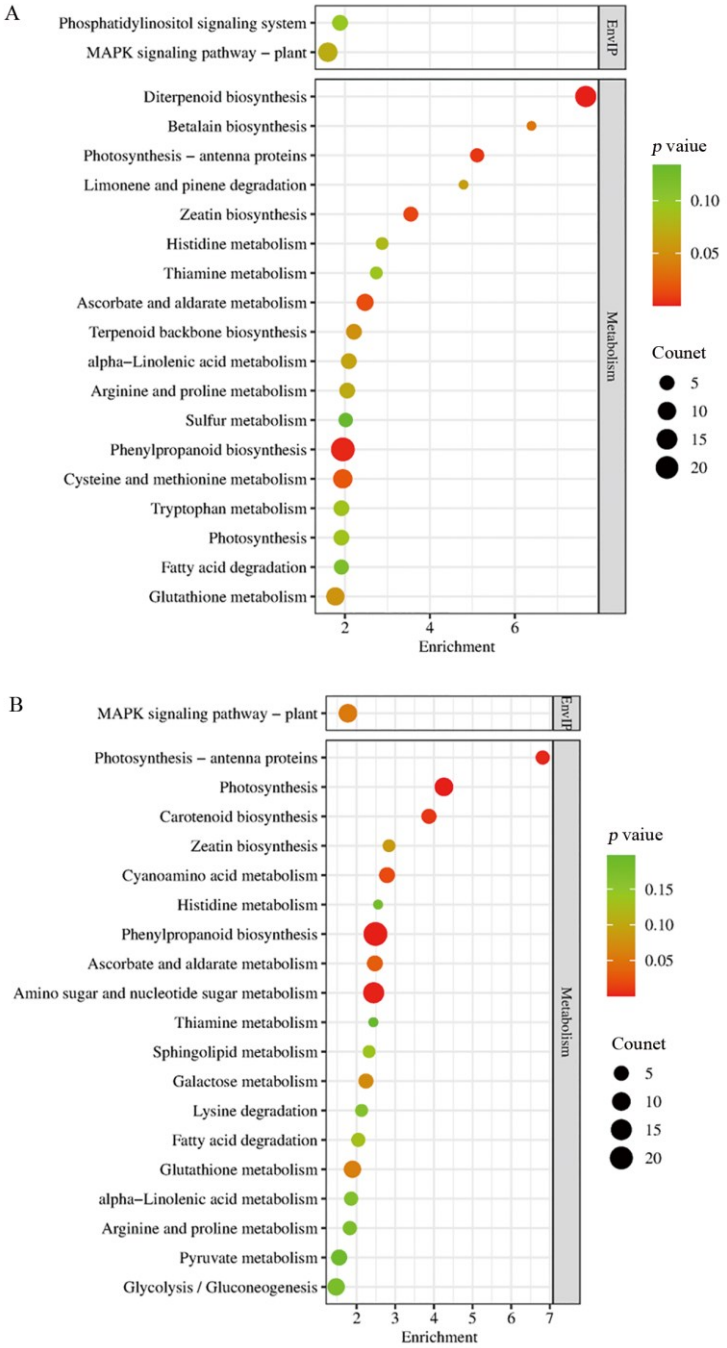
Fig. 3. GO enrichment analysis of differentially expressed genes

reservoir activity)。

对比两种老化处理的 GO 分析结果(图 3)，共有 10 个显著富集通路：包括生物学过程类的昼夜节律调控翻译和过氧化氢分解过程；细胞组分类的细胞外区域、种子贮藏蛋白颗粒、植物型细胞壁和微管组织中心；分子功能类的营养库活性、丝氨酸型内肽酶抑制活性、过氧化物酶活性和血红素结合。其中，昼夜节律调控翻译和过氧化氢分解过程在种子耐储性调控中具有重要作用，分别参与能量代谢节律调控与抗氧化防御，减少老化过程中的氧化损伤。此外，营养库活性的富集则表明储藏蛋白在维持种子活力方面具有关键作用。这些结果表明，种子耐储性主要受抗氧化系统、能量代谢及储藏物质积累等过程共同调控。

2.4.4 差异表达基因的 KEGG 分析

在自然老化下，共有 186 个 DEG 富集至 85 条 KEGG 通路，涉及五个主要类别：细胞过程(Cellular processes)、环境信息处理(Environmental Information processing)、代谢(Metabolism)、遗传信息处理(Genetic information processing)和生物系统(Organismal Systems)。显著富集的前 5 条代谢通路包括：植物 MAPK 信号传导通路(MAPK



A：人工老化后 Ra32 与 Ra146 的 DEG；B：自然老化后 Ra32 与 Ra146 的 DEG；EnvIP, Environmental information processing.

A, DEGs of Ra32 vs. Ra146 after artificial aging; B, DEGs of Ra32 vs. Ra146 after natural aging; EnvIP, Environmental Information Processing.

图 4 差异表达基因的 KEGG 富集分析

Fig. 4. KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes

signaling pathway-plant)、光合作用天线蛋白(Photosynthesis-antenna proteins)、光合作用(Photosynthesis)、胡萝卜素生物合成(Carotenoid biosynthesis)和细胞分裂素生物合成(Zeatin biosynthesis)。

人工老化下，共有 248 个 DEG 富集至 97 条 KEGG 通路，同样涵盖上述五个主要功能类别。显著富集的前 5 条通路为磷脂酰肌醇信号传导系统(Phosphatidylinositol signaling system)、植物 MAPK 信号传导通路(MAPK signaling pathway-plant)、二萜类化合物生物合成(Diterpenoid biosynthesis)、甜菜碱类生物合成(Betalain biosynthesis)和光合作用天线蛋白(Photosynthesis-antenna proteins)。

对比两种老化方式的前 20 个通路里(图 4)，共

表 2 耐储性 QTL *qASS1.1*/*qNSS1.1* 候选基因

Table 2. Candidate genes for *qASS1.1*/*qNSS1.1* controlling seed storability

候选基因 Candidate gene	功能注释 Functional annotation	Ra32 vs Ra146 [1)]	GO 富集通路 GO enriched pathways	KEGG 富集通路 KEGG enriched pathways
Os01g0842400	漆酶前体蛋白 Laccase precursor protein	下调 Down-regulated	木质素分解过程、 氧化还原酶活性 Lignin catabolic process, oxidoreductase activity	
Os01g0842500	漆酶前体蛋白 Laccase precursor protein	下调 Down-regulated	木质素分解过程、 氧化还原酶活性 Lignin catabolic process, oxidoreductase activity	
Os01g0847800	醛酮还原酶家族蛋白 Aldo-keto reductase family protein	上调 Up-regulated		糖酵解/糖异生、抗坏血酸和醛糖酸代谢、丙酮酸代谢 Glycolysis/gluconeogenesis, ascorbate and aldarate metabolism, pyruvate metabolism
Os01g0855900	CDC6-DNA 复制起始蛋白 CDC6–DNA replication initiation protein	下调 Down-regulated	细胞分裂、 有丝分裂细胞周期 Cell division, mitotic cell cycle	
Os01g0860400	糖基水解酶 Glycoside hydrolase	上调 Up-regulated	壳聚糖分解过程、 多糖分解过程 Chitosan catabolic process, polysaccharide catabolic process	氨基糖和核苷酸糖代谢 Amino sugar and nucleotide sugar metabolism

[1)]自然老化后 Ra32 与 Ra146 的差异表达。

[1)]Differential expression of candidate genes in naturally aged Ra32 and Ra146.

表 3 RT-qPCR 验证的引物序列

Table 3. Primer sequences used for RT-qPCR validation of candidate genes

基因 ID Gene ID	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
Os01g0842400	ATCTTCGGCGAGTGGTGGA	TGTCTTGGGCAGAGCAGTTG
Os01g0842500	CTTCTCCGTTCCTCCATCCT	ACGTTCGTCGTTTTCACATCGA
Os01g0847800	TGGCGTTCATCTCTCTGCGTA	CTGACCCTGCTGAAGACCC
Os01g0855900	CCATACCCGCGAAGCATTAAG	AGAGCCAAGCCCGCCAAAG
Os01g0860400	GACCTCGCCAGGGATCTGA	CGAACAGCCCCGTGCTGAT

有 12 条通路呈一致富集趋势，包括植物 MAPK 信号传导通路(MAPK signaling pathway-plant)、光合作用天线蛋白(Photosynthesis-antenna proteins)、光合作用(Photosynthesis)、细胞分裂素生物合成(Zeatin biosynthesis)、组氨酸代谢(Histidine metabolism)、芳香族丙烯酸类化合物生物合成(Phenylpropanoid biosynthesis)、抗坏血酸和醛糖酸代谢(Ascorbate and aldaric acids metabolism)、维生素 B1 代谢(Thiamine metabolism)、脂肪酸降解(Fatty acid degradation)、谷胱甘肽代谢(Glutathione metabolism)、α-亚麻酸代谢(alpha-Linolenic acid metabolism)、精氨酸和脯氨酸代谢(Arginine and proline metabolism)。这些通路在抗氧化、能量代谢和细胞膜稳定性维持中发挥关键作用。其中，植物 MAPK 信号通路通过调控抗氧化酶活性影响活性氧清除能力；抗坏血酸和谷胱甘肽代谢参与细胞氧化还原平衡调节；光合作用通路与能力代谢相关，影响储藏期物质消耗速率；脂肪酸及 α-亚麻酸代谢影响膜脂组成与完整性；细胞分裂素生物合成则可能延缓衰老过程，维持种子活力。

2.5 主效 QTL *qASS1.1*/*qNSS1.1* 候选基因分析

主效 QTL *qASS1.1*/*qNSS1.1* 的物理位置为 37.73−38.68 Mb 区间，上下游各延伸 100 Kb 后总共包括 156 个基因。通过比较 Ra32 与 Ra146 在该区段内的转录组表达差异，共鉴定出 23 个 DEGs。排除功能未知或假定蛋白后，结合 GO 和 KEGG 富集结果，从富集程度最高的前 20 个通路中筛选出 5 个与耐储性密切相关的候选基因(表 2)，分别为 *Os01g0842400* 与 *Os01g0842500*(编码漆酶前体蛋白)、*Os01g0847800*(编码醛酮还原酶家族蛋白)、*Os01g0855900*(编码 CDC6-DNA 复制起始蛋白)以及 *Os01g0860400*(编码糖基水解酶)。

2.6 候选基因的 RT-qPCR 验证

为了验证转录组分析结果的可靠性，针对 5 个

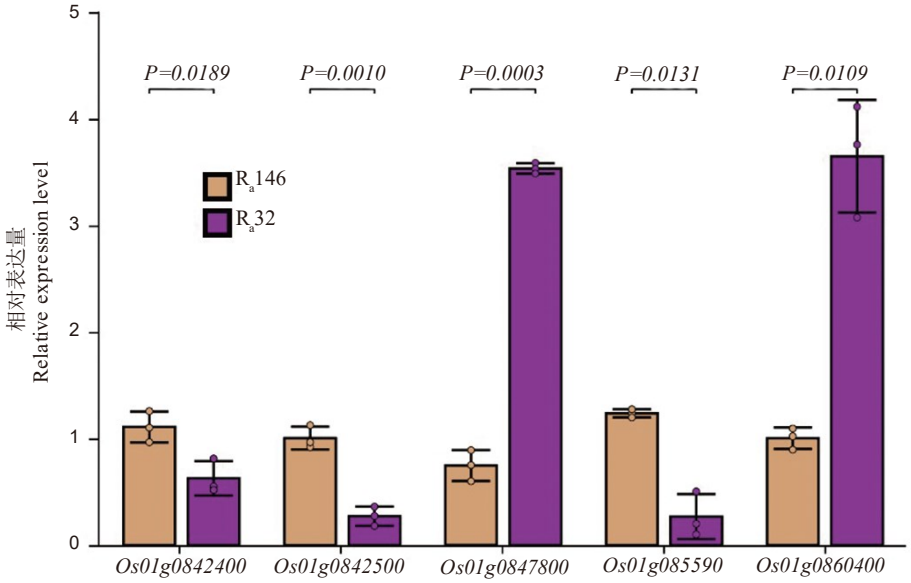


图 5 候选基因在自然老化后 Ra32 和 Ra146 种子中基于 RT-qPCR 的差异表达验证

Fig. 5. RT-qPCR validation of differential expression of candidate genes in naturally aged Ra32 and Ra146

候选基因设计特异性引物(表3)，采用RT-qPCR进行表达验证。结果表明，*Os01g0842400*、*Os01g0842500* 和 *Os01g0855900* 在自然老化后 Ra32 中的表达量较 Ra146 显著下调；而 *Os01g0847800* 和 *Os01g0860400* 表达上调(图5)。基因表达趋势与转录组测序结果一致，验证了差异表达分析的准确性。

3 讨论

种子老化是导致水稻种子储藏性能下降的主要原因子之一。目前的储藏技术难以同时兼顾低成本和长期保存需求，因此利用自然变异培育耐储水稻品种，是一种经济高效的改良途径。尽管已有关于耐储性 QTL 的挖掘研究，但总体数量仍有限，尤其基于野生稻资源的系统研究相对匮乏。野生稻蕴含丰富的抗逆基因，是优良性状的重要基因库。随着基因组学和转录组学技术的发展，对耐储等复杂数量性状的解析效率显著提升，为 QTL 挖掘及分子选育提供了理论依据和技术支撑。

本研究利用籼稻 93-11 背景的尼瓦拉野生稻渗入系群体，对三亚和长沙两地收获的种子分别进行人工老化及自然老化处理，共对 131 个株系开展耐储性表型鉴定。结合含 1070 个 bin 标记的连锁图谱共定位到 6 个 QTL。结果表明，种子耐储性受人工老化与自然老化双重调控，二者既存在共性，也具有特异表达位点。其中，主效 QTL *qASS1.1*/*qNSS1.1* 在两种处理条件下均能稳定表达，为核心调控区域，表型贡献率为 19.0%~21.0%，其位置与王世林等利用东乡野生稻定位到的 *qSS1.1*[19]接近。此外，本研究检测到的 *qNSS6*、*qNSS7*、*qASS9* 分别与前人报道的 *qSS-6*[15]、*qSS7.1*[17]、*qRC9-2*[14]以及 *qSS-9*[15]位置接近，进一步验证了这些 QTL 在不同遗传背景下的稳定性和普适性。

为进一步探索不同老化处理下的耐储性基础，本研究选取携带 *qASS1.1*/*qNSS1.1* 增效等位基因的耐储材料 Ra32 和不耐储材料 Ra146 进行转录组测序。在人工老化处理下共鉴定出 2077 个 DEGs，自然老化下为 1468 个，两种处理下共有 733 个 DEGs，这些共有基因可能参与了水稻种子老化过程中的基础生物学过程。人工老化通常在高温高湿下加速种子衰老，诱导更强烈的应激反应；而自然老化则更接近实际储藏条件，反映种子在长期储藏中自然退化的生理变化。两者差异为理解不同老化方式下的耐储性调控机制提供了重要线索。前人研究认为储藏期间活性氧积累诱导的氧化应激是导致种子活力下降的主要原因，抗氧化系统通过维持活性氧平衡以延缓老化进程[28]。本研究的 GO 和 KEGG 富集结果亦支持这一观点。分析显示，人工老化和自然老化处理下，水稻种子均通过增强抗氧化防御、维持细胞稳态和代谢平衡来提高其耐储性。其中，过氧化氢分解过程、MAPK 信号传导通路以及昼夜节律调控翻译等通路的富集表明，种子可通过提高抗氧化能力、增强应激响应以及优化能力代谢节律以维

持细胞功能完整性。此外，细胞分裂素生物合成、脂肪酸代谢等通路的富集，揭示其可能在维持发芽潜能和长期储藏稳定性方面发挥重要作用。这些共性通路可能构成维持水稻种子活力的核心分子网络。值得注意的是，不同老化方式下还存在特异性响应。人工老化下特异富集的通路主要涉及磷脂酰肌醇信号传导和二萜类化合物生物合成等，与膜脂代谢调节、渗透保护和信号传导密切相关，说明人工老化条件下种子主要通过膜稳态调节应对高温高湿胁迫。相对地，自然老化特异富集的胡萝卜素生物合成等通路则与抗氧化物质积累有关，表明自然老化过程中种子更依赖非酶促抗氧化体系维持细胞稳定性。

在主效 QTL *qASS1.1*/*qNSS1.1* 区间内，共筛选出了 5 个与耐储性密切相关的候选基因，它们的功能与种子发育、细胞壁稳定性以及抗氧化防御密切相关。其中，*Os01g0842400* 和 *Os01g0842500* 编码漆酶前体蛋白，在耐储材料 Ra32 中表达下调，*LAC4* 和 *LAC12* 同源基因已在多种植物中被证实参与抗逆性及胚发育调控[29-32]；*Os01g0847800* 编码醛酮还原酶，在 Ra32 中表达上调，该类酶参与糖代谢和羰基化合物解毒[33]；*Os01g0855900* 编码 DNA 复制起始蛋白 CDC6，在 Ra32 中表达下调，可能通过调控细胞周期进程延缓衰老[34]；*Os01g0860400* 编码糖基水解酶，在 Ra32 中表达上调，其降解真菌细胞壁几丁质的功能表明其在防御性代谢中具有潜在作用[35]。

本研究通过 QTL 定位与转录组联合分析，揭示了水稻种子耐储性受多通路协同调控的遗传机制，明确了主效位点 *qASS1.1*/*qNSS1.1* 的关键作用，并筛选出多个功能明确的候选基因。后续可通过基因编辑、功能互补及代谢组学手段进一步验证这些候选基因的生物学功能，系统解析不同老化方式下的分子响应机制，为水稻种子耐储性的分子设计育种提供新思路。

谢辞：感谢中国农业大学谭禄宾教授提供野生稻渗入系群体及其基因型和在实验实施过程中给予的指导。

参考文献：

[1] 朱俊峰. 我国粮食产后损失的现状、影响因素及改进对策[J]. 江西社会科学, 2023, 43(9): 29-40.
Zhu J F. The current situation, influencing factors, and improvement strategies of post-harvest losses in grain production in China[J]. *Jianxi Social Sciences*, 2023, 43(9): 29-40. (in Chinese with Chinese abstract)

[2] Zhou T S, Yu D, Wu L B, Xu Y S, Duan M J, Yuan D Y. Seed storability in rice: Physiological foundations, molecular mechanisms, and applications in breeding[J]. *Rice Science*, 2024, 31(4): 401-416.

[3] 王雪彬, 张健, 韦燕燕, 罗继景, 梁云涛, 蔡中全. 基于 BSA-seq 的水稻籽粒耐陈化 QTL 定位分析[J]. 分子植物育种, 2023, 21(16): 5337-5347.
Wang X B, Zhang J, Wei Y Y, Luo J J, Liang Y T, Cai Z Q. QTLs mapping analysis of rice grain aging tolerance based on BSA-seq[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2023, 21(16): 5337-5347. (in Chinese with English abstract)

[4] 曹玉洁, 费月新, 赵文佳, 侯璐燕, 王越, 吴敏, 许珊, 吴洪恺. 以种子电导率为指标定位水稻耐储藏 QTL[J]. 中国稻米, 2020, 26(1): 46-49.
Cao Y J, Fei Y X, Zhao W J, Hou L Y, Wang Y, Wu M, Xu S, Wu H K. Mapping of QTL for rice storability based on seed electric conductivity[J]. *China Rice*, 2020, 26(1): 46-49. (in Chinese with English abstract)

[5] Jin B C, Qi H N, Jia L Q, Tang Q Z, Gao L, Li Z N, Zhao G W. Determination of viability and vigor of naturally-aged rice seeds using hyperspectral imaging with machine learning[J]. *Infrared Physics & Technology*, 2022, 122: 104097.

[6] Song P, Wang Z Y, Song P, Yue X, Bai Y H, Feng L L. Evaluating the effect of aging process on the physicochemical characteristics of rice seeds by low field nuclear magnetic resonance and its imaging technique[J]. *Journal of Cereal Science*, 2021, 99: 103190.

[7] Ye J, Wang C J, Chen L, Zhai R R, Wu M M, Lu Y T, Yu F M, Zhang X M, Zhu G F, Ye S H. Golden hull: A potential biomarker for assessing seed aging tolerance in rice[J]*Agronomy*. 2024, 14(10): 2357.

[8] Wang W Q, He A B, Peng S B, Huang J L, Cui K H, Nie L X. The effect of storage condition and duration on the deterioration of primed rice seeds[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 172.

[9] 吴方喜, 罗曦, 魏毅东, 郑燕梅, 林强, 谢国生, 谢华安, 张建福. 世界水稻核心种质的耐储藏特性鉴定[J]. 福建稻麦科技, 2021, 39(1): 1-5.
Wu F X, Luo X, Wei Y D, Zheng Y M, Lin Q, Xie G S, Xie H A, Zhang J F. Identification of seed storability in rice core collections from 47 countries worldwide[J]. *Fujian Science and Technology of Rice and Wheat*, 2021, 39(1): 1-5. (in Chinese with English abstract)

[10] 黄祎雯, 张维谊, 王霞, 王敏, 沈斯文, 高猛峰, 梅博, 汪弘康, 童金蓉, 曹黎明, 丰东升, 孙滨. 33 份不同基因型水稻耐储性比较[J/OL]. 分子植物育种, 1-13[2025-03-13]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240202.1646.010.html
Huang Y W, Zhang W Y, Wang X, Wang M, Shen S W, Gao M F, Mei B, Wang H K, Tong J R, Cao L M, Feng D S, Sun B. Comparison of storage tolerance among 33 different genotypes of rice[J/OL]. *Molecular Plant Breeding,* 2024, http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240202.1646.010. (in Chinese with English abstract)

[11] 黄祎雯, 孙滨, 程灿, 牛付安, 周继华, 张安鹏, 涂荣剑, 李瑶, 姚 瑶, 代雨婷, 谢开珍, 陈小荣, 曹黎明, 储黄伟. 对水稻种子耐储性 QTL 的研究[J]. 作物学报, 2022, 48(9): 2255-2264.
Huang Y W, Sun B, Chen C, Niu F A, Zhou J H, Zhang A P, Tu R J, Li Y, Yao Y, Dai Y T, Xie K Z, Chen X R, Cao L M, Chu H W. QTL mapping of seed storage tolerance in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2022, 48(9): 2255-2264. (in Chinese with English abstract)

[12] 刘进, 姚晓云, 余丽琴, 李慧, 周慧颖, 王嘉宇, 黎毛毛. 水稻耐储藏特性三年动态鉴定与 QTL 分析[J]. 植物学报, 2019, 54(4): 464-473.
Liu J, Yao X Y, Yu L Q, Li H, Zhou H Y, Wang J Y, Li M M. Detection and analysis of dynamic quantitative trait loci at three years for seed storability in rice (*Oryza sativa*)[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2019, 54(4): 464-473. (in Chinese with English abstract)

[13] Wu F X, Luo X, Wang L Q, Wei Y D, Li J G, Xie H A, Zhang J F, Xie G S. Genome-wide association study reveals the QTLs for seed storability in world rice core collections[J]. *Plants (Basel)*, 2021, 10(4): 812.

[14] Sasaki K, Fukuta Y, Sato T. Mapping of quantitative trait loci controlling seed longevity of rice (*Oryza sativa* L.) after various periods of seed storage[J]. *Plant Breeding*, 2005, 124(4): 361-366.

[15] Li L F, Lin Q Y, Liu S J, Liu X, Wang W Y, Hang N T,, Liu F, Zhao Z G, Jiang L, Wan J M. Identification of quantitative trait loci for seed storability in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Plant Breeding*, 2012, 131(6): 739-743.

[16] Long Q Z, Zhang W W, Wang P, Shen W B, Zhou T, Liu N N, Wang R, Jiang L, Huang J X, Wang Y H, Liu Y Q, Wan J M. Molecular genetic characterization of rice seed lipoxygenase 3 and assessment of its effects on seed longevity[J]. *Journal of Plant Biology*, 2013, 56(4): 232-242.

[17] Yuan Z Y, Fan K, Wang Y T, Tian L, Zhang C P, Sun W Q, He H Z, Yu S B. *OsGRETCHENHAGEN3-2* modulates rice seed storability via accumulation of abscisic acid and protective substances[J]. *Plant Physiology*, 2021, 186(1): 469-482.

[18] 黄娟, 梁云涛, 陈成斌, 徐志健, 梁世春, 潘英华. 普通野生稻遗传分化及水稻起源关系研究进展[J]. 南方农业学报, 2015, 46(10): 1756-1760.
Huang J, Liang Y T, Chen C B, Xu Z J, Liang S C, Pan Y H. Advances in origin of *Oryza sativa* in terms of genetic differentiation of *Oryza fufipogon*[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2015, 46(10): 1756-1760. (in Chinese with English abstract)

[19] 王世林, 吴婷, 周诗琪, 宋思铭, 胡标林. 结合 BSA-seq 和 QTL 分析鉴定东乡野生稻耐储性 QTL[J]. 中国水稻科学, 2025, 39(6): 789-800.
Wang S L, Wu T, Zhou S Q, Song S M, Hu B L. Identification of QTL for seed storability in Dongxiang wild rice by integrating BSA-seq and QTL analysis[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2025, 39(6): 789-800. (in Chinese with English abstract)

[20] Ma X, Fu Y C, Zhao X H, Jiang L Y, Zhu Z F, Gu P, Xu W Y, Su Z, Sun C Q, Tan L B. Genomic structure analysis of a set of *Oryza nivara* introgression lines and identification of yield-associated QTLs using whole-genome resequencing[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 27425.

[21] Meng L, Li H H, Zhang L Y, Wang J K. QTL IciMapping: integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations[J]. *The Crop Journal*, 2015, 3: 269-283.

[22] McCouch S R, CGSNL (Committee on Gene Symbolization, Nomenclature and Linkage, Rice Genetics Cooperative). Gene nomenclature system for rice[J]. *Rice*, 2008, 1: 72-84.

[23] Chen S F, Zhou Y Q, Chen Y, Chen Y R, Gu J. Fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): i884-i890.

[24] Kim D, Langmead B, Salzberg S L. HISAT: A fast spliced aligner with low memory requirements[J]. *Nature Methods*, 2015, 12(4): 357-360.

[25] Roberts A, Trapnell C, Donaghey J, Rinn J L, Pachter L. Improving RNA-Seq expression estimates by correcting for fragment bias[J]. *Genome Biology*, 2011, 12(3): R22.

[26] Anders S, Pyl P T, Huber W. HTSeq: A Python framework to work with high-throughput sequencing data[J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(2): 166-169.

[27] Love M I, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. *Genome Biology*, 2014, 15(12): 550.

[28] Dietz K-J, Mittler R, Noctor G. Recent progress in understanding the role of reactive oxygen species in plant cell signaling[J]. *Plant Physiology*, 2016, 171(3): 1535-1539.

[29] Xue J S, Feng Y F, Zhang M Q, Xu Q L, Xu Y M, Shi J Q, Liu L F, Wu X F, Wang S, Yang Z N. The regulatory mechanism of rapid lignification for timely anther dehiscence[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2024, 66(8): 1788-1800.

[30] 张盛春, 鞠常亮, 王小菁. 拟南芥漆酶基因 *AtLAC4* 参与生长及非生物胁迫响应[J]. 植物学报, 2012, 47(4): 357-365.
Zhang S C, Ju C L, Wang X Q. Arabidopsis laccase gene *AtLAC4* regulates plant growth and responses to abiotic stress[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2012, 47(4): 357-365. (in Chinese with English abstract)

[31] 徐小萍, 曹清影, 蔡柔荻, 官庆栩, 张梓浩, 陈裕坤, 徐涵, 林玉玲, 赖钟雄. 龙眼 miR408 与 *DlLAC12* 克隆及其在球形胚发生和非生物胁迫下的表达分析[J]. 园艺学报, 2022, 49(9): 1866-1882.
Xu X P, Cao Q Y, Cai R D, Guan Q X, Zhang Z H, Chen Y K, Xu H, Lin Y L, Lai Z X. Gene cloning and expression analysis of miR408 and its target *DlLAC12* in globular embryo development and abiotic stress in *Dimocarpus longan*[J]. *Acta Horticulturae Sinica,* 2022, 49(9): 1866-1882. (in Chinese with English abstract)

[32] Simpson P J, Tantitadapitak C, Reed A M, Mather O C, Bunce C M, White S A, Ride J P. Characterization of two novel aldo-keto reductases from *Arabidopsis*: Expression patterns, broad substrate specificity, and an open active-site structure suggest a role in toxicant metabolism following stress[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2009, 392(2): 465-480.

[33] Saito R, Shimakawa G, Nishi A, Iwamoto T, Sakamoto K, Yamamoto H, Amako K, Makino A, Miyake C. Functional analysis of the AKR4C subfamily of *Arabidopsis thaliana*: model structures, substrate specificity, acrolein toxicity, and responses to light and [CO_2][J]. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 2013, 77(10): 2038-2045.

[34] Yu X H, Liu Y H, Yin L L, Peng Y B, Peng Y C, Gao Y X, Yuan B W, Zhu Q L, Cao T Y, Xie B W, Sun L Q, Chen Y, Gong Z C, Qiu Y Z, Fan X G, Li X. Radiation-promoted CDC6 protein stability contributes to radioresistance by regulating senescence and epithelial to mesenchymal transition[J]. *Oncogene*, 2019, 38: 549-563.

[35] Abeles F B, Bosshart R P, Forrence L E, Habig W H. Preparation and purification of glucanase and chitinase from bean leaves[J]. *Plant Physiology*, 1971, 47(1): 129-134.