

PaperPass[免费版]查重报告

简明打印版

查重结果(相似度):

总 体: 14%

本地库: 14% (本地库包含期刊库、学位库、会议库、联合库)

- 期刊库: 6% (期刊库相似度是指论文与学术期刊库的比对结果)
- 学位库: 9% (学位库相似度是指论文与学位论文库的比对结果)
- 会议库: 1% (会议库相似度是指论文与会议论文库的比对结果)
- 联合库: 5% (联合库相似度是指论文与大学生联合比对库的比对结果)
- 图书库: (免费版不检测图书库)
- 专利库: (免费版不检测专利库)
- 报纸库: (免费版不检测报纸库)
- 外文库: (免费版不检测外文库)

互联网: (免费版不检测互联网资源)

检测版本: 免费版(仅检测中文)

报告编号: 667BBA5D4D46CRVKE

论文题目: 玉米ZmDGK5在低温胁迫响应中的功能研究

论文作者: xxx

论文字数: 12435

段落个数: 218

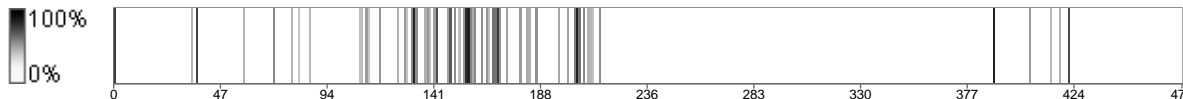
句子个数: 471

提交时间: 2024-6-26 14:51:09

比对范围: 期刊库、硕博学位库、会议库、大学生联合比对库

查询真伪: <https://www.paperpass.com/check>

句子相似度分布图:



本地库相似资源列表(期刊库、硕博学位库、会议库、大学生联合比对库):

- 相似度: 4.5%
来源: 大学生联合比对库
- 相似度: 2.7% 篇名: 《转录组学解析整株和远端冷胁迫玉米不同组织耐冷机制》
来源: 学位论文 2022
- 相似度: 0.8% 篇名: 《磷酸酯与MPK6和MKK9在拟南芥响应盐胁迫中的相互作用》
来源: 学位论文 南京农业大学 2012

互联网相似资源列表:

免费版不检测互联网资源库

查重 81%

大学生创新训练项目计划申请书

项目编号			
项目名称	玉米 ZmDGK5 在低温胁迫响应中的功能研究		
项目负责人		联系电话	
所在学院			
学号		专业班级	
指导教师			
申请日期	2024 年 6 月 25 日		
起止年月	2 年		

黑龙江八一农垦大学

一、 基本情况

项目名称	玉米 ZmDGK5 在低温胁迫响应中的功能研究						
项目级别	省级						
项目类型	A 类						
项目类别	大学生创新训练计划项目						
所属学科	学科一级门： 作物学 学科二级类：作物遗传育种						
是否为重点支持领域	否	重点支持领域					
项目来源名称	A 学生自主选题，来源自己对课题的长期积累与兴趣； <input checked="" type="checkbox"/> B 学生来源于教师科研项目选题；C 学生承担社会、企业委托项目选题；D 拔尖专项；E 竞赛专项；F 研修专项						
选题来源	查重 80% 新工科、新医科、新农科、新文科，菜单选填						
起止年月	2024 年 6 月-2026 年 6 年						
负责人		性别		民族		出生年月	
学号		联系电话	宅： 手机：		邮箱：		
指导教师		联系电话	宅： 手机：		职称： 中级	邮箱：	

项目简介	<p>玉米原产于中南美洲，对低温冷害非常敏感，尤其是玉米生长的幼苗期更容易受到低温伤害。查重 45%解析玉米幼苗的低温响应机制，提高其耐冷性，对保障寒地玉米高产、稳产具有重大意义。本研究以玉米自交系合 344、启动子融合 GUS 转基因拟南芥株系和玉米原生质体为试验材料，通过 RT-qPCR 技术、GUS 染色试验和亚细胞定位试验分析玉米二酰甘油激酶（ZmDGK5）基因在低温胁迫下的表达模式，明确玉米 DGK 在低温响应中的功能。</p>
负责人曾经参与科研的情况	<p>一、参加科研训练班：</p> <p>负责人通过参加学校举办的科研训练班，学习科学研究的基础知识，包括科学思维、研究设计、数据分析等。训练班通常包括理论学习和实践操作，旨在提高学生的科研理论素养和实践能力。</p> <p>二、参与科研项目：</p> <p>负责人加入科研团队，参与具体的科研项目，深入了解科学研究的方法和过程。在项目中，进行文献调研、制定研究方案、进行实验和数据分析等工作。通过亲手操作实验设备，观察实验现象，记录和分析数据，培养了实验技能和科研能力。</p> <p>三、参加科学研究竞赛：</p> <p>查重 59%学生积极参加科学研究竞赛，如“挑战杯”全国大学生课外学术科技作品竞赛，与其他同学交流学习。</p>
指导教师承担科研课题情况	<p>1. 主持黑龙江八一农垦大学引进人才科研启动计划，玉米二酰甘油激酶 ZmDGK 调控活性氧响应低温胁迫的机制研究</p> <p>2. 主持黑龙江八一农垦大学研究生创新项目，重点项目，玉米二酰甘油激酶 DGK 在低温胁迫响应中的作用研究</p> <p>3. 主持黑龙江八一农垦大学研究生创新项目，一般项目，吡噻菌胺（SDHI</p>

	<p>类) 杀菌剂对向日葵菌核病的作用机制研究</p> <p>4. 参加国家科技重大专项子任务, 新型 Cas 蛋白在植物基因组编辑中的应用</p> <p>5. 参加黑龙江省自然科学基金, 重点项目, 作物脂质代谢关键基因发掘及基因编辑育种应用研究</p> <p>6. 参加“小麦等作物功能基因组研究与应用”项目子任务: 查重 45% 玉米抗逆、高效性状的功能基因组与调控网络</p>
指导教师对本项目的支持情况	<p>1. 研究方向与内容的指导:</p> <p>查重 40% 指导教师会为学生提供明确的研究方向和内容, 确保项目的科学性和创新性。通过与学生深入讨论和交流, 指导教师会帮助学生确定研究的重点和难点, 提供解决问题的思路和方法。</p> <p>2. 资源提供与条件保障:</p> <p>指导教师会积极为学生争取项目资金、实验设备、场地等必要的科研资源, 确保项目能够顺利进行。</p> <p>3. 过程监督与进度把控:</p> <p>查重 43% 指导教师会定期与学生进行项目进度的沟通和讨论, 确保项目按照预定的计划 and 目标进行。在项目发展的关键节点, 指导教师会给予团队成员指导和帮助, 提出多条建议及整改意见。</p> <p>4. 技术支持与指导:</p> <p>对于学生在项目过程中遇到的技术难题, 指导教师会给予及时的技术支持和指导, 帮助学生解决问题。指导教师会引导学生进行系统开发, 提出多种技术模型与多条建议, 并指导团队成员进行成果转化。</p> <p>5. 创新思维与创业精神的激发:</p> <p>指导教师会鼓励学生保持创新思维和创业精神, 敢于挑战传统观念, 勇</p>

		<p>于尝试新的方法和思路。在项目过程中，指导教师会引导学生从多个角度思考问题，提出创新的解决方案，培养学生的创新能力和创业意识。</p> <p>6. 团队管理与协调：</p> <p>对于团队成员之间的合作和沟通，指导教师会给予必要的指导和帮助，确保团队成员之间的协作顺畅。指导教师会组织团队成员定期召开会议，讨论项目进度和存在的问题，协调各方资源，推动项目的顺利进行。</p> <p>7. 成果总结与经验分享：</p> <p>在项目结束后，指导教师会帮助学生总结项目成果和经验教训，指导学生撰写项目报告和论文等成果材料。</p>			
项目组 主要成员	姓名	学号	专业班级	所在学院	项目中的分工

二、 立项依据（可加页）

（一）研究目的

（1）玉米二酰甘油激酶 DGK 参与低温胁迫响应的应答，ZmDGK5 基因在植物低温响应过程中发挥着作用，^{查重 41%}在确定玉米 DGK 表达响应低温胁迫的基础上，利用 CRISPR/Cas9 基因编辑、基因过表达、玉米遗传转化等技术，^{查重 43%}进一步从功能缺失和功能获得的角度验证 ZmDGK5 在调控玉米耐受低温胁迫中的功能。

（2）对低温胁迫下 ZmDGK1/4/5 功能缺失的多重突变体和玉米 ZmDGK5 过表达株系的 ^{查重 53%}NADPH 氧化酶介导 ROS 的产生和爆发以及膜脂过氧化引起的细胞损伤进行分析，^{查重 40%}分析低温胁迫下玉米 ZmDGK 基因的功能与 ROS 的产生和爆发之间的关系。

（二）研究内容

（1）过表达 ZmDGK5 对玉米苗期耐受低温胁迫的影响

克隆 ZmDGK5 基因全长 CDS 构建植物过表达载体，转化玉米幼胚获得稳定遗传的 ZmDGK5-OE 转基因纯合株系（已获得 T3 代转化材料）。分别对过表达株系和对照株系玉米幼苗进行低温胁迫处理，通过测定植株形态、耐冷性相关表型等，^{查重 54%}分析 ZmDGK5 过表达对玉米幼苗耐冷性的影响。

（2）Crispr-Cas9 敲除 ZmDGK 对玉米耐受低温胁迫的影响

为了从功能缺失的角度进一步验证 ZmDGK 的功能，本研究采用 Crispr-Cas9 技术对 ZmDGK5 以及 Cluster I ZmDGKs- ZmDGK1/4/5 进行敲除（已获得 T3 代转化材料）。通过对比基因敲除株系和对照株系玉米幼苗的植株形态、耐冷性相关表型，分析 Cluster I ZmDGKs 功能缺失对玉米幼苗耐冷性的影响。

（3）玉米 ZmDGK5 在低温胁迫中的生理变化分析

分别对过表达株系、基因敲除株系和对照株系玉米幼苗进行低温胁迫处理，^{查重 46%}通过测定抗性生理和生化指标等，分析玉米 ZmDGK5 在低温胁迫中的生理变化分析。

(4) 玉米 ZmDGK5 介导的活性氧对低温胁迫的响应

低温胁迫下,对 ZmDGK1/4/5 功能缺失的多重突变体和玉米 ZmDGK5 过表达株系的 NADPH 氧化酶介导 ROS 的产生和爆发以及膜脂过氧化引起的细胞损伤进行分析,分析低温胁迫下玉米 ZmDGK 基因的功能与 ROS 的产生和爆发之间的关系。

(三) 国、内外研究现状和发展动态

一、玉米低温胁迫应答机制的研究进展

1.1 低温胁迫对玉米生长发育的影响

玉米从种子萌发、营养生长到生殖生长的整个发育周期,都依赖于稳定的环境温度。低温会明显影响到玉米的生长,低于 17°C 时,玉米生长发育阻滞;8°C 低温下,玉米发生严重损伤;4°C 以下,玉米萎蔫死亡。萌发期冷害会影响玉米种子的萌发,东北地区玉米播期在 4 月中旬~5 月中旬之间,是玉米种子萌发的关键时期,其最低温度在 5~15°C 之间。当温度低于 15°C 会对玉米造成萌发期的冷害胁迫^[1]。6~8°C 时玉米种子不萌发,出苗率低^[2]。玉米种子萌发过程中温度越低,种子萌发所需要的时间就越长,种子萌发率和发芽势越低,对玉米产量造成严重的影响^[2]。

1.2 玉米耐冷分子调控机制研究进展

目前的研究显示,玉米全面的耐冷分子机制尚不明晰,多数参与耐冷分子调控机制的玉米基因通过异源表达的方法,在拟南芥和烟草的基础上进行功能研究。但是,单子叶植物拟南芥和烟草与双子叶植物玉米在生理和遗传基础上都存在显著差异,在玉米中的拟南芥同源基因的功能也有不同,这要求对玉米耐冷分子机制进行更加详细的分析,利用现代生物技术从不同角度发掘玉米耐冷性相关基因成为当前的研究热点。

经典的 ICE-CBF-COR 冷响应途径在玉米中也进行了研究,低温胁迫下,玉米中的 CBF 基因 ZmDREB1A、ZmDREB2A、ZmDBP3 和 ZmDBP4 上调表达。但多数玉米冷响应基因是通过在拟南芥和烟草中异源表达进行功能研究的。已有研究报道,在拟南芥中过表达 ZmDREB1A (拟南芥 DREB1s/CBFs 的同源基因)、ZmDBP3 和 ZmDBP4 能够增强拟南芥的耐冷性^[3]。拟南芥 AtCBF1 基因遗传转化玉米自交系后,可以降低玉米在低温胁迫下的电解质渗漏率,提高玉米耐冷性^[4]。这些研究表明,ICE-CBF-COR 通路在不同物种中较为保守,在玉米和拟南芥调控低温胁迫的过程中发挥着相似的功能^[5]。并有研究发现 ZmDREB1A 通过结合到 ZmRAFs 的启动子区正调控 ZmRAFs 的转录,提高玉米的耐冷性^[6]。此外,在拟南芥 icel-2 突变体中异源表达玉米亲

缘种中的低温相关基因 *ZmmICE1* 可以提高拟南芥耐冷性^[7]。在烟草中超表达 *ZmMKK1* 基因能够增强对低温的耐受性，诱导更多的 ROS 相关基因和胁迫相关基因的表达，增强玉米耐冷性^[8]。
 丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）通路在玉米低温胁迫响应机制中发挥着重要的作用，在烟草中过表达 *ZmMPK17* 和 *ZmMKK1* 均可提高烟草耐冷性^[9]。在拟南芥中过表达 *ZmMKK4* 可以提高拟南芥耐冷性^[10]。玉米 *ZmMPK5* 也参与了植物在低温胁迫中的恢复生长^[11]。

二、二酰甘油激酶 DGK 在低温逆境信号途径中的作用

二酰甘油激酶（DGK）是一种独特的磷脂激酶，可以催化 DAG 的磷酸化产生 PA。*DGK* 基因家族成员已经在哺乳动物、果蝇、线虫和拟南芥等许多生物中被发现及鉴定。在植物营养生长、生殖生长和胁迫反应中，*DGK* 存在结构复杂性和功能多样性。在植物中，*DGK* 基因被分为三个不同的簇：簇 I、II 和 III^[12]。簇 I *DGK* 具有一个保守的 *DGKc* 结构域（催化 DAG 激酶结构域），一个 *DGK* 激酶辅助结构域 *DGKa*，两个 C1 型结构域（富含半胱氨酸的 DAG 结合结构域）和一个将其定位到膜上的跨膜结构域^[13]。而属于簇 II 和 III 的 *DGK* 基因仅保留了催化（*DGKc*）和辅助（*DGKa*）结构域^[14]。*DGK* 酶的 C1 结构域究竟是与 DAG 结合还是为 *DGK* 酶提供催化活性仍存在争议。虽然植物簇 II 和簇 III 中 *DGK* 没有 C1 结构域，但仍具有酶活性，这说明 C1 结构域并不是 *DGK* 酶活性所必需的结构域。*DGK* 的 C1 结构域可能更倾向于与蛋白质伴侣结合而不是与 DAG 结合，这将为 *DGK* 酶在空间上和功能上与其他酶的结合提供可能。

已有研究表明，*DGK* 基因参与植物的低温胁迫响应。在拟南芥细胞悬浮液中，*PLC/DGK* 通路在低温胁迫下被激活^[15]。在本课题组前期研究中，通过 *PLC/DGK* 途径产生的 PA 是在轻度冷胁迫下积累的，低温处理 12h 后，7 个 *ZmDGKs* 转录物均被显著诱导，其中 *ZmDGK2* 和 *ZmDGK5* 分别上调 3.8 倍和 4.5 倍^[16]。在玉米根和叶片中，*DGK* 基因在低温胁迫 30min 内上调表达^[17]。早期研究表明 *PLC/DGK* 途径有助于 PA 在早期低温胁迫期间的积累^[18]。近期，在拟南芥低温胁迫研究中明确表明，*DGK* 基因在植物低温响应机制中发挥着功能，包括调节三酰甘油（TAG）、DAG 和 PA 的稳态^[19]。越来越多的研究表明，缺乏头部基团的极性脂质 PA 可以与 MGDG 或 DAG 形成不稳定的六边形（HII），在低温诱导的脱水过程中破坏细胞膜^[20]。相反，去除这些脂质可能会阻止 HII 的形成，并促进低温胁迫后的恢复。*AtDGK2*，*AtDGK3*，和 *AtDGK5* 的缺失提高了植物的耐冷性，并减缓了植物在低温胁迫下 PA 的产生^[21]。

三、磷脂酸 PA 在低温逆境信号途径中的作用

查重 46%

磷脂酸 PA 作为一种重要的脂质信号分子及第二信使，在低温响应中发挥着重要作用。DGK 通过磷酸化由 PLC 水解产生的 DAG 生成 PA（图 1-1）。以往的研究多集中于 PLD 途径，认为植物中 PA 主要由 PLD 途径生成，对 DGK 途径的研究较少。但是近年来的研究表明 PLC/DGK 途径 PA 在植物生长发育和胁迫响应过程中发挥着重要的作用。PA 能够通过静电-氢键结合的方式激活或抑制不同的下游靶蛋白。目前在植物中鉴定的 PA 靶蛋白多数是 PLD 途径 PA 的结合蛋白，DGK 途径 PA 与下游靶蛋白的作用以及其参与胁迫响应的模式尚需更多的试验证据。在模式植物拟南芥中，10℃以下的低温会引起 PA 的快速积累，0℃以下的冻害会导致 PA 含量增加 10 倍以上^[22]。低温处理下水稻幼苗中 PA 也显著升高^[23]。对玉米叶片的脂质组学分析显示，在低温处理下，PC 对 PA 的转化率增加，导致 PA 增加，PC 减少^[24]。*AtDGK2/3/5* 基因的突变体在 0℃以下的冻害中表现出明显的耐冷表型，其耐冷性被认为与 DGK 突变引起的 PA 含量降低及依赖于 *RBOHD* 途径的 ROS 水平下降相关^[21]。PA 还介导了大麦的低温反应。叶片中的 PA 与根中的 PA 脂肪酸组成不同。内源性 DAG 和 PA 的磷酸化在叶片中比在根中更活跃，而且它们对低温的反应也不同^[25]。此外，大麦短期（0~180min）低温胁迫导致幼叶 PLD/PA 快速而短暂地升高，脯氨酸和 ROS 水平升高。在长期（24~36h）低温胁迫后，幼叶和根中的 PLD/PA 显著降低，而根中的脯氨酸合成和 ROS 信号显著增加^[26]。PA 作为其他信号分子的前体参与了多种信号通路。因此，未来对低温胁迫下植物 PA 调控原理的研究应考虑 PA 与其他信号的串扰。PA 通过结合调节一系列蛋白的活性和细胞内分布，从而参与多种信号通路，调节植物生长，但其与 ABA 及 ROS 信号途径的关系还需要深入研究。PA 结合的有规律区域的特征还没有被发现，PA 相互作用位点很难寻找和界定，有时只是一个或者几个正电荷位点氨基酸，或者只是疏水区域。因此现在对于 PA 的靶蛋白特征，基本的结合氨基酸位点还有没有被阐明。

查重 65%

四、低温胁迫下植物活性氧（ROS）代谢途径

在植物中，活性氧（ROS）作为细胞的第二信使，能够诱导钙信号和放大冷信号。植物中的 ROS 具有两方面的作用：其一，它是一种信号传导分子，调节涉及植物生长发育的多个方面，以及植物对环境胁迫的反应。其二，在胁迫下，它是细胞有氧代谢产生的一种有毒的副产物。当 ROS 种类的积累增加到超过一定阈值时，会产生毒性。并可能导致细胞膜脂质过氧化、DNA 损伤、蛋白质变性、碳水化合物氧化、色素分解和酶活性受损。

植物低温胁迫的诱导反应与 ROS 的产生有关。PA 是中心脂质信号分子并连接着信号网络中

查重 57%

的不同成分, 如 ROS 的产生^[27]。在植物中, ROS 的产生是由 NADPH 氧化酶驱动的^[28]。在烟草的隐地蛋白处理过程中, *DGK* 显著增加了烟草 NADPH 氧化酶的活性^[29]。拟南芥中 *PLD α 1* 的下调表达降低了叶片中 ROS 的产生, 而在 *pld α 1* 突变体中添加 PA 恢复了 ROS 的产量^[30]。在拟南芥中, 检测发现 *pld α 1* 突变体 PA 的积累变少, 从而增强了拟南芥的耐冷性^[31], 而 *pld δ* 突变体降低了拟南芥耐冷性^[32]。这可能是由 *PLD α 1* 触发的 ROS 产生和 *PLD δ* 介导的 ROS 缓解引起的^[33]。PA 结合蛋白参与感知和传递应激信号的过程, 其中包括 NADPH 氧化酶蛋白 D (RBOHD)。在胁迫应激环境下, *RBOHD* 是 ROS 产生的关键组成部分。研究表明, *RBOHD* 可以被 PA 激活, 而 *PLD α 1* 衍生的 PA 在非生物胁迫下直接与 *RBOHD* 相互作用^[34]。低温胁迫下, *DGK2/3/5* 也参与了拟南芥 PA 的生成。PA 水平升高可能会破坏膜的通透性和完整性, 或刺激 *RBOHD* 活性以产生 ROS, 使植物对低温更加敏感^[21]。

五、主要参考文献

- [1] Guy C. Molecular responses of plants to cold shock and cold acclimation [J]. J. Mol. Microbiol. Biotechnol, 1999, 1 (2):231.
- [2] Takahashi D, Uemura M, Kawamura Y. Freezing Tolerance of Plant Cells: From the Aspect of Plasma Membrane and Microdomain [J]. Adv. Exp. Med. Biol., 2018, 1081:61.
- [3] Vigh L, Nakamoto H, Landry J, *et al.* Membrane regulation of the stress response from prokaryotic models to mammalian cells [J]. Ann. N Y Acad. Sci., 2007, 1113:40.
- [4] Lyons J M J A R o P B. Chilling Injury in Plants [J]. 1973, 24 (1):445.
- [5] Kodama H, Horiguchi G, Nishiuchi T, *et al.* Fatty Acid Desaturation during Chilling Acclimation Is One of the Factors Involved in Conferring Low-Temperature Tolerance to Young Tobacco Leaves [J]. Plant Physiol., 1995, 107 (4):1177.
- [6] Thompson G A. Molecular Changes in Membrane Lipids During Cold Stress[C] Environmental Stress in Plants. Berlin, Heidelberg: 1989: 249
- [7] Gu Y, He L, Zhao C, *et al.* Biochemical and Transcriptional Regulation of Membrane Lipid Metabolism in Maize Leaves under Low Temperature [J]. Front. Plant Sci., 2017, 8:2053.
- [8] Taylor A O, Slack C R, McPherson H G. Plants under Climatic Stress: VI. Chilling and Light Effects on Photosynthetic Enzymes of Sorghum and Maize [J]. Plant Physiol., 1974, 54 (5):696.
- [9] Chinnusamy V, Zhu J, Zhu J K. Cold stress regulation of gene expression in plants [J]. Trends Plant Sci., 2007, 12 (10):444.

- [10] Dowgert M F, Steponkus P L. Behavior of the Plasma Membrane of Isolated Protoplasts during a Freeze-Thaw Cycle [J]. *Plant Physiol.*, 1984, 75 (4):1139.
- [11] Steponkus P L, Lynch D V. Freeze/thaw-induced destabilization of the plasma membrane and the effects of cold acclimation [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 1989, 21 (1):21.
- [12] Pearce R S, Ashworth E N. Cell shape and localisation of ice in leaves of overwintering wheat during frost stress in the field [J]. *Planta*, 1992, 188 (3):324.
- [13] Yu X M, Griffith M. Antifreeze proteins in winter rye leaves form oligomeric complexes [J]. *Plant Physiol.*, 1999, 119 (4):1361.
- [14] Bilska A, Sowinski P. Closure of plasmodesmata in maize (*Zea mays*) at low temperature: a new mechanism for inhibition of photosynthesis [J]. *Ann. Bot.*, 2010, 106 (5):675.
- [15] Yang Y J, Chang W, Huang W, *et al.* The effects of chilling-light stress on photosystems I and II in three *Paphiopedilum* species [J]. *Bot. Stud.*, 2017, 58 (1):53.
- [16] Bernhard Teicher H, Lindberg Møller B, Vibe Scheller H. Photoinhibition of Photosystem I in field-grown barley (*Hordeum vulgare* L.): Induction, recovery and acclimation [J]. *Photosynth Res.*, 2000, 64 (1):53.
- [17] Sonoike K. Photoinhibition of photosystem I [J]. *Physiol. Plant.*, 2011, 142 (1):56.
- [18] Tikkanen M, Mekala N R, Aro E M. Photosystem II photoinhibition-repair cycle protects Photosystem I from irreversible damage [J]. *Biochim Biophys Acta.*, 2014, 1837 (1):210.
- [19] Triantaphylidès C, Krischke M, Hoeberichts F A, *et al.* Singlet oxygen is the major reactive oxygen species involved in photooxidative damage to plants [J]. *Plant Physiol.*, 2008, 148 (2):960.
- [20] Kingston-Smith A H, Foyer C H. Bundle sheath proteins are more sensitive to oxidative damage than those of the mesophyll in maize leaves exposed to paraquat or low temperatures [J]. *J. Exp. Bot.*, 2000, 51 (342):123.
- [21] Zhang L T, Zhang Z S, Gao H Y, *et al.* Mitochondrial alternative oxidase pathway protects plants against photoinhibition by alleviating inhibition of the repair of photodamaged PSII through preventing formation of reactive oxygen species in *Rumex K-1* leaves [J]. *Physiol. Plant*, 2011, 143 (4):396.
- [22] Geissler N, Hussin S, Koyro H W. Interactive effects of NaCl salinity and elevated atmospheric CO₂ concentration on growth, photosynthesis, water relations and chemical composition of the potential cash crop halophyte *Aster tripolium* L [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, 65 (2):220.

- [23] Yun J G, Hayashi T, Yazawa S, *et al.* Acute morphological changes of palisade cells of Saintpaulia leaves induced by a rapid temperature drop [J]. Journal of Plant Research, 1996, 109 (3):339.
- [24] Takahashi S, Badger M R. Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage [J]. Trends Plant Sci., 2011, 16 (1):53.
- [25] Bonnacarrère V, Borsani O, Díaz P, *et al.* Response to photooxidative stress induced by cold in japonica rice is genotype dependent [J]. Plant Sci., 2011, 180 (5):726.
- [26] Zandalinas S I, Mittler R. ROS-induced ROS release in plant and animal cells [J]. Free Radic. Biol. Med., 2018, 122:21.
- [27] Torres M A. ROS in biotic interactions [J]. Physiol. Plant, 2010, 138 (4):414.
- [28] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction [J]. Annu. Rev. Plant Biol., 2004, 55:373.
- [29] Ray P D, Huang B W, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling [J]. Cell Signal, 2012, 24 (5):981.
- [30] Campos C N, Ávila R G, de Souza K R D, *et al.* Melatonin reduces oxidative stress and promotes drought tolerance in young Coffea arabica L. plants [J]. Agricultural Water Management, 2019, 211:37.
- [31] Lee D H, Lee C B. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays [J]. Plant Sci., 2000, 159 (1):75.
- [32] Kocsy G, Szalai G, Galiba G. Induction of glutathione synthesis and glutathione reductase activity by abiotic stresses in maize and wheat [J]. ScientificWorldJournal, 2002, 2:1699.

(四) 创新点与项目特色

植物对逆境胁迫信号的响应通过复杂的调控网络完成，脂信号途径是其中一个重要组成部分，但是由于脂类代谢过程复杂，脂信号含量低微、检测困难，因此以磷脂酸 PA 为核心的脂信号途径在整个逆境信号网络中尚不明晰。在形成 PA 的 PLD 和 PLC/DGK 两条途径中，以往的研究多集中在模式植物拟南芥中，而且主要侧重于 PLD 途径，而对 DGK 途径 PA 的研究较少。本研究采用 Crispr-Cas9 基因编辑技术和玉米遗传转化技术获得 ZmDGK5 玉米过表达株系，通过对比上述材料耐冷性相关形态、生长及生理生化指标，探究 ZmDGK5 基因在植物低温胁迫反应中的功能，有利于对 DGK-PA 脂信号途径参与逆境响应机制的全面理解。

查重 100%

(五) 技术路线、拟解决的问题及预期成果

(1) 技术路线



(2) 拟解决的问题

本项目在前期研究基础上，以对低温胁迫响应明显的玉米 DGK 亚族 I 基因为研究对象，通过 ZmDGK5 过表达和玉米 DGK 亚家族 Cluster I ZmDGK(1/4/5) Crispr/Cas 敲除两个方面的研究，验证 DGK 功能获得和缺失对植株耐冷性的影响。

(3) 预期成果

- 1.阐明玉米 ZmDGK5 在低温胁迫响应中的功能；
- 2.阐明玉米 ZmDGK5 介导的活性氧在低温胁迫中的影响；
- 3.发表省级以上期刊 1 篇。

(六) 项目研究进度安排

- 2024.7.1~2024.12.30:玉米材料田间繁种；
- 2025.1.1~2025.6.30:室内培养玉米材料，观察低温胁迫表型；

查重 53%

2025.7.1~2025.12.30:测定室内培养玉米材料的生理生化指标;

2026.1.1~2026.6.30:测定低温胁迫玉米材料的活性氧水平, 准备结题材料, 完成结题。

(七) 已有基础

(1) 明确 ZmDGK5 在玉米低温胁迫下的响应模式

4℃低温处理玉米幼苗 12 h 后, ZmDGK5 上调表达了 4.5 倍; ZmDGK5 的启动子区域含有 CBF 结合基序 DRE 核心 (GCCGAC); 拟南芥幼苗发芽后第 1 天和第 3 天, ZmDGK5 基因在全株表达活性均较高。拟南芥幼苗发芽后第 5、7、14 天, ZmDGK5 基因在叶片叶脉和生长点中表达活性较高。在花期, 莲座叶、茎、茎叶、花蕾、花瓣、花丝、花药、花柱、角果和根均表现出较强的表达活性。低温处理后 ZmDGK5 基因表达活性显著增强, 说明低温胁迫诱导了 ZmDGK5 基因的表达, ZmDGK5 基因可能参与玉米响应低温胁迫。

查重 44%

(2) 明确 ZmDGK5 在拟南芥低温胁迫下的功能

低温胁迫下, 拟南芥幼苗耐冷性分析结果显示, ZmDGK5 过表达株系表现出叶片大面积萎蔫、变黄、甚至死亡。存活率低, 离子渗透率高, 根的生长受到明显抑制; 土壤成苗耐冷性分析结果显示, ZmDGK5 过表达株系土壤成苗的生长明显受到抑制, 大面积叶片发生失绿、变白和干枯的现象。叶片损伤率和离子渗透率较高, 干重、Fv/Fm 和光合色素含量较低, ZmDGK5 基因的过表达可能会减少冷信号经典途径 ICE-CBF-COR 相关基因的表达量, 从而对植物的耐冷性产生负面影响。

查重 46%

查重 77%

三、 经费预算

开支科目	预算经费 (元)	主要用途	阶段下达经费计划 (元)	
			前半阶段	后半阶段
预算经费总额	5000			
1. 业务费	4000	实验开展过程中的引物合成、测序等费用		
(1) 计算、分析、测试费	1000		500	500

(2) 能源动力费				
(3) 会议、差旅费	1000	国内外学术交流	1000	0
(4) 文献检索费				
(5) 论文出版费	2000	发表论文所需的版面费	0	2000
2. 仪器设备购置费				
3. 实验装置试制费				
4. 材料费	1000	购买开展实验所需的各类试剂耗材等	500	500
学校批准经费	5000.0			

四、 指导教师意见

导师（签章）： 年 月 日

五、 院系大学生创新创业训练计划专家组意见

专家组组长（签章）： 年 月 日

六、 学校大学生创新创业训练计划专家组意见

<div>负责人（签章）： 年 月 日</div>

七、 大学生创新创业训练计划领导小组审批意见

<div>导师（签章）： 年 月 日</div>
