

水稻耐冷研究现状与黑龙江省粳稻耐冷生物育种策略

张文雨^{1,2}, 雷远宝², 张云江³, 郭震华³, 刘乃生³, 马文东³, 邱先进¹, 郑天清², 徐建龙²
(¹长江大学农学院, 湖北荆州 434025; ²中国农业科学院作物科学研究所/作物基因资源与育种全国重点实验室/农作物基因资源与遗传改良国家重大科学工程, 北京 100081; ³黑龙江省农业科学院水稻研究所, 佳木斯 154026)

摘要: 随着全球气候变化, 极端天气事件发生概率显著上升。作为我国水稻商品粮重要生产基地, 黑龙江省是低温冷害频发地区, 黑龙江省粳稻在苗期和生殖生长期(含孕穗期、开花期和成熟期)都容易遭遇低温胁迫。低温胁迫是黑龙江省粳稻生产的重要限制因素, 提高黑龙江省粳稻品种耐冷性对保障我国粮食安全生产具有重大战略意义。本文在回顾水稻耐冷鉴定方法和遗传研究同时, 通过分析黑龙江省粳稻近20年(2006-2023年)育成品种的耐冷数据发现, 随着近年来审定品种数量“井喷”, 品种耐冷性呈现整体下降趋势; 其次, 通过基于参考基因组的比较作图发现, 苗期和生殖生长期耐冷性大多受独立的位点或染色体区段控制, 遗传重叠(包括一因多效位点和连锁区段)比例在21%左右, 其中负调控位点占比20%。对当前黑龙江省粳稻耐冷育种工作而言, 针对上述遗传重叠位点/区段和负调控位点开展深入研究, 将有利于进一步提高育种工作效率。在此基础上, 本文提出了黑龙江省粳稻耐冷生物育种策略以及苗期与生殖生长期耐冷性同步改良的具体建议。

关键词: 黑龙江省早熟粳稻; 耐冷性; 遗传重叠; 生物育种改良

Research Status on Cold Tolerance in Rice and Biotechnological Breeding Strategies for Cold-tolerant Early *Geng/japonica* in Heilongjiang Province

ZHANG Wenyu^{1,2}, LEI Yuanbao², ZHANG Yunjiang³, GUO Zhenhua³, LIU Naisheng³, MA Wendong³,
QIU Xianjin¹, ZHENG Tianqing², XU Jianlong²

(¹College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025, Hubei; ²Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences/State Key Laboratory of Crop Gene Resources and Breeding/National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Beijing 100081; ³Rice Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Jiamusi 154026)

Abstract: With the global climate change, the probability of extreme weather events has significantly increased. As an important base for commercial rice production in China, Heilongjiang province is an area prone to low-temperature stresses. *Geng/Japonica* rice in Heilongjiang is susceptible to low-temperature stresses during both the seedling stage and the reproductive stage (including booting, flowering, and maturing stages). Low temperature stress is a key limiting factor for rice production in Heilongjiang, and improving cold tolerances of Heilongjiang *Geng/japonica* rice cultivars is of great strategic importance for ensuring the food production security in China. When reviewing the identification methods and genetic researches of rice cold tolerance, the authors analyzed the cold tolerance characteristics of Heilongjiang rice cultivars released in the past about 20 years (2006-2023), and found that with the "blowout" of approved cultivars in recent 5 years, the cold tolerances are going down. Secondly, through the comparative mapping based on reference genome, it was

收稿日期: 2024-03-03 网络出版日期: 2024-07-19

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240303001>

第一作者研究方向为作物遗传育种, E-mail: 1805093237@qq.com; 雷远宝为共同第一作者

通信作者: 郑天清, 研究方向为水稻基因资源挖掘与育种利用, E-mail: zhengtianqing@caas.cn

邱先进, 研究方向为水稻重要农艺性状遗传解析与分子育种, Email: xjqiu216@yangtzeu.edu.cn

基金项目: 农业生物育种重大专项(2022ZD0400404)

Foundation project: Biological Breeding-Major Projects(2022ZD0400404)

found that the cold tolerances at the seedling stage and the reproductive stage are mostly controlled by independent loci or chromosomal regions, and the proportion of genetic overlap (including both pleiotropic loci and linked regions) accounted for about 21%. Among the identified gene responsible for cold tolerances, the negative regulatory genes accounted for about 20%. For current breeding application, the above-mentioned genetic overlap loci/regions and negative regulatory genes are useful in improving the breeding efficiency. On this basis, the authors put forward specific suggestions on the simultaneous improvement of cold tolerance during the seedling stage and reproductive stage as well as strategies for the biotechnological breeding on improving the cold tolerances of early *Gengjaponica* rice for Heilongjiang province.

Key words: early *Gengjaponica* rice (*Oryza sativa* L.) at Heilongjiang province; cold resistance; genetic overlap; biotechnological breeding

水稻(*Oryza sativa* L.)起源于热带和亚热带地区,包括籼、粳两个亚种。相较于小麦(*Triticum aestivum* L.)、大麦(*Hordeum vulgare* L.)等其他禾本科作物,水稻较易受到低温冷害影响。加之我国稻作区分布范围广,在东北地区、长江流域、珠江流域及部分高海拔地区种植的水稻会遭遇不同时期、不同程度的低温冷害^[1]。

东北稻区地处高纬度,低温冷害是该地区水稻生产最大的风险性因素之一;其冷害发生频率高,受害面积大;特别是黑龙江省,平均每3~5年就发生一次^[2]。黑龙江省作为我国最大的单季水稻种植区和最主要的商品粮基地,保证粮食安全生产至关重要。根据最新预测,虽然全球变暖和水稻种植区普遍积温增加,但在21世纪末之前,黑龙江省大部地区(96.4%)仍将面临冷害威胁^[3]。鉴于此,培育耐冷性强的早熟粳稻品种对于我国粮食安全生产具有重大战略意义。

1 黑龙江省水稻低温冷害

1.1 低温冷害定义

低温冷害或者冷胁迫(Cold stress)简称冷害,是指农作物在生长期遭遇低于所需最低温度阈值而引起生长发育受阻的现象^[1]。水稻冷害的通常表现为叶片卷曲、褪绿和赤枯等,严重的会引起产量和品质的下降^[4-5]。水稻在自然演化和人工驯化过程中,既分化出能够适应中高纬度和高海拔地区气候条件的粳稻,又保留着适应低纬度地区气候条件的籼稻。一般来说,籼稻的冷害温度阈值通常为18~20℃,而粳稻的冷害温度阈值通常为15~17℃。温度低于冰点(0℃)而导致的胁迫通常被称为冻害(Freezing stress),不在本文讨论之列。

1.2 黑龙江省冷害主要类型

根据冷害造成减产的原因,可将水稻冷害大

致分为3类^[6]。(1)延迟性冷害:主要是营养生长期遭遇低温导致开花延迟,或者在成熟阶段遭遇低温而导致熟期延迟乃至不能正常成熟的现象。(2)障碍型冷害:从幼穗分化到受精完成阶段遭遇低温,影响开花受精过程,导致结实率降低的现象。(3)混合型冷害:上述两种冷害同时发生的现象。

根据冷害发生时水稻所处的生长阶段,研究者又将冷害做了细分,大致包括发芽期、芽期、幼苗期、移栽期、分蘖期、孕穗期、开花期和成熟期冷害等^[7];从幼苗到成熟阶段是水稻对冷害最为敏感的时期,其中幼苗期、移栽期和分蘖期属于水稻营养生长期,在实际应用中,这个阶段遭受的冷害通常也统称为苗期冷害;孕穗期、开花期和成熟期则属于水稻生殖生长期。为了描述方便起见,以下将采用苗期和生殖生长期两阶段描述方式,并在需要明确的地方予以注明。

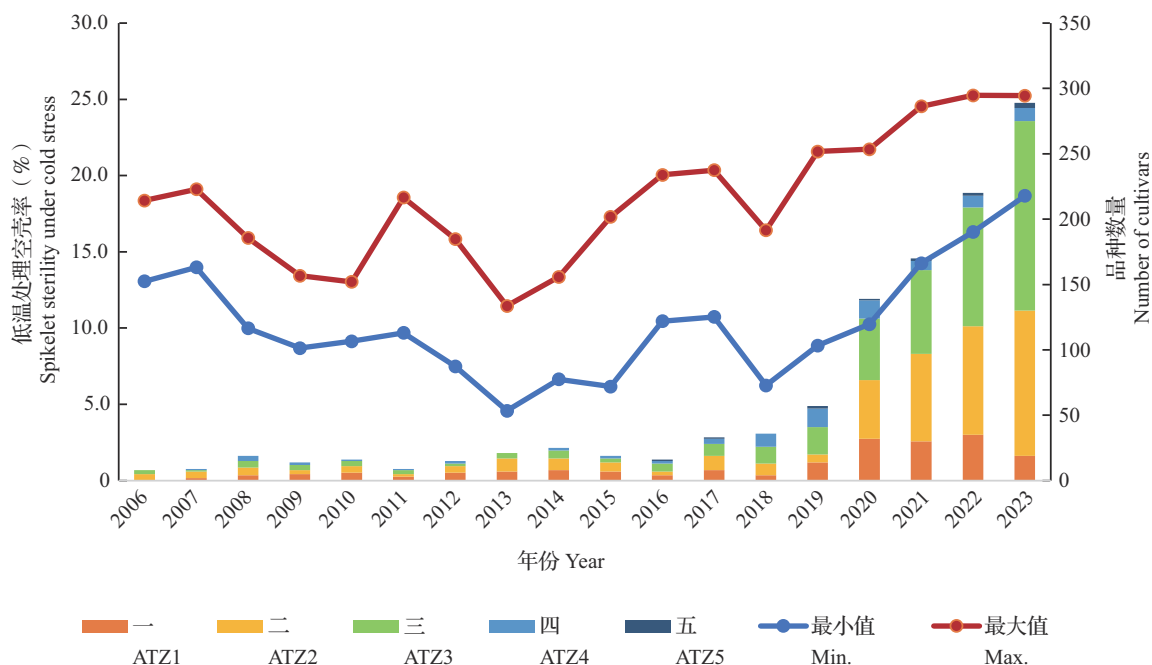
苗期冷害在我国云贵高原单季稻区、长江中下游早稻区和北方稻区比较常见,生殖生长期冷害则在黑龙江省和南方中晚稻区时常出现^[8]。水稻对上述两种冷害的抵抗或适应能力则被称为耐冷特性,简称耐冷性(CT, cold tolerance)或者抗寒性。在黑龙江省生产条件下,水稻品种耐冷性主要体现在苗期和生殖生长期,其中苗期包括叶片生长速度和长出灌溉水层上面的快慢、苗期生长速度、分蘖始期早晚和分蘖增长速度等;生殖生长期则包括感受障碍型冷害临界温度、以光温反应为基础的不同积温年份水稻生育期变动幅度和灌浆速度快慢等方面^[9]。

1.3 黑龙江省审定品种耐冷性变化

通过2006-2023年审定品种的公开数据源^[10-11],收集到耐冷鉴定数据相对完整的黑龙江省审定品种1115个,并对其低温处理空壳率(反映生殖生长

期耐冷性的重要指标)数据进行了统计分析(图1)。结果发现,在过去近20年时间里,黑龙江省审定品种耐冷性经历了两个高峰,分别是2013年和2018年,低温处理空壳率范围在4.6%~11.4%和6.2%~16.4%。自2020年以来,随着品种审定渠道的拓

宽,品种数量呈现井喷式增长,增加品种主要集中在第二、第三积温带。低温处理空壳率最大值的平均数和最小值的平均数也呈明显的上升趋势,与2018年相比,2023年同比上升幅度分别为53.8%和199.3%。



一至五分别表示黑龙江省的第一至第五积温带;最小值和最大值分别表示低温处理空壳率的最小值和最大值

The numbers of 1 to 5 shown in Chinese characters represent the different accumulating temperature zones (ATZs) from ATZ one to ATZ five;

Min. and Max. represent the minimum and maximum values of the spikelet sterility rate under cold stress, respectively

图1 2006-2023年黑龙江省不同积温带审定品种的数量及生殖生长期耐冷性变化趋势

Fig.1 The cold tolerances at reproductive stage and numbers of cultivars approved to be released across different accumulated temperature zones in Heilongjiang province during 2006-2023

2 水稻耐冷性鉴定方法

在品种的遗传改良研究中,目标性状鉴定是至关重要的环节,需要兼顾准确度和鉴定通量之间的平衡。耐冷性鉴定通常需要在鉴定过程中对试验对象施加低温处理,比较常见的处理方法包括自然低温、冷水灌溉和人工气候室处理^[6]。处理之后的鉴定评价指标主要包括生长发育指标、外部形态指标及生理生化指标。处理方法与鉴定指标的相互配合,共同形成常用的耐冷性鉴定方法^[7]。本文主要针对与黑龙江省水稻生产关系更为密切的苗期和生殖生长期的耐冷性鉴定加以综述。

2.1 耐冷性鉴定处理方法

自然低温是利用特殊气候条件对水稻施加温度胁迫的方法,比较适合大批量材料的初步筛选。例如利用云南特殊的垂直气候条件,开展水稻耐

冷自然鉴定^[1]。但是自然低温处理往往受到地理条件的限制,而且需要研究者设置多年重复或者与其他方法结合进行鉴定,才能获得比较可靠的结果。

冷水灌溉是采用控温装置,将冷水与常温水混合调制,形成温度适合的处理水,然后用处理水灌溉稻株并维持一定深度水层,从而对稻株施加低温胁迫的方法。冷水灌溉可用于苗期也可用于生殖生长期的耐冷性研究。苗期处理的通常方法是:将常温下培养的三叶一心期幼苗用12~13℃的冷水处理10 d之后,恢复常温生长7~10 d,并调查幼苗受胁迫程度^[12]。孕穗期的冷水胁迫处理方法通常是在幼穗分化期前后利用17~19℃深水灌溉,一般认为花粉母细胞开始减数分裂时是实施冷水处理的最佳时期^[13]。这种耐冷性鉴定方法的重复性相对较好,因此也成为黑龙江省区域试验中耐冷性鉴定的

标准方法。值得注意的是,冷水处理的开始时间往往对结果的准确度影响较大,因此在对熟期差异较大的材料进行集中处理时,要注意控制处理时间^[7]。

人工气候室处理则是通过人为控制水稻生长发育所需的温度、湿度和光照等条件对稻株施加低温胁迫的室内处理方法。该方法理论上适用于各个时期的耐冷性鉴定;然而,由于对人工气候室内不同位置温度均一性要求较高,加之单个气候室空间条件等限制因素,不同批次之间的鉴定效果也可能存在一定程度波动。结合实践,本文认为不同研究者可以根据研究目的和研究阶段的不同需求,将上述3种方法有机结合,因地制宜地制定鉴定策略,实现成本和效率平衡兼顾的耐冷鉴定方案。

2.2 耐冷性鉴定指标

水稻不同生育阶段对低温胁迫的响应不同,苗期受到低温冷害会使植株营养生长减慢,叶片失绿萎蔫甚至死亡;生殖生长期遭遇低温,影响花粉育性及结实率,导致产量降低。因此,水稻不同生育阶段鉴定水稻品种耐冷性的方法及鉴定评价标准也各不相同。

按照指标类型划分,水稻耐冷性鉴定指标主要包括生长发育、外部形态和生理生化3大类。其中,生长发育指标主要包括苗期的存活率和枯萎度等;外部形态指标主要包括苗期的叶赤枯度、地上部生长量和分蘖数,生殖生长期的秆长缩短率、穗抽穗度、抽穗延迟天数、结实率、成熟期综合耐冷性和冷水反应指数等^[7];生理生化指标则主要包括电导率、叶绿素含量、可溶性糖含量、超氧化物歧化酶活性、过氧化氢酶活性、过氧化物酶活性、丙二醛含量、脱落酸含量和脯氨酸含量等^[8]。

苗期耐冷性鉴定的形态指标中叶片枯萎度和叶片卷曲程度存在一定主观判断误差;存活率则相对直接客观,因此在遗传育种工作中,后者往往与

前两者配合使用。生殖生长期耐冷性鉴定指标较多,但最常用的还是低温处理下的结实率或空瘪率,后者又称为低温处理空壳率,是黑龙江省品种耐冷性鉴定的重要指标^[14]。

3 水稻耐冷性遗传研究进展

耐冷性属于复杂性状,不同生长阶段的水稻都有可能遭遇不同程度的低温胁迫,其中苗期和生殖生长期对低温最为敏感。前人通过正向遗传学方法检测到了多达270个耐冷性数量性状位点(QTL, quantitative trait loci),分布在全基因组12条染色体上。不同时期的耐冷性QTL数量比例也有所不同,其中,苗期占比最高,达40%,生殖生长期则不到30%^[15]。近年来,部分主效位点已被克隆和功能验证。与此同时,通过反向遗传学或者分子生物学手段,研究者也鉴定到一些耐冷相关基因并解析其生物学功能。本文汇总了已克隆/鉴定的37个水稻苗期、生殖生长期耐冷性相关基因/主效QTL。

3.1 水稻苗期、生殖生长期耐冷性相关基因/主效QTL

从编码产物看,这些基因主要编码转录因子和蛋白激酶,分别占35.1%和18.9%(表1)。其中,转录因子主要是WRKY、MYB和NAC,分别占到转录因子的53.8%、23.1%和15.4%。

WRKY是植物特有的一类锌指转录因子,在抗逆中发挥重要作用。已知与水稻耐冷性相关的WRKY转录因子有7个(表1),其中3个负调控水稻耐冷性,包括影响苗期耐冷性的*OsWRKY45*^[16]和影响生殖生长(孕穗)期耐冷性的*OsWRKY53*^[17]和*OsWRKY63*^[18]。影响耐冷性的3个MYB转录因子*OsMYB3R2*^[19]、*OsMYB55/OsMYB4*^[20]和*OsMYBS3*^[21]和2个NAC转录因子*OsNAC6*^[22]和*ONAC095*^[23]均正调控水稻苗期耐冷性。

表1 目前已经定位/克隆的水稻苗期、生殖生长期耐冷性相关基因/主效QTL及遗传重叠区段

Table 1 The identified genes/main QTLs and genetic overlap regions related to cold tolerance in rice

类型 Type	QTL/基因 QTL/gene	染色体 Chr.	候选基因 Candidate genes	编码产物/代谢途径 Encoding product/ metabolic pathway	有利单倍型/ 等位基因来源 Advantageous haplotype/ allele source	调控类型 Regulation type	参考文献 References
苗期 Seedling stage	<i>OsSEH1</i>	1	<i>LOC_Os01g43250</i>	核孔蛋白	粳稻	负	[42]
	<i>OsNAC6</i>	1	<i>LOC_Os01g66120</i>	NAC转录因子	NA	正	[22]
	<i>OsMYB3R2</i>	1	<i>LOC_Os01g62410</i>	MYB转录因子	NA	正	[19]

表 1 (续)

类型 Type	QTL/基因 QTL/gene	染色体 Chr.	候选基因 Candidate genes	编码产物/代谢途径 Encoding product/ metabolic pathway	有利单倍型/ 等位基因来源 Advantageous haplotype/ allele source	调控类型 Regulation type	参考文献 References
苗期 Seedling stage	<i>OsTIL1</i>	2	<i>LOC_Os02g39930</i>	脂质运载蛋白	NA	正	[33]
	<i>OsWRKY71</i>	2	<i>LOC_Os02g08440</i>	WRKY 转录因子	NA	正	[44]
	<i>LTG1</i>	2	<i>LOC_Os02g40860</i>	酪蛋白激酶	NA	正	[26]
	<i>OsCDPK7</i>	4	<i>LOC_Os04g49510</i>	钙依赖性蛋白激酶	NA	正	[25]
	<i>COLD1</i>	4	<i>LOC_Os04g51180</i>	G 蛋白信号调节因子	粳稻	正	[32]
	<i>OsMYB55/ OsMYB4</i>	4	<i>LOC_Os04g43680</i>	MYB 转录因子	NA	正	[20]
	<i>OsWRKY45</i>	5	<i>LOC_Os05g25770</i>	WRKY 转录因子	NA	负	[16]
	<i>ONAC095</i>	6	<i>LOC_Os06g51070</i>	NAC 转录因子	NA	正	[23]
	<i>OsMAPK6</i>	6	<i>LOC_Os06g06090</i>	丝裂原活化蛋白激酶	NA	正	[29]
	<i>OsWRKY115</i>	7	<i>LOC_Os07g27670</i>	WRKY 转录因子	NA	正	[45]
	<i>OsWRKY76</i>	9	<i>LOC_Os09g25060</i>	WRKY 转录因子	NA	正	[46]
	<i>OsMYBS3</i>	10	<i>LOC_Os10g41200</i>	MYB 转录因子	NA	正	[21]
	<i>OsLTPL159</i>	10	<i>LOC_Os10g36160</i>	非特异性脂质 转移蛋白	粳稻	正	[34]
	<i>HANI</i>	11	<i>LOC_Os11g29290</i>	氧化酶	粳稻	正	[39]
	<i>COG1</i>	11	<i>LOC_Os11g36200</i>	类蛋白受体激酶	粳稻	正	[27]
<i>OsWRKY94</i>	12	<i>LOC_Os12g40570</i>	WRKY 转录因子	NA	正	[47]	
生殖生长期 Reproductive stage	<i>OsLEA9</i>	1	<i>LOC_Os01g21250</i>	晚期胚胎富集蛋白	NA	负	[30]
	<i>OsMKKK70</i> (孕穗期)	1	<i>LOC_Os01g50410</i>	丝裂原活化蛋白激酶	NA	负	[31]
	<i>OsMAPK3</i>	3	<i>LOC_Os03g17700</i>	丝裂原活化蛋白激酶	粳稻	正	[30]
	<i>OsAPX1</i>	3	<i>LOC_Os03g17690</i>	抗坏血酸过氧化物酶	NA	正	[35]
	<i>Ctb1</i> (孕穗期)	4	<i>LOC_Os04g52830</i>	F-box 蛋白	NA	正	[36]
	<i>CTB2/CTB4b</i> (孕穗期)	4	<i>LOC_Os04g04254</i>	UDP-葡萄糖甾醇葡萄糖基转移酶	粳稻	正	[37-38]
	<i>CTB4a</i> (孕穗期)	4	<i>LOC_Os04g04330</i>	蛋白激酶	粳稻	正	[28]
	<i>OsWRKY53</i> (孕穗期)	5	<i>LOC_Os05g27730</i>	WRKY 转录因子	NA	负	[17]
	<i>qCTB7</i> (孕穗期)	7	<i>LOC_Os07g07690</i>	PHD 结构域蛋白	NA	正	[40]
	<i>LTT1</i> (孕穗期)	10	<i>LOC_Os10g34110</i>	NA	NA	负	[41]

表 1 (续)

类型 Type	QTL/基因 QTL/gene	染色体 Chr.	候选基因 Candidate genes	编码产物/代谢途径 Encoding product/ metabolic pathway	有利单倍型/ 等位基因来源 Advantageous haplotype/ allele source	调控类型 Regulation type	参考文献 References
苗期与生殖生长期 遗传重叠 The seedling stage overlaps with the reproductive stage	<i>qSR3.2/qWD3.2/ qSSR3</i> (孕穗期)	3	NA	NA	粳稻	NA	未发表结果
	<i>MIR1868</i> (孕穗期)	4	<i>LOC Os04g32710</i>	NA	NA	负	[43]
	<i>bZIP73</i>	9	<i>LOC Os09g29820</i>	bZIP 转录因子	粳稻	NA	[48-49]
	<i>qRC10-2</i> (成熟期)	10	NA	NA	野生稻	NA	[50]
	<i>qPSR10</i> (孕穗期)	10	NA	NA	NA	NA	[51]
	<i>qLTS11/ qSST11-1 和 qLTL11/qSST11-2</i> (孕穗开花期)	11	NA	NA	粳稻	NA	[52]
	<i>OsWRKY63</i> (孕穗期)	11	<i>LOC_Os11g45920</i>	WRKY 转录 因子	粳稻	负	[18]
	<i>qCTBS11/COG3</i> (孕穗期)	11	<i>LOC_0s11g44680</i>	NA	粳稻	正	[53]

括号表示该 QTL/基因起作用的水稻生长时期; NA 表示数据无法获取或不存在

The content shown in parentheses indicated the specific stage when the QTL/gene is working ; NA means the data not available

信号转导途径在水稻应对低温胁迫过程中起重要作用, 蛋白激酶是其重要组成部分^[24]。已知 7 个耐冷性相关蛋白激酶都是正调控基因, 其中, 编码钙依赖性蛋白激酶的 *OsCDPK7*^[25] 和编码酪蛋白激酶的 *LTGI*^[26] 与苗期耐冷性相关; 在 2 个编码类受体激酶前体基因中, *COG1*^[27] 主要影响苗期耐冷性, *CTB4a*^[28] 则与生殖生长(孕穗)期耐冷性相关; 而 2 个丝裂原活化蛋白激酶编码基因 *OsMAPK6*^[29] 和 *OsMAPK3*^[30] 分别影响苗期和生殖生长期耐冷性。编码丝裂原活化蛋白激酶基因 *OsMKKK70* 则负调控生殖生长(孕穗)期耐冷性^[31]。

G 蛋白是信号转导途径的另一重要组成部分, *COLD1* 基因编码的 G 蛋白信号调节因子能够与 G 蛋白 α 亚基 RGA1 相互作用并正调控苗期耐冷性^[32]。脂质转移蛋白在植物中参与脂质信号转导, 与包括逆境响应在内的生物过程相关。脂质运载蛋白基因 *OsTIL1* 在低温胁迫下诱导甘油酯的生物合成从而提高水稻耐冷性^[33], 而非特异性脂质转移蛋白编码基因 *OsLTPL159* 也是正调控耐冷性^[34]。

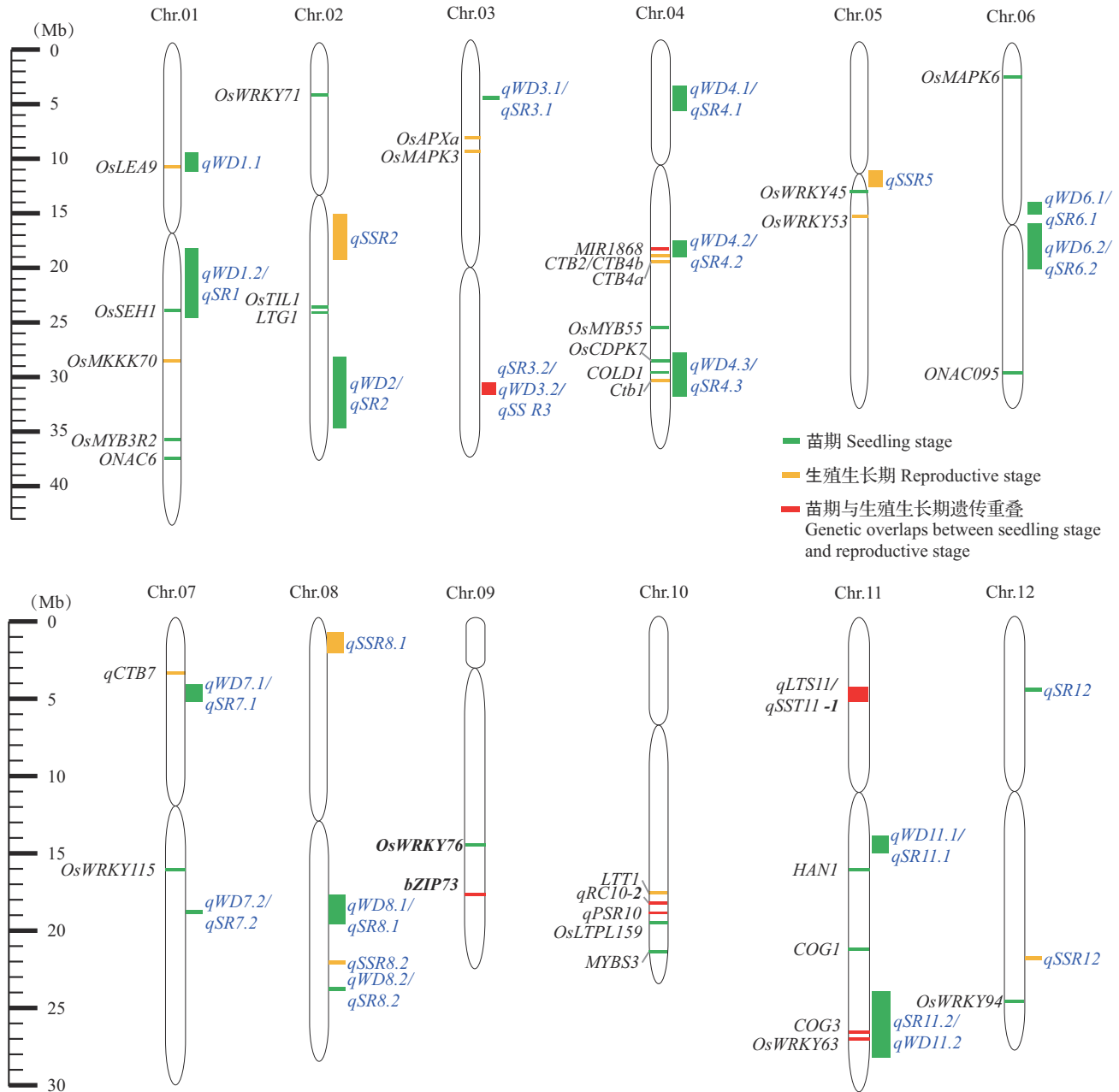
OsAPX1 编码的细胞质抗坏血酸过氧化物酶能够增强 H_2O_2 和丙二醛的清除能力^[35]。其他一些基因, 包括编码 F-box 蛋白的 *Ctb-1*^[36] 参与泛素蛋白酶体途径、编码 UDP-葡萄糖甾醇葡萄糖基转移酶的 *CTB2/CTB4b*^[37-38], 编码富含亮氨酸重复序列类受体激酶的 *CTB4a*^[28] 等, 这些基因都是正调控水稻耐冷性。此外, 细胞色素酶 P450 编码基因 *HANI*^[39] 和 PHD 结构域蛋白编码基因 *qCTB7*^[40] 也都是水稻耐冷性正调控因子。*LTT1* 基因的突变则能够激活活性氧清除代谢通路^[41], 而敲除晚期胚胎富集蛋白编码基因 *OsLEA9* 则能够增强生殖生长期耐冷性^[30], 核孔通道蛋白编码基因 *OsSEHI*^[42] 也是负调控苗期耐冷性。最新研究发现, 小 RNA 也参与到水稻耐冷性的调控中, 其中 *MIR1868* 可负调控苗期和生殖生长(孕穗)期耐冷性^[43]。上述这些已知耐冷基因绝大多数正调控耐冷性(占比 80%), 负调控基因只占 20%。

3.2 苗期和生殖生长期耐冷性的遗传重叠

遗传重叠是两种性状在遗传上存在一定程度关联, 控制不同性状的位点存在一因多效或紧密连

锁的现象^[55],是遗传育种工作的关注重点。在 37 个已克隆的耐冷基因/QTL 中,只影响苗期耐冷性的有 19 个(占 51.4%),只影响生殖生长期耐冷性的有 10 个(占 27.0%),而同时影响苗期和生殖生长期耐冷性的有 8 个(占 21.6%)。将已经报道的耐冷基因/主效 QTL 位点与新定位的苗期和生殖生长期 QTL 位

点(数据未发布)进行染色体分布比较分析,结果表明:一是苗期耐冷性位点和生殖生长期耐冷性位点大多分布在不同染色体区段;二是存在少量控制苗期和生殖生长期耐冷性的遗传重叠位点(图 2)。具体来看, *bZIP73* 和 *OsWRKY63* 基因编码的转录因子可以同时影响苗期和生殖生长期耐冷性。 *bZIP73*



黑色字表示已知的水稻苗期、生殖生长期耐冷性相关基因/QTL;蓝色字表示项目组定位的苗期、生殖生长期耐冷性 QTL,其中 QTL 命名依据冷处理后的性状,WD:枯萎度;SR:存活率;SSR:结实率

Previously identified genes/QTLs against cold stresses at the seedling stage and reproductive stage of rice were shown in black, while the QTLs identified by authors' working group were shown in blue. The loci were nominated according to the traits under cold stresses including, WD: Wilting degree; SR: Survival rate ; SSR: Seed setting rate

图 2 水稻苗期、生殖生长期耐冷性相关基因/QTL 的基因组分布和遗传重叠

Fig.2 Genomic distribution and genetic overlaps of cold tolerance-related genes/QTLs at seedling stage and reproductive stage

一个碱基变异造成籼粳间对低温的耐受性差异^[49]。*OsWRKY63* 是一个转录抑制因子,可以下调许多低温胁迫相关基因和活性氧清除相关基因的表达,从而负调控苗期及生殖生长(孕穗)期耐冷性^[18]。QTL 位点 *qCTBS11/COG3* 正调控苗期和孕穗期耐冷性,在粳稻驯化过程中经历了明显选择^[54]。此外,在苗期以及生殖生长期同时检测到的重叠位点还有 5 个,其中包括 4 个连锁位点:影响苗期和生殖生长(孕穗开花)期的 *qLTS11/qSST11-1*、*qLTL11/qSST11-2*^[53];影响苗期和生殖生长(成熟)期的 *qRC10-2*^[51],以及影响苗期和生殖生长(孕穗)期的 *qSR3.2/qWD3.2/qSSR3*(表 1,图 2)。此外,还有 1 个通过全基因组关联分析检测到的苗期与生殖生长(孕穗)期重叠位点 *qPSR10*^[52]。

上述结果表明,尽管苗期与生殖生长期的耐冷遗传机制可能存在较大差异,但仍然有一定比例的遗传重叠。上述遗传重叠位点/染色体区段有望在借助生物育种方法同步改良水稻苗期和生殖生长期耐冷性中提供重要信息。

4 黑龙江省水稻耐冷生物育种研究

黑龙江省位于我国最北方,作为最大单季稻产区,承担着我国粮食安全饭碗底座的重任。尽管在全球变暖背景下,黑龙江省于 2023 年调整了积温带设置,但是未来黑龙江省大部区域仍然面临冷害威胁。

4.1 黑龙江省品种审定对耐冷性的要求

黑龙江省春季温度较低,通常大田育秧有困难。当前生产上主要通过大棚早育稀植方式来提高积温可得性;在秧棚外积雪条件下,秧棚内通常能够维持在 20℃ 以上,秧龄可长达 40 d。因此,随着栽培制度变化,芽期耐冷性已经不是黑龙江省生产上的主要问题,而生殖生长期耐冷性成为主要问题。2002 年,我国北方稻区遭受到严重冷害,2003 年起,耐冷性被列为黑龙江省水稻品种审定的重要指标。生殖生长期耐冷性和稻瘟病抗性一样,是黑龙江省水稻品种审定“一票否决”的重要指标,低温处理空壳率标准为小于 30%^[14]。此外,近年来第二、三积温带仍以种植圆粒高产品种为主,农户倾向于选择晚熟高产品种,通过提早播种来“抢积温”创高产。2023 年,黑龙江省春季低温导致育秧棚内温度低于 20℃,普遍影响稻苗生长。因此,除了生殖生长期耐冷性之外,苗期耐冷性也是值得育种工作关注的目标。

4.2 黑龙江省耐冷育种的资源分析

根据采用的资源和耐冷性鉴定方法,黑龙江省耐冷育种大致分为两个阶段,包括 20 世纪 80 年代及以前与 2004 年至今。

4.2.1 20 世纪 80 年代及以前 这个阶段的黑龙省水稻育种处于系统育种阶段和杂交育种初期。育种家普遍认为,20 世纪 50 年代以来直接或间接能够在黑龙江省长期立足的引进品种具有较强耐冷性,其中具有代表性的是引自日本北海道的石狩白毛^[9]。石狩白毛于 1935 年在日本北海道育成,于 20 世纪 40 年代初引入黑龙江省,新中国成立前后曾占据黑龙江省水稻主栽品种地位多年。以石狩白毛及其衍生品种为基础,育成了一系列新品种,其中包括通过系统选育而成的合江 1 号、禹申龙白毛、梧农 71 和牡丹江 1 号等,以及通过杂交选育而成的合江 19 号、合江 20 号和黑粳 2 号等^[11]。

随着黑龙江省农业科学院水稻研究所等单位连续多年对大量材料进行耐冷性研究,于 1979-1984 年逐步形成黑龙江省水稻耐冷材料的鉴定筛选标准,经过 6 年试验研究,在鉴定的 917 份材料中,苗期耐冷材料有 194 份,生殖生长期耐冷材料有 15 份。从鉴定结果看,水稻各时期都耐冷的材料很少,只有 1 份合江 13;然而,在育种实践中合江 13 的利用效果却不及合江 12 和合江 23^[9]。

4.2.2 2004 年至今 2004 年开始的黑龙省品种区域试验中,以低温处理空壳率为指标的水稻生殖生长期耐冷性由指定单位进行统一鉴定,其中 2004-2010 年采用空育 131 为鉴定对照。空育 131 于 1991 年从日本北海道引入黑龙江省,1997 年通过黑龙江省农垦总局品种审定委员会审定,2000 年经黑龙江省农作物审定委员会认定推广,其累计推广面积超过 1 亿亩^[10]。由于稻瘟病抗性等因素,自 2006 年以来,黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所育成了一批适用于第二至第五积温带的龙粳系列耐冷高产圆粒品种,其低温处理空壳率均值在 12.9%~20.5%,在生产上替代空育 131。其中,龙粳 31(2011 年审定)的低温处理空壳率在 11.4%~14.1%;龙粳 3013(2021 年审定)在 11.5%~15.3%;而同期该区域的其他品种低温处理空壳率均值在 14.8%~24.0%。

4.3 耐极端低温苗头新品系创制

2022 年以来,耐极端高/低温水稻新品种设计与培育项目组(以下简称项目组)针对黑龙江省地区开展耐极端低温新品种的生物育种研究,育成了一

批苗头品系。其中,龙粳1934是黑龙江省农业科学院水稻研究所通过系谱法选育的耐冷性强且优质高产抗倒伏早熟新品种(黑审稻20230053)。该品种是以含有空育131耐冷血缘的中间材料为母本,耐冷抗倒抗稻瘟病的中间材料为父本,经连续耐冷鉴定选育的新品种;主茎11片叶,在适应区出苗至成熟生育日数130 d左右,需 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 活动积温 2400°C 左右。2021-2022年耐冷性鉴定结果:低温处理空壳率17.6%~19.4%。

龙粳4613是黑龙江省农业科学院水稻研究所选育的耐冷性强且优质高产抗倒伏早熟品种(黑审稻2023 L 0118)。该品种双亲均含有耐冷品种空育131血缘;主茎11片叶,在适应区出苗至成熟生育日数130d,需 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 活动积温 2400°C 左右。2021-2022年耐冷性鉴定结果:低温处理空壳率15.8%~23.4%。

中农粳18是由中国农业科学院作物科学研究所所以吉粳88导入系LY1为母本,育成的抗病耐冷特性较好的早熟粳稻品种(黑审稻2023L0088)。2020-2021年参加第三积温带晚熟期组区域试验,平均产量 9075.4 kg/hm^2 ,较对照品种龙粳31增产8.4%;2022年生产试验平均产量 9100.3 kg/hm^2 ,较对照品种龙粳31增产7.0%,低温处理空壳率11.1%~27.2%。在此基础上,通过生物育种方法进一步育成新品系中农粳5205,该品系融汇了中农粳18耐冷抗病和中农粳11(拟于2024年审定)高产抗倒伏等优点,主茎12片叶,在适应区出苗至成熟生育日数135 d左右,需 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 活动积温 2500°C 左右。在项目组2023年的统一耐冷鉴定中,中农粳5205的低温处理空壳率在10.8%(室外鉴定)~12.9%(室内鉴定),具有极强的耐冷性和高产抗倒水平,有望成为开展黑龙江省早粳耐冷生物育种的优异基础新种源。

5 结论与展望

5.1 气候变化对黑龙江省粳稻育种的影响

随着全球气候变化,黑龙江省地区积温呈现整体上升趋势^[56],但在21世纪内,冷害仍将威胁黑龙江省大部地区^[3]。2023年,黑龙江省佳木斯市所在的3区(原第二积温带下限)出现对照品种龙粳21以及部分长粒品种生殖生长(开花)期颖花退化和生殖生长(成熟)期自然空壳率上升的现象。对种业大数据分析也发现,随着审定渠道拓宽,近5年来黑龙江省审定品种的生殖生长期耐冷性呈现下降趋势(图1)。低温冷害对未来5~10年黑龙江省水稻

的耐冷性育种提出挑战,耐冷尤其是生殖生长期耐冷仍然是今后一段时期内黑龙江省水稻育种的重要目标。

5.2 遗传研究对提高黑龙江省早粳稻耐冷性的启示

在已知的37个耐冷基因/位点上,有利等位基因大都来自粳稻,只有1个来自野生稻(表1),因此作为典型粳稻的代表,上述位点的有利等位基因在黑龙江省早熟粳稻品种中往往已经被固定了,比较典型的例子是*CTB2/CTB4b*和*CTB4a*。与此同时,根据前人正向遗传研究的结果以及项目组未发表数据的比较作图发现,水稻苗期耐冷性与生殖生长期耐冷性在大多数情况下属于独立遗传,存在一定比例的一因多效位点(约占21%);从控制苗期和生殖生长期QTL位点的基因组分布情况看,也存在集中分布的区域,例如,*bZIP73*转录因子在水稻苗期和生殖生长期耐冷中都起作用以及第3号染色体上的苗期-生殖生长(孕穗)期耐冷遗传重叠位点 $qSR3.2/qWD3.2/qSSR3$ 等(表1,图2)。此外,上述37个位点中,大约有20%左右的位点是负调控耐冷性的,通过对这些位点进行基因编辑有望获得耐冷性提升的中间材料。

要进一步提升黑龙江省粳稻耐冷性,一方面需要通过野生稻资源或者3K测序资源^[57]等非粳稻资源进一步挖掘尚未在黑龙江省品种中利用的有利等位新变异;另一方面要加强对上述遗传重叠位点(区段)和负调控位点的关注和利用。

5.3 利用生物育种培育黑龙江省粳稻耐冷新品种

生物育种即生物技术育种的简称,指在生物技术(BT, biology technology)与包括信息技术(IT, information technology)在内的多种前沿技术融合基础上,结合常规育种技术手段,培育新品种的过程。多种技术的综合运用,不仅使育种家的亲本选配能够有更加明确的方向,而且能够较大幅度地缩短育种周期^[58]、提升育种效率。

针对黑龙江省粳稻耐冷育种,一是进一步加强耐冷资源鉴定。根据水稻中存在的针对生物胁迫和非生物胁迫的“隐蔽变异”^[59, 60],不仅要从高纬度地区如俄罗斯期、朝鲜、日本或野生资源中寻找有利等位变异,也要在低纬度来源材料中挖掘耐冷新基因,以逐步拓宽黑龙江省粳稻耐冷遗传多样性。二是利用高通量基因组鉴定技术厘清现有主要育种亲本已知耐冷基因遗传构成,为下一步针对性开展耐冷育种分子设计提供依据。三是通过基因编辑

和基因组选择创制和培育强耐冷材料,同时编辑多个负调控耐冷等位基因,或通过基因组选择聚合不同耐冷有利等位基因或遗传重叠区段,实现苗期和生殖生长期耐冷性的有效聚合,创制耐冷优异新种质。

未来是育种的智能设计时代,育种家有望首先借助多组学手段,采集包括中农粳 5205 和龙粳 1934 在内的优异耐冷品系信息,通过遗传群体和资源群体等建立基因组育种数据库^[61];再结合基于人工智能的数学建模和基因组选择等方法^[62],在优良骨干亲本背景条件下,选择适配的供体,制定最优育种方案。对杂交组配所获得的后代分离群体,通过高通量基因型(包括熟期、抗病性、产量和品质等关键位点)鉴定与多种耐冷表型鉴定相结合等手段,加强低世代不良个体的淘汰,辅以异地直播加代和快速育种^[63]等技术手段,快速获得稳定耐冷品系。

通过上述过程的探索和实践,逐步构建适合黑龙江省的早熟粳稻耐冷生物育种技术体系,提升耐冷品种选育效率,加快培育兼具苗期和生殖生长期耐冷性且综合性状优良的黑龙江省早熟粳稻新品种,保障国家粮食安全。

参考文献

- [1] 戴陆园,叶昌荣,余腾琼,徐福荣.水稻耐冷性研究 I. 稻冷害类型及耐冷性鉴定评价方法概述.西南农业学报,2002(1):41-45
Dai L Y, Ye C R, Yu T Q, Xu F R. Study on cold tolerance of rice, *Oryzasativa* L. I. Discription on types of cold injury and classifications of evaluation methods on cold tolerance in rice. Southwest Agricultural Journal, 2002 (1) : 41-45
- [2] 中国天气网内蒙古站.东北冷害.中国天气网.(2013-09-22) [2024-03-03]. <http://www.weather.com.cn/neimenggu/sy/tqyw/09/1973105.shtml>
China Weather Network Inner Mongolia Station. Cold damage in Northeast China. China Weather Network. (2013-09-22) [2024-03-03]. <http://www.weather.com.cn/neimenggu/sy/tqyw/09/1973105.shtml>
- [3] Wang P, Liu H, Wu W, Kong F, Hu T. Future projections of rice exposure to cold stress in China throughout the 21st century. European Journal of Agronomy, 2022, 135: 126473
- [4] 熊振民, 闵绍楷, 王国梁, 程式华, 曹立勇. 早籼品种苗期耐冷性的遗传研究. 中国水稻科学, 1990(2): 75-78
Xiong Z M, Min S K, Wang G L, Cheng S H, Cao L Y. Genetic study on cold tolerance of early indica rice varieties at seedling stage. Chinese Journal of Rice Science, 1990 (2) : 75-78
- [5] Zhao G Z, Liu J X, Yang S J, Yea J D, Liao X H, Su Z X, Shi R, Jiang C, Dai L Y. Effect of cold-water irrigation on grain quality traits in japonica rice varieties from Yunnan province, China. Rice Science, 2009, 16(3): 201-209
- [6] 戴陆园,叶昌荣,熊建华,王怀义.稻耐冷性鉴定评价方法.中国水稻科学,1999(1):62
Dai L Y, Ye C R, Xiong J H, Wang H Y. Method for identification and evaluation of cold tolerance in rice. Chinese Journal of Rice Science, 1999 (1) : 62
- [7] 韩龙植,张三元.水稻耐冷性鉴定评价方法.植物遗传资源学报,2004,5(1):75-80
Han L Z, Zhang S Y. Identification and evaluation of cold tolerance in rice. Journal of Plant Genetic Resources, 2004 ,5 (1) : 75-80
- [8] 刘次桃,王威,毛毕刚,储成才.水稻耐低温逆境研究:分子生理机制及育种展望.遗传,2018,40(3):171-185
Liu C T, Wang W, Mao B G, Chu C C. Study on low temperature tolerance of rice: Molecular physiological mechanism and breeding prospect. Genetics, 2018, 40 (3) : 171-185
- [9] 潘国君.寒地粳稻育种.北京:中国农业出版社,2014:650
Pan G J. Cold japonica rice breeding. Beijing : China Agricultural Publishing House, 2014: 650
- [10] 农业农村部种业管理司.国家种业大数据平台.(2013-09-22) [2024-03-03]. <http://202.127.42.47:6010/SDSite/Home/Index>
Department of Seed Industry Management, Ministry of Agriculture and Rural Affairs. National Seed Industry Big Data Platform. (2013-09-22) [2024-03-03]. <http://202.127.42.47:6010/SDSite/Home/Index>
- [11] 中国水稻研究所.国家水稻数据中心.(2024-03-03) [2024-03-03]. <https://www.ricedata.cn/variety/>
China National Rice Research Institute. National Rice Data Center. (2024-03-03) [2024-03-03]. <https://www.ricedata.cn/variety/>
- [12] 苗得雨.寒地水稻品种不同时期耐冷性比较研究.现代农业科技,2009(5):155-158
Miao D Y. A comparative study on the cold tolerance of rice varieties in different periods. Modern Agricultural Science and Technology, 2009 (5) : 155-158
- [13] 崔迪,杨春刚,汤翠凤,余腾琼,张俊国,曹桂兰,阿新祥,徐福荣,张三元,戴陆园,韩龙植.低温胁迫下粳稻选育品种耐冷性状的鉴定评价.植物遗传资源学报,2012,13(5):739-747
Cui D, Yang C G, Tang C F, Yu T Q, Zhang J G, Cao G L, A X X, Xu F R, Zhang S Y, Dai L Y, Han L Z. Identification and evaluation of cold tolerance traits of japonica rice varieties under low temperature stress. Journal of Plant Genetic Resources, 2012, 13 (5) : 739-747
- [14] 张景龙,孟昭河,郑桂萍,张群.寒地水稻孕穗期耐冷性的鉴定.现代化农业,2010(4):27-29
Zhang J L, Meng Z H, Zheng G P, Zhang Q. Identification of cold tolerance of rice at booting stage in cold region. Modern Agriculture, 2010 (4) : 27-29

- [15] 杨洛森. 水稻孕穗期耐冷性 QTL 的遗传解析. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018
Yang L M. Genetic analysis of QTL for cold tolerance at booting stage in rice. Northeast Agricultural University, 2018
- [16] Tao Z, Kou Y, Liu H, Li X, Xiao J, Wang S. OsWRKY45 alleles play different roles in abscisic acid signalling and salt stress tolerance but similar roles in drought and cold tolerance in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(14): 4863-4874
- [17] Tang J, Tian X, Mei E, He M, Gao J, Yu J, Xu M, Liu J, Song L, Li X, Wang Z, Guan Q, Zhao Z, Wang C, Bu Q. WRKY53 negatively regulates rice cold tolerance at the booting stage by fine-tuning anther gibberellin levels. *The Plant Cell*, 2022, 34(11): 4495-4515
- [18] Zhang M X, Zhao R R, Huang K, Huang S Z, Wang H T, Wei Z Q, Li Z, Bian M D, Jiang W Z, Wu T, Du X L. The OsWRKY63-OsWRKY76-OsDREB1B module regulates chilling tolerance in rice. *The Plant Journal*, 2022, 112(2): 383-398
- [19] Ma Q, Dai X, Xu Y, Guo J, Liu Y, Chen N, Xiao J, Zhang D, Xu Z, Zhang X, Chong K. Enhanced tolerance to chilling stress in OsMYB3R-2 transgenic rice is mediated by alteration in cell cycle and ectopic expression of stress genes. *Plant Physiology*, 2009, 150(1): 244-256
- [20] Vannini C, Locatelli F, Bracale M, Magnani E, Marsoni M, Osnato M, Mattana M, Baldoni E, Coraggio I. Overexpression of the rice *Osmyb4* gene increases chilling and freezing tolerance of *Arabidopsis thaliana* plants. *The Plant Journal*, 2004, 37(1): 115-127
- [21] Su C F, Wang Y C, Hsieh T H, Lu C A, Tseng T H, Yu S M. A novel MYBS3-dependent pathway confers cold tolerance in rice. *Plant Physiology*, 2010, 153(1): 145-158
- [22] Hu H H, You J, Fang Y J, Zhu X Y, Qi Z Y, Xiong L Z. Characterization of transcription factor gene SNAC2 conferring cold and salt tolerance in rice. *Plant Molecular Biology*, 2008, 67(1-2): 169-181
- [23] Huang L, Hong Y, Zhang H, Li D, Song F. Rice NAC transcription factor ONAC095 plays opposite roles in drought and cold stress tolerance. *BMC Plant Biology*, 2016, 16(1): 203
- [24] Zhu J K. Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 2016, 167(2): 313-324
- [25] Saijo Y, Hata S, Kyoizuka J, Shimamoto K, Izui K. Overexpression of a single Ca²⁺-dependent protein kinase confers both cold and salt/drought tolerance on rice plants. *The Plant Journal*, 2001, 23(3): 319-327
- [26] Lu G W, Wu F Q, Wu W X, Wang H J, Zheng X M, Zhang Y H, Chen X L, Zhou K N, Jin M N, Cheng Z J, Li X Y, Jiang L, Wang H Y, Wan J M. Rice LTG1 is involved in adaptive growth and fitness under low ambient temperature. *The Plant Journal*, 2014, 78(3): 468-480
- [27] Xia C, Liang G, Chong K, Xu Y. The COG1-OsSERL2 complex senses cold to trigger signaling network for chilling tolerance in *japonica* rice. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 3104
- [28] Zhang Z, Li J, Pan Y, Li J, Zhou L, Shi H, Zeng Y, Guo H, Yang S, Zheng W, Yu J, Sun X, Li G, Ding Y, Ma L, Shen S, Dai L, Zhang H, Yang S, Guo Y, Li Z. Natural variation in CTB4a enhances rice adaptation to cold habitats. *Nature Communications*, 2017, 8:14788
- [29] Liu J, Liu J, He M, Zhang C, Liu Y, Li X, Wang Z, Jin X, Sui J, Zhou W, Bu Q, Tian X. OsMAPK6 positively regulates rice cold tolerance at seedling stage via phosphorylating and stabilizing OsICE1 and OsIPA1. *Theoretical and Applied Genetics*, 2023, 137(1): 10
- [30] Lou Q, Guo H, Li J, Han S, Khan N U, Gu Y, Zhao W, Zhang Z, Zhang H, Li Z, Li J. Cold-adaptive evolution at the reproductive stage in Geng/*japonica* subspecies reveals the role of OsMAPK3 and OsLEA9. *The Plant Journal*, 2022, 111(4): 1032-1051
- [31] Mei E, Tang J, He M, Liu Z, Tian X, Bu Q. OsMKKK70 negatively regulates cold tolerance at booting stage in rice. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(22): 14472
- [32] Ma Y, Dai X, Xu Y, Luo W, Zheng X, Zeng D, Pan Y, Lin X, Liu H, Zhang D, Xiao J, Guo X, Xu S, Niu Y, Jin J, Zhang H, Xu X, Li L, Wang W, Qian Q, Ge S, Chong K. COLD1 confers chilling tolerance in rice. *Cell*, 2015, 160(6): 1209-1221
- [33] Ji L X, Zhang Z F, Liu S, Zhao L Y, Li Q, Xiao B Z, Suzuki N, Burks D J, Azad R K, Xie G S. The OsTIL1 lipocalin protects cell membranes from reactive oxygen species damage and maintains the 18:3-containing glycerolipid biosynthesis under cold stress in rice. *The Plant Journal*, 2023, 117(1): 72-91
- [34] Zhao J, Wang S, Qin J, Sun C, Liu F. The lipid transfer protein OsLTPL159 is involved in cold tolerance at the early seedling stage in rice. *Plant Biotechnol Journal*, 2019, 18(3): 756-769
- [35] Sato Y, Masuta Y, Saito K, Murayama S, Ozawa K. Enhanced chilling tolerance at the booting stage in rice by transgenic overexpression of the ascorbate peroxidase gene, OsAPXa. *Plant Cell Reports*, 2011, 30(3): 399-406
- [36] Saito K, Hayano-Saito Y, Kuroki M, Sato Y. Map-based cloning of the rice cold tolerance gene *Ctb1*. *Plant Science*, 2010, 179(1-2): 97-102
- [37] 李继龙. 水稻孕穗期耐冷 QTL 的精细定位与克隆. 北京: 中国农业大学, 2018
Li J L. Fine mapping and cloning of cold tolerance QTL at booting stage in rice. Beijing: China Agricultural University, 2018
- [38] Li J L, Zeng Y W, Pan Y H, Zhou L, Zhang Z Y, Guo H F, Lou Q J, Shui G H, Huang H G, Tian H, Guo Y M, Yuan P R, Yang H, Pan G J, Wang R Y, Zhang H L, Yang S H, Guo

- Y, Ge S, Li J J, Li Z C. Stepwise selection of natural variations at CTB2 and CTB4a improves cold adaptation during domestication of japonica rice. *New Phytologist*, 2021, 231(3): 1056-1072
- [39] Mao D H, Xin Y Y, Tan Y J, Hu X J, Bai J J, Liu Z Y, Yu Y L, Li L Y, Peng C, Fan T, Zhu Y X, Guo Y L, Wang S H, Lu D P, Xing Y Z, Yuan L P, Chen C Y. Natural variation in the *HANI* gene confers chilling tolerance in rice and allowed adaptation to a temperate climate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019, 116(9): 3494-3501
- [40] Yang L, Lei L, Wang J, Zheng H, Xin W, Liu H, Zou D. qCTB7 positively regulates cold tolerance at booting stage in rice. *Theoretical and Applied Genetics*, 2023, 136(6): 135
- [41] Xu Y, Wang R, Wang Y, Zhang L, Yao S. A point mutation in LTT1 enhances cold tolerance at the booting stage in rice. *Plant, Cell & Environment*, 2020, 43(4): 992-1007
- [42] Gu S, Zhang Z, Li J, Sun J, Cui Z, Li F, Zhuang J, Chen W, Su C, Wu L, Wang X, Guo Z, Xu H, Zhao M, Ma D, Chen W. Natural variation in OsSEC13 HOMOLOG 1 modulates redox homeostasis to confer cold tolerance in rice. *Plant Physiology*, 2023, 193(3): 2180-2196
- [43] Shen Y, Cai X, Wang Y, Li W, Li D, Wu H, Dong W, Jia B, Sun M, Sun X. MIR1868 negatively regulates rice cold tolerance at both the seedling and booting stages. *The Crop Journal*, 2024, 12(2): 375-383
- [44] Kim C Y, Vo K T X, Nguyen C D, Jeong D H, Lee S K, Kumar M, Kim S R, Park S H, Kim J K, Jeon J S. Functional analysis of a cold-responsive rice WRKY gene, *OsWRKY71*. *Plant Biotechnology Reports*, 2016, 10(1): 13-23
- [45] Liu H, Yang L, Xu S, Lyu M-J, Wang J, Wang H, Zheng H, Xin W, Liu J, Zou D. OsWRKY115 on qCT7 links to cold tolerance in rice. *Theoretical and Applied Genetics*, 2022, 135(7): 2353-2367
- [46] Yokotani N, Sato Y, Tanabe S, Chujo T, Shimizu T, Okada K, Yamane H, Shimono M, Sugano S, Takatsuji H, Kaku H, Minami E, Nishizawa Y. WRKY76 is a rice transcriptional repressor playing opposite roles in blast disease resistance and cold stress tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(16): 5085-5097
- [47] Chen L, Zhao Y, Xu S, Zhang Z, Xu Y, Zhang J, Chong K. OsMADS57 together with OsTB1 coordinates transcription of its target OsWRKY94 and D14 to switch its organogenesis to defense for cold adaptation in rice. *New Phytologist*, 2018, 218(1): 219-231
- [48] Liu C, Ou S, Mao B, Tang J, Wang W, Wang H, Cao S, Schläppi M R, Zhao B, Xiao G, Wang X, Chu C. Early selection of bZIP73 facilitated adaptation of japonica rice to cold climates. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 3302
- [49] Liu C, Schläppi M R, Mao B, Wang W, Wang A, Chu C. The bZIP73 transcription factor controls rice cold tolerance at the reproductive stage. *Plant Biotechnol Journal*, 2019, 17(9): 1834-1849
- [50] Xu M L, Xiao N, Huang W N, Zhang X X, Gao Y, Li A H, Dai Y, Yu L, Liu G Q, Pan C H, Li Y H, Dai Z Y, Chen J M. Fine mapping of qRC10-2, a quantitative trait locus for cold tolerance of rice roots at seedling and mature stages. *PLoS ONE*, 2014, 9(5): e96046
- [51] Xiao N, Gao Y, Qian H, Gao Q, Wu Y, Zhang D, Zhang X, Yu L, Li Y, Pan C, Liu G, Zhou C, Jiang M, Huang N, Dai Z, Liang C, Chen Z, Chen J, Li A. Identification of genes related to cold tolerance and a functional allele that confers cold tolerance. *Plant Physiology*, 2018, 177(3): 1108-1123
- [52] 张立娜. 水稻不同生长发育时期耐冷性QTL定位及候选基因发掘. 北京: 中国农业科学院, 2022
- Zhang L N. QTL mapping and candidate gene discovery of cold tolerance at different growth and development stages of rice. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2022
- [53] Liu D, Luo S, Li Z, Liang G, Guo Y, Xu Y, Chong K. COG3 confers the chilling tolerance to mediate OsFtsH2-D1 module in rice. *New Phytologist*, 2024, 241(5): 2143-2157
- [54] 郑天清. 水稻高代回交导入系选择群体的选择响应与遗传重叠研究. 南京: 南京农业大学, 2006
- Zheng T Q. Study on selection response and genetic overlap of selected populations of advanced backcross introgression lines in rice. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2006
- [55] 殷琪荔. 气候变化对黑龙江省粮食全要素生产率的影响研究. 哈尔滨: 东北农业大学, 2023
- Yin Q L. Research on the impact of climate change on grain total factor productivity in Heilongjiang province. Harbin: Northeast Agricultural University, 2023
- [56] Wang W S, Mauleon R, Hu Z Q, Chebotarov D, Tai S S, Wu Z C, Li M, Zheng T Q, Fuentes R R, Zhang F, Mansueto L, Copetti D, Sanciangco M, Palis K C, Xu J L, Sun C, Fu B Y, Zhang H L, Gao Y M, Zhao X Q, Shen F, Cui X, Yu H, Li Z, Chen M L, Detras J, Zhou Y L, Zhang X Y, Zhao Y, Kudrna D, Wang C C, Li R, Jia B, Lu J Y, He X C, Dong Z T, Xu J B, Li Y H, Wang M, Shi J X, Li J, Zhang D B, Lee S, Hu W S, Poliakov A, Dubchak I, Ulat V J, Borja F N, Mendoza J R, Ali J, Li J, Gao Q, Niu Y C, Yue Z, Naredo M E B, Talag J, Wang X Q, Li J J, Fang X D, Yin Y, Glaszmann J-C, Zhang J W, Li J Y, Hamilton R S, Wing R A, Ruan J, Zhang G Y, Wei C C, Alexandrov N, McNally K L, Li Z K, Leung H. Genomic variation in 3,010 diverse accessions of Asian cultivated rice. *Nature*, 2018, 557(7703): 43-49
- [57] 林敏. 农业生物育种技术的发展历程及产业化对策. *生物技术进展*, 2021, 11(4): 405-417
- Lin M. Development course and industrialization countermeasures of agricultural bio-breeding technology. *Advances in Biotechnology*, 2021, 11(4): 405-417
- [58] Ali A J, Xu J L, Ismail A M, Fu B Y, Vijaykumar C H M, Gao Y M, Domingo J, Maghirang R, Yu S B, Gregorio G, Yanagihara S, Cohen M, Carmen B, Mackill D, Li Z K. Hidden diversity for abiotic and biotic stress tolerances in the

- primary gene pool of rice revealed by a large backcross breeding program. *Field Crops Research*, 2006, 97(1): 66-76
- [59] He Y X, Zheng T Q, Hao X B, Wang L F, Gao Y M, Hua Z T, Zhai H Q, Xu J L, Xu Z J, Zhu L H, Li Z K. Yield performances of japonica introgression lines selected for drought tolerance in a BC breeding programme. *Plant Breeding*, 2010, 129(2): 167-175
- [60] Wang C C, Yu H, Huang J, Wang W S, Faruquee M, Zhang F, Zhao X Q, Fu B Y, Chen K, Zhang H L, Tai S S, Wei C C, McNally K L, Alexandrov N, Gao X Y, Li J Y, Li Z K, Xu J L, Zheng T Q. Towards a deeper haplotype mining of complex traits in rice with RFGB v2.0. *Plant Biotechnol Journal*, 2020, 18(1): 14-16
- [61] Wang K, Abid M A, Rasheed A, Crossa J, Hearne S, Li H. DNNGP, a deep neural network-based method for genomic prediction using multi-omics data in plants. *Molecular Plant*, 2023, 16(1): 279-293
- [62] Watson A, Ghosh S, Williams M J, Cuddy W S, Simmonds J, Rey M-D, Asyraf Md Hatta M, Hinchliffe A, Steed A, Reynolds D, Adamski N M, Breakspear A, Korolev A, Rayner T, Dixon L E, Riaz A, Martin W, Ryan M, Edwards D, Batley J, Raman H, Carter J, Rogers C, Domoney C, Moore G, Harwood W, Nicholson P, Dieters M J, DeLacy I H, Zhou J, Uauy C, Boden S A, Park R F, Wulff B B H, Hickey L T. Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. *Nature Plants*, 2018, 4(1): 23-29