

· 专题论坛 ·

基因可变剪接调控植物响应非生物胁迫研究进展

熊良林^{1,2}, 梁国鲁^{1,2}, 郭启高^{1,2}, 景丹龙^{1,2*}

¹西南大学园艺园林学院, 长江上游农业生物安全与绿色生产教育部重点实验室, 重庆 400715; ²西南大学含弘学院, 重庆 400715

摘要 外界环境对植物生长发育产生至关重要的影响, 近年来频繁出现的极端气候严重威胁植物生长发育。明确植物抗逆调控机制对于保障植物生存和发育(特别是经济作物的产量)具有重要意义。基因可变剪接是一种重要的转录后调控机制, 对于植物基因功能的多样性与抗逆性均具有重要作用。目前已在不同植物中鉴定出多种抗逆相关基因可变剪接体, 并阐明部分基因可变剪接介导的植物抗逆调控机制, 有效奠定了植物抗逆研究的相关理论基础。因此, 挖掘和鉴定更多抗逆基因在非生物胁迫下的可变剪接调控机制对于植物抗逆研究具有重要意义。该文综述了植物基因可变剪接类型以及剪接机制, 重点阐述了非生物胁迫下相关基因可变剪接介导的植物抗逆研究进展, 展望了未来的研究方向。

关键词 植物, 基因可变剪接, 调控机制, 非生物胁迫, 胁迫耐受性

熊良林, 梁国鲁, 郭启高, 景丹龙 (2025). 基因可变剪接调控植物响应非生物胁迫研究进展. 植物学报 60, 435–448.

植物生长发育过程经常遭受各种非生物胁迫(如高温、低温、干旱和盐胁迫), 近年来频繁出现的极端气候加剧了这些非生物胁迫对植物生长发育的不利影响。植物在长期演化过程中进化出一系列分子调控机制以响应各种非生物胁迫(Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2006; Fedoroff et al., 2010)。基因可变剪接是植物响应逆境胁迫的重要调控机制之一。其中, 组成型剪接(constitutive splicing, CS)是指前体mRNA的非编码内含子区被去除, 外显子通过酯化反应连接, 获得基因初级转录本的过程; 当前体mRNA发生差异性剪接时, 会产生可变剪接(alternative splicing, AS), 因此可变剪接是前体mRNA外显子以不同剪接方式产生不同结构和功能的mRNA和蛋白质变体的过程(Lorković et al., 2000; Blencowe, 2006; Matera and Wang, 2014)。前体mRNA可变剪接是一种用途广泛的调节机制, 它可以影响基因表达精准调控机制, 实现蛋白质功能多样化, 进而调节植物的生长发育过程; 特别是可变剪接从单个多外显子基因产生多种mRNA亚型, 增强了蛋白质组多样性, 并在植物响应各种胁迫中发挥重要作用(Staiger and Brown,

2013)。

基因可变剪接事件通过调节响应非生物胁迫基因剪接变体活性和非活性亚型之间的比率, 调控胁迫关键调节因子的表达, 进而影响植物的非生物胁迫响应(Laloum et al., 2018)。大量研究表明, 非生物胁迫显著改变植物基因的可变剪接事件。例如, 在高温胁迫下葡萄(*Vitis vinifera*)叶片出现1 075个差异性剪接事件(Jiang et al., 2017)。冷胁迫诱导水稻(*Oryza sativa*)中出现大量的可变剪接事件, 且内含子保留是其中最主要的剪接类型(Zhong et al., 2024)。盐胁迫改变了拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中6 188个基因的可变剪接模式(Feng et al., 2015)。同时, 小麦(*Triticum aestivum*)在高温和干旱组合胁迫下产生963个可变剪接事件, 而在单独高温或单独干旱胁迫下几乎没有变化, 表明部分基因可变剪接事件可能受到多种非生物胁迫共同调控(Liu et al., 2018)。研究表明, 拟南芥在主要的非生物胁迫(热、冷、干旱和盐胁迫以及ABA处理)下, 其不同组织中基因可变剪接事件存在显著差异(Martín et al., 2021)。因此, 环境胁迫诱导和组织器官依赖的可变剪接事件是植物适应逆境

收稿日期: 2024-12-05; 接受日期: 2025-02-22

基金项目: 国家自然科学基金(No.32470386, No.32102321)、重庆市科技局项目(No.CSTB2022NSCQ-MSX1541, No.cstc2021jscx-gksbX0010)和中央高校基本科研业务费-能力提升项目(No.SWU-KT22055)

* 通讯作者。E-mail: jingdanlong@swu.edu.cn

的重要手段。本文综述了植物可变剪接的类型和机制,重点阐述了可变剪接参与调控植物响应非生物胁迫的研究进展,展望了该领域未来的研究方向。

1 可变剪接的机制与调节因子

1.1 可变剪接的机制

基因可变剪接是一种重要的转录后调控机制,在转录后水平上对基因进行不同方式剪接,扩大基因表达多样性,产生具有不同功能的蛋白质异构体,增加蛋白质组复杂性,为生物体提供了更多功能选择(Graveley, 2001; Laloum et al., 2018)。基因可变剪接的主要类型有内含子保留、外显子跳跃、可变5'端供体位点以及可变3'端受体位点(Laloum et al., 2018) (图1)。例如,拟南芥中最常见的可变剪接事件是内含子保留(Ner-Gaon et al., 2004)。然而,有些剪接异构体由于含有提前终止密码子(premature termination codon, PTC),可通过无义介导的mRNA衰变(nonsense-mediated mRNA decay, NMD)途径降解,从而调控转录本比率,进而调节基因表达,最终增强植物对非生物胁迫的响应(Lim et al., 2020)。同时,当mRNA转录本中存在上游开放阅读框(upstream open reading frame, uORF)时,核糖体会优先结合并翻译uORF,影响后续正常编码区翻译起始或导致核糖体提前解离,最终导致mRNA剪接异构体翻译被抑制或者不翻译(Calvo et al., 2009)。可变剪接由剪接体催化,而剪接体由5种小核糖核蛋白(small nuclear ribonucleoprotein, snRNP)组成,包括U1 snRNP、U2 snRNP、U4 snRNP、U5 snRNP和U6 snRNP (Will and Lührmann, 2011)。U1 snRNP中的U1小核RNA (small nuclear RNA, snRNA)通过碱基互补配对与5'剪接位点GU序列附近区域结合,从而实现对5'剪接位点的初步识别;U2辅助因子(U2 auxiliary factor, U2AF)通过与3'剪接位点AG序列相互作用进而识别3'端。U2 snRNP参与识别分支点序列,通过与分支点序列及其附近区域进行碱基互补配对,实现对分支点序列的结合(Laloum et al., 2018; Paul et al., 2024)。U1 snRNP结合到5'剪接位点后,招募其它蛋白质因子,形成E复合物(E complex)。随后, U2 snRNP结合到分支点序列,并与已经结合在5'剪接位点的U1 snRNP以及其它相关蛋白质因子相互作用,形成A复合物(A

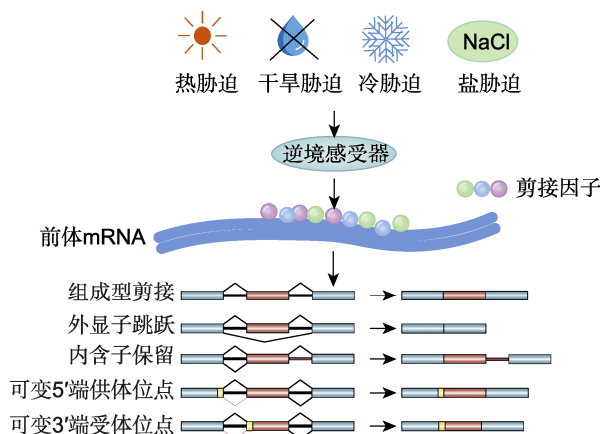


图1 非生物胁迫下可变剪接的主要类型(参考Laloum et al., 2018)

Figure 1 Main types of alternative splicing under abiotic stress (refer to Laloum et al., 2018)

complex)。随后, U4/U6 snRNP和U5 snRNP加入,形成B复合物(B complex)。最后,经过一系列的结构重排, U4 snRNP解离, U6 snRNP与U2 snRNP之间相互作用进一步调整,形成具有催化活性的C复合物(C complex)。C复合物经过2次转酯反应,完成可变剪接的1个基本单元。上述过程反复进行,最终产生多种不同的mRNA剪接异构体(Punzo et al., 2020)。

1.2 可变剪接的调节因子

SR蛋白包含1个或2个N端RNA识别基序型(RNA Recognition Motif, RRM) RNA结合结构域和1个长度可变的C端精氨酸/丝氨酸富集结构域(arginine/serine-rich domain, RS) (Manley and Tacke, 1996)。SR蛋白参与剪接体的组装过程,通过结合到特定的剪接增强子或沉默子序列附近,引导剪接体识别内含子和外显子边界,进而影响剪接方式(Lopato et al., 1996)。SR蛋白为内含子剪接所必需,可以促进U1 snRNP与5'剪接位点的结合(Zahler and Roth, 1995)。当SR蛋白结合在外显子上时,通常促进外显子和剪接因子的结合,起到剪接激活的作用;而当其结合在内含子上时,可能会抑制剪接。然而,对于hnRNP (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein)蛋白,也有类似的位置依赖性剪接调控模式,只是根据具体情况剪接模式有所不同(Erkelenz et al., 2013)。富含丝氨酸/精氨酸的剪接因子1 (serine/arginine-rich splicing factor 1, SRSF1)通过使用与RNA结合位点相反的表面

将U1-70K (U1 snRNP 70K)的RRM桥接到前体mRNA,参与介导早期的剪接体组装事件(Cho et al., 2011)。

2 非生物胁迫下基因可变剪接的功能

2.1 基因可变剪接调控植物热胁迫响应

热胁迫是一种典型的非生物胁迫,引起光合作用和呼吸作用变化,导致植物生命周期缩短和生产能力降低(Barnabás et al., 2008)。因此,研究基因可变剪接如何调节植物响应热胁迫具有重要的生物学意义。植物在面对高温等环境胁迫时,会通过一系列生理过程来应对高温胁迫,如SR蛋白介导的前体mRNA调控(图2),进而启动热休克反应(heat shock response, HSR),包括激活热休克转录因子(heat shock factor, HSF)和产生热休克蛋白(heat shock protein, HSP)。在热胁迫下,植物中的HSF调控HSP表达,使得植物合成足够的HSPs,以应对热应激带来的挑战,增强耐热性(Rosenkranz et al., 2024)。在拟南芥中,*HsfA2*在热应激下会发生可变剪接,产生包含提前终止密码子的剪接变体(如*HsfA2-II*) (Palusa and Reddy, 2015)。研究发现,在多种非生物胁迫(包括热胁迫)下*HsfA2*表达的诱导在A类HSF中最高,这表明*HsfA2*是非生物胁迫下诱导防御系统的关键调节因子(Nishizawa et al., 2006)。在热胁迫下,拟南芥*HsfA2*正向调节一些被*HsfA1*初始诱导后的热诱导基因表达,进而延长拟南芥获得耐热性的持续时间,且*HsfA2*在维持热休克反应中具有主导作用,而其它一些*Hsfs* (如*HsfB1*)在持续获得耐热性的调控中并非必需(Charng et al., 2007)。拟南芥的2个热休克转录因子*HsfB1*和*HsfB2b*作为转录抑制因子负向调节热诱导的HSFs和HSPs(Ikeda et al., 2011)。苜蓿(*Medicago sativa*)中*HSF1*基因可变剪接模式决定了其翻译产物能否结合到下游基因的热激元件(heat shock elements, HSEs)上,进而影响热响应基因的激活(Ling et al., 2021)。拟南芥*HSFA2*受到热胁迫时产生可变剪接调节。例如,拟南芥幼苗暴露于不同强度热胁迫下会导致*HSFA2*前体mRNA上的外显子跳跃或内含子保留,并产生不同比例的*HSFA2* mRNA亚型:*HSFA2-I*、*HSFA2-II*和*HSFA2-III*。其中,*HSFA2-III*被认为参与*HSFA2*表达的自动调节,从而响应热胁迫。热激蛋白是植物应对

热应激的重要保护分子,对于提高植物耐热性具有重要作用。在热应激下,可变剪接调控热激蛋白基因表达,促进热激蛋白合成,进而增强植物的耐热性(Ling et al., 2017)。在严重热激下,*HsfA2*产生新的剪接变体*HsfA2-III*,*HsfA2-III*编码S-*HsfA2*,形成一个正向的自调控环,S-*HsfA2*可激活*HsfA2*基因的表达,使内源完全剪接的*HsfA2*积累水平大幅提高(Liu et al., 2013)。研究表明,在热胁迫条件下,大量被子植物*HSF*基因家族成员(如番茄(*Solanum lycopersicum*) *SlHSFA2*、玉米(*Zea mays*) *ZmHSFA2B*以及百合(*Lilium* spp.) *LsHSFA3*)的可变剪接事件显著提高了植株的抗逆性,推测植物*HSF*基因家族成员可变剪接属于一种保守的热胁迫应答机制(Wu et al., 2019; Rosenkranz et al., 2024; Song et al., 2025)。

SIZ1是最早在拟南芥中发现的一种SUMO E3连接酶,参与调控剪接因子的SUMO化修饰,进而调控植物响应热胁迫(Miura et al., 2005; Yunus and Lima, 2009)。随后的研究表明,SIZ1在拟南芥不同组织中广泛表达,在高温胁迫下其表达水平升高。同时,热胁迫下SIZ1通过SUMO化修饰调节转录因子的活性,促进一些编码热休克蛋白的基因(如*HSP70*和*HSP90*)表达,从而调节植物响应高温胁迫(Ishida et al., 2012)。在热胁迫下,真菌SUMO化修饰某些剪接因子,促进这些剪接因子在特定剪接位点富集,从而改变前体mRNA的剪接模式,这种改变可能有助于产生特定的mRNA异构体,进而响应热胁迫(Jian et al., 2023)。研究发现,拟南芥SIZ1剪接变体SSV2和SSV5在热应激下大量积累,二者通过编码同种蛋白质,在热应激条件下作为质膜中的SUMO E3连接酶发挥作用;SSV2介导热应激下细胞质膜蛋白或膜连接蛋白的类泛素化修饰,从而调节它们的稳定性或功能。此外,在拟南芥*siz1-2*突变体中表达SSV2基因可提高植株的耐热应激能力。这些结果表明,SIZ1剪接产物SSV2在调节拟南芥响应高温胁迫方面具有重要作用(Kwak et al., 2024)。

在拟南芥中,*IRE1*可以表达为2种异构体IRE1a和IRE1b。在热胁迫下,*IRE1*剪接变体*IRE1b*通过调节转录因子bZIP60前体mRNA剪接参与上调结合蛋白3(BIP3)的表达,进而减轻应激损伤。而IRE1a在感知到热胁迫后表达量立即下降,之后逐渐恢复,这表明热胁迫诱导的IRE1a下调会导致IRE1a信号通路终

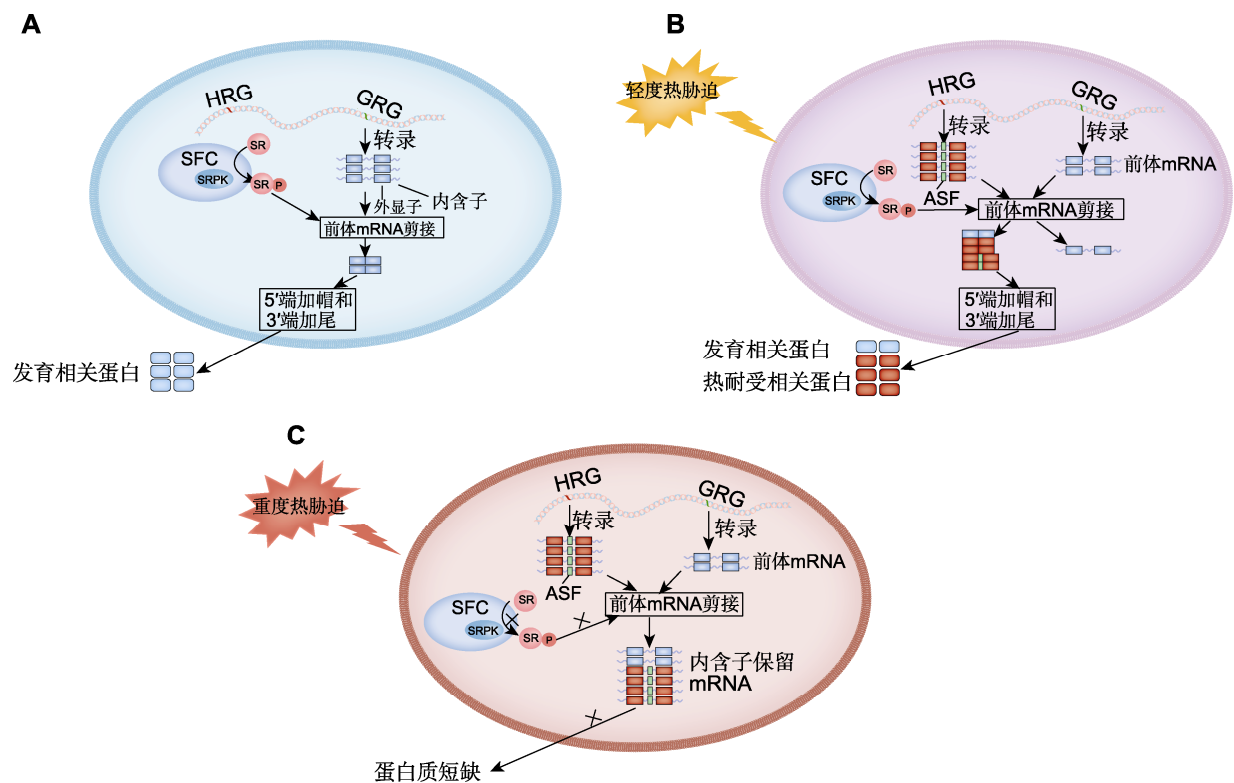


图2 正常条件和不同程度热胁迫下, 富含丝氨酸/精氨酸(SR)蛋白质介导的前体mRNA调控机制(参考Ling et al., 2021)

(A) 植物正常发育情况下进行的组成型剪接模式图(在正常条件下, 热响应基因(heat-responsive genes, HRG)未被激活或几乎不表达, 生长相关基因(genes responding for growth, GRG)正常表达。SR蛋白发生磷酸化(例如, 由剪接因子复合物(splicing factor complex, SFC)中的SR蛋白激酶(SR protein kinase, SRPK)进行磷酸化), 从而参与组成型剪接, 产生大量发育相关蛋白); (B) 植物在轻度热胁迫下可变剪接模式图(在轻度热胁迫(例如, 32°C持续6小时)下, 包括热诱导SR基因在内的HRGs在转录水平被激活, 磷酸化的SR蛋白参与HRGs的组成型剪接或可变剪接, 同时GRGs在转录水平上被抑制。部分来自GRGs的转录本片段也由磷酸化SR蛋白剪接, 产生不同功能的剪接变体。植物细胞通过该机制产生大量的热耐受蛋白进而响应热胁迫); (C) 植物在重度热胁迫下的可变剪接模式图(在重度热胁迫(例如, 45°C持续90分钟)下, 包括热诱导SR基因在内的HRGs在转录水平被激活。然而, 在重度热胁迫下SR蛋白去磷酸化(例如, 由SRPK缺乏引起), 导致功能性剪接因子短缺, 从而使HRGs和GRGs内含子保留的转录本在细胞核中积累, 最终导致功能性转录本数量显著减少。因此, 植物细胞中的热耐受蛋白和发育相关蛋白短缺)。ASF: 可变剪接片段; ×: 该过程被抑制。

Figure 2 The mechanism of precursor mRNA regulation mediated by serine/arginine-rich (SR) proteins under normal conditions and different degrees of heat stress (refer to Ling et al., 2021)

(A) Schematic diagram of constitutive splicing in plants under normal development (under normal conditions, heat-responsive genes (HRG) are not activated or are barely expressed, while growth-related genes (GRGs) are actively transcribed. SR proteins are efficiently phosphorylated (e.g., phosphorylated by SR protein kinase (SRPK) in the splicing factor complex (SFC)), thus participating in constitutive splicing and generating many development-related proteins); (B) Schematic diagram of alternative splicing in plants under mild heat stress (under mild heat stress (e.g., 32°C for 6 hours), HRGs including heat-inducible SR genes are transcriptionally activated. Phosphorylated SR proteins participate in constitutive or alternative splicing of HRGs. GRGs are suppressed at the transcriptional level, but their pre-mRNAs may still be alternative spliced by phosphorylated SR proteins to produce functionally distinct isoforms. Through this mechanism, plant cells produce a large number of heat-tolerant proteins to cope with heat stress); (C) Schematic diagram of alternative splicing in plants under severe heat stress (under severe heat stress (e.g., 45°C for 90 minutes), HRGs including heat-inducible SR genes are activated at the transcriptional level. However, under severe heat stress, the dephosphorylation of SR proteins (e.g., caused by the deficiency of SRPK) leads to a deficiency of active splicing factors, resulting in the accumulation of intron-retained transcripts of HRGs and GRGs in the nucleus, and leads to an extremely low number of functional transcripts. Therefore, there is a shortage of heat-tolerant proteins and development-related proteins in plant cells). ASF: Alternative spliced fragment; ×: The process is inhibited.

止, 以避免过度反应。IRE1b介导的可变剪接调控以热胁迫特定的方式进行, 在盐、缺氧和营养胁迫等其它胁迫下不会被激活。在水稻中, OsIRE1也调节热胁迫响应基因*OsZIP74*的前体mRNA剪接。综上表明, IRE1介导的bZIP转录因子编码基因可变剪接调控植物响应热胁迫是一种相对保守的机制(Ling et al., 2021)。在小麦中, 热休克转录因子TaHSFA6e在热应激下可变剪接产生2个主要的功能转录本: *TaHSFA6e-II*和*TaHSFA6e-III*, 二者编码的蛋白增强了3个下游热休克蛋白70 (TaHSP70)基因的转录活性。此外, 小麦通过可变剪接产生TaHSFA2-III, 导致C端含14个氨基酸残基的肽增多, 可增强*TaHSFA6e-III*的转录活性(Wen et al., 2023)。

2.2 基因可变剪接调控植物冷胁迫响应

冷胁迫作为一种重要的非生物胁迫因子, 严重影响植物的生长发育(Miura and Furumoto, 2013)。在低温胁迫下, 植物体内大量差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)存在差异性剪接(Butt et al., 2022)。低温诱导的植物可变剪接变化迅速。例如, 在拟南芥中, 部分基因在冷胁迫40–60分钟内即发生显著的可变剪接变化, 导致拟南芥对温度的敏感性小幅降低, 这有助于拟南芥感知温度变化, 从而响应冷胁迫(Calixto et al., 2018)。基因可变剪接在冷响应中起主要作用, 影响拟南芥多个冷响应转录因子和RNA结合蛋白质。部分DAS (differentially alternatively spliced)基因早期的响应机制研究表明, 可变剪接启动下游级联效应, 对初始冷响应和持续耐寒性起重要作用(Gallegos, 2018)。在低温下, 茶树(*Camellia sinensis*)中*CsWRKY21*通过可变剪接产生不同剪接变体, 其中*CsWRKY21-b*在低温下表达上调且蛋白质含量增加, 它通过抑制ABA分解相关基因的表达调节ABA含量, 从而增强茶树的耐寒性(Mi et al., 2024)。

基因可变剪接是植物转录组重编程以响应冷胁迫的主要方式(Calixto et al., 2018)。可变剪接调控植物响应冷胁迫的研究最早在小麦中开展。研究发现, 在冷胁迫下小麦中*DREB2*同源基因发生可变剪接, 产生不同的剪接变体, 而这些剪接变体可能影响植物对冷胁迫的响应(Egawa et al., 2006)。可变剪接可能会影响靶基因的表达, 从而促进冷驯化过程(Calixto et al., 2019)。剪接因子丰度和活性变化决定了下游基

因的可变剪接模式: 在冷胁迫下, 拟南芥通过调节*SR*和*hnRNP*基因的可变剪接, 使剪接因子丰度和活性发生动态变化, 影响靶基因的表达, 进而响应冷胁迫(Syed et al., 2012)。研究表明, 一些转录因子基因可变剪接会产生小干扰肽(small interfering peptide, siPEP), 这些小干扰肽通过肽干扰(peptide interference, PEPI)负向调节靶转录因子, 构成植物冷胁迫响应的调节回路。同时, 多种转录因子通过可变剪接产生的部分剪接异构体具有更强的DNA结合能力, 能够更有效地调控下游基因的表达, 而另一些异构体通过特异的蛋白质互作方式, 影响植物对低温胁迫的响应(Seo et al., 2013)。可变剪接通过差异性调控不同功能剪接体的比例响应冷胁迫。例如, 在冷胁迫下, 木薯(*Manihot esculenta*)中5种主要亚型的可变剪接事件数量均大幅增加, 其中对冷胁迫有特异响应的内含子保留和可变3'端受体位点类型显著增加。而在冷诱导下, *SR*基因mRNA产物通过反作用方式改变下游靶标基因的剪接, 进而导致响应冷胁迫下的整体转录组发生变化(Li et al., 2020)。上述研究表明, 植物通过基因可变剪接响应冷胁迫主要有2种方式: 一种是通过影响下游靶基因的表达响应冷胁迫; 另一种是通过剪接异构体与DNA结合或与蛋白质相互作用响应冷胁迫。

在冷胁迫下, 基因可变剪接受到调控元件的影响, 通过改变冷胁迫响应通路中相关基因的表达促进植物响应冷胁迫。例如, *TAS1a*是一种长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA), 其可变剪接仅受冷胁迫调控, *TAS1a*是对寒冷反应最快和最大的137个DAS基因之一, *TAS1a*基因的剪接形式在冷胁迫下发生变化, 剪接体减少, 导致成熟siRNA (small interfering RNA)的水平降低(Calixto et al., 2019)。*RCF1*是一种RNA解旋酶, 其通过维持冷响应相关基因前体mRNA剪接调节这些基因的表达, 进而影响植物的耐寒性, 特别是*RCF1*还与其它调节因子共同作用, 构成复杂的基因表达网络, 以调节植物对冷胁迫的响应(Guan et al., 2013)。SME1是拟南芥中与真核生物Sm环SmE亚基同源的蛋白质, SME1促进U1、U2、U4和U5 snRNA可变剪接积累, 对剪接体的组装和活性具有重要作用。在冷胁迫下, SME1调控冷响应相关基因。同时, 大多数受SME1调控的内含子保留事件导致产生具有NMD特征的mRNA, 表明SME1确

保了冷响应基因中关键功能基因的转录本水平(Huertas et al., 2019)。CBFs通过SmEb依赖性前体mRNA可变剪接负向调节寒冷应激反应,而SmEb通过BES1提供正反馈,进而调节寒冷胁迫下CBF基因表达(Wang et al., 2022)。烟草(*Nicotiana tabacum*) *CINUM1*基因产生的3个剪接变体增强了植株对胁迫的抗性并促进植物生长,其中*CINUM1.1*和*CINUM1.2*增强了烟草的耐盐和耐低温能力,*CINUM1.3*增强了耐低温能力(Zhang et al., 2024b)。这表明同一基因不同剪接变体在促进植物抗逆方面有相似之处,但不同剪接变体的功能存在差异。

剪接因子在调控植物响应冷胁迫方面同样起重要作用。*STA1*是一个前体mRNA剪接因子,拟南芥中*STA1*表达受冷胁迫诱导,通过调节前体mRNA剪接响应冷胁迫(Lee et al., 2006)。在冷胁迫下,水稻中OsRH42与U2 snRNA直接相互作用,对前体mRNA剪接至关重要,可确保有足够数量的成熟mRNA响应冷胁迫(Lu et al., 2020)。在水稻*rs33*突变体中,RS33的缺失导致大量胁迫响应基因的前体mRNA剪接异常,表明冷胁迫下RS33通过维持胁迫相关基因前体mRNA正常剪接,促进植株响应冷胁迫(Butt et al., 2022)。水稻OsRS33和OsRS2Z38是冷诱导剪接的关键调节基因,而Os03g0701200和OsCATC是水稻冷胁迫响应的重要候选基因,用于提高水稻的冷胁迫耐受性(Zhong et al., 2024)。研究表明,花生(*Arachis hypogaea*)中存在28个冷诱导AhDREBs和8个具有DAS的SR剪接因子,可能在冷响应中起重要作用(Wang et al., 2024b)。在构树(*Broussonetia papyrifera*)中鉴定出41个富含丝氨酸/精氨酸(SR)的剪接因子基因,其中5个SR基因在冷处理12和24小时后均表现出差异表达,这表明SR基因通过可变剪接调控植物响应冷胁迫(Yu et al., 2023)。LUC7作为U1 snRNP的组成部分,对可变剪接具有重要调节作用,包括影响5'剪接位点识别、外显子定义和3'剪接位点识别等,LUC7还直接参与冷胁迫下的内含子剪接调节。此外,冷胁迫下,随着末端内含子保留的增加,LUC7可能通过调节这些内含子的剪接响应冷胁迫(de Francisco Amorim et al., 2018)。在冷胁迫下,水稻OsRH42蛋白的表达量增加,其通过与U2 snRNA结合在mRNA前体剪接中发挥重要作用。在过表达OsRH42植株中,过量的OsRH42在U2 snRNA结合

到分支点位点后仍继续结合,影响了U2 snRNP、U4 snRNP和U5 snRNP招募到剪接体中,从而破坏了前体mRNA剪接途径,导致水稻对冷胁迫不耐受(Lu et al., 2020)。上述研究表明,SR剪接因子以及LUC7等剪接过程中的核心调节因子在植物冷胁迫响应过程中起关键作用,未来仍需对冷胁迫下剪接过程中的相关调节因子进行深入研究,以阐明基因可变剪接在植物冷胁迫响应中的调控网络。

2.3 基因可变剪接调控植物干旱胁迫响应

干旱是影响植物生长发育、生存和作物生产力最重要的因素之一,对农业可持续发展构成重大威胁(Ings et al., 2013)。植物中发生的大多数基因可变剪接事件为内含子保留,然而当大豆(*Glycine max*)受到干旱胁迫时,外显子跳跃成为数量最多的可变剪接事件;外显子跳跃可以促进蛋白质的结构多样性,可能是大豆适应干旱胁迫的一种有效方式(Kim et al., 2024)。研究表明,从大豆中鉴定出56个响应干旱胁迫的剪接调节因子(splicing regulatory factors, SPF)相关基因在干旱条件下进行了可变剪接,其中3'端受体位点可变剪接和外显子跳跃占多数(Song et al., 2020)。在水稻种子中,大环内酯类抗生素可以通过调控剪接因子相关基因SR33和SR40的表达下调其它基因的可变剪接,抑制种子萌发,进而调控水稻种子的干旱耐受性(宋凝曦等, 2020)。

植物SR基因可变剪接在不同类型植物中响应干旱胁迫的调控机制具有保守性。拟南芥AtSR45a和AtSR30的表达和可变剪接受环境胁迫调控,在应对环境胁迫方面发挥重要作用(Tanabe et al., 2007)。在干旱胁迫下,木薯部分SR基因的剪接模式发生变化,表明SR蛋白可能在木薯响应干旱胁迫中发挥作用(Gu et al., 2020)。在干旱胁迫下,芜菁(*Brassica rapa*) BrSR45a基因过表达会改变干旱响应基因的剪接模式,促进植物响应热胁迫。同时,BrSR45a表达改变还调控U2AF在干旱胁迫响应中的剪接模式(Muthusamy et al., 2020)。毛白杨(*Populus tomentosa*) PtoRSZ21是一种丝氨酸/精氨酸富集的剪接因子,参与调控基因的可变剪接过程,通过与核心剪接因子PtoU1-70K结合,确保剪接过程的准确性和高效性。干旱胁迫下,毛白杨PtoRSZ21作为正向调节因子,通过调控PtoATG2b的剪接影响植物水分利用效率和

抗逆能力(Huang et al., 2024)。在干旱胁迫下, 拟南芥中过表达木薯RSZ家族成员*MeRSZ21b*基因, 能促进拟南芥气孔关闭; 此外, *MeRSZ21b*还通过减少超氧化物自由基的积累和维持渗透压在响应干旱胁迫中发挥积极作用(Chen et al., 2022)。上述研究表明, *SR*基因的表达和可变剪接可能是不同植物干旱胁迫响应的保守机制。然而, 不同植物中RSZ家族在干旱胁迫下的调节机制有待进一步阐明。

研究发现, 水稻*OsDREB2*的2种剪接变体(*OsDREB2A*和*OsDREB2B*)在高温和干旱胁迫下差异表达, 以快速响应环境胁迫(Matsukura et al., 2010)。拟南芥可变3'受体位点的可变剪接产生了锌诱导促进因子1 (Zinc-Induced Facilitator-Like 1, ZIFL1)转运蛋白的2种剪接形式, 其中全长型位于根细胞的核质体中并调节生长素转运, 而截短型ZIFL1变体定位于叶片气孔保卫细胞的质膜, 调节气孔开闭, 进而介导植株耐旱性(Remy et al., 2013)。干旱胁迫下, 玉米*ZmCCA1*剪接变体35S:*ZmCCA1.1*和35S:*ZmCCA1.3*转基因植株的相对主根长度和相对发芽率均高于野生型, 且*ZmCCA1.1*在提高转基因拟南芥植株耐旱性方面更有效(Tian et al., 2019)。玉米*ZmPP2C26*基因通过可变剪接产生*ZmPP2C26L*和*ZmPP2C26S*两种异构体, 这2个异构体通过去磷酸化*ZmMAPK3*和*ZmMAPK7*负向调节干旱耐受性(Lu et al., 2022)。综上, 在干旱胁迫下, 玉米不同基因可变剪接的功能研究表明, 同一物种在干旱胁迫下可通过不同基因可变剪接响应干旱胁迫, 但这些基因之间是否存在相互作用, 以及如何互作仍有待阐明。

U1 snRNA是一种长度为60–300 bp的小RNA, 存在于真核生物的细胞核中, U1 snRNA在剪接过程中发挥重要作用, 参与识别5'剪接位点(Liu et al., 2020)。在干旱胁迫下, *AtU1* snRNA过表达通过调控拟南芥干旱相关基因的表达响应干旱胁迫; 同时, 参与干旱胁迫响应和ABA信号通路的差异表达基因以及差异剪接基因显著增加。在干旱胁迫下, *AtU1* snRNA过表达拟南芥植株表现出更强的耐受性, 包括主根变长和鲜重增加, 且过表达*AtU1* snRNA植株中的前体mRNA剪接事件发生显著变化, 其中内含子保留最普遍。在干旱胁迫下, 可变5'剪接位点内G位点的识别受到影响, 导致异常剪接事件发生频率增高。同时, U1 snRNA能够加强对可变5'剪接位点中T位点

的识别, 从而减少异常剪接事件的发生。干旱胁迫下, *AtU1* snRNA影响*AtSPCH*的剪接模式, 导致气孔密度降低, 这有利于拟南芥减少水分蒸发进而响应干旱胁迫(Wang et al., 2024a)。上述研究表明, U1 snRNA在植物中通过多条途径响应干旱胁迫, 如调控干旱胁迫相关基因的表达、减少异常剪接事件发生以及改变前体mRNA剪接模式, 然而是否存在其它方面的调控机制尚待挖掘。

2.4 基因可变剪接调控植物盐胁迫响应

土壤盐碱化是一种重要的非生物胁迫, 由于盐碱化土壤中积累了大量的可溶性盐, 极大地限制了植物生长和生产力, 威胁全世界的作物产量和粮食安全(Zhou et al., 2024)。因此, 研究植物在盐胁迫下可变剪接的调控机制尤为重要。在盐胁迫下, 番茄根部基因可变剪接事件数量显著高于对照组, 其中外显子跳跃在盐处理样本中最为常见, 表明盐胁迫促进番茄根部的可变剪接变化(Gan et al., 2024)。研究发现, 盐胁迫下拟南芥中存在15个与可变剪接相关的剪接因子, 其中10个编码富含丝氨酸/精氨酸(SR)的蛋白质, 并且部分SR基因内含子保留减少, 导致异常转录本减少和功能转录本增加, 从而增强了植株对盐胁迫的耐受性(Ding et al., 2014)。在盐胁迫下的甘草(*Glycyrrhiza uralensis*)中, *MPK4*、*RbohD*、*SnRK2*和*ETR2*等基因通过可变剪接增加不同基因异构体的比例, 进而调节下游基因响应盐胁迫, 增强甘草对盐胁迫的耐受性(Yao et al., 2024)。最新研究发现, 水稻中存在一种新的剪接因子*OsSCR106*, 其可能与*U2AF35*相互作用, 参与调控胁迫相关基因3'剪接位点的选择, 从而调节水稻的耐盐性(Alhabsi et al., 2024)。上述研究表明, 在盐胁迫下, 不同植物主要通过基因可变剪接的方式提高对盐胁迫的耐受性(表1)。

拟南芥SR45.1亚型通过调节SOS基因的表达, 在调控离子稳态和赋予耐盐性方面起重要作用(Albaqami et al., 2019)。镉胁迫下, 拟南芥剪接因子*SR34b*通过调控下游靶基因*IRT1*的剪接和稳定性, 增强IRT1蛋白的组成型积累, IRT1蛋白通过参与镉吸收过程增强镉耐受性(Zhang et al., 2014)。拟南芥*SAD1*基因过表达显著提高了转基因植株中盐胁迫响应相关基因的剪接效率, 进而提高转基因植株的耐盐性(Cui et al., 2014)。SKIP是植物剪接体的关键组分

之一，通过直接与剪接体的另一个组分*SR45*相互作用，维持剪接体功能，并调节基因可变剪接(Wang et al., 2012); 在盐胁迫下，拟南芥*SKIP*通过调控剪接体靶向基因中可变5'端供体位点和可变3'端受体位点的识别或切割诱导全基因组可变剪接，提高植株对盐胁迫的耐受性(Feng et al., 2015)。拟南芥*AtU1A*是剪接体的组成部分，负责识别前体mRNA的5'剪接位点，同时*AtU1A*通过调节活性氧清除相关基因的剪接，维持活性氧的平衡，从而提高植株的盐胁迫耐受性(Gu

et al., 2018)。*SiCYP19*的2个可变剪接变体(*SiCYP19-a*和*SiCYP19-b*)均可增强谷子(*Setaria italica*)的耐盐性，其中*SiCYP19-b*定位于线粒体，通过提高脯氨酸含量和促进活性氧清除方式增强谷子的耐盐性(Zhang et al., 2024c)。研究发现，拟南芥Sm核心蛋白SmEb通过调控*RCD1*可变剪接减少盐诱导的细胞死亡，从而增强植株的耐盐性(Hong et al., 2023)。胡杨(*Populus euphratica*) *PeuHKT1;3*通过可变剪接产生*PeuHKT1;3a*变体，进一步通过改变离子选择性提

表1 不同植物响应非生物胁迫过程中涉及可变剪接的相关基因

Table 1 Alternative splicing-related genes involved in regulating plant responses to abiotic stress in different species

物种	基因	功能	胁迫类型	参考文献
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>AtHsfA2</i>	维持热休克蛋白相关基因的表达水平	热胁迫	Charng et al., 2007
	<i>AtSIZ1</i>	促进热休克蛋白相关基因表达	热胁迫	Ishida et al., 2012
	<i>AtIRE1</i>	通过调节转录因子bZIP60前体mRNA剪接上调BIP3蛋白的表达	热胁迫	Ling et al., 2021
	<i>AtZIFL1</i>	产生剪接变体，靶向叶片气孔保卫细胞的质膜并介导耐旱性	干旱胁迫	Remy et al., 2013
	<i>AtSPCH</i>	降低气孔密度，减少水分蒸发	干旱胁迫	Wang et al., 2024a
	<i>AtSR</i>	使剪接因子丰度和活性发生动态变化，影响靶基因表达	冷胁迫	Syed et al., 2012
	<i>AtLUC7</i>	参与冷胁迫条件下内含子的剪接调节	冷胁迫	de Francisco Amorim et al., 2018
	<i>AtSR45</i>	<i>SR45.1</i> 亚型通过调节 <i>SOS</i> 基因表达以控制离子稳态和赋予耐盐性	盐胁迫	Albaqami et al., 2019
	<i>AtSR34b</i>	通过 <i>IRT1</i> 的剪接和稳定性促进IRT1蛋白积累	盐胁迫	Zhang et al., 2014
	<i>AtSAD1</i>	提高盐胁迫响应基因的剪接效率	盐胁迫	Cui et al., 2014
	<i>AtSKIP</i>	参与剪接位点的识别或切割	盐胁迫	Feng et al., 2015
	<i>AtRCD1</i>	<i>RCD1</i> 的剪接变体可减少盐诱导的细胞死亡	盐胁迫	Hong et al., 2023
水稻(<i>Oryza sativa</i>)	<i>OsIRE1</i>	调节热胁迫响应基因 <i>OsZIP74</i> 的前体mRNA剪接	热胁迫	Ling et al., 2021
小麦(<i>Triticum aestivum</i>)	<i>TaHSFA6e</i>	<i>TaHSFA6e</i> 的剪接变体可增强下游热休克蛋白基因的转录活性	热胁迫	Wen et al., 2023
毛白杨(<i>Populus tomentosa</i>)	<i>PtoRSZ21</i>	通过调节 <i>PtoATG2b</i> 的剪接影响植物的水分利用效率和抗逆能力	干旱胁迫	Huang et al., 2024
玉米(<i>Zea mays</i>)	<i>ZmPP2C26</i>	<i>ZmPP2C26</i> 的2个剪接变体负向调节干旱耐受性	干旱胁迫	Lu et al., 2022
茶树(<i>Camellia sinensis</i>)	<i>CsWRKY21</i>	<i>CsWRKY21</i> 的剪接变体抑制ABA分解相关基因的表达	冷胁迫	Mi et al., 2024
谷子(<i>Setaria italica</i>)	<i>SiCYP19</i>	剪接变体可以提高脯氨酸含量和促进活性氧清除	盐胁迫	Zhang et al., 2024c
胡杨(<i>Populus euphratica</i>)	<i>PeuHKT1;3</i>	产生 <i>PeuHKT1;3a</i> 变体，改变离子选择性	盐胁迫	Lv et al., 2024
大豆(<i>Glycine max</i>)	<i>GmPeNtL9</i>	剪接变体激活抗氧化清除系统	盐胁迫	Liu et al., 2024
	<i>GmSnRK1.1</i>	调节转录因子的活性和稳定性	盐胁迫	Liu et al., 2023

高对K⁺的亲合力, 增强植株在盐胁迫下的适应能力(Lv et al., 2024)。GmNTL9和GmRSZ22剪接变体通过激活抗氧化清除系统提高大豆对碳酸氢盐胁迫的耐受性; GmRSZ22两种剪接变体均可与GmU1-70K相互作用, 可能调控盐胁迫响应基因的可变剪接过程(Liu et al., 2024)。在盐胁迫下, GsSnRK1.1通过调节转录因子活性和稳定调控下游靶基因表达, 并调控离子平衡和渗透调节等生理过程, 进而提高植株的耐盐性(Liu et al., 2023)。最新研究发现, 盐胁迫激活了拟南芥SnRK1激酶, 使其磷酸化SRRM1L, 随后SRRM1L与U1-70K相互作用进入剪接体, 调控NFYA10前体mRNA可变剪接, 产生功能性NFYA10.1变体, 而NFYA10.1过表达可增强拟南芥对盐胁迫的抗性(Sun et al., 2024)。上述研究表明, 基因可变剪接调控植物响应盐胁迫主要通过以下2条途径进行: 一是mRNA剪接体或剪接组分通过调节盐胁迫响应相关基因的表达增强植物的耐盐性; 二是剪接体通过直接参与分子网络调控途径增强耐盐性。

3 展望

基因可变剪接是重要的转录后调控机制, 其通过不同剪接方式产生不同的剪接变体, 进而产生具有不同功能的蛋白质。植物在非生物胁迫下可产生不同剪接变体进而应对环境压力。本文综述了基因可变剪接在调控非生物胁迫方面的作用, 包括可变剪接调控热、冷、干旱和盐胁迫等方面的研究进展。近年来, 研究人员通过RNA-seq、RT-PCR、基因编辑及生物信息学等技术, 解析了不同植物在非生物胁迫下的差异性基因可变剪接事件, 探究了基因可变剪接在调控植物响应非生物胁迫方面的机制, 为未来研究植物胁迫响应相关基因可变剪接奠定了重要基础, 并提供了可能的研究方向(Muthusamy et al., 2020; Hong et al., 2023; Sun et al., 2024)。

由于基因可变剪接机制的复杂性, 目前对于基因可变剪接调控植物响应非生物胁迫的机制研究仍存在许多问题, 主要包括以下4个方面。

(1) 目前已知许多植物在非生物胁迫下通过调控胁迫响应基因的可变剪接增强胁迫的耐受性, 但仍有许多剪接变体的功能未知。此外, 同一基因的不同剪接变体在非生物胁迫下的比例变化在胁迫耐受性方

面的意义仍有待阐明。

(2) 作物基因的可变剪接变异是分子育种的有利资源。例如, 水稻中OsPIE1基因剪接异构体比例可以决定株高等性状(Zhang et al., 2024a), 未来可运用分子标记辅助选择育种, 快速筛选出具有优良基因可变剪接变异的育种材料, 加速培育具有理想农艺性状的作物新品种。

(3) 目前对于非生物胁迫相关基因可变剪接变体的研究主要集中在一种非生物胁迫或者单一组织水平, 对于多维度的复合胁迫下植物不同组织的可变剪接研究较少。因此, 不同剪接变体在植物不同组织中以及发育时期对多种组合非生物胁迫的潜在作用是未来的重要研究方向之一。

(4) 在植物中, 基因可变剪接研究大多集中在可变剪接事件的生物信息学大数据分析和特定剪接异构体的功能解析方面, 但对于植物如何感知胁迫信号, 并启动可变剪接的上游通路研究不足。

综上所述, 基因可变剪接在植物响应非生物胁迫方面具有重要调控作用, 但许多机制仍不清楚。未来的研究可为植物响应极端天气背景下的多重非生物胁迫提供理论依据。

作者贡献声明

熊良林: 撰写论文、整理文献及绘制图表; 梁国鲁和郭启高: 参与论文修改; 景丹龙: 指导论文撰写并修改论文。

参考文献

- Albaqami M, Laluk K, Reddy ASN (2019). The *Arabidopsis* splicing regulator SR45 confers salt tolerance in a splice isoform-dependent manner. *Plant Mol Biol* **100**, 379–390.
- Alhabsi A, Butt H, Kirschner GK, Bililou I, Mahfouz MM (2024). SCR106 splicing factor modulates abiotic stress responses by maintaining RNA splicing in rice. *J Exp Bot* **75**, 802–818.
- Barnabás B, Jäger K, Fehér A (2008). The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant Cell Environ* **31**, 11–38.
- Blencowe BJ (2006). Alternative splicing: new insights from global analyses. *Cell* **126**, 37–47.
- Butt H, Bazin J, Prasad KVSK, Awad N, Crespi M, Reddy ASN, Mahfouz MM (2022). The rice serine/arginine spli-

- cing factor RS33 regulates pre-mRNA splicing during abiotic stress responses. *Cells* **11**, 1796.
- Calixto CPG, Guo WB, James AB, Tzioutziou NA, Entizne JC, Panter PE, Knight H, Nimmo HG, Zhang RX, Brown JWS** (2018). Rapid and dynamic alternative splicing impacts the *Arabidopsis* cold response transcriptome. *Plant Cell* **30**, 1424–1444.
- Calixto CPG, Tzioutziou NA, James AB, Hornyik C, Guo WB, Zhang RX, Nimmo HG, Brown JWS** (2019). Cold-dependent expression and alternative splicing of *Arabidopsis* long non-coding RNAs. *Front Plant Sci* **10**, 235.
- Calvo SE, Pagliarini DJ, Mootha VK** (2009). Upstream open reading frames cause widespread reduction of protein expression and are polymorphic among humans. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**, 7507–7512.
- Chang YY, Liu HC, Liu NY, Chi WT, Wang CN, Chang SH, Wang TT** (2007). A heat-inducible transcription factor, HsfA2, is required for extension of acquired thermotolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **143**, 251–262.
- Chen YH, Weng X, Zhou XX, Gu JB, Hu Q, Luo QW, Wen MF, Li C, Wang ZY** (2022). Overexpression of cassava *RSZ21b* enhances drought tolerance in *Arabidopsis*. *J Plant Physiol* **268**, 153574.
- Cho S, Hoang A, Sinha R, Zhong XY, Fu XD, Krainer AR, Ghosh G** (2011). Interaction between the RNA binding domains of Ser-Arg splicing factor 1 and U1–70K snRNP protein determines early spliceosome assembly. *Proc Natl Acad Sci USA* **108**, 8233–8238.
- Cui P, Zhang SD, Ding F, Ali S, Xiong LM** (2014). Dynamic regulation of genome-wide pre-mRNA splicing and stress tolerance by the Sm-like protein LSM5 in *Arabidopsis*. *Genome Biol* **15**, R1.
- de Francisco Amorim M, Willing EM, Szabo EX, Francisco-Mangilet AG, Droste-Borel I, Maček B, Schneeberger K, Laubinger S** (2018). The U1 snRNP subunit LUC7 modulates plant development and stress responses via regulation of alternative splicing. *Plant Cell* **30**, 2838–2854.
- Ding F, Cui P, Wang ZY, Zhang SD, Ali S, Xiong LM** (2014). Genome-wide analysis of alternative splicing of pre-mRNA under salt stress in *Arabidopsis*. *BMC Genomics* **15**, 431.
- Egawa C, Kobayashi F, Ishibashi M, Nakamura T, Nakamura C, Takumi S** (2006). Differential regulation of transcript accumulation and alternative splicing of a *DREB2* homolog under abiotic stress conditions in common wheat. *Genes Genet Syst* **81**, 77–91.
- Erkelenz S, Mueller WF, Evans MS, Busch A, Scöneweis K, Hertel KJ, Schaal H** (2013). Position-dependent splicing activation and repression by SR and hnRNP proteins rely on common mechanisms. *RNA* **19**, 96–102.
- Fedoroff NV, Battisti DS, Beachy RN, Cooper PJM, Fischhoff DA, Hodges CN, Knauf VC, Lobell D, Mazur BJ, Molden D, Reynolds MP, Ronald PC, Rosegrant MW, Sanchez PA, Vonshak A, Zhu JK** (2010). Radically rethinking agriculture for the 21st century. *Science* **327**, 833–834.
- Feng JL, Li JJ, Gao ZX, Lu YR, Yu JY, Zheng Q, Yan SN, Zhang WJ, He H, Ma LG, Zhu ZG** (2015). SKIP confers osmotic tolerance during salt stress by controlling alternative gene splicing in *Arabidopsis*. *Mol Plant* **8**, 1038–1052.
- Gallegos J** (2018). Alternative splicing plays a major role in plant response to cold temperatures. *Plant Cell* **30**, 1378–1379.
- Gan JH, Qiu YQ, Tao YL, Zhang LN, Okita TW, Yan YY, Tian L** (2024). RNA-seq analysis reveals transcriptome reprogramming and alternative splicing during early response to salt stress in tomato root. *Front Plant Sci* **15**, 1394223.
- Graveley BR** (2001). Alternative splicing: increasing diversity in the proteomic world. *Trends Genet* **17**, 100–107.
- Gu JB, Ma SY, Zhang YN, Wang D, Cao SQ, Wang ZY** (2020). Genome-wide identification of cassava serine/arginine-rich proteins: insights into alternative splicing of pre-mRNAs and response to abiotic stress. *Plant Cell Physiol* **61**, 178–191.
- Gu JB, Xia ZQ, Luo YH, Jiang XY, Qian BL, Xie H, Zhu JK, Xiong LM, Zhu JH, Wang ZY** (2018). Spliceosomal protein U1A is involved in alternative splicing and salt stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res* **46**, 1777–1792.
- Guan QM, Wu JM, Zhang YY, Jiang CH, Liu RY, Chai CL, Zhu JH** (2013). A DEAD Box RNA helicase is critical for pre-mRNA splicing, cold-responsive gene regulation, and cold tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **25**, 342–356.
- Hong YC, Gao Y, Pang J, Shi HZ, Li TT, Meng HY, Kong DL, Chen YJ, Zhu JK, Wang Z** (2023). The Sm core protein SmEb regulates salt stress responses through maintaining proper splicing of *RCD1* pre-mRNA in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol* **65**, 1383–1393.
- Huang R, Jin ZY, Zhang DH, Li LZ, Zhou JX, Xiao L, Li P, Zhang MJ, Tian CD, Zhang WK, Zhong LS, Quan MY, Zhao R, Du L, Liu LJ, Li ZH, Zhang DQ, Du QZ** (2024).

- Rare variations within the serine/arginine-rich splicing factor *PtoRSZ21* modulate stomatal size to determine drought tolerance in *Populus*. *New Phytol* **243**, 1776–1794.
- Huertas R, Catalá R, Jiménez-Gómez JM, Castellano MM, Crevillén P, Piñeiro M, Jarillo JA, Salinas J** (2019). *Arabidopsis* SME1 regulates plant development and response to abiotic stress by determining spliceosome activity specificity. *Plant Cell* **31**, 537–554.
- Ikeda M, Mitsuda N, Ohme-Takagi M** (2011). *Arabidopsis* HsfB1 and HsfB2b act as repressors of the expression of heat-inducible *Hsfs* but positively regulate the acquired thermotolerance. *Plant Physiol* **157**, 1243–1254.
- Ings J, Mur LAJ, Robson PRH, Bosch M** (2013). Physiological and growth responses to water deficit in the bioenergy crop *Miscanthus × giganteus*. *Front Plant Sci* **4**, 468.
- Ishida T, Yoshimura M, Miura K, Sugimoto K** (2012). MMS21/HPY2 and SIZ1, two *Arabidopsis* SUMO E3 ligases, have distinct functions in development. *PLoS One* **7**, e46897.
- Jian YQ, Chen X, Sun KW, Liu ZY, Cheng DN, Cao J, Liu JZ, Cheng XF, Wu L, Zhang F, Luo YM, Hahn M, Ma ZH, Yin YN** (2023). SUMOylation regulates pre-mRNA splicing to overcome DNA damage in fungi. *New Phytol* **237**, 2298–2315.
- Jiang JF, Liu XN, Liu CH, Liu GT, Li SH, Wang LJ** (2017). Integrating omics and alternative splicing reveals insights into grape response to high temperature. *Plant Physiol* **173**, 1502–1518.
- Kim T, Hwang H, Bang G, Ha J, Park YJ, Kim JY** (2024). Understanding the molecular mechanisms of drought tolerance in wild soybean (*Glycine soja*) through multi-omics-based alternative splicing predictions. *Environ Exp Bot* **225**, 105872.
- Kwak JS, Song JT, Seo HS** (2024). E3 SUMO ligase SIZ1 splicing variants localize and function according to external conditions. *Plant Physiol* **195**, 1601–1623.
- Laloum T, Martín G, Duque P** (2018). Alternative splicing control of abiotic stress responses. *Trend Plant Sci* **23**, 140–150.
- Lee BH, Kapoor A, Zhu JH, Zhu JK** (2006). STABILIZED1, a stress-upregulated nuclear protein, is required for pre-mRNA splicing, mRNA turnover, and stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **18**, 1736–1749.
- Li SX, Yu X, Cheng ZH, Zeng CY, Li WB, Zhang LS, Peng M** (2020). Large-scale analysis of the cassava transcriptome reveals the impact of cold stress on alternative splicing. *J Exp Bot* **71**, 422–434.
- Lim KH, Han Z, Jeon HY, Kach J, Jing EX, Weyn-Vanhenryck S, Downs M, Corrionero A, Oh R, Scharner J, Venkatesh A, Ji S, Liao G, Ticho B, Nash H, Aznarez I** (2020). Antisense oligonucleotide modulation of non-productive alternative splicing upregulates gene expression. *Nat Commun* **11**, 3501.
- Ling Y, Alshareef S, Butt H, Lozano-Juste J, Li LX, Galal AA, Moustafa A, Momin AA, Tashkandi M, Richardson DN, Fujii H, Arold S, Rodriguez PL, Duque P, Mahfouz MM** (2017). Pre-mRNA splicing repression triggers abiotic stress signaling in plants. *Plant J* **89**, 291–309.
- Ling Y, Mahfouz MM, Zhou SX** (2021). Pre-mRNA alternative splicing as a modulator for heat stress response in plants. *Trends Plant Sci* **26**, 1153–1170.
- Liu JJ, Sun N, Liu M, Liu JC, Du BJ, Wang XJ, Qi XT** (2013). An autoregulatory loop controlling *Arabidopsis* *HsfA2* expression: role of heat shock-induced alternative splicing. *Plant Physiol* **162**, 512–521.
- Liu SR, Li B, Liang QX, Liu AR, Qu LH, Yang JH** (2020). Classification and function of RNA-protein interactions. *WIREs RNA* **11**, e1601.
- Liu X, Li ML, Chen T, Zhang R, Wang YY, Xiao JL, Ding XD, Zhang SZ, Li Q** (2024). A global survey of bicarbonate stress-induced pre-mRNA alternative splicing in soybean via integrative analysis of Iso-seq and RNA-seq. *Int J Biol Macromol* **278**, 135067.
- Liu YM, Cao L, Wu X, Wang S, Zhang PM, Li ML, Jiang JH, Ding XD, Cao XY** (2023). Functional characterization of wild soybean (*Glycine soja*) GsSnRK1.1 protein kinase in plant resistance to abiotic stresses. *J Plant Physiol* **280**, 153881.
- Liu ZS, Qin JX, Tian XJ, Xu SB, Wang Y, Li HX, Wang XM, Peng HR, Yao YY, Hu ZR, Ni ZF, Xin MM, Sun QX** (2018). Global profiling of alternative splicing landscape responsive to drought, heat and their combination in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Biotechnol J* **16**, 714–726.
- Lopato S, Mayeda A, Krainer AR, Barta A** (1996). Pre-mRNA splicing in plants: characterization of Ser/Arg splicing factors. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**, 3074–3079.
- Lorković ZJ, Kirk DAW, Lambermon MHL, Filipowicz W** (2000). Pre-mRNA splicing in higher plants. *Trends Plant Sci* **5**, 160–167.
- Lu CA, Huang CK, Huang WS, Huang TS, Liu HY, Chen YF** (2020). DEAD-Box RNA helicase 42 plays a critical role in pre-mRNA splicing under cold stress. *Plant Physiol* **182**, 255–271.
- Lu FZ, Li WC, Peng YL, Cao Y, Qu JT, Sun FA, Yang QQ,**

- Lu YL, Zhang XH, Zheng LJ, Fu FL, Yu HQ (2022). Zm-PP2C26 alternative splicing variants negatively regulate drought tolerance in maize. *Front Plant Sci* **13**, 851531.
- Lv JJ, Zhou FF, Wei QQ, Long XQ, Tian WJ, Zhai JJ, Wang JJ, Zhang Q, Wan DS (2024). An alternative 3' splice site of *PeuHKT1;3* improves the response to salt stress through enhancing affinity to K⁺ in *Populus*. *Plant Physiol Biochem* **212**, 108776.
- Manley JL, Tacke R (1996). SR proteins and splicing control. *Genes Dev* **10**, 1569–1579.
- Martín G, Márquez Y, Mantica F, Duque P, Irimia M (2021). Alternative splicing landscapes in *Arabidopsis thaliana* across tissues and stress conditions highlight major functional differences with animals. *Genome Biol* **22**, 35.
- Matera AG, Wang ZF (2014). A day in the life of the spliceosome. *Nat Rev Mol Cell Biol* **15**, 108–121.
- Matsukura S, Mizoi J, Yoshida T, Todaka D, Ito Y, Maruyama K, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2010). Comprehensive analysis of rice DREB2-type genes that encode transcription factors involved in the expression of abiotic stress-responsive genes. *Mol Genet Genomics* **283**, 185–196.
- Mi XZ, Tang MS, Zhu JX, Shu MT, Wen HL, Zhu JY, Wei CL (2024). Alternative splicing of *CsWRKY21* positively regulates cold response in tea plant. *Plant Physiol Biochem* **208**, 108473.
- Miura K, Furumoto T (2013). Cold signaling and cold response in plants. *Int J Mol Sci* **14**, 5312–5337.
- Miura K, Rus A, Sharkhuu A, Yokoi S, Karthikeyan AS, Raghothama KG, Baek D, Koo YD, Jin JB, Bressan RA, Yun DJ, Hasegawa PM (2005). The *Arabidopsis* SUMO E3 ligase SIZ1 controls phosphate deficiency responses. *Proc Natl Acad Sci USA* **102**, 7760–7765.
- Muthusamy M, Yoon EK, Kim JA, Jeong MJ, Lee SI (2020). *Brassica rapa* SR45a regulates drought tolerance via the alternative splicing of target genes. *Genes* **11**, 182.
- Ner-Gaon H, Halachmi R, Savaldi-Goldstein S, Rubin E, Ophir R, Fluhr R (2004). Intron retention is a major phenomenon in alternative splicing in *Arabidopsis*. *Plant J* **39**, 877–885.
- Nishizawa A, Yabuta Y, Yoshida E, Maruta T, Yoshimura K, Shigeoka S (2006). *Arabidopsis* heat shock transcription factor A2 as a key regulator in response to several types of environmental stress. *Plant J* **48**, 535–547.
- Palusa SG, Reddy ASN (2015). Differential recruitment of splice variants from SR Pre-mRNAs to polysomes during development and in response to stresses. *Plant Cell Physiol* **56**, 421–427.
- Paul T, Zhang PC, Zhang ZH, Fargason T, De Silva NIU, Powell E, Ekpenyong E, Jamal S, Yu YB, Prevelige P, Lu R, Zhang J (2024). The U1-70K and SRSF1 interaction is modulated by phosphorylation during the early stages of spliceosome assembly. *Protein Sci* **33**, e5117.
- Punzo P, Grillo S, Batelli G (2020). Alternative splicing in plant abiotic stress responses. *Biochem Soc Trans* **48**, 2117–2126.
- Remy E, Cabrito TR, Baster P, Batista RA, Teixeira MC, Friml J, Sá-Correia I, Duque P (2013). A major facilitator superfamily transporter plays a dual role in polar auxin transport and drought stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **25**, 901–926.
- Rosenkranz RRE, Vraggalas S, Keller M, Sankaranarayanan S, McNicoll F, Löchli K, Bublak D, Benhamed M, Crespi M, Berberich T, Bazakos C, Feldbrügge M, Schleiff E, Müller-McNicoll M, Zarnack K, Fragkostefanakis S (2024). A plant-specific clade of serine/arginine-rich proteins regulates RNA splicing homeostasis and thermotolerance in tomato. *Nucleic Acids Res* **52**, 11466–11480.
- Seo PJ, Park MJ, Park CM (2013). Alternative splicing of transcription factors in plant responses to low temperature stress: mechanisms and functions. *Planta* **237**, 1415–1424.
- Song L, Pan ZZ, Chen L, Dai Y, Wan JR, Ye H, Nguyen HT, Zhang GZ, Chen HT (2020). Analysis of whole transcriptome RNA-seq data reveals many alternative splicing events in soybean roots under drought stress conditions. *Genes* **11**, 1520.
- Song NN, Wang J, Qin QQ, Su AQ, Cheng YF, Si WN, Cheng BJ, Fan J, Jiang HY (2025). ZmHSA2B self-regulatory loop is critical for heat tolerance in maize. *Plant Biotechnol J* **23**, 284–301.
- Song NX, Xie YF, Li X (2020). Effects of epigenetic mechanisms on C₄ phosphoenolpyruvate carboxylase transgenic rice (*Oryza sativa*) seed germination under drought stress. *Chin Bull Bot* **55**, 677–692. (in Chinese)
- 宋凝曦, 谢寅峰, 李霞 (2020). 干旱胁迫下表观遗传机制对转C₄型PEPC基因水稻种子萌发的影响. *植物学报* **55**, 677–692.
- Staiger D, Brown JWS (2013). Alternative splicing at the intersection of biological timing, development, and stress responses. *Plant Cell* **25**, 3640–3656.
- Sun Q, Sun YX, Liu X, Li ML, Li Q, Xiao JL, Xu PF, Zhang SZ, Ding XD (2024). Regulation of plant resistance to salt stress by the SnRK1-dependent splicing factor SRRM1L.

- New Phytol* **242**, 2093–2114.
- Syed NH, Kalyna M, Marquez Y, Barta A, Brown JWS** (2012). Alternative splicing in plants-coming of age. *Trends Plant Sci* **17**, 616–623.
- Tanabe N, Yoshimura K, Kimura A, Yabuta Y, Shigeoka S** (2007). Differential expression of alternatively spliced mRNAs of *Arabidopsis* SR protein homologs, AtSR30 and AtSR45a, in response to environmental stress. *Plant Cell Physiol* **48**, 1036–1049.
- Tian L, Zhao XY, Liu HH, Ku LX, Wang SX, Han ZP, Wu LC, Shi Y, Song XH, Chen YH** (2019). Alternative splicing of *ZmCCA1* mediates drought response in tropical maize. *PLoS One* **14**, e0211623.
- Wang F, Li Y, Yuan JB, Li C, Lin Y, Gu JB, Wang ZY** (2024a). The U1 small nuclear RNA enhances drought tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **196**, 1126–1146.
- Wang X, Liu Y, Ouyang L, Yao RN, Yu TT, Yan LY, Chen YN, Huai DX, Zhou XJ, Wang ZH, Kang YP, Wang QQ, Jiang HF, Lei Y, Liao BS** (2024b). Full-length transcriptome sequencing provides insights into alternative splicing under cold stress in peanut. *Front Plant Sci* **15**, 136–2277.
- Wang XX, Wu FM, Xie QG, Wang HM, Wang Y, Yue YL, Gahura O, Ma SS, Liu L, Cao Y, Jiao YL, Puta F, McClung CR, Xu XD, Ma LG** (2012). SKIP is a component of the spliceosome linking alternative splicing and the circadian clock in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **24**, 3278–3295.
- Wang Z, Hong YC, Yao JJ, Huang H, Qian BL, Liu X, Chen YJ, Pang J, Zhan XQ, Zhu JK, Zhu JH** (2022). Modulation of plant development and chilling stress responses by alternative splicing events under control of the spliceosome protein SmEb in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ* **45**, 2762–2779.
- Wen JJ, Qin Z, Sun L, Zhang YM, Wang DL, Peng HR, Yao YY, Hu ZR, Ni ZF, Sun QX, Xin MM** (2023). Alternative splicing of *TaHSA6e* modulates heat shock protein-mediated translational regulation in response to heat stress in wheat. *New Phytol* **239**, 2235–2247.
- Will CL, Lührmann R** (2011). Spliceosome structure and function. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **3**, a003707.
- Wu Z, Liang JH, Wang CP, Ding LP, Zhao X, Cao X, Xu SJ, Teng NJ, Yi MF** (2019). Alternative splicing provides a mechanism to regulate LHSFA3 function in response to heat stress in lily. *Plant Physiol* **181**, 1651–1667.
- Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K** (2006). Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annu Rev Plant Biol* **57**, 781–803.
- Yao H, Li GZ, Gao ZZ, Guo F, Feng JH, Xiao GH, Shen HT, Li HB** (2024). Alternative splicing responses to salt stress in *Glycyrrhiza uralensis* revealed by global profiling of transcriptome RNA-seq datasets. *Front Genet* **15**, 1397–502.
- Yu ZP, Huang X, Wen SH, Cao HJ, Wang N, Shen SH, Ding MQ** (2023). Alternative splicing under cold stress in paper mulberry. *Plants* **12**, 3950.
- Yunus AA, Lima CD** (2009). Structure of the Siz/PIAS SUMO E3 ligase Siz1 and determinants required for SUMO modification of PCNA. *Mol Cell* **35**, 669–682.
- Zahler AM, Roth MB** (1995). Distinct functions of SR proteins in recruitment of U1 small nuclear ribonucleoprotein to alternative 5' splice sites. *Proc Natl Acad Sci USA* **92**, 2642–2646.
- Zhang H, Chen W, Zhu D, Zhang BT, Xu Q, Shi CL, He HY, Dai XF, Li YL, He WC, Lv Y, Yang LB, Cao XL, Cui Y, Leng Y, Wei H, Liu XP, Zhang B, Wang XM, Guo ML, Zhang ZP, Li XX, Liu CC, Yuan QL, Wang TY, Yu XM, Qian HG, Zhang QQ, Chen DD, Hu GJ, Qian Q, Shang LG** (2024a). Population-level exploration of alternative splicing and its unique role in controlling agronomic traits of rice. *Plant Cell* **36**, 4372–4387.
- Zhang WT, Du BJ, Liu D, Qi XT** (2014). Splicing factor SR34b mutation reduces cadmium tolerance in *Arabidopsis* by regulating iron-regulated transporter 1 gene. *Biochem Biophys Res Commun* **455**, 312–317.
- Zhang WX, Wang H, Guo YN, Hao XY, Li YX, He WT, Zhao X, Cai SY, Song XB** (2024b). Functional validation of different alternative splicing variants of the *Chrysanthemum lavandulifolium* *CINUM1* gene in tobacco. *Curr Issues Mol Biol* **46**, 5242–5256.
- Zhang YL, Chen ZT, Tian HW, Wu YM, Kong Y, Wang XM, Sui N** (2024c). Alternative splicing plays a crucial role in the salt tolerance of foxtail millet. *J Agric Food Chem* **72**, 10814–10827.
- Zhong YY, Luo YH, Sun JL, Qin XM, Gan P, Zhou ZW, Qian YQ, Zhao RP, Zhao ZY, Cai WG, Luo JJ, Chen LL, Song JM** (2024). Pan-transcriptomic analysis reveals alternative splicing control of cold tolerance in rice. *Plant Cell* **36**, 2117–2139.
- Zhou HP, Shi HF, Yang YQ, Feng XX, Chen X, Xiao F, Lin HH, Guo Y** (2024). Insights into plant salt stress signaling and tolerance. *J Genet Genomics* **51**, 16–34.

Advances in the Regulation of Alternative Splicing of Genes in Plants in Response to Abiotic Stress

Lianglin Xiong^{1,2}, Guolu Liang^{1,2}, Qigao Guo^{1,2}, Danlong Jing^{1,2*}

¹Key Laboratory of Agricultural Biosafety and Green Production in the Upper Reaches of the Yangtze River, Ministry of Education, College of Horticulture and Landscape Architecture of Southwest University, Chongqing 400715, China

²Hanhong College of Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract The external environment severely affects growth and development of plants. In recent years, the increasing extreme climates have posed a serious threat to the growth and development of plants. Understanding the regulatory mechanisms of plant stress tolerance is of great significance for ensuring the survival and development of plants (especially economic crops) and their yields. Alternative splicing is an important post-transcriptional regulatory mechanism and plays an important role in the diversity of plant gene functions and stress resistance. At present, a variety of alternative splicing variants of stress-resistant related genes have been identified in different plant species, and several regulatory mechanisms involved in alternative splicing have been elucidated, effectively advancing the relevant theoretical basis for plant stress resistance in plants. This paper reviews the types and splicing mechanisms of alternative splicing in plants, highlights the recent progress in alternative splicing regulation of plant responses to abiotic stress, and provides a prospect for the future direction of research on alternative splicing in plants.

Key words plants, gene alternative splicing, regulatory mechanisms, abiotic stress, stress tolerance

Xiong LL, Liang GL, Guo QG, Jing DL (2025). Advances in the regulation of alternative splicing of genes in plants in response to abiotic stress. *Chin Bull Bot* **60**, 435–448.

* Author for correspondence. E-mail: jingdanlong@swu.edu.cn

(责任编辑: 朱亚娜)

通讯作者简介

景丹龙, 男, 博士, 副教授, 硕士生导师。主要从事果树资源评价、重要农艺性状和逆境响应的分子调控机制研究。近年来, 主持国家自然科学基金面上项目、国家重点研发计划项目子课题、国家自然科学基金青年基金、重庆市自然科学基金面上项目和中央高校基本业务费重点项目等项目; 指导国家级大学生创新创业训练计划项目2项。以第一作者和通讯作者在*Plant Biotechnology Journal*和*Horticulture Research*等国际学术期刊上发表SCI论文20余篇, 其中2篇论文入选ESI高被引论文。获授权国家发明专利15项。现任枇杷产业国家创新联盟副秘书长、重庆市科技特派员。荣获“梁希青年论文奖”二等奖(中国林学会)、园艺园林学院首届优秀青年教师。担任*Forestry Research*首届青年编委、《西北植物学报》和《南方农业学报》首届青年编委, *Food Research International*和*Frontiers in Plant Science*等国际期刊的审稿专家。