

## 研究报告

## Research report

# 水稻抽穗期模拟干旱胁迫下 *CBF3* 转录因子可能影响水稻的一些生理生化指标

张瑛<sup>✉</sup>, 周俊峰<sup>✉</sup>, 罗志祥<sup>✉</sup>, 施伏芝<sup>✉</sup>, 阮新民<sup>✉</sup>, 滕斌<sup>✉</sup>, 吴敬德<sup>✉</sup>

安徽省农业科学院水稻研究所, 安徽省水稻遗传育种重点实验室, 合肥, 230031

✉ 通讯作者: Lzx6176@tom.com ✉ 作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 36 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0036

收稿日期: 2012 年 05 月 08 日

接受日期: 2012 年 06 月 27 日

发表日期: 2012 年 07 月 30 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放获取论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

张瑛等, 2012, 水稻抽穗期模拟干旱胁迫下 *CBF3* 转录因子可能影响水稻的一些生理生化指标, 分子植物育种(online) Vol.10 No.36 pp.1259-1264 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0036)

引用格式(英文):

Zhang et al., 2012, *CBF3* transcriptional factor that may affect some physiological and biochemical indexes in the rice heading stage under the simulated drought stress, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.36 pp.1259-1264 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0036)

**摘要** 转录因子 *CBF*(CRT/DRE-binding factor) 是植物抗逆过程中一个重要的调节因子。然而, 干旱胁迫条件下 *CBF3* 基因对水稻抽穗敏感期的生理生化指标影响尚未见报道。本研究利用转基因 5 NT 和含 *CBF3* 基因的转基因 3 及含 *CBF3* 基因的恢复系材料 OP193, 在抽穗敏感期, 模拟干旱试验条件, 分别测定脯氨酸、叶绿素、可溶性糖、可溶性蛋白变化规律。结果表明: 抽穗期干旱胁迫条件下, *CBF3* 转录因子对脯氨酸、叶绿素含量及 Chla/Chlb 值影响最明显, 而 *CBF3* 转录因子是否表达对可溶性糖、可溶性蛋白变化无明显影响。显然, 干旱胁迫条件下, *CBF3* 转录因子的表达可能参与了脯氨酸、叶绿素合成途径的调控, 从而促进了脯氨酸含量的大幅增加, 同时延迟了叶绿素含量的下降幅度, 这可能与水稻的耐旱性机制十分相关。

**关键词** 水稻; *CBF3* 基因; 抽穗期; 干旱胁迫; 生理生化指标

## *CBF3* transcriptional factor that may affect some physiological and biochemical indexes in the rice heading stage under the simulated drought stress

Zhang Ying<sup>✉</sup>, Zhou Junfeng<sup>✉</sup>, Luo Zhixiang<sup>✉</sup>, Shi Fuzhi<sup>✉</sup>, Ruan Xinmin<sup>✉</sup>, Teng Bin<sup>✉</sup>, Wu Jingde<sup>✉</sup>

Rice Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, 230031

✉ Corresponding author, Lzx6176@tom.com ✉ Authors

**Abstract** The transcription factor *CBF* (CRT/DRE-binding factor) is an important regulatory factor in the process of plant response to stress. However, it has not yet to be reported that the effect of *CBF3* gene expression on physiological and biochemical index in the sensitive period of the rice heading under drought stress. In this study, the transgenic 5 NT containing *CBF3* gene, transgenic restorer lines OP193 containing the *CBF3* gene and their wild type materials were used to determine the variation of proline, chlorophyll, soluble sugar, soluble protein in the heading stage that is the known sensitive period to drought stress under the simulated drought conditions. The results showed that *CBF3* transcription factor affected on the content of proline, chlorophyll and the ratio of Chla/Chlb in the heading stage under drought stress conditions, whereas *CBF3* transcription factor had no significant effect on soluble sugar and soluble protein. It is obvious that the expression of transcription factor *CBF3* may be involved in regulating the biosynthetic pathway of proline and chlorophyll, thus contributing to a substantial increase in proline content, while delaying the decline of chlorophyll content, which may be very relevant to drought-resistance in rice.

**Keywords** Rice; *CBF3*; Heading stage; Drought stress; Physiological and biochemical indexes

中国是一个水资源非常短缺的国家, 干旱是影响水稻产量的主要障碍因素之一(邱福林和张伟平, 2000, 垦殖与稻作, 2: 7-8, 13)。其主要表现为抽穗敏感期水分亏缺对产量影响最大(马塞尔和斯特普尔斯, 1985)。邵玺文等(2004)研究表明, 水稻抽穗期水分胁迫处理后, 其生理指标游离脯氨

酸、叶绿素含量等变化最为明显。转录因子 *CBF* (CRT/DRE-binding factor) 是植物抗逆过程中一个重要的调节因子, 其广泛存在于拟南芥、欧洲油菜、水稻、玉米、小麦等各类植物中, 能通过识别 *COR* 基因中的 CRT/DRE (C-repeat/dehydration-responsive element) 元件启动 *COR* 基因转录(李科友和朱海兰,

2011)。韩国科学家Oh等(2005)将拟南芥*CBF3*基因转入粳稻品种Nakdong(转基因5 NT)中, 并获得含*CBF3*基因的转基因3材料, 进而对含*CBF3*的转基因3材料和对照转基因5 NT的苗期(生长4周)进行干旱胁迫处理, 结果表明*CBF3*基因能显著提高水稻耐旱性。然而, 上述研究并未就干旱胁迫下*CBF3*基因对水稻脯氨酸、叶绿素等生理生化指标变化影响展开深入研究。

张瑛等(2012)将*CBF3*基因转入籼稻恢复系, 并对干旱条件下*CBF3*基因对水稻亲本恢复系农艺性状的影响进行研究, 发现含*CBF3*基因的OP193恢复系材料在有效穗、千粒重、单株谷重等方面则表现出较好的配合力。本研究利用转基因5 NT和含*CBF3*基因的转基因3及含*CBF3*基因的恢复系材料OP193, 研究干旱胁迫条件下*CBF3*转录因子对水稻抽穗期的生理生化指标脯氨酸、叶绿素、可溶性糖、可溶性蛋白变化的影响, 试图进一步揭示转录因子*CBF3*的在水稻抗旱机制中的作用。

## 1 结果与分析

### 1.1 对照组和处理组抽穗期干旱胁迫下的土壤水分变化

对照组和处理组抽穗期的土壤含水量测定结果如图1。

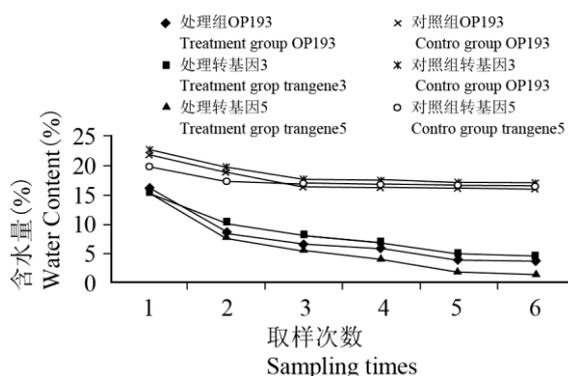


图1 干旱胁迫处理组和对照组水稻土壤水分变化  
Figure 1 Variation of rice soil moisture between the treatment and control

从图1中可以看出, 对照组和处理组的土壤含水量均随处理时间呈下降趋势, 其中对照含水量从20%下降到16%左右(可能是抽穗期水稻对水的需求量增大的缘故), 干旱处理的水分从15%下降6%。幅度明显高于对照组, 因此, 适于做耐旱试验。

### 1.2 抽穗期干旱胁迫下的含和不含*CBF3*水稻的脯氨酸变化

抽穗期干旱胁迫下, 定期取样测定对照组和处理组含和不含*CBF3*水稻的脯氨酸含量, 其变化如图2、图3所示。

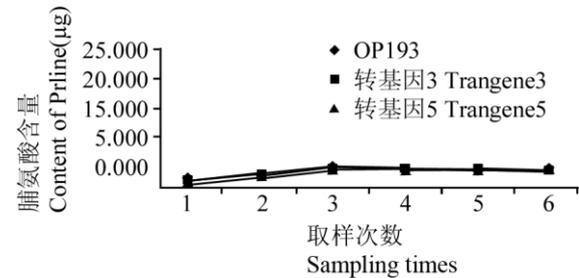


图2 未经干旱处理的对照组脯氨酸变化  
Figure 2 Variation of proline content of the control without drought treatment

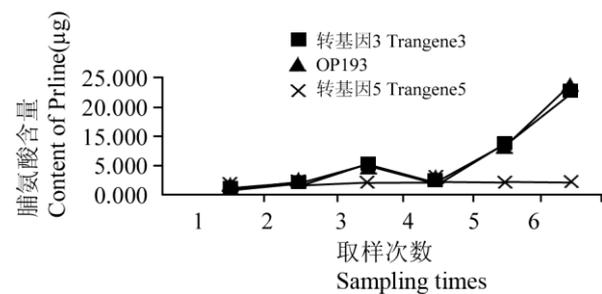


图3 干旱处理组的试验材料处理组脯氨酸变化  
Figure 3 Variation of proline content of treatment groups

从图2可以看出, 对照组呈上升趋势, 第6次样品比第1次样品脯氨酸含量增加比例, OP193、转基因3、转基因5 NT分别为225.5%、276.6%、391.6%。如图3所示, 干旱胁迫处理组, 转基因5 NT材料, 第6次样品比处理前增加108.0%, 其幅度略小于对照组, 而含*CBF3*的转基因3和OP193, 第2次、3次和4次之间有个小幅增加再回落, 第5次、第6次开始急剧上升, 达到最高的20 µg/g左右, 分别比处理前增加1689.4%和1875.7%, 与对照组和处理组转基因5 NT相比, 差异十分明显。结果表明, 在抽穗期干旱胁迫处理下, *CBF3*转录因子的表达与脯氨酸含量的急剧增加关联, 这可能与水稻的耐旱性相关。

### 1.3 抽穗期干旱胁迫下的含和不含*CBF3*水稻的叶绿素含量变化

抽穗期干旱胁迫下, 定期取样分别测定叶绿素a和b的含量, 经1.2.3公式计算得对照组和处理组含和不含*CBF3*水稻的叶绿素含量及叶绿素a/b比值变

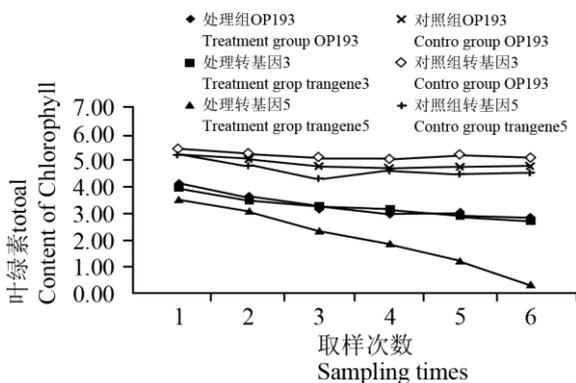


图4 对照组和处理组叶绿素含量的变化  
Figure 4 variation of Chlorophyll content of the treatment and the control

化如图4、图5a、图5b所示。

从图4可以看出, 对照组, 叶绿素含量变化呈下降趋势, 转基因3、OP193、转基因5 NT分别比试

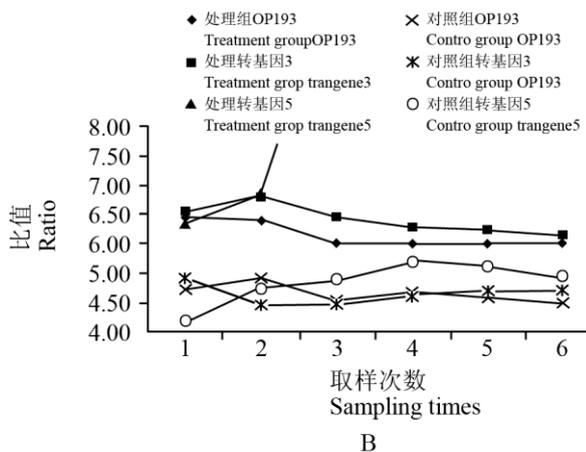
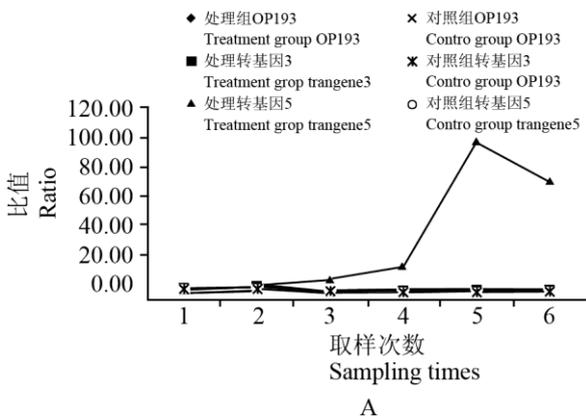


图 5 A 对照组、图 5 B 处理组叶绿素 a/b 比值的变化  
Figure 5 A、Figure 5 B Variation of Chla/Chlb value of the treatment and the control

验前下降 5.3%、7.8%、10.2%, 材料间差异也不明显; 干旱处理组, 总体呈下降趋势, 叶绿素含量普遍低于对照组, 转基因 3 和 OP193 的叶绿素含量分别比处理前下降 28.8%和 27.2%, 而不含 *CBF3* 的转基因 5 NT 材料的叶绿素含量比处理前下降 83.1%, 与对照组及干旱处理组转基因 3 和 OP193 相比, 下降幅度差异极大。显然, 干旱胁迫导致叶绿素含量的明显减低, 而 *CBF3* 转录因子的存在则能明显延缓因干旱处理引起的叶绿素含量的下降幅度。

另外, 如图5a、图5b所示, 对照组的转基因3呈先上升再下降的趋势, 最高点第4次样品比试验前增加23.2%, OP193、转基因5 NT呈下降趋势, 第6次分别比试验前减少4.91%和4.87%, 干旱处理组的转基因3和OP193变化也呈下降趋势, 第6次分别比试验前减少7.75%和8.56%; 而干旱处理组转基因5, 叶绿素a/b比值在第3次和第4次开始有明显增加, 而第5次则大幅度跃升至最高值99.79, 比处理前增加1 437.7%, 第6次又降为73.9, 但仍比处理前增加1 038.2%。因此, 与对照组及干旱处理组转基因3和OP193相比, 差异十分明显。图5b为图5a的对照组及干旱处理组转基因3和OP193材料的放大部分, 可以更好地看出上述变化规律。另外, 从叶绿素a/b比值总量上看, 对照组在4.5~5.5之间, 而干旱处理组转基因3和OP193在6.0~7.0之间, 也明显高于相应的对照组。该结果显示: 干旱能引起叶绿素a/b比值变化, 而*CBF3*转录因子的存在能明显减缓因干旱导致的叶绿素a/b比值的增加幅度。

#### 1.4抽穗期干旱胁迫下的含和不含*CBF3*水稻的可溶性糖含量变化

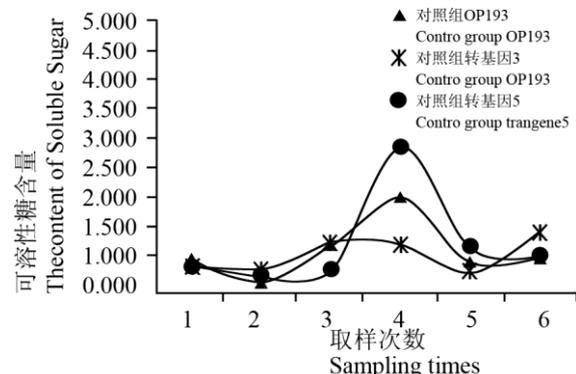


图 6 对照组试验材料可溶性糖含量变化  
Figure 6 Variation of content of soluble sugar of the control group

抽穗期干旱胁迫下, 对照组和处理组含和不含 *CBF3* 水稻的可溶性糖含量变化如图6、图7所示。

从图6、图7可以看出, 对照组和处理组对应材料间可溶性糖含量大小没有明显差异, 其变化趋势也基本相同, 都是先上升再下降, 再小幅提高, 并在第4次取样时有一个峰值。但不同材料间则存在差异, 对照组: 转基因5 NT的峰值 > 含 *CBF3* 的 OP193 > 转基因3, 干旱处理组: 转基因5 NT的峰值 > 含 *CBF3* 的 OP193 和转基因3, 而 OP193 和转基因3 则几乎相同。由此表明: 抽穗期干旱胁迫时水稻可溶性糖含量的变化与 *CBF3* 基因的存在无关联。

### 1.5 抽穗期干旱胁迫下的含和不含 *CBF3* 水稻的可溶性蛋白含量变化

抽穗期干旱胁迫下, 对照组和处理组含和不含 *CBF3* 水稻的可溶性蛋白含量变化如图8、图9所示。

从图8、图9可以看出, 对照组: 3个材料可溶

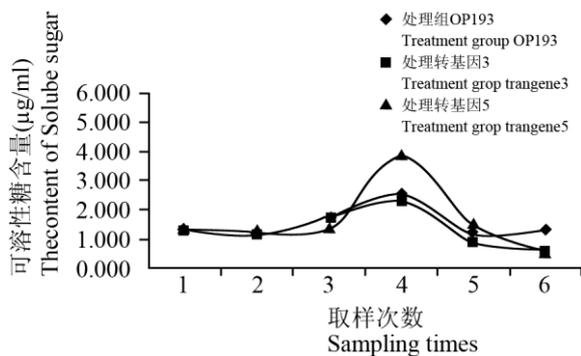


图7 处理组试验材料可溶性糖含量变化  
Figure 7 Variation of content of soluble sugar of the treatment

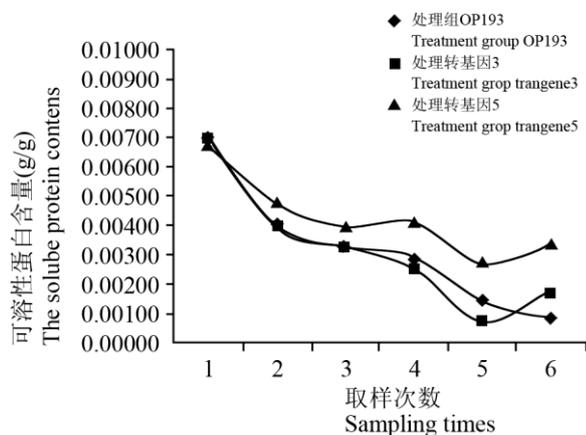


图8 处理组可溶性蛋白含量变化  
Figure8 variation of content of soluble protein of the treatment

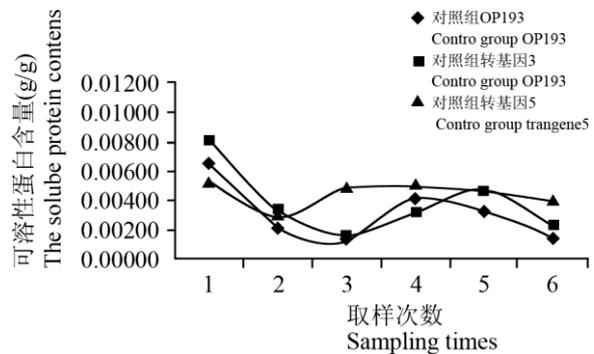


图9 对照组可溶性蛋白含量变化  
Figure 9 variation of content of soluble protein of the control

性蛋白含量变化存在先下降, 再上升再下降的波浪形下降趋势, 而干旱处理组对应材料间可溶性蛋白含量的波浪形下降趋势更明显。不同材料间也存在差异, 对照组: 转基因5 NT的变化幅度 < 含 *CBF3* 的 OP193 < 转基因3, 干旱处理组: 转基因5 NT的变化幅度 < 含 *CBF3* 的 OP193 和转基因3, 而 OP193 和转基因3 则几乎相同。结果表明: 抽穗期干旱胁迫时, *CBF3* 基因的存在对水稻可溶性蛋白含量的变化影响不大。

## 2 讨论

渗透调节是植物防御干旱的一种重要方式, 渗透调节的生理效应是增加细胞溶质浓度, 降低渗透势, 保持膨压, 缓解脱水胁迫伤害, 有利于保持水分和细胞各生理过程的正常进行(白向历, 2007)。脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白作为植物主要的渗透调节物质之一, 近年来被广泛研究(黄文江等, 2002)。叶绿素是植物最重要的收集转换光能的光受体色素, 叶片失绿被认为是叶片衰老的最主要和最初的症状(孙耀中和东方阳, 2008)。在干旱胁迫下, 叶片叶绿素含量越高、Chla/Chlb值越低, 品种越抗旱(方子云, 2004, 长江科学院院报, 21(4): 1-3; 张燕之等, 2002)。因此, 叶绿素含量的变化可作为衡量水稻抗旱性强弱的重要指标(孙耀中和东方阳, 2008)。

转录因子CBF是一个的小基因家族(Gilmour et al., 1998)。其N端含核定位信号区, C端含酸性激活区, 中间含与DNA结合的AP2结构域(Haake et al., 2002)。CBF基因可分为两类, 一类是依赖于ABA, 如CBF4; 另一类是不依赖于ABA, 如CBF1、CBF2、CBF3、CBF5、CBF6(Sakuma et al., 2002)。CBF基因易受到低温、干旱、高盐等逆境的非生物胁迫因子诱导表达(Haake et al., 2002)。在逆境胁迫下, CBF

转录因子能够识别含有核心序列CCGAC CRT/DRE元件的启动子, 与之特异相结合, 从而激活该启动子下游基因的表达以抵御不良环境(Baker et al., 1994)。目前, 已从各类植物中克隆出能调控干旱、高盐及低温等逆境条件的DREB/CBF基因, 并得到对应的转基因植株(李科友和朱海兰, 2011), 为植物抗逆育种提供了一条新途径。

本研究的结果表明, 干旱胁迫条件下, CBF3转录因子的表达可能参与了脯氨酸、叶绿素合成途径的调控, 从而促进了脯氨酸含量的大幅增加, 同时延迟了叶绿素含量的下降幅度, 这可能与水稻的耐旱性机制十分相关。

### 3材料与方法

#### 3.1试验材料

含转录因子CBF3的转基因3材料和不含CBF3的转基因5 NT材料(为转基因3的野生型)来源于韩国明知大学生物科学与生物信息学系。含CBF3的OP193由安徽省农科院水稻研究所提供。

#### 3.2干旱处理试验条件设计

试验于2011年7月至11月在安徽省水稻遗传育种重点实验室完成。采用人工盆栽控制水分的方法, 栽苗用底部带孔的圆形钵, 其直径20 cm, 上部直径31 cm, 盆深33 cm, 钵则放在宽40 cm、长60 cm、高30 cm的长方形塑料盆中, 在每个圆钵底部放上2层滤纸, 再装入吸水性较好的经过清洗、烘干处理并先后过直径4 cm和1.5 cm×20 cm筛的细沙土15 kg。试验使用全营养液参照菲律宾国际水稻所配方(程维民等, 2011)。

试验分对照组和处理组, 设四个重复, 7月1日滤纸催芽, 待苗长至0.5寸左右进行移栽至圆钵中, 平均每3天1次将全营养液放入长方形塑料盆中, 以确保水稻正常生长。在干旱试验处理开始时, 对照组则改营养液为加去离子水, 使其正常生长, 具体抽穗时间: 转基因3为10月18日, 转基因5为10月24日, OP193为10月27日。干旱处理组则停止加入营养液和去离子水, 处理时间15天, 自10月15日至10月31日(必要时, 用喷洒少许去离子水以防止其枯死)。每隔3天, 定期取叶片样品测定生理生化指标, 并同时测定其沙土水分含量。

#### 3.3沙土水分含量测定

上午九点半点取样, 取盆内沙表面以下5 cm处

样, 共取5个散点, 散点均匀分布, 取好的沙置于小烧杯内, 并精确快速称取10.0 g, 在80℃烘至恒温称重, 计算相对含水量。计算公式如下: 相对含水量(%)=(湿沙土重量-干沙土重量)\*100/干沙土重量。

#### 3.4脯氨酸、叶绿素、可溶性糖、可溶性蛋白测定方法

脯氨酸、叶绿素含量测定参照(赵海泉, 2008, 基础生物学实验指导/植物生理学分册, 中国农业大学出版社, pp.21-25, 83-84)。可溶性糖测定参照(张宪政等, 1994, 植物生理学实验技术, 辽宁科学技术出版社, pp.144-145); 可溶性蛋白测定参照文献(应奇才, 2004)。试验测定设3次重复, 平均误差不大于1%。

#### 3.5叶绿素含量和叶绿素a/b比值的计算

叶绿素含量=叶绿素a+叶绿素b; 叶绿素a/b比值=叶绿素a/叶绿素b。

#### 作者贡献

张瑛和周俊峰是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 张瑛、周俊峰完成数据分析, 论文初稿的写作; 施伏芝、阮新民、滕斌、吴敬德参与实验设计, 试验结果分析; 张瑛和罗志祥是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

#### 致谢

本研究由科技部国际合作项目(2010DFA31950), 国家863项目(2012AA101103), 973计划前期研究专项(2011CB111506), 安徽省自然科学基金项目(11040606M97)共同资助。

#### 参考文献

- Bai X.L., Qi H, Liu M., and Zhang Z.P., 2007, Study on the relationship between drought resistance and physiological index of maize, *Yumi Kexue (Journal of Maize Sciences)*, 15(5): 79-83 (白向历, 齐华, 刘明, 张振平, 2007, 玉米抗旱性与生理生化指标关系的研究, *玉米科学*, 15(5): 79-83)
- Baker S.S, Wilhelm K.S, and Thomashow M.F., 1994, The 5'-region of *Arabidopsis thaliana* cor15a has cis-acting elements that confer cold-, drought- and ABA-regulated gene expression, *Plant Mol. Biol.*, 24(5): 701-713 <http://dx.doi.org/10.1007/BF00029852> PMID:8193295
- Cheng W.M., Zhang Y., Wu Y.J., Zhu G.P., Li K.R., Wang Q, Chen S.L., and Cheng T.P., 2011, Studies on mechanism of interaction of the mixed sowing of rice and barnyard grass, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding)* Vol.9No.63pp.1446-1449(doi:10.5376/mpb.cn.2011.09.0063) (程维民, 张瑛, 吴跃进, 朱国平, 李克荣, 王群, 陈

- 尚龙, 程太平, 2011, 水稻与稗草混播互作的机制研究, 分子植物育种(online) Vol.9No. 63pp.1446-1449 (doi:10.5376/mpb.cn.2011.09.0063))
- Gilmour S.J., Zarka D.G., Stockinger E.J., Salazar M.P., Houghton J.M., and Thomashow M.F., 1998, Low temperature regulation of the Arabidopsis CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold-induced COR gene expression, *Plant J.*, 16(4): 433-442 [http:// dx.doi.org/ 10.1046/j. 1365-313x. 1998. 00 310.x](http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-313x.1998.00310.x) PMID:9881163
- Haake V., Cook D., Riechmann J.L., Pineda O., Thomashow M.F., and Zhang J.Z., 2002, Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in Arabidopsis, *Plant Physiol.*, 130(2):639-648 <http://dx.doi.org/10.1104/pp.006478> PMID:12376631 PMCID:166593
- Huang W.J., Wang J.H., Zhao C.J., Huang Y.D., Tao H.Z., and Tao Q.H., 2002, Studies on the osmotic regulated substance and the hormone content of dry cultivation rice, *Ganhan Diqu Nongye Yanjiu (Agricultural Research in The Arid Areas)*, 20(1): 61-64, 80 (黄文江, 王纪华, 赵春江, 黄义德, 陶汉之, 陶庆会, 2002, 水稻旱作条件下渗透调节物质和激素含量的研究, *干旱地区农业研究*, 20(1): 61-64)
- Li K.Y., and Zhu H.L., 2011, Research progress of DREB/CBF transcription factor in response to abiotic-stresses in plants, *Linye Kexue (Scientia Silvae Sinicae)*, 47(1): 124-134 (李科友, 朱海兰, 2011, 植物非生物逆境胁迫DREB/CBF转录因子的研究进展, *林业科学*, 47(1): 124-134)
- Mussell H., and Staples R.C., eds., Zhang Y.P., trans., 1985, *Crop resistance physiology*, Science Press, Beijing, China, pp.208-226 (马塞尔 H., 斯特普尔斯 R.C., 主编, 张永平, 主译, 1985, 作物抗性生理学, 科学出版社, 中国, 北京, pp.208-226)
- Sakuma Y., Liu Q., and Dubouzet J.G., Abe H., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K., 2002, DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of Arabidopsis DREBs, transcription factors involved in dehydration- and cold-inducible gene expression, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 290(3):998-1009 <http://dx.doi.org/10.1006/bbr.c.2001.6299> PMID:11798174
- Oh S.J., Song S.I., Kim Y.S., Jang H.J., Kim S.Y., Kim M., Kim Y.K., Nahm B.H., and Kim J.K., 2005, Arabidopsis CBF3/DREB1A and ABF3 in transgenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth, *Plant Physiol.*, 138(1):341-351 <http://dx.doi.org/10.1104/pp.104.059147> PMID:15834008 PMCID:1104188
- Shao X.W., Zhang R.Z., Qi C.Y., Tong S.Y., Yang M, Huang S.L., and Sun C.Z., 2004, Effects of water stress on growth and yield of rice in jointing-booting stage, *Jilin Nongye Daxue Xuebao (Journal of Jilin Agricultural University)*, 26(3): 237-241 (邵玺文, 张瑞珍, 齐春艳, 童淑媛, 杨沫, 黄世琳, 孙长占, 2004, 拔节孕穗期水分胁迫对水稻生长发育及产量的影响, *吉林农业大学学报*, 26(3): 237-241)
- Sun Y.Z., and Dong F.Y., 2008, Studies on physiological characteristics of flag leaf for rice under dry cultivation, *Hebei Keji Shifan Xueyuan Xuebao (Journal of Hebei Normal University of Science & Technology)*, 22(3): 1-5 (孙耀中, 东方阳, 2008, 不同基因型水稻旱作剑叶的生理特性, *河北科技师范学院学报*, 22(3):1-5)
- Ying Q.C., Zhong G.Q., and Qiu M., 2004, A comparison of the media of extracting soluble protein from rice leaf, *Hangzhou Shifan Xueyuan Xuebao (Journal of Hangzhou Teachers College)*, 3(1): 34-36 (应奇才, 钟国庆, 邱明, 2004, 水稻叶片中可溶性蛋白质提取介质的比较, *杭州师范学院学报(自然科学版)*, 3(1): 34-36)
- Zhang Y.Z., Zhou Y.H., Zeng X.K., Zou J.C., Wang C.H., Wang H., Cao B.C., and Liu W., 2002, Studies on the index of drought- resistance in some rice varieties, *Shenyang Nongye Daxue Xuebao (Journal of Shenyang Agricultural University)*, 33(2): 90-93 (张燕之, 周毓珩, 曾祥宽, 邹吉承, 王昌华, 王辉, 曹炳晨, 刘宛, 2002, 不同类型稻抗旱性鉴定指标研究, *沈阳农业大学学报*, 33(2): 90-93)
- Zhang Y., Luo Z.X., Shi F.Z., Ruan X.M., Zhou J.F., Teng B., and Wu J.D., 2012, Preliminary report on the study of the application of transcription factor CBF3 to rice breeding, *Zhongguo Nongxue Tongbao (Chinese Agricultural Science Bulletin)*, 28(15): 87-91 (张瑛, 罗志祥, 施伏芝, 阮新民, 周俊峰, 滕斌, 吴敬德, 2012, 耐旱转录因子CBF3水稻育种应用研究初报, *中国农学通报*, 2012, 28(15): 87-91)