

大豆耐盐相关 QTLs 鉴定和功能基因研究进展

王楠, 赵士振, 吕孟华, 向凤宁, 李朔

山东大学生命科学院, 植物细胞工程与种质创新教育部重点实验室, 济南 250100

摘要: 大豆(*Glycine max* (L.) Merrill)是重要的粮食作物和经济作物, 盐胁迫能造成大豆产量的大幅度降低。本文综述了通过正向遗传学手段获得的大豆耐盐数量性状位点(Quantitative trait locus, QTL)以及通过反向遗传学方法获得的大豆耐盐功能基因方面的研究进展。目前, 正向遗传学发掘基因主要有图位克隆(Map-based cloning)和全基因组关联分析(Genome-wide association study, GWAS)两种方案, 其中通过图位克隆在大豆中已经获得了 6 个耐盐 QTL 位点并且定位了 1 个重要的耐盐基因; 利用 GWAS 在大豆中获得了 1 个耐盐功能基因。利用反向遗传学在大豆中获得了大量的耐盐相关功能基因并在模式植物中验证了其功能, 主要包括离子转运蛋白基因和转录因子基因。这些研究为揭示大豆耐盐分子机制以及通过分子标记辅助育种或转基因技术创制耐盐大豆奠定了基础。

关键词: 土壤盐渍化; 大豆; 盐胁迫; QTL; 转录因子

Research progress on identification of QTLs and functional genes involved in salt tolerance in soybean

Nan Wang, Shizhen Zhao, Menghua Lv, Fengning Xiang, Shuo Li

Plant Cell Engineering and Germplasm Innovation Key Lab of Ministry of Education, Life Sciences School of Shandong University, Jinan 250100, China

Abstract: The yield of soybean is substantially reduced when the crop is grown in salinity-affected soil. This review summarizes the progress achieved in defining the genetic basis of salinity tolerance. Both forward (uncovering the genetic basis of a phenotype by exploiting natural or induced mutations) and reverse (defining the phenotype which arises as a result of an altered DNA sequence) genetics methods have been used to reveal the function of key salinity response genes. Quantitative trait locus analysis has identified six regions of the genome which harbor loci influencing salinity tolerance, and positional cloning has succeeded in isolating one important salt tolerant gene. Meanwhile the application of the genome-wide association study technique has led to the isolation of a second gene involved in salinity tolerance. Reverse genetics experiments have highlighted a number of salinity response genes, mainly including ion transporter genes and transcription factor genes. These studies lay the foundations for understanding the

收稿日期: 2016-03-14; 修回日期: 2016-07-04

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(863 计划)(编号: 2013AA102602-4)和国家自然科学基金项目(编号: 31471515, 31270328, 31201269)

资助[Supported by the High Technology Research and Development Program of China (863 Program)(No. 2013AA102602-4) and the National Nature Science Foundation of China(Nos. 31471515, 31270328, 31201269)]

作者简介: 王楠, 博士研究生, 研究方向: 细胞生物学。E-mail: wangnan1991gogo@163.com

通讯作者: 李朔, 博士, 讲师, 研究方向: 植物细胞工程与种质创新。E-mail: lishuo@sdu.edu.cn

DOI: 10.16288/j.yczs.16-086

网络出版时间: 2016/8/17 16:51:17

URI: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20160817.1651.002.html>

mechanistic basis of salinity tolerance in soybean, knowledge of which would be essential to enable the breeding of highly salinity tolerant soybean cultivars through the use of marker-assisted selection or transgenesis.

Keywords: salinity tolerance; soybean; salt stress; QTL; transcription factors

土壤盐渍化是一个全球性的生态问题,对农业生产带来了极大的负面影响,在干旱和半干旱地区土壤盐渍化已成为限制植物生长发育以及造成农作物减产的重要原因。现今,已有约 7.6% 的土壤发生了盐渍化,而中国盐碱地的面积为 0.27 亿 hm^2 ,约占我国耕地面积的 10%^[1~4]。高盐环境会对作物造成多方面的分子损伤,如植物体水分缺失、高渗透压力、内稳态的破坏以及植物细胞内离子的失衡和毒害等^[5~8]。

大豆(*Glycine max* (L.) Merrill)是一种传统的可食用豆科作物,也是公认的重要双子叶植物,种子为人类提供了丰富的蛋白、高质量的植物油、矿物质和维生素等资源。另外,大豆异黄酮、皂角苷、磷脂酰胆碱等也作为重要的功能化合物存在于大豆种子中^[9~12]。

根据高盐胁迫下植物正常生长的比率对植物进行盐胁迫耐受性分级,分级结果显示栽培大豆是一种中度耐盐的农作物^[13~15]。2005 年 Papiernik 等^[7]研究发现,在从 2 dS/m 到 7 dS/m 的盐浓度(1 dS/m=700 mg/L)压力下,大豆产量降低了约 40%。然而,不同的大豆品种对盐胁迫耐受的程度不同。1986 年,Shao 等^[16]将 1716 个大豆品种(其中 1556 个大豆品种来源于中国的 21 个省,160 个大豆品种来源于其他国家)在盐碱地中进行盐水/淡水混合灌溉,通过由盐害引起的叶片坏死程度将这 1716 个大豆品种进行盐胁迫耐受性分级,其中 7 个大豆品种在全发育时期都表现出了耐盐的特性。这些自然变异表明,耐盐大豆种质中可能存在一些 DNA 变异位点,可以有效地提高大豆在盐胁迫下的产量^[17,18]。

从遗传学的观点来看,克隆基因的途径可概括为正向遗传学和反向遗传学两种。正向遗传学途径以表型为基础,通过目的基因产物或表型突变去寻找相应的基因;反向遗传学途径则是依据被克隆基因序列或者其在染色体上的位置来实现^[19,20]。简单来说,正向遗传学是从表型到基因,反向遗传学则

是从基因到表型。

本文通过正向遗传学和反向遗传学两个方面就目前已进行基因组定位和功能验证的大豆盐胁迫耐受相关基因进行总结,并对这些候选基因的潜在育种价值及大豆盐胁迫耐受性分子机制的研究进展进行了综述,期望能对快速准确定位大豆耐盐相关基因及耐盐高产新种质的开发提供参考。

1 通过正向遗传学获得的大豆耐盐 QTL 及基因

1.1 利用图位克隆技术定位大豆耐盐 QTL 位点及基因

图位克隆(Map-based cloning)又称定位克隆(Positional cloning),1986 年首次由剑桥大学 Coulson 等^[21]提出,是根据目的基因在染色体上的位置进行基因克隆的一种方法,最后经遗传转化试验证实目的基因功能^[20,22,23]。

大豆耐盐是受多基因控制的复杂数量性状,基于家系的连锁分析是研究复杂数量性状遗传基础的经典方法。近年来,国内外通过连锁分析对大豆耐盐相关基因进行了广泛的数量性状位点(Quantitative trait locus, QTL)定位研究,通过 QTL 定位发现大豆耐盐相关基因主要定位在 3 号染色体上^[17,24~29](表 1)。

2004 年 Lee 等^[24]通过耐盐品系 S-100 与盐敏感品系 Tokyo 杂交获得重组自交系(Recombinant inbred line, RIL) $F_{2:5}$,并利用限制性片段长度多态性(Restriction fragment length polymorphism, RFLP)分子标记与最初的 QTL 的单因素分析鉴定与耐盐性有关的 QTL,最终发现与耐盐相关的一个主要的 QTL 定位于 Sat_091 SSR 标记的连锁群 N 上。

2008 年 Hamwieh 等^[26]将耐盐野生大豆种 JWS-156-1 与盐敏感栽培大豆 Jackson(PI548657)杂交获得的 225 个 F_2 RILs 作为研究材料,在 120 mmol/L NaCl 处理 20 d 后通过叶焦病及叶绿素的含量(SPAD value)对他们进行症状模拟分级并对其对应的 QTL

表 1 已定位的大豆耐盐相关 QTL

Table 1 QTL mapping for salt tolerance in soybean

序号	亲本组合	群体类型	群体大小	定位	参考文献
1	S-100×Tokyo	F _{2:5}	106	耐盐相关的一个主效 QTL 定位于 Sat_091 SSR 标记的连锁群 N 上	[29]
2	FT-Abyara 9×C01	F ₇	96	鉴定出一个主效的耐盐数量性状位点位于连锁群 N 上	[30]
3	Jin dou No. 6×0197	F ₆	81	鉴定出一个主效的耐盐数量性状位点位于连锁群 N 上	[30]
4	PI483463×Hutcheson	F _{2:6}	106	大豆基因组 3 号染色体上的分子标记 Satt255 与 BARC-038333-10036 之间	[31]
5	Tiefeng 8×85-140	F _{2:3}	367	<i>GmSALT3</i> 定位在在 3 号染色体 QS100001 与 QS1119 之间	[17]
6	JWS156-1×Jackson (PI548657)	F ₂	225	在分子标记 Satt237、Satt339 和 Satt255 附近	[26]

进行分析,结果表明,在大豆连锁群 N 上对耐盐起主效作用的 QTL 占耐盐总变异的 68.7%。作者最终得出结论:这些耐盐相关的 QTL 赋予了大豆显著的耐盐性,并且耐盐 QTL 在野生大豆种和栽培大豆种中是非常保守的。

2011 年 Hamwieh 等^[30]又通过耐盐品系 FT-Abyara 9 与盐敏感品系 C01 杂交获得的 96 个 F₇ 代 RILs、耐盐品系 Jin dou No. 6 与盐敏感品系 0197 杂交获得的 81 个 F₆ 代 RILs 作为两个重组自交系群进行研究。作者采用的两个耐盐品种 FT-Abyara 和 Jin dou No. 6 分别来自巴西和中国,并且在两个耐盐品种中鉴定出一个主效的耐盐 QTL 位于连锁群 N 上。其中,FT-Abyara 9 与 C01 杂交衍生出的 96 个 F₇ 代 RILs 占耐盐总变异的 44.0%,而 Jin dou No. 6 与 0197 杂交衍生出的 81 个 F₆ 代 RILs 占耐盐总变异的 47.1%。在 FT-Abyara 9 与 C01 杂交获得的 96 个 F₇ 代 RILs 中作者发现 3 个 RILs 为杂合体,将这 3 个剩余杂合体(Residual heterozygous line, RHL)自交获得了 3 个近等基因系(Near Isogenic Lines, NIL)并对其进行耐盐性评估,发现含有耐盐品系 FT-Abyara 的染色体片段的 NILs 表现出较强的耐盐性。

2013 年 Ha 等^[31]通过引进的野生大豆品种 PI4-83463 与 Hutcheson 杂交获得了 106 个 RILs,在 F_{2:6} 连锁群上检测到耐盐相关的基因定位在大豆基因组 3 号染色体上的分子标记 Satt255 与 BARC-038333-10036 之间,该基因赋予大豆耐盐性,并在降低盐害造成的大豆叶焦病的发生上具有累加效应。

2014 年 Guan 等^[17]利用 Tiefeng 8 与 85-140 杂交衍生的 367 个重组自交系在 F_{2:3} 连锁群上检测到耐盐相关的基因 *GmSALT3*,该基因定位在大豆基因组的 3 号染色体上,编码阳离子/质子转运体,*GmSALT3* 主要在耐盐大豆品种 Tiefeng 8 根中表达,定位在细胞内的内质网上。作者将 172 个中国大豆地方品种(驯化种)与 57 个野生豆品种进行比较,推测该基因可能是大豆祖先的一个等位基因,表达该基因的大豆品种的耐盐能力得到了有效提高。

但直至目前,QTL 定位大多用于初级定位,对典型的数量性状定位的精确性较差,而且需要杂交、自交多代后才能获得足够数量的群体,耗时较长。QTL 随机定位是在不同组合的不同遗传背景下发生多样化的重组过程,因此定位的 QTL 具有杂交组合特异性,并随着世代和遗传背景的改变可能会丧失^[32-35]。

1.2 利用 GWAS 定位大豆耐盐 QTL 位点及基因

全基因组关联分析(Genome-wide association study, GWAS)是利用全基因组范围内筛选出高密度的分子标记对所研究的群体进行扫描,分析扫描出的分子标记数据与表型性状之间关联关系的方法^[36,37]。

早在 1996 年,Risch 等^[38]就提出了 GWAS 的概念。他推测未来人类复杂疾病的研究可能不再需要候选基因的预测,而是可以在全基因组水平检测每一个基因的变异,进行更大规模的基因检测。到了 2001 年,Hansen 等^[39]将 GWAS 技术应用到海甜菜

(*Beta vulgaris* subsp. *maritima* ((L.) Arcangeli.) 当中, 分析获得了决定海甜菜抽薹前是否需要进行春化处理的 B 基因。

2014 年, Qi 等^[40]构建了基于测序的基因分型遗传图谱, 结合大豆种质资源的重测序数据构建重组自交系, 发现了 *GmCHX1* 基因。*GmCHX1* 编码离子转运蛋白可提高大豆的高盐胁迫耐受性。大豆的栽培种丢失了很多与环境适应相关的重要基因, 因此栽培大豆的遗传多样性比野生大豆低很多。然而这种缺失的遗传多样性可以通过育种的方法进行改良, 也就是说可以将野生大豆中能够适应某一特定环境的基因重新引入到栽培大豆中。研究表明, *GmCHX1* 基因和 *GmSALT3* 同属一个基因座位, 这也很好的说明了这两种方案同时有效, 都可以准确的定位到功能基因上。

使用 GWAS 的方法来探索种质资源的变化可以作为作物品种改良的重要策略, 尤其是用来研究在野生大豆种质进化的过程中丢失的一些重要基因。综合运用全基因组和从头测序方法, 通过重新测序和功能分析绘制高密度的 QTL 图谱, 可以作为一种揭示野生大豆的新的基因组信息来促进作物改良的有效策略。目前来看, 这项技术应用前景十分广阔。

2 通过反向遗传学获得的大豆耐盐功能基因

一直以来, 大豆耐盐相关基因功能研究策略主要是通过筛选转录水平对盐等非生物胁迫响应的基因, 结合其他物种中已知盐胁迫相关基因信息对其进行同源克隆, 然后在烟草(*Nicotiana tabacum*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)等模式植物中进行功能验证。

目前已知的能够调节植物耐盐性的大豆基因主要包括如下几类: 转运蛋白基因、转录因子基因以及其他基因。

2.1 离子转运蛋白编码基因

大豆 *GmCAX1* 基因编码一种阳离子/质子转运蛋白(Cation/proton transporter), 筛选自非生物胁迫下的大豆 cDNA 微阵列, 在拟南芥中过表达该基因可显著提高拟南芥植株的耐盐性^[41]; 编码位于液泡膜上的 Na^+/H^+ 转运蛋白的 *GmNHX1* 基因和氯离子通道蛋白基因 *GmCLC1* 转化到烟草 BY-2(Bright yellow 2)

细胞系中, 能显著提高转基因细胞系的盐胁迫耐受性, 并可将其 Na^+ 和 Cl^- 富集到液泡中^[42,43]; 2009 年, 周国安等^[44]报道了另一个大豆 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因 *GmNHX2* 在拟南芥中异源表达, 提高了转基因植株萌发期和幼苗期的耐盐性; 2011 年, Chen 等^[45]报道了一个大豆钾离子转运蛋白基因 *GmHKT1;4* 并在烟草中验证了其在盐胁迫耐受中的功能; 2015 年, Nie 等^[46]发现在野生型及 *atsos1-1* 突变体植株中过表达编码位于质膜上的 Na^+/H^+ 转运蛋白的 *GmSOS1* 基因, 可显著提高盐胁迫条件下种子萌发率。

2.2 转录因子编码基因

植物转录因子直接调控植物体内多种基因的表达, 并参与了植物体内多方面生理生化过程, 比如病原菌引起的非生物胁迫应答、盐旱胁迫应答等^[47]。目前, 已发现大豆基因组中约 12% 的基因是转录因子家族成员, 是在拟南芥全基因组中发现的转录因子数目的 2 倍^[48,49]。其中 DREB、WRKY、MYB(v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog)、bZIP(Basic leucine zipper)、HD-ZiP(Homeodomain leucine zipper)、NAC(NAM, ATAF1, 2 and CUC2)和 PHD(Plant homeodomain)转录因子家族在大豆非生物胁迫响应中的作用已经逐渐被发现并报道^[49-59](图 1)。

2.2.1 植物 MYB 转录因子家族中的耐盐相关基因

MYB 转录因子家族是最大的转录因子家族之一, 在几乎所有的真核生物中都有发现。植物 MYB 转录因子家族参与调控植物发育、新陈代谢、生物和非生物胁迫响应等。目前, 在大豆中已发现 206 个基因属于 MYB 转录因子家族^[60]。

2009 年 Liao 等^[49]从这 206 个大豆 MYB 转录因子家族成员中进一步确定了 156 个基因, 其中至少有 43 个基因参与非生物胁迫响应, 作者随后深入研究了 *GmMYB76*、*GmMYB92* 及 *GmMYB177* 这 3 个基因的功能。RT-PCR 结果表明, 这 3 个基因在 150 mmol/L NaCl 处理时均表现出表达量明显上调的趋势, 转基因拟南芥植株在高盐处理时种子萌发率、植株存活率和株高等都普遍高于 Col-0 植株。2014 年, Rao 等^[61]研究表明在大豆中过表达 *GmCaM4* 基因可以显著增强植株的耐盐性。作者通过酵母双杂交实验(Y2H)和双分子荧光互补实验(BiFC), 鉴定出了 *GmCaM4*

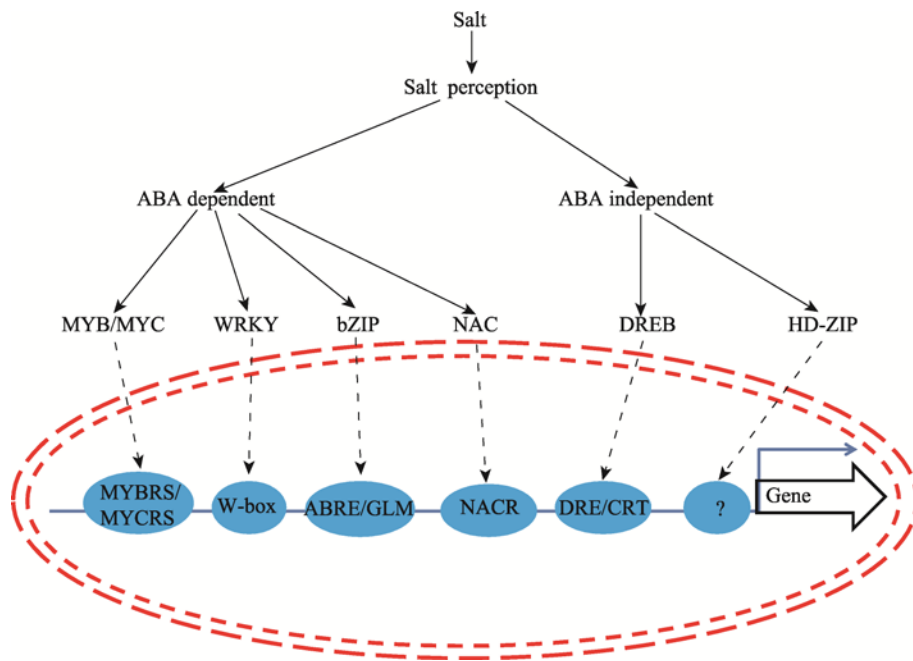


图 1 盐胁迫耐受相关转录因子

Fig. 1 Salt stress tolerance related TF

的互作蛋白 GmMyb2, GmMyb2 蛋白为含有 2 个 MYB 结构域的 R2R3-MYB 蛋白, 进一步证明了 MYB 转录因子在盐胁迫耐受中的重要作用。2013 年, Zhang 等^[62]报道拟南芥中过表达 *GmGBP1* (*Glycine max* GAMYB-binding protein gene, GenBank DQ112540) 基因可以有效提高植株的耐盐能力。2015 年, Wang 等^[63]研究表明 GmWRKY27 蛋白可以和 GmMYB174 蛋白相互作用, 结合在 *GmNAC29* 基因启动子上游的顺式作用元件上, 抑制 *GmNAC29* 基因的表达, 从而增强了大豆耐盐的能力。

2.2.2 植物 NAC 转录因子家族中的耐盐相关基因

NAC 膜结合转录因子 N-端是一个大约包含 160 个氨基酸残基、高度保守的 NAC 结构域。NAC 结构域又可分为 A、B、C、D、E5 个子结构域, NAC 结构域的功能主要是参与 DNA/蛋白质的结合以及同源、异源二聚体的形成。一般情况下, 亚结构域 C、D 序列中含有一段核定位序列 (Nuclear localization signal, NLS), 可能与转录因子核定位及靶基因启动子上特定顺式作用元件的识别有关。近年来, 许多研究表明 NAC 转录因子在盐胁迫等非生物胁迫应答中也发挥着重要的作用^[64]。

2009 年, Pinheiro 等^[65]报道 *GmNAC3* 和 *GmN-*

AC4 基因表达受 NaCl 等非生物胁迫的诱导。同年, Tran 等^[66]也对多个大豆 NAC 转录因子的功能特性进行研究, 发现 *GmNAC002*、*GmNAC003*、*GmNAC004*、*GmNAC010*、*GmNAC012*、*GmNAC013*、*GmNAC015*、*GmNAC020* 和 *GmNAC028* 受多种非生物胁迫的诱导表达, 尤其是在 250 mmol/L NaCl 处理时表达量上调最为明显。2011 年, Le 等^[67]通过对大豆全基因组进行搜索和鉴定发现了 152 个包含开放读码框的 NAC 家族的转录因子, 其中包括 11 个 NAC 膜结合转录因子。研究表明, 这 11 个 NAC 膜结合转录因子都和非生物胁迫应答相关。2013 年, Jin 等^[68]研究发现 *GmNAC5* 受高盐诱导, 当 NaCl 处理 3 h, *GmNAC5* 相对表达量达到顶峰。随后, 在 2014 年 Quach 等^[69]研究表明, NAC 家族转录因子 *GmNAC003* 和 *GmNAC004* 与大豆耐盐相关, qRT-PCR 发现在 250 mmol/L NaCl 处理时 *GmNAC003* 和 *GmNAC004* 相对表达量明显上调。

2.2.3 植物 bZIP 转录因子家族中的耐盐相关基因

在大豆基因组中, 已经有 176 个 bZIP 家族转录因子被发现并以 *GmbZIPs* 的方式进行命名。根据碱性结构域以及其他保守的结构域, 可将 *GmbZIPs* 分为 10 个子集。除碱性结构域和其他保守结构域外,

同一类亚家族成员之间还具有共同的特征,如亮氨酸拉链的大小等^[70-72]。

超过 1/3 的 *GmbZIPs* 基因受 ABA、NaCl 等非生物胁迫及相关激素的诱导。2008 年, Liao 等^[55]深入研究了 *GmbZIP44*、*GmbZIP46*、*GmbZIP62* 和 *GmbZIP78* 4 个基因。*GmbZIP44*、*GmbZIP46*、*GmbZIP62* 和 *GmbZIP78* 分别属于 bZIP 转录因子家族子类群 S、子类群 I、子类群 C 和子类群 G。这些转录因子可以结合在下游基因启动子上游的顺式作用元件上,如 GLM (GTGAGTCAT)、ABRE(CCA-CGTGG)和 PB-like (TGAAAA)等顺式作用元件。研究表明, *GmbZIP44*、*GmbZIP62* 和 *GmbZIP78* 不仅可以上调 *ABI1* 和 *ABI2* 基因的表达,作为 ABA 信号的负调节因子在 ABA 信号途径中发挥功能,更重要的是它们可调节多种参与胁迫应答的下游基因的表达,从而提高植株耐盐害、冻害等的能力^[55]。同年, Liao 等^[73]又报道了 bZIP 转录因子家族中的另一个基因 *GmbZIP132*。研究发现该基因受干旱和高盐胁迫的诱导表达,在子叶和茎中上调表达最为明显。酵母单杂交实验证明 *GmbZIP132* 蛋白可以识别并结合 GLM (GCN4-like motif 5'-GTGAGTCAT-3') 序列。在 35S:: *GmbZIP132* 转基因拟南芥中,非生物胁迫相关基因 *rd29B*、*DREB2A* 和 *P5CS* 均上调表达。在拟南芥中过表达 *GmbZIP132* 基因可以在高盐条件下提高种子萌发率。2011 年 Gao 等^[74]报道表明, *GmbZIP1* 蛋白定位于细胞核; *GmbZIP1* 基因的表达受 ABA 显著诱导;异源表达该基因可促进盐胁迫下转基因植株气孔的关闭,有效地提高其耐盐性。2016 年, Xu 等^[75]研究发现核定位蛋白 *GmbZIP110* 为转录激活子,可以识别并结合 ACGT 元件;过量表达 *GmbZIP110* 基因促进了盐胁迫下转基因植株脯氨酸的积累,表明其在大豆耐盐胁迫中发挥着关键的作用。

目前,在大豆基因组中已经发现了 101 个 HD-Zip 家族转录因子^[10]。2009 年 Wei 等^[76]研究表明,大豆基因组中编码 Alfin1-type PHD finger 蛋白的 6 个 *GmPHDs* 基因可以响应干旱、盐害、冷和 ABA 胁迫;这 6 个 *GmPHDs* 是核定位蛋白,其 N-端为 DNA 结合域,识别的核心序列为 GTGGAG; *GmPHD2*

转基因植株相较于对照组植株表现出了明显的耐盐害优势。

2.2.4 植物 DREB 转录因子家族中的耐盐相关基因

大豆 DREB 蛋白在非 ABA 依赖的盐信号途径中发挥着重要的作用^[77]。目前,已发现至少有 10 个 DREB 家族成员存在于大豆基因组中,其中 8 个 *GmDREB* 基因在大豆非生物胁迫应答中的作用也逐渐被发现和报道(表 2)。例如,2005 年 Li 等^[78]发现大豆叶中 *GmDREBa* 和 *GmDREBb* 均受盐、干旱和冷胁迫的诱导表达;而在大豆根中, *GmDREBc* 受盐、干旱、ABA 的诱导表达。同年, Gao 等^[79]发现 *GmDREB1* 可以结合在 *rd29A* 启动子上游的顺式作用元件上, T_1 代转基因植株表现出了耐盐抗旱的特性。2006 年, Chen 等^[80]报道了 *GmDREB1* 基因在耐盐野生豆“PI407155”中的表达量受 NaCl 处理 1 h 快速诱导。2007 年, Chen 等^[81]又报道了 *GmDREB2* 基因,发现该基因受干旱、高盐、冷和 ABA 诱导表达。同时,作者发现在 *GmDREB2* 转基因烟草中含游离脯氨酸含量高于野生型植株(表 2)。

2.3 其他基因

2006 年蔡丹等^[87]和 2007 年刘昀等^[88]将大豆 *Em* (*Late-embryogenesis-abundant protein1*, *LEA1*)和大豆 *PM2*(*LEA3*)分别转化进大肠杆菌和烟草,提高了它们的耐盐性。过表达一个筛选自盐胁迫下大豆 cDNA

表 2 大豆 DREB 转录因子家族中的非生物胁迫耐受相关基因

Table 2 Dehydration-responsive element-binding (DREB) transcription factor in soybean abiotic stresses tolerance

基因名称	GenBank 号	参考文献
<i>GmDREB1</i>	AF514908	[80,82,83]
<i>GmDREB2</i>	DQ208968, DQ054363	[81]
<i>GmDREB3</i>	DQ208969	[84]
<i>GmDREB3</i>	DQ055133	[85]
<i>GmDREB5</i>	EF583447	[86]
<i>GmDREBa</i>	AY542886	[78]
<i>GmDREBb</i>	AY296651	[78]
<i>GmDREBc</i>	AY244760	[78]

全长库的泛素缀合酶(Ubiquitin-conjugating enzyme)基因 *GmUBC2* 增加了拟南芥对盐和旱的耐受性,并提高了转基因植株中离子反转运蛋白基因 *AtNHX*、*AtCLCa*、脯氨酸合成关键基因 *AtP5CS* 以及超氧化物歧化酶铜离子伴侣蛋白基因 *AtCCS* 的表达^[89]。在烟草中过表达野生大豆来源的谷胱甘肽-硫-转移酶蛋白基因 *GsGST*, 能够提高植株盐、旱耐受性^[90]。2010 年, Wang 等^[91]报道了一个已知参与调控侧根发育的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶基因 *GmWNL1*, 该基因被证明可能通过调节内源 ABA 含量而增加转基因拟南芥盐、渗透胁迫耐受性。在高盐胁迫情况下, 植物的生长受到盐害引起的次级渗透胁迫的抑制, 盐可以在叶片中积累, 造成叶片光合作用降低并对叶片的气体交换产生影响。2014 年, Zhou 等^[92]报道了 *GmPIP1;6* 基因在提高大豆植株盐胁迫耐受性上的作用, 相较于 *Williams 82* 植株, *35S:: GmPIP1;6* 转基因大豆植株在 100 mmol/L 的 NaCl 处理时叶片枯萎程度明显降低, 且 *35S:: GmPIP1;6* 转基因大豆植株在盐处理与非盐处理时的叶片气体交换量并无明显区别。

近几年, 蛋白组技术的普及为从蛋白水平上筛选大豆盐胁迫相关蛋白编码基因提供了新的途径。Sobhanian 等^[93]通过分析长期(7 d)盐胁迫诱导下大豆叶片、子叶和根的蛋白组, 分别得到 19、22 和 14 个盐胁迫响应蛋白。另一项针对两个耐盐性不同的大豆品种盐胁迫下蛋白组差异的研究, 鉴定出 78 个差异表达蛋白, 通过对这些基因的功能注释发现, ROS 的产生和清除、蛋白合成与水解、光合能力、能量供应以及乙烯的合成等生物学过程可能与盐耐受能力相关^[94]。

反向遗传学从基因或蛋白质与小分子化合物的相互作用出发, 研究基因或蛋白质对表型的影响, 从而反推这些生物大分子的功能。目前来看, 相对于正向遗传学, 利用反向遗传学方法获得的大豆盐胁迫耐受基因多, 其相应的操作技术已在生命科学研究的各个领域显示出了广泛的应用前景。但利用反向遗传学技术获得的大豆耐盐基因的功能研究主要集中在模式植物拟南芥中。另外, 通过过表达或 RNAi 等技术改变基因的表达水平, 可能会对植物产生生长抑制的负作用。

4 结 语

中国作为大豆的原产国, 拥有丰富的大豆种质资源, 且不同品种间的耐盐性相差较大, 充分地开发大豆耐盐基因位点、验证基因功能对于利用分子育种技术培育耐盐大豆新品种、发展盐渍土地大豆种植及提高大豆产量具有极其重要的意义。

目前已证明图位克隆及 GWAS 都是通过正向遗传学定位大豆耐盐 QTL、获得耐盐基因的有效手段, 总的来说, 图位克隆耗时较长, 且对关键基因的发掘受群体亲本基因型所限, 而 GWAS 则相对快速且没有品种的局限性, 有助于发现更多的耐盐基因。随着高通量测序技术的快速发展, 综合利用 GWAS 和连锁分析将有助于快速、高效的定位大豆耐盐分子标记及基因, 并有望直接运用于耐盐大豆的分子育种, 改良栽培大豆耐盐性。另一方面, 利用反向遗传学获得了大量的大豆耐盐相关候选基因, 但由于大豆转基因技术的局限, 使得绝大部分基因的功能尚未在大豆中得以验证, 限制了其应用。进一步完善大豆转基因技术, 不仅有助于验证大豆耐盐基因的功能、揭示大豆耐盐的分子机制, 还有助于直接利用大豆耐盐基因资源, 创建耐盐性优良的转基因大豆新品种。

参考文献(References):

- [1] Parida AK, Das AB. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2005, 60(3): 324–349. [DOI]
- [2] Banzai T, Hershkovits G, Katcoff DJ, Hanagata N, Dubinsky Z, Karube I. Identification and characterization of mRNA transcripts differentially expressed in response to high salinity by means of differential display in the mangrove, *Bruguiera gymnorhiza*. *Plant Sci*, 2002, 162(4): 499–505. [DOI]
- [3] Amitai-Zeigerson H, Scolnik PA, Bar-Zvi D. Tomato *Asr1* mRNA and protein are transiently expressed following salt stress, osmotic stress and treatment with abscisic acid. *Plant Sci*, 1995, 110(2): 205–213. [DOI]
- [4] Ba FC, Zhao Y. The coastal soil resources in China. *Chin J Soil Sci*, 1997, (2): 49–51.
巴逢辰, 赵羿. 中国海涂土壤资源. 土壤通报, 1997, (2): 49–51. [DOI]
- [5] Aoki A, Kanegami A, Mihara M, Kojima T, Shiraiwa M,

- Takahara H. Molecular cloning and characterization of a novel soybean gene encoding a leucine-zipper-like protein induced to salt stress. *Gene*, 2005, 356: 135–145. [DOI]
- [6] Khan PSSV, Hoffmann L, Renaut J, Hausman JF. Current initiatives in proteomics for the analysis of plant salt tolerance. *Curr Sci*, 2007, 93(6): 807–817. [DOI]
- [7] Papiernik SK, Lindstrom MJ, Schumacher JA, Farenhorst A, Stephens KD, Schumacher TE, Lobb DA. Variation in soil properties and crop yield across an eroded prairie landscape. *JSWC*, 2005, 60(6): 388–395. [DOI]
- [8] Wang MY, Gu D, Liu TS, Wang ZQ, Guo XY, Hou W, Bai YF, Chen XP, Wang GY. Overexpression of a putative maize calcineurin B-like protein in *Arabidopsis* confers salt tolerance. *Plant Mol Biol*, 2007, 65(6): 733–746. [DOI]
- [9] Aghaei K, Ehsanpour AA, Shah AH, Komatsu S. Proteome analysis of soybean hypocotyl and root under salt stress. *Amino Acids*, 2009, 36(1): 91–98. [DOI]
- [10] Kubota M, Shimizu H. Nutrition and bone health. Soybean and soy foods, and bone health. *Clin Calcium*, 2009, 19(10): 1514–1519. [DOI]
- [11] Chai CL, Wang YQ, Joshi T, Valliyodan B, Prince S, Michel L, Xu D, Nguyen HT. Soybean transcription factor ORFeome associated with drought resistance: a valuable resource to accelerate research on abiotic stress resistance. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 596. [DOI]
- [12] Singh G. The soybean: botany, production and uses. Wallingford, UK: Centre Agriculture and Bioscience International(CABI), 2010. [DOI]
- [13] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59: 651–681. [DOI]
- [14] Luo Q, Yu B, Liu Y. Differential sensitivity to chloride and sodium ions in seedlings of *Glycine max* and *G. soja* under NaCl stress. *J Plant Physiol*, 2005, 162(9): 1003–1012. [DOI]
- [15] Umezawa T, Shimizu K, Kato M, Ueda T. Enhancement of salt tolerance in soybean with NaCl pretreatment. *Physiol Plant*, 2000, 110(1): 59–63. [DOI]
- [16] Shao GH, Song JZ. Preliminary studies on the evaluation of salt tolerance in soybean varieties. *Sci Agric Sin*, 1986, (6): 30–35.
邵桂花, 宋景芝, 刘惠令. 大豆种质资源耐盐性鉴定初报. *中国农业科学*, 1986, 19(6): 30–35. [DOI]
- [17] Guan RX, Qu Y, Guo Y, Yu LL, Liu Y, Jiang JH, Chen JG, Ren YL, Liu GY, Tian L, Jin LG, Liu ZX, Hong HL, Chang RZ, Gilliam M, Qiu LJ. Salinity tolerance in soybean is modulated by natural variation in GmSALT3. *Plant J*, 2014, 80(6): 937–950. [DOI]
- [18] Parker R, Flowers TJ, Moore AL, Harpham NV. An accurate and reproducible method for proteome profiling of the effects of salt stress in the rice leaf lamina. *J Exp Bot*, 2006, 57(5): 1109–1118. [DOI]
- [19] Wang ZL, Dai JR, Wang B. Map-based cloning for plants gene. *Biotechnol Inform*, 2000, (4): 21–27.
王泽立, 戴景瑞, 王斌. 植物基因的图位克隆. *生物技术通报*, 2000, (4): 21–27. [DOI]
- [20] Yan QT, Lu H, Mao WX, Li JY. Map-based cloning for plants gene isolation. *Mol Plant Breeding*, 2005, 3(4): 585–590.
闫其涛, 谔慧, 毛万霞, 李建粤. 植物基因分离的图位克隆技术. *分子植物育种*, 2005, 3(4): 585–590. [DOI]
- [21] Coulson A, Huynh C, Kozono Y, Shownkeen R. Chapter 22 the physical map of the *Caenorhabditis elegans* genome. *Met Cell Biol*, 1995, 48: 533–550. [DOI]
- [22] Tanksley SD, Ganai MW, Martin GB. Chromosome landing: a paradigm for map-based gene cloning in plants with large genomes. *Trends Genet*, 1995, 11(2): 63–68. [DOI]
- [23] Jing RC, Huang QY, Zhu YG. The application of map-based gene cloning method on isolating genes of plants. *Hereditas (Beijing)*, 2000, 22(3): 180–185.
景润春, 黄青阳, 朱英国. 图位克隆技术在分离植物基因中的应用. *遗传*, 2000, 22(3): 180–185. [DOI]
- [24] Lee GJ, Boerma HR, Villagarcia MR, Zhou X, Carter Jr TE, Li Z, Gibbs MO. A major QTL conditioning salt tolerance in S-100 soybean and descendent cultivars. *Theor Appl Genet*, 2004, 109(8): 1610–1619. [DOI]
- [25] Li B, Tian L, Zhang JY, Huang L, Han FX, Yan SR, Wang LZ, Zheng HK, Sun JM. Construction of a high-density genetic map based on large-scale markers developed by specific length amplified fragment sequencing (SLAF-seq) and its application to QTL analysis for isoflavone content in *Glycine max*. *BMC Genomics*, 2014, 15: 1086. [DOI]
- [26] Hamwieh A, Xu DH. Conserved salt tolerance quantitative trait loci (QTL) in wild and cultivated soybean. *Breeding Sci*, 2008, 58(4): 355–359. [DOI]
- [27] Tuyen DD, Lal SK, Xu DH. Identification of a major QTL allele from wild soybean (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) for increasing alkaline salt tolerance in soybean. *Theor Appl Genet*, 2010, 121(2): 229–236. [DOI]
- [28] Li XN, Ramchiary N, Dhandapani V, Choi SR, Hur Y,

- Nou IS, Yoon MK, Lim YP. Quantitative trait loci mapping in *Brassica rapa* revealed the structural and functional conservation of genetic loci governing morphological and yield component traits in the A, B, and C subgenomes of *Brassica* species. *DNA Res*, 2013, 20(1): 1–16. [DOI]
- [29] Jun TH, Rouf Mian MA, Michel AP. Genetic mapping of three quantitative trait loci for soybean aphid resistance in PI 567324. *Heredity (Edinb)*, 2013, 111(1): 16–22. [DOI]
- [30] Hamwieh A, Tuyen DD, Cong H, Benitez ER, Takahashi R, Xu DH. Identification and validation of a major QTL for salt tolerance in soybean. *Euphytica*, 2011, 179(3): 451–459. [DOI]
- [31] Ha B-K, Vuong TD, Velusamy V, Nguyen HT, Shannon JG, Lee JD. Genetic mapping of quantitative trait loci conditioning salt tolerance in wild soybean (*Glycine soja*) PI 483463. *Euphytica*, 2013, 193(1): 79–88. [DOI]
- [32] Su ZF, Liu SL, Wang HW, Ren SY. An analysis of the methods and characteristics of wheat QTL positioning. *J Hetao College*, 2014, 12(3): 75–77.
苏志芳, 刘双禄, 王海伟, 任素樱. 浅析小麦 QTL 定位的方法及特点. 河套学院学报, 2014, 12(3): 75–77. [DOI]
- [33] 周明亮, 纳巴他, 张显泽, 张清建, 杨平贵. QTL 定位方法的研究进展. 草业与畜牧, 2012, (5): 18–23. [DOI]
- [34] Li H. Progress of study on the location of quantitative trait loci (QTL). *J Yuzhou Univ (Nat Sci Ed)*, 2002, 19(3): 8–13.
李宏. 数量性状基因座(QTL)定位的研究进展. 渝州大学学报: 自然科学版, 2002, 19(3): 8–13. [DOI]
- [35] Li CL, Zheng KL. RAPD-based analysis for the QTLs related to plant height and heading date. *Acta Genet Sin*, 1998, 25(1): 34–39.
李春丽, 郑康乐. 应用 RAPD 标记检测与水稻株高和抽穗期有关的 QTLs. 遗传学报, 1998, 25(1): 34–39. [DOI]
- [36] Zhang YM, Xing GF, Liu MT, Liu XD, Han YH. Genome wide association study: Opportunities and challenges in genomic research. *Biotechnol Bull*, 2013, (6): 1–6.
张雁明, 邢国芳, 刘美桃, 刘晓东, 韩渊怀. 全基因组关联分析: 基因组学研究的机遇与挑战. 生物技术通报, 2013, (6): 1–6. [DOI]
- [37] TU X, SHI LS, WANG F, WANG Q. Genomewide association study: advances, challenges and deliberation. *Progr Physiol Sci*, 2010, 41(2): 87–94.
涂欣, 石立松, 汪樊, 王擎. 全基因组关联分析的进展与反思. 生理科学进展, 2010, 41(2): 87–94. [DOI]
- [38] Risch N, Merikangas K. The future of genetic studies of complex human diseases. *Sci*, 1996, 273(5281): 1516–1517. [DOI]
- [39] Hansen M, Kraft T, Ganestam S, Säll T, Nilsson NO. Linkage disequilibrium mapping of the bolting gene in sea beet using AFLP markers. *Genet Res*, 2001, 77(1): 61–66. [DOI]
- [40] Qi XP, Li MW, Xie M, Liu X, Ni M, Shao GH, Song C, Yim AKY, Tao Y, Wong FL, Isobe S, Wong CF, Wong KS, Xu CY, Li CQ, Wang Y, Guan R, Sun FM, Fan GY, Xiao ZX, Zhou F, Phang TH, Liu X, Tong SW, Chan TF, Yiu SM, Tabata S, Wang J, Xu X, Lam HM. Identification of a novel salt tolerance gene in wild soybean by whole-genome sequencing. *Nat Commun*, 2014, 5: 4340. [DOI]
- [41] Luo GZ, Wang HW, Huang J, Tian AG, Wang YJ, Zhang JS, Chen SY. A putative plasma membrane cation/proton antiporter from soybean confers salt tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 2005, 59(5): 809–820. [DOI]
- [42] Li WY, Wong FL, Tsai SN, Phang TH, Shao GH, Lam HM. Tonoplast-located *GmCLC1* and *GmNHX1* from soybean enhance NaCl tolerance in transgenic bright yellow (BY)-2 cells. *Plant Cell Environ*, 2006, 29(6): 1122–1137. [DOI]
- [43] Wong TH, Li MW, Yao XQ, Lam HM. The *GmCLC1* protein from soybean functions as a chloride ion transporter. *J Plant Physiol*, 2013, 170(1): 101–104. [DOI]
- [44] Zhou GA, Guan RX, Li YH, Chang RZ, Qiu LJ. Molecular characterization of *GmNHX2*, a Na^+/H^+ antiporter gene homolog from soybean, and its heterologous expression to improve salt tolerance in *Arabidopsis*. *Chin Sci Bull*, 2009, 54(19): 3536–3545.
周国安, 关荣霞, 李英慧, 常汝镇, 邱丽娟. 异源表达一个大豆 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因 *GmNHX2* 提高拟南芥的耐盐性. 科学通报, 2009, 54(17): 2508–2516. [DOI]
- [45] Chen HT, Chen X, Gu HP, Wu BY, Zhang HM, Yuan XX, Cui XY. *GmHKT1; 4*, a novel soybean gene regulating Na^+/K^+ ratio in roots enhances salt tolerance in transgenic plants. *Plant Growth Regulat*, 2014, 73(3): 299–308. [DOI]
- [46] Nie WX, Xu L, Yu BJ. A putative soybean *Gms-SOS1* confers enhanced salt tolerance to transgenic *Arabidopsis sos1-1* mutant. *Protoplasma*, 2015, 252(1): 1–10.

- 127–134. [DOI]
- [47] Wang YL, Wang H, Ma YJ, Du HY, Yang Q, Yu DY. Identification of transcriptional regulatory nodes in soybean defense networks using transient co-transactivation assays. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 915. [DOI]
- [48] Aoyagi LN, Lopes-Caitar VS, de Carvalho MCGG, Darben LM, Polizel-Podanosqui A, Kuwahara MK, Nepomuceno AL, Abdelnoor RV, Marcelino-Guimarães FC. Genomic and transcriptomic characterization of the transcription factor family R2R3-MYB in soybean and its involvement in the resistance responses to *Phakop-sora pachyrhizi*. *Plant Sci*, 2014, 229: 32–42. [DOI]
- [49] Liao Y, Zou HF, Wang HW, Zhang WK, Ma B, Zhang JS, Chen SY. Soybean *GmMYB76*, *GmMYB92*, and *GmMYB177* genes confer stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants. *Cell Res*, 2008, 18(10): 1047–1060. [DOI]
- [50] Niu CF, Wei W, Zhou QY, Tian AG, Hao YJ, Zhang WK, Ma B, Lin Q, Zhang ZB, Zhang JS, Chen SY. Wheat *WRKY* genes *TaWRKY2* and *TaWRKY19* regulate abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants. *Plant Cell Environ*, 2012, 35(6): 1156–1170. [DOI]
- [51] Hao YJ, Wei W, Song QX, Chen HW, Zhang YQ, Wang F, Zou HF, Lei G, Tian AG, Zhang WK, Ma B, Zhang JS, Chen SY. Soybean NAC transcription factors promote abiotic stress tolerance and lateral root formation in transgenic plants. *Plant J*, 2011, 68(2): 302–313. [DOI]
- [52] Seo YJ, Park JB, Cho YJ, Jung C, Seo HS, Park SK, Nahm BH, Song JT. Overexpression of the ethylene-responsive factor gene BrERF4 from *Brassica rapa* increases tolerance to salt and drought in *Arabidopsis* plants. *Mol Cells*, 2010, 30(3): 271–277. [DOI]
- [53] Jeong JS, Kim YS, Baek KH, Jung H, Ha SH, Do Choi Y, Kim M, Reuzeau C, Kim JK. Root-specific expression of OsNAC10 improves drought tolerance and grain yield in rice under field drought conditions. *Plant Physiol*, 2010, 153(1): 185–197. [DOI]
- [54] Zou XL, Neuman D, Shen QXJ. Interactions of two transcriptional repressors and two transcriptional activators in modulating gibberellin signaling in rice cells. *Plant Physiol*, 2008, 148(1): 176–186. [DOI]
- [55] Liao Y, Zou HF, Wei W, Hao YJ, Tian AG, Huang J, Liu YF, Zhang JS, Chen SY. Soybean *GmbZIP44*, *GmbZIP62* and *GmbZIP78* genes function as negative regulator of ABA signaling and confer salt and freezing tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Planta*, 2008, 228(2): 225–240. [DOI]
- [56] Nakashima K, Tran LSP, Van Nguyen D, Fujita M, Maruyama K, Todaka D, Ito Y, Hayashi N, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Functional analysis of a NAC-type transcription factor OsNAC6 involved in abiotic and biotic stress-responsive gene expression in rice. *Plant J*, 2007, 51(4): 617–630. [DOI]
- [57] Hu HH, Dai M, Yao JL, Xiao BZ, Li XH, Zhang QF, Xiong LZ. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(35): 12987–12992. [DOI]
- [58] Tran LSP, Nakashima K, Sakuma Y, Simpson SD, Fujita Y, Maruyama K, Fujita M, Seki M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Isolation and functional analysis of *Arabidopsis* stress-inducible NAC transcription factors that bind to a drought-responsive cis-element in the early responsive to dehydration stress 1 promoter. *Plant Cell*, 2004, 16(9): 2481–2498. [DOI]
- [59] DuanMu HZ, Wang Y, Bai X, Cheng SF, Deyholos MK, Wong GKS, Li D, Zhu D, Li R, Yu Y, Cao L, Chen C, Zhu YM. Wild soybean roots depend on specific transcription factors and oxidation reduction related genes in response to alkaline stress. *Funct Integr Genomics*, 2015, 15(6): 651–660. [DOI]
- [60] Tian AG, Wang J, Cui P, Han YJ, Xu H, Cong LJ, Huang XG, Wang XL, Jiao YZ, Wang BJ, Wang YJ, Zhang JS, Chen SY. Characterization of soybean genomic features by analysis of its expressed sequence tags. *Theor Appl Genet*, 2004, 108(5): 903–913. [DOI]
- [61] Rao SS, El-Habbak MH, Havens WM, Singh A, Zheng DM, Vaughn L, Haudenschild JS, Hartman GL, Korban SS, Ghabrial SA. Overexpression of GmCaM4 in soybean enhances resistance to pathogens and tolerance to salt stress. *Mol Plant Pathol*, 2014, 15(2): 145–160. [DOI]
- [62] Zhang YW, Zhao L, Li HY, Gao Y, Li YG, Wu XX, Teng WL, Han YP, Zhao X, Li WB. *GmGBPI*, a homolog of human *ski* interacting protein in soybean, regulates flowering and stress tolerance in *Arabidopsis*. *BMC Plant Biol*, 2013, 13: 21. [DOI]
- [63] Wang F, Chen HW, Li QT, Wei W, Li W, Zhang WK, Ma B, Bi YD, Lai YC, Liu XL, Man WQ, Zhang JS, Chen SY. GmWRKY27 interacts with GmMYB174 to reduce expression of *GmNAC29* for stress tolerance in soybean plants. *Plant J*, 2015, 83(2): 224–236. [DOI]
- [64] Jin HX, Xu GL, Meng QC, Huang F, Yu DY. GmNAC5, a NAC transcription factor, is a transient response reg-

- ulator induced by abiotic stress in soybean. *Sci World J*, 2013, 2013: 768972. [DOI]
- [65] Pinheiro GL, Marques CS, Costa MDBL, Reis PAB, Alves MS, Carvalho CM, Fietto LG, Fontes EPB. Complete inventory of soybean NAC transcription factors: sequence conservation and expression analysis uncover their distinct roles in stress response. *Gene*, 2009, 444(1–2): 10–23. [DOI]
- [66] Tran LSP, Quach TN, Guttikonda SK, Aldrich DL, Kumar R, Neelakandan A, Valliyodan B, Nguyen HT. Molecular characterization of stress-inducible *GmNAC* genes in soybean. *Mol Genet Genomics*, 2009, 281(6): 647–664. [DOI]
- [67] Le DT, Nishiyama R, Watanabe Y, Mochida K, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, Tran LS. Genome-wide survey and expression analysis of the plant-specific NAC transcription factor family in soybean during development and dehydration stress. *DNA Res*, 2011, 18(4): 263–276. [DOI]
- [68] Jin HX, Xu GL, Meng QC, Huang F, Yu DY. GmNAC5, a NAC transcription factor, is a transient response regulator induced by abiotic stress in soybean. *Sci World J*, 2013, 2013: 768972. [DOI]
- [69] Quach TN, Tran LSP, Valliyodan B, Nguyen HT, Kumar R, Neelakandan AK, Guttikonda SK, Sharp RE, Nguyen HT. Functional analysis of water stress-responsive soybean GmNAC003 and GmNAC004 transcription factors in lateral root development in *Arabidopsis*. *PLoS One*, 2014, 9(1): e84886. [DOI]
- [70] Li XY, Gao SQ, Tang YM, Li L, Zhang FJ, Feng BE, Fang ZF, Ma LJ, Zhao CP. Genome-wide identification and evolutionary analyses of bZIP transcription factors in wheat and its relatives and expression profiles of anther development related *TabZIP* genes. *BMC Genomics*, 2015, 16: 976. [DOI]
- [71] Pandey SP, Somssich IE. The role of WRKY transcription factors in plant immunity. *Plant Physiol*, 2009, 150(4): 1648–1655. [DOI]
- [72] Yamasaki K, Kigawa T, Inoue M, Tateno M, Yamasaki T, Yabuki T, Aoki M, Seki E, Matsuda T, Tomo Y, Hayami N, Terada T, Shirouzu M, Tanaka A, Seki M, Shinozaki K, Yokoyama S. Solution structure of an *Arabidopsis* WRKY DNA binding domain. *Plant Cell*, 2005, 17(3): 944–956. [DOI]
- [73] Liao Y, Zhang JS, Chen SY, Zhang WK. Role of soybean GmbZIP132 under abscisic acid and salt stresses. *J Integr Plant Biol*, 2008, 50(2): 221–230. [DOI]
- [74] Gao SQ, Chen M, Xu ZS, Zhao CP, Li LC, Xu HJ, Tang YM, Zhao X, Ma YZ. The soybean GmbZIP1 transcription factor enhances multiple abiotic stress tolerances in transgenic plants. *Plant Mol Biol*, 2011, 75(6): 537–553. [DOI]
- [75] Xu ZL, Ali Z, Xu L, He XL, Huang YH, Yi JX, Shao HB, Ma HX, Zhang DY. The nuclear protein GmbZIP110 has transcription activation activity and plays important roles in the response to salinity stress in soybean. *Sci Rep*, 2016, 6: 20366. [DOI]
- [76] Wei W, Huang J, Hao YJ, Zou HF, Wang HW, Zhao JY, Liu XY, Zhang WK, Ma B, Zhang JS, Chen SY. Soybean GmPHD-type transcription regulators improve stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants. *PLoS One*, 2009, 4(9): e7209. [DOI]
- [77] Agarwal PK, Agarwal P, Reddy MK, Sopory SK. Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Plant Cell Rep*, 2006, 25(12): 1263–1274. [DOI]
- [78] Li XP, Tian AG, Luo GZ, Gong ZZ, Zhang JS, Chen SY. Soybean DRE-binding transcription factors that are responsive to abiotic stresses. *Theor Appl Genet*, 2005, 110(8): 1355–1362. [DOI]
- [79] Gao SQ, Xu HJ, Cheng XG, Chen M, Xu ZS, Li LC, Ye XG, Du LP, Hao XY, Ma YZ. Improvement of wheat drought and salt tolerance by expression of a stress-inducible transcription factor *GmDREB* of soybean (*Glycine max*). *Chin Sci Bull*, 2005, 50(23): 2714–2723. [DOI]
- [80] Chen YY, Chen PY, De Los Reyes BG. Differential responses of the cultivated and wild species of soybean to dehydration stress. *Crop Sci*, 2006, 46(5): 2041–2046. [DOI]
- [81] Chen M, Wang QY, Cheng XG, Xu ZS, Li LC, Ye XG, Xia LQ, Ma YZ. *GmDREB2*, a soybean DRE-binding transcription factor, conferred drought and high-salt tolerance in transgenic plants. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 353(2): 299–305. [DOI]
- [82] Jin TC, Chang Q, Li WF, Yin DX, Li ZJ, Wang DL, Liu B, Liu LX. Stress-inducible expression of *GmDREB1* conferred salt tolerance in transgenic alfalfa. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 2010, 100(2): 219–227. [DOI]
- [83] Kidokoro S, Watanabe K, Ohori T, Moriwaki T, Maruyama K, Mizoi J, Htwe NMPS, Fujita Y, Sekita S, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Soybean DREB1/CBF-type transcription factors function in heat and drought as well as cold stress-responsive gene expres-

- sion. *Plant J*, 2015, 81(3): 505–518. [DOI]
- [84] Chen M, Xu ZL, Xia LQ, Li LC, Cheng XG, Dong JH, Wang QY, Ma YZ. Cold-induced modulation and functional analyses of the DRE-binding transcription factor gene, *GmDREB3*, in soybean (*Glycine max* L.). *J Exp Bot*, 2008, 60(1): 121–135. [DOI]
- [85] Engels C, Fuganti-Pagliarini R, Marin SRR, Marcelino-Guimarães FC, Oliveira MCN, Kanamori N, Mizoi J, Nakashima K, Yamaguchi-Shinozaki K, Nepomuceno AL. Introduction of the *rd29A: AtDREB2A* CA gene into soybean (*Glycine max* L. Merrill) and its molecular characterization in leaves and roots during dehydration. *Genet Mol Biol*, 2013, 36(4): 556–565. [DOI]
- [86] Xu DB, Yu YH, Han QL, Ma YN, Gao SQ, Tian Y, Xu ZS, Li LC, Qu YY, Ma YZ, Chen M, Chen YF. Characteristics and Function of a GmDREB5-Interacting Protein GmUBC13 in Soybean. *Sci Agric Sin*, 2014, 47(18): 3534–3544.
徐东北, 于月华, 韩巧玲, 马亚男, 高世庆, 田野, 徐兆师, 李连城, 曲延英, 马有志, 陈明, 陈耀锋. 大豆 (*Glycine max*) GmDREB5 互作蛋白 GmUBC13 的特性及功能. *中国农业科学*, 2014, 47(18): 3534–3544. [DOI]
- [87] Cai D, Zheng YZ, Lan Y. Expression of Em gene (LEA1) from soybean immature seeds confers salt tolerance to *Escherichia coli* and tobacco plants. *J Shenzhen Univ: Sci Eng*, 2006, 23(3): 230–236.
蔡丹, 郑易之, 兰英. 大豆 LEA 蛋白 Em 的表达可提高大肠杆菌和烟草耐盐性. *深圳大学学报(理工版)*, 2006, 23(3): 230–236. [DOI]
- [88] Liu Y, Li RH, Zheng YZ, Cai WB. Soybean PM2 protein and its 22-mer region enhance salt tolerance of tobacco plants. *J Shenzhen Univ: Sci Eng*, 2007, 24(1): 95–101.
刘昀, 李冉辉, 郑易之, 蔡文斌. 大豆 PM2 蛋白及其结构域可提高烟草耐盐性. *深圳大学学报(理工版)*, 2007, 24(1): 95–101. [DOI]
- [89] Zhou GA, Chang RZ, Qiu LJ. Overexpression of soybean ubiquitin-conjugating enzyme gene GmUBC2 confers enhanced drought and salt tolerance through modulating abiotic stress-responsive gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 2010, 72(4–5): 357–367. [DOI]
- [90] Ji W, Zhu YM, Li Y, Yang L, Zhao XW, Cai H, Bai X. Over-expression of a glutathione *S*-transferase gene, GsGST, from wild soybean (*Glycine soja*) enhances drought and salt tolerance in transgenic tobacco. *Bio-technol Lett*, 2010, 32(8): 1173–1179. [DOI]
- [91] Wang YX, Suo HC, Zheng Y, Liu KD, Zhuang CX, Kahle KT, Ma H, Yan XL. The soybean root-specific protein kinase GmWNK1 regulates stress-responsive ABA signaling on the root system architecture. *Plant J*, 2010, 64(2): 230–242. [DOI]
- [92] Zhou L, Wang C, Liu RF, Han Q, Vandeleur RK, Du J, Tyerman S, Shou HX. Constitutive overexpression of soybean plasma membrane intrinsic protein GmPIP1; 6 confers salt tolerance. *BMC Plant Biol*, 2014, 14: 181. [DOI]
- [93] Sobhanian H, Razavizadeh R, Nanjo Y, Ehsanpour AA, Jazii FR, Motamed N, Komatsu S. Proteome analysis of soybean leaves, hypocotyls and roots under salt stress. *Proteome Sci*, 2010, 8: 19. [DOI]
- [94] Ali Z, Zhang DY, Xu ZL, Xu L, Yi JX, He XL, Huang YH, Liu XQ, Khan AA, Trethowan RM, Ma HX. Uncovering the salt response of soybean by unraveling its wild and cultivated functional genomes using tag sequencing. *PLoS One*, 2012, 7(11): e48819. [DOI]

(责任编辑: 张红生)