植物遗传资源学报 2019，20（6）：1535-1541
Journal of Plant Genetic Resources
DOI：10.13430/j.cnki.jpgr.20181217001

盐胁迫下大豆转录因子 *GmTFIIIC* 功能研究

徐长兵[1]，牛风娟[2]，孙现军[2]，胡　正[2]，张学杰[1]，樊守金[1]，姜奇彦[2]，张　辉[2]
（[1]山东师范大学生命科学学院，济南 250014；[2]中国农业科学院作物科学研究所，北京 100081）

摘要：大豆是中度耐盐植物，土壤盐碱化会对大豆产量及品质造成严重影响。因此挖掘耐盐基因，提高大豆耐盐能力十分必要。真核生物中，转录因子 TFIIIC 作为 RNA 聚合酶 III 转录机制的辅助因子，其转录活性易受到外部因素的影响，进而影响 tRNA 基因转录效率和蛋白质的合成。本课题组前期研究发现大豆 *GmTFIIIC* 在盐胁迫下上调表达，但目前大豆 *GmTFIIIC* 的抗逆功能还不清楚。本研究通过大豆发状根体系，将 *GmTFIIIC* 基因过表达，进行盐胁迫下转基因复合体植株表型及生理指标分析，研究大豆 *GmTFIIIC* 基因在盐胁迫下的功能。结果表明：*GmTFIIIC* 基因过表达，盐胁迫条件下，大豆转基因复合体根、茎的 Na^+/K^+ 要低于野生型空载对照；叶片叶绿素相对含量高于野生型空载对照；叶片 H_2O_2 和 O_2^- 含量低于野生型空载对照；叶片含水率高于空载对照，表明大豆发状根中过表达 *GmTFIIIC* 基因提高了大豆转基因复合体的耐盐能力。研究结果为大豆 *GmTFIIIC* 基因耐盐功能研究提供理论基础。

关键词：大豆；盐胁迫；*GmTFIIIC*；发状根

Functional Characterization of *GmTFIIIC* in Response to Salt Stress

XU Chang-bing[1], NIU Feng-juan[2], SUN Xian-jun[2], HU Zheng[2], ZHANG Xue-jie[1], FAN Shou-jin[1], JIANG Qi-yan[2], ZHANG Hui[2]
([1]*College of Life Science, Shandong Normal University, Ji'nan 250014*; [2]*Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081*)

Abstract: The cultivated soybean varieties are moderate tolerant under salt stress, but soil salinization seriously threats the soybean yield and quality.Characterization of the salt-tolerant genes might be suitable for the genetic improvement of salt tolerance.In eukaryotes, transcription factor IIIC（TFIIIC）generally interacts with transcription factor IIIB（TFIIIB）on RNA polymerase III to regulate tRNA gene transcription, which in turn affects protein synthesis.In our previous study, we found that TFIIIC was up-regulated in soybean root under salt stress.However, the gene function of *GmTFIIIC* remains unknown under high salinity stress.In this study, we characterized the *GmTFIIIC* function in transgenic complex, in which the *GmTFIIIC* over-expression was conducted by transforming the soybean hairy roots.The results showed that the Na^+/K^+ of roots and shoots in the *GmTFIIIC* overexpression complex were lower than that in the vacant control complex.While the relative content of chlorophyll and water in leaves was higher, and the content of H_2O_2 and O_2^- was lower than that of the vacant control complex, which indicates that the salt tolerance in transgenic complex is enhanced by *GmTFIIIC*

收稿日期：2018-12-17　**修回日期：**2019-01-11　**网络出版日期：**2019-03-26
URL：http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20181217001
第一作者主要从事植物抗逆研究，E-mail：15727321295@163.com
通信作者：张辉，主要从事种质资源抗逆性鉴定评价研究，E-mail：zhanghui06@ caas.cn
姜奇彦，主要从事种质资源抗逆性鉴定评价及抗逆基因挖掘，E-mail：jiangqiyan@caas.cn
基金项目：“十二五”国家重点研发计划项目（2016YFD0100304）；国家自然科学基金项目（31601302）；转基因植物新材料的育种价值评估项目（2016ZX08010-005）；中国农业科学院科技创新工程（作物种质资源鉴定与发掘团队）项目
Foundation project: National Key Research and Development Program of China（2016YFD0100304）, National Natural Science Foundation of China（31601302）, National Transgenic Key Project from the Ministry of Agriculture of China（2016ZX08010-005）, the Agricultural Science and Technology Program for Innovation Team on Identification and Excavation of Elite Crop Germplasm, CAAS

overexpression.Thus, the results might contribute to a better understanding of the molecular mechanism of *GmTFIIIC* in responding to salt stress.

Key words: soybean; salt tolerance; *GmTFIIIC*; hairy roots

大豆是一种高蛋白含量的经济作物,也是我国重要的农作物。我国对大豆的需求量逐年增加,但各种非生物逆境胁迫对大豆的产量每年都会造成巨大的影响,例如虽然大豆是中度耐盐作物,但在盐渍化土地上生长仍会减产 50% 以上,甚至绝产[1]。科学家们不断挖掘耐盐基因[2-3],努力提高大豆耐盐能力。

转运 RNAs(tRNAs)作为衔接分子在蛋白质合成过程中将信使 RNA(mRNA)与氨基酸连接起来。tRNAs 由一种高度进化保守的复合物—RNA 聚合酶(Pol)III 转录[4]。在真核生物中,tRNA 募集 PolIII 通过转录因子(TF, transcript factor)IIIC 和转录因子 IIIB 介导。其过程简单描述为 TFIIIC 通过启动子识别,定位由 Pol III 转录的基因,并招募 TFIIIB 到 Pol III 的启动子,TFIIIC、TFIIIB 和 Pol III 形成转录起始复合物,启动基因的转录起始[5]。所以 TFIIIC 和转录起始、蛋白质合成密切相关。TFIIIC 和逆境的相关研究非常少,Roberts 等[5]研究发现,在酵母细胞中,在营养缺乏或其他逆境如 DNA 损伤、细胞完整性受损等条件下,TFIIIC 占据 Pol III 与靶标 DNA 的结合位点,严重抑制 Pol III 起始转录,同时 TFIIIC 与 TFIIIB 的相互作用加强,可能是在条件转好之后,发挥快速招募 Pol III,迅速起始转录的作用。Gelli 等[6]发现和氮耐受型高粱 San Chi San(三尺三)相比,在氮敏感型高粱 CK60 的幼苗根中,*TFIIIC* 基因上调表达,而且和一些氮利用效率 QTL 共定位,说明 *TFIIIC* 响应氮胁迫。

本课题组前期研究通过对大豆正常及盐胁迫条件下根系转录组测序分析发现,*GmTFIIIC* 基因(*Glyma.11G102000*)在盐胁迫条件下在大豆根中上调表达,3 个重复平均 log2(fold change)为 11.14。但是,目前 *GmTFIIIC* 基因功能及该基因在盐胁迫下的响应都还没有相关的报道。本研究利用大豆发状根转化体系,通过对 *GmTFIIIC* 基因进行过表达,分析转基因嵌合体的耐盐能力,阐明盐胁迫下 *GmTFIIIC* 基因功能。而大豆发状根在基因功能的研究中目前已经被广泛应用于基因沉默或过表达[7-8]。主要原理是利用携带外源基因的农杆菌 k599 侵染大豆子叶节,可以诱导转基因发状根产生,从而快速验证基因功能。比如,Ortega-Amaro 等[9]发现,在菜豆中过表达 *AtGRDP2* 可以提高转基因复合体植株的耐盐能力。Tang 等[10]利用 CRISPR/Cas9 技术在大豆发状根中沉默大豆 *Glyma.01G165800* 基因,发现了新的与豆类根瘤菌形成相关的基因。另外,本课题组也成功利用大豆发状根体系对基因进行了编辑与过表达,为研究大豆基因功能提供了较好的方法[11-12]。

本研究将 *GmTFIIIC* 基因在大豆发状根中过表达,盐胁迫下过表达复合体植株根、茎中 Na^+/K^+ 显著低于空载对照复合体植株;过表达复合体植株叶片中 H_2O_2 与 O_2^- 含量显著低于空载对照;而叶片中叶绿素含量显著高于空载对照;叶片含水率显著高于空载对照,说明 *GmTFIIIC* 基因过表达显著提高了大豆转基因复合体的耐盐能力。

1 材料与方法

1.1 材料和菌种

大豆材料为 Williams 82,大肠杆菌菌株为 Trans5α,农杆菌菌株为 k599,以上材料由中国农业科学院作物科学研究所抗逆室保存。

1.2 大豆根系盐胁迫处理及 *GmTFIIIC* 基因表达分析

将大豆 Williams 82 种子播种于 MS 培养基上,80 mmol/L NaCl 处理一周,同时设置不含 NaCl 的对照。将生长一周的幼苗转移至 Hogland 营养液中,接着 80 mmol/L NaCl 处理一周,提取大豆 Williams 82 根系。根据 *Glyma.11G102000*(*GmTFIIIC*)基因序列设计引物 TFIIIC-CZ,以大豆 Williams 82 根系 RNA 反转录获得的 cDNA 为模板进行 *GmTFIIIC* 基因扩增。根据 *GmTFIIIC* 的 cds 序列设计引物 TFIIIC-RT,进行 *GmTFIIIC* 基因表达分析。试验所用引物见表 1。

表 1　试验所用引物列表

Table 1　The primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列—正向引物（5′-3′） Primer sequence—Forward（5′-3′）	引物序列—反向引物（5′-3′） Primer sequence—Reverse（5′-3′）
TFIIIC-CZ	CTGATGGCGAATGGTGAG	CCCATGCTAGTTTGACGC
TFIIIC-XbaI-CZ	tcatttggagagaacacgggggactATGGCGAATGGTGAGGGAAGCGACA	tgaacgatcggggaaattcgagctTCACAAGGTACAATAATCTCTGAGA
TFIIIC-RT	TTGCATGAGTCGTATCACA	TGGACCAGGTAAAAATC
Cons15	TAAAGAGCACCATGCCTATCC	TGGTTATGTGAGCAGATGCAA

1.3　*GmTFIIIC* 基因过表达载体的构建

根据 *GmTFIIIC* 基因序列（GenBank 登录号为 CM000844.3）利用 Primer5.0 设计一对 cDNA 中扩增引物—TFIIIC-CZ 和一对质粒中扩增引物—TFIIIC-XbaI-CZ。在大豆 Williams 82 的 cDNA 中利用 TFIIIC-CZ 引物扩增含有 *GmTFIIIC* 基因的 cds 序列的片段，回收 2979 bp 的片段，将回收后的片段 Ta 克隆，测序正确后提取质粒。将提取的质粒用 TFIIIC-XbaI-CZ 引物扩增 *GmTFIIIC* 基因的 cds 序列（2785 bp）。用 XbaI 和 SacI 将 pGFPGUS 载体上的 GFP 切除，回收大片段。用重组酶将回收后的 TFIIIC-XbaI-CZ 扩增片段与切掉 GFP 的 pGFPGUS 载体连接（图 1）。菌液检测，提取 *GmTFIIIC*-pGFPGUS 质粒。作下一步农杆菌转化使用。

图 1　*GmTFIIIC*-pGFPGUS 过表达载体构建

Fig.1　Construction of *GmTFIIIC*-pGFPGUS

1.4　转化农杆菌 k599 并侵染大豆子叶节诱导其发根

制备农杆菌 k599 感受态，将上一步提取的质粒进行农杆菌 k599 的转化。挑取单菌落，扩大培养，PCR 筛选阳性菌落侵染生长 5 d 的大豆子叶节，待其长出发状根后用蛭石覆盖至侵染部位以上，并保持湿润。

1.5　大豆转基因发状根阳性检测

提取生长 30 d 的 3 个 *GmTFIIIC* 过表达株系发状根的 RNA。以 mRNA 为模板，用 $Oligo_{(18)}$ 酶反转录成 cDNA 第一链，以 Cons15 为内参，利用特异性引物 TFIIIC-RT，通过 qRT-PCR 检测 *GmTFIIIC* 表达量。

1.6　大豆转基因复合体植株耐盐性分析

大豆 *GmTFIIIC* 基因过表达复合体植株的耐盐性分析包括大豆盐胁迫下表型分析，叶片叶绿素相对含量及相对含水率测定，叶片 H_2O_2 与 O_2^- 含量检测、Na^+ 和 K^+ 含量及 Na^+/K^+ 比例分析。

1.6.1　H_2O_2 与 O_2^- 含量测定　用 3′-二氨基联苯胺（DAB，Diaminobenzidine 3）和硝基四唑蓝（NBT，Tetranitroblue tetrazolium chloride）检测 H_2O_2 与 O_2^- 含量，分析转基因植株的抗氧化能力[12]。将生长 30 d 的大豆植株剪去主根，只保留诱导的发状根，继续生长一周，用 250 mmol/L NaCl 溶液处理 2 d，随机选取 3 个 *GmTFIIIC* 过表达株系和空载对照的叶片 10 片用 DAB 和 NBT 溶液处理，观察叶片的变化，选择 3 个株系表现一致的叶片进行拍照。

1.6.2　Na^+ 和 K^+ 含量测定　将生长 30 d 的大豆转基因植株剪去主根，只保留诱导的发状根，继续生长一周，用 250 mmol/L NaCl 溶液处理 2 d，选取盐胁迫处理与正常条件下的 3 个转基因株系与空载对照复合体的根、茎、叶，105 ℃杀青 30 min 后 60 ℃烘干 3 d，各取 3 个重复，每个重复 0.1 g 样品，用 25 mL 浓硝酸加热溶解。冷却至室温，加 ddH_2O 定容至 15 mL。同时设置空白样对照，每组 3 个重复。用电感耦合等离子发射光谱仪（ICP-OES，美国 Thermo Fisher ICAP6300 MFC）进行测定根、茎、叶的 Na^+、K^+ 含量[13]，仪器所读取的数值为离子浓度（μg/mL），离子含量计算：离子含量（mg/kg）=（样品浓度 – 空白样浓度）× 体积 / 干重。

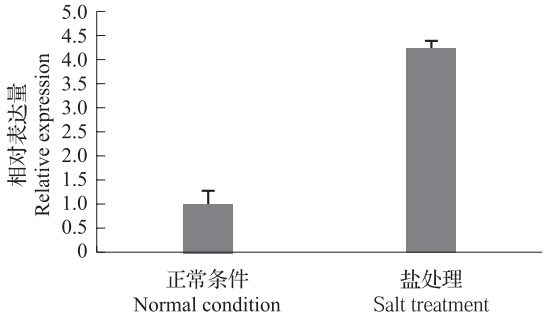
1.6.3　叶片叶绿素相对含量测定　SPAD-502 Plus 叶绿素仪通过测量叶片在两种波长下（650 nm 和 940 nm）光学浓度差的方式来确定叶片当前叶绿素的相对数量，即 SPAD 值。随机选取正常条件下和盐处理后相同位置 3 个过表达株系和空载对照复合体的叶片，首先将仪器校准，随后将叶片放入测量头部进行测定，测量 20 次，取平均值。

1.6.4　叶片相对含水率的测定　随机选取正常条件和盐胁迫处理条件下的空载对照复合体植株和 3 个过表达株系复合体最上部叶片，称取鲜重后 65 ℃杀青 30 min，60 ℃烘箱烘干 3 d，去除全部水分，称取干重。计算叶片相对含水率。叶片相对含水率 =（鲜重 – 干重）/ 鲜重 ×100%。

2 结果与分析

2.1 大豆根系 *GmTFIIIC* 基因表达分析

提取盐处理与正常条件下的大豆根系 RNA，反转录成 cDNA 第一链，qRT-PCR 检测 *GmTFIIIC* 基因的表达量发现，与正常条件下相比，盐胁迫下 *GmTFIIIC* 在大豆根中上调表达（图 2）。



试验设 3 次重复，每个重复取 5 株大豆根系混合并提取 RNA。盐胁迫处理：80 mmol/L NaCl，处理时间：14 d

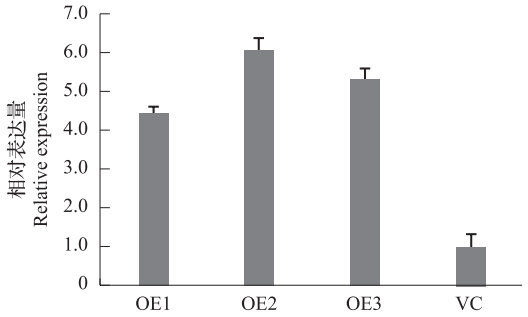
The RNA was extracted from the root mixture of 5 plants of each replication and the experiment is 3 replications.Salt treatment: 80 mmol/L NaCl, Time of salt treatment: 14 days

图 2 大豆根系中 *GmTFIIIC* 基因表达分析

Fig.2 Analysis of *GmTFIIIC* expression in soybean roots

2.2 *GmTFIIIC* 基因过表达对转基因复合体耐盐能力的影响

2.2.1 *GmTFIIIC* 基因在大豆发状根中过表达 随机选取转入 *GmTFIIIC* 过表达载体的发状根，每个样品 3 次重复，以 Cons15 作为内参对照，qRT-PCR 检测 *GmTFIIIC* 在转录水平上的表达量。结果显示，与空载对照 VC 相比，过表达系 OE1、OE2 与 OE3 中 *GmTFIIIC* 基因分别上调了约 4.5 倍、6.1 倍与 5.3 倍（图 3）。表明由 35S 启动子驱动的 *GmTFIIIC* 基因在大豆发状根中过量表达。



OE1~3：3 个过表达株系；VC：空载对照

OE1-3: Three overexpression lines, VC: Vacant control

图 3 qRT-PCR 检测发状根中 *GmTFIIIC* 的表达量

Fig.3 The *GmTFIIIC* expression of hairy roots by qRT-PCR

2.3 *GmTFIIIC* 基因过表达转基因复合体耐盐性分析

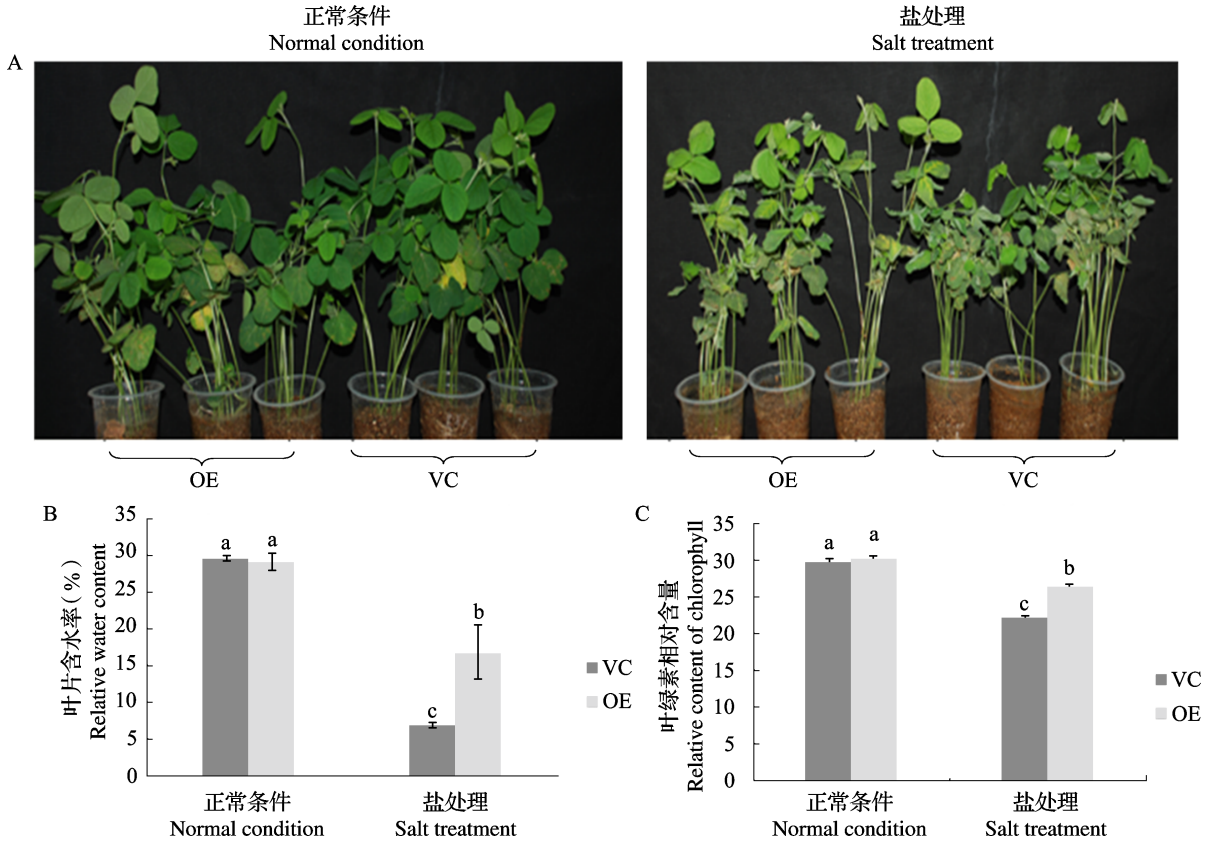
2.3.1 盐胁迫下转基因复合体表型分析 将侵染 30 d 的大豆株系去除主根保留诱导产生的发状根，继续正常生长两周，然后用 250 mmol/L NaCl 处理 2 d。正常条件下 *GmTFIIIC* 过表达转基因复合体和空载对照相比，表型没有显著差异（图 4A），盐胁迫处理 2 d 后，空载对照和过表达复合体都表现为叶片萎蔫、变黄的盐胁迫受害症状，但空载对照叶片较过表达复合体失水更严重，其叶片含水率显著低于过表达复合体（图 4B）；过表达复合体植株盐胁迫受害症状较轻（图 4A），其叶片相对叶绿素含量显著高于空载对照（图 4C）。

2.3.2 转基因复合体叶片中 H_2O_2 含量和 O_2^- 含量分析 正常条件下，植物产生和清除 H_2O_2 的过程保持相对稳定的状态，这样既能保证 H_2O_2 生理功能，同时又可以降低 H_2O_2 对植物体的伤害。盐胁迫条件下，植物体内会产生大量的 H_2O_2，具有很强的氧化还原性，因此会造成细胞内大分子氧化损伤，影响植物的新陈代谢过程，对植物体造成伤害。因此，H_2O_2 含量可以作为抗逆的生理指标。过氧化物酶可以催化 H_2O_2 与 DAB 迅速反应生成棕色化合物，进而定位组织中的 H_2O_2。

用 DAB 处理空载对照复合体、过表达复合体的叶片，正常条件下，叶片上棕色斑点都很少，二者没有显著差异。250 mmol/L NaCl 处理 2 d 后，叶片上棕色斑点增多，但过表达复合体叶片的棕色斑点较空载对照复合体少（图 5A），表明 *GmTFIIIC* 基因过表达植株的叶片中 H_2O_2 含量低于空载对照。

O_2^- 可以将 NBT 氧化为蓝紫色物质，因此 NBT 通常与 DAB 一起检测。用 NBT 染液处理空载对照复合体、过表达复合体叶片，正常条件下，叶片上蓝紫色物质很少，且二者之间没有显著差异。250 mmol/L NaCl 处理 2 d 后，蓝紫色物质增加，且空载对照复合体叶片的蓝紫色斑点较过表达复合体空载对照复合体多（图 5B），说明空载对照复合体植株叶片中 O_2^- 含量高于转基因复合体植株，表现出对盐较为敏感。

2.3.3 转基因复合体根、茎、叶 Na^+/K^+ 含量分析 Na^+/K^+ 的高低是衡量植物是否耐盐的一个重要生理指标。正常条件下，空载对照复合体与过表达复合体的根、茎、叶中 Na^+/K^+ 比值没有显著性差异。250 mmol/L NaCl 处理 2 d 后，根、茎、叶中的 Na^+/K^+ 比值都显著升高。而与空载对照复合体相比，盐胁迫条件下过表达复合体中根、茎中的 Na^+/K^+ 显著低于空载对照；叶中 Na^+/K^+ 没有显著性差异（图 6）。

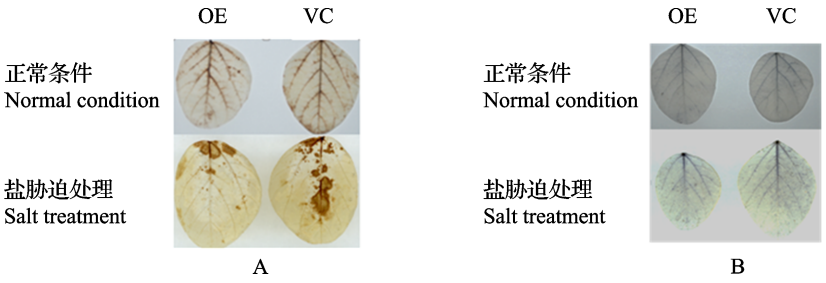


A：正常条件与盐胁迫处理的大豆植株表型；B：空载对照复合体与过表达复合体叶片相对含水率；C：空载对照和过表达复合体叶片叶绿素相对含量。盐胁迫处理：250 mmol/L NaCl，处理时间：2d。OE：过表达株系，VC：空载对照。不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$），下同

A: The soybean phenotype of normal and salt treatment, B: Relative water content in VC and OE, C: The relative content of chlorophyll in OE and VC leaves.Salt treatment: 250 mmol/L NaCl, Time of salt treatment: 2 days.OE: Overexpressing complex, VC: Vacant control complex.Different letters indicate signficant difference at 0.05 level, the same as below

图 4　盐胁迫对 *GmTFIIIC* 基因过表达转基因复合体表型的影响

Fig.4　The effects of salt stress on the phenotype of *GmTFIIIC* overexpressing complex

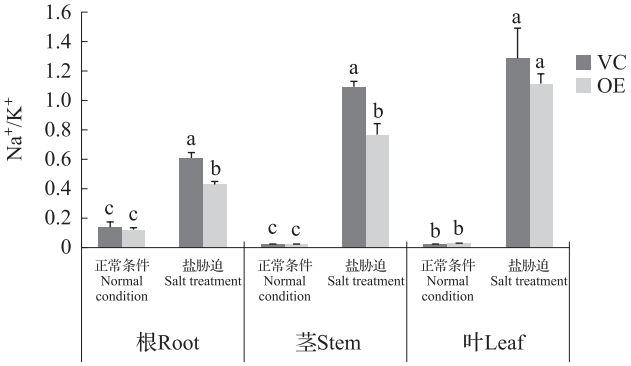


随机选取 3 个 *GmTFIIIC* 过表达株系和空载对照的叶片 10 片进行染色，选择 3 个株系表现一致的叶片进行拍照。A：DAB 检测 H_2O_2 含量；B：NBT 检测 O_2^- 含量

Ten leaves were chosen randomly from each overexpression line and vacant control complex to dye and take photo for the leaves with the same phenotype after dying within 3 overexpression lines.A: Detection of H_2O_2 content by DAB, B: Detection of O_2^- content by NBT

图 5　DAB 和 NBT 检测 H_2O_2 和 O_2^- 含量

Fig.5　Detection of H_2O_2 and O_2^- content by DAB and NBT methods



分别对比根、茎、叶中正常及盐胁迫条件下空载对照和过表达复合体 4 组 Na^+/K^+ 比例的差异

Comparing respectively the Na^+/K^+ ratio of roots, stems and leaves in OE and VC under normal condition and salt stress

图 6 正常与盐胁迫处理条件下空载对照和过表达复合体植株根、茎、叶的 Na^+/K^+

Fig.6 Na^+/K^+ ratio of roots, stems and leaves in OE and VC under normal condition and salt stress

3 讨论

转录因子 TFIIIC 通常和 TFIIIB 协同作用于 PolIII，和转录起始、蛋白质合成密切相关[5]。但 TFIIIC 如何响应逆境的相关研究非常少，仅在酵母[5]、高粱[6]中发现 TFIIIC 与逆境胁迫相关。在酵母细胞中，在营养缺乏等逆境条件下，TFIIIC 表达增强，通过占据 Pol III 与靶标 DNA 的结合位点，严重抑制 Pol III 起始转录[5]，可能通过影响一些基因的表达，响应逆境胁迫。本研究中，盐胁迫条件下，在大豆根中 *GmTFIIIC* 上调表达；且过表达 *GmTFIIIC*，提高了转基因复合体植株的耐盐能力，主要表现在盐胁迫下 *GmTFIIIC* 过表达复合体植株根、茎中 Na^+/K^+ 显著低于空载对照复合体植株；过表达复合体植株叶片中 H_2O_2 与 O_2^- 含量显著低于空载对照；而叶片中叶绿素含量和相对含水率要显著高于空载对照。

高盐胁迫会导致 H_2O_2 和 O_2^- 的形成。细胞过氧化物的升高将会通过氧化伤害细胞膜结构扰乱正常的代谢过程，最终导致细胞死亡[14]。盐胁迫下，和空载对照相比，我们在 *GmTFIIIC* 过表达复合体的叶片中检测到较少的棕色物质及蓝色斑点，说明 *GmTFIIIC* 过表达减轻了盐胁迫对叶片细胞的 ROS 伤害。另外，盐胁迫下 *GmTFIIIC* 过表达复合体叶片中的叶绿素含量高于空载对照。所以 *GmTFIIIC* 可能通过抑制 ROS 的积累以及叶绿素的降解来提高植物对高盐胁迫的适应能力。而很多植物对高盐胁迫的耐受能力往往和高效的抗氧化系统密切相关[15-16]。

基因过表达作为研究基因功能的主要方法之一已经得到广泛应用[17-18]，但是只利用过表达目的基因来说明基因的功能略显单一。因为过表达转基因植株中通常采用 35S 驱动目的基因表达，因此部分表型可能是由于基因异位造成的。因此，为了更加准确地说明大豆 *GmTFIIIC* 基因在盐胁迫下的功能，与 CRSPR/Cas9 技术结合，将 *GmTFIIIC* 基因突变，可作为基因过表达研究基因功能的一个补充。此外，在前期的工作中，本试验也利用 CRSPR/Cas9 技术对 *GmTFIIIC* 基因进行了编辑，并获得了一些突变类型。为了准确检测 *GmTFIIIC* 基因突变对植物耐盐能力的影响，我们首先对大豆每条发状根进行阳性突变的检测，并将阴性根剪除，只保留阳性根进行转基因复合体的盐胁迫处理。但由于发状根总体数量不多，去除阴性根后，转基因复合体的根会更少，很难准确测定转基因复合体盐胁迫下的各生理指标及表型性状。因此，后续我们会进一步筛选 sgRNA 或优化载体来进行 *GmTFIIIC* 基因功能的深入研究。

参考文献

[1] Lee G J, Boerma H R, Villagarcia M R, Zhou X, Carter T E, Li Z, Gibbs M O.A major QTL conditioning salt tolerance in S-100 soybean and descendent cultivars.Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(8): 1610-1619

[2] Guan R, Qu Y, Guo Y, Yu L, Liu Y, Jiang J, Chen J, Ren Y, Liu G, Tian L, Jin L, Liu Z, Hong H, Chang R, Gilliham M, Qiu L.Salinity tolerance in soybean is modulated by natural variation in *GmSALT3*.The Plant Journal, 2014, 80(6): 937-950

[3] Qi X, Li M W, Xie M, Liu X, Ni M, Shao G, Song C, Kay-Yuen Yim A, Tao Y, Wong F L, Isobe S, Wong K S, Xu C, Li C, Wang Y, Guan R, Sun F, Fan G, Xiao Z, Zhou F, Phang T H, Liu X, Tong S W, Chan T F, Yiu S M, Tabata S, Wang J, Xu X, Lam H M.Identification of a novel salt tolerance gene in wild soybean by whole-genome sequencing.Nature Communications, 2014, 5: 4340

[4] Vannini A, Cramer P.Conservation between the RNA polymerase I, II, and III transcription initiation machineries. Molecular Cell, 2012, 45(4): 439-446

[5] Roberts D N, Wilson B, Huff J T, Stewart A J, Cairns B R.Dephosphorylation and genome-wide association of Maf1 with Pol III-transcribed genes during repression.Molecular Cell, 2006, 22(5): 633-644

[6] Gelli M, Konda A R, Liu K, Zhang C, Clemente T E, Holding D R, Dweikat I M.Validation of QTL mapping and transcriptome profiling for identification of candidate genes associated with nitrogen stress tolerance in sorghum.BMC Plant Biology, 2017, 17(1): 123

[7] Veena V, Taylor C G.*Agrobacterium rhizogenes*: recent developments and promising applications.In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2007, 43(5): 383-403

[8] Guillon S, Trémouillaux-Guiller J, Pati P K, Rideau M, Gantet P.Hairy root research: recent scenario and exciting prospects. Current Opinion in Plant Biology, 2006, 9(3): 341-346

[9] Ortega-Amaro M A, Rodríguez-Kessler M, Rodríguez-Hernández A A, Becerra-Flora A, Rosales-Mendoza S, Jiménez-Bremont J F.Overexpression of *AtGRDP2* gene in common bean hairy roots generates vigorous plants with enhanced salt tolerance.Acta Physiologiae Plantarum, 2016, 38(3): 1-6

[10] Tang F, Yang S, Liu J, Zhu H.Rj4, a gene controlling nodulation specificity in soybeans, encodes a thaumatin-like protein, but not the one previously reported.Plant Physiology, 2016, 170(1): 26-32

[11] Sun X, Hu Z, Chen R, Jiang Q, Song G, Zhang H, Xi Y.Targeted mutagenesis in soybean using the CRISPR-Cas9 system. Scientific Reports, 2015, 5: 10342

[12] Li M, Hu Z, Jiang Q Y, Sun X J, Guo Y, Qi J C, Zhang H.*GmNAC15* overexpression in hairy roots enhances salt tolerance in soybean.Journal of Integrative Agriculture, 2018, 17(3): 530-538

[13] 孟强，姜奇彦，牛风娟，孙现军，胡正，张辉 . 盐胁迫下不同抗性野生大豆（*Glycine soja*）生理生化性状比较分析 . 中国农业科技导报，2017, 19(8): 25-32
Meng Q, Jiang Q Y, Niu F J, Sun X J, Hu Z, Zhang H.Comparative analysis of physiological and biochemical characters of *Glycine soja* under NaCl stress.Journal of Agricultural Science and Technology, 2017, 19(8): 25-32

[14] Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, Abe H, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K.Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in Arabidopsis.The Plant Cell, 1998, 10(8): 1391-1406

[15] Mittler R.Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 2002, 7(9): 405-410

[16] Xie Z, Duan L, Tian X, Wang B, Eneji A E, Li Z.Coronatine alleviates salinity stress in cotton by improving the antioxidative defense system and radical-scavenging activity.Journal of Plant Physiology, 2008, 165(4): 375-384

[17] 姜奇彦，孟强，牛风娟，孙现军，胡正，张辉 . 小麦 *TaLEA1* 基因的表达特征及抗逆功能验证 . 植物遗传资源学报，2017, 18(2): 310-317
Jiang Q Y, Meng Q, Niu F J, Sun X J, Hu Z, Zhang H.Expression analysis of wheat *TaLEA1* gene and its functional analysis in *Arabidopsis*.Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(2): 310-317

[18] 姜奇彦，李丽丽，牛风娟，孙现军，胡正，张辉 . 过表达 *TaLEA1* 和 *TaLEA2* 基因提高转基因拟南芥的耐盐性 . 植物遗传资源学报，2017, 18(3): 509-519
Jiang Q Y, Li L L, Niu F J, Sun X J, Hu Z, Zhang H.Overexpression of *TaLEA1* and *TaLEA2* genes improves salt tolerance in *Arabidopsis*.Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(2): 509-519

欢迎订阅 2020 年《大麦与谷类科学》

《大麦与谷类科学》由江苏省农业科学院主管，江苏沿海地区农业科学研究所主办，是中国作物学会大麦专业委员会与江苏省农学会农作物类科技期刊。主要报道大麦、小麦、水稻、玉米、高粱、燕麦、谷子等禾谷类作物的研究动态和科技进展。内设栏目有：专家视点（综述报告）、生理与生态、栽培与育种、土肥与植保、贮藏与加工、资源与环境、品种简介、现代大农业、简讯与信息、人物介绍等。主要作者及读者为：从事农业科研、农技推广、农业管理人员，以及农业大、中、专院校师生等。

本刊为《中国期刊全文数据库》、《中文科技期刊数据库》、《中国核心期刊（遴选）数据库》、超星期刊域出版平台全文收录期刊，《中国学术期刊综合评价数据库》统计源期刊，江苏省期刊质量 A 级学术期刊。

国内外公开发行，国内统一刊号 CN32-1769/S，国际刊号 ISSN 1673-6486。国内每期定价 15.00 元，全年 6 期共 90 元，双月份月底自办发行。本刊开展广告业务，四封及插页刊登广告，彩色印刷。

地址：江苏省盐城市开放大道北路 9 号

邮编：224002

电话：0515-88330625

网址：http://dmkx.cbpt.cnki.net

电子信箱：damkx@163.com

公众号：damkx1984

QQ 群：258784863