



大豆 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 生物信息学分析及干旱和盐胁迫诱导表达

李佳欣¹, 孙莹莹¹, 邓雅文¹, 轩称心¹, 马志强¹, 马洪宇¹, 张 军², 翟 莹¹

(1. 齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江省农业科学院 畜牧兽医分院, 黑龙江 齐齐哈尔 161005)

摘 要: 膨胀素 (Expansin, EXP) 通过调控细胞壁的松弛在植物应对环境胁迫过程中起着重要作用。为研究 EXP 基因在大豆应对干旱和盐胁迫过程中的作用, 本研究对大豆中的两个 EXP 基因 (*GmEXPB3* 和 *GmEXPB6*) 进行生物信息学分析, 通过实时荧光定量 RT-PCR (qRT-PCR) 检测基因干旱和盐胁迫后的表达量。结果表明: *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 基因分别位于大豆第 3 和 11 号染色体上, 编码的蛋白序列长度分别为 267 和 277 个氨基酸。GmEXPB3 蛋白分子量为 28.81 kDa, 理论等电点为 5.62; GmEXPB6 蛋白分子量为 29.37 kDa, 理论等电点为 4.95。GmEXPB3 和 GmEXPB6 均为不稳定的亲水蛋白且定位于细胞壁中。GmEXPB3 和 GmEXPB6 蛋白均含有 1 个保守的 DPBB_1 结构域。GmEXPB3 蛋白与小麦 TaEXPB10 蛋白的亲缘关系最近, GmEXPB6 蛋白与 GmEXPB2 蛋白亲缘关系最近。干旱胁迫能够诱导 *GmEXPB3* 的表达, 但不能诱导 *GmEXPB6* 的表达。盐胁迫能够诱导 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 的表达。*GmEXPB3* 的启动子区域含有 5 种与逆境有关的顺式作用元件, *GmEXPB6* 的启动子区域含有 4 种与逆境有关的顺式作用元件。研究结果可为大豆 EXPB 基因抗逆机制的研究及应用提供理论依据。

关键词: 大豆; 膨胀素; EXPB; 生物信息学分析; 非生物胁迫; 表达分析

Bioinformatics Analysis of *GmEXPB3* and *GmEXPB6* and Their Expression Induced by Drought and Salt Stress in Soybean

LI Jiaxin¹, SUN Yingying¹, DENG Yawen¹, XUAN Chenxin¹, MA Zhiqiang¹, MA Hongyu¹, ZHANG Jun², ZHAI Ying¹

(1. College of Life Science and Agro-Forestry of Qiqihar University, Qiqihar 161006, China; 2. Branch of Animal Husbandry and Veterinary of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar 161005, China)

Abstract: Expansin (EXP) plays an important role in plant response to environmental stress by regulating cell wall relaxation. To explore the role of EXP genes in soybean response to drought and salt stress, two EXP genes (*GmEXPB3* and *GmEXPB6*) in soybean were analyzed by bioinformatics, and their expression levels were analyzed by real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR). The *GmEXPB3* and *GmEXPB6* were located on chromosomes 3 and 11 of soybean, respectively, and encoded proteins containing 267 and 277 amino acids, respectively. The molecular weight of GmEXPB3 protein is 28.81 kDa and the theoretical isoelectric point is 5.62. The molecular weight of GmEXPB6 protein is 29.37 kDa and the theoretical isoelectric point is 4.95. GmEXPB3 and GmEXPB6 are both unstable hydrophilic proteins and localized in the cell wall. Both GmEXPB3 and GmEXPB6 proteins contained a conserved DPBB_1 domain. GmEXPB3 protein was closely related to TaEXPB10 protein in wheat, and GmEXPB6 protein was closely related to GmEXPB2 protein in soybean. Drought stress could induce the expression of *GmEXPB3*, but not *GmEXPB6*. Salt stress could induce the expression of *GmEXPB3* and *GmEXPB6*. The promoter region of *GmEXPB3* contained five stress related *cis*-elements. The promoter region of *GmEXPB6* contained four stress related *cis*-elements. The results provide a theoretical basis for the study and application of stress-resistance mechanism of EXPB gene in soybean.

Keywords: soybean; expansin; EXPB; bioinformatics analysis; abiotic stress; expression analysis

膨胀素 (Expansin, EXP) 也称为拓展蛋白, 最早从黄瓜细胞壁中分离出来^[1]。EXP 是一类在植物细胞生长期间释放的具有非水解酶活性的细胞壁松弛蛋白, 广泛存在于各种植物中, 几乎参与了植物的各个生长发育过程, 包括种子的萌发、根毛的形成、茎和叶的发育、果实的成熟及逆境响应等^[2-5]。EXP 为多基因家族, 主要分为 EXPA (α -expansin)、EXPB (β -expansin)、EXLA (Expansin-like A) 和 EXLB (Expansin-like B) 4 个亚家族^[6], 又以

EXPA 和 EXPB 两个亚家族较为主要, 它们的功能在许多方面既有相似之处但也存在不同。

研究发现, EXP 基因多为诱导型基因, 易受各种激素和生物及非生物胁迫的诱导表达^[7]。低温胁迫可以诱导 *TaEXPB8* 和 *TaEXPB10* 在冬小麦中的表达, 且它们在强抗寒小麦品种中的表达量明显高于低抗寒小麦品种^[8]。相反, *TaEXPB12-A/B/D* 这 3 个同源基因在冬小麦中的表达则被低温胁迫所抑制, 而干旱胁迫和脱落酸、茉莉酸甲酯及水杨酸

收稿日期: 2024-05-19

基金项目: 黑龙江省大学生创新创业训练计划 (S202310232113); 黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目 (145109506)。

第一作者: 李佳欣 (2002—), 女, 本科生, 专业为生物科学。E-mail: 2240127034@qq.com。

通讯作者: 翟莹 (1982—), 女, 博士, 教授, 主要从事大豆分子遗传育种研究。E-mail: fairy39809079@126.com。

处理则会诱导它们的表达^[9]。盐胁迫可以促进抗盐玉米品种中 *ZmEXPB2*、*ZmEXPB6* 和 *ZmEXPB8* 表达量的上调^[10]。干旱和缺磷胁迫能够诱导 *OsEXPB2* 在水稻中的表达^[11]。利用 EXP 基因改良作物的抗逆性也逐渐成为可能。玫瑰 *RhEXPA4* 在拟南芥中过表达后产生了短茎、卷曲叶和花序紧凑的表型,且转基因植株对于干旱和盐胁迫的耐受性增强^[12]。小麦 *TaEXPB23* 的过表达提高了转基因烟草的氧化胁迫耐受性^[13]。谷子 *SiEXPB5* 在干旱胁迫下表达量增加,其异源表达能够增强转基因拟南芥的抗旱性^[14]。野生大麦 *HvEXPB7* 通过促进根毛伸长来增强抗旱性^[15]。烟草 *NtabEXPA12* 通过增大细胞体积进而促进烟草叶片的扩展,过表达 *NtabEXPA12* 提高了转基因植株的抗盐和抗旱性^[16]。

大豆是我国重要的粮油饲兼用作物,在保障国家粮食安全中具有重要的地位。通过分子育种改良培育抗旱、抗盐大豆品种,实现旱地、盐碱地大豆产量与品质的协同提高,对缓解目前我国面临的粮食安全问题具有重大意义。到目前为止,EXPB 基因的相关研究大多集中于禾本科作物。研究发现,大豆中共存在 9 个 EXPB 基因^[17]。Guo 等^[18]报道大豆 *GmEXPB2* 在非生物胁迫环境下与根系统的形态建成密切相关。大豆中其他 EXPB 基因与非生物胁迫关系的研究尚鲜见报道。鉴于 EXPB 基因的研究可能对大豆抗逆性的改良及产量的提高发挥积极作用,本研究针对大豆 EXPB 基因家族中的 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 进行生物信息学分析,并对它们在干旱和盐胁迫处理下的表达量进行检测,为大豆 EXPB 基因抗逆机制的研究及应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆品种为克山 1 号,由黑龙江省农业科学院克山分院提供。

1.2 试验设计

选择大小一致、饱满的大豆种子,均匀播撒在沙土和草炭土(1:1混合)中,覆膜管理。待种子萌发,根长至 6~8 cm 时(7 d 左右)移入 Hoagland 营养液中培养,期间 2~3 d 更换 1 次营养液。7 d 左右,幼苗第一片三出复叶基本展开,开始进行干旱

和盐胁迫处理。分别配置含有 20% PEG8000 和 250 mmol·L⁻¹ NaCl 的 Hoagland 营养液,将幼苗根部浸入其中分别进行干旱和盐胁迫处理。将未经处理的 0 h(对照)以及胁迫处理后 1,2,5,10 和 24 h 设置为取样时间点,在每个时间点分别取 0.1 g 第一片三出复叶并于液氮中速冻。所取叶片样品材料均保存在-80℃超低温冰箱中。

1.3 方法

1.3.1 生物信息学分析 从 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库下载大豆 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 的基因编码序列及蛋白质氨基酸序列。利用在线网站 ProtParam(<https://web.expasy.org/protparam/>)进行蛋白的基本理化性质分析。利用在线网站 PSORT(<https://www.genscript.com/tools/psort>)预测蛋白的亚细胞定位。利用在线网站 SMART(<https://smart.embl-heidelberg.de/>)分析预测蛋白序列的保守结构域及所在位置。使用 DNAMAN 8 软件进行蛋白序列比对。使用在线数据库 Phytozome(<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/blast-search>)搜索并下载 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 的启动子序列,利用在线软件 PlantCARE(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)预测 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 启动子中的顺式作用元件。利用 MEGA7 软件构建 EXPB 蛋白系统进化树。

1.3.2 RNA 提取及 cDNA 合成 利用 TaKaRa 公司的 RNAiso Plus 试剂分别提取各叶片样品的总 RNA。使用 Innovagene 公司的反转录试剂盒合成 cDNA 第一链,-20℃冻存。

1.3.3 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR) 利用 Primer Premier 5.0 软件,根据 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 的 cDNA 序列设计 qRT-PCR 引物。qRT-PCR 内参基因选取大豆 *Gmβ-Tubulin* 基因^[19]。引物序列如表 1 所示,引物由长春生工生物公司合成。以各样品的 cDNA 为模版,使用 Innovagene 公司的 2×Taq SYBR Green qPCR Mix 试剂盒,在 BIO-RAD CFX96 Real-Time PCR 仪上,对 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 在干旱和盐胁迫下的表达量进行 qRT-PCR 检测。qRT-PCR 的程序设置和体系参照 Qiu 等^[19],所有处理均采用 3 次重复,依据 2^{-ΔΔCt} 法^[20]计算 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 的基因相对表达量。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 Primer sequences of qRT-PCR

基因 Genes	上游引物(5'-3') Forward primers(5'-3')	下游引物(5'-3') Reverse primers(5'-3')
<i>Gmβ-Tubulin</i>	GGAAGGCTTTCTTGCATTGGTA	ACTGGCATCCTGCTACTGC
<i>GmEXPB3</i>	AACCTGTGAGCGTGATGATAACTG	CGAAGATTATCTGCTTGGCCTGGAG
<i>GmEXPB6</i>	TGCCAAGGTTGAACTCAAGGAAGC	TTGCCAGACTCAAGTGTGTTAGC

2 结果与分析

2.1 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 基因及编码蛋白序列分析

从 NCBI 数据库中获取两个功能未被鉴定的大豆 EXPB 基因, *GmEXPB3* (Genebank 登录号: NM001289225) 和 *GmEXPB6* (Genebank 登录号: NM001252868)。如表 2 所示, *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6*

基因分别位于大豆第 3 和 11 号染色体上, 编码的蛋白序列分别为 267 和 277 个氨基酸。预测 *GmEXPB3* 蛋白分子量为 28. 81 kDa, 理论等电点为 5. 62; *GmEXPB6* 蛋白分子量为 29. 37 kDa, 理论等电点为 4. 95。 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 蛋白的不稳定系数均大于 40, 亲水性指数均为负值, 表明它们均为不稳定的亲水蛋白。亚细胞定位预测结果显示, *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 蛋白均定位于细胞壁中。

表 2 大豆 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 基本信息及特征
Table 2 Basic information and characteristics of soybean *GmEXPB3* and *GmEXPB6*

基因 Genes	染色体位置 Location	氨基酸数 Number of amino acid	分子量 Molecular weight/ka	等电点 Isoelectric point	不稳定系数 Instability index	亲水性指数 Hydrophilic index	亚细胞定位 Subcellular localization
<i>GmEXPB5</i>	Chr3	267	28. 81	5. 62	48. 12	-0. 003	细胞壁
<i>GmEXPB7</i>	Chr11	277	29. 37	4. 95	46. 74	-0. 140	细胞壁

GmEXPB3 和 *GmEXPB6* 蛋白的氨基酸序列如图 1 所示, 它们的同源性的为 49. 82%。在 *GmEXPB3* 蛋白序列的 N 端含有一段信号肽序列(1 到 24 位氨基酸), 但在 *GmEXPB6* 蛋白中并未预测到信号肽序

列。此外, *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 蛋白均含有 1 个保守的 DPBB_1 结构域(*GmEXPB3*: 77 ~ 153 位氨基酸; *GmEXPB6*: 84 ~ 165 位氨基酸), 此结构域是 EXP 家族蛋白的共有结构域。

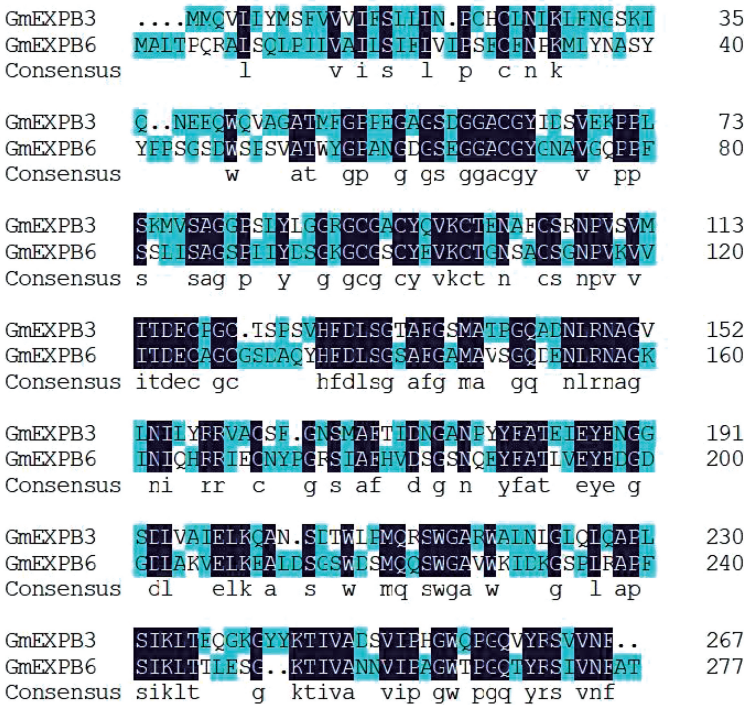
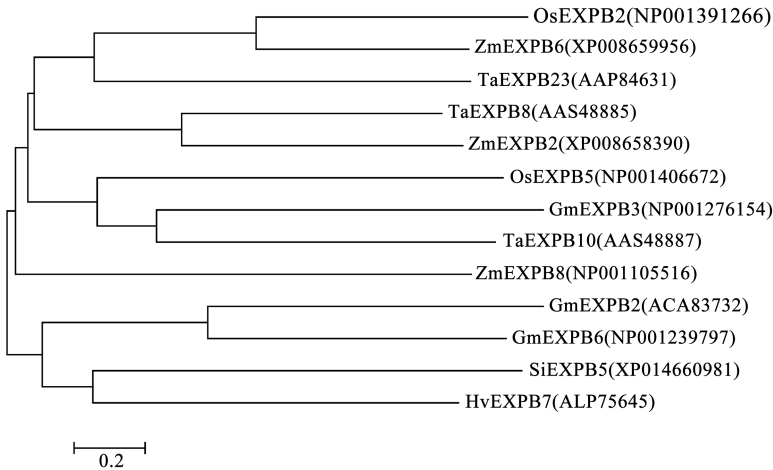


图 1 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 蛋白氨基酸序列比对
Fig. 1 Comparison of amino acid sequences of *GmEXPB3* and *GmEXPB6* proteins

2.2 植物 EXPB 蛋白系统进化分析

将 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 蛋白与已经得到鉴定的 11 个植物 EXPB 蛋白构建系统进化树如图 2

所示, *GmEXPB3* 蛋白与小麦 TaEXPB10 蛋白的亲缘关系最近, *GmEXPB6* 蛋白则与大豆中的另一个 EXPB 蛋白 *GmEXPB2* 的亲缘关系最近。

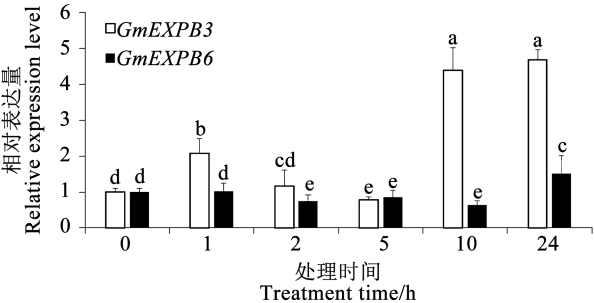


注: Os. 水稻; Zm. 玉米; Ta. 小麦; Gm. 大豆; Si. 谷子; Hv. 大麦。
Note: Os. *Oryza sativa*; Zm. *Zea mays*; Ta. *Triticum aestivum*; Gm. *Glycine max*; Si. *Setaria italica*; Hv. *Hordeum vulgare*.

图 2 植物 EXPB 蛋白系统进化分析
Fig. 2 Phylogenetic analysis of plant EXPB proteins

2.3 GmEXPB3 和 GmEXPB6 干旱胁迫表达分析

如图 3 所示:干旱胁迫能够诱导大豆幼苗中 GmEXPB3 表达,在干旱胁迫处理后 1,10 和 24 h 的表达量均明显高于对照(0 h),2 和 5 h 的表达量与对照相差不明显;相反, GmEXPB6 的表达量在干旱胁迫处理后变化不明显。



注:不同小写字母代表差异显著($P < 0.05$)。下同。
Note: Different lowercase indicate significant difference ($P < 0.05$). The same below.

图 3 GmEXPB3 和 GmEXPB6 在干旱胁迫处理下的表达量
Fig. 3 Expression of GmEXPB3 and GmEXPB6 under drought stress

2.4 GmEXPB3 和 GmEXPB6 盐胁迫表达分析

如图 4 所示, GmEXPB3 和 GmEXPB6 的表达量在盐胁迫处理后均呈现先升高后下降再升高的趋势。 GmEXPB3 表达量峰值出现在处理后 24 h, 是对照的 5.2 倍; GmEXPB6 表达量峰值出现在处理后 10 h, 是对照的 2.5 倍。

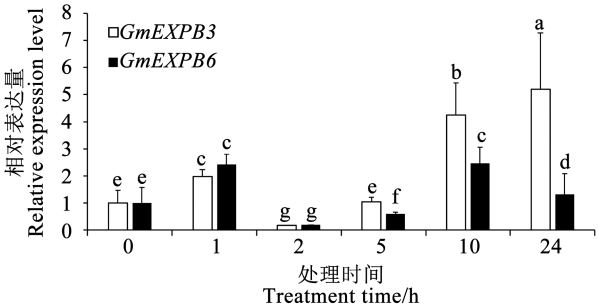


图 4 GmEXPB3 和 GmEXPB6 在盐胁迫处理下的表达量

Fig. 4 Expression of GmEXPB3 and GmEXPB6 under salt stress

2.5 GmEXPB3 和 GmEXPB6 启动子顺式作用元件预测分析

对 GmEXPB3 和 GmEXPB6 基因起始密码子 ATG 上游 2 000 bp 的启动子序列中潜在的逆境相关顺式作用元件的预测分析结果如表 3 所示: GmEXPB3 的启动子区域含有 5 种与逆境有关的顺式作用元件, 分别是 1 个厌氧诱导元件(ARE)、1 个茉莉酸甲酯响应元件(CGTCA-motif)、1 个赤霉素响应元件(GARE-motif)、1 个水杨酸响应元件(TCA-element) 和 1 个 MYB 转录因子结合位点(MYB-binding site); GmEXPB6 的启动子区域含有 4 种与逆境有关的顺式作用元件, 分别是 2 个脱落酸响应元件(ABRE)、1 个厌氧诱导元件(ARE)、3 个茉莉酸甲酯响应元件(CGTCA-motif) 和 1 个水杨酸响应元件(TCA-element)。

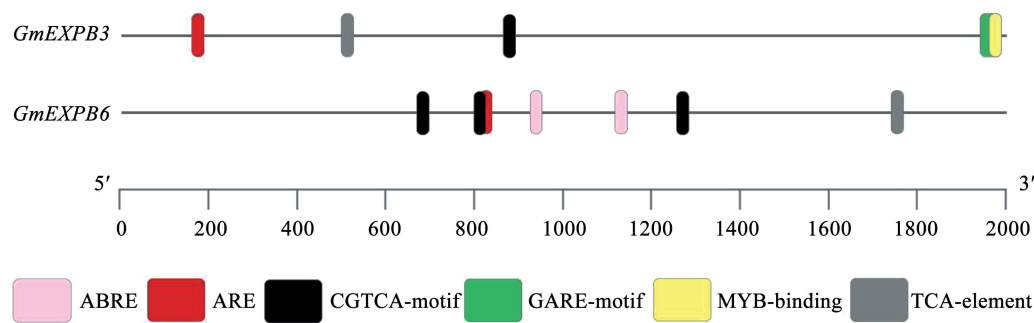


图 5 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 启动子顺式作用元件预测分析

Fig.5 Predictive analysis of *cis*-elements in *GmEXPB3* and *GmEXPB6* promoters

3 讨论

植物的生长包括细胞数量增加和细胞体积增大两条途径,EXP 主要在细胞体积增大过程中起作用。EXP 作为一种酶蛋白能够以非水解的方式作用于细胞壁,在不改变细胞壁共价结构的同时打断多糖间交联的氢键,从而增加细胞壁的柔韧性,促进细胞的生长和伸长^[21]。因此,EXP 可以通过重塑细胞壁的结构进而提高植物对外界不利环境条件的耐受性^[12]。大豆中存在 9 个 EXPB 基因^[17],本研究对其中功能尚未明确的 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 进行生物信息学分析。蛋白系统进化分析结果显示,*GmEXPB3* 蛋白和 *GmEXPB6* 蛋白的亲缘关系并不近。*GmEXPB3* 蛋白与小麦 *TaEXPB10* 蛋白的亲缘关系最近,研究显示 *TaEXPB10* 基因与小麦的抗寒性相关^[8]。*GmEXPB6* 蛋白则与同样来自大豆的 *GmEXPB2* 蛋白的亲缘关系最近,研究显示 *GmEXPB2* 基因在非生物胁迫环境下与大豆根系统的形态建成密切相关^[18]。由以上进化分析结果推测 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 很可能也在大豆遭受逆境胁迫时发挥积极作用。

qRT-PCR 结果显示, *GmEXPB3* 在大豆幼苗中对干旱和盐胁迫均存在响应, *GmEXPB6* 只响应盐胁迫。冯珊珊等^[9]推测干旱胁迫下 EXPB 基因表达量的升高与植物为了提高吸水能力而促进根毛生长相关。Han 等^[22]推测小麦 EXP 基因在盐胁迫下的上调表达可能在维持细胞内 Na⁺ 和 K⁺ 平衡中起重要作用。由此可以预见 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 可能在大豆抗盐和抗旱基因工程育种中存在潜在的应用价值。基因的表达主要发生在转录调控水平上,受多种顺式作用元件与反式作用因子的相互作用^[23]。对基因启动子中顺式作用元件进行分析有助于了解基因表达的调控网络^[24]。 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 启动子预测分析结果显示,这两个启动子序列中含有多个激素响应相关的顺式作用元

件。研究表明逆境胁迫会改变植物体内激素的含量,并通过信号分子以及与关键转录因子的互作来提高植物的抗逆性^[25-26]。脱落酸、茉莉酸甲酯、赤霉素和水杨酸等响应元件存在表明 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 的基因表达可能会受到多种激素信号分子的诱导^[27-28]。此外,在 *GmEXPB3* 启动子序列中还预测到 MYB 转录因子的结合位点,表明 *GmEXPB3* 有可能是功能多样的 MYB 家族转录因子调控的靶基因。盐和干旱胁迫能够显著诱导小麦部分 EXP 基因的表达与它们启动子序列中含有数量不等的逆境相关顺式元件有关^[22]。因此, *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 及其启动子可能通过响应多种激素参与大豆对干旱和盐胁迫的应答。

4 结论

GmEXPB3 和 *GmEXPB6* 基因分别位于大豆第 3 和 11 号染色体上,编码的蛋白序列长度分别为 267 和 277 个氨基酸。*GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 均为不稳定的亲水蛋白且定位于细胞壁中。*GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 蛋白均含有 1 个保守的 DPBB_1 结构域。*GmEXPB3* 蛋白与小麦 *TaEXPB10* 蛋白的亲缘关系最近,*GmEXPB6* 蛋白与 *GmEXPB2* 蛋白亲缘关系最近。干旱胁迫能够诱导 *GmEXPB3* 的表达,但不能诱导 *GmEXPB6* 的表达。盐胁迫能够诱导 *GmEXPB3* 和 *GmEXPB6* 的表达。 *GmEXPB3* 的启动子区域含有 5 种与逆境有关的顺式作用元件, *GmEXPB6* 的启动子区域含有 4 种与逆境有关的顺式作用元件。

参考文献

[1] MCQUEEN-MASON S, DURACHKO D M, COSGROVE D J. Two endogenous proteins that induce cell wall extension in plants[J]. The Plant Cell, 1992, 4(11): 1425-1433.

[2] YAN A, WU M, YAN L, et al. AtEXP2 is involved in seed germination and abiotic stress response in Arabidopsis[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e85208.

[3] ZOU H, WENWEN Y, ZANG G, et al. OsEXPB2, a β -expansin gene, is involved in rice root system architecture[J]. Molecular Breeding, 2015, 35(1): 41.

[4] XING S C, LI F, GUO Q F, et al. The involvement of an expansin gene *TaEXPB23* from wheat in regulating plant cell growth[J]. Biologia Plantarum, 2009, 53(3): 429-434.

[5] PALAPOL Y, KUNYAMEE S, THONGKHUM M, et al. Expression of expansin genes in the pulp and the dehiscence zone of ripening durian (*Durio zibethinus*) fruit[J]. Journal of Plant Physiology, 2015, 182: 33-39.

[6] KWON Y R, LEE H J, KIM K H, et al. Ectopic expression of *Expansin β 3* or *Expansin β 1* causes enhanced hormone and salt stress sensitivity in *Arabidopsis*[J]. Biotechnology Letters, 2008, 30(7): 1281-1288.

[7] 赵美荣, 李永春, 王玮. 扩展蛋白与植物抗逆性关系研究进展[J]. 植物生理学报, 2012, 48(7): 637-642. (ZHAO M R, LI Y C, WANG W. Research progress on relationship between expansin and plant resistance [J]. Plant Physiology Journal, 2012, 48(7): 637-642.)

[8] 王明晶, 王晓磊, 徐永清, 等. 冬小麦膨胀素基因 *TaEXPB8*、*TaEXPB10* 的克隆及低温表达分析[J]. 河南农业科学, 2017, 46(2): 6-11. (WANG M J, WANG X L, XU Y Q, et al. Cloning of *TaEXPB8* and *TaEXPB10* in winter wheat and their expression analysis under low temperature condition[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2017, 46(2): 6-11.)

[9] 冯珊珊, 徐永清, 赵梓颐, 等. 寒地冬小麦膨胀素基因 *TaEXPB12* 同源基因的克隆及功能分析[J]. 华北农学报, 2020, 35(6): 74-80. (FENG S S, XU Y Q, ZHAO Z Y, et al. Cloning and function verification of *TaEXPB12* homologous genes in frigid region winter wheat [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2020, 35(6): 74-80.)

[10] GEILFUS C M, ZÖRB C, MÜHLING K H. Salt stress differentially affects growth-mediating β -expansins in resistant and sensitive maize (*Zea mays* L.) [J]. Plant Physiology and Biochemistry: PPB, 2010, 48(12): 993-998.

[11] 文文乙豪. 水稻 *OsEXPB2* 基因的功能研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2013: 59-73. (WENWEN Y H. Functional analysis of *OsEXPB2* in rice (*Oryza sativa*) [D]. Chongqing: Chongqing University, 2013: 59-73.)

[12] LYU P, KANG M, JIANG X, et al. *RhEXPA4*, a rose expansin gene, modulates leaf growth and confers drought and salt tolerance to *Arabidopsis*[J]. Planta, 2013, 237(6): 1547-1559.

[13] HAN Y, CHEN Y, YIN S, et al. Over-expression of *TaEXPB23*, a wheat expansin gene, improves oxidative stress tolerance in transgenic tobacco plants[J]. Journal of Plant Physiology, 2015, 173: 62-71.

[14] 王金荣. 谷子萌发期扩展蛋白基因家族的鉴定、表达和功能分析[D]. 太谷: 山西农业大学, 2020: 34-45. (WANG J R. Identification, expression and functional analysis of the expansin gene family in foxtail millet during germination [D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2020: 34-45.)

[15] HE X, ZENG J, CAO F, et al. HvEXPB7, a novel β -expansin gene revealed by the root hair transcriptome of Tibetan wild barley, improves root hair growth under drought stress [J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(22): 7405-7419.

[16] 丁安明, 陈志华, 杨懿德, 等. *NtabEXPA12* 基因过表达对烟草叶片发育及抗逆性的影响[J]. 中国烟草科学, 2021, 42(4): 58-66. (DING A M, CHEN Z H, YANG Y D, et al. Overexpression of *NtabEXPA12* affects leaf development and abiotic stress tolerance in tobacco[J]. Chinese Tobacco Science, 2021, 42(4): 58-66.)

[17] ZHU Y, WU N, SONG W, et al. Soybean (*Glycine max*) expansin gene superfamily origins: Segmental and tandem duplication events followed by divergent selection among subfamilies[J]. BMC Plant Biology, 2014, 14: 93.

[18] GUO W, ZHAO J, LI X, et al. A soybean β -expansin gene *GmEXPB2* intrinsically involved in root system architecture responses to abiotic stresses[J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2011, 66(3): 541-552.

[19] QIU S, ZHANG J, HE J, et al. Overexpression of *GmGolS2-1*, a soybean galactinol synthase gene, enhances transgenic tobacco drought tolerance [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2020, 143(3): 507-516.

[20] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-Delta Delta C(T)} method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.

[21] FENG X, XU Y, PENG L, et al. TaEXPB7-B, a β -expansin gene involved in low-temperature stress and abscisic acid responses, promotes growth and cold resistance in *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Plant Physiology, 2019, 240: 153004.

[22] HAN Z, LIU Y, DENG X, et al. Genome-wide identification and expression analysis of expansin gene family in common wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. BMC Genomics, 2019, 20(1): 101.

[23] 周小琼, 丁一琼, 左丽, 等. 大豆硫酸转运蛋白基因 *GmSULTR1; 2b* 启动子的克隆及活性分析[J]. 中国农业科学, 2015, 48(8): 1650-1659. (ZHOU X Q, DING Y Q, ZUO L, et al. Cloning and activity analysis of the promoter of sulfate transporter gene *GmSULTR1; 2b* [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(8): 1650-1659.)

[24] YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SHINOZAKI K. Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters[J]. Trends in Plant Science, 2005, 10(2): 88-94.

[25] ZWACK P J, RASHOTTE A M. Interactions between cytokinin signalling and abiotic stress responses[J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(16): 4863-4871.

[26] SKUBACZ A, DASZKOWSKA-GOLEC A, SZAREJKO I. The role and regulation of ABI5 (ABA-insensitive 5) in plant development, abiotic stress responses and phytohormone crosstalk [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1884.

[27] TRIVEDI P K, NATH P. *MaExp1*, an ethylene-induced expansin from ripening banana fruit[J]. Plant Science, 2004, 167(6): 1351-1358.

[28] LI Y, TU L, YE Z, et al. A cotton fiber-preferential promoter, *PGbEXPA2*, is regulated by GA and ABA in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell Reports, 2015, 34(9): 1539-1549.