



大豆 *GmGolS* 基因高温胁迫应答及启动子活性分析

张 军¹, 翟 莹², 邱 爽², 尹琚伊¹, 张 艳¹, 金振华¹, 张 勇³, 王丽坤¹

(1. 黑龙江省农业科学院 畜牧兽医分院, 黑龙江 齐齐哈尔 161005; 2. 齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 3. 黑龙江省农业科学院 克山分院, 黑龙江 齐齐哈尔 161606)

摘 要:肌醇半乳糖苷合成酶(GoS)是棉子糖系列寡糖(RFOs)生物合成途径中的关键酶。为探究大豆 *GmGolS* 基因的高温胁迫调控机制,通过实时荧光定量 PCR 检测 *GmGolS* 在高温胁迫下的表达量,通过 PCR 从大豆基因组 DNA 中扩增 *GmGolS* 基因启动子序列,将其连接到植物表达载体 pCambia1301 上并转化烟草,通过 GUS 组织化学染色和实时荧光定量 PCR 检测 *GmGolS* 启动子的高温诱导启动活性。结果表明:高温胁迫可以强烈诱导 *GmGolS* 的表达。1 739 bp 的 *GmGolS* 启动子序列中含 1 个生长素响应元件、1 个干旱诱导的 MYB 转录因子结合位点、2 个厌氧诱导元件、1 个防御和胁迫响应元件、1 个脱落酸响应元件、1 个茉莉酸响应元件和 1 个缺氧诱导元件。成功获得 3 棵 *GmGolSP* 转基因烟草植株。*GmGolS* 启动子的活性可以被高温胁迫诱导。

关键词:大豆; *GmGolS*; 诱导型启动子; 肌醇半乳糖苷合成酶; 高温胁迫

Response of Soybean *GmGolS* Gene to Heat Stress and Promoter Activity Analysis

ZHANG Jun¹, ZHAI Ying², QIU Shuang², YIN Jun-yi¹, ZHANG Yan¹, JIN Zhen-hua¹, ZHANG Yong³, WANG Li-kun¹

(1. Branch of Animal Husbandry and Veterinary, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar 161005, China; 2. College of Life Science and Agro-Forestry, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China; 3. Keshan Branch, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar 161606, China)

Abstract: Galactinol synthase (GoS) is a key enzyme in the biosynthesis pathway of raffinose family oligosaccharides (RFOs). In order to explore the regulatory mechanism of soybean *GmGolS* under heat stress, we used real-time fluorescence quantitative PCR to detect *GmGolS* expression under heat stress, amplified *GmGolS* promoter sequence by PCR from soybean genomic DNA, constructed *GmGolS* promoter into plant expression vector pCambia1301 and transformed into tobacco. GUS histochemical staining and real-time fluorescence quantitative PCR were used to detect the heat-induced activation activity of *GmGolS* promoter. The results showed that the expression of *GmGolS* was significantly induced by heat stress. The 1 739 bp *GmGolS* promoter sequence contained one auxin response element, one drought-induced MYB transcription factor binding site, two anaerobic-induced elements, one defense and stress response element, one abscisic acid response element, one jasmonic acid response element and one anoxic-induced element. We obtained three *GmGolS* promoter transgenic tobacco plants successfully. The activation activity of *GmGolS* promoter could be induced by heat stress.

Keywords: soybean; *GmGolS*; inducible promoter; galactinol synthase; heat stress

棉子糖系列寡糖(raffinose family oligosaccharides, RFOs)是一种非结构性和水溶性碳水化合物,它们广泛分布于高等植物中^[1]。作为一种可溶性小分子,RFOs在植物非生物胁迫适应过程中起着重要作用。肌醇半乳糖苷合成酶(galactinol synthase, GoS)被认为是RFOs生物合成过程中的一种关键调节酶,它的活性决定了RFOs的积累水平^[2]。GoS基因已被广泛研究,它们往往在植物应对不同逆境条件时发挥作用,过表达GoS基因能够提高植物对不同非生物胁迫的耐受性。例如,过表达拟南芥 *AtGolS1* 可以提高转基因植株耐热性^[3],异源表达沙冬青 *AnGolS1* 可以提高转基因番茄耐寒性^[4],异源表达盐芥 *TsGolS2* 可以提高转基因拟南芥耐盐

性^[5],异源表达大豆 *GmGolS1* 和 *GmGolS2-1* 则分别提高转基因烟草耐热性和耐旱性^[6-7]。

基因的启动子是调控基因表达的重要顺式作用元件,它通常位于基因的5'端,通过与RNA聚合酶及其他转录因子蛋白结合起始基因转录,从而决定了基因表达强度及时空情况^[8]。对基因启动子调控机制进行研究也有利于该基因功能的鉴定。研究发现,玉米 *ZmGolS2* 受高温胁迫诱导表达,其启动子上存在热激响应元件,删除后 *ZmGolS2* 失去热激响应能力^[9]。毛果杨 *PtrGolS3* 启动子中含有多种逆境相关顺式作用元件,将其过表达后可以提高胁迫相关基因的表达,积累更多的可溶性糖,进而赋予转基因植物耐盐性^[10]。

收稿日期:2022-10-18

基金项目:齐齐哈尔市科技计划创新激励项目(CNYGG-2022021);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:张军(1982—),男,硕士,助理研究员,主要从事分子遗传育种研究。E-mail:307906439@qq.com。

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

目前鲜有大豆 *GolS* 基因启动子功能的相关报道。本课题组前期通过实时荧光定量 PCR 检测发现大豆 *GmGolS* 基因能够被干旱、高盐和低温胁迫诱导表达,尤其在干旱胁迫下其表达量可以提高 155 倍^[11]。本研究进一步对 *GmGolS* 基因在高温胁迫下的表达量及 *GmGolS* 启动子的高温诱导启动活性进行分析,以期对 *GmGolS* 基因的抗逆机制研究及 *GmGolS* 启动子在大豆抗逆基因工程育种中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆为北豆 9 号,烟草为 NC89。大肠杆菌 DH5 α 菌株和根癌农杆菌 EHA105 菌株均由齐齐哈尔大学植物分子育种研究室提供。

1.2 实验设计

采用实时荧光定量 PCR 方法检测 *GmGolS* 基因在高温胁迫下的表达量。从大豆叶片基因组 DNA 中克隆 *GmGolS* 基因启动子序列,使用在线软件预测启动子序列中的逆境相关顺式作用元件。构建 *GmGolS* 启动子植物表达载体并转化烟草。对 *GmGolS* 启动子转基因烟草进行高温处理,通过 GUS 组织化学染色和实时荧光定量 PCR 检测 *GmGolS* 启动子的活性。

1.3 方法

1.3.1 大豆幼苗高温处理及基因表达量检测 参照邱爽等^[11]方法水培大豆幼苗。将第一片三出复叶完全展开的大豆幼苗放置于 42 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中^[6,9],在 0 h(未处理)及高温处理后 1,2,5 和 10 h 分别称取 0.1 g 大豆幼苗第一片三出复叶,提取 RNA 并反转录^[9],采用实时荧光定量 PCR 方法^[9]检测 *GmGolS* 基因在高温胁迫下的表达量。

1.3.2 启动子克隆及预测分析 通过在线数据库 GmGDB (<http://www.plantgdb.org/GmGDB/>) 搜索 *GmGolS* 基因(Genebank 登录号: NM001251098)起始密码子上游 1 739 bp 启动子序列。利用 Primer 5 软件设计引物,以大豆基因组 DNA 为模板扩增 *GmGolS* 启动子序列(*GmGolSP*)。上游引物为 5'-GTCGACAGGATTTAGTAACGTAGGGCC-3',下游引物为 5'-CCATGGGATCTCAGTGATGATGAGTGTAG-3',下划线分别代表限制性内切酶位点 *Sal* I 和 *Nco* I。PCR 扩增产物与克隆载体 pMD18-T (Takara 公司)连接后送上海生工公司测序。测序后的启动子序列提交 PlantCARE ([http://](http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/)

bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/)在线数据库进行顺式作用元件预测分析。

1.3.3 植物表达载体构建及烟草遗传转化 使用限制性内切酶 *Sal* I 和 *Nco* I 分别对已构建的 pMD18-T-*GmGolSP* 载体和植物表达载体 pCambia1301 进行双酶切,回收酶切产物使用 DNA Ligation Kit (Takara 公司)连接。采用热激法^[12]将构建好的重组载体 pCambia1301-*GmGolSP* 转化至农杆菌 EHA105,采用叶盘法^[13]转化至烟草。在 MS 培养基中添加 8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 潮霉素筛选烟草愈伤组织,以抗性烟草转化苗叶片基因组 DNA 为模板,通过 PCR^[12]筛选 T_0 代阳性转基因烟草植株。

1.3.4 *GUS* 基因表达量检测 将野生型烟草和 56 d 的 T_1 代转基因烟草置于 42 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中进行高温处理。分别剪取未处理和高温处理 2 h 的烟草叶片,加入 GUS 染色液进行 GUS 组织化学染色,37 $^{\circ}\text{C}$ 温育过夜,75% 乙醇脱色至底色完全消失^[14]。参照邱爽等^[11]实时荧光定量 PCR 方法检测处理前及高温处理后转基因烟草中 *GUS* 基因的表达量。*GUS* 基因上游扩增引物为 5'-GATCGCGAAACTGTG-GAAT-3',下游扩增引物为 5'-TAATGAGTGACCG-CATCGAA3'^[15]。

1.3.5 数据分析 使用 Excel 2010 绘制基因表达量柱状图,使用 Student's *t* 检验法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫下 *GmGolS* 表达分析

高温胁迫处理后 *GmGolS* 的表达情况如图 1 所示:*GmGolS* 的表达可以被高温胁迫强诱导,处理 1 h 时 *GmGolS* 的表达量达到最大值,约为未处理对照(0 h)的 865 倍;随着处理时间的延长,*GmGolS* 的表达量有所下降,处理 10 h 时 *GmGolS* 的表达量约为未处理对照的 32 倍。

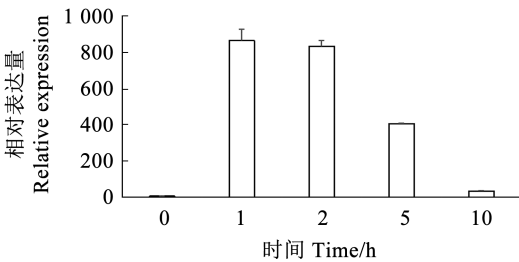


图 1 高温胁迫下 *GmGolS* 的表达量

Fig.1 Expression of *GmGolS* under heat stress

2.2 *GmGolS* 启动子克隆及顺式作用元件分析

对大豆基因组 DNA 进行 PCR 扩增,获得 1 739 bp 的 *GmGolS* 启动子序列(图 2)。在 NCBI 数据库中

未搜索到与 *GmGolS* 启动子具有较高同源性的启动子序列, *GmGolS* 启动子的功能尚未被鉴定。利用在线数据库 PlantCARE 对 *GmGolS* 启动子序列中顺式作用元件进行预测分析。结果如图 2 所示, *GmGolS* 启动子序列中含 1 个生长素响应元件 TGA-element、1 个干旱诱导的 MYB 转录因子结合位点 MBS、2 个

厌氧诱导元件 ARE、1 个防御和胁迫响应元件 TC-rich repeats、1 个脱落酸响应元件 ABRE、1 个茉莉酸响应元件 CGTCA-motif 及 1 个缺氧诱导元件 GC-motif。由以上预测结果推测 *GmGolS* 启动子可能是一个激素及逆境胁迫诱导相关的启动子。



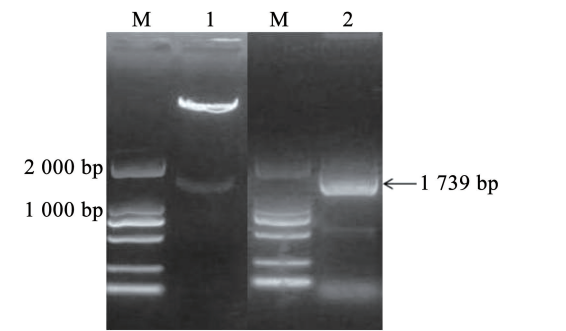
图 2 *GmGolS* 启动子序列及预测元件
Fig. 2 *GmGolS* promoter sequence and predictive elements

2.3 *GmGolS* 启动子植物表达载体构建及农杆菌转化

如图 3 所示: *Sal* I 和 *Nco* I 双酶切验证获得酶切片段条带(1 739 bp), 已将 *GmGolS* 启动子亚克隆到植物表达载体 pCAMBIA1301 上, 表明 pCAMBIA1301-*GmGolSP* 重组载体构建成功; 菌液 PCR 验证扩增出预期大小条带(1 739 bp), 已将 pCAMBIA1301-*GmGolSP* 重组载体转化根癌农杆菌 EHA105, 表明已获得含有 *GmGolS* 启动子的转基因工程菌。

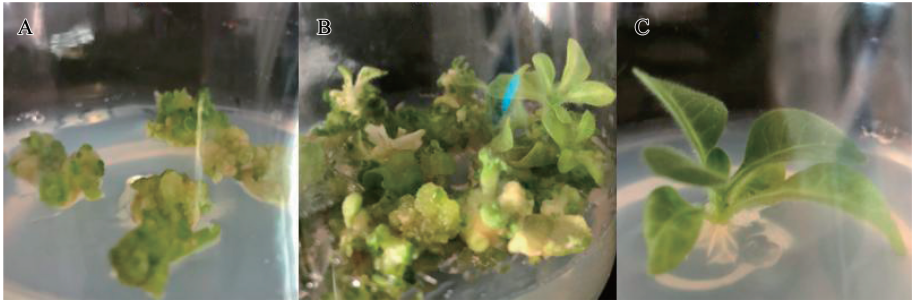
2.4 *GmGolS* 启动子烟草遗传转化及转基因植株筛选鉴定

如图 4 所示, 经烟草叶盘转化及再生, 共获得 3 棵具有潮霉素抗性的烟草转化植株。如图 5 所示, 3 棵烟草转化株系均扩增出预期大小的目的条带, 表明已经获得 *GmGolS* 启动子转基因烟草。



注: M. DL2000 分子量标记物; 1. pCAMBIA1301-*GmGolSP* 重组载体双酶切; 2. 农杆菌菌液 PCR 扩增产物。
Note: M. DL2000 marker; 1. Double digestive products of pCAMBIA1301-*GmGolSP* recombinant vector; 2. PCR amplification products with *Agrobacterium tumefaciens*.

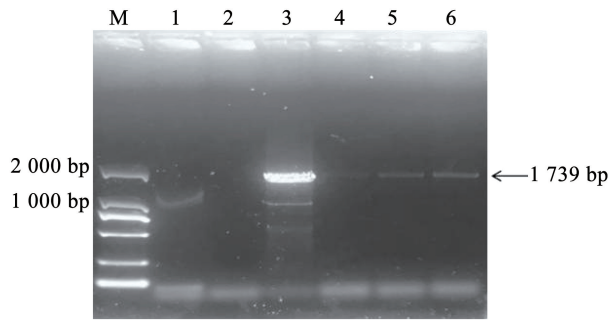
图 3 植物表达载体构建及农杆菌遗传转化
Fig. 3 Construction of plant expression vector and *Agrobacterium tumefaciens* transformation



注:A. 愈伤组织分化;B. 潮霉素抗性植株再生;C. 移植生根。
Note: A. Callus differentiation; B. Regeneration of hygromycin resistant plants; C. Transplantation and rooting.

图4 *GmGolS* 启动子转基因烟草再生及筛选

Fig. 4 Regeneration and screening of *GmGolS* promoter transgenic tobacco



注: M. DL2000 分子量标记物;1. 水;2. 野生型烟草;
3. pCAMBIA1301-*GmGolSP* 重组载体;4~6. *GmGolS* 启动子转基因烟草。
Note: M. DL2000 marker; 1. Water; 2. Wild type tobacco;
3. Recombinant vector of pCAMBIA1301-*GmGolSP*; 4-6. *GmGolS* promoter transgenic tobacco.

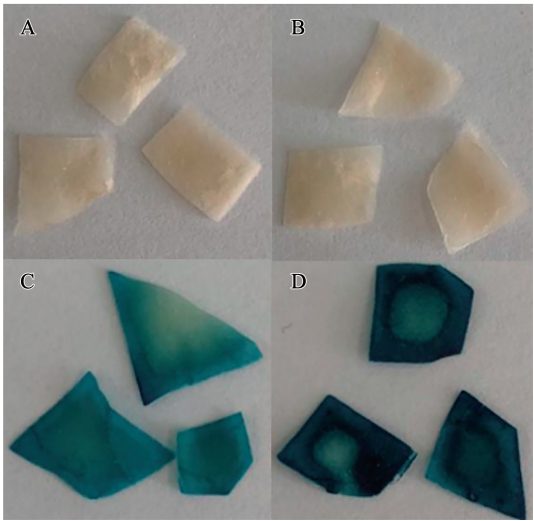
图5 *GmGolSP* 转基因烟草植株基因组 PCR 检测

Fig. 5 PCR detection on genomic of *GmGolS* promoter transgenic tobacco plants

2.5 高温诱导下 *GmGolS* 启动子活性分析

GUS 组织化学染色结果如图 6 所示:野生型烟草没有呈现出蓝色(图 6A、6B);未处理的 *GmGolS* 启动子转基因烟草叶片呈现出蓝色(图 6C),表明 *GmGolS* 启动子能够启动 *GUS* 报告基因的表达;高温处理后 *GmGolS* 启动子转基因烟草叶片呈现出蓝色(图 6D),且与未处理的 *GmGolS* 启动子转基因烟草叶片相比染色更深。结果表明 *GmGolS* 启动子经高温处理后活性增强,使 *GUS* 报告基因的表达量升高。

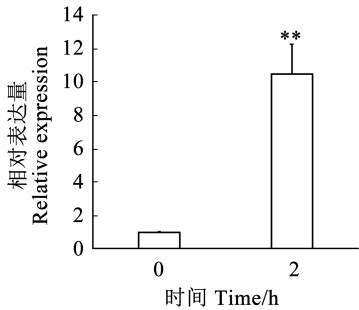
实时荧光定量 PCR 检测结果如图 7 所示,高温处理后转基因烟草叶片中 *GUS* 报告基因的表达量是未处理对照的 10.5 倍,表明 *GmGolS* 启动子的启动活性可以被高温胁迫诱导。



注:A. 未处理野生型烟草叶片;B. 高温处理 2 h 野生型烟草叶片;C. 未处理转基因烟草叶片;D. 高温处理 2 h 转基因烟草片。
Note: A. Leaves of untreated wild type tobacco; B. Leaves of wild type tobacco under heat treatment for 2 h; C. Leaves of untreated transgenic tobacco; D. Leaves of transgenic tobacco under heat treatment for 2 h.

图6 烟草叶片 GUS 组织化学染色

Fig. 6 GUS histochemical stain of tobacco leaves



注: ** 代表 0.01 水平差异显著。
Note: ** indicate significant difference at 0.01 level.

图7 高温胁迫下转基因烟草 *GUS* 基因表达量
Fig. 7 Expression of *GUS* in transgenic tobacco under heat treatment

3 讨论

在植物中,GolS 基因往往以多基因家族形式存在^[16-17],其中部分 GolS 基因可以应答高温胁迫。例如,*AtGolS1* 是热诱导基因,受热激响应因子 *HSF3* 的调控^[3]。葡萄 *VvGolS1* 和鹰嘴豆 *CaGolS1* 的表达也可以被高温胁迫诱导,且 *CaGolS1* 转基因拟南芥的耐热性提高^[18-19]。本研究中,*GmGolS* 的表达同样被高温胁迫诱导,但 *GmGolS* 的过表达是否能够提高转基因植物的耐热性还有待进一步鉴定。

理论上基因表达的模式和水平主要受基因启动子中顺式作用元件的调控^[20]。本研究发现在 *GmGolS* 启动子序列中存在多种与胁迫相关的顺式作用元件,表明 *GmGolS* 基因表达可能受非生物胁迫调控。前人研究^[11]和本研究均证明 *GmGolS* 确实可以响应干旱、高盐、低温和高温胁迫。EREB 转录因子和 WRKY 转录因子可以分别通过 DRE 元件和 W-box 元件调控部分 GolS 基因表达^[21-22]。在本研究中,*GmGolSP* 序列中含有 1 个 MYB 转录因子结合位点,MYB 转录因子家族基因在非生物胁迫反应和不同信号通路间均发挥重要调控作用^[23]。由此推测,逆境胁迫下 MYB 转录因子可能参与调控 *GmGolS* 的表达过程。但由于植物基因表达调控方式的复杂性,*GmGolS* 是否为 MYB 转录因子调控的靶基因还需进一步验证。玉米 *ZmGolS2* 启动子上存在热激响应元件,使其受高温胁迫诱导表达^[9]。而本研究中,*GmGolS* 启动子序列中不存在明显的热激响应元件,但 *GmGolS* 仍然能够响应高温胁迫。此种情况在其他启动子中也存在,例如大豆 *GmPM31* 基因和梭梭 *HaFT-3* 基因均可以响应高温胁迫,但它们的启动子中都不存在相关的高温应答元件^[24-25]。推测高温胁迫可能通过 *GmGolSP* 序列中的其他顺式作用元件或通过间接方式调控 *GmGolS* 表达。

4 结论

高温胁迫可以强烈诱导 *GmGolS* 表达。1 739 bp 的 *GmGolS* 启动子序列含 1 个生长素响应元件、1 个干旱诱导的 MYB 转录因子结合位点、2 个厌氧诱导元件、1 个防御和胁迫响应元件、1 个脱落酸响应元件、1 个茉莉酸响应元件和 1 个缺氧诱导元件。构建 *GmGolS* 启动子植物表达载体并获得 3 棵 *GmGolS* 启动子转基因烟草株系,研究表明 *GmGolS* 启动子的活性可以被高温胁迫诱导。

参考文献

[1] JORGE T F, FLORENCIO M H, RIBEIRO-BARROS A I, et al. Quantification and structural characterization of raffinose family oligosaccharides in *Casuarina glauca* plant tissues by porous graphitic carbon electrospray quadrupole ion trap mass spectrometry [J]. International Journal of Mass Spectrometry, 2017, 413: 127-134.

[2] GANGOLA M P, JAISWAL S, KANNAN U, et al. Galactinol synthase enzyme activity influences raffinose family oligosaccharides (RFO) accumulation in developing chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds[J]. Phytochemistry, 2016, 125: 88-98.

[3] PANIKULANGARA T J, EGGERS-SCHUMACHER G, WUNDERLICH M, et al. Galactinol synthase 1. A novel heat shock factor target gene responsible for heat-induced synthesis of raffinose family oligosaccharides in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2004, 136 (2): 3148-3158.

[4] LIU Y D, ZHANG L, MENG S D, et al. Expression of galactinol synthase from *Ammopiptanthus nanus* in tomato improves tolerance to cold stress[J]. Journal of Experimental Botany, 2019, 71(1): 435-449.

[5] SUN Z, QI X, WANG Z, et al. Overexpression of *TsGOLS2*, a galactinol synthase, in *Arabidopsis thaliana* enhances tolerance to high salinity and osmotic stresses [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2013, 69: 82-89.

[6] 李铭杨, 邱爽, 何佳琦, 等. 大豆 *GmGolS1* 的克隆及转基因烟草耐高温性鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2022, 23(2): 575-582. (LI M Y, QIU S, HE J Q, et al. Cloning of soybean *GmGolS1* and identification of heat resistance in transgenic tobacco[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23(2): 575-582.)

[7] QIU S, ZHANG J, HE J Q, 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.

[8] 郭晋艳, 郑晓瑜, 邹翠霞, 等. 植物非生物胁迫诱导启动子顺式元件及转录因子研究进展[J]. 生物技术通报, 2011, 4: 16-20. (GUO J Y, ZHENG X Y, ZOU C X. Research progress of cis-elements of abiotic stress inducible promoters and associated transcription factors [J]. Biotechnology Bulletin, 2011, 4: 16-20.)

[9] 谷雷. 玉米肌醇半乳糖苷合成酶 2 基因(*ZmGOLS2*)启动子上响应热激的顺式作用元件鉴定[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014. (GU L. Function and expression regulation of maize galactinol synthase 2 gene (*ZmGOLS2*) [J]. Yangling: Northwest Agriculture & Forestry University, 2014.)

[10] LIU L, WU X, SUN W, et al. Galactinol synthase confers salt-stress tolerance by regulating the synthesis of galactinol and raffinose family oligosaccharides in poplar [J]. Industrial Crops and Products, 2021, 165(7): 113432.

[11] 邱爽, 张军, 何佳琦, 等. 大豆肌醇半乳糖苷合成酶基因 *GmGolS* 克隆及非生物胁迫表达分析 [J]. 西南农业学报, 2021, 34(5): 945-949. (QIU S, ZHANG J, HE J Q, et al. Cloning and expression of galactinol synthase gene *GmGolS* in

soybean under abiotic stress [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2021, 34(5): 945-949.)

[12] 翟莹. 大豆 ERF 转录因子 *GmERF6* 和 *GmERF7* 的克隆与功能鉴定[D]. 长春: 吉林大学, 2012. (ZHAI Y. Isolation and characterization of ERF transcription factors, *GmERF6* and *GmERF7*, from soybean (*Glycine max* L.) [D]. Changchun: Jilin University, 2012.)

[13] HOEKEMA A, HIRSCH P R, HOOYKAAS P J, et al. A binary plant vector strategy based on separation of *vir*-and T-region of the *Agrobacterium tumefaciens* Ti-plasmid [J]. Nature, 1983, 303 (5913): 179-180.

[14] ZHAO Y, SHA W, WANG Q Y, et al. Molecular cloning and activity analysis of a seed-specific *FAD2-1B* gene promoter from *Glycine max* [J]. Cellular and Molecular Biology, 2015, 61 (4): 85-89.

[15] ACHARYA S, RANJAN R, PATTANAIK S, et al. Efficient chimeric plant promoters derived from plant infecting viral promoter sequences [J]. Planta, 2014, 239(2): 381-396.

[16] TAJI T, OHSUMI C, IUCHI S, et al. Important roles of drought- and cold-inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Journal, 2002, 29 (4): 417-426.

[17] DOS SANTOS T B, BUDZINSKI I G F, MARUR C J, et al. Expression of three galactinol synthase isoforms in *Coffea arabica* L. and accumulation of raffinose and stachyose in response to abiotic stresses [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2011, 49 (4): 441-448.

[18] PILLET J, EGERT A, PIERI P, et al. *VvGOLS1* and *VvHsfA2* are involved in the heat stress responses in grapevine berries [J]. Plant & Cell Physiology, 2012, 53(10): 1776-1792.

[19] PRAFULL S, NITIN U K, MANOJ M. Stress-inducible galactinol synthase of chickpea (*CaGolS*) is implicated in heat and oxidative stress tolerance through reducing stress-induced excessive reactive oxygen species accumulation [J]. Plant and Cell Physiology, 2018, 59(1): 155-166.

[20] LU S, YI S, ZHANG J, et al. Isolation and functional characterization of the promoter of *SEPALLATA3* gene in London plane and its application in genetic engineering of sterility [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2018, 136(6): 109-121.

[21] WANG Z, ZHU Y, WANG L, et al. A WRKY transcription factor participates in dehydration tolerance in *Boea hygrometrica* by binding to the W-box elements of the galactinol synthase (*BhGolS1*) promoter [J]. Planta, 2009, 230(6): 1155-1166.

[22] GU L, ZHANG Y, ZHANG M, et al. *ZmGOLS2*, a target of transcription factor *ZmDREB2A*, offers similar protection against abiotic stress as *ZmDREB2A* [J]. Plant Molecular Biology, 2016, 90(1/2): 157-170.

[23] SUN X, MATUS J T, WONG D C J, et al. The GARP/MYB-related grape transcription factor *AQUIL* improves cold tolerance and promotes the accumulation of raffinose family oligosaccharides [J]. Journal of Experimental Botany, 2018, 69(7): 1749-1764.

[24] 刘骥骅, 邱颖胜, 刘燕敏, 等. 大豆 *GmPM31* 基因生物学、组织表达及高温高湿响应分析 [J]. 大豆科学, 2021, 40 (5): 612-619. (LIU S S, QIU Y S, LIU Y M, et al. Analysis of soybean *GmPM31* bioinformatics, tissue expression and response to high temperature and high humidity [J]. Soybean Science, 2021, 40(5): 612-619.)

[25] 满玲娟, 任燕萍, 王波, 等. 梭梭 *HaFT-3* 基因启动子的克隆及功能分析 [J]. 植物生理学报, 2021, 57(6): 1189-1198. (MAN L J, REN Y P, WANG B, et al. Cloning and functional analysis of *HaFT-3* gene promoter from *Haloxylon Ammodendron* [J]. Plant Physiology Journal, 2021, 57(6): 1189-1198.)

协 办 单 位

中国作物学会大豆专业委员会
东北农业大学大豆研究所
吉林省农业科学院大豆研究所
南京农业大学大豆研究所
辽宁省农业科学院作物研究所
河北省农林科学院粮油作物研究所