

· 专题论坛 ·

野生大豆耐逆分子调控机制研究进展

王研, 贾博为, 孙明哲, 孙晓丽*

黑龙江八一农垦大学, 作物逆境分子生物学实验室, 大庆 163319

摘要 野生大豆(*Glycine soja*)起源于中国, 是栽培大豆(*G. max*)的近缘祖先, 逆境适应能力强, 是研究耐逆分子机制和挖掘耐逆关键调控基因的优良材料。该文综述了野生大豆耐逆基因组、转录组和蛋白质组等组学研究进展, 总结了近年来类受体蛋白激酶、转录因子、离子通道和氧化还原在野生大豆耐逆应答中的调控作用及机制, 为耐逆作物新品种培育提供了新思路。

关键词 逆境胁迫, 离子通道, 组学, 蛋白激酶, 氧化还原, 转录因子, 野生大豆

王研, 贾博为, 孙明哲, 孙晓丽 (2021). 野生大豆耐逆分子调控机制研究进展. 植物学报 56, 104–115.

大豆(*Glycine max*)原产于中国, 是仅次于水稻(*Oryza sativa*)、小麦(*Triticum aestivum*)和玉米(*Zea mays*)的第四大作物。我国大豆遗传基础狭窄, 加之受非生物胁迫(如盐碱、低温和干旱)和生物胁迫(病虫害)的影响, 致使其单位面积产值低于世界发达国家(盖钧镒, 2011)。因此, 通过大豆种质创新, 提高大豆品质和产量已成为我国农业发展的重要课题之一。

野生大豆(*G. soja*)是栽培大豆的祖先种(盖钧镒和赵团结, 2001; 夏正俊, 2017), 仅分布于亚洲东北部回归线以北区域(包括中国、朝鲜半岛、日本和俄罗斯的远东地区)(孙备等, 2008)。野生大豆耐逆性强且蛋白质含量高(杨光宇和纪锋, 1999)。近年来, 野生大豆的组学和耐逆基因挖掘均取得了较大进展, 为栽培大豆育种提供了宝贵的基因资源和亲本材料。本文主要综述野生大豆耐逆组学的研究进展, 以及蛋白激酶、转录因子、通道蛋白和氧化还原在野生大豆逆境应答中的调控作用及机制。

1 野生大豆耐逆组学

1.1 野生大豆基因组学

2010年, 美国能源部联合基因组研究所专家采用全基因组鸟枪测序法对大豆基因组进行了测序, 并且公

布了完整的大豆基因组序列草图(Schmutz et al., 2010), 为大豆基因组学研究奠定了基础。随后, 香港中文大学林汉明团队对17个野生大豆和14个栽培大豆进行了基因组重测序, 发现栽培大豆进化过程中丢失了野生大豆基因组的部分等位基因(Lam et al., 2010)。同年, 韩国首尔大学Kim等(2010)通过深度测序, 发现野生大豆与栽培大豆的基因组差异仅为0.31%。2014年, 中国农业科学院作物科学研究所Li等(2014)对7份野生大豆材料进行了从头测序和组装, 构建出首个野生大豆泛基因组, 发现野生大豆所特有的基因(主要与生物和非生物胁迫相关)占51.4%。2015年, 研究人员进一步对302份野生大豆、地方栽培大豆以及改良大豆材料进行重测序分析, 揭示了10个选定区域与9个驯化/改良性状之间的关联, 并鉴定了13个以前未表征的农艺性状位点(Zhou et al., 2015)。2019年, 香港大学Xie等(2019)对应用三代PacBio测序技术、Bionano Genomics双酶切光学图谱和高通量染色体构象捕获技术获得的数据进行组装, 并发布了野生大豆W05高质量参考基因组序列。随着基因组测序技术的日益成熟, 更多的种质材料将被重测序分析, 进而获得更多高质量的野生大豆基因组数据, 为挖掘野生大豆耐逆关键基因及解析耐逆分子机制提供有效信息。例如, Qi等(2014)以野生大豆

收稿日期: 2020-08-10; 接受日期: 2020-11-24

基金项目: 黑龙江八一农垦大学人才培养计划(No.ZRCPY201902)

* 通讯作者。E-mail: csmbl2016@126.com

和栽培大豆的重组自交系(recombinant inbred line, RIL)为材料, 利用全基因组测序进行了种子营养品质、产量和抗逆性等11个农艺性状的主效QTL (quantitative trait locus)定位分析, 并发现耐盐关键基因*GmCHX1*。此外, 通过对12个耐盐和11个盐敏感大豆基因组重测序, 发现耐盐品种中*GmCHX1*编码区和启动子区具有保守的SNP (single nucleotide polymorphism), 而盐敏感型呈多样化, 导致盐敏感型*GmCHX1*基因表达量低(Qi et al., 2014)。该研究揭示了野生大豆在驯化过程中的变异和进化规律, 为今后进一步精细解析野生大豆耐逆机理提供了理论依据。

1.2 野生大豆耐逆的转录组

对野生大豆进行转录组分析, 可快速且高通量地筛选逆境应答基因, 挖掘多途径信号转导通路的相关性。Ji等(2006)利用SMART (switching mechanism at 5' end of the RNA transcript)技术构建了150 mmol·L⁻¹ NaCl处理的野生大豆叶片cDNA文库, 对获得的2 003个高质量ESTs (expressed sequence tags)测序分析, 发现其中有2%的基因参与胁迫应答。Ali等(2012)采用数字基因表达谱(digital gene expression profiling, DGEP)分析了200 mmol·L⁻¹ NaCl处理下, 耐盐野生大豆(STGoGS)以及盐敏感栽培大豆(SSGoGM)基因表达差异, 发现耐盐野生大豆基因的表达水平较高且上调基因较多。Ge等(2010, 2011)利用基因芯片技术对50 mmol·L⁻¹ NaHCO₃处理的野生大豆(G07256)根和叶转录组进行分析, 发现碱处理后根中差异表达基因出现时间早于叶。Duanmu等(2015)采用RNA-seq分析技术对50 mmol·L⁻¹ NaHCO₃处理的野生大豆(G07256)根进行分析, 发现处理1小时后有1 443个差异表达基因, 说明野生大豆对碱胁迫的响应非常迅速。此外, 该研究还发现WRKY、NAC、bZIP和TIFY家族的转录因子以及氧化还原相关基因参与碱胁迫应答。与基因芯片技术(受探针长度限制)相比, RNA-seq分析可生成更完整的转录组图谱, 并更精确地估计基因表达水平。Zhang等(2016)通过RNA-Seq分析了耐碱野生大豆(N24852)根和叶在90 mmol·L⁻¹ NaHCO₃处理下的转录组数据, 发现碱处理12和24小时后大量bHLH、ERF、C2H2和C3H转录因子差异表达; Ge等(2010, 2011)研究也发现大量bHLH转录因子差异表达。张小

芳等(2018)采用RNA-seq技术筛选了干旱胁迫下野生大豆(永46)叶片的差异表达基因, 发现胁迫12小时后差异表达基因数量达到最大, 且上调表达基因显著多于下调表达基因; 并从这些差异表达基因中鉴定到53类转录因子(包括MYB、bHLH、WRKY、NAC和ARF等家族)。多个转录组测序研究表明, 转录因子在野生大豆耐逆过程中发挥重要作用。

除了对mRNA测序外, 研究人员还对逆境胁迫下野生大豆的microRNA表达进行了分析。Chen等(2009)以3周龄野生大豆为材料获得了2 880个高质量小RNA序列, 共鉴定出15个属于8个不同家族的保守miRNA, 为野生大豆miRNA的功能鉴定奠定了基础。Zeng等(2012)对铝胁迫下野生大豆幼苗根进行了高通量测序, 鉴定出128个miRNAs, 其中30个miRNAs的表达响应铝胁迫。随着野生大豆中越来越多的miRNA和靶基因被发现, miRNA参与的调控网络将会逐步完善, 这对人们进一步了解野生大豆抵御逆境胁迫的作用机制大有帮助。

1.3 野生大豆耐逆的蛋白质组

蛋白质组分析技术与基因组和转录组测序技术相比起步较晚, 目前尚处于初期阶段。张宁(2015)以50 mmol·L⁻¹ NaHCO₃胁迫下野生大豆(G07256)叶片为材料, 利用双向凝胶电泳(two-dimensional electrophoresis, 2-DE)技术筛选出101个差异表达蛋白。转录组测序在碱处理1小时就能鉴定到差异表达基因, 而蛋白质组分析在24和48小时后得到的差异蛋白点最多。Ji等(2016a)采用同位素标记相对和绝对定量(isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ)技术分析了盐处理12小时大豆叶片和根的蛋白质组, 获得50个差异表达蛋白; 并分析了GsCBRLK过表达大豆和野生型叶片盐胁迫的蛋白质组, 获得了941个差异表达蛋白, 其中574个依赖GsCBRLK (Ji et al., 2016b)。Pi等(2016)分析了盐胁迫下大豆耐盐和盐敏感品种根的磷酸蛋白质组, 鉴定了1 163个差异磷酸化位点, 并发现磷酸化的MYB转录因子介导的查尔酮代谢途径参与盐胁迫应答。

虽然已有关于大豆在不同逆境胁迫下蛋白质组和磷酸化蛋白质组变化的报道, 但对野生大豆蛋白质组的研究却报道较少。鉴于转录水平差异并不能代表蛋白质水平差异(Hossain et al., 2013), 因此研究野

生大豆逆境下的蛋白质组对揭示其对逆境胁迫的响应至关重要。相信随着蛋白质组技术的逐步完善, 会建立不同条件下更全面的蛋白表达谱, 以更直接地了解野生大豆逆境下的信号转导途径和耐逆分子机制。

2 蛋白激酶调控野生大豆的耐逆应答

蛋白激酶通过磷酸化下游靶蛋白, 启动或关闭信号转导通路, 调控植物逆境应答。大豆中4.67%的基因编码蛋白激酶(protein kinase), 其中约65%属于类受体蛋白激酶(receptor like kinases, RLKs) (Zulawski et al., 2014; Liu et al., 2015b)。RLKs蛋白一般包含1个胞外结构域、1个跨膜结构域和1个胞内激酶结构域。

LRR-RLKs (leucine-rich-repeat protein kinases) 是一类富含亮氨酸的RLKs (表1)。Zhou等(2016)对大豆LRR-RLK基因家族进行了全基因组分析, 鉴定出467个LRR-RLK基因, 通过对比35个栽培大豆和21个野生大豆的序列多样性, 发现野生种群的基因多样性显著高于栽培种群, 表明挖掘野生大豆蛋白激酶的功能和进一步揭示其介导的野生大豆耐逆分子调控网络具有重要意义。2012年, 杨靛等(2012)克隆了1个受非生物逆境诱导表达的野生大豆LRR-RLK基因*GsLRPK*, 其在酵母和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中过表达可提高冷应答基因的表达, 增强耐冷性。虽然对拟南芥和水稻中LRR-RLK激酶在逆境应答中的功能报道较多, 但目前关于野生大豆LRR-RLK的耐逆功能报道较少。

膜质类受体蛋白激酶RLCKs (receptor-like cytoplasmic kinases)是一类特殊的RLKs, 其缺少其它RLKs具有的胞外结构域(表1)。Sun等(2013a)分离了

1个受逆境胁迫诱导的野生大豆RLCK基因*GsRLCK*, 研究发现该基因在拟南芥中过表达可降低对ABA的敏感性, 提高耐盐性和耐旱性。Yang等(2010)从野生大豆中分离了1个Ca²⁺/CaM结合的RLK基因*GsCBRLK*, 其表达受冷、盐、干旱和ABA诱导。*GsCBRLK*过表达可显著提高转基因拟南芥、苜蓿(*Medicago sativa*)和大豆对ABA、高盐和碱胁迫的耐受性(Bai et al., 2013; 赵阳等, 2014; Ji et al., 2016b)。后续, Sun等 (2014b, 2016b, 2019, 2021)进一步鉴定获得了4个*GsCBRLK*互作蛋白。其中, *GsBET11a*编码1个SNARE转运蛋白, 通过C端跨膜结构域与*GsCBRLK*互作, *GsBET11a*过表达可提高转基因拟南芥和大豆的耐盐性(Sun et al., 2021)。*GsCBRLK*通过N端可变结构域与*GsMSRB5a* (methionine sulfoxide reductase B5a)互作, 并通过调控ROS稳态参与盐碱胁迫应答(Sun et al., 2016b)。此外, *GsCBRLK*的N端可变域也能与*GsPM30*及多个Group 3 LEA (late-embryogenesis abundant protein)蛋白互作, *GsPM30*在拟南芥中过表达会增强幼苗期和成苗期对高盐和脱水的耐性(Sun et al., 2019)。*GsCPI14* (*Glycine soja* cystatin protein 14)编码一个蛋白酶抑制剂, 正调控植物的耐碱性(Sun et al., 2014b)。另外, Sun等(2013b)获得1个受ABA、盐和干旱胁迫诱导表达的G型凝集素RLK基因*GsSRK*。该基因过表达促进转基因拟南芥盐胁迫下的种子萌发、幼苗生长和种子产量, 且当缺失N端信号肽和G型凝集素结构域的截短型*GsSRK* (*GsSRK-t*)转入苜蓿, 苜蓿的分枝和盐胁迫下的生物量积累增多。

研究人员还发现了其它参与逆境应答的野生大

表1 野生大豆耐逆应答相关的蛋白激酶

Table 1 Protein kinases implicated in stress tolerance of wild soybean

编号	基因	编码蛋白	胁迫类型	参考文献
1	<i>GsLRPK</i>	LRR类受体蛋白激酶	冷、干旱、盐和ABA胁迫	杨靛等, 2012; Yang et al., 2014
2	<i>GsRLCK</i>	胞浆类受体蛋白激酶	ABA、盐、碱和干旱胁迫	Sun et al., 2013a
3	<i>GsCBRLK</i>	Ca ²⁺ /CaM结合类受体蛋白激酶	冷、盐、干旱和ABA胁迫	Yang et al., 2010; Bai et al., 2013; 赵阳等, 2014
4	<i>GsSRK</i>	G型凝集素类受体蛋白激酶	ABA、盐和干旱胁迫	Sun et al., 2013b, 2018
5	<i>GsAPK</i>	不依赖Ca ²⁺ 的丝/苏氨酸类蛋白激酶	冷、盐、干旱和ABA胁迫	Yang et al., 2012
6	<i>GsPPCK1</i>	磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶激酶	碱胁迫	魏正巍等, 2013
7	<i>GsPPCK3</i>	磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶激酶	碱胁迫	Sun et al., 2014a

豆蛋白激酶基因(表1), 如 *GsAPK* (Yang et al., 2012)、*GsPPCK1* (魏正巍等, 2013)和*GsPPCK3* (Sun et al., 2014a)。需要指出的是, 大豆4.67% (约2 166个)基因编码蛋白激酶(Liu et al., 2015b)。虽然已报道了多个调控野生大豆耐逆性的蛋白激酶, 但对蛋白激酶调控的耐逆性分子机制知之甚少, 尚待进一步探索。

3 转录因子介导的野生大豆耐逆应答

已报道的野生大豆转录组测序研究均表明转录因子在野生大豆耐逆过程中发挥重要作用(表2)。*GsZFP1*编码1个缺少N端QALGGH结构域的C2H2型锌指蛋白, 受冷、干旱、ABA和盐诱导表达(罗晓等, 2012; Luo et al., 2012a); 并可通过CBF依赖和CBF不依赖途径提高转基因拟南芥的耐冷性(Luo et al., 2012a); 还通过调控气孔关闭减少水分散失增强转基因拟南芥和苜蓿的抗旱性(Luo et al., 2012a, 2012b; Tang et al., 2013)。*GsZFP1*超表达增强转基因苜蓿的耐盐性(Tang et al., 2013)。因此, *GsZFP1*作为野生大豆耐逆应答信号通路中的关键基因, 需进一步解析其在野生大豆耐逆应答中的分子机制。

WRKY家族是一类重要的转录因子。大豆中有197个WRKY家族成员, 但仅有极少数功能被验证(李换丽等, 2019)。Luo等(2013b)发现*GsWRKY20*过表达显著降低气孔密度, 增强气孔对ABA的敏感性, 促使干旱胁迫下气孔关闭, 降低失水速率, 提高转基因拟南芥的抗旱性。此外, *GsWRKY20*能够促进角质层加厚, 减少非依赖气孔的水分散失, 提高植株的抗旱性。王岩岩等(2019)从野生大豆中克隆了基因*GsWRKY57*, 该基因超表达能够提高转基因拟南芥的抗旱性。*GsWRKY15*受 NaHCO_3 胁迫显著上调表达, 在苜蓿中超表达*GsWRKY15*能够增强转基因苜蓿的耐碱性(朱娉慧等, 2017)。

TIFY是一类植物特有的新型转录因子, 包含高度保守的TIF[F/Y]XG结构域、GATA锌指结构和Jas结构域。Zhu等(2013)研究发现, 野生大豆包括34个TIFY转录因子, 根据其蛋白序列是否包含GATA锌指结构域分为2类(I和II), 并在 NaHCO_3 胁迫下表现出不同的表达模式。其中, *GsTIFY6b*、*GsTIFY10a*、*GsJAZ2*和*GsTIFY11b*同时受到 NaHCO_3 与 NaCl 诱导

表达(Zhu et al., 2011, 2012; 朱丹等, 2012; 阎文飞等, 2018)。*GsTIFY10a*在拟南芥和苜蓿中超表达, 一方面上调质子转运相关marker基因(*NADP-ME*和*H⁺-Ppase*)表达, 提高NADP-ME酶活, 增加柠檬酸含量, 以维持胁迫下胞质pH平衡。另一方面上调其它非生物胁迫相关marker基因(*RD29A*、*RD29B*、*RD22*和*KIN1*)表达, 增加脯氨酸和MDA含量, 提高耐碱性(Zhu et al., 2011, 2014)。此外, *GsTIFY10a*能够形成同源二聚体, 也可与*GsTIFY10e*形成异源二聚体(Zhu et al., 2014)。*GsJAZ2*和*GsTIFY11b*通过上调盐胁迫下液泡膜*NHX1*、质膜*SOS1*的表达, 提高转基因拟南芥的耐盐性(Zhu et al., 2012; 朱丹等, 2012); 转*GsJAZ2*基因拟南芥通过促进质子转运相关marker基因的表达提高耐碱性(Zhu et al., 2012)。

AP2/ERF (APETALA2/ethylene-responsive element binding factor)是植物最大的转录因子家族之一, 因蛋白序列含有保守的AP2/ERF结构域而得名。根据结构域其可分为AP2、DREB、ERF以及RAV四个亚家族(高春艳等, 2017)。Yu等(2016)研究发现, *GsERF6*过表达会特异性提高转基因拟南芥对 HCO_3^- 胁迫的耐受性。*GsERF71*在拟南芥中过表达能提高碱胁迫下*AHA2*基因的表达, 并促进过表达拟南芥根部酸化, 提高对 HCO_3^- 胁迫的耐受性(Yu et al., 2017)。朱延明等(2019)研究表明, *GsRAV3*受碱和ABA诱导表达, 其过表达可降低拟南芥对ABA的敏感性。

此外, 研究人员还报道了NAC (*GsNAC20*和*GsNAC019*)、bZIP (*GsbZIP33*和*GsbZIP67*)以及MYB (*GsMYB15*)家族转录因子等参与野生大豆逆境应答过程(表2)。这些研究证实了转录因子在野生大豆逆境应答中发挥重要作用, 但转录因子参与的逆境应答分子机制及调控网络仍需进一步研究。

4 离子通道蛋白在野生大豆耐逆应答中的作用

植物细胞内游离的 Ca^{2+} 是细胞信号转导中重要的第二信使。几乎所有逆境均会引起细胞内游离 Ca^{2+} 的变化, 进而调控胞内生理生化变化。植物 Ca^{2+} -ATPase也称钙泵, 是植物细胞内重要的 Ca^{2+} 浓度调节器, 根据系统进化关系, 可分为P型IIA (ER-type calcium ATPase, ECA亚家族)和P型IIB (autoinhibited cal-

表2 野生大豆耐逆反应相关的转录因子

Table 2 Transcription factor involved in stress tolerance of wild soybean

编号	基因	编码蛋白	胁迫类型	参考文献
1	<i>GsZFP1</i>	ZFP转录因子	冷、干旱、盐和ABA胁迫	罗晓等, 2012; Luo et al., 2012a, 2012b; Tang et al., 2013
2	<i>GsWRKY20</i>	WRKY转录因子	盐、冷、干旱和ABA胁迫	Luo et al., 2013a, 2013b
3	<i>GsWRKY57</i>	WRKY转录因子	干旱胁迫	王岩岩等, 2019
4	<i>GsWRKY15</i>	WRKY转录因子	碱胁迫	朱娉慧等, 2017
5	<i>GsTIFY6b</i>	TIFY转录因子	盐和碱胁迫	阎文飞等, 2018
6	<i>GsTIFY10a</i>	TIFY转录因子	盐和碱胁迫	Zhu et al., 2011, 2014
7	<i>GsTIFY11b</i>	TIFY转录因子	盐和碱胁迫	朱丹等, 2012
8	<i>GsJAZ2</i>	JAZ转录因子	盐和碱胁迫	Zhu et al., 2012
9	<i>GsERF6</i>	ERF转录因子	HCO ₃ ⁻ 胁迫	Yu et al., 2016
10	<i>GsERF71</i>	ERF转录因子	HCO ₃ ⁻ 胁迫	Yu et al., 2017
11	<i>GsNAC20</i>	NAC转录因子	盐、干旱和低温胁迫	才华等, 2011b
12	<i>GsNAC019</i>	NAC转录因子	ABA和碱胁迫	Cao et al., 2017
13	<i>Gshdz4</i>	Gshdz4转录因子	干旱胁迫	Cao et al., 2016
14	<i>GsRAV3</i>	RAV转录因子	碱和ABA胁迫	朱延明等, 2019
15	<i>GsbZIP33</i>	bZIP转录因子	盐胁迫	才华等, 2011a; 刘晶, 2012
16	<i>GsbZIP67</i>	bZIP转录因子	碱胁迫	Wu et al., 2018
17	<i>HSFB2b</i>	B类热激转录因子	盐胁迫	Bian et al., 2020
18	<i>GsMYB15</i>	MYB转录因子	盐、MeJA和SA胁迫	Shen et al., 2018

cium ATPase, ACA亚家族) (Kamrul et al., 2013) (表3)。Sun等(2016a)研究表明, 野生大豆ACA1/4/14/22/24在NaHCO₃胁迫早期显著上调表达(表3)。其中GsACA1在中性盐胁迫12小时表达量达到最大值。进一步在苜蓿中超表达GsACA1, 可显著提高转基因苜蓿Ca²⁺-ATPase及抗氧化酶SOD活性, 减轻细胞膜损伤, 增加渗透调节物质脯氨酸含量, 提高叶绿素含量, 进而增强耐盐碱性并增加产量。

盐碱胁迫下, 植物受到离子毒害, 离子通道蛋白可协助离子跨膜吸收与转运, 进而增强植物对盐碱胁迫的耐受性。阳离子质子转运体(cation/H⁺ exchanger, CHX)基因家族属于CP2 (cation proton antiporter 2)超家族基因, 主要参与调控植物体内Na⁺/K⁺平衡和pH稳态(才晓溪等, 2018)。GmCHX1是野生大豆应答盐碱的关键基因, Qi等(2014)发现耐盐野生大豆具有完整的GmCHX1序列, 而盐敏感栽培大豆GmCHX1序列中嵌入了逆转录转座子, 导致不成熟GmCHX1蛋白积累, 进而失去维持高盐胁迫下细胞内低水平钠钾离子的功能。GmCHX1过表达能够降低大豆毛状根中的Na⁺含量及Na⁺/K⁺值, 提高大豆的耐盐

性。Jia等(2017)对碱胁迫下野生大豆转录组进行测序分析, 发现34个GsCHXs中只有IVa组成员在NaHCO₃胁迫下表达量升高。对表达变化最大的GsCHX19.3进行深入研究, 发现GsCHX19.3在酵母突变体axt4k中表达可以提高其对低K⁺的耐受性。此外, 转GsCHX19.3基因拟南芥能够降低碱胁迫下细胞内的Na⁺浓度及Na⁺/K⁺值, 增强耐盐碱性。Duan等(2018b)基于转录组学数据, 从野生大豆中分离并鉴定了1个慢型阴离子通道(a Glycine soja slow type anion channel)基因GsSLAH3, 该基因的表达受NaHCO₃诱导, 主要在野生大豆根、莢和茎中表达, 在酵母和拟南芥中过表达可提高对HCO₃⁻的耐受性, 尤其是提高碱胁迫下过表达植株的NO₃⁻和叶绿素含量, 并最终提高碱胁迫下的生物量和植株的耐碱性(Duan et al., 2018b)。此外, Duan等(2018a)报道了另一个碱诱导表达的硼转运体基因GsBOR2, 该基因过表达的转基因拟南芥表现出对HCO₃⁻的耐受性更强。

离子通道蛋白可协助离子在植物体内跨膜吸收与转运, 并促进植物的生长发育。研究人员利用基因工程手段将离子转运基因导入拟南芥或野生大豆, 获

表3 野生大豆耐逆应答的离子通道蛋白基因**Table 3** Genes encoding ion channel proteins in stress response of wild soybean

编号	基因	编码蛋白	胁迫类型	参考文献
1	<i>GsACA1</i>	Ca ²⁺ -ATPase	盐和碱胁迫	Sun et al., 2016a
2	<i>GsCHX1</i>	阳离子质子转运体	盐胁迫	Qi et al., 2014
3	<i>GsCHX19.3</i>	阳离子质子转运体	碱胁迫	Jia et al., 2017
4	<i>GsSLAH3</i>	慢型阴离子通道	碱胁迫	Duan et al., 2018b
5	<i>GsBOR2</i>	硼转运体	HCO ₃ ⁻ 胁迫	Duan et al., 2018a

表4 野生大豆耐逆应答相关的氧化还原反应基因**Table 4** Redox genes involved in stress tolerance of wild soybean

编号	基因	编码蛋白	胁迫类型	参考文献
1	<i>GsGST</i>	谷胱甘肽s-转移酶	干旱和盐胁迫	Ji et al., 2010
2	<i>GsGST13</i>	谷胱甘肽s-转移酶	盐和碱胁迫	林凡敏等, 2013; 吴婧等, 2014; Jia et al., 2016
3	<i>GsGST14</i>	谷胱甘肽s-转移酶	盐和碱胁迫	王臻昱等, 2012
4	<i>GsGSTU24</i>	谷胱甘肽s-转移酶	渗透胁迫	Li et al., 2020
5	<i>GsMIOX1a</i>	肌醇加氧酶和肌醇-1-磷酸合酶	碱胁迫	Chen et al., 2015
6	<i>GsMIPS2</i>	肌醇加氧酶和肌醇-1-磷酸合酶	HCO ₃ ⁻ 胁迫	陈晨等, 2015

得了转基因植株, 研究发现这些转基因植株的离子吸收效率均有所提高, 说明可通过过表达转运蛋白基因来提高植物对渗透胁迫的抗性。

5 氧化还原调控野生大豆耐逆应答

逆境条件下植物细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)大量积累是植物逆境伤害的一个重要原因, 因此ROS调控是植物应答逆境胁迫的重要机制。

谷胱甘肽s-转移酶(glutathione s-transferase, GSTs)可催化有毒的外源性物质和氧化产生的化合物与还原型谷胱甘肽结合, 从而对其进行隔离或清除(Wang et al., 2012)。Ji等(2010)从野生大豆中获得1个基因 *GsGST*, 在干旱和盐胁迫条件下, 过表达 *GsGST* 的转基因烟草具有较强的耐旱和耐盐性, 表明 *GsGST* 可能在提高农作物的抗逆性上具有重要作用(表4)。王臻昱等(2012)基于野生大豆盐碱胁迫表达谱, 筛选获得3个胁迫应答基因 *GsGST13*、*GsGST14* 以及 *GsGST19*; 并证明其在苜蓿中过表达能够提高转基因苜蓿的耐盐碱性(林凡敏等, 2013)。此外, 转 *GsGST14* 基因大豆与野生型在蛋白质和油分含量等农艺性状上几乎无差异, 表明野生大豆基因可以在保持栽培大豆优良性状的基础上, 增加其耐逆性(林凡敏等, 2013)。吴婧等(2014)和Jia等(2016)通过将

*GsGST13*和改造的高甲硫氨酸蛋白基因 *SCMRP* 共转化苜蓿, 增强了苜蓿的耐盐碱性并使其含硫氨酸量升高, 苜蓿的营养价值明显增加。2020年, Li等(2020)通过高度耐水淹野生大豆和水淹敏感型栽培大豆转录组筛选, 获得了水淹胁迫应答基因 *GsGSTU24* 和 *GsGSTU42*, 其过表达可促进叶片中ROS产生和清除动态平衡重建, 维持叶片的光合能力, 增强转基因大豆毛状根复合植物和拟南芥的耐水淹性。

肌醇作为一种植物营养调节剂在植物胁迫响应中发挥重要作用(杨楠等, 2017)。Chen等(2015)获得了肌醇代谢通路中2个关键酶(肌醇加氧酶和肌醇-1-磷酸合酶)基因(*GsMIPS2*和*GsMIOX1a*) (陈晨等, 2015) (表4)。肌醇-1-磷酸合酶是肌醇合成反应的限速酶。肌醇加氧酶能催化肌醇形成D-葡萄糖醛酸, D-葡萄糖醛酸进一步形成细胞壁糖分的前体物质UDP-葡萄糖醛酸, 也可进一步形成抗坏血酸。*GsMIPS2*主要在野生大豆叶片和幼茎中表达, 碱胁迫1小时表达量最高, 过表达该基因可提高转基因拟南芥萌发期的耐碱性。而*GsMIOX1a*主要在花中表达, 碱胁迫6小时表达量最高, 过表达 *GsMIOX1a*可增加碱胁迫下渗透调节物质的含量和抗氧化酶活性, 进而提高转基因拟南芥的耐碱性。此外, 过表达 *GsMIOX1a*还可提高碱胁迫下胁迫诱导基因的表达(Chen et al., 2015)。

越来越多的研究表明,氧化还原可通过复杂的氧化还原网络应答非生物胁迫,但目前对野生大豆氧化还原网络中的关键基因知之甚少(表4),有待进一步挖掘与鉴定。

6 总结和展望

大豆是我国重要的粮食作物之一,干旱、水涝和高盐等胁迫会严重降低大豆的产量。野生大豆作为栽培大豆的近缘祖先,具有极强的逆境适应能力,是栽培大豆种质创新重要的亲本材料和基因资源。近年来,随着新技术的不断涌现,研究人员从多方面、全方位地对野生大豆的耐逆分子机制进行了研究。目前,基因组学和转录组学的发展已相对成熟,实验成本也大大降低,并建立了相关数据库,如Phytozome、Soybase和SoyKB。而野生大豆蛋白质组学研究尚处于发展阶段。除上述3种组学外,目前在其它物种中已有代谢组、离子组学和表观组学的研究(Pecrix et al., 2018; Wei et al., 2018; Gurung et al., 2019)。相信随着研究平台的不断完善,会有更多的研究人员将这些组学应用到野生大豆耐逆应答的研究中。然而,面对如此庞大的组学数据,如何分析整合多组学将是未来研究人员面临的一个巨大挑战。

目前,通过组学高通量挖掘逆境应答基因技术,我们获得了大量野生大豆的耐逆基因,完善了野生大豆逆境应答的分子机制及各通路之间的联系,为培育和改良豆科作物新品种提供了新的基因资源。后续可通过转基因、基因编辑和分子标记辅助育种等技术,培育具有优良耐逆性状的大豆新品种,从而将理论研究成果应用于实践,为我国农业发展带来巨大的生态和经济效益。

参考文献

- 才华,朱延明,柏锡,纪巍,李勇,王冬冬,孙晓丽 (2011a). 野生大豆 *GsbZIP33* 基因的分离及胁迫耐性分析. 分子植物育种 9, 397–401.
- 才华,朱延明,李勇,柏锡,纪巍,王冬冬,孙晓丽 (2011b). 野生大豆转录因子 *GsNAC20* 基因的分离及胁迫耐性分析. 作物学报 37, 1351–1359.
- 才晓溪,沈阳,周伍红,贾博为,孙明哲,王金玉,杨瑀凯,李建伟,孙晓丽 (2018). 大豆 *CHX* 基因家族全基因组鉴定与生物信息学分析. 基因组学与应用生物学 37, 5360–5369.
- 陈晨,孙晓丽,刘艾林,端木慧子,于洋,肖佳雷,朱延明 (2015). 野生大豆碳酸盐胁迫应答基因 *GsMIPS2* 的克隆及功能分析. 作物学报 41, 1343–1352.
- 盖钧镨 (2011). 中国大豆产业、科技、种业和转基因育种的思考(I). 大豆科技 (3), 1–2.
- 盖钧镨,赵团结 (2001). 中国大豆育种的核心祖先亲本分析. 南京农业大学学报 24(2), 20–23.
- 高春艳,吴芮,袁玉,刘同玥,任莉萍 (2017). 植物 *AP2/ERF* 转录因子及其在非生物胁迫应答中的作用. 江汉大学学报(自然科学版) 45, 236–240.
- 李换丽,雷佳,吴霞,王新胜,马燕斌 (2019). 大豆 *WRKY* 转录因子及其生物学功能研究进展. 大豆科学 38, 813–820.
- 林凡敏,柏锡,樊超,赵超越,才华,纪巍,朱延明 (2013). 转 *GsGST14* 耐盐碱基因大豆的农艺性状调查. 大豆科学 32, 56–58.
- 刘晶 (2012). *GsbZIP33* 和 *GsCBRLK* 基因转化肇东苜蓿及其耐盐性分析. 硕士论文. 哈尔滨: 东北农业大学. pp. 1–92.
- 罗晓,曹蕾,王明超,胡梦然,柏锡,纪巍,才华,朱延明 (2012). 野生大豆盐碱胁迫响应基因 *GsZFP1* 的克隆及序列分析. 东北农业大学学报 43(4), 20–26.
- 孙备,李建东,王国骄,徐亮,薛静,韦岩 (2008). 一年生野生大豆 (*Glycine soja*) 生理生态学和种群生态学研究进展. 大豆科学 (4), 687–692.
- 王岩岩,张永兴,郭葳,代文君,周新安,矫永庆,沈欣杰 (2019). 野生大豆转录因子 *GsWRKY57* 基因的克隆与抗旱性功能分析. 中国油料作物学报 41, 524–530.
- 王臻昱,才华,柏锡,纪巍,李勇,魏正巍,朱延明 (2012). 野生大豆 *GsGST19* 基因的克隆及其转基因苜蓿的耐盐碱性分析. 作物学报 38, 971–979.
- 魏正巍,朱延明,化焯,才华,纪巍,柏锡,王臻昱,文益东 (2013). 转 *GsPPCK1* 基因苜蓿植株的获得及其耐碱性分析. 作物学报 39, 68–75.
- 吴婧,才华,柏锡,纪巍,魏正巍,唐立郦,赵阳,朱延明 (2014). 转 *GsGST13/SCMRP* 基因双价苜蓿的耐盐性分析. 草业学报 23, 257–265.
- 夏正俊 (2017). 大豆基因组解析与重要农艺性状基因克隆研究进展. 植物学报 52, 148–158.
- 阎文飞,程凡升,姜新强,刘翠霞,朱丹 (2018). 野大豆盐碱胁迫相关 *GsTIFY6B* 基因克隆及表达特性分析. 华北农学报 33(4), 82–89.
- 杨光宇,纪锋 (1999). 中国野生大豆资源的研究与利用综述.

1. 地理分布、化学品质性状及在育种中的利用. 吉林农业科学 24, 12–17.
- 杨靓, 李翔宇, 高鹏, 陈庆园, 郭玉双 (2012). 野生大豆胁迫应答LRR类受体蛋白激酶基因的克隆及其表达特性分析. 大豆科学 31, 718–724.
- 杨楠, 张静, 王磊, 宿红艳 (2017). 肌醇及其代谢关键酶基因与植物逆境响应机制的研究进展. 鲁东大学学报(自然科学版) 33, 321–325, 339.
- 张宁 (2015). 碱胁迫下野生大豆叶片蛋白质组的双向电泳分析. 硕士论文. 哈尔滨: 东北农业大学. pp. 1–71.
- 张小芳, 王冰冰, 徐燕, 张炜坤, 赵恢, 张锴, 乔亚科, 李桂兰 (2018). PEG模拟干旱胁迫下野生大豆转录组分析. 大豆科学 37, 681–689.
- 赵阳, 朱延明, 柏锡, 纪巍, 吴婧, 唐立娜, 才华 (2014). 转GsCBRLK/SCMRP双价基因苜蓿耐碱性及氨基酸含量分析. 作物学报 40, 431–438.
- 朱丹, 柏锡, 朱延明, 才华, 李勇, 纪巍, 陈超, 安琳, 朱毅 (2012). 野生大豆盐碱胁迫相关GsTIFY11b的克隆与功能分析. 遗传 34, 230–239.
- 朱娉慧, 陈冉冉, 于洋, 宋雪薇, 李慧卿, 杜建英, 李强, 丁晓东, 朱延明 (2017). 碱胁迫相关基因GsWRKY15的克隆及其转基因苜蓿的耐碱性分析. 作物学报 43, 1319–1327.
- 朱延明, 于纪洋, 于洋, 段香波, 曹蕾, 陈超 (2019). 野生大豆AP2/RAV亚家族转录因子GsRAV3负调控拟南芥对ABA的敏感性. 东北农业大学学报 50(5), 8–18.
- Ali Z, Zhang DY, Xu ZL, Xu L, Yi JX, He XL, Huang YH, Liu XQ, Khan AA, Trethowan RM, Ma HX (2012). Uncovering the salt response of soybean by unraveling its wild and cultivated functional genomes using tag sequencing. PLoS One 7, e48819.
- Bai X, Liu J, Tang LL, Cai H, Chen M, Ji W, Liu Y, Zhu YM (2013). Overexpression of GsCBRLK from Glycine soja enhances tolerance to salt stress in transgenic alfalfa (Medicago sativa). Funct Plant Biol 40, 1048–1056.
- Bian XH, Li W, Niu CF, Wei W, Hu Y, Han JQ, Lu X, Tao JJ, Jin M, Qin H, Zhou B, Zhang WK, Ma B, Wang GD, Yu DY, Lai YC, Chen SY, Zhang JS (2020). A class B heat shock factor selected for during soybean domestication contributes to salt tolerance by promoting flavonoid biosynthesis. New Phytol 225, 268–283.
- Cao L, Yu Y, Ding XD, Zhu D, Yang F, Liu BD, Sun XL, Duan XB, Yin KD, Zhu YM (2017). The Glycine soja NAC transcription factor GsNAC019 mediates the regulation of plant alkaline tolerance and ABA sensitivity. Plant Mol Biol 95, 253–268.
- Cao L, Yu Y, Duanmu H, Chen C, Duan XB, Zhu PH, Chen RR, Li Q, Zhu YM, Ding XD (2016). A novel Glycine soja homeodomain-leucine zipper (HD-Zip) I gene, Gshdz4, positively regulates bicarbonate tolerance and responds to osmotic stress in Arabidopsis. BMC Plant Biol 16, 184.
- Chen C, Sun XL, Duanmu H, Yu Y, Liu AL, Xiao JL, Zhu YM (2015). Ectopic expression of a Glycine soja myo-inositol oxygenase gene (GsMIOX1a) in Arabidopsis enhances tolerance to alkaline stress. PLoS One 10, e0129998.
- Chen R, Hu Z, Zhang H (2009) Identification of microRNAs in wild soybean (Glycine soja). J Integr Plant Biol 51, 1071–1079.
- Duan XB, Yang Y, Zhang Y, Chen C, Duanmu HZ, Cao L, Sun MZ, Sun XL, Zhu YM (2018a). A potential efflux boron transporter gene GsBOR2, positively regulates Arabidopsis bicarbonate tolerance. Plant Sci 274, 284–292.
- Duan XB, Yu Y, Duanmu HZ, Chen C, Sun XL, Cao L, Li Q, Ding XD, Liu BD, Zhu YM (2018b). GsSLAH3, a Glycine soja slow type anion channel homolog, positively modulates plant bicarbonate stress tolerance. Physiol Plant 164, 145–162.
- 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 (2015). Wild soybean roots depend on specific transcription factors and oxidation reduction related genes in response to alkaline stress. Funct Integr Genomics 15, 651–660.
- Ge Y, Li Y, Lv DK, Bai X, Ji W, Cai H, Wang AX, Zhu YM (2011). Alkaline-stress response in Glycine soja leaf identifies specific transcription factors and ABA-mediated signaling factors. Funct Integr Genomics 11, 369–379.
- Ge Y, Li Y, Zhu YM, Bai X, Lv DK, Guo DJ, Ji W, Cai H (2010). Global transcriptome profiling of wild soybean (Glycine soja) roots under NaHCO₃ treatment. BMC Plant Biol 10, 153.
- Gurung PD, Upadhyay AK, Bhardwaj PK, Sowdhamini R, Ramakrishnan U (2019). Transcriptome analysis reveals plasticity in gene regulation due to environmental cues in Primula sikkimensis, a high altitude plant species. BMC Genomics 20, 989.
- Hossain Z, Khatoon A, Komatsu S (2013). Soybean proteomics for unraveling abiotic stress response mechanism. J Proteome Res 12, 4670–4684.
- Huda KMK, Yadav S, Akhter Banu MS, Trivedi DK, Tuteja N (2013). Genome-wide analysis of plant-type II Ca²⁺

- ATPases gene family from rice and *Arabidopsis*: potential role in abiotic stresses. *Plant Physiol Biochem* **65**, 32–47.
- Ji W, Cong R, Li S, Li R, Qin ZW, Li YJ, Zhou XL, Chen SX, Li J (2016a). Comparative proteomic analysis of soybean leaves and roots by iTRAQ provides insights into response mechanisms to short-term salt stress. *Front Plant Sci* **7**, 573.
- Ji W, Koh J, Li S, Zhu N, Dufresne CP, Zhao XW, Chen SX, Li J (2016b). Quantitative proteomics reveals an important role of *GsCBRLK* in salt stress response of soybean. *Plant Soil* **402**, 159–178.
- Ji W, Li Y, Li J, Dai CH, Wang X, Bai X, Cai H, Yang L, Zhu YM (2006). Generation and analysis of expressed sequence tags from NaCl-treated *Glycine soja*. *BMC Plant Biol* **6**, 4.
- Ji W, Zhu YM, Li Y, Yang L, Zhao XW, Cai H, Bai X (2010). 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* **32**, 1173–1179.
- Jia BW, Sun MZ, Duanmu HZ, Ding XD, Liu BD, Zhu YM, Sun XL (2017). *GsCHX19.3*, a member of cation/H⁺ exchanger superfamily from wild soybean contributes to high salinity and carbonate alkaline tolerance. *Sci Rep* **7**, 9423.
- Jia BW, Sun MZ, Sun XL, Li RT, Wang ZY, Wu J, Wei ZW, Duanmu HZ, Xiao JL, Zhu YM (2016). Overexpression of *GsGSTU13* and *SCMRP* in *Medicago sativa* confers increased salt-alkaline tolerance and methionine content. *Physiol Plant* **156**, 176–189.
- Kim MYK, Lee S, Van K, Kim TH, Jeong SC, Choi IY, Kim DS, Lee YS, Park D, Ma JX, Kim WY, Kim BC, Park S, Lee KA, Kim DH, Kim KH, Shin JH, Jang YE, Kim KD, Liu WX, Chaisan T, Kang YJ, Lee YH, Kim KH, Moon JK, Schmutz J, Jackson SA, Bhak J, Lee SH (2010). Whole-genome sequencing and intensive analysis of the undomesticated soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.) genome. *Proc Natl Acad Sci USA* **51**, 22032–22037.
- Lam HM, Xu X, Liu X, Chen WB, Yang GH, Wong FL, Li MW, He WM, Qin N, Wang B, Li J, Jian M, Wang J, Shao GH, Wang J, Sun SSM, Zhang GY (2010). Resequencing of 31 wild and cultivated soybean genomes identifies patterns of genetic diversity and selection. *Nat Genet* **42**, 1053–1059.
- Li XJ, Wang Y, Liu F, Pi BY, Zhao TJ, Yu BJ (2020). Transcriptomic analysis of *Glycine soja* and *G. max* seedlings and functional characterization of *GsGSTU24* and *GsGSTU42* genes under submergence stress. *Environ Exp Bot* **171**, 103963.
- Li YH, Zhou GY, Ma JX, Jiang WK, Jin LG, Zhang ZH, Guo Y, Zhang JB, Sui Y, Zheng LT, Zhang SS, Zuo QY, Shi XH, Li YF, Zhang WK, Hu YY, Kong GY, Hong HL, Tan B, Song J, Liu ZX, Wang YS, Ruan H, Yeung CKL, Liu J, Wang HL, Zhang LJ, Guan RX, Wang KJ, Li WB, Chen SY, Chang RZ, Jiang Z, Jackson SA, Li RQ, Qiu LJ (2014). *De novo* assembly of soybean wild relatives for pan-genome analysis of diversity and agronomic traits. *Nat Biotechnol* **32**, 1045–1052.
- Liu AL, Yu Y, Duan XB, Sun XL, Duanmu HZ, Zhu YM (2015a). *GsSKP21*, a *Glycine soja* S-phase kinase-associated protein, mediates the regulation of plant alkaline tolerance and ABA sensitivity. *Plant Mol Biol* **87**, 111–124.
- Liu JY, Chen NN, Grant JN, Cheng ZM, Stewart CN Jr, Hewezi T (2015b). Soybean kinome: functional classification and gene expression patterns. *J Exp Bot* **66**, 1919–1934.
- Luo X, Bai X, Zhu D, Li Y, Ji W, Cai H, Wu J, Liu BH, Zhu YM (2012a). *GsZFP1*, a new Cys2/His2-type zinc-finger protein, is a positive regulator of plant tolerance to cold and drought stress. *Planta* **235**, 1141–1155.
- Luo X, Cui N, Zhu YM, Cao L, Zhai H, Cai H, Ji W, Wang XD, Zhu D, Li Y, Bai X (2012b). Over-expression of *GsZFP1*, an ABA-responsive C2H2-type zinc finger protein lacking a QALGGH motif, reduces ABA sensitivity and decreases stomata size. *J Plant Physiol* **169**, 1192–1202.
- Luo X, Sun XL, Liu BH, Zhu D, Xi B, Cai H, Ji W, Cao L, Wu J, Wang MC, Ding XD, Zhu YM (2013a). Ectopic expression of a WRKY homolog from *Glycine soja* alters flowering time in *Arabidopsis*. *PLoS One* **8**, e73295.
- Luo X, Xi B, Sun XL, Zhu D, Liu BH, Ji W, Cai H, Cao L, Wu J, Hu MR, Liu X, Tang LL, Zhu YM (2013b). Expression of wild soybean *WRKY20* in *Arabidopsis* enhances drought tolerance and regulates ABA signaling. *J Exp Bot* **8**, 2155–2169.
- Pecrix Y, Staton SE, Sallet E, Lelandais-Brière C, Moreau S, Carrère S, Blein T, Jardinaud MF, Latrasse D, Zouine M, Zahm M, Kreplak J, Mayjonade B, Satgé C, Perez M, Cauet S, Marande W, Chantry-Darmon C, Lopez-Roques C, Bouchez O, Bérard A, Debellé F, Muños S, Bendahmane A, Bergés H, Niebel A, Buitink J, Frugier F, Benhamed M, Crespi M, Gouzy J, Gamas P (2018). Whole-genome landscape of *Medicago truncatula* symbiotic genes. *Nat Plants* **4**, 1017–1025.
- Pi EX, Qu LQ, Hu JW, Huang YY, Qiu LJ, Lu HF, Jiang B,

- Liu C, Peng TT, Zhao Y, Wang HZ, Tsai SN, Ngai S, Du LQ (2016). Mechanisms of soybean roots' tolerances to salinity revealed by proteomic and phosphoproteomic comparisons between two cultivars. *Mol Cell Proteomics* 15, 266–288.
- Qi XP, Li MW, Xie M, Liu X, Ni M, Shao GH, Song C, Kay-Yuen Yim A, 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 (2014). Identification of a novel salt tolerance gene in wild soybean by whole-genome sequencing. *Nat Commun* 5, 4340.
- Schmutz J, Cannon SB, Schlueter J, Ma JX, Mitros T, Nelson W, Hyten DL, Song QJ, Thelen JJ, Cheng JL, Xu D, Hellsten U, May GD, Yu Y, Sakurai T, Umezawa T, Bhattacharyya MK, Sandhu D, Valliyodan B, Lindquist E, Peto M, Grant D, Shu SQ, Goodstein D, Barry K, Futrell-Griggs M, Abernathy B, Du JC, Tian ZX, Zhu LC, Gill N, Joshi T, Libault M, Sethuraman A, Zhang XC, Shinozaki K, Nguyen HT, Wing RA, Cregan P, Specht J, Grimwood J, Rokhsar D, Stacey G, Shoemaker RC, Jackson SA (2010). Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature* 463, 178–183.
- Shen XJ, Wang YY, Zhang YX, Guo W, Jiao YQ, Zhou XA (2018). Overexpression of the wild soybean R2R3-MYB transcription factor GsMYB15 enhances resistance to salt stress and *Helicoverpa armigera* in transgenic *Arabidopsis*. *Int J Mol Sci* 19, 3958.
- Sun MZ, Jia BW, Cui N, Wen YD, Duanmu HZ, Yu QY, Xiao JL, Sun XL, Zhu YM (2016a). Functional characterization of a *Glycine soja* Ca²⁺ ATPase in salt-alkaline stress responses. *Plant Mol Biol* 90, 419–434.
- Sun MZ, Qian X, Chen C, Cheng SF, Jia BW, Zhu YM, Sun XL (2018). Ectopic expression of GsSRK in *Medicago sativa* reveals its involvement in plant architecture and salt stress responses. *Front Plant Sci* 9, 226.
- Sun MZ, Shen Y, Yin KD, Guo YX, Cai XX, Yang JK, Zhu YM, Jia BW, Sun XL (2019). A late embryogenesis abundant protein GsPM30 interacts with a receptor like cytoplasmic kinase GsCBRLK and regulates environmental stress responses. *Plant Sci* 283, 70–82.
- Sun MZ, Sun XL, Zhao Y, Zhao CY, Duanmu HZ, Yu Y, Ji W, Zhu YM (2014a). Ectopic expression of GsPPCK3 and SCMRP in *Medicago sativa* enhances plant alkaline stress tolerance and methionine content. *PLoS One* 9, e89578.
- Sun XL, Cai XX, Yin KD, Gu LW, Shen Y, Hu BS, Wang Y, Chen Y, Zhu YM, Jia BW, Sun MZ (2021). Wild soybean SNARE proteins BET1s mediate the subcellular localization of the cytoplasmic receptor-like kinases CRCK1s to modulate salt stress responses. *Plant J* 105, 771–785.
- Sun XL, Sun MZ, Jia BW, Qin ZW, Yang KJ, Chen C, Yu QY, Zhu YM (2016b). A *Glycine soja* methionine sulfoxide reductase B5a interacts with the Ca²⁺/CAM-binding kinase GsCBRLK and activates ROS signaling under carbonate alkaline stress. *Plant J* 86, 514–529.
- Sun XL, Sun MZ, Luo X, Ding XD, Ji W, Cai H, Bai X, Liu XF, Zhu YM (2013a). A *Glycine soja* ABA-responsive receptor-like cytoplasmic kinase, GsRLCK, positively controls plant tolerance to salt and drought stresses. *Planta* 237, 1527–1545.
- Sun XL, Yang SS, Sun MZ, Wang ST, Ding XD, Zhu D, Ji W, Cai H, Zhao CY, Wang XD, Zhu YM (2014b). A novel *Glycine soja* cysteine proteinase inhibitor GsCPI14, interacting with the calcium/calmodulin-binding receptor-like kinase GsCBRLK, regulated plant tolerance to alkali stress. *Plant Mol Biol* 85, 33–48.
- Sun XL, Yu QY, Tang LL, Ji W, Bai X, Cai H, Liu XF, Ding XD, Zhu YM (2013b). GsSRK, a G-type lectin S-receptor-like serine/threonine protein kinase, is a positive regulator of plant tolerance to salt stress. *J Plant Physiol* 170, 505–515.
- Tang LL, Cai H, Ji W, Luo X, Wang ZY, Wu J, Wang XD, Cui L, Wang Y, Zhu YM, Bai X (2013). Overexpression of GsZFP1 enhances salt and drought tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiol Biochem* 71, 22–30.
- Wang ZY, Song FB, Cai H, Zhu YM, Bai X, Ji W, Li Y, Hua Y (2012). Over-expressing GsGST14 from *Glycine soja* enhances alkaline tolerance of transgenic *Medicago sativa*. *Biol Plant* 56, 516–520.
- Wei SS, Wang XY, Jiang D, Dong ST (2018). Physiological and proteome studies of maize (*Zea mays* L.) in response to leaf removal under high plant density. *BMC Plant Biol* 18, 378.
- Wu SY, Zhu PH, Jia BW, Yang JK, Shen Y, Cai XX, Sun XL, Zhu YM, Sun MZ (2018). A *Glycine soja* group S2 bZIP transcription factor GsbZIP67 conferred bicarbonate alkaline tolerance in *Medicago sativa*. *BMC Plant Biol* 18, 234.
- Xie M, Chung CYL, Li MW, Wong FL, Wang X, Liu AL, Wang ZL, Leung AKY, Wong TH, Tong SW, Xiao ZX, Fan KJ, Ng MS, Qi XP, Yang LF, Deng TQ, He LJ, Chen

- L, Fu AS, Ding Q, He JX, Chung G, Isobe S, Tanabata T, Valliyodan B, Nguyen HT, Cannon SB, Foyer CH, Chan TF, Lam HM (2019). A reference-grade wild soybean genome. *Nat Commun* **10**, 1216.
- Yang L, Ji W, Gao P, Li Y, Cai H, Bai X, Chen Q, Zhu YM (2012). GsAPK, an ABA-activated and calcium-independent SnRK2-type kinase from *G. soja*, mediates the regulation of plant tolerance to salinity and ABA stress. *PLoS One* **3**, e33838.
- Yang L, Ji W, Zhu YM, Gao P, Li Y, Cai H, Bai X, Guo DJ (2010). GsCBRLK, a calcium/calmodulin-binding receptor-like kinase, is a positive regulator of plant tolerance to salt and ABA stress. *J Exp Bot* **61**, 2519–2533.
- Yang L, Wu KC, Gao P, Liu XJ, Li GP, Wu ZJ (2014). GsLRPK, a novel cold-activated leucine-rich repeat receptor-like protein kinase from *Glycine soja*, is a positive regulator to cold stress tolerance. *Plant Sci* **215–216**, 19–28.
- Yu Y, Duan XB, Ding XD, Chen C, Zhu D, Yin KD, Cao L, Song XW, Zhu PH, Li Q, Nisa ZU, Yu JY, Du JY, Song Y, Li HQ, Liu BD, Zhu YM (2017). A novel AP2/ERF family transcription factor from *Glycine soja*, GsERF71, is a DNA binding protein that positively regulates alkaline stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol* **94**, 509–530.
- Yu Y, Liu AL, Duan XB, Wang ST, Sun XL, Duanmu HZ, Zhu D, Chen C, Cao L, Xiao JL, Li Q, Nisa ZU, Zhu YM, Ding XD (2016). GsERF6, an ethylene-responsive factor from *Glycine soja*, mediates the regulation of plant bicarbonate tolerance in *Arabidopsis*. *Planta* **244**, 681–698.
- Zeng QY, Yang CY, Ma QB, Li XP, Dong WW, Nian H (2012). Identification of wild soybean miRNAs and their target genes responsive to aluminum stress. *BMC Plant Biol* **12**, 182.
- Zhang JL, Wang JX, Jiang W, Liu JG, Yang SN, Gai JY, Li Y (2016). Identification and analysis of NaHCO₃ stress responsive genes in wild soybean (*Glycine soja*) roots by RNA-seq. *Front Plant Sci* **7**, 1842.
- Zhou FL, Guo Y, Qiu LJ (2016). Genome-wide identification and evolutionary analysis of leucine-rich repeat receptor-like protein kinase genes in soybean. *BMC Plant Biol* **16**, 58.
- Zhou ZK, Jiang Y, Wang Z, Gou ZH, Lyu J, Li WY, Yu YJ, Shu LP, Zhao YJ, Ma YM, Fang C, Shen YT, Liu TF, Li CC, Li Q, Wu M, Wang M, Wu YS, Dong Y, Wan WT, Wang XT, Ding ZL, Gao YD, Xiang H, Zhu BG, Lee SH, Wang W, Tian ZX (2015). Resequencing 302 wild and cultivated accessions identifies genes related to domestication and improvement in soybean. *Nat Biotechnol* **33**, 408–414.
- Zhu D, Bai X, Chen C, Chen Q, Cai H, Li Y, Ji W, Zhai H, Lv DK, Luo X, Zhu YM (2011). GsTIFY10, a novel positive regulator of plant tolerance to bicarbonate stress and a repressor of jasmonate signaling. *Plant Mol Biol* **77**, 285–297.
- Zhu D, Bai X, Luo X, Chen Q, Cai H, Ji W, Zhu YM (2013). Identification of wild soybean (*Glycine soja*) TIFY family genes and their expression profiling analysis under bicarbonate stress. *Plant Cell Rep* **32**, 263–272.
- Zhu D, Cai H, Luo X, Bai X, Deyholos MK, Chen Q, Chen C, Ji W, Zhu YM (2012). Over-expression of a novel JAZ family gene from *Glycine soja*, increases salt and alkali stress tolerance. *Biochem Biophys Res Commun* **426**, 273–279.
- Zhu D, Li RT, Liu X, Sun MZ, Wu J, Zhang N, Zhu YM (2014). The positive regulatory roles of the TIFY10 proteins in plant responses to alkaline stress. *PLoS One* **9**, e111984.
- Zulawski M, Schulze G, Braginets R, Hartmann S, Schulze WX (2014). The *Arabidopsis* kinome: phylogeny and evolutionary insights into functional diversification. *BMC Genomics* **15**, 548.

Advances in Molecular Mechanisms of Stress Tolerance in Wild Soybean

Yan Wang, Bowei Jia, Mingzhe Sun, Xiaoli Sun*

Crop Stress Molecular Biology Laboratory, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China

Abstract Wild soybeans (*Glycine soja*) originated in China, which was the closest ancestor of soybean. Because of the remarkable adaptability to adverse conditions, wild soybean has become an ideal material for the study of key genes in regulating stress tolerance. In this review, we provided an overview on the genome, transcriptome and proteome of wild soybean in stress tolerance. Meanwhile, we summarized current research progress on the protein kinases, transcription factors, ion channels and redox regulation in response to stress, which will provide new ideas for the cultivation of stress-tolerant crops in the future.

Key words stress, ion channel, omics, protein kinase, redox, transcription factor, wild soybean

Wang Y, Jia BW, Sun MZ, Sun XL (2021). Advances in molecular mechanisms of stress tolerance in wild soybean. *Chin Bull Bot* **56**, 104–115.

* Author for correspondence. E-mail: csmb12016@126.com

(责任编辑: 孙冬花)