

大豆耐盐相关基因研究进展

方义生¹, 曹东¹, 杨红丽¹, 刘小荣², 张恒斌³, 陈李森^{1*}, 周新安^{1*}

(1. 农业农村部油料作物生物学与遗传育种重点实验室, 中国农业科学院油料作物研究所, 湖北 武汉, 430062;

2. 山西省农业科学院经济作物研究所, 山西 太原, 030031; 3. 新疆农垦科学院作物研究所, 新疆 石河子, 832000)

摘要:大豆(*Glycine max* (L.) Merrill)是植物蛋白质和油脂的重要来源。盐胁迫是造成大豆产量损失的主要非生物胁迫因素。耐盐基因的挖掘对培育大豆耐盐品种至关重要。本文一方面总结了通过正向遗传学获得的大豆耐盐相关数量性状位点或基因,如萌发期耐盐性主效基因 *GmCDF1* (*Glyma.08g102000*)、2个出苗期QTL(分别位于6号和14号染色体);苗期耐盐性主效基因 *GmSALT3* (*Glyma03g32900*)以及位于G连锁群的QTL。随着对大豆耐盐性研究的不断深入,目前认为大豆萌发期、出苗期、苗期的耐盐性无直接相关性。另一方面总结了通过反向遗传学途径获得的参与离子运输、转录调控等耐盐性基因,以及通过生物工程技术转入外源基因提高大豆耐盐性的研究进展,期望为解析大豆耐盐分子机制和耐盐育种提供参考。

关键词:大豆;盐胁迫;QTL;耐盐基因

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1007-9084(2020)04-0512-15

Research progress of salt-tolerance genes in soybean

FANG Yi-sheng¹, CAO Dong¹, YANG Hong-li¹, LIU Xiao-rong², ZHANG Heng-bin³, CHEN Li-miao^{1*},
ZHOU Xin-an^{1*}

(1. Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China; 2. Institute of Industrial Crop, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Fenyang 030031, China; 3. Institute of Crop Research, Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Sciences, Shihezi 832000, China)

Abstract: Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] is important source of plant protein and oil. Salt stress causes yield loss which is a major abiotic stress to soybean. Identification of salt tolerant genes is important for breeding salt tolerant soybean varieties. This paper summarized salt-tolerance related quantitative trait loci and genes obtained through forward genetics, including *GmCDF1* (*Glyma.08G102000*, a major gene identified at germination stage), 2 QTLs identified at emergence stage (located on chromosome 6 and chromosome 14 respectively), major gene *GmSALT3* (*Glyma03g32900*) and the QTL in G-linked group at seedling stage. Thus it was believed that no direct correlation between salt tolerances to soybean at different growth stages. The paper also summarized research progress of improving salt tolerance of soybean by reverse genetics, such as ion transport, transcriptional regulation and the development of improving salt-tolerance by transferring exogenous genes. It is expected to provide references for analyzing molecular mechanism of salt tolerance and for soybean breeding.

Key words: soybean; salt stress; QTLs; salt-tolerant gene

土壤盐碱化是全球环境恶化的主要因素之一,未来全球土壤盐碱化表现为持续加剧和区域性凸

显特征^[1,2]。在全球农业生产中,盐胁迫是影响作物生长和产量的主要非生物胁迫之一。盐渍地是我

收稿日期:2020-06-17

基金项目:抗逆转基因大豆新品种培育重大专项(2016ZX08004002);农业部油料作物生物学与遗传育种重点实验室开放课题(KF2018007);现代农业产业技术体系建设专项(CARS-04)

作者简介:方义生,男,博士研究生,主要从事大豆抗逆基因克隆及功能研究,E-mail: fangyisheng1111@163.com

* 通讯作者:陈李森,女,助理研究员,博士,主要从事大豆抗逆分子生物学及育种研究,E-mail: ccllmm_008@163.com;

周新安,男,研究员,博士,主要从事大豆遗传育种研究,E-mail: Zhouocri@sina.com

国重要的后备耕地,提升作物耐盐性,不仅是应对耕地盐碱化导致作物减产的有效途径,也是未来开拓农业耕种面积,保障粮食生产安全的基本条件之一^[3]。

大豆是重要的油料作物,是人类优质蛋白和食用油的主要来源之一,在我国种植区域广泛^[4]。栽培大豆是中度耐盐作物,土壤中的盐度阈值是5.0 dS/m,盐胁迫会显著抑制大豆生长,降低大豆产量^[5-7]。在对大豆种质资源进行耐盐性鉴定时,发现大豆种质中具有耐盐性的自然变异类型,这为进行大豆耐盐性品种改良,提高大豆在盐胁迫下的产量提供了理论依据^[8]。在大豆耐盐基因发掘研究中,通过正向遗传学和反向遗传学两种途径都获得了重要研究进展,鉴定出一批提高大豆耐盐能力的基因或位点^[9,10]。另外,通过生物工程技术手段将外源基因转入大豆,也已经培育出耐盐转基因大豆株系^[11]。本文将从以上三个方面总结大豆耐盐基因的研究进展,期望为大豆耐盐分子机理研究和耐盐分子育种提供参考。

1 通过正向遗传学方法获得大豆耐盐 QTL 或基因

已有研究结果证明大豆耐盐性状是受单个基因或者少数几个主效 QTL 控制的数量性状^[12]。过去几十年来,对大豆耐盐性状进行了大量研究,基于构建重组家系的连锁分析是研究数量性状、鉴定目标基因座位的经典方法。在大豆耐盐性状 QTL 定位研究中,许多耐盐或盐敏感资源被选作亲本,通过杂交获得不同世代群体后代材料。常用耐盐品种有 S-100、Jindou 6、Tiefeng 8,盐敏感品种有 Jackson、85-140 等。近年来,基于重测序和表型鉴定联合分析的全基因组关联分析(genome wide association study, GWAS)技术成为研究大豆种质耐盐性状的新途径。通过定位大豆耐盐数量性状位点(quantitative trait locus, QTL),一方面可以获得与耐盐基因连锁的分子标记,运用于分子标记辅助(marker-assisted selection, MAS)育种,另一方面可以对主效 QTL 进行精细定位,从而鉴定出耐盐相关基因,为大豆耐盐育种提供基因资源^[13]。

1.1 基于分离定位大豆耐盐 QTL 及图位克隆耐盐基因

国内外许多研究均鉴定出一个位于连锁群 N(3 号染色体)上的主效位点,推测大豆种质资源中耐盐性状可能由少数几个主效 QTL 位点控制^[14]。表 1

列出了国内外基于 QTL 定位获得的耐盐 QTL 或相关基因。

Lee 等^[15]用耐盐种质 S-100 和盐敏感种质 Tokyo 杂交衍生的 F_{2.5} 群体进行 QTL 定位,在大豆 N 连锁群上鉴定出一个主效 QTL 位点,位于 Sat237 和 Sat091 之间,通过这两个标记检测该组合衍生的后代家系(耐盐株系、盐敏感株系),鉴定出耐盐后代材料,证明这两个标记可用于 MAS 育种。Hamwiah 等^[16]通过耐盐野生大豆 JWS-156-1 和盐敏感品种 Jackson 杂交后获得 225 个 F₂ 单株进行 QTL 定位,结果表明,定位在大豆 3 号染色体上的 QTL 位点占耐盐总变异的 68.7%,且该 QTL 位点和 Lee 等^[15]定位结果相同,认为在野生大豆种和栽培大豆种中耐盐位点(基因)具有保守性。Hamwiah 等^[17]利用 FT-Abyara × C01 衍生的 96 个 F₇ 重组自交系(recombination inbred lines, RILs)和 Jindou 6 × 0197 衍生的 81 个 F₆ RIL 进行大豆耐盐性 QTL 定位,均检测到 1 个在 3 号染色体上的耐盐主效 QTL,贡献率分别达到 44.0% 和 47.1%。Ha 等^[18]通过野生大豆耐盐种质 PI483463 和栽培大豆盐敏感品种 Hutcheson 杂交获得了 106 个 F_{2.6} 群体,定位结果表明,耐盐 QTL 定位于 3 号染色体 SSR03_1335 和 SSR03_1359 之间。以上研究定位的大豆耐盐 QTL 位点相同,但未分离出耐盐基因。直到 2014 年,Guan 等^[19]利用 Tiefeng 8 和 85-140 杂交衍生的 367 个 F₂ 群体,将耐盐 QTL 定位在 3 号染色体上,标记区间为 QS1101 和 QS100011,并命名为 GmSALT3,进一步通过对 F_{5.6} 世代的 5769 个单株进行精细定位,将 QTL 定位区间缩小到 17.5 kb,位于 QS100001 到 QS1119 之间,在大豆参考基因组中这一区间只有一个基因(*Glyma03g32900*),该基因编码阳离子/H⁺转运蛋白,定位于内质网,可以降低大豆幼苗叶片中钠离子(Na⁺)的积累,显著提高大豆耐盐性。作者对 31 个地方品种和 22 个野生大豆种质测序后发现,大豆种质资源中 GmSALT3 位点有 9 个单倍型(2 个耐盐单倍型和 7 个盐敏感单倍型),进一步对 172 个中国大豆地方品种和 57 个野生大豆种质资源进行单倍型鉴定,发现 Tiefeng 8 单倍型 H1 可能是耐盐祖先等位基因,H1 单倍型在中国大豆种植区具有广泛的地理分布范围^[9]。

除了定位在 3 号染色体的 QTL 外,在其它染色体上的耐盐相关 QTL 也有报道。Cheng 等^[20]通过 Kefeng 1 × Nannong 1138-2 杂交获得 F_{7.11} 群体,除了鉴定出已知耐盐相关的 QTL 外,在 G 连锁群上鉴定出一个新的 QTL 位点,位于 Sat_164 和 sat_358 之间。

姜静涵等^[21]利用野生大豆耐盐资源 NY36-87 和栽培大豆盐敏感品种 Peking 构建了 220 个 $F_{2,3}$ 群体,通过苗期耐盐性鉴定发现分离群体耐盐性符合 3:1 分离比,利用混合分组分析法(bulked segregant analysis, BSA)将野生大豆 NY36-87 中耐盐 QTL 定位在 G 连锁群,SSR 标记 18-7 和 18-8 之间(约 240Kb)。Do 等^[22]通过耐盐品种 Fiskeby III 和中度盐敏感品种 Williams 82 杂交获得了 132 个 F_2 家系,从中鉴定了除 3 号染色体已知 QTL 外,在 13 号染色体上鉴定出一个新的 QTL。除了苗期 QTL 定位,目前认为大豆不同发育时期的耐盐性无直接相关性。刘等^[23]通过耐盐栽培大豆中黄 39 和野生大豆盐敏感资源 NY27-38 杂交构建了 142 个 F_7 家系,对大豆出苗期进行耐盐性 QTL 定位,定位到两个大豆出苗期耐盐 QTL,分别位于 6 号染色体(06-0935 和 06-1000 之间)可解释 2.01%~21.06% 的表型变异;14 号染色体(14-1377 和 14-1421 之间),可解释 11.98% 的表型变异。Zhang 等^[24]通过 Kefeng 1 $\times$ Nannong 1138-2 获得的 RIL 群体进行大豆萌发期耐盐性 QTL 定位,8 号染色体上的标记 Sat_162 存在一个主效 QTL,结合 GWAS 结果确定 *GmCDF1* (*Glyma.08g102000*) 为重要的候选基因,该基因属于阳离子输出蛋白家族(Cation efflux family),后续试验证明该基因是大豆萌发期耐盐性的负调控基因。

1.2 利用 GWAS 定位大豆耐盐 QTL 及基因

全基因组关联分析是一种在全基因组水平上利用高密度分子标记对所研究材料进行测序扫描,然后分析扫描出的分子标记与关注的表型性状之

间关联性的方法。GWAS 与基于亲本变异的连锁分析相比,可以对自然群体进行分析,群体具有更多自然变异和遗传多样性,有利于精细定位和基因发掘^[25]。该方法由 Risch 等于 1996 年^[26]提出,并于 2001 年由 Hansen 等首先运用于植物研究^[27],但是在大豆中的应用较晚,Zeng 等^[29]在温室中对 283 个大豆种质资源进行 120 mmol/L 氯化钠溶液胁迫处理 12~18 d,选择叶片中氯离子含量和叶绿素含量为鉴定指标,利用 33 009 个 SNP 进行关联分析,结果发现有 20 个 SNP 在两年试验中均和叶片氯离子浓度和叶绿素含量显著相关,在 3 号染色体上有 31 个 SNP,这些位点与 Guan 等^[19]耐盐 QTL 重合或接近,2 号染色体上的一个 SNP 也和此前 Huang 等^[28]报道的耐盐位点接近。此外,还鉴定了 7 个新 QTL。Huang 等^[30]通过对 192 个不同大豆品种进行 120 mmol/L 氯化钠处理 15~18 d,对叶片焦枯程度进行分级,利用 SoySNP50K 进行扫描,发现 3 号染色体上有 52 个 SNP 标记,且和先前在 S-100 中鉴定的耐盐 QTL 重合或接近,18 号染色体上有 3 个 SNP 和 Kefeng 1 耐盐 QTL 接近,另外还鉴定出了 4 个新 QTL。Do 等^[31]以盐胁迫处理后大豆叶片枯萎等级、叶绿素含量、叶片钠离子含量、叶片氯离子含量等为表型筛选指标,通过全基因组重测序获得了 370 万的 SNP,采用 SoySNP50K 分析,对一组 305 份、另一组 234 份大豆资源进行耐盐性 GWAS 分析,均发现 3 号染色体上有显著相关 SNP,且和 Guan 等^[19]报道的 QTL 重合或接近,另外 8 号染色体上有一个新 QTL 位点和耐盐性相关,预测该区域是新的耐盐 QTL 位点。

表 1 已定位的大豆耐盐相关 QTL

Table 1 QTL mapping for salt tolerance in soybean

亲本组合 Parent	群体类型 Population type	群体大小 Population size	连锁群 Linkage group (Chr.)	定位结果 Location of QTL	定位时期 Development stage	参考文献 Reference
S-100 $\times$ Tokyo	$F_{2,5}$	106	N (Chr3)	Sat_237 ~ Sat_091		15
JWS-156-1 $\times$ Jackson	F_2	225	N (Chr3)	(Satt237, Satt339) ~ Satt255		16
FT-Abyara 9 $\times$ C01	F_7	96	N (Chr3)	(Satt255, Sat_091) ~ Sat_304		17
Jin dou 6 $\times$ 0197	F_6	81	N (Chr3)	(Satt285, Sat_091) ~ Sat_304		17
PI483463 $\times$ Hutcheson	$F_{2,6}$	106	N (Chr3)	SSR03_1335 ~ SSR03_1359	苗期	18
Tiefeng 8 $\times$ 85-140	$F_{5,6}$	5769	N (Chr3)	<i>GmSALT3</i> (<i>Glyma03g32900</i>)	Seedling	19
Kefeng 1 $\times$ Nannong 1138-2	$F_{7,11}$	184	G (Chr18)	Sat_164 ~ Sat_358		20
NY36-87 $\times$ Peking	$F_{2,3}$	220	G (Chr18)	18-7 ~ 18-8		21
Fiskeby III $\times$ Williams 82	F_2	132	N (Chr3)	Salt-20 ~ Salt11655		22
			H (Chr12)	Gm13_37204738 ~ Gm13_38988256		
ZH39 $\times$ NY27-38	F_7	142	C2 (Chr6)	06-0935 ~ 06-1000	出苗期	23
			B2 (Chr14)	14-1377 ~ 14-1421	Emergence	
Kefeng 1 $\times$ Nannong 1138-2	$F_{7,11}$	184	A2 (Chr8)	<i>Glyma.08g102000</i>	萌发期	24
					Germination	

2 通过反向遗传学方法鉴定的大豆耐盐基因

植物对应盐胁迫是一个复杂的生物学过程。已有研究表明植物耐盐的机理可分为四类:离子稳态平衡、渗透调节、活性氧的平衡及其他形态结构的适应(盐腺、细胞膜修饰等)。不同大豆种质资源所表现出的耐盐能力差异和上述机理差异有关^[4, 32]。目前,通过反向遗传学方法鉴定的大豆耐盐基因可以归纳为离子转运类基因、转录因子、其他基因等三类。表2总结了近年来大豆中耐盐相关基因的鉴定结果。

2.1 离子转运类蛋白编码基因

2.1.1 参与Na⁺转运的蛋白编码基因 大多数研究者认为植物受盐胁迫毒害的主要离子是Na⁺。耐盐植物降低细胞质内Na⁺毒害的方式概括起来有两种:通过阳离子/质子(sodium/hydrogen exchanger, NHX)交换系统将Na⁺排出体外或者隔离到液泡中;通过高亲和性K⁺转运蛋白(high-affinity K⁺ transporters, HKT)系统或者质子/H⁺交换(cation/H⁺ exchanger, CHX)系统将Na⁺从木质部中卸载到韧皮部进而降低叶片Na⁺的积累。大豆具有和其他高等植物相似的Na⁺转运系统^[4]。

高等植物中进行Na⁺交换的阳离子/质子系统有两类,Na⁺/H⁺交换系统(NHX)和质子/H⁺交换系统(CHX)^[33]。在拟南芥中, *AtNHX1* 和 *AtNHX7* (*AtSOS1*) 在维持Na⁺稳态和增加耐盐性方面具有重要作用^[34-38]。大豆中的同源蛋白GmNHX1定位于液泡膜,可将胞质Na⁺转运到液泡中,在大豆中过表达和拟南芥中异源表达都可以增强转基因株系的耐盐能力^[39, 40]。GmNHX2定位在细胞膜,在大豆中组成型表达。*GmNHX2*在拟南芥中异源表达可提高转基因植株的耐盐能力^[41, 42]。Nie等^[43]研究发现, *GmSOS1* 具有和 *AtSOS1* 相似的功能,将 *GmSOS1* 在拟南芥 *sos1-1* 突变体中回补,能够恢复突变体材料对盐胁迫耐受性,并与野生型相当,推测 *GmSOS1* 和 *AtSOS1* 具有相同的功能,既可以将Na⁺从根中排出体外,又可以调控Na⁺从根到茎的远距离运输。Zhao等^[44]进一步研究了 *GmSOS1* 增加拟南芥耐盐能力的生理机制,发现在拟南芥中异源表达 *GmSOS1* 可以降低Na⁺积累,并增加抗氧化酶活性,进而降低氧化应激带来的损伤。才晓溪等^[45]利用生物信息学分析在大豆中鉴定出40个推测的 *GmCHXs* 家族基因,该家族中目前报道了两个基因(*GmSALT3*^[19]、*GmCAX1*^[46])能提高植物耐盐性。*GmCAX1* 基因可被盐胁迫诱导,该

蛋白定位于细胞质膜,在拟南芥中异源表达 *GmCAX1* 可降低体内Na⁺/K⁺,增加盐胁迫下拟南芥种子的萌发率^[46]。

2.1.2 参与Cl⁻转运的蛋白编码基因 氯是植物生长和发育必须的微量元素,Cl⁻是植物细胞中除NO₃⁻外主要的阴离子,Cl⁻参与植物的光合作用、气孔运动、膜电位的平衡和抗病性,当其积累过量时既会产生离子毒害,也会影响营养元素的吸收、影响叶片水势、活性氧积累,最终会对大豆生长和产量造成不利影响^[47-50]。目前,在作物耐盐性研究中多集中在Na⁺转运机制上,对于Cl⁻转运机制研究较少^[47]。实验表明,大豆盐胁迫的损伤和Cl⁻积累有关。Abel等^[51, 52]通过杂交和回交实验,发现盐胁迫下的Cl⁻积累在F₂群体中,符合3:1的分离比,在BC₁F₁群体中符合1:1的分离比。结果表明,在大豆中Cl⁻积累是受单基因控制的显性性状,并将该基因命名 *Ncl*。*Ncl* 基因虽然可以调控Cl⁻的积累,但是随着 *Ncl* 位点被鉴定,该基因实际上还是 *GmCHX1*,同样可以调控Cl⁻在大豆体内的的积累,造成这样的原因是不同研究者在大豆中进行耐盐性QTL定位时关注的离子不同^[53]。

Cl⁻通道蛋白家族基因(chloride channel protein, *CLCs*)在很多植物中被鉴定出来^[54, 55]。在大豆中已经克隆的Cl⁻通道蛋白家族基因 *GmCLC1* 可以提高植物耐盐性。Li等^[56]将 *GmCLC1* 基因转化到烟草BY-2细胞系中,发现 *GmCLC1* 基因定位在液泡膜,可以将Cl⁻转运并隔离到细胞系的液泡中,显著提高BY-2烟草细胞系的耐盐能力,进一步研究确认该蛋白转运Cl⁻的能力取决于细胞质的酸碱度(pH),是定位在液泡膜上的Cl⁻/H⁺逆向转运蛋白,调节细胞内Cl⁻平衡,增强Cl⁻或者盐胁迫耐受性。Wei等^[57]研究表明, *GmCLC1* 在转基因拟南芥中异源表达可以降低Cl⁻在叶片中的积累;在大豆毛状根中过表达可以隔离Cl⁻在根中,降低Cl⁻向芽中输送;在酵母中异源表达该蛋白可以增加酵母菌株在不同氯化物(MnCl₂、KCl、NaCl)胁迫后的存活率,说明 *GmCLC1* 蛋白能够通过调控Cl⁻的积累增强耐盐性。

2.1.3 参与K⁺转运的蛋白编码基因 高亲和性K⁺转运蛋白(HKT)是植物将根部Na⁺从木质部卸载到韧皮部而降低叶片Na⁺含量的主要参与者^[58-61]。大豆HKT家族中有7个基因被鉴定出来,已经报道2个基因可增加转基因植株耐盐性^[62, 63]。Chen等^[62, 63]将 *GmHKT1* 和 *GmHKT1;4* 基因分别在烟草中异源表达,发现 *GmHKT1* 和 *GmHKT1;4* 都可以调控Na⁺和K⁺

从根向茎中转运,调节 Na^+ 和 K^+ 的平衡,增强转基因烟草耐盐能力。

2.2 转录因子

在高等植物中,认为盐被特定的受体感知进而启动信号级联反应,调节下游盐响应基因的表达,进而应对盐胁迫。此前,植物感知土壤中 Na^+ 的受体是未知的,最近在拟南芥中有了突破性进展,感知盐胁迫的受体基因 (*Monocation-induced/Ca²⁺ increases 1, MOCA1*) 被鉴定出来,当土壤中的 Na^+ 与细胞质膜上 MOCA1 蛋白结合,会触发 Ca^{2+} 涌入细胞内传递盐胁迫信号,这种机制可用于提高作物耐盐性^[65]。当植物感知盐胁迫信号后,相关转录因子会参与进来。大豆基因组中有约 12% 的基因属于不同转录因子家族成员^[66]。MYB (V-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog)、bZIP (basic leucine zipper)、WRKY、ERF (ethylene-responsive element binding factors)、NAC (NAM, ATAF1, 2 and CUC2) 等转录因子家族中一些成员报道与大豆耐盐性相关^[67-71]。

大豆中有 156 个基因属于 MYB 家族成员^[72]。Liao 等^[72]对大豆 MYB 家族成员进行鉴定,发现有 43 个基因参与非生物胁迫响应,选择 3 个受到盐胁迫诱导的基因 (*GmMYB76*、*GmMYB92*、*GmMYB177*) 在拟南芥中异源表达,发现转基因种子在盐胁迫处理下萌发率提高,幼苗成活率增加。Wang 等^[73]研究发现 *GmMYB174* 可以和 *GmWRKY74* 互作并结合到 *GmNAC29* 的启动子上游,抑制 *GmNAC29* 的表达,增强转基因大豆耐盐性。Li 等^[74]研究发现 *GmMYB12B2* 在拟南芥中异源表达提高了转基因拟南芥的耐盐性,降低了紫外线的伤害;*GmMYB12B2* 在大豆过表达能够增加脯氨酸含量,促进盐胁迫响应基因 *RD17* 和 *DREB2A* 的表达,增加耐盐性。Du 等^[75]研究发现将 *GmMYB118* 在大豆毛状根中过表达,增强了大豆耐盐性,同时,采用 CRISPR/Cas9 技术将大豆毛状根中 *GmMYB118* 敲除,植株对盐胁迫的敏感性增加,突变体内的活性氧积累和 MDA 含量明显高于对照和过表达植株,脯氨酸和叶绿素含量明显低于对照和过表达植株。Shen 等^[76]研究发现,在拟南芥中异源表达 *GsMYB15* 提高了拟南芥种子在盐胁迫下的萌发率,并且在苗期进行 250 mmol/L NaCl 处理,转基因株系的存活率显著高于野生型。Wang 等^[77]研究表明, *GmMYB12* 在拟南芥中的表达可以调控黄酮类物质的合成,促进了拟南芥种子萌发和根系发育,脯氨酸含量 (proline)、吡啶-5-羧酸

合成酶 (P5CS)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 活性显著升高,过氧化氢 (H_2O_2) 和丙二醛 (MDA) 含量显著降低,最终提高了对盐和干旱胁迫的抗性。Zhang 等^[78]研究结果表明,在大豆中过表达 *GmMYB84* 增加了转基因大豆耐盐性, *GmMYB84* 可以特异结合 *GmAKT1* 基因启动子,激活 *GmAKT1* 表达,维持细胞内 K^+ 的稳态,降低 Na^+/K^+ 。上述转录因子都是正调控盐胁迫。然而,He 等^[79]研究发现 *GmMYB3a* 在大豆中对盐胁迫是负调控。

大豆中有 131 个基因属于 bZIP 家族成员^[80]。Liao 等^[81]研究发现有 31 个基因受盐胁迫诱导表达, *GmbZIP44*、46、62、78、132 在拟南芥中进行功能研究发现, *GmbZIP44*、62、78 的异源表达可以促进 ABA 信号的负调控因子 (*ABI1*、*ABI2*) 及胁迫响应基因 (*DREB2A*、*COR47* 等) 的表达,增加种子萌发期对盐胁迫的抗性, *GmbZIP132* 的异源表达可以上调 *RD29B*、*DREB2A*、*P5CS* 等非生物胁迫响应的基因,增加盐胁迫下种子萌发率。Cao 等^[82]研究发现,在盐胁迫下 *GmbZIP1* 的异源表达可促进气孔关闭,增强转基因拟南芥的耐盐。Xu 等^[83]研究发现 *GmbZIP110* 可结合在胁迫响应基因的启动子上进而调控其表达,如罕见冷诱导基因 3 (rare cold induced 3, *RCI3*)、*MYB2*、*NHX1*、*SOS1* 等,同时,促进脯氨酸的积累、降低 Na^+/K^+ , 增强大豆和拟南芥的耐盐性。Li 等^[84,85]研究发现 *GmFDL19* 不但能促进开花,过表达该基因可以促进 ABA 信号途径中 *GmNAC29*、*GmERF5*、*GmMYB74* 等胁迫相关基因的表达,增加盐胁迫下转基因植株的叶绿素含量和抗氧化酶活性,降低 Na^+ 积累。Yang 等^[86]研究发现 *GmbZIP2* 可以被盐胁迫显著诱导,在大豆毛状根中过表达该基因可以上调 *GmMYB48*、*GmWD40*、*GmDHN15*、*GmGST1* 和 *GmLEA* 等胁迫基因的表达,增加转基因大豆耐盐性。

大豆中有 176 个基因属于 WRKY 家族成员^[87]。Song 等^[87]对大豆 WRKY 家族成员进行表达模式分析,发现 *WRKY92*、144、165 受到盐胁迫诱导。Zhou 等^[88]对 *GmWRKY13*、21、54 进行研究,其中 *GmWRKY21* 增强了拟南芥的耐冷性, *GmWRKY13* 能够降低对盐胁迫的抗性, *GmWRKY54* 通过上调 *DREB2A* 和 *STZ/Zat10* 的表达增加拟南芥的耐盐能力。Wei 等^[89]研究发现过表达 *GmWRKY54* 可以激活脱落酸途径和 Ca^{2+} 信号途径,增强大豆耐旱能力。Xu 等^[90]研究发现过表达 *GmWRKY111* 增强了转基因大豆的耐盐能力。Xu 等^[91]研究发现过表达 *Gm-*

*WRKY49*可提高大豆和拟南芥对盐胁迫抗性。Shi等^[92]研究表明,过表达*GmWRKY12*可以增加脯氨酸含量、降低丙二醛含量,提升转基因大豆耐盐性。Ma等^[93]研究发现*GmWRKY16*通过ABA信号途径增加转基因拟南芥的耐盐作用。

大豆中有160个基因属于ERF家族成员^[94]。Zhang等^[95]研究发现在烟草中异源表达*GmERF3*可以增加体内游离脯氨酸和可溶性糖的含量,增强转基因烟草的耐盐性。Zhai等^[96]研究发现在盐胁迫下,*GmERF7*在烟草中异源表达提高了叶绿素和可溶性糖含量,降低了MDA含量,增强了转基因烟草的耐盐性。Yu等^[97]研究表明,*GsERF71*提高了H⁺-ATPase的活性,并通过调控生长素的积累来增加转基因拟南芥的耐盐碱性。Zhao等^[94,98]研究发现*GmERF135*可以通过参与ABA和乙烯(ethylene, ET)信号途径增强转基因拟南芥和大豆毛状根对盐胁迫的耐性,*GmERF75*可以提高拟南芥在盐胁迫下的叶绿素含量,增加大豆毛状根对盐胁迫的耐受性。

大豆中有180个基因属于NAC家族成员^[99]。Hao等^[100]研究发现*GmNAC11*和*GmNAC20*在大豆毛状根中过表达和拟南芥中异源表达都提高了转基因植物耐盐性,*GmNAC11*调控了*DREB1A*和其他胁迫相关基因的表达,*GmNAC20*调控DREB/CBF-COR信号通路进而增强耐盐作用。Gao等^[101]研究发现*GsNAC109*在拟南芥中异源表达能够通过ABA信号途径调控下游基因(*RD29A*,*RD22*等)的表达,提高对碱胁迫的耐受性。Yang等^[102]进一步研究发现*GmNAC109*可以激活*DREB1A*、*DREB2A*、*AREB2*、*RD29A*、*COR15A*等胁迫基因的表达,并调控生长素信号通路中*AIR3*的表达,促进转基因拟南芥侧根的形成,增加耐盐性。Li等^[103]研究发现,在大豆毛状根中过表达*GmNAC5*可以提高盐胁迫相关基因的表达,增加大豆对盐胁迫的耐受性。另外,Jin等^[104]发现*GmNAC2*负调控盐胁迫等非生物逆境,在烟草中异源表达该基因导致对盐胁迫敏感性增加。

2.3 其它基因

在植物中,Ca²⁺是参与感知各种信号的关键信使。植物体内的Ca²⁺传感器有钙调蛋白(Calmodulins, CaMs)和B类钙调蛋白(Calcineurin B-like proteins, CBLs)两种类型,识别细胞内Ca²⁺的变化,响应不同的信号^[105,106]。Li等^[105]研究发现在拟南芥中异源表达*GmCBL1*,改变了赤霉素生物合成相关基因的表达,控制下胚轴的发育,同时激活了应激

相关基因的表达,进而增加非生物胁迫抗性。Rao等^[106]研究发现,*GmCaM4*和调控盐响应基因的转录因子Myb2互作,正调控*P5CS1*的表达积累更多脯氨酸,增强盐胁迫的抗性。Qiu等^[107]研究发现在大豆中过表达*GsMAPK4*基因提高了对盐胁迫的耐受能力。

盐胁迫会导致细胞内积累过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS),对细胞造成氧化损伤^[108]。增强细胞中抗氧化物质含量或者酶活可以缓解大豆受非生物胁迫的氧化损伤^[109]。Yan等^[110]研究发现,在大豆中沉默*GmFNSII*会导致抗氧化剂黄酮类物质含量降低、丙二醛和H₂O₂增多,对盐胁迫更敏感。Jia等^[111]研究发现在大豆毛状根中过表达和烟草中异源表达*GmIFS1*会增加大豆或烟草中异黄酮积累,提高了转基因大豆毛状根和烟草植株对盐胁迫的耐受性。Wang等^[112]研究发现*GmBIN3*可以增加细胞内Ca²⁺含量并降低Na⁺含量,提高转基因拟南芥耐盐能力,在大豆毛状根中过表达*GmBIN2*,脯氨酸含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性都高于对照,提高了转基因植株耐盐性。Jin等^[113]研究表明在大豆毛状根中过表达*GsPRX9*,盐胁迫下转基因大豆的根鲜重、根长、过氧化物酶、超氧化物歧化酶活性和谷胱甘肽含量均高于对照,H₂O₂含量低于对照,增强了转基因大豆耐盐性。Gao等^[114]研究发现在大豆毛状根中过表达*GmEF4*,提高了盐胁迫下过表达植株的根长、脯氨酸含量,降低H₂O₂、O₂²⁻、MDA含量,进而提高转基因植株的耐盐性。Zhao等^[115]研究发现*GmG6PDH*在调节氧化还原稳态方面具有重要作用,过表达该基因可以通过协调抗坏血酸和谷胱甘肽的氧化还原状态来抑制活性氧产生,显著提高转基因大豆对盐胁迫的抗性。

Wei等^[116]研究发现*GmPHD6*可以和*LHP1-1/2*互作,调控下游靶基因*CYP75B1*和*CYP82C4*的表达,在大豆毛状根中过表达*GmPHD6*或互作蛋白基因或下游靶基因都可以提升转基因大豆耐盐性。Zhang等^[117]研究表明水通道蛋白能够参与植物对非生物逆境的响应,在大豆毛状根中过表达*GmTIP2;1*、*GmTIP1;7*、*GmTIP1;8*都可以增加转基因植物的耐盐性。Duan等^[118]研究表明在拟南芥中过表达*GmF6'H1*,降低了水分蒸腾提升转基因拟南芥的耐盐性。

小RNA(microRNAs, miRNAs)在植物发育和对逆境的响应方面具有重要作用。miR172家族已被证明参与开花时间的控制和对非生物胁迫的响应,

该家族调控 APETALA2 类转录因子的表达^[119]。Pan 等^[120]研究发现,根中过表达的 *miR172a* 可以长距离运输到叶片中,通过裂解转录因子 SSAC1,进而解除 SSAC1 对下游正调控盐胁迫响应基因 *THI1* 的抑制,同时 *miR172a* 通过上调 *RD22* 和 *NCED3* 的表达,提高转基因大豆的耐盐性。在拟南芥和大豆中进行 *miR172c* 的异源表达或过表达研究,都增加了转基

因植株的耐盐性,在拟南芥中过表达 *gma-miR172c* 还可以减少叶片水分流失,降低 *ABI3* 和 *ABI5* 的表达,增加对 ABA 的敏感性;在大豆中过表达 *gma-miR172c* 和抑制 *miR172c* 分别导致根中盐胁迫的敏感性显著增加和降低,同时鉴定出大豆中 *miR172c* 的靶基因是 *NNC1*,靶基因 *NNC1* 同样参与了大豆对盐胁迫的响应^[119,121]。

表 2 大豆中耐盐相关基因的鉴定

Table 2 Salt tolerance-related genes identified in soybean

基因名 Gene name	登录号 Locus name	基因功能 Gene function	转基因受体 Transgenic receptor	参考文献 Reference
<i>GmNHX1</i>	<i>Glyma.15G124100</i>	液泡膜 Na ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	拟南芥	41
<i>GmNHX2</i>	<i>Glyma.15G124100</i>	Vacuolar Na ⁺ /H ⁺ antiporter	Arabidopsis	42
<i>GmSOS1</i>	<i>Glyma.08G092000</i>	质膜 Na ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	拟南芥	43,44
		Plasma membrane Na ⁺ /H ⁺ antiporter	Arabidopsis	
<i>GmSALT3</i>	<i>Glyma.03G171600</i>	阳离子/质子交换器	大豆	19
		Cation/proton exchanger	Soybean	
<i>GmCAX1</i>	<i>Glyma.07G149600</i>		拟南芥	46
			Arabidopsis	
<i>GmCLC1</i>	<i>Glyma.05G077100</i>	氯离子通道蛋白	烟草 BY-2 细胞、大豆	56,57,58
		Cl ⁻ transporter protein	Tobacco BY-2 cells, soybean	
<i>GmHKT1</i>	<i>Glyma.01G002300</i>	钾离子转运蛋白	烟草	63
		High-affinity K ⁺ transporter	Tobacco	
<i>GmHKT6;2</i>	<i>Glyma.07G130100</i>			64
<i>GmMYB76</i>	<i>Glyma.02G009800</i>	MYB 转录因子	拟南芥	72
<i>GmMYB92</i>	<i>Glyma.16G023000</i>	MYB transcription factors	Arabidopsis	72
<i>GmMYB177</i>	<i>Glyma.14G210600</i>			72
<i>GmMYB174</i>	<i>Glyma.18G044200</i>		大豆	73
<i>GmMYB12B2</i>	<i>Glyma.19G218800</i>		Soybean	74
<i>GmMYB118</i>	<i>Glyma.13G152300</i>			75
<i>GmMYB12</i>	<i>Glyma.02G013900</i>		拟南芥	77
			Arabidopsis	
<i>GmMYB84</i>	<i>Glyma.05G234600</i>		大豆	78
<i>GmMYB3a</i>	<i>Glyma.20G013000</i>		Soybean	79
<i>GmbZIP44</i>	<i>Glyma.04G029600</i>	ZIP 转录因子	拟南芥	80
<i>GmbZIP62</i>	<i>Glyma.06G079800</i>	ZIP transcription factors	Arabidopsis	80
<i>GmbZIP78</i>	<i>Glyma.03G255000</i>			80
<i>GmbZIP132</i>	<i>Glyma.13G269500</i>			81
<i>GmbZIP1</i>	<i>Glyma.02G131700</i>		大豆、拟南芥	82
<i>GmbZIP110</i>	<i>Glyma.08G115300</i>		Soybean and Arabidopsis	83
<i>GmFDL19</i>	<i>Glyma.19G122800</i>			84,85
<i>GmbZIP2</i>	<i>Glyma.14G002300</i>		大豆	86
			Soybean	
<i>GmWRKY13</i>	<i>Glyma.13G102000</i>	WRKY 转录因子	拟南芥	87
<i>GmWRKY54</i>	<i>Glyma.10G011300</i>	WRKY transcription factors	Arabidopsis	88,89
<i>GmWRKY49</i>	<i>Glyma.14G200200</i>		大豆、拟南芥	91
			Soybean and Arabidopsis	

续表

基因名 Gene name	登录号 Locus name	基因功能 Gene function	转基因受体 Transgenic receptor	参考文献 Reference
<i>GmWRKY12</i>	<i>Glyma.15G003300</i>		大豆 Soybean	92
<i>GmWRKY16</i>	<i>Glyma.12G212300</i>		拟南芥 Arabidopsis	93
<i>GmERF3</i>	<i>Glyma.03G263700</i>	ERF 转录因子	烟草	95
<i>GmERF7</i>	<i>Glyma.07G044300</i>	ERF transcription factors	Tobacco	96
<i>GmERF135</i>	<i>Glyma.17G145300</i>		拟南芥	94, 98
<i>GmERF75</i>	<i>Glyma.10G016500</i>		Arabidopsis	94, 98
<i>GmNAC11</i>	<i>Glyma.19G108800</i>	NAC 转录因子	大豆、拟南芥	100
<i>GmNAC20</i>	<i>Glyma.13G030900</i>	NAC transcription factors	Soybean and Arabidopsis	100
<i>GmNAC109</i>	<i>Glyma.14G152700</i>		拟南芥 Arabidopsis	102
<i>GmNAC5</i>	<i>Glyma.06G195500</i>		大豆 Soybean	103
<i>GmNAC2</i>	<i>Glyma.06G114000</i>		烟草 Tobacco	104
<i>GmCBL1</i>	<i>Glyma.05G066800</i>	B类钙调蛋白 Calcineurin B-like proteins	拟南芥 Arabidopsis	105
<i>GmCaM4</i>	<i>Glyma.10G178400</i>	钙调蛋白 Ca ²⁺ sensors	大豆 Soybean	106
<i>GmFNSII</i>	<i>Glyma.12G067000</i>	黄酮合成基 Flavonoid synthesis gene	大豆 Soybean	110
<i>GmIFS1</i>	<i>Glyma.07G202300</i>	异黄酮合成酶 Isoflavone synthase	大豆、烟草 Soybean and tobacco	111
<i>GmBIN2</i>	<i>Glyma.13G228100</i>	糖原合成酶 Glycogen synthase	大豆、拟南芥 Soybean and Arabidopsis	112
<i>GmEF4</i>	<i>Glyma.05G114900</i>	延长因子 Elongation factor	大豆 Soybean	114
<i>GmG6PDH</i>	<i>Glyma.19G082300</i>	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 Glucose-6-phosphate dehydrogenase	大豆 Soybean	115
<i>miR172a</i>	/	小RNA	大豆	116
<i>miR172c</i>	/	Micromas	Soybean	117, 118
<i>GmPHD6</i>	<i>Glyma.09G068500</i>	PHD 锌指蛋白 Zinc finger protein	大豆 Soybean	119
<i>GmTIP2;1</i>	<i>Glyma.01G208200</i>	水通道蛋白	大豆	120
<i>GmTIP1;7</i>	<i>Glyma.03G185900</i>	Aquaporins	Soybean	120
<i>Gm TIP1;8</i>	<i>Glyma.19G186100</i>			120
<i>GmF6'H1</i>	<i>Glyma.18G111000</i>	香豆素 Biosynthesis of coumarin	拟南芥 Arabidopsis	121

3 耐盐转基因大豆资源创制

通过生物工程技术导入外源基因来实现大豆特定育种目标,是一个缩短育种周期,打破种内供体基因不足的有效方法。在国外,已经培育了抗除草剂、抗虫、抗旱转外源基因的商业化大豆品种^[122]。表3总结了近年来国内外通过转外源基因提高大豆

耐盐性的报道^[35,38,123~130],已经通过导入来自拟南芥、苜蓿、水稻、小麦和桃中有关耐盐相关基因,提高了大豆耐盐能力。

4 问题与展望

4.1 充分利用野生大豆抗逆资源

大豆耐盐性状是受多基因控制的数量性状。

表3 转外源基因大豆耐盐性改良的研究

Table 3 Development of improved salt-tolerant in soybean by transferring exogenous genes

基因名 Gene name	供体 Donor	基因功能 Gene functions	文献 References
AVP1、NHX1	拟南芥	H-焦磷酸酶、Na ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	35, 123
	Arabidopsis	H-pyrophosphatase; Na ⁺ /H ⁺ antiporter	
NHX5	拟南芥	Na ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	38
	Arabidopsis	Na ⁺ /H ⁺ antiporter	
NHX2	小麦	Na ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	124
	<i>Triticum aestivum</i>	Na ⁺ /H ⁺ antiporter	
MYB44	拟南芥	MYB转录因子	125
	Arabidopsis	MYB transcription factors	
SZF2	拟南芥	CCCH 锌指蛋白	126
	Arabidopsis	CCCH zinc finger protein	
DREB2A	水稻	脱水反应元件结合转录因子	127
	<i>Oryza sativa</i>	Dehydration reaction elements bind transcription factors	
DREB3	小麦		128
	<i>Triticum aestivum</i>		
DREB1	苜蓿		129
	<i>Medicago truncatula</i>		
WRKY11	苜蓿	WRKY 转录因子	130
	<i>Medicago truncatula</i>	WRKY transcription factors	
CuZnSOD	桃	SOD 活性	131
	<i>Amygdalus persica</i> spp.	SOD activity	

栽培大豆在选择、进化中丢失了很多抗逆基因,降低了耐逆育种中可利用的基因。野生大豆种质资源具有优良抗逆性,进一步开展野生大豆耐盐性研究,鉴定耐盐 QTL 位点,分离耐盐功能基因,可以为培育耐盐大豆株系,提供新的基因来源。

4.2 注重田间耐盐性及对产量和品质的影响

大豆耐盐相关基因发掘取得了重要进展。然而,在大田条件下利用这些基因提高大豆的耐盐性仍然是一个艰巨的任务^[132]。一方面,耐盐相关基因的鉴定方法大多是在温室条件下进行的,筛选的盐胁迫浓度不是田间盐胁迫水平,无法将温室获得的结果直接应用于田间耐盐性研究;另一方面,鉴定的耐盐性相关基因缺少对大豆产量和品质的影响结果。今后在大豆耐盐性研究中应开发一套标准的评价系统,用来评估在田间条件下耐盐相关基因对产量和品质的影响。

4.3 利用多效基因培育耐逆转基因大豆株系

Deshmukh 等研究表明大豆对各种生物胁迫和非生物胁迫的反应中,不同的调控网络之间存在着交叉适应^[133]。一些转录因子或信号转导基因可以调控大量的靶基因,同步提高植物对盐、干旱、冷害等非生物胁迫的耐受性。在提高大豆对多种不同逆境耐受能力育种中,选择参与交叉适应的基因过

表达比单一功能的基因更有效^[131]。然而,在利用这些信号转导、转录因子等基因改良植物耐逆能力时,基因的组成型表达通常会产生植株株高降低和其他生长异常。为了克服这一问题,Kasuga 证实可以选择组织特异性启动子或者胁迫响应基因的启动子驱动表达^[134]。

4.4 加快出苗期耐盐 QTL 的发掘

大豆萌发期、出苗期、苗期等不同生育阶段的耐盐性没有直接相关性,说明不同发育时期存在不同的耐盐机制^[135,136]。大豆苗期的耐盐性鉴定研究较为深入,鉴定了一些耐盐的 QTL 或基因,实验进一步证明 *GmSALT3* 是苗期耐盐基因,和出苗期耐盐性无关^[133]。有研究发现大豆的萌发期耐盐性高于出苗期,而且大豆播种之后会及时灌溉,此时会降低土壤的盐度,有利于萌发^[137]。在大豆实际种植中,大豆出苗期的耐盐性直接决定能否在盐胁迫条件下保证全苗和壮苗。因此,大豆出苗期的耐盐性相关基因的发掘是今后研究的一个重要方向。

4.5 基因编辑技术培育耐盐大豆新品种

以前,对于大豆耐盐相关基因的发掘和功能解析以模式植物作受体为主,不利于大豆耐盐机理的深入解析;大豆耐盐相关的负调控基因不适合异源转化研究。近年来,大豆转化技术体系日益成熟,

培育转基因大豆株系不再是瓶颈,方便了大豆耐盐相关基因的深入研究。同时,基因组编辑技术在作物遗传改良上的应用是当前的热点。通过基因组编辑技术敲除大豆耐盐相关的负调控基因,是培育耐盐转基因大豆新的途径。

4.6 拓展耐盐基因挖掘新技术

目前,多种豆科作物泛基因组数据的开发和重测序信息的建立,可以加强豆科基因组学的比较研究,发现和鉴定涉及抗逆性的关键基因和基因家族。将这些候选基因应用到下一代育种策略中,将加速大豆在胁迫条件下对目标性状的遗传改良。

参考文献:

- [1] 杨劲松,姚荣江.我国盐碱地的治理与农业高效利用[J].中国科学院院刊,2015,30(Z1):162-170.
- [2] 彭新华,王云强,贾小旭,等.新时代中国土壤物理学主要领域进展与展望[J/OL].土壤学报,2020. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.P.20200507.1440.002.html>.
- [3] 温利强.我国盐渍土的成因及分布特征[D].合肥:合肥工业大学,2010.
- [4] 中国大豆优势区域布局规划(2008-2015年)[J].农业工程技术·农产品加工业,2009(8):4-5.
- [5] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance[J]. Annu Rev Plant Biol, 2008, 59(1): 651-681. DOI:10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.
- [6] Papiernik S K, Lindstrom M J, Schumacher J A, et al. Variation in soil properties and crop yield across an eroded prairie landscape[J]. J Soil Water Conserv, 2005, 60(6): 388-395.
- [7] Ashraf M. Breeding for salinity tolerance in plants[J]. Crit Rev Plant Sci, 1994, 13(1): 17. DOI:10.1080/713608051.
- [8] El-Samad H M A, Shaddad M A K. Salt tolerance of soybean cultivars[J]. Biol Plant, 1997, 39(2): 263-269. DOI:10.1023/A:1000309407275.
- [9] Yan Q T, Lu H, Mao W X, et al. Map-based cloning for plants gene isolation[J]. Mol Plant Breeding, 2005, 3(4):585-590.
- [10] 王楠,赵士振,吕孟华,等.大豆耐盐相关QTLs鉴定和功能基因研究进展[J].遗传,2016,38(11):992-1003. DOI:10.16288/j.ycz.16-086.
- [11] 田艺心,高凤菊,曹鹏鹏,等.大豆耐盐基因研究进展[J].大豆科学,2018,37(4):629-636. DOI:10.11861/j.issn.1000-9841.2018.04.0629.
- [12] Xu D H, Tuyen D D. Genetic studies on saline and sodic tolerances in soybean[J]. Breed Sci, 2012, 61(5): 559-565. DOI:10.1270/jsbbs.61.559.
- [13] 陈华涛,陈新,喻德跃,等.大豆耐盐基因定位及耐盐基因克隆研究进展[J].江苏农业科学,2010,38(5):78-80. DOI:10.3969/j.issn.1002-1302.2010.05.024.
- [14] Hamwiah A, Tuyen D D, Cong H, et al. Identification and validation of a major QTL for salt tolerance in soybean[J]. Euphytica, 2011, 179(3): 451-459. DOI:10.1007/s10681-011-0347-8.
- [15] Lee G J, Boerma H R, Villagarcia M R, et al. A major QTL conditioning salt tolerance in S-100 soybean and descendent cultivars[J]. Theor Appl Genet, 2004, 109(8): 1610-1619. DOI:10.1007/s00122-004-1783-9.
- [16] Hamwiah A, Xu D H. Conserved salt tolerance quantitative trait locus (QTL) in wild and cultivated soybeans[J]. Breed Sci, 2008, 58(4): 355-359. DOI:10.1270/jsbbs.58.355.
- [17] Hamwiah A, Tuyen D D, Cong H, et al. Identification and validation of a major QTL for salt tolerance in soybean[J]. Euphytica, 2011, 179(3): 451-459. DOI:10.1007/s10681-011-0347-8.
- [18] Ha B K, Vuong T D, Velusamy V, et al. Genetic mapping of quantitative trait loci conditioning salt tolerance in wild soybean (*Glycine soja*) PI 483463[J]. Euphytica, 2013, 193(1): 79-88. DOI:10.1007/s10681-013-0944-9.
- [19] Guan R X, Qu Y, Guo Y, et al. Salinity tolerance in soybean is modulated by natural variation in GmSALT3[J]. Plant J, 2014, 80(6): 937-950. DOI:10.1111/tbj.12695.
- [20] Chen H T, Cui S Y, Fu S X, et al. Identification of quantitative trait loci associated with salt tolerance during seedling growth in soybean (*Glycine max* L.)[J]. Aust J Agric Res, 2008, 59(12): 1086. DOI:10.1071/ar08104.
- [21] 姜静涵.大豆苗期耐盐机理研究及耐盐基因定位[D].北京:中国农业科学院,2013:34-39.
- [22] Do T D, Vuong T D, Dunn D, et al. Mapping and confirmation of loci for salt tolerance in a novel soybean germplasm, Fiskeby III[J]. Theor Appl Genet, 2018, 131(3): 513-524. DOI:10.1007/s00122-017-3015-0.
- [23] 刘谢香.大豆苗期耐盐基因GmSALT3标记开发利用及出苗期耐盐QTL发掘[D].北京:中国农业科学院,2019.
- [24] Zhang W, Liao X L, Cui Y M, et al. A cation diffusion facilitator, GmCDF1, negatively regulates salt tolerance in soybean[J]. PLoS Genet, 2019, 15(1): e1007798. DOI:10.1371/journal.pgen.1007798.
- [25] Gupta P K, Rustgi S, Kulwal P L. Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: Present sta-

- tus and future prospects[J]. *Plant Mol Biol*, 2005, 57(4): 461–485. DOI:10.1007/s11103-005-0257-z.
- [26] Risch N, Merikangas K. The future of genetic studies of complex human diseases [J]. *Science*, 1996, 273(5281): 1516–1517.
- [27] Hansen M, Kraft T, Ganestam S, et al. Linkage disequilibrium mapping of the bolting gene in sea beet using AFLP markers [J]. *Genet Res*, 2001, 77(1): 61–66. DOI:10.1017/s0016672300004857.
- [28] Zeng A, Chen P, Korth K, et al. Genome-wide association study (GWAS) of salt tolerance in worldwide soybean germplasm lines[J]. *Mol Breed*, 2017, 37(3): 1–14. DOI:10.1007/s11032-017-0634-8.
- [29] Huang L. Genome-wide association mapping identifies QTLs and candidate genes for salt tolerance in soybean [D]. University of Arkansas, Fayetteville, 2013.
- [30] Huang L, Zeng A L, Chen P Y, et al. Genomewide association analysis of salt tolerance in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.][J]. *Plant Breed*, 2018, 137(5): 714–720. DOI:10.1111/pbr.12623.
- [31] Do T D, Vuong T D, Dunn D, et al. Identification of new loci for salt tolerance in soybean by high-resolution genome-wide association mapping [J]. *BMC Genom*, 2019, 20: 318. DOI:10.1186/s12864-019-5662-9.
- [32] 张威, 廖锡良, 喻德跃, 等. 大豆耐盐性研究进展[J]. *土壤与作物*, 2018, 7(3): 284–292. DOI:10.11689/j.issn.2095-2961.2018.03.003.
- [33] van Zelm E, Zhang Y X, Testerink C. Salt tolerance mechanisms of plants[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2020, 71(1): 403–433. DOI: 10.1146/annurev-arplant-050718-100005.
- [34] Shen G X, Wei J, Qiu X Y, et al. Co-overexpression of *AVP_i* and *AtNHX1* in cotton further improves drought and salt tolerance in transgenic cotton plants[J]. *Plant Mol Biol Report*, 2015, 33(2): 167–177. DOI: 10.1007/s11105-014-0739-8.
- [35] Li T, Zhang Y, Liu H, et al. Stable expression of *Arabidopsis* vacuolar Na^+/H^+ antiporter gene *AtNHX1*, and salt tolerance in transgenic soybean for over six generations [J]. *Chin Sci Bull*, 2010, 55(12): 1127–1134. DOI:10.1007/s11434-010-0092-8.
- [36] Shi H Z, Lee B H, Wu S J, et al. Overexpression of a plasma membrane Na^+/H^+ antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nat Biotechnol*, 2003, 21(1): 81–85. DOI:10.1038/nbt766.
- [37] Rodríguez-Rosales M P, Gálvez F J, Huertas R, et al. Plant NHX cation/proton antiporters[J]. *Plant Signal Behav*, 2009, 4(4): 265–276. DOI:10.4161/psb.4.4.7919.
- [38] Wu X X, Li J, Wu X D, et al. Ectopic expression of *Arabidopsis thaliana* $\text{Na}^+ (\text{K}^+)/\text{H}^+$ antiporter gene, *AtNHX5*, enhances soybean salt tolerance [J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(2): 10. DOI:10.4238/gmr.15027483.
- [39] 唐晓飞, 董兴月, 魏嵘, 等. 转大豆 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白 *GmNHX1* 基因植株的获得[J]. *分子植物育种*, 2016, 14(4): 904–909. DOI:10.13271/j.mpb.014.000904.
- [40] Sun T J, Fan L, Yang J, et al. A *Glycine max* sodium/hydrogen exchanger enhances salt tolerance through maintaining higher Na^+ efflux rate and K^+/Na^+ ratio in *Arabidopsis* [J]. *BMC Plant Biol*, 2019, 19(1): 1–10. DOI: 10.1186/s12870-019-2084-4.
- [41] 周国安. 大豆抗逆基因 *GmUBC2*、*GmPK* 和 *GmNHX2* 分离与功能研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2009.
- [42] Zhou G A, Guan R X, Li Y H, et al. Molecular characterization of *GmNHX2*, a Na^+/H^+ antiporter gene homolog from soybean, and its heterologous expression to improve salt tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Chin Sci Bull*, 2009, 54(19): 3536–3545. DOI:10.1007/s11434-009-0564-x.
- [43] Nie W X, Xu L, Yu B J. A putative soybean *GmsSOS₁* confers enhanced salt tolerance to transgenic *Arabidopsis sos1-1* mutant [J]. *Protoplasma*, 2015, 252(1): 127–134. DOI:10.1007/s00709-014-0663-7.
- [44] Zhao X F, Wei P P, Liu Z, et al. Soybean Na^+/H^+ antiporter *GmsSOS₁* enhances antioxidant enzyme activity and reduces Na^+ accumulation in *Arabidopsis* and yeast cells under salt stress [J]. *Acta Physiol Plant*, 2016, 39(1): 1–11. DOI:10.1007/s11738-016-2323-3.
- [45] 才晓溪, 沈阳, 周伍红, 等. 大豆 *CHX* 基因家族全基因组鉴定与生物信息学分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2018, 37(12): 5360–5369. DOI: 10.13417/j.gab.037.005360.
- [46] Luo G Z, Wang H W, Huang J, et al. A putative plasma membrane cation/proton antiporter from soybean confers salt tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Mol Biol*, 2005, 59(5): 809–820. DOI:10.1007/s11103-005-1386-0.
- [47] Teakle N L, Tyerman S D. Mechanisms of Cl^- transport contributing to salt tolerance [J]. *Plant Cell Environ*, 2010, 33(4): 566–589. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2009.02060.x.
- [48] Jossier M, Kroniewicz L, Dalmás F, et al. The *Arabidopsis* vacuolar anion transporter, *AtCLCc*, is involved in the regulation of stomatal movements and contributes to salt tolerance [J]. *Plant J*, 2010, 64(4): 563–576. DOI:10.1111/j.1365-313x.2010.04352.x.
- [49] Guo W, Zuo Z L, Cheng X, et al. The chloride channel family gene *CLCd* negatively regulates pathogen-associated molecular pattern (PAMP)-triggered immunity in *Arabidopsis* [J]. *J Exp Bot*, 2014, 65(4): 1205–1215.

- DOI:10.1093/jxb/ert484.
- [50] Nguyen C T, Agorio A, Jossier M, et al. Characterization of the chloride channel-like, AtCLCg, involved in chloride tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell Physiol, 2016, 57 (4): 764–775. DOI: 10.1093/pcp/pcv169.
- [51] Abel G H. Inheritance of the capacity for chloride inclusion and chloride exclusion by soybeans 1 [J]. Crop Sci, 1969, 9 (6): 697–698. DOI: 10.2135/cropsci1969.0011183x000900060006x.
- [52] Luo Q Y, Yu B J, Liu Y L. Differential sensitivity to chloride and sodium ions in seedlings of *Glycine max* and *G. Soja* under NaCl stress [J]. J Plant Physiol, 2005, 162(9): 1003–1012. DOI:10.1016/j.jplph.2004.11.008.
- [53] Do T D, Chen H T, Hien V T T, et al. NCl synchronously regulates Na⁺, K⁺ and Cl⁻ in soybean and greatly increases the grain yield in saline field conditions [J]. Sci Rep, 2016, 6: 19147. DOI:10.1038/srep19147.
- [54] Wei Q J, Liu Y Z, Zhou G F, et al. Overexpression of CsCLCc, a chloride channel gene from *Poncirus trifoliata*, enhances salt tolerance in *Arabidopsis* [J]. Plant Mol Biol Report, 2013, 31 (6): 1548–1557. DOI: 10.1007/s11105-013-0592-1.
- [55] Wang S, Su S Z, Wu Y, et al. Overexpression of maize chloride channel gene *ZmCLC-d* in *Arabidopsis thaliana* improved its stress resistance [J]. Biol Plant, 2015, 59 (1): 55–64. DOI:10.1007/s10535-014-0468-8.
- [56] Li W Y F, Wong F L, Tsai S N, et al. Tonoplast-located *GmCLC1* and *GmNHX1* from soybean enhance NaCl tolerance in transgenic bright yellow (BY)-2 cells [J]. Plant Cell Environ, 2006, 29(6): 1122–1137.
- [57] Wei P P, Wang L C, Liu A L, et al. GmCLC1 confers enhanced salt tolerance through regulating chloride accumulation in soybean [J]. Front Plant Sci, 2016, 7: 1082. DOI:10.3389/fpls.2016.01082.
- [58] Deinlein U, Stephan A B, Horie T, et al. Plant salt-tolerance mechanisms [J]. Trends Plant Sci, 2014, 19 (6): 371–379. DOI:10.1016/j.tplants.2014.02.001.
- [59] Horie T, Hauser F, Schroeder J I. HKT transporter-mediated salinity resistance mechanisms in *Arabidopsis* and monocot crop plants [J]. Trends Plant Sci, 2009, 14 (12): 660–668. DOI:10.1016/j.tplants.2009.08.009.
- [60] Ren Z H, Gao J P, Li L G, et al. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter [J]. Nat Genet, 2005, 37 (10): 1141–1146. DOI: 10.1038/ng1643.
- [61] 李平, 冯紫洲, 陈永胜, 等. 植物 HKT 转运蛋白基因的研究进展 [J]. 北方园艺, 2016(10): 188–193. DOI: 10.11937/bfy.201610049.
- [62] Chen H T, Chen X, Gu H P, et al. *GmHKT1;4*, a novel soybean gene regulating Na⁺/K⁺ ratio in roots enhances salt tolerance in transgenic plants [J]. Plant Growth Regul, 2014, 73 (3): 299–308. DOI: 10.1007/s10725-014-9890-3.
- [63] 陈华涛, 陈新, 顾和平, 等. 大豆 *GmHKT6;2* 基因的克隆与表达特性分析 [J]. 华北农学报, 2012, 27(3): 1–5. DOI:10.3969/j.issn.1000-7091.2012.03.001.
- [64] Chen H T, He H, Yu D Y. Overexpression of a novel soybean gene modulating Na⁺ and K⁺ transport enhances salt tolerance in transgenic tobacco plants [J]. Physiol Plant, 2011, 141 (1): 11–18. DOI: 10.1111/j.1399-3054.2010.01412.x.
- [65] Jiang Z H, Zhou X P, Tao M, et al. Plant cell-surface GIPC sphingolipids sense salt to trigger Ca²⁺ influx [J]. Nature, 2019, 572 (7769): 341–346. DOI: 10.1038/s41586-019-1449-z.
- [66] Aoyagi L N, Lopes-Caitar V S, de Carvalho M C C G, et al. Genomic and transcriptomic characterization of the transcription factor family R2R3-MYB in soybean and its involvement in the resistance responses to *Phakopsora pachyrhizi* [J]. Plant Sci, 2014, 229: 32–42. DOI: 10.1016/j.plantsci.2014.08.005.
- [67] Liao Y, Zou H F, Wang H W, et al. Soybean *Gm-MYB76*, *GmMYB92*, and *GmMYB177* genes confer stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants [J]. Cell Res, 2008, 18 (10): 1047–1060. DOI: 10.1038/cr.2008.280.
- [68] Wang F, Chen H W, Li Q T, et al. GmWRKY27 interacts with GmMYB174 to reduce expression of GmNAC29 for stress tolerance in soybean plants [J]. Plant J, 2015, 83(2): 224–236. DOI:10.1111/tpj.12879.
- [69] Liao Y, Zou H F, Wei W, et al. Soybean *GmbZIP44*, *GmbZIP62* and *GmbZIP78* genes function as negative regulator of ABA signaling and confer salt and freezing tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. Planta, 2008, 228(2): 225–240. DOI:10.1007/s00425-008-0731-3.
- [70] Zhang G Y, Chen M, Li L C, et al. Overexpression of the soybean *GmERF3* gene, an AP2/ERF type transcription factor for increased tolerances to salt, drought, and diseases in transgenic tobacco [J]. J Exp Bot, 2009, 60 (13): 3781–3796. DOI:10.1093/jxb/erp214.
- [71] Pinheiro G L, Marques C S, Costa M D B L, et al. Complete inventory of soybean NAC transcription factors: sequence conservation and expression analysis uncover their distinct roles in stress response [J]. Gene, 2009, 444(1/2): 10–23. DOI:10.1016/j.gene.2009.05.012.
- [72] Mochida K, Yoshida T, Sakurai T, et al. *In silico* analysis of transcription factor repertoire and prediction of

- stress responsive transcription factors in soybean [J]. DNA Res, 2009, 16 (6) : 353–369. DOI: 10.1093/dnares/dsp023.
- [73] Wang F, Chen H W, Li Q T, et al. GmWRKY27 interacts with GmMYB174 to reduce expression of *GmNAC29* for stress tolerance in soybean plants[J]. Plant J, 2015, 83(2) : 224–236. DOI:10.1111/tpj.12879.
- [74] Li X W, Wang Y, Yan F, et al. Overexpression of soybean R2R3-MYB transcription factor, GmMYB12B2, and tolerance to UV radiation and salt stress in transgenic *Arabidopsis* [J]. Genet Mol Res, 2016, 15(2). DOI: 10.4238/gmr.15026573.
- [75] Du Y T, Zhao M J, Wang C T, et al. Identification and characterization of GmMYB118 responses to drought and salt stress [J]. BMC Plant Biol, 2018, 18 (1) : 1–18. DOI:10.1186/s12870-018-1551-7.
- [76] Shen X J, Wang Y Y, Zhang Y X, et al. Overexpression of the wild soybean R2R3-MYB transcription factor GsMYB15 enhances resistance to salt stress and *Helicoverpa armigera* in transgenic *Arabidopsis* [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(12) : 3958. DOI:10.3390/ijms19123958.
- [77] Wang F B, Ren X Q, Zhang F, et al. A R2R3-type MYB transcription factor gene from soybean, *GmMYB12*, is involved in flavonoids accumulation and abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. Plant Biotechnol Rep, 2019, 13(3) : 219–233. DOI:10.1007/s11816-019-00530-7.
- [78] Zhang W X, Wang N, Yang J T, et al. The salt-induced transcription factor GmMYB84 confers salinity tolerance in soybean [J]. Plant Sci, 2020, 291 : 110326. DOI: 10.1016/j.plantsci.2019.110326.
- [79] He Y X, Yang X D, Xu C, et al. Overexpression of a novel transcriptional repressor GmMYB3a negatively regulates salt – alkali tolerance and stress-related genes in soybean[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 498 (3) : 586–591. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.03.026.
- [80] Liao Y, Zou H F, Wei W, et al. Soybean *GmbZIP44*, *GmbZIP62* and *GmbZIP78* genes function as negative regulator of ABA signaling and confer salt and freezing tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. Planta, 2008, 228(2) : 225–240. DOI:10.1007/s00425-008-0731-3.
- [81] Liao Y, Zhang J S, Chen S Y, et al. Role of soybean GmbZIP132 under abscisic acid and salt stresses [J]. J Integr Plant Biol, 2008, 50 (2) : 221–230. DOI: 10.1111/j.1744-7909.2007.00593.x.
- [82] Gao S Q, Chen M, Xu Z S, et al. The soybean GmbZIP₁ transcription factor enhances multiple abiotic stress tolerances in transgenic plants[J]. Plant Mol Biol, 2011, 75 (6) : 537–553. DOI:10.1007/s11103-011-9738-4.
- [83] Xu Z L, Ali Z, Xu L, et al. The nuclear protein GmbZIP110 has transcription activation activity and plays important roles in the response to salinity stress in soybean [J]. Sci Rep, 2016, 6: 20366. DOI: 10.1038/srep20366.
- [84] Li Y Y, Chen Q Z, Nan H Y, et al. Overexpression of *GmFDL19* enhances tolerance to drought and salt stresses in soybean[J]. PLoS One, 2017, 12(6) : e0179554. DOI:10.1371/journal.pone.0179554.
- [85] Nan H Y, Cao D, Zhang D Y, et al. GmFT2a and GmFT5a redundantly and differentially regulate flowering through interaction with and upregulation of the bZIP transcription factor GmFDL19 in soybean [J]. PLoS One, 2014, 9 (5) : e97669. DOI: 10.1371/journal.pone.0097669.
- [86] Yang Y, Yu T F, Ma J, et al. The soybean bZIP transcription factor gene *GmbZIP₂* confers drought and salt resistances in transgenic plants[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(2) : 670. DOI:10.3390/ijms21020670.
- [87] Song H, Wang P F, Hou L, et al. Global analysis of WRKY genes and their response to dehydration and salt stress in soybean[J]. Front Plant Sci, 2016, 7: 9. DOI: 10.3389/fpls.2016.00009.
- [88] Zhou Q Y, Tian A G, Zou H F, et al. Soybean WRKY-type transcription factor genes, *GmWRKY13*, *GmWRKY21*, and *GmWRKY54*, confer differential tolerance to abiotic stresses in transgenic *Arabidopsis* plants [J]. Plant Biotechnol J, 2008, 6 (5) : 486–503. DOI: 10.1111/j.1467-7652.2008.00336.x.
- [89] Wei W, Liang D W, Bian X H, et al. GmWRKY54 improves drought tolerance through activating genes in abscisic acid and Ca²⁺ signaling pathways in transgenic soybean [J]. Plant J, 2019, 100 (2) : 384–398. DOI: 10.1111/tpj.14449.
- [90] Xu Z L, Ali Z, Yi J X, et al. Over-expression of *GmWRKY111* enhances NaCl tolerance of salt-sensitive genotype of *Glycine max*[J]. Int J Agric Biol, 2014, 16(1) : 153–159.
- [91] Xu Z L, Raza Q, Xu L, et al. GmWRKY49, a salt-responsive nuclear protein, improved root length and governed better salinity tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. Front Plant Sci, 2018, 9: 809. DOI: 10.3389/fpls.2018.00809.
- [92] Shi W Y, Du Y T, Ma J, et al. The WRKY transcription factor GmWRKY12 confers drought and salt tolerance in soybean[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(12) : 4087. DOI: 10.3390/ijms19124087.
- [93] Ma Q B, Xia Z L, Cai Z D, et al. GmWRKY16 enhances drought and salt tolerance through an ABA-mediated

- pathway in *Arabidopsis thaliana* [J]. Front Plant Sci, 2019, 9: 1979. DOI:10.3389/fpls.2018.01979.
- [94] Zhao M J, Yin L J, Liu Y, et al. The ABA-induced soybean ERF transcription factor gene *GmERF75* plays a role in enhancing osmotic stress tolerance in *Arabidopsis* and soybean[J]. BMC Plant Biol, 2019, 19(1): 1–14. DOI:10.1186/s12870-019-2066-6.
- [95] Zhang G Y, Chen M, Li L C, et al. Overexpression of the soybean *GmERF3* gene, an AP2/ERF type transcription factor for increased tolerances to salt, drought, and diseases in transgenic tobacco[J]. J Exp Bot, 2009, 60(13): 3781–3796. DOI:10.1093/jxb/erp214.
- [96] Zhai Y, Wang Y, Li Y J, et al. Isolation and molecular characterization of GmERF7, a soybean ethylene-response factor that increases salt stress tolerance in tobacco[J]. Gene, 2013, 513(1): 174–183. DOI:10.1016/j.gene.2012.10.018.
- [97] Yu Y, Duan X B, Ding X D, et al. A novel AP2/ERF family transcription factor from *Glycine soja*, GsERF71, is a DNA binding protein that positively regulates alkaline stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. Plant Mol Biol, 2017, 94(4/5): 509–530. DOI: 10.1007/s11103-017-0623-7.
- [98] Zhao M J, Yin L J, Ma J, et al. The roles of GmERF135 in improving salt tolerance and decreasing ABA sensitivity in soybean[J]. Front Plant Sci, 2019, 10: 940. DOI: 10.3389/fpls.2019.00940.
- [99] Melo B P, Fraga O T, Silva J C F, et al. Revisiting the soybean GmNAC superfamily [J]. Front Plant Sci, 2018, 9: 1864. DOI:10.3389/fpls.2018.01864.
- [100] Hao Y J, Wei W, Song Q X, et al. Soybean NAC transcription factors promote abiotic stress tolerance and lateral root formation in transgenic plants [J]. Plant J, 2011, 68(2): 302–313. DOI: 10.1111/j.1365-3113X.2011.04687.x.
- [101] Cao L, Yu Y, Ding X D, et al. The *Glycine soja* NAC transcription factor GsNAC019 mediates the regulation of plant alkaline tolerance and ABA sensitivity[J]. Plant Mol Biol, 2017, 95(3): 253–268. DOI: 10.1007/s11103-017-0643-3.
- [102] Yang X F, Kim M Y, Ha J, et al. Overexpression of the soybean NAC gene *GmNAC109* increases lateral root formation and abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants[J]. Front Plant Sci, 2019, 10: 1036. DOI: 10.3389/fpls.2019.01036.
- [103] Li M, Hu Z, Jiang Q Y, et al. *GmNAC15* overexpression in hairy roots enhances salt tolerance in soybean[J]. J Integr Agric, 2018, 17(3): 530–538. DOI: 10.1016/s2095-3119(17)61721-0.
- [104] Jin H X, Huang F, Cheng H, et al. Overexpression of the *GmNAC2* gene, an NAC transcription factor, reduces abiotic stress tolerance in tobacco[J]. Plant Mol Biol Report, 2013, 31(2): 435–442. DOI:10.1007/s11105-012-0514-7.
- [105] Li Z Y, Xu Z S, He G Y, et al. Overexpression of soybean *GmCBL1* enhances abiotic stress tolerance and promotes hypocotyl elongation in *Arabidopsis* [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 427(4): 731–736. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.09.128.
- [106] Rao S S, El-Habbak M H, Havens W M, et al. Overexpression of *GmCaM4* in soybean enhances resistance to pathogens and tolerance to salt stress[J]. Mol Plant Pathol, 2014, 15(2): 145–160. DOI:10.1111/mpp.12075.
- [107] Qiu Y W, Feng Z, Fu M M, et al. GsMAPK4, a positive regulator of soybean tolerance to salinity stress[J]. J Integr Agric, 2019, 18(2): 372–380. DOI:10.1016/s2095-3119(18)61957-4.
- [108] Gill S S, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants [J]. Plant Physiol Biochem, 2010, 48(12): 909–930. DOI:10.1016/j.plaphy.2010.08.016.
- [109] Phang T H, Shao G H, Lam H M. Salt tolerance in soybean [J]. J Integr Plant Biol, 2008, 50(10): 1196–1212. DOI:10.1111/j.1744-7909.2008.00760.x.
- [110] Yan J H, Wang B, Jiang Y N, et al. GmFNSII-controlled soybean flavone metabolism responds to abiotic stresses and regulates plant salt tolerance[J]. Plant Cell Physiol, 2014, 55(1): 74–86. DOI: 10.1093/pcp/pct159.
- [111] Jia T J, An J, Liu Z, et al. Salt stress induced soybean GmIFS₁ expression and isoflavone accumulation and salt tolerance in transgenic soybean cotyledon hairy roots and tobacco[J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 2017, 128(2): 469–477. DOI:10.1007/s11240-016-1124-0.
- [112] Wang L S, Chen Q S, Xin D W, et al. Overexpression of *GmBIN2*, a soybean glycogen synthase kinase 3 gene, enhances tolerance to salt and drought in transgenic *Arabidopsis* and soybean hairy roots [J]. J Integr Agric, 2018, 17(9): 1959–1971. DOI: 10.1016/s2095-3119(17)61863-x.
- [113] Jin T, Sun Y Y, Zhao R R, et al. Overexpression of peroxidase gene *GsPRX9* confers salt tolerance in soybean [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(15): 3745. DOI:10.3390/ijms20153745.
- [114] Gao Y, Ma J, Zheng J C, et al. The elongation factor GmEF4 is involved in the response to drought and salt tolerance in soybean[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(12): 3001. DOI:10.3390/ijms20123001.

- [115] Zhao Y, Cui Y F, Huang S Y, et al. Genome-wide analysis of the glucose-6-phosphate dehydrogenase family in soybean and functional identification of GmG6PDH2 involvement in salt stress[J]. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 214. DOI:10.3389/fpls.2020.00214.
- [116] Wei W, Tao J J, Chen H W, et al. A histone code reader and a transcriptional activator interact to regulate genes for salt tolerance[J]. *Plant Physiol*, 2017, 175 (3): 1304–1320. DOI:10.1104/pp.16.01764.
- [117] Zhang D Y, Kumar M, Xu L, et al. Genome-wide identification of major intrinsic proteins in *Glycine soja* and characterization of GmTIP2;1 function under salt and water stress[J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 4106. DOI: 10.1038/s41598-017-04253-z.
- [118] Duan C L, Mao T T, Sun S Q, et al. Constitutive expression of GmF6'H1 from soybean improves salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2019, 141: 446–455. DOI: 10.1016/j. plaphy.2019.06.027.
- [119] Li W B, Wang T, Zhang Y H, et al. Overexpression of soybean miR172c confers tolerance to water deficit and salt stress, but increases ABA sensitivity in transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. *J Exp Bot*, 2016, 67 (1): 175–194. DOI:10.1093/jxb/erv450.
- [120] Pan W J, Tao J J, Cheng T, et al. Soybean miR172a improves salt tolerance and can function as a long-distance signal[J]. *Mol Plant*, 2016, 9 (9): 1337–1340. DOI: 10.1016/j.molp.2016.05.010.
- [121] Sahito Z A, Wang L X, Sun Z X, et al. The miR172c-NNC₁ module modulates root plastic development in response to salt in soybean[J]. *BMC Plant Biol*, 2017, 17 (1): 1–12. DOI:10.1186/s12870-017-1161-9.
- [122] 方义生, 陈李森, 周新安. 转基因技术提高大豆耐旱性[J]. *大豆科技*, 2020(1): 38–41.
- [123] Nguyen N T, Vu H T, Nguyen T T, et al. Co-expression of *Arabidopsis* AtAVP₁ and AtNHX1 to improve salt tolerance in soybean[J]. *Crop Sci*, 2019, 59 (3): 1133–1143. DOI:10.2135/cropsci2018.10.0640.
- [124] Cao D, Hou W S, Liu W, et al. Overexpression of *TaNHX2* enhances salt tolerance of ‘composite’ and whole transgenic soybean plants[J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 2011, 107 (3): 541–552. DOI:10.1007/s11240-011-0005-9.
- [125] Seo J S, Sohn H B, Noh K, et al. Expression of the *Arabidopsis* AtMYB44 gene confers drought/salt-stress tolerance in transgenic soybean[J]. *Mol Breeding*, 2012, 29 (3): 601–608. DOI:10.1007/s11032-011-9576-8.
- [126] Kim M J, Kim H J, Pak J H, et al. Overexpression of AtSZF₂ from *Arabidopsis* showed enhanced tolerance to salt stress in soybean[J]. *Plant Breed Biotech*, 2017, 5 (1): 1–15. DOI:10.9787/pbb.2017.5.1.1.
- [127] Zhang X X, Tang Y J, Ma Q B, et al. OsDREB2A, a rice transcription factor, significantly affects salt tolerance in transgenic soybean[J]. *PLoS One*, 2013, 8 (12): e83011. DOI:10.1371/journal.pone.0083011.
- [128] Zhang B B, Zhang T, Wu X X. Agronomic traits of transgenic soybean overexpressing *TaDREB3* [J]. *J Northeast Agric Univ Engl Ed*, 2011, 18 (2): 1–6. DOI:10.1016/s1006-8104(12)60001-4.
- [129] 李大红, 蒋炳伸, 邬海燕, 等. 苜蓿 *MsDREB1* 基因的诱导表达增强大豆的耐盐性[J]. *大豆科学*, 2017, 36 (1): 17–23. DOI:10.11861/j.issn.1000-9841.2017.01.0017.
- [130] Wang Y J, Jiang L, Chen J Q, et al. Overexpression of the alfalfa *WRKY11* gene enhances salt tolerance in soybean[J]. *PLoS One*, 2018, 13 (2): e0192382. DOI: 10.1371/journal.pone.0192382.
- [131] 杨艳丽, 李大红, 李鸿雁. 过表达桃 *PpCuZnSOD* 基因提高大豆耐盐性研究[J]. *大豆科学*, 2018, 37 (4): 525–530. DOI:10.11861/j.issn.1000-9841.2018.04.0525.
- [132] Cao D, Li Y Y, Liu B H, et al. Adaptive mechanisms of soybean grown on salt-affected soils[J]. *Land Degrad Dev*, 2018, 29 (4): 1054–1064. DOI:10.1002/ldr.2754.
- [133] Deshmukh R, Sonah H, Patil G, et al. Integrating omic approaches for abiotic stress tolerance in soybean[J]. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 244. DOI: 10.3389/fpls.2014.00244.
- [134] Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Improving plant drought, salt and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor[J]. *Novartis Found Symp*, 2001, 236: 176–186.
- [135] 邵桂花, 宋景芝, 刘惠令. 大豆种质资源耐盐性鉴定初报[J]. *中国农业科学*, 1986(06): 30–35.
- [136] Hosseini M K, Powell A A, Bingham I J. Comparison of the seed germination and early seedling growth of soybean in saline conditions[J]. *Seed Sci Res*, 2002, 12 (3): 165–172. DOI:10.1079/SSR2002108.
- [137] 刘谢香, 常汝镇, 关荣霞, 等. 大豆出苗期耐盐性鉴定方法建立及耐盐种质筛选[J]. *作物学报*, 2020, 46 (1): 1–8. DOI:10.3724/SP.J.1006.2020.94062.

(责任编辑:郭学兰)