

# 植物盐胁迫诱导启动子及其顺式作用元件研究进展

徐金龙, 张文静, 向凤宁\*

山东大学生命科学学院, 植物发育与环境适应生物学教育部重点实验室, 山东青岛266237

\*通信作者(xfn0990@163.com)

**摘要:** 土壤盐渍化严重限制了植物的生长并导致作物减产, 培育作物耐盐新品种是利用盐土的有效手段。一直以来, 人们常用35S组成型启动子驱动耐盐基因来培育耐盐新品种, 但其持续过量地驱动外源基因表达易阻碍植物生长而导致农作物减产。诱导型启动子驱动的外源基因仅在胁迫诱导下表达, 可降低外源基因过表达引起的能量浪费。诱导型顺式作用元件与核心启动子组成的人工启动子可实现对胁迫应答基因表达的精确调控。本文从盐胁迫诱导启动子的结构及特点、响应盐胁迫诱导启动子中的顺式作用元件以及盐胁迫诱导启动子在作物育种方面的应用等方面综述了高等植物中盐胁迫诱导启动子及其顺式作用元件的研究进展, 以为农业生产提供更好的指导。

**关键词:** 盐胁迫; 顺式作用元件; 胁迫诱导; 启动子

## Advances in stress inducible promoter and *cis*-acting elements in higher plants

XU Jinlong, ZHANG Wenjing, XIANG Fengning\*

College of Life Sciences, Shandong University, Key Laboratory of Plant Development and Environmental Adaptation Biology, Ministry of Education, Qingdao, Shandong 266237, China

\*Corresponding author (xfn0990@163.com)

**Abstract:** Soil salinization severely restricts the growth of plants, and breeding new varieties of crops tolerant to salt is an effective means of utilizing saline soil. The 35S constitutive promoter has always been used to cultivate new salt-tolerant varieties, but the continued excessive driving of the expression of exogenous genes is likely to hinder plant growth and reduce yield. Exogenous genes driven by inducible promoters are expressed only under stress induction, which can reduce energy waste caused by overexpression of exogenous genes. An artificial promoter composed of an inducible *cis*-acting element and a core promoter can achieve precise regulation of target functional gene expression. In this paper, the structure and characteristics of the salt-stress-inducible promoter and the *cis*-acting element in the promoter. The application progress of salt stress-inducible promoters in crop breeding and other aspects are reviewed. The research progress of salt-stress-inducible promoters and their *cis*-acting elements in higher plants is reviewed in order to provide better guidance for agricultural production.

**Key words:** salt stress; *cis*-acting elements; stress inducible; promoter

植物作为一种固着生物, 承受着包括生物胁迫(例如病原体侵染和食草动物的攻击)和非生物胁迫(例如高盐、干旱、高/低温、营养缺乏以及土壤中过量的有毒金属)在内的胁迫, 植物如何感应胁迫信号并适应不利环境成为科学界最基本的

收稿 2020-05-20 修定 2021-03-19

资助 NSFC-山东联合基金(U1906203)、国家自然科学基金(31770317和31970189)、国家转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08010002-009)和国家转基因重大专项(2018ZX0800914B)。

科学问题之一(Zhu 2016)。在生物漫长的进化过程中,植物获得了复杂的基因调控机制,以减轻来自不利环境的影响,那些在胁迫期间差异表达的基因是胁迫响应启动子和顺式作用元件的良好来源。植物激素脱落酸(abscisic acid, ABA)介导多种生理过程,包括对干旱和盐胁迫的响应。ABA在缺水条件下产生,导致植物气孔关闭以及对干旱和盐胁迫的耐受性。拟南芥和许多其他植物中的转录组数据分析发现,植物存在几种独立响应环境胁迫的途径(以ABA依赖和独立的方式),表明胁迫耐受性或敏感性在转录水平上由一个极其复杂的基因监管网络控制(图1)。盐胁迫对植物的影响

主要包括两个方面:一方面是水压降低使植物可利用的水分减少从而导致渗透胁迫;另一方面是离子积累对植物产生毒害作用而引起离子胁迫(Sahi等2006)。渗透胁迫和离子胁迫均由盐胁迫导致,严重影响植物生长发育。同时二者作用机制不同:渗透胁迫发生时,植物吸收水分的能力因土壤中盐分增加而降低,从而导致植物细胞失水,细胞质膜透性增大,植物体内的水势、渗透势、压力势和相对含水量均降低,气孔部分关闭,光合作用强度降低,最终影响植物的生长发育和产量。而离子胁迫发生时,植物根系由于吸收了大量Na<sup>+</sup>和Cl<sup>-</sup>,细胞内其他离子如K<sup>+</sup>、HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>或NO<sub>3</sub><sup>-</sup>等含量减少。

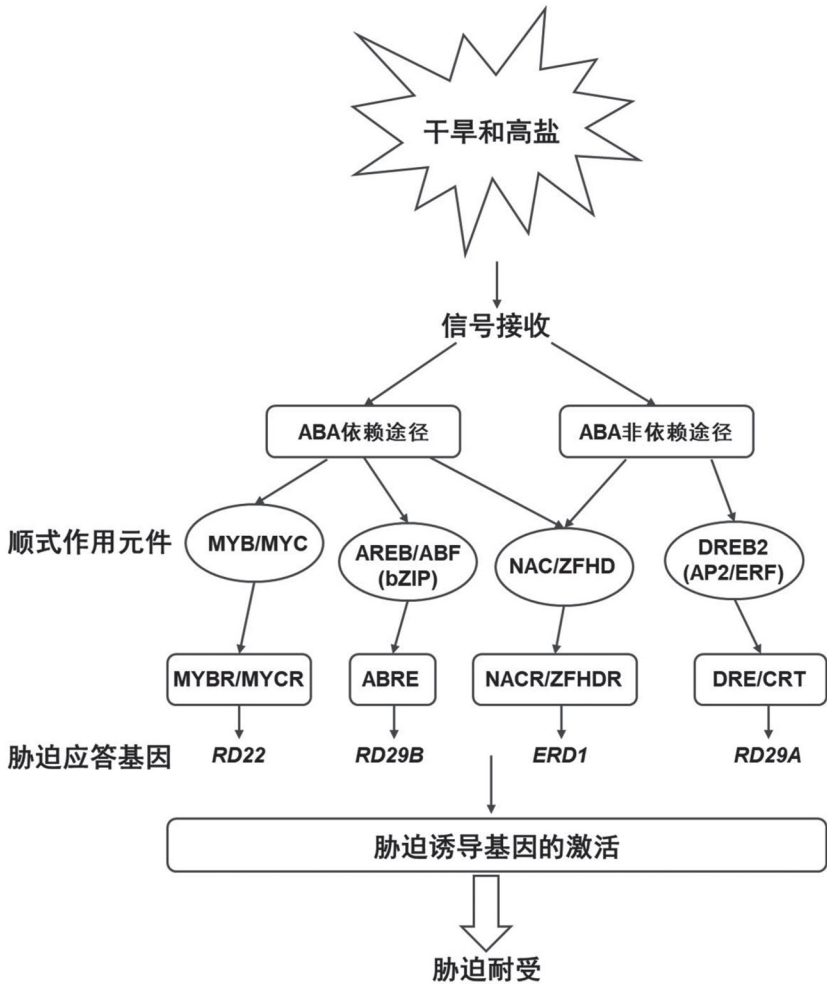


图1 植物响应环境胁迫的基本途径

Fig. 1 Basic ways of plant response to the environmental stress

本图改自Nakashima和Yamaguchi-Shinozaki (2006)、Shinozaki和Yamaguchi-Shinozaki (2006)。

此外, 高浓度的Na<sup>+</sup>抑制质膜质子泵, 间接引起PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>、Ca<sup>2+</sup>离子的缺乏。以上离子的缺乏都会通过破坏代谢过程和降低光合效率对植物生长产生负面影响甚至导致植物死亡(Deinlein等2014)。本文将从盐胁迫诱导启动子的结构与特点、响应盐胁迫诱导启动子中的顺式作用元件以及盐胁迫诱导启动子在作物育种方面的应用三个方面来综述。

1 盐胁迫诱导启动子的结构与特点

1.1 盐胁迫诱导启动子的结构

盐胁迫诱导启动子属于一般启动子, 具有一般启动子的基本结构。启动子是位于基因编码区上游的一段DNA序列, 通常包含一个“核心启动子”区域, 该区域位于转录起始位点上游约40 bp处并包含有TATA框(转录起始因子-TATA盒结合蛋白亚基的结合位点)。除TATA框之外, “核心启动子”区域还包含顺式作用元件, 该元件是包括RNA聚合酶II及其相关亚基等基本转录机制的结合位点(图2)。核心启动子区域的上游是启动子的近端和远端区域, 该区域包含不同的调控序列, 例如增强子、沉默子、绝缘子和顺式作用元件, 它们在转录水平上有助于基因表达的精细调控(Lee和Young 2000)。盐胁迫诱导启动子的顺式作用元件就位于该区域。

1.2 盐胁迫诱导启动子的特点

盐胁迫诱导启动子具有以下特点: ①启动子

的活化受盐胁迫信号的诱导; ②具有增强子、顺式作用元件或类似功能的序列结构; ③一部分该类型的启动子同时具有组织特异性表达的特点。

2 响应盐胁迫诱导的启动子及顺式作用元件

胁迫诱导启动子广泛存在于高等植物基因组中, 已报道参与盐胁迫响应的启动子主要有: *RD29A*、*RD29B*、*RD22*、*ERD1*等。这些基因除响应盐胁迫之外, 还参与植物干旱胁迫、ABA响应等(表1)。顺式作用元件是重要的分子开关, 参与控制各种生物过程在内的多种基因活动动态网络的转录调控(Yamaguchi-Shinozaki 和 Shinozaki 2005)。顺式作用元件对应于胁迫诱导启动子发挥作用, 共同调节植物的胁迫响应。本文以存在于盐胁迫诱导启动子中的顺式作用元件为主线, 探究这些元件在响应盐胁迫中所起的作用。

2.1 盐胁迫诱导启动子中的E-box元件

E-box元件是一段高度保守且广泛分布在基因启动子区域的连续六核苷酸序列(CANNTG), 常作为一些转录因子的结合位点从而参与相关基因的表达调控。E-box有不同的类型, 主要取决于中间两个核心氨基酸的不同, 最常见的E-box类型是G-box (5'-CACGTG-3') (Toledo-Ortiz 等 2003)。高等植物中, 能够识别E-box的蛋白家族主要包括bHLH (basic/helix-loop-helix)蛋白家族, 该家族是

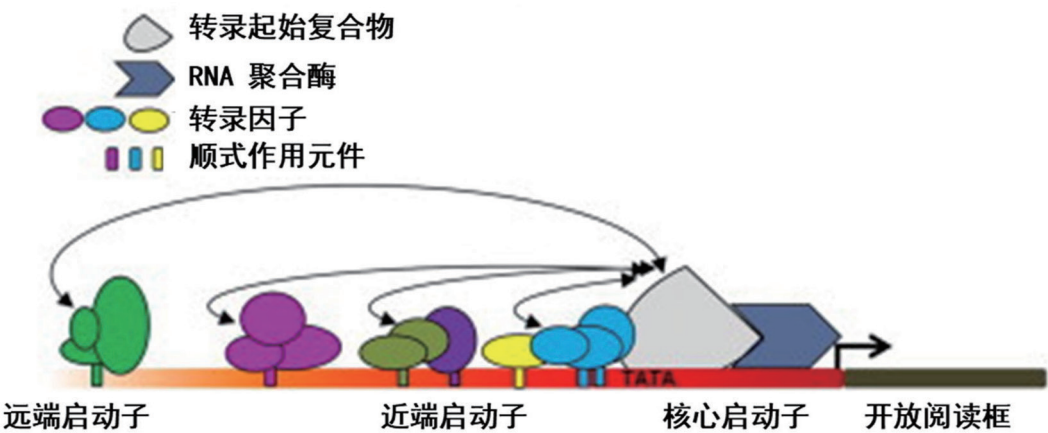


图2 蛋白质编码基因转录调控的简化模型

Fig. 2 Simplified model of transcriptional regulation of protein-encoding genes

本图改自Hernandez-Garcia和Finer (2014)。

表1 植物胁迫响应基因及其顺式作用元件比较  
Table 1 Comparison of stress response genes and the *cis*-acting elements in plants

| 顺式作用元件      | 代表基因            | 互作蛋白                | 胁迫响应         | 参考文献       |
|-------------|-----------------|---------------------|--------------|------------|
| E-box       | <i>RD22</i>     | bHLH类转录因子           | 干旱、高盐        | Zhang等2018 |
|             | <i>OsAKT1</i>   | BplMYB46            |              |            |
|             | <i>GbMYBFL</i>  |                     |              |            |
|             | <i>RD29B</i>    |                     |              |            |
| ABRE        | <i>MbDREB1</i>  | bZIP类转录因子           | ABA、干旱、NaCl  | Abe 2003   |
|             | <i>ZmCat1</i>   |                     |              |            |
| DRE         | <i>RD29A</i>    | DREB1类转录因子          | ABA、干旱、低温、高盐 | Zhou等2012  |
|             | <i>PeDREB2a</i> |                     |              |            |
|             | <i>SCaM-4</i>   |                     |              |            |
| GT-1        | <i>MbDREB1</i>  | GT-1 like转录因子       | NaCl         | Duan等2016  |
|             | <i>GbLhcb4</i>  |                     |              |            |
| NACR/ZF-HDR | <i>ERD1</i>     | ZFHD转录因子<br>NAC转录因子 | 干旱、高盐、ABA    | Tran 2004  |
| SIN1BM      | <i>GmNCED3s</i> | GmSIN1蛋白            | 盐、干旱、ABA     | Li等2019    |
|             | <i>GmRbohBs</i> |                     |              |            |
| W-box       | <i>DREB2A</i>   | WRKY转录因子            | 干旱、NaCl、ABA  | Wang等2009  |
|             | <i>BhGolS1</i>  |                     |              |            |

植物转录因子中最大的家族之一，在植物的生长发育、生理代谢以及逆境应答过程中均发挥着重要的作用。

*RD22*是外源ABA应用于拟南芥后诱导植物表达的脱水反应基因，尽管已假设许多ABA诱导型基因的表达调控涉及其启动子区域中的ABRE序列，但*RD22*在其启动子中不包含任何典型的ABRE共有序列。早期研究表明*RD22*的起始密码子上游启动子的67 bp区域含有一个MYC和MYB识别位点，它们在干旱和高盐诱导的*RD22*表达中起顺式作用元件的作用。拟南芥bHLH相关蛋白AtMYC2和MYB相关蛋白AtMYB2，分别与MYC、MYB识别位点特异性结合。研究表明，*AtMYC2*和*AtMYB2*基因均响应干旱、高盐和ABA处理的诱导，bHLH和MYB蛋白的协同作用对基因表达的调控是干旱和盐胁迫下ABA信号通路中的另一种调控系统(Abe等2003)。

Kim和Kim (2006)研究发现了一种新型的钙结合bHLH转录因子*AtNIG1*，其参与植物盐胁迫信号转导。*ICE1*编码的一种bHLH蛋白能够特异性结合*CBF3*启动子的MYC识别位点(CANNTG)，且已

知bHLH蛋白(*AtMYC2*)能够绑定*RD22*启动子并激活*RD22*的表达(Toledo-Ortiz等2003)。作者猜测*AtNIG1*可能与这些盐胁迫调控基因的启动子区域结合并通过调节这些盐胁迫响应基因而参与盐胁迫信号传导途径。Ahmad等(2016)将激活标签法应用于拟南芥去分化愈伤组织，以鉴定耐盐新基因。其中鉴定到一个耐盐愈伤组织8 (*salt tolerant callus8, stc8*)，将其确定为*bHLH106*基因。该基因敲除系对盐胁迫更为敏感，超表达系表现出盐胁迫耐受性。通过EMSA发现该转录因子与G-box相互作用更强，以存在G-box为标准，对*bHLH106*过表达系进行转录组分析发现，在*bHLH106*超表达系中*bHLH106*正调控的基因有198个，负调控的基因有36个，这些基因在其启动子区域具有一个或多个G-box序列，这些基因许多与包括盐胁迫在内的非生物胁迫相关(Ahmad等2016)。此外，Chen等(2013)报道了来自野生稻(*Oryza rufipogon*)的Or-bHLH001能够特异性结合*OsAKT1*启动子区域的E-box基序诱导*OsAKT1*的表达来响应外界盐胁迫信号，*OsAKT1*通过调节细胞中Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>的比例使水稻具有耐盐性。



## 2.2 盐胁迫诱导启动子中的ABRE元件

ABA在营养组织适应非生物胁迫(如干旱和高盐度)以及种子成熟和休眠中起着重要作用。许多ABA诱导型基因在其启动子区域含有一个保守的ABA响应顺式作用元件ABRE (ABA-Responsive Element; PyACGTGGC), 它是参与ABA调控的基因表达的顺式作用元件。

在脱水、低温、高盐或用外源ABA处理的条件下, 差异诱导了拟南芥2个基因*RD29A*和*RD29B*, 它们紧密排列于拟南芥基因组上。其中, *RD29B*的诱导主要由脱落酸介导, *RD29B*的启动子分析表明, 2个ABRE是*RD29B*脱水响应表达的顺式作用元件。Uno等(2000)利用酵母单杂交系统分离出3个编码基本亮氨酸拉链bZIP (basic leucine Zipper)型ABRE结合蛋白的cDNA, 分别命名为*ABRE1*~3。作者研究发现, 植物组织中干旱、NaCl和ABA处理均会上调*ABRE1*和*ABRE2*的转录。

Hossain等(2010)分离并鉴定了水稻中bZIP转录因子*OsABF2*, 并发现其能够与ABRE结合。通过*OsABF2* T-DNA插入纯合突变体与野生型相比, *OsABF2* T-DNA插入纯合突变体对于盐、干旱和氧化胁迫更为敏感。Liao等(2008)在大豆中鉴定出131个bZIP基因并命名为*GmbZIPs*, 这些*GmbZIPs*中的三分之一以上能够对包括ABA、盐、干旱和冷胁迫在内的至少一种胁迫作出反应。作者研究了其中的*GmbZIP46*、*GmbZIP62*和*GmbZIP78*, 它们能够结合到ABRE元件上, 并对盐胁迫作出响应, 与野生型相比, 过表达转基因植株均具有更强的耐盐性。

## 2.3 盐胁迫诱导启动子中的DRE元件

植物ERF (Ethylene-Responsive transcription Factor)/AP2 (APETALA 2)蛋白是植物特有的转录因子, 参与植物生长发育以及调控非生物胁迫反应(Agarwal等2006)。Sakuma等(2002)在拟南芥基因组中发现了144个编码ERF/AP2转录因子的基因, 并根据其DNA结合域的相似性将它们分为5类: AP2亚家族、RAV亚家族、DREB亚家族、ERF亚家族和AL079349。DREB亚家族的转录因子可以识别干旱(Dehydration Responsive Element/C-repeat, DRE/CRT)和冷胁迫响应元件(A/GCCGAC), 调节

植物对干旱和低温的适应, 同时响应ABA、低温、脱水及高盐等胁迫诱导。Wang等(2008)克隆了一种新型水稻DREB转录因子*OsDREB1F*并证明该基因是由盐、干旱、冷胁迫以及ABA诱导。*OsDREB1F*转基因水稻和拟南芥均表现出对盐、干旱和低温的耐受性增强。此外, Kidokoro等(2015)从大豆基因组数据库中鉴定出14种*DREB1*型转录因子(*Gm-DREB1s*), 其中的大多数基因的表达均受到包括低温、干旱、高盐和高盐在高温在内的多种非生物胁迫的强烈诱导。

在Yang等(2011)的一份研究中, 他们克隆并鉴定了一个新的基因: 矮苹果(*Malus baccata*) *DREB1*转录因子, 该基因的表达由寒冷、干旱和盐胁迫诱导。酵母活性测定表明, *MbDREB1*基因编码转录激活因子, 该转录激活因子特异性结合DRE/CRT元件。与野生型植物相比, 过表达*MbDREB1*的转基因拟南芥显示出对低温、干旱和盐胁迫的耐受性增强。在ABA、低温、干旱和盐处理下, 转基因拟南芥中*MbDREB1*启动子驱动的GUS活性增加。值得注意的是, 在过表达*MbDREB1*的拟南芥中, 在正常生长条件下, ABA非依赖性和ABA依赖性胁迫诱导基因(分别为*COR15a*和*RD29B*)的表达均被激活。这些结果表明, *MbDREB1*充当转录因子, 并通过ABA非依赖性和ABA依赖性途径提高植物对低温、干旱和盐胁迫的耐受性。

## 2.4 盐胁迫诱导启动子中的GT-1元件

在植物细胞中, 多个CaM基因编码多个CaM亚型。Park等(2004)在大豆中克隆了5种CaM亚型(*SCaM-1*~5), 其中*SCaM-4*被认为是真正的CaM亚型, 因为其一级结构蛋白质中具有CaM的标志性结构: 四个保守的推定EF和一个中央连接区。研究表明, *ScaM-4*的mRNA在盐胁迫下得到显著诱导。启动子的缺失分析显示, *SCaM-4*的诱导表达依赖于启动子距离起始密码子上游-858~-728 bp的区域, 并将GT-1 (GAAAAA)元件确定为诱导*SCaM-4*的核心顺式作用元件。此外, GT-1顺式作用元件通过与GT-1 like转录因子(如GT-3b)相互作用介导*SCaM-4*在盐胁迫诱导中发挥作用(Park等2004)。此外, 已有研究表明, 包含ERF/AP2结构域的RAV转录因子家族参与非生物胁迫适应, 但是水稻中

对RAV基因响应盐胁迫的研究很少。Duan等(2016)检查了水稻中5种*OsRAV*在盐胁迫下的表达模式发现,高盐诱导*OsRAV2*的表达。作者分离并鉴定出*OsRAV2*启动子区域的GT-1元件,并证明GT-1直接调控*OsRAV2*的盐胁迫响应。Yang等(2011)在矮苹果中克隆出*MbDREB1*,该基因的表达能够被寒冷、干旱、盐胁迫以及ABA诱导。*MbDREB1*启动子的分析表明,*MbDREB1*启动子区域含有ABA反应元件(ABRE)、类ICE1绑定位点、2个MYB识别位点和3个响应胁迫诱导的GT-1 box。在ABA、低温、干旱和盐处理下,转基因拟南芥中*MbDREB1*启动子驱动的GUS活性增加。

## 2.5 盐胁迫诱导启动子中的NACR/ZF-HDR元件

*ERD* (early responsive to dehydration)是Nakashima和Yamaguchi-Shinozaki (2006)在1 h脱水拟南芥中分离出来的一类脱水相应基因,它编码的蛋白质与来自大肠杆菌的ATP依赖性Clp蛋白酶的ATP结合亚基ClpA具有序列同源性(Yang等2011)。ZFHD识别序列(ZFHDRS)和NAC识别序列(NACRS)在*ERD1*的脱水诱导表达中起重要作用。Tran等(2007)利用酵母单杂交系统分离出编码ZFHD1转录激活因子的cDNA,该转录激活因子与包含ZFHDRS的*ERD1*的62 bp启动子区域特异性结合。另外,作者还证实ZFHD1与ZFHDRS能够特异性结合,并且干旱、高盐和ABA诱导ZFHD1的表达。ZFHD1的DNA结合和激活域分别位于C端同源域和N端锌指域。作者使用酵母双杂交系统检测到ZFHD1和NACRS结合NAC蛋白之间的相互作用。此外,ZFHD1和NAC基因的共表达将拟南芥T87原生质体和转基因拟南芥植物中的转基因植物的形态表型恢复到接近野生型的状态,并增强了*ERD1*的表达。

## 2.6 盐胁迫诱导启动子中的其他元件

本实验室鉴定出大豆中一个NAC转录因子并命名为*GmSINI* (SALT INDUCED NAC 1),发现该基因能够响应盐胁迫的诱导,提高大豆的耐盐性。进一步利用MEME分析,鉴定出*GmSINI* OE (大豆过表达系)和经盐处理WT (野生型)中表达上调的基因启动子共有序列CCTCCACCC,将其与拟南芥TUB基因基本启动子片段相连,构建入驱动报

告基因LUC的植物瞬时表达载体*pGREENII*。LUC活性分析发现,该顺式作用元件为盐诱导元件,将其命名为SINI1BM,证明了GmSINI1通过与2个盐胁迫关键基因*GmNCED3s* (ABA合成关键酶基因)和*GmRbohBs* (ROS合成关键酶基因)启动子顺式作用元件SINI1BM结合来增强*GmNCED3s*和*GmRbohBs*的表达,从而提高大豆的耐盐性(Li等2019)。利用相同的方法,亦获得了另一个盐诱导顺式作用元件GT1GMSCAM4 (未发表)。

植物中存在的另一个大的转录因子家族是WRKY,它在许多不同的生物过程(包括植物发育、防御调节和胁迫反应)中起着正或负调节剂的作用。该家族由N末端的保守氨基酸序列WRKYGQK以及一个新颖的类锌指基序来定义,每个WRKY蛋白都含有一个或两个保守的WRKY结构域。WRKY结构域能够特异性识别以TTGAC为核心的顺式作用元件W-box (Eulgem等2000)。已有研究表明,WRKY通过特异性结合盐胁迫响应关键基因启动子区域的W-box参与调控植物的盐胁迫响应。Zhou等(2008)证实大豆GmWRKY13/54能够特异性结合W-box元件,并且发现*GmWRKY54*可能通过调节DREB2A和STZ/Zat10赋予转基因大豆盐和干旱耐受性。另外,与野生型植物相比,过表达*GmWRKY13*的转基因植物对盐和甘露醇胁迫的敏感性增强。

## 3 盐胁迫诱导启动子在作物育种方面的应用

自从植物遗传转化的第一份报告以来,使用转基因方法来研究基因的生物学功能一直是植物科学领域的研究热点。目前,转基因技术的范围已从基础研究的许多领域延伸到应用生物技术和作物育种,且已有部分成功案例。中国科学院遗传与发育研究所储成才实验室发掘鉴定出微观组织特异型启动子*gdcSP*,发现该启动子含有4个微管特异性表达调控元件、16个根特异性表达调控元件,以及8个茉莉酸响应元件、3个水杨酸响应元件和多个激发子诱导的抗病原件。利用该启动子驱动天麻抗真菌蛋白*GAFP4*基因特异性表达,显著提高了棉花的黄萎病抗性(Wang等2019)。此外,随着基因编辑技术的进步,对关键基因启动子区顺式作

用元件的编辑已成为现实。扬州大学刘巧泉课题组通过CRISPR/Cas9技术编辑水稻*Wx*基因启动子上的关键顺式作用元件调节基因表达,创制了多个可微调直链淀粉含量的新*Wx*等位基因,为水稻优质育种提供了新种质与新方法(Huang等2020)。

一方面,我国大豆进口量全球第一,大豆产量远不能满足需求;另一方面,我国盐碱地面积高达几亿亩,如何利用好盐碱地成为世纪难题。因此,培育大豆耐盐新品种成为解决这两个问题的关键。盐胁迫诱导启动子响应外界盐胁迫诱导激活相关基因的表达,进而使植物具备抗盐胁迫的能力,这一手段将为农业生产提供很好的指导。通过利用盐诱导启动子的关键元件,构建包含关键元件的人工启动子,从而人工改造植株获得胁迫抗性,能够为农业生产提供强有力的支撑。本实验室构建了大豆盐诱导型NAC转录因子*GmSINI*启动子及其顺式作用元件驱动耐盐基因*GmSINI*的人工启动子,并获得了其转基因大豆,正在进行转基因大豆耐盐性筛选,以期获得耐盐转基因大豆新种质(未发表)。总之,盐胁迫诱导启动子的发掘、顺式作用元件的鉴定以及耐盐转基因株系的获取将成为未来基因工程研究的一个新热点。

### 参考文献(References)

- Abe H, Urao T, Ito T, et al (2003). *Arabidopsis AtMYC2* (bHLH) and *AtMYB2* (MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling. *Plant Cell*, 15 (1): 63–78
- Agarwal PK, Agarwal P, Reddy MK, et al (2006). Role of *DREB* transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Plant Cell Rep*, 25 (12): 1263–1274
- Ahmad A, Niwa Y, Goto S, et al (2016). *bHLH106* integrates functions of multiple genes through their G-box to confer salt tolerance on *Arabidopsis*. *PLOS One*, 10 (5): 0126872
- Chen Y, Li F, Ma Y, et al (2013). Overexpression of *OrbHLH001*, a putative helix-loop-helix transcription factor, causes increased expression of *AKT1* and maintains ionic balance under salt stress in rice. *J Plant Physiol*, 170 (1): 93–100
- Deinlein U, Stephan AB, Horie T, et al (2014). Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends Plant Sci*, 19 (6): 371–379
- Duan YB, Li J, Qin RY, et al (2016). Identification of a regulatory element responsible for salt induction of rice *OsRAV2* through *ex situ* and *in situ* promoter analysis. *Plant Mol Biol*, 90 (1–2): 49–62
- Eulgem T, Rushton PJ, Robatzek S, et al (2000). The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends Plant Sci*, 5 (5): 199–206
- Hernandez-Garcia CM, Finer JJ (2014). Identification and validation of promoters and cis-acting regulatory elements. *Plant Sci*, 217–218: 109–119
- Hossain MA, Cho JI, Han M, et al (2010). The ABRE-binding bZIP transcription factor *OsABF2* is a positive regulator of abiotic stress and ABA signaling in rice. *J Plant Physiol*, 167 (17): 1512–1520
- Huang L, Li Q, Zhang C, et al (2020). Creating novel *Wx* Alleles with fine-tuned amylose levels and improved grain quality in rice by promoter editing using CRISPR/Cas9 system. *Plant Biotechnol J*, 8 (11): 2164–2166
- Kidokoro S, Watanabe K, Ohori T, et al (2015). Soybean *DREB1/CBF*-type transcription factors function in heat and drought as well as cold stress-responsive gene expression. *Plant J*, 81 (3): 505–518
- Kim J, Kim HY (2006). Functional analysis of a calcium-binding transcription factor involved in plant salt stress signaling. *FEBS Lett*, 580 (22): 5251–5256
- Lee TI, Young RA (2000). Transcription of eukaryotic protein-coding genes. *Annu Rev Genet*, 34: 77–137
- Li S, Wang N, Ji D, et al (2019). A *GmSINI/GmNCED3s/GmRbohBs* feed-forward loop acts as a signal amplifier that regulates root growth in soybean exposed to salt stress. *Plant Cell*, 31 (9): 2107–2130
- Liao Y, Zou HF, Wei W, et al (2008). Soybean *GmbZIP44*, *GmbZIP62* and *GmbZIP78* genes function as negative regulator of ABA signaling and confer salt and freezing tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Planta*, 228 (2): 225–240
- Nakashima K, Yamaguchi-Shinozaki K (2006). Regulons involved in osmotic stress-responsive and cold stress-responsive gene expression in plants. *Physiol Plantarum*, 126: 62–71
- Park HC, Kim ML, Kang YH, et al (2004). Pathogen- and NaCl-induced expression of the *SCaM-4* promoter is mediated in part by a GT-1 box that interacts with a GT-1-like transcription factor. *Plant Physiol*, 135 (4): 2150–2161
- Sahi C, Amanjot S, Eduardo B, et al (2006). Beyond osmolytes and transporters: novel plant salt-stress tolerance-related genes from transcriptional profiling data. *Physiol Plantarum*, 127: 1–9
- Sakuma Y, Liu Q, Dubouzt JG, et al (2002). DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of *Arabidopsis* DREBs, transcription factors involved in dehydration-



- and cold-inducible gene expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 290 (3): 998–1009
- Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2006). Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J Exp Bot*, 58 (2): 221–227
- Termaat A, Munns R (1986). Use of concentrated macronutrient solutions to separate osmotic from nacl-specific effects on plant growth. *Funct Plant Biol*, 13 (4): 509–522
- Toledo-Ortiz G, Huq E, Quail PH (2003). The *Arabidopsis* basic/helix-loop-helix transcription factor family. *Plant Cell*, 15 (8): 1749–1770
- Tran LSP (2004). Functional analysis of *Arabidopsis* nac transcription factors controlling expression of *erd1* gene under drought stress. *Plant Cell*, 16: 2482–2498
- Tran LSP, Nakashima K, Sakuma Y, et al (2007). Co-expression of the stress-inducible zinc finger homeodomain ZFHD1 and NAC transcription factors enhances expression of the *ERD1* gene in *Arabidopsis*. *Plant J*, 49 (1): 46–63
- Uno Y, Furihata T, Abe H, et al (2000). *Arabidopsis* basic leucine zipper transcription factors involved in an abscisic acid-dependent signal transduction pathway under drought and high-salinity conditions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97 (21): 11632–11637
- Wang Q, Guan Y, Wu Y, et al (2008). Overexpression of a rice OsDREB1F gene increases salt, drought, and low temperature tolerance in both *Arabidopsis* and rice. *Plant Mol Biol*, 67 (6): 589–602
- Wang Y, Liang C, Wu S, et al (2019). Vascular-specific expression of *Gastrodia* antifungal protein gene significantly enhanced cotton *Verticillium* wilt resistance. *Plant Biotechnol J*, 18: 1498–1500
- Wang Z, Zhu Y, Wang L, et al (2009). A WRKY transcription factor participates in dehydration tolerance in *Boea hygrometrica* by binding to the W-box elements of the galactinol synthase (*BhGolSI*) promoter. *Planta*, 230: 1155–1166
- Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2005). Organization of *cis*-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters. *Trends Plant Sci*, 10 (2): 88–94
- Yang W, Liu XD, Chi XJ, et al (2011). Dwarf apple *Mb-DREB1* enhances plant tolerance to low temperature, drought, and salt stress via both ABA-dependent and ABA-independent pathways. *Planta*, 233 (2): 219–229
- Zhang W, Xu F, Cheng S, et al (2018). Characterization and functional analysis of a myb gene (*gbmyb1*) related to flavonoid accumulation in ginkgo biloba. *Genes Genom*, 40: 49–61
- Zhou M, Ma JT, Zhao YM, et al (2012). Improvement of drought and salt tolerance in *Arabidopsis* and *Lotus corniculatus* by overexpression of a novel DREB transcription factor from *Populus euphratica*. *Gene*, 506 (1): 10–17
- Zhou QY, Tian AG, Zou HF, et al (2008). Soybean WRKY-type transcription factor genes, *GmWRKY13*, *GmWRKY21*, and *GmWRKY54*, confer differential tolerance to abiotic stresses in transgenic *Arabidopsis* plants. *Plant Biotechnol J*, 6 (5): 486–503
- Zhu JK (2016). Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 167 (2): 313–324