

玉米光周期敏感性基因 *ZmDPS10-2* 启动子结合蛋白筛选研究

陈 晨, 朱宇光, 宗 军, 张冬岭, 董亚晖, 曾海霞,
韩胜博, 韩 允, 苏慧慧, 库丽霞, 陈彦惠

(河南农业大学, 郑州 450046)

摘 要: 以玉米光周期敏感基因 *ZmDPS10-2* 的核心启动子(1 148 bp)为诱饵, 采用酵母单杂交技术, 从热带玉米自交系酵母单杂交文库中, 筛选到 33 个与 *ZmDPS10-2* 的启动子相互作用的蛋白, 并根据基因功能注释, 从中选出了 4 个与光周期响应和逆境响应相关的蛋白 PAO4、RPL23A、bZIP60 和 BAG。通过构建 pGADT7 载体做进一步回转验证, 初步证实他们与候选基因启动子之间存在互作关系。结合启动子功能元件的预测, 推测 *ZmDPS10-2* 候选基因可能在植物开花、ER 胁迫、热胁迫等逆境调控途径中有一定的功能作用。

关键词: 玉米; 光周期敏感性; 酵母单杂交; 启动子; 结合蛋白

中图分类号: S513.035.3

文献标识码: A

Screening of Photoperiod Sensitivity Gene *ZmDPS10-2* Promoter's Binding Proteins in Maize

CHEN Chen, ZHU Yu-guang, ZONG Jun, ZHANG Dong-ling, DONG Ya-hui, ZENG Hai-xia,

HAN Sheng-bo, HAN Yun, SU Hui-hui, KU Li-xia, CHEN Yan-hui

(Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: Using the core promoter(1148bp) of the maize photoperiod-sensitive gene *ZmDPS10-2* as a bait, and using the yeast one-hybrid technology, from the tropical maize inbred line yeast one-hybrid library, we screened 33 genes interacting with *ZmDPS10-2*'s promoter. According to gene annotation, we selected four genes related to photoperiod and stimulus response, including PAO4, RPL23A, bZIP60 and BAG. These four genes were constructed into pGADT7 to confirm their interaction. It was initially confirmed that there was an interaction between these four genes and *ZmDPS10-2*'s promoter. Combined with the prediction of promoter functional elements, it is speculated that *ZmDPS10-2* may play a certain functional role in plant flowering and stress regulation pathways such as ER stress and heat stress.

Key words: Maize; Photoperiod sensitivity; Yeast one hybrid; Promoter; Binding protein

玉米是我国重要的粮食作物之一, 选育推广高产优质多抗玉米品种是提高玉米产量的重要途径。由于我国不是玉米多样性中心, 种质资源遗传基础相对狭窄, 因此引进利用外来种质, 特别是来自玉米

多样性中心的热带亚热带种质, 对于拓宽和丰富我国玉米育种的遗传基础、提高育种水平具有十分重要的意义。热带、亚热带种质虽然在温带地区种质表现出营养生长旺盛, 气生根发达、抗倒伏、抗病性强等优点, 但也出现生殖发育失调、生育期延迟、甚至不能繁衍后代等不适应现象, 具有很强的光周期敏感性^[1]。光周期敏感性成了热带、亚热带玉米种质引入温带利用的主要障碍。因此, 解析玉米光周期敏感性的遗传机理, 对于玉米遗传理论和育种实践均具有重要的意义。本课题组前期利用热带玉米自交系, 通过对玉米光周期敏感性进行精细定位, 鉴

录用日期: 2019-03-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(31371628)、河南省玉米产业体系项目(S2015-01)

作者简介: 陈 晨(1993-), 河南商丘人, 硕士, 从事作物分子育种研究。Tel: 15738829923 E-mail: doublechen22@qq.com
陈彦惠为本文通讯作者。E-mail: chy9890@163.com

定到一个主效 QTL *qDPS10-2* 的候选基因 *ZmDPS10-2*, 通过分析发现, 它属于 NF-Y 家族转录因子。已有的研究表明, NF-Y 转录因子广泛存在于真核生物中, 在植物中参与开花时间调节、逆境胁迫响应、胚胎发育和光合作用等众多生物学过程^[2]。拟南芥的 AtNF-YC2 与开花时间调节和胁迫响应相关, 大豆 GmNF-YC2 在光周期开花路径中具有重要的调节作用^[3]。本研究在前期基础上, 以热带光周期敏感自交系 CML288 为材料, 采用酵母单杂交技术和生物信息学分析的方法, 开展 *ZmDPS10-2* 基因启动子与其互作蛋白的筛选与验证等研究, 解析该基因在玉米光周期敏感路径中的调控机制, 并为热带玉米种质在育种中的改良利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料与取样

将光周期敏感的热带玉米自交系 CML288 种植于河南农业大学郑州科技园区, 取玉米出苗至开花不同发育阶段的叶片作为样本, 液氮冷冻后保存于 -80℃ 冰箱, 用于 DNA 和 RNA 的提取。

1.2 *ZmDPS10-2* 候选基因启动子的克隆及诱饵载体的构建

用 CTAB 法进行 DNA 的提取。以 NCBI 网站上 Blast 到的 *ZmDPS10-2* 候选基因启动子序列为参考, 设计 *ZmDPS10-2* 候选基因启动子特异性引物 DP-SQF: 5' - CCCAAGCTTCAAGCCGCGCCGTCTTGC-3', DPSQR: 5' - CCGCTCGAGTAGCGTAACACATATCGG-3', 以 CML288 的 DNA 为模板进行 *ZmDPS10-2* 候选基因启动子(DPSQ)扩增, 将 DPSQ 连接 pMD18-T 载体(T-DPSQ), 转化检测并测序, 利用 DNAMAN 进行序列比对分析, 通过 PlantCARE(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 在线软件对启动子元件进行功能预测。对 PCR 片段 DPSQ 和 pAbAi 质粒分别用 *Hind*III 和 *Xho*I 进行双酶切, 连接, 转化检测然后测序, 诱饵载体(pAbAi-DPSQ)质粒提取后, 通过双酶切进行验证。

1.3 酵母单杂交文库的筛选

将诱饵载体转入 Y1HGold 菌株中制备诱饵菌株, 并测定 AbA 的最小抑菌浓度。将文库质粒转入诱饵菌株, SD/-Leu/AbA₂₀₀ 平板上, 30℃, 倒置培养 3~5 d。平板上长出的菌落进行复筛。复筛得到的单菌落进行菌落 PCR 检测, 有带的 PCR 产物送华大基因测序。通过 NCBI Blast 分析测序序列, 筛选候选互作基因。

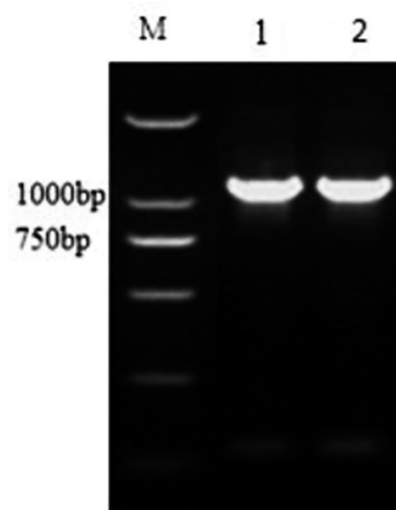
1.4 候选互作基因的回转验证

候选互作基因构建 pGADT7 载体, 转入诱饵菌株, SD/-Leu/AbA₂₀₀ 平板, 30℃, 倒置培养 3~5 d, 平板上长出的单菌落进行复筛, 验证候选互作基因与 *ZmDPS10-2* 候选基因启动子的互作的真实性。

2 结果与分析

2.1 启动子克隆及序列分析

用 DPSQF、DPSQR 进行启动子扩增, 在 1 100 bp 处出现特异性条带, 与预期一致(图 1)。



注: M 为 DL2000(Takara); 1、2 为启动子目的片段。

Note: M indicated DL2000; 1 and 2 were the promoter fragment.

图 1 目标片段 PCR 扩增

Fig.1 Target fragment PCR amplification

利用 PlantCARE 对 DPSQ 进行分析, 发现除含有大量启动子的基本元件 TATA-box 和 CAAT-box 外, 还有光响应元件、逆境和抗性元件、激素调节元件、组织特异性表达元件和蛋白结合位点等(表 1)。光响应元件主要有 GT1-motif、Gap-box、GATA-motif、Sp1、Box I 和 G-box 等; 组织特异性表达元件包括 CAT-box 和 Skn-1-motif; 激素调节元件包括 AuxRR-core、TGA-element、P-box、CGTCA-motif 和 TCA-element; 逆境和抗性元件包括 ARE、TC-rich repeats, 结合位点包括 MYB、AT-rich sequence 和 MBSII。

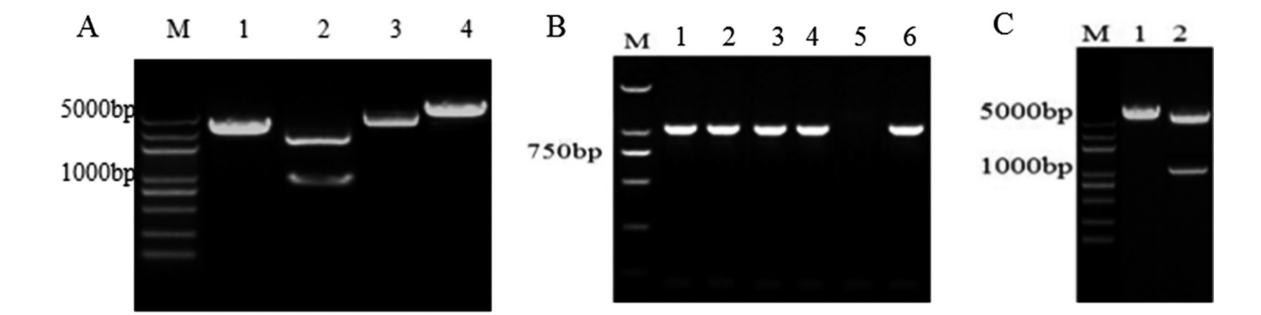
2.2 诱饵载体的构建

T-DPSQ 和 pAbAi 载体分别用 *Hind* III 和 *xho* I 双酶切, 分别得到 1 100 bp 和 5 000 bp 大小条带(图 2); 诱饵载体 pAbAi-DPSQ 单克隆进行菌液 PCR 检测, 得到 1 100 bp 条带; 对 pAbAi-DPSQ 质粒进行双酶切检测, 也得到 1 100 bp 条带, 表明诱饵载体中插入片段与 *ZmDPS10-2* 候选基因启动子(DPSQ)大小一致。

表1 启动子功能元件预测

Table 1 The prediction of Functional elements in the promoter

元 件 Component	序 列 Sequence	描 述 Description
CAT-box	GCCACT(-1665 ~ -1670)	与分生组织表达有关的调控元件
Skn-1_motif	GTCAT(-742 ~ -746, -1081 ~ -1085, -1659 ~ -1663)	胚乳表达所需的调节元件
AuxRR-core	GGTCCAT(-1578 ~ -1584)	参与生长素响应的调节元件
GT1-motif	GGTTAA(-1553 ~ -1558)	光响应元件
Gap-box	CAAATGAA(A/G)A(-1465 ~ -1473)	光响应元件的一部分
ARE	TGGTTT(-1448 ~ -1453)	厌氧诱导必需调控元件
P-box	CCTTTTG(-1292 ~ -1298)	赤霉素响应元件
MBS	TAACTG(-1004 ~ -1009)	MYB结合位点(参与干旱诱导)
GATA-motif	AAGGATAAGG(-678 ~ -687)	光响应元件的一部分
AT-rich sequence	TAAAATACT(-1238 ~ -1246)	最大诱导子介导的植物防御相关基因编码活化的元件
MBSII	AAAAGTTAGTTA(-938 ~ -949)	MYB结合位点(参与类黄酮生物合成基因调控)
Sp1	CC(G/A)CCC(-908 ~ -1002, -2501 ~ -2505)	光响应元件
Box I	TTTCAAA(-895 ~ -902)	光响应元件
CGTCA-motif	CGTCA(-743 ~ -747, -1712 ~ -1716)	参与 MeJA 响应的顺式作用调节元件
G-box	CACGTC(-693 ~ -698)	光响应调控元件
TC-rich repeats	ATTTTCTCCA (-2903 ~ -2910)	防御和胁迫响应元件
TGA-element	AACGAC(-810 ~ -815)	生长素响应元件
TCA-element	CAGAAAAGGA(-652 ~ -661)	水杨酸响应元件



注: A 为 T-DPSQ 和 pAbAi 双酶切检测: M 为 BM5000(Biomed); 1 为 T-DPSQ; 2 为酶切后的 T-DPSQ; 3 为 pAbAi 载体; 4 为酶切后的 pAbAi 载体。 B 为 pAbAi-DPSQ 菌液 PCR 检测: M 为 DL2000(Takara); 1-6 为 PCR 片段。 C 为 pAbAi-DPSQ 双酶切检测: M 为 BM5000 (Biomed); 1 为 pAbAi-DPSQ; 2 为酶切后的 pAbAi-DPSQ

Note: A is a double enzyme cutting detection of T-DPSQ and pAbAi: M indicated BM5000; 1 is T-DPSQ; 2 is digested T-DPSQ; 3 is pAbAi; 4 is digested pAbAi. B is colony PCR of pAbAi-DPSQ: M indicated DL2000(Takara); 1-6 are PCR fragment. C is double enzyme cutting detection of pAbAi-DPSQ: M indicated BM5000; 1 is pAbAi-DPSQ; 2 is digested pAbAi-DPSQ.

图2 pAbAi-DPSQ 构建及检测

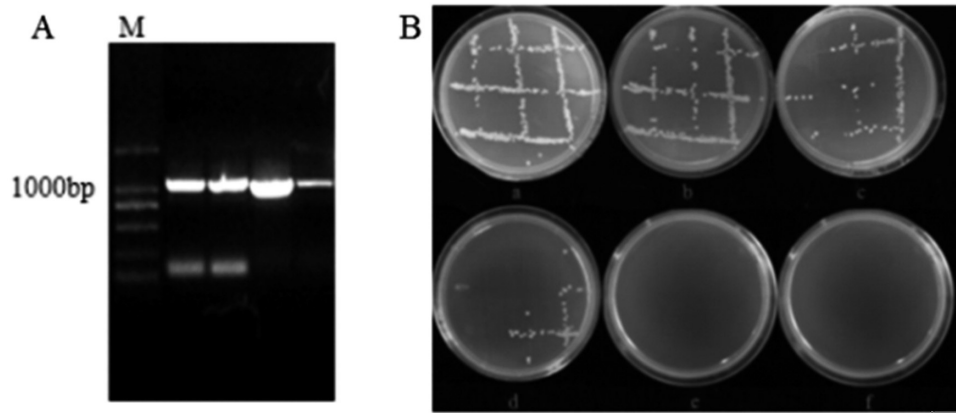
Fig.2 Construction and detection of pAbAi-DPSQ

2.3 酵母单杂交文库筛选

pAbAi-DPSQ 线性化后转入酵母 Y1H 菌株,涂布 SD/-Ura 平板,随机挑取几个单菌落进行菌落 PCR 鉴定,得到 1 100 bp 条带(图 3),与 *ZmDPS10*-2 候选基因启动子(DPSQ)大小一致。诱饵菌液接种到不同 AbA 浓度的 SD/-Ura 培养基上,AbA 浓度为 0 ~ 100 ng/mL 时,培养基上菌落的数目依次减少,但变化不大;浓度为 150 ng/mL 时,菌落数目大幅减少;当

浓度加大到 200、250 ng/mL 时,完全没有菌落长出,说明,AbA 的最小抑菌浓度为 150 ng/mL,文库筛选时,可以在此基础上加大 50 ~ 100 ng/mL,以 200 ~ 250 ng/mL 作为文库筛选的 AbA 浓度。

将文库质粒转入到诱饵感受态中,涂布 SD/-Leu/AbA₂₀₀ 平板(图 4),平板上长出的单菌落进行复筛。复筛得到的菌落进行 PCR 扩增,结果显示,多数 PCR 片段长度为 500 ~ 2 000 bp,对 PCR 产物进行测序。

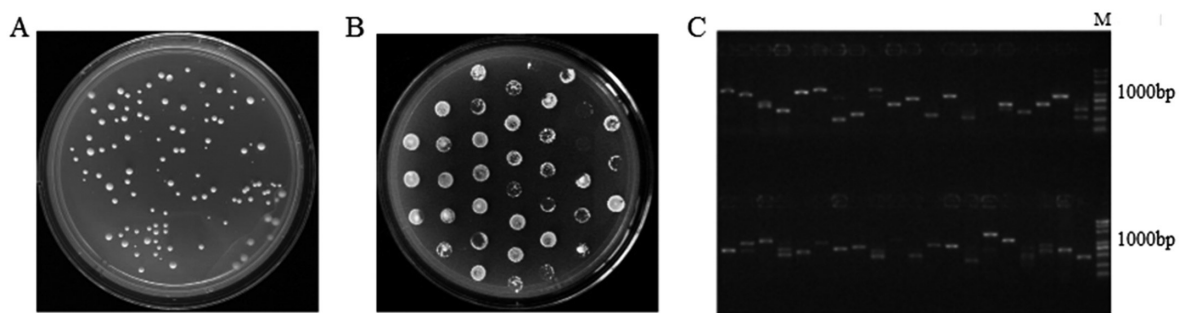


注:A为诱饵菌株菌落PCR鉴定:M为DL2000(Takara)。B为AbA浓度确定:a~f AbA浓度分别为0、50、100、150、200和250 ng/mL。

Note: A is PCR identification of bait strain: M is DL2000(Takara); B is determination of AbA concentration: a ~ f of AbA concentration are 0, 50, 100, 150, 200 and 250 ng/mL respectively.

图3 诱饵菌株菌落PCR鉴定及AbA浓度确定

Fig.3 PCR identification of bait strain and determination of AbA concentration



注:A为SD/-Leu/AbA₂₀₀平板菌落;B为复筛菌落;C为菌落PCR。C中M为BM5000(Biomed)。

Note: A is colony on SD/-Leu/AbA₂₀₀; B is colony on SD/-Leu/AbA₂₀₀; C is colony PCR.4C: M is BM5000(Biomed).

图4 酵母单杂交文库筛选

Fig.4 Y1H library screen

通过文库筛选和序列分析,得到33个蛋白绑定在 *ZmDPS10-2* 启动子区域(表2),根据具有的不同功能,大致分为以下几类:核糖体蛋白6个;逆境相关蛋白2个,其中,bZIP60为转录因子;光合系统相关蛋白11个,其中,7个与光系统I相关,4个与光系统II相关;转运类蛋白4个;结合类蛋白2个;代谢合

成类蛋白8个。

对互作基因进行功能注释可知,PAO4、RPL23A和BAG不仅调控玉米营养生长向生殖生长的转换,还有逆境响应等功能;bZIP60具有光响应、抵抗逆境等功能,因此,将这些蛋白作为候选基因,进行回

转验证。

表2 筛库得到的互作蛋白及其功能注释

Table 2 Interactive proteins obtained from sieve banks and their functional annotations

分类 Classification	序号 Number	基因 Gene	描述 Description
核糖体蛋白	1	<i>GRMZM2G178968</i>	核糖体蛋白 L7Ae / L30e / S12e / Gadd45 家族蛋白
	2	<i>GRMZM2G122231</i>	核糖体蛋白 L7Ae / L30e / S12e / Gadd45 家族蛋白
	3	<i>GRMZM2G135654</i>	核糖体蛋白 L7Ae / L30e / S12e / Gadd45 家族蛋白
	4	<i>GRMZM2G078985</i>	(AML1, ATRPS5A, RPS5A)核糖体蛋白 5A。编码核糖体蛋白 S5 的两个基因之一,与细胞分裂过程有关

续表2 Continued 2

分 类	序 号	基 因	描 述
Classification	Number	Gene	Description
核糖体蛋白	5	<i>GRMZM2G16236</i>	<i>Zea mays</i> 克隆 235076 50S 核糖体蛋白 L40 mRNA
	6	<i>GRMZM2G078396</i>	核糖体 L14 / L23 富含蛋白质,参与一些特定组织的非生物胁迫
逆境相关蛋白	7	<i>GRMZM2G025812</i>	bzip60-bZIP 转录因子 60,由 bZIP DNA 结合结构域和随后的推定跨膜结构域组成 bZIP60 mRNA 受内质网应激诱导剂的调节
	8	<i>GRMZM2G063162</i>	(ATBAG6, BAG6)BCL-2 相关的 <i>athanogene</i> 6,拟南芥 BAG(Bcl-2 相关的 <i>athanogene</i>)蛋白的成员,哺乳动物细胞凋亡调节因子的植物同源物;热应激强烈诱导 BAG6 在叶片中的表达;敲除突变体表现出对真菌病原体灰葡萄孢 (<i>Botrytis cinerea</i>)的易感性增强
光系统相关蛋白	9	<i>GRMZM2G033885</i>	(LHCB4.2)光捕获复合体光合系统 II
	10	<i>GRMZM2G330453</i>	(PSAO) 光系统 I 亚基
	11	<i>GRMZM2G451224</i>	(PSAH-2, PSAH2, PSI-H) 光系统 I 亚基 H2
	12	<i>GRMZM2G074393</i>	编码 <i>grana</i> 核心定位蛋白;突变植物影响了光捕获复合物 II
	13	<i>GRMZM2G001653</i>	(PSAO) 光系统 I 亚基 O
	14	<i>GRMZM2G036880</i>	(LHCA1)光系统 I 光捕获复合基因 1
	15	<i>GRMZM2G001653</i>	(PSAO) 光系统 I 亚基
	16	<i>GRMZM2G094224</i>	(PSAL) 光系统 I 亚基 I
	17	<i>GRMZM2G155216</i>	(LHB1B2, LHCB1.5) 光系统 II 光捕获复合体基因 <i>B1B2</i>
	18	<i>GRMZM2G377168</i>	光系统 II 5 kD 蛋白
转运蛋白	19	<i>GRMZM2G160268</i>	(CAB4, LHCA4)光捕获叶绿体蛋白复合体 I 亚基 A4
	20	<i>GRMZM2G101958</i>	(ATLTP1, LP1, LTP1)脂质转移蛋白 1
	21	<i>GRMZM2G330453</i>	质膜胆碱转运蛋白家族蛋白
	22	<i>GRMZM2G344205</i>	(CP5)聚酮化合物环化酶/脱水酶和脂质转运超家族
结合蛋白	23	<i>GRMZM2G133958</i>	(CP5)聚酮化合物环化酶/脱水酶和脂质转运超家族
	24	<i>GRMZM2G122437</i>	结合金属的法呢基化蛋白质
合成代谢蛋白	25	<i>GRMZM2G172204</i>	甘露糖结合凝集素超家族蛋白
	26	<i>GRMZM2G139695</i>	(ATEXP3, ATEXPA3, ATHEXP ALPHA 1.9, EXP3)类 Barwin 内切葡聚糖酶超家族蛋白
	27	<i>GRMZM2G158394</i>	kin1 -Ribonuclease T2 家族蛋白
	28	<i>GRMZM2G366659</i>	(ATTPS10, TPS10)海藻糖磷酸合成酶
	29	<i>GRMZM2G122231</i>	(ATTPS11, ATTPSB, TPS11)海藻糖磷酸酶/合成酶 11
	30	<i>GRMZM2G008792</i>	(ATCKX6, ATCKX 7)细胞分裂素氧化酶/脱氢酶
	31	<i>GRMZM2G122337</i>	2Fe-2S 类铁氧还蛋白超家族蛋白
	32	<i>GRMZM2G101875</i>	(CER8, LACS1)依赖 AMP 合成酶和连接酶家族蛋白。 编码酰基辅酶 A 合成酶,其作用于长链和超长链脂肪酸,参与表皮蜡和角质生物合成
	33	<i>GRMZM2G150248</i>	(ATPAO4, PAO4)多胺氧化酶 4

2.4 候选互作基因的回转验证

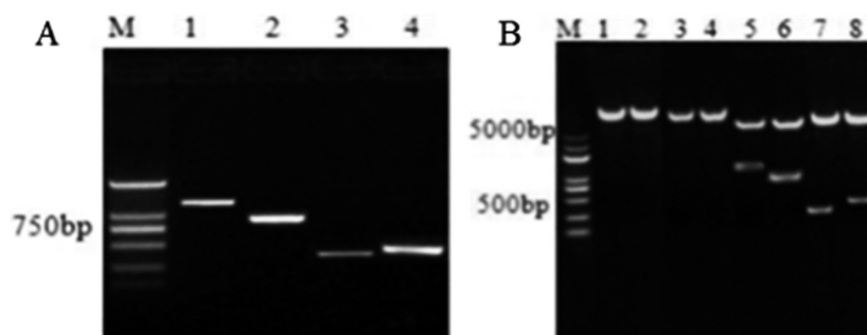
从 CML288 cDNA 中扩增 4 个候选基因,得到片段约为 1 590、903、423、495 bp 的条带,与预期相符(图 5),候选基因构建到 pGADT7 载体上后进行双酶切检测,得到 1 590、903、423、495 bp 大小的条带,与预期相符。

将重组质粒与诱饵质粒共转入酵母细胞,涂布 SD/- Leu/AbA₂₀₀ 平板,阳性对照 Y1H[p53- AbAi]、

PAO4、bZIP60、RPL23A 和 BAG 均正常生长,阴性对照不长斑(图 6);平板上菌落进行复筛,阳性对照和 4 种菌落正常生长,表明这 4 个候选蛋白与 *ZmDPS10-2* 的启动子存在稳定的相互作用。

3 结论与讨论

本课题组通过精细定位获得光周期敏感性主效 QTL qDPS10-2 的候选基因 *ZmDPS10-2*、*ZmDPS10-2*

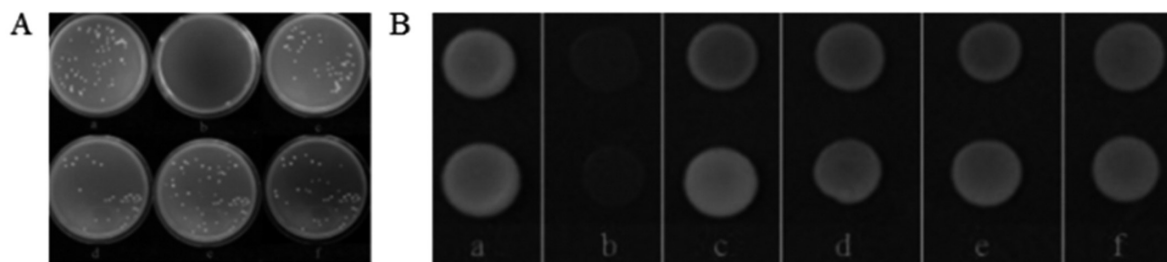


注: A: M 为 DL2000(Takara); 1~4 分别为 PAO4、bZIP60、RPL23A、BAG。B: M 为 BM5000(Biomed); 1~4 分别为 PAO4、bZIP60、RPL23A、BAG 未酶切质粒; 5~8 分别对应 4 个双酶切后质粒。

Note: fig.5A: M is DL2000(Takara); 1-4 are PAO4, bZIP60, RPL23A, BAG. fig.5B: M is BM5000(Biomed); 1-4 are no-digested plasmid of PAO4, bZIP60, RPL23A, BAG; 5-8 correspond to 4 double-digested plasmids, respectively.

图5 候选互作基因克隆及重组载体双酶切检测

Fig.5 Cloning of candidate gene and digestion detection of recombination vector



注: a 为阳性对照; b 为阴性对照; c~f 为依次为 PAO4、bZIP60、RPL23A 和 BAG。

Note: a is positive control; b is negative control; c-f are PAO4, bZIP60, RPL23A and BAG, respectively.

图6 候选互作基因回转变证

Fig.6 Verification of candidate genes

候选基因在光周期响应及胁迫响应中起一定作用。本研究以 *ZmDPS10-2* 核心启动子为诱饵, 采用酵母单杂交技术筛选到与之互作的转录因子或蛋白 33 个, 其中 bZIP60 与逆境响应有关, PAO4、RPL23A 和 BAG 既调控营养生长向生殖生长的转换又与逆境响应有关, 对上述 4 个关键基因进行进一步回转变证, 初步证明了 PAO4、bZIP60、RPL23A、BAG 与 *ZmDPS10-2* 启动子存在相互作用。

对 *ZmDPS10-2* 启动子进行分析, 发现除含有大量启动子的基本元件 TATA-box 和 CAAT-box 外, 还富含 GT1-motif、Gap-box、Sp1 等光响应元件, 厌氧响应、逆境响应等抗性元件, 生长素、赤霉素等激素调节元件, 分生组织、胚乳特异性表达元件等功能性元件以及参与干旱、类黄酮生物合成调控和其他抗性结合位点。与 *ZmDPS10-2* 启动子互作的 PAO4、bZIP60、RPL23A 和 BAG 4 个蛋白涉及众多的生物进程, PAO4 参与拟南芥花粉的萌发和花粉管的伸长^[4]; bZIP60 在内质网应激响应中发挥重要作用^[5];

RPL23A 在特定的组织中参与一些非生物胁迫反应^[6]; BAG 参与植物基部抗性^[7]。许多研究发现, 不同物种中 NF-YC 亚基在控制植物花期、响应 ER 胁迫、热胁迫、抗旱、抗盐害^[8-11]等方面有重要作用。结合启动子功能元件的预测, 推测 *ZmDPS10-2* 候选基因可能在植物开花、ER 胁迫、热胁迫等逆境调控途径中有一定的功能作用。

参考文献:

- [1] 张凤路, Mugo S. 不同玉米种质对长光周期反应的初步研究[J]. 玉米科学, 2001, 9(4): 54-56.
Zhang F L, Mugo S. Primary study on the effect of long photo-period on different maize gemplasm[J]. Journal of Maize Sciences, 2001, 9 (4): 54-56. (in Chinese)
- [2] Su H, Cao Y, Ku L, et al. Dual functions of ZmNF-YA3 in photoperiod-dependent flowering and abiotic stress responses in maize[J]. Journal of Experimental Botany, 2018, doi:10.1093/jxb/ery299.
- [3] 曹岩, 张晓政, 陈新建, 等. 大豆 *GmNF-YC2* 基因的克隆与功能分析[J]. 作物学报, 2012, 38(9): 1607-1616.

(下转第 58 页)

- abiotic stresses: role of heat shock proteins(HSP)[J]. Journal of Proteomics, 2008, 71: 391–411.
- [41] Kang G Z, Li G Z, Liu G Q, et al. Exogenous salicylic acid enhances wheat drought tolerance by influence on the expression of genes related to ascorbate– glutathione cycle[J]. Biologia Plantarum, 2013, 57: 718–724.
- [42] Kim Y S, Kim I S, Bae M J, et al. Homologous expression of cytosolic dehydroascorbate reductase increases grain yield and biomass under paddy field conditions in transgenic rice(*Oryza sativa* L. *japonica*)[J]. Planta, 2013, 237(6): 1613–1625.
- [43] Koh J, Chen G, Yoo M J, et al. Comparative proteomic analysis of *Brassica napus* in response to drought stress[J]. Journal of Proteome Research, 2015, 14: 3068–3081.
- [44] Mishra K K, Vikram P, Yadav R B, et al. qDTY12.1: a locus with a consistent effect on grain yield under drought in rice[J]. BMC Genetics, 2013, 14: 12.
- [45] Osipova S V, Permyakov A V, Permyakova M D, et al. Leaf dehydroascorbate reductase and catalase activity is associated with soil drought tolerance in bread wheat[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2011, 33: 2169–2177.
- [46] Xu J, Xing X J, Tian Y S, et al. Transgenic *Arabidopsis* plants expressing tomato Glutathione S–transferase showed enhanced resistance to salt and drought stress[J]. Plos One, 2015, 10: e0136960.
- [47] Wang X L, Wang H W, Liu S X, et al. Genetic variation in *ZmVPP1* contributes to drought tolerance in maize seedlings[J]. Nature Genetics, 2016, 48(10): 1233–1241.
- [48] Ford K L, Cassin A, Bacic A. Quantitative proteomic analysis of wheat cultivars with differing drought stress tolerance[J]. Frontiers in Plant Science, 2011, 2: 44.

(责任编辑:朴红梅)

(上接第 50 页)

- Cao Y, Zhang X Z, Chen X J, et al. Cloning and functional analysis of *GmNF-YC2* gene in soybean(*Glycine max*)[J]. Acta Agronomica Sinica, 2012, 38(9): 1607–1616. (in Chinese)
- [4] Wang Y, Zhang W Z, et al. Transcriptome analyses show changes in gene expression to accompany pollen germination and tube growth in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2008, Vol. 148, pp: 1201–1211.
- [5] Libault M, Wan J, Czechowski T, et al. Identification of 118 *Arabidopsis* transcription factor and 30 ubiquitin–ligase genes responding to chitin, a plant–defense elicitor[J]. Molecular Plant–Microbe Interactions: MPMI, 2007, 20(8): 900.
- [6] Pendle A F, Clark G P, Boon R, et al. Proteomic analysis of the *Arabidopsis* nucleolus suggests novel nucleolar functions[J]. Molecular Biology of the Cell, 2005, 16(1): 260–269.
- [7] Xu L, Liu Z Y, Zhang K, et al. Characterization of the pinus massoniana transcriptional response to bursaphelenchus xylophilus infection using suppression subtractive hybridization[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2013, 14(6): 11356–11375.
- [8] Kumimoto R W, Zhang Y, Siefers N, et al. NF-YC3, NF-YC4 and NF-YC9 are required for CONSTANS– mediated, photoperiod– dependent flowering in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Journal for Cell & Molecular Biology, 2010, 63(3): 379–391.
- [9] Hackenberg D, Keetman U, Grimm B. Homologous NF-YC2 subunit from *Arabidopsis* and tobacco is activated by photooxidative stress and induces flowering[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13(3): 3458–3477.
- [10] Sato H, Mizoi J, Tanaka H, et al. *Arabidopsis* DPB3–1, a DREB2A interactor, specifically enhances heat stress–induced gene expression by forming a heat stress–specific transcriptional complex with NF-Y subunits[J]. Plant Cell, 2014(26): 4954–4973.
- [11] Chen H, Lan H, Huang P, et al. Characterization of OsPM19L1 encoding an AWP–19–like family protein that is dramatically induced by osmotic stress in rice[J]. Genetics & Molecular Research Gmr, 2015, 14(4): 11994–12005.

(责任编辑:朴红梅)