

# 知网个人查重服务报告单 (全文标明引文)

报告编号: BC2024062619035212468607014

检测时间: 2024-06-26 19:03:52

篇名: 创新创业项目申报书

作者: 原若曦

检测类型: 其他

比对截止日期: 2024-06-26

## 检测结果

去除本人文献复制比: 6.5% 去除引用文献复制比: 6.5% 总文字复制比: 6.5%

单篇最大文字复制比: 5.8% (大学生创新训练项目申请书课件.doc - 道客巴巴)

重复字符数: [487] 单篇最大重复字符数: [433] 总字符数: [7462]

(注释: ■ 无问题部分 ■ 文字复制部分 ■ 引用部分)

## 1. 创新创业项目申报书

总字符数: 7462

### 相似文献列表

去除本人文献复制比: 6.5%(487) 去除引用文献复制比: 6.5%(487) 文字复制比: 6.5%(487)

1	大学生创新训练项目申请书课件.doc - 道客巴巴 - 《互联网文档资源 ( <a href="http://www.doc88.com">http://www.doc88.com</a> )》 - 2019	5.8% (433) 是否引证: 否
2	大学生创业训练项目申请书 - 道客巴巴 - 《互联网文档资源 ( <a href="http://www.doc88.com">http://www.doc88.com</a> )》 - 2019	3.6% (270) 是否引证: 否
3	智能化家庭创业模板课件_图文 - 《互联网文档资源 ( <a href="https://wenku.baidu.com">https://wenku.baidu.com</a> )》 - 2018	2.7% (198) 是否引证: 否
4	大学生创新训练项目 - 道客巴巴 - 《互联网文档资源 ( <a href="https://www.doc88.com">https://www.doc88.com</a> )》 - 2020	2.0% (151) 是否引证: 否
5	2011年国家大学生创新训练项目申请书 - 道客巴巴 - 《互联网文档资源 ( <a href="https://www.doc88.com">https://www.doc88.com</a> )》 - 2020	1.9% (143) 是否引证: 否
6	创新训练项目申请书 - 道客巴巴 - 《互联网文档资源 ( <a href="http://www.doc88.com">http://www.doc88.com</a> )》 - 2019	1.4% (107) 是否引证: 否
7	德州市大豆生产现状及发展建议 赵启辉;周博;张德恒; - 《中国农技推广》 - 2021-04-25	0.4% (31) 是否引证: 否

### 原文内容

黑龙江八一农垦大学大学生创新训练项目计划申请书  
项目编号  
项目名称大豆种子萌发相关基因功能的异源验证  
项目负责人原若曦联系电话 18512233716  
所在学院生命科学技术学院  
学号 20224082118 专业班级生工(1)班  
指导教师高亚梅  
E-mail 030025@byau.com  
申请日期 2024年 6月23 日  
项目期限一年期  
黑龙江八一农垦大学

[填写说明](#)

1. 本申请书所列各项内容均须实事求是，认真填写，表达明确严谨，简明扼要。
2. 申请人可以是个人，也可为创新团队，首页只填负责人。“项目编号”一栏不填。
3. 本申请书为大16开本（A4），左侧装订成册。可网上下载、自行复印或加页，但格式、内容、大小均须与原件一致。
4. 负责人所在学院认真审核，经初评和答辩，签署意见后，将申请书（一式两份）报送项目管理办公室。

## 一、基本情况

项目名称	大豆种子萌发相关基因功能的异源验证						
所属学科	学科一级门：理学 学科二级类：生物科学类						
项目来源	<input type="checkbox"/> A、学生自主选题，来源于自己对课题的长期积累与兴趣 <input checked="" type="checkbox"/> B、学生来源于教师科研项目选题 <input type="checkbox"/> C、学生承担社会、企业委托项目选题 <input type="checkbox"/> D、拔尖专项 <input type="checkbox"/> E、竞赛专项 <input type="checkbox"/> F、研修专项						
申请金额	6800元	项目期限	2年	拟申报项目级别	校级		
负责人	原若曦	性别	女	民族	汉族	出生年月	2005年8月
学号	20224082118	联系电话	宅：手机：18512233716				
指导教师	高亚梅	联系电话	宅：手机：13836714486				
项目简介	大豆是重要的粮食、油料和工业作物，种子萌发能力影响大豆产量的重要因素。然而，各种信号级联在种子萌发过程中的作用机制及其调控网络尚不清楚。阐明种子萌发的生物学机制是提高大豆产量的有效途径之一。在前期关于大豆种子萌发转录组数据分析中，我们筛选到可能与种子萌发相关的17个候选基因。拟通过构建过表达载体后进行拟南芥异源遗传转化，验证转基因拟南芥在正常条件下、NaCl处理及PEG处理条件下的萌发性状。进一步确定与种子萌发呈负相关基因，利用酵母双杂交实验寻找与其互作的蛋白，完善大豆种子萌发的调控网络。为培育大豆新品种提供新候选基因。						
负责人曾经参与科研的情况	盆栽大豆的播种，不同碱浓度下高粱种子的萌发情况						
指导教师承担科研课题情况	勃利霉素潜在分子靶标FBP21的功能研究及互作分析，省自然科学基金引导项目2021.06-2024.06，主持 勃利霉素对大豆疫霉生活史不同阶段抑制的多途径作用机制研究，校基础培育项目，2020-2022，主持 大豆疫霉拮抗放线菌作用机制研究，博士后科研启动项目，2023-2026，主持						
指导教师对本项目的支持情况	提供技术支持，经费支持						
项目组主要成员	姓名	学号	学院	专业班级	联系电话	项目分工	
	原若曦	20224082118	生命科学技术学院	生物工程	18512233716	整理项目申请书，计划实验可行性整理实验内容	
	耿畅	20224082124	生命科学技术学院	生物工程	13936537556	构建负调控种子萌发的候选基因表达载体	
	陈超龙	20214082104	生命科学技术学院	生物工程	13333789317	进行过表达拟南芥的遗传转化	
	陈明涛	20214082105	生命科学技术学院	生物工程	15685357471	转基因拟南芥在不同条件下的发芽性状测定	
	肖利棋	20214082219	生命科学技术学院	生物工程	15765907053	进行酵母双杂探究影响种子萌发的基因调控网络，实验数据整理	
指导教师	姓名	工号	学院/单位	职称	联系电话	电子邮件	
	高亚梅	030025	生命科学技术学院	教授	13836714486	030025@byau.com	

项目名称大豆种子萌发相关基因功能的异源验证

所属学科一级门：理学学科二级类：生物科学类

项目来源  A、学生自主选题，来源于自己对课题的长期积累与兴趣

B、学生来源于教师科研项目选题

C、学生承担社会、企业委托项目选题

D、拔尖专项

E、竞赛专项

F、研修专项

申请金额 6800元项目期限 2年拟申报项目级别校级

负责人原若曦性别女民族汉族出生年月 2005年8月

学号 20224082118 联系电话宅：手机：18512233716

指导教师高亚梅联系电话宅：手机：13836714486

项目简介大豆是重要的粮食、油料和工业作物，种子萌发能力影响大豆产量的重要因素。然而，各种信号级联在种子萌发过程中的作用机制及其调控网络尚不清楚。阐明种子萌发的生物学机制是提高大豆产量的有效途径之一。在前期关于大豆种子萌发转录组数据分析中，我们筛选到可能与种子萌发相关的17个候选基因。拟通过构建过表达载体后进行拟南芥异源遗传转化，验证转基因拟南芥在正常条件下、NaCl处理及PEG处理条件下的萌发性状。进一步确定与种子萌发呈负相关基因，利用酵母双杂交实验寻找与其互作的蛋白，完善大豆种子萌发的调控网络。为培育大豆新品种提供新候选基因。

负责人曾经参与科研的情况盆栽大豆的播种，不同碱浓度下高粱种子的萌发情况

指导教师承担科研课题情况勃利霉素潜在分子靶标FBP21的功能研究及互作分析，省自然科学基金引导项目2021.06-2024.06，主持

勃利霉素对大豆疫霉生活史不同阶段抑制的多途径作用机制研究，校基础培育项目，2020-2022，主持

大豆疫霉拮抗放线菌作用机制研究，博士后科研启动项目，2023-2026，主持

指导教师对本项目的支持情况提供技术支持，经费支持

项目组主要成员姓名学号学院专业班级联系电话项目分工

原若曦 20224082118 生命科学技术学院生物工程 18512233716 整理项目申请书，计划实验可行性整理实验内容

耿畅 20224082124 生命科学技术学院生物工程 13936537556 构建负调控种子萌发的候选基因表达载体

陈超龙 20214082104 生命科学技术学院生物工程 13333789317 进行过表达拟南芥的遗传转化

陈明涛 20214082105 生命科学技术学院生物工程 15685357471 转基因拟南芥在不同条件下的发芽性状测定

肖利棋 20214082219 生命科学技术学院生物工程 15765907053 进行酵母双杂探究影响种子萌发的基因调控网络，实验数

指导教师姓名工号学院/单位职称联系电话电子邮箱

高亚梅 030025 生命科学技术学院教授 13836714486 030025@byau.com

二、立项依据（可加页）

(1) 研究目的 大豆既是食用植物油和蛋白食品的主要来源。2023年我国大豆进口和生产总计11780万吨，大豆进口依存度达80%以上，提高我国大豆产量是关系国家粮食安全的重大问题。种子萌发是植物生长和作物产量的关键。种子快速萌发，可以促进苗的生长，增强植物对非生物胁迫耐受性，保证作物产量。大豆作为双子叶植物，出苗顶土能力较弱，在发芽时需吸足相当于本身重量的1.2 - 1.4倍的水分才能萌动。种子萌发是一个复杂的生物学过程，涉及将环境信号和物种的遗传信息整合到包括萌发类型及其生理过程、转录和转录后调控以及表观遗传调控的机制中，到目前为止，这些过程及其调控机制尚未完全理解，需要更多的研究来充分阐明种子萌发及其调控的机制。研究大豆种子萌发过程中基因的调控，有利于对大豆种子萌发过程的理解和增强大豆种子萌发能力，为培育高产的大豆品种提供新候选基因。研究内容 构建负调控种子萌发的候选基因（COL9、LOC100809693、LOC100816920、LOC100787296、LOC100795995、LOC100811164、LOC100779103、LOC100817761、LOC100812693、LOC100801868、LOC100806616、LOC102664661、LOC100804754、LOC100796687、LOC100809289、LOC100810186、LOC100812846）表达载体。进行过表达拟南芥的遗传转化。转基因拟南芥在正常条件下、NaCl条件下和PEG条件下的发芽性状测定。对有表形的基因预测互作蛋白，进行酵母双杂，验证互作蛋白。国内、内外研究现状和发展动态 mRNA 介导的种子萌发，种子能否成功萌发的一个重要因素就是胚成熟过程中 mRNA 的积累量[1]。当环境信号被感知，有些程序被激活，有些程序被抑制，被抑制的程序对维持正常的种子萌发十分关键，因为它们与调控种子萌发的细胞代谢过程和信号转导过程有密切关系[2]。种子萌发不仅受到多种内源激素的影响，还受到外界环境因子的调控。例如在受到光、温度和水等环境提示后，休眠种子会将外界环境因子转化为信号分子，种子将做出从休眠状态切换到发芽状态的决策。在发芽起始阶段，种子利用各种传感器和受体来感知环境线索。然后这些信息转化为细胞内信号，进一步激活内源植物激素之间信号的相互作用，进而调节种子萌发的生理过程，最终决定种子是否会发芽或保持休眠。研究表明，SMAX1 与 DELLA 的相互作用可以通过拟南芥中赤霉素的生物合成抑制弱光条件下种子萌发[3]。拟南芥 ANR1 通过激活 ABI3 的表达作为种子萌发的负调节剂[4]。含有 MDN1 结构域的拟南芥 SAG 蛋白通过负调控 ABI3 和 ABI5 参与种子萌发[5]。拟南芥 SUMO E3 连接酶 SIZ1 对 ABI5 的苏酰化可以负调节脱落酸信号传导[6]。糖也充当信号分子并与植物激素信号传导途径相互作用[7]。例如 OsFbx352 通过靶向 ABA 代谢过程，在葡萄糖诱导的种子萌发中发挥调节作用[8]。水稻 OsSAUR33 在种子萌发早期通过糖途径调节种子活力[9]。在拟南芥中过表达 AtFUS3 和 AtKIN10 均表现出 ABA 超敏感性和种子延迟发芽。AtKIN10 和 AtFUS3 均充当对 ABA 反应的正调节因子，并且 AtKIN10 调节糖信号传导，而 AtFUS3 介导渗透胁迫反应[10]。目前在拟南芥中过表达 AtFUS3 介导种子活力的研究中发现，大豆GmAOC4基因在拟南芥中转化后促进拟南芥JA积累，有助于调控大豆种子萌发率[11]。大豆GmWRKY16基因在拟南芥中过表达后，转基因品系种子萌发率与对照相比，在较高浓度甘露醇、NaCl处理下均有所提高[12]。野生大豆GsSRK在拟南芥中的过表达促进了种子萌发[13]。但是在拟南芥中其它基因对于种子萌发的作用还有待研究。参考文献 Sano N, Rajjou L, North HM. Lost in Translation: Physiological Roles of Stored mRNAs in Seed Germination[J]. Plants (Basel), 2020, 9(3): 347. Penfield S. Seed dormancy and germination[J]. Curr Biol, 2017, 27(17): R874-R878. Xu P, Hu J, Chen H, et al. SMAX1 interacts with DELLA protein to inhibit seed germination under weak light conditions via gibberellin biosynthesis in Arabidopsis[J]. Cell Rep, 2023, 42(7): 112740. Lin JH, Yu LH, Xiang CB. ARABIDOPSIS NITRATE REGULATED 1 acts as a negative modulator of seed germination by activating ABI3 expression[J]. New Phytol, 2020, 225(2): 835-847. Chen C, Wu C, Miao J, et al. Arabidopsis SAG protein containing the MDN1 domain participates in seed germination and seedling development by negatively regulating ABI3 and ABI5[J]. J Exp Bot, 2014, 65(1): 35-45. Miura K, Lee J, Jin JB, et al. Sumoylation of ABI5 by the Arabidopsis SUMO E3 ligase SIZ1 negatively regulates abscisic acid signaling[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(13): 5418-5423. Mishra BS, Sharma M, Laxmi A. Role of sugar and auxin crosstalk in plant growth and development[J]. Physiol Plant, 2022, 174(1): e13546. Song S, Dai X, Zhang WH. A rice F-box gene, OsFbx352, is involved in glucose-delayed seed germination in rice[J]. J Exp Bot, 2012, 63(15): 5559-5568. Zhao J, Li W, Sun S, et al. The Rice Small Auxin-Up RNA Gene OsSAUR33 Regulates Seed Vigor via Sugar Pathway during Early Seed Germination[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4): 1562. Tsai AY, Gazzarrini S. Overlapping and distinct roles of AKIN10 and FUSCA3 in ABA and sugar signaling during seed germination[J]. Plant Signal Behav, 2012, 7(10): 1238-1242. 林紫依,徐乐,周梦洁,等.大豆种子活力研究进展[J].种子科技,2024,42(08):36-38. Ma Q, Xia Z, Cai Z, et al. GmWRKY16 Enhances Drought and Salt Tolerance Through an ABA-Mediated Pathway in Arabidopsis thaliana. Front Plant Sci. 2019 Jan 21;9:1979. Sun XL, Yu QY, Tang LL, et al. 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. 2013 Mar 15;170(5):505-15. 创新点与项目特色 本研究采用拟南芥异源表达验证大豆基因的萌发功能。这些基因具体功能研究前人未见报道，这项工作属于新的研究创新点，研究结果将填补国内外在该基因功能研究领域的空白。技术路线、拟解决的问题及预期成果 技术路线：拟解决的问题：进一步解析大豆种子萌发的调控网络，开展差异基因功能验证，同时利用酵母双杂交鉴定其互作蛋白，进而阐明大豆萌发相关基因的调控网络系统。预期成果：1. 完成2-4名本科毕业论文。2. 成功获得转基因拟南芥植株。3. 挖掘到与大豆种子萌发相关的基因资源。项目研究进度安排 1、项目实施阶段：2024年9月-2025年9月 (1) 完成拟南芥遗传转化试验 (2) 完成拟南芥萌发功能验证试验 (3) 完成酵母双杂交试验 3、实施完善阶段：2025年9月-2025年10月 (1) 成本预算预测 (2) 论文撰写 4、项目验收阶段：2025年10月-2025年12月 (1) 撰写报告 (2) 整理结题材料，项目验收 (7) 已有基础 1. 与本项目有关的研究积累和已取得的成绩 1.1大豆种子萌发研究基础 前期在研究大豆种子萌发试验过程中发现，不同大豆品种发芽速率显著不同，1041个大豆品种中有7个品种24 h内全部发芽，有52个品种24 h内不发芽。萌发速率影响苗的强壮和后期植株的生长，有必要探究影响大豆发芽速率的机理机制，以便于控制大豆种子萌发进程，提高大豆产量。试验以绥农28为材料，将大豆种子萌发细分为三个不同阶段，发现在0-18 h 种子快速吸水，吸水平均速率为13.1 mg·h<sup>-1</sup>·粒<sup>-1</sup>，这是大豆种子吸水阶段。在18-36 h大豆种子重量只有较小的变化，吸水速率平均均为1.0 mg·h<sup>-1</sup>·粒<sup>-1</sup>，这个阶段定义为大豆胚根萌动阶段，当大豆胚根突破种皮后，定义为胚根伸长阶段。图1 绥农28种子吸水速率 1.2 大豆种子萌发时mRNA转录组分析 以大豆品种绥农28为材料，分别在浸种12h（种子吸水）、36h（胚根萌发）和108h（胚根伸长）研究大豆胚芽中mRNA表达谱，种子萌发时差异表达的基因有20845个，对差异基因进行基因趋势分析，发现同一mRNA在同一个组织的不同时间点时表达量具有时序性。为了探讨不同时间点差异基因的功能，根据表达趋势对20854个差异基因进行分类，得到8个趋势（P1-P8）。P1和P6包含超过43.77%的差异基因，在12 h VS 36 h 和 36 h VS 108 h 两个阶段趋势一致，表明这些基因即参与种子吸水萌发过程也控制胚根伸长过程。P2和P5包含34.91%的差异基因，这些DEM在12 h VS 36 h 中具有差异，但在36 h VS 108 h 变化较小，意味着它们可能与种子萌发突破种皮关系更大。P3和P4包含超过16%的基因，在12 h VS 36 h 阶段变化较小，在36 h VS 108 h 具有差异，这意味着这些DEM可能与种子萌发突破种皮关系较小，但和胚根伸长关系更大。P7和P8所包含的基因数量最少，且在12 h VS 36 h 发生变化后，在36 h VS 108 h 分别发生回调，意味着他们可能仅与胚根突破种皮这一过程有关（图2）。图2 差异基因趋势分析 1.3 差异 mRNA (DEMs) 功能分析 为了进一步8种DEM趋势在功能富集上的异同，我们对8个趋势中的DEMs分别进行KEGG富集分析，其中P1和P4主要参与“植物激素信号转导 (ko04075)”、“植物-病原体相互作用 (ko04626)”和“剪接体 (ko03040)”和“剪接体 (ko03040)”、“RNA 转运 (ko03013)”和“内质网中的蛋白质加工 (ko04141)”。P3主要富集在“氨基酸的生物合成 (ko01230)”、“植物-病原体相互作用 (ko04626)”和“植物激素信号转导 (ko04075)”。P5、P6和P7主要参与“植物激素信号转导 (ko04075)”、“植物-病原体相互作用 (ko04626)”和“MAPK 信号通路 (ko04016)”。P8主要富集在“植物激素信号转导 (ko04075)”、“植物-病原体相互作用 (ko04626)”和“核糖体 (ko03010)”。(图3-4 A)。通过对 COG class annotation 的分析，我们发现 P1 和 P4 主要具有翻译后修饰、信号转导等功能，P2 主要具有翻译及翻译后修饰功能，P3 主要具有翻译后修饰和碳水化合物代谢功能，P5 主要具有一般功能，P7 主要具有信号转导和碳水化合物代谢功能，P8 主要具有碳水化合物代谢和一般功能（图3）。图3 DEMs 功能分析 A: KEGG 通路富集; B: 8个趋势 COG 类注释 1.4 mRNA 的确定为 为此我们挑选属于P1趋势的17个差异基因，包括COL9 (zinc finger protein CONSTANS-LIKE 13-like)、LOC100809693 (translation factor GUP1 homolog, chloroplastic)、LOC100816920 (aldehyde dehydrogenase 22A1)、LOC100787296 (DNA polymerase V)、LOC100795995 (trihelix transcription factor GTL1)、LOC100811164 (ABC transporter G family member 50、LOC100779103 (protein MLN51 homolog)、LOC100817761 (pre-mRNA-splicing factor ATP-dependent RNA helicase DEAH7)、LOC100812693 (APO protein 3, mitochondrial)、LOC100801868 (trihelix transcription factor GTL2)、LOC100806616 (RIK protein)、LOC102664661 (ankyrin repeat protein SKIP35)、LOC100804754 (AMSH-like ubiquitin thioesterase 1)、LOC100796687 (SNF1-related protein kinase catalytic subunit alpha KIN10)、LOC100809289 (vacuolar protein sorting-associated protein 35A)、LOC100810186 (beta-(1,2)-xylosyltransferase isoform X1)、LOC100812846 (F-box protein CPR1)。这17个基因对大豆种子萌发的抑制功能，需要通过试验方法去验证。表1. 基因KEGG途径及差异倍数信息

基因号	KEGG途径	12hVS36h DESeq2_log2FC	12hVS108h DESeq2_log2FC
COL9	ko04712	-1.907352482	-3.666186014
LOC100809693	--	-1.734187648	-3.104099594
LOC100816920	ko00650	0.481874148	-3.022110566
LOC100787296	--	-1.425958596	-2.760727114
LOC100795995	ko00040	-1.219836634	-2.394000301
LOC100811164	ko02010	-0.28847551	-2.250134526
LOC100779103	--	-0.806090372	-2.132992981
LOC100817761	ko03040	-0.851623157	-1.91890249
LOC100812693	--	-1.452827136	-1.80752683
LOC100801868	ko00040	-1.423492381	-1.66242658
LOC100806616	--	-0.952716323	-1.544577129
LOC102664661	--	-0.79004497	-1.224609886
LOC100804754	ko04144	-0.896456952	-1.142508125

LOC100796687	--	-0.932545334	-1.036558092
LOC100809289	ko04144	-0.472943861	-1.716586043
LOC100810186	ko00513	-1.489926639	-3.173481431
LOC100812846	--	-0.793459961	-1.079635408

已具备的条件, 尚缺少的条件及解决方法 2.1已具备条件: 主要依托平台为申报单位黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院、生物技术研究中心, 国家杂粮工程技术中心等平台拥有人工气候室、组培室、人工气候箱、荧光定量PCR仪等试验需要设备。试验所涉及到的生理代谢和分子生物学等试验研究。实验室具备成熟的植物基因转化和基因编辑技术、酵母双杂等分子生物学及生物信息分析技术和平台。2.2尚缺少的条件及解决方法 部分相关著作未查阅到; 这可能限制了对某些特定观点或理论的了解, 需要通过扩大搜索范围或利用图书馆的文献传递功能来获取缺失的资料。

### (1) 研究目的

大豆既是食用植物油和蛋白食品的主要来源。2023年我国大豆进口和生产总计11780万吨, 大豆进口依存度达80%以上, 提高我国大豆产量是关系国家粮食安全的重大问题。种子萌发是植物生长和作物产量的关键。种子快速萌发, 可以促进苗的生长, 增强植物对非生物胁迫耐受性, 保证作物产量。大豆作为双子叶植物, 出苗顶土能力较弱, 在发芽时需吸足相当于本身重量的1.2 - 1.4倍的水分才能萌动。

种子萌发是一个复杂的生物学过程, 涉及将环境信号和物种的遗传信息整合到包括萌发表型及其生理过程、转录和转录后调控以及表观遗传调控的机制中, 到目前为止, 这些过程及其调控机制尚未完全理解, 需要更多的研究来充分阐明种子萌发及其调控的机制。研究大豆种子萌发过程中基因的调控, 有利于对大豆种子萌发过程的理解和增强大豆种子萌发能力, 为培育高产的大豆品种提供新候选基因。

### 研究内容

构建负调控种子萌发的候选基因 (COL9、LOC100809693、LOC100816920、LOC100787296、LOC100795995、LOC100811164、LOC100779103、LOC100817761、LOC100812693、LOC100801868、LOC100806616、LOC102664661、LOC100804754、LOC100796687、LOC100809289、LOC100810186、LOC100812846) 表达载体。

进行过表达拟南芥的遗传转化。

转基因拟南芥在正常条件下、NaCl条件下和PEG条件下的发芽性状测定。

对有表形的基因预测互作蛋白, 进行酵母双杂, 验证互作蛋白。

国、内外研究现状和发展动态

mRNA 介导的种子萌发, 种子能否成功萌发的一个重要因素就是胚成熟过程中 mRNA 的积累量[1]。当环境信号被感知, 有些程序被激活, 有些程序被抑制, 被抑制的程序对维持正常的种子萌发十分关键, 因为它们与调控种子萌发的细胞代谢过程和信号转导过程有密切关系[2]。种子萌发不仅受到多种内源激素的影响, 还受到外界环境因子的调控。例如在受到光、温度和水分等环境提示后, 休眠种子会将外界环境因子转化为信号分子, 种子将做出从休眠状态切换到发芽状态的决定。在发芽起始阶段, 种子利用各种传感器和受体来感知环境线索。然后这些信息转化为细胞内信号, 进一步激活内源植物激素之间信号的相互作用, 进而调节种子萌发的生理过程, 最终决定种子是否会发芽或保持休眠。

研究表明, SMAX1 与 DELLA 的相互作用可以通过拟南芥中赤霉素的生物合成抑制弱光条件下种子萌发[3]。拟南芥 ANR1 通过激活 ABI3 的表达作为种子萌发的负调节剂[4]。含有 MDN1 结构域的拟南芥 SAG 蛋白通过负调控 ABI3 和 ABI5 参与种子萌发[5]。拟南芥 SUMO E3 连接酶 SIZ1 对 ABI5 的苏酰化可以负调节脱落酸信号传导[6]。糖也充当信号分子并与植物激素信号传导途径相互作用[7]。例如 OsFbx352 通过靶向 ABA 代谢过程, 在葡萄糖诱导的种子萌发中发挥调节作用[8]。水稻 OsSAUR33 在种子萌发早期通过糖途径调节种子活力[9]。在拟南芥中过表达 AtFUS3 和 AtKIN10 均表现出 ABA 超敏性和种子延迟发芽。AtKIN10 和 AtFUS3 均充当种子对 ABA 反应的正调节因子, 并且 AtKIN10 调节糖信号传导, 而 AtFUS3 介导渗透胁迫反应[10]。

目前在大豆种子活力的研究中发现, 大豆GmAOC4基因在拟南芥中转化后促进拟南芥JA积累, 有助于调控大豆种子萌发率[11]。大豆GmWRKY16基因在拟南芥中过表达后, 转基因品系种子萌发率与对照相比, 在较高浓度甘露醇、NaCl处理下均有所提高[12]。野生大豆GsSRK在拟南芥中的过表达促进了种子萌发[13]。但是在大豆中其它基因对于种子萌发的作用还有待研究。

### 参考文献

- Sano N, Rajjou L, North HM. Lost in Translation: Physiological Roles of Stored mRNAs in Seed Germination[J]. *Plants (Basel)*, 2020, 9(3): 347.
- Penfield S. Seed dormancy and germination[J]. *Curr Biol*, 2017, 27(17): R874-R878.
- Xu P, Hu J, Chen H, et al. SMAX1 interacts with DELLA protein to inhibit seed germination under weak light conditions via gibberellin biosynthesis in Arabidopsis[J]. *Cell Rep*, 2023, 42(7): 112740.
- Lin JH, Yu LH, Xiang CB. ARABIDOPSIS NITRATE REGULATED 1 acts as a negative modulator of seed germination by activating ABI3 expression[J]. *New Phytol*, 2020, 225(2): 835-847.
- Chen C, Wu C, Miao J, et al. Arabidopsis SAG protein containing the MDN1 domain participates in seed germination and seedling development by negatively regulating ABI3 and ABI5[J]. *J Exp Bot*, 2014, 65(1): 35-45.
- Miura K, Lee J, Jin JB, et al. Sumoylation of ABI5 by the Arabidopsis SUMO E3 ligase SIZ1 negatively regulates abscisic acid signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(13): 5418-5423.
- Mishra BS, Sharma M, Laxmi A. Role of sugar and auxin crosstalk in plant growth and development[J]. *Physiol Plant*, 2022, 174(1): e13546.
- Song S, Dai X, Zhang WH. A rice F-box gene, OsFbx352, is involved in glucose-delayed seed germination in rice[J]. *J Exp Bot*, 2012, 63(15): 5559-5568.
- Zhao J, Li W, Sun S, et al. The Rice Small Auxin-Up RNA Gene OsSAUR33 Regulates Seed Vigor via Sugar Pathway during Early Seed Germination[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 1562.
- Tsai AY, Gazzarrini S. Overlapping and distinct roles of AKIN10 and FUSCA3 in ABA and sugar signaling during seed germination[J]. *Plant Signal Behav*, 2012, 7(10): 1238-1242.
- 林紫依, 徐乐, 周梦洁, 等. 大豆种子活力研究进展[J]. *种子科技*, 2024, 42(08): 36-38.
- Ma Q, Xia Z, Cai Z, et al. GmWRKY16 Enhances Drought and Salt Tolerance Through an ABA-Mediated Pathway in

Sun XL, Yu QY, Tang LL, et al. 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. 2013 Mar 15;170(5):505-15.

#### 创新点与项目特色

本研究采用拟南芥异源表达验证大豆基因的萌发功能。这些基因具体功能研究前人未见报道，这项工作属于新的研究创新点，研究结果将填补国内外在该基因功能研究领域的空白。

#### 技术路线、拟解决的问题及预期成果

##### 技术路线：

##### 拟解决的问题：

进一步解析大豆种子萌发的调控网络，开展差异基因功能验证，同时利用酵母双杂交鉴定其互作蛋白，进而阐明大豆萌发相关基因的调控网络系统。

##### 预期成果：

1. 完成2-4名本科毕业论文。
2. 成功获得转基因拟南芥植株。
3. 挖掘到与大豆种子萌发相关的基因资源。

#### 项目研究进度安排

##### 1、项目实施阶段：2024年9月-2025年9月

- (1) 完成拟南芥遗传转化试验
- (2) 完成拟南芥萌发功能验证试验
- (3) 完成酵母双杂交试验

##### 3、实施完善阶段：2025年9月-2025年10月

- (1) 成本预算预测
- (2) 论文撰写

##### 4、项目验收阶段：2025年10月-2025年12月

- (1) 撰写报告
- (2) 整理结题材料，项目验收

##### (7) 已有基础

#### 1. 与本项目有关的研究积累和已取得的成绩

##### 1.1 大豆种子萌发研究基础

前期在研究大豆种子萌发试验过程中发现，不同大豆品种发芽速率显著不同，1041个大豆品种中有7个品种24 h内全部发芽，有52个品种24 h内不发芽。萌发速率影响苗的强壮和后期植株的生长，有必要探明影响大豆发芽速率的机理机制，以便于控制大豆种子萌发进程，提高大豆产量。

试验以绥农28为材料，将大豆种子萌发细分为三个不同阶段，发现在0-18 h 种子快速吸涨，吸水平均速率为 $13.1 \text{ mg}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{粒}^{-1}$ ，这是大豆种子吸涨阶段。在18-36 h大豆种子重量只有较小的变化，吸水速率平均仅为 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{粒}^{-1}$ ，这个阶段定义为大豆胚根萌动阶段，当大豆胚根突破种皮后，定义为胚根伸长阶段。

##### 图1 绥农28种子吸水速率

##### 1.2 大豆种子萌发时mRNA转录组分析

以大豆品种绥农28为材料，分别在浸种12h（种子吸涨）、36h（胚根萌发）和108h（胚根伸长）研究大豆胚芽中mRNA表达谱，种子萌发时差异表达的基因有20845个，对差异基因进行基因趋势分析，发现同一mRNA在同一个组织的不同时间点时表达量具有时序性。

为了探讨不同时间点差异基因的功能，根据表达趋势对 20854 个差异基因进行分类，得到 8 个趋势（P1-P8）。P1 和 P6 包含超过 43.77%的差异基因，在 12 h VS 36 h 和 36 h VS108 h 两个阶段趋势一致，表明这些基因即参与种子吸胀萌发过程也控制胚根伸长过程。P2 和 P5 包含 34.91%的差异基因，这些 DEM 在 12 h VS 36 h 中具有差异，但在 36 h VS 108h 变化较小，意味着它们可能与种子萌发突破种皮关系更大。P3 和 P4 包含超过 16%的基因，在 12 h VS 36 h 阶段变化较小，在 36 h VS 108 h 具有差异，这意味着这些 DEM 可能与种子萌发突破种皮关系较小，但和胚根伸长关系更大。P7 和 P8 所包含的基因数量最少，且在 12 h VS 36 h 发生变化后，在 36 h VS 108 h 分别发生回调，意味着他们可能仅与胚根突破种皮这一过程有关（图2）。

##### 图2 差异基因趋势分析。

##### 1.3 差异 mRNA (DEMs) 功能分析

为了进一步 8 种 DEM 趋势在功能富集上的异同，我们对 8 个趋势中的 DEMs 分别进行 KEGG 富集分析，其中 P1 和 P4 主要参与“植物激素信号转导 (ko04075)”、“植物-病原体相互作用 (ko04626)”和“剪接体 (ko03040)”。P2 主要富集在“剪接体 (ko03040)”、“RNA 转运 (ko03013)”和“内质网中的蛋白质加工 (ko04141)”。P3 主要富集在“氨基酸的生物合成 (ko01230)”、“植物-病原体相互作用 (ko04626)”和“植物激素信号转导 (ko04075)”。P5、P6 和 P7 主要参与“植物激素信号转导 (ko04075)”、“植物-病原体相互作用 (ko04626)”和“MAPK 信号通路 (ko04016)”。P8 主要富集在“植物激素信号转导 (ko04075)”、“植物-病原体相互作用 (ko04626)”和“核糖体 (ko03010)”。(图 3-4 A)。通过对 COG\_class\_annotation 的分析，我们发现 P1 和 P4 主要具有翻译后修饰、信号转导等功能，P2 主要具有翻译及翻译后修饰功能，P3 主要具有翻译后修饰和碳水化合物代谢功能，P5 主要具有一般功能，P7 主要具有信号转导和碳水化合物代谢功能，P8 主要具有碳水化合物代谢和一般功能（图 3）。

##### 图 3 DEMs 功能分析

A: KEGG 通路富集; B: 8 个趋势 COG 类注释

##### 1.4 mRNA的确定

为此我们挑选属于P1趋势的17个差异基因，包括COL9 (zinc finger protein CONSTANS-LIKE 13-like)、LOC100809693 (translation factor GUF1 homolog, chloroplastic)、LOC100816920 (aldehyde dehydrogenase 22A1)、LOC100787296 (DNA polymerase V)、LOC100795995 (trihelix transcription factor GTL1)、LOC100811164 (ABC transporter G family member 50)、LOC100779103 (protein MLN51 homolog)、LOC100817761 (pre-mRNA-splicing factor ATP-dependent RNA helicase DEAH7)、LOC100812693 (APO protein 3, mitochondrial)、LOC100801868 (trihelix transcription factor GTL2)、LOC100806616 (RIK protein)、LOC102664661 (ankyrin repeat protein SKIP35)、LOC100804754 (AMSH-like ubiquitin thioesterase 1)、LOC100796687 (SNF1-related protein kinase catalytic subunit alpha KIN10)、LOC100809289 (vacuolar protein sorting-associated protein 35A)、LOC100810186 (beta-(1,2)-xylosyltransferase isoform X1)、LOC100812846 (F-box protein CPR1)。这17个基因对大豆种子萌发的抑制功能，需要通过试验方法去验证。

表1. 基因KEGG途径及差异倍数信息

基因号	KEGG途径	12hVS36h	DESeq2_log2FC	12hVS108h	DESeq2_log2FC
COL9	ko04712	-1.907352482	-3.666186014		
LOC100809693	--	-1.734187648	-3.104099594		
LOC100816920	ko00650	0.481874148	-3.022110566		
LOC100787296	--	-1.425958596	-2.760727114		
LOC100795995	ko00040	-1.219836634	-2.394000301		
LOC100811164	ko02010	-0.28847551	-2.250134526		
LOC100779103	--	-0.806090372	-2.132992981		
LOC100817761	ko03040	-0.851623157	-1.91890249		
LOC100812693	--	-1.452827136	-1.80752683		
LOC100801868	ko00040	-1.423492381	-1.66242658		
LOC100806616	--	-0.952716323	-1.544577129		
LOC102664661	--	-0.79004497	-1.224609886		
LOC100804754	ko04144	-0.896456952	-1.142508125		
LOC100796687	--	-0.932545334	-1.036558092		
LOC100809289	ko04144	-0.472943861	-1.716586043		
LOC100810186	ko00513	-1.489926639	-3.173481431		
LOC100812846	--	-0.793459961	-1.079635408		

已具备的条件，尚缺少条件及解决方法

### 2.1 已具备条件:

主要依托平台为申报单位黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院、生物技术研究中心，国家杂粮工程技术中心等平台拥有人工气候室、组培室、人工气候箱、荧光定量PCR仪等试验需要设备。试验所涉及到的生理代谢和分子生物学等试验研究。实验室具备成熟的植物基因转化和基因编辑技术、酵母双杂等分子生物学及生物信息分析技术和平台。

### 2.2 尚缺少条件及解决方法

部分相关著作未查阅到：这可能限制了对某些特定观点或理论的了解，需要通过扩大搜索范围或利用图书馆的文献传递功能来获取缺失的资料。

## 三、经费预算

开支科目	预算经费(元)	主要用途	阶段下达经费计划(元)	
			前半阶段	后半阶段
预算经费总额	6800			
1. 业务费				
(1) 计算、分析、测试费	0	构建载体测序	2000	
(2) 能源动力费	0			
(3) 会议、差旅费	0			
(4) 文献检索费	0			
(5) 论文出版费	800	论文版面费	800	
2. 仪器设备购置费	0			
3. 实验装置试制费	0			
4. 材料费	4000	营养土及肥料, 酵母单杂试剂盒	4000	
学校拨款			6800	
财政拨款			0.00	

开支科目预算经费(元) 主要用途阶段下达经费计划(元)

前半阶段 后半阶段

预算经费总额 6800

### 1. 业务费

(1) 计算、分析、测试费 0 构建载体测序 2000

(2) 能源动力费 0

(3) 会议、差旅费 0

(4) 文献检索费 0

(5) 论文出版费 800 论文版面费 800

2. 仪器设备购置费 0

3. 实验装置试制费 0

4. 材料费 4000 营养土及肥料,

酵母单杂试剂盒 4000

学校拨款 6800

财政拨款 0.00

四、项目组成员签名

五、指导教师意见

导师(签章):

年月日

六、院系推荐意见

盖章:

年月日

七、学校推荐意见

盖章:

年月日

## 表格检测详细结果

说明: 1. 总文字复制比: 被检测文献总重复字符数在总字符数中所占的比例

2. 去除引用文献复制比: 去除系统识别为引用的文献后, 计算出来的重合字符数在总字符数中所占的比例

3. 去除本人文献复制比: 去除系统识别为作者本人其他文献后, 计算出来的重合字符数在总字符数中所占的比例

4. 单篇最大文字复制比: 被检测文献与所有相似文献比对后, 重合字符数占总字符数比例最大的那一篇文献的文字复制比

5. 复制比按照“四舍五入”规则, 保留1位小数; 若您的文献经查重检测, 复制比结果为0, 表示未发现重复内容, 或可能存在的个别重复内容较少不足以作为判断依据

6. **红色文字**表示文字复制部分; **绿色文字**表示引用部分(包括系统自动识别为引用的部分); **棕灰色文字**表示系统依据作者姓名识别的本人其他文献部分

7. 系统依据您选择的检测类型(或检测方式)、比对截止日期(或发表日期)等生成本报告

8. 知网个人查重唯一官方网站: <https://cx.cnki.net>