

DOI:10.12403/j.1001-1498.20220604

胡杨 *PeERF1* 基因提高转基因银腺杨 84K 耐旱性研究

葛晓兰^{1,2}, 杜久军¹, 张磊^{1,3}, 曲冠证², 胡建军^{1,3*}

(1. 中国林业科学研究院林业研究所, 林木遗传育种全国重点实验室, 国家林业和草原局林木培育重点实验室 北京 100091;
2. 东北林业大学林学院, 林木遗传育种全国重点实验室 黑龙江 哈尔滨 150006; 3. 南京林业大学,
南方现代林业协同创新中心 江苏 南京 210037)

摘要: [目的] 分析 *PeERF1* 基因在胡杨干旱胁迫下的作用和 *PeERF1* 转基因植株抗旱的生理适应机制, 为进一步研究该基因在木本植物中的抗旱调控机制奠定基础。[方法] 以胡杨为材料进行 20% PEG6000 模拟干旱 (0、12 和 24 h) 处理, 对胡杨 *PeERF1* 基因进行时空表达模式分析。以非转基因 (WT)、过表达 35S::*PeERF1* 转基因植株 (PE)、显性抑制 35S::*PeERF1*-SRDX 转基因植株 (SE) 为试验材料, 采用不同浓度 PEG6000 (对照组, 20%) 处理 WT、PE 和 SE 模拟干旱胁迫, 并对其进行表达模式、生长性状和生理指标分析。[结果] 研究结果表明 *PeERF1* 基因在胡杨叶中的表达水平最高, 其次是茎和根。在正常状态下, 转基因植株和 WT 生长性状、叶绿素含量、过氧化氢酶 (CAT)、丙二醛 (MDA) 和过氧化物酶 (POD) 含量变化不大。在 20%PEG6000 处理后, PE 转基因植株比 WT 表现出更好的生长状态, PE 转基因植株的叶绿素含量、CAT 和 POD 含量高于 WT, PE 转基因植株 MDA 含量低于 WT。而 SE 转基因植株则表现出相反的性状。[结论] 本研究结果初步显示干旱胁迫下, *PeERF1* 基因转基因植株生长状态、叶绿素含量、过氧化氢酶、丙二醛和过氧化物酶等相关生理指标均发现显著变化。*PeERF1* 对转基因杨树响应干旱起到了正向调控的作用。

关键词: 银腺杨; 转基因; 干旱胁迫; 生长性状; 生理指标

中图分类号: S792.11

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2023)05-0083-08

干旱是植物生长、发育和生产力的主要环境制约因素。由于林木寿命长, 难以大规模灌溉, 干旱极大地降低了许多森林生态系统的树木生产力和存活率^[1]。因此, 加快对林木抗旱机制的剖析, 提高林木对干旱的适应能力, 是干旱土地利用、环境可持续性和提高经济效益的迫切需要。为了适应干旱胁迫, 植物已经进化出复杂的机制来感知外部信号, 并通过调节基因的表达来协调代谢途径和形态特征^[2]。

AP2/ERF 家族转录因子调控植物的多种发育过程, 在激素调控和逆境应答中发挥重要作用^[3]。

AP2/ERF 家族转录因子在高等植物中调控多种环境胁迫响应过程, 如非生物胁迫 (冷、热、旱、盐、渗透胁迫) 和生物胁迫 (食草昆虫和微生物病原体)^[4-8]。此外, 许多研究表明, 过表达 AP2/ERF 家族转录因子的转基因植物对非生物和生物胁迫的耐受性有所提高^[9-11]。例如, 对 *ERF76* 转基因杨树 (*Populus simonii* × *Populus nigra*) 转录组测序中发现有 16 个上调转录因子基因和 45 个胁迫相关基因的表达, 提高了 ABA (脱落酸) 和 GA (赤霉素) 的生物合成能力, 从而增强了杨树对盐胁迫的耐受性^[12]。新疆杨 (*Populus alba* var.

收稿日期: 2022-12-12 修回日期: 2023-05-31

基金项目: 农业生物育种重大项目 (2022ZD0401501); 国家重点研发计划 (2021YFD2200201); 国家自然科学基金 (32071797)

* 通讯作者: 胡建军, 博士, 研究员, 主要研究方向: 林木分子育种, E-mail: hujj@caf.ac.cn

pyramidalis Bunge) *PalERF109* 的过表达增强了杨树的耐盐性, 进一步的分析表明, *PalERF109* 直接上调了一个高亲和力 K^+ 转运体 (HKT) 基因 *PalHKT1;2*。表明 *PalERF109* 通过直接激活 *PalHKT1;2* 增强了耐盐性, 并扩展了对 *ERF* 基因在树木胁迫反应中的作用的理[13]。在盐和干旱胁迫下转基因 *ERF38* 过表达杨树过氧化物酶 (Peroxidase, POD)、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、可溶性蛋白含量和脯氨酸含量显著增加, 表明 *ERF38* 基因的过表达可以提高转基因杨树的耐盐和渗透性[14]。

胡杨 (*Populus euphratica* Oliv.) 是分布于我国西北沙漠地区沙漠河岸森林的优势树种, 在维持当地沙漠生态系统方面发挥着重要的作用[15]。由于其对极端恶劣环境的良好适应性, 胡杨被认为是木本植物非生物胁迫耐受机制研究的典型模式物种[16]。前期通过对胡杨种子耐盐全基因组关联分析 (Genome wide association study, GWAS) 和转录组分析中获得胡杨 *PeERF1* 基因[17], 通过亚细胞定位实验发现 *PeERF1* 为核定位蛋白, 转录自激活实验证明 *PeERF1* 基因具有转录自激活活性。耐盐能力分析试验证明胡杨 *PeERF1* 基因能够增加转基因植株的耐盐性[18], 但其耐旱机制中的作用尚缺乏研究。本研究为探明胡杨 *PeERF1* 基因应答干旱胁迫的表达特点, 以胡杨为材料研究 *PeERF1* 基因在模拟干旱胁迫 (PEG) 下不同组织的时空表达模式。通过对野生型银腺杨 (*Populus alba* × *P. glandulosa* '84K', '84K' 杨)、转 *PeERF1* 基因过表达和抑制表达银腺杨进行模拟干旱胁迫, 观察 *PeERF1* 基因在模拟干旱胁迫下表达模式、表型和生理指标的变化, 为进一步探究该基因在植物抗逆中的功能提供依据。

1 研究方法

1.1 试验材料

本试验以胡杨野生型、84K 杨 (WT)、35S::*PeERF1* 过表达 (PE) 和 35S::*PeERF1-SRDX* 抑制表达 (SE) 转基因银腺杨为材料, 35S::*PeERF1* 是通过 35S 强启动子与 *PeERF1* 的 cDNA 融合构建的载体转化 84K 杨获得的转基因植株, 该转化载体可以使目标基因过表达。35S::*PeERF1-SRDX* 是由编码 SRDX 肽的核酸序

列与 *PeERF1* 的 cDNA 融合构建的载体转化 84K 杨获得的转基因植株, 该转化载体可以特异性抑制目标基因的表达, 转基因植株由前期研究获得[18]。转基因组培苗保存于中国林业科学研究院林木遗传育种全国重点实验室, 在含有约 70 mL 生根培养基的培养瓶中生长, 培养条件为光照强度 6 000~8 000 lx、光照/黑暗周期 16 h/8 h、平均温度 25 ℃、相对湿度 60%~70%。

1.2 试验方法

1.2.1 模拟干旱胁迫处理 本试验在中国林业科学研究院科研温室中进行, 84K 杨组培苗在组培室生长 1 个月, 选择生长状态一致且健壮的组培苗移栽 (花盆规格: 盆高 × 盆口直径 = 22 cm × 20 cm), 基质为草炭土: 珍珠岩 = 3: 1。在土培 1 个月, 选取生长状态一致且健壮的植株进行模拟干旱处理试验。

胡杨组培苗干旱处理, 将在组培室生长 1 个月且生长状态一致的胡杨幼苗转移到 20% 的 PEG6000 溶液中, 在处理的 0、12 和 24 h 时取根、茎和叶投入液氮后保存 -80 ℃ 冰箱备用, 每个处理 3 次重复, 每个重复 3 株, 每个处理共 9 棵植株。

转 *PeERF1* 基因 84K 杨干旱处理, 选择转基因 *PeERF1* 基因过表达 (PE1、PE2) 和抑制表达 (SE1、SE2) 高表达的各两个株系, 以及野生型 (WT) 试验材料进行模拟干旱胁迫试验, 平均分为 6 组, 每组每个株系 3 株, 3 组用于 20% PEG6000 处理 7 d, 另外 3 组为水处理作对照。处理后取叶片投入液氮后保存于 -80 ℃ 冰箱备用, 每个处理包含 9 棵植株。

1.2.2 生物量测定 处理结束时随机选取各处理各株系 6 株, 测量植株茎基部到茎尖部分为自然株高, 株高数据以 cm 为单位, 保留一位小数。取植株地上部分, 并用清水、蒸馏水、超纯水依次清洗一遍, 擦干水分后, 用万分之一天平测定植株鲜质量。

1.2.3 叶绿素含量测定 对 84K 杨和转 *PeERF1* 基因植株进行干旱胁迫处理 7 d, 取顶端第 2 片新鲜叶片用于叶绿素含量的测定。用乙醇法对转基因植株进行叶绿素含量测定[19]。

1.2.4 过氧化氢 (CAT)、丙二醛 (MDA) 和过氧化物酶 (POD) 含量测定 取 84K 杨和转

PeERF1 基因植株干旱处理 7 d 后由上而下第 3、4 和 5 片叶子测定过氧化氢 (Catalase, CAT)、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 和过氧化物酶 (Peroxide dismutase, POD) 含量。具体操作步骤如下: 液氮研磨后, 取 0.1 g 样品, 加入 1 mL 提取液, 进行冰浴匀浆: 8 000 g, 4 °C 离心 10 min, 取上清, 置冰上待测。采用索莱宝公司过氧化氢 CAT 活性试剂盒^[20]、丙二醛 MDA 活性试剂盒^[21]、过氧化物酶 POD 活性试剂盒^[22] 分别进行 CAT 含量、MDA 含量和 POD 含量测定。

1.3 数据处理与统计分析

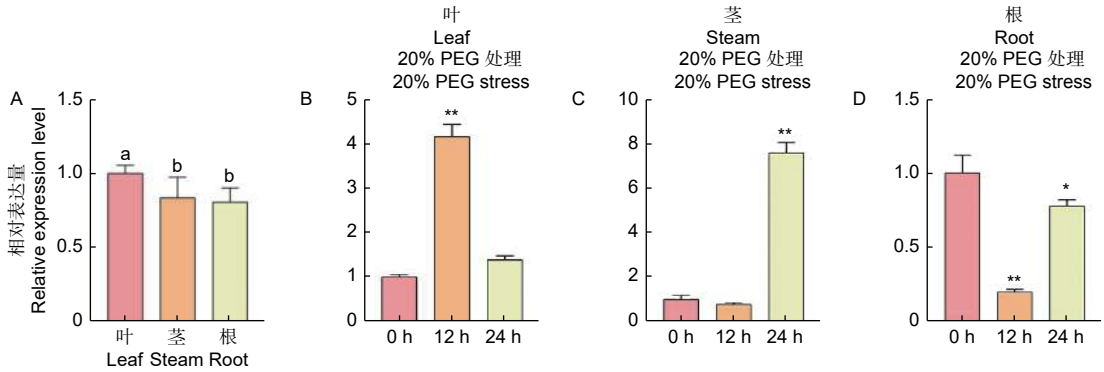
根据采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法获得 qPCR 的差异表达倍数^[23]。利用 Excel 2018 软件将所测得的数据进行

成组数据 T 检验统计分析。本研究中各项指标测定时, 测定值重复 3 次后, 用 Excel 表格和 Prism8 软件进行分析, 组间比较用 *t* 值, 当 * $p < 0.05$ 时, 差异显著; ** $p < 0.01$ 时, 差异极显著。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下胡杨 *PeERF1* 表达模式分析

为了研究 *PeERF1* 在不同组织中的表达模式, 我们采用 qRT-PCR 方法分别检测了其在叶、茎和根中的表达水平。结果表明, *PeERF1* 在胡杨叶、茎和根等不同组织中均有表达 (图 1A), 叶中的表达水平最高, 其次是茎和根, 其中叶中的表达量是茎的 1.2 倍, 是根的 1.24 倍。



注: A: *PeERF1* 在胡杨不同组织中的表达量, 不同的小写字母表示有显著性差异 ($P < 0.05$); B~D: *PeERF1* 在胡杨不同组织中对干旱响应的表达分析, * $p < 0.05$ 时, 差异显著, ** $p < 0.01$ 时, 差异极显著

Notes: A: The expression of *PeERF1* in different tissues of *Populus euphratica*. Significant differences ($P < 0.05$) are indicated by different lower case letters. B-D: *PeERF1* expression analysis of drought response in different tissues of *P. euphratica*. * $p < 0.05$, the difference is significant. ** $p < 0.01$, the difference is extremely significant

图 1 *PeERF1* 的时空表达模式分析

Fig. 1 Analysis of spatiotemporal expression pattern of *PeERF1*

为了研究 *PeERF1* 在胡杨不同组织干旱胁迫下的时空表达模式, 利用 qRT-PCR 技术检测了 20% PEG6000 处理 0、12 和 24 h 后 *PeERF1* 在叶、茎和根中的表达水平, 如图 1B~D 所示, *PeERF1* 基因在胡杨叶片中表达量在干旱胁迫在反应初期 (12 h) 呈上调趋势, 在处理 24 h 出现下调趋势。而在茎和根中则表现出先下降后上升的趋势。综上可知, 当胡杨受到干旱胁迫后 12、24 h 时, *PeERF1* 基因均有不同表达, 表明 *PeERF1* 基因参与植物干旱胁迫的调节过程。

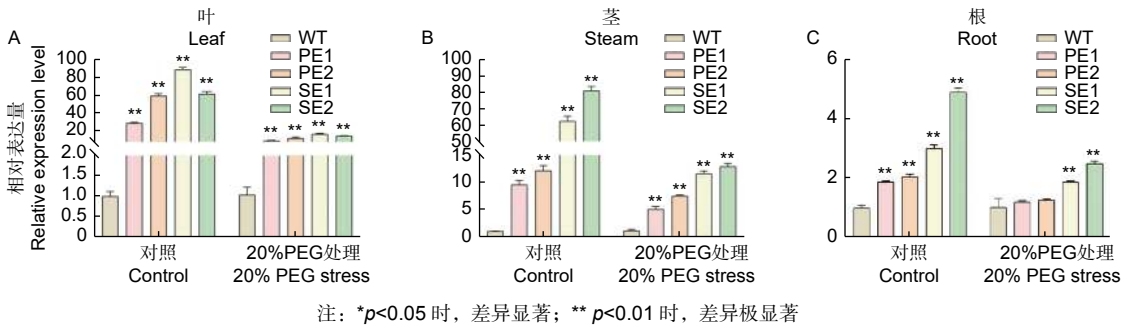
2.2 干旱胁迫下转 *PeERF1* 基因 84K 杨表达模式分析

为了研究干旱胁迫下 84K 杨和转基因 *PeERF1*

植株在不同组织中的表达模式, 利用 qRT-PCR 技术检测了 20% PEG6000 处理 7 d 后 84K 杨和转基因 *PeERF1* 植株在叶 (图 2A)、茎 (图 2B) 和根 (图 2C) 中的表达水平。结果显示, 在正常状态和干旱胁迫条件下, 转基因株系在根、茎和叶中表达量均高于 WT, 且在叶片和茎中表现差异极显著 (图 2)。表明 *PeERF1* 基因在一定程度上能够提高杨树的耐旱性。

2.3 干旱胁迫对转 *PeERF1* 基因 84K 杨生长的影响

逆境胁迫严重影响着植物的生长发育, 在叶片表型方面表现尤为显著。与对照组相比, 在正常生长状态下, WT 和转基因株系的生长形态没有表现



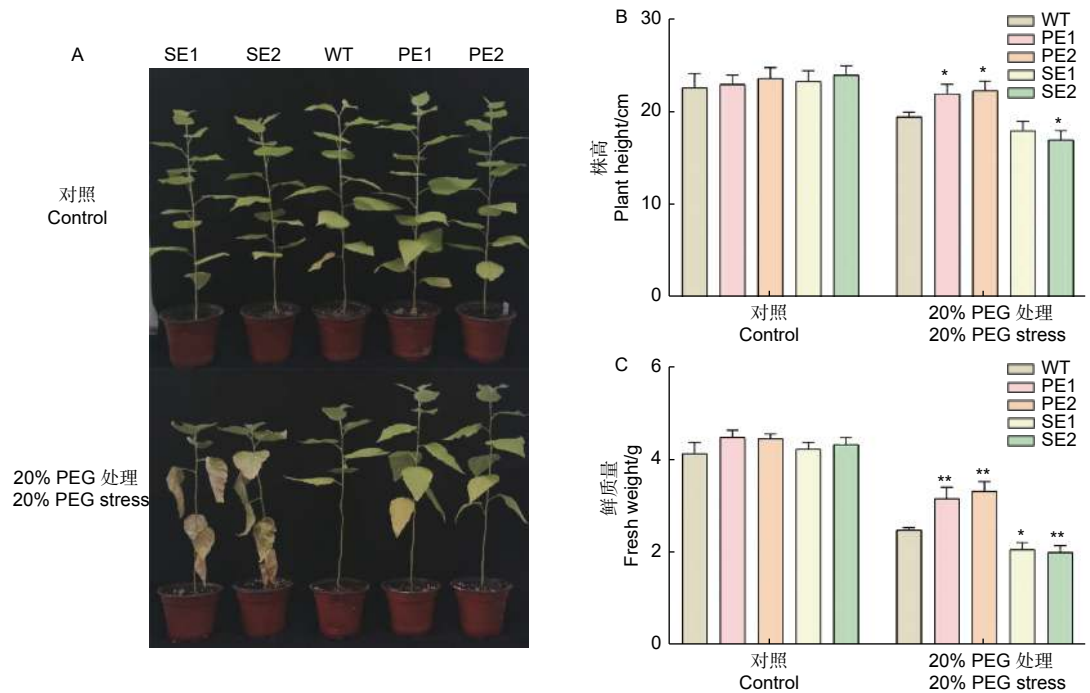
Notes: * $p < 0.05$, the difference is significant; ** $p < 0.01$, the difference is extremely significant

图 2 干旱胁迫处理转 *PeERF1* 基因不同组织部位表达模式分析

Fig. 2 Analysis on the expression patterns of different tissue sites of *PeERF1* transgenic lines under drought stress

出明显的变化 (图 3A)。干旱胁迫后, 过表达 PE 转基因杨树生长状态稍好, 表现出较强的耐旱性, 相反 WT 和抑制表达转基因植株 SE 出现枯萎

表现出不耐受, SE 转基因株系叶片完全枯萎甚至死亡。



注: * $p < 0.05$ 时, 差异显著; ** $p < 0.01$ 时, 差异极显著。下同

Notes: * $p < 0.05$, the difference is significant; ** $p < 0.01$, the difference is extremely significant. The same below

图 3 干旱胁迫对转 *PeERF1* 基因 84K 杨生长状态的影响

Fig. 3 The effect of drought stress on the growth state of transgenic *Populus alba* × *Populus glandulosa* with *PeERF1* gene

干旱胁迫处理一周后分别对处理组和对照组植株的株高 (图 3B) 和鲜质量 (图 3C) 进行测量后发现, 与对照处理相比, 胁迫后对照 (WT)、过表达 (PE1、PE2) 和抑制表达 (SE1、SE2) 植株的株高和鲜质量均下降, 各株系株高显著下降, 分别为对照组的 86.0%、95.6%、94.3%、77.1%

和 70.8%, 植株鲜质量也有相同趋势, 下降呈极显著。由此可知, 干旱胁迫会对植株生长量的增加、生物量的积累产生不利影响。与对照 WT 植株相比, 转基因植株 (SE) 各株系在干旱胁迫下受到的不利影响更大, 未处理前转基因植株株高和鲜质量变化不明显, 将 *PeERF1* 基因抑制后会导

株的株高和鲜质量均显著下降, 其中株高下降 8.3% 和 14.7%, 鲜质量下降 20.3% 和 24.1%, 差异均达到极显著水平。以上实验结果表明 *PeERF1* 基因在耐旱性中起着至关重要的作用。

2.4 干旱胁迫对转 *PeERF1* 基因 84K 杨叶绿素含量和过氧化氢 (CAT) 含量的影响

为了研究干旱胁迫对转 *PeERF1* 基因植株叶

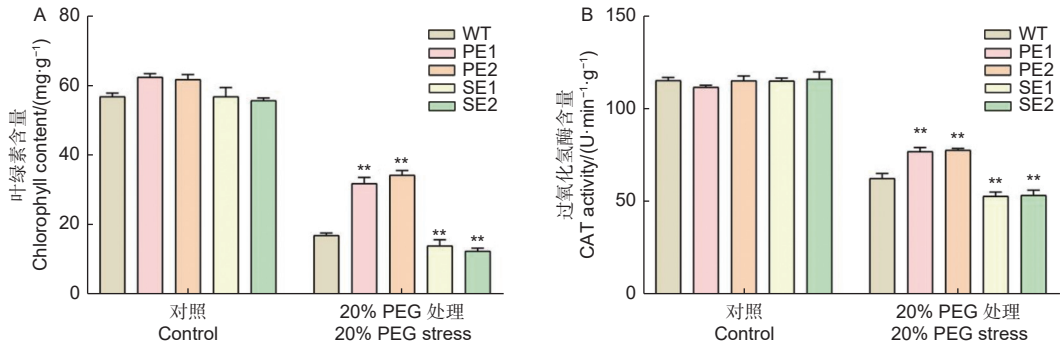


图 4 干旱胁迫对转 *PeERF1* 基因 84K 杨叶片叶绿素含量和过氧化氢酶 (CAT) 含量的影响

Fig. 4 Effect of drought stress on chlorophyll content and the content of catalase (CAT) in leaves of transgenic lines

为了研究干旱胁迫对转 *PeERF1* 基因 84K 杨叶片 CAT 含量的影响, 对过表达和抑制表达转基因株系进行过氧化氢 (CAT) 含量测定 (图 4B)。结果显示, 在正常状态下, 野生型和转基因株系差异不显著; 在干旱胁迫处理后, 过表达转基因株系高于野生型, 差异极显著; 抑制表达转基因株系低于野生型, 且差异极显著。

2.5 干旱胁迫对转 *PeERF1* 基因 84K 杨丙二醛 (MDA) 含量和过氧化物酶 (POD) 含量的影响

为了研究干旱胁迫对转 *PeERF1* 基因叶片丙二醛 (MDA) 含量的影响, 对过表达和抑制表达转基因株系进行 MDA 含量测定 (图 5A)。结果

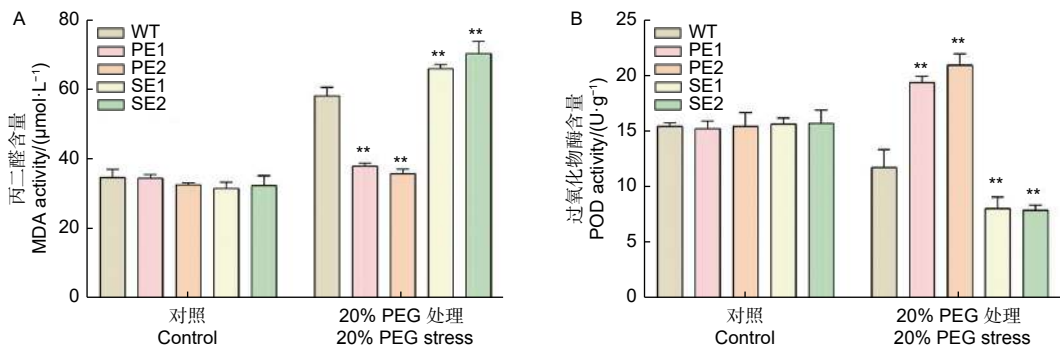


图 5 干旱胁迫对转 *PeERF1* 基因叶片丙二醛 (MDA) 含量和过氧化物酶 (POD) 含量的影响

Fig. 5 Effects of drought stress on malondialdehyde (MDA) content and peroxidase (POD) content in transgenic *PeERF1* gene lines

片叶绿素含量的影响, 对过表达和抑制表达转基因株系进行叶绿素含量测定 (图 4A)。结果显示, 在正常状态下, WT 和转基因株系叶绿素含量差异不显著; 在干旱胁迫处理后, 过表达转基因株系叶绿素含量高于 WT 叶绿素含量, 差异极显著; 抑制表达转基因株系叶绿素含量低于 WT, 且差异极显著。

显示, 在正常状态下, WT 和转基因株系 MDA 含量差异不显著; 在干旱胁迫处理后, 过表达转基因株系 MDA 含量低于 WT; 抑制表达转基因株系 MDA 含量高于 WT, 且差异极显著。

为了研究干旱胁迫对转 *PeERF1* 基因叶片 POD 含量的影响, 对过表达和抑制表达转基因株系进行过氧化物酶 (POD) 含量测定 (图 5B)。结果显示, 在正常状态下, WT 和转基因株系 POD 含量差异不显著; 在干旱胁迫处理后, 过表达转基因株系 POD 含量高于 WT, 差异极显著; 抑制表达转基因株系 POD 含量低于 WT, 且差异极显著。

3 讨论

植物的生理和生化变化在某种程度上反映了植物应对逆境的能力^[24]。非生物胁迫总是在胁迫暴露的特定阶段导致活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 水平增加, 但 ROS 对植物细胞具有细胞毒性^[25]。因此, 提高对 ROS 的清除能力可能有利于植物对非生物胁迫的耐受。干旱胁迫常常导致植物体内 ROS 的过度积累并导致氧化损伤^[26]。严重的干旱胁迫会损害细胞离子、转运蛋白和膜相关酶的功能, 从而导致 ROS 的产生^[27]。在本研究中, 由于干旱胁迫, 所有株系叶绿素含量都显著下降。可能是由于干旱诱导的叶绿素降解酶—叶绿素酶活性的增加^[28]。但是过表达转基因株系表现出比 WT 更高的叶绿素含量, 表明在干旱胁迫下叶片中的叶绿素含量受到保护, 这可能是由于其具有较高的抗氧化酶活性, 从而阻止叶片中叶绿素的降解。本研究中对 POD 和 CAT 含量测定结果也证实了这一情况。氧自由基引起膜脂质过氧化, 降低膜的流动性和选择性。以丙二醛含量 (MDA) 衡量的脂质过氧化被认为是应激引起的氧化损伤的指标^[29]。前期对 *PeERF1* 基因进行耐盐实验表型和生理指标分析结果发现 *PeERF1* 基因可以提高盐胁迫下 84K 杨清除活性氧的能力和脯氨酸的积累, 增强其耐盐能力^[18]。本研究对转 *PeERF1* 基因杨树进行干旱胁迫能力分析, 发现正常条件下转基因和非转基因 MDA 含量变化不明显, 干旱胁迫后 PE 丙二醛含量低于 WT, SE 则高于 WT, 这一结果表明, *PeERF1* 基因具有诱导植物抵御干旱胁迫引起的氧化损伤的能力。

转录因子是一种调节蛋白, 可以与下游基因启动子中的特定顺式元件结合, 改变其表达水平。ERF 可以与一些顺式元件结合, 例如致病相关基因启动子中的 GCC 框和脱水基因启动子中的 DRE 基序^[30]。拟南芥的 *AtERF1* 可以在不同的胁迫下与不同类型的顺式元件结合^[31]。因此, ERF 基因的过表达对改善生物胁迫和非生物胁迫都具有优势。在本研究中, *PeERF1* 基因已经被证明能够与 GCC-BOX、DRE、TGG1 和 TGG2 元件特异性结合^[18]。*PeERF1* 可能与参与盐分和干旱胁迫反应的下游基因的不同顺式元件结合, 因此修饰单个 *PeERF1* 基因可以提高植物耐旱性和耐盐性。

本试验的结果表明胡杨 *PeERF1* 基因作为抗旱相关的转录因子, 参与了杨树对干旱胁迫的调控, 相关研究为后续胡杨抗旱机制的研究奠定了基础, 抗旱新基因的挖掘可为植物基因工程育种提供具有重大育种价值的基因资源。

4 结论

本研究结果显示 *PeERF1* 基因在胡杨叶片中表达量最高, 干旱胁迫下, 转 *PeERF1* 基因植株生长状态及相关生理指标均发生显著变化。PE 比 WT 表现出更好的生长状态, PE 的叶绿素含量、CAT 和 POD 含量高于 WT, MDA 含量低于 WT; 而 SE 则表现出相反的性状。表明 *PeERF1* 基因可以提高杨树的抗旱能力。

参考文献:

- [1] WILLIAMS A P, ALLEN C D, MACALADY A K, et al. Temperature as a potent driver of regional forest drought stress and tree mortality[J]. Nature Climate Change, 2012, 3(3): 292-297.
- [2] SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, et al. Gene networks involved in drought stress response and tolerance[J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 58(2): 221-227.
- [3] FENG K, HOU X L, XING G M, et al. Advances in AP2/ERF super-family transcription factors in plant[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2020, 40(6): 750-776.
- [4] DIETZ K J, VOGEL M O, VIEHHAUSER A. AP2/EREBP transcription factors are part of gene regulatory networks and integrate metabolic, hormonal and environmental signals in stress acclimation and retrograde signalling[J]. Protoplasma, 2010, 245(1): 3-14.
- [5] ZHOU M Q, SHEN C, WU L H, et al. CBF-dependent signaling pathway: a key responder to low temperature stress in plants[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2011, 31(2): 186-192.
- [6] YU Y, LIU A, DUAN X, et al. *GsERF6*, an ethylene-responsive factor from Glycine soja, mediates the regulation of plant bicarbonate tolerance in *Arabidopsis*[J]. Planta: An International Journal of Plant Biology, 2016, 244(3): 681-698.
- [7] XIE Z, NOLAN T, JIANG H, et al. The AP2/ERF transcription factor *TINY* modulates brassinosteroid-regulated plant growth and drought responses in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2019, 31(8): 1788-1806.
- [8] FENG W, LI J, LONG S, et al. A *DREB1* gene from zoysia-grass enhances *Arabidopsis* tolerance to temperature stresses without growth inhibition[J]. Plant Science, 2018, 278: 20-31.
- [9] ZHU J K. Salt and drought stress signal transduction in

- plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2002, 53(1): 247-273.
- [10] HWANG J E, CHAN J L, CHEN H, *et al.* Overexpression of *Arabidopsis* dehydration-responsive element-binding protein 2C confers tolerance to oxidative stress[J]. Molecules and Cells, 2012, 33(2): 135-140.
- [11] JIN Y, PAN W, ZHENG X, *et al.* *OsERF101*, an ERF family transcription factor, regulates drought stress response in reproductive tissues[J]. Plant Molecular Biology, 2018, 98(1-2): 51-56.
- [12] YAO W, WANG S, ZHOU B, *et al.* Transgenic poplar overexpressing the endogenous transcription factor *ERF76* gene improves salinity tolerance[J]. Tree Physiology, 2016, 36(7): 896-908.
- [13] CHEN N, TONG S, TANG H, *et al.* The *PalERF109* transcription factor positively regulates salt tolerance via *PalHKT1;2* in *Populus alba* var. *pyramidalis*[J]. Tree Physiology, 2020, 40(6): 717-730.
- [14] CHENG Z, ZHANG X, ZHAO K, *et al.* Over-expression of *ERF38* gene enhances salt and osmotic tolerance in transgenic poplar[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 1375.
- [15] 张肖, 王旭, 焦培培, 等. 胡杨(*Populus euphratica*)种子萌发及胚生长对盐旱胁迫的响应[J]. 中国沙漠, 2016, 36(6): 1597-1605.
- [16] 马玉花. 植物耐盐分子机理研究进展[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(2): 255-257, 261.
- [17] JIA H, LIU G, LI J, *et al.* Genome resequencing reveals demographic history and genetic architecture of seed salinity tolerance in *Populus euphratica*[J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(14): 4308-4320.
- [18] GE X L, ZHANG L, DU J J, *et al.* Transcriptome analysis of *Populus euphratica* under salt treatment and *PeERF1* gene enhances salt tolerance in transgenic *Populus alba* × *Populus glandulosa*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(7): 3727.
- [19] 张淑霞. 果树叶片中叶绿素、糖和淀粉的联合测定[J]. 河北果树, 1998, 10(2): 18-19.
- [20] ZHANG Z Y, LIU H H, *et al.* A C₂H₂ zinc-finger protein *OsZFP213* interacts with *OsMAPK3* to enhance salt tolerance in rice[J]. Journal of Plant Physiology, 2018, 229: 100-110.
- [21] PENG Q Y, WANG Y M, *et al.* Inhibiting the CD38/cADPR pathway protected rats against sepsis associated brain injury[J]. Brain Research, 2018, 1678: 56-63.
- [22] DOERGE D R, DIVI R L, CHURCHWELL M I. Identification of the colored guaiacol oxidation product produced by peroxidases[J]. Analytical Biochemistry, 1997, 250(1): 10-17.
- [23] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCT} method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [24] JAMBUNATHAN N. Determination and detection of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation, and electrolyte leakage in plants[J]. Methods Molecular Biology, 2010, 639: 292-298.
- [25] HASANUZZAMAN, NAHAR, HOSSAIN, *et al.* Coordinated actions of glyoxalase and antioxidant defense systems in conferring abiotic stress tolerance in plants[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(1): 200.
- [26] VERSLUES P E, AGARWAL M, KATIYAR-AGARWAL S, *et al.* Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status[J]. Plant Journal, 2006, 45(4): 523-539.
- [27] AAYUDH D, MOUSTAFA E, BIMAL P, *et al.* Leaf proteome analysis reveals prospective drought and heat stress response mechanisms in Soybean[J]. Biomed Research International, 2016, 2016(8): 6021047.
- [28] NOREEN Z, ASHRAF M. Changes in antioxidant enzymes and some key metabolites in some genetically diverse cultivars of radish (*Raphanus sativus* L.)[J]. Environmental & Experimental Botany, 2009, 67(2): 395-402.
- [29] HAN D, HAN J, XU T, *et al.* Overexpression of *MbERF12*, an ERF gene from *Malus baccata* (L.) Borkh, increases cold and salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* associated with ROS scavenging through ethylene signal transduction[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2021, 57(5): 760-770.
- [30] ZHU X, LIN Q, XIN L, *et al.* The wheat ethylene response factor transcription factor pathogen-induced *ERF1* mediates host responses to both the necrotrophic pathogen *Rhizoctonia* cerealis and freezing stresses[J]. Plant Physiology, 2014, 164(3): 1499-1514.
- [31] CHENG M C, LIAO P M, KUO W W, *et al.* The *Arabidopsis* ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 regulates abiotic stress-responsive gene expression by binding to different cis-acting elements in response to different stress signals[J]. Plant Physiology, 2013, 162(3): 1566-1882.

Improvement of Drought Tolerance of *PeERF1* Transgenic *Populus alba* × *Populus glandulosa* '84k'

GE Xiao-lan^{1,2}, DU Jiu-jun¹, ZHANG Lei^{1,3}, QU Guan-zheng², HU Jian-jun^{1,3}

(1. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation of the National Forestry and Grassland Administration, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China;

2. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Northeast Forestry University, Harbin, 150040, China; 3.

Collaborative Innovation Center of Sustainable Forestry in Southern China,

Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: [Objective] This study aimed to analyze the role of *PeERF1* gene under drought stress in *Populus euphratica*, and evaluate the physiological adaptation mechanism of *PeERF1* transgenic '84k' (*Populus alba* × *Populus glandulosa* '84k') to drought resistance for providing insights into further study of the drought resistance regulation mechanism of this gene in woody plants. [Methods] The drought (0, 12 and 24 h) treatment simulated with 20% PEG6000 was carried out on *P. euphratica* to analyze the temporal and spatial expression pattern of the *PeERF1*. Based on non-transgenic (WT), overexpressing *35S::PeERF1* transgenic plants (PE), and dominantly suppressed *35S::PeERF1-SRDX* transgenic plants (SE), WT, PE and SE were treated with different concentrations of PEG-6000 (Control and 20%) to simulate drought stress, and analyzed for growth traits and physiological indicators. [Results] The results showed that the expression level of *PeERF1* gene was the highest in leaves of *P. euphratica*, followed by stems and roots. Under normal conditions, the transgenic plants and the WT showed little change in growth traits, chlorophyll content, catalase (CAT), malondialdehyde (MDA) and peroxide dismutase (POD) content. Under 20% PEG6000 treatment, the PE transgenic plants showed better growth status, and higher chlorophyll content, CAT and POD content than WT, and the PE transgenic plants showed lower MDA content than WT, while the SE transgenic plants showed opposite traits. [Conclusion] Under drought stress, significant changes are found in the growth status, chlorophyll content, catalase, malondialdehyde and peroxidase related physiological indicators of transgenic plants. *PeERF1* plays a positive regulatory role on transgenic *P. alba* × *P. glandulosa* '84k' in response to drought.

Keywords: *Populus alba* × *Populus glandulosa* '84k'; Transgene; Drought stress; Growth traits; Physiological index

(责任编辑: 张 研)