

网络出版时间:2022-09-07 12:12 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2023.03.008
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20220906.1153.005.html

杨树干旱胁迫响应转录因子的研究进展

张雪梨^a, 陈 英^a, 黄敏仁^a, 朱 嵎^{a,b}

(南京林业大学 a 江苏省杨树种质创新与品种改良重点实验室, b 生物与环境学院, 江苏 南京 210037)

[摘 要] 转录因子是杨树干旱胁迫应答分子调控网络中的重要组成部分之一,通过特异性结合干旱响应相关基因启动子区的顺式作用元件,调控下游靶基因的转录表达,从而参与杨树干旱胁迫响应过程。杨树 WRKY、NAC、bZIP、MYB 和 AP2/ERF 是干旱胁迫响应分子机制研究中最主要的五大转录因子家族,每个家族拥有超过 80 个成员。本文简要介绍了杨树干旱胁迫转录组学研究进展,系统总结和概括了杨树这五类转录因子的结构特征与亚家族分类、调控下游靶基因表达的方式及其在参与调控干旱信号转导网络中的作用等方面的研究进展,并对存在的问题与未来研究进行展望,旨在深入了解杨树耐旱分子机理,为培育抗旱型杨树新品种提供参考。

[关键词] 干旱胁迫;杨树;转录因子;顺式作用元件;转录组

[中图分类号] S792.110.04

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2023)03-0071-13

Research progress on drought-responsive transcription factors of *Populus*

ZHANG Xueli^a, CHEN Ying^a, HUANG Minren^a, ZHU Sheng^{a,b}

(a Jiangsu Province Key Laboratory of Poplar Germplasm Innovation and Variety Improvement,

b College of Biology and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037, China)

Abstract: Transcription factors are important components of transcriptional regulatory network of poplar in response to drought stress. The downstream target genes, such as drought-responsive genes, can be transcriptionally regulated by binding of transcription factors to specific cis-acting elements in their promoter region. Thus, transcription factors play a leading role in response of poplar to drought stress. WRKY, NAC, bZIP, MYB and AP2/ERF transcription factors in poplar genome are the five most important families involved in the drought-responsive molecular process, with >80 members in each family. This article briefly introduces the research progress of poplar drought-responsive transcriptomes and comprehensively summarizes structural characteristics and subfamily classification of the five transcription factor families, the way they transcriptionally regulate downstream target genes, and their role in poplar drought-responsive signaling network. We also pinpoint existing problems and future research directions in understanding drought-responsive transcription factors in poplar. The paper aims at understanding the molecular mechanism underlying drought tolerance in poplar and provides references for cultivating new drought-resistant poplar varieties.

Key words: drought stress; poplar; transcription factor; cis-acting element; transcriptome

[收稿日期] 2022-01-13

[基金项目] 江苏省自然科学基金青年基金项目(BK20150879)

[作者简介] 张雪梨(1996—),女,甘肃张掖人,在读硕士,主要从事杨树分子生物学研究。E-mail:zx1961109@163.com

[通信作者] 朱 嵎(1984—),男,浙江绍兴人,讲师,博士,主要从事杨树基因组学研究。E-mail:zhusheng0701@foxmail.com

全球气候变化导致干旱的发生频率和危害程度不断增加,严重威胁森林生态系统的功能^[1]。据统计,全球 41.3% 的土地面积属于旱地 (https://www.un.org/en/events/desertification_decade/whynow.shtml),而我国约 3/4 的可耕地面积位于干旱或半干旱地区^[2]。干旱降低土壤含水量并增加大气干燥程度,对陆地生态系统的初级生产量产生了负面影响^[3]。持久的干旱胁迫会破坏树木的水分运输能力,导致树冠落叶、生长衰退和死亡^[4]。在过去十几年里,“三北”防护林中杨树发生了大面积的退化和死亡,除了其自然老化的原因外,干旱以及干旱诱发的病虫害是加速杨树死亡的重要外界因素^[5]。此外,在树木生长过程中,长期极端的干旱条件会导致次生生长减缓和木材解剖构造改变,从而影响木材的产量和质量^[6]。植物往往会通过一个复杂而精密的基因调控网络响应干旱胁迫,而转录因子(transcription factors, TF)是该调控网络的重要组成部分。转录因子可以作为植物抗逆性状分子育种中一类极具潜力的候选基因^[7-8]。

杨树是林木干旱胁迫响应机制研究中的先锋树种,已有大量关于杨树转录因子参与干旱胁迫的研究报道。随着毛果杨(*Populus trichocarpa*)、胡杨(*P. euphratica*)、欧洲山杨(*P. tremula*)、美洲山杨(*P. tremuloides*)和小叶杨(*P. simonii*)等杨属树种的基因组框架陆续被报道^[9-12]以及杨树转录组数据的迅速积累,WRKY、NAC、MYB、bZIP 和 AP2/ERF 等五类转录因子家族从杨树基因组中被分离鉴定,这些基因家族中部分成员的表达水平可能受干旱胁迫诱导^[13-17]。杨树 WRKY、NAC、MYB、bZIP 和 AP2/ERF 等五类转录因子可以识别下游基因启动子区域的干旱相关顺式元件(如 W-Box、ABRE (ABA-responsive element) 和 DRE (dehydration-responsive element))^[18],并通过脱落酸(abscisic acid, ABA)依赖型与 ABA 非依赖型两条信号途径参与干旱胁迫响应过程。然而,目前关于植物响应干旱胁迫转录因子研究进展的文献综述主要偏重于以拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和水稻(*Oryza sativa*)为代表的一年生草本植物,很少涉及多年生木本植物^[18-19]。为此,本文概述了杨树响应干旱胁迫的转录组学研究进展以及筛选出的干旱响应候选基因,探讨了 WRKY、NAC、MYB、bZIP 和 AP2/ERF 等五类常见转录因子在杨树干旱胁迫研究中的进展与应用前景,以期为深入研究杨树耐旱分子机理和培育抗旱型杨树新品种提供理论依据。

1 杨树干旱胁迫转录组研究进展

表达序列标签(expressed sequence tag, EST)技术和微阵列基因芯片技术,是早期研究植物响应干旱胁迫转录组学的两种常用技术,有助于筛选干旱应答相关的候选基因。Brosché 等^[20]利用胡杨 cDNA 差减文库的 14 000 条 EST 序列获得了 6 340 个 Unigene,这些序列可能与胡杨适应半干旱地区的盐碱环境有关,其中一部分属于转录因子。Yan 等^[21]使用 Affymetrix 基因芯片比较了 5 种不同干旱胁迫程度的胡杨转录谱,其表达差异基因属于 AP2/ERF、bZIP、MYB、NAC、NF-Y 和 WRKY 等转录因子家族与热激蛋白(heat shock protein, HSP)家族。Chen 等^[22]利用该技术发现了 1 028 个小叶杨转录本在干旱胁迫处理下表现出差异表达,其中 77 条转录本隶属于 bZIP、GRAS、MYB、NAC、NF-YA、RAV、TCP 和 WRKY 等转录因子家族。Yoon 等^[23]在 84K 杨(*P. alba* × *P. glandulosa*)响应干旱胁迫的基因表达芯片中发现了 4 346 个差异表达基因(differential expressed genes, DEGs),其中一部分包括 bHLH、bZIP、C2H2、MYB、NAC 和 WRKY 等转录因子家族,以及胚胎发育晚期丰富蛋白(late embryogenesis abundant protein, LEA)、磷酸化激酶和 CAP160 等功能蛋白。

RNA-seq 技术在一定程度上弥补了 EST 技术与基因芯片技术的不足,具有成本低、灵敏度高、背景噪音低、分辨范围长等优点,已被广泛应用于林木响应干旱胁迫的研究中^[24]。Chen 等(2017)^[25]通过分析外源 ABA 处理的杨属耐旱型树种——河北杨(*P. hopeiensis*)的 RNA-seq 数据发现,19.38%~22.19% 转录本的表达量在 ABA 处理后 8 h 出现显著变化,且 AP2/ERF、NAC、MYB、MYB-related、WRKY、bZIP 等 6 个转录因子家族成员以 6 种不同的表达模式参与 ABA 响应过程。同年, Mun 等^[26]在中国山杨(*P. davidiana*)干旱胁迫转录组差异性分析中发现,胁迫 6 h 和 12 h 后分别有 12 403 和 12 414 个 DEGs,其中一部分 DEGs 属于 AP2/ERF、bHLH、C2H2、MYB 和 WRKY 等转录因子家族。Yao 等^[27]利用 RNA-seq 技术分析了小黑杨(*P. simonii* × *P. nigra*)在 NaCl、KCl、CdCl₂ 和聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)4 种非生物胁迫处理下的 4 287 个 TF 基因的转录本丰度,共有 118 个表达上调基因和 226 个表达下调基因同时出现在这 4 种胁迫处理下,其中 40.7% 的基因属于 ERF、WRKY、

MYB、bHLH、C2H2、bZIP 等 6 个转录因子家族。

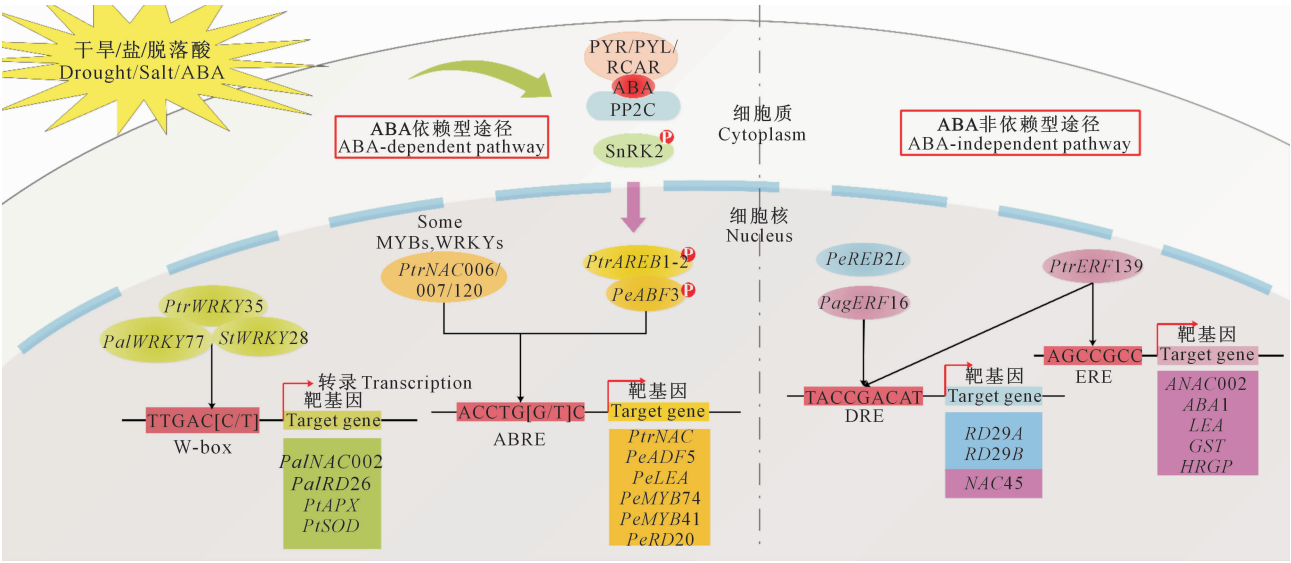
Yuan 等^[28]研究了干旱胁迫下杨树正义链与反义链的转录应答,发现 44%的杨树注释基因存在反义转录本和正义转录本,涉及转录因子活性、序列特异性 DNA 结合、核小体和核小体组装等。Filichkin 等^[29]分析非生物胁迫下的杨树选择性剪切(alternative splicing, AS)事件发现,非生物胁迫可能诱导一些 AS 事件,在干旱或热胁迫相关的转录因子 AREB 和 DREB 以及 *AtLEA* 同源基因中发现了内含子保留(intron retention, IR)。

杨树干旱胁迫转录组研究表明, WRKY、NAC、MYB、bZIP 和 AP2/ERF 等基因家族部分成员的表达在干旱胁迫下呈现显著性差异,可能是杨树响应干旱胁迫基因调控网络的重要组成部分。研究这些转录因子在杨树响应干旱胁迫中的作用与功能,将对杨树耐旱性状的遗传改良工作具有重要意

义。目前,杨树 WRKY、NAC、MYB、bZIP 和 AP2/ERF 等转录因子响应干旱胁迫的研究已取得一定进展,这对其他树种响应干旱研究具有参考价值。

2 杨树各转录因子家族在干旱胁迫中的调控机理

WRKY、NAC、bZIP、MYB 和 AP2/ERF 等基因家族是植物响应干旱胁迫的主要转录因子,其成员通过识别顺式作用元件方式调节靶基因的表达,进而参与植物干旱胁迫应答过程^[30],具体调控网络见图 1。目前,在许多杨属树种中发现了大量干旱响应相关 TF 基因,逐步明晰了 WRKY、NAC、bZIP、MYB 和 AP2/ERF 等基因家族在杨树干旱响应分子调控研究中的重要性,具体的 TF 基因及其靶基因和诱导因素见表 1。



P. 磷酸化;PYR/PYL/RCAR. 脱落酸受体;SnRK2. SNF1 相关蛋白激酶 2
P. Phosphorylation;PYR/PYL/RCAR. Absciscic acid receptor;SnRK2. SNF1-related protein kinase 2

图 1 杨树响应干旱胁迫的基因表达调控网络

Fig. 1 Gene expression regulatory network of poplar in response to drought stress

表 1 杨树干旱响应相关的转录因子

Table 1 List of transcription factors of poplar in response to drought stress

基因家族 Gene family	基因 Gene	鉴定物种 Species from which TFs were isolated	研究物种 Species from which TFs were studied	诱导因子 Inducible factors	靶基因 Target gene	文献来源 References
WRKY	<i>PalWRKY77</i>	新疆杨 <i>P. alba</i> var. <i>pyramidalis</i>	新疆杨 <i>P. alba</i> var. <i>pyramidalis</i>	干旱和盐 Drought and salt	<i>PalNAC002</i> , <i>PalRD26</i> , <i>PalPYL9.3</i> , <i>PalABI2</i> , <i>PalSnRK2.3</i> , <i>PalABF4.2</i> , <i>PalABF4.4</i>	[31]
	<i>PtrWRKY18/35</i>	毛果杨 <i>P. trichocarpa</i>	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	ABA 和干旱(负调控) ABA and drought (negatively regulate)	<i>RD29A</i> , <i>ABO3</i> , <i>ABI4</i> , <i>ABI5</i> , <i>DREB1A</i>	[32]

表 1(续) Continued table 1

基因家族 Gene family	基因 Gene	鉴定物种 Species from which TFs were isolated	研究物种 Species from which TFs were studied	诱导因子 Inducible factors	靶基因 Target gene	文献来源 References
WRKY	<i>Ptr</i> WRKY39	毛果杨 <i>P. trichocarpa</i>	烟草 <i>N. benthamiana</i>	干旱和盐 Drought and salt	<i>NtSOD1, NtAPX2</i>	[33]
	<i>SI</i> WRKY28	筐柳 <i>S. linearistipularis</i>	山新杨 <i>P. davidiana</i> × <i>P. bolleana</i>	盐 Salt	<i>PtSOD, PtAPX</i>	[34]
	<i>Ptr</i> WRKY75	毛果杨 <i>P. trichocarpa</i>	毛白杨 <i>P. tomentosa</i>	干旱 Drought	<i>PAL1</i>	[35]
	<i>Psn</i> WRKY1-20	小黑杨 <i>P. simonii</i> × <i>P. nigra</i>	小黑杨 <i>P. simonii</i> × <i>P. nigra</i>	干旱 Drought		[36]
NAC	<i>Pe</i> NAC1	胡杨 <i>P. euphratica</i>	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	干旱和盐 Drought and salt		[37]
	<i>Pe</i> NAC036	胡杨 <i>P. euphratica</i>	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	干旱和盐 Drought and salt	<i>COR47, RD29B, ERD11, RD22, DREB2A</i>	[38]
	<i>Pe</i> NAC034/ 045	胡杨 <i>P. euphratica</i>	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	干旱和盐(负调控) Drought and salt (negatively regulate)		[38]
	<i>Car</i> NAC3	鹰嘴豆 <i>Cicer arietinum</i>	美洲黑杨×欧美杨 ‘南林 895’杨 <i>P. deltoides</i> × <i>P. euramericana</i> ‘Nanlin 895’	干旱和盐 Drought and salt		[39]
	<i>Car</i> NAC6	鹰嘴豆 <i>Cicer arietinum</i>	美洲黑杨×欧美杨 ‘南林 895’杨 <i>P. deltoides</i> × <i>P. euramericana</i> ‘Nanlin 895’	干旱和盐 Drought and salt		[40]
	<i>Ptr</i> NAC006/ 007/120	毛果杨 <i>P. trichocarpa</i>	毛果杨 <i>P. trichocarpa</i>	干旱 Drought		[41]
	<i>Psn</i> NAC030	小黑杨 <i>P. simonii</i> × <i>P. nigra</i>	小黑杨 <i>P. simonii</i> × <i>P. nigra</i>	干旱、盐、温度和 ABA Drought, salt, temperature & ABA		[42]
MYB	<i>Ptr</i> MYB94	毛果杨 <i>P. trichocarpa</i>	毛白杨,拟南芥 <i>P. tomentosa, A. thaliana</i>	干旱和 ABA Drought and ABA	<i>ABA1, DREB2B, P5CS2</i>	[43]
	<i>Pto</i> MYB170	毛白杨 <i>P. tomentosa</i>	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	干旱 Drought	<i>PAL4, C4H2, 4CL5, C3H3</i>	[44]
bZIP	<i>Ptr</i> AREB1-2	毛果杨 <i>P. trichocarpa</i>	毛果杨 <i>P. trichocarpa</i>	干旱 Drought	<i>Ptr</i> NAC	[41]
	<i>Pe</i> ABF3	胡杨 <i>P. euphratica</i>	毛白杨无性系 ‘B385’ <i>P. tomentosa</i> ‘Yixiancizhu B385’	干旱和 ABA Drought and ABA	<i>PeADF5, PeLEA, PeMYB74, PeMYB41, PeRD20</i>	[45]
	<i>Peb</i> ZIP26/33	胡杨 <i>P. euphratica</i>	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	干旱和盐 Drought and salt		[46]
	<i>Ptab</i> ZIP1L	欧洲山杨×银白杨 <i>P. tremula</i> × <i>P. alba</i>	欧洲山杨×银白杨 <i>P. tremula</i> × <i>P. alba</i>	干旱 Drought	<i>PtaPRODH1, PtaPRODH2, PtaFLS2, PtaFLS4</i>	[47]
	<i>AREB3/</i> <i>FDL1/FDL2</i>		欧美杂种山杨‘T89’ <i>P. tremula</i> × <i>P. tremuloides</i> cv. ‘T89’	干旱 Drought		[48]
AP2/ERF	<i>Pe</i> DREB2L	胡杨 <i>P. euphratica</i>	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	干旱、盐和 ABA Drought, salt and ABA	<i>RD29A, RD29B</i>	[49]
	<i>Ph</i> CBF4a/4b	河北杨 <i>P. hopeiensis</i>	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	脱水、寒冷和高盐 Dehydration, cold and high-salinity	<i>AtRD29A, AtLEA14, AtCor15A</i>	[50]

表 1(续) Continued table 1

基因家族 Gene family	基因 Gene	鉴定物种 Species from which TFs were isolated	研究物种 Species from which TFs were studied	诱导因子 Inducible factors	靶基因 Target gene	文献来源 References
AP2/ERF	<i>PeCBF4a</i>	胡杨 <i>P. euphratica</i>	毛白杨无性系 ‘B385’ <i>P. tomentosa</i> ‘Yi- xiancizhu B385’	脱水、盐和低温 Dehydration, salinity and low-temperature	<i>PtRCI2A</i> , <i>PtDI21</i>	[51]
	<i>LbDREB6</i>	二色补血草 <i>Limonium bico- lor</i>	大青杨 <i>P. ussuriensis</i>	干旱 Drought	<i>AQP</i> , <i>GST</i> , <i>LEA</i> , <i>TIP</i>	[52]
	<i>PtrERF139</i>	毛果杨 <i>P. trichocarpa</i>	欧美山杨 <i>P. tremula</i> × <i>P. tremuloides</i>	干旱和盐 Drought and salt	<i>LAC5</i> , <i>LBD15</i> , <i>MYB86</i> , <i>ANAC002</i> , <i>ABA1</i>	[53]
	<i>PagERF16</i>	银白杨×腺毛杨 <i>P. alba</i> × <i>P. glandulosa</i>	银白杨×腺毛杨 <i>P. alba</i> × <i>P. glandulosa</i>	盐 Salt	<i>NAC45</i>	[54]
	<i>PsnERF76</i>	小黑杨 <i>P. simonii</i> × <i>P. nigra</i>	小黑杨 <i>P. simonii</i> × <i>P. nigra</i>	干旱、盐和 ABA Drought, salt and ABA	<i>LEA</i> , <i>GST</i> , <i>HRGP</i>	[55]
	<i>PsnERF75</i>	小黑杨 <i>P. simonii</i> × <i>P. nigra</i>	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	干旱、盐和 ABA Drought, salt and ABA		[56]
	<i>PsnERF11</i>	小黑杨 <i>P. simonii</i> × <i>P. nigra</i>	小黑杨 <i>P. simonii</i> × <i>P. nigra</i>	干旱和盐 Drought and salt		[57]

2.1 WRKY 基因家族特征及其在杨树耐旱性中的研究

WRKY TFs 是植物特有的转录因子,其氨基(N)端和羧基(C)端分别拥有“WRKYGQK”保守序列和锌指结构^[58]。可根据 WRKY 结构域的数量及其锌指基序的特征分为 3 组,包括 I 组、II 组和 III 组;I 组和 II 组成员具有 C2H2 锌指基序,III 组中的 WRKY 成员具有 C2HC 锌指基序,而 II 组又可以进一步分成 II a、II b、II c、II d 和 II e 等 5 个亚组^[59]。大量研究表明,WRKY 转录因子可能参与植物响应各类非生物胁迫过程,例如干旱、盐碱、冷冻以及热胁迫^[60]。目前,一些干旱胁迫相关的植物 WRKY 转录因子已被报道,例如 *AtWRKY57*^[61]、*OsWRKY11*^[62] 和 *GhWRKY41*^[63]。

WRKY 转录因子的全基因组鉴定及其干旱胁迫下的表达分析研究已在某些杨属树种中相继展开。周静等^[13]在毛果杨基因组中一共鉴定出 122 个 WRKY 基因家族成员,包括 34 个 I 组成员、78 个 II 组成员以及 10 个 III 组成员;基于转录谱分析发现其中 62 个 WRKY 成员的表达量受干旱诱导。在 PEG 或 ABA 处理后,毛果杨超过 80% 的 WRKY 第 III 组基因成员呈现表达差异变化^[64]。Wang 等^[65]鉴定了 108 个小黑杨 WRKY 基因,并发现其中 13 个 WRKY 基因可能受到渗透胁迫和激素 ABA 的诱导,整体基因表达呈现“诱导增加-恢复”模式。Zhao 等^[36]分析了 PEG 处理下小黑杨 20 个

WRKY 基因(*PsnWRKY1—20*)的表达模式,发现其中 15 个基因的表达可能受到干旱诱导。Imran 等^[66]在干旱敏感型与耐旱型两类中国山杨品种的 RNA-seq 数据中共鉴定了 87 个 WRKY 转录因子,其中耐旱型品种拥有更多的表达上调的 WRKY 基因,而敏感型品种却拥有更多的表达下调的 WRKY 基因。

许多 WRKY TF 通过识别和结合其自身靶基因或其他 WRKY 基因的启动子区 W-box,正向或负向调节各种非生物胁迫应答反应^[60]。拟南芥 *AtWRKY40* 可以直接结合干旱诱导基因(如 *AtABF4*、*AtABI4*、*AtABI5*、*AtDREB1A*、*AtMYB2* 和 *AtRAB18*)启动子区的 W-Box,进而抑制靶基因表达^[67]。新疆杨(*P. alba* var. *pyramidalis*) *PalWRKY77* 是 *AtWRKY40* 的一个同源基因,可以通过与 W-box 结合从而抑制 ABA、盐诱导基因(如 *PalNAC002* 和 *PalRD26*)以及 ABA 应答相关基因(如 *PalPYL9. 3*、*PalABI2*、*PalSnRK2. 3*、*PalABF4. 2* 和 *PalABF4. 4*)的表达水平,从而负向调控 ABA 介导的气孔关闭,并降低杨树耐旱耐盐性^[31]。毛果杨 *PtrWRKY18* 和 *PtrWRKY35* 是拟南芥 *AtWRKY18/40/60* 的同源基因,ABA 处理后其表达量下降,而 *PtrWRKY18* 和 *PtrWRKY35* 的异源性过量表达会导致转基因拟南芥植株 ABA 相关基因(如 *RD29A*、*ABO3*、*ABI4*、*ABI5* 和 *DREB1A*)表达下调、ABA 敏感性下降以及叶片气

孔导度增加^[32]。毛果杨 *PtrWRKY39* 与筐柳 (*Salix linearistipularis*) *SIWRKY28* 分别在烟草 (*Nicotiana tabacum* L) 和山新杨 (*P. davidiana* × *P. bolleana*) 中的异源性过表达, 会使转基因植物的整株鲜质量和叶绿素含量增加, 通过增加 *NtSOD1*、*NtAPX2* 和 *PtSOD*、*PtAPX* 等基因的表达水平使活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 与丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 积累下降, 它们可能在修复干旱或盐胁迫造成的氧化损伤中发挥一定作用^[33-34]。*PtrWRKY75* 则通过 ABA 非依赖途径参与干旱胁迫响应, 作用于苯丙氨酸解氨酶 1 (phenylalanine ammonia lyase 1, *PAL1*) 的上游, 通过与 *PAL1* 启动子结合直接激活其表达, 从而促进水杨酸 (salicylic acid, SA) 的生物合成, 增加 ROS 的积累, 最终导致叶片气孔导度降低并减少蒸腾失水^[35]。Zhou 等^[68] 从欧美杨 NE-19 (*P. nigra* × (*P. deltoides* × *P. nigra*)) 中分离出根特异性 NF-Y 转录因子家族的基因 *PdNF-YB21*, 它可以通过与 *PdFUS3* 的互作, 调节 ABA 合成关键基因 *PdNCED3* 的表达水平, 与 *NCED3* 表达相关的 *PdWRKY16*、*PdRD29B* 和 *PdDREB2A* 在过表达 *PdNF-YB21* 的植株根部表达显著上调。虽然近年来杨树 *WRKY* 基因响应干旱胁迫的研究报道较多, 但是 *WRKY* 基因功能性研究所用的遗传转化受体材料仍局限于拟南芥等草本模式物种和少数几个杨属基因型材料。

2.2 NAC 基因家族特征及其在杨树耐旱性中的研究

NAC (NAM/ATAF/CUC) 是植物特有的超大转录因子家族, 在生长发育、生物和非生物胁迫响应以及生物合成等过程中发挥着重要作用。NAC 转录因子的 N 末端是由约 150 个氨基酸残基组成的保守 DNA 结合域, 用于结合下游基因启动子区的顺式作用元件, 而其 C 端为多样化转录激活域^[69]。NAC 识别序列 (NAC recognition sequence, NACRs) 是靶基因启动子区中被 NAC 蛋白结合的顺式作用元件, 其核心 DNA 结合基序包含 CACG 或 GCTT^[70]。NAC 基因家族成员不仅可以影响很多干旱胁迫响应基因 (如 *LEA*、*RAB*、*P5CS*、*ERD10*、*RD29A* 和 *COR*) 的表达量, 也可以影响非生物胁迫相关的 bZIP、MYB、WRKY 等转录因子的表达水平^[71]。NAC 基因家族的全基因组鉴定已报道于多个物种, 例如拟南芥 (117 个家族成员)^[72]、水稻 (151 个家族成员)^[72]、毛果杨 (167 个家族成员)^[14]。杨

树 NAC 家族主要参与调节植物非生物胁迫响应、次生生长与维管组织发育等过程, 且大多数报道集中在木材形成机理研究上, 而有关杨树 NAC 参与杨树干旱胁迫过程的研究报道却较少。来自 84K 杨的 *PagKNAT2/6b* 可通过调节 NAC 结构域转录因子 (如 *PagSND-A1*、*PagSND1-A2*、*PagSND1-B2*、*PagVND6-C1* 和 *PagXND1a*) 的表达来抑制杨树木材形成过程中的细胞分化和次生壁沉积^[73]。而 *PagKNAT2/6b* 通过抑制 *PagGA20ox1* 在干旱胁迫下的表达来抑制赤霉素 (GA) 的合成, 从而影响杨树株型及增强其耐旱能力^[74]。

胡杨 *PeNAC1* 隶属于 NAC 家族 ATAF 亚家族, 其编码蛋白定位于细胞核, 其表达量受干旱和盐碱胁迫的强诱导, 但不受 ABA 诱导, 过表达 *PeNAC1* 可显著提高转基因拟南芥植株的耐渗透压和耐盐碱能力^[75]。*PeNAC1* 的启动子区包含了很多顺式作用元件, 例如 ABRE、GARE (GA-responsive element)、TATA-box、W-Box 以及 MYB、MYC 和 NAC 识别基序, 但是拥有 2 个 ABRE 元件的启动子区域片段 (P4) 在干旱和盐胁迫期间不活跃, 表明 *PeNAC1* 可能以 ABA 非依赖型信号通路响应非生物胁迫^[37]。过表达 ATAF 亚家族 *PeNAC034* 和 *PeNAC045* 会下调一些胁迫相关基因 (如 *COR47*、*RD29B*、*ERD11*、*RD22* 和 *DREB2A*) 的表达量, 降低转基因胡杨植株对盐碱和脱水的耐受性; ANAC072 亚家族 *PeNAC036* 基因的过表达则赋予转基因胡杨耐受盐碱和脱水胁迫的能力^[38]。毛果杨 *PtrNAC006*、*PtrNAC007* 和 *PtrNAC120* 的转录激活涉及 2 个步骤: bZIP 家族成员 AREB1 蛋白结合这些 NAC 基因启动子区的 ABRE 顺式元件和 NAC 基因上游区域 H3K9ac 的修饰富集; 而这些 *PtrNAC* 基因的表达变化会影响植物次生木质部发育, 改变导管的结构和数量, 进而通过改变杨树次生生长响应干旱胁迫^[41]。转鹰嘴豆 (*Cicer arietinum* L.) *CarNAC3* 和 *CarNAC6* 基因的“南林 895”杨 (*P. deltoides* × *P. euramericana* cv. ‘Nanlin 895’) 植株呈现出更快的根和芽器官生长速度、更高的脯氨酸与光合色素合成水平、更强的抗氧化酶活性以及更低的 MDA 浓度, 表明 *CarNAC3* 和 *CarNAC6* 可能有助于增强杨树抗旱性和耐盐性^[39-40]。转 84K 杨 *NAC13* 基因的烟草植株在盐碱胁迫下展现出更高的抗氧化酶 (如超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和过氧化物酶 (peroxidase, POD)) 活性和相对含水量 (relative water con-

tent, RWC), 暗示该基因可能在 ROS 清除途径中发挥作用^[76]。小黑杨 *PsnNAC030* 编码定位于细胞核的蛋白, 其表达受干旱、盐碱、ABA 等胁迫因子诱导, 在植物响应非生物胁迫过程中具有重要的潜在功能^[42]。因此, 大多数杨树 NAC 转录因子基因通过增强抗氧化酶活性, 或以 ABA 依赖/非依赖方式调控下游干旱响应基因的表达水平, 在植物响应干旱胁迫过程中发挥积极作用。

2.3 MYB 基因家族特征及其在杨树耐旱性中的研究

MYB(v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog) 是植物中最大的转录因子家族之一, 参与细胞分化、细胞周期调控、激素和环境因子反应、植物生长发育和代谢等过程^[77-78]。MYB 蛋白的 N 末端含有高度保守的 MYB 结构域, 参与 DNA 结合和蛋白质-蛋白质相互作用, 而其 C 末端负责调节蛋白质活性^[79]。MYB 蛋白 N 末端拥有多个高度保守的重复序列(1~4R), 每个重复由大约 52 个氨基酸残基组成并形成 3 个 α -螺旋, 第 2 个和第 3 个 α -螺旋参与螺旋-转角-螺旋(helix-turn-helix, HTH) 折叠的形成, MYB TFs 可以通过 HTH 结构与靶基因 DNA 的大沟相互作用, 从而调节靶基因的表达^[80]。依据 N 末端保守重复序列的数目, MYB 家族可以分为 1R-、R2R3-、3R-和 4R-MYB 4 个亚家族。R2R3-MYB 不仅是植物 MYB 家族中拥有最多成员的亚家族, 而且包含了大部分的干旱胁迫响应相关 MYB 基因^[81]。这些 R2R3-MYB 基因在干旱条件下参与 ABA 诱导的气孔关闭过程, 还参与水杨酸、脱落酸、赤霉素和茉莉酸的信号转导途径, 并在植物组织适应非生物环境胁迫方面发挥重要作用^[79]。Wilkins 等^[82]在毛果杨基因组 v1.1 版本中鉴定了 192 个 R2R3-MYB 亚家族基因, Yang 等^[15]从毛果杨基因组 v3.0 版本中又鉴定到 4 个新的 R2R3-MYB 亚家族成员, 发现其中 15 个 *PtrMYBs* 与拟南芥胁迫相关基因具有同源性, 并且大多数基因的表达受到干旱胁迫诱导。

毛果杨 *PtrMYB94* 隶属于 R2R3-MYB 亚家族成员, 通过调控 ABA 和干旱胁迫相关基因(如 *ABA1*、*DREB2B* 和 *P5CS2*) 的表达, 进而提高转基因杨树对干旱胁迫的耐受性^[43]。过表达小黑杨 R2R3-MYB 亚家族成员 *PsnMYB108* 会增强转基因番茄的 ROS 清除能力与脯氨酸堆积, 也影响 ABA 响应基因的表达水平^[83]。越来越多的研究发现, 一些 MYB 转录因子在植物逆境响应过程中可能会涉及花青素、木质素与表皮蜡质的生物合成。

例如, 毛白杨(*P. tomentosa*) R2R3-MYB 亚家族成员 *PtoMYB170* 通过关闭气孔控制体内水分流失, 该基因过量表达赋予转基因拟南芥植株耐旱性, 并且在杨树木材形成过程中正向调节木质素生物合成基因(如 *PAL4*、*C4H2*、*4CL5*、*HCT* 和 *C3H3*) 的表达^[44]。Li 等^[84]发现, 大青杨 CCCH 型转录因子 *PuC3H35* 可以直接结合 *PuANR* 与 *PuEARLI1* 的启动子区, 而 *PuANR* 与 *PuEARLI1* 则通过增加植株的原花青素和木质素含量提高杨树耐旱性。另外, 仍有少量 3R-MYB 亚家族基因调节植物细胞周期和抗逆性, 例如毛果杨 Potri006G085600 可响应干旱胁迫过程^[85]。

此外, 其他转录因子家族也可以通过调节 MYB 基因的表达从而参与 ABA 和干旱胁迫反应过程, GATA 家族便是近几年在杨树中发现的一个与逆境胁迫密切相关的转录因子家族。An 等^[86]研究发现, 毛果杨 GATA 家族成员的启动子区含有参与干旱诱导的 MYB 结合位点(MYB binding sites, MBS), 过表达 *PdGATA19/PdGNC* 的欧美杨 NE-19(*P. nigra* × (*P. deltoides* × *P. nigra*)) 植株中, ERF、C2H2 和 MYB 等转录因子受 ABA 诱导明显。*PdGNC* 可以直接结合 *PdH XK1* 的启动子区并增加己糖激酶活性, 促进保卫细胞中 NO 和 H_2O_2 的积累, 最终导致叶部气孔关闭^[87]。这些结果表明, GATA 也许可以与 MYB 转录因子相互作用, 并在杨树干旱胁迫响应过程中起到重要的调控作用。

总之, MYB 家族成员以 ABA 依赖型和非 ABA 依赖型信号途径参与植物响应非生物胁迫过程^[78], 但是目前尚不清楚杨树 MYB 转录因子在 ABA 依赖型或非 ABA 依赖型干旱胁迫途径中的具体功能。许多研究表明, 植物 MYB TF 通过调节木栓质、表皮蜡质合成以及花发育过程, 在干旱胁迫中起作用^[80]。杨树 MYB 转录因子是否可以通过调节类黄酮(包括花青素)、角质层蜡质、木质素等物质的生物合成以适应缺水胁迫, 仍然所知甚少。

2.4 bZIP 基因家族特征及其在杨树耐旱性中的研究

bZIP(basic leucine zipper, 碱性亮氨酸拉链) 是拥有 bZIP 结构域的超大植物转录因子家族之一, 调控多种生物学过程, 包括生物胁迫与非生物胁迫的响应信号通路、花与种子发育、光信号通路、植物激素信号转导等^[88]。bZIP 结构域是一段包含 60~80 个氨基酸的保守序列, 包括一个具有核定位信号的碱性 DNA 结合区, 以及相邻的亮氨酸拉链区^[89]。

bZIP 转录因子通过结合靶基因启动子区的顺式元件调控其表达,进而参与相应的生物学过程。A-box (TACGTA)、C-box (GACGTC) 和 G-box (CACGTG) 是 bZIP 转录因子识别的常见顺式元件^[90]。毛果杨基因组拥有 86 个 *bZIP* 基因,可以进一步分成 12 个亚家族,包括 AREB (ABRE binding protein)/ABF (ABRE binding factors) 亚家族、CPRF2-like 亚家族、GBF (G-box binding factor) 亚家族等^[90]。AREB/ABF 亚家族转录因子参与植物 ABA 信号转导通路,作用于 ABRE 顺式元件,进而调控渗透胁迫应答相关基因的转录表达^[91]。14 个毛果杨 AREB/ABF 亚家族基因的表达水平受到外源 ABA 的诱导,这表明 AREB/ABF 亚家族基因可能涉及一个复杂的 ABA 转录调控网络^[92]。拟南芥 AREB/ABF 亚家族成员 *AREB1/ABF2*、*AREB2/ABF4* 和 *ABF3* 受 ABA 和缺水条件诱导,并存在基因功能性冗余,可以在脱水胁迫下协同正向调控 ABRE 依赖性基因(如 *RD29B*、*RD20* 和 *AtMYBs*) 的表达^[93]。毛果杨 *PtrAREB1-2* 可以识别并结合 *PtrNAC* 基因启动子区的 ABRE 顺式元件,同时通过招募 ADA2b 和 GCN5 形成 AREB1-ADA2b-GCN5 三元复合物,进一步招募组蛋白乙酰化酶复合物和乙酰化 *PtrNAC* 启动子区的组蛋白 H3K9,从而激活靶基因表达和启动 *PtrNAC* 介导的抗旱基因调控网络,使杨树更好地适应干旱环境^[41]。这为杨树 bZIP 和 NAC 转录因子响应干旱胁迫的分子机制研究提供了新见解,有关 *PtrNAC* 的下游靶基因以及导致 AREB1-ADA2b-GCN5 三元复合物形成的上游细胞信号有待进一步研究^[94]。过表达 *PtrAREB3* 会使转基因 T89 杨 (*P. tremula* × *P. tremuloides* cv. 'T89') 植株的耐旱能力提高,但同时会抑制其生物量^[48]。胡杨 *PeABF3* 通过直接与 ABRE 元件结合来调控 *PeADF5* 表达,促进 ABA 诱导的气孔关闭,进而增强胡杨的耐旱性;此外,在杨树中过表达 *PeABF3* 会上调 *PeLEA*、*PeMYB74*、*PeMYB41* 和 *PeRD20* 等干旱胁迫应答基因的表达水平^[45]。

除 AREB/ABF 亚家族之外,杨树其他 bZIP 亚家族基因也参与复杂的干旱胁迫调控网络。过表达胡杨 *PebZIP26* 和 *PebZIP33* 的株系,通过调节叶片气孔开度并增强植株抗氧化性、延缓种子萌发及营养生长,正向调节转基因杨树耐旱耐盐性^[46]。INRA717-1B4 杂种杨 (*P. tremula* × *P. alba* cv. 'INRA717-1B4') 的 *PtabZIP1L* 基因主要表达于侧

根原基和侧根分化区域,干旱条件下过表达 *PtabZIP1L* 的转基因植株根生物量增加 70%,研究还发现该基因通过多种代谢途径调节脯氨酸、天冬酰胺、酰胺酸和黄酮类化合物等关键代谢产物的合成,参与侧根发育和植物响应干旱胁迫的生物学过程^[47]。T89 杨的 *FDL1* 和 *FDL2* 基因是 bZIP 转录因子 *FD-like* 基因,它们的过表达可增强转基因杨树的干旱敏感度,抑制其生物量增加,而在干旱胁迫下 RNAi 植株给根部分配了更多的生物量,该研究表明 *FDL* 基因可能在维持生物量产量与干旱适应性之间的平衡中发挥重要作用^[48]。

综上,杨树 bZIP 亚家族 AREB/ABF 基因成员普遍参与 ABA 信号转导途径和干旱胁迫过程,且 bZIP TFs 翻译后修饰与 ABA 信号转导密切相关。在复杂的 ABA 调控网络中,杨树 bZIP 家族成员可能与其他基因之间存在互作,协同调节下游 ABA 或干旱相关基因的表达。

2.5 AP2/ERF 基因家族特征及其在杨树耐旱性中的研究

AP2/ERF (APETALA2/ethylene-responsive factor) 转录因子是植物中的特大基因家族之一,调节各种生物/非生物胁迫反应,并对多种植物激素(如 ABA 和 Ethylene(乙烯))具有反应,可以提高植物在非生物胁迫条件下的存活率^[95]。AP2/ERF 包含至少一个 AP2 保守结构域,由约 60 个高度保守的氨基酸组成,其 AP2 结构域能识别特定的顺式作用元件,例如 DRE/CRT (dehydration-responsive or C-repeat element) 和 ERE (ethylene-response element)^[96]。依据 AP2/ERF 结构域的数量与结合序列类型,可将 AP2/ERF 家族分成 AP2、DREB/CBF、ERF 和 RAV 等 4 个亚家族以及 1 个孤儿基因 (soloist)^[97]。Zhuang 等^[17] 从毛果杨基因组中鉴定出 200 个 AP2/ERF 基因,超过拟南芥 AP2/ERF 家族基因总数的 1.4 倍。

有研究表明,DREB/CBF 亚家族成员可以识别下游胁迫响应基因启动子区的 DRE/CRT 顺式元件,以 ABA 非依赖途径调节干旱、寒冷和高温等非生物胁迫^[95]。DREB/CBF 转录因子可以结合以 A/GCCGAC 为核心序列的 DRE/CRT 元件,调节杨树下游干旱胁迫相关基因的表达。胡杨 *PeDREB2L* 通过与 DRE/CRT 元件结合,上调 CBF/DREB 调控基因(如 *RD29A* 和 *RD29B*) 的表达,提高转基因拟南芥对干旱和寒冷胁迫的耐受性^[49]。过表达 *PeCBF4a* 会诱导下游基因 *PtRCI2A* 和 *PtDI21* 的

表达,提高转基因杨树的 PS II 光合电子传递活性、叶片光合能力、SOD 活性以及脯氨酸与糖类含量,在干旱胁迫耐受性中起积极作用^[51]。河北杨 *Ph-CBF4a/4b* 基因的异源性过表达会诱导转基因拟南芥 *AtRD29A*、*AtLEA14* 和 *AtCor15A* 的表达水平,进而提高转基因植株的耐旱性^[50]。过表达二色补血草 (*Limonium bicolor*) *LbDREB6* 基因可以激活转基因大青杨 (*P. ussuriensis*) 植株干旱相关基因(如 *AQP*、*GST*、*LEA* 和 *TIP*)的表达,继而合成许多蛋白质和代谢产物,以保护转基因植株免受干旱损伤^[52]。毛果杨 *PtERF139* 基因是 DREB/CBF 亚家族成员,通过调节下游靶基因参与 T89 杨木质部细胞扩增、次生细胞壁 (secondary cell wall, SCW) 形成以及渗透胁迫过程,这些靶基因包括与次生细胞壁生物合成相关基因(如 *LAC5*、*LBD15* 和 *MYB86*)及盐胁迫和干旱胁迫响应基因(如 *ANAC002* 和 *ABA1*)^[53]。而 84K 杨 DREB/CBF 亚家族基因 *PagERF16* 通过与 *NAC45* 启动子中的 DRE 顺式元件结合来负向调节 *NAC45* 的表达,进而影响植物激素乙烯的生物合成;在盐胁迫条件下过表达 *PagERF16* 的转基因杨树的气孔孔径大、CAT 活性较低、MDA 含量增加,表明 *PagERF16* 是一个负调控因子^[51]。另外,含有 R3H 保守域的 *NtDIP6* (DBF-interactor protein 6) 可以正向调控 *DREB* 基因,而 *NtDIP6* 可以提高毛白杨抗氧化防御酶、光合速率以及干旱胁迫响应相关基因(如 *Pt-DBF1*、*PtWRKY1*、*PtWRKY3* 和 *PtNCED1*)的表达水平^[98]。

小黑杨具有较强的抗寒、耐旱、耐瘠薄、耐盐碱等生物学特性,对其 ERF 转录因子的研究也取得了一定的进展。对小黑杨 13 个 *PthERF* 基因的 qRT-PCR 分析发现,大多数 *PthERFs* 可以被盐碱、干旱和 ABA 诱导,表明这些 *PthERFs* 受 ABA 调控,参与杨树干旱与盐碱胁迫的响应过程^[96]。NaCl、KCl、CdCl₂ 和 PEG 处理下的小黑杨转录谱分析表明,超过 1/3(63)的 ERF 基因受到这 4 种胁迫的诱导^[99]。小黑杨 *PsnERF76* 基因隶属于 ERF 亚家族,该基因在杨树中过表达将上调 268 个基因,包括 *LEA*、*GST*、*HRGP* 以及一些抗氧化酶相关基因,这些基因的启动子区拥有 DRE 顺式元件,它们涉及干旱和盐胁迫相关的生理过程^[55]。在 ABA、干旱、盐胁迫下,过表达 *PsnERF75* 的转基因拟南芥植株将拥有更高的 SOD/POD 活性与更强的 ROS 清除能力,可减轻非生物胁迫对其的伤害^[56]。ERF 亚家

族成员 *PsnERF11* 在盐胁迫和干旱胁迫条件下均上调表达,表明该基因可能参与小黑杨渗透胁迫响应过程^[57]。

总之,杨树 AP2/ERF 转录因子家族尤其是 DREB/CBF 和 ERF 亚家族成员通过结合 DRE 顺式元件,在调控杨树干旱和耐寒性方面发挥重要的作用。与 MYB 家族基因相似,调控干旱胁迫的 AP2/ERF TF 家族也会影响杨树木材形成,但是 AP2/ERF 转录因子在调节木材形成与干旱胁迫响应之间的平衡机制研究仍然较少。

3 结论与展望

杨树 WRKY、NAC、bZIP、MYB 和 AP2/ERF 等转录因子家族通过识别特定的顺式作用元件(如 W-Box、ABRE 和 DRE)调控下游干旱相关应答基因的表达水平,以 ABA 依赖型或非依赖型信号转导途径参与干旱胁迫响应过程。虽然目前已经在杨树 WRKY、NAC、bZIP、MYB 和 AP2/ERF 等转录因子家族的全基因组鉴定、干旱胁迫响应转录因子的表达模式分析以及它们对干旱胁迫信号转导通路的调控作用等方面取得一些研究进展,但仍有很多问题需要被进一步探究。首先,WRKY、NAC、bZIP、MYB 和 AP2/ERF 等转录因子家族的成员数量、共线性关系、基序类型与基因序列等可能存在杨属种间差异,而这种差异是否与杨树耐干旱性状的种间差异有关仍未被研究。其次,基于基因表达芯片或 Bulk 型 RNA-seq 技术的杨树干旱胁迫转录组分析,仅能获得基因在不同组织类型成百上千细胞中的平均表达值,因此无法呈现杨树干旱胁迫响应基因表达的组织异质性与细胞异质性^[100]。最后,杨树在干旱胁迫响应过程中需要平衡协调干旱应答与生长发育(如光合作用、木材形成、苯丙烷衍生物合成)、干旱胁迫与其他胁迫(如盐碱胁迫、渗透胁迫、热胁迫、生物胁迫)、ABA 与其他激素等多组对立关系,而关于杨树转录因子调控这些对立关系的研究仍鲜见报道,值得进行深入研究和探讨。随着杨树基因组、转录组、表观组与代谢组等组学数据的不断积累,以及多组学数据分析方法、林木单细胞测序技术与林木基因组编辑技术等的发展与完善,将有助于系统地研究 WRKY、NAC、bZIP、MYB 和 AP2/ERF 等转录因子调控杨树干旱胁迫响应的分子机制,进而为杨树等木本植物的耐旱性状遗传改良提供一定的理论基础。

[参考文献]

- [1] Werner C, Meredith L K, Ladd S N, et al. Ecosystem fluxes during drought and recovery in an experimental forest [J]. *Science*, 2021, 374(6574): 1514-1518.
- [2] Wang W, Zhang Z, Yin L, et al. Topical collection; groundwater recharge and discharge in arid and semi-arid areas of China [J]. *Hydrogeology Journal*, 2021, 29: 521-524.
- [3] Fu Z, Ciaia P, Prentice I C, et al. Atmospheric dryness reduces photosynthesis along a large range of soil water deficits [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 989.
- [4] Barbata A, Mejía-Chang M, Ogaya R, et al. The combined effects of a long-term experimental drought and an extreme drought on the use of plant-water sources in a Mediterranean forest [J]. *Glob Chang Biol*, 2015, 21(3): 1213-1225.
- [5] Sun S J, He C, Qiu L, et al. Stable isotope analysis reveals prolonged drought stress in poplar plantation mortality of the Three-North Shelter Forest in Northern China [J]. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2018, 252: 39-48.
- [6] Yu D, Janz D, Zienkiewicz K, et al. Wood formation under severe drought invokes adjustment of the hormonal and transcriptional landscape in Poplar [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(18): 9899.
- [7] 牛义岭, 姜秀明, 许向阳. 植物转录因子 MYB 基因家族的研究进展 [J]. *分子植物育种*, 2016, 14(8): 2050-2059.
Niu Y L, Jiang X M, Xu X Y. Research advances on transcription factor MYB gene family in plant [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2016, 14(8): 2050-2059.
- [8] 刘 蕾, 杜 海, 唐晓凤, 等. MYB 转录因子在植物抗逆胁迫中的作用及其分子机理 [J]. *遗传*, 2008, 30(10): 1265-1271.
Liu L, Du H, Tang X F, et al. The roles of MYB transcription factors on plant defense responses and its molecular mechanism [J]. *Hereditas*, 2008, 30(10): 1265-1271.
- [9] Estravis-Barcala M, Mattera M G, Soliani C, et al. Molecular bases of responses to abiotic stress in trees [J]. *J Exp Bot*, 2020, 71(13): 3765-3779.
- [10] Ma T, Wang J, Zhou G, et al. Genomic insights into salt adaptation in a desert poplar [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2797.
- [11] Lin Y C, Wang J, Delhomme N, et al. Functional and evolutionary genomic inferences in *Populus* through genome and population sequencing of American and European aspen [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(46): E10970-E10978.
- [12] Wu H, Yao D, Chen Y, et al. De Novo genome assembly of *Populus simonii* further supports that *Populus simonii* and *Populus trichocarpa* belong to different sections [J]. *G3 (Bethesda)*, 2020, 10(2): 455-466.
- [13] 周 静, 曾玫艳, 安新民. 杨树 WRKY 基因家族鉴定及其干旱胁迫响应模式分析 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2019, 41(11): 2160-2173.
Zhou J, Zeng M Y, An X M. Identification of *Populus trichocarpa* WRKY gene family and its' response to drought stress [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2019, 41(11): 2160-2173.
- [14] Hu R, Qi G, Kong Y, et al. Comprehensive analysis of NAC domain transcription factor gene family in *Populus trichocarpa* [J]. *BMC Plant Biol*, 2010, 10: 145.
- [15] Yang X, Li J, Guo T, et al. Comprehensive analysis of the R2R3-MYB transcription factor gene family in *Populus trichocarpa* [J]. *Industrial Crops and Products*, 2021, 168: 113614.
- [16] Fujita Y, Yoshida T, Yamaguchi-Shinozaki K. Pivotal role of the AREB/ABF-SnRK2 pathway in ABRE-mediated transcription in response to osmotic stress in plants [J]. *Physiologia Plantarum*, 2013, 147(1): 15-27.
- [17] Zhuang J, Cai B, Peng R H, et al. Genome-wide analysis of the AP2/ERF gene family in *Populus trichocarpa* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 371(3): 468-474.
- [18] 崔喜艳, 张莹莹, 周 莹. 植物响应干旱胁迫转录因子研究进展 [J/OL]. *吉林农业大学学报*, 2021. [2021-10-27] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1100.S.20210412.1425.006.html>
Cui X Y, Zhang Y Y, Zhou Y. Research progress of plant transcription factors in response to drought stress [J/OL]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2021. [2021-10-27] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1100.S.20210412.1425.006.html>
- [19] 王 彬, 陈敏敏, 林 亮, 等. 植物干旱胁迫的信号通路及相关转录因子研究进展 [J]. *西北植物学报*, 2020, 40(10): 1792-1806.
Wang B, Chen M D, Lin L, et al. Signal pathways and related transcription factors of drought stress in plant [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2020, 40(10): 1792-1806.
- [20] Brosché M, Vinocur B, Alatalo E R, et al. Gene expression and metabolite profiling of *Populus euphratica* growing in the Negev desert [J]. *Genome Biol*, 2005, 6(12): R101.
- [21] Yan D H, Fenning T, Tang S, et al. Genome-wide transcriptional response of *Populus euphratica* to long-term drought stress [J]. *Plant Sci*, 2012, 195: 24-35.
- [22] Chen J, Song Y, Zhang H, et al. Genome-wide analysis of gene expression in response to drought stress in *Populus simonii* [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2013, 31(4): 946-962.
- [23] Yoon S K, Park E J, Choi Y I, et al. Response to drought and salt stress in leaves of poplar (*Populus alba* × *Populus glandulosa*): expression profiling by oligonucleotide microarray analysis [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2014, 84: 158-168.
- [24] Hamanishi E T, Campbell M M. Genome-wide responses to drought in forest trees [J]. *Forestry*, 2011, 84(3): 273-283.
- [25] Chen Z, Ji L, Wang J, et al. Dynamic changes in the transcriptome of *Populus hopeiensis* in response to abscisic acid [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 42708.
- [26] Mun B G, Lee S U, Park E J, et al. Analysis of transcription factors among differentially expressed genes induced by drought stress in *Populus davidiana* [J]. *3 Biotech*, 2017, 7(3): 209.
- [27] Yao W, Zhou B, Zhang X, et al. Transcriptome analysis of transcription factor genes under multiple abiotic stresses in *Popu-*

- lus simonii* × *P. nigra* [J]. Gene, 2019, 707: 189-197.
- [28] Yuan Y, Chen S. Widespread antisense transcription of *Populus* genome under drought [J]. Mol Genet Genomics, 2018, 293(4): 1017-1033.
- [29] Filichkin S A, Hamilton M, Dharmawardhana P D, et al. Abiotic stresses modulate landscape of Poplar transcriptome via alternative splicing, differential intron retention, and isoform ratio switching [J]. Front Plant Sci, 2018, 9: 5.
- [30] Yao T, Zhang J, Xie M, et al. Transcriptional regulation of drought response in *Arabidopsis* and woody plants [J]. Front Plant Sci, 2020, 11: 572137.
- [31] Jiang Y, Tong S, Chen N, et al. The *PalWRKY77* transcription factor negatively regulates salt tolerance and abscisic acid signaling in *Populus* [J]. Plant J, 2021, 105(5): 1258-1273.
- [32] Guo L, Li C, Jiang Y, et al. Heterologous expression of Poplar *WRKY18/35* paralogs in *Arabidopsis* reveals their antagonistic regulation on pathogen resistance and abiotic stress tolerance via variable hormonal pathways [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(15): 5440.
- [33] Niu Y, Li X, Xu C, et al. Analysis of drought and salt-alkali tolerance in tobacco by overexpressing *WRKY39* gene from *Populus trichocarpa* [J]. Plant Signal Behav, 2021, 16(7): 1918885.
- [34] Wang X, Ajab Z, Liu C, et al. Overexpression of transcription factor *SlWRKY28* improved the tolerance of *Populus davidiana* × *P. bolleana* to alkaline salt stress [J]. BMC Genet, 2020, 21(1): 103.
- [35] Zhang Y, Zhou Y, Zhang D, et al. *PtWRKY75* overexpression reduces stomatal aperture and improves drought tolerance by salicylic acid-induced reactive oxygen species accumulation in poplar [J]. Environmental and Experimental Botany, 2020, 176(3): 104117.
- [36] Zhao H, Wang S, Chen S, et al. Phylogenetic and stress-responsive expression analysis of 20 *WRKY* genes in *Populus simonii* × *Populus nigra* [J]. Gene, 2015, 565(1): 130-139.
- [37] Wang J Y, Wang J P, Yang H F. Identification and functional characterization of the NAC gene promoter from *Populus euphratica* [J]. Planta, 2016, 244(2): 417-427.
- [38] Lu X, Zhang X, Duan H, et al. Three stress-responsive NAC transcription factors from *Populus euphratica* differentially regulate salt and drought tolerance in transgenic plants [J]. Physiol Plant, 2018, 162(1): 73-97.
- [39] Movahedi A, Zhang J, Gao P, et al. Expression of the chickpea *CarNAC3* gene enhances salinity and drought tolerance in transgenic poplars [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2015, 120(1): 141-154.
- [40] Movahedi A, Zhang J, Yin T, et al. Functional analysis of two orthologous NAC genes, *CarNAC3*, and *CarNAC6* from *Cicer arietinum*, involved in abiotic stresses in Poplar [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2015, 33(5): 1539-1551.
- [41] Li S, Lin Y J, Wang P, et al. The *AREB1* transcription factor influences histone acetylation to regulate drought responses and tolerance in *Populus trichocarpa* [J]. Plant Cell, 2019, 31(3): 663-686.
- [42] 王雪怡, 张雪梅, 程紫涵, 等. 杨树转录因子 *PsnNAC030* 基因功能 [J]. 东北林业大学学报, 2021, 49(7): 1-8.
- Wang X Y, Zhang X M, Cheng Z H, et al. Functional analysis of poplar transcription factor *PsnNAC030* gene [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2021, 49(7): 1-8.
- [43] Fang Q, Wang X, Wang H, et al. The poplar *R2R3 MYB* transcription factor *PtMYB94* coordinates with abscisic acid signaling to improve drought tolerance in plants [J]. Tree Physiol, 2020, 40(1): 46-59.
- [44] Xu C, Fu X, Liu R, et al. *PtoMYB170* positively regulates lignin deposition during wood formation in poplar and confers drought tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. Tree Physiol, 2017, 37(12): 1713-1726.
- [45] Yang Y, Li H G, Wang J, et al. *ABF3* enhances drought tolerance via promoting ABA-induced stomatal closure by directly regulating *ADF5* in *Populus euphratica* [J]. J Exp Bot, 2020, 71(22): 7270-7285.
- [46] 张影, 练从龙, 段卉, 等. 胡杨 *bZIP* 转录因子 *PebZIP26* 和 *PebZIP33* 基因的克隆及功能分析 [J]. 北京林业大学学报, 2017, 39(7): 18-30.
- Zhang Y, Lian C L, Duan H, et al. Cloning and functional analysis of *PebZIP26* and *PebZIP33* transcription factors from *Populus euphratica* [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2017, 39(7): 18-30.
- [47] Dash M, Yordanov Y S, Georgieva T, et al. Poplar *PtZIP1*-like enhances lateral root formation and biomass growth under drought stress [J]. Plant J, 2017, 89(4): 692-705.
- [48] Yu D, Wildhagen H, Tylewicz S, et al. Abscisic acid signalling mediates biomass trade-off and allocation in poplar [J]. New Phytol, 2019, 223(3): 1192-1203.
- [49] Chen J, Xia X, Yin W. A poplar *DRE*-binding protein gene, *PeDREB2L*, is involved in regulation of defense response against abiotic stress [J]. Gene, 2011, 483(1/2): 36-42.
- [50] Wang Z, Liu J, Guo H, et al. Characterization of two highly similar *CBF/DREB1*-like genes, *PhCBF4a* and *PhCBF4b*, in *Populus hopeiensis* [J]. Plant Physiol Biochem, 2014, 83: 107-116.
- [51] Tian Q Q, Chen J H, Wang D, et al. Overexpression of a *Populus euphratica* *CBF4* gene in poplar confers tolerance to multiple stresses [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2017, 128(2): 391-407.
- [52] Yang J, Wang H, Zhao S, et al. Overexpression levels of *LbDREB6* differentially affect growth, drought, and disease tolerance in Poplar [J]. Front Plant Sci, 2020, 11: 528550.
- [53] Wessels B, Seyfferth C, Escamez S, et al. An *AP2/ERF* transcription factor *ERF139* coordinates xylem cell expansion and secondary cell wall deposition [J]. New Phytol, 2019, 224(4): 1585-1599.
- [54] Wang S, Huang J, Wang X, et al. *PagERF16* of *Populus promotes* lateral root proliferation and sensitizes to salt stress

- [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 669143.
- [55] Yao W, Wang S, Zhou B, et al. Transgenic poplar overexpressing the endogenous transcription factor *ERF76* gene improves salinity tolerance [J]. *Tree Physiol*, 2016, 36(7): 896-908.
- [56] Wang S, Zhou B, Yao W, et al. *PsnERF75* transcription factor from *Populus simonii* $\times$ *P. nigra* confers salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Journal of Plant Biology*, 2018, 61(2): 61-71.
- [57] 刘悦, 赵凯, 吕冠斌, 等. 杨树 ERF11 转录因子基因应答渗透胁迫表达分析 [J]. *植物研究*, 2020, 40(3): 433-440.
- Liu Y, Zhao K, Lü G B, et al. Transcription factor gene *ERF11* response to osmotic stress in *Populus simonii* $\times$ *P. nigra* Poplar [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2020, 40(3): 433-440.
- [58] Rushton P J, Somssich I E, Ringler P, et al. WRKY transcription factors [J]. *Trends Plant Sci*, 2010, 15(5): 247-258.
- [59] Bakshi M, Oelmüller R. WRKY transcription factors: Jack of many trades in plants [J]. *Plant Signal Behav*, 2014, 9(2): e27700.
- [60] Jiang J, Ma S, Ye N, et al. WRKY transcription factors in plant responses to stresses [J]. *J Integr Plant Biol*, 2017, 59(2): 86-101.
- [61] Jiang Y, Qiu Y, Hu Y, et al. Heterologous expression of *AtWRKY57* confers drought tolerance in *Oryza sativa* [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 145.
- [62] Wu X, Shiroto Y, Kishitani S, et al. Enhanced heat and drought tolerance in transgenic rice seedlings overexpressing *OsWRKY11* under the control of *HSP101* promoter [J]. *Plant Cell Rep*, 2009, 28(1): 21-30.
- [63] Chu X, Wang C, Chen X, et al. The cotton WRKY gene *GhWRKY41* positively regulates salt and drought stress tolerance in transgenic *Nicotiana benthamiana* [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0143022.
- [64] Wang Y, Feng L, Zhu Y, et al. Comparative genomic analysis of the WRKY III gene family in *Populus*, grape, *Arabidopsis* and rice [J]. *Biol Direct*, 2015, 10: 48.
- [65] Wang S, Wang J, Yao W, et al. Expression patterns of WRKY genes in di-haploid *Populus simonii* $\times$ *P. nigra* in response to osmotic stress and ABA treatment [J]. *Plant Growth Regulation*, 2016, 78(3): 325-333.
- [66] Imran Q M, Lee S U, Mun B G, et al. WRKYs, the Jack-of-various-trades, modulate dehydration stress in *Populus davidiana*: a transcriptomic approach [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(2): 414.
- [67] Shang Y, Yan L, Liu Z Q, et al. The Mg-chelatase H subunit of *Arabidopsis* antagonizes a group of WRKY transcription repressors to relieve ABA-responsive genes of inhibition [J]. *Plant Cell*, 2010, 22(6): 1909-1935.
- [68] Zhou Y, Zhang Y, Wang X, et al. Root-specific NF-Y family transcription factor, PdNF-YB21, positively regulates root growth and drought resistance by abscisic acid-mediated indoleacetic acid transport in *Populus* [J]. *New Phytol*, 2020, 227(2): 407-426.
- [69] Nakashima K, Takasaki H, Mizoi J, et al. NAC transcription factors in plant abiotic stress responses [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1819(2): 97-103.
- [70] Pascual M B, Torre F, Cañas R A, et al. NAC transcription factors in woody plants [J]. *Progress in Botany*, 2018, 80: 195-222.
- [71] Yu X, Liu Y, Wang S, et al. *CarNAC4*, a NAC-type chickpea transcription factor conferring enhanced drought and salt stress tolerances in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Rep*, 2016, 35(3): 613-627.
- [72] Nuruzzaman M, Manimekalai R, Sharoni A M, et al. Genome-wide analysis of NAC transcription factor family in rice [J]. *Gene*, 2010, 465(1/2): 30-44.
- [73] Zhao Y, Song X, Zhou H, et al. KNAT2/6b, a class I KNOX gene, impedes xylem differentiation by regulating NAC domain transcription factors in poplar [J]. *New Phytol*, 2020, 225(4): 1531-1544.
- [74] Song X, Zhao Y, Wang J, et al. The transcription factor KNAT2/6b mediates changes in plant architecture in response to drought via down-regulating GA20ox1 in *Populus alba* $\times$ *P. glandulosa* [J]. *J Exp Bot*, 2021, 72(15): 5625-5637.
- [75] Wang J Y, Wang J P, He Y. A *Populus euphratica* NAC protein regulating Na⁺/K⁺ homeostasis improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Gene*, 2013, 521(2): 265-273.
- [76] Cheng Z, Zhang X, Zhao K, et al. Ectopic expression of a poplar gene NAC13 confers enhanced tolerance to salinity stress in transgenic *Nicotiana tabacum* [J]. *J Plant Res*, 2020, 133(5): 727-737.
- [77] Li J, Han G, Sun C, et al. Research advances of MYB transcription factors in plant stress resistance and breeding [J]. *Plant Signal Behav*, 2019, 14(8): 1613131.
- [78] Cao Y, Li K, Li Y, et al. MYB transcription factors as regulators of secondary metabolism in plants [J]. *Biology (Basel)*, 2020, 9(3): 61.
- [79] Ambawat S, Sharma P, Yadav N R, et al. MYB transcription factor genes as regulators for plant responses: an overview [J]. *Physiol Mol Biol Plants*, 2013, 19(3): 307-321.
- [80] Baldoni E, Genga A, Cominelli E. Plant MYB transcription factors: their role in drought response mechanisms [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(7): 15811-15851.
- [81] Roy S. Function of MYB domain transcription factors in abiotic stress and epigenetic control of stress response in plant genome [J]. *Plant Signal Behav*, 2016, 11(1): e117723.
- [82] Wilkins O, Nahal H, Foong J, et al. Expansion and diversification of the *Populus* R2R3-MYB family of transcription factors [J]. *Plant Physiol*, 2009, 149(2): 981-993.
- [83] Zhao K, Cheng Z, Guo Q, et al. Characterization of the Poplar R2R3-MYB gene family and over-expression of *PsnMYB108* confers salt tolerance in transgenic tobacco [J]. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 571881.
- [84] Li D, Yang J, Pak S, et al. *PuC3H35* confers drought tolerance

- rance by enhancing lignin and proanthocyanidin biosynthesis in the roots of *Populus ussuriensis* [J]. *New Phytol*, 2022, 233 (1): 390-408.
- [85] Feng G, Burleigh J G, Braun E L, et al. Evolution of the 3R-MYB gene family in plants [J]. *Genome Biol Evol*, 2017, 9 (4): 1013-1029.
- [86] An Y, Zhou Y, Han X, et al. The GATA transcription factor GNC plays an important role in photosynthesis and growth in poplar [J]. *J Exp Bot*, 2020, 71 (6): 1969-1984.
- [87] Shen C, Zhang Y, Li Q, et al. *PdGNC* confers drought tolerance by mediating stomatal closure resulting from NO and H₂O₂ production via the direct regulation of *PdHXK1* expression in *Populus* [J]. *New Phytol*, 2021, 230 (5): 1868-1882.
- [88] Sornaraj P, Luang S, Lopato S, et al. Basic leucine zipper (bZIP) transcription factors involved in abiotic stresses; a molecular model of a wheat bZIP factor and implications of its structure in function [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860 (1 Pt A): 46-56.
- [89] Nijhawani A, Jain M, Tyagi A K, et al. Genomic survey and gene expression analysis of the basic leucine zipper transcription factor family in rice [J]. *Plant Physiol*, 2008, 146 (2): 333-350.
- [90] Zhao K, Chen S, Yao W, et al. Genome-wide analysis and expression profile of the bZIP gene family in poplar [J]. *BMC Plant Biol*, 2021, 21 (1): 122.
- [91] Fujita Y, Yoshida T, Yamaguchi-Shinozaki K. Pivotal role of the AREB/ABF-SnRK2 pathway in ABRE-mediated transcription in response to osmotic stress in plants [J]. *Physiol Plant*, 2013, 147 (1): 15-27.
- [92] Ji L, Wang J, Ye M, et al. Identification and characterization of the *Populus* AREB/ABF subfamily [J]. *J Integr Plant Biol*, 2013, 55 (2): 177-186.
- [93] Yoshida T, Fujita Y, Sayama H, et al. AREB1, AREB2, and ABF3 are master transcription factors that cooperatively regulate ABRE-dependent ABA signaling involved in drought stress tolerance and require ABA for full activation [J]. *Plant J*, 2010, 61 (4): 672-685.
- [94] Castroverde C D M. The AREB1-ADA2b-GCN5 complex regulates gene expression during drought stress [J]. *Plant Cell*, 2019, 31 (3): 559-560.
- [95] Xie Z, Nolan T M, Jiang H, et al. AP2/ERF transcription factor regulatory networks in hormone and abiotic stress responses in *Arabidopsis* [J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 228.
- [96] Wang S, Yao W, Wei H, et al. Expression patterns of ERF genes underlying abiotic stresses in di-haploid *Populus simonii* × *P. nigra* [J]. *Scientific World Journal*, 2014, 2014: 745091.
- [97] Sakuma Y, Liu Q, Dubouzet J G, et al. DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of *Arabidopsis* DREBs, transcription factors involved in dehydration and cold-inducible gene expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 290 (3): 998-1009.
- [98] Liu Y, Yao X, Zhang L, et al. Overexpression of DBF-interactor protein 6 containing an R3H domain enhances drought tolerance in *Populus L.* (*Populus tomentosa*) [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 601585.
- [99] Yao W, Zhang X, Zhou B, et al. Expression pattern of ERF gene family under multiple abiotic stresses in *Populus simonii* × *P. nigra* [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 181.
- [100] Chen G, Ning B, Shi T. Single-Cell RNA-seq technologies and related computational data analysis [J]. *Front Genet*, 2019, 10: 317.