植物研究　2026,46(1):67~82
Bulletin of Botanical Research

研究论文Original Paper

过表达*PtrMYB002*基因抑制拟南芥生长并提高其抗旱性

李　政[1]　陈凤欣[1]　刘雨奇[1]　李明明[1]　尹嘉璨[2]　刘　超[1]　夏新莉[1*]

(**1**. 林木遗传育种全国重点实验室,林木育种与生态修复国家工程研究中心,北京林业大学生物科学与技术学院,北京　100083; **2**. 北京市第一零一中学,北京　100091)

摘　要　该研究针对全球干旱加剧导致杨树生长受抑及死亡的问题,以毛果杨(*Populus trichocarpa*)R2R3-MYB转录因子PtrMYB002为对象,通过基因克隆、表达载体构建、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)遗传转化和杨树(*Populus* L.)瞬时转化等手段,结合生物信息学、亚细胞定位、表型观察、生理指标测定及基因表达分析等方法,探究其在植物生长与抗旱性调控中的功能。结果表明:PtrMYB002定位于细胞核,其表达受干旱与ABA处理的显著诱导;过表达*PtrMYB002*基因显著负影响拟南芥的子叶面积、下胚轴长度、根长、莲座直径、地上部分鲜质量及花薹高度,但提高其抗旱性,表现为干旱条件下转基因株系的净CO_2同化速率、电子传递速率(ETR)、实际光化学效率(Y(Ⅱ))、光化学淬灭系数(qP)和非光化学淬灭系数(NPQ)均显著高于野生型(WT),而气孔导度、蒸腾速率和相对电导率则显著低于WT,同时转基因株系中抗旱相关基因*AtRD29A*与*AtDREB2*的相对表达量显著上调。此外,瞬时转化*PtrMYB002*基因的'84K'杨(*P. alba*×*P. glandulosa* '84K')中*PagRD29A*与*PagDREB2B*基因相对表达量显著高于对照组,表明其调控机制在杨树中可能具有一定的保守性。综上,过表达*PtrMYB002*基因抑制拟南芥生长,同时增强其抗旱性,体现了其参与植物"生长与防御权衡"策略,该研究结果为杨树抗旱分子育种提供了新的基因资源与理论依据。

关键词　毛果杨;拟南芥;*PtrMYB002*;生长发育;抗旱性

中图分类号:Q344　　**文献标志码**:A　　**doi**:10.7525/j.issn.1673-5102.2026.01.006

Overexpression of the *PtrMYB002* gene Inhibits Growth of *Arabidopsis thaliana* and Enhances Its Drought Resistance

LI Zheng[1]　CHEN Fengxin[1]　LIU Yuqi[1]　LI Mingming[1]　YIN Jiacan[2]　LIU Chao[1]　XIA Xinli[1*]

(**1**. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, National Engineering Research Center of Tree Breeding and Ecological Remediation, School of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing　100083; **2**. Beijing 101 High School, Beijing　100091)

Abstract　This study addressed the issue of growth suppression and mortality in poplar caused by increasing global drought, focusing on the R2R3-MYB transcription factor PtrMYB002 from *Populus trichocarpa*. Utilizing methods including gene cloning, expression vector construction, genetic transformation of *Arabidopsis thaliana*, and transient transformation in poplar, combined with bioinformatics analysis, subcellular localization, phenotypic observation, physiological index measurement, and gene expression analysis, we investigated its role in regulating plant growth and drought tolerance. The results showed that PtrMYB002 was localized in the nucleus and its expression was significantly induced by drought and ABA treatment. Overexpression of *PtrMYB002* gene significantly inhibited the cotyledon area, hypocotyl length, root length, rosette diameter, above-ground fresh mass, and inflorescenced stem height in *Arabidopsis*, but enhanced its drought tolerance. Under drought conditions, the transgenic lines exhibited significantly higher net CO_2 assimilation rate, electron transport rate(ETR), actual photochemical efficiency(Y(Ⅱ)), photochemical quenching coefficient(qP), and non-photochemical quenching coefficient(NPQ), while the stomatal conductance, transpiration rate, and relative electrical conductivity were significantly lower compared to the wild-type(WT). Concurrently, the

基金项目:国家自然科学基金面上项目(32071734)。
第一作者简介:李政(1995—),男,博士研究生,主要从事木本植物逆境生物学研究。
*　通信作者:E-mail:xiaxl@bjfu.edu.cn。
收稿日期:2025年9月15日。

expression levels of drought-responsive genes *AtRD29A* and *AtDREB2* were significantly upregulated in the transgenic lines. Furthermore, in the '84K' poplar with transient overexpression of *PtrMYB002* gene, the expression levels of *PagRD29A* and *PagDREB2B* genes were significantly higher than that in the control group, indicating that this regulatory mechanism was likely conserved in poplar. In conclusion, the overexpression of *PtrMYB002* gene suppressed growth in *Arabidopsis* while enhancing its drought tolerance, demonstrating a potential role of the gene in participation of "growth and defense trade-off" strategy, and provided new genetic resources and a theoretical basis for molecular breeding of drought-tolerant poplar.

Key words *Populus trichocarpa*; *Arabidopsis thaliana*; *PtrMYB002*; growth and development; drought resistance

全球气候变化导致的干旱事件频发。2010—2020年,全球因干旱造成的农作物产量损失约300亿美元,并且,预计到2050年,气候变化将使全球可利用淡水资源减少一半[1]。杨树(*Populus* L.)是我国重要的林木之一,具有重要的生态和经济价值。干旱胁迫会严重影响杨树的水分运输,导致其叶片萎蔫或脱落,光合作用和生长受限,甚至死亡[2-3]。近年来,干旱造成我国"三北"防护林中杨树的大面积衰退[4]。因此,通过分子育种技术快速培育抗旱性更强的杨树品种已成为杨树研究领域的当务之急。

植物在进化过程中形成了精密的分子调控网络,其中转录因子是核心调控成员。MYB(v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog)转录因子是植物中庞大的转录因子家族之一。MYB蛋白的C端为转录调控区域,N端具有多个由重复序列构成的保守的DNA结合域,重复序列是由50个左右的氨基酸残基形成的helix-helix-loop-helix二级结构,其中富含几个与DNA结合有关的高度保守的色氨酸残基[5]。根据重复序列重复次数的不同,MYB蛋白分为4类:1R-MYB、2R-MYB、3R-MYB和4R-MYB(R: repeat)。其中,2R-MYB里的R2R3-MYB在植物中数量占比最多且研究较为深入。该类型的MYB转录因子广泛参与植物的生长发育、初级与次级代谢及生物与非生物胁迫等过程[6-8]。

R2R3-MYB转录因子在杨树环境适应机制中发挥关键作用。PsnMYB108和PagMYB73可通过提高植株对活性氧(ROS)物质的清除能力并促进植株体内脯氨酸的积累来分别提高烟草(*Nicotiana tabacum*)和杨树的耐盐性[9-10];PtoMYB142促进*PtoCER4*和*PtoKCS6*基因表达,使转基因杨树叶片表面的蜡质增多,显著增强其抗旱性[11];PtrMYB94通过促进脱落酸(ABA)合成及上调*PtrABA1*和*PtrDREB2B*等基因的表达来提高杨树的抗旱性[12];PdbMYB6通过增强植物体内活性氧的清除能力、降低气孔开放程度及调控渗透平衡来提高杨树的耐旱性[13];PeRAX2抑制*PeANN1*基因表达,减少叶片Cd^{2+}积累,从而在镉胁迫下维持植株正常生长,稳定其光合作用效率并保持活性氧稳态[14];PagMYB147通过参与调控ROS稳态及水杨酸(SA)和茉莉酸(JA)信号通路正调控杨树对马格栅锈菌(*Melampsora magnusiana*)的抗性[15];过表达*PtoMYB115*基因的杨树对聚生小穴壳菌(*Dothiorella gregaria*)的抗性显著增强[16]。此外,杨树等木本植物R2R3-MYB转录因子同时调控植物的生长发育和抗逆性。PdMYB2R089和PdMYB2R151分别促进转基因拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)根的生长和种子萌发,并显著增强其抗旱性[17];过表达*PagMYB151*基因使杨树的株高和鲜质量显著增加,根系更发达且活力更强,同时增强其耐盐性[18];异源过表达*PtoMYB142*基因的拟南芥植株矮小且生长减缓,但可显著增强其抗旱性[19];过表达*PtrSSR1*基因的拟南芥中*AtNCED3*、*AtABI1*和*AtCBL1*等基因表达上调且内源ABA含量提高,其侧根生长受到抑制,但其耐盐性显著提高[20]。异源过表达*BpMYB4*基因使拟南芥花序茎和侧枝的数量增加,且抑制木质素合成,促进纤维素合成,同时通过提高植株对活性氧的清除能力来减少细胞损伤[21]。

毛果杨(*Populus trichocarpa*)MYB家族共包含354个成员,其中有152个1R-MYB、196个2R-MYB(全部为R2R3-MYB)、5个3R-MYB和1个4R-MYB成员[22]。有关毛果杨R2R3-MYB转录因子PtrMYB002功能的研究仅见于其调控植物次生壁的生物合成[23]。本研究揭示并补充PtrMYB002转录因子在调控拟南芥宏观生长及抗旱性方面的功能,不仅从更多角度挖掘该基因的功能,还为通过基因工程手段培育高抗旱性的杨树品种提供新的基因资源。

1　材料与方法

1.1　试验材料与生长条件

本试验涉及的植物材料有毛果杨、拟南芥、本氏烟草（*Nicotiana benthamiana*）和‘84K’杨（*P. alba×P. glandulosa* ‘84K’）。将继代培养 1 个月的毛果杨微繁苗种植在含有培养基质（*V*（草炭土）∶*V*（蛭石）=2∶1）花盆中，并在北京林业大学苗圃温室（相对湿度在 70% 左右，温度 23~25 ℃，光照强度 200 μmol·m^{-2}·s^{-1}，光周期为 16 h 光照/8 h 黑暗）里培养 5 个月后进行 ABA 喷施处理、干旱处理及 RT-qPCR分析。用于花序侵染的哥伦比亚型（Col-0）拟南芥生长于人工气候箱中（相对湿度在 60% 左右，温度 20~22 ℃，光照强度 150 μmol·m^{-2}·s^{-1}，光周期为 16 h 光照/8 h 黑暗，CO_2 摩尔分数为 500 μmol·mol^{-1}）。用于亚细胞定位试验的本氏烟草生长在光照培养箱中（相对湿度在 50%~60%，温度 20~22 ℃，光照强度 150 μmol·m^{-2}·s^{-1}，光周期为 16 h 光照/8 h 黑暗）。‘84K’杨微繁苗继代于含有木本植物生根培养基（WPM+0.05 mg·L^{-1} IBA+0.05 mg·L^{-1} NAA+30 g·L^{-1} 蔗糖+6 g·L^{-1} 琼脂，pH=5.8）的无菌组培瓶中，并在植物组织培养室（温度 25 ℃左右，光照强度 150 μmol·m^{-2}·s^{-1}，光周期为 16 h 光照/8 h 黑暗）里培养 15~20 d 后用于瞬时转化试验。

1.2　试剂、菌株和仪器

本试验中所使用的 EASYspin Plus 植物（含多糖多酚）RNA 快速提取试剂盒和 2×SybrGreen qPCR Mix 荧光定量酶预混液购自北京艾德莱生物科技有限公司；FastQuant cDNA 第一链合成试剂盒、琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒和质粒提取试剂盒购自天根生化科技有限公司；克隆载体 pMD-18T 和 T4-DNA 连接酶购自 TaKaRa 公司；大肠杆菌（*Escherichia coli*）Top10 菌株和农杆菌（*Agrobacterium tumefaciens*）GV3101 菌株购自上海唯地生物技术有限公司；限制性核酸内切酶 *Sma* Ⅰ 和 *Kpn* Ⅰ 购自 New England Biolabs 公司。本试验中所使用的 CFX96 Real-Time PCR 仪由美国 Bio-Rad 公司生产；LI-6400 便携式光合测定系统由美国内布拉斯加州林肯市 Li-Cor 公司生产；Dual-PAM-100 测定系统由德国埃费尔特里希市瓦尔兹·海因茨有限公司生产；SP-756P 紫外可见分光光度计由上海光谱仪器有限公司生产；DDS-307 电导率仪由上海仪电科学仪器股份有限公司生产；激光共聚焦显微镜 SP8 由德国徕卡公司生产。

1.3　基因克隆和表达载体构建

使用 EASYspin Plus 植物（含多糖多酚）RNA 快速提取试剂盒提取毛果杨全株（即取毛果杨的根、茎和叶组织并混样，下同）的总 RNA，再使用 FastQuant cDNA 第一链合成试剂盒反转录得到 cDNA。以 cDNA 为模板，使用特异性引物 F（5′-ATGAGGAAGCCAGAGGCCTCTG-3′）和 R（5′-ACTTTGGAAATCAAGAGAAGGACAGGC-3′）扩增得到 *PtrMYB002* 基因（基因 ID：Potri.001G258700）全长编码序列。使用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒回收 PCR 产物后连接到克隆载体 pMD-18T 上，并转化到 Top10 菌株中，菌液涂布于含有 100 mg·L^{-1} 氨苄（ampicillin）的 LB 平板上，37 ℃倒置培养 8 h 后，挑取单克隆并进行 PCR 检测，检测结果为阳性的单克隆菌送至生工生物工程股份有限公司测序。

以测序正确的基因片段为模板，通过 PCR 分别在其 5′ 和 3′ 端加上限制性酶切位点 *Sma* Ⅰ 和 *Kpn* Ⅰ，对加上酶切位点的目的基因和改造过的 pCAMBIA1300 载体同时进行双酶切，然后将 *PtrMYB002* 基因全长开放阅读框通过 T4-DNA 连接酶连接到表达载体上并转化大肠杆菌，PCR 检测出阳性单克隆后进行测序。使用质粒提取试剂盒提取测序正确的阳性单克隆菌液里的质粒并转化到 GV3101 菌株中，菌液涂布于含有 100 mg·L^{-1} 卡那霉素（kanamycin）和 50 mg·L^{-1} 利福平（rifampicin）的 YEB 平板上，28 ℃倒置培养 48 h 后，挑取单克隆并进行 PCR 检测，保存 PCR 检测结果为阳性的单克隆菌液，用于转化拟南芥。

1.4　拟南芥遗传转化

采用花序侵染法转化拟南芥[24]，收种后撒播到筛选培养基（1/2 MS+25 mg·L^{-1} hygromycinB+20 g·L^{-1} 蔗糖+6 g·L^{-1} 琼脂，pH=5.8）上，能正常萌发生根的幼苗初步认定为阳性苗。幼苗长大后剪取叶片，使用 CTAB 法提取 DNA，用特异性引物 F（序列同 1.3）和 R1（5′-TCCAGCTTGTGCCCCAGGATG-3′，以 pCAMBIA1300 载体上一段序列为模板所设计的引物）进行 PCR 检测（以 1.3 中包含目的基因的质粒为正对照；以野生型拟南芥的总 DNA 为负对照）。PCR 鉴定为阳性的 T_1 代拟南芥株系自交并通过筛选获得 T_3 代纯合体。

1.5　生物信息学分析

利用 NCBI 网站（https://www.ncbi.nlm.nih.

gov/)的BLAST功能(e-value值设定为1×10^{-10})得到毛果杨、拟南芥、白桦(*Betula platyphylla*)、苹果(*Malus domestica*)、巨桉(*Eucalyptus grandis*)、水稻(*Oryza sativa*)和玉米(*Zea mays*)中与PtrMYB002亲缘关系较近的MYB家族成员的全长氨基酸序列,在MEGA7软件中进行比对并使用NJ(neighbor-joining)法构建系统进化树。使用ESPript 3.0(https://espript.ibcp.fr/ESPript/ESPript/)对PtrMYB002、PtrMYB003、PtrMYB020、PtrMYB021、AtMYB46、AtMYB83、MdMYB46、EgMYB46、BplMYB46、OsMYB83和ZmMYB38的氨基酸序列进行比对并分析保守结构域。利用Plant CARE网站(https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/)分析*PtrMYB002*基因ATG上游2 000 bp长度的启动子区域的顺式作用调控元件。

1.6 基因表达模式分析

利用PlantGenIE.org网站(https://plantgenie.org/)分析*PtrMYB002*基因在干旱、虫害和机械损伤条件下表达水平的变化。

为研究*PtrMYB002*基因在毛果杨不同组织中的表达情况,分别选取生长健康的半年生毛果杨的根、茎和叶(5~8节间,下同)组织进行RT-qPCR分析。

为分析*PtrMYB002*基因对ABA的响应情况,分别选取50 μmol·L^{-1} ABA(同时添加体积分数0.02%的吐温20)喷施处理后0、1、3、6、9 h的半年生毛果杨相同部位的叶片进行RT-qPCR分析。

为探究*PtrMYB002*基因对干旱胁迫的响应情况,将半年生的毛果杨转移到相对湿度为50%左右且温度为25 ℃左右的温室中,浇足水后培养一夜,翌日上午10:00时取叶片为试材(即干旱处理0 d的叶片材料),同时不再继续浇水,开始进行干旱处理,后续再分别选取干旱处理3、6、9 d(每次取材的时间均为上午10:00时)的相同部位的叶片为试材进行RT-qPCR分析。

分别选取干旱处理前后野生型(WT,下同)、过表达株系1(OE-1,下同)和过表达株系2(OE-2,下同)拟南芥全株比较不同基因型拟南芥中响应干旱胁迫相关基因*RD29A*和*DREB2*的表达水平。

提取上述材料的总RNA并反转录为cDNA。使用2×SybrGreen qPCR Mix预混液和特异性引物,在CFX96 Real-Time PCR仪中进行RT-qPCR分析并绘制熔解曲线。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算基因的相对表达量。杨树和拟南芥分别用多聚泛素酶基因(*UBQ*)和肌动蛋白基因2(*Actin2*)作为内参基因,所使用的特异性引物序列见表1。RT-qPCR分析均设置3个以上生物学重复,且每个生物学重复对应至少3次技术重复。

表1 实时荧光定量PCR特异性引物序列

Table 1 Specific primer sequences of real-time fluorescent quantitative PCR

引物名称 Primer name	上游引物序列(5′→3′) Forward primer sequence(5′→3′)	引物名称 Primer name	下游引物序列(5′→3′) Reverse primer sequence(5′→3′)
AtRD29A-F	CGGGATTTGACGGAGAACCA	*AtRD29A*-R	GGTCTCTTCCCAGCTCAGTC
AtDREB2-F	CGAGCAGCCGAAGAAAAGGA	*AtDREB2*-R	GCAGGAACTTTGCGTTTCGG
PagRD29A-F	GCCACAAATGTCATGGCCTC	*PagRD29A*-R	TCGCAGCATTTTGTCCTTGTC
PagDREB2B-F	GTTCTGCGCTTGGGTTTAGC	*PagDREB2B*-R	CTTTCTTCGACCCCTTGCCT
PtrMYB002-F	CGTTAGCAACCTCCATGAAAGC	*PtrMYB002*-R	TCACCACTGTTAAGGACTCCAAC
AtActin2-F	AGTGGTCGTACAACCGGTATTGT	*AtActin2*-R	GATGGCATGAGGAAGAGAGAAAC
PagUBQ-F	AGACCTACACCAAGCCCAAGAAGAT	*PagUBQ*-R	CCAGCACCGCACTCAGCATTAG

1.7 亚细胞定位

根据农杆菌介导的烟草瞬时转化法[25],分别用包含35S:GFP和35S:MYB002-GFP表达载体的农杆菌(菌液OD_{600}=0.8)同时侵染本氏烟草的叶片。先暗处理1 d,再光照培养2 d后,使用激光共聚焦显微镜SP8分别观察GFP蛋白和MYB002-GFP融合蛋白在烟草叶肉细胞中的定位情况。

1.8 不同基因型拟南芥生长情况观察

播种前,先后用75%的乙醇溶液、1%的次氯酸钠溶液和无菌水对拟南芥种子进行消毒和清洗。WT、OE-1和OE-2拟南芥的种子分区域播种于同一1/2 MS(Murashige and Skoog)固体培养基(1/2 MS+20 g·L^{-1}蔗糖+6 g·L^{-1}琼脂,pH=5.8)上,4 ℃避光环境下春化2 d后,放置于人工气候箱(参

数同 1.1）中培养至第 7 天，拍照记录植株生长情况。再将以上拟南芥幼苗转移到装有培养基质（*V*（草炭土）∶*V*（蛭石）∶*V*（珍珠岩）=2∶1∶1）的独立小盆（每盆 5 株幼苗）中继续培养，分别在生育第 15 天与第 40 天观察植株生长情况。使用 ImageJ 1.54 测量拟南芥的子叶面积、下胚轴长度、根长、莲座直径和花薹高度。使用电子天平测量拟南芥地上部分的鲜质量。以上试验中所设置的具体生物学重复详见图注。

1.9　拟南芥干旱处理

对 1.8 中同时期播种并在相同环境下生育至第 15 天的 WT、OE-1 和 OE-2 拟南芥停止浇水，于人工气候箱（相对湿度 40%~50%，温度 20~22 ℃，光照强度 150 μmol·m^{-2}·s^{-1}，光周期为 16 h 光照/8 h 黑暗，CO_2 摩尔分数为 500 μmol·mol^{-1}）中进行为期 15 d 的干旱处理，拍照记录干旱前后的拟南芥。

1.10　光合和荧光参数测定

使用 LI-6400 便携式光合测定系统测量 1.9 中干旱处理前后 WT、OE-1 和 OE-2 拟南芥相同部位叶片的净 CO_2 同化速率、气孔导度和蒸腾速率。测量时，光合有效辐射为 800 μmol·m^{-2}·s^{-1}，外界 CO_2 摩尔分数为 500 μmol·mol^{-1}。使用 Dual-PAM-100 测定系统测量 1.9 中干旱处理前后 WT、OE-1 和 OE-2 拟南芥相同部位叶片的实际光化学效率（Y（Ⅱ））、电子传递速率（ETR）、光化学淬灭系数（qP）和非光化学淬灭系数（NPQ）。每种材料至少 3 个生物学重复。

1.11　叶绿素含量测定

称取 1.9 中干旱处理前后 WT、OE-1 和 OE-2 拟南芥相同部位的叶片约 0.2 g，剪碎后放入装有 10 mL 95% 乙醇溶液的具塞刻度试管中，室温暗处浸提过夜，其间摇动 3~4 次。次日，叶组织全部变白后，适度离心。使用 SP-756P 紫外可见分光光度计分别测量浸提液在 665、649、470 nm 波长处的吸光值，分别计算叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量。每种材料至少 3 个生物学重复。

1.12　相对电导率测定

选取 1.9 中干旱处理前后 WT、OE-1 和 OE-2 拟南芥相同部位的叶片，剪成大小相同的长条（避开主脉），每种材料称取鲜样 0.1 g，分别置于装有 10 mL 去离子水的刻度试管中，室温浸泡处理 12 h 且期间上下颠倒混匀 3 次。使用 DDS-307 电导率仪测定浸提液电导率（R_0），然后于沸水浴中加热 30 min，冷却至室温后摇匀，再次测量电导率（R_1），计算相对电导率=R_0/R_1×100%。每种材料至少 3 个生物学重复。

1.13　瞬时转化‘84K’杨微繁苗

利用真空渗透的方法[26]将空表达载体和携带目的基因 *PtrMYB002* 的表达载体分别瞬时转化半月龄的‘84K’杨微繁苗，室温暗处理 1 d 后，光照培养到 48 h 时整株取材进行 RT-qPCR 分析（方法同 1.6）。

1.14　数据与图像处理

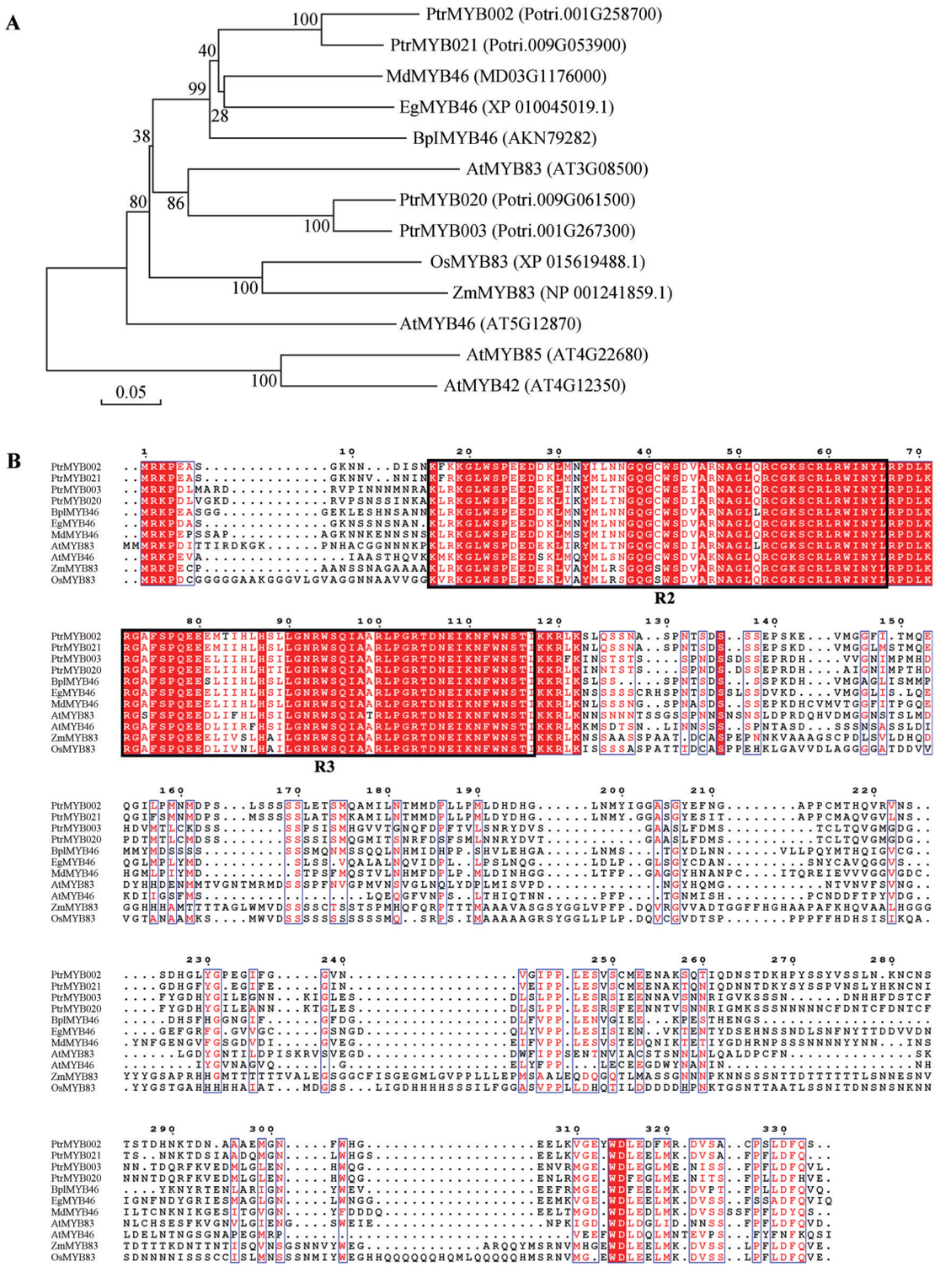
使用 Microsoft Excel 2010 对数据进行统计分析。使用 SPSS 21.0 对数据进行方差分析，采用 Tukey 和 Duncan 法多重比较各组数据之间的差异性。使用 GraphPad Prism 8.3.0 对数据进行可视化处理，所有数据结果均为平均值和标准差，并标记显著性差异。使用 Adobe Photoshop CS6 制图。

2　结果与分析

2.1　*PtrMYB002* 基因生物信息学分析

系统发育树显示（图 1A），这些 MYB 转录因子明显分为 2 个主要分支。其中，AtMYB85 和 AtMYB42 在同一分支上，说明两者亲缘关系较近。另一分支的所有蛋白均与 AtMYB46 同源，表明这些蛋白在进化上高度保守；其中，PtrMYB002 与 EgMYB46、MdMYB46 和 BplMYB46 的亲缘关系更近，功能可能更相似。在毛果杨中，PtrMYB002 和 PtrMYB003 的同源蛋白分别是 PtrMYB021 和 PtrMYB020，且 PtrMYB003 和 PtrMYB020 与 AtMYB83 在进化上更加保守。图 1B 进一步展示了 PtrMYB002 与其同源蛋白的氨基酸序列比对情况，它们都具有 R2R3 保守结构域。

PtrMYB002 基因的启动子上具有 3 个参与干旱诱导性的 MYB 结合位点（MBS），其中 2 个位点的序列均为 GTCAAC，另一个为 CAACCC（图 2A），MBS 是一类能与 MYB 转录因子结合的 DNA 顺式作用元件，干旱诱导性 MBS 的功能是介导植物对干旱胁迫响应基因的表达调控。此外，启动子上还有 3 个参与脱落酸响应的顺式作用元件（ABRE），其中 2 个元件的序列均为 ACGTG，另一个为 GTGCAC（图 2A），ABRE 是植物中响应 ABA 信号的核心顺式作用元件，直接介导 ABA 依赖的基因表达调控。



A.PtrMYB002与其他植物MYB蛋白之间的系统发育树(Md.苹果;Eg.巨桉;Bpl.白桦;At.拟南芥;Os.水稻;Zm.玉米;下同);B.PtrMYB002与其他植物MYB蛋白之间的氨基酸比对(黑色矩形表示R2R3结构域)。

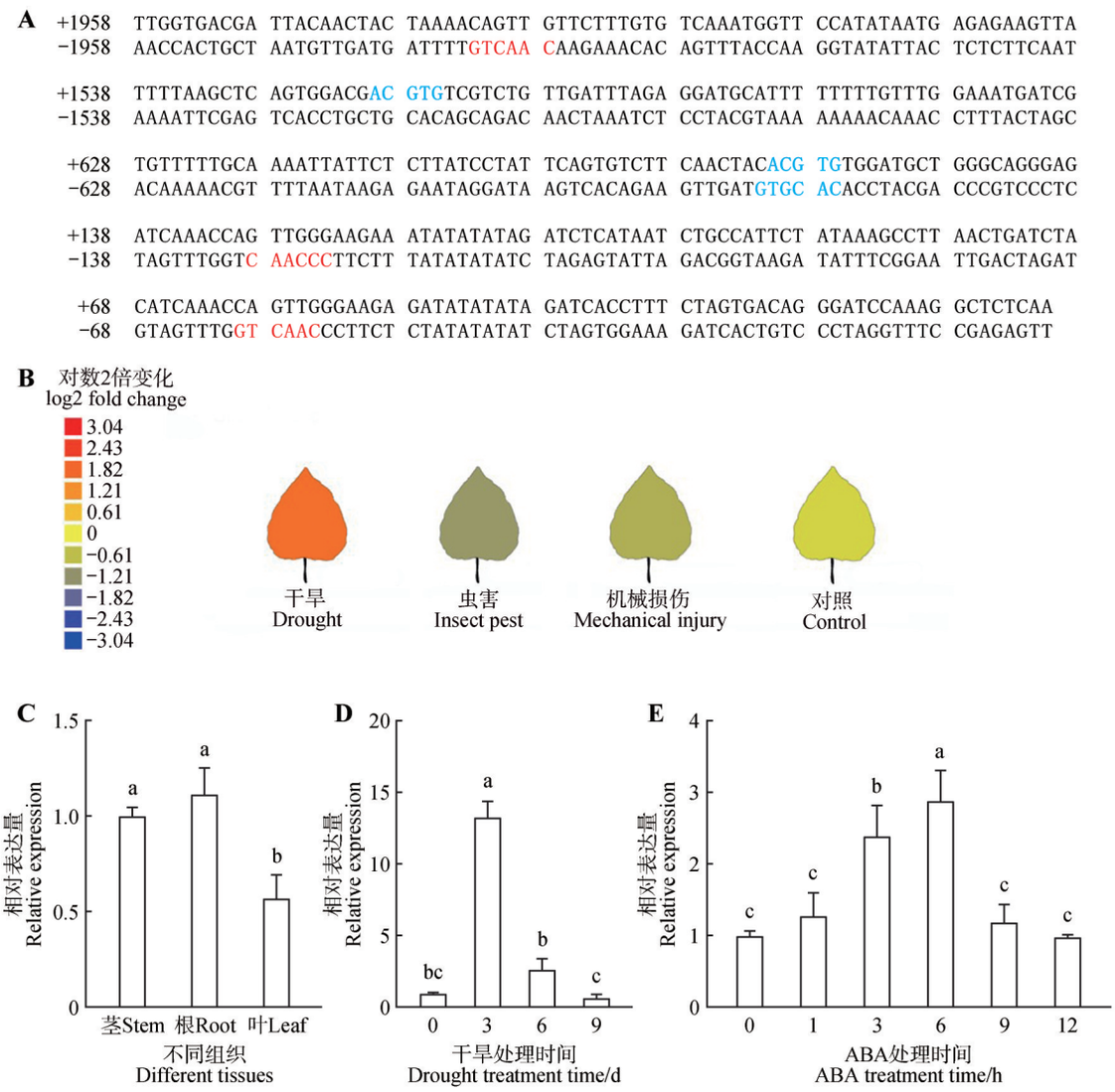
A.Phylogenetic tree between PtrMYB002 and MYB proteins from other plants (Md. *Malus domestica*; Eg. *Eucalyptus grandis*; Bpl. *Betula platyphylla*; At. *Arabidopsis thaliana*; Os. *Oryza sativa*; Zm. *Zea mays*; the same below); B. Amino acid alignment between PtrMYB002 and MYB proteins from other plants (The black rectangle indicated the R2R3 domain).

图1 PtrMYB002与其他植物MYB蛋白之间的系统发育分析和氨基酸比对

Fig.1 Phylogenetic analysis and amino acid alignment between PtrMYB002 and MYB proteins from other plants

2.2　*PtrMYB002* 基因表达模式

PlantGenIE.org 网站的数据显示，与对照组相比，干旱条件下 *PtrMYB002* 基因在毛果杨叶片中上调表达（图 2B）。为进一步验证此结果，本研究对毛果杨进行了干旱处理，RT-qPCR 结果显示，随干旱处理时间的增加，毛果杨叶片中 *PtrMYB002* 基因相对表达水平呈现先升高后下降的趋势，且干旱处理第 3 天的相对表达量达到峰值（图 2D）。除此之外，ABA 喷施处理毛果杨叶片后，*PtrMYB002* 基因相对表达量也呈现先升高后下降



A.*PtrMYB002* 基因启动子区域（ATG 上游 2 000 bp）的部分顺式作用调控元件（红色字体为 MBS 元件：参与干旱诱导性的 MYB 结合位点；蓝色字体为 ABRE 元件：参与脱落酸响应的顺式作用元件）；B. 网站上所显示的 *PtrMYB002* 基因在干旱、虫害和机械损伤时相对于对照组基因表达水平的变化（网址为 https://plantgenie.org/）；C.*PtrMYB002* 基因在毛果杨茎、根和叶中的相对表达水平（n=3）；D. 不同干旱处理时间下毛果杨叶片 *PtrMYB002* 基因相对表达水平（n=3）；E. 50 μmol·L^{-1} ABA 喷施处理毛果杨叶片后不同时间点 *PtrMYB002* 基因相对表达量（n=3）。图 2C~2E 中方差分析的结果使用 Duncan 法进行多重比较。图 2C~2E 中柱子上方的小写字母表示组间差异比较结果（P<0.05），下同。

A. Some *cis*-acting regulatory elements in the promoter region（2 000 bp upstream of ATG）of *PtrMYB002*（the elements in red font were MBS elements：MYB binding site involved in drought-inducibility；the elements in blue font were ABRE elements：*cis*-acting element involved in the abscisic acid responsiveness）；B. Changes in the expression level of *PtrMYB002* under drought，pest infestation，and mechanical damage relative to the control group as shown on the website（the website URL is https://plantgenie.org/）；C. Relative expression levels of *PtrMYB002* in the stems，roots，and leaves of *P. trichocarpa*（n=3）；D. Relative expression levels of *PtrMYB002* in the leaves of *P. trichocarpa* under drought treatment for different days（n=3）；E. Relative expression levels of *PtrMYB002* in the leaves of *P. trichocarpa* at different time points after spraying with 50 μmol·L^{-1} ABA（n=3）. The results of the analysis of variance（ANOVA）for Fig. 2C−2E were subjected to multiple comparisons using the Duncan method. In Fig.2C−2E，the lowercase letters above the bars indicated the results of intergroup difference comparisons（P<0.05），and the same as below.

图 2　*PtrMYB002* 基因启动子区域顺式作用调控元件及表达模式分析

Fig.2　Analysis of *cis*-acting regulatory elements in the promoter region of *PtrMYB002* gene and its expression pattern

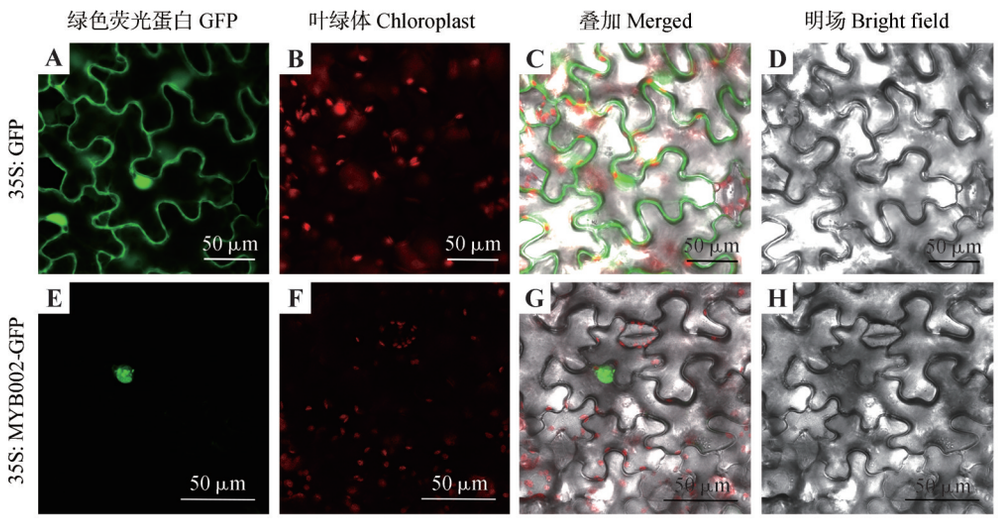
的趋势，且第6小时达到峰值（图2E）。上述结果说明，*PtrMYB002*基因受到干旱胁迫和ABA的诱导表达，不仅验证了图2B的结果，还进一步说明该基因在很大程度上参与调控杨树的抗旱性。另外，*PtrMYB002*基因在毛果杨的根组织和茎组织相对表达量显著高于叶组织（$P<0.05$，图2C）。

2.3 PtrMYB002亚细胞定位

35S：GFP载体瞬时转化烟草后，在叶肉细胞的细胞质及细胞核中均可检测到GFP信号，说明GFP蛋白在整个细胞中均有分布（图3A~3D）。而35S：MYB002-GFP载体瞬时转化烟草后，仅在叶肉细胞的细胞核中检测到GFP信号，说明MYB002-GFP融合蛋白仅在细胞核中分布（图3E~3H）。上述结果表明PtrMYB002定位于细胞核。

2.4 转基因拟南芥PCR鉴定结果

对侵染后并在筛选培养基上正常萌发生长的T_1代植株进行PCR鉴定。如图4所示，有2个株系的DNA产物大小与正对照一致，为阳性株系，分别命名为过表达株系1（OE-1）和过表达株系2（OE-2）。使这2个株系的拟南芥自交并通过筛选获得T_3代纯合株系。

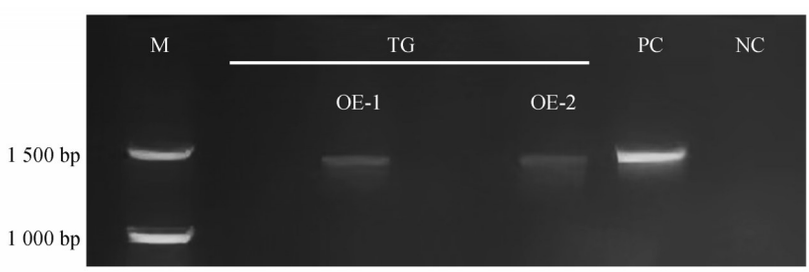


A~D.GFP蛋白在烟草叶肉细胞中的定位情况；E~H. MYB002-GFP融合蛋白在烟草叶肉细胞中的定位情况。

A–D. The localization of GFP protein in tobacco mesophyll cells; E–H. The localization of the MYB002-GFP fusion protein in tobacco mesophyll cells.

图3 PtrMYB002-GFP和GFP的亚细胞定位

Fig.3 Subcellular localization of PtrMYB002-GFP and GFP



M.标记；TG.转基因；PC.正对照；NC.负对照；OE-1.过表达株系1；OE-2.过表达株系2。

M.Marker; TG.Transgenic; PC.Positive control; NC.Negative control; OE-1.Overexpression line 1; OE-2.Overexpression line 2.

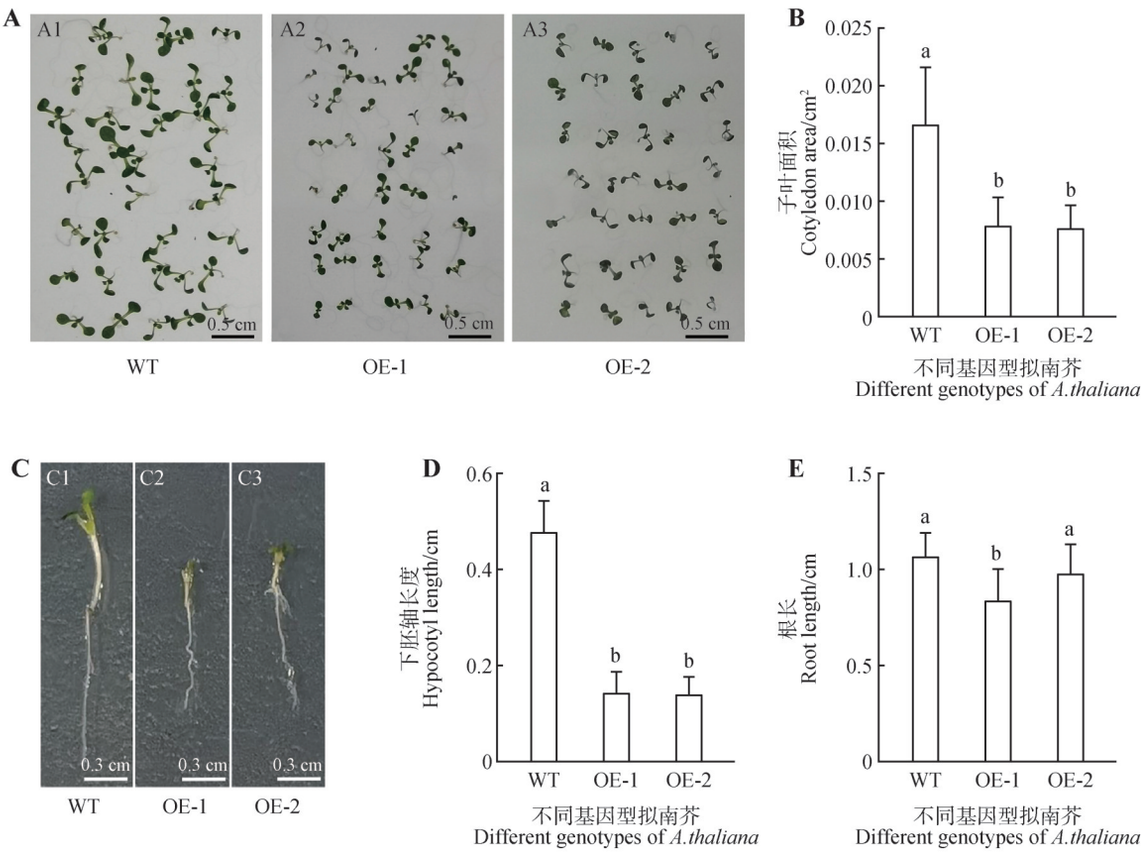
图4 转*PtrMYB002*基因拟南芥的PCR鉴定结果

Fig.4 PCR identification results of *A. thaliana* transformed with the *PtrMYB002* gene

2.5 转基因拟南芥生长表型分析

2.5.1 幼苗期生长表型比较

幼苗期，与WT相比，OE-1和OE-2拟南芥的子叶面积分别减小52.69%和53.89%（图5A、5B），2个过表达株系的下胚轴长度分别减小69.87%（OE-1）和70.50%（OE-2）（图5C、5D），且均差异显著（$P<0.05$）。此外，与WT相比，OE-1和OE-2拟南芥的根长分别减少21.50%和8.41%（图5E），但仅OE-1与WT之间差异显著（$P<0.05$）。



A~B.WT（A1）、OE-1（A2）和 OE-2（A3）拟南芥幼苗子叶面积（A）和比较分析（B）（*n*=20）；C~E.WT（C1）、OE-1（C2）和 OE-2（C3）拟南芥幼苗下胚轴和根长度（C）与比较分析（D 和 E）（*n*=15）。柱状图 5B、5D 和 5E 中方差分析的结果使用 Duncan 法进行多重比较。

A–B. Presentation（A）and comparative analysis（B）of the cotyledon areas of *A. thaliana* seedlings of WT（A1），OE-1（A2）and OE-2（A3）（*n*=20）；C–E. Presentation（C）and comparative analysis（D and E）of the lengths of hypocotyls and roots of *A. thaliana* seedlings of WT（C1），OE-1（C2）and OE-2（C3）（*n*=15）. The results of the analysis of variance（ANOVA）for bar charts B，D，and E were subjected to multiple comparisons using the Duncan method.

图 5　不同基因型拟南芥子叶面积及下胚轴和根长度比较

Fig.5　Comparison of the cotyledon area lengths of hypocotyl and root of *A. thaliana* with different genotypes

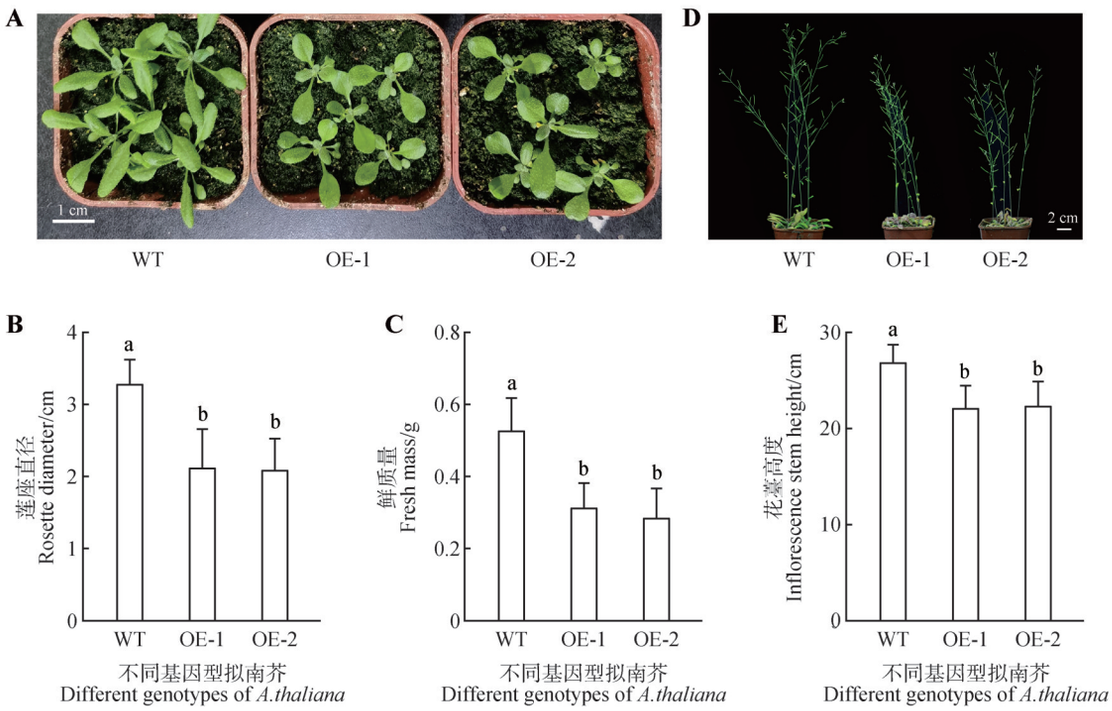
2.5.2　成苗期生长表型比较

在拟南芥未抽薹前，与 WT 相比，OE-1 和 OE-2 拟南芥的莲座直径分别减小 35.45% 和 36.36%（图 6A、6B），2 个过表达株系的地上部分鲜质量分别降低 40.57%（OE-1）和 45.67%（OE-2）（图 6A、6C），且均差异显著（P<0.05）。拟南芥抽薹后，OE-1 和 OE-2 拟南芥花薹高度分别比 WT 低 27.79% 和 28.86%（图 6D、6E），且均具有显著性差异（P<0.05）。

2.6　干旱处理前后不同基因型拟南芥生理指标分析

2.6.1　不同基因型拟南芥叶片光合和荧光参数比较

干旱处理前，WT、OE-1 和 OE-2 拟南芥的净 CO_2 同化速率、气孔导度和蒸腾速率均无显著性差异；但与 WT 相比，OE-1 和 OE-2 拟南芥的气孔导度分别降低 15.27% 和 13.11%，且 OE-1 和 OE-2 拟南芥的蒸腾速率分别比 WT 低 6.18% 和 4.78%（图 7B~7D）。干旱处理后，WT、OE-1 和 OE-2 拟南芥的净 CO_2 同化速率较干旱处理前分别显著下降 40.59%、14.80% 和 24.02%；OE-1 和 OE-2 拟南芥的净 CO_2 同化速率分别比 WT 高 28.45% 和 17.53% 且差异显著（P<0.05，图 7B）。干旱处理后，WT、OE-1 和 OE-2 拟南芥的气孔导度较干旱处理前分别显著降低 80.14%、90.45% 和 88.76%；OE-1 和 OE-2 拟南芥的气孔导度分别比 WT 低 58.99% 和 50.50% 且差异显著（P<0.05，图 7C）。另外，干旱处理后，WT、OE-1 和 OE-2 拟南芥的蒸腾速率分别显著下降 50.30%、76.58% 和 77.99%；OE-1 和 OE-2 拟南芥



A~C.WT、OE-1和OE-2拟南芥幼苗莲座(A)及其直径和地上部分鲜质量比较分析(B和C)(n=15);D~E.WT、OE-1和OE-2拟南芥花薹高度(D)和比较分析(E)(n=25)。柱状图6B、6C和6E中方差分析的结果使用Duncan法进行多重比较。

A–C. Presentation of the rosettes of *A. thaliana* seedlings of WT, OE-1 and OE-2(A), as well as comparative analysis of their rosette diameters and above-ground fresh masses (B and C) (n=15); D–E. Presentation(D) and comparative analysis(E) of the inflorescence stem heights of *A. thaliana* of WT, OE-1 and OE-2(n=25). The results of the analysis of variance(ANOVA) for bar charts B, C, and E were subjected to multiple comparisons using the Duncan method.

图6 不同基因型拟南芥莲座直径、鲜质量和花薹高度比较

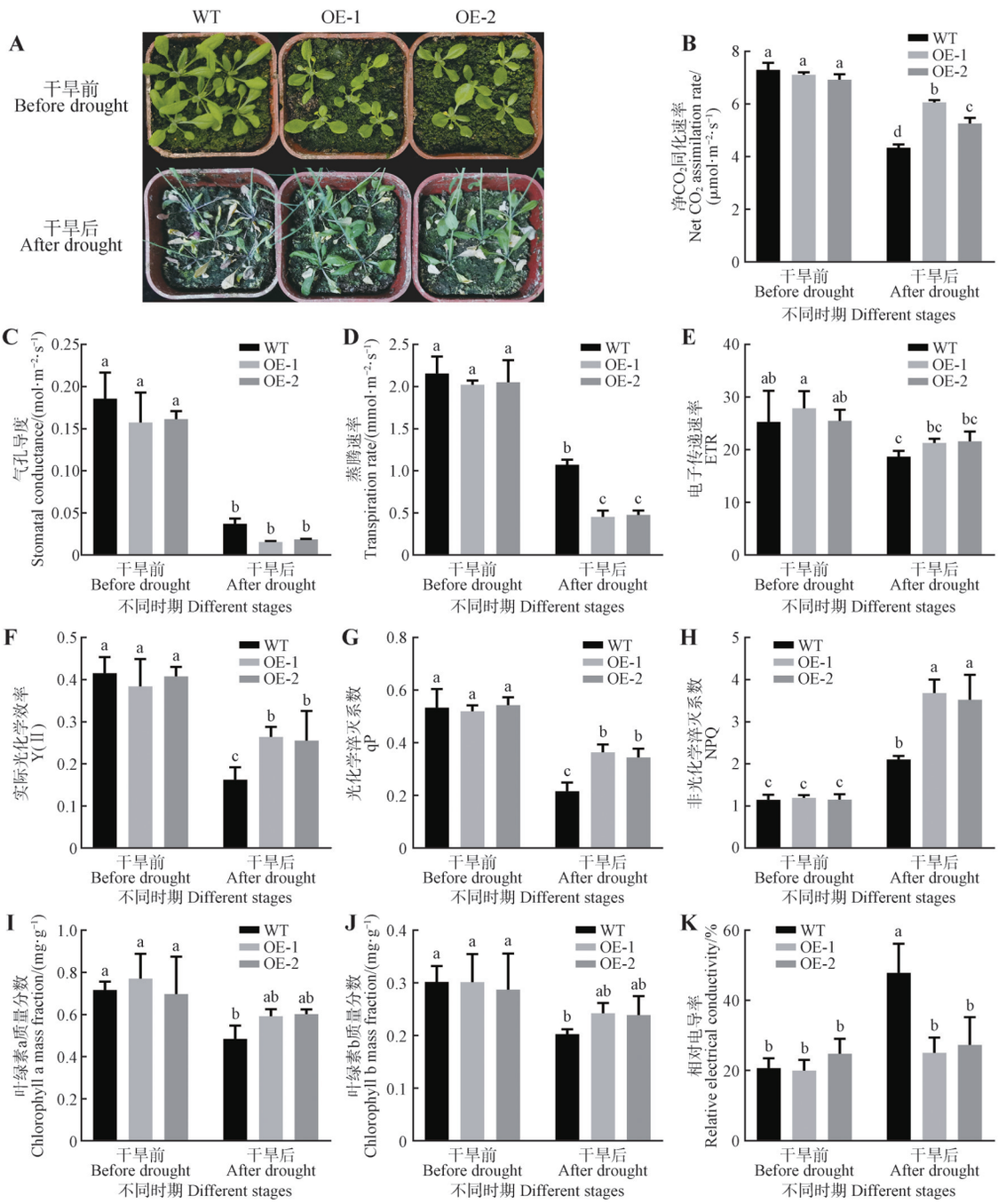
Fig.6 Comparison of the rosette diameters, fresh mass and inflorescence stem heights of *A. thaliana* with different genotypes

的蒸腾速率分别比WT低57.82%和55.79%且差异显著(P<0.05,图7D)。

叶绿素荧光参数结果显示,干旱处理前,WT、OE-1和OE-2拟南芥的ETR、Y(Ⅱ)、qP和NPQ均无显著性差异(图7E~7H)。干旱处理后,OE-1和OE-2拟南芥ETR的降幅(分别为23.65%和15.33%)低于WT(26.29%),且OE-1和OE-2拟南芥的ETR分别比WT高12.26%和13.62%(图7E);OE-1和OE-2拟南芥Y(Ⅱ)的下降幅度(分别为31.27%和37.47%)也低于WT(61.01%),同时OE-1和OE-2拟南芥Y(Ⅱ)分别比WT高38.68%和36.52%且差异显著(P<0.05,图7F);OE-1和OE-2拟南芥qP的降幅(分别为30.08%和36.53%)均低于WT(59.70%),OE-1和OE-2拟南芥的qP分别比WT高40.81%和37.60%且差异显著(P<0.05,图7G);WT、OE-1和OE-2拟南芥的NPQ分别显著上升45.86%、67.78%和67.60%;OE-1和OE-2拟南芥的NPQ分别比WT高42.89%和40.34%且差异显著(P<0.05,图7H)。

2.6.2 不同基因型拟南芥叶片叶绿素含量和电导率比较

干旱处理前,WT、OE-1和OE-2拟南芥叶片的叶绿素a和叶绿素b含量均无显著差异(图7I、7J)。干旱处理后,WT拟南芥叶片叶绿素a含量显著下降32.43%,而OE-1和OE-2叶绿素a含量降幅较小,分别为23.20%和13.59%;OE-1和OE-2拟南芥叶片叶绿素a含量分别比WT高18.24%和19.62%,但无显著性差异(图7I)。干旱处理后,WT拟南芥叶片叶绿素b含量显著降低32.94%,而OE-1和OE-2仅分别仅下降19.76%和16.90%且无显著性差异;OE-1和OE-2拟南芥叶片叶绿素b含量分别比WT高16.38%和15.22%且差异不显著(图7J)。叶片相对电导率的结果表明,干旱处理后,WT拟南芥叶片的相对电导率显著上升56.68%,



A.干旱处理前后WT、OE-1和OE-2拟南芥表型；B~H.干旱处理前后WT、OE-1和OE-2拟南芥叶片光合参数（B.净CO_2同化速率；C.气孔导度；D.蒸腾速率）与荧光参数（E.电子传递速率（ETR）；F.实际光化学效率（Y（Ⅱ））；G.光化学淬灭系数（qP）；H.非光化学淬灭系数（NPQ））的比较分析（n=3）；I~J.干旱处理前后WT、OE-1和OE-2拟南芥叶片叶绿素含量（I.叶绿素a质量分数；J.叶绿素b质量分数）的比较分析（n=3）；K.干旱处理前后WT、OE-1和OE-2拟南芥叶片相对电导率的比较分析（n=3）。所有柱状图中方差分析的结果使用Tukey法进行多重比较。

A.Phenotypes of *A. thaliana* of WT, OE-1 and OE-2 before and after drought treatment; B–H. Comparative analysis of photosynthetic parameters (B. Net CO_2 assimilation rate; C. Stomatal conductance; D. Transpiration rate) and fluorescence parameters (E. Electron transport rate (ETR); F. Actual photochemical efficiency (Y(Ⅱ)); G. Photochemical quenching coefficient (qP); H. Non-photochemical quenching coefficient (NPQ)) of *A. thaliana* of WT, OE-1 and OE-2 before and after drought treatment (n=3); I–J. Comparative analysis of chlorophyll contents in the leaves of *A. thaliana* of WT, OE-1 and OE-2 before and after drought treatment (I. Chlorophyll a mass fraction; J. Chlorophyll b mass fraction) (n=3); K. Comparative analysis of the relative electrical conductivity of the leaves of *A. thaliana* of WT, OE-1 and OE-2 before and after drought treatment (n=3). The results of the analysis of variance (ANOVA) for all bar charts were subjected to multiple comparisons using the Tukey method.

图7　干旱处理前后不同基因型拟南芥生理指标比较分析

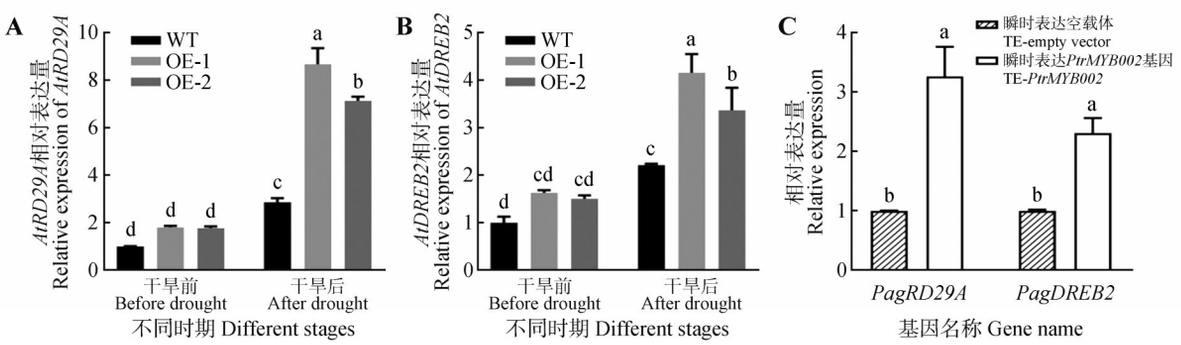
Fig.7　Comparative analysis of physiological indicators in different genotypes of *A. thaliana* before and after drought treatment

而OE-1和OE-2拟南芥叶片的相对电导率增幅不明显，分别为20.22%和9.19%；并且OE-1和OE-2拟南芥叶片的相对电导率分别比WT低47.62%和42.84%且差异显著（P<0.05，图7K）。

2.7 不同基因型拟南芥和‘84K’杨中*RD29A*与*DREB2*基因表达分析

为探讨*PtrMYB002*基因调控拟南芥抗旱性的潜在机理，本研究对干旱处理前后WT、OE-1和OE-2拟南芥中参与干旱胁迫调控的2个关键基因*RD29A*和*DREB2*的表达水平进行分析。干旱处理前，OE-1和OE-2拟南芥*AtRD29A*基因相对表达量分别是WT的1.81倍和1.77倍且*AtDREB2*基因表达水平分别是WT的1.63倍和1.51倍（图8A、8B）。干旱处理后，WT、OE-1和OE-2拟南芥*AtRD29A*和*AtDREB2*基因相对表达量均显著上调；OE-1和OE-2拟南芥*AtRD29A*基因相对表达水平分别是WT的3.03倍和2.49倍且*AtDREB2*基因相对表达水平分别是WT的1.88倍和1.52倍，均具有显著性差异（P<0.05，图8A、8B）。

为研究*PtrMYB002*基因在杨树中是否具有类似的调控功能，分别对瞬时转化空载体和*PtrMYB002*基因的‘84K’杨中与拟南芥同源的*PagRD29A*和*PagDREB2B*基因相对表达水平进行比较分析。与对照组相比，瞬时表达*PtrMYB002*基因的‘84K’杨中上述2个基因相对表达水平分别上调表达3.27倍和2.31倍且差异显著（P<0.05，图8C）。



A~B. 干旱处理前后WT、OE-1和OE-2拟南芥叶片*AtRD29A*（A）和*AtDREB2*（B）基因相对表达水平的比较分析（n=3）；C. 瞬时表达空载体（TE-empty vector）与瞬时表达*PtrMYB002*基因（TE-*PtrMYB002*）的‘84K’杨叶片*PagRD29A*和*PagDREB2*基因相对表达量的比较分析（n=3）。所有柱状图中方差分析的结果使用Tukey法进行多重比较。

A–B. Comparative analysis of the expression levels of *AtRD29A*（A）and *AtDREB2*（B）in *A. thaliana* of WT，OE-1 and OE-2 before and after drought treatment（n=3）；C. Comparative analysis of relative expression levels of *PagRD29A* and *PagDREB2* genes in ‘84K’ poplar leaves subjected to transient expression of the empty vector（TE-empty vector）and of the *PtrMYB002* gene（TE-*PtrMYB002*）（n=3）. The results of the analysis of variance（ANOVA）for all bar charts were subjected to multiple comparisons using the Tukey method.

图8 不同基因型拟南芥与瞬时转化‘84K’杨叶片*RD29A*和*DREB2*基因表达分析

Fig.8 Expression analysis of *RD29A* and *DREB2* genes in different genotypes of *A. thaliana* and transiently transformed ‘84K’ poplar leaves

3 讨论

本研究发现，PtrMYB002是一个响应干旱胁迫和ABA信号的R2R3-MYB转录因子。过表达*PtrMYB002*基因显著抑制拟南芥生长并增强其抗旱性，且其抗旱调控机制在杨树中可能具有一定的保守性。

生物信息学分析表明，PtrMYB002与调控植物次生壁发育且兼有影响植物抗逆性的转录因子MYB46蛋白同源[27-28]。此外，*PtrMYB002*基因启动子区域含有3个MBS和3个ABRE元件，二者分别是植物响应干旱胁迫和ABA信号的核心顺式作用调控元件[29-30]。同时，干旱处理和ABA处理均诱导*PtrMYB002*基因表达。亚细胞定位结果显示，PtrMYB002-GFP融合蛋白仅定位于细胞核，这符合转录因子通过核定位调控靶基因表达的功能特性。综上，*PtrMYB002*基因序列特征、表达模式与定位情况均指向其作为R2R3-MYB转录因子参与调控植物抗旱性的功能。

过表达*PtrMYB002*基因显著抑制拟南芥生长，这与PtoMYB142、PtrSSR1、VyMYB24和SmMYB52等不同植物R2R3-MYB转录因子抑制植物生长的作用有相似之处[19-20, 31-32]。PtrMYB002

的生长抑制效应可能与激素信号的交叉调控有关。ABA既调控植物的抗逆性，也影响植物的生长发育，它可通过抑制赤霉素或生长素的合成及下调细胞周期相关基因（如 *CDKB2*；*2* 和 *CYCB1*；*1* 等）来延缓植物生长[33-35]。本研究发现，*PtrMYB002* 基因受ABA诱导表达，该基因在拟南芥中过表达可能会进一步激活ABA信号下游通路，强化ABA对拟南芥生长的抑制作用。此外，本研究表明，PtrMYB002在拟南芥和杨树中可分别上调 *AtDREB2* 和 *PagDREB2B* 基因表达，其介导的生长抑制作用可能与OsDREB2B通过赤霉素代谢负调控水稻株高类似[36]。同时，PtrMYB002可能直接调控生长相关的靶基因来抑制植物生长。例如，GhMYB4通过抑制 *GhLTP4* 和 *GhSWEET12* 基因表达负调控棉花（*Gossypium hirsutum*）纤维细胞伸长[37]；GhMYB86直接靶标并促进 *GhTUB7* 基因表达，导致纤维中微管异位排列，从而抑制棉花纤维伸长[38]。PtrMYB002或许通过抑制类似基因的表达来减少细胞伸长与器官扩展。

过表达 *PtrMYB002* 基因显著提高拟南芥抗旱性。从生理层面看，干旱胁迫下，过表达株系的光合系统稳定性、水分保持能力及细胞膜完整性均显著优于WT：（1）干旱处理后，过表达株系的净 CO_2 同化速率显著高于WT，且其Y（Ⅱ）、qP下降幅度更小，而NPQ升高幅度更大。这表明PtrMYB002可通过增强过剩光能的耗散能力，减少干旱导致的光损伤来保护光系统Ⅱ，这与VyMYB24和MsMYB58等通过维持光合效率提升植物抗旱性的功能类似[39-40]。（2）过表达株系的气孔导度与蒸腾速率在干旱处理后均显著低于WT，说明PtrMYB002可通过促进气孔关闭减少水分散失，这与PtoMYB170和PdbMYB6等通过促进气孔关闭提高植物抗旱性的功能相似[12,41]。（3）干旱处理后，过表达株系的相对电导率远低于WT，且叶绿素a和b降解程度更小，表明PtrMYB002可缓解干旱导致的细胞膜破裂与光合色素降解。从分子层面看，PtrMYB002通过上调干旱响应关键基因 *DREB2* 和 *RD29A* 的表达发挥作用，这与MdMYB46直接激活 *MdRD29A* 等基因的转录及PtrMYB94上调 *PtrDREB2B* 等基因的表达相似[12,42]。干旱处理后，过表达株系中 *AtRD29A* 与 *AtDREB2* 基因相对表达量显著高于WT。DREB2是AP2/ERF家族核心成员，可结合下游许多抗旱基因（如 *RD29A* 等）启动子上的DRE元件，广泛参与调控不同植物对干旱胁迫的响应[43-45]。更重要的是，瞬时表达 *PtrMYB002* 基因的‘84K’杨中，*PagRD29A* 和 *PagDREB2B* 基因相对表达量显著高于对照组，表明PtrMYB002对干旱胁迫响应通路的调控作用在杨树中可能具有一定的保守性。

PtrMYB002同时调控植物的生长与抗旱性，其介导的“生长与防御权衡”是植物长期进化形成的适应性策略，为杨树抗旱育种提供了精准调控的思路[46]。PtrMYB002可能通过抑制植物生长减少对能量和物质的消耗，从而在干旱胁迫时将资源优先分配给抗旱相关通路，比如激活 *DREB2* 和 *RD29A* 等基因表达来增强植物的抗旱性。植物在启动防御响应时常以牺牲生长和繁殖为代价，此策略在干旱事件频发的背景下具有重要适应价值[46]。但从育种角度看，生长抑制可能导致杨树生物量降低，影响其木材产量。因此，需通过调控 *PtrMYB002* 基因表达时空特异性平衡生长与抗旱。例如，使用干旱诱导型启动子（如 *RD29A* 等基因的启动子）替代组成型35S启动子，使 *PtrMYB002* 基因仅在干旱胁迫时超表达，减少其在非干旱条件下的生长抑制效应[47]。此外，不同R2R3-MYB的生长与防御调控模式存在差异：PdMYB2R089和PagMYB151等既促进植物生长，又提高抗旱性[17-18]；而PtrMYB002、PtoMYB142和PtrSSR1等抑制植物生长并提高抗逆性[19-20]。原因可能在于R2R3-MYB靶基因的特异性，有的R2R3-MYB可能同时激活生长促进基因与防御基因的表达，而有的则优先激活防御基因却抑制生长促进基因的表达。

为验证 *PtrMYB002* 基因在杨树抗旱育种中的应用潜力，还需进一步通过稳定转化杨树来明确其功能。此外，需明确PtrMYB002的靶基因与互作蛋白，深入解析其调控抗旱性的分子机制；并利用基因编辑等前沿技术进行功能验证，从而为精准培育兼具抗旱性与高生物量的杨树新品种奠定坚实的理论基础与技术支撑。

参　考　文　献

[1] GUPTA A，RICO-MEDINA A，CAÑO-DELGADO A I. The physiology of plant responses to drought[J].Science，2020，368（6488）：266-269.

[2] BARBETA 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]. Global Change Biology, 2015, 21(3):1213-1225.

[3] YU D D, JANZ D, ZIENKIEWICZ K, *et al*. Wood formation under severe drought invokes adjustment of the hormonal and transcriptional landscape in poplar[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(18):9899.

[4] SUN S J, HE C X, QIU L F, *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.

[5] WILKINS O, NAHAL H, FOONG J, *et al*. Expansion and diversification of the *Populus* R2R3-MYB family of transcription factors[J]. Plant Physiology, 2009, 149(2):981-993.

[6] DUBOS C, STRACKE R, GROTEWOLD E, *et al*. MYB transcription factors in *Arabidopsis*[J]. Trends in Plant Science, 2010, 15(10):573-581.

[7] CHEN Z, LU X Y, LI Q Z, *et al*. Systematic analysis of *MYB* gene family in *Acer rubrum* and functional characterization of *ArMYB89* in regulating anthocyanin biosynthesis[J]. Journal of Experimental Botany, 2021, 72(18):6319-6335.

[8] 王浩田,蒋景龙,王倩,等.R2R3-MYB转录因子响应植物抗逆机制研究进展[J/OL].分子植物育种,(2023-08-10)[2025-09-15]. https://link. cnki. net/urlid/46.1068. S. 2023 0810.1507.012.
WANG H T, JIANG J L, WANG Q, *et al*. Research progress on the mechanism of R2R3-MYB transcription factors in response to plant stress tolerance[J/OL]. Molecular Plant Breeding, (2023-08-10)[2025-09-15]. https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20230810.1507.012.

[9] ZHAO K, CHENG Z H, GUO Q, *et al*. Characterization of the poplar R2R3-MYB gene family and over-expression of *PsnMYB108* confers salt tolerance in transgenic tobacco[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11:571881.

[10] 赵凯.84K杨转录因子PagMYB73调控耐盐胁迫的分子机理研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2021.
ZHAO K. Molecular mechanism of transcription factor PagMYB73 in regulation of salt stress tolerance in *Populus alba* × *P. glandulosa*[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2021.

[11] SONG Q, KONG L F, YANG X R, *et al*. PtoMYB142, a poplar R2R3-MYB transcription factor, contributes to drought tolerance by regulating wax biosynthesis[J]. Tree Physiology, 2022, 42(10):2133-2147.

[12] FANG Q, WANG X Q, WANG H Y, *et al*. The poplar R2R3 MYB transcription factor *PtrMYB94* coordinates with abscisic acid signaling to improve drought tolerance in plants[J]. Tree physiology, 2020, 40(1):46-59.

[13] YAN M L, LI X X, JI X Y, *et al*. An R2R3-MYB transcription factor PdbMYB6 enhances drought tolerance by mediating reactive oxygen species scavenging, osmotic balance, and stomatal opening[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2025, 220:109536.

[14] YAN C X, DONG K Y, ZHANG Y N, *et al*. *Populus euphratica* PeRAX2 interacts with the *PeANN1* promoter to regulate gene expression and cadmium tolerance[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2025, 227:110152.

[15] WANG B, XIONG C W, PENG Z J, *et al*. Genome-wide analysis of R2R3-MYB transcription factors in poplar and functional validation of PagMYB147 in defense against *Melampsora magnusiana*[J]. Planta, 2024, 260(2):47.

[16] WANG L J, RAN L Y, HOU Y S, *et al*. The transcription factor MYB115 contributes to the regulation of proanthocyanidin biosynthesis and enhances fungal resistance in poplar[J]. New Phytologist, 2017, 215(1):351-367.

[17] ZHANG X L, WANG H R, CHEN Y, *et al*. The over-expression of two *R2R3-MYB* genes, *PdMYB2R089* and *PdMYB2R151*, increases the drought-resistant capacity of transgenic *Arabidopsis*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(17):13466.

[18] HU J, ZOU S Q, HUANG J J, *et al*. PagMYB151 facilitates proline accumulation to enhance salt tolerance of poplar[J]. BMC Genomics, 2023, 24(1):345.

[19] 宋琴.杨树转录因子PtoMYB142调控干旱胁迫的分子机制研究[D].重庆:西南大学,2022.
SONG Q. The molecular mechanism of transcription factor PtoMYB142 involved in drought resistance in poplar[D]. Chongqing: Southwest University, 2022.

[20] FANG Q, JIANG T Z, XU L X, *et al*. A salt-stress-regulator from the poplar R2R3 MYB family integrates the regulation of lateral root emergence and ABA signaling to mediate salt stress tolerance in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2017, 114:100-110.

[21] YU Y, LIU H Z, ZHANG N, *et al*. The BpMYB4 transcription factor from *Betula platyphylla* contributes toward abiotic stress resistance and secondary cell wall biosynthesis[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 11:606062.

[22] YANG X Y, 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.

[23] ZHONG R Q, MCCARTHY R L, HAGHIGHAT M, *et al*. The poplar MYB master switches bind to the SMRE site and activate the secondary wall biosynthetic program during wood formation[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e69219.

[24] ZHANG X R, HENRIQUES R, LIN S S, *et al*. *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana* using the floral dip method[J]. Nature Protocols, 2006, 1(2): 641-646.

[25] CUI X F, FAN B F, SCHOLZ J, *et al*. Roles of *Arabidopsis* cyclin-dependent kinase C complexes in cauliflower mosaic virus infection, plant growth, and development[J]. The Plant Cell, 2007, 19(4): 1388-1402.

[26] ZHOU Y Y, ZHANG Y, WANG X W, *et al*. Root-specific NF-Y family transcription factor, PdNF-YB21, positively regulates root growth and drought resistance by abscisic acid-mediated indoylacetic acid transport in *Populus*[J]. New Phytologist, 2020, 227(2): 407-426.

[27] GUO H Y, WANG Y C, WANG L Q, *et al*. Expression of the MYB transcription factor gene *BplMYB46* affects abiotic stress tolerance and secondary cell wall deposition in *Betula platyphylla*[J]. Plant Biotechnology Journal, 2017, 15(1): 107-121.

[28] JING S R, WANG Y X, SONG Y Y, *et al*. Dual regulation of cuticle and cell wall biosynthesis by *BnaC9. MYB46* confers drought tolerance in *Brassica napus*[J]. Plant Biotechnology Journal, 2025, 23(11): 5335-5350.

[29] 刘永惠，沈一，沈悦，等. 花生干旱诱导型启动子 *AhMYB44-11-Pro* 的克隆与功能分析[J]. 作物学报, 2024, 50(9): 2157-2166.
LIU Y H, SHEN Y, SHEN Y, *et al*. Cloning and functional analysis of drought-inducible promoter *AhMYB44-11-Pro* in peanut (*Arachis hypogaea* L.)[J]. Acta Agronomica Sinica, 2024, 50(9): 2157-2166.

[30] XU Z W, WANG M P, GUO Z T, *et al*. Identification of a 119-bp promoter of the maize sulfite oxidase gene (*ZmSO*) that confers high-level gene expression and ABA or drought inducibility in transgenic plants[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(13): 3326.

[31] ZHU Z G, QUAN R, CHEN G X, *et al*. An R2R3-MYB transcription factor VyMYB24, isolated from wild grape *Vitis yanshanesis* J.X.Chen., regulates the plant development and confers the tolerance to drought[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 966641.

[32] YANG R, WANG S S, ZOU H L, *et al*. R2R3-MYB transcription factor SmMYB52 positively regulates biosynthesis of salvianolic acid B and inhibits root growth in *Salvia miltiorrhiza*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(17): 9538.

[33] 戚义东，秦华，高雅迪，等. 脱落酸拮抗赤霉素抑制水稻地上部生长的研究[J]. 生物技术进展, 2019, 9(5): 483-489.
QI Y D, QIN H, GAO Y D, *et al*. Study on antagonizing regulation of shoot growth by abscisic acid and gibberellic acid in rice[J]. Current Biotechnology, 2019, 9(5): 483-489.

[34] DUBOIS M. Cycling with brakes: ABA-INSENSITIVE4 controls cell cycle arrest in the root meristem[J]. Plant Physiology, 2023, 191(1): 9-11.

[35] LUO X F, XU J H, ZHENG C, *et al*. Abscisic acid inhibits primary root growth by impairing ABI4-mediated cell cycle and auxin biosynthesis[J]. Plant Physiology, 2023, 191(1): 265-279.

[36] MA Z M, JIN Y M, WU T, *et al*. OsDREB2B, an AP2/ERF transcription factor, negatively regulates plant height by conferring GA metabolism in rice[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 1007811.

[37] DUAN Y J, SHANG X G, WU R X, *et al*. The transcription factor GhMYB4 represses lipid transfer and sucrose transporter genes and inhibits fiber cell elongation in cotton[J]. Plant Physiology, 2025, 197(1): kiae637.

[38] XU F, LI G M, HE S Y, *et al*. Sphingolipid inhibitor response gene *GhMYB86* controls fiber elongation by regulating microtubule arrangement[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2024, 66(9): 1898-1914.

[39] 全冉. 中国野生燕山葡萄 *VyMYB24* 基因抗旱功能研究[D]. 新乡：河南科技学院, 2022.
QUAN R. Study on drought resistance function of *VyMYB24* gene in *Vitis yeshanensis*[D]. Xinxiang: Henan Institute of Science and Technology, 2022.

[40] 刘佳，王少鹏，史昆，等. 紫花苜蓿 *MsMYB58* 基因克隆及抗旱功能鉴定[J]. 草地学报, 2023, 31(12): 3608-3616.
LIU J, WANG S P, SHI K, *et al*. Cloning and function identification of *MsMYB58* in alfalfa under drought stress[J]. Acta Agrestia Sinica, 2023, 31(12): 3608-3616.

[41] 刘瑞. 杨树 PtoMYB170 转录因子在次生壁合成调控及抗旱中的功能研究[D]. 重庆：西南大学, 2016.
LIU R. PtoMYB170 positively regulates secondary cell

wall formation in transgenic poplar and confers drought tolerance in transgenic *Arabidopsis*[D].Chongqing:Southwest University,2016.

[42] CHEN K Q, SONG M R, GUO Y N, *et al*. MdMYB46 could enhance salt and osmotic stress tolerance in apple by directly activating stress-responsive signals[J]. Plant Biotechnology Journal,2019,17(12):2341-2355.

[43] 刘坤,李国婧,杨杞.参与植物非生物逆境响应的DREB/CBF转录因子研究进展[J].生物技术通报,2022,38(5):201-214.
LIU K, LI G J, YANG Q. Research progress in DREB/CBF transcription factor involved in responses in plant to abiotic stress[J]. Biotechnology Bulletin, 2022, 38(5): 201-214.

[44] ZHANG T T, LIN Y J, LIU H F, *et al*.The AP2/ERF transcription factor MdDREB2A regulates nitrogen utilisation and sucrose transport under drought stress [J]. Plant, Cell & Environment, 2024, 47(5): 1668-1684.

[45] LIU W S, SIKORA E, PARK S W. Plant growth-promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* CR1, upregulates dehydration-responsive genes, *RD29A* and *RD29B*, during priming drought tolerance in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2020, 156: 146-154.

[46] KARASOV T L, CHAE E, HERMAN J J, *et al*. Mechanisms to mitigate the trade-off between growth and defense[J].The Plant Cell, 2017, 29(4): 666-680.

[47] 刘玉玲,王梦瑶,孙琦,等.启动子RD29A对转雪莲*SikCDPK1*基因烟草抗逆性的影响[J].生物技术通报,2023,39(9):168-175.
LIU Y L, WANG M Y, SUN Q, *et al*. Effect of RD29A promoter on the stress resistance of transgenic tobacco with *SikCDPK1* gene from *Saussurea involucrata*[J]. Biotechnology Bulletin, 2023, 39(9): 168-175.