北京林业大学学报
JOURNAL OF BEIJING FORESTRY UNIVERSITY

山新杨*PdaGLK*1基因在盐胁迫响应中的功能研究

张成良 赵鑫 王福森 邢政华 刘博雅 王超

Functional study of *PdaGLK*1 gene in salt stress response of *Populus davidiana* × *Populus alba* var. *pyramidalis*

Zhang Chengliang, Zhao Xin, Wang Fusen, Xing Zhenghua, Liu Boya, Wang Chao

引用本文:
张成良, 赵鑫, 王福森, 邢政华, 刘博雅, 王超. 山新杨*PdaGLK*1基因在盐胁迫响应中的功能研究[J]. 北京林业大学学报, 2025, 47(7):11–20. doi: 10.12171/j.1000–1522.20240440
Zhang Chengliang, Zhao Xin, Wang Fusen, Xing Zhenghua, Liu Boya, Wang Chao. Functional study of *PdaGLK*1 gene in salt stress response of *Populus davidiana* × *Populus alba* var. *pyramidalis*[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2025, 47(7):11–20. doi: 10.12171/j.1000–1522.20240440

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20240440

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

山新杨谷胱甘肽S–转移酶编码基因*PdbGSTU*功能分析

Functional analysis of encoding gene *PdbGSTU* for glutathione S–transferase in *Populus davidiana* × *P. bolleana*

北京林业大学学报, 2024, 46(8): 68–78. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20240020

紫花苜蓿*MsGOLS*2基因的克隆及功能鉴定

Cloning and functional identification of *MsGOLS*2 gene in *Medicago sativa*

北京林业大学学报, 2025, 47(6): 111–122. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20240433

‘84K’杨组氨酸激酶基因*PaHK*3*a*的表达及功能分析

Expression and function analysis of histidine kinase gene *PaHK*3*a* of poplar ‘84K’

北京林业大学学报, 2021, 43(2): 46–53. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200070

白桦*BpPAT*1基因的表达模式及耐盐性分析

Expression patterns and salt tolerance analysis of *BpPAT*1 gene in *Betula platyphylla*

北京林业大学学报, 2021, 43(10): 18–27. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200302

青*PwUSP*1基因特征及对干旱和盐胁迫的响应

Characteristics of *PwUSP*1 in *Picea wilsonii* and its response to drought and salt stress

北京林业大学学报, 2020, 42(10): 62–70. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200063

过表达细叶百合*LpNAC*6基因增强烟草的耐盐性

Overexpression of *LpNAC*6 gene in *Lilium pumilum* enhancing salt tolerance in transgenic tobacco

北京林业大学学报, 2020, 42(4): 69–79. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20190342

DOI:10.12171/j.1000−1522.20240440

山新杨 *PdaGLK*1 基因在盐胁迫响应中的功能研究

张成良[1] 赵 鑫[1] 王福森[2] 邢政华[2] 刘博雅[1] 王 超[1]
（1. 林木遗传育种全国重点实验室，东北林业大学林学院，黑龙江 哈尔滨 150040；2. 黑龙江省林业科学院齐齐哈尔分院，黑龙江 齐齐哈尔 161005）

摘要:【目的】G2-like（Golden 2-Like/GLK）转录因子，是 MYB 类转录因子中 GARP 超家族的重要成员，在植物生长发育过程中发挥关键作用。本研究通过探究 *PdaGLK*1 基因在山新杨盐胁迫响应过程中的功能，旨在为揭示山新杨的耐盐分子调控机制奠定理论基础，为林木抗逆分子育种提供关键的候选基因资源。**【方法】**通过农杆菌介导的叶盘法获得 *PdaGLK*1 基因稳定转化的山新杨过表达和抑制表达株系。在 NaCl 胁迫条件下，观察各株系表型的变化，并对各株系进行组织化学染色和抗逆生理指标的测定，从表型、活性氧清除能力和细胞完整性方面探究 *PdaGLK*1 基因在山新杨响应盐胁迫过程中的功能。**【结果】**（1）经抗性筛选和 PCR 鉴定获得 2 个 *PdaGLK*1 基因过表达株系（OE1、OE2）和 2 个 *PdaGLK*1 基因抑制表达株系（IE1、IE2）。qRT-PCR 结果显示，OE1、OE2 基因表达量分别为野生型的 25.16 和 24.79 倍，IE1、IE2 基因表达量为野生型的 12.85% 和 11.92%，可用于后续实验。（2）NaCl 胁迫处理后，*PdaGLK*1 抑制表达株系的生长受到了严重的抑制作用，叶片变黄、枯萎、脱落，且鲜质量的下降程度明显大于野生型；而过表达株系未受到明显的生长抑制作用，鲜质量的下降程度低于野生型和抑制表达株系，表明 *PdaGLK*1 基因的表达可以增强山新杨对盐胁迫的耐受性。（3）盐胁迫下，过表达 *PdaGLK*1 株系中活性氧积累较少，抗氧化酶的活性高于野生型和抑制表达株系，丙二醛含量和相对电导率均低于野生型和抑制表达株系，细胞损伤程度减轻。**【结论】***PdaGLK*1 基因能够通过提高体内活性氧清除能力，减少细胞损伤，保持细胞完整性，进而提高山新杨对盐胁迫的适应能力。本研究不仅为解析山新杨的 *PdaGLK*1 基因功能提供了重要依据，并为山新杨耐盐种质资源的创新与改良提供了关键的候选基因资源。

关键词：山新杨；*PdaGLK*1 基因；盐胁迫；功能分析；转基因；基因表达
中图分类号：S763.1 **文献标志码：**A **文章编号：**1000−1522(2025)07−0011−10
引文格式：张成良，赵鑫，王福森，等. 山新杨 *PdaGLK*1 基因在盐胁迫响应中的功能研究［J］. 北京林业大学学报，2025，47(7)：11−20. Zhang Chengliang, Zhao Xin, Wang Fusen, et al. Functional study of *PdaGLK*1 gene in salt stress response of *Populus davidiana* × *Populus alba* var. *pyramidalis*［J］. Journal of Beijing Forestry University, 2025, 47(7): 11−20.

Functional study of *PdaGLK*1 gene in salt stress response of *Populus davidiana* × *Populus alba* var. *pyramidalis*

Zhang Chengliang[1] Zhao Xin[1] Wang Fusen[2] Xing Zhenghua[2] Liu Boya[1] Wang Chao[1]
(1. National Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China;
2. Qiqihar Branch of Heilongjiang Academy of Forestry, Qiqihar 161005, Heilongjiang, China)

Abstract:［**Objective**］G2-like (Golden 2-Like/GLK) transcription factors, as important members of GARP superfamily in MYB-like transcription factors, play a key role in plant growth and development. This study aims to explore the function of *PdaGLK*1 gene in salt stress response of *Populus davidiana* × *Populus alba* var. *pyramidalis*, so as to lay a theoretical foundation for revealing the molecular regulatory mechanism of

收稿日期: 2024−12−17 **修回日期:** 2025−03−13
基金项目: 科技创新 2030-重大项目（2023ZD0405603）。
第一作者: 张成良。主要研究方向：林木遗传育种。Email：zhangcl001001@163.com 地址：150040 黑龙江省哈尔滨市香坊区和兴路 26 号东北林业大学林学院。
责任作者: 王超，博士，副教授。主要研究方向：林木遗传育种。Email：wzyrgm@163.com 地址：同上。
本刊网址: http://j.bjfu.edu.cn；http://journal.bjfu.edu.cn

salt tolerance in *Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis* and provide key candidate gene resources for stress-resistant molecular breeding of forest trees. [**Method**] Stably transformed overexpression and repression expression plants of *Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis* with the *PdaGLK*1 gene were obtained by *Agrobacterium*-mediated leaf disc method. Under NaCl stress conditions, the phenotypic changes of each line were observed, and histochemical staining and determination of stress-resistant physiological indexes were carried out for each line to explore the function of *PdaGLK*1 gene in salt stress response of *Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis* from the aspects of phenotype, reactive oxygen species (ROS) scavenging capacity, and cell integrity. [**Result**] (1) Two overexpression lines (OE1, OE2) and two repression expression lines (IE1, IE2) of *PdaGLK*1 gene were obtained through resistance screening and PCR identification. The qRT-PCR results showed that gene expression levels of OE1, OE2 were 25.16 and 24.79 times of wild type, respectively, and the gene expression levels of IE1, IE2 were 12.85% and 11.92% of wild type. (2) After NaCl stress treatment, the growth of *Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis* with repressed expression of *PdaGLK*1 was severely inhibited, with yellowing, wilting, and shedding of leaves, and the decrease in fresh mass was significantly greater than wild type; while the overexpressed *Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis* was not significantly inhibited in growth, and the decrease in fresh mass was lower than wild type and repression expression plants, indicating that the expression of *PdaGLK*1 gene can enhance salt stress tolerance of *Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis*. (3) Under salt stress, the overexpressed *Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis* plants with *PdaGLK*1 gene had less ROS accumulation, higher antioxidant enzyme activities than the wild type and repression expression plants, and lower malondialdehyde (MDA) content and relative electrical conductivity than wild type and repression expression plants, with reduced cell damage. [**Conclusion**] The *PdaGLK*1 gene can improve salt stress adaptability of *Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis* by enhancing in vivo ROS scavenging capacity, reducing cell damage, and maintaining cell integrity. This study not only provides an important basis for analyzing the function of *PdaGLK*1 gene in *Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis*, but also provides key candidate gene resources for the innovation and improvement of salt-tolerant germplasm resources of *Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis*.

Key words: *Populus davidiana* × *Populus alba* var. *pyramidalis*; *PdaGLK*1 gene; salt stress; function analysis; transgenosis; gene expression

土地盐渍化问题日益严峻，已成为限制农林业生产的主要因素之一。高浓度的盐胁迫会诱导植物体内活性氧(ROS)大量积累，过量的 ROS 会引起膜质过氧化以及蛋白质、核酸等大分子的氧化损伤，破坏细胞膜完整性，严重时将导致植物死亡[1]。在长期自然选择作用下，植物进化出复杂的生理及分子机制应对盐胁迫环境。当植物遭受盐胁迫时，其体内转录因子会通过促进或者抑制下游基因的转录，形成精密的分子调控网络，共同抵抗逆境胁迫对其造成的损伤，维持自身正常的生命活动[2]。目前，bZIP、MYB、NAC、bHLH、WRKY 等转录因子，已经被证实在植物逆境胁迫应答过程中发挥重要作用[3]。因此，挖掘并鉴定抗逆相关的转录因子，对于利用基因工程进行植物抗逆遗传改良具有重要意义。

Golden2-Like(GLK)是 MYB 类转录因子中 GARP 转录因子超家族的成员[4]。大多数 GLK 转录因子包含 1 个 Myb-DNA 结合域(包含 1 个 HLH 基序)和 1 个 C 末端结构域(包含 1 个保守的 GCT-box)[5]。GLK 最早于 1926 年由美国科学家 Jenkins 在玉米(*Zea mays*)中发现[6]，随后在拟南芥[7](*Arabidopsis thaliana*)、番茄[8](*Solanum lycopersicum*)、水稻[9](*Oryza sativa*)等多种植物中也相继发现其存在。大量研究[10]表明，GLK 家族在植物果实品质、叶绿体发育、光合作用、花青素合成等方面发挥重要功能。郭姚淼等[11]研究发现，甜瓜(*Cucumis melo*) *CmGLK* 基因通过调控可溶性糖和有机酸代谢来影响果实品质。过表达 *AchGLKF* 可增加未成熟的番茄果实叶绿素 a/b 的含量，增加叶绿体、质体、基质片层数量。转基因番茄成熟后，番茄红素，β-类胡萝卜素以及总类胡萝卜素，葡萄糖、果糖、蔗糖以及可溶性固形物的含量均显著上升，果实品质提高[12]。GLK 转录因子与植物叶绿体发育和光合作用也密切相关。GLKs 以依赖于 G-盒结合因子(G-box binding factor，GBF)的方式直接调控类胡萝卜素的生物合

成[13]。在水稻中，*OsGLK*1 可以与 *OsGSK*2 互作，调控水稻叶绿素合成和叶绿体发育[14]。在 *IPS*1 缺失功能水稻突变体中，*GLKs* 可与光合相关基因（*Lhca*1、*Lhcb*2、*Chl*27、*PsaD*）的启动子结合，上调其表达，进而促进叶绿体发育，提高植株光合作用和产量[15]。赵峥烜等[16]在连翘（*Forsythia suspensa*）中鉴定到 *GLK* 基因家族并发现 *FsGLK* 基因是黄叶型连翘呈色及响应光照度的关键基因。在水稻中过表达玉米 *ZmGLK*1 基因，转基因植株叶绿素、叶黄素含量及与光合作用相关的蛋白复合体等均较野生型明显提高，光抑制减轻，抵御高光的能力增强，光系统 II 效率进一步提高，同时转基因植株的气孔导度较大，且光合效率的提升使得光合产物糖和淀粉的含量显著升高[17]。此外，*GLK* 是拟南芥花青素合成的正调控因子，过表达 *AtGLK*1 和 *AtGLK*2 均能促进转基因拟南芥幼苗花青素的积累，同时花青素合成和调控相关基因的表达水平显著升高[18]。

GLK 不仅可调控植物的生长发育，还参与植物多种逆境胁迫应答过程。启动子元件分析结果表明，*GLK* 基因家族包含许多与非生物胁迫响应相关的元件[19]。在葡萄（*Vitis vinifera*）中，46 个 VvGLK 成员分别定位表达于细胞核、叶绿体、细胞质和过氧化物酶体，其启动子区域含多种逆境应答顺式作用元件[20]。茶树 *CsGLK*54 在低温胁迫下可正向调节 *NbPOD* 和 *NbSOD* 基因的转录水平，增加 POD 和 SOD 酶活性，降低 MDA 含量，进而减轻细胞损伤[21]。甘蓝型油菜（*Brassica napus*）*GLK* 家族基因启动子中也包含多种激素和非生物胁迫相关的顺式作用元件，有 8 个 *BnaGLKs* 成员在叶片中高表达，表明它们可能参与油菜抗旱、耐盐过程[22]。枇杷（*Eriobotrya japonica*）*EjGLK*1 的异源表达可以增强拟南芥的抗寒能力，在冷冻胁迫下，与对照相比，*EjGLK*1 沉默后的枇杷植株光合作用相关基因显著下调，证明 *EjGLK*1 基因在维持枇杷冷冻胁迫下的正常光合作用过程中起到重要作用[23]。在拟南芥中，*AtGLK*1/*AtGLK*2 双突变体在其种子萌发和幼苗发育期间对脱落酸（ABA）高度敏感，并且在幼苗发育期间表现出对渗透胁迫的抗性[24]。以上研究表明，GLK 转录因子在植物应对多种逆境胁迫时发挥正向调控作用。

杨树（*Populus* spp.）凭借生长迅速、防风固沙能力强、抗逆性强等众多优点，在植树造林、林产品生产加工、保持水土、防风固沙、减少土地荒漠化等方面应用广泛，成为我国改善生态环境的优良树种之一[25]。目前，关于 *GLK* 在杨树盐胁迫响应过程中作用机制尚不清楚。前期课题组从山新杨中鉴定到 1 个盐胁迫诱导的 *GLK* 基因 *PdaGLK*1，在此基础上，本研究拟通过农杆菌介导的叶盘法稳定转化山新杨（*Populus davidiana* × *Populus alba* var. *pyramidalis*），获得 *PdaGLK*1 过表达和抑制表达植株，对比分析野生型植株和转基因植株在盐胁迫下的表型及抗逆性等生理生化指标变化，旨在解析山新杨 *PdaGLK*1 在盐胁迫响应过程中的功能，研究结果将为揭示山新杨的耐盐分子调控机制奠定理论基础，并为山新杨的抗逆分子设计育种、耐盐种质资源的培育改良提供重要的基因资源。

1　材料与方法

1.1　植物材料

本实验所用山新杨组培苗由东北林业大学林木遗传育种全国重点实验室提供。山新杨组培苗在人工气候室内培养，培养条件为温度（22 ± 2）℃，光照时间 16 h 光照/8 h 黑暗，光照强度 400 μmol/（m^2·s），相对湿度 65% ~ 75%。选取正常生长的山新杨野生型和转基因组培苗移栽至泥炭土、珍珠岩和蛭石体积比为 3∶1∶1 的混合基质中，在温度（24 ± 2）℃、相对湿度 70% 的温室中培养，光照周期和光照强度同上。

1.2　研究方法

1.2.1　过表达载体的构建

根据山新杨 *PdaGLK*1 基因序列（1 026 bp）设计克隆引物 *PdaGLK*1-F 和 *PdaGLK*1-R，构建 pMD18-T-*PdaGLK*1 克隆载体。选用 pROK Ⅱ作为本实验过表达载体，引入 *Xba*I 与 *Sac*I 位点，设计引物 pROK Ⅱ-*PdaGLK*1-F 和 pROK Ⅱ-*PdaGLK*1-R（表 1）。以 pMD18-T-*PdaGLK*1 质粒为模板，PCR 扩增 *PdaGLK*1 基因。将目的基因用 T4 连接酶连接到 pROKII 载体上，转化大肠杆菌 TOP10。对阳性克隆进行鉴定，构建重组载体质粒 pROK Ⅱ-*PdaGLK*1，转化农杆菌 EHA105，选取阳性单克隆菌落，使用载体引物 pROKII-F、pROKII-R（表 1）进行 PCR 检测，检测成功后保存菌种备用。

1.2.2　抑制表达载体的构建

选用 pFGC5941 作为抑制表达载体，避开 *GLK* 基因保守结构域，选取 *PdaGLK*1 基因特异性序列 223 bp 左右片段，将 *PdaGLK*1 基因序列插入于抑制表达载体的两侧，使其形成发夹结构从而抑制 *PdaGLK*1 的表达。根据山新杨 *PdaGLK*1 基因序列，引入 *Nco*I 与 *Swa*I 酶切位点，设计正义基因片段引物 pFGC5941-*PdaGLK*1-Cis-F 和 pFGC5941-*PdaGLK*1-Cis-R（表 1）。将 *PdaGLK*1 基因正义链片段连接到 pFGC5941 载体上，使用载体引物

表 1 试验所用引物

Tab. 1 Primers used in the experiment

引物名称	序列(5′—3′)	用途
*PdaGLK*1-F	ATGACAATGGATCCCATCAATGGAGG	基因克隆
*PdaGLK*1-R	CTAAACATCACTGCCTGAAACTTTCTCC	
pROKII-F	AGACGTTCCAACCACGTCTT	载体构建
pROKII-R	CCAGTGAATTCCCGATCTAG	
pROKⅡ-*PdaGLK*1-F	TGCTCTAGAATGACAATGGATCCCATCAATGG	
pROKⅡ-*PdaGLK*1-R	CGAGCTCCTAAACATCACTGCCTGAAAC	
pFGC5941-Cis-F	ATAAGGAAGTTCATTTCATTTG	
pFGC5941-Cis-R	CAATCAAATGAAGAGCCAAT	
pFGC5941-*PdaGLK*1-Cis-F	CATGCCATGGATCACCCCTCCAAGACAAGG	
pFGC5941-*PdaGLK*1-Cis-R	GGCCATTTAAATGAGTATCTGGTGTGTAAGAACC	
pFGC5941-Anti-F	CTTACTTACACTTGCCTTGGAG	
pFGC5941-Anti-R	ATCTGAGCTACACATGCTCAG	
pFGC5941-*PdaGLK*1-Anti-F	CGGGATCCGAGTATCTGGTGTGTAAGAACC	
pFGC5941-*PdaGLK*1-Anti-R	CCGATTTAAATATCACCCCTCCAAGACAAGG	
*PdaEF*1-α-DL-F	TGGGTCGTGTTGAAACTGGTGT	实时荧光定量PCR
*PdaEF*1-α-DL-R	GGCAGGATCGTCCTTGGAGTTC	
Pdaactin-DL-F	GCTGAGAGATTCCGTTGCCCTG	
Pdaactin -DL-R	GGCGGTGATCTCCTTGCTCATT	
*PdaGLK*1-DL-F	TGCCCCAACTTCTGAATCACCCCTCC	
*PdaGLK*1-DL-R	TACCCAGGAAGGCAGAGTGTGGTCGT	

pFGC5941-Cis-F、pFGC5941-Cis-R 对阳性克隆进行鉴定，构建重组载体 pFGC5941-*PdaGLK*1-Cis。提取重组载体 pFGC5941-*PdaGLK*1-Cis 质粒。通过引入 *BamH*Ⅰ 和 *Sma*Ⅰ 酶切位点分别设计引物 pFGC5941-*PdaGLK*1-Anti-F 和 pFGC5941-*PdaGLK*1-Anti-R（表 1）。依照上述方法将 *PdaGLK*1 Anti 端干扰片段反向构建到 pFGC5941-*PdaGLK*1-Cis 载体上。测序验证重组载体质粒，并命名为 pFGC5941-*PdaGLK*1，转化农杆菌 EHA105，选取阳性单克隆菌落，使用载体引物 pFGC5941-Anti-F、pFGC5941-Anti-R（表 1）进行 PCR 检测，检测成功后保存菌种备用。

1.2.3 山新杨的遗传转化及转基因植株的鉴定

使用农杆菌介导的叶盘法将植物过表达载体 EHA105-pROKⅡ-*PdaGLK*1、抑制表达载体 EHA105-pFGC5941-*PdaGLK*1 分别转化野生型山新杨。在含卡那霉素的培养基上筛选抗性芽，将阳性植株继代培养，并逐代进行 DNA 鉴定，最后得到 *PdaGLK*1 基因过表达和抑制表达的转基因山新杨植株。

1.2.4 *PdaGLK*1 基因表达分析

选取生长状态正常的山新杨野生型、2 个长势良好的转基因过表达株系和抑制表达株系作为实验材料进行扩繁培养，使用植物总 RNA 提取试剂盒提取各株系山新杨总 RNA，使用反转录试剂盒反转录得到 cDNA，于−20 ℃ 冰箱中保存。以转基因植株 cDNA 为模板，山新杨 *Pdaactin* 和 *PdaEF*1-α 为内参基因，设计 *PdaGLK*1 的定量上游引物 *PdaGLK*1-DL-F 和下游引物 *PdaGLK*1-DL-R（表 1），进行实时荧光定量 PCR（RT-qPCR），对表达量进行验证。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算基因相对表达量，并对结果进行对数转化[26]，验证成功后移入土壤中用于后续实验。

1.2.5 转基因山新杨耐盐性分析

1.2.5.1 表型分析

幼苗在土壤中生长 8 周后，选取生长良好、长势均一的山新杨野生型、过表达以及抑制表达株系各 5 株，用 200 mmol/L NaCl 溶液进行盐胁迫处理 6 d，以盐胁迫前的各株系植株为对照，观察其表型、株高以及鲜质量变化，并计算株高下降率和质量下降率。

1.2.5.2 活性氧清除能力和细胞膜完整性分析

将各株系山新杨组培苗用 200 mmol/L NaCl 溶液水培处理 12 h，以正常水培的各株系山新杨为对照。为了比较盐胁迫后各株系活性氧的清除能力，取山新杨顶部第 3 片叶片进行 NBT、DAB 组织化学染色，取第 4 片叶片进行过氧化氢（H_2O_2）含量、过氧化物酶（POD）以及超氧化物歧化酶（SOD）的活性

测定。为了评估盐胁迫后各株系细胞膜的受损程度，取山新杨顶部第 3 片叶片进行 Evans Blue 组织化学染色，取第 4 片叶片进行丙二醛（MDA）含量以及相对电导率等生理指标的测定，具体测定步骤参照赵鑫[27]研究。每组样本包含 10 株山新杨植株，每个试验进行 3 次生物学重复和 3 次技术重复。

1.3　数据分析

使用 Excel 2019 进行数据整理，SPSS 23.0 软件进行单因素方差分析。

2　结果与分析

2.1　*PdaGLK*1 植物表达载体构建及农杆菌转化

PCR 检测结果（图 1）显示，电泳条带与预期长度一致。提取质粒进行测序，经过序列比对与 *PdaGLK*1 基因序列一致，说明过表达载体 pROKⅡ-*PdaGLK*1 和抑制表达载体 pFGC5941-*PdaGLK*1 构建成功。

2.2　*PdaGLK*1 转基因山新杨的获得及鉴定

为了进一步研究 *PdaGLK*1 基因的功能，通过农杆菌介导的叶盘法转化山新杨。经过抗性培养基筛选后，挑选了长势良好的 2 个过表达抗性株系和 2 个抑制表达抗性株系。以野生型基因组 DNA 为阴性对照，提取抗性植株基因组 DNA 进行 PCR 检测，PCR 条带长度与预计基因片段长度一致且条带单一（图 2A，2B）。初步鉴定 4 个株系均为转基因植株，将 2 个过表达株系命名为 OE1、OE2，将 2 个抑制表达株系命名为 IE1、IE2。

RT-qPCR 结果显示（图 2C）：过表达株系 OE1、OE2 中，*PdaGLK*1 的表达量均上调，分别是对照的 25.16 和 24.79 倍；在抑制表达株系 IE1、IE2 中，*PdaGLK*1 的表达量均下调表达，其表达量分别是对照的 12.85% 和 11.92%。以上结果证实，已经获得 *PdaGLK*1 过表达和抑制表达稳定转化山新杨植株，可用于后续试验。

2.3　转基因山新杨耐盐分析

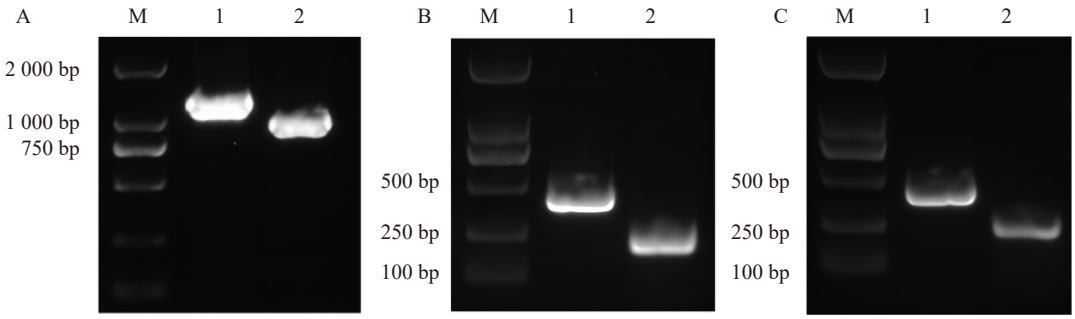
盐胁迫下，*PdaGLK*1 抑制表达山新杨植株的叶片出现明显的变黄、卷曲、枯萎，下部的叶片出现脱落的现象；野生型山新杨植株仅中下部少量叶片边缘出现发黄和卷曲的现象；而过表达山新杨植株的生长则未受到盐胁迫明显的抑制作用（图 3A）。

在盐胁迫后，各转基因株系的株高下降率（处理前后）与野生型相比无显著差异；过表达株系的鲜质量下降率显著低于野生型株系，而抑制表达株系的鲜质量下降率显著高于野生型株系（图 3B，3C）。以上结果表明，盐胁迫会抑制山新杨的生长，与野生型相比，过表达 *PdaGLK*1 会增加山新杨对盐胁迫的耐受性，而抑制表达 *PdaGLK*1 会增强山新杨对盐胁迫的敏感性，并降低其耐受性。

2.4　盐胁迫下各株系活性氧清除能力分析

盐胁迫处理前，经 NBT、DAB 染色后，不同株系的染色程度均没有明显差异；盐胁迫处理后，各株系的叶片均被染色，但着色深浅各有不同。抑制表达株系植株的叶片染色最深，野生型株系植株次之，过表达株系植株的叶片染色程度最浅（图 4A，4B），这表明盐胁迫处理后，过表达株系植株内 O_2^- 离子、H_2O_2 含量较少，而抑制表达株系植株内 O_2^- 离子、H_2O_2 含量较多。推测 *PdaGLK*1 基因的过表达会有效清除细胞内 O_2^- 的积累，减少山新杨体内的 H_2O_2 含量，避免细胞损伤，进而提高植株的耐盐能力。

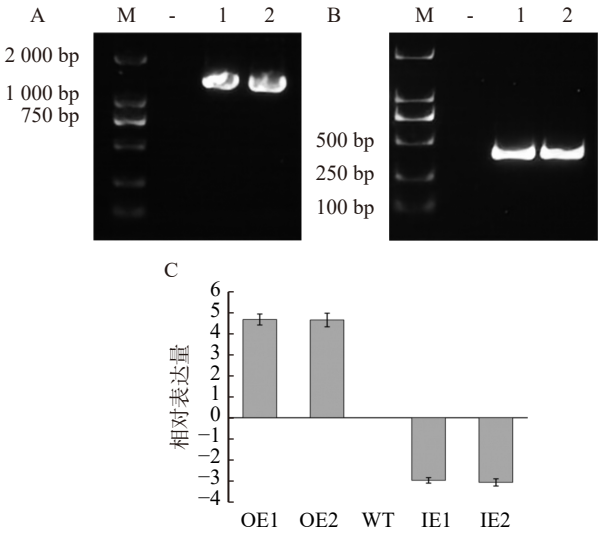
对盐胁迫处理前后各株系 H_2O_2 含量、POD、SOD 酶活性进行测定。盐胁迫处理前，各株系植株 H_2O_2 含量、POD、SOD 的活性均没有明显差异。盐胁迫处理后，各株系细胞内 H_2O_2 含量均明显上升，其中，过表达株系植株细胞内 H_2O_2 的含量显著低于野生型株系植株，过表达株系植株的 POD、SOD 活性均显著大于野生型株系植株；而抑制表达株系植株细胞内 H_2O_2 的含量均高于野生型株系植株，POD、SOD 活性均低于野生型株系植株（图 4C ~ E）。以上



A 图为植物过表达载体构建，M 为 DL2000 Marker，1 为过表达载体 PCR 产物，2 为基因阳性对照（1 026 bp）。B 图为抑制表达载体 Cis 端构建，1 为 Cis 端 PCR 产物，2 为基因阳性对照（223 bp）；C 为抑制表达载体 Anti 端构建，1 为 Anti 端 PCR 产物，2 为基因阳性对照（223 bp）。

图 1　植物表达载体的构建

Fig. 1　Construction of plant expression vector



A 图为过表达转基因植株 DNA 检测，-为阴性对照，1 和 2 为筛选的转基因过表达抗性株系；B 图为抑制表达转基因植株 DNA 检测，-为阴性对照，1 和 2 为筛选的转基因抑制表达抗性株系；C 图为转基因植株中 *PdaGLK*1 基因的表达量，图中数据已进行对数转化。

图 2 转基因植株 PCR 检测及 *PdaGLK*1 基因表达分析

Fig. 2 PCR detection and expression analysis of *PdaGLK*1 gene in transgenic plants

结果表明，*PdaGLK*1 基因的过表达能够提高 POD、SOD 酶的活性，从而增加植株清除体内活性氧的能力，进而提高自身的耐盐能力。

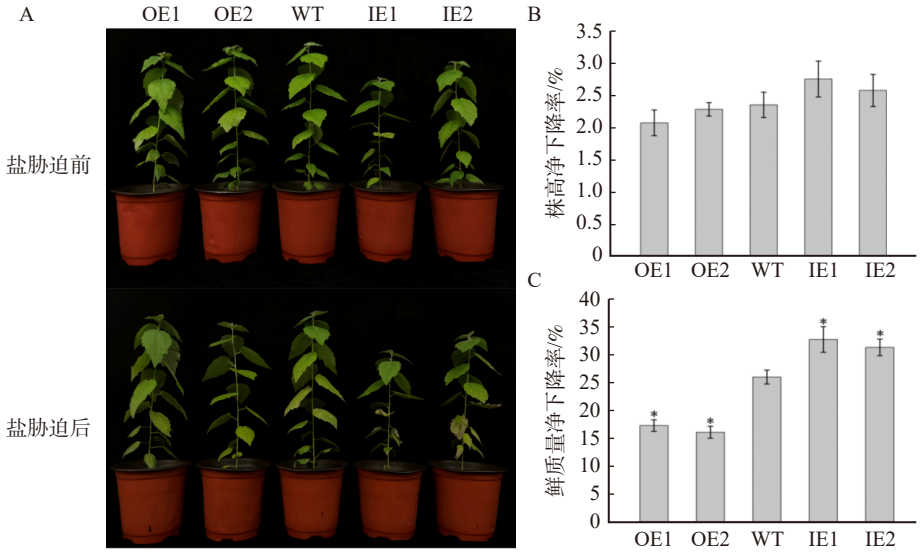
2.5 盐胁迫下转基因山新杨细胞膜完整性分析

盐胁迫处理前，各株系植株叶片不能被 Evans Blue 染成蓝色，表明正常生长的植株叶片细胞未受到损伤。盐胁迫处理后，各株系植株叶片均被 Evans Blue 染成蓝色，过表达株系植株叶片的染色程度最浅（图 5A），表明过表达株系植株的叶片细胞受到的损伤最小、细胞膜完整性最好。抑制表达株系植株的叶片染色程度最深，表明其细胞受到的损伤最大、细胞膜完整性最差。

盐胁迫处理前，各株系的 MDA 含量和相对电导率均无明显差异。在盐胁迫处理后，各株系细胞内 MDA 含量明显上升，电导率明显升高。其中，过表达株系植株细胞内 MDA 含量、相对电导率均显著低于野生型株系植株，而抑制表达株系植株细胞内 MDA 的含量、相对电导率均高于野生型株系植株（图 5B，5C）。以上结果表明，*PdaGLK*1 基因可以有效地抵御盐胁迫对山新杨植株造成的细胞损伤，提高杨树的耐盐能力。

3 讨 论

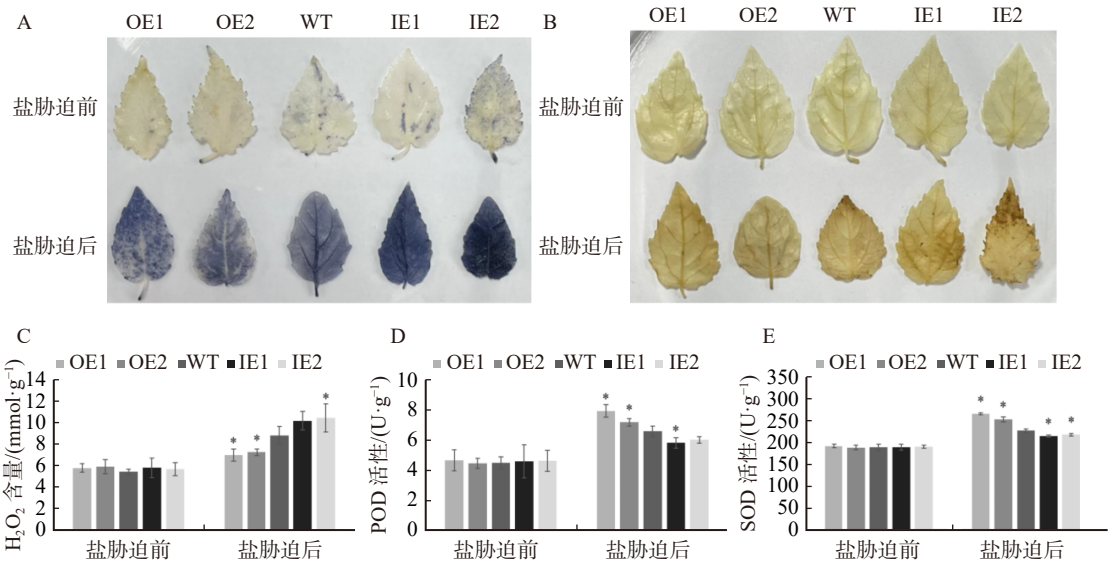
随着全球环境的不断变化和人类不合理的生产活动，盐碱地的面积日益扩大。盐胁迫会导致植物细胞内离子平衡紊乱、渗透胁迫加剧，进而引发氧化应激反应与细胞膜系统损伤，最终导致植物死亡。杨树是我国主要用材林树种，在植树造林和生态修复等领域发挥着关键作用，具有较高的生态价值和经济价值。但是，高浓度的盐胁迫严重威胁着杨树的生长发育，制约着杨树的种植范围及生产应用。因此，筛选杨树耐盐基因并探索其耐盐机制，对于杨树的抗逆遗传改良具有重要意义。前期研究中，课题组从山新杨中鉴定出一个盐胁迫诱导的 *GLK* 基因 *PdaGLK*1。在此基础上，本研究将 *PdaGLK*1 基因转入山新杨，探究其在山新杨盐胁迫响应过程中的



A. 盐胁迫前后各株系表型变化；B. 盐胁迫前后不同株系株高下降率；C. 盐胁迫前后不同株系鲜质量下降率。*表示与野生型相比具有显著差异（$p < 0.05$）。下同。

图 3 盐胁迫处理下不同株系耐盐性分析

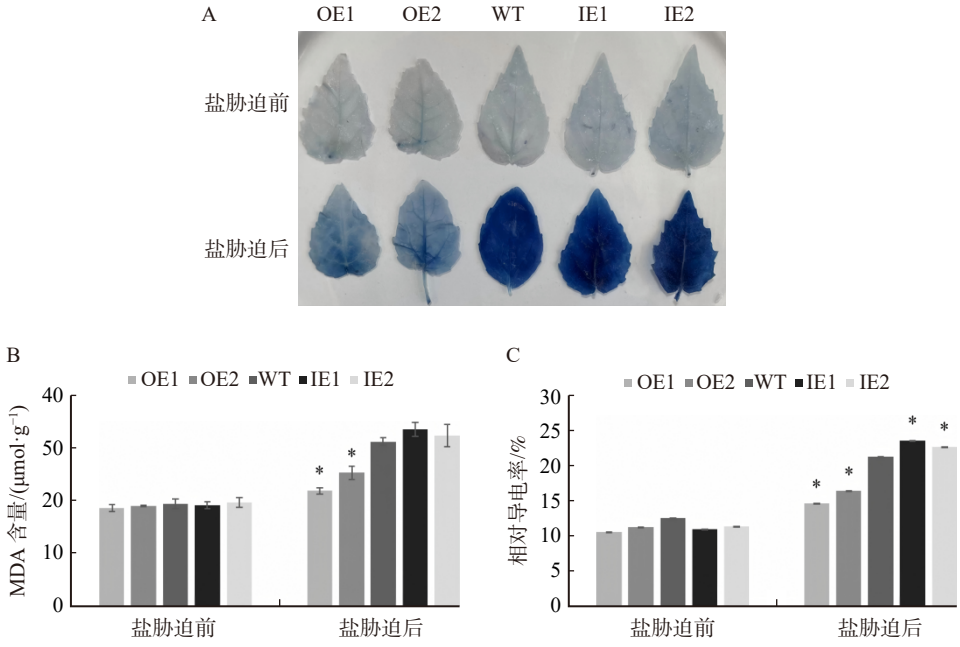
Fig. 3 Analysis of salt tolerance in divergent strains under salt stress treatment



A. NBT 染色结果；B. DAB 染色结果；C. H_2O_2 含量测定；D. POD 活性测定；E. SOD 活性测定。

图 4　盐胁迫下转基因植株活性氧清除能力分析

Fig. 4　Analysis of ROS clearance ability of transgenic plants under salt stress



A. Evans Blue 染色结果；B. MDA 含量测定；C. 相对电导率测定。

图 5　盐胁迫下转基因山新杨细胞活性和膜完整度分析

Fig. 5　Analysis of cell activity and membrane integrity of transgenic *P. euphratica* under salt stress

功能，进一步拓展人们对木本植物 *GLK* 基因功能的认识。

GLK 基因家族是一类在植物中具有重要功能的转录因子[28]。早期研究主要聚焦于其在植物生长发育中的关键作用，例如在调控叶绿素合成、叶绿体发育以及果实品质提升等方面，*GLK* 基因均发挥着不可或缺的功能[29−30]。随着研究的不断深入，越来越多的证据表明，部分 *GLK* 家族成员也广泛参与了植物对盐胁迫的响应过程。例如，玉米[31]*ZmGLK*3、番茄 [8]*SlGLK*37、*SlGLK*15 以及棉花[32]的 *GhGLK*55 和 *GhGLK*120 基因，其表达均受到盐胁迫的显著诱导。王佳敏等[33]研究发现，沉默 *GhGLK*1 基因会导致棉花叶片出现萎蔫现象；相反，过表达 *GhGLK*1 基因的棉花表现出对盐胁迫更高的抗性。本研究通过分析盐胁迫下 *PdaGLK*1 基因过表达/抑制表达转基因山新杨的表型特征，从正向和反向两个方面探究 *PdaGLK*1 基因的耐盐功能。与棉花 *GhGLK*1 研究结果相似，*PdaGLK*1 基因的过表达会显著增强山新杨对盐胁迫的耐受性，而抑制 *PdaGLK*1 基因表达则会降低山新杨的耐盐能力。这一发现证实了 *GLK* 家族

成员在木本植物盐胁迫响应过程中发挥着积极且关键的作用。

在正常生理条件下，植物体内的 ROS 水平处于一种动态平衡状态。然而，逆境胁迫使 ROS 的生成速率超过其清除速率，从而导致 ROS 在细胞内过度积累。过量的 ROS 会对植物细胞内的生物大分子造成严重的氧化损伤。因此，调节植物体内 ROS 的平衡对于维持其在逆境下的正常生长和发育至关重要[34]。研究发现，一些转录因子能够响应盐胁迫，激活抗氧化酶基因的表达，从而提高植物体内的抗氧化酶活性，进而清除过量 ROS。例如，在盐胁迫下，在小麦中过表达 *TaZFP*1 基因可显著增强过氧化物酶（POD）和超氧化物歧化酶（SOD）等抗氧化酶活性，同时显著降低 ROS 水平[35]。张燕等[36]在甘蓝型油菜中也发现了相似的结果，与野生型相比，*BnBBX*22.A07 过表达株系的 POD、SOD 酶活性显著升高，耐盐能力增强。本研究中发现过表达 *PdaGLK*1 基因显著降低了转基因山新杨体内的 ROS 含量，同时显著增强了 SOD 和 POD 的活性。然而，在 *PdaGLK*1 基因抑制表达的株系中，观察到了相反的结果。这些发现表明，*PdaGLK*1 转录因子可能通过激活抗氧化酶相关基因的表达，进而促进抗氧化酶的活性，提升植物清除 ROS 的能力，从而增强山新杨对盐胁迫的耐受性。

细胞膜在维持细胞生命活动、提供稳定的内环境、调控细胞代谢以及信息传递等方面发挥着至关重要的作用[37]。然而，在盐胁迫条件下，细胞膜易遭受氧化损伤，表现为电解质外渗增加以及电导率上升；此外，MDA 作为膜脂过氧化产物也会在细胞内积累。因此，MDA 含量和相对电导率不仅可以作为衡量细胞膜损伤程度的重要指标，还能间接反映植物的抗逆能力[38]。盐胁迫下，*PdaGLK*1 过表达山新杨的 MDA 含量和相对电导率均低于抑制表达和野生型山新杨，表明 *PdaGLK*1 基因的表达可以减轻膜脂过氧化，进而维持细胞结构稳定。

本研究揭示了 *PdaGLK*1 在杨树响应盐胁迫过程中的功能，阐明了其通过增强 ROS 清除能力和降低细胞膜损伤来提高杨树耐盐性的生理机制。研究结果进一步完善了木本植物耐盐分子机制的理论体系，同时为杨树耐盐遗传改良提供了理论依据。然而，本研究仅聚焦于山新杨 *PdaGLK*1 基因响应盐胁迫的生理调节机制，尚未深入解析其下游调控网络以及与其他信号通路的复杂相互作用。未来的研究可利用酵母双杂交、染色质免疫沉淀测序（ChIP-seq）等技术手段，筛选出与 *PdaGLK*1 转录因子相互作用的蛋白及下游靶基因，并结合转录组学分析，构建其精细的调控网络。同时可以探究 *PdaGLK*1 基因在干旱、低温等多逆境胁迫中的作用与功能，进一步挖掘其在林木抗逆育种中的应用潜力。

4 结　　论

目前，GLK 转录因子在杨树响应盐胁迫中的作用尚不清楚。针对这一问题，本研究通过农杆菌介导的叶盘法获得了山新杨 *PdaGLK*1 基因稳定转化的转基因植株，利用组织化学染色、生理指标测定等方法，探究山新杨 *PdaGLK*1 基因在盐胁迫响应过程中的功能。研究得到以下结论。

（1）获得 2 个 *PdaGLK*1 基因过表达株系（OE1、OE2）和 2 个 *PdaGLK*1 基因抑制表达株系（IE1、IE2）。OE1、OE2 基因表达量分别为野生型的 25.16 和 24.79 倍，IE1、IE2 基因表达量为野生型的 12.85% 和 11.92%。

（2）NaCl 胁迫处理后，*PdaGLK*1 抑制表达山新杨的生长受到了严重的抑制作用，叶片变黄、枯萎、脱落，且鲜质量的下降程度明显大于野生型；而过表达山新杨未受到明显的生长抑制作用，鲜质量的下降程度低于野生型和抑制表达植株，表明 *PdaGLK*1 基因的表达可以增强山新杨对盐胁迫的耐受性。

（3）盐胁迫下，过表达 *PdaGLK*1 基因的山新杨植株中活性氧积累较少，抗氧化酶的活性高于野生型和抑制表达植株，丙二醛含量和相对电导率均低于野生型和抑制表达植株，细胞损伤程度减轻。

研究结果将为解析山新杨 *PdaGLK*1 基因的抗逆分子调控机制奠定前期基础，并为林木抗逆基因工程育种提供宝贵的候选基因资源。

参 考 文 献

［1］ Muzammil S, Shrestha A, Dadshani S, et al. An ancestral allele of Pyrroline-5-carboxylate synthase1 promotes proline accumulation and drought adaptation in cultivated barley[J]. Plant Physiology, 2018, 178(2): 771−782.

［2］ 贾玉库, 高宏欢, 冯健超, 等. 小麦 G2-like 转录因子家族基因鉴定与表达模式分析 [J]. 作物学报, 2023, 49(5): 1410−1425.
Jia Y K, Gao H H, Feng J C, et al. Identification and expression pattern analysis of G2 like transcription factor family genes in wheat[J]. Journal of Crop Science, 2023, 49(5): 1410−1425.

［3］ Li H, Yue M, Jiang L, et al. Genome-wide identification of strawberry C2H2-ZFP C1-2i subclass and the potential function of FaZAT10 in abiotic stress[J]. Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(21): 13079.

［4］ 邱见方. 番茄转录因子 *PHYTOCLOCK*1(*SlPCL*1) 基因的耐旱和耐寒功能研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2022.
Qiu J F. Study on the drought and cold tolerance functions of tomato transcription factor *PHYTOCLOCK*1(*SlPCL*1) gene[D].

Chongqing: Southwest University, 2022.

[5] 刘俊芳, 张佳, 李贺, 等. 植物 GOLDEN2-Like 转录因子研究进展 [J]. 分子植物育种, 2017, 15(10): 3949−3956.
Liu J F, Zhang J, Li H, et al. Research progress on plant GOLDEN2-Like transcription factors[J]. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(10): 3949−3956.

[6] Hall L N, Rossini L, Langdale C J A. GOLDEN 2: a novel transcriptional regulator of cellular differentiation in the maize leaf[J]. The Plant Cell, 1998, 10(6): 925−936.

[7] Fitter D W, Martin D J, Copley M J, et al. GLK gene pairs regulate chloroplast development in diverse plant species[J]. The Plant Journal, 2002, 31(6): 713−727.

[8] 刘俊芳. 番茄 G2-like 转录因子家族生物信息学分析及抗逆相关基因鉴定 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018.
Liu J F. Bioinformatics analysis of tomato G2 like transcription factor family and identification of stress resistance related genes [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018.

[9] Bhutia K L, Nongbri E L, Gympad E, et al. In silico characterization and expression analysis of rice golden 2-like (OsGLK) members in response to low phosphorous[J]. Molecular Biology Reports, 2020, 47(4): 2529−2549.

[10] 杨蕴力, 曹俐, 王阳, 等. *BpGLK*1 基因干扰表达对裂叶桦叶色及生长的影响 [J]. 南京林业大学学报 (自然科学版), 2024, 48(1): 18−28.
Yang Y L, Cao L, Wang Y, et al. The effect of *BpGLK*1 gene interference expression on leaf color and growth of *Betula pendula* 'Dalecarlica'[J]. Journal of Nanjing Forestry University(Natural Science Edition), 2024, 48(1): 18−28.

[11] 郭姚淼, 段世享, 刘港运, 等. 甜瓜 *CmGLK* 转录因子调控果实品质的遗传网络解析 [J]. 河南农业大学学报, 2024, 58(3): 424−434.
Guo Y M, Duan S X, Liu G Y, et al. Genetic network analysis of *CmGLK* transcription factors regulating fruit quality in cantaloupe[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2024, 58(3): 424−434.

[12] 李光伟. *AchGLK* 基因提高番茄果实品质以及青霉菌 LysM 家族基因的研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2018.
Li G W. Study on the improvement of tomato fruit quality by *AchGLK* gene and *LysM* family genes in *Penicillium*[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2018.

[13] Sun T, Hazra A, Lui A, et al. GLKs directly regulate carotenoid biosynthesis via interacting with GBFs in plants[J]. The New Phytologist, 2025, 246(2): 645−665.

[14] 赵楚瑄, 纪晓楠, 刘梦雨, 等. *OsGSK*2 与 *OsGLK*1 互作调控水稻叶绿素合成与叶绿体发育 [J]. 植物遗传资源学报, 2024, 25(3): 472−481.
Zhao C X, Ji X N, Liu M Y, et al. The interaction between *OsGSK*2 and *OsGLK*1 regulates chlorophyll synthesis and chloroplast development in rice[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2024, 25(3): 472−481.

[15] 周蒋毅. 水稻 *IPS*1 基因调控光合作用的分子机制研究 [D]. 金华: 浙江师范大学, 2020.
Zhou J Y. Molecular mechanism of rice *IPS*1 gene regulating photosynthesis[D]. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2020.

[16] 赵峥烜, 张晓璐, 程堂仁, 等. 连翘 *GLK* 基因家族鉴定及响应光照表达分析 [J]. 河南农业大学学报, 2022, 56(5): 759−769.
Zhao Z T, Zhang X L, Cheng T R, et al. Identification and expression analysis in response to light of *GLK* gene family in *Forsythia*[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2022, 56(5): 759−769.

[17] 李霞. 过表达玉米 *GLK* 基因提高水稻光合作用和光抑制耐性的生理机制 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2020.
Li X. The physiological mechanism of overexpression of maize *GLK* gene to enhance photosynthesis and photoinhibition tolerance in rice[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020.

[18] 赵东鸣. 拟南芥 *AtGLKs* 调控花青素合成的分子机制研究 [D]. 南昌: 江西农业大学, 2022.
Zhao D M. The molecular regulatory mechanism of anthocyanin biosynthesis by *AtGLKs* in *Arabidopsis thaliana*[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2022.

[19] Tang R, Zhou X, Weng S, et al. Genome-wide analysis of *GLK* gene family in four cotton species provides insights into their involvement in cotton abiotic stress response[J]. Agriculture, 2024, 14(11): 2086.

[20] 许晨, 李青云, 万俊男, 等. 葡萄 Golden2-like 转录因子家族的鉴定及其表达分析 [J]. 植物科学学报, 2022, 40(2): 205−215.
Xu C, Li Q Y, Wan J N, et al. Identification and expression analysis of the Golden2-like transcription factor family of *Vitis vinifera* L.[J]. Plant Science Journal, 2022, 40(2): 205−215.

[21] Wang H T, Xu F F. Identification and expression analysis of the *GLK* gene family in tea plant (*Camellia sinensis*) and a functional study of *CsGLK*54 under low-temperature stress[J]. Scientific Reports, 2024, 14(1): 12465.

[22] 邹雨婷, 刘丹, 王秋艳, 等. 甘蓝型油菜 *GLK* 基因家族全基因组鉴定及耐盐抗旱功能分析 [J]. 中国油料作物学报, 2023, 45(6): 1156−1165.
Zou Y T, Liu D, Wang Q Y, et al. Identification of *GLK* gene family and expression patterns under salt and drought stress in *Brassica napus*[J]. Chinese Journal of Oil Crops, 2023, 45(6): 1156−1165.

[23] 杨灏. *EjGLK*1 转录因子调控枇杷抗冻性并维持光合作用的功能分析 [D]. 重庆: 西南大学, 2023.
Yang H. Function analysis of *EjGLK*1 transcription factor regulating freezing resistance and maintaining photosynthesis of loquat[D]. Chongqing: Southwest University, 2023.

[24] Ahmad R, Liu Y T, Wang T J, et al. GOLDEN 2-LIKE transcription factors regulate *WRKY*40 expression in response to abscisic acid[J]. Plant Physiology, 2019, 179(4): 1844−1860.

[25] 马慧君. 山新杨 NF-YC 转录因子耐盐功能研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2023.
Ma H J. Functional studies on salt tolerance of NF-YC transcription factor in *Populus davidiana* × *P. bolleana*[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2023.

[26] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402−408.

[27] 赵鑫. 柽柳 *SAP* 家族基因鉴定及 *ThSAP*6 耐盐功能研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2021.
Zhao X. Comprehensive analysis of the stress associated protein (*SAP*) gene family in *Tamarix hispida* and the function of *ThSAP*6 in salt tolerance[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2021.

[28] Yu C Y, Xiang R, Jiang Y Q, et al. Genomic organization and expression profiling of GOLDEN2-like transcription factor genes in eggplant and their role in heat stresses[J]. Horticulturae, 2024, 10(9): 958.

[29] Kobayashi K, Sasaki D, Noguchi K, et al. Photosynthesis of root chloroplasts developed in *Arabidopsis* lines overexpressing GOLDEN2-LIKE transcription factors[J]. Plant Cell Physiology, 2013 54(8): 1365−1377.

[30] Nguyen C V, Vrebalov J T, Gapper N E, et al. Tomato GOLDEN2-LIKE transcription factors reveal molecular gradients that function during fruit development and ripening[J]. Plant Cell, 2014 26(2): 585−601.

[31] Liu F, Xu Y J, Han G M, et al. Molecular evolution and genetic variation of G2-like transcription factor genes in maize[J]. PLoS One, 2016, 11(8): e0161763.

[32] Zhao Z, Shuang J, Li Z, et al. Identification of the Golden-2-like transcription factors gene family in *Gossypium hirsutum*[J]. Peer Journal, 2021, 9: e12484.

[33] 王佳敏. 棉花 *GhGIP*1 基因对盐胁迫响应调控机制的研究 [D]. 金华: 浙江师范大学, 2023.
Wang J M. Study on the regulatory mechanism of *GhGIP*1 gene response to salt stress in cotton[D]. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2023.

[34] Jian S, Li S L, Mei Q L, et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide mediate K^+/Na^+ homeostasis and antioxidant defense in NaCl-stressed callus cells of two contrasting poplars[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture(PCTOC), 2010, 103(2): 205−215.

[35] Sun B G, Zhao Y J, Shi S Y, et al. *TaZFP*1, a C2H2 type-ZFP gene of *T. aestivum*, mediates salt stress tolerance of plants by modulating diverse stress-defensive physiological processes[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2019, 136: 127−142.

[36] 张燕. 甘蓝型油菜 *BnBBX*22. *A*07 基因耐盐功能解析 [D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2023.
Zhang Y. Analysis of salt tolerance function of *BnBBX*22*A*07 Gene in *Brassica napus*[D]. Xianyang: Northwest A&F University, 2023.

[37] 张明意. 柽柳 *ThNAC*7 基因的抗逆功能解析 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2015.
Zhang M Y. Analysis of stress resistance function of *ThNAC*7 gene in *Tamarix hispida*[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2015.

[38] 韩刚, 贾园园, 朱祯煜, 等. 刚毛柽柳 *ThZFP*3 基因的耐盐抗旱功能 [J]. 中南林业科技大学学报, 2024, 44(8): 139−149.
Han G, Jia Y Y, Zhu Z Y, et al. Salt tolerance and drought resistance function of *ThZFP*3 gene in *Tamarix hispida*[J]. Journal of Central South University of Forestry and Technology, 2024, 44(8): 139−149.

（责任编辑 赵田芸
责任编委 卢孟柱）