果 树 学 报 2026,43(10):2829-2840
Journal of Fruit Science

DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20250634

# 葡萄DREB4响应碱性盐胁迫的功能研究

杨文茂,杨佳磊,花 瑞,欧阳正龙,龚飞雪,许丽丽*

(石河子大学农学院·特色果蔬栽培生理与种质资源利用兵团重点实验室,新疆石河子 832003)

**摘 要:【目的】**探究葡萄*VvDREB4*基因在盐碱胁迫下的生物学功能,解析相关生理与分子机制。**【方法】**通过生物信息学分析VvDREB4蛋白特性;利用遗传转化体系获得*VvDREB4*过表达葡萄愈伤组织;分析其在$Na_2CO_3$胁迫下的表型、生理指标(生长量、抗氧化酶活性、渗透物质含量、细胞壁组分)及相关基因的表达变化。**【结果】**VvDREB4蛋白属于不稳定亲水蛋白,与柑橘同源性较高。在$Na_2CO_3$胁迫下,过表达*VvDREB4*能够显著缓解胁迫对愈伤组织生长的抑制作用,并显著提高超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶活性,降低丙二醛含量,增强抗氧化能力。同时,转基因植株的总糖、纤维素、半纤维素及木质素含量均显著升高,尤其是木质素含量在胁迫后达到对照的3.16倍。过表达*VvDREB4*促进纤维素合成酶与过氧化物酶基因表达,并调控果胶代谢相关基因的表达模式。**【结论】***VvDREB4*通过增强抗氧化防御功能及促进细胞壁多糖(尤其是木质素)的积累,从而提高葡萄的盐碱胁迫耐受性。本研究结果为阐明葡萄DREB类转录因子的抗逆机制提供了理论依据。

**关键词:**葡萄;*VvDREB4*;$Na_2CO_3$;多糖;木质素

**中图分类号:**S663.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-9980(2026)10-2829-12

## Functional study of grape DREB4 in response to alkaline salt stress

Yang Wenmao, Yang Jialei, Hua Rui, Ouyang Zhenglong, Gong Feixue, Xu Lili*

*(Institute of Agriculture, Shihezi University/Key Laboratory of Special Fruit & Vegetable Cultivation Physiology and Germplasm Resources Utilization, Xinjiang Production and Construction Group, Shihezi 832003, Xinjiang, China)*

**Abstract:**【Objective】DREB (Dehydration-Responsive Element Binding) transcription factors represent a crucial class of regulatory proteins that mediate plant adaptive responses to various abiotic stresses. Although their general role in stress signaling is established, the specific functions of individual DREB members, particularly in perennial fruit crops like grapevine, remain incompletely characterized. This study aims to systematically investigate the functional role of the grapevine *VvDREB4* gene under saline-alkali stress conditions and to elucidate the underlying physiological and molecular mechanisms through which it enhances stress tolerance. Our working hypothesis posits that VvDREB4 operates as a central regulator that coordinates both oxidative stress responses and structural modifications to the cell wall, thereby conferring enhanced resilience to saline-alkaline environments.【Methods】Our experimental approach integrated computational biology with rigorous laboratory validation. We commenced with a comprehensive bioinformatic analysis of the VvDREB4 protein sequence, meticulously examining its physicochemical properties, secondary structure predictions, and evolutionary relationships through phylogenetic reconstruction with orthologs from other plant species. Subsequently, the full-length coding sequence (CDS) of *VvDREB4* was isolated and cloned from grapevine (*Vitis vinifera* L.) cDNA. This CDS was then ligated into a plant overexpression vector under the control of the constitutive CaMV 35S promoter. Transgenic grape calli were generated via *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation, and positive transformants were selected and confirmed using qRT-PCR. To

**收稿日期:**2026-01-20 **接受日期:**2026-03-12

**基金项目:**国家自然科学基金项目(32260722)

**作者简介:**杨文茂,女,在读硕士研究生,主要从事果树分子生物学研究。E-mail:3066397411@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail:xull_agr@shzu.edu.cn

rigorously assess gene function, both transgenic (overexpression, OE) and empty-vector (control, CT) calli were subjected to a controlled $Na_2CO_3$ treatment (concentration optimized at 50 mmol · $L^{-1}$, pH − 7.8) to accurately simulate saline-alkaline stress over a 7-day period. We conducted detailed phenotypic observations and quantitative measurements of callus growth and biomass. A suite of physiological parameters was systematically analyzed at multiple time points: Antioxidant enzyme activities—including superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT)—were assayed spectrophotometrically; the extent of membrane lipid peroxidation was quantified by measuring malondialdehyde (MDA) content; key cell wall components—namely total sugar, cellulose, hemicellulose, and lignin—were quantified using established biochemical protocols. To bridge physiology with molecular events, we employed quantitative real-time PCR (qRT-PCR) to profile the dynamic expression patterns of genes central to cell wall metabolism and lignin biosynthesis, such as cellulose synthase-like (*CSL*) genes and specific peroxidase (POD) isoforms known to be involved in the oxidative polymerization of monolignols. 【Results】Our bioinformatic characterization identified VvDREB4 as a nuclear-localized, unstable hydrophilic protein, sharing highest sequence similarity and closest phylogenetic affinity with DREB proteins from citrus (*Citrus sinensis*). Under $Na_2CO_3$ stress, a clear phenotypic divergence was observed: wild-type calli exhibited severe browning and a −60% reduction in fresh weight, whereas *VvDREB4*-overexpressing calli maintained significantly healthier appearance and showed only −25% growth inhibition, demonstrating the gene's role in mitigating stress-induced growth retardation. Physiological profiling revealed a profoundly enhanced antioxidant capacity in OE lines. SOD activity increased by 2.1-fold, POD by 2.8-fold, and CAT by 1.9-fold compared to stressed WT controls. Consequently, MDA accumulation—a key indicator of oxidative damage—was reduced by 45% in OE calli, indicating significantly less membrane damage. Furthermore, we observed a remarkable reconfiguration of the cell wall architecture in transgenic lines. The content of total sugars increased by 1.7-fold, cellulose by 1.9-fold, hemicellulose by 1.5-fold, and most strikingly, lignin content surged to 3.16 times that of the stressed WT control, suggesting a substantial reinforcement of the cell wall matrix. At the molecular level, qRT-PCR analysis provided a mechanistic link to these physiological observations. The expression of several cellulose synthase-like (*CSL*) genes was significantly upregulated (2.5 to 4.0-fold) in OE lines under stress. Concurrently, the transcript levels of specific peroxidase (POD) isoforms implicated in the final steps of lignin polymerization were markedly induced (up to 5.2-fold). Additionally, *VvDREB4* overexpression modulated the expression of key genes involved in pectin metabolism, indicating a broader role in remodeling the cell wall polysaccharide network under adverse conditions. 【Conclusion】Our findings demonstrate that VvDREB4 significantly enhances grapevine tolerance to saline-alkali stress through a sophisticated, and dual-pronged mechanism. Firstly, it acts as a potent activator of the cellular antioxidant defense system, boosting the activities of SOD, POD, and CAT to effectively scavenge reactive oxygen species (ROS) and minimize oxidative damage, as evidenced by reduced MDA levels. Secondly, it orchestrates a substantial re-inforcement of the cell wall, primarily by promoting the pronounced accumulation of structural polysaccharides—most notably lignin. This lignification enhances the mechanical strength and likely the rigidity of the cell wall, providing a more robust physical barrier against ion toxicity and osmotic stress. This study provides a comprehensive and systematic insight into the multi-faceted regulatory role of VvDREB4, integrating physiological responses with transcriptional reprogramming. It not only advances our fundamental understanding of DREB transcription factor-mediated stress resistance mechanisms in woody perennials but also offers valuable theoretical and experimental evidence for future biotechnological applications. Targeting *VvDREB4* or its downstream path-

ways holds promising potential for the genetic improvement of stress resilience in grapevines and potentially other economically important fruit crops facing increasing soil salinization.

**Key words:** Grape; *VvDREB4*; $Na_2CO_3$; Polysaccharides; Lignin

葡萄（*Vitis vinifera* L.）是全球最重要的经济果树之一，但其生长与产量常受土壤盐碱化的严重威胁。作为中国最大的葡萄产区，新疆深受此问题困扰[1]。土壤碱害主要由碳酸钠（$Na_2CO_3$）和碳酸氢钠（$NaHCO_3$）引起，不仅造成渗透胁迫与离子毒性，还伴随高pH胁迫，进而引发植物营养失衡，其危害程度远高于中性盐[2-3]。尽管植物对中性盐的响应机制已有较多研究，但其对碱性盐胁迫的分子调控网络仍知之甚少。因此，深入解析葡萄耐碱胁迫的生理与分子机制，对保障新疆乃至全球葡萄产业的可持续发展具有重大意义。

植物在长期进化中形成了一套复杂的盐碱胁迫应答机制，主要包括离子稳态调控（如通过离子通道与转运蛋白维持细胞内低$Na^+/K^+$）、渗透调节（脯氨酸、可溶性糖等物质积累）、活性氧清除系统（通过提高SOD、POD、CAT的活性以减轻氧化损伤）、细胞壁修饰与加固（通过纤维素合酶复合体、木质素合成及果胶代谢等途径增强细胞壁强度与韧性）。而在这个复杂的抗逆调控网络中，转录因子扮演着关键角色。例如，番茄*SlMYB102*通过增强POD和CAT活性以提高耐盐性[4]；葡萄*VvRBOHA*通过清除ROS以增强抗盐性[5]，水稻*OsCSLD4*和紫花苜蓿*MsMIOX2*通过促进细胞壁多糖合成以增强细胞壁强度[6-7]；苹果*MdMYB54*等通过抑制果胶和纤维素降解酶活性，维持细胞壁结构，从而增强抗逆性[8-9]。其中，DREB（dehydration-responsive element binding）转录因子属于ERF/AP2超家族，其通过一个约60个氨基酸的AP2/ERF结构域特异性结合下游基因启动子中的DRE/CRT顺式作用元件（核心序列GCCGAC），进而激活大量胁迫响应基因的表达，在植物应对干旱、高盐、低温和高温等多种非生物胁迫中发挥核心作用。大量研究表明，DREB转录因子是提高作物抗逆性的优秀候选基因。例如，拟南芥*AtDREB1A*能够显著增强植物的耐寒性[10-12]；苹果*MdDREB2A*过表达提高了对干旱和盐分的耐受性[13]；番茄*SlDREBA4*则赋予了植株对热胁迫的抗性[14]。此外，在草莓[15]、棉花[16]、杨树[17]、苜蓿[18]和马铃薯[19]等物种中，DREB家族成员均被证实能通过调控渗透调节物质含量、抗氧化酶活性及离子稳态等途径，正向调控植物的非生物胁迫适应性。上述研究揭示了细胞壁重塑在植物抗逆中的重要作用。

尽管DREB基因家族的功能已被广泛研究，但葡萄中*VvDREB4*基因在响应碱性盐胁迫中的具体功能与分子机制尚属空白。前人研究多集中于中性盐胁迫，而*VvDREB4*在碱胁迫中的独特作用，特别是其是否以及如何通过调控抗氧化系统、渗透调节及细胞壁代谢通路来增强植物耐碱性，仍有待阐明。

## 1　材料和方法

### 1.1　材料及处理

试验材料为石河子大学农学院实验室保存的无核白（*Vitis vinifera*. ‘Thompson Seedless’）葡萄愈伤组织（利用无核白葡萄花药作为外植体诱导获得的非胚性愈伤组织）。野生型葡萄愈伤组织继代培养基：以MS培养基（不含蔗糖与琼脂）为基础培养基，添加以下组分：20 g·$L^{-1}$蔗糖、8 g·$L^{-1}$琼脂、0.8 g·$L^{-1}$活性炭、0.59 g·$L^{-1}$ MES [2-（N-吗啉代）乙磺酸]、10 mg·$L^{-1}$毒莠啶（picloram）、2.2 mg·$L^{-1}$噻苯隆（thidiazuron）。在野生型葡萄愈伤组织继代培养基配方基础上，添加50 mg·$L^{-1}$卡那霉素（kanamycin），用于转基因愈伤组织的筛选与阳性株系维持，确保培养体系中仅转基因愈伤组织可正常生长。于27 ℃无菌条件下暗培养，每4周继代1次，选取继代培养15 d的愈伤组织作为RNA提取样本。

为评估葡萄愈伤组织对碱性盐胁迫的耐受性，在野生型葡萄愈伤组织继代培养基中添加终浓度为50 mmol·$L^{-1}$的$Na_2CO_3$（pH=7.8）。该浓度由课题组前期通过不同浓度梯度预实验筛选确定[20]，是诱导葡萄愈伤组织产生稳定胁迫响应、同时确保材料正常生长以获取有效试验数据的最佳浓度。构建碱性盐胁迫模拟培养体系，用于后续愈伤组织生长状态、生理指标等表型鉴定。

### 1.2　基因克隆及载体构建

使用RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA试剂盒（TIANGEN，北京）提取无核白葡萄愈伤组织总RNA，按照说明书操作，并借助Nano Drop 2000分

光光度计（Thermo Scientific，美国）测定RNA样本的$OD_{260}/OD_{280}$比值（合格标准为1.8~2.0）及浓度，评估RNA纯度并通过1.5%琼脂糖凝胶电泳检测总mRNA质量。以总RNA为模板，利用Prime Script™ RT reagent Kit试剂盒（TaKaRa，大连）反转录合成cDNA第一链（F：ATGAATACTACTTCTCCACCATATTCC；R：CTAAATAGAGTAACTCCATAACGACAT），−20 ℃保存备用。采用ApexHF HS DNA聚合酶预混液-FS（含染料，Accurate Biology，湖南）进行基因全长扩增，扩增体系：ApexHF HS DNA聚合酶预混液-FS 25 μL、cDNA 2 μL、上下游引物各1 μL、dd $H_2O$ 21 μL。PCR反应程序：预变性：95 ℃，3 min；循环反应（35个循环）：95 ℃变性30 s，54 ℃退火30 s，72 ℃延伸25 s；终延伸：72 ℃，5 min；保温：4 ℃，保存备用。PCR反应结束后，采用E.Z.N.A ®Gel Extraction Kit试剂盒（omega BIO-TEK，北京）纯化回收。使用2×Ezmax®Universal CloneMix同源重组试剂盒（TOLOBIO，上海）对扩增产物进行胶回收纯化。通过琼脂糖凝胶电泳切取目标片段，经洗脱、离心等步骤去除杂质，获得纯化的*VvDREB4*基因PCR产物。将纯化后的PCR产物连接到PBI121-GUS载体上，反应体系为2×Ezmax®Universal CloneMix 10 μL、PBI121-GUS线性载体2 μL、胶回收产物4 μL、dd $H_2O$ 4 μL，置于37 ℃恒温水浴中反应15 min，随后立即置于冰上孵育5 min，终止反应，获得重组载体连接产物。连接产物转化大肠杆菌DH5α感受态细胞，挑取阳性克隆测序鉴定。

### 1.3 利用农杆菌介导法转化葡萄愈伤组织

采用热激法将已构建完成的重组质粒pBI121-DREB4-GUS（含CaMV 35S启动子，驱动*VvDREB4*与*GUS*基因表达）转化农杆菌LBA4404感受态细胞，获得含目的基因的阳性农杆菌菌株。挑取含重组质粒的农杆菌单菌落，接种至5 mL含利福平与卡那霉素的液体LB培养基中，置于28 ℃、200 $r\cdot min^{-1}$恒温摇床振荡培养12 h，至菌液$OD_{600}$值达到0.5~0.6，确保菌体活力处于良好阶段。取10 μL活化菌液，转接至50 mL含相同抗生素的液体LB培养基中，振荡培养（28 ℃、200 $r\cdot min^{-1}$）12~14 h，5500 $r\cdot min^{-1}$离心10 min，收集菌体，使用10 mL灭菌蒸馏水悬浮菌体，2次重复，并稀释至$OD_{600}$值达到0.6，制备成侵染菌悬液，备用。选取继代培养15 d、生长状态良好的葡萄愈伤组织，称取约0.5 g转入上述农杆菌侵染菌悬液中，浸泡30 min；每5 min轻轻摇晃离心管1次，确保愈伤组织与菌液充分接触，提高侵染效率。侵染结束后，将愈伤组织放置于无菌干燥滤纸上，吸干表面水分，转移至共培养基（MS基础培养基＋乙酰丁香酮），暗培养2 d后将愈伤组织转移至筛选培养基（MS基础培养基＋抗生素）。每20 d更换1次培养基，持续培养至新的抗性愈伤组织从非转基因（致死）愈伤组织中分化形成，以获得候选转基因葡萄愈伤组织。

### 1.4 采用$Na_2CO_3$处理愈伤组织

将获得的状态良好的转基因葡萄愈伤组织接种到含50 mmoL $L^{-1}$ $Na_2CO_3$愈伤组织培养基中。愈伤组织处理前后的生长量和水分含量测定均遵循严谨的试验规范：生长量以胁迫处理前后愈伤组织干质量的差值计算，水分含量按公式计算：水分含量/%=（鲜质量－干质量）/鲜质量×100；同时，试验设计中已严格控制CT组和OE组的初始条件，确保两组所用培养皿、培养基质量完全一致，接种的愈伤组织鲜质量、大小及生长状态保持统一，以排除初始差异对试验结果的干扰，保证数据的可靠性。每10 d观察并拍照记录愈伤组织状态，样品经液氮速冻，置于−80 ℃保存留用。

### 1.5 生理生化指标的测定

超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性以及总糖、总蛋白、总酚、丙二醛含量均使用苏州科铭生物科技有限公司相应试剂盒（产品编号：SOD-2-W、POD-2-Y、CAT-2-Y、ZT-2-Y、BCAP-2-W、TP-2-G、MDA-2-Y）进行测定，具体步骤遵循试剂盒说明书。木质素、半纤维素、纤维素和总果胶含量分别使用上海酶联生物试剂盒（产品编号：ml092797、ml077332、ml076720、ml092809）进行测定，具体步骤遵循试剂盒说明书。

### 1.6 荧光定量分析的引物序列

本试验中进行荧光定量分析的引物序列详见表1。

### 1.7 基因序列及系统进化树构建等生物信息学分析

在葡萄基因组网站下载VvDREB4（VIT_16s0100g00380）氨基酸序列，借助Blast-protein在线工具，获取苹果、草莓、番茄等物种中与目标序列同源性高于90%的编码蛋白氨基酸序列，利用MEGA 7软件，采用邻接法（neighbor-joining）和最短演化长

**表 1　荧光定量引物序列**

**Table 1　Quantitative real-time PCR primer sequences**

| 基因名称<br>Gene name | 基因描述<br>Gene description | 上游引物<br>Forward primer | 下游引物<br>Reverse primer |
|---|---|---|---|
| *β-Actin* | 内参 Reference gene | CTTGCATCCCTCAGCACCTT | TCCTGTGGACAATGGATGGA |
| *VvPMEI1* | 果胶甲基酯酶抑制剂 1<br>Pectin methylesterase inhibitor 1 | TACAGGAAATGGAACACCCTG | TCTAAGGTGAAGTGGTCTGG |
| *VvPMEI* | 果胶甲基酯酶抑制剂<br>Pectin methylesterase inhibitor | TCAGTACTAGTAGTCTTGGTGG | GCAACAGTAACCAACCAACC |
| *VvPAE12* | 果胶乙酰酯酶 12<br>Pectin acetylesterase 12 | TATGCCTGGATGGAACATTACC | GCCTGATTAGCATAGTGCATTC |
| *VvPE15* | 果胶酯酶 15<br>Pectinesterase 15 | ACAGCGAAAGAGGTCTCATC | CCCTGTATGTGTTGTTTGATCC |
| *VvCSLG3* | 纤维素合酶 G3<br>Cellulose synthase G3 | TCATCTCGTGAGCAAGTCAATC | GAAAGGCATAGATGGTGATTGG |
| *VvCSLE3* | 纤维素合酶 E6<br>Cellulose synthase E6 | TTACAGCCAAGTACGCTTACAG | ATAACAGAGGATGGGATTCTGC |
| *VvPOD* | 木质素合成相关阴离子过氧化物酶<br>Anionic peroxidase involved in lignin biosynthesis | TGAAGTGGAGAGCATTTGTCC | GAACCTGAAAGGGCAACCAT |

度算法（minimal evolution）构建系统进化树，bootstraptest 设置为 1000。采用 ProtParam 进行蛋白质理化特性分析，采用 SOPMA 预测蛋白二级结构，采用 Expasy 分析磷酸化位点，采用 PlantCARE 在线工具检索启动子顺式作用元件。

## 2　结果与分析

### 2.1　葡萄 DREB4 蛋白序列和进化树分析

以葡萄 ABE96792.1 蛋白序列为模板，获取美国山核桃、番茄、野草莓、拟南芥、苹果、克里曼丁红橘和芒果 7 个物种中相似度最高的蛋白序列（表 2），对蛋白理化性质进行分析，并构建氨基酸序列进化树（图 1）。其中，葡萄 VvDREB4 与克里曼丁红橘氨基酸序列高度相似，蛋白同源性为 94%。8 种植物的氨基酸残基数为 206~256 个，分子质量为 22.91~28.82 kDa，理论等电点为 5.02~6.20，脂肪氨基酸指

**表 2　8 种植物 DREB4 蛋白**

**Table 2　DREB4 proteins in 8 plants**

| 物种<br>Species | ID 号<br>ID number |
|---|---|
| 葡萄 *Vitis vinifera* | ABE96792.1 |
| 美国山核桃 *Carya illinoinensis* | XP_042970764.1 |
| 番茄 *Solanum lycopersicum* | XP_004234350.1 |
| 芒果 *Mangifera indica* | XP_044468231.1 |
| 野草莓 *Fragaria vesca subsp. vesca* | XP_004298771.1 |
| 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* | NP_200012.1 |
| 苹果 *Malus domestica* | NP_001315892.1 |
| 克里曼丁红橘 *Citrus × clementina* | XP_006421846.1 |

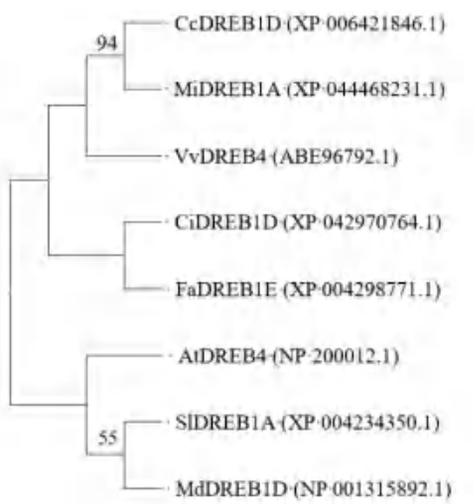
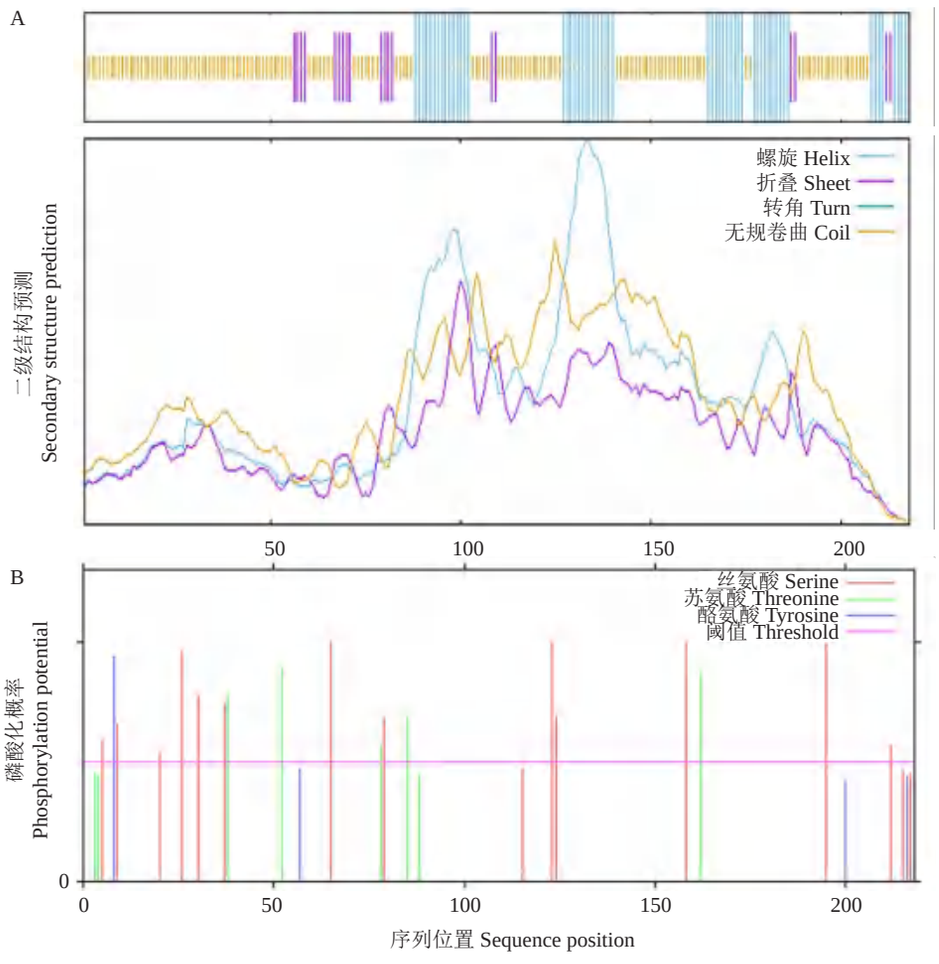



**图 1　不同物种 DREB 编码蛋白进化树分析**

**Fig. 1　Evolutionary tree analysis of the proteins encoding DREB**

数均大于 54%，属于不稳定性蛋白，不同物种间氨基酸序列理化性质存在较大差异。葡萄 VvDREB4 蛋白质理论分子式为 $C_{1045}H_{1631}N_{311}O_{326}S_{14}$，N-末端为甲硫氨酸，正电荷残基总数（精氨酸+赖氨酸）为 27 个，负电荷残基总数（天冬氨酸+谷氨酸）为 34 个。二级结构预测结果（图 2-A，表 3）表明，VvDREB4 蛋白中含 $\alpha$ 螺旋（25.23%）、延伸链（9.17%）、$\beta$ 转角（3.21%）、无规则卷曲（62.39%），其中无规则卷曲占比最高，可作为酶的催化位点及其他蛋白特异性功能的结合位点。此外，通过磷酸化位点预测（图 2-B）可知，该蛋白含有 19 个磷酸化修饰位点，丝氨酸、苏氨酸、酪氨




A. VvDREB4 蛋白二级结构预测(窗宽:17;相似度阈值:8;状态数:4);B. VvDREB4 蛋白磷酸化位点预测。

A. Secondary structure prediction of VvDREB4 protein (Window width: 17; Similarity threshold: 8; Number of states: 4); B. Phosphorylation site prediction of VvDREB4.

**图 2 VvDREB4 蛋白二级结构及磷酸化位点预测**

**Fig. 2 Secondary structure and phosphorylation sites prediction of VvDREB4 protein**

**表 3 二级结构预测数据**

**Table 3 Secondary structure prediction data**

| 二级结构类型 Secondary structure type | 数据 Data |
|---|---|
| 序列长度 Sequence length | 218 |
| α螺旋 Alpha helix (Hh)/% | 25.23 |
| 延伸链 Extended strand (Ee)/% | 9.17 |
| β转角 Beta turn (Tt)/% | 3.21 |
| 无规卷曲 Random coil (Cc)/% | 62.39 |

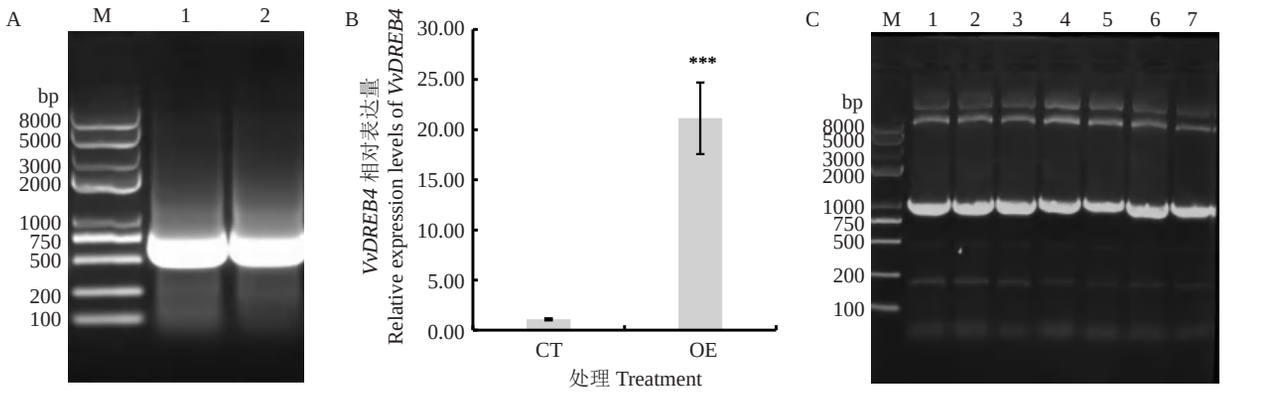
酸的磷酸化位点分别为13个、5个和1个。

### 2.2 葡萄 *VvDREB4* 基因克隆及转化

从葡萄愈伤组织中克隆 *VvDREB4* 基因，构建植物双元表达载体 pBI121-GUS（CaMV 35S 启动子）并获得同源稳定转化的葡萄愈伤组织。结果显示，*VvDREB4* 编码区含有一个长度为 657 bp 的完整开放阅读框，编码 218 个氨基酸，*VvDREB4* 核苷酸大小及编码序列与 NCBI 发布信息基本一致（图 3-A）；同时 DNA 检测与荧光定量 PCR 结果均证明 *VvDREB4* 在葡萄愈伤组织中成功表达（图 3-B~C）。

### 2.3 过表达 *VvDREB4* 提高葡萄愈伤组织的耐碱性盐抗性

将对照组（CT）与转基因葡萄愈伤组织（OE）分别接种在添加 50 mmol·L$^{-1}$ $Na_2CO_3$ 继代培养基中，观察愈伤组织的形态变化，同时测定愈伤组织生长量、水分含量、总糖及总蛋白含量。由图 4~图 5 可知，$Na_2CO_3$ 处理条件下，OE 生长状况优于同处理 CT，且该差异随培养时间延长（20 DAT、30 DAT）更为明显。另外，过表达 *VvDREB4* 显著降低了愈伤组织水分含量，显著提高了蛋白含量。其次，过表达 *VvDREB4* 显著提高了葡萄愈伤组织总糖含量，且在 $Na_2CO_3$ 胁迫后，*VvDREB4* 转基因葡萄愈伤组织

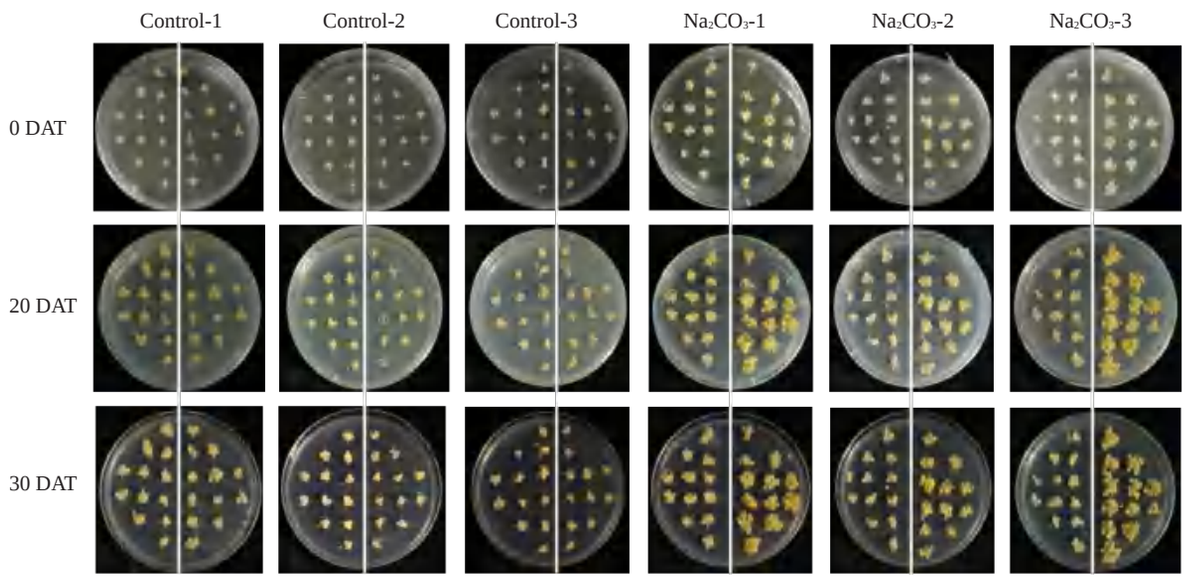



A. *VvDREB4* 基因克隆，M 表示 DNA Marker；B. 野生型（CT）和转基因愈伤组织（OE）*VvDREB4* 相对表达量；C. 阳性遗传转化细胞系 PCR 产物鉴定。

A. Cloning results of *VvDREB4*; M indicates DNA Marker; B. Relative expression levels of *VvDREB4* in wild-type callus (CT) and transgenic callus (OE); C. PCR product identification of positive genetically transformed cell lines.

**图 3　*VvDREB4* 转基因葡萄愈伤组织鉴定**

**Fig. 3　Identification of *VvDREB4* in transgenic calli**




培养皿中间白线左侧为野生型愈伤组织，右侧为转基因愈伤组织；DAT 表示继代天数。

The left side of the white line in the middle of all the petri dishes was wild type, and the right side was transgenic callus; DAT indicates number of days after subculture.

**图 4　*VvDREB4* 转基因愈伤组织耐盐表型鉴定**

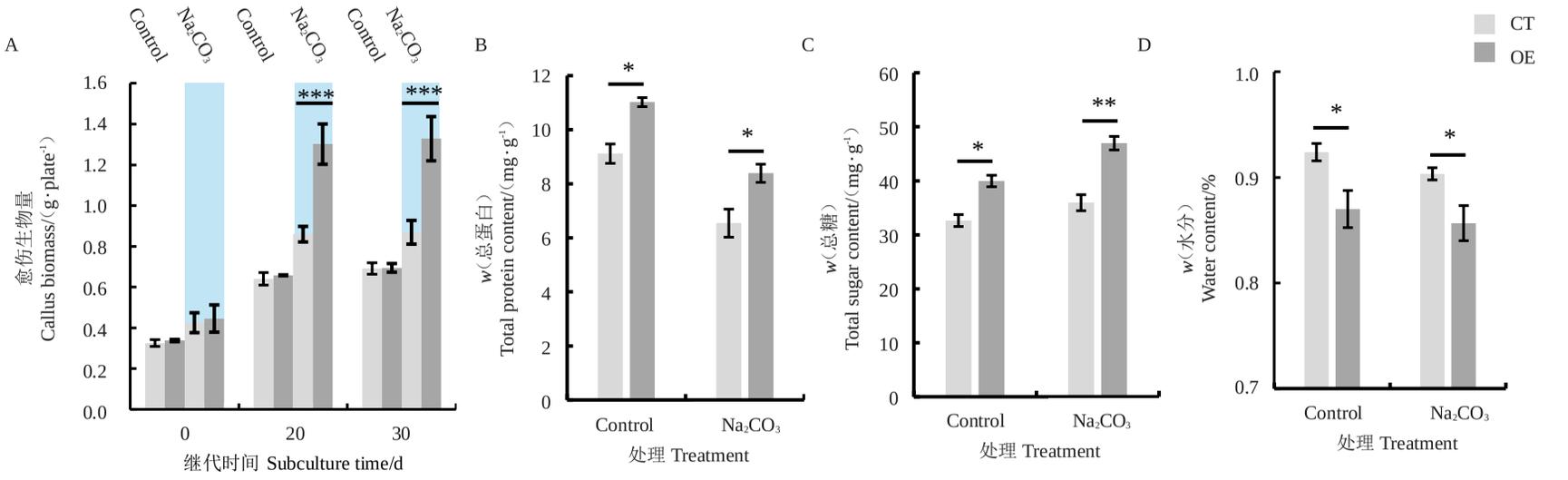
**Fig. 4　Phenotypic identification of the transgenic callus resistant to salt stress**

总糖含量积累极显著，为对照组的 1.31 倍。此外，*VvDREB4* 转基因葡萄愈伤组织在 $Na_2CO_3$ 胁迫处理下 SOD、POD、CAT 活性均显著高于对照，同时丙二醛含量极显著降低（图 6），表明过表达 *VvDREB4* 显著提高了葡萄愈伤组织的抗氧化能力。

### 2.4　过表达 *VvDREB4* 通过促进多糖积累提高葡萄耐盐碱性

由 *VvDREB4* 转基因葡萄愈伤组织表型可知，两种愈伤组织形态差异明显，*VvDREB4* 转基因愈伤组织颗粒感更强，且糖分积累更多。基于此，笔者测定了愈伤组织中纤维素、半纤维素、果胶和木质素含量。

结果显示，除果胶含量外，*VvDREB4* 转基因愈伤组织中纤维素、半纤维素及木质素含量均高于对照组，其中纤维素和木质素含量差异达到显著水平。此外，在 $Na_2CO_3$ 胁迫处理下，*VvDREB4* 转基因葡萄愈伤组织中木质素含量极显著增加，为对照组的 3.16 倍。上述结果表明，*VvDREB4* 对葡萄愈伤组织中多糖积累影响显著，特别是木质素含量（图 7）。




*,**,***分别代表在 $P<0.05$、$P<0.01$ 和 $P<0.001$ 差异显著。下同。

*, **, *** indicate significant difference at $P<0.05$, $P<0.01$ and $P<0.001$, respectively. The same below.

**图 5　愈伤组织生长量、水分含量、总糖含量及总蛋白含量**

**Fig. 5　Growth amount, water content, total sugar content and total protein content of callus**

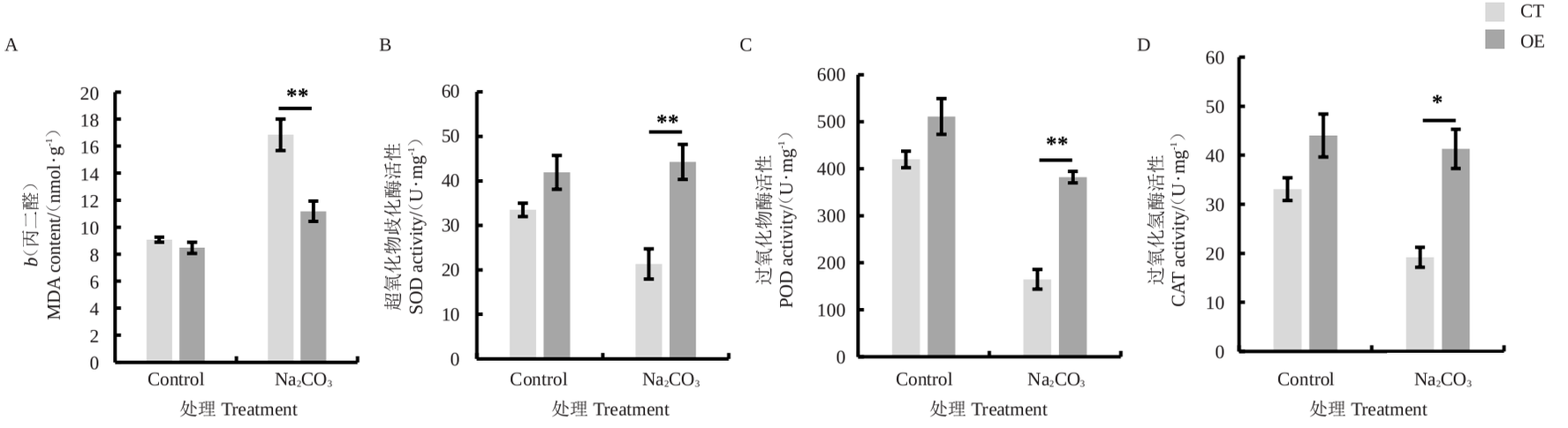



**图 6　50 mmol· L$^{-1}$ $Na_2CO_3$ 碱性盐胁迫对葡萄愈伤组织活性氧清除相关酶活性的影响**

**Fig. 6　Effects of 50 mmol· L$^{-1}$ $Na_2CO_3$ alkaline salt stress on the activities of reactive oxygen species scavenging-related enzymes in grape callus**

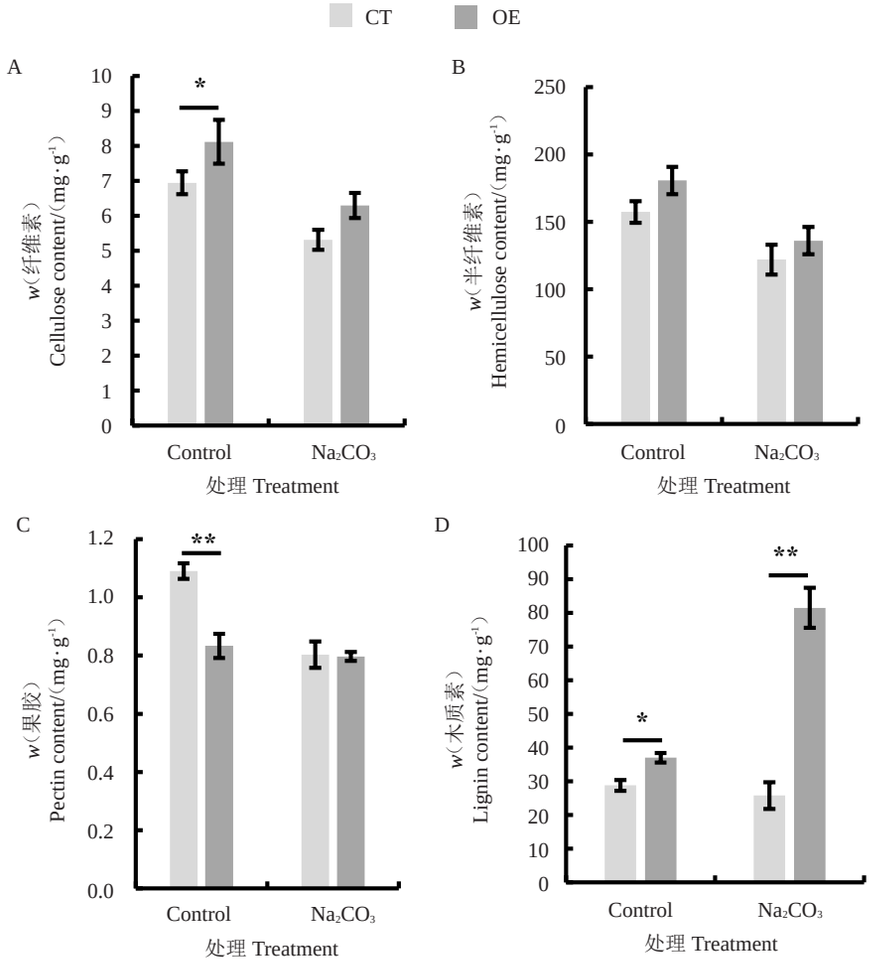
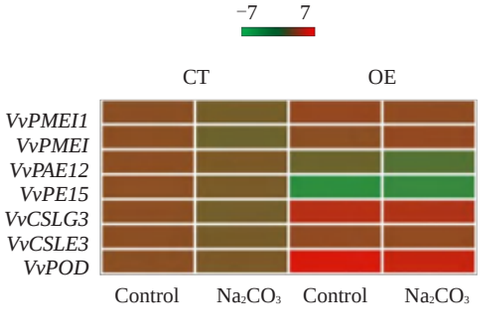



**图 7　50 mmol·L⁻¹ $Na_2CO_3$ 碱性盐胁迫对愈伤组织多糖物质含量的影响**

**Fig. 7　Effects of 50 mmol·L⁻¹ $Na_2CO_3$ alkaline salt stress on the content of polysaccharides in callus**

### 2.5　过表达 *VvDREB4* 影响葡萄愈伤组织细胞壁代谢通路相关基因的表达

利用实时荧光定量测定多糖物质代谢通路中关键酶合成基因在对照组和 *VvDREB4* 转基因葡萄愈伤组织中的相对表达量。结果显示，在 *VvDREB4* 转基因葡萄愈伤组织中，纤维素合成酶（cellulose synthase，CSL）与木质素生物合成的核心催化酶（peroxidase，POD）均受 *VvDREB4* 基因诱导，其 $\log_2$FoldChange 为 1.53~6.97；果胶代谢相关基因呈现不同的变化，相较对照组，果胶甲酯酶抑制剂（pectin methylesterase inhibitor，PMEI）基因显著上调，其 $\log_2$FoldChange 为 1.02~1.98，而果胶乙酰酯酶（pectinacetylesterase，简称 PAE）和果胶酯酶（pectinesterase，PE）基因显著下调，其 $\log_2$FoldChange 分别为 −1.48 与 −6.24；$Na_2CO_3$ 胁迫处理前后，上述基因在 *VvDREB4* 转基因葡萄愈伤组织中的表达模式无显著变化（图 8）。以上结果表明，过表达 *VvDREB4* 增




每个基因的差异表达均以 $\log_2$（差异倍数）值表示，标准化后的数值通过颜色标度进行可视化。

The differential expression of each gene is represented by the $\log_2$ (fold change) value, and the normalized values are visualized using a color scale.

**图 8　多糖物质代谢通路中的关键酶合成基因在对照组和 *VvDREB4* 过表达葡萄愈伤组织中的相对表达量热图**

**Fig. 8　Heatmap of the relative expression levels of key enzyme synthesis genes in the polysaccharide metabolic pathway between the control group and *VvDREB4*-overexpressing grape callus**

强了葡萄愈伤组织细胞壁刚性与结构稳定性，使其几乎免受外界胁迫的影响。

## 3 讨 论

### 3.1 *VvDREB4*转录因子正调控葡萄的碱性盐胁迫耐受性

DREB转录因子作为AP2/ERF超家族中广泛参与非生物胁迫应答的关键亚群，通过结合下游基因启动子中DRE/CRT顺式作用元件，激活复杂的胁迫响应网络[21-22]。在葡萄基因组中鉴定出38个*VvDREB*成员，分为6个亚组，表现出对高盐、干旱等多种胁迫的敏感性[23]。已有研究表明，DREB家族广泛参与了植物对高盐、低温、干旱及渗透胁迫的响应。在拟南芥[24]、葡萄[25]、柚木[26]、棉花[27]和番茄[28]等物种中，DREB家族成员均被证实是逆境应答的关键调节因子。例如，在拟南芥中异源表达杉木*ScDREB5*能够显著提高其在盐胁迫下的种子萌发率和幼苗耐受性[29]；杨树*PsDREB*基因表达受冷、热、干旱和盐胁迫的差异诱导[30]；基因敲除和过表达试验证明，*TaDREB*转录本水平降低会削弱小麦耐旱性，而过表达则显著增强抗旱能力[31]。进化树分析发现，葡萄*VvDREB4*与草莓*FaDREB1*及柑橘*CcDREB1D*亲缘关系最近，提示它们可能在胁迫应答中具有相似的生物学功能。为明确*VvDREB4*功能，笔者成功克隆该基因并获得了稳定转化的葡萄愈伤组织。表型分析表明，过表达*VvDREB4*明显缓解碱性盐胁迫对愈伤组织生长的抑制，并引发一系列积极的生理响应：糖含量显著提高，SOD、POD和CAT等抗氧化酶活性增强以及丙二醛（MDA）积累减少。本研究结果与前人报道类似，如番茄*SlAREB1*通过增强渗透调节和抗氧化防御能力，正向调控碱性盐胁迫耐受性[32]。然而，部分果树AP2/ERF转录因子功能存在分化。例如，MdERF023通过ABA信号、$Na^+/H^+$转运负调控苹果耐盐性[33]。因此，*VvDREB4*是否通过独立于已知信号通路的新机制调控碱性盐胁迫响应，仍有待进一步解析。

### 3.2 *VvDREB4*通过促进细胞壁多糖积累与重构增强细胞机械强度

植物在应对逆境胁迫时，细胞壁结构重塑是增强其机械强度与维持细胞完整性的重要策略，该过程受到转录因子的多层次调控。在逆境胁迫下，植物通过改变细胞壁主要成分的合成和沉积来应对损害，以防止水分流失并减少过量离子向植物体内的运输[34]。木质素作为植物细胞壁的重要组成成分，其积累可增强细胞壁的机械强度和结构稳定性，减少碱性盐胁迫下$Na^+$等有害离子向细胞内的渗透与转运，降低离子毒害；同时，木质素积累可增强细胞壁的保水能力，缓解胁迫导致的细胞脱水损伤，进而提高葡萄愈伤组织的耐盐碱能力[35]。此外，本研究荧光定量结果显示，过表达*VvDREB4*可显著促进过氧化物酶（参与木质素合成的关键酶）及纤维素合成酶基因的转录，间接调控木质素合成通路，促进木质素高效积累，形成耐盐碱防御屏障。类似地，番茄*SlMYB71*与*SlWRKY8*通过激活木质素合成途径提高耐盐能力[36]；水稻*OsSHN1*、*OsMYB48*等转录因子基因通过促进次生细胞壁增厚与木质化过程，显著增强植株对盐胁迫的适应性[37-39]。本研究同样观察发现，在碱性盐胁迫条件下，*VvDREB4*转基因葡萄愈伤组织表现出更为明显的颗粒状形态，显著促进纤维素、半纤维素和木质素等结构性多糖的积累。其中，木质素含量受胁迫诱导显著提高，为对照组的3.16倍，表明*VvDREB4*在细胞壁强化过程中发挥了关键作用。在分子机制层面，本研究进一步发现*VvDREB4*能够直接调控细胞壁相关合成基因的表达：一方面显著上调纤维素合成酶及木质素生物合成关键基因转录；另一方面抑制果胶降解相关基因（如果胶乙酰酯酶PAE与果胶酯酶PE）的表达。研究报道[40-41]，过表达*DREB1A*基因可促进烟草或拟南芥多糖等物质合成，进而增强植物对干旱和低温胁迫的耐受性。然而，近期研究表明，部分ERF家族转录因子在调控植物碳水化合物代谢及抗逆反应中表现出负向调控作用。例如，杨树*ERF194*能够直接抑制淀粉和蔗糖代谢关键基因表达，导致叶片中蔗糖等重要碳水化合物含量降低，进而影响植物的碳资源分配与非生物胁迫耐受性[37]；铁皮石斛*DoERF5*负调控甘露醇等多糖积累[42]。此外，大麦*HvERF72*作为转录抑制因子，通过结合淀粉合成基因的启动子区，直接抑制淀粉的生物合成与B型淀粉颗粒的形成，从而影响籽粒的碳分配过程[43]。尽管DREB与ERF同属AP2/ERF超家族，但二者在碳水代谢与抗逆调控中存在功能分化：DREB促进多糖积累以提升抗逆性，部分ERF则抑制碳水合成，负调控生长与防御间的资源分配。该分化表明，同家族不同成员可能通过精细调控碳分配，协同构建

植物逆境应答调控网络。综上所述，*VvDREB4*可通过渗透调节、抗氧化及细胞壁代谢通路，促进多糖沉积以增强细胞机械支撑能力，该途径或为*VvDREB4*提升葡萄耐碱性的全新关键分子机制。

## 4　结　论

葡萄*VvDREB4*通过促进愈伤组织中纤维素、半纤维素和木质素等与细胞壁相关的多糖次生代谢物质的积累，增强细胞膜渗透调节能力，同时降低丙二醛积累，维持活性氧代谢平衡，提高葡萄抗氧化能力，从而正向调控葡萄的碱性盐抗性。

## 参考文献 References:


[1] 鲁倩君，刘迎，赵宝龙，孙军利 . 葡萄砧木耐盐碱性研究进展[J]. 中外葡萄与葡萄酒，2022(4)：75-80.
Lu Qianjun，Liu Ying，Zhao Baolong，Sun Junli. Research progress on salt-alkaline tolerance of grape rootstock[J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine，2022(4)：75-80.

[2] Shamsabad M R M，Roosta H R，Esmaeilizadeh M. Responses of seven strawberry cultivars to alkalinity stress under soilless culture system[J]. Journal of Plant Nutrition，2021，44(2)：166-180.

[3] Yang S，Xu Y Q，Tang Z Z，Jin S M，Yang S. The impact of alkaline stress on plant growth and its alkaline resistance mechanisms[J]. International Journal of Molecular Sciences，2024，25(24)：13719.

[4] Zhang X，Chen L C，Shi Q H，Ren Z H. *SlMYB102*，an R2R3-type MYB gene，confers salt tolerance in transgenic tomato[J]. Plant Science，2020，291：110356.

[5] 杨文茂，柳成荫，郭宏扬，陈奥星，许丽丽，王宪璞 . 基于盐胁迫构建葡萄酵母 cDNA 文库及 *VvRBOHA* 启动子互作蛋白筛选[J]. 果树学报，2025，42(12)：2803-2813.
Yang Wenmao，Liu Chengyin，Guo Hongyang，Chen Aoxing，Xu Lili，Wang Xianpu. Construction of a grapevine cDNA library under salt stress and screening for *VvRBOHA* promoter-interacting proteins[J]. Journal of Fruit Science，2025，42(12)：2803-2813.

[6] Li D F，Zhang Y Q，Hu X N，Shen X Y，Ma L，Su Z，Wang T，Dong J L. Transcriptional profiling of *Medicago truncatula* under salt stress identified a novel CBF transcription factor MtCBF4 that plays an important role in abiotic stress responses[J]. BMC Plant Biology，2011，11(1)：109.

[7] Wu D Z，Qiu L，Xu L L，Ye L Z，Chen M X，Sun D F，Chen Z H，Zhang H T，Jin X L，Dai F，Zhang G P. Genetic variation of *HvCBF* genes and their association with salinity tolerance in Tibetan annual wild barley[J]. PLoS One，2011，6(7)：e22938.

[8] 宋奇娉，刘洋，Chen Tony Huihuang，杨兴洪 . 异源表达马铃薯 *StCBF1* 与 *StCBF4* 基因提高拟南芥的耐盐性[J]. 植物生理学报，2020，56(3)：389-398.
Song Qiping，Liu Yang，Chen Tony Huihuang，Yang Xinghong. Ectopic expression of *StCBF1* and *StCBF4* enhances the salt tolerance of *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology Journal，2020，56(3)：389-398.

[9] Zhang Y，Xia P G. The DREB transcription factor，a biomacromolecule，responds to abiotic stress by regulating the expression of stress-related genes[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2023，243：125231.

[10] Wang J R，Zhang Y，Wang J Z，Ma F，Wang L Y，Zhan X Q，Li G B，Hu S S，Khan A，Dang H R，Li T L，Hu X H. Promoting γ-aminobutyric acid accumulation to enhances saline-alkali tolerance in tomato[J]. Plant Physiology，2024，196(3)：2089-2104.

[11] Liu Z J，Wu C L，Li W J，Hu L，Fu X Y，Hu B H，Liao Y X，Xiang Z F，Jiang H B，Huang W Z，Yang X C，Du A P，Pu Z G，Tu S B，Ma X R，Li H. *OsCSLD4* confers salt-alkali tolerance by regulating gene expressions in photosynthesis and carbohydrate biosynthesis pathways，cell wall hemicellulose accumulation and physio-biochemical adaptability in rice[J]. Plant Stress，2024，14：100604.

[12] Guo W L，Chen J X，Liu L，Ren Y K，Guo R，Ding Y，Li Y，Chai J Q，Sun Y Q，Guo C H. *MsMIOX2*，encoding a *MsbZIP53*-activated myo-inositol oxygenase，enhances saline-alkali stress tolerance by regulating cell wall pectin and hemicellulose biosynthesis in alfalfa[J]. The Plant Journal，2024，120(3)：998-1013.

[13] Jing Y Y，Pei T T，Li C R，Wang D N，Wang Q，Chen Y J，Li P M，Liu C H，Ma F W. Overexpression of the *FERONIA* receptor kinase MdMRLK2 enhances apple cold tolerance[J]. The Plant Journal，2023，115(1)：236-252.

[14] Liu Q W，Chen X，Li S J，Wang Q，Liu Y S，Zhang Z J，Yang C，Xu S，Mao K，Ma F W，Li C. MdMYB54 reduces disease severity caused by *Fusarium solani* in apple by modulating cell wall cellulose and pectate lyase-dependent defense[J]. The Plant Journal，2025，121(2)：e17206.

[15] Hong P J，Zhang Z B，Zhou Y Z，Lu X Q，Sadeghnezhad E，Pang Q Q，Tao Z，Cheng Y X，Wang B，Jia H F. Polygalacturonase inhibiting protein enhances cell wall strength of strawberry fruit for resistance to *Botrytis cinerea* infection[J]. Scientia Horticulturae，2024，327：112850.

[16] Shi W J，Riemann M，Rieger S M，Nick P. Cold-induced nuclear import of CBF4 regulates freezing tolerance[J]. International Journal of Molecular Sciences，2022，23(19)：11417.

[17] Lian X Y，Zhao X Y，Zhao Q，Wang G L，Li Y Y，Hao Y J. MdDREB2A in apple is involved in the regulation of multiple abiotic stress responses[J]. Horticultural Plant Journal，2021，7(3)：197-208.

[18] Mao L Z，Deng M H，Jiang S R，Zhu H S，Yang Z G，Yue Y L，Zhao K. Characterization of the DREBA4-type transcription factor (SlDREBA4)，which contributes to heat tolerance in tomatoes[J]. Frontiers in Plant Science，2020，11：554520.

[19] Hu X，Liang J X，Wang W J，Cai C Y，Ye S W，Wang N N，Han F Y，Wu Y X，Zhu Q. Comprehensive genome-wide analysis of the *DREB* gene family in Moso bamboo (*Phyllostachys edulis*)：

Evidence for the role of *PeDREB28* in plant abiotic stress response[J]. The Plant Journal，2023，116(5)：1248-1270.

[20] Chen J D，Zhang H，Tong J Q，Liu C Y，Ran J H，Tang J，Liu J Y，Wen J，Zeng C L，Wan H P，Shen J X. Genome-wide association analysis of root length traits in *Brassica napus* at germination stage under sodium carbonate stress[J]. Euphytica，2021，217(10)：197.

[21] Hou L X，Wu Q Q，Zhu X M，Li X Y，Fan X X，Hui M L，Ye Q，Liu G C，Liu X. Transcription factor VvDREB2A from *Vitis vinifera* improves cold tolerance[J]. International Journal of Molecular Sciences，2023，24(11)：9381.

[22] Ravikumar G，Manimaran P，Voleti S R，Subrahmanyam D，Sundaram R M，Bansal K C，Viraktamath B C，Balachandran S M. Stress-inducible expression of AtDREB1A transcription factor greatly improves drought stress tolerance in transgenic indica rice[J]. Transgenic Research，2014，23(3)：421-439.

[23] Yao P F，Zhang C L，Sun C，Liu Y H，Liu Z，Wei J，Su X L，Bai J P，Cui J M，Bi Z Z. The abscisic acid receptor gene *StPYL8-like* from *Solanum tuberosum* confers tolerance to drought stress in transgenic plants[J]. Antioxidants，2024，13(9)：1088.

[24] Li X M，Zhong M，Qu L N，Yang J X，Liu X Q，Zhao Q，Liu X M，Zhao X Y. AtMYB32 regulates the ABA response by targeting ABI3，ABI4 and ABI5 and the drought response by targeting CBF4 in *Arabidopsis*[J]. Plant Science，2021，310：110983.

[25] Karimi M，Ebadi A，Mousavi S A，Salami S A，Zarei A. Comparison of CBF1，CBF2，CBF3 and CBF4 expression in some grapevine cultivars and species under cold stress[J]. Scientia Horticulturae，2015，197：521-526.

[26] Liu M M，Yang G，Zhou W L，Wang X B，Han Q，Wang J G，Huang G H. Transcriptomic analysis reveals *CBF*-dependent and *CBF*-independent pathways under low-temperature stress in teak (*Tectona grandis*)[J]. Genes，2023，14(11)：2098.

[27] Su J C，Song S L，Wang Y T，Zeng Y P，Dong T Y，Ge X Y，Duan H Y. Genome-wide identification and expression analysis of *DREB* family genes in cotton[J]. BMC Plant Biology，2023，23(1)：169.

[28] Azzeme A M，Abdullah S N A，Aziz M A，Wahab P E M. Oil palm drought inducible *DREB1* induced expression of DRE/CRT- and non-DRE/CRT-containing genes in lowland transgenic tomato under cold and PEG treatments[J]. Plant Physiology and Biochemistry，2017，112：129-151.

[29] Liu J Y，Yang R R，Liang Y Q，Wang Y，Li X S. The DREB A-5 transcription factor ScDREB5 from *Syntrichia caninervis* enhanced salt tolerance by regulating jasmonic acid biosynthesis in transgenic *Arabidopsis*[J]. Frontiers in Plant Science，2022，13：857396.

[30] Li Y，Xu B H，Du Q Z，Zhang D Q. Association genetics and expression patterns of a *CBF4* homolog in *Populus* under abiotic stress[J]. Molecular Genetics and Genomics，2015，290(3)：913-928.

[31] Mei F M，Chen B，Du L Y，Li S M，Zhu D H，Chen N，Zhang Y F，Li F F，Wang Z X，Cheng X X，Ding L，Kang Z S，Mao H D. A gain-of-function allele of a *DREB* transcription factor gene ameliorates drought tolerance in wheat[J]. The Plant Cell，2022，34(11)：4472-4494.

[32] Xu Z J，Wang F，Ma Y B，Dang H R，Hu X H. Transcription factor SlAREB1 is involved in the antioxidant regulation under saline-alkaline stress in tomato[J]. Antioxidants，2022，11(9)：1673.

[33] Chen C，Zhang Z，Lei Y Y，Chen W J，Zhang Z H，Dai H Y. The transcription factor MdERF023 negatively regulates salt tolerance by modulating ABA signaling and $Na^+/H^+$ transport in apple[J]. Plant Cell Reports，2024，43(7)：187.

[34] Tenhaken R. Cell wall remodeling under abiotic stress[J]. Frontiers in Plant Science，2015，5：771.

[35] Dabravolski S A，Isayenkov S V. The regulation of plant cell wall organisation under salt stress[J]. Frontiers in Plant Science，2023，14：1118313.

[36] 石坚 . OsSHN1 和 OsMYB48 参与水稻木质素合成调控的研究[D]. 武汉：华中农业大学，2014.
Shi Jian. Regulation of lignin biosynthesis by OsSHN1 and OsMYB48 in rice[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University，2014.

[37] Kim T H，Kim S M. Identification of candidate genes for salt tolerance at the seedling stage using integrated genome-wide association study and transcriptome analysis in rice[J]. Plants，2023，12(6)：1401.

[38] Cao S X，Wang Y，Gao Y H，Xu R，Ma J N，Xu Z P，Shang-Guan K K，Zhang B C，Zhou Y H. The RLCK-VND6 module coordinates secondary cell wall formation and adaptive growth in rice[J]. Molecular Plant，2023，16(6)：999-1015.

[39] Vyse K，Schaarschmidt S，Erban A，Kopka J，Zuther E. Specific CBF transcription factors and cold-responsive genes fine-tune the early triggering response after acquisition of cold priming and memory[J]. Physiologia Plantarum，2022，174(4)：e13740.

[40] Kudo M，Kidokoro S，Yoshida T，Mizoi J，Kojima M，Takebayashi Y，Sakakibara H，Fernie A R，Shinozaki K，Yamaguchi-Shinozaki K. A gene-stacking approach to overcome the trade-off between drought stress tolerance and growth in *Arabidopsis*[J]. The Plant Journal，2019，97(2)：240-256.

[41] Wang S J，Kang Y F，Zhang W Q，Yan Y，Zhao X C，Dang H，Wang L，Zhao K，Guo J P. ERF194 regulates poplar leaf development *via* the starch and sucrose metabolism under natural environments[J]. Industrial Crops and Products，2025，234：121626.

[42] Zeng D Q，Shi H Y，Chen J，Si C，Duan J，Liu Z J，He C M. The ERF5-WOX4 transcription factor regulatory module controls mannan biosynthesis in the orchid *Dendrobium officinale*[J]. Plant Physiology，2025，198(3)：kiaf273.

[43] Zhou G Z，Ding J J，Li Y L，Xu Q，Zhang Y Z，Tang H P，Qi P F，Deng M，Ma J，Chen G Y，Wang J R，Lin N，Wei Y M，Jiang Q T. Ethylene-responsive factor *HvERF72* regulates starch synthesis and B-type starch granules initiation in barley[J]. Carbohydrate Polymers，2025，368(Pt 2)：124167.