

拟南芥 *ERD15* 基因缺失突变体的分子鉴定和表型分析

熊慧, 吕桂珍, 李冬兵, 李韶山*

(华南师范大学生命科学学院, 生态与环境科学广东省普通高校重点实验室, 广州 510631)

摘要: 为探究 *ERD15* 基因功能, 利用反向遗传学, 通过 PCR 及半定量 PCR 筛选鉴定出拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) *ERD15* 基因的 T-DNA 插入纯合突变体, 并对其表型进行观察分析。结果表明, *erd15* 突变体莲座叶数目显著增多, 提前 3~4 d 开花, 突变体比野生型更早从营养生长转向生殖生长。拟南芥野生型植株主茎为圆柱体, 平均直径 1.29 mm, 而 *erd15* 突变体主茎扁平, 平均直径达到 2.27 mm, 具极显著差异。与野生型相比, *erd15* 突变体果实心皮发育受到影响, 隔膜上排列有多排种子, 果荚顶端膨大, 长度缩短 37.67%, 但角果平均结籽数升高。因此, *ERD15* 基因参与了调控拟南芥植株的生殖生长过程。

关键词: 拟南芥; *ERD15* 基因; T-DNA 插入突变; 反向遗传学

doi: 10.11926/jtsb.4196

Molecular Identification and Phenotype of *Arabidopsis thaliana* Mutant *erd15*

XIONG Hui, LÜ Gui-zhen, LI Dong-bing, LI Shao-shan

(Key Laboratory of Ecology and Environmental Science in Guangdong Higher Education, School of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: In order to explore the function of *ERD15* gene by reverse genetics, a homozygous T-DNA insertion mutant of *ERD15* gene of *Arabidopsis thaliana* was identified by PCR and semi-quantitative PCR. The phenotype of *erd15* mutant was observed. The results showed that the number of rosette leaves in *erd15* mutant increased significantly and flowering time was 3–4 days earlier, indicating that the *erd15* mutant from vegetative to reproductive growth was earlier than the wild type. The main stem of wild-type *A. thaliana* was cylindrical with an average diameter of 1.29 mm, while that of *erd15* mutant became flattened with an average diameter of 2.27 mm. Compared with the wild type, the carpel development of *erd15* mutant fruit was affected, multiple rows of seed were arranged on the septum, and the length of silique was shortened by 37.67% with swelled apex, but the average seed number of silique increased in *erd15* mutant. Therefore, it was suggested that *ERD15* gene was involved in regulating the reproductive growth of *A. thaliana*.

Key words: *Arabidopsis thaliana*; *ERD15*; T-DNA insertion mutation; Reverse genetics

植物的形态、生理和生化反应由一系列基因控制, 这些基因的表达会受到多种因素的诱导, 包括病菌、干旱、高盐、寒冷等。根据基因的表达模式

和对环境胁迫的反应, 可以分为不同类别, 即冷诱导响应基因 *COR*、低温响应基因 *LTI* 和脱水诱导早期响应基因 *ERD* 等^[1]。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)

收稿日期: 2020-01-19

接受日期: 2020-03-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(31670266); 广东省自然科学基金项目(2017A030313115)资助

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31670266); and the Natural Science Foundation of Guangdong Province (Grant No. 2017A030313115).

作者简介: 熊慧(1995~), 女, 硕士研究生, 研究方向: 植物生理生态与分子生物学。E-mail: 754540083@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: lishsh@scnu.edu.cn

受脱水胁迫 1 h 内可诱导 *ERD* 基因表达, 已鉴定的 16 个 *ERD* 基因 cDNA 属于不同的基因家族, 作用于不同的代谢途径, 以增强拟南芥的抗旱性^[2], 这些基因除了具备快速应答干旱胁迫外, 还具备应答冷、高盐、衰老、ABA (脱落酸) 等多种逆境胁迫信号, 表现出多样化生化功能并存在于不同的亚细胞^[3-5], *ERD1* 编码叶绿体 ATP 依赖蛋白酶, 防御叶绿体损伤; *ERD13* 是植物特异性硫代谷胱甘肽转移酶, 能与 BAK1 相互作用; *ERD16* 是一种泛素化延伸蛋白^[6-8]。拟南芥中 *ERD15* 基因受各种生物因子和非生物因子的诱导表达, 是 ABA 反应和依赖水杨酸(SA)防御途径的重要调节器^[9-10]。

基因组学研究证实, *ERD15* 属于一个高度保守的植物特有基因家族, *ERD15* 蛋白具有典型的与 PABP [poly(A) binding protein] 作用的基序 PAM2 (PABP-interacting motif 2), 其他高度保守基序 PAE1 (PAM2 associated element 1) 和 QPR (amino acid sequence isoleucine-glutamine/histidine-glutamine-proline-arginine) 的功能还有待研究^[11]。含有 PAM2 基序的蛋白称为 PACs (PAM2-containing proteins) 家族蛋白, 该家族蛋白参与 mRNA 代谢, 同时也参与调控生物周期节律以及泛素化降解等^[12-13]。这提示 *ERD15* 可能在基因表达的转录后调控中发挥作用。目前对于 *ERD15* 的研究主要是与胁迫响应有关, 大豆(*Glycine max*) 在渗透胁迫下, *ERD15* 蛋白结合并激活 NRP-B 启动子表达, 调控引发细胞程序性死亡的相关基因^[14]。低温下葡萄(*Vitis vinifera*) 的 *ERD15* 可以保护细胞膜, 提高光合效率并促进可溶性物质的积累和抑制脂质过氧化来增强植物抵抗外部应激的能力^[15]。Saeed 等^[16]报道桑树(*Morus alba*) 的 *ERD15* 蛋白能在酵母中驱动报告基因表达, 作为转录调控因子发挥功能, 其中第 70~100 位氨基酸是转录激活的关键区域, 可能含有 *ERD15* 的 DNA 结合结构域。对拟南芥中的研究表明, *ERD15* 可以瞬时被各种胁迫以及和胁迫相关的植物激素所诱导, 如脱水、低温、外界损伤、ABA、SA、高光 and 植物病原菌等^[7,9-10,17]。在非生物胁迫响应中, *ERD15* 是 ABA 信号的负调控因子, 过量表达 *ERD15* 会降低植物对 ABA 的敏感性, 从而降低植株对于干旱和寒冷的耐受性; 相反, 通过 RNAi 沉默导致 *ERD15* 表达缺失使得植株对 ABA 超敏感, 从而提高耐旱性和抗冷性^[9,18]。胡萝卜(*Daucus carota*) *ERD15* 基因过表达诱导水杨酸调控基因的应答, 增

加了对软腐欧文氏菌的抵抗力^[9]。拟南芥中 *ERD15* 负调控 ABA 信号途径, 阻止植物在生物胁迫时快速应答, 从而加剧对植物的损害; 但过表达 *ERD15* 可以提高葡萄和烟草(*Nicotiana tabacum*) 的存活率, 减少脂质过氧化, 提高渗透压从而增强对于干旱和冷胁迫的耐受性^[15,19]。因此, 不同植物中 *ERD15* 可能具有不同的功能^[16,20-21]。

ERD15 响应各种逆境胁迫, 是多种信号调节的枢纽, 为深入探究 *ERD15* 基因的功能, 本研究以拟南芥 T-DNA 插入纯合突变体 *erd15* 为材料, 进行表型观察分析, 揭示了 *ERD15* 基因参与调控拟南芥生殖生长过程, 为进一步研究该基因的功能和分子调控机制奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料和培养条件

拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) 突变体 *erd15* (SALK_202985) 购自拟南芥生物资源中心 ABRC (*Arabidopsis* Biological Resource Center), 经筛选鉴定后的纯合突变体用于本试验。野生型(Col-0)由华南师范大学生态与环境科学重点实验室保存。

拟南芥种子在黑暗中 4℃ 春化 3 d, 用 30% (V/V) 次氯酸钠消毒 10 min, 无菌水反复洗涤 8~10 次后播种在固体 1/2MS 培养基上。培养温度 22℃, 相对湿度 60%~70%, 16 h/8 h 的光暗周期。幼苗长出 2~4 片真叶后, 移栽到培养土中(营养土: 蛭石 = 2: 1), 覆盖保鲜膜保湿 3 d 后揭膜, 相同温度和光照条件继续培养。

1.2 纯合突变体 DNA 水平的鉴定

幼苗生长 3 周, 剪取叶片采用 CTAB 法^[22]提取基因组总 DNA, 以总 DNA 为模板进行 PCR 扩增。PCR 所用引物序列从 <http://signal.salk.edu/> 上获取。采用基因特异引物 LP、RP 和 T-DNA 通用引物 LB1.3 (表 1) 进行 PCR 扩增, 筛选出 *erd15* 纯合突变体, 并确定 T-DNA 的插入位点。反应体系共 20 μL: 模板 1 μL, 引物各 1 μL, 2×Taq PCR Master Mix 10 μL (上海生物工程有限公司), 加 ddH₂O 至 20 μL, 充分混匀后进行 PCR 扩增。PCR 反应程序为: 94℃ 变性 4 min, 94℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 30 个循环。PCR 产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测后于凝胶成像系统成像。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for PCR

引物 Primer	序列 Sequence (5'~3')	引物 Primer	序列 Sequence (5'~3')
<i>erd15</i> -LP	TAGCTGGTTCCACAATCGATC	<i>ERD15</i> -QR	GCTGGTGGATGTTTCTCGGA
<i>erd15</i> -RP	GTGAGTAGCCAACAGGATTGG	<i>Actin2</i> -QF	GTTGGGATGAACCAGAAGGA
LB1.3	ATTTTGCCGATTTCGGAAC	<i>Actin2</i> -QR	GCTCTTCAGGAGCAATACGAAG
<i>ERD15</i> -QF	CAGGAGCCCGAGATCGATTG		

1.3 纯合突变体 RNA 水平的鉴定

取 1 周龄幼苗约 100 mg 为材料, 采用 Trizol 法提取总 RNA 后用反转录试剂盒(Prime Script™ reagent Kit with gDNA Eraser)进行反转录, 得到的 cDNA 进行 RT-PCR, 分析基因表达水平。以 *Actin2* (AT3G18780)为内参基因, 对目的基因的表达水平进行标准化。反应体系及反应程序同 DNA 水平筛选实验, PCR 扩增产物经 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测后于凝胶成像系统成像。

1.4 植株的表型观测

随机选取 20 株拟南芥野生型 Col-0 和突变体 *erd15* 植株, 观测并记录莲座叶数目、花序形态、果荚长度等性状。使用体式荧光显微镜(徕卡, M205FA)和佳能相机(Canon EOS D70)拍摄记录表型, 使用 Photoshop 和 Image J 软件对采集的图像进行处理和测量分析。统计 4 周龄生长状况良好植株的莲座叶数目; 以种植日到第 1 朵花露白的天数为开花时间^[23]; 选择发育到第 14 阶段左右的花, 用解剖针小心去除萼片和花瓣, 观察拍摄雌蕊表型; 在植株花序下约 10 cm 处测量主茎直径; 花发育至第 17 阶段时, 取不同基因型角果各 30 个, 测量果荚长度, 并徒手横切, 观察果荚内部的种子腔^[24-25], 按照 Alvarez-Buylla 等的方法划分花发育阶段^[25]。收集成熟但未开裂的长角果, 完全浸入脱色液中(乙醇: 乙酸体积比=3: 1), 脱色 24 h 使长角果透明, 便于观察种子表型和败育情况。植株高度以主茎的最终长度为准, 生长 50 d 时进行测量。在同一固体 1/2MS 培养基上, 划分区域均匀点播野生型和突变体种子, 每区域播种 50 粒, 共 10 个重复, 6 d 后统计种子萌发率。

1.5 叶绿素荧光参数的测定

选择生长 4 周左右已成熟的莲座叶, 用 CF Imager 叶绿素荧光快速成像系统(Chlorophyll Fluorescence Imager System, Technologica 公司, 英国)进

行叶绿素荧光参数测定。 F_v/F_m 代表 PSII 潜在的最大光能转化效率; F_v'/F_m' 反映光合反应中心 PSII 实际捕获能量的传递效率; F_q'/F_m' 为 PSII 实际的光化学量子效率, 是反映植物光合能力的重要指标之一; NPQ 为非光化学淬灭系数, 反映植物热耗散能力^[27-28]。测定前, 将拟南芥幼苗暗处理 30 min 后测定初始荧光(F_0), 在 6 164 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光照强度下测定 F_v/F_m , 然后打开光照强度为 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的测量光, 光适应 5 min 后测定 F_v'/F_m' 、 F_q'/F_m' 和 NPQ 等参数。

1.6 数据处理和分析方法

使用软件 SPSS 23 对数据进行显著性分析, 以 $P<0.05$ 表示差异显著; $P<0.01$ 表示差异极显著。

2 结果和分析

2.1 纯合突变体的鉴定

从图 1: A 可见, *ERD15* (AT2G41430)由 2 个外显子和 1 个内含子组成, *erd15* (SALK_202985)突变体的 T-DNA 插入位点位于第一个外显子上, 约 627 bp 处。

用 *ERD15* 基因的特异性引物 LP 与 RP 进行 PCR 扩增, 野生型中扩增出 1 条带, 条带位置与目的基因(1 385 bp)大小一致, 而与此对应的 *erd15* 突变体中未扩增出条带, 而用 T-DNA 特异性引物 LB1.3 和 RP 进行扩增, *erd15* 突变体中扩增出 1 条特异条带, 条带大小为 500~750 bp, 与引物的预期扩增结果一致, 而野生型中未能扩增出此条带(图 1: B)。证明本试验所使用 *ERD15* 基因的 T-DNA 插入 *erd15* 突变体在 DNA 水平上是纯合突变。为确定 *erd15* 突变体植株在转录水平是否仍存在 *ERD15* 基因的表达, 从基因转录水平对 *erd15* 进行了转录水平鉴定, 半定量 PCR 结果表明, 以 *Actin2* 为内参基因, 野生型拟南芥扩增出 *ERD15* 基因的 CDS 片段, 而纯合 *erd15* 突变体无表达产物(图 1: C), 这

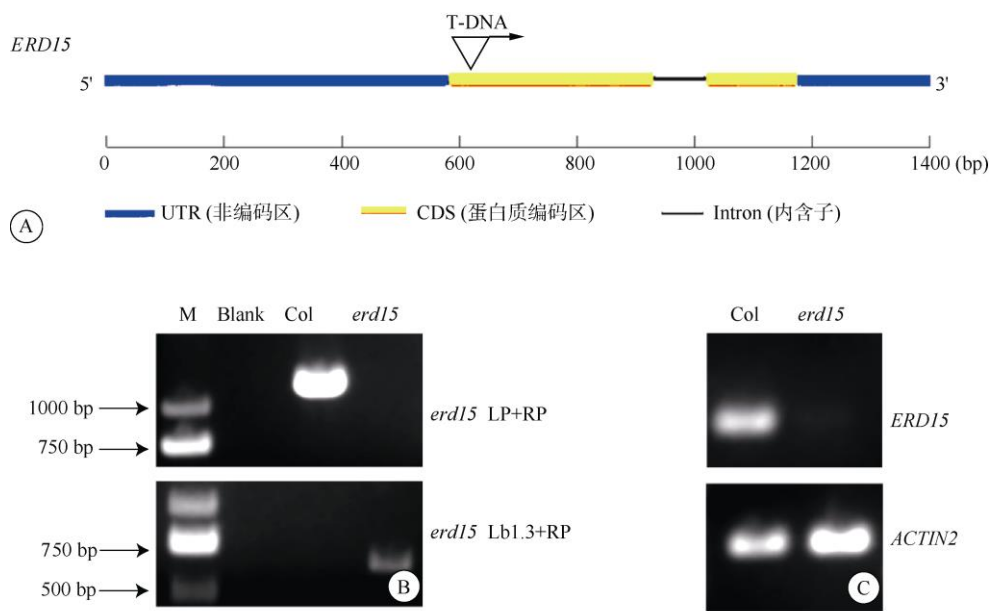


图 1 纯合突变体的鉴定。A: *ERD15* 基因结构和 T-DNA 插入位点; B: *erd15* 突变体基因水平检测; C: *erd15* 突变体转录水平的检测。

Fig. 1 Identification of homozygous mutant. A: *ERD15* gene structure and T-DNA insertion site; B: Detection of *erd15* mutant at gene level; C: Detection of *erd15* gene at expression level.

说明由于 T-DNA 的插入导致 *ERD15* 的转录表达缺失, *erd15* 突变体为功能缺失突变体。

2.2 *erd15* 突变体的表型分析

将野生型拟南芥和 *erd15* 纯合突变体共同种植进行表型比较分析。从表 2 可见, *erd15* 突变体的株高和野生型接近, 无显著差异(图 2: A)。植株营养生长后期, 突变体的莲座叶数目较野生型多 37.97% (图 2: B)。生长 28 d 的拟南芥野生型和 *erd15* 突变体叶片的叶绿素荧光参数 F_v/F_m 、 F_v'/F_m' 、 F_q'/F_m' 和 NPQ 等均无显著差异(表 3), 这一定程度表明 *ERD15* 基因突变没有改变 *erd15* 突变体的光合

作用能力。*erd15* 突变体开花时间较野生型植株提前 3~4 d (图 2: C), 说明 *ERD15* 基因的缺失可能加速了植物由幼龄期向成熟期转变。

在拟南芥生殖生长期, *ERD15* 基因的缺失导致突变体植株花序表型异常(图 3: A~C); 角果表面出现皱褶, 顶端膨大成楔形(图 3: D), 长度比野生型缩短 37.67% (表 2), 达显著差异。主茎由细长的圆柱体变成扁平状, 比野生型的直径增加 75.97% (图 3: A, E, 表 3)。野生型 Col-0 自然开裂的长角果由 2 个心皮和 1 个隔膜组成, 形成假两室, 种子通过株柄呈两列附着在隔膜上; *erd15* 突变体自然开裂的长角果由多心皮发育而成, 内部假隔膜部分不融

表 2 *erd15* 突变体和野生型 Col-0 的表型

Table 2 Phenotype of *erd15* mutant and wild type Col-0

基因型 Genotype	莲座叶数目 Rosette number	开花时间 Flowering days	主茎宽度 (mm) Stem width	角果长度 (mm) Silique length	平均结籽数 Average seed number	种子萌发率 / % Germination rate	株高 (cm) Plant height
Col-0	13.30±0.13	34.20±0.14	1.29±0.03	38.09±0.29	46.94±1.59	96.00±1.26	35.91±0.39
<i>erd15</i>	18.35±0.29**	29.33±0.16*	2.27±0.07**	23.74±0.81**	65.25±2.89**	95.80±1.04	36.71±0.32

表 3 *erd15* 突变体和野生型 Col-0 的叶绿素荧光参数

Table 3 Chlorophyll fluorescent parameters of *erd15* mutant and wild-type Col-0

基因型 Genotype	F_v/F_m	F_v'/F_m'	F_q'/F_m'	NPQ
Col-0	0.802±0.030	0.768±0.004	0.720±0.006	0.276±0.018
<i>erd15</i>	0.797±0.029	0.765±0.004	0.722±0.008	0.273±0.017

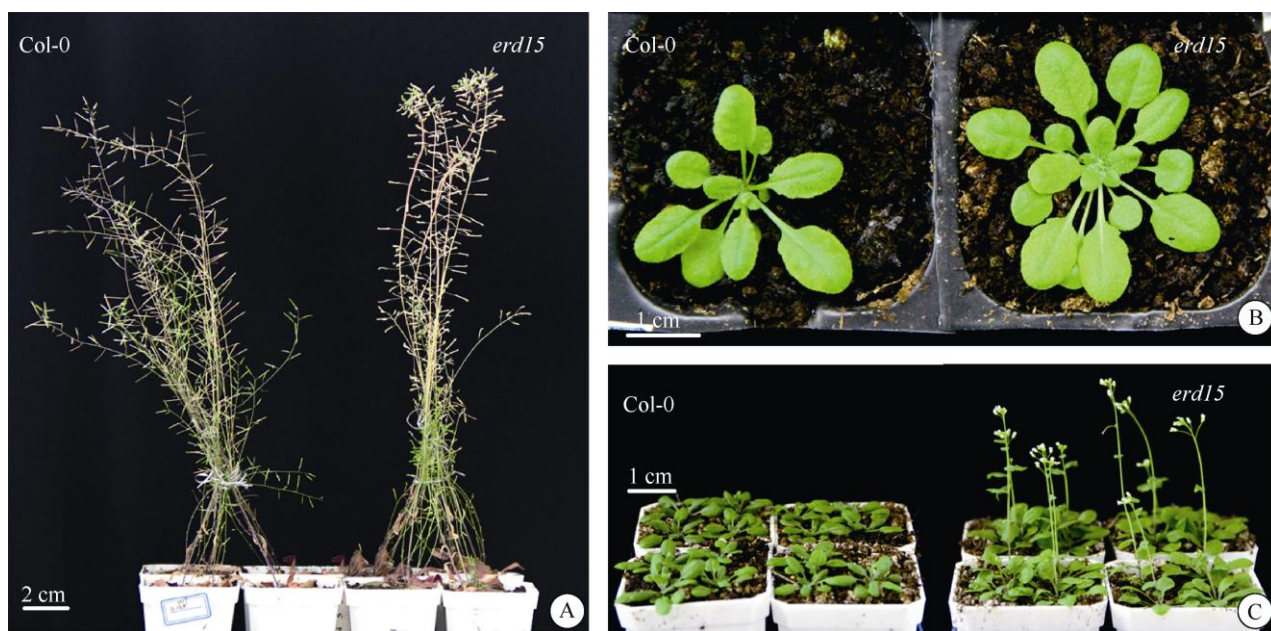


图 2 野生型 Col-0 与 *erd15* 突变体的表型。A: 种子萌发 60 d 的植株; B: 莲座叶; C: 长日照下 *erd15* 突变体开花。

Fig. 2 Phenotype of wild-type Col-0 and *erd15* mutant. A: Plant height at 60 days after germination; B: Rosette leaves; C: Early flowering of *erd15* mutant under long-day.



图 3 野生型 Col-0 和 *erd15* 突变体生殖生长期的表型。A: 主茎上的花和果荚; B, C: 花序; D: 角果; E: 主茎; F: 去除果皮的角果; G: 角果横切; H: 雌蕊。

Fig. 3 Phenotype of wild-type Col-0 and *erd15* mutant at reproductive stage. A: Flower and silique on main stems; B, C: Inflorescences; D: Silique; E: Main stem; F: Silique removed fruit coat; G: Transection of silique; H: Pistil.

合, 有多排种子(图 3: F)。从角果的徒手横切切片可见, 野生型的角果内有 2 个种子腔, *erd15* 突变体长角果顶端膨大区域内无明显种子腔(图 3: G), 并且比野生型的雌蕊异常膨大(图 3: H), 这进一步说明 *erd15* 的雌蕊可能由多心皮融合而成。野生型长角果的平均种子数为 46.94 粒, *erd15* 突变体为 65.25 粒(图 4: A, 表 2), 增加了 39.01%, 可见 *erd15*

突变体长角果的平均长度较野生型短, 但平均结籽数却显著增加。

拟南芥野生型和突变体种子均呈饱满椭圆状、无皱褶、棕色, 没有明显差异(图 4: C)。野生型种子的萌发率为 96.00%, *erd15* 突变体为 95.80% (图 4: B, 表 2), 无显著差异。这表明 *ERD15* 基因的缺失虽然干扰了拟南芥的生殖生长, 但并没有导致育性下降。



图 4 野生型 Col-0 和 *erd15* 突变体的种子表型。A: 透明角果; B, C: 种子。

Fig. 4 Seed phenotype of *erd15* mutant and wild-type Col-0. A: Decolorized siliques; B, C: Seeds.

3 结论和讨论

随着基因组计划的完成, 反向遗传学已经是研究基因功能的有效方法之一。反向遗传学是指从已知的基因序列出发, 通过对靶基因进行必要的加工和修饰, 如定点突变、基因插入、基因置换等, 从而获得该基因突变产生的突变体, 根据突变体表型的变化研究该基因的功能。目前拟南芥用农杆菌侵染的方法创造出大量 T-DNA 插入突变体(<http://signal.salk.edu/>)。本文以拟南芥野生型 Col-0 和 T-DNA 插入突变体 *erd15* 为材料, 进行了表型的初步分析, 结果表明, *erd15* 突变体植株在表型上与野生型发生了明显变化且在后代可稳定遗传。本研究获得的 *erd15* 突变体, *erd15* 基因表达缺失, 表明该突变体可以用于对 *ERD15* 基因功能的研究。

通过观察, *erd15* 突变体的莲座叶数目增多, 出

现早花现象, 暗示着该基因的缺失表达使得植物过早地从营养生长转向了生殖生长^[23]。Bravo 等通过半定量 PCR 检测不同组织中 *ERD15* 基因的转录水平, 结果表明 *ERD15* 在莲座叶、茎、花和未成熟的长角果中均有表达^[12], 这与该基因缺失后突变体与野生型出现差异表型的部位相一致, 揭示 *ERD15* 基因对于拟南芥植株正常的生长发育起重要作用。当植物从营养生长向生殖生长过渡时, 茎顶分生组织会转化成初生花序分生组织, 后者直接产生花芽^[29], 并且有研究表明, 拟南芥 *dellaP* 突变体出现主茎增长, 花原基数目增多与花序分生组织活性增加有关^[23]。本研究中观察到 *erd15* 突变体的主茎比野生型更宽, 单个花序的花数比野生型更多, 这与 *dellaP* 突变体的表型相似, 推测 *ERD15* 基因的缺失可能会增强花序分生组织的活性。此外, *erd15* 突变体角果缩短, 出现褶皱且顶端膨大成楔形, 心皮数

增多, 无明显分隔的种子腔, 且平均结籽数比野生型多, 但野生型和 *erd15* 突变体叶片珠叶绿素荧光参数, 包括 PSII 实际捕获能量的传递效率 F_v'/F_m' 、PSII 实际的光化学量子效率 F_q'/F_m' 和植物热耗散能力指标 NPQ 等没有显著差异, 这表明 *ERD15* 基因的缺失加速了拟南芥开花, 影响生长, 但不是通过影响植株的光合作用来改变的。下一步可使用扫描电镜观察比较野生型和突变体花序分生组织活性和雌蕊发育过程, 深入探究 *ERD15* 基因影响拟南芥生长发育的分子机制。

参考文献

- [1] ZIAF K, MUNIS M F H, SAMIN G, et al. Characterization of *ERD15* gene from cultivated tomato (*Solanum lycopersicum*) [J]. Pak J Agric Sci, 2016, 53(1): 27–33. doi: 10.21162/PAKJAS/16.3695.
- [2] KIYOSUE T, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SHINOZAKI K. Cloning of cDNAs for genes that are early-responsive to dehydration stress (ERDs) in *Arabidopsis thaliana* L.: Identification of three ERDs as HSP cognate genes [J]. Plant Mol Biol, 1994, 25(5): 791–798. doi: 10.1007/BF00028874.
- [3] RAI A N, TAMIRISA S, RAO K V, et al. Retracted article: Brassica RNA binding protein ERD4 is involved in conferring salt, drought tolerance and enhancing plant growth in *Arabidopsis* [J]. Plant Mol Biol, 2016, 90(4–5): 375–387. doi: 10.1007/s11103-015-0423-x.
- [4] RAI A, SUPRASANNA P, D'SOUZA S F, et al. Membrane topology and predicted RNA-binding function of the 'early responsive to dehydration (ERD4)' plant protein [J]. PLoS One, 2012, 7(3): e32658. doi: 10.1371/journal.pone.0032658.
- [5] LIU Y H, WANG T Y, LI Y. Review of early responsive genes expressed during dehydration in *Arabidopsis* sp. [J]. J China Agric Univ, 2009, 14(3): 7–11. doi: 10.3321/j.issn:1007-4333.2009.03.003.
刘颖慧, 王天宇, 黎裕. 拟南芥脱水诱导早期应答基因研究进展 [J]. 中国农业大学学报, 2009, 14(3): 7–11. doi: 10.3321/j.issn:1007-4333.2009.03.003.
- [6] RYU H Y, KIM S Y, PARK H M, et al. Modulations of *AtGSTF10* expression induce stress tolerance and BAK1-mediated cell death [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 379(2): 417–422. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.11.156.
- [7] DUNAEVA M, ADAMSKA I. Identification of genes expressed in response to light stress in leaves of *Arabidopsis thaliana* using RNA differential display [J]. Eur J Biochem, 2001, 268(21): 5521–5529. doi: 10.1046/j.1432-1033.2001.02471.x.
- [8] KIYOSUE T, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SHINOZAKI K. Characterization of two cDNAs (*ERD10* and *ERD14*) corresponding to genes that respond rapidly to dehydration stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell Physiol, 1994, 35(2): 225–231. doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a078588.
- [9] KARIOLA T, BRADER G, HELENIUS E, et al. Early responsive to dehydration 15, a negative regulator of abscisic acid responses in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 2006, 142(4): 1559–1573. doi: 10.1104/pp.106.086223.
- [10] KIYOSUE T, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SHINOZAKI K. *ERD15*, a cDNA for a dehydration-induced gene from *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Physiol, 1994, 106(4): 1707. doi: 10.1104/pp.106.4.1707.
- [11] AALTO M K, HELENIUS E, KARIOLA T, et al. *ERD15*: An attenuator of plant ABA responses and stomatal aperture [J]. Plant Sci, 2012, 182: 19–28. doi: 10.1016/j.plantsci.2011.08.009.
- [12] BRAVO J, AGUILAR-HENONIN L, OLMEDO G, et al. Four distinct classes of proteins as interaction partners of the PABC domain of *Arabidopsis thaliana* poly(A)-binding proteins [J]. Mol Genet Genom, 2005, 272(6): 651–665. doi: 10.1007/s00438-004-1090-9.
- [13] XIE J W, KOZLOV G, GEHRING K. The "tale" of poly(A) binding protein: The MLLE domain and PAM2-containing proteins [J]. Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech, 2014, 1839(11): 1062–1068. doi: 10.1016/j.bbaggm.2014.08.001.
- [14] ALVES M S, REIS P A B, DADALTO S P, et al. A novel transcription factor, *ERD15* (early responsive to dehydration 15), connects endoplasmic reticulum stress with an osmotic stress-induced cell death signal [J]. J Biol Chem, 2011, 286(22): 20020–20030. doi: 10.1074/jbc.M111.233494.
- [15] YU D D, ZHANG L H, ZHAO K, et al. *VaERD15*, a transcription factor gene associated with cold-tolerance in Chinese Wild *Vitis amurensis* [J]. Front Plant Sci, 2017, 8: 297. doi: 10.3389/fpls.2017.00297.
- [16] SAEED B, KHURANA P. Transcription activation activity of *ERD15* protein from *Morus indica* [J]. Plant Physiol Biochem, 2017, 111: 174–178. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.11.020.
- [17] TIMMUSK S, WAGNER E G H. The plant-growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression: A possible connection between biotic and abiotic stress responses [J]. Mol Plant Microbe Interact, 1999, 12(11): 951–959. doi: 10.1094/MPMI.1999.12.11.951.
- [18] SUKWEENADHI J, KIM Y J, CHOI E S, et al. *Paenibacillus yonginensis* DCY84^T induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression against aluminum, drought, and salt stress [J]. Microbiol Res, 2015, 172: 7–15. doi: 10.1016/j.micres.2015.01.007.
- [19] ZIAF K, LOUKEHAICH R, GONG P J, et al. A multiple stress-

- responsive gene *ERD15* from *Solanum pennellii* confers stress tolerance in tobacco [J]. *Plant Cell Physiol*, 2011, 52(6): 1055–1067. doi: 10.1093/pcp/pcr057.
- [20] SHAO H H, CHEN S D, ZHANG K, et al. Isolation and expression studies of the *ERD15* gene involved in drought-stressed responses [J]. *Genet Mol Res*, 2014, 13(4): 10852–10862. doi: 10.4238/2014.december.19.6.
- [21] KAUSHAL M. Microbes in cahoots with plants: Mist to hit the jackpot of agricultural productivity during drought [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(7): 1769. doi: 10.3390/ijms20071769.
- [22] WU X B, WANG Q N, LING Q P, et al. Molecular identification and resistance evaluation to smut and mosaic disease with BC₁ of *Saccharum* × *Erianthus arundinaceus* [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2019, 27(1): 45–52. doi: 10.11926/jtsb.3926.
- 吴小斌, 王勤南, 凌秋平, 等. 甘蔗与斑茅 BC₁ 分子鉴定、抗黑穗病和花叶病初步评价 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2019, 27(1): 45–52. doi: 10.11926/jtsb.3926.
- [23] WANG W, ZHANG J, QIN Q Q, et al. The six conserved serine/threonine sites of repressor of *ga1-3* protein are important for its functionality and stability in gibberellin signaling in *Arabidopsis* [J]. *Planta*, 2014, 240(4): 763–779. doi: 10.1007/s00425-014-2113-3.
- [24] FUENTES S, LJUNG K, SOREFAN K, et al. Fruit growth in *Arabidopsis* occurs via DELLA-dependent and DELLA-independent gibberellin responses [J]. *Plant Cell*, 2012, 24(10): 3982–3996. doi: 10.1105/tpc.112.103192.
- [25] ALVAREZ-BUYLLA E R, BENÍTEZ M, CORVERA-POIRÉ A, et al. Flower development [J]. *Arabidopsis Book*, 2010, 8: e0127. doi: 10.1199/tab.0127.
- [26] LU Y, LONG H. The effect of leaf number-altered mutants in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Chin Bull Bot*, 2015, 50(3): 331–337.
- 卢阳, 龙鸿. 拟南芥叶片数目变化突变体对营养生长期相转变的影响 [J]. *植物学报*, 2015, 50(3): 331–337.
- [27] ZHANG S R. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance [J]. *Chin Bull Bot*, 1999, 16(4): 444–448. doi: 10.3969/j.issn.1674-3466.1999.04.021.
- 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论 [J]. *植物学通报*, 1999, 16(4): 444–448. doi: 10.3969/j.issn.1674-3466.1999.04.021.
- [28] GUO H, LIU P, DENG L, et al. Effect of light intensity on growth and chlorophyll fluorescence parameters of *Belosynapsis ciliata* [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2018, 26(3): 255–261. doi: 10.11926/jtsb.3816.
- 郭微, 刘萍, 邓磊, 等. 不同光照强度对假紫万年青生长和叶绿素荧光参数的影响 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2018, 26(3): 255–261. doi: 10.11926/jtsb.3816.
- [29] DENAY G, CHAHTANE H, TICHITSKY G, et al. A flower is born: An update on *Arabidopsis* floral meristem formation [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2017, 35: 15–22. doi: 10.1016/j.pbi.2016.09.003.