

## 杨树水通道蛋白基因 *PagPIP1;3* 耐干旱胁迫功能分析

孙甜甜<sup>1</sup>, 任 强<sup>2</sup>, 陈文义<sup>1</sup>, 衡启蒙<sup>1</sup>, 温昱斌<sup>3</sup>, 任若寒<sup>1</sup>, 李 想<sup>1</sup>, 张银燕<sup>1</sup>,  
张丽娟<sup>1</sup>, 贺浩冉<sup>1</sup>, 樊军锋<sup>1</sup>, 张 一<sup>1\*</sup>

(1. 西北农林科技大学 林学院, 国家林业和草原局黄土高原林木培育重点实验室, 陕西 杨陵 712100;

2. 陕西省延安市宝塔区姚家坡国有生态林场, 陕西 延安 716000; 3. 赣州市天力能源科技咨询服务有限公司, 江西 赣州 341000)

**摘 要:**干旱是自然界中最常见的环境胁迫因子之一。杨树主要分布于我国北方半干旱地区, 干旱和水分匮乏严重限制了杨树生长, 降低了杨树人工林生产力。为阐明杨树耐干旱的分子机制, 推动杨树耐旱的分子育种, 将前期鉴定出的干旱胁迫响应的关键 PIP1s 基因 *PagPIP1;3* 作为目标基因, 通过农杆菌转化法获得 *PagPIP1;3* 过表达银中杨阳性株系, 从形态和生理方面验证了 *PagPIP1;3* 在杨树响应和耐受耐旱胁迫中的功能。结果表明, 与野生型对照植株(WT)相比, 过表达 *PagPIP1;3* 的不同株系(OE1, OE2)分别在不同器官部位出现基因表达量的显著增加, 在叶片中基因表达量 OE2>OE1>WT; 根系中基因表达量 OE1>OE2>WT。在干旱胁迫条件下, *PagPIP1;3* 过表达株系地上部分和根系的生长量明显优于 WT, 并且在一定程度上抑制了银中杨的蒸腾、增强了银中杨在干旱胁迫下的瞬时水分利用效率(WUE<sub>i</sub>)。对生物量和相对含水量测定结果表明, *PagPIP1;3* 过表达后, 水分在干旱胁迫下的转运能力得到提高, 杨树叶片保水能力和生物量的积累得到增强, 从而提高了杨树的耐旱能力。研究结果初步阐明了 *PagPIP1;3* 基因在杨树耐干旱胁迫中的功能及机制, 为杨树耐干旱胁迫的分子遗传改良提供了重要研究基础和遗传材料。

**关键词:** 杨树; 干旱; *PagPIP1;3*; 遗传转化; 功能分析

**中图分类号:** S792.11

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-7461(2023)04-0011-07

### Functional Analysis of Poplar Aquaporin Gene *PagPIP1;3* Under Drought Stress

SUN Tian-tian<sup>1</sup>, REN Qiang<sup>2</sup>, CHEN Wen-yi<sup>1</sup>, HENG Qi-meng<sup>1</sup>, WEN Yu-bin<sup>3</sup>, REN Ruo-han<sup>1</sup>,  
LI Xiang<sup>1</sup>, ZHANG Yin-yan<sup>1</sup>, ZHANG Li-juan<sup>1</sup>, HE Hao-ran<sup>1</sup>, FAN Jun-feng<sup>1</sup>, ZHANG Yi<sup>1\*</sup>

(1. College of Forestry/Jujube Engineering Technology Center, National Forestry and Grassland Administration, Northwest A&F University,

Yangling 712100, Shaanxi, China; 2. Yaojiapo State-Owned Ecological Forest Farm in Baota District, Yan'an 716000, Shaanxi, China;

3. Ganzhou Tianli Energy Technology Consulting Service Corporation, Ganzhou 341000, Jiangxi, China)

**Abstract:** Drought is one of the most common environmental stress factors to plants. It is an urgent need for efficiently breeding drought resistant poplar varieties to break through the limitation of drought. In this study, a candidate poplar gene with drought stress tolerance *PagPIP1;3* was used for genetic transformation. The overexpressed lines of *PagPIP1;3* were obtained by agrobacterium transformation method, and the function of the overexpressed lines in drought stress was explored by morphological and physiological investigations. The different lines of *PagPIP1;3*-overexpression showed the advantages in different organs. In leaves, the ranking of expression level was OE2>OE1>WT. In roots, the expression level ranking was OE1>OE2>WT. Under drought stress, the growth of aboveground part and root system of overex-

收稿日期: 2022-05-20 修回日期: 2022-06-17

基金项目: 国家自然科学基金(32171823)。

第一作者: 孙甜甜。研究方向: 林木遗传育种。E-mail: suntiantian1220@163.com

\* 通信作者: 张 一, 博士生导师, 副研究员。研究方向: 林木遗传育种。E-mail: zy780711@163.com

pression lines were significantly better than WT, and *PagPIP1;3*-overexpression inhibited the transpiration rate and enhanced the  $WUE_i$  of poplar under drought stress. The biomass and relative water content of overexpressed lines also improved, indicating that *PagPIP1;3*-overexpression improved the drought tolerance of poplar by promoting the ability of water transporting and biomass accumulating under drought stress. These results provide an important basis for clarifying the mechanism of *PagPIP1;3*-overexpression under drought stress.

**Key words:** poplar; drought; *PagPIP1;3*; transformation; functional analysis

随着全球气候的不断变化,人地矛盾日益突出,使得我国北方杨树逐步受到缺水和干旱的胁迫。由于北方地区常年遭受干旱,严重限制了杨树的人工林生产力,制约了杨树的经济价值和生态效益<sup>[1-2]</sup>。在干旱胁迫下,杨树的光合作用、气孔开闭、抗氧化酶活性、渗透调节物质及不同基因的表达等在缺水后都发生不同程度的改变<sup>[3]</sup>,从而限制植物的生长发育。近年来,有关杨树分子遗传改良的研究取得了较快进展,为杨树抗逆遗传改良提供了新的技术途径和突破口。

已有研究表明,质膜内在蛋白(PIPs)是高等植物水通道蛋白(AQPs)5个亚科中最为丰富的蛋白<sup>[5-9]</sup>,PIPs家族基因的上调表达会提高膜的透水性,从而促进水分运输并增强植物耐干旱胁迫的能力<sup>[9-10]</sup>。而木本植物需要有效地吸收水分从而进行长距离运输,所以这一功能对于木本植物的耐干旱能力更加关键。PIPs中2个家族(PIP1s和PIP2s)的蛋白序列同源性较高,二者在结构上的主要区别在于N端和C端的差异,PIP1亚类比PIP2亚类具有更长的N端和更短的C端<sup>[6]</sup>。此外,PIP1s和PIP2s在其功能和部分保守氨基酸的位点上也存在差异<sup>[7]</sup>。冷华妮<sup>[8]</sup>将PtPIPs转入84K杨中,并对过表达84K杨生长状况进行统计,发现*PtPIP1;1*过表达后株高和地径的生长明显优于野生型84K杨。苏万龙<sup>[4]</sup>将杨树水通道蛋白*PagPIP1;3*基因过表达后,发现过表达株系在干旱胁迫下的蒸腾作用降低,含水量和根系水力导度较高,进一步研究发现,*PagPIP1;3*通过增强叶片在干旱胁迫下的保水力来提高杨树的耐旱性。

本实验室前期研究在84K杨(*Populus alba* × *P. gearulosa*)中鉴定出干旱胁迫响应的关键PIP1s基因成员为*PagPIP1;3*,该基因可能对于杨树耐干旱胁迫具有重要作用,但有待于通过遗传转化进行功能验证。银中杨(*Populus alba* × *P. berolinensis*)是以银白杨为母本,以中东杨为父本,经人工杂交选育而成,具有树姿优美的优点,常被作为绿化树木和观赏植物<sup>[11]</sup>,经济价值较高。目前,本实验室已经建立了稳定、高效的银中杨遗传转化技术体系。

因此,本研究以银中杨为遗传转化受体,通过构建*PagPIP1;3*过表达载体并进行遗传转化,对野生型银中杨和转基因银中杨进行干旱处理,在形态和生理水平上验证超表达*PagPIP1;3*对杨树耐干旱胁迫能力的作用。通过本研究,将明确*PagPIP1;3*增强杨树耐干旱胁迫和水分利用效率的生理机制,为提高杨树抗旱性和分子遗传改良提供研究基础和遗传材料。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

试验所用的目的基因克隆材料84K杨组培苗和遗传转化材料银中杨组培苗为本实验室保存。

### 1.2 *PagPIP1;3*过表达载体构建

以经过全基因组测序的毛果杨(*Populus trichocarpa*)的*PtPIP1;3*CDS序列为参考数列。毛果杨*PtPIP1;3*的CDS序列下载自杨树全基因组数据库(登录号:Potri. 010G191900)。通过Primer Premier 5.0, DNAMAN 8和Oligo 7设计特异性引物并合成,以84K杨cDNA为模板进行PCR扩增,引物序列(*PtPIP1;3P*)如表1所示。将PCR产物进行鉴定与回收,回收后的目的基因产物放于-20℃备用。提取PMDC32质粒并立即进行双酶切。随后,将目的基因产物与质粒载体连接并转化,待菌斑长出后通过电泳试验完成菌检,菌检反应体系和反应程序如表4和表5所示,菌检结果为单一条带的菌斑用于DNA序列的测定。通过DNAMAN进行序列比对,返回与原序列一致的菌液和质粒用于农杆菌转化与鉴定。

### 1.3 银中杨遗传转化及阳性鉴定

将活化含有重组质粒GV3101的农杆菌单克隆菌株进行菌检,挑取菌检结果合格的单克隆菌株,在含卡那和利福平的LB液体培养基中28℃、250 r·min<sup>-1</sup>条件下进行扩大培养,待含有菌株的LB液体培养基(菌液)OD<sub>600</sub>值达1.4~1.6时,停止震荡并用AAM重悬液重悬,待OD<sub>600</sub>为0.6~0.8时,用于银中杨叶片侵染。取生长30 d的野生型银中杨幼嫩叶片作为遗传转化的侵染材料,去除主脉和

叶边缘,将其剪成大小一致的叶盘,在叶脉处划 3~5 个 1 cm 的伤口。将叶盘放入含有菌液的 LB 液体培养基中侵染 15 min,在分化培养基上暗培养 3 d 后转至选择培养基中培养 7 d,换至含有潮霉素的筛选培养基中每 15 d 更换 1 次培养基,待不定芽 1 cm 时转至生根培养基中,转化植株长约 5 cm 时,将叶片取下,用于基因组 DNA 的提取,茎段作为组培的外植体。

取约 50 mg 叶片提取 DNA、约 100 mg 叶片提

取 RNA 并进行 cDNA 第 1 链合成。以提取的 DNA 为模板完成 PCR 扩增,所用引物如表 1 中 *PIP1;3J*。电泳检测后,与目的条带一致的单一条带则在 DNA 水平上初步鉴定为阳性株系。以 cDNA 为模板进行 RT-qPCR 试验,*PtPIP1;3* 为 RT-qPCR 引物,*PtActin* 为内参基因,序列如表 1 所示。根据  $R = 2^{-\Delta\Delta CT}$  计算 PIP1s 家族各基因在干旱条件下的表达倍数,并结合生物信息学分析结果,完成 RNA 水平上的鉴定。

表 1 *PtPIP1;3* 基因 qRT-PCR 反应引物设计

Table 1 The primer sequence of *PtPIP1;3* for polymerase chain reaction (PCR) and quantitative real-time PCR

gene name	上游引物(5' - 3')	下游引物(5' - 3')
<i>PtPIP1;3P</i>	CGGGCCCCCTCGAGGCGGCCATG-GAGGGCAAAGAAGAAGATGTTA	TATCCAGTCACTATGGTCGACTCACTTCT-TGAAAGGAATGGCCCTG
<i>PtPIP1;3J</i>	GGAGGGCAAAGAAGAAGATGTTAGA	GATCCCTTGAATTCCAACCGTTGTG
<i>PtPIP1;3</i>	AAGAAGTGATTATTATGATTATGG	GATTTGAAGAAACACGTATTGCTA
<i>PtActin</i>	GAAGTCCTCTCCAGCCTTCTC	CTTGATCTTCATGCTGCTTGGG

1.4 干旱胁迫下转基因银中杨的抗旱性验证

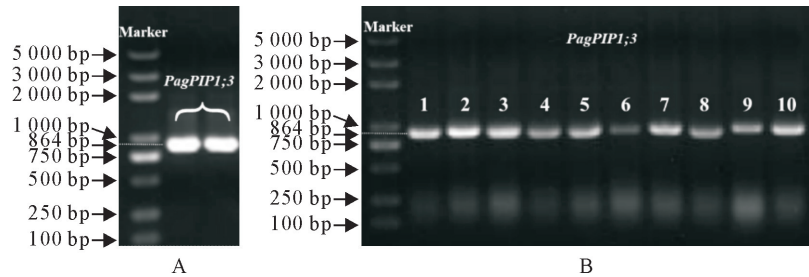
选取 3 个不同株系(野生型银中杨(WT)、*PagPIP1;3* 过表达株系(OE1)、*PagPIP1;3* 过表达株系(OE2)分别进行 2 种水分处理(湿润对照、干旱处理)。每个株系各挑 6 株生长形态一致且状态良好的生根苗在光照培养箱中进行炼苗,炼苗后移栽到盛有混合土壤(细沙:营养土=2:1)的盆中,搬至西北农林科技大学南校区科研温室中生长 50 d 后,进行干旱胁迫试验。不同水分含量通过田间持水仪进行测定,湿润对照绝对含水量为 20%~25%,干旱处理绝对含水量为 10%~15%,干旱处理持续 15 d,本试验共 6 个处理,每个处理 3 个重复,共计 18 株幼苗。在样品收获前(2022 年 4 月 7 日),测定各株系的株高以及气体交换参数。收获取

样后测定植株根、茎、叶的干鲜重,生物量、叶片的游离脯氨酸、丙二醛(MDA)含量以及根和叶的表达量等,其余的样品在液氮速冻后于-80℃保存。

2 结果与分析

2.1 *PagPIP1;3* 过表达载体构建

以提取的 84K 杨 cDNA 为模板进行毛果杨的同源序列 *PagPIP1;3* 基因的 CDS 编码区的扩增,得到符合 *PagPIP1;3* 基因 CDS 片段大小的单一条带,如图 1A 所示。为了确保 *PagPIP1;3* 成功转入农杆菌,选定 10 个转化后的单克隆进行验证,凝胶电泳结果如图 1B 所示,对符合 *PagPIP1;3* 基因的单克隆扩大培养后进行侵染。



Marker:DL 5 000 Marker;*PagPIP1;3*:编码区全长;1~10:单克隆菌斑。

图 1 *PagPIP1;3* 基因克隆(A)及农杆菌单克隆(B)PCR 验证

Fig. 1 Cloning of *PagPIP1;3* gene coding regions and agrobacterium tumefaciens *PagPIP1;3* recombined vectors

RNA 水平上的鉴定结果如图 2 所示,所有阳性株系的表达水平均高于野生型银中杨(WT)。其中,6 号株系的表达水平最高,是 WT 的 4.20 倍;其次是 8 号株系,是 WT 的 2.53 倍;其余 6 个株系的表达水平是 WT 的 1.2~1.8 倍。从以上 8 个株系

中选取 2 个表达量最高的阳性株系(6 号和 8 号)进行组培扩繁,待外植体生长约 35 d 后,每个株系选取 10 株长势一致、状态良好的组培生根苗,作为盆栽试验的转基因试验材料,6 号为 OE1,8 号为 OE2,与 WT 一并炼苗后进行移栽。



## 2.2 过表达 *PagPIP1;3* 银中杨植株的遗传转化与阳性鉴定

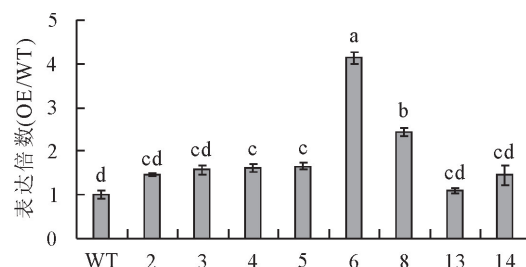
为了进一步讨论 *PagPIP1;3* 基因的功能,通过农杆菌转化法在银中杨中进行遗传转化试验,遗传转化过程如图 3 所示。

分别取这 17 个转化株系相同部位的叶片,研磨至粉末后进行 DNA 水平和 RNA 水平的鉴定。DNA 水平的鉴定如图 4 所示,共 8 个株系(2—6 号、8 号、13 号和 14 号)在 329 bp 处出现与目的基因长度一致的单一条带,初步鉴定这 8 个株系为转基因阳性植株。

## 2.3 干旱胁迫下转基因银中杨的抗旱性验证

3 个株系(WT、OE1、OE2)的光合速率(A)(图 5A)、蒸腾速率(E)(图 5B)和气孔导度( $g_s$ )(图 5C)在干旱条件下都显著低于湿润对照;转基因株系在

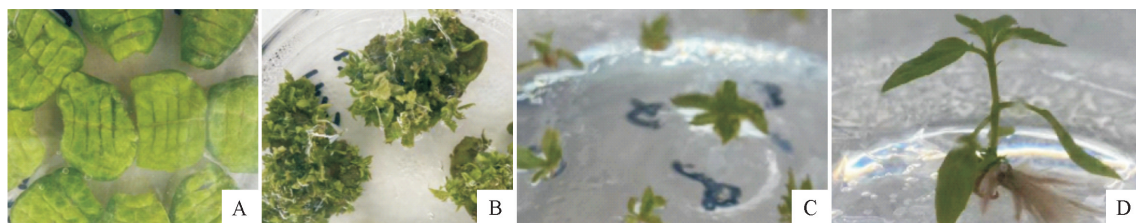
干旱条件下的水分利用效率( $WUE_i$ )(图 5D)都显著高于湿润对照,但野生型的  $WUE_i$  在干旱和湿润之间差异不显著。湿润条件下 OE2 的  $g_s$  低于 WT 和 OE1;在干旱条件下,OE2 的  $WUE_i$  显著高于 WT。



WT:野生型对照;2/3/4/5/6/8/13/14:转基因株系。

图 2 银中杨 *PagPIP1;3* 过表达叶片的表达量分析

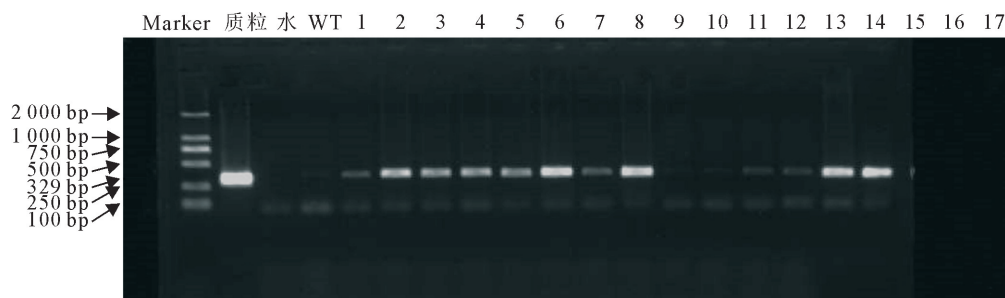
Fig. 2 qPCR of *PagPIP1;3* of overexpression plants in leaves



A:分化培养;B:筛选培养;C:抗性芽筛选;D:生根培养。

图 3 银中杨遗传转化过程

Fig. 3 Genetic transformation of *Populus alba* × *P. berolinensis*



Marker:DL Marker 2 000;质粒:*PagPIP1;3* 质粒阳性对照;水:空白对照;WT:野生型银中杨阴性对照;1~17:转化植株。

图 4 银中杨 *PagPIP1;3* 基因 PCR 电泳检测

Fig. 4 The detection results of PCR amplification production of *PagPIP1;3*

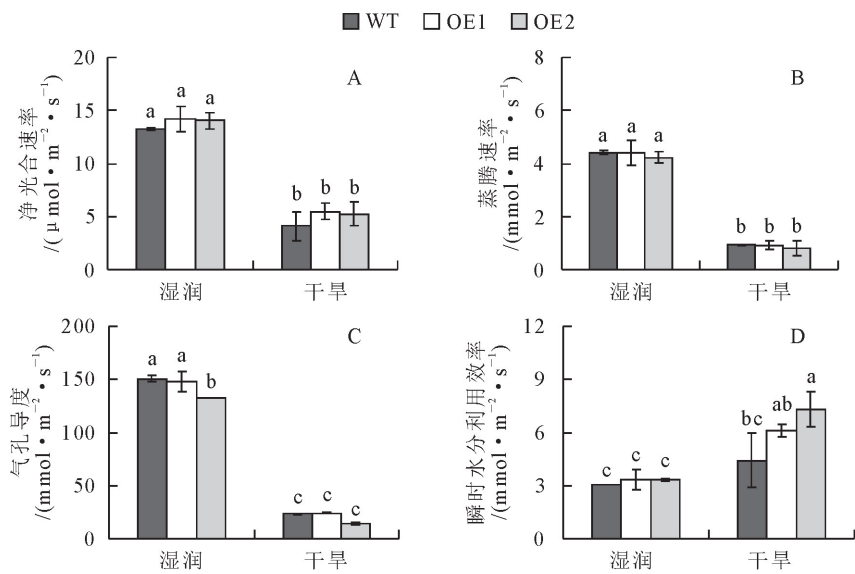
干旱胁迫处理后,除顶芽外,其余所有野生型叶片都表现出明显的萎蔫,而 OE1、OE2 只有下部叶片发生失绿和下垂,上部叶片表现出良好的生长状态(图 6A)。通过各株系株高比较,湿润条件下的各株系株高没有显著差异;干旱胁迫处理后,OE1、OE2 明显高于 WT,且 OE1 的株高显著高于 OE2(图 6B)。

在湿润和干旱条件下,OE1 和 OE2 株系的根系长势都优于 WT。在湿润对照下,OE1 的根幅和根长明显优于 WT,OE2 的根系主根长于 WT;干旱条件下,OE1 的主根长于 WT,而 OE2 的根幅和根长表现出生长优势(图 7)。

在湿润条件下,OE2 的茎生物量显著低于 WT

和 OE1(图 8A)。干旱条件下,OE1 和 OE2 的叶生物量显著高于 WT(图 8B);OE1 的茎生物量显著高于 OE2 和 WT。各株系叶和茎的生物量在干旱条件下显著低于湿润对照,WT 的根生物量在干旱下低于湿润(图 8C)。

在湿润条件下,OE2 的叶片相对含水量显著高于 OE1 和 WT(图 9A);OE2 的茎含水量高于 WT(图 9B)。干旱条件下,OE1 和 OE2 的叶片相对含水量高于 WT;OE2 的茎相对含水量高于 OE1。OE1 和 OE2 在干旱下的叶片、茎含水量和 WT 的叶片相对含水量显著低于湿润对照。各株系的根相对含水量在干旱和湿润下都无显著差异(图 9C)。



WT:野生型银中杨;OE1、OE2:转基因阳性植株。下同。  
图 5 干旱对转基因银中杨与对照银中杨气体交换参数的影响  
Fig. 5 Gas exchange parameters of transgenic poplar and control poplar under drought stress

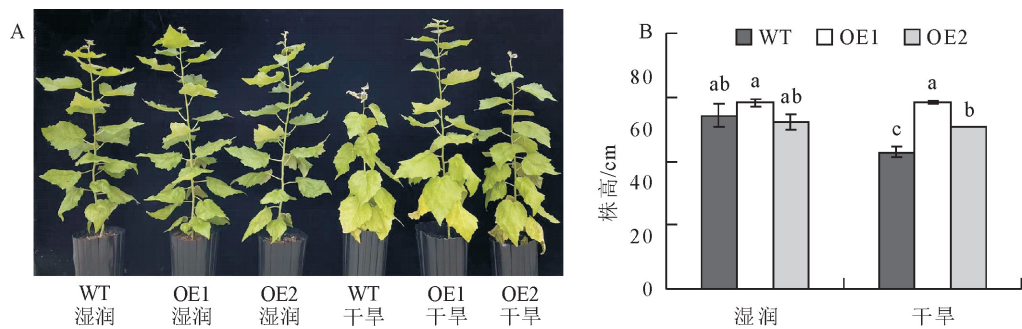


图 6 干旱胁迫下转基因银中杨与对照银中杨的生长情况  
Fig. 6 Growth of transgenic poplar and control poplar under drought stress



图 7 干旱胁迫下转基因银中杨与对照银中杨的根系生长情况

Fig. 7 Root growth of transgenic poplar and control poplar under drought stress

野生型和转基因株系在干旱胁迫后,叶片和根系的表达水平都高于湿润对照。干旱胁迫下叶片中表达水平变化为  $\text{OE2} > \text{OE1} > \text{WT}$ (图 10A),OE2 叶片表达倍数为湿润的 3.98 倍,OE2 为湿润的 2.22 倍,WT 是湿润的 1.54 倍;根系中的表达水平变化为  $\text{OE1} > \text{OE2} > \text{WT}$ (图 10B)。

湿润条件下,WT、OE1、OE2 之间的丙二醛(MDA)和游离脯氨酸(Free proline)含量差异不显著(图 11)。在干旱条件下,OE2 的 MDA 含量显著低于 WT(图 11A)。此外,OE2 在干旱条件下的脯氨酸含量显著高于湿润(图 11B)。

### 3 结论与讨论

目前,关于 PIPs 对干旱胁迫响应的研究较多:南瓜 *CdPIP2;1* 在拟南芥中的异源过表达,提高了拟南芥在干旱胁迫下的成活率<sup>[12]</sup>;油菜 *BnPIP1* 在烟草中的异源过表达增强了烟草对水分的传导力,从而提高了烟草的抗旱性<sup>[13]</sup>。研究表明,PIPs 能够保持植物在干旱胁迫下的光合作用,并维持正常的生长代谢活动<sup>[14]</sup>。为了验证 *PtPIP1;3* 的过表达是否提高了杨树的耐旱性,本试验对表达倍数最高的 2 个银中杨过表达株系(OE1、OE2)和野生型银中杨(WT)进行了为期 15 d 的干旱处理。气体交换

参数结果表明,在干旱胁迫下,OE1、OE2 和 WT 的光合速率及蒸腾速率都低于湿润对照,但 OE2 在湿润下的  $g_s$  低于 WT,而在干旱条件下的 WUE<sub>i</sub> 显著高于 WT,这一结果与先前刘文鑫(2019)对 PIP1 在

杨树光合作用中的研究结果一致,说明 *PagPIP1;3* 过表达在一定程度上抑制了银中杨的蒸腾,增强了银中杨在干旱胁迫下的水分利用效率<sup>[15]</sup>。

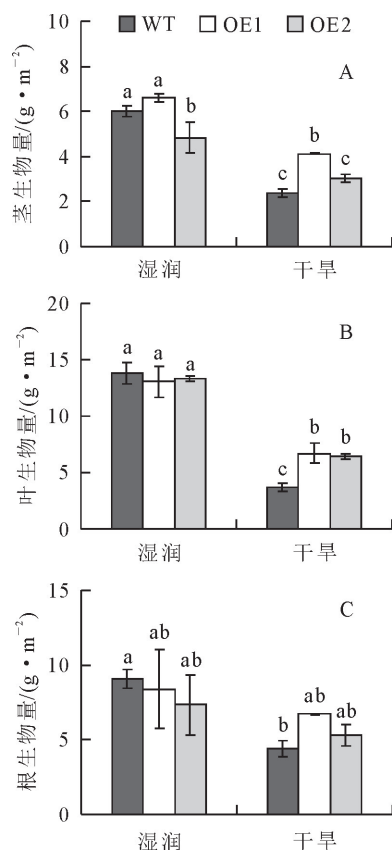


图 8 干旱胁迫下转基因银中杨与对照银中杨的生物量

Fig. 8 Biomass of transgenic poplar and control poplar under drought stress

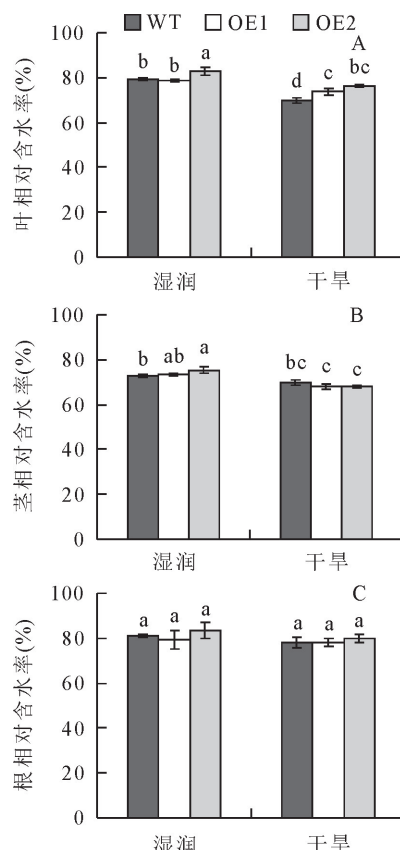


图 9 干旱胁迫下转基因银中杨与对照银中杨的相对含水量

Fig. 9 Relative water content of transgenic poplar and control poplar under drought stress

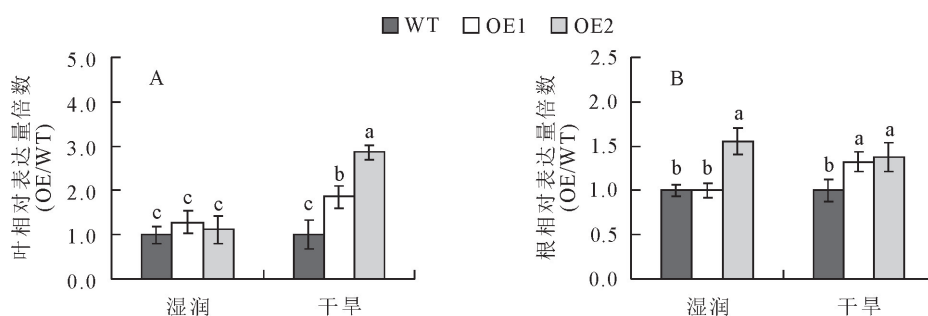


图 10 干旱胁迫下转基因银中杨与对照银中杨的表达量

Fig. 10 Relative expression of poplars under drought stress

*PtPIP1;3* 超表达的两个转基因株系 OE1 和 OE2,其在干旱胁迫下地上部和根系的生长均优于野生型 WT 株系,株高显著高于 WT,证明 *PagPIP1;3* 基因的过表达提高了转基因杨树植株的耐旱性,促进了其在干旱胁迫下的生长。为了解 *PagPIP1;3* 是否在银中杨不同组织中水分和干物质分配方面发挥调控作用,分别测定了 OE1、OE2 和 WT 株系的根、茎和叶的生物量和相对含水量,

结果表明:在干旱胁迫下,3 个株系叶片的生物量和相对含水量都低于其湿润对照,其中 OE1 和 OE2 在干旱下的叶生物量和相对含水量都显著高于 WT。这些结果充分说明,*PagPIP1;3* 的过表达提高了干旱条件下转基因银中杨的叶片相对含水量和抗性,并增加了其地上部分生物量,这是杨树过表达 *PagPIP1;3* 株系在干旱下的自我调节和适应机制。

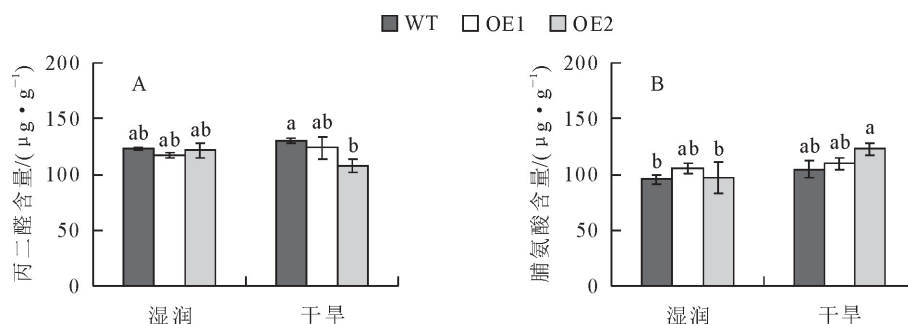


图 11 干旱胁迫下转基因银中杨与对照银中杨的丙二醛及脯氨酸含量

Fig. 11 MDA and free proline of transgenic poplar and control poplar under drought stress

基因表达分析证实,干旱条件下 *PagPIP1;3* 过表达株系分别在不同部位表现出 *PagPIP1;3* 表达水平的优势,叶片中,  $OE2 > OE1 > WT$ ;根系中,  $OE1 > OE2 > WT$ 。据推测,在 *OE1* 株系中, *PagPIP1;3* 可能在维持根系水分以及对物质运输方面发挥作用,而 *OE2* 株系中 *PagPIP1;3* 通过调节气孔导度和水分利用效率来响应干旱。干旱胁迫下,MDA 可用来判断植物细胞膜的受损程度<sup>[16]</sup>;另外,脯氨酸的含量能够反应植物对干旱的抵御能力<sup>[17]</sup>。本研究中,干旱胁迫下 *OE2* 的叶片 MDA 含量显著低于 WT,说明过表达 *PagPIP1;3* 在干旱胁迫下通过增强水分的转运,降低了干旱胁迫对植物的伤害程度,缓解了干旱胁迫的危害。

通过本研究可得,在干旱胁迫下, *PagPIP1;3* 过表达银中杨 *OE1* 和 *OE2* 的生长及表达水平、*OE2* 的水分利用效率和抗旱性等表现都优于 WT,且 *OE2* 的生物膜损伤程度小于 WT,说明杨树 *PagPIP1;3* 在响应干旱胁迫中发挥重要作用。此外, *PagPIP1;3* 基因的不同过表达株系可能通过不同的方式在耐旱胁迫中产生作用,其中过表达株系 *OE1* 可能在根系中作用更明显,而 *OE2* 可能更有助于维持银中杨的光合能力及叶片的水分利用等。当前研究初步证明在干旱胁迫下, *PagPIP1;3* 的过表达通过增强银中杨的叶片相对含水量、生物量和瞬时水分利用效率来参与杨树耐旱胁迫、增强其耐旱胁迫的能力。这一结果表明, *PagPIP1;3* 基因具有提高杨树耐干旱胁迫的潜力,将来有望在杨树抗旱分子遗传改良和基因工程育种中发挥作用。

#### 参考文献:

- [1] 侯庆春,韩蕊莲.黄土高原植被建设中的有关问题[J].水土保持通报,2000,20(2):53-56.  
HOU Q C, HAN R L. Problems on vegetation construction in Loess Plateau region[J]. Bulletin of Soil & Water Conservation, 2000, 20(2): 53-56. (in Chinese)
- [2] 田星,张锦梅,樊军锋. 11 种美洲黑杨无性系抗旱性评价[J]. 西北林学院学报, 2019, 34(5): 79-84.  
TIAN X, ZHANG J M, FAN J F. Drought resistance evaluation of 11 populus deltoides clones[J]. Journal of Northwest forestry university, 2019, 34(5): 79-84. (in Chinese)
- [3] 田富蓉. 浅谈植物抗旱生理研究进展与育种[J]. 种子科技, 2021, 39(20): 135-136.
- [4] 苏万龙. 自噬相关基因和水通道蛋白基因在杨树应对高盐及干旱胁迫中的功能分析. [D]. 北京: 北京林业大学, 2021.
- [5] HEINEN R B, YE Q, CHAUMONT F. Role of aquaporins in leaf physiology[J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(11): 2971-2985.
- [6] KAMMERLOHER W, FISCHER V, PIECHOTTA G P, et al. Water channels in the plant plasma membrane cloned by immunoselection from an expression system[J]. Plant J., 1994(6): 187-199.
- [7] 王浩. 拟南芥质膜水通道蛋白质调控过氧化氢转运和植物免疫的结构生物学研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- [8] 冷华妮. 植物栓塞修复机制与质膜内在水通道蛋白基因的克隆、表达和转基因研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2012.
- [9] 刘文鑫, 陈志成, 代永欣, 等. 水通道蛋白 PIP1 基因过表达杨树的光合生理过程对干旱和复水的响应[J]. 林业科学, 2020, 56(2): 69-78.  
LIU W X, CHEN Z C, DAI Y X, et al. Responses of photosynthetic physiological process of a poplar with overexpressed PIP1 gene to drought stress and rehydration[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2020, 56(2): 69-78. (in Chinese)
- [10] 黄娟, 安锋, 庄海燕, 等. 橡胶树水通道蛋白基因 HbPIP1;2 和 HbPIP2;2 的克隆及序列分析[J]. 西北林学院学报, 2011, 26(6): 56-61.  
HUANG J, AN F, ZHUANG H Y, et al. Molecular cloning and sequence analysis of HbPIP1;2 and HbPIP2;2 aquaporin genes in Hevea brasiliensis[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2011, 26(6): 56-61. (in Chinese)
- [11] 刘璇, 屈海燕, 王康, 等. 沈阳市 3 种行道树冠层孔隙度研究[J]. 西北林学院学报, 2021, 36(2): 54-60.  
LIU X, QU H Y, WANG K, et al. Canopy porosity of three greening tree species in the streets of Shenyang city[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2021, 36(2): 54-60. (in Chinese)



- LV S Q, GAO P, GENG G P, *et al.* Characteristics of soil particles and their correlation with soil organic matter in lowlands of the Yellow River Delta[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2011, 25(6): 134-138. (in Chinese)
- [29] 罗雅曦, 刘任涛, 张静, 等. 腾格里沙漠草方格固沙林土壤颗粒组成、分形维数及其对土壤性质的影响[J]. *应用生态学报*, 2019, 30(2): 525-535.
- LUO Y X, LIU R T, ZHANG J, *et al.* Soil particle composition, fractal dimension and their effects on soil properties following sand-binding revegetation within straw checkerboard in Tengger Desert, China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(2): 525-535. (in Chinese)
- [30] 张继义, 赵哈林. 退化沙质草地恢复过程土壤颗粒组成变化对土壤-植被系统稳定性的影响[J]. *生态环境学报*, 2009, 18(4): 1395-1401.
- ZHANG J Y, ZHAO H L. Changes in soil particles fraction and their effects on stability of soil-vegetation system in restoration processes of degraded sandy grassland[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009, 18(4): 1395-1401. (in Chinese)
- [31] LAFLEN J M, LANE L J, FOSTER G R, *et al.* WEPP: A new generation of erosion prediction technology[J]. *The Journal of Soil and Water Conservation*, 1991, 46(1): 34-38.
- [32] 孙忠超, 郭天斗, 于露, 等. 宁夏东部荒漠草原向灌丛地人为转变过程土壤粒径分形特征[J]. *草业学报*, 2021, 30(4): 34-45.
- SUN Z C, GUO T D, YU L, *et al.* Changes in soil particle size distribution and fractal characteristics across an anthropogenic transition from desert steppe grassland to shrubland in eastern Ningxia[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2021, 30(4): 34-45. (in Chinese)
- [33] 董正武, 李生字, 毛东雷, 等. 古尔班通古特沙漠西南缘柽柳沙包土壤粒度分布特征[J]. *水土保持学报*, 2021, 35(4): 64-79.
- DONG Z W, LI S Y, MAO D L, *et al.* Distribution pattern of soil grain size in Tamarix sand dune in the southwest of Gurbantunggut desert[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2021, 35(4): 64-79. (in Chinese)
- [34] 刘金福, 洪伟, 吴承祯. 中亚热带几种珍贵树种林分土壤团粒结构的分维特征[J]. *生态学报*, 2002, 22(2): 197-205.
- LIU J F, HONG W, WU C Z. Fractal features of soil clusters under some precious hardwood stands in the central subtropical region, China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(2): 197-205. (in Chinese)

(上接第17页)

- [12] JANG J Y, LEE S H, RHEE J Y, *et al.* Transgenic arabidopsis and tobacco plants overexpressing an aquaporin respond differently to various abiotic stresses[J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, 64: 621-632.
- [13] 邓晓旭, 陈黄璽, 王琦. 植物水通道蛋白调控及其基因功能研究进展[J]. *中国农业信息*, 2017, 215(20): 37-38.
- [14] LEE S H, SINGH A P, CHUNG G C. Rapid accumulation of hydrogen peroxide in cucumber roots due to exposure to low temperature appears to mediate decreases in water transport[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55: 1733-1741.
- [15] 刘文鑫. 干旱和遮阴条件下水通道蛋白基因(*PtPIP1;3*)对杨树树叶肉导度的影响[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2019.
- [16] 张朝阳, 许桂芳, 向佐湘. 干旱胁迫对4种常绿藤本植物抗性生理生化指标的影响[J]. *江西农业学报*, 2008, 20(12): 42-45.
- ZHANG C Y, XU G F, XIANG Z X. Effects of drought stress on physiological and biochemical process of four evergreen Lianas[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2008, 20(12): 42-45. (in Chinese)
- [17] FAROOQ M, WAHID A, LEE D J, *et al.* Advances in drought resistance of rice[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2009, 28(4): 199-217.