

研究报告

Research Report

转 *IbLEA 14* 基因杨树增强耐旱性的生理机制

乔焕焕^{1,2} 李红兵^{2*} 孙振玫³ 可庆波² 王仕稳² 郭尚洙⁴ 邓西平²

1 西北农林科技大学生命科学学院, 杨陵, 712100; 2 西北农林科技大学, 水土保持研究所, 黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室, 杨陵, 712100; 3 西北农林科技大学林学院, 杨陵, 712100; 4 韩国生命工学研究院, 大田, 305-806, 韩国

* 通信作者, lhb_7381@nwsuaf.edu.cn

摘要 晚期胚胎蛋白富集蛋白(LEA)可作为多功能蛋白参与对多种非生物胁迫的响应。前期研究表明,过量表达甘薯 *IbLEA 14* 基因能够增强转基因甘薯愈伤组织的耐渗透压和盐胁迫能力。为研究转 *IbLEA 14* 基因杨树增强耐旱性的生理机制,本试验选取转 *IbLEA 14* 基因杨树与非转基因杨树(NT)为材料,采用盆栽控水法,进行土壤干旱胁迫与复水处理,测定其形态与生理生化指标。结果表明:(1)干旱胁迫下,转 *IbLEA 14* 基因杨树与 NT 株高增长、总生物量积累均受到抑制,但转基因杨树生长状况优于 NT;与 NT 相比,转 *IbLEA 14* 基因杨树叶片净光合速率较高,丙二醛(MDA)和过氧化氢(H₂O₂)含量较低,较高的脯氨酸(Pro)含量与较低的渗透势保障了转基因杨树较强的保水能力以及较高的叶片相对含水量。(2)复水后,较干旱条件下而言,转 *IbLEA 14* 基因杨树叶片相对含水量增加,净光合速率升高,MDA 和 H₂O₂ 含量降低,Pro 含量下降,渗透势升高。研究表明:转 *IbLEA 14* 基因杨树可减轻干旱胁迫对植株细胞膜及光和系统的伤害,复水后能够更好地修复细胞膜系统与光合系统,加快恢复速度。因此,转 *IbLEA 14* 基因杨树的耐旱性与旱后复水的恢复能力更好,更具有抗旱性优势。该研究结果将为杨树耐旱育种及应用提供理论依据,未来有望在改善土壤沙漠化方面发挥重要作用。

关键词 转基因杨树, 干旱胁迫, 旱后复水, 抗氧化特性, 光合速率

Physiological Mechanisms of Transgenic Poplar with Enhancing Tolerance to Drought Stress by Expression *IbLEA 14* Gene

Qiao Huanhuan^{1,2} Li Hongbing^{2*} Sun Zhenmei³ Ke Qingbo² Wang Shiwen² Kwak Sangsoo⁴ Deng Xiping²

1 College of Life Science, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, 712100; 2 State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on Loess Plateau, Institute of Soil and Water Conservation, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, 712100; 3 College of Forestry, Northwest A and F University, Yangling, 712100; 4 Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon, 305-806, Korea

* Corresponding author, lhb_7381@nwsuaf.edu.cn

DOI: 10.13271/j.mpb.017.002628

Abstract As a multifunctional protein, late embryogenesis abundant protein (LEA) participates in response to response multiple abiotic stresses. Previous studies have shown that overexpression of *IbLEA 14* gene in sweet potato could enhance the osmotic potential and salt stress tolerance in callus of transgenic sweet potato. In order to study how to improve the physiological mechanism of drought tolerance in *IbLEA 14* transgenic poplar, this

基金项目: 本研究由国家自然科学基金项目(51479189)、国家重点基础研究发展计划(2015CB150402)、国家“十二五”重大科技支撑计划课题(2015BAD22B01)、西北农林科技大学博士科研启动金(Z111021311)和韩国生命工学研究院创新计划项目(KRIBB Research Initiative Program)共同资助

引用格式: Qiao H.H., Li H.B., Sun Z.M., Ke Q.B., Wang S.W., Kwak S.S., and Deng X.P., 2019, Physiological mechanisms of transgenic poplar with enhancing tolerance to drought stress by expression *IbLEA 14* gene, Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding), 17(8): 2628-2638 (乔焕焕, 李红兵, 孙振玫, 可庆波, 王仕稳, 郭尚洙, 邓西平, 2019, 转 *IbLEA 14* 基因杨树增强耐旱性的生理机制, 分子植物育种, 17(8): 2628-2638)

study selected the transgenic poplar lines expressed *IbLEA 14* gene as material, used pot culture method and measured its morphological and physiological biochemical indexes under drought stress and rewatering. The results indicated: (1) Under drought stress, growth of plant height, total biomass accumulation of transgenic poplar expression *IbLEA 14* and NT poplar were all suppressed, but the growth condition of transgenic poplar was better than that of NT poplar, compared with NT poplar, the net photosynthesis rate of transgenic poplar was higher, while, MDA and H_2O_2 content was lower, higher Pro content and lower osmotic potential to ensure the higher level of relative water content and water retention capacity of transgenic poplar. (2) Rewatering after drought stress, compared with the situation of drought stress, relative water content on the leaves of transgenic poplar were increased significantly, the net photosynthesis rate of transgenic poplar was gradually increased, the content of MDA and H_2O_2 were sustain decreased, the content of proline was also reduced, and the osmotic potential was increased. The study showed that the transgenic poplar line expression *IbLEA 14* gene could reduce the damage of plant cell membrane and photosynthetic system under drought stress, when rewatering after drought stress, which could better to repair the cell membrane and photosynthetic apparatus, as well as accelerate the recovery. Therefore, transgenic poplar lines might have better drought tolerance and recovery ability after drought, and have more drought resistance advantages. The results of this study would provide a theoretical basis for drought resistance breeding and application of poplar drought tolerance, which would be expected to play an important role in improving soil desertification in the future.

Keywords Transgenic poplar, Drought stress, Rewatering, Antioxidant properties, Photosynthesis rate

干旱是中国目前面临的重要生态问题之一,其中受旱地区约占国土总面积 52.5%,干旱地区约占 30.8%,半干旱地区约占 21.7% (刘建华, 2016)。水是影响树木生长的重要条件,尤其对树种的分布、生长以及生态生理等过程有非常重要的影响(冯玉龙等, 2003)。杨树(*Populus L.*)在中国沙漠地区是用作防护林和材木的重要品种,种植面积很广,在生态环境治理方面发挥着举足轻重的作用(井大炜等, 2013)。然而干旱胁迫会抑制杨树幼苗株高生长,降低叶片和茎生物量,从而影响杨树正常生长发育(刘建华, 2016)。研究发现,在土壤持续干旱胁迫下,杨树叶片可溶性蛋白质和游离脯氨酸总量呈减少趋势,可溶性糖含量保持较高水平,且与质膜相对透性呈显著正相关(杨淑红等, 2016)。也有研究表明,随着干旱胁迫强度的增加和时间的延长,杨树净光合速率和气孔导度迅速下降,叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性均先升高后降低,叶片相对电导率、丙二醛含量显著增加,质膜受损严重(井大炜等, 2013)。

高等植物处于复杂多变的环境中,阵发性与短暂性的干旱胁迫时有发生(张林生和赵文明, 2003)。为适应干旱胁迫环境,植物依据自身习性以启动响应机制(沈少炎等, 2017),合成一系列的功能蛋白以减轻逆境胁迫对其造成的伤害,其中胚胎发育晚期

丰富(late-embryogenesis-abundant, LEA)蛋白备受关注(王静英等, 2008; Hundertmark and Hincha, 2008)。在水分亏缺时,LEA 蛋白能够增强束缚水,与可溶性糖在细胞中的作用一样,植物严重脱水而受到伤害是由于水分的损失导致细胞正常结构发生凝结,细胞膜结构受害之故,而 LEA 蛋白能够减轻这种伤害(张林生和赵文明, 2003)。研究发现,将小麦中 LEA 蛋白基因 *TaLEA 3* 在植物中华羊草(*Leymus chinensis*)中超表达后,发现其抗旱性显著提高(Wang et al., 2009)。

植物的抗旱性不仅体现在植物在干旱环境条件下生长、繁殖或生存能力,还体现在干旱胁迫解除后迅速恢复的能力(潘瑞焱, 2008, 高等教育出版社, pp. 1-10)。在旱区树木品种的引进与培育过程当中,通常只注意品种对干旱胁迫逆境的适应能力及其适应机制,而关于处于干湿交替与旱后复水条件下作物的生长与生理功能的恢复能力及其在旱后复水过程中作物生理机制上的差异并未受到重视(山仑等, 2006)。因而前人的研究多集中于植物对干旱的响应和耐受能力方面,对旱后复水的修复机制涉及较少。基于此,本研究以转 *IbLEA 14* 基因杨树为试验材料,在干旱胁迫与复水条件下进行形态与生理生化指标测定,解析转 *IbLEA 14* 基因杨树增强抗旱性的生理机制,由此可为培育新杨树品种及其广泛应用提供理论依据,进而为改善土壤沙漠化与绿化沙区发挥重要作用。

1 结果与分析

1.1 干旱与复水对转 *IbLEA14* 基因杨树生长的影响

为研究转基因杨树对干旱胁迫与复水的生理响应,对转基因杨树和非转基因杨树同时进行了干旱胁迫与旱后复水处理。结果显示:正常供水的杨树生长状况良好,差异不显著(图 1A);干旱胁迫显著影响了杨树的生长,转基因杨树与非转基因杨树的生长显著低于正常供水的杨树;且非转基因杨树生长受到抑制的程度更严重,而转基因杨树的程度轻于非转基因杨树(图 1B;图 1C);复水 7 d 后(图 1D),转基因杨树的恢复状况明显好于非转基因杨树。由此表明,相较于非转基因杨树,转基因杨树的耐旱性更强,复水后的恢复能力更好。

正常供水条件下(图 2A),转基因株系 *LEA1-2*、*LEA2-11* 生物量与非转基因植株无显著差异;干旱胁迫后,转基因株系与非转基因植株的生物量均降低,但差异不显著。在正常供水条件下(图 2B),随着时间的延长,转基因杨树与非转基因杨树的株高持

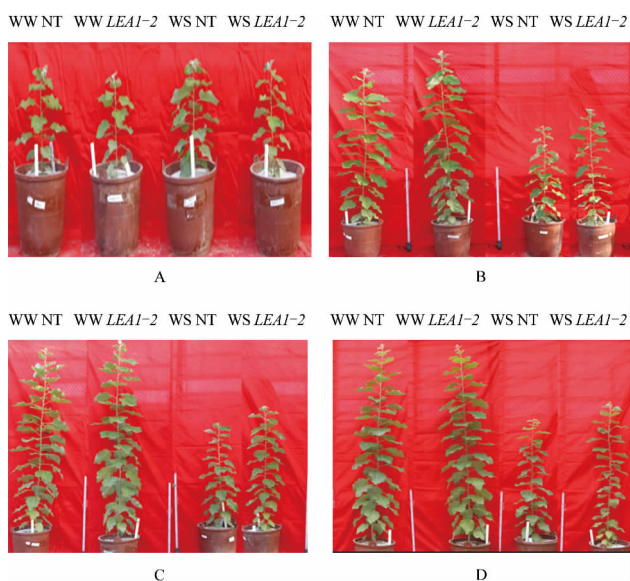


图 1 干旱胁迫与复水对转基因杨树与非转基因杨树生长的影响
注: WW: 正常供水; WS: 水分胁迫; NT: 非转基因; *LEA1-2*: 转 *LEA* 基因 1-2 株系; A: 干旱胁迫 0 d; B: 干旱胁迫 35 d; C: 干旱胁迫 49 d; D: 干旱胁迫 49 d 后复水 7 d

Figure 1 Effects of drought stress and rehydration on growth of transgenic poplar and non-transgenic poplar

Note: WW: Normal water supply; WS: Water stress; NT: Non-transgenic; *LEA1-2*: Transgenic line 1-2 with *LEA* gene; A: Drought stress for 0 day; B: Drought stress for 35 days; C: Drought stress for 49 days; D: Rehydration for 7 days after drought stress of 49 days

续增加且差异不显著;干旱胁迫后转基因杨树与非转基因杨树株高虽呈增加趋势(图 2C),但显著低于对照水平,干旱胁迫显著抑制了杨树的生长发育,株系间株高差异不显著。正常供水条件下,转基因杨树与非转基因杨树的茎粗无显著差异。干旱胁迫后,转基因杨树与非转基因杨树的茎粗显著降低,无显著差异。由此说明,较非转基因杨树而言,干旱胁迫对转基因杨树的抑制作用在表型上差异不显著。

1.2 干旱与复水对转 *IbLEA14* 基因杨树叶片气体交换参数的影响

结果显示(表 1),正常供水条件下,转基因株系 *LEA1-2*、*LEA2-11* 与非转基因杨树的净光合速率 (P_n) 无显著差异;干旱胁迫下,杨树叶片的净光合速率下降,转基因株系 *LEA1-2*、*LEA2-11* 的净光合速率显著高于非转基因杨树;复水后杨树叶片的净光合速率恢复,转基因杨树与非转基因杨树的净光合速率无显著差异。说明干旱胁迫对转基因杨树光合作用的抑制程度较轻,净光合速率较高。

在正常供水条件下,转基因杨树与非转基因杨树的气孔导度 (G_s) 无显著差异;干旱胁迫 35 d 后,转基因株系 *LEA1-2*、*LEA2-11* 及非转基因杨树的气孔导度分别较对照降低了 22.27%、33.76%、47.67%;复水后,转基因与非转基因杨树的气孔导度均恢复正常水平,与对照差异不显著。在水分亏缺条件下(表 1),杨树叶片的蒸腾速率 (T_r) 较正常供水明显降低,转基因株系的蒸腾速率 (T_r) 显著高于非转基因植株;复水后,杨树叶片的蒸腾速率逐渐恢复。表明干旱胁迫后转基因杨树的气孔导度与蒸腾速率的降低程度更小,更有助于光合作用顺利进行。

1.3 干旱与复水对转 *IbLEA14* 基因杨树水分状况的影响

离体叶片失水速率又称为植物组织抗脱水能力,可以反映植物叶片的持水力。结果显示(表 2):干旱胁迫后,转基因杨树与非转基因杨树的失水速率显著降低,失水速率减慢。转基因杨树的失水速率与非转基因杨树差异不显著。复水后杨树的失水速率较干旱条件下呈增加趋势。叶片保水能力可以反映植物在干旱条件下对水分的保持能力。正常水分条件下,转基因株系 *LEA2-11* 的保水能力最高;干旱胁迫后,各株系的保水能力较对照显著增强,转基因杨树的保水能力明显高于非转基因杨树;复水后,各株系杨树的保水能力较干旱条件下均有所降低;正常供

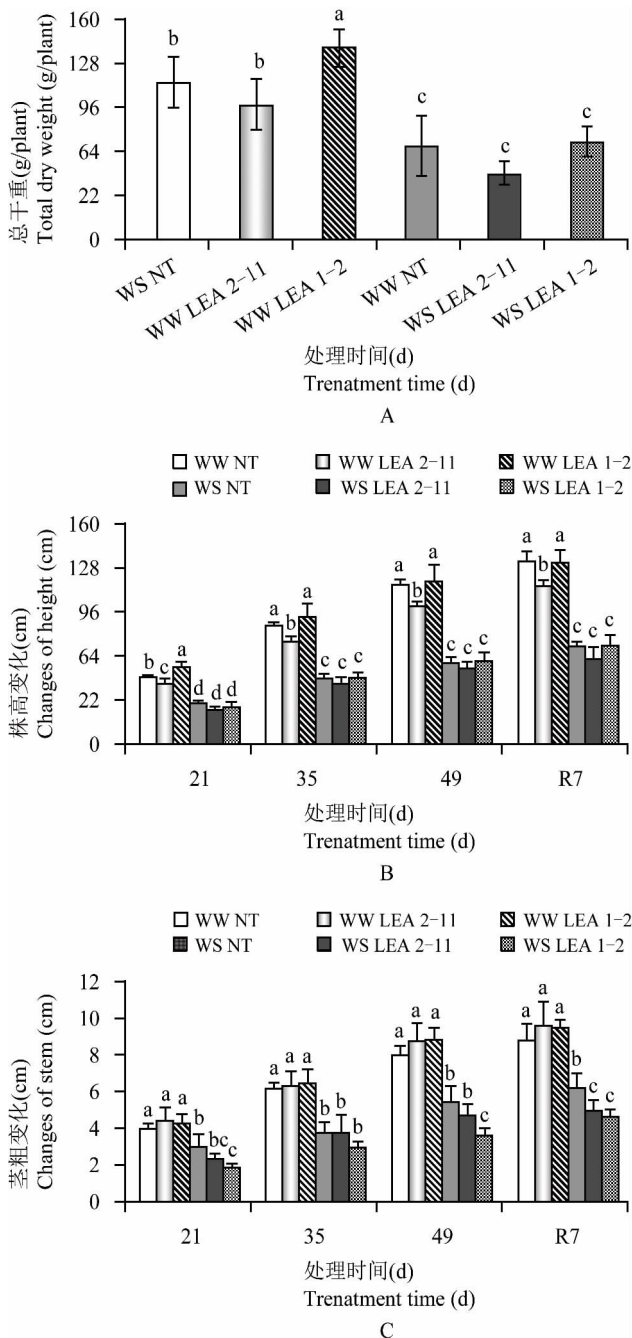


图2 干旱胁迫与复水条件下转基因杨树与非转基因杨树的总干重, 株高变化, 茎粗变化

注: A: 总干重; B: 株高变化; C: 茎粗变化; R7: 复水7 d; WW: 正常供水; WS: 水分胁迫; NT: 非转基因; *LEA2-11*: 转 *LEA* 基因 2-11 株系; *LEA1-2*: 转 *LEA* 基因 1-2 株系; 不同小写字母表示在同一时间不同处理间差异显著 ($p < 0.05$)

Figure 2 The total dry weight, the changes in plant height and stem diameter of transgenic poplar and non-transgenic poplar under drought stress and rehydration

Note: A: Total dry weight; B: Changes of height; C: Changes of stem; R7: Rehydration for seven day; WW: Normal water supply; WS: Water stress; NT: Non-transgenic; *LEA2-11*: Transgenic line 2-11 with *LEA* gene; *LEA1-2*: Transgenic line 1-2 with *LEA* gene. Different small letters indicate significant difference between different treatments at the same treatment time ($p < 0.05$)

水条件下, 转基因杨树与非转基因杨树的叶片相对含水量无显著差异, 干旱胁迫后均显著降低; 干旱胁迫 35 d 时, 转基因株系 *LEA1-2*、*LEA2-11* 及非转基因杨树的叶片相对含水量分别较对照降低了 13.28%、14.83%、31.44%, 表明干旱胁迫下转基因杨树叶片相对含水量显著高于非转基因杨树。干旱胁迫 49 d 后, 各株系杨树的叶片相对含水量持续降低。复水后, 杨树叶片的相对含水量恢复至对照水平。说明干旱胁迫下, 杨树的失水速率减慢, 叶片相对含水量降低, 但保水能力增强, 复水后杨树的保水能力有所下降, 失水速率加快, 但叶片相对含水量有所恢复。而转基因杨树在干旱胁迫下保水能力更强, 叶片相对含水量更高, 更有利于减缓水分散失, 保存植株细胞内水分以适应干旱胁迫环境。

1.4 干旱与复水对转 *l*bLEA14 基因杨树脯氨酸与渗透势的影响

干旱胁迫下, 植物体内普遍存在游离脯氨酸大量累积的现象(刘灵娣等, 2008)。结果显示(图 3A): 干旱胁迫下杨树 Pro 含量较对照水平均升高, 而且转基因杨树的 Pro 含量显著高于非转基因杨树, 在干旱 35 d 时差异最显著。复水后, 杨树的 Pro 含量显著下降, 转基因株系的 Pro 含量低于非转基因株系的含量。随着时间的推移(图 3B), 正常供水条件下株系间渗透势差异不显著; 干旱胁迫处理后, 各株系渗透势较对照显著降低。干旱胁迫 49 d 后, 转基因株系 *LEA1-2*、*LEA2-11* 及非转基因杨树的叶片渗透势分别较对照降低了 15.25%、35.10%、11.11%, 转基因株系的渗透势低于非转基因植株。复水后, 转基因株系与非转基因植株的渗透势与对照差异不显著, 转基因杨树的渗透势低于非转基因杨树水平。由此说明干旱胁迫后杨树增加了游离脯氨酸含量, 降低了渗透势, 增强渗透调节能力, 复水后杨树的游离脯氨酸含量降低, 渗透势增加, 但转基因杨树在干旱胁迫下渗透调节能力更强。

1.5 干旱与复水对转 *l*bLEA14 基因杨树丙二醛与过氧化氢的影响

各株系杨树受到干旱胁迫后(图 4A), H_2O_2 含量较对照水平显著增加, 而转基因杨树的 H_2O_2 含量低于非转基因杨树。在干旱胁迫 49 d 后, 转基因杨树叶片 H_2O_2 含量显著低于非转基因杨树, 转基因株系 *LEA1-2*、*LEA2-11* 及非转基因杨树的叶片 H_2O_2 含量分别为 20.24 μ g/g FW、25.85 μ g/g FW、29.82 μ g/g FW,

表 1 干旱胁迫与复水条件下转基因杨树与非转基因杨树的净光合速率, 气孔导度和蒸腾速率

Table 1 Net photosynthetic rate, stomatal conductance and transpiration rate in leaves of transgenic poplar and non-transgenic poplar under drought stress and rehydration

参数 Parameter	胁迫时间(d) Stress time (d)	处理 Treatment					
		WW NT	WW <i>LEA2-11</i>	WW <i>LEA1-2</i>	WS NT	WS <i>LEA2-11</i>	WS <i>LEA1-2</i>
净光合速率 ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	35	13.35±0.44 a	13.45±0.10 a	13.72±0.08 a	8.53±1.41 c	10.87±1.38 b	11.14±0.52 b
	49	13.42±0.44 ab	13.26±0.02 ab	13.72±0.08 a	10.90±1.04 d	12.47±0.83 bc	12.00±0.52 c
Pn ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	R7	14.28±0.39 a	14.27±0.61 a	13.85±0.28 a	13.64±0.45 a	13.66±0.89 a	14.49±0.77 a
气孔导度 ($\text{mol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	35	0.14±0.00 ab	0.15±0.01 ab	0.16±0.00 a	0.07±0.02 d	0.10±0.01 c	0.12±0.01 b
	49	0.18±0.01 a	0.17±0.00 ab	0.16±0.00 d	0.09±0.01 e	0.14±0.00 c	0.11±0.01 b
Gs ($\text{mol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	R7	0.12±0.00 ab	0.11±0.01 b	0.12±0.00 ab	0.13±0.01 a	0.12±0.00 ab	0.14±0.00 a
蒸腾速率 ($\text{mol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	35	4.90±0.19 ab	5.68±0.26 a	5.75±0.09 a	4.45±0.97 b	5.27±0.66 ab	6.00±0.39 a
	49	7.91±0.22 a	7.50±0.12 b	5.75±0.09 d	5.18±0.14 e	6.40±0.22 c	5.62±0.46 b
Tr ($\text{mol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	R7	4.44±0.15 c	4.38±0.31 c	4.60±0.22 c	5.62±0.31 a	5.01±0.27 b	5.57±0.13 a

注: R7: 复水 7 d; WW: 正常供水; WS: 水分胁迫; NT: 非转基因; *LEA2-11*: 转 *LEA* 基因 2-11 株系; *LEA1-2*: 转 *LEA* 基因 1-2 株系; 同行不同小写字母表示处理间差异显著($p<0.05$)

Note: R7: Rehydration for seven days; WW: Normal water supply; WS: Water stress; NT: Non-transgenic; *LEA2-11*: Transgenic line 2-11 with *LEA* gene; *LEA1-2*: Transgenic line 1-2 with *LEA* gene; Different letters in the same row meant significant difference at 0.05 level

表 2 干旱胁迫与复水条件下转基因杨树与非转基因杨树的失水速率, 保水能力, 相对含水量

Table 2 Net excised-leaf water loss rate, water retention capacity and relative water content in leaves of transgenic poplar and non-transgenic poplar under drought stress and rehydration

参数 Parameter	胁迫时间(d) Stress time (d)	处理 Treatment					
		WW NT	WW <i>LEA2-11</i>	WW <i>LEA1-2</i>	WS NT	WS <i>LEA2-11</i>	WS <i>LEA1-2</i>
失水速率($\text{g}\cdot\text{h}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$)	35	0.5±0.06 bc	0.55±0.03 b	0.69±0.06 a	0.37±0.04 e	0.47±0.03 cd	0.42±0.00 de
EWLR($\text{g}\cdot\text{h}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$)	49	0.53±0.03 b	0.65±0.11 a	0.71±0.03 a	0.37±0.02 d	0.47±0.03 bc	0.42±0.04 cd
	R7	0.53±0.06 d	0.65±0.03 ab	0.71±0.02 bc	0.37±0.02 e	0.47±0.05 cd	0.42±0.02 a
保水能力(%)	35	24.75±1.68 b	27.70±1.16 ab	18.12±1.10 c	29.30±2.18 a	30.11±2.26 a	26.41±3.51 ab
WRC (%)	49	13.15±1.66 d	17.01±0.93 c	6.35±0.75 c	20.56±1.20 b	28.19±1.77 a	26.64±2.75 a
	R7	16.71±2.36 b	21.16±1.60 a	12.02±1.30 b	20.19±2.05 a	14.78±1.38 b	21.96±1.41 a
相对含水量(%)	35	92.55±1.48 a	91.23±1.62 a	89.03±1.71 a	63.45±1.10 c	77.70±5.84 b	77.20±2.72 b
RWC (%)	49	88.17±3.77 a	85.57±4.41 a	87.11±1.00 a	56.11±2.92 b	62.07±1.40 b	61.19±4.82 b
	R7	85.66±6.79 a	90.27±3.96 a	86.67±4.05 a	77.06±7.95 a	89.11±1.54 a	94.77±2.48 a

注: R7: 复水 7 d; WW: 正常供水; WS: 水分胁迫; NT: 非转基因; *LEA2-11*: 转 *LEA* 基因 2-11 株系; *LEA1-2*: 转 *LEA* 基因 1-2 株系; 同行不同小写字母表示处理间差异显著($p<0.05$)

Note: R7: Rehydration for seven days; WW: Normal water supply; WS: Water stress; NT: Non-transgenic; *LEA2-11*: Transgenic line 2-11 with *LEA* gene; *LEA1-2*: Transgenic line 1-2 with *LEA* gene; Different letters in the same row meant significant difference at 0.05 level

分别是对照的 2.24 倍、3.21 倍及 3.91 倍。复水 7 d 后, 各株系杨树的 H_2O_2 含量较干旱条件下有所下降, 且转基因株系的 H_2O_2 含量仍显著低于非转基因杨树的含量。说明干旱胁迫下转基因杨树的 H_2O_2 积累较少, 复水后仍保持较低水平。

各株系杨树在干旱胁迫条件下(图 4B), MDA 含

量均高于对照水平, 且转基因株系的 MDA 含量低于非转基因杨树的含量。随着干旱胁迫时间的延长, 各株系杨树的 MDA 含量持续增加。复水 7 d 后, 各株系杨树的 MDA 含量较干旱胁迫下水平平均下降, 转基因株系的 MDA 含量仍低于非转基因杨树的含量。表明处于干旱胁迫条件下的转基因杨树积累的 MDA

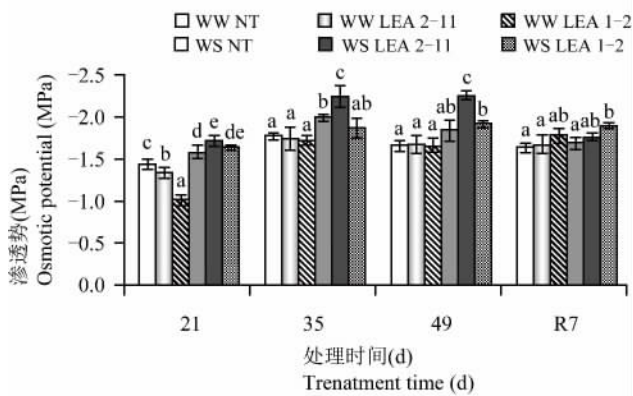
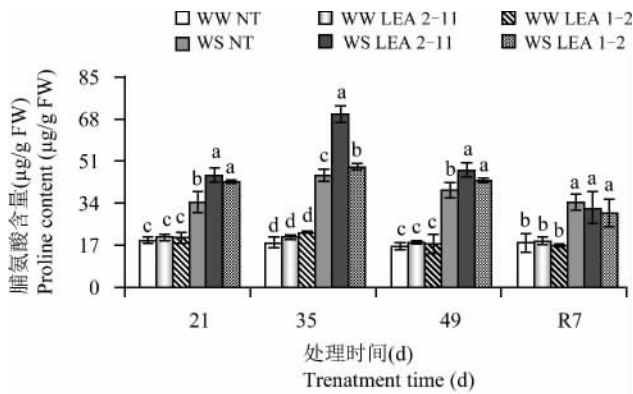


图3 干旱胁迫与复水条件下转基因杨树与非转基因杨树叶片的脯氨酸含量与渗透势

注: A: 脯氨酸含量; B: 渗透势; R7: 复水 7 d; WW: 正常供水; WS: 水分胁迫; NT: 非转基因; *LEA2-11*: 转 *LEA* 基因 2-11 株系; *LEA1-2*: 转 *LEA* 基因 1-2 株系; 不同小写字母表示在同一时间不同处理间差异显著($p < 0.05$)

Figure 3 The osmotic potential and proline content in leaves of transgenic poplar and non-transgenic poplar under drought stress and rehydration

Note: A: Proline content; B: Osmotic potential; R7: Rehydration for seven days; WW: Normal water supply; WS: Water stress; NT: Non-transgenic; *LEA2-11*: Transgenic line 2-11 with *LEA* gene; *LEA1-2*: Transgenic line 1-2 with *LEA* gene; Different small letters indicate significant difference between different treatments at the same treatment time ($p < 0.05$)

含量较低,因而对植株细胞膜的伤害较小,复水后仍可保持较低水平。

2 讨论

干旱胁迫条件下,植株叶片相对含水量与水分保持能力是反映植物抗旱能力的重要指标,可反映植物在干旱胁迫条件下水分亏缺状况。本研究表明,随着干旱胁迫时间的延长,杨树的叶片相对含水量均显著降低,但转基因株系失水速率显著低于对照,

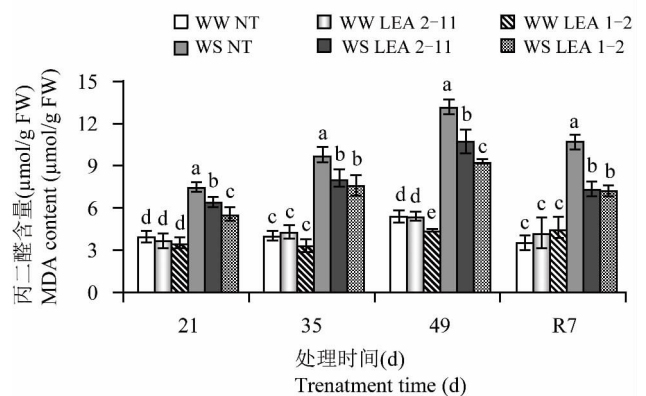
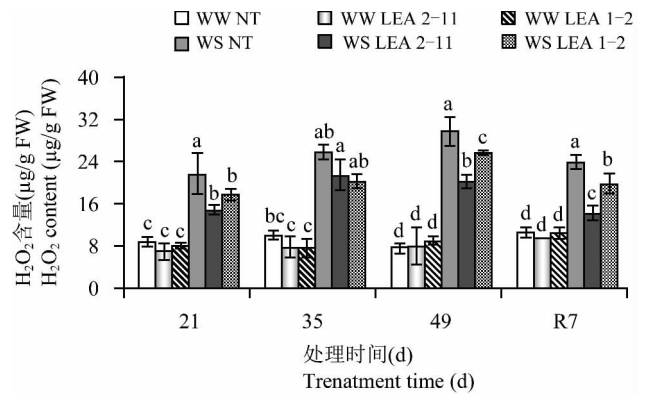


图4 干旱胁迫与复水条件下转基因杨树与非转基因杨树叶片中MDA与 H_2O_2 含量

注: A: 过氧化氢含量; B: 丙二醛含量; R7: 复水 7 d; WW: 正常供水; WS: 水分胁迫; NT: 非转基因; *LEA2-11*: 转 *LEA* 基因 2-11 株系; *LEA1-2*: 转 *LEA* 基因 1-2 株系; 不同小写字母表示在同一时间不同处理间差异显著($p < 0.05$)

Figure 4 Content of MDA and H_2O_2 of leaf in transgenic poplar and non-transgenic poplar under drought stress and rehydration

Note: A: H_2O_2 content; B: MDA content; R7: Rehydration for seven days; WW: Normal water supply; WS: Water stress; NT: Non-transgenic; *LEA2-11*: Transgenic line 2-11 with *LEA* gene; *LEA1-2*: Transgenic line 1-2 with *LEA* gene; Different small letters indicate significant difference between different treatments at the same treatment time ($p < 0.05$)

保水能力明显高于对照。这与鲍思伟(2001)对蚕豆的研究结果及段娜等(2016)对比拉底白刺的研究结果一致。经干旱胁迫处理的转 *IbLEA14* 基因杨树叶片相对含水量与保水能力显著高于非转基因杨树,失水速率与非转基因杨树差异不显著。原因在于正常水分条件下叶片主要通过气孔散失水分,干旱胁迫后叶片的保卫细胞不能维持正常膨压,气孔关闭以减少叶片水分散失。从而表明转 *IbLEA14* 基因杨树保持组织水分和贮水方面能力较强,能够更好地维持杨树在干旱胁迫环境下的正常生理代谢活动。复

水后,转 *IbLEA 14* 基因杨树的离体叶片失水速率加快,保水能力下降,叶片相对含水量却恢复正常水平。由于复水后土壤水分充分供应,正常水平的叶片相对含水量说明复水后杨树植株水分含量充足,由此为植株恢复正常生理代谢提供帮助。

研究表明,干旱胁迫下叶片相对含水量下降会引起气孔关闭,气孔关闭导致叶片气孔导度下降,而水分的运输与 CO_2 的传输都需经过气孔,在减少水分散失的同时,传输至植物叶片内的 CO_2 相应减少,因而叶片气孔导度的降低伴随着光合速率的下降(Cornic, 2000; Lawlor and Cornic, 2002; 丁雷等, 2014)。研究结果显示,在干旱胁迫条件下,转基因株系 *LEA2-11*、*LEA1-2* 与非转基因杨树的叶片相对含水量降低,引起叶片气孔关闭,导致叶片 G_s 与 T_r 降低,通过气孔进入叶片叶肉细胞的 CO_2 减少,进而影响了叶片 P_n 。在干旱胁迫下转 *IbLEA 14* 基因杨树的 G_s 显著高于非转基因杨树,较大的 G_s 能够保证 CO_2 通过气孔进入叶肉细胞的阻力减小,因而转 *IbLEA 14* 基因杨树的 P_n 显著高于非转基因杨树,表明转 *IbLEA 14* 基因杨树在干旱胁迫环境下的光合能力较非转基因杨树强。复水后,转 *IbLEA 14* 基因杨树的各项光合参数提高,光合作用恢复较快。说明干旱胁迫条件一旦得以解除,转 *IbLEA 14* 基因杨树的修复机制快速启动,干旱胁迫对光合系统造成的伤害及时修复,表现为叶片相对含水量及 P_n 与充分供水的对照差异不显著,保证光合作用正常运行。

Pro 是植物细胞中非常重要的渗透调节物质之一,当植物处于逆境胁迫环境中时,细胞膜结构稳定性会受到威胁,此时 Pro 迅速大量积累,维持细胞渗透势,因而植物表现出抗逆性(Ashraf and Foolad, 2007)。本研究发现,干旱胁迫条件下转 *IbLEA 14* 基因杨树积累的 Pro 含量始终高于非转基因杨树,渗透势低于非转基因杨树,复水后转 *IbLEA 14* 基因杨树 Pro 含量明显低于非转基因杨树,渗透势与非转基因杨树差异不显著。表明转 *IbLEA 14* 基因杨树在遭遇干旱胁迫时,通过启动渗透调节应急机制,积累渗透调节物质,使渗透势保持较低水平,减少水分散失,因而转 *IbLEA 14* 基因杨树能够保持较高的叶片相对含水量,保护了叶绿体细胞膜结构的完整性,保证了植株的光合作用正常进行,所以转 *IbLEA 14* 基因杨树的净光合速率较高。干旱胁迫逆境解除后,转 *IbLEA 14* 基因杨树可能较非转基因杨树更快的开始修复干旱造成的损伤,细胞功能较快恢复正常水平,因而脯氨酸含量快速下降,渗透势恢复正常水平。

正常生理调节下, O_2^- 、 H_2O_2 等活性氧是植物生长过程中的必然产物,抗氧化系统可以使活性氧的产生与清除处于动态平衡,避免活性氧代谢失调(蔡志全等, 2003; 陈晟等, 2018)。前人研究发现土壤干旱胁迫环境可使植物细胞内活性氧迅速大量积累,引起细胞膜脂过氧化,细胞膜受到伤害,促使 MDA 大量产生,加剧了细胞膜结构与功能的受损程度,严重时可引起细胞死亡(Wang et al., 2009; 樊瑞莘等, 2012)。干旱胁迫引起植物体内活性氧的产生在于光合电子传递链的平衡被打破,光合电子传递受阻,进而形成对植物破坏性极大的单线态氧 $^1\text{O}_2$ 与 H_2O_2 (Asada, 1999; Mittler et al., 2004; 魏国强等, 2004)。本试验结果发现,随着干旱胁迫时间的延长,转基因杨树及非转基因杨树的 MDA 与 H_2O_2 含量均表现出逐渐上升的趋势,贾学静等(2013)对金心吊兰的研究得出相同的结果。表明干旱胁迫环境引起 H_2O_2 积累,这是因为活性氧的大量产生超过了防御系统的清理能力,没有及时清理的活性氧逐渐积累,加剧了膜脂过氧化,MDA 含量增加,引起叶绿体膜受到伤害,降低了叶片光合速率;而光合速率的降低又会引起光合电子传递受阻,反过来导致活性氧积累,从而形成恶性循环(张宪政等, 1996; 崔秀妹等, 2012)。干旱胁迫下,转基因株系 *LEA2-11*、*LEA1-2* 的 H_2O_2 含量始终低于非转基因杨树,说明转 *IbLEA 14* 基因杨树的活性氧清除能力较强,较低的渗透势也保护着转基因杨树细胞膜蛋白的结构完整性,减小了对膜的伤害程度,因而 MDA 含量低于非转基因杨树,表明干旱胁迫对转基因杨树造成的伤害程度轻于非转基因杨树(陈士超等, 2017)。干旱复水后转 *IbLEA 14* 基因杨树表现出较强的活性氧清除能力,表现为 H_2O_2 与 MDA 含量均显著低于非转基因杨树。

与对照相比,干旱胁迫下各株系杨树的总生物量、株高以及茎粗均显著降低,这与胡晓健等(2010)对马尾松苗和尹丽等(2010)对麻风树幼苗的研究结果一致。由此可见干旱胁迫对杨树幼苗生长发育的影响非常显著。综合上述分析,可能是因为干旱胁迫使杨树失水率增加,为了减少植物体内自由水的散失,叶片气孔关闭,气孔导度下降,使叶片光合速率降低,使光合电子传递过程异常,进而导致活性氧的过度积累,造成细胞膜的严重损坏,最终影响杨树的正常生长发育。

转 *IbLEA 14* 基因杨树在干旱胁迫下,不仅光合作用较强,而且发挥其较强的贮水能力以及有效实行水分再分配来增加其叶片相对含水量,提高水分

利用效率, 渗透调节物质的积累与渗透势的降低以减轻对植株细胞膜的伤害, 保护细胞膜的正常功能, 转基因植株较少的活性氧积累, 也减轻了对光合系统的伤害, 干旱胁迫下转 *IbLEA 14* 基因杨树的生物量与非转基因杨树差异不显著, 表明转基因并没有对杨树的正常生长产生不良影响。干旱复水后, 转基因杨树较非转基因杨树的生理代谢过程恢复更好, 表现为活性氧与 MDA 的积累少于非转基因杨树, 细胞膜透性得以较快恢复, 维护了叶绿体细胞膜的正常结构, 净光合速率迅速恢复, 这与周雪英等(2007)的研究结果一致。另外, 复水后转 *IbLEA 14* 基因杨树能够维持较高的叶片相对含水量以及较低的渗透势, 保障了植株体内水分充分供应。由此推断, 转 *IbLEA 14* 基因杨树较非转基因杨树能够更好的在水分亏缺的条件下生存, 与其具有较强的渗透调节能力、抗氧化能力和光合作用能力密切相关, 从而保证了转 *IbLEA 14* 基因杨树在干旱复水后可以更好、更强地进行自我修复。因此, 转 *IbLEA 14* 基因杨树的抗旱性更强。

3 材料与方 法

3.1 供试材料

试验地点设于中国陕西杨凌(34.28 N, 108.07 E), 西北农林科技大学水保所国家重点实验室进行。供试土壤为陕北黄绵土, 供试材料为杂交杨树品种 (*Populus alba* × *Populus glandulosa*) 和转 *IbLEA 14* 基因杨树, 包括 *LEA1-2*、*LEA2-11* 及非转基因杨树(NT) 共 3 个株系, 由本课题组与韩国生命工学研究院合作研究获得。转基因杨树由植物表达载体 pCAMBIA 2300 与甘薯过氧化物酶胁迫诱导型启动子 SW-PA2 构建得到 pCAMBIA 2300-SWPA2-*IbLEA 14*, 进而转化杨树获得。盆栽试验使用塑料桶直径 29 cm, 深 27 cm。每盆装干土 12 kg, P_2O_5 0.2 g/kg, 氮素 0.25 g/kg, 装盆前干土与肥料充分混匀, 共计 72 盆, 选择在育苗基质小盆中炼过的长势一致的健壮苗, 移栽至塑料桶中, 待树龄 50 d 时进行盆栽试验。

3.2 试验设计

试验于人工遮雨棚下进行。处理前每个株系挑选大小一致的健壮苗子 24 桶, 分为处理组和对照组。土壤水分设有 2 个水平: 正常水分对照组(WW)的土壤含水量控制在田间最大持水量的 75%~85%; 干旱胁迫处理组(WS)的土壤含水量控制在田间最大持水量的 35%~45%, 49 d 后复水到田间最大持水量的

75%~85%, 复水持续 7 d。每天下午 6:00 对盆栽称重并补充消耗的水分, 从而使土壤含水量保持在对应水平。每个处理 24 盆, 每盆 1 株。在胁迫开始后的第 21 天、第 35 天、第 49 天和复水后的第 7 天进行取样, 每个处理分别选择 6 株树苗, 对由顶端叶向下完全展开并成熟的第 4 功能叶进行取样, 取样后立即将样品放在液氮中, 速冻后保存于 $-80^{\circ}C$ 超低温冰箱, 用于生理指标测定, 其余处理用于生长指标、生物量的测定。

3.3 生长指标与生物量的测定

测量株高与分枝粗。茎基部和茎尖之间的距离即为株高(cm), 用数显型游标卡尺测量土壤表面分枝的直径(sd)。胁迫处理后, 测定植株鲜重(FW), 装入牛皮纸袋后, 置于 $105^{\circ}C$ 烘箱中杀青 30 min, 再在 $80^{\circ}C$ 下烘至恒重, 即为干重(DW)。

3.4 气体交换参数的测定

光合参数的测定所用仪器为美国的 Li-6400 便携式光合分析系统(Li-Cor 公司), 测定杨树各株系从顶端向下第 4 和第 5 功能叶片的净光合速率(Pn)、气孔导度(Gs)及蒸腾速率(Tr)。每个处理重复 6 次。

3.5 叶片相对含水量的测定

采用称重法进行测定(高俊凤, 2006, 高等教育出版社, pp.1-287)。取幼苗同一部位叶片即第 5 功能叶片, 剪取后迅速称其鲜重(FW); 将叶片转入 50 mL 离心管中并加满蒸馏水, $4^{\circ}C$ 黑暗环境下浸泡叶片 12 h; 吸水纸擦干后称其饱和鲜重(TW); 装入牛皮纸袋后放入 $80^{\circ}C$ 烘箱中, 待重量不变后称干重(DW)。每个处理重复 5 次。

3.6 保水能力及离体叶片失水速率的测定

根据吴振良等(2009)、Shi 等(2014)的方法, 取第 5 功能叶, 置塑料保水袋, 迅速转移至室内并称其鲜重(FW)。然后将叶片浸入装满蒸馏水的 50 mL 离心管内, $4^{\circ}C$ 黑暗环境下浸泡 12 h, 称取饱和重量(SatWt)。然后将饱和的叶片置于 $25^{\circ}C$ ~ $35^{\circ}C$ 下的尼龙网袋内自然风干, 6 h 后再称重(W6)。最后, 将叶片置于 $80^{\circ}C$ 烘箱中烘干并称干重(DW), 重复 4 次。按照单位重量叶片在单位时间内的失水量计算离体叶片失水速率(EWLR)与叶片保水能力(WRC)。

3.7 过氧化氢含量的测定

参照 Kim 等(2012)方法, 准确称取新鲜叶片 0.1 g

并用液氮研磨,各加入 1.5 mL pH 值为 3.8 的 1 mg/mL DAB-HCl 溶液,黑暗环境下放置 5 h; 4 °C 下,以 12 000 r/min 的转速离心 15 min,用分光光度计测定 460 nm 处上清液的吸光值,最后依据标准曲线计算 H₂O₂ 的含量。

3.8 丙二醛含量的测定

丙二醛(MDA)含量测定是依据硫代巴比妥酸(TBA)法(越世杰和许长成,1994)。准确称取新鲜叶片 0.1 g 并用液氮研磨,加入 400 μL 5%三氯乙酸并涡旋,4 °C 下,以 6 000 r/min 的转速离心 15 min,取 400 μL 上清液转入螺口离心管,加入溶于 5%三氯乙酸的 0.5%硫代巴比妥酸至 1 mL,混匀后简单离心;将螺口离心管放入沸水浴中煮沸 30 min,冰上降温至室温后,以 5 000 r/min 的转速离心 15 min,用分光光度计测定 600 nm、532 nm 和 450 nm 波长下的吸光值。

3.9 数据处理与统计分析

采用 SPSS 18.0 软件最小显著性差异法(LSD)进行单因素方差分析,Duncan 多重比较法进行数据统计分析,显著性水平为 $p < 0.05$,应用 Sigmaplot 12.0 软件作图。

作者贡献

乔焕焕和孙振孜是本研究的实验设计者和实验研究的执行人;邓西平和王仕稳完成数据分析,论文初稿的写作;可庆波和郭尚洙参与实验设计,试验结果分析;李红兵是项目的构思者及负责人,指导实验设计、数据分析、论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家自然科学基金项目(51479189)、国家重点基础研究发展计划(2015CB150402)、国家“十二五”重大科技支撑计划课题(2015BAD22B01)、西北农林科技大学博士科研启动金(Z111021311)和韩国生命工学研究院创新计划项目(KRIBB Research Initiative Program)共同资助。

参考文献

Asada K., 1999, THE WATER-WATER CYCLE IN CHLOROPLASTS: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50: 601-639

- Ashraf M., and Foolad M.R., 2007, Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance, *Environ. Exp. Bot.*, 59(2): 206-216
- Bao S.W., 2001, Effects of water stress on the state of water in *Vicia faba* L. leaves, *Tianjin Shifan Daxue Xuebao (Journal of Tianjin Normal University (Natural Edition))*, 21(3): 67-70 (鲍思伟, 2001, 水分胁迫对蚕豆(*Vicia faba* L.)叶片水分状况的影响, *天津师范大学学报(自然版)*, 21(3): 67-70)
- Cai Z.Q., Cao K.F., Feng Y.L., and Feng Z.L., 2003, Effect of low nocturnal temperature stress on fluorescence characteristics and active oxygen metabolism in leaves of *Garcinia hanburyi* seedlings grown under two levels of irradiance, *Yingyong Shengtai Xuebao (Chinese Journal of Applied Ecology)*, 14(3): 326-330 (蔡志全, 曹坤芳, 冯玉龙, 冯志立, 2003, 夜间低温胁迫对两种生长光强下藤黄幼苗叶片荧光特征和活性氧代谢的影响, *应用生态学报*, 14(3): 326-330)
- Chen S., Shi M.T., Wu Y.F., and Li Y.Y., 2018, Effects of boron stress on active oxygen metabolism and antioxidant system of different genotypes of watermelon cultivars, *Zhongguo Nongxue Tongbao (Chinese Agricultural Science Bulletin)*, 34(4): 60-64 (陈晟, 施木田, 吴宇芬, 李永裕, 2018, 硼胁迫对不同类型西瓜活性氧代谢与抗氧化系统的影响, *中国农学通报*, 34(4): 60-64)
- Chen S.C., Wang M., Wang J., Gao Y., Liu Z.Q., and Wang X., 2017, Response of seed germination and seedling physiological characteristics of *Medicago sativa* to the simulated osmotic potential of PEG6000, *Yingyong Shengtai Xuebao (Chinese Journal of Applied Ecology)*, 28(9): 2923-2931 (陈士超, 王猛, 汪季, 高永, 刘宗奇, 王香, 2017, 紫花苜蓿种子萌发及幼苗生理特性对 PEG6000 模拟渗透势的响应, *应用生态学报*, 28(9): 2923-2931)
- Cornic G., 2000, Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture-not by affecting ATP synthesis, *Trends Plant Sci.*, 5(5): 187-188
- Cui X.M., Liu X.B., Li Z.H., Sun K.Y., Li H., and Zhang T.T., 2012, Effects of salicylic acid on growth and photosynthetic characteristics of *Melilotoides ruthenica* in branching stage under different water stress, *Caoye Xuebao (Acta Prataculturae Sinica)*, 21(6): 82-93 (崔秀妹, 刘信宝, 李志华, 孙凯燕, 李卉, 张婷婷, 2012, 水分胁迫下水杨酸对分枝期扁蓿豆生长及光合生理的影响, *草业学报*, 21(6): 82-93)
- Ding L., Li Y.R., Li Y., Shen Q.R., and Guo S.W., 2014, Effects of drought stress on photosynthesis and water status of rice leaves, *Zhongguo Shuidao Kexue (Chinese Journal of Rice Science)*, 28(1): 65-70 (丁雷, 李英瑞, 李勇, 沈其荣, 郭世伟, 2014, 梯度干旱胁迫对水稻叶片光合和水分状况的影响, *中国水稻科学*, 28(1): 65-70)
- Duan N., Hao Y.G., Liu F., Xu J., Chen H.L., and Wang H.,

- 2016, Study on water physiology of *Nitraria billardieri* in different provenances, Nanjing Nongye Xuebao (Southwest Agricultural Journal), 29(5): 1075-1080 (段娜, 郝玉光, 刘芳, 徐军, 陈海玲, 王珩, 2016, 不同种源比拉底白刺(*Nitraria billardieri*)水分生理研究, 西南农业学报, 29(5): 1075-1080)
- Fan R.P., Zhou Q., Zhou B., and Jiang H.D., 2012, Effects of salinization stress on growth and the antioxidant system of tall fescue, Caoye Xuebao (Acta Prataculturae Sinica), 21(1): 112-117 (樊瑞苹, 周琴, 周波, 江海东, 2012, 盐胁迫对高羊茅生长及抗氧化系统的影响, 草业学报, 21(1): 112-117)
- Feng Y.L., Zhang Y.J., and Zhu C.Q., 2003, Relationship between photo-inhibition of photosynthesis and reactive oxygen species in leaves of poplars suffering root osmotic stress, Yingyong Shengtai Xuebao (Chinese Journal of Applied Ecology), 14(8): 1213-1217 (冯玉龙, 张亚杰, 朱春全, 2003, 根系渗透胁迫时杨树光合作用光抑制与活性氧的关系, 应用生态学报, 14(8): 1213-1217)
- Hu X.J., Ouyang X., and Yu F.Y., 2010, Effects of drought stress on the growth and biomass of *Pinus massoniana* seedlings in different provenances, Jiangxi Nongye Daxue Xuebao (Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis), 32(3): 510-516 (胡晓健, 欧阳献, 喻方圆, 2010, 干旱胁迫对不同种源马尾松苗木生长及生物量的影响, 江西农业大学学报, 32(3): 510-516)
- Hundertmark M., and Hinch D.K., 2008, LEA (late embryogenesis abundant) proteins and their encoding genes in *Arabidopsis thaliana*, BMC Genomics, 9(1): 118-140
- Jia X.J., Dong L.H., Ding C.B., Li X., and Yuan M., 2013, Effects of drought stress on reactive oxygen species and their scavenging systems in *Chlorophytum capense* var. *mediopictum* leaf, Caoye Xuebao (Acta Prataculturae Sinica), 22(5): 248-255 (贾学静, 董立花, 丁春邦, 李旭, 袁明, 2013, 干旱胁迫对金心吊兰叶片活性氧及其清除系统的影响, 草业学报, 22(5): 248-255)
- Jing D.W., Xing S.J., Du Z.Y., and Liu F.C., 2013, Effects of drought stress on the growth, photosynthetic characteristics, and active oxygen metabolism of poplar seedlings, Yingyong Shengtai Xuebao (Chinese Journal of Applied Ecology), 24(7): 1809-1816 (井大炜, 邢尚军, 杜振宇, 刘方春, 2013, 干旱胁迫对杨树幼苗生长、光合特性及活性氧代谢的影响, 应用生态学报, 24(7): 1809-1816)
- Kim S.H., Ahn Y.O., Ahn M.J., Lee H.S., and Kwak S.S., 2012, Down-regulation of β -carotene hydroxylase increases β -carotene and total carotenoids enhancing salt stress tolerance in transgenic cultured cells of sweetpotato, Phytochemistry, 74: 69-78
- Lawlor D.W., and Cornic G., 2002, Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants, Plant Cell Environ., 25(2): 275-294
- Liu H., 2016, Effects of drought stress on growth of seedlings for poplar, Fanghulin Keji (Protection Forest Science and Technology), (6): 8-11 (刘建华, 2016, 干旱胁迫对杨树幼苗生长的影响, 防护林科技, (6): 8-11)
- Liu L.D., Li C.D., and Gao X.F., 2008, Effects of water stress on soluble protein and free proline content of different boll weight genotypes in cotton, Huabei Nongxuebao (Acta Agriculturae Boreali-Sinica), 23(5): 165-169 (刘灵娣, 李存东, 高雪飞, 2008, 干旱对不同铃重棉花不同区位果枝叶可溶性蛋白及脯氨酸含量的影响, 华北农学报, 23(5): 165-169)
- Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., and Van B.F., 2004, Reactive oxygen gene network of plants, Trends Plant Sci., 9(10): 490-498
- Shan L., Deng X.P., and Zhang S.Q., 2006, Advances in biological water-saving research: challenge and perspectives, Zhongguo Kexue Jijin (Bulletin of National Natural Science Foundation of China), 20(2): 66-71 (山仑, 邓西平, 张岁岐, 2006, 生物节水研究现状及展望, 中国科学基金, 20(2): 66-71)
- Shen S.Y., Wu Y.X., and Zheng Y.S., 2017, Review on drought response in plants from phenotype to molecular, Shengwuxue Jishu Jinzhan (Progress in Biotechnology), 7(3): 169-176 (沈少炎, 吴玉香, 郑郁善, 2017, 植物干旱胁迫响应机制研究进展——从表型到分子, 生物技术进展, 7(3): 169-176)
- Shi C.H., Dong B.D., Qiao Y.Z., Guan X.Q., Si F.Y., Zheng X., and Liu M.Y., 2014, Physiological and morphological basis of improved water-use-efficiency in wheat from partial root-zone drying, Crop Sci., 54(6): 2745-2751
- Wang J.Y., Li Y.C., Yin J., Liu H.Y., and Si Z.F., 2008, Research on signal transduction and gene expression under drought stress in plant, Zhongguo Nongxue Tongbao (Chinese Agricultural Science Bulletin), 24(1): 271-275 (王静英, 李永春, 尹钧, 刘昊英, 司志飞, 2008, 干旱胁迫下植物的信号转导及基因表达研究进展, 中国农学通报, 24(1): 271-275)
- Wang L., Li X., Chen S., and Liu G., 2009, Enhanced drought tolerance in transgenic *Leymus chinensis* plants with constitutively expressed wheat *TaLEA3*, Biotechnol. Lett., 31(2): 313-319
- Wei G.Q., Zhu Z.J., Fang X.Z., Li J., and Cheng J., 2004, The effects of NaCl stress on plant growth, Chlorophyll fluorescence characteristics and active oxygen metabolism in seedlings of two cucumber cultivars, Zhongguo Nongye Kexue (Scientia Agricultura Sinica), 37(11): 1754-1759 (魏国强, 朱祝军, 方学智, 李娟, 程俊, 2004, NaCl 胁迫对不同品种黄瓜幼苗生长、叶绿素荧光特性和活性氧代谢的影响, 中国农业科学, 37(11): 1754-1759)
- Wu Z.L., Liu L.Y., and Dai M.H., 2009, Study on the relationship between water loss rate of cotton detached leaves and drought

- resistance, *Hebei Nongye Kexue (Journal of Hebei Agricultural Sciences)*, 13(11): 1-3 (吴振良, 刘丽英, 戴茂华, 2009, 棉花离体叶片失水速率与抗旱性的关系研究, *河北农业科学*, 13(11): 1-3)
- Yang S.H., Zhu D., Ren Y.Y., and Zhu Y.L., 2016, Change of leaf membrane permeability and some osmotic regulation substances of 3 poplar varieties under drought stress, *Shanghai Nongye Xuebao (Acta Agriculturae Shanghai)*, 32(6): 118-123 (杨淑红, 朱镛, 任媛媛, 朱延林, 2016, 干旱胁迫下 3 个杨树品种叶片膜透性及部分渗透调节物质的变化, *上海农业学报*, 32(6): 118-123)
- Yin L., Hu T.X., Liu Y.A., Yao S.F., Ma J., Liu W.J., and He C., 2010, Effect of drought on photosynthetic characteristics and growth of *Jatropha curcas* seedlings under different nitrogen levels, *Yingyong Shengtai Xuebao (Chinese Journal of Applied Ecology)*, 21(3): 569-576 (尹丽, 胡庭兴, 刘永安, 姚史飞, 马娟, 刘文婷, 何操, 2010, 干旱胁迫对不同施氮水平麻疯树幼苗光合特性及生长的影响, *应用生态学报*, 21(3): 569-576)
- Yue S.J., and Xu Z.C., 1994, Improvements of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues, *Zhiwu Shenglixue Tongxun (Plant Physiology Communications)*, (3): 207-210 (越世杰, 许长成, 1994, 植物组织中丙二醛测定方法的改进, *植物生理学通讯*, (3): 207-210)
- Zhang L.S., and Zhao W.M., 2003, LEA protein functions to tolerance drought of plant, *Zhiwu Shenglixue Tongxun (Plant Physiology Communications)*, 39(1): 61-66 (张林生, 赵文明, 2003, LEA 蛋白与植物的抗旱性, *植物生理学通讯*, 39(1): 61-66)
- Zhang Z.X., and Su Z.S., 1996, Introduction of researches into physiological damages to crops under water deficit, *Shenyang Nongye Daxue Xuebao (Journal of Shenyang Agricultural University)*, 27(1): 85-91 (张宪政, 苏正淑, 1996, 作物水分亏缺伤害生理研究概况, *沈阳农业大学学报*, 27(1): 85-91)
- Zhou X.Y., and Deng X.P., 2007, Effect of post-drought rewatering on leaf photosynthetic characteristics and antioxidation in different wheat genotypes, *Xibei Zhiwu Xuebao (Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica)*, 27(2): 278-285 (周雪英, 邓西平, 2007, 旱后复水对不同倍性小麦光合及抗氧化特性的影响, *西北植物学报*, 27(2): 278-285)