

# 林木耐盐碱相关基因与基因工程研究进展\*

刘正祥 张华新 杨秀艳 刘涛

(中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091)

**摘要:**土地盐渍化是一个全球性的资源与生态问题, 严重制约当地经济和社会的发展。随着分子生物学的迅速发展, 基因工程为林木耐盐碱新品种培育提供了一条新的途径, 一批林木耐盐碱相关基因相继被克隆、功能得到定位, 并通过遗传转化获得了一些林木耐盐碱转基因株系。文中综述了近10年与林木耐盐碱相关的渗透调节保护基因、功能蛋白基因、调节蛋白基因、抗氧化酶基因等的克隆及其工程应用2方面的研究进展, 并对该领域的未来研究重点进行了探讨, 以期对相关研究提供参考。

**关键词:**林木, 耐盐碱相关基因, 基因工程

中图分类号: S718.46, S722.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-4241(2012)05-0011-07

## Research Advances in Gene and Genetic Engineering for Saline-alkaline Tolerance of Forest Trees

Liu Zhengxiang Zhang Huaxin Yang Xiuyan Liu Tao

(Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration; Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

**Abstract:** Land salinization is a global issue in resources and ecology, and severely restrained the regional economic and social development. With the rapid development of molecular biology, genetic engineering provides a new approach for the cultivation and breeding of new varieties of saline-alkaline tolerant forest trees. A collection of genes related to saline-alkaline tolerance have been cloned and functionally localized, and then some transgenic lines were obtained by genetic transformation. The paper reviewed the progress in the two research fields during the 10 years, i. e., (1) the isolation and cloning of saline-alkaline tolerance-related key genes, such as osmo-regulator protection genes, functional protein genes, regulator protein genes, anti-oxidation enzyme genes, etc.; and (2) their application in genetic engineering. The prospects of future research on this field were also discussed, aimed at providing references for related research.

**Key words:** forest trees, saline-alkaline tolerance-related gene, genetic engineering

土地盐渍化是一个全球性的资源与生态问题, 正吞噬着人类赖以生存的、有限的土地资源, 已严重制约当地经济和社会的发展。据统计, 全世界盐碱地面积超过800万 $\text{km}^2$ <sup>[1]</sup>; 而我国的盐碱地面积约为100万 $\text{km}^2$ <sup>[2]</sup>, 占国土总面积的10.3%, 主要分布在沿海

和“三北”地区。当前, 我国人多地少, 土地资源严重匮乏, 随着国民经济和社会的迅速发展, 人口增长与耕地减少的矛盾日益突出, 各类盐碱地资源已经成为一种重要的土地后备资源, 亟待治理、开发和利用。

\* 收稿日期: 2012-02-28

基金项目: 国家十二五科技支撑项目耐盐碱生态林木种质优选与示范(2011BAD38B0102); 十一五科技支撑项目沿海防护林抗性植物材料选育技术研究(2009BADB2B01)

作者简介: 刘正祥, 安徽宁国人, 从事耐盐碱植物遗传育种方面的研究, E-mail: xiangzilz@163.com

通讯作者: 张华新, 浙江慈溪人, 研究员, 博士生导师, 从事耐盐碱植物遗传育种方面的研究, E-mail: zhanghx1998@126.com

近半个世纪以来,人类对盐碱地开发利用的实践有了长足的发展。与传统的工程措施相比,利用耐盐碱植物,尤其是林木,改良盐碱地具有投资小、适用范围广和可持续性等优点。然而,林木耐盐碱性状多属于数量性状,采用常规育种技术提高耐盐碱能力难度很大,培育出真正的耐盐碱品种尤为困难。近年来,随着植物耐盐碱机理研究的不断深入和现代分子生物学技术的迅猛发展,运用基因工程手段培育林木耐盐碱新品种显示出巨大的潜力。截至目前,科研工作者已克隆、鉴定出一批与耐盐碱相关的基因,并通过遗传转化获得了一些转基因株系。本文就林木耐盐碱相关基因的克隆与功能研究、林木耐盐碱基因工程

2个方面进行综述,并对该领域未来的研究重点与前景进行探讨。

## 1 林木耐盐碱相关基因研究

在盐碱胁迫下,林木本身能够感知和传导逆境信号,启动相关基因的表达,进而激活相应的保护代谢途径。基因筛选是基因克隆和遗传转化的物质基础。近10年来,研究者克隆、鉴定了一批林木耐盐碱相关基因,并对这些基因的功能进行了诠释。根据在盐碱逆境胁迫中的作用,本文将这些基因分为渗透调节保护基因、功能蛋白基因、调节蛋白基因、抗氧化酶基因等,详见表1。

表1 部分林木耐盐碱相关基因

基因	基因类型	基因功能	基因来源(树种)	参考文献
<i>KjBADH</i>	甜菜碱醛脱氢酶基因	渗透调节保护	盐爪爪 ( <i>Kalidium foliatum</i> )	[3]
<i>AmBADH</i>			海榄雌 ( <i>Avicennia marina</i> )	[4] 和 [5]
<i>ThGAPDH</i>	甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因		刚毛柽柳 ( <i>Tamarix hispida</i> )	[6]
<i>AgNHX1</i>	$\text{Na}^+/\text{H}^+$ 逆向转运蛋白基因	合成功能蛋白质	北滨藜 ( <i>Atriplex gmelini</i> )	[7]
<i>PeNhaD1</i>			胡杨 ( <i>Populus euphratica</i> )	[8]
<i>cNHX1</i>			柑橘 ( <i>Citrus × paradisi</i> )	[9]
<i>PtNHX</i>			毛白杨 ( <i>Populus tomentosa</i> )	[10]
<i>RpNHX1</i>			刺槐 ( <i>Robinia pseudoacacia</i> )	[11]
<i>BhNHX</i>			盐桦 ( <i>Betula halophila</i> )	[12]
<i>MzNHX1</i>			珠美海棠 ( <i>Malus zumi</i> )	[13]
<i>KjNHX1</i>			盐爪爪	[14]
<i>BgNHX1</i>			木榄 ( <i>Bruguiera gymnorrhiza</i> )	[15]
<i>ThVHAcl</i>	液泡膜 $\text{H}^+$ -ATPase 基因		刚毛柽柳	[16]
<i>TaLTP</i>	脂质转运蛋白基因		紫杆柽柳 ( <i>Tamarix androssowii</i> )	[17]
<i>ThLTP</i>			刚毛柽柳	[18]
<i>AmT</i>	甜菜碱/脯氨酸转运蛋白基因		海榄雌	[19]
<i>LEA</i>	晚期胚胎富集蛋白基因		柽柳 ( <i>Tamarix spp.</i> )	[20]
<i>MT</i>	金属硫蛋白基因		紫杆柽柳	[21]
			木麻黄 ( <i>Casuarina glauca</i> )	[22]
<i>CSRG1</i>	跨膜蛋白基因		海榄雌	[23]
<i>Tadir</i>	Dirigent 类蛋白基因		紫杆柽柳	[24]
<i>ThGRP1</i>	富含甘氨酸的 RNA 结合蛋白基因		刚毛柽柳	[25]

续表 1

基 因	基因类型	基因功能	基因来源 (树种)	参考文献
<i>ThbZIP1</i>	转录因子基因	调控与耐盐相关的功能基	刚毛柽柳	[26]
<i>ERF/AP2</i>		因表达	钻天杨 ( <i>Populus nigra</i> var. <i>italica</i> )	[27]
<i>CCTα</i>	信号传导基因		海莲 ( <i>Bruguiera sexangula</i> )	[28]
<i>AOC</i>				[29]
<i>AtDHI</i>	解旋酶基因		罗布麻 ( <i>Apocynum venetum</i> )	[30]
<i>TaMnSOD</i>	超氧化物歧化酶基因	清除盐胁迫产生的活性氧	紫杆柽柳	[31]
<i>APX</i>	抗坏血酸过氧化物酶基因	(ROS)	白桦 ( <i>Betula platyphylla</i> )	[32]
<i>POD</i>	过氧化物酶基因		刚毛柽柳	[33]

此外, 研究者还以盐碱胁迫 (和/或随后的解除盐碱胁迫) 条件下的紫杆柽柳、刚毛柽柳、海榄雌、小花老鼠簕 (*Acanthus ebracteatus*)、木榄、胡杨等为材料克隆到不同数量的表达序列标签 (EST), 鉴定出大量与盐碱胁迫有关的应答基因, 并按功能将这些基因分为渗透调节物质生物合成、激素信号转导、活性氧清除、代谢、细胞防御等类型。同时, 还发现了一些未知功能的新基因, 值得今后进一步研究。

## 2 林木耐盐碱基因工程研究

近年来, 随着分子生物学的迅速发展, 林木耐盐碱基因工程研究也迅速开展起来。在了解植物耐盐碱机理的基础上, 遗传学家对控制这些机理的基因进行染色体定位, 然后通过基因工程手段, 将目的基因转到受体植物的基因组中, 开展转基因植物的室内模拟与室外田间实验。目前, 利用基因工程技术提高林木耐盐碱的研究主要集中在以下 5 个方面。

### 2.1 转入编码催化产生渗透调节物质的酶基因

#### 2.1.1 多元醇合成过程中的关键酶基因

刘凤华等<sup>[34]</sup>克隆到大肠杆菌中编码合成甘露醇的关键酶 (甘露醇-1-磷酸脱氢酶) 基因 (*mtl-D*), 并转入八里庄杨 (*Populus × xiaozhannica* cv. ‘Balizhuan-gyang’), 获得了一批具有较高抗盐性的转化植株。室内耐盐<sup>[35]</sup>和田间造林对比试验<sup>[36]</sup>表明, 与对照相比, 转基因植株的耐盐性和盐碱地造林成活率明显提高, 林木生长量显著增加, 被国家林业局认定为“植物新品种”, 正式定名为“中天杨” (*Populus × xiaozhannica* ‘Zhongtian’)。Hu 等<sup>[37]</sup>将 *mtl-D* 转入毛白杨, 发现在组培、水培或大田条件下转基因植株的耐盐性明显提高, 认为这是由于 *mtl-D* 的表达直接或间接

引起甘露醇积累所致; 但在氯化钠胁迫过程中, 甘露醇含量保持相对稳定, 认为甘露醇的累积是 *mtl-D* 表达的结果, 而不是对氯化钠胁迫的应答响应。

樊军锋等<sup>[38-39]</sup>将 *mtl-D/gut-D* (山梨醇-6-磷酸脱氢酶基因) 双价基因分别转入 84 K 杨和美洲黑杨 × 青杨 (*Populus deltoids × P. cathayana*), 发现转基因植株抗氯化钠能力与对照相比均有不同程度的提高。Tang 等<sup>[40]</sup>将 *mtl-D* 和 *gut-D* 同时导入火炬松 (*Pinus taeda*), 2 个基因成功表达并翻译成具有活性的功能酶。耐盐性分析表明, 转基因火炬松体内的甘露醇和山梨醇含量增加, 并最终获得了较高耐盐性的转基因植株。

#### 2.1.2 氨基酸及其衍生物合成过程中的关键酶基因

Gao 等<sup>[41]</sup>将 *cod-A* 基因 (编码胆碱氧化酶, 催化胆碱氧化为甜菜碱) 转入日本柿树 (*Diospyros kaki*), 并对转基因和对照植株的光系统 II 进行了研究, 发现由于 *cod-A* 的表达, 甜菜碱合成量增加并进而累积, 最终提高了转基因日本柿树的耐盐能力。东北林业大学的研究人员将 *bet-A* 基因 (编码胆碱脱氢酶, 催化胆碱生成甘氨酸甜菜碱) 和 *cod-A* 基因转入小黑杨 (*Populus × xiaohai*), 通过室内胁迫实验和大田造林对比测定, 初步选出了 3~4 个生长速度快、耐盐性强的优良株系。在刘桂丰等<sup>[42]</sup>研究的基础上, 白爽等<sup>[43]</sup>对 4 个转基因株系的生理指标进行了测定, 并结合形态指标, 综合筛选出 2 个耐盐性强、有希望用于盐碱地造林和推广的转 *bet-A* 基因小黑杨株系。

夏阳等<sup>[44]</sup>将山菠菜 (*Prunella asiatica*) 甜菜碱醛脱氢酶基因 (*BADH*) 转入四倍体刺槐, 建立转化体系, 最终获得了 15 个转基因株系, 其丛生芽生长

的氯化钠相对抗性提高了2‰~3‰。王亮等<sup>[45]</sup>将BADH转入欧美杨107号(*Populus alba* × *euramericana* ‘Neva 107’), 并成功整合到10棵受体植株的基因组中。通过耐盐筛选发现, 转基因植株在含不同浓度氯化钠生根培养基中的生长表现均好于对照, 且在相同盐浓度胁迫下, 转基因植株细胞膜完整性保持得更好。

## 2.2 转入Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>逆向转运蛋白基因

Wang等<sup>[46]</sup>采用水稻Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>逆向转运蛋白基因(*OsNHX1*)转化84 K杨, 建立叶外植体高频再生系统, 获得了大量卡那霉素抗性转化植株。耐盐性试验表明, 3个转基因株系在200 mmol/L氯化钠条件下正常生长, 与对照相比, 其叶片中的Na<sup>+</sup>含量显著增加, 渗透势明显降低。

在杨平等<sup>[47]</sup>构建拟南芥Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>逆向转运蛋白基因(*AtNHX1*)表达载体的基础上, 杨阳等<sup>[48]</sup>用该表达载体转化南林895杨(*Populus* × *euramericana* cv. Nanlin 895), 成功地将*AtNHX1*整合到杨树基因组中, 获得了转基因植株。同时, 徐文君等<sup>[49]</sup>将*AtNHX1*转入欧美杨107号, 获得了126株转基因植株。为深入探讨过量表达*AtNHX1*对林木耐盐性的影响及其内在的可能机制, 姜超强等<sup>[50]</sup>以欧美杨107号转*AtNHX1*品系为材料, 对盐胁迫下植株生长、光合生理、离子运输以及叶绿体超微结构进行了系统研究。结果表明, 与对照相比, 盐胁迫转基因植株维持了更高的生长量、光合色素含量、光合能力和叶片质膜透性, 保持了较完整的叶绿体超微结构。他们由此认为, 转入*AtNHX1*能促进叶片保持较好的光合状态, 从而能够显著提高欧美杨107号的耐盐能力。

曾幼玲等<sup>[51]</sup>将盐地碱蓬(*Suaeda heteroptera*) Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>反向运输体基因(*SsNHX*)转入中林美荷杨(*Populus* sp.), 初步建立了遗传转化体系, 获得了抗卡那霉素的再生植株及聚合酶链反应(PCR)阳性植株。陈彩霞等<sup>[52]</sup>将胡杨Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>逆向转运蛋白基因(*PeNhaD1*)转入派间杂种110杨(*Populus deltoides* × *P. maximowiczii* ‘Eridano’), 并获得了转*PeNhaD1*的110杨再生植株。

## 2.3 转入真核翻译起始因子基因

真核翻译起始因子(eIF)在蛋白质合成的起始阶段起着分子开关的作用, 可在翻译水平调节基因表达, 并受盐、重金属等诱导, 与逆境胁迫相关。

杨传平等<sup>[53]</sup>和李艳霞等<sup>[54]</sup>从碳酸氢钠胁迫后的紫杆桤柳中获得*eIF-5A*和*eIF-1A*, 分别克隆、构建到原核表达载体和烟草表达载体中, 发现两者对氯化钠胁迫的抗性明显增强。在此基础上, 李健等<sup>[55]</sup>以山新杨(*Populus davidiana* × *P. bolleana*)为受体进行了*eIF-1A*遗传转化, 将该基因整合到山新杨基因组中, 并对转基因植株的光合生理进行了系统研究, 首次证实*eIF-1A*的表达能够提高转基因山新杨抗盐胁迫的能力。

## 2.4 转入清除活性氧的酶基因

为深入探讨紫杆桤柳锰超氧化物歧化酶基因(*TaMnSOD*)在林木耐盐碱中的功能, Wang等<sup>[56]</sup>将其转入山新杨。研究发现, 与对照相比, 氯化钠胁迫后转*TaMnSOD*山新杨的超氧化物歧化酶活性增强、丙二醛含量和相对电导率显著下降, 而盐胁迫30天时, 转基因植株的相对生物量增量是对照的8~23倍, 首次证实转*TaMnSOD*能够增强山新杨的耐盐碱能力。

## 2.5 转入转录因子基因

杨春霞等<sup>[57]</sup>以南林895杨为受体, 转化*DREB1*(脱水应答元件, 与逆境胁迫相关)基因。经潮霉素筛选、PCR检测, 初步证明*DREB1*基因已整合到南林895杨基因组中, 发现转基因植株的耐盐碱和抗旱能力均有不同程度的提高。

乙烯反应因子(ERF)是植物特有的一类转录因子, 在调节植物生长、发育和逆境响应中具有重要作用, 其调控的基因表达是植物逆境应答反应的关键环节。Li等<sup>[58]</sup>将*JERFs*(茉莉酸-乙烯响应元件)基因转入银中杨(*Populus alba* × *P. berolinensis*), 获得转基因植株。温室试验表明, 随着盐胁迫浓度的增加, 与对照相比, 转基因植株的盐害症状较轻, 株高、地径和生物量的降幅较小。在辽宁盘锦的2个试验基点, 3年生转基因植株的高生长分别比对照植株高14.5%和33.6%, 且长势良好、叶片深绿、无盐害症状。综合室内和田间试验结果, 认为转*JERFs*基因提高了银中杨的耐盐性。

## 3 结论与展望

早在上世纪80年代, 全球盐碱地面积就以每年1万~1.5万km<sup>2</sup>的速度在增长。由于受全球气候变暖引起的海平面上升、干旱自然灾害发生更为频繁以及不合理的灌溉措施等诸多因素的影响, 如今盐渍化土地面积的增速已远超过上述数据, 给人们的

生产生活、经济发展以及生态环境造成严重威胁。通过基因工程手段来培育林木耐盐碱新品种为有效解决这一问题提供了新思路, 受到人们的广泛关注, 成为当前的研究热点之一。近 10 年来, 林木耐盐碱相关基因及其基因工程研究取得了较大进展。科研工作者先后从柽柳、海榄雌、胡杨等 10 多个树种中克隆到一批耐盐碱相关基因, 对这些基因进行了科学分类和功能定位, 并发现了大量未知功能的新基因。在此基础上, 将这些基因转入八里庄杨、84 K 杨、小黑杨等 10 多个受体中, 获得了一批耐盐碱能力得到不同程度提高的转基因株系, 为下一步深入研究提供了物质基础和技术支撑。

同时, 受生长周期长、杂合程度高、遗传背景复杂等林木自身的局限, 当前的研究还存在一些不足之处, 以下 4 个方面可以作为未来研究重点予以关注。

1) 充分利用耐盐碱基因资源, 拓展研究对象。在我国广袤的盐碱地上分布着大量的耐盐碱植物, 仅盐生植物就有 587 种, 耐盐碱基因资源非常丰富。但是, 当前耐盐碱相关基因研究所涉及的树种较为单一, 局限于少数盐生植物, 尤以柽柳、胡杨和红树林植物为主; 在基因工程方面, 转化受体更是集中在杨树这一类模式植物上, 鲜有涉及其他树种。因此, 今后有必要开展对经济、生态价值较高树种, 如白刺 (*Nitraria* spp.)、沙枣 (*Elaeagnus* spp.)、枸杞 (*Lycium* spp.) 等的研究, 丰富研究材料的多样性。

2) 挖掘耐盐碱高端调控基因, 提高遗传转化效率。在盐碱胁迫下, 林木中的一些基因, 特别是末端基因的表达水平发生了变化, 但仅靠改变这些末端基因是不够的, 开展大量的有关末端基因方面的研究是低效的, 很难培育出真正的耐盐碱新品种。同时, 末端基因常与植物的存活性有关, 改变其表达水平可能会引起发育缺陷, 削弱包括蛋白质运输和修饰在内的很多生物过程。而高端调控基因是环境因子变化的主要响应基因, 其变化 (或变异) 往往会引起包括细胞分裂、个体大小、抗逆性与适应性等方面的变化。因此, 若想有效地调控林木耐盐碱能力, 就必需找到其高端调控基因。只有当高端调控基因得到增强时, 生长和耐盐碱性才有可能同时得到提高。

3) 加强盐碱胁迫信号传导研究, 构建多层次基

因调控网络。目前, 在盐碱胁迫应答基因的功能及表达调控方面的研究占多数, 但对有关信号传递途径之间的联系以及整个信号传递网络系统的机理研究较少。一个典型的、控制复杂性状的基因网络是多层次、分等级的, 从上到下依次为高端调控基因、枢纽基因和末端基因。高端调控基因能将响应信号传递到下游的调节基因, 而末端基因则具体负责某一特定功能。因此, 今后应深入了解林木盐碱逆境分子遗传基础及其遗传调控网络系统, 加强盐碱胁迫信号传导途径相关基因的研究, 如脱落酸信号传导途径基因、磷脂酰肌醇信号传导途径基因、乙烯信号传导途径相关基因等。

4) 转化多目标基因, 培育出耐盐碱新品种。当前的林木耐盐碱基因工程以转单价基因为主, 这些基因的表达不同程度地提高了转基因植株的耐盐碱能力, 但离生产应用还有很大差距。迄今, 国内官方认定的唯一一个得到推广应用的林木耐盐碱转基因新品种为“中天杨”。林木耐盐碱性是由多基因控制的复杂的数量性状, 转双价基因植物的耐盐碱能力明显高于转单价基因植株。因此, 若想获得能够应用于生产的耐盐碱新品种, 可能需要多个耐盐碱基因的共同转化, 今后应加强这方面的研究。

随着对植物耐盐碱机理研究的不断深入、功能基因组学的开展, 以及 EST、cDNA 微阵列、基于转座子标签和三螺旋 DNA (T-DNA) 标签的反求遗传学、转录组测序技术 (RNA-Seq) 等新技术的运用, 林木耐盐碱基因工程研究显示出更为广阔的前景, 必将培育出大量能够用于生产推广的转基因林木新品种。

## 参 考 文 献

- [1] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 651-681.
- [2] Ci L J, Yang X H. Desertification and its control in China [M]. Beijing: Higher Education Press, 2010: 263.
- [3] 曾幼玲, 辛婷, 蔡忠贞, 等. 盐生植物盐爪爪甜菜碱醛脱氢酶基因的克隆及在盐胁迫下的 *BADH* 基因的表达 [J]. 云南植物研究, 2007, 29 (1): 79-84.
- [4] Hibino T, Meng Y L, Kawamitsu Y, et al. Molecular cloning and functional characterization of two kinds of betaine-aldehyde dehydrogenase in betaine-accumulating mangrove *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh [J]. Plant Molecular Biology, 2001, 45 (3): 353-363.
- [5] 周涵韬, 李芳, 张赛群, 等. 红树植物白骨壤甜菜碱醛脱氢酶基因的克隆与功能研究 [J]. 厦门大学学报: 自然科学版,

- 2008, 42 (增刊2): 11-15.
- [6] 于丽丽, 高彩球, 王玉成, 等. 柽柳甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因的克隆与表达分析 [J]. 东北林业大学学报, 2010, 38 (7): 105-108.
- [7] Hamada A, Shono M, Xia T, et al. Isolation and characterization of a  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter gene from the halophyte *Atriplex gmelini* [J]. Plant Molecular Biology, 2001, 46 (1): 35-42.
- [8] Ottow E A, Polle A, Brosche M, et al. Molecular characterization of *PeNhaD1*: the first member of the NhaD  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter family of plant origin [J]. Plant Molecular Biology, 2005, 58 (1): 75-88.
- [9] Ron P, David P, Gozal B H, et al. A heat treatment induced the expression of a  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiport gene (*cNHX1*) in citrus fruit [J]. Plant Science, 2002, 162 (6): 957-963.
- [10] 张德强, 赵树堂, 卢孟柱, 等. 杨树  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  反向运输蛋白基因 (*PtNHX1*、*PtNHX6*) 的克隆和检测 [J]. 林业科学, 2006, 42 (11): 29-36.
- [11] Yu X N, Liu X L, Dong X C, et al. Isolation and bioinformatical analysis of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter *RpNHX1* gene from black locust [J]. Molecular Plant Breeding, 2007, 5 (6): 775-784.
- [12] 曾幼玲, 张海波, 兰海燕, 等. 盐桦 *BhNHX* 的克隆及其与 *CaM* 在胁迫下的协同表达 [J]. 西北植物学报, 2008, 28 (12): 2408-2415.
- [13] Zhang Q X, Xu X F, Wang Y, et al. Isolation and preliminary function analysis of a  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter gene from *Malus zumi* [J]. African Journal of Biotechnology, 2009, 8 (19): 4774-4781.
- [14] 刘琳, 张富春, 曾幼玲. 盐爪爪  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白和焦磷酸酶的亚细胞定位 [J]. 西北植物学报, 2009, 29 (3): 463-468.
- [15] 郭庆水, 徐立新, 袁潜华, 等. 木榄  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白基因的克隆 [J]. 热带植物学报, 2010, 1 (2): 105-109.
- [16] Gao C Q, Wang Y C, Jiang B, et al. A novel vacuolar membrane  $\text{H}^+$ -ATPase c subunit gene (*ThVHAc1*) from *Tamarix hispida* confers tolerance to several abiotic stresses in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38 (2): 957-963.
- [17] 王玉成, 褚延广, 姜静, 等. 紫杆柽柳与其他物种脂质转运蛋白基因编码蛋白的同源性比较 [J]. 植物生理学通讯, 2005, 41 (1): 14-18.
- [18] Wang C, Yang C, Gao C, et al. Cloning and expression analysis of 14 lipid transfer protein genes from *Tamarix hispida* responding to different abiotic stress [J]. Tree Physiology, 2009, 29 (12): 1607-1619.
- [19] Waditee R, Hibino T, Tanaka Y, et al. Functional characterization of betaine/proline transporters in betaine-accumulating mangrove [J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277 (21): 18373-18382.
- [20] 姜静, 于影, 赵鑫, 等. 转 *LEA* 基因烟草的耐盐性分析 [J]. 生物技术, 2006, 16 (1): 16-20.
- [21] 常万霞, 王玉成, 姜静, 等. 柽柳金属硫蛋白基因的克隆及分析 [J]. 东北林业大学学报, 2006, 34 (1): 3-6.
- [22] Laplace L, Gherbi H, Duhoux E, et al. Symbiotic and non-symbiotic expression of *cgMT1*, a metallothionein-like gene from the actinorhizal tree *Casuarina glauca* [J]. Plant Molecular Biology, 2002, 49 (1): 81-92.
- [23] 周涵韬, 林庆同, 潘文, 等. 红树植物耐盐基因转化烟草及耐盐品系的培育 [J]. 科学通报, 2004, 49 (2): 167-172.
- [24] 高彩球, 刘桂丰, 王玉成, 等. 柽柳 (*Tamarix androssowii*) *Taditir* 基因的克隆及分析 [J]. 植物研究, 2010, 30 (1): 81-86.
- [25] 姜波, 高彩球, 王玉成, 等. 刚毛柽柳富含甘氨酸 RNA 结合蛋白 *ThGRP1* 基因克隆与表达分析 [J]. 林业科学研究, 2011, 24 (2): 256-262.
- [26] Wang Y C, Gao C Q, Liang Y N, et al. A novel *bZIP* gene from *Tamarix hispida* mediates physiological responses to salt stress in tobacco plants [J]. Journal of Plant Physiology, 2010, 167 (3): 222-230.
- [27] Nanjo T, Futamura N, Nishiguchi M, et al. Characterization of full-length enriched expressed sequence tags of stress-treated poplar leaves [J]. Plant Cell Physiology, 2004, 45 (12): 1738-1748.
- [28] Yamada A, Sekiguchi M, Mimura T, et al. The role of plant CCT $\alpha$  in salt-and osmotic-stress tolerance [J]. Plant and Cell Physiology, 2002, 43 (9): 1043-1048.
- [29] 段瑞军, 郭建春, 胡新文, 等. 海莲耐盐基因 *AOC* 克隆及转录融合表达载体的构建 [J]. 热带作物学报, 2006, 27 (3): 56-60.
- [30] Liu H H, Liu J, Fan S L, et al. Molecular cloning and characterization of a salinity stress-induced gene encoding DEAD-box helicase from the halophyte *Apocynum venetum* [J]. Journal of Experimental Botany, 2008, 59 (3): 633-644.
- [31] 张国栋, 王玉成, 夏德安. 柽柳 *MnSOD* 基因 [J]. 分子植物育种, 2006, 4 (3): 449-450.
- [32] 王超, 杨传平, 王玉成. 白桦抗坏血酸过氧化物酶 (*APX*) 基因的克隆及表达分析 [J]. 东北林业大学学报, 2009, 37 (3): 79-81.
- [33] Gao C Q, Wang Y C, Liu G F, et al. Cloning of ten peroxidase (*POD*) genes from *Tamarix hispida* and characterization of their responses to abiotic stress [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2010, 28 (1): 77-89.
- [34] 刘凤华, 孙仲序, 崔德才, 等. 细菌 *mtl-D* 基因的克隆及在转基因八里庄杨中的表达 [J]. 遗传学报, 2000, 27 (5): 428-433.
- [35] 孙仲序, 杨红花, 崔德才, 等. 转基因杨树的抗盐性分析 [J]. 生物工程学报, 2002, 18 (4): 481-485.
- [36] 尹建道, 孙仲序, 王玉祥, 等. 转抗盐碱基因八里庄杨大田释放试验 [J]. 东北林业大学学报, 2004, 32 (3): 23-25.
- [37] Hu L, Lu H, Liu Q L, et al. Overexpression of *mtlD* gene in transgenic *Populus tomentosa* improves salt tolerance through accumulation of mannitol [J]. Tree Physiology, 2005, 25 (10): 1273-1281.

- [38] 樊军锋, 韩一凡, 李玲, 等. 84K 杨树耐盐基因转化研究 [J]. 西北林学院学报, 2002, 17 (4): 33-37.
- [39] 樊军锋, 韩一凡, 李玲, 等. *mtlD/gutD* 双价基因转化美洲黑杨 × 青杨的研究 [J]. 林业科学, 2002, 38 (6): 30-35.
- [40] Tang W, Peng X X, Newton R J. Enhanced tolerance to salt stress in transgenic loblolly pine simultaneously expressing two genes encoding mannitol-1-phosphate dehydrogenase and glucitol-6-phosphate dehydrogenase [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2005, 43 (2): 139-146.
- [41] Gao M, Sakamoto A, Miura K, et al. Transformation of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) with a bacterial gene for choline oxidase [J]. *Molecular Breeding*, 2000, 6 (5): 501-510.
- [42] 刘桂丰, 程贵兰, 姜静, 等. 以胆碱脱氢酶基因对小黑杨花粉的遗传转化 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2006, 32 (2): 163-168.
- [43] 白爽, 宋启平, 刘桂丰, 等. 转 *betA* 基因的小黑杨花粉植株耐盐性分析 [J]. 分子植物育种, 2006, 4 (1): 41-44.
- [44] 夏阳, 梁慧敏, 陈受宜, 等. 四倍体刺槐转甜菜碱醛脱氢酶基因的研究 [J]. 中国农业科学, 2004, 37 (8): 1208-1211.
- [45] 王亮, 苏乔, 安利佳. 甜菜碱醛脱氢酶基因转化速生杨 107 的研究 [J]. 安徽农业科学, 2007, 25 (4): 1000-1001.
- [46] Wang S Y, Chen Q J, Wang W L, et al. Salt tolerance conferred by over-expression of *OsNHX1* gene in Poplar 84K [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2005, 50 (3): 224-228.
- [47] 杨平, 蔡小宁, 钟小仙, 等. 拟南芥 *AtNHX1* 基因克隆和 *cre* (*lox*) 植物表达载体构建 [J]. 江苏农业科学, 2007 (6): 348-350.
- [48] 杨阳, 张艳丽, 王情, 等. 应用 *cre/lox* 植物表达载体的 *AtNHX1* 基因转化杨树的研究 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37 (19): 8874-8875, 8921.
- [49] 徐文君, 刘兆普, 隆小华, 等. 农杆菌介导转 *AtNHX1* 基因杨树的获得 [J]. 植物生理学通讯, 2007, 43 (3): 413-416.
- [50] 姜超强, 李杰, 刘兆普, 等. 盐胁迫对转 *AtNHX1* 基因杨树光合特性与叶绿体超微结构的影响 [J]. 西北植物学报, 2010, 30 (2): 301-308.
- [51] 曾幼玲, 易丽娟, 张富春. 农杆菌介导 *SsNHX* 基因转化中林美荷杨的研究 [J]. 生物技术, 2006, 16 (1): 7-10.
- [52] 陈彩霞, 司瑞新, 沈昕, 等. 转  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白 (*PeNhaD1*) 基因派间杂种 110 杨的获得 [J]. 西北林学院学报, 2009, 24 (1): 61-65.
- [53] 杨传平, 姜静, 田梗, 等. 柽柳翻译起始因子 (*eIF-5A*) 基因的克隆及原核表达 [J]. 植物生理学通讯, 2005, 41 (4): 433-438.
- [54] 李艳霞, 姜静, 于影, 等. 转柽柳 *eIF1A* 基因烟草的耐盐性分析 [J]. 生物技术通讯, 2006, 17 (3): 328-331.
- [55] 李健, 王有菊, 姜静, 等. 山新杨转 *eIF1A* 基因及耐盐性分析 [J]. 东北林业大学学报, 2010, 38 (1): 12-14.
- [56] Wang Y C, Qu G Z, Li H Y, et al. Enhanced salt tolerance of transgenic poplar plants expressing a manganese superoxide dismutase from *Tamarix androssowii* [J]. *Molecular Biology Reports*, 2010, 37 (2): 1119-1124.
- [57] 杨春霞, 李火根, 程强, 等. 南林 895 杨抗旱耐盐基因 *DREB1* 的转化 [J]. 林业科学, 2009, 45 (2): 17-21.
- [58] Li Y L, Su X H, Zhang B Y, et al. Expression of jasmonic ethylene responsive factor gene in transgenic poplar tree leads to increased salt tolerance [J]. *Tree Physiology*, 2009, 29 (2): 273-279.