

DOI:10.12171/j.1000-1522.20240219

杨树 *PtoXTH34* 基因过表达提高烟草抗旱性

郝玄瑞 姜妍 王宇倩 盖颖

(林木遗传育种全国重点实验室, 树木花卉育种生物工程国家林业和草原局重点实验室, 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083)

摘要:【目的】探究杨树木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶基因 *PtoXTH34* 在植物响应干旱胁迫过程中发挥的功能。【方法】将杨树 *PtoXTH34* 基因在烟草中异源表达, 并进行干旱胁迫, 分析过表达烟草表型以及光合作用、抗逆等指标的变化。【结果】(1)过表达 *PtoXTH34* 基因能够显著降低离体烟草叶片的失水率。(2)干旱处理 14 d 后, 对照植株出现明显的枯萎现象, 而过表达 *PtoXTH34* 烟草叶片生长良好, 仍为绿色, 且过表达 *PtoXTH34* 植株的株高和茎直径均显著高于对照植株。(3)干旱处理 14 d 后, 对照植株的净光合速率、气孔导度和蒸腾速率均趋近于 0, 而过表达 *PtoXTH34* 烟草的各项光合指标均极其显著高于对照植株, 且高于干旱处理前。(4)干旱处理 14 d 后, 对照植株体内的 H_2O_2 和 MDA 含量均出现大幅上升, 且显著高于过表达 *PtoXTH34* 植株, 对照植株出现活性氧积累现象, 且叶片损伤程度较大, 而过表达 *PtoXTH34* 植株并未出现此现象。【结论】过表达 *PtoXTH34* 烟草通过降低叶片失水率, 提升光合作用, 清除活性氧积累, 进而提高植株的抗旱性。本研究为揭示杨树 *PtoXTH34* 的基因功能奠定了基础, 丰富了林木分子育种的基因资源。

关键词: 杨树; 基因表达; 木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶基因; 抗旱性; 光合作用; 烟草

中图分类号: S792.11; Q945 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2025)01-0063-09

引文格式: 郝玄瑞, 姜妍, 王宇倩, 等. 杨树 *PtoXTH34* 基因过表达提高烟草抗旱性 [J]. 北京林业大学学报, 2025, 47(1): 63-71. Hao Xuanrui, Jiang Yan, Wang Yuqian, et al. Overexpression of poplar *PtoXTH34* gene to enhance drought resistance of tobacco [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2025, 47(1): 63-71.

Overexpression of poplar *PtoXTH34* gene to enhance drought resistance of tobacco

Hao Xuanrui Jiang Yan Wang Yuqian Gai Ying

(School of Biological Sciences and Technology, State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding,
Tree and Ornamental Plant Breeding and Biotechnology Laboratory of National Forestry and
Grassland Administration, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: [Objective] This study explored the effects of xyloglucan endoglycosidase/hydrolase gene *PtoXTH34* in response to drought stress in poplar. [Method] The *PtoXTH34* of poplar was heterologously expressed in tobacco to analyze the changes in phenotype and parameters related to photosynthesis and stress resistance of transgenic tobacco under drought stress. [Result] (1) Overexpression of *PtoXTH34* gene can significantly reduce the rate of water loss in isolated tobacco leaves. (2) After 14 d of drought treatment, the control tobacco showed obvious wilting, while the leaves of overexpressing *PtoXTH34* plants grew well and remained green. The height and stem diameter of plants overexpressing *PtoXTH34* were significantly higher than those of control. (3) After 14 d of drought treatment, the net photosynthetic rate, stomatal conductivity, and transpiration rate of control were close to 0, while the photosynthetic indexes of overexpressing *PtoXTH34* tobacco were significantly higher than those of control, and higher than before drought treatment. (4) After 14 d of drought treatment, both H_2O_2 and MDA contents in control increased significantly and were significantly higher than those in overexpressing *PtoXTH34* plants, and the control plants showed

收稿日期: 2024-07-05 修回日期: 2024-08-28

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFD2200100)。

第一作者: 郝玄瑞。主要研究方向: 树木分子生物学。Email: xrhao499@163.com 地址: 100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学生物科学与技术学院。

责任作者: 盖颖, 博士, 教授。主要研究方向: 树木分子生物学。Email: gaiying@bjfu.edu.cn 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

accumulation of reactive oxygen species and significant leaf damage, while the overexpressed *PtoXTH34* plants did not exhibit this phenomenon. [Conclusion] Overexpression of *PtoXTH34* in tobacco enhances drought resistance of plants by reducing water-loss rate of leaves, improving photosynthesis, and clearing accumulation of reactive oxygen species. This study lays the foundation for gene function of *PtoXTH34* and enriches genetic resources for molecular breeding of trees.

Key words: poplar; gene expression; *PtoXTH34*; drought resistance; photosynthesis; tobacco

木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶(xyloglucan endoglycosidase/hydrolase, XTH)是植物细胞重构过程中的关键酶,广泛存在于植物的各种组织和细胞中。它通过催化木葡聚糖分子的断裂与再连接,从而修饰植物细胞壁的纤维素-木葡聚糖复合结构,实现细胞壁的重构^[1]。XTH属于糖苷水解酶16家族(GH16),含有1个特征基序DEIDFEFLG或DEIDIEFLG^[2],包含介导催化活性的氨基酸残基。根据蛋白质结构特征,XTH被细分为I、II和III类,III类XTHs又划分为IIIA和IIIB两小类^[3]。其中I、II、IIIB类XTH具有显著的木葡聚糖内转糖苷酶(xyloglucan endoglycosidase, XET)活性,能够内切木葡聚糖分子,产生的还原性末端能够连接在另一个木葡聚糖链上;IIIA类XTH可专一性水解木葡聚糖 β -1,4糖苷键,表现为木葡聚糖内水解酶(xyloglucan hydrolase, XEH)活性^[4]。

作为重要的细胞壁修饰酶,XTH在改变细胞壁形态、参与细胞壁合成中发挥重要作用。陈燕^[5]研究发现,过表达龙眼(*Dimocarpus longan*)*DlXTH22*基因可以使其毛状根细胞壁增厚,并促进XET活性,推测其可能通过调控木葡聚糖的合成来促进半纤维素的积累,从而加厚细胞壁。Han等^[6]的研究结果表明,过表达柿子(*Diospyros kaki*)*DkXTH1*的番茄(*Solanum lycopersicum*)果实在采后贮藏过程中出现转色慢、果实硬度高的现象,且其细胞壁和胞间部位密度增大,有利于保持细胞壁的完整。Takeda等^[7]证明,XET能够整合木葡聚糖,进而抑制豌豆(*Pisum sativum*)茎段细胞壁的延长,而添加寡聚糖显著促进了茎的延长。此外,研究表明,XTH的表达能增强植物对非生物胁迫的抗性。王迪^[8]研究发现,在高盐胁迫下,过表达苹果(*Malus domestica*)*MdXTH15*的转基因拟南芥可以减少愈伤组织褐化,并增强清除ROS的能力。马怀龙^[9]指出,过表达甜菜(*Beta vulgaris*)*BvXTH1*基因能够提升拟南芥中渗透平衡基因的活性,从而提高抗逆性。Cho等^[10]研究发现:辣椒(*Capsicum annuum*)*pCaXTH1*、*pCaXTH2*、*pCaXTH3*能够响应干旱、高盐和低温等多种非生物胁迫;过表达*CaXTH3*能够显著增加转基因拟南芥对水分缺失的耐受性和对高盐胁迫的抗性,同时伴

随着叶肉细胞数目增多和叶形的变化。

杨树(*Populus*)是落叶大乔木,属杨柳科(Salicaceae)杨属,是世界上分布最广,适应性最强的树种之一。杨树生长快,种类繁多,主要分布在北半球温带和温寒带地区,是我国北方重要的绿化树种,也是速生用材林,有较强的抗旱能力。然而近年来,随着极端气候增多、水资源短缺以及生态环境被破坏,干旱、半干旱地区面积不断扩大,全球有1/3以上的地区存在干旱问题。干旱会限制植物生长发育,严重影响植物品质。因此,对杨树抗旱基因的筛选与鉴定十分重要。对于杨树XTH家族,Jiang等^[11]对其进行了序列比对和系统发育分析,认为*PtoXTH34*属于I/II类,且在系统发育树上与杂交杨(*Populus tremula* × *tremuloides*)*PttXET16A*和胡杨(*Populus euphratica*)*PeXTH*处于同一分支。杂交杨*PttXET16A*^[12]和胡杨*PeXTH*^[13]均具有XET活性,杂交杨*PttXET16A*的晶体结构也被成功解析。在烟草(*Nicotiana tabacum*)中过表达胡杨*PeXTH*,转基因株系在盐胁迫下能够引发叶片肉质化^[14];此外,在Cd²⁺胁迫下,转基因株系通过增强根系木葡聚糖降解活性来降低根细胞壁的木葡聚糖含量,进而抵御盐和重金属胁迫^[15]。在酵母中异源表达*PtoXTH34*,酵母细胞内总糖含量增加,进而增强酵母转化子的渗透耐受性,表明*PtoXTH34*具有XET活性^[11]。Cheng等^[16]分析了杨树*PtrXTHs*在盐胁迫下不同组织中的表达模式,发现根茎中*PtrXTHs*的表达量高于叶片,说明*PtrXTHs*可能在根茎发育中发挥重要作用。然而,杨树*PtoXTH34*基因在植物应对干旱胁迫中的具体作用尚不明确。本研究拟通过在烟草中异源表达*PtoXTH34*基因,系统分析其过表达植株在干旱胁迫下的表型变化及光合作用、抗逆性等生理指标,旨在解析*PtoXTH34*基因在植物生长发育和抵御干旱胁迫中的功能作用。研究结果将为杨树的抗逆性研究提供基因资源,也为杨树的遗传改良提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料为烟草无菌组培苗,培养于北京林

业大学科研楼 208 组培室, 培养温度为 25 °C, 光照周期交替为 16 h 光/8 h 暗。植物表达载体 pBI121-*GFP*、pBI121-*GFP-PtoXTH34* 均为本实验室保存, *PtoXTH34* 基因克隆于毛白杨(*Populus tomentosa*)^[11]; 农杆菌感受态细胞 GV3101 购自北京艾德莱生物有限公司。

改良 CTAB 植物基因组 DNA 快速提取试剂盒、EASYspin Plus 多糖多酚/复杂植物 RNA 快速提取试剂盒购于北京艾德莱生物科技有限公司; 总超氧化物歧化酶(T-SOD)测试盒(羟胺法)、过氧化氢测定试剂盒(比色法)、丙二醛(MDA)测定试剂盒(TBA 法)购自南京建成生物工程研究所; 过氧化物酶(POD)活性检测试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司。引物合成由生工生物工程股份有限公司完成。

1.2 转基因烟草的获得、筛选与鉴定

利用含有重组质粒 pBI121-*GFP-PtoXTH34* 和空质粒 pBI121-*GFP* 的农杆菌侵染野生型烟草 NT78, 将叶片放入 MS 筛选培养基中进行培养, 待愈伤组织分化成芽后, 转入 1/2 MS 培养基中进行生根培养, 将生根后的植株提取 DNA 进行分子检测。以测序正确的 pBI121-*GFP-PtoXTH34* 质粒为阳性对照, 双蒸水为阴性对照, 分别提取待鉴定转基因烟草和空质粒烟草的叶片基因组 DNA, 进行 PCR 检测, 分别扩增 *PtoXTH34* 和 *GFP* 基因全长, 进行琼脂糖凝胶电泳检测。

提取叶片的总 RNA, 逆转录为 cDNA 后, 以烟草 *EF-1 α* 为内参基因, 利用实时荧光定量法对转 *PtoXTH34* 植株的表达量进行检测, 使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算相对表达量。选取表达量较高的株系进行扩繁培养, 将植物移入土壤中用于后续实验。筛选和鉴定的引物序列见表 1。

1.3 转基因烟草抗旱性分析

待过表达 *PtoXTH34* 烟草和转 pBI121-*GFP* 质粒的烟草(以下简称对照烟草)在营养土中生长良好时, 选择株高约 10~15 cm, 长势一致的过表达烟草和对照烟草, 设置非干旱处理(每 3 天正常浇水)和干旱处理(全程不浇水)2 个处理组, 每组内分别测定 CK、OE-1、OE-2 3 个株系各 3 株, 每个测定分别

重复 3 次。

1.3.1 离体叶片失水率

对正常处理中的烟草叶片进行叶片失水率的测量, 分别选择过表达 *PtoXTH34* 烟草和对照烟草的第 2 片完全展开叶, 完整剪下, 叶片离体后立即测定质量, 在 0.5、1、2、3、4 和 5 h 时分别测定质量, 并统计记录, 计算叶片失水率(L)。

$$L = (m_0 - m_x) / m_0$$

式中: m_0 为离体前叶片的质量, mg; m_x 为离体叶片失水后的质量, mg。

1.3.2 植株表型

拍照记录正常浇水组和干旱处理组的过表达烟草和对照烟草植株表型, 进行形态观察。利用直尺和卷尺测定过表达烟草和对照烟草的株高、茎直径(从顶芽向下数第 3~4 节之间)、3~6 茎节长(从顶芽向下数), 正常浇水组和干旱处理组分别在处理前和处理后 14 d 各测定 1 次。

1.3.3 植株光合指标的测定

对干旱处理组的过表达烟草和对照烟草利用 LI-6400XT 便携式光合仪测定烟草叶片的净光合速率、气孔导度、胞间 CO_2 浓度和蒸腾速率, 选择叶位接近, 叶色一致的叶片进行测量^[17]。测量时, 保持环境温度为 25 °C 左右, 设置 CO_2 浓度为 500 $\mu mol/mol$, 光照强度为 1 000 $\mu mol/(m^2 \cdot s)$, 流速为 500 $\mu mol/s$ 。干旱处理前和干旱处理 14 d 后各测定 1 次。

1.3.4 植株叶绿素含量的测定

对干旱处理组的过表达烟草和对照烟草植株利用 SPAD-502 叶绿素仪测量叶绿素含量, 选择烟草的第 3 片完全展开叶, 并测量叶片同一点处(避开叶脉)的叶绿素含量, 重复测定 3 次。干旱处理前和干旱处理 14 d 后各测定一次。

1.3.5 植株抗逆性生理指标的测定

处理 14 d 后, 将正常浇水组和干旱处理后的过表达烟草和对照烟草的顶部叶片剪成小块, 在分析天平上测定质量, 准确记录叶片质量(每片 50~100 mg), 将其放入离心管中备用。利用总超氧化物歧化酶测试盒(羟胺法)、过氧化物酶活性检测试剂盒、过氧化氢测定试剂盒(比色法)、丙二醛测

表 1 本研究所用引物及序列

Tab. 1 Primers and sequences used in this study

基因名称	基因ID	正向引物(5'—3')	反向引物(5'—3')
<i>PtoXTH34</i>	KY653707	AAACATGGCTGCTGCTTATC	GAGCTTGCAGGGCTTCTCTC
<i>GFP</i>	LOC107769044	GTGAGCAAGGGCGAGGAG	CCAGCAGGACCATGTGAT
<i>PtoXTH34-RT</i>	KY653707	TCCTCGTGGATGATGTGCC	CTGTCTTCTCGAGTCCACCC
<i>EF-1α</i>	LOC107788982	TGAGATGCACCACGAAGCTC	CCAACATTGTCACCAGGAAGTG

定试剂盒(TBA法)分别测定烟草的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢(H_2O_2)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)等各项抗逆性生理指标。

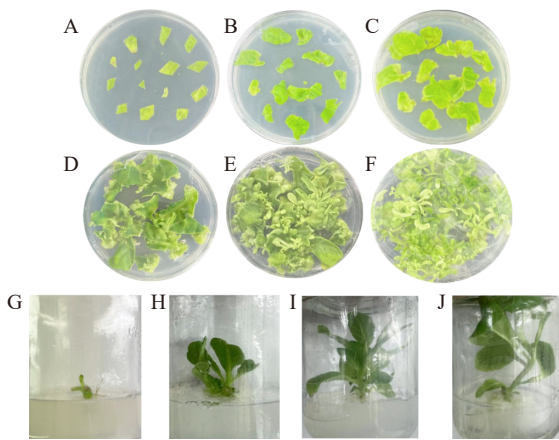
1.3.6 数据处理与分析

利用 Excel、GraphPad Prism8.0.2 等软件对实验数据进行统计和绘图。利用 GraphPad Prism8.0.2 进行单因素方差分析,显著性水平设定为 $p < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 转基因烟草苗的获得

利用带有重组表达载体 pBI121-*GFP-PtoXTH34* 和空质粒 pBI121-*GFP* 的农杆菌侵染野生型烟草后,叶片转移至筛选培养基(图 1A); 筛选培养 1 周后,叶片在培养基中逐渐膨大(图 1B~C); 筛选培养 2 周后,叶片边缘逐渐开始出现团状物质(图 1D); 3~4 周后,愈伤组织开始分化出芽(图 1E~F); 将分化出的小芽剪下,放入生根培养基中继续培养(图 1G); 小芽逐渐长大,开始生根,3~4 周后,长成小苗(图 1H~J),选择顶部叶片进行鉴定,并选取顶部 2~3 茎节进行继代培养。



A~F. 愈伤组织分化出芽; G~J. 转基因烟草生根培养。

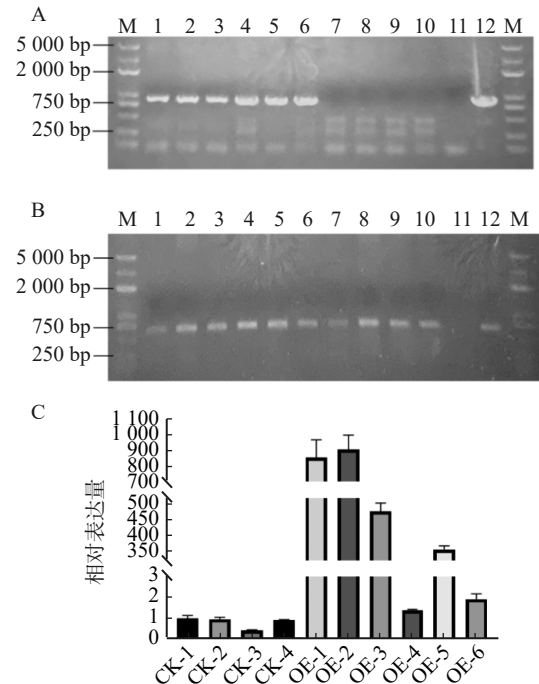
图 1 *PtoXTH34* 转基因烟草的获得过程

Fig. 1 Acquisition process of *PtoXTH34* transgenic tobacco

2.2 转基因烟草苗的筛选和鉴定

过表达 *PtoXTH34* 烟草中均分别含有 *PtoXTH34* 目的基因片段和 *GFP* 标签; 而转空质粒 pBI121-*GFP* 的对照烟草未检测到 *PtoXTH34* 目的基因片段,但检测到 *GFP* 标签(图 2A~B)。目的片段的条带大小均与阳性对照孔的条带大小吻合,且阴性对照泳道无条带,表明已成功获得过表达 *PtoXTH34* 烟草和对照烟草。

6 株转基因烟草的 qRT-PCR 检测结果显示,与对照组相比,所有转基因株系 *PtoXTH34* 基因的表达量均提高(图 2C)。选择相对表达量较高的 2 个株



A. *PtoXTH34* 基因结果; B. *GFP* 基因结果; C. *PtoXTH34* 基因表达量结果。1~6. *PtoXTH34* 转基因株系组; 7~10. 对照株系组; 11. 阴性对照, 12. 阳性对照。CK-1~CK-4 为对照组, OE-1~OE-6 为过表达组。

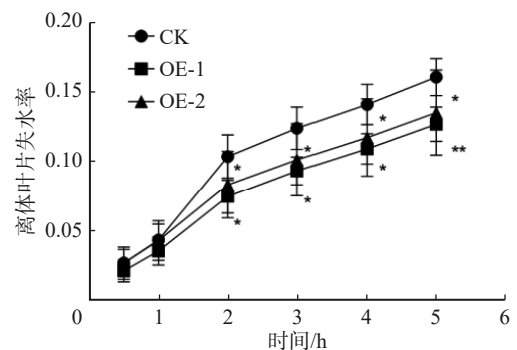
图 2 转基因烟草的筛选与鉴定

Fig. 2 Screening and identification of transgenic tobacco

系 OE-1 和 OE-2 进行后续实验。

2.3 叶片失水率分析

对对照植株和过表达 *PtoXTH34* 植株的叶片离体失水率结果表明: 在离体 0~1 h, 过表达 *PtoXTH34* 植株的失水率略低于对照植株, 但没有显著差异; 离体 2 h 之后, 过表达 *PtoXTH34* 植株的失水率显著低于对照植株(图 3)。这表明过表达 *PtoXTH34* 基因显著降低了离体烟草叶片的失水率, 可能增加了烟草的抗旱潜力。



*表示在 0.05 水平上存在显著差异; **表示在 0.01 水平上存在极显著差异。

图 3 离体叶片失水率结果

Fig. 3 Results of leaf water loss rate in vitro

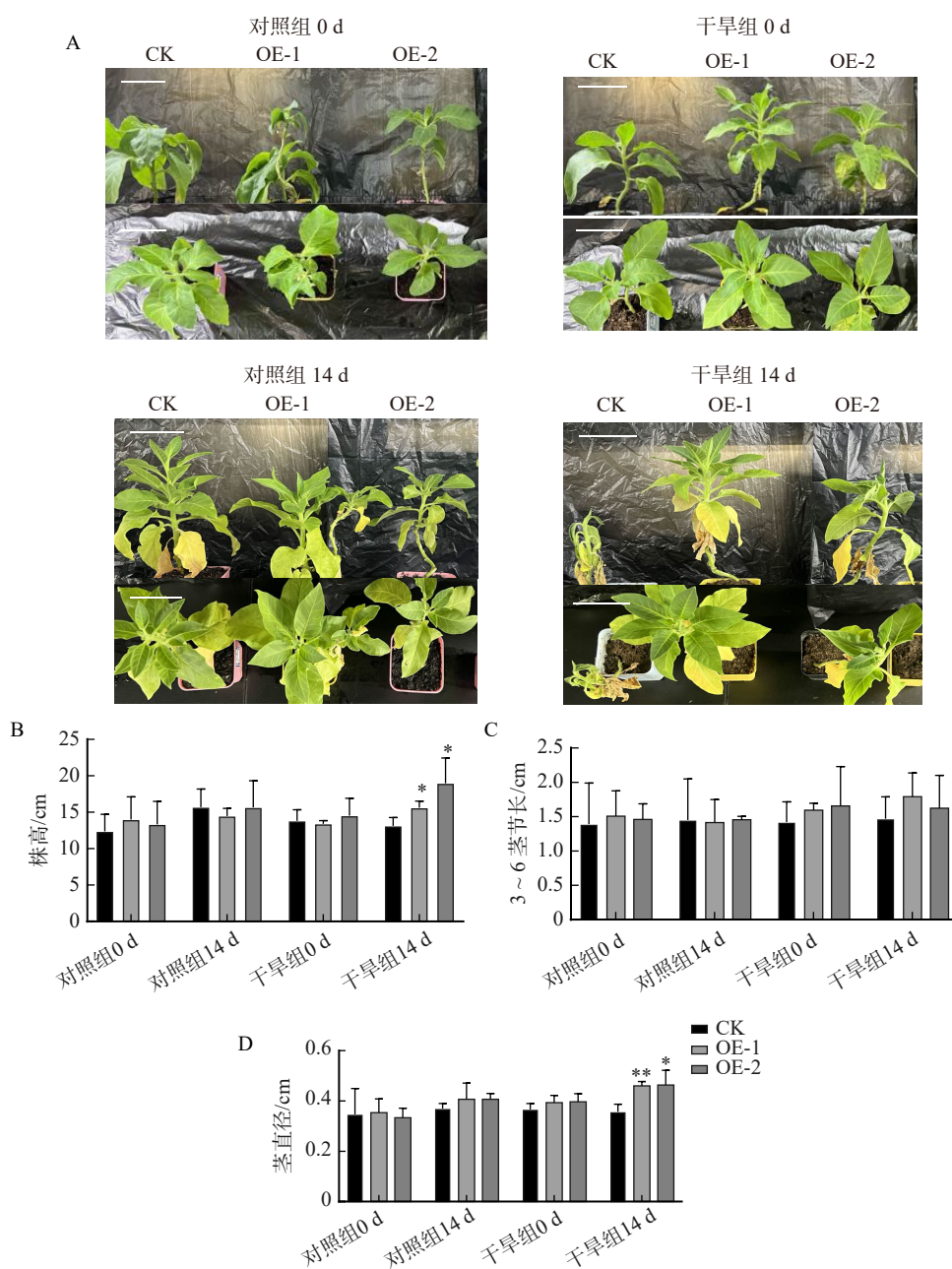
2.4 表型分析

正常浇水组的植株在 14 d 后正常生长, 植株叶片数量增多、生长状态良好。干旱处理组在干旱处

理前, 对照植株和过表达 *PtoXTH34* 植株表型无显著差异。干旱处理 14 d 后, 对照植株明显出现枯萎现象, 表现为叶片萎蔫, 发黄, 易掉落; 而过表达 *PtoXTH34* 植株并未出现上述现象, 叶片生长良好, 仍为绿色, 且没有枯萎迹象(图 4A)。对 3 个株系的植物分别进行表型测量, 结果表明: 在正常浇水组中, 过表达 *PtoXTH34* 植株的株高、3~6 茎节长、茎直径在处理前后均与对照植株差异不显著; 而在干旱处理组中, 干旱处理 14 d 后, 过表达植株的株高和茎直径均显著高于对照植株, 而 3~6 茎节在对照植株和过表达 *PtoXTH34* 植株中无显著差异(图 4B~D)。

2.5 光合指标和叶绿素含量分析

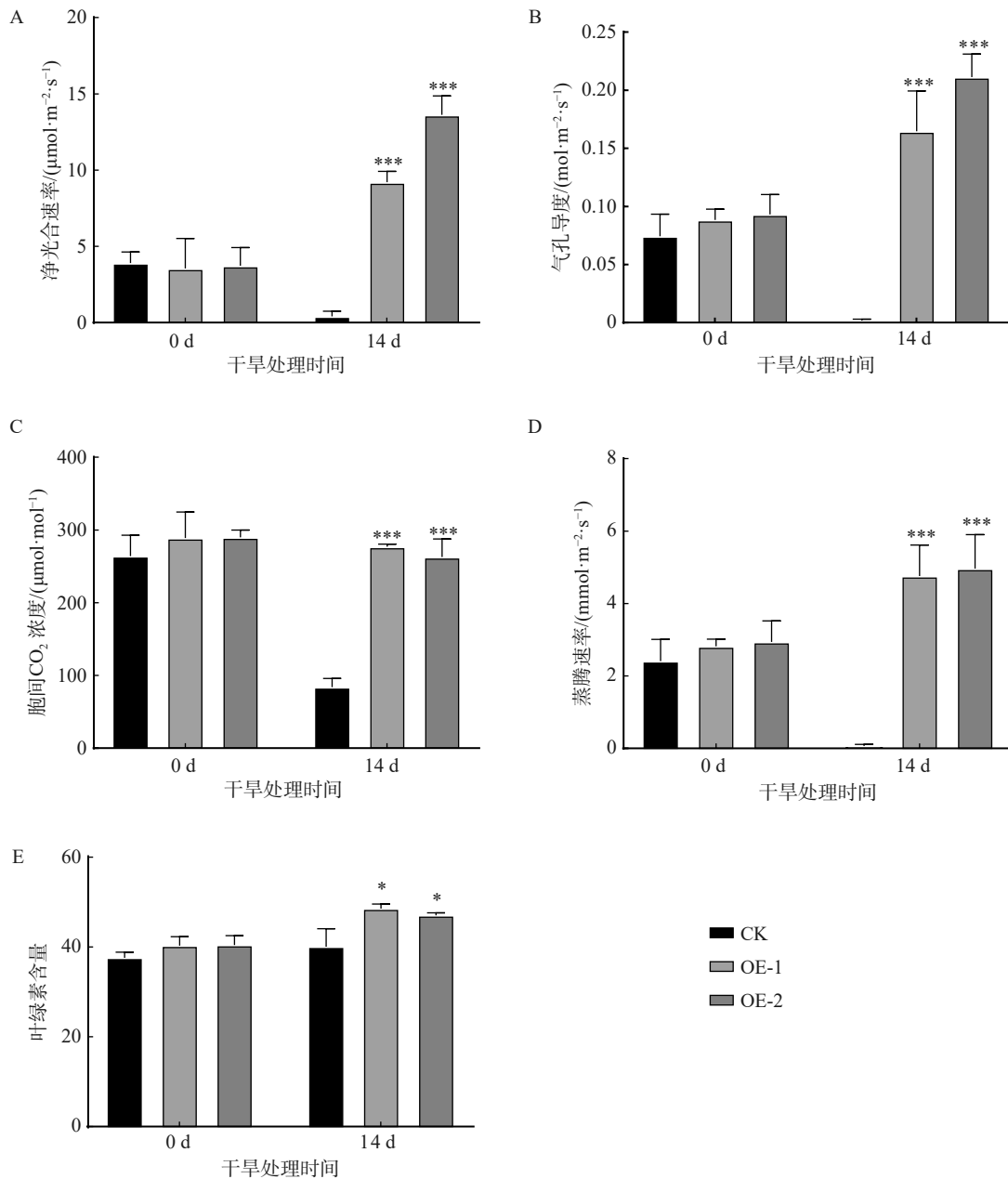
在干旱处理前, 过表达 *PtoXTH34* 植株的净光合速率、气孔导度、胞间 CO_2 浓度和蒸腾速率均较对照组无显著差异; 干旱处理 14 d 后, 过表达 *PtoXTH34* 植株各项光合指标均极其显著高于对照植株(图 5A~D)。干旱处理后, 对照植株的净光合速率、气孔导度和蒸腾速率均降低, 趋近于 0, 可能是由于过长的干旱胁迫时间使对照植株状态下降, 叶片几乎不进行光合作用, 对照植株接近死亡; 而转基因植株的光合指标大多在干旱处理后呈增长趋势(图 5A~D)。以上结果表明, 过表达 *PtoXTH34* 植株通过提升自身光合能力来抵御干旱胁迫的伤害。



A. 对照组和干旱组处理前后植株形态(bar = 7 cm); B. 植物株高; C. 3~6 茎节长; D. 茎直径结果

图 4 过表达 *PtoXTH34* 烟草表型分析

Fig. 4 Phenotypic analysis of overexpressing *PtoXTH34* tobacco



***表示在 0.001 水平上存在极其显著差异。

图5 过表达 *PtoXTH34* 烟草光合指标(A~D)和叶绿素含量(E)测定结果

Fig. 5 Measuring results of photosynthetic indicators (A~D) and chlorophyll content (E) in overexpressing *PtoXTH34* tobacco

未进行干旱处理时,过表达 *PtoXTH34* 植株叶绿素含量与对照植株并无显著差异;干旱处理 14 d 后,过表达 *PtoXTH34* 植株的叶绿素含量较对照组均显著高于对照植株,且转基因植株叶绿素含量较处理前的增加幅度要大于对照植株(图 5E)。

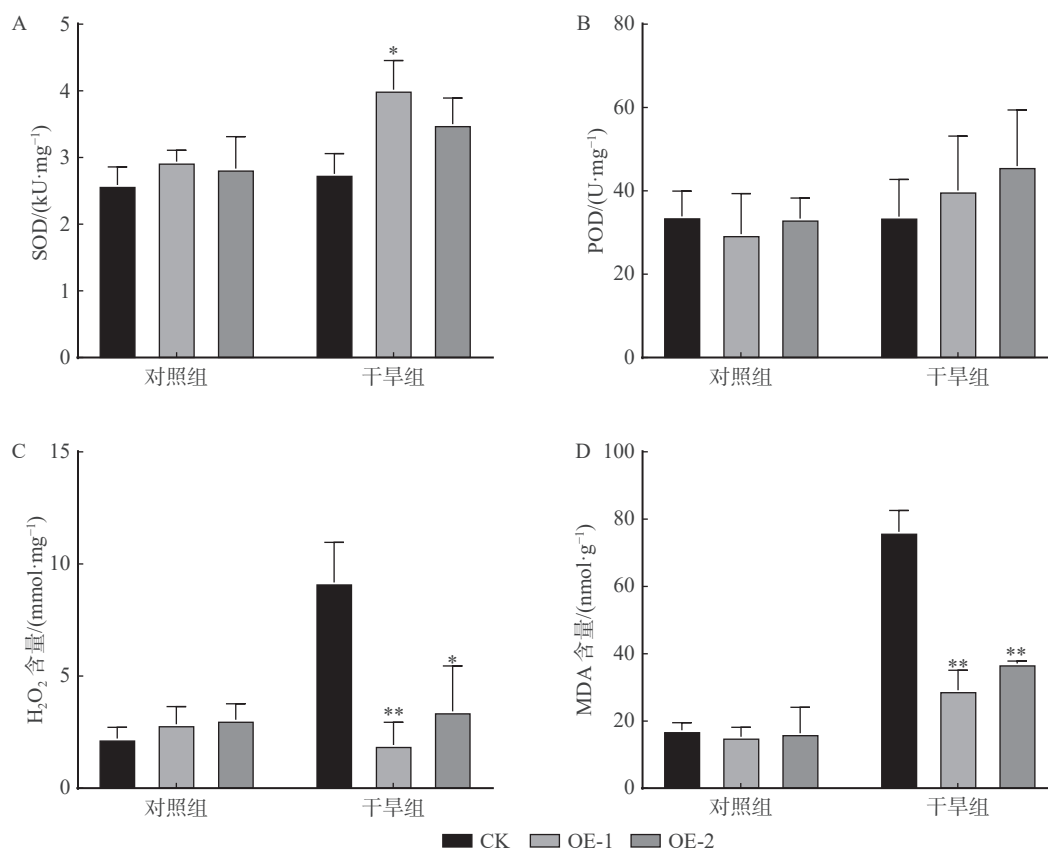
2.6 转基因烟草抗逆生理指标分析

转基因烟草抗逆生理指标测定结果(图 6A~D)表明:在正常浇水组(对照组),过表达 *PtoXTH34* 植株体内的各项指标均较对照植株无显著差异。而在干旱组,过表达 *PtoXTH34* 植株和对照植株中 SOD 和 POD 的活性均升高;与对照植株相比,OE-1 和 OE-2 的 SOD 活性分别提升了 45.82% 和 27.09%,

POD 活性分别提升了 18.46% 和 35.88%,但仅 OE-1 株系的 SOD 活性出现了显著差异,其余均差异不显著;而过表达 *PtoXTH34* 植株的 H_2O_2 和 MDA 含量均显著低于对照植株。较正常浇水组,干旱组中对照株系 H_2O_2 和 MDA 含量大幅上升,而在转基因株系中并未出现大量积累,表明过表达 *PtoXTH34* 植株在干旱胁迫下能够更好地清除活性氧积累,叶片受损伤的程度低于对照植株,耐旱性更强。

3 讨论

木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶(XTH)通过催化细胞壁木葡聚糖链的断裂和重连接,调控细胞壁的

图 6 过表达 *PtoXTH34* 烟草抗逆生理指标测定结果Fig. 6 Measurement results of physiological indicators of stress resistance in overexpressing *PtoXTH34* tobacco

松弛和伸展, 在植物细胞生长和植物响应逆境胁迫的过程中发挥重要作用^[1]。前期研究发现, 胡杨^[18]、大豆 (*Glycine max*)^[19]、小麦 (*Triticum aestivum*)^[20] 中的 XTH 家族可响应逆境胁迫。Jiang 等^[11] 在研究杨树 *PtoXTH34* 基因时发现: 含有 XTH34 重组质粒的酵母细胞总糖含量增加, 表现出显著的渗透耐受性, 增加了酵母的抗旱性。对于植株表型, 干旱胁迫会导致植株生长缓慢和体内水平衡失衡, 细胞水势下降, 植物茎段出现萎蔫现象^[21]。Liu 等^[22] 研究发现, 过表达马铃薯 (*Nicotiana benthamiana*) *StuPPO9* 基因可以提升在干旱条件下转基因烟草的株高和茎粗。本研究表明, 获得的过表达 *PtoXTH34* 烟草具有较低的叶片失水率, 表明 *PtoXTH34* 基因的过表达能够降低离体叶片失水率, 从而增加植株的抗旱能力, 这与韩彦莎^[13] 在烟草中过表达胡杨 XTH 基因的结果相一致。在正常生长条件下, 过表达 *PtoXTH34* 烟草并未出现显著的生长优势。然而, 在干旱胁迫下, 过表达 *PtoXTH34* 烟草显示出更好的生长状态, 其株高和茎直径均优于对照植株。结合 *PtoXTH34* 基因转入酵母细胞后引起的变化, 本研究推测干旱胁迫下过表达 *PtoXTH34* 植株的渗透活性物质增加, 这有助于植物细胞维持较高的渗透压, 帮助植物在水分匮乏的环境中保持水分, 减少水分流失, 提升

植物的抗旱性。

干旱处理 14 d 后, 过表达 *PtoXTH34* 植株的各项光合指标和叶绿素含量均较干旱胁迫前出现了不同程度的上升, 而叶片光合作用作为植物生长发育的重要驱动力, 在植物抵御干旱胁迫的过程中发挥着重要作用。本研究中, 干旱胁迫后过表达 *PtoXTH34* 植株的净光合速率、气孔导度、胞间 CO₂ 浓度和蒸腾速率都极其显著高于对照植株, 表明过表达 *PtoXTH34* 烟草通过提升各项光合指标而调控植株的耐旱性, 使其在自身生长发育过程中不会受到干旱胁迫的显著影响, 从而具有更强的抗旱性。与本研究相似, Wang 等^[23] 发现在干旱胁迫下, 过表达细叶百合 (*Lilium pumilum*) *LpWRKY49* 基因烟草的光合指标均显著高于野生型对照植株。陈简村等^[24] 研究发现: 干旱胁迫使脯氨酸大量积累, 有利于叶绿素的合成。党明青等^[25] 研究显示: 正常条件下转 *MhDREB2A* 基因烟草和野生型烟草的叶绿素总含量并没有显著差别, 而在干旱条件下转基因 *MhDREB2A* 烟草中的叶绿素总含量明显高于野生型烟草。这与本研究结果相似。

过表达 *PtoXTH34* 植株对干旱胁迫具有较高的耐受性, 这与其较高的清除活性氧的能力和较低的叶片损伤程度有关。周琪等^[26] 研究表明: 过表达小麦

TaXTH-7A 提高了拟南芥的抗旱性,其幼苗的 MDA 含量显著低于野生型,这与本研究的结果相同。同样地,转杜仲(*Eucommia ulmoides*)*EuERD16* 基因的烟草在干旱胁迫条件下的 H_2O_2 含量和 MDA 含量均显著降低^[27]。干旱胁迫后,过表达 *PtoXTH34* 植株体内的 SOD 和 POD 活性均出现了上升,尽管只有一组植株的 SOD 活性显著高于对照植株,但其酶活的升高表明过表达 *PtoXTH34* 植株体内的活性氧代谢旺盛。同时, H_2O_2 作为机体中重要的活性氧成分之一,其含量的高低代表了细胞氧化性损伤的轻重;MDA 作为质膜过氧化的重要产物,其含量的高低代表了质膜过氧化的程度。在过表达 *PtoXTH34* 植株体内, H_2O_2 含量显著降低,表明其具有较高的清除活性氧的能力;MDA 含量极显著降低,代表着其质膜过氧化程度较低,是过表达 *PtoXTH34* 植株具有抗旱性的具体表现。尽管体内清除活性氧的酶 SOD 和 POD 的活性并没有出现大幅度的上升,但过表达 *PtoXTH34* 植株并未出现明显的过氧化现象,这可能是由于活性氧在植物体内清除时,同时存在酶促清除系统和非酶促清除系统的共同作用^[28],但其具体响应机制还有待进一步探究。

4 结 论

干旱胁迫下,过表达 *PtoXTH34* 基因烟草生长良好,叶片仍为绿色,株高、茎直径、净光合速率、气孔导度和蒸腾速率均显著高于对照植株;对照植株叶片损伤程度较大,体内的 H_2O_2 和 MDA 含量均出现大幅上升,出现活性氧积累现象,而过表达 *PtoXTH34* 植株并未出现此现象。以上结果表明,杨树 *PtoXTH34* 基因在植物应对干旱胁迫中发挥了重要作用,可能通过降低过表达植株的叶片失水率、增强光合作用效率以及清除活性氧积累,从而提升植株的抗旱能力。然而,其抗旱性的具体内在机制仍需进一步研究。未来可通过在杨树本体中对 *PtoXTH34* 基因进行遗传转化,深入探讨其在杨树抗旱过程中的具体调控机制。本研究不仅拓展了杨树 *XTH* 基因家族的功能认识,也为探究 *XTH* 基因在其他物种的功能提供重要参考,同时为植物抗旱基因的筛选、抗旱机制的深入解析和林木良种的培育奠定了理论基础。

参 考 文 献

- [1] Cosgrove D J. Growth of the plant cell wall[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2005, 6(11): 850–861.
- [2] Rose J K C, Braam J, Fry S C, et al. The XTH family of enzymes involved in xyloglucan endotransglucosylation and endohydrolysis: current perspectives and a new unifying nomenclature[J]. Plant and Cell Physiology, 2002, 43(12): 1421–1435.
- [3] Baumann M J, Eklöf J M, Michel G, et al. Structural evidence for the evolution of xyloglucanase activity from xyloglucan endo-transglycosylases: biological implications for cell wall metabolism[J]. The Plant Cell, 2007, 19(6): 1947–1963.
- [4] 宣云,赵站绯,郭肖颖,等.植物细胞壁重构酶木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶(XTH)的研究进展[J].中国农学通报,2016,32(18): 83–88.
Xuan Y, Zhao H F, Guo X Y, et al. Plant cell wall, remodeling enzyme xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase (XTH)[J]. China Agriculture Bulletin, 2016, 32(18): 83–88.
- [5] 陈燕. 龙眼三维基因组构建及细胞壁修饰基因 *BGAL9* 和 *XTH22* 在体胚发生早期的功能研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2023.
Chen Y. Three-dimensional genome construction in longan and the function of cell wall modification genes *BGAL9* and *XTH22* during early somatic embryogenesis[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2023.
- [6] Han Y, Han S, Ban Q, et al. Overexpression of persimmon *DkXTH1* enhanced tolerance to abiotic stress and delayed fruit softening in transgenic plants[J]. Plant Cell Reports, 2017, 36(4): 583–596.
- [7] Takeda T, Furuta Y, Awano T, et al. Suppression and acceleration of cell elongation by integration of xyloglucans in pea stem segments[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(13): 9055–9060.
- [8] 王迪. 苹果砧木杂交后代 *MdXTH15*、*MdXTH23* 基因响应盐胁迫功能验证[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2023.
Wang D. *MdXTH15*, *MdXTH23* of the hybrid offspring of apple rootstock functional validation of genes in response to salt stress[D]. Aral: Tarim University, 2023.
- [9] 马怀龙. 甜菜木葡聚糖内转糖苷酶基因 *BvXTH1* 的克隆及功能分析[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2018.
Ma H L. Cloning and functional analysis of xyloglucan endotransglucosylase gene *BvXTH1* from sugar beets (*Beta vulgaris* L.)[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2018.
- [10] Cho S K, Kim J E, Park J A, et al. Constitutive expression of abiotic stress-inducible hot pepper *CaXTH3*, which encodes a xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase homolog, improves drought and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants[J]. FEBS Letters, 2006, 580(13): 3136–3144.
- [11] Jiang Y, Li Y, Lu C, et al. Isolation and characterization of *Populus* xyloglucan endotransglycosylase/hydrolase (XTH) involved in osmotic stress responses[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 155: 1277–1287.
- [12] Johansson P, Brumer III H, Baumann M J, et al. Crystal structures of a poplar xyloglucan endotransglycosylase reveal details of transglycosylation acceptor binding[J]. The Plant Cell, 2004, 16(4): 874–886.
- [13] 韩彦莎. 胡杨 *XTH* 调控烟草盐诱导肉质化及缓解重金属胁迫的机理研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2013.

- Han Y S. *Populus euphratica* XTH mediates salinity-induced leaf succulence and alleviates heavy metal stress in tobacco plants[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2013.
- [14] Han Y, Wang W, Sun J, et al. *Populus euphratica* XTH overexpression enhances salinity tolerance by the development of leaf succulence in transgenic tobacco plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(14): 4225–4238.
- [15] Han Y, Sa G, Sun J, et al. Overexpression of *Populus euphratica* xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase gene confers enhanced cadmium tolerance by the restriction of root cadmium uptake in transgenic tobacco[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2014, 100: 74–83.
- [16] Cheng Z, Zhang X, Yao W, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase gene family in poplar[J]. *BMC Genomics*, 2021, 22(1): 804.
- [17] 余凌翔, 鲁韦坤, 张加云, 等. 烤烟叶片光合速率日变化特征及其影响因素分析[J]. *气象与环境科学*, 2021, 44(5): 79–86.
Yu L X, Lu W K, Zhang J Y, et al. Study on diurnal variation characteristics of photosynthetic rate in tobacco leaves and its influence factors[J]. *Meteorology and Environmental Science*, 2021, 44(5): 79–86.
- [18] 韩彦莎, 仪慧兰. 过表达胡杨 XTH 基因能够提高烟草抗旱性[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2016, 32(8): 919–925.
Han Y S, Yi H L. Over-expression of *Populus euphratica* XTH gene enhances drought tolerance of tobacco[J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2016, 32(8): 919–925.
- [19] 陈龙, 张沿政, 李永光, 等. *GmXTH23* 基因的克隆及抗旱性鉴定[J]. *江西农业大学学报*, 2020, 42(5): 898–905.
Chen L, Zhang Y Z, Li Y G, et al. Cloning of *GmXTH23* gene and identification of its drought resistance[J]. *Journal of Jiangxi Agricultural University*, 2020, 42(5): 898–905.
- [20] Han J, Liu Y, Shen Y, et al. A surprising diversity of xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase in wheat: new in sight to the roles in drought tolerance[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(12): 9886.
- [21] 沈少炎, 吴玉香, 郑郁善. 植物干旱胁迫响应机制研究进展: 从表型到分子[J]. *生物技术进展*, 2017, 7(3): 169–176.
Shen S Y, Wu Y X, Zheng Y S. Review on drought response in plants from phenotype to molecular[J]. *Biotechnology Progress*, 2017, 7(3): 169–176.
- [22] 刘波, 池明, 曹梦琦, 等. 过表达马铃薯 *StuPPO9* 基因对烟草抗旱能力的影响[J]. *作物学报*, 2024, 50(9): 1–12.
Liu B, Chi M, Cao M Q, et al. Impact of potato *StuPPO9* gene overexpression on drought resistance in *Nicotiana benthamiana*[J]. *Journal of Crop Sciences*, 2024, 50(9): 1–12.
- [23] 王依萍. 细叶百合 *LpWRKY49* 基因的克隆与抗盐和抗旱功能分析[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2024.
Wang Y P. Cloning and functional analysis of salt and drought resistance of the *LpWRKY49* gene in *Lilium pumilum*[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2024.
- [24] 陈简村, 史莹莹, 何栋, 等. 4 种报春苜蓿对于干旱胁迫的生理响应及抗旱性评价[J]. *安徽农业大学学报*, 2021, 48(5): 757–762.
Chen J C, Shi Y Y, He D, et al. Physiological response and drought resistance evaluation of four kinds of primulina[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2021, 48(5): 757–762.
- [25] 党明青, 王京平, 冉昆, 等. 泰山海棠抗旱基因 *MhDREB2A* 的克隆与功能鉴定[J]. *沈阳农业大学学报*, 2022, 53(4): 462–468.
Dang M Q, Wang J P, Ran K, et al. Cloning and functional identification of drought-resistant related gene in *Malus hupehensis*[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2022, 53(4): 462–468.
- [26] 周琪, 冯燕茹, 李嵩, 等. 小麦 *TaXTH-7A* 基因的克隆及抗旱性鉴定[J]. *农业生物技术学报*, 2019, 27(9): 1521–1532.
Zhou Q, Feng Y R, Li S, et al. Cloning and drought resistance identification of *TaXTH-7A* gene in wheat (*Triticum aestivum*)[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2019, 27(9): 1521–1532.
- [27] 李波, 曾琴, 赵丹, 等. 杜仲 *EuERD16* 基因的克隆及功能分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2023, 42(4): 373–383.
Li B, Zeng Q, Zhao D, et al. Cloning and function analysis of *EuERD16* gene in *Eucommia ulmoides*[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2023, 42(4): 373–383.
- [28] 徐松华. 逆境条件下植物体内活性氧代谢研究进展[J]. *安徽农学通报*, 2021, 27(21): 29–32.
Xu S H. Research advances of reactive oxygen species in plants under environmental stress[J]. *Anhui Agriculture Bulletin*, 2021, 27(21): 29–32.

(责任编辑 赵田芸 吴娟
责任编辑 卢孟柱)