

文章编号:1001-7380(2015)02-0050-05

杨树基因工程育种研究进展

纪纯阳

(辽宁省杨树研究所,辽宁 盖州 115213)

摘要:该文主要对国内外杨树基因工程育种在抗虫、抗病、抗除草剂、抗旱、抗逆、降低木质素及雄性不育等方面的研究进展进行了综述,详细介绍了各个方面近些年来研究成果,并对杨树基因工程育种中存在的问题及发展对策进行了讨论。

关键词:杨树;基因工程;育种

中图分类号:S792.11;Q943.1 **文献标识码:**A **doi:**10.3969/j.issn.1001-7380.2015.02.012

Research advances on genetic engineering breeding of poplar

Ji Chun-yang

(Liaoning Provincial Institute of Poplar, Gaizhou 115213)

Abstract: The research progress and achievements made in poplar genetic modification breeding in recent years are summarized in terms of pest resistance, disease resistance, herbicide resistance, drought resistance and another stress resistance, lignin reduction, and male sterility. Some existent problems were discussed and corresponding countermeasures offered.

Key words: Poplar; Gene engineering; Breeding

杨树不仅是重要的经济树种,在水土保持和维护生态环境方面也发挥重要的作用,我国现已成为世界上杨树人工林面积最大的国家。杨树因速生丰产、实用性强、分布广、无性繁殖能力强、且基因组较小而成为研究林木生理和利用基因工程方法进行遗传改良的理想模式植物。

1986年,Parson等人证实了杨树可以进行遗传转化和外源基因在高等植物细胞中的表现以来,林木基因工程得到了迅速发展,尤其是杨树的基因工程育种进展最为迅速。近年来国内外利用基因工程手段在杨树良种选育研究方面取得了很大进展,尤其在抗虫、抗病、抗除草剂、抗逆等方面。本文详细对国内外杨树基因工程育种研究进展进行了综述,同时对存在的问题及发展对策进行了探讨。

1 杨树基因工程育种研究现状

1.1 抗虫基因

抗虫基因主要有2种:一种是苏云金芽孢杆菌

(*Bacillus thuringiensis*)的 δ -内毒素(δ -endotoxin),简称Bt基因。另一种是蛋白酶抑制因子(Proteinase inhibitor)基因,简称PI基因,其中包括马铃薯蛋白酶抑制因子I(PI-I)、马铃薯蛋白酶抑制因子II(PI-II)和豇豆胰蛋白酶抑制因子(CpTI)等,此外还有淀粉酶抑制剂基因和植物外源凝集素基因等。但目前的研究以农杆菌介导法转化Bt基因为主。

1.1.1 转Bt基因 McCown等用放射性基因枪法将Bt-Cry1Aa基因的融合基因导入银白杨×大齿杨,获得转基因植株Bt-II,对舞毒蛾致死率达24%,天幕毛虫致死率达60%,这是其他转化方法中唯一的报道^[1]。饶红宇等通过根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)介导,将苏云金杆菌毒蛋白基因Bt转入杨树NL-80106(美洲黑杨×小叶杨),获得了再生植株,PCR分析结果表明,Bt基因已整合到基因组中,部分转基因植株的杀虫实验表明,转基因植株B45和B64对1龄舞毒蛾幼虫有明显抗性,饲喂转基因杨树叶片的幼虫,其死亡率显著

收稿日期:2015-02-12;修回日期:2015-03-10

基金项目:辽宁省科学事业公益研究基金项目“杨树转抗寒调控基因育种研究”(2014002016)

作者简介:纪纯阳(1982-),男,辽宁辽阳人,工程师,主要从事杨树生物技术及育种研究工作。E-mail:jichunyang19820125@163.com。

高于饲喂未转基因杨树叶片的幼虫^[2]。中国林业科学研究院将苏云金杆菌杀虫蛋白基因 *Bt* 导入欧洲黑杨,成功获得了抗叶部害虫的植株。几年后再次用农杆菌对欧美杨叶片和茎段进行转化,共获得225株转化再生植株,以舞毒蛾幼虫进行测定,*Bt* 毒蛋白基因已整合进入抗虫植株的细胞DNA中,并表达出杀虫活性^[3]。姜静等将蜘蛛杀虫肽与 *Bt* 基因C肽序列的融合基因导入小黑杨中,转基因株系表现出强烈的抗虫效果,能显著抑制舞毒蛾幼虫的生长发育^[4]。

高萍等用根癌农杆菌介导法,将 *Bt* 毒蛋白基因导入107杨的叶片及茎段外植体,经潮霉素抗性筛选,获得了转基因再生植株。提取转基因植株的总DNA,经PCR扩增,部分植株呈阳性反应,证明目的基因已经整合到杨树基因组中。以转基因杨树叶片饲喂天幕毛虫幼虫的杀虫试验结果表明,转基因杨树表现出一定的杀虫活性^[5]。

王连荣等用741杨和转 *Bt-Cry1Ac* 基因741杨抗虫株系 Pb29 互为接穗和砧木进行嫁接。结果表明 *Bt* 毒蛋白可以通过嫁接的方式在砧木和接穗间进行运输。用各嫁接处理接穗叶片在室内喂饲杨扇舟蛾幼虫,发现嫁接转基因杨树的非转基因杨可提高对杨扇舟蛾幼虫的致死率,延长发育历期,表现出一定的抗虫性^[6]。

1.1.2 转蛋白酶抑制因子 高等植物的蛋白酶抑制基因是近年来新兴的抗虫基因,在杨树基因转化中已有成功报道。郝贵霞等将广谱抗虫基因豇豆蛋白酶抑制剂(*CpTI*)基因导入毛白杨(*Populus tomentosa* Carr.) 1285雌株和毛新杨(*P. tomentosa* × *P. bolleana*) × 毛白杨回交杂种,PCR鉴定和PCR-Southern检测证实基因已整合进杨树基因组中^[7]。Massimo等利用农杆菌介导法将拟南芥半胱氨酸蛋白酶抑制基因 *Atcys* 导入白杨(*Populus alba* L.)中,获得16株转化植株,转化率达到11%。Southern杂交和Northern杂交结果表明,*Atcys* 基因已经整合入白杨的基因组中并正常表达。虫试结果表明,转基因植株能有效地抵抗杨树的叶部害虫^[8]。

丁双阳等研究了转 *CpTI* 基因杨树对美国白蛾幼虫中肠解毒酶及乙酰胆碱酯酶的影响,结果酯酶、羧酸酯酶的活力受到明显抑制,且随时间的延长,抑制强度增加,饲喂48h后,酶的活力分别比对照降低76.42%和73.91%;多功能氧化酶在饲喂的前12h,表现为受到抑制,最大抑制率为35.78%,24h后

酶活力反而高于对照;谷胱甘肽转移酶和乙酰胆碱酯酶活力也受到抑制,两者表现及其相似,在饲喂后4h抑制作用最强,酶活力分别比对照降低51.40%和40.57%,但在整个试验过程中,均没有表现出随时间加强的趋势^[9]。

1.1.3 转复合基因 张冰玉等采用农杆菌介导法获得8种银腺杂种杨转双价抗虫基因(*Bt-Cry3A* 和 *OC-I*)植株,其中转基因株系 BOGA-39 对光肩星天牛幼虫的毒杀和生长抑制作用显著^[10]。李明亮等通过农杆菌介导,将人工改造的苏云金杆菌杀虫结晶蛋白基因(*Bt*)转化杨树,得到杨树再生植株,再将蛋白酶抑制剂基因(*PI*)导入已含 *Bt* 基因的转基因杨树,经PCR检测和Southern杂交分析证明,最终获得既含有 *Bt* 基因又含有蛋白酶抑制剂基因的转基因杨树植株。利用这种杨树叶片饲喂舞毒蛾幼虫的杀虫试验结果表明,转基因杨树具有明显的杀虫活性,而且含有 *Bt* 基因和蛋白酶抑制剂基因的双基因植株,其抗虫能力明显高于仅含单一 *Bt* 基因的植株^[11]。饶红宇采用双基因共转法将经改造的 *Bt-Cry1Aa* 基因和 *CpTI* 基因转入杨树 NL280106,获得的转双价基因杨树对1龄舞毒蛾幼虫有明显的杀虫活性^[12]。

诸葛强等以南林895杨为转基因受体材料,以嫩芽或腋芽为外植体材料组织培养再生植株,利用农杆菌介导法转化 *Bt* 基因和 *CpTI* 基因。经培养基培养获得的植株经PCR分析,筛选获得了18株整合有 *Bt* 基因和1株整合有 *CpTI* 基因的转基因植株。部分转基因植株的初步饲虫实验表明饲喂转基因杨树叶片可明显抑制杨小舟蛾的生长发育^[13]。

1.2 抗病基因

植物的抗病基因主要有2种:抗病毒基因和抗菌基因。抗病毒基因的研究主要是克隆病毒外壳蛋白基因,通过病毒外壳蛋白基因的导入,并借助交叉保护作用机理,达到降低病毒侵染的目的。抗菌基因主要有几丁质酶基因、抗菌肽基因和防御素基因。

1.2.1 抗病毒基因 Cooper 研究人员克隆出杨树花叶病毒的外壳蛋白(*PMV-cp*)基因,并导入杨树中,可在杨树体内产生cp蛋白,对杨树PMV的侵染起到一种类似于免疫学的交叉保护作用^[14]。

1.2.2 抗菌基因 Harvey 研究小组对创伤反应基因在毛果杨×美洲杨无性系中表达进行了研究,发现杨树损伤后产生了3种新的转录子mRNA,其中转录子 *win6* 和 *win8* 所编码的几丁质酶可以降解侵

染杨树的真菌或细菌的细胞壁, *win3* 转录子所编码的多肽与豆科种子的蛋白酶抑制剂相似具有抑制昆虫的功能。并已将 *win6* 基因与 GUS 报告基因融合, 应用于杨树抗病基因的遗传转化, 但尚未有成功的报道^[15]。Liang 等将小麦的草酸盐氧化酶基因 (*OxO*) 与 CaMV35S 启动子连接, 转化杂交杨树无性系 *Populus × euramericana*, 提高了转化植株的抗病和抗胁迫能力^[16]。Mentag 等利用农杆菌介导法将编码 17 个氨基酸的抗菌肽基因 *D4E1* 转入杂交杨树 (*Populus tremula* L. × *P. alba* L.) 中, PCR 和 Northern 杂交检测表明, *D4E1* 基因已整合入杂交杨树的核基因组中, 转化植株对多种病菌均有明显抗性^[17]。

1.3 抗除草剂基因

Chuveau 等以杂种杨 (*P. tremula* × *P. alba*) 叶片原生质体为受体, 采用电击法转化乙酰乳酸合成酶 (Als) 突变基因, 获得了抗磺胺脒类除草剂的工程植株; 转化乙酰转移酶 (Pat) 基因, 获得了抗草甘膦类除草剂的工程植株^[18]。Gullner 等将编码抗除草剂乙酰替绿苯胺 (Chloroacetanilide) 的谷酰丙氨酸 (*GST*) 基因转入杨树杂交种内, 转基因植株叶片富含 C-GST 和谷胱氨酸 (*GSH*), 杨树的除草剂抗性得到提高^[19]。Confalonieri 等报道获得了高抗草甘膦类除草剂 Basta 的转基因白杨 (*P. alba* L.)^[19]。

1.4 抗逆基因

1.4.1 抗冻基因 利用基因工程培育转基因抗冻杨树的研究尚在探索阶段。Arisi 等用拟南芥的 *Fe-SOD* 基因转化杨树, 发现转基因杨树不仅叶绿体中 Fe-SOD 活性高于对照 5~8 倍, 而且杨树的抗冻性也明显提高^[20]。李春霞从胡萝卜中克隆出抗冻蛋白 (AFP) 基因并对山杨进行了遗传转化, 获得 4 株卡那霉素抗性苗, 经 PCR 检测分析, 其中 1 株呈阳性, 初步表明 AFP 基因已经整合到山杨基因组中^[21]。

1.4.2 抗旱基因 崔旭东等以欧美杨渤丰 1 号为试验材料, 在对其组织培养再生体系进行优化的基础之上, 采用基因枪法对其进行 5 个抗旱相关基因——转录因子基因 *JERF36* 基因、*ZxZF* 基因、*AREB* 基因和功能基因 *SacB* 基因、*GST* 基因的共转化, 培育出具有强抗旱性的转基因杨树新品种, 同时, 对外源基因在受体材料基因组上的整合特征进行深入探讨, 完善转基因技术的理论基础^[22]。

1.4.3 耐盐碱基因 杨传平等将与甜菜碱合成有

关的 *bet-A* 基因转入小黑杨中, 获得阳性植株, Southern 杂交结果表明, *bet-A* 基因已整合进入小黑杨的基因组中, 对转化植株进行盐胁迫, 测定在不同的处理天数时, 非转基因植株与转基因植株之间甜菜碱、脯氨酸、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 的变化^[23]。

樊军锋等利用叶盘转化法首次开展了 84 K 杨双价耐盐基因 *mtlD/gutD* 的转化研究, 经诱导不定芽及诱导生根阶段卡那霉素连续筛选, 获得了 16 株卡那霉素抗性植株。经 PCR 检测, 有 4 株呈阳性。耐盐实验表明, 3 株阳性植株抗 NaCl 能力, 较对照有不同程度提高^[24]。

宋建等以盐渍生境下 1~2 年生 107 和 18-1 杨树为材料, 对不同树龄和地径的杨树各营养器官中 Na^+ 、 K^+ 分布变化进行了研究。结果表明, 在盐渍生境中种植的含 *NTHK1* 的转基因 18-1 杨树比 107 杨树更加耐盐, 可以更好地抵御盐胁迫, 维持离子平衡, *NTHK1* 基因可能是通过增强转基因杨树聚集有害 Na^+ 至液泡的能力, 以避免细胞质中过高的 Na^+ 对细胞造成伤害, 从而提高了转基因植株的耐盐性^[25]。

孙伟博等将大豆中编码 Na^+/H^+ 离子逆向转运蛋白的 *GmNHX1* 基因构建到植物表达载体 *pG-WB402Ω*, 通过农杆菌侵染叶盘法转化南林 895 杨树, PCR 检测和 Southern 杂交结果表明, *GmNHX1* 基因已经整合入南林 895 杨树基因组。对转 *GmNHX1* 基因的南林 895 杨树耐盐性的生理生化指标进行检测, 结果表明 *GmNHX1* 基因的表达能够提高转基因杨树的耐盐性^[26]。

1.5 降低木质素基因

Hu 等从白杨中克隆得到 4CL 基因, 通过反义抑制使木质素的含量降低了 45%, 而纤维素的含量却升高了 15%, 并能够大大促进白杨的生长^[27]。魏建华等将毛白杨 (*Populus tomentosa* Carr.) 的 *CCoAOMT* (caffeoyl CoAO-methyltransferase) 基因构建了反义表达载体转化杂交杨 (*P. tremula* × *P. alba*), 发现移栽 5~6 个月的转基因植株的木质素含量比未转基因对照杨树下降 17.9%^[28]。

薛英喜在辅酶 A 连接酶 (4CL) 基因杨树和转反义咖啡酰辅酶 A3-0-甲基转移酶 (*CCoAOMT*) 基因杨树基础上, 对反义抑制木质素单体合成酶基因的转基因杨树木材进行了酶解分析, 显示 5 年生杨树, 供试转基因杨树的木质素含量均明显低于非转基因对

照;并且即使总木质素含量降低 10%,仍未对转基因杨树的生长速度和生物质产量造成明显影响。成熟木材中,抑制 *CCoAOMT* 基因表达的转基因杨树植株糖化效率显著提高,而抑制 *4CL* 基因表达的转基因杨树植株糖化效率并无显著改变;经烘干、抽提的茎糖化产量与酸溶木质素呈负相关。说明降低酸溶木质素含量可以明显提高生物燃料生产中糖化效率,提高糖化产量^[29]。

1.6 雄性不育基因

李玲等将 *TA29-Barnasf* 基因导入抗虫的转基因欧洲黑杨(*P. nigra*)基因组中,转 *TA29-Barnasf* 基因雄性杨树在田间表现出了高度不育^[30]。于来等将不育结构 *35S-PtAP3-IR-NOS* 转入到毛白杨中,经检测表明阳性植株中 *AP3*, *LFY*, *PI* 基因的表达受到明显抑制,对毛白杨花发育将起到一定的抑制作用,本研究为利用转基因手段获得不育材料提供了依据^[31]。

1.7 其他基因方面

尹吴等以转 *PEPC* 基因南林 895 杨和对照(南林 895 杨)为材料,分析不同转基因植株的光合生理参数。结果转 *PEPC* 基因杨树与 C4 光合途径相关的酶活性比对照增高, *PEPC* 活性增加较为明显,最高达 38.6%。转 *PEPC* 基因杨树表现较强的对强光利用能力,其光饱和点比对照提高约 10% ~ 20%,饱和点时的光合速率比对照高 17.7% ~ 58.1%。转 *PEPC* 基因杨树光补偿点低于对照,利用弱光的能力增强; CO_2 的利用效率较高。此外,转基因杨树羧化效率增高,比对照增加最高达 62.3%^[32]。

2 杨树基因工程育种存在的问题

转化效率低、实验重复性差是杨树基因工程育种过程中存在的主要问题。由于受气候、环境、人为、实验操作等因素影响,转基因杨树转化效率极低。结合杂交育种的工作经验,每年春季根据杨树花枝的伸展情况,仅能进行 1~2 批花粉管导入外源 DNA 基因的杂交育种试验,而且得到的后代仅有几株是含有外源基因。这就要求根据转化植株自身的特点,结合特定的试验转化方法,从实验技术因素到环境因素方面创造有利的转化条件,提高转化效率。

外源基因的插入是随机的,这种偶然性对基因组本身和在 DNA/RNA 蛋白质及生物性状上的表达都会产生很大的影响。外源基因导入受体内部,只

为转基因利用提供了可能性,而受体的表达受到一系列生理生化过程的影响,以复杂的遗传方式表达出来。在实际工作中,通过花粉管导入柳树 DNA 基因的杂交育种实验中,得到的后代在幼苗期有几株叶形和柳树接近,但随着苗木的生长,慢慢的有的植株有了杨树的叶形,而 DNA 结构还有待进一步的测定。在早期表达过程中将不能正常表达和表达低的转化植株直接淘汰,增加表达的稳定性。随着科技的发展,能够定点的插入外源基因,保持优良的性状遗传是未来基因工程育种的发展方向。转基因植株性状变异的研究对优良品种的选择具有重大意义。

3 发展对策

目前导入杨树中的抗性基因大多是来源于微生物、植物、控制单一性状的基因。而杨树的一些性状(如抗旱、抗冻等)大都是多基因控制的。结合杨树转抗寒基因的试验,抗寒基因设想从很多抗寒植物中提取,但是只有从山葡萄中提取到了抗寒基因。因此,如何根据林木自身的特点,研究、发掘适合于杨树抗性提高的主基因,将是今后杨树基因工程抗性育种的关键所在。

目前转抗性基因研究多集中在抗虫基因方面,而在抗逆基因、木质素基因及雄性不育基因等方面研究还很少。未来的趋势是增加转基因在其他方面的研究,同时增加双价抗性基因(甚至是多价抗性基因)的研究。育种工作重点转移到其他抗性转基因上,能够选育出更适合的杨树新品种。

转基因杨树被应用于实际种植时要考虑它的生物安全性问题。转基因杨树对人与环境可能产生危害产生新型有害生物、新的过敏原、基因污染等。作者培育出的转基因植株目前处于幼龄期,还未涉及到生物安全性问题。通过新型技术的开发,未来的杨树基因工程育种更能保证转化植株的生物安全性。

基因工程育种将成为未来杨树发展的一个重要趋势。将现代生物技术手段与常规育种方法相结合,不断改良出新品种,是今后发展杨树产业的主要方向。实现转基因杨树的合理化和产业化,必将产生巨大的经济效益、社会效益和生态效益。

参考文献:

- [1] McCown B H, McCabe D E, Russell D R, et al. Stable transformation of *Populus* and incorporation of pest resistance by electric dis-

- charge particle acceleration[J]. Plant Cell Reports, 1991, 9(10): 590-594.
- [2] 饶红宇,陈 英,黄敏仁,等. 杨树 NL-80106 转 *Bt* 基因植株的获得及抗虫性[J]. 植物资源与环境学报, 2000, 9(2): 1-5.
- [3] 胡彦师,梁一池. 我国林业遗传改良的研究现状及展望[J]. 林业科技, 2002, 27(5): 8-12.
- [4] 姜 静,常玉广,董京祥,等. 小黑杨转双价抗虫基因的研究[J]. 植物生物学通讯, 2004, 40(6): 669-672.
- [5] 高 萍,贝纳新,李浩戈,等. 抗虫转基因杨树的培育及其抗虫性初步研究[J]. 林业科技, 2008, 33(5): 25-27.
- [6] 王连荣,杨敏生. 转基因杨树中外源 *Bt* 基因 mRNA 及其蛋白运输[J]. 林业科学, 2010, 46(7): 49-54.
- [7] 郝贵霞,朱 祯,朱之悌. 豇豆胰蛋白酶抑制基因转化毛白杨的研究[J]. 植物学报, 1999, 41(12): 1276-1282.
- [8] Massimo D, Gianni A, Beatrice B, et al. Transformation of white poplar (*Populus alba* L.) with a novel *Arabidopsis thaliana* cysteine proteinase inhibitor and analysis of insect pest resistance [J]. Molecular Breeding, 2001, 7(1): 35-42.
- [9] 丁双阳,李怀业,李学锋,等. 转 CpTI 基因杨树对美国白蛾幼虫中肠解毒酶及乙酰胆碱酯酶的影响[J]. 东北林业大学学报, 2001, 29(5): 100-102.
- [10] 张冰玉,苏晓华,李义良,等. 转双价抗蛀干害虫基因杨树的获得及其抗虫性鉴定[J]. 林业科学研究, 2005, 18(3): 364-368.
- [11] 李明亮,张 辉,胡建军,等. 转 *Bt* 基因和蛋白酶抑制剂基因杨树抗虫性的研究[J]. 林业科学, 2000, 36(2): 93-97.
- [12] 饶红宇. 双价抗虫基因转化杨树的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2000: 26-48.
- [13] 诸葛强,房 丹,李秀芬,等. 美洲黑杨杂种优良无性系转抗虫基因(*Bt* 和 *CpTI*)的研究[J]. 分子植物育种, 2006, 4(6): 819-824.
- [14] 许 农,黄敏仁,陈道明. 杨树基因工程研究进展[J]. 南京林业大学学报, 1993, 17(4): 78-82.
- [15] 郝贵霞,朱 祯,朱之悌. 杨树基因工程进展[J]. 生物工程进展, 2000, 20(4): 6-9.
- [16] Liang H, Maynard C A, Allen R D, et al. Increased *Septoria musiva* resistance in transgenic hybrid poplar leaves expressing a wheat oxalate oxidase gene[J]. Plant Molecular Biology, 2001, 45(6): 612-619.
- [17] Mentag R, Luckevich M, Morency M J, et al. Bacterial disease resistance of transgenic hybrid poplar expressing the synthetic antimicrobial peptide D4E1 [J]. Tree Physiology, 2003, 23(6): 405-415.
- [18] Chupeau M C, Pautot V, Chupeau Y. Recovery of transgenic trees after electroporation of poplar protoplasts [J]. Transgenic Research, 1994, 3(1): 13-19.
- [19] Confalonieri M, Belenghi B, Balestrazzi A, et al. Transformation of elite white poplar (*Populus alba* L.) cv. 'Villafranca' and evaluation of herbicide resistance[J]. Plant Cell Reports, 2000, 19(10): 978-982.
- [20] Arisi A C, Cornic G, Jouanin L, et al. Over-expression of Fe-SOD in transformed poplar modifies the regulation of photosynthesis at low CO₂ partial pressures or following exposure to the prooxidant herbicide methylviologen [J]. Plant Physiology, 1998, 117: 565-574.
- [21] 李春霞. 抗冻蛋白基因对山杨等植物遗传转化的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2003.
- [22] 葛旭东. 杨树抗旱多基因转化及整合机制研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2012.
- [23] 杨传平,刘桂丰,梁宏伟,等. 耐盐基因 *bet-A* 基因转化小黑杨的研究[J]. 林业科学, 2001, 37(6): 34-38.
- [24] 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.
- [25] 宋 建,周祥明,郝志愚,等. 转 *NTHK1* 基因对杨树各器官中 Na⁺、K⁺ 分布的影响[J]. 天津农业科学, 2012, 18(5): 1-6.
- [26] 孙伟博,邓大霞,杨立恒,等. 南林 895 杨树 *GmNHX1* 基因的转入及其耐盐性分析[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2014, 43(1): 34-38.
- [27] Hu W J, Harding S A, Lung J, et al. Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees [J]. Nature Biotechnology, 1999(17), 808-812.
- [28] 魏建华,赵华燕,张景昱,等. 毛白杨 CCoAOMTc DNA 片段的克隆与转基因杨木质素含量的调控[J]. 植物学报: 英文版, 2001, 43(11): 1179-1183.
- [29] 薛英喜. 杨树木质素合成基因功能分析及其对生物质能源转化的影响[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2012.
- [30] 李 玲,齐力旺,韩一凡,等. TA29-Barnase 基因导致抗虫转基因欧洲黑杨雄性不育的研究[J]. 林业科学, 2000, 36(1): 28-32.
- [31] 于 来,安新民,曹冠琳,等. PtAP3 不育结构转化毛白杨的研究[J]. 北京林业大学学报, 2010, 32(5): 15-20.
- [32] 尹 吴,李丽莎,王立科,等. 转玉米 *PEPC* 基因杨树的光合生理特性分析[J]. 林业科学, 2012, 48(6): 63-71.