

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第 32 卷 第 14 期 Vol.32 No.14 **2012**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 32 卷 第 14 期

2012 年 7 月 (半月刊)

目 次

海滨沙地砂引草对沙埋的生长和生理适应对策.....	王 进,周瑞莲,赵哈林,等 (4291)
外源 K ⁺ 和水杨酸在缓解融雪剂对油松幼苗生长抑制中的效应与机理 ...	张 莹,李法云,严 霞,等 (4300)
钱塘江中游流域不同空间尺度环境因子对底栖动物群落的影响.....	张 勇,刘朔孺,于海燕,等 (4309)
贡嘎山东坡非飞行小型兽类物种多样性的垂直分布格局.....	吴永杰,杨奇森,夏 霖,等 (4318)
基于斑块的红树林空间演变机理分析方法.....	李春干,刘素青,范航清,等 (4329)
亚热带六种天然林树种细根养分异质性.....	熊德成,黄锦学,杨智杰,等 (4343)
浙江省植被 NDVI 动态及其对气候的响应	何 月,樊高峰,张小伟,等 (4352)
亚热带 6 种天然林树种细根呼吸异质性.....	郑金兴,熊德成,黄锦学,等 (4363)
亚高山/高山森林土壤有机层氨氧化细菌和氨氧化古菌丰度特征	王 奥,吴福忠,何振华,等 (4371)
耕作方式对紫色水稻土轻组有机碳的影响.....	张军科,江长胜,郝庆菊,等 (4379)
火烧对长期封育草地土壤碳固持效应的影响.....	何念鹏,韩兴国,于贵瑞,等 (4388)
闽江河口潮汐湿地二氧化碳和甲烷排放化学计量比.....	王维奇,曾从盛,仝 川,等 (4396)
2010 年夏季珠江口海域颗粒有机碳的分布特征及其来源	刘庆霞,黄小平,张 霞,等 (4403)
新疆冷泉沉积物葡萄糖利用细菌群落多样性的稳定同位素标记分析.....	楚 敏,王 芸,曾 军,等 (4413)
土壤微生物群落多样性解析法:从培养到非培养.....	刘国华,叶正芳,吴为中 (4421)
伊洛河河岸带生态系统草本植物功能群划分	郭屹立,卢训令,丁圣彦 (4434)
濒危植物蒙古扁桃不同地理种群遗传多样性的 ISSR 分析	张 杰,王 佳,李浩宇,等 (4443)
强潮区较高纬度移植红树植物秋茄的生理生态特性.....	郑春芳,仇建标,刘伟成,等 (4453)
冬季高温对白三叶越冬和适应春季“倒春寒”的影响	周瑞莲,赵 梅,王 进,等 (4462)
中亚热带细柄阿丁枫和米槠群落细根的生产和死亡动态.....	黄锦学,凌 华,杨智杰,等 (4472)
欧美杨水分利用效率相关基因 <i>PdEPF1</i> 的克隆及表达	郭 鹏,金 华,尹伟伦,等 (4481)
再力花地下部水浸提液对几种水生植物幼苗的化感作用.....	缪丽华,王 媛,高 岩,等 (4488)
无致病力青枯雷尔氏菌对烟草根系土壤微生物脂肪酸生态学特性的影响.....	郑雪芳,刘 波,蓝江林,等 (4496)
基于更新和同化策略相结合的遥感信息与水稻生长模型耦合技术的研究.....	王 航,朱 艳,马孟莉,等 (4505)
温度和体重对克氏双锯鱼仔鱼代谢率的影响.....	叶 乐,杨圣云,刘 敏,等 (4516)
夏季西南印度洋叶绿素 a 分布特征.....	洪丽莎,王春生,周亚东,等 (4525)
大沽排污河生态修复河道水质综合评价及生物毒性影响.....	王 敏,唐景春,朱文英,等 (4535)
李肖叶甲成虫数量及三维空间格局动态.....	汪文俊,林雪飞,邹运鼎,等 (4544)
专论与综述	
基于景观格局的城市热岛研究进展	陈爱莲,孙然好,陈利顶 (4553)
沉积物质量评价“三元法”及其在近海中的应用	吴 斌,宋金明,李学刚,等 (4566)
问题讨论	
中国餐厨垃圾处理的现状、问题和对策	胡新军,张 敏,余俊锋,等 (4575)
研究简报	
稻秸蓝藻混合厌氧发酵沼液及其化学物质对尖孢镰刀菌西瓜专化型生长的影响.....	刘爱民,徐双锁,蔡 欣,等 (4585)
佛山市农田生态系统的生态损益.....	叶延琼,章家恩,秦 钟,等 (4593)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 314 * zh * P * ¥70.00 * 1510 * 33 * 2012-07



封面图说: 噶龙山南坡的高山湖泊——喜马拉雅山南坡的噶龙山光照强烈、雨量充沛,尽管是海拔 4500 多米的高寒地区,山上的草甸依然泛着诱人的翠绿色,冰川和雪山的融水汇集在山梁的低洼处形成了一个又一个的高山湖泊,由于基底的差别和水深的不同,使得纯净清澈的冰雪融水在湖里呈现出不同的颜色,湖面或兰或绿,颜色或深或浅,犹如一块块通透透明的翡翠镶嵌在绿色的绒布之中。兰天下面,白云落在山间,通往墨脱的公路像丝带一样随随便便地缠绕着,一幅美丽的自然生态画卷就这样呈现在你的面前。

彩图提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201107040996

郭鹏, 金华, 尹伟伦, 夏新莉, 姜国斌. 欧美杨水分利用效率相关基因 *PdEPF1* 的克隆及表达. 生态学报, 2012, 32(14): 4481-4487.

Guo P, Jin H, Yin W L, Xia X L, Jiang G B. The cloning and expression of WUE-related gene (*PdEPF1*) in *Populus deltoides* × *Populus nigra*. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(14): 4481-4487.

欧美杨水分利用效率相关基因 *PdEPF1* 的克隆及表达

郭 鹏¹, 金 华¹, 尹伟伦², 夏新莉², 姜国斌^{1,*}

(1. 大连民族学院环境与资源学院, 大连 116600; 2. 北京林业大学 生物学院, 北京 100083)

摘要: 提高植物水分利用效率(WUE)是未来解决我国甚至世界干旱缺水的最重要手段之一。在对植物 WUE 的众多研究方法中, 大多集中在生理手段, 但通过分子生物学手段研究其表达调控机制的较少。欧美杨(*Populus deltoides* × *Populus nigra*)是中纬度地区最适合种植的短轮伐期工业用材集约经营树种之一。近年来我国引进了许多优良的欧美杨无性系用于营造大面积的速生丰产林并取得很好的经济和社会效益。但高耗水量的缺点限制了其进一步的推广。通过基因芯片技术从欧美杨中找到一个可能调控 WUE 的基因-*PdEPF1*。荧光定量表达进一步验证了这一结果。荧光定量表达分析表明该基因受 ABA、盐、冷、干旱等胁迫诱导表达。组织特异表达分析说明 *PdEPF1* 基因在顶端叶和根中有表达, 成熟叶衰老叶中则无表达。克隆到启动子分析表明该启动子含有多重干旱响应元件(drought response element), 赤霉素响应元件(GA response element), 低温响应元件(cold response element), ABA 响应元件(ABA response element)等逆境相关的作用元件。

关键词: 水分利用效率; 欧美杨; *PdEPF1* 基因; 逆境

The cloning and expression of WUE-related gene (*PdEPF1*) in *Populus deltoides* × *Populus nigra*

GUO Peng¹, JIN Hua¹, YIN Weilun², XIA Xinli², JIANG Guobin^{1,*}

1 College of Environment and Resources, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China

2 College of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

Abstract: Water-use efficiency (WUE) is crucial to plant survival, yield and vegetation dynamics. Many researches trended to reduce water use by more crop per drop. Although much progresses have been achieved in determining the physiological mechanisms of WUE, there is few report on the genetic controls of WUE. The first gene ERECTA, which promotes WUE, was shown to decrease stomatal density and be involved in the positive regulation of photosynthetic capacity.

The EPIDERMAL PATTERNING FACTOR 1 (EPF1) gene identified in Arabidopsis is expressed specifically in stomatal cells and precursors. EPF1 controls stomatal patterning through the regulation of asymmetric cell division, its activity depends on the TOO MANY MOUTHS receptor-like protein and ERECTA family receptor kinases, suggesting that EPF1 provides a positional cue interpreted by these receptors. A mutation of EPF1 results in increased stomatal density and violation of the one-cell-spacing rule (clustering of stomata). However, there is no report on the relationship between AtEPF1 and WUE.

基金项目: 国家自然科学基金(31100489); 辽宁省重点农业攻关计划项目“耐旱、耐盐碱速生杨树品种吴屯杨(WTI)的选育”(2008207001); 中央高校基本科研业务费资助项目(DC12010204)

收稿日期: 2011-07-04; 修订日期: 2012-03-13

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jgb@dlnu.edu.cn

The cottonwood poplar, *Populus deltoides*×*Populus nigra*, is one of the most important species in large-scale forestation in China. However, its high water consumption is a key factor limiting its growth in arid and semiarid regions. Identification of genes increasing WUE in this species is important for understanding stress responses and improvement of this species.

In this study, microarray analysis between poplar genotypes NE-19 (*P. nigra*×(*P. deltoides*×*P. nigra*)) with the higher WUE and DN-2 (*P. deltoides*×*P. nigra*) with a lower WUE, was performed. PdEPF1 from NE-19, one of the WUE-related genes, was identified, strongly expressed in immature leaves and roots, but not in senescent leaves, functional leaves and the stem. This gene is strongly induced by drought, abscisic acid and high salt levels, and enhanced by gibberellic acid. To unravel the mechanism responsible for the inducible expression of PdEPF1 by different stresses, a 1090-bp PdEPF1 promoter fragment was isolated by the adaptor PCR with reference to the transcriptional start site determined from the PdEPF1 cDNA sequence. The PdEPF1 promoter contains CAAT and TATA motifs located at nucleotides -204 and -35 relative to the transcriptional start site, respectively. Each of these motifs has characteristics of eukaryotic gene promoters. Interestingly, the 1090-bp promoter region contained several motifs based on the computer prediction, such as a W-box (a GA-responsive element), an MYC binding site, an early response to dehydration binding site, and a controlling guard cell-specific gene expression binding site. This indicates that the stress-inducible expression of PdEPF1 is regulated at the level of transcription.

Key Words: water use efficiency; *Populus deltoides*; PdEPF1 gene; stress

水对生命体有着十分重要的作用,它也影响着地球表面植物的种类和分布^[1]。在影响植物的诸多生态因子中,水分匮乏所造成的危害超过了其它一切逆境因子的总和。随着人口增加,工业化、城市化的加剧,以及全球气候变化,世界性的干旱缺水趋势将继续加重。我国是一个水资源非常匮乏的国家,农林用水占到所用水资源的 70% 左右。除采取工程、农艺措施以及减少农田水分的径流、蒸发、渗漏损失外,依托提高植物本身的水分利用效率(water use efficiency, WUE) 是未来实现生物节水的中心和潜力所在^[2]。

欧美杨树(*Populus deltoides* × *Populus nigra*)是中纬度地区最适合的短轮伐期工业用材集约经营树种之一^[3]。近年来我国引进了许多优良的美洲黑杨无性系用于营造大面积的速生丰产林并已取得很好的经济效益。但欧美杨树虽然速生但耗水量很大。因此,要将其引入水分不足的干旱半干旱地区,筛选高水分利用效率(WUE)的品系是前提^[4]。尽管在生理方面,已经有多种鉴定植物品种之间以及无性系之间水分利用效率的方法^[5]。但探索植物水分利用效率分子生物学方面的研究较少,ERECTA 基因在 2005 年首次在拟南芥中发现可提高植物水分利用效率,其机理是通过降低气孔密度和提高光合反应中心活性^[6]。除此之外,拟南芥 AtEPF1 基因也能够降低气孔密度,进而调控 WUE,但该基因在其它物种特别是木本植物里的研究还未见报道。本文首先鉴定了 3 个无性系之间的水分利用效率的差异性。进而通过基因芯片技术克隆到了一个与水分利用效率相关的基因-PdEPF1 基因。并对该基因的诱导表达和组织特异性表达进行了分析。

1 材料和方法

1.1 试验材料及处理

试验在北京林业大学温室内进行。试验材料为欧美杨杂交无性系, DN-2 (*Populus deltoides*×*Populus nigra*); R-270 (*Populus deltoides*×*Populus nigra*); NE-19 (*Populus nigra*×(*Populus deltoides*×*Populus nigra*))。

无性系插穗于 2008 年 4 月 1 日栽于塑料盆中,盆高 30 cm,内径 25 cm。培养土为苗圃熟土(17 份)、细沙(2 份)、草炭土(1 份)混合而成。土壤饱和持水量为 20.82%,各无性系插穗大小和质量尽可能保持一致,每盆栽 1 株,在充分供水条件下培养。7 月苗高达 30 cm 时开始控水试验至 10 月结束。控水试验采用完全随机区组设计,1 种水分处理:充分供水,饱和土壤含水量的 80%。每个处理每无性系 6 盆,每次浇水在 8:00—9:00 间完成,每月施肥 1 次,充分保证养分的供应。

1.2.1 WUE_L 的测定

长期水分利用效率(long-term water use efficiency, WUE_L)的测定:分别在6月和10月,即控水试验开始前和结束后进行生物量的测定,测定时各处理、各无性系选生长中等的苗木3株,拔出、洗净,放入烘箱中105℃杀青30 min,70℃烘至恒重,用万分之一电子感应天平称重,用减重法测得控水期间生物量的累计值。控水期间生物量与累计浇水量之比即为WUE_L,用每毫升水生成的多少毫克干物质来表示,单位为mg/mL。

1.2.3 *PdEPF1* 基因的基因芯片技术

基因芯片技术由深圳华大基因提供

(1) 总 RNA 的提取

总 RNA 的提取参照改造过的 CTAB 法进行^[7]。

(2) 目的基因克隆及序列测定

以欧美杨叶片为材料提取总 RNA,用宝生物(TaKaRa,大连)试剂盒进行反转录。通过设计引物 GP1: 5'-CA(C/T)CA(A/G)A(G/C)TGAAGC(A/T)GATCC-3' and GP2: 5'-GGAGG(A/G/C)GGCAT(A/G/T)ATGTCAT(A/G)-3'克隆得到 *PdEPF1* 基因全长。PCR 扩增体系体积(25μl),PCR 扩增反应程序为:94℃ 5 min, 预变性后 94℃ 50 s, 58℃ 50 s, 72℃ 1.2 min, 共 35 个循环。目的片段的克隆参照 PMD-18 体系。序列测定由上海生工生物工程有限公司完成。

(3) realtime-PCR 分析

分别摘取 DN-2、NE-19、R-270 顶端叶以及 NE-19 半成熟叶、9—12 功能叶、衰老叶、根用于提取总 RNA, 反转录成 cDNA。

对于 *PdEPF1* 基因的表达分析,选取3株长势类似的欧美杨苗进行研究。盐处理,将2 L 浓度为300 mmol/L NaCl 的盐溶液进行浇灌,并分别在0、2、4、6和12 h 摘取植物顶端叶速冻于液氮中,然后在-80℃超低温冰箱中保存备用。干旱处理,将长势类似的欧美杨苗放于室外自然干旱,并分别在0、1、2、4、8 h 摘取顶端叶置于液氮中,然后在-80℃超低温冰箱中保存备用。ABA 处理采用250 mmol/L ABA 的盐溶液进行处理1、2、4、8、12 h,在-80℃超低温冰箱中保存备用。GA 处理采用200 μmol/L 浓度的溶液进行喷施分别在0 min、0.25 min、0.5 h、1 h、2 h 摘取植物叶片速冻于液氮中,然后在-80℃超低温冰箱中保存备用。

分别提取他们的总 RNA 反转录成 cDNA 用于荧光定量 PCR 分析,其特异引物对为 ER5: 5'-GCATATGAATGATGACCCGAACCTTGC-3' ER3: 5'-GCCTCCTCATGTTGT CTGTGCAGAAAG-3'。

1.2.4 *PdEPF1* 基因启动子的克隆。

根据毛果杨的基因组序列直接设计特异引物在欧美杨基因组里克隆该基因的启动子。其特异引物对为 PER5: 5'-GAATATGTATTATTACACCAAACATAG-3' PER3: 5'-CACTACTTATGATGT CAGTAGATGTTG-3'。

2 结果与分析

2.1 不同水分处理下无性系间长期水分利用效率(WUE_L)差异分析

随着水分胁迫的加重,WUE_L 呈现上升趋势。同一水分处理下,无性系间 WUE_L 差异显著($P<0.01$),结果显示:NE-19 在所有水分处理下表现最优(在充分浇水、中度胁迫、严重干旱时的长期水分利用效率分别为2.41 mg/mL、2.53 mg/mL、2.61 mg/mL),R-270 次之(2.12 mg/mL、2.33 mg/mL、2.25 mg/mL),DN-2 最低(1.98 mg/mL、2.02 mg/mL、2.25 mg/mL)。

2.2 利用芯片技术 *PdEPF1* 基因的获得

为了消除不同父母本之间遗传差异,本文挑选了父母本相同的 DN-2 和 NE-19 作为基因芯片技术的试验材料。结果表明 *PdEPF1* 基因的表达与 WUE 相关联,分别在6月和8月在 WUE 高的 R-270 品系中 *PdEPF1* 基因的表达量也较高。WUE 低的 DN-2 品系中 *PdEPF1* 基因的表达量也较低(图1)。Real-PCR 结果也与基因芯片的结果一致,证明该结果具备可靠性。

2.3 欧美杨 *PdEPF1* 基因核苷酸和氨基酸的序列

对欧美杨 *PdEPF1* 基因核苷酸序列和氨基酸的序列测定分析结果表明 *PdEPF1* 基因 编码360个核苷酸,

120 个氨基酸,其中具有 7 个相同的半胱氨酸(图 2)。相关文献证明这种氨基酸在信号转导过程中具有十分重要的作用。拟南芥 *EPF1* 基因已被证明作为类受体蛋白激酶家族的膜外配体蛋白。其在植物发育过程中意义重大,调控了气孔的发育和分布。

2.4 *PdEPF1* 基因的组织表达

为了确定 *PdEPF1* 基因的组织特异性表达特征,我们分别采取了欧美杨不同组织如顶端叶,功能叶,衰老叶,茎,根。从图中可以看出 *PdEPF1* 基因在未成熟叶和根中表达最高(图 3),这可能是该基因参与了植物生长发育的过程。RT-PCR 与 Real-PCR 结果一致。

2.5 欧美杨 *PdEPF1* 基因在不同胁迫处理下的表达分析

利用荧光定量技术对 *PdERECTA* 基因 NE-19 品系在不同胁迫中的表达特性进行分析。结果显示, *PdERECTA* 基因在盐、冷、脱水、ABA 处理过程中都表达量升高。说明该基因受多种胁迫诱导(图 4)。另外我们在其他品系做的趋势也是这样。RT-PCR 与 Real-PCR 结果一致。

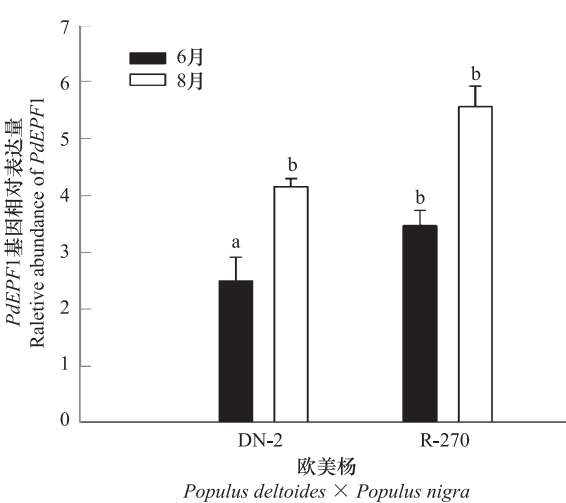


图 1 *PdEPF1* 基因芯片技术的信号值在 DN-2 和 NE-19 无性系之间的差异分析

Fig. 1 comparisons of microarray of *PdEPF1* gene between DN-2 and NE-19 clone

相同字母代表差异不显著,不同字母代表差异显著

1	ATGAAGATTTTGTGCAACATTAGTCATTGCTCTCATTGTCTTCTACGGCCATTTCC
1	M K I F V A T L V I A L I C L P T A I S
61	GCGAGGCACATAGGCAGGCCACGAACACACCATGGGCACCACCATTGACACGGTCTCGA
21	A R H I G R P R T H H G H H H S T R S R
121	ATTAAAGATGGGACGGTGGCACAACCCAATTTCTACAGGGAAAGATGGCCAGCAAAGAGA
41	I K D G T V A Q P N F Y R E R W P A K R
181	AGGGGCGATACTGTCCAAATTGCTGGATCAAGCTTGCCTGATTGTTCTCATGCATGTGGG
61	R G D T V Q I A G S S L P D C S H A C G
241	TCATGCTCACCATGTAGACTAGTAATGGTCAGCTTTATTTGTGCTTCACTGAAGAGGCT
81	S C S P C R L V M V S F I C A S L E E A
301	GAGACCTGTCCCATGGCTTATAATGCATGTGGCATAACAAGTCTTATCCTGTCCCATGA
101	E T C P M A Y K C M W H N K S Y P V P *

图 2 *PdEPF1* 基因的核苷酸序列及推测的氨基酸序列

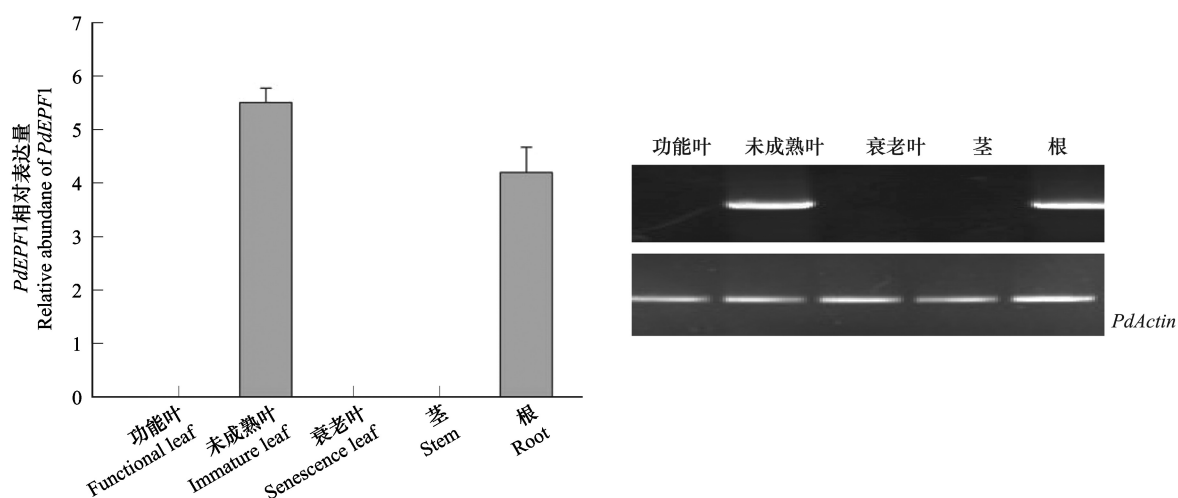
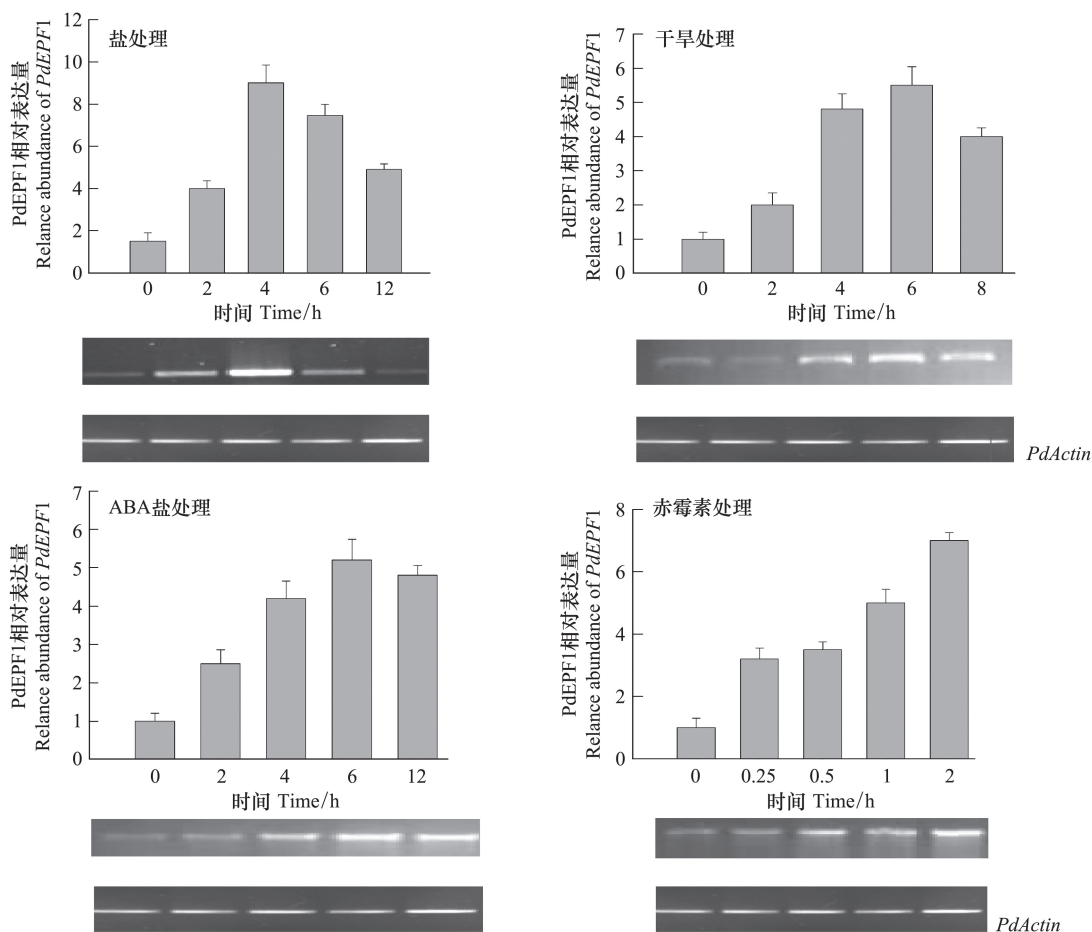
Fig. 2 Full-length nucleotide and deduced amino acid sequences of *PdEPF1*

2.6 欧美杨 *PdEPF1* 基因启动子的序列分析

经测序,获得了大约 1300bp 大小的核苷酸片段,该片段含有典型的 TATA-BOX、CACA-BOX 等元件;另外根据软件预测, *PdEPF1* 基因启动子含有多种抗逆相关的响应元件,包括干旱响应元件(drought response element),赤霉素响应元件(GA response element),低温响应元件(cold response element), ABA 响应元件(ABA response element)等。另外还有我们感兴趣的控制气孔生长的响应元件(stoma response element),这进一步暗示了其可能调控气孔的生长。

3 讨论

植物水分利用效率是蓝色革命更加具体的思想和举措,是未来农业发展的关键和潜力所在^[8]。但水分利用效率是一个调控因素十分复杂的生理指标。它不仅受内在因素影响,同时也为环境因素所调控,并且还受到两因素互作的影响^[9]。杨树为我国北方地区种植面积最大的人工林。其生长快的特点为生产、生活、生态提供了有力的保障,但其“抽水机”的特点也限制了其发挥更大的作用。筛选较高水分利用效率的杨树品种意义重大。我们这里试图通过基因手段来研究北美黑杨水分利用效率应该具有特殊的价值。

图3 欧美杨 *PdEPF1* 基因在不同组织中的表达分析Fig. 3 Tissue-specific expression of *PdEPF1* under normal conditions in *Populus deltoides*×*Populus nigra*图4 欧美杨 *PdEPF1* 基因在不同处理下的表达分析Fig. 4 Expression Patterns of *PdEPF1* in *Populus deltoides*×*Populus nigra*. Error bars represent SE for three independent experiments
实验重复3次

植物水分利用效率在种间有差异已被证明^[10],但种内差异性还并没深入确定。通过 WUE 直接指标即单位耗水生物量的积累和间接指标即稳定碳同位素证明了北美黑杨在无性系之间也存在差异。这为筛选高水

-1090 AAAATTAAAC ATTATTATTA GTATTAGTAT ATTAGTATTA TTCTTAATAT TAGTATTATT
-1030 ATTAATATTA TTATGATTAT TATTATTATT ATCATCATT TTAATATTCT TAATATTAGT
-970 ATTACTATTA ATATTTATTA CACGGGATCA GTTTTACCAT GTCAGCACAC CCATGCTATC
-910 AGCAGCAGCC AGTCATTCTT CATGCACAGT ACTTGTGTGG CTGCAACGAT GGGATACACG
-850 GGAACAACAA TAAAGAAGGA GACGACAATT ATCCATGAAG GCGCAGGGAA AAGAGTAAAA
TAAAGSTKST1
-790 CAAGTTCATT TAAGCCCCAG GCCTGACCTT CACGTTTATG GCAGGCCTTC ACAGTAGTCC
W BOX AGCT
-730 TTCACGCTCTG TGAATAGGAA TAGGAACCTT TCTTCTATAT ATTTTTTTTAC TGTTCACGTT
AGCT MYC
-670 GAACTAGCCA ATTTAAAGCT AGAGTACCAA GTGGTATTGT TCACTCAAAT ATAGTAAATG
TAAAGSTKST1 MYC
-610 CGCATAAAAG AACACATTCA AATGAATGTT GTGTCATGAT TTGCCACACT AGATCCATAA
MYC
-550 TTCTTCTCTT TCTGGTCAAT CTCTTGTTAC TATCTCAGGC ACATAAATGA ATGCTGGTCC
-490 TCTAGATATG TAGTTTCTGA ACCCTTACGA GGAATAATTG GCTTTTATT CATTAATAAA
-430 TCACTTGCTT GGCTTAATTT GTAGAGAGAT TTTGTCATGT TAACGATTGT TTGGCCTAAT
MYC
-370 TCATGACAAC TATTTTGCTG AATTTCCCTC CCAGTTTCTT TTTTCTTCTT TTGGGGCCCG
W BOX Pyrimidine BOX
-310 TTTGCAATTT TTTTGTGGGT GTTTAGGCAA GTACCAATGC AGCTATAGAA CATTTTGCAT
-250 AATAAAAAA GAAATGGACG GCAATATTAG TTGACTATCC AGACAATGGT CAGTAATACT
W BOX CAATBOX
-190 AGTTGACCAT CCAGATGTGC AGCTGTTTCA TGTGTTGAGA ATTGAATGCA GTATTCAAAC
W BOX MYC MYC MYC
-130 TGTACTTATG ATTTTAAATA TACTTCTGTT GAATGTTTCA TTAAAGCTTT GATGTGTGTG
TAAAGSTKST1
-70 TGTGTGTGTG TGTGTGTGTG TTTTGATTTA TTTTCATGAA CTCACCAAAA CATGTGAAAC
TATABOX MYC
-10 CTTCATAATT AAGATAGCCG TGGATCATGT GAAGTGTATC AGGTGTACTT CCATTTACAT
+1
+50 TTAAACCGA CCCCTTTCCC TCCTTGTAAG ATTTATATAT TCAGCTACTC ACTTGTC AAC
LTRECORE
+110 TCCACTCAGC AACTTCTTTC TTGCAAGATC TCTTCTCTCA CATTCTTTT CCTTTTCTAG
+170 GATTTAAGTA TTTCTTGATC AAGTTTCCCA GAAGGAAGCA ATGAAGTTCT TAGTTGGAGC
+230 CCACAAATCT ATGAAGATTT TTGTTGCAAC ATTAGTCATT GCTCTCATTT GTCTTCTTAC
M K I F V A T L V I A L I C L P

图5 *PdEPF1* 基因启动子在 PLACE 数据库里顺式作用元件

Fig. 5 The cis-element of *PdEPF1* promoter in the PLACE database

分利用效率品系提供了更多的手段(表1)。

表1 3个欧美杨无性系(DN-2、R-270、NE-19)之间长期水分利用效率差异比较

Table 1 Comparison of WUE_L among different *Populus deltoides*×*Populus nigra* clones (DN-2、R-270、NE-19) under different water treatments

处理 Treatment	无性系 Clones	生物量/mg Biomass	耗水/mL Water deprivation	水分利用效率/(mg/mL) WUEL
充分浇水 Water well	DN-2	2.37×10 ⁵ ±3000B	1.20×10 ⁵ ±5000C	1.98±0.12C
	R-270	2.59×10 ⁵ ±2000B	1.22×10 ⁵ ±4000B	2.12±0.14B
	NE-19	2.96×10 ⁵ ±3000A	1.23×10 ⁵ ±6000A	2.41±0.16A
轻度胁迫 Moderate drought	DN-2	1.51×10 ⁵ ±1000B	0.75×10 ⁵ ±4000C	2.02±0.06C
	R-270	1.893×10 ⁵ ±2000A	0.76×10 ⁵ ±6000A	2.33±0.1B
	NE-19	1.897×10 ⁵ ±1000A	0.75×10 ⁵ ±7000BC	2.53±0.08A
严重胁迫 Serious drought	DN-2	1.01×10 ⁵ ±1000B	0.45×10 ⁵ ±5000C	2.25±0.1C
	R-270	1.16×10 ⁵ ±2000A	0.46×10 ⁵ ±6000A	2.54±0.12B
	NE-19	1.17×10 ⁵ ±1000A	0.45×10 ⁵ ±8000BC	2.61±0.08A

* 多重比较采用 q 检验,显著性水准为 0.01,不同字母表示差异显著

AtEPF1 基因在拟南芥中被证明的与气孔发育负相关的核酸片段^[11],它由 360 个核苷酸组成,作为 *ERECTA* 和 *TMM* 基因家族的膜外受体的配体,对于改变气孔结构进而调控植物的光合能力作用很明显。黑杨 *ERECTA* 基因已被证明可以提高植物的水分利用效率,因此在黑杨基因组中研究 *PdEPF1* 基因意义重大^[12]。另外基因芯片技术发现了一个可能控制水分利用效率的 *AtEPF1* 的同源基因。该基因也是有 360bp,

编码 120aa。其与拟南芥中的 *AtEPF1* 具有较高的同源性。其氨基酸同源性达 52%。他们具有 7 个相同的半胱氨酸。相关文献证明这种氨基酸在信号转导过程中具有十分重要的作用。这也暗示了 *PdEPF1* 作为一种小分子量蛋白可能也跟 HSP 等蛋白一样具有分子伴侣的作用,通过与靶蛋白的相互作用从而改变其构象,进而改变蛋白活性(图 1,图 2)。

为了进一步了解 *PdEPF1* 基因在不同胁迫条件下的表达,利用 RT-PCR 和荧光定量 PCR 方法对黑杨 *PdEPF1* 基因的表达进行了分析。所有的材料是从一年生 R-270 品系中获得。并经液氮处理保存。结果表明 *PdEPF1* 在低温,干旱,高盐等逆境胁迫中表达量均有升高,但在 ABA 处理中 *PdEPF1* 基因快速积累并在 8h 达到峰值,说明该基因参与了依靠 ABA 途径的信号转导模式。在盐胁迫处理时,*PdEPF1* 基因被诱导表达明显,当处理 4h 时表达量达到最大值,约为对照值的 5 倍;在干旱处理下,*PdEPF1* 基因开始并没有快速积累,但处理 6h 后也达到了表达量的最大值(约为对照值的 4 倍),这暗示其参与了渗透调节作用。在 GA 处理下,*PdEPF1* 基因表达量 2h 之内达到最大值,暗示了其可能参与了植物的生长发育(图 3,图 4)。

以往是通过研究植物在逆境胁迫下产生的基因来解决植物的抗逆问题,本研究通过发育相关的基因来解决这个问题。这将是抗逆分子生物学的一个新的思路和途径。

致谢:感谢北京林业大学生物学院尹伟伦院士的帮助。

References:

- [1] Zhao F J, Shen Y B, Gao R F, Su X H, Zhang B Y. Physiological foundation for the differences of long term water use efficiency among *Populus deltoides* clones. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(7): 2079-2086.
- [2] Zhao F J, Shen Y B, Gao R F, Su X H, Zhang B Y. A study on foliar carbon isotope composition (^{13}C) and water use efficiency of different *Populus deltoides* clones under water stress. *Scientia Silvae Sinicae*, 2005, 25(11): 2250-2258.
- [3] Zhao F J, Gao R F, Shen Y B, Su X H, Zhang B Y. Differences among the Leaf ^{13}C , long-term Water use efficiencies and photosynthetic capabilities of different populus deltoids clones. *Scientia Silvae Sinicae*, 2005, 41(1): 36-41.
- [4] Zhao F J, Shen Y B, Gao R F, Su X H. The relationship between Leaf ^{13}C and Long-term Water use efficiencies. *The Journal of Beijing Forestry University*, 2006, 28(6): 40-45.
- [5] Lin Z F, Li S S, Lin G Z. The distribution of stomata and photosynthetic pathway in leaves. *Acta Botanica Sinica*, 1986, 28(4): 387-395.
- [6] Masle J, Gilmore S R, Farquhar G D. The *ERECTA* gene regulates plant transpiration efficiency in *Arabidopsis*. *Nature*, Vol 436 | 11 August 2005 | doi: 10. 1038/nature.
- [7] peng guo xin-li xia wei-lun yin A role for stomata in regulating water use efficiency in *Populus×euramericana* and characterization of a related gene, *PdERECTA*. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 10(36), pp. 6904-6912, 18 July, 2011
- [8] Zhang Z B, Shan L. The comparative studies on water use efficiency of flag leaves in wheat. *Chinese Science Bulletin*, 1997, 42(17): 1876-1881.
- [9] Yang JW, Liang ZS, Han RL, Cui LJ. The influence of four species of WUE in different water content. *Journal of Northwest Forestry University*. 2004, 19(1): 9-13.
- [10] Zhang ZB, Xu P, Jia JZ. The research of molecular genetic Crop drought resistance. *Chinese Agricultural Science and Technology*, 2000, (5): 20-22.
- [11] Torii K U. The *Arabidopsis ERECTA* Gene Encodes a Putative Receptor Protein Kinase with Extracellular Leucine-Rich Repeats. *The Plant Cell*, 1996, 8: 735-746.
- [12] Shigeo S. Sugano, Tomoo Shimada, Yu Imai, Katsuya Okawa, Atsushi Tamai. Stomagen positively regulates stomatal density in *Arabidopsis*. *Nature*, 2010, doi: 10. 1038.

参考文献:

- [1] 赵凤君, 沈应柏, 高荣孚, 苏晓华, 张冰玉, 黑杨无性系间长期水分利用效率差异的生理基础, *生态学报*, 2006, 26(7): 2079-2086.
- [2] 赵凤君, 沈应柏, 高荣孚, 苏晓华, 张冰玉, 黑杨杂交无性系间叶片 ($\delta^{13}\text{C}$)、长期水分利用效率和光合特性, *西北植物学报*, 2005, 25(11): 2250-2258.
- [3] 赵凤君, 高荣孚, 沈应柏, 苏晓华, 张冰玉, 水分胁迫下美洲黑杨不同无性系间叶片 ($\delta^{13}\text{C}$) 和水分利用效率的研究, *林业科学*, 2005, 41(1): 36-41.
- [4] 赵凤君, 沈应柏, 高荣孚, 苏晓华, 张冰玉, 叶片 ($\delta^{13}\text{C}$) 与长期水分利用效率的关系, *北京林业大学学报*, 2006, 28(6): 40-45.
- [5] 林植芳, 彭长连, 林桂珠. 叶片气孔的分布与光合途径. *植物学报*, 1986, 28(4): 387-395
- [8] 张正斌, 山仑. 小麦旗叶水分利用效率比较研究. *科学通报*, 1997, 42(17): 1876-1881.
- [9] 杨建伟, 梁宗锁, 韩蕊莲, 崔浪军. 不同土壤水分含量对 4 个树种 WUE 的影响. *西北林学院学报*, 2004, 19(1): 9-13.
- [10] 张正斌, 徐萍, 贾继增. 作物抗旱节水分子遗传研究进展. *中国农业科技导报*, 2000, (5): 20-22.

CONTENTS

Growth and physiological adaptation of <i>Messerschmidia sibirica</i> to sand burial on coastal sandy	WANG Jin, ZHOU Ruilian, ZHAO Halin, et al (4291)
Alleviation effect and mechanism of exogenous potassium nitrate and salicylic acid on the growth inhibition of <i>Pinus tabulaeformis</i> seedlings induced by deicing salts	ZHANG Ying, LI Fayun, YAN Xia, et al (4300)
Influence of different spatial-scale factors on stream macroinvertebrate assemblages in the middle section of Qiantang River Basin	ZHANG Yong, LIU Shuoru, YU Haiyan, et al (4309)
Species diversity and distribution pattern of non-volant small mammals along the elevational gradient on eastern slope of Gongga Mountain	WU Yongjie, YANG Qisen, XIA Lin, et al (4318)
A patch-based method for mechanism analysis on spatial dynamics of mangrove distribution	LI Chungan, LIU Suqing, FAN Huangqing, et al (4329)
Nutrient heterogeneity in fine roots of six subtropical natural tree species	XIONG Decheng, HUANG Jinxue, YANG Zhijie, et al (4343)
Variation of vegetation NDVI and its response to climate change in Zhejiang Province	HE Yue, FAN Gaofeng, ZHANG Xiaowei, et al (4352)
Heterogeneity in fine root respiration of six subtropical tree species	ZHENG Jinxing, XIONG Decheng, HUANG Jinxue, et al (4363)
Characteristics of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea abundance in soil organic layer under the subalpine/alpine forest	WANG Ao, WU Fuzhong, HE Zhenhua, et al (4371)
Effect of tillage systems on light fraction carbon in a purple paddy soil	ZHANG Junke, JIANG Changsheng, HAO Qingju, et al (4379)
Effects of prescribed fire on carbon sequestration of long-term grazing-excluded grasslands in Inner Mongolia	HE Nianpeng, HAN Xingguo, YU Guirui, et al (4388)
Stoichiometry of carbon dioxide and methane emissions in Minjiang River estuarine tidal wetland	WANG Weiqi, ZENG Congsheng, TONG Chuan, et al (4396)
Distribution and sources of particulate organic carbon in the Pearl River Estuary in summer 2010	LIU Qingxia, HUANG Xiaoping, ZHANG Xia, et al (4403)
The glucose-utilizing bacterial diversity in the cold spring sediment of Shawan, Xinjiang, based on stable isotope probing	CHU Min, WANG Yun, ZENG Jun, et al (4413)
Culture-dependent and culture-independent approaches to studying soil microbial diversity	LIU Guohua, YE Zhengfang, WU Weizhong (4421)
The classification of plant functional types based on the dominant herbaceous species in the riparian zone ecosystems in the Yiluo River	GUO Yili, LU Xunling, DING Shengyan (4434)
Genetic diversity of different eco-geographical populations in endangered plant <i>Prunus mongolica</i> by ISSR Markers	ZHANG Jie, WANG Jia, LI Haoyu, ZHANG Huirong, et al (4443)
Ecophysiological characteristics of higher-latitude transplanted mangrove <i>Kandelia candel</i> in strong tidal range area	ZHENG Chunfang, QIU Jianbiao, LIU Weicheng, et al (4453)
The effect of artificial warming during winter on white clover (<i>Trifolium repens</i> Linn): overwintering and adaptation to coldness in late spring	ZHOU Ruilian, ZHAO Mei, WANG Jin, et al (4462)
Estimating fine root production and mortality in subtropical <i>Altingia grailipes</i> and <i>Castanopsis carlesii</i> forests	HUANG Jinxue, LING Hua, YANG Zhijie, et al (4472)
The cloning and expression of WUE-related gene (<i>PdEPF1</i>) in <i>Populus deltoides</i> × <i>Populus nigra</i>	GUO Peng, JIN Hua, YIN Weilun, et al (4481)
The allelopathy of aquatic rhizome and root extract of <i>Thalia dealbata</i> to seedling of several aquatic plants	MIAO Lihua, WANG Yuan, GAO Yan, et al (4488)
Effect of the avirulent strain of <i>Ralstonia solanacearum</i> on the ecological characteristics of microorganism fatty acids in the rhizosphere of tobacco	ZHENG Xuefang, LIU Bo, LAN Jianglin, et al (4496)
Coupling remotely sensed information with a rice growth model by combining updating and assimilation strategies	WANG Hang, ZHU Yan, MA Mengli, et al (4505)
Effects of water temperature and body weight on metabolic rates of Yellowtail clownfish <i>Amphiprion clarkii</i> (Pisces: Perciformes) during larval development	YE Le, YANG Shengyun, LIU Min, et al (4516)
The distribution of chlorophyll a in the Southwestern Indian Ocean in summer	HONG Lisha, WANG Chunsheng, ZHOU Yadong, et al (4525)
Evaluation of the effects of ecological remediation on the water quality and biological toxicity of Dagou Drainage River in Tianjin	WANG Min, TANG Jingchun, ZHU Wenyong, et al (4535)
Quantitative dynamics of adult population and 3-D spatial pattern of <i>Ceoporus variabilis</i> (Baly)	WANG Wenjun, LIN Xuefei, ZOU Yunding, et al (4544)
Review and Monograph	
Studies on urban heat island from a landscape pattern view: a review	CHEN Ailian, SUN Ranhao, CHEN Liding (4553)
Sediment quality triad and its application in coastal ecosystems in recent years	WU Bin, SONG Jinming, LI Xuegang, et al (4566)
Discussion	
Food waste management in China: status, problems and solutions	HU Xinjun, ZHANG Min, YU Junfeng, et al (4575)
Scientific Note	
Effects of microchemical substances in anaerobic fermented liquid from rice straw and cyanobacteria on <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i> growth	LIU Aimin, XU Shuangsoo, CAI Xin, et al (4585)
Ecological benefit-loss analysis of agricultural ecosystem in Foshan City, China	YE Yanqiong, ZHANG Jiaen, QIN Zhong, et al (4593)

《生态学报》2012 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的自然科学高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 70 元/册,全年定价 1680 元。

国内邮发代号:82-7 国外邮发代号:M670 标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 32 卷 第 14 期 (2012 年 7 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 32 No. 14 (July, 2012)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:1000717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元