

PopbZIP2 与 PopMYB4 互作协同调控林木生长与抗性

谢剑波¹

(北京林业大学 林木花卉遗传育种教育部重点实验室 林木育种国家工程实验室 北京 100083)

摘要: bZIP 转录因子参与植物不定根再生和抗逆, 因此全面揭示杨树响应胶孢炭疽菌转录调控机制并且鉴定关键基因的分子功能, 为杨树炭疽病的防治提供理论依据。采用 PCR 技术从 84K 杨 cDNA 中扩增 *PopbZIP2* 基因, 对其编码的蛋白序列进行理化性质分析。利用生物信息学分析, 对该蛋白的保守结构域、进化关系、亲疏水性、跨膜区域、信号肽、磷酸化位点、二级结构进行分析。采用农杆菌介导的烟草叶片瞬时转化试验分析蛋白亚细胞定位情况; 通过酵母转化筛选试验分析蛋白的转录激活活性; 通过 RT-qPCR 分析基因的时空表达模式; 借助基因共表达及功能注释与富集分析解析基因集参与到的生物学过程和代谢通路。之后利用生物信息学方法和分子实验验证 *PopbZIP2* 的分子功能。*PopbZIP2* 具有典型的 bZIP 结构域和 C 端激活区, *PopbZIP2* 为核定位蛋白, 且在酵母中具有转录激活活性。基因时空表达模式分析结果表明, *PopbZIP2* 在 84K 杨的茎和叶中均有表达, 且主要在植物的成熟叶片中进行表达, 在 120 h 对胶孢炭疽菌的响应最为显著。利用愈伤法构建 *PopbZIP2* 的过表达株系后, 对其生理指标进行一系列的测定, 发现该基因的过表达植株的根、茎、叶和木质部宽度均显著优于野生型且利用胶孢炭疽菌孢子液侵染野生型和过表达植株发现 *PopbZIP2* 过表达后增强植物抗病性。结合过表达植株的 RNA-seq 结果和 DAP-seq 的结果鉴定到 *PopbZIP2* 可以直接靶向两个与抗病相关的基因 *PopAPAI* 和 *PopGRF3* 增强植物抗病, 靶向两个生长相关基因-*PopYUCCA2* 和 *PopSAUR32* 加速植物生长。通过酵母双杂实验筛库发现从蛋白水平上 *PopbZIP2* 可以与 *PopMYB4* 发生互作, 互作后减弱 *PopbZIP2* 的 DNA 结合活性。最终阐明了 *PopbZIP2*/*PopMYB4* 的相对丰度决定了植物在应对病原菌胁迫上花费多少能量。当 *PopbZIP2* 的含量高于 *PopMYB4* 时, 植物对病原菌有积极响应, 表现出花青素积累、生长素和赤霉素合成和信号转导通路激活等, 因此表现抗病和加速生长; 当 *PopMYB4* 的含量高于 *PopbZIP2* 时, *PopbZIP2* 的功能受到抑制, 植物表现出生长抑制和易感表型, 最终协同植物的生长和抗病过程。84k *PopbZIP2* 可以通过激活抗病和生长相关途径的关键酶基因和其他转录因子的表达调控植物生长和抗性。