

杨树 *PtCAF1I* 基因在生长发育和病原防御中的功能机制研究

王璞 李红岩 诸葛强 孙伟博*

(南京林业大学生命科学学院 南京 210037)

摘要:【目的】碳分解代谢物阻遏因子 4 (carbon catabolite repression 4, CCR4) 相关因子 1 (CCR4-associated factor 1, CAF1) 在真核生物 mRNA 脱腺苷化过程中发挥重要作用, 同时参与植物的生长和胁迫应答调控。本研究对杨树 CAF1 家族进行鉴定, 通过分析其家族成员的功能和表达特征, 解析杨树 CAF1 参与抗逆调控的分子机理, 为杨树遗传改良提供理论基础和实验依据。【方法】选用毛果杨作为试验材料, 进行杨树大斑病病原侵染试验, 结合生物信息学手段筛选并克隆目的基因, 构建 GFP 表达载体进行亚细胞定位。分别选取毛果杨、“南林 895” 杨和山新杨的不同组织进行 qRT-PCR 检测, 比较 *PtCAF1I* 在杨树组织中的表达差异。选用山新杨为试验材料, 分别设置 200 mM NaCl, 10 % PEG₆₀₀₀, 30 % H₂O₂ 等处理条件模拟多种非生物胁迫进行转录组分析, 研究 *PtCAF1I* 在非生物胁迫下的表达特性。通过农杆菌转化获得过表达 *PtCAF1I* 杨树植株, 比对其与非转基因组间的表型、生理指标及病原抗性差异, 结合 qRT-PCR 测定病原处理下水杨酸 (SA) 和茉莉酸 (JA) 通路关键基因的表达情况, 解析 *PtCAF1I* 调控杨树抗病的分子机理。

【结果】克隆获得毛果杨 *PtCAF1I* 基因的全长序列, 其编码蛋白包含三个高度保守的基序, 与拟南芥、桉树等 13 个物种的 CAF1 蛋白序列具有高度相似性。亚细胞定位表明该蛋白在细胞核内表达。qRT-PCR 试验结果表明, *PtCAF1I* 在毛果杨、“南林 895” 杨和山新杨不同组织中的表达量存在差异, 但在三种杨树叶片中的表达量均分别高于茎中表达量, 表达模式具有一定的保守性。*PtCAF1I* 对于脱落酸 (ABA)、SA、JA、NaCl、PEG₆₀₀₀、H₂O₂ 和低温胁迫均有不同程度的响应。转录组测序结果显示, DEG 主要集中在苯丙氨酸合成、次级代谢物合成和碳代谢途径中。筛选获得 6 个 *PtCAF1I* 过表达杨树株系, 其纤维素、半纤维素、木质素、总糖、黄酮含量和细胞壁厚度均显著高于野生型植株。病原侵染试验结果表明, 过表达植株叶片上的病斑数目及大小显著低于野生型, 对杨树大斑病病菌的抗性显著提高。【结论】*PtCAF1I* 介导的病原防御反应通过调控 SA 和 JA 信号通路实现, 过表达 *PtCAF1I* 能够提高杨树细胞壁厚度和促进杨树生长, 同时提高杨树的抗病能力。