

山新杨 PdbNAC17 基因调控耐盐和次生壁形成的分子机制

温盛瑄^{1,2}, 王璐瑶^{1,2}, 姜琦^{1,2}, 闫明龙^{1,2}, 刚碧瑶^{1,2}, 国会艳^{1,2*}

(1. 沈阳农业大学林学院 辽宁沈阳 110866; 2. 沈阳农业大学辽宁省林木遗传育种重点实验室 辽宁沈阳 110866)

摘要: NAC (NAM, ATAF 1/2 和 CUC 2) 转录因子是广泛存在于植物中的转录因子家族之一, 在植物生长和发育中具有重要的调节作用。在实验室前期的研究中发现, 山新杨 (*Populus davidiana* × *P. bolleana*) 的 PdbNAC17 基因响应盐胁迫并参与次生壁形成, 但其分子机制研究还不清楚, 因此, 本研究深入解析了该基因的功能和调控耐盐和次生壁形成的机理, 为培育山新杨材质优良及耐盐的新品种提供新思路, 研究结果如下:

构建 pBI121-PdbNAC17-GFP 载体, 利用基因枪技术进行亚细胞定位, 结果显示 PdbNAC17 基因定位于细胞核。利用农杆菌介导法, 通过实验室前期构建好的 pEgP237- PdbNAC17 获得了该基因的纯合编辑山新杨株系, 对转基因山新杨盐胁迫处理后, 进行组织化学染色及生理指标检测, 结果表明, 与野生型山新杨相比, PdbNAC17 过表达植株的耐盐能力更强, 而基因编辑载体植株的耐盐能力较差。盐胁迫的 qRT-PCR 分析显示, 与野生型相比, 与抗逆和次生壁形成相关的一些基因在 PdbNAC17 过表达和基因编辑株系中发生了明显的上调或下调, 表明该基因可以通过调控这些基因的表达来提高山新杨的耐盐及次生壁形成的能力。并且发现, 在盐处理后, 与野生型山新杨相比, PdbNAC17 过表达植株的株高、根长和鲜重较高, 而基因编辑载体植株的表型相反, 说明该基因能提高山新杨的耐盐能力。

将 PdbNAC17 基因过表达、基因编辑和野生型山新杨盆栽苗分别进行盐胁迫, 并以水浇灌作为对照, 将茎横切, 然后对木质素和纤维素进行染色, 结果表明, 在盐胁迫下, 该基因过表达山新杨的次生壁发育程度比野生型高, 基因编辑载体株系的则相反, 表明该基因可以通过促进次生壁的发育来提高植物的耐盐性。

对野生型、PdbNAC17 过表达和基因编辑株系的根和茎进行盐胁迫后的 RNA-Seq 分析。通过进行 GO、COG 和 KEGG 以及聚类分析, 结果发现一些显著富集的基因, 其中包括抗逆相关及次生壁合成相关的 MYB、bHLH 和 NAC 等转录因子功能基因, 表明 PdbNAC17 基因可能调控这些基因的表达影响山新杨的抗逆及次生壁的形成。

利用转录因子为中心的酵母单杂交技术, 研究了 PdbNAC17 结合的顺式作用元件, 结果发现 PdbNAC17 转录因子能结合 3 个顺式作用元件: 碳代谢相关 DOFCOREZM (AAAG), 以及两个未知功能的新元件 CAAG-box ((C/A) (A/G) AG) 和 ACCGAG-box (ACNGA (G/T)), ChIP-PCR 进一步验证 PdbNAC17 能够与抗逆和次生壁形成相关基因启动子上的元件结合, 从而调控这些基因的表达。