

Pto-miR6427 对杨树响应干旱的调控机制研究

杨玉璋, 付田田, 刘家豪, 王延伟*

(林木遗传育种全国重点实验室, 林木育种与生态修复国家工程研究中心, 林木花卉遗传育种教育部重点实验室, 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083)

摘要:【目的】社会上对气候变化和环境问题的关注日益增加, 植物在抵御干旱等自然灾害中扮演着重要角色。然而, 长期生长的植物在应对干旱条件的调节机制尚不清楚, 这也是当前研究领域的一个难题。MicroRNAs (miRNAs) 调节靶 mRNA 的丰度和时空积累, 间接调控各种复杂的生物过程。然而, 在多年生树木中, miRNA-靶基因模块在抗旱性调控中的作用研究较少。*Pto-miR6427* 是杨树特异性 MIR 基因, 可以产生 miR6427-5p 和 miR6427-3p。本文旨在研究 miR6427-5p 和靶基因在杨树响应干旱的调控作用。【方法】利用农杆菌叶盘转化法获得过表达 *Pto-miR6427* 和抑制表达 miR6427-5p 转基因杨树。对转基因杨树和野生型杨树进行干旱胁迫处理, 比较其对干旱的耐受性的差异。通过过表达 *Pto-miR6427* 杨树和野生杨树的转录组分析耐受性不同的原因。通过杨树的降解组预测并通过烟草共转化鉴定 *Pto-miR6427* 的靶基因。分析 *Pto-miR6427* 的靶基因的亚细胞定位、表达模式和互作蛋白, 获得 *Pto-miR6427* 的靶基因过表达转基因株系, 对该株系和野生型杨树进行干旱处理, 比较其对干旱的耐受性的差异, 深入剖析 *Pto-miR6427* 对杨树响应干旱的调控机制。【结果】1) 在干旱应激和复水后, 野生型杨树中 *Pto-miR6427* 前体和 miR6427-5p 的表达水平显著下调。*Pto-miR6427* 的过表达抑制了 *SnRK2.6*、*RbohD* 和 *MPK3* 等干旱响应基因的表达, 影响了杨树在干旱应激期间的气孔导度和 ROS 清除能力, 增加了杨树对干旱的敏感性。相反, 抑制 miR6427-5p 的表达则增加了 *RbohD* 和 *MPK3* 基因的表达, 增加了 ABA 含量, 增强了杨树对干旱的耐受性。2) *CDSP32* 是 miR6427-5p 的靶标, 其表达水平与杨树对干旱的耐受性呈正相关。3) *CDSP32* 蛋白位于叶绿体中, 属于 TRX 家族, 其表达在干旱胁迫下先下降后上升, 且在叶片中表达较高。过表达 *CDSP32* 增加了杨树对干旱的抗旱性。4) 构建了基于 *PtrCDSP32* 的蛋白互作网络, 鉴定了其互作蛋白 B9HBQ7_POPTR (Ptr2-Cys_Prx_B) 和 B9IIN3_POPTR (PtrBAS1), 该互作蛋白和拟南芥 2-Cys_Prx_B 和 BAS1 蛋白高度保守。GO 活性和 KEGG 通路分析其均和氧化还原稳态有关。【结论】1) *Pto-miR6427* 通过 miR6427-5p 影响了 ABA 的合成, 进而微调了杨树对干旱的耐受能力。2) *CDSP32* 的表达受干旱诱导, 且 mRNA 被 miR6427-5p 靶向切割。3) *CDSP32* 和底物蛋白结合形成二聚体, 参与保持杨树在干旱条件下的 REDOX 稳态, 其丰度影响杨树对干旱的耐受性。