

杨树木瓜样半胱氨酸蛋白酶家族的全基因组鉴定及 *PeRD19A* 响应盐胁迫的功能验证

龙连香^{1,2}, 孟鑫^{1,2}, 于晓月^{1,2}, 王世杰^{1,2}, 王进茂^{1,2*}, 杨敏生^{1,2*}

(1 河北农业大学林学院森林生物技术研究, 保定 071000; 2 河北省林木遗传资源与森林保护重点实验室, 保定 071000)

摘要: 在自然环境中生长的林木往往会面临多种非生物胁迫, 如干旱胁迫、盐胁迫等。这些来自外界的胁迫不仅会阻碍植物的正常生长发育, 还给林业生产带来极大的经济损失。半胱氨酸蛋白酶在植物的程序性细胞死亡、细胞衰老以及应对逆境胁迫等方面已被充分发掘和研究。探究阐述半胱氨酸蛋白酶 (PLCPs) 在杨树耐盐机制中发挥的功能对耐盐树种的定向培育有较重要的意义。利用生物信息学技术对杨树 *P. trPLCPs* 家族进行全基因组鉴定; 克隆 *PeRD19A* 基因并构建过表达载体, 对‘北林 1 号’杨 [*P. tomentosa* × *P. bolleana*) × (*P. alba* × *P. glandulosa*)] 进行遗传转化; 以野生型杨树为对照, 对各株系 *PeRD19A* 进行 qRT-PCR 检测, 挑选相对表达量较高的株系开展盐胁迫试验并进行生长和生理指标的测定及转录组测序, 挖掘与 *PeRD19A* 可能存在互作关系的耐盐相关蛋白及其调控机制。鉴定出了 47 个 *PtrPLCPs* 基因, 根据其进化系统发生将其分为 9 个亚家族: RD21, CEP, XCP, XBCP3, SAG12, RD19, ALP 和 CTB, 包括 THI 亚组丢失。非生物胁迫表达谱分析表明, 47 个 *PtrPLCPs* 基因受低温、干旱、盐等多种胁迫诱导, 其中对盐胁迫更为敏感, 选择盐胁迫下与对照相比差异倍数最大的 *RD19A* 进行研究。生理指标测定表明, *PeRD19A* 基因在盐胁迫下通过增强活性氧清除能力来增强过表达植株对盐胁迫的耐受性。转录组分析发现 OE 植株可能通过乙醛酸和二羧酸代谢途径调节多条初生代谢途径并产生更多的 NADPH 和 H⁺, 提供能量来支持类黄酮、木质素这些化合物的合成, 增强植物的抗氧化能力和细胞壁的机械强度来防止细胞损伤, 帮助植物应对盐胁迫。我们提出过表达 *PeRD19A* 杨树响应盐胁迫的调控机制。一方面, 盐胁迫使杨树积累过多的 H₂O₂, *PeRD19A* 响应 H₂O₂ 信号, 调控质膜 V-H⁺-ATPase 的表达, 参与 Na⁺、Ca²⁺ 等的运输, 过量的 H₂O₂ 被分解为 H₂O 和 O₂。另一方面, 盐胁迫激活了杨树的抗氧化系统, SOD、POD、CAT 等酶活性增强, 类黄酮、木质素等化合物的合成提高, 协作清除过量的 ROS, 提高了杨树的耐盐性。本研究结果为今后杨树 *PtrPLCPs* 基因家族的功能基因组研究提供了有价值的信息。