

杨树细胞分裂素脱氢酶 PagCKX7 对维管组织发育的影响

王徐泽, 卢泳全, 卢孟柱, 张进*

省部共建亚热带森林培育国家重点实验室, 浙江农林大学, 浙江杭州, 311300

*通信作者: zhangji@zafu.edu.cn

摘 要:【目的】杨树作为一种木本模式植物, 具有生长快、轮伐期短等优点, 对解决木材需求问题具有重要价值。细胞分裂素脱氢酶 (CKX) 是细胞分裂素代谢中的关键酶, 控制着细胞分裂素的降解, 从而影响植物的生长和发育。然而, CKX 在木材发育过程中的具体功能和机制仍需进一步探索。【方法】本研究以 84K 杨 (*Populus alba* × *P. glandulosa*) 为材料, 通过生物信息学分析筛选分析 CKX 基因家族在维管组织发育过程中的表达模式, 选取在维管组织表达量较高的 *PagCKX7* 进行研究。创制 *pPagCKX7::GUS* 转基因杨树后通过 GUS 染色以及亚细胞定位观察 *PagCKX7* 的表达模式; 构建过表达和 Crispr/Cas9 的 CKX 基因编辑杨树后进行表型观察; 通过酵母双杂交实验、双荧光素酶报告实验和凝胶迁移实验, 寻找 CKX 的互作蛋白及其调控机制; 通过 HPLC-MS 分析细胞分裂素含量, 研究 CKX 对木材发育过程中细胞分裂素代谢的影响。【结果】本研究在 ‘84K’ 基因组中筛选到毛果杨 17 个同源基因, 分布在 7 条染色体上, 包括 12 对共线性基因; *PagCKXs* 大多定位在叶绿体及细胞质; 亚细胞定位实验结果显示 *PagCKX7* 定位于细胞质和细胞核, GUS 染色结果显示 *PagCKX7* 在叶片以及根茎中表达, 通过组织切片观察到 *PagCKX7* 在维管组织发育初期的韧皮部中高表达。培养 7 周的 *PagCKX7* 过表达杨树与野生型杨树相比, 株高减少, 地径明显变细。切片结果显示, 过表达杨树木质部宽度增加。此外, 通过酵母双杂筛库, 初步筛选出了 2 个可能与 *PagCKX7* 互作的蛋白 (MYB4 和 C2H2 ZFP), 为进一步探究 *PagCKX7* 的作用机制提供了思路。BiFC 结果显示 *PagCKX7* 与 C2H2 ZFP 具有互作的关系。【结论】CKX 在木材发育过程中起到负调控作用, 通过降解细胞分裂素抑制维管组织的细胞分裂和分化。CKX 基因的调控可能通过与其他转录因子或信号传导蛋白的互作实现, 对其互作蛋白的进一步研究将有助于揭示 CKX 在细胞分裂素代谢和木材发育中的具体作用机制。

关键词: CKX、CK、木材发育