

杨树不定芽诱导的 ROS 响应

吴佳宁¹ 张佳琦¹ 周小红¹

(1.浙江农林大学亚热带森林培育国家重点实验室 浙江杭州 311300)

摘 要: 不定芽诱导是植物离体快繁的主要方式, 木本植物因生长周期长、次生代谢复杂, 其再生面临巨大的挑战。活性氧(ROS)参与植物干细胞的增殖和分化, 在植物再生过程中有重要作用。因此, 为探究不同再生能力的木本植物在植物生长发育中的 ROS 积累规律, 我们以模式植物杨树为材料, 选取易再生的“南林 895”和“84k”以及不易再生的毛果杨, 利用叶盘法诱导不定芽, 通过对 O₂·的原位染色观察 ROS 的积累规律, 发现不同杨树的 O₂·积累在伤口形成后以及芽萌发前一定时间都会出现峰值。例如, “南林 895”叶片在伤口形成后约第 3 天和芽点出现前约第 5 天分别出现两个 O₂·浓度峰值。“84k”叶片呈现相似模式, O₂·峰值分别出现在伤口后约第 4 天和芽点前约第 5 天。毛果杨叶片在伤口形成后约第 3 天出现第 1 个 O₂·浓度峰值, 在第 7 天出现了明显的褐化现象, 无法形成芽点, 因此使用毛果杨茎段作为实验材料, O₂·峰值分别出现在伤口后约第 5 天和芽点前约第 3 天。这些发现表明植物在第二个 O₂·峰值后可能激活了清除机制。为了进一步探究 ROS 在植物生长发育中的积累规律, 我们使用 ROS 激活剂过氧化氢处理, 促进了不定芽诱导, 而 ROS 抑制剂碘化钾处理则会抑制不定芽诱导, 证实了 ROS 在植物再生过程中重要调控作用 *WUSCHEL-related homeobox (WOX)* 基因家族。从中选取 ROS 积累早期显著表达的 *PeWOX5b* 和后期显著表达的 *PeWOX13b*, 构建“南林 895”过表达株系, 观察其在不定芽诱导期间的 ROS 动态。*PeWOX5b* 和 *PeWOX13b* 的过表达株系都明显促进了愈伤组织的再生, 特别是 *PeWOX13b* 显著促进了不定芽诱导, 对过表达株系使用 O₂·原位染色, 发现在伤口形成后约 4 天出现第一个 O₂·浓度峰值, 在芽点形成前约 5 天出现第二个峰值, 相比于对照组, 在芽点形成处观察到更高的 ROS 积累, 证明了杨树再生能力的改变与植物 ROS 积累规律有密切联系。本研究初步探究了 ROS 在植物生长发育中的响应规律, 不仅为了解 ROS 参与木本植物再生过程提供理论基础, 也为解决木本植物再生提供新的策略。

关键词: 杨树; ROS; 不定芽再生; WOX 基因家族