

基于基因编辑技术的白桦分子育种

刘月影, 涂静, 张燕茹, 郑志民*

(东北林业大学林木遗传育种国家重点实验室, 哈尔滨 150040)

摘要: 林木遗传育种具有周期较长、精准性相对不足的特性。在基因编辑技术迅速发展的时代, 我们如何利用该技术缩短育种周期和提高育种效率, 是当今林木遗传育种领域的热点。本课题组从全国多地收集白桦种质资源, 根据不同种源优选株系的腋芽启动率、愈伤诱导率和不定芽分化率等指标, 筛选出诱导愈伤组织能力强、增殖速度快、分化能力良好的白桦优树单株 DL-1。利用文冠果花色调控基因 *XsMYB113* 作为活体报告基因进行遗传转化, 该基因可使白桦阳性愈伤和转基因植株的花青素累积, 从而呈现紫红色, 以此建立白桦高效遗传转化流程体系。在此基础上, 以白桦 *PDS* 为靶基因, 以拟南芥 *ATU6-26* 启动子和大豆中 *GmU6-5* 启动子对照, 对 16 个白桦内源 *Pol III* 启动子进行了筛选和鉴定。通过比较不同启动子驱动 *sgRNA* 的载体的转基因效率、基因编辑效率、双等位突变效率。最终, 筛选到白桦内源的 *U6-2*, *U6-6* 和 *7SL* 等启动子具有较高的基因编辑效率和双等位突变效率。以白桦优树 DL-1 为转化受体材料, 围绕速生、株型、抗逆和细胞分化等研究方向进行目标基因筛选, 设计 *sgRNA* 进行遗传转化, 采用 CRISPR/Cas9 随机突变的方法创制白桦基因编辑突变体库。通过对白桦突变体筛选、候选基因鉴定和遗传分析, 深入解析候选基因的功能和分子机制, 为白桦分子育种奠定基础 and 构建高效技术体系。