

楸树 *CbWRKY27* 响应盐胁迫的生理和分子机制

顾姣姣, 吕芬妮, 高露璐, 王鹏*

(江苏省植物资源研究与利用重点实验室, 江苏省中国科学院植物研究所, 南京, 210014)

摘要: WRKY 是植物中特有的锌指型转录调控因子, 广泛参与植物生长发育和非生物胁迫的应答过程。通过对 *CbWRKY27* 响应盐胁迫的生理和分子机制的解析, 为楸树抗逆生物育种提供新的基因资源。采用 qPCR 进行楸树不同组织、ABA、SA、H₂O₂ 和高盐等处理后的表达分析, 构建亚细胞定位等载体通过瞬时侵染的方式分析其转录激活等特性, 构建 *CbWRKY27* 过表达的楸树转基因材料, 分析盐或激素处理后的表型及相关基因的表达。*CbWRKY27* 基因在楸树根、叶片、韧皮部、木质部等组织均表达, 其中根中的表达量最高。*CbWRKY27* 的表达被 NaCl 和 H₂O₂ 抑制, 但是受到 ABA 和 SA 等多种胁迫相关激素的显著诱导。*CbWRKY27* 定位于细胞核中, 具有转录激活活性, 活性区域位于 C 端, 同时也有 W-box 元件结合活性。与野生型相比, 盐处理后, *CbWRKY27* 过表达株系的叶缘干枯皱缩以及落叶的情况更严重, 存活率显著降低, 净光合速率、蒸腾速率、叶片气孔导度和 PSII 最大光化学量子产量等均也减少, 但是丙二醛含量显著增加, 表明 *CbWRKY27* 基因负调控楸树对盐胁迫的响应。外源添加 ABA 后发现, 与野生型相比, 转基因株系叶片呈现白化的表型且侧根长度和数量显著降低。此外, 与单独 NaCl 处理相比, ABA 和 NaCl 的混合处理显著提高了过表达株系离体叶片中的叶绿素和类胡萝卜素含量。荧光定量 PCR 测定了 ABA 合成及信号转导途径的 5 个基因包括 *CbNCED3*、*CbABI3*、*CbABI5*、*CbRD22* 和 *CbRD29B* 的转录水平, 发现所有基因在转基因株系的表达水平显著高于野生型。盐处理后, 与野生型相比, 转基因株系的叶片被氯化硝基四氮唑蓝和二氨基联苯胺染色的程度增加, 过氧化氢含量和超氧阴离子的含量也显著增加, 而抗氧化酶活性则显著降低。荧光定量 PCR 测定了活性氧途径的 4 个基因包括 *CbAPX*、*CbSOD*、*CbPER57*、*CbRBOHA* 的转录水平, 发现转基因株系中 ROS 清除相关的基因的表达显著低于野生型, 而合成相关基因的表达却增加了。盐胁迫抑制了楸树 WRKY 转录因子基因 *CbWRKY27* 的表达, 其过表达降低了楸树幼苗对盐胁迫的抗性, 这可能与 *CbWRKY27* 基因的过表达干扰了 ABA 和 ROS 的内稳态有关。