

# 竹子原位基因编辑技术的开发及其在降低木质素含量中的应用

孙化雨 王思宁 高志民\*

(国际竹藤中心竹藤资源基因科学与基因产业化研究所, 国家林业和草原局/北京竹藤科学与技术重点开放实验室 北京 100102)

**摘要:**【目的】竹子是一种资源丰富、可再生能力极强的生物质森林资源, 近年来被广泛用于制浆造纸。木质素是竹浆造纸的副产物, 在造纸过程中需要被去除, 去除木质素的过程会带来环境污染的风险。因此, 培育出木质素含量低的竹子不仅可以降低造纸成本, 而且有助于实现更环保的竹浆造纸生产。【方法】本研究借助农杆菌对毛竹实生苗、黄秆金竹和金镶玉竹的幼笋进行原位转化, 通过对竹苗和竹笋使用物理伤害及真空等方式辅助农杆菌转化, 完成外源基因在竹子叶片和幼笋中原位表达, 进而通过在毛竹叶片中原位表达 CRISPR/Cas9 系统, 实现对毛竹内源基因的基因编辑。【结果】本研究成功在毛竹的叶片、黄秆金竹和金镶玉竹的幼笋中表达甜菜碱合成基因 RUBY, 实现甜菜碱在竹子叶片和幼笋中积累。鉴定到农杆菌 GV3101 和 AGL1 转化效率高于 EHA105 和 LBA4404 菌株, 同时发现通过该方法转化的外源 DNA 片段无法整合到竹子染色体中。进而, 使用该方法在毛竹叶片中表达 CRISPR/Cas9 基因编辑系统, 成功对紫黄质脱环氧化酶 (PeVDE) 基因进行原位基因编辑, 编辑后的叶片在强光条件下叶绿素荧光参数 NPQ 值降低, 即光保护能力降低, 该现象可以被叶绿素荧光参数仪 Imaging-PAM 准确的检测到, 因此将 PeVDE 靶点作为基因编辑的本地报告标签基因。此外, 通过对木质素合成通路中的关键酶肉桂酰辅酶 A 还原酶 (PeCCR) 基因进行基因编辑, 阻断了木质素的生物合成, 降低了竹子叶片中木质素含量。【结论】本研究成功开发了一种无痕的外源基因瞬时表达和原位基因编辑技术, 可以在短时间内在竹子中完成基因表达和基因编辑, 这为未来竹子定向培养提供了重要的技术指导和基因资源。

**关键词:** 竹子; 原位基因转化; 基因编辑; 紫黄质脱环氧化酶; 木质素