

杨树 14-3-3i 对木质部 PCD 的影响及应用

郭美美, 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: zhangj@zafu.edu.cn

【目的】木材形成过程要经历形成层细胞增殖分化、木质部细胞扩张、次生细胞壁沉积、细胞程序化死亡(PCD)等多个生物学过程, 其中 PCD 这一生物学过程需要核酸酶参与。前期研究发现杨树中 *CaM*(Ca^{2+} -dependent DNase)参与木质部 PCD 过程, 并且鉴定到 14-3-3i 与 *CaN1* 互作。**【方法】**本研究以银腺杨 (*Populus alba* × *P. glandulosa*) ‘84K’为研究对象, 通过构建系统发育进化树对 14-3-3i 基因家族成员展开分析。利用 GUS 染色分析 14-3-3i 在不同组织中的表达模式, 创制过表达和 CRISPR-Cas9 基因编辑转基因杨树, 对其进行生长表型株高、地径、节间数等测定, 通过组织切片进行解剖结构分析 14-3-3i 对杨树次生生长的影响。**【结果】**对 *Pag14-3-3i::GUS* 植株进行染色, 发现 14-3-3i 在形成层和木质部附近均有表达。过表达 14-3-3i 后, 与 WT 相比, 植株木质部加宽、株高变矮、总叶面积增加、地径和节间数目无明显变化, 表明过表达 14-3-3i 对木质部发育有促进作用。将含有 14-3-3i 和 *CaN1* 表达载体的菌液共注射烟草叶片探索其潜在关系, 发现表达 14-3-3i 能延缓 *CaN1* 引发的 PCD 过程。对 14-3-3i 和 *CaN1* 进行亚细胞定位, 发现其亚细胞定位具有一致性。BiFC 检测到二者存在互作关系, 其酵母双杂中没有检测到信号, 推测其互作关系可能是间接的, 还需要进一步验证。后续我们将通过对创制的 CRISPR-Cas9 基因编辑转基因杨树来进一步解析 *Pag14-3-3i* 影响木质部 PCD 的分子机制, 通过 Pull-Down, Co-IP 进一步验证 14-3-3i 和 *CaN1* 的互作关系, 明确其互作在木质部 PCD 中的作用。**【结论】**综上, *Pag14-3-3i* 在杨树生长发育过程中发挥着重要的作用, 后续可通过定向调控该基因来改善杨树木材品质。

关键词: 银腺杨‘84K’; *Pag14-3-3i*; 木质部发育; 蛋白互作; 细胞程序性死亡