

PagKNAT3/4/5a 参与杨树木质部发育的调控机制研究

赖建新，卢孟柱，黄李超*

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：huanglichao@zafu.edu.cn

【目的】木本植物维管木质部生长发育的研究对于解决木材安全问题具有重要的意义。植物 KNOX 转录因子家族成员被报道参与木质部形成过程中维管形成层细胞向木质部一侧的分化以及后期次生细胞壁的加厚过程。杨树 I 类 KNOX 亚家族成员在维管木质部形成过程中主要表现为负调控作用，但 II 类 KNOX 亚家族成员在木本植物木质部生长发育过程中的作用仍待了解。本研究以 84K 杨 (*Populus alba* × *P.glandulosa*) 为材料，聚焦于 II 类 KNOX 转录因子家族成员 *PagKNAT3/4/5a* 转录因子在木质部生长发育过程中的作用。【方法】以拟南芥、杨树 KNOX 家族氨基酸序列构建系统进化树，并绘制基因结构图谱；通过 qPCR 分析 *PagKNAT3/4/5a* 在 84K 杨发育木质部、成熟木质部、顶芽、叶、根中的相对表达量；构建 *proKNAT3/4/5a::GUS* 载体，通过农杆菌介导的叶盘法转化 84K 杨，获得稳定遗传 GUS 植株；构建 *35S::PagKNAT3/4/5a-GFP* 融合表达蛋白载体，通过农杆菌介导瞬时转化烟草，观察目标基因编码蛋白亚细胞定位情况；构建 *35S::KNAT3/4/5a* 载体，通过农杆菌介导的叶盘法转化 84K 杨，获得稳定遗传过表达植株，分析其表型；通过酵母双杂交、双分子荧光互补试验筛选、验证 KNAT3/4/5a 的互作蛋白【结果】GUS 报告基因检测 and 不同组织部位 qRT-PCR 分析结果显示目标基因在维管木质部表达。得到 *PagKNAT3/4/5a* 过表达转基因植株结合植物生理指标分析和维管组织形态结构观察探究目标基因的生物学功能。结果显示，*PagKNAT3/4/5a* 过表达转植株较野生型植株表现为株高增加和地径增粗。组织化学染色结果显示过表达株系木质部宽度较野生型增加且木质部导管和纤维细胞增长，进一步扫描电镜和透射电镜超微结构观察结果表明过表达植株细胞壁增厚速度明显快于野生型。对细胞壁组分进行分析发现过表达植株木质素含量增加。酵母双杂试验和双分子荧光互补试验结果显示，*PagKNAT3/4/5a* 与木质素合成相关转录因子 MYB46、MYB61、KNAT7、BLH6 互作。【结论】由此推测，*PagKNAT3/4/5a* 可能通过与木质部发育相关转录因子互作从而调控木质素合成，最终促进木质部发育。

关键词：KNOX 家族，次生细胞壁加厚，木质部发育，银腺杨 84K