

谷氨酸受体蛋白 GLR3.3:钙介导杨树根系发育的桥梁

耿娅, 卢孟柱, 安轶*

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: anyi@zafu.edu.cn

【目的】根对树木的生长发育至关重要, 利用潜力巨大。根系受不同环境刺激来感知和传递信号, 从而调控根系生长。钙(Ca)作为一种信号分子, 参与植物根系发育的调控。在植物细胞中, 胞质 Ca^{2+} 浓度($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$)的变化协调了对发育和环境信号的反应。 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ 增加 Ca^{2+} 通过离子通道流过质膜。GLRs 作为细胞外氨基酸传感器, 也是必需的钙通道。探究杨树 *GLR3.3* 对根系生长发育过程的影响及其分子机制可以为杨树新品种选育提供指导。**【方法】**通过不同浓度的钙处理分析钙离子对杨树根系的影响, 利用转录组数据找到调控的 GLR 基因家族, 创制 *ProPagGLR3.3::GUS* 转基因杨树后, 通过 GUS 染色分析 *PagGLR3.3* 在不同组织中的表达模式。通过创制 CRISPR/Cas9 基因编辑转基因杨树, 对其根系表型观察。通过切片显微观察, 分析 *PagGLR3.3* 对杨树根系发育的影响。通过钙离子抑制剂(LaCl_3)处理, 验证钙离子及 *PagGLR3.3* 对杨树根系发育的影响。并通过转录组学分析下游的相关蛋白。**【结果】**本研究分析了 84K 杨树 (*Populus alba* × *P.glandulosa*) 在不同钙浓度下的形态和转录组学变化, 发现低钙 (1 mM) 促进侧根生长, 低钙 (0.1 mM) 抑制侧根生长。共表达分析表明, Ca^{2+} 通道谷氨酸受体 (Glutamate Receptor) 存在于各个模块中, 对根系发育具有重要意义。GLR 的两个同源基因 *PagGLR3.3a* 和 *PagGLR3.3b* 主要在根中表达, 在 Ca^{2+} 缺乏下表达显著上调。CRISPR/Cas9 介导的突变体侧根更多、更长。解剖分析表明, *PagGLR3.3* 基因敲除植株木质部细胞增多, 促进了次生维管组织的发育。进一步的转录组学分析表明, 敲除 *PagGLR3.3a* 和 *PagGLR3.3b* 后, 与蛋白质磷酸化、生长素外排、木质素和半纤维素生物合成相关的几个基因以及转录调控上调。**【结论】**该研究为钙离子介导的根系生长发育提供了新的认识, 也为钙肥在树木中的精确施用提供了指导。此外, *GLR3.3* 可能是选育生物量增加和抗逆性提高的杨树的靶基因, 可为生物燃料和生物能源生产杨树新品种的选育提供了指导。

关键词: GLR, 钙离子, 根系发育, 侧根, 杨树