

长期继代培养的楸树胚性愈伤组织难以分化的成因探究

赵珊², 董静², 郑帅², 陈发菊^{1,2}, 梁宏伟^{2*}

(1.三峡区域植物遗传与种质创新重点实验室(三峡大学),湖北宜昌 443002; 2.三峡大学生物与制药学院,湖北宜昌 443002)

摘 要:【目的】为探究长期继代下楸树 (*Catalpa bungei* C. A. Mey) 胚性愈伤组织难以分化再生的发生机制。【方法】以新诱导的非胚性愈伤组织和初代胚性愈伤组织、继代培养 7 年的胚性愈伤组织为材料,开展细胞倍性、差异表达基因及内源激素水平分析,为楸树体细胞胚胎发生体系的分化再生和遗传稳定性提供理论基础。【结果】(1) 通过染色体计数发现,初代胚性愈伤组织染色体保持二倍体状态 ($2n=40$),而连续培养 7 年的胚性愈伤组织染色体数目发生了加倍现象,染色体数目从 80-162 不等;流式细胞仪鉴定发现连续培养 7 年的胚性愈伤 DNA 含量相比楸树实生苗增加 3 倍,其细胞倍性为六倍体。(2) 通过对转录组数据的 GO 和 KEGG 富集分析,发现差异表达基因显著富集在植物激素激活信号通路、转录调控,MAPK 信号通路、发育过程的调控等通路,其中响应生长素信号的 *SAUR*、*ARF*、*AUX/IAA*、*GH3*, 脱落酸受体 *PYR/PYL*, 胞外蛋白 *AGP*, 转录因子 *ABI3* 等促进体胚分化发生的基因表达均下调,而乙烯合成抑制因子 *ETO1* 则表达上调。(3) 内源激素水平分析表明:连续继代 7 年的胚性愈伤组织中 IAA 和 ABA 的含量显著低于新诱导的胚性愈伤组织,这与其参与植物激素信号转导基因的下调表达相对应,而高水平的 IAA 和 ABA 的可能是调控体细胞胚胎发生的关键。【结论】综上推测楸树胚性愈伤组织在长期继代过程中发生的染色体加倍、促进体胚发生相关基因的异常表达以及内源激素水平的显著下降,可能是造成其难以分化再生的根本原因。