

桑树调控根系木栓化的 MYB 转录因子筛选与鉴定*

翟泽洋, 杨雨杰, 曹旭, 田岳, 刘利, 李木旺

(江苏科技大学生物技术学院 镇江 212018)

摘 要:【目的】基于 RNA-Seq 技术与加权基因共表达网络分析 (WGCNA) 分析筛选并鉴定桑树调控根系木栓化的关键 MYB 转录因子, 揭示桑树根系木栓质生物合成和积累的分子调控机制, 为选育和改良桑树品种, 获取高抗逆性桑树品种提供理论基础。【方法】采用气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 测定中椹 1 号和吴堡桑两种桑树干旱胁迫下根系各种木栓质单体的含量, 其中脂肪族单体有未取代脂肪酸、 ω -羟基脂肪酸、 α - ω 二羧酸和脂肪醇, 芳香族单体主要是阿魏酸和香豆酸; 利用转录组测序获得干旱胁迫下根系差异表达基因 (DEGs), 并与木栓质含量进行 WGCNA 分析, 筛选出与木栓质含量高度相关的 MYB 转录因子; 对木栓质含量的影响对筛选出的 MYB 转录因子进行组织表达谱和亚细胞定位, 明确其组织偏好性及在细胞中发挥作用的位置; 通过在桑树本体中进行病毒诱导基因沉默实验 (VIGS), 对目的 MYB 基因进行敲低, 确定其表达水平与桑树木栓质含量的关系; 在烟草、拟南芥中进行筛得的 MYB 转录因子的瞬时过表达和稳定遗传转化, 进一步确定筛得的 MYB 的功能。【结果】干旱胁迫下中椹 1 号根系木栓质中的脂肪族和芳香族总量皆显著下降, 而吴堡桑皆显著提高; 在水分充足的情况下, 吴堡桑根系的木栓质总量显著高于中椹 1 号; 两种桑树根系中占比最高的木栓质单体种类依次是未取代脂肪酸、 ω -羟基脂肪酸、 α , ω -二羧酸、脂肪醇、阿魏酸、香豆酸; 对 RNA-Seq 获得的 DEGs 进行 WGCNA 分析筛选到 3216 个与根系木栓质含量正相关的 DEGs, 其中有 21 个 MYB 转录因子, 相对表达量最高的是 MaMYB93; 组织表达谱显示 MaMYB93 在根系特异性表达, 且亚细胞定位显示定位于细胞核; VIGS 敲低 MaMYB93 导致桑树木栓质木栓质单体合成关键基因 MaCYP86A1、MaFAR3 的相对表达量显著下降; 烟草瞬时过表达 MaMYB93 使烟草 NbCYP86B1、NbFAR3 相对表达量显著提高; 35S::MaMYB93 转基因拟南芥植株大小明显小于野生型 Col-0, 且其根系的木栓质合成关键基因 AtCYP86A1、AtCYP86B1、ATGPAT5 表达量显著高于 Col-0。【结论】MaMYB93 是桑树根系正向调控木栓化的转录因子, 可作为改良林木抗逆性的候选靶基因。