

RNA-Seq 联合植物激素代谢组 揭示黑果枸杞叶外植体直接器官发生机制

李璐佳¹, 刘雯慧¹, 王佳雯¹, 崔建国¹, 王玉成¹, 王钦美^{1*}

(1 沈阳农业大学林学院, 辽宁省林木遗传育种与培育重点实验室, 沈阳 110866)

摘 要:【目的】揭示黑果枸杞叶尖和叶中外植体直接器官发生(生根和出芽)相关的植物激素代谢物和基因, 探索与叶尖外植体较强直接器官发生能力相关的植物激素代谢物和基因, 为植物叶片高效直接器官发生体系的建立提供思路。【方法】以黑果枸杞一个株系的叶尖和叶中为外植体, 在无外源植物生长调节剂(PGR)的培养基上实现直接器官发生。分别以初始、根起始期和芽起始期的叶中和叶尖外植体作为试验材料, 进行高通量转录组测序和植物激素代谢组分析。采用实时荧光定量 PCR 验证转录组测序结果。

【结果】(1) 黑果枸杞叶尖外植体生根率(68.22%)显著高于叶中外植体生根率(42.96%); 叶尖外植体出芽率(39.08%)也显著高于叶中外植体出芽率(17.03%); 叶尖的直接器官发生率(26.66%)显著高于叶中的(7.32%)。(2) 高通量转录组测序发现, 与生根和出芽相关比较组的差异基因(DEG)均涉及 8 种植物激素(生长素、细胞分裂素、赤霉素、脱落酸、乙烯、油菜素内酯、茉莉酸和水杨酸)的信号转导; 与叶尖外植体生根、出芽能力较强相关的 DEG 涉及 7 种植物激素(生长素、细胞分裂素、赤霉素、脱落酸、乙烯、油菜素内酯和水杨酸)的信号转导; 淀粉和蔗糖代谢 KEGG 路径由最初的在叶尖外植体显著下调转变为根起始期在叶尖外植体显著上调。(3) 植物激素代谢组分析发现, 两种外植体在无 PGR 的 MS 培养基上的不定根发生与 DHZROG、K9G、IP、GA20、GA53、GA3 和 OPDA 呈正相关, 与 ICA、ILA、IAA-Leu、TRP、ICAld、IAA-Asp、IAA-Glu、iP7G、2MeScZ、cZROG、oTR 和 tZOG 呈负相关; 不定根发生后的不定芽产生与 IA、DHZR 和 tZR 呈正相关, 与 ABA、ABA-GE、TRA、mTR、IP 和 KR 呈负相关; 尖外植体在无 PGR 培养基上较强生根能力与 IAA、IAA-Leu-Me 和 BAP 呈正相关, 与 IAM、IPA、IAA-Val、DHZR、BAP7G、tZR、IPR 和 cZR 呈负相关; 叶尖外植体生根之后的较强出芽能力与 ABA-GE、ICA、IAA-Ala、BAPR、KR、JA-ILE、JA 和 SAG 呈正相关, 与 IAA-Glc、IAA-Glu、2MeScZ、IP 和 GA20 呈负相关。(4) 高通量转录组测序和植物激素代谢组联合分析发现, 三种 IAA 共轭物(IAA-Leu、IAA-Asp 和 IAA-Glu)可能负调控黑果枸杞叶外植体的不定根发生; 叶外植体看似通过上调 *TSB* 表达、上调 GA3 含量和降低 TRP 含量来促进不定根产生(5) TRA 与 ABA 可能参与黑果枸杞叶外植体出芽的负调控; 添加钨酸钠的方式可能会促进黑果枸杞叶外植体在无 PGR 培养基上出芽。(6) *SUS* 可能通过供能赋予黑果枸杞叶尖较强生根和出芽能力; 叶尖 IAA 原始浓度较高, 较高的 IAA 含量上调生长素信号转导路径 *ARF* 的表达赋予黑果枸杞叶尖较强的不定根产生能力; 叶尖可能通过较高的 ABA-GE、ICA、IAA-Ala、BAPR、KR、JA-ILE、JA 和 SAG 含量和较低的 IAA-Glc、IAA-Glu、2MeScZ、IP 和 GA20 含量获得更强的出芽能力, 而 JA 可能通过抑制 JA 信号转导路径的 *MYC2* 表达来提高叶尖出芽能力。(7) qRT-PCR 分析的 11 个差异基因的表达模式与 RNA-Seq 结果一致, 表明 RNA-Seq 结果准确可靠。【结论】本研究挖掘黑果枸杞直接器官发生相关基因和植物激素代谢物, 初步建立叶尖外植体较强直接器官发生能力的机理模型图(图 1)。

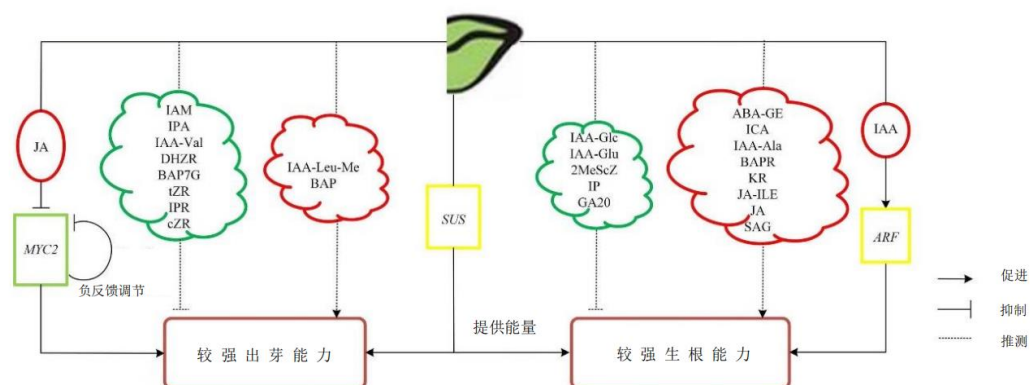


图1 黑果枸杞叶尖外植体较强直接器官发生能力机理图