

同源四倍体酸枣砧木调控‘骏枣’接穗耐旱性的生理机制及 small RNA 分析

张晨星^{1,2} 郑雨欣^{1,2} 庞晓明^{1,2} 李颖岳^{1,2}

(1. 北京林业大学 生物科学与技术学院 林木遗传育种国家重点实验室 北京 100083; 2. 北京林业大学 生物科学与技术学院 林木育种与生态恢复国家工程技术研究中心 北京 100083)

摘 要:【目的】研究四倍体酸枣砧木影响‘骏枣’接穗耐旱性的生理机制,并利用 small RNA 转录组分析揭示四倍体酸枣砧木与接穗相互作用影响嫁接苗耐旱性的分子机理。【方法】本研究以酸枣二倍体及其同源四倍体‘W219’为砧木,‘骏枣’为接穗,通过微嫁接方式获得两种砧穗组合的嫁接苗。采用盆栽控水法(30%土壤相对含水量)处理嫁接苗后,比较两种嫁接苗接穗的净光合速率、叶绿素含量、可溶性糖含量以及过氧化氢酶(CAT)含量,砧木的可溶性蛋白含量、过氧化物酶(POD)含量、CAT 含量。对于干旱处理后两种砧穗组合的根系和叶片进行了 sRNA 测序,使用 miRBase 数据库鉴定 miRNA,使用 psRobot 进行 miRNA 靶标预测分析,并对于差异 miRNA 靶标基因进行 GO Ontology 富集分析。【结果】在干旱处理后,与以二倍体酸枣为砧木的嫁接苗(JZ/2X)相比,以四倍体为砧木的嫁接苗(JZ/4X)卷叶、落叶较少,叶色更深,耐旱性更强。JZ/4X 在干旱处理后能够保持更高的净光合速率、较低的胞间二氧化碳浓度,叶片中的叶绿素含量、可溶性糖含量、CAT 含量显著高于以二倍体酸枣为砧木的嫁接苗,JZ/4X 根系中可溶性蛋白含量、POD 含量、CAT 含量也显著高于 JZ/2X。所有样本共鉴定到 412 个 miRNA,检测到新的 miRNA 共 271 个。干旱胁迫后,JZ/4X vs JZ/2X 和 JZ/4X vs JZ/2X 对比组筛选到差异 miRNA 分别为 17 个和 33 个,其中,JZ/4X vs JZ/2X 的差异 miRNA 主要来自 MIR395、MIR399 家族,而 JZ/4X vs JZ/2X 砧木对比组的差异 miRNA 主要来自 MIR157、MIR396 和 MIR398 等家族。两个对比组差异 miRNA 预测的潜在靶基因数目分别为 85 个和 307 个,其中,ath-miR157a 靶向的潜在靶基因数量最多,为 20 个。GO 功能注释结果显示,这些靶基因主要参与氧化还原酶活性、次生代谢过程、木质素代谢过程、叶片形态发生的调控等与胁迫响应相关的 GO 条目。在 miRNA-mRNA 互作网络中挖掘到参与木质素合成、抗逆响应过程的漆酶基因(LAC7-like)受 ath-miR397a 靶向,通过对该基因的表达模式分析发现,其特异性在四倍体砧木根系中受干旱胁迫诱导。【结论】干旱胁迫后,以四倍体为砧木的嫁接苗叶片叶绿素含量高是其能保持较深叶色的原因之一,其较高的净光合速率、可溶性糖、可溶性蛋白、CAT、POD 含量为其提供了更多的能源物质和更强的抗氧化能力,使其具有更强耐旱性。差异 miRNAs 的靶基因显著富集在氧化还原途径、木质素代谢等过程,证实这些生物过程可能参与了以四倍体为砧木的嫁接苗对于干旱逆境的响应。miRNA 可能通过调控木质素合成、胁迫响应等途径中基因的表达,从而影响嫁接苗的耐旱性。该研究为解析多倍体砧木影响嫁接植株耐旱性的变异机理提供了参考。

关键词: 同源四倍体砧木; 嫁接; 耐旱性; 生理机制; miRNA