

欧美杨 *PeWRKY70* 通过苯丙烷类生物合成途径增强对美国白蛾幼虫的抗性

江敏¹ 张超² 杨敏生¹

(1.河北农业大学 河北保定 071000; 2.邯郸学院 河北邯郸 056000;)

摘要:【目的】前期研究发现 *PeWRKY70* 基因在美国白蛾幼虫取食欧美杨叶片转录组中显著上调表达,本研究以 *PeWRKY70* 为目标基因,探索和分析其在杨树抵御害虫取食过程中的生物学功能及分子机制。【方法】构建了 *PeWRKY70* 基因过表达载体,利用农杆菌介导的叶盘法对 84K 杨树进行遗传转化,获得 6 个转基因株系。对获得的转基因株系进行饲虫试验,测试 *PeWRKY70* 基因在杨树中的抗虫效果;利用转录组测序、DAP-Seq、酵母单双杂等技术揭示 *PeWRKY70* 调控的下游靶基因以及互作蛋白;利用代谢物组和挥发性代谢组分析,进一步验证 *PeWRKY70* 在杨树抗虫过程中的生物学功能。【结果】*PeWRKY70* (972bp) 基因属于第 III 类 WRKY 亚家族,定位到细胞核,其启动子区域含有 SA、JA、ABA 和 GA 等激素响应元件。与野生型对照 84K 杨相比,过表达 *PeWRKY70* 基因可以提高对美国白蛾幼虫的抗性,并显著抑制幼虫的生长发育,且对杨树生长发育影响较小。DAP-seq 显示在 *PeWRKY70* 结合位点中最显著富集的基序是 W-box 元件,酵母单杂交表明 *PeWRKY70* 可以与苯丙烷代谢途径中的过氧化物酶 *GSVIVT00023967001* 和小檗碱桥酶 *MEE23* 启动子结合。酵母双杂交技术证实 *PeWRKY70* 蛋白无自激活活性,且与胁迫响应相关的乙烯响应转录因子 RAP2-3、F 硫氧还原蛋白、SRC2 蛋白和重金属相关异戊二烯化蛋白存在互作关系。对过表达 *PeWRKY70* 转基因株系进行转录组和代谢组分析,结果显示差异基因和差异代谢物均主要富集在谷胱甘肽代谢、异喹啉生物碱生物合成和苯丙烷类生物合成等途径。转基因杨树导致与苯丙烷类生物合成途径相关基因 *GSVIVT00023967001* 和 *MEE23* 的表达水平提高,进一步引起与野生型相比更高的苯丙烷类代谢物积累。【结论】以上结果表明 *PeWRKY70* 是杨树抗虫的正调节因子,可能通过调节 *GSVIVT00023967001* 和 *MEE23* 基因的表达促进苯丙烷类代谢物的合成来提高抗虫性。这一发现扩展了我们对 WRKY 蛋白通过调节苯丙烷类生物合成途径提高植物免疫反应的认识,为杨树抗虫育种提供了新的基因资源和理论依据。

关键词: 杨树; 转录因子; *PeWRKY70* 基因; 抗虫; 苯丙烷类生物合成途径