

转录组分析为无患子雄性不育的机理研究提供新思路

廖杨梅¹, 赵国春¹, 王立宪¹, 陈仲^{1,*}

(1. 中国北京林业大学林学院教育部森林培育重点实验室, 北京 100083)

【目的】通过对无患子雄性不育系雄花的形态学和细胞学分析, 研究其花粉发育异常的主要时期及原因, 利用 RNA-seq 技术探究影响雄花育性异常的分子调控机制, 为进一步了解无患子花药及花粉发育的分子调控机制、加速选种育种工作提供了科学依据。

【方法】对无患子雄性不育系雄花和野生型雄花进行形态学和细胞学观察(形态特点和生理染色观察), 确定不育系花粉发育异常时期及原因, 测定异常时期内源激素水平, 利用第二代测序技术对发育差异阶段转录组进行分析, 利用基因功能分析、基因表达模式分析、层次聚类、蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建以及 weighted gene coexpression network analysis (WGCNA)分析, 探究雄性不育系育性异常的分子机制, 鉴定了几个雄性不育系的关键候选基因, 构建过表达载体异源转导拟南芥验证基因功能。

鉴定出表型特异性的网络模块。我们分析过表达株系的花粉形态、花粉育性、结实率。

【结果】1) 雄性不育系花药干瘪不开裂, 亚历山大染色显示其中无成熟花粉粒形成; 减数分裂期间绒毡层异常增殖及延迟退化是不育系花粉发育异常的主要原因。2) 不育系花苞 JA 含量显著低于野生型。3) 通过 RNA-seq 技术构建的 3 个时期共 18 个不育系和野生型基因文库中共鉴定到 5309 个差异表达基因, 其中 1157 个 DEGs 在三个阶段均明显差异表达。GO 和 KEGG 富集分析表明, 这些基因显著富集在细胞分裂、细胞壁合成与次生化、ROS 合成与代谢平衡、JA 合成、花粉发育等相关通路, 共鉴定到 39 个细胞壁发育相关基因、46 个 ROS 产生与清除基因、37 个 JA 合成运输或响应基因、53 个花粉发育相关基因, 其中包括 MS1、MS2、MYB58、DYTI、MYB35 等绒毡层发育关键基因。构建 PPI 网络鉴定到 *FKFI*、*GI*、*ATSMC3* 等 17 个关键基因, *FKFI* 与 *GI* 协调互作精确控制开花, 并调控拟南芥次生细胞壁的合成。WGCNA 分析获得 *SmMMD1*、*SmCYCD6;1*、*SmCDC2* 等 8 个连通度最高的 hub 基因, 其中 *SmMMD1*、*SmCYCD6;1*、*SmCDKA;1* 已被证明是细胞分裂的调控者。异源转导拟南芥, 构建的 *cycd6;1* 过表达株系花粉育性下降, 结实率显著降低。

【结论】无患子雄性不育系花粉发育异常主要是绒毡层活动异常导致的, 具体表现为减数分裂时期不育系花粉发育出现异常, 表现为绒毡层异常增殖挤压小孢子, *SmCYCD6;1* 在这一过程发挥重要作用。; 此外, 不育系中绒毡层延迟退化是导致其雄性不育的另一重要因素, ROS 作为绒毡层退化信号, 大量 ROS 基因与应激反应相关的茉莉酸基因下调与绒毡层延迟退化相对应。