

欧美杨 WRKY 转录因子的抗虫功能研究

顾丽姣¹, 于晓跃¹, 张超¹, 潘钰¹, 杨敏生^{1*}

(河北农业大学林学院, 保定, 071000)

摘要:明确欧美杨抗虫相关 WRKY 转录因子的抗虫功能, 探索调控抗虫性的分子机制, 为杨树抗虫育种提供理论指导。对美国白蛾取食欧美杨叶片进行转录组测序筛选抗虫相关 WRKY 转录因子; 构建过表达载体遗传转化烟草或杨树, 开展饲虫实验进行表型、生理生化、分子水平等指标测定, 明确 WRKY 基因的抗虫功能; 利用酵母双杂交、DNA 亲和纯化测序 (DAP-seq)、转基因植株的转录组及代谢组测序等技术揭示 WRKY 参与调控抗虫的分子机制。转录组测序共鉴定到 425 个抗虫相关转录因子, 属于 WRKY 家族的有 34 个, 其中 PeWRKY31、PeWRKY41 和 PeWRKY70 显著上调表达。PeWRKY31 的过表达转基因烟草提高了对棉铃虫的抗性。转录组测序和 KEGG 富集分析显示, 过表达烟草株系中谷胱甘肽代谢、植物激素信号转导和 MAPK 信号通路相关基因表达升高, 这些基因在植物抗虫中起重要作用。PeWRKY41 过表达转基因 84K 杨对美国白蛾幼虫产生了抗性。DAP-seq 分析 PeWRKY41 的结合位点, 最显著富集的基序是 W-box 元件。酵母双杂交显示酪蛋白激酶与 PeWRKY41 相互作用。转录组分析表明, 抗逆性基因 (蛋白激酶、小檗碱桥酶、过氧化物酶、几丁质酶等) 显著上调, 差异表达基因发生在与生物和非生物胁迫防御相关的途径上, 如类黄酮/黄酮和黄酮醇生物合成、萜类化合物合成、苯丙类生物合成等。PeWRKY70 的转基因 84K 杨对美国白蛾幼虫产生趋避作用, 且转基因株系中防御性酶 (多酚氧化酶和苯丙氨酸解氨酶) 活性显著提高。DAP-seq 筛选获得 27150 个 PeWRKY70 的潜在下游靶基因, 其中 PeWRKY31 和 PeWRKY41 可能受 PeWRKY70 靶向调控。酵母双杂交证实 PeWRKY70 蛋白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。利用全转录组测序、DAP-Seq 和代谢组测序数据进行联合分析, 构建 PeWRKY70 抗虫分子调控模型, 即 PeWRKY70 通过调控 LAC2、AS1、BGLU12、PARC、GSVIVT00023967001、MEE23 等基因的表达, 直接或间接调控精胺、香豆素、多酚氧化酶、绿原酸、苯甲醛、绿原酸等物质合成抵御害虫取食。欧美杨 PeWRKY31、PeWRKY41 和 PeWRKY70 转录因子均正向调控抗虫性。