

沙地云杉胚性和非胚性愈伤组织的转录组分析

王亚萍, 白玉娥

(内蒙古农业大学林学院, 呼和浩特 010019)

摘要:【目的】沙地云杉 (*Picea mongolica*) 是中国的珍稀树种, 对防治土地荒漠化和改善恶劣的生态环境有着重要的意义。由于沙地云杉天然更新出苗率低, 死亡率高, 且种子生产易受虫害、倒春寒等影响, 使得沙地云杉已逐渐趋于灭绝。目前体细胞胚胎发生是针叶树最有效的微繁方法, 但其胚性愈伤组织诱导率低, 胚性愈伤组织难以从非胚性愈伤组织中分化出来, 且分化时间长。因此本研究分别从形态学、细胞水平与转录水平来对沙地云杉胚性愈伤组织与非胚性愈伤组织进行研究。【方法】以沙地云杉成熟胚为外植体, 观察由胚发育成愈伤组织过程中的形态变化; 对沙地云杉胚性愈伤组织与非胚性愈伤组织进行组织学观察, 测定其 CAT、APX、PPO、SOD 及 POD 酶活含量, 并进行转录组测序; 利用实时荧光定量 RT-PCR(qRT-PCR)对 9 个与沙地云杉胚性愈伤组织有关的基因进行验证; 【结果】形态观察发现胚性愈伤组织呈白色透明丝状, 而非胚性愈伤组织呈现坚硬的棕褐色块状; 组织学结果表明非胚性愈伤组织细胞较大, 排列疏松, 细胞核较小附着在细胞边缘甚至没有, 细胞质不浓, 核质比较低, 细胞间间隙很大而且也不规则; 胚性愈伤组织细胞较小, 排列紧密, 细胞核及核仁大。生理研究表明, EC 和 NEC 在 ROS 清除酶方面存在显著差异。转录组在胚性和非胚性愈伤组织中共鉴定出 13267 个显著性表达的 DEGs, 其中上调表达的差异基因有 3682 个, 下调表达的差异基因有 9585 个。63 个 GO terms 被显著富集, 492 个差异表达基因在 98 个 KEGG 代谢通路上富集, 鉴定出 502 个差异转录因子分布在 38 个转录因子家族。同时, 我们分别揭示了在植物激素 (AUX/IAA、YUCCA、LEA 等)、胁迫反应 (GST、HSP、GLP 等)、苯丙氨酸代谢 (4CL、HCT、PAL 等) 和转录因子 (AP2/ERF、MYB、WOX 等) 中与体细胞胚发育相关基因的表达趋势。另外, 选择了 9 个基因进行 RT-qPCR 验证, 结果与 RNA-Seq 数据一致。【结论】本研究揭示了 NEC 分化成 EC 过程中形态、组织、生理和基因表达的变化, 为挖掘促进 EC 形成的关键基因奠定了基础。

关键词: 沙地云杉; 愈伤组织; 形态; 组织; 生理; 转录