

PaMYB11 促进欧洲云杉胚性愈伤组织渗透胁迫过程木栓质的沉积

胡继文¹, 朱天擎², 郝春卉¹, 凌娟娟¹, 姚程程¹, 卢楠¹, 孔立生³, 张含国⁴, 王军辉^{1*}

- (1. 中国林业科学研究院林业研究所 国家林业和草原局林木培育重点实验室 国家林木种质资源平台 北京 100091; 2. 中国林业科学研究院林木遗传育种全国重点实验室 北京 100091;
3. 维多利亚大学森林生物学中心 加拿大 维多利亚 BC V8P 5C2;
4. 林木遗传育种国家重点实验室(东北林业大学) 哈尔滨 150040)

摘要:【目的】研究针叶树未分化组织细胞在超低温保存预处理过程(Cryopreservation pretreatment, CPT)诱导的渗透胁迫下木栓质形成机制,为裸子植物渗透胁迫响应研究提供参考。【方法】以欧洲云杉(*Picea abies* (L.) Karst.) Pa VIII 系野生型(U-control)胚性愈伤组织(Embryogenic tissue, ET)为材料,创制关键调控因子——PaMYB11 过表达(*PaMYB11-OE*)、显性抑制(*PaMYB11-SRDX*)稳定转化细胞系,*GUS* 转化细胞系用作转化对照细胞系(T-control)。统计转基因系超低温保存复性生长量,明确 PaMYB11 在 CPT 过程起决定性作用。使用 RNA-seq 对转基因系基因表达进行分析,组织化学、显微镜测法分析转基因系 CPT 前后木栓质主要单体(长链脂肪酸)含量变化、木栓质沉积,最后结合 DAP-seq,筛选与 PaMYB11 结合的下游靶基因,以解析欧洲云杉木栓质的形成机制。【结果】U-control、T-control、*PaMYB11-OE* 系超低温保存后可正常复性生长,复性 2 周生长量为 2.4~3.2;而 *PaMYB11-SRDX* 系基本无法恢复生长,复性生长量仅为 0.7~0.8。RNA-seq 分析显示 *PaMYB11-OE* 系上调和在 *PaMYB11-SRDX* 系下调的差异基因显著富集的 KEGG 通路主要涉及脂肪酸(特别是长链脂肪酸)合成、降解。组化分析及透射电镜观测显示,U-control 系 CPT 后、T-control 系 CPT 后以及 *PaMYB11-OE* 系 CPT 前后 ET 样品的细胞壁超长链脂肪酸(碳链长度大于 20)含量均显著升高且具有明显的木栓质层;相反,*PaMYB11-SRDX* 系 CPT 前后超长链脂肪酸含量均较小且未观测到木栓质层的存在。结合 RNA-seq、DAP-seq,*PaMYB11* 下游潜在靶基因为 *PaPOP*、*PaTET8L*、*PaADH1*。【结论】综上,CPT 可诱导渗透胁迫下欧洲云杉 ET 细胞壁形成木栓质层,*PaMYB11* 通过直接调控超长链脂肪酸相关基因(*PaPOP*、*PaTET8L* 和 *PaADH1*)的表达促进木栓质单体的合成,进而达到调控木栓质层沉积的作用,为针叶树耐渗透胁迫性研究提供新的视角。