

果桑菌核病抗病基因挖掘及抗病 KASP 分子标记开发与应用

朱志贤 张成 孙兵 董朝霞 刘欣欣 胡兴明 于 翠*

(湖北省农业科学院经济作物研究所, 湖北 武汉 430064)

摘 要:【目的】桑椹菌核病是限制果桑产业发展的毁灭性病害, 培育抗病品种是防治该病最经济、有效的手段, 然而针对果桑抗菌核病分子机制研究进展缓慢, 本研究拟挖掘果桑菌核病抗性基因, 开发抗病分子标记。【方法】对不同发病级别(0 级: 无症状, 1 级: 1~20%, 3 级: 21~50%, 5 级: 51~90%, 7 级: 91~100%小核果显示病症)桑椹小粒型菌核病高感果桑品种粤椹大 10 (DS) 和高抗品种长果桑 (CG) 进行转录组测序, 筛选抗病相关基因, 并进行 qRT-PCR 验证。通过 VIGS 和瞬时过表达手段对筛选的基因进行功能验证。另外, 对 27 份抗、感菌核病果桑资源进行基因组重测序, 利用全基因组关联分析, 筛选 SNP 位点, 并用 SNaPshot 进行验证, 基于筛选的 SNP 位点设计 KASP 引物, 利用果桑资源对其进行验证, 并将 KASP 分子标记用于果桑杂交苗群体筛选。【结果】对转录组差异表达基因分析, 发现 CG, 发病 1, 3, 5, 7 级 DS 与未发病 DS 相比分别有 1704 个上调基因, 1766 个下调表达基因; 1302 个上调基因, 1082 个下调表达基因; 2148 个上调基因, 1862 个下调表达基因; 2400 个上调基因, 2442 个下调表达基因; 1504 个上调基因, 706 个下调表达基因。有 664 个基因在样本中共表达, 将其与 467 个抗病相关基因进行 Venn 分析发现, 有 7 个抗病相关基因上调表达, 7 个下调表达。差异表达基因 GO 富集显示, 在生物学过程方面, 主要富集在有机氮化合物分解代谢过程, 离子运输和碳水化合物衍生物分解代谢过程; 在分子功能方面, 主要富集在主要活性跨膜转运蛋白活性。KEGG 富集主要涉及类单萜生物学合成、植物和病菌互作及植物 MAPK 信号通路三个方面。qRT-PCR 和基因功能验证结果表明, *major allergen Pru av 1-like* (*MnPRUA1*) 和 *jacalin-related lectin 3* (*MnJRL3*) 基因正调控桑树菌核病抗性。根据重测序数据, 筛选 10 个核心 SNP, 使用 SNaPshot 进行验证, 发现 SNP6, SNP7 和 SNP8 准确率在 93%以上。设计 KASP 分子标记进行验证发现, 只有基于 SNP6 的 KASP 标记分型结果与菌核病抗性调查结果基本一致, 且该标记成功用于果桑杂交苗检测。【结论】*MnPRUA1* 和 *MnJRL3* 基因正调控桑树菌核病抗性, 筛选的 KASP 分子标记成功用于抗、感果桑品种分型。本研究对解析果桑抗菌核分子机制, 培育抗病品种具有重要意义, 为果桑产业的可持续发展提供了有力支撑。

关键词: 桑椹菌核病; 转录组测序; 抗病基因; 基因组重测序; KASP 分子标记

基金项目: 国家自然科学基金(31800544), 国家重点研发计划支持项目(2020YFD1000700), 国家现代农业产业技术体系(CARS-22-ZJ0304), 湖北省技术创新专项重大项(2019ABA090)

*通信作者(Author for correspondence), 于翠, 研究员, 硕士生导师。E-mail: mrsyu888@hotmail.com