

基于转录组测序的焦枯病抗性桉树的遗传研究

苏祉夷^{1,2}, 罗建中¹, 林彦¹, 黄安瀛¹, 卢万鸿^{1*}

(1.中国林业科学研究院速生树木研究所, 广东 湛江 524022; 2.南京林业大学, 南京 210037)

摘要:【目的】我们希望通过多组基因型感病测试的结果, 对人工杂交产生新的抗病品种进行筛选, 找出与桉树焦枯病相关的差异基因, 最终目的是解决桉树焦枯病危害。【方法】此前的研究普遍认为粗皮桉 P9060 是抗病的树种。韦塔桉 W1767 是感病树种。尾粗桉 H1522 抗病能力一般。我们对经过焦枯病病原菌侵染筛选出的感病 EC333 (H1522*unknown)和抗病 EC338 (W1667*P9060)杂交种及其亲本进行 RNA-Seq 测序。获得的转录组信息与巨桉参考基因组比对并功能注释, 使用 FPKM 的标准化方式得到基因的表达量, 对基因表达模式的相关性和共表达基因的差异数目进行了分析。然后进行差异基因筛选和聚类。最后对差异表达基因进行 GO 富集和 KEGG 通路差异表达基因富集, 然后分别基于 GO、KEGG 注释进行 GSEA 富集。确定了子代与亲本和抗感病杂交种后代间的差异表达基因。我们主要选取 EC333 和 EC338、EC338 与 P9060、EC338 和 W1767、EC333 与 H1522 四对基因型的共有差异表达基因。【结果】我们在这里只列出最为关键的两个杂交种的差异基因结果。EC333 和 EC338 的差异基因有 3912 个, 其中上调 1631 个, 下调 2281 个。差异基因表达量显示, 差异基因集在 P9060 和 EC338 中的表达趋势相似, W1767 表达量趋势与 EC338 相反。基于 GO 注释的 GSEA 富集显示, EC338 和 EC333 的差异表达基因通路为 Carbohydrate binding (GO:0030246)。基于 KEGG 注释的 GSEA 富集显示, EC338 和 EC333 的差异表达基因通路为 Sesquiterpenoid and triterpenoid biosynthesis (EGR00909)。可变剪接分析显示, EC338 和 EC333 的差异可变剪接事件基因为 LOC104426602。SNP 分析显示, EC338 在 Exon 区变异位点比 EC333 多 9631 个。本研究 WGCNA 显示, 与 EC338 正相关性最强的两个模块是 MEpink 和 MEtan, 相关性值为 0.485301597 和 0.4389636; 负相关性最强的两个模块是 MESaddlebrown 和 MERed, 相关性值为-0.204643774 和-0.17722817。与 EC333 正相关性最强的两个模块是 MELightgreen 和 MESaddlebrown, 相关性值为 0.532894171 和 0.320682081; 负相关性最强的两个模块是 MERed 和 MEgreenyellow, 相关性值为-0.177673509 和-0.170610241。理论上与两个杂交种相关性相反的模块中的相同基因为与焦枯病相关的基因。【结论】我们通过对感病和抗病杂交种、杂交种与其亲本间的 RNA-seq 分析, 找到了可能与桉树焦枯病相关的差异基因通路以及通路里符合我们查找标准的具体基因。本研究比较详细地阐释了桉树抗焦枯病杂种优势的遗传基础, 为发掘桉树抗焦枯病相关基因提供了依据。