



葡萄炭疽菌关键效应蛋白致病机理的研究

Research on the pathogenic mechanism of key effector molecules of *Colletotrichum viniferum*

园艺学院

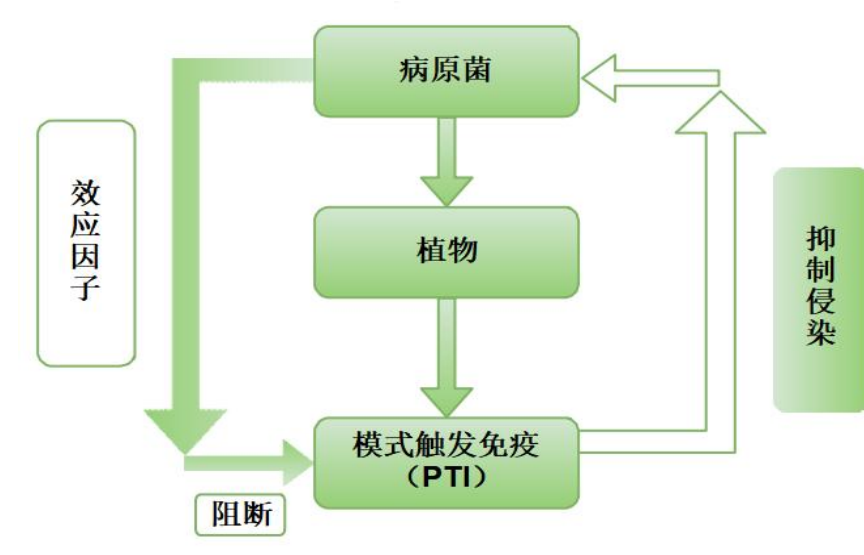
团队成员：冯梓诺 许熙

指导教师：徐炎

Introduction

葡萄炭疽病为葡萄进入转色成熟期最重要的真菌病害之一，炭疽菌侵染初期果实表面会出现红褐色斑点，随着侵染时间的增长，病斑呈褐色并蔓延至整个果实，最终导致果实软化、干瘪，对葡萄的产量和质量产生了严重的影响。

植物中抗病蛋白与病菌中效应蛋白的作用可以用来快速鉴定和克隆种质资源中的抗病基因，分析不同品种的抗病基因组成，在育种中追踪抗病基因的传递情况，为葡萄的抗病育种提供指导。

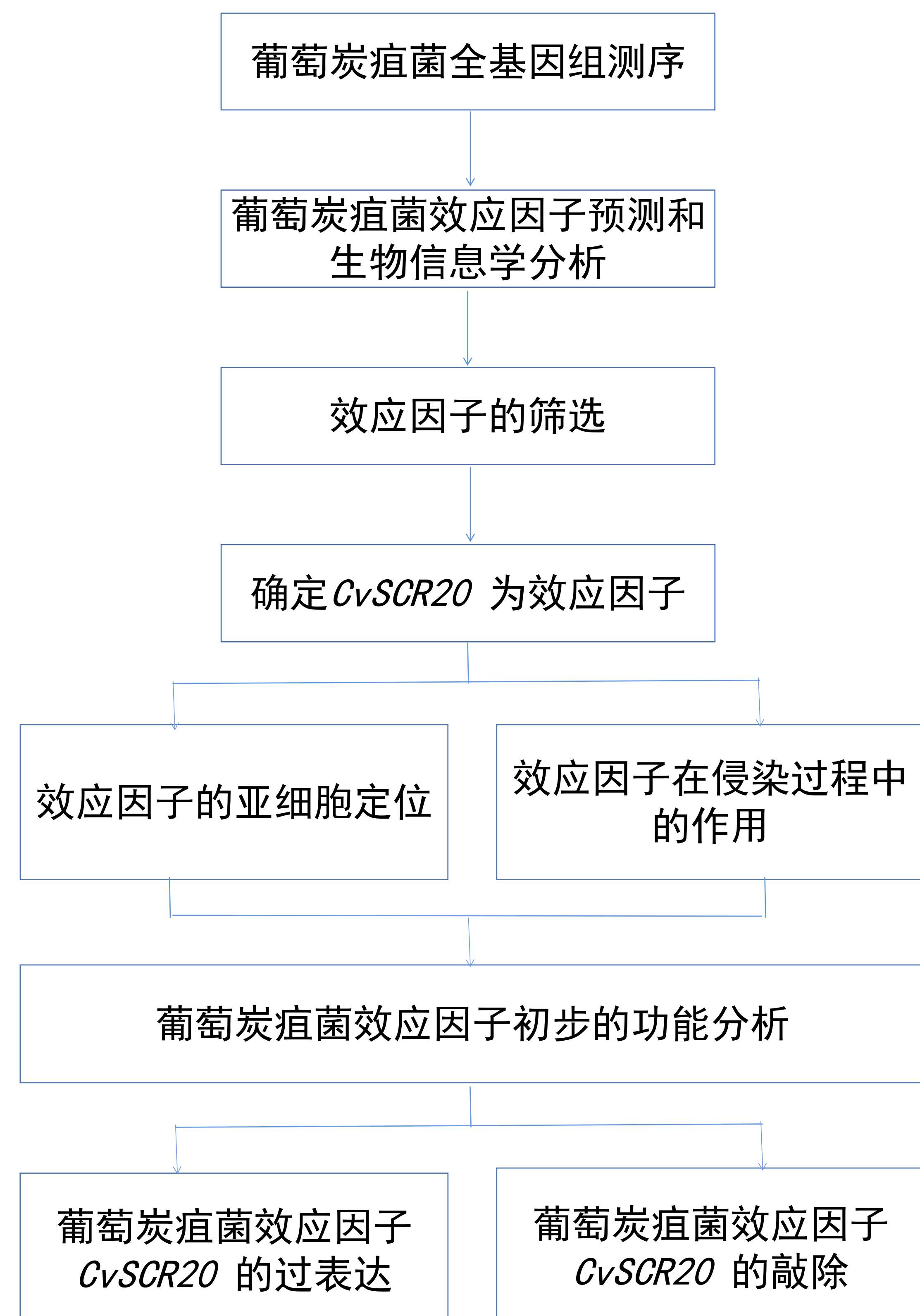


Objectives

对葡萄炭疽菌进行全基因组测序、生物信息学分析和瞬时转化烟草法筛选得到一个效应因子

对该效应因子进行亚细胞定位、表达模式分析和初步的功能分析

Roadmap & Routine



Results

1. 葡萄炭疽菌的全基因组测序

Features	Statistics
Genome size (Mb)	73.40
Gene number	14,668
Gene total length(bp)	21,757,859
Gene length/Genome(%)	29.64
GC content of coding DNA (%)	56.91
Gene average length (bp)	1,483
Gene internal length (bp)	51,648,482
Gene internal GC Content (%)	40.07
Gene internal (% of total genome)	70.36
rRNA number	482
rRNA number	131
snRNA number	26
Repetitive sequences (%)	4.42
Contig	70
Max contig length (Mb)	6.4
N50 contig length (Mb)	2.0

Table 1. Genome features of the *C. viniferum* YL-2a.

Effectors	Peptide size	Signal prediction		TMHMM2.0	Genetic location
		Start	End		
A0330 (SCR1)	102	1	18	0.799	{Contig1:477961:478209-}
A0700 (SCR2)	130	1	24	0.855	{Contig1:153787:154159-}
A09076 (SCR3)	106	1	17	0.785	{Contig1:1665175:1665495-}
A09567 (SCR4)	107	1	19	0.88	{Contig1:4187961:4188284-}
A11069 (SCR5)	84	1	18	0.785	{Contig1:582595:582849-}
A13877 (SCR6)	81	1	21	0.525	{Contig1:1843284:1843529-}
A14207 (SCR7)	70	1	19	0.776	{Contig1:77991:78203-}
A00740 (SCR8)	82	1	18	0.867	{Contig1:11286722:1286970-}
A01508 (SCR9)	123	1	21	0.812	{Contig1:31489798:1490169-}
A02196 (SCR10)	94	1	19	0.876	{Contig1:5:746327:746611-}
A02541 (SCR11)	147	1	20	0.783	{Contig1:6:1191179:1191622-}
A03228 (SCR12)	97	1	19	0.789	{Contig1:9:304486:304779-}
A05621 (SCR13)	104	1	18	0.822	{Contig1:2:634236:634550-}
A08045 (SCR14)	74	1	19	0.901	{Contig1:1:223139:223363-}
A08190 (SCR15)	164	1	19	0.687	{Contig1:32:397105:397599-}
A09750 (SCR16)	89	1	17	0.653	{Contig1:1:272780:273049-}
A09865 (SCR17)	86	1	17	0.784	{Contig1:2:306973:307233-}
A11221 (SCR18)	118	1	19	0.712	{Contig1:2:232768:233124-}
A11398 (SCR19)	163	1	19	0.797	{Contig1:5:32755:33846-}
A1478 (SCR20)	102	1	18	0.846	{Contig1:8:118382:118690-}

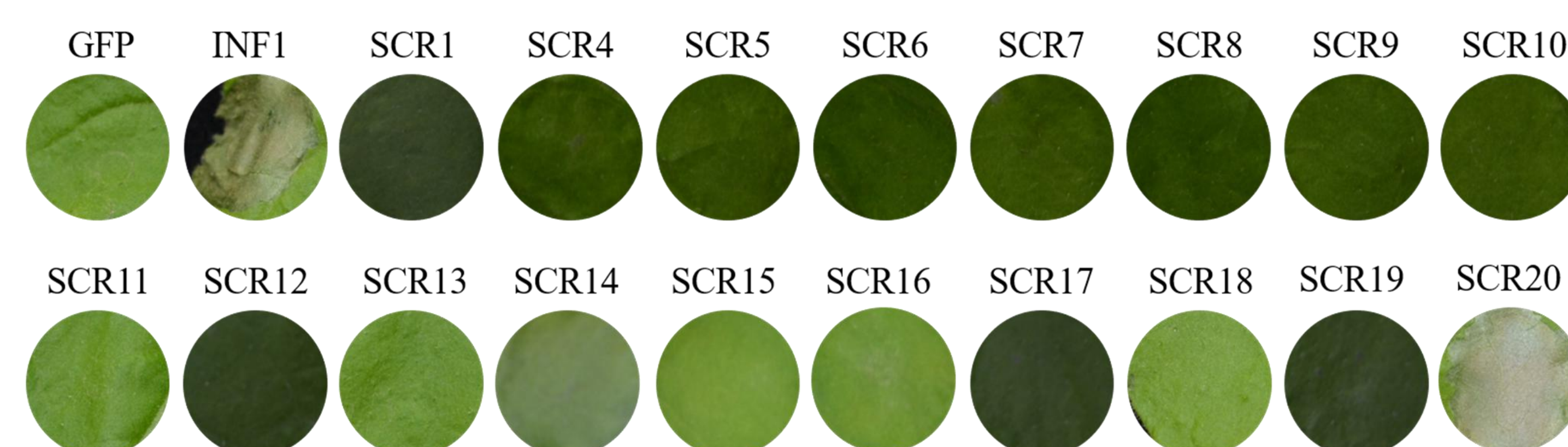
Table 2: Summary of 20 putative *C. viniferum* effectors description

2. 葡萄炭疽菌效应因子的预测 (以 CvSCR1-10 为例)

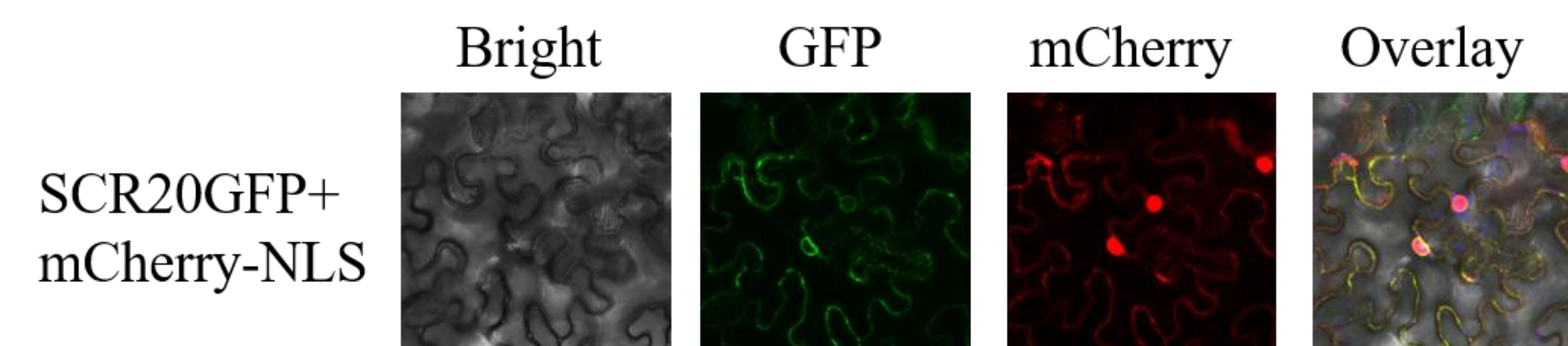
Gene	nr	SwissProt	KEGG	KOG
A03530	{ELA33003.1; hypothetical protein CGGC5_7009 [Colletotrichum gloeosporioides Nara gc5]}	{NA}	{NA}	{NA}
A07060	{EQB54742.1; hypothetical protein CGLO_05394 [Colletotrichum gloeosporioides Cg-14]}	{NA}	{NA}	{NA}
A09076	{EQB52908.1; hypothetical protein CGLO_07419 [Colletotrichum gloeosporioides Cg-14]}	{NA}	{cfj:CFIO01_0028;}	{NA}
A09567	{NA}	{NA}	{NA}	{NA}
A11069	{NA}	{NA}	{NA}	{NA}
A13877	{NA}	{NA}	{NA}	{NA}
A14207	{EXK86526.1; hypothetical protein FOQG_09794 [Fusarium oxysporum f. sp. raphani 54005]}	{NA}	{fvr:FVEG_12376;}	{NA}
A00740	{EXF80289.1; hypothetical protein CFIO01_08526 [Colletotrichum fioriniae PJ7]}	{NA}	{cfj:CFIO01_08526;}	{NA}
A01508	{EQB55746.1; hypothetical protein CGLO_04294 [Colletotrichum gloeosporioides Cg-14]}	{NA}	{cfj:CFIO01_04464;}	{NA}
A02196	{XP_018154202.1; Glycoside hydrolase family 3 protein [Colletotrichum higginsianum]}	{NA}	{NA}	{NA}

Table 3: Domain effectors batch CD

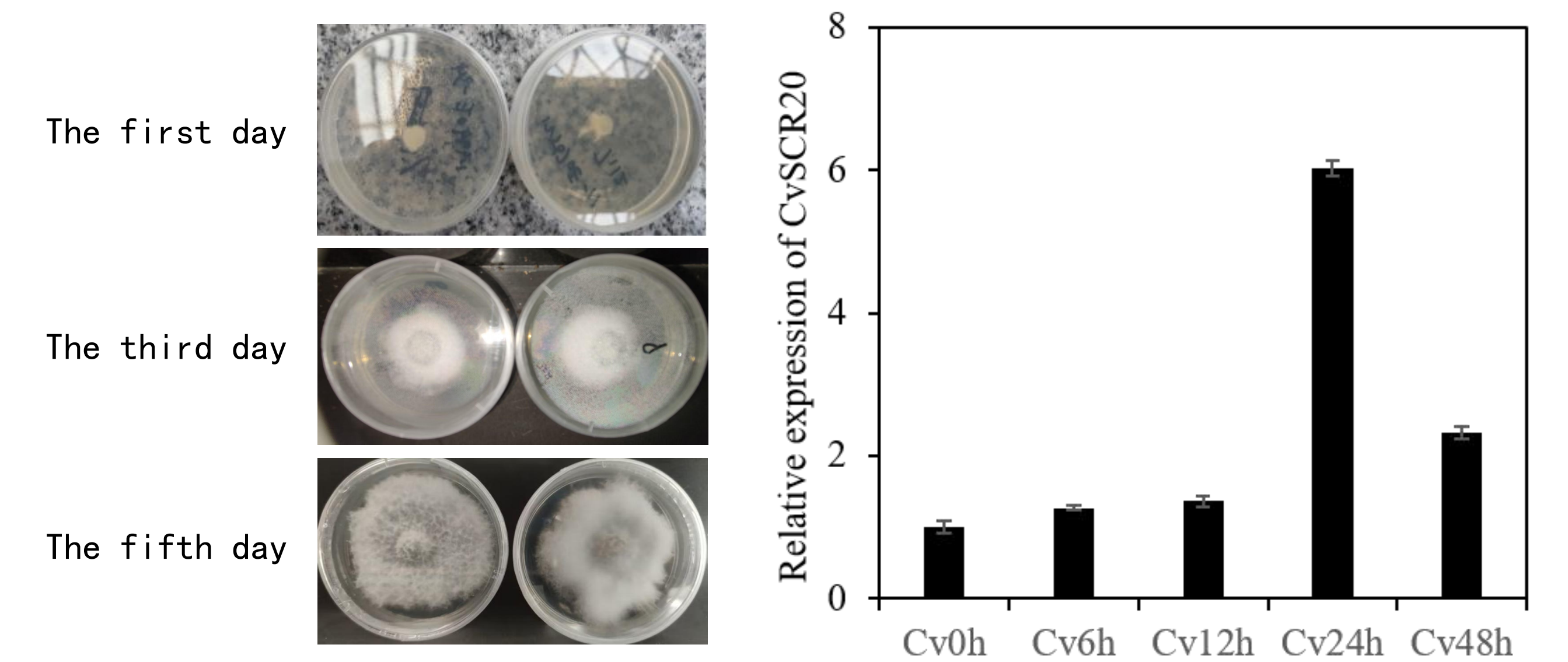
3. 葡萄炭疽菌效应因子的筛选 (瞬时转化本氏烟草法)



4. 葡萄炭疽菌效应因子 CvSCR20 在本氏烟草中的亚细胞定位 (瞬时转化本氏烟草法)



5. 葡萄炭疽菌效应因子 CvSCR20 在炭疽菌侵染葡萄叶片过程的表达模式分析 (实时荧光定量PCR法)



Conclusions

通过生物信息学分析以及与其他真菌基因组比对进行 batch CD, KEGG, NR, SwissProt分析等，筛选得到效应因子 *CvSCR20*。

效应因子 *CvSCR20* 可以引起烟草细胞的死亡，进行亚细胞定位后确定效应因子 *CvSCR20* 在植物细胞中定位于细胞膜及核膜。并通过实时荧光定量PCR法得到，在炭疽菌侵染葡萄叶片的过程中，效应因子 *CvSCR20* 的表达量渐渐上调，在侵染后 24h 达到最大值，而后在侵染后 48h 下降的结论。

Expectation

后续会继续探究葡萄炭疽菌效应因子 *CvSCR20* 在侵染过程中的作用和葡萄炭疽菌突变体的初步功能分析，即葡萄炭疽菌效应因子 *CvSCR20* 过表达和敲除后，葡萄炭疽菌致病力的变化。

本研究初步探索了葡萄炭疽菌的相关致病机理，为葡萄炭疽病的防治策略及抗病育种提供理论指导和技术支持。

Acknowledgement

感谢国家大学生创新创业训练项目资助 (S202310712041) 感谢西北农林科技大学园艺学院徐炎教授的辛勤指导和葡萄种植资源和遗传育种室团队的支持



Contact

负责人：冯梓诺 园艺学院 & 创新实验学院

联系方式：19131971685

邮箱：19131971685@nwafu.edu.cn

指导教师：徐炎 园艺学院

