

## 沉默 *LjMLO14* 基因增强忍冬对白粉病的抗性作用研究

褚洪月<sup>1</sup>, 刘振华<sup>1,2</sup>, 李 佳<sup>1,2</sup>, 刘 谦<sup>1,2</sup>, 张永清<sup>1,2</sup>, 蒲高斌<sup>1,2\*</sup>

1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

2. 山东省中药质量控制与全产业链建设协同创新中心, 山东 济南 250355

**摘要:**目的 探索忍冬 *Lonicera japonica* 基因 (*LjMLO14*) 抗白粉病机制。方法 应用病毒诱导的基因沉默技术 (virus induced gene silencing, VIGS) 抑制忍冬 *LjMLO14* 基因的表达, 通过接种白粉菌进行抗性鉴定。结果 研究发现, 在 VIGS 载体转化忍冬 15 d 后, *LjMLO14* 基因的相对表达量显著下降了 80%~90%, 沉默效果显著。对基因沉默后的忍冬叶片进行白粉病抗性鉴定, 菌丝体的生长较野生型显著减弱, 抗性水平较野生型显著提高。结论 为初步鉴定 *LjMLO14* 基因对忍冬白粉病的调控功能, 培育忍冬抗白粉病新品种提供理论依据。

**关键词:** 忍冬; 基因沉默技术; *LjMLO14*; 白粉病; 抗性

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)11-4029-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.11.022

## Silencing *LjMLO14* gene enhances resistance of *Lonicera japonica* to powdery mildew

CHU Hongyue<sup>1</sup>, LIU Zhenhua<sup>1,2</sup>, LI Jia<sup>1,2</sup>, LIU Qian<sup>1,2</sup>, ZHANG Yongqing<sup>1,2</sup>, PU Gaobin<sup>1,2</sup>

1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. Shandong Province Traditional Chinese Medicine Quality Control and Whole Industry Chain Construction Collaborative Innovation Center, Jinan 250355, China

**Abstract: Objective** To explore the mechanism of *Lonicera japonica* gene (*LjMLO14*) against powdery mildew. **Methods** In this study, virus induced gene silencing (VIGS) was used to suppress the expression of the *LjMLO14* gene in *L. japonica*, and the resistance was identified by inoculating powdery mildew. **Results** Fifteen days after VIGS vector transformation, the relative expression of the *LjMLO14* gene was significantly reduced by 80%—90% compared with the control group, indicating a robust silencing effect. The powdery mildew resistance of *L. japonica* leaves after gene silencing was identified. The growth of mycelium was significantly weaker than that of the wild type, and the resistance level was significantly higher than that of wild type. **Conclusion** This study provides a theoretical basis for the preliminary identification of the regulatory function of *LjMLO14* gene on powdery mildew of *L. japonica* and the cultivation of new varieties of *L. japonica* resistant to powdery mildew.

**Key words:** *Lonicera japonica* Thunb.; virus induced gene silencing; *LjMLO14*; powdery mildew; resistance

金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带少数初开的花, 具有清热解毒、疏散风热的功效。近年来, 金银花的需求量大幅攀升, 种植面积逐年增加, 仅山东省就已经超过 100 万亩 (1 亩=0.066 7 hm<sup>2</sup>)。白粉病为忍冬的主要病害, 在全国各种植区广泛发生, 主要危害忍冬的叶片和嫩茎, 被害部位出现大小不一的白色粉斑, 后出现

小黑点, 引起落花、凋叶、枝条干枯, 导致金银花品质降低和严重的产量损失<sup>[1-2]</sup>。忍冬白粉病主要通过化学药物防治, 如果是花期用药, 极易引起农药残留, 严重影响金银花的品质。探索忍冬白粉病的发生机制, 选育抗病品种, 对于忍冬的规范化种植具有重要意义。

基因沉默技术 (virus induced gene silencing,

收稿日期: 2024-11-05

基金项目: 山东省重点研发计划 (乡村振兴科技创新提振行动计划) 项目 (2022TZXD0036); 山东省农业良种工程项目 (2021LZGC008); 山东省现代农业产业技术体系中草药创新团队项目 (SDAIT-20)

作者简介: 褚洪月 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药资源学。E-mail: chuhongyue0717@163.com

\*通信作者: 蒲高斌 (1979—), 男, 教授, 主要从事中药资源研究。E-mail: gbpu@163.com

VIGS) 是植物生物学中通过抑制特定基因的表达, 在不需转基因修饰的情况下研究基因功能的一种技术<sup>[3]</sup>。在 VIGS 中, 病毒载体将目的基因对应的 DNA 片段整合到自己的基因组中, 侵染植物并将这种遗传物质传递到植物细胞中。病毒进入植物体内就会复制并产生与目的基因 mRNA 互补的小 RNA 分子, 小 RNA 分子触发 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 的自然防御机制, 该机制与目的基因的 mRNA 结合并引导其降解<sup>[4]</sup>。因此, 目的基因的表达被有效地沉默或降低。与其他基因沉默技术相比, VIGS 可以快速、高效的沉默, 不需要遗传转化、转基因植株的产生, 已成功用于拟南芥<sup>[5]</sup>、烟草<sup>[6]</sup>、大麻<sup>[7]</sup>、红枣<sup>[8]</sup>等多种植物。

大量研究发现植物霉菌位点 O (*MLO*) 基因在植物抗白粉病中发挥重要作用, 其编码抑制对白粉病防御的蛋白质<sup>[9]</sup>, *MLO* 基因家族特定成员的功能丧失突变, 编码作为“易感因子”起作用的七螺旋植物膜蛋白, 导致对白粉病感染的高效免疫<sup>[9-12]</sup>。因此, *MLO* 等位基因的突变或沉默可导致对大麦<sup>[13]</sup>、小麦<sup>[14]</sup>、烟草<sup>[15]</sup>和番茄<sup>[16]</sup>等中各种真菌病原体引起的白粉病广谱和持久抗性。Shnaider 等<sup>[17]</sup>利用 CRISPR/Cas 9 介导的 *CsaMLO8* 诱变对黄瓜产生抗白粉病的抗性。Pessina 等<sup>[18]</sup>通过敲低特定的 *MLO* 基因, 降低了葡萄藤对白粉病的易感性。综上所述, *MLO* 家族基因在植物抗白粉病方面发挥了重要作用。

本研究以前期工作获得的 *LjMLO14* 基因为基础, 进一步构建了 *LjMLO14* 目的基因的 VIGS

沉默载体, 通过农杆菌介导侵染获得沉默植株并进行抗性鉴定。本研究为初步鉴定 *MLO14* 基因对白粉病的调控功能, 也为今后更好地分析 *MLO* 基因, 培育忍冬植物抗白粉病新品种提供了理论依据。

## 1 材料与试剂

忍冬材料选用山东中医药大学培育的忍冬新品种“华金 2 号”, 经山东中医药大学蒲高斌教授鉴定为忍冬科忍冬属植物忍冬 *L. japonica* Thunb.。4 °C 保存的忍冬种子经 300 mg/L 赤霉素浸泡 24 h 后, 在人工气候室中进行播种和培养, 培养条件: 温度 23 °C, 光照强度 110 μmol/(m<sup>2</sup>·s), 光周期 16 h 光照/8 h 黑暗, 湿度 60%。

ZMBJ-CMV VIGS 载体由中国农业大学植物保护学院植物病理学系周涛研究组提供。白粉病菌取自山东中医药大学药圃大棚内自然发病的新鲜忍冬白粉病叶片。C58C1 菌株购自上海唯地生物技术有限公司; 引物合成和测序均由铂尚生物技术 (上海) 有限公司完成。

## 2 方法

### 2.1 *LjMLO14* 基因的克隆

前期课题组通过全基因组测序获得金银花 *MLO* 家族候选基因 25 个, 接种白粉菌后, *MLO14* 增加最多, 比对照提高了 2 000 多倍<sup>[19]</sup>, 因此本研究选用 *LjMLO14* 做为目的基因。使用 Primer 6.0 选取同源性较高的片段设计 *MLO14* 片段的特异性引物 (表 1), 在设计引物时加上 Kpn I 和 Xba I 酶切位点, 扩增片段大小为 244 bp。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物	引物序列 (5'-3')	用途
<i>LjMLO14</i> -F	GATCGGTACCCCTAAGGGTAAAGCTCAATTTGTG	<i>LjMLO14</i> 基因克隆
<i>LjMLO14</i> -R	GATCTCTAGAAGAAATTTAAATGCCTACGCC	
CMV2F2557	AAATCTCAGACTGCTCCGC	VIGS载体引物
CMV23R	AATGGATCCGGTCTCCTTTTGGAG	
<i>Actin</i> -F	GGATGCTTATGTCGGTGATGAAG	内参引物
<i>Actin</i> -R	TGTTGGCTTTAGGGTTGAGAGG	
<i>qMLO14</i> -F	CAACGCCCCAGAGATGCTAT	定量引物
<i>qMLO14</i> -R	CGGAATGCACAACAACCGAT	

RNA 提取步骤参照试剂盒说明书。提取的 RNA 经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测。使用 TAKARA 公司的 PrimeScrip™ RT reagent Kit with gDNA

Eraser 试剂盒, 将合格的 RNA 反转录为 cDNA。以上述 cDNA 为模板, 使用北京聚合美生物科技有限公司 2×M5 HiPer plus Taq HiFi PCR mix 高保真 Taq

酶 mix 进行 *MLO14* 基因扩增。PCR 扩增产物经 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测, 确定条带的正确性和单一性。然后使用胶回收试剂盒进行 PCR 产物回收, 回收步骤参考说明书。回收产物与 pMD18-T 载体按照说明书的步骤和方法进行连接, 并转化到 DH5 $\alpha$  感受态细胞。经抗性筛选后, 挑取阳性单菌落, 用引物进行 PCR 检测, 并将阳性菌落送至铂尚生物技术(上海)有限公司测序。

## 2.2 进化树分析

将 *LjMLO14* 基因的测序结果进行生物信息学分析。利用 NCBI 在线软件 ORF finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 分析基因的开放阅读框(open reading frame, ORF)和翻译出的蛋白序列; 利用 Ex-PASy ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam/>) 进行蛋白的理化性质分析。通过 NCBI 数据库的在线软件 blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) 寻找与 *LjMLO14* 蛋白序列相似的其他物种的 MLO 蛋白序列并下载; 利用 MEGA X 软件对 *LjMLO14* 蛋白与其他物种 MLO 蛋白进行系统进化树分析, 方法设置为 Bootstrap methA, 重复次数为 1 000。

## 2.3 表达载体的构建

将测序正确的大肠杆菌提取质粒, 采用限制性内切酶 Kpn I、Xba I 同时对该质粒和 pCMV201-2bN81 质粒分别进行双酶切。将酶切后的目的片段和 pCMV201-2bN81 载体回收, 利用 T4 连接酶过夜连接, 并转化到大肠杆菌感受态细胞中。经抗性筛选后, 挑取阳性单菌落, 用载体引物进行 PCR 检测。参考李小丽等<sup>[19]</sup>实验方法, 成功连入插入片段的 pCMV201-2bN81 重组质粒经 PCR 扩增得到的产物大小为 431+插入片段长度, 未能成功插入片段的 pCMV201-2bN81 质粒经 PCR 扩增得到的产物大小约为 431 bp。PCR 程序为: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 30 s, 55 °C、30 s, 72 °C 延伸 90 s, 循环 30 次; 72 °C 终延伸 10 min。将正确插入的重组质粒转化农杆菌 C58C1。

## 2.4 农杆菌接种及沉默效率检测

将携带有 pCMV101、pCMV201-2bN81:*LjMLO14*、pCMV301 的农杆菌 C58C1 在带有卡那霉素(质量浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )和利福平(质量浓度为 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的 LB 培养基中 28 °C、180 r/min 震荡培养 36 h。再以 1:100 的比例取新鲜菌液接种于 20 mL LB 液体培养基中, 28 °C 摇床 200 r/min 振荡培养至  $A_{600}$  为 0.8~1.0。菌液以 4 000 r/min 离心 10 min 收集

菌体, 弃上清液, 使用侵染缓冲液[10 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 10 mmol/L 2-(*N*-吗啡啉)乙磺酸、100  $\mu\text{mol}/\text{L}$  AS] 将重悬洗涤后的菌体浓度调整至  $A_{600}=1.0$ 。室温静置诱导至少 3 h。

将诱导后携带有 pCMV101、pCMV201-2bN81:*LjMLO14*、pCMV301 的农杆菌分别以 1:1:1 的比例混合, 用 1 mL 不带针头的注射器浸润接种 4~6 叶期忍冬叶片背面。设置 2 个处理组: 野生型忍冬为空白对照组(CK)、含 *LjMLO14* 基因的重载体注射为实验组(P1), 每组 21 株, 平行测定 3 次。注射后放置 23 °C 黑暗培养 2 d, 之后正常光照培养。

采集接种病毒 15 d 后接种叶上一叶, 提取叶片总 RNA, 并反转录合成 cDNA, 采用 SYBR Green 法进行 qRT-PCR, 分析 *MLO14* 的相对表达量。选用金银花 *Actin* 基因(NTU60495)为内参基因, 并设计实时荧光定量 PCR 引物(表 1)。相对表达量按照 2<sup>- $\Delta\Delta C_t$</sup> 法进行计算, 每个样品有 3 个技术重复, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 使用 SPSS 软件分析结果, 显著性  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ 。使用 GraphPad prism 软件进行作图。

## 2.5 VIGS 沉默 *LjMLO14* 基因植株白粉病抗性鉴定

以野生型忍冬作为对照组, 沉默 *LjMLO14* 基因的忍冬作为实验组, 选用生长状态相同的幼嫩叶片进行白粉病的抗性鉴定。参照崔文艳等<sup>[20]</sup>的方法, 通常选取植株第一叶中段进行接种, 略有改动。先在待接种材料叶片表面喷洒适量水雾, 将叶片清洗干净并去除残留在叶片上的水, 将制备的新鲜白粉菌均匀摩擦接种至叶片表面, 接种 3 次, 正常培养 7 d 后, 统计忍冬叶片发病的叶片数和病情等级, 依据白粉病抗性等级的标准对叶片进行抗性水平的鉴定<sup>[21]</sup>。实验设置为 3 次重复, 每次重复 10 个植株。将相对抗病指数为 1.00 的判定为免疫、在 0.80~0.99 为高抗、在 0.40~0.79 的为中抗、在 0.20~0.39 为中感、0.20 以下为高感。根据公式计算感染率和病情指数。

感染率 = 感染白粉病叶片数/接种叶片数

病情指数 =  $\Sigma$ (病级株数  $\times$  病级)/(总株数  $\times$  发病最重级)

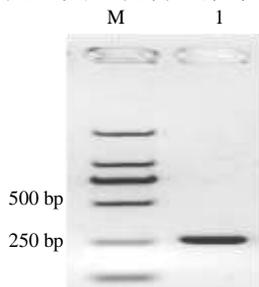
选取生长状态相同的对照组和实验组, 将制备的新鲜白粉菌均匀摩擦接种至幼叶的正面, 于 23 °C、16 h 光照/8 h 黑暗培养 2、4、6 d。培养结束后, 将叶片样本置于 0.15%三氯乙酸的乙醇脱色液中, 37 °C 恒温箱中脱色 48 h, 期间更换 2~3 次脱色液直至叶段完全透明。显微镜观察前用考马斯

亮蓝染色液（0.15%三氯乙酸水溶液-0.6%考马斯亮蓝 R-250 甲醇溶液=1:1）染色 10 min，随后用无菌水清洗干净，50%的甘油溶液制片，于显微镜下观察白粉病菌的生长状态。

### 3 结果与分析

#### 3.1 *LjMLO14* 基因的克隆

本研究对 *LjMLO14* 基因片段进行 RT-PCR 扩增。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测，得到 1 条 244 bp 的目的条带（图 1），条带大小明亮且清晰，与预测片段大小相符。经测序，结果显示扩增序列和参考序列一致无突变，说明该条带是目标靶基因。



M-marker; 1-*LjMLO14* 基因 PCR 产物。  
M-marker; 1-PCR product of the *LjMLO14* gene.

图 1 忍冬 *LjMLO14* PCR 扩增结果

Fig. 1 PCR amplification result of *LjMLO14* gene in *L. japonica*

#### 3.2 进化树分析

前期研究已获得 *LjMLO14* 全长序列。*LjMLO14* 全长 2 600 bp，编码 846 个氨基酸，有 10 个跨膜结构域。利用 MEGA X 软件构建系统进化树，分析 *LjMLO14* 蛋白与其他物种同源蛋白的亲缘关系，结果显示，忍冬 *LjMLO14* 蛋白与曼陀罗 *Datura stramonium* MLO 蛋白同源性最高，与茄子 *Solanum melongena* L.、烟草 *Nicotiana tabacum* Engler、牵牛花 *Petunia hybrida* Vilm.、丹参 *Salvia hispanica* Bunge 等的亲缘关系较远（图 2）。

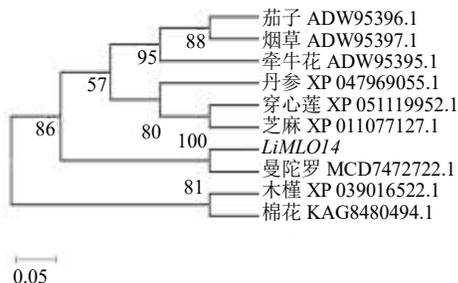


图 2 不同物种中 MLO 蛋白的系统进化树分析

Fig. 2 Phylogenetic tree analysis of MLO proteins in different species

#### 3.3 表达载体的构建

将双酶切后的目的片段与载体连接（图 3），转化大肠杆菌感受态细胞。使用载体引物 PCR 检测阳性菌斑，成功连入插入片段的 pCMV201-2bN81 重组质粒经 PCR 扩增得到的产物大小为 431 bp+插入片段长度（图 4），条带大小符合预期，说明 VIGS 载体构建成功，可用于后续实验。

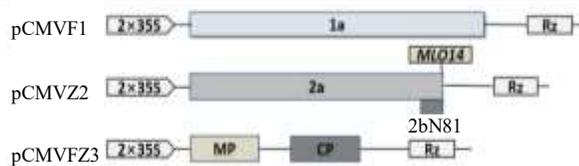
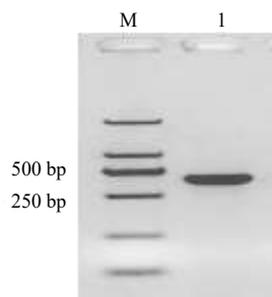


图 3 表达载体构建图

Fig. 3 Expression vector construction diagram



M-marker; 1-重组质粒经 PCR 扩增得到的产物。  
M-marker; 1- product of the recombinant plasmid amplified by PCR amplification.

图 4 阳性克隆菌落鉴定

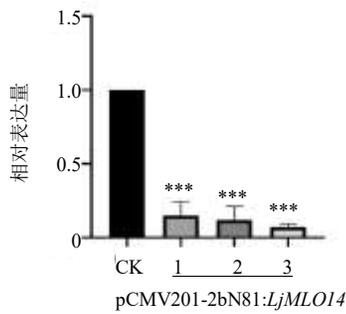
Fig. 4 Identification of positive clonal colonies

#### 3.4 *LjMLO14* 基因沉默效率验证

为了验证“华金 2 号”忍冬的 *LjMLO14* 基因是否有效沉默，在接种病毒 15 d 后通过 qRT-PCR 检测 *LjMLO14* 基因的表达量。定量结果表明，沉默植株中 *LjMLO14* 基因的相对表达量下降了 80%~90%，说明病毒载体的导入可显著地降低实验组植株内源目标基因的相对表达量，有效沉默目标基因（图 5）。

#### 3.5 VIGS 技术处理后忍冬植株的白粉病抗性鉴定

为了进一步探究忍冬 *LjMLO14* 的抗病功能，接种白粉菌至 *LjMLO14* 基因沉默的植株叶片，7 d 后对处理植株的白粉病抗性鉴定。只接种病原孢子的对照组发病较为严重，显著高于经 VIGS 处理后沉默 *LjMLO14* 的忍冬植株。如表 2 所示，经 VIGS 处理后忍冬的相对抗性指数上升，抗性水平由中感上升为中抗。沉默 *LjMLO14* 基因型忍冬植株的抗性水平均得到提高。

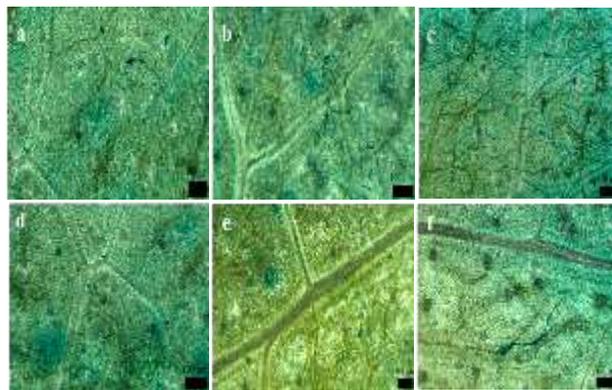


\*\*\* $P < 0.01$  水平上存在显著差异, 1~3 为沉默组 3 个单株叶片 *MLO14* 基因表达量。

\*\*\*Significant difference at the  $P < 0.01$ , 1—3 were the expression levels of *MLO14* gene in the leaves of three individual plants in the silencing group.

图 5 *LjMLO14* 基因的沉默效果检测

Fig. 5 Detection of *LjMLO14* gene silencing efficiency



a~c-对照组植株接种白粉菌 36、48、96 h; d~f-实验组植株接种白粉菌 36、48、96 h。

a—c-control plants were inoculated with powdery mildew for 36, 48, 96 h; d—f-experimental plants were inoculated with powdery mildew for 36, 48, 96 h.

图 6 白粉菌在忍冬植株幼叶上发育的显微镜观察

Fig. 6 Microscopic observation of development of powdery mildew on young leaves of *L. japonica* plants

条菌丝在不断分枝, 产生次生菌丝, 呈辐射状蔓延在忍冬叶片上。

在镜检观察孢子发育结构的同时, 统计白粉菌成功侵染忍冬叶片比例, 统计结果如图 7 所示, 沉默组植株较对照组植株感染白粉病的比例降低, 对白粉病的抗性水平显著提高。接种白粉菌后(图 8), 白粉菌对沉默植株较对照组植株侵染率下降, 菌丝生长缓慢, 这些结果均表明, 当植株内源 *MLO* 基因表达下调时, 忍冬植株对白粉病的抗性得到了有效提升。

#### 4 讨论

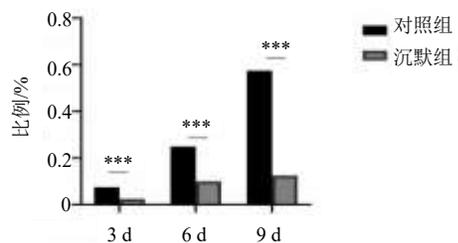
白粉病为忍冬的常见病害, 在主产区普遍发生, 严重降低了金银花的品质和产量。培育抗病品

表 2 对照组和实验组植株白粉病抗性鉴定

Table 2 Identification of powdery mildew resistance in control and experimental group plants

植株类型	相对抗性指数	抗性评价
野生型忍冬(对照组)	0.35	中感
<i>LjMLO14</i> 基因沉默忍冬(实验组)	0.54	中抗

经考马斯亮蓝染色后, 显微镜观察对照组和实验组植株受白粉菌侵染后叶片的菌丝萌发形态及生长状态。如图 6 所示, 染菌 48 h 后, 对照组白粉菌孢子萌发状态优于 *LjMLO14* 基因沉默组, 孢子萌发, 芽管伸长, 形成附着胞; 染菌 96 h 后, 对照组白粉菌孢子大量萌发形成次生菌丝, 并出现分生孢子梗, 而沉默组产生次生菌丝并生长; 染菌 6 d 后, 沉默组仅有少量孢子萌发形成次生菌丝, 孢子萌发出畸形附着胞, 而对照组菌丝大量形成, 每

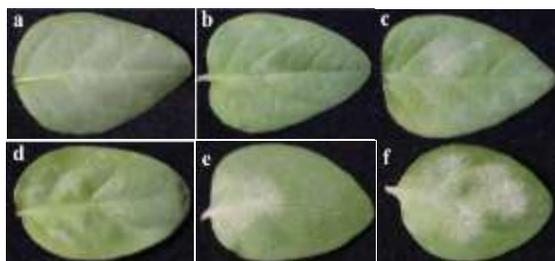


\*\*\* $P < 0.001$ .

图 7 白粉菌成功侵染忍冬叶片比例

Fig. 7 Proportion of *L. japonica* leaves successfully infected by powdery mildew

种是防治白粉病最有效的途径, 挖掘白粉病抗性基因, 阐明基因的抗病功能一直是忍冬抗病育种的重要研究内容。*MLO* 基因家族对植物白粉病抗性具有



a~c-对照组植株接种白粉病菌 3、6、9 d; d~f-沉默组植株接种白粉病菌 3、6、9 d.

a~c-plants in control group were inoculated with powdery mildew for 3 days; d-f plants in silencing group were inoculated with powdery mildew for 3, 6 and 9 d.

图 8 沉默 *LjMLO14* 基因忍冬植株抗白粉病菌表型鉴定

Fig. 8 Phenotypic identification of powdery mildew resistance in silenced *LjMLO14* gene *L. japonica* plants

负调控作用。本研究从忍冬中首次筛选到响应白粉病菌诱导的 *MLO14* 基因，证实该基因在忍冬白粉病菌感染中发挥重要作用。*MLO* 类似抗病响应功能已有研究报道。Bai 等<sup>[22]</sup>利用病毒诱导的基因沉默体系研究表明，*SIMLO1* 功能的丧失是番茄获得白粉病抗性的主要原因；Varallyay 等<sup>[23]</sup>采用 VIGS 研究发现 *MLO* 特异性 siRNA 的积累和抗性之间存在明显的相关性，使用 RNA 沉默可以显著提高小麦白粉病抗性。可见，*MLO* 基因参与了植株感染白粉菌的过程。

VIGS 技术不需要遗传转化，操作简便，且快速。作者前期已在忍冬中建立了 VIGS 体系，并利用八氢番茄红素去饱和酶 (*PDS*) 基因进行了验证<sup>[24]</sup>。本研究利用该沉默体系发现，忍冬叶片中 *LjMLO14* 基因表达量下调约 80%，接种白粉菌 7 d 后，*LjMLO14* 基因沉默植株较对照组植株对白粉病的抗性显著提高。显微观察对照组和 *LjMLO14* 基因沉默植株叶片在受到白粉菌感染后菌丝体的生长情况，表现出当植株受到白粉菌感染后基因沉默植株中菌丝体的生长较对照组更慢。这些结果均表明当植株内源 *MLO* 基因的表达下调时，可以有效提高忍冬植株对白粉病的抗性。上述结果为深入研究 *MLO* 的抗病机制及分子调控网络奠定了基础。但具体通过调控哪些抗病途径来实现忍冬对白粉病的直接抗性，还需要进一步的研究。

因此，进一步解析 *LjMLO14* 基因的作用机制，深入揭示白粉病菌诱导寄主植物免疫的分子机制，将有助于基于靶标 *LjMLO14* 基因创制新型忍冬抗病材料，为忍冬抗白粉病的遗传改良提供材料和技术支撑。

志谢：

本研究所用载体 (ZMBJ-CMV VIGS 载体) 由中国农业大学植物保护学院植物病理学系周涛研究组提供。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 吴家庆, 鹿连明, 吴毅. 金银花白粉病防治技术研究进展 [J]. 现代园艺, 2014(21): 82-84.
- [2] 陈美兰, 刘红彦, 李琴, 等. 白粉病发生程度对金银花药材中绿原酸含量的影响 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(10): 846-847.
- [3] Rössner C, Lotz D, Becker A. VIGS goes viral: How VIGS transforms our understanding of plant science [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2022, 73: 703-728.
- [4] Li H G, Zhang D F, Xie K, et al. Efficient and high-throughput pseudorecombinant-chimeric *Cucumber mosaic virus*-based VIGS in maize [J]. *Plant Physiol*, 2021, 187(4): 2865-2876.
- [5] Zhang J X, Wang F R, Zhang C Y, et al. A novel VIGS method by agroinoculation of cotton seeds and application for elucidating functions of GhBI-1 in salt-stress response [J]. *Plant Cell Rep*, 2018, 37(8): 1091-1100.
- [6] Shi G Y, Hao M Y, Tian B M, et al. A methodological advance of tobacco rattle virus-induced gene silencing for functional genomics in plants [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 671091.
- [7] Schachtsiek J, Hussain T, Azzouhri K, et al. Virus-induced gene silencing (VIGS) in *Cannabis sativa* L. [J]. *Plant Methods*, 2019, 15: 157.
- [8] Zhang Y, Niu N Z, Li S J, et al. Virus-induced gene silencing (VIGS) in Chinese jujube [J]. *Plants*, 2023, 12(11): 2115.
- [9] Li S N, Lin D X, Zhang Y W, et al. Genome-edited powdery mildew resistance in wheat without growth penalties [J]. *Nature*, 2022, 602(7897): 455-460.
- [10] Acevedo-Garcia J, Gruner K, Reinstädler A, et al. The powdery mildew-resistant *Arabidopsis mlo2 mlo6 mlo12* triple mutant displays altered infection phenotypes with diverse types of phytopathogens [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9319.
- [11] Najafi J, Palmgren M. Hexose transport reverts the growth penalty of *mlo* resistance [J]. *Trends Plant Sci*, 2022, 27(8): 739-741.
- [12] Pozharskiy A, Kostyukova V, Nizamdinova G, et al. *MLO* proteins from tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and related species in the broad phylogenetic context [J]. *Plants*, 2022, 11(12): 1588.
- [13] Reinstädler A, Müller J, Czembor J H, et al. Novel induced

- mlo* mutant alleles in combination with site-directed mutagenesis reveal functionally important domains in the heptahelical barley *Mlo* protein [J]. *BMC Plant Biol*, 2010, 10: 31.
- [14] Wang Y P, Cheng X, Shan Q W, *et al.* Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew [J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(9): 947-951.
- [15] Appiano M, Pavan S, Catalano D, *et al.* Identification of candidate *MLO* powdery mildew susceptibility genes in cultivated Solanaceae and functional characterization of tobacco *NtMLO1* [J]. *Transgenic Res*, 2015, 24(5): 847-858.
- [16] Zheng Z, Appiano M, Pavan S, *et al.* Genome-wide study of the tomato *SIMLO* gene family and its functional characterization in response to the powdery mildew fungus *Oidium neolycopersici* [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 380.
- [17] Shnaider Y, Elad Y, Rav-David D, *et al.* Development of powdery mildew resistance in cucumber using CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of *CsaMLO8* [J]. *Phytopathology*, 2023, 113(5): 786-790.
- [18] Pessina S, Lenzi L, Perazzolli M, *et al.* Knockdown of *MLO* genes reduces susceptibility to powdery mildew in grapevine [J]. *Hortic Res*, 2016, 3: 16016.
- [19] 李小丽, 魏丽, 刘谦, 等. 金银花 *MLO* 家族全基因组序列鉴定及表达分析 [J]. *药学学报*, 2021, 56(10): 2867-2875.
- [20] 崔文艳, 罗喜燕, 黄高, 等. 金银花白粉病生防内生菌株的筛选、鉴定及其对白粉病的防效 [J]. *西南农业学报*, 2023, 36(5): 958-964.
- [21] 张颢, 杨秀梅, 王继华, 等. 云南蔷薇属部分种质资源对白粉病的抗性鉴定 [J]. *植物保护*, 2009, 35(4): 131-133.
- [22] Bai Y L, Pavan S, Zheng Z, *et al.* Naturally occurring broad-spectrum powdery mildew resistance in a Central American tomato accession is caused by loss of *mlo* function [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2008, 21(1): 30-39.
- [23] Várallyay E, Giczey G, Burgyán J. Virus-induced gene silencing of *Mlo* genes induces powdery mildew resistance in *Triticum aestivum* [J]. *Arch Virol*, 2012, 157(7): 1345-1350.
- [24] 褚洪月, 刘振华, 李佳, 等. 忍冬 *VIGS* 基因沉默体系构建 [J]. *中草药*, 2024, 55(4): 1309-1315.

[责任编辑 时圣明]