

王超,许亚茹,焦立军,等.不同抗性枣种质响应植原体侵染的差异研究[J].华中农业大学学报,2024,43(6):240-252.  
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.06.023

## 不同抗性枣种质响应植原体侵染的差异研究

王超<sup>1</sup>,许亚茹<sup>1</sup>,焦立军<sup>2</sup>,薄文浩<sup>1</sup>,曹明<sup>3</sup>,孔德仓<sup>3</sup>,张琼<sup>4</sup>,庞晓明<sup>1</sup>

1. 北京林业大学生物科学与技术学院,北京 100083; 2. 内蒙古自治区赤峰市敖汉旗双井林场,赤峰 024300;  
3. 河北省沧县国家枣树良种基地,沧州 061000; 4. 山东省果树研究所,泰安 271000

**摘要** 为揭示抗病性枣种质响应植原体侵染的关键生物学途径,通过嫁接侵染法对324份枣种质进行枣疯病抗性鉴定。以筛选到的抗病种质‘QS10’‘UU12’‘EQ15’和易感种质‘中阳木枣’‘壶瓶枣’‘鲁枣5号’为材料,分别测定侵染后90、120 d时保存的叶片组织的植原体含量,并通过转录组测序揭示响应差异。结果显示,嫁接感染后抗病种质的植原体浓度水平低且逐渐下降,易感种质的植原体浓度高且逐渐上升。抗病和易感种质的差异表达基因(differentially expressed genes, DEG)都显著富集在植物病原体互作、植物激素信号转导、次生代谢产物的生物合成等通路中,并在过氧化物酶体、光合作用途径和类黄酮生物合成途径中存在表达差异。WGCNA分析发现,脂质磷酸酶、RNA编辑因子MORF3、LysM结构域受体样激酶、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶sty13样等核心基因和抗病种质相关。研究表明,应对植原体入侵时,植物病原体互作、次生代谢产物的合成、植物激素信号转导、MAPK信号途径的基因差异表达可能是抗病种质和易感种质响应差异的原因;抗病种质中过氧化物酶体相关的基因上调表达,光合作用的基因受植原体入侵的影响较小,可能有助于能量代谢的正常进行和氧化还原的平衡,增强其抗病性,黄酮类、萜类等次级代谢产物可能在消除活性氧的危害方面发挥作用。

**关键词** 枣树; 枣疯病; 植原体互作; 次生代谢物; WGCNA

**中图分类号** S436.65 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2024)06-0240-13

枣(*Ziziphus jujuba* Mill.)是鼠李科(Rhamnaceae)枣属(*Ziziphus*)植物,具有悠久的栽培历史。枣果既可以鲜食也可制干,是食品工业重要的原料<sup>[1]</sup>。枣疯病是由植原体引起的一种严重的病害,树木染病后出现花柄伸长、花变叶、丛枝化、矮化和黄化等症状,逐渐失去结果能力;进而衰退甚至死亡<sup>[2]</sup>。植原体主要通过叶蝉等媒介昆虫传播,并且在枣树中有潜伏期,枣园一旦发现植株感染,病情往往已传播开来。植原体尚无法人工培养,严重影响致病机理和防治方法的研究。因缺乏有效的根治方法,枣疯病对枣产业发展、枣种质保存及利用威胁严重<sup>[3]</sup>。

筛选抗枣疯病种质资源,并挖掘抗病相关基因,可为防治和控制枣疯病的有效措施开发奠定基础。通过嫁接的方式侵染待鉴定的材料,是非常有效的鉴定方法<sup>[4]</sup>,利用这种方法,研究人员筛选出若干具有一定枣疯病抗性的种质,如在北京市的古枣树群

体中筛选得到的抗病种质<sup>[5]</sup>,以及枣树种质‘星光’<sup>[6]</sup>、‘T13’<sup>[7]</sup>等。但研究人员也发现各种质应对植原体的表现并不稳定<sup>[8]</sup>。河北沧县国家枣树良种基地等各种质库保存了大量的枣种质,但目前尚缺乏大规模的种质抗病性鉴定。

随着测序技术的发展,转录组测序在发掘植物与病原体相互作用的重要基因上起到了重要作用,一些响应枣疯病侵染的基因被发现,如编码丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员ZjMAPKKKs的基因<sup>[9]</sup>, AP2/ERF转录因子家族中的ZjAP2\*9、ZjERF49和ZjERF91等基因<sup>[10]</sup>。此外,Ye等<sup>[11]</sup>利用iTRAQ蛋白质组学和转录组分析了枣树应对植原体侵染的多重调控水平。枣树感染植原体后,光合作用相关途径和碳水化合物的代谢通路发生改变<sup>[12]</sup>。通过对健康和感病‘木枣’转录组测序发现,各样品的差异表达基因(differentially expressed genes, DEG)显著

收稿日期: 2024-03-28

基金项目:国家重点研发计划项目(2022YFD2200404);雄安新区科技创新专项(2022XACX1100);河北省院士合作重点单位枣疯病病原菌、根际微生物与宿主枣的互作和致病机制项目

王超, E-mail: 18519130966@163.com

通信作者: 庞晓明, E-mail: xmpang@163.com

富集在黄酮类化合物、苯丙烷类化合物和不饱和脂肪酸生物合成途径<sup>[13]</sup>;感病后枣树发育畸形可能和保护酶和激素的代谢紊乱有关<sup>[14]</sup>。目前研究多针对枣疯病的侵染后响应,对抗病枣种质应对植原体感染的分子机制的研究相对较少。

本研究对324份枣种质进行嫁接侵染、筛选抗病种质,然后以2组不同抗病性的种质为材料对不同感染时期的叶片进行转录组对比分析,以揭示抗病性枣种质响应植原体感染的关键生物学途径,为枣疯病抗性育种提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

2022年4月5日采集河北沧县国家枣树良种基地资源圃中保存的324份种质的健康穗条,封蜡处理后置于冷库保存。5月25日将所有的接穗嫁接到患枣疯病2a以上的的金丝小枣植株上。以插皮接的方式每株嫁接2~4个接穗,每个种质至少嫁接2个接穗作为重复。

转录组材料为通过嫁接筛选得到的具有一定抗病性的种质‘QS10’‘UU12’‘EQ15’和易感种质‘中阳木枣’‘壶瓶枣’‘鲁枣5号’。通过观察,抗病种质感染植原体后表现稳定,没有明显枣疯病的症状,所选易感种质在嫁接90d后,枣疯病症状变化明显,取保存90、120d时的6个种质的叶片材料,进行转录组测序。

### 1.2 接穗的发病情况观察和筛选

对接穗后各种质每30d的花变叶、丛枝、小叶等表型进行观察、分级和统计,将其发病级别分为5级:0级,无明显症状;1级,新发枝花梗明显延长,或顶梢叶变小、变淡,小叶比率低于整枝的10%;2级,新梢小叶、节间缩短、腋芽明显伸长或花变叶比率为1%~20%;3级,丛枝小叶比率达21%~50%;4级,从枝小叶比率达51%~90%;5级,从枝小叶比率达91%~100%,分级标准参照文献<sup>[15]</sup>。嫁接侵染后60d,采集尚未表现枣疯病症状的种质枝叶液氮处理后保存。根据嫁接后第3、4个月的观察,取该期间仍然未表现枣疯病症状的种质为具有一定枣疯病抗性的种质,取该期间接穗症状由正常转变为严重的易感种质为相应的易感种质。

### 1.3 植原体浓度检测

通过荧光定量PCR对所选抗病和易感种质90、120d时的样品进行植原体含量检测,取各个种质的

叶片1~2g,加入液氮充分研磨后,取0.2g粉末进行总DNA提取,其DNA浓度均一化后,以此DNA为模板检测植原体浓度,检测方法参照文献<sup>[16]</sup>。

### 1.4 转录组测序和数据分析

采集样品经过RNA抽提、纯化、建库后,对这些文库进行双末端(paired-end, PE)测序,转录组测序在北京诺禾致源科技股份有限公司完成。对获得的Raw reads通过trim\_galore软件去除接头,去掉未知核苷酸数量超过10%的reads、低质量reads进行数据过滤和质量控制。使用hisat2软件建立包含剪切位点和exon信息的基因组索引,然后将过滤后的clean reads和冬枣参考基因组比对<sup>[17]</sup>,得到下游分析文件,转换文件格式并校验文件的完整性后,使用软件featureCounts对基因表达量定量,获得表达量矩阵后,去除矩阵中表达量FPKM值低于5的基因。

### 1.5 转录组数据分析

在进行转录组分析时,各使用3份抗病种质和3份易感种质作为抗病组和易感组的重复。使用DESeq2(<https://github.com/mikelove/DESeq2>)对抗病组(RG)和易感组(SG)2个时期的基因进行差异表达分析,3种抗病种质和3种易感种质分别作为抗病组(RG)和易感组(SG)的重复,分别计算抗病组(RG)和易感组(SG)3个种质的后期对比前期的基因变化情况,以 $|\log_2\text{FoldChange}| > 1$  (FoldChange为差异倍数)、padj值 $< 0.05$ 为标准筛选差异基因。将获得的DEG映射到GO数据库(<http://geneontology.org/>)分析生物学功能,同时进行KEGG(<https://www.kegg.jp/>)富集分析代谢途径或信号转导通路。具体方法参照文献<sup>[18]</sup>。

使用rstudio软件中的WGCNA程序包进行加权基因共表达网络构建,将过滤后标准化的转录组表达量矩阵作为输入,得到无尺度化邻接矩阵后,将邻接矩阵转化为拓扑重叠矩阵(topological overlap matrix, TOM),采用动态剪切算法进行基因聚类及模块划分,使用WGCNA自动网络构建函数blockwiseModules构建网络,相似模块的合并阈值为0.25,分别计算模块的特征向量与抗病和感病种质之间的相关系数 $r$ 和 $P$ 值,选择 $|r| > 0.70$ 且 $P < 0.01$ 的模块为特异性模块<sup>[19]</sup>。选择模块内连接度最高的前10个基因作为该模块的核心基因,对这些基因及其关联基因使用Cytoscape软件进行可视化绘图<sup>[20]</sup>。同时使用NCBI数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)获得核心基因的功能注释信息。

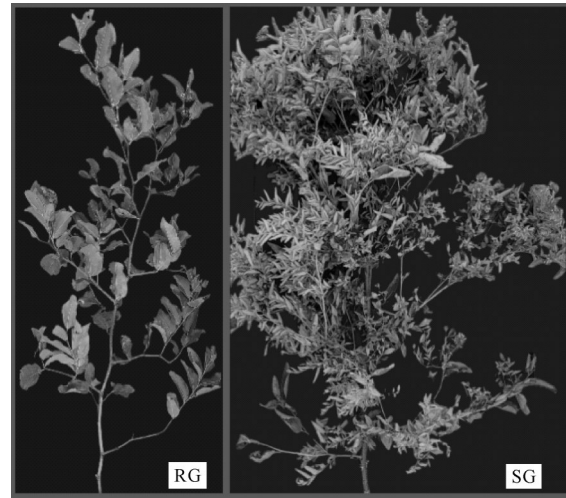
## 2 结果与分析

### 2.1 种质抗病性鉴定

经过4个月的嫁接侵染和表型筛选,发现312个种质在嫁接后1个月内表现出丛枝、花变叶、小叶等枣疯病症状。其中‘金丝小枣’‘冬枣’等272个种质病情发展迅速,表现出严重的枣疯病症状,发病级别为5级,这些为极易感种质。60 d后,大部分种质发病严重,第90天仅有11个种质仍有处于没有明显丛枝、叶片颜色正常的较低发病水平的接穗。120 d后,发病较低的种质缩减为5个。60 d后对病症不明显的接穗持续观察并取样保存,将120 d仍未表现明显发病症状的‘QS10’‘UU12’‘EQ15’确定为抗病种质,将120 d发病严重的‘中阳木枣’‘壶瓶枣’‘鲁枣5号’确定为易感种质,90 d后,这3份种质仍有接穗从只有轻微发病逐渐发展成严重发病(图1)。

### 2.2 嫁接侵染后不同抗性种质植原体浓度变化

植原体浓度测定结果表明,2个时期的6份种质样品均含有植原体,相同时期对比,不论在90 d时还是在120 d时,抗病种质植原体含量都比易感种质的植原体含量低,抗病种质植原体含量数量级在 $10^5 \sim$



RG: 抗病种质 Resistant germplasm; SG: 易感种质 Susceptible germplasm.

图1 嫁接侵染120 d时抗病种质和易感枣种质表型对比  
Fig. 1 The phenotype of resistant and susceptible germplasm at 120 days after grafting

$10^6$  个/ $\mu\text{L}$ ,易感种质的植原体含量的数量级在 $10^6 \sim 10^8$  个/ $\mu\text{L}$ 。抗病种质中,后期与前期相比,植原体含量显著下降。易感种质中,后期植原体含量相较于前期显著上升(表1)。

表1 各种质的植原体含量

Table 1 Phytoplasma contents of the germplasm after grafting invasion

| 时期<br>Period   | QS10                                     | UU12                                     | EQ15                                     | 中阳木枣<br>Zhongyangmuzao                 | 壶瓶枣<br>Hupingzao                       | 鲁枣5号<br>Luzao 5                        |
|----------------|------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|
| 前期 Early stage | $3.5 \times 10^5 \pm 4.5 \times 10^4$    | $2.5 \times 10^5 \pm 2.3 \times 10^4$    | $5.2 \times 10^6 \pm 1.1 \times 10^5$    | $8.7 \times 10^6 \pm 2.0 \times 10^5$  | $6.1 \times 10^6 \pm 4.6 \times 10^5$  | $1.2 \times 10^7 \pm 5.0 \times 10^5$  |
| 后期 Late stage  | $1.1 \times 10^5 \pm 1.0 \times 10^{3*}$ | $1.2 \times 10^5 \pm 1.0 \times 10^{3*}$ | $1.9 \times 10^5 \pm 4.0 \times 10^{3*}$ | $1.5 \times 10^7 \pm 5.2 \times 10^5*$ | $2.5 \times 10^7 \pm 1.7 \times 10^6*$ | $1.0 \times 10^8 \pm 9.3 \times 10^6*$ |

注:植原体含量单位为:每微升DNA样品细胞数。\*表示与该种质前期相比差异显著, $P < 0.01$ 。Note:Phytoplasma content unit is cells per microliter of DNA sample. \* indicates a significant difference compared with the previous period of the accession,  $P < 0.01$ .

### 2.3 差异表达基因分析

使用DESeq2软件对2个时期的抗病组(RG)和易感组(SG)各自3个样品的基因表达量对比筛选,抗病组(RG)获得DEG 2 836个,上调1 534个、下调1 302个;易感组(SG)获得DEG 2 061个,上调951个、下调1 110个(图2A)。其中,只在抗病组(RG)鉴定到的DEG数为1 974个,只在易感组(SG)鉴定到的DEG数为1 199个(图2B)。

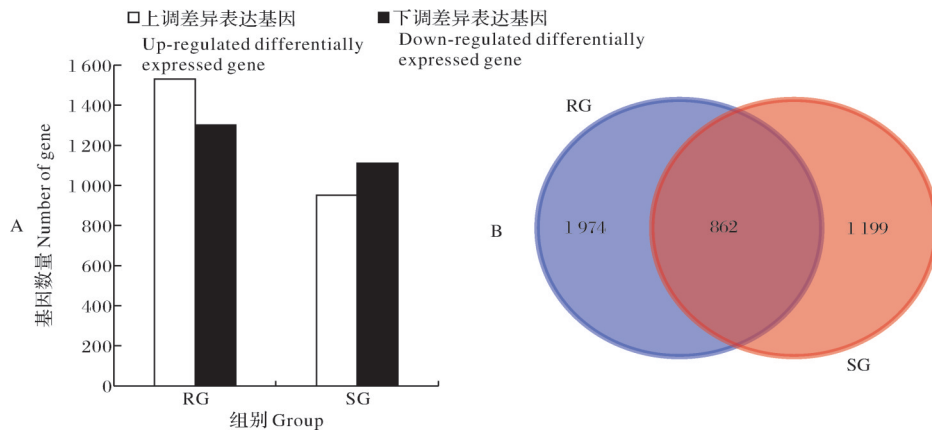
### 2.4 GO富集结果

为了分析抗病种质和易感种质应对植原体侵染的生物学功能,分别从生物过程、细胞组件和分子功能三方面对抗病组(RG)和易感组(SG)获得的DEG进行GO富集分析,在抗病组(RG)中883个DEG注释到64个GO Term中,显著性高( $P < 0.05$ )的Term

为转录因子活性、序列特异性DNA结合、UDP糖基转移酶活性、水解酶活性(图3A)。在易感组(SG)中有1 579个DEG注释到67个GO Term中,其中显著性较高( $P < 0.05$ )的Term分别为碳水化合物代谢过程、胞外区、作用于酯键水解酶活性(图3B)。GO富集结果表明,植原体对抗病种质和易感种质感染主要影响了信号转导、细胞代谢过程、能量代谢等方面。

### 2.5 差异表达基因KEGG富集的关键通路

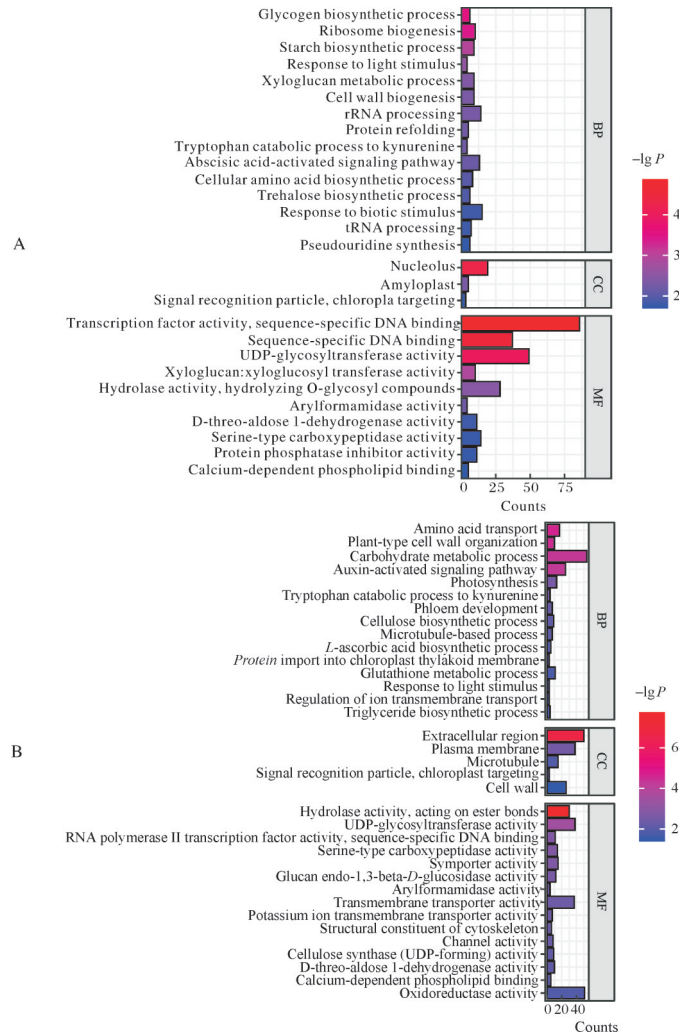
为了揭示枣感染植原体后的代谢通路的变化,对2组差异表达基因进行KEGG富集分析(图4),结果显示,抗病组(RG)中765个差异基因富集在19个通路中,易感组(SG)622个差异基因富集在24个通路中。对2对DEG得到的通路进行对比后发现,抗



A. 抗病组(RG)和易感组(SG)的后期与前期对比获得的差异表达基因; B. 抗病组(RG)和易感组(SG) 差异表达基因对比。 A. Differentially expressed genes obtained from the comparison of the later stage and the earlier stage in the resistant group (RG) and the susceptible group(SG); B. Comparison of differentially expressed genes between the resistant group (RG) and the susceptible group (SG).

图 2 抗病组(RG)和易感组(SG)差异表达基因统计

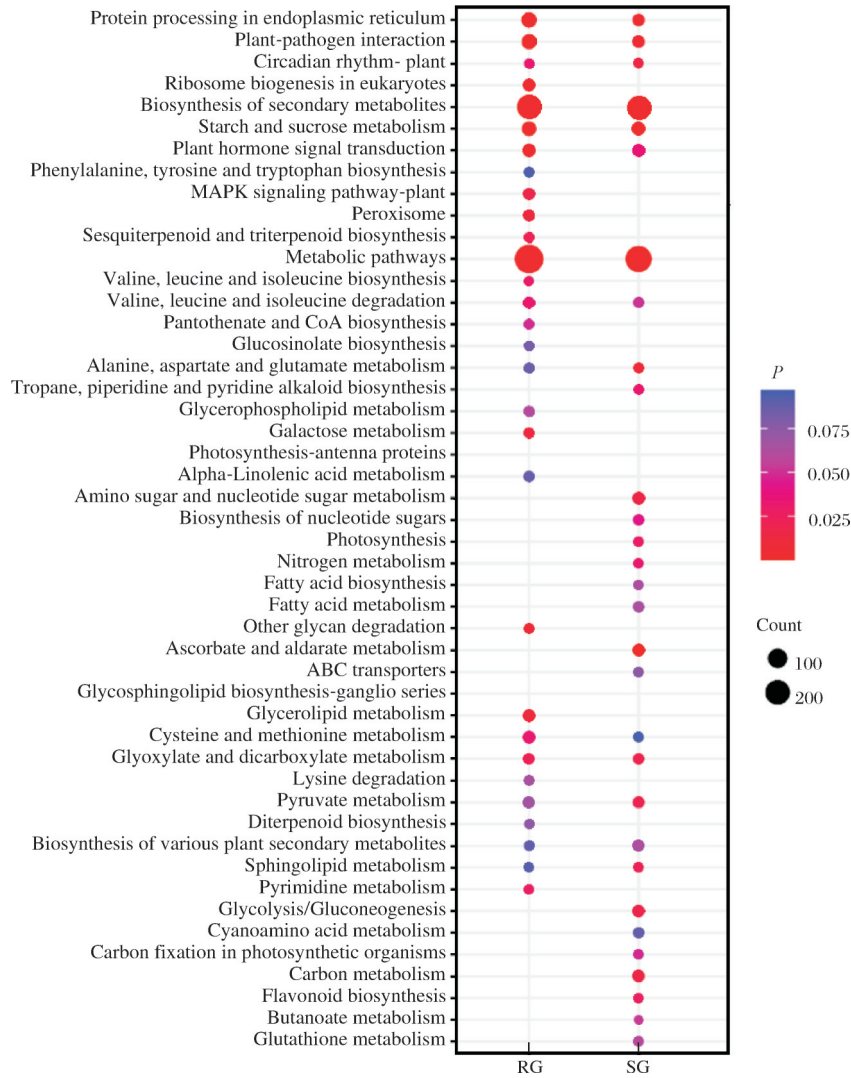
Fig. 2 Statistics of differentially expressed genes between resistant and susceptible groups



A. 抗病组 Resistant group (RG); B. 易感组 Susceptible group (SG); 图中列出各个富集结果前 15 条 Term The figure lists the top 15 terms of each enrichment result.

图 3 差异表达基因的 GO 富集结果

Fig. 3 GO enrichment results of differentially expressed genes



RG:抗病组的DEG; SG:易感组的DEG.RG:DEGs of resistance group; SG:DEGs of susceptible group.

图4 DESeq2处理得到的差异表达基因的KEGG富集结果

Fig. 4 KEGG enrichment results of differentially expressed genes obtained by DESeq2 respectively

病和易感种质在应对植原体侵染时,在能量代谢、合成次生代谢产物、代谢途径、激素信号转导等方面的基因表达均会发生改变。值得注意的是,真核生物中核糖体的发生,苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成,MAPK信号通路、过氧化物酶体、倍半萜和三萜生物合成和半乳糖代谢通路在抗病种质中单独地富集到;易感种质中,氨基糖和核苷酸糖代谢、核苷酸糖的生物合成、光合作用、氮代谢、脂肪酸生物合成和降解、碳代谢被单独地富集到。表明对病原体的反应、激素合成和信号转导、氧化还原相关过程、能量代谢可能与抗病和易感种质应对植原体侵染有关。

## 2.6 代谢通路中差异表达基因分析

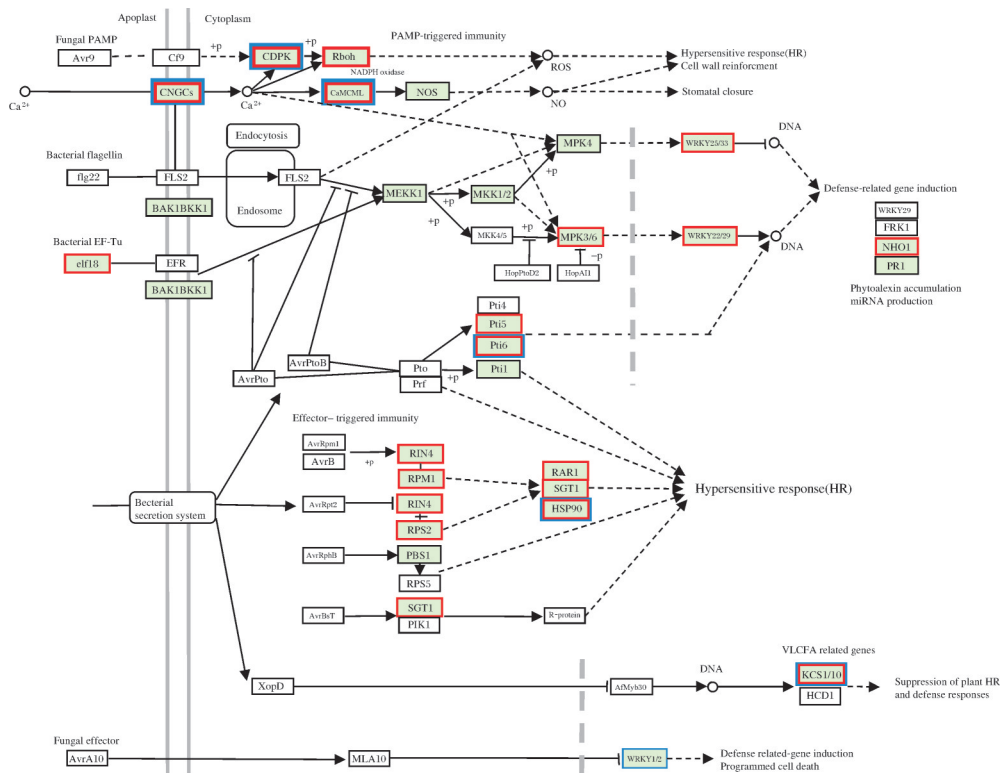
1)应对病原体侵染相关通路分析。为解析抗病

种质和易感种质被植原体侵染时的表现差异,对植物病原体互作通路进行分析。图5结果显示,抗病种质中,PTI中过敏反应和防御相关基因诱导相关的编码环腺苷酸门离子通道(CNGCs, *LOC107414602*、*LOC107414559*、*LOC112490923*、*LOC107423657*、*LOC107431294*)基因、钙依赖蛋白激酶(CDPK, *LOC1074243669*)基因、呼吸爆发氧化酶(Rboh, *LOC107424617*)基因、钙结合蛋白(CaM/CML, *LOC107434111*、*LOC107421107*、*LOC107416249*、*LOC107431392*、*LOC107409684*、*LOC107422102*、*LOC107425895*、*LOC107432911*、*LOC107427870*、*LOC107418972*、*LOC107404544*)基因、WRKY转录因子24(WRKY24, *LOC107411616*)、WRKY转录因子39(WRKY39, *LOC107431286*)、WRKY22

(*LOC107432881*)、甘油激酶(*LOC107407412*)、发病机制相关基因转录激活因子(*Pti5, LOC107411165*)和(*Pti6, LOC107411595*)基因,以及ETI中编码和植物过敏反应(HR)相关的互作蛋白RIN4、RPM1、RPS2、RAR1、SGT1、HSP90、SGT1相关的10个基因均在前期上调表达,后期表达量下降。在易感种质中,编码环腺苷酸门离子通道(CNGCs, *LOC107431294, LOC107414559, LOC112490923, LOC107414573, LOC107414597*)基因、钙结合蛋白(CaM/CML, *LOC107424823, LOC107422810, LOC107432911*)基因、发病机制相关基因转录激活因子(*Pti6, LOC107411595*)基因、热休克蛋白

HSP90(*HSP90, LOC107420419*)基因和WRKY转录因子2(*LOC107412508*)基因在后期下调表达。

分析植物病原体互作通路中的MAPK信号转导途径中参与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、乙烯、茉莉酸、脱落酸和植物对损伤的反应等途径的12个差异基因,这些基因包括丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶OX1、MAPK3、WRKY22、MAPK9、乙烯响应转录因子ERF1、转录因子MYC2、脱落酸受体PYL4、钙结合蛋白CaM和呼吸爆发氧化酶同源蛋白RbohD。在抗病种质中,这些差异基因均在前期高表达。在易感种质中,前期编码丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶OXI1的基因表达量低,



elf18: 伸长因子; Tu: 线粒体; CNGCs: 环腺苷酸门离子通道; CDPK: 钙依赖蛋白激酶; Rboh: 呼吸爆发氧化酶; CaM/CML: 钙结合蛋白; WRKY24: WRKY 转录因子 24; WRKY39: WRKY 转录因子 39; WRKY22: WRKY transcription factor 22; NHO1: 甘油激酶; Pti5: 发病机制相关基因转录激活因子 Pti5; Pti6: 发病机制相关基因转录激活因子 Pti6; RIN4: RPM1 相互作用蛋白 4; RPM1: 抗病蛋白 RPM1; RPS2: 抗病蛋白 At4g27190; RAR1: 富含半胱氨酸和组氨酸的结构域的含结构域蛋白 RAR1; SGT1: 蛋白 SGT1 同系物; HSP90: 热休克蛋白; WRKY2: WRKY 转录因子 SUSIBA2。红色代表抗病种质变化的基因,蓝色代表易感种质变化的基因。elf18: Elongation factor; Tu: Mitochondrial; CNGCs: Cyclic nucleotide-gated ion channel; CDPK: Calcium-dependent protein kinase; Rboh: Respiratory burst oxidase; CaM/CML: Calcium-binding protein; WRKY24: WRKY transcription factor 24; WRKY39: WRKY transcription factor 39; WRKY22: WRKY transcription factor 22; NHO1: Glycerol kinase; Pti5: Pathogenesis-related genes transcriptional activator PTI5; Pti6: Pathogenesis-related genes transcriptional activator PTI6; RIN4: RPM1-interacting protein 4; RPM1: Disease resistance protein RPM1; RPS2: Disease resistance protein At4g27190; RAR1: Cysteine and histidine-rich domain-containing protein RAR1; SGT1: Protein SGT1 homolog; HSP90: Heat shock protein; WRKY2: WRKY transcription factor SUSIBA2. Red represents the genes that change in resistance accession, blue represents the genes that change in susceptible accession.

图5 枣树中植物与病原体互作通路

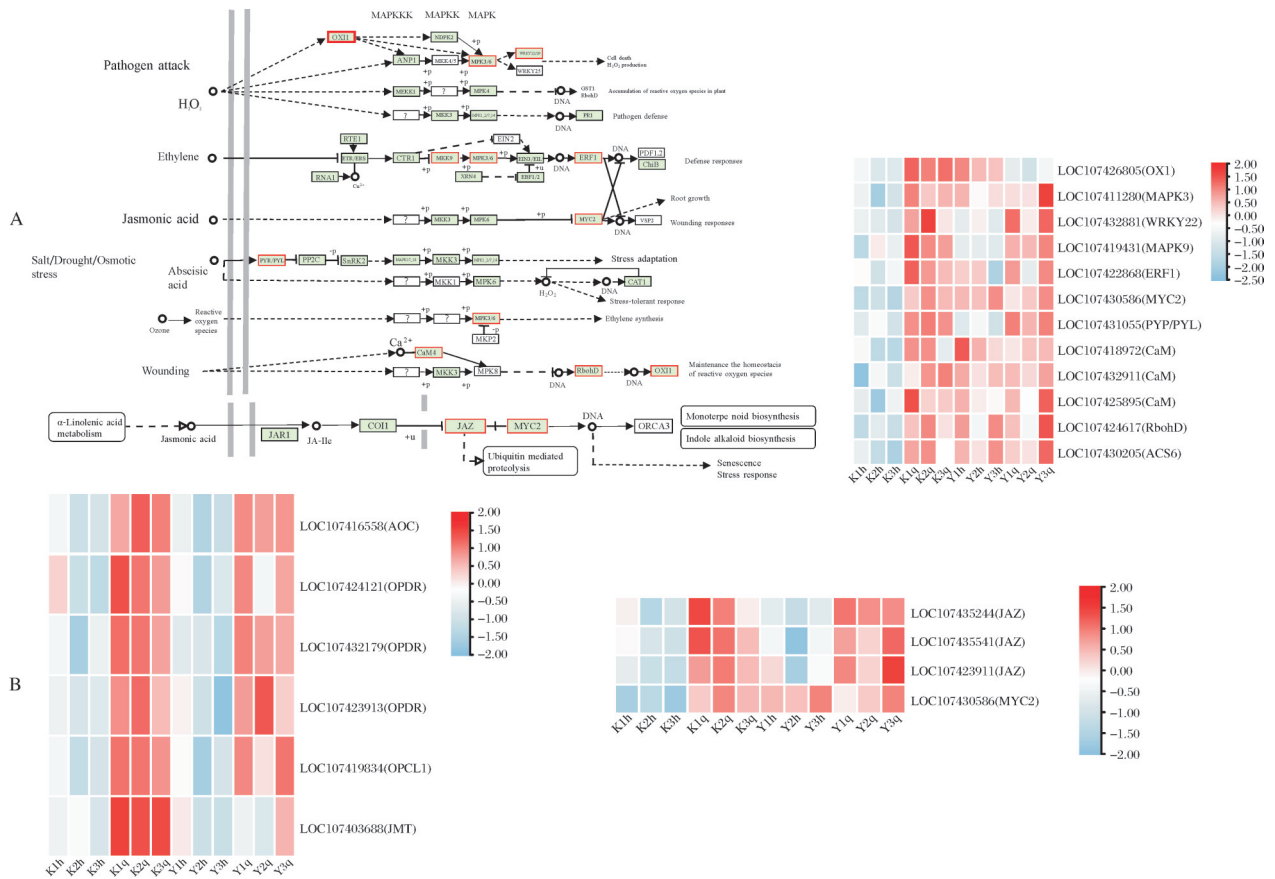
Fig. 5 Plant and pathogen interaction pathway in jujube tree

编码 WRKY22、MAPK9 的基因在后期下调表达。易感种质中编码转录因子 MYC2 的基因在前后时期差别不明显。脱落酸受体 PYL4 在易感种质后期下调表达,钙结合蛋白 CaM 和呼吸爆发氧化酶同源蛋白 RbohD 的基因变化不明显(图 6A)。

在茉莉酸的合成和信号转导方面,合成途径的烯氧化物环化酶 AOC、12-氧植二烯酸还原酶 OPDR、4-香豆酰-CoA 连接酶 OPCL1 在抗病和易感种

质中均在前期上调表达,抗病种质的表达量更高。茉莉酸 o-甲基转移酶 JMT 在抗病种质中前期高表达,后期下调表达,而在易感种质中前后 2 个时期表达量均低(图 6B)。

2) 过氧化物酶体、光合作用和类黄酮生物合成通路 DEG 分析。对单独在抗病种质中富集到的过氧化物酶体与单独在易感种质中富集到的光合作用和类黄酮合成通路的 DEG 进行分析。结果显示,抗病



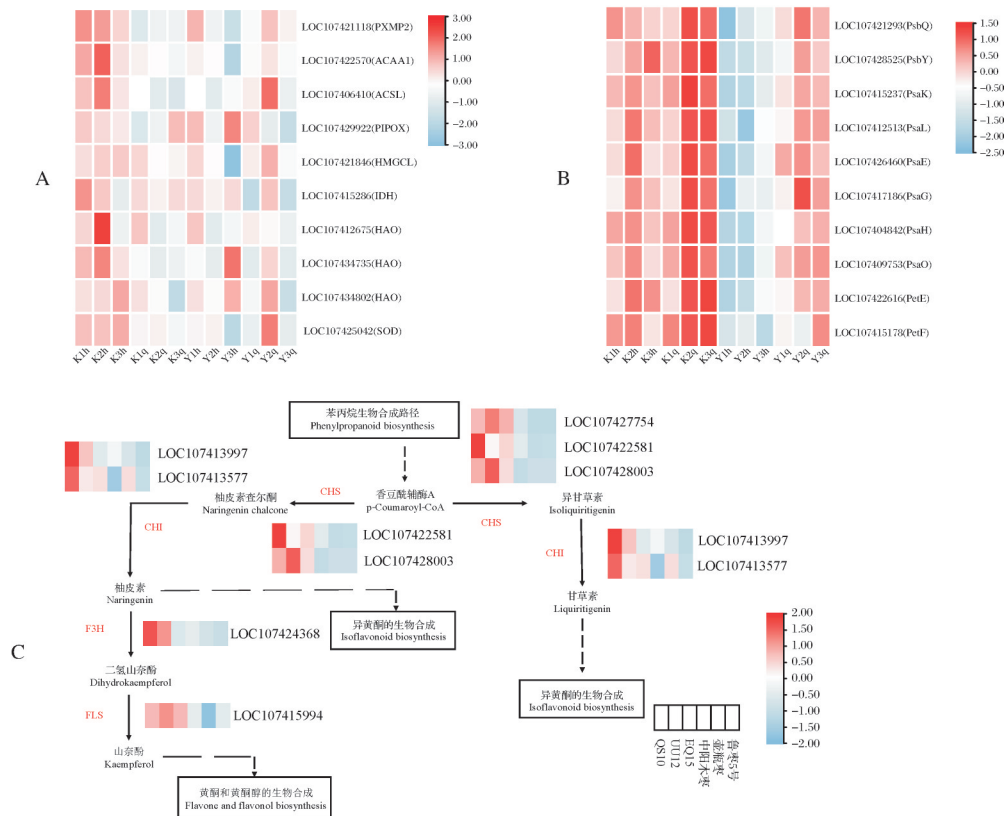
K1: 'QS10'; K2: 'UU12'; K3: 'EQ15'; Y1: '中阳木枣'; Y2: '壶瓶枣'; Y3: '鲁枣5号'; h: 感病后期; q: 感病前期。热图各个种质差异表达基因前后时期对比。下同。图 A 中, MAPK 信号通路: OX11: 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 OX11; MAPK3: 丝裂原活化蛋白激酶 MAPK3; WRKY22: WRKY 转录因子 22; MKK9: 丝裂原活化蛋白激酶 MAPK3; ERF1: 乙烯响应转录因子 1B; MYC2: 转录因子 MYC2; PYP/PYL: 脱落酸受体 PYL4; CaM: 钙结合蛋白; RbohD: 呼吸爆发氧化酶同源蛋白。图 B 中, 茉莉酸信号转导: AOC: 烯氧化物环化酶; OPDR: 12-氧植二烯酸还原酶; OPCL1: 4-香豆酰-CoA 连接酶; JMT: 茉莉酸 o-甲基转移酶; JAZ: 蛋白 TIFY 9。红色方框代表发生变化的基因。K1: 'QS10'; K2: 'UU12'; K3: 'EQ15'; Y1: 'Zhongyangmuzao'; Y2: 'Hupingzao'; Y3: 'Luzao5', h: Late stage of infection; q: Early stage of infection. The heat map showed the comparison of the differentially expressed genes before and after each accession. The same as below. In Fig. A: MAPK signaling pathway: OX11: Serine/threonine-protein kinase OX11; MAPK3: Mitogen-activated protein kinase 3; WRKY22: WRKY transcription factor 22; MKK9: Mitogen-activated protein kinase 9; ERF1: Ethylene-responsive transcription factor 1B; MYC2: Transcription factor MYC2; PYP/PYL: Abscisic acid receptor PYL4; CaM: Calmodulin-like; RbohD: Respiratory burst oxidase homolog protein D. In Fig. B: Jasmonic acid signal transduction: AOC: Allene oxide cyclase; OPDR: 12-Oxophytodieneoate reductase 3-like; OPCL1: 4-Coumarate-CoA ligase-like 5; JMT: Jasmonate o-methyltransferase-like; JAZ: Protein TIFY 9. Red box represents the altered genes.

图6 枣树应对植原体感染相关通路差异基因分析

Fig. 6 Differential gene analysis of pathways related to phytoplasma infection in jujube trees

种质中的PXMP2、ACAA1、ACSL、PIPOX、HMGCL、IDH、HAO和SOD等过氧化物酶体相关的10个基因后期上调表达。主要涉及脂肪酸氧化、氨基酸代谢和抗氧化系统。编码光系统II中的PsbQ、PsbY,光系统I中的PsaK、PsaL、PsaE、PsaG、PsaH、PsaO,光合电子传递链中的PetE、PetF的10个基因在抗病种质中后期下调表达,在易感种质后期显著

下调。类黄酮生物合成途径中,与易感种质相比,编码CHS、CHI、F3H、FLS的基因在抗病种质的前期高表达。表明抗病种质和易感种质应对植原体感染的过程中,活性氧的生成和平衡的维持、黄酮类的合成方面表现出差异,易感种质的光合作用受到很大的影响,可能与抗病和易感种质的抗病性的差异有关(图7)。



A: 过氧化物酶体:PXMP2:过氧化物酶体膜蛋白PMP22;ACAA1:乙酰辅酶A 酰基转移酶1;ACSL:长链酰基辅酶A 合成酶;IDH: 异柠檬酸脱氢酶;PIPOX:肌氨酸氧化酶/L-吡啶酸氧化酶;HMGCL:羟甲基戊二酰辅酶A 裂解酶;HAO:(S)-2-羟基酸氧化酶;SOD:超氧化物歧化酶。B: 光合作用:PsbQ:促氧蛋白3-2;PsbY:光系统II 核心复合物蛋白;PsaK:光系统I 反应中心亚基psaK;PsaL:光系统I 反应中心亚基II;PsaE:光系统I 反应中心亚基IV A;PsaG:光系统I 反应中心亚基V;PsaH:光系统I 反应中心亚基VI-2;PsaO:光系统I 亚基O;PetE:质体蓝素;PetF:铁氧还蛋白;C:类黄酮生物合成途径:CHS:查尔酮合成酶;CHI:查尔酮-黄烷酮异构酶;F3H:黄烷酮-3'-羟化酶;FLS:黄酮醇合成酶。图中红色标记代表基因表达发生变化的酶。Fig.A: Peroxisome:PXMP2: Peroxisomal membrane protein PMP22; ACAA1: Acetyl-CoA acyltransferase 1; ACSL: Long-chain acyl-CoA synthetase; IDH: Isocitrate dehydrogenase; PIPOX: Sarcosine oxidase / L-pipecolate oxidase; HMGCL:Hydroxymethylglutaryl-CoA lyase; HAO: (S)-2-hydroxy-acid oxidase; SOD: Superoxide dismutase. Fig.B: Photosynthetic: PsbQ:Oxygen-evolving enhancer protein 3-2, chloroplastic; PsbY: Photosystem II core complex proteins psbY, chloroplastic; PsaK:Photosystem I reaction center subunit psaK, chloroplastic; PsaL:Photosystem I reaction center subunit II, chloroplastic; PsaE:Photosystem I reaction center subunit IV A, chloroplastic; PsaG:Photosystem I reaction center subunit V, chloroplastic; PsaH:Photosystem I reaction center subunit VI-2, chloroplastic; PsaO:Photosystem I subunit O, transcript variant X2; PetE:Plastocyanin; PetF:Ferredoxin. Fig.C: Flavonoid biosynthetic pathway: CHS:chalcone synthase; CHI:Chalcone isomerase; F3H:Flavonoid-3'-hydroxylase; FLS: Flavonol synthase. The red markers in the figure represent the enzymes whose gene expression changes.

图7 枣树抗感品种应答植原体感染的过氧化物酶体、光合作用和类黄酮生物合成通路 DEG 分析

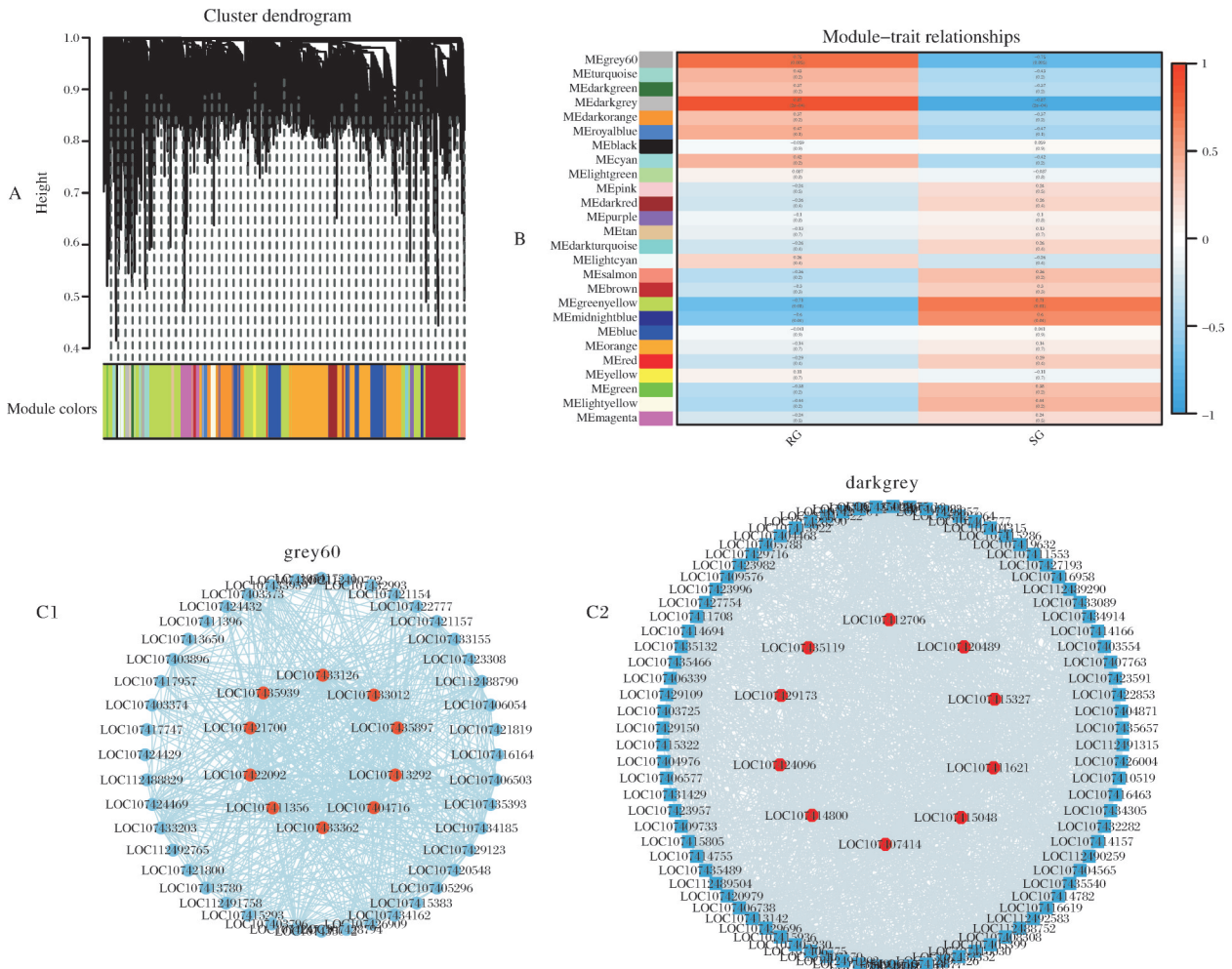
Fig.7 DEG analysis of peroxisome, photosynthetic and flavonoid biosynthesis pathways in response to phytoplasma infection in resistant and susceptible cultivars of jujube



### 2.7 WGCNA分析

数据分析获得 16 293 个基因的表达数据, 过滤掉表达量低的基因后, 根据基因的 FPKM 值进行相关性分析并聚类, 相关度高的基因被分配至 1 个模块中, 共划分了 26 个模块(图 8A), WGCNA 分析展示了 26 个模块与抗病和易感种质的相关性和显著性。相关性系数的绝对值高且显著性值低 ( $|r| > 0.70$  且  $P < 0.01$ ) 的模块与性状高度相关。鉴定到与抗病种质显著正相关的模块为 grey60 模块 ( $r = 0.75, P = 0.005$ ) 和 darkgrey 模块 ( $r = 0.87, P < 0.001$ ) (图 8B)。对 grey60 和 darkgrey 模块可视化分析(图 8C), 在 grey60 模块中连接度最高的前 3 个基因为脂

质磷酸酶  $\gamma$  样(LPPG)、泛素样蛋白 5(UBL5)和 RNA 编辑因子 MORF 3; 在 darkgrey 模块中连接度最高的前 3 个基因分别为 LysM 结构域受体样激酶 3 (LYK3)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 sty13 样(STK13)和胱硫氨酸-合成酶 1(CGS1), 在这 2 个和抗病种质相关性高的模块中, 和植物免疫相关的基因有编码泛素样蛋白 5、RNA 编辑因子 MORF 3、DEAD-box 依赖 atp 的 RNA 解旋酶 50 样、抗病蛋白 at4g27190 样、抗病样蛋白 DSC1、LysM 结构域受体样激酶 3、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 sty13 样、E3 泛素蛋白连接酶 BRE1 样 2 等的基因。2 个模块的核心基因和注释信息见表 2。



A: 基于共表达网络的基因聚类及模块划分; B: 抗病组和易感组与模块的相关性和显著性划分; C: 高相关性模块可视化分析。  
 Fig.A: Gene clustering and module division based on WGCNA; Fig.B: The correlation and significance of resistance group and susceptible group with modules; Fig.C: Visual analysis of high correlation modules.

图 8 基因共表达网络及其核心基因  
 Fig. 8 Gene co-expression network and its core genes

表2 不同模块中核心基因的功能注释

Table 2 Functional annotations of hub genes in different modules

| 模块 Module | 核心基因 Hub gene | 基因注释 Gene annotation                                                                                   |
|-----------|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| grey60    | LOC107404716  | 脂质磷酸酶 $\gamma$ 样 Lipid phosphate phosphatase gamma-like                                                |
| grey60    | LOC107411356  | 泛素样蛋白5 Ubiquitin-like protein 5                                                                        |
| grey60    | LOC107433126  | RNA编辑因子MORF 3, 线粒体 Multiple organellar RNA editing factor 3, mitochondrial                             |
| grey60    | LOC107433362  | DEAD-box 依赖atp的RNA解旋酶50样, 转录变异X1<br>DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 50-like, transcript variant X1 |
| grey60    | LOC107413292  | 普鲁兰酶1, 类叶绿体 Pullulanase 1, chloroplastic-like                                                          |
| grey60    | LOC107433012  | 抗病蛋白at4g27190样 Disease resistance protein At4g27190-like                                               |
| grey60    | LOC107435939  | UPF0481蛋白at3g47200样, 转录变异X2 UPF0481 protein At3g47200-like, transcript variant X2                      |
| grey60    | LOC107421700  | 脱落胁迫成熟蛋白2样 Abscisic stress-ripening protein 2-like                                                     |
| grey60    | LOC107435897  | 抗病样蛋白DSC1 Disease resistance-like protein DSC1                                                         |
| grey60    | LOC107422092  | G-box结合因子1样 G-box-binding factor 1-like                                                                |
| darkgrey  | LOC107412706  | LysM结构域受体样激酶3 LysM domain receptor-like kinase 3                                                       |
| darkgrey  | LOC107415327  | 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶sty13样 Serine/threonine-protein kinase STY13-like                                           |
| darkgrey  | LOC107407414  | 胱硫氨酸-合成酶1, 类叶绿体 Cystathionine gamma-synthase 1, chloroplastic-like                                     |
| darkgrey  | LOC107435119  | 转化生长因子-受体相关蛋白1样 Transforming growth factor-beta receptor-associated protein 1-like                     |
| darkgrey  | LOC107411621  | 分选链接蛋白2A样, 转录变异X2 Sorting nexin 2A-like, transcript variant X2                                         |
| darkgrey  | LOC107414800  | 剪接因子SF3a60同源物 Splicing factor SF3a60 homolog                                                           |
| darkgrey  | LOC107420489  | 可能的泛素偶联酶E2 Probable ubiquitin-conjugating enzyme E2                                                    |
| darkgrey  | LOC107415048  | E3泛素蛋白连接酶BRE1样2 E3 ubiquitin-protein ligase BRE1-like 2                                                |
| darkgrey  | LOC107424096  | 抗病样蛋白DSC1 Disease resistance-like protein DSC1                                                         |
| darkgrey  | LOC107429173  | 肉桂酰辅酶a还原酶1样, 转录变异体X1 Cinnamoyl-CoA reductase 1-like, transcript variant X1                             |

### 3 讨论

前人研究表明,枣疯病的病症表现和植原体的浓度有一定的相关性<sup>[21]</sup>,经过嫁接侵染和发病症状观察,本研究发现,抗病种质中植原体浓度水平较低且是逐渐下降的,而易感种质中的植原体浓度有大幅度上升,同时病症变得越来越严重,植原体在枣树中的大量繁殖可能破坏了枣树正常的生长代谢,将来,通过各种组学手段揭示导致这些差异出现的原因将有助于揭示枣疯病抗性机制。

枣树感染植原体后,受侵染枣树的免疫反应和生理生化活动变化会对植物的正常生长产生影响<sup>[22]</sup>。转录组分析结果表明,抗病种质和易感种质在应对植原体侵染时,模式触发免疫(PTI)和效应子触发免疫(ETI)过程都产生了积极响应,PTI和ETI是植物病原互作的重要途径<sup>[23]</sup>。抗病种质中PTI过程的编码CNGCs、CDPK、Rboh、CaM/CML和ETI过程中编码互作蛋白的基因前期高表达,后期下调表达。易感种质中,编码CNGC、CaM/CML的基因后期下调表达,编码CDPK和Rboh的基因表达没有差异。推测抗病种质PTI和ETI过程差异基因后期下调可能和植原体浓度降低有关。随着植原体入

侵,易感种质的PTI和ETI过程前后时期差异基因较少,基因的变化趋势不明显,这和已有研究<sup>[24]</sup>的结果相同。

丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联是受体下游关键信号模块,在植物免疫、环境应激反应和正常生长发育中起重要的作用<sup>[25]</sup>。在本研究中,MAPK信号通路中的12个DEG在抗病种质中均在前期高表达,在后期下调表达。在易感种质的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>信号通路中,编码OXI1基因的上调表达是由H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>引起且OXI1的活性能被H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导并向下游传递信号,影响细胞死亡、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>生成和活性氧的内稳态<sup>[26]</sup>,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>作为防御信号分子,诱导核基因表达。OXI1能使MAPK3完全活化,但是编码MAPK3的基因后期相对前期轻微下调表达,下游WRKY22基因下调表达,可能会影响H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的生成及其介导的信号传递。茉莉酸合成途径中的AOC、OPDR、OPCL1,抗病和易感种质均在前期高表达,后期下调表达,而和茉莉酸甲酯合成有关的JMT,在易感种质中2个时期表达量低。茉莉酸信号通路中,编码JAZ的基因在两种质中后期下调表达,易感种质合成MYC2的基因后期轻微上调表达,JAZ作为JA信号的转录抑制因子,能

够抑制MYC2的活性。MYC2在不同的植物体内可能发挥不同的作用,在拟南芥中,MYC2对病原体基因具有负调节作用,但番茄SIMYC2抗灰霉病的过程中,SIMYC2对病原体反应基因有正调节作用<sup>[27]</sup>。抗病种质中编码MYC2的基因下调表达,可能有助于后续防御反应。

转录组分析发现,抗病种质的过氧化物酶体的基因在后期上调表达,抗病种质受植原体入侵的影响,光合作用相关的基因轻微下调表达,易感种质则大幅度下调表达。易感种质中高浓度的植原体可能破坏了光合作用,对后续氧化还原信号的传递,活性氧产生和清除的动态平衡产生影响<sup>[28]</sup>。有研究表明,过氧化物酶体产生的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可以提高植物对胁迫的耐受力,而叶绿体产生的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>主要和植物的过敏反应相关<sup>[29]</sup>。在感染前期,虽然抗病种质的植原体浓度较低,但类黄酮生物合成途径中合成CHS、CHI、F3H、FLS的基因的表达量与易感种质相比较,这些基因的表达会影响异黄酮、黄酮和黄酮醇以及花青苷的合成,使抗病性种质更好地应对活性氧暴发,异黄酮可以作为植物的植保素发挥作用<sup>[30]</sup>。抗病种质中还富集到了倍半萜和三萜的合成途径,表明萜类物质可能作为植保素发挥作用。

综上,应对植原体入侵时,植物病原体互作、次生代谢产物的合成、植物激素信号转导、MAPK信号途径的基因差异表达可能是抗病种质和易感种质响应差异的原因;抗病种质中过氧化物酶体相关的基因上调表达,光合作用的基因受植原体入侵的影响较小,可能有助于能量代谢的正常进行和氧化还原的平衡,增强其抗病性,黄酮类、萜类等次级代谢产物可能在消除活性氧的危害方面发挥作用。本研究揭示了抗病性枣种质响应植原体侵染的关键生物学途径,可为枣疯病抗性育种提供依据。

## 参考文献References

[1] 高京草. 中国枣资源研究与利用[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2005.GAO J C. Research and utilization of jujube resources in China[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2005 (in Chinese with English abstract).

[2] 王海妮,吴云锋,安凤秋,等. 枣疯病和酸枣丛枝病植原体16S rDNA和tuf基因的序列同源性分析[J]. 中国农业科学,2007,40(10):2200-2205.WANG H N, WU Y F, AN F Q, et al. The homology analysis for sequences of 16S rDNA and tuf gene of *Phytoplasma* from jujube witches' broom and wild jujube witches' broom[J]. *Scientia agricultura sinica*, 2007, 40

(10):2200-2205 (in Chinese with English abstract).

[3] 郭建民,杨俊强,薛新平,等. 枣疯病研究进展[J]. 山西农业科学,2017,45(8):1389-1392.GUO J M, YANG J Q, XUE X P, et al. Research progress on jujube witches' broom disease[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2017, 45(8):1389-1392 (in Chinese with English abstract).

[4] 温秀军,郭晓军,田国忠,等. 几个枣树品种和婆枣单株对枣疯病抗性的鉴定[J]. 林业科学,2005,41(3):88-96.WEN X J, GUO X J, TIAN G Z, et al. Identification of resistances of several jujube cultivars and selected pozao single trees against jujube witches-broom disease[J]. *Scientia silvae sinicae*, 2005, 41(3):88-96 (in Chinese with English abstract).

[5] 王合,任争光,潘彦平,等. 北京市区古枣树单株种源抗枣疯病测定与抗病品种(系)筛选[J]. 林业科学,2018,54(8):124-132.WANG H, REN Z G, PAN Y P, et al. Determination of individual jujube trees against jujube witches' broom disease and screening of resistant varieties from the ancient individual jujube trees growing in Beijing[J]. *Scientia silvae sinicae*, 2018, 54(8):124-132 (in Chinese with English abstract).

[6] 刘孟军,周俊义,赵锦,等. 极抗枣疯病枣新品种'星光'[J]. 园艺学报,2006,33(3):687.LIU M J, ZHOU J Y, ZHAO J, et al. An excellent new cultivar of Chinese jujube with high resistance to jujube witches broom disease 'Xingguang'[J]. *Acta horticulturae sinica*, 2006, 33(3):687 (in Chinese with English abstract).

[7] WANG L X, LIU S Y, GAO M J, et al. The crosstalk of the salicylic acid and jasmonic acid signaling pathways contributed to different resistance to *Phytoplasma* infection between the two genotypes in Chinese jujube[J/OL]. *Frontiers in microbiology*, 2022, 13: 800762 [2024-03-28]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.800762>.

[8] 田国忠,李志清,赵俊芳,等. 我国部分枣树品种(系)对枣疯病的抗性研究:第三届中国森林保护学术大会论文摘要集[C]. 北京:中国林学会,2010:25.TIAN G Z, LI Z Q, ZHAO J F, et al. Some Chinese jujube varieties (strains) on the resistance of JWB: Third China Forest Protection Academic Conference Abstract Book[C]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2010: 25(in Chinese).

[9] LIU Z G, WANG L X, XUE C L, et al. Genome-wide identification of MAPKKK genes and their responses to phytoplasma infection in Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) [J/OL]. *BMC genomics*, 2020, 21(1):142 [2024-03-28]. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6548-6>.

[10] 李继东,倪静,叶霞,等. 枣AP2/ERF转录因子鉴定及其响应枣疯病植原体表达分析[J]. 园艺学报,2020,47(8):1463-1474.LI J D, NI J, YE X, et al. Genomic identification of jujube AP2/ERF transcription factors and their expression pattern during jujube witches' broom pathogenesis process [J]. *Acta horticulturae sinica*, 2020, 47(8):1463-1474 (in Chinese with English abstract).

- [11] YE X, WANG H Y, CHEN P, et al. Combination of iTRAQ proteomics and RNA-seq transcriptomics reveals multiple levels of regulation in phytoplasma-infected *Ziziphus jujuba* Mill [J]. Horticulture research, 2017, 4: 17080 [2024-03-28]. <https://doi.org/10.1038/hortres.2017.80>.
- [12] 刘伟, 霍辰思, 王国平, 等. 枣疯病导致的花异常发育相关基因鉴定及表达分析[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2021, 41(6): 57-66. LIU W, HUO C S, WANG G P, et al. Identification and expression analysis of genes related to abnormal flower development induced by jujube madness disease [J]. Journal of Shanxi Agricultural University (natural science edition), 2021, 41(6): 57-66 (in Chinese with English abstract).
- [13] 李玲, 闫旭宇, 张昊, 等. 基于高通量测序的枣疯病转录组分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(11): 3537-3543. LI L, YAN X Y, ZHANG H, et al. Transcriptome data analysis of witches' broom disease in *Ziziphus jujube* based on high-throughput sequencing [J]. Molecular plant breeding, 2020, 18(11): 3537-3543 (in Chinese with English abstract).
- [14] 张舒怡, 张钟, 张春梅, 等. 基于转录组水平的枣疯病发病机理研究[J]. 园艺学报, 2017, 44(7): 1287-1298. ZHANG S Y, ZHANG Z, ZHANG C M, et al. Transcriptomic analysis on pathogenesis of witches' broom disease in *Ziziphus jujuba* [J]. Acta horticulturae sinica, 2017, 44(7): 1287-1298 (in Chinese with English abstract).
- [15] 田国忠, 李志清, 胡佳续, 等. 我国部分枣树品种(系)的枣疯病抗性鉴定[J]. 林业科技开发, 2013, 27(3): 19-25. TIAN G Z, LI Z Q, HU J X, et al. Resistance evaluation of a collection of Chinese jujube cultivars (line) against jujube witches' broom phytoplasma in China [J]. China forestry science and technology, 2013, 27(3): 19-25 (in Chinese with English abstract).
- [16] 任争光, 王合, 林彩丽, 等. 实时荧光定量PCR(SYBR Green I)检测不同抗枣疯病枣树品种嫁接接穗中的植原体浓度[J]. 植物病理学报, 2015, 45(5): 520-529. REN Z G, WANG H, LIN C L, et al. A real-time (SYBR Green I) PCR assay for detection and quantification of jujube witches' broom phytoplasma in the grafted jujube cultivar scions with different resistance [J]. Acta phytopathologica sinica, 2015, 45(5): 520-529 (in Chinese with English abstract).
- [17] HUANG J, ZHANG C M, ZHAO X, et al. The jujube genome provides insights into genome evolution and the domestication of sweetness/acidity taste in fruit trees [J/OL]. PLoS genetics, 2016, 12(12): e1006433 [2024-03-28]. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006433>.
- [18] XU Y, WANG C, KONG D, et al. Identification of high tolerance to jujube witches' broom in indian jujube (*Ziziphus mauritiana* Lam.) and mining differentially expressed genes related to the tolerance through transcriptome analysis [J/OL]. Plants, 2023, 12(11): 2082 [2024-03-28]. <https://doi.org/10.3390/plants12112082>.
- [19] 张毅, 吴万亿, 刘霞宇, 等. 利用WGCNA鉴定甘薯耐盐相关共表达网络及核心基因[J]. 河南农业科学, 2021, 50(6): 16-27. ZHANG Y, WU W Y, LIU X Y, et al. Identification of salt tolerance co-expression modules and hub genes in *Ipomoea batatas* by WGCNA [J]. Journal of Henan agricultural sciences, 2021, 50(6): 16-27 (in Chinese with English abstract).
- [20] KOHL M, WIESE S, WARSCHEID B. Cytoscape: software for visualization and analysis of biological networks [J]. Methods in molecular biology, 2011, 696: 291-303.
- [21] 赵锦, 刘孟军, 周俊义, 等. 枣疯植原体的分布特点及周年消长规律[J]. 林业科学, 2006, 42(8): 144-146. ZHAO J, LIU M J, ZHOU J Y, et al. Distribution and YearRound concentration variation of jujube witches' broom (*JWB*) *Phytoplasma* in the plant of Chinese jujube [J]. Scientia silvae sinicae, 2006, 42(8): 144-146 (in Chinese with English abstract).
- [22] KARASOV T L, CHAE E, HERMAN J J, et al. Mechanisms to mitigate the trade-off between growth and defense [J]. The plant cell, 2017, 29(4): 666-680.
- [23] ZHANG S Y, LI C, SI J P, et al. Action mechanisms of effectors in plant-pathogen interaction [J/OL]. International journal of molecular sciences, 2022, 23(12): 6758 [2024-03-28]. <https://doi.org/10.3390/ijms23126758>.
- [24] 王会鱼. 枣响应植原体侵染及恢复的转录组和蛋白组分析[D]. 郑州: 河南农业大学, 2018. WANG H Y. Transcriptome and proteome analysis of jujube in response to phytoplasma infection and recovery [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2018 (in Chinese with English abstract).
- [25] ZHANG M M, ZHANG S Q. Mitogen-activated protein kinase cascades in plant signaling [J]. Journal of integrative plant biology, 2022, 64(2): 301-341.
- [26] RENTEL M C, LECOURIEUX D, OUAKEF F, et al. OXII kinase is necessary for oxidative burst-mediated signalling in *Arabidopsis* [J]. Nature, 2004, 427(6977): 858-861.
- [27] DU M M, ZHAO J H, TZENG D T W, et al. MYC<sub>2</sub> orchestrates a hierarchical transcriptional cascade that regulates jasmonate-mediated plant immunity in tomato [J]. The plant cell, 2017, 29(8): 1883-1906.
- [28] XUE C L, LIU Z G, WANG L H, et al. The antioxidant defense system in Chinese jujube is triggered to cope with phytoplasma invasion [J]. Tree physiology, 2020, 40(10): 1437-1449.
- [29] SEWELAM N, JASPERT N, VAN DER KELEN K, et al. Spatial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> signaling specificity: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> from chloroplasts and peroxisomes modulates the plant transcriptome differentially [J]. Molecular plant, 2014, 7(7): 1191-1210.
- [30] 郭艳玲, 张鹏英, 郭默然, 等. 次生代谢产物与植物抗病防御反应[J]. 植物生理学报, 2012, 48(5): 429-434. GUO Y L, ZHANG P Y, GUO M R, et al. Secondary metabolites and plant defence against pathogenic disease [J]. China industrial economics, 2012, 48(5): 429-434 (in Chinese with English abstract).

## Study on differences in response to phytoplasma infection in different resistant jujube germplasms

WANG Chao<sup>1</sup>, XU Yaru<sup>1</sup>, JIAO Lijun<sup>2</sup>, BO Wenhao<sup>1</sup>, CAO Ming<sup>3</sup>, KONG Decang<sup>3</sup>,  
ZHANG Qiong<sup>4</sup>, PANG Xiaoming<sup>1</sup>

1. College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;
2. Shuangjing Forestry Farm, Aohan Banner, Inner Mongolia Autonomous Region, Chifeng 024300, China;
3. National Foundation for Improved Cultivars of Chinese Jujube, Cangzhou 061000, China;
4. Shandong Institute of Pomology, Taian 271000, China

**Abstract** Jujube witches' broom disease is a significant threat to jujube trees. To reveal the key biological pathways associated with disease resistance in jujube germplasm in response to phytoplasma infection, a graft-inoculation method was used to evaluate the resistance of 324 jujube germplasm resources to this disease. The study utilized disease-resistant germplasms 'QS10', 'UU12', 'EQ15' and the susceptible germplasms 'Zhongyangmuzao', 'Hupingzao', 'Luzhao 5' as materials. The phytoplasma content in leaf tissues was measured at 90 days and 120 days post-infection, and transcriptome sequencing was conducted to elucidate the differential responses. The results showed that the concentration of phytoplasma in resistant germplasm was low and gradually decreased after grafting, while the concentration of phytoplasma in susceptible germplasm was higher and gradually increased over time. The DEGs of both resistant and susceptible germplasm were significantly enriched in pathways such as plant-pathogen interaction, plant hormone signal transduction, and biosynthesis of secondary metabolites. Notable differences were observed in the expression of genes related to peroxisome, photosynthetic pathway and flavonoid biosynthesis pathway. WGCNA analysis revealed that core genes such as lipid phosphatase, RNA editing factor MORF 3, LysM domain receptor-like kinase, and serine/threonine protein kinase sty13-like were associated with resistant germplasm. Research indicated that in response to phytoplasma invasion, the differential expression of genes involved in plant-pathogen interaction, synthesis of secondary metabolites, plant hormone signal transduction, and MAPK signaling pathways may contribute to the differential phenotypes observed between resistant and susceptible germplasms. The peroxisome-related genes are upregulated in disease-resistant germplasm, while photosynthetic genes are less affected by phytoplasma invasion, which may contribute to the normal progression of energy metabolism and redox balance of resistant germplasm, thereby enhancing its disease resistance. Additionally, secondary metabolites such as flavonoids and terpenes may play a role in eliminating the damage caused by active oxygen.

**Keywords** jujube; jujube witches' broom disease; phytoplasma interaction; secondary metabolites; WGCNA

(责任编辑:边书京)