



基于转录组测序的枣黑顶病发病机理初探

陈欣¹, 邓彩萍¹, 牛雅琪¹, 王升级¹, 贾举庆²

(1. 山西农业大学 林学院, 山西太谷 030801; 2. 山西农业大学 农学院, 山西太谷 030801)

摘要 为进一步诠释枣黑顶病发病机理, 本研究使用 Illumina 高通量测序技术对自然发病枣果(ZJINF)、氢氧化钙处理枣果(ZJPRE)及健康枣果(ZJCON)进行分析, 拟从转录组水平探明枣果黑顶病发生的分子机理。基因功能注释(GO)分析结果表明, ZJINF vs ZJCON 中的差异表达基因主要体现在钙离子结合、钙依赖磷脂结合、金属离子体内平衡、防御反应等生物学功能上, 导致枣果对外界不良环境的抗性减弱。代谢通路(KEGG)富集分析显示: 植物-病原体互作、内质网蛋白质加工、吞噬体等代谢通路富集程度较高。ZJINF vs ZJCON 中, CALR、CRT 被抑制低表达; 而喷施氢氧化钙之后, 枣果的 CALR、CRT 两种钙蛋白表达水平均与健康枣果无显著差异。表明 CALR、CRT 在黑顶病的抗病过程中可能有着重要的作用。

关键词 壶瓶枣; 转录组测序; 黑顶病; 发病机理; 差异表达基因

中图分类号 S665.1

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2021)06-0907-07

枣(*Zizyphus jujuba*), 为鼠李科(Rhamnaceae)枣属(*Zizyphus* Mill.)植物, 是中国特有经济树种。但近年来在山西晋中红枣产区(主栽品种为‘壶瓶枣’)发生的枣黑顶病, 导致枣果近成熟期顶部发黑, 果味苦涩, 难以食用。该病害在枣果近成熟期发病严重, 极大地降低了枣果的经济价值, 在一定程度上制约了枣产业的发展^[1]。

前期试验通过对发病区枣果、枣叶、大气氟含量进行测定, 发现枣黑顶病的发病率与大气氟浓度、枣果、枣叶氟含量之间均密切相关。初步认为: 氟污染是诱发病害发生的一个诱因^[1]。进一步研究表明, 喷施钙剂提高了枣果内 SOD、POD、CAT 酶活性, 有效减缓枣黑顶病的发生, 推测该病害的发生可能与钙离子浓度减少有一定关系^[2]。通过细胞化学定位观察枣黑顶病果实中钙离子时发现, 健康枣果皮细胞中含有较多的 Ca^{2+} 沉淀颗粒且沿细胞壁均匀分布, 果肉细胞中也有少数 Ca^{2+} 沉淀颗粒; 而发病枣果果肉细胞器逐渐被降解, 枣果实很难观察到 Ca^{2+} 沉淀颗粒^[3]。近年来利用转录组测序方法研究果树病害的致病机理广为报道, 如余贤美等^[4]发现 6 个基因(*CD-*

PK26、*WRKY26*、*ADP/ATP carrier*、*TUBA*、*CTSF*、*RGA4*)可以作为苹果苦痘病防治的关键基因; 张舒怡等^[5]、李玲等^[6]通过转录组测序技术则发现 *MYB*、*C2H2* 可作为今后研究枣疯病发生的分子机理的关键基因。枣树基因组测序的完成为系统、深入地挖掘枣树功能基因, 揭示优良性状的分子机制提供了重要基础条件。本研究基于前期的试验研究, 利用转录组测序技术对发病枣果、喷施氢氧化钙溶液的枣果以及健康枣果进行枣果组织转录组测序分析, 初探枣果黑顶病可能的发病机理, 为进一步防治该病害提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验地来源

试验所需的壶瓶枣果采自山西省农业科学院果树研究所国家果树种质枣品种资源圃。研究材料为‘壶瓶枣’, 树龄 10 a 左右, 结实量适中。

1.2 试验方法

于 2017 年 7 月 15 日枣黑顶病易发病期, 对同一枣树出现黑顶病症状枣果喷施氢氧化钙溶液, 质量浓度为 0.011 g/L^[2], 喷施频率为

收稿日期: 2020-10-12 修回日期: 2020-11-20

基金项目: 山西省应用基础研究项目(201701D121006)。

第一作者: 陈欣, 女, 硕士研究生, 研究方向为林木病害及害虫生物防治。E-mail: chenxin5561@163.com

通信作者: 邓彩萍, 女, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为林木病害及害虫生物防治。E-mail: forestdeng99@126.com

2 d/次,时间为 6:00,处理 20 d 后采集形态近似枣果 3 颗(ZJPRE)。同时分别采集自然发病枣果(ZJINF)及健康枣果(ZJCON)3 颗作为对照组。每个处理进行 3 次生物学重复。共采集样品 27 个,送至北京诺禾致源生物科技有限公司进行转录组测序。

1.3 数据处理方法

测序得到大量的原始数据(Raw Data),去除 Raw Data 中的接头序列、引物序列及低质量 Reads,得到 clean reads。根据碱基质量值 Q30、GC 含量来判断数据质量。采用 DESeq 软件进行差异表达分析($p_{adj} < 0.05$),筛选得到差异表达基因(DEG),将获得的差异表达基因进行功能(GO)分析和代谢通路(KEGG)分析。

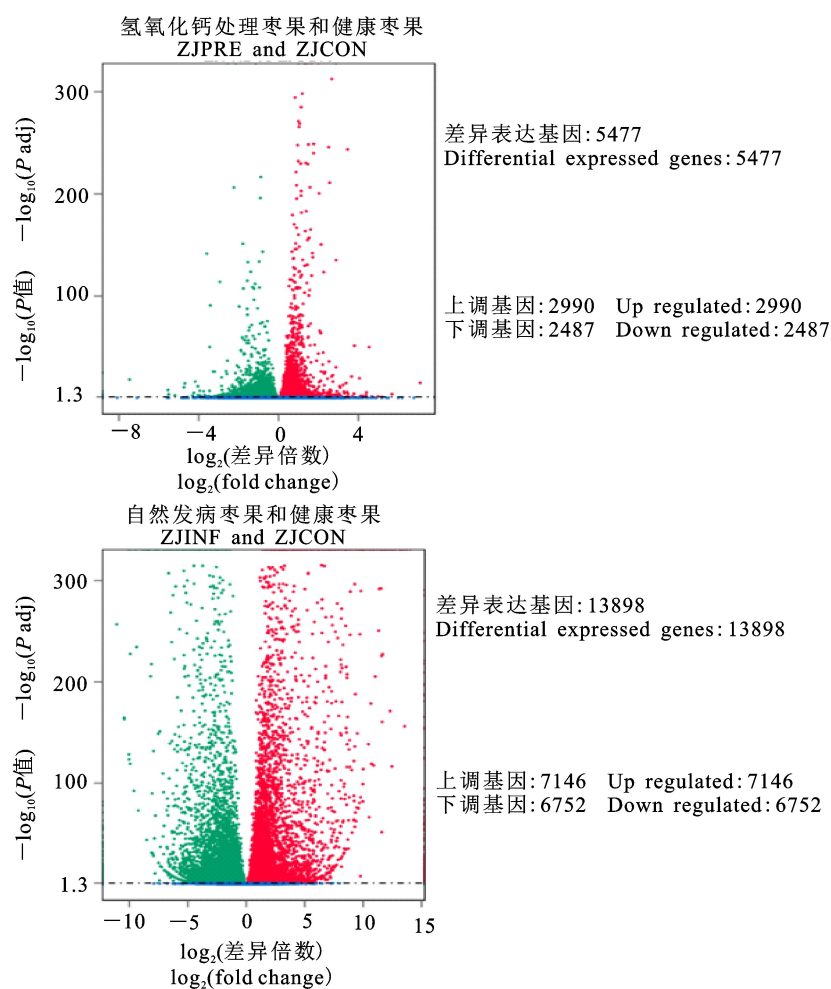
2 结果与分析

2.1 测序数据质量控制

本试验通过测序获得的转录组数据 Q30 > 92.5%,远大于 85%,与参考基因组(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_001835785.1#/st)的比对效率为 73.65%~75.18%,可以满足后续的分析要求。

2.2 差异表达基因分析

差异表达基因分析表明,自然发病枣果与健康枣果(ZJINF vs ZJCON)中,有差异表达基因 13 898 个,其中 7 146 个基因上调表达,6 752 个基因下调表达;氢氧化钙处理枣果与健康枣果(ZJPRE vs ZJCON)中,有差异表达基因 5 477 个,其中 2 990 个上调表达,2 487 个下调表达(图 1)。



蓝色圆点表示无显著性差异的基因,红色圆点表示有显著性差异的上调基因,绿色圆点表示有显著性差异的下调基因
Blue dots indicate no significant difference sense, the red dots indicate significant difference up-regulated genes, the green dots indicate significant difference down-regulated genes

图 1 不同组间差异表达基因火山图

Fig. 1 Volcano plot of DEGs between different groups

2.3 差异表达基因 GO 分析

本试验中,将所有基因映射到 GO 数据库,共有 24 946 个基因匹配到信息。在 ZJINFvsZJCON 中,有 10 805 个基因差异表达,上调有 5 687 个,下调有 5 118 个。富集的 GO 条目主要归纳于 85 个生物学过程、37 个细胞组分、31 个分子功能。富集程度较高的前 20 位如表 1 所示。其中,在生物学过程中以细胞内稳态(cellular homeostasis)、细胞氧化还原内稳态(cell redox homeostasis)、谷氨酰胺族氨基酸代谢过程(glutamine family amino acid metabolic process)、离子

跨膜运输(ion transmembrane transport)、金属离子内稳态(metal ionhomeostasis)、细胞钙离子稳态(cellular calcium ion homeostasis)为主(表 1),在细胞组分中以细胞(cell)、细胞部分(cell part)、细胞组分(cellular component)、细胞膜(membrane)为主,在分子功能中以泛素蛋白连接酶活性(ubiquitin protein ligase activity)、类泛素蛋白连接酶活性(ubiquitin-like protein ligase activity)、锌离子结合(zinc ion binding)、钙依赖磷脂结合(calcium-dependent phospholipid binding)、钙离子结合(calcium ion binding)为主(表 1)。

表 1 ZJINF vs ZJCON 差异基因 GO 富集结果
Table 1 GO enrichment of DEGs in ZJINF vs ZJCON

GO 编号 GO accession	描述 Description	类别 Term type	校正后的 P-value Corrected P-value
GO:0005575	细胞组分 Cellular component	CC	0.000 000 000 000 008 765 7
GO:0005623	细胞 Cell	CC	0.000 000 000 170 4
GO:0044464	细胞部分 Cell part	CC	0.000 000 000 170 4
GO:0019725	细胞内稳态 Cellular homeostasis	BP	0.000 001 447 4
GO:0045454	细胞氧化还原内稳态 Cell redox homeostasis	BP	0.000 036 384
GO:0004842	泛素蛋白转移酶活性 Ubiquitin-protein transferase activity	MF	0.000 041 956
GO:0061630	泛素蛋白连接酶活性 Ubiquitin protein ligase activity	MF	0.000 605 58
GO:0061659	类泛素蛋白连接酶活性 Ubiquitin-like protein ligase activity	MF	0.000 605 58
GO:0016020	细胞膜 Membrane	CC	0.001 944 4
GO:0009607	生物刺激反应 Response to biotic stimulus	BP	0.002 786 4
GO:0008270	锌离子结合 Zinc ion binding	MF	0.003 364 6
GO:0009064	谷氨酰胺族氨基酸代谢过程 Glutamine family amino acid metabolic process	BP	0.003 585 5
GO:0006952	防御反应 Defense response	BP	0.009 515 4
GO:0042592	稳态作用 Homeostatic process	BP	0.016 563
GO:0034220	离子跨膜运输 Ion transmembrane transport	BP	0.036 34
GO:0009084	谷氨酰胺族氨基酸生物合成过程 Glutamine family amino acid biosynthetic process	BP	0.041 329
GO:0055065	金属离子内稳态 Metal ion homeostasis	BP	0.049 194
GO:0005544	钙依赖磷脂结合 Calcium-dependent phospholipid binding	BP	0.085 099
GO:0005509	钙离子结合 Calcium ion binding	MF	0.097 34
GO:0006874	细胞钙离子稳态 Cellular calcium ion homeostasis	MF	0.170 87

注: BP. 生物学过程;CC. 细胞组分;MF. 分子功能。

Note: BP. Biological process;CC. Cellular component;MF. Molecular function.

在 ZJPRE vs ZJCON 中,有 4 362 个差异表达基因,其中 2 400 个基因上调表达,1 962 个基因下调表达。富集的 GO 条目主要包含 52 个生物学过程、22 个细胞组分、11 个分子功能。富集程度较高的 20 个基因如表 2 所示。其中,在生物学过程中以防御反应(defense response)、细胞内

稳态(cellular homeostasis)、生物刺激反应(response to biotic stimulus)、生物调节(biological regulation)为主,在细胞组分中以细胞(cell)、细胞器(organelle)、核糖体(ribosome)为主,在分子功能上以氧化还原酶活性(oxidoreductase activity)、核糖体结构组成(structural constituent of

ribosome)为主(表 2)。

表 2 ZJPRE vs ZJCON 差异基因 GO 富集结果
Table 2 GO function of DEGs in ZJPRE vs ZJCON

GO 编号 GO accession	描述 Description	类别 Term type	校正后的 <i>P</i> -value Corrected <i>P</i> -value
GO:0005623	细胞 Cell	CC	0.000 000 000 000 851 85
GO:0043226	细胞器 Organelle	CC	0.000 000 000 081 949
GO:0005575	细胞组分 Cellular component	CC	0.000 000 002 171 6
GO:0005737	细胞质 Cytoplasm	CC	0.000 000 208 54
GO:0005840	核糖体 Ribosome	CC	0.000 052 162
GO:0003735	核糖体结构组成 Structural constituent of ribosome	MF	0.000 077 403
GO:0010467	基因表达 Gene expression	BP	0.000 420 78
GO:0003723	RNA 结合 RNA binding	MF	0.000 671 85
GO:0043244	蛋白质复合物分解的调节 Regulation of protein complex disassembly	BP	0.005 223 7
GO:0006952	防御反应 Defense response	BP	0.006 687 5
GO:0016491	氧化还原酶活性 Oxidoreductase activity	MF	0.007 115
GO:0019725	细胞内稳态 Cellular homeostasis	BP	0.015 064
GO:0009607	生物刺激反应 Response to biotic stimulus	BP	0.024 302
GO:0009620	对真菌的反应 Response to fungus	BP	0.024 302
GO:0050832	对真菌的防御反应 Defense response to fungus	BP	0.024 302
GO:0034250	细胞酰胺代谢过程的正调控 Positive regulation of cellular amide metabolic process	BP	0.024 302
GO:0043243	蛋白质复合物分解的正调控 Positive regulation of protein complex disassembly	BP	0.024 302
GO:0050789	生物过程调节 Regulation of biological process	BP	0.029 633
GO:0006412	翻译 Translation	BP	0.029 633
GO:0065007	生物调节 Biological regulation	BP	0.043 767

注：BP, 生物学过程;CC, 细胞组分;MF, 分子功能。
Note: BP, biological process;CC, cellular component;MF, molecular function.

2.4 差异表达基因 KEGG 代谢途径分析

在 ZJINF vs ZJCON 中,差异表达基因共涉及了 127 条代谢通路,其中氨基酸的生物合成(biosynthesis of amino acids)、碳代谢(carbon metabolism)、吞噬体(phagosome)、植物-病原体互作(plant-pathogen interaction)4 条代谢通路上富集的基因数目居多。在 ZJPRE vs ZJCON 中,差异表达基因共涉及 126 条代谢通路,其中碳代谢、氨基酸的生物合成、核蛋白体(ribosome)这 3 条代谢通路上富集的基因数目居多(表 3)。植物-病原体互作、吞噬体、内质网上的蛋白质加工这 3 条代谢通路的富集程度较高。

2.4.1 枣果植物-病原体互作代谢通路 植物-病原体互作代谢通路中涉及到很多与发病相关的重要信息。代谢通路进一步分析结果表明:在 ZJINF vs ZJCON 中,该代谢通路涉及 101 个

DEGs,其中 74 个 DEGs 上调,27 个 DEGs 下调。其中 CNGCs(环核苷酸门控离子通道)处有 7 个 DEGs 上调表达,2 个 DEGs 下调表达;CDPK(钙依赖蛋白激酶)处涉及 9 个 DEGs 上调表达,2 个 DEGs 下调表达。在 ZJPRE vs ZJCON 中,该代谢通路涉及了 41 个 DEGs,其中 28 个 DEGs 上调,13 个 DEGs 下调。其中 CNGCs 处有 4 个 DEGs 上调表达;CDPK 处涉及 4 个 DEGs 上调表达。

2.4.2 枣果吞噬体代谢通路 在枣果吞噬体代谢通路中,涉及到 2 种与钙相关的蛋白存在差异表达。代谢通路图进一步分析结果表明:在 ZJINF vs ZJCON 中,总共有 67 个 DEGs,其中上调 48 个,下调 19 个。在 CALR(calreticulin,钙网蛋白)处有 2 个 DEGs 上调表达,1 个 DEG 下调表达;在内质网分子伴侣 calnexin 处有 1 个

DEG 上调表达。在 ZJPRE vs ZJCON 中,总共有 28 个 DEGs,其中上调 16 个,下调 12 个。CALR 表达正常;在 calnexin 处有 1 个 DEGs 下调表达。

表 3 各对比中与病害相关的代谢通路信息

Table 3 Pathway information related to disease in each group	
组别 Group	代谢通路名称 Pathway
ZJINF vs ZJCON	氨基酸的生物合成 Biosynthesis of amino acids
	碳代谢 Carbon metabolism
	吞噬体 Phagosome
	植物-病原体互作 Plant-pathogen interaction
ZJPRE vs ZJCON	氨基酸的生物合成 Biosynthesis of amino acids
	碳代谢 Carbon metabolism
	核蛋白体 Ribosome

2.4.3 枣果内质网蛋白质加工代谢通路 喷钙处理之后,CNX(钙联蛋白)、CRT(钙网蛋白)这 2 个蛋白趋于正常表达,且归属于内质网蛋白质加工代谢通路。在 ZJINF vs ZJCON 中,该代谢通路总共有 154 个 DEGs,其中上调有 124 个,下调有 30 个。其中 CNX 处有 1 个 DEG 上调表达;CRT 处有 2 个 DEGs 上调表达,1 个 DEG 下调表达。在 ZJPRE vs ZJCON 中,该代谢通路涉及到 86 个 DEGs,47 个上调表达,39 个下调表达。其中 CNX 处有 1 个 DEG 下调表达,CRT 表达正常。

3 讨论

枣果黑顶病严重降低了枣果的经济价值,制约了山西红枣区枣产业的发展,但其发病机理仍不明确。前期研究发现,在枣黑顶病发病较严重的枣园,喷施氢氧化钙溶液,枣黑顶病的发病率和发病程度均有所减缓,发病率由 71% 降为 40.6%,病情指数由 4.1 降为 2.6^[7]。Ca²⁺ 在植物体内运输,很难运送至果实部位;因此,细胞内 Ca²⁺ 浓度变化会直接影响植物生长发育以及果实品质^[8]。研究表明,CaCl₂ 处理对菠萝黑腐病^[9]、芒果软鼻病^[10]、苹果苦痘病^[11] 的防控均有一定的效果。钙对果实衰老与生理病害的发生有一定的抑制作用,其重要原因在于钙既是膜的稳定剂,可以维持和保护质膜的结构;钙又可以作为

细胞的第二信使,调控许多种重要的生理生化防御反应,维持细胞的正常生理功能^[8]。在黄瓜^[12]、番茄^[13] 中均发现外源 Ca²⁺ 可以促进抗氧化酶活性的协调变化,提高细胞中膜的选择性吸收能力;直接调节植物抗病基因的表达^[14-15],增加植物对病虫害的抗性。本试验中 ZJINF 与 ZJCON 对比发现,差异表达基因功能体现在泛素蛋白连接酶活性、类泛素蛋白连接酶活性、生物刺激反应、防御反应、钙离子稳态、钙依赖磷脂结合、钙离子结合上;而 ZJPRE 与 ZJCON 对比发现,差异表达基因功能体现在防御反应、生物刺激反应上,与钙相关的功能未被富集。可能是外源喷施氢氧化钙之后,枣果发病部位钙离子浓度升高,从而提高了枣果对黑顶病的抗性^[2-3,7],因此枣果外观正常,未呈现发病状态。

植物-病原互作因子在植物病害发生及其对生物或非生物胁迫应激反应中发挥重要作用。余贤美等^[4] 研究苹果苦痘病发现,植物-病原体互作这条通路上富集到了与发病相关的蛋白。本研究发现,ZJINF vs ZJCON 差异表达基因的 KEGG 富集在植物-病原体、内质网上的蛋白质加工、吞噬体 3 条代谢通路上,且富集程度较高。喷施氢氧化钙处理之后,这 3 条代谢通路涉及的差异表达基因数目也明显下降。这 3 条代谢通路上,CNGCs、CDPK、CNX、CRT、CALR、calnexin 这些蛋白与植物抗病性有关。CNGCs 对钙离子有很强的非选择性,主要参与植物对特异刺激的免疫反应,并发挥防御反应、植物发育和离子平衡等生物学功能^[16-17];CDPK 是一类植物钙离子传感蛋白,在转录、代谢、运输及其对生物和非生物胁迫等过程中发挥着极为重要的作用^[18-19]。CALR 及 calnexin 两种钙结合分子伴侣同样在植物应对不良环境的抗逆方面具有突出作用;在烟草^[20] 和拟南芥^[21] 中,CNX 和 CRT 是内质网内的重要的分子伴侣,两者是同源蛋白,同时具有高度保守性,在结构、功能上具有很大的相似性,参与维持植物体内钙离子稳态平衡,还参与了植物生长发育及抗逆过程^[22]。CNX、CRT 还参与蛋白质的加工折叠,可能影响农作物的产量及品质^[22]。本试验中,喷施氢氧化钙处理之后枣果的 CALR、CRT 两种钙蛋白表达水平均与健康枣果无显著差异,枣果外观接近于正常枣果,进一步说明喷钙提高了枣果抗病性,对病害具有一定的防治效果。

4 结 论

本研究通过对自然发病组(ZJINF)、氢氧化钙处理组(ZJPRE)、对照组(ZJCON)3种处理下的枣果进行转录组测序分析,发现氢氧化钙处理枣果之后,枣果外观接近于正常枣果;CALR、CRT两种蛋白的表达量有趋于正常的趋势。基于此,本研究认为枣黑顶病的发生可能与CALR、CRT两种钙相关蛋白的表达有关系。该结论为今后更好地研究枣黑顶病提供依据。

致谢:感谢山西省农业科学院果树研究所国家果树种质枣品种资源圃为本试验提供样地。

参考文献 Reference:

- [1] 刘贤谦,李盼盼,尹河龙,等. 大气氟含量与枣黑顶病的相关性[J]. 林业科学, 2011, 47(10): 189-193.
LIU X Q, LI P P, YIN H L, *et al.* Correlation analyses of fluoride content and jujube black tip disease[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2011, 47(10): 189-193.
- [2] 张金璐. 不同枣树品种对枣黑顶病的抗性评价及钙防治的生化机制[D]. 山西太谷: 山西农业大学, 2018.
ZHANG J L. Resistance evaluation of different jujube varieties to jujube black tip disease and the biochemical mechanism of calcium control[D]. Taigu Shanxi; Shanxi Agricultural University, 2018.
- [3] 檀柔柔. 钙与枣黑顶病的相关性及用钙剂防控枣黑顶病的研究[D]. 山西太谷: 山西农业大学, 2014.
TAN R R. The correlation between calcium and jujube black tip disease and study on prevention and control of black tip disease with calcium[D]. Taigu Shanxi; Shanxi Agricultural University, 2014.
- [4] 余贤美,王金政,薛晓敏,等. 基于全转录组分析的苹果苦痘病发生机制初步研究[J]. 植物病理学报, 2020, 50(4): 405-419.
YU X M, WANG J ZH, XUE X M, *et al.* Preliminary studies on the mechanism of bitter pit in apple based on whole-transcriptomic sequencing analysis[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2020, 50(4): 405-419.
- [5] 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 SH Y, ZHANG ZH, ZHANG CH M, *et al.* Transcriptomic analysis on pathogenesis of witches broom disease in *Ziziphus jujuba* [J]. *Acta Horticulturae sinica*, 2017, 44(7): 1287-1298.
- [6] 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 jujuba* based on high-throughput sequencing[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(11): 3537-3543.
- [7] 檀柔柔,邓彩萍,刘 静,等. 防氟钙剂防治枣黑顶病的研究[J]. 天津农业科学, 2013, 19(10): 87-89.
TAN R R, DENG C P, LIU J, *et al.* Controlling jujube black tip disease by anti-fluoride calcium[J]. *Tianjin Agricultural Sciences*, 2013, 19(10): 87-89.
- [8] GAO Q Y, XIONG T T, LI X P, *et al.* Calcium and calcium sensors in fruit development and ripening [J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 253: 412-421.
- [9] 谷 会,贾志伟,侯晓婉,等. 氯化钙处理对菠萝黑腐病的防控效果及机制分析[J]. 热带作物学报, 2019, 40(12): 2481-2488.
GU H, JIA ZH W, HOU X W, *et al.* Effects and mechanism of calcium chloride treatment on reducing pineapple black rot [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2019, 40(12): 2481-2488.
- [10] 陶淑华. 钙处理对采前套袋“凯特”芒果采后果实软鼻病及贮藏特性的影响[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2019.
TAO SH H. Effects of calcium treatment on soft nose and storability of pre-bagging “KEITT” mango fruit during storage[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2019.
- [11] 聂佩显,余贤美,王兆顺,等. 不同钙制剂和喷钙时间对苹果苦痘病发病率及果实品质的影响[J]. 河北农业科学, 2017, 21(4): 47-49, 103.
NIE P X, YU X M, WANG ZH SH, *et al.* Effects of different calcium foliage fertilizers and spraying period on apple bitter pit disease and fruit quality[J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2017, 21(4): 47-49, 103.
- [12] 韩 冰,孙 锦,郭世荣,等. 钙对盐胁迫下黄瓜幼苗抗氧化系统的影响[J]. 园艺学报, 2010, 37(12): 1937-1943.
HAN B, SUN J, GUO SH R, *et al.* Effects of calcium on antioxidant enzymes activities of cucumber seedlings under salt stress[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2010, 37(12): 1937-1943.
- [13] JIANG J F, LI J G, DONG Y H. Effect of calcium nutrition on resistance of tomato against bacterial wilt induced by *Ralstonia solanacearum* [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2013, 136(3): 547-555.
- [14] KIM M C, YUN D J, CHO M J, *et al.* Calcium and calmodulin-mediated regulation of gene expression in plants [J]. *Molecular Plant*, 2009, 2(1): 13-21.
- [15] LEE T, MCNELLIS TW. Evidence that the BONZAI1/COPINE1 protein is a calcium and pathogen-responsive defense suppressor [J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, 69(2): 155-166.
- [16] KAPLAN B, SHERMAN T, FROMM H. Cyclic nucleotide-gated channels in plants[J]. *FEBS Letters*, 2007, 581(12): 2237-2246.
- [17] MOEDER W, URQUHARTW, UNG H, *et al.* The role of cyclic nucleotide-gated ion channels in plant immunity[J]. *Molecular Plant*, 2011, 4(3): 442-452.
- [18] ASANO T, HAYASHI N, KIKUCHI S, *et al.* CDPK-me-

- diated abiotic stress signaling [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2012, 7(7): 817-821.
- [19] HUANG K, PENG L, LIU Y Y, *et al.* *Arabidopsis* calcium- dependent protein kinase AtCPK1 plays a positive role in salt/drought- stress response[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 498(1): 92-98.
- [20] AKESSON A, PERSSON S, LOVE J, *et al.* Over expression of the Ca^{2+} binding protein calreticulin in the endoplasmic reticulum improves growth of tobacco cell suspensions (*Nicotianatabacum*) in high Ca^{2+} medium [J]. *Physiologia Plantarum*, 2005, 123(1): 92-99.
- [21] PERSSON S, WYATT S E. The status Ca^{2+} of the endoplasmic reticulum is altered by induction of calreticulin expression in transgenic plants[J]. *Plant Physiology*, 2001, 126(3): 1092-1104.
- [22] 孙旭红, 周焕斌, 王道文, 等. 植物钙联蛋白与钙网蛋白的研究进展[J]. 中国农学通报, 2018, 34(9): 48-52.
- SUN X H, ZHOU H B, WANG D W, *et al.* Research progress of calnexin and calreticulin in plants[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2018, 34(9): 48-52.

A Preliminary Study on Pathogenesis of Jujube Black Tip Disease Based on RNA-seq

CHEN Xin¹, DENG Caiping¹, NIU Yaqi¹, WANG Shengji¹ and JIA Juqing²

(1. College of Forestry, Shanxi Agricultural University, Taigu Shanxi 030801, China;

2. College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu Shanxi 030801, China)

Abstract Jujube black tip disease seriously reduces the economic value of jujube fruit and restricts the development of jujube industry, but its pathogenesis is still unclear. In order to explore the molecular mechanism of jujube black tip disease, Illumina high-throughput sequencing was used to analyze the transcriptome of jujube fruits which were infected naturally black tip disease(ZJINF) and treated with calcium hydroxide(ZJPRE) as well as healthy jujube fruits(ZJCON). GO analysis showed that the differentially expressed genes between ZJINF and ZJCON were mainly enriched in the biological functions of calcium ion binding, calcium-dependent phospholipid binding, metal ion homeostasis and defense response, suggesting reduced resistance of jujube fruit to adverse environment. KEGG analysis showed that plant-pathogen interaction, endoplasmic reticulum protein processing, phagocytes and other metabolic pathways were specifically enriched. The expression of CALR and CRT was inhibited in ZJINF vs ZJCON. However, there was no significant difference between healthy jujube fruits and fruits sprayed with calcium hydroxide. The results showed that CALR and CRT may play an important role in the resistance to black tip disease, and this study will provide theoretical basic for further interpretation of the pathogenesis of jujube black tip disease.

Key words Huping jujube; RNA-seq; Black tip disease; Pathogenesis; Differentially expressed gene.

Received 2020-10-12

Returned 2020-11-20

Foundation item Applied Basic Research of Shanxi Province(No. 201701D121006).

First author CHEN Xin, female, master student. Research area: biological control of forest diseases and pests. E-mail: chenxin5561@163.com

Corresponding author DENG Caiping, female, associate professor, master supervisor. Research area: biological control of forest diseases and pests. E-mail: forestdeng99@126.com

(责任编辑: 潘学燕 Responsible editor: PAN Xueyan)