



基于转录组分析鉴定苹果茉莉素响应基因

张娜^{1,2}, 刘秀霞¹, 陈学森^{1*}, 吴树敬^{1*}

¹山东农业大学园艺科学与工程学院/作物生物学国家重点实验室, 泰安 271018; ²泰山学院生物与酿酒工程学院, 泰安 271018

摘要 为阐明外源茉莉酸甲酯(MeJA)诱导的苹果(*Malus domestica*)抗病分子机制, 以生长30天的Gala组培苗为试材, 用100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA处理叶片12小时, 通过转录组测序, 结合生物信息学分析鉴定出苹果叶片中受MeJA诱导表达的基因。结果表明, 外源MeJA主要影响苹果叶片倍半萜类、三萜和类黄酮的生物合成, 以及芸薹素(BR)信号转导途径间接诱导的抗病性; 倍半萜类、三萜及类黄酮生物合成途径中的关键基因为MDP0000702120和MDP0000692178; MDP0000123379是联系芸薹素信号转导途径和植物-病原菌互作途径的关键调控基因。

关键词 茉莉素, 抗病性, 信号转导, 转录组, 苹果

张娜, 刘秀霞, 陈学森, 吴树敬 (2019). 基于转录组分析鉴定苹果茉莉素响应基因. 植物学报 54, 733–743.

苹果(*Malus domestica*)是世界上栽培面积和产量最大的果树种类之一, 其产量和品质易遭受病原菌等生物胁迫的影响, 给苹果产业带来巨大的经济损失(国立耘等, 2009; 陈学森等, 2015)。使用化学药剂是防治苹果病虫害的有效手段, 但容易造成药物残留及生态破坏。抗性诱导, 即采用植物生长调节剂诱导增强苹果对病原菌的抗性是极其重要且可行的农艺措施(王英珍等, 2016)。有研究表明, 外源水杨酸(salicylic acid, SA)能提高苹果叶片对炭疽病的抗性(Zhang et al., 2016); 在富士苹果中过表达SA信号途径的关键调控因子NPR1能提高苹果对白粉病的抗性(Chen et al., 2012); 此外, SA还能强烈诱导WRKY40b的表达以提高富士苹果对白粉病的抗性(罗昌国等, 2013)。

茉莉素(jasmonates, JA)可诱导植物体内产生凝集素和植保素等一系列具有防御功能的次生代谢物, 或者诱导抗病基因表达以提高植物的抗病性(李梦莎和阎秀峰, 2014)。茉莉酸甲酯(MeJA)对蓝莓(*Vaccinium vitis-idaea*) (许晴晴等, 2014)、芒果(*Mangifera indica*) (弓德强等, 2013)、葡萄(*Vitis vinifera* × *V. labrusca*) (汪开拓等, 2012)、香蕉(*Musa* spp. cv. 'Brazilian') (麻宝成和朱世江, 2006)和梨

(*Pyrus pyrifolia*) (Zhang et al., 2009)等多种果树均有抗病诱导功能, 但外源JA/MeJA诱导苹果抗病性方面的研究较少。李灿婴等(2015)发现, 富士苹果采后用MeJA处理可增强果实对青霉病的抑制效果。刘志等(2009)研究发现, MeJA处理可以诱导苹果悬浮细胞产生NO, 进而激发防卫反应, 通过产生植保素提高抗性。然而, 外源MeJA诱导苹果抗病性的分子机制仍有待阐明。

RNA-seq高通量转录组测序技术可高效研究植物细胞的转录调控网络, 有助于挖掘关键代谢途径及调控基因, 对解析MeJA诱导的苹果抗病性分子机制具有重要意义。本研究以MeJA处理的苹果叶片为试材, 通过RNA-seq获得苹果中茉莉素响应基因信息, 为深入研究MeJA诱导的苹果抗病分子机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料处理

实验材料为Gala苹果(*Malus domestica* (Suckow) Borkh. cv. 'Gala')组培苗, 培养温度为24°C, 光周期

收稿日期: 2018-11-04; 接受日期: 2019-02-11

基金项目: 国家重点研发计划(No.2018YFD1000307)、国家自然科学基金(No.31272132)和山东省泰山学者工程启动基金(No.tshw20120712)

* 通讯作者。E-mail: chenxs@sdaa.edu.cn; wushujing666@163.com

为12小时光照/12小时黑暗。培养30天，取长势一致的叶片，将离体叶片浸入100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA溶液中，24℃处理12小时后取样，用滤纸吸干表面液体，在液氮中速冻后保存于-80℃冰箱以备提取RNA。以无菌水处理的叶片为对照(CTRL1)，实验重复3次。

1.2 RNA提取及测序

利用RNA提取试剂盒(天根, Cat No.DP424)提取样本总RNA。参考Sun等(2018)的方法富集mRNA、合成cDNA并建立文库。采用Agilent 2100 Bioanalyzer和ABI StepOnePlusRealTime PCR System检测文库产量和质量。测序所得数据经碱基识别分析后得到原始测序结果，去除含接头以及含N比例大于10%等低质量的序列后得到适合分析的数据。使用BWA (Li and Durbin, 2009)和Bowtie (Langmead et al., 2009)软件将测序数据与金冠苹果基因组进行对比。

1.3 差异表达基因分析

利用RSEM工具进行基因表达定量，结果以FPKM (fragments per kilobase of transcript per million fragments mapped)为单位，FDR (false discovery rate) ≤ 0.001 且FC (fold change) ≥ 2 的基因为差异表达基因，将差异表达基因与Nr数据库比对后进行注释。

1.4 差异表达基因功能分析

将所有差异表达基因提交到Gene Ontology数据库 (<http://www.geneontology.org/>)，用WEGO软件(Ye et al., 2006)对其进行GO功能分类。数据同时提交KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)数据库 (<http://www.kegg.jp/>)，以KEGG途径为单位，Q-values ≤ 0.05 的途径定义为在差异表达基因中显著富集的途径，分析差异表达基因参与的最主要

代谢途径。

1.5 差异表达基因的荧光定量分析

采用RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit试剂盒(Thermo, Cat No.K1622)对1.2节中的RNA进行反转录，以SYBRGreen染料进行荧光定量PCR (qRT-PCR)分析。以苹果ACTIN(序列号为GQ339778)为内参基因，通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因的相对表达量。实验设3次重复。差异表达基因的特异性引物由生工生物工程有限公司合成。

2 结果与讨论

2.1 RNA-Seq质量评估及差异表达基因筛选

对照(CTRL1)和处理(MeJA)分别得到751 477 132 bp和751 612 960 bp的测序数据，其中分别有71.28%和72.06%定位于苹果基因组，44.23%和45.12%的序列与金冠苹果基因组(Velasco et al., 2010)中的基因完全匹配(表1)。Q20介于99.29%–99.32%之间，所有测序结果均达到质控要求(图1A)，可用于后续分析。我们共筛选到937个差异表达基因，其中上调表达基因480个，下调表达基因457个(图1B)。

2.2 差异表达基因的GO和KEGG分析

GO分析结果表明，差异表达基因涉及生物学过程(biological process, 5 971)、分子功能(molecular function, 7 605)和细胞成分(cellular component, 3 652) 3类(图2A)。生物学过程涉及15种，其中调控代谢过程(metabolic process)的基因所占比例最高(4 521, 75.7%)，其次为细胞过程(cellular process, 3 296, 55.2%)，再次为单物种过程(single-organism process, 1 971, 33.0%)。分子功能包含9种，其中绑定(binding, 4 314, 56.7%)及催化活性(catalytic activity, 5 360, 70.5%)差异基因所占比例最高，其次为转

表1 供试样品(Gala)与苹果(金冠)基因组序列的比对结果

Table 1 The alignment result of genome sequences between sample (Gala) and Golden Delicious apple

Sample	Total reads	Total base pairs	Total mapped reads	Perfect match	Mismatch	Unique match	Muti-position match	Total un-mapped reads
CTRL1	15336268 (100.00%)	751477132 (100.00%)	10932142 (71.28%)	6783455 (44.23%)	4148687 (27.05%)	9149425 (59.66%)	1782717 (11.62%)	4404126 (28.72%)
MeJA	15339040 (100.00%)	751612960 (100.00%)	11052987 (72.06%)	6921067 (45.12%)	4131920 (26.94%)	9177064 (59.83%)	1875923 (12.23%)	4286053 (27.94%)

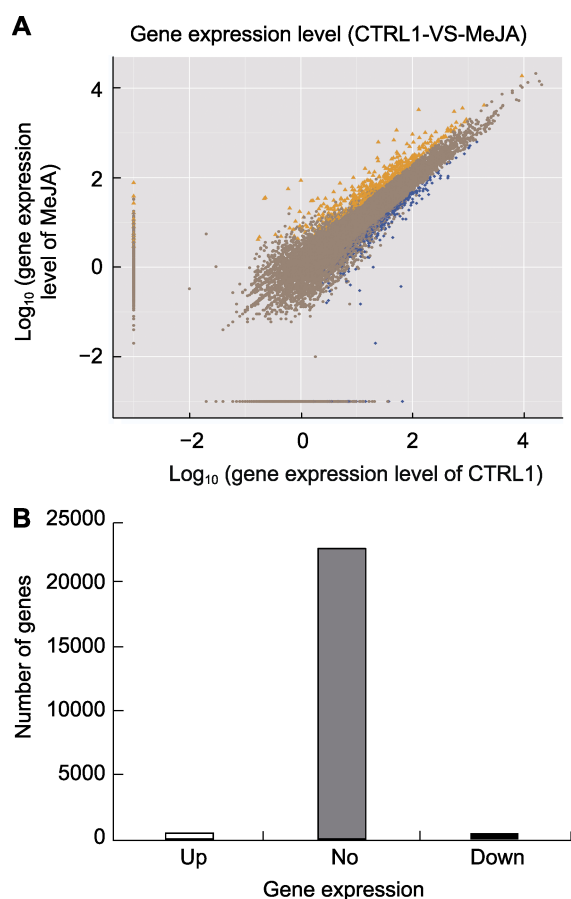


图1 茉莉酸甲酯处理下苹果叶片差异表达基因筛选

(A) 基因表达水平。横坐标表示CTRL1基因表达量的对数值, 纵坐标表示MeJA处理基因表达量的对数值(橙色三角代表上调基因, 蓝色方块代表下调基因, 褐色圆点代表非显著差异基因); (B) 基因差异表达情况。Up: 上调基因; No: 非显著差异表达基因; Down: 下调基因

Figure 1 The screening of differentially expressed genes in leaves of apple treated by MeJA

(A) Gene expression level. X-axis represents \log_{10} (gene expression level of CTRL1), Y-axis represents \log_{10} (gene expression level of MeJA) (The orange triangle represents up-regulated genes, the blue block represents down-regulated genes, and the brown dot represents no significant difference genes); (B) Differentially expressed genes. Up: Up-regulated genes; No: No significant difference genes; Down: Down-regulated genes

运活性(transporter activity, 489, 6.4%)。细胞成分包含8种, 其中细胞(cell, 2 669, 73.1%)、细胞组分(cell part, 2 669, 73.1%)所占比例最高, 其次为膜(membrane, 1 126, 33.6%)以及细胞器(organelle, 1 415, 38.7%)。

采用KEGG富集分析可以确定差异表达基因参

与的最主要代谢途径。根据 $P \leq 0.01$, 找到前20个与整个苹果基因组背景相比显著富集途径(图2B)。KEGG分析结果发现, 差异表达基因显著富集途径主要包括3个, 其中代谢途径(metabolic pathways)差异表达基因202个, 占35.94%; 次生代谢物合成途径(biosynthesis of secondary metabolites)差异表达基因150个, Q-value最小为 1.96×10^{-15} , 占26.69%; 植物激素信号转导途径(plant hormone signal transduction)差异表达基因57个, Q-value为 6.5×10^{-3} , 占10.14%。KEGG富集分析结果表明, 代谢过程是最主要的富集途径, 这与GO分析结果相同。因此, 在MeJA诱导下, 代谢过程中的次生代谢物合成途径是最主要的富集途径。

2.3 植物次生代谢物合成途径KEGG转录分析

次生代谢物生物合成途径在植物抵抗胁迫中起重要调控作用。本研究发现, 茉莉酸甲酯处理下, 在苹果叶片次生代谢合成途径中, 113个基因上调表达, 37个基因下调表达。在18个表达比率(\log_2 (MeJA/CTRL))绝对值 ≥ 3 的基因中(表2), 有15个基因上调表达, 3个基因下调表达, 其中有5个基因(MDP0000-702120、MDP000205617、MDP0000919962、MDP0000225361和MDP0000248152)参与调控倍半萜类和三萜的生物合成(sesquiterpenoid and triterpenoid biosynthesis); 4个基因(MDP0000692178、MDP0000503940、MDP0000225939和MDP0000523477)参与类黄酮的生物合成(flavonoid biosynthesis); 2个基因(MDP000317152和MDP0000-153822)参与角质、木栓质和蜡质的生物合成(cutin, suberine and wax biosynthesis); 2个基因(MDP0000218691和MDP0000280265)参与氨基糖和核苷酸糖代谢(amino sugar and nucleotide sugar metabolism); 2个基因(MDP0000813805和MDP000022-8070)参与类胡萝卜素的生物合成(carotenoid biosynthesis); 2个基因(MDP0000687619和MDP00005-39956)参与苯丙烷的生物合成途径; 1个基因(MDP0000313394)参与异黄酮的生物合成(isoflavonoid biosynthesis)。上述结果表明, MeJA主要调控苹果叶片倍半萜类、三萜及类黄酮的生物合成途径。

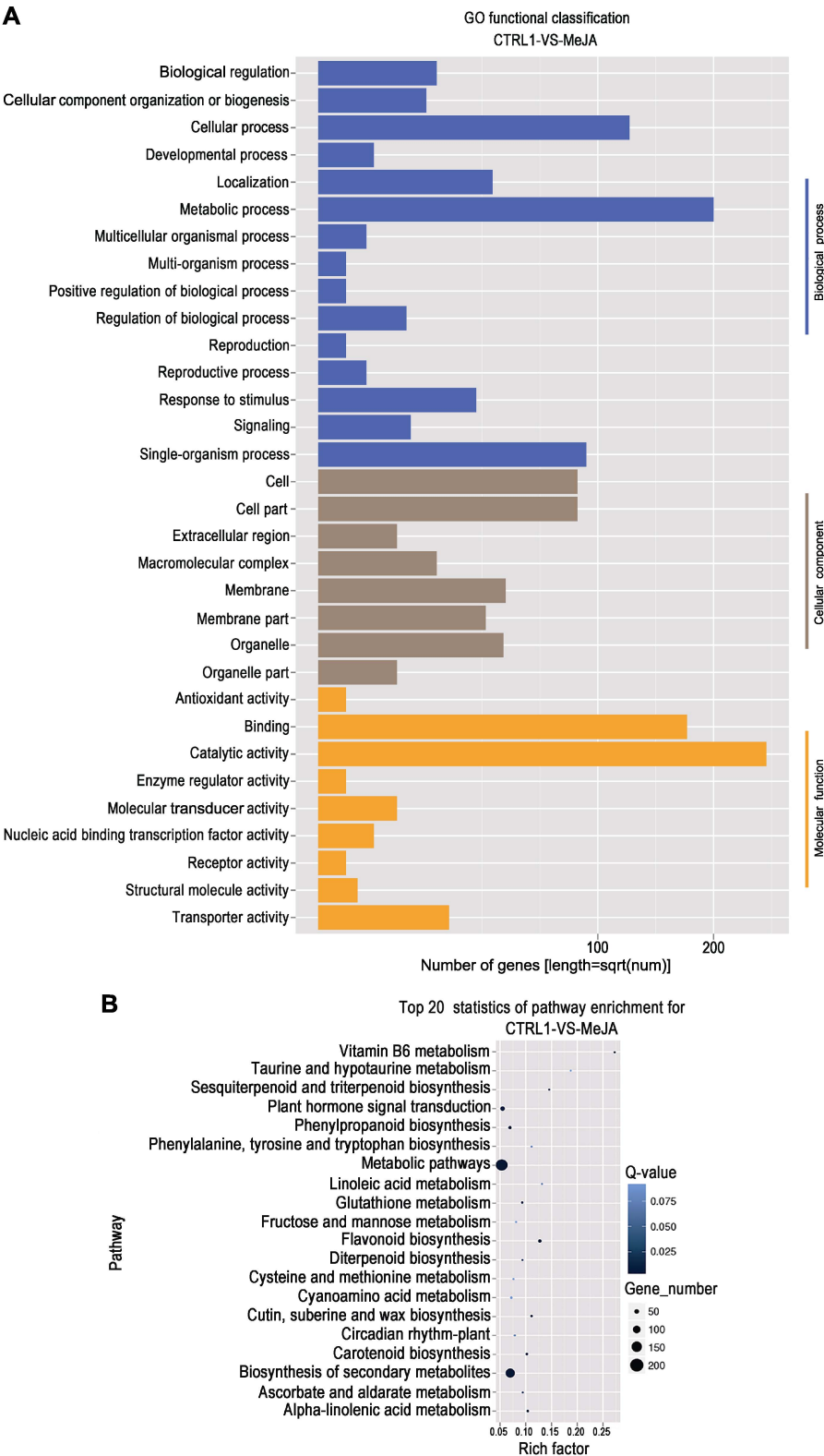


图2 茉莉酸甲酯处理苹果叶片差异表达基因的GO功能分类(A)和KEGG富集分析(B)

Figure 2 GO functional classification (A) and KEGG enrichment classification (B) of differentially expressed genes in apple leaves under MeJA treatment

表2 茉莉酸甲酯处理下苹果叶片次生代谢物生物合成途径中的调控基因(Log₂ (MeJA/CTRL)≥3)

Table 2 The regulated genes involved in biosynthesis of secondary metabolites pathway of apple leaves under MeJA treatment (Log₂ (MeJA/CTRL)≥3)

Gene ID	Log ₂ ratio (MeJA/CTRL1)	KEGG orthology	Blast nr	Pathway
MDP0000702120	12.32	K14181	(-)-alpha-pinene synthase-like	Sesquiterpenoid and triterpenoid biosynthesis
MDP0000205617	7.28	K14181	Putative pinene synthase	Sesquiterpenoid and triterpenoid biosynthesis
MDP0000919962	6.57	K14181	(-)-alpha-pinene synthase-like	Sesquiterpenoid and triterpenoid biosynthesis
MDP0000225361	3.72	K14181	(-)-germacrene D synthase-like	Sesquiterpenoid and triterpenoid biosynthesis
MDP0000248152	3.24	K14181	(-)-germacrene D synthase-like	Sesquiterpenoid and triterpenoid biosynthesis
MDP0000692178	12.12	K00517	Cytochrome P450 82G1-like	Flavonoid biosynthesis
MDP0000503940	4.67	K05277	Protein SRG1-like	Flavonoid biosynthesis
MDP0000225939	3.55	K05277	Flavonol synthase/flavanone 3-hydroxylase-like	Flavonoid biosynthesis
MDP0000523477	-3.17	K01859	Chalcone-flavonone isomerase-like isoform X5	Flavonoid biosynthesis
MDP0000317152	13.53	K13407	Cytochrome P450 94C1-like	Cutin, suberine and wax biosynthesis
MDP0000153822	3.25	K13407	Cytochrome P450 94B3-like	Cutin, suberine and wax biosynthesis
MDP0000218691	3.89	K01183	Acidic endochitinase-like	Amino sugar and nucleotide sugar metabolism
MDP0000280265	3.22	K01183	Acidic endochitinase-like	Amino sugar and nucleotide sugar metabolism
MDP0000687619	12.96	K09755	Cytochrome P450 CYP736-A12-like	Phenylpropanoid biosynthesis
MDP0000539956	3.9	K09755	Cytochrome P450 CYP736-A12-like	Phenylpropanoid biosynthesis
MDP0000313394	6.44	K13267	Cytochrome P450 CYP736-A12-like	Isoflavonoid biosynthesis
MDP0000813805	-6.29	K09840	9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase NCED3, chloroplast-like	Carotenoid biosynthesis
MDP0000228070	-5.24	K09840	9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase NCED1, chloroplast-like	Carotenoid biosynthesis

2.4 植物激素信号转导途径KEGG分析

在MeJA处理下, 苹果叶片中植物激素信号转导途径发生了显著变化(图3)。共有56个基因显著差异表达, 其中涉及芸薹素信号转导途径的基因最多(17个), 其次为茉莉素信号转导途径(10个) (图3; 表3)。

在5个表达比率绝对值≥3的基因中(表4), MDP-0000123379上调幅度最大(12.46), MDP00001301-43下调幅度最大(-12.82), 二者均编码丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine-protein kinase), 从而调控芸薹素信号转导。MDP0000375992显著下调(-4.27), 编码U-box结构域蛋白(U-box domain-containing protein), 调控TGA活性进而调节水杨酸信号

转导途径。MDP0000603546显著上调(3.56), 编码MYC2进而影响茉莉素信号转导途径。MDP0000-855671显著上调(3.1), 编码乙烯响应因子(ethylene-responsive transcription factor 1B-like)而影响ERF1/2活性, 从而调控乙烯信号转导途径。

2.5 植物-病原菌互作途径转录分析

植物对病害的抗性包括病原菌入侵之前就具备的基础抗性以及受病原菌激发获得的主动抗性。植物与病原菌互作途径在植物早期抗病反应中发挥重要作用。KEGG分析表明, 在植物-病原菌互作途径中, 共有63个基因显著差异表达, 共有17个作用位点受到诱导调控, 参与基因最多的调控位点为一类富含

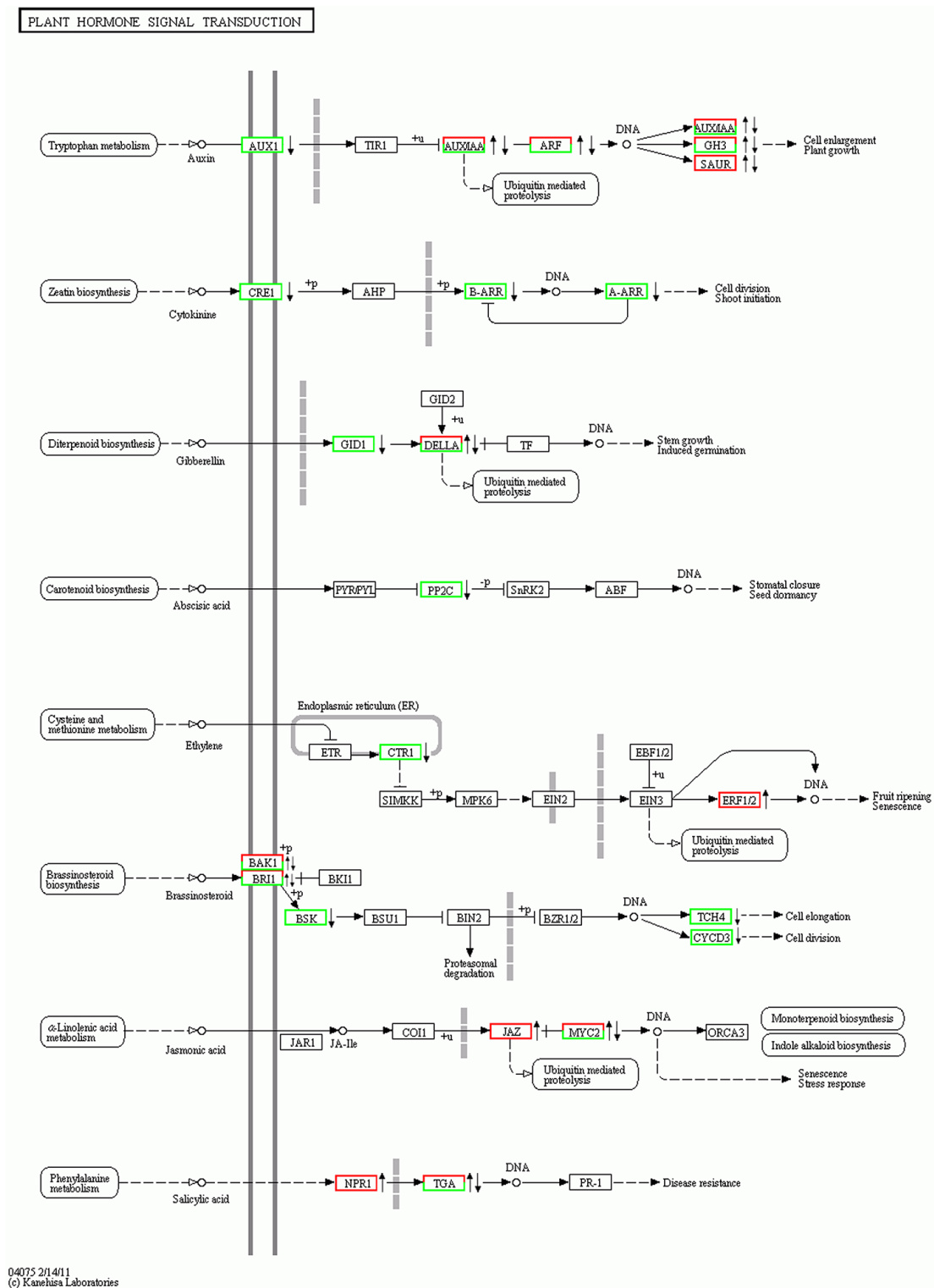


图3 茉莉酸甲酯处理对苹果叶片植物激素信号转导途径的影响
红色边框右侧▲：上调；绿色边框右侧▼：下调；红绿色边框右侧▲▼：同时包含上调和下调基因。

Figure 3 Effect of MeJA on plant hormone signaling pathways in leaves of apple
▲ on the right side of red frame: Up-regulated; ▼ on the right side of green frame: Down-regulated; ▲▼ on the right side of red-green frame: Include both up-regulated and down-regulated genes.

表3 茉莉酸甲酯处理苹果叶片植物激素信号转导途径中涉及的显著差异表达基因

Table 3 The significant differentially expressed genes involved in plant hormone signaling in leaves of apple under MeJA treatment

Plant hormone signaling pathway	Gene ID	Log ₂ ratio (MeJA/CTRL1)
Auxin	MDP0000300452	-1.4
	MDP0000255223	1.1
	MDP0000213864	-1.1
	MDP0000143749	1.3
	MDP0000221322	-1.6
	MDP0000873893	1.5
	MDP0000214081	-1.1
	MDP0000786165	1.1
Cytokinin	MDP0000146863	-1.1
	MDP0000285242	1.6
	MDP0000225179	-1.0
	MDP0000250737	-1.5
Gibberellin	MDP0000227827	-1.3
	MDP0000868088	-1.0
	MDP0000284679	1.4
	MDP0000227056	1.3
Absciscic acid	MDP0000397638	-2.2
	MDP0000437033	-1.6
	MDP0000203818	-1.3
	MDP0000283274	-1.2
Ethylene	MDP0000275915	-2.4
	MDP0000855671	3.1
	MDP0000127134	2.5
	MDP0000235313	1.8
Brassinosteroid	MDP0000805422	1.2
	MDP0000787281	1.0
	MDP0000123379	12.5
	MDP0000319460	1.9
	MDP0000319708	1.0
	MDP0000904826	1.0
	MDP0000196862	-1.8
	MDP0000217213	1.9
	MDP0000897962	1.3
	MDP0000290950	-2.3
	MDP0000620422	-1.8
	MDP0000303744	-1.6
	MDP0000189315	-1.1
	MDP0000741253	-1.0
	MDP0000223726	-1.0
	MDP0000189841	-1.0
Jasmonic acid	MDP0000130143	-12.8
	MDP0000320017	-1.4
	MDP0000135392	-1.0
	MDP0000565690	2.8
	MDP0000187921	2.6
	MDP0000889413	1.7
	MDP0000301927	1.2
	MDP0000603546	3.6
	MDP0000242554	2.2
	MDP0000029168	1.6
	MDP0000900024	1.6
	MDP0000226497	1.0
Salicylic acid	MDP0000290263	-1.0
	MDP0000292425	1.8
	MDP0000529682	1.1
	MDP0000375992	-4.3

表4 茉莉酸甲酯处理苹果叶片次生代谢途径中的调控基因 (Log₂ (MeJA/CTRL)≥3)

Table 4 The regulated genes involved in biosynthesis of secondary metabolites pathway in leaves of apple under MeJA treatment (Log₂ (MeJA/CTRL)≥3)

Gene ID	Log ₂ ratio (MeJA/CTRL)	Annotation
MDP0000123379	12.46	Putative serine/threonine-protein kinase
MDP0000603546	3.56	Transcription factor MYC2-like
MDP0000855671	3.1	Ethylene-responsive transcription factor 1B-like
MDP0000130143	-12.82	Probable serine/threonine-protein kinase At5g41260
MDP0000375992	-4.27	U-box domain-containing protein 19-like

亮氨酸拉链的丝氨酸/苏氨酸类受体激酶(LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase), 有17个基因参与调控; 其次为另一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶PBS1 (serine/threonine-protein kinase PBS1), 有7个基因参与调控。表达量差异较大的基因有MDP0000123379 (12.5)、MDP0000263349 (-12.2)和MDP0000263768 (5.0) (图4)。MDP0000263349 (-12.2)和MDP0000263768 (5.0)共同调控WRKY25转录因子, 负调控防御相关基因(defense-related gene)的诱导表达。MDP0000123379编码的蛋白激酶则在WRKY25的上游发挥早期抗病诱导作用。

2.6 差异表达基因荧光定量分析

随机选定12个差异表达基因(7个上调基因, 5个下调基因)进行qRT-PCR分析。结果(图5)表明, 7个上调基因均受MeJA诱导显著上调, 5个下调基因也受MeJA诱导显著下调, 即qRT-PCR结果与转录组分析结果趋势一致, 只是在差异倍数上与转录组数据有所差别。

2.7 讨论

2.7.1 MeJA诱导的苹果叶片中主要代谢途径及重要功能基因

外源施加MeJA有利于提高植物的抗病性(宾金华和潘瑞炽, 1995), MeJA对苹果抗病性的诱导作用已在少数研究中得到证实(刘志等, 2009; 李灿婴等, 2015), 但具体分子调控机制尚不明确, 涉及的关键

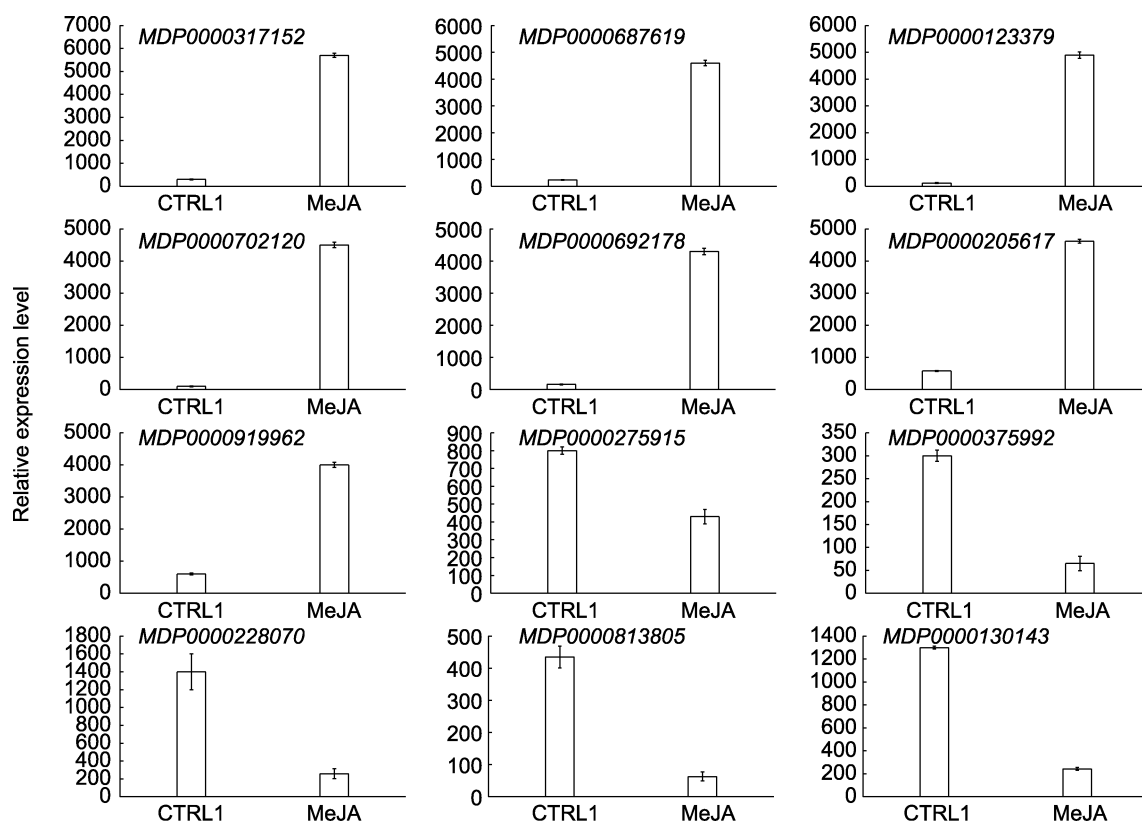


图5 茉莉酸甲酯处理苹果叶片中差异表达基因的qRT-PCR分析

Figure 5 qRT-PCR analysis of differentially expressed genes in leaves of apple under MeJA treatment

素信号转导途径基因最多,表明MeJA很可能通过调控芸薹素信号转导途径和茉莉素信号转导途径间接诱导叶片的抗病性。进一步分析表明,在芸薹素信号转导途径中的5个调节比率绝对值 ≥ 3 的基因中(表4),上调幅度最大的基因是MDP0000123379,其通过编码丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶来调控细胞信号转导;下调幅度最大的基因是MDP0000130143,主要通过调控编码丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性来调节芸薹素信号转导途径。此外,芸薹素信号转导途径中,活性发生显著性改变的基因数多于茉莉素信号转导途径,因此可以推测,MeJA对芸薹素信号转导途径的调控较茉莉素信号转导途径更为重要,且主要调控蛋白激酶等。

2.7.2 MeJA诱导的苹果叶片植物-病原菌互作途径

植物-病原菌互作途径虽然不是受MeJA调控的主要途径,但也发生了显著变化。其中表达量差异较大的基因有MDP0000123379 (K13416, 12.46),该基因编码丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶;而MDP0000263349

(K13424, -12.2)则编码WRKY33转录因子。本课题组在前期研究中发现,WRKY33转录因子的表达与轮纹病病程相关基因MdPRs的表达高度协同(张芮, 2015),因此MeJA可能对病程相关基因的表达也存在正向调控作用,从而诱导叶片产生抗病性。MDP0000123379 (K13416, 12.46)既参与芸薹素信号转导途径,又参与植物-病原菌互作途径,是联系植物激素信号转导途径和植物-病原菌互作途径的关键调控基因。

3 结论

外源MeJA主要影响苹果叶片倍半萜类、三萜及类黄酮的生物合成,也通过信号转导途径间接诱导抗病性。其中,倍半萜类、三萜和类黄酮生物合成途径中的关键基因为MDP0000702120和MDP0000692178;MDP0000123379是联系芸薹素信号转导途径和植物-病原菌互作途径的关键调控基因。

参考文献

- 宾金华, 潘瑞炽 (1995). 茉莉酸甲酯的生理生化及在植物抗病中的作用. 植物学通报 12(4), 17–21.
- 陈学森, 郭文武, 徐娟, 从佩华, 王力荣, 刘崇怀, 李秀根, 吴树敬, 姚玉新, 陈晓流 (2015). 主要果树果实品质遗传改良与提升实践. 中国农业科学 48, 3524–3540.
- 弓德强, 谷会, 张鲁斌, 洪克前, 朱世江 (2013). 芒果采前喷施茉莉酸甲酯对其抗病性和采后品质的影响. 园艺学报 40, 49–57.
- 国立耘, 李金云, 李保华, 张新忠, 周增强, 李广旭, 王英姿, 李晓军, 黄丽丽, 孙广宇, 文耀东 (2009). 中国苹果枝干轮纹病发生和防治情况. 植物保护 35(4), 120–123.
- 李灿婴, 葛永红, 朱丹实, 张惠君 (2015). 采后茉莉酸甲酯处理对富士苹果青霉病和贮藏品质的影响. 食品科学 36(2), 255–259.
- 李梦莎, 阎秀峰 (2014). 植物的环境信号分子茉莉酸及其生物学功能. 生态学报 34, 6779–6788.
- 刘志, 张华磊, 谢兴斌, 束怀瑞, 郝玉金 (2009). 茉莉酸甲酯诱导的苹果悬浮细胞的防卫响应. 园艺学报 36, 171–178.
- 罗昌国, 袁启凤, 裴晓红, 吴亚维, 郑伟, 章镇 (2013). 富士苹果 *MdWRKY40b* 基因克隆及其对白粉病的抗性分析. 西北植物学报 33, 2382–2387.
- 麻宝成, 朱世江 (2006). 苯丙噻重氮和茉莉酸甲酯对采后香蕉果实抗病性及相关酶活性的影响. 中国农业科学 39, 1220–1227.
- 汪开拓, 郑永华, 唐文才, 李廷君, 张卿, 尚海涛 (2012). 茉莉酸甲酯处理对葡萄果实NO和H₂O₂水平及植保素合成的影响. 园艺学报 39, 1559–1566.
- 王英珍, 程瑞, 张绍铃, 白彬, 何子顺, 张虎平 (2016). 采前茉莉酸甲酯(MeJA)处理对梨果实抗病性的影响. 果树学报 33, 694–700.
- 许晴晴, 郇海燕, 陈杭君 (2014). 茉莉酸甲酯对蓝莓贮藏品质及抗病相关酶活性的影响. 核农学报 28, 1226–1231.
- 张芮 (2015). 苹果 *MdWRKY33* 基因在轮纹病抗性形成中的作用机制研究. 博士论文. 泰安: 山东农业大学. pp. 70–73.
- Chen XK, Zhang JY, Zhang Z, Du XL, Du BB, Qu SC (2012). Overexpressing *MhNPR1* in transgenic Fuji apples enhances resistance to apple powdery mildew. *Mol Biol Rep* 39, 8083–8089.
- Langmead B, Trapnell C, Pop M, Salzberg SL (2009). Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biol* 10, R25.
- Li H, Durbin R (2009). Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* 25, 1754–1760.
- Sun X, Matus JT, Wong DCJ, Wang Z, Chai F, Zhang L, Fang T, Zhao L, Wang Y, Han Y, Wang Q, Li S, Liang Z, Xin H (2018). The GARP/MYB-related grape transcription factor AQUILLO improves cold tolerance and promotes the accumulation of raffinose family oligosaccharides. *J Exp Bot* 69, 1749–1764.
- Velasco R, Zharkikh A, Affourtit J, Dhingra A, Cestaro A, Kalyanaraman A, Fontana P, Bhatnagar SK, Troggio M, Pruss D, Salvi S, Pindo M, Baldi P, Castelletti S, Cavauiolo M, Coppola G, Costa F, Cova V, Dal Ri A, Goremykin V, Komjanc M, Longhi S, Magnago P, Malacarne G, Malnoy M, Micheletti D, Moretto M, Perazzolli M, Si-Ammour A, Vezzulli S, Zini E, Eldredge G, Fitzgerald LM, Gutin N, Lanchbury J, Macalma T, Mitchell JT, Reid J, Wardell B, Kodira C, Chen ZT, Desany B, Niazi F, Palmer M, Koepke T, Jiwan D, Schaeffer S, Krishnan V, Wu CJ, Chu VT, King ST, Vick J, Tao QZ, Mraz A, Stormo A, Stormo K, Bogden R, Ederle D, Stella A, Vecchietti A, Kater MM, Masiero S, Lasserre P, Lespinasse Y, Allan AC, Bus V, Chagné D, Crowhurst RN, Gleave AP, Lavezzo E, Fawcett JA, Proost S, Rouzé P, Sterck L, Toppo S, Lazzari B, Hellens RP, Durel CE, Gutin A, Bumgarner RE, Gardiner SE, Skolnick M, Egholm M, Van de Peer Y, Salamini F, Viola R (2010). The genome of the domesticated apple (*Malus x domestica* Borkh.). *Nat Genet* 42, 833–839.
- Xue YK, Shui GH, Wenk MR (2014). TPS1 drug design for rice blast disease in *Magnaporthe oryzae*. *Springer Plus* 3, 18.
- Ye J, Fang L, Zheng HK, Zhang Y, Chen J, Zhang ZJ, Wang J, Li ST, Li RQ, Bolund L, Wang J (2006). WEGO: a web tool for plotting GO annotations. *Nucleic Acids Res* 34, W293–W297.
- Zhang HY, Ma LC, Turner M, Xu HX, Dong Y, Jiang S (2009). Methyl jasmonate enhances biocontrol efficacy of *Rhodotorula glutinis* to postharvest blue mold decay of pears. *Food Chem* 117, 621–626.
- Zhang Y, Shi XP, Li BH, Zhang QM, Liang WX, Wang CX (2016). Salicylic acid confers enhanced resistance to *Glomerella* leaf spot in apple. *Plant Physiol Biochem* 106, 64–72.

Identifying Genes Responsive to Jasmonates in Apple Based on Transcriptome Analysis

Na Zhang^{1,2}, Xiuxia Liu¹, Xuesen Chen^{1*}, Shujing Wu^{1*}

¹State Key Laboratory of Crop Biology, College of Horticultural Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China; ²College of Biology and Brewing Engineering, Taishan University, Tai'an 271018, China

Abstract To study the molecular mechanism of resistance induced by exogenous methyljasmonate (MeJA) in apple, tissue cultured seedlings of Gala grown for 30 days were used as materials. The leaves were treated with 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA for 12 h. RNA sequencing and bioinformatics analysis were conducted to identify differentially expressed genes induced by MeJA. Exogenous MeJA mainly affected the biosynthesis of sesquiterpenoids, triterpenoids and flavonoids in apple leaves and induced disease resistance by brassinolide signal transduction pathways indirectly. The key genes regulating sesquiterpenoid and triterpenoid biosynthesis and flavonoids biosynthesis are *MDP0000702120* and *MDP0000692178*; *MDP0000123379* was the key regulatory gene linked to the brassinosteroid signaling pathway and plant-pathogen interaction pathway.

Key words jasmonates, disease resistance, signal transduction, transcriptome, apple

Zhang N, Liu XX, Chen XS, Wu SJ (2019). Identifying genes responsive to jasmonates in apple based on transcriptome analysis. *Chin Bull Bot* **54**, 733–743.

* Authors for correspondence. E-mail: chenxs@sdaa.edu.cn; wushujing666@163.com

(责任编辑: 朱亚娜)