



## 研究报告

## 西瓜食酸菌与黄瓜互作转录组分析

仇丽图孜·乃比<sup>1</sup> 王希东<sup>\*1</sup> 刘君<sup>\*2</sup> 陈宝强<sup>1</sup> 宋金迪<sup>1</sup><sup>1</sup> 新疆农业大学农学院 新疆 乌鲁木齐 830052<sup>2</sup> 新疆农业大学林学与园艺学院 新疆 乌鲁木齐 830052

**摘要:**【背景】细菌性果斑病是一种严重的种传细菌病害,其病原菌为西瓜食酸菌。截至目前对该病原菌与寄主的互作机制认识极为有限。葫芦科的模式植物黄瓜易被西瓜食酸菌侵染发病,对西瓜食酸菌-黄瓜互作体系进行转录组分析,可以为探究西瓜食酸菌与寄主互作机制奠定重要基础。【目的】解析西瓜食酸菌-黄瓜互作时的相互响应规律。【方法】以细菌悬液注射接种 6 d 黄瓜子叶,处理 48 h 的子叶作为转录组测序样本。利用 RNA-Seq 技术分析西瓜食酸菌 FC440 菌株与黄瓜 9930 品种互作时基因的表达特征。【结果】测序数据质量分析发现,各样品不同重复间相关性较强,与参考基因组比对率达 95%以上,聚类分析发现对照组与处理组表达模式相反,样品处理达到一定效果,表明数据整体质量较高。选取 6 个差异表达基因进行 RT-qPCR 验证,结果显示 6 个基因的表达模式与转录组结果基本一致,表明转录组测序结果比较可靠。西瓜食酸菌和黄瓜互作 48 h 后,在转录组水平分别检测到 1 618 个和 8 698 个差异表达基因。Gene Ontology (GO)功能注释显示,细菌的差异基因显著富集在细胞组分中的细胞膜(37.5%)和膜部分(27.0%),生物过程中的氧化还原过程(66.7%)以及分子功能中的水解酶活性(66.5%);黄瓜的差异基因显著富集在细胞组分中的质体(22.2%)和叶绿体(21.3%),分子功能中的催化活性(70.0%)以及生物过程中的碳水化合物衍生物代谢(32.2%)。Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)分析显示,细菌中致病相关基因显著富集在群体感应及细菌趋化性途径,而且群体感应系统基因下调更显著。黄瓜中调控钙依赖蛋白激酶(Calcium-Dependent Protein Kinase, CDPK)、钙调素和类钙调素(Calmodulin and Calmodulin-Like, CaMCL)及呼吸链爆发激酶(Respiratory Burst Oxidase Homologue, Rboh)的基因总体上调,调控苯丙氨酸裂解酶(Phenylalanine Ammonia-Lyase, PAL)的基因和谷胱甘肽 S-转移酶(Glutathione S-Transferase, GST)的基因在相应代谢途径中数量最多且上调程度明显。【结论】获得较高质量的西瓜食酸菌与黄瓜互作的转录组测序结果。群体感应与西瓜食酸菌 FC440 菌株致病力密切相关;寄主黄瓜应对西瓜食酸菌侵染以  $Ca^{2+}$  信号激活的防御反应为主。PAL 和 GST 在黄瓜抵抗西瓜食酸菌侵染中发挥重要作用。本研究为进一步深入解析西瓜食酸菌与寄主互作的机制奠定了基础。

**关键词:** 西瓜食酸菌, 黄瓜, 互作, RNA-Seq**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (31260419)**\*Corresponding authors:** E-mail: WANG Xidong: wxdxnd@126.com; LIU Jun: liujem@126.com**Received:** 10-01-2021; **Accepted:** 13-04-2021; **Published online:** 08-06-2021**基金项目:** 国家自然科学基金(31260419)**\*通信作者:** E-mail: 王希东: wxdxnd@126.com; 刘君: liujem@126.com**收稿日期:** 2021-01-10; **接受日期:** 2021-04-13; **网络首发日期:** 2021-06-08

## Transcriptome analysis of the interaction between *Acidovorax citrulli* and cucumber

YoulITUZI·Naibi<sup>1</sup> WANG Xidong<sup>\*1</sup> LIU Jun<sup>\*2</sup> CHEN Baoqiang<sup>1</sup> SONG Jindi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052, China

<sup>2</sup> College of Forestry and Horticulture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052, China

**Abstract:** [Background] Bacterial fruit blotch of cucurbits is a serious seed-borne bacterial disease, and its pathogen is *Acidovorax citrulli*. So far, the understanding of the interaction mechanism between pathogen and its hosts is extremely limited. Cucumber, a model plant in the *Cucurbitaceae* family, is one of the hosts and easy to be infected. The transcriptome analysis of the interaction of *Ac*-cucumber can lay an important foundation for exploring the interaction mechanism of *Ac* and its host. [Objective] To analyze the responses of both *Ac* and cucumber under the interaction. [Methods] 6 d cotyledons of cucumber were inoculated with bacteria cell suspension, and 48 h cotyledons post inoculation were sampled for transcriptome sequencing. The RNASeq technology was used to analyze the gene expression features of *Ac* FC440 strain interacting with 9930 cwtivar of cucumber. [Results] The sequencing data shows that the correlation between different replicates of each sample was strong, and the comparison rate with the reference genome was over 95%. Cluster analysis indicates that the expression patterns of the control were opposite to that of the treatment, and the sample processing achieved a certain effect, indicating that the overall quality of the data was high. Six differentially expressed genes were selected for RT-qPCR verification, and the results showed that the expression level of the six genes were basically consistent with the transcriptome results, indicating that the transcriptome sequencing results were relatively reliable. Under 48 h interaction between *Ac* and cucumber, there were 1 618 genes and 8 698 genes expressed differentially, respectively. Gene ontology (GO) analysis shows that differential genes of bacteria are significantly enriched in the cell membrane (37.5%) and membrane part (27.0%) in cellular components, oxidation-reduction process (66.7%) in biological process and hydrolase activity (66.5%) in molecular function. Differential genes of cucumber are significantly enriched in plastid (22.2%) and chloroplast (21.3%) in cellular components, catalytic activity (70.0%) in molecular functions and carbohydrate derivative metabolic process (32.2%) in biological processes. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analysis showed that pathogenic related genes in bacteria were significantly enriched in the quorum sensing and bacterial chemotaxis pathways, and the genes of quorum sensing were down-regulated more than others. Genes regulating expression of calcim-dependent protein kinase (CDPK), calmodulin and calmodulin-like (CaMCML) and respiratory burst oxidase homologue (Rboh) in cucumber were up-regulated, and genes regulating expression of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and glutathione S-transferase (GST) are the most abundant ones and up-regulated in the corresponding metabolic pathways. [Conclusion] The quality of transcriptome sequencing data of *Ac* and cucumber interaction was high. Quorum sensing correlated to the pathogenicity of FC440 strain in *Ac*. The main path that cucumber's defense reaction against to *Ac* infection is activated by  $Ca^{2+}$  signal. PAL and GST play an important role in resistance of cucumber to *Ac*. This study lays the foundation for further exploration on the interaction mechanism between *Ac* and its host.

**Keywords:** *Acidovorax citrulli*, cucumbers, interaction, RNA-Seq

细菌性果斑病(Bacterial Fruit Blotch, BFB)对世界范围内的瓜类种子和果实造成了严重威胁。研究显示,西瓜从苗期到成株期均可发生 BFB,病菌可侵染叶片、茎及果实<sup>[1]</sup>;国内外均有 BFB 造成西瓜、哈密瓜幼苗大量死亡或果实腐烂而致严重

经济损失的报道<sup>[2-4]</sup>。BFB 的病原菌西瓜食酸菌(*Acidovorax citrulli*, *Ac*)由于其种内存在多样性及其与寄主、环境相互作用的复杂性,以及目前还未发现抗性较高的品种,使得该病害仍难以得到有效防控<sup>[5]</sup>。因此,该病害对我国瓜类产业的威胁不容

忽视,研究该病害的发病机理可以为发掘绿色、高效防控该病害的新途径、新方法奠定理论基础,为抗病育种提供理论依据。

近年来,随着生物技术的快速发展,利用转录组学技术分析植物对不同胁迫的应答机制,成为当前逆境生理研究中的重要内容<sup>[6]</sup>。吴孚桂等分析水稻幼穗响应盐胁迫的转录组发现 5 个重要的转录因子<sup>[7]</sup>。已有研究报道表明,转录组分析促进了病原菌重要致病因子——III型效应蛋白的鉴定,为研究致病菌与寄主互作及探明致病机制提供了有力的工具<sup>[8]</sup>。Cantu 等分析 2 种不同毒力的小麦条锈菌(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) (PST-87/7 和 PST-08/21)与小麦互作的转录组,在 2 999 个分泌蛋白中鉴定到了 5 个候选效应蛋白<sup>[9]</sup>。杜冬冬分析 2 种小麦叶锈菌(THTT 和 THTS)与小麦感病品种互作的表达差异,预测到 51 个候选效应因子<sup>[8]</sup>。李湘龙分析稻瘟病菌与日本晴水稻互作 36 h 的转录组并结合稻瘟菌基因组预测基因,最终预测到 42 个效应蛋白基因<sup>[10]</sup>。这些研究结果表明,病菌-寄主互作的转录组学研究为进一步探究互作的分子机制奠定了重要的基础。

在西瓜食酸菌与植物互作的研究中存在一个难题,即互作寄主的选择。西瓜食酸菌天然寄主西瓜和甜瓜生长周期长,而且模式植物拟南芥无法被西瓜食酸菌侵染。种种困难都阻碍了西瓜食酸菌与寄主互作机制及病原菌致病机理的研究<sup>[11]</sup>。黄瓜是葫芦科第一个完成全基因组测序且基因组相对较小和遗传转化效率较高的模式植物<sup>[12]</sup>,可以被西瓜食酸菌侵染;同时,相比于西瓜和甜瓜被侵染时高比例无症状苗的表现,黄瓜对西瓜食酸菌更易表现出病症<sup>[13]</sup>,是研究西瓜食酸菌-寄主互作机制的优良材料<sup>[12]</sup>。目前还未见对西瓜食酸菌与黄瓜互作转录组学的研究报道。本文以接种西瓜食酸菌 48 h 的黄瓜子叶作为转录组研究材料,分析互作材料中基因表达的特点和规律,以期为进一步筛选、挖掘包括西瓜食酸菌效应蛋白、黄瓜抗病基因等西

瓜食酸菌-黄瓜互作过程的重要因子,进而解析互作机制等研究提供参考和依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

植物材料黄瓜(*Cucumis sativus*, Chinese long 自交系 9930)由中国农业科学院农业基因组研究所黄三文研究员惠赠。供试菌株西瓜食酸菌(*Acidovorax citrulli*) FC440 野生型菌株由南京农业大学胡白石教授提供。

### 1.2 培养基与培养条件

KMB (King's medium B)固体培养基(g/L): 蛋白胨 20.0, 磷酸氢二钾 1.5, 硫酸镁 1.5, 琼脂 15.0, 调 pH 至 7.0。NB (Nutrient broth)液体培养基(g/L): 蛋白胨 5.0, 牛肉膏 3.0, 调 pH 至 7.0。

西瓜食酸菌在含有 30  $\mu\text{g/mL}$  Amp 的 KMB 固体培养基中 28  $^{\circ}\text{C}$  培养 48 h, 在 NB 液体培养基中于 28  $^{\circ}\text{C}$ 、220 r/min 下培养 12 h。黄瓜种子放入 55  $^{\circ}\text{C}$  温水中浸泡 20 min,反复冲洗后种于灭菌土壤中,在 70%–80%相对湿度、28  $^{\circ}\text{C}$  16 h 和 25  $^{\circ}\text{C}$  8 h 明暗交替的人工气候培养箱培养黄瓜幼苗,1 周后使用。

### 1.3 菌悬液制备及菌体收集

挑取活化的单菌落至 3 mL NB 液体培养基中,28  $^{\circ}\text{C}$ 、220 r/min 培养 18 h (此时的  $OD_{600}$  约为 1.0),准备至少 6 管菌液。吸取 1 mL 菌液转移于 2 mL 离心管中,于 3 800 r/min 离心 10 min 后充分去除上清。加 1 mL ddH<sub>2</sub>O 重悬后调  $OD_{600}$  至 0.5,用于接种植物;吸取 1 mL 菌液转移于 2 mL 无酶管中,于 4  $^{\circ}\text{C}$ 、3 800 r/min 离心 2 min 后,充分去除上清收集菌体作为细菌对照测序样品。

### 1.4 菌株接种及取样

无菌水、西瓜食酸菌野生型 FC440 (WT)菌株菌悬液分别注射接种于 6 d 的黄瓜子叶背面,于前述生长条件下继续培养,每个处理至少 3 个重复,每个重复处理 3 株黄瓜幼苗。

在接种 48 h 时取样,其中接菌材料取病斑部

位并标记为 T2，以注射无菌水的组织为对照 CKp (CK-Plant)。以西瓜食酸菌 FC440 (WT)菌体为 CKb (CK-Bacteria)。上述所有样品均设置 3 个重复，各样品编号为 T2 (T2-1, T2-2, T2-3)、CKp (CKp-1, CKp-2, CKp-3)、CKb (CKb-1, CKb-2, CKb-3)，以液氮保存干冰运输，送至南京派森诺基因有限公司测序。

1.5 测序数据处理

测序得到的原始数据(Raw Reads)文件中包含了数据的序列及测序质量。为了保证后续分析的准确性,需要从原始数据中去除带接头及平均质量分数低于 Q20 的数据，去除的部分与已知接头有至少 10 bp Overlap (5'-AGATCGGAAG-3'),允许 20% 碱基，最终得到过滤后的数据用于后续分析。

1.6 差异表达基因的筛选

使用 Bowtie2 将过滤后的 Reads 比对到参考基因组上<sup>[14]</sup>。测序产生的完整数据与参考基因组的某个基因片段在唯一位置比对,则可以准确代表该基因的表达模式，这类基因被称作 Uniquely Mapped Reads,可信度较高。与参考基因组在多个位置比对,则说明不能够准确地表示基因的表达模式，这类基因被称为 Multiple Mapped Reads,可信度较低。为了能够准确地分析不同样品间基因的表达差异，采用 HTSeq 软件对各样品进行基因表达水平分析，运用 FPKM (Fragments per Kilobase of Exon Model per Million Mapped Fragments)方法计算基因的表达量<sup>[15]</sup>，随后使用 DESeq 软件筛选差异基因<sup>[16]</sup>。将 FPKM 值>1 的基因视为差异表达基因。

1.7 RT-qPCR 验证

为了验证转录组结果的准确性,选取 6 个差异表达基因进行 RT-qPCR 验证。提取西瓜食酸菌 FC440 野生型、互作 48 h 样本总 RNA,利用 Primer Premier 5.0 设计 RT-qPCR 引物(表 1)，引物由北京博迈德基因技术有限公司合成。以 *rpoB* 为内参基因，采用 ABI Fast 7500 扩增。PCR 反应体系 (20  $\mu$ L)：2 $\times$ SuperReal PreMix Plus 10  $\mu$ L，50 $\times$ Passive Reference Dye 0.4  $\mu$ L,cDNA 模板 1  $\mu$ L，引物 F/R (10  $\mu$ mol/L)各 1  $\mu$ L，无 RNA 酶的 ddH<sub>2</sub>O 补足 20  $\mu$ L。PCR 反应条件：94  $^{\circ}$ C 30 s；94  $^{\circ}$ C 5 s，60  $^{\circ}$ C 34 s，40 次循环。每个样本重复 4 次，使用 2<sup>- $\Delta\Delta$ C<sub>T</sub></sup>法处理数据，运用 GraphPad 软件作图分析。

1.8 差异表达基因功能注释

1.8.1 Gene Ontology (GO)功能注释

GO 数据库的主要作用是描述基因及基因的表达产物的特征,并且可以对一些表达模式相近的基因进行聚类分析<sup>[17]</sup>。GO 生物学功能可以分为生物学过程(Biological Process，BP)、分子功能(Molecular Function，MF)和细胞组分(Cellular Component, CC)三大亚类<sup>[18]</sup>。本研究中使用 TopGO 软件进行富集分析<sup>[19-20]</sup>，选择 BP、CC 及 MF 这 3 个亚类中富集排名前 10 的 GO Term，通过分析这些 GO Term 来确定差异基因的主要功能。本文差异基因显著富集的标准为  $P<0.05$ 。

1.8.2 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)代谢通路富集分析

作为代谢通路相关的主要数据库,KEGG 数据库中包含了多种生物的代谢通路、遗传信息及其

表 1 RT-qPCR 所用引物  
Table 1 Primers for RT-qPCR

基因 Gene	上游引物 Forward primer (5'→3')	下游引物 Reverse primer (5'→3')
GE01044	GAAGGCAGCCCCGACGAC	CGAGGTTTTCACTCTGGTTG
GE03421	GCAGATACCCACGCACTCG	GGCAAGCCTGACAGGAAA
GE03299	GGACTGGGGTAACGTGGGG	GCTCGTCGCTCTTGCCTTT
GE03701	AAAGATCGGCAGTGGCAGC	ACCCGCACCAGCGAATACA
GE00203	CAGCGCTTCCTGAAAGACCC	TCAACCAGCTGCTGGACCAG
GE03620	GCTGCCCGACTCATACACC	CCGTCTGTCCCTCCGAAT
<i>rpoB</i>	GCGACAGCGTGCTCAAAGTG	GGCCTTCGTTGGTGCGTTTCT

他生物学功能<sup>[21]</sup>。每个生物学过程通常是由多数基因相互协调共同完成的，基因间相互协调的代谢通路是研究基因功能的重要内容。本文将筛选所得  $P<0.05$  的差异基因注释到 KEGG 数据库，从而确定这些基因显著富集的代谢途径。

## 2 结果与分析

### 2.1 样品相关性检测

各样品不同重复间的相关性利用 FPKM 法检测，基因的表达水平相关性用皮尔森相关系数表示，相关系数在 0.8–1.0 之间属于极强相关。从图 1 可知，各样品不同重复间皮尔森相关系数均大于 0.99，表明样品有较好的重复性和极强的相关

性，能够准确反映不同样品之间基因的差异表达，系统误差较小，结果可信度高。

### 2.2 测序数据质量分析

#### 2.2.1 数据数量统计

数据质量分析结果显示，获得了 176 315 672 个高质量 Clean Reads。各样品测序数据 Q20 为 96.81%–98.52%，Q30 为 91.82%–96.20%，N 低于 0.1%，表明整体测序质量较好，可用作后续分析(表 2)。

#### 2.2.2 比对结果基本统计

将黄瓜样品和细菌样品分别与 ChineseLong\_genome\_v2.fa 和 *Acidovorax citrulli* AAC00-1 参考基因进行比对，结果如表 3 所示。结果表明 2 种样

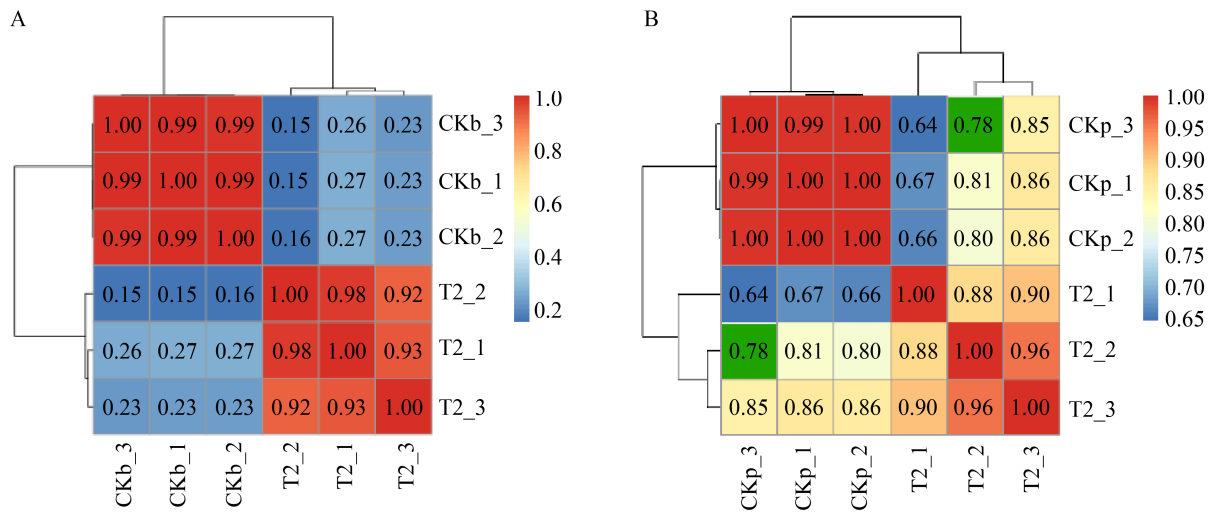


图 1 样品相关性检验  
 Figure 1 Sample correlation test  
 Note: A: CKb vs T2; B: CKp vs T2

表 2 数据统计  
 Table 2 Data statistics

样品 Simple	原始数据 Raw reads	过滤后数据 Clean reads	百分比 Clean reads/raw reads (%)	N (%)	Q20 (%)	Q30 (%)
T2_1	139 338 682	108 262 972	77.69%	0.002	96.97	92.33
T2_2	139 257 406	107 592 474	77.26%	0.002	96.83	92.15
T2_3	135 367 160	111 831 498	82.61%	0.002	96.81	91.80
CKp_1	46 121 618	46 041 352	99.82%	0.002	98.52	96.20
CKp_2	48 068 230	47 975 196	99.80%	0.002	98.46	96.09
CKp_3	44 305 482	44 218 196	99.80%	0.002	98.43	96.00
CKb_1	29 540 900	28 019 824	94.85%	0.037	96.90	92.01
CKb_2	31 451 022	29 780 948	94.68%	0.039	96.80	91.82
CKb_3	27 676 892	26 321 508	95.10%	0.016	97.09	92.40

表 3 RNA-Seq Map 统计

Table 3 Statistics of RNA-Seq map

样品 Simple	过滤后数据 Clean reads	基因组比对数据 Total mapped reads	Total/clean reads (%)	单一位置比对数据 Uniquely mapped reads	Uniquely/total (%)	多个位置比对数据 Multiple mapped reads	Multiple/total (%)
T2_1	108 262 972	13 023 448	12.03	12 676 860	97.34	346 588	2.66
T2_2	107 592 474	26 788 544	23.90	26 005 142	97.08	783 402	2.92
T2_3	111 831 498	3 698 378	3.31	3 609 918	97.61	88 460	2.39
CKp_1	46 041 352	20 513 361	44.55	19 897 582	97.00	615 779	3.00
CKp_2	47 975 196	21 928 841	45.71	21 358 477	97.40	570 364	2.60
CKp_3	44 218 196	20 205 293	45.69	19 656 226	97.28	549 067	2.72
CKb_1	28 019 824	27 941 155	99.72	27 036 673	96.76	904 482	3.24
CKb_2	29 780 948	29 690 176	99.70	28 611 329	96.37	1 078 847	3.63
CKb_3	26 321 508	26 242 301	99.70	25 579 333	97.47	662 968	2.53

品能够比对到单个位置的比例均高达 95%以上，比对多个位置的比例较低，说明测序质量较好，可用于后续分析。

2.3 RT-qPCR 验证基因表达水平

RT-qPCR 检测结果显示(图 2)，6 个差异基因相对表达水平与  $\text{Log}_2(\text{Fold Change})$  二者趋势基本一致。总体上，RT-qPCR 验证与转录组测序结果中表达模式基本一致，说明转录组测序数据结果是可信的。

2.4 差异表达基因分析

2.4.1 差异表达基因筛选

差异表达基因筛选结果显示，CKb vs T2 (图 3A)获得 1 618 个差异基因，其中上调表达

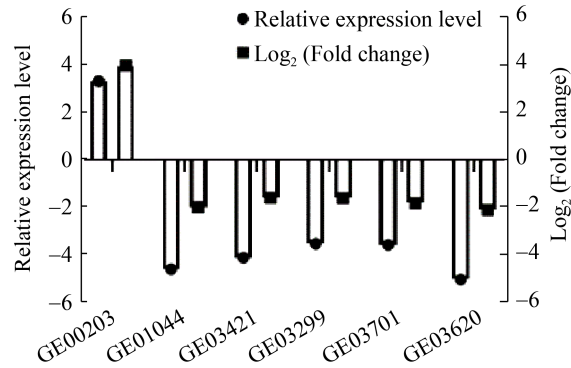


图 2 基于转录组下的 6 个基因在西瓜食酸菌与黄瓜互动中的 RT-qPCR 验证

Figure 2 RT-qPCR validations of six genes in *Ac-cucumber* interaction based on RNA-Seq

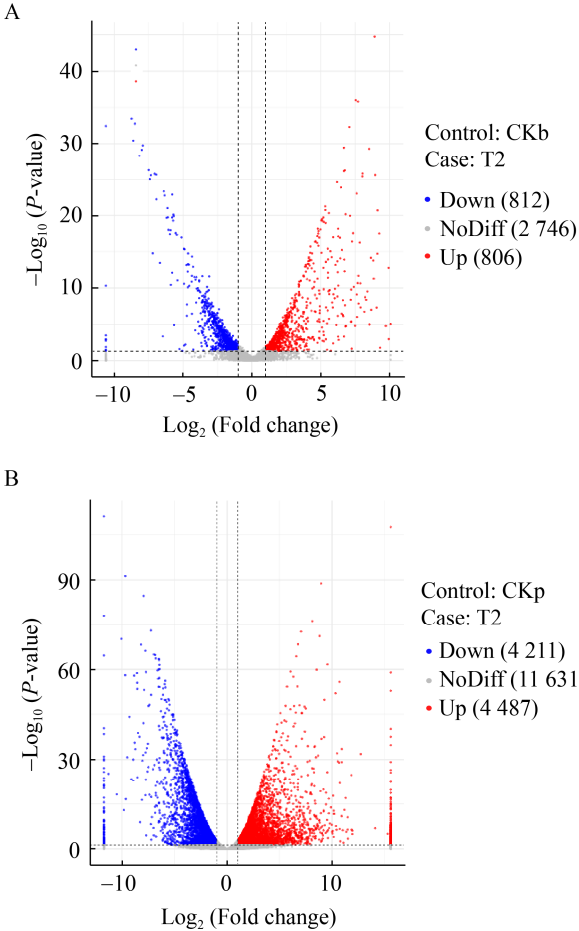


图 3 差异表达基因火山图

Figure 3 Volcano map of differentially expressed genes

注：图中蓝色为下调基因，红色为上调基因。A：CKb vs T2；B：CKp vs T2

Note: Blue indicates down-regulated genes and red indicates up-regulated genes. A: CKb vs T2; B: CKp vs T2

806 个, 下调表达 812 个。CKp vs T2 黄瓜转录组 (图 3B) 获得 8 698 个差异基因, 其中上调表达 4 487 个、下调表达 4 211 个。

#### 2.4.2 聚类分析

聚类分析结果显示, 在 CKb vs T2 (图 4A) 中高表达基因在 CKp vs T2 (图 4B) 中低表达; CKb vs T2 中低表达的基因在 CKp vs T2 中高表达, 对照组与处理组表达模式相反, 表明样品处理达到一定效果。

#### 2.5 GO 功能富集分析

GO 富集分析结果显示 CKp vs T2 中的差异基因富集在细胞组分 CC (图 5A)、生物过程 BP (图 5B) 及分子功能 MF (图 5C)。其中富集在分子功能 MF (图 5C) 的差异基因最多, 占 56.0%; 其次是细胞组分 CC 和生物过程 BP, 它们分别占 35.2% 和 17.6%。在 CC (图 5A) 中, 质体、叶绿体、质体部分及叶绿体部分这 4 个亚类分别占 22.2% (678 个)、21.3% (653 个)、13.3% (408 个) 及 13.0% (395 个)。在 BP (图 5B) 中, 碳水化合物衍生物代谢过程所占比例较大, 占 32.2% (489 个)。在 MF (图 5C) 中, 差异基

因显著富集在催化活性和氧化还原酶活性 2 条 GO Term 中, 分别占 70.0% (3 400 个) 和 16.4% (799 个)。

CKb vs T2 中的差异基因富集在生物过程 BP (图 5D)、细胞组分 CC (图 5E) 及分子功能 MF (图 5F)。其中, 富集在 CC (图 5E) 的差异基因最多, 占 25.3%; 其次是 BP 和 MF, 分别占 15.1% 和 11.4%。在 BP (图 5D) 中氧化还原过程所占比例较大, 占 66.7% (152 个); 在 CC (图 5E) 中, 差异基因显著富集在细胞膜、膜部分和膜的固有成分这 3 个亚类, 分别占 37.5% (154 个)、27.0% (110 个) 和 25% (101 个); 在 MF (图 5F) 中, 水解酶活性所占比例较大, 占 66.5% (123 个)。

#### 2.6 差异表达基因 KEGG 富集分析

分析发现 CKb vs T2 转录组有 913 个基因得到注释, 涉及 130 个 Pathway。CKp vs T2 有 2 565 个基因得到注释, 涉及 128 个 Pathway。本文中挑选错误发现率 (False Discovery Rate, FDR) 最小即富集最显著的 20 个 Pathway 进行展示, FDR 值越小则表示富集越显著。

CKb vs T2 (图 6A) 中差异基因显著富集的代

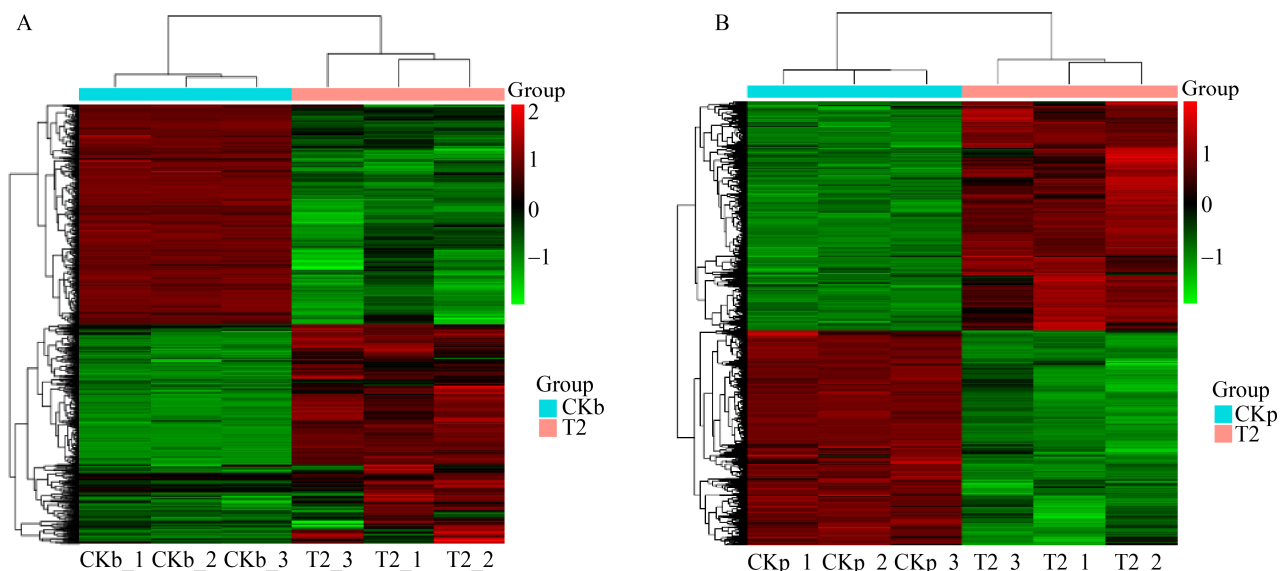


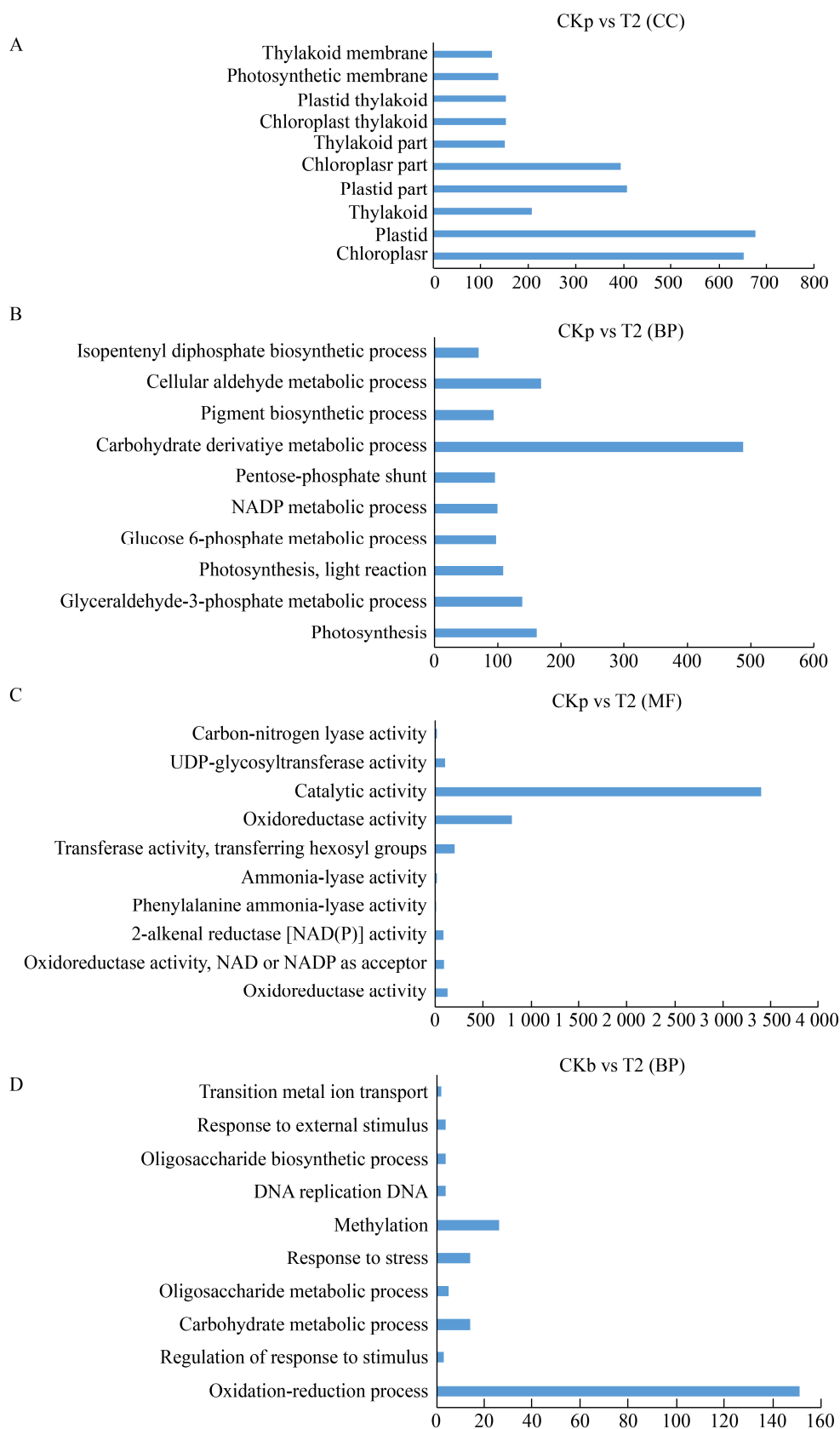
图 4 差异表达基因聚类热图

Figure 4 Heat map of showing clustering of differentially expressed genes

注: 红色表示高表达基因, 绿色表示低表达基因。A: CKb vs T2; B: CKp vs T2

Note: Red indicates highly expressed genes, green indicates low expressed genes. A: CKb vs T2; B: CKp vs T2







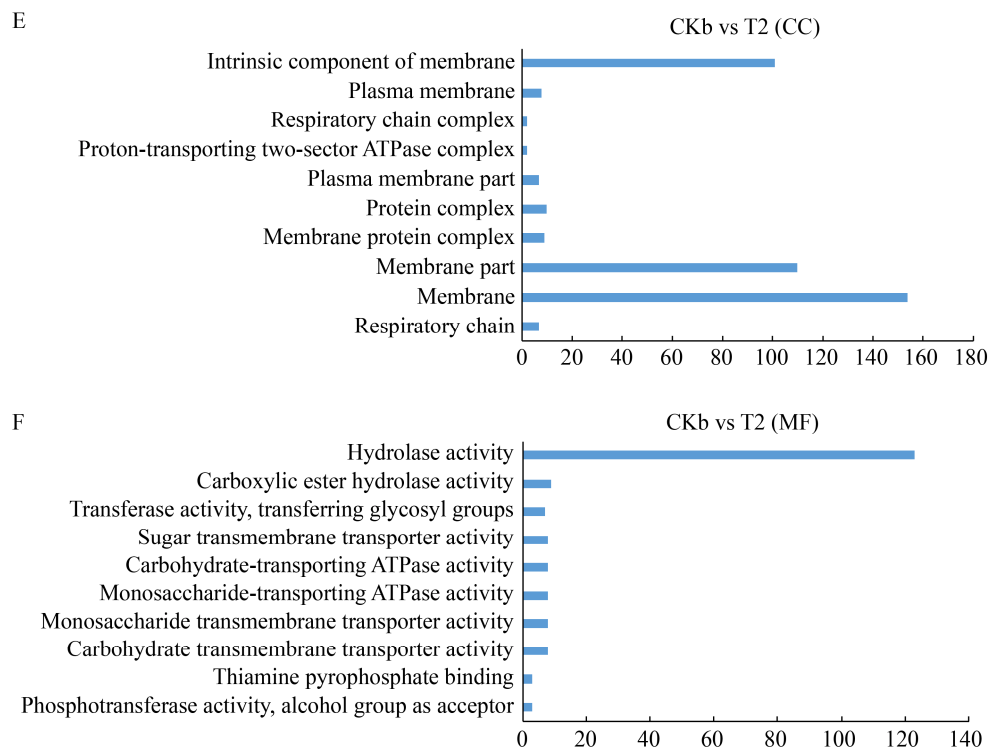


图 5 GO 富集分析柱状图

Figure 5 Histogram of GO enrichment analysis

注：横坐标为每个条目富集到的基因个数，纵坐标为 GO 条目

Note: The abscissa is number of genes enriched for each term, the ordinate is the term of Go level

谢通路主要包括淀粉和蔗糖代谢、二组分系统、叶酸生物合成、细菌趋化性、氧化磷酸化、戊糖酸途径、ABC 转运体、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的降解、氨基糖和核苷酸糖代谢等。

CKp vs T2 (图 6B)中差异基因显著富集的代谢通路主要包括光合作用、植物-病原互作、内质网蛋白加工、植物激素信号转导、光合生物的固碳作用、磷酸戊糖途径、谷胱甘肽代谢、MAPK 信号通路、苯丙烷的生物合成等。

2.6.1 寄主抗病相关代谢途径及基因

在抗病相关代谢途径中，植物-病原互作代谢途径富集的基因有 64 个(2.4%)，其中 52 个上调、12 个下调；谷胱甘肽代谢途径富集到的基因有 43 个(1.7%)，其中 33 个上调、10 个下调；苯丙烷生物合成代谢途径富集到的基因有 74 个(2.9%)，其中 53 个上调、21 个下调。

植物-病原互作代谢途径中有 8 个(上调 6 个，下调 2 个)基因调控钙依赖性蛋白激酶(CDPK)，3 个(上调)基因调控呼吸暴发氧化酶(Rboh)，20 个(上调 15 个，下调 5 个)基因调控钙调蛋白(CaMCML)；谷胱甘肽代谢途径中有 22 个(19 个显著上调，3 个下调)基因参与调控谷胱甘肽 S-转移酶(GST)；苯丙烷生物合成途径中，10 个(9 个上调，1 个下调)基因调控苯丙氨酸裂解酶(PAL)，1 个(上调)基因调控肉桂酰辅酶 A 还原酶(CCR)，4 个(2 个上调，2 个下调)基因调控肉桂醇脱氢酶(CAD)。

2.6.2 病原菌致病相关途径及基因

在富集较显著的代谢途径中，与细菌致病相关的有细菌趋化性及群体感应系统。细菌趋化性途径富集到的基因有 22 个(2.4%)，其中 2 个上调、20 个下调。群体感应系统途径富集到的基因有 35 个(3.8%)。其中 5 个上调、30 个下调。

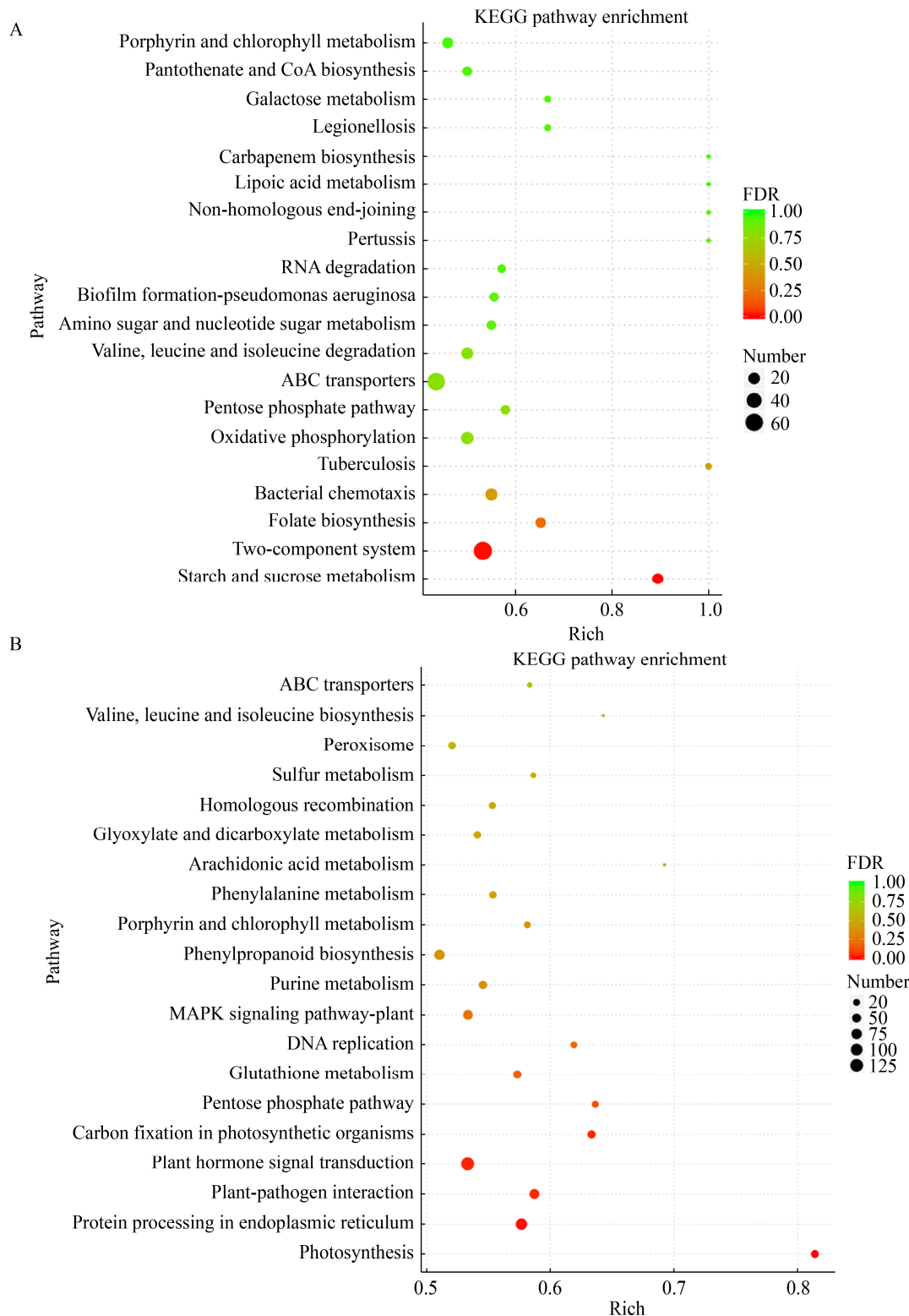


图 6 KEGG Pathway 富集结果气泡图

Figure 6 Bubble diagram of KEGG pathway enrichment results

注：横坐标为 Rich factor，纵坐标为 KEGG Pathway 条目。A：CKb vs T2；B：CKp vs T2

Note: The abscissa is rich factor, the ordinate is KEGG pathway. A: CKb vs T2; B: CKp vs T2

### 3 讨论与结论

转录组学在探究植物与环境互动中发挥着不可替代的作用, 因具有成本低、便于重复、准确度高特点, 目前已广泛应用到多数植物病原互作研究中<sup>[22]</sup>。杨丽对向日葵与锈菌互作 12、24、48 及 96 h 的互作样品进行转录组测序, 发现一些与向日葵抗病密切相关的基因<sup>[23]</sup>。单春会等分析青霉菌与哈密瓜互作转录组发现, 与哈密瓜抗病及病原相关基因的表达量均存在差异, 揭示了哈密瓜对青霉菌的反应机制<sup>[24]</sup>。张艳艳等通过分析西瓜食酸菌不同菌株与甜瓜幼苗互作早期的转录组, 初步揭示了转录水平上 2 个不同菌株分别与寄主甜瓜、西瓜互作的表达差异<sup>[22]</sup>。本研究通过 RNA-Seq 技术研究了西瓜食酸菌与寄主黄瓜互作 48 h 转录本的表达差异。结果表明, 互作下的细菌与黄瓜转录组分别检测到 1 618 个和 8 698 个差异表达基因, 这些差异基因富集到不同的 GO 条目及 KEGG 代谢通路, 反映出了黄瓜与西瓜食酸菌互作过程中起到重要作用的一些基因。

#### 3.1 植物-病原互作途径

植物在与病原菌长期互作过程中逐渐形成了复杂的免疫系统, 其中病原物相关分子模式 (Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMP) 触发的免疫 (PAMP-Triggered Immunity) 系统中, 调控植物免疫反应的活性氧自由基由钙依赖性蛋白激酶 (CDPK) 与呼吸爆发氧化酶 (Rboh) 共同作用而产生<sup>[25]</sup>, 钙结合蛋白 (CaMCML) 与一氧化氮合成酶 (NOS) 相互作用生成 NO, 并通过引起过敏性坏死反应提高植物抗病能力<sup>[26]</sup>; 在效应因子 (Effector) 触发的免疫 (Effector-Triggered Immunity) 系统中, 植物会通过产生热休克蛋白来抵抗病原菌的毒性因子, 从而抑制病原菌侵染<sup>[27]</sup>。研究发现甜瓜抗病及感病品种受黑点根腐病菌侵染后, 抗病品种中  $\text{Ca}^{2+}$  信号相关的基因如 CDPK 等表达上调, 结果表明  $\text{Ca}^{2+}$  信号对甜瓜抗病原菌侵染发挥重要作用<sup>[28]</sup>。

目前在葫芦科植物中未发现抗西瓜食酸菌的种质资源, 病菌种群内存在的亚群 I 菌株和亚群 II 菌株, 且研究发现亚群 I 菌株比亚群 II 菌株对甜瓜的致病性更强<sup>[29]</sup>, 并且亚群 I 的菌株可以侵染较广范围的葫芦科寄主植物, 亚群 II 的菌株则表现出对西瓜的侵袭力强于对其他葫芦科作物<sup>[30]</sup>。张艳艳<sup>[27]</sup>分析西瓜和甜瓜响应西瓜食酸菌不同亚群菌株侵染的转录组, 发现被亚群 I 菌株 pslb65 侵染 6–72 h, 甜瓜和西瓜中调控 CDPK、CaMCML 及 Rboh 的基因总体下调, 甜瓜中的下调程度更显著; 受亚群 II 菌株 AAC00-1 侵染 6 h, 甜瓜中调控 CDPK、CaMCML 及 Rboh 的基因下调, 12–72 h 上调, 西瓜中的在 6–72 h 总体上调。甜瓜受 2 类菌株侵染后, 植物-病原互作途径相关基因总体下调, 西瓜中的则上调, 此结果表明, 这可能正是甜瓜容易被 2 类病菌侵染和更易感病的原因之一。与 pslb65 的侵染结果相比, 寄主响应 AAC00-1 的调控 CDPK、CaMCML 及 Rboh 的基因下调数量较少<sup>[27]</sup>, 此结果表明, 2 类病菌均激活了植物的防御信号, 但显示出亚群 I 菌株 pslb65 致病力更强。被 2 类病菌侵染后, 西瓜、甜瓜中调控热休克蛋白 HSP90 的基因表达量于不同时间段均表现上调, 表明西瓜、甜瓜可以通过产生热休克蛋白来抵抗西瓜食酸菌的毒性因子<sup>[27]</sup>。张艳艳的研究结果表明, 寄主被 pslb65 侵染后, 下调基因数量较 AAC00-1 侵染多, 其与病原菌对寄主致病力大小的表现相对应; 张艳艳的上述研究结果可以说从转录组水平验证了亚群 I 菌株比亚群 II 菌株对甜瓜的致病性更强<sup>[27]</sup>, 也反映出不同菌株与不同寄主互作机制的差异性。

一些研究发现, 抗病植物与感病植物中基因表达调节存在一定的规律, 即在抗病材料中上调基因数量较下调的多<sup>[31]</sup>, 感病材料则相反<sup>[32]</sup>。综上所述, 本文中西瓜食酸菌亚群 I 菌株 FC440 侵染黄瓜 48 h 后, 植物-病原互作途径中调控 CDPK、CaMCML 及 Rboh 的基因总体上调, 表明受侵染

的黄瓜抵抗病菌是以  $\text{Ca}^{2+}$  激活的防御系统和大量产生的 HSP90 热激蛋白为主。

### 3.2 寄主苯丙烷生物合成途径

苯丙烷代谢途径的激活是植物对病原菌侵染发生响应的标志之一<sup>[31]</sup>。苯丙氨酸裂解酶(PAL)、肉桂酰辅酶 A 还原酶(CCR)及肉桂醇脱氢酶(CAD)是苯丙烷代谢相关的酶<sup>[33]</sup>。本文发现调控 PAL、CCR 及 CAD 的基因总体上调,这一变化规律和其他植物与病原互作的结果相似<sup>[31,33-34]</sup>。如谷子接种锈菌后, PAL 在苯丙素类生物合成和苯丙烷生物合成路径中被显著诱导表达<sup>[31]</sup>。茶树抗病品种“ZC108”在接种炭疽病菌前后对比显示 PAL 调控基因均显著上调,证明 PAL 可能是“ZC108”具有更高抗性的关键基因;同时,抗病品种“ZC108”中的 CAD 相关基因表达量比感病品种“LJ43”高,暗示 CAD 在抗性材料响应炭疽病菌侵染中发挥重要作用<sup>[33]</sup>。拟南芥与土壤微生物互作过程中,处理组中 CCR 相关基因表达量比对照组明显增加<sup>[34]</sup>。已有西瓜食酸菌不同菌株与甜瓜和西瓜互作的转录组分析结果<sup>[27]</sup>显示,受亚群 I 菌株 psbl65 侵染 6–72 h,甜瓜中调控 PAL、CCR 与 CAD 的基因总体下调,西瓜中则上调。受亚群 II 菌株 AAC00-1 侵染 6–72 h,甜瓜中调控 PAL、CCR 和 CAD 的基因总体下调,西瓜中则上调。推测相比寄主甜瓜,西瓜可能通过激活 PAL、CCR 及 CAD 基因进而激活苯丙烷代谢途径,起到抵抗病原菌侵染的作用<sup>[27]</sup>。本研究中亚群 I 菌株 FC440 与黄瓜互作时调控 PAL、CCR 及 CAD 的基因表达情况与亚群 I 菌株 pslb65 侵染西瓜时的结果<sup>[27]</sup>相似,显示寄主黄瓜可能在互作早中期通过激活苯丙烷代谢途径起到抵抗病原菌侵染的作用。

### 3.3 寄主谷胱甘肽代谢途径

谷胱甘肽可以激活致病相关基因,而且谷胱甘肽的消耗可以诱导植物抗毒素的积累<sup>[35-36]</sup>。在高等植物中,谷胱甘肽 S-转移酶(GST)对植物抵御外源物质具有重要作用<sup>[31]</sup>。有研究表明,盐胁迫下的

耐盐水稻品系“58M”幼穗体内编码 GST 的基因表达量上调,而在不耐盐品系“58L”中表达量下调。由此推测, GST 是“58M”具有较强耐盐性的原因<sup>[7]</sup>。De Gara 等观察发现,坏死的灰霉病番茄叶片中谷胱甘肽含量下降,推测谷胱甘肽在番茄对灰霉病的抗性中起重要作用<sup>[37]</sup>。Kong 等筛选到 27 个谷胱甘肽代谢途径的基因,这些基因在黄瓜抗灰霉病中发挥重要作用<sup>[36]</sup>。本研究结果显示, GST 相关基因多数显著上调,这与在其他病原菌与植物互作中观察到的现象相似,表明谷胱甘肽在黄瓜对西瓜食酸菌的抗性中可能起到重要作用。

### 3.4 病原菌致病因子分析

III 型分泌系统(Type III Secretion System, T3SS)已经被确定是西瓜食酸菌致病过程中的关键因子<sup>[38]</sup>,而其他因子如毒素、群体感应系统、趋化性等也对其致病有重要作用<sup>[11]</sup>。细菌的 KEGG 富集分析发现,西瓜食酸菌与黄瓜互作 48 h 后,在细菌分泌系统代谢途径中,参与调控 III 型分泌系统的基因表达总体无差异;群体感应系统及趋化性相关基因显著下调,而且未发现与毒素相关调控基因的表达。已有研究表明西瓜食酸菌 AAC00-1 菌株 T3SS 基因 *hrcC* 缺失后,该菌丧失致病能力<sup>[39]</sup>。本研究未检测到调控 T3SS 的基因表达发生变化,可能与此侵染阶段 T3SS 在致病过程中贡献不大有关。植物病原菌毒素作为病原菌产生的一类小分子化合物,能在植物体内扩散,并在远离细菌生长繁殖的部位使植物出现失绿或坏死的症状<sup>[40]</sup>。Shavit 等<sup>[41]</sup>分析西瓜食酸菌亚群 I、II 菌株基因组发现,亚群 II 菌株存在 *vapB-vapC* 系统,并证实 VapB、VapC 蛋白在西瓜食酸菌与寄主互作中发挥重要作用。本研究所使用菌株 FC440 属于亚群 I,未富集到毒素相关基因,这与前人研究结果一致,说明本研究转录组数据结果可信度较高。群体感应系统是细菌控制种内及其他种群群体密度的感受系统,而细菌的趋化性与细菌致病性关系密切,两者均在侵染过程中发挥重要作用<sup>[11,42]</sup>。

相关研究表明西瓜食酸 AAC00-1 菌株群体感应系统基因 *luxI*、*luxR* 突变株以高浓度侵染种子时, 与野生型相比侵染能力下降<sup>[43]</sup>。Ac-5 菌株趋化核心基因 *cheA* 缺失后其致病能力下降<sup>[44]</sup>。本文中调控群体感应系统及趋化性基因在互作时表达均下调, 而且群体感应系统基因下调更显著, 说明这些基因与 FC440 菌株的致病能力相关, 通过这些基因的下调起到侵染寄主的作用。上述群体感应系统及趋化性相关的基因还需结合转录组分析结果通过进一步实验研究来验证其功能。

综上所述, 本研究得出以下结论: (1) 获得了较高质量的西瓜食酸菌与黄瓜互作的转录组测序结果。(2) 与寄主互作过程中, 群体感应系统相关基因参与西瓜食酸菌 FC440 菌株致病。(3) 互作过程中寄主以  $\text{Ca}^{2+}$  信号激活的防御反应为主。(4) PAL 与 GST 在黄瓜抵抗西瓜食酸菌侵染中可能发挥重要作用。

## REFERENCES

- [1] Zhao TC, Sun FZ, Wang BW. Review on the research of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*[J]. Plant Protection Technology and Extension, 2001, 21(3): 37-38,36 (in Chinese)  
赵廷昌, 孙福在, 王兵万. 西瓜细菌性果斑病研究进展[J]. 植保技术与推广, 2001, 21(3): 37-38,36
- [2] Wang TL, Yan WR, Yan SS, Yang YW, Zhao TC. Analysis of the coding regions for signal peptide-containing proteins in *Acidovorax citrulli* genome[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2012, 25(1): 1-6 (in Chinese)  
王铁霖, 严婉荣, 闫莎莎, 杨玉文, 赵廷昌. 瓜类果斑病菌(*Acidovorax citrulli*)基因组信号肽预测分析[J]. 中国瓜菜, 2012, 25(1): 1-6
- [3] Chen XK. Detection the pathogen of bacterial fruit blotch of watermelon by polymerase chain reaction[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2010 (in Chinese)  
陈新垠. 西瓜细菌性果斑病菌的 PCR 检测[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2010
- [4] Zhao TC, Sun FZ, Wang BW, Hui WG. Pathogen identification of Hami melon bacterial fruit blotch[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2001, 31(4): 357-364 (in Chinese)  
赵廷昌, 孙福在, 王兵万, 回文广. 哈密瓜细菌性果斑病病原菌鉴定[J]. 植物病理学报, 2001, 31(4): 357-364
- [5] Jin Y, Zhang JJ, Wu YH, Gao J. Occurrence of watermelon bacterial fruit blotch and identification of its pathogens[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2004, 26(3): 263-266 (in Chinese)  
金岩, 张俊杰, 吴燕华, 高洁. 西瓜细菌性果斑病的发生与病原菌鉴定[J]. 吉林农业大学学报, 2004, 26(3): 263-266
- [6] Zhang YY, Ji WQ, Yang YW, Guan W, Zhao TC. The technology of transcriptome and its application in cucurbit and vegetable crops[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2016, 29(12): 1-5,13 (in Chinese)  
张艳艳, 季苇芹, 杨玉文, 关巍, 赵廷昌. 转录组学技术及其在瓜菜作物上的应用[J]. 中国瓜菜, 2016, 29(12): 1-5,13
- [7] Wu FG, Liu HF, Nie JJ, Wei YF, Ma QL. Transcriptome analysis of young spikes in rice under salt stress[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(5): 1274-1281 (in Chinese)  
吴孚桂, 刘慧芳, 聂佳俊, 韦云飞, 马启林. 水稻幼穗响应盐胁迫的转录组分析[J]. 热带作物学报, 2021, 42(5): 1274-1281
- [8] Du DD. Differential expression profiling of two different pathotypes of *Puccinia triticina* with different virulence and screening of secreted proteins[D]. Baoding: Master's Thesis of Hebei Agricultural University, 2015 (in Chinese)  
杜冬冬. 两个不同致病类型小麦叶锈菌株差异表达分析及其分泌蛋白的筛选[D]. 保定: 河北农业大学硕士学位论文, 2015
- [9] Cantu D, Segovia V, MacLean D, Bayles R, Chen XM, Kamoun S, Dubcovsky J, Saunders DG, Uauy C. Genome analyses of the wheat yellow (stripe) rust pathogen *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* reveal polymorphic and haustorial expressed secreted proteins as candidate effectors[J]. BMC Genomics, 2013, 14(1): 270
- [10] Li XL. Research on the screening, cloning and function of rice blast fungus effector proteins[D]. Changsha: Master's Thesis of Central South University, 2011 (in Chinese)  
李湘龙. 稻瘟菌效应因子的筛选、克隆及其功能研究[D]. 长沙: 中南大学硕士学位论文, 2011
- [11] Zhang XX. Functional study of effector Ace1 & analysis of pathogenicity differences under light and dark conditions in *Acidovorax citrulli*[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018 (in Chinese)  
张晓晓. 西瓜噬酸菌效应蛋白 Ace1 功能研究及光照黑暗条件下致病性差异分析[D]. 北京: 中国农业科学院博士学位论文, 2018
- [12] Liu J. Creation of Tn5 insertional mutants of bacterial fruit blotch pathogen *Acidovorax citrulli* and identification of

- pathogenicity altered mutants[D]. Yangling: Doctoral Dissertation of Northwest A&F University, 2012 (in Chinese)
- 刘君. 西瓜食酸菌(*Acidovorax citrulli*)Tn5 转座子插入突变体的制备和致病性缺失突变体的鉴定与分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文, 2012
- [13] Burdman S, Kots N, Kritzman G, Kopelowitz J. Molecular, physiological, and host-range characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* isolates from watermelon and melon in Israel[J]. Plant Disease, 2005, 89(12): 1339-1347
- [14] Langmead B, Salzberg SL. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2[J]. Nature Methods, 2012, 9(4): 357-359
- [15] Trapnell C, Williams BA, Pertea G, Mortazavi A, Kwan G, Van Baren MJ, Salzberg SL, Wold BJ, Pachter L. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation[J]. Nature Biotechnology, 2010, 28(5): 511-515
- [16] Anders S, Huber W. Differential expression of RNA-Seq data at the gene level-the DESeq package[J]. European Molecular Biology Laboratory, 2013
- [17] Young MD, Wakefield MJ, Smyth GK, Oshlack A. Gene ontology analysis for RNA-seq: accounting for selection bias[J]. Genome Biology, 2010, 11(2): R14
- [18] Zhou Z. Study on the gene expression regulation of fengycin synthetases in *Bacillus amyloliquefaciens*[D]. Huaian: Master's Thesis of Huaiyin Institute of Technology, 2020 (in Chinese)
- 周振. 解淀粉芽孢杆菌 Fengycin 合成酶基因表达调控的研究[D]. 淮安: 淮阴工学院硕士学位论文, 2020
- [19] Alexa A, Rahnenführer J, Lengauer T. Improved scoring of functional groups from gene expression data by decorrelating GO graph structure[J]. Bioinformatics, 2006, 22(13): 1600-1607
- [20] Liang QQ. Functional analysis of four key genes in the TCHK signaling pathway in *Pyrenophora graminea*[D]. Lanzhou: Doctoral Dissertation of Gansu Agricultural University, 2020 (in Chinese)
- 梁倩倩. 大麦条纹病菌 TCHK 信号途径 4 个关键基因功能研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学博士学位论文, 2020
- [21] Kanehisa M, Araki M, Goto S, Hattori M, Hirakawa M, Itoh M, Katayama T, Kawashima S, Okuda S, Tokimatsu T, et al. KEGG for linking genomes to life and the environment[J]. Nucleic Acids Research, 2008, 36(suppl\_1): D480-D484
- [22] Zhang YY, Zhao M, Yang YW, Guan W, Ji WQ, Bai QR, Gao J, Walcott RR, Zhao TC. Transcriptomic analysis of early interaction between melon seedlings and *Acidovorax citrulli* strains[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2017, 47(6): 776-789 (in Chinese)
- 张艳艳, 赵梅, 杨玉文, 关巍, 季苇芹, 白庆荣, 高洁, Ron R. Walcott, 赵廷昌. 西瓜噬酸菌不同菌株与甜瓜幼苗早期互作的转录组学分析[J]. 植物病理学报, 2017, 47(6): 776-789
- [23] Yang L. Transcriptome analysis of interaction between sunflower and *Puccinia helianthi* and screening of resistance genes[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2018 (in Chinese)
- 杨丽. 向日葵—锈菌互作的转录组分析及抗病基因的挖掘[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2018
- [24] Shan CH, Chen W, Tang FX, Jiang FY. Construction and analysis of the transcriptome before and after infected by *Penicillium* in Hami melon fruit[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2016, 35(8): 806-814 (in Chinese)
- 单春会, 陈卫, 唐凤仙, 姜富耀. 青霉菌侵染前后哈密瓜转录组的构建及分析[J]. 食品与生物技术学报, 2016, 35(8): 806-814
- [25] Camejo D, Guzmán-Cedeño Á, Moreno A. Reactive oxygen species, essential molecules, during plant-pathogen interactions[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 103: 10-23
- [26] Shan CH. Transcriptomics and proteomics of Hami melon responding to *Penicillium* infection and change analysis of resistance-related enzymes[D]. Wuxi: Doctoral Dissertation of Jiangnan University, 2015 (in Chinese)
- 单春会. 哈密瓜响应青霉菌侵染的转录组和蛋白组研究及相关抗性酶变化分析[D]. 无锡: 江南大学博士学位论文, 2015
- [27] Zhang YY. Transcriptomic analysis of the watermelon and melon infected with different strains of *Acidovorax citrulli*[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin Agricultural University, 2017 (in Chinese)
- 张艳艳. 西瓜和甜瓜响应西瓜噬酸菌不同亚群菌株侵染的转录组分析[D]. 长春: 吉林农业大学硕士学位论文, 2017
- [28] Roig C, Fita A, Ríos G, Hammond JP, Nuez F, Picó B. Root transcriptional responses of two melon genotypes with contrasting resistance to *Monosporascus cannonballus* (Pollack et Uecker) infection[J]. BMC Genomics, 2012, 13(1): 601
- [29] O'Brien RG, Martin HL. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*[J]. Australian Journal of Experimental Agriculture, 1999, 39(4): 479
- [30] Walcott RR, Fessehaie A, Castro AC. Differences in pathogenicity between two genetically distinct groups of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* on cucurbit hosts[J]. Journal of Phytopathology, 2004, 152(5): 277-285
- [31] Wang N. Study of transcriptome and digital gene expression profiles in foxtail millet and its gene expression analysis during interaction with *Uromyces setariae-italicae*[D].

- Shijiazhuang: Master's Thesis of Hebei Normal University, 2015 (in Chinese)
- 王楠. 谷子与锈菌互作的转录组和表达谱研究及相关基因表达分析[D]. 石家庄: 河北师范大学硕士学位论文, 2015
- [32] Zhang HL. Transcription analysis of summer squash in response to cold stress and the development of SSR molecular marker[D]. Taigu: Master's Thesis of Shanxi Agricultural University, 2015 (in Chinese)
- 张宏亮. 低温胁迫下西葫芦转录组分析与 SSR 分子标记开发[D]. 太谷: 山西农业大学硕士学位论文, 2015
- [33] Wang L, Wang YC, Cao HL, Hao XY, Zeng JM, Yang YJ, Wang XC. Transcriptome analysis of an anthracnose-resistant tea plant cultivar reveals genes associated with resistance to *Colletotrichum camelliae*[J]. PLoS One, 2016, 11(2): e0148535
- [34] Ali MB, McNear DH. Induced transcriptional profiling of phenylpropanoid pathway genes increased flavonoid and lignin content in *Arabidopsis* leaves in response to microbial products[J]. BMC Plant Biology, 2014, 14: 84
- [35] Guo Z, Nakagawara S, Sumitani K, Ohta Y. Effect of intracellular glutathione level on the production of 6-methoxymellein in cultured carrot (*Daucus carota*) cells[J]. Plant Physiology, 1993, 102(1): 45-51
- [36] Kong WW, Chen N, Liu TT, Zhu J, Wang JQ, He XQ, Jin Y. Large-scale transcriptome analysis of cucumber and *Botrytis cinerea* during infection[J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0142221
- [37] De Gara L, De Pinto MC, Tommasi F. The antioxidant systems vis-à-vis reactive oxygen species during plant-pathogen interaction[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2003, 41(10): 863-870
- [38] Ren ZG, Hou L, Song ZG, Zhang LQ. Screening of the pathogenicity mutants of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* and cloning of the *hrcR* gene[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2009, 39(5): 53-58 (in Chinese)
- 任争光, 侯磊, 宋治国, 张力群. 甜瓜细菌性果斑病菌致病性突变体筛选与 *hrcR* 基因的克隆[J]. 植物病理学报, 2009, 39(5): 53-58
- [39] Johnson KL, Minsavage GV, Le T, Jones JB, Walcott RR. Efficacy of a nonpathogenic *Acidovorax citrulli* strain as a biocontrol seed treatment for bacterial fruit blotch of cucurbits[J]. Plant Disease, 2011, 95(6): 697-704
- [40] Xu RQ. Identification of novel effectors depended on type III secretion system in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*[D]. Nanning: Doctoral Dissertation of Guangxi University, 2006 (in Chinese)
- 徐荣旗. 野油菜黄单胞菌野油菜致病变种新的依赖于III型分泌系统的效应物的鉴定[D]. 南宁: 广西大学博士学位论文, 2006
- [41] Shavit R, Lebendiker M, Pasternak Z, Burdman S, Helman Y. The *vapB-vapC* operon of *Acidovorax citrulli* functions as a bona-fide toxin-antitoxin module[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 6: 1499-1511
- [42] Yang SS, Sun BX, Wang TL, Zhang XX, Yang YW, Zhao TC. Preliminary study on the chemotaxis of *Acidovorax citrulli*[J]. Plant Protection, 2016, 42(3): 161-164,189 (in Chinese)
- 杨姗姗, 孙柏欣, 王铁霖, 张晓晓, 杨玉文, 赵廷昌. 西瓜嗜酸菌趋化性的初步研究[J]. 植物保护, 2016, 42(3): 161-164,189
- [43] Johnson KL, Walcott RR. Quorum sensing contributes to seed-to-seedling transmission of *Acidovorax citrulli* on watermelon[J]. Journal of Phytopathology, 2013, 161(7/8): 562-573
- [44] Yang SS. Chemotaxis detection and functional analysis of *cheA* and *cheY* gene in chemotaxis system of *Acidovorax citrulli*[D]. Beijing: Master's Thesis of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2015 (in Chinese)
- 杨姗姗. 西瓜嗜酸菌趋化性测定及趋化基因 *cheA* 和 *cheY* 功能研究[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2015