



主持人: 朱国鹏

Open Access

南瓜嫁接提高冬瓜枯萎病抗性的转录组分析

吴昊龙^{1#}, 符厚隆¹, 符君玉¹, 廖道龙², 周斌³, 刘子凡^{1*}, 弭宝彬⁴

(1. 海南大学热带农林学院, 海南儋州 571737 中国; 2. 海南省农业科学院蔬菜研究所, 海南海口 571100 中国; 3. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海南海口 571101 中国; 4. 湖南省蔬菜研究所, 湖南长沙 410125 中国)

摘要: 为解析南瓜(*Cucurbita* spp.)嫁接提高冬瓜(*Benincasa hispida*(Thunb.)Cogn.)枯萎病抗性的分子机制,本研究以‘海砧1号’南瓜、‘铁柱2号’冬瓜作为材料,采用插接法嫁接或自接(自接指砧木与接穗均来自同一种材料)获得嫁接冬瓜(GW)、自接冬瓜(SW)和自接南瓜(SP)3种幼苗,将其种植在 8.0×10^5 CFU·g⁻¹尖孢镰刀菌接菌浓度土壤中,以0 CFU·g⁻¹接菌浓度土壤为对照,培养5天后采集根部和叶片样品进行转录组测序,分析差异表达基因。结果表明,在叶片与根部中分别筛选出284个与2个潜在的抗病基因。对其进行GO与KEGG分析发现,苯丙烷生物合成是嫁接冬瓜叶片与根部共有的代谢通路;利用DRAGO3对潜在抗病基因进行结构域预测,预测出16个与植物抗病相关的基因,主要与模式触发免疫(pattern-triggered immunity, PTI)途径有关;对叶片与根部中所有转录组序列进行转录因子(Transcription factor, TF)分析,分别鉴定出2828个和5426个差异表达TFs,其中,共有的大量转录因子集中在MYB、bHLH、ERF与NAC等转录因子家族上。综上可推测,苯丙烷生物合成、MYB、bHLH、ERF与NAC等转录因子在防御尖孢镰刀菌侵染上发挥重要作用。

关键词: 冬瓜; 南瓜; 嫁接; 尖孢镰刀菌; 转录组测序

中图分类号: S642.1; S642.3

文献标志码: A

文章编号: 1674-7054(2025)06-0829-13

吴昊龙, 符厚隆, 符君玉, 等. 南瓜嫁接提高冬瓜枯萎病抗性的转录组分析[J]. 热带生物学报, 2025, 16(6): 829-841. doi: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20250040

冬瓜(*Benincasa hispida*(Thunb.)Cogn.)是葫芦科(Cucurbitaceae)冬瓜属(*Benincasa* Savi)一年生蔓性草本植物^[1]。中国冬瓜种植面积常年维持在 33×10^4 hm²以上^[2]。近几年,由于复种指数的提高和冬瓜品种的单一化趋势,冬瓜土传病害的发生越来越严重和频繁,其中,冬瓜枯萎病发病较为严重^[3],该病发病轻时减产20%~30%,重时减产在60%以上^[4]。因此,防治枯萎病已经成为保证冬瓜产业健康可持续发展的关键。

冬瓜枯萎病的发生涉及病原菌、寄主和环境条件三者的相互作用。枯萎病致病菌一旦在土壤中成功繁殖几乎不可能根除^[5],因此防治难度极大。嫁接是防治冬瓜枯萎病的有效措施之一。本课题

组前期研究发现‘海砧1号’南瓜(*Cucurbita* spp.)具有高抗枯萎病特性^[6],用其做砧木的嫁接冬瓜也具有高抗枯萎病特性,病情指数为0^[7],且产量^[8]、氮吸收效率^[9]比传统黑籽南瓜砧木嫁接的冬瓜更佳。课题组前期分别从化感作用和生理生化的角度研究了该砧木嫁接提高冬瓜枯萎病抗性的原因^[6,10-11],但枯萎病抗性提高的分子机制目前还不清楚。

植物对病原物侵染的抗性是一系列基因活化和表达的结果。在寄主-病原菌互作中,通过识别、信号传递和诱导植物防卫反应基因的表达,使植物抗病性得到表现。转录组测序技术是挖掘植物抗逆基因、揭示植物分子抗性机制的有效手段

收稿日期: 2025-03-03

修回日期: 2025-04-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(32260752); 海南省重大科技计划项目(ZDKJ2021005)

*第一作者: 吴昊龙(2000—),男,海南大学热带农林学院2023级硕士研究生。E-mail: 2446513987@qq.com

*通信作者: 刘子凡(1975—),男,博士,教授。研究方向: 热带作物高效栽培。E-mail: 990788@hainanu.edu.cn

之一。为此,本研究以嫁接冬瓜为研究对象,以自接冬瓜与自接南瓜为对照,通过转录组测序技术分析其幼苗根部和叶片中基因表达的变化,挖掘差异抗病相关基因,为解析南瓜嫁接提高冬瓜枯萎病抗性的分子机制,同时为冬瓜新品种的选育提供理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 嫁接苗的培育 冬瓜品种选用海南主栽品种‘铁柱 2 号’,南瓜品种选用‘海砧 1 号’,由海南农业科学院蔬菜研究所提供。

育苗地点设在海南省农业科学院澄迈基地。2023 年 5 月 24 日浸种冬瓜种子用于培养自接冬瓜的砧木,6 月 2 日浸种冬瓜种子用于培养自接冬瓜和嫁接冬瓜的接穗,6 月 6 日浸种南瓜种子用于培养自接南瓜和嫁接冬瓜的砧木,6 月 9 日浸种南瓜种子用于培养自接南瓜的接穗。浸种时间均为 12 h,砧木种子露白长度达到种子本身 1/2 播于 60 孔穴盘,接穗种子露白长度达到种子本身 1/2 播于托盘中。待接穗长至两片子叶平展,砧木第一片真叶成梭状时采用插接法嫁接与自接^[12],得到嫁接冬瓜、自接冬瓜和自接南瓜 3 种幼苗,分别用 GW、SW 和 SP 表示。将 3 种幼苗培养至两叶一心期备用。

1.2 孢子悬浮液的制备 实验菌种由广西农业科学院蔬菜研究所提供。该菌种为尖孢镰刀菌冬瓜专化型(*Fusarium oxysporum* Schl. F. sp. *benincasae*)生理小种 1 号(后用 FOB 表示),从冬瓜‘铁柱 2 号’中分离获得。

参照 ATTIA 等^[13]方法制备 PDA 培养基,参照 WESTPHAL 等^[14]方法制备 PDB 培养基。FOB 于 PDA 培养基中培养 7 d 后,挑取菌丝转至 PDB 培养基,置 25 °C、150 r·min⁻¹ 转速的恒温振荡器培养 3 d,脱脂棉过滤得到孢子悬浮液,测定得到孢子浓度为 2.75×10⁷ CFU·g⁻¹,按 1:4 的比例稀释孢子悬浮液得稀释液,备用。

1.3 接菌土壤的制备 土壤采自澄迈县瑞溪镇罗浮村,基本理化性质为:pH 5.94、有机质 5.1 g·kg⁻¹、碱解氮 28.1 mg·kg⁻¹、速效磷 103.3 mg·kg⁻¹ 与速效钾 129.6 mg·kg⁻¹。拣出实验土壤中的杂物,过 0.18 mm 筛,灭菌 3 次,每次 2 h,风干后得灭菌土壤,备用^[15]。

将孢子稀释液和水分别按土壤:液体=6 g:1 mL 混合拌匀,得接菌土壤。测土壤 FOB 浓度,为 8.0×10⁵ 和 0 CFU·g⁻¹(用 F 和 0 表示)。装接菌土壤,每钵 120 g,备用。

1.4 实验设计 实验设 3 类幼苗,分别为 GW、SW 与 SP,2 种浓度接菌土壤,分别为 F 和 0。选长势一致的 3 种幼苗,清洗根系后,定植在装有接菌土壤的方形塑料钵中,每钵 1 株。6 种接菌处理的幼苗分别用 GWF、GW0、SWF、SW0、SPF、SP0 表示。GWF、SWF 和 SPF 处理幼苗各 25 株,GW0、SW0 和 SP0 处理幼苗各 10 株。

定植后将幼苗置于光照培养箱培养,培养条件:光照周期 L:D=12h:12h,温度 26 °C/21 °C(昼/夜),光强为 2 000 Lux,培养前 2 d 无需浇水,后每 2 d 补充植株所蒸发的水分,实验过程中不施肥。

1.5 送测样本的采集与送检 课题组前期通过不同浓度病菌的接菌实验发现,接菌土壤 FOB 浓度为 2.8×10⁶ CFU·g⁻¹ 时,自接冬瓜幼苗第 6 d 开始出现枯萎症状,接菌土壤 FOB 浓度为 8.0×10⁵ CFU·g⁻¹ 时,第 10 d 开始出现枯萎症状,而嫁接冬瓜均未出现枯萎症状^[11],故本研究选择病菌入侵阶段(第 5 d)开展幼苗根系与叶片的转录组分析。

培养 5 d 后对 GWF、GW0、SWF 和 SW0 幼苗叶片(分别用 GWFL、GWL、SWFL 和 SWL 表示)和 GWF、GW0、SPF 和 SP0 幼苗根部(分别用 GWFR、GWR、SPFR 和 SPR 表示)进行采样,样本均设 4 个重复,每组 4 个生物学重复命名为 1、2、3、4。先用自来水冲洗第 3~4 片叶片的正反面(根部用自来水冲洗根部表面),再用去离子水再次冲洗,立即用滤纸吸干残留的水分。用灭菌后的剪刀剪下叶片或根部后置于锡箔纸中,去除叶片主脉后剪碎(根部首尾各 1 cm,将中间根部剪碎),置于 2 mL 冻存管中,立即于液氮中速冻,后转到 -80 °C 超低温冰箱中保存,随后立即将样品交由上海美吉生物医药科技有限公司完成 RNA-seq 测序工作。

1.6 数据过滤与比对 使用 fastp v 0.19.5 软件(<https://github.com/OpenGene/fastp>)对原始数据进行过滤,过滤掉带接头、首尾端低质量、碱基 N 含量过高的序列,舍弃去 adapter 及质量修剪后长度小于 30 bp 的序列,从而得到高质量的测序数据(clean data)以保证后续分析的顺利进行。

使用 HiSat2v2.1.0 软件 (<http://ccb.jhu.edu/software/hisat2/index.shtml>) 将质控后的 clean data (reads), 与参考基因组比对获得用于后续转录本组装、表达量计算等的 mapped data (reads), 叶片参考基因组来源: *Benincasa_hispida* (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_009727055.1/), 根系参考基因组来源: *Cucurbita_moschata* (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_002738365.1/), 同时对该次转录组测序的比对结果进行质量评估, 主要包括测序饱和度、基因覆盖度、Reads 在参考基因组不同区域分布以及 Reads 在不同染色体分布分析。

1.7 差异表达基因筛选 获得基因的 Read Counts 数后, 使用 DESeq2 v 1.10.1 软件 (<http://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/DESeq2.html>) 进行样本间基因的表达差异分析, 将 $|\log_2FC| \geq 1$ 且 FDR (False Discovery Rate) < 0.05 的基因定义为差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs)。

1.8 GO 功能注释和 KEGG 代谢通路富集分析及植物抗病基因 (R 基因) 筛选 利用 GO 数据库, 将基因按照生物学过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF) 进行分类, 对差异表达基因的主要功能进行 GO 注释。

利用 KEGG 数据库, 将基因按照 pathway 通路或行使的功能进行分类, 对差异表达基因进行 KEGG 注释。

利用植物抗性基因数据库 (PRGdb; <http://prgdb.org/prgdb4/>), 将差异表达基因的蛋白序列提交到 DRAGO 3 工具中预测 R 基因的类别及结构域, 进一步筛选抗病基因。

此外, GO 功能富集和 KEGG 功能富集分析分别通过软件 Goatools v 0.6.5 (<https://git-hub.com/tanghaibao/GOatool>) 和 Python scipy (<https://scipy.org/install/>) 进行, 使用 4 种多重检验方法 (BH, BY, holm 和 bonferroni) 对 p 值进行了校正, 当 p 值 ≤ 0.05 时, 认为 GO 与 KEGG 功能存在显著富集情况。

1.9 实时荧光定量 PCR 验证 选取叶片 4 个、根部 2 个差异表达基因进行实时荧光定量 PCR, 验证转录组结果的准确性。

以 F-box protein 基因作为叶片的内参基因^[16], 以 Actin 基因作为根部的内参基因^[17] 进行 qRT-PCR 反应。实验设 3 个重复, 使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算样本基因相对表达量, 使用 Origin 2024 软件进行绘图。利用 NCBI 中的 Pick Primers 设计引物 (表 1), 使用 Blast 进行引物特异性检验, 将设计好的引物交由擎科生物科技有限公司海南分公司合成。

表 1 叶片和根部基因 qRT-PCR 引物

Tab. 1 qRT-PCR primers for leaf and root genes

部位 Tissue	基因 Gene	上游引物序列 Forward primer sequence (5'→3')	下游引物序列 Reverse primer sequence (5'→3')
叶片 Leaf	LOC120076313	CGCTTGTAGCACAGCGAAAG	TCGATTATCTTGGGCGGGAC
	LOC120067870	TGCAGACGGCATAGACAGTG	TGCTATTCGGCCGTCTCTTC
	LOC120086723	TCACTGCTGATCCCCGAAAC	GAAACTCAATGCTCGCCACC
	LOC120075868	GAAACGCATCTGGAAGTGCC	ACGTAGGGTCTGCTCATCA
	F-box protein	CAAACCTCCCAATGCTCAGT	CAAACAAGACCACCAGATGAAC
根部 Root	LOC111431282	AACACCAAGCCAAGCTCGGAA	AGAGGTTGCCGAAGGAGTTC
	LOC111434154	AGATGACCCGGAAGCCTTTG	GTTGACTGGGTCAGCAAGGT
	Actin	AGCCATCTCTCATCGGTAT	CATGGTTGAACCACCACTG

2 结果与分析

2.1 测序数据统计与参考基因组对比 16 个叶片样品测序共获得原始序列 700 019 546 条, 原始数据经过滤后获得高质量的 reads 数共 649 983 334 条, 共获得 103.28 Gb Clean Data, 各样品 Clean Data

均达到 6.04 Gb 以上。Q20 碱基百分比含量的平均值为 97.73%, Q30 碱基百分比含量的平均值为 95.88%, GC 含量的平均值为 45.89% (表 2)。16 个根部样品测序共获得原始序列 796 045 970 条, 原始数据经过滤后获得高质量的 reads 数共 788 820 340 条, 共获得 118.44 Gb Clean Data, 各样品 Clean Data

均达到 6.29 Gb 以上。Q20 碱基百分比含量的平均 93.75%, GC 含量的平均值为 45.93% (表 3), 说明
值为 97.90%, Q30 碱基百分比含量的平均值为 文库构建质量较高, 可满足下一步的数据分析。

表 2 叶片测序数据统计表

Tab. 2 Statistical table of leaf sequencing data

处理 Treatment	生物学重复 Biological repeat	高质量测序读段 Clean reads	高质量碱基数 Clean bases	错误率 Error rate/%	Q20/% Q20/%	Q30/% Q30/%	GC含量 GC content/%
SWFL	1	43 179 818	6 458 447 311	0.0253	97.30	95.21	46.33
	2	42 651 922	6 376 573 009	0.0245	97.70	95.82	45.16
	3	42 875 394	6 406 161 037	0.0249	97.50	95.51	45.24
	4	45 009 320	6 752 776 974	0.0263	96.83	94.48	45.98
GWFL	1	43 320 074	6 459 906 009	0.0241	97.92	96.16	45.05
	2	43 053 652	6 427 466 383	0.0241	97.92	96.15	44.86
	3	42 666 922	6 322 273 436	0.0241	97.91	96.17	45.65
	4	42 812 064	6 373 731 835	0.0241	97.91	96.18	45.34
SWL	1	42 549 842	6 340 332 373	0.0241	97.91	96.16	45.45
	2	43 429 956	6 458 514 075	0.0241	97.91	96.19	45.85
	3	47 369 184	7 007 856 484	0.0239	97.98	96.35	45.87
	4	43 195 524	6 390 480 048	0.0247	97.58	95.76	46.07
GWL	1	49 023 592	7 288 104 998	0.0243	97.83	96.02	46.81
	2	40 544 988	6 041 735 660	0.0244	97.8	95.94	46.68
	3	40 588 474	6 060 309 165	0.0243	97.84	96.02	47.10
	4	41 032 682	6 117 046 724	0.0244	97.80	95.92	46.78

表 3 根部测序数据统计表

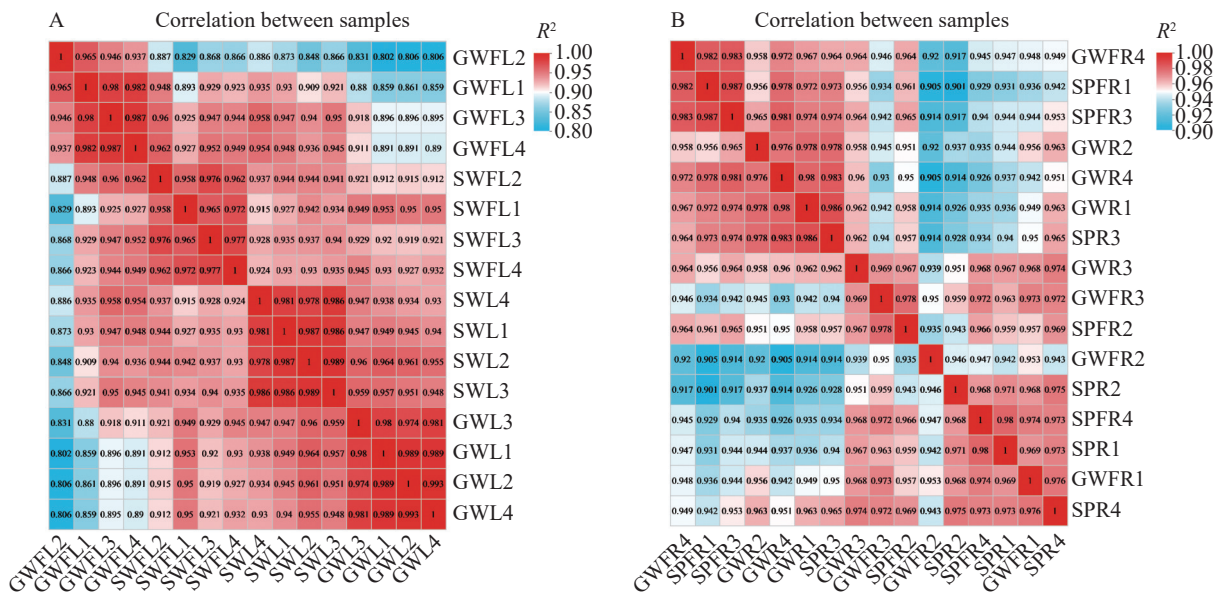
Tab. 3 Statistical table of root sequencing data

处理 Treatment	生物学重复 Biological repeat	高质量测序读段 Clean reads	高质量碱基数 Clean bases	错误率 Error rate/%	Q20/% Q20/%	Q30/% Q30/%	GC含量 GC content/%
SPFR	1	55 068 966	8 274 790 336	0.0253	97.95	93.88	46.00
	2	41 816 552	6 288 523 427	0.0250	98.05	94.16	45.84
	3	56 613 890	8 512 784 710	0.0252	98.00	93.97	45.69
	4	53 390 314	8 004 266 521	0.0254	97.91	93.79	45.94
GWFR	1	49 987 502	7 494 885 674	0.0250	98.03	94.1	45.93
	2	45 607 438	6 842 619 711	0.0251	97.99	94.01	46.14
	3	42 957 918	6 456 667 868	0.0253	97.92	93.84	46.02
	4	51 699 286	7 766 345 815	0.0256	97.83	93.57	45.95
SPR	1	47 556 512	7 125 387 830	0.0250	98.03	94.09	46.07
	2	48 154 996	7 207 863 128	0.0260	97.64	93.17	45.96
	3	53 055 568	7 969 322 838	0.0256	97.83	93.57	45.94
	4	52 423 320	7 867 678 851	0.0255	97.86	93.70	45.87
GWR	1	50 296 086	7 558 923 882	0.0256	97.81	93.51	45.69
	2	46 241 656	6 952 236 167	0.0257	97.76	93.42	45.92
	3	45 286 002	6 803 395 798	0.0256	97.82	93.55	45.98
	4	48 664 334	7 309 752 018	0.0254	97.90	93.71	45.93

将叶片组织样品比对到冬瓜参考基因组后, 利 的参考基因组进行序列比对, 比对率从 96.65% 到
用 HiSat2 软件分别将各样品的 Clean Reads 与指定 97.64% 不等。该比对率较高, 可以保证后续分析的

准确性。与参考基因组相比,最终鉴定到表达基因共 22 808 个,其中已知基因有 21 121 个,新基因 1 687 个。将根部组织样品比对到南瓜参考基因组后,利用 HiSat2 软件分别将各样品的 Clean Reads 与指定的参考基因组进行序列比对,比对率从 72.43% 到 86.66% 不等。该比对率较高,可以保证后续分析的准确性。与参考基因组相比,最终鉴定得到表达基因共 29 436 个,其中已知基因 28 566 个,新基因 870 个。

2.2 叶片与根部的样品相关性分析 为了检验样本的合理性,分别对叶片与根部各样品间所有基因表达量进行相关性分析。如图 1 所示,叶片生物学重复样品间 Pearson 相关系数的平方值(R^2)均在 0.8 以上(图 1-A),根部生物学重复样品间 Pearson 相关系数的平方值(R^2)均在 0.9 以上(图 1-B),说明二者样品之间生物学重复性良好,可以满足后续分析工作。



A. 叶片; B. 根部。

A. leaf; B. root.

图 1 叶片和根部样品相关性热图

Fig. 1 Sample correlation heat map of leaf and root

2.3 叶片和根部的差异表达基因鉴定 将 $|\log_2FC| \geq 1$ 且 $FDR < 0.05$ 的基因定义为差异表达基因。在叶片中, GWFL vs SWFL 组共鉴定出 4 310 个 DEGs, 其中包含 1 956 个上调 DEGs 和 2 354 个下调 DEGs; GWFL vs GWL 组共鉴定出 6 808 个 DEGs, 其中包含 3 130 个上调 DEGs 和 3 678 个下调 DEGs; SWFL vs SWL 组共鉴定出 3 759 个 DEGs, 其中,包含 2 290 个上调 DEGs 和 1 469 个下调 DEGs。在根部当中, GWFR vs SPFR 组共鉴定出 56 个 DEGs, 其中包含 49 个上调 DEGs 和 7 个下调 DEGs; GWFR vs GWR 组共鉴定出 803 个 DEGs, 其中包含 403 个上调 DEGs 和 401 个下调 DEGs; SPFR vs SPR 组共鉴定出 242 个 DEGs, 其中包含 115 个上调 DEGs 和 127 个下调 DEGs。

为进一步筛选关键抗枯萎病基因,本研究将

接菌后在嫁接冬瓜中上调且在自接冬瓜或南瓜中下调的差异表达基因定义为潜在抗病基因^[18], 并对其进一步分析。对叶片 GWFL vs GWL 组的 3 130 个上调 DEGs、GWFL vs SWFL 组的 1 956 个上调 DEGs 与 SWFL vs SWL 组的 1 469 个下调 DEGs 进行 Venn 分析, 筛选出 284 个叶片潜在抗病基因(图 2-A)。对根部 GWFR vs SPFR 组的 49 个上调 DEGs、GWFR vs GWR 组的 402 个上调 DEGs 与 SPFR vs SPR 组的 127 个下调 DEGs 进行 Venn 分析, 筛选出 2 个根部潜在抗病基因(图 2-B)。

2.4 潜在抗病基因 GO 分析 对所筛选出来的 284 个叶片关键抗病基因进行 GO 功能分析, 在生物过程中, 叶片的关键抗病基因主要富集在细胞过程、代谢过程与生物调节; 在细胞组分中, 叶片

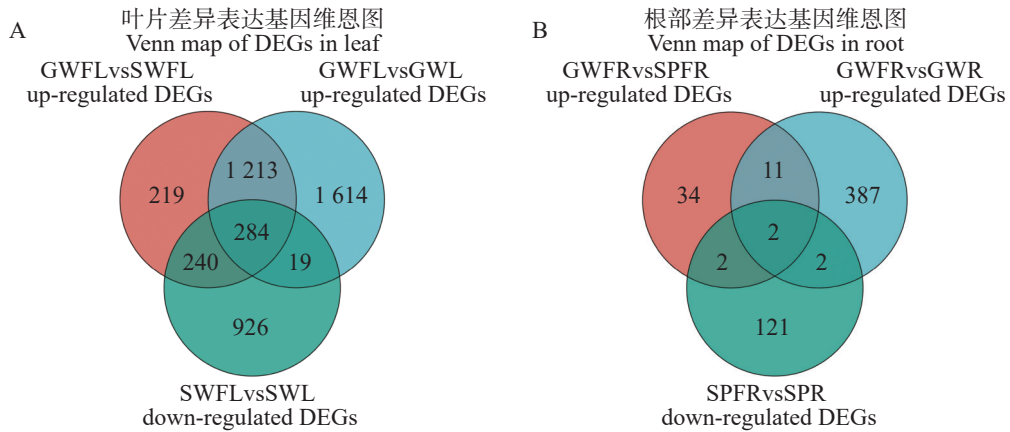


图 2 叶片和根部差异表达基因维恩图
Fig. 2 Venn map of DEGs in leaf and root

的关键抗病基因主要富集在细胞组分、膜组分和细胞器;在分子功能中,叶片的关键抗病基因主要富集在催化活性与结合(图 3-A)。

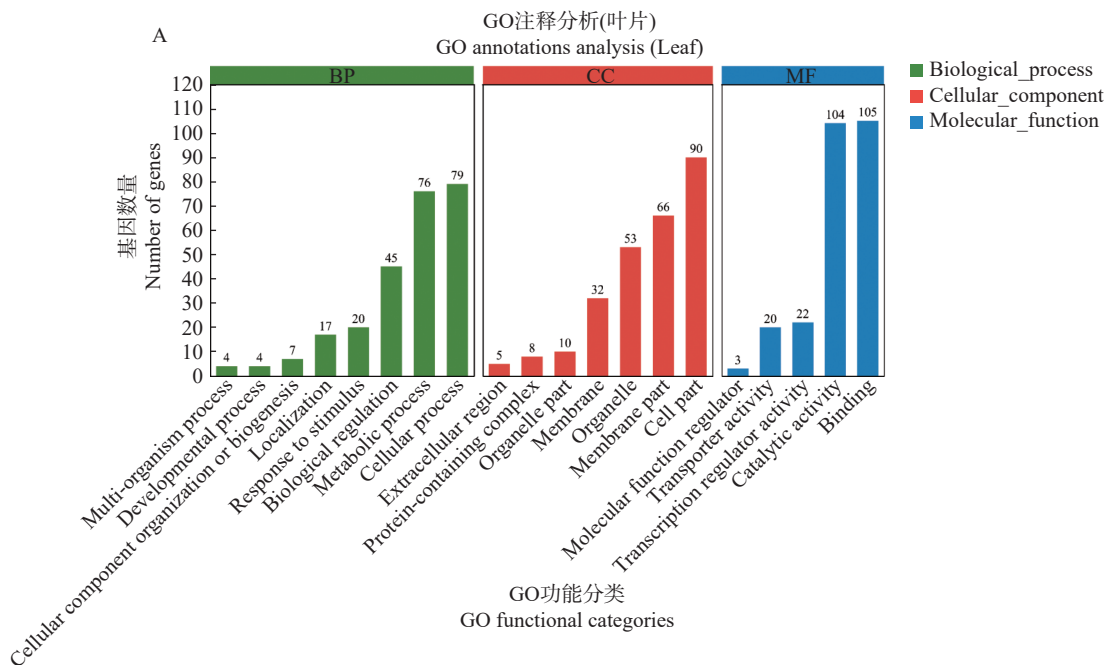
同时对所筛选出来的 2 个根部关键抗病基因进行 GO 功能分析,在生物过程中,根部的关键抗病基因主要富集在代谢过程、细胞过程和应激反应;在细胞组分中,根部的关键抗病基因主要富集在含蛋白质复合物、膜组分、细胞器组分、细胞膜和细胞组分;在分子功能中,根部的关键抗病基因主要富集在催化活性与结合(图 3-B)。

2.5 潜在抗病基因的 KEGG 富集分析 叶片关键抗病基因在丙氨酸、天门冬氨酸和谷氨酸代谢(alanine, aspartate and glutamate metabolism)、苯丙烷生物合成(phenylpropanoid biosynthesis)、角质、

亚蜡和蜡的生物合成(cutin, suberine and wax biosynthesis)与氮代谢(nitrogen metabolism)等通路显著富集(图 4-A)。

根部的关键抗病基因在芪类、二芳基庚烷类和姜酚生物合成(stilbenoid, diarylheptanoid and gingerol biosynthesis)、光合作用天线蛋白(photosynthesis-antenna proteins)、类黄酮生物合成(flavonoid biosynthesis)与苯丙烷生物合成(phenylpropanoid biosynthesis)等通路显著富集(图 4-B)。

叶片中丙氨酸、天门冬氨酸和谷氨酸代谢(alanine, aspartate and glutamate metabolism)通路涉及 3 个基因,分别是 LOC120076313、LOC120089431 与 LOC120083554。苯丙烷生物



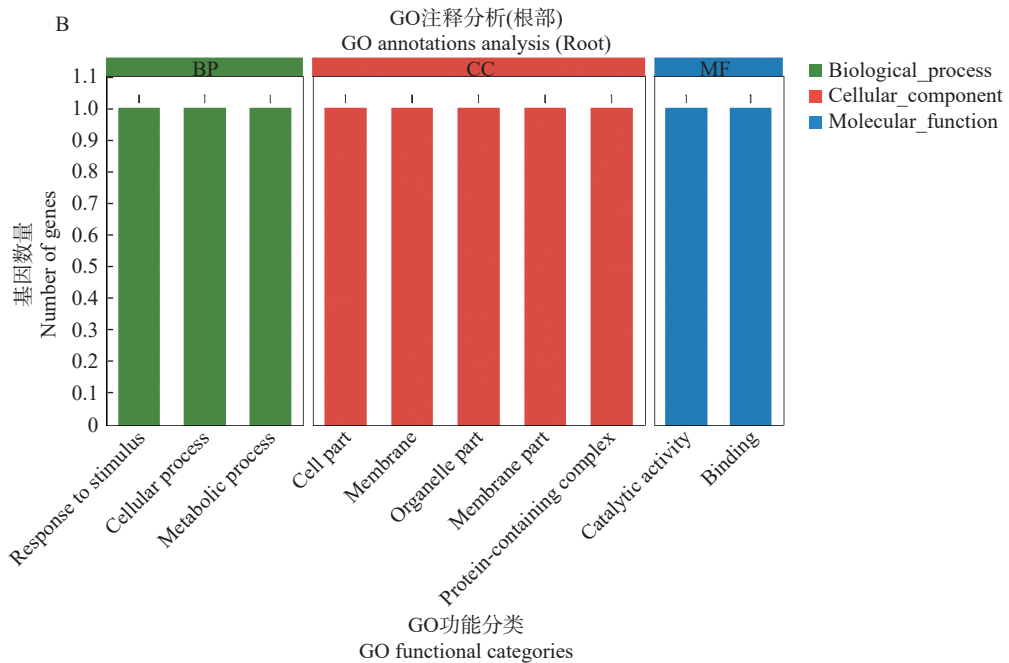


图 3 叶片和根部潜在抗病基因的 GO 功能分类

Fig. 3 GO functional classification of potential disease resistance genes in leaf and root

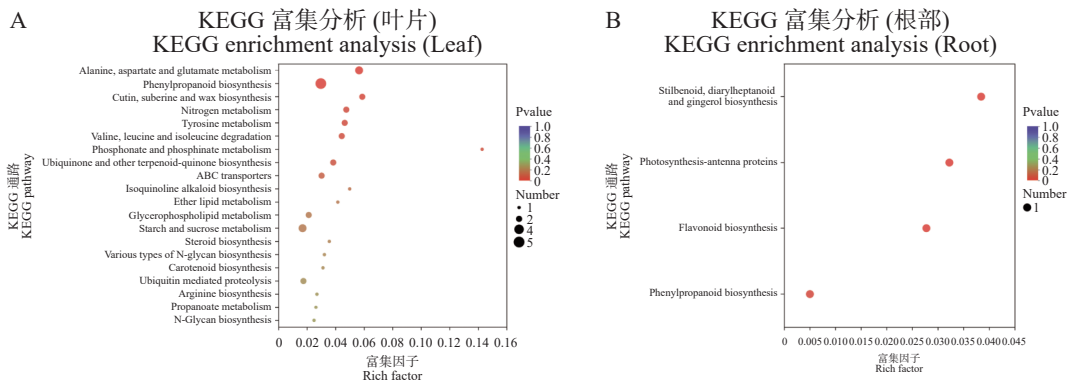


图 4 叶片和根部潜在抗病基因的 KEGG 富集分析

Fig. 4 KEGG enrichment analysis of potential disease resistance genes in leaf and root

合成(phenylpropanoid biosynthesis)涉及 5 个基因, 分别是 LOC120067870、LOC120073918、LOC120081818、LOC120085310 与 LOC120091171。角质、亚蜡和蜡生物合成(cutin, suberine and wax biosynthesis)涉及 2 个基因, 分别是 LOC120086723 与 LOC120071639。氮代谢(nitrogen metabolism)也涉及 2 个基因, 分别为 LOC120074685 与 LOC120075868(表 4)。

根部中芪类、二芳基庚烷类和姜酚生物合成(stilbenoid, diarylheptanoid and gingerol biosynthesis)、光合作用天线蛋白(photosynthesis-antenna proteins)、类黄酮生物合成(flavonoid biosynthesis)与苯丙烷生物合成(phenylpropanoid biosynthesis)等通路均涉及 1 个基因 LOC111431282, 光合作用天线蛋白(photosynthesis-

antenna proteins)涉及 1 个基因 LOC111434154 (表 5)。因此推测 LOC111431282 基因可能在抵御尖孢镰刀菌侵染中发挥重要的作用。

从 KEGG 富集分析可知, 苯丙烷生物合成是冬瓜叶片与南瓜根部共有的富集代谢通路。因此对苯丙烷生物合成进行代谢通路分析(ko00904)。该通路以苯丙氨酸为底物, 经过苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)催化作用变成肉桂酸(cinnamic acid), 而后经过 3 条不同的代谢通路形成对-羟基苯基木质素(p-hydroxyphenyl lignin, H 木质素)、愈创木基木质素(guaiacyl lignin, G 木质素)和紫丁香基木质素(syringyl lignin, S 木质素)3 种不同的木质素(图 5)。

2.6 潜在抗病基因蛋白结构域预测 分别对嫁接冬瓜叶片 284 个及根部 2 个潜在抗病基因进行蛋

表 4 叶片 KEGG 富集分析详情表

Tab. 4 Detailed table of leaf KEGG enrichment analysis

代谢通路描述 Pathway description	通路编号 Pathway ID	基因数量 Gene number	基因 Gene	基因功能描述 Gene description
丙氨酸、天门冬氨酸和谷氨酸代谢 Alanine, aspartate and glutamate metabolism	map00250	3	LOC120076313	Asparagine synthetase [glutamine-hydrolyzing] 1-like
			LOC120089431	Asparagine synthetase [glutamine-hydrolyzing] 1-like, transcript variant X1
			LOC120083554	Probable aldehyde dehydrogenase, transcript variant X1
			LOC120067870	Peroxidase 2-like
			LOC120073918	Berberine bridge enzyme-like 15
苯丙烷生物合成 Phenylpropanoid biosynthesis	map00940	5	LOC120081818	Peroxidase 11, transcript variant X1
			LOC120085310	4-coumarate--CoA ligase 2-like
			LOC120091171	Caffeoylshikimate esterase-like, transcript variant X1
			LOC120086723	Omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase-like
角质、亚蜡和蜡生物合成 Cutin, suberine and wax biosynthesis	map00073	2	LOC120071639	Cytochrome P450 86B1-like
			LOC120074685	Uncharacterized LOC120074685
氮代谢 Nitrogen metabolism	map00910	2	LOC120075868	Beta carbonic anhydrase 5, chloroplastic-like, transcript variant X1

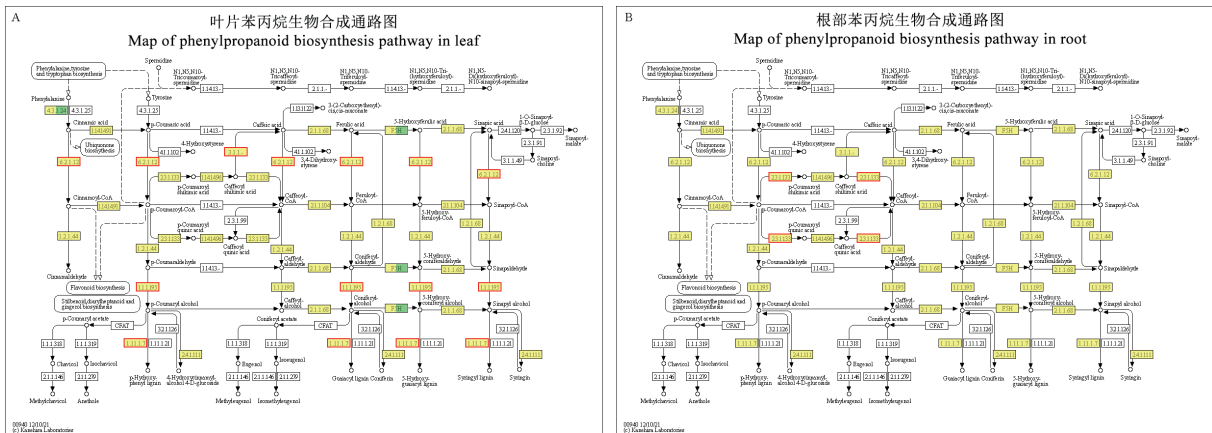
表 5 根部 KEGG 富集分析详情表

Tab. 5 Detailed table of root KEGG enrichment analysis

代谢通路描述 Pathway description	通路编号 Pathway ID	基因数量 Gene number	基因 Gene	基因功能描述 Gene description
芪类、二芳基庚烷类和姜酚生物合成 Stilbenoid, diarylheptan-oid and gingerol biosynthesis	map00945	1	LOC111431282	Vinorine synthase-like
光合作用天线蛋白 Photosynthesis-antenna proteins	map00196	1	LOC111434154	Chlorophyll a-b binding protein of LHCII type 1-like
类黄酮生物合成 Flavonoid biosynthesis	map00941	1	LOC111431282	Vinorine synthase-like
苯丙烷生物合成 Phenylpropanoid biosynthesis	map00940	1	LOC111431282	Vinorine synthase-like

白序列提取, 利用 PRGdb 网站的 DRAGO 3 工具对蛋白结构域进行预测。在叶片 284 个潜在抗病基因中, 共预测到 16 个与 R 基因结构域相关的基

因, 根据其不同的结构域主要分为 7 类, 分别为 CK、CL、KIN、LECRK、N、RLP、TRAM(表 6), 而根部 2 个潜在抗病基因没有预测到与 R 基因相



红色方框: 上调基因; 黄色方框: 已知基因; 黄绿方框: 已知基因+新基因

Red boxes: Up-regulated genes; yellow boxes: Known genes; Yellow-green boxes: Known genes + new genes

图 5 叶片和根部苯丙烷生物合成通路图

Fig. 5 Map of phenylpropanoid biosynthesis pathway in leaf and root

表 6 叶片潜在抗病基因蛋白结构域预测

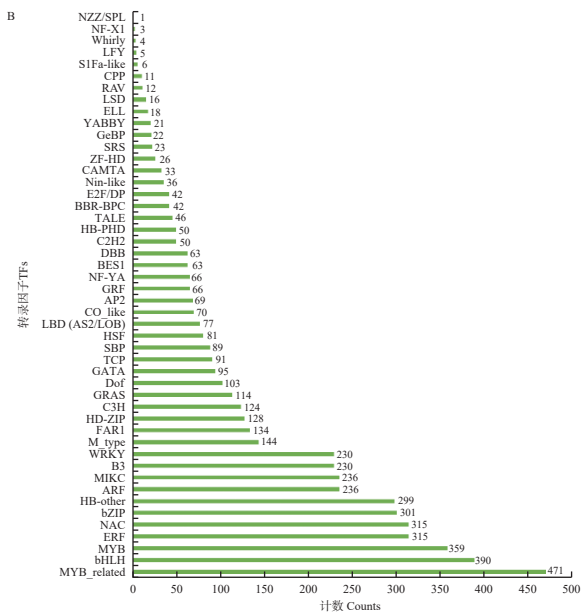
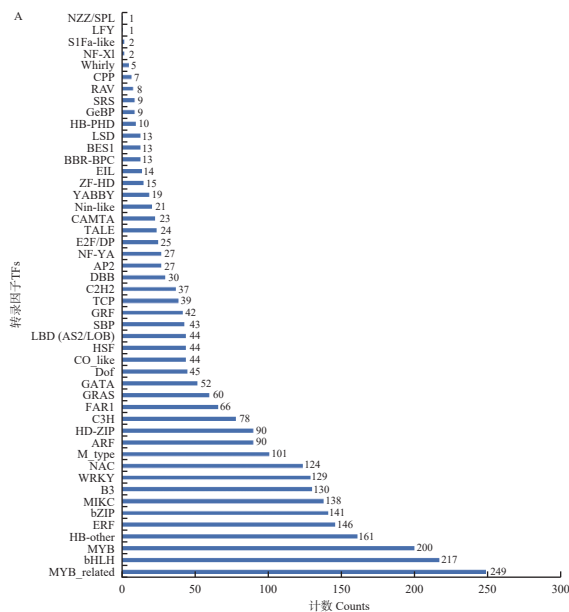
Tab. 6 Prediction of protein domain of potential disease resistance genes in leaves

基因 Gene	分类 Class	结构域 Domain	基因功能描述 Description
LOC120087570	CK	CC, TM, Kinase	Contains a coiled-coil domain(CC), a transmembrane domain(TM) and a kinase domain
LOC120090355	CL	CC, LRR, TM	Contains a coiled-coil domain, a leucine-rich repeat domain(LRR) and a kinase domain(Kinase)
LOC120076759	KIN	TM, Kinase	
LOC120083806	KIN	TM, Kinase	
LOC120082723	KIN	TM, Kinase	
LOC120088593	KIN	TM, Kinase	Contains a transmembrane domain and a kinase domain
LOC120089817	KIN	TM, Kinase	
LOC120092573	KIN	TM, Kinase	
LOC120072525	KIN	TM, Kinase	
LOC120090305	LECRK	LECM, TM, Kinase	Lectin-receptor kinase, contains a lectin-like motifs(LECM) instead of LRR, a transmembrane domain and a kinase domain
LOC120090267	LECRK	LECM, TM, Kinase	
LOC120090948	N	NBS, TM	Contains a nucleotide-binding site domain(NBS) domain and a transmembrane domain
LOC120085520	N	NBS, TM	
LOC120072345	RLP	LRR, TM	Receptor like proteins, contains a leucine-rich repeat domain and a kinase domain
LOC120085476	RLP	LRR, TM	
LOC120085949	TRAM	TM	Contains a transmembrane domain only

关的结构域。

2.7 尖孢镰刀菌感染下转录因子的分析 对叶片所有转录组序列进行 TFs 分析, 共鉴定出 2 828 个差异表达的 TFs, 这些 TFs 属于 48 个基因家族, 主要包括 MYB_related、bHLH、MYB、HB-other、ERF、

bZIP、MIKC、B3、WRKY、NAC 与 M_type 等 (图 6-A)。对根部所有转录组序列进行 TFs 分析, 共鉴定出 5 426 个差异表达的 TFs, 这些 TFs 也属于 48 个基因家族, 主要包括 MYB_related、bHLH、MYB、ERF、NAC、bZIP、HB-other、ARF、



A. 叶片; B. 根部。

A. leaf; B. root.

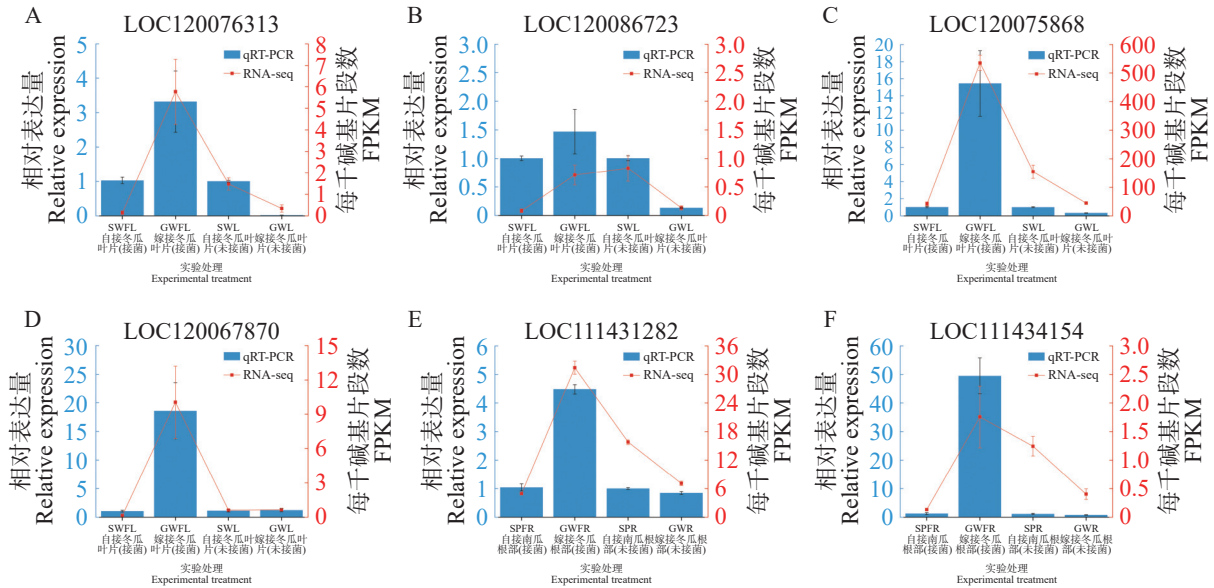
图 6 叶片和根部尖孢镰刀菌感染下响应的 TFs

Fig. 6 TFs in response to *Fusarium oxysporum* infection in leaf and root

MIKC、B3、WRKY、M_type、FAR1、HD-ZIP、C3H、GRAS 与 Dof 等(图 6-B)。

叶片与根部共有的基因家族有 MYB_related、bHLH、MYB、ERF、NAC、bZIP、HB-other、MIKC、B3、WRKY 与 M_type。这些转录因子(TFs)调控不同靶基因的表达,可能参与抵抗病原菌入侵反应,在抵御冬瓜枯萎病菌侵染中起着重要作用。

2.8 基因表达水平一致性验证 分别选取叶片 4 个 DEGs 与根部 2 个 DEGs 进行 qRT-PCR 以验证转录组结果的准确性。结果表明,除冬瓜叶片 LOC120086723 基因的相对表达量在某些处理间的变化趋势与 RNA-seq 结果有出入外,其他的冬瓜叶片 3 个 DEGs 与南瓜根部 2 个 DEGs 的相对表达量表现与其对应的 RNA-seq 结果一致(图 7),说明本研究转录组测序的结果可靠。



A-D. 冬瓜叶片; E-F. 南瓜根部。

A-D. wax gourd leaves; E-F. pumpkin roots.

图 7 冬瓜叶片 4 个基因和南瓜根部 2 个基因荧光定量实验结果

Fig. 7 qRT-PCR verification of 4 genes from wax gourd in leaves and 2 genes from pumpkin in roots

3 讨论

本研究将在嫁接冬瓜中上调且在自接冬瓜中下调的差异表达基因定义为潜在抗病基因,分别在叶片与根部中筛选出 284 个和 2 个潜在抗病基因。对叶片与根部的潜在抗病基因进行 GO 与 KEGG 分析,发现苯丙烷生物合成是嫁接冬瓜叶片与根部共有的代谢通路。苯丙烷代谢的限速酶是 PAL,它是连接植物新陈代谢中初生代谢和次生代谢的桥梁,在植物木质素、类黄酮、香豆酸酯类等次生代谢物的形成过程以及植物的抗逆调控中发挥重要作用^[19]。因此,推测该代谢通路可能在防御尖孢镰刀菌侵染中扮演着重要角色。

转录因子在植物抗病中起着重要的调控作用。逆境胁迫下,转录因子可与结构基因上游启动子序列中的顺式作用元件特异性结合,激活或抑制特定抗病基因的表达,从而影响植物对病原体的

抗性^[20]。本研究发现,在病原菌侵染后,叶片与根部大量转录因子集中在 MYB、bHLH、ERF 与 NAC 等转录因子家族上,MYB、NAC、bHLH、ERF、bZIP 等转录因子家族在植物抗病过程中发挥重要作用^[21-23]。MYB 转录因子几乎参与植株生理的各个活动过程,在植株抗逆,尤其是抗病中发挥重要作用^[24-25];NAC 转录因子也被发现参与植物抗病^[26-27],且在次生壁的合成中发挥着重要的调控作用^[28]。研究发现转录因子 MYB 与 NAC 通过结合 *PAL1*、*CAH*、*4CL1*、*C3'H1*、*HCT*、*CCoAOMT*、*CCR1*、*F5H1* 与 *CAD6* 等关键酶基因启动子中的 AC 元件,激活其表达并调控木质素合成^[29]。本课题组前期研究发现,随着处理时间的延长,病原菌侵染下嫁接冬瓜的木质素含量呈现逐渐上升的趋势^[11],结合本研究推测,可能是由于大量的转录因子 MYB 与 NAC 结合了木质素关键酶基因的启动子中的 AC 元件,从而促进了木质素的持续合成。木

质素的合成沉积有利于细胞壁形成更加坚硬与牢固的物理屏障, 从而减少病原菌的侵染扩散^[11]。

bHLH 基因家族是植物中第二大类转录因子家族, 广泛参与植物生长发育、信号传导、代谢及逆境胁迫等过程^[30-31]。bHLH 转录因子在抵御各种细菌性与真菌性病害侵染上扮演重要角色^[32]。南瓜 bHLH 转录因子 *CmbHLH87* 在烟草植株中的异源表达诱导细胞发生程序性死亡, 促进 H₂O₂ 积累与病程相关蛋白 (PRs) 的表达, 提高对南瓜白粉病的抗性^[33]。本研究发现, bHLH 转录因子数量在叶片与根部都是排名第二, 其可能在植株抵御尖孢镰刀菌侵染上发挥重要作用。

ERF 俗称乙烯应答因子 (ethylene responsive factor), 可以与乙烯诱导顺式作用元件 GCC-box 结合, 在植物抵御逆境胁迫中发挥重要作用^[34-35]。研究发现, 过表达 *ERF1* 基因的拟南芥植株对土传尖孢镰刀菌十字花科专化型菌株 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*)、番茄尖孢镰刀菌番茄专化型菌株 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) 引起的枯萎病抗性增强^[36]。本研究发现, 叶片与根部的 ERF 转录因子数量分别是 146 和 315 个, 可能在植株抵御病原菌侵染过程中发挥了重要的防御作用。

综上, MYB、bHLH、ERF 与 NAC 等转录因子在嫁接冬瓜叶片与根部抵御病原菌侵染上发挥重要作用, 但这些转录因子如何参与尖孢镰刀菌侵染下嫁接冬瓜叶片与根部的调节机制与功能尚未清楚, 还需进一步深入研究。

植物抗病基因 (R 基因) 是植物在与病原体的长期斗争中逐渐形成的, 它们为植物提供了特定的受体和防御机制^[37]。这些基因共有一些保守的结构域, 根据其特定结构域被分成不同的类别, 主要分为 CNL、TNL、RLK、RLP、LYK、LYP 和 LECRK^[38]。富含亮氨酸重复序列 (LRRs) 是大多数 R 基因蛋白的主要结构域, 对识别特异性和抗性至关重要^[39]。例如, 多聚半乳糖醛酶抑制蛋白 (polygalacturonase-inhibiting proteins, PGIPs) 包含一个 LRR 结构域, 它限制植物病原体的生长并诱导植物的防御反应^[40]。有些受体蛋白也存在除 LRR 外的结构域, 如 LECRK, 其含有一个凝集素样基序 (lectin-like motifs, LECM) 而不是 LRR 结构域, 水稻 Pid2 蛋白就属于这一类别, 其能诱导水稻对稻瘟病菌的

抗性^[41]。本研究通过 DRAGO 3 在叶片的差异表达基因中进一步预测出 16 个与抗病相关的基因, 其中, 4 个具有典型 R 基因结构域, 分别是 RLP 类的 LOC120072345 与 LOC120085476, 以及 LECRK 类的 LOC120090305 与 LOC120090267, 因此推测嫁接冬瓜可能通过胞外模式识别受体识别病原菌以触发植物的免疫反应, 但还需要对预测出的抗病基因进行进一步的分析与功能验证。

参考文献:

- [1] YANG S G, CAI J S, WANG M, et al. The construction and analysis of wax gourd pangenome uncover fruit quality-related and resistance genes[J]. *Scientia Horticulturae*, 2023, 318: 112084.
- [2] 谢大森, 江彪, 刘文睿, 等. 优质、抗病冬瓜多样化育种研究进展[J]. *广东农业科学*, 2020, 47(11): 50-59.
- [3] 何晓明, 彭庆务, 王敏, 等. 我国节瓜遗传育种研究进展[J]. *广东农业科学*, 2021, 48(9): 1-11.
- [4] 石博, 关峰, 张景云, 等. 冬瓜枯萎病研究进展[J]. *中国瓜菜*, 2022, 35(11): 11-14.
- [5] DITA M, BARQUERO M, HECK D, et al. *Fusarium* wilt of banana: current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1468.
- [6] 袁飞, 刘子凡, 廖道龙, 等. 南瓜嫁接提高冬瓜枯萎病抗性的化感机制[J]. *中国瓜菜*, 2021, 34(5): 26-29.
- [7] 朱白婢, 胡艳平, 云天海, 等. 冬瓜砧木新品种“海砧 1 号”的选育[J]. *北方园艺*, 2018(10): 208-210.
- [8] 廖道龙, 冯学杰, 朱白婢, 等. 冬瓜嫁接砧木评价及其产量与性状的相关性分析[J]. *南方农业学报*, 2017, 48(8): 1434-1440.
- [9] 黄项心兰, 廖道龙, 刘子凡, 等. 不同砧木材料嫁接冬瓜苗期氮营养特性综合评价[J]. *热带作物学报*, 2022, 43(1): 137-144.
- [10] 符厚隆, 廖道龙, 刘子凡, 等. 南瓜砧木嫁接冬瓜根系分泌物对土壤微生物的影响[J]. *中国瓜菜*, 2022, 35(6): 56-61.
- [11] FU H L, FU J Y, ZHOU B, et al. Biochemical mechanisms preventing wilting under grafting: a case study on pumpkin rootstock grafting to wax gourd[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 15: 1331698.
- [12] SABRY S, ALI A Z, ABDEL-KADER D A, et al. Histopathological and biochemical aspects of grafted and non-grafted cucumber infected with stem rot caused by *Fusarium* spp.[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2022, 29(3): 1770-1780.
- [13] ATTIA E Z, FAROUK H M, ABDELMOHSEN U R, et al. Antimicrobial and extracellular oxidative enzyme activities of endophytic fungi isolated from alfalfa (*Medicago sativa*) assisted by metabolic profiling[J].

- South African Journal of Botany, 2020, 134: 156 – 162.
- [14] WESTPHAL K R, HEIDELBACH S, ZEUNER E J, et al. The effects of different potato dextrose agar media on secondary metabolite production in *Fusarium*[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2021, 347: 109171.
- [15] WANG B B, YUAN J, ZHANG J, et al. Effects of novel bioorganic fertilizer produced by *Bacillus amyloliquefaciens* W19 on antagonism of *Fusarium* wilt of banana[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49(4): 435 – 446.
- [16] 张金平, 何晓明, 江彪, 等. 镰刀菌胁迫下节瓜实时荧光定量 PCR 分析内参基因的选择[J]. *广东农业科学*, 2014, 41(10): 120 – 125.
- [17] 张浩, 李海玉, 施松梅, 等. 2 种黑籽南瓜响应枯萎病菌侵染的转录组学研究[J]. *中国农学通报*, 2023, 39(18): 107 – 116.
- [18] 韩彦卿. 水稻抗稻曲病 QTL 定位及抗/感品种响应稻曲病菌侵染的表达谱分析[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- [19] ZHANG C C, YAO X H, REN H D, et al. Genome-wide identification and characterization of the phenylalanine ammonia-lyase gene family in pecan (*Carya illinoensis*)[J]. *Scientia Horticulturae*, 2022, 295: 110800.
- [20] 谢迎秋, 孟蒙, 朱祯. 植物反式作用因子研究进展[J]. *高技术通讯*, 2000, 10(2): 97 – 102.
- [21] 马达. 拟南芥 bHLH 转录因子 HFR1 调控抗病性与发育的机制研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014.
- [22] 赵明奇, 刘晓洁, 梁玉青, 等. 新疆野苹果 AP2/ERF 转录因子家族鉴定与响应腐烂病的表达分析[J]. *西北植物学报*, 2022, 42(6): 930 – 942.
- [23] 李铃仙. 小麦抗病基因的发现与应用[J]. *农业灾害研究*, 2023, 13(10): 49 – 51.
- [24] ZHANG Z J, CHEN J M, SU Y Y, et al. *TaLHY*, a 1R-MYB transcription factor, plays an important role in disease resistance against stripe rust fungus and ear heading in wheat[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0127723.
- [25] NGUYEN N H, LEE H. MYB-related transcription factors function as regulators of the circadian clock and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2016, 11(3): e1139278.
- [26] LIU Q, YAN S J, HUANG W J, et al. NAC transcription factor ONAC066 positively regulates disease resistance by suppressing the ABA signaling pathway in rice[J]. *Plant Molecular Biology*, 2018, 98(4): 289 – 302.
- [27] PEROCHON A, KAHLA A, VRANIĆ M, et al. A wheat NAC interacts with an orphan protein and enhances resistance to *Fusarium* head blight disease[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17(10): 1892 – 1904.
- [28] ZHONG R Q, MCCARTHY R L, LEE C, et al. Dissection of the transcriptional program regulating secondary wall biosynthesis during wood formation in poplar[J]. *Plant Physiology*, 2011, 157(3): 1452 – 1468.
- [29] VANHOLME R, DE MEESTER B, RALPH J, et al. Lignin biosynthesis and its integration into metabolism[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2019, 56: 230 – 239.
- [30] 李陈莹, 王冉, 梁岩. 维管束木质化调控植物抗青枯病的研究进展[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2023, 49(5): 633 – 643.
- [31] WANG Y, JIANG C J, LI Y Y, et al. CsICE1 and CsCBF1: two transcription factors involved in cold responses in *Camellia sinensis*[J]. *Plant Cell Reports*, 2012, 31(1): 27 – 34.
- [32] XU X B, TIAN S P. Salicylic acid alleviated pathogen-induced oxidative stress in harvested sweet cherry fruit[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2008, 49(3): 379 – 385.
- [33] 刘茜, 王爱云, 荣玮. ERF 转录因子在作物抗病基因工程中的研究进展[J]. *种子*, 2014, 33(1): 48 – 53.
- [34] VALENZUELA-RIFFO F, ZÚÑIGA P E, MORALES-QUINTANA L, et al. Priming of defense systems and upregulation of *MYC2* and *JAZ1* genes after *Botrytis cinerea* inoculation in methyl jasmonate-treated strawberry fruits[J]. *Plants*, 2020, 9(4): 447.
- [35] 孙钧政, 李美玲, 唐金艳, 等. 水杨酸诱导果实采后抗病性机制研究进展[J]. *亚热带植物科学*, 2021, 50(5): 413 – 420.
- [36] 温晓丽, 罗维巍, 范翌婷, 等. 茉莉酸甲酯诱导的采后果蔬抗病性及其机制研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(12): 166 – 172.
- [37] ANDOLFO G, ERCOLANO M R. Plant innate immunity multicomponent model[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 987.
- [38] CALLE GARCÍA J, GUADAGNO A, PAYTUVI-GALLART A, et al. PRGdb 4.0: an updated database dedicated to genes involved in plant disease resistance process[J]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(D1): 1483 – 1490.
- [39] SHAN Y F, LI M Y, WANG R Z, et al. Evaluation of the early defoliation trait and identification of resistance genes through a comprehensive transcriptome analysis in pears[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2023, 22(1): 120 – 138.
- [40] DI C X, ZHANG M X, XU S J, et al. Role of polygalacturonase inhibiting protein in plant defense[J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 2006, 32(2): 91 – 100.
- [41] WANG J, QU B Y, DOU S J, et al. The E3 ligase OsPUB15 interacts with the receptor-like kinase PID2 and regulates plant cell death and innate immunity[J]. *BMC Plant Biology*, 2015, 15: 49.

Transcriptome analysis of wax gourd grafted with pumpkin to improve resistance to *Fusarium* wilt

WU Haolong^{1#}, FU Houlong¹, FU Junyu¹, LIAO Daolong², ZHOU Bin³, LIU Zifan^{1*}, MI Baobin⁴

(1. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Danzhou, Hainan 571737, China; 2. Institute of Vegetables, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571100, China; 3. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101, China; 4. Hunan Vegetable Research Institute, Changsha, Hunan 410125, China)

Abstract: To investigate the molecular mechanisms by which pumpkin grafting enhances resistance to *Fusarium* wilt in wax gourd, pumpkin variety ‘Haizhen 1’ was used as the rootstock and wax gourd variety ‘Tiezhu 2’ as the scion in this experiment. Three types of seedling materials were produced through grafting: grafted wax gourd (GW) to pumpkin, self-grafted wax gourd (SW), and self-grafted pumpkin (SP). These graftings were cultivated in soil inoculated with *Fusarium oxysporum* at a concentration of 8.0×10^5 CFU·g⁻¹, with a control group using soil at 0 CFU·g⁻¹. After five days of cultivation, root and leaf samples were collected for transcriptome sequencing to analyze differentially expressed genes (DEGs). The results showed that 284 and 2 potential disease-resistant genes were identified in the leaves and roots, respectively. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analysis revealed that phenylpropane biosynthesis was a common metabolic pathway in both the leaves and roots of grafted wax gourd. Using DRAGO 3 for domain prediction of the potential disease-resistant genes, 16 disease resistance-related genes were predicted, mainly associated with the PTI (pattern-triggered immunity) pathway. Transcription factor (TF) analysis of all the transcriptome sequences in the leaves and roots showed that there were 2,828 and 5,426 differentially expressed TFs identified in the leaves and roots, respectively. A significant number of these TFs were concentrated in the MYB, bHLH, ERF, and NAC families. It is hence hypothesized that phenylpropane biosynthesis and transcription factors such as MYB, bHLH, ERF, and NAC play crucial roles in defending against *Fusarium oxysporum* infection.

Keywords: wax gourd; pumpkin; grafting; *Fusarium oxysporum*; transcriptome sequencing

(责任编辑: 邹游兴)