

芥蓝几丁质酶基因家族对环境信号的响应分析

曾 语¹, 吴卉芳¹, 邱昱岑¹, 于雪晴¹, 朱俊杰¹, 谢炳峰¹, 吕美玲^{1,2*}

1. 福建农林大学园艺学院, 福建福州 350002; 2. 福建省植物功能生物学与绿色农业重点实验室, 福建福州 350002

摘要: 几丁质酶与植物的逆境抗性和生长发育密切相关。为了揭示植物激素及环境胁迫对芥蓝几丁质酶基因表达的影响, 本研究使用水杨酸 (SA)、1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC)、茉莉酸甲酯 (MeJA) 等 3 种植物激素, 以及胡萝卜软腐果胶杆菌 (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *Brasiliense*)、高温等 2 种胁迫分别对白花芥蓝 (*Brassica oleracea* cv. BaiHua) 植株进行处理, 并采用 qRT-PCR 方法分析芥蓝几丁质酶基因家族成员的转录水平。结果表明: 在芥蓝的几丁质酶基因家族中, 18 个基因能响应植物激素的诱导表达, 16 个基因能够被软腐菌显著诱导表达, 8 个基因对高温胁迫有响应。该研究表明芥蓝相关几丁质酶基因能够响应激素信号和环境胁迫, 可能在抗逆境和生长发育中发挥相应功能, 该结果可为芥蓝等作物分子育种研究提供参考依据。

关键词: 芥蓝; 几丁质酶基因; 植物激素; 抗逆机理; qRT-PCR

中图分类号: S635 文献标志码: A

Analysis of Response of Chitinase Gene Family to Environmental Signals in Chinese Kale

ZENG Yu¹, WU Huifang¹, QIU Yucen¹, YU Xueqing¹, ZHU Junjie¹, XIE Bingfeng¹, LYU Meiling^{1,2*}

1. College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2. Fujian Provincial Key Laboratory of Plant Functional Biology, Fuzhou, Fujian 350002, China

Abstract: Chitinase plays a crucial role in plant stress resistance and growth development. To elucidate the effects of plant hormones and environmental stress on the expression of the mustard chitinase gene, this study investigated three plant hormones—salicylic acid (SA), 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid (ACC), and methyl jasmonate (MeJA)—and the influence on the transcriptional regulation of the chitinase gene family in *Brassica oleracea* cv. BaiHua. Additionally, seedlings were subjected to two stress conditions: infection by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Brasiliense* and exposure to high temperature. The transcriptional levels of the Chinese kale chitinase gene family members were analyzed using the quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) method. Results demonstrated that among the 18 genes within the chitinase gene family of Chinese mustard, 16 exhibited significant induction under soft rot fungal infection, while 8 responded to high-temperature stress. Furthermore, all 18 genes showed responsiveness to plant hormone-induced expression. This study highlights the potential role of the chitinase gene in mediating responses to hormonal signals and environmental stress, thereby contributing to stress resistance and growth development in plants. The findings would provide valuable insights for future molecular breeding strategies targeting Chinese kale.

Keywords: Chinese kale; chitinase genes; plant hormones; mechanism of stress resistance; qRT-PCR

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.10.007

芥蓝 (*Brassica oleracea* var. *alboglabra*), 十字花科芸薹属一年生草本植物, 为我国华南地区

的特色叶菜类蔬菜, 具备种植范围大、市场需求量大等特点。随着生活质量的提升、消费者对蔬

收稿日期 2025-04-03; 接受日期 2025-05-03

基金项目 福建省自然科学基金项目 (No. 2022J01589); 国家级大学生创新训练项目 (No. 202410389011)。

作者简介 曾 语 (2002—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 芥蓝分子育种。*通信作者 (Corresponding author): 吕美玲 (LYU Meiling), E-mail: mllyu@fafu.edu.cn。

菜品质要求日益增高,芥蓝现有品种的产量、适应性、抗性和风味物质含量等需要进一步改良^[1]。

几丁质酶是一种分解几丁质的糖苷水解酶,分布于多种微生物、动物以及植物之中,并于蔬菜作物中广泛存在^[2]。已有多个研究表明,几丁质酶在防御病原真菌侵害、植物应对环境胁迫、植物生长发育的调节、程序性细胞死亡等各种生理过程中起重要作用^[3],还能一定程度上调节观赏植物的生殖器官发育^[4]。植物的几丁质酶可分布于植物的茎、叶、种子及愈伤组织中^[5]。正常环境条件下,植物中含有的几丁质酶数量较少,活性较低^[6]。但大量研究发现,乙烯(ethylene, ET)、水杨酸(salicylic acid, SA)、1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)、茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)等植物激素,干旱胁迫、机械损伤等物理刺激,真菌、细菌、病毒的侵染等均可诱导几丁质酶的产生^[2]。

目前,已有研究通过 Markov 模型等方法对芥蓝蛋白序列中的几丁质蛋白序列进行基因定位、基因结构和保守基序等分析和预测,共鉴定出 20 个几丁质酶基因^[7]。然而,其体内调节及外部环境对其表达的影响仍未被系统研究。本研究通过荧光定量 qRT-PCR 的方法系统地分析植物激素、胡萝卜软腐果胶杆菌以及高温胁迫等因素对 18 个芥蓝几丁质酶基因的诱导表达,为进一步研究该蛋白的功能及应用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

本研究所用的芥蓝品种为白花芥蓝(*Brassica oleracea* cv. BaiHua),种子和供试菌株胡萝卜软腐果胶杆菌巴西种(*Pectobacterium carotovorum* subsp. *Brasiliense*)均由福州市蔬菜科学研究所提供。

主要试剂:SA、ACC、MeJA 购自 Sangon Biotech 公司;多样本植物 RNA 提取试剂盒(DNase I)购自雅礼生物(YALI BIOTECH)公司;5×HRbioTM III RT Master Mix、gDNA Remover、qPCR SYBR Green Master Mix (No Rox)均购自福建荷瑞生物科技有限公司。其他试剂均为国产分析纯。

仪器与设备:T100 Thermal Cycler 梯度 PCR 仪、Gel Doc XR+凝胶成像系统等购自美国 Biorad

(伯乐)公司,荧光定量 PCR 仪购自耶拿分析仪器(上海)有限公司。

1.2 方 法

1.2.1 材料种植 芥蓝种植参考曾东琳^[8]的方法,待 2 片子叶长出,将幼苗移栽至含有混合基质(营养土:蛭石:草炭土:珍珠岩=3:1:1:1)的花盆中,置于智能人工气候室中培养,生长条件:(25±1)°C 昼/(22±1)°C 夜,16 h 光照/8 h 黑暗,相对湿度为 70%。

1.2.2 诱导处理 选取生长状况良好且长势基本一致的 5 片真叶期芥蓝植株进行诱导处理,处理前 4~5 d,植株在恒温培养室培养,培养条件:(25±1)°C 昼/(22±1)°C 夜,16 h 光照/8 h 黑暗,相对湿度为 70%。

预备试验表明,芥蓝接种 72 h 后叶柄和叶片即出现软腐化,高温处理 8 h 后植株出现萎蔫,而 SA 等化学药剂处理 72 h 后无明显变化,因此参考胡娜娜等^[9]和张筱文^[10]的研究,分别在 0、6、24、72 h 进行采样。

化学诱导:分别用 0.1 mmol/L 的 SA、0.1 mmol/L MeJA 以及 1 mmol/L ACC 喷雾处理,每个处理 3 株植株,对照为灭菌双蒸水喷雾。

软腐病原菌诱导:取 20 μL 软腐菌菌种母液,加入 1 mL 液体 LB 进行活化,置于 28 °C 的摇床中振荡 8~10 h,制备 OD₆₀₀ 为 0.6 的菌液。用无菌刀片在芥蓝叶柄与叶片相接处交叉割 2 道长约 5 mm、深约 2 mm 的伤口,取 0.5 mL 菌液涂抹在伤口处,每个处理 3 株植株,以 LB 溶液为对照。

高温诱导:将植株置于恒温培养箱中进行 37 °C 高温处理,相对湿度为 70%,对照为常温条件生长,每个处理 3 株。

1.2.3 总 RNA 提取 取 0.05~0.1 mg 的叶片组织,在液氮中研磨成粉末,按照 YALEPIC 多样本植物 RNA 提取试剂盒(DNase I)说明书提取总 RNA。用蛋白核酸检测仪和琼脂糖变性胶凝胶电泳检测 RNA 纯度。

1.2.4 芥蓝几丁质酶基因家族成员的转录水平分析 按照福建荷瑞公司一步法基因组 DNA 去除逆转录试剂盒(qPCR 专用)的操作说明进行 cDNA 的制备。反应体系:2 μL Total RNA、4 μL 5×HRbioTM III RT Master Mix、1 μL gDNA Remover, RNase free H₂O 补至 20 μL。混匀,42 °C 温育 15 min,85 °C 加热 5 s 灭活逆转录酶。

在 Brassicaceae Database (<http://www.brassi->

cadb.cn/#/)数据可搜索相关基因的 CDS 序列, 随后将序列导入 Primer Premier 5 软件中进行引物设计, 引物由福建福州尚亚生物技术有限公司合成。内参基因 *BoActin* 与芥蓝几丁质酶基因的 PCR 引物见表 1。qRT-PCR 试验参照福建荷瑞公司

HRbio qPCR SYBR Green Master Mix (No Rox) 试剂盒操作说明书进行, 反应体系(20 μ L): HRbio qPCR SYBR Green Master Mix (No Rox) 10 μ L、正反向引物各 0.4 μ L、模板 1 μ L、DEPC 处理过的无菌水 8.2 μ L。反应程序为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 60 $^{\circ}$ C 退火延伸 30 s, 40 个循环。进行 3 次重复试验。按照 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法对试验数据进行处理, 并且求出系统误差。

表 1 本研究所用引物

Tab. 1 Primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')
BoActin-F	CTGTGACAATGGTACCGGAATG
BoActin-R	ACAGCCCTGGGAGCATCA
Bol007321-F	AGACTTCCCACGAAACCA
Bol007321-R	CCGCTCGGTGAACAGTAG
Bol007323-F	AACTCGCCGCTTCTTTG
Bol007323-R	CTTCCTTGTAACAGTAACCCC
Bol004604-F	TCCTTCTCTCTGCCTCT
Bol004604-R	CAATAACCGTACTGACTGC
Bol029467-F	GAAGATAAAGCGACAGGG
Bol029467-R	TGAAGCGGACCACGAC
Bol029469-F	AAACCTACTCCAACACCCAG
Bol029469-R	GGCGAGTGTAGAACCCTTT
Bol029470-F	TACTCTCGTCAGGCTTTCAT
Bol029470-R	GCCGCAATCTCACGCTTA
Bol035464-F	GCACCACATCTGCCTAC
Bol035464-R	AGCCGTTTCCTACTTTG
Bol035467-F	GCAATGCGGTGCTCAAGC
Bol035467-R	CAACCACGCCACAGTAA
Bol035470-F	CCTCAGGCTCCTAAACCG
Bol035470-R	TGCGACCACTACACTCCAAT
Bol039802-F	CCACCATTAGAGCCATCA
Bol039802-R	TTAGAACCAGGGTCCACA
Bol021626-F	TTTCTCATCTGCCTCTTCG
Bol021626-R	TGATACCGCAATAACCAT
Bol021627-F	CTCATCTTTCCTCTTC
Bol021627-R	CTCATCTTTCCTCTTC
Bol030012-F	CGCCTCTGGCTTATGCTG
Bol030012-R	CACTCCCCTGTCTTGC
Bol030015-F	ACGAAAGCGGTGGTGTA
Bol030015-R	AAGCCTGACGAGTGTAGAA
Bol010293-F	TGCCGCTAAGTCTTCCC
Bol010293-R	TGGTCCGCTGCTGCTGT
Bol040748-F	CCCGAGATAGTGCGAATAA
Bol040748-R	GATGGTTTGGGACTCTGCTC
Bol041024-F	TTGCTATAACAGGGAGATGA
Bol041024-R	AAGTTCCAGTAGATGGGTAA
Bol023322-F	GCTGCGTTTCTCGGTCAT
Bol023322-R	ATTGGCTTGGGCTCATCT
Bol025197-F	TCTAAACCCATCCTCATAGT
Bol025197-R	AACATAGGTCTGGCGAAC
Bol011420-F	AGGTCCCATTCAACTTTCT
Bol011420-R	GGAGTCTGTTCCGTCATC

2 结果与分析

2.1 SA、ACC、MeJA 对芥蓝几丁质酶表达的影响

由图 1 可知, SA 处理后, 有 17 个基因的表达量均出现了显著变化。*Bol039802* 在 6 h 就开始表达, 之后表达量开始回落, 至 72 h 再次升高; *Bol035467*、*Bol040748*、*Bol35470*、*Bol007323*、*Bol030015*、*Bol035464*、*Bol007321* 在 24 h 时达到最高水平, 分别为诱导前的 100 倍、43 倍、30 倍、15 倍、15 倍、15 倍、6 倍; *Bol023322*、*Bol039802*、*Bol011420*、*Bol029467*、*Bol041024*、*Bol029469*、*Bol029470* 在 72 h 时达到最高水平, 分别为诱导前的 38 倍、24 倍、15 倍、14 倍、12 倍、8 倍、5 倍。此外, *Bol004604*、*Bol010293*、*Bol025197* 在各时间段的变化幅度虽不大, 但其表达量水平总体呈现先上升后下降的趋势。结果表明, 除 *Bol030012* 外, 其他基因尤其是 *Bol035467*、*Bol040748*、*Bol35470*、*Bol023322*、*Bol039802* 均能显著被 SA 诱导表达, 可能在 SA 缓解生物胁迫和非生物胁迫的过程中起重要作用 (图 2)。

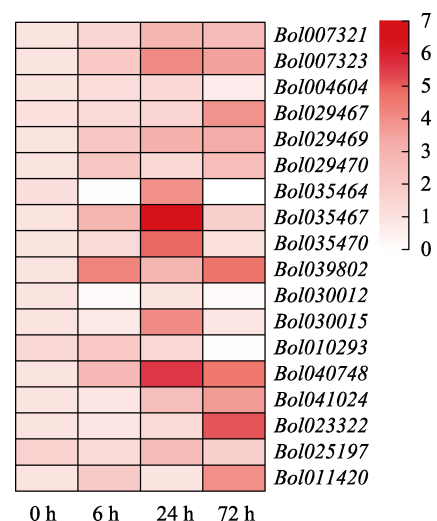
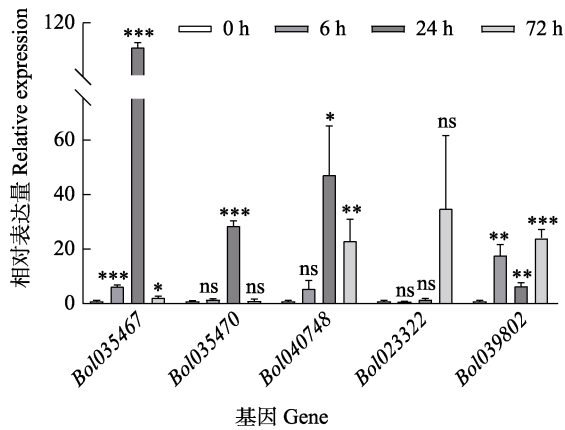


图 1 SA 诱导后芥蓝几丁质酶家族成员的相对表达水平
Fig. 1 Relative expression levels of chitinase family members in Chinese kale after SA induction



ns 表示无显著差异 ($P>0.05$), *表示差异显著 ($P<0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$), ***表示差异极显著 ($P<0.001$)。ns indicates no significant ($P>0.05$), * indicates significant difference ($P<0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$), *** indicates extremely significant difference ($P<0.001$).

图 2 被 SA 显著诱导的 5 个基因的相对表达水平

Fig. 2 Relative expression levels of five genes significantly induced by SA

由图 3 可知, ACC 处理后, 芥蓝几丁质酶成员中有 10 个基因的表达量出现了差异变化。Bol035467 对 ACC 反应最为灵敏, 在 6 h 时就快速表达, 并于 24 h 达到最高水平, 为诱导前的 42 倍; Bol030015 在 72 h 达到最高水平, 为诱导前的 12 倍。其余 8 个基因表达量变化幅度相对不大, 其中 Bol007323 表达量在 6 h 时升高后回落, 至 72 h 时再次升高; Bol040748、Bol035470 在 24 h 时表达量达到最大; 而 Bol029469、Bol029470、Bol041024、Bol023322、Bol011420 的表达量在 72 h 时开始升高。结果表明, ACC 可以显著诱导 Bol035467、Bol030015 的表达, 促使这些基因参与植物对环境胁迫的响应, 并促进果实成熟等生理过程 (图 4)。

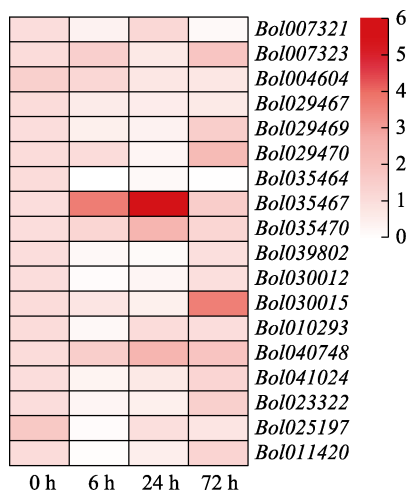
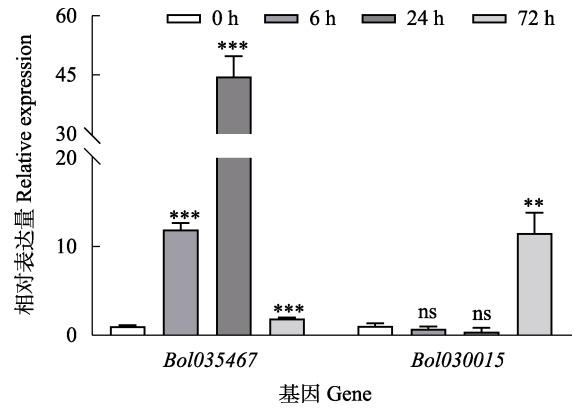


图 3 ACC 诱导后芥蓝几丁质酶家族成员的相对表达水平
Fig. 3 Relative expression levels of chitinase family members in Chinese kale after ACC induction



ns 表示无显著差异 ($P>0.05$), *表示差异显著 ($P<0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$), ***表示差异极显著 ($P<0.001$)。ns indicates no significant ($P>0.05$), * indicates significant difference ($P<0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$), *** indicates extremely significant difference ($P<0.001$).

图 4 被 ACC 显著诱导的 2 个基因的相对表达水平

Fig. 4 Relative expression levels of two genes significantly induced by ACC

由图 5 可知, MeJA 处理后, 有 16 个芥蓝几丁质酶成员的表达量均出现了显著变化。其中, Bol040748、Bol035464、Bol029470、Bol007321、Bol004604、Bol011420、Bol025197、Bol007323、Bol041024、Bol023322、Bol029469 对 MeJA 表现出高度的敏感, 在 6 h 时表达量达到最高, 分别为诱导前的 800 倍、100 倍、60 倍、50 倍、40 倍、22 倍、20 倍、12 倍、12 倍、8 倍、7 倍; Bol035467、Bol035470、Bol030015 的表达量在 24 h 时达到最高水平, 分别为诱导前的 55 倍、25 倍、16 倍; 此外, Bol039802 的表达量在 72 h 时达到最高, 约为诱导前的 50 倍; Bol030012 的表达量变化不大, 但较诱导前也有所上升。以上结果表明, 多

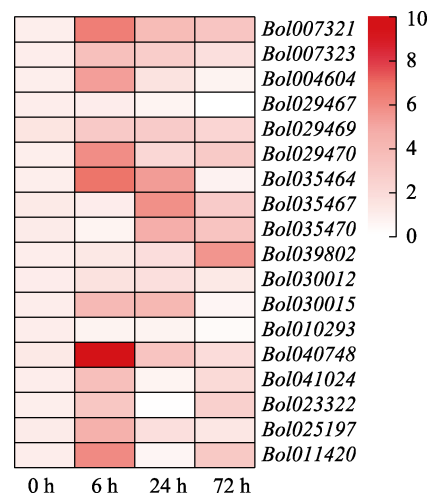
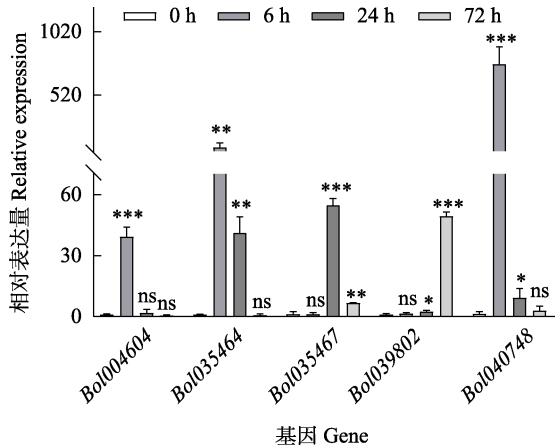


图 5 MeJA 诱导后芥蓝几丁质酶家族成员的相对表达水平
Fig. 5 Relative expression levels of chitinase family members in Chinese kale after MeJA induction

数芥蓝的几丁质酶基因均能被植物激素 MeJA 显著诱导表达，尤其是 *Bol040748*、*Bol035464*、*Bol029470*、*Bol004604*、*Bol011420* 这 5 个具有高表达量的基因，很可能参与植物抗逆防御过程（图 6）。



ns 表示无显著差异 ($P>0.05$), *表示差异显著 ($P<0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$), ***表示差异极显著 ($P<0.001$)。ns indicates no significant ($P>0.05$), * indicates significant difference ($P<0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$), *** indicates extremely significant difference ($P<0.001$).

图 6 被 MeJA 显著诱导的 5 个基因的相对表达水平
Fig. 6 Relative expression levels of five genes significantly induced by MeJA

2.2 软腐菌对芥蓝几丁质酶表达的影响

由图 7 可知，经软腐菌侵染后，有 16 个基因的表达量均出现了显著变化。*Bol010293*、*Bol004604*、*Bol039802*、*Bol007321*、*Bol035470* 对软腐菌反应敏感，在 6 h 时快速表达，并且表达量达到最高，分别为诱导前的 5000 倍、160 倍、125 倍、20 倍、7 倍；在 24 h 时，*Bol035464*、*Bol029467*、*Bol030012*、*Bol029470*、*Bol011420*、*Bol025197*、*Bol035467* 表达量达到最高水平，分别为诱导前的 150 倍、100 倍、80 倍、70 倍、17 倍、17 倍、12 倍；在 72 h 时，*Bol030015*、*Bol007323*、*Bol040748*、*Bol029469* 的表达量达到最高，分别为诱导前的 60 倍、30 倍、30 倍、6 倍。这些结果表明，芥蓝的几丁质酶基因能够被软腐菌显著诱导表达，其中高表达量基因 *Bol010293*、*Bol004604*、*Bol035464*、*Bol039802*、*Bol029467*、*Bol020012*、*Bol020015*、*Bol029470* 可能与芥蓝响应软腐菌的侵害密切相关，参与植物抵御病原菌侵害的过程（图 8）。

2.3 高温胁迫对芥蓝几丁质酶表达的影响

如图 9 所示，高温处理后，芥蓝几丁质酶成

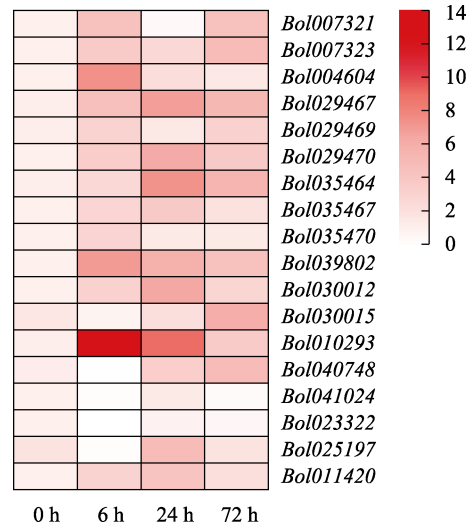
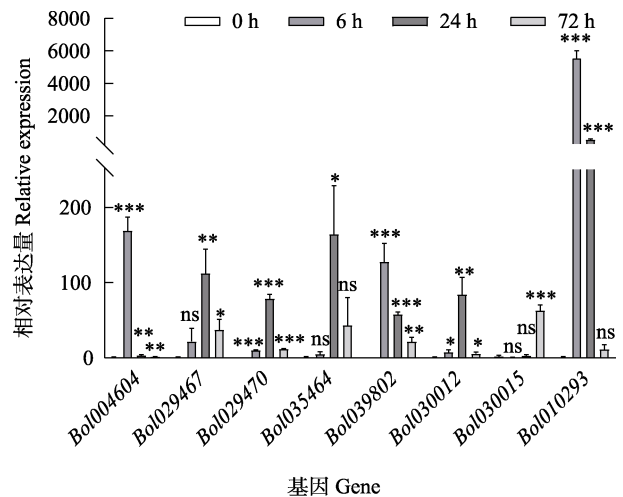


图 7 软腐菌诱导后芥蓝几丁质酶家族成员的相对表达水平

Fig. 7 Relative expression levels of chitinase family members in Chinese kale after soft rot bacteria induction



ns 表示无显著差异 ($P>0.05$), *表示差异显著 ($P<0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$), ***表示差异极显著 ($P<0.001$)。ns indicates no significant ($P>0.05$), * indicates significant difference ($P<0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$), *** indicates extremely significant difference ($P<0.001$).

图 8 被软腐菌显著诱导的 8 个基因的相对表达水平
Fig. 8 Relative expression levels of eight genes significantly induced by soft rot bacteria

员中有 8 个基因均出现显著表达变化。其中，*Bol035467* 在 8 h 表达量达到最高，为诱导前的 2 倍；*Bol029470*、*Bol007321*、*Bol007323*、*Bol030012*、*Bol004604*、*Bol029469*、*Bol023322* 在 12 h 表达量达到最高，分别为诱导前的 45 倍、14 倍、7 倍、7 倍、4 倍、2 倍、2 倍。结果表明，有一半的芥蓝几丁质酶基因能在高温胁迫的环境中被显著诱导表达，其中 *Bol029470* 可能在芥蓝应对高温胁迫中发挥积极的作用（图 10）。

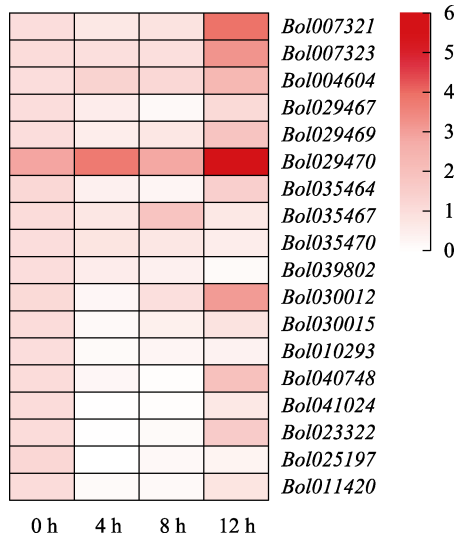
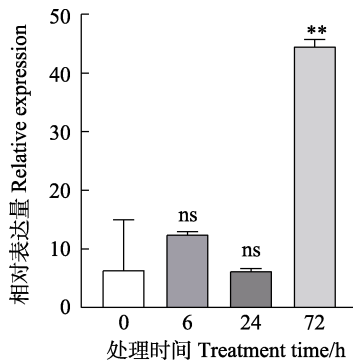


图 9 高温诱导后芥蓝几丁质酶家族成员的相对表达水平
Fig. 9 Relative expression levels of chitinase family members in Chinese kale after high temperature induction



ns 表示无显著差异 ($P>0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$)。
ns indicates no significant ($P>0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

图 10 *Bol029470* 的相对表达水平

Fig. 10 Relative expression levels of *Bol029470*

3 讨论

目前,植物几丁质酶响应环境胁迫的分子机制已在草莓^[11]、大蒜^[12]、黄瓜^[13]等物种中开展系统性研究,但芥蓝几丁质酶基因的环境信号响应特征尚未被深入解析。ZHU 等^[7]在 2021 年通过全基因组搜索方法共鉴定出 20 个几丁质酶基因。本研究通过荧光定量 qRT-PCR 的方法系统地对上述几丁质酶基因进行诱导表达分析,可能是由于品种差异的原因,仅检测到 18 个芥蓝几丁质酶基因能够对植物激素、胡萝卜软腐果胶杆菌以及高温胁迫产生响应。

SA、ACC、MeJA 是对植物生长发育起着重要调节作用的 3 种植物激素,能够诱导植物进行抗逆性防御表达,以抵抗生物胁迫和非生物胁迫^[14-17]。

SA 作为广泛存在的酚类化合物,参与植物多种生理过程调控^[18]。ACC 作为 ET 合成的直接前体,其介导的 ET 信号在促进果实成熟等发育过程发挥关键作用^[14]。MeJA 是一种广泛分布于植物各个器官的内源激素,其作为内源信号分子参与植物抗逆防御^[19],不仅可以激活果蔬抗病途径相关酶活性及相关基因表达,还可以增加次生代谢物质含量以抑制病原菌的生长,从而延缓果蔬采后病害的发生^[20]。前人对芥蓝几丁质酶家族成员启动子区域进行了顺式作用元件进行了预测,发现多个成员的启动子区域存在激素响应元件^[7]。本研究发现,18 个芥蓝几丁质酶基因成员均能响应植物激素信号,其中有 10 个基因 (*Bol007323*、*Bol029469*、*Bol029470*、*Bol035467*、*Bol035470*、*Bol030015*、*Bol040748*、*Bol041024*、*Bol023322*、*Bol011420*) 能够同时应答 SA、ACC 和 MeJA 三种植物激素,说明这些基因可能构成芥蓝应对多重环境胁迫的共同分子枢纽,这与 SA/JA/ET 信号既可拮抗又能协同调控防御反应的特性相契合^[3, 21-23]。不同植物几丁质酶对化学信号的响应模式也可能存在显著差异。如海岛棉的几丁质酶基因 *GbCHI* 能够同时响应 SA、ACC、ET 的诱导^[24],而大薯几丁质酶虽未被 MeJA/SA 诱导表达,但对炭疽菌的抗性有所提高,其可能通过其他防御基因激活提升抗病性^[25]。类似地,本研究结果表明,SA 能够显著诱导部分基因的表达,如 *Bol040748*、*Bol023322*; ACC 可以显著诱导 *Bol040748* 等基因在 6 h 内即呈现快速高表达特征;此外, *Bol1004604* 等几丁质酶基因在 MeJA 处理后表现出快速响应的特征。拟南芥 *AT3G12500* (*HCHIB*) 编码一种碱性几丁质酶,在植物系统获得抗性 (SAR) 过程中参与乙烯/茉莉酸 (ET/JA) 介导的信号转导途径。在本研究中,作为 *AT3G12500* 的同源基因, *Bol035464* 和 *Bol035467* 表现出被 MeJA 显著诱导的特征,说明它们可能在 JA 信号调控路径中发挥重要作用。

几丁质酶在植物抗性反应中展现出跨物种功能保守性。研究发现,大白菜抗病品种经霜霉病侵染后特异性诱导几丁质酶基因表达,揭示其在抗病机制中的关键作用^[26];使用 0.2 mmol/L 以上浓度的 BTH 处理可通过显著提升小麦几丁质酶活性,增强幼苗对白粉病的系统抗性^[27];而西瓜转基因植株通过外源几丁质酶基因的导入,成功建立对镰刀菌枯萎病的防御能力^[28]。软腐病病原

菌果胶杆菌属是感染数百种蔬菜和部分观赏性花卉植物造成软腐病最主要的病原菌属, 严重制约蔬菜产业的发展^[29-30]。在芥蓝几丁质酶基因成员中, *Bol007321*、*Bol007323*、*Bol004604* 等 16 个基因经软腐菌侵染后的表达水平出现明显变化, 说明这些基因可能在芥蓝应对软腐病的抗性反应中发挥重要作用。几丁质是植物病原真菌细胞壁中高度保守的重要组成成分, 几丁质酶可以将病原真菌细胞壁中的几丁质降解为几丁质寡糖, 进而触发植物免疫反应^[31], 因而传统研究多是探究几丁质酶在植物应对真菌胁迫中的功能。本研究发现, 芥蓝几丁质酶家族的大多数成员如 *Bol1004604*、*Bol1039802* 均对细菌性软腐病呈现强烈响应。进一步同源比对显示, 这 2 个基因与拟南芥 *AT2G43590* (PR-3 类病原诱导基因) 具有高度相似性。虽然其响应的具体机制并不明确, 但本研究为拓展几丁质酶在细菌性病害防控中的应用提供新的理论依据。

植物几丁质酶对非生物胁迫的响应已有大量研究, 如阿尔比草莓的 4 个几丁质酶基因 *FaChi1-FaChi4* 在干旱胁迫下均呈现诱导表达特征, 提示其可能参与果实抗旱调控网络^[10]。芥蓝作为冷敏型作物, 其耐热性缺陷严重制约栽培区域拓展^[32], 解析高温响应基因对品种改良具有重要应用价值。本研究发现, 8 个芥蓝几丁质酶基因(*Bol035467*、*Bol029470*、*Bol007321*、*Bol007323*、*Bol030012*、*Bol004604*、*Bol029469*、*Bol023322*) 在高温胁迫下呈现显著表达差异, 其中 *Bol029470* 表现出强烈的诱导效应。该高响应基因的启动子区均含有非生物胁迫响应相关的顺式作用元件^[7], 与本研究中的表达特征形成互证。上述结果为解析芥蓝耐热分子机制及创制耐热新种质提供关键基因资源。

4 结论

几丁质酶作为植物抗逆系统的核心组分, 通过双重调控机制参与生物胁迫(病原菌侵染、虫害等)与非生物胁迫(干旱、极端温度等)的防御响应网络, 在植物抗性形成过程中发挥枢纽作用^[12]。本研究通过激素处理、病原菌接种和高温胁迫系统处理试验验证发现, 芥蓝多数几丁质酶成员具有多重胁迫响应特性, 特别是如 *Bol040748*、*Bol004604* 等高响应基因呈现出快速诱导表达特征。这些兼具广谱响应性和时效性的候选基因为

后续研究提供重要切入点。后期研究可以从以下方面继续深入展开: (1) 解析关键基因在非生物和生物胁迫信号转导中的分子功能和互作网络; (2) 建立基因表达模式与抗性表型的定量关联模型; (3) 探究十字花科作物抗性调控的新机制, 为抗逆分子育种提供理论支撑。

参考文献

- [1] 陈汉才, 吴增祥, 林悦欣, 沈卓, 黎庭耀, 杨易, 周轩, 张艳. 广东菜心、芥蓝研究现状与展望[J]. 广东农业科学, 2021, 48(9): 62-71.
CHEN H C, WU Z X, LIN Y X, SHEN Z, LI T Y, YANG Y, ZHOU X, ZHANG Y. Research status and prospect of flowering Chinese cabbage and Chinese kale in Guangdong[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2021, 48(9): 62-71. (in Chinese)
- [2] 陈崇顺, 朱雪峰, 郁志芳. 蔬菜植物几丁质酶最新研究评述[C]//中国园艺学会. 中国科协第 3 届青年学术年会园艺学卫星会议暨中国园艺学会第 2 届青年学术讨论会论文集. 南京农业大学, 1998: 354-359.
CHEN C S, ZHU X F, YU Z F. Advance in the study of vegetable chitinases[C]//Horticultural Plant Journal. Proceedings of the 3rd Youth Academic Annual Conference of the China Association for Science and Technology-Horticulture Satellite Symposium & the 2nd Youth Academic Symposium of the Chinese Society for Horticultural Science. Nanjing Agricultural University, 1998: 354-359. (in Chinese)
- [3] 王政, 姚银安, 张志燕, 顾守来, 李冠英. 甘蓝型油菜几丁质酶基因 *BnCHB4* 环境信号响应分析[J]. 生物学杂志, 2012, 29(6): 32-34, 38.
WANG Z, YAO Y A, ZHANG Z Y, GU S L, LI G Y. Response to environmental cues of *BnCHB4* from *Brassica napus*[J]. Journal of Biology, 2012, 29(6): 32-34, 38. (in Chinese)
- [4] 于文菲. 矮牵牛几丁质酶类基因 *PaCTL1* 的功能研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2022.
YU W F. Functional study of chitinase-Like gene *PaCTL1* in petunia[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2022. (in Chinese)
- [5] 何迎春, 贺思学, 高必达. 几丁质酶及其在植物遗传转化中的应用[J]. 生物学通报, 2003, 38(7): 9-13.
HE Y C, HE S X, GAO B D. Chitinase and its application in plant genetic transformation[J]. Bulletin of Biology, 2003, 38(7): 9-13. (in Chinese)
- [6] 梁元凯. 霜霉菌或乙烯利处理诱导黄瓜叶片胞间几丁质酶累积变化的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2011.
LIANG Y K. The study on the change of accumulation of

- induced chitinase in intercellular fluids of cucumber leaves by *Pseudoperonospora cubensis* or ethephon[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2011. (in Chinese)
- [7] ZHU M Z, LU S J, ZHUANG M, ZHANG Y Y, LYU H H, JI J L, HOU X L, FANG Z Y, WANG Y, YANG L M. Genome-wide identification and expression analysis of the *Brassica oleracea* L. chitin-binding genes and response to pathogens infections[J]. *Planta*, 2021, 253: 1-14.
- [8] 曾东琳. 芥蓝 SPL 基因家族鉴定及其在叶片发育过程中的功能分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2023.
- ZENG D L. Identification of SPL gene family in Chinese kale and its functional analysis during leaf development[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2023. (in Chinese)
- [9] 胡娜娜, 李超, 王茜, 邵菁芑, 刘彦泉, 赵亮, 马荣才, 谢华. 北京地区油菜软腐病原菌的鉴定[J]. *微生物学报*, 2015, 55(10): 1253-1263.
- HU N N, LI C, WANG Q, SHAO J P, LIU Y Q, ZHAO L, MA R C, XIE H. Identification of pathogenic bacteria causing soft rot of rapeseed in Beijing area[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, 55(10): 1253-1263. (in Chinese)
- [10] 张筱文. 青梗菜应答软腐病原菌侵染的活性氧代谢及转录组分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2024.
- ZHANG X W. Reactive oxygen metabolism and transcriptome analysis of non-heading Chinese cabbage in response to infestation by soft rot pathogens[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2024. (in Chinese)
- [11] 王亚, 贺绥欢, 裴越琳, 陶宇道, 刘腾, 杨泽浩, 冷平. 草莓几丁质酶基因 *FaChi1-FaChi4* 的转录特性及其对于干旱胁迫、外施脱落酸及灰霉菌的响应[J]. *中国农业大学学报*, 2015, 20(6): 108-116.
- WANG Y, HE S H, PEI Y L, TAO Y X, LIU T, YANG Z H, LENG P. Transcription characterization of *FaChi1-FaChi4* and their responses to drought stress, exogenous abscisic acid and *Botrytis cinerea* in strawberry fruit[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2015, 20(6): 108-116. (in Chinese)
- [12] 张宇阳, 周雪, 刘灵芝, 许吴俊, 任旭琴, 王广龙, 熊爱生. 大蒜几丁质酶基因 *AsCH11* 的鉴定及其对盐胁迫的响应[J]. *中国农学通报*, 2022, 38(5): 23-29.
- ZHANG Y Y, ZHOU X, LIU L Y, XU W J, REN X Q, WANG G L, XIONG A S. Garlic chitinase gene *AsCH11* identification and its response to salt stress[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2022, 38(5): 23-29. (in Chinese)
- [13] 罗晶晶, 张仁英, 齐晓花, 徐强, 陈学好. 黄瓜几丁质酶基因克隆及与白粉病抗性关系的初步研究[J]. *分子植物育种*, 2015, 13(7): 1584-1591.
- LUO J J, ZHANG R Y, QI X H, XU Q, CHEN X H. A preliminary study on cloning of chitinase gene and relationships to resistance of *Powdery mildew* in cucumber (*Cucumis sativus* L.)[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2015, 13(7): 1584-1591. (in Chinese)
- [14] 王佳慧. 苹果 MdWRKY31 响应乙烯调控苹果酸含量和果实软化的功能研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2023.
- WANG J H. The apple MdWRKY31 function in regulating malate content and fruit softening in response to ethylene[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2023. (in Chinese)
- [15] 郭海超, 杨建华, 李志浩, 练旭林, 李彩龙, 高彦龙, 王延秀. 茉莉酸甲酯响应盐碱胁迫下苹果砧木 M26 的生理机制[J]. *干旱地区农业研究*, 2024, 42(1): 159-168.
- GUO H C, YANG J H, LI Z H, XIAN X L, LI C L, GAO Y L, WANG Y X. Physiological mechanisms of methyl jasmonate in apple rootstock M26's response to saline-alkali stress[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2024, 42(1): 159-168. (in Chinese)
- [16] 李海云, 辛宇, 王晓晗, 李明珠, 陈芳颖, 曹瑛. 外源水杨酸对 Na_2CO_3 胁迫下矮牵牛幼苗生长的影响[J]. *山东农业科学*, 2023, 55(11): 102-107.
- LI H Y, XIN Y, WANG X H, LI M Z, CHEN F Y, CAO Y. Effects of exogenous salicylic acid on growth of *Petunia hybrida* seedlings under Na_2CO_3 stress[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2023, 55(11): 102-107. (in Chinese)
- [17] HE X, ZHU L F, XU L, GUO W F, ZHANG X L. GhATAF1, a NAC transcription factor, confers abiotic and biotic stress responses by regulating phytohormonal signaling networks[J]. *Plant Cell Reports*, 2016, 35: 2167-2179.
- [18] 郭满, 边莹, 苗庆选, 刘春晓, 怀婷婷, 司东霞, 李海云. 外源水杨酸对低钾胁迫下核桃幼苗生长的缓解效应[J]. *山东农业科学*, 2021, 53(12): 64-68.
- GUO M, BIAN Y, MIAO Q X, LIU C X, HUAI T T, SI D X, LI H Y. Alleviating effect of exogenous salicylic acid on walnut seedling growth under low potassium stress[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2021, 53(12): 64-68. (in Chinese)
- [19] PAN L Y, CHEN X R, XU W, FAN S S, WAN T, ZHANG J, CAI Y L. Methyl jasmonate induces postharvest disease resistance to decay caused by *Alternaria alternata* in sweet cherry fruit[J]. *Scientia Horticulturae*, 2022, 292: 110624.
- [20] 崔席席, 李富军, 张新华, 郭衍银, 李晓安. 茉莉酸甲酯调控果蔬采后品质的机制及应用研究进展[J]. *食品科学*, 2019, 40(13): 304-311.
- CUI X X, LI F J, ZHANG X H, GUO Y Y, LI X A. Recent progress in mechanism of action and application of methyl jasmonate in postharvest quality regulation of fruits and vegetables[J]. *Food Science*, 2019, 40(13): 304-311. (in Chinese)
- [21] 侯盼盼, 陈安良, 费莉芬, 马良进. 水杨酸诱导紫楠对炭

- 疽病的抗性[J]. 浙江农林大学学报, 2020, 37(3): 605-610.
- HOU P P, CHEN A L, FEI L F, MA L J. Resistance of *Phoebe sheareri* to anthracnose induced by salicylic acid[J]. Journal of Zhejiang A&F University, 2020, 37(3): 605-610. (in Chinese)
- [22] 康静. 1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)诱导小豆抗锈性机理的初步研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2019.
- KANG J. Study on the mechanism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) inducing rust resistance of Adzuki Bean[D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2019. (in Chinese)
- [23] 龙娅丽, 朱白婢, 徐子健, 张文, 江雪飞. 西瓜 APX 基因的序列分析及其茉莉酸甲酯诱导表达特性[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 35(8): 2125-2132.
- LONG Y L, ZHU B B, XU Z J, ZHANG W, JIANG X F. Sequence analysis of APX gene in watermelon and its expression characteristic after treated with MeJA[J]. Genomics and Applied Biology, 2016, 35(8): 2125-2132. (in Chinese)
- [24] 马银平, 王付欣, 杨淳淋, 沈法富, 夏桂先. 海岛棉几丁质酶基因 *GbCHI* 的克隆与功能分析[J]. 遗传, 2012, 34(2): 240-247.
- MA Y P, WANG F X, YANG C L, SHEN F F, XIA G X. Cloning and functional analysis of chitinase gene *GbCHI* from sea-island cotton (*Gossypium barbadense*)[J]. Hereditas (Beijing), 2012, 34(2): 240-247. (in Chinese)
- [25] 符晓. MeJA 和 SA 对大薯炭疽病的影响研究[D]. 海口: 海南大学, 2019.
- FU X. Research on the influence of MeJA and SA on resistance of greater yam to anthracnose[D]. Haikou: Hainan University, 2019. (in Chinese)
- [26] 陈晓峰, 隋好林, 马清华, 侯喜林. 霜霉病菌诱导大白菜几丁质酶和葡聚糖酶基因的表达[J]. 山东农业科学, 2015, 47(2): 96-99.
- CHEN X F, DUO H L, MA Q H, HOU X L. Gene expression of chitinase and glucanase in Chinese cabbage induced by *Peronospora parasitica*[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2015, 47(2): 96-99. (in Chinese)
- [27] 陈鹏, 李振歧. BTH 诱导小麦对白粉病的抗性与几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性诱导的关系[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(7): 137-140.
- CHEN P, LI Z Q. Relationship between induced resistance to *Blumeriagraminisf. sp. tritici* by BTH and activities of chitinase and β -1,3-Glucanase in wheat[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2007, 35(7): 137-140. (in Chinese)
- [28] 王果萍, 王景雪, 孙毅, 崔贵梅, 孟玉平, 乔燕祥. 几丁质酶基因导入西瓜植株及其抗病性鉴定研究[J]. 植物遗传资源学报, 2003, 4(2): 104-109.
- WANG G P, WANG J X, SUN Y, CUI G M, MENG Y P, QIAO Y X. Transformation of watermelon plants with chitinase gene and evaluation for *Fusarium* wilt resistance[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2003, 4(2): 104-109. (in Chinese)
- [29] 马俊秀. 蔬菜软腐病生防菌株筛选及生防作用研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江省科学院, 2023.
- MA J X. Screening and biocontrol effects of antagonistic strains against vegetable soft rot[D]. Harbin: Heilongjiang Academy of Sciences, 2023. (in Chinese)
- [30] 马俊秀, 吴皓琼, 姜威, 闫更轩, 胡基华, 张淑梅. 蔬菜软腐病菌广谱拮抗细菌菌株筛选鉴定及防效研究[J]. 生物技术通报, 2023, 39(7): 228-240.
- MA J X, WU H Q, JIANG W, YAN G X, HU J H, ZHANG S M. Screening and identification of broad-spectrum antagonistic bacterial strains against vegetable soft rot pathogen and its control effects[J]. Biotechnology Bulletin, 2023, 39(7): 228-240. (in Chinese)
- [31] 许铭, 徐婧, 刘慧泉. 植物病原真菌抑制几丁质触发植物免疫反应的策略[J]. 植物病理学报, 2024, 54(1): 15-25.
- XU M, XU J, LIU H Q. Strategies of plant pathogenic fungi to inhibit chitin-triggered plant immune responses[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2024, 54(1): 15-25. (in Chinese)
- [32] 邹丽芳. 芥蓝 *MBF1c* 调控的耐热性分子生物学基础[D]. 广州: 华南农业大学, 2019.
- ZHOU L F. Molecular mechanism of *MBF1c* for heat tolerance in Chinese kale[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2019. (in Chinese)