

大白菜叶片响应菌核病侵染的转录组分析

冯冬林, 丁玲, 刘美琴, 钟开勤

福建农业职业技术学院/福州市蔬菜科学研究所, 福建福州 350001

摘要: 由核盘菌引起的大白菜菌核病是严重危害十字花科蔬菜品质和产量的病害之一。为深入研究菌核病抗病机制提供候选基因, 从分子水平探索核盘菌侵染后大白菜的转录水平变化情况, 以抗菌核病自交系 H72 和易感自交系 Y26 为材料, 利用转录组测序技术分析抗感材料在接种核盘菌后不同时间的差异基因。结果表明, 转录组测序共获得 121.77 Gb 的 clean data, 对原始测序数据进行过滤, 各样品 clean data 均达 6 Gb 以上, Q_{20} 介于 97.21%~97.99% 之间, 平均值为 97.61%, Q_{30} 介于 92.59%~93.98% 之间, 平均值为 93.20%, 表明测序质量较好, 可以用于后续分析。接种的抗感材料在 36、48 h 的共同差异表达基因分别为 13、11 个, 去除各接种点共同差异表达的基因, 共获得 18 个差异表达基因。依据基因功能注释, 筛选到 11 个防御反应相关基因, 其中转录因子 *MYB34* 上调表达, 乙烯响应因子 *ERF003* 下调表达, *ERF003* 可能负向调控大白菜菌核病的侵染; 生长素早期响应基因 *GH3.3*、病程相关蛋白 *TLPI* 均上调表达; 此外, *F-box*、氨基酸转运酶 *ANTI*、咖啡酰辅酶 A 氧甲基转移酶 *Cco AOMT*、天冬氨酸蛋白酶 *AED3*、热激蛋白 *DnaJ 11* 均为上调表达, 可能参与了大白菜对核盘菌的防御反应; 上皮硫特异蛋白基因 *ESP* 和类钙调磷酸酶 B 蛋白 *CBL1* 为下调表达, 其在大白菜抗菌核病中的具体功能需进一步分析验证。选择 8 个差异表达基因, 利用 qPCR 验证了转录组分析的可靠性, 其中 *ERF003*、*CBL1*、*GH3.3*、*MYB34*、*ANTI*、*TLPI* 基因的表达趋势与转录组测序结果基本一致, 研究结果有助于进一步分析大白菜应答菌核病的抗病分子机制。

关键词: 大白菜; 菌核病; 转录组; 差异表达基因

中图分类号: S436.341.1 文献标识码: A

Transcriptome Analysis of Chinese Cabbage Responding to Infections of *Sclerotinia sclerotiorum*

FENG Donglin, DING Ling, LIU Meiqin, ZHONG Kaiqin

Fujian Vocational College of Agriculture / Fuzhou Institute of Vegetable Science, Fuzhou, Fujian 350001, China

Abstract: Chinese cabbage *Sclerotinia* rot is caused by *Sclerotinia sclerotiorum*, which seriously endangers the yield and quality of Chinese cabbage. In this study, the transcription level of resistance genes to the infection of *S. sclerotiorum* were explored at the molecular level and provided candidate genes for further study of disease resistance mechanism. The leaves of resistant inbred line H72 and susceptible strain Y26 were inoculated for transcriptome sequencing analysis. The results show that a total of 121.77 Gb clean reads were obtained by transcriptome sequencing analysis. Filtering the raw sequencing data, the clean reads of each sample were over 6 Gb, Q_{20} ranged from 97.21% to 97.99%, and the average percentage was 97.61%, Q_{30} ranged from 92.59% to 93.98%, and the average percentage was 93.20%, indicating that the sequencing quality could be used for subsequent analysis. The number of common differentially expressed genes were 13 and 11 after inoculation for 36 h and 48 h, respectively. After removing the common differentially expressed genes at each time point, we obtained 18 differentially expressed genes. Combined with gene function annotation, 11 genes involved in defense response. *MYB34* transcription factor was up-regulated, while *ERF003* was down-regulated, which might negatively regulate the infection of *S. sclerotiorum*. Gretchen hagen 3.3 (*GH3.3*), PR proteins (*TLPI*), *F-box*, amino acid transporter (*ANTI*), caffeoyl-CoA O-methyltransferase (*Cco AOMT*),

收稿日期 2022-08-22; 修回日期 2022-11-09

基金项目 福建省科技厅引导性项目 (No. 2020N0022); 福建农业职业技术学院科技项目 (No. 2019JS008)。

作者简介 冯冬林 (1978—), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 蔬菜栽培及遗传育种。E-mail: 294910061@qq.com。

aspartyl protease (*AED3*), chaperone protein (*DnaJ 11*) were up-regulated, which were proposed to response to Chinese cabbage pathogen. The expression of epithiospecifier protein (*ESP*) and calcineurin B-like protein gene (*CBL1*) were down-regulated, and the disease resistance function in Chinese cabbage needs further analysis and verification. A further qPCR analysis was used to verify the transcriptome, The expression trends of differentially expressed genes *ERF003*, *CBL1*, *GH3.3*, *MYB34*, *ANT1*, *TLP1* were consistent with that of transcriptome sequencing. These results will be helpful for further research the resistance mechanism to *S. sclerotiorum*.

Keywords: Chinese cabbage; *Sclerotinia sclerotiorum*; transcriptome; differentially expressed genes

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.06.004

大白菜 (*Brassica campestris* syn. *rapa* L. ssp. *pekinensis*) 原产中国, 属于十字花科芸薹属, 是我国栽培面积最大的蔬菜作物之一。大白菜菌核病是由核盘菌 [*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary] 引起的一种具有土传性的真菌病害, 主要危害叶片和茎秆。近年来大白菜菌核病呈逐年上升趋势, 在福建省, 每年 12—4 月为菌核病发病严重期, 少则造成产量损失 10%~30%, 严重时可减产 50%以上^[1]。

菌核病的防治主要以化学防治为主, 但是长期大量使用化学药剂造成土壤污染及食品安全等问题, 培育大白菜抗病品种是应对生态友好型最有效的办法。近年来, 基因组学辅助育种 (genome-assisted breeding, GAB) 将基因组学高通量表型分析相结合创造新种质, 已成为一种高效的育种模式^[2]。

植物在长期的进化过程中, 通过多重防御系统以抵抗病原菌入侵, 在病原菌入侵的情况下, 利用转录组全面分析该时期的全部基因表达情况, 以揭示植物在某一时刻、某个组织中转录水平上的调控机制^[3-4]。本研究以不同抗性大白菜自交系材料接种核盘菌, 进行转录组测序, 筛选出抗病相关差异表达基因, 探讨差异表达基因调控机制, 为大白菜应答菌核病的分子机制及抗病品种的选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

前期对 20 个大白菜品种和自交系经幼苗进行离体叶片菌核病抗性鉴定, 筛选出抗性自交系材料 H72 及感性自交系材料 Y26 作为本研究材料。大白菜核盘菌菌株从大田分离、鉴定并保存。

1.2 方法

1.2.1 植株培养 将自交系材料 H72 与 Y26 种子用 75%酒精消毒处理 90 s, 再用蒸馏水冲洗 2~3

次, 置于 22 °C 光照培养箱中催芽 2 d, 将露白的种子点播于穴盘中, 在大棚自然条件下生长, 基质由草炭土、椰糠和砾石按 1:2:1 混匀而成, 待试验材料长至 2~3 片真叶后接种。

1.2.2 试验处理 切取活化的核盘菌菌块 5 mm×5 mm, 将有菌丝的一面接种到叶片中央, 以无菌丝的琼脂块作为空白对照, 接种叶片时尽量避开叶脉, 最后喷洒定量无菌水, 盖上培养皿, 将接种的叶片水平放置于培养箱中, 温度设为 22 °C, 相对湿度保持在 85%左右。

收集在 PDA 平板上培养 15 d 的核盘菌, 捣碎并加无菌水, 过滤后制成浓度为 1×10^6 个/mL 的孢子悬浮液, 待植株长至 2~3 片叶期, 用接种针刺叶片, 将孢子悬浮液均匀喷雾于植株叶片, 收集分别接种 0、36、48 h 的自交系材料 H72 与 Y26 叶片, 每个样品 0.5 g, 每个处理 3 个重复, 经液氮速冻后于 -80 °C 冰箱保存, 用于转录组测序。

1.2.3 H₂O₂ 检测 DAB (3,3'-diaminobenzidine-HCl) 染色检测法参照 GUAN 等^[5]的方法并加以改进。将接种 36、48 h 后的大白菜叶片置于 pH 为 3.8 的 1 mg/mL DAB 溶液中, 染色 6 h 后于沸腾的 75%酒精中脱色 8 min, 冷却后, 于无水乙醇中室温保存。

1.2.4 文库构建及转录组测序 总 RNA 提取应用 Trizol 法 (Invitrogen), 使用 Agilent 2100 bioanalyzer 检测 RNA 完整性和总量。构建 cDNA 文库, 使用 Qubit 2.0 Fluorometer 和 Agilent 2100 bioanalyzer 对文库进行检测, 在 Illumina NovaSeq 6000 平台进行转录组测序。

1.2.5 测序原始数据分析 测序获得的图像数据经 CASAVA 碱基识别转化为原始序列数据 (raw reads), 去除含接头、含 N (无法确定碱基信息)、低质量 reads 后, 获得 clean data, 与大白菜参考基因组 (<http://brassicadb.org/brad/>) 进行序列比对。使用 DESeq2 软件 (1.20.0) 进行 2 个比较组合之

间的差异表达分析。使用 Benjamini-Hochberg 方法调整所得 P 值 (P -adjust), 以控制错误发现率。差异表达的阈值设定为 P -adjust ≤ 0.05 & $|\log_2FC| \geq 4$ 。根据基因在不同处理时间及抗、感品系中的差异表达、功能注释和功能富集等表达水平进行分析。

1.2.6 qPCR 验证 选取 8 个差异表达基因设计

引物, 以转录组测序用的 cDNA 为模板, 内参基因为 *Actin* (表 1), 用转录组测序同批次采集样品的 cDNA 为模板, 使用荧光定量 PCR 仪 (ABI QuantStudio 3) 进行 qPCR 分析。设 3 次生物学重复, 按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 算法计算基因的相对表达量。使用 SPSS 软件分析差异显著性。

表 1 差异表达基因引物序列
Tab. 1 Premier sequences of differential expression genes

基因 Gene	ID	正向引物 (5'-3') Forward primer (5'-3')	反向引物 (5'-3') Reverse primer (5'-3')
<i>Cco AOMT</i>	Bra103831219	TTGTGGCTGAGGACGAAGAG	AGCGTGACACCATCTCCAAT
<i>GH3.3</i>	Bra103842426	GCGGATACCAAGACCATACT	CAACGACTCTCCATTCAAGAC
<i>ERF003</i>	Bra103854770	CTCCTCTCCGCTACTCTCAC	CTTCACACTTCATCTCCGTTACTC
<i>MYB34</i>	Bra103855087	ACGAAGTGATCTCCGATATGTCT	TCCAAGAACCAAGAACTCCATC
<i>CBL1</i>	Bra103860923	TCGGAGGTGGATGAGATTGT	GCTGTTGTGGACTACACTGAT
<i>AED3</i>	Bra103863237	ACTTGGTTGGGATTCGTGTC	TCGCCTGAACTCGTCTCTTA
<i>ANT1</i>	Bra103870301	TGGTAGGACTCGCAGGAATC	AGGTGATAGGAAGCAGGTAACA
<i>TLP1</i>	Bra103871578	GCTTACGACGATGGAACAAGT	CTTACGGCTTCAGGCTCAAG
<i>Actin</i>		AGGCTACACGTTCCGACAAG	TGGGGCACTAAACACAGTCA

2 结果与分析

2.1 H₂O₂ 的累积情况

利用 DAB 染色检测核盘菌侵染大白菜叶片过程中的活性氧 (ROS) 发生水平和 H₂O₂ 累积情况。结果显示, 在接种后 36、48 h, 大白菜 H72 的染色区域明显小于 Y26, 在 36 h 时已表现出明

显差异 (图 1), 表明大白菜 H72 的抗性强于 Y26。

2.2 转录组测序

转录组测序共获得 121.77 Gb 的 clean data, 对原始测序数据进行过滤, 各样品 clean data 均达到 6 Gb 以上, Q₃₀ 碱基百分比在 90% 以上, GC 含量达 40% 以上 (表 2)。

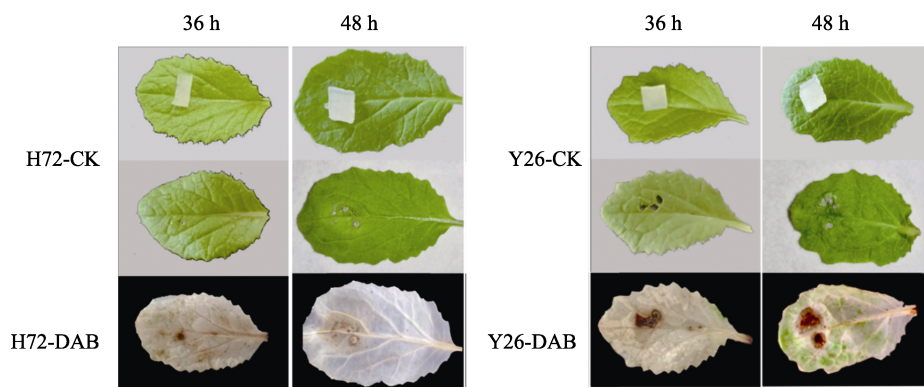


图 1 大白菜 DAB 染色

Fig. 1 DAB staining assay of Chinese cabbage lines

2.3 差异表达基因筛选与分析

在差异表达阈值设定为 P -adjust ≤ 0.05 & $|\log_2FC| \geq 4$ 的基础上, 将抗病 H72 和感病 Y26 材料分别在接种 36、48 h 后进行比对, 抗感病材料间及抗感病材料内共有差异表达基因分别为 13、11 个 (图 2)。

2.4 抗病调控关键基因

从菌核病侵染后抗病材料 H72 和感病材料 Y26 的共有差异表达基因中, 筛选到抗病相关的差异基因 11 个, 差异均达显著性水平 ($P < 0.05$, 表 3)。

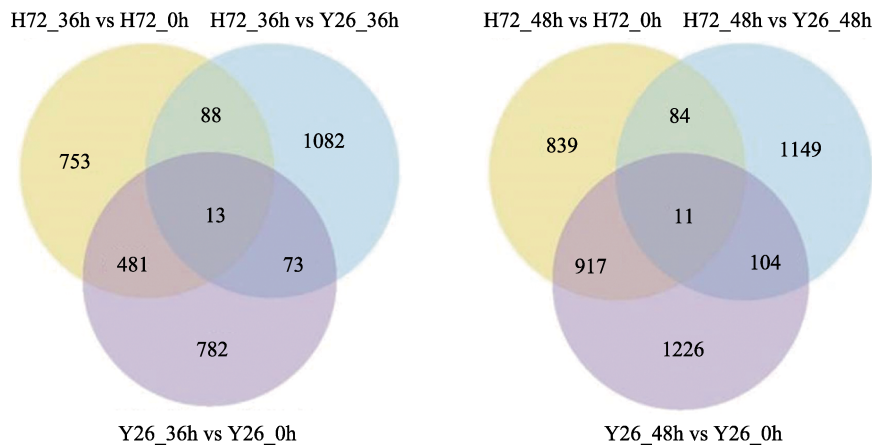
基因 *ESP* 为上皮硫特异蛋白 (epithiospecifier

表 2 菌核病侵染大白菜 H72 和 Y26 的转录组测序结果

Tab. 2 Transcriptome sequencing results of Chinese cabbage H72 and Y26 infected by *S. sclerotiorum*

样品 Sample	原始序列数 Raw reads	高质量序列数 Clean reads	高质量碱基数 Clean bases/Gb	错误率 Error rate/%	Q ₂₀ /%	Q ₃₀ /%	GC 含量 GC content/%
H72_0h_1	45 571 220	41 309 012	6.20	0.03	97.26	92.63	47.62
H72_0h_2	45 945 308	45 906 244	6.89	0.03	97.21	92.59	47.21
H72_0h_3	45 439 372	41 151 114	6.17	0.03	97.47	93.07	47.36
H72_36h_1	45 372 676	43 134 026	6.47	0.03	97.59	93.13	46.60
H72_36h_2	45 502 658	42 972 254	6.45	0.03	97.67	93.26	46.79
H72_36h_3	49 995 234	47 472 566	7.12	0.03	97.82	93.70	46.66
H72_48h_1	54 471 036	51 518 690	7.73	0.03	97.65	93.20	46.46
H72_48h_2	47 276 204	45 970 552	6.90	0.03	97.43	92.70	46.54
H72_48h_3	45 720 156	44 619 012	6.69	0.03	97.51	92.93	46.15
Y26_0h_1	46 130 210	43 164 448	6.47	0.03	97.65	93.29	46.62
Y26_0h_2	48 029 348	45 517 864	6.83	0.03	97.60	93.15	47.14
Y26_0h_3	43 700 630	41 603 362	6.24	0.03	97.63	93.18	46.47
Y26_36h_1	46 867 256	45 238 728	6.79	0.03	97.81	93.58	46.72
Y26_36h_2	45 993 650	43 874 240	6.58	0.03	97.62	93.18	46.80
Y26_36h_3	48 267 870	46 811 112	7.02	0.03	97.67	93.27	46.47
Y26_48h_1	46 800 618	45 315 150	6.80	0.03	97.56	93.01	46.51
Y26_48h_2	45 767 588	43 653 070	6.55	0.03	97.99	93.98	46.65
Y26_48h_3	54 396 578	52 498 574	7.87	0.03	97.89	93.75	46.99

注：_0h、_36h、_48h 分别表示接种 0、36、48 h。
Note: _0h, _36h, _48h indicates 0, 36, 48 h of vaccination, respectively.



_0h、_36h、_48h 分别表示接种 0、36、48 h。
_0h, _36h, _48h indicates 0, 36, 48 h of vaccination, respectively.

图 2 抗、感材料差异基因韦恩图

Fig. 2 Venn map of differentially expressed genes between resistant and susceptible materials

protein) 基因, 拟南芥中 *ESP* 基因调节吲哚-3-乙腈 (IACN) 的产生, 在植物叶片衰老过程中起负调节的作用^[6-7]。*Bra103871086* (*ESP*) 在 H72 和 Y26 均为下调表达。

类钙调磷酸酶 B 蛋白基因 (*CBL1*)、天冬氨酸蛋白酶基因 (*AED3*)、热激蛋白基因 (*DnaJ 11*) 能够调节植物应答生物胁迫和非生物胁迫, 在植物抗逆和次生代谢过程中起重要作用^[8-10]。本研究中 *CBL1* 表现为下调表达, 且在 H72 中的表达

量低于 Y26; *AED3*、*DnaJ 11* 为上调表达, 且在 H72 中的表达量高于 Y26。

转录因子 *ERF*、*MYB* 参与胁迫信号转导路径, 在响应生物胁迫和非生物胁迫及植物生长发育等方面起重要作用^[11-12]。基因 *MYB34* 为上调表达, *ERF003* 为下调表达。

F-box、类甜蛋白基因 (*TLP1*)、氨基酸转运酶基因 (*ANT1*)、生长素原初反应基因 (*GH3.3*)、咖啡酰辅酶 A 氧甲基转移酶基因 (*Cco AOMT*)

表 3 大白菜抗病相关基因的差异表达模式
Tab. 3 Differential expression patterns of disease resistance related genes in Chinese cabbage

基因 Gene	H72_36h vs H72_0h	Y26_36h vs Y26_0h	H72_48h vs H72_0h	Y26_48h vs Y26_0h	H72_36h vs Y26_36h	H72_48h vs Y26_48h
<i>F-box</i>	+4.91	+4.44		+4.89	+5.32	
<i>ERF003</i>	-10.36	-4.12	-6.66	-4.80	-6.26	-5.29
<i>ESP</i>	-5.19	-8.37	-7.95	-6.24	+6.77	
<i>CBL1</i>	-5.26	-4.13	-4.26	-3.93	-5.28	-4.19
<i>MYB34</i>			+4.36	+9.31	+3.37	+7.36
<i>TLP1</i>	+5.20	+4.70	+4.12	+6.80	+4.18	+4.09
<i>ANT1</i>	+4.61	+3.65	+7.03	+5.73	+4.57	+4.12
<i>GH3.3</i>	+5.71	+5.08	+4.29	+8.91	+4.21	+4.89
<i>Cco AOMT</i>			+4.19	+4.25	+10.34	-7.06
<i>AED3</i>	+3.05	+3.06	+5.14	+8.32	+3.47	+4.42
<i>DnaJ 11</i>	+2.55		+4.02	+5.32	+7.27	+8.15

注: _0h、_36h、_48h 分别表示接种 0、36、48 h。表中数据为差异倍数, 差异均显著 ($P<0.05$); +表示上调, -表示下调。

Note: _0h, _36h, _48h indicates 0, 36, 48 h of vaccination, respectively. The data in the table are Log₂FC, and all data indicate significant difference ($P<0.05$); + indicates positive regulate, - indicates negative regulate.

在 H72 和 Y26 中均上调表达, 且在 H72 中的表达量显著高于 Y26。

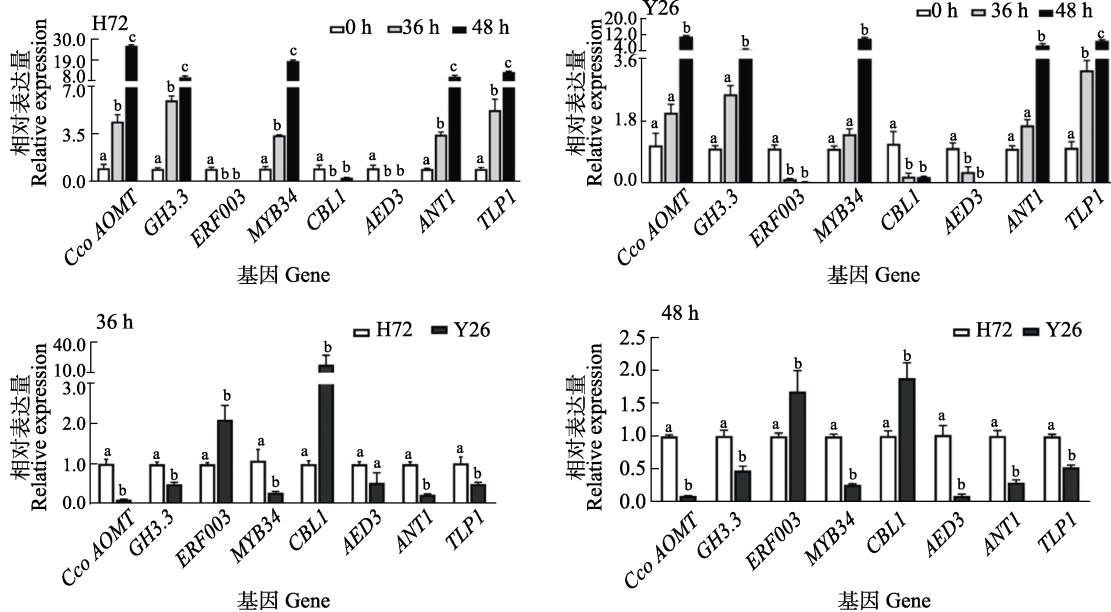
2.5 qPCR 验证

选择 8 个差异表达基因, 应用 qPCR 验证其在抗、感大白菜材料中的表达情况 (图 3)。结果表明, *ERF003*、*CBL1*、*AED3* 在 2 个材料侵染 36、48 h 均下调表达, 其中 *ERF003*、*CBL1* 在 H72 中的表达量低于 Y26, 与转录组结果一致; *Cco AOMT*、*GH3.3*、*MYB34*、*ANT1*、*TLP1* 在 2 个材

料侵染 36、48 h 均上调表达, 并且在 H72 中的表达量高于 Y26, 转录组分析 *Cco AOMT* 在病菌侵染 48 h 的 H72 中的表达量低于 Y26, 其他结果与转录组分析一致。以上分析表明, qPCR 结果与转录组测序结果基本一致, 表明转录组测序结果准确可靠。

3 讨论

本研究选用抗、感菌核病的大白菜品系, 利



不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

图 3 差异表达基因 qPCR 验证

Fig. 3 qPCR verification of differentially expressed genes

用叶片接种菌核病菌, 在转录水平分析 2 种材料在接种 0、36、48 h 后相关抗病差异基因的表达。构建了抗病组 (H72) 与感病组 (Y26) 大白菜叶片 cDNA 文库, 结果显示, 抗、感大白菜自交系随着菌核病菌侵染时间的延长, 高质量序列和差异表达基因数量均显著增多。对差异表达基因进行分析, 鉴定出 11 个抗病相关基因。

3.1 转录因子调控大白菜菌核病抗性

MYB34 是调控芥子油苷代谢通路的 R2R3-MYB 转录因子之一, 不仅可以提高吲哚类芥子油苷的含量, 而且还可以提高生长素的含量^[13-14]。核盘菌、伏马菌素 B1 侵染拟南芥及在 ABA 和 JA 处理下吲哚-3-甲基芥子油苷显著升高, 吲哚类芥子油苷很可能参与了拟南芥对核盘菌侵染的防卫反应^[15-16]。本研究中 *MYB34* 在病菌侵染 48 h 后显著上调, 且在 H72 中的表达量显著高于 Y26, *MYB34* 表达量增强, 可能调控了 ABA、SA、JA 等介导的吲哚类芥子油苷的合成, 从而调节植物的抗逆防御水平。

ERF003 基因属于 AP2-ERF 类转录因子, *ERF* 转录因子同乙烯响应元件相结合, 通过调节乙烯的表达, 从而参与植物胁迫过程调节植物生长和发育^[17]。拟南芥 *AtERF3/4* 与下游基因结合时则发挥抑制子的作用^[12]; 桃树 (*Prunus persica*) 转录因子 *PpERF3* 调节 *PpNCED2/3* 的表达, 从而调节桃子果实的成熟^[18]; 吕静^[19]认为水稻 *Os ERF3* 正调控对二化螟的抗性而负调控对褐飞虱的抗性; 干旱、盐胁迫处理甘薯后, *IbERF3* 在根和叶片中的表达量均显著上升^[20]; 王峰等^[21]推测杂交杨丝裂原活化蛋白激酶 *MAPK6* 调控 *PtdERF3*, 正向调控锈病侵染。本研究中 *ERF003* 在接种后 36、48 h 均为下调表达, 具体如何参与大白菜抗菌核病还需进一步研究。

3.2 植物激素信号转导与大白菜菌核病抗性

生长素 (auxin) 是植物重要的内源激素, 能够诱导早期响应基因 *Aux/IAAs*、*GHSs* 和 *SAURs* 的表达, 从而提高对于胁迫的抵抗能力^[22], 生长素早期响应蛋白 *GH3* 基因参与调控植物多个生理过程, 及相应生物和非生物胁迫^[23], 水稻 *OsGH3.3* 能够提高水稻细菌性病害的抗性^[24], 本研究中 *GH3.3* 在菌核病侵染 36、48 h 后表达量显著上升, 且在 H72 中的表达量显著高于 Y26, 推测 *GH3.3* 在抗菌核病过程中起着重要作用。

3.3 病程相关基因介导大白菜菌核病抗性

类甜蛋白 (thaumatin-like proteins, TLPs) 属于病程相关蛋白 (PR) 家族的 PR-5 亚族, 是一种重要的植物病原防御蛋白。*TLP* 基因对小麦雪霉病、水稻纹枯病、油菜菌核病等具有抗性^[25-27], 栗小英等^[28]研究表明, *TaLr19TLP1* 基因受叶锈菌、脱落酸和水杨酸的诱导, 参与小麦抗叶锈防御反应。*TLP1* 在菌核病侵染 36、48 h 均上调表达, 且在 H72 中的表达量显著高于 Y26, 表明 *TLP1* 可能参与菌核病的防御反应。

3.4 其他基因与大白菜菌核病抗性

ESP 能对黑芥子酶催化的芥子油苷水解产物的组成起调节作用, 芥子油苷及其代谢产物在植物抵御食草动物、害虫和病原微生物的防卫反应中发挥重要作用。过表达拟南芥 *AtESP* 和白菜 *BcESP* 可以调控芥子油苷的代谢, 从而调节植物的抗虫和抗病防御^[29-32]; 植物体内参与苯丙烷途径和水杨酸 (SA) 途径的基因在木质素生物合成及植物免疫方面具有重要的作用。咖啡酰辅酶 A 氧甲基转移酶 (caffeoyl CoA O-methyltransferase, CcoAOMT) 是调控木质素合成的关键酶之一, 转基因 *CcoAOMT* 烟草下调表达, 使木质素含量大幅下降^[33], 百合花 *LrCCoAOMT* 参与调节 SA 信号水平, 使维管束组织中的木质素含量增加并提高对灰霉病的抗性^[34]。转录组分析表明, *ESP* 在侵染叶片 36、48 h 后表达量显著降低, *CcoAOMT* 在接种 48 h 上调表达, 而 *ESP* 和 *CcoAOMT* 如何参与大白菜菌核病的抗性需进一步研究。

参考文献

- [1] 满昌伟. 大白菜制种田菌核病的发生特点与综合防治技术[J]. 山东农业科学, 1995(6): 41.
MAN C W. Occurrence characteristics and integrated control techniques of *Sclerotinia sclerotiorum* in seed production field of Chinese cabbage[J]. Shandong Agricultural Sciences, 1995(6): 41. (in Chinese)
- [2] NTUI V O, UYOH E A, ITA E E, MARKSON A A, TRIPATHI J N, OKON N I, AKPAN M O, PHILIP J O, BRISIBE E A, ENE-OBONG E E, TRIPATHI L. Strategies to combat the problem of yam anthracnose disease: status and prospects[J]. Molecular Plant Pathology, 2021, 22(10): 1302-1314.
- [3] WANG Z, GERSTEIN M, SNYDER M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics[J]. Nature Reviews Genet-

- ics, 2009, 10(1): 57-63.
- [4] VAIDYA K, GHOSH A, KUMAR V, CHAUDHARY S, SRIVASTAVA N, KATUDIA K, TIWARI T, CHIKARA S K. *De novo* transcriptome sequencing in *Trigonella foenum-graecum* L. to identify genes involved in the biosynthesis of diosgenin[J]. The Plant Genome, 2013, 6(2): 1-11.
- [5] GUAN L M, SCANDALIOS J G. Hydrogen peroxide-mediated catalase gene expression in response to wounding[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2000, 28(8): 1182-1190.
- [6] BUROW M, ZHANG Z Y, OBER J A, LAMBRIX V M, WITTSTOCK U, GERSHENZON J, KLIEBENSTEIN D J. *ESP* and *ESM1* mediate indol-3-acetonitrile production from indol-3-ylmethyl glucosinolate in *Arabidopsis*[J]. Phytochemistry, 2008, 69(3): 663-671.
- [7] MIAO Y, ZENTGRAF U. The antagonist function of *Arabidopsis* WRKY53 and ESR/ESP in leaf senescence is modulated by the jasmonic and salicylic acid equilibrium[J]. Plant Cell, 2007, 19(3): 819-830.
- [8] PANDEY G K, KANWAR P, SINGH A, STEINHORST L, PANDEY A, YADAV A K, TOKAS I, SANYAL S K, KIM B G, LEE S C, CHEONG Y H, KUDLA J, LUAN S. Calcineurin B-like protein-interacting protein kinase CIPK21 regulates osmotic and salt stress responses in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2015, 169(1): 780-792.
- [9] MEENA M K, GHAWANA S, SARDAR A, DWIVEDI V, KHANDAL H, ROY R, CHATTOPADHYAY D. Investigation of genes encoding calcineurin B-like protein family in legumes and their expression analyses in chickpea (*Cicer arietinum* L.)[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0123640.
- [10] PEI T L, MA P D, DING K, LIU S J, JIA Y Y, RU M, DONG J E, LIANG Z S. SmJAZ8 acts as a core repressor regulating JA-induced biosynthesis of salvianolic acids and tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots[J]. Journal of Experimental Botany, 2018, 69(7): 1663-1678.
- [11] OHTA M, MATSUI K, HIRATSU H, SHINSHI H, OHME-TAKAGI M. Repression domains of class II ERF transcriptional repressors share an essential motif for active repression[J]. The Plant Cell, 2001, 13(8): 1959-1968.
- [12] FUJIMOTO S Y, OHTA M, USUI A, SHINSHI H, OHME-TAKAGI M. *Arabidopsis* ethylene-responsive element binding factors act as transcriptional activators or repressors of GCC box-mediated gene expression[J]. Plant Cell, 2000, 12(3): 393-404.
- [13] STRACKE R, WERBER M, WEISSHAAR B. The R2R3-MYB gene family in *Arabidopsis thaliana*[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2001, 4(5): 447-456.
- [14] CELENZA J L, QUIEL J A, SMOLEN G A, MERRIKH H, SILVESTRO A R, NORMANLY J, BENDER J. The *Arabidopsis* ATR1 Myb transcription factor controls indolic glucosinolate homeostasis[J]. Plant Physiology, 2005, 137(1): 253-262.
- [15] ZHAO Y T, WANG J S, LIU Y Y, MIAO H Y, CAI C X, SHAO Z Y, GUO R F, SUN B, JIA C G, ZHANG L P, GIGOLASHVILI T, WANG Q M. Classic myrosinase-dependent degradation of indole glucosinolate attenuates fumonisin B1-induced programmed cell death in *Arabidopsis*[J]. Plant Journal, 2015, 81(6): 920-933.
- [16] 刘娜, 蔡丛希, 孙勃, 张志明, 汪俏梅. 核盘菌侵染拟南芥的过程及其芥子油苷的变化[J]. 核农学报, 2011, 25(2): 382-390.
- LIU N, CAI C X, SUN B, ZHANG Z M, WANG Q M. Glucosinolate changes in *Arabidopsis thaliana* infected by *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2011, 25(2): 382-390. (in Chinese)
- [17] XIE Z L, NOLAN T M, JIANG H, YIN Y H. AP2/ERF transcription factor regulatory networks in hormone and abiotic stress responses in *Arabidopsis*[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 1-17.
- [18] WANG X B, ZENG W F, DING Y F, WANG Y, NIU L, YAO J L, PAN L, LU Z H, CUI G C, LI G H, WANG Z Q. Pp ERF3 positively regulates ABA biosynthesis by activating Pp NCED2/3 transcription during fruit ripening in peach[J]. Horticulture Research, 2019, 6(1): 1-10.
- [19] 吕静. 水稻抗虫相关基因 *OsERF3* 及 *OsACS2* 的功能解析[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- LYU J. Functional characterization of herbivore resistance-related genes *OsERF3* and *OsACS2* in rice[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011. (in Chinese)
- [20] 边小峰, 谢一芝, 郭小丁, 贾赵东, 马佩勇. 甘薯抗逆相关基因 *IbERF3* 的克隆与表达分析[J]. 华北农学报, 2014, 29(6): 16-20.
- BIAN X F, XIE Y Z, GUO X D, JIA Z D, MA P Y. Cloning and expression profiles of *IbERF3*, an abiotic stress related gene in sweet potato[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2014, 29(6): 16-20. (in Chinese)
- [21] 王峰, 程诗评, 牛春阳, 李丹蕾, 陈俏丽, 张瑞芝, 沈圣智. 杂交杨转录因子 *Pdt-ERF3* 抗锈病基因表达[J]. 森林工程, 2016, 32(6): 10-14.
- WANG F, CHENG S P, NIU C Y, LI D L, CHEN Q L, ZHANG R Z, SHEN S Z. *Pdt-ERF3* expression of the hybrid polar infected with *Melampsora larici-populina*[J]. Forest Engineering, 2016, 32(6): 10-14. (in Chinese)
- [22] XU J F, ZHANG H H, JIN W B. Genome-wide identification, characterization, and expression profiles of auxin responsive GH3 gene family in *Salvia miltiorrhiza* involved in

- MeJA treatment[J]. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 2021, 31: 85-97.
- [23] JIANG W Q, YIN J L, ZHANG H T, HE Y Q, SHUAI S M, CHEN S H, CAO S L, LI W, MA D F, CHEN H G. Genome-wide identification, characterization analysis and expression profiling of auxin-responsive GH3 family genes in wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. *Molecular Biology Reports*, 2020, 47(15): 3885-3907.
- [24] HUI S G, ZHANG M J, HAO M Y, YUAN M. Rice group I GH3 gene family, positive regulators of bacterial pathogens[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2019, 14(5): 1-4.
- [25] KUWABARA C, TAKEZAWA D, SHIMADA T, HAMADA T, FUJIKAWA S, ARAKAWA K. Abscisic acid-and cold-induced thaumatin-like protein in winter wheat has an antifungal activity against snow mould, *Microdochium nivale*[J]. *Physiologia Plantarum*, 2002, 115(1): 101-110.
- [26] DATTA K, VELAZHAHAN R, OLIVA N, ONA I, MEW T, KHUSH G S, MUTHUKRISHNAN S, DATTA S K. Over-expression of the cloned rice thaumatin-like protein (*PR-5*) gene in transgenic rice plants enhances environmental friendly resistance to *Rhizoctonia solani* causing sheath blight disease[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98(6/7): 1138-1145.
- [27] 石美娟, 左蓉, 刘杰, 赵传纪, 董志雪, 何贻洲, 李艳, 李祥, 童超波, 黄邦全, 白泽涛, 刘胜毅. 甘蓝型油菜 *BnTLP1* 基因的菌核病抗性研究[J]. *中国油料作物学报*, 2021, 43(5): 752-761.
- SHI M J, ZUO R, LIU J, ZHAO C J, DONG Z X, HE Y Z, LI Y, LI X, TONG C B, HUANG B Q, BAI Z T, LIU S Y. *BnTLP1* on resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in *Brassica napus*[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2021, 43(5): 752-761. (in Chinese)
- [28] 栗小英, 高琳, 张艳俊, 王海燕, 刘大群. 叶锈菌诱导的小麦 *TaLr19TLP1* 基因的克隆及表达分析[J]. *分子植物育种*, 2014, 12(5): 867-874.
- LI X Y, GAO L, ZHANG Y J, WANG H Y, LIU D Q. Cloning and expression analysis of *TaLr19TLP1* gene in wheat induced by *Puccinia triticina*[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2014, 12(5): 867-874. (in Chinese)
- [29] LAMBRIX V M, REICHELT M, MITCHELL-OLDS T, KLIEBENSTEIN D J, GERSHENZON J. The *Arabidopsis* epithiospecifier protein promotes the hydrolysis of glucosinolates to nitriles and influences *Trichoplusia ni* herbivory[J]. *Plant Cell*, 2001, 13: 2793-2807.
- [30] BUROW M, RICE M, HAUSE B, GERSHENZON J, WITTSTOCK U. Cell-and tissue-specific localization and regulation of the epithiospecifier protein in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2007, 64(1/2): 173-185.
- [31] BUROW M, LOSANSKY A, MÜLLER R, PLOCK A, KLIEBENSTEIN D J, WITTSTOCK U. The genetic basis of constitutive and herbivore-induced ESP-independent nitrile formation in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(1): 561-574.
- [32] 孙海燕, 袁高峰, 汪俏梅. 白菜上皮硫特异蛋白基因克隆与功能验证[J]. *浙江大学学报*, 2012, 38(5): 535-541.
- SUN H Y, YUAN G F, WANG Q M. Cloning and function verification of epithiospecifier protein gene from Chinese cabbage[J]. *Journal of Zhejiang University*, 2012, 38(5): 535-541. (in Chinese)
- [33] PINCON G, MAURY S, HOFFMANN L, GEOFFROY P, LAIERRE C, POLLET B. Repression of O-methyltransferase genes in transgenic tobacco affects lignin synthesis and plant growth[J]. *Phytochemistry*, 2001, 57(7): 1167-1176.
- [34] FU Y Y, ZHU Y Y, YANG W, XU W J, LI Q, CHEN M, YANG L P. Isolation and functional identification of a *Botrytis cinerea*-responsive caffeoyl-CoA O-methyltransferase gene from *Lilium regale wilson*[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 157: 379-389.