

草莓几丁质酶基因 *FaChi1-FaChi4* 的转录特性及其对干旱胁迫、外施脱落酸及灰霉菌的响应

王亚 贺绥欢 裴越琳 陶宇逍 刘腾 杨泽浩 冷平*

(中国农业大学 农学与生物技术学院,北京 100193)

摘要 为研究草莓中几丁质酶基因的转录特性及其在果实中对生物及非生物胁迫的响应,以“阿尔比”草莓为试验材料,运用实时荧光定量PCR技术对4个几丁质酶基因 *FaChi1-FaChi4* 在果实发育过程及不同器官中的表达情况及其对生物及非生物胁迫的响应情况进行研究。结果表明:1) *FaChi4* 主要在果实中表达,在转色期和红熟期有2个表达峰,它在果实发育与成熟过程中的表达水平显著地高于 *FaChi1-FaChi3*。此外, *FaChi1* 主要在营养器官中表达,其中在叶中的表达量最高; *FaChi2* 主要在叶中表达; *FaChi3* 在各个器官中的表达量均相对较低。2) 干旱胁迫及灰霉菌处理后,果实中 *FaChi1-FaChi4* 的表达均被诱导。外施脱落酸处理可诱导 *FaChi2* 与 *FaChi4* 的表达。以上结果说明: *FaChi1-FaChi4* 在草莓果实发育过程中有不同的表达模式且具有器官特异性,其中 *FaChi4* 是在果实中表达的主要基因; *FaChi1-FaChi4* 在果实对生物及非生物胁迫的响应中有一定的调节作用。

关键词 草莓; *FaChi1-FaChi4*; 转录特性; 干旱胁迫; 外施脱落酸; 灰霉菌

中图分类号 S 668.4

文章编号 1007-4333(2015)06-0108-09

文献标志码 A

Transcription characterization of *FaChi1-FaChi4* and their responses to drought stress, exogenous abscisic acid and *Botrytis cinerea* in strawberry fruit

WANG Ya, HE Sui-huan, PEI Yue-lin, TAO Yu-xiao, LIU Teng, YANG Ze-hao, LENG Ping*

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agriculture University, Beijing 100193, China)

Abstract To investigate the transcription characterization of chitinase in strawberry and their responses to biotic and abiotic stress factors in fruit, expression pattern of *FaChi1-FaChi4* during fruit development and in various organs and their responses to biotic and abiotic stress factors in fruit of strawberry ‘Albion’ were investigated by RT-PCR. Results showed that: 1) *FaChi4* expressed mainly in the fruit, with two peaks at turning stage and red ripening stage and its expression level was apparently higher than that of *FaChi1-FaChi3*. In addition, *FaChi1* expressed mainly in nutritive organs and was highest in the leaf; *FaChi2* expressed mainly in the leaf; *FaChi3* expressed at a relative lower level in each organ. 2) *FaChi1-FaChi4* in the fruit was up-regulated under drought stress and inoculation with *Botrytis cinerea*. *FaChi2* and *FaChi4* were induced after treatment with exogenous abscisic acid. The above results indicated that transcription of *FaChi1-FaChi4* had different patterns during fruit development and was organ-specific, among which, *FaChi4* was the main gene during fruit development; *FaChi1-FaChi4* played a certain regulation role in the responses to biotic and abiotic stresses in fruit.

Key words strawberry; *FaChi1-FaChi4*; transcription characterization; drought stress; exogenous abscisic acid; *Botrytis cinerea*

收稿日期: 2014-12-03

基金项目: 北京市科委重大资助项目(D0706002000091)

第一作者: 王亚, 硕士研究生, E-mail: 763913588@qq.com

通讯作者: 冷平, 教授, 主要从事果实发育生物学及采后处理技术研究, E-mail: pleng@cau.edu.cn

几丁质酶属于病程相关蛋白(PR)家族,是植物中与防御有关的一种次生水解酶。在健康植物中几丁质酶的活性很低,但一些生物和非生物因素的诱导能使其活性迅速增强^[1],除了响应胁迫,几丁质酶也被发现与植物的形态建成及发育密切相关。近年来,关于几丁质酶对生物及非生物胁迫的响应已有大量的研究,而果实中几丁质酶的研究相对较少。果实含有大量的糖分和营养,是病原菌入侵的主要目标,果实在采后贮藏中的损失很大部分归因于此^[2]。此外,果实在生长过程中也常常遭受各种胁迫因素。因此了解果实中几丁质酶的作用特性对实际生产有着重要的意义。

关于几丁质酶在果实发育中的作用,Robinson等^[3]已经在葡萄果实中进行了研究,结果显示一个IV类几丁质酶基因在果实的成熟过程中的表达及相应的酶活持续上升,说明该酶可能被发育所诱导,或者参与果实的发育。此外,其他一些PR蛋白也被发现在果实的发育进程中表达,但草莓果实中几丁质酶的转录特性还未被报道。

目前,关于草莓果实发育成熟、品质调控、采后生理及抗病等方面的研究已经取得了很大的进展^[4-11],草莓中已有4个几丁质酶基因被克隆,其中包括2个II类几丁质酶基因 *FaChil* 与 *FaChi2*,一个III类几丁质酶基因 *FaChi3* 和一个IV类几丁质酶 *FaChi4*。Khan等的研究表明,草莓叶片中的 *FaChil* 与 *FaChi2* 可被草莓炭疽菌及辣椒炭疽菌诱导表达^[12], *FaChi4* 可被解淀粉芽孢杆菌菌株 s13-3 诱导表达^[13];草莓果实中 *FaChi2* 和 *FaChi3* 的表达及相应的酶活性可被紫外照射所诱导^[14]。而草莓果实中 *FaChil-FaChi4* 对非生物胁迫及草莓生产中常见的致病真菌灰霉菌^[15]的响应情况还未被报道。

本研究通过荧光定量PCR调查了 *FaChil-FaChi4* 在草莓果实各发育阶段及根、匍匐茎、叶和花中的表达情况及其在果实中对干旱胁迫,外源ABA及灰霉菌处理的响应情况,旨在从分子水平上了解几丁质酶基因在草莓果实中的作用特性。

1 材料与方法

1.1 植物材料

“阿尔比”草莓 (*Fragaria × ananassa*) cv. 材料取自中国农业大学科学园。植株在标准温室条件下生长。从3个月(从定植算起)苗龄的植株上取健康

的根、匍匐茎、叶和完整的花器官(包括花萼),立即用液氮冷冻, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用来提取RNA。将草莓果实整个发育时期划分为6个阶段:小绿(SG,约花后7d);大绿(BG,约花后14d);白熟(约花后21d);转色(约花后23d);粉红(约花后25d);红熟(约花后27d)。在每个发育阶段随机取10个果实,用游标卡尺测量果实纵横径,用镊子去除果实表面的瘦果后,将果肉(即花托)用液氮冷冻, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用来提取RNA。

1.2 试验方法

1.2.1 离体草莓果实的外源ABA处理

将大小一致,无机械损伤的大绿期草莓果实分成2组。第一组($n=20$,对照)浸泡在含有体积分数0.01% Tween 20的去离子水中;第二组($n=20$)浸泡在含有质量分数0.01% Tween 20的100 $\mu\text{mol/L}$ ABA溶液中。2组果实均放置在组培室($25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 45%相对湿度)。分别在处理0、0.5、1.0和1.5 h后取样,每次分别在每组取5个果实,去除瘦果后立即将果肉用液氮冷冻, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用来提取RNA。

1.2.2 离体草莓果实的干旱胁迫处理

将大小一致无机械损伤的大绿期果实分成2组,第一组($n=20$,对照)放在装有湿棉花的托盘中,用保鲜膜覆盖来防止水分散失。第二组果实($n=20$)放在托盘中自然失水。2组果实均放置在组培室($25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 45%相对湿度)。分别在处理0、12、24和36 h后取样,每次分别在每组取5个果实,每个果实在处理前后分别称重计算失水率,去除瘦果后立即将果肉用液氮冷冻, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用来提取RNA。

1.2.3 灰霉菌接种

取红熟期草莓果实进行接种试验。灰霉菌在草莓果实上生长($25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 95%相对湿度)15 d后,用蒸馏水将孢子洗下,去除菌丝碎片后用血球计数板对孢子进行计数,调节孢子浓度至 $10^7/\mu\text{L}$ 。将红熟期的草莓分成2组,第一组($n=45$,对照)浸泡在含有0.01% Tween 20的无菌水中,第二组果实($n=45$)浸泡在含有0.01% Tween 20孢子浓度为 $10^7/\mu\text{L}$ 的接种液中,5 min后取出,用吸水纸吸干果实表面的水分后放置在装有湿棉花的托盘中,用保鲜膜覆盖防止水分丧失。分别在处理0、1和3 d后取样,每次在每组取5个果实,去除瘦果后立即将果肉用液氮冷冻, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用来提取RNA及ABA。另外,在处理0、1和3 d后分别在每组取5个果实

测定乙烯释放量。

1.2.4 乙烯释放量测定

将待测果实放置于 10 L 的密闭容器中, 25 °C 放置 2 h, 之后从容器顶端抽气孔抽取顶部气体 1 mL, 然后注入气相色谱(Agilent, 6890N, USA)测定。气相色谱使用 Al₂O₃, 柱长 3 m, 氢火焰离子检测器检测, 载气为 N₂, 压力为 0.6 kg/cm², 燃气为 H₂, 流量为 30 mL/min; 检测器温度为 200 °C, 进样口温度为 50 °C。

1.2.5 脱落酸含量的测定

将 1 g 果肉或叶片样品液氮中研磨成极细粉末, 用 40 mL 80% 甲醇提取 12 h, 之后提取液 1 000g 离心 20 min, 重复 2 遍。上清液用 Sep-Pak C18 柱(Waters, Milford, MA, USA)除去极性物质, 之后置于 -20 °C 备用。酶联免疫使用 ABA 酶联免疫试剂盒(中国农业大学), 步骤按说明进行。酶联免疫仪使用 Thermo Electro (Labsystems) Multiskan MK3 (PIONEER Co., China)。

1.2.6 系统进化分析

通过查找文献得到 FaChi1-FaChi4 及拟南芥中 II、III、IV 类几丁质酶的蛋白序列号, 从 NCBI 中搜索得到相应的氨基酸序列, 并通过 BLAST 得到其他物种与 FaChi1-FaChi4 序列相似度较高的几丁质酶的氨基酸序列, 通过 MEGA 4.0.2 软件, 采用 Neighbor-Joining(N-J)方法生成进化树并编辑。

1.2.7 荧光定量 PCR

总 RNA 的提取使用热硼酸法^[16]。总 RNA 中

基因组 DNA 的去除使用 RNase-Free DNase I kit (Takara, 大连), 操作过程按使用说明进行。每个 RNA 样品的质量用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。cDNA 的合成使用 PrimeScript RT reagent kit (Takara), 操作步骤按使用说明进行。Real-time PCR 所用引物使用 Primer 5 软件进行设计, 引物序列如表 1 所示。编码 Actin 蛋白的 *Actin* 基因被用作内参基因。所有的引物特异性均用常规 PCR 检测, PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 目的条带用 DNA 回收试剂盒(Tiagen, Beijing, China), 操作按说明进行。之后将 cDNA 片段连入 pMD18 T 载体(Takara), 并转入 DH5 α 大肠杆菌(Tiagen, Beijing, China)。含有目的片段的大肠杆菌菌液一部分送测序(Invitrogen, Beijing, China), 另一部分用质粒小提试剂盒(Tiagen, Beijing, China)提取质粒, 梯度稀释后用来做标准曲线。Real-time PCR 仪使用 Rotor-Gene 3000 system(Corbett research, Australia)。反应体系为 20 μ L, 其中包含 0.8 μ L 的引物混合物(上下游引物各 0.4 μ L), 1.5 μ L 的 cDNA 模板, 10 μ L 的 SYBR Premix Ex *Taq* (2 \times) (Takara, Dalian, China) 和 7.7 μ L 的双蒸水。反应条件如下: 95 °C/30 s; 95 °C/15 s, 60 °C/20 s, 72 °C/15 s(40 个循环)。反应之后为检测扩增的特异性, 进行溶解曲线反应, 温度 60~95 °C, 每个循环增加 1 °C。Real-time PCR 使用双标准曲线法, 相对定量计算使用 Rotor-Gene 6.1.81 软件。

表 1 检测基因的实时荧光定量 PCR 引物

Table 1 Real-time PCR primers of tested genes

名称 Name	正向引物序列 Forward primer sequence	反向引物序列 Reverse primer sequence	编号 Accession
<i>FaChi1</i>	TGGTAGGTCGATATGTGCTCACGC	ACCAATTCGATCATTCACCTCGTGC	EF593027.1
<i>FaChi2</i>	AACCATCAAGCCACGACGTCATTAC	TATTATCTTGTCCACGCCACATTC	AF320111.1
<i>FaChi3</i>	CTTCTGGCAGTTGGTTCTAATGCAG	TGGTGCATGTATTGCTAGACGGATC	AF134347.1
<i>FaChi4</i>	CTGTGTTGCAGCGAATTTGGTTACT	GATATCCGCTACTGAGCTACCGCC	JN415653.1
<i>FaNCED2</i>	TACGGGGACAGGAAGTTCGGTG	TCAAACCTCACGGCGTTCACAATCT	HQ008770
<i>FaNCED3</i>	GGTCGTGATAGGGTCGTGTATGACTC	CACCATCCCCGCTTCCAAAT	HQ008771
<i>FaCYP707A1</i>	CTGTGACCTCGGAGTCGTGGG	TCCTCAGTTCTTCTTTGTAGCGGGT	HQ681284
<i>FaACO2</i>	CATGAGTTGATGGACAAGGTGGAG	GGGACTTGGGAAATGTTGGAG	AJ851829
<i>FaACSI</i>	CGATAGAAGATTTGAGATGGCGAAC	TAGTGGGTTTGAGGGGTGTTGTAAT	AY661301
<i>FaETR2</i>	CTTGATCGCGGTGGCCTACT	TCAACTGAAACGGGTGAGGACC	J297513
<i>FaActin</i>	GCCAGAAAGATGCTTATGTCGGTG	TGGGGCAACACGAAGCTCAT	AAB116565

2 结果

2.1 系统发生

从 NCBI 中检索得到 *FaChi1-FaChi4*、拟南芥及其他物种中部分几丁质酶的氨基酸序列, 构建系统发生树并编辑, 同一类几丁质酶用相同的符号标出 (图 1)。蛋白序列号如表 2 所示: 系统发生树显示不同物种中同类几丁质酶在进化树上的距离较近。其中 II 类几丁质酶 *FaChi1* 与 *FaChi2* 处在同一个分支上, 与花生中的 II 类几丁质酶 (*AhChi*) 的进化距离较近; III 类几丁质酶 *FaChi3* 与苹果中的 III 类几丁质酶 (*MdChi2*) 的进化距离较近; IV 类几丁质酶 *FaChi4* 与拟南芥中的 IV 类几丁质酶 (*AtChi4-3*) 的进化距离较近。

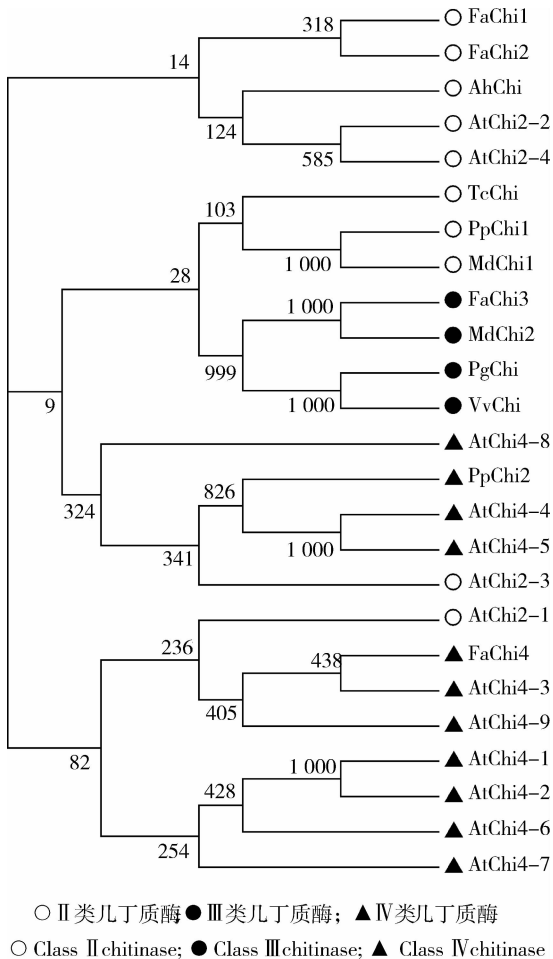


图 1 几丁质酶系统发生树

Fig. 1 Phylogenetic tree of chitinase

2.2 果实发育

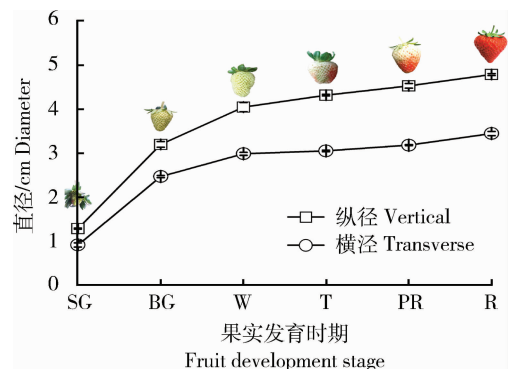
在当前温室条件下, 草莓从盛花期到果实完全成熟大约需要 27 d 左右。用游标卡尺测量各个发

育阶段的果实的纵横径, 绘制折线图。如图 2 所示, 在小绿期至白熟期, 果实纵横径显著增加, 果实迅速膨大并褪绿, 之后果实逐渐变红, 果个变化不大。

表 2 系统发生分析中的蛋白序列号

Table 2 Accession number of proteins in the phylogenetic analysis

名称 Name	来源 Source	编号 Accession
AtChi2-1	拟南芥	AAC72865
AtChi2-2	拟南芥	AAF29390.1
AtChi2-3	拟南芥	AAG00887.1
AtChi2-4	拟南芥	BAA94976.1
AtChi3	拟南芥	BAA21861.1
AtChi4-1	拟南芥	AAB64044
AtChi4-2	拟南芥	AAB64045
AtChi4-3	拟南芥	AAB64046
AtChi4-4	拟南芥	AAB64047
AtChi4-5	拟南芥	AAB64048
AtChi4-6	拟南芥	AAB64049
AtChi4-7	拟南芥	AAG09096.1
AtChi4-8	拟南芥	CAB61980
AtChi4-9	拟南芥	CAB81807
TcChi	可可	XM_007051247.1
AhChi	花生	GQ395806.1
PpChi1	沙梨	FJ589783.1
MdChi	苹果	HQ416905.1
VvChi	葡萄	ACH54087.1
PgChi	人参	DQ532359.1
MdChi2	苹果	AF309514.1
PpChi2	沙梨	FJ589786.1



SG, 小绿; BG, 亮绿; W, 白熟; T, 转色; PR, 粉红; R, 红熟

图 2 草莓果实发育时期

Fig. 2 Various stages of strawberry fruit development

2.3 *FaChi1-FaChi4* 的转录特性

如图 3 所示,在果实发育过程中,*FaChi1-FaChi4* 均表达,其中 *FaChi4* 的表达水平明显高于 *FaChi1-FaChi3*,从小绿期开始随果实发育逐渐升高,在转色期急剧上升达到第一个高峰,随后维持在较高的水平,在红熟期达到第二个高峰;*FaChi2* 的表达呈现出曲折的模式,在大绿和粉红期存在 2 个

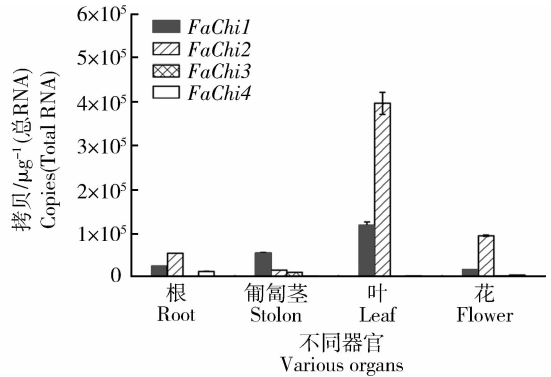
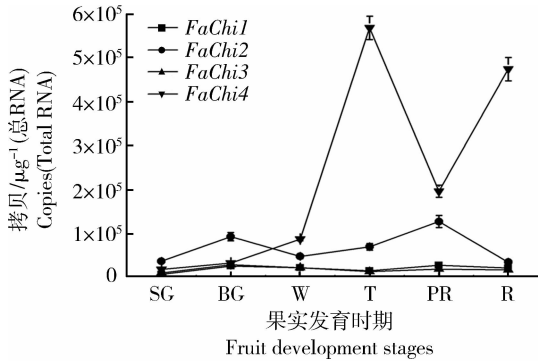


图 3 *FaChi1-FaChi4* 在果实发育过程及不同器官中的表达

Fig. 3 Expression of *FaChi1-FaChi4* during fruit development and in various organs

2.4 *FaChi1-FaChi4* 对干旱胁迫的响应

如图 4 所示,干旱处理过程中果实的失水率逐渐上升而对对照组基本未失水。与对照相比,失水胁迫下 *FaChi1-FaChi4* 的表达均被不同程度的上调。其中,*FaChi2* 和 *FaChi4* 在处理 12 h 即被分别上调至对照的 4 和 2 倍,而 *FaChi1* 和 *FaChi3* 在处理 24 h 后被轻微诱导(图 5)。

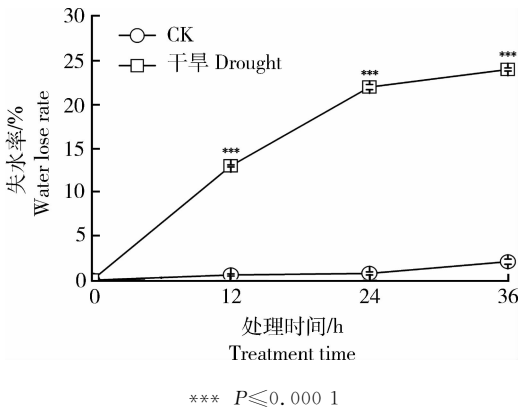


图 4 干旱处理后果实的失水率

Fig. 4 Water lose rate of fruits after drought treatment

2.5 *FaChi1-FaChi4* 对外施 ABA 的响应

如图 6 所示,ABA 处理后,与对照相比,*FaChi2* 和 *FaChi4* 在处理 0.5 h 后即被上调,分别

表达峰;*FaChi1* 和 *FaChi3* 的表达量相对均较低,与 *FaChi2* 有相似的曲折模式。此外,*FaChi1* 的表达主要集中在营养器官,其中在叶中的表达量最高;*FaChi2* 在叶片中的表达水平远远高于其他器官;*FaChi3* 在各个器官中的表达量均相对较低,无明显峰值;而 *FaChi4* 的表达主要集中在果实中,在其他器官中的表达量明显偏低。

在处理 1.5 和 1 h 后上调至对照的 2 和 7 倍。而 *FaChi1* 和 *FaChi3* 的表达与对照相比无明显变化,分别在处理 1 及 1.5 h 后有轻微的下调。

2.6 *FaChi1-FaChi4* 对灰霉处理的响应、被接种果实中乙烯的产生及 ABA 含量的变化

如图 7 所示,与对照相比,灰霉处理后 *FaChi1-FaChi4* 的表达均被显著上调,且上调幅度随处理时间的推移而增大。其中 *FaChi2* 和 *FaChi4* 被上调的程度大于 *FaChi1* 和 *FaChi3*。

灰霉菌处理也促进了乙烯的生成,如图 8 所示,在接种 3 d 后,与对照组相比,被处理的果实乙烯释放量明显增加,约上升至对照的 6 倍,且乙烯代谢相关基因 *FaACS1*, *FaACO2*, *FaETR2* 的表达水平均被显著上调。

此外,灰霉菌接种也引起了果实中 ABA 含量及其代谢相关基因 *FaNCED2*, *FaNCED3*, *FaCYP707A1* 表达水平的变化。如图 9 所示,与对照组果实相比,被处理后的果实中 ABA 的含量略有下降,处理 1 d 后,ABA 的水平下降了约 15%,*FaNCED2* 被下调,*FaNCED3* 被上调,而 *FaCYP707A1* 无明显变化;在处理 3 d 后 ABA 的含量下降了约 20%,*FaNCED2*, *FaNCED3* 和 *FaCYP707A1* 均被上调。

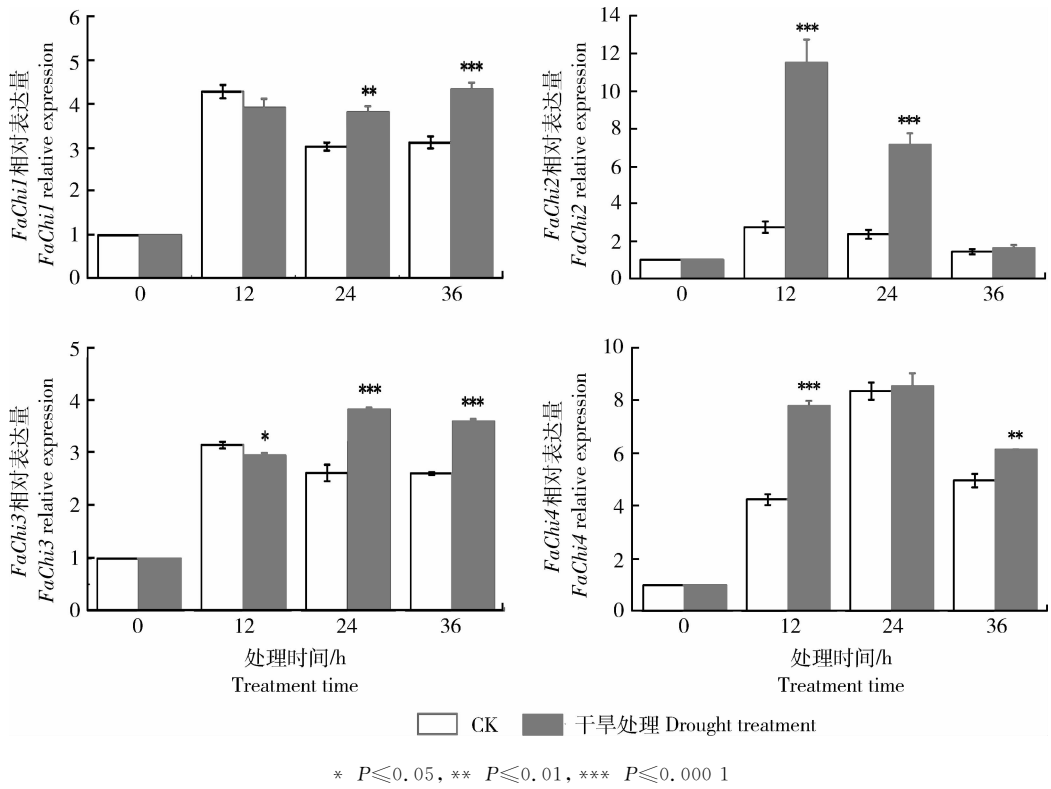


图 5 *FaChi1-FaChi4* 在对照及干旱处理果实中的表达

Fig. 5 Expression of *FaChi1-FaChi4* in control and dehydrated fruits

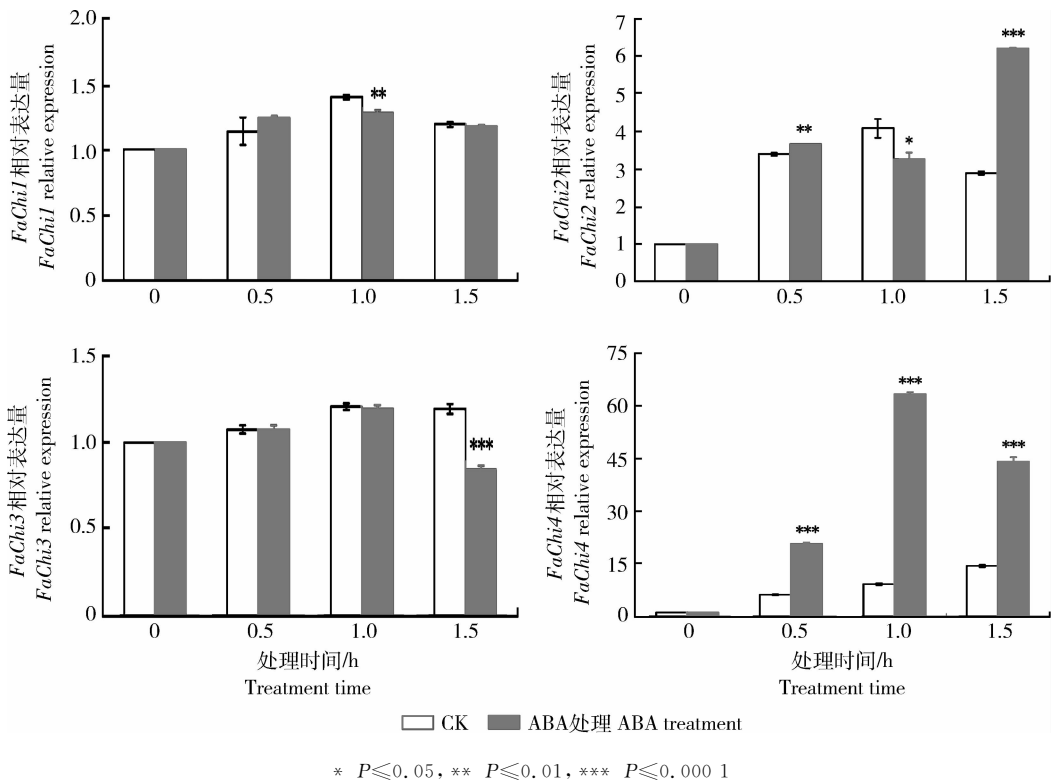


图 6 *FaChi1-FaChi4* 在对照及外施 ABA 处理果实中的表达

Fig. 6 Expression of *FaChi1-FaChi4* in control and exogenous ABA-treated fruits

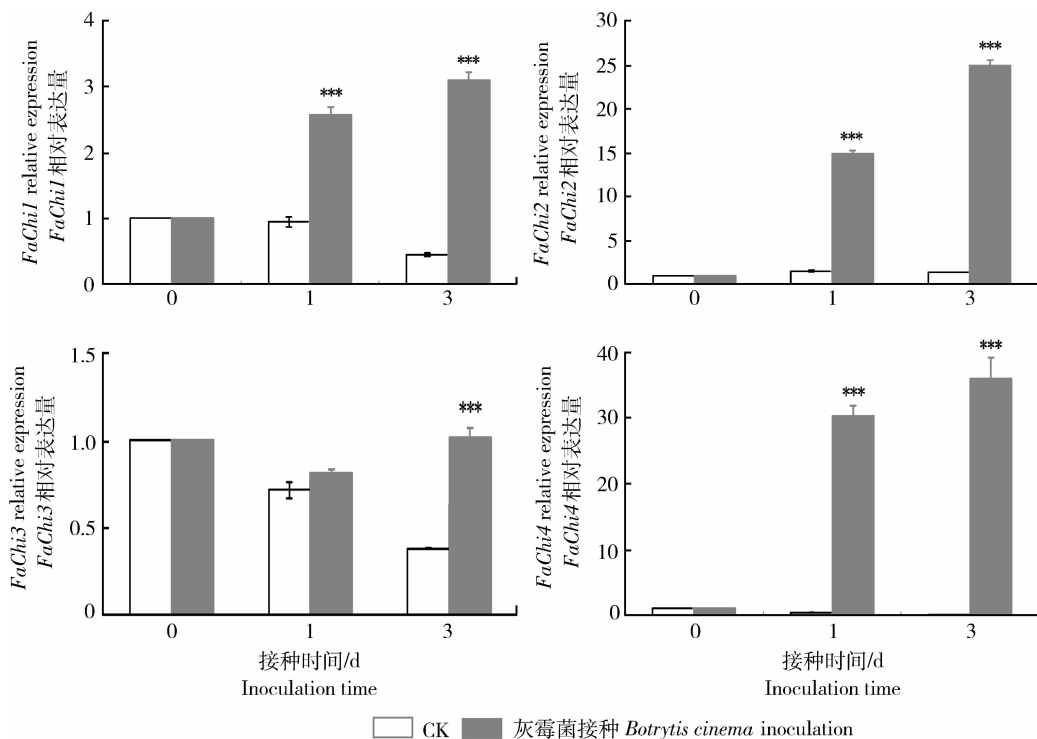


图7 FaChi1-FaChi4 在对照及灰霉接种的果实中的表达

Fig. 7 Expression of FaChi1-FaChi4 in control and Botrytis cinema-inoculated strawberry fruits

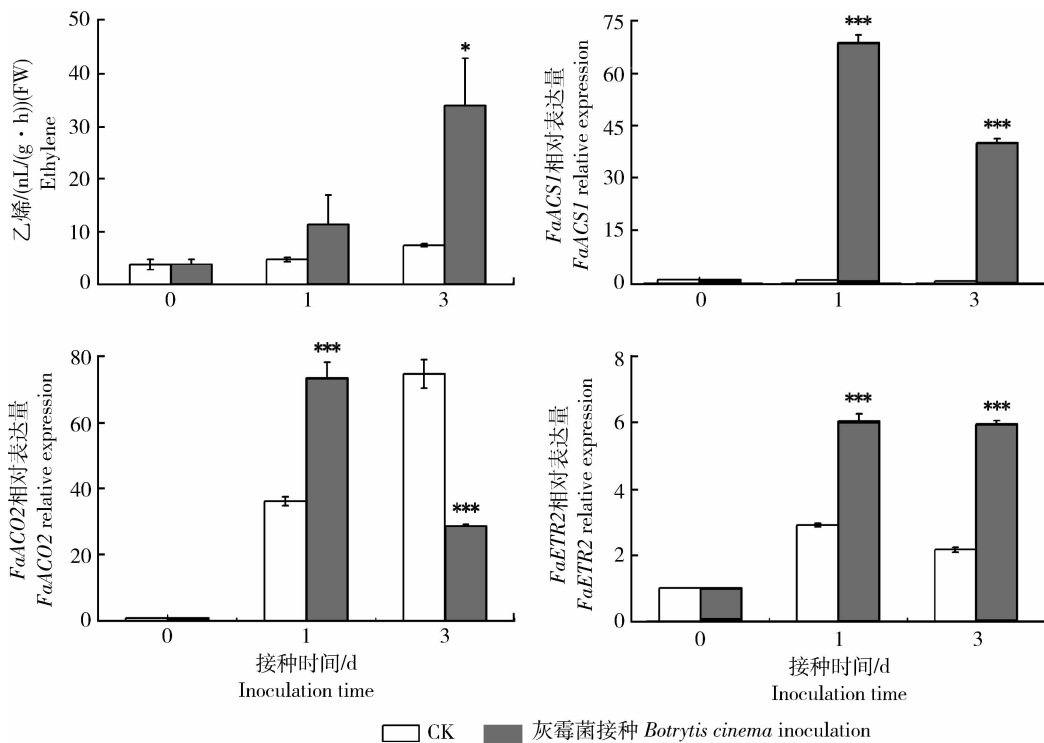
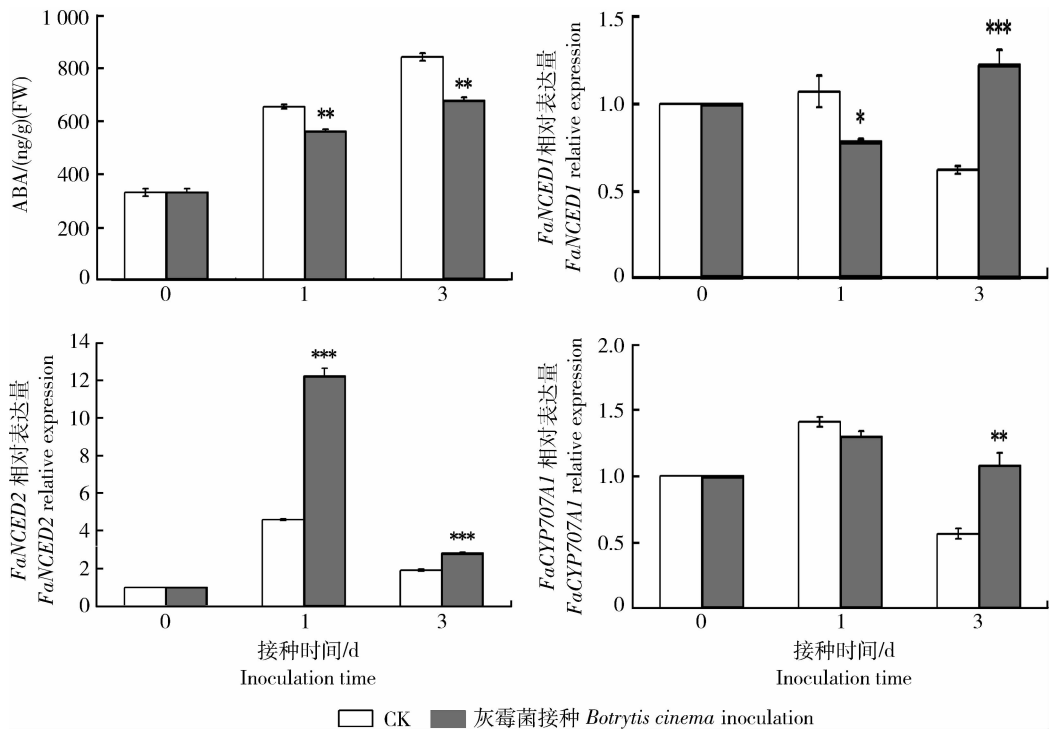


图8 灰霉菌接种后果实乙烯释放量及乙烯代谢相关基因的表达

Fig. 8 Ethylene production and related gene expression in fruits after Botrytis cinema inoculation

ACO, 1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶; ACS, 1-氨基环丙烷-1-羧酸合酶; ETR, 乙烯受体
 ACO, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase; ACS, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate
 synthase; ETR, ethylene receptor



NCED, 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶; CYP707A, ABA 8'-羟化酶
 NCED, 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase; CYP707A, ABA 8'-hydroxylase

图9 灰霉菌接种后果实中 ABA 含量及其代谢相关基因的表达

Fig. 9 ABA content and related gene expression in fruits after *Botrytis cinerea* inoculation

3 讨论

已有很多资料表明,植物几丁质酶在同种植物的不同发育阶段基因的表达不同,不同组织器官中酶活性及同工酶种类或含量也是不同的,说明几丁质酶参与了植物生长发育的调控。基因表达分析显示;*FaChi4* 在果实中的表达水平显著高于其他器官,并且伴随着果实的发育逐渐上升,在发育的后期有较高的表达量。本研究推测 *FaChi4* 可能与果实的发育相关,但还需要进一步的证实,接下来我们将开展亚细胞定位、酶活测定及转基因等方面的工作,为阐明其功能收集证据。

植物中的 PR 蛋白可被非生物胁迫因素诱导^[17-18],干旱是栽培中常见的一种非生物胁迫因素,早先的研究表明,对番茄进行干旱胁迫处理后,耐旱品种中几丁质酶的诱导程度大于干旱敏感品种中的诱导程度,说明几丁质酶在植物抵御干旱中发挥作用^[19]。本研究中,*FaChi1-FaChi4* 均可被干旱胁迫不同程度的诱导,说明它们在草莓果实抵御干旱胁迫中发挥一定的调节作用。

ABA 是一类重要的胁迫相关激素,其生物合成

及信号转导可被水分胁迫、盐胁迫、低温胁迫等激活。本研究中,用 100 $\mu\text{mol/L}$ 的外源 ABA 对离体的大绿果果实处理后,*FaChi2* 和 *FaChi4* 被上调,说明 ABA 可调节胁迫相关基因的表达,这与前人的研究结果一致^[20-23]。

近年来,随着分子生物学技术的迅速发展,许多植物几丁质酶已被克隆并被成功转化,过表达几丁质酶基因的转基因植株拥有更强的抵御病原体入侵的能力,证实了几丁质酶在抵御病原菌中发挥重要的作用^[24-26]。已有大量研究表明多种病害可诱导几丁质酶的活性及几丁质酶基因的表达。本研究中,被灰霉菌接种的草莓果实中 *FaChi1-FaChi4* 的表达均被显著上调,说明 *FaChi1-FaChi4* 均参与了草莓果实对病原菌的防御。

乙烯产量的上升是植物体响应病原体入侵的一个早期的现象,且与防御反应的诱导相关^[27]。ABA 也可参与植物对生物胁迫的应答,但在不同的“植物-病原体”互作中,乙烯与 ABA 所起的具体作用也不相同。如拟南芥的乙烯不敏感突变体 *ein2* 对番茄细菌性斑点病菌 (*Pseudomonas syringae* pv.) 和野油菜黄单胞菌 (*Xanthomonas campestris* pv.)

campestris)抗病性增强,但对灰霉病的抗性减弱^[28]。番茄中ABA缺失突变体 *Sitiens* 表现出比野生型更强的抵御灰霉菌的能力^[29],而ABA也能通过促进胼胝质沉淀来提高植物的抗病性^[30]。本实验中,灰霉菌接种导致了乙烯释放量及代谢相关基因表达的显著上升,说明乙烯参与了宿主对灰霉菌的防御反应,而乙烯调控宿主抗性的机制,相应的受体以及信号转导路径尚不清楚。此外,从ABA处理实验中得出外施ABA可诱导 *FaChi2* 与 *FaChi4* 的表达,而病原体入侵导致的 *FaChi1-FaChi4* 的上调伴随着内源ABA水平的下降,其中的调控机制尚不明确,需要进一步的探究。

参 考 文 献

- [1] 张志忠,吴菁华,吕柳新,等. 植物几丁质酶及其应用研究进展[J]. 福建农林大学学报:自然科学版,2005,12 34(4):494-499
- [2] Ceponis M J. Disorders in sweet cherry and strawberry shipments to the New York market, 1972-1984 [J]. Plant Disease,1987,71(5):473
- [3] Robinson S P, Jacobs A K, Dry I B. A class IV chitinase is highly expressed in grape berries during ripening [J]. Plant Physiology,1997,114(3):771-778
- [4] 柴叶茂,贾海峰,李春丽,等. 草莓果实发育过程中糖代谢相关基因的表达分析[J]. 园艺学报,2011,38(4):637-643
- [5] 张广华,葛海波,张进献,等. 草莓果实软化机理及调控研究进展[J]. 果树学报,2001,18(3):172-177
- [6] 李丽萍,韩涛. 草莓果实的采后变化及贮藏保鲜[J]. 食品科学,1993,10(166):53-57
- [7] 朱树华,周杰,束怀瑞,等. 一氧化氮延缓草莓成熟衰老的生理效应[J]. 中国农业科学,2005,38(7):1418-1424
- [8] 赵妍,杨超,王若兰,等. CaCl₂ 处理对草莓采后品质及灰霉病害的影响[J]. 食品工业科技,2013,34(13):313-316
- [9] 朱树华,周杰,束怀瑞,等. 一氧化氮对草莓果实衰老的影响[J]. 园艺学报,2005,32(4):589-593
- [10] 李莹,任艳青,闫化学,等. 机械伤对草莓果实理化品质的影响[J]. 食品科技,2013,38(4):18-23
- [11] 郑永华. 高氧处理对蓝莓和草莓果实采后呼吸速率和乙烯释放速率的影响[J]. 园艺学报,2005,32(5):866-868
- [12] Khan A A, Shih D S. Molecular cloning, characterization, and expression analysis of two class II chitinase genes from the strawberry plant [J]. Plant Science,2004,166(3):753-762
- [13] Yamamoto S, Shiraiishi S, Suzuki S. Are cyclic lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* S13-3 responsible for the plant defence response in strawberry against *Colletotrichum gloeosporioides*? [J]. Letters in Applied Microbiology,2015,60(4):379-386
- [14] Pombo M A, Rosli H G, Martinez G A, et al. UV-C treatment affects the expression and activity of defense genes in strawberry fruit (*Fragaria* × *ananassa*, Duch)[J]. Postharvest Biology and Technology,2011,59(1):94-102
- [15] 张建人. 南方草莓灰霉病的发生与综合防治[J]. 植物保护,1991,17(4):32-33
- [16] Wan C Y, Wilkins T A. A modified hot borate method significantly enhances the yield of high-quality RNA from cotton (*Gossypium hirsutum* L)[J]. Analytical Biochemistry,1994,223(1):7-12
- [17] Hammerschmidt R. Induced disease resistance: How do induced plants stop pathogens? [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology,1999,55(2):77-84
- [18] 陈鹏,彭海霞,张静. 水分胁迫对小麦叶片抗性相关酶活性的诱导[J]. 西北农业学报,2011,2(2):56-61
- [19] Yu L X, Djebrouni M, Chamberland H, et al. Chitinase: Differential induction of gene expression and enzyme activity by drought stress in the wild (*Lycopersicon chilense* Dun) and cultivated (*L. esculentum* Mill) tomatoes[J]. Journal of Plant Physiology,1998,153(5):745-753
- [20] Chandler P M, Robertson M. Gene expression regulated by abscisic acid and its relation to stress tolerance [J]. Annual Review of Plant Biology,1994,45(1):113-141
- [21] Ingram J, Bartels D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants[J]. Annual Review of Plant Biology,1996,47(1):377-403
- [22] Leung J, Giraudat J. Abscisic acid signal transduction [J]. Annual Review of Plant Biology,1998,49(1):199-222
- [23] Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Gene expression and signal transduction in water-stress response [J]. Plant Physiology,1997,115(2):327
- [24] Zeilinger S, Galhaup C, Payer K, et al. Chitinase gene expression during mycoparasitic interaction of *Trichoderma harzianum* with its host [J]. Fungal Genetics and Biology,1999,26(2):131-140
- [25] Jach G, Logemann S, Wolf G, et al. Expression of a bacterial chitinase leads to improved resistance of transgenic tobacco plants against fungal infection[J]. Biopractice,1992,1:33-40
- [26] Shin S, Mackintosh C A, Lewis J, et al. Transgenic wheat expressing a barley class II chitinase gene has enhanced resistance against *Fusarium graminearum* [J]. Journal of Experimental Botany,2008,59(9):2371-2378
- [27] Boller T. Ethylene in pathogenesis and disease resistance[J]. The Plant Hormone Ethylene,1991:293-314
- [28] Thomma B P H J, Eggermont K, Tierens K F M J, et al. Requirement of functional ethylene-insensitive 2gene for efficient resistance of *Arabidopsis* to infection by *Botrytis cinerea* [J]. Plant Physiology,1999,121(4):1093-1101
- [29] Audenaert K, De Meyer G B, Höfte M M. Abscisic acid determines basal susceptibility of tomato to *Botrytis cinerea* and suppresses salicylic acid-dependent signaling mechanisms [J]. Plant Physiology,2002,128(2):491-501
- [30] Mauch-Mani B, Mauch F. The role of abscisic acid in plant-pathogen interactions [J]. Current Opinion in Plant Biology,2005,8(4):409-414