

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.54106

乙烯响应因子 CsERF9 调控茶树炭疽病抗性的分子机制研究

杨 影^{1,2} 郝豫皖² 张学宁² 方佳璐² 马月华² 杨伟龙³ 孙文清^{1,2}
王新超² 王玉春^{1,*} 黄建燕^{2,*}

¹ 浙江农林大学茶学与茶文化学院 / 浙江省植物种质资源保育与利用国际科技合作基地, 浙江杭州 311300; ² 中国农业科学院茶叶研究所 / 国家茶树改良中心 / 农业农村部特种经济动植物生物学与遗传育种重点实验室, 浙江杭州 310008; ³ 河南农业大学园艺学院, 河南郑州 450046

摘 要: 茶树是全球重要的经济作物之一, 炭疽病作为茶树的主要真菌病害, 显著影响茶树生长及茶叶品质。乙烯响应因子(ERF)家族成员是植物抗病信号通路的核心调控因子, 在病害防御中发挥关键作用。为挖掘茶树抗病调控关键基因, 本研究基于前期茶树接种山茶炭疽菌(*C. camelliae* LS_19)后的转录组数据, 从差异表达基因中筛选出候选基因 *CsERF9* 并开展系统研究。亚细胞定位结果显示, *CsERF9* 定位于细胞核, 符合转录因子的功能定位特征。启动子顺式元件分析发现, *CsERF9* 启动子区富含多种与防御反应和激素响应相关的顺式作用元件, 表明其可能参与病害诱导的激素信号通路调控。RT-qPCR 结果表明, *CsERF9* 的表达受炭疽菌显著诱导, 在侵染后期(24 h 后)持续上调。功能验证结果显示, 茶树叶片瞬时过表达 *CsERF9* 后显著降低了对炭疽菌的抗性。与空载体对照组相比, 接种 24、48 和 72 h 后, 过表达 *CsERF9* 叶片的病斑面积分别增加了 170.6%、48.9%、40.7%, 证实 *CsERF9* 在茶树抗炭疽病过程中发挥负调控作用。进一步分析发现, *CsERF9* 过表达可显著抑制 SA 通路的标志性基因 *CsPRI* 的表达, 同时显著上调了 JA/ET 信号通路的标志基因 *CsPR3* 的表达水平。上述结果表明, *CsERF9* 可能通过抑制 SA 通路防御反应、激活 JA/ET 通路信号, 打破不同抗病信号通路的平衡, 进而负调控茶树对炭疽病的免疫响应。本研究为深入解析茶树抗炭疽病的分子网络提供了新的见解, 并为抗病育种提供了潜在的候选基因靶点。

关键词: 茶树; 炭疽病; 乙烯响应转录因子; *CsERF9*; 分子机制

Molecular mechanism of CsERF9-mediated regulation of anthracnose resistance in tea plant

Yang Ying^{1,2}, Hao Yu-Wan², Zhang Xue-Ning², Fang Jia-Lu², Ma Yue-Hua², Yang Wei-Long³, Sun Wen-Qing^{1,2}, Wang Xin-Chao², Wang Yu-Chun^{1,*}, and Huang Jian-Yan^{2,*}

¹ College of Tea Science and Tea Culture, Zhejiang A & F University / Zhejiang International Science and Technology Cooperation Base for Plant Germplasm Resources Conservation and Utilization, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; ² Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences / National Center for Tea Improvement / Key Laboratory of Biology, Genetics and Breeding of Special Economic Animals and Plants, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Hangzhou 310008, Zhejiang, China; ³ College of Horticulture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, Henan, China

Abstract: Tea plant (*Camellia sinensis*) is a globally important economic crop. Anthracnose, a major fungal disease caused by *Colletotrichum camelliae*, seriously threatens tea plant growth and leaf quality. Members of the ethylene response factor (ERF)

本研究由国家重点研发计划项目“园艺作物优质多抗新种质创制与应用”(2024YFD1200504-1), 国家自然科学基金项目(32202552)和中国农业科学院优秀青年英才计划项目资助。

This study was supported by the National Key Research and Development Program of China “Creation and Application of High-Quality, Multi-Resistant New Germplasm for Horticultural Crops” (2024YFD1200504-1), the National Natural Science Foundation of China (32202552), and the Elite Youth Program of Chinese Academy of Agricultural Sciences.

* 通信作者(Corresponding authors): 王玉春, E-mail: ycwang0201@126.com; 黄建燕, E-mail: huangjianyan@caas.cn

第一作者联系方式: E-mail: 15608383473@163.com

Received (收稿日期): 2025-09-02; Accepted (接受日期): 2026-01-22; Published online (网络出版日期): 2026-02-04.

URL: <https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20260204.1053.010>

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

family are key regulators in plant disease resistance signaling pathways. To identify critical genes involved in tea plant defense, this study screened differentially expressed genes based on previously obtained transcriptome data from tea plants inoculated with *C. camelliae* strain LS_19. From these, the candidate gene *CsERF9* was selected for systematic investigation. Subcellular localization analysis confirmed that *CsERF9* is localized in the nucleus, consistent with its predicted function as a transcription factor. Promoter cis-element analysis revealed that the *CsERF9* promoter region is enriched with various defense- and hormone-response related elements, suggesting its potential involvement in pathogen-induced hormonal signaling. RT-qPCR results showed that *CsERF9* expression was significantly induced upon *C. camelliae* infection and remained upregulated during later stages (24 h post-inoculation and beyond). Functional validation demonstrated that transient overexpression of *CsERF9* in tea leaves significantly reduced resistance to anthracnose. Compared with the empty vector control, lesion areas in *CsERF9*-overexpressing leaves increased by 170.6%, 48.9%, and 40.7% at 24, 48, and 72 h post-inoculation, respectively, indicating that *CsERF9* acts as a negative regulator of tea plant resistance to anthracnose. Further analysis revealed that *CsERF9* overexpression significantly suppressed the expression of the salicylic acid (SA) pathway marker gene *CsPRI*, while upregulating the jasmonic acid/ethylene (JA/ET) pathway marker gene *CsPR3*. These findings suggest that *CsERF9* may negatively regulate the tea plant's immune response to *C. camelliae* by suppressing SA-mediated defenses and activating JA/ET signaling, thereby disrupting the balance between distinct disease-resistance pathways. This study provides novel insights into the molecular network of tea plant resistance to anthracnose and identifies *CsERF9* as a potential candidate gene target for breeding disease-resistant tea cultivars.

Keywords: tea plant; *C. camelliae*; ethylene-responsive transcription factors; *CsERF9*; molecular mechanism

茶树(*Camellia sinensis*)是我国重要的叶用经济作物^[1],其产量和品质常受到病害胁迫的严重影响。其中茶树炭疽病是一种主要危害茶树叶部的真菌病害,广泛发生于全国茶区,已成为制约茶树健康生产的关键因素之一^[2]。目前,已报道引起茶树炭疽病的病原菌包括 21 个种及 1 个未鉴定种,其中以山茶炭疽菌 *Colletotrichum camelliae* (*C. camelliae*)和 *Colletotrichum fructicola* (*C. fructicola*)为主要优势病菌种^[3-7]。

已有研究表明,多种激素信号通路如茉莉酸(jasmonic acid, JA)、水杨酸(salicylic acid, SA)、乙烯(ethylene, ET)在茶树与炭疽病互作中发挥着重要作用^[7-9]。乙烯响应因子(ethylene responsive factors, ERFs)是 AP2/ERF (APETALA2/ethylene responsive factor)转录因子家族中的一大类亚家族,是乙烯信号通路的关键下游调控因子,最早于 1995 年在烟草(*Nicotiana tabacum*)中被发现^[10]。ERF 蛋白普遍含有 1 个高度保守的 AP2/ERF DNA 结合结构域,该结构域由 60 至 70 个氨基酸组成,可特异性识别结合 GCC-box 或 DRE/CRT 等顺式调控元件,调控下游基因的表达^[11]。ERFs 可响应多种胁迫信号如病害、低温、高温、干旱等,并在不同处理条件下呈差异化的表达模式,从而在植物的生物与非生物胁迫应答中发挥重要作用^[12]。

研究表明,ERF 转录因子既可以作为正调控因子增强植物抗性,也可能参与负调控通路。例如, *ZmERF21* 正调控玉米的耐旱性^[13]; *TaELP4* 则负调控小麦的耐寒性^[14]; *ZmEREB179* 是耐涝的负调节基因^[15]; *OsERF7* 负调控水稻对褐飞虱和白背飞虱的抗

性^[16]; 过表达 *OsERF922* 抑制了防御相关基因的表达,增强了对稻瘟病的敏感性^[17]; *AtERF5* 通过抑制几丁质防御负调控对真菌甘蓝链格孢菌的抗性,却通过水杨酸通路正调控对细菌丁香假单胞菌的抗性^[18]。此外, *AtERF2* 是 JA 响应防卫基因的正调控因子,提高植物对尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)的抗性,而 *AtERF4* 通过抑制 JA 响应的防卫基因,提高植物对死体营养型病原体尖孢镰刀菌的敏感性^[19]。类似地, *AtERF1* 作为 JA 与 ET 信号整合的关键节点,调控多条抗病信号通路^[20]。这些结果共同揭示了 ERF 蛋白在植物防御机制中的调控多样性与复杂性。

ERF 基因在多种作物中的抗病作用已得到较为深入研究,但在茶树中,其相关功能的研究尚不充分,整体调控机制仍不清晰。目前,仅有少数报道揭示了其具体功能,例如 *CsERF105* 被证实正向调控茶树对炭疽病的抗性^[21]。因此,深入挖掘茶树中参与病原响应的 ERF 家族成员,对于解析茶树免疫机制和开展抗病育种具有重要意义。本研究基于已发表的茶树炭疽病转录组数据^[7],筛选并鉴定了一个受胁迫显著诱导的 ERF 转录因子,命名为 *CsERF9*。本研究拟明确 *CsERF9* 的亚细胞定位、表达模式,验证其对茶树炭疽病抗性的调控作用,并解析其通过激素信号通路调控抗性的分子机制,为茶树抗病分子育种提供新靶点。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究以种植于浙江省杭州市西湖区中国农业

科学院茶叶研究所试验茶园的茶树品种‘龙井 43’ (Longjing 43, LJ43)和‘浙农 12’ (Zhenong 12, ZN12) 为材料。从‘LJ43’中采集芽、叶、茎、花和种子等不同组织进行组织特异性表达分析。在非生物胁迫处理中, 以‘LJ43’一芽一叶为材料, 在 4℃条件下分别处理 0、1、3、12、24、48 和 72 h 以模拟低温胁迫; 通过自然干旱分别处理 0、3、6、9、12、15 和 18 d 以模拟干旱胁迫。在生物胁迫处理中, 以‘LJ43’一芽一叶为材料, 山茶炭疽 *C. camelliae* 侵染 0、3、6、12、24、36、48 和 72 h 以模拟病害胁迫。所有处理均设置 3 个生物学重复。

用于亚细胞定位的烟草包括本氏烟草和稳定表达核定位红色荧光蛋白(H2B-RFP)的转基因烟草^[22], 在室温长日照条件下培养 3~4 周后用于后续试验。

山茶炭疽 *C. camelliae* 野生型菌株 LS_19^[23-24] 由本实验室保存, 培养在 28℃条件下的马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基上。

1.2 RNA 提取、反转录和基因表达分析

使用 FastPure 通用植物总 RNA 分离试剂盒(RC411, Vazyme, 中国)提取茶树样品总 RNA。取 1 μg RNA 样品, 使用 HiScript III 第一链 cDNA 合成试剂盒(R312, Vazyme, 中国)反转录合成 cDNA。使用

ChamQ SYBR qPCR 预混液(Q711, Vazyme, 中国)进行实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)检测。以 *CsPTB* 为内参基因^[25], 利用特异性引物检测 *CsERF9* 以及响应炭疽病的 *CsPR* 家族基因的表达水平(引物序列见表 1)。反应体系及程序参照试剂盒说明书进行, 最终采用 2^{-ΔΔCt} 方法计算基因的相对表达量。

1.3 CsERF9 基因的克隆与表达载体构建

根据转录组获得 *CsERF9* 基因序列, 与茶树基因组网站和 GenBank 中的序列进行比对, 最终确认 *CsERF9* 基因序列。并根据 *CsERF9* 基因的编码区序列和载体图谱设计特异性扩增引物(表 1)。其中, 构建 pCAMBIA2300 载体选择的酶切位点为 *Kpn* I 和 *Bam*H I, 构建 pBinGFP4 载体选择的酶切位点为 *Kpn* I 和 *Sal* I。以茶树 cDNA 为模板, 使用 Phanta Max Super-Fidelity DNA polymerase 高保真酶(Vazyme, 中国)进行 PCR 扩增, 反应体系和程序均按照说明书步骤进行。将 PCR 产物经胶回收纯化后, 利用 ClonExpress II One Step Cloning Kit (Vazyme, 中国)无缝克隆试剂盒, 分别与经相应双酶切线性化的 pCAMBIA2300 和 pBinGFP4 载体进行同源重组。连接产物转化至大肠杆菌感受态细胞, 经菌液 PCR 筛选及测序比对鉴定, 最终获得正确的重组质粒。

表 1 本研究中所使用的引物
Table 1 Primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'–3')	目的 Purpose
p2300-CsERF9-F	ATTTGGAGAGGACAGGGTACCATGGCGCCCAAGGAAAAA	过表达载体的构建
p2300-CsERF9-R	TCCTCCTCCTCTAGAGGATCCGGCGGTTTCAGGCGGCGG	Construction of overexpression vectors
pGFP4-CsERF9-F	ATTTACGAACGATAGGGTACCATGGCGCCCAAGGAAAAA	亚细胞定位载体构建
pGFP4-CsERF9-R	GCTCACCATGGATCCGTCGACGGCGGTTTCAGGCGGCGG	Construction of subcellular localization vectors
qPCR-ERF9-F	AGAGCAGTACCGTCGAGTCT	实时荧光定量 PCR
qPCR-ERF9-R	AGACTGAGATCGAGCGGAGG	RT-qPCR
qPCR-CsPR1-F	CCTCCTATGCCAAAACCTCA	实时荧光定量 PCR
qPCR-CsPR1-R	CAGCAAGGTTCTCCCCATAA	RT-qPCR
qPCR-CsPR3-F	GATTGCTGCTTCTTTGGCCC	实时荧光定量 PCR
qPCR-CsPR3-R	AGTAGTCAGGAGGGTTGCCT	RT-qPCR
qPCR-CsPR4-F	TGTGGGACAACCGATGACTA	实时荧光定量 PCR
qPCR-CsPR4-R	GTCCACAAAAGGCAGTCCAT	RT-qPCR
qPCR-CsPR5-F	ACCAGCCAAAAAGCATCATC	实时荧光定量 PCR
qPCR-CsPR5-R	TGAGCTGACATAGCCACCAC	RT-qPCR
qPCR-CsPR10-F	CTCATTTGCCACATTACACC	实时荧光定量 PCR
qPCR-CsPR10-R	ACATTCTGTTGGCTGCTACT	RT-qPCR
qPCR-CsPTB-F	TGACCAAGCACACTCCACACTATCG	实时荧光定量 PCR
qPCR-CsPTB-R	TGCCCCCTTATCATCATCCACAA	RT-qPCR

1.4 CsERF9 的生物信息学分析

使用 ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam/>) 预测 CsERF9 蛋白质分子量和理论等电点; 用 NetPhos 3.1 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>) 预测 CsERF9 蛋白质磷酸化位点; 使用 Signal 6.0 Server 预测 CsERF9 蛋白序列的信号肽存在与否; 使用 TMHMM Server V. 2.0 预测 CsERF9 蛋白序列的跨膜结构域; 使用 the HMMTOP server 预测显示 CsERF9 蛋白序列跨膜螺旋个数; 使用 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 进行 CsERF9 蛋白序列的保守域分析, 下载其他物种的蛋白序列, 用 DNAMAN 进行 CsERF9 蛋白的多序列比对; 从 TAIR 在线网站上(<https://www.arabidopsis.org/>) 下载拟南芥 ERF 家族蛋白序列与 CsERF9 蛋白序列构建系统进化树, 最初使用 Clustal W 默认设置进行多序列比对。随后, 将比对后的序列使用 MEGA 11^[26] 中的邻接法(neighbor-joining)构建系统发育树。使用 PlantCARE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 对 *CsERF9* 启动子序列中的顺式作用元件进行预测分析。

1.5 亚细胞定位

将测序验证正确的重组质粒 pBinGFP4-CsERF9-GFP 转化至农杆菌 GV3101-pSoup 感受态细胞中, 参考前人方法^[27-28]配置侵染缓冲液, 用其重悬活化后的菌体, 并将 OD₆₀₀ 值调整至 0.8~1.0。菌液在 28℃ 下静置孵育 3 h 后, 选取生长约 4 周的本氏烟草, 使用无针头注射器将菌液从叶片下表皮注入。处理后的植株先在 25℃ 黑暗培养 1 d, 随后光照培养 1 d, 最后使用 ZEISS LSM 880 激光共聚焦显微镜观察叶片中的荧光信号。

1.6 *CsERF9* 在茶树中的瞬时过表达及抗病性鉴定

将构建成功的 pCambia2300-CsERF9 质粒转化 GV3101-pSoup 农杆菌感受态。用侵染液重悬活化好的菌液, 将重悬后的菌液 OD₆₀₀ 值调至 0.8~1.0, 28℃ 静置 3 h 后, 选用大小及嫩度基本一致、健康无病虫害的 LJ43 茶树第三、四叶位的叶片, 将菌液注射到叶片下表皮^[9]。注射 24 h 后在茶树叶片中部等距划伤约 1 mm 十字伤口, 在伤口处接种炭疽菌菌丝块, 接菌 24 h 后去菌丝块。接菌后 24、48 和 72 h 测量病斑大小, 并取叶片, 切成小块后液氮速

冻, 保存于 -80℃ 冰箱备用。每个处理设置 3 个生物学重复。

1.7 统计分析

本研究中的数据以至少 3 次独立试验的平均值 (mean)±标准误 (SEM) 表示。使用 SPSS 软件进行数据分析, 采用单因素方差分析或独立样本 *t* 检验法进行显著性分析 (*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$)。

2 结果与分析

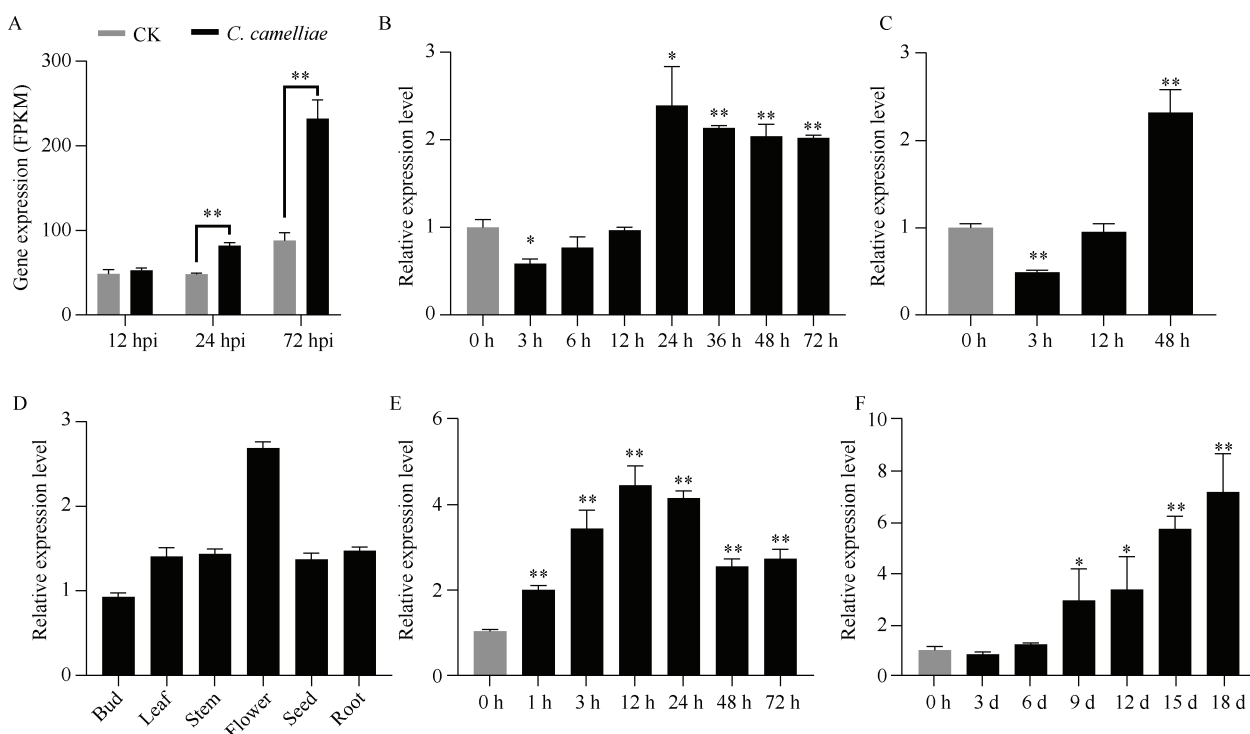
2.1 *TEA007038* 的表达受多种胁迫诱导

通过分析炭疽菌接种茶树叶片的转录组数据^[7]发现, *TEA007038* 基因在接种后 24 h 和 72 h 的表达水平显著高于未接种对照组 (图 1-A)。采用 RT-qPCR 进一步分析 *TEA007038* 在不同时间点的表达动态发现, 在易感品种‘龙井 43’ (LJ43) 中, 病原菌侵染 3 h 时, *TEA007038* 表达短暂下调, 随后在 24 h 后显著上调, 并持续维持在较高的表达水平 (图 1-B)。

为验证上述 *TEA007038* 在‘LJ43’中表达模式的普遍性, 本研究在抗病性较强的品种‘浙农 12’ (ZN12) 中进行了检测。RT-qPCR 结果显示, *TEA007038* 在‘ZN12’中的表达动态与‘LJ43’高度一致, 均呈现出“早期抑制-晚期激活”的双相调控模式: 即侵染早期 (3 h) 短暂下调, 而在侵染后期 (48 h) 显著上调 (图 1-C)。这些结果表明, *TEA007038* 参与了对病原菌的响应, 且在不同茶树品种中具有普遍性。

组织特异性表达分析结果显示, *TEA007038* 在茶树的组织中均有表达, 其中在花中的表达量最高, 芽中最低, 在叶、茎、种子和根中呈现稳定表达模式 (图 1-D)。此外, 在多种非生物胁迫条件下 *TEA007038* 的表达均显著上调 (图 1-E, F)。在低温处理 1 h 后, *TEA007038* 的转录水平持续显著高表达 (图 1-E), 表明 *TEA007038* 能快速响应低温。而在干旱胁迫下, 在处理第 9 天后, *TEA007038* 表达持续增强 (图 1-F), 表明 *TEA007038* 响应干旱胁迫较为迟缓。

以上结果表明, *TEA007038* 是一个受生物与非生物胁迫协同调控的转录因子编码基因。最重要的是, 在 2 个不同茶树品种中均观察到其受炭疽菌侵染后呈现“早期抑制-晚期激活”的保守表达模式, 为其在茶树-病原菌互作中发挥关键且普遍调控作用提供了重要证据。基于这一线索, 本研究进一步评估了 *TEA007038* 在调控茶树防御山茶炭疽菌侵染中的作用。

图1 *TEA007038* 表达量分析Fig. 1 Expression analysis of *TEA007038*

A: RNA-seq 数据中的 FPKM 值, 图中数据为平均值 $\pm$ 标准误($n=3$); B: RT-qPCR 测定 *TEA007038* 在 LJ43 受山茶炭疽菌 LS_19 不同感染阶段的相对表达量, 图中数据为平均值 $\pm$ 标准误($n=3$); C: RT-qPCR 测定 *TEA007038* 在 ZN12 受山茶炭疽菌 LS_19 不同感染阶段的相对表达, 图中数据为平均值 $\pm$ 标准误($n=6$); D: *TEA007038* 在茶树不同组织中的转录水平, 图中数据为平均值 $\pm$ 标准误($n=3$); E: *TEA007038* 在低温胁迫下的转录水平, 图中数据为平均值 $\pm$ 标准误($n=3$); F: *TEA007038* 在干旱胁迫下的转录水平, 图中数据为平均值 $\pm$ 标准误($n=3$)。星号表示与对照组相比存在显著差异, 该差异通过 t 检验确定, *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。

A: FPKM values of *TEA007038* from RNA-seq data, data are presented as mean $\pm$ SEM ($n=3$); B: relative expression of *TEA007038* in LJ43 during *C. camelliae* LS_19 infection, data are presented as mean $\pm$ SEM ($n=3$); C: relative expression of *TEA007038* in ZN12 during *C. camelliae* LS_19 infection, data are presented as mean $\pm$ SEM ($n=6$); D: transcript levels of *TEA007038* in different tissues of tea plant, data are presented as mean $\pm$ SEM ($n=3$); E: transcript levels of *TEA007038* under 4°C cold stress, data are presented as mean $\pm$ SEM ($n=3$); F: transcript levels of *TEA007038* under drought stress, data are presented as mean $\pm$ SEM ($n=3$). Asterisks indicate significant differences compared with the control group, as determined by the Student's t -test (*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$).

2.2 *TEA007038* 的序列特征与进化分析

为深入了解 *TEA007038* 的分子特性, 对其编码的蛋白序列进行生物信息学分析。序列比对结果显示, *TEA007038* 蛋白包含一个由 64 个氨基酸组成的典型 AP2 结构域(图 2-A)。由于该结构域中的第 14 位和第 19 位残基分别为丙氨酸和天冬氨酸, 根据分类标准^[29], *TEA007038* 属于 ERF 转录因子亚家族。

理化性质预测表明, *TEA007038* 是一个由 250 个氨基酸组成的碱性蛋白, 理论等电点为 9.42, 理论分子量为 27.08 kD。进一步分析显示, *TEA007038* 蛋白不含信号肽和跨膜结构域, 表明其为非分泌性的胞内蛋白。此外, 预测 *TEA007038* 序列上存在多个磷酸化位点, 包括 19 个丝氨酸、5 个苏氨酸和 1 个酪氨酸位点, 暗示其活性可能受到磷酸化修饰的调控。

为明确 *TEA007038* 在 ERF 家族中的进化位置, 本研究构建了其与拟南芥 ERF 家族蛋白的系统发育树。结果显示, *TEA007038* 与拟南芥中的 *AtERF9* (*AT5G44210.1*) 亲缘关系最近, 聚在同一进化分支中(图 2-B), 因此将其命名为 *CsERF9*。

2.3 *CsERF9* 启动子区域的顺式作用元件分析

基于 *CsERF9* 的序列特征与进化关系, 推测其可能参与茶树的胁迫响应过程, 为进一步探究其转录调控机制, 本研究对其启动子区域的顺式作用元件进行了分析。结果显示, *CsERF9* 启动子区域包含多种与胁迫响应和激素信号传导相关的作用元件(图 3 和表 2)。具体而言, 本研究鉴定到多种生物胁迫相关元件, 如防御和应激反应元件(TC-rich repeats), 以及与植物激素响应相关的元件, 包括乙烯

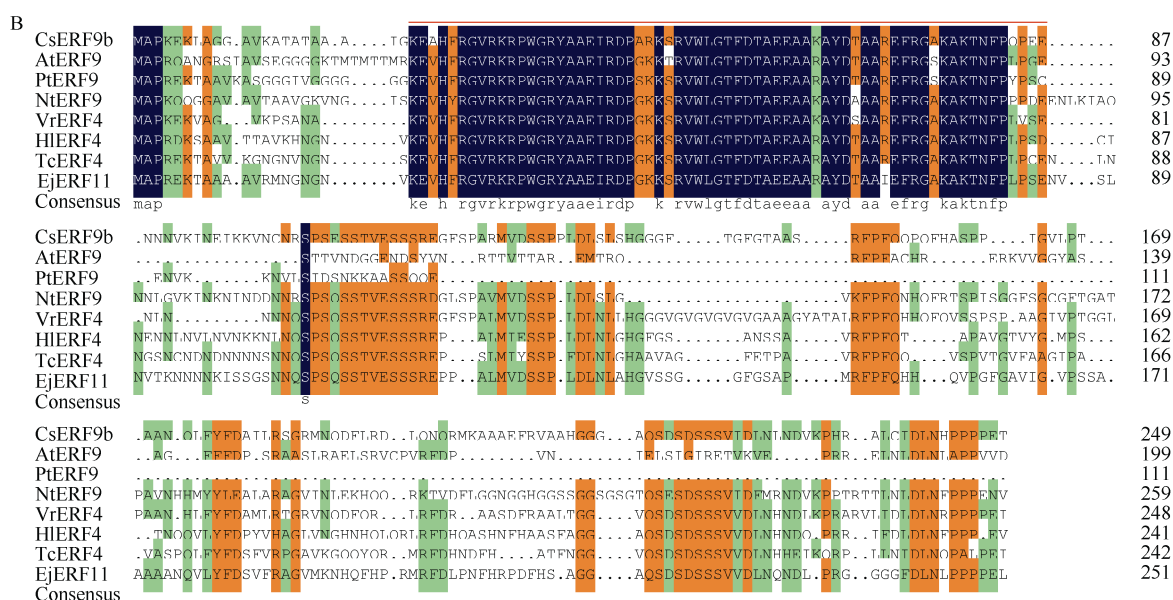


图2 CsERF9与其他植物ERFs的系统发育分析和序列比对

Fig. 2 Phylogenetic analysis and sequence alignments of CsERF9 and ERFs from other plants

A: 茶树 CsERF9 与拟南芥 ERF 家族蛋白的系统进化树; B: CsERF9 与不同植物物种中同源蛋白的序列比对。保守的 AP2/ERF 结构域用红线标示。物种及 GenBank 登录号信息如下, 拟南芥: AtERF9 (NP_199234.1); 枳: PtERF9 (Pt2g011090); 烟草: NtERF9 (NP_001311661.1); 梨: PpERF9 (Pbr000398.1)。A 图中星号标识的蛋白为本研究中的 TEA007038。

A: phylogenetic tree of CsERF9 and ERF family proteins from *Arabidopsis thaliana*. B: multiple sequence alignment of CsERF9 with homologous proteins from other plant species. The conserved AP2/ERF domain is indicated by a red line. Species and GenBank accession numbers are as follows, *Arabidopsis thaliana*: AtERF9 (NP_199234.1); *Pinus trichocarpa* (L.) Raf.: PtERF9 (Pt2g011090); *Nicotiana tabacum*: NtERF9 (NP_001311661.1); *Pyrus* spp.: PpERF9 (Pbr000398.1). The protein marked with an asterisk is TEA007038 in figure A.

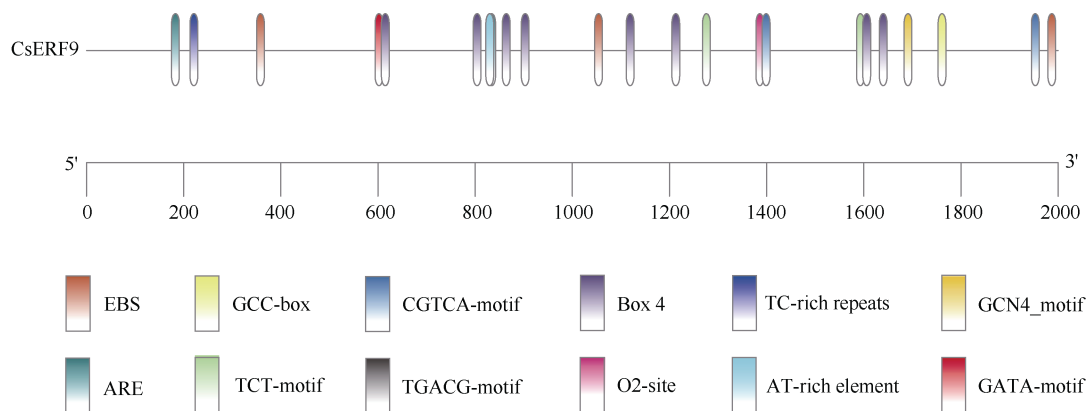


图3 CsERF9 启动子区域顺式作用元件分析

Fig. 3 Analysis of cis-elements in CsERF9 promoter region

信号通路核心转录因子 EIN3 的结合位点(EBS)、ERF 结合位点(GCC-box)和茉莉酸甲酯响应元件(CGTCA- motif 和 TGACG-motif)。此外, 还发现了多个与非生物胁迫相关的元件, 例如光响应元件(G-box)和厌氧诱导响应元件(ARE)。除上述胁迫响应元件外, CsERF9 启动子还包含一些与发育调控相关的元件, 如胚乳表达调控元件(GCN4_motif)和玉米素代谢调控元件(O2-site)。这些顺式作用元件的组合表明, CsERF9 的转录可能受到多种环境因子和内源激素信号的复杂调控。

2.4 CsERF9 定位于细胞核

首先, 本研究利用在线软件预测 CsERF9 的亚细胞定位, 结果显示其可能为核蛋白。为验证该预测结果, 将 CsERF9 与绿色荧光蛋白(GFP)融合, 构建了 pBinGFP4-CsERF9-GFP 表达载体, 并以 pBinGFP4-GFP 空载体为对照。将上述载体分别瞬时转化到表达核标记物 H2B-RFP 的本氏烟草叶片表皮细胞中。通过共聚焦显微镜观察发现, 空载体对照的 GFP 信号弥散分布于整个细胞, 包括细胞质和细胞核, 而 CsERF9-GFP 的绿色荧光信号与 H2B-

RFP 的红色荧光信号共定位(图 4)。这些结果证实, CsERF9 为核定位蛋白。

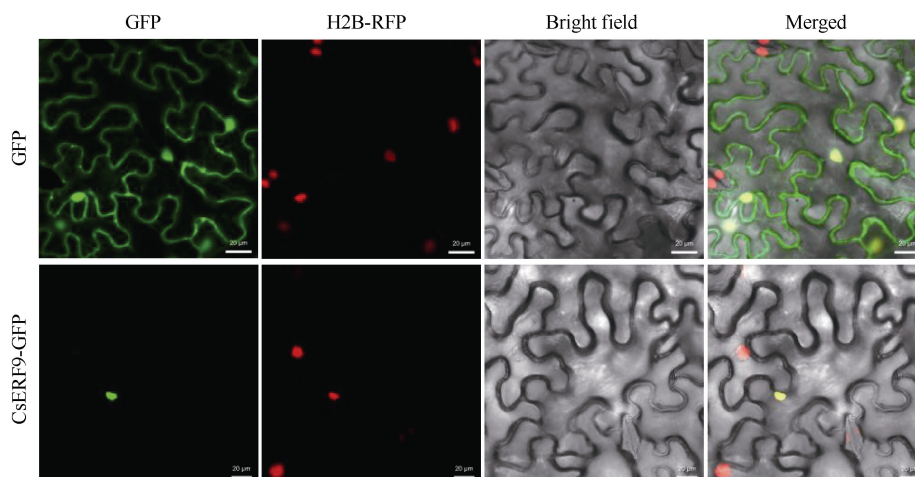


图 4 CsERF9 在烟草叶片中的亚细胞定位

Fig. 4 Subcellular localization of CsERF9 in tobacco leaf cells
标尺= 20 μm。Scale bar = 20 μm.

2.5 CsERF9 负调控茶树对山茶炭疽菌的抗性

为探究 *CsERF9* 在茶树抵御山茶炭疽菌侵染中的功能, 本研究通过农杆菌介导的方法在 LJ43 叶片中瞬时过表达 *CsERF9* (OE-*CsERF9*)。对这些叶片接种了山茶炭疽菌, 在接种后的不同时间点观察并测量病斑直径。结果显示, 与转化空载体(CK)的对照相比, OE-*CsERF9* 叶片在接种后形成了更为明显且扩展更快的病斑(图 5-A)。RT-qPCR 结果显示, 转化 *CsERF9* 过表达载体的叶片中, *CsERF9* 的转录水平在 24、48 和 72 h 均被显著上调, 证实了其在试验时间点均成功过表达(图 5-B)。对病斑面积进行量化统计发现, 与 CK 相比, OE-*CsERF9* 叶片在接种后 24、48 和 72 h 的病斑面积分别增加了 170.6%、48.9%和 40.7% (图 5-C)。这些结果表明, *CsERF9* 在茶树对山茶炭疽菌的抗性中发挥负调控作用, 其过表达降低了茶树的抗病能力。

2.6 CsERF9 过表达影响茶树中防御基因的表达

为探究 *CsERF9* 负调控茶树炭疽病抗性的分子机制, 本研究分析了过表达 *CsERF9* (OE-*CsERF9*) 叶片中几个关键病程相关基因(*CsPRs*)的转录水平变化。首先, 通过 RT-qPCR 分析了 *CsPRs* 在炭疽菌侵染不同时间点的表达动态。结果表明, SA 信号通路标志基因 *CsPRI*、JA/ET 通路经典标记基因 *CsPR3*、以及同时响应 SA 与 JA/ET 信号的防御基因 *CsPR4*、*CsPR5* 和 *CsPRI0* 均对病原菌侵染产生响应。其中, *CsPRI* 的表达短暂下降后上调, *CsPR4* 的表达被强

烈诱导并持续上调, 而 *CsPR3*、*CsPR5* 和 *CsPRI0* 在 24 h 的表达量达到峰值后逐渐下降(图 6-A, B)。进一步比较接种病原菌后 CK 与 OE-*CsERF9* 植株中 *CsPRs* 的表达水平, 发现过表达 *CsERF9* 显著抑制了 *CsPRI* 和 *CsPR4* 在 24 h 的表达(图 6-C)。与之相反, *CsPR3*、*CsPR5* 和 *CsPRI0* 的表达则被显著诱导上调(图 6-D)。以上结果说明, *CsERF9* 的过表达可显著改变茶树的防御基因表达谱, 尤其通过抑制 *CsPRI* 等关键抗病基因的表达, 削弱茶树对炭疽菌的系统防御能力。

3 讨论

乙烯是一种植物激素, 除已知的促进果实成熟的作用外, 乙烯在植物生长发育中的许多其他作用也已被揭示^[30-34]。值得注意的是, 乙烯信号通路的终端效应主要通过转录因子实现, 其中 AP2/ERF 家族作为乙烯响应的核心调控元件, 在植物逆境响应中发挥关键作用, 该家族成员不仅能响应乙烯信号, 还能整合多种逆境胁迫及外源激素的诱导, 表现出高度动态的表达模式^[35]。本研究在茶树中鉴定了一个 ERF 亚家族转录因子基因 *CsERF9*, 并揭示了其在茶树响应山茶炭疽菌侵染过程中扮演着负调控角色。作为一个典型的核定位蛋白, *CsERF9* 具备转录调节因子发挥功能的基本条件, 其序列上存在的多个磷酸化位点暗示其活性可能受到上游信号(如 MAPK 级联反应)的精确调控, 这与拟南芥中 MPK3/6 磷酸化

ERF6 的机制类似^[36], 为未来研究其上游调控网络提供了线索。*CsERF9* 启动子区富含多种抗病相关顺式作用元件, *CsERF9* 的表达可能受到一个层级网络的调控: 病原侵染及乙烯、茉莉酸信号首先激活

CsEIN3s、CsMYC2 及 CsNACs 等上游转录因子; 随后, 这些因子通过直接结合 *CsERF9* 启动子上的防御与胁迫响应元件(如 TC-rich repeats)及激素响应元件(如 EBS、GCC-box 等), 精细调控其转录, 进而通

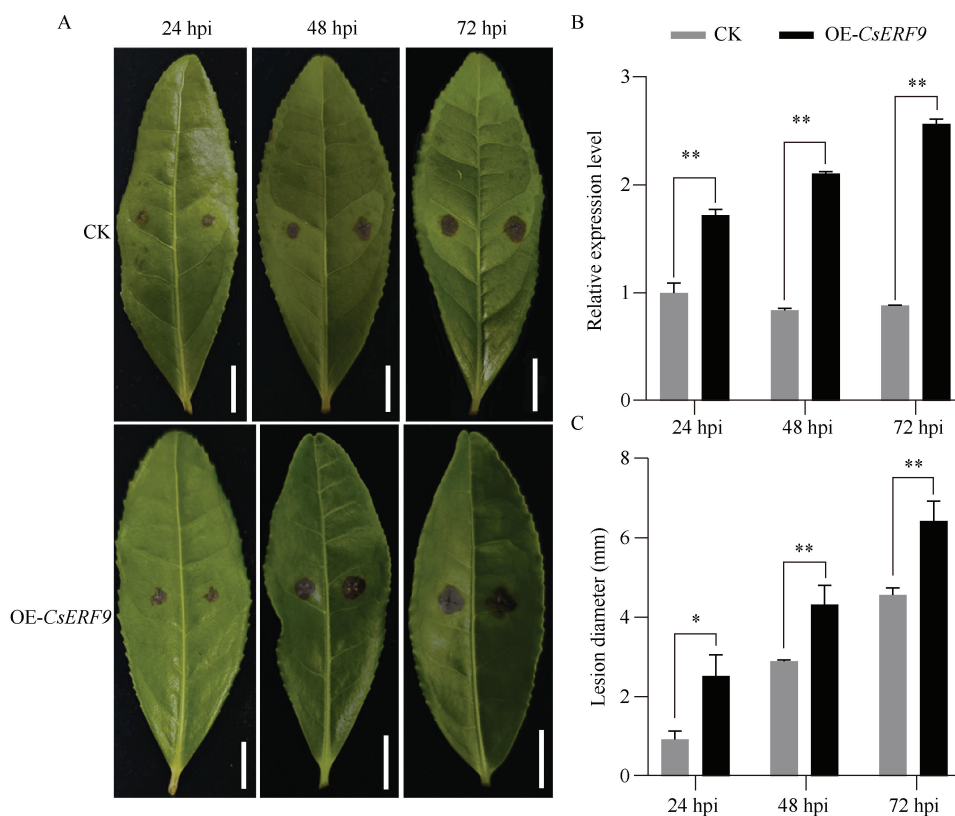
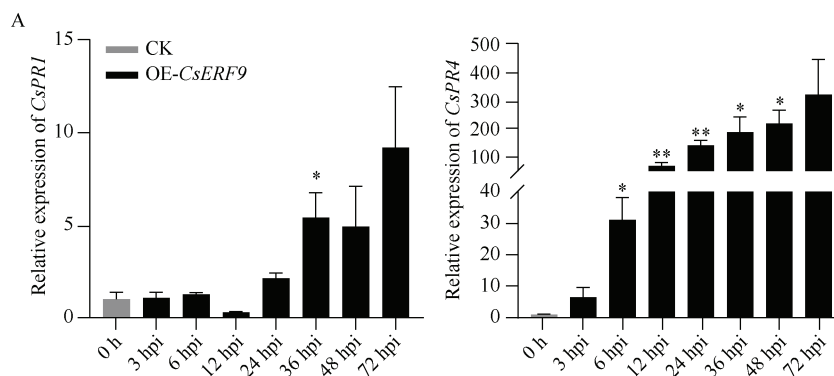


图 5 *CsERF9* 负调控茶树对炭疽菌的抗性

Fig. 5 *CsERF9* negatively regulates tea plant resistance to *C. camelliae*

A: 瞬时过表达 *CsERF9* (OE-*CsERF9*) 及空载体对照(CK)的茶树叶片, 在接种炭疽菌株 *C. camelliae* LS_19 后的病害表型。照片拍摄于接种后 24、48 和 72 h (hpi)。比例尺 = 1 cm。B: RT-qPCR 检测各处理组叶片中 *CsERF9* 的相对表达水平。图中数据为平均值±标准误 ($n = 3$)。C: 接种后叶片病斑直径的定量统计。图中数据为平均值±标准误 ($n = 6$)。hpi 表示接种山茶炭疽菌后的时间。星号表示与对照组相比存在显著差异, 该差异通过 t 检验确定, *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。

A: disease symptoms in tea leaves transiently overexpressing *CsERF9* (OE-*CsERF9*) and in control leaves carrying the empty vector (CK) following inoculation with *C. camelliae* LS_19. Photographs were taken at 24, 48, and 72 hours post inoculation (hpi). Scale bar = 1 cm. B: relative expression level of *CsERF9* in OE-*CsERF9* and EV-treated leaves, as determined by RT-qPCR. Data are presented as mean $\pm$ SEM ($n = 3$). C: quantification of lesion diameter (mm) on inoculated leaves. Data are presented as mean $\pm$ SEM ($n = 6$). hpi indicates hours post inoculation with *C. camelliae*. Asterisks indicate statistically significant differences compared with CK, determined by Student's t -test (*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$).



(图 6)

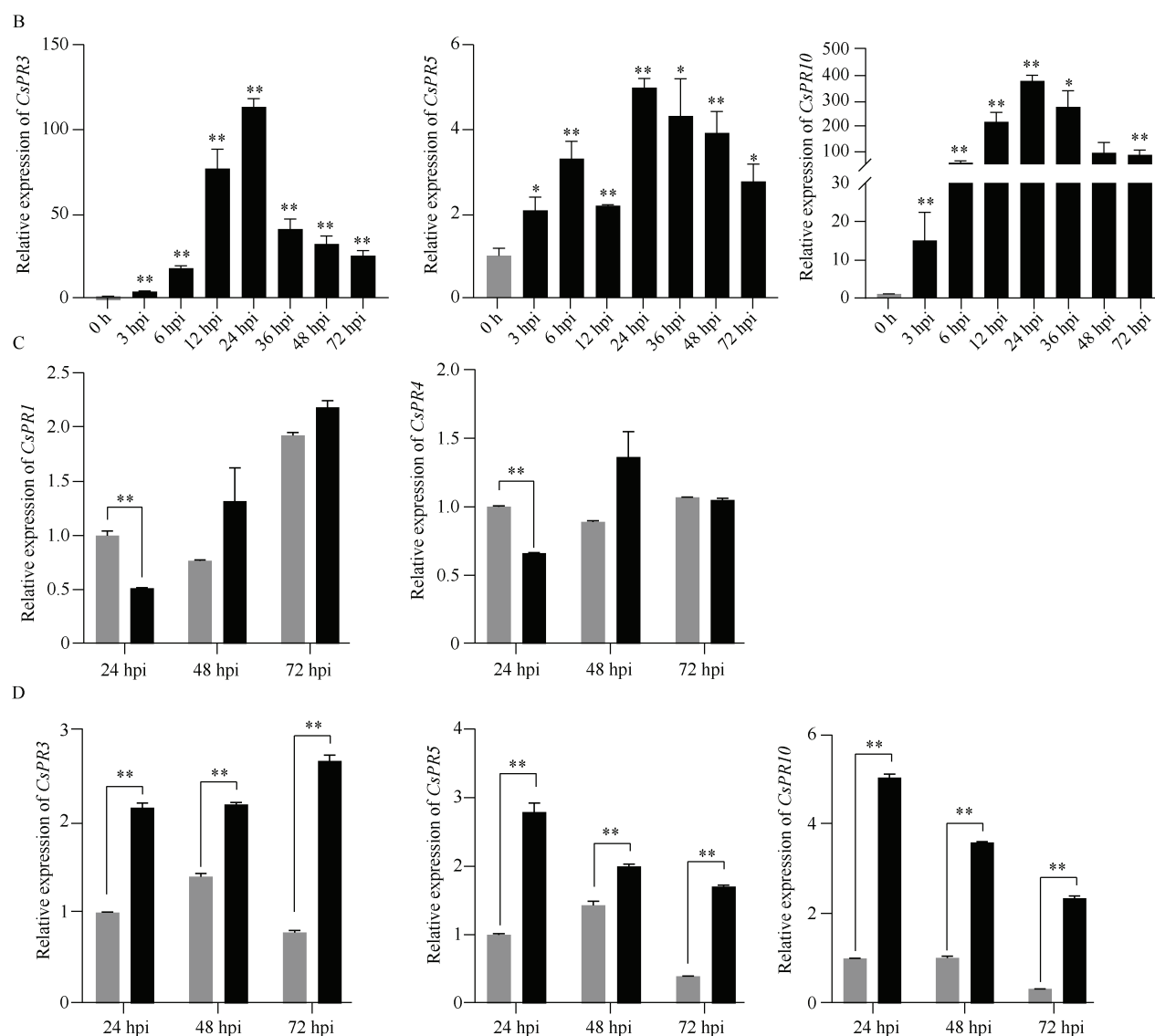


图 6 *CsERF9* 对病程相关基因(*PRs*)表达的调控

Fig. 6 *CsERF9* regulates the expression of pathogenesis-related (*PR*) genes

A 和 B: RT-qPCR 分析茶树叶片在接种山茶炭疽菌(*C. camelliae* LS_19)后不同时期 *CsPRs* 的相对表达量; C 和 D: 接种山茶炭疽菌后, 对照组(CK)和过表达(OE-*CsERF9*)叶片中 *CsPRs* 的相对表达量。图中数据为平均值 $\pm$ 标准误($n = 3$)。hpi 表示接种山茶炭疽菌后的时间。*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。

A and B: relative expression levels of *CsPRs* in tea leaves at different stages after inoculation with *C. camelliae* LS_19. C and D: relative expression levels of *CsPRs* in leaves of the CK and OE-*CsERF9* after inoculation with *C. camelliae* LS_19. Data are presented as mean $\pm$ SEM ($n = 3$). hpi indicates hours post inoculation with *C. camelliae*. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

过 *CsERF9* 影响 SA 与 JA/ET 通路的平衡, 最终负向调控抗病性。表达分析显示, *CsERF9* 是一个受病原菌侵染诱导的基因, 并且在‘LJ43’和‘ZN12’两个茶树品种中均表现出保守的“早期抑制-晚期激活”表达模式, 这种跨品种的一致性暗示其可能在茶树-炭疽菌互作中具有普遍性功能。同时, *CsERF9* 在不同组织中呈现特异性表达, 并能响应低温、干旱等非生物胁迫, 说明其功能可能与多种逆境信号的调控网络有关。

本研究通过茶树叶片瞬时过表达试验发现, 转录因子 *CsERF9* 的过表达显著增强了茶树对炭疽病菌的感病性, 表现为病斑面积明显扩大。进一步通过 RT-qPCR 分析发现, 在 *CsERF9* 过表达叶片中, *CsPR1* 和 *CsPR4* 的表达水平显著下降, 而 *CsPR3*、*CsPR5* 和 *CsPR10* 的表达水平则显著上升, 表明 *CsERF9* 调控了多个防御相关基因的表达。众所周知, *PR* 基因是一类响应病原胁迫的重要防御基因, 其表达受植物激素信号通路的调控^[37-38]。*CsPR1* 通常由

水杨酸信号通路诱导, 而 *CsPR3* 往往受茉莉酸及乙烯通路调控, *CsPR4*、*CsPR5* 和 *CsPR10* 可能存在 SA 与 JA/ET 交叉调控^[37,39-41]。已有研究表明, 尽管 JA 信号在抵御某些坏死型病原中发挥积极作用, 但对炭疽病菌等半活体营养型真菌, JA 通路反而起到负调控作用。近期发表的研究进一步证实了 JA 通路能够抑制植物对炭疽病的抵抗力^[9], 这与本研究的结果一致, 为 *CsERF9* 的负调控功能提供了有力证据。

在此基础上, 本研究推测 *CsERF9* 可能通过激活 JA/ET 信号或增强其下游防御基因的表达, 同时抑制 SA 依赖的抗性通路, 从而导致茶树对炭疽病的感病性升高。尽管 *CsPR3*、*CsPR5* 和 *CsPR10* 在过表达植株中被上调, 但这种 JA 相关防御基因的激活并不足以对抗炭疽病菌的侵染, 反而可能与 SA 信号产生拮抗效应, 削弱了防御反应的有效性。此外, 作为 ERF 家族成员, *CsERF9* 很可能参与乙烯或 JA/ET 协同通路调控中的交叉节点, 发挥类似于转录抑制子的作用, 影响植物免疫信号间的平衡。

本研究发现的“早期抑制-晚期激活”双相表达模式, 为理解 *CsERF9* 的负调控功能提供了动态视角。侵染早期的表达抑制, 可能是病原菌为成功定殖而主动干扰宿主基因的策略。而侵染后期的表达被强烈诱导, 则与 *CsERF9* 作为负调控因子, 通过重编程激素信号通路(抑制 SA/激活 JA/ET)从而介导感病性的功能模型相一致。这种精密的时序调控, 可能是植物免疫平衡与病原菌反制策略协同演化的结果。这与拟南芥等模式植物中部分 ERF 成员作为转录抑制子调控免疫平衡的报道^[42]相吻合。

综上所述, 本研究系统揭示了 *CsERF9* 通过失衡 SA/JA/ET 信号通路, 负调控茶树对炭疽病的抗性。这一发现的意义在于, 作物抗病育种的方向不应仅限于寻找和强化“抗病基因”, 同样需要关注并合理调控这些潜藏在基因组内的“感病因子”或“免疫刹车”。*CsERF9* 作为一个潜在的负向育种靶点, 后续可通过更深入的机制研究, 如双荧光素酶报告试验、电泳迁移率试验, 明确 *CsERF9* 对 PR 基因启动子的直接调控作用, 以及其在植物激素信号网络中所处的调控位置, 从而为茶树抗病育种提供理论支撑。

4 结论

本研究鉴定出茶树 AP2/ERF 家族转录因子 *CsERF9* 定位于细胞核, 其启动子区含防御反应、激

素响应等多种顺式作用元件。*CsERF9* 受炭疽菌侵染诱导呈‘早期抑制-晚期激活’模式, 且响应低温、干旱胁迫。功能验证表明, *CsERF9* 通过抑制 SA 通路关键基因 *CsPR1* 表达、激活 JA/ET 通路基因 *CsPR3* 表达, 打破激素信号平衡, 负调控茶树对炭疽病的抗性。*CsERF9* 为茶树抗病育种提供了负向靶点, 也为解析植物-病原菌互作机制提供了新视角。

References

- [1] Farag M A, Elmetwally F, Elghanam R, et al. Metabolomics in tea products; a compile of applications for enhancing agricultural traits and quality control analysis of *Camellia sinensis*. Food Chem, 2023, 404: 134628.
- [2] Wang Y C, Hao X Y, Lu Q H, et al. Transcriptional analysis and histochemistry reveal that hypersensitive cell death and H₂O₂ have crucial roles in the resistance of tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) to anthracnose. Horticulture Res, 2018, 5: 18.
- [3] Copes W E, Thomson J L. Survival analysis to determine the length of the incubation period of *Camellia* twig blight caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant Dis, 2008, 92: 1177-1182.
- [4] Wang Y C, Hao X Y, Wang L, et al. Diverse *Colletotrichum* species cause anthracnose of tea plants (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) in China. Sci Rep, 2016, 6: 35287.
- [5] Meng Y N, Gleason M L, Zhang R, et al. Genome sequence resource of the wide-host-range anthracnose pathogen *Colletotrichum siamense*. Mol Plant Microbe Interact, 2019, 32: 931-934.
- [6] Lu Q H, Wang Y C, Li N N, et al. Differences in the characteristics and pathogenicity of *Colletotrichum camelliae* and *C. fructicola* isolated from the tea plant [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]. Front Microbiol, 2018, 9: 3060.
- [7] Lu Q H, Wang Y C, Xiong F, et al. Integrated transcriptomic and metabolomic analyses reveal the effects of callose deposition and multihormone signal transduction pathways on the tea plant-*Colletotrichum camelliae* interaction. Sci Rep, 2020, 10: 12858.
- [8] Shi Y L, Sheng Y Y, Cai Z Y, et al. Involvement of salicylic acid in anthracnose infection in tea plants revealed by transcriptome profiling. Int J Mol Sci, 2019, 20: 2439.
- [9] Lyu W Y, Jiang H, Cao Q H, et al. A tau class glutathione S-transferase in tea plant, CsGSTU45, facilitates tea plant susceptibility to *Colletotrichum camelliae* infection mediated by jasmonate signaling pathway. Plant J, 2024, 117: 1356-1376.
- [10] Ohme-Takagi M, Shinshi H. Ethylene-inducible DNA binding proteins that interact with an ethylene-responsive element. Plant Cell, 1995, 7: 173-182.
- [11] Nakano T, Suzuki K, Fujimura T, et al. Genome-wide analysis of the ERF gene family in *Arabidopsis* and rice. Plant Physiol, 2006, 140: 411-432.
- [12] Hu Y F, Chen X L, Shen X L. Regulatory network established by transcription factors transmits drought stress signals in plant. Stress Biol, 2022, 2: 26.
- [13] Wang Z Y, Zhao X, Ren Z Z, et al. *ZmERF21* directly regulates

- hormone signaling and stress-responsive gene expression to influence drought tolerance in maize seedlings. *Plant Cell Environ*, 2022, 45: 312–328.
- [14] Wang K, Zhai M J, Han R, et al. Wheat elongator subunit 4 negatively regulates freezing tolerance by regulating ethylene accumulation. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 7634.
- [15] Liang K, Zhao C X, Wang J, et al. Genetic variations in *ZmEREB179* are associated with waterlogging tolerance in maize. *J Genet Genom*, 2025, 52: 367–378.
- [16] 陈梦婷, 周书行, 张月白, 等. 沉默转录因子 OsERF7 提高水稻对褐飞虱和白背飞虱的抗性. *植物保护学报*, 2018, 45: 979–986.
- Chen M T, Zhou S X, Zhang Y B, et al. Silencing of OsERF7 enhances the resistance of rice to the brown planthopper *Nilaparvata lugens* and the white-backed planthopper *Sogatella furcifera*. *J Plant Prot*, 2018, 45: 979–986 (in Chinese with English abstract).
- [17] Liu D F, Chen X J, Liu J Q, et al. The rice ERF transcription factor OsERF922 negatively regulates resistance to *Magnaporthe oryzae* and salt tolerance. *J Exp Bot*, 2012, 63: 3899–3911.
- [18] Son G H, Wan J R, Kim H J, et al. Ethylene-responsive element-binding factor 5, ERF5, is involved in chitin-induced innate immunity response. *Mol Plant Microbe Interact*, 2012, 25: 48–60.
- [19] McGrath K C, Dombrecht B, Manners J M, et al. Repressor- and activator-type ethylene response factors functioning in jasmonate signaling and disease resistance identified via a genome-wide screen of *Arabidopsis* transcription factor gene expression. *Plant Physiol*, 2005, 139: 949–959.
- [20] Lorenzo O, Piqueras R, Sánchez-Serrano J J, et al. ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense. *Plant Cell*, 2003, 15: 165–178.
- [21] Zhang C Y, Li H L, Mei P, et al. QTL detection and candidate gene analysis of the anthracnose resistance locus in tea plant (*Camellia sinensis*). *J Integr Agric*, 2025, 24: 2240–2250.
- [22] Dong X B, Ding C Q, Zhang X N, et al. Analysis of the two-component system gene family and the positive role of *CsRR5* in cold stress response in tea plants. *Plant Physiol Biochem*, 2025, 222: 109739.
- [23] Wang L, Wang Y C, Cao H L, et al. Transcriptome analysis of an anthracnose-resistant tea plant cultivar reveals genes associated with resistance to *Colletotrichum camelliae*. *PLoS One*, 2016, 11: e0148535.
- [24] Xiong F, Wang Y C, Lu Q H, et al. Lifestyle characteristics and gene expression analysis of *Colletotrichum camelliae* isolated from tea plant [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] based on transcriptome. *Biomolecules*, 2020, 10: 782.
- [25] Hao X Y, Horvath D P, Chao W S, et al. Identification and evaluation of reliable reference genes for quantitative real-time PCR analysis in tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Int J Mol Sci*, 2014, 15: 22155–22172.
- [26] Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Mol Biol Evol*, 2021, 38: 3022–3027.
- [27] Yoo S D, Cho Y H, Sheen J. *Arabidopsis* mesophyll protoplasts: a versatile cell system for transient gene expression analysis. *Nat Protoc*, 2007, 2: 1565–1572.
- [28] Sparkes I A, Runions J, Kearns A, et al. Rapid, transient expression of fluorescent fusion proteins in tobacco plants and generation of stably transformed plants. *Nat Protoc*, 2006, 1: 2019–2025.
- [29] 高春艳, 吴芮, 袁玉, 等. 植物 AP2/ERF 转录因子及其在非生物胁迫应答中的作用. *江汉大学学报(自然科学版)*, 2017, 45(3): 236–240.
- Gao C Y, Wu R, Yuan Y, et al. Function of AP2/ERF transcription factors in plant tolerance to abiotic stress. *J Jiangnan Univ (Nat Sci Edn)*, 2017, 45(3): 236–240 (in Chinese with English abstract).
- [30] 王娟, 黄荣峰. 乙烯调控植物耐盐性的研究进展. *植物生理学报*, 2015, 51: 1567–1572.
- Wang J, Huang R F. Regulation of ethylene in plant salt tolerance. *Plant Physiol J*, 2015, 51: 1567–1572 (in Chinese with English abstract).
- [31] Van de Poel B, Smet D, Van Der Straeten D. Ethylene and hormonal cross talk in vegetative growth and development. *Plant Physiol*, 2015, 169: 61–72.
- [32] Müller M, Munné-Bosch S. Ethylene response factors: a key regulatory hub in hormone and stress signaling. *Plant Physiol*, 2015, 169: 32–41.
- [33] Tao J J, Cao Y R, Chen H W, et al. Tobacco translationally controlled tumor protein interacts with ethylene receptor tobacco Histidine Kinase1 and enhances plant growth through promotion of cell proliferation. *Plant Physiol*, 2015, 169: 96–114.
- [34] Feng G Q, Sanderson B J, Keefover-Ring K, et al. Pathways to sex determination in plants: how many roads lead to Rome? *Curr Opin Plant Biol*, 2020, 54: 61–68.
- [35] 张麒, 陈静, 李俐, 等. 植物 AP2/ERF 转录因子家族的研究进展. *生物技术通报*, 2018, 34(8): 1–7.
- Zhang Q, Chen J, Li L, et al. Research progress on plant AP2/ERF transcription factor family. *Biotechnol Bull*, 2018, 34(8): 1–7 (in Chinese with English abstract).
- [36] Meng X Z, Xu J, He Y X, et al. Phosphorylation of an ERF transcription factor by *Arabidopsis* MPK3/MPK6 regulates plant defense gene induction and fungal resistance. *Plant Cell*, 2013, 25: 1126–1142.
- [37] Islam M M, El-Sappah A H, Ali H M, et al. Pathogenesis-related proteins (PRs) countering environmental stress in plants: a review. *S Afr N J Bot*, 2023, 160: 414–427.
- [38] Backer R, Naidoo S, van den Berg N. The NONEXPRESSOR OF PATHOGENESIS-RELATED GENES 1 (NPR1) and related family: mechanistic insights in plant disease resistance. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 102.
- [39] 裴晓兔, 王中康, 罗远莉, 等. 茎瘤芥 *PR4* 基因的克隆与表达分析. *应用与环境生物学报*, 2013, 19: 974–979.
- Pei X T, Wang Z K, Luo Y L, et al. Cloning and expression analysis of *PR4* in *Brassica juncea* var. *tumida*. *Chin J Appl Environ Biol*, 2013, 19: 974–979 (in Chinese with English abstract).
- [40] 牛吉山, 刘靖, 倪永静, 等. 茉莉酸对 *PR-1*、*PR-2*、*PR-5* 和 *Ta-JA2* 基因表达以及小麦白粉病抗性的诱导. *植物病理学报*, 2011, 41: 270–277.
- Niu J S, Liu J, Ni Y J, et al. Induction of *PR-1*, *PR-2*, *PR-5*, *Ta-JA2* and wheat powdery mildew resistance in response to MeJA treatment. *Acta Phytopathol Sin*, 2011, 41: 270–277 (in

- Chinese with English abstract).
- [41] 刘建光, 豆海宽, 赵贵元, 等. 海岛棉病程相关蛋白 *GbPR10* 基因的克隆及其在干旱胁迫下的功能分析. 农业生物技术学报, 2022, 30(2): 272–283.
- Liu J G, Dou H K, Zhao G Y, et al. Cloning and drought stress function analysis of pathogenesis-related proteins *GbPR10* gene in sea-island cotton (*Gossypium barbadense*). J Agric Biotechnol, 2022, 30(2): 272–283 (in Chinese with English abstract).
- [42] Zhang H J, Hong Y B, Huang L, et al. *Arabidopsis* AtERF014 acts as a dual regulator that differentially modulates immunity against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Botrytis cinerea*. Sci Rep, 2016, 6: 30251.