

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202005056

邓文静, 张宏意, 欧晓华, 等. 茉莉酸甲酯对广藿香 JA 信号转导途径及倍半萜合成途径关键基因表达的影响 [J]. 广西植物, 2021, 41(4): 559-566.

DENG WJ, ZHANG HY, OU XH, et al. Effects of MeJA treatment on key genes involved in JA signal transduction and biosynthesis pathway of sesquiterpene in *Pogostemon cablin* [J]. *Guihaia*, 2021, 41(4): 559-566.



# 茉莉酸甲酯对广藿香 JA 信号转导途径及倍半萜合成途径关键基因表达的影响

邓文静<sup>1</sup>, 张宏意<sup>1,2,3</sup>, 欧晓华<sup>1</sup>, 卢昌华<sup>1</sup>, 黄伟展<sup>1</sup>, 严寒静<sup>1,2,3\*</sup>

( 1. 广东药科大学 中药学院, 广州 510006; 2. 国家中医药管理局岭南药材生产与开发重点研究室, 广州 510006; 3. 中药材国家现代农业产业技术体系广州综合试验站, 广州 510006 )

**摘要:** 分析外源性茉莉酸甲酯对广藿香 JA 信号转导途径关键基因 *JAZ2*、*MYC2*、*COI1* 及倍半萜合成途径关键基因 *PTS*、*FPPS*、*SQLE* 表达的影响, 为深入研究茉莉酸甲酯调控广藿香 JA 信号转导途径及倍半萜合成途径的分子机制奠定基础。该文分别用 0.10 和 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> 的 MeJA 喷施广藿香叶片, 于处理后的 0、2、6、12、24、48、72 h 摘取叶片, 运用实时荧光定量 PCR 对 *JAZ2*、*MYC2*、*COI1*、*PTS*、*FPPS*、*SQLE* 基因的表达量进行检测。结果表明: 0.10 和 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> 的 MeJA 对广藿香 JA 信号转导途径 *JAZ2*、*MYC2*、*COI1* 及倍半萜合成途径 *PTS*、*FPPS*、*SQLE* 基因表达均有不同程度的促进作用, 其中对 *JAZ2* 基因表达影响最显著。0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理 2 h 时, *JAZ2* 表达量上调 13.52 倍; 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理 48 h 时, *JAZ2* 表达量上调 19.09 倍。JA 信号转导途径关键基因 *JAZ2* 与倍半萜合成途径关键基因 *FPPS* 存在极显著正相关关系。综上结果表明 MeJA 溶液可诱导广藿香 *JAZ2*、*MYC2*、*COI1*、*PTS*、*FPPS*、*SQLE* 基因的表达, 且不同浓度 MeJA 对基因表达有着不一样的影响; *JAZ2* 是 JA 信号转导途径里响应 MeJA 诱导的主要基因, 其可激活倍半萜合成途径 *FPPS* 基因的协同表达, 进而影响广藿香醇等倍半萜合成。

**关键词:** 广藿香, 茉莉酸甲酯, JA 信号转导途径, 倍半萜合成途径, 基因表达

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2021)04-0559-08

## Effects of MeJA treatment on key genes involved in JA signal transduction and biosynthesis pathway of sesquiterpene in *Pogostemon cablin*

DENG Wenjing<sup>1</sup>, ZHANG Hongyi<sup>1,2,3</sup>, OU Xiaohua<sup>1</sup>, LU Changhua<sup>1</sup>, HUANG Weizhan<sup>1</sup>, YAN Hanjing<sup>1,2,3\*</sup>

收稿日期: 2020-05-28

基金项目: 国家自然科学基金(81773829); 广东省科技项目(2017A030303081, 2017A030303082) [ Supported by the National Natural Science Foundation of China (81773829); Science and Technology Program of Guangdong Province (2017A030303081, 2017A030303082) ]。

作者简介: 邓文静(1993-), 硕士研究生, 研究方向为中药资源开发与品质评价, (E-mail) 1451499545@qq.com。

\* 通信作者: 严寒静, 博士, 教授, 研究方向为中药资源开发与品质评价, (E-mail) yanhanjing1211@163.com。

- ( 1. College of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine or Production & Development of Cantonese Medicinal Materials, Guangzhou 510006, China; 3. Comprehensive Experimental Station of Guangzhou, Chinese Materia Medica, China Agriculture Research System, Guangzhou 510006, China )

**Abstract:** The effects of exogenous methyl jasmonate (MeJA) on the key genes (*PTS*, *FPPS*, *SQLE*) expressions of *Pogostemon cablin* for the JA signal transduction and sesquiterpene synthesis pathways were studied. This would establish a foundation of the molecular mechanisms of MeJA in these two pathways. We treated the leaves of patchouli with 0.10 and 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA respectively and picked them at 0, 2, 6, 12, 24, 48, 72 h after treatments. We used qRT-PCR to detect the key genes expression of *JAZ2*, *MYC2*, *COI1*, *PTS*, *FPPS*, *SQLE*. The results were as follows: 0.10 and 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA promoted the expression of these genes in different degrees, with the most significant effect on *JAZ2*. The expression levels of *JAZ2* increased 13.52-fold after 2 h at 0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA treatment and 19.09-fold after 48 h at 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA treatment. There was a significant positive correlation between the key gene *JAZ2* in JA signal transduction pathway and *FPPS* in sesquiterpene synthesis pathway. The above results demonstrated that MeJA promoted the expression of *JAZ2*, *MYC2*, *COI1*, *PTS*, *FPPS*, *SQLE*, and different concentrations of MeJA had different effects on gene expression. *JAZ2* was the main gene induced by MeJA in JA signal transduction pathway, which can activate the co-expression of *FPPS* gene in sesquiterpene synthesis pathway, so as to affect the synthesis of sesquiterpene such as patchouli alcohol.

**Key words:** *Pogostemon cablin*, methyl jasmonate, JA signal transduction pathways, sesquiterpene synthesis pathways, gene expression

广藿香 (*Pogostemon cablin*) 为唇形科 (Lamiaceae) 刺蕊草属 (*Pogostemon*) 植物, 以干燥地上部分入药, 是我国传统中药之一, 具有芳香化湿、开胃止呕、发表解暑的功效 (国家药典委员会, 2015)。广藿香中的挥发油主要为倍半萜类化合物, 数量超过 24 种, 其中以广藿香醇为主要成分 (Deguerry et al., 2006)。广藿香醇具有保护胃肠道、抗病原微生物、抗氧化、抗肿瘤和调节免疫系统等作用 (Ito et al., 2016; 徐雯, 2017)。近年来, 广藿香被用作药用提取物、食品添加剂和香料, 广泛应用于药品、食品及日用化妆品行业。因此, 研究广藿香醇合成的分子机制, 从分子水平上调控广藿香倍半萜的代谢以提高广藿香醇含量, 具有重要的实际意义。

茉莉酸甲酯 (methyl jasmonate, MeJA) 是一种新型植物激素, 参与植物生长发育调节和防御反应, 可有效调控药用植物中次生代谢产物的生物合成 (Avanci et al., 2010)。茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 信号转导途径是调控植物次生代谢产物合成的主要途径之一 (Ryan, 1990), 由多个基因或蛋白的协同作用完成。其中茉莉酸 ZIM 结构域蛋白

(jasmonate ZIM domain-containing protein, JAZ)、冠菌素不敏感蛋白 1 (coronatine insensitive 1, COI1)、转录因子 MYC2 等是 JA 信号转导的核心模块, 常通过彼此之间的相互作用来调控植物次生代谢产物的合成 (Katsir et al., 2008; Browse, 2009; Chini et al., 2009)。

倍半萜是药用植物中常见的有效成分。研究倍半萜合成途径中关键酶基因的调控网络, 对调控挥发性萜类合成具有重要价值。其中倍半萜合酶基因角鲨烯单加氧酶 (squalene monooxygenase, SQLE) 位于倍半萜类化合物骨架合成的上游途径, 能促进倍半萜物质的合成 (王焕, 2015)。法尼基焦磷酸合酶 (farnesyl diphosphate synthase, FPPS) 是合成倍半萜的前体法尼基焦磷酸 (FPP) 的关键酶。倍半萜合酶 (terpene synthase, TPS) 如广藿香醇合酶 (patchoulol synthase, PTS) 能进一步催化 FPP 生成广藿香醇等倍半萜类化合物 (Frister et al., 2015)。

前人研究表明, MeJA 可通过 JA 信号转导开启一系列萜类合成途径相关基因的协同表达, 从而在转录水平上影响植物的萜类代谢, 增加萜类

化合物的积累(Xu et al., 2004; Suttipanta et al., 2011;何雪莹,2016)。目前,对 MeJA 处理广藿香后 JA 信号转导途径及倍半萜合成途径相关性的研究尚未见报道,而进一步研究其分子机制对提高广藿香倍半萜类化合物的合成与积累具有重要价值。因此,本实验用不同浓度 MeJA 处理广藿香,运用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 *JAZ2*、*MYC2*、*COI1*、*PTS*、*FPPS*、*SQLE* 基因的表达量,旨在了解 MeJA 对广藿香 JA 信号转导途径和倍半萜合成途径关键基因表达的影响,挖掘受 MeJA 调控的基因,为深入研究广藿香 JA 信号转导途径及倍半萜合成途径的分子机制奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

选择广东省四会市广藿香植株,将扦插苗移栽至广东药科大学中药学院种植 10 个月,株高约 90 cm。经广东药科大学中药学院严寒静教授鉴定为唇形科刺蕊草属植物广藿香 (*Pogostemon cablin*)。

### 1.2 用 MeJA 处理广藿香植株

选取长势相近且良好的广藿香 16 株,随机分为两组,分别是实验组和对照组,设 3 个生物学重复。以 1 mL 无水乙醇为溶剂,配制 0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液,用小喷瓶均匀喷施在广藿香叶片表面,直至水滴滴落,立即用透明塑料膜将植株覆盖,1.5 h 后移除塑料膜。分别于处理后的 0、2、6、12、24、48、72 h 摘取叶片,用锡纸包裹放入液氮中速冻 0.5 h 后,放入 -80 °C 冰箱保存,用于总 RNA 提取。以 1 mL 无水乙醇按照同倍数稀释后喷施于广藿香为对照组。

0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理方法同上。

### 1.3 广藿香总 RNA 提取及 cDNA 第一链合成

使用 TRI pure Reagent 和 RNA prep Pure Plant 试剂盒,按照说明书提取广藿香总 RNA,用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,超微量紫外分光光度计 UV2450 测定其浓度和纯度,将 RNA 放入 -80 °C 冰箱保存。从冰箱取出 RNA,测定其浓度和纯度,计算用于反转录的 RNA 量,使用 *Evo M-MLV*

RT For PCR 试剂盒按说明书进行反转录,获得 cDNA 第一链。

### 1.4 基因表达量的测定

根据本课题组广藿香转录组测序得到的 *JAZ2*、*MYC2*、*COI1*、*SQLE*、*FPPS* 基因序列及 NCBI 公布的 *PTS* 基因序列,用 CmSuite8 软件设计 qRT-PCR 引物(表 1)。以 18S rRNA 为内参基因,18S 引物同见表 1(刘璐等,2016)。

使用 SYBR<sup>®</sup> Green Premix Pro *Taq HS* qPCR 试剂盒,按照说明书配制 20 μL 反应体系:SYBR<sup>®</sup> Green Premix Pro *Taq HS* Premix 10 μL,cDNA 1.5 μL,Primer F 0.4 μL,Primer R 0.4 μL,RNase free water 7.7 μL。qRT-PCR(Bio-Rad Laboratories, Inc) 反应程序:预变性 95 °C、30 s,1 个循环;变性 95 °C、5 s,退火及延伸 60 °C、30 s,40 个循环。空白对照用水代替 cDNA 模板,每个样品设三个技术重复,复孔间 *Ct* 值的 STD<0.2。

表 1 qRT-PCR 引物序列  
Table 1 qRT-PCR primer sequences

基因 Gene	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence
<i>JAZ2</i>	JAZ2-F	CCCAGCTGACAATCTTCTAC
	JAZ2-R	AATGCCACTGCTCTGTTTCC
<i>MYC2</i>	MYC2-F	CCTAATCGCGTTTCATCAGAC
	MYC2-R	GTGCAGAAGAAGGTGAAGAC
<i>COI1</i>	COI1-F	TTAGAGTAGAGCGTGGGGCT
	COI1-R	CGAGACGTAGACGGCCAAAT
<i>SQLE</i>	SQLE-F	GAGACGCGTTCGTGTAATAG
	SQLE-R	CCCTCTGAGCATCAATCTTC
<i>FPPS</i>	FPPS-F	AGGTCCCTAAGGTTGGTATG
	FPPS-R	GGAACTCCACCTCATTGAAC
<i>PTS</i>	PTS-F	ATTCAGTCCGAACACTTGAG
	PTS-R	GAACAGGGTGAAGGTACAAC
18S	18S-F	TCAACCATAAACGATGCCGACC
	18S-R	TTTCAGCCTTGGCACCATACTCC

### 1.5 数据分析

采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算基因相对表达量(Livak & Schmittgen, 2001)。 $\Delta Ct_{\text{处理}} = Ct_{\text{处理}} - Ct_{\text{内参(处理)}}$ ;  
 $\Delta Ct_{\text{对照}} = Ct_{\text{对照}} - Ct_{\text{内参(对照)}}$ ; $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{处理}} - \Delta Ct_{\text{对照}}$ ;

$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 即基因的相对表达量。运用 SPSS 分析软件,用独立样本 T 检验对数据进行差异显著性分析;用 Pearson 法对 JA 信号转导途径和倍半萜合成途径中的关键基因进行相关性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 广藿香总 RNA 的质量检测

提取的广藿香总 RNA,用 1%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测其质量。电泳图显示 18S、28S 条带清晰分明且 28S 条带的亮度大致为 18S 条带的两倍(图 1),表明 RNA 完整性良好;紫外分光光度计检测结果显示,OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 在 1.8~2.1 之间,表明 RNA 纯度较高。RNA 质量较好,满足后续实验需要。

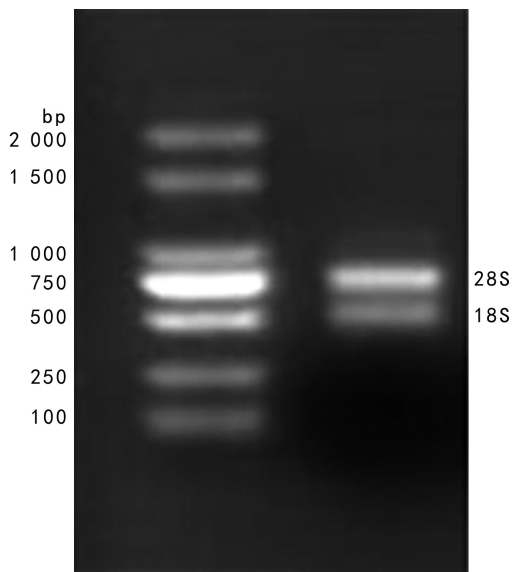


图 1 RNA 琼脂糖凝胶电泳

Fig. 1 RNA agarose gel electrophoresis

### 2.2 MeJA 处理对广藿香基因表达量的影响

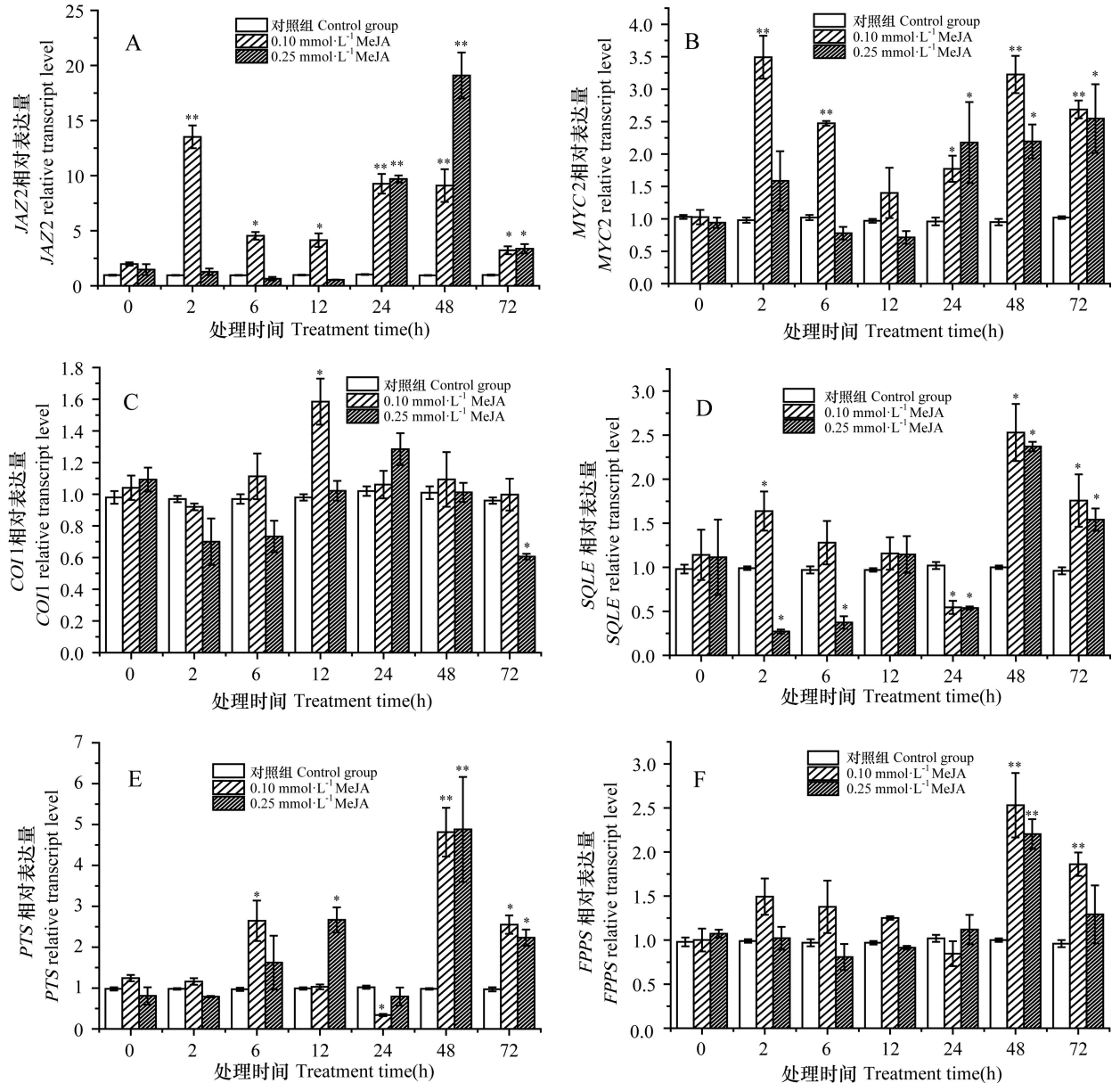
2.2.1 MeJA 对广藿香 JA 信号转导途径关键基因 *JAZ2*、*MYC2*、*COI1* 表达的影响 *JAZ2* 在 0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理后 2、6、12、24、48、72 h 表达变化显著,其表达量与对照组相比分别上调 13.52、4.54、4.15、9.27、9.10、3.23 倍,差异达极显著和显著水平;*JAZ2* 在 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理后 24、48、72 h,其表达量分别上调 9.69、

19.09、3.37 倍,差异达极显著和显著水平(图 2:A)。*MYC2* 在 0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理后 2、6、48、72 h,其表达量与对照组相比分别上调 3.49、2.47、3.23、2.69 倍,差异达极显著水平;*MYC2* 在 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理后 24、48、72 h,其表达量分别上调 2.18、2.19、2.55 倍,差异达显著水平(图 2:B)。两种不同浓度 MeJA 溶液处理后,*COI1* 的表达量变化不大(图 2:C)。由此可知,0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液可在处理初期促进广藿香 *JAZ2* 和 *MYC2* 的表达,而用 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液诱导后基因响应较慢,直到 24 h 表达量才开始上调。其中 *JAZ2* 表达量上调最显著,而对 *COI1* 的表达影响不大。

2.2.2 MeJA 对广藿香倍半萜合成途径关键基因 *PTS*、*FPPS*、*SQLE* 表达的影响 *SQLE* 在 0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理后 2、48、72 h 表达变化明显,其表达量与对照组相比分别上调 1.64、2.53、1.76 倍,差异达显著水平;*SQLE* 在 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理后 2、6 h 表达量分别下调 73%、63%、48 h 表达量上调 2.37 倍,差异达显著水平(图 2:D)。*PTS* 在 0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理后 6、48、72 h 表达变化明显,其表达量与对照组相比分别上调 2.65、4.81、2.55 倍,差异达极显著和显著水平;*PTS* 在 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理后 12、48、72 h,其表达量与对照组相比分别上调 2.67、4.88、2.23 倍,差异达极显著和显著水平(图 2:E)。*FPPS* 在 0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理后 48、72 h,表达量与对照组相比分别上调 2.53、1.86 倍,差异达显著水平;*FPPS* 在 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理后 48 h,表达量与对照组相比上调 2.20 倍,差异达显著水平(图 2:F)。由此可知,在 0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理初期,*SQLE* 表达量上调,而在 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液处理初期,*SQLE* 表达量则下降。*PTS* 和 *FPPS* 均在 MeJA 溶液处理后的 48 h 上调表达明显。

### 2.3 相关性分析

2.3.1 0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 处理后广藿香 JA 信号转导途径及倍半萜合成途径关键基因表达的相关性分析 从表 2 可以看出,0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 诱导后,*PTS* 与 *SQLE*、*FPPS* 与 *SQLE*、*PTS* 与 *FPPS*



\* 表示差异显著 ( $0.01 < P < 0.05$ ); \*\* 表示差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

\* means significant differences ( $0.01 < P < 0.05$ ); \*\* means extremely significant differences ( $P < 0.01$ ).

图2 MeJA处理对广藜香基因表达的影响

Fig. 2 Effects of MeJA treatments on gene expression in *Pogostemon cablin*

均存在极显著正相关关系。

2.3.2 0.25 mmol·L<sup>-1</sup> MeJA处理后广藜香JA信号转导途径及倍半萜合成途径关键基因表达的相关性分析 从表3可以看出,0.25 mmol·L<sup>-1</sup> MeJA诱导后,PTS与SQLE、FPPS与SQLE、PTS与FPPS均存在显著正相关关系;JA信号转导途径关键基因JAZ2与倍半萜合成途径关键基因FPPS存在极

显著正相关关系,相关系数 $r$ 达到0.914。

### 3 讨论与结论

在植物中,茉莉酸甲酯的作用与植物激素发挥的作用相似,可通过信号转导途径有效调节植物的生长发育、应激反应以及代谢产物(Devoto &

**表 2 0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 处理后 JA 信号转导及倍半萜合成途径基因表达的相关性分析**

Table 2 Correlation analysis on the key gene expressions of JA signal transduction and sesquiterpene synthesis pathway after 0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA treatment

基因 Gene	<i>JAZ2</i>	<i>MYC2</i>	<i>COI1</i>	<i>SQLE</i>	<i>PTS</i>
<i>MYC2</i>	0.670				
<i>COI1</i>	-0.364	-0.364			
<i>SQLE</i>	0.197	0.709	-0.201		
<i>PTS</i>	-0.014	0.556	-0.142	0.881 **	
<i>FPPS</i>	0.191	0.718	-0.147	0.969 **	0.920 **

注: \*\* 表示在 0.01 水平(双侧)上显著相关。

Note: \*\* means the correlation is significant at the 0.01 level (bilateral).

**表 3 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 处理后 JA 信号转导及倍半萜合成途径基因表达的相关性分析**

Table 3 Correlation analysis on the key gene expressions of JA signal transduction and sesquiterpene synthesis pathway after 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA treatment

基因 Gene	<i>JAZ2</i>	<i>MYC2</i>	<i>COI1</i>	<i>SQLE</i>	<i>PTS</i>
<i>MYC2</i>	0.614				
<i>COI1</i>	0.401	-0.068			
<i>SQLE</i>	0.666	0.407	0.096		
<i>PTS</i>	0.678	0.253	-0.020	0.862 *	
<i>FPPS</i>	0.914 **	0.609	0.141	0.853 *	0.800 *

注: \* 表示在 0.05 水平(双侧)上显著相关; \*\* 表示在 0.01 水平(双侧)上显著相关。

Note: \* means the correlation is significant at the 0.05 level (bilateral); \*\* means the correlation is significant at the 0.01 level (bilateral)

Turner, 2003; 蒋科技等, 2010)。通过研究植物 JA 信号转导途径和倍半萜合成途径, 挖掘受 MeJA 调控的基因是进一步研究两个途径分子机制的关键。本研究结果发现, 0.10 和 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> 的 MeJA 喷施广藿香, JA 信号转导途径的 *JAZ2*、*MYC2*、*COI1* 及倍半萜合成途径的 *PTS*、*FPPS*、*SQLE* 基因表达量均有不同程度的上调, 其中 *JAZ2* 表达量上调极显著。这与已报道的丹参 *JAZs* 基因(裴天林, 2019)、丹参 *SmMYC2* 基因(周阳云, 2015)、青蒿 *JAZ* 和 *COI1* 基因(陈俞裴, 2017)、广

藿香 *FPPS* 基因(Tang et al., 2019)、菊花 *TPS* 基因(王威姣, 2020)经 MeJA 处理后上调表达的结果类似。本研究结果表明广藿香 *JAZ2*、*MYC2*、*COI1*、*PTS*、*FPPS*、*SQLE* 基因在转录水平上响应了 MeJA 的诱导, 关于进一步的响应调节机制仍需深入研究。

不同浓度 MeJA 的应用对基因表达量和表达趋势的影响是不一样的。本研究中, 0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液可在处理初期促进广藿香 *JAZ2*、*MYC2* 和 *SQLE* 的表达, 而在 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液诱导初期, 基因表达量没有明显上调, 甚至出现抑制基因表达的现象。梁晓薇等(2017)研究发现, 0.02 和 0.05 mmol · L<sup>-1</sup> 的低浓度 MeJA 在处理初期能促进甘草酸相关合成途径酶基因表达, 但较高浓度的 MeJA(0.10 mmol · L<sup>-1</sup>) 在处理初期没有诱导相关基因表达。笔者推测 MeJA 浓度过高会抑制基因的表达, 随着处理时间的延长, 植物体内 MeJA 降解到合适的浓度, 进而促进基因的表达。MeJA 浓度的高低是一个相对值, 不同植物不同品种或者是同种植物的不同基因都有着不同的适宜诱导浓度。

用 Pearson 法分析广藿香 JA 信号转导途径与倍半萜合成途径关键基因的相关性, 可知 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 溶液诱导后, 广藿香 JA 信号转导途径 *JAZ2* 与倍半萜合成途径 *FPPS* 基因存在极显著正相关关系, 相关系数 *r* 高达 0.914, 推测外源性茉莉酸甲酯可通过广藿香 JA 信号转导途径 *JAZ2* 基因激活倍半萜合成途径 *FPPS* 基因的协同表达, 进而调控广藿香倍半萜类合成, 这与前人研究发现 MeJA 可通过 JA 信号转导开启一系列萜类合成途径相关基因的协同表达, 从而在转录水平上影响植物的萜类合成的结果相符(Xu et al., 2004; Suttipanta et al., 2011; 何雪莹, 2016); 而低浓度 MeJA 溶液诱导后, 两个途径关键基因间不存在极显著正相关关系。由于植物基因调控网络具有复杂性, 推测只有当 MeJA 溶液达到一定浓度时, 广藿香 JA 信号转导途径关键基因才能开启倍半萜合成途径相关基因的协同表达。此外, 0.10 mmol · L<sup>-1</sup> MeJA 诱导后, 倍半萜类合成骨架的上游基因 *SQLE* 与广藿香醇合成途径的下游基因

*PTS*、*FPPS* 存在极显著性正相关关系,且  $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  MeJA 诱导也具有类似的正向调节效果,推测 MeJA 诱导后倍半萜类合成骨架的上游基因能够影响广藿香醇合成途径下游基因的表达。下游基因 *PTS* 和 *FPPS* 在两种浓度 MeJA 诱导下分别存在极显著和显著正相关关系,表达量均在 48 h 达到最大值,*FPPS* 能够催化异戊烯基焦磷酸 (*IPP*) 和二甲基烯丙基焦磷酸 (*DMAPP*) 生成法尼基焦磷酸 (*FPP*) 等前体物质,而 *PTS* 则可以催化 *FPP* 生成广藿香醇等倍半萜类化合物 (Frister et al., 2015),推测 MeJA 诱导 48 h 后广藿香醇含量会有一定程度的增加。

经外源 MeJA 处理后,基因表达量在一定时间内上调,随着时间的延长会逐渐下调至处理前水平(魏洁书等,2013;梁晓薇等,2017)。本研究中,用两种浓度 MeJA 溶液处理广藿香,*JAZ2*、*SQLE*、*PTS*、*FPPS* 基因表达量均在 48 h 达到最大值,*MYC2* 和 *COI1* 基因表达量分别在 2 h 和 12 h 达到最大值,但 72 h 时各个基因的表达均呈现逐渐回落的趋势,说明基因表达受 MeJA 的调控是激发式的,随着时间的延长最终会恢复至正常水平。综上所述,MeJA 溶液可诱导广藿香 *JAZ2*、*MYC2*、*COI1*、*PTS*、*FPPS*、*SQLE* 基因的表达,且不同浓度 MeJA 对基因表达有着不一样的影响;*JAZ2* 是 JA 信号转导途径里响应 MeJA 诱导的主要基因,其可激活倍半萜合成途径 *FPPS* 基因的协同表达,进而影响广藿香醇等倍半萜合成。

## 参考文献:

AVANCI NC, LUCHE DD, GOLDMAN GH, et al., 2010. Jasmonates are phytohormones with multiple functions, including plant defense and reproduction [J]. *Genet Mol Res*, 9(1): 484-505.

BROWSE J, 2009. Jasmonate passes muster: A receptor and targets for the defense hormone [J]. *Ann Rev Plant Biol*, 60: 183-205.

CHEN YP, 2017. Functional verification of the jasmonic acid receptor gene *AaCOI1* in *Artemisia annua* L. [D]. Chongqing: Southwest University. [陈俞裴, 2017. 青蒿茉莉酸受体 *AaCOI1* 的功能研究 [D]. 重庆: 西南大学.]

CHINI A, BOTER M, SOLANO R, 2009. Plant oxylipins: *COI1*/*JAZs*/*MYC2* as the core jasmonic acid-signalling

module [J]. *Febs J*, 276(17): 4682-4692.

DEGUERRY F, PASTORE L, WU S, et al., 2006. The diverse sesquiterpene profile of patchouli, *Pogostemon cablin*, is correlated with a limited number of sesquiterpene synthases [J]. *Arch Biochem Biophys*, 454(2): 123-136.

DEVOTO A, TURNER JG, 2003. Regulation of jasmonate-mediated plant responses in *Arabidopsis* [J]. *Ann Bot*, 92(3): 329-337.

FRISTER T, HARTWIG S, ALEMDAR S, et al., 2015. Characterisation of a recombinant patchoulol synthase variant for biocatalytic production of terpenes [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 176(8): 2185-2201.

HE XY, 2016. RNA sequencing on *Amomum villosum* Lour.-induced by MeJA identifies the genes of JA signal transduction and transcription factors involved in terpene biosynthesis [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine. [何雪莹, 2016. 基于 RNA-Seq 的阳春砂 JA 信号转导及萜类合成相关转录因子的研究 [D]. 广州: 广州中医药大学.]

ITO K, AKAHOSHI Y, ITO M, et al., 2016. Sedative effects of inhaled essential oil components of traditional fragrance *Pogostemon cablin* leaves and their structure-activity relationships [J]. *J Tradit Complement Med*, 6(2): 140-145.

JIANG KJ, PI Y, HOU R, et al., 2010. Jasmonate biosynthetic pathway: Its physiological role and potential application in plant secondary metabolic engineering [J]. *Chin Bull Bot*, 45(2): 137-148. [蒋科技, 皮妍, 侯嵘, 等, 2010. 植物内源茉莉酸类物质的生物合成途径及其生物学意义 [J]. *植物学报*, 45(2): 137-148.]

KATSIR L, CHUNG HS, KOO AJ, et al., 2008. Jasmonate signaling: A conserved mechanism of hormone sensing [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 11(4): 428-435.

LIANG XW, YANG Q, LI D, et al., 2017. Regulation of methyl jasmonate on secondary metabolism of *Glycyrrhiza uralensis* root [J]. *Guangdong Agric Sci*, 44(6): 57-62. [梁晓薇, 杨全, 李丹, 等, 2017. 茉莉酸甲酯对甘草根次生代谢的调控 [J]. *广东农业科学*, 44(6): 57-62.]

LIU L, WU YG, YU J, et al., 2016. Expression analysis of *PTS* gene of *Pogostemon cablin* at different time points [J]. *J Trop Biol*, 7(1): 89-91. [刘璐, 吴友根, 于靖, 等, 2016. 广藿香中 *PTS* 基因不同时间点的表达分析 [J]. *热带生物学报*, 7(1): 89-91.]

LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  method [J]. *Methods*, 25(4): 402-408.

National Pharmacopoeia Commission, 2015. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Part 1) [S]. Beijing: China Medical Science and Technology Press: 66. [国家药典委员会, 2015. 中华人民共和国药典(第一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社: 66.]

PEI TL, 2019. The function of *SmJAZ* in regulating the

- biosynthesis of salvianolic acids and tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* [D]. Yangling; Northwest A & F University. [裴天林, 2019. *SmJAZ* 基因在调控丹参酮类和酚酸类物质合成中的功能研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学.]
- RYAN CA, 1990. Protease inhibitors in plants: genes for improving defenses against insects and pathogens [J]. *Ann Rev Phytopathol*, 28(1): 425-449.
- SUTTIPANTA N, PATTANAİK S, KULSHRESTHA M, et al., 2011. The transcription factor CrWRKY1 positively regulates the terpenoid indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* [J]. *Plant Physiol*, 157(4): 2081-2093.
- TANG Y, ZHONG L, WANG X, et al., 2019. Molecular identification and expression of sesquiterpene pathway genes responsible for patchoulol biosynthesis and regulation in *Pogostemon cablin* [J]. *Bot Stud*, 60(1): 11.
- WANG H, 2015. Research on volatile terpenoids and transcriptome changes of MeJA-induced *Amomum villosum* lour [D]. Guangzhou; Guangzhou University of Chinese Medicine. [王焕, 2015. MeJA 影响阳春砂挥发性萜类和转录组变化的研究 [D]. 广州: 广州中医药大学.]
- WANG WJ, LI F, ZHANG WW, et al., 2020. Cloning and expression characteristics of *CmTPS1like* gene in *Chrysanthemum morifolium* [J]. *J Nanjing Agric Univ*, 43(1): 58-64. [王威姣, 李菲, 张皖皖, 等, 2020. 菊花 *CmTPS1like* 基因的克隆及表达特性 [J]. 南京农业大学学报, 43(1): 58-64.]
- WEI JS, YANG JF, LING M, et al., 2013. Regulatory effect of methyl jasmonate on *HMGR*, *DXR* and *DXS* genes expression in *Amomum villosum* Lour. [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med*, 30(1): 88-92. [魏洁书, 杨锦芬, 凌敏, 等, 2013. 茉莉酸甲酯调控阳春砂 *HMGR*、*DXR* 和 *DXS* 基因表达 [J]. 广州中医药大学学报, 30(1): 88-92.]
- XU W, WU YQ, DING HR, et al., 2017. Research progress on pharmacological effects and mechanism of herba pogostemonis [J]. *Shanghai J Tradit Chin Med*, 51(10): 103-106. [徐雯, 吴艳清, 丁浩然, 等, 2017. 广藿香的药理作用及机制研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 51(10): 103-106.]
- XU YH, WANG JW, WANG S, et al., 2004. Characterization of *GaWRKY1*, a cotton transcription factor that regulates the sesquiterpene synthase gene (+)- $\delta$ -cadinene synthase-A [J]. *Plant Physiol*, 135(1): 507-515.
- ZHOU YY, 2015. Functional characterization of *SmMYC2a* and *SmMYC2b* which regulate multiple jasmonate-inducible steps in the biosynthesis of active compounds in *Salvia miltiorrhiza* [D]. Fuzhou; Fujian University of Traditional Chinese Medicine. [周阳云, 2015. 茉莉酸信号途径关键转录因子 *SmMYC2* 调控丹参有效成分生物合成的功能解析 [D]. 福州: 福建中医药大学.]

(责任编辑 何永艳)