

结球甘蓝 NHX 基因家族全基因组鉴定及其对茉莉酸甲酯的应答

李录山^{1,2}, 陈聚鹏¹, 赵玉美², 杨雨¹

(1. 西南林业大学园林园艺学院 昆明 650000; 2. 国家林业和草原局西南风景园林工程技术研究中心 昆明 650000)

摘要:为了解析结球甘蓝 NHX 基因家族的生物学特性及其在激素调控和抗逆代谢中的潜在功能。本研究通过全基因组筛选与简单生物信息学分析,系统鉴定了结球甘蓝 NHX 基因家族成员,并对其理化性质、蛋白质结构特征、进化及激素调控机制等进行了探究。结果表明,结球甘蓝基因组中共鉴定出 11 个 BoNHX 基因家族成员,分布于 5 条染色体上。其中 6 个成员为酸性蛋白质,5 个为碱性蛋白质,多数蛋白质定位于质膜或液泡膜。系统进化分析表明,BoNHX 家族成员与拟南芥、木薯、桃等物种的 NHX 基因聚类为 3 个亚群。在保守基序与基因结构方面,各成员在基序组成及内含子-外显子分布上存在显著差异。启动子顺式作用元件预测发现,家族成员含有丰富的植物激素响应元件及非生物胁迫响应元件。qRT-PCR 结果表明,经茉莉酸甲酯处理 8 h 后,结球甘蓝中 *BoNHX2*、*BoNHX3*、*BoNHX4* 和 *BoNHX7* 等 7 个基因上调表达,推测这些新发现的基因可能参与了植株的生长发育过程。本研究结果表明甘蓝 BoNHX 基因家族与结球甘蓝的激素调控有密切关系,可为解析结球甘蓝的激素调控及抗逆机制提供参考。

关键词:结球甘蓝;茉莉酸甲酯;基因家族;理化性质;荧光定量

中图分类号:S635.1

文献标志码:A

文章编号:1673-2871(2026)07-054-08

Genome-wide identification of the NHX gene family in cabbage and their response to methyl salicylate

Li Lushan^{1,2}, Chen Jupeng¹, Zhao Yumei², Yang Yu¹

(1. College of Landscape Architecture and Horticulture, Southwest Forestry University, Kunming 650000, Yunnan, China; 2. Engineering Technology Research Center of National Forestry and Grassland Administration on Southwest Landscape Architecture, Kunming 650000, Yunnan, China)

Abstract: To elucidate the biological characteristics of the NHX gene family in cabbage and their potential functions in hormone regulation and stress tolerance metabolism, this study performed genome-wide screening and bioinformatics analysis to identify the NHX gene family in cabbage, and investigated their physicochemical properties, protein structural features, evolution, and hormone regulation mechanisms. The results indicated that a total of 11 BoNHX gene family members were identified from the cabbage genome, distributed across five chromosomes. Among them, six members were classified as acidic proteins and five as basic proteins, with most proteins localized to the plasma membrane or vacuolar membrane. Phylogenetic analysis showed that the BoNHX family members clustered into three subgroups with NHX genes from *Arabidopsis thaliana*, cassava, peach and other species. In terms of the conserved motifs and gene structure, significant differences were observed among different members in motif composition and intron-exon distribution. Promoter cis-element predication revealed that this family contains various plant hormone-responsive elements and abiotic stress responsive elements. The qRT-PCR results showed that after 8 hours of methyl jasmonate (MeJA) treatment, seven genes, including *BoNHX2*, *BoNHX3*, *BoNHX4*, and *BoNHX7*, were up-regulated in heading cabbage, suggesting their potential roles in growth and development. This study systematically elucidated for the first time the close relationship between the BoNHX gene family in cabbage and hormone regulation of heading cabbage, providing a reference for in-depth analysis of hormone regulation mechanisms and stress resistance improvement in heading cabbage.

Key words: Cabbage; Methyl salicylate; Gene family; Physicochemical property; Fluorescence quantification

收稿日期:2025-10-15;修回日期:2025-12-26

基金项目:西南林业大学风景园林学科中青年预研基金;云南省教育厅科学研究基金(2025J0645);云南省农业联合项目

作者简介:李录山,男,讲师,主要从事园林园艺植物生理研究。E-mail:18086945551@163.com

通信作者:杨雨,女,研究实习员,主要从事园林园艺植物生理研究。E-mail:2656515958@qq.com

结球甘蓝(*Brassica oleracea* L.)别名圆白菜、洋白菜、包菜、卷心菜、莲花白等,是十字花科芸薹属甘蓝种的变种^[1],二年生或多年生草本植物,高60~150 cm,被粉霜^[2]。Na⁺/H⁺逆向转运蛋白质(vacuolar Na⁺/H⁺ exchanger, NHX)在生物体中广泛存在。前人对NHX基因家族的研究大部分集中于NHX基因家族在抵御盐胁迫中调控植物体内离子平衡、pH值和细胞渗透^[3-4]。谷世超^[5]研究发现,NHX与MYB互作,能够调控激素合成与代谢途径,进一步抵御盐胁迫。茉莉酸甲酯(MeJA)及茉莉酸(JA)是植物生长、发育和应激反应的重要激素,内源JA的增加可以通过激活参与JA信号通路的基因来减轻小麦^[6]、油菜籽^[7]、水稻^[8]等作物的盐胁迫损伤。在盐胁迫下,内源性JA含量增加,JA信号转导被激活^[9]。尚春雨^[10]研究发现,盐碱胁迫下,过表达*SIWRKY80*可以显著增加番茄内源MeJA及JA含量,敲除*SIWRKY80*的株系则相反。盐碱胁迫下,JA含量的升高降低了*SIJAZ1*对*SIWRKY81*的抑制作用,导致*SIWRKY81*蛋白质的额外释放,进一步增强了番茄对盐碱胁迫的抗性。推测NHX基因家族可能参与激活MeJA及JA信号通路,进一步抵御盐碱胁迫。王昭懿等^[11]在黑麦上研究发现,NHX基因家族顺势作用元件中含有大量激素调控通路作用元件,而关于NHX基因家族与茉莉酸甲酯信号通路的研究较少。因此,笔者将通过生物信息学方法分析NHX基因家族的理化性质、蛋白质二三级结构、顺式作用元件、进化树及NHX基因家族对茉莉酸甲酯的响应情况,探究NHX基因家族在茉莉酸甲酯信号通路中的作用,进一步完善NHX基因家族的功能,并为结球甘蓝抗盐胁迫提供新的路径以及为结球甘蓝抗盐品种的选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试验设计

以中甘十一号(中国农业科学院蔬菜花卉研究所选育的杂交种)为供试材料,于2024年11月在西南林业大学园林园艺学院楼内采用育苗盘和基质培养的方法进行培养,采用随机区组试验设计,设置处理组和清水对照组,每组设置3个重复,每个重复20株,待长至6~7片真叶时,选择长势一致、无病虫害的结球甘蓝,用0.5 μmol·L⁻¹茉莉酸甲酯对结球甘蓝幼苗叶面进行喷施处理,8 h后取样,每个小区取3株做生物学重复,取样后立即用液氮冷冻并置于-80℃下保存。

1.2 结球甘蓝NHX家族成员筛选与鉴定

从TAIR数据库(<https://www.arabidopsis.org/>)获得8个拟南芥*AtNHX*基因的序列,查阅文献获得NHX基因家族的Pfam序列号,下载NHX保守结构域(序列号:PF00999)的隐马尔可夫模型,通过HMMER 3.0软件对结球甘蓝全基因组数据库搜索,对结球甘蓝基因组进行蛋白质序列比对(BLASTP),搜索出候选的BoNHX基因家族成员^[12]。去除冗余,确定BoNHX基因家族成员。

1.3 BoNHX家族基因的染色体定位及编码蛋白质的理化性质

通过ExPASy在线工具(<https://web.expasy.org/protparam/>)分析结球甘蓝NHX蛋白质的理化性质,包括序列长度、相对分子质量和等电点等信息^[13]。利用在线网站WoLP PSORT(<https://wolfpsort.hgc.jp/>)预测蛋白质的亚细胞定位。根据结球甘蓝BoNHX的染色体位置信息,登录http://mg2c.iask.in/mg2c_v2.0/构建基因在染色体上的位置;登录https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html查找基因二级结构信息。蛋白质三级结构使用SWISS-MODEL软件(<https://swissmodel.expasy.org>)进行预测,并构建三维蛋白质模型^[14]。

1.4 BoNHX家族系统进化树分析

利用MEGA-11的Neighbor-Joining(NJ)法构建系统进化树,bootstrap设置为1000。分别获取拟南芥、桃^[15]、木薯^[16]等NHX家族的蛋白质序列,利用MEGA 11软件,采用邻近法构建进化树,使用iTOL(iTOL: Interactive Tree of Life ([embl.de](http://www.itol.org)))进行美化。

1.5 BoNHX家族顺式作用元件预测

用TBtools软件提取BoNHX家族成员转录起始位点上游2000 bp的启动子序列,用在线网站PlantCARE对其顺式作用元件进行预测和分析。

1.6 BoNHX与其他物种的共线性分析

选择结球甘蓝(*Brassica oleracea*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、木薯(*Manihot esculenta*)和桃(*Prunus persica*)的全基因组文件和注释文件进行两两比较,用TBtools进行共线性可视化分析。

1.7 实时定量qRT-PCR

用柱式植物总RNA抽提试剂盒提取叶片RNA,通过凝胶电泳验证RNA纯度。以总RNA为模板,反转录获得cDNA。用罗氏实时荧光定量PCR仪进行qRT-PCR测定,引物信息见表1。反应体系体积为20 μL,cDNA稀释溶液2 μL,SGExcel

Universal SYBR qPCR Mix 10 μ L, 正向和反向引物各 0.4 μ L, RNase-Free ddH₂O 7.2 μ L。扩增程序条件为: 预变性阶段设置 95 $^{\circ}$ C, 30 s; 变性阶

段设置 95 $^{\circ}$ C, 15 s; 退火延伸阶段设置 60 $^{\circ}$ C, 30 s, 40 个循环^[17]。用 2^{- $\Delta\Delta$ CT}法计算基因的相对表达量^[18]。

表 1 用于 qRT-PCR 的引物信息
Table 1 Sequences of primers used for qRT-PCR

引物名称 Primer name	正向引物(5'-3') Forward primer(5'-3')	反向引物(5'-3') Reverse primer(5'-3')
BoNHX1	TCGGAGAAGGTGTTGTGAATGATG	ATGGTTAAGGTGTGTGAGGTCAAAG
BoNHX2	CAGTCTATTGGAGTGAGTGCATAC	AGAACGAAAGAGGGAACACAAAGG
BoNHX3	ATGACAATGCTGCTGGCTTCTC	GATCAGAGGTGGACACGACAG
BoNHX4	AGCGTCGTTCTCTCGTCATC	AACAAACAAACAAAGAAGCAGCAAAC
BoNHX5	GGCAAGAGAAGCAGCAGCAAG	AATAGAACTTATGACGGCGAAGGAC
BoNHX6	GGCAAGAGAAGCAGCAGCAG	ATAATAGAACTTATGGCGGCGAAGG
BoNHX7	TGTTCTTCTGTGGGATTGTGATGTC	ACTTGTTAGTGATTCTTGTGCTCTC
BoNHX8	AGGAGGCGACAGGTTCTTCTTC	ATACCGAGCACCAGAGACATCC
BoNHX9	TCTTGTAATCGGAGAAGGTGTTGTG	GTTAAGGTGGGTGAGGTCAAAGC
BoNHX10	CATCTACGGTTTGACGGCTCTAC	CGAGGATTGTGCTTGTGGAGAAG
BoNHX11	GCGATCATGGTCCTAATGGCTTAC	TTCTGCCTTAACTGTTGGAGTAATGG

2 结果与分析

2.1 BoNHX 基因家族成员的鉴定

利用 Na⁺/H⁺ exchanger(PF00999)氨基酸特异序列对结球甘蓝 gff 3 进行比对, 并与拟南芥、木薯和桃的 NHX 家族成员比对分析去除冗余, 共筛选到 11 个候选成员, 然后通过 Pfam 和 SMART 数据库鉴定, 最终确认 11 个结球甘蓝 NHX 家族成员, 并命名为 *BoNHX1*~*BoNHX11*(表 2)。根据染色体定位分析, 11 个结球甘蓝 *BoNHX* 基因分别分布在 5 条染色体上, *BoNHX1* 位于第 2 染色体上, *BoNHX2*~*BoN-*

HX4 位于第 5 染色体上, *BoNHX5* 和 *BoNHX6* 位于第 6 染色体上, *BoNHX7* 位于第 7 染色体上, *BoNHX8*~*BoNHX11* 位于第 9 染色体上。

2.2 BoNHX 家族编码蛋白质的理化性质

由表 3 可知, 结球甘蓝 NHX 家族编码蛋白质序列之间存在明显差异, *BoNHX7* 基因最短, 为 885 bp, *BoNHX5* 基因最长, 为 3837 bp。 *BoNHX* 基因家族氨基酸数量为 294~1278 aa, 相对分子质量为 32 588.69~142 213.53 Da, 等电点为 5.68~8.36, 其中, 只有 *BoNHX2*、*BoNHX4*、*BoNHX5*、*BoNHX6*、*BoNHX8* 和 *BoNHX10* 的等电点小于 7, 为酸性蛋白质, 其他成员的等电点均大于 7, 为碱性蛋白质。 *BoNHX* 基因家族蛋白质的不稳定系数为 28.60~45.26。 其中, *BoNHX2*、*BoNHX5* 和 *BoNHX7* 的不稳定系数大于 40, 属于不稳定蛋白质; 其他成员均为稳定蛋白质。 *BoNHX* 基因家族蛋白质的平均亲水系数为 0.087~0.520, 均大于 0, 平均亲水系数为正值且系数越大则疏水性越强, 说明 *BoNHX* 家族成员均为疏水蛋白质。 亚细胞定位预测结果显示, 它们大部分定位于质膜上。

2.3 BoNHX 基因家族成员蛋白质的二级结构

α -螺旋靠氢键稳固, 其含量、分布影响蛋白质整体形态, 数量较多时促使蛋白质呈紧密棒状, 且通过疏水、静电作用加固。 由表 4 可知, *BoNHX* 家族成员的 α -螺旋比例较高, 占比在 32.93%~59.70%, 表明其含有大量跨膜结构域。 β -转角多分布于蛋白

表 2 结球甘蓝 BoNHX 家族成员信息

Table 2 Information table of BoNHX family members in cabbage

基因名称 Gene name	基因登录号 Gene ID	起始位置 Start position	终止位置 End position	染色体 Chromosomal location
<i>BoNHX1</i>	Bo2g155070	48142792	48145950	2
<i>BoNHX2</i>	Bo5g143580	44578062	44580999	5
<i>BoNHX3</i>	Bo5g146760	45330816	45333820	5
<i>BoNHX4</i>	Bo5g019870	6727802	6732858	5
<i>BoNHX5</i>	Bo6g080910	24800515	24807492	6
<i>BoNHX6</i>	Bo6g124010	39429949	39433902	6
<i>BoNHX7</i>	Bo7g093430	35953808	35956164	7
<i>BoNHX8</i>	Bo9g071470	21527175	21532997	9
<i>BoNHX9</i>	Bo9g010200	2940449	2943704	9
<i>BoNHX10</i>	Bo9g097320	31509576	31511191	9
<i>BoNHX11</i>	Bo9g120600	38328492	38331304	9

表 3 结球甘蓝 NHX 家族编码蛋白的理化性质和亚细胞定位

Table 3 Physicochemical properties and subcellular localization of the encoded protein in NHX family in cabbage

序号 No.	基因名称 Gene name	基因全长 Full-length gene/bp	氨基酸数量 Number of amino acids/aa	相对分子质量 Relative molecular mass/Da	等电点 Isoelectric point	不稳定系数 Instability index	平均亲水性系数 Grand average of hydropathicity	亚细胞定位 Subcellular localization
1	<i>BoNHX1</i>	1635	544	60 401.68	7.19	34.89	0.490	质膜 Plasmalemma
2	<i>BoNHX2</i>	1683	560	62 185.67	6.60	40.11	0.423	液泡、质膜 Vacuole, plasmalemma
3	<i>BoNHX3</i>	1650	549	60 991.34	7.09	37.27	0.473	质膜 Plasmalemma
4	<i>BoNHX4</i>	2169	722	79 971.74	6.23	28.60	0.265	质膜 Plasmalemma
5	<i>BoNHX5</i>	3837	1278	142 213.53	5.96	45.26	0.087	质膜 Plasmalemma
6	<i>BoNHX6</i>	1614	537	59 745.82	5.72	38.15	0.356	质膜 Plasmalemma
7	<i>BoNHX7</i>	885	294	32 588.69	8.36	42.69	0.271	质膜 Plasmalemma
8	<i>BoNHX8</i>	3420	1139	125 840.25	6.56	38.15	0.356	质膜 Plasmalemma
9	<i>BoNHX9</i>	1608	535	59 343.36	7.19	34.80	0.484	质膜 Plasmalemma
10	<i>BoNHX10</i>	987	328	36 208.70	5.68	28.77	0.253	叶绿体 Chloroplast
11	<i>BoNHX11</i>	1596	531	58 802.69	7.18	35.30	0.520	质膜 Plasmalemma

质表面,改变多肽链走向,分布不同让蛋白质或直或弯。 β -转角比例在 3.66%~7.59%,占比较低且符合跨膜蛋白质特征。无规则卷曲无固定形态,填充于其他结构间隙,依分布塑造蛋白质内部与表面特性,最终导致蛋白质空间折叠不同。*BoNHX* 家族成员无规则卷曲比例在 25.21%~45.12%。延伸链能形成 β -折叠片层,片层排列差异赋予蛋白质独特空间架构,*NHX* 家族成员蛋白质延伸链占比在 10.80%~21.09%。

表 4 结球甘蓝 NHX 家族蛋白质二级结构信息

Table 4 Information on the secondary structure of proteins in the NHX family of cabbage %

序号 No.	蛋白质名称 Protein name	α -螺旋 α -helix	β -转角 β -turn	无规则卷曲 Random coil	延伸链 Extended strand
1	<i>BoNHX1</i>	45.22	4.41	32.35	18.01
2	<i>BoNHX2</i>	45.89	4.64	32.14	17.32
3	<i>BoNHX3</i>	44.08	4.37	32.79	18.76
4	<i>BoNHX4</i>	59.70	4.29	25.21	10.80
5	<i>BoNHX5</i>	46.17	7.59	26.84	19.41
6	<i>BoNHX6</i>	46.93	3.72	34.08	15.27
7	<i>BoNHX7</i>	37.41	4.42	37.07	21.09
8	<i>BoNHX8</i>	48.38	4.65	33.01	13.96
9	<i>BoNHX9</i>	43.93	4.49	32.52	19.07
10	<i>BoNHX10</i>	32.93	3.66	45.12	18.29
11	<i>BoNHX11</i>	43.50	4.33	33.33	18.83

2.4 *BoNHX* 蛋白质三级结构分析

利用在线软件 SWISS-MODEL 对 *BoNHX* 家族蛋白质进行预测(图 1)发现,*BoNHX* 蛋白质三级结构存在明显差异。总体来看,蛋白质呈现“跨膜

蛋白质”结构,包含多个 α -螺旋,结构中可见疏水核心,可能形成离子运输通道。 α -螺旋及无规则卷曲在整个蛋白质结构中占比存在差异,致使蛋白质的空间结构各不相同,蛋白质结构决定蛋白质功能,说明其功能存在差异。

2.5 *BoNHX* 家族的系统进化树

为进一步了解结球甘蓝 *BoNHX* 基因家族与其他物种的进化关系,利用 MEGA-11 软件对拟南芥、木薯和桃的 *NHX* 家族成员采用 Neighbor-Joining (NJ)法构建系统进化树。如图 2 所示,基因家族可以被分为 3 个亚家族 Group 1、Group 2 和 Group 3, Group 1 中有 *BoNHX10* 和 *BoNHX11*,其中 *BoNHX11* 和 *AtNHX3* 亲缘关系较近。Group 2 中有 *BoNHX4*、*BoNHX5*、*BoNHX6* 和 *BoNHX8*, *BoNHX5*、*BoNHX6* 亲缘关系较近,它们 α -螺旋占比也十分接近。Group 3 中有 *BoNHX1*、*BoNHX2*、*BoNHX3*、*BoNHX7* 和 *BoNHX9*,其中 *BoNHX1* 和 *BoNHX7* 亲缘关系较近。总体来说,各亚族内的基因间同源性较高,各亚族内基因进化方向大致相似,进化过程较为稳定。

2.6 *BoNHX* 家族的基因结构分析

BoNHX 家族基因的结构如图 3 所示,不同基因的外显子均只有 1 个,其中 *BoNHX1*、*BoNHX3*、*BoNHX4*、*BoNHX7*、*BoNHX8*、*BoNHX9* 和 *BoNHX11* 基因 CDS 序列位于最末端, *BoNHX2*、*BoNHX5*、*BoNHX10* 基因 CDS 序列位于中间, *BoNHX6* 基因 CDS 序列位于基因最前端。不同基因 CDS 和上下游区域长度差异明显。除了 *BoNHX6* 外,所有家族成员都具有上游序列; *BoNHX4*、*BoNHX5* 和 *BoN-*

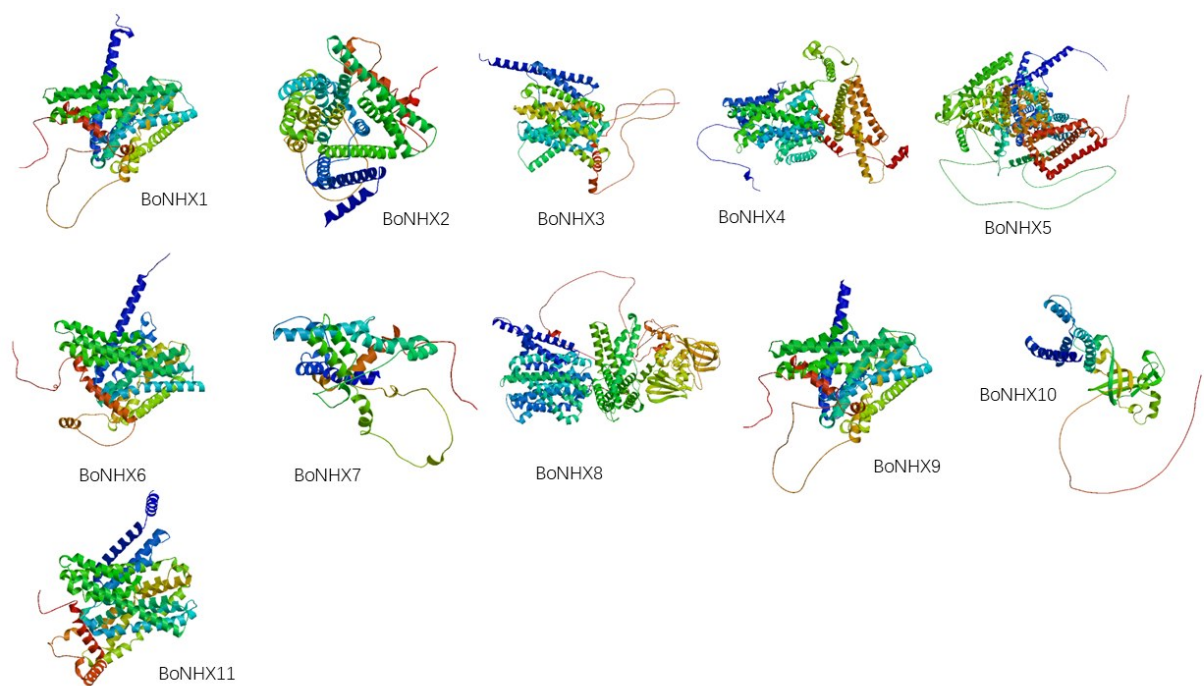


图 1 结球甘蓝 NHX 家族成员三级结构
Fig. 1 Tertiary structures of members of the NHX family in cabbage

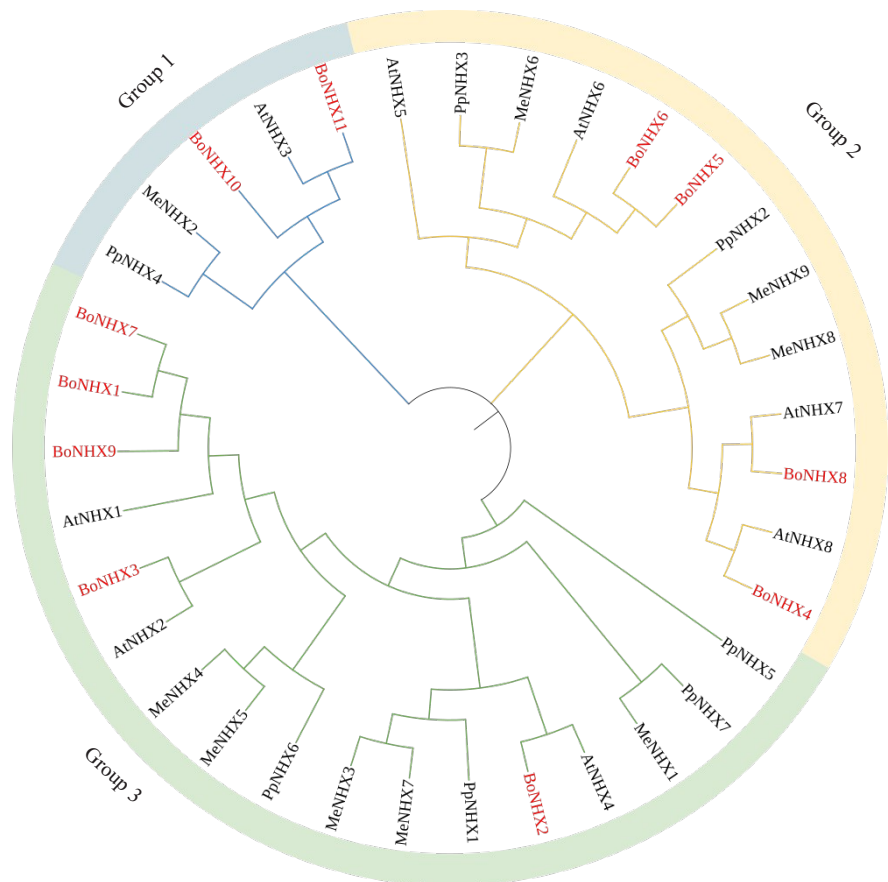


图 2 结球甘蓝、拟南芥、木薯和桃 NHX 蛋白质的系统进化分析
Fig. 2 Phylogenetic analysis of NHX proteins from *Brassica oleracea*, *Arabidopsis thaliana*, *Manihot esculenta* and *Prunus persica*

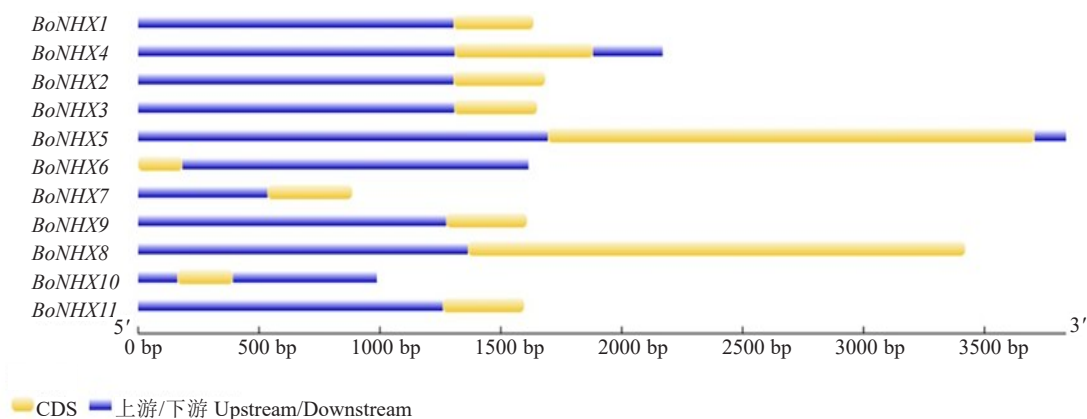


图3 结球甘蓝 NHX 家族基因结构

Fig. 3 Gene structure of the NHX family in cabbage

HX10 同时拥有上游和下游序列; *BoNHX5* 的蓝色上游区域最长, *BoNHX10* 的上游区域最短; *BoNHX5* 和 *BoNHX8* 的 CDS 序列长度相近, *BoNHX6* 和 *BoNHX10* 的 CDS 序列长度相近。

2.7 BoNHX家族的顺式作用元件

使用 Plantcare 软件分析发现(图4), 11条 NHX 家族基因具有的顺式作用元件主要有植物激素响应元件、生物胁迫响应元件和非生物胁迫响应元件; 如茉莉酸甲酯响应元件(TGACG-motif)、赤霉素响应元件(GARE)、低温响应元件(LTR)、光响应元件(G-box)等。结果表明, BoNHX 成员在激素信号响应、植株生长发育和抗逆性响应中起到调节作用。

2.8 BoNHX家族的共线性分析

如图5~7显示, 结球甘蓝9条染色体上11个 BoNHX 家族基因与拟南芥7条染色体上8个 *AtNHX* 基因存在共线性, 和木薯7条染色体上9个 MeNHX 家族基因存在共线性, 与桃8条染色体上7个 PpNHX 家族基因存在共线性, 其中结球甘蓝与拟南芥存在12对同源基因, 结球甘蓝与木薯之间存在17对同源基因, 结球甘蓝与桃之间存在9对同源基因, 这表明结球甘蓝与拟南芥、木薯之间的亲缘关系更密切, 而与桃的亲缘关系较远。

2.9 BoNHX基因在茉莉酸甲酯处理下的表达分析

通过 qRT-PCR 分析 11 个 NHX 基因在结球甘



图4 结球甘蓝 NHX 家族顺式作用元件

Fig. 4 Cis-acting elements of the NHX family in cabbage

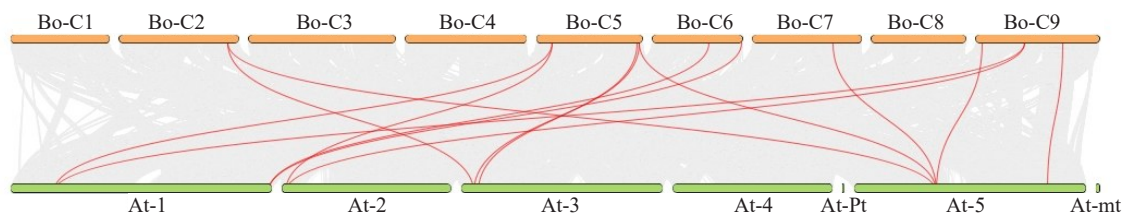


图 5 结球甘蓝与拟南芥 *NHX* 基因共线性分析
Fig. 5 Collinearity analysis of *NHX* genes between cabbage and *Arabidopsis thaliana*

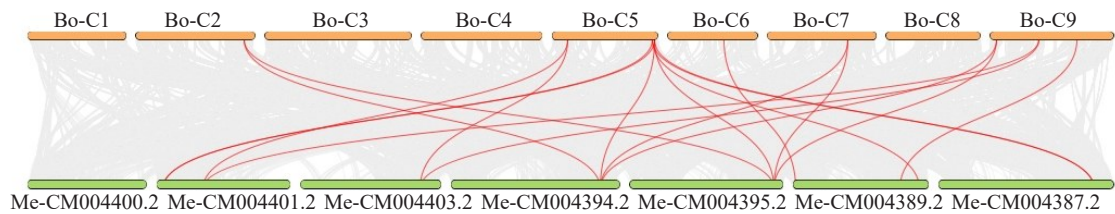


图 6 结球甘蓝与木薯 *NHX* 基因共线性分析
Fig. 6 Collinearity analysis of *NHX* genes between cabbage and cassava

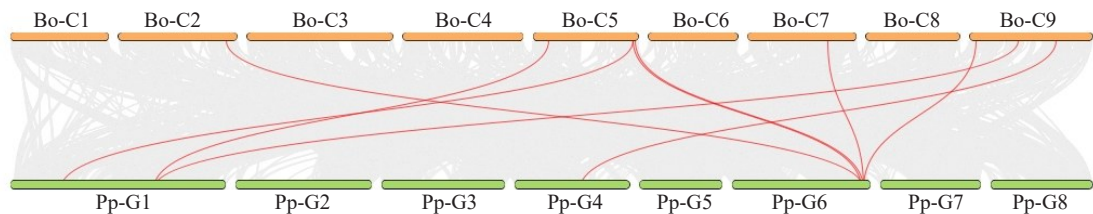


图 7 结球甘蓝与桃 *NHX* 基因共线性分析
Fig. 7 Collinearity analysis of *NHX* genes between cabbage and peach

蓝幼叶的相对表达量,在茉莉酸甲酯处理 8 h 后,在叶片中的 *BoNHX* 基因表达情况结果如图 8 所示。在茉莉酸甲酯处理 8 h 后,*BoNHX2*、*BoNHX3*、*BoNHX4*、*BoNHX6*、*BoNHX7*、*BoNHX9* 和 *BoNHX10* 等基因上调表达(基因相对表达量>1),且大部分基因均含有茉莉酸甲酯响应元件,表明这些基因可

能响应外源茉莉酸甲酯,参与茉莉酸甲酯信号转导途径。*BoNHX1*、*BoNHX5*、*BoNHX8* 和 *BoNHX11* 在处理后下调表达(基因相对表达量<1),表明在外源茉莉酸甲酯处理下这 4 个基因起到负调控作用,说明 *BoNHX* 基因家族成员中并不是所有成员均正向响应外源茉莉酸甲酯调控。

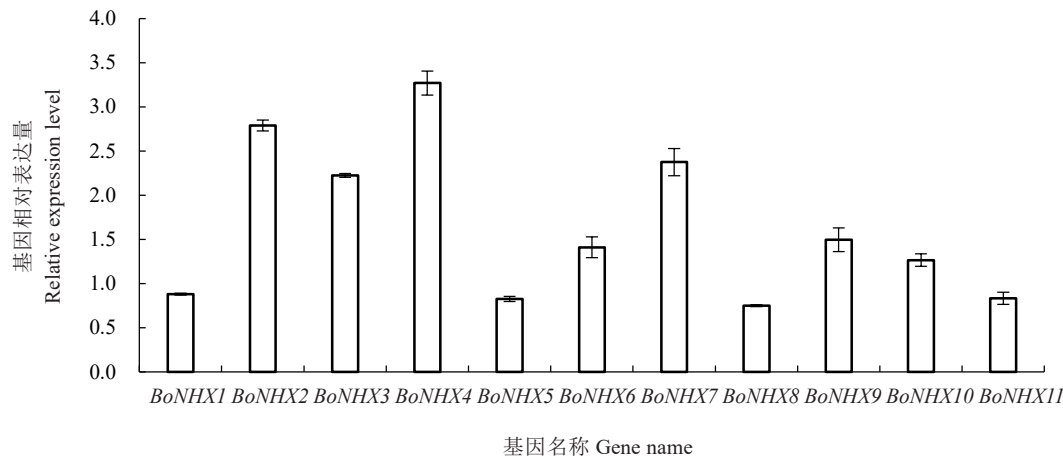


图 8 结球甘蓝 *NHX* 基因在 MeJA 处理下的相对表达量
Fig. 8 Relative expression levels of *NHX* genes in cabbage under MeJA treatment

3 讨论与结论

甘蓝是我国第二大叶菜类蔬菜,种植面积与产量均居世界前列,但在种植过程中受到外界胁迫较多,严重影响甘蓝产量和品质。NHX 基因家族与逆境胁迫息息相关,同时茉莉酸甲酯作为植物中的一类抗逆激素,在植物抗逆中发挥着重要作用,已有报道证明 NHX 家族基因中含有茉莉酸甲酯调控元件。

本研究结果表明,结球甘蓝 NHX 基因家族包含 11 个成员,分别分布在 5 条染色体上,这与王雪花等^[19]在甘蓝上的研究结果一致。结球甘蓝 NHX 家族蛋白质序列之间存在明显差异,*BoNHX7* 的全长最短(885 bp),*BoNHX5* 的全长最长(3837 bp)。编码基因的蛋白质分子质量在 32 588.69~142 213.53 Da,氨基酸数量在 294~1278 aa。各基因编码蛋白质的等电点在 5.68~8.36。*BoNHX2* 等 6 个成员为酸性蛋白质,其余为碱性蛋白质,这将影响它们在细胞内的功能。这与刘佳欣等^[20]的研究结果一致。此外,根据亚细胞定位分析,大多数蛋白质定位于质膜,但 *BoNHX2* 同时存在于液泡和质膜,*BoNHX10* 则定位于叶绿体,因液泡与植物激素调控息息相关^[21],这种定位差异可能对应不同的功能,如激素调控、非生物胁迫响应。通过 PlantCare 网站分析,11 个 *BoNHX* 家族基因启动子顺式作用元件可以分为生长环境相关响应元件、植物生长激素响应元件和逆境胁迫响应元件等。王昭懿等^[11]研究发现,ScNHXs 含有多种逆境响应元件,并且含有大量茉莉酸甲酯响应元件和脱落酸响应元件。推测 ScNHXs 可能作为转录中介因子,通过响应不同激素信号调节黑麦对逆境胁迫的响应。岳杨等^[22]研究发现,枳的 NHX 基因家族成员启动子中含有大量光照、逆境胁迫和激素响应元件。其中,光照响应元件数量最多,达 87 个,激素响应元件共 57 个,其中茉莉酸甲酯(MeJA)响应元件 22 个。这充分说明 NHX 基因能够响应激素调控。在 qRT-PCR 分析中,11 个 NHX 基因中 7 个基因表达量上调,说明这 7 个基因在激素响应过程中起到正向响应作用。这将为后续开展通过茉莉酸代谢途径调控逆境胁迫提供新的思路,并为抗逆育种提供了候选基因。

综上所述,本研究在结球甘蓝中建立了 NHX 基因家族与茉莉酸甲酯调控途径之间的直接分子联系,揭示了 *BoNHX2*、*BoNHX4* 和 *BoNHX7* 作为抗逆育种候选基因的潜力,为进一步解析茉莉酸代谢

途径调控结球甘蓝逆境适应性的分子机制提供了理论依据和基因资源。后续将重点围绕上述关键基因开展功能验证及调控网络解析。

参考文献

- [1] 孙德岭,姚星伟,陈锐,等.中国花椰菜育种 50 年回顾与进展[J].园艺学报,2025,52(5):1159-1179.
- [2] 钟世浚,颜文晨,刘霄芸,等.甘蓝类蔬菜抽薹开花调控相关基因研究进展[J].植物遗传资源学报,2025,26(4):622-632.
- [3] 吴沁安,张萌,丁一娟.甘蓝 *BoNHX* 基因家族生物信息学分析与鉴定[J].西藏农业科技,2025,47(3):13-20.
- [4] Liu H, Tang R, Zhang Y, et al. *AtNHX3* is a vacuolar K^+/H^+ antiporter required for low-potassium tolerance in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Cell Environment, 2010, 33(11): 1989-1999.
- [5] 谷世超.对粤猕猴桃耐盐相关离子转运基因的挖掘与功能分析[D].北京:中国农业科学院,2023.
- [6] Qiu Z B, Guo J L, Zhu A J, et al, Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2014(104):202-208.
- [7] Kuo H Y, Kang F C, Wang Y Y, Glucosinolate transporter1 involves in salt-induced jasmonate signaling and alleviates the repression of lateral root growth by salt in *Arabidopsis*[J]. Plant Science, 2020, 297: 110487.
- [8] Asfaw K G, Liu Q, Eghbalian R, et al, The jasmonate biosynthesis gene *OsOPR7* can mitigate salinity induced mitochondrial oxidative stress[J]. Plant Science, 2022, 316: 111156.
- [9] Yu Z P, Duan X B, Luo L, et al, How plant hormones mediate salt stress responses[J]. Trends in Plant Science, 2020, 25(11): 1117-1130.
- [10] 尚春雨. SIMYC2 调控 SIWRK80 和 SIWRKY81 响应番茄盐碱胁迫的机制解析[D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2024.
- [11] 王昭懿,崔原瑗,韩梦养,等.黑麦 NHX 基因家族的鉴定及盐胁迫下的表达分析[J].华北农学报,2025,40(3):9-18.
- [12] 艾迪,魏永成,孟景祥,等.木麻黄 NHX 基因家族的鉴定及盐胁迫下的表达分析[J].西北植物学报,2023,43(5):750-760.
- [13] 马娟娟,侯栋,黄书超,等.黄瓜 FRK 基因家族的鉴定及其表达分析[J].农业生物技术学报,2024,32(7):1483-1493.
- [14] 刘亚洁,贾明轩,周贺,等.玉米 GLP 基因家族的全基因组鉴定及其响应玉米大斑病菌侵染的表达分析[J].农业生物技术学报,2021,29(10):1881-1893.
- [15] 李森,李桂祥,刘伟,等.桃 NHX 基因家族的全基因组鉴定与表达分析[J].山东农业科学,2021,53(12):8-16.
- [16] 杨仕梅,谢恩俊,罗春芳,等.木薯 NHX 基因家族鉴定及特征分析[J].贵州农业科学,2024,52(8):19-26.
- [17] 郭树宽,曾春茹,吴翼,等.椰子 CnRADIALIS-like 转录因子的克隆与表达分析[J].热带作物学报,2021,42(9):2478-2486.
- [18] 徐亚,滕梦鑫,何岳东,等.香蕉 NHX 基因家族的鉴定及表达分析[J].植物生理学报,2021,57(3):681-691.
- [19] 王雪花,韩佳,马济中,等.大白菜 NHX 基因家族的鉴定与表达分析[J].生物工程学报,2023,39(2):552-565.
- [20] 刘佳欣,朱建峰,杨秀艳,等.木本盐生植物西伯利亚白刺 NHX 基因家族全基因组鉴定与表达分析[J].基因组学与应用生物学,2023,42(7):698-714.
- [21] 王香玉,田玉娟,李云,等.板栗 GRF 和 GIF 基因家族的全基因组鉴定和表达分析[J].果树学报,2025,42(7):1422-1441.
- [22] 岳杨,张德健,王鹏,等.柑橘 NHX 基因的鉴定及盐胁迫下表达分析[J].江苏农业科学,2025,53(4):161-168.