北京林业大学学报
JOURNAL OF BEIJING FORESTRY UNIVERSITY

MeJA介导的bHLH转录因子家族对板栗果实发育和品质的影响

姬行舟 崔艳红 白倩 王梓豫 丁一宁 苏淑钗

Effects of MeJA mediated bHLH transcription factor family on development and quality of *Castanea mollissima* fruits

Ji Xingzhou, Cui Yanhong, Bai Qian, Wang Ziyu, Ding Yining, Su Shuchai

引用本文:
姬行舟, 崔艳红, 白倩, 王梓豫, 丁一宁, 苏淑钗. MeJA介导的bHLH转录因子家族对板栗果实发育和品质的影响[J]. 北京林业大学学报, 2025, 47(8):23–41. doi: 10.12171/j.1000–1522.20250063
Ji Xingzhou, Cui Yanhong, Bai Qian, Wang Ziyu, Ding Yining, Su Shuchai. Effects of MeJA mediated bHLH transcription factor family on development and quality of *Castanea mollissima* fruits[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2025, 47(8):23–41. doi: 10.12171/j.1000–1522.20250063

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20250063

您可能感兴趣的其他文章
Articles you may be interested in

转录因子*CmHAT1*调控板栗体细胞胚胎发育的功能研究
Functional research of transcription factor *CmHAT1* regulating the development of somatic embryo in *Castanea mollissima*
北京林业大学学报, 2024, 46(5): 73–81. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20230215

板栗*Hsp90*基因家族的鉴定及在胚珠发育过程中的表达分析
Identification and expression analysis during ovule development of *Hsp90* gene family in *Castanea mollissima*
北京林业大学学报, 2022, 44(11): 10–19. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20210272

覆草施肥模式对板栗叶片功能性状与果实产量品质的影响
Effects of grass mulching–fertilization mode on leaf functional characters and fruit yield as well as quality of *Castanea mollissima*
北京林业大学学报, 2022, 44(4): 36–46. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200315

油松*SAUR*基因家族鉴定及其干旱胁迫表达模式分析
Identification of *SAUR* gene family in *Pinus tabuliformis* and analysis on its expression patterns under drought stress
北京林业大学学报, 2024, 46(8): 57–67. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20230333

枣果胶甲酯酶基因家族鉴定及基于RNA–Seq表达分析
Identification and expression analysis based on RNA–Seq of the pectin methylesterase gene family in *Ziziphus jujuba*
北京林业大学学报, 2021, 43(4): 8–16. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200338

白桦*BpPAT1*基因的表达模式及耐盐性分析
Expression patterns and salt tolerance analysis of *BpPAT1* gene in *Betula platyphylla*
北京林业大学学报, 2021, 43(10): 18–27. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200302

DOI:10.12171/j.1000−1522.20250063

MeJA 介导的 bHLH 转录因子家族对板栗果实发育和品质的影响

姬行舟[1]　崔艳红[2]　白　倩[1]　王梓豫[1]　丁一宁[1]　苏淑钗[1]
（1. 北京林业大学林学院，林木资源高效生产全国重点实验室，北京 100083；2. 辽宁省经济林研究所，辽宁 大连 116031）

摘要:【目的】板栗是我国特色坚果产业的主要成员之一，其果实可药食两用，具有极高经济价值，提高板栗果实产量与品质对促进产业发展具有重要意义。本研究旨在探究 bHLH 转录因子通过调控响应 MeJA 进而影响板栗果实发育、品质及结实率的分子调控机制，明确 MeJA 在板栗果实发育过程中的关键作用，为高产优质板栗品种的培育提供宝贵基因资源与重要技术手段。**【方法】**本研究以‘遵化短刺’板栗为试验材料，系统分析了板栗 bHLH 转录因子家族的理化性质、序列特征及进化关系，并通过转录组数据与荧光定量 PCR 检测基因表达模式。并在板栗授粉和受精关键期喷施不同浓度的 MeJA 及其抑制剂（DIECA）作为生长调节剂，测定不同处理组果实的品质指标（包括单果重、可溶性糖含量、淀粉含量）和内源激素含量变化。**【结果】**（1）从板栗基因组中共鉴定得到 93 个 *CmbHLH* 基因成员，63% 的 CmbHLH 蛋白为酸性蛋白，进化树聚类分析将其分成了 20 个亚组（A ~ T），70 个 *CmbHLH* 基因中均存在茉莉酸响应元件，且全转录因子家族中也含有大量光响应元件、胚乳表达、分生组织表达相关元件，表明其与 MeJA、植物生长发育有着密不可分的关系。（2）多数 *CmbHLHs* 基因在授粉后第 18 天的正常发育胚珠与败育胚珠中呈现显著差异表达（$P < 0.05$），表明该转录因子家族可能参与响应板栗胚珠的早期发育进程，同时为确定板栗发育与败育的关键时期提供了分子依据。（3）MeJA 喷施处理会影响 *CmbHLHs* 的表达，同时，MeJA 处理能够优化刺苞的形态特征，有效提升横径、纵径、侧径、苞质量各项指标，尤其是 400 mg/L 质量浓度的 MeJA 处理效果最为显著，且 MeJA 400 mg/L 处理显著增加了板栗每总苞坚果个数以及着蓬率。（4）MeJA 处理能够提升板栗果实内源 MeJA、赤霉素（GA）和脱落酸（ABA）的含量，随着喷施浓度的增高而增加，相反，DIECA 处理则会导致这些激素含量的显著下降，3 种内源激素呈现协调增减的趋势，MeJA 400 mg/L 处理后结果最为显著。（5）在果实营养指标方面，MeJA 处理提高了果实中的蛋白质和淀粉含量，其中 400 mg/L 质量浓度处理提升效果最为显著，表明 *CmbHLHs* 基因可能通过响应 MeJA 介导的信号转导途径来影响果实营养品质。**【结论】***CmbHLHs* 能够通过响应 MeJA 途径，影响板栗果实发育和营养品质，这不仅为解析板栗果实发育的分子机制提供了新的理论依据，同时也为 MeJA 在板栗优质栽培中的实际应用奠定了技术基础。

关键词：板栗；bHLH 转录因子家族；茉莉酸甲酯；果实发育；基因表达
中图分类号：S792.17；S664.2　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1000−1522(2025)08−0023−19
引文格式：姬行舟，崔艳红，白倩，等. MeJA 介导的 bHLH 转录因子家族对板栗果实发育和品质的影响 [J]. 北京林业大学学报，2025，47(8)：23−41. Ji Xingzhou, Cui Yanhong, Bai Qian, et al. Effects of MeJA mediated bHLH transcription factor family on development and quality of *Castanea mollissima* fruits[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2025, 47(8): 23−41.

Effects of MeJA mediated bHLH transcription factor family on development and quality of *Castanea mollissima* fruits

Ji Xingzhou[1]　Cui Yanhong[2]　Bai Qian[1]　Wang Ziyu[1]　Ding Yining[1]　Su Shuchai[1]

收稿日期：2025−02−27　**修回日期：**2025−04−27
基金项目：国家重点研发计划（2024YFD2200600）。
第一作者：姬行舟。主要研究方向：经济林（果树）栽培与利用。Email：jixingzhou2000@163.com　地址：100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学。
责任作者：苏淑钗，教授，博士生导师。主要研究方向：经济林（果树）栽培与利用。Email：sushuchai@sohu.com　地址：同上。白倩，讲师。主要研究方向：经济林花果调控。Email：baiqian0219@bjfu.edu.cn　地址：同上。
本刊网址：http://j.bjfu.edu.cn；http://journal.bjfu.edu.cn

(1. School of Forestry, Beijing Forestry University, State Key Laboratory of Efficient Production of Forest Resources, Beijing 100083, China;
2. Institute of Economic Forestry, Liaoning Province, Dalian 116031, Liaoning, China)

Abstract: [**Objective**] *Castanea mollissima* is one of the major species in China's distinctive nut industry. Its fruits possess both nutritional and medicinal properties, making them of high economic value. Improving fruit yield and quality is thus crucial for promoting industrial development. This paper aims to elucidate the molecular regulatory mechanisms, by which bHLH transcription factors mediate MeJA signaling to influence fruit development, quality, and nut set in *C. mollissima*. It also seeks to clarify the key role of MeJA during fruit development, thereby providing valuable genetic resources and technical strategies for breeding of high-yield and high-quality *C. mollissima* cultivars. [**Method**] In this study, *C. mollissima* 'Zunhuaduanci' was used as experimental material. The physicochemical properties, sequence characteristics, and evolutionary relations of *C. mollissima* bHLH transcription factor family were systematically analyzed. Gene expression patterns were detected using transcriptomic data and quantitative real-time PCR technology. Different concentrations of MeJA and its inhibitor (DIECA) were sprayed during the key periods of *C. mollissima* pollination and fertilization as growth regulators, and various fruit quality indicators (including single fruit mass, soluble sugar content, starch content) and changes in endogenous hormone levels were measured in different treatment groups. [**Result**] (1) A total of 93 *CmbHLH* genes were identified in *C. mollissima* genome. Among them, 63% encoded acidic proteins. Phylogenetic analysis divided it into 20 subgroups (A–T). Jasmonate-responsive cis-elements were found in 70 of *CmbHLH* genes, and numerous light-responsive, endosperm-specific, and meristem-specific regulatory elements were also detected, indicating a close association with MeJA signaling and plant developmental processes. (2) A majority of *CmbHLH* genes exhibited significant differential expression ($P < 0.05$) between normally developing ovules and abortive ovules at the 18th day after pollination, suggesting their involvement in early ovule development and providing molecular evidence for identifying key developmental stages of fruit set and abortion. (3) Exogenous MeJA treatment modulated the expression of *CmbHLH* genes. Furthermore, MeJA application improved bract morphology, significantly increasing transverse, longitudinal, and lateral diameters, as well as bract mass. Notably, 400 mg/L MeJA treatment produced the most pronounced effects, significantly increasing the number of nuts per bract and the fruit set rate. (4) MeJA application elevated the levels of MeJA, gibberellins (GAs), and abscisic acid (ABA) in *C. mollissima* fruits, with higher concentrations producing more significant effects. In contrast, DIECA treatment reduced these hormone levels. The three hormones exhibited coordinated changes, with the most notable increases observed under the 400 mg/L MeJA treatment. (5) In terms of nutritional composition, MeJA treatments enhanced fruit protein and starch contents, with the 400 mg/L mass concentration showing the strongest effects. These results suggest that CmbHLH genes may regulate nutritional quality through MeJA-mediated signaling pathways. [**Conclusion**] *CmbHLHs* genes could respond to MeJA signaling and modulate both morphological traits and nutritional quality in *C. mollissima*. These findings provide new insights into the molecular mechanisms underlying *C. mollissima* fruit development and establish a theoretical and technical foundation for the application of MeJA in high-quality cultivation of *C. mollissima*.

Key words: *Castanea mollissima*; bHLH transcription factor family; methyl jasmonate; fruit development; gene expression

板栗(*Castanea mollissima*)属壳斗科(Fagaceae)栗属(*Castanea*),是我国重要的经济林树种,其果实可以药食两用,树干能用作木材,具有很高的经济价值[1]。板栗在我国广泛栽培,但存在授粉受精不良、胚珠败育等问题,导致其产量低、品质劣、效益差,严重阻碍了板栗产业的健康稳定发展。为确定板栗生长发育关键时期及分子调控机制,寇艳茹[2]对盛花期板栗进行 3 种授粉处理,发现板栗授粉受精不良会造成胚胎败育和胚珠停滞生长,确定授粉受精时期为胚发育及败育的关键节点;李玲[3]通过石蜡切片

观察和转录组测序，从细胞和分子层面证实授粉受精关键时期的胚珠正常发育对板栗稳产至关重要，并初步挖掘出与板栗受精及胚发育相关的关键基因。在此基础上，Cui 等[4]利用多组学整合分析剖析了胚珠发育的调控网络，指出 bHLH 转录因子家族可能发挥关键作用，但其是否会影响板栗果实发育与品质尚待进一步验证。

基本的碱性螺旋−环−螺旋（basic helix-loop-helix，bHLH）由 50 ~ 60 个氨基酸组成，是一个庞大而多样化的转录因子家族，其特征在于高度保守的 bHLH 结构域[5]。它包含两个亚功能区，位于 N 末端的碱性基本区域（basic region）由 10 ~ 15 个氨基酸组成，可特异性识别并结合 DNA 的区域；位于 C 端的 α 螺旋 1-环-α 螺旋 2（helix-loop-helix，HLH）区由 40 ~ 50 个疏水氨基酸组成，参与同源或异二聚化，在蛋白质−蛋白质相互作用和基因表达控制中具有重要作用[6]。植物 bHLH 转录因子首先是在玉米（*Zea mays*）中被鉴定出来[7]。随着分子生物学的发展，越来越多的研究表明，bHLH 转录因子可广泛参与植物防御反应[8]、激素信号传导[9]、次生代谢调节[10]、植物果实发育、成熟及色泽形成[11]等各项生长进程。在植物生长发育与激素信号传导方面：甜瓜（*Cucumis melo*）*CmbHLH*32 的过表达会导致果实提前成熟[12]；在拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）中过表达棉花（*Gossypium hirsutum*）*GhbHLH*28 不仅可以改变植物对油菜素甾醇（brassinosteroids，BRs）信号的响应，还促进了植物的生长[13]；二倍体森林草莓（*Fragaria vesca*）*FvbHLH*57 等 8 个基因几乎在果实发育的全过程表达，说明这 8 个基因与森林草莓果实的发育调控有关[14]；此外，苹果（*Malus domestica*）中 *MdbHLH*3 过表达不仅可以提高苹果叶片的光合能力和碳水化合物水平，更可以增强其果实中的碳水化合物积累，从而调节苹果果实品质[15]。

茉莉酸甲酯（MeJA）作为一种重要植物激素，可以通过调节植物生长发育与糖代谢等途径提升果实品质[16]。同时，MeJA 也与 bHLH 转录因子家族息息相关，它可以通过诱导 bHLH 转录因子家族中的某些成员的表达，改变其部分转录活性，进而调节果实颜色、大小、味道和营养成分等多方面的果实品质。例如，bHLH 转录因子家族的 IIId 亚组（*MYC*2，*MYC*3 和 *MYC*4）和 IIIe 亚组（*bHLH*3，*bHLH*13，*bHLH*14 和 *bHLH*17）转录因子通过参与 JA 信号的传导途径，诱导 JAZ 蛋白的降解，从而调节拟南芥类黄酮物质生成和植株衰老进程等[17]。茉莉酸甲酯通过调节苹果 *MdMYC*2 基因表达，可有效改善‘瑞雪’苹果果实贮藏期间的品质，包括甜度与香味等[18]。在苹果果实发育过程中，外施 MeJA 后，与乙烯（ETH）相关的 *ERF*4 转录因子可以通过与 JA 激活的转录因子 *MYC*2 相互作用来促进苹果果实成熟[19]。在番茄（*Solanum lycopersicum*）中外施 MeJA 和过表达 *S1MYC*2 基因均可增加糖酸比和番茄红素、类胡萝卜素、可溶性糖、总酚和黄酮类物质的含量，从而改善番茄果实品质[20]。此外，MeJA 还可与其他激素，如赤霉素（GA）、生长素（IAA）、脱落酸（ABA）等共同调控植物生长发育[21]。

目前，bHLH 转录因子家族在很多模式物种如拟南芥[17]、苹果[15]、番茄[20]中的功能已有广泛研究，并被证实受茉莉酸信号调控。在板栗中，Yu 等[22]发现板栗 bHLH 转录因子家族会影响板栗花芽、胚珠、果实的发育，这为板栗 bHLH 转录因子与板栗生长发育的研究奠定了坚实的理论基础。但 bHLH 转录因子是否能响应 MeJA，并影响板栗果实发育和品质尚未被研究，尤其在授粉受精关键时期对果实发育的影响机制尚不明确。因此，本研究拟以具有早实丰产、果大均匀、稳产型好等优势特点的板栗‘遵化短刺’（*C. mollissima* ‘Zunhuaduanci’）[3]为试验材料，基于 *CmbHLH* 转录因子家族的鉴定分析，初步发掘 MeJA 介导的 *CmbHLHs* 基因对板栗发育的调控作用，通过荧光定量试验，并结合田间喷施 MeJA 及其抑制剂 DIECA 的处理，解析 *CmbHLHs* 在 MeJA 介导的果实品质与结实率调控中的重要功能。研究结果不仅可丰富 bHLH 的功能研究，为其他物种中 bHLH-MeJA 模块在果实发育中的功能鉴定提供重要参考，还将为板栗高产优质分子设计育种提供关键的候选基因资源，同时也将为 MeJA 在板栗优质栽培中的实际应用奠定重要技术基础。

1　材料与方法

1.1　试验材料与喷施试验设计

以魏进河林场（117°45′11″E，40°21′22″N）板栗主栽品种‘遵化短刺’为试验树种。根据前人在番茄[23]、桃（*Prunus persica*）[24]上的喷施 MeJA 经验，设置 50、100、200 和 400 mg/L 4 个质量浓度梯度的 MeJA 与其抑制剂 DIECA 进行喷施。于板栗授粉期（2023 年 6 月 9 日）和受精期（2023 年 6 月 19 日）利用上述不同质量浓度梯度 MeJA 和 DIECA 进行两次叠加喷施，并以清水作对照。试验采用随机区组设计，每株板栗为 1 个小区，每种处理重复 3 次。喷施处理选择在晴天傍晚进行，确保均匀覆盖雌花（总苞）及叶面，直至液体滴落，并挂牌标明激素种类及浓度。采样时间为幼胚发育期（2023 年 7 月 20 日）和果实成熟期（2023 年 9 月 10 日），从东西南北 4

个方向随机采摘标记的结果枝上的栗蓬，每种处理采集 20 个样品，立即置于−80 ℃ 超低温冰箱保存以供后续试验使用，并从处理株的各个方向选择 10 个结果母枝统计着蓬率（着蓬数与总蓬数的百分比）。

1.2 研究方法

1.2.1 板栗 bHLH 家族成员的筛选鉴定

从板栗基因组数据库网站 Castaneadb（http://castaneadb.net/）中获得板栗 HBY-2 组装基因组序列、蛋白序列、CDS 序列、GFF 注释文件；并于 TAIR 网站（https://www.arabidopsis.org/）上下载拟南芥的上述序列信息，从 Sun 等[25]研究获取番茄 *bHLHs* 信息，从 Mao 等[26]研究获得苹果 *bHLHs* 信息。自 Pfam 数据库（http://pfam.xfam.org/）中下载 *bHLH* 基因的隐马尔科夫模型文件（PF00010），利用 HMMER3.0 软件以 E-value < 10^{-5} 为搜索标准对板栗蛋白数据进行筛选，得到候选基因。为了验证候选基因编码蛋白是否都具有 bHLH 结构域，参考崔艳红等[27]预测方法，对板栗 bHLH 蛋白进行预测并保留具备保守结构的候选蛋白序列（CmbHLHs）。随后将蛋白序列输入至 ExPASy（https://web.expasy.org/compute_pi/）中，对 bHLH 转录因子家族进行理化性质分析，得到其理论等电点、氨基酸数量、分子量及总水平疏水性等信息。使用在线网站 Cell-PLoc2.0（http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/）对 CmbHLHs 进行亚细胞定位预测。

1.2.2 板栗 bHLH 家族蛋白基序及结构分析

利用 MEME（http://meme suite.org/tools/meme）对板栗 bHLH 蛋白进行保守基序（Motif）分析，Motif 搜索数量为 15。通过 GSDS2.0（http://gsds.cbi.pku.edu.cn/）分析基因外显子−内含子模式图，并使用 TBtools v1.0987671 的 Visualize Motif Pattern 和 Gene Structure View 工具进行可视化。

1.2.3 板栗 bHLH 家族蛋白多序列比对与系统发育进化树构建

运用 MEGA11 软件中的 ClustalW 程序对板栗和拟南芥的 bHLH 的蛋白序列进行多序列比对，利用 GeneDoc 软件对多序列比对结果进行美化。使用在线网站 Weblog（https://weblogo.threeplusone.com/）对 CmbHLH 蛋白进行保守氨基酸分析。采用邻接法（neighbor-joining，NJ）构建系统发育树，Bootstrap 重复检验 1 000 次，以评估树中节点统计的可靠性。使用 iTOL（https://itol.embl.de/）进行进化树的美化，并参照拟南芥 AtbHLH 家族蛋白的分类系统[28]，对 CmbHLH 家族蛋白进行亚组和亚家族分类。以上述同样方法，再次构建板栗与番茄、苹果 bHLH 转录因子家族进化树，参考 Sun 等[25]对番茄 SlbHLH 家族蛋白与 Mao[26]对苹果 MdbHLH 家族蛋白的分类方式，对进化树进行分类。

1.2.4 板栗 bHLH 家族基因启动子的顺式作用元件分析

利用 TBtools 截取 *CmbHLH* 基因起始密码子上游 2 000 bp 的 DNA 序列作为其启动子区域，并将其提交至 PlantCARE 在线工具（http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/），检索顺式作用元件，对元件种类、数量及功能进行统计分析，最后使用 TBtools 对其进行可视化。

1.2.5 板栗 *CmbHLHs* 在胚珠不同发育时期表达分析

CmbHLHs 基因的 RNA 测序（RNA-seq）数据来自于 Cui 等[4]构建的板栗不同发育阶段正常发育与败育胚珠的转录组数据库，数据样本包括已授粉且未受精前 7 d（7 DAY）、15 d（15 DAY）、授粉后 18 d（18 FO）、21 d（21 FO）、27 d（27 FO）且已受精的胚珠、以及授粉后 18 d（18 AO）、21 d（21 AO）、27 d（27 AO）且未受精的胚珠，提取、分析、归一化每个 *CmbHLH* 的 RNA-seq 数据，每组转录组数据都是 3 个生物学重复，对板栗 bHLH 转录因子家族进行表达模式分析，其中基因表达模式热图利用 ChiPlot 在线工具（https://www.chiplot.online/Scatter-plot）绘制。

1.2.6 板栗 RNA 提取和 qRT-PCR 分析

用于荧光定量试验的板栗果实样品为授粉、受精时期通过不同 MeJA 与 DIECA 喷施处理后，于果实成熟期采摘的板栗果实。根据 Wang 等[28]的方法，使用 RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒（诺维赞生物技术有限公司）提取板栗相应部位 RNA 并反转录成 cDNA 后，使用荧光定量试剂盒（诺维赞生物技术有限公司）检测 *CmbHLHs* 在板栗不同处理组样品中的表达水平，每种处理设置 3 次重复，使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算基因表达量。

1.2.7 果实样品外形指标及激素含量、营养指标测定

参考李玲[3]对板栗外形指标的测定方法，对采集到的不同处理与不同时期的板栗样品进行单粒质量、单蓬栗实数、空苞数、栗实纵横径指标的统计。随后在不同处理组均选取 20 个板栗单果，粉碎过筛进行果实品质测定，使用蒽酮比色法[29]测定可溶性糖含量，紫外分光光度计法[30]测定淀粉的含量，凯氏定氮法[31]测定蛋白质含量，每种处理设定 3 次重复。

采用高效液相色谱法（HPLC）对 MeJA 和 DIECA 不同浓度处理后并于成熟期采集的板栗果实进行激素含量测定，参考王杏等[32]的操作方法，通过样品处理、色谱条件优化、标准曲线绘制及样品测定等步骤，每种样品进行 5 次重复，测定板栗内源 MeJA、GA、

ABA 含量。

1.3　数据分析

使用 Excel 软件对数据进行统计分析，并采用 SPSS 25.0 对数据进行方差分析和 Duncan 多重比较，来比较其差异性。

2　结果与分析

2.1　板栗 bHLH 转录因子家族成员的鉴定

在板栗基因组数据库中利用 HMMER3.0 软件进行比对，并通过 Pfam 和 SMART 进行筛选鉴定含有 bHLH 保守结构域的基因，最终确定了 93 个板栗 *bHLH* 家族基因，并命名为 *CmbHLH*1 ~ *CmbHLH*93。

结果（表 1）显示：*CmbHLH* 基因编码的氨基酸数量为 91 ~ 781 个，平均长度为 367 个氨基酸，预测其相对分子量大小为 10 293.60 ~ 84 253.90 Da，等电点在 4.84 ~ 10.28 范围内。在所有 CmbHLH 蛋白质中，63% 的等电点小于 7，为酸性蛋白。蛋白质疏水性分析结果表明，板栗中 93 个 CmbHLH 蛋白总平均亲水性均小于 0，均属于亲水性蛋白质，但是不同蛋白质之间亲水性存在差异。不稳定指数在 34.33 ~ 78.31 之间，其中 97.85% 是不稳定蛋白（Ⅱ ＞ 40），只有 2 个属于稳定蛋白（Ⅱ ＜ 40），脂肪系数介于 50.71 ~ 109.53 之间。亚细胞定位预测结果显示，93 个 CmbHLH 蛋白均定位于细胞核。

表 1　板栗 *CmbHLH* 家族基因信息

Tab. 1　Gene information of *CmbHLH* family in *Castanea mollissima*

基因名称	基因 ID	氨基酸数量	相对分子质量/Da	等电点	不稳定指数	脂肪系数	总平均亲水性	亚细胞定位预测
*CmbHLH*1	Cm03G00939	611	67 685.08	6.00	45.35	80.92	−0.506	细胞核
*CmbHLH*10	Cm04G00540	272	29 726.87	5.61	49.41	55.18	−0.881	细胞核
*CmbHLH*11	Cm12G00301	304	34 246.15	8.35	57.57	86.97	−0.415	细胞核
*CmbHLH*12	Cm01G01713	548	59 438.42	5.34	53.71	74.05	−0.530	细胞核
*CmbHLH*13	Cm09G01555	431	46 500.50	5.65	50.36	61.04	−0.659	细胞核
*CmbHLH*14	Cm02G00592	255	28 632.66	6.24	48.62	64.59	−0.680	细胞核
*CmbHLH*15	Cm01G00634	484	51 619.78	6.12	43.93	62.56	−0.703	细胞核
*CmbHLH*16	Cm08G01093	319	35 524.19	6.55	52.70	74.26	−0.670	细胞核
*CmbHLH*17	Cm07G00349	445	48 313.20	5.38	55.76	58.09	−0.694	细胞核
*CmbHLH*18	Cm03G00950	537	59 027.82	6.14	61.64	59.50	−0.697	细胞核
*CmbHLH*19	Cm04G02638	781	84 253.90	5.92	55.43	66.43	−0.475	细胞核
*CmbHLH*2	Cm06G00808	91	10 293.60	9.17	76.05	96.48	−0.626	细胞核
*CmbHLH*20	Cm01G03092	293	32 370.29	4.93	65.56	56.59	−0.943	细胞核
*CmbHLH*21	Cm06G00678	284	30 406.68	5.05	61.65	60.85	−0.682	细胞核
*CmbHLH*22	Cm12G01884	240	27 150.95	5.63	50.81	97.46	−0.412	细胞核
*CmbHLH*23	Cm12G01885	243	27 247.12	8.10	50.38	81.40	−0.434	细胞核
*CmbHLH*24	Cm12G00317	705	77 267.77	5.56	51.86	68.07	−0.624	细胞核
*CmbHLH*25	Cm09G00427	493	55 065.77	5.21	77.71	50.71	−0.840	细胞核
*CmbHLH*26	Cm12G01537	633	70 659.11	5.75	54.87	84.27	−0.401	细胞核
*CmbHLH*27	Cm06G01788	405	42 853.09	8.56	65.25	56.62	−0.682	细胞核
*CmbHLH*28	Cm09G01503	244	26 971.17	8.62	46.31	66.72	−0.756	细胞核
*CmbHLH*29	Cm02G01987	181	20 430.20	7.03	34.33	77.02	−0.555	细胞核
*CmbHLH*3	Cm09G00211	520	56 544.84	6.35	54.90	63.44	−0.698	细胞核
*CmbHLH*30	Cm02G01501	412	46 668.30	9.49	64.80	85.95	−0.456	细胞核
*CmbHLH*31	Cm11G00847	350	38 669.05	5.79	57.91	66.97	−0.687	细胞核
*CmbHLH*32	Cm08G00892	335	37 560.46	4.87	56.29	71.91	−0.504	细胞核
*CmbHLH*33	Cm08G01615	228	25 888.26	5.86	65.13	68.55	−0.810	细胞核
*CmbHLH*34	Cm12G00938	714	79 467.89	5.66	64.61	73.33	−0.655	细胞核
*CmbHLH*35	Cm01G02993	471	52 594.64	7.06	44.11	81.06	−0.384	细胞核

表 1(续)

Tab.1 (continued)

基因名称	基因 ID	氨基酸数量	相对分子质量/Da	等电点	不稳定指数	脂肪系数	总平均亲水性	亚细胞定位预测
CmbHLH36	Cm04G01908	348	36 641.08	5.94	51.12	70.98	−0.407	细胞核
CmbHLH37	Cm08G00872	353	39 304.40	6.33	46.19	77.39	−0.485	细胞核
CmbHLH38	Cm08G00873	358	40 378.51	6.57	52.55	77.37	−0.565	细胞核
CmbHLH39	Cm04G00714	459	51 482.69	7.50	42.21	77.30	−0.519	细胞核
CmbHLH4	Cm12G01626	630	69 228.13	9.31	58.57	67.52	−0.562	细胞核
CmbHLH40	Cm10G01878	327	36 208.48	8.17	55.83	62.60	−0.896	细胞核
CmbHLH41	Cm11G00880	407	45 268.53	6.56	47.45	68.75	−0.535	细胞核
CmbHLH42	Cm06G00945	293	32 292.64	9.06	68.87	61.64	−0.583	细胞核
CmbHLH43	Cm12G01952	389	44 611.85	4.90	60.50	83.19	−0.359	细胞核
CmbHLH44	Cm07G00853	358	40 183.44	5.55	43.31	83.55	−0.353	细胞核
CmbHLH45	Cm07G00611	479	53 021.17	9.14	66.99	65.20	−0.494	细胞核
CmbHLH46	Cm01G01867	387	42 851.52	4.91	63.35	63.23	−0.967	细胞核
CmbHLH47	Cm02G00555	207	23 184.54	5.88	46.52	94.69	−0.366	细胞核
CmbHLH48	Cm10G01700	442	48 553.52	5.75	48.55	63.96	−0.569	细胞核
CmbHLH49	Cm12G01805	373	41 280.81	5.12	51.84	68.23	−0.716	细胞核
CmbHLH5	Cm10G01202	168	18 911.31	9.04	62.37	89.94	−0.646	细胞核
CmbHLH50	Cm12G01806	424	46 766.14	5.37	53.71	70.59	−0.682	细胞核
CmbHLH51	Cm11G01415	156	17 611.91	7.82	58.57	69.87	−0.651	细胞核
CmbHLH52	Cm08G00358	316	35 289.37	8.78	49.02	84.21	−0.336	细胞核
CmbHLH53	Cm11G01412	159	18 034.38	8.57	57.77	70.38	−0.665	细胞核
CmbHLH54	Cm06G00067	347	38 936.87	6.04	48.14	65.99	−0.591	细胞核
CmbHLH55	Cm12G02163	506	56 212.38	5.45	47.26	78.74	−0.447	细胞核
CmbHLH56	Cm01G00291	340	38 155.97	5.24	51.62	94.59	−0.555	细胞核
CmbHLH57	Cm05G01729	239	26 786.40	8.23	53.79	66.61	−0.585	细胞核
CmbHLH58	Cm12G02130	296	31 320.33	5.69	44.68	71.93	−0.386	细胞核
CmbHLH59	Cm03G01666	513	55 162.02	8.26	50.51	52.20	−0.583	细胞核
CmbHLH6	Cm05G02398	213	24 173.61	8.76	57.00	86.01	−0.466	细胞核
CmbHLH60	Cm11G00417	249	28 401.44	6.76	56.40	97.03	−0.448	细胞核
CmbHLH61	Cm06G01061	585	63 931.96	8.18	53.74	62.02	−0.795	细胞核
CmbHLH62	Cm05G00212	499	55 682.71	5.58	51.77	82.79	−0.455	细胞核
CmbHLH63	Cm05G01405	262	29 139.22	8.34	42.34	85.61	−0.326	细胞核
CmbHLH64	Cm08G01300	557	60 756.58	6.07	51.01	62.93	−0.752	细胞核
CmbHLH65	Cm11G00479	237	26 698.58	7.67	55.45	91.35	−0.441	细胞核
CmbHLH66	Cm03G00249	284	32 252.67	5.19	54.27	80.70	−0.449	细胞核
CmbHLH67	Cm02G01802	275	30 158.97	7.50	46.93	75.60	−0.479	细胞核
CmbHLH68	Cm08G00656	260	28 988.86	9.28	48.74	80.27	−0.306	细胞核
CmbHLH69	Cm05G01549	205	23 499.75	6.14	42.23	87.51	−0.515	细胞核
CmbHLH7	Cm05G02399	260	29 845.61	5.90	53.33	82.50	−0.524	细胞核
CmbHLH70	Cm08G00666	402	43 971.14	5.20	66.11	74.25	−0.562	细胞核
CmbHLH71	Cm05G02400	260	29 937.76	6.22	57.89	78.77	−0.567	细胞核
CmbHLH72	Cm05G00253	397	45 578.58	5.93	61.13	74.13	−0.679	细胞核
CmbHLH73	Cm01G04246	246	27 389.17	8.63	69.13	63.54	−0.583	细胞核

表 1(续)

Tab.1 (continued)

基因名称	基因 ID	氨基酸数量	相对分子质量/Da	等电点	不稳定指数	脂肪系数	总平均亲水性	亚细胞定位预测
*CmbHLH*74	Cm04G00023	343	37 998.79	5.76	49.86	65.69	−0.906	细胞核
*CmbHLH*75	Cm03G01161	470	53 183.95	5.30	47.49	71.30	−0.657	细胞核
*CmbHLH*76	Cm10G02023	660	74 482.31	5.57	46.84	73.70	−0.610	细胞核
*CmbHLH*77	Cm10G01056	343	38 700.35	8.16	56.26	83.62	−0.444	细胞核
*CmbHLH*78	Cm01G04253	241	27 214.20	7.05	55.00	84.98	−0.442	细胞核
*CmbHLH*79	Cm01G04254	337	37 122.28	5.54	78.31	70.59	−0.601	细胞核
*CmbHLH*8	Cm02G02790	572	63 804.69	6.18	47.84	76.56	−0.498	细胞核
*CmbHLH*80	Cm03G02597	415	46 150.33	8.36	45.84	60.67	−0.764	细胞核
*CmbHLH*81	Cm05G02449	237	25 967.57	7.63	48.52	74.14	−0.610	细胞核
*CmbHLH*82	Cm10G01360	307	33 612.88	6.61	49.02	70.16	−0.469	细胞核
*CmbHLH*83	Cm07G00071	353	39 401.14	6.23	68.31	80.68	−0.674	细胞核
*CmbHLH*84	Cm01G02022	512	58 623.44	8.17	67.04	79.43	−0.475	细胞核
*CmbHLH*85	Cm05G01145	257	28 621.63	8.75	54.17	84.98	−0.386	细胞核
*CmbHLH*86	Cm01G02397	246	28 110.97	5.36	63.40	82.48	−0.548	细胞核
*CmbHLH*87	Cm08G00381	218	23 992.70	10.28	39.85	76.83	−0.490	细胞核
*CmbHLH*88	Cm08G01231	231	26 244.60	5.79	61.13	73.46	−0.700	细胞核
*CmbHLH*89	Cm04G02147	329	36 845.38	5.35	60.94	75.26	−0.494	细胞核
*CmbHLH*9	Cm09G01891	341	37 599.65	5.57	65.57	85.69	−0.406	细胞核
*CmbHLH*90	Cm10G00185	332	37 270.35	6.01	44.63	62.86	−0.751	细胞核
*CmbHLH*91	Cm08G01358	417	47 497.78	5.50	64.61	79.45	−0.560	细胞核
*CmbHLH*92	Cm08G02326	193	21 714.39	7.61	77.15	109.53	−0.007	细胞核
*CmbHLH*93	Cm06G00059	528	57 944.93	5.34	48.33	73.71	−0.537	细胞核

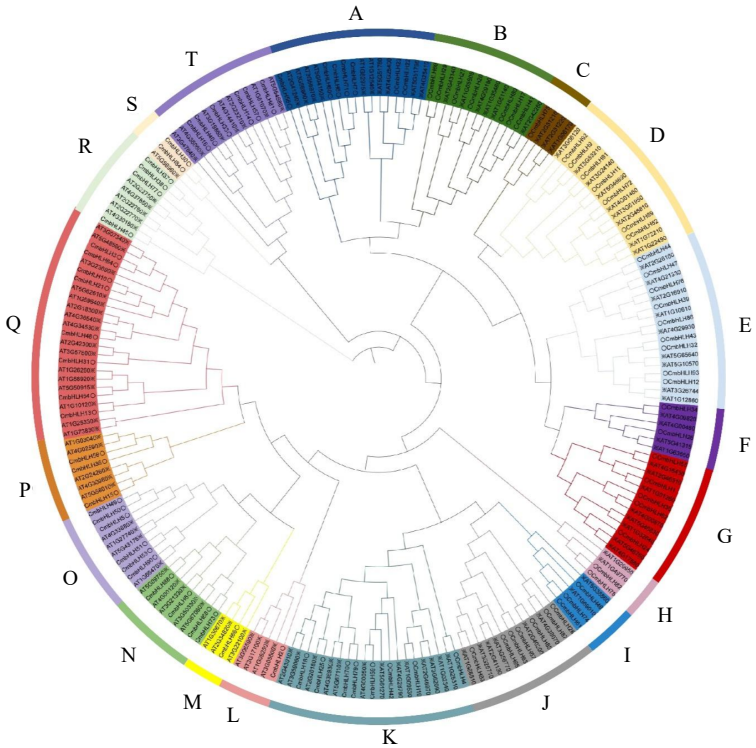
2.2　CmbHLHs 家族系统进化分析

将板栗 CmbHLH 蛋白与拟南芥 bHLH 蛋白进行聚类分析，有助于通过同源分析预测其功能。对鉴定出的 93 个 CmbHLH 蛋白与 122 个 AtbHLH 蛋白进行系统发育分析(图 1)。参照已报道文献对拟南芥的分组方式[28]，将拟南芥 bHLH 蛋白分为 23 个亚族，板栗 CmbHLH 家族蛋白分布于其中 20 个亚族(A ~ T)中。其中，E 亚族含有 9 个板栗蛋白(CmbHLH12、CmbHLH32、CmbHLH39、CmbHLH43、CmbHLH44、CmbHLH47、CmbHLH76、CmbHLH86、CmbHLH93)，Q、K 亚族含有的板栗蛋白数量次之，含 8 个，L、J 和 C 亚族仅含有 1 个板栗蛋白。

为进一步探究板栗 bHLH 家族与其他已报道物种 bHLH 家族功能上的潜在关联，构建了板栗 CmbHLH 蛋白、番茄 SlbHLH 蛋白[25]、苹果 MdbHLH 蛋白[26]的系统发育进化树，并将其分为 A ~ T 共 20 个亚族(图 2)。3 个物种的 bHLH 蛋白在 20 个亚组中均存在一定的聚集关系，这表明它们在进化过程中具有共同的祖先，拥有相似的序列特征和功能基础，反映了其保守性；但不同物种的蛋白在进化树上分布有差异，如 F 亚族内苹果分布了 20 个 MdbHLH 蛋白，而 SlbHLH 蛋白仅有 9 个，CmbHLH 蛋白仅有 4 个，反映了板栗可能在该分支上发生了基因收缩。

2.3　CmbHLHs 保守基序及结构分析

基因结构和蛋白质保守基序分析有助于探索板栗 bHLH 家族成员的进化关系和功能基础。预测分析获得 10 个基序，所有的板栗 bHLH 蛋白中均存在 Motif 1 和 Motif 2，表明二者是 bHLH 家族的重要元素，且 Motif 1 和 Motif 2 总是相邻，共同构成了 bHLH 结构域(图 3A)。而同一分支的基因具有相同或相似的蛋白保守基序的分布。其中亲缘关系极近的 CmbHLH30、CmbHLH84、CmbHLH66 与亲缘关系极近的 CmbHLH18、CmbHLH25、CmbHLH42、CmbHLH59、CmbHLH70、CmbHLH79、CmbHLH4、CmbHLH2、CmbHLH45 的 Motif 类型最为简单，仅含有 Motif 1 和 Motif 2。每个 CmbHLH 包含不同的基序，表明其可能具有不同的生物学功能。值得一提的是，CmbHLH 的基序在同一组内相似，但在不同组间存在差异，这也说明系统发育分类是可靠的。



蛋白名称后面标记 O 代表板栗 bHLH 蛋白，标记※代表拟南芥 bHLH 蛋白。

图 1 板栗和拟南芥 bHLH 蛋白的系统发育分析

Fig. 1 Phylogenetic analysis of *C. mollissima* and *A. thaliana* bHLH proteins

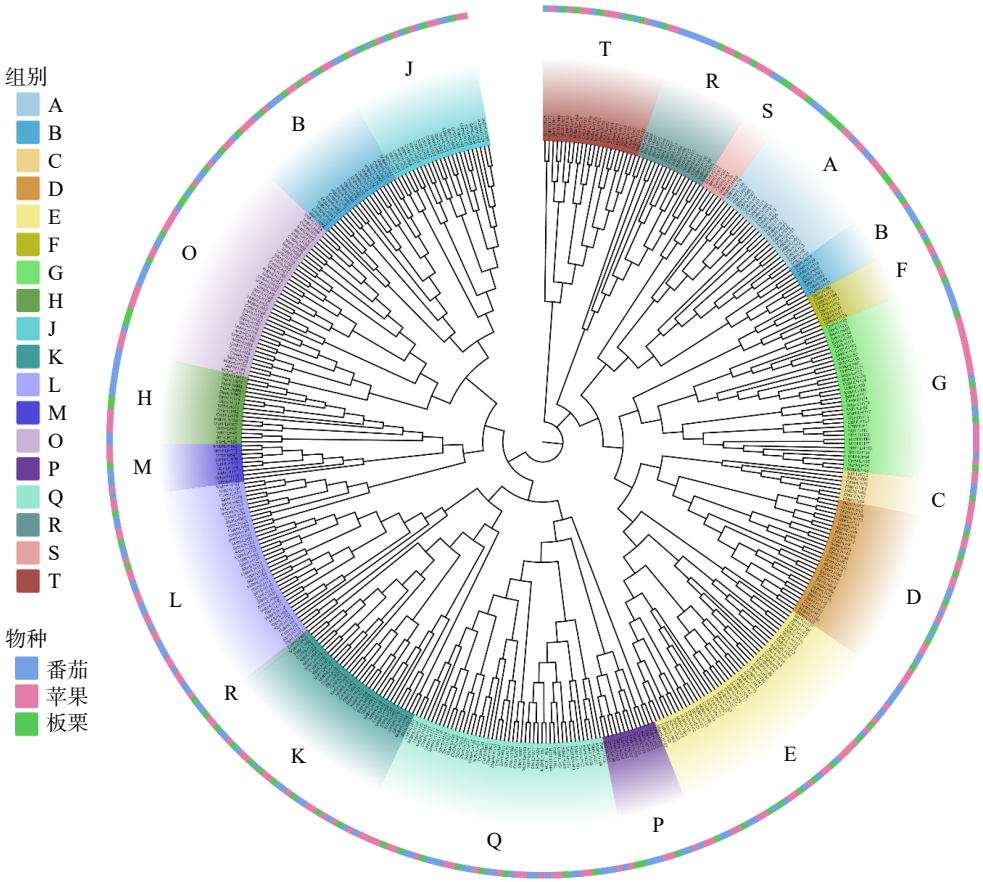


图 2 板栗、番茄与苹果 bHLH 蛋白的系统发育分析

Fig. 2 Phylogenetic analysis of *C. mollissima*, *M. domestica* and *S. lycopersicum* bHLH proteins

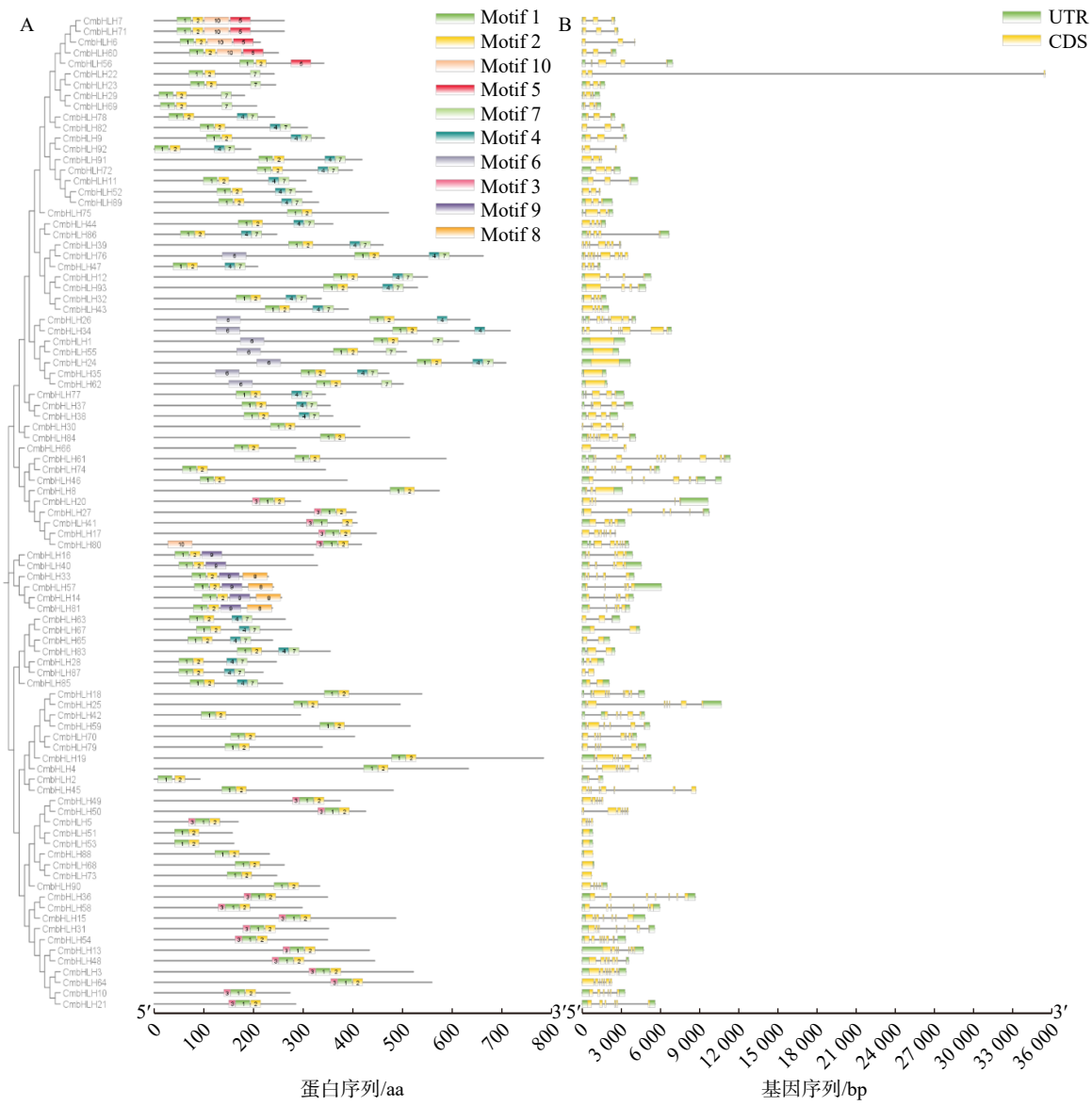


图 3　板栗 bHLH 转录因子家族保守基序及基因结构分析

Fig. 3　Conserved motif and gene structure analysis of *C. mollissima* bHLH transcription factor family

基因结构分析结果(图 3B)显示，全部 *CmbHLH* 基因均含有外显子结构，且外显子数目有 1 ~ 10 个不等；*CmbHLH*1、*CmbHLH*55、*CmbHLH*24、*CmbHLH*35、*CmbHLH*62、*CmbHLH*51、*CmbHLH*53、*CmbHLH*88、*CmbHLH*68、*CmbHLH*73 这 10 个基因只含有 1 个外显子，*CmbHLH*61 外显子数量最多，处于同一分支的基因大多拥有相似的外显子数量。

2.4　*CmbHLHs* 家族启动子的顺式作用元件分析

在 93 个 *CmbHLHs* 中共分析出 2 253 个顺式作用元件，可分为光响应元件、生长发育元件、逆境胁迫元件、激素调控元件 4 类(图 4)。光响应元件数量最多，共有 1 017 个，占比 45.14%，且在每个 *CmbHLH* 全基因组序列中均被预测到，推测 *CmbHLH* 全基因组均参与植物光响应调控。生长发育元件与植物生长发育有关，如细胞周期调节和昼夜节律调控等，包括 AT-rich element、Cell cycle regulation、Circadian control、Seed-specific regulation、Meristem expression、Endosperm expression、Differentiation of the palisade mesophyll cells、Flavonoid biosynthetic genes regulation 共 8 种顺式作用元件，共 125 个，占比 5.55%，在 *CmbHLH*7、*CmbHLH*13、*CmbHLH*62 等 69 个基因中均预测到生长发育元件。逆境胁迫元件包括 Defense and stress responsiveness、Low-temperature responsiveness、Anaerobic induction、Drought-inducibility 这 4 种顺式作用元件，共 358 个元件，占比 15.89%，在 88 个 *CmbHLH* 中被预测到，推测这些基因参与植物干旱胁迫、低温胁迫与厌氧诱导等过程。激素调控元件包括 Auxin-responsive、Gibberellin-responsiveness、Salicylic acid responsiveness、Abscisic acid responsiveness、MeJA-responsiveness、Zein metabolism regulation 6 种元件，共 753 个，占比 33.42%，且在 93 个基因中均被预测到，其中茉莉



(1)为光响应元件,(2)为生长发育元件,(3)为逆境胁迫元件,(4)为激素调控元件。

图 4 *CmbHLHs* 转录因子家族顺式作用元件分析

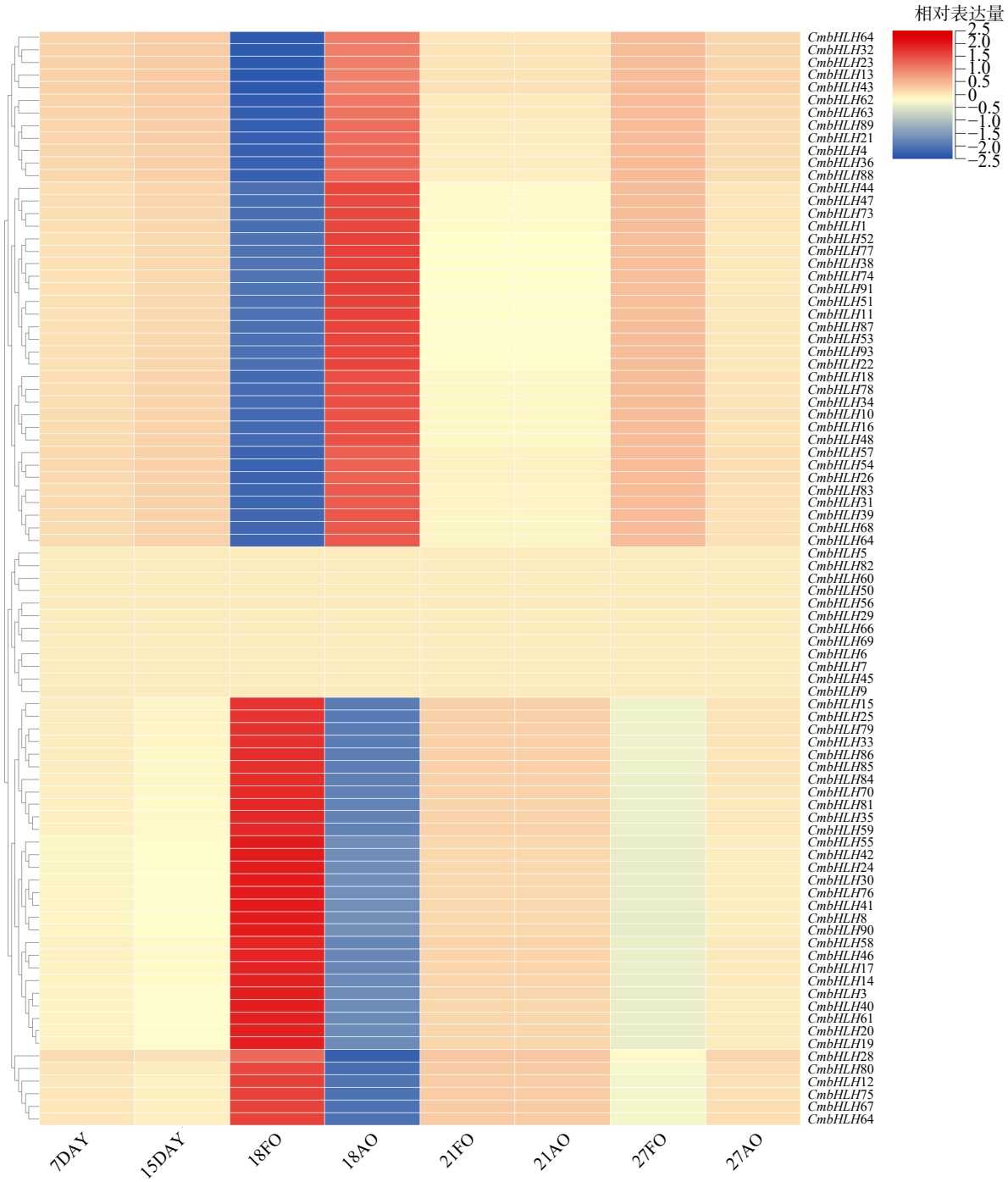
Fig. 4 Analysis of cis-acting elements in *CmbHLHs* transcription factor family

酸响应元件为 375 个，占激素调控元件的 49.80%，且 79 个 *CmbHLH* 基因中均含有茉莉酸元件，推测 *CmbHLHs* 在茉莉酸调控通路中发挥重要作用。

2.5 *CmbHLHs* 在板栗胚珠不同发育时期表达模式分析

在板栗 bHLH 转录因子家族中预测到大量生长

发育元件，推测其与板栗发育息息相关。为了进一步确定 *CmbHLHs* 是否参与板栗发育过程，故而利用转录组测序技术，对板栗 *CmbHLH* 全基因组在板栗胚珠发育关键时期进行表达分析。图 5 显示：共提取出 87 个基因的表达量，其中败育胚珠表达量与正常发育胚珠表达量差异形成明显对比，*CmbHLH*64、*CmbHLH*32、*CmbHLH*23 等 41 个基因在授粉后 18 d 的正常发育胚珠中的表达量明显低于败育胚珠；而 *CmbHLH*15、*CmbHLH*25、*CmbHLH*79 等 34 个基因与之相反，在授粉后 18 d 的正常发育胚珠中的表达量明显高于败育胚珠。前期研究[3]发现，板栗在授粉后 18 d 时胚珠已经完成受精作用，说明 *CmbHLH*15 等 34 个基因可能正向调控板栗胚珠受精与发育。*CmbHLH*5、*CmbHLH*82、*CmbHLH*60 等 12 个基因在胚珠正常发育胚珠和败育胚珠间的表达无明显变化。



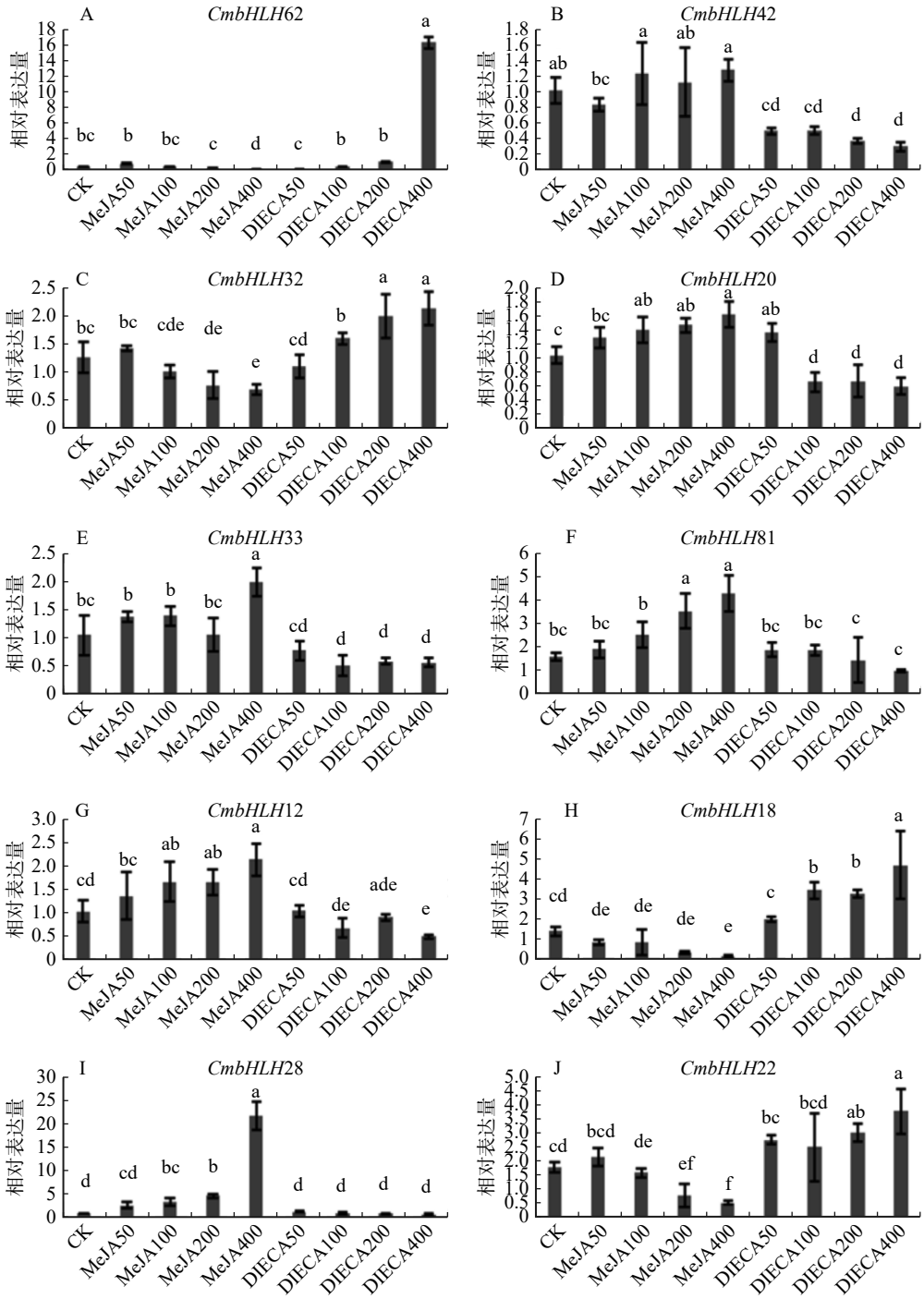
7DAY 和 15DAY 表示已授粉且未受精前 7 d 和 15 d 的胚珠，18FO、21FO 和 27FO 分别表示授粉后 18 d、21 d、27 d 且已受精的胚珠，18AO、21AO 和 27AO 分别表示授粉后 18 d、21 d、27 d 且未受精的胚珠。

图 5　*CmbHLH* 基因在胚珠不同发育时期的表达分析

Fig. 5　Expression analysis of *CmbHLH* gene family in different development stages of ovule

2.6 *CmbHLHs* 在生长调节剂处理下的表达模式

为了验证 *CmbHLHs* 在不同处理浓度 MeJA 和 DIECA 处理下的表达模式，以顺式作用元件预测结果为基础，在含有茉莉酸响应元件的 *CmbHLH* 基因中随机选择了 10 个基因进行了 qRT-PCR 分析，模板为授粉受精时期通过不同浓度 MeJA 与 DIECA 喷施处理后，于果实成熟期采摘的板栗果实的 cDNA。结果（图 6）显示：*CmbHLH*62、*CmbHLH*32、*CmbHLH*18、*CmbHLH*22 这 4 个基因在 DIECA 处理后的板栗果实中的表达量高于 MeJA 处理后的板栗果实，且根据 RNA-seq 数据可知该 4 个基因在授粉后 18 d 的正常发育胚珠中的表达量明显低于败育胚珠；而 *CmbHLH*42、*CmbHLH*20、*CmbHLH*33、*CmbHLH*81、*CmbHLH*12、*CmbHLH*28 这 6 个基因相



CK 代表空白对照组，MeJA50、MeJA100、MeJA200、MeJA400 分别代表田间喷施 50、100、200、400 mg/L 的 MeJA，DIECA50、DIECA100、DIECA200、DIECA400 分别代表田间喷施 50、100、200、400 mg/L 的 DIECA。不同小写字母表示不同生长调节剂处理后差异显著（$P < 0.05$）。下同。

图 6 *CmbHLHs* 在不同生长调节剂处理后的表达分析

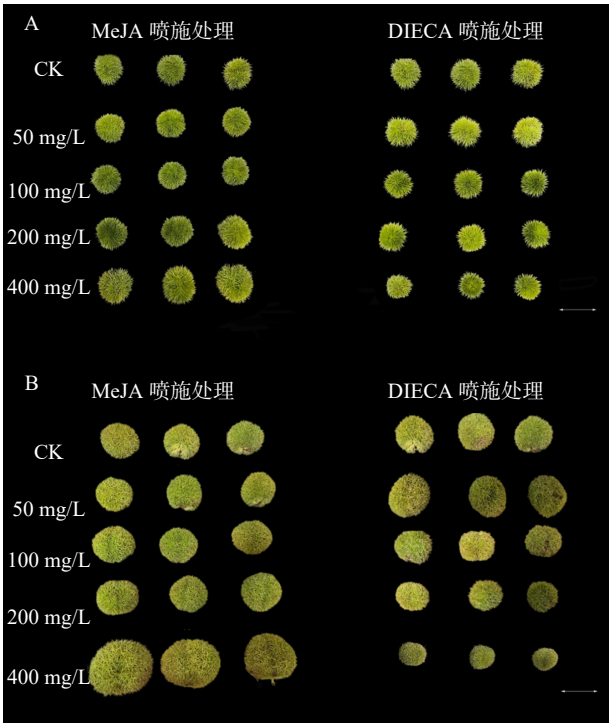
Fig. 6 Expression analysis of *CmbHLHs* after treating with different growth regulators

反，在 MeJA 400 mg/L 的激素处理后的板栗果实内表达量最高，且这 6 个基因在授粉后 18 d 的发育胚珠中的表达量明显高于败育胚珠。以上结果表明，喷施 MeJA 可影响 *CmbHLH*s 的表达。

2.7　喷施 MeJA 和 DIECA 对板栗外形与结实状况的影响

为进一步探究 MeJA 处理下 *CmbHLHs* 的差异性表达是否会影响板栗果实发育与品质，在板栗授粉受精关键时期喷施茉莉酸甲酯及其抑制剂后，在板栗幼胚发育期、果实成熟期对其刺苞外形进行观测，分别统计其刺苞形态指标，并统计其每总苞发育坚果个数与着蓬率。结果表明，在幼胚发育期，与对照相比，喷施 50、100、200、400 mg/L 的 MeJA 对板栗刺苞外形多呈正向影响，且随浓度提升而提升，其中 400 mg/L MeJA 处理后苞质量、横径、纵径、侧径均显著高于 CK（$P < 0.05$）；而喷施 100、200、400 mg/L 的抑制剂 DIECA 则大幅降低板栗外形状况，400 mg/L DIECA 处理后苞质量、横径、纵径、侧径与 CK 相比均显著降低（$P < 0.05$）（图 7，表 2）。在果实成熟期也发现了相同的规律（图 7，表 3）。自然状态（CK）下，板栗每总苞发育坚果个数为 2.43 个，经不同浓度 MeJA 处理后，每总苞发育坚果个数均增多，但只有在 400 mg/L MeJA 处理后差异显著；喷施 DIECA 后，刺苞内板栗败育情况随浓度增高加剧，400 mg/L DIECA 处理后每总苞坚果个数与 CK 相比显著降低（图 8）。

与 CK 相比，100、200、400 mg/L 的 MeJA 处理均可提高板栗着蓬率，其中 400 mg/L 的 MeJA 效果最好，差异最为显著；而 50、100、200、400 mg/L 的 DIECA 均在一定程度上降低了板栗着蓬率，尤其



A. 板栗幼胚发育期，比例尺为 3 cm；B. 果实成熟期，比例尺为 6 cm。

图 7　授粉受精时期喷施不同生长调节剂对不同发育时期板栗外形影响

Fig. 7　Effects of spraying different growth regulators during pollination and fertilization period on external morphology of *C. mollissima* at different developmental stages

400 mg/L 的 DIECA 与对照相比差异显著，地面出现大量落果（图 8）。

2.8　喷施 MeJA 和 DIECA 对板栗果实内源激素的影响

喷施 MeJA 后，内源 MeJA、ABA、GA 激素趋势一致，均随着喷施浓度增加而上升，且均高于 CK；

表 2　授粉受精时期喷施处理对板栗幼胚发育期刺苞形态指标的影响

Tab. 2　Effects of spraying treatments during pollination and fertilization period on morphological indicators of *C. mollissima* bracts during early embryonic development stage

种类	质量浓度/（mg·L^{-1}）	苞质量/g	横径/mm	纵径/mm	侧径/mm
MeJA	0	13.750 ± 0.703b	32.450 ± 0.799b	34.440 ± 1.712b	34.900 ± 3.357b
	50	13.910 ± 0.952b	34.790 ± 3.152ab	34.560 ± 2.892b	35.160 ± 1.331b
	100	13.580 ± 0.936b	32.970 ± 2.555b	34.770 ± 2.545b	34.020 ± 1.326b
	200	15.270 ± 0.792b	35.310 ± 3.039ab	35.150 ± 1.134b	37.160 ± 0.980ab
	400	19.830 ± 1.928a	39.070 ± 2.222a	37.140 ± 0.542a	41.330 ± 2.610a
DIECA	0	13.750 ± 0.703a	32.450 ± 0.799a	34.440 ± 1.712a	34.900 ± 3.357a
	50	12.130 ± 0.547b	34.500 ± 2.981a	33.200 ± 1.066a	35.290 ± 1.746a
	100	7.270 ± 1.035c	25.400 ± 2.045b	26.810 ± 3.293b	26.010 ± 0.760b
	200	6.880 ± 0.189c	25.200 ± 1.301b	25.060 ± 0.588b	25.970 ± 1.117b
	400	5.260 ± 0.480d	23.170 ± 1.554b	21.250 ± 1.265c	22.950 ± 3.108b

注：不同小写字母表示同一指标在相同种类生长调节剂不同处理浓度下在0.05水平上存在显著差异。下同。

表 3 授粉受精时期喷施处理对板栗果实成熟期刺苞形态指标的影响

Tab. 3 Effects of spraying treatments during pollination and fertilization period on morphological indicators of *C. mollissima* bracts during fruit maturity stage

种类	质量浓度/(mg· L^{-1})	苞质量/g	横径/mm	纵径/mm	侧径/mm
MeJA	0	60.610 ± 3.170b	66.860 ± 2.184b	62.700 ± 3.895a	54.600 ± 3.532b
	50	61.410 ± 3.655b	64.190 ± 0.510b	59.750 ± 4.377a	58.440 ± 1.176b
	100	65.790 ± 7.907b	71.440 ± 3.560b	62.800 ± 4.158a	57.290 ± 2.476b
	200	77.830 ± 4.451b	75.760 ± 1.377b	66.650 ± 1.621a	58.670 ± 1.188b
	400	129.740 ± 28.830a	89.280 ± 9.459a	66.850 ± 6.442a	69.410 ± 5.344a
DIECA	0	60.610 ± 3.170a	66.860 ± 2.184a	62.700 ± 3.895a	54.600 ± 3.532a
	50	59.600 ± 2.432ab	67.820 ± 1.282a	62.810 ± 3.413a	55.320 ± 1.983a
	100	54.830 ± 4.984ab	61.010 ± 1.443b	59.420 ± 4.158a	52.310 ± 2.806a
	200	51.620 ± 6.200b	59.950 ± 2.306b	56.470 ± 1.377a	51.180 ± 3.549a
	400	20.730 ± 3.696c	31.620 ± 4.528c	27.150 ± 3.719b	31.680 ± 5.510b

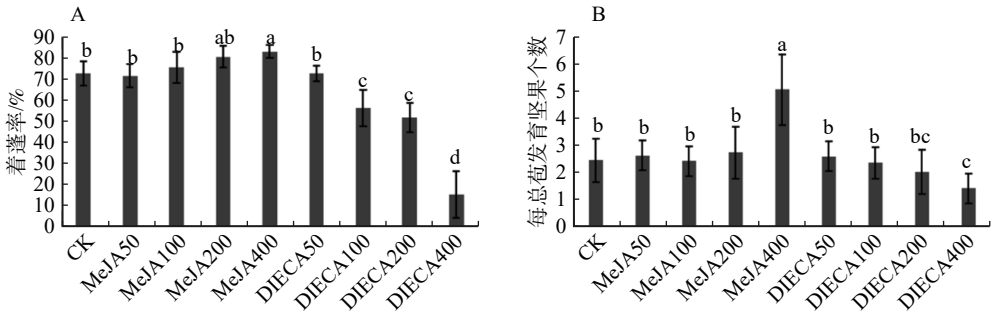


图 8 授粉受精时期喷施不同生长调节剂对板栗果实成熟期结实情况的影响

Fig. 8 Effects of spraying different growth regulators during pollination and fertilization period on fruit set and development of *C. mollissima* during maturity stage

而喷施其抑制剂 DIECA 后，随着喷施浓度增加，MeJA、ABA、GA 含量逐渐降低，尤其喷施 400 mg/L 的 DIECA 后 3 种内源激素含量下降幅度最大，都显著低于 CK(图 9)。以上结果表明，MeJA 在果实发育过程中可能通过调控这些激素的合成或信号传导途径来促进果实的生长和发育，且果实内源 MeJA、ABA 和 GA 的同步上升，表明这些激素在果实发育中可能具有协同作用。

2.9 喷施 MeJA 和 DIECA 对板栗果实品质的影响

喷施处理后，测定板栗果实营养成分发现：幼胚发育期采摘时，400 mg/L MeJA 处理组的蛋白含量比对照组提高 15.5%；果实成熟期采摘时，400 mg/L MeJA 处理组蛋白含量较对照组提升 7.14%，400 mg/L DIECA 处理组蛋白含量较对照降低 105.65%，二者差异极显著(图 10)。对于可溶性糖含量，幼胚发育期 100、400 mg/L DIECA 处理组显著高于对照组，而 200 mg/L MeJA 处理后含量显著低于对照组；果实成熟期各处理组含量均低于对照组，但 400 mg/L MeJA 处理后可溶性糖含量为 49.59 mg/g，与对照组相比仅差 0.08 mg/g，下降幅度较其他组最低。淀粉含量在两时期变化趋势一致，随着 MeJA 喷施浓度增加而提升，DIECA 喷施浓度增加而下降。其中，在果实成熟期时，400 mg/L MeJA 处理组淀粉含量最高(409.219 mg/g)，较对照组升高 32.67%；400 mg/L DIECA 处理组淀粉含量最低(215.255 mg/g)，较对照组降低 30.22%(图 10)。这些结果表明，不同喷施用处理对板栗果实营养成分的影响存在显著差异。其中 400mg/LMeJA 处理在提高果实品质方面总体效果最佳，这对于优化板栗果实喷施用处理策略具有重要意义。

3 讨 论

板栗在我国栽植面积大，但单产较低，板栗果实品质决定了其商品价值，提高板栗果实产量及品质具有重要经济意义。随着分子生物学不断发展，bHLH 转录因子家族已被证实在甜瓜、草莓、番茄等多个物种中通过响应茉莉酸信号传导影响与果实发育及品质相关的单果质量、糖酸比、花青素积累等指标[12, 33, 34]。虽然 Yu[22]等初步探究了板栗 bHLH 转录因子家族的基本特性，并聚焦至 bHLH 与赤霉素信

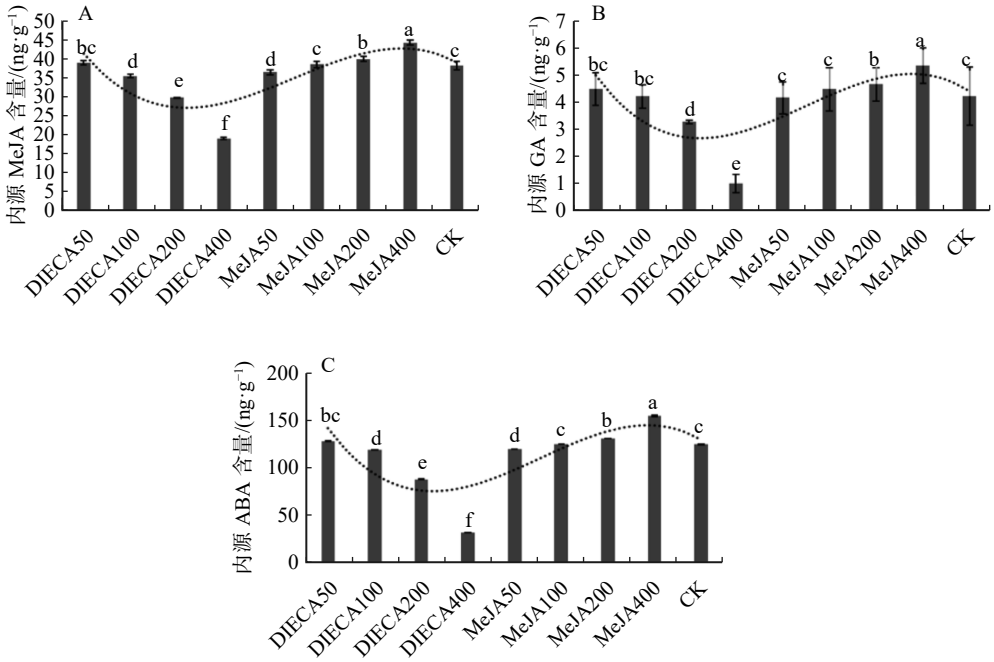


图 9　授粉受精时期喷施不同生长调节剂对板栗果实成熟期内源激素的影响

Fig. 9　Effects of spraying different growth regulators during pollination and fertilization period on fruit endogenous hormone contents of *C.mollissima* during maturity stage

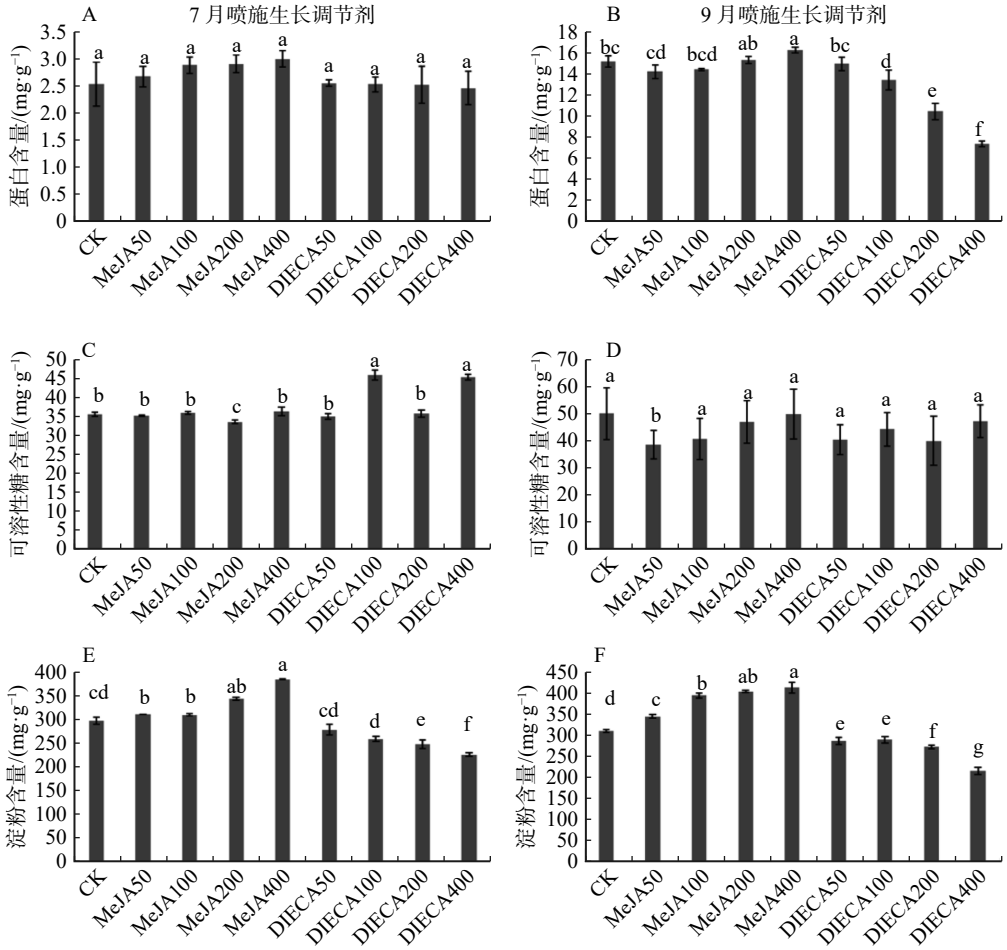


图 10　授粉受精时期喷施不同生长调节剂对板栗果实品质的影响

Fig. 10　Effects of spraying different growth regulators during pollination and fertilization period on fruit quality of *C. mollissima*

号转导调控上，但 bHLH 响应的 MeJA 果实发育相关的调控网络在板栗中尚未建立，且缺乏与板栗果实发育直接关联的功能证据。因此，为进一步挖掘与板栗果实发育相关基因资源，本研究基于野生板栗种质组装基因组资源鉴定 出了 93 个 *CmbHLHs*，其数量与野生枣（*Ziziphus jujuba*）（92 个）[35]、蒙古栎（*Quercus mongolica*）相近；但少于拟南芥[36]、番茄[25]、玉米[7]，推测差异与物种分化或基因组大小相关[37]。

转录因子家族分析显示，板栗 bHLH 蛋白与大苞萱草（*Hemerocallis middendor*）[38]、毛竹（*Phyllostachys edulis*）[39]蛋白性质相似，亚细胞定位预测均在细胞核上，与火龙果（*Hylocereus undatus*）[40]、赪桐（*Clerodendrum japonicum*）[41]等物种相似，表明 bHLH 蛋白参与细胞核内的表达调控，推测这是其发挥其生物学功能的必要条件。存在同源关系的蛋白可能具有相似的生物学功能，系统发育将板栗成员划分为 20 个亚家族，紧密聚集的基因可能拥有相似序列与功能，展示了 bHLH 蛋白在不同物种间的保守性。保守基序和基因结构分析进一步支持了进化分析的结果，表明存在同源关系的蛋白可能具有相似的生物学功能。启动子顺式元件分析表明，*CmbHLHs* 与植物生长发育密切相关。这与王洪飞[42]等在马缨杜鹃（*Rhododendron delavayi*）上的研究一致。苹果上的研究表明 bHLH 转录因子通过调控特定基因的表达，来平衡果实中糖分和花青素的积累，从而调节苹果的品质[43]，推测板栗 bHLH 转录因子家族也参与果实发育及品质调控。同时预测显示大量 *CmbHLHs* 具有 MeJA 响应元件，与拟南芥[44]、番茄[45]、玉米[46]等物种中的研究结果相一致，说明板栗对 JA 信号具有较高敏感性。为进一步探究 *CmbHLHs* 是否响应 MeJA，以 MeJA 及其抑制剂喷施后的板栗果实为模板，进行 qRT-PCR 发现，MeJA 及其抑制剂喷施后，包括 *CmbHLH*62 在内的部分基因表达量会随着 MeJA 喷施浓度升高而降低，随着 DIECA 喷施浓度升高而增高，这与拟南芥上的研究相似。与板栗 *CmbHLH*62 聚类到同一细枝的 *AtbHLH*14 可充当转录抑制因子，与 JAZ 蛋白（Jasmonate ZIM-domain proteins）相互作用并抑制 JA 反应，呈现与 MeJA 的负反馈调节作用[47]，而部分 *CmbHLHs* 与其相反。因此推测茉莉酸在调控 *CmbHLHs* 表达及激素信号传导、植物生长发育方面扮演关键角色。

本研究发现，MeJA 处理对板栗果实形态和结实状况有显著影响，这进一步验证了上述推论，并与俞浙萍[48]、李秋利[24]和杨天宇[49]等的研究结果一致。喷施 400 mg/L MeJA 后，观察到板栗刺苞的横、纵、侧径以及单果质量显著增加，坚果个数与着蓬率也有所提高。这提示 MeJA 可能通过调控 *CmbHLHs* 基因的表达影响板栗果实的发育。而喷施 MeJA 的抑制剂 DIECA 对果实发育产生抑制效应，这进一步支持了 MeJA 在调控果实发育中的重要作用。结合 *CmbHLHs* 基因表达分析，推测 MeJA 可能通过激活或抑制特定 *CmbHLHs* 基因的表达，影响板栗果实的生长发育，这为揭示果实发育的分子机制，以及通过激素处理改善果实品质提供了理论依据。此外，研究发现板栗 bHLH 转录因子家族成员在 MeJA 处理下的表达变化与板栗果实蛋白含量的提升存在关联。7 月份和 9 月份的板栗果实经过 400 mg/L MeJA 处理后，蛋白含量显著提高，而 400 mg/L DIECA 处理则导致蛋白含量最低，这一现象与 Li 等[50]在葡萄中的研究相似。同时，喷施不同浓度激素后，板栗果实中淀粉含量随着 MeJA 浓度增高而增高，随着 DIECA 浓度增高而降低，其中 MeJA 400 mg/L 的喷施效果最佳，DIECA 400 mg/L 的喷施效果最差。这与 Takahashi 等[51]在拟南芥上的研究相似，揭示了 MeJA 对淀粉产量的积极影响，进一步证实了 MeJA 对植物营养品质的积极作用。但 MeJA 处理后的板栗果实，其 9 月成熟期可溶性糖含量较对照组相比整体降低，MeJA 50 mg/L 喷施处理后可溶性糖含量降低最多，MeJA 400 mg/L 喷施处理后可溶性糖含量降低最少。这与宫玉艳等[52]对枸杞的研究结果相似，然而，与梨[53]相比，本研究并未观察到可溶性糖含量的显著上升，这可能是由于不同植物种类对 MeJA 的响应存在差异，或者 *CmbHLHs* 基因在不同植物中的功能多样性所致。以上结果表明，*CmbHLHs* 基因可能通过参与 MeJA 介导的信号传导途径，从而影响果实营养品质，且 MeJA 400 mg/L 喷施处理对板栗果实品质的提升效果最佳。

综上所述，本研究不仅明确了 MeJA 对板栗果实生长发育的影响，也为其在提升果实营养品质方面的应用提供了新的理论依据。然而，花芽分化期及更高浓度 MeJA 处理对板栗着蓬率与品质的影响尚未明确，后续可在不同发育阶段梯度喷施 MeJA，并借助多组学解析其分子网络，为板栗高产优质栽培提供更全面的技术支撑。

4 结　　论

本研究针对板栗中 bHLH 转录因子家族研究空缺的科学问题，以板栗‘遵化短刺’为材料，对板栗 bHLH 转录因子家族进行鉴定分析，并通过大田喷施 MeJA 及其抑制剂处理，为探究 bHLH 转录因子在板栗中通过响应 MeJA 来影响板栗果实发育及营养品质提供了新途径。研究主要得到以下结论。

（1）板栗 bHLH 转录因子家族存在 93 个 *CmbHLH* 基因，每个基因都具有保守结构域，系统进化树显示板栗 bHLH 蛋白被分为 20 个亚类，具有 20 个进化分支；不同亚家族成员之间 Motif 结构差异较大，但所有的板栗 bHLH 蛋白中均存在 Motif 1 和 Motif 2，说明其是板栗 bHLH 转录因子的保守结构域片段；全部 *CmbHLHs* 基因中均预测到了与激素相关的顺式作用元件，说明其全基因家族均与激素信号转导相关。

（2）41 个 *CmbHLHs* 基因在授粉后 18 d 的发育胚珠中的表达量明显低于败育胚珠，34 个 *CmbHLHs* 基因与之相反。在前人基础上进一步从分子层面证实了板栗授粉受精时期为板栗生长发育的关键时期，也表明 *CmbHLHs* 与板栗生长发育显著相关。

（3）随着 MeJA 喷施浓度的逐步提高，*CmbHLH*62 等 4 个基因的表达量逐渐减少；在 DIECA 处理与之相反；而 *CmbHLH*42 等 6 个基因表达量变化趋势与上述 4 个基因相反。这进一步提示 MeJA 可能通过调控 *CmbHLHs* 基因的表达，进而影响板栗果实的生长发育。

（4）在授粉受精时期，外源喷施 400 mg/L 的 MeJA 对板栗果实的横、侧、纵径外形指数及单果质量、着蓬率、每总苞发育坚果个数的提升效果最好，而 400 mg/L 的 DIECA 效果最差。

（5）成熟时期板栗内源激素测定结果表明，MeJA 处理能够显著提高板栗果实内源 MeJA、ABA、GA 激素的含量，且 400 mg/L 的喷施处理效果最佳，而 DIECA 处理则显著降低这些激素的含量。

（6）MeJA 处理能显著提升果实的蛋白和淀粉含量，尤其是喷施 400 mg/L 的 MeJA 可显著优化板栗果实的营养品质。

参　考　文　献

[1] 郝福为, 张法瑞. 中国板栗栽培史考述 [J]. 古今农业, 2014(3): 40−48.
Hao F W, Zhang F R. Texual research on cultivation history of *Castanea mollissima* in China[J]. Ancient and Modern Agriculture, 2014(3): 40−48.

[2] 寇艳茹. 板栗胚胎发育生理机制及调控技术研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2015.
Kou Y R. Studies on physiological mechanism of embryonic development and its regulation in Chinese chestnut[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2015.

[3] 李玲. 板栗受精作用与胚发育的解剖观察与分子机理初步研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2020.
Li L. Basic study on anatomical observation and molecular mechanism offertilization and embryonic development in *Castanea mollissima* Bl. [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2020.

[4] Cui Y H, Ji X Z, Zhang Y, et al. Transcriptomic and metabolic profiling reveal the mechanism of ovule development in *Castanea mollissima*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(4): 1974.

[5] Feng X M, Zhao Q, Zhao L L, et al. The cold-induced basic helix-loop-helix transcription factor gene *MdCIbHLH1* encodes an ICE-like protein in apple[J]. BMC Plant Biology, 2012, 12(1): 22.

[6] Yasmina R, Rongxue L, Mateko K H, et al. Transcriptional and post-translational regulation of plant bHLH transcription factors during the response to environmental stresses[J]. Plants, 2023, 12(11) : 2113.

[7] Zhang T T, Lü W, Zhang H S, et al. Genome-wide analysis of the basic Helix-Loop-Helix (bHLH) transcription factor family in maize[J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 235.

[8] 位志坤, 许自成, 贾国涛, 等. bHLH 转录因子家族调控植物非生物逆境胁迫响应的研究进展 [J]. 分子植物育种, 2022(3): 1−14.
Wei Z K, Xu Z C, Jia G T, et al. BHLH transcription factor family regulates abiotic stress response in plants research progress[J]. Molecular Plant Breeding, 2022(3): 1−14.

[9] 郭晓江. bHLH 转录因子 PGS1 调控 Fl3 影响谷物种子发育和产量 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2022.
Guo X J. The PGS1 basic helix-loop-helix (bHLH) proteinregulates Fl3 to impact seed growth and grainyield in cereals[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2022.

[10] Jonas G, Jan M, Alain G. Role and functioning of bHLH transcription factors in jasmonate signalling[J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(6): 1333−1347.

[11] Lim S H, Kim D H, Kim J K, et al. A radish basic helix-loop-helix transcription factor, *RsTT8* acts a positive regulator for anthocyanin biosynthesis[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1917.

[12] Tan C, Qiao H L, Ma M, et al. Genome-wide identification and characterization of melon bHLH transcription factors in regulation of fruit development[J]. Plants, 2021, 10(12): 2721.

[13] Lu R, Zhang J, Liu D, et al. Characterization of bHLH/HLH genes that are involved in brassinosteroid (BR) signaling in fiber development of cotton (*Gossypium hirsutum*)[J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 304.

[14] 郑玲, 代琪芳, 陈雪冬. 森林草莓 bHLH 家族基因的鉴定与分析 [J]. 江苏农业科学, 2022, 50(2): 47−52.
Zheng L, Dai Q F, Chen X D. Identification and analysis of bHLH family genes in *Fragaria vesca*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2022, 50(2): 47−52.

[15] Yu J Q, Gu K D, Sun C H, et al. The apple bHLH transcription factor *MdbHLH3* functions in determining the fruit carbohydrates and malate[J]. Plant Biotechnology Journal, 2020, 19(2): 285−299.

[16] 陈晨, 胡秋倩, 杨凯波, 等. 茉莉酸甲酯调控植物生长发育的研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2023, 51(12): 1−11.
Chen C, Hu Q Q, Yang K B, et al. Research advances in MeJA

regulation of plant growth and development[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2023, 51(12): 1−11.

[17] Song S S, Qi T C, Fan M, et al. The bHLH subgroup IIId factors negatively regulate jasmonate-mediated plant defense and development[J]. PLoS Genetics, 2017, 9(7): e1003653.

[18] Liu X J, Feng Y F, Li S S, et al. Jasmonate-induced *MdMYC*2 improves fruit aroma during storage of 'Ruixue' apple based on transcriptomic, metabolic and functional analyses[J]. LWT - Food Science and Technology, 2023, 185: 115168.

[19] Hu Y N, Sun H L, Han Z Y, et al. *ERF*4 affects fruit ripening by acting as a JAZ interactor between ethylene and jasmonic acid hormone signaling pathways[J]. Horticultural Plant Journal, 2022, 8(6): 689−699.

[20] Zhang Y J, Xing H Y, Wang H R, et al. *SlMYC*2 interacted with the SlTOR promoter and mediated JA signaling to regulate growth and fruit quality in tomato[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 1013445.

[21] Hu Y R, Jiang Y J, Han X, et al. Jasmonate regulates leaf senescence and tolerance to cold stress: crosstalk with other phytohormones[J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(6): 1361−1369.

[22] Yu L Y, Fei C, Wang D S, et al. Genome-wide identification, evolution and expression profiles analysis of bHLH gene family in *Castanea mollissima*[J]. Frontiers in Genetics, 2023, 14: 1193953.

[23] 马海云, 张忠林, 霍静. 外源施用茉莉酸甲酯对番茄果实挥发性风味成分及含量的影响 [J]. 食品科学, 2024, 45(7): 182−190.
Ma H Y, Zhang Z L, Huo J. Effect of exogenous application of methyl jasmonate on volatile flavor components and contents of tomato fruits[J]. Food Science 2024, 45(7): 182−190.

[24] 李秋利, 高登涛, 魏志峰, 等. 不同浓度茉莉酸甲酯对春蜜桃果实品质的影响 [J]. 浙江农业学报, 2018, 30(6): 985−991.
Li Q L, Gao D T, Wei Z F, et al. Effect of different concentrations of methyl-jasmonate on fruit quality of Chunmi peach[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2018, 30(6): 985−991.

[25] Sun H, Fan H J, Ling H Q. Genome-wide identification and characterization of the bHLH gene family in tomato[J]. BMC Genomics, 2015, 16(1): 9.

[26] Mao K, Dong Q, Li C, et al. Genome wide identification and characterization of apple bHLH transcription factors and expression analysis in response to drought and salt stress[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 408.

[27] 崔艳红, 李玲, 白倩, 等. 板栗 *Hsp*90 基因家族的鉴定及在胚珠发育过程中的表达分析 [J]. 北京林业大学学报, 2022, 44(11): 10−19.
Cui Y H, Li L, Bai Q, et al. Identification and expression analysis during ovule development of *Hsp*90 gene family in *Castanea mollissima*[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2022, 44(11): 10−19.

[28] Wang R Q, Zhao P, Kong N N, et al. Genome-wide identification and characterization of the potato bHLH transcription factor family[J]. Genes, 2018, 9(1): 54.

[29] 赵轶鹏, 赵新勇. 植物体可溶性糖测定方法的优化 [J]. 安徽农业科学, 2018, 46(4): 184−185.
Zhao Y P, Zhao X Y. Optimization of classical measuring method of soluble sugar in plant[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2018, 46(4): 184−185.

[30] 代立刚, 何煜, 王浩, 等. 谷物中总淀粉含量的测定方法 [J]. 中国食物与营养, 2013, 19(6): 38−42.
Dai L G, He Y, Wang H, et al. Determination methods for total starch content in cereals[J]. Food and Nutrition in China, 2013, 19(6): 38−42.

[31] 顾朝剑, 杨海泉, 蒋卫利, 等. 不同颜色水稻品种的总蛋白、可溶性蛋白含量分析 [J]. 分子植物育种, 2017, 15(3): 1035−1042.
Gu C J, Yang H Q, Jiang W L, et al. The content analysis of total protein and soluble protein in different col-ored rice varieties[J]. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(3): 1035−1042.

[32] 王杏, 周小倩, 刘超, 等. 高效液相色谱法同时测定果蔬中 6 种植物激素的残留 [J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(20): 5376−5380.
Wang X, Zhou X Q, Liu C, et al. Determination of 6 kinds of plant hormones residues in fruits and vegetablesby high performance liquid chromatography[J]. Journal of Food Safety & Quality 2018, 9(20): 5376−5380.

[33] Zhao Q, Li J Q, Wang B T, et al. Genome-wide analysis of the bHLH family and identification of *bHLH* genes involved in fruit development and ripening of cultivated octoploid strawberry[J]. Food Quality and Safety, 2024, 8: 8−14.

[34] Priya G, Utkarsh R, Rahul K, et al. Transcriptional regulation of tomato fruit ripening[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2024, 30(2): 289−303.

[35] Li H T, Gao W L, Xue C L, et al. Genome-wide analysis of the bHLH gene family in Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) and wild jujube[J]. BMC Genomics, 2019, 20(1): 1−13.

[36] Gao F, Dubos C. The arabidopsis bHLH transcription factor family[J]. Trends in Plant Science, 2024, 29(6): 668−680.

[37] Wei K F, Chen H Q. Comparative functional genomics analysis of bHLH gene family in rice, maize and wheat[J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 309.

[38] 陈丽飞, 刘云怡慧, 李嘉峻, 等. 干旱胁迫下大苞萱草 bHLH 转录因子家族鉴定与分析 [J]. 西南农业学报, 2023, 36(5): 1027−1038.
Chen L F, Liu Y Y H, Li J J, et al. Identification and analysis of bHLH transcription factor gene family in *Hemerocallis middendorffii* under drought stress[J]. Southwest China Journal, 2023, 36(5): 1027−1038.

[39] 徐秀荣, 杨克彬, 王思宁, 等. 毛竹 bHLH 转录因子的鉴定及其在干旱和盐胁迫条件下的表达分析 [J]. 植物科学学报, 2019, 37(5): 610−620.
Xu X R, Yang K B, Wang S N, et al. Identification of bHLH transcription factors in moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) and their expression analysis under drought and salt stress[J]. Plant Science Journal, 2019, 37(5): 610−620.

[40] 李佳雪, 丁一, 王猛, 等. 火龙果 *HubHLH* 基因家族的全基因组

分析及其对冬季补光诱导开花的表达响应 [J]. 热带生物学报, 2024, 15(2): 198−209.
Li J X, Ding Y, Wang M, et al. Whole-genome analysis of the *HubHLH* gene family in pitaya and its differential expression in response to supplementary light-induced flowering in winter[J]. Journal of Tropical Biology, 2024, 15(2): 198−209.

[41] 廖桂花, 段钰, 王丛丛, 等. 赪桐 bHLH 转录因子家族鉴定及生物信息学分析 [J/OL]. 分子植物育种, 2023. [2023−05−30] DOI: https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20230529.1303.022.
Liao G H, Duan Y, Wang C C, et al. Identification and bioinformatics analysis of bHLH transcription factor family in *Clerodendrum japonicum*[J/OL]. Molecular Plant Breeding, 2023. [2023−05−30] DOI: https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20230529.1303.022.

[42] 王洪飞, 欧静, 王孝敬, 等. 马缨杜鹃 bHLH 转录因子家族的鉴定与表达分析 [J]. 广西植物, 2024, 44(9): 1649−1668.
Wang H F, Ou J, Wang X J, et al. Identification and expression analysis of the bHLH transcription factor family in *Rhododendron delavayi*[J]. Guihaia, 2024, 44(9): 1649−1668.

[43] Zhang S H, Wang H, Wang T, et al. *MdMYB*305-*MdbHLH*33-*MdMYB*10 regulates sugar and anthocyanin balance in red-fleshed apple fruits[J]. The Plant Journal, 2023, 113(5): 1062−1079.

[44] Chen X, Huang H, Qi T C, et al. New perspective of the bHLH-MYB complex in jasmonate-regulated plant fertility in arabidopsis[J]. Plant Signaling & Behavior, 2016, 11(2): e1135280.

[45] Cao Y Y, Liu L, Ma K S, et al. The jasmonate-induced bHLH gene *SlJIG* functions in terpene biosynthesis and resistance to insects and fungus[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2022, 64(5): 1102−1115.

[46] Wang X, Ren Z B, Xie S P, et al. Jasmonate mimic modulates cell elongation by regulating antagonistic bHLH transcription factors via brassinosteroid signaling[J]. Plant Physiology, 2024, 195(4): 2712−2726.

[47] Qi T C, Wang J J, Huang H, et al. Regulation of jasmonate-induced leaf senescence by antagonism between bHLH subgroup IIIe and IIId factors in arabidopsis[J]. The Plant Cell, 2015, 27(6): 1634−1649.

[48] 俞浙萍, 张淑文, 梁森苗, 等. 3 种诱导剂对杨梅凋萎病抗性及果实品质的影响 [J]. 浙江农业科学, 2024, 65(12): 2921−2924.
Yu Z P, Zhang S W, Liang S M, et al. Effects of three inducers on the resistance of twig blightdisease and fruit quality of Chinese bayberry[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2024, 65(12): 2921−2924.

[49] 杨天宇, 韩小女, 徐尤先, 等. 叶面喷施茉莉酸甲酯对马铃薯微型薯生长及产量的影响 [J]. 亚热带植物科学, 2020, 49(4): 247−252.
Yang T Y, Han X N, Xu Y X, et al. Effects of foliar sprayed methyl jasmonate on potato minituber growth and yield[J]. Subtropical Plant Science, 2020, 49(4): 247−252.

[50] Li J J, Umer J H, Wu Z S, et al. Improving berry quality and antioxidant ability in ‘Ruidu Hongyu’ grapevine through preharvest exogenous 2, 4-epibrassinolide, jasmonic acid and their signaling inhibitors by regulating endogenous phytohormones[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 1035022.

[51] Takahashi I, Hara M. Enhancement of starch accumulation in plants by exogenously applied methyl jasmonate[J]. Plant Biotechnology Reports, 2014, 8(2): 143−149.

[52] 宫玉艳, 段立清, 王爱清. 茉莉酸诱导对枸杞叶生化物质及酶活性的影响 [J]. 植物保护, 2010, 36(2): 61−65.
Gong Y Y, Duan L Q, Wang A Q. Induced effects of jasmonic acid on the contents of biochemicalsubstances and enzyme activity in wolfberry leaves[J]. Plant Protection, 2010, 36(2): 61−65.

[53] 吴帆, 肖刘华, 赵显阳, 等. 外源茉莉酸甲酯处理对梨果实青霉病和贮藏品质的影响 [J]. 江西农业大学学报, 2021, 43(6): 1250−1258.
Wu F, Xiao L H, Zhao X Y, et al. Effects of exogenous methyl jasmonate treatment on blue mold and storage quality of pear fruit[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2021, 43(6): 1250−1258.

（责任编辑　赵田芸
责任编委　马履一）