

李萌楠, 乐秀虎, 周 阳, 等. 二氢卟吩铁调控辣椒对高温胁迫的耐性及相关基因的表达[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(6): 1070-1077.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.06.014

二氢卟吩铁调控辣椒对高温胁迫的耐性及相关基因的表达

李萌楠^{1,2}, 乐秀虎¹, 周 阳³, 季英华², 魏利辉², 周冬梅², 谢加飞⁴

(1. 河北工程大学园林与生态工程学院, 河北 邯郸 471023; 2. 江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏 南京 210014; 3. 全国农业技术推广服务中心, 北京 100125; 4. 高邮市农业农村局, 江苏 高邮 225600)

摘要: 为评估高温胁迫下二氢卟吩铁(iron-chlorine e6, ICE6)缓解辣椒幼苗高温伤害效应及对耐高温胁迫相关基因表达量的影响。本研究以艳椒 465 为供试品种, 探究高温胁迫下, 二氢卟吩铁对辣椒幼苗相对电导率、可溶性糖含量、抗氧化酶活性、脯氨酸含量等生理生化指标和耐高温相关基因表达的影响。试验结果表明, 高温胁迫下, 与清水对照比, 喷施 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 二氢卟吩铁可提高辣椒叶片中可溶性糖、脯氨酸、还原型谷胱甘肽含量, 增强超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性, 降低相对电导率及丙二醛含量; 二氢卟吩铁能提高 *CaWRKY19*、*CaWRKY55* 和 *CaWRKY40* 耐高温胁迫相关基因的表达。由此可见, 用 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 二氢卟吩铁处理可显著提高辣椒耐高温胁迫能力。

关键词: 辣椒; 二氢卟吩铁; 高温胁迫; 耐高温胁迫基因

中图分类号: S641.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2024)06-1070-08

Regulation of iron-chlorine e6 on high temperature stress tolerance and related gene expression in pepper

LI Mengnan^{1,2}, LE Xiuhu¹, ZHOU Yang³, JI Yinghua², WEI Lihui², ZHOU Dongmei², XIE Jiafei⁴

(1. School of Landscape and Ecological Engineering, Hebei University of Engineering, Handan 471023, China; 2. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 3. National Agro-Tech Extension and Service Center, Beijing 100125, China; 4. Gaoyou Agricultural and Rural Bureau, Gaoyou 225600, China)

Abstract: The purpose of this study was to evaluate the effects of iron-chlorine e6 (ICE6) on alleviating high temperature damage and the expression of heat tolerance-related genes in pepper seedlings under high temperature stress. In this study, Yanjiao 465 was used as the test variety to explore the effects of iron-chlorine e6 on physiological and biochemical indices such as relative conductivity, soluble sugar content, antioxidant enzyme activity, proline content and the expression of heat tolerance-related genes in pepper seedlings under high temperature stress. The results showed that under high temperature stress, compared with the control, spraying 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ iron-chlorine e6 could increase the contents of soluble sugar, proline and reduced glutathione in pepper leaves, enhance the activities of superoxide dismutase and peroxidase,

收稿日期: 2023-08-15

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(23)1033]; 河北省自然科学基金项目(C2019402344)

作者简介: 李萌楠(1998-), 女, 河北枣强人, 硕士研究生, 研究方向为蔬菜病害绿色防控。(Tel) 18260079536; (E-mail) a18260079536@163.com

通讯作者: 乐秀虎, (E-mail) lexihu@163.com; 周冬梅, (E-mail) dongmeizhou@jaas.ac.cn

and reduce the relative conductivity and malondialdehyde content. Iron-chlorine e6 could increase the expression of heat tolerance-related genes *CaWRKY19*, *CaWRKY55* and *CaWRKY40*. Therefore, the treatment with 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ iron-chlorine e6 could significantly improve the high temperature resistance of pepper.

Key words: pepper; iron-chlorine e6; high-temperature stress; heat tolerance-related genes

适宜的温度对植物生长速度和发育进程起着关键作用^[1],环境温度起伏变化会令植物生长受到较大影响。在当今全球变暖的大背景下,植物遭受高温胁迫的风险逐年递增^[2],热胁迫已成为全球农业领域关注的重要问题之一。中国辣椒种植规模居全球领先地位^[3],年创造经济效益居蔬菜之首。辣椒在温暖的地方生长良好,但其对高温胁迫具有较高敏感性,当环境温度超过 35℃ 时^[4],就会遭受热胁迫,生长和发育受到严重影响。

高温环境下生长的植物形态与结构会发生明显改变,对水分的需求急剧增加。长时间高温状态会给植物生长发育带来不可逆影响,甚至使植株失水枯死^[5]。植物对高温胁迫的抵御可通过渗透调节作用和抗氧化酶活性增强来实现,可避免植物膜系统的损伤,维护细胞膜的完整性^[6]。植物生长发育过程中,基因表达的转录调控在应对逆境胁迫方面扮演着不可或缺的角色。转录因子(Transcription factor, TF)作为反式作用因子,能与目的基因启动子顺式作用元件特异性互作,对转录进行时空激活或抑制^[7]。WRKY 作为高等植物中最大的转录因子家族之一^[8],通过保守氨基酸序列与启动子区 W-Box (C/TT-GACC/T) 特异性结合调控基因表达,经激素信号传导调控植物抗耐性^[9]。有研究表明,辣椒 CaWRKY17、CaWRKY6 和 CaWRKY40 都是抗青枯病菌感染(RSI)和耐高温高湿(HTHH)的正调控因子,但其调控方式不同。CaWRKY6 调控 RSI 抗性和 HTHH 耐受性,部分是通过激活 CaWRKY40 来实现的,CaWRKY17 与 CaWRKY40 在细胞核互作并在辣椒 HTHH 耐受性以及 RSI 抗性中起协同作用^[10]。

植物生长调节剂应用范围广泛,能对农作物的生长发育进行化学调控,已成为现代农业生产中一项重要措施。利用芸薹素内酯、水杨酸、赤霉素、褪黑素等植物生长调节剂能提高环境胁迫下作物的抗氧化酶活性和渗透调节物质含量^[11-13],进而增强作物对高温的耐受性。二氢卟吩铁(Iron chlorophyll *a*, ICE6)是一种新型生物源农药,母核来源于叶绿素的中间产物,在植物光合作用中主要负责光吸收^[14],具有抗逆增产的效果。前期研究结果表明,ICE6 能够增加植物体内叶绿素含量^[15],提高光合性能,促进植物生长。此外,ICE6 可以显著增强渍水胁迫、盐胁迫和干旱胁迫条件下作物的抗逆性^[16]。本研究以辣椒为研究对象,探索 ICE6 的抗

高温效果,通过测定辣椒叶片中可溶性糖(Soluble sugars, SS)、脯氨酸(Proline, Pro)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、还原型谷胱甘肽(Glutathione, GSH)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性,评估 ICE6 在高温下对辣椒热害的缓解效应,并初步阐释其耐高温机理,进而为 ICE6 在缓解高温热害方面的应用提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以艳椒 465 作为试验材料(重庆科光种苗有限公司提供)。辣椒种子用 15% NaClO 浸泡 10 min,随后用水清洗至无味,播种在装满育苗基质(江苏兴农基质科技有限公司提供)的 72 孔育苗穴盘中,幼苗在 25℃/17℃ 和 12 h/12 h(昼/夜)温光周期的条件下生长。按照生长需求进行浇水和施肥。

1.2 试验方法

当辣椒幼苗第 10 片真叶开始长出时(种植后 45~50 d),选择长势一致的幼苗将其分成两组,分别喷施清水和 0.2 μg/ml ICE6,以完全润湿叶片正反两面为宜,喷施后避光 24 h。然后将处理后的辣椒幼苗放入宾德 KBF240 冷热测试箱中(德国宾德公司产品)进行 40℃ 高温胁迫处理。在高温胁迫后的不同时间点(0 h、6 h、12 h、24 h)收集叶片,测量相应指标。其中每个时间点,每个处理随机选择 6 盆辣椒进行样品采集,采集的样品立即放入液氮中冷冻并在 -80℃ 环境下保存。试验重复 4 次。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 辣椒热害指数统计 热害指数的测定参照姜燕等^[17]的方法,将热害分成 5 级,分级标准如下:

- 1 级:植株生长正常,无受害症状;
- 2 级:植株枯萎,中下部叶片下垂、皱缩;
- 3 级:植株严重枯萎,上部叶片严重下垂,新叶失水、皱缩;
- 4 级:植株叶片完全干枯或脱落;
- 5 级:植株完全死亡。

热害指数 = \sum (各级病株数 × 级数) / (总株数 × 最高级数)

1.3.2 生物膜伤害指标测定 相对电导率:参照曹存凤^[18]的方法,取辣椒相同叶位的叶片 0.1 g,用自来水洗净后再用蒸馏水冲洗 3 次,滤纸吸干表面水分后置于装有 10 ml 去离子水的刻度试管中,真空

抽气使叶片浸没在水中,室温下不断振摇 1 h,用 DDS-307A 型电导率仪(上海仪电科学仪器有限公司产品)测定其电导率(R_1);然后将样品放入沸水浴中加热 30 min,冷却至室温后摇匀,测定其电导率(R_2)。相对电导率= $R_1/R_2 \times 100\%$

丙二醛(MDA)含量:采用硫代巴比妥酸显色(TBA)法测定^[19]。称取辣椒叶片 1 g,加入石英砂和三氯乙酸,充分研磨后加入三氯乙酸再次研磨,随后离心,取上清液再加入硫代巴比妥酸溶液。将混合液放在金属浴中反应 15 min,拿出放在冰上冷却。在 532 nm、600 nm 和 450 nm 处读取其吸光度,根据吸光度值计算丙二醛含量。

1.3.3 渗透调节物质测定 可溶性糖含量:采用蒽酮法测定^[20]。取鲜叶 0.5 g 置于玻璃瓶内,加蒸馏水 20 ml,沸水中萃取 30 min,放凉后滤出,定容到 100 ml 即为待测液。吸取 0.5 ml 待测液放置在 20 ml 试管内,分别加入蒸馏水、蒽酮乙酸乙酯和浓 H_2SO_4 ,剧烈振荡后,置于沸水中保温 1 min,冷却后于 620 nm 处测定吸光值,根据吸光度值计算可溶性糖含量。脯氨酸含量:根据脯氨酸含量测试试剂盒[索莱宝科技有限公司(北京)产品]的说明测定。称取约 0.1 g 新鲜叶片,使用预冷的研磨棒加入 1 ml 预冷提取液研磨叶片组织,之后在金属浴中加热 10 min,常温离心,取上清液,冷却后待测。在 520 nm 处读取其吸光度,根据吸光度值计算脯氨酸含量。

1.3.4 抗氧化酶活性测定 根据 SOD 和 POD 酶活性测试试剂盒[索莱宝科技有限公司(北京)产品]的说明测定。取新鲜叶片 0.1 g,使用预冷的研杵和研钵加入 1 ml 预冷提取液研磨叶片组织。随后在 4 ℃ 下以 8 000 g 离心 10 min。SOD 在 560 nm 处读取其吸光度,测定 SOD 活性;POD 在 470 nm 处读取其吸光度,测定 POD 活性。

1.3.5 还原型谷胱甘肽(GSH)含量的测定 根据 GSH 含量测试试剂盒[索莱宝科技有限公司(北京)产品]的说明测定。取新鲜叶片 0.1 g,使用预冷的研杵和研钵加入 1 ml 预冷提取液研磨叶片组织,随后在 4 ℃ 下以 8 000 g 离心 10 min。在 412 nm 处读取其吸光度,根据吸光度值计算还原型谷胱甘肽含量。

1.3.6 植物总 RNA 的提取 收集分别用清水对照和 0.2 $\mu g/ml$ ICE6 处理 0 h、1 h、3 h、6 h 的叶片各 0.1 g 用于 RNA 的提取。RNA 的提取采用 TRIzol 方法。取样品于 1.5 ml 离心管中,用液氮冷却后,

取出样品用研磨棒研成粉末,加入 1 ml TRIzol reagent(ThermoFisher, USA),充分混匀后静置 5 min,加入 200 μl 氯仿,振荡混匀后静置 3 min,4 ℃ 12 000 g 离心 15 min,取上清液。加入等体积预冷过的异丙醇,振荡混匀后置于-80 ℃ 环境下沉淀 1 h 后,4 ℃ 12 000 g 离心 10 min,弃上清液,然后向离心管中加入 1 ml 75% 无水乙醇冲洗 2 次,沉淀溶于 30 μl ddH₂O(无 RNA 酶)中,-80 ℃ 保存。

1.3.7 cDNA 第一链的合成及荧光定量 PCR cDNA 第一链用 Evo M-MLV 反转录预混型试剂盒 Ver. 2(含去除 gDNA 试剂,湖南爱科瑞生物工程有限公司)合成,同时去除残留的基因组 DNA。

利用 Real-time PCR 检测 ICE6 处理和清水对照,在高温胁迫不同时间后辣椒叶片内耐高温相关基因 *CaWRKY19*、*CaWRKY55*、*CaWRKY40* 的表达情况,以 *Actin* 为内参,特异性引物序列见表 1。以熔解曲线和荧光值变化曲线判断反应体系的特异性,试验重复 3 次,基因的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算。

表 1 qRT-PCR 所用引物序列

Table 1 Sequences of primers used for qRT-PCR

引物	序列 ^[21]
<i>CaWRKY40</i> -F	5'-GGTGTGGCAGATGATAGTGC-3'
<i>CaWRKY40</i> -R	5'-CCAGGCACAACATCCAAGT-3'
<i>CaWRKY55</i> -F	5'-GCTATATGTCCGCCACAGCT-3'
<i>CaWRKY55</i> -R	5'-CGGTACTGTAGCTTGTGCCA-3'
<i>CaWRKY19</i> -F	5'-CATTTCTTCCGTCCCTGCT-3'
<i>CaWRKY19</i> -R	5'-TCCCCTTGCTATCCGAGGAA-3'
<i>Actin</i> -F	5'-GAGGCTGAGTGAGCAGTTC-3'
<i>Actin</i> -R	5'-CTTCATCGTCATCTGCTGTC-3'

1.4 数据统计

使用 SigmaPlot 软件,One-way ANOVA 方法进行处理间显著性分析,使用 GraphPad Prism 9 进行数据处理和图表制作。

2 结果与分析

2.1 二氢卟吩铁降低高温胁迫对辣椒幼苗的热害指数

喷施 ICE6 可有效减轻高温下辣椒植株的热害指数(表 2)。高温胁迫 24 h 时,ICE6 处理植株大部分叶片生长正常,无明显受害症状,较少部分叶片出

现萎蔫、下垂等现象,热害指数 19.74%;而喷施清水对照植株大部分叶片萎蔫下垂、皱缩,少部分叶片严重萎蔫,上部叶片严重下垂,少部分新叶失水、皱缩(图 1),热害指数高于 67.20%。当高温胁迫达到 48 h 时,清水对照植株全部死亡;而 ICE6 处理植株大部分存活,热害指数为 63.58%。

表 2 高温胁迫下二氢卟吩铁(ICE6)处理的辣椒幼苗的热害指数
Table 2 Heat injury index of pepper seedlings treated with iron chlorine e6 (ICE6) under high temperature stress

处理	热害指数(%)	
	高温后 24 h	高温后 48 h
清水对照	67.20	100.00
0.2 $\mu\text{g/ml}$ ICE6	19.74	63.58

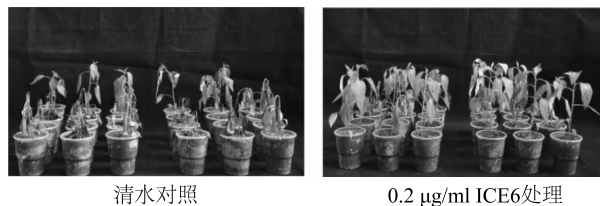


图 1 高温胁迫下二氢卟吩铁(ICE6)对辣椒幼苗的影响

Fig.1 Effects of iron chlorine e6 (ICE6) on pepper seedlings under high temperature

2.2 二氢卟吩铁减轻高温胁迫下辣椒幼苗膜系统损伤

植物体在高温胁迫下,脂质透性会大幅度提升,导致相对电导率增高,丙二醛含量上升,因此,从植物膜系统受损情况可以看出植物受害严重程度。

正常温度条件下(0 h),与清水对照相比,ICE6 处理的相对电导率和 MDA 含量减少(图 2)。在整个高温处理期间,辣椒幼苗的 MDA 含量和相对电导率随着高温处理时间的延长呈上升趋势。高温胁迫 6 h 时,ICE6 处理与清水对照相比,相对电导率无明显差异;高温胁迫 12 h、24 h 时,ICE6 处理与清水对照相比,相对电导率分别减少了 74.00% 和 76.63%(图 2A)。如图 2B 所示,正常温度条件下(0 h),ICE6 处理与清水对照相比 MDA 含量显著降低了 31.39%;在高温胁迫 6 h、12 h、24 h 时,MDA 含量分别降低了 60.80%、49.69%、64.15%,均达到显著水平($P < 0.05$)。

试验结果表明,当遭受高温胁迫时辣椒叶片

MDA 含量和相对电导率增加,而喷施 ICE6 可以有效缓解高温胁迫对辣椒幼苗的质膜损伤。

2.3 二氢卟吩铁增加高温胁迫下辣椒的渗透调节物质含量

在细胞内游离脯氨酸和可溶性糖是至关重要的渗透调节物,当植物遭受高温损伤后,通过检测它们的含量可以反映出植物在逆境胁迫下所表现出的抗逆性,随着含量的升高,植株的抗逆性增强^[22]。如图 3 所示,辣椒叶片的可溶性糖和脯氨酸含量随高温胁迫时间的延长出现先增加后降低的趋势,总体来看,ICE6 处理可溶性糖和脯氨酸含量高于清水对照。

如图 3A 所示,正常温度条件下(0 h),ICE6 处理与清水对照相比可溶性糖含量增加了 14.35%;在高温胁迫 6 h、12 h 时,ICE6 处理与清水对照相比可溶性糖含量分别增加了 14.03% 和 9.56%;高温胁迫 24 h 时,可溶性糖含量无明显变化。

如图 3B 所示,正常温度条件下(0 h),ICE6 处理与清水对照相比脯氨酸含量无明显变化。随着高温胁迫时间的增加,6 h、12 h、24 h 时,ICE6 处理与清水对照相比脯氨酸含量分别增高了 12.50%、38.69% 和 27.02%,都达到显著水平($P < 0.05$)。

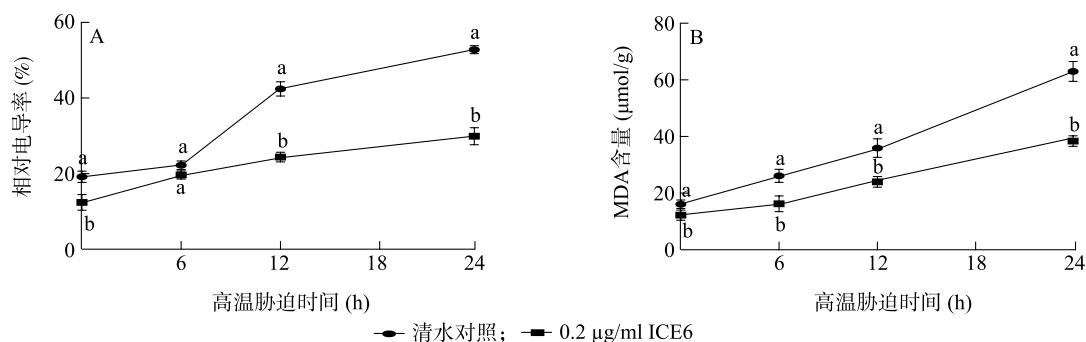
总体而言,ICE6 处理可显著增加高温胁迫下辣椒叶片中渗透调节物质的积累。

2.4 二氢卟吩铁提高高温胁迫下辣椒叶片 GSH 循环代谢物的含量

还原型谷胱甘肽(GSH)作为小分子物质,主要功能是在根尖分生组织中清除活性氧,从而保护植物正常生命活动,更好地提升植物的抗逆能力。如图 4 所示,整体来看,随着高温胁迫时间的延长,还原型谷胱甘肽含量出现先增加后降低再升高的趋势,且在不同处理时间段 ICE6 处理的 GSH 含量均高于清水对照。正常温度条件下(0 h),ICE6 处理与清水对照相比 GSH 含量增高了 11.08%;在高温胁迫 6 h、12 h、24 h 时,ICE6 处理与清水对照相比 GSH 含量分别增高了 13.71%、34.15% 和 33.94%。这表明,ICE6 处理后辣椒幼苗对高温胁迫耐受性逐渐增强。

2.5 二氢卟吩铁增强高温胁迫下辣椒叶片抗氧化酶活性

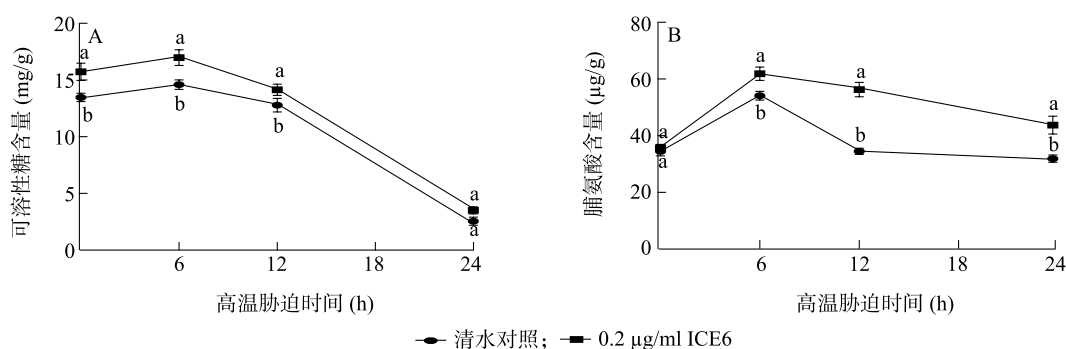
SOD 和 POD 是生物体内参与氧化还原反应的关键酶^[23]。当植物在高温胁迫、水分胁迫和低温胁迫



图中数据为平均值±标准差,同一高温胁迫时间不同字母表示不同处理之间经 SigmaPlot 法检验差异显著 ($P < 0.05$)。

图 2 二氢卟吩铁 (ICE6) 对高温胁迫下辣椒细胞膜损伤的影响

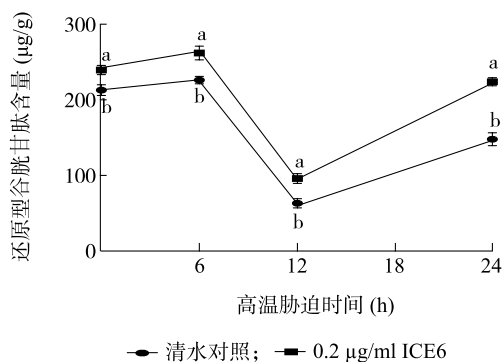
Fig.2 Effects of iron chlorine e6 (ICE6) on cell membrane damage of pepper under high temperature stress



图中数据为平均值±标准差,同一高温胁迫时间不同字母表示不同处理之间经 SigmaPlot 法检验差异显著 ($P < 0.05$)。

图 3 二氢卟吩铁 (ICE6) 对高温胁迫下辣椒幼苗渗透调节物质含量的影响

Fig.3 Effects of iron chlorine e6 (ICE6) on the content of osmoregulatory substances in pepper seedlings under high temperature stress



图中数据为平均值±标准差,同一高温胁迫时间不同字母表示不同处理之间经 SigmaPlot 法检验差异显著 ($P < 0.05$)。

图 4 二氢卟吩铁 (ICE6) 对高温胁迫下辣椒幼苗还原型谷胱甘肽 (GSH) 循环代谢物含量的影响

Fig.4 Effects of iron chlorine e6 (ICE6) on reduced glutathione (GSH) content in pepper seedlings under high temperature stress

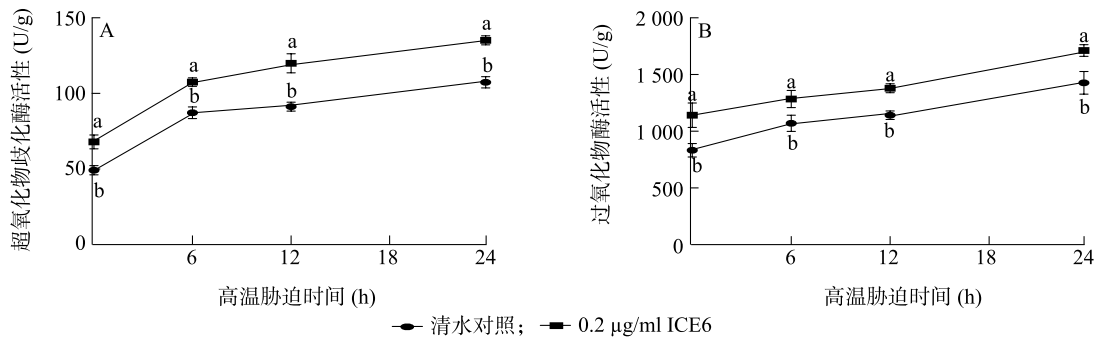
迫等逆境条件下,植物细胞会受到氧化损伤。抗氧化酶 *SOD* 和 *POD* 活性可用来衡量植物细胞的抗氧化

化能力。整体来看,随着高温胁迫时间的延长,*SOD* 和 *POD* 活性呈现升高的趋势,ICE6 处理 *SOD* 和 *POD* 活性均高于清水对照。如图 5A,正常温度条件下(0 h),ICE6 处理与清水对照相比 *SOD* 活性增高了 27.62%;高温胁迫 6 h、12 h、24 h 时,ICE6 处理与清水对照相比 *SOD* 活性分别增高了 18.87%、23.91%和 20.55%;图 5B 所示,正常温度条件下(0 h),ICE6 处理组与清水对照相比 *POD* 活性增高了 27.08%;高温胁迫 6 h、12 h、24 h 时,ICE6 处理与清水对照相比 *POD* 活性分别增高了 16.67%、17.24%和 16.67%,均达到显著水平 ($P < 0.05$)。

以上试验结果说明,喷施 ICE6 可以提高 *SOD*、*POD* 酶的活性,使得辣椒活性氧代谢系统受损程度减轻,从而提高辣椒幼苗的耐高温能力。

2.6 二氢卟吩铁影响辣椒耐高温胁迫相关基因的表达

通过荧光定量 PCR 检测 ICE6 处理后辣椒耐高温胁迫相关基因表达量的变化。由图 6 可知,清水



图中数据为平均值±标准差,同一高温胁迫时间不同字母表示不同处理之间经 SigmaPlot 法检验差异显著 ($P<0.05$)。

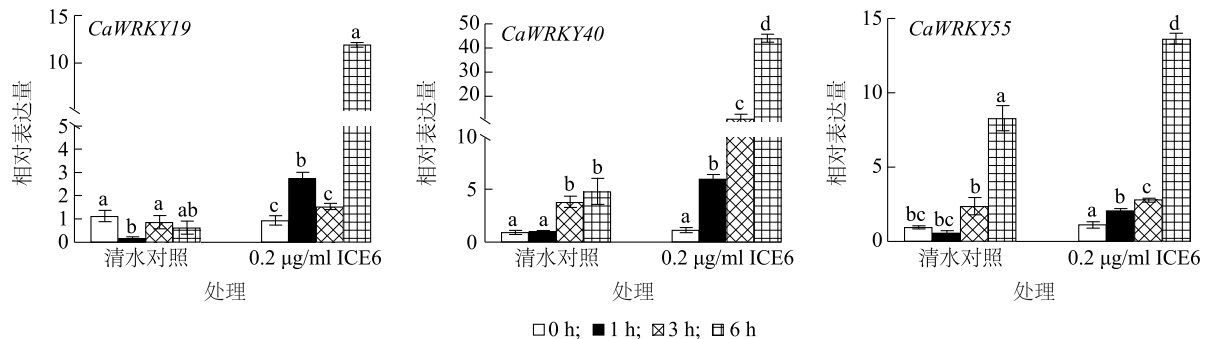
图5 二氢卟吩铁(ICE6)对高温胁迫下辣椒幼苗抗氧化酶活性的影响

Fig.5 Effects of iron chlorine e6 (ICE6) on antioxidant enzyme activities of pepper seedlings under high temperature stress

对照 *CaWRKY19* 基因的相对表达量随高温胁迫时间的增加变化幅度不大;经过 ICE6 处理后,在高温胁迫 1 h 时相对表达量升高,在高温胁迫 3 h 时降低,在高温胁迫 6 h 时相对表达量又升高且达到最高;高温胁迫 1 h、3 h、6 h 时,ICE6 处理与清水对照相比基因的相对表达量分别增加了 13.8 倍、1.7 倍和 18.1 倍。

清水对照 *CaWRKY40* 和 *CaWRKY55* 在整个高温胁迫期间,1 h 时基因的相对表达量无显著性变化,随着时间的增长呈上升趋势;经过 ICE6 处理后,

CaWRKY40 和 *CaWRKY55* 相对表达量随着时间的推移逐渐升高,相对表达量均有显著性变化;*CaWRKY40* 在高温胁迫 1 h、3 h、6 h 时,ICE6 处理与清水对照相比基因的相对表达量分别增加了 6.0 倍、2.8 倍和 9.2 倍;*CaWRKY55* 在高温胁迫 1 h 和 6 h 时,ICE6 处理与清水对照相比基因的相对表达量分别增加了 3.5 倍和 1.6 倍。以上研究结果表明,高温胁迫下 ICE6 处理能够提高 *CaWRKY19*、*CaWRKY40* 和 *CaWRKY55* 基因的相对表达量。



图中数据为平均值±标准差,同一处理不同字母表示不同高温胁迫时间之间经 SigmaPlot 法检验差异显著 ($P<0.05$)。

图6 二氢卟吩铁(ICE6)处理后对辣椒耐高温胁迫相关基因表达量的影响

Fig.6 Effects of iron chlorine e6 (ICE6) treatment on the expression of heat resistance related genes in peppers

3 讨论与结论

热害指数、耐热机制对植物耐热性鉴定有重要作用,耐热性的综合评价主要包括植物的形态、光合作用、渗透调节、保护酶活性及其他生理特性和基因表达^[24]。本研究使用 ICE6 对辣椒叶片进行喷施处理,显著降低了辣椒的热害指数。

细胞膜用于维持和保护细胞内的环境稳定,同时也在调节和筛选物质进出细胞的过程中发挥着至关重要的作用^[25]。细胞膜对温度很敏感,当温度升高时,其结构会发生变化,进而影响到细胞信号传导过程中的分子水平及离子浓度变化,使细胞膜通透性增加;同时细胞膜也是植物在高温环境下易受损伤的敏感区域,在膜脂质过氧化过程中,MDA 扮演

着关键的角色,其与相对电导率共同构成了反映植物耐热性的重要参数。朱德宁等^[26]在丝瓜上的研究表明,高温胁迫的时间增加,叶片的相对电导率呈现逐渐上升的趋势,本研究结果与此一致。本研究结果表明,喷施 ICE6 有效降低了 MDA 含量和相对电导率,减少了电解质外渗,以及膜脂过氧化增大,防止细胞膜损伤,从而提高辣椒幼苗的抗逆性。

植物在适应环境的过程中必须具备渗透调节这一重要的生理机能,其调节物质如可溶性糖、脯氨酸、还原型谷胱甘肽等的含量与渗透调节能力息息相关^[27]。本研究中,辣椒幼苗在遭受高温胁迫后,通过提升可溶性糖、脯氨酸和还原型谷胱甘肽的含量来保护自身。崔庆梅等^[28]对黄瓜幼苗进行高温胁迫研究,结果表明高温胁迫短期内黄瓜幼苗叶片中可溶性糖含量呈现先上升后下降趋势;刘若溪等^[29]研究表明,随着高温胁迫时间的延长,西瓜幼苗的脯氨酸含量呈现出先上升后下降的趋势,均与本研究结果一致。与清水对照相比,ICE6 处理提高了辣椒幼苗可溶性糖、脯氨酸、还原型谷胱甘肽含量,进而缓解了渗透胁迫,降低辣椒幼苗受损伤程度,减轻高温胁迫造成的伤害。

植物的耐热性与 SOD 和 POD 等抗氧化酶活性密不可分^[30],这些酶是清除自由基、维持自由基平衡的至关重要的因素^[31]。在逆境(如高温、干旱等)下,植物体内的能量代谢会被破坏,活性氧(ROS)的积累是造成细胞氧化损伤的重要原因^[32]。抗氧化酶可以把植物体内产生的过氧化物转化为毒性更小、更安全的物质,增强植物对逆境胁迫的抵抗力。抗氧化酶的活性能够反映植物的抗氧化能力和对活性氧的清除能力,并能从某种意义上说明植物对环境的抗性^[33]。在高温环境下,辣椒幼苗启动自身的抗氧化系统,从而达到提高自身抵御高温的能力,抗氧化酶活性会随高温胁迫时间延长而升高。本试验结果表明,在正常温度和高温条件下,与清水对照相比,ICE6 处理抗氧化酶活性在不同时间段均显著升高,抗氧化酶活性的提高使得辣椒活性氧代谢系统免受破坏,从而增强辣椒幼苗对高温胁迫的抗性。本研究结果与庞强强等^[34]在菜心上的研究结果一致,植物可以通过增强自身的抗氧化酶活性,清除更多的活性氧,从而维护自身的抗氧化系统,抵御高温胁迫的侵袭。

在漫长的自然选择和进化历程中,植物构建了

一个错综复杂、高度精密的调控网络,以感知和应对各种逆境胁迫。近年来,随着分子生物学技术的发展,人们发现了许多与逆境应答相关的基因。研究表明,在植物逆境响应过程中,WRKY 转录因子扮演着至关重要的调控角色,其作用不可或缺,这一结论已得到广泛验证^[35-37]。作为一类转录因子,WRKY 基因的诱导表达在参与逆境胁迫调控网络时,可以激活胁迫相关基因的表达并调控植物的适应反应,一般具有快速、瞬时的特点。本试验中,喷施 ICE6 后,辣椒中与耐高温胁迫相关的基因 *CaWRKY19*、*CaWRKY55*、*CaWRKY40* 的表达量有所增加,表明辣椒幼苗在遭受高温胁迫后,通过喷施 ICE6 可调节体内耐热转录因子基因的表达或者利用功能基因来调节渗透调节物、酶活性等达到修复效果。

综上,喷施 ICE6 可通过提高渗透调节物质含量、提高抗氧化酶活性、诱导耐热相关基因表达等途径降低植株热害指数。因此,生产中可适当喷施 ICE6 以改善高温环境下作物的生理条件,起到耐高温热害的作用。

参考文献:

- [1] HATFIELD J L, PRUEGER J H. Temperature extremes: effect on plant growth and development[J]. *Weather Clim Extrem*, 2015, 10 (Part A): 4-10.
- [2] TALUKDAR D. Biocomputation assisted data base of plant stress responsive traits: current progress and future challenges[J]. *Tropical Plant Research*, 2015, 2(2): 143-152.
- [3] 王立浩,张宝玺,张正海,等. “十三五”我国辣椒育种研究进展产业、现状及展望[J]. *中国蔬菜*, 2021(2): 21-29.
- [4] 梁宝萍,段莹,姜俊,等. 高温胁迫对辣椒果实活性氧代谢的影响[J]. *陕西农业科学*, 2022, 68(8): 93-96, 102.
- [5] 朱长志,张志仙,檀国印,等. 蔬菜作物高温胁迫研究进展[J]. *江西农业学报*, 2017, 29(2): 53-57.
- [6] MUNNE-BOSCH S. Drought-induced changes in the redox state of alpha-tocopherol, ascorbate, and the diterpene carnosic acid in chloroplasts of labiate species differing in carnosic acid contents[J]. *Plant Physiology*, 2003, 131(4): 1816-1825.
- [7] 刘强,张贵友,陈受宜. 植物转录因子的结构与调控作用[J]. *科学通报*, 2000, 45(14): 1465-1474.
- [8] EULGEM T, RUSHTON P J, ROBATZEK S, et al. The WRKY superfamily of plant transcription factors[J]. *Trends in Plant Science*, 2000(5): 199-206.
- [9] RUSHTON P J, SOMSSICH I E, RINGLER P, et al. WRKY transcription factors[J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15(5): 247-258.

- [10] 张 蓓,任福森,赵 洋,等. 辣椒响应热胁迫机制的研究进展[J]. 生物技术通报,2023,39(7):37-47.
- [11] 彭新盛. 叶面喷施植物生长调节剂对油茶盐胁迫适应性的影响[J]. 特种经济动植物,2023,26(4):43-45.
- [12] 冯雪锋,刘慧聪,许 雷,等. 植物生长调节剂在园艺植物中的应用[J]. 农业科技与信息,2023(3):122-125.
- [13] 吴梦丹,叶 旭,魏大勇,等. 生长调节剂缓解樱桃萝卜盐胁迫的生理效应[J]. 江西农业学报,2023,35(2):89-95.
- [14] 陈黎明. 植物生长调节剂二氢吡吩铁[J]. 农药科学与管理,2018,39(3):67-68.
- [15] 王一凡,张列峰,蒋 慧,等. 不同肥力条件下小麦施用叶绿酸铁的效果[J]. 江苏农业科学,2012,40(6):78-79.
- [16] 陈嘉敏,刘瑞显,张国伟,等. 二氢吡吩铁对花针期干旱及复水后花生叶片光合特性的影响[J]. 花生学报,2023,52(1):52-62.
- [17] 姜 燕,黄新根,杨寅桂,等. 辣椒苗期耐热性及其生理生化特性研究[J]. 长江蔬菜,2014(12):47-50.
- [18] 曹存凤. 叶面喷施 DHFe 对大豆盐害缓解效应及其机理研究[D]. 南京:南京农业大学,2016.
- [19] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [20] 陈晓远,凌木生,高志红. 水分胁迫对水稻叶片可溶性糖和游离脯氨酸含量的影响[J]. 河南农业科学,2006(12):26-30.
- [21] SHENG Y, WEI C, LEI S, et al. A *CaCDPK29-CaWRKY27b* module promotes *CaWRKY40*-mediated thermotolerance and immunity to *Ralstonia solanacearum* in pepper[J]. New Phytologist, 2021(4):1843-1863.
- [22] 王学府,曹秋芬. 外源 NO 对干旱胁迫下辣椒幼苗生理影响及相关基因表达[J]. 分子植物育种,2022,20(5):1651-1657.
- [23] 李易初,石凤梅,马立功,等. 核盘菌菌丝内 *POD* 和 *SOD* 活性与其对大豆致病力关系初探[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2021,33(1):1-6,14.
- [24] 徐 海,宋 波,顾宗福,等. 植物耐热机理研究进展[J]. 江苏农业学报,2020,36(1):243-250.
- [25] 夏莹莹,叶 航,马锦林,等. 4个油茶品种的半致死温度与耐热性研究[J]. 中国农学通报,2012,28(4):58-61.
- [26] 朱德宁,刘素娜,赵绮薇,等. 有棱丝瓜耐热性种质资源筛选与耐热生理响应[J]. 江苏农业科学,2021,49(9):132-137.
- [27] 于金平,俞 珊,梁有旺,等. NaCl 胁迫对美国白蜡幼苗部分生理指标的影响[J]. 植物资源与环境学报,2014,23(1):110-112.
- [28] 崔庆梅,吴利荣,陈 斐,等. 高温胁迫对黄瓜幼苗生理生化及光合作用的影响[J]. 延安大学学报(自然科学版),2021,40(1):23-26.
- [29] 刘若溪,曹 歌,王 琪,等. 外源褪黑素对高温胁迫下西瓜幼苗生理特性的影响[J]. 天津农业科学,2023,29(6):7-12.
- [30] ALMESELMANI M, DESHMUKH P S, SAIRAM R K, et al. Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress[J]. Plant Science, 2006,17(3):382-388.
- [31] TSIKAS D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges [J]. Analytical Biochemistry, 2017,524(1):13-30.
- [32] WU Z, LIU S, ZHAO J, et al. Comparative responses to silicon and selenium in relation to antioxidant enzyme system and the glutathione-ascorbate cycle in flowering Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis*) under cadmium stress [J]. Environmental & Experimental Botany, 2017,133:1-11.
- [33] 段佳豪,杨毓琰,刘星科,等. 几种植物生长调节剂对棉花耐高温性能的调控效应[J]. 棉花学报,2022,34(6):494-507.
- [34] 庞强强,周 曼,孙晓东,等. 菜心耐热性评价及酶促抗氧化系统对高温胁迫的响应[J]. 浙江农业学报,2020,32(1):72-79.
- [35] MANGELSEN E, KILIAN J, BERENDZEN K W, et al. Phylogenetic and comparative gene expression analysis of barley (*Hordeum vulgare*) WRKY transcription factor family reveals putatively retained functions between monocots and dicots [J]. BMC Genomics, 2008,9(1):1-17.
- [36] WU H L, NI Z F, YAO Y Y, et al. Cloning and expression profiles of 15 genes encoding WRKY transcription factor in wheat (*Triticum aestivum*) [J]. Progress in Natural Science: Materials International, 2007,18(6):697-705.
- [37] LI W X, PANG S Y, LU Z G, et al. Function and mechanism of WRKY transcription factors in abiotic stress responses of plants [J]. Plants, 2020,9(11):1515-1530.

(责任编辑:黄克玲)