

褪黑素对花椒幼苗低温伤害的缓解效应

任利明¹, 谢芳¹, 丁飞², 张硕新^{1*}

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 聊城大学 生命科学学院, 山东 聊城 252000)

摘要:以“韩城大红袍”花椒幼苗为试验材料,探究叶面喷施 200 $\mu\text{mol/L}$ 的褪黑素(MT)对 4℃ 下植株的低温缓解效应。结果表明,与未处理植株相比,MT 处理可提高低温胁迫下叶绿素荧光参数、过氧化物酶(POD)活性及可溶性糖含量(SS),降低丙二醛(MDA)和活性氧(ROS)含量。转录组分析结果表明,与未处理植株相比,MT 处理中差异表达的基因(DEGs)主要富集在光合相关、膜蛋白复合物以及糖代谢通路中。对光合及糖代谢途径进一步分析发现,低温胁迫下,MT 处理上调了与光系统 II 相关的 *Psb* 基因家族的基因及淀粉合成与分解相关的酶基因。综合分析表明,低温胁迫下花椒幼苗的生长受到抑制,喷施 MT 可缓解低温胁迫对花椒幼苗的伤害,提高抗寒能力。

关键词:褪黑素;花椒;低温胁迫;生理响应;基因表达

中图分类号:Q945.79

文献标志码:A

文章编号:1001-7461(2023)04-0034-10

The Mitigative Effect of Melatonin on *Zanthoxylum bungeanum* Seedlings under Chilling Stress

REN Li-ming¹, XIE Fang¹, DING Fei², ZHANG Shuo-xin^{1*}

(1. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi China;

2. College of Life Sciences, Liaocheng University, Liaocheng 252000, Shandong, China)

Abstract: Seedlings of *Zanthoxylum bungeanum* cultivar "Hancheng Dahongpao" were used as the experimental materials to explore the mitigative effect of spraying with 200 $\mu\text{mol/L}$ melatonin (MT) on plants at 4 °C. The results showed that compared with untreated plants, MT increased chlorophyll fluorescence parameters, peroxidase (POD) activity and soluble sugar content (SS), and reduced the content of malondialdehyde (MDA) and reactive oxygen species (ROS) under chilling stress. The results of transcriptome analysis showed that, compared with untreated plants, differential expression genes (DEGs) in MT treatment were mainly enriched in photosynthesis-related, membrane protein complexes, and glucose metabolism pathways. Further analysis of photosynthesis and sugar metabolism found that the expression of *Psb* genes family encoding PS II and the genes associated with starch synthesis and decomposition were up-regulated in MT treatment under chilling stress. Comprehensive analysis showed that the growth of *Z. bungeanum* seedlings under chilling stress was restrained. Spraying MT relieved the damage to the seedlings and enhanced the cold tolerance.

Key words: melatonin; *Zanthoxylum bungeanum*; chilling stress; physiological response; gene expression

花椒(*Zanthoxylum bungeanum*)为芸香科花椒属植物,是药食两用的重要经济树种。我国的花椒属植物资源约有 50 个种或变种,常见品种有青花

椒、红花椒、竹叶花椒和两面针等^[1-2]。近几年,花椒在推动农业经济发展及生态文明建设方面发挥着重要作用,已被列入国家“十三五”规划经济树种之一。

收稿日期:2022-05-19 修回日期:2022-07-29

基金项目:教育部“245 陕西秦岭森林生态系统国家野外科学观测研究站运行费”。

第一作者:任利明。研究方向:植物生理生态。E-mail:limingren@nwfufu.edu.cn

* 通信作者:张硕新,博士生导师。研究方向:森林生态、植物生理生态和景观生态。E-mail:sxzhang@nwfufu.edu.cn

花椒的耐寒性较差,低温不但会影响其正常的生长发育,还会制约其地理分布^[3-6]。因此,研究花椒对低温的响应机制具有重要意义。

低温胁迫分为寒害胁迫和冻害胁迫,寒害为0~12℃的温度胁迫,冻害为低于0℃的温度胁迫^[7]。低温会对植物细胞膜造成严重伤害,这种破坏改变了膜结构和稳定性,引起膜脂过氧化,电解质外渗及植物体生理代谢紊乱。光合作用对低温非常敏感,低温通过破坏叶绿体和线粒体中的电子传递链而对光合作用产生不利影响,导致活性氧(ROS)的过量产生^[8]。ROS过量积累会使参与卡尔文循环的关键酶SBPase失活,进而影响碳固定^[9]。植物对低温的响应很复杂,一旦受到冷胁迫后,植物自身会形成结构上的适应、细胞内渗透调节物质的调节及抗氧化酶系统的清除作用等一系列防御机制^[10-13]。植物体内生理变化物质受到复杂的基因网络调控。Adolf等^[14]研究发现桑树在低温胁迫下多数基因参与调控植物激素信号转导、MAPK信号通路及次生代谢产物的合成,并筛选出与冷胁迫相关的候选基因。Tian等^[15]研究得出花椒通过改变植物激素信号转导、物质代谢、光响应及细胞结构来响应和适应冷胁迫。

褪黑素(melatonin,简称MT)是一种广泛存在于动植物中的吲哚胺类化合物^[16]。近几年,MT被认为是一种新的植物激素,在抵御各种生物及非生物胁迫中发挥重要作用^[17-19]。MT可通过降低电解质渗透率和MDA含量来减轻石榴的膜脂过氧化^[20],提高辣椒幼苗的抗氧化酶活性和脯氨酸含量,增强抗寒性^[21]。同样,减轻光系统II蛋白的下降及增强景天庚酮糖-1,7-二磷酸酶(SBPase)活性来缓解光抑制^[22-24],也是MT提高植物耐寒性的途径之一。此外,MT还可介导植物矿物质和抗氧化剂途径相关基因的表达来改善大豆幼苗的低温胁迫耐受性^[25]。目前关于外源MT降低逆境胁迫对植物的伤害的研究报道较多,但将MT应用于缓解低温胁迫对花椒幼苗的伤害的研究尚未见报道。因此,本研究通过对花椒叶片喷施200 μmol/L的MT(前期试验筛选),探讨MT在花椒低温响应中的作用,为提高花椒抗寒性和增强其生长适应性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料处理

供试材料为韩城大红袍幼苗,苗龄为6个月,来源于陕西省韩城市三川秦种苗公司。移栽幼苗置于人工气候室培养,培养条件:温度为25℃,相对湿度

为60%,光周期为12 h,光照强度为400 μmol·m⁻²·s⁻¹。选择长势一致的幼苗,设4个处理,常温(CK)、常温+褪黑素(CKMT)、低温(CS)、低温+褪黑素(CSMT),每组30株幼苗,3次重复。褪黑素溶液(200 μmol/L)喷施CKMT、CSMT组花椒叶片,CK、CS组叶片喷施去离子水,隔天喷施1次,处理5次。预处理后将CS、CSMT组放入人工气候室进行4℃低温处理,剩余2组正常条件培养。在处理的0、6、12、24、48 h以及13 d分别进行叶片取样,液氮速冻,-80℃低温保存。

1.2 测定方法

1.2.1 叶绿素荧光参数 用便携式荧光仪(Dual-PAM-100, Walz, Germany)在低温胁迫0、24、48 h、13 d测定完全展开叶,暗适应30 min后,打开测量光和光化学系统5 min内自动依据参数设定得到最大光化学效率(Fv/Fm)及电子传递速率(ETR)。

1.2.2 生理指标测定 采用硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MDA)含量^[26];超氧阴离子(O₂⁻)含量测定参考Zhang等^[27];过氧化氢(H₂O₂)含量测定使用试剂盒(北京索莱宝科技有限公司),可见分光光度法;过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法,参照陈建勋等^[28]的试验方法;可溶性糖(SS)含量测定采用蒽酮比色法。

1.2.3 转录组测序 取胁迫0、6、24 h的CS和CSMT组花椒叶片,各2个重复,装入锡箔纸内并标记(CS组编号:CS 0 h、CS 6 h、CS 24 h,CSMT组编号:CSMT 0 h、CSMT 6 h、CSMT 24 h)。RNA提取、质控、建库及测序均由北京诺禾致源公司完成。

使用DESeq2软件(1.20.0)筛选不同处理间的差异表达基因,筛选条件设置为padj≤0.05且Fold change≥0。通过clusterProfiler(3.8.1)软件实现差异表达基因的基因本体(GO)富集分析,京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路中差异表达基因的统计富集。背景基因集为所有进行差异显著分析的基因,padj<0.05作为显著性富集的阈值。

1.3 数据处理

所有试验均进行3次重复,采用SPSS 22.0软件进行方差分析,运用Duncan多重比较法检验(P<0.05)评估数据差异的统计显著性;使用SigmaPlot 12.5软件创建图表。

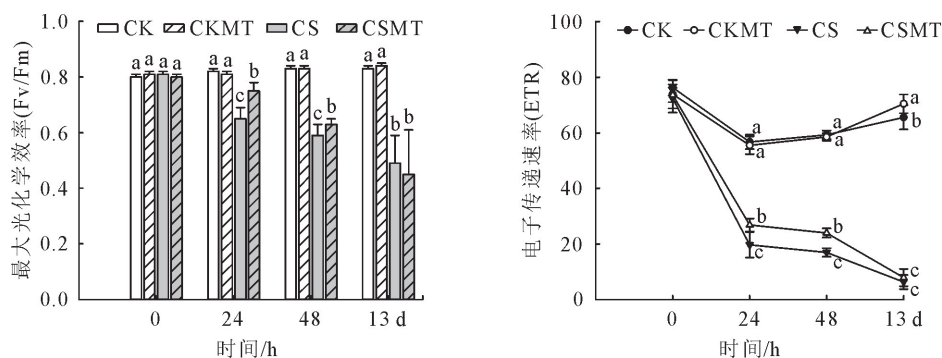
2 结果与分析

2.1 低温胁迫下褪黑素对花椒叶绿素荧光参数的影响

在正常条件下,施用MT对Fv/Fm和ETR没

有明显影响。低温处理下花椒幼苗的 F_v/F_m 、ETR 均显著降低,并且随着胁迫时间的延长,下降幅度增加。CSMT 处理的 F_v/F_m 、ETR 均显著高于 CS 处理,胁迫 24、48 h 时,CSMT 处理的 F_v/F_m 分别提

高了 14.18%、7.20%,ETR 分别提高了 36.28%、41.44%(图 1)。说明低温处理抑制叶绿素荧光参数,MT 对光合系统具有一定保护作用,可缓解低温伤害。



CK:常温;CKMT:褪黑素处理+常温;CS:低温处理;CSMT:褪黑素处理+低温处理。不同小写字母代表同一时间不同处理间差异显著($P < 0.05$)。下同。

图 1 褪黑素对低温胁迫下花椒叶绿素荧光参数的影响

Fig. 1 Effect of melatonin on chlorophyll fluorescence parameters of *Z. bungeanum* seedlings under chilling stress

2.2 低温胁迫下褪黑素对花椒生理指标的影响

MDA 作为膜脂过氧化的产物,其含量能够反映细胞膜损伤程度。CK 与 CKMT 处理的 MDA 含量差异不显著,说明正常条件下喷施 MT 对花椒植株的 MDA 含量没有明显影响;胁迫处理 48 h 后,与 CK 相比,CS 和 CSMT 处理的 MDA 含量显著增加,分别是 CK 的 1.46、1.29 倍;CSMT 处理的 MDA 含量显著低于 CS 处理,表明低温逆境能显著提高 MDA 含量,MT 处理对低温引起的氧化损伤有一定的缓解作用(图 2)。

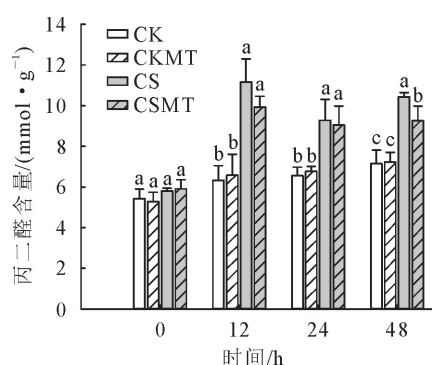


图 2 褪黑素对低温胁迫下花椒丙二醛含量的影响

Fig. 2 Effect of melatonin on MDA content of *Z. bungeanum* seedlings under chilling stress

在正常代谢条件下,ROS 的产生与清除维持动态平衡,一旦打破平衡,必然会对细胞造成伤害。CKMT 与 CK 的 O_2^- 含量差异不显著,随着胁迫程度加深,CS 和 CSMT 处理的 O_2^- 及 H_2O_2 含量均先升高后降低。胁迫 12、24 h 后,CS 组的 O_2^- 含量分别是 CK 的 1.98 倍和 1.68 倍,且显著高于

CSMT 处理,可见 MT 能够降低叶片中 O_2^- 含量,提高叶片清除活性氧的能力(图 3)。

与 CK 相比,CS 处理的 H_2O_2 含量在处理 24、48 h 时,分别为 CK 的 1.39 倍和 1.38 倍;CSMT 的 H_2O_2 含量显著增加,分别为 CK 的 1.29 倍和 1.20 倍,与 CS 组相比,降低了 6.67%、12.92%,说明低温显著增加 H_2O_2 含量,MT 能够减轻低温伤害,降低叶片中 H_2O_2 的含量。

CKMT 与 CK 处理的 POD 活性无显著性差异,表明正常生长情况下 MT 处理对 POD 活性无明显影响;CS 和 CSMT 处理的 POD 酶活性均显著高于 CK,随着处理时间的延长,POD 活性变化趋势为上升—下降—上升;胁迫 48 h 后,CSMT 处理的 POD 活性较 CK 显著提高了 53.36%,且显著高于 CS 处理,较 CS 增加了 18.19%(图 4)。

正常条件下 MT 对可溶性糖含量无明显影响,低温组叶片中可溶性糖含量显著高于常温组;低温处理下,喷施 MT 的花椒叶片可溶性糖含量较未经 MT 预处理显著升高了 18.53%(图 5)。说明低温胁迫会增加可溶性糖含量,MT 可进一步促进可溶性糖的累积来缓解低温伤害。

2.3 转录组数据分析

2.3.1 测序数据质量评估 为研究 MT 响应花椒低温胁迫的转录组学变化特征,选取低温(CS)和低温+褪黑素(CSMT)处理 0、6、24 h 的花椒幼苗叶片进行测序,2 个生物学重复,构建了 12 个高质量 cDNA 文库。测序共获得 558,020,436 条原始序列,549,392,182 条高质量序列,Q20 比率均在 96.62%以上,Q30 比率均在 92.01%以上,GC 含量

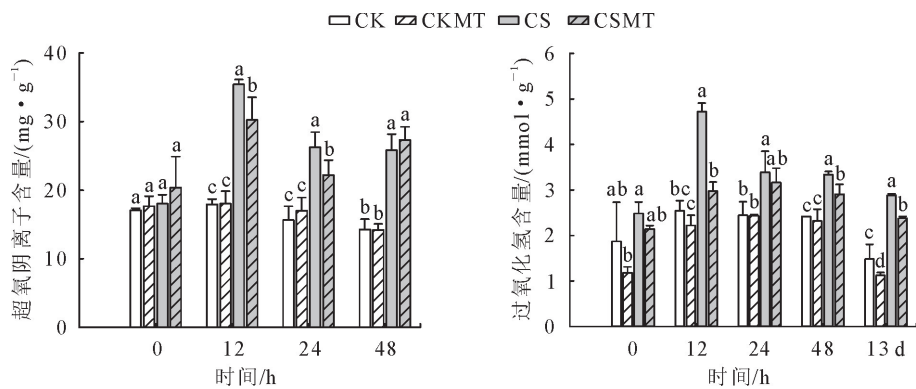


图 3 褪黑素对低温胁迫下花椒活性氧含量的影响

Fig. 3 Effect of melatonin on ROS content of *Z. bungeanum* seedlings under chilling stress

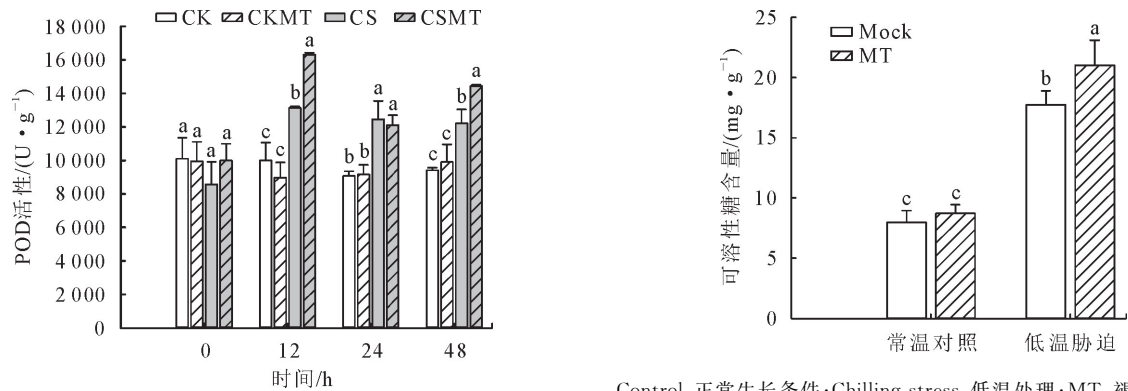


图 4 褪黑素对低温胁迫下花椒叶片过氧化物酶活性的影响

Fig. 4 Changes in POD activity as affected by melatonin in *Z. bungeanum* seedlings under chilling stress

Control: 正常生长条件; Chilling stress: 低温处理; MT: 褪黑素处理; Mock: 去离子水处理。

图 5 褪黑素对低温胁迫下花椒可溶性糖含量的影响

Fig. 5 Effects of melatonin on the levels of soluble sugars in *Z. bungeanum* seedlings under chilling stress

表 1 转录组测序数据质量汇总

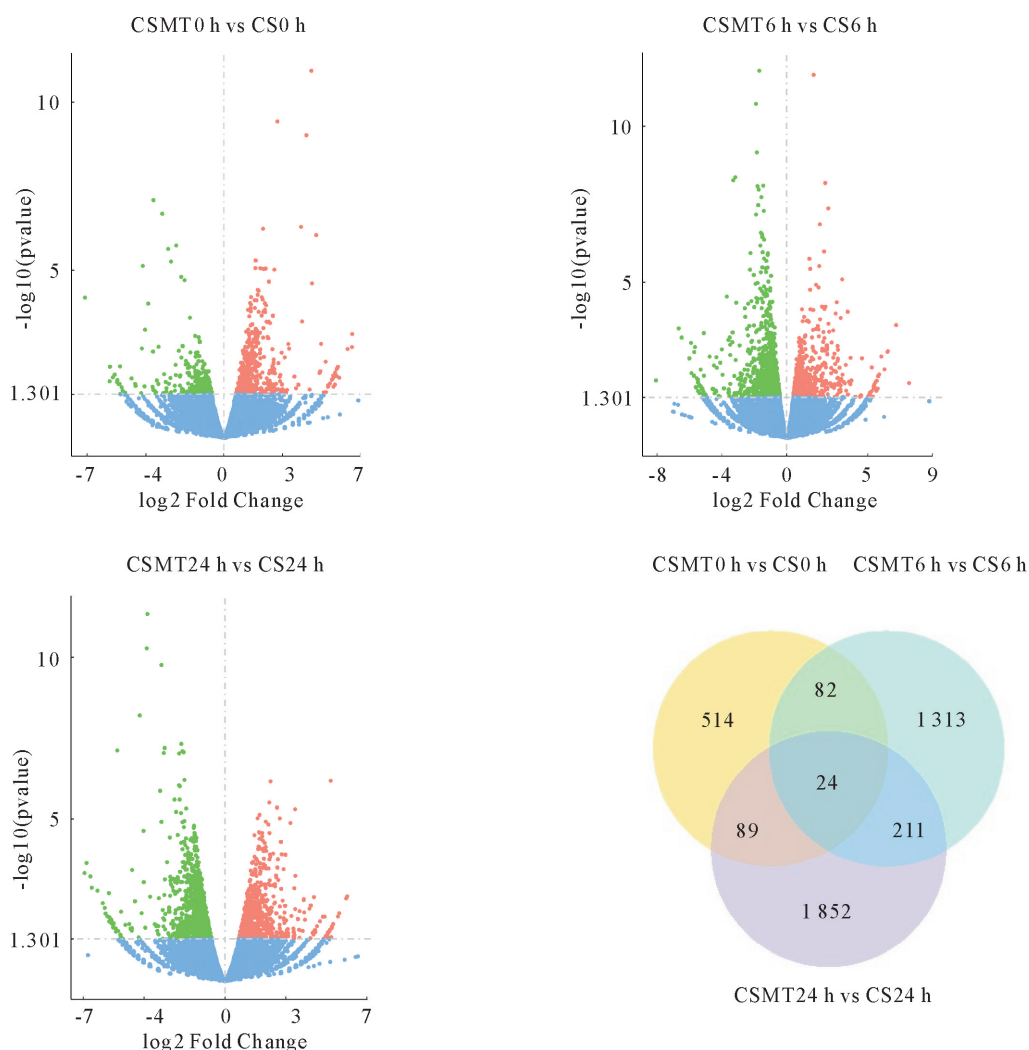
Table 1 Transcriptome sequencing data quality summary

| 样本 | 原始序列 | 高质量序列 | 错误率(%) | Q20(%) | Q30(%) | GC 含量(%) |
|-----------|----------|----------|--------|--------|--------|----------|
| CS0h_1 | 46866030 | 46137616 | 0.03 | 97.81 | 93.69 | 43.87 |
| CS0h_2 | 47198992 | 46371810 | 0.03 | 97.85 | 93.8 | 44.37 |
| CSMT0h_1 | 47536478 | 46819916 | 0.03 | 97.87 | 93.79 | 44.19 |
| CSMT0h_2 | 47351318 | 46670068 | 0.03 | 97.79 | 93.71 | 44.39 |
| CS6h_1 | 46737474 | 45939226 | 0.03 | 97.19 | 92.85 | 42.82 |
| CS6h_2 | 47153778 | 46473824 | 0.03 | 97.17 | 92.76 | 42.97 |
| CSMT6h_1 | 45461038 | 44720692 | 0.03 | 96.62 | 92.01 | 41.88 |
| CSMT6h_2 | 46766146 | 46093128 | 0.03 | 97.37 | 93.05 | 43.13 |
| CS24h_1 | 49193976 | 48496958 | 0.03 | 97.6 | 93.28 | 43.63 |
| CS24h_2 | 45750468 | 45120758 | 0.03 | 97.38 | 92.9 | 44.17 |
| CSMT24h_1 | 44987296 | 44248964 | 0.03 | 97.75 | 93.66 | 43.6 |
| CSMT24h_2 | 43017442 | 42299222 | 0.03 | 97.44 | 92.9 | 43.44 |

分布在 41.88%~44.39%(表 1),符合碱基组成规律。以上结果表明,获得的基因文库测序数据质量符合要求,可用于后续生物信息学分析。

2.3.2 差异表达基因筛选 以 $p_{adj}<0.05$ 为标准筛选差异基因,与 CS 相比较,CSMT 在 0、6、24 h 分别有差异基因 709(上调 460,下调 249)、1 630(上

调 678,下调 952)、2 176(上调 907,下调 1 269)(图 6)。CS 和 CSMT 处理在 0、6、24 h 共同差异表达的基因有 24 个。CSMT 在 6、24 h 分别特异性表达 1 313、1 852 个基因。随着胁迫程度的加深,花椒幼苗表现出更多的基因响应低温。



横坐标表示基因的差异表达倍数,纵坐标表示基因表达差异的显著性水平,红色代表上调基因,绿色代表下调基因。

图6 差异表达基因火山图及韦恩图

Fig. 6 The volcano plot and Venn diagram of the differentially expressed genes

2.3.3 差异表达基因的 GO 富集分析 GO 富集分析是将 DEGs 映射到 Gene Ontology 数据库的各个 term 中进行 GO 注释。GO term 分为生物学过程 (biological process)、细胞组分 (cellular component) 和分子功能 (molecular function) 3 大类。由于有些 gene 注释到多个 GO term 中,所以 GO term 总数大于 DEG 总数。CSMT6 h vs CS6 h 和 CSMT24 h vs CS24 h 比较中分别有 1 630 个和 2 176 个 DEG 注释到 937 个和 894 个 GO term,在每个 GO 分类中挑选 padj 较小的前 10 个 GO term 条目进行展示(图 7)。

在 CSMT6 h vs CS6 h 中,差异基因主要富集到生物学过程中应激反应 (response to stress)、光合作用 (photosynthesis), 分别有 42、31 个;细胞组分中膜蛋白复合物 (membrane protein complex)、类囊体 (thylakoid membrane), 分别有 45、30 个;分子功能中酶抑制剂活性 (enzyme inhibitor activity)、丝氨酸型肽链内切酶抑制剂活性 (serine-type

endopeptidase inhibitor activity), 分别有 23、17 个。

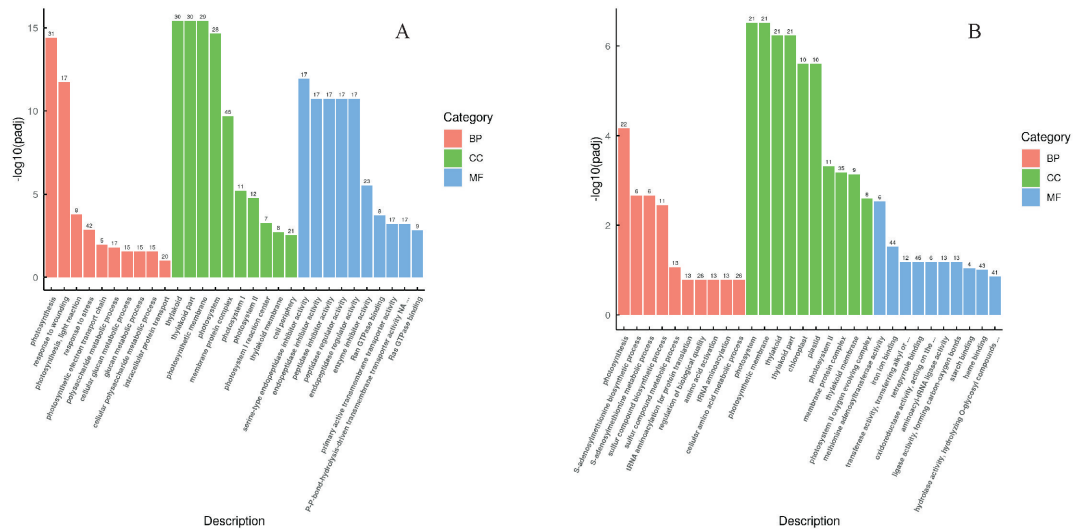
在 CSMT24 h vs CS24 h 中,差异基因主要富集到生物学过程中细胞型氨基酸代谢 (cellular amino acid metabolic process)、生物质量调节 (regulation of biological quality), 分别有 26、26 个;细胞组分中膜蛋白复合物 (membrane protein complex)、光系统 (photosystem), 分别有 35、21 个;分子功能中四吡咯结合 (tetrapyrrole binding)、铁离子结合 (iron ion binding), 分别有 45、44 个。

2.3.4 差异表达基因的 KEGG 富集分析 KEGG 是系统地分析基因功能、基因组信息的数据库。通过 pathway 显著性富集分析能确定差异基因参与的最主要的生化代谢途径,散点图展示了富集最显著的 20 条 pathway(图 8)。

在 CSMT6 h vs CS6 h 中,差异基因富集于 107 条通路,显著富集的通路有 2 条,分别是光合作用 (photosynthesis)、半乳糖新陈代谢 (galactose me-

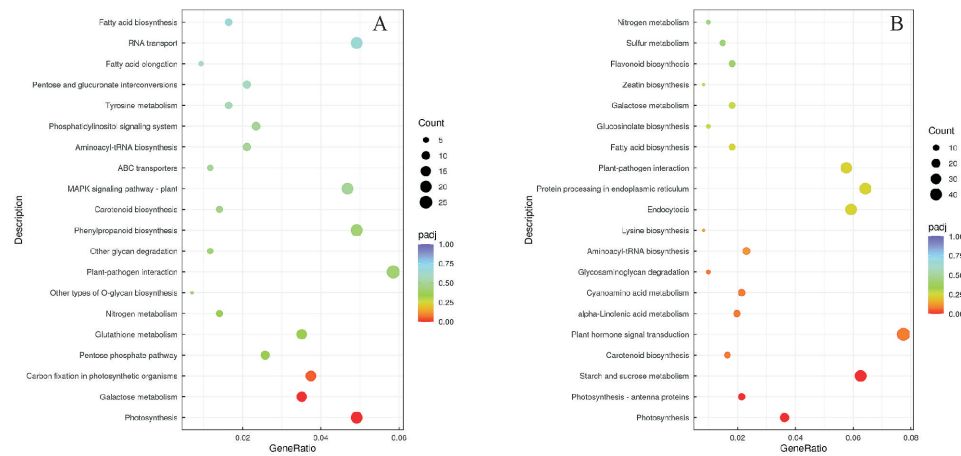
tabolism), 分别有 21、15 个; 在 CSMT24 h vs CS24 h 中, 差异基因富集于 114 条通路, 显著富集的通路有 3 条, 分别是光合作用(photosynthesis)、光合天

线蛋白(photosynthesis-antenna proteins)和淀粉和蔗糖新陈代谢(starch and sucrose metabolism), 分别有 22、13、38 个。



横坐标为 GO term, 纵坐标为 GO term 富集的显著性水平, 数值越高越显著; A 为 CSMT6 h vs CS6 h, B 为 CSMT24 h vs CS24 h。

图 7 差异表达基因 GO 富集
Fig. 7 GO enrichment of the differentially expressed genes



横坐标为注释到 KEGG 通路上的差异基因数与差异基因总数的比值, 纵坐标为 KEGG 通路, 差异基因数用圆点大小表示, padj 值越小则富集越显著; A 为 CSMT6 h vs CS6 h, B 为 CSMT24 h vs CS24 h。

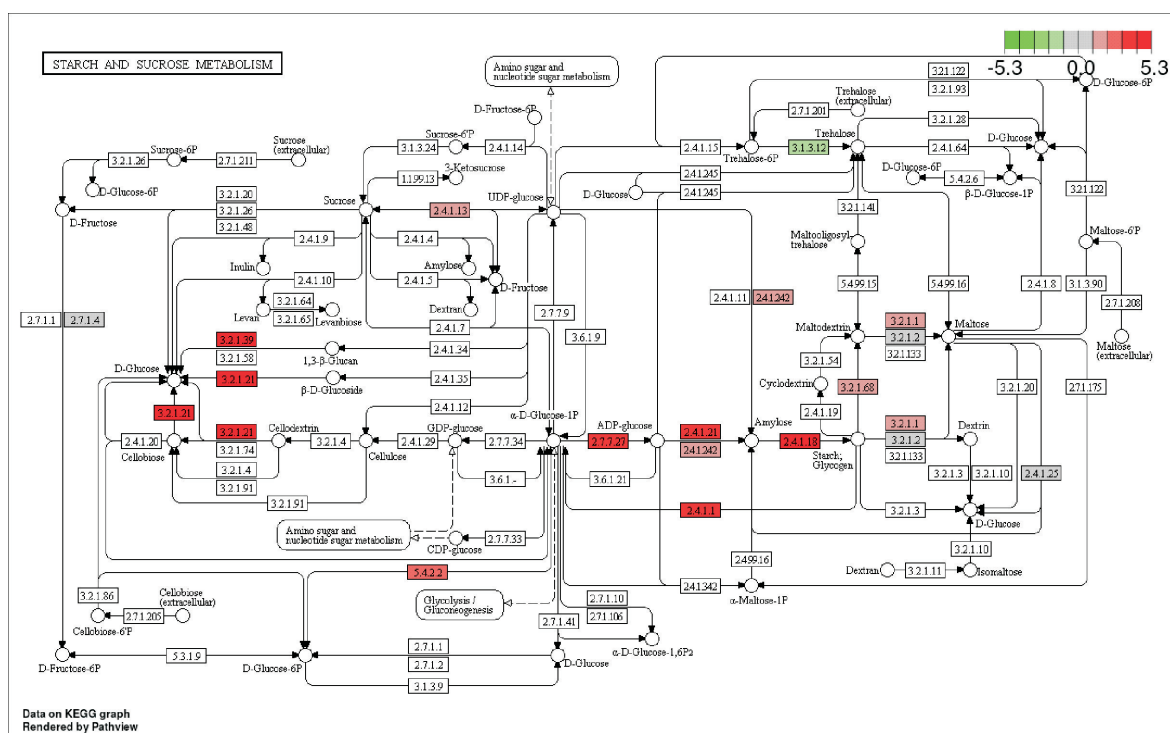
图 8 差异表达基因 KEGG 富集

Fig. 8 KEGG enrichment of the differentially expressed genes

2.3.5 光合作用相关差异基因 光合作用是植物中最重要的代谢过程, 低温显著影响光合作用。以 CS6 h 为对照, CSMT6 h 显著富集到光合作用(photosynthesis)途径, 共有 21 个差异表达基因, 均上调。上调基因分别参与编码光系统 II 的放氧增强蛋白 *PsbQ*、*PsbW*、10 ku 蛋白(*PsbR*)、*Psb27* 和 *Psb28*, 参与光合电子传递的 *petF*、*petE*、*petJ* 和细胞色素 b6f 蛋白复合体, 光系统 I 的 *PsaD*、*PsaE*、*PsaK* 和 *PsaL* (图 9)。

以 CS24 h 为对照, CSMT24 h 显著富集到光合作用(photosynthesis)途径, 其中有 7 个基因上调表

达, 15 个基因下调表达, 主要涉及光系统 II、光系统 I、光合电子传递和细胞色素 b6f 蛋白复合体。差异表达较高的基因均与光系统 II 相关(表 2), 表明褪黑素显著影响光系统 II。上调基因分别是参与编码光系统 II 的放氧增强蛋白 *PsbO*、22 ku 蛋白(*PsbS*)、10 ku 蛋白(*PsbR*)和 *Psb28*, 下调基因分别是参与编码光合电子传递的 *petF* 和细胞色素 b6f 蛋白复合体(*PetD*、*PetB*), 光系统 I 的 *PsaN*、*PsaE* 和 *PsaO* 以及光系统 II 的 *PsbA*、*PsbQ* 和 10 ku 蛋白(*PsbR*)。



高亮框表示胁迫 24 h 差异基因有注释到,红色代表表达基因上调,绿色为下调;右上角的标尺是所有差异基因注释到该通路中的最大的 $\log_2 FC$ 的绝对值。

图 10 淀粉和蔗糖新陈代谢通路

Fig. 10 The pathway of starch and sucrose metabolism

性以及可溶性糖含量,减少 ROS 及 MDA 的积累,缓解低温胁迫伤害。MT 对低温胁迫下花椒幼苗的光合和物质代谢具有较大影响,通过诱导光合作用相关基因表达保护光合系统,调控与淀粉合成与分解相关的酶基因来改变渗透调节物质含量,达到提高花椒抗寒性的目的。

3.2 讨论

低温胁迫会诱导 ROS 产生,过量的 ROS 会与质膜发生反应生成 MDA,对植物造成氧化损伤。本研究中,低温胁迫下花椒叶片的活性氧、MDA 含量均增加,而 MT 处理后两者的水平均低于单独低温处理。这表明 MT 可缓解低温引起的氧化损害,维持膜系统稳定性,Wang 等^[23]研究 MT 介导番茄抗寒性中也有类似的结果。ROS 的清除与抗氧化酶活性密切相关,POD 是植物体内普遍存在的、活性较高的一种抗氧化酶,可以将逆境产生的过量 H_2O_2 分解为 H_2O ,减轻细胞膜损害^[29]。本研究发现,随着胁迫时间的延长,花椒叶片中的 POD 活性呈上升趋势,MT 处理可以进一步提高其活性,增强抗氧化能力。与 Korkmaz 等^[21]对低温胁迫下辣椒幼苗的研究结果相似。渗透调节是植物适应逆境的主要生理机制,通过提高细胞液浓度,维持细胞内外水势差,提高细胞保水能力,从而适应胁迫环境^[29]。

本研究表明,低温胁迫下,经 MT 处理的花椒叶片较未经 MT 处理的叶片积累了更多的可溶性糖,这有利于植株应对低温伤害。

光合作用对低温十分敏感,叶绿素荧光参数能反映植物光合系统的受损程度。光系统 II 反应中心是光合系统的重要组成部分,在光合作用的光能转化过程中起重要作用^[30]。本试验中,MT 处理提高了花椒低温胁迫下的 F_v/F_m 、ETR,表明 MT 缓解了低温对光合系统的损害程度,这可能与 MT 作为强抗氧化剂有关,相似的结果在番茄中也得到验证^[31]。

转录组学是研究细胞内基因转录情况和转录调节规律的一门学科,有助于深入地了解转录水平对植物的环境胁迫应答^[32]。本试验表明,与 CS 相比较,CSMT 组基因表达数目在 6 h 和 24 h 分别有 1 630、2 176 个,可能是胁迫时间的增加使得幼苗产生更多的基因来抵御低温胁迫伤害。结合 GO 和 KEGG 分析结果,MT 处理主要参与调控花椒的光合及糖代谢相关基因的转录表达。对光合途径的差异基因分析,可得出 MT 预处理减轻了低温对光合器官的损伤,特别是对光系统 II 的保护。MT 在胁迫早期上调了 8 个编码光系统 II 的差异基因,分别为放氧增强蛋白 *PsbQ*、*PsbW*、10 ku 蛋白(*Ps-*

bR)、*Psb27* 和 *Psb28*, 胁迫晚期上调了编码光系统 II 的 *PsbO*、22 ku 蛋白(*PsbS*)、10 ku 蛋白(*PsbR*) 和 *Psb28* 差异基因。这些基因所编码的蛋白均属于光系统 II 复合体, 在光合作用中起到稳定细胞结构、色素结合、保证放氧复合物的稳定、各结构进行光保护等作用^[33], 表明 MT 处理通过调控光合作用相关基因的表达来减轻低温对光系统的伤害。

低温胁迫下, 花椒叶片中的淀粉和蔗糖新陈代谢途径发生明显变化。MT 上调了与淀粉水解相关的 α -淀粉酶、 β -葡萄糖苷酶以及糖原磷酸化酶基因, 有利于花椒叶片中糖的累积。同时, MT 上调了与淀粉合成相关的 1,4- α -葡聚糖分支酶、淀粉合成酶、颗粒结合淀粉合成酶、果糖激酶基因。说明 MT 处理可通过调控有机物合成及分解相关的基因表达, 从而改变渗透调节物质含量来提高花椒抵抗低温的能力。

参考文献:

- [1] 宋荣, 曹亮, 周佳民, 等. 花椒种质资源及其功能成分和生物学效应研究进展[J]. 湖南农业科学, 2014, 344(17): 23-26, 29. SONG R, CAO L, ZHOU J M, *et al.* Research progress in *Zanthoxylum* germplasm resources and chemical composition and biological effects[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2014, 344(17): 23-26, 29. (in Chinese)
- [2] 魏安智. 花椒产业持续经营技术[M]. 杨陵: 西北农林科技大学出版社, 2017.
- [3] 肖彩玲, 王有科, 贺春燕, 等. 低温胁迫下花椒新梢生理变化与抗寒性研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(10): 3975-3977. XIAO C L, WANG Y K, HE C Y, *et al.* Studies on the relationship between the changes of main physiological indices and cold-resistance in the new shoots of Dahongpao *Zanthoxylum bungeanum* under low temperature stress[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(10): 3975-3977. (in Chinese)
- [4] 刘淑明, 孙丙寅, 刘杜玲. 不同种源花椒抗寒性研究(II)[J]. 西北农业学报, 2010, 19(11): 119-124. LIU S M, SUN B Y, LIU D L. Study on cold hardness of different provenances of *Zanthoxylum bungeanum* (II)[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2010, 19(11): 119-124. (in Chinese)
- [5] 孙丙寅, 刘淑明. 不同种源花椒抗寒性比较研究[J]. 陕西林业科技, 2010(2): 1-3. SUN B Y, LIU S M. Comparison of cold tolerance of *Zanthoxylum bungeanum* among different provenances[J]. Shaanxi Forest Science and Technology, 2010(2): 1-3. (in Chinese)
- [6] 吕小军, 杨途熙, 何小红, 等. 冬季低温对花椒抗寒性生理指标的影响[J]. 西北农业学报, 2013, 22(7): 143-148. LÜ X J, YANG T X, HE X H, *et al.* Influence of low temperature stress on the cold-resistance physiological indexes of *Zanthoxylum bungeanum* in winter[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2013, 22(7): 143-148. (in Chinese)
- [7] ALLEN D J, ORT D R. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants[J]. Trends in Plant Science, 2001(6): 36-42.
- [8] FAN J, HU Z, XIE Y, *et al.* Alleviation of cold damage to photosystem II and metabolisms by melatonin in Bermudagrass[J]. Frontiers in Plant Science, 2015(6): 925.
- [9] DING F, WANG M L, ZHANG S X. Overexpression of a Calvin cycle enzyme SBPase improves tolerance to chilling-induced oxidative stress in tomato plants[J]. Scientia Horticulturae, 2017, 214: 27-33.
- [10] HU Z, LIU A, BI A, *et al.* Identification of differentially expressed proteins in bermudagrass response to cold stress in the presence of ethylene[J]. Environmental and Experimental Botany, 2017, 139: 67-78.
- [11] 王国霞, 卢超, 赵奇, 等. 外源甜菜碱对低温胁迫下油茶生理特性的影响[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(5): 78-84. WANG G X, LU C, ZHAO Q, *et al.* Effects of exogenous glycine betaine on physiological characteristics of *Camellia oleifera* under low temperature stress[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2020, 35(5): 78-84. (in Chinese)
- [12] 霍静, 白京凡, 乔虹, 等. 外源物质处理对大果榉扦插苗抗寒性的影响[J]. 西北林学院学报, 2021, 36(4): 131-137. HUO J, BAI J F, QIAO H, *et al.* Effects of exogenous substance treatment on cold resistance of cutting seedlings of *Zelkova sinica*[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2021, 36(4): 131-137. (in Chinese)
- [13] 刘紫烟, 刘佳乐, 朱圆圆, 等. 木本植物低温应答机制研究进展[J]. 西北林学院学报, 2022, 37(2): 157-163. LIU Z Y, LIU J L, ZHU Y Y, *et al.* Research progress on the response mechanism of woody plants to low temperature[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2022, 37(2): 157-163. (in Chinese)
- [14] ADOLF A, LIU L, ACKAH M, *et al.* Transcriptome profiling reveals candidate genes associated with cold stress in mulberry[J]. Brazilian Journal of Botany, 2021, 44: 125-137.
- [15] TIAN J Y, MA Y, TIAN L, *et al.* Comparative physiology and transcriptome response patterns in cold-tolerant and cold-sensitive varieties of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. [J]. Industrial Crops and Products, 2021, 167(17): 113562.
- [16] ARNAO M B, HERNANDEZ-RUIZ J. Growth activity, rooting capacity, and tropism: three auxinic precepts fulfilled by melatonin[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2017, 39: 127.
- [17] ARNAO M B, HERNANDEZ-RUIZ J. Melatonin in flowering, fruit set and fruit ripening[J]. Plant Reproduction, 2020, 33: 77-87.
- [18] 张俊康, 马丽, 吴妹青, 等. 外源褪黑素对软枣猕猴桃低温伤害的缓解效应[J]. 植物生理学报, 2020, 56(5): 1081-1087. ZHANG J K, MA L, WU S Q, *et al.* Alleviation effect of exogenous melatonin on low temperature injury of *Actinidia arguta*[J]. Plant Physiology Communications, 2020, 56(5): 1081-1087. (in Chinese)
- [19] 王慧, 王冬梅, 张泽洲, 等. 外源褪黑素对干旱胁迫下黑麦草和苜蓿抗氧化能力及养分吸收的影响[J]. 应用生态学报, 2022, 33(5): 1311-1319. WANG H, WANG D M, ZHANG Z Z, *et al.* Effect of exogenous melatonin on antioxidant capacity and nutrient uptake of *Lolium perenne* and *Medicago sativa* under drought stress

- [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2022, 33(5): 1311-1319. (in Chinese)
- [20] JANNATIZADEH A. Exogenous melatonin applying confers chilling tolerance in pomegranate fruit during cold storage [J]. Scientia Horticulturae, 2019, 246: 544-549.
- [21] KORKMAZ A, DEGER O, SZAFRANSKI K, *et al.* Melatonin effects in enhancing chilling stress tolerance of pepper [J]. Scientia Horticulturae, 2021, 289: 110434.
- [22] HAN Q H, HUANG B, DING C B, *et al.* Effects of Melatonin on anti-oxidative systems and photosystem II in cold-stressed rice seedlings [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 785.
- [23] WANG M L, ZHANG S X, DING F. Melatonin mitigates chilling-induced oxidative stress and photosynthesis inhibition in tomato plants [J]. Antioxidants, 2020, 9(3): 218.
- [24] IRSHAD A, REHMAN R N U, KAREEM H A, *et al.* Addressing the challenge of cold stress resilience with the synergistic effect of *Rhizobium* inoculation and exogenous melatonin application in *Medicago truncatula* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 226: 112816.
- [25] BAWA G, FENG L Y, SHI J Y, *et al.* Evidence that melatonin promotes soybean seedlings growth from low-temperature stress by mediating plant mineral elements and genes involved in the antioxidant pathway [J]. Functional Plant Biology, 2020, 47: 815-824.
- [26] VELIKOVA V, YORDANOV I, EDREVA A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants-protective role of exogenous polyamines [J]. Plant Science, 2000, 151: 59-66.
- [27] ZHANG W, YU X, LI M, *et al.* Silicon promotes growth and root yield of *Glycyrrhiza uralensis* under salt and drought stresses through enhancing osmotic adjustment and regulating antioxidant metabolism [J]. Crop Protection, 2018, 107: 1-11.
- [28] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导 [M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2015: 72-73.
- [29] 王宝山. 逆境植物生物学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2010: 8-16.
- [30] 崔波, 程邵丽, 袁秀云, 等. 低温胁迫对白及光合作用及叶绿素荧光参数的影响 [J]. 热带作物学报, 2019, 40(5): 891-897.
- CUI B, CHENG S L, YUAN X Y. Effects of low temperature stress on the photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence parameters of *Bletilla striata* [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2019, 40(5): 891-897. (in Chinese)
- [31] DING F, REN L M, XIE F, *et al.* Jasmonate and melatonin act synergistically to potentiate cold tolerance in tomato plants [J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 12: 763284.
- [32] AMBARDAR S, GUPTA R, TRAKROO D, *et al.* High throughput sequencing: an overview of sequencing chemistry [J]. Indian Journal of Microbiology, 2016, 56(4): 394-404.
- [33] 刘梅朔, 王传宽, 全先奎. 兴安落叶松叶光合与氮代谢对环境变化响应的转录组分析 [J]. 应用生态学报, 2022, 33(4): 957-962.
- LIU M S, WANG C K, QUAN X K. Transcriptome analysis on responses of leaf photosynthesis and nitrogen metabolism of *Larix gmelinii* to environmental change [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2022, 33(4): 957-962. (in Chinese)