

辣椒响应逆境胁迫的诱导型启动子研究进展

杨柳烟, 欧斯扬, 张素勤, 耿广东

(贵州大学农学院 贵阳 550025)

摘要: 干旱、涝渍、极端温度以及病虫害等多种逆境胁迫严重影响辣椒的生长, 导致辣椒发育不良而减产。启动子包含重要的顺式作用元件, 对目的基因的表达调控有重要作用, 尤其是植物诱导型启动子, 在胁迫条件下会激发抗逆调控机制与激活目的基因表达, 改变植物代谢组分和生理生化反应, 增强植物抗逆性。主要对辣椒应答干旱、高温、低温、盐等非生物和生物胁迫诱导型启动子的种类、功能以及与反式作用因子的互作进行综述, 以期为进一步研究辣椒基因诱导型启动子提供一定的理论依据和抗逆品种改良提供参考。

关键词: 辣椒; 逆境胁迫; 诱导型启动子; 功能分析

中图分类号: S641.3

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2024)12-001-08

Research progress on inducible promoters of pepper in response to stresses

YANG Liuyan, OU Siyang, ZHANG Suqin, GENG Guangdong

(College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China)

Abstract: Drought, waterlogging, extreme temperature, pests and diseases seriously affect the growth of pepper, leading to poor development and reduced yield. Promoters contain important cis-acting elements and play crucial roles in regulating the expression of target genes. Plant inducible promoters can stimulate stress resistance regulatory mechanisms and activate the expression of target genes under stress conditions, which alter plant metabolic components and physiological-biochemical reactions, and enhance plant stress resistance. In this paper, the authors mainly review the types, functions, and interactions with trans-acting factors of inducible promoters in response to abiotic and biotic stresses, such as drought, high temperature, low temperature, salt in pepper, in order to provide a theoretical basis for further research on inducible promoters of pepper genes and stress-tolerant cultivar improvement.

Key words: Pepper; Stress; Inducible promoter; Functional analysis

辣椒为茄科辣椒属一年生或有限的多年生草本植物。近年来,我国辣椒栽培面积和产量稳居世界首位,栽培面积稳定在 210 万 hm^2 以上,占蔬菜种植面积的 10% 以上,且产量和收益十分可观,是我国经济价值较高的蔬菜作物之一^[1-2]。辣椒因营养成分丰富以及特有的辣味深受人们的喜爱,是全球销量最高的辛辣调味品,种植面积逐步扩大。但近几年,由于天气变化多端,植株在生长过程中容易受到逆境胁迫,影响植株正常生长发育。辣椒为浅根系蔬菜,既不耐旱也不耐涝,多种逆境胁迫下会严重制约辣椒的生长发育,导致产量和品质下降,因此寻找合适的措施来抵御逆境是十分重要的。前人研究大多是基于改良土壤或者栽培技术、施用农药以及常规育种等措施来提高辣椒的抗逆性,但

存在一定的局限性。随着转基因以及分子技术的迅速发展,许多研究者在植物中已经报道响应逆境胁迫的关键基因,并克服了上述局限性,为辣椒抗逆育种开辟了新途径。此外,抗逆基因对逆境的适应性越强,其表达量也越高,而基因表达受到转录调控的影响,转录调控是植物基因表达调控的一个重要环节,依赖多种反式作用因子和顺式作用元件相互协调和作用,共同提高目的基因的表达水平^[3]。

启动子是重要的顺式作用元件,它位于结构基因 5' 端上游区域,是能够指导 RNA 聚合酶与模板正确结合、保证基因转录准确而有效起始的一段 DNA 序列。它主要由核心启动子区和上游调控区组成,上游调控区有多种关键元件,能与反式作用因子共同作用,调控下游目的基因表达^[4](图 1)。根

收稿日期: 2024-07-29; 修回日期: 2024-09-24

基金项目: 国家自然科学基金(32260760); 贵州省科技计划项目(黔科合成果 2020 1Z002 号)

作者简介: 杨柳烟,女,在读硕士研究生,研究方向为蔬菜生理生态与生物技术。E-mail: 2856490986@qq.com

通信作者: 耿广东,男,教授,主要从事蔬菜栽培生理生态和生物技术研究。E-mail: genggd213@163.com

据基因表达情况,可将启动子分为组成型启动子、组织特异型启动子和诱导型启动子三类^[5]。组成型启动子在对植物进行调控时不会受到外界的影响,利用组成型启动子来调控目的基因,能够让基因持续保持强烈的高表达量,但是持续表达会造成植物能量过度消耗,阻碍植物生长,造成植物减产。组织特异型启动子是只在植物特异的组织、器官中起作用。诱导型启动子是在特定的逆境胁迫条件下被激活,启动下游基因表达,并在植物体内产生大量的调节反应特异蛋白,使得植物表现出一定的抗逆性,抵御外界环境^[6-7]。诱导型启动子的形成对提高辣椒体内的许多抗逆基因响应逆境胁迫具有重要作用,说明启动子对基因的表达调控具有重要作

用^[8]。因此,筛选出合适的诱导型启动子对选育抗逆性强的作物品种是十分重要的,该启动子在逆境条件下既可以增强植株抗逆基因的表达,提高抗逆性,达到预期目标,又不会对植物产生副作用。目前,关于植物启动子响应逆境胁迫的研究已经成为全球热点。笔者综述了辣椒应答逆境胁迫的诱导型启动子功能、顺式作用元件以及关键元件等方面的研究进展,分析了诱导型启动子调控机制,筛选出能积极响应辣椒逆境胁迫条件下合适的诱导型启动子,为辣椒抗逆分子育种技术研究提供一定的理论和研究基础。由于响应辣椒虫害的基因启动子较少,笔者只综述了与病害相关的启动子,并总结了关于辣椒逆境基因启动子预测元件的作用。

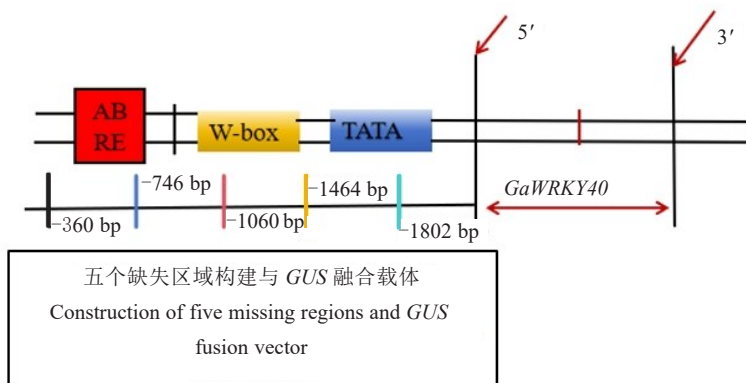


图1 启动子元件调控图

Fig. 1 Control diagram of promoter components

1 响应非生物胁迫的诱导型启动子

1.1 响应干旱胁迫的诱导型启动子

水是植物正常生长不可缺少的成分之一,水分亏缺会引起植物叶片气孔关闭、细胞渗透势降低、活性氧增加、光合作用效率下降等现象^[9]。辣椒属于浅根系植物,根系发育较弱,对水分的吸收能力差,因此缺水对辣椒生长发育有不利的影响^[10]。在干旱胁迫下,细胞可以传递信号,诱导响应水分胁迫相关基因的表达。通常抗旱基因启动子可能会包含 DRE (dehydration-responsive element) 元件、ABRE 元件 (ABA-responsive element)、ABF (ABA-binding factor) 等顺式作用元件。植物脱水素(DHNs)是一种具有高度亲水性的植物蛋白,也是一种有抗逆境胁迫能力的蛋白,在植物非生物胁迫过程中起很大的作用^[11]。前人发现 *CaDHN4* 基因启动子存在响应干旱的顺式作用元件。刘苏雅^[12]通过沉默 *CaMYB025* 转录因子使辣椒体内 *CaDHN4* 基因表达量降低,

CaDHN4 启动子含有的 CGGTCAGT 区域为干旱胁迫元件,推测转录因子 *CaMYB025* 可能与 *CaDHN4* 基因启动子的 CGGTCAGT 顺式作用元件结合,提高 *CaDHN4* 基因的表达量,二者共同响应干旱胁迫(图2)。钙离子(Ca^{2+})作为植物重要的第二信使,在植物逆境胁迫条件下,通过钙调神经磷酸酶 B 类蛋白(CBLs)和 CBLs 相互作用蛋白激酶(CIPKs)解码和传递来响应干旱胁迫^[13]。马潇^[14]研究认为,干旱胁迫可以激活 *CaCIPK3* 和 *CaCIPK7* 基因启动子,推测 *CaCIPK3* 和 *CaCIPK7* 基因启动子可以作为响应干旱胁迫的诱导型启动子,提高基因的表达量。此外,通过酵母单杂试验发现,*CaCIPK3* 基因启动子受到 *CaRKY4* 转录因子的调控,*CaCIPK7* 受到 *CaMYB4* 和 *CaMYB8* 调控,各自协调互作正向调控 2 个基因的表达,增强辣椒抗旱性。Ma 等^[15]克隆了 *CaCIPK7* 基因,分析了其启动子含有与干旱相关的 MYB 结合位点和 ABA 响应顺式作用元件,并分析认为 *CaCIPK7* 基因启动子可以作为响应干旱胁迫的诱导型启动

子。谷胱甘肽 S-转移酶(GST)是一类多功能酶家族,参与调节植物生长、发育和胁迫反应。Islam 等^[16]对辣椒的 *85GST* 基因进行鉴定,利用 PlantCARE 数据库检索了 *CaGST* 基因转录起始位点 5'上游 1000 bp

的区域,确定该启动子具有几种防御反应元件,如热胁迫响应(HSE)、低温响应(LTR)以及干旱诱导相关 MYB 结合位点(MBS)等元件,这些结果表明大多数 *CaGST* 启动子能够响应非生物胁迫。

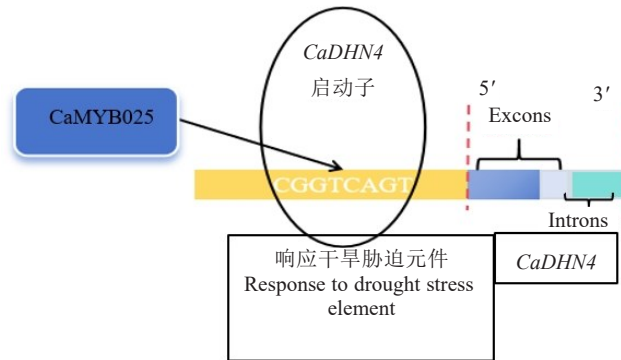


图2 CaMYB025 转录因子结合 CGGTCAGT 区域调控 *CaDHN4* 基因

Fig. 2 CaMYB025 transcription factor binding CGGTCAGT region regulates *CaDHN4* gene

1.2 响应盐胁迫的诱导型启动子

在盐胁迫下,辣椒细胞内外离子和水分平衡失调,代谢紊乱,导致植物细胞膜受损和大量的活性氧积累,造成辣椒产量降低。植物 DHNs 属于 LEA 家族,是一类高度亲水的蛋白质,在植物逆境胁迫的防御中起着至关重要的作用。Zhang 等^[17]将 *CaDHN4* 基因启动子区域克隆到载体,构建 *CaDHN4pro:GUS*,在盐胁迫处理下,过表达拟南芥株系显示出更强的 GUS 染色,表明辣椒 *CaDHN4* 基因启动可能是盐胁迫下的合适诱导启动子,提高下游目的基因的表达量。半胱氨酸蛋白酶(cysteine proteases, CPs)对调节和降解活性氧有重要作用。杜清洁等^[18]对 *CaCPI* 基因上游 2086 bp 启动子的调控元件预测得出该基因启动子具有 5 个响应干旱 MYC 元件、脱落酸(ABA)响应元件、ABRE 光响应元件 Box4 和 G-box 以及防御等顺式作用元件,并且顺式作用元件 CAAT-box 分布在整个 *CaCPI* 启动子区域中。为探索 *CaCPI* 基因启动子序列中响应盐胁迫的区域,构建 4 段不同长度(-2086、-1540、-980、-410 bp)的启动子片段重组载体,通过瞬时转化烟草以及 GUS 表达量分析表明,4 个启动子缺失区域均表现出蓝色,且高于对照,其中-410 bp 缺失区域颜色最深,表明-410~1 bp 启动子缺失片段能强烈地响应盐胁迫,并对 *CaCPI* 基因转录有较大的激活作用,增强了对盐胁迫的适应性。*CabHLH035* 在盐胁迫后表达量增加,还可以直接结合 *CaSOS1* 和 *CaP5CS* 基因启动子,并积极激

活它们的表达,增强辣椒的抗盐性^[19]。有些基因只有被启动子的某个特定区域片段激活才起作用。从辣椒基因组分离 *CACHi2* 基因启动子 1365 bp,发现启动子含有典型的 TATA-box 和 CAAT-box,可以与特异的蛋白质结合,启动转录。同时也存在 MYB、MYC 结合位点、W-box、乙烯响应元件(ERE)、低温响应元件以及 ABRE-like 等元件。为确定在盐胁迫处理下 *CACHi2* 基因启动子活性所需的最小启动子序列,构建 *CACHi2* 基因 ATG 翻译起始位点上游-1365、-878、-661 和-378 bp 启动子缺失片段到 *GUS* 报告基因上的载体,瞬时转化烟草后进行荧光定量测定,得出-878 bp 片段基因启动子对基因有明显的诱导作用,提高下游基因的表达量,从而增强植株的耐盐性^[20]。

1.3 响应低温胁迫的诱导型启动子

低温是植物主要的非生物胁迫因子,可引起植物生理生化性质的改变,从而限制植物正常生长。辣椒原产热带地区,是喜温植物,温度过低会引起辣椒水分缺失、光合作用效率降低以及养分流失等现象,从而导致蛋白合成减少、代谢能力降低等,造成生命力降低甚至停止^[21]。NAC 转录因子中的 *CaNAC035* 对辣椒的低温胁迫有正向调控作用^[22]。Wang 等^[23]利用酵母单杂交鉴定出 *CabHLH79* 与 *CaNAC035* 启动子结合,为了研究 *CabHLH79* 激活 *CaNAC035* 基因的能力,利用 *CabHLH79* 直接靶向 *CaNAC035* 启动子,在烟草中使用 *CabHLH79* 作为效应物进行了双荧光素酶(LUC)测定,发现效应因

子和 *GUS* 报告基因的共转化显著提高了启动子活性,表明 *CabHLH79* 能够激活 *CaNAC035* 基因启动子,共同调节低温胁迫。从辣椒 DNA 分离出 *CABPR1* 基因并扩增启动子,发现其启动子在-38 bp 位置包含典型的 TATA-box 元件,其他位置还存在 GCC-boxes 元件、响应赤霉素元件等。为鉴定启动子活性以及在低温调节下对 *CABPR1* 进行表达调控,构建该基因启动子的一系列片段缺失并驱动 *GUS* 报告基因,发现 4 °C 低温可以诱导 *CABPR1* 基因启动子-670 bp 片段区域响应,调控 *CABPR1* 基因表达,增强对低温的抗性^[24]。生物膜不仅为细胞生命活动提供一个稳定的内环境,还承担信号转导、能量转换等功能。而膜脂质是生物膜的重要成分之一,参与细胞结构和生理功能,因此,了解关于膜脂质与响应冷基因之间的关系是十分重要的。Kong 等^[25]利用酵母单杂交验证了 *CaNAC1* 与 *CaPLDa4* 相互作用, *CaNAC1* 基因在 4 °C 低温下被诱导且高度表达, *CaPLDa4* 基因被证明可能是导致辣椒在低温胁迫下膜脂质降解的主要因素,了解其转录调控机制具有重要意义。进一步将 *CaPLDa4* 基因启动子截短为 4 个区域,并用生物素标记,与纯化的 *CaNAC1* 蛋白进行 EMSA 反应,结果表明 *CaNAC1* 与 *CaPLDa4* 基因启动子结合元件位置是 CTG-CAG,说明 CTGCAG 可能是关键的顺式作用元件。马玉虎等^[26]研究了 *CaPP2Cs* 基因启动子的顺式作用元件,发现有低温响应元件、光响应元件、厌氧诱导元件以及激素类响应元件等。脱水素(DHNs)不仅响应干旱、盐胁迫,也是一种重要的低温响应蛋白,辣椒 *CaDHN3* 启动子序列中含有响应低温(ARE)的作用元件^[27]。

1.4 响应高温胁迫的诱导型启动子

辣椒是喜温植物,最适生长温度 20~25 °C, 35 °C 以上可发生热害。在高温胁迫下,辣椒体内活性氧代谢紊乱,自由基积累增多,造成生理代谢失调,导致植株生命力降低,最终影响辣椒的产量与品质^[28]。植物热激转录因子(Hsfs)能够调控非生物胁迫下响应基因的表达,如干旱胁迫、热胁迫和盐胁迫。在高温胁迫下,许多高等植物会诱导大量热激蛋白如 HSP70、HSP100 等的表达。从辣椒 *Hsp70* 家族鉴定出有 11 个 *CaHsp70* 基因的启动子含有热胁迫元件,其中,在 *CaHsp70* 基因的 10 号染色体启动子区 HSE 元件最多^[29]。植物受到各种胁迫如高温、机械损伤、病原菌等会在体内产生次生

代谢物,这些胁迫条件下产生的代谢产物称为植保素,当其积累到一定程度时可以抵御外界环境胁迫。*CaSC* 是辣椒倍半萜环化酶,在辣椒倍半萜植保素合成过程起着重要作用。严雁^[30]从辣椒 DNA 分离并克隆出 *CaSC2* 基因上游启动子序列,分析发现 *CaSC2* 基因启动子存在 HSE(热应激反应)元件、W-box、S-box 以及响应乙烯等元件。为研究在 43 °C 高温胁迫下 *CaSC2* 基因启动子的表达调控机制,构建一系列的 *CaSC2* 启动子缺失体(-1227、-926、-828、-660、-229 bp)融合到 *GUS* 报告基因的载体,对转基因烟草进行高温处理,证明了所有的启动子缺失体在 43 °C 高温处理下都明显诱导了 *GUS* 基因的表达,表明 *CaSC2* 基因启动子可以作为响应高温胁迫的合适诱导型启动子。 Ca^{2+} 作为植物第二信使参与高温应答的生理过程调节^[31]。突触结合蛋白(SYT)最先是动物体内的一类蛋白,后期在拟南芥植物中研究发现有 6 个 SYT 家族基因,SYT 可作为 Ca^{2+} 的结合蛋白,实现 Ca^{2+} 信号传递运输,响应高温胁迫。王榕璋^[32]对 *CaSYT5* 基因上游序列的顺式作用元件进行分析,发现该基因启动子存在高温相关元件 HSE 以及响应激素(乙烯、生长素)相关元件,并且在 40 °C 高温处理 2 h 后, *CaSYT5* 基因表达水平与空白对照形成极显著差异,预测 *CaSYT5* 基因的启动子积极应答高温胁迫。AP2/ERF 家族是植物界最大的转录因子(TF)家族之一。AP2/ERF 在植物生长发育、激素信号转导以及逆境胁迫方面有重要作用^[33]。Jing 等^[34]鉴定辣椒 AP2/ERF 基因顺式调控元件,发现总共 17 种对植物激素和各种胁迫有反应的顺式元件,如 HSE(热应激反应)、LTR(低温应激反应)、MBS(干旱诱导能力)和富含 TC 的重复序列(参与防御和应激反应),存在于大多数 *CaAP2/ERF* 基因启动子区域。

2 响应生物胁迫的诱导型启动子

在辣椒生长过程中容易发生病害影响辣椒的生长发育,造成辣椒产量降低。因此,对辣椒抗病相关基因启动子的研究十分重要。WRKY 是植物中最大的 TF 家族之一,WRKY 转录因子主要参与植物生物和非生物胁迫^[35]。Liu 等^[36]克隆出 *CaWRKY40* 基因启动子,长度为 1802 bp,分析发现该启动子含有核心启动子基序(TATA-box)、防御相关基序(Wbox 基序、ABRE 基序)等,为进一步确认

CaWRKY40 启动子在接种青枯菌(RSI)后转录上调的具体功能,将 pCaWRKY40:GUS 转化烟草,发现 RSI 显著诱导了 *GUS* 的表达。此外,为进一步确定 pCaWRKY40 的核心功能区域对 RSI 的反应,基于基序的分布产生了 pCaWRKY40 的 5 个 5' 缺失 (-1802、-1464、-1060、-746 和 -360 bp),然后与 *GUS* 基因融合,结果表明在 RIS 处理下,-1802 bp 区域表现出显著水平的 *GUS* 诱导,其他区域没有明显反应,证明-1802 bp 启动子片段的某些部分是可以作为响应青枯菌的诱导型启动子(图 3)。促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联在植物的生长发育以及应答病害方面有着重要作用。杨明星等^[37]对辣椒 *CaMAPK7* 基因启动子进行克隆,构建该启动子和 *GUS* 报告基因载体进行瞬时表达,发现在 RSI 的处理下,12 h 后 *GUS* 蛋白活性显著增强,是对照的 2.63 倍,表明 *CaMAPK7* 启动子能够响应 RSI。Shen 等^[38]利用染色质免疫沉淀(ChIP)-PCR 检测 *CaCML13* 基因的含 g-box 的启动子与 *CabZIP63* 结合情况,结果证明 *CabZIP63* 直接靶向含有 g-box 的 *CaCML13* 启动子片段结合参与了辣椒对 RSI 的免疫,启动子与转录因子共同作用增强了辣椒对 RSI 的抗性。几丁质可以被几丁质酶还原降解,从而可以抑制病原体,有研究表明,几丁质酶基因的大量表达可以增强植株对真菌的抵抗力。Liu 等^[39]发现,辣椒编码中含有几丁质结合域的几丁质酶蛋白基因 *ChiIV3*,分离出 *ChiIV3* 基因启动子上游 1017 bp 片段,分析发现存在 6 个 W-box、4 个 CGT-CA-motif 等元件,构建 pChiIV3:GUS 瞬时转化辣椒,在接种辣椒疫霉菌孢子 24 h 和 28 h 后,由 pChiIV3 驱动的 *GUS* 在辣椒叶片显著表达。为进一步确定 pChiIV3 响应辣椒疫霉菌侵染的关键启动子

区域,扩增 *ChiIV3* 启动子 5' 不同大小片段的缺失 (-1017、-892、-712、-459 和 -276 bp),构建与 *GUS* 报告基因融合载体并转化烟草,研究发现 -712~-459 bp 区域的启动子可调控 *ChiIV3* 基因表达,预测该区域的启动子可以作为疫霉菌入侵的合适诱导型启动子。*AMP1* 是拟南芥体内的一个重要编码基因^[40]。*CaAMP1* 是从油菜黄单胞菌感染的辣椒叶片中分离出的有高抑菌活性的新型抗菌蛋白基因,利用农杆菌瞬时转化烟草,分析烟草中 *CaAMP1* 基因转录起始位点上游-1190 bp 区域的一系列 5' 缺失,来确定与 *GUS* 报告基因融合的 *CaAMP1* 启动子的活性。结果表明,*CaAMP1* 基因启动子(-1190、-967、-626 bp)可作为诱导型启动子来应答烟草假单胞杆菌的胁迫。此外,研究发现转录因子 *CaRAV1* 可以激活 *CaAMP1* 基因,提高了该基因的表达能力,增强了对抗病害的能力^[41]。*CaPIMP1* 基因启动子中存在与激素和胁迫相关反应的调控元件,为了确定 *CaPIMP1* 基因启动子响应 RIS 的最小启动子序列,从 *CaPIMP1* 启动子上游的-1193、-1017、-793、-593 和 -417 bp 开始的启动子片段与 *GUS* 报告基因融合,瞬时转化烟草,最后得出只有-1193 bp 区域片段的启动子可以被病原菌诱导,调控 *CaPIMP1* 基因表达,增强抗病性^[42]。Lee 等^[43]克隆 *CaSAR82A* 基因启动子,并构建 *CaSAR82A* 启动子一系列 5' 缺失与 *GUS* 报告基因融合,瞬时转化烟草,根据 *GUS* 蛋白活性得出在感染烟草假单胞杆菌致病变种 24 h 后,启动子区域-831~-759 bp 的序列被强烈诱导表达,表明病原体诱导表达 *CaSAR82A* 基因所需的顺式作用元件可能位于启动子区域内,该区域的启动子可能促进 *CaSAR82A* 基因表达来抵御植物受到病原体侵害(表 1)。

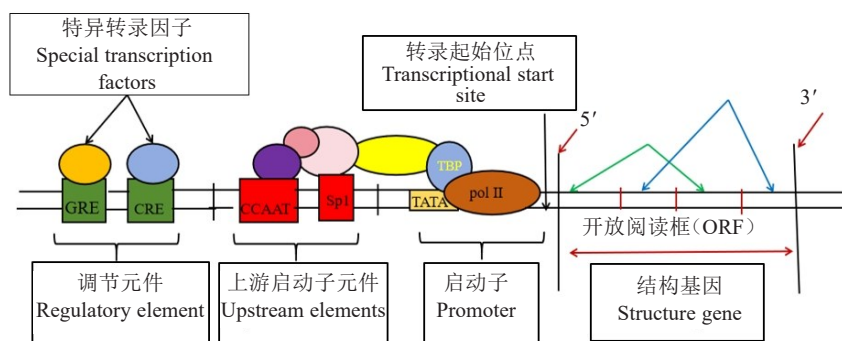


图 3 *CaWRKY40* 基因启动子与 RIS 调控

Fig. 3 *CaWRKY40* gene promoter and RIS regulation

表1 辣椒抗逆基因启动子的响应元件

Table 1 Response elements of stress resistance gene promoters in different plants

编号 Number	基因名称 Gene name	胁迫处理 Stress treatment	启动子元件功能预测 Predicting the function of starting sub elements	文献 Reference
1	<i>CaDHN4</i>	干旱 Drought	响应干旱元件和高温元件 Response to drought and high temperature elements	[12]
2	<i>CaCIPKs</i>	干旱 Drought	响应低温、干旱、ABA 元件等 Response to low temperature, drought, ABA elements, etc	[14]
3	<i>CaCIPK7</i>	干旱 Drought	含有与干旱相关的 MYB 结合位点和 ABA 响应元件 Containing drought related MYB binding sites and ABA responsive elements	[15]
4	<i>CaGST</i>	干旱 Drought	响应热胁迫响应、低温元件, 干旱诱导相关 MYB 结合位点等 Response to heat stress, low-temperature elements, drought induced MYB binding sites, etc	[16] [17]
5	<i>CaDHN4</i>	盐胁迫 Salt stress	响应脱落酸、茉莉酸、水杨酸、盐胁迫 Response to abscisic acid, jasmonic acid, salicylic acid, and salt stress	[18]
6	<i>CaCPI</i>	盐胁迫 Salt stress	响应盐胁迫元件 GT-1、干旱元件 MYC Respons to salt stress element GT-1 and drought element MYC	[19]
7	<i>CabHLH035</i>	盐胁迫 Salt stress	响应盐胁迫元件 Response to salt stress elements	[17]
8	<i>CaNAC035</i>	低温 Low temperature	激素元件、生长和发育元件 Hormone elements, growth and development elements	[23]
9	<i>CabHLH79</i>	低温 Low temperature	赤霉素元件、响应低温胁迫 Gibberellin element, response to low temperature stress	[24]
10	<i>CABPR1</i>	低温 Low temperature	响应水分、干旱、脱落酸、赤霉素等元件 Response to moisture, drought, abscisic acid, gibberellin and other elements	[25]
11	<i>CaPLD4</i>	低温 Low temperature	光响应元件、低温响应元件、激素响应元件等 Light responsive elements, low-temperature responsive elements, hormone responsive elements, etc	[26]
12	<i>CaPP2Cs</i>	低温 Low temperature	响应激素元件、响应低温元件、响应青枯菌 Response to hormone elements, response to low-temperature elements, response to <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[27]
13	<i>CaDHN3</i>	低温 Low temperature	响应低温元件 Response to low-temperature components	[30]
14	<i>CaSC2</i>	高温 High temperature	参与防御和胁迫反应的顺式作用元件 Engage in elements involved in defense and stress responses	[29]
15	<i>CaHsp70</i>	高温 High temperature	响应高温、乙烯、生长素元件 Response to high temperature, ethylene, and auxin components	[32]
16	<i>CaSYT5</i>	高温 High temperature	响应高温、非生物胁迫 Response to high temperature and abiotic stress	[34]
17	<i>CaAP2/ERF</i>	高温 High temperature	响应高温元件、低温元件、干旱元件、防御和应激元件 Response to high temperature elements, low temperature elements, drought elements, defense and stress elements	[38]
18	<i>CaWRKY40</i>	青枯菌 <i>Ralstonia solanacearum</i>	响应乙烯、病原体等元件 Response to elements such as ethylene and pathogens	[37]
19	<i>CAMAPK7</i>	青枯菌 <i>Ralstonia solanacearum</i>	响应乙烯、生物胁迫等元件 Response to ethylene, biological stress and other elements	[38]
20	<i>CaCML13</i>	青枯菌 <i>Ralstonia solanacearum</i>	响应激素元件、高温元件、防御元件 Response hormone elements, high-temperature elements, defense elements	[39]
21	<i>pChilV3</i>	辣椒疫霉菌孢子 <i>Phytophthora capsica</i>	乙烯、生物胁迫等元件 Elements such as ethylene and biological stress	[41]
22	<i>CaAMP1</i>	烟草假单胞杆菌 <i>Pseudomonas syringae</i> <i>pv. tabaci</i>	高温元件、病原体元件 High temperature elements, pathogen elements	[42]
23	<i>CaPIMP1</i>	烟草假单胞杆菌 <i>Pseudomonas syringae</i> <i>pv. tabaci</i>	GT-1 元件、干旱 MYB 转录因子结合位点、4 个 W-box 元件、 乙烯响应元件(EREs)、ACGT 元件等 GT-1 element, drought MYB transcription factor binding site, four W-box elements, ethylene responsive elements (EREs), ACGT element, etc	[42] [43]
24	<i>CaSAR82A</i>	烟草假单胞杆菌 <i>Pseudomonas syringae</i> <i>pv. tabaci</i>	响应激素和胁迫相关反应的调控元件 Regulatory elements that respond to hormone and stress-related responses	[43]

3 展 望

辣椒在16世纪传入中国,因其适应性强,在中国大面积种植且已经形成一个完整的产业链,辣椒富含辣椒素、辣椒碱、蛋白质、维生素以及矿物质等营养物质,在食用、医疗、工业上被广泛应用,人们对辣椒的需求不断提高,并对我国蔬菜周年均衡供应和丰富人们日常生活有很大作用^[44-46]。但是,近年来极端天气增多,逆境胁迫对辣椒造成的伤害增多,因此,培育出抗逆性强的辣椒品种对提高辣椒品质和产量非常重要。辣椒的育种目标已经由单一目标向多目标转变,但是抗逆性、品质、口感等性状属于数量性状,因其遗传复杂,常规育种已经无法满足育种需求,分子育种技术是一种新的育种途径。植物基因工程是将外源基因导入受体细胞,使其与受体染色体整合,从而达到改变植物特性目标的一种方法,它可以很大程度上加速植物育种进程。因此,利用基因工程技术来增强植物抗性成为主要的研究趋势,关于辣椒抗逆、抗病相关基因的研究也逐渐增多,基因功能分析和验证已取得成功,但外源基因的表达必须要有启动子的驱动,因为启动子是能够精确调控目的基因表达的“开关”。诱导型启动子是在外界某种环境胁迫下才会驱动外源基因表达的一种启动子,与组成型启动子相比较,它不仅可以避免植物基因表达过量而造成植物能量损耗,同时又可以增强植物的抗逆性,具有重要的研究意义。启动子通常与顺式作用元件结合调控目的基因,一个基因可以包含多个顺式作用元件,例如响应环境胁迫元件和抵御病原菌的元件等,诱导型启动子会以特殊的结合方式来调控抗逆相关基因的表达,增强对逆境胁迫的抵抗力。目前,关于辣椒诱导型启动子在逆境胁迫方面的功能研究以及网络调控分析研究较少^[47]。随着分子生物技术的发展,辣椒抗逆基因的诱导型启动子被分离和克隆,人们对这类启动子的元件结构和种类有了初步的认识,也明确了一些辣椒诱导型启动子的功能以及启动子顺式作用元件与转录因子的协同作用机制,它们结合并共同调控下游目的基因表达,增加抗逆基因表达量,提高抗逆性,为辣椒在抗逆遗传改良中的应用奠定理论基础。此外,随着基因编辑技术的进步,以及对关键基因的启动子研究更加深入,有研究者利用CRISPR/Cas9技术编辑基因的启动子顺式作用元件来调节基因的表达,并且取得成功。夏寒^[48]利用CRISPR/Cas9技术对水稻基

因*RISBZI*和*RPBF*的启动子区进行精细编辑来提高目的基因的表达水平,达到改良稻米品质以及获得优良农艺性状的目的。因此,今后可以利用该技术对辣椒启动子区进行编辑,利用逆境胁迫诱导的关键元件,构建包含关键元件的人工启动子,达到提高抗逆境胁迫关键基因表达量的目的,为辣椒优质育种提供新方法。总之,利用分子技术发掘辣椒新的诱导型启动子、鉴定启动子的顺式作用元件并更好地将这类启动子应用于生产中,将成为辣椒抗逆研究的主要趋势,也为辣椒应答逆境胁迫提供了新的研究思路。

参考文献

- [1] 雷建军,陈国菊,曹必好,等.辣椒分子育种研究进展[J].辣椒杂志,2009(2):1-7.
- [2] 吴永红,周书栋,李雪峰,等.2019年辣椒科学研究进展[J].辣椒杂志,2020,18(2):1-7.
- [3] 刘宽,李剑,段钰晶,等.植物非生物逆境诱导型启动子研究进展[J/OL].分子植物育种,[2022-04-12]https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220410.2211.016.html.
- [4] 朱丽萍,于壮,邹翠霞,等.植物逆境相关启动子及功能[J].遗传,2010,32(3):229-234.
- [5] KUMMARI D, PALAKOLANU S R, KISHOR P B K, et al. An update and perspectives on the use of promoters in plant genetic engineering[J]. Journal of Biosciences, 2020, 45(1): 119.
- [6] 李昕雨,王泽博,邱颖胜,等.植物启动子响应非生物逆境胁迫研究进展[J].种子科技,2022,40(3):16-18.
- [7] 张晶红,那杰.植物逆境胁迫耐受性启动子的研究进展[J].植物生理学报,2014,50(6):707-710.
- [8] VILLAO U L, CHÁVEZ N T, PACHECO C R, et al. Plant promoters: Their identification, characterization, and role in gene regulation[J]. Genes, 2023, 14(6): 1226.
- [9] 吕雪莹,赵龙,马玉申,等.干旱对辣椒生长和产量的影响[J].湖南农业科学,2023(2):29-33.
- [10] 侯杰,徐珊珊,刘红霞,等.水分胁迫对辣椒幼苗生长发育的影响[J].乡村科技,2022,13(24):80-83.
- [11] 潘潇潇,胡慧芳,陈楠,等.脱水素在植物非生物胁迫中的作用研究进展[J].农业生物技术学报,2022,30(3):594-605.
- [12] 刘苏雅.脱水素 *CaDHN4* 基因调控辣椒抗逆性机理的研究[D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2021.
- [13] SANYAL S K, MAHIWAL S, NAMBIAR D M, et al. CBL-CIPK module-mediated phosphoregulation: Facts and hypothesis[J]. Biochemical Journal, 2020, 477(5): 853-871.
- [14] 马潇.辣椒 *CaCIPKs* 对干旱和低温胁迫的响应及其调控机理研究[D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2022.
- [15] MA X, YU Y N, LI Y, et al. The CBL-interacting protein kinase *CaCIPK7* enhances drought resistance in pepper[J]. Scientia Horticulturae, 2023, 310: 111726.
- [16] ISLAM S, DAS SAJIB S, JUI S Z, et al. Genome-wide identification of glutathione S-transferase gene family in pepper, its classification, and expression profiling under different anatomi-

- cal and environmental conditions[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 9101.
- [17] ZHANG H F, LIU S Y, MA J H, et al. *CaDHN4*, a salt and cold stress-responsive dehydrin gene from pepper decreases abscisic acid sensitivity in *Arabidopsis*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(1):26.
- [18] 杜清洁, 周璐瑶, 杨思震, 等. 过表达 *CaCPI* 提高转基因烟草对盐胁迫的敏感性[J]. *生物技术通报*, 2023, 39(2):172-182.
- [19] ZHANG H F, GUO J B, CHEN X Q, et al. Pepper bHLH transcription factor *CabHLH035* contributes to salt tolerance by modulating ion homeostasis and proline biosynthesis[J]. *Horticultural Research*, 2022, 9(1):2801-2814.
- [20] HONG J K, HWANG B K. Promoter activation of pepper class II basic chitinase gene, *CAChi2* and enhanced bacterial disease resistance and osmotic stress tolerance in the *CAChi2*-overexpressing *Arabidopsis*[J]. *Planta*, 2006, 223(3):433-448.
- [21] 宋静爽. 辣椒苗期耐冷评价体系的建立及其响应机制的研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2021.
- [22] ZHANG H F, MA F, WANG X K, et al. Molecular and functional characterization of *CaNAC035*, an NAC transcription factor from pepper (*Capsicum annuum* L.)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11:14.
- [23] WANG Z Y, ZHANG Y M, HU H F, et al. *CabHLH79* acts upstream of *CaNAC035* to regulate cold stress in pepper[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(5):2537.
- [24] HONG J K, LEE S C, HWANG B K. Activation of pepper basic PR-1 gene promoter during defense signaling to pathogen, abiotic and environmental stresses[J]. *Gene*, 2005, 356:169-180.
- [25] KONG X M, ZHOU Q, ZHOU X, et al. Transcription factor *CaNAC1* regulates low-temperature-induced phospholipid degradation in green bell pepper[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71(3):1078-1091.
- [26] 马玉虎, 魏敏, 段盼盼, 等. 辣椒 *PP2C* 家族基因鉴定与响应低温胁迫的表达分析[J]. *干旱地区农业研究*, 2023, 41(6):39-53.
- [27] 蒙元成. 辣椒脱水素 *CaDHN3* 基因在非生物胁迫下的功能鉴定与调控机理研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2020.
- [28] 乔宁, 马蓉丽, 成妍, 等. 非生物胁迫对辣椒生理生化特性的影响研究进展[J]. *辣椒杂志*, 2017, 15(1):13-16.
- [29] GUO M, LIU J H, MA X, et al. Genome-wide analysis of the *Hsp70* family genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) and functional identification of *CaHsp70-2* involvement in heat stress[J]. *Plant Science*, 2016, 252:246-256.
- [30] 严雁. 辣椒 *CaSC2* 启动子分离及其表达调控机制分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2014.
- [31] SEYBOLD H, TREMPER F, RANF S, et al. Ca^{2+} signalling in plant immune response: From pattern recognition receptors to Ca^{2+} decoding mechanisms[J]. *New Phytologist*, 2014, 204(4):782-790.
- [32] 王榕璋. *CaSYT5* 在辣椒应答青枯病和高温高湿过程中的功能分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2017.
- [33] ZHANG C H, SHANGGUAN L F, MA R J, et al. Genome-wide analysis of the AP2/ERF superfamily in peach (*Prunus persica*) [J]. *Genetics and Molecular Research*, 2012, 11(4):4789-809.
- [34] JING J H, WANG M, ZHANG H X, et al. Genome-wide identification of the AP2/ERF transcription factor family in pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Genome*, 2018, 61(9):663-674.
- [35] KIM K C, LAI Z B, FAN B F, et al. *Arabidopsis* WRKY38 and WRKY62 transcription factors interact with histone deacetylase 19 in basal defense[J]. *Plant Cell*, 2008, 20(9):2357-2371.
- [36] LIU Z Q, SHI L P, YANG S, et al. A conserved double-W box in the promoter of *CaWRKY40* mediates autoregulation during response to pathogen attack and heat stress in pepper[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2020, 22(1):3-18.
- [37] 杨明星, 申磊, 文嘉瑜, 等. 辣椒 *CaMAPK7* 启动子顺式作用元件及其表达分析[J]. *热带作物学报*, 2015, 36(4):673-679.
- [38] SHEN L, YANG S, GUAN D Y, et al. *CaCML13* acts positively in pepper immunity against *Ralstonia solanacearum* infection forming feedback loop with *CabZIP63*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 21(11):4186.
- [39] LIU Z Q, SHI L P, YANG S, et al. Functional and promoter analysis of *ChiIV3*, a chitinase of pepper plant, in response to *Phytophthora capsici* infection[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(8):1661.
- [40] 游丽娟, 李祥, 金尚卉, 等. 拟南芥 *AMP1* 基因 RNAi 表达载体的构建及转基因株系的抗旱性分析[J]. *植物生理学报*, 2015, 51(5):729-736.
- [41] LEE S C. Promoter analysis of the pepper antimicrobial protein gene, *CaAMP1*, during bacterial infection and abiotic stress[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2011, 129(4):609-620.
- [42] HONG J K, HWANG B K. The promoter of the pepper pathogen-induced membrane protein gene *CaPIMP1* mediates environmental stress responses in plants[J]. *Planta*, 2009, 229(2):249-259.
- [43] LEE S C, HWANG B K. Identification and deletion analysis of the promoter of the pepper *SAR8.2* gene activated by bacterial infection and abiotic stresses[J]. *Planta*, 2006, 224(2):255-267.
- [44] 张余, 章毅颖, 任丽, 等. 辣椒抗逆相关转录因子的研究进展[J]. *上海农业学报*, 2022, 38(6):147-154.
- [45] 邹学校, 马艳青, 戴雄泽, 等. 辣椒在中国的传播与产业发展[J]. *园艺学报*, 2020, 47(9):1715-1726.
- [46] 林巧, 辛竹琳, 孔令博, 等. 我国辣椒产业发展现状及育种应对措施[J]. *中国农业大学学报*, 2023, 28(5):82-95.
- [47] 邹学校, 胡博文, 熊程, 等. 中国辣椒育种 60 年回顾与展望[J]. *园艺学报*, 2022, 49(10):2099-2118.
- [48] 夏寒. 基于 CRISPR/Cas9 的 *RISBZ1* 与 *RPBF* 启动子编辑策略调控稻米品质[D]. 江苏扬州: 扬州大学, 2023.