

齿果酸模酵素预处理对热胁迫下辣椒幼苗 生理生化特性的影响

李金玲¹, 李白雪¹, 王一超¹, 姚翔¹, 马勇斌², 杜清洁¹, 汪虎¹,

王雪婷¹, 李娟起¹, 王吉庆¹, 李猛¹, 肖怀娟¹

(1. 河南农业大学园艺学院 郑州 450046; 2. 郑州青青农场有限公司 郑州 450041)

摘要:为探究植物酵素在热害中的作用,以辣椒品种好优名越为试验材料,设置了5个处理:以清水为对照(CK),齿果酸模酵素浓度分别稀释50倍(T50)、100倍(T100)、200倍(T200)、400倍(T400)。待辣椒幼苗两片子叶完全展开时,进行齿果酸模酵素的处理,21 d后,移至45℃高温环境下处理3 d,通过测定叶片MDA、H₂O₂等的含量、抗氧化酶(SOD、POD和CAT)活性以及热胁迫相关基因的表达水平,阐明了齿果酸模酵素对热胁迫下辣椒幼苗的生理生化特性的影响。结果表明,与CK相比,T100处理可有效提高热胁迫下辣椒幼苗的相对含水量以及SOD、CAT活性,同时也降低了POD活性以及MDA、H₂O₂、脯氨酸含量和O₂^{·-}产生速率。荧光定量PCR结果表明,齿果酸模酵素处理通过调控辣椒幼苗抗氧化相关基因*CaPOD*、*CaSOD*、*CaCAT*以及热胁迫相关基因*CaHsfA2*、*CaHSP16.4*、*CaHSP70.1*、*CaWRKY55*的表达水平,增强辣椒幼苗对热胁迫的耐受性。综上,外源齿果酸模酵素处理可以缓解热害对辣椒幼苗造成的损伤,其中,稀释100倍的齿果酸模酵素效果最佳。

关键词:辣椒;热胁迫;齿果酸模酵素;生理生化特性

中图分类号:S641.3

文献标志码:A

文章编号:1673-2871(2025)07-157-09

Effects of *Rumex dentatus* enzymes pretreatment on physiological and biochemical characteristics of pepper seedlings under heat stress

LI Jinling¹, LI Baixue¹, WANG Yichao¹, YAO Xiang¹, MA Yongbin², DU Qingjie¹, WANG Hu¹, WANG Xueting¹, LI Juanqi¹, WANG Jiqing¹, LI Meng¹, XIAO Huaijuan¹

(1. College of Horticulture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, Henan, China; 2. Zhengzhou Qingqing Farm Co., Ltd., Zhengzhou 450041, Henan, China)

Abstract: To explore the role of plant enzymes in heat damage, the pepper variety Haoyoumingyue was used as the experimental material, and five treatments were set up: Using clean water as the control (CK), and *Rumex dentatus* enzymes were diluted 50-fold (T50), 100-fold (T100), 200-fold (T200), and 400-fold (T400), respectively. When the two cotyledons of the pepper seedlings were fully expanded, the *Rumex dentatus* enzyme treatment was carried out. After 21 days, the seedlings were transferred to a high-temperature environment of 45 °C for 3 days. By measuring the physiological indicators such as MDA and H₂O₂ content, the activity of three antioxidant enzymes (SOD, POD, and CAT), and the expression levels of heat-stress-related genes in the leaves of pepper seedlings after root application, the effects of *Rumex dentatus* enzymes on the physiological and biochemical characteristics of pepper seedlings under heat stress were clarified. The results showed that compared with CK, the T100 treatment could effectively increase the relative water content and the activity of SOD and CAT in pepper seedlings under heat stress, and at the same time, it also reduced the POD activity, the content of MDA, H₂O₂ and proline, and the production rate of O₂^{·-}. The results of fluorescence quantitative PCR indicated that the *Rumex dentatus* enzyme treatment enhanced the tolerance of pepper seedlings to heat stress by reg-

收稿日期:2025-04-02; 修回日期:2025-04-27

基金项目:河南省科技攻关项目(252102110174);河南省青年骨干教师项目(2023GGJS029);河南省大宗蔬菜产业技术体系专项(HARS-22-07-G4)

作者简介:李金玲,女,在读硕士研究生,主要从事设施蔬菜生理研究。E-mail:19836966224@163.com

通信作者:肖怀娟,女,副教授,研究方向为设施蔬菜栽培生理和分子生物学。E-mail:xhj234@126.com

李猛,男,讲师,研究方向为设施栽培与生理。E-mail:limengscience@163.com

ulating the expression levels of antioxidant-related genes *CaPOD*, *CaSOD*, *CaCAT* and heat-stress-related genes *CaHsfA2*, *CaHSP16.4*, *CaHSP70.1*, *CaWRKY55*. In conclusion, the exogenous *Rumex dentatus* enzyme treatment can alleviate the damage caused by heat stress to pepper seedlings, and the effect of the *Rumex dentatus* enzyme diluted 100-fold is the best.

Key words: Pepper; Heat stress; *Rumex dentatus* enzymes; Physiological and biochemical characteristics

随着全球气候变暖,热害已成为影响植物生长和作物产量的最大限制因素之一。热胁迫对植物的损害贯穿整个生长发育周期。在萌发阶段,高温胁迫会导致种子的胚芽长度和根尖数量显著减少^[1]。营养生长过程中,热胁迫会引起细胞膜系统损伤、叶绿素合成速率下降和叶片气孔导度显著降低,光合速率下降,影响植株株高、叶面积,严重时可能导致植株萎蔫甚至死亡^[2]。生殖生长期,热胁迫会引发花粉败育、花粉管生长异常,雌蕊细胞中活性氧(ROS)过量堆积,诱导雌蕊细胞程序性死亡^[3]。为应对热胁迫,植物会激活自身的防御系统,一方面通过超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等关键酶清除 ROS,减轻膜脂过氧化损害^[4];另一方面通过渗透调节作用维持细胞膜完整性^[5]。陈艳等^[6]发现,热胁迫会提高番茄幼苗的脯氨酸、过氧化氢(H₂O₂)、超氧阴离子(O₂^{•-})和丙二醛(MDA)含量,同时诱导热胁迫相关基因(*SlHsfA1a*、*SlHsfA1b*、*SlHSP70*、*SlHSP90*)和抗氧化酶相关基因(*SlPOD*、*SlCAT*、*SlAPX*)的表达。李萌楠等^[5]研究发现,40℃的持续高温提高了辣椒叶片中渗透调节物质含量、抗氧化酶活性,并且诱导热胁迫相关基因(*CaWRKY19*、*CaWRKY55*、*CaWRKY40*)的表达。申梦吟^[7]研究发现,热胁迫下甜椒叶片 SOD、POD、CAT 活性均呈先上升后下降的趋势,MDA 含量随热胁迫时间的增加持续升高,甜椒产量显著降低。这些研究共同印证了热害对植物生理和分子层面均会造成严重损伤,威胁作物生产。

植物酵素是一种以植物为原料,添加或不添加辅料,经过微生物厌氧发酵得到的具有特定生物活性的物质^[8]。因其含有酶、矿物质、维生素及次生代谢产物等多种有益成分,且绿色环保,故在农业生产上具有很大的应用潜力^[9]。目前,植物酵素在土壤改良、植物促生、抗病等领域研究较多。例如,植物酵素营养液可通过促进有益微生物繁殖,优化土壤微生物结构,改善土壤微生态环境理化性质,提高作物对土壤养分的有效吸收^[10]。樊宇婷等^[11]研究发现水培小白菜中添加稀释 500 倍的桑叶酵素对小白菜的提质增效有显著效果。康利允等^[12]用稀释 200 倍的酵素液肥浇灌土壤,可以改善设施甜瓜连作障碍,有效提高了甜瓜产量和品质。李辰琼等^[13]

对黑麦草施用稀释 600 倍的寄云酵素液肥,显著提高了黑麦草的产量,增强其抗锈病能力。上述结果表明植物酵素在克服土壤连作障碍、提高作物产量品质、减轻生物胁迫方面均有积极作用,但关于植物酵素对非生物胁迫缓解效应的研究仍为空白。

辣椒(*Capsicum annuum* L.)属于茄科辣椒属,原产于中南美洲热带雨林地区,喜温,但对温度较为敏感,环境温度超过 32℃即可产生热害,造成减产和果实品质下降。齿果酸模酵素作为一种新型植物酵素,前期已被证实能显著促进小白菜生物量积累,其作用机制可能涉及促进养分吸收、增强抗氧化能力及调控基因表达等多重途径^[14]。本研究拟通过不同浓度齿果酸模酵素预处理,分析其对热胁迫下辣椒幼苗叶片中抗氧化酶活性、渗透调节物质含量及相关基因表达的影响,揭示植物酵素调控植物耐热性的生理作用机制,为辣椒高效安全生产提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用辣椒品种为好优名越,购于成都好特园艺有限公司;齿果酸模酵素母液由河南农业大学园艺学院设施蔬菜栽培课题组提供。

1.2 试验设计

试验于 2024 年 3—10 月在河南农业大学园艺学院设施蔬菜栽培实验室进行。选取形态饱满、大小均一的辣椒种子,置于 55℃恒温水浴浸种 20 min,室温浸泡 6 h 后,滤纸吸干表面水分,均匀平铺于铺有双层滤纸的培养皿中,加入适量蒸馏水保持湿度,置于人工气候箱中(温度 28℃、相对湿度 70%)暗培养催芽。待种子露白后,播于 72 孔穴盘中。参考吴少博^[14]的方法进行齿果酸模酵素的制备和保存。齿果酸模酵素设置 4 个浓度梯度:稀释 50 倍(T50)、稀释 100 倍(T100)、稀释 200 倍(T200)、稀释 400 倍(T400),以清水为对照(CK),共 5 个处理。待辣椒幼苗 2 片子叶完全展开时,用齿果酸模酵素浇灌植株根部,每间隔 2 d 浇 1 次,其间不补充其他水分。21 d 后,即幼苗长至 4~5 真叶期,移至温度为 45℃、光照强度为 30 000 lx、光周期为 16 h/8 h、相对湿度为 70%的光照培养箱中进

行热胁迫,处理时间为3 d。本试验为完全随机试验,每个处理3次重复,每个重复15株。

热处理0 d、1 d、3 d时,分别观察辣椒表型并拍照记录。热处理0 d和3 d时,采集叶片用于叶片相对含水量、活性氧(ROS)及抗氧化酶等相关指标的测定;热处理1 d时,采集叶片进行二氨基联苯胺(di-aminobenzidine, DAB)、硝基蓝四氮唑(nitro blue tetrazolium, NBT)染色以了解热胁迫下辣椒植株 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 的积累程度,并取热处理0 h和6 h的叶片提取RNA,用于抗氧化酶相关基因和热胁迫相关基因表达量的测定。

1.3 项目测定方法

1.3.1 叶片相对含水量(relative water content, RWC)的测定 参考常菲菲等^[15]的方法进行叶片相对含水量的测定,选取自上而下第3片功能叶称量鲜质量,将叶片完全浸没于盛有蒸馏水的玻璃培养皿中,室温25℃浸泡6 h至叶片达到完全饱和状态。取出后用滤纸吸除叶片表面游离水分,立即测定饱和鲜质量。随后将样品置于72℃烘箱中连续烘干48 h至恒质量,测定干质量。

1.3.2 细胞组织化学染色与生理生化指标的测定 参考Liu等^[16]的方法对辣椒叶片进行DAB和NBT染色。参考张海波等^[17]的方法测定叶片中丙二醛(MDA)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性;采用茆三酮法测定脯氨酸含量,采用四氯化钛法测定 H_2O_2 含量,采用羟胺氧化法测定超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)产生速率^[18]。

1.3.3 总RNA提取及实时荧光定量PCR分析 使用Trizol试剂盒(TaKaRa)提取辣椒叶片总RNA,使用反转录试剂盒All-in-One Script RT premix(with dsDNase)进行反转录,得到cDNA产物。用ddH₂O将其质量浓度稀释至200 ng·μL⁻¹,根据SYBR Premix Ex Taq II试剂盒说明书进行实时荧光定量PCR(qRT-PCR)分析,以CaUBI为内参基因,采用2^{-ΔΔCt}阈值比较法计算基因相对表达量。

用于qRT-PCR分析的基因有辣椒抗氧化酶相关基因CaSOD、CaPOD、CaCAT,脯氨酸合成相关基因CaP5CS,热胁迫相关基因CaHsfA2、CaHSP16.4、CaHSP70.1、CaWRKY55。基因的引物见表1。

1.4 数据分析

采用WPS Excel 2020进行数据处理。采用SPSS17.0统计软件进行数据方差分析。采用WPS Excel 2020进行图表制作。

表1 qRT-PCR所用引物序列
Table 1 Primer sequences used in qRT-PCR

引物 Primer	序列(5'-3') Sequences (5'-3')
CaUBI-F	TGTCCATCTGCTCTCTGTTG
CaUBI-R	CACCCCAAGCACAATAAGAC
CaCAT-F	AAGCAGGCTGGGAGAGATA
CaCAT-R	CATGAGTGACTCGGGGATCG
CaSOD-F	GAGAACCCTCATGCTGGTGA
CaSOD-R	GAGAGGAATCTGCTCGTCGG
CaPOD-F	GAGAAGAGGGCTGCACCAAA
CaPOD-R	TGCTGTCTGGCATCTCTTC
CaP5CS-F	ATTCTGCTGATCCTGCTCGG
CaP5CS-R	CCCGAATCTGCTCACACAGT
CaHsfA2-F	AGCATCAGTAGCCACAGC
CaHsfA2-R	CTGCTTGATTCATTTTCCA
CaHSP16.4-F	CAGTGACCCAATGGTTGCCA
CaHSP16.4-R	TCCTCCCGTTGTCAACTTCC
CaHSP70.1-F	GTTGAGGAGGCTACGGACT
CaHSP70.1-R	AACTGTTGAACCTTCGGGAT
CaWRKY55-F	TTGATCACAGAGCTAGGGCG
CaWRKY55-R	CCATTCTTGGAGCAGCCACT

2 结果与分析

2.1 不同浓度齿果酸模醇素预处理对辣椒响应热胁迫的影响

由图1可知,热处理前,不同浓度齿果酸模醇素预处理植株与CK植株表型无明显差异。热处理1 d时,各处理植株均有不同程度的受害症状,其中,CK植株受害最为严重,呈严重萎蔫、皱缩,叶缘卷曲等症状;而T100处理的叶片仅出现轻微失水下垂现象,症状最轻。热处理3 d后,CK植株出现生长点坏死、全叶发黄、叶尖叶缘坏死焦枯等症状,T100处理的叶片出现黄化现象,部分叶片干枯,但生长点良好。其他处理的植株受害症状介于CK和T100处理之间。由图2可知,热胁迫前,CK与不同浓度齿果酸模醇素预处理的辣椒叶片相对含水量无显著差异,热胁迫3 d后,除T100处理叶片相对含水量无显著变化外,其余处理均显著低于热胁迫前。上述结果表明齿果酸模醇素预处理能够不同程度地提高辣椒幼苗对热胁迫的耐受性,其中T100处理的效果最好。

2.2 不同浓度齿果酸模醇素预处理对热胁迫下辣椒幼苗ROS积累和MDA含量的影响

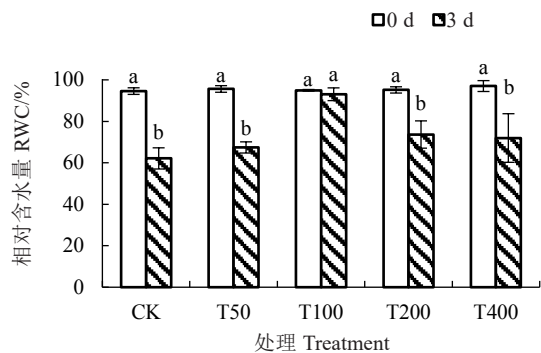
为了解热胁迫下辣椒叶片中 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 的积累状况,对辣椒叶片分别进行NBT和DAB组织化学染色。由图3可知,热处理1 d后,各处理叶片中



注:0 d 表示热处理前;1 d 表示热处理 1 d;3 d 表示热处理 3 d。下同。
Note: 0 d represent before high-temperature treatment; 1 d represent after 1 day of high-temperature treatment; 3 d represent after 3 days of high-temperature treatment. The same below.

图 1 不同浓度齿果酸模酵素预处理对热胁迫下辣椒幼苗生长的影响

Fig. 1 The effects of different concentrations of *Rumex dentatus* enzymes pre-treatment on the growth of pepper seedlings under heat stress



注:不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著。下同。
Note: Different lowercase letters indicate significant difference among different treatments at 0.05 level. The same below.

图 2 不同浓度齿果酸模酵素预处理对热胁迫下辣椒幼苗叶片相对含水量的影响

Fig. 2 Effects of different concentrations of *Rumex dentatus* enzyme pre-treatments on the relative water content of pepper seedling leaves under heat stress

$O_2\cdot^-$ 、 H_2O_2 均不同程度积累,其中均为 CK 积累最多,T100 处理积累最少。由图 4-A 可知,热处理前,各处理的 $O_2\cdot^-$ 产生速率无显著差异。热处理 3 d 后,各处理的 $O_2\cdot^-$ 产生速率均显著提高,其中 T100 处理的 $O_2\cdot^-$ 产生速率最低,为 $157.0\text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$,

显著低于其他处理。由图 4-B 可知,热处理 3 d 后, T100 处理辣椒叶片中 H_2O_2 含量与热处理前相比无显著差异,但显著低于热处理 3 d 后其他处理。由图 4-C 可知,热处理前各处理叶片中 MDA 含量无显著差异;热处理 3 d 后除 T100 处理与热处理前无显著差异外,其他各处理叶片 MDA 含量显著增加。上述结果表明,热胁迫诱导辣椒幼苗叶片中 ROS 过度积累,而齿果酸模酵素预处理能够抑制 ROS 的异常积累,减轻热胁迫对辣椒幼苗的热损伤,其中 T100 处理效果最佳。

2.3 不同浓度齿果酸模酵素预处理对热胁迫下辣椒幼苗抗氧化酶活性及脯氨酸含量的影响

由图 5-A 可知,热处理前,T100 处理辣椒叶片的 CAT 活性显著高于 T50 和 T400 处理,但显著低于 CK 和 T200 处理。热处理 3 d 后,T100 处理辣椒叶片 CAT 活性与热处理前无显著变化,其他处理与热处理前相比 CAT 活性显著降低,但其他处理间无显著差异。由图 5-B 可知,热处理前 CK 与不同浓度齿果酸模酵素预处理辣椒叶片的 SOD 活性无显著差异,热处理 3 d 后,T100 处理的 SOD 活性显

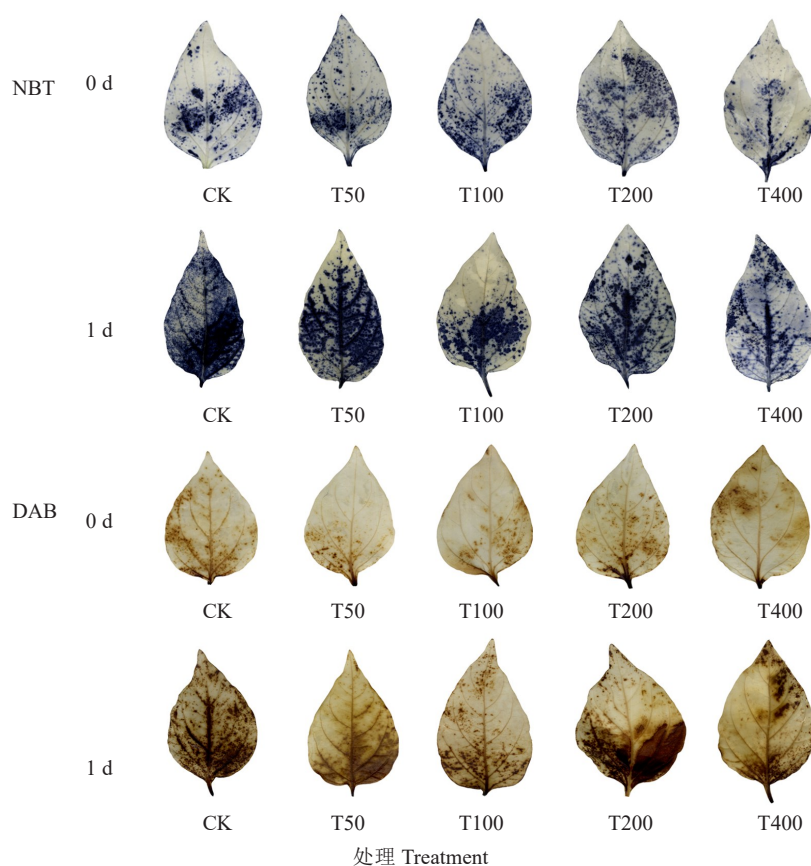


图3 不同浓度齿果酸模酵素预处理后辣椒幼苗叶片 DAB 和 NBT 组织化学染色结果

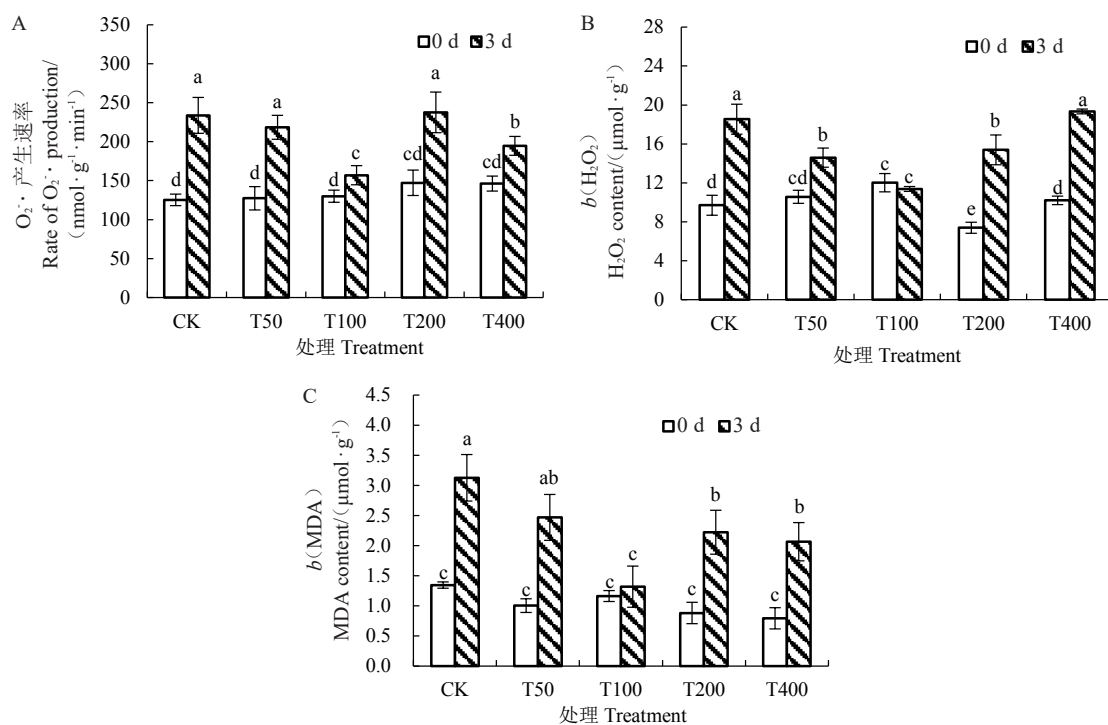
Fig. 3 Results of DAB and NBT tissue chemical staining of pepper seedlings leaves after pre-treatment with *Rumex dentatus* enzymes at different concentrations

图4 不同浓度齿果酸模酵素预处理对热胁迫下辣椒叶片 ROS 积累的影响

Fig. 4 Effects of different concentrations of *Rumex dentatus* enzymes pre-treatment on ROS accumulation in leaves of pepper under heat stress

著升高,且显著高于其他处理,达到 $422.3 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,其他处理 SOD 活性显著降低。由图 5-C 可知,热处理前,除 T200 处理辣椒叶片 POD 活性显著高于其他处理外,其他处理间无显著差异。热处理 3 d 后, T100 处理辣椒叶片 POD 活性无显著变化,但显著低于其他处理,其他处理均有显著提高,其中 CK 的 POD 活性变化最大,升高了 341.6%,显著高于其他处理。由图 5-D 可知,热处理前 T100 处理辣椒叶片脯氨酸含量与 T50 和 T200 处理无显著差异,但显著低于 CK 和 T400 处理,热处理 3 d 后, T100 处理的脯氨酸含量无显著变化,但显著低于其他处理,其他处理的脯氨酸含量均显著升高,其中,CK

变化最大,较热处理前提高了 205.6%。由此可见,热胁迫可通过降低辣椒叶片 SOD、CAT 活性,以及提高 POD 活性和脯氨酸含量来影响辣椒幼苗的生长,而齿果酸模酵素预处理可通过抑制植株抗氧化酶活性和脯氨酸含量的大幅度变化,来缓解热胁迫给辣椒植株带来的损伤,其中 T100 处理的作用效果最佳。

2.4 不同浓度齿果酸模酵素预处理对辣椒幼苗抗氧化酶相关基因 *CaCAT*、*CaSOD*、*CaPOD* 和脯氨酸合成相关基因 *CaP5CS* 表达量的影响

由图 6 可以看出,热胁迫可诱导辣椒叶片 *CaCAT*、*CaSOD*、*CaPOD*、*CaP5CS* 基因相对表达量不

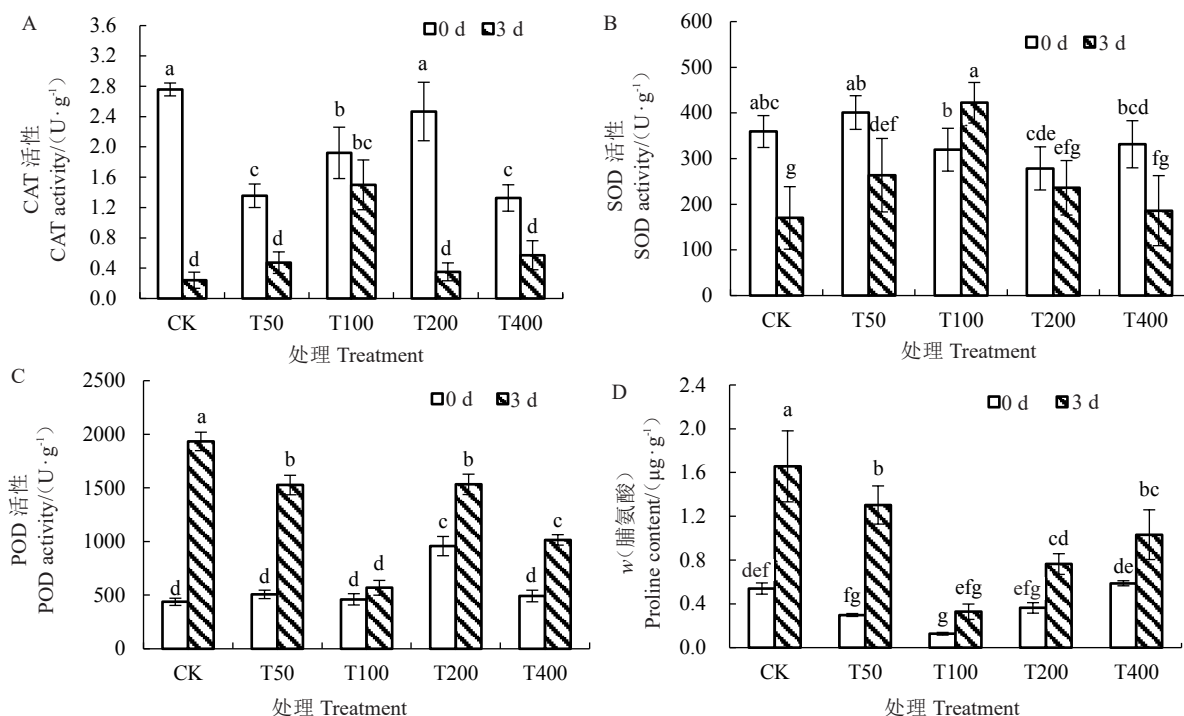
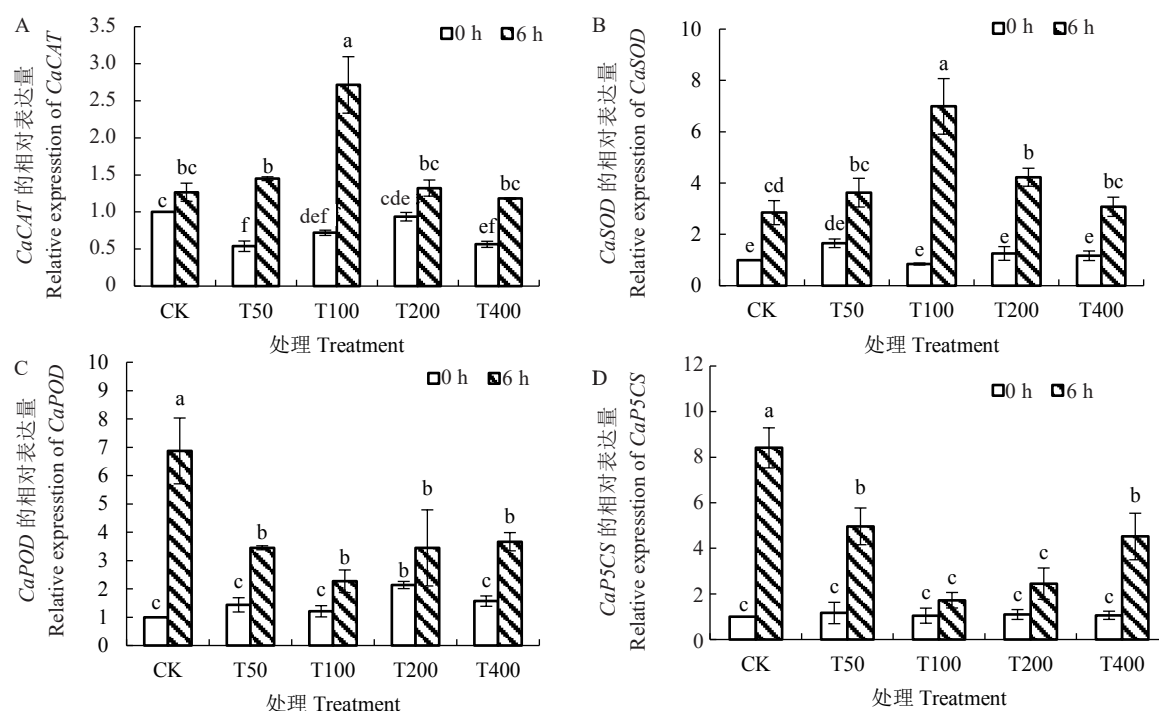


图 5 不同浓度齿果酸模酵素预处理对热胁迫下辣椒幼苗叶片抗氧化酶活性及脯氨酸含量的影响

Fig. 5 Effects of pre-treatment with different concentrations of *Rumex dentatus* enzymes on the antioxidant enzyme activities and proline content in pepper seedling leaves under heat stress

同程度地变化。由图 6-A 可知,热处理前 CK 辣椒叶片中 *CaCAT* 相对表达量显著高于 T50、T100 和 T400 处理,但与 T200 处理无显著差异,热处理 6 h 后, T100 处理辣椒叶片中 *CaCAT* 基因相对表达量最高,且显著高于其他处理。热处理前,CK 与不同浓度齿果酸模酵素预处理辣椒叶片中 *CaSOD*、*CaPOD* (T200 处理除外)、*CaP5CS* 基因相对表达量均无显著差异,热处理 6 h 后, *CaSOD* 的变化趋势与 *CaCAT* 一致, T100 处理辣椒叶片中 *CaSOD* 的相对表达量变化最大,且显著高于其他处理。热处理 6 h

后 *CaPOD* 和 *CaP5CS* 的相对表达量变化与 *CaCAT* 趋势相反,均为先降低再升高,其中 T100 处理均最低。与热处理前相比,热处理 6 h 后,CK 辣椒叶片中 *CaPOD* 和 *CaP5CS* 的相对表达量增幅均最大,分别增加了 6.87 倍和 8.41 倍,而 T100 处理的 *CaPOD* 和 *CaP5CS* 相对表达量与热处理前相比仅增加了 2.27 倍和 1.72 倍。结果表明,齿果酸模酵素预处理可能通过增加 *CaCAT*、*CaSOD* 的相对表达量,降低 *CaPOD*、*CaP5CS* 的相对表达量来缓解热胁迫带来的损伤,其中 T100 处理的作用效果最佳。



注:0 d 表示热处理前;6 h 表示热处理 6 h。下同。

Note: 0 d represent before high-temperature treatment; 6 h represent after 6 hours of high-temperature treatment. The same below.

图 6 不同浓度齿果酸模酵素预处理对热胁迫下辣椒幼苗叶片抗氧化酶及脯氨酸合成相关基因表达量的影响

Fig. 6 Effects of pre-treatment with different concentrations of *Rumex dentatus* enzymes on the expression quantities of antioxidant enzymes and proline synthesis-related genes in pepper seedling leaves under heat stress

2.5 不同浓度齿果酸模酵素预处理对辣椒幼苗热胁迫相关基因表达量的影响

为了进一步从分子水平上探讨根施齿果酸模酵素对辣椒幼苗抵抗热胁迫的调控机制,通过 qRT-PCR 测定辣椒叶片中热胁迫相关基因 *CaHsfA2*、*CaHSP16.4*、*CaHSP70.1*、*CaWRKY55* 的相对表达量。由图 7-A~D 可知,热胁迫可诱导各处理辣椒幼苗叶片中 *CaHsfA2*、*CaHSP16.4*、*CaHSP70.1*、*CaWRKY55* 上调表达,其中, T100 处理的 4 个基因相对表达量均最高,与 CK 相比,分别显著增加了 635.5、89.7、20.1、13.4 倍,增加幅度均最大。结果表明齿果酸模酵素预处理可通过提高辣椒幼苗叶片中热胁迫相关基因的表达量,来增强辣椒幼苗的耐热性,其中 T100 处理的效果最好。

3 讨论与结论

温度是调控植物生理过程的关键因素之一,对辣椒的生长发育有深刻的影响,极端高温使辣椒的细胞结构遭到破坏,生理代谢紊乱,严重时导致辣椒叶片萎蔫甚至死亡^[19]。叶片相对含水量在一定程度上反映了植物的保水能力,高温胁迫下,叶片相对含水量通常会下降,而下降幅度较小的植株通常

表现出较强的抗高温能力^[20]。在细胞失水初期,为使细胞膨压维持在一定水平,细胞内会积累大量的脯氨酸以降低细胞水势^[21],保护细胞渗透平衡和亚细胞结构稳定^[22]。但脯氨酸积累超过一定阈值后会出现明显的毒害作用,导致呼吸链电子超载、外渗,产生大量 ROS,对蛋白质等生物大分子的结构造成损伤^[23]。本研究发现,与热处理前相比,热处理 3 d 后,CK 辣椒幼苗出现严重的受害症状,RWC 显著降低,脯氨酸含量显著升高,而经齿果酸模酵素预处理的辣椒幼苗受害程度明显减轻,其中, T100 处理辣椒幼苗的受害程度最轻,RWC 和脯氨酸含量无明显变化。*P5CS* 基因负责编码植物体内脯氨酸合成的关键限速酶^[24],调控谷氨酸还原为谷氨酸半醛,随后谷氨酸半醛转化为 P5C 中间体,并由 P5C 还原酶(P5CR)进一步还原为脯氨酸,该基因表达量上调可直接导致游离脯氨酸含量增加^[25]。本研究发现,热处理 3 d 后 CK 中 *CaP5CS* 的相对表达量最高,而齿果酸模酵素预处理辣椒幼苗叶片中 *CaP5CS* 的相对表达量均较 CK 显著降低,其中 T100 处理 *CaP5CS* 的相对表达量最低。因此,推测齿果酸模酵素可能通过增强细胞膜稳定性,下调脯氨酸合成关键限速酶基因 *CaP5CS* 的表达,从而有

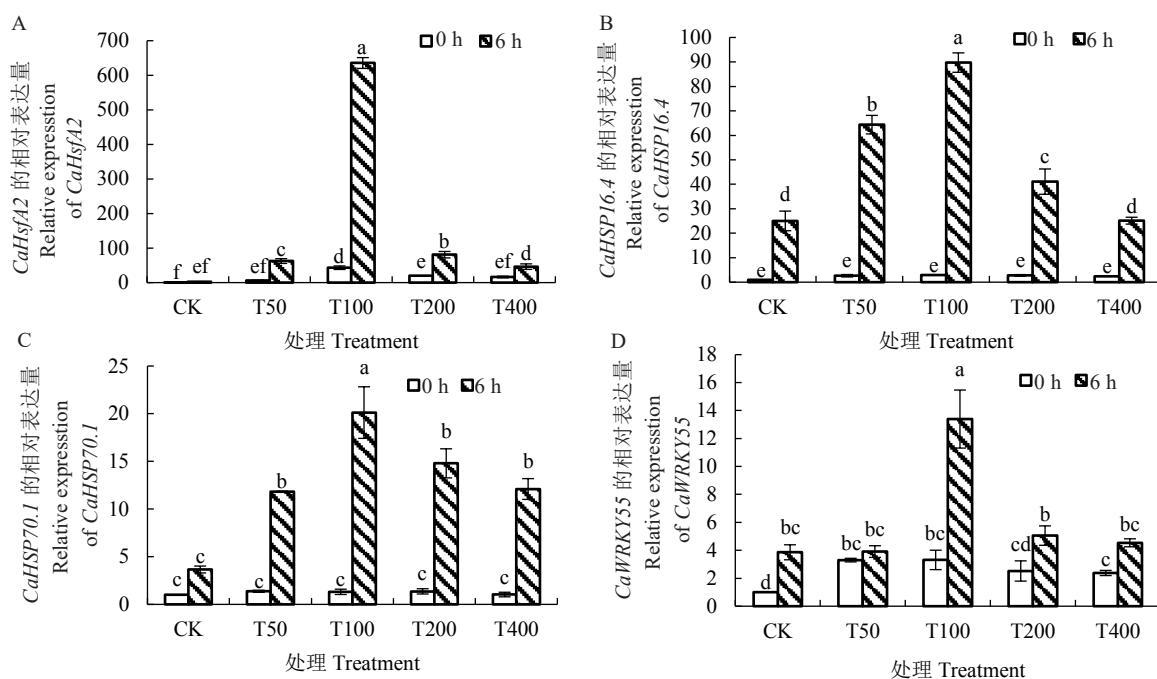


图7 不同浓度齿果酸模酵素预处理对辣椒幼苗叶片热胁迫相关基因表达量的影响

Fig. 7 Effects of different concentrations of *Rumex dentatus* enzymes pre-treatments on the expression levels of heat stress-related genes in pepper seedling leaves

效减少脯氨酸等渗透调节物质的积累,抑制水分的流失。常菲菲等^[15]发现,GA、BA通过提高番茄幼苗的相对含水量,提高番茄幼苗对高温的耐受性。郑卫国等^[26]研究证实,外源CaCl₂可使月季脯氨酸含量降低,RWC升高。上述结果与本研究T100处理的结果一致。值得关注的是,高浓度或低浓度的酵素预处理对提高辣椒幼苗耐热性效果不佳,推测稀释50倍齿果酸模酵素处理可能因活性物质过载引发代谢压力,而稀释400倍齿果酸模酵素处理则因有效成分不足难以发挥调控作用。

在植物生理稳态下,ROS的生成与清除维持着动态平衡,该平衡体系在非生物胁迫响应中具有关键作用。当遭遇高温、干旱等环境胁迫时植物体内ROS代谢会发生直接或间接的改变,如果不能及时清除ROS,ROS会使细胞内生物大分子氧化,破坏生物膜的完整性。SOD、POD、CAT作为细胞中主要的抗氧化酶,可通过清除ROS自由基维持细胞膜的完整性,是植物抗逆性的重要指标^[27]。其中,SOD可特异性清除细胞中多余的O₂•,CAT负责分解H₂O₂^[28],而POD兼具ROS生成和清除的双重功能^[29]。本试验结果显示,热处理3 d后,CK辣椒幼苗叶片中CAT、SOD的活性显著降低,POD活性显著升高。而齿果酸模酵素预处理显著降低了这3种抗氧化酶活性的变化幅度,其中,T100处理的

CAT、POD活性无显著变化,SOD活性显著升高。值得注意的是,短期高温(6 h)可诱导各处理辣椒叶片中CaSOD、CaCAT基因表达上调,但热处理3 d后,与热处理前相比两者酶活性下降(T100处理SOD活性除外),这与草莓高温胁迫下SOD活性变化规律一致^[30],热处理显著提高了CaPOD的相对表达量及POD活性(T100处理除外),而齿果酸模酵素通过降低热处理后POD活性(与CK比)进而抑制ROS的生成,该现象与α-亚麻酸调控辣椒盐碱胁迫的抗氧化响应模式相似^[31]。综上,齿果酸模酵素可通过维持细胞氧化还原稳态,有效缓解ROS积累引发的氧化损伤,从而增强辣椒对热胁迫的适应性,其中T100处理的效果最好。

HsfA2在植物耐热性形成中起关键作用,辣椒CaHsfA2基因已被证实受热胁迫显著诱导,其异源表达可提高拟南芥和烟草的耐热性^[32-33]。作为分子伴侣的热激蛋白(HSPs)通过维持蛋白质稳态增强耐热能力,编码热激蛋白的基因的表达水平与植物耐热性呈显著正相关^[34]。热处理6 h后,CK辣椒幼苗叶片中CaHsfA2、CaHSP70.1的相对表达量无显著变化,CaHSP16.4、CaWRKY55的相对表达量显著增加。经齿果酸模酵素预处理的辣椒幼苗叶片中CaHsfA2、CaHSP16.4、CaHSP70.1的相对表达量显著增加,且在热胁迫下呈现浓度依赖性特征,其中,

T100 处理的增加幅度显著高于其他处理,且可显著提高 *CaWRKY55* 的相对表达量,这与 Liang 等^[35]关于 HSPs 响应热胁迫的动态规律具有一致性,表明适宜浓度的齿果酸模醇素可有效增强分子伴侣系统的应激响应能力。同时,*CaWRKY55* 的快速诱导特征与二氢吡吩铁调控辣椒抗逆性的 *WRKY* 转录因子表达模式相吻合,印证了 *WRKY* 家族在胁迫信号转导中的瞬时响应特征^[35]。研究结果表明,齿果酸模醇素可能通过协同调控 *CaHsfA2*、*CaHSPs* 及 *CaWRKY55* 等关键基因的表达网络,激活下游渗透调节物质合成及抗氧化酶系统,进而修复高温引起的代谢紊乱。

综上所述,根施齿果酸模醇素通过维持叶片水分平衡、提高抗氧化酶 SOD 和 CAT 活性,降低 POD 活性、减轻高温诱导的膜脂过氧化损伤、激活耐热相关基因表达来增强辣椒耐热性,其中齿果酸模醇素稀释 100 倍的作用效果最佳。本研究为设施辣椒热胁迫的防控提供了生态且安全的策略,为新型生物源抗逆制剂的研发提供了理论支撑。

参考文献

- [1] 徐彤,王英琪,李渊,等.小分子热激蛋白在植物应对高温胁迫中的作用[J].江苏农业学报,2024,40(7):1343-1350.
- [2] 王坤,杨淑华,丁杨林.植物应答高温胁迫的机制研究进展[J].植物生理学报,2023,59(4):759-772.
- [3] 李渊,唐洋,吴云飞,等.水稻对高温逆境的响应机制及防御措施研究进展[J].中国农学通报,2024,40(33):1-10.
- [4] 赵静珂.辣椒对热胁迫的生理响应及耐热相关基因功能验证[D].郑州:河南农业大学,2024.
- [5] 李萌楠,乐秀虎,周阳,等.二氢吡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.
- [6] 陈艳,韩利源,杜子龙,等.外源肌醇提高番茄幼苗耐高温胁迫的调控机制[J].西北植物学报,2024,44(12):1856-1867.
- [7] 申梦吟.温度胁迫对设施甜椒生理特性及产量的影响[D].南京:南京信息工程大学,2023.
- [8] 闫文静,王秀荣,吕丽霞.农用酵素在作物栽培和畜禽生产的应用[J].现代农村科技,2025(2):95-96.
- [9] 闫学成.农用植物酵素发酵检测分析及其对不同作物的促生防病作用[D].山东泰安:山东农业大学,2024.
- [10] 文亚雄,谭石勇.酵素菌技术及我国酵素菌肥料应用现状[J].湖南农业科学,2016(1):112-114.
- [11] 樊宇婷.桑叶酵素液在水培小白菜上的应用效果研究[D].郑州:河南农业大学,2022.
- [12] 康利允,李晓慧,高宁宁,等.酵素液肥改良设施甜瓜连作土壤质量的效应[J].中国瓜菜,2021,34(11):63-67.
- [13] 李辰琼,莫志萍,陈燕萍.黑麦草施用寄云酵素液肥效果研究[J].贵州农业科学,2007(6):83-84.
- [14] 吴少博.齿果酸模醇素制备配方及功能成分研究[D].郑州:河南农业大学,2024.
- [15] 常菲菲,杨志杰,冉春霞,等.外源 γ -氨基丁酸缓解番茄幼苗热胁迫的生理生化机制[J].植物生理学报,2023,59(11):2039-2051.
- [16] LIU N, JIN Z Y, WANG S S, et al. Sodic alkaline stress mitigation with exogenous melatonin involves reactive oxygen metabolism and ion homeostasis in tomato[J]. Scientia Horticulturae, 2015, 181:18-25.
- [17] 张海波,杨桂娟,高卫东,等.香椿种子特定贮藏条件下活力变化的研究[J].林业科学研究,2019,32(2):152-159.
- [18] 李合生.现代植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2002.
- [19] 张宗申,利容千,王建波.外源 Ca^{2+} 预处理对高温胁迫下辣椒叶片细胞膜透性和 GSH、AsA 含量及 Ca^{2+} 分布的影响[J].植物生态学报,2001(2):230-234.
- [20] 刘燕.黑壳楠对高温胁迫的生理响应及外源水杨酸的缓解效应[D].郑州:河南农业大学,2024.
- [21] 桑子阳,马履一,陈发菊.干旱胁迫对红花玉兰幼苗生长和生理特性的影响[J].西北植物学报,2011,31(1):109-115.
- [22] 焦蓉,刘好宝,刘贯山,等.脯氨酸累积与植物抗渗透胁迫[J].中国农学通报,2011,27(7):216-221.
- [23] 张林,陈翔,吴宇,等.脯氨酸在植物抗逆中的研究进展[J].江汉大学学报(自然科学版),2023,51(1):42-51.
- [24] 王玲,张艳萍,齐燕妮,等.胡麻 *P5CS* 基因家族进化模式分析及 *LusP5CS1* 基因耐旱能力验证[J].作物学报,2024,50(10):2515-2527.
- [25] 胡月.促生长基因 *RPAP3* 的功能及抗逆基因 *P5CS1* 的育种潜力研究[D].四川雅安:四川农业大学,2024.
- [26] 郑卫国,许勇,程艳,等.不同生物刺激素对月季高温胁迫的缓解能力对比[J].林业科技通讯,2025(1):11-16.
- [27] 梁朋,陈振德,罗庆熙.南方根结线虫对不同砧木嫁接番茄苗活性氧清除系统的影响[J].生态学报,2012,32(7):2294-2302.
- [28] 孙宪芝,郭先锋,郑成淑,等.高温胁迫下外源钙对菊花叶片光合机构与活性氧清除酶系统的影响[J].应用生态学报,2008,19(9):1983-1988.
- [29] 崔慧萍,周薇,郭长虹.植物过氧化物酶体在活性氧信号网络中的作用[J].中国生物化学与分子生物学报,2017,33(3):220-226.
- [30] 吴夏明,杨敏,周陈平,等.不同浓度褪黑素处理对高温胁迫下草莓苗生理特性的影响[J].生物技术通报,2025,41(3):181-189.
- [31] 杨思震,周璐瑶,陈春林,等.外源 ALA 对盐碱胁迫下辣椒幼苗生理生化特性的影响[J].中国瓜菜,2023,36(5):51-58.
- [32] NISHIZAWA A, YABUTA Y, YOSHIDA E, et al. *Arabidopsis* heat shock transcription factor A2 as a key regulator in response to several types of environmental stress[J]. The Plant Journal, 2006, 48(4):535-547.
- [33] 郭猛.辣椒热胁迫相关基因表达分析及功能研究[D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2016.
- [34] 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.
- [35] LIANG M M, LI H Y, YONG K, et al. Pepper autophagy related gene *CaATG8e* differentially regulates plant tolerance to heat and salt stress[J]. Scientia Horticulturae, 2023, 308:111559.