田雪军,徐佩琦,吴晶晶,等.外源褪黑素对玫瑰高温胁迫的缓解效应[J].山西农业大学学报(自然科学版),2024,44(1):34-42.
Tian X J, Xu P Q, Wu J J, et al.Alleviating effects of exogenous melatoninon rose under high temperature stress[J].Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2024,44(1):34-42.
doi: 10.13842/j.cnki.issn1671-8151.202308028

外源褪黑素对玫瑰高温胁迫的缓解效应

田雪军,徐佩琦,吴晶晶,徐艳,熊兴鹏*

(荆楚理工学院 生物工程学院/特色花卉生物育种湖北省工程研究中心,湖北 荆门 448000)

摘　要:[目的]高温已经成为制约玫瑰生长和生产最主要的非生物逆境因子之一。探究外源褪黑素对玫瑰耐高温能力的影响,可为解决玫瑰栽培过程中的热害问题以及玫瑰耐高温遗传改良提供实践和理论依据。[方法]以二年生'紫枝'玫瑰盆栽苗为试验材料,研究叶面喷施100 μmol•L^{-1}褪黑素预处理对40 ℃高温胁迫下玫瑰叶片相关生理特性和热激蛋白基因表达的影响。[结果]高温胁迫导致玫瑰叶片水分失衡,细胞膜系统受损,光合作用受阻,次生氧化胁迫,明显抑制了玫瑰的生长。而外源褪黑素预处理后,玫瑰叶片在高温胁迫下的相对电导率(REC)和丙二醛(MDA)含量明显降低;相对含水量(RWC)和叶绿素含量(SPDA)显著升高;光系统II最大光化学效率(Fv/Fm)和净光合速率(Pn)显著提升;脯氨酸(Pro)和可溶性蛋白(SP)等渗透调节物质的含量显著增多;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)等抗氧化酶的活性显著增强;*RhHSP70*、*RhHSP90*和*RhHSP101*等热激蛋白基因的表达量显著上调。[结论]高温胁迫下,施加外源褪黑素预处理能够通过提高叶片保水能力,维护细胞膜系统的稳定性和完整性,提升光合作用强度,增加渗透调节物质含量,增强抗氧化酶活性,上调热激蛋白基因表达等途径来缓解高温胁迫对玫瑰叶片产生的不利影响,从而提高了玫瑰的耐高温能力。

关键词:褪黑素; 玫瑰; 高温胁迫; 生理特性; 热激蛋白
中图分类号:S685.12　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1671-8151(2024)01-0034-09

玫瑰(*Rusa rugosa*)为蔷薇科(Rosaceae)蔷薇属(*Rose*)的一种多年生常绿或落叶直立丛生木本花卉,栽培历史悠久,是我国十大名花之一,也是世界四大切花之一,享有"花中皇后"美誉。作为世界名花,玫瑰不仅具有较高的绿化和观赏价值,更重要的是玫瑰还被广泛应用于食品、医药、美容、养生、化工等行业领域,具有极高的商业开发利用价值。近年来,随着农业产业结构不断调整以及花卉产业飞速发展,优质玫瑰需求量日益增加,玫瑰种植区域和种植数量呈连年上升趋势[1]。

高温是威胁农业生产和破坏生态环境最主要的非生物胁迫之一[2]。近年来,由于全球气候恶化和温室效应加剧,夏季极端高温天气频繁发生,严重影响园艺植物的露天栽培和生长生产。玫瑰性喜阳光充足、通风凉爽的气候,生长最适温度为15~25 ℃[3]。当夏季气温持续高于30 ℃时,玫瑰通常会进入半休眠状态,当遇到40 ℃以上极端高温天气时,玫瑰生长发育会受到明显损害,如叶片萎蔫、花枝枯瘦、花芽异常、花朵畸形、花期缩短、病虫害高发等,严重影响了玫瑰的观赏价值和经济价值,同时也限制了玫瑰的种植区域和供给范围[4]。国内外有关玫瑰亲缘关系非常近的月季或蔷薇的研究结果均表明,高温胁迫损伤细胞生命物质和生物膜,扰乱植物正常生理代谢过程和细胞内稳态,进而抑制植物生长发育,加速其衰老或死亡[5]。在这样的形势和环境下,如何提高玫瑰栽培质量和产量,已经成为目前花卉产业发展面临的重要问题。因此,通过研发栽培调控技术来缓

收稿日期:2023-08-15　　**修回日期**:2023-10-30
基金项目:湖北省教育厅科研计划项目(Q20194304);特色花卉生物育种湖北省工程研究中心开放课题资助项目(2022ZD008);荆楚理工学院大学生创新创业训练计划项目(KC2022027)
作者简介:田雪军(ORCID: 0000-0002-0299-5115),讲师,博士,研究方向:植物逆境生理与分子生物学
*通信作者:熊兴鹏(ORCID: 0000-0002-4560-0806),讲师,博士,研究方向:园艺植物育种与栽培,E-mail:xiongxingpeng@jcut.edu.cn

解高温胁迫对玫瑰造成的伤害,对指导玫瑰培育和生产都有非常重要的理论意义和应用价值。

褪黑素(Melatonin,MT)又名松果体素,化学名称为N-乙酰基-5-甲氧基色胺,是一种动植物生命所必需的吲哚色胺类小分子激素。褪黑素作为一种重要的生长调节物质和抗氧化物质,在植物体内具有多重生物学功能,能够调控植物的生长发育过程,如昼夜节律、种子萌发、叶片衰老和腋芽分化等[6];参与植物的逆境胁迫应答,如高低温、干旱、盐碱和病虫害等非生物和生物逆境胁迫[7];还可以作为一种重要的响应逆境胁迫的信号分子诱发植物自身防御功能,从而提高植物的抗逆性[8]。外源褪黑素处理可以缓解高温胁迫对植物造成的伤害,已经在拟南芥[9]、黑麦草[10]、番茄[11]、樱桃萝卜[12]、菊花[13]、苹果[14]等许多植物中被广泛报道。在以上植物中的研究结果表明,高温胁迫条件下,外源褪黑素可以有效抑制活性氧(Reactive oxygen species,ROS)积累、保护细胞膜完整性、维持光合作用强度、提高抗氧化能力、增强渗透调节能力、调节物质代谢和诱导耐热基因表达等,从而提高植物的耐热性,减轻高温胁迫的危害[9-14]。但褪黑素能否以及如何缓解玫瑰高温胁迫还未见报道。本试验通过研究喷施外源褪黑素(100 μmol·L^{-1})预处理对高温(40 ℃)胁迫下玫瑰叶片相关生理特性和热激蛋白基因表达的影响,以期从生理和分子层面初步探讨褪黑素缓解玫瑰高温胁迫的作用机制,旨在为利用褪黑素改善玫瑰高温胁迫下的生长和生产提供参考依据,同时为玫瑰耐高温遗传改良提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

试验于2022-2023年在荆楚理工学院特色花卉生物育种湖北省工程研究中心进行。供试材料为二年生'紫枝'玫瑰盆栽苗,取自荆楚理工学院月季种质资源圃。试验处理所需褪黑素(MT)购自美国Sigma公司,依据前期预试验相对电导率测定结果,选择100 μmol·L^{-1}为本次试验处理浓度。

1.2　试验设计

选用生长健壮的'紫枝'玫瑰盆栽苗,修剪株高统一为约40 cm,培养至其株型和长势基本一致后,置于正常生长光照培养箱(温度为25 ℃,昼夜时长为14 h/10 h,光照强度为600 μmol·m^{-2}·s^{-1},相对湿度为70%)中培养3 d后进行不同处理。采用完全随机区组试验设计,共设置4个处理(表1),每个处理3次生物学重复,每个生物学重复3株苗,以蒸馏水+常温处理组为对照。

表1　试验设计

Table 1　Experimental design

处理组 Treatment groups	处理方法 Treatment methods
蒸馏水+常温处理组(H_2O+NT)	喷施蒸馏水预处理3 d后,常温(25 ℃)生长36 h
褪黑素+常温处理组(MT+NT)	喷施100 μmoL·L^{-1}褪黑素预处理3 d后,常温(25 ℃)生长36 h
蒸馏水+高温处理组(H_2O+HT)	喷施蒸馏水预处理3 d后,高温(40 ℃)处理36 h
褪黑素+高温处理组(MT+HT)	喷施100 μmoL·L^{-1}褪黑素预处理3 d后,高温(40 ℃)处理36 h

蒸馏水和褪黑素以叶面喷施的方式于每天晚上21:00进行喷施(以刚刚形成水滴滴落为宜)。每天喷施1次,连续喷施3 d,最后一次喷施1 d后,将蒸馏水+高温(H_2O+HT组)和褪黑素+高温(MT+HT组)的盆栽苗转移到高温处理光照培养箱中(温度为40 ℃,昼夜时长为14 h/10 h,光照强度为600 μmol·m^{-2}·s^{-1},相对湿度为70%)。高温处理36 h后,分别在每个实验组的各个供试玫瑰植株上端的相同位置选取完全展开的羽状复叶,用于各项生理指标测定和基因表达分析。

1.3　测定指标与方法

1.3.1　生理指标测定

相对含水量(Relative water content,RWC)采用称重法进行测定,具体参照陈浩维等[15]的方法。

相对电导率(Relative electrical conductivity,REC)使用日本Horiba公司生产的Twin Cond B-173型电导率测定仪进行测定[16];叶绿素含量(Chlorophyll content,SPAD)使用中国浙江托普云农公司生产的SPAD-502型叶绿素测定仪进行测定[16];光系统II(PSII)最大光化学效率(Photochemical efficiency of photosystem II,Fv/Fm)使用英国Hansatech公司生产的FMS-2型叶绿素荧光测定仪进行测定[17];净光合速率(Net photosynthetic rate,Pn)使用英国Hansatech公司生产的

CIRAS-2型光合作用测定仪进行测定[17]。

丙二醛(Malondialdehyde,MDA)的含量使用南京建成A003-3-1试剂盒进行测定;可溶性糖(soluble sugar,SS)的含量测定使用南京建成A145-1-1试剂盒进行测定;可溶性蛋白(Soluble protein,SP)的含量使用南京建成A045-2-2试剂盒进行测定;游离脯氨酸(Proline,Pro)的含量使用南京建成A107-1-1试剂盒进行测定;超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,SOD)的活性使用南京建成A001-3-2试剂盒进行测定;过氧化物酶(Peroxidase,POD)的活性使用南京建成A084-3-1试剂盒进行测定;过氧化氢酶(Catalase,CAT)的活性使用南京建成A007-1-1试剂盒进行测定[18]。

1.3.2 基因表达分析

使用Aidlab公司生产的RN38-EASYspin Plus植物RNA快速提取试剂盒提取玫瑰叶片总RNA;以总RNA为模板,使用Vazyme公司生产的HiScript® III All-in-one RT SuperMix Perfect for qPCR反转录试剂盒合成cDNA;以cDNA为模板,使用Tiangen公司生产的Talent qPCR PreMix试剂盒在美国ABI公司生产的Stepone PCR仪上进行荧光实时定量PCR[19]。玫瑰热激蛋白基因(*RhHSP70*、*RhHSP90*和*RhHSP101*)和*RhActin*基因所采用的特异性引物见表2。以*RhActin*基因为内参,采用$2^{-\Delta\Delta C}{}_T$法[20]计算*RhHSP70*、*RhHSP90*和*RhHSP101*基因的相对表达量。

表2 引物序列

Table 2 Primer sequences

基因 Gene	基因ID Gene ID	正向引物序列(5'-3') Forward primer sequence	反向引物序列(5'-3') Reverse primer sequence
RhHSP70	evm. model. Chr7. 4835	CTGCGGAAGAAATCTCGTC	GCATCCTTTGTAGCCTGTCTC
RhHSP90	evm. model. Chr3. 4728	GCTTCTGGAGTGTCTGATGTG	CGTCATTGTGCTTTGTAGTCAC
RhHSP101	evm. model. Chr7. 505	GGCTATTCAGGAAGTGGAGTC	AACGGCTTACAACCTCTGC
RhActin	evm. model. Chr4. 1568	ACCTTCAATGCTCCCGCTA	GGTCAAGTCGCAGAATGGC

1.4 数据处理

试验数据首先在Microsoft Excel 2020软件中计算平均值和标准偏差,然后在IBM SPSS Statistics 26软件中采用最小显著差异法(LSD法)检验差异显著性($P<0.05$),最后在GraphPad Prism 10软件中绘制统计图表,图表数据均采用3次重复的平均值±标准偏差来表示。

2 结果与分析

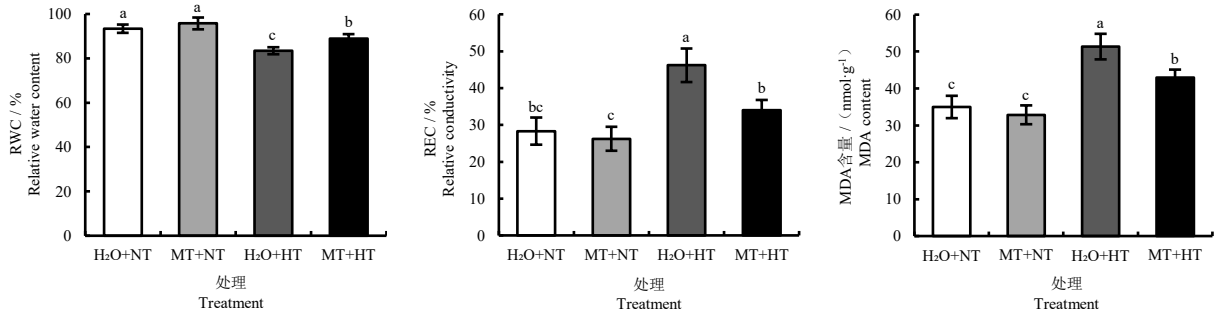
2.1 外源褪黑素处理后高温胁迫下玫瑰叶片水分状态和细胞膜系统

相对含水量(RWC)是衡量高温胁迫下植物组织水分状况和保水能力的基本指标[21]。如图1所示,MT+NT组玫瑰叶片RWC与H_2O+NT组相比差异不显著;H_2O+HT组玫瑰叶片RWC与H_2O+NT组相比显著降低10.68%;而MT+HT组玫瑰叶片RWC与H_2O+HT组相比显著升高了6.59%。由此可知,高温胁迫导致玫瑰叶片RWC显著降低,而外源褪黑素预处理则显著提高了高温胁迫下玫瑰叶片RWC。结果说明,外源褪黑素预处理能够有效增强高温胁迫下玫瑰叶片保水能力,维持细胞水分平衡。

相对电导率(REC)是反映植物细胞膜热稳定性的重要指标[22]。如图1所示,MT+NT组玫瑰叶片REC与H_2O+NT组差异不显著;H_2O+HT组玫瑰叶片REC与H_2O+NT组相比显著升高了63.24%;MT+HT组玫瑰叶片REC与H_2O+HT组相比显著降低了26.43%。丙二醛(MDA)含量是反映植物细胞膜氧化损伤程度的主要指标[23]。如图1所示,MT+NT组玫瑰叶片MDA含量与H_2O+NT组相比差异不显著;H_2O+HT组玫瑰叶片MDA含量与H_2O+NT组相比显著增加了45.71%;MT+HT组玫瑰叶片MDA含量与H_2O+HT组相比显著减少了15.69%。可知,高温胁迫导致玫瑰叶片REC值和MDA含量显著增加,而外源褪黑素预处理则显著降低了高温胁迫下玫瑰叶片REC值和MDA含量。结果说明,外源褪黑素预处理能够有效减轻高温胁迫对玫瑰叶片细胞膜损伤,维护细胞膜稳定性和完整性。

2.2 外源褪黑素处理后高温胁迫下玫瑰叶片光合特性

对玫瑰叶片叶绿素含量(SPAD)、光系统II



H_2O+NT表示蒸馏水+常温处理组;MT+NT表示蒸馏水+常温处理组;H_2O+HT表示蒸馏水+常温处理组;MT+HT表示蒸馏水+常温处理组。不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。图2~图5与此相同

H_2O+NT shows 'distilled water and normal temperature' treatment group. MT+NT shows 'melatonin and normal temperature' treatment group. H_2O+HT shows 'distilled water and high temperature' treatment group. MT+HT shows 'melatonin and high temperature' treatment group. Different letters show significant differences ($P<0.05$). Notes in figure 2 to figure 5 are the same as those in figure 1

图1　外源褪黑素对高温胁迫下玫瑰叶片RWC、REC和MDA含量的影响

Fig.1　Effects of exogenous melatonin on RWC, REC and MDA content of rose leaves under high temperature stress

(PSII)最大光化学效率(Fv/Fm)和净光合速率(Pn)3个重要光合作用指标进行测定,结果如图2所示,与H_2O+NT组相比,MT+NT组玫瑰叶片Pn值显著上升19.17%,但其SPAD和Fv/Fm值差异不显著;H_2O+HT组玫瑰叶片SPAD、Fv/Fm和Pn值与H_2O+NT组相比分别显著下降21.19%、9.57%和26.29%;MT+HT组玫瑰叶片SPAD、Fv/Fm和Pn值与H_2O+HT组相比分别显著升高16.93%、6.04%和25.74%。可见,高温胁迫导致玫瑰叶片SPAD、Fv/Fm和Pn值显著降低,而外源褪黑素预处理则显著提高高温胁迫下玫瑰叶片SPAD、Fv/Fm和Pn值。结果说明,外源褪黑素预处理能够有效减轻高温胁迫对玫瑰叶片光合色素和PSII损伤,维护叶片光合能力。

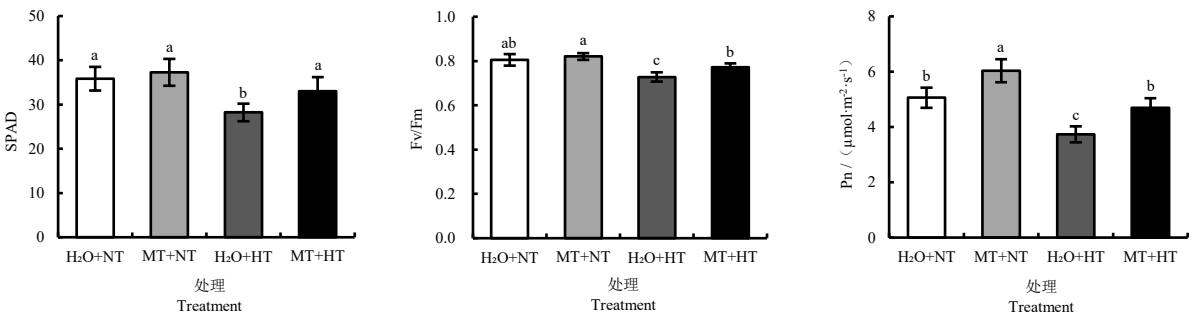


图2　外源褪黑素对高温胁迫下玫瑰叶片SPAD、Fv/Fm和Pn的影响

Fig. 2　Effects of exogenous melatonin on SPAD, Fv/Fm and Pn of rose leaves under high temperature stress

2.3　外源褪黑素处理后高温胁迫下玫瑰叶片渗透调节物质含量

对玫瑰叶片中可溶性糖(SS)、可溶性蛋白(SP)和脯氨酸(Pro)3种主要渗透调节物质含量进行测定,结果如图3所示,与H_2O+NT组相比,MT+NT组玫瑰叶片SP含量显著增加44.30%,但其SS、Pro含量差异不显著;H_2O+HT组玫瑰叶片SS、SP和Pro含量与H_2O+NT组相比分别显著增加66.13%、81.01%、174.45%;与H_2O+HT组相比,MT+HT组玫瑰叶片SP和Pro含量分别显著增加了30.07%和32.51%,但其SS含量增加不显著。可见,高温胁迫下玫瑰叶片SS、SP和Pro含量显著积累,外源褪黑素预处理则进一步显著提高高温胁迫下玫瑰叶片SP和Pro含量。表明外源褪黑素预处理能够有效促进高温胁迫下玫瑰叶片渗透调节物质积累,增强植株抵御高温能力。

2.4　外源褪黑素处理后高温胁迫下玫瑰叶片抗氧化酶活性

对玫瑰叶片中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)3种重要的抗氧化酶活性进行测定,结果如图4所示,MT+NT组玫瑰叶片SOD、POD和CAT活性与H_2O+NT

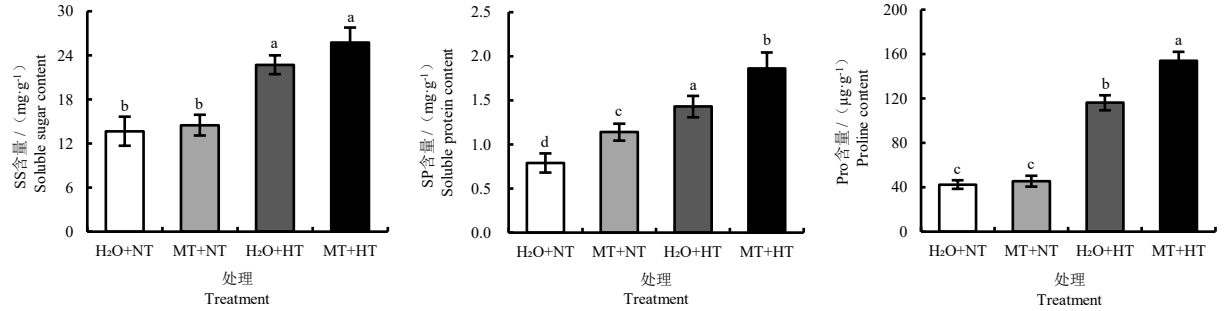


图3 外源褪黑素对高温胁迫下玫瑰叶片SS、SP和Pro含量的影响

Fig. 3 Effects of exogenous melatonin on SS, SP and Pro content of rose leaves under high temperature stress

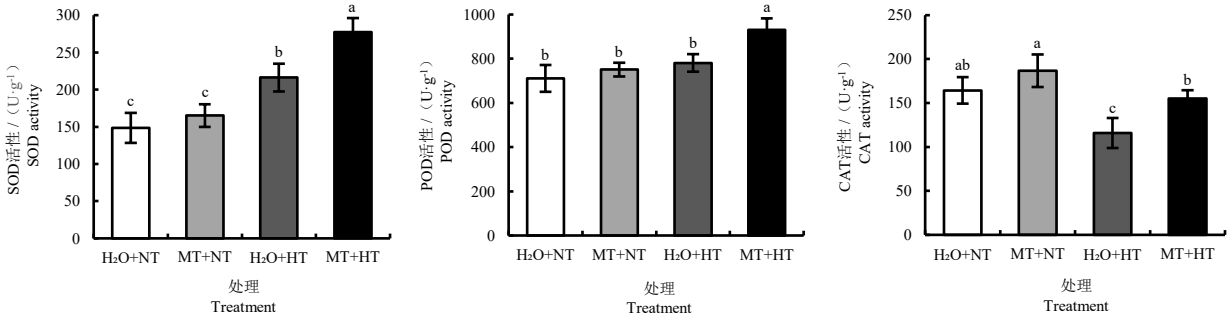


图4 外源褪黑素对高温胁迫下玫瑰叶片SOD、POD和CAT活性的影响

Fig. 4 Effects of exogenous melatonin on SOD, POD and CAT activity of rose leaves under high temperature stress

组差异不显著;与H_2O+NT组相比,H_2O+HT组玫瑰叶片SOD活性显著升高了45.68%,POD活性升高不明显,CAT活性显著降低了29.53%;MT+HT组玫瑰叶片SOD、POD和CAT活性与H_2O+HT组相比,分别显著升高了28.25%、19.26%和33.89%。由此可见,高温胁迫下玫瑰叶片SOD活性增强,CAT活性减弱,而外源褪黑素预处理则显著提高了高温胁迫下玫瑰叶片SOD、POD和CAT活性。结果说明,外源褪黑素预处理能够有效增强高温胁迫下玫瑰叶片抗氧化酶活性,维持ROS代谢平衡,减轻氧化胁迫损伤。

2.5 外源褪黑素处理后高温胁迫下玫瑰叶片热激蛋白基因表达

对玫瑰叶片中3个重要的热激蛋白基因*RhHSP70*、*RhHSP90*和*RhHSP101*进行了表达分析,结果如图5所示,MT+NT组玫瑰叶片*RhHSP70*、*RhHSP90*和*RhHSP101*基因的表达量与H_2O+NT组相比差异不显著;H_2O+HT组玫瑰叶片*RhHSP70*、*RhHSP90*和*RhHSP101*基因的表达量与H_2O+NT组相比分别显著上调了3.23倍、7.08倍和4.42倍;MT+HT组玫瑰叶片*RhHSP70*、*RhHSP90*和*RhHSP101*基因表达量与H_2O+HT组相比分别显著上调0.89倍、1.03倍和1.38倍。可见,玫瑰叶片*RhHSP70*、*RhHSP90*和*RhHSP101*基因受高温胁迫诱导上调表达,而外源褪黑素预处理则进一步显著提高了高温胁迫下玫瑰叶片*RhHSP70*、*RhHSP90*和*RhHSP101*基因的表达量。结果说明,外源褪黑素预处理能够有效促进高温胁迫下玫瑰叶片热激蛋白上调表达,保护和修复蛋白质,维护细胞稳态。

3 讨论

高温胁迫是影响玫瑰生长发育的主要限制因素之一。因此,寻求提高玫瑰耐热性的途径对玫瑰产业具有重大意义。近年来,大量研究表明褪黑素在植物高温胁迫中发挥着积极作用[6-8]。本试验主要研究了外源褪黑素预处理对高温胁迫下玫瑰叶片水分状态、质膜透性、光合特性、渗透调节物质含量、抗氧化酶活性及热激蛋白基因表达的影响,结果发现褪黑素正向调控玫瑰对高温胁迫的耐受性。

植物遭受高温胁迫时通常会引起叶片失水,表现出卷曲、枯萎或脱落等症状[24]。本研究发现,外源褪黑素预处理有效缓解了高温胁迫对玫瑰叶

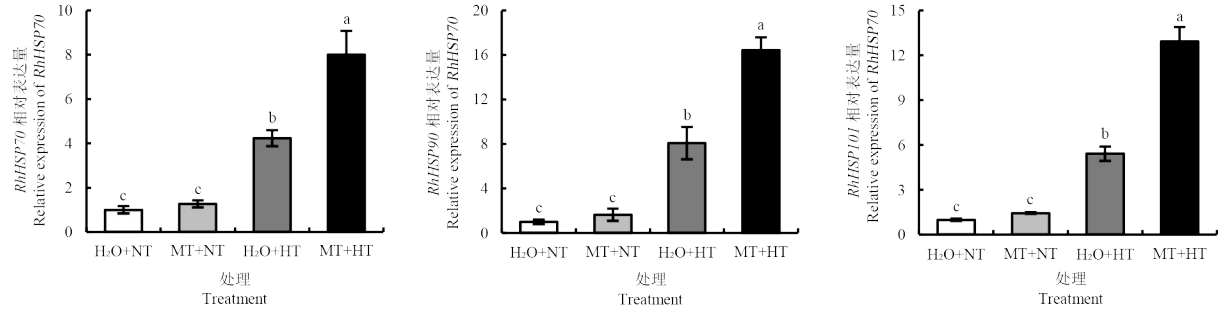


图5　外源褪黑素对高温胁迫下玫瑰叶片*RhHSP70*、*RhHSP90*和*RhHSP101*基因表达的影响

Fig. 5　Effects of exogenous melatonin on the expression of *RhHSP70*, *RhHSP90* and *RhHSP101* in rose leaves under high temperature stress

片的伤害,减少了叶片水分的损失,减轻了叶片的萎蔫程度,这与在苹果[25]、甜瓜[26]、生菜[27]等植物中的研究结果一致。相关研究报道,高温胁迫下植物叶片失水萎蔫主要归因于高温改变了叶片组织的形态和结构[28]。姚富文等[25]研究发现,外源褪黑素预处理使高温胁迫下苹果叶片表皮细胞厚度增加和叶肉细胞排列紧密,有助于提高叶片的保水力。由此推测,外源褪黑素预处理减轻了高温胁迫下玫瑰叶片含水量的损失,这可能主要是由于褪黑素对叶片组织的保护作用,有待于进一步研究和验证。

作为温度传感器的植物细胞膜系统被认为是高温损伤的主要部位,其中质膜透性增加和膜脂过氧化是高温胁迫下膜损伤的主要表现[29]。植物细胞膜的热稳定性与其耐热性呈正相关。彭勇政等[30]在对不同月季品种进行耐热性评价时,发现随着温度的升高,不同月季品种的REC水平和MDA含量均呈上升的趋势,且不耐热品种的增幅均大于耐热品种。窦宗信[31]在高温胁迫对丰花月季生理效应的研究中发现,丰花月季叶片REC水平和MDA含量随着胁迫时间的增长而持续增加,且不耐热品种的上升速度均大于耐热品种。本研究发现,玫瑰叶片REC水平和MDA含量在高温胁迫下显著增加的现象可以通过外源褪黑素预处理得到有效缓解,这与在甘蓝[16]、菊花[13]、苹果[14]等植物中的研究结果一致,说明褪黑素能够通过维护高温胁迫下植物细胞膜系统的稳定性和完整性,提高植物的耐热能力。

光合作用是植物物质转化和能量代谢的关键,也是植物体内对温度变化极为敏感的生理过程之一[32]。本研究结果表明,高温胁迫下玫瑰叶片Pn明显下降可能是由光合色素含量和PSII活性降低引起的。高温胁迫导致植物叶片叶绿素含量下降可能是由于高温抑制了叶绿素合成相关酶的活性或诱发ROS大量积累加速了叶绿素降解[32]。PSII是植物光能转换的重要场所,也是决定光合作用效率的重要部位。Fv/Fm值反映了PSII反应中心原初光能的转换效率。玫瑰叶片Fv/Fm值在高温胁迫下明显降低,说明高温胁迫严重抑制了玫瑰叶片PSII的光化学活性,这与卞凤娥等[17]研究高温胁迫对葡萄叶片叶绿素荧光特性的影响中得出的结论一致。本研究中,外源褪黑素预处理可以显著提高高温胁迫下玫瑰叶片光合色素含量、Fv/Fm和Pn值,这与在葡萄[17]、茄子[33]、菊花[13]等植物中的研究结果一致,说明减轻高温胁迫下光合色素和PSII的损伤,维持植株较高的光合能力,可能是褪黑素帮助植物适应高温的一种重要策略。

SS、SP和Pro是植物体内重要的渗透调节物质,在高温等逆境胁迫响应过程中发挥着重要作用[29]。高温驯化过程中,渗透调节物质的积累是植物增强高温适应性的主要事件之一,它可以调节细胞渗透势,维持细胞水分平衡,保护细胞生命物质及生物膜,其含量在一定程度上还可以反映植物生命活动的代谢水平,已经得到了广泛的研究证实[29]。本研究中,高温胁迫导致玫瑰叶片SS、SP、Pro含量显著积累,而外源褪黑素预处理则进一步显著提高了高温胁迫下玫瑰叶片SP和Pro含量,这与在茄子[33]、菊花[13]、莴苣[34]等植物中的研究结果一致,说明褪黑素对高温胁迫下植物细胞持水性及生物膜的保护作用可能与其诱导更多渗透调节物质的积累有关。

SOD、POD和CAT是植物酶促ROS清除系统中关键的抗氧化酶,在维持细胞内ROS代谢平

衡,抵抗高温等逆境胁迫中起着重要作用[35]。本研究中,高温胁迫后玫瑰叶片SOD活性显著升高,POD活性升高不明显,CAT活性显著降低,这与在番茄[11]、甜瓜[26]、苹果[14]等植物中的研究结果相互之间均不一致。高温胁迫下,植物体内抗氧化酶活性变化规律如何,是否与植物种类、胁迫强度、处理时间等诸多因素有关,一直以来,并未形成明确的定论。但外源褪黑素预处理可以显著提高高温胁迫下玫瑰叶片SOD、POD和CAT活性,这与在番茄[11]、甜瓜[26]、苹果[14]等植物中的研究结果相一致,这可能是由于褪黑素可以促进高温胁迫下抗氧化酶相关基因的上调表达,提高了抗氧化酶的活性,从而增强了植株对ROS的清除能力,减轻了高温胁迫下的氧化损伤。

热激蛋白(Heat shock protein,HSP)作为维持细胞蛋白质稳态的重要分子伴侣,负责蛋白质的折叠、组装、转运与降解,并能在高温胁迫下协助蛋白质复性,通过重建正常的蛋白质构象维持细胞稳态,对保护植物在高温胁迫中免受损伤起着至关重要的作用[36]。已有研究表明,外施褪黑激素可以上调高温胁迫下*HSP*家族基因的表达,有利于提高植物的耐热能力。Shi等[9]研究表明,根施褪黑素预处理可以上调拟南芥*HSP90*和*HSP101*基因在高温胁迫下的表达量,从而增强植株对高温胁迫的耐受性。叶面喷施或根部浇灌相应浓度的褪黑素预处理可以增加高温胁迫下番茄*HSP17.4*、*HSP20*、*HSP20-1*、*HSP21*、*HSP70*和*HSP90*基因的表达量,从而提高植株对高温胁迫的抵抗力[37-38]。Xia等[39]研究表明,根部浇灌褪黑素预处理可以提高高温胁迫下猕猴桃7个*HSP70s*和3个*sHSPs*基因的表达量,从而保护植株免受高温胁迫损伤。本研究中,外源褪黑素预处理可以使高温胁迫下玫瑰叶片中*RhHSP70*、*RhHSP90*和*RhHSP101*基因上调表达,说明褪黑素诱导高温胁迫下*HSP*基因的上调表达可能是其增强植物耐热性的重要分子机制之一。

在前人的研究中,植物经外源褪黑素预处理后可以在一定范围的胁迫强度和胁迫时间内保持耐高温状态。姚富文[25]对RWC、REC、MDA含量和叶绿素含量等耐热性评价指标的连续多次取样的测定结果发现,在40 ℃高温胁迫的1~5 d内,褪黑素预处理的苹果叶片相对于未经褪黑素预处理的苹果叶片提高了高温耐受性。王译等[27]对MDA含量以及SOD、POD、CAT活性等抗氧化指标的连续多次取样的测定结果发现,在30 ℃/25 ℃昼夜高温胁迫的1~8 d内,褪黑素预处理的生菜叶片相对于未经褪黑素预处理的生菜叶片提高了抗氧化能力。胡少卿[40]对RWC含量、REC含量、MDA含量、叶绿素含量、Fv/Fm、Pn、SS含量、SP含量、Pro含量、SOD活性、POD活性、CAT活性等耐热性评价指标连续多次取样的测定结果发现,在33 ℃/28 ℃和40 ℃/35 ℃这2种昼夜高温胁迫的1~4 d内,褪黑素预处理的菊花叶片相对于未经褪黑素预处理的菊花叶片提高了高温抗性。在本研究中,我们通过上述各项耐热性评价指标的1次取样的检测结果表明,在40 ℃高温胁迫36 h时,褪黑素预处理的玫瑰叶片耐高温能力高于未经褪黑素预处理的玫瑰叶片。结合前人的研究成果,我们推测褪黑素预处理的玫瑰叶片在40 ℃高温胁迫36 h内可能保持耐高温状态。但由于植物的耐热性是一个复杂的生物学现象,其耐高温表现受到胁迫时期、胁迫时长、胁迫强度以及研究对象等多种因素的影响,有待于我们进一步设计试验具体分析褪黑素预处理缓解玫瑰受到高温胁迫影响的程度。

4 结论

本研究结果表明,高温胁迫严重抑制了玫瑰的生长发育,而外源褪黑素预处理能够缓解高温胁迫对玫瑰叶片的伤害,提高了玫瑰对高温胁迫的抵御能力。本研究从生理和分子水平阐明了外源褪黑素缓解玫瑰高温胁迫的机制,为进一步研究褪黑素调控玫瑰高温胁迫响应的分子机制奠定了基础。但关于褪黑素在玫瑰抵御高温胁迫作用中的其它调控路径还有待进一步深入研究。此外,还应进一步深入研究高温胁迫下外源褪黑素提高玫瑰耐热性的最适浓度范围及施用周期,以促进生产上的应用推广。

参考文献

[1]尤瑾,乔志伟,李洋,等. 基于专利分析的玫瑰产业发展研究[J]. 现代农业科技,2022(13):189-194.
You J,Qiao Z W,Li Y,et al. Research on development of rose industry based on patent analysis [J]. Modern Agricultural Science and Technology,2022(13):189-194.

[2]Hassan M U, Chattha M U, Khan I, et al. Heat stress in cultivated plants: nature, impact, mechanisms, and mitigation

strategies-a review [J]. Plant Biosystems-an International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology, 2021, 155(2):211-234.
[3]曾尚文. 月季耐湿热性研究综述[J]. 南方林业科学,2015,43(4):25-28.
Zeng S W. Research status on *Rosa chinensis* for heat and humidity tolerance[J]. South China Forestry Science, 2015, 43(4):25-28.
[4]高小峰,郑明燕,源朝政,等. 月季抗逆性研究进展[J]. 陕西农业科学,2018,64(5):88-90,98.
Gao X F, Zheng M Y, Yuan C Z, et al. Advance of stress resistance in Chinese rose[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences,2018,64(5):88-90,98.
[5]赵冰雪,张永春,周琳,等. 月季高温胁迫研究进展[J]. 北方园艺,2021(10):124-131.
Zhao B X, Zhang Y C, Zhou L, et al. Research progress on high temperature stress of *Rosa hybrida*[J]. Northern Horticulture, 2021(10):124-131.
[6]Sun C L, Liu L J, Wang L X, et al. Melatonin: a master regulator of plant development and stress responses[J]. Journal of Integrative Plant Biology,2021,63(1):126-145.
[7]Nawaz K, Chaudhary R, Sarwar A, et al. Melatonin as master regulator in plant growth, development and stress alleviator for sustainable agricultural production: current status and future perspectives[J]. Sustainability,2020,13(1):294.
[8]Shi H T, Chen K L, Wei Y X, et al. Fundamental issues of melatonin-mediated stress signaling in plants[J]. Frontiers in Plant Science,2016,7:1124.
[9]Shi H T, Tan D X, Reiter R J, et al. Melatonin induces class A1 heat-shock factors (HSFA1s) and their possible involvement of thermotolerance in Arabidopsis[J]. Journal of Pineal Research, 2015,58(3):335-342.
[10]Zhang J, Shi Y, Zhang X Z, et al. Melatonin suppression of heat-induced leaf senescence involves changes in abscisic acid and cytokinin biosynthesis and signaling pathways in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) [J]. Environmental and Experimental Botany,2017,138:36-45.
[11]Jahan M S, Shu S, Wang Y, et al. Melatonin alleviates heat-induced damage of tomato seedlings by balancing redox homeostasis and modulating polyamine and nitric oxide biosynthesis[J]. BMC Plant Biology,2019,19(1):414.
[12]Jia C H, Yu X J, Zhang M, et al. Application of melatonin-enhanced tolerance to high-temperature stress in cherry radish (*Raphanus sativus* L. var. *radculus pers*)[J]. Journal of Plant Growth Regulation,2020,39(2):631-640.
[13]齐晓媛,王文莉,胡少卿,等. 外源褪黑素对高温胁迫下菊花光合和生理特性的影响[J]. 应用生态学报,2021,32(7):2496-2504.
Qi X Y, Wang W L, Hu S Q, et al. Effects of exogenous melatonin on photosynthesis and physiological characteristics of chrysanthemum seedlings under high temperature stress[J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2021,32(7):2496-2504.
[14]何晓龙,刘怀特,尚雨薇,等. 不同外源物质对高温胁迫下平邑甜茶幼苗的缓解效应[J]. 河北农业大学学报,2022,45(5):67-76,131.
He X L, Liu H T, Shang Y W, et al. Mitigation effects of different exogenous substances on *Malus hupehensis* seedlings under high temperature stress[J]. Journal of Hebei Agricultural University,2022,45(5):67-76,131.
[15]陈浩维,邓明华,黄尧瑶,等. 干旱胁迫对玫瑰花瓣膜脂过氧化及抗氧化酶活性的影响[J]. 西北植物学报,2018,38(5):885-893.
Chen H W, Deng M H, Huang Y Y, et al. Membrane lipid peroxidation and antioxygen enzyme activities of rose petals under drought stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica,2018,38(5):885-893.
[16]曾庆栋,许忠民,张恩慧,等. 外源褪黑素对高温胁迫下甘蓝幼苗生理特性的影响[J]. 北方园艺,2017(20):12-17.
Zeng Q D, Xu Z M, Zhang E H, et al. Effect of exogeneous melatonin on physiological characteristic of cabbage seedlings under high temperature stress[J]. Northern Horticulture, 2017(20):12-17.
[17]卞凤娥,孙永江,牛彦杰,等. 高温胁迫下根施褪黑素对葡萄叶片叶绿素荧光特性的影响[J]. 植物生理学报,2017,53(2):257-263.
Bian F E, Sun Y J, Niu Y J, et al. Effect of root-applied melatonin on photosystem II in grape leaves under heat stress[J]. Plant Physiology Journal,2017,53(2):257-263.
[18]刘灵锐,曾梓健,年海,等. 纳米氧化锌缓解大豆铝胁迫生理机制[J]. 华南农业大学学报,2023,44(5):787-793.
Liu L R, Zeng Z J, Nian H, et al. Physiological mechanisms of zinc oxide nanoparticles alleviating aluminum stress in soybean [J]. Journal of South China Agricultural University, 2023, 44(5):787-793.
[19]刘航程,孙爽,徐秀琴,等.'月月粉'和野蔷薇花青素合成酶基因的鉴定与表达分析[J]. 分子植物育种,2021,19(6):1811-1821.
Liu H C, Sun S, Xu X Q, et al. Identification and expression analysis of anthocyanin biosynthesis genes in Rosa chinensis and Rosa multiflora[J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(6):1811-1821.
[20]Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C}{}_{T}$ method[J]. Methods,2001,25(4):402-408.
[21]Wahid A, Close T J. Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves [J]. Biologia Plantarum,2007,51:104-109.
[22]Ibrahim A M H, Quick J S. Genetic control of high temperature tolerance in wheat as measured by membrane thermal stability [J]. Crop Science,2001,41(5):1405-1407.
[23]Tommasino E, Griffa S, Grunberg K, et al. Malondialdehyde content as a potential biochemical indicator of tolerant *Cenchrus ciliaris* L. genotypes under heat stress treatment[J]. Grass and Forage Science,2012,67(3):456-459.
[24]Vollenweider P, Günthardt-Goerg M S. Diagnosis of abiotic and biotic stress factors using the visible symptoms in foliage [J]. Environmental Pollution,2005,137(3):455-465.
[25]姚富文. 苹果耐高温基因的鉴定及褪黑素对高温胁迫的缓解效应[D]. 郑州:河南农业大学,2021.
Yao F W. Identification of high temperature tolerance genes in apple and the alleviating effect of melatonin on high temperature stress [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University,2021.
[26]周永海,杨丽萍,马荣雪,等. 外源褪黑素对高温胁迫下甜瓜幼苗抗氧化特性及其相关基因表达的影响[J]. 西北农业学报,2020,29(5):745-751.
Zhou Y H, Yang L P, Ma R X, et al. Effects of exogenous melatonin on antioxidant properties and related gene expression in melon seedlings under high temperature stress [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica,2020,29(5):745-751.
[27]王译,韩莹琰,郝敬虹,等. 褪黑素对高温胁迫下生菜抗氧化酶系统的影响[J]. 北京农学院学报,2022,37(2):45-49.
Wang Y, Han Y Y, Hao J H, et al. Effects of melatonin on antioxidant enzyme of lettuce under high temperature stress[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2022, 37(2): 45-49.
[28]苗琛,利容千,王建波. 热胁迫下不结球白菜和甘蓝叶片组织结构的变化[J]. 武汉植物学研究,1994(3):207-211.
Miao C, Li R Q, Wang J B. Leaf structural changes of *Brassica campestris* and *B. oleracea* in response to heat stress [J]. Journal of Wuhan Botanical Research,1994(3):207-211.
[29]Bita C E, Gerats T. Plant tolerance to high temperature in a

changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops[J]. Frontiers in Plant Science, 2013,4:273.
[30]彭勇政,刘智媛,朱晓非,等. 5个月季品种高温处理后生理指标变化及其耐热性评价[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2019,37(5):53-58.
Peng Y Z, Liu Z Y, Zhu X F, et al. Physiological index changes and heat tolerance evaluation of five rose cultivars after high temperature treatment [J]. Journal of Shanghai Jiao Tong University(Agricultural Science),2019,37(5):53-58.
[31]窦宗信. 高温胁迫对丰花月季生理效应及耐热性诱导的研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2006.
Dou Z X. Study on physiological effects and thermotolerance induction of *Rosa chinensis* var *floribunda* under high temperature stress [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University,2006.
[32]Ashraf M, Harris P J C. Photosynthesis under stressful environments: an overview[J]. Photosynthetica,2013,51(2):163-190.
[33]吴雪霞,张圣美,张爱冬,等. 外源褪黑素对高温胁迫下茄子幼苗光合和生理特性的影响[J]. 植物生理学报,2019,55(1):49-60.
Wu X X, Zhang S M, Zhang A D, et al. Effect of exogenous melatonin on photosynthetic and physiological characteristics of eggplant seedlings under high temperature stress [J]. Plant Physiology Journal,2019,55(1):49-60.
[34]王博伟,陈艳丽,朱国鹏,等. 叶面喷施褪黑素对海南高温季节水培叶用莴苣生长生理的影响[J]. 中国蔬菜,2022(11):80-85.
Wang B W, Chen Y L, Zhu G P, et al. Effect of melatonin foliar spraying on growth and physiology characteristics of hydroponic lettuce during high temperature season in Hainan [J]. China Vegetables,2022(11):80-85.
[35]Wahid A, Gelani S, Ashraf M, et al. Heat tolerance in plants: an overview [J]. Environmental and Experimental Botany, 2007,61(3):199-223.
[36]Wang W X, Vinocur B, Shoseyov O, et al. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response[J]. Trends in Plant Science,2004,9(5):244-252.
[37]Xu W, Cai S Y, Zhang Y, et al. Melatonin enhances thermotolerance by promoting cellular protein protection in tomato plants[J]. Journal of Pineal Research, 2016, 61(4): 457-469.
[38]Qi Z Y, Wang K X, Yan M Y, et al. Melatonin alleviates high temperature-induced pollen abortion in *Solanum lycopersicum* [J]. Molecules,2018,23(2):386.
[39]Xia H, Zhou Y J, Deng H H, et al. Melatonin improves heat tolerance in *Actinidia deliciosa* via carotenoid biosynthesis and heat shock proteins expression [J]. Physiologia Plantarum, 2021,172(3):1582-1593.
[40]胡少卿. 外源褪黑素对菊花高温胁迫缓解生理机制的研究[D]. 泰安:山东农业大学,2020.
Hu S Q. Study on the mechanism of exogenous melatonin relieving physiology of *Chrysanthemum* under high temperature stress[D]. Taian: Shandong Agricultural University,2020.

Alleviating effects of exogenous melatonin on rose under high temperature stress

Tian Xuejun, Xu Peiqi, Wu Jingjing, Xu Yan , Xiong Xingpeng*

(*College of Bioengineering/Hubei Engineering Research Center for Specialty Flowers Biological Breeding, Jingchu University of Technology, Jingmen 448000, China*)

Abstract: [Objective] High temperature stress has become a major abiotic stress factor restricting the growth and production of roses. Exploring the impact of exogenous melatonin on the heat tolerance of roses aimed to provide practical and theoretical foundations for addressing heat damage issues in rose cultivations and the genetic improvement of heat tolerance in roses. [Methods] In this study, the two year old potted 'Purple Branch' rose seedling was used as experimental materials, and the effects of folia spraying with 100 μmol·L^{-1} melatonin on the relevant physiological characteristics and heat shock protein gene expression in rose leaves under 40 ℃ high-temperature stress was investigated. [Results] The results showed that high temperature stress resulted in imbalances in rose leaf water content, damaged to the cell membrane system, inhibition of photosynthesis, secondary oxidative stress, and a significant inhibition of rose growth. However, after exogenous melatonin pretreatment, the relative electrical conductivity (REC) and malondialdehyde (MDA) content in rose leaves were significantly decreased under high-temperature stress. Relative water content (RWC) and chlorophyll content (SPDA) significantly increased, while the maximum photochemical efficiency of photosystem II (Fv/Fm) and net photosynthetic rate (Pn) significantly improved. proline (Pro) and soluble protein (SP) content increased significantly. The activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT) significantly enhanced. The expression levels of three heat shock protein genes, including *RhHSP70*, *RhHSP90* and *RhHSP101*, were significantly upregulated. [Conclusion] Under high-temperature stress, exogenous melatonin pretreatment can alleviate the adverse effects on rose leaves by enhancing water retention capacity, maintaining the stability and integrity of the cell membrane system, increasing photosynthetic intensity, raising osmoregulatory substance levels, boosting antioxidant enzyme activity, and upregulating the expression of heat shock protein genes. This ultimately enhance the heat tolerance of rose.

Keywords: Melatonin, Rose, High temperature stress, Physiological characteristics, Heat shock protein

(编辑:郭玥微)