



低温诱导表达 *SlBRI1* 增强番茄幼苗耐寒能力

杨文文, 冯梦颖, 瞿 芮, 刘心雨, 聂书明*

(西华师范大学 生命科学院, 西南野生动植物资源保护教育部重点实验室, 四川南充 637000)

摘 要:油菜素内酯(brassinosteroids, BRs)是一种广泛分布于多种植物体内的激素。Brassinosteroid insensitive 1 (BRI1)是 BR 信号通路的主要信号受体,在植物生长发育和胁迫应答中起着至关重要的作用。研究以番茄品种 Micro-Tom(MT)和 *SlBRI1* 过表达株系(*Atrd29A:SlBRI1*)为试验材料,探讨低温对光合特性、叶绿素荧光参数以及抗寒基因的影响,旨在揭示 *Atrd29A* 启动子驱动 *SlBRI1* 基因对低温胁迫的响应规律。结果表明,(1)低温胁迫提高了 MT 植株 *SlBRI1* 的表达量,而 *Atrd29A:SlBRI1* 植株 *SlBRI1* 表达量更高。低温胁迫 5 d 导致所有植株出现萎蔫,而且 *Atrd29A:SlBRI1* 植株萎蔫程度更轻,恢复得更好。(2)低温胁迫导致所有番茄幼苗的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)、PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)、实际光化学效率(Φ_{PSII})、光能捕获效率(F_v'/F_m')和光化学荧光猝灭系数(qP)都较大幅度地下降;在低温胁迫第 5 天,*SlBRI1* 过表达株系这些指标均显著性高于 MT 植株。同时,*SlBRI1* 过表达株系的细胞间 CO_2 浓度(C_i)显著低于 MT。(3)同等条件下 *SlICE1*、*SlCBF1*、*SlCBF3* 和 *SlDRC17* 基因表达水平显著上升,并且通过低温处理后的 *SlBRI1* 转基因植株中 *SlICE1*、*SlCBF1*、*SlCBF3* 和 *SlDRC17* 基因表达水平均显著高于 MT 植株。表明 *Atrd29A* 诱导 *SlBRI1* 表达能够提高 *SlBRI1* 表达水平,缓解低温胁迫对植株光合作用和叶绿素荧光参数的影响,增强番茄植株抗寒能力。

关键词:番茄;油菜素内酯;*Atrd29A* 启动子;*SlBRI1*;低温;光合荧光特性

中图分类号:Q945; S641.2 **文献标志码:**A

Low Temperature Induced Expression of *SlBRI1* Enhanced Cold Tolerance of Tomato Seedlings

YANG Wenwen, FENG Mengying, QU Rui, LIU Xinyu, NIE Shuming*

(Key Laboratory of Southwest China Wildlife Resources Conservation, College of Life Science, China West Normal University, Nanchong, Sichuan 637000, China)

Abstract: Brassinosteroids (BRs) is a kind of hormone widely distributed in a variety of plants. Brassinosteroid insensitive 1 (BRI1) is the main signal receptor of BR signaling pathway, which plays a crucial role in plant growth and development and stress response. In this study, we used tomato varieties Micro-Tom (MT) and *SlBRI1* overexpression plants (*Atrd29A:SlBRI1*) as experimental materials to investigate the effects of low temperature on photosynthetic characteristics, chlorophyll fluorescence parameters and cold resistance genes, in order to reveal the response of *SlBRI1* gene driven by *Atrd29A* promoter to low temperature stress. The results showed that, (1) low temperature stress increased the expression of *SlBRI1* in MT plants, while the expression of *SlBRI1* in *Atrd29A:SlBRI1* plants were higher than that of MT plants. Low temperature stress for 5 days resulted in wilting of all plants, and *Atrd29A:SlBRI1* plants

收稿日期: 2023-05-03; 修改稿收到日期: 2023-06-22

基金项目: 西华师范大学博士启动项目(19E051)

作者简介: 杨文文(1999—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事番茄生长发育和抗逆性研究。E-mail: yangwenwen15@163.com

* 通信作者: 聂书明, 博士, 副研究员, 主要从事油菜素内酯对番茄生长发育和逆境胁迫方面研究。E-mail: nieshuming@163.com

wilted less and recovered better. (2) The net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s), transpiration rate (T_r), maximum photochemical efficiency of PS II (F_v/F_m), actual photochemical efficiency (Φ_{PSII}), light capture efficiency (F_v'/F_m') and photochemical fluorescence quenching coefficient (qP) of all tomato seedlings were significantly decreased under low temperature stress. On the 5th day of low temperature stress, these indexes of *SlBRI1* overexpressing plants were significantly higher than those of MT plants. Meanwhile, the intercellular CO_2 concentration (C_i) of *SlBRI1* overexpression lines was significantly lower than that of MT. (3) The expression levels of transgenic plants *SlICE1*, *SlCBF1*, *SlCBF3* and *SlDRC17* were significantly increased under the same condition, and the expression levels of *SlICE1*, *SlCBF1*, *SlCBF3* and *SlDRC17* in *SlBRI1* transgenic plants after low temperature treatment were significantly higher than those in MT plants. The results indicated that the expression of *SlBRI1* induced by Atrd29A could improve the expression of *SlBRI1*, alleviate the effects of low temperature stress on plant photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters, and enhance the cold resistance of tomato plants.

Key words: tomato; brassinosteroids; Atrd29A promoter; *SlBRI1*; low temperature; photosynthetic fluorescence characteristic

番茄 (*Solanum lycopersicum* L.) 属于茄科 (Solanaceae) 番茄属 (*Lycopersicon* Miller) 的喜温性草本植物, 是开展生物学基础研究的一个重要对象, 同时也是一种模式植物^[1]。干旱^[2]、弱光^[3]、低温^[4]等非生物胁迫是影响植物生长发育的重要因素。由于部分地区气候条件恶劣, 番茄极易遭受低温冷害。低温胁迫会导致植物出现光合作用减弱、抗氧化酶活性降低、活性氧含量增加、叶绿素降解、生长发育受阻等生理现象, 造成植株生长迟缓、幼苗萎蔫、坐果率低等情况, 最终影响番茄的产量和品质^[4]。光合作用对温度十分敏感, 通过将光能转化为稳定的化学能为植物生长发育提供能量, 是影响作物产量的关键要素之一^[5]。研究发现低温会破坏叶绿体亚显微结构, 并发生光抑制, 致使叶绿体内光能剩余过多, 活性氧产率增加, 进而造成光合作用下降^[6]。在自然光照条件下, 叶绿素荧光参数和光合速率两者之间存在负相关关系, 通过叶绿素荧光参数可以评估植物对过剩光能的消散能力^[7]。因此, 植物受胁迫程度可通过植物光合作用和叶绿素荧光特性评估^[8]。

油菜素内酯 (brassinosteroids, BRs) 参与调节植物的生长、发育以及胁迫响应等多个生理过程^[9], 对作物的产量、品质、抗逆性和抗病性等方面有着重要的调控作用^[10]。目前外源施加天然 BRs 已被用于提高多种植物抵抗低温能力^[11-12]。BR 在信号转导过程中首先与 BRI1 (brassinosteroid insensitive 1) 结合, 促进其依次转磷酸化, 并与其共受体 BAK1 (BRI1-ASSOCIATED KINASE 1) 结合形成异源二聚体, BRI1 与 BAK1 相互作用并激活 BR 信号, 随后 BR 信号被转导到下游元件。去磷酸化的 BES1 (bri1-EMS suppressor 1) 和 BZR1 (brassinazole re-

sistance 1) 在细胞核中积累, 调控几千个 BR 响应基因的表达^[2]。研究发现过表达 BR 合成基因 *DWARF* 可提高番茄幼苗 BR 含量和抗寒性, 与之相反突变体降低了 BR 含量, 降低了植物的抗寒性^[12]。BR 信号基因 *BIN2* (brassinosteroids-insensitive 2) 是 BR 信号的负调控因子, 在植物对低温胁迫的反应中起着关键作用。*bin2* 突变体表现出更高的抗冻性, 而 *BIN2* 过表达降低了番茄幼苗的抗冻性^[4]。过表达 *Sl-BZR1* 通过提高 ABA 水平和 *CBF1* 的表达来提高转基因植株的耐寒性, 而 *bzr1* 突变体则降低番茄植株的耐寒性^[13]。*BRI1* 作为 BR 的主要信号受体, 35S 启动子驱动过表达 *SlBRI1* 能有效清除 ROS, 缓解光抑制以及调控植物激素合成和信号传导, 提高了转基因植物的抗寒性, 而 *BRI1* 突变体 *bri1-1* 和 *bri1-301* 降低了植物的抗寒能力^[14-16]。rd29A 作为一种重要的逆境诱导型启动子, 能够响应低温、盐胁迫、干旱等环境胁迫^[17-18]。目前, rd29A 已经被广泛应用于缓解基因的负面影响^[19]。rd29A 启动子驱动的 *AtDREB1A/CBF3*, 通过增强关键抗氧化酶的活性来缓解转基因番茄干旱诱导的氧化应激^[20]。由 rd29A 启动子驱动的 *ICE1* 基因在正常条件下在转基因水稻品系中正常表达, 而低温胁迫后转基因品系 *ICE1* 基因表达增加, 抗寒性提高^[21]。在目前研究的低温调控网络中, ICE-CBF-COR 信号途径为报道较广泛的通路之一^[22]。*ICE1* 是 *CBF3* 低温响应中的关键基因, 其通过磺酰化修饰被激活后, 能够与 *CBF3* 启动子相结合, 上调 *CBF3* 基因的表达, 从而显著提高植株低温胁迫的应答^[23]。

前人研究结果显示, BR 信号基因在植物响应冷胁迫过程中发挥重要作用, 可以通过调节植物激素、

增强抗氧化酶活性和抗寒基因的表达来提高植物的抗寒性^[17]。但目前关于番茄 *Atrd29A* 启动 *BR* 受体 *SlBRI1* 在响应冷胁迫过程中的调节规律尚不清楚。本研究以 *Atrd29A* 启动的 *SlBRI1* 基因为切入点,番茄品种 Micro-Tom(MT)、*SlBRI1* 过表达株系(*Atrd29A:SlBRI1*)为材料,在低温环境下对番茄幼苗的抗寒能力进行比较分析。通过相关指标阐明 *SlBRI1* 过表达对番茄抗冷性的生理调控效应,旨在揭示 *BR* 信号强度与番茄抗冷性两者之间的关系,为今后选取耐寒性番茄品种提供理论依据,对农业生产也有一定的参考价值。

1 材料和方法

1.1 试验设计

试验于西华师范大学生命科学学院实验室进行。实验材料为番茄 Micro-Tom (MT)种子和 *SlBRI1* 过表达 *T₃* 代转基因种子。*SlBRI1* 过表达转基因番茄植物参考 Nie 等人的方法获得^[24]。根据 *SlBRI1* 表达量选取 2 个独立的纯合 *SlBRI1* 过表达株系(*Atrd29A:SlBRI1-2*、*Atrd29A:SlBRI1-5*)进行低温实验。选取饱满且大小一致的番茄种子,进行消毒、浸种,置于 25 ℃培养箱中催芽处理,种子露白后播于营养钵内(泥炭:MIKSKAAR=1:1),幼苗生长在温度为 25 ℃,光周期为 16 h/8 h 的温室中。当番茄苗长至五叶一心时,对 MT、*Atrd29A:SlBRI1-2* 和 *Atrd29A:SlBRI1-5* 3 组材料进行 4 ℃低温处理,试验设 3 次重复。测定低温胁迫后 0 d、5 d 的光合参数、荧光参数以及相关逆境基因转录水平,并对其幼苗的抗寒能力进行比较分析。

1.2 测量指标及方法

光合参数:利用 LI-6400 便携式光合作用测量系统(LI-COR 公司,美国)测定幼苗从上而下第 3 片完全展开叶的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)和蒸腾速率(T_r)。所有的测量均在 CO_2 浓度为 400 $\mu mol/mol$,叶片温度 25 ℃和 1 200 $\mu mol/(m^2 \cdot s)$ 光强下进行。

叶绿素荧光参数:将叶片暗处理 30 min 后,使用 LI-6400 便携式光合作用仪测定叶绿素荧光参数值。测定初始荧光(F_o)、最大荧光(F_m)、光下最小荧光(F_o')、光下最大荧光(F_m')及稳态荧光(F_s)。根据测定的叶绿素荧光参数计算光系统II(PS II)中的最大光化学效率值: $F_v/F_m=(F_m-F_o)/F_m$,实际光能转化效率值: $\Phi_{PSII}=(F_m'-F_s)/F_m'$,开放的 PS II 反应中心最大的光能转化效率值: $F_v'/F_m'=(F_m'-F_o')/$

F_m' ,光化学猝灭系数值: $Q_p=(F_m'-F_s)/(F_m'-F_o')$,测定 3 次。

基因转录水平分析:用天根试剂盒提取番茄叶片总 RNA。质量合格的 RNA 采用 Vazyme 反转录试剂盒合成 cDNA。在实时荧光定量 PCR 仪(Bio-Rad)上进行 qRT-PCR 反应。定量检测体系为 20 μL :10 μL 2×ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix,8 μL cDNA 模板,正/反向引物各 0.4 μL ,1.2 μL ddH₂O。反应条件为 95 ℃ 30 s;95 ℃ 10 s,60 ℃ 30 s,40 个循环。每个样品 3 次重复,以番茄 *UBI3* 基因为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法^[25] 计算所有株系中抗逆基因的相对表达量(*SlBRI1*、*SlICE1*、*SlCBF1*、*SlCBF3* 和 *SlDRC17*)。

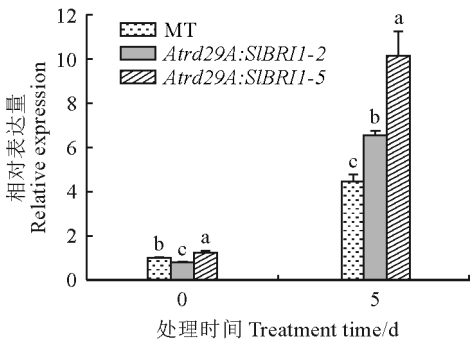
1.3 数据处理

采用 SPSS 19.0 软件对数据进行单项因素方差分析,用 Duncan's 多重比较进行差异显著性分析($P<0.05$),数据用平均值±标准误差表示。

2 结果与分析

2.1 *Atrd29A* 启动子表达 *SlBRI1* 对番茄幼苗 *SlBRI1* 表达水平的影响

如图 1 所示,低温胁迫 0 d 时,野生型和转基因植株中 *SlBRI1* 基因的相对表达量具有显著性差异。与低温处理 0 d 相比,低温胁迫 5 d 提高了 MT、*Atrd29A:SlBRI1-2* 和 *Atrd29A:SlBRI1-5* 中 *SlBRI1* 基因的相对表达量,MT 野生型提高了 3.45 倍,而转基因株系 *Atrd29A:SlBRI1-2* 和 *Atrd29A:SlBRI1-5* 分别提高了 7.06 倍和 7.17 倍。说明 *Atrd29A* 启动子在低温环境下能够增强 *SlBRI1* 的表达。



柱状图上不同小写字母表示材料间差异显著($P<0.05$)。下同。
图 1 野生型(MT)和 *Atrd29A:SlBRI1* 番茄幼苗在低温胁迫下 *SlBRI1* 转录水平的相对变化
Different lowercase letters indicate significant differences among materials ($P<0.05$). The same as below.
Fig. 1 Relative changes of transcription levels of *SlBRI1* in tomato seedlings of wild type (MT) and *Atrd29A:SlBRI1* under low temperature stress

2.2 *Atrd29A* 启动子表达 *SiBRI1* 对番茄幼苗外在形态的影响

如图 2 所示,低温胁迫 0 d 时,MT 和 *Atrd29A*:*SiBRI1* 转基因植株外在形态无明显差异,低温胁迫 5 d 后,所有植株均表现出不同程度的萎蔫现象。*Atrd29A*:*SiBRI1*-2、*Atrd29A*:*SiBRI1*-5 出现轻微的萎蔫,而 MT 植株萎蔫程度更明显。说明 *Atrd29A*:*SiBRI1* 转基因植株比 MT 抗寒能力更强。在 25 ℃ 条件下恢复 3 d 后,各株系萎蔫状况均有缓解,但 MT 植株的萎蔫程度仍比 *Atrd29A*:*SiBRI1*-2、*Atrd29A*:*SiBRI1*-5 枯萎程度明显。表明 *SiBRI1* 基因对植株低温后的恢复能力也有一定的调节作用。

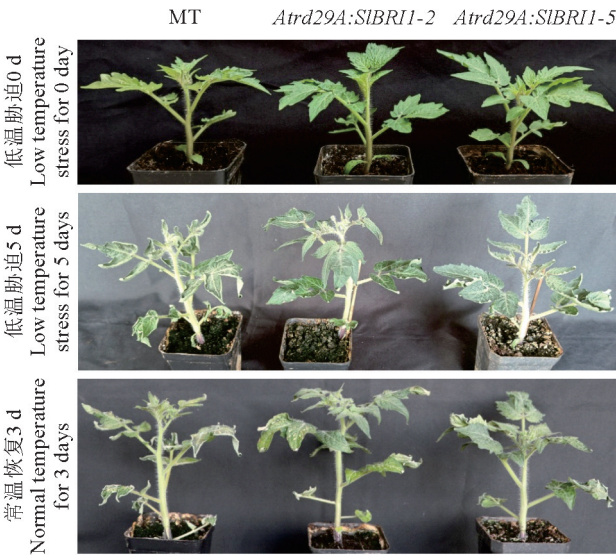


图 2 野生型(MT)和 *Atrd29A*:*SiBRI1* 番茄幼苗在低温胁迫 0 d、5 d 和恢复 3 d 后的表现
Fig. 2 Phenotypes of tomato seedlings of wild type (MT) and *Atrd29A*:*SiBRI1* after 0 and 5 days of low temperature stress and 3 days of recovery

2.3 *Atrd29A* 启动子表达 *SiBRI1* 对番茄幼苗气体交换参数的影响

如图 3 所示,低温胁迫 0 d 时, P_n 、 G_s 、 T_r 和 C_i 野生型和 *Atrd29A*:*SiBRI1* 转基因植株没有显著性差异。与胁迫 0 d 相比,低温胁迫 5 d 后番茄叶片的 P_n 、 G_s 和 T_r 显著下降(图 3, A、B、D), C_i 呈上升趋势(图 3, C)。说明在低温条件下, CO_2 向叶绿体的转运受到了限制,造成光合作用原料供应减少,从而导致光合速率的下降。其中 P_n 分别降低 69.61%、64.91%、63.70%; G_s 分别降低 49.50%、32.91%、

36.52%; T_r 分别降低 66.41%、59.13%、57.79%; C_i 分别升高 75.57%、61.33%、63.69%。较 *SiBRI1* 转基因植株而言 MT 受低温影响更明显,低温胁迫 5 d 后 *Atrd29A*:*SiBRI1*-2、*Atrd29A*:*SiBRI1*-5 的 P_n 、 G_s 和 T_r 均显著高于 MT, C_i 显著低于 MT。说明诱导 *SiBRI1* 的表达能减缓低温胁迫对植株光合特性的影响。

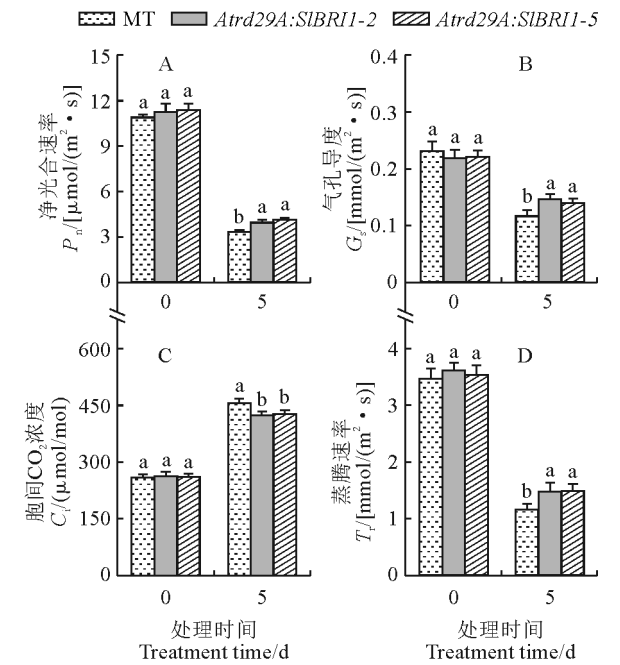


图 3 低温胁迫对番茄幼苗叶片气体交换参数的影响
Fig. 3 Effect of low temperature stress on gas exchange parameters of tomato seedling leaves

2.4 *Atrd29A* 启动子表达 *SiBRI1* 对番茄幼苗叶绿素荧光参数的影响

如图 4 所示,低温胁迫 0 d 时,MT 和 *Atrd29A*:*SiBRI1* 转基因植株的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 、 qP 没有显著性差异。低温胁迫 5 d 后, F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 qP 均低于胁迫前, F_v/F_m 分别降低 43.88%、36.36%、36.68%; Φ_{PSII} 分别降低 74.46%、66.49%、65.74%; F_v'/F_m' 分别降低 64.73%、57.65%、57.04%; qP 分别降低 57.52%、53.37%、52.63%。说明在光合作用过程中,低温可能导致 PSII 平衡被打破,导致光抑制,进而影响光合电子供给,在一定程度上影响了光能向化学能的转化。低温胁迫 5 d 后, *Atrd29A*:*SiBRI1*-2、*Atrd29A*:*SiBRI1*-5 的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 qP 降低的程度明显低于 MT。说明诱导 *SiBRI1* 的表达能减缓低温胁迫对植株荧光特性的影响。

2.5 Atrd29A 启动子表达 *SlBRI1* 对番茄幼苗抗冷基因表达的影响

如图 5 所示,低温处理 0 d 时 MT、*Atrd29A*:*SlBRI1*-2 和 *Atrd29A*:*SlBRI1*-5 的 *SlCBF1*、*SlCBF3* 表达水平具有显著差异。

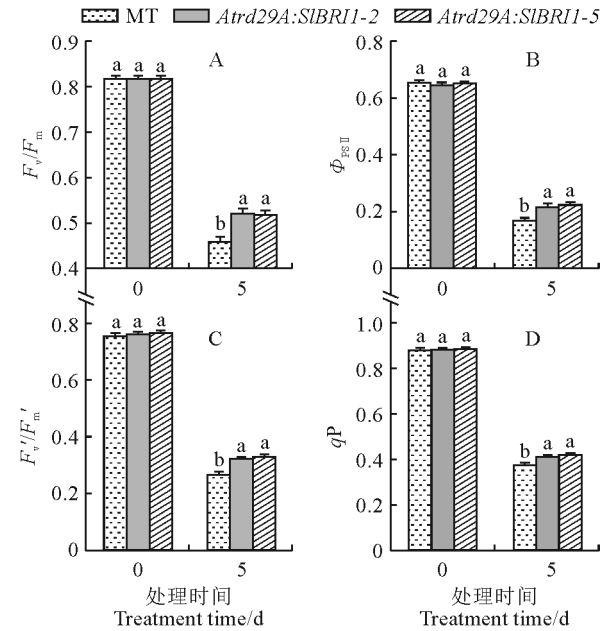


图 4 低温胁迫对番茄叶片荧光参数的影响
Fig. 4 Effect of low temperature stress on fluorescence parameters of tomato leaves

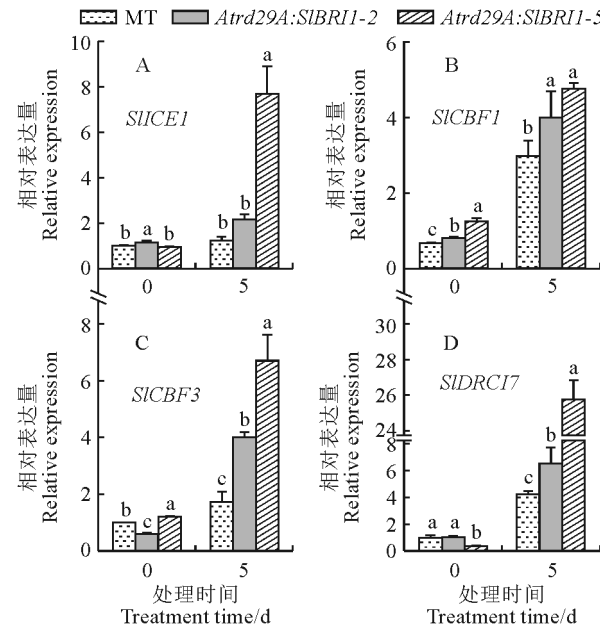


图 5 低温胁迫下野生型(MT)和 *Atrd29A*:*SlBRI1* 转基因植株中基因的相对表达量
Fig. 5 Relative gene expression levels of wild type (MT) and *Atrd29A*:*SlBRI1* transgenic plants under low temperature stress

与低温处理 0 d 相比,低温处理 5 d 提高了 MT、*Atrd29A*:*SlBRI1*-2 和 *Atrd29A*:*SlBRI1*-5 中 *SlICE1*、*SlCBF1*、*SlCBF3* 和 *SlDRC17* 基因的相对表达量,*SlICE1* 基因相对表达量分别增加 23.33%、87.07%、723.73%;*SlCBF1* 基因相对表达量分别增加 340.71%、392.34%、283.47%;*SlCBF3* 基因相对表达量分别增加 73.05%、572.79%、458.21%;*SlDRC17* 基因相对表达量分别增加 325.46%、532.20%、6 993.82%。低温处理 5 d 后,*Atrd29A*:*SlBRI1*-2 和 *Atrd29A*:*SlBRI1*-5 中 *SlICE1*、*SlCBF1*、*SlCBF3* 和 *SlDRC17* 基因的相对表达量显著高于 MT。表明 *Atrd29A*:*SlBRI1* 转基因植株增强了低温逆境基因表达水平,对低温胁迫的响应能力显著提高。

3 讨论

光合作用是一种受温度影响较大的生理过程,在较低的温度下,由于气孔导度的降低,导致了叶面气孔的闭合,从而降低了 CO₂ 的供给,光合作用受到气孔因素限制^[26]。在重度胁迫下,植物的光合能力受到气孔因素和非气孔因素的双重限制,且以非气孔因素为主^[27]。本研究发现,低温胁迫下番茄幼苗的 P_n 、 G_s 和 T_r 都有较大幅度地下降,表明低温胁迫对番茄幼苗气孔有明显的抑制作用。同时,植株的 C_i 显著升高,说明在较低的温度下,气孔的阻滞将对 CO₂ 的吸收和气体交换造成不良的影响,光合作用受阻,这与杨鸿基等的研究结果^[28] 相一致。本研究结果显示,经过 5 d 的低温胁迫后,*Atrd29A*:*SlBRI1* 转基因植株叶片的 P_n 、 G_s 和 T_r 下降幅度小于 MT 野生型, C_i 增长幅度大于野生型,表明野生型叶片气体交换参数对低温胁迫的敏感性大于转基因型,诱导 *SlBRI1* 的表达能够缓解低温胁迫对植株光合作用的破坏,提高植株的抗寒能力^[29]。

叶绿素荧光参数包含了极其丰富的生理信息,是检测作物生长发育和光合特性的有效手段^[30]。 F_v/F_m 体现了植物 PS II 光能转换的最大潜能,它反映了 PS II 的原初光能转化效率, F_v/F_m 下降表明植株受到光抑制^[31]。PS II 是光化学反应中心,极易受低温影响,主要表现在光能的吸收、转换与电子传递等方面^[32]。 F_v'/F_m' 是开放 PS II 反应中心的激发能捕获效率^[33]。 qP 是 PS II 光化学猝灭系数,体现在光化学传输中所占 PS II 天线色素吸收的光能的份额, qP 下降表明植物光合作用中的暗反应受

到影响^[7]。本研究结果表明,低温显著降低了番茄叶片的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 qP ,这与在葡萄上的研究结果^[34]一致。此类结果说明在光合作用中低温胁迫会破坏 PS II,并发生光抑制,影响其碳代谢过程中的电子供应^[32],也对番茄幼苗 PS II 的光能转换成化学能有一定程度的阻碍。本研究结果显示,*SlBRI1* 转基因植株在低温环境下 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 qP 都显著高于野生型植株,说明诱导 *SlBRI1* 的表达有利于缓解低温对叶绿素荧光参数的影响。

ICE1-CBF-COR 途径作为植物应对低温胁迫的重要一环,在提高植物胁迫应答层面具有不可忽视的效用^[29]。CBFs 转录因子是低温胁迫过程中的重要分子开关,在一定程度上调控大量与低温相关的基因,ICE1 是其重要的转录调控因子^[35]。在响应低温应答过程中,ICE1 转录因子被激活,使其下游基因 CBFs 及 COR 被诱导表达,能够提高自身抵御低温胁迫的能力^[36]。植株通过过表达 *SlCBF2*、*SlCBF3* 和 *SlCBF1* 提高植物的耐寒性,相关研究表明,低温能有效地诱导 *CBF1* 的表达,CBF 的表达量则在低温短期内快速升高,并达到最大值^[37]。

因此 *CBF1* 基因的表达量和抗冷性之间存在着一一定的相关关系,可以作为评价番茄抗冷性的指标之一^[38]。在低温胁迫中,*SlICE1* 与 *CBF1* 的启动子结合,提高 *SlCBF1* 和 *SlDRC17* 基因的表达^[39]。本研究结果表明,在低温胁迫下所有植株的 *SlICE1*、*SlCBF1*、*SlCBF3* 和 *SlDRC17* 基因表达水平都显著上升,并且 *SlBRI1* 转基因植株的 *SlICE1*、*SlCBF1*、*SlCBF3* 和 *SlDRC17* 基因的表达水平在低温胁迫后均显著高于 MT 植株。这与拟南芥相关研究结果^[40]一致。这些结果表明,诱导 *SlBRI1* 的表达可能通过 ICE-CBF-COR 途径提高番茄植株的抗寒能力。

该研究通过对野生型(MT)和 *SlBRI1* 过表达株系(*Atrd29A:SlBRI1*)进行低温处理,较野生型而言 *SlBRI1* 过表达缓解了冷害对番茄植株 P_n 、 G_s 、 T_r 、 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 qP 降低的程度。同时,减缓植株的 C_i 上升。低温胁迫后,*SlBRI1* 转基因植株的 *SlICE1*、*SlCBF1*、*SlCBF3* 和 *SlDRC17* 基因表达水平均显著高于 MT 植株。综上所述,*Atrd29A* 启动的 *SlBRI1* 过表达能够缓解低温胁迫对植株光合作用的抑制,显著提高对低温胁迫的响应能力。

参考文献:

[1] KIMURA S, SINHA N. Tomato (*Solanum lycopersicum*): A model fruit-bearing crop[J]. *CSH Protocols*, 2008, **3**(11): 1-9.

[2] NIE S M, YANG Z J, XIAO C F, et al. Physiological and transcriptomic analyses of the effects of *SlBRI1* expression levels on the drought tolerance of tomato seedlings[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2023, **42**(2): 795-809.

[3] 戴云花,沈逸雨,徐文静,等. 不同光强对不同叶色辣椒色素及光合特性的影响[J/OL]. 分子植物育种:1-11[2023-10-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230308.0908.006.html>.

DAI Y H, SHEN Y Y, XU W J, et al. Effects of different light intensities on pigments and photosynthetic characteristics of pepper with different leaf colors[J/OL]. *Molecular Plant Breeding*: 1-11[2023-10-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230308.0908.006.html>.

[4] AN S M, LIU Y, SANG K Q, et al. Brassinosteroid signaling positively regulates abscisic acid biosynthesis in response to chilling stress in tomato[J]. *Journal of Integrative Plant Bi-*

ology, 2023, **65**(1): 10-24.

[5] 赵海亮,左璐,张璐,等. 低温胁迫下外源褪黑素对番茄幼苗光抑制的缓解效应[J]. 应用生态学报, 2023, **34**(1): 151-159.

ZHAO H L, ZUO L, ZHANG L, et al. Mitigation of exogenous melatonin on photoinhibition of tomato seedlings under chilling stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2023, **34**(1): 151-159.

[6] BROOKING I R, TAYLOR A O. Plants under climatic stress: V. chilling and light effects on radiocarbon exchange between photosynthetic intermediates of *Sorghum*[J]. *Plant Physiology*, 1973, **52**(2): 180-182.

[7] 罗鑫辉,刘明月,黄科,等. 不同品种番茄幼苗低温适应性评价及光合特性分析[J]. 中国瓜菜, 2021, **34**(8): 49-55.

LUO X H, LIU M Y, HUANG K, et al. Evaluation of low temperature adaptability and analysis of photosynthetic characteristics in different tomato varieties[J]. *China Cucurbits and Vegetables*, 2021, **34**(8): 49-55.

[8] 冯香程. 初始生长温度不同的胡桃楸幼苗对低温胁迫的响应[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2022.

[9] FENG Z X, SHI H Y, LV M H, *et al.* Protein farnesylation negatively regulates brassinosteroid signaling via reducing BES1 stability in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2021, **63**(7): 1 353-1 366.

[10] LI J J, QUAN Y, WANG L, *et al.* Brassinosteroid promotes grape berry quality-focus on physicochemical qualities and their coordination with enzymatic and molecular processes: A review[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, **24**(1): 445.

[11] ZHANG F H, LU K, GU Y Y, *et al.* Effects of low-temperature stress and brassinolide application on the photosynthesis and leaf structure of tung tree seedlings[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, **10**: 1 767.

[12] FANG P P, YAN M Y, CHI C, *et al.* Brassinosteroids act as a positive regulator of photoprotection in response to chilling stress[J]. *Plant Physiology*, 2019, **180**(4): 2 061-2 076.

[13] CHI C, LI X M, FANG P P, *et al.* Brassinosteroids act as a positive regulator of NBR1-dependent selective autophagy in response to chilling stress in tomato[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, **71**(3): 1 092-1 106.

[14] WANG M, SUN S, WU C X, *et al.* Isolation and characterization of the brassinosteroid receptor gene (*GmBR11*) from *Glycine max*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, **15**(3): 3 871-3 888.

[15] WANG D, YANG Z J, WU M Q, *et al.* Enhanced brassinosteroid signaling via the overexpression of *SlBR11* positively regulates the chilling stress tolerance of tomato[J]. *Plant Science*, 2022, **320**: 111 281.

[16] EREMINA M, UNTERHOLZNER S J, RATHNAYAKE A I, *et al.* Brassinosteroids participate in the control of basal and acquired freezing tolerance of plants[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, **113**(40): 5 982-5 991.

[17] LI M R, PAN X P, LI H Q. RD29A promoter constitutively drives a rice Hd3a expression to promote early-flowering in *Saussurea involucrata* Kar. et Kir. ex Maxim. [J]. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*, 2023, **195**: 155-162.

[18] BEGCY K, MARIANO E D, GENTILE A, *et al.* A novel stress-induced sugarcane gene confers tolerance to drought, salt and oxidative stress in transgenic tobacco plants[J]. *PLoS One*, 2012, **7**(9): e44 697.

[19] LIU W S, SIKORA E, PARK S W. Plant growth-promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* CR1, upregulates dehydration-responsive genes, *RD29A* and *RD29B*, during priming drought tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*, 2020, **156**: 146-154.

[20] RAI G K, RAI N P, RATHAUR S, *et al.* Expression of *rd29A::AtDREB1A/CBF₃* in tomato alleviates drought-induced oxidative stress by regulating key enzymatic and non-enzymatic antioxidants[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, **69**: 90-100.

[21] 王北艳, 殷奎德. 转 *rd29A-ICE1* 冷诱导基因水稻提高抗寒性研究[J]. 核农学报, 2013, **27**(6): 731-735.

WANG B Y, YIN K D. Integrating cold regulative gene *rd29A-ICE1* into rice improves cold tolerance[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2013, **27**(6): 731-735.

[22] RITONGA F N, CHEN S. Physiological and molecular mechanism involved in cold stress tolerance in plants[J]. *Plants*, 2020, **9**(5): 560.

[23] MIURA K, JIN J B, LEE J, *et al.* SIZ1-mediated sumoylation of ICE1 controls CBF₃/DREB1A expression and freezing tolerance in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2007, **19**(4): 1 403-1 414.

[24] NIE S M, HUANG S H, WANG S F, *et al.* Enhancing brassinosteroid signaling via overexpression of tomato (*Solanum lycopersicum*) *SlBR11* improves major agronomic traits [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, **8**: 1 386.

[25] 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.

[26] LIU X J, AN B Y, GU N, *et al.* Response of leaf photosynthetic characteristics of *Syringa oblata* and *Syringa reticulata* var. *mandshurica* to chilling stress[J]. *Journal of Forestry Research*, 2020, **31**(2): 521-530.

[27] JIAO L Y, WANG L H, ZHOU Q, *et al.* Stomatal and non-stomatal factors regulated the photosynthesis of soybean seedlings in the present of exogenous bisphenol A[J]. *Eco-toxicology and Environmental Safety*, 2017, **145**: 150-160.

[28] 杨鸿基, 魏立星, 康江芳, 等. 哈密瓜幼苗对低温胁迫的生理及光合荧光响应[J/OL]. 分子植物育种: 1-16[2023-10-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20211203.0043.006.html>.

YANG H J, WEI L X, KANG J F, *et al.* Physiological and photosynthetic fluorescence responses of hami melon seedlings to low temperature stress[J/OL]. *Molecular Plant Breeding*: 1-16[2023-10-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20211203.0043.006.html>.

[29] 王光正, 吕 剑, 毛 娟, 等. 油菜素内酯对低温胁迫下番茄幼苗生理指标的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2021, **56**(4): 69-75.

WANG G Z, LYU J, MAO J, *et al.* Effects of brassinolide on physiological characteristics of tomato seedlings under low

temperature stress[J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2021, **56**(4): 69-75.

[30] ZHANG C, AKHLAQ M, YAN H F, *et al.* Chlorophyll fluorescence parameter as a predictor of tomato growth and yield under CO₂ enrichment in protective cultivation[J]. *Agricultural Water Management*, 2023, **284**: 108 333.

[31] 师生波, 师 瑞, 周党卫, 等. 低温逆境对青藏高原小嵩草叶片 PSⅡ 光化学效率的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2023, **58**(4): 201-211.

SHI S B, SHI R, ZHOU D W, *et al.* Effects of low-temperature stress on the PS Ⅱ photochemical efficiency of *Kobresia pygmaea* in alpine meadow on the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2023, **58**(4): 201-211.

[32] 胡文海, 胡雪华, 闫小红, 等. 低温胁迫及恢复对番茄快速叶绿素荧光诱导动力学特征的影响[J]. 中国农业气象, 2021, **42**(10): 859-869.

HU W H, HU X H, YAN X H, *et al.* Response of chlorophyll fluorescence transient in leaves of tomato under chilling stress and subsequent recovery [J]. *Chinese Journal of Agrometeorology*, 2021, **42**(10): 859-869.

[33] 卫丹丹. 低温胁迫下甜菜碱对番茄叶片光合作用的保护机制[D]. 山东泰安: 山东农业大学, 2016.

[34] 侯丽丽, 邱 毅, 孙惠敏, 等. 除草剂草甘膦对葡萄光合作用及叶绿素荧光特性的影响[J]. 北方园艺, 2018(13): 57-62.

HOU L L, QIU Y, SUN H M, *et al.* Effects of herbicide glyphosate on photosynthetic and chlorophyll fluorescence characteristics of grapes[J]. *Northern Horticulture*, 2018 (13): 57-62.

[35] HU S S, WANG T L, SHAO Z Y, *et al.* Brassinosteroid biosynthetic gene *SlCYP90B3* alleviates chilling injury of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruits during cold storage[J]. *Antioxidants*, 2022, **11**(1): 115.

[36] 李津津, 刘 凯, 王 芳, 等. 核桃响应低温胁迫转录因子 ICE1 基因的克隆与分析[J]. 林业与生态科学, 2021, **36** (3): 293-300.

LI J J, LIU K, WANG F, *et al.* Cloning and analysis of the cold stress transcription factor *ICE1* gene in *Juglans regia* [J]. *Forestry and Ecological Sciences*, 2021, **36** (3): 293-300.

[37] GILMOUR S J, ZARKA D G, STOCKINGER E J, *et al.* Low temperature regulation of the *Arabidopsis* CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold-induced *COR* gene expression[J]. *The Plant Journal*, 1998, **16**(4): 433-442.

[38] ZHAO K Y, CHEN R L, DUAN W H, *et al.* Chilling injury of tomato fruit was alleviated under low-temperature storage by silencing Sly-miR171e with short tandem target mimic technology[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, **9**: 906 227.

[39] MIURA K, SHIBA H, OHTA M, *et al.* SLICE1 encoding a MYC-type transcription factor controls cold tolerance in tomato, *Solanum lycopersicum* [J]. *Plant Biotechnology*, 2012, **29**(3): 253-260.

[40] WANG R, YU M M, XIA J Q, *et al.* Overexpression of *TaMYC₂* confers freeze tolerance by ICE-CBF-COR module in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, **13**: 1 042 889.

(编辑:韦青侠)