

• 研究报告 •

吴月燕 浙江万里学院二级教授、研究生导师。主要从事园林园艺植物生理与分子生物学、植物生理生态等的教学和科研工作，为国家教育部和浙江省高等学校教学指导委员会委员；先后主持或参加了国家、省、市科研项目 20 余项，以第一负责人获得省部级、市级科技进步奖 10 余项；带领的科研团队培育葡萄和杜鹃花新品种 42 个，以第一发明人获得国家发明专利、新型专利及软件著作权 10 余项。



基于转录组分析弱光胁迫对葡萄幼苗的影响

陈天池[#], 徐涛[#], 李学孚, 沈乐意, 胡玲玲, 郭雁飞, 贾永红, 吴月燕

浙江万里学院 生物与环境学院, 浙江 宁波 315100

陈天池, 徐涛, 李学孚, 沈乐意, 胡玲玲, 郭雁飞, 贾永红, 吴月燕. 基于转录组分析弱光胁迫对葡萄幼苗的影响. 生物工程学报, 2022, 38(10): 3859-3877.

CHEN TC, XU T, LI XF, SHEN LY, HU LL, GUO YF, JIA YH, WU YY. Transcriptional analysis of grape in response to weak light stress. Chin J Biotech, 2022, 38(10): 3859-3877.

摘要: 葡萄在生长过程中, 常常暴露在光照不足的环境条件下, 弱光严重影响葡萄的正常生长发育。为了探究弱光胁迫对葡萄生理生化的影响, 本研究以‘鄞红’葡萄幼苗为试验对象, 对其在不同弱光强度胁迫下 (CK、T1、T2、T3 和 T4, 胁迫强度逐渐增大) 各种生理指标变化及部分处理组的转录组进行分析。结果表明, 低强度弱光胁迫对葡萄光合作用以及生理生化的影响并不显著; 随着胁迫强度的增大, 葡萄叶片表皮层、栅栏组织、海绵组织变薄, 海绵组织和栅栏组织细胞间隙变大, 过氧化氢酶活性、过氧化物酶活性和超氧化物歧化酶活性逐渐下降, 同时可溶性蛋白含量下降, 游离脯氨酸含量上升。在遮光率为 80% 的胁迫下, 葡萄光合作用以及其他生理生化各指标均发生显著变化。RNA-seq 数据显示 CK 和 T2、CK 和 T4、T2 和 T4 的差异表达基因分

Received: April 12, 2022; **Accepted:** June 14, 2022

Supported by: Key Research and Development Program of Zhejiang Province, China (2021C02053); 2025 Major Science and Technology Innovation Special Project of Ningbo (2019B10015); 2021 Planted Talent Plan of Zhejiang Province (2021R420020); Zhejiang Provincial Department of Education Science Research Project (Y202148115)

[#]These authors contributed equally to this study

Corresponding author: WU Yueyan. E-mail: wyy2000@zww.edu.cn

基金项目: 浙江省重点研发计划 (2021C02053); 宁波市科技创新 2025 重大专项 (2019B10015); 2021 浙江省新苗人才计划 (2021R420020); 浙江省教育厅一般科研项目 (Y202148115)

别为 13 913、13 293 和 14 943 个，大部分差异代谢通路均与植物的抗逆响应密切相关；多个抗逆信号通路的基因表达发生变化，包括 JA/MYC2 途径、MAPK 信号途径。此外多酚氧化酶、硫氧还蛋白等多个抗氧化相关基因以及光敏色素相关基因的表达也发生变化，以上结果表明，在弱光胁迫下，‘鄞红’葡萄可能通过调整活性氧清除剂的表达水平，以维持体内活性氧的平衡状态，同时通过调整光合色素和光反应结构蛋白的表达水平，以维持体内光合作用的平衡与正常运作。本研究将为葡萄耐弱光生理响应机制的探究、抗弱光葡萄品种的选育及设施栽培条件的优化提供理论与技术支持。

关键词：葡萄；弱光胁迫；转录组；MYC2

Transcriptional analysis of grape in response to weak light stress

CHEN Tianchi[#], XU Tao[#], LI Xuefu, SHEN Leyi, HU Lingling, GUO Yanfei, JIA Yonghong, WU Yueyan

College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, Zhejiang, China

Abstract: Grape (*Vitis vinifera* L.) in production is frequently exposed to inadequate light, which significantly affects its agronomic traits via inhibiting their physiological, metabolic and developmental processes. To explore the mechanism how the grape plants respond to the weak light stress, we used ‘Yinhong’ grape and examined their physiology-biochemistry characteristics and transcriptional profile under different levels of weak light stress. The results showed that grape seedlings upon low intensity shading treatments were not significantly affected. As the shading stress intensity was strengthened, the epidermis cells, palisade tissue, and spongy tissue in the leaves were thinner, the intercellular space between the palisade tissue and spongy tissue was larger compared with that of the control, and the activities of superoxide dismutase, catalase and peroxidase were decreased gradually. Additionally, the soluble protein content increased and the free proline content decreased gradually. Compared with the control, significant changes in plant photosynthetic characteristics and physiology-biochemistry characteristics were observed under high intensity of shading (80%). RNA-seq data showed that the differentially expressed genes between CK and T2, CK and T4, T2 and T4 were 13 913, 13 293 and 14 943, respectively. Most of the enrichment pathways were closely related with the plant’s response to stress. Several signaling pathways in response to stress-resistance, e.g. JA/MYC2 pathway and MAPK signal pathway, were activated under weak light stress. The expression level of a variety of genes related to antioxidation (such as polyphenol oxidase and thioredoxin), photosynthesis (such as phytochrome) was altered under weak light stress, indicating that ‘Yinhong’ grape may activate the antioxidation related pathways to cope with reactive oxygen species (ROS). In addition, it may activate the expression of photosynthetic pigment and light reaction structural protein to maintain the photosynthesis activity. This research may help better understand the relevant physiological

response mechanism and facilitate cultivation of grape seedlings under weak light.

Keywords: grape; weak light stress; transcriptome; MYC2

葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 为多年生木质藤本植物, 由于其甜美的口感和沁人的风味, 深受人们的喜爱, 目前已在我国南方广泛种植^[1]。由于我国南方葡萄生长期间多为阴雨天气, 设施栽培条件下的葡萄大多处于光照不足的环境中, 一定程度上影响了葡萄的产量和品质^[2]。

目前关于弱光胁迫对植物影响的研究, 已在水稻^[3]、辣椒^[4]和花生^[5]等草本植物中有所报道, 主要研究其在低温弱光胁迫环境下的光合特性和各种生理生化指标的变化。在葡萄弱光胁迫研究中, 研究主要集中在弱光胁迫对细胞质膜透性、葡萄各种营养器官、各类保护酶活性和叶片光合作用的影响^[6-7]。近年来, 对植物逆境生理响应的研究从以往的研究植物生理适应现象的表观层面发展到以微观角度研究植物生理适应的内在机制, 而转录组学研究是当前生物学领域研究的热点, 但弱光胁迫下葡萄的转录组学研究却鲜有报道。

‘鄞红’葡萄为浙江万里学院等单位联合选育的优质品种, 目前已在浙江省广泛种植^[8]。本研究弱光胁迫对‘鄞红’葡萄幼苗光合特性以及其他生理生化指标的影响, 并结合弱光胁迫响应下的转录组学研究, 筛选出与弱光胁迫下相关的抗逆基因, 为全面理解葡萄耐弱光机制, 进而为葡萄的光照管理以及栽培模式选择提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

2021年5月5日, 选取100株生长健壮、长势一致的1年生‘鄞红’葡萄幼苗, 栽于试验瓦盆

中(上口径29.5 cm, 下口径27.2 cm, 高17.0 cm), 并采用人工基质培养(泥炭: 砗糠=3: 1, 体积比)。每盆基质为1450 g, 含有机质49.3 mg/kg, 碱解氮41.1 mg/kg, 速效磷8.2 mg/kg, 速效钾85.2 mg/kg, pH值为5.6, 定植前基质中一次性施入缓释肥(N: P: K为17: 17: 7) 1.5 kg/m³。于2021年5月15日开始, 将幼苗置于连栋大棚内, 以遮阳网为覆盖材料, 共设置5个处理组: 对照组(CK)、处理组T1(一层膜遮荫, 遮光率为25%)、处理组T2(二层膜遮荫, 遮光率为45%)、处理组T3(三层膜遮荫, 遮光率为65%)和处理组T4(四层膜遮荫, 遮光率为80%)。每个处理组共处理葡萄幼苗20株, 试验期间基质相对湿度保持65%左右, 试验期间不再另外施肥。各个处理组每隔15 d采样一次, 各随机选取3株、每株随机选择功能叶片2张, 用以测定葡萄叶片的一系列生理生化指标。光胁迫45 d时, 每个处理随机选取3株、每株任选功能叶片2张, 用于叶片组织显微结构的观测。此外选取胁迫45 d时的CK、T2和T4组叶片送至华大基因进行转录组学分析。

本试验所用的Plant Total RNA Isolation Kit试剂盒购自南京诺唯赞公司; Plus All-in-one 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix和SYBR qPCR SuperMix Plus试剂盒均购自上海近岸蛋白质有限公司; 试验所用引物均由北京擎科生物科技有限公司合成。

1.2 仪器与设备

SPAD-502PULS 叶绿素仪, KONICA MINOLTA公司; LA-S全能型植物图像分析, 万深有限公司; OLYMPUS光学显微镜, 奥林巴斯公司; EM UC7型超薄切片机, 徕卡公司;

HITACHI-7650 型透射电镜, 日立公司; NanoDrop2000 微量核酸分析仪, 赛默飞公司; DYCP-31BN 型琼脂糖水平电泳仪, 北京六一生物科技有限公司; Bio-Rad CFX96 实时荧光 PCR, Bio-Rad 公司。

1.3 方法

1.3.1 根系和叶片生长指标的测定

采用 LA-S 全能型植物图像分析仪测定葡萄的叶片面积、根系长、根直径、根表面积和根体积。

1.3.2 叶片叶绿素含量、可溶性蛋白和游离脯氨酸的测定

采用 SPAD-502PULS 叶绿素仪测定叶片叶绿素含量。可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法进行测定。脯氨酸含量的测定采用茚三酮显色法进行测定。

1.3.3 叶片保护酶活性和丙二醛含量的测定

过氧化物酶活性 (peroxidase, POD) 采用愈创木酚比色法进行测定; 过氧化氢酶活性 (catalase, CAT) 采用紫外吸收法进行测定; 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 的测定采用氮蓝四唑 (nitro-blue tetrazolium, NBT) 法进行; 丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 采用硫代巴比妥酸 (thiobarbituric acid, TBA) 法进行测定。

1.3.4 叶片组织细胞观测

从葡萄叶片中部主脉两侧取材 (4 mm×6 mm) 制作石蜡切片, 用甲醛-乙酸-乙醇 (formaldehyde-acetic acid-ethanol fixative, FAA) (福尔马林 5 mL, 冰醋酸 5 mL, 50%乙醇 90 mL) 固定, 乙醇和二甲苯脱水后, 石蜡包埋, 横切片厚度 10 μm, 用番红-固绿进行染色。在 OLYMPUS 光学显微镜下用测微尺测量叶表皮、栅栏组织和海绵组织厚度, 各处理组选取 15 个典型视野照相^[9]。

1.3.5 叶绿体超微结构的观测

从葡萄叶片中部主脉两侧选取材料 (2 mm×4 mm), 依次利用 2.5%戊二醛进行前固定, 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液 (pH 7.2) 冲洗, 1% 的锇酸进行固定, 之后依次用 50%、60%、70%、80%、90%和 100%乙醇梯度脱水, 纯丙酮置换浸透, 经环氧树脂包埋, 聚合后, 使用 EM UC7 型超薄切片机中获得 70–90 nm 的切片, 最后使用醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色, 在 HITACHI-7650 型透射电镜下观察观测葡萄叶片栅栏组织细胞叶绿体超微结构, 选取典型视野照相。

1.3.6 RNA-seq 分析

各处理组样品经液氮研磨后, 使用 Plant Total RNA Isolation Kit 试剂盒进行总 RNA 的提取。RNA 完整性、含量和纯度由 NanoDrop2000 微量核酸分析仪和 DYCP-31BN 型琼脂糖水平电泳仪进行检测, 从而完成整个文库的制备工作。将构建好的文库进行质控检测, 文库质控合格后使用 Ion Proton 进行测序。测序产生的原始图像数据经碱基识别 (base calling) 转化后得到原始数据 (raw reads)。测序完成之后, 通过 DEGseq 软件对数据进行差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs) 分析。采用 Gene Ontology 数据库 (<http://www.geneontology.org/>) 和京都基因及基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome, KEGG) 数据库对 DEGs 集进行 GO 和 KEGG 富集分析。

1.3.7 实时荧光 PCR 的测定

根据测序结果得到的重要差异基因的全长序列, 使用 Primer Premier 5 软件设计荧光定量 PCR 引物 (表 1)。Bio-Rad CFX96 实时荧光 PCR 和 SYBR qPCR SuperMix Plus 试剂盒用于基因表达量的测定, 并采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达水平。

表 1 文中所用引物序列
Table 1 Primers used in this study

Primer names	Primer sequences (5'→3')	Size (bp)
GSVIVT01038746001-q-F	GGTTAGGGAGGAGTTTTGGCT	21
GSVIVT01038746001-q-R	CGAGCCAACATGGAAGACCT	20
GSVIVT01007123001-q-F	GAGGGGTGGATTTTTGGGAT	20
GSVIVT01007123001-q-R	AAGCATTTTCCCAGCATCTCG	21
GSVIVT01021381001-q-F	TGCTGAATGGCTCCTTACCG	20
GSVIVT01021381001-q-R	AGCAGTGTGTGACCTGAACC	20
GSVIVT01014587001-q-F	CTGCTTGGTGCATTCCCTCT	20
GSVIVT01014587001-q-R	TCCTGATCTCGTCCGGGTTA	20
Actin-F	CAAGAGAAACCATCCCTAGCTG	22
Actin-R	TCAATCTGTCTAGGAAAGGAAG	22

1.3.8 数据统计

各实验均进行 3 次生物学重复, 并使用 SPSS statistics 25 软件对数据进行显著差异分析, 使用 GraphPad Prism 8 绘制柱状图。

2 结果与分析

2.1 弱光胁迫对‘鄞红’葡萄植株及叶绿素含量的影响

根据试验设计, 我们对弱光胁迫后‘鄞红’葡萄植株的一系列生长指标进行测定 (图 1A 和表 2)。对照组 CK 和处理组 T1 植株根系和叶片的生长状况良好; 处理组 T2 植株根系和叶片的生长状况一般, 叶片表面出现少量黄斑但仍能正常生长, 除叶面积增大外, 其余各指标与对照相比均无显著差异。随着弱光胁迫程度加强, 其对‘鄞红’葡萄的伤害逐渐增大, 处理组 T3 叶片变薄且出现较多黄斑, 少量叶片开始脱落, 除叶面积与对照组相比, 差异不显著, 其余各指标均显著低于对照组; 处理组 T4 植株叶片出现大量脱落, 生长受阻, 各指标均显著低于对照组。此外, 我们对各个处理组的叶片相对叶绿素含量进行测定。结果显示, 处理组 T1 和 T2 植株的叶绿素相对含量变化趋势与对照组相似, 均先上升

后维持在稳定状态。试验结束时, 叶绿素含量与对照相比分别上升 8.7%和 9.7%, 与对照相比, 差异均不显著; 处理组 T3 和 T4 叶绿素含量随着处理时间延长而下降, 试验结束时, 与对照相比分别下降 28.5%和 40.6%, 与对照相比, 差异均显著 (图 1B)。

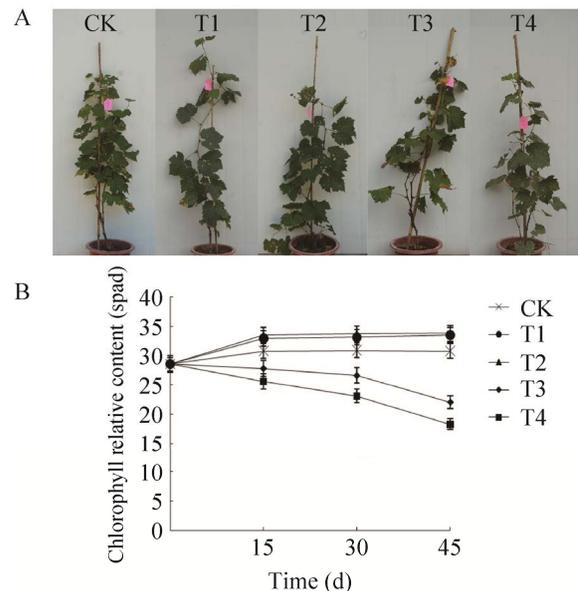


图 1 弱光胁迫下葡萄植株的生长状态及叶片叶绿素含量

Figure 1 Growth phenotype and chlorophyll content of the grape under weak light.

表 2 弱光胁迫 45 d 后对葡萄生长特征的影响

Table 2 Effect of weak light on the growth of grape stressed for 45 d

Treatments	Root system				Leaves	
	Length (cm)	Average diameter (mm)	Surface area (cm ²)	Volume (cm ³)	Leaf area (cm ²)	Morphological characteristics
CK	1 860.4±4.3a	1.01±0.03a	621.2±4.4a	14.2±0.5a	490.2±3.2b	Normal, deep green
T1	1 843.2±4.3a	0.99±0.02a	632.3±5.2a	14.3±0.5a	485.0±3.6b	Normal, deep green
T2	1 803.6±4.4ab	0.93±0.05ab	557.3±4.8ab	12.5±0.6ab	565.6±3.3a	General, a small amount of yellow spot, thin
T3	1 462.1±3.6b	0.76±0.05b	428.2±3.7b	8.4±0.4b	523.8±2.9ab	A small amount of drop, more yellow spots, thin
T4	953.2±3.7c	0.61±0.04c	315.2±3.1c	6.4±0.4c	365.2±3.2c	A large amount of drops and yellow spots, thin

Different lowercase letters mean significant difference ($P < 0.05$).

2.2 弱光胁迫对‘鄞红’葡萄叶片可溶性蛋白和游离脯氨酸的影响

为了探究弱光胁迫对‘鄞红’葡萄渗透调节物质的影响,我们对葡萄叶片中的可溶性蛋白和游离脯氨酸含量进行了测定。观察不同处理组叶片可溶性蛋白变化趋势发现(图 2A),处理组 T1 和处理组 T2 可溶性蛋白质含量先升高后维持在稳定状态,试验结束时,处理组 T1 可溶性蛋白质含量与对照相比升高 3.4%,处理组 T2 可溶性蛋白质含量与对照相比下降 6.2%,均与对照相比无明显差异;处理组 T3 和处理组 T4 可溶性蛋白质含量随着胁迫时间延长而下降,试验结束时,与对照组相比分别下降 24.7%和 35.3%,显著低于对照。游离脯氨酸变化趋势如图 2B 所示,处理组 T1 和处理组 T2 游离脯氨酸含量的变化趋势与对照相似,试验结束时,游离脯氨酸含量与对照相比上升 12.2%和 11.7%,均与对照差异不显著;处理组 T3 和处理组 T4 游离脯氨酸含量随着胁迫时间延长而显著升高,试验结束时与对照相比上升了 137.1%和 157.3%,均显著高于对照。

2.3 弱光胁迫对‘鄞红’葡萄叶片保护酶活性和丙二醛含量的影响

为了探究不同时期弱光胁迫对葡萄叶片的保护酶活性和丙二醛含量的影响,我们对其进行了测定(图 3),结果显示,处理组 T1 和 T2 植株叶片的 SOD、POD 和 CAT 活性均呈先升高后维持在稳定状态,试验结束时,与对照相比,分别下降了 2.7%、2.2%、1.3%和 11.0%、9.2%、11.0%,与对照相比,无明显差异;处理组 T3 和 T4 植株叶片的 SOD、POD 和 CAT 活性均呈先升高后下降的趋势,在胁迫 15 d 时达到最大值,随后急剧下降,试验结束时,与对照相比, T3 和 T4 分别下降 26.5%、27.0%、26.6%和 45.2%、37.8%、49.4%,均显著低于对照。此外我们对氧化损伤指标丙二醛含量进行了测定,结果显示,处理组 T1 和 T2 丙二醛含量与对照相比分别上升了 3.2%和 2.7%,而处理组 T3 和 T4 的丙二醛含量随着处理时间的增加而显著升高,试验结束时,与对照相比,分别上升了 70.8%和 101.4%。以上结果表明,弱光胁迫对葡萄叶片的保护酶活性存在抑制作用,同时随着胁迫强度的增加,葡萄叶片的氧化损伤程度也逐渐增强。

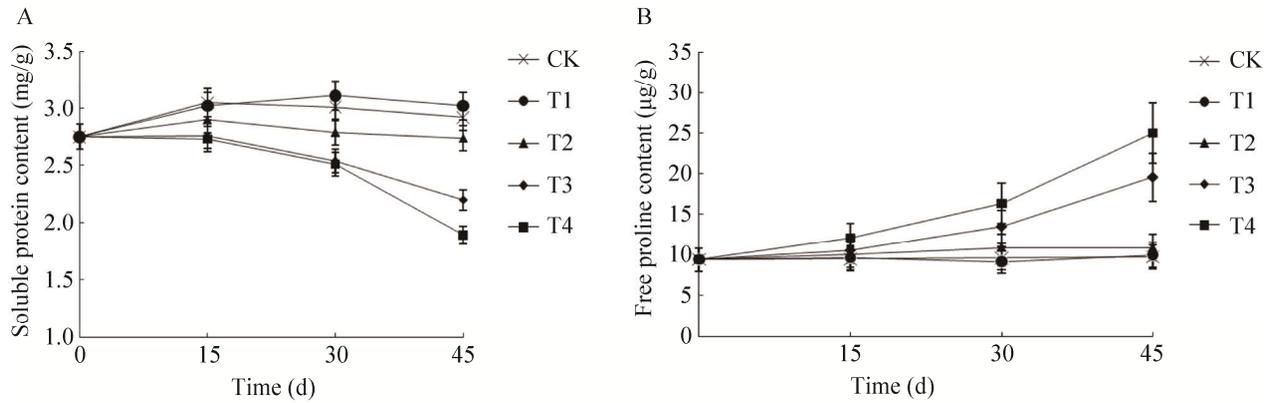


图2 弱光胁迫对葡萄叶片可溶性蛋白和游离脯氨酸的影响

Figure 2 Effect of weak light stress on the soluble protein content and free proline content of grape leaves.

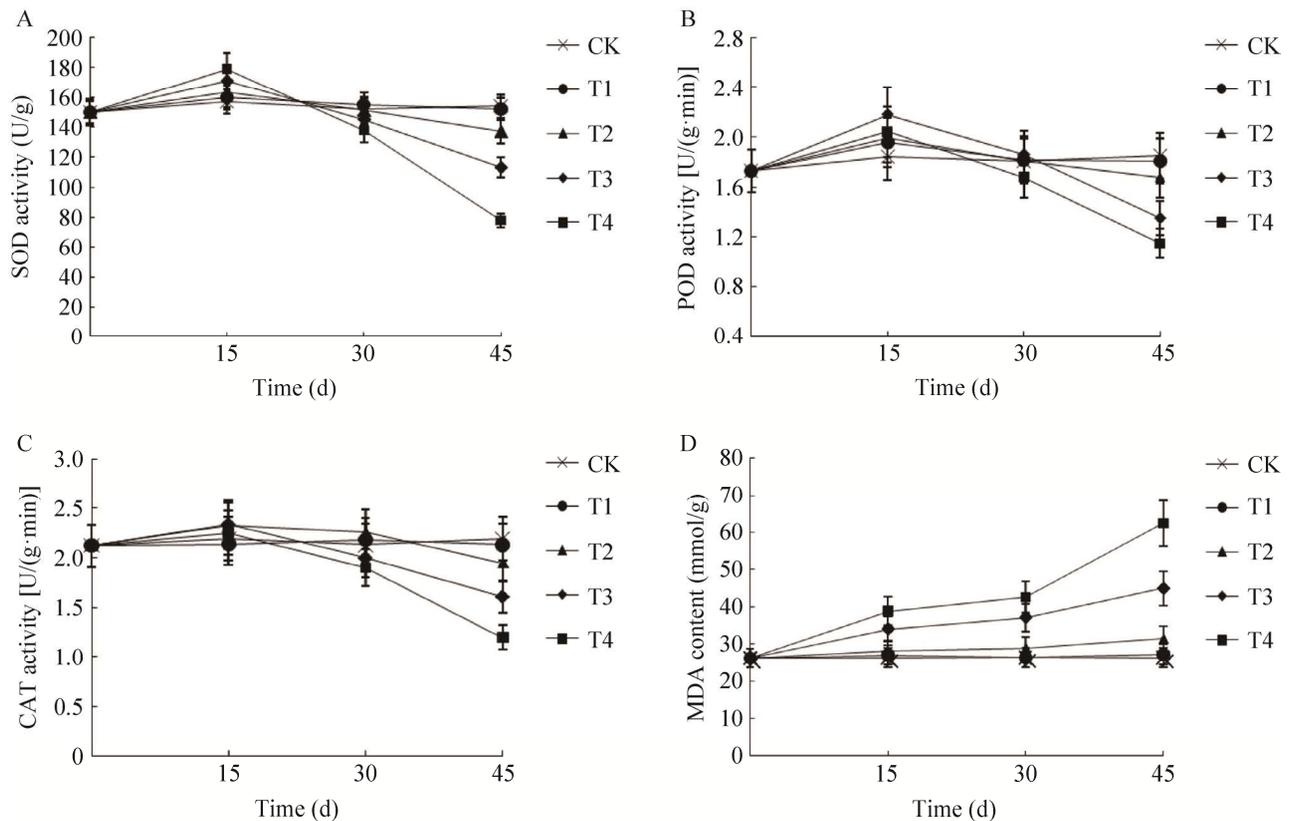


图3 弱光胁迫对葡萄叶片保护酶活性和丙二醛含量的影响

Figure 3 Effect of weak light stress on the protective enzyme activities and MDA content of grape leaves.

2.4 弱光胁迫对‘鄞红’葡萄叶片组织显微结构的影响

在正常条件下，栅栏组织细胞呈长柱状且

排列整齐，海绵组织细胞则排列紧凑，且细胞内富含叶绿体^[10]。处理组 T1 和 T2 植株叶片组织显微结构与对照相比，无显著差异。随着胁迫

迫持续增大, 处理组 T3 和 T4 植株叶片的栅栏组织细胞的沉积物大量积累, 形状变得不规则, 海绵组织和栅栏组织细胞数目都减少, 细胞间隙也变大, 叶绿体在细胞内分布不规则且数目明显变少 (图 4)。此外我们对处理 45 d 后的不同处理组叶片解剖结构定量测定发现, 处理组 T1 和 T2 的叶片表皮层、栅栏组织、海绵组织厚度与对照相比, 无显著差异, 而处理组 T3 和 T4 植株叶片表皮层、栅栏组织、海绵组织厚度显著减少 (表 3)。

2.5 弱光胁迫对‘鄞红’葡萄叶片叶绿体超微结构的影响

正常情况下, 葡萄叶片栅栏组织细胞液

泡膜完整, 叶绿体呈扁平状, 被液泡挤在细胞边缘, 叶绿体基质片层和基粒片层与叶绿体长轴近似平行排列, 基质浓厚, 基粒片层多, 类囊体排列紧密且整齐, 内含淀粉粒与嗜银颗粒相对小且少^[10]。处理组 T1 与对照组 CK 情况相似, 叶绿体及其内含淀粉粒和嗜银颗粒均表现正常; 处理组 T2 出现异常现象, 叶绿体开始肿胀、内含淀粉粒和嗜银颗粒增多且变大, 但与对照组相比, 差异不显著; 随着弱光强度持续增大, 处理组 T3 和 T4 叶绿体明显肿胀变大, 片层结构松散、基质稀薄、内含淀粉粒和嗜银颗粒显著增多且变大 (图 5)。

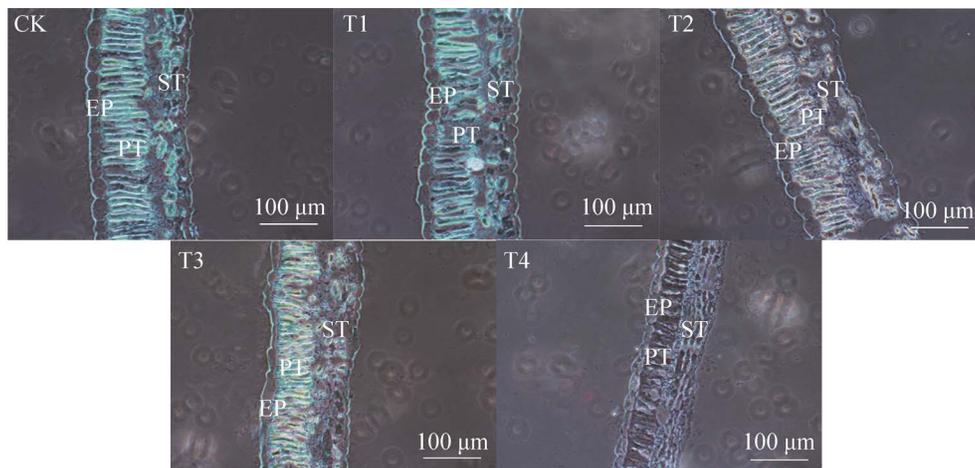


图 4 弱光胁迫下葡萄叶片横切面图

Figure 4 The cross-section of grape leaves under weak light. EP: epidermal cell; PT: palisade tissue; ST: spongy tissue.

表 3 弱光胁迫下葡萄叶片解剖结构变化

Table 3 Changes of anatomical structure of grape leaves under weak light stress

Treatments	Leaf skin thickness (μm)	Palisade tissue thickness (μm)	Spongy tissue thickness (μm)
CK	15.5 \pm 1.0a	33.2 \pm 1.3a	45.2 \pm 2.2a
T1	15.6 \pm 0.8a	33.7 \pm 1.2a	44.0 \pm 1.6a
T2	14.9 \pm 0.9ab	32.5 \pm 1.5ab	40.6 \pm 2.5ab
T3	14.1 \pm 1.1b	28.6 \pm 1.2b	30.8 \pm 1.8b
T4	12.2 \pm 1.3c	24.2 \pm 1.2c	24.7 \pm 2.3c

Different lowercase letters mean significant difference ($P < 0.05$).

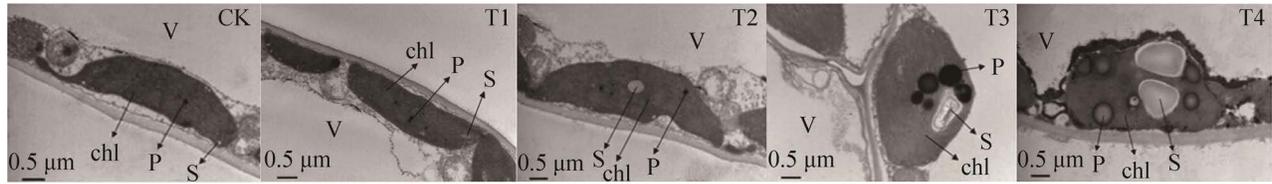


图5 弱光胁迫对葡萄叶片栅栏组织细胞叶绿素超微结构的影响

Figure 5 Effects of weak light on ultrastructure in palisade tissue chloroplast of grape leaves. Chl is chloroplast; V is vacuole; S is starch grain; P is plastoglobules.

2.6 处理组间的 RNA-seq 分析

为了探究弱光胁迫下葡萄叶片的基因表达模式，我们对处理组 T2 (二层膜遮荫，遮光率为 45%)、T4 (四层膜遮荫，遮光率为 65%) 和对照组 CK (不做处理) 叶片进行 RNA-seq 分析 (图 6)，我们发现 T2 组相比于对照组上调基因为 5 954 个，下调基因为 7 959 个；T4 与对照组相比，上调基因为 5 516 个，下调基因为 7 777 个。而 T4 与 T2 之间的差异表达基因数目最多，其中上调基因为 6 818 个，下调基因为 8 125 个。弱光胁迫后，下调基因明显多于上调基因，表明弱光胁迫显著改变了葡萄叶片中的基因表达谱，对大部分基因的表达起到抑制作用。韦恩图显示 CK-VS-T2 和 CK-VS-T4 的共差异基因 51 个，CK-VS-T2 和 T2-VS-T4 的共差异基因 505 个，CK-VS-T4 和 T2-VS-T4 的共差异基因 103 个。此外 CK-VS-T2、CK-VS-T4 和 T2-VS-T4 间的共差异基因则有 12 370 个。

2.7 处理组间 DEGs 的 GO 及 KEGG 功能富集分析

为了探究差异表达基因的 GO 功能富集，我们分别将 CK 与 T2 和 T4 中的差异表达基因进行基因和蛋白功能分类注释 (图 7)。功能分类注释分为以下 3 类：生物过程分析、分子功能分析和细胞组分分析。结果显示 CK 和 T2、CK 和 T4、T2 和 T4 的差异表达基因，在参与生物过程中，差异基因均主要集中在新陈代谢过程和刺激响应过程；在分子功能上，差异基因主

要集中在催化活性上；而在细胞组分中，差异基因主要集中在细胞器和各类膜组织中。

为了进一步了解各个处理组间 DEGs 所在的代谢通路和功能，我们将差异基因进行 KEGG 代谢通路富集分析 (表 4)。结果显示病原菌互作为 CK 和 T4、T2 和 T4 组间的共同差异代谢途径。而在 CK 和 T4、T2 和 T4 组间的差异表达基因在光合作用天线蛋白、卟啉和叶绿素代谢、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸代谢和光合生物固碳作用过程中显著富集，这表明弱光胁迫能够改变叶片对光能的吸收和 CO₂ 的利用，进而影响葡萄叶片的氨基酸代谢，同时影响病原菌与植物细胞膜上的识别位点结合。

2.8 处理组间重要差异表达基因的筛选

通过对 CK、T2 和 T4 中的差异表达基因进行比对，初步筛选出 4 个可能与‘鄞红’葡萄叶片弱光胁迫相关的差异表达基因 (表 5)。其中 GSVIVT01038746001 基因编码 MYC2 转录因子 (Myc2 bHLH protein)、GSVIVT01007123001 编码多酚氧化酶 (polyphenol oxidase)、GSVIVT01021381001 编码光敏色素 E (phytochrome E)、GSVIVT01014587001 编码 h 型硫氧还蛋白 (thioredoxin h-type)，以上基因均与植物光合作用和逆境胁迫有关。GSVIVT01021381001 和 GSVIVT01014587001 基因在无遮荫条件下表达量最大，二层遮荫次之，四层遮荫最小，说明随着弱光胁迫程度的加强，其表达量持续下降。而

GSVIVT01007123001 随着弱光胁迫的加强, 该基因的表达量逐渐上升。GSVIVT01038746001

随着弱光胁迫程度的加强, 该基因的表达量呈先升高后小幅度下降的趋势。

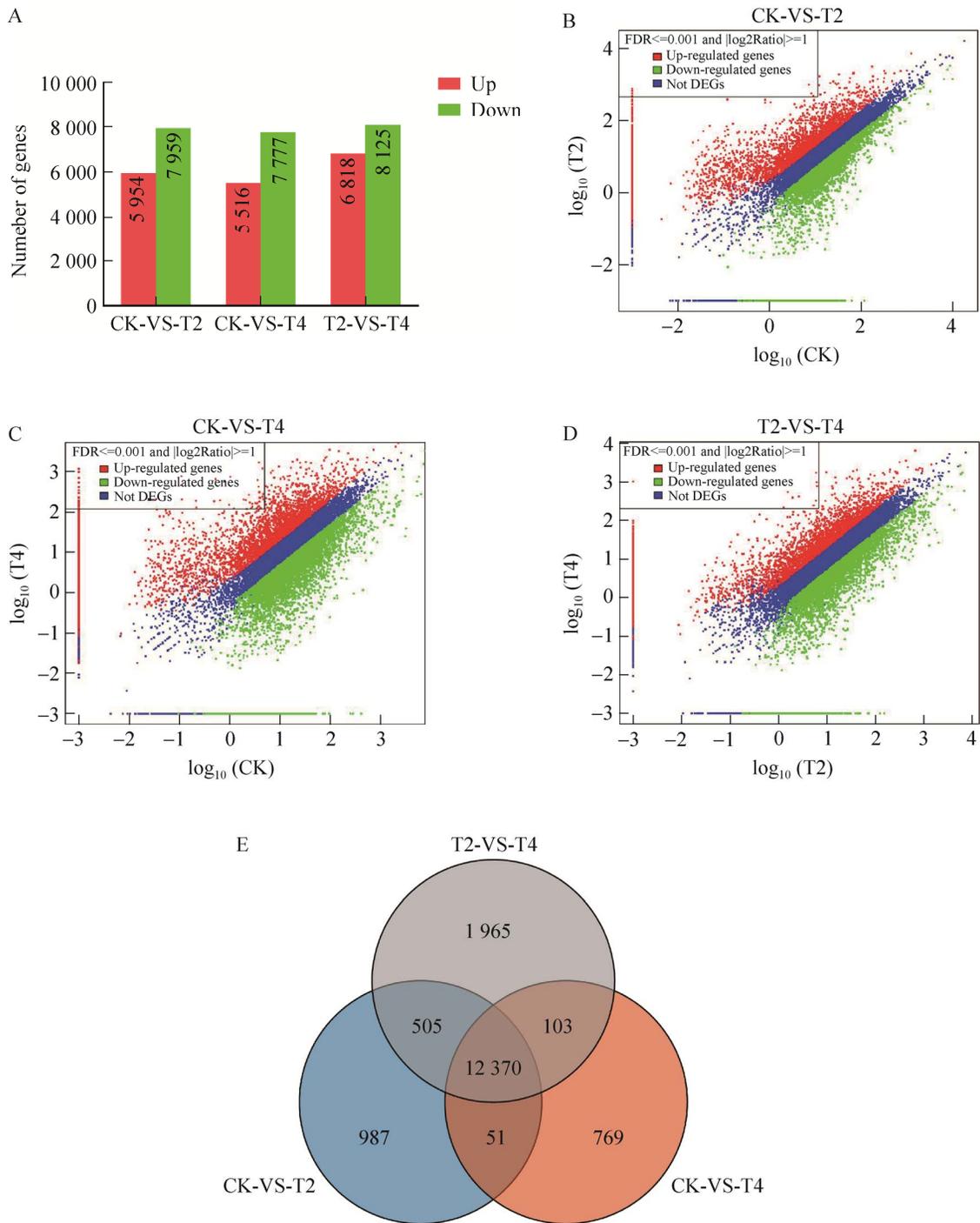


图 6 CK、T2 和 T4 组间的差异表达基因对比图

Figure 6 Differentially expressed genes among CK, T2 and T4 treatments.

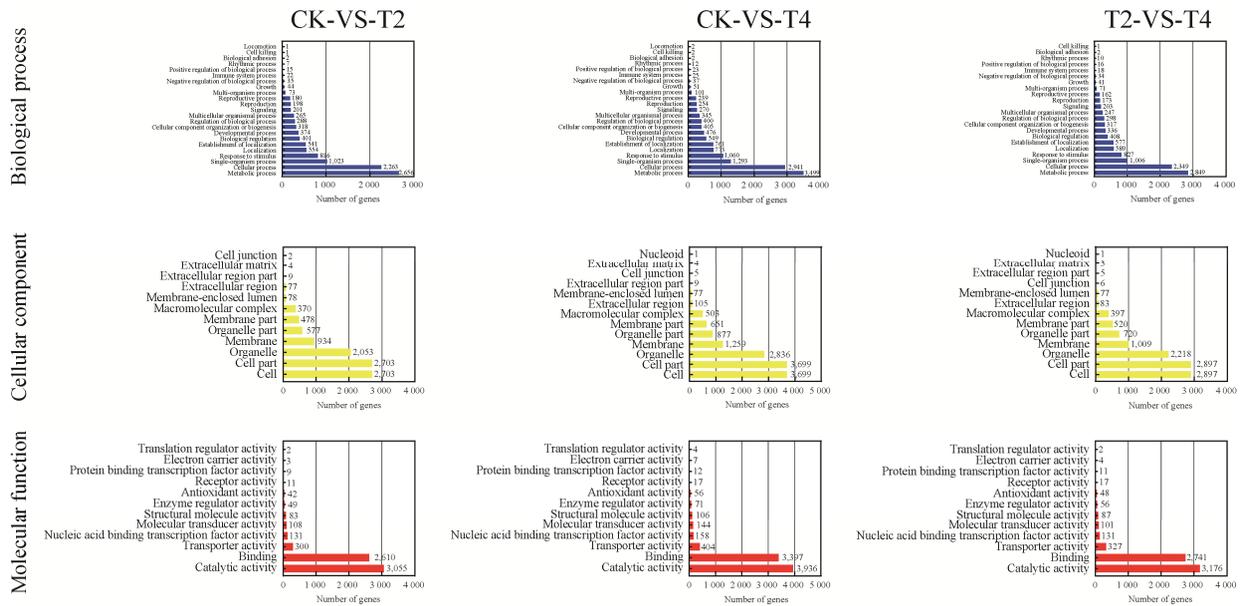


图 7 差异表达基因 GO 富集分析
Figure 7 GO function enrichment analysis of DEGs.

表 4 差异基因的 KEGG 通路注释和富集

Table 4 KEGG pathway annotation and enrichment of DEGs

Pair-comparison	KEGG pathway	Gene_No.	Contained	Q-value
CK-VS-T2	Plant-pathogen interaction	588	Up & down	1.29×10^{-10}
CK-VS-T4	Plant-pathogen interaction	691	Up & down	4.82×10^{-6}
	Photosynthesis-antenna proteins	18	Down	3.42×10^{-4}
	Photosynthesis	60	Up & down	2.22×10^{-3}
	Porphyrin and chlorophyll metabolism	52	Up & down	2.21×10^{-3}
	Glycine, serine and threonine metabolism	62	Up & down	1.29×10^{-2}
	Isoflavonoid biosynthesis	36	Up & down	2.92×10^{-2}
	Carbon fixation in photosynthetic organisms	53	Up & down	2.92×10^{-2}
	Plant-pathogen interaction	558	Up & down	3.53×10^{-5}
	Photosynthesis-antenna proteins	17	Down	1.02×10^{-4}
	Porphyrin and chlorophyll metabolism	45	Up & down	1.96×10^{-3}
T2-VS-T4	Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	50	Up & down	2.58×10^{-3}
	Carbon fixation in photosynthetic organisms	48	Up & down	2.58×10^{-3}
	Photosynthesis	49	Up & down	5.91×10^{-3}
	Glycine, serine and threonine metabolism	51	Up & down	1.99×10^{-2}
	Glutathione metabolism	68	Up & down	4.71×10^{-2}

表 5 处理组 CK 与 T2、T4 间重要的共差异基因

Table 5 Differentially expressed genes shared by CK, T2 and T4 treatments

Gene ID	log ₂ ratio (T2/CK)	log ₂ ratio (T4/CK)	log ₂ ratio (T4/T2)	Annotation
GSVIVT01038746001	1.291 5	1.207 6	-0.083 9	Myc2 bHLH protein
GSVIVT01007123001	1.238 9	2.389 7	1.150 9	Polyphenol oxidase
GSVIVT01021381001	-1.592 6	-7.925 1	-6.332 5	Phytochrome E
GSVIVT01014587001	-0.346 2	-3.831 6	-3.485 4	Thioredoxin h-type

2.9 RT-qPCR 验证

为了验证转录组数据的准确性,我们对4个筛选出来的重要差异基因进行实时荧光定量PCR检测(图8),结果显示RNA-seq和RT-qPCR数据的变化趋势基本一致,说明转录组数据准确可靠。

3 讨论

3.1 弱光胁迫对‘鄞红’葡萄生长特性的影响

弱光胁迫在植物整个生长发育过程中会产生许多不利影响。而葡萄在弱光胁迫条件下,根系生长往往会受到抑制^[7,11]。唐韡等^[12]对番茄的研究发现,弱光胁迫下,番茄根系活力下降。葡萄的耐弱光胁迫能力和在不同的品种之间存在一定的差异,在本研究中,‘鄞红’葡萄在一层和二层遮荫下,其根系生长基本正常,表明该品种对弱光胁迫具有一定的抗性。弱光胁迫也会影响植物叶片的生长,刘慧民等^[13]的研究发

现,弱光胁迫下,叶面积变大,而李静^[14]研究发现,弱光胁迫下,叶面积变小。在本研究中,随着遮荫程度的增加,叶面积先增大后减小,在二层遮荫下叶面积最大,叶面积增大可能是因为植物通过增加叶片面积来捕获更多的太阳光线,从而增强叶片的光合速率,生产更多有机物,以满足其生长发育的需要;而随着遮荫程度的增加,植物的同化作用下降,从而使叶发育速度减缓导致叶面积减小。

3.2 弱光胁迫对保护酶活性和MDA的影响

光是植物生长发育不可缺少的环境因子,然而植物在生长过程中经常暴露在不足的光照条件下,这对植物的生理、代谢和发育造成了一系列严重影响^[15-16]。在弱光胁迫下植物细胞内部会产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS),而SOD、POD和CAT是细胞内清除活性氧的主要保护酶,这些保护酶与植物的抗逆性大小有着密切的关系^[17]。当植物受到

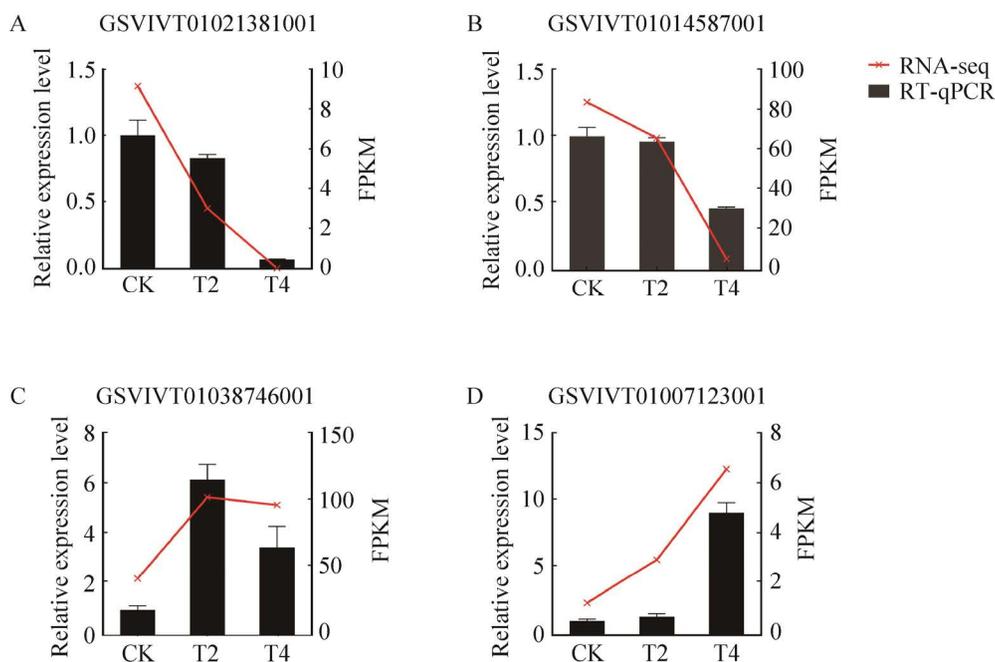


图8 重要差异基因的RT-qPCR验证

Figure 8 RT-qPCR validation of differentially expressed genes.

逆境胁迫时,其体内超氧阴离子水平提高,这时 SOD 活性增加,从而对植物进行保护。POD 是植物在逆境下抗氧化酶保护系统中的关键酶,参与多种生理代谢过程,具有控制细胞的生长发育以及清除 H_2O_2 等作用。CAT 可以促使 H_2O_2 分解成分子氧和水,以清除体内的过氧化氢,使细胞避免遭受 H_2O_2 的毒害^[10]。刘永华等^[18]的研究发现,弱光胁迫下瓠瓜抗氧化酶活性、质膜透性显著升高。在本研究中,SOD、POD 和 CAT 活性均呈先升后降的趋势,低强度弱光胁迫下(一层、二层遮荫),活性与对照差异不显著;高强度弱光胁迫下(三层、四层遮荫),活性显著下降。表明适当的弱光胁迫可以激发植物体内自身的抗逆体系,诱导保护酶活性升高;而随着弱光胁迫的持续和程度的加强,超过了植物抗逆体系的承受范围,导致保护酶活性下降。MDA 是膜脂过氧化作用的主要产物之一,其含量可以作为判定逆境胁迫下脂质受害程度的指标^[19]。在本研究中,MDA 含量随着弱光程度的增加,胁迫时间的延长,MDA 含量逐渐增加,表明随着弱光胁迫的持续和程度的加强,‘鄞红’葡萄的受害程度不断增加。

3.3 弱光胁迫对‘鄞红’葡萄渗透调节物质的影响

叶片受到弱光胁迫后其蛋白质、脯氨酸等渗透调节物质的代谢均会发生变化。可溶性蛋白质参与调节植物细胞的渗透势,在逆境胁迫下,植物体内正常的蛋白质合成会受到抑制,但也可能会产生逆境适应蛋白^[20-21]。在本研究中,低强度弱光胁迫下(一层、二层遮荫),可溶性蛋白含量升高;高强度弱光胁迫下(三层、四层遮荫),可溶性蛋白含量显著下降,表明‘鄞红’葡萄对弱光胁迫具有一定的适应性。脯氨酸是一种重要的渗透调节物质,它在植物细胞内累积,会降低胞内水势,从而避免细胞过度脱

水,不仅可以缓解胁迫对植物的伤害,还能起到调节细胞内微环境和保障细胞内的各种代谢反应顺利进行的作用^[20,22]。在本研究中,低强度弱光胁迫下(一层、二层遮荫),脯氨酸含量与对照差异不显著;高强度弱光胁迫下(三层、四层遮荫),脯氨酸含量随着弱光程度的递增而逐级递增。表明随着胁迫程度的递增,‘鄞红’葡萄的受害程度不断增加,这与前人对于茄子^[23]的研究一致。

3.4 弱光胁迫对组织显微结构和叶绿体超微结构的影响

弱光胁迫下葡萄叶片生理生化过程的改变会影响其细胞组织结构、叶绿素的合成和光合作用能力^[24]。叶绿体是植物进行光合作用的场所,完整的叶绿体结构是植物能够正常光合作用的前提,因此叶绿体是植物在弱光条件下最敏感的细胞器,其结构的变化能体现出植物对弱光胁迫的一种适应性。在本研究中,低强度弱光(一层、二层遮荫)胁迫下,叶片组织显微、栅栏组织中叶绿体超微结构正常,表明‘鄞红’葡萄具有一定的耐弱光性,而高强度弱光胁迫下(三层、四层遮荫),叶片组织显微、叶绿体超微结构发生显著变化,且随着胁迫程度增加,胁迫越显著,可能是由于受到弱光胁迫后,叶片细胞的超微结构、内含物和其他细胞器受到伤害。而淀粉粒的变化可能是由于叶绿体结构受到破坏,光合作用合成的糖类物质无法正常输出或输出量降低导致其迅速转化为淀粉,并在叶绿体中大量累积形成淀粉粒;而嗜铁颗粒的变化则可能是由于叶绿体类囊体膜降解而导致脂类物质在液泡或叶绿体内大量聚集所引起的。

3.5 生物信息学注释

GO 功能注解包括分子功能、参与的生物过程以及细胞组件,而与抗逆性相关的功能注释

信息主要有信号转导机制、能量产生与转导等。Pathway 聚集分析显示, 差异基因参与了包括植物与病原菌互作途径、光合作用、卟啉和叶绿素代谢等代谢途径。差异表达基因检测结果表明, 遮荫诱导后相当数量的基因在弱光遮荫处理后上调或下调, 且随着遮荫程度的增强, 差异表达基因的数量逐渐增多。对差异表达基因的分析发现, 大部分基因是未知基因, 因此‘鄞红’葡萄品种中可能存在着很多与弱光胁迫应答相关的特有基因, 需要后续进一步挖掘。

3.6 抗逆性相关基因分析

3.6.1 转录因子 MYC2

在筛选出的重要差异基因中, MYC2 转录

因子属于植物 bHLH 转录因子家族中一员, 它在植物茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 信号途径中处于核心位置, 在含有较低浓度 JA 的植物细胞中, JA 早期应答基因的表达因 JAZ 蛋白与转录激活因子 MYC2 结合而受到抑制。当植物受到外界环境胁迫时, JA 在植物细胞中合成并大量积累, 这促使了 JAZ 蛋白与 SCF^{COI1} 受体复合物结合并使 JAZ 蛋白泛素化, 进而被 26S 蛋白酶体选择性降解^[25], 从而解除 JAZ 蛋白对 MYC2 转录活性的抑制, 激活 JA 早期应答基因的表达, 最终调节植物以适应逆境环境 (图 9)^[25-28]。有研究发现, 当拟南芥经 JA 处理 6 h 后, 再用能产生超自由基的百草枯农

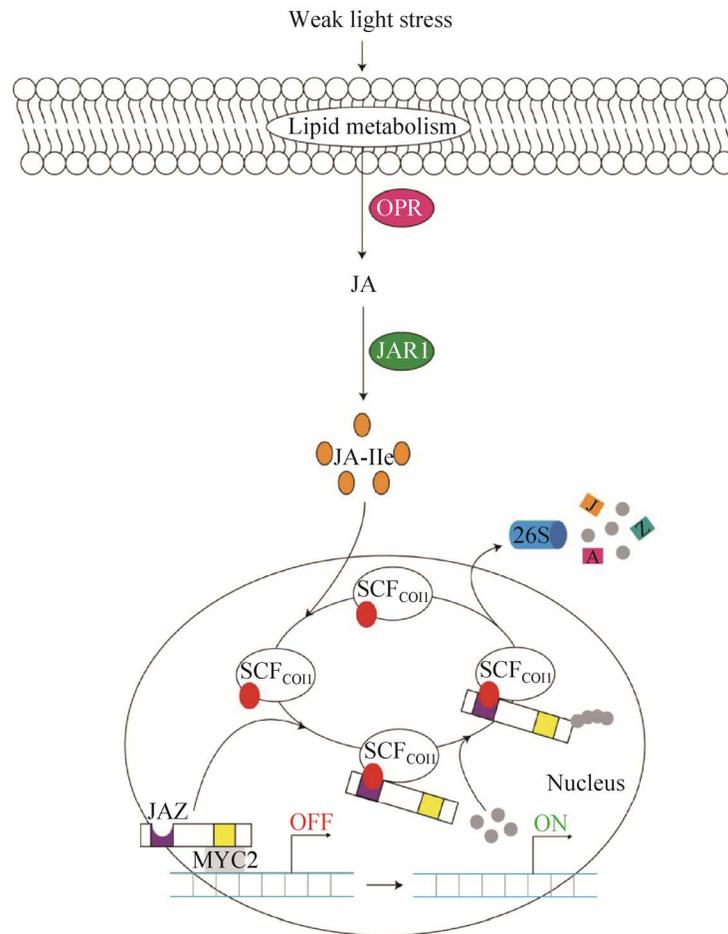


图 9 植物茉莉酸信号通路

Figure 9 The jasmonic acid signaling pathway in plants.

药处理,发现大量表达 MYC2 的拟南芥的死亡率仅为 5%,远远低于对照组的 90%,说明 MYC2 转录因子在植物抗氧化能力中发挥重要作用^[29]。在本研究中,随着弱光胁迫程度的加强,MYC2 基因的表达量先升高后小幅度下降,这与氧化酶 (CAT, SOD, POD) 的研究结果一致,可能是由于低强度弱光胁迫下,植物通过大量表达 MYC2 转录因子正调控 JA 达到清理体内多余 ROS 的目的,而随着胁迫程度的加强,植物超过了抗逆体系的承受范围,导致植物细胞受损,调控失衡而造成 MYC2 表达量轻微下降。

MYC2 转录因子在 JA 为核心的调控网络中扮演开关的角色,并与其他激素间存在共调控作用。脱落酸 (abscisic acid, ABA) 是改善植物非生物胁迫耐受力的重要组分。已有相关研究表明 MYC2 能够参与 JA-ABA 间的互动,ABA 代谢途径中 PYL 家族能与 ABA 特异性结合进而影响 ABA 信号应答反应^[30],其中 PYL6 能与 MYC2 特异性结合,并且加入 ABA 后结合能力加强。而当 ABA 存在时, PYL6 与 MYC2 紧密结合并提高其转录活性, JAZ 表达增强, JA 应答反应得到抑制^[31]。本实验发现在弱光胁迫下, PYL 相关基因 GSVIVT01032747001 和 GSVIVT01030286001 在 T2 和 T4 弱光胁迫下相比于对照组表达量显著提高,推测弱光胁迫促进了 PYL 相关基因的表达,增强了 PYL 与 MYC2 的结合能力。当植物受到外界环境胁迫时, ABA 在植物细胞中合成并大量积累,导致 PYL6 与 MYC2 紧密结合并提高其转录活性, JAZ 表达增强,导致 JA 应答反应受到抑制,这与在 T4 高强度弱光胁迫下 JA 早期应答基因表达量出现下降的情况相吻合。

赤霉素 (gibberellin, GA) 在植物中分布广泛并参与许多植物发育过程的调控,同时在

抵御众多非生物胁迫过程中发挥重要作用。DELLA 蛋白属于 GRAS 蛋白家族,在 GA 信号转导通路中起负调控作用。Hou 等^[32]发现在低 GA 水平下, DELLA 蛋白和 JAZ 互作并干扰 JAZ 对 MYC2 的抑制效应。而当 GA 水平达到临界值时, DELLA 蛋白泛素化并释放抑制状态下的 JAZ,抑制依赖 MYC2 的 JA 响应;而为了平衡该抑制效应, DELLA 蛋白会增强 MYC2 和启动子的结合力。在 T4 高强度弱光胁迫下, DELLA 基因的表达量相比于对照组和 T2 组出现明显增长,表明高强度弱光胁迫下刺激 DELLA 基因的表达,从而增强 MYC2 和启动子的结合力,从而解除抑制效应,调节 JA 代谢相关基因的表达以应对环境胁迫。

乙烯 (ethylene, ET) 作为植物五大激素之一,能够与 JA 间通过拮抗作用调控创伤响应基因和次生生物合成基因的表达,而 MYC2 在该过程中发挥重要作用。在 MYC2 突变体中 HSL1 表达量上调,同时如 ETHYLENE RESPONSE FACTOR 1 (ERF1) 等防御基因表达量也相继上调^[33]。在本实验中我们发现 ERF1 基因在弱光胁迫下出现明显上升,因此我们推测弱光胁迫增强了 MYC2 的表达,从而促进 ERF1 等防御基因的表达,以帮助植株应对环境胁迫与修复组织创伤。

3.6.2 多酚氧化酶 PPO 和硫氧还原蛋白 Trx

多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO) 是一种末端氧化酶,在其作用下,植物体内某些有害的代谢副产物会转变为无害物质。目前对于 PPO 的研究还不透彻,有学者认为 PPO 可能参与了叶绿体内的能量转移,而且与氧结合以调节叶绿体中有害的光氧化反应速度^[34]。在本研究中,随着弱光胁迫程度的加强,多酚氧化酶活性逐渐升高,可能由于弱光胁迫激发多酚氧化酶活性以应对逐渐增强的逆境胁迫。

表 6 CK-VS-T2、CK-VS-T4 中植物激素相关基因的表达情况

Table 6 The expression levels of plant hormone-related genes in CK-VS-T2 and CK-VS-T4

Gene ID	log ₂ ratio (T2/CK)	log ₂ ratio (T4/CK)	Annotation
GSVIVT01032747001	3.135 9	2.697 6	PYL (ABA)
GSVIVT01030286001	2.000 5	2.366 5	PYL (ABA)
GSVIVT01024933001	3.329 4	4.311 4	DELLA (GA)
GSVIVT01014570001	3.039 8	3.917 1	DELLA (GA)
GSVIVT01010007001	2.015 9	2.258 4	DELLA (GA)
GSVIVT01016520001	1.590 7	1.967 7	DELLA (GA)
GSVIVT01018270001	3.501 9	4.873 9	ERF (ET)

硫氧还蛋白 (thioredoxin, Trx) 是一种在植物体内广泛存在的多功能酸性蛋白, 植物中的硫氧还蛋白系统作为 ROS 系统的重要组分, 不仅本身具有抗逆境胁迫的能力, 同时能够调控抗逆基因的表达, 在植物的抗逆系统中发挥重要作用^[35]。Laloi 等^[36]研究表明, Trx h 过量表达促进拟南芥 CAT 等抗氧化酶活性升高, 从而增强其对逆境胁迫的耐受能力。在本研究中, 随着弱光胁迫程度的加强, Trx h 表达量与 CAT 活性呈正相关, 进一步验证了 Laloi 的研究结果。

3.6.3 光敏色素 Phy

光敏色素 (phytochrome, Phy) 作为一类红光/远红光受体, 广泛地存在于高等植物体内, 在植物抗逆的调控网络中发挥了重要作用^[37]。光敏色素包括远红光吸收型 (Pfr) 和红光吸收型 (Pr) 两种类型, Pfr 是生理激活型, 直接与光敏色素互作因子 (phytochrome interacting factors, PIFs) 作用调控相关基因的表达。PIF3 是 bHLH 转录因子家族中一员, 与光敏色素协同调控茉莉酸的合成代谢和信号途径^[38]。Zhai 等^[39]研究发现, 茉莉酸信号途径介导的抗性通路和光敏色素介导的光信号途径互相拮抗。因此推测光敏色素可能通过调控茉莉酸的合成代谢或信号途径进而影响植物对逆境胁迫的响应。有研究发现光敏色素调控叶片形态和气孔

开闭, 从而影响蒸腾速率和气孔导度^[40-41]。Phy B 通过调节转录因子 MYB60 的表达来调控气孔开闭^[42]。Liu 等^[43]对水稻的研究发现, 过量表达 Phy B 的水稻单位叶片面积的蒸腾速率降低、水分的散失减少, 对逆境环境有更强的适应能力。此外有研究发现在白光胁迫下, Phy B 和 PhyA PhyB 株系不能引发局部或系统性气孔关闭, 而 PhyA 株系仅能引发局部气孔关闭, 表明 PhyB 是局部及系统性气孔响应所必需的^[44]。Phy E 与 Phy B 有高度的同源性, 说明它们在结构上高度相似, 而蛋白质的功能又是由其结构决定的, 所以我们猜测 Phy E 可能和 Phy B 一样也具有调控叶片气孔开关的功能。这些基因是否确实受弱光胁迫的特异性诱导, 仍需通过实验进一步验证。

4 结论

本研究通过对‘鄞红’在不同弱光胁迫下的各种生理指标变化及转录组学的分析, 结果表明: 在低强度弱光处理条件下, ‘鄞红’葡萄光合特性及其他生理生化指标与对照组相比, 均无显著差异; 在高强度弱光处理条件下, 叶片细胞组织结构以及 CAT、POD 和 CAT 活性与对照组相比, 都发生显著变化, 表明‘鄞红’葡萄对弱光胁迫有一定的抗性。转录组学研究发现, 随着遮荫程度的增强, 差异表达基因的数量逐

渐增多。通过比较不同弱光胁迫下基因的表达情况,初步筛选出了4个可能与‘鄞红’弱光胁迫相关的差异表达基因,它们与JA/MYC2途径、MAPK信号途径、多酚氧化酶和硫氧还蛋白相关基因以及光敏色素相关基因有关。

REFERENCES

- [1] Chen TC, Xu T, Zhang TY, et al. Genome-wide identification and characterization of *DnaJ* gene family in grape (*Vitis vinifera* L.). *Horticulturae*, 2021, 7 (12): 589.
- [2] 谢计蒙, 王海波, 王孝娣, 等. 设施葡萄品种连年丰产能力与光合生理特性关系研究. *果树学报*, 2012, 29(5): 843-851.
Xie JM, Wang HB, Wang XD, et al. Relationship between the ability of sustainable productivity and photosynthetic indexes of grape cultivars in greenhouse. *J Fruit Sci*, 2012, 29(5): 843-851 (in Chinese).
- [3] Manavalan LP, Vanangamudi M, Thandapani V. Effect of low light on yield and physiological attributes of rice. *Int Rice Res*, 2004, 29: 71-73.
- [4] 睦晓蕾, 张宝玺, 张振贤, 毛胜利, 王立浩. 不同品种辣椒幼苗光合特性及弱光耐受性的差异. *园艺学报*, 2005, 32(2): 222-227.
Sui XL, Zhang BX, Zhang ZX, et al. Differences of photosynthetic characteristics and low light-tolerance in seedlings of four pepper cultivars. *Acta Horticult Sin*, 2005, 32(2): 222-227 (in Chinese).
- [5] 吴正锋, 王才斌, 李新国, 等. 苗期遮荫对花生 (*Arachis hypogaea* L.) 光合生理特性的影响. *生态学报*, 2009, 29(3): 1366-1373.
Wu ZF, Wang CB, Li XG, et al. Effects of shading at seedling stage on photosynthetic characteristics of *Arachis hypogaea* L. leaves. *Acta Ecol Sin*, 2009, 29(3): 1366-1373 (in Chinese).
- [6] 战吉成, 黄卫东, 王秀芹, 王利军. 弱光下生长的葡萄叶片蒸腾速率和气孔结构的变化. *植物生态学报*, 2005, 29(1): 26-31.
Zhan JC, Huang WD, Wang XQ, et al. Leaf transpiration and stomatal structure of young grape plants grown in a low light environment. *Acta Phytoecol Sin*, 2005, 29(1): 26-31 (in Chinese).
- [7] 付涛, 吴月燕, 陶巧静, 等. 幼年鄞红葡萄对短期弱光胁迫的生理生化响应. *江苏农业学报*, 2014, 30(2): 405-410.
Fu T, Wu YY, Tao QJ, et al. Physiological and biochemical responses of grape Yinhong seedlings to short-term weak-light stress. *Jiangsu J Agric Sci*, 2014, 30(2): 405-410 (in Chinese).
- [8] 吴月燕, 付涛, 王忠华, 等. 鄞红葡萄及其8个优良单株主要性状差异分析. *核农学报*, 2016, 30(9): 1684-1692.
Wu YY, Fu T, Wang ZH, et al. The main differences in characteristics of Yinhong and its eight elite individuals of *Vitis vinifera* L. *J Nucl Agric Sci*, 2016, 30(9): 1684-1692 (in Chinese).
- [9] 秦玲, 康文怀, 齐艳玲, 等. 盐胁迫对酿酒葡萄叶片细胞结构及光合特性的影响. *中国农业科学*, 2012, 45(20): 4233-4241.
Qin L, Kang WH, Qi YL, et al. Effects of salt stress on mesophyll cell structures and photosynthetic characteristics in leaves of wine grape (*Vitis* spp.). *Sci Agric Sin*, 2012, 45(20): 4233-4241 (in Chinese).
- [10] 李学孚, 倪智敏, 吴月燕, 等. 盐胁迫对‘鄞红’葡萄光合特性及叶片细胞结构的影响. *生态学报*, 2015, 35(13): 4436-4444.
Li XF, Ni ZM, Wu YY, et al. Effects of salt stress on photosynthetic characteristics and leaf cell structure of ‘Yinhong’ grape seedlings. *Acta Ecol Sin*, 2015, 35(13): 4436-4444 (in Chinese).
- [11] Song J, Chen M, Feng G, et al. Effect of salinity on growth, ion accumulation and the roles of ions in osmotic adjustment of two populations of *Suaeda salsa*. *Plant Soil*, 2009, 314(1/2): 133-141.
- [12] 唐韡, 李天来, 张秀美, 等. 苗期弱光胁迫对番茄生长和叶绿素含量的影响及其恢复效应. *沈阳农业大学学报*, 2007, 38(3): 278-282.
Tang W, Li TL, Zhang XM, et al. Effects of low light stress on growth and chlorophyll content of seedling tomato and recovery effectiveness. *J Shenyang Agric Univ*, 2007, 38(3): 278-282 (in Chinese).
- [13] 刘慧民, 马艳丽, 王柏臣, 等. 两种绣线菊耐弱光能力的光合适应性. *生态学报*, 2012, 32(23): 7519-7531.
Liu HM, Ma YL, Wang BC, et al. Photosynthetic adaptability of the resistance ability to weak light of 2 species *Spiraea* L.. *Acta Ecol Sin*, 2012, 32(23): 7519-7531 (in Chinese).
- [14] 李静. 低温弱光胁迫对甜瓜幼苗生长及生理指标的影响. *河南农业科学*, 2012, 41(5): 106-109.
Li J. Effects of chilling and low light on vegetative and physiological parameters of melon seedlings. *J Henan Agric Sci*, 2012, 41(5): 106-109 (in Chinese).

- [15] Yang B, Tang J, Yu ZH, et al. Light stress responses and prospects for engineering light stress tolerance in crop plants. *J Plant Growth Regul*, 2019, 38(4): 1489-1506.
- [16] Zhang YT, Jiang LY, Li YL, et al. Effect of red and blue light on anthocyanin accumulation and differential gene expression in strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Molecules*, 2018, 23(4): 820.
- [17] 郁继华, 张国斌, 冯致, 等. 低温弱光对辣椒幼苗抗氧化酶活性与质膜透性的影响. *西北植物学报*, 2005, 25(12): 2478-2483.
Yu JH, Zhang GB, Feng Z, et al. Effects of low temperature and weak light on anti-oxidative enzyme activities and plasm-membrane permeability of pepper seedlings. *Acta Bot Boreali Occidentalia Sin*, 2005, 25(12): 2478-2483 (in Chinese).
- [18] 刘永华, 吴晓花, 李国景, 等. 低温弱光对生态型瓠瓜幼苗生长和生理生化特性的影响. *浙江农业学报*, 2006, 18(6): 421-424.
Liu YH, Wu XH, Li GJ, et al. Effects of chilling and low light intensity on the seedling growth and physiological and biochemical characteristics of different ecotype gourd. *Acta Agric Zhejiangensis*, 2006, 18(6): 421-424 (in Chinese).
- [19] 张亚冰, 刘崇怀, 孙海生, 等. 葡萄砧木耐盐性与丙二醛和脯氨酸关系的研究. *西北植物学报*, 2006, 26(8): 1709-1712.
Zhang YB, Liu CH, Sun HS, et al. Relation between salt tolerance of grape rootstock and MDA and proline contents in grape leaves. *Acta Bot Boreali Occidentalia Sin*, 2006, 26(8): 1709-1712 (in Chinese).
- [20] 赵军营, 王利军, 范培格, 等. 半根交替干旱对‘大久保’桃叶片中几种有机渗透调节物质的影响. *园艺学报*, 2006, 33(4): 801-804.
Zhao JY, Wang LJ, Fan PG, et al. Effects of alternative half root drying on accumulation of several organic osmolytes in ‘Okubo’ peach leaves. *Acta Horti Sin*, 2006, 33(4): 801-804 (in Chinese).
- [21] Gulen H, Turhan E, Eris A. Changes in peroxidase activities and soluble proteins in strawberry varieties under salt-stress. *Acta Physiol Plant*, 2006, 28(2): 109-116.
- [22] 赵薇, 惠竹梅, 林刚, 等. 硒对水分胁迫下赤霞珠葡萄幼苗叶片生理生化指标的影响. *果树学报*, 2011, 28(6): 984-990.
Zhao W, Xi ZM, Lin G, et al. Effect of selenium on physiological and biochemical indexes of *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon leaves under water stress. *J Fruit Sci*, 2011, 28(6): 984-990 (in Chinese).
- [23] 陈磊, 郭军, 田时炳, 等. 低温弱光胁迫对不同茄子品种幼苗抗氧化特性的影响. *西南农业学报*, 2012, 25(6): 2054-2058.
Chen L, Guo J, Tian SB, et al. Effects of low temperature and poor light intensity stress on antioxidant properties in seedlings of different eggplant varieties. *Southwest China J Agric Sci*, 2012, 25(6): 2054-2058 (in Chinese).
- [24] 眭晓蕾, 毛胜利, 王立浩, 等. 辣椒幼苗叶片解剖特征及光合特性对弱光的响应. *园艺学报*, 2009, 36(2): 195-208.
Sui XL, Mao SL, Wang LH, et al. Response of anatomical structure and photosynthetic characteristics to low light in leaves of *Capsicum* seedlings. *Acta Horti Sin*, 2009, 36(2): 195-208 (in Chinese).
- [25] Browse J. Jasmonate passes muster: a receptor and targets for the defense hormone. *Annu Rev Plant Biol*, 2009, 60: 183-205.
- [26] Sasaki-Sekimoto Y, Taki N, Obayashi T, et al. Coordinated activation of metabolic pathways for antioxidants and defence compounds by jasmonates and their roles in stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2005, 44(4): 653-668.
- [27] Katsir L, Chung HS, Koo AJK, et al. Jasmonate signaling: a conserved mechanism of hormone sensing. *Curr Opin Plant Biol*, 2008, 11(4): 428-435.
- [28] Shan XY, Yan JB, Xie DX. Comparison of phytohormone signaling mechanisms. *Curr Opin Plant Biol*, 2012, 15(1): 84-91.
- [29] Dombrecht B, Xue GP, Sprague SJ, et al. MYC₂ differentially modulates diverse jasmonate-dependent functions in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19(7): 2225-2245.
- [30] 易文凯, 王佳, 杨辉, 等. 植物 ABA 受体及其介导的信号转导通路. *植物学报*, 2012, 47(5): 515-524.
Yi WK, Wang J, Yang H, et al. Abscisic acid receptors: abscisic acid signaling transduction pathways in plants. *Chin Bull Bot*, 2012, 47(5): 515-524 (in Chinese).
- [31] Aleman F, Yazaki J, Lee M, et al. An ABA-increased interaction of the PYL6 ABA receptor with MYC₂ transcription Factor: a putative link of ABA and JA signaling. *Sci Rep*, 2016, 6: 28941.
- [32] Hou XL, Lee LYC, Xia KF, et al. DELLAs modulate jasmonate signaling via competitive binding to JAZs. *Dev Cell*, 2010, 19(6): 884-894.
- [33] Song SS, Huang H, Gao H, et al. Interaction between MYC₂ and ETHYLENE INSENSITIVE3 modulates

- antagonism between jasmonate and ethylene signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2014, 26(1): 263-279.
- [34] 代丽, 宫长荣, 史霖, 等. 植物多酚氧化酶研究综述. *中国农学通报*, 2007, 23(6): 312-316.
Dai L, Gong CR, Shi L, et al. Polyphenol oxidase in plants. *Chin Agric Sci Bull*, 2007, 23(6): 312-316 (in Chinese).
- [35] 夏德习, 管清杰, 金淑梅, 等. 拟南芥硫氧还蛋白 M1 型基因(*AtTRX m1*)与环境逆境之间的关系. *分子植物育种*, 2007, 5(1): 21-26.
Xia DX, Guan QJ, Jin SM, et al. The relationship of *Arabidopsis thaliana* thioredoxin M-type 1 (*AtTRX m1*) gene with environmental stress. *Mol Plant Breed*, 2007, 5(1): 21-26 (in Chinese).
- [36] Laloi C, Mestres-Ortega D, Marco Y, et al. The *Arabidopsis* cytosolic thioredoxin h5 gene induction by oxidative stress and its W-box-mediated response to pathogen elicitor. *Plant Physiol*, 2004, 134(3): 1006-1016.
- [37] 杨有新, 王峰, 蔡加星, 等. 光质和光敏色素在植物逆境响应中的作用研究进展. *园艺学报*, 2014, 41(9): 1861-1872.
Yang YX, Wang F, Cai JX, et al. Recent advances in the role of light quality and phytochrome in plant defense resistance against environmental stresses. *Acta Horti Sin*, 2014, 41(9): 1861-1872 (in Chinese).
- [38] Moreno JE, Tao Y, Chory J, et al. Ecological modulation of plant defense via phytochrome control of jasmonate sensitivity. *PNAS*, 2009, 106(12): 4935-4940.
- [39] Zhai QZ, Li CB, Zheng WG, et al. Phytochrome chromophore deficiency leads to overproduction of jasmonic acid and elevated expression of jasmonate-responsive genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 2007, 48(7): 1061-1071.
- [40] Boccalandro HE, Rugnone ML, Moreno JE, et al. Phytochrome B enhances photosynthesis at the expense of water-use efficiency in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2009, 150(2): 1083-1092.
- [41] Boggs JZ, Loewy K, Bibee K, et al. Phytochromes influence stomatal conductance plasticity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regul*, 2010, 60(2): 77-81.
- [42] Wang FF, Lian HL, Kang CY, et al. Phytochrome B is involved in mediating red light-induced stomatal opening in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant*, 2010, 3(1): 246-259.
- [43] Liu J, Zhang F, Zhou JJ, et al. Phytochrome B control of total leaf area and stomatal density affects drought tolerance in rice. *Plant Mol Biol*, 2012, 78(3): 289-300.
- [44] Devireddy AR, Liscum E, Mittler R. Phytochrome B is required for systemic stomatal responses and reactive oxygen species signaling during light stress. *Plant Physiol*, 2020, 184(3): 1563-1572.

(本文责编 陈宏宇)