



3种介质盆栽辣椒根系黄酮类化合物及其合成酶基因影响研究

张少平, 李洲, 赖正锋, 练冬梅, 林碧珍, 鞠玉栋

引用本文:

张少平, 李洲, 赖正锋, 等. 3种介质盆栽辣椒根系黄酮类化合物及其合成酶基因影响研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2026, 34(3): 328–336.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.5045>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

升振山姜茎的黄酮类成分

Flavonoids from the Stems of *Alpinia hainanensis* 'Shengzhen'

热带亚热带植物学报. 2017, 25(5): 517–522 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3736>

Zn、B配施对鸡血藤黄酮类化合物积累的影响

Effect of Zn,B Fertilization on Flavonoids Accumulation in *Spatholobus suberectus* Dunn.

热带亚热带植物学报. 2018, 26(1): 73–78 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3775>

不同成熟度树葡萄叶片中类黄酮合成转录组基因分析

Transcriptome Analysis of Flavonoid Synthesis Related Genes in Different Maturity Leaves of *Myrciaria cauliflora*

热带亚热带植物学报. 2019, 27(6): 702–712 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4040>

降香檀叶的非黄酮类成分研究

Non-flavonoid Constituents from the Leaves of *Dalbergia odorifera*

热带亚热带植物学报. 2019, 27(2): 213–218 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3941>

法兰地草莓的芳香类和黄酮类成分

Aromatics and Flavonoids from Strawberry cv. Falandi

热带亚热带植物学报. 2017, 25(6): 617–624 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3758>

向下翻页, 浏览PDF全文

3 种介质盆栽辣椒根系黄酮类化合物及其合成酶基因影响研究

张少平, 李洲, 赖正锋, 练冬梅, 林碧珍, 鞠玉栋*

(福建省农业科学院亚热带农业研究所, 福建 漳州 363005)

摘要: 为了解辣椒(*Capsicum annuum*)连作障碍中根系响应机制, 以基质土、轮作土和连作土 3 种介质盆栽辣椒, 待进入盛果期取其根系进行组学研究, 分析辣椒根系黄酮类化合物具体成分及其合成酶基因信息。结果表明, 3 种介质盆栽辣椒根系中共检测到 31 种黄酮类化合物; 相比基质土, 这些黄酮类化合物在轮作土和连作土 2 种栽培条件下, 含量显著提高的有矢车菊素、矢车菊素(2 种)、飞燕草素、新橙皮苷和槲皮素共 6 种, 仅锦葵素 1 种黄酮类化合物含量显著降低(分别下降 82.37% 和 91.29%)。黄酮类化合物合成共涉及到 202 个酶基因, 其中家族基因较多的主要有细胞色素 P450 (15 个)和尿苷二磷酸糖基转移酶(14 个)等; 相比基质土, 这些黄酮类化合物主要合成酶基因在轮作土和连作土 2 种栽培条件下, 差异表达量显著差异的共 38 个, 具体包括类黄酮合成酶基因 23 个、花青素合成酶基因 3 个、异黄酮合成酶基因 7 个、黄酮和黄酮醇合成酶基因 5 个; 其中尿苷二磷酸糖基转移酶基因在花青素合成代谢(1 个)以及黄酮和黄酮醇合成代谢(3 个)中, 均在连作土栽培下表表达量显著提高(分别提高了 150.00%、161.45%、92.77%和 773.50%)。因此, 连作等逆境胁迫能显著提高辣椒根系中大多数黄酮类化合物含量, 其合成酶基因上下调表达趋势规律不明显。

关键词: 辣椒; 转录组; 代谢组; 连作障碍; 逆境栽培; 次生代谢物

doi: 10.11926/jtsb.5045 CSTR:32235.14.jtsb.5045

Effect on Metabolites and Their Synthetases of Flavonoids in Root Under 3 Media Potting *Capsicum annuum*

ZHANG Shaoping, LI Zhou, LAI Zhengfeng, LIAN Dongmei, LIN Bizhen, JU Yudong*

(Subtropical Agriculture Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Zhangzhou 363005, Fujian, China)

Abstract: To understand the root response mechanism of *Capsicum annuum* under continuous cropping obstacles, three types of media, namely substrate soil (CSS), rotation soil (CRS) and continuous cropping soil (CCS), were used to pot the peppers. The root systems were collected when they entered the fruiting period for omics research to analyze the specific components of flavonoids and the information of their synthase genes in the root systems of peppers. The results showed that a total of 31 flavonoids were detected in the root systems of peppers in the three types of media. Compared with CSS, the contents of six flavonoids, namely pelargonidin 3-*O*-caffeoyl- β -D-glucoside, cyanidin 3-*O*-glucosides (2 types), delphinidin 3-*O*- β -D-glucoside, neohesperidin, quercetin 3-*O*- β -D-glucosyl- β -D-glucoside, were significantly increased in the two cultivation conditions of CRS and CCS, while only one flavonoid, malvidin-3-rutinoside-5-glucoside, was significantly decreased (by 82.37% and 91.29%,

收稿日期: 2025-07-10 接受日期: 2025-09-26

基金项目: 福建省公益类科研院所基本科研专项(2021R1030002, 2022R1030001, 2022R1030002, 2023R1028004, 2024R1077); 福建省农业科学院自由探索科技创新项目(ZYTS202207)资助

This work was supported by the Special Project for Public Welfare Research Institutes in Fujian (Grant No. 2021R1030002, 2022R1030001, 2022R1030002, 2023R1028004, 2024R1077), and the Project for Freely Explore Scientific and Technological Innovation of Fujian Academy of Agricultural Sciences (Grant No. ZYTS202207).

作者简介: 张少平(1975 年生), 男, 硕士, 高级农艺师, 主要从事特色蔬菜功能成分相关研究。E-mail: zspnc@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: 303443553@qq.com

respectively). The synthesis of flavonoids involves 202 enzyme genes, among which the families with more genes mainly include cytochrome P450 (15) and UDP glycosyltransferase (14). Compared with CSS, the expression of main synthase genes of these flavonoids in CRS and CCS were significantly different, including 23 flavonoid synthase genes, 3 anthocyanin synthase genes, 7 isoflavone synthase genes, and 5 flavone and flavonol synthase genes. Among them, the expression of UDP glycosyltransferase genes in anthocyanin synthesis metabolism (1) and flavone and flavonol synthesis metabolism (3) were significantly increased on CCS cultivation (by 150.00%, 161.45%, 92.77% and 773.50%, respectively). Therefore, continuous cropping and other adverse stress could significantly increase the content of most flavonoids in the root systems of peppers, and the up and down regulation trends of their synthase genes were not obvious.

Key words: *Capsicum annuum*; Metabolome; Transcriptome; Continuous cropping barrier; Stress cultivation; Secondary metabolite

植物生长过程中如果遭受水分、光照、温度、盐碱以及病虫害等逆境胁迫时,通常会刺激体内黄酮类化合物合成^[1-3],这种由于环境胁迫合成的黄酮类化合物又被称为植物抗毒素^[4]。作为抗毒素的黄酮类化合物是抗氧化剂,能够抵御各种生物和非生物胁迫,清除体内自由基和减轻细胞氧化损伤,从而保护植物^[5-6]。黄酮类化合物可参与植物信号传导,驱动植物防御反应,充当防止入侵的物理或化学屏障^[7-8];或作为针对微生物或昆虫目标的直接武器^[9];此外,黄酮类化合物作为金属螯合剂,可影响土壤组成和维持养分的有效性,对植物根部促生菌的生长发挥重要作用^[10-11]。黄酮类化合物的合成与积累与植物逆境胁迫相关基因的表达有关,较高的黄酮类化合物积累量会提高植物抗逆性,从而保护植物免受侵害^[12-13]。黄酮类化合物是植物重要次生代谢产物之一,目前已经分离鉴定出 9 000 多种^[14-15]。随着黄酮类化合物种类鉴别的逐渐增多,其亚组分类也不尽相同,传统将黄酮类化合物称为类黄酮,分为黄酮(如芦丁和芹菜素等)、黄烷酮也叫二氢黄酮(如柚皮素/苷、橙皮素和紫杉叶素等)、黄酮醇(如山奈酚、杨梅素、槲皮素等)、异黄酮(如驴食草酚、大豆苷和染料木苷等)和花青素(天竺葵素、矢车菊素、飞燕草素、锦葵素等)等 6 大类^[16]。

辣椒(*Capsicum annuum*)种植存在连作障碍^[17],主要表现在逆境胁迫下根系生长受阻、畸形甚至腐烂^[18];辣椒与其他旱地生长的同类浅根系蔬菜长期不合理轮作,同样对辣椒根系的生长存在胁迫作用,导致长势变差;而采用新鲜的复合基质盆栽辣椒长势旺盛。目前,关于辣椒连作障碍的主要成因仍不十分清楚。有关辣椒连作障碍机理研究主要集

中在化感作用与自毒物质的积累、土壤酶活性和微生物结构变化等^[19-20]。辣椒根系分泌物是介导根际与微生物相互作用的信号分子^[21],在很多情况下,关于辣椒根系分泌物研究主要集中于大量释放且具有重要功能的有机酸等化合物^[22-23],而忽略了少量释放但同样重要的黄酮类等次生代谢产物。目前,有基于转录组结合代谢组分析辣椒冷害^[24]、高温^[25]及病害^[26]等逆境胁迫相关分子机制,而辣椒连作障碍相关转录组结合代谢组分析未见报道。因此,本研究以连作土、轮作土及基质土等 3 种介质盆栽辣椒,进行结果盛期根系转录组测序和代谢组检测,依据京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)数据库,将黄酮类化合物代谢途径分为类黄酮、花青素、异黄酮、黄酮和黄酮醇 4 大类进行分析,相关研究将为深入了解辣椒连作障碍机理打下良好基础。

1 材料和方法

1.1 材料

2023 年 1 月,供试辣椒杂交种‘赣椒 40 号’播种于福建省农业科学院亚热带农业研究所温室大棚内,2 月下旬盆栽,设置:以椰糠为主的混合基质土(composite substrate soil, CSS);同为茄子(*Solanum melongena*)和黄瓜(*Cucumis sativus*)等浅根系蔬菜与辣椒长期高复重指数的不合理轮作土(crop rotation soil, CRS);5 年辣椒连作土(continuous cropping soil, CCS)共 3 种介质。采用高和直径分别为 15 和 12 cm 塑料盆,每盆装土 12.5 kg,每个处理 12 盆,每盆移栽 2 株,大棚环境及水肥管理均适合混合基质土盆栽辣椒的生长。待 4 月上旬进入盛果期,随机选

取不同处理下的辣椒各 3 盆, 将辣椒倾盆倒出, 剥离根系上附着的土壤, 并用清水喷洗至根系土壤分离脱落, 用装有灭菌水保鲜袋浸泡根系 10 min。关于 3 种介质土理化性质, 不同处理辣椒植株和果实等外观及生化指标见参考文献^[27]。3 种处理根系样品均匀混合后分 2 部分各 3 个重复, 用液氮速冻后保存在-80 ℃冰箱, 分别用于代谢组检测以及转录组测序(包括 RT-qPCR)。

1.2 代谢组检测及黄酮类化合物筛选

以 CSS、CRS 和 CCS 共 3 种介质盆栽辣椒, 依次取根系 3 次重复共 9 个样品代谢组学测定后进行黄酮类化合物分析, 具体步骤: 待测样品真空冷冻干燥(Scientz-100F 型号冻干机)、研磨仪(MM400, Retsch)研磨、甲醇提取液提取、上清液微孔滤膜过滤、滤液存放进样瓶、超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)分析。根据百迈客科技有限公司所建数据库 MWDB (metware database), 通过二级谱信息进行 9 个辣椒根系样品代谢物的定性定量。进一步利用京都基因和基因组百科全书(KEGG)数据库对代谢物进行注释, 再进行黄酮类化合物代谢相关 Flavonoid (Ko00941)、Anthocyanin (Ko00942)、Isoflavonoid (Ko00943)和 Flavone and flavonol (Ko00944)检索, 获取黄酮类化合物具体信息。

1.3 转录组测序及相关合成酶基因筛选

取 CSS、CRS 和 CCS 共 3 种介质盆栽辣椒根系, 3 次重复共 9 个样品, 转录组测序后进行黄酮类化合物合成酶基因分析。具体步骤: 提取待测样品 RNA, 检测合格后取等量混合组成各自 RNA 池用于文库构建, 采用多聚腺苷酸(PolyA)捕获 mRNA, 反转录成 cDNA 再进行 PCR 扩增, 形成核苷酸序列长 300 bp 左右的文库。在 Illumina NovaSeq™ 6000 测序平台

上进行双端测序(PE150), 测序原始数据去除接头序列、重复序列和低质量序列, 使用 StringTie 软件(v1.3.4)组装基因簇并计算 FPKM 值以确定基因簇表达水平。使用 edgeR (v3.22.5)软件, 获取差异倍数(fold change, FC)>2 且 P<0.05 的差异基因(DEG)。进一步利用 KEGG 数据库对所获单基因簇进行注释, 再进行黄酮类化合物代谢相关 Flavonoid (Ko00941)、Anthocyanin (Ko00942)、Isoflavonoid (Ko00943)和 Flavone and flavonol (Ko00944)信息检索, 依据 Nr (non-redundant protein database, 非冗余蛋白数据库)结合 SwissProt (SwissProt protein database, 蛋白质序列数据库), 获取黄酮类化合物代谢途径所涉及关键酶基因具体信息。

1.4 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)分析

用于转录组测序的 3 种介质盆栽辣椒根系样品(不含重复)总 RNA, 经 DNase 处理后测定 OD 值, 采用 Aidlab 反转录试剂盒(TUREscript 1st Stand cDNA Synthesis Kit), 在 37 ℃下逆转录 30 s, 再将 cDNA 与 ddH₂O 按 1:3 稀释后存放-20 ℃冰箱用于 RT-qPCR 分析。5 个差异表达黄酮类化合物合成酶基因特异性引物(表 1)由 Primer Premier 5 软件设计, CBS domain-containing protein (gene-LOC107875860)作为内参基因, 3 样品均进行 3 次技术重复, 相对丰度取 3 次反应的平均值, 根据内参基因的 Ct 值采用 2^{-ΔΔCt} 法进行归一化处理。

2 结果和分析

2.1 代谢组检测及 KEGG 数据库注释

3 种介质盆栽辣椒根系通过代谢组检测, 共获得 2 996 个代谢物, 其中 KEGG 数据库共注释到其

表 1 荧光定量 PCR 分析的 5 个基因及所合成引物

Table 1 RT-qPCR primers for 5 selected genes

编码 ID	基因 Gene	引物序列 Primer sequence (5'~3')	
		正向 Forward	反向 Reverse
LOC107875806	内参基因 Reference gene	GTCAAGGAGGAGGAGGAT	TCCAGTCAGTCCCATAGAA
LOC107842304	多花蓼栗碱 7-O-酰基转移酶基因 Salutaridinol 7-O-acetyltransferase gene	GATGGATATGCTGGATTGAGT	GGCTATGCTTGAACCAAAGT
LOC107848097	胍基肉桂酰转移酶基因 Agmatine hydroxycinnamoyltransferase gene	CCGTGGTGGTTGGATTCA	TCGTTCATTGGGAGTGGAG
LOC107871066	2-羟基异黄酮酮脱水酶基因 2-hydroxyisoflavanone dehydratase gene	TGAAGGTGAAGGTCATTGCTT	CGGGCGTACTAAAGAGGAAAG
LOC107871238	查耳酮合成酶基因 Chalcone synthase gene	ATTGTGGAGCAAGTGGA	GAAGTCTTTAGCCCATCTCTA
LOC107843594	尿苷二磷酸糖基转移酶基因 UDP-glycosyltransferase gene	GTGGATGGAATTCTACGTTGGA	CACTTGATAGGCACCTTCACA

中的1431个代谢物信息。基于KEGG数据库检索(图1), 获取的黄酮类化合物中包括类黄酮11个、花青素7个、异黄酮6个、黄酮和黄酮醇7个; 这些黄酮类化合物在3种介质盆栽辣椒根系中均含量较高的有: 类黄酮代谢中的4-香豆素基莽草酸酯、花青素代谢中的天竺葵素3-*O*-芸香糖苷5-*O*- β -D-糖苷, 异黄酮代谢中的鸡豆黄素配糖物、大豆果芸香素, 黄酮和黄酮醇代谢中牡荆素、异硫华素2"-鼠李糖苷等。

这31个黄酮类化合物在3种介质盆栽辣椒根系中相对含量差异显著的有7个(表2), 其中花青素5个、类黄酮1个、黄酮和黄酮醇1个。在这7个黄酮类化合物中, 除锦葵色素-3-(对-香豆素)-芸香苷-5-葡萄糖苷在CSS盆栽中含量较高外, 其他6个黄酮类化合物均在逆境下栽培时含量更高, 其中CRS下含量更高的有矢车菊素3-*O*-糖苷、矢车菊素3-*O*-3",6"-*O*-二甲酰基糖苷和新橙皮苷, 在CCS下含量更高的为天竺葵素3-*O*-咖啡酰基- β -D-糖苷、

飞燕草素3-*O*- β -D-糖苷和槲皮素3-*O*- β -D-糖基- β -D-糖苷。

2.2 转录组测序所获相关合成酶基因信息

3种介质盆栽辣椒根系通过转录组测序, 共检测到基因簇39280条, 其中KEGG数据库注释到其中的12045条。基于KEGG数据库检索, 结合Nr和SwissProt, 获取黄酮类化合物合成酶基因共202个(图2), 包括32个类黄酮合成酶家族基因中共124个基因、8个花青素合成酶家族基因中的17个基因、6个异黄酮合成酶家族基因中的29个基因、7个黄酮和黄酮醇合成酶家族基因中的32个基因。这些家族酶基因相对表达量在3种处理下普遍较高的有咖啡酰辅酶A *O*-甲基转移酶、反-肉桂酸4-单加氧酶、细胞色素P450、液泡分选受体、2-羟基异黄酮脱水酶、莽草酸 *O*-羟基肉桂酰转移酶、 β -D-糖基番红花苷 β -1,6-糖基转移酶、乙酰辅酶A苯甲醇乙酰转移酶; 同时, 家族基因数较多的有酰基糖酰基转移酶(16个)、 β -D-糖基番红花苷 β -1,6-糖基转移

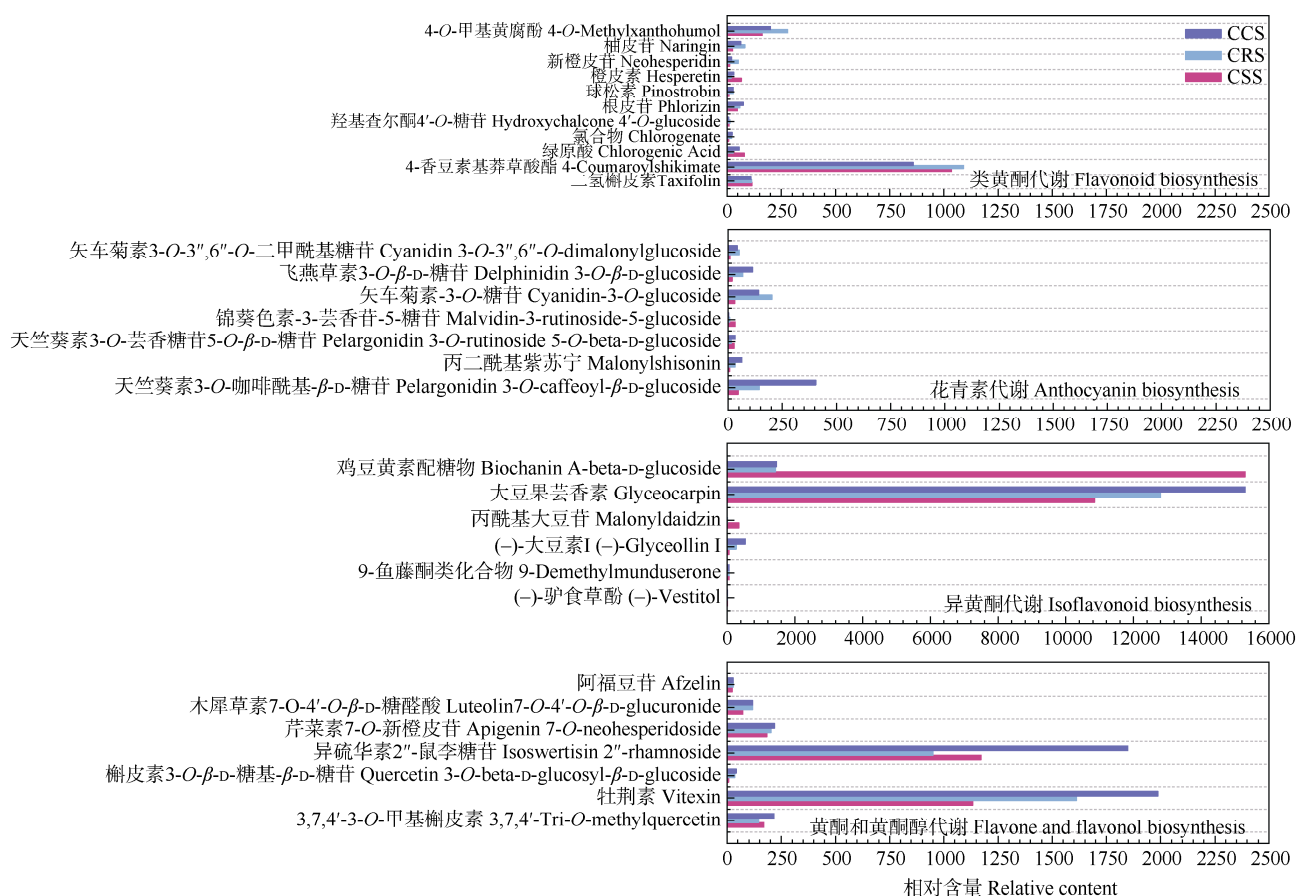


图1 3种介质盆栽辣椒根系黄酮类化合物的相对含量。CCS: 连作土; CRS: 轮作土; CSS: 混合基质土。下同

Fig. 1 Relative contents of flavonoid compounds in pepper roots potted in 3 medias. CCS: Continuous cropping soil; CRS: Crop rotation soil; CSS: Composite substrate soil. The same below

表 2 3 种介质盆栽辣椒根系中含量差异显著的 7 个黄酮类化合物

Table 2 Contents of 7 flavonoid compounds with significant differences in pepper roots potted in 3 medias

代谢途径 Pathway	化合物 Compound	相对含量 Relative content		
		CSS	CRS	CCS
花青素代谢 Anthocyanin biosynthesis	天竺葵素 3-O-咖啡酰基- β -D-糖苷 Pelargonidin 3-O-caffeoyl- β -D-glucoside	47.18 $\pm$ 41.82b	142.49 $\pm$ 12.97b	404.00 $\pm$ 49.85a
	锦葵素-3-芸香苷-5-糖苷 Malvidin-3-rutinoside-5-glucoside	33.98 $\pm$ 8.96a	5.99 $\pm$ 3.41b	2.96 $\pm$ 0.69b
	矢车菊素 3-O-糖苷 Cyanidin 3-O-glucoside	30.75 $\pm$ 13.68b	202.71 $\pm$ 49.02a	141.53 $\pm$ 59.57a
	飞燕草素 3-O- β -D-糖苷 Delphinidin 3-O- β -D-glucoside	19.81 $\pm$ 18.70b	68.24 $\pm$ 47.58ab	112.46 $\pm$ 11.38a
	矢车菊素 3-O-3",6"-O-二甲酰基糖苷 Cyanidin 3-O-3",6"-O-dimalonylglucoside	9.06 $\pm$ 15.69a	50.84 $\pm$ 13.30a	41.45 $\pm$ 32.63a
类黄酮代谢 Flavonoid biosynthesis	新橙皮苷 Neohesperidin	11.16 $\pm$ 4.81b	52.40 $\pm$ 27.75a	21.32 $\pm$ 2.80ab
黄酮和黄酮醇代谢 Flavone and flavonol biosynthesis	槲皮素 3-O- β -D-糖基- β -D-糖苷 Quercetin 3-O- β -D-glucosyl- β -D-glucoside	7.29 $\pm$ 3.29b	36.26 $\pm$ 19.80a	42.06 $\pm$ 4.37a

同行数据后不同字母表示差异显著($P<0.05$)。下同

Data followed different letters within line indicate significant differences at 0.05 level. The same below

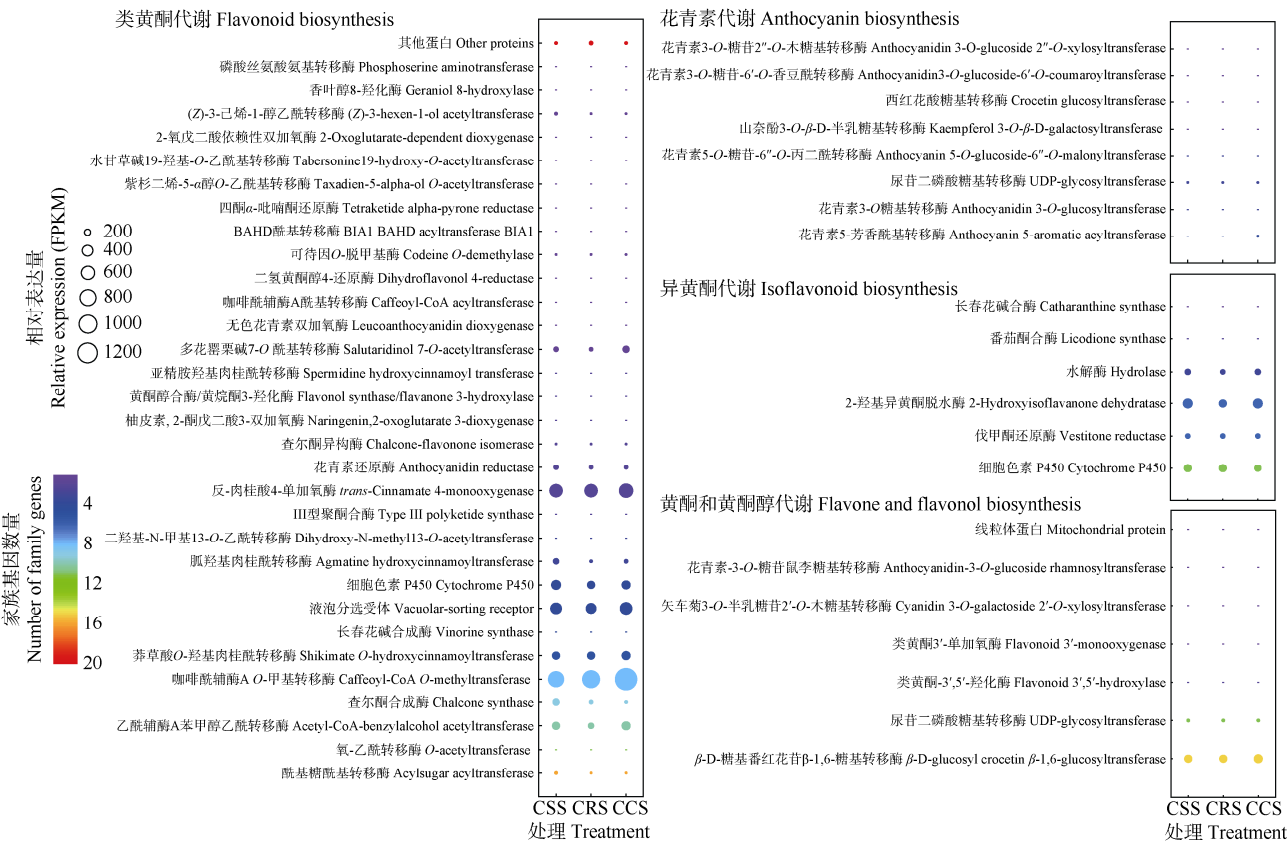


图 2 3 种介质盆栽辣椒根系黄酮类合成酶基因及相对表达量

Fig. 2 Synthetase genes and FPKM of flavonoid compounds in pepper roots potted in 3 medias

酶(15 个)、细胞色素 P450 (15 个)、尿苷二磷酸糖基转移酶(14 个)、氧-乙酰转移酶(11 个)、乙酰辅酶 A 苯甲醇乙酯转移酶(10 个)、查尔酮合成酶(9 个)、咖啡酰辅酶 A O-甲基转移酶(8 个)等; 其中细胞色素 P450 家族基因中有属于类黄酮代谢(4 个)和异黄酮

代谢(11 个), 尿苷二磷酸糖基转移酶家族基因中有属于花青素代谢(3 个)以及黄酮和黄酮醇代谢(11 个)。

进一步对 202 个黄酮类化合物合成酶基因在 CSS、CRS 和 CCS 共 3 种介质盆栽辣椒根系中相互

比较, 表达量差异显著的有 38 个(表 3), 包括 13 个类黄酮合成酶家族基因中的 23 个基因、2 个花青素合成酶家族基因中的 3 个基因、2 个异黄酮合成酶家族基因的 7 个基因、2 个黄酮和黄酮醇合成酶家族基因中的 5 个基因。其中酰基糖酰基转移酶、查尔酮合成酶、2-氧戊二酸依赖性双加氧酶、长春花碱合成酶、(Z)-3-己烯-1-醇乙酰转移酶等基因在 CSS 盆栽辣椒根系中相对表达量更高, 而咖啡酰辅酶 A *O*-甲基

转移酶、花青素 5-芳香酰基转移酶、尿苷二磷酸糖基转移酶、2-羟基异黄酮酮脱水酶等基因在 CRS 或 CCS 逆境盆栽辣椒根系中相对表达量更高。

2.3 差异表达基因 qRT-PCR 检测

根据转录组测序结果, 选择 3 种介质盆栽辣椒根系中 FPKM 值差异明显的 5 个黄酮类化合物相关合成酶基因, 进行 RT-qPCR 鉴定。该 5 个黄酮类化合物在 CSS、CRS 和 CCS 盆栽辣椒根系相对表达量中,

表 3 3 种介质盆栽辣椒根系中表达量差异显著的 38 个黄酮类化合物

Table 3 38 Synthetases with significant differences in the roots when peppers potted in 3 different medias

代谢途径 Pathway	基因编码 Gene ID	基因 Gene	相对表达量 FPKM		
			CSS	CRS	CCS
类黄酮代谢 Flavonoid biosynthesis	LOC107876003	乙酰辅酶 A 苯甲醇乙酰转移酶	104.52±8.14b	69.73±3.54c	142.26±5.62a
	LOC107866161	Acetyl-CoA-benzylalcohol acetyltransferase	27.95±10.48a	3.01±1.37b	4.05±0.92b
	LOC107877086		1.58±0.17a	1.17±0.32a	0.32±0.15b
	LOC107848097	胍羧基肉桂酰转移酶	59.06±19.42a	18.57±3.47b	28.11±1.97b
	LOC107875625	Agmatine hydroxycinnamoyltransferase	2.87±0.5b	3.28±0.54b	7.98±0.38a
	LOC107846882		1.31±0.65b	0.93±0.29b	2.34±0.16a
	LOC107847099	酰基糖酰基转移酶 Acylsugar acyltransferase	9.92±1.52a	1.72±0.3b	1.19±0.38b
	LOC107851983		1.39±0.26a	0.27±0.04b	0.18±0.04b
	LOC107861362		1.08±0.21b	1.98±0.24a	0.75±0.13b
	LOC107860278	咖啡酰辅酶 A <i>O</i> -甲基转移酶	116.10±12.53b	153.50±27.72b	283.40±74.86a
	LOC107853336	Caffeoyl-CoA <i>O</i> -methyltransferase	3.38±0.71b	4.20±0.52b	9.57±2.73a
	LOC107852750	查尔酮异构酶 Chalcone-flavonone isomerase	0.53±0.13a	0.98±0.33a	2.73±1.64a
	LOC107871144		7.08±0.48a	3.60±1.30b	8.41±1.38a
	LOC107871238	查尔酮合成酶 Chalcone synthase	76.75±8.23a	30.76±6.30a	14.19±2.27a
	LOC107857165	二羟基- <i>N</i> -甲基四氢小檗碱 13- <i>O</i> -乙酰转移酶	0.95±0.17a	0.34±0.03b	0.86±0.12a
	LOC107845999	Dihydroxy- <i>N</i> -methylcanadine 13- <i>O</i> -acetyltransferase			
		2-氧戊二酸依赖性双加氧酶	1.46±0.66a	0.29±0.08b	0.10±0.03b
	LOC107851795	2-oxoglutarate-dependent dioxygenase			
		长春花碱合成酶 Vinorine synthase	4.23±0.60a	3.75±0.37a	1.76±0.27b
	LOC107864010	(Z)-3-己烯-1-醇乙酰转移酶	16.38±1.70a	9.76±0.96b	6.30±1.40c
		(Z)-3-hexen-1-ol acetyltransferase			
	LOC107864307	非特征蛋白 uncharacterized protein	1.03±0.01c	2.79±0.15b	1.71±0.08a
花青素代谢 Anthocyanin biosynthesis	LOC107842304	多花罂粟碱 7- <i>O</i> 酰基转移酶	47.14±4.41b	34.40±2.75c	88.78±5.53a
		Salutaridinol 7- <i>O</i> -acetyltransferase			
	LOC107844023	细胞色素 P450Cytochrome P450	74.66±7.49a	33.88±1.74c	50.72±4.23b
	LOC107845530	花青素 5-芳香酰基转移酶	2.01±0.31ab	1.31±0.41b	3.17±0.82a
异黄酮代谢 Isoflavonoid biosynthesis	LOC107845634	Anthocyanin 5-aromatic acyltransferase	0.38±0.18b	1.22±0.38a	1.43±0.33a
	LOC107866506	尿苷二磷酸糖基转移酶 UDP-glycosyltransferase	0.42±0.10b	0.74±0.07ab	1.05±0.24a
	LOC107860230	细胞色素 P450 Cytochrome P450	47.19±5.64a	41.45±1.67a	19.82±1.97b
	NewGene_13052		20.21±0.1b	16.84±1.41b	35.07±5.55a
	LOC107867206		8.69±0.63a	10.33±1.64a	3.63±0.41b
	LOC107867197		8.28±3.26a	3.32±1.16b	0.80±0.12b
	LOC107869455		0.67±0.35ab	0.36±0.16b	0.98±0.18a
	LOC107871066	2-羟基异黄酮酮脱水酶	13.48±1.56c	20.47±1.58b	39.39±1.72a
	LOC107856519	2-hydroxyisoflavanone dehydratase	8.60±1.04b	7.88±1.25b	27.20±6.42a
	LOC107843594	尿苷二磷酸糖基转移酶 UDP-glycosyltransferase	1.92±0.22c	3.27±0.30b	5.02±0.73a
黄酮和黄酮醇 代谢 Flavone and flavonol biosynthesis	LOC107866626		1.66±0.18b	1.04±0.48b	3.20±0.24a
	LOC107851766		0.34±0.14b	0.73±0.56b	2.97±0.52a
	LOC107878053	β -D-糖基番红花苷 β -1,6-糖基转移酶	16.87±0.98a	7.01±0.67b	14.77±1.12a
	LOC107878052	β -D-glucosyl crocetin β -1,6-glucosyltransferase	14.60±1.59a	6.63±0.79b	13.24±1.30a

依次递增的有 2-羟基异黄酮酮脱水酶(LOC107871066)和尿苷二磷酸糖基转移酶(LOC107843594),依次递减的有查耳酮合成酶(LOC107871238),而先减后增趋势的有多花罂粟碱 7-O 酰基转移酶(LOC107842304)和肌羟基肉桂酰转移酶(LOC107848097)。RT-qPCR 结果表明(图 3),这 5 个参与黄酮类化合物合成酶基因中相对表达量趋势与转录组中 FPKM 值结果一致。

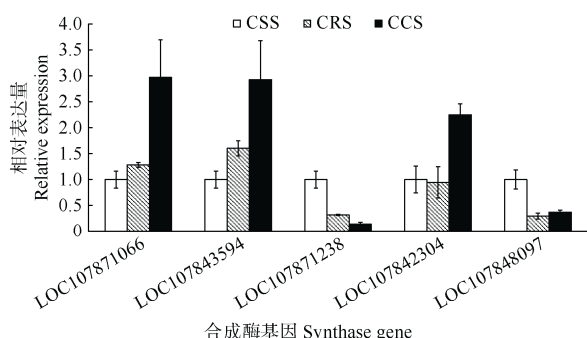


图 3 5 个黄酮类合成相关差异表达基因的 qRT-PCR 分析

Fig. 3 Analysis of 5 differential expressed flavonoids genes by qRT-PCR

3 讨论和结论

3.1 逆境胁迫下辣椒组学分析

近年来,有基于转录组结合代谢组研究辣椒在不同逆境胁迫下的响应机制。Zhang 等^[24]研究冷胁迫处理下耐寒和冷敏感 2 种辣椒,认为 ICE (CBF 表达诱导)-CBF-COR(冷害)途径是辣椒响应低温的关键通路,该途径受 Ca^{2+} 信号、MAPK (丝裂原活化蛋白激酶)信号和 ROS (活性氧)信号共同调控。Wang 等^[25]研究热应激处理下耐热和热敏感 2 种辣椒,认为大量氨基酸、有机酸、黄酮类化合物和糖类差异代谢物,说明辣椒在热应激反应中机制复杂,但总体来说,谷胱甘肽代谢途径在辣椒对热应激反应中起着关键作用,相关基因和代谢物的较高积累是导致耐热性的主要原因之一。Huang 等^[26]用疫霉菌侵染辣椒后,参与黄酮生物合成途径中的差异代谢物和表达基因在抗性辣椒中被特异激活,说明黄酮类生物合成途径在辣椒对疫霉根腐病的抗性起重要作用。而本研究通过转录组结合代谢组进行连作及不合理轮作 2 种逆境条件下辣椒根系分析,聚焦黄酮类生物合成途径中具体的差异代谢物及差异表达合成酶基因,认为连作等逆境胁迫能提高辣椒根系黄酮类化合物积累以及激活部分重要合成酶基因。

3.2 连作等逆境胁迫下辣椒黄酮类化合物代谢

植物在病虫害等逆境胁迫下会增加体内黄酮类化合物的积累,从而保护植物免受侵害^[28-29]。本研究通过代谢组学分析,首次在不合理轮作和连作 2 种逆境下栽培的辣椒根系中,发现含量显著提高的黄酮类化合物主要为花青素类,具体包括天竺葵素 3-O-咖啡酰基- β -D-糖苷、矢车菊素-3-O-糖苷、矢车菊素 3-O-3",6"-O-二甲酰基糖苷、飞燕草素 3-O- β -D-糖苷共 4 种;此外还包括其他黄酮类化合物如新橙皮苷和槲皮素 3-O- β -D-糖基- β -D-糖苷 2 种。虽然逆境胁迫能显著提高辣椒根系黄酮类化合物总体含量^[30],但本研究也观察到 1 种黄酮类化合物锦葵素-3-芸香苷-5-糖苷在逆境胁迫下的含量显著降低,相关研究有待进一步深入。

通过转录组测序,辣椒根系黄酮类化合物合成共涉及到 202 个酶基因,其中家族基因较多的有细胞色素 P450 (15 个)和尿苷二磷酸糖基转移酶(14 个)等。植物细胞色素 P450 除参与类黄酮和异黄酮等黄酮类化合物合成代谢外,还广泛催化生物碱、萜类、甾醇、脂肪酸、植物激素和色素等初级和次级代谢物的合成和代谢反应^[31-32]。本研究从辣椒根系发现的 15 个细胞色素 P450 家族基因中,差异表达显著的有 6 个,其中涉及类黄酮合成代谢的 1 个酶基因在基质栽培的辣椒根系中表达量最高,然而属于类黄酮化合物中的新橙皮苷却在逆境连作栽培中含量最高,这可能是该基因存在负调控所致;而涉及异黄酮合成和代谢的 5 个酶基因中,在基质土、轮作土和连作土栽培的辣椒根系中表达量最高的分别有 2、1 和 2 个,但本研究并未发现异黄酮化合物中含量差异极显著相关化合物。植物尿苷二磷酸糖基转移酶属于糖基转移酶一号家族,根据糖基化反应中修饰位点的不同,可分为类黄酮 3-O-、5-O-和 7-O-糖基转移酶或催化生成二糖苷甚至多糖苷的糖基转移酶以及 C-糖基转移酶等^[33-34],植物尿苷二磷酸糖基转移酶除参与花青素、黄酮和黄酮醇等黄酮类化合物合成代谢外,还催化酚酸、萜类以及植物激素等小分子化合物的合成^[35]。本研究从辣椒根系中发现的 14 个尿苷二磷酸糖基转移酶中,差异表达显著的有 4 个,其中涉及花青素合成代谢 1 个、黄酮和黄酮醇合成代谢 3 个,这 4 个糖基转移酶均在连作栽培的辣椒根系中表达量显著提高,这与天竺葵素 3-O-咖啡酰基- β -D-糖苷、矢车菊素-3-O-糖苷、矢车菊素 3-O-3",6"-O-二甲酰基糖苷、飞燕草素

3-*O*- β -D-糖苷、槲皮素 3-*O*- β -D-糖基- β -D-糖苷等 5 个黄酮类化合物在逆境栽培条件下含量显著提高相一致。同时, 进一步分析表明, 在花青素合成代谢差异表达极显著的 2 个酰基转移酶(花青素 5-芳香酰基转移酶)和 1 个糖基转移酶(尿苷二磷酸糖基转移酶)均在逆境连作辣椒根系中表达量显著提高, 这与花青素相关化合物总体含量在逆境下显著提高相一致。

综上, 连作或不合理的轮作等逆境胁迫能整体提高辣椒根系黄酮类化合物含量, 这些相对含量较高的化合物具体包括: 花青素类中天竺葵素 3-*O*-咖啡酰基- β -D-糖苷、矢车菊素-3-*O*-糖苷、矢车菊素 3-*O*-3",6"-*O*-二甲酰基糖苷、飞燕草素 3-*O*- β -D-糖苷; 二氢黄酮类中的新橙皮苷; 黄酮醇类中的槲皮素 3-*O*- β -D-糖基- β -D-糖苷。同时, 也存在花青素类中的锦葵素-3-芸香苷-5-糖苷这类黄酮化合物在逆境胁迫下含量反而降低的情况。在类黄酮合成代谢相关酶基因中, 差异表达显著的尿苷二磷酸糖基转移酶有 4 个, 其中涉及花青素合成代谢 1 个、黄酮和黄酮醇合成代谢 3 个, 这 4 个尿苷二磷酸糖基转移酶均在连作栽培的辣椒根系中表达量显著提高, 这与 4 种花青素类化合物和 1 种黄酮醇类化合物在逆境栽培条件下含量显著提高相一致。然而, 其他黄酮类化合物合成酶基因在逆境栽培的辣椒根系中上下调表达趋势变化规律不明显。

参考文献

- [1] SHAH A, SMITH D L. Flavonoids in agriculture: Chemistry and roles in, biotic and abiotic stress responses, and microbial associations [J]. *Agronomy*, 2020, 10(8): 1209. doi: 10.3390/agronomy10081209.
- [2] SCHÜTZ V, FRINDTE K, CUI J X, et al. Differential impact of plant secondary metabolites on the soil microbiota [J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 666010. doi: 10.3389/fmicb.2021.666010.
- [3] BULGAKOV V P, FIALKO A V, YUGAY Y A. Involvement of epigenetic factors in flavonoid accumulation during plant cold adaptation [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2024, 216: 109096. doi: 10.1016/j.plaphy.2024.109096.
- [4] TIAN X. Effects of grafting on growth and disease resistance of pepper [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2020. [田雪. 嫁接对辣椒生长及疫病抗性的影响 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2020. doi: 10.27010/d.cnki.gdbnu.2020.000253.]
- [5] SHEN N, WANG T F, GAN Q, et al. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity [J]. *Food Chem*, 2022, 383: 132531. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132531.
- [6] WANG Y. Elicitor BAR11 induces flavonoid metabolism and affect rhizosphere microorganisms in transgenic *Arabidopsis thaliana* [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2024. [王瑜. 激发子 BAR11 诱导转基因拟南芥类黄酮代谢及影响根际微生物的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2024. doi: 10.27409/d.cnki.gxbnu.2024.000708.]
- [7] SINGH P, ARIF Y, BAJGUZ A, et al. The role of quercetin in plants [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2021, 166: 10–19. doi: 10.1016/j.plaphy.2021.05.023.
- [8] DARYANAVARD H, POSTIGLIONE A E, MÜHLEMANN J K, et al. Flavonols modulate plant development, signaling, and stress responses [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2023, 72: 102350. doi: 10.1016/j.pbi.2023.102350.
- [9] YANG W, XU X N, LI Y, et al. Rutin-mediated priming of plant resistance to three bacterial pathogens initiating the early SA signal pathway [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146910. doi: 10.1371/journal.pone.0146910.
- [10] SICILIANO I, AMARAL C G, SPADARO D, et al. Jasmonic acid, abscisic acid, and salicylic acid are involved in the phytoalexin responses of rice to *Fusarium fujikuroi*, a high gibberellin producer pathogen [J]. *J Agri Food Chem*, 2015, 63(37): 8134–8142. doi: 10.1021/acs.jafc.5b03018.
- [11] OKUTANI F, HAMAMOTO S, AOKI Y, et al. Rhizosphere modelling reveals spatiotemporal distribution of daidzein shaping soybean rhizosphere bacterial community [J]. *Plant Cell Environ*, 2020, 43(4): 1036–1046. doi: 10.1111/pce.13708.
- [12] AKANDA M R, UDDIN M N, KIM I S, et al. The biological and pharmacological roles of polyphenol flavonoid tiliatin [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 842: 291–297. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.10.044.
- [13] NAIK J, MISRA P, TRIVEDI P K, et al. Molecular components associated with the regulation of flavonoid biosynthesis [J]. *Plant Sci*, 2021, 317: 111196. doi: 10.1016/j.plantsci.2022.111196.
- [14] PERRET X, STAEHELIN C, BROUGHTON W J. Molecular basis of symbiotic promiscuity [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000, 64(1): 180–201. doi: 10.1128/MMBR.64.1.180-201.2000.
- [15] BAG S, MONDAL A, MAJUMDER A, et al. Flavonoid mediated selective cross-talk between plants and beneficial soil microbiome [J]. *Phytochem Rev*, 2022, 21(5): 1739–1760. doi: 10.1007/s11101-022-09806-3.
- [16] ZHANG S P, QIU S L, HUANG H M, et al. Transcriptome and metabolome analyses of flavonoids metabolism in leaf, stem and root of *Portulaca oleracea* L. [J]. *Acta Bot Boreali-Occid Sin*, 2021, 41(2): 254–261. [张少平, 邱珊莲, 黄惠明, 等. 基于转录组和代谢组分析马齿苋根茎叶中类黄酮代谢 [J]. 西北植物学报, 2021, 41(2): 254–

261. doi: 10.7606/j.issn.1000-4025.2021.02.0254.]
- [17] ZHANG S P, LI Z, JU Y D, et al. Advances in research on membrane lipid peroxidation reaction during the quality deterioration period of fresh pepper [J]. *Acta Hort Sin*, 2024, 51(12): 2945–2961. [张少平, 李洲, 鞠玉栋, 等. 鲜食辣椒采后品质劣变伴随膜脂过氧化反应研究进展 [J]. *园艺学报*, 2024, 51(12): 2945–2961. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2024-0063.]
- [18] ALRABIE H, ALSAMADANY H, ALMOSHADAK A S, et al. Green biogenic sulfur nanoparticles enhance *Capsicum annuum* (L.) resilience to salt stress by triggering physio-biochemical and genetic repair mechanisms [J]. *Front Plant Sci*, 2025, 16: 1564621. doi: 10.3389/fpls.2025.1564621.
- [19] DONG X Y, TU C, XIE Z H, et al. The genome of *Bacillus velezensis* SC60 provides evidence for its plant probiotic effects [J]. *Microorganisms*, 2022, 10(4): 767. doi: 10.3390/microorganisms10040767.
- [20] YUCE M, AYDIN M, TURAN M, et al. Ameliorative effects of SL on tolerance to salt stress on pepper (*Capsicum annuum* L.) plants [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2025, 223: 109798. doi: 10.1016/j.plaphy.2025.109798.
- [21] LIU W X, FENG Y, YU S H, et al. The flavonoid biosynthesis network in plants [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(23): 12824. doi: 10.3390/ijms222312824.
- [22] VIVES-PERIS V, DE OLLAS C, GÓMEZ-CADENAS A, et al. Root exudates: From plant to rhizosphere and beyond [J]. *Plant Cell Rep*, 2020, 39(1): 3–17. doi: 10.1007/s00299-019-02447-5.
- [23] OLANREWaju O S, AYANGBENRO A S, GLICK B R, et al. Plant health: Feedback effect of root exudates-rhizobiome interactions [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, 103(3): 1155–1166. doi: 10.1007/s00253-018-9556-6.
- [24] ZHANG J W, LIANG L, XIE Y D, et al. Transcriptome and metabolome analyses reveal molecular responses of two pepper (*Capsicum Annuum* L.) cultivars to cold stress [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 975330. doi: 10.3389/fpls.2022.975330.
- [25] WANG J, LV J H, LIU Z B, et al. Integration of transcriptomics and metabolomics for pepper (*Capsicum annuum* L.) in response to heat stress [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(20): 5042. doi: 10.3390/ijms20205042.
- [26] HUANG C, LIU Y L, LU J, et al. Integrated physiological, transcriptomics, and metabolite analysis reveal photosynthetic toxicity related to the bisphenol a stress response mechanism in pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Environ Pollut*, 2025, 381: 126530. doi: 10.1016/j.envpol.2025.126530.
- [27] LI Z, LIAN D M, ZHANG S P, et al. Continuous cropping duration alters green pepper root exudate composition and triggers rhizosphere feedback inhibition [J]. *Agronomy*, 2025, 15(8): 2010. doi: 10.3390/agronomy15082010.
- [28] ALSEEKH S, PEREZ DE SOUZA L, BENINA M, et al. The style and substance of plant flavonoid decoration; towards defining both structure and function [J]. *Phytochemistry*, 2020, 174: 112347. doi: 10.1016/j.phytochem.2020.112347.
- [29] NICOLESCU A, BUNEA C I, MOCAN A. Total flavonoid content revised: An overview of past, present, and future determinations in phytochemical analysis [J]. *Anal Biochem*, 2025, 700: 115794. doi: 10.1016/j.ab.2025.115794.
- [30] WANG Y Z, YANG P, LI J, et al. Identification of the *CaCRT* gene family and function of *CaCRT1* under low-temperature stress in pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 90. doi: 10.1038/s41598-024-83667-y.
- [31] WARING R H. Cytochrome P450: Genotype to phenotype [J]. *Xenobiotica*, 2020, 50(1): 9–18. doi: 10.1080/00498254.2019.1648911.
- [32] HU B D, ZHAO X R, WANG E D, et al. Efficient heterologous expression of cytochrome P450 enzymes in microorganisms for the biosynthesis of natural products [J]. *Crit Rev Biotechnol*, 2023, 43(2): 227–241. doi: 10.1080/07388551.2022.2029344.
- [33] YU A D, LIU L, LONG R C, et al. Function and application prospect of plant UDP-glycosyltransferase (UGT) [J]. *Plant Physiol J*, 2022, 58(4): 631–642. [于安东, 刘琳, 龙瑞才, 等. 植物 UDP-糖基转移酶 (UGT) 的功能及应用前景 [J]. *植物生理学报*, 2022, 58(4): 631–642. doi: 10.13592/j.cnki.ppj.2021.0128.]
- [34] YAO Y, GU J J, SUN C, et al. Advances in plant flavonoids UDP-glycosyltransferase [J]. *Biotechnol Bull*, 2022, 38(12): 47–57. [姚宇, 顾佳珺, 孙超, 等. 植物类黄酮 UDP-糖基转移酶研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2022, 38(12): 47–57. doi: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2022-0236.]
- [35] WANG M Y, JI Q S, LAI B, et al. Structure-function and engineering of plant UDP-glycosyltransferase [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2023, 21: 5358–5371. doi: 10.1016/j.csbj.2023.10.046.