



遮阴对柠檬香茅类黄酮及其合成酶基因差异表达研究

张少平, 鞠玉栋, 李洲, 练冬梅, 吴松海, 赖正锋, 洪建基

引用本文:

张少平, 鞠玉栋, 李洲, 练冬梅, 吴松海, 赖正锋, 洪建基. 遮阴对柠檬香茅类黄酮及其合成酶基因差异表达研究[J]. *热带亚热带植物学报*, 2023, 31(5): 615–622.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4658>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

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>

冰菜盐胁迫下的转录组分析

Transcriptome Analysis of *Mesembryanthemum crystallinum* under Salt Stress
热带亚热带植物学报. 2019, 27(3): 279–284 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3972>

益智不同组织多糖含量及其生物合成途径分析

Analysis of Polysaccharide Content and Biosynthesis Pathway in Different Tissues of *Alpinia oxyphylla*
热带亚热带植物学报. 2021, 29(6): 669–677 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4374>

UV-B辐射诱导芒果叶片抗氧化响应研究

热带亚热带植物学报. 2020, 28(1): 70–77 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4079>

夏季南亚热带森林演替中后期优势种幼叶花色素苷的光保护作用

Photoprotection of Anthocyanins in Young Leaves of Dominant Tree Species at Mid- and Late-successional Stages of Low Subtropical Forest in Summer
热带亚热带植物学报. 2018, 26(4): 363–374 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3838>

向下翻页, 浏览PDF全文

遮阴对柠檬香茅类黄酮及其合成酶基因差异表达研究

张少平, 鞠玉栋*, 李洲, 练冬梅, 吴松海, 赖正锋, 洪建基

(福建省农业科学院亚热带农业研究所, 福建 漳州 363005)

摘要: 为了解柠檬香茅(*Cymbopogon citratus*)中类黄酮及其合成酶基因信息, 以阳光直射及遮阴环境下生长的柠檬香茅嫩叶为材料, 进行代谢组、转录组结合 qRT-PCR 验证分析。结果表明, 柠檬香茅中含有 11 类共 69 种黄酮化合物, 其中芦丁、去甲基托罗沙黄酮、紫云英苷及葡萄糖醇等类黄酮化合物在遮阴环境下相对含量显著降低; 类黄酮生物合成涉及 10 类酶 54 个基因, 其中类黄酮 3'羟化酶(c99177.1)等 4 个酶基因在遮阴环境下相对表达量显著降低, 而异黄酮合成酶(c51975.0)等 6 个酶基因相对表达量正好相反; 其中 5 个类黄酮合成酶基因在光照及遮阴柠檬香茅中的上下调表达趋势与转录组测序结果中 FPKM 值变化一致, 而二者检测结果中差异表达倍数存在差异。遮阴使柠檬香茅中大多黄酮类化合物相对含量降低, 而其合成酶基因上下调表达趋势规律不明显。

关键词: 柠檬香茅; 类黄酮; 代谢产物; 合成酶; 代谢组; 转录组

doi: 10.11926/jtsb.4658

Effects of Shading on Secondary Metabolites and Their Synthase Genes of Flavonoid in *Cymbopogon citratus*

ZHANG Shaoping, JU Yudong*, LI Zhou, LIAN Dongmei, WU Songhai, LAI Zhengfeng, HONG Jianji

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

Abstract: In order to understand the gene information of flavonoids and their synthase in *Cymbopogon citratus*, the metabolome, transcriptome and qRT-PCR were studied by using young leaves of *C. citratus* growing in sunlight and shade. The results showed that *C. citratus* contained 69 flavonoids belonging to 11 kinds. The contents of flavonoids, such as rutin, demethyltorosaf flavone, astragaloside and glucosylorobol etc., decreased under shade environment. The flavonoid biosynthesis involved 10 kinds of enzymes encoded by 54 genes. The expressions of 4 genes, such as *F3'H* (c99177.1), decreased significantly under shade environment, while those of 6 genes, such as *FSI* (c51975.0) etc., were opposite. The up- or down-regulation expression trend of 5 flavonoid synthase genes under light and shading was consistent with the change of FPKM in transcriptome sequencing, however, there was difference in the differential expression multiples between the two methods. Therefore, Shading could decrease the relative content of flavonoid in *C. citratus*, but the relative expression of synthetase genes was irregular whether up or down regulation.

Key words: *Cymbopogon citratus*; Flavonoid; Metabolite; Synthase; Transcriptome; Metabolome

柠檬香茅(*Cymbopogon citratus*)为禾本科(Poaceae) 部及西印度群岛等热带地区, 中国福建、台湾、广东、广西及海南有栽培^[1]。柠檬香茅具有特殊柠檬香茅属多年生具香味草本植物, 广泛种植于非洲东

收稿日期: 2022-04-21 接受日期: 2022-06-17

基金项目: 福建省公益类科研院所专项(2020R1030001); 福建省农业科学院青年创新团队项目(CXTD2021006-3); 福建省农业科学院科技创新平台专项(CXPT202103)资助

This work was supported by the Special Project for Public Welfare Research Institutes in Fujian (Grant No. 2020R1030001), the Project for Youth Innovation Team of FAAS (Grant No. CXTD2021006-3), the Special Project for Platform for Science and Technology Innovation of FAAS (Grant No. CXPT202103).

作者简介: 张少平(1975年生), 男, 硕士, 高级农艺师, 主要从事功能植物次生代谢产物研究。E-mail: zspnc@163.com

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

香气, 传统常用来烹饪调味、提取香茅精油及园林造景等^[2-3]。近年来, 由于柠檬香茅含有类黄酮等天然抗菌物质, 在饲料防腐、改善禽畜品质、抑菌防病、调节机体功能及提高免疫力等起重要作用, 因此, 使用柠檬香茅作为抗生素饲料添加剂, 在畜禽养殖业中展示了很好的应用前景^[4-6]。类黄酮也叫黄酮类化合物, 其母核为 2-苯基色原酮的一类重要的多酚类次生代谢产物, 具有 C6-C3-C6 的基本化学结构^[7], 其所含的多个酚羟基可清除自由基及抗机体氧化, 是其具有多种生理功能的基本生物学基础^[8]。类黄酮根据 C 环部分的成环、氧化、取代等方式差异, 可分为黄酮、黄酮醇、黄烷酮、异黄酮、查尔酮、花青素、橙酮类等以及上述各类的二氢衍生物^[9-10]。类黄酮广泛存在于从苔藓到种子等各种植物体内, 参与到植物对生物和非生物胁迫的响应中, 并对植物抵抗逆境胁迫起到重要作用^[11-12]。类黄酮对人体具有强大的生物活性, 如抗菌消炎、抗氧化延缓衰老、清热解毒、抗癌防癌、治疗心脑血管疾病及保持健康方面等多种功效^[13-15]。类黄酮合成途径大致分为前期和后期两个阶段^[16], 前期合成包括了查尔酮合酶(*CHS*)、查尔酮异构酶(*CHI*)和黄烷酮 3-羟化酶(*F3H*), 它们是参与所有下游类黄酮生物合成途径的共有基因^[17]。类黄酮合成途径中原花青素和花青素的后期合成基因则包括了类黄酮 3'-羟化酶(*F3'H*)、类黄酮 3'5'-羟化酶(*F3'5'H*)、二氢黄酮醇还原酶(*DFR*)、花青素合酶(*ANS*)和类黄酮-3-O-葡萄糖基转移酶(*UF3GT*)^[18]; 无色花青素还原酶(*LAR*)和花青素还原酶(*ANR*)分别催化无色花青素形成黄烷-3-醇(如儿茶素)和催化花青素形成表-黄烷-3-醇(如表儿茶素)^[19]; 此外, 黄酮合酶(*FNS*)控制着黄烷酮向黄酮的转化, 而黄酮醇合酶(*FLS*)则将二氢黄酮醇催化为黄酮醇^[20]。

香茅的研究主要集中在精油(挥发性单萜)的提取及应用等方面^[21-23]。目前, 并未见香茅类黄酮相关研究报道, 而植物类黄酮成分鉴定、功效评价以及类黄酮代谢过程中相关基因的遗传调控等一直为研究热点^[24-26]。然而, 随着香茅种植面积扩大及所需土地利用率的提高, 香茅种植常出现间作及套种等栽培模式, 因此香茅常在光线不够充足环境下种植生长。本研究以光照和遮阴下的柠檬香茅为材料, 通过代谢组检测结合转录组测序, 分析柠檬香茅类黄酮差异成分及合成代谢相关差异表达酶基因信息, 为进一步完善香茅种植模式及进行香茅类

黄酮具体成分功效评价、生物合成相关基因工程等研究打下良好基础。

1 材料和方法

1.1 材料

试验材料为福建漳州当地种植的柠檬香茅(*Cymbopogon citratus*), 初夏分株繁殖种植于试验盆中, 其中 3 盆放置大田阳光照射充足处, 另 3 盆放置大田覆盖遮光率为 60% 的遮阳网。分株种植 3 个月, 取光照及遮阴环境下生长的两组柠檬香茅嫩叶各 6 份, 每组 3 份嫩叶进行代谢组学比较分析, 另 3 份进行转录组学比较分析, 同时在进行转录组研究的光照及遮阴两组柠檬香茅嫩叶中, 各取 1 份进行目的基因 qRT-PCR 验证, 3 次重复。

1.2 代谢组学测定及类黄酮成分筛选

分别取光照及遮阴环境下生长的柠檬香茅嫩叶, 各 3 次重复共 6 份材料。每份样品依次通过冷冻干燥机(Scientz-100 F)干燥, 研磨仪(MM 400, Retsch)研磨, 甲醇提取液提取, 取上清及微孔滤膜过滤, 滤液存放进样瓶中进行超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)分析^[27]。基于百迈客公司所建的采用化学标品结合同公共库的二级谱图进行比对建立的数据库 MWDB (metware database), 通过二级谱信息进行柠檬香茅代谢物的定性定量, 进一步进行类黄酮代谢物的筛选, 相对含量取平均值。

1.3 转录组学测定及类黄酮合成酶筛选

分别取光照及遮阴环境下生长的柠檬香茅嫩叶, 各 3 次重复共 6 份材料。每份样品依次进行 RNA 提取, 等量混合组成 RNA 池, 磁珠富集 mRNA, 逆转录成 cDNA, 连接测序接头, 制备测序文库, PCR 富集测序样本, Illumina HiSeq 2500 测序平台测序及数据分析^[28]。进一步进行类黄酮合成代谢相关酶基因筛选, 相关合成酶基因相对表达量取 3 次重复的平均值。

1.4 差异基因 qRT-PCR 分析

从用于转录组测序的柠檬香茅嫩叶中, 挑选光照(标号: 阳 1-1)和遮阴(标号: 阴 1-1)各 1 个样本的总 RNA 进行 OD 值测定, 质量合格的柠檬香茅总 RNA 采用 Aidlab 公司反转录试剂盒(TUREscript 1st Stand cDNA Synthesis Kit)进行反转录, 根据反转录试剂盒说明书中的反应体系及条件, 合成两种环

境下生长的柠檬香茅嫩叶 cDNA, 以其为模板, 进行其中 5 个类黄酮合成酶基因的 qRT-PCR 检测(相

关合成酶基因及其引物序列见表 1), 每个合成酶基因检测 3 次, 结果取平均值。

表 1 荧光定量 PCR 分析的 5 个基因及所合成的引物

Table 1 qRT-PCR 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
C99566.2	内参基因 <i>Actin</i>	TTTGACATGGCTGTTGAAACT	TTGGAAATACCCGACTGAAGA
C99177.1	类黄酮 3'-羟化酶 <i>F3'H</i>	ACCTCTCCGGGATGAACT	GTGTTTCGTCAACGTGTGG
C102417.0	类黄酮 3'-羟化酶 <i>F3'H</i>	CGACTAGAGGGCTTACAT	TGTGTTCAGCAGTACAACA
C99741.0	异黄酮还原酶 <i>IFR</i>	TGGAGTTTCAGAGTGTGA	AAGACGAGACCAGTACAA
C102638.1	异黄酮还原酶 <i>IFR</i>	TCGAATGCAAGTGACAGGT	TTCACAATAACAAGACGCTGAC
C51975.0	异黄酮合成酶 <i>IFS</i>	AGGTCTCAGTCTTCTATG	TGCCACATGCTTATTTAG

2 结果和分析

2.1 代谢组检测类黄酮化合物

代谢组分析光照及遮荫环境下生长的柠檬香茅嫩叶, 进一步进行类黄酮具体成分及其相对含量比较分析。结果表明, 柠檬香茅所含类黄酮化合物共 69 种(表 2), 具体包括黄酮化合物 24 种、黄酮醇 13 种、黄烷酮 7 种、黄烷醇 2 种、异黄酮 10 种、查尔酮 7 种、花青素 2 种以及紫檀素、原花青素、黄酮聚合物和橙酮类各 1 种。绝大多数类黄酮化合物在光照环境下相对含量偏高, 尤其黄酮中芦丁、去甲基托罗沙黄酮、荭草素阿拉伯呋喃糖苷和鼠李糖基人参素, 黄酮醇中紫云英苷, 异黄酮中葡萄糖醇等代谢物在光照环境下相对含量显著提高。然而黄酮中芹菜素鼠李糖苷, 黄酮醇中淫羊藿属苷 C 和槲皮素二甲醚异戊酸, 异黄酮中刺芒柄花素昆布苷和刺芒柄花苷等少量代谢物在光照环境下相对含量更低。

2.2 转录组测序所获类黄酮合成酶基因信息

转录组学分析光照及遮荫环境下生长的柠檬香茅嫩叶, 进一步进行类黄酮合成酶基因及其相对表达量比较分析。结果表明, 柠檬香茅所含类黄酮生物合成中编码 10 类酶的 54 个家族基因(表 3), 具体包括 9 个 *CHS*、5 个 *CHI*、6 个 *F3H*、12 个 *F3'H*、2 个 *F3',5'H*、4 个 *DFR*、1 个 *ANS*、4 个 *FSI*、7 个 *IFS* 和 4 个 *IFR*。光照和遮荫环境下的类黄酮合成酶基因相对表达量极低且差异表达不明显, 只有 *F3'H* (c99177.1、c102417.0)、*IFS* (c98575.0)、*IFR* (c99741.0) 等 4 个基因在光照环境下相对表达量更高; 而 *CHS* (c103029.3)、*CHI* (c97610.0)、*DFR* (c64180.0)、*IFS* (c51975.0)、*IFR* (c99356.0、c102638.1) 等 6 个基因在遮荫环境下相对表达量更高。

2.3 差异表达基因 qRT-PCR 检测

根据转录组测序结果, 选择光照和遮荫环境下生长的柠檬香茅中 FPKM 值差异明显的 5 个类黄酮合成酶相关基因(表 4)进行 qRT-PCR 检测, 结果表明, 该 5 个参与类黄酮合成酶基因中的 3 个下调、2 个上调与转录组中 FPKM 值变化一致(图 1), 而二者检测结果中的差异表达倍数存在一定差异。

3 结论和讨论

香茅研究主要集中在精油提取、功效评价及利用等, 目前并未见香茅类黄酮相关成分研究报道, 而植物类黄酮成分鉴定、功效评价以及类黄酮代谢过程中相关基因资源克隆及转基因利用等一直为研究热点^[29-31]。同时, 随着香茅种植面积扩大及所需土地利用率的提高, 香茅种植出现间作及套种等栽培模式, 因此香茅常在光线不够充足环境下生长。本研究以光照和遮荫两组柠檬香茅为材料进行代谢组检测结合转录组测序, 代谢组学研究获得柠檬香茅中 11 类共 69 种类黄酮化合物, 绝大多数类黄酮化合物在光照环境下相对含量偏高, 尤其黄酮中荭草素阿拉伯呋喃糖苷、鼠李糖基人参素和芦丁, 黄酮醇中紫云英苷, 异黄酮中葡萄糖醇等代谢物在光照环境下相对含量显著提高。光线不足会影响柠檬香茅生长期的生物产量^[1], 本研究表明, 遮荫极大地降低柠檬香茅类黄酮的整体含量, 这与前人^[32]报道提高光照强度能显著提高植物类黄酮含量相吻合。本研究表明黄酮中芹菜素鼠李糖苷, 黄酮醇中淫羊藿属苷和槲皮素二甲醚异戊酸, 异黄酮中刺芒柄花素昆布苷和刺芒柄花苷等少量类黄酮代谢物在光照环境下相对含量更低。

表 2 69 种类黄酮及其相对含量

Table 2 69 Flavonoids and their related contents

二级分类 Class II	编码 ID	化合物 Compound	相对含量 The relative content		
			光照 Light	遮阴 Shading	
黄酮 Flavone	pos_213	异粟米草素葡萄糖苷 Isomollupentin glucoside	325.51±4.95a	270.45±6.25b	
	pos_70	香豆素二葡萄糖苷 Tomentin 6,4'-diglucoside	168.67±16.73a	50.85±13.99b	
	pos_384	洋芹苷 Apiin	117.44±14.78a	80.54±28.50a	
	pos_230	荭草素阿拉伯呋喃糖苷 Orientin arabinofuranoside	55.06±7.63a	6.60±1.85b	
	pos_174	鼠李糖基人参素 Rhamnosyl genkwanin	51.48±5.71a	7.10±2.79b	
	pos_103	黄酮碳甙 Maysin	21.46±4.62a	17.14±2.82a	
	pos_170	毛地黄黄酮半乳糖苷 Luteolin 5-galactoside	16.89±6.04a	8.41±4.96a	
	pos_512	芦丁 Rutin	27.32±6.37a	2.75±1.56b	
	pos_84	甲基玉米可凝性球蛋白 Methylmaysin	20.37±12.56a	9.57±2.11a	
	pos_269	二羟基二甲氧基黄酮 Precatorin II	11.66±5.94a	5.49±1.51a	
	pos_238	芹菜素鼠李糖苷 Apigenin rhamnosyl	8.20±2.94a	28.80±4.80b	
	pos_338	金雀花素 2"-O-葡萄糖甙 Scoparin 2"-O-glucoside	7.72±1.63a	5.85±1.66a	
	pos_32	香叶木素 Diosmetin	6.17±0.72a	1.24±0.32b	
	pos_247	去甲基托罗沙黄酮 Demethyltorosaflavone	5.01±0.41a	0.50±0.20b	
	pos_341	二甲氧基呋喃黄酮 Dimethoxyfuranone flavone	3.85±0.35a	2.29±0.50a	
	pos_212	毛地黄黄酮葡萄糖苷 Luteolin glucoside	3.33±0.86a	1.13±0.12a	
	pos_349	三甲氧基黄酮 Trimethoxyflavone	1.49±0.77a	0.56±0.07a	
	pos_132	白杨素龙胆二糖苷 Chrysin gentiobioside	1.46±0.13a	1.01±0.08b	
	pos_37	托罗沙黄酮 Torosaflavone	1.34±0.74a	0.61±0.25a	
	pos_202	四羟基黄酮 Tetrahydroxyflavone	1.20±0.71a	0.30±0.02a	
	pos_146	五甲氧基黄酮 Methylenedioxyflavone	1.15±0.49a	0.39±0.01a	
	pos_606	芫花素 Genkwanin	0.12±0.01a	0.04±0.02a	
	pos_580	芹菜素 Apigenin	0.11±0.02a	0.10±0.01a	
	pos_640	5,7-二羟基黄酮 5,7-Dihydroxyflavone	0.03±0.02a	0.01±0.01a	
	黄酮醇 Flavonol	pos_454	紫云英苷 Astragaln	158.26±9.95a	10.46±4.67b
		pos_65	山奈酚二鼠李糖甙 Kaempferol 7,4'-dirhamnoside	66.66±9.17a	29.28±6.95b
pos_214		槲皮苷阿拉伯吡喃糖苷 Quercetin arabinopyranoside	45.23±4.82a	21.21±2.25a	
pos_371		三酰化黄酮醇 Dorsilurin	8.81±2.43a	7.69±1.12a	
pos_310		淫羊藿甙 Epimedeside	28.71±1.18a	88.17±6.49b	
pos_167		异鼠李素木糖基半乳糖苷 Isorhamnetin xylosyl galactoside	16.91±2.55a	11.55±2.90a	
pos_87		槲皮素二甲醚异戊酸 Quercetin dimethyl ether isovalerate	8.23±1.05a	19.75±3.49b	
pos_831		异鼠李素 Isorhamnetin	7.28±4.53a	2.99±0.42a	
pos_224		山奈酚鼠李糖苷 Kaempferol rhamnoside	5.49±1.13a	4.04±0.92a	
pos_266		朝藿苷 Caohuoside	3.87±0.58a	3.94±0.89a	
pos_641		水仙苷 Narcissin	0.72±0.30a	0.30±0.15a	
pos_712		银杏素 Ginkgetin	0.51±0.13a	0.86±0.22a	
pos_667		淫羊藿苷 Icarin	0.31±0.06a	0.30±0.07a	
黄烷酮 Flavanone		pos_209	怀槐黄酮 Maackiaflavanone	11.02±3.37a	15.58±1.37a
	pos_67	橙皮素 Hesperetin	5.82±0.78a	5.38±1.04a	
	pos_256	圣草酚二甲醚 Eriodictyol dimethyl ether	3.19±0.43a	4.13±0.76a	
	pos_931	生松素 Pinocembrin	2.76±0.94a	1.89±0.27a	
	pos_320	柚皮素吡喃葡萄糖苷 Naringenin glucopyranoside	2.56±0.77a	4.25±0.38a	
	pos_637	新橙皮苷 Neohesperidin	0.56±0.26a	0.55±0.12a	
	pos_623	柑桔黄甙 Naringin	0.47±0.14a	0.36±0.13a	
	pos_138	儿茶素吡喃葡萄糖苷 Catechin glucopyranoside	2.98±0.84a	1.10±0.18a	
黄烷醇 Flavanol	pos_218	鳞毛蕨素 Dryopterac acid	0.39±0.09a	0.21±0.02a	
	pos_220	羟基葛根素 Pueraria glycoside	175.19±4.29a	94.63±8.06b	
异黄酮 Isoflavone	pos_48	葡萄糖醇 Glucosylorobol	138.58±7.45a	5.86±2.85b	
	pos_227	黄檀素异黄酮苷 Isovolubilin	49.77±4.68a	39.25±1.64a	
	pos_105	藤黄素甲醚 Fujikinetin methyl ether	20.35±1.52a	10.56±2.66b	

续表(Continued)

二级分类 Class II	编码 ID	化合物 Compound	相对含量 The relative content	
			光照 Light	遮阴 Shading
异黄酮 Isoflavone	pos_327	2'-羟基异黄酮 2'-Hydroxygenistein	9.29±0.39a	1.60±0.41b
	pos_198	气味素 Odoratin	7.57±1.13a	4.83±0.33b
	pos_156	吡喃葡萄糖基二羟基二甲氧基黄酮 Derrustone	2.43±0.44a	1.89±0.14a
	pos_221	刺芒柄花素昆布苷 Formononetin laminaribioside	1.13±0.51a	2.17±0.16b
	pos_696	刺芒柄花苷 Ononin	0.62±0.19a	1.31±0.22b
	pos_135	吡喃型异黄酮 Alpinumisoflavone	0.19±0.11a	0.37±0.03a
查尔酮 Chalcone	pos_236	异戊二烯基二氢查尔酮 Prenyldihydrochalcone	30.33±8.23a	41.13±2.13a
	pos_329	酸模叶蓼异戊酰氧查尔酮 Valafolone	9.59±1.18a	13.43±2.37a
	pos_91	楮树查耳酮 Broussonchalcone	4.43±1.78a	3.84±0.47a
	pos_318	香叶基二氢查尔酮 Geranyldihydrochalcone	2.64±0.89a	3.02±0.16a
	pos_78	奥卡宁 4-甲醚 Okanin 4-methyl ether	2.183±0.85a	2.62±0.37a
	pos_246	千斤拔查尔酮 Flemichapparin	0.74±0.44a	0.60±0.07a
	pos_880	黄腐醇 Xanthohumol	0.12±0.04a	0.19±0.01a
花青素 Anthocyanidin	pos_243	锦葵花素葡萄糖苷 Oenin	84.84±1.09a	14.67±1.77b
	pos_180	锦葵花素 Malvidin	23.79±4.80a	18.59±3.30a
紫檀素 Pterocarpans	pos_896	美迪紫檀素 Medicarpin	0.51±0.13a	0.51±0.08a
原花青素 Proanthocyanidins	pos_872	原花青素 B2 Procyanidin B2	1.01±0.30a	0.35±0.15a
黄酮聚合物 Neoflavonoids	pos_733	苏木精 Haematoxylin	2.34±0.87a	2.83±0.96a
橙酮类 Aurone flavonoid	pos_321	海生菊甙 Tetrahydroxyaurone	4.73±3.93a	1.51±0.18a

同行数据后不同字母表示差异显著($P<0.05$)。下同

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

表3 类黄酮生物合成中编码10类酶的54个基因

Table 3 54 genes encoding 10 kinds of enzymes in flavonoids biosynthesis

酶 Enzyme	编码 ID	FPKM	
		光照 Light	遮阴 Shading
查尔酮合酶 CHS	c102453.0	31.47±8.35a	48.12±12.26a
	c103029.3	13.28±3.07a	46.69±6.80b
	c53840.0	0.49±0.05a	0.36±0.04a
	c61556.0	0.42±0.32a	0.01±0.01a
	c53342.0	0.35±0.36a	1.34±1.09a
	c82337.0	0.25±0.28a	1.04±0.22a
	c58201.0	0.15±0.11a	0.06±0.03a
	c123292.0	0.08±0.09a	0.08±0.07a
	c61268.0	0.01±0.01a	0.71±1.22a
	c97610.0	1.84±0.65a	6.06±1.24b
查尔酮异构酶 CHI	c125965.0	0.34±0.32a	0.01±0.01a
	c56435.0	0.05±0.09a	0.13±0.11a
	c55941.0	0.01±0.01a	0.34±0.59a
	c87063.0	0.01±0.01a	0.16±0.14a
黄烷酮 3-羟化酶 F3H	c65851.0	0.49±0.22a	0.85±1.09a
	c79927.0	0.19±0.20a	0.15±0.14a
	c125494.0	0.15±0.08a	0.04±0.06a
	c76857.1	0.11±0.19a	0.01±0.01a
	c129606.0	0.07±0.11a	0.08±0.14a
类黄酮 3'-羟化酶 F3'H	c58418.0	0.01±0.01a	0.60±1.03a
	c99177.1	79.54±11.86a	25.12±10.85b

续表(Continued)

酶 Enzyme	编码 ID	FPKM	
		光照 Light	遮阴 Shading
类黄酮 3'-羟化酶 F3'H	c101486.1	37.48±3.12a	32.18±23.20a
	c102417.1	21.48±6.00a	13.79±17.53a
	c102417.0	19.38±1.51a	8.04±4.61b
	c87999.0	8.06±4.29a	5.56±5.62a
	c87999.1	0.92±0.77a	0.43±0.41a
	c43045.0	0.36±0.32a	0.07±0.13a
	c70935.1	0.15±0.13a	1.82±3.01a
	c51141.0	0.06±0.11a	0.88±1.53a
	c9793.0	0.05±0.08a	0.08±0.07a
	c70935.0	0.01±0.01a	1.16±0.69a
类黄酮 3',5'-羟化酶 F3'5'H	c70935.2	0.01±0.01a	0.14±0.25a
	c128107.0	0.03±0.06a	0.09±0.08a
二氢黄酮 4 还原酶 DFR	c103290.1	0.01±0.01a	1.66±2.88a
	c101521.0	17.53±14.46a	11.25±5.90a
	c64180.0	1.23±0.85a	8.10±1.68b
	c95236.0	0.93±0.19a	1.05±0.56a
花青素合酶 ANS	c78526.0	0.01±0.01a	0.51±0.89a
	c87658.0	0.11±0.15a	0.84±0.73a
黄酮合成酶 FSI	c50447.0	0.51±0.17a	0.42±0.47a
	c76071.0	0.17±0.18a	0.31±0.27a
	c96512.0	0.01±0.01a	2.05±3.43a
	c96512.1	0.01±0.01a	0.48±0.83a
异黄酮合酶 IFS	c98575.0	311.17±18.77a	82.50±20.93b
	c58030.0	1.29±0.82a	4.83±1.13a
	c51975.0	1.17±0.43a	8.04±3.80b
	c99904.0	0.59±0.54a	2.11±2.23a
	c88034.1	0.01±0.01a	3.93±6.80a
	c94661.0	2.01±0.01a	2.67±0.53a
	c85434.1	0.01±0.01a	0.08±0.14a
	c99741.0	36.46±16.11a	8.90±5.66b
异黄酮还原酶 IFR	c99356.0	7.20±0.99a	26.41±7.40b
	c102638.1	3.74±1.30a	14.55±3.83b
	c92050.1	2.80±1.86a	0.14±0.09a

表 4 荧光定量 PCR 分析柠檬香茅中 5 个差异表达基因

Table 4 Five differential expressed genes in *Cymbopogon citratus* by qRT-PCR

编码 ID	基因 Gene	RNA-Seq FPKM	
		光照 Light	遮阴 Shading
C99566.2	<i>Actin</i>	11.0	11.8
C99177.1	<i>F3'H</i>	69.2	18.9
C102417.0	<i>F3'H</i>	25.5	5.6
C99741.0	<i>IFR</i>	41.0	5.9
C102638.1	<i>IFR</i>	4.7	17.4
C51975.0	<i>IFS</i>	1.3	11.2

转录组研究柠檬香茅所含类黄酮生物合成中编码 10 类酶的 54 个基因中, *F3'H*、*IFS*、*IFR* 等 4 个基因在光照环境下相对表达量更高; 而 *CHS*、

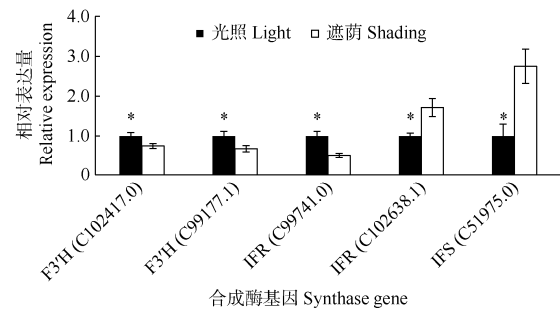


图 1 5 个差异表达基因的 qRT-PCR 验证。*: $P < 0.05$

Fig. 1 qRT-PCR analysis of 5 differential expressed genes. *: $P < 0.05$

CHI、*DFR* 等 6 个基因在遮阴环境下相对表达量更高。虽然柠檬香茅中存在大量类黄酮合成相关家族酶基因, 但在光照和遮阴环境下差异表达明显的只

有少数, 这少数差异表达的类黄酮合成酶基因与类黄酮总体含量趋势相关性不明显, 这主要是因为类黄酮化合物种类繁多, 其生物合成路线复杂, 不同合成酶基因只与其中某类(或某几类)黄酮化合物关联性密切^[14], 如 *DFR*、*FLS*、*LAR*、*ANS*、*ANR* 和 *UF3GT* 等催化花青素及黄酮醇和原花青素的合成, 这些酶基因中的 *DFR* 和 *ANS* 催化二氢黄酮醇转换成不稳定的花色苷, 然后 *UF3GT* 催化这些不稳定的花色苷发生糖基化反应, 形成有色的相对比较稳定的花色苷; 原花青素的合成从无色花青素和花色苷经过 *LAR* 或 *ANR* 催化形成儿茶素或表儿茶素; 多酚氧化酶催化无色花青素分子加入到儿茶素或表儿茶素形成原花青素多聚体; 原花青素和花青素的合成过程中使用共同的底物, 因此这些平行途径之间存在的竞争可能是决定花青素或原花青素合成的重要调控机制。此外, 类黄酮合成受内部因素相关合成酶基因影响外, 还与其转录因子如 *MYB*、*bHLH* 和 *WD40* 等密切相关, 同时类黄酮合成还与外部因素如光照、温度、水分及营养物质等外部因素有关, 因此, 在遮阴和光照环境下, 柠檬香茅中少数差异表达的类黄酮合成酶基因与类黄酮总体含量趋势相关性不明显。

综上, 柠檬香茅富含类黄酮化合物, 其合成酶基因种类繁多且含有大量家族基因。遮阴不仅会抑制柠檬香茅的营养生长, 而且同时降低了柠檬香茅中大多数类黄酮化合物的相对含量, 但类黄酮合成代谢相关酶基因上下调表达趋势规律不明显。

参考文献

- [1] QIU S L. Citronella Resources and Their Utilization [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2019: 1–172. [邱珊莲. 香茅资源及其利用 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2019: 1–172.]
- [2] HACKE A C M, MIYOSHI E, MARQUES J A, et al. Anxiolytic properties of *Cymbopogon citratus* (DC.) stapf extract, essential oil and its constituents in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 260: 113036. doi: 10.1016/j.jep.2020.113036.
- [3] BAYALA B, BASSOLE I H N, MAQDASY S, et al. *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils have cytotoxic effects on tumor cell cultures: Identification of citral as a new putative anti-proliferative molecule [J]. Biochimie, 2018, 153: 162–170. doi: 10.1016/j.biochi.2018.02.013.
- [4] SHAH G, SHRI R, PANCHAL V, et al. Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass) [J]. J Adv Pharm Technol Res, 2011, 2(1): 3–8. doi: 10.4103/2231-4040.79796.
- [5] DA ROCHA L O, DA SILVA LEMOS G C, VIEIRA I J C, et al. Chemical characterization and *in vitro* biological activity of *Cymbopogon citratus* extracts against *Haemonchus* spp. and *Trichostrongylus* spp. nematodes from sheep [J]. Parasitology, 2020, 147(13): 1559–1568. doi: 10.1017/S0031182020001432.
- [6] DA SILVA L C, DE SOUZA PERINOTTO W, SÁ F A, et al. *In vitro* acaricidal activity of *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus* and *Mentha arvensis* against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) [J]. Exp Parasitol, 2020, 216: 107937. doi: 10.1016/j.exppara.2020.107937.
- [7] AYABE S I, AKASHI T. Cytochrome P450s in flavonoid metabolism [J]. Phytochem Rev, 2006, 5(2): 271–282. doi: 10.1007/s11101-006-9007-3.
- [8] JI Y, LI B Z, QIAO M, et al. Advances on the *in vivo* and *in vitro* glycosylations of flavonoids [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2020, 104(15): 6587–6600. doi: 10.1007/s00253-020-10667-z.
- [9] GARCÍA-LAFUENTE A, GUILLAMÓN E, VILLARES A, et al. Flavonoids as anti-inflammatory agents: Implications in cancer and cardiovascular disease [J]. Inflamm Res, 2009, 58(9): 537–552. doi: 10.1007/s00011-009-0037-3.
- [10] UDDIN S J, GRICE D, TIRALONGO E. Evaluation of cytotoxic activity of patriscabratine, tetracosane and various flavonoids isolated from the Bangladeshi medicinal plant *Acrostichum aureum* [J]. Pharm Biol, 2012, 50(10): 1276–1280. doi: 10.3109/13880209.2012.673628.
- [11] ZAKARYAN H, ARABYAN E, OO A, et al. Flavonoids: Promising natural compounds against viral infections [J]. Arch Virol, 2017, 162(9): 2539–2551. doi: 10.1007/s00705-017-3417-y.
- [12] SINGH R, LU R, HU M. Flavonoids interference in common protein assays: Effect of position and degree of hydroxyl substitution [J]. Anal Biochem, 2020, 597: 113644. doi: 10.1016/j.ab.2020.113644.
- [13] ZENG X Q, XI Y, JIANG W B. Protective roles of flavonoids and flavonoid-rich plant extracts against urolithiasis: A review [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2019, 59(13): 2125–2135. doi: 10.1080/10408398.2018.1439880.
- [14] SHEN Y X. MYB transcription factors regulate flavonoid-mediated stress response in *Rosa rugosa* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019. [申玉晓. 玫瑰 MYB 转录因子调控类黄酮介导的逆境响应机制研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2019.]
- [15] YANG M. Study on the biosynthesis mechanism of flavonoids in different growth stages of *Ampelopsis megalophylla* [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2020. [杨敏. 大叶蛇葡萄不

- 同生长期黄酮类化合物的生物合成机制研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2020.]
- [16] LI H. Molecular mechanisms underlying the difference of pigmentation in mulberry fruits [D]. Chongqing: Southwest University, 2020. [李寒. 桑葚着色差异形成的分子机制 [D]. 重庆: 西南大学, 2020.]
- [17] WEN K M, FANG X C, YANG J L, et al. Recent research on flavonoids and their biomedical applications [J]. *Curr Med Chem*, 2021, 28(5): 1042–1066. doi: 10.2174/0929867327666200713184138.
- [18] FISCHER T C, MIRBETH B, RENTSCH J, et al. Premature and ectopic anthocyanin formation by silencing of anthocyanidin reductase in strawberry (*Fragaria×anarrassa*) [J]. *New Phytol*, 2014, 201(2): 440–451. doi: 10.1111/nph.12528.
- [19] TIAN L, WAN S B, PAN Q H, et al. A novel plastid localization of chalcone synthase in developing grape berry [J]. *Plant Sci*, 2008, 175(3): 431–436. doi: 10.1016/j.plantsci.2008.03.012.
- [20] WEN W W, ALSEEKH S, FERNIE A R. Conservation and diversification of flavonoid metabolism in the plant kingdom [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2020, 55: 100–108. doi: 10.1016/j.pbi.2020.04.004.
- [21] BRÜGGER B P, MARTÍNEZ L C, PLATA-RUEDA A, et al. Bioactivity of the *Cymbopogon citratus* (Poaceae) essential oil and its terpenoid constituents on the predatory bug, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 8358. doi: 10.1038/s41598-019-44709-y.
- [22] AJAYI E O, SADIMENKO A P, AFOLAYAN A J. GC-MS evaluation of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf oil obtained using modified hydrodistillation and microwave extraction methods [J]. *Food Chem*, 2016, 209: 262–266. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.04.071 .
- [23] FERIOTTO G, MARCHETTI N, COSTA V, et al. Chemical composition of essential oils from *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus*, and *Rosmarinus officinalis*, and their effects on the HIV-1 tat protein function [J]. *Chem Biodiv*, 2018, 15(2): e1700436. doi: 10.1002/cbdv.201700436.
- [24] WANG A M, LI R S, REN L, et al. A comparative metabolomics study of flavonoids in sweet potato with different flesh colors (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) [J]. *Food Chem*, 2018, 260: 124–134. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.03.125.
- [25] CALIS Z, MOGULKOC R, BALTACI A K. The roles of flavonols/flavonoids in neurodegeneration and neuroinflammation [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2020, 20(15): 1475–1488. doi: 10.2174/1389557519666190617150051.
- [26] YANG M, ZHOU P N, GUI C, et al. Comparative transcriptome analysis of *Ampelopsis megalophylla* for identifying genes involved in flavonoid biosynthesis and accumulation during different seasons [J]. *Molecules*, 2019, 24(7): 1267. doi: 10.3390/molecules24071267.
- [27] 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.]
- [28] ZHANG S P, HONG J J, QIU S L, et al. Sequencing and analysis of the transcriptome of *Gynura bicolor* [J]. *Acta Hort Sin*, 2016, 43(5): 935–946. [张少平, 洪建基, 邱珊莲, 等. 紫背天葵高通量转录组测序分析 [J]. 园艺学报, 2016, 43(5): 935–946. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2016-0140.]
- [29] FENG C Y, LI S S, TAGUCHI G, et al. Enzymatic basis for stepwise C-glycosylation in the formation of flavonoid di-C-glycosides in sacred lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) [J]. *Plant J*, 2021, 106(2): 351–365. doi: 10.1111/tpj.15168.
- [30] RUSSO B, PICCONI F, MALANDRUCCO I, et al. Flavonoids and insulin-resistance: From molecular evidences to clinical trials [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(9): 2061. doi: 10.3390/ijms20092061.
- [31] BABU P V A, LIU D M, GILBERT E R. Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids [J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24(11): 1777–1789. doi: 10.1016/j.jnutbio.2013.06.003.
- [32] ZHAO Y, YANG X Y, ZHAO X D, et al. Research progress on regulation of plant flavonoids biosynthesis [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2021, 42(21): 454–463. [赵莹, 杨欣宇, 赵晓丹, 等. 植物类黄酮化合物生物合成调控研究进展 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(21): 454–463. doi: 10.13386/j.issn 1002-0306.2020100095.]