

外源绿原酸通过调控类黄酮代谢增强林下黄芩对叶斑病抗病性

薛聪慧^{1#} 牛丽丽^{2#} 宋治华¹ 董碧莹¹ 杨清¹ 付玉杰¹ 孟冬^{1*}

(1. 北京林业大学林学院, 北京 100083; 2. 中国医学科学院北京协和医学院, 药用植物研究所, 北京 100193)

摘要 植物在病原菌胁迫下通常积累多种次生代谢产物, 这些代谢物与植物抗逆性密切相关。其中, 绿原酸(chlorogenic acid, CGA)可以通过调控次生代谢增强植物抗病性, 但相关机制仍缺乏系统研究。为进一步解析其机制, 本研究对外源绿原酸处理的黄芩(*Scutellaria baicalensis*)进行病原菌侵染, 测定叶片叶绿素、丙二醛含量及侵染面积和黄酮类物质含量等相关指标, 并进行转录组测序分析及酶基因顺式作用元件分析。结果表明: 绿原酸显著提高黄芩对叶斑病的抗病性, 并影响黄酮类化合物柚皮素和芹菜素的积累。与对照相比, 绿原酸处理组黄芩叶片病斑面积较小, 叶绿素含量较高, 丙二醛含量较低。对绿原酸处理后的样品进行转录组测序分析, 共鉴定出563个差异表达基因, 主要富集在苯丙烷生物合成、淀粉和蔗糖代谢、亚麻酸代谢、半乳糖代谢、类黄酮生物合成等代谢途径中; 其中*SbPAL*、*SbC4H*、*Sb4CL1*、*Sb4CL2*、*SbFNS*、*SbHCT1*、*SbHCT2*等黄酮合成关键酶基因表达显著上调; 顺式作用元件分析表明, 这些基因启动子区域富含bHLH、MYB、GRF等转录因子结合位点。综上, 本研究表明: 外源绿原酸可能通过促进类黄酮生物合成途径关键基因表达, 提高黄芩中类黄酮化合物积累, 从而增强其对叶斑病的抗病性。

关键词 绿原酸; 黄芩; 黄酮类化合物; 真菌病害

中图分类号: S763 文献标志码: A doi: 10. 7525/j. issn. 1673-5102. 2026. 04. 014

Exogenous Chlorogenic Acid Enhances Leaf Spot Disease Resistance in Understory *Scutellaria baicalensis* by Regulating Flavonoid MetabolismXUE Conghui^{1#} NIU Lili^{2#} SONG Zhihua¹ DONG Biying¹ YANG Qing¹ FU Yujie¹ MENG Dong^{1*}

(1. College of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083; 2. Institute of Medicinal Plant Development, China Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193)

Abstract Chlorogenic acid (CGA) plays an important role in regulating plant disease resistance. Under pathogen stress, plants typically accumulate various secondary metabolites that are closely associated with stress tolerance. Among these, CGA can enhance plant disease resistance by modulating secondary metabolism; however, the underlying mechanisms remain poorly understood. To further elucidate these mechanisms, *Scutellaria baicalensis* plants treated with exogenous CGA were subjected to pathogen infection. Leaf chlorophyll content, malondialdehyde (MDA) content, lesion area, and flavonoid content were determined, and transcriptome sequencing coupled with *cis*-acting element analysis of enzyme-coding genes were performed. The results showed that CGA significantly enhanced the resistance of *S. baicalensis* to leaf spot disease and influenced the accumulation of the flavonoids naringenin and apigenin. Compared with the control, CGA-treated plants exhibited smaller lesion area, higher chlorophyll level, and lower MDA content. Transcriptome analysis of CGA-treated samples identified 563 differentially expressed genes (DEGs), which were mainly enriched in pathways including phenylpropanoid biosynthesis, starch and sucrose metabolism, linoleic acid metabolism, galactose metabolism, and flavonoid biosynthesis. Notably, key flavonoid biosynthetic enzyme genes-*SbPAL*, *SbC4H*, *Sb4CL1*, *Sb4CL2*, *SbFNS*, *SbHCT1*, and *SbHCT2*-were significantly upregulated. *Cis*-acting element analysis further revealed that the promoter regions of these genes

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD2201801)。

第一作者简介: 薛聪慧(2000—), 女, 硕士研究生, 主要从事林木次生代谢产物抗逆研究。[#]同等贡献作者。

* 通信作者: E-mail: mengdongjl@163.com。

收稿日期: 2026年4月7日。

were enriched in binding sites for transcription factors such as bHLH, MYB, and GRF. In conclusion, this study demonstrates that exogenous CGA likely enhances the resistance of *S. baicalensis* to leaf spot disease by promoting the expression of key genes in the flavonoid biosynthesis pathway, thereby increasing flavonoid accumulation.

Key words chlorogenic acid; *scutellaria baicalensis*; flavonoid biosynthesis; fungal disease

黄芩(*Scutellaria baicalensis*)属大宗中药材,主要分布于温带半湿润半干旱地区,有较强的耐寒性和耐旱性^[1]。黄芩作为我国重要的药用植物资源,具有清热解毒和止血安胎等功效^[2]。至今已经从黄芩中分离出上百种化合物,黄芩苷、黄芩素等为其主要活性成分和特征性成分^[3]。然而在黄芩的生长发育过程中,常受链格孢菌(*Alternaria alternata*)感染而引发叶斑病^[4],降低叶片光合面积与效率,减少干物质积累,导致根部发育受阻及产量下降^[5]。目前,针对黄芩叶斑病的研究多集中在病原菌的鉴定层面^[4],防治手段较为基础,防治效果有限。因此,对叶斑病分子生物学方面的防御机制研究显得尤为重要。

黄酮类化合物在植物生长发育及抵御逆境胁迫中发挥重要作用^[6]。其作为重要的次生代谢产物,能有效缓解由环境胁迫诱发的活性氧损伤,维持细胞代谢稳态。黄酮类化合物的合成起始于苯丙氨酸的苯丙烷途径及随后的黄酮类特异性合成途径^[7]。其中一些关键酶基因如苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、肉桂酸 4-羟化酶(cinnamate 4-hydroxylase, C4H)^[8]、4-香豆酸-CoA 连接酶(4-coumaroyl-CoA ligase, 4CL)^[9]及随后的 CHS、CHI^[10]在黄酮类化合物代谢调控中起着核心作用。当 *SICH2* 表达下调时,番茄(*Solanum lycopersicum*)中黄酮类生物合成受到显著抑制^[11]; *AeCHS* 过表达可以提高拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中类黄酮含量^[12]; *F3'H* 上调增加了马铃薯(*Solanum tuberosum*)中花青素和黄酮醇的含量^[13]。

绿原酸(chlorogenic acid, CGA)属于羟基肉桂酸衍生物家族,由咖啡酸和奎尼酸通过酯化反应组成^[14],是植物中含量最高的酚酸类代谢物,在杜仲(*Eucommia ulmoides*)和金银花(*Lonicera japonica*)中含量极为丰富^[15]。它不仅是人类膳食中重要的抗氧化剂,同时也是植物自身抵御逆境、调节生长的关键因子^[16]。植物体内绿原酸含量高低与植物防御反应之间存在密切关系,外源绿原酸可调节活性氧水平、能量代谢及苯丙烷通路,提高抗逆水平^[17],且绿原酸含量与苹果(*Malus domestica*)

褐变速度呈显著负相关^[18];绿原酸处理还能激活水杨酸信号通路,显著提高桃(*Prunus persica*)果实对扩展青霉(*Penicillium expansum*)的抗性^[19]。尽管对绿原酸在果实抗病方面的作用已有初步研究,但其通过调控次生代谢网络来增强植物抗病性的机制尚不清晰。

已有研究^[20]发现,与单作相比,黄芩与元宝枫(*Acer truncatum*)复合种植能显著促进黄芩幼苗的生长,且叶绿素、脯氨酸和可溶性糖含量均显著升高,代谢物含量发生显著变化。为了进一步揭示其中的分子机制,本研究以林下经济植物黄芩为对象,研究外源绿原酸对病原菌胁迫下黄芩抗病性的影响,并利用转录组测序技术,鉴定黄酮类生物合成途径中受外源绿原酸影响的关键基因,探究绿原酸增强黄芩抗病性的分子机制,以为林下经济植物黄芩抗病性机理研究提供新思路。

1 材料与方法

1.1 植物材料种植与处理

黄芩种子于恒温箱中 37 °C 催芽,发芽后在恒温人工气候室中培养(光/暗周期 16 h/8 h),35 d 时对幼苗进行绿原酸处理:每株幼苗根灌 100 mL 2 mmol·L⁻¹ 绿原酸,对照组施加等体积的 70% 甲醇溶液。处理 48 h 后选择长势一致的黄芩幼苗 36 株(3 个生物学重复,每个重复 6 棵苗)收集样品,立即放入液氮中速冻,−80 °C 保存备用。在北京海淀区(40°0′N, 116°34′E)进行黄芩与元宝枫的复合种植。黄芩单植区(HQ)栽植区面积 3 m×3 m,种植间距 5 cm×5 cm,黄芩苗龄 3 个月。黄芩-元宝枫复合区(HQF)栽植区面积 3 m×3 m,中心定植 12 年生元宝枫,黄芩种植间距 5 cm×5 cm,黄芩苗龄 3 个月。

1.2 转录组测序分析

将经绿原酸处理后的黄芩叶片送至百迈客公司进行转录组测序,使用 HISAT2 软件将 Clean Reads 与黄芩参考基因组(GWHDEDD00000000)进行比对,获取 Reads 在参考基因组上的定位信

息。然后利用StringTie 对比对上的 reads 进行组装,重构转录组用于后续分析。以 $|\text{Fold Change}| \geq 2$ 且 $\text{FDR} < 0.01$ 为标准筛选差异表达基因用于后续分析。

1.3 黄芩叶片侵染方法

取大小一致的叶片,用注射器针头对叶片背面造成伤口。在链格孢菌(*Alternaria alternata*)菌板上加 1 mL 蒸馏水,用刮棒刮取孢子制成孢子液,取 15 μL 添加到伤口处,对照组用蒸馏水代替。28 $^{\circ}\text{C}$ 避光侵染 5 d,利用 ImageJ 1.54g 软件计算叶片侵染面积。

1.4 叶绿素、丙二醛含量测定

参考代阳等^[20]的方法测定叶绿素、丙二醛(MDA)含量。

1.5 黄酮类化合物定量分析

参考代阳等^[20]的方法,对流动相洗脱程序进行小幅调整。采用安捷伦 1260 系统 HPLC 测定黄酮含量,条件:柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,流动相 A 为体积分数 0.1% 甲酸溶液, B 为乙腈溶液,检测波长为 280 nm,体积流速为 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,进样量为 20 μL 。流动相洗脱程序:0~5.00 min, 30%~35% B; 5.00~10.00 min, 35%~40% B; 10.00~22.00 min, 40%~50% B; 22.00~25.00 min, 50% B; 25.00~30.00 min, 50%~80% B; 30.00~30.10 min, 80%~30% B; 30.10~35.00 min, 30% B。

1.6 顺式作用元件预测

利用 TBtools 预测酶基因的启动子序列;将预测到的启动子序列输入 PLANTCARE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 中进行顺式作用元件预测;利用 PLANTPAN4.0 (<https://plantpan.itps.ncku.edu.tw/plantpan4/index.html>) 进行转录因子结合位点预测;利用 TBtools 进行结果可视化。

1.7 RNA 提取和 RT-qPCR

使用诺唯赞(北京)生物技术有限公司的 RNA 提取试剂盒提取黄芩总 RNA,反转录合成 cDNA,按照扩增程序进行实时荧光定量 PCR,以 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 作为表达量的计算标准。内参基因引物见附表 1。

1.8 代谢组学分析

将复合种植与单独种植的黄芩样品送至百迈客公司进行处理和检测,每组 3 个生物学重复,每个重复 5 棵苗,样品提取物采用超高效液相色谱-电喷雾电离-串联质谱(UPLC-ESI-MS/MS)系统进

行分析,以 $|\text{Fold Change}| \geq 2$ 且 $P < 0.05$ 为标准进行差异代谢物的筛选,采用在线网址(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)进行热图绘制。

1.9 数据处理

采用 GraphPad Prism 9 软件对数据进行统计学处理。每个样本至少重复 3 次,采用 Student's *t*-test 对对照组和处理组之间显著性进行分析。

2 结果与分析

2.1 黄芩与元宝枫复合种植后黄芩代谢物变化分析

采用 UPLC-ESI-MS/MS 技术检测了黄芩与元宝枫复合种植后黄芩代谢物变化,每个处理包括 3 个独立的生物学重复。结果分析显示,黄芩与元宝枫复合种植能促进黄芩有机酸类代谢物显著积累。聚类热图(图 1)显示,复合种植显著影响了黄芩中 205 种有机酸类代谢物,包括 137 种羧酸、8 种苯甲酸、5 种胆汁酸、6 种羟基酸、2 种酮酸,以及 47 种其他有机酸。其中 107 种有机酸表达上调、98 种有机酸表达下调(图 1A),上调幅度较高的代谢物分别为绿原酸、(Z)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇乙酸酯、古液酸、2-氨基-2-脱氧异分支酸酯、4-乙基醚-3,4,5-三羟基苯甲酸(图 1B)。其中绿原酸含量高低与植物防御反应之间存在密切关系^[17],可能通过复合种植增加黄芩中绿原酸的积累,从而影响黄芩的抗病性和生长发育。

2.2 绿原酸处理对黄芩抗病性影响分析

为了探究绿原酸的积累对黄芩生长与抗病性的影响,用 2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的绿原酸根灌 35 d 龄黄芩。正常条件下的绿原酸处理组与对照组表型无显著差异。链格孢菌侵染胁迫后,随着侵染时间增加,绿原酸处理减轻了病害对植物的损伤,主要表现为病斑面积占比的减小,对照组在侵染第 5 天时病斑面积占比为 23.8%,而绿原酸处理组叶片的病斑面积占比显著降低至 5.5%(图 2A、2B)。与对照组相比,病原菌胁迫下,绿原酸预处理的黄芩 MDA 含量显著下降(图 2D),可以保护细胞膜免受损伤。施加病害胁迫后叶片叶绿素含量降低,但与对照组相比,绿原酸预处理后的植物叶片中叶绿素含量显著上升(图 2C)。以上结果表明,外源绿原酸有效减小了黄芩叶片病害面积,增强了黄芩的抗病性。

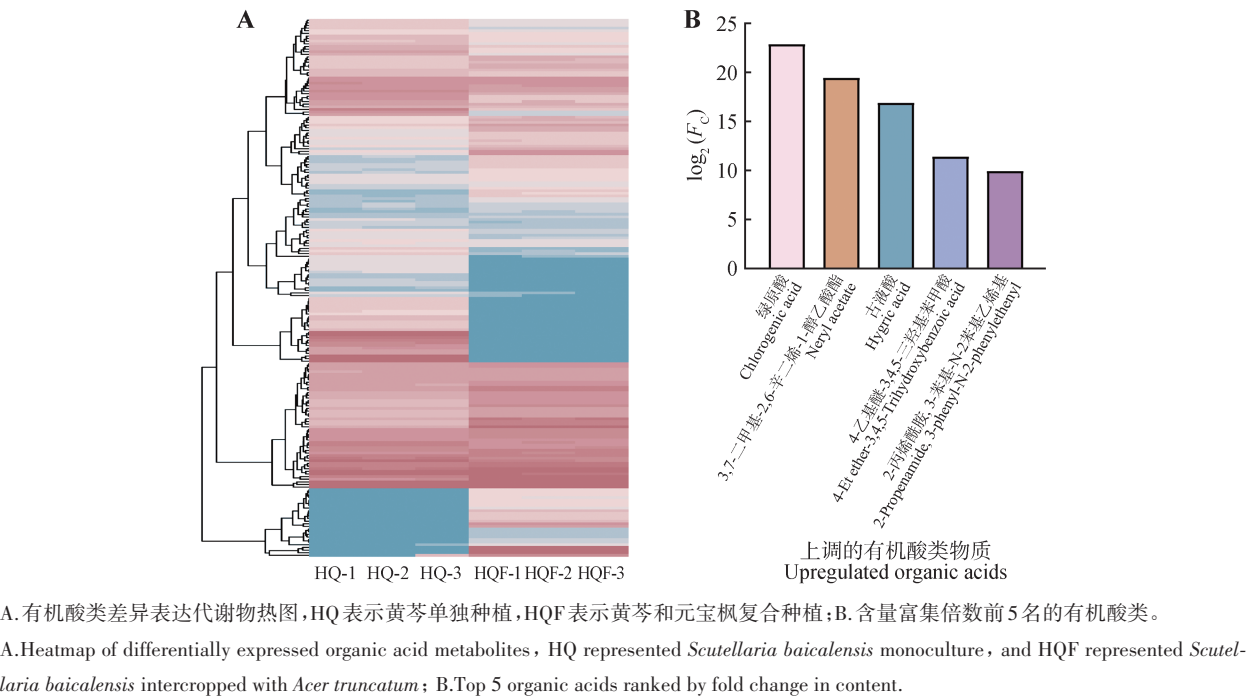


图 1 复合种植后黄芩的代谢组分析

Fig.1 Metabolomic analysis of *Scutellaria baicalensis* after intercropping

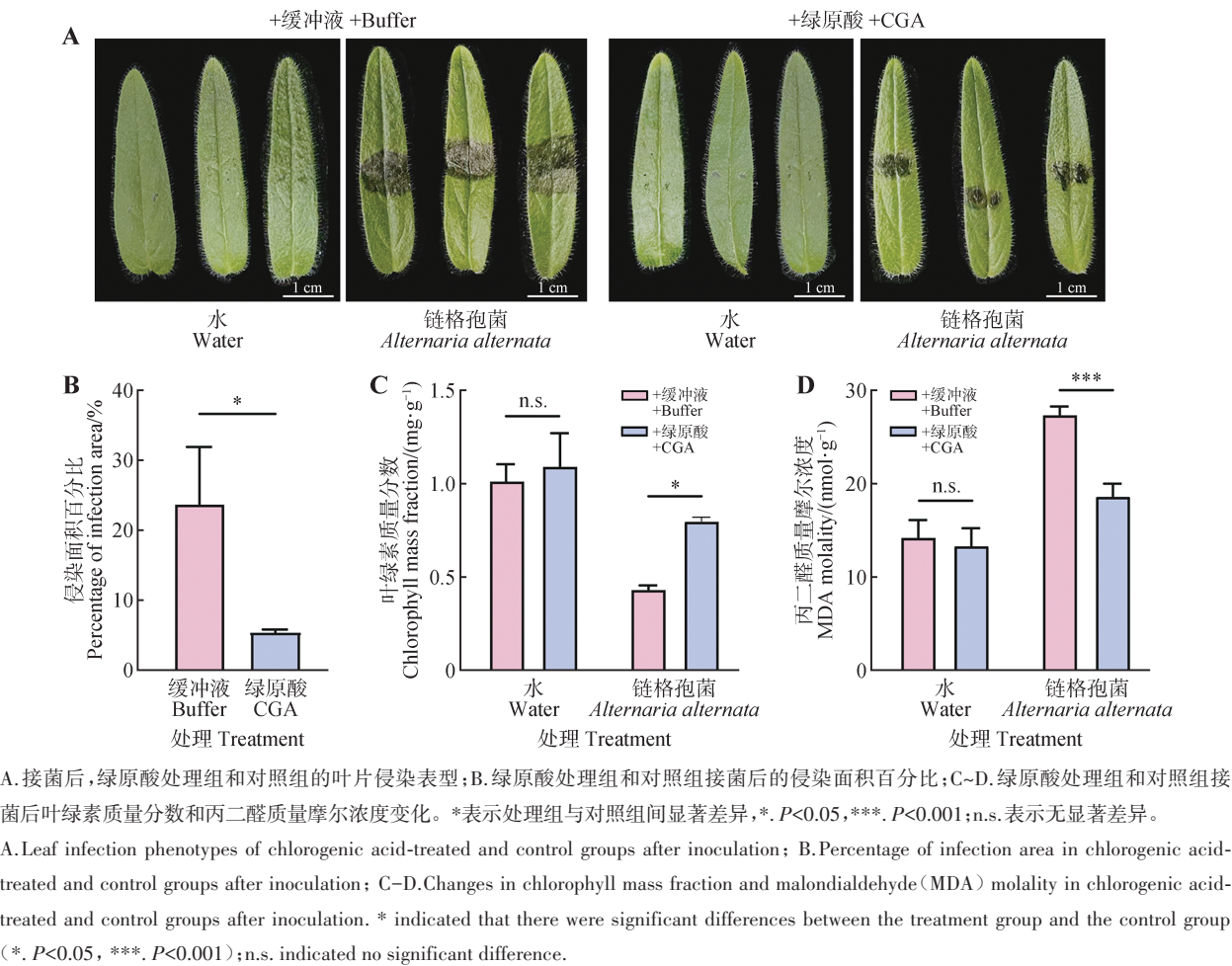


图 2 绿原酸处理后黄芩叶片对链格孢菌的抗性分析

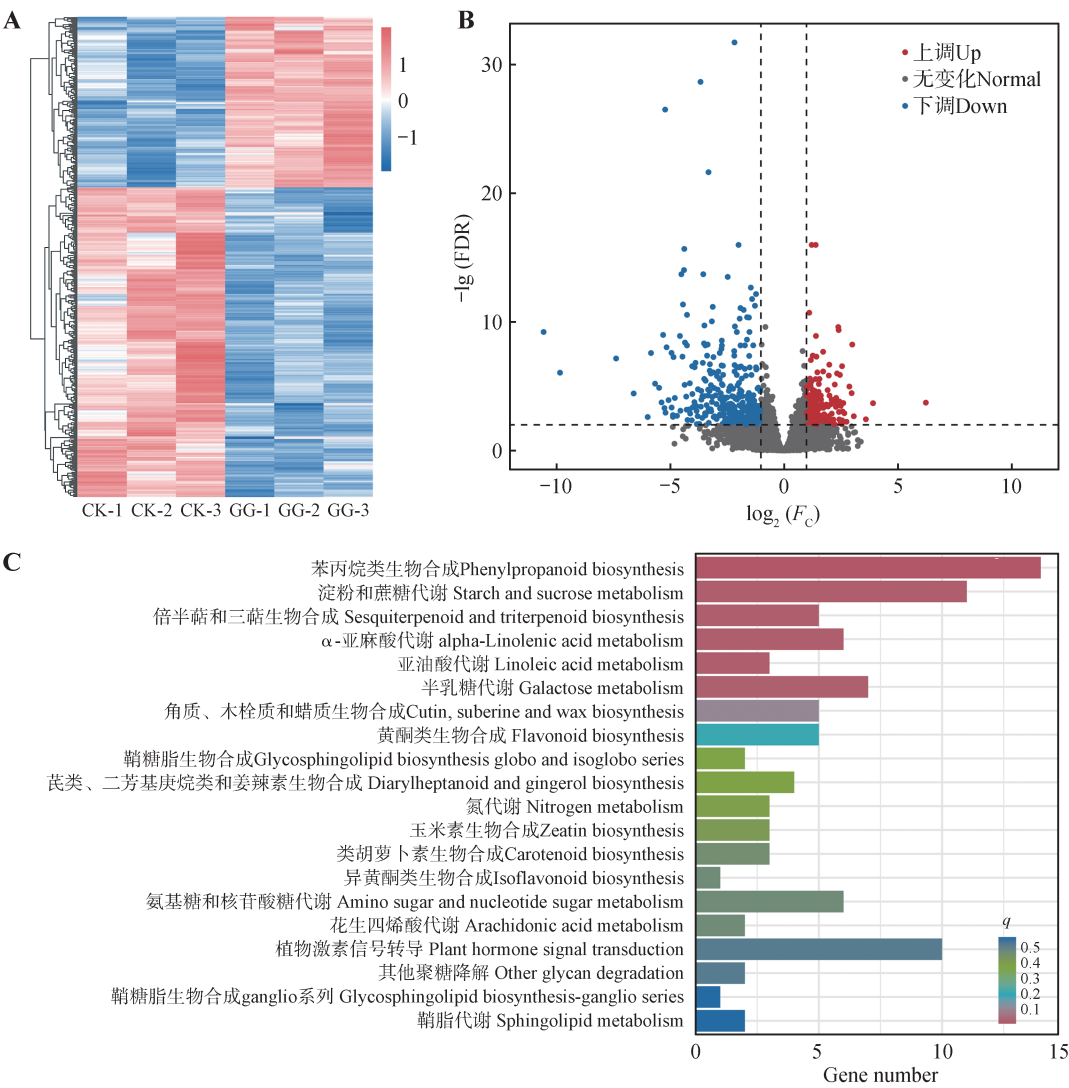
Fig.2 CGA treatment enhanced the resistance of *Scutellaria baicalensis* leaves against *Alternaria alternata* infection

2.3 绿原酸处理下黄芩叶片的转录组测序分析

为了进一步阐明绿原酸提高黄芩抗病性的机制,对黄芩根施2 mmol·L⁻¹绿原酸,48 h后取样送至检测公司进行转录组测序,每组3个生物学重复,每个重复6棵苗,各组测序 reads 数量分别为2 015万、2 074万、2 044万、1 969万、2 023万、2 013万,总体Q20和Q30分别高于99%和96%,表明基因丰度和转录本长度足够,可用于进一步分析。以|Fold Change|≥2且FDR<0.01为筛选标准,共得到563个差异表达

基因,其中200个基因上调表达、363个基因下调表达(图3A、3B)。

KEGG 富集分析显示,对照组和绿原酸处理组下的DEG主要富集在与代谢相关的途径(图3C)。包括苯丙烷生物合成、淀粉和蔗糖代谢、亚麻酸代谢、半乳糖代谢、类黄酮生物合成等代谢途径,其中苯丙烷生物合成中富集基因最多。已知苯丙烷生物合成是黄酮类物质合成的源头,因此,初步判断外源绿原酸可调节黄芩叶片中黄酮类物质代谢,该过程与黄芩抗病性密切相关。



A.所有差异表达基因热图,CK为缓冲液处理组,GG为绿原酸处理组;B.所有差异表达基因火山图;C.差异表达基因KEGG富集途径分析。
A.Heatmap of all differentially expressed genes, CK represented the buffer-treated group, and GG represented the chlorogenic acid-treated group; B.Volcano plot of all differentially expressed genes; C.KEGG enrichment pathway analysis of differentially expressed genes.

图3 绿原酸处理下的转录组分析

Fig.3 Transcriptome analysis of *Scutellaria baicalensis* under chlorogenic acid treatment

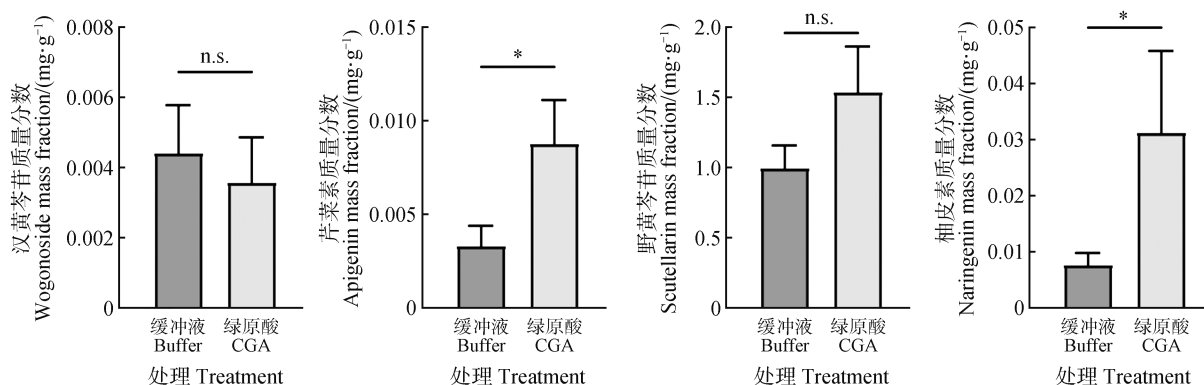
2.4 绿原酸诱导黄芩叶片中黄酮类化合物的积累

结果显示,绿原酸处理显著影响黄芩叶片黄

酮代谢途径相关基因表达。为了进一步探究绿原酸处理对黄芩中黄酮类物质代谢的具体影响,对

叶片中汉黄芩苷、芹菜素、野黄芩苷、柚皮素 4 种黄酮类代谢物含量进行测定。高效液相色谱分析显示,绿原酸处理显著提高了叶片中柚皮素、芹菜素 2 种黄酮类物质含量,芹菜素质量分数增加了 2.75 倍,柚皮素质量分数增加了 4.07 倍,黄芩叶片中主要的黄酮类化合物野黄芩苷质量分数由

$0.96 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加至 $1.51 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (图 4),这些代谢物对植物抗氧化和抗逆具有积极作用。因此,绿原酸处理可能通过调节黄酮类物质在黄芩体内的积累,特别是芹菜素和柚皮素的生物合成,来增强黄芩对病原菌胁迫的抗性。



n.s. 表示差异不显著; *表示 $P < 0.05$ 。

n.s. indicated no significant difference; * indicated that there was significant difference ($P < 0.05$).

图 4 绿原酸处理后黄芩叶片中 4 种黄酮类化合物质量分数的变化

Fig.4 Changes in mass fraction of four flavonoid compounds in *Scutellaria baicalensis* leaves after chlorogenic acid treatment

2.5 类黄酮生物合成途径酶基因鉴定结果

绿原酸处理显著诱导了芹菜素和柚皮素的积累,为了进一步揭示其中的分子机制,集中分析了苯丙烷途径酶基因的表达变化,尤其是芹菜素、柚皮素生物合成相关基因,以 $\text{FDR} < 0.01$, $|\text{Fold Change}| \geq 2$ 为标准,共筛选到 *SbPAL*、*SbC4H*、*Sb4CL1*、*Sb4CL2*、*SbFNS*、*SbHCT1*、*SbHCT2* 7 个酶基因表达上调(图 5A、5B),均为绿原酸响应过程中的关键基因,其中 *SbFNS* 表达上调最明显。因此,本研究认为绿原酸可能通过调控酶基因 *SbPAL*、*SbC4H*、*Sb4CL1*、*Sb4CL2*、*SbFNS*、*SbHCT1*、*SbHCT2* 的表达,介导黄芩叶片中柚皮素、芹菜素的积累,从而提高黄芩的抗病性。

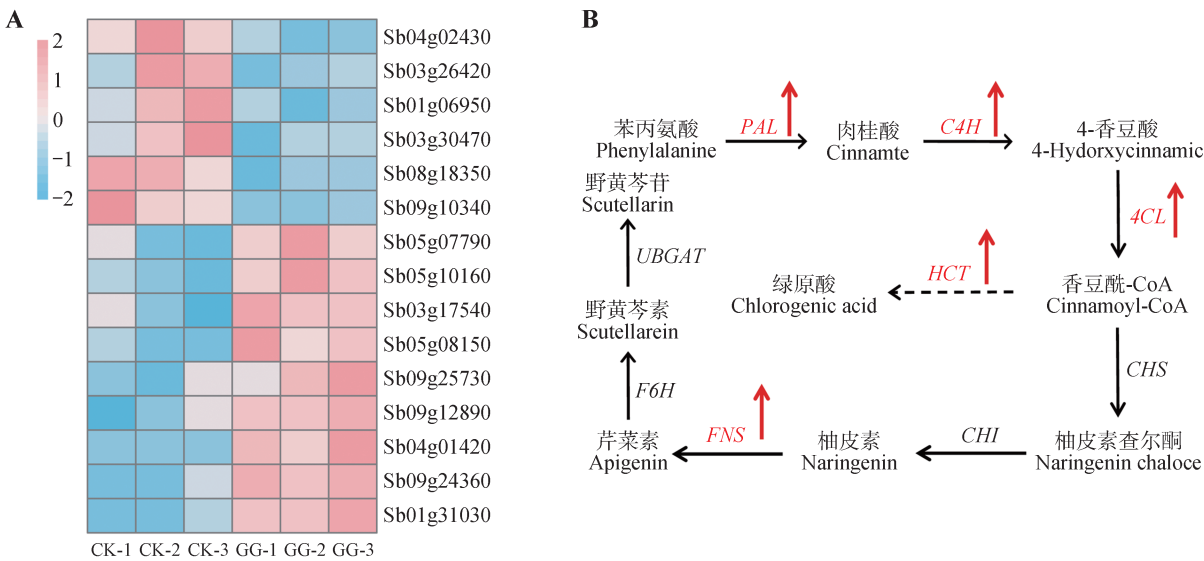
2.6 黄酮生物合成酶基因表达分析

为了验证转录组测序结果,RT-qPCR 检测了 7 个酶基因的相对表达量,发现大多数基因与转录组中的表达趋势一致。外施绿原酸后,*Sb4CL1* 的表达量增加 5.63 倍,*Sb4CL2* 的表达量增加 3.02 倍,*SbHCT1* 的表达量增加 3.50 倍,*SbHCT2* 的表达量增加 2.29 倍,*SbFNS* 的表达量增加 3.06 倍,*SbPAL* 的表达量增加 2.27 倍,*SbC4H* 的表达量增加 2.55 倍(图 6)。

2.7 酶基因启动子元件分析及转录因子预测结果

基因的顺式作用元件是植物抗病相关基因的调控开关,转录因子是激活这些开关的关键调控蛋白。为了进一步研究绿原酸对代谢物合成的调节网络,利用 PLANTPAN 4.0 对 7 个酶基因的转录因子结合位点预测并用 TBtools 进行可视化显示(图 7A),筛选得到 MYB、bHLH、WRKY、NAC、GRF 5 个与抗病相关的转录因子结合位点,且在转录组数据中发现 *SbWRKY1*、*SbMYB*、*SbGRF* 等基因的表达也受到绿原酸的调控。已有研究^[21]表明,转录因子可以和 WD40 蛋白相互作用形成复合物调控黄酮合成酶基因的表达,由此推断,绿原酸可能是通过上调转录因子的表达来提高黄酮类化合物含量,从而增加植株抗病性。

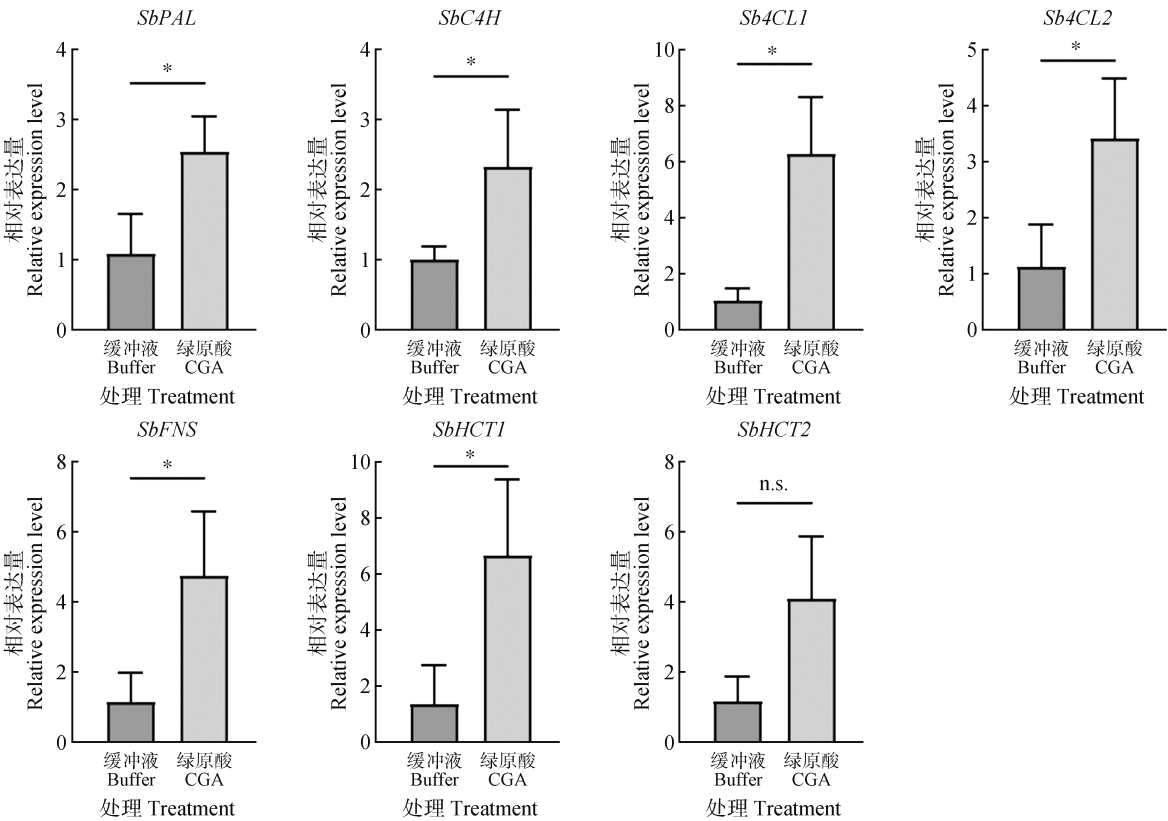
对 7 个黄酮合成酶基因的顺式作用元件分析表明,酶基因启动子区域富含多种与植物生长发育和抵御胁迫相关的顺式作用元件(图 7B),包括低温胁迫元件、光响应元件、防御和胁迫反应元件;同时,启动子中还含有多个与植物激素信号转导有关的调控元件,茉莉酸甲酯响应元件数量最多,*Sb4CH* 启动子中存在玉米素响应元件,*SbHCT2*



A. 苯丙烷生物合成途径、类黄酮生物合成途径、异黄酮生物合成途径相关酶基因热图；B. 黄芩中主要黄酮类物质合成通路。
A.Heatmap of enzyme genes related to phenylpropanoid biosynthesis pathway , flavanoid biosynthesis pathway , and isoflavanoid biosynthesis pathway; B.Main flavonoid biosynthesis pathway in *Scutellaria baicalensis*.

图5 类黄酮生物合成途径表达上调酶基因鉴定结果

Fig.5 Identification of upregulated enzyme genes in the flavonoid biosynthesis pathway



n.s. 表示差异不显著；*表示 $P < 0.05$ 。
n.s. indicated no significant difference; * indicated that there was significant difference ($P < 0.05$).

图6 黄芩叶片中关键黄酮生物合成酶基因表达量变化

Fig.6 Changes in the expression levels of flavonoid biosynthesis enzyme genes in *Scutellaria baicalensis* leaves

和 *Sb4CL1* 启动子中存在赤霉素响应元件。以上植物激素及逆境胁迫的显著影响,在植物胁迫响应中发挥关键性作用。结果表明,黄酮生物合成酶基因的表达受光信号、

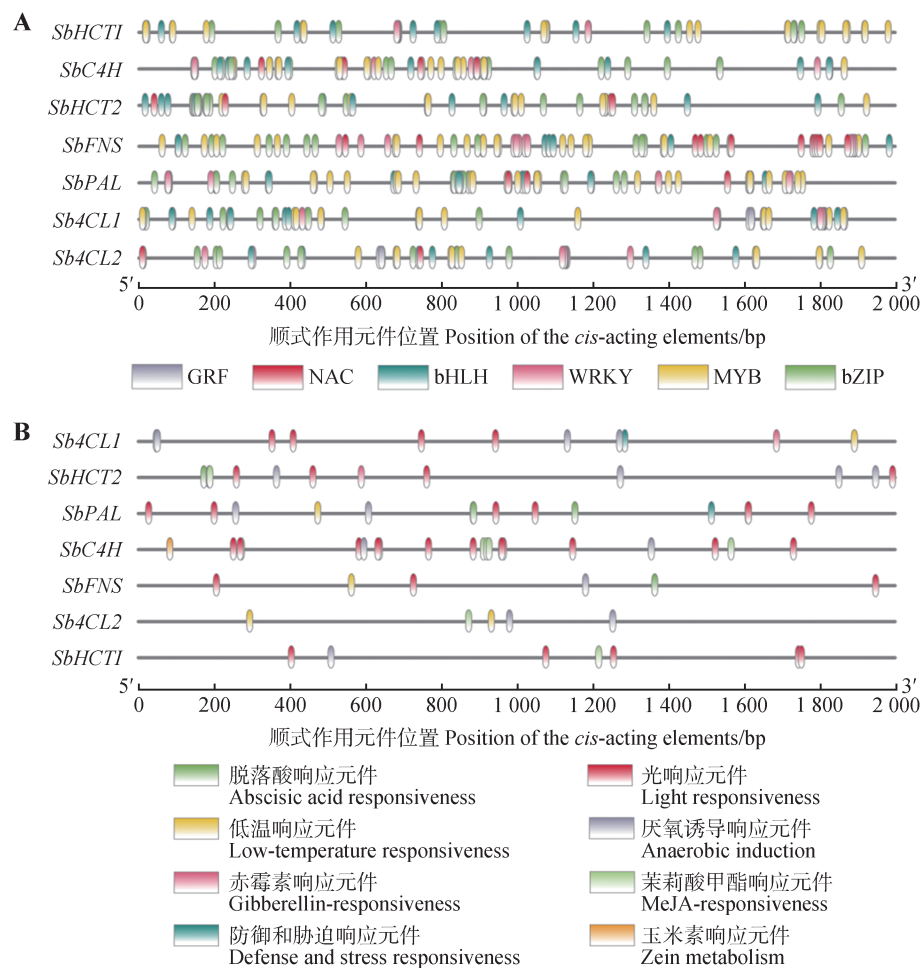


图7 酶基因的顺式作用元件分析与转录因子预测

Fig.7 Analysis of *cis*-elements and prediction of transcription factors in enzyme genes

3 讨论

黄芩作为重要的林下经济物种和药用植物,富含多种黄酮类化合物,却常受到根腐病和叶斑病等多种病害的侵害,生存和产量受到严重影响^[5]。当植物感染叶斑病后,叶绿素分解,进而出现光损伤、光合抑制,严重时叶片会枯萎脱落,直接导致减产并显著降低产品质量^[22]。目前有关黄芩根腐病的研究已较为系统深入,叶斑病虽田间发生普遍、危害性逐渐增强,但其致病菌近年才被相继报道,抗病机制研究相对滞后^[4]。

在植物生长发育过程中,次生代谢产物与植物的抗性直接相关^[6]。外源施加激素或次生代谢物对植物体内代谢物含量具有显著的诱导作用,施加 ABA 可以提高木豆 (*Cajanus cajan*) 中染料

木黄酮、染料木苷、对香豆酸的含量,增强木豆的抗旱性^[23]。根施绿原酸缓解了番茄的低温胁迫损伤^[24]。在本研究中,根灌绿原酸降低了真菌侵染对叶片的损伤,减小了病斑面积(图2),黄酮类化合物柚皮素、芹菜素含量显著增加(图4),说明黄芩的抗病性增强可能与黄酮类物质含量的增加有关,黄酮类化合物能够破坏病原菌的细胞膜结构,并且可以与植物细胞壁成分结合,增加细胞壁的厚度和强度^[25],但黄酮类化合物提高植物抗病性的分子机制还需要进一步研究。本研究分析了绿原酸处理后的转录组数据,苯丙烷生物合成途径、类黄酮生物合成途径、异黄酮生物合成途径都得到显著富集,并且柚皮素和芹菜素相关的合成酶基因表达量都显著增加(图5)。

在本研究中,类黄酮相关合成酶基因表达上

调,且 *SbWRKY1*、*SbMYB*、*SbGRF* 等表达量显著上调。对 7 个表达上调的合成酶基因前 2 000 bp 启动子进行分析,发现存在多个 MYB、bHLH、GRF 等转录因子结合位点,因此推测绿原酸不仅是一种代谢产物,更可能作为一种外源诱导子激活植物的防御反应。大量研究证明转录因子在调控次生代谢产物积累中起着重要作用,黄酮合成酶基因的表达受到复杂的调控网络控制,番茄中 SlbHLH95 正调控 *SIFLS* 的表达,抵抗灰霉病^[26]; ScWRKY41 直接结合 *ScF3'H* 启动子结合区域增强黄酮类化合物从而提高马铃薯的抗寒性^[27]; Gm-MAPK6-GmMYB4-MBW 模块正向调控大豆 (*Glycine max*) 异黄酮的合成^[28]。由此推测,外源绿原酸可能通过激活上游调控元件,诱导转录因子的转录,上调关键酶基因表达,从而提高次生代谢物含量,该推论有待后续试验进一步验证。

4 结论

本研究发现外源施加绿原酸提高黄芩的抗病性,病斑面积占比减小。黄芩中黄酮类物质含量丰富且在植物抗逆过程中发挥关键作用,高效液相色谱检测结果显示,根灌绿原酸后黄芩中柚皮素、芹菜素含量显著增加,并且转录组测序数据分析发现,差异表达基因主要富集在类黄酮生物合成相关途径,关键的黄酮合成酶基因 *SbPAL*、*SbC4H*、*Sb4CL1*、*Sb4CL2*、*SbFNS*、*SbHCT1*、*SbHCT2* 表达均显著上调,随后通过 RT-qPCR 验证了基因的表达量,与转录组数据趋势一致。因此,本研究证明了外源绿原酸通过上调黄酮类生物合成途径中关键基因的表达,增加黄芩中黄酮类化合物含量,从而增强黄芩的抗病性(图 8),为林下经济植物黄芩抗病性机制研究提供了新思路。

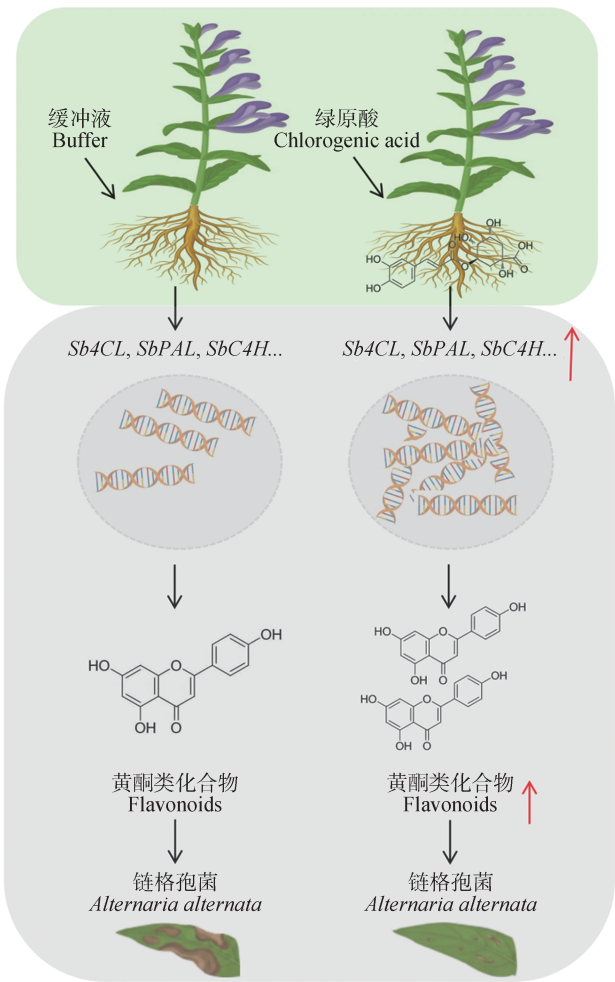


图 8 绿原酸通过促进黄酮生物合成增强黄芩抵御链格孢菌病害模式图

Fig.8 Schematic diagram of chlorogenic acid enhancing *Scutellaria baicalensis* resistance against *Alternaria alternata* disease by promoting flavonoid biosynthesis

参 考 文 献

- [1] Wang Z L, Wang S, Kuang Y, *et al.* A comprehensive review on phytochemistry, pharmacology, and flavonoid biosynthesis of *Scutellaria baicalensis*[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2018, 56(1):465-484.
- [2] 郑敏敏, 柳洁, 赵清. 药用植物黄芩的生物学研究进展及展望[J]. *生物技术通报*, 2023, 39(2):10-23.
Zheng Minmin, Liu Jie, Zhao Qing. Research progress and prospects of biological studies on the medicinal plant *Scutellaria baicalensis* [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2023, 39(2):10-23.
- [3] Xie Y F, Sun G T, Tao Y, *et al.* Current advances on the therapeutic potential of scutellarin: an updated review[J]. *Natural Products and Bioprospecting*, 2024, 14(1):20.
- [4] 蒋晶晶, 赵娇娇, 陈爱昌, 等. 黄芩叶斑病病原菌鉴定和药剂室内毒力测定[J]. *核农学报*, 2022, 36(11):2166-2174.
Jiang Jingjing, Zhao Jiaojiao, Chen Aichang, *et al.* Pathogens identification and fungicides toxicity assessment for *Scutellaria baicalensis* leaf spot disease[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2022, 36(11):2166-2174.
- [5] 蒋晶晶, 陈爱昌, 米永伟, 等. 黄芩病害绿色综合防治技术规程[J]. *寒旱农业科学*, 2026, 5(2):194-196.
Jiang Jingjing, Chen Aichang, Mi Yongwei, *et al.* Technical specification for green, comprehensive prevention and control of diseases in *Scutellaria baicalensis*[J]. *Journal of Cold-Arid Agricultural Sciences*, 2026, 5(2):194-196.
- [6] Yang Q, Song Z H, Dong B Y, *et al.* Hyperoside regulates its own biosynthesis *via* MYB30 in promoting reproductive development and seed set in okra[J]. *Plant Physiology*, 2021, 185(3):951-968.
- [7] Ma D W, Reichelt M, Yoshida K, *et al.* Two R2R3-MYB proteins are broad repressors of flavonoid and phenylpropanoid metabolism in poplar[J]. *The Plant Journal*, 2018, 96(5):949-965.
- [8] Dixon R A, Pasinetti G M. Flavonoids and isoflavonoids: from plant biology to agriculture and neuroscience [J]. *Plant Physiology*, 2010, 154(2):453-457.
- [9] Martens S, Mithöfer A. Flavones and flavone synthases[J]. *Phytochemistry*, 2005, 66(20):2399-2407.
- [10] Wang Z B, Yu Q B, Shen W X, *et al.* Functional study of *CHS* gene family members in *Citrus* revealed a novel *CHS* gene affecting the production of flavonoids[J]. *BMC Plant Biology*, 2018, 18:189.
- [11] Jian Y, Li Y N, Liu H R, *et al.* SIBES1-mediated brassinosteroid signaling suppresses flavonoid biosynthesis in tomato fruit [J]. *Plant Communications*, 2025, 6(11):101523.
- [12] Wang F B, Ren G L, Li F S, *et al.* A chalcone synthase gene *AeCHS* from *Abelmoschus esculentus* regulates flavonoid accumulation and abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis*[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2018, 40(5):97.
- [13] Liu Y H, Li Y M, Liu Z, *et al.* Integrated transcriptomic and metabolomic analysis revealed altitude-related regulatory mechanisms on flavonoid accumulation in potato tubers [J]. *Food Research International*, 2023, 170:112997.
- [14] Clifford M, Jaganath I B, Ludwig I A, *et al.* Chlorogenic acids and the acyl-quinic acids: discovery, biosynthesis, bioavailability and bioactivity [J]. *Natural Product Reports*, 2017, 34(12):1391-1421.
- [15] Yuan Q, Liu C, Zhang Z A, *et al.* Pharmacological advances of the chlorogenic acids family: current insights and future research directions [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2025, 16:1613048.
- [16] He Y X, Mao S M, Zhao Y Y, *et al.* Research advances in the synthesis, metabolism, and function of chlorogenic acid[J]. *Foods*, 2025, 14(11):1914.
- [17] Zhang M, Xiao Q Q, Li Y L, *et al.* Exploration of exogenous chlorogenic acid as a potential plant stimulant: enhancing physiochemical properties in *Lonicera japonica* [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2024, 30(3):453-466.
- [18] Xie Y Y, Wang W Y, Wang C K, *et al.* MdMYB93 activates *MdHCT6* expression via transcriptional regulation to enhance chlorogenic acid biosynthesis in apple [J]. *Horticultural Plant Journal*, 2025, 11(5):1830-1846.
- [19] Jiao W X, Li X X, Wang X M, *et al.* Chlorogenic acid induces resistance against *Penicillium expansum* in peach fruit by activating the salicylic acid signaling pathway[J]. *Food Chemistry*, 2018, 260:274-282.
- [20] 代阳, 杨清, 牛丽丽, 等. 黄精和黄芩不同种植模式的根系分泌物对土壤微生物的影响[J]. *东北林业大学学报*, 2025, 53(11):103-113.
Dai Yang, Yang Qing, Niu Lili, *et al.* The effect of root exudates from *Polygonatum sibiricum* and *Scutellaria baicalensis* under different planting modes on soil microorganisms [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2025, 53(11):103-113.
- [21] Chen C, Zhang K X, Khurshid M, *et al.* MYB transcription repressors regulate plant secondary metabolism [J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2019, 38(3):159-170.
- [22] Pan L Y, Zhou J, Sun Y, *et al.* Comparative transcriptome and metabolome analyses of cherry leaves spot disease

- caused by *Alternaria alternata* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1129515.
- [23] Yang W L, Li N, Fan Y X, *et al.* Transcriptome analysis reveals abscisic acid enhancing drought resistance by regulating genes related to flavonoid metabolism in pigeon pea [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2021, 191: 104627.
- [24] 李艳梅, 姜丽娜, 孙向阳, 等. 外源绿原酸对番茄幼苗低温耐性的生理调控效应 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2024, 30(2): 315-330.
- Li Yanmei, Jiang Lina, Sun Xiangyang, *et al.* Physiological regulation of exogenous chlorogenic acid on chilling tolerance of tomato seedlings [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2024, 30(2): 315-330.
- [25] Jibrán R, Hill S J, Lampugnani E R, *et al.* The auronidin flavonoid pigments of the liverwort *Marchantia polymorpha* form polymers that modify cell wall properties [J]. *The Plant Journal*, 2024, 120(3): 1159-1175.
- [26] Su D, Wu M B, Wang H, *et al.* Bi-functional transcription factor SlbHLH95 regulates fruits flavonoid metabolism and grey mould resistance in tomato [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2025, 23(6): 2083-2094.
- [27] Bao H H, Yuan L, Luo Y C, *et al.* The transcription factor WRKY41-*FLAVONOID 3'-HYDROXYLASE* module fine-tunes flavonoid metabolism and cold tolerance in potato [J]. *Plant Physiology*, 2025, 197(3): kiaf070.
- [28] Yang C Y, Zhang P P, Jiang P B, *et al.* *GmMYB4* positively regulates isoflavone biosynthesis *via* the GmMAPK6-GmMYB4-MBW module in soybean [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2026, 24(3): 1482-1499.