

DOI: 10.16861/j.cnki.zggc.2025.0433

# 辣椒幼苗低温胁迫的生理响应与转录组分析

王小迪<sup>1</sup>, 王熙泽<sup>1,2</sup>, 龚年爽<sup>1,3</sup>, 李 宁<sup>1</sup>, 徐 凯<sup>1</sup>, 尹延旭<sup>1</sup>, 高升华<sup>1</sup>,  
詹晓慧<sup>1</sup>, 陈卫芳<sup>1</sup>, 袁伟玲<sup>1</sup>, 姚明华<sup>1,2,4</sup>, 王 飞<sup>1,2,4</sup>

(1. 湖北省农业科学院经济作物研究所·蔬菜种质创新与遗传改良湖北省重点实验室 武汉 430064;  
2. 华中农业大学园艺林学学院 武汉 430070; 3. 长江大学园艺园林学院·长江大学香辛作物研究院  
湖北荆州 434025; 4. 湖北洪山实验室 武汉 430070)

**摘要:** 辣椒是我国最重要的蔬菜作物之一, 其种植规模与经济价值均位居全球前列, 低温显著抑制辣椒生长。本研究以辣椒耐冷型材料 KC13 和冷敏感型材料 KC14 为研究对象, 通过表型鉴定、细胞生理生化指标和转录组分析, 探究二者的耐冷性差异。结果表明, 低温胁迫导致冷敏感材料 KC14 叶片萎蔫和细胞结构损伤程度显著强于耐冷型材料 KC13。生化分析显示, 耐冷型材料 KC13 的总叶绿素含量受低温影响较小, 且低温胁迫后的过氧化物酶 (POD) 活性和可溶性糖含量显著高于冷敏感型材料 KC14, 而丙二醛含量低于 KC14。转录组测序数据 KEGG 富集分析和 RT-qPCR 结果表明, 氧化磷酸化通路基因在 KC13 中特异性上调表达。综上, 耐冷辣椒通过维持光合稳定性、增强抗氧化能力及促进渗透调节物质积累, 激活氧化磷酸化通路以增强植株的抗冷性。研究结果为辣椒耐冷性分子育种奠定了基础。

**关键词:** 辣椒; 低温胁迫; 转录组分析; 差异表达基因; 氧化磷酸化

**中图分类号:** S641.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-2871(2026)01-012-14

## Physiological responses and transcriptomic analysis of pepper seedling under low temperature stress

WANG Xiaodi<sup>1</sup>, WANG Xize<sup>1,2</sup>, GONG Nianshuang<sup>1,3</sup>, LI Ning<sup>1</sup>, XU Kai<sup>1</sup>, YIN Yanxu<sup>1</sup>, GAO Shenghua<sup>1</sup>, ZHAN Xiaohui<sup>1</sup>, CHEN Weifang<sup>1</sup>, YUAN Weiling<sup>1</sup>, YAO Minghua<sup>1,2,4</sup>, WANG Fei<sup>1,2,4</sup>

(1. Institute of Economic Crops, Hubei Academy of Agricultural Sciences/Vegetable Germplasm Innovation and Genetic Improvement Key Laboratory of Hubei Province, Wuhan 430064, Hubei, China; 2. College of Horticulture and Forestry, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China; 3. College of Horticulture and Gardening, Yangtze University/Spice Crops Research Institute, Yangtze University, Jingzhou 434025, Hubei, China; 4. Hubei Hongshan Laboratory, Wuhan 430070, Hubei, China)

**Abstract:** Pepper is one of the most important vegetable crops in China, with a cultivation scale and economic value ranking among the top in the world. However, low temperature significantly inhibits the growth of pepper. This study focuses on the cold tolerant material KC13 and the cold sensitive material KC14. Through phenotype identification, cellular physiology, biochemical indicators, and transcriptome analysis, underlying the differences in cold tolerance between the two materials were explored. The results showed that low temperature stress caused wilting of leaves and damage to cell structure in the cold sensitive material KC14, whereas there was no significant change in the cold tolerant material KC13. Biochemical analysis shows that the total chlorophyll content of cold resistant materials is less affected by low temperatures, and has higher POD activity and soluble sugar content, slower MDA accumulation rate, compared to KC14. Transcriptome sequencing data KEGG enrichment analysis and RT-qPCR showed that the expression patterns of key genes involved in the oxidative phosphorylation pathway were specifically up-regulated in KC13. In summary, cold tolerant pepper material KC13 enhances plant stress resistance by maintaining photosynthetic stability, enhancing antioxidant capaci-

收稿日期: 2025-06-13; 修回日期: 2025-08-08

基金项目: 湖北省自然科学基金青年项目(2024AFB379); 2024年湖北省博士后“揭榜领题”资助项目; 湖北省支持种业高质量发展资金项目(HBZY2023B004); 湖北省农业科学院青年科学基金(2024NKYJJ06); 湖北省农业科技创新中心项目(2021-620-000-001-007); 国家现代农业产业技术体系(CARS-23-G28)

作者简介: 王小迪, 女, 助理研究员, 主要从事辣椒遗传育种研究。E-mail: 867896397@qq.com

共同第一作者: 王熙泽, 男, 硕士, 主要从事辣椒遗传育种研究。E-mail: 45618867@qq.com

通信作者: 王 飞, 男, 研究员, 主要从事辣椒遗传育种研究。E-mail: 20966954@qq.com

ty, accumulating osmoregulatory substances and activating oxidative phosphorylation pathway. The research results laid the foundation for molecular breeding of cold tolerance in pepper.

**Key words:** Pepper; Low temperature stress; Transcriptome analysis; Differentially expressed gene; Oxidative phosphorylation

辣椒(*Capsicum annuum* L.)是我国重要的经济蔬菜作物,种植规模与产业价值位居全球之首。据最新统计,我国辣椒种植面积超 133.3 万  $\text{hm}^2$ , 占全球总面积的 35%,年产量达 2800 万 t,占世界总产量的 46%,年产值突破 700 亿元,占世界蔬菜总产值的 16.67%<sup>[1]</sup>。然而,辣椒作为典型嗜温型作物,其种子萌发与幼苗发育阶段对低温胁迫表现高度敏感性,因此,低温胁迫已成为早春设施栽培与露地移栽的关键限制因子。研究表明,辣椒种子萌发的最适温度阈值为 23~30 °C,当环境温度低于 15 °C 时,其萌发进程完全被抑制<sup>[2]</sup>;幼苗期最适生长温度为 24~28 °C,当温度降至 10 °C 时生长速率显著下降,5 °C 时生理活动停滞<sup>[3]</sup>。低温胁迫导致幼苗根系活力降低、光合效能衰减及抗氧化系统失衡,轻则延缓苗龄,重则引发死苗烂棵,严重降低早春设施与露地移栽的成苗率<sup>[4]</sup>。当前,我国辣椒主产区普遍采用早春设施育苗、秋冬延后栽培等模式,但传统品种耐寒性不强,低温弱光逆境下育苗周期延长,设施能耗成本增加。因此,优化辣椒幼苗低温抗性改良技术,对保障早春育苗安全性、降低生产风险、推动设施农业绿色转型具有重大的战略意义。

低温胁迫下,丙二醛(MDA)含量、抗氧化酶活性及渗透调节物质(可溶性糖、可溶性蛋白)含量是评估植物耐冷性的核心生理指标,其动态变化直接反映冷敏感与耐冷型材料的生理响应差异。研究表明,MDA 作为脂质过氧化终产物,其积累水平与植物耐冷性呈显著负相关。对两个不同耐寒性的辣椒品种进行冷胁迫处理后发现,MDA 含量呈短期增加然后缓慢下降的趋势,耐冷品种的 MDA 含量显著低于冷敏感品种<sup>[5]</sup>,这种差异源于两类材料抗氧化系统的效能分化。在谷子中,低温胁迫处理 3 d 后,耐冷品种幼苗叶片的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)及过氧化氢酶(CAT)活性均呈升高趋势,MDA 含量显著增加,且冷敏感品种的 MDA 含量增加幅度显著高于耐冷品种<sup>[6]</sup>。在渗透调节层面,可溶性糖与可溶性蛋白的协同积累是维持细胞稳态的重要策略。在低温胁迫下,冷敏感辣椒品种的叶绿素含量逐渐降低,可溶性糖和脯氨酸含量逐渐升高,过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性逐渐升高<sup>[7]</sup>。随着低温胁迫时间的延长,线辣

椒幼苗的 SOD 活性及可溶性糖和可溶性蛋白含量的变化趋势均为先升高后降低,MDA 含量的变化趋势则为先降低后升高再降低<sup>[7]</sup>。

辣椒低温响应机制研究揭示多层次调控网络。在信号感知层,钙依赖的 CaCIPK13-CaCBL 模块<sup>[8]</sup>和 SNRK2 激酶通过磷酸化 CaNAC035 传递低温信号<sup>[9]</sup>,MAPK 通路同时被显著激活。在功能蛋白执行层中,脱水蛋白 CaDHN4 维持膜稳定性<sup>[10]</sup>,多胺氧化酶 CaPAO2/4 通过精胺代谢减少活性氧积累<sup>[11]</sup>,而叶绿素合成酶 CaALAD 则增强光合系统抗逆能力<sup>[12]</sup>。转录调控层以 CaNAC035 为核心枢纽<sup>[13]</sup>,其受 CabHLH79 直接激活并协同 CaMYB306、CaMADS 等因子形成调控级联<sup>[14-15]</sup>,通过上调表达 ABA 合成基因(*CaNCED3*)及抗氧化基因(*CaAPX*)等下游靶标增强耐冷性<sup>[9]</sup>。

近年来,转录组学与代谢组学的联合分析已成为解析作物耐冷机制的重要手段。在水稻、玉米、番茄等作物田间研究中,研究者通过转录组学揭示了低温胁迫下基因表达动态与代谢调控的协同机制<sup>[16-18]</sup>。玉米冷胁迫响应研究表明,脂肪酸去饱和酶基因家族(FADs)成员(如 *ZmFAD2*、*ZmFAD7* 和 *ZmSLD13*)通过调节脂肪酸组成与膜流动性显著上调表达,为维持细胞膜低温稳定性奠定分子基础<sup>[19]</sup>。花生、茶树和早熟禾的转录组研究分别揭示了转录因子网络、光合-激素信号通路及糖酵解-TCA 循环代谢重塑在耐寒性中的关键作用<sup>[20-22]</sup>。转录组测序通过高通量解析基因表达模式,精准定位抗逆核心基因及调控通路,深化了对植物低温适应机制的理论认知,也为分子设计育种提供了关键靶点。

目前,已有针对辣椒在低温逆境下转录组测序的研究。Zhang 等<sup>[23]</sup>通过性状调查和筛选获得了辣椒耐寒自交系 A188(CT)和冷敏感自交系 A122(CS),在 4 °C/28 °C(胁迫温度/恢复温度)的人工气候室中对辣椒幼苗模拟寒冷胁迫和短期恢复,通过 RNA-Seq 分析获得了基因表达谱并鉴定了复杂的基因表达网络。Gao 等<sup>[24]</sup>对耐冷和冷敏感辣椒材料对寒冷应激的整个转录和代谢反应谱进行分析,发现差异富集项主要与 MAPK 信号通路、激素信号通路以及初级和次级代谢相关,在寒冷胁迫下,参与

碳水化合物代谢、TCA 循环和类黄酮生物合成途径的大多数基因和代谢物在耐寒材料中上调。此外,有类似的研究发现,ICE(CBF 表达诱导剂)-CBF(C 重复结合因子)-COR(冷调节)通路、Ca<sup>2+</sup>信号转导、MAPK 信号转导和活性氧(ROS)信号转导在调节辣椒对寒冷胁迫的反应中起关键作用<sup>[24]</sup>。然而,辣椒响应低温胁迫的机制以及关键基因的发掘尚不充分<sup>[25-26]</sup>。鉴于此,笔者以耐冷和冷敏感辣椒材料为试验对象,基于生理生化指标结合转录组测序技术对低温胁迫下的辣椒基因调控网络进行深入研究,以期探究辣椒响应低温胁迫的分子机制奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验于 2023 年 9 月至 2024 年 10 月在湖北省农业科学院经济作物研究所进行,辣椒材料是该单位保存并筛选的冷敏感型材料 KC14 和耐冷型材料 KC13。

### 1.2 方法

低温胁迫试验于 2023 年在湖北省农业科学院经济作物研究所进行。辣椒种子经过温水浸泡催芽后,播种于 50 孔育苗盘内。当幼苗长至 6 叶 1 心时定植于直径 10 cm 的营养钵中,并放置于人工气候箱,在温度 28 °C/18 °C(昼/夜)、光照强度 240 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>、湿度 70% 的条件下缓苗 3 d。将耐冷型材料 KC13 和冷敏感型材料 KC14 在培养室(28 °C, 24 h)培养到 6 叶 1 心时,转移到 4 °C 低温冷库中处理,分别在处理后的 0、12、24 h 时取功能叶(从上往下数第 3~4 叶)进行转录组测序,每次随机选取 10 株取样,3 次重复。4 °C 低温处理第 7 天,取功能叶测定生理生化指标。所有样品在采样后均在液氮中快速冷冻,并于 -80 °C 冰箱中保存。

**1.2.1 辣椒叶片细胞显微切片观察** 分别剪取 4 °C 低温处理 0、3、6、12、24 h 的辣椒叶片,立即置于 FAA 固定液中固定 24~48 h,以维持细胞形态;然后将固定材料经梯度乙醇脱水、二甲苯透明处理,再浸入熔化石蜡中完成浸蜡后包埋制成蜡块;采用切片机将蜡块切成 5~10 μm 薄片,经温水展平后用载玻片捞取并烘干;采用番红-固绿染色法,先番红染色再固绿复染,染色后的切片经乙醇脱水、二甲苯透明后,用中性树脂封片;最后将制备好的切片置于显微镜下观察,先低倍镜定位目标,再换高倍镜及油镜细致观察并拍照记录。

**1.2.2 生理指标测定** 采用北京索莱宝科技有限

公司试剂盒(货号 BC0995、BC0025、BC0095、BC0030)说明书测定辣椒叶片在低温处理 0、24 h 时的叶绿素(chlorophyll)含量、丙二醛(MDA)含量、过氧化物酶(POD)活性和可溶性糖含量。

**1.2.3 转录组测序** 委托武汉菲沙基因科技服务有限公司对低温处理的辣椒叶片进行测序,样品分别命名为 KC13-0 h(低温胁迫 0 h)、KC13-12 h(低温胁迫 12 h)、KC13-24 h(低温胁迫 24 h)、KC14-0 h(低温胁迫 0 h)、KC14-12 h(低温胁迫 12 h)、KC14-24 h(低温胁迫 24 h),每个处理设置 3 次重复,分别命名为 A-1、A-2、A-3、B-1、B-2、B-3、C-1、C-2、C-3、D-1、D-2、D-3、E-1、E-2、E-3、F-1、F-2、F-3。采用 Trizol 法提取叶片总 RNA, RNA 完整性和浓度使用 Agilent 2100 bioanalyzer 检测。

**1.2.4 转录组差异表达基因 RT-qPCR 验证** 为挖掘与验证转录组分析结果中响应低温胁迫的相关基因,选取低温胁迫 0、12、24 h 后共表达、且在 4 个比较组合(KC13-0 h-vs-KC13-12 h、KC13-0 h-vs-KC13-24 h、KC14-0 h-vs-KC14-12 h 和 KC14-0 h-vs-KC14-24 h)中差异显著的 15 个基因进行 RT-qPCR 验证,15 个基因 RT-qPCR 引物采用 NCBI 设计工具(Primer3 和 Primer-BLAST)设计(表 1)。以 *CaUBI-3* 为内参基因;反转录方法参照反转录试剂盒 HiScript II 1st Strand cDNA Synthesis Kit(+gDNA wiper)使用说明,RT-qPCR 方法参照 AceQ qPCR SYBR Green Master Mix(Vazyme)使用说明。按照 2<sup>-ΔΔCT</sup> 的方法定量分析 RT-qPCR 数据。

### 1.3 数据统计

采用 Microsoft Excel 2003 整理数据并绘图,采用 Primer-BLAST 设计引物,采用 SPSS 26.0 对数据进行单因素方差分析和差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温胁迫下辣椒材料 KC13 和 KC14 的表型观察

为进一步验证筛选的两种试验材料的差异,对其 4 °C 低温处理 0、12 和 24 h 表型进行观察(图 1),耐冷型辣椒材料 KC13 与冷敏感材料 KC14 在 0 h 时的表型无明显差别;在 4 °C 低温处理 12 h 后,耐冷型辣椒材料 KC13 叶片无明显变化,而冷敏感材料 KC14 的部分叶片则出现了萎蔫现象;在 4 °C 低温处理 24 h 时,耐冷型辣椒材料 KC13 未出现明显的叶片冷胁迫现象,冷敏感材料 KC14 多数叶片萎蔫失水。以上结果表明,耐冷型材料 KC13 植株

表1 RT-qPCR 引物序列  
Table 1 RT-qPCR primer sequence

引物名称 Primer name	正向引物 Forward primer(5'-3')	反向引物 Reverse primer(5'-3')
Capana01g001084	TGGCATGCCTCAAGCCTATT	TCTCTCTCATCTGGGGGTGG
Capana01g004129	TTGTCAAGCGCACTGGATCT	GTTCTCGTTGACCACGACCT
Capana01g004130	ACGGTTTATGCCGAAAGGT	CCTTATTGTCTGTGAGCGGGT
Capana01g004491	CTTCGAGCTAGAGCCATCGG	GATGGCCTCAGCAGCAGTAT
Capana06g002639	CTAATCCGATGTCCACCCCG	CAATCCGCCAAAAGCAACCA
Capana07g000617	CAGGTGGAGTGGACAAGAT	GCTGCTTTTCGAAATCCCA
Capana07g000797	CTAATCCGATGTCCACCCCG	CAATCCGCCAAAAGCAACCA
Capana08g001445	CCACCATTTTGTCTGTGCT	TGGGACCCTCCATAGCATCA
Capana12g000975	GTGCTAGTGCCCCAGAAAT	AGTGGGACCCTCCATAGCAT
Capana12g001007	GAGCCGTGAGAAGGTCCATT	ATCACTCCCTCACACCCAGA
Capana12g002196	TCATCTTCGGTGCCATTGCT	AGGCGCACCTATCAGAATCG
Capana00g000214	TAGCATTACGGCAAACCCGT	CCAAAGCGGCGAAGAACAAA
Capana00g001081	GTGCTAGTGCCCCAGAAAT	AGTGGGACCCTCCATAGCAT
Capana00g003463	CTAATCCGATGTCCACCCCG	CAATCCGCCAAAAGCAACCA
Capana00g004328	TAGCATTACGGCAAACCCGT	CCAAAGCGGCGAAGAACAAA
CaUBI-3	TGTCCATCTGCTCTGTG	CACCCCAAGCACATAAGAC



注: 标尺统一为 5 cm.

Note: The ruler is uniformly set at 5 cm.

图1 辣椒 KC13 和 KC14 低温处理 0、12 和 24 h 表型

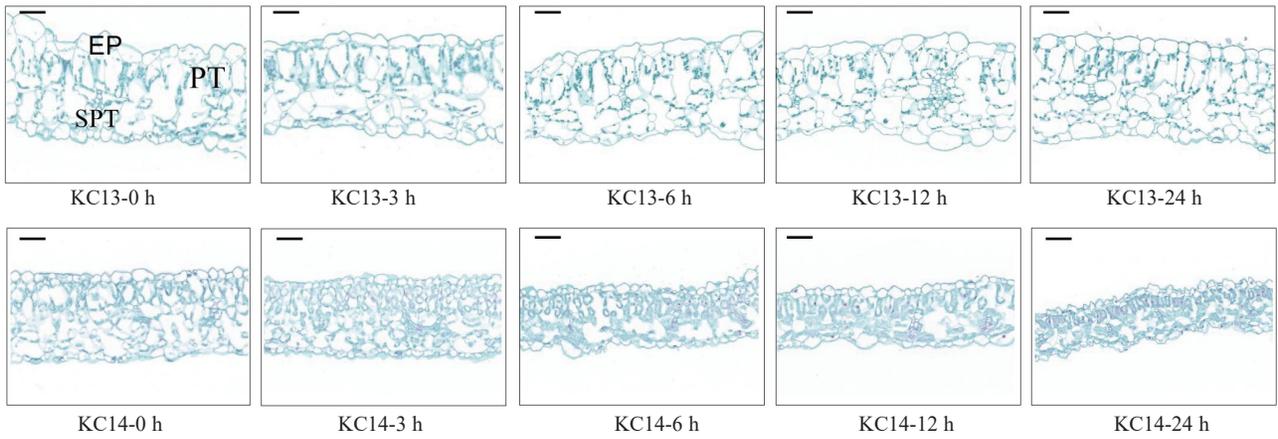
Fig. 1 Phenotype of pepper KC13 and KC14 after low-temperature treatment for 0, 12 and 24 h

自身调控能力较强,对低温的适应性强;而冷敏感辣椒无法应对低温带来的环境差异变化,在低温处理后受到明显胁迫。

## 2.2 低温胁迫下辣椒材料 KC13 和 KC14 的叶片显微观察

在正常条件下,两种辣椒材料的叶片细胞结构均出现了明显的栅栏组织和海绵组织的分化,叶绿体大量富集;细胞核在显微镜下观察均呈现明显且分布均匀的特征,组织区分清晰(图 2)。在低温胁迫

条件下,冷敏感材料 KC14 的细胞结构随处理时间延长而逐渐受损,具体表现为:处理 3 h 后,其栅栏组织和海绵组织排列开始变得疏松;处理 24 h 时,细胞结构发生明显皱缩,细胞核出现番红染色现象,表明细胞膜已发生破裂。相比之下,耐冷型材料 KC13 在不同处理时间点(3、6、12 和 24 h)均未表现出与 0 h 处理组的明显差异,细胞膜保持完整。以上结果表明,耐冷型材料 KC13 在 24 h 内对低温胁迫具有较强的抵抗能力,而冷敏感材料



注:标尺统一为 50 μm,0、3、6、12、24 h 放大 30 倍。EP. 表皮细胞;PT. 栅栏组织;SPT. 海绵组织。

Note: The ruler is uniformly set at 50 μm, with a magnification of 30 times at 0, 3, 6, 12 and 24 h. EP. Epidermal cells; PT. Fence organization; SPT. Spongy tissue.

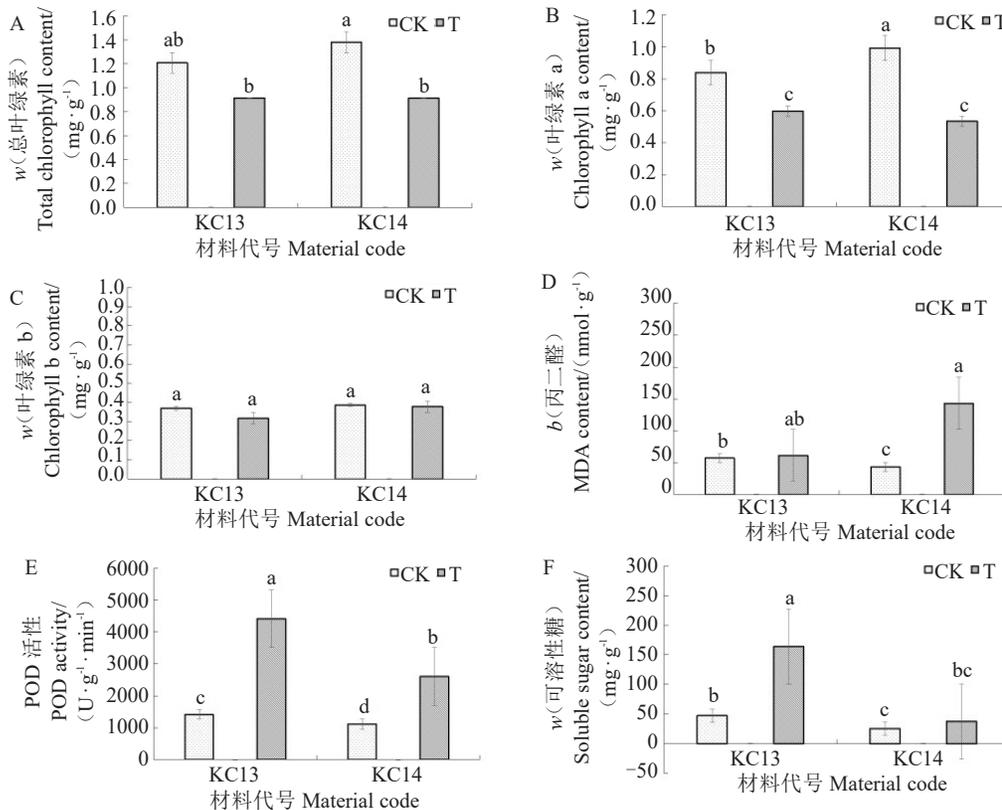
图 2 低温胁迫下辣椒 KC13、KC14 叶片光学显微镜观察

Fig. 2 Observation of leaf optical microscopy of pepper KC13 and KC14 under low temperature stress

KC14 在低温胁迫 6 h 即出现细胞结构改变,并在 12 和 24 h 时损伤程度持续加剧,显示出较弱的低温胁迫耐受性。

### 2.3 低温胁迫对辣椒叶片生理指标的影响

由图 3-A 可以看出,低温处理后,KC13 的总叶绿素含量相比 CK 降低 24.23%,但差异不显著,而



注:CK 表示常温,T 表示低温胁迫处理。不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。

Note: CK represents room temperature, and T represents low temperature stress treatment. Different small letters indicate significant difference at 0.05 level.

图 3 低温胁迫对辣椒叶片叶绿素含量、MDA 含量、POD 活性和可溶性糖含量的影响

Fig. 3 Effects of low temperature stress on chlorophyll content, MDA content, POD activity and soluble sugar content in pepper leaves

KC14 则显著降低 33.87%。由图 3-B 可知, KC13 和 KC14 的叶绿素 a 含量与 CK 相比, 分别显著降低 28.63% 和 46.18%; 而叶绿素 b 含量在 CK 和低温处理间无显著差异(图 3-C)。以上结果表明, 耐冷和冷敏感辣椒材料叶片中叶绿素不同组分的变化存在差异, 耐冷材料总叶绿素含量受低温影响的程度小于冷敏感材料。由图 3-D 可以看出, 低温处理 7 d 后, KC13 的 MDA 含量相比 CK 仅增加 7.00%, 二者差异不显著, 而 KC14 则显著升高 229.62%, 表明低温胁迫下冷敏感材料比耐冷材料更快积累 MDA, 进而可能通过增强抗氧化响应来提高辣椒幼苗的耐冷性。由图 3-E 可以看出, 4 °C 低温处理 7 d 后, KC13 和 KC14 的 POD 活性较 CK 分别显著升高 211.86% 和 134.17%, 表明低温胁迫下耐冷材料(KC13)比冷敏感材料(KC14)的 POD 活性增长更迅速, 进而可能通过增强抗氧化防御能力来提高辣椒幼苗的耐冷性。

由图 3-F 可以看出, 辣椒植株在经过 7 d 低温胁迫后, 可溶性糖含量均出现不同程度的升高, 其中 KC13 较 CK 显著提高 247.85%, 而 KC14 较 CK 提高 48.73%, 但差异不显著, 表明耐冷材料(KC13)比冷敏感材料(KC14)更高效积累可溶性糖含量, 进而通过增强保水能力以抵抗低温胁迫。

## 2.4 辣椒低温胁迫转录组分析

2.4.1 转录组测序质量评估 对 18 个样本测序后进行过滤和组装, 结果如表 2 所示, Q30 碱基百分比介于 95.07%~97.81%, 均值为 96.98%; GC 含量介于 42.23%~43.87%, 均值为 42.95%。此外, 由样本相关性热图(图 4)可知, 组内相关性数值接近于 1, 组群重复间相互聚集, 表明重复性较好。综合可以判断转录组测序质量较高, 符合数据分析要求。选择辣椒 *Zunla* 基因组作为参考基因组进行比对<sup>[27]</sup>, 样本与参考基因组的比率均在 95.00% 以上, 比对结果正常, 能够进行后续的基因功能注释和分析。

表 2 低温胁迫下辣椒幼苗转录组测序数据统计

Table 2 Transcriptome sequencing data statistics of pepper seedlings under low temperature stress

组群 Group	样本 Sample	Clean reads pairs	Clean base/bp	Q30/%	GC 含量 GC content/%
KC13-0 h	A-1	25 586 214	7 675 864 200	97.33	43.87
	A-2	22 130 586	6 639 175 800	96.89	43.69
	A-3	24 549 783	7 364 934 900	97.54	43.40
KC13-12 h	B-1	22 549 435	6 764 830 500	96.44	42.86
	B-2	23 007 613	6 902 283 900	97.13	43.21
	B-3	24 389 591	7 316 877 300	97.03	42.95
KC13-24 h	C-1	24 301 094	7 290 328 200	96.49	42.23
	C-2	20 230 633	6 069 189 900	97.22	43.31
	C-3	19 934 994	5 980 498 200	97.00	42.97
KC14-0 h	D-1	23 438 132	7 031 439 600	96.98	43.06
	D-2	22 548 390	6 764 517 000	97.14	43.11
	D-3	24 251 708	7 275 512 400	97.81	43.06
KC14-12 h	E-1	19 108 995	5 732 698 500	97.34	42.82
	E-2	22 214 534	6 664 360 200	97.60	42.73
	E-3	22 017 049	6 605 114 700	97.33	42.68
KC14-24 h	F-1	22 705 472	6 811 641 600	96.45	42.59
	F-2	20 506 209	6 151 862 700	95.07	42.33
	F-3	22 393 810	6 718 143 000	96.78	42.23

2.4.2 辣椒材料 KC13 和 KC14 低温处理差异表达基因比较分析 为分析不同样本间的差异表达基因, 笔者进一步比较了不同组间的差异表达基因, 发现 KC13-0 h-vs-KC13-12 h、KC13-0 h-vs-KC13-24 h、KC14-0 h-vs-KC14-12 h 和 KC14-0 h-vs-KC14-24 h 的 4 个组间有 2560 个共有的差异表达基因, 特有的差异表达基因 KC13-0 h-vs-

KC13-12 h 有 1065 个, KC13-0 h-vs-KC13-24 h 有 3451 个, KC14-0 h-vs-KC14-12 h 有 1990 个, KC14-0 h-vs-KC14-24 h 有 7237 个(图 5)。对 KC13-0 h-vs-KC13-12 h 和 KC13-0 h-vs-KC13-24 h, KC14-0 h-vs-KC14-12 h 和 KC14-0 h-vs-KC14-24 h 进行组间比较, 发现 KC13-0 h-vs-KC13-12 h 和 KC13-0 h-vs-KC13-24 h 两个组间有 4318 个共有的

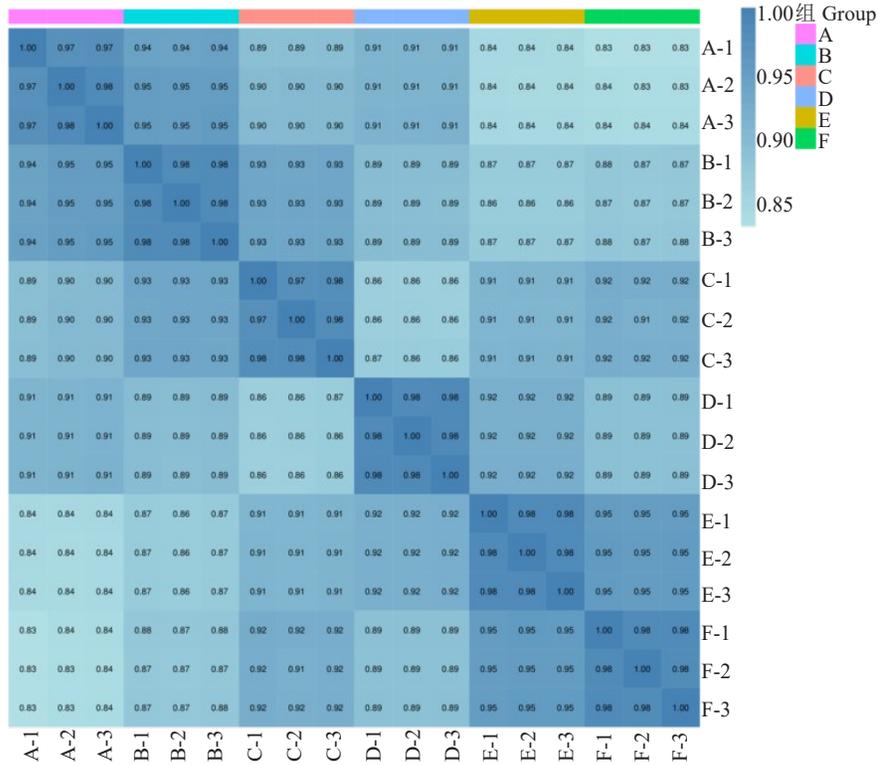


图4 相关性分析热图

Fig. 4 Correlation analysis heatmap

差异表达基因,其中 874 个基因是 KC13 材料中特有的。KC14-0 h-vs-KC14-12 h 和 KC14-0 h-vs-KC14-24 h 两个组间有 9466 个共有的差异表达基因,其中 3045 个基因是 KC14 材料中特有的(图 5)。总体而言,耐冷型材料 KC13 在 12 h/24 h 胁迫期的差异表达基因数量明显少于冷敏感材料 KC14。

2.4.3 辣椒材料 KC13、KC14 低温处理不同时间上调表达基因 GO 富集分析 通过比较耐冷材料 KC13 和冷敏感材料 KC14 上调表达基因 GO 富集项的异同,发现耐冷材料在低温处理 12 h 和 24 h

的上调表达基因具有部分相同的 GO 富集项,包括 DNA 结合转录因子活性、防御响应、NADH 脱氢酶(泛醌)活性、NADH 脱氢酶(醌)活性、NAD(P)H 脱氢酶(醌)活性和乙烯激活信号通路等 GO 富集项(图 6-A~B)。冷敏感材料在低温处理 12 h 和 24 h 的差异基因也具有部分相同的 GO 富集项,包括 DNA 结合转录因子活性、防御反应、乙烯激活信号通路、磷酸化级联信号转导系统等 GO 富集项(图 6-C~D)。由此可见,氧化还原驱动的活性跨膜转运蛋白活性和 NADH 脱氢酶(泛醌)活性特异在耐冷材料中被快速激活。

2.4.4 辣椒材料 KC13、KC14 低温处理不同时间上调表达基因 KEGG 富集分析 进一步比较耐冷材料 KC13 和冷敏感材料 KC14 上调表达基因富集的 KEGG 代谢通路的异同,发现耐冷材料在低温处理 12 h 和 24 h 的上调表达基因具有部分相同的 KEGG 通路,其中显著变化的通路包括氧化磷酸化、MAPK 信号通路-植物、植物-病原体相互作用、植物激素信号转导、昼夜节律-植物、磷脂酰肌醇信号系统及淀粉和蔗糖代谢等 KEGG 代谢通路(图 7-A~B)。冷敏感材料在低温处理 12 h 和 24 h 的差异基因也具有部分相同的 KEGG 通路,包括 MAPK 信号通路-植物、植物-病原体相互作用、植物

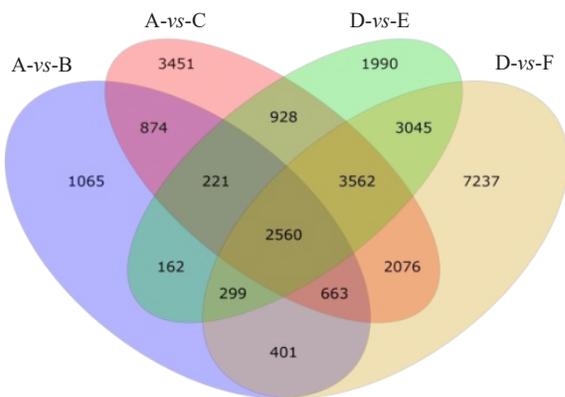
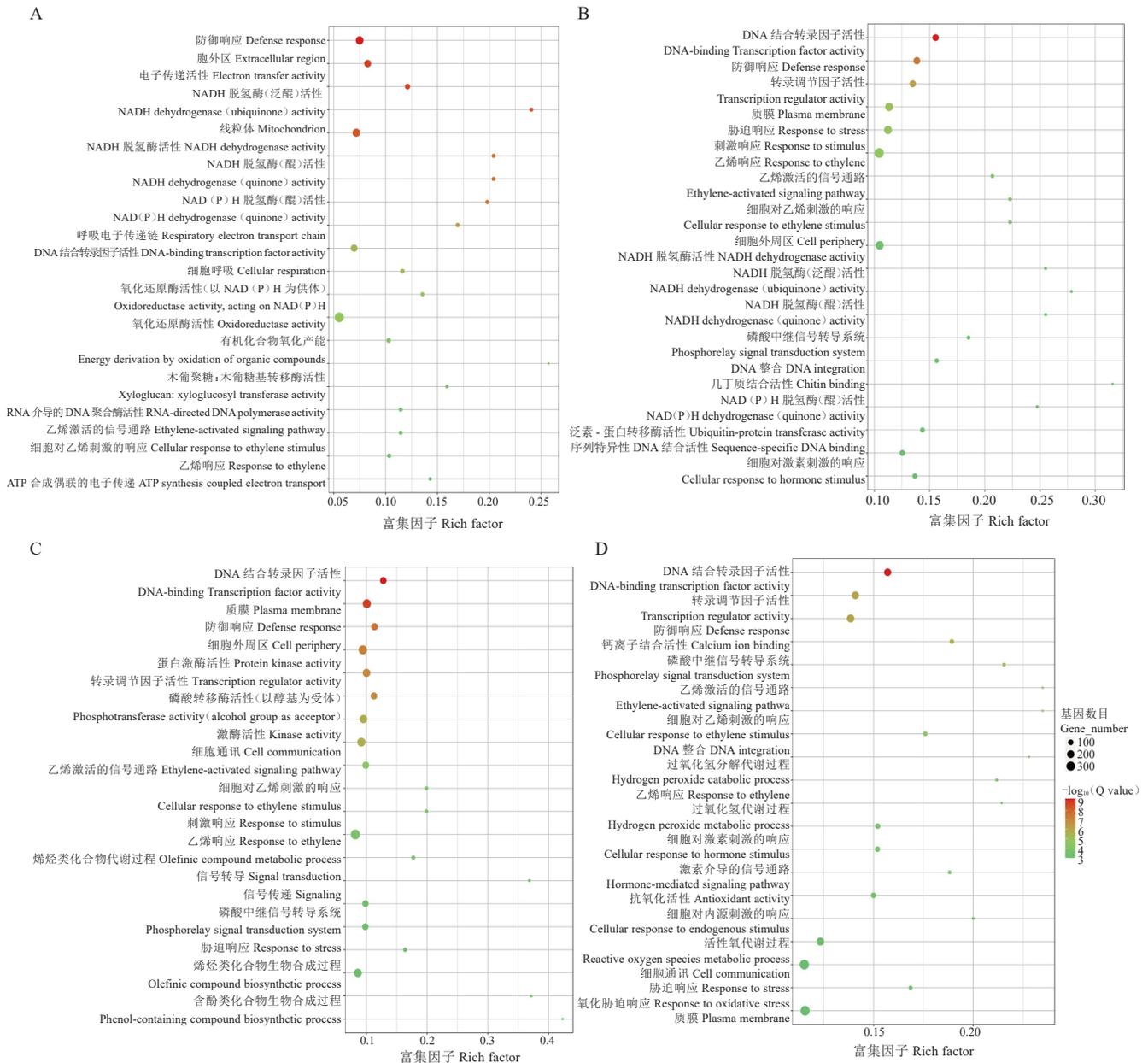


图5 差异表达基因的维恩图

Fig. 5 Venn diagram of differentially expressed genes



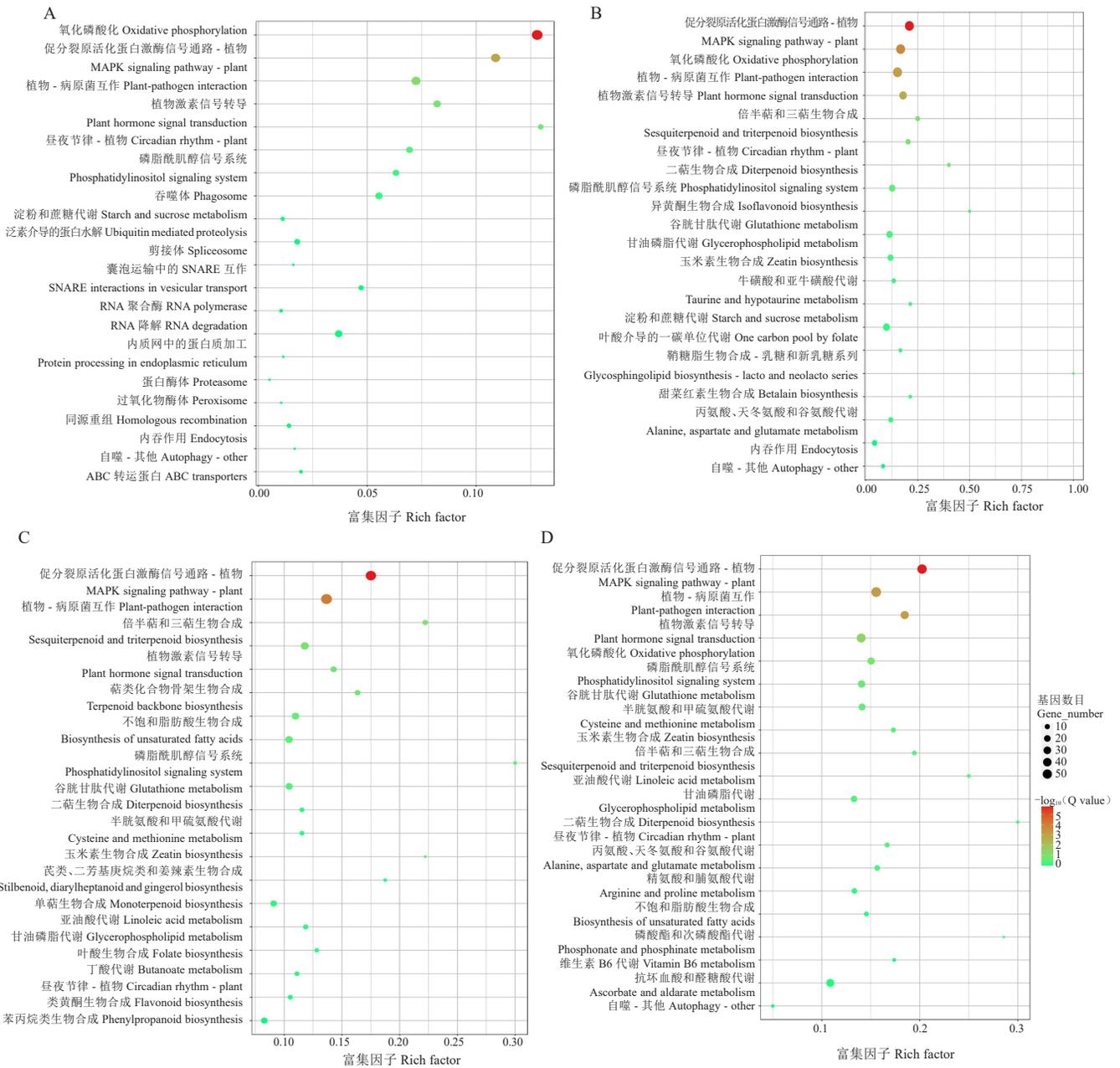
注: A. KC13-0 h -vs- KC13-12 h 上调表达基因的 GO 富集项; B. KC13-0 h -vs- KC13-24 h 上调表达基因的 GO 富集项; C. KC14-0 h -vs- KC14-12 h 上调表达基因的 GO 富集项; D. KC14-0 h -vs- KC14-24 h 上调表达基因的 GO 富集项。

Note: A. KC13-0 h -vs- KC13-12 h GO enrichment term for upregulated expression of genes; B. KC13-0 h -vs- KC13-24 h GO enrichment term for upregulated expression of genes; C. KC14-0 h -vs- KC14-12 h GO enrichment term for upregulated expression of genes; D. KC14-0 h -vs- KC14-24 h GO enrichment term for upregulated expression of genes.

图 6 GO 功能富集项散点图(前 20 项)  
Fig. 6 GO functional enrichment histogram and scatter plot(Top 20 items)

激素信号转导、倍半萜和三萜生物合成、磷脂酰肌醇信号系统、谷胱甘肽代谢、二萜生物合成、半胱氨酸和甲硫氨酸代谢、甘油磷脂代谢等 KEGG 通路(图 7C~D)。由此可见,氧化磷酸化代谢通路中的基因特异在耐冷材料中被快速诱导表达,与 GO 富集分析的结果一致,推测氧化磷酸化代谢通路中基因的上调表达在增强植物耐冷性方面可能有重要作用。

2.4.5 氧化磷酸化相关基因表达分析 氧化磷酸化是细胞呼吸的最后阶段,发生在线粒体内膜上,负责将储存于 NADH 和 FADH<sub>2</sub> 中的化学能转化为 ATP,调控细胞代谢与生理功能。氧化磷酸化的膜蛋白复合物可根据功能划分为 NADH 脱氢酶、琥珀酸脱氢酶、细胞色素 BC1 复合物、细胞色素 C 氧化酶、ATP 合成酶复合物(图 8)。这 5 种酶蛋白共同参与氧化磷酸化反应,将 NADH/FADH<sub>2</sub> 转化为



注:A. KC13-0 h -vs- KC13-12 h 上调表达基因富集的 KEGG 代谢通路; B. KC13-0 h -vs- KC13-24 h 上调表达基因富集的 KEGG 代谢通路; C. KC14-0 h -vs- KC14-12 h 上调表达基因富集的 KEGG 代谢通路; D. KC14-0 h -vs- KC14-24 h 上调表达基因富集的 KEGG 代谢通路。

Note: A. KC13-0 h -vs- KC13-12 h KEGG metabolic pathway enriched with upregulated expression genes; B. KC13-0 h -vs- KC13-24 h KEGG metabolic pathway enriched with upregulated expression genes; C. KC14-0 h -vs- KC14-12 h KEGG metabolic pathway enriched with upregulated expression genes; D. KC14-0 h -vs- KC14-24 h KEGG metabolic pathway enriched with upregulated expression genes.

图7 KEGG 代谢通路富集项散点图(前20项)

Fig. 7 KEGG functional enrichment histogram and scatter plot(Top 20 items)

ATP,调节细胞的代谢功能。

氧化磷酸化相关差异表达基因的热图(图9)包括21个NADH-泛醌氧化还原酶链蛋白编码基因、7个细胞色素BC1复合物蛋白编码基因、3个ATP合酶亚基 $\alpha$ 蛋白编码基因、2个V型质子ATP酶亚基蛋白编码基因、2个琥珀酸脱氢酶蛋

白编码基因、1个酰基载体蛋白2蛋白编码基因、1个推测ATP合酶蛋白编码基因、1个可溶性无机焦磷酸酶蛋白编码基因、1个未定性线粒体蛋白编码基因和6个功能未知的基因。低温胁迫导致耐冷材料KC13中几乎所有的氧化磷酸化相关基因表达上调,其中Capana07g000617、Capa-



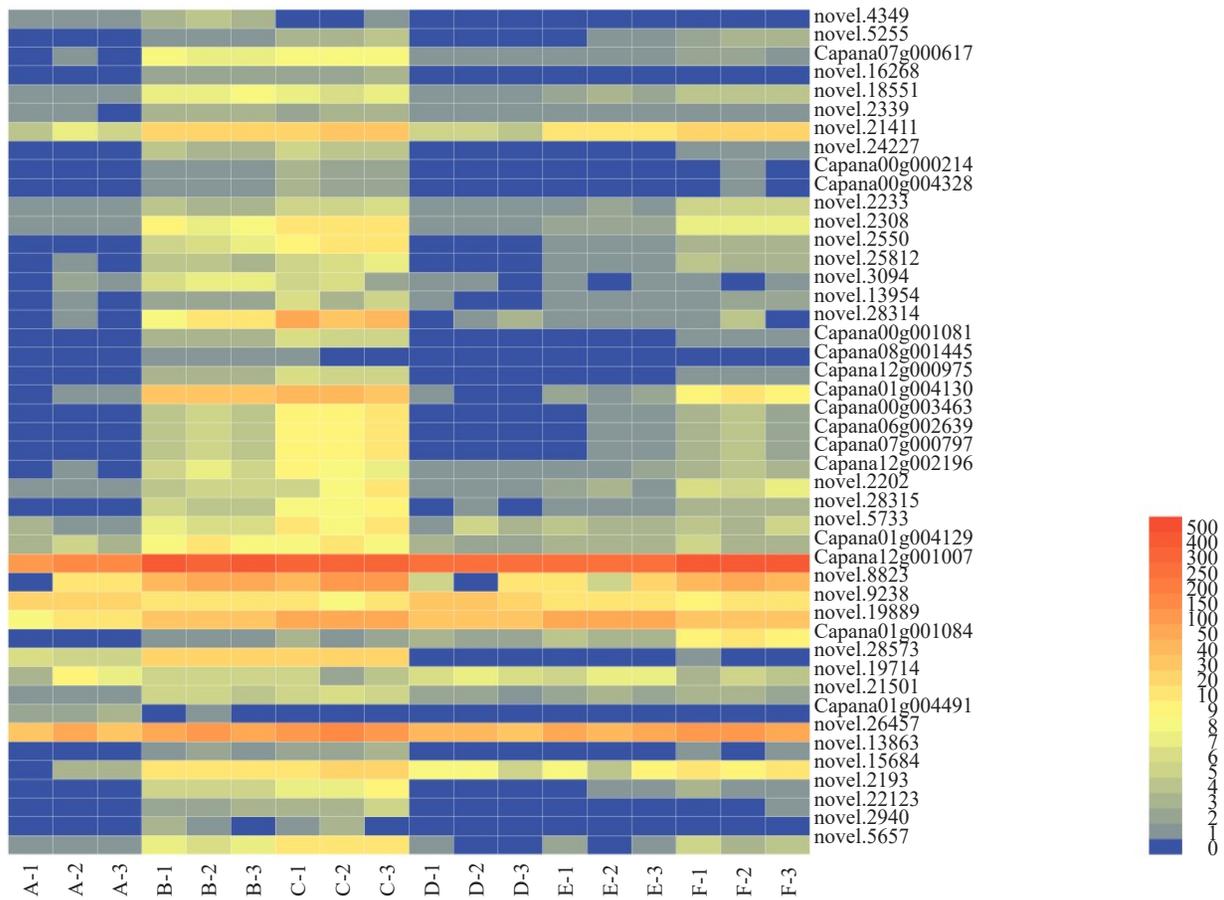


图9 氧化磷酸化相关差异表达基因热图

Fig. 9 Heat map of differentially expressed genes related to oxidative phosphorylation

na01g004130、Capana12g001007、Capana01g001081、Capana01g001084、Capana00g003463、Capana06g002639、Capana07g000797、Capana12g002196、Capana00g000214、Capana00g004328 显著上调表达, 仅有 Capana01g004491 显著下调表达。在冷敏感材料中, 仅 Capana01g004130、Capana01g001084、Capana12g001007 显著上调表达, Capana00g003463、Capana06g002639、Capana07g000797、Capana12g002196 有诱导表达, 其他已知基因的表达量无明显变化。Capana07g000617、Capana00g000214、Capana00g004328、Capana01g004130、Capana00g003463、Capana06g002639、Capana07g000797、Capana12g002196 在耐冷性材料 KC13 中的诱导表达量明显高于冷敏感材料 KC14。从趋势来看, 多数氧化磷酸化相关基因在低温胁迫下表达量均上调, 推测低温胁迫下耐冷材料 KC13 比冷敏感材料 KC14 的氧化磷酸化反应更强烈, 细胞呼吸作用更加明显。

### 2.5 氧化磷酸化相关差异表达基因的验证

采用实时荧光定量 RT-qPCR 对耐冷材料和冷

敏感材料中氧化磷酸化相关显著差异表达的部分基因进行表达模式的研究分析。结果如图 10 所示, 在低温胁迫处理后, KC13 材料的 Capana00g000214、Capana00g004328、Capana01g004129、Capana06g002639、Capana00g003463、Capana00g001081、Capana01g001084、Capana12g002196、Capana07g000797 的表达量明显上调, 而 Capana12g001007、Capana07g000617 在低温胁迫处理 12 h 后的表达量下调。KC14 中 Capana00g000214 在低温处理后的表达量上调, Capana01g004129、Capana00g001081、Capana12g002196、Capana12g001007、Capana07g000617、Capana01g004130、Capana08g001445、Capana12g000975、Capana07g000797 在低温处理后表达量下调。对比两种材料发现, Capana00g000214、Capana00g004328、Capana06g002639、Capana00g003463、Capana07g000797 在耐冷材料 KC13 和冷敏感材料 KC14 中诱导表达差异明显。因此, 推测这些基因在低温胁迫下被快速诱导表达, 可能参与调控辣椒的低温响应过程。

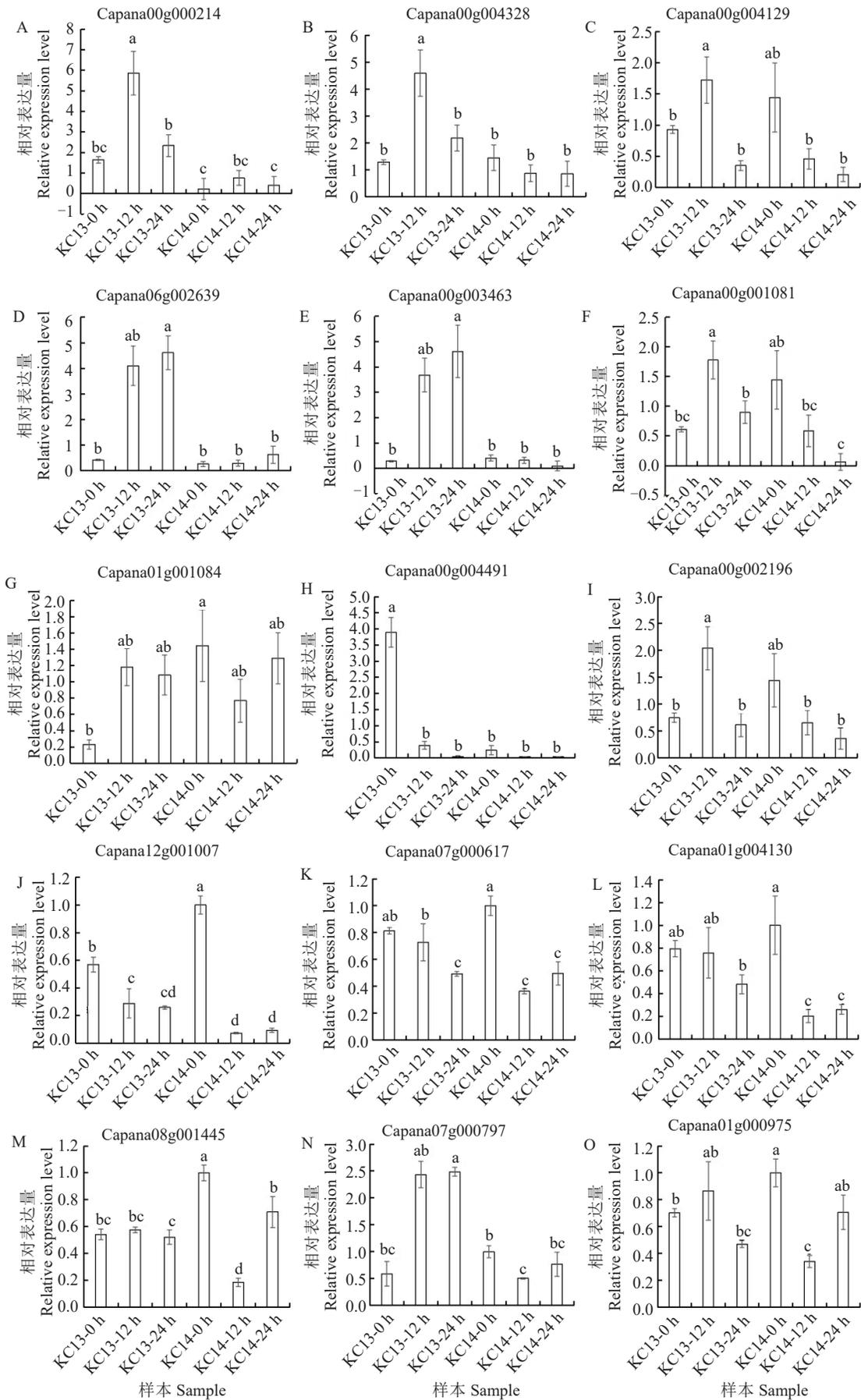


图 10 氧化磷酸化相关差异表达基因的 RT-qPCR 分析

Fig. 10 RT-qPCR analysis of differentially expressed genes related to oxidative phosphorylation

### 3 讨论与结论

笔者对耐冷辣椒材料 KC13 与冷敏感材料 KC14 进行 4 °C 低温处理,结果表明,二者在 0 h 时表型无明显差异;24 h 低温处理后,KC13 叶片无明显萎蔫失水,而 KC14 多数叶片出现萎蔫失水现象。显微结构观察表明,两份材料叶片均存在栅栏组织与海绵组织的分化及叶绿体富集,但 12 h 低温处理后,KC14 的栅栏组织/海绵组织低于 KC13,与宋静爽<sup>[2]</sup>的研究结果较一致。生理生化结果表明,KC13 通过维持光合稳定性、增强抗氧化能力及促进渗透调节物质积累,表现出更强的耐冷性,与前人的研究结果一致。在番茄和黄瓜中,耐冷品种同样通过保持较高叶绿素含量和 POD 活性来减轻低温损伤<sup>[28-29]</sup>,支持了抗氧化防御在耐冷性中起核心作用的论点。此外,冷敏感植物如玉米在低温下常因膜脂过氧化加剧导致细胞损伤<sup>[30]</sup>,与本研究中 KC14 的 MDA 积累和叶片萎蔫现象相吻合,进一步验证了膜稳定性对耐冷性的重要性。

转录组数据显示,KC13 中 NADH 脱氢酶相关基因(如 Capana00g000214 等)显著上调,提示耐冷材料可能通过增强电子传递链活性维持低温下的能量供应。这一现象与拟南芥研究中 mtOXPHOS 响应热胁迫的机制具有相似性<sup>[31]</sup>,表明氧化磷酸化可能是植物应对温度胁迫的保守通路。但辣椒中该通路的具体调控因子仍需通过基因编辑等手段验证。KEGG 分析中 MAPK 与植物激素通路的富集,暗示低温信号可能通过 Ca<sup>2+</sup>-ROS-MAPK 级联传递<sup>[32]</sup>,进而激活氧化磷酸化基因。然而,本试验未对 ROS 积累量进行定量检测,未来需结合代谢组学明确各通路的时空调控关系。当前研究结果未解析差异基因的启动子顺式作用元件,且未在辣椒中验证候选基因功能,后续可利用 VIGS 技术构建 Capana00g000214 等基因的下调表达载体,验证候选基因对辣椒耐冷性的调控功能。

综上所述,耐冷型辣椒 KC13 通过维持栅栏组织完整性及上调氧化磷酸化相关基因(如 NADH 脱氢酶编码基因)增强低温适应性,氧化磷酸化通路与 MAPK 信号转导的协同激活是辣椒响应低温胁迫的核心机制。本研究结果为辣椒耐冷分子育种提供了候选基因(Capana00g000214 等)及理论依据。

#### 参考文献

[1] 乔立娟,赵帮宏,宗义湘,等.我国辣椒产业发展现状、趋势及

对策[J].中国蔬菜,2023(11):9-15.

- [2] 宋静爽.辣椒苗期耐冷评价体系的建立及其响应机制的研究[D].长沙:湖南大学,2021.
- [3] 王慧,周小梅.低温胁迫对辣椒相关生理生化指标的影响[J].山西农业科学,2015,43(2):152-154.
- [4] 钱恒彦,潘宝贵,刁卫平,等.我国蔬菜作物耐低温性研究进展[J].中国蔬菜,2019(6):29-34.
- [5] MIAO W, SONG J S, HUANG Y W, et al. Comparative transcriptomics for pepper (*Capsicum annuum* L.) under cold stress and after rewarming[J]. Applied Sciences, 2021, 11(21): 10204.
- [6] 杜杰,苏福丽,夏清,等.谷子苗期对低温胁迫的生理生化响应[J].作物杂志,2024(3):180-185.
- [7] 陈艳,黄璐瑶,邓昌蓉,等.冷害对多茸毛型线辣椒幼苗生理水平的影响[J].新疆农业科学,2023,60(6):1492-1498.
- [8] MA X, GAI W X, LI Y, et al. The CBL-interacting protein kinase CaCIPK13 positively regulates defence mechanisms against cold stress in pepper[J]. Journal of Experimental Botany, 2022, 73(5): 1655-1667.
- [9] ZHANG H F, PEI Y P, ZHU F L, et al. CaSnRK2. 4-mediated phosphorylation of CaNAC035 regulates abscisic acid synthesis in pepper (*Capsicum annuum* L.) responding to cold stress[J]. The Plant Journal, 2024, 117(5): 1377-1391.
- [10] ZHANG H F, LIU S Y, MA J H, et al. *CaDHN4*, a salt and cold stress-responsive dehydrin gene from pepper decreases abscisic acid sensitivity in *Arabidopsis*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(1): 26.
- [11] ZHANG J W, LIANG L, XIAO J C, et al. Genome-wide identification of polyamine oxidase (PAO) family genes: Roles of *CaPAO2* and *CaPAO4* in the cold tolerance of pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. International Journal of Molecular Science, 2022, 23(17): 9999.
- [12] WANG H P, LIU Z C, XIE J M, et al. The *CaALAD* gene from pepper (*Capsicum annuum* L.) confers chilling stress tolerance in transgenic arabidopsis plants[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 884990.
- [13] ZHANG H F, MA F, WANG X K, et al. Molecular and functional characterization of *CaNAC035*, an NAC transcription factor from pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 14.
- [14] MA X, YU Y N, JIA J H, et al. The pepper MYB transcription factor CaMYB306 accelerates fruit coloration and negatively regulates cold resistance[J]. Scientia Horticulturae, 2022, 295, 110892.
- [15] CHEN R, MA J, LUO D, et al. CaMADS, a MADS-box transcription factor from pepper, plays an important role in the response to cold, salt, and osmotic stress[J]. Plant Science, 2019, 280: 164-174.
- [16] 王玉,张清芮,高子婷,等.水稻萌发期耐低温筛选评价及生理特性分析[J/OL].吉林农业大学学报,1-17(2025-06-23).<https://doi.org/10.13327/j.jjlau.2024.0102>.
- [17] 杨爱清,杨小艺,徐辰武,等.低温胁迫下玉米根系转录组和代

- 谢组分析[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(6): 1063-1071.
- [18] ZHANG W F, GONG Z H, WU M B, et al. Integrative comparative analyses of metabolite and transcript profiles uncovers complex regulatory network in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit undergoing chilling injury[J]. Science Report, 2019, 9(1): 4470.
- [19] ZHAO X C, WEI J P, HE L, et al. Identification of fatty acid desaturases in maize and their differential responses to low and high temperature[J]. Genes, 2019, 10(6): 445.
- [20] JIANG C J, ZHANG H, REN J Y, et al. Comparative transcriptome based mining and expression profiling of transcription factors related to cold tolerance in peanut[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(6): 1921.
- [21] LI Y Y, WANG X W, BAN Q Y, et al. Comparative transcriptomic analysis reveals gene expression associated with cold adaptation in the tea plant *Camellia sinensis*[J]. BMC Genomics, 2019(20): 624.
- [22] DONG W, MA X, JIANG H, et al. Physiological and transcriptome analysis of *Poa pratensis* var. *anceps* cv. Qinghai in response to cold stress[J]. BMC Plant Biology, 2020, 20(1): 362.
- [23] ZHANG J, LIANG L, XIE Y, et al. Transcriptome and metabolome analyses reveal molecular responses of two pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars to cold stress[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 975330.
- [24] GAO C, MUMTAZ M A, ZHOU Y, et al. Integrated transcriptomic and metabolomic analyses of cold-tolerant and cold-sensitive pepper species reveal key genes and essential metabolic pathways involved in response to cold stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(12): 6683.
- [25] 练冬梅, 张少平, 姚运法, 等. 辣椒响应低温胁迫机制及御寒措施研究进展[J]. 中国瓜菜, 2025, 38(1): 1-9.
- [26] 杨柳烟, 欧斯扬, 张素勤, 等. 辣椒响应逆境胁迫的诱导型启动子研究进展[J]. 中国瓜菜, 2024, 37(12): 1-8.
- [27] QIN C, YU C S, SHEN Y O, et al. Whole-genome sequencing of cultivated and wild peppers provides insights into *Capsicum* domestication and specialization[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(14): 5135-5140.
- [28] MESA T, POLO J, ARABIA A, et al. Differential physiological response to heat and cold stress of tomato plants and its implication on fruit quality[J]. Journal of Plant Physiology, 2022, 268: 153581.
- [29] MANGAL V, LAL M K, TIWARI R K, et al. A comprehensive and conceptual overview of omics-based approaches for enhancing the resilience of vegetable crops against abiotic stresses[J]. Planta, 2023, 257(4): 80.
- [30] SHOMO Z D, LI F, SMITH C N, et al. From sensing to acclimation: The role of membrane lipid remodeling in plant responses to low temperatures[J]. Plant Physiology, 2024, 196(3): 1737-1757.
- [31] RIAZ M, YASMEEN E, LIU M Y, et al. Mitochondrial oxidative phosphorylation (mtOXPHOS) serves as a sentinel to gauge fluctuations under heat stress in *Arabidopsis thaliana* elucidated by comparative transcriptomics[J]. Plant Stress, 2024, 14: 100613.
- [32] YUAN P, YANG T, POOVAIAH B W. Calcium signaling-mediated plant response to cold stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(12): 3896.