

降香黄檀土培根与气雾根的转录组比较分析

薛萌垚^{1,2}, 庞懿瑶^{1,2}, 秦雪莲^{1,2}, 詹若挺^{1,2}, 马新业^{1,2*}

1. 广州中医药大学中药学院/岭南中药资源教育部重点实验室/国家中成药工程技术研究中心南药研发实验室, 广东广州 510006; 2. 岭南现代农业科学与技术广东省实验室茂名分中心, 广东茂名 525000

摘要: 降香黄檀是一种珍稀多年生香药两用植物, 但其生长周期长且成材缓慢是该植物合理利用与开发的重要限制因素。为了解降香黄檀根系活性成分并对其进行合理利用, 本研究以降香黄檀一年生幼苗根为对象, 利用气雾栽培技术在短期内获得大量且优质的气雾根。通过高通量测序技术对降香黄檀土培根与气雾栽培根 2 组根系转录组进行测序及差异比较, 挖掘降香黄檀根系次生代谢物合成的关键基因和通路。结果表明, 降香黄檀土培根与气雾根比较组中共筛选出 7731 个显著性差异表达基因 (DEGs), 其中 4447 个上调, 3284 个下调。经 GO、KEGG 富集分析及 GSEA 富集分析表明, 这些基因主要富集在防御信号转导、氨基酸代谢、次级代谢产物的生物合成等通路。其中倍半萜和三萜生物合成通路、防御信号转导通路在降香黄檀土培根中高表达, 氨基酸代谢通路、黄酮类成分生物合成通路在气雾根中高表达。进一步对其相关通路分析, 挖掘出降香黄檀次生代谢物合成的相关基因, 即黄酮代谢通路中的候选关键差异基因 *evm.TU.scaffold_100.907*、*MSTRG.3788*、*evm.TU.scaffold_233.200*、*evm.TU.scaffold_111.78*、*evm.TU.scaffold_5.71* 与倍半萜合成通路的候选关键差异基因 *evm.TU.scaffold_36.788*、*MSTRG.8652*、*evm.TU.scaffold_40.382*、*MSTRG.27285*、*MSTRG.28295*。本研究通过比较降香黄檀土培根与气雾根的转录组差异, 初步揭示了 2 组间基因表达层面差异, 挖掘其调控次生代谢物合成的基因和通路。通过以上探索, 为后续降香黄檀根部资源的深度研发积累数据和提供参考。

关键词: 降香黄檀; 气雾根; 转录组; 差异表达基因; 萜类化合物; 黄酮类化合物

中图分类号: S567

文献标志码: A

Comparative Transcriptome Analysis of Soil-cultivated Roots and Aeroponic Roots of *Dalbergia odorifera* T. Chen

XUE Mengyao^{1,2}, PANG Yiyao^{1,2}, QIN Xuelian^{1,2}, ZHAN Ruoting^{1,2}, MA Xinye^{1,2*}

1. School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine / Key Laboratory of Chinese Medicinal Resource from Lingnan, Ministry of Education / R&D Laboratory of Southern Medicines, National Engineering Research Center for Proprietary Chinese Medicines, Guangzhou, Guangdong 510006, China; 2. Maoming Sub-center, Guangdong Provincial Laboratory of Lingnan Modern Agricultural Science and Technology, Maoming, Guangdong 525000, China

Abstract: *Dalbergia odorifera* is a rare perennial plant valued for both its medicinal and aromatic properties. However, its long growth cycle and slow maturation to meet traditional medicinal standards are major constraints for its rational utilization and development. To investigate the active components in its roots and facilitate the use, this study utilized aeroponic cultivation to rapidly obtain a substantial quantity of high-quality roots from one-year-old seedlings. Comparative transcriptome analysis between soil-cultivated roots and aeroponic roots was conducted using high-throughput sequencing to identify key genes and pathways involved in root secondary metabolite biosynthesis. The results revealed 7731 significantly differentially expressed genes (DEGs) between the two groups, with 4447 upregulated and 3284 downregulated. GO, KEGG and GSEA enrichment analyses indicated that the DEGs were primarily associated with

收稿日期 2025-09-21; 接受日期 2025-10-27

基金项目 岭南现代农业科学与技术广东省实验室茂名分中心基金资助课题 (No. 2022ZD010); 广东省乡村振兴战略专项-农业科技发展及资源环境保护管理项目-广东省现代南药产业技术体系创新团队 (No. 2023KJ14)。

作者简介 薛萌垚 (2001—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 芳香药用植物资源学。*通信作者 (Corresponding author): 马新业 (MA Xinye), E-mail: usermxy@163.com。

defense signal transduction, amino acid metabolism, and the biosynthesis of secondary metabolites. Specifically, sesquiterpene and triterpene biosynthesis pathways and defense signal transduction pathways were highly expressed in soil-cultivated roots, whereas amino acid metabolism and flavonoid biosynthesis pathways were upregulated in aeroponic roots. Further analysis identified candidate key DEGs related to secondary metabolite synthesis: *evm.TU.scaffold_100.907*, *MSTRG.3788*, *evm.TU.scaffold_233.200*, *evm.TU.scaffold_111.78* and *evm.TU.scaffold_5.71* in the flavonoid pathway, and *evm.TU.scaffold_36.788*, *MSTRG.8652*, *evm.TU.scaffold_40.382*, *MSTRG.27285* and *MSTRG.28295* in the sesquiterpene pathway. This study preliminarily elucidates the differences in gene expression between soil-cultivated roots and aeroponic roots, uncovering genes and pathways regulating secondary metabolite synthesis. The findings would provide valuable data and references for the further development and utilization of *D. odorifera* root resources.

Keywords: *Dalbergia odorifera* T. Chen; aeroponic roots; transcriptome; differentially expressed genes; terpenoids; flavonoids

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2026.01.018

降香黄檀 (*Dalbergia odorifera* T. Chen) 是豆科黄檀属多年生木本植物, 也是兼具药用价值与经济价值的名贵中药材“降香”的来源, 为《中华人民共和国药典》记载的珍贵药材, 其天然材料仅在海南岛, 为国家二级保护植物, 入药部位为干燥心材^[1]。其含有多种生物活性成分, 如挥发油类橙花叔醇、金合欢烯等和黄酮类柚皮素、甘草素等^[2-3]。其干燥心材中提取出的黄酮类化合物有抗炎、抗菌、神经保护和抗氧化等药理作用^[4]。然而降香黄檀生长缓慢, 人工栽种通常需 6~7 a 才能产生心材, 在野生条件下通常需 10 a 以上。因此, 降香黄檀在短时间内难以产生大量心材, 且需求量大、供不应求, 加之人类过度滥伐, 导致降香黄檀野生资源匮乏且成为珍稀濒危保护植物^[5]。为了降香黄檀的资源保护和开发, 进行大规模的引种栽培仅能初步缓解降香黄檀资源枯竭问题, 不足以推动其资源利用多样化的挖掘与发展^[5-6]。因此, 缩短培育周期、挖掘新的药用部位与成分对降香黄檀资源的深度开发十分重要。

近年来, 各种新型栽培模式的兴起, 如水质栽培、气雾栽培等, 为药用植物的栽培与资源利用开发提供新的思路与方向。气雾栽培技术通过优化根系微环境, 周期性雾化供给营养液, 使根系处于高氧、低阻力的气雾环境下, 大大增加了根系的生物量。目前, 气雾栽培技术已经逐渐应用在药用植物栽培中, 例如车前草、小叶桉楠等药用植物^[7-8]。在此栽培模式下, 降香黄檀气雾根相较于传统土培根能在短期内具有大量且发达的有活力的不定根, 为扩大其资源利用提供了新的思路与方向^[9-10]。转录组测序技术可以反映

特定组织在某种状态下所有基因结构和表达情况, 有助于分析植物响应不同环境及状态下的分子机制^[11]。随着高通量测序技术的不断进步与发展, 转录组学已广泛应用于影响植物根系的次生代谢物质的基因的调控与挖掘, 目前许多传统药用植物如白木香 [*Aquilaria sinensis* (Lour.) Spreng.]、大黄 (*Rheum palmatum* L.)、黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge] 等次生代谢产物的研究^[12-14]均运用结合组学技术的分析方法。因此, 利用转录组技术研究降香黄檀不同培养状态下根系基因转录水平的变化, 有助于进一步了解调控降香黄檀根系次生代谢物相关的基因与合成通路。

本研究通过降香黄檀土培根与气雾栽培所获得的气雾根, 使用高通量测序技术对 2 组根系进行转录组测序, 通过比较 2 组间转录组相关差异, 对调控降香黄檀根系次生代谢物相关的基因与合成通路进行解析, 为推动降香黄檀根部资源的深度开发提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

研究材料为降香黄檀一年生实生苗, 购自广州大森林种苗场, 经广州中医药大学中药学院詹若挺教授通过参考《中华人民共和国药典》^[1]与《中国植物志》^[15]鉴定为豆科黄檀属植物降香黄檀 (*Dalbergia odorifera* T. Chen)。降香黄檀土培根 (DOS) 来源于降香黄檀一年生土培苗的侧根, 降香黄檀气雾根 (DOA) 源于经 IBA+NAA 生根诱导 (1.0 g/L, 蘸根 10 s)、高磷营养液 (9-40-25+微量元素) 供给间歇喷雾 (30 min 循环周期, 每

次 1 min) 及可控环境 $[(26\pm 1)^{\circ}\text{C}$, 12 h 光周期]培养 30 d 后的新生侧根(图 1), 将鲜样用无菌水冲洗干净, 滤纸轻压吸干表面水分, 用液氮速冻于冻存管中, 移至 -80°C 冰箱中备用。每个试验组 3 个生物学重复, 共 6 个样本, 分别为 DOS-1、DOS-2、DOS-3; DOA-1、DOA-2、DOA-3。



图 1 降香黄檀土培根 (A) 与气雾根 (B)
Fig. 1 *D. odorifera* soil-cultivated roots (A) and aeroponic roots (B)

1.2 方法

1.2.1 RNA 提取、文库构建与测序 用液氮研磨冻存的样品, 利用 Trizol 试剂盒提取样品中 RNA, 并对 RNA 的完整性、浓度、纯度进行检验和测定。选取质量合格的 RNA 样品送至广州基迪奥生物有限公司完成文库的构建与测序工作。

1.2.2 序列处理与分析 首先对原始序列进行过滤, 去除超过 10% 未知碱基序列与低质量碱基超过 50% 的序列^[16]。其次, 使用 Bowtie 2 工具对 clean data 进行 rRNA 比对, 将比对到的 rRNA 进行移除^[17]。最后, 使用 HISAT 2.2.4 工具将处理后的 clean data 与参考基因组进行比对, 保证数据质量^[18]。考虑到序列长度与测序深度的影响, 使用每千碱基转录本每百万映射片段数 (fragments per kilobase million, FPKM) 标准原始化基因的表达水平, 并进行主成分分析 (principal components analysis, PCA) 来展现样本之间的关系。

1.2.3 差异基因的筛选及富集分析 使用 DESeq 2 软件筛选组间差异基因, 筛选条件为 $\text{FDR} < 0.05$, $|\text{fold change}| \geq 1$ ^[19]。对差异基因进行 GO 和 KEGG 富集分析, 以 $q(P \text{ 的校正值}) \leq 0.05$ 为阈值, 筛选显著富集的 GO 条目和 KEGG 通路。

使用 GSEA (gene set enrichment analysis) 和 MSigDB 软件进行基因集富集分析^[20], 将各样本测得的基因表达量进行排序, 排序标准为 Signal2Noise。其次, 将目标 GO 条目或 KEGG 通路富集到基因与整理好的有序基因集进行对比并排名, 获得富集分数值 (enrichment score, ES)。对 ES 值进行归一化处理获得正常化富集评分值 (normalized enrichment score, NES)。最后, 对基因集进行 P 检验, 并对 NES 进行多重检验校正得 FDR。将 $|\text{NES}| > 1$, $\text{NOM } p\text{-val} < 0.05$, $\text{FDR } q\text{-val} < 0.25$ 的 GO 条目或 KEGG 通路定义为有意义的富集通路。

1.2.4 qRT-PCR 验证转录组数据 使用试剂盒 TRUEscript RT MasterMix (北京艾德莱生物科技有限公司)、 $2\times\text{SybrGreen qPCR Mix}$ (北京艾德莱生物科技有限公司) 对 5 个调控降香黄檀黄酮和 5 个调控倍半萜合成的关键差异基因进行 qRT-PCR 验证。使用 Primer 3 Input (v.0.4.0) 在线网站对验证基因进行引物设计, 并进行 PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis) 纯化, 引物合成由生工生物工程股份有限公司 (广州) 完成。

2 结果与分析

2.1 转录组测序数据质量分析

对降香黄檀土培根与气雾根样本进行转录组测序, 每一组设置 3 个生物学重复, 并对原始测序数据进行统计与质量评估。结果显示, 在本次测序所得 raw data 中, 带接头序列、低质量序列、带 polyA 序列和含氮比例大于 10% 的序列占比较低, 并且经过滤后各组样品中 clean data 与 raw data 的比值高于 99%, 表明测序质控良好、数据可靠, 可进行后续分析 (表 1)。参考基因组比对结果显示, 超过 94% clean data 被定位到参考基因组中, 且定位区域在外显子 (表 2)。

2.2 样本关系分析

基于 FPKM 对各样本基因表达情况进行比较分析, 根据各样本基因的表达量进行 PCA 分析和相关性热图分析, PCA 分析结果显示, DOS-1、DOS-2、DOS-3、DOA-1、DOA-2、DOA-3 按照试验分组聚为 2 簇, 试验组间差异较大。相关性热图分析结果显示, 各样本的皮尔斯相关系数均大于 0.8, 即试验组内样本相关性强, 生物学重复性良好 (图 2)。

表 1 原始序列过滤统计
Tab. 1 Filtering statistics of original sequences

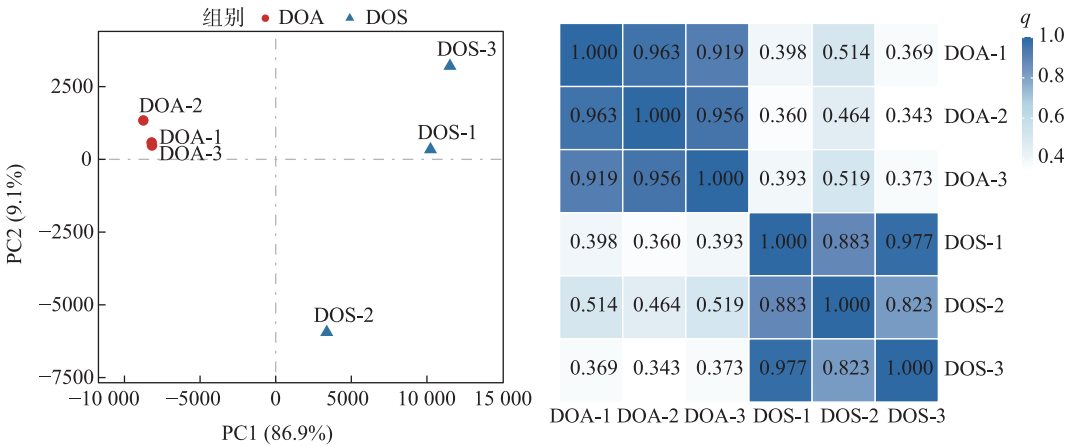
样本 Sample	原始读段 Raw reads	高质量读段（百分比） Clean reads (Percentage/%)	接头（百分比） Adapter (Percentage/%)	低质量读段（百分比） Low quality reads (Percentage/%)	A 末尾（百分比） polyA (Percentage/%)	N（百分比） N (Percentage/%)
DOS-1	38 908 650	38 652 162 (99.34)	17 520 (0.05)	227 704 (0.59)	0 (0)	11 264 (0.03)
DOS-2	369 39 448	36 676 170 (99.29)	20 734 (0.06)	231 922 (0.63)	0 (0)	10 622 (0.03)
DOS-3	41 190 984	40 933 736 (99.38)	18 944 (0.05)	226 874 (0.55)	0 (0)	11 430 (0.03)
DOA-1	42 016 722	41 769 530 (99.41)	17 858 (0.04)	216 664 (0.52)	0 (0)	12 670 (0.03)
DOA-2	40 995 504	40 756 918 (99.42)	17 782 (0.04)	208 722 (0.51)	0 (0)	12 082 (0.03)
DOA-3	42 721 794	42 448 286 (99.36)	20 420 (0.05)	240 778 (0.56)	0 (0)	12 310 (0.03)

注：括号中的占比指该项占原始读段的百分比。
Note: The percentage value in parentheses refers to the item's percentage of the original reads.

表 2 降香黄檀土培根和气雾根的基因组序列比对
Tab. 2 Genome sequence alignment of *D. odorifera* soil-cultivated roots and aeroponic roots

样本 Sample	总读段数 Total reads	不匹配读段数（百分比） Unmapped reads (Percentage/%)	单独匹配读段数（百分比） Unique_mapped reads (Percentage/%)	多重匹配读段数（百分比） Multiple_mapped reads (Percentage/%)	总匹配读段数（百分比） Total_mapped reads (Percentage/%)
DOS-1	38 651 712	2 039 248 (5.28)	35 211 517 (91.10)	1 400 947 (3.62)	36 612 464 (94.72)
DOS-2	36 675 840	1 884 585 (5.14)	33 537 707 (91.44)	1 253 548 (3.42)	34 791 255 (94.86)
DOS-3	40 933 408	2 239 057 (5.47)	37 166 621 (90.80)	1 527 730 (3.73)	38 694 351 (94.53)
DOA-1	41 768 864	1 714 517 (4.10)	38 489 898 (92.15)	1 564 449 (3.75)	40 054 347 (95.90)
DOA-2	40 756 580	1 661 343 (4.08)	37 499 866 (92.01)	1 595 371 (3.91)	39 095 237 (95.92)
DOA-3	42 448 034	1 959 460 (4.62)	38 785 000 (91.37)	1 703 574 (4.01)	40 488 574 (95.38)

注：数值指利用 HISAT2 获得的能够有效的比对到 RNA Seq 测序数据中的 spliced reads；括号中的占比指该项占原始读段的百分比。
Note: The values refer to spliced reads obtained using HISAT2 that can be effectively align with RNA Seq sequencing data; The percentage value in parentheses refers to the item's percentage of the total reads.



左为样品 PCA 图，右为样品相关性热图。
Left figure is the PCA plot of the sample, right figure is the sample correlation heat map.

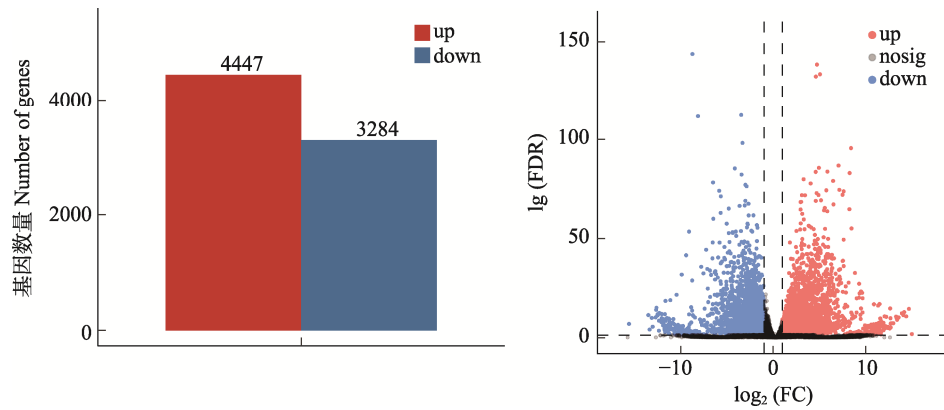
图 2 降香黄檀土培根与气雾根的本样关系图

Fig. 2 Sample relationship diagram of *D. odorifera* soil-cultivated roots and aeroponic roots

2.3 差异表达基因的筛选

筛选结果表明，DOS-VS-DOA 比较组中，共存在 32 925 个差异表达基因（differentially expressed genes, DEGs），以 $FDR < 0.05$ ， $|\log_2 FC| > 1$ 为筛选条件，其中具有显著性 DEGs 有 7731 个，

包括 4447 个显著上调 DEGs 和 3284 个显著下调 DEGs。为提高数据的可视化，对所有 DEGs 的 FDR 和差异倍数（fold change, FC）通过火山图来具体化（图 3）。结果显示，在降香黄檀气雾根的发育过程中，基因转录发生了较明显的变化。



左为 2 组间差异基因数目条形图, 右为 2 组间火山图。

The left is a bar chart of the number of differentially expressed genes between the two groups, the right is a volcano chart between the two groups.

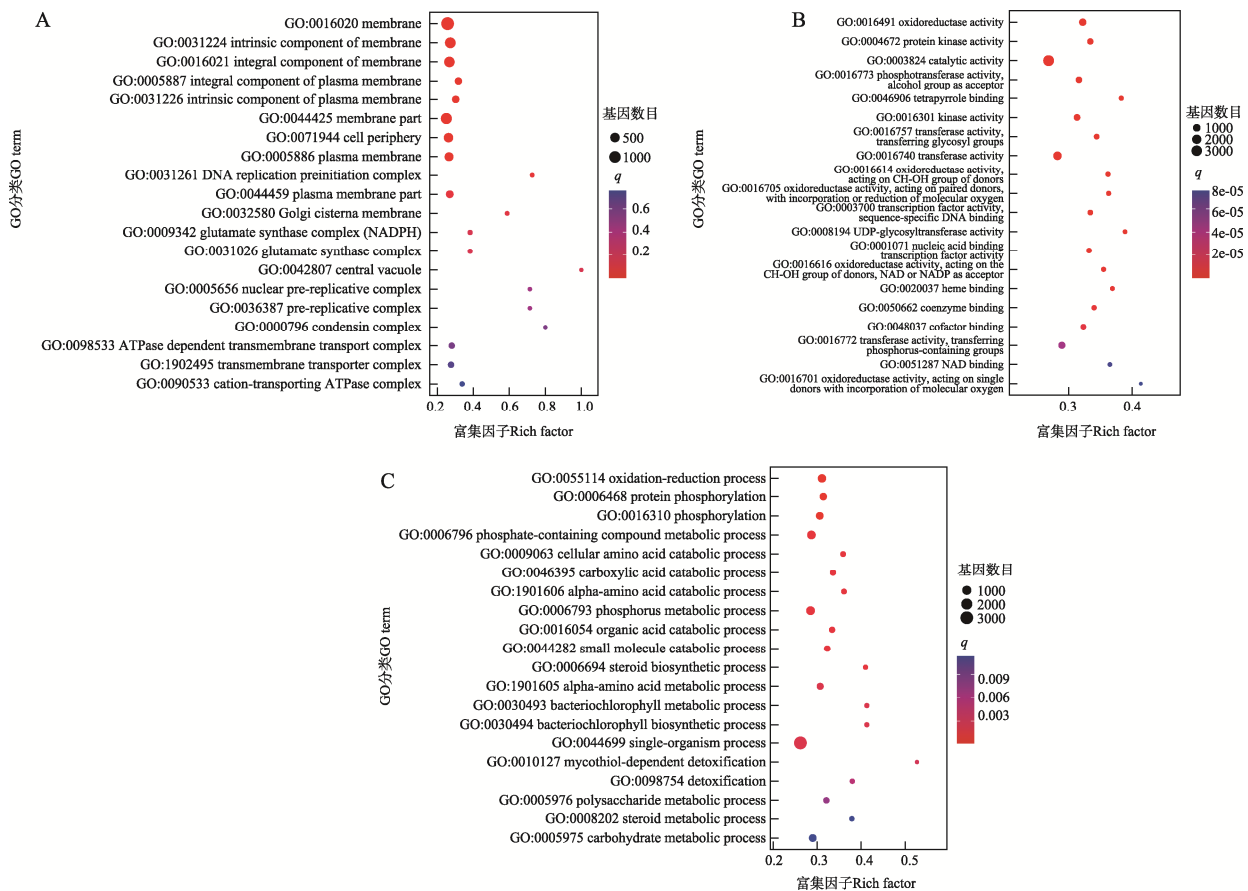
图 3 降香黄檀土培根与气雾根间差异基因分析

Fig. 3 Analysis of differential genes between *D. odorifera* soil-cultivated roots and aeroponic roots

2.4 差异表达基因功能注释和富集分析

2.4.1 GO 注释 为明确 DEGs 功能, 对降香黄檀 DOS 与 DOA 进行 GO 功能分析。结果显示, DOS-VS-DOA 共注释到 7371 个 GO 条目, 涉及的 DEGs 有 5042 个。其中, 生物过程 (biological

process, BP) 注释到的 GO 条目最多, 为 4589 个; 分子功能 (molecular function, MF) 次之, 为 1996 个; 细胞组分 (cellular component, CC) 注释到的数量最少, 为 787 个。对各本体中显著富集程度排名前 20 的 GO 条目进行分析 (图 4)。



A: 细胞组分; B: 分子功能; C: 生物过程。

A: Cellular components; B: Molecular functions; C: Biological processes.

图 4 差异基因 GO 富集分析 (前 20)

Fig. 4 GO enrichment analysis of DEGs (Top 20)

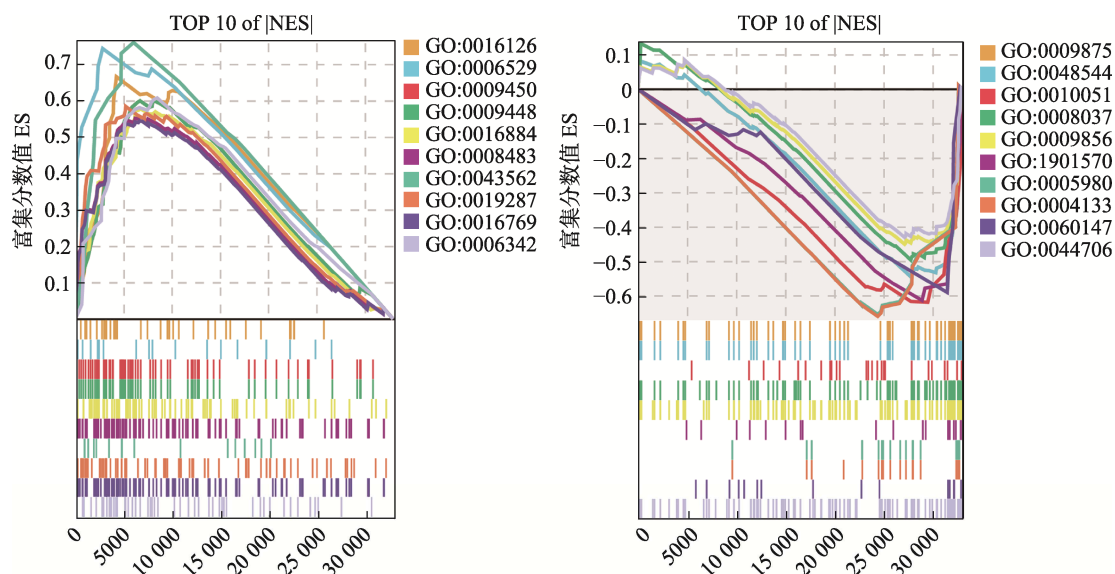
结果表明,在 MF 本体中,氧化还原酶活性 (GO:0016491)、蛋白激酶活性 (GO:0004672)、催化活性 (GO:0003824) 等条目的富集程度较高。在 CC 本体中,膜 (GO:0016020)、膜固有成分 (GO:0031224)、膜的组成部分 (GO:0016021) 等条目富集程度较高。在 BP 本体中,氧化还原过程 (GO:0055114)、蛋白磷酸化 (GO:0006468)、磷酸化 (GO:0016310) 等条目的富集程度较高。

2.4.2 GO 基因集富集分析 为了在 DOS-VS-DOA 中筛选到更多差异表达的 GO 条目,对其进行 GO 的基因集富集分析。结果发现,共得到 3468 个 GO 条目,其中具有显著意义的 GO 条目达 387 个。根据 ES 对有意义的 GO 条目进行分类,结果显示,在降香黄檀气雾根中显著富集的 GO 条目较多,有 362 个,其中 ES 较高的条目是甾醇生物合成过程 (GO:0016126)、天冬酰胺生物合成过程 (GO:0006529) 和 γ -氨基丁酸分解代谢过程 (GO:0009450)。而在降香黄檀土培根显著富集的 GO 条目较少,有 25 个,其中富集分数排名靠前的是花粉-雌蕊相互作用 (GO:0009875)、花粉识别 (GO:0048544) 和木质部韧皮部模式的形成 (GO:0010051) (图 5)。

2.4.3 KEGG 通路分析 为进一步了解降香黄檀土培根与气雾根之间的差异表达机制,对降香

黄檀 DOS 与 DOA 的 DEGs 进行 KEGG 富集分析。结果显示, DOS-VS-DOA 比较组共富集到 5 个 A 大类、19 个 B 大类,共 132 条 KEGG 通路,涉及到的 DEGs 有 1448 个。在 B 类 KEGG 通路中,碳代谢类、氨基酸代谢类、其他次生代谢物合成类、脂质代谢类和信号转导类通路富集到的差异基因较多 (图 6)。为了解 2 组不同培养体系下降香黄檀根系关键的 KEGG 通路以及调控基因,进一步对富集到的 KEGG 通路进行筛选。分析得到了 23 个显著富集的通路,其中富集前 20 的通路如图 6 所示。统计结果表明,其中黄酮和黄酮醇生物合成、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解、氰基氨基酸代谢、氨基糖和核苷酸代谢和植物病原相互作用等通路较为显著。这些代谢通路对于解析不同培养体系下降香黄檀根系关键 DEGs 提供重要参考。

2.4.4 KEGG 基因集富集分析 为了在 DOS-VS-DOA 比较组中筛选到更多有意义的差异通路,对 KEGG 通路进行 GSEA 分析。结果显示,2 个试验组中共富集到 118 个 KEGG 通路,其中有显著性意义的通路有 59 个。并且,在上述有显著性意义的通路中,降香黄檀气雾根显著富集 KEGG 条目较多,有 53 个。其中缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解 (KO00280)、嘧啶代谢 (KO00240)、核糖体 (KO03010)、 β -丙氨酸代谢 (KO00410) 等



左图上调条目,右图下调条目;上调代表在降香黄檀气雾根中高表达,下调代表在降香黄檀土培根中高表达。
Left figure is up-regulated items, right figure is down-regulated items; Up-regulation indicates high expression in the aeroponic roots of *D. odorifera*, down-regulation indicates high expression in the soil-cultivated roots of *D. odorifera*.

图 5 GO 基因集富集分析

Fig. 5 Analysis of GO gene sets enrichment

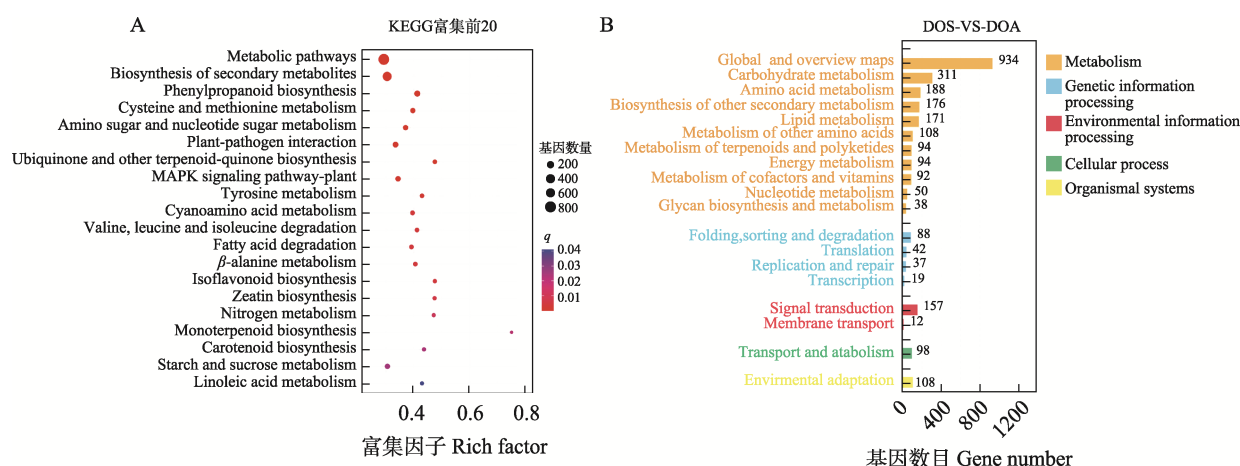


图 6 差异表达基因 KEGG 富集分析

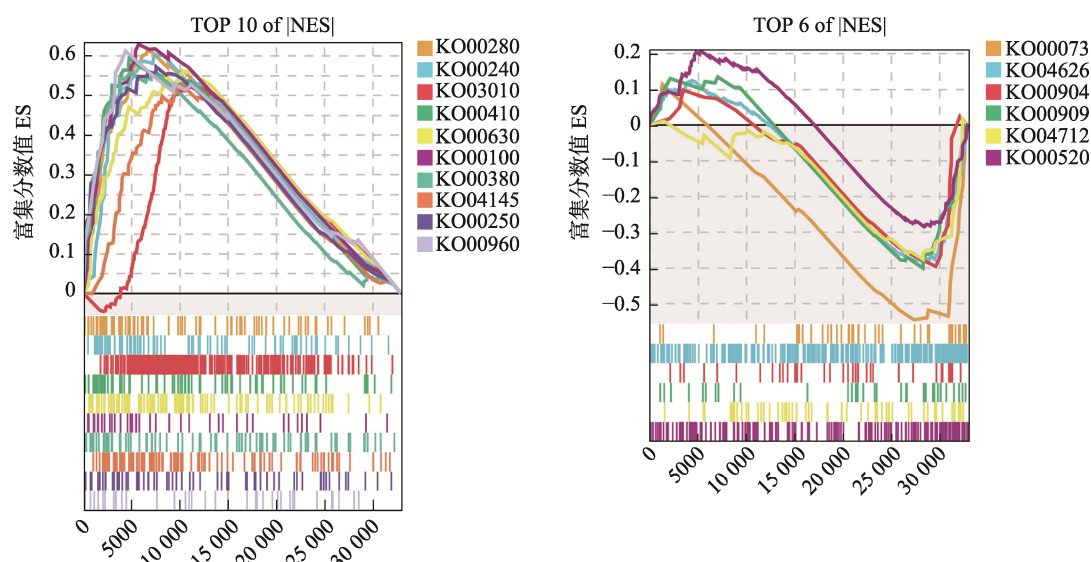
Fig. 6 KEGG enrichment analysis of DEGs

通路的 ES 较高。在降香黄檀土培根中显著富集的 KEGG 条目较少, 有 6 个。其中角质、木栓质和蜡质生物合成 (KO00073)、植物-病原相互作用 (KO04626)、二萜生物合成 (KO00904)、倍半萜类和三萜类生物合成 (KO00909) 等通路的 ES 较高 (图 7)。

2.5 降香黄檀根系苯丙烷类与黄酮类代谢通路分析

苯丙烷类与黄酮类代谢途径是植物中重要的次生代谢物途径之一, 也是降香黄檀中重要的活性成分。在本研究中, 通过 KEGG 分析, 在苯丙烷合成途径以及其下游黄酮生物合成途径中有 41

个基因发挥主要作用 (图 8)。包括查尔酮合酶 (*CHS*, 6 个)、柚皮素 3-双氧合酶 (*F3H*, 1 个)、黄酮醇合成酶 (*FLS*, 2 个)、反式肉桂酸 4-单加氧酶 (*CYP73A*, 2 个)、黄酮合酶 II (*CYP93B2-16*, 2 个)、黄碱素 3'-单加氧酶 (*CYP75B1*, 2 个)、异黄酮 7-O-葡萄糖苷-6'-O-丙二醛转移酶 (*IF7MAT*, 3 个)、黄酮醇-3-O-L-鼠李糖苷-7-O-葡萄糖基转移酶 (*UGT73C6*, 1 个)、黄酮醇-3-O-葡萄糖苷葡萄糖基转移酶 (*FG3*, 3 个)、黄酮醇-3-O-葡萄糖苷 L-鼠李糖基转移酶 (*FG2*, 1 个)、4-香豆酸辅酶 A 连接酶 (*4CL*, 7 个)、莽草酸 O-羟基肉桂酰转移酶 (*HCT*, 6 个)。



左图为上调条目, 右图为下调条目; 上调代表在降香黄檀气雾根中高表达, 下调代表在降香黄檀土培根高表达。
Left figure shows the up-regulated items, right figure shows the down-regulated items; Up-regulation indicates high expression in the aeroponic roots of *D. odorifera*, down-regulation indicates high expression in the soil-cultivated roots of *D. odorifera*.

图 7 KEGG 基因集富集分析

Fig. 7 Analysis of KEGG gene sets enrichment

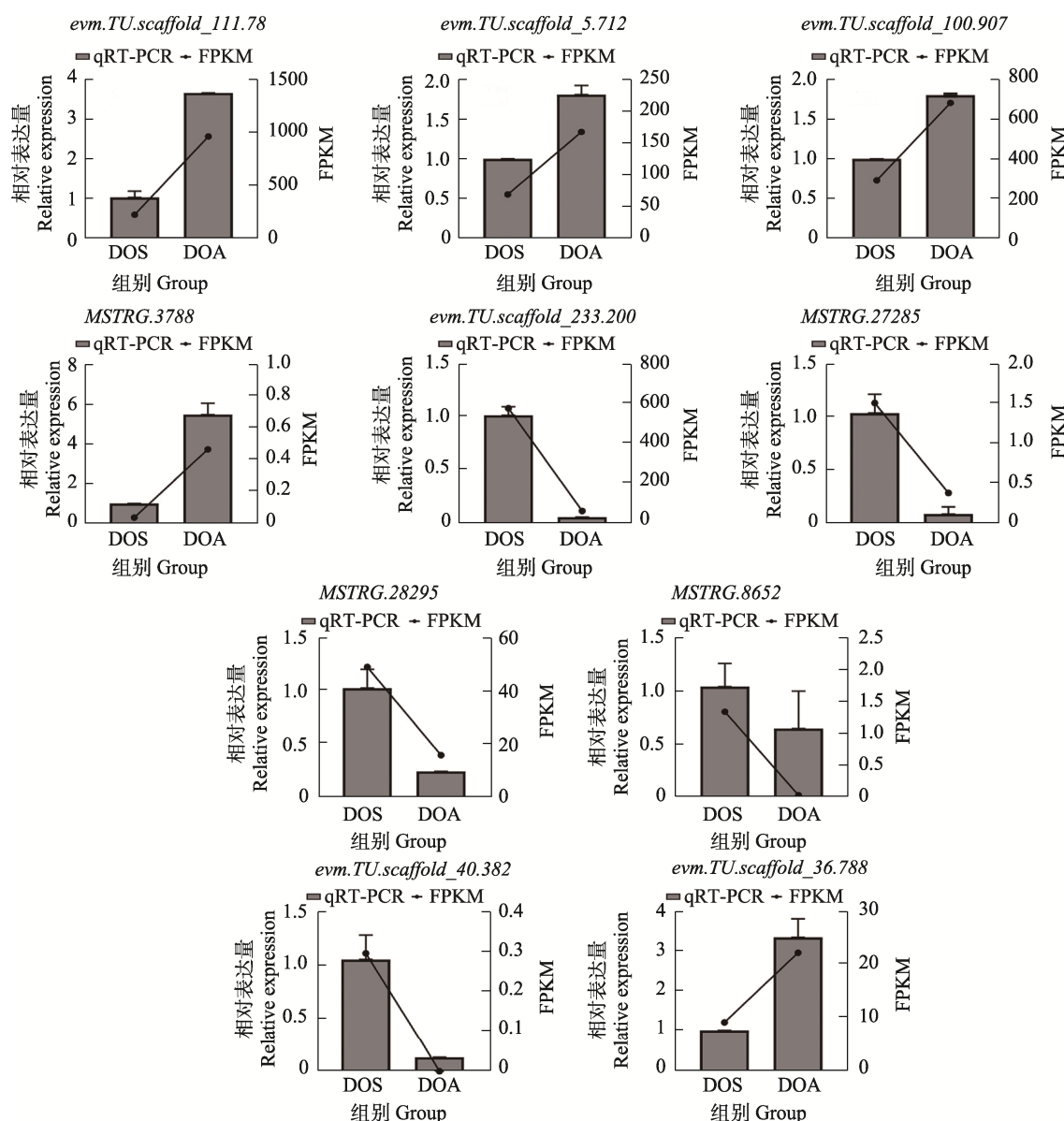


图 9 降香黄檀土培根与气雾根差异基因 qRT-PCR 验证

Fig. 9 qRT-PCR validation of differential genes between *D. odorifera* soil-cultivated roots and aeroponic roots

自然野生数量少、生长周期长，加之过渡砍伐与买卖，使得该物种的合理利用与开发受到阻碍。本研究首次将气雾栽培技术应用于降香黄檀幼苗根系栽培上，使其在短时间内获得大量优质气雾根，通过比较降香黄檀土培根与气雾根的转录组差异，筛选出调控降香黄檀根系生长及次生代谢物合成的关键候选基因和相关通路，为降香黄檀合理利用开发提供新思路与方向。

在 DOS-VS-DOA 中共筛选出 7731 个显著 DEGs (4447 个上调, 3284 个下调, 上/下调表示 DOA 相对于 DOS 上/下调)。这些 DEGs 可能在降香黄檀根系生长和次生代谢调控中起到关键调控作用。进一步对 DEGs 进行 GO 注释、KEGG 富

集分析。GO 注释分析结果显示，在生物过程方面，2 种样本的差异主要与物质代谢相关，其中 α -氨基酸的分解代谢与蛋白质的磷酸化过程最为关键；在细胞组分方面，2 种样本的差异主要与生物膜相关，其中质膜整体部分的构建最为关键；在分子功能方面，2 种样本的差异主要集中在氧化还原活性方面。值得注意的是，木质部和韧皮部模式的形成 (GO:0010051) 条目在土培根中显著富集，这与降香黄檀土培根木质化程度高的表型相对应。

KEGG 通路富集分析表明其差异主要集中在氨基酸代谢、次生代谢产物合成、防御信号转导三大方面。氨基酸代谢方面，降香黄檀气雾根的

表达水平更高, 初级生命活动相较于降香黄檀土培根更为旺盛。次生代谢物合成方面, 土培根在二萜生物合成与倍半萜类和三萜类生物合成通路中高表达, 而气雾根在泛醌和其他萜类醌生物、黄酮和黄酮醇生物合成通路中高表达。防御信号转导方面, 植物病原相互作用通路差异基因在降香黄檀土培根中具有较高的表达量。研究结果表明降香黄檀土培根相较于气雾根而言, 在生长过程中面临着更多病原微生物刺激等不利因素的影响。

在苯丙烷类与黄酮类代谢途径中, *evm.TU.scaffold_35.226* (上调) 被注释为柚皮素 3-双氧合酶, 该基因是调控黄酮醇合成的关键基因^[21], 在烟草中过表达黄酮醇合酶 (*AcFLS HRB*) 会促进幼苗根的生长, 并且外源添加芦丁可以起到同样的促生长作用^[22]。提示该基因可能通过积累黄酮代谢物正向调控其气雾根的发育。而在倍半萜与三萜类生物合成通路中共富集到 5 个关于调控倍半萜合酶的基因, *evm.TU.scaffold_36.788* (上调) 被注释为 NAD^+ 依赖性法尼醇脱氢酶 (*FLDH*), 直接参与金合欢醛的合成。研究结果显示, 金合欢醛有助于增强未成熟金星品种的油桃组织抗褐化的抵抗力^[23]。推测该基因可能通过调控金合欢醛的合成来提高植物组织抗褐化的能力, 从而在降香黄檀气雾根的生长发育过程中起到正向调控作用。其中 *MSTRG.8652* (下调) 被注释为 (3S,6E)-橙花叔醇合酶 (*NESI*), 其直接参与橙花叔醇的合成。相较于降香黄檀气雾根而言, 土培根在倍半萜类物质积累方面优于气雾根。有研究指出, 随着依兰花的生长与逐渐盛开, 其中大根香叶烯的含量在逐渐升高, 表明随着植物的生长发育, 该调控基因表达趋势会逐渐上升^[24], 降香黄檀气雾根培育周期短, 代谢物处于初步积累阶段, 而土培根生长培育周期较长其调控大根香叶烯合成的酶基因上调表达明显, 这也与研究结果一致。

4 结论

本研究通过对降香黄檀土培根与气雾根进行转录组测序比较分析, 从转录组层面揭示了降香黄檀土培根与气雾根的差异表达, 并挖掘出与黄酮代谢相关的关键候选基因 *evm.TU.scaffold_100.907*、*MSTRG.3788*、*evm.TU.scaffold_233.200*、*evm.TU.scaffold_111.78*、*evm.TU.scaffold_5.712*, 与倍半萜合成相关的基因 *evm.TU.scaffold_36.*

788、*MSTRG.8652*、*evm.TU.scaffold_40.382*、*MSTRG.27285* 和 *MSTRG.28295* 是影响降香黄檀根系中次生代谢物积累的关键候选基因。这些发现不仅为深入解析降香黄檀根部活性成分积累的分子机制奠定重要基础, 也为促进降香黄檀新资源开发积累数据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia (4 eds.)[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020. (in Chinese)
- [2] 黎国运, 张孟文, 陈飞飞, 黄川腾, 董晓娜, 陈琳, 林玲. 降香黄檀人工促心材形成及其化学成分研究进展[J]. 分子植物育种, 2024, 22(6): 1-17.
LI G Y, ZHANG M W, CHEN F F, HUANG C T, DONG X N, CHEN L, LIN L. A review on artificially induced heartwood formation and its chemical composition in *Dalbergia odorifera*[J]. Molecular Plant Breeding, 2024, 22(6): 1-17. (in Chinese)
- [3] 温馨, 耿鑫, 张赛, 李国琼, 孟慧, 张争. 降香黄檀心材形成研究进展[J]. 现代农业科技, 2024, 20(22): 73-78.
WEN X, GENG X, ZHANG S, LI G Q, MENG H, ZHANG Z. Research progress on heartwood formation of *Dalbergia odorifera*[J]. Modern Agriculture Science and Technology, 2024, 20(22): 73-78. (in Chinese)
- [4] 杨志宏, 梅超, 何雪辉, 孙晓波. 降香化学成分、药理作用及药代特征的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(11): 1679-1683.
YANG Z H, MEI C, HE X H, SUN X B. Advance in studies on chemical constitutions, pharmacological mechanism and pharmacokinetic profile of *Dalbergiae odoriferae* Lignum[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2013, 38(11): 1679-1683. (in Chinese)
- [5] 温馨. 降香黄檀心材倍半萜类化合物形成机制的初步解析[D]. 北京: 北京协和医学院, 2024.
WEN X. Preliminary analysis on the biosynthesis mechanism of sesquiterpenoids in *Dalbergia odorifera* heartwood[D]. Beijing: Peking Union Medical College Hospital, 2024. (in Chinese)
- [6] 王鑫, 高原, 王金鹤, 董芷嘉, 邹翔. 降香黄檀的主要成分及药理活性研究进展[J]. 特产研究, 2023, 45(6): 143-150.
WANG X, GAO Y, WANG J H, DONG Z J, ZOU X. Research progress on main components and pharmacological activities of *Dalbergia odorifera*[J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 2023, 45(6): 143-150. (in Chi-

- nese)
- [7] 凌敏. 气雾栽培条件对传统中药车前草品质的影响[D]. 广州: 广州中医药大学, 2015.
LING M. Effect of aeroponics on the growth, yield and quality of *Plantago asiatica*[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2015. (in Chinese)
 - [8] ZHAO J Y, HUANG Q Y, LI J X, ZHUANG T T, ZHAN R T, MA X Y. Development of an aeroponic system for the rare tree species *Phoebe zhennan*: aeroponic root production and resource assessment[J]. Industrial Crops and Products, 2025(232): 121318
 - [9] 杨建美, 袁瑞雪, 冶艳. 药用植物资源多样性研究进展[J]. 园艺与种苗, 2022, 42(11): 51-53.
YANG J M, YUAN R X, YE Y. Research progress of medicinal plant resource diversity[J]. Horticulture and Seed, 2022, 42(11): 51-53. (in Chinese)
 - [10] 豆静, 封明军, 雷富臣, 王新建, 金强, 王江波. 气雾培在植物栽培中的应用研究进展[J]. 现代农业科技, 2021, 17(5): 13-17.
DOU J, FENG M J, LEI F C, WANG X J, JIN Q, WANG J B. Research progress on application of aerosol culture in plant cultivation[J]. Modern Agriculture Science and Technology, 2021, 17(5): 13-17. (in Chinese)
 - [11] 张改君, 苗静, 郭丽颖, 贾建伟, 崔换天. 多组学联用在中药作用机制研究中的应用[J]. 中草药, 2021, 52(10): 3112-3120.
ZHANG G J, MIAO J, GUO L Y, JIA J W, CUI H T. Application of multi-omics combination in mechanism studies of traditional Chinese medicine[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(10): 3112-3120. (in Chinese)
 - [12] 刘雪洁, 秦雪莲, 李文月, 詹若挺, 马新业. 具胁迫“记忆”特征的白木香离体根的转录组分析[J]. 分子植物育种, 2023, 21(22): 1-19.
LIU X J, QIN X L, LI W Y, ZHAN R T, MA X Y. Transcriptomic analysis of *Aquilaria sinensis* vitro root with stress memory characteristic[J]. Molecular Plant Breeding, 2023, 21(22): 1-19. (in Chinese)
 - [13] 赵硕, 王玲玲, 李嘉楠, 陈晨, 周国英. 不同生长年限唐古特大黄根转录组学分析及蒽醌类生物合成基因挖掘[J]. 中药材, 2024, 47(4): 851-856.
ZHAO S, WANG L L, LI J N, CHEN C, ZHOU G Y. Transcriptomic analysis and anthraquinone biosynthesis gene mining of *Rheum tanguticum* with different growth years[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2024, 47(4): 851-856. (in Chinese)
 - [14] 王祥, 王育朋, 安佳, 王七龙, 井亚江, 黄建萍, 张岗, 彭亮, 颜永刚. 不同生长年限蒙古黄芪转录组学分析及三萜皂苷合成关键基因挖掘[J]. 中草药, 2023, 54(3): 915-925.
WANG X, WANG Y P, AN J, WANG Q L, JING Y J, HUANG J P, ZHANG G, PENG L, YAN Y G. Transcriptomic analysis of *Astragalus mongolicum* from different years and mining of key genes for synthesis of active components[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2023, 54(3): 915-925. (in Chinese)
 - [15] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 40 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1994.
Editorial Committee of the Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of China: volume 40[M]. Beijing: Science Press, 1994. (in Chinese)
 - [16] CHEN S F, ZHOU Y Q, CHEN Y R, GU J. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. Bioinformatics, 2018, 34(17): 884-890.
 - [17] LANGMEAD B, SALZBERG S L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2[J]. Nature Methods, 2012, 9(4): 357-359.
 - [18] KIM D, BEN L, SALZBERG S L. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements[J]. Nature Methods, 2012, 12(4): 357.
 - [19] LOVE M I, HUBER W, ANDERS S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. Genome Biology, 2014, 15(12): 550.
 - [20] SUBRAMANIAN A, TAMAYO P, MOOTHA V K, MUKHERJEE S, EBERT A L, GILLETTE M A, PAULOVICH A, POMEROY S L, GOLUB T R, LANDER E S, MESIROV J P. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(43): 15545-15550.
 - [21] DAI M J, KANG X R, WANG Y Q, HUANG S, GUO Y, WANG R F, CHAO N, LIU L. Functional characterization of flavanone 3-hydroxylase (F3H) and its role in anthocyanin and flavonoid biosynthesis in mulberry[J]. Molecules, 2022, 27(10): 3341.
 - [22] PARK S, KIM D H, YANG J H, LEE J Y, LIM S H. Increased flavonol levels in tobacco expressing AcFLS affect flower color and root growth[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(3): 1011.
 - [23] BALSELLS L M, VALL L N, USALL J, SILVA C J, BLANCO U B, TEIXIDÓ N, CABALLOL M, TORRES R. Transcriptional profiling of the terpenoid biosynthesis pathway and in vitro tests reveal putative roles of linalool and farnesal in nectarine resistance against brown rot[J]. Plant Science, 2023, 327(2): 111558.
 - [24] 滕雪雯. 依兰种质资源挥发性成分鉴定及优异种质的转录组比较分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2024.
TENG X W. Identification of volatile components of *Cananga odorata* germplasm resources and comparative transcriptome analysis of superior germplasm[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2024. (in Chinese)