网络出版时间:2026-01-09 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.07.017

唐古特大黄不同外植体诱导愈伤组织的基因差异表达分析

于雯静[1],杨雪[1],章英才[1],高丽凡[1],王玲霞[1,2],梁文裕[1,2]
(1 宁夏大学 生命科学学院,宁夏 银川 750021;2 林木资源高效生产全国重点实验室,宁夏 银川 750021)

[摘 要] 【目的】探究唐古特大黄不同外植体诱导愈伤组织分化发育的基因差异表达规律,为优化唐古特大黄组织培养体系和分子育种奠定基础。【方法】以唐古特大黄叶片、叶柄及下胚轴为外植体,分别在相同培养基及培养条件下诱导其愈伤组织,并对不同来源愈伤组织进行转录组测序及基因差异表达分析。【结果】在相同培养基及培养条件下,唐古特大黄不同外植体均能诱导形成愈伤组织,诱导率为100%,且不同外植体诱导愈伤组织的生长速度为叶片>叶柄>下胚轴。但叶片和叶柄诱导的愈伤组织均无法继续分化出不定芽;只有下胚轴诱导的愈伤组织能进一步分化出不定芽,且诱导率为100%。唐古特大黄不同外植体诱导的愈伤组织在基因表达上存在显著差异,与叶柄诱导的愈伤组织相比,叶片诱导的愈伤组织有8 970个差异表达基因;与下胚轴诱导的愈伤组织相比,叶片诱导的愈伤组织有11 956个差异表达基因,叶柄诱导的愈伤组织有7 366个差异表达基因。GO功能富集分析和KEGG通路富集结果表明,差异表达基因主要显著富集在植物激素信号转导、苯丙烷生物合成及氨基酸代谢等代谢通路中。此外,在唐古特大黄不同外植体诱导的愈伤组织中共鉴定到6 681个基因参与编码57个转录因子家族。RT-qPCR结果表明,*PYL*4、*EIN*4、*IAA*26等基因的表达趋势与转录组学测序结果一致。【结论】细胞分裂、脱分化与再分化、细胞壁修饰、激素代谢及转录因子相关基因的差异表达对唐古特大黄愈伤组织的分化具有重要影响。

[关键词] 唐古特大黄;愈伤组织;组织培养;组织分化;基因差异表达
[中图分类号] Q943.1 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)07-0159-11

Differential gene expression analysis of callus induced from different explants of *Rheum tanguticum*

YU Wenjing[1], YANG Xue[1], ZHANG Yingcai[1], GAO Lifan[1], WANG Lingxia[1,2], LIANG Wenyu[1,2]
(1 *College of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia* 750021, *China*;
2 *National Key Laboratory of Efficient Production of Forest Resources, Yinchuan, Ningxia* 750021, *China*)

Abstract: 【Objective】 The study aims to explore the differential gene expression patterns during the differentiation and development of callus induced from different explants of *Rheum tanguticum*, and to lay a foundation for optimizing its tissue culture system and molecular breeding. 【Method】 Taking leaves, petioles and hypocotyls of *R. tanguticum* as explants, callus was induced on identical culture medium and under the same conditions. Subsequently, transcriptome sequencing and differential gene expression analysis were conducted on callus derived from each explant type. 【Result】 Under the same culture conditions, different explants of *R. tanguticum* could induce the formation of callus, with an induction rate of 100%. The callus derived from leaves exhibited

[收稿日期] 2025-06-09 [修回日期] 2025-10-15
[基金项目] 宁夏回族自治区重点研发计划项目(2024BEG02037)
[作者简介] 于雯静(1999—),女,宁夏银川人,在读硕士,主要从事植物资源保护与利用研究。E-mail:15709581705@163.com
[通信作者] 梁文裕(1969—),男,宁夏中卫人,教授,博士,主要从事植物资源保护与利用研究。E-mail:liang_wy@nxu.edu.cn

the highest growth rate, followed by that from petioles and then hypocotyls. However, the callus induced by leaves and petioles couldn't continue to differentiate into adventitious buds, only the callus induced by hypocotyls could further differentiate into adventitious buds, with an induction rate of 100%. There were significant differences in gene expression among callus induced from different explants of *R. tanguticum*. Compared with the callus induced by petioles, the callus induced by leaves had 8 970 differentially expressed genes. Compared with the callus induced by hypocotyls, the callus induced by leaves had 11 956 differentially expressed genes, and the callus induced by petioles had 7 366 differentially expressed genes. The GO functional enrichment analysis and KEGG pathway enrichment results showed that differentially expressed genes were significantly enriched in metabolic pathways including plant hormone signal transduction, phenylpropanoid biosynthesis, and amino acid metabolism. In addition, a total of 6 681 genes were identified to encode 57 transcription factor families in callus induced from different explants of *R. tanguticum*. The RT-qPCR analysis revealed that the expression patterns of genes including *PYL*4, *EIN*4 and *IAA*26 aligned with the transcriptome sequencing results.【Conclusion】Cell division, dedifferentiation and redifferentiation, cell wall modification, hormone metabolism and the differential expression of genes related to transcription factors have significant influences on the differentiation of *R. tanguticum* callus.

Key words: *Rheum tanguticum*; callus; tissue culture; tissue differentiation; differential gene expression

唐古特大黄(*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf.)又名鸡爪大黄,是蓼科(Polygonaceae)大黄属(*Rheum*)多年生药用草本植物[1]。其根含有蒽醌类、吡喃酮类和鞣质类等多种化学成分[2],具有泻下攻积、清热泻火、逐淤通经和抗菌、抗病毒、抗肿瘤、保肝利肾等功效[3]。因此,唐古特大黄干燥的根及根茎被《中华人民共和国药典(2020年版)》规定为药材大黄的三大法定正品基原之一[4]。近年来,由于生态环境变化及过度采挖等因素,唐古特大黄的自然资源急剧下降,已被列为《世界自然保护联盟红色名录》易危等级[5]。因此,唐古特大黄的资源保护及人工繁育工作对于其种群恢复及高效生产具有重要意义。

组织培养技术不仅广泛应用于农业和园艺,还在药用植物方面备受重视,对珍稀濒危药用植物的资源保护、离体快繁及可持续发展起到重要作用[6]。宁夏特色药用植物资源保护与开发利用实验室前期已对唐古特大黄组织培养和植株再生进行了研究,发现不同外植体诱导的愈伤组织进一步分化发育的潜能存在差异[7]。然而不同外植体来源愈伤组织分化能力差异的基因表达调控机制尚不清楚。此外,已有研究表明,通过高通量转录组测序技术可以分析不同植物样本的代谢通路差异,从而达到挖掘功能基因的目的[8-9]。目前对唐古特大黄的研究多数集中在其化学成分、药理活性、根部土壤微生物及其药用部位中蒽醌类物质生物合成机制等方面[10-13],而有关唐古特大黄愈伤组织分化的分子机制研究尚未见报道。因此,本研究采用转录组学技术,对唐古特大黄叶片、叶柄及下胚轴诱导的愈伤组织进行基因差异表达分析,解析其愈伤组织生长发育的关键代谢通路及差异基因的表达规律,这不仅对揭示唐古特大黄不同外植体来源愈伤组织诱导和分化的分子调控机制具有积极的促进作用,而且有助于优化唐古特大黄组织培养及植株再生体系,对唐古特大黄的种质资源保护及人工繁育工作具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

野生唐古特大黄种子采自宁夏回族自治区固原市六盘山地区(35°41′35.41″ N,106°11′31.06″ E)。按照杨雪等[7]的方法,采用MS无激素固体培养基进行种子接种以获取无菌实生苗,选取长势健康的无菌实生苗作为外植体进行后续试验。采用MS+1.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+0.2 mg/L TDZ为基础培养基对唐古特大黄叶片、叶柄及下胚轴进行愈伤组织诱导。以MS+3.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA+0.5 mg/L KT为基础培养基对获得的唐古特大黄叶片、叶柄及下胚轴来源的愈伤组织进行不定芽诱导。所有培养基均加入30 g/L蔗糖及7.0 g/L琼脂,并调节pH至5.8。在温度(25±1)℃,光照强度2 000~3 000 lx,光周期12 h/d的条件下进行培养。培养60 d后收集由叶片、叶柄及下胚轴诱导形成的绿色愈伤组织,分别编号为A、B和C。

液氮冷冻后置于－80 ℃冰箱中保存备用。

1.2　唐古特大黄愈伤组织 RNA 提取、检测及 cDNA 文库构建

使用 TRIzol™Plus RNA 纯化试剂盒（Invitrogen Life Technologies）提取并分离唐古特大黄叶片、叶柄及下胚轴愈伤组织总 RNA，再使用 NanoDrop 分光光度计（Thermo Scientific）测定其浓度、质量，随后用 TruSeq RNA 样品制备试剂盒（Illumina，美国加州圣地亚哥）构建 cDNA 文库。

1.3　测序及原始数据处理

经 Agilent 2100 Bioanalyzer 质检通过后，在 NovaSeqXplus 平台（Illumina）上进行测序，并使用 Fastp 软件进行过滤，以获得高质量序列（clean reads）。随后使用 Trinity 软件进行组装，生成转录本序列用于后续分析。

1.4　基因功能注释

利用 NR、GO、KEGG、eggNOG、Swiss-Prot 及 Pfam 等数据库对 Unigene 进行基因功能注释。使用 RSEM（v2.15）统计每个基因的 read count 值作为基因的原始表达量，并对表达量进行标准化处理。

1.5　差异表达基因筛选及富集分析

使用 DESeq 软件对基因表达进行差异分析，以 $|\log_2FC|>1$ 且 $P<0.05$ 为标准筛选差异表达基因（DEGs）。利用 GO、KEGG 数据库对 DEGs 进行功能及通路富集分析。

1.6　转录因子预测及分析

将测序得到的转录本与 Plant TFDB 数据库进行比对，预测转录因子及其所属的家族信息，对预测为转录因子的 DEGs 进行统计分析。

1.7　实时荧光定量 PCR（RT-qPCR）

根据测序结果，使用 Premier 5.0 设计目的基因引物，详见表 1。以 18S *rRNA* 为内参基因，使用 Roche Light Cycler480 型定量 PCR 仪进行 RT-qPCR 扩增。反应程序为：95 ℃预变性 10 min；95 ℃变性 30 s，60 ℃反应 1 min，循环 41 次。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法[14]分析目的基因表达量。

表 1　实时荧光定量 PCR 扩增引物信息

Table1　Real-time quantitative PCR amplification primer information

基因名称 Gene name	引物序列（5′→3′）Primer sequence（5′→3′）	基因名称 Gene name	引物序列（5′→3′）Primer sequence（5′→3′）
18S *rRNA*	F：TAGTCCCGTTGCTCTGATGAT	*CYP73A19*	F：TTAACCGTTTGGTGTTGGGAGGAG
	R：TGGATGTGGTAGCCGTTTCT		R：GCCTTTCTCCGCCGTATCAATCC
COMT	F：AACCACAGCGTCCAAAGCCTTC	*CCR1*	F：AAGGTTATTCCGTCAAGG
	R：ACTCCTGCTTGGTCCTCTCCTTC		R：AGGCACTCATAATCAAGAA
PYL4	F：TTCGTTCCTCCTGCCAAATTCTCG	*GID1B*	F：CTGTAGTTCACCGACACCACCAC
	R：ATCGGACGGTGGTGGTGGAG		R：TCACCCACTCCTCCGCCAAC
ARF5	F：AACGCCCAGAACGGAGTTTGAC	*PAL*	F：GATTCCGGCGTTCAGAAATCTGC
	R：CAGACGACGCCAATACGCAGAG		R：AAATCACGGGTGACTGGTTGAGG
EIN4	F：TTGACCTTGTTCCCTCTCCTCCTC	*BGLU24*	F：GCTGCCATTCTTGTAATCC
	R：CCCACTTCTTGACCCAACTCCAAC		R：TCCTTGCTGGACAACTTC
IAA26	F：GGGTGGTTGCCCTCCAAATGC		
	R：GCTGCTGGCTGTGATCTTCTTCC		

1.8　数据统计与分析

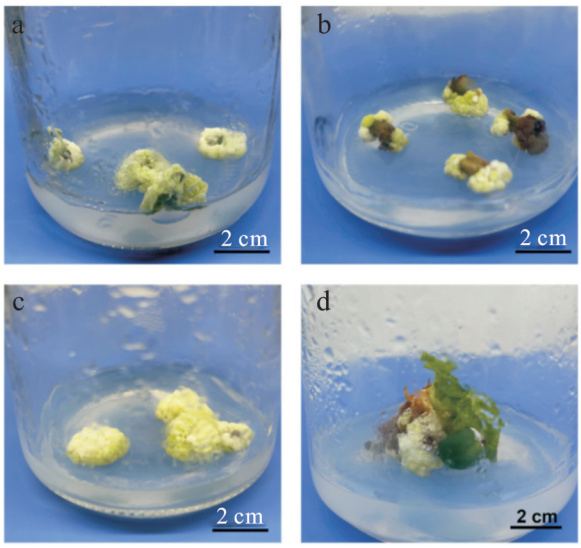
所有试验均设置 3 个生物学重复，使用 IBM SPSS Statistics 27、Graphpad Prism 8 进行方差分析、差异显著性分析及绘图。

2　结果与分析

2.1　唐古特大黄不同外植体诱导愈伤组织的形态及不定芽分化

采用相同培养基和培养条件对唐古特大黄叶片、叶柄和下胚轴进行愈伤组织诱导，结果（图 1）表明，唐古特大黄叶片、叶柄和下胚轴均可产生愈伤组织，诱导率为 100%，且不同外植体诱导愈伤组织的生长速度为叶片＞叶柄＞下胚轴。唐古特大黄叶片诱导的愈伤组织较为紧密，呈淡绿色，质地清澈（图 1-a）；唐古特大黄叶柄诱导的愈伤组织也较为紧密，呈淡绿色，但出现局部褐化现象（图 1-b）；唐古特大黄下胚轴诱导的愈伤组织则较为松散，呈淡黄色，且部分愈伤组织可直接分化出不定芽（图

1-c)。对不同外植体来源的愈伤组织进一步进行不定芽诱导,发现唐古特大黄叶片和叶柄诱导的愈伤组织均无法继续分化出不定芽,但下胚轴诱导的愈伤组织则可以进一步分化出长势旺盛的不定芽,且诱导率达 100 %(图 1-d)。



a. 培养 60 d 的叶片愈伤组织;b. 培养 60 d 的叶柄愈伤组织;c. 培养 60 d 的下胚轴愈伤组织;d. 下胚轴愈伤组织诱导不定芽培养 20 d。

a. Leaf-derived callus after 60 days of culture;b. Petiole-derived callus after 60 days of culture;c. Hypocotyl-derived callus after 60 days of culture;d. Adventitious buds induced from hypocotyl-derived callus after 20 days of culture.

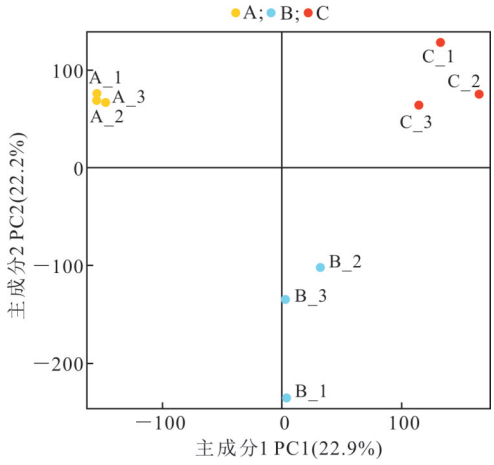
图 1 唐古特大黄不同外植体诱导愈伤组织的形态

Fig. 1 Morphology of callus induced from different explants of *Rheum tanguticum*

2.2 唐古特大黄愈伤组织转录组测序数据质量评估

对唐古特大黄叶片、叶柄及下胚轴诱导的愈伤组织进行转录组测序,共获得 94.56 Gb 的有效序列。结果表明,各样本碱基质量大于 30(Q30)的占比均高于 96.98%,GC 含量为 45.83%~47.30%。整体上,Unigene 数目及长度分布合理,组装完整性良好。将组装获得的 Unigene 在 NR、GO、KEGG、EggNOG、Pfam 及 Swissprot 数据库进行注释,发现分别注释到了 30 158,18 751,11 196,31 270,14 774 和 21 602 个 Unigene,其中 5 071 个 Unigenes 在 6 个数据平台均被注释,占比为 7.14%。

对样品进行 PCA 分析,结果(图 2)表明同组样本的不同生物学重复均聚集在相近位置,不同组间样本相距较远,表明转录组测序数据质量较好且可靠,可以满足后续差异基因分析的要求。



A. 叶片诱导的愈伤组织;B. 叶柄诱导的愈伤组织;C. 下胚轴诱导的愈伤组织。下同。

A. Leaf-induced callus;B. Petiole-induced callus;C. Hypocotyl-induced callus. The same below.

图 2 唐古特大黄不同来源愈伤组织转录组数据的主成分分析

Fig. 2 PCA of transcriptome data of *Rheum tanguticum* callus from different explants

2.3 唐古特大黄不同外植体诱导愈伤组织的差异表达基因分析

以$|\log_2 FC|>1$且$P<0.05$为差异显著性筛选标准,对唐古特大黄不同外植体诱导的愈伤组织样品进行两两比较分析。结果表明,不同组织来源的愈伤组织在基因表达上存在显著差异。与叶柄诱导的愈伤组织相比,叶片诱导的愈伤组织存在 8 970 个 DEGs,其中 4 608 个显著上调,4 362 个显著下调。与下胚轴诱导的愈伤组织相比,叶片诱导的愈伤组织存在 11 956 个 DEGs,其中 5 829 个显著上调,6 127 个显著下调;叶柄诱导的愈伤组织中存在 7 366 个 DEGs,其中 3 501 个显著上调,3 865 个显著下调。

以基因的 FPKM 值为依据对各个样本进行层次聚类。结果表明,唐古特大黄叶柄诱导的愈伤组织中上调 DEGs 数量明显少于下调 DEGs 数量。与下胚轴诱导的愈伤组织相比,叶片和叶柄诱导的愈伤组织中上调 DEGs 数量均少于下调 DEGs 数量。此外,相较于其他比较组,叶柄与叶片比较组存在 2 092 个特有 DEGs,下胚轴与叶片比较组存在 4 400 个特有 DEGs,下胚轴与叶柄比较组存在 1 155 个特有 DEGs。

2.4 唐古特大黄不同来源愈伤组织差异表达基因的 GO 功能富集分析

对唐古特大黄不同外植体诱导的愈伤组织差异表达基因进行 GO 功能富集分析。结果(图 3)显示,与叶柄诱导的愈伤组织相比,叶片诱导愈伤组

织 DEGs 主要富集的生物过程是细胞壁组织、次生代谢过程；在分子功能中主要富集的亚类是葡萄糖基转移酶活性、DNA 结合转运因子活性和 UDP-葡萄糖基转移酶活性（图 3-a）。

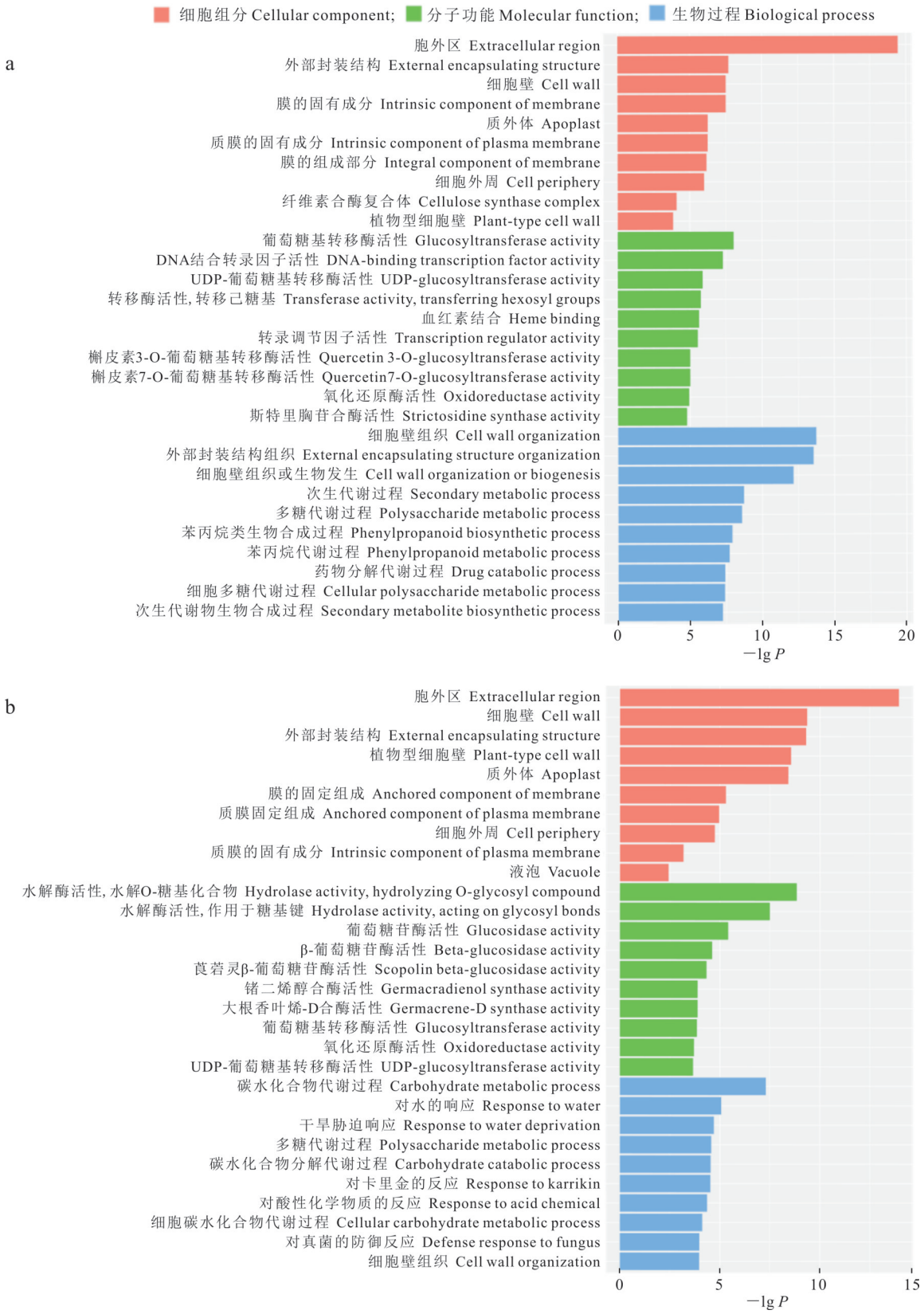
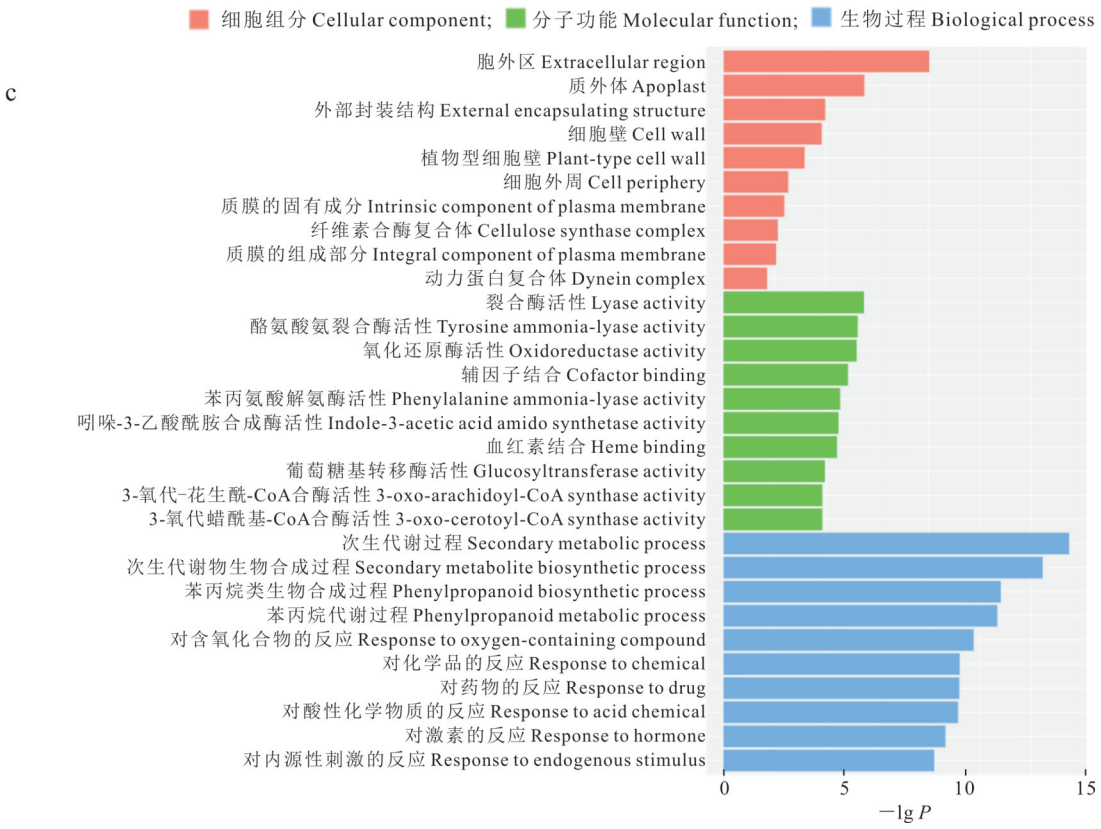


图 3　唐古特大黄不同来源愈伤组织差异表达基因的 GO 富集分析

Fig. 3　GO enrichment analysis of DEGs in *Rheum tanguticum* callus from different explants



a. B vs A; b. C vs A; c. C vs B.

图 3 唐古特大黄不同来源愈伤组织差异表达基因的 GO 富集分析(续)

Fig. 3 GO enrichment analysis of DEGs in *Rheum tanguticum* callus from different explants (continued)

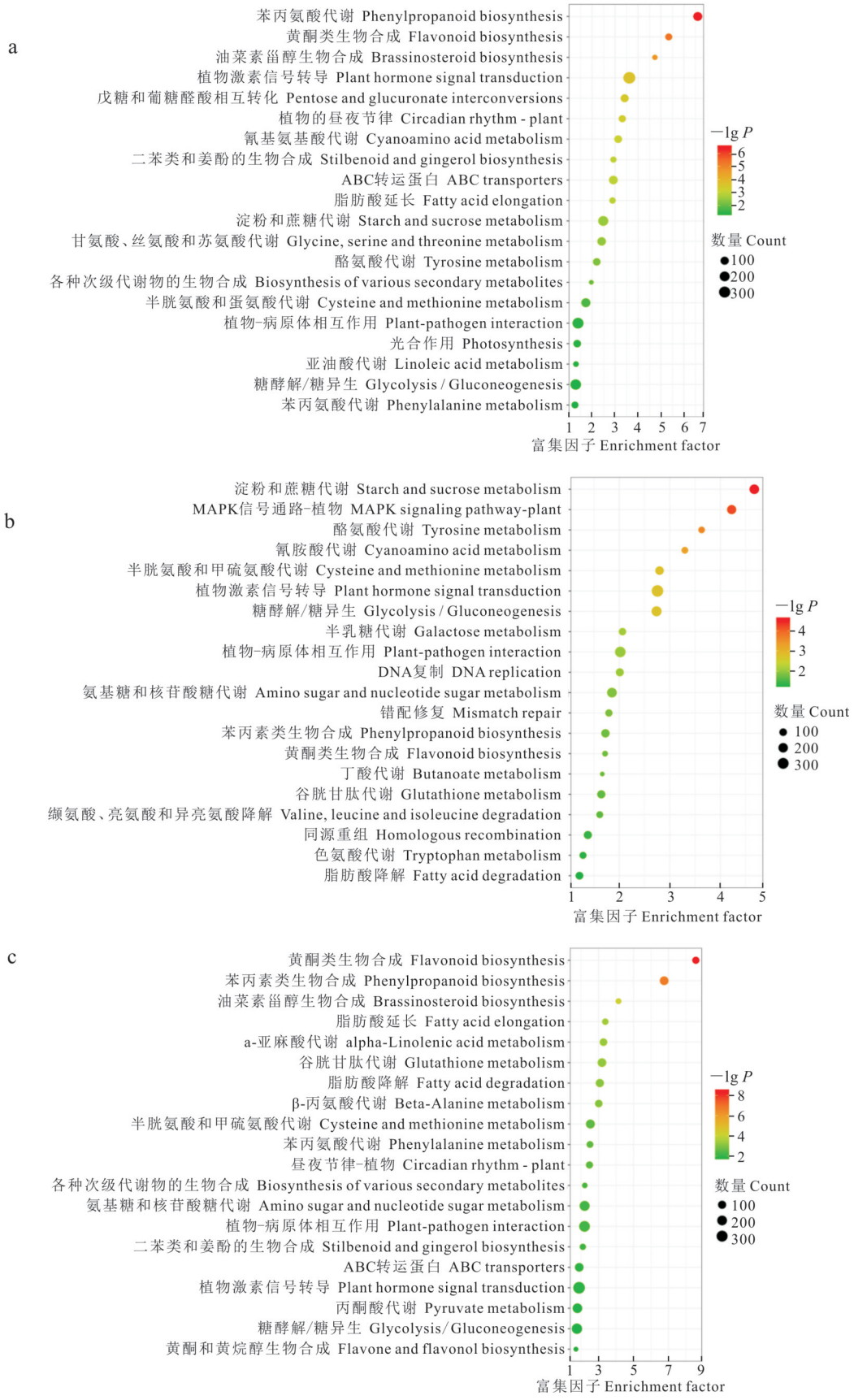
与下胚轴诱导的愈伤组织相比,叶片诱导愈伤组织 DEGs 主要富集的生物过程是碳水化合物代谢过程和对水的响应;在分子功能中主要富集的亚类是水解酶活性、水解 O-糖基化合物及 β-葡萄糖苷酶活性(图 3-b)。与下胚轴诱导的愈伤组织相比,叶柄诱导愈伤组织 DEGs 主要富集的生物过程是次生代谢过程、次生代谢物生物合成过程及苯丙烷生物合成过程;在分子功能中主要富集的亚类是裂合酶活性、氧化还原酶活性及酪氨酸氨解酶活性(图 3-c)。

2.5 唐古特大黄不同来源愈伤组织差异表达基因的 KEGG 通路分析

通过 KEGG 通路富集分析将各比较组的 DEGs 映射到已知的代谢通路和信号转导通路中。结果(图 4)显示,与叶柄诱导的愈伤组织相比,叶片诱导的愈伤组织 DEGs 显著富集到 18 条代谢通路,主要包括苯丙烷生物合成、类黄酮生物合成、油菜素内酯生物合成、植物激素信号转导、戊糖和葡萄糖醛酸相互转化及氨基酸代谢等(图 4-a)。与下胚轴诱导的愈伤组织相比,叶片诱导的愈伤组织 DEGs 显著富集到 18 条代谢通路,主要包括淀粉和蔗糖代谢、MAPK 信号通路-植物、氨基酸代谢、植物激素信号转导、糖酵解/葡萄糖生成、苯丙烷生物合成及半乳糖代谢等(图 4-b)。与下胚轴诱导的愈伤组织相比,叶柄诱导的愈伤组织 DEGs 显著富集到 23 条代谢通路,主要包括了苯丙烷生物合成、类黄酮生物合成、油菜素内酯生物合成、糖酵解/葡萄糖生成、淀粉和蔗糖代谢、氨基酸代谢、丙酮酸代谢及谷胱甘肽代谢等(图 4-c)。

2.6 唐古特大黄不同来源愈伤组织的转录因子分析

在唐古特大黄不同外植体诱导的愈伤组织中共鉴定到 6 681 个基因参与编码 57 个转录因子家族,基因数量排名前 10 的转录因子家族依次为 bHLH(551 个基因)、NAC(448 个基因)、MYB-related(424 个基因)、ERF(390 个基因)、WRKY(316 个基因)、C2H2(310 个基因)、MYB(266 个基因)、FAR1(257 个基因)、B3(252 个基因)和 bZIP(240 个基因)。叶柄愈伤组织与叶片愈伤组织比较组共鉴定到了 1 075 个 DEGs,分布于 53 个转录因子家族中;下胚轴愈伤组织与叶柄愈伤组织比较组共鉴定到了 1 197 个 DEGs,分布于 55 个转录因子家族中;下胚轴愈伤组织与叶片愈伤组织比较组鉴定到的 DEGs 最少,为 813 个,分布于 54 个转录因子家族中。



a. B vs A；b. C vs A；c. C vs B.

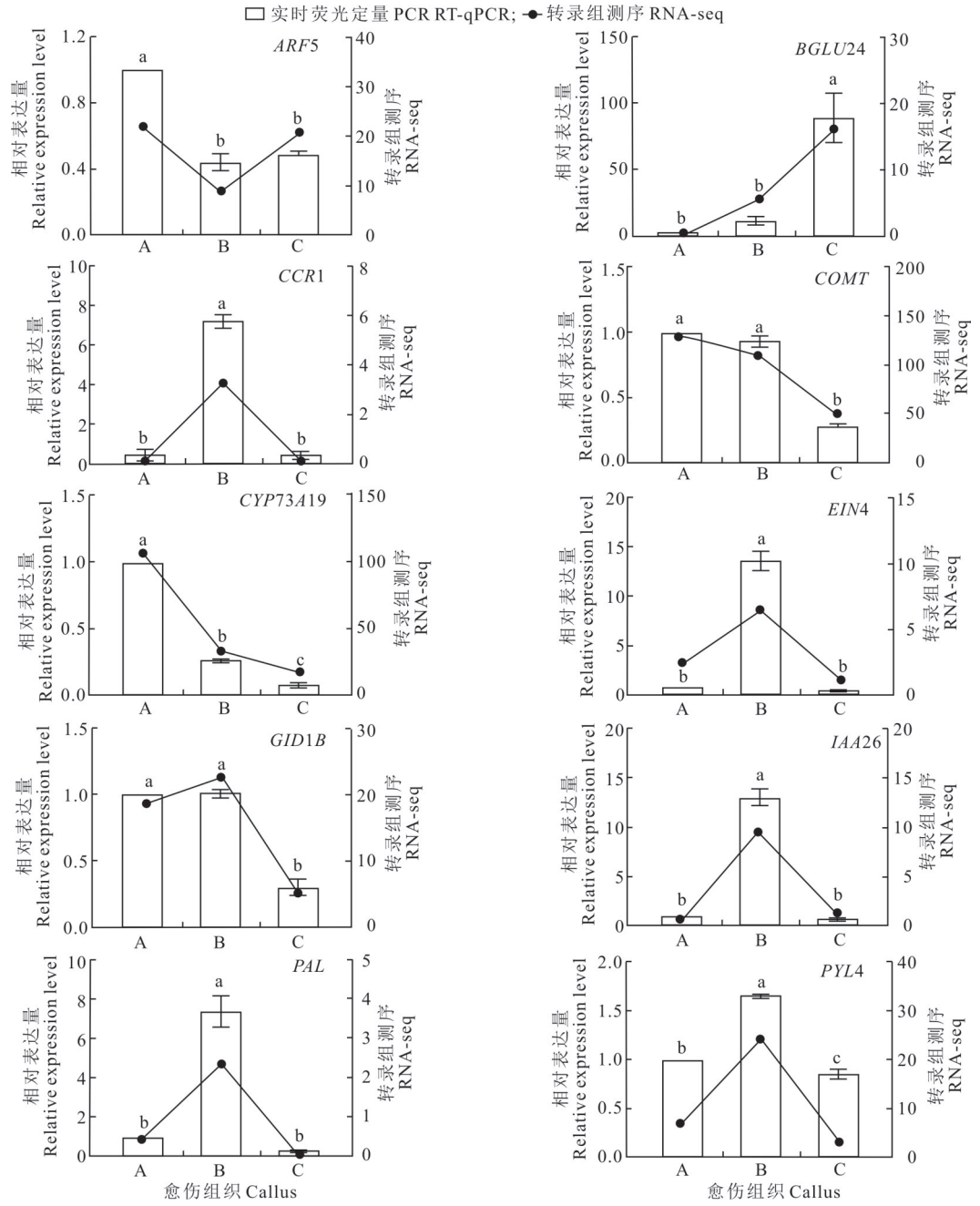
图 4　唐古特大黄不同来源愈伤组织差异表达基因的 KEGG 通路分析

Fig. 4　KEGG pathway analysis of differentially expressed genes in *Rheum tanguticum* callus from different explants

进一步对这些转录因子家族的表达进行富集分析,发现在叶柄与叶片、下胚轴与叶片比较组中,bHLH、ERF、C2H2、bZIP、MYB_related及NAC等转录因子家族下调表达的基因数均多于上调表达的基因数。相反地,在下胚轴与叶柄比较组中,多数转录因子家族中上调表达的基因数则显著多于下调表达的基因数,例如bHLH、ERF、WRKY、C2H2、LBD、FAR1、MYB及NAC等。

2.7 唐古特大黄不同来源愈伤组织关键差异表达基因的RT-qPCR验证

为验证转录组测序结果,随机选取关键代谢通路中一些重要DEGs进行了RT-qPCR分析。结果(图5)表明,*PYL*4、*EIN*4、*IAA*26、*PAL*、*CCR*1及*GID*1*B*在叶片、叶柄、下胚轴诱导愈伤组织中的相对表达量呈现先升高后下降趋势,*ARF*5则呈现先下降后上升趋势。



图中不同小写字母表示差异表达基因的相对表达量具有显著性差异($P<0.05$)。

Different lowercase letters above the bars indicate significant differences in the expression levels of DEGs ($P<0.05$).

图5 唐古特大黄不同来源愈伤组织关键差异表达基因的相对表达量与转录组测序结果的一致性分析

Fig. 5 Consistency analysis of relative expression quantities and transcriptome sequencing results of key differentially expressed genes in *Rheum tanguticum* callus from different explants

由图5可知，*BGLU*24在叶片、叶柄、下胚轴诱导的愈伤组织中的表达呈现持续上升趋势。相反地，*COMT*、*CYP*73*A*19的表达则呈现出持续下降趋势。DEGs表达趋势与RNA-seq测序结果基本一致。

3　讨　论

唐古特大黄愈伤组织的诱导与分化是建立其再生体系的关键，诱导愈伤组织的外植体类型对植株再生系统的建立有较大影响。王萍等[15]选用马铃薯2种基因型的4种不同外植体进行愈伤组织诱导，发现选择高植株再生率的外植体类型比选择基因型更重要。本研究发现，在相同条件下，唐古特大黄叶片、叶柄、下胚轴均可诱导形成愈伤组织，但只有下胚轴来源的愈伤组织可进一步诱导分化出不定芽。这表明在相同条件下，唐古特大黄外植体类型不同，其形成的愈伤组织进一步分化的潜能差异明显。进一步对不同外植体诱导的愈伤组织进行转录组测序，结果表明，不同外植体来源的愈伤组织在基因表达上存在显著差异，差异基因主要富集于植物激素信号转导、苯丙烷生物合成、淀粉和蔗糖代谢途径等，上述结果为进一步研究唐古特大黄愈伤组织形成与分化机制提供了重要线索。

愈伤组织的形成及进一步分化与其来源、组织结构和生理功能密切相关。下胚轴是高等植物的胚性器官，是从子叶着生处以下生出最早茎的部分[16]。叶片与叶柄作为叶的结构，本身并非胚性器官[17]。已有研究表明，外植体的胚胎性质是体细胞重编程的先决条件[18]。吴丽芳等[19]将白刺花的下胚轴、子叶和茎段接种于诱导培养基后，发现下胚轴最先形成愈伤组织，同时产生了胚性愈伤组织—体细胞胚；而子叶诱导的愈伤组织需及时继代，调整愈伤状态后可部分转变为胚性愈伤组织。此外，离体植物组织的不定芽再生是一个多级分化发育过程，包括启动细胞分裂增殖、细胞壁重塑、体细胞对植物激素信号的感知与传递等，这是一个复杂的基因调控过程[20]。如在拟南芥中过量表达*SERK*基因，导致体细胞胚胎发生的能力增加3～4倍[21]。*BBM*是决定植物胚胎特性和全能性的关键上游调控因子，能够通过促进细胞分裂和信号传导等过程诱导体细胞胚的发生[22]。*WUS*被认为是体细胞胚发生和芽再生过程所必需的基因[23]，其在拟南芥中的过表达诱导了体细胞胚以及芽和根尖器官的发生[24]。此外，β-葡萄糖苷酶基因（*BGLU*基因家族）通过差异表达参与细胞壁修饰、信号与激素的活化等重要生理过程，影响细胞分裂及生长，从而促进不定芽的分化[25-26]。本研究结果表明，在相同的培养基组成及培养条件下，唐古特大黄叶片、叶柄及下胚轴均可诱导形成绿色愈伤组织，但愈伤组织在相同条件下进一步诱导分化不定芽呈现显著差异，下胚轴来源的愈伤组织可诱导形成不定芽，而叶片和叶柄来源的愈伤组织很难形成不定芽。进一步对唐古特大黄不同外植体诱导的愈伤组织基因差异表达分析发现，与叶柄、叶片来源的愈伤组织相比，下胚轴来源的愈伤组织中*SERK*、*BBM*、*WUS*、*BGLU*17、*BGLU*24、*BGLU*42等基因均存在显著差异表达，且这些基因大多参与了体细胞胚性与不定芽发生的调控过程[22-27]。因此，与细胞分裂、脱分化和再分化及细胞壁修饰相关的基因差异表达，可能有助于唐古特大黄愈伤组织由非胚性向胚性转变。

作为信号分子，植物激素在组织培养过程中发挥了重要作用。生长素（IAA）是愈伤组织生长和分化的重要激素，生长素响应因子（ARF）则是一类负责介导生长素信号转导的转录因子家族，其共同参与调控植物的生长发育过程[27]。本研究发现，相比于叶片和下胚轴诱导的愈伤组织，叶柄诱导的愈伤组织中*IAA*26等基因均上调表达。相比于叶柄和下胚轴诱导的愈伤组织，叶片诱导的愈伤组织中*ARF*5等基因均上调表达，而叶片的愈伤组织诱导率高、结构紧实，但不能进一步分化形成不定芽。因此，推测这可能与ARF家族等相关基因的高表达有关。赤霉素（GA）可以刺激种子发芽，是拟南芥等植物发芽所必需的内源激素[28]。*GID*1*B*可以负向调节拟南芥种子发芽，即敲除*GID*1*B*、*GID*1*C*基因可以有效提高拟南芥的发芽效率[29]。本研究发现，*GID*1*B*、*GID*1*C*基因在下胚轴诱导愈伤组织中的表达量显著低于叶片和叶柄，推测下胚轴来源的愈伤组织可进一步诱导形成不定芽与*GID*1*B*基因的低表达相关。在愈伤组织不定芽诱导中，脱落酸（ABA）主要通过抑制细胞分裂和分化、调控激素平衡及基因表达等方式抑制不定芽的形成[30]，而*PYL*4基因是ABA受体基因家族的成员之一，在植物激素信号转导中起重要作用[31]。本研究发现，*PYL*4基因在下胚轴来源的愈伤组织中表达量低于叶片和叶柄，这可能与*PYL*4下调表达进而调控ABA促进唐古特大黄下胚轴来源的愈伤组织不定芽的形成有关。

转录因子通过调节细胞增殖和细胞命运重编

程,在胚性愈伤组织的形成中发挥关键作用[32]。研究表明,AP2、LBD、bZIP、bHLH、NAC等转录因子在不定芽再生过程中起主要的转录调控作用,其促进了许多植物胚性愈伤组织的表达,常被作为体细胞胚发生的关键调节因子[33]。FAN等[34]研究发现,LBD类转录因子中的*LBD*16、*LBD*17、*LBD*18受到生长素信号因子*ARF*7和*ARF*19调控,超表达其中任何一个*LBD*转录因子,都能促进植物外植体愈伤组织的形成。拟南芥LBD转录因子还可以与bZIP家族转录因子*bZIP*59形成转录复合体来调控愈伤组织的形成[35],而BBM则属于一种在胚胎发生和种子发展期间优先表达的AP2/ERF转录因子[36]。此外,bHLH转录因子家族作为植物中第二大TFs家族,参与了植物的多种生物过程,包括植物生长发育、次生代谢调控以及对胁迫的响应[37]。本研究筛选到大量差异表达的AP2、LBD、bZIP、bHLH、NAC家族转录因子等,并且这些转录因子在唐古特大黄叶片、叶柄与下胚轴诱导形成愈伤组织中的表达主要呈上调趋势,推测上述转录因子调控了愈伤组织的形成,但如何参与调控愈伤组织进一步分化形成不定芽还需进一步研究。

[参考文献]

[1] 葛建华,刘训红,许虎,等. 基于化学分析的不同品种大黄区分研究[J]. 中国中药杂志,2015,40(12):2309-2313.
GE J H,LIU X H,XU H,et al. Identification of different varie-ties of Rhei Radix et Rhizoma based on chemical analysis[J]. China Journal of Chinese Materia Medica,2015,40(12):2309-2313.

[2] 曹强,郭亚菲,叶蕾蕾,等. 大黄及其活性成分抗炎作用及机制的研究进展[J]. 中草药,2022,53(22):7285-7294.
CAO Q,GUO Y F,YE L L,et al. Research progress on anti-inflammatory effects and mechanism of Rhei Radix et Rhizoma and its active components[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs,2022,53(22):7285-7294.

[3] 拉门措,王瑶,李妍,等. 基于分子对接技术的唐古特大黄抗炎活性成分筛选研究[J]. 青海草业,2023,32(1):15-21.
LA M C,WANG Y,LI Y,et al. Screening of anti-inflammatory component of *Rheum tanguticum* Maxim. based on molecular docking technique[J]. Qinghai Prataculture,2023,32(1):15-21.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China:I[M]. Beijing:China Medical Science and Technology Press,2020.

[5] 黄璐琦,张本刚,覃海宁. 中国药用植物红皮书[M]. 北京:北京科学技术出版社,2022.
HUANG L Q,ZHANG B G,QIN H N. Red book of Chinese medicinal plants[M]. Beijing:Beijing Science and Technology Press,2022.

[6] 戴莹,杨世海,赵鸿峥,等. 药用植物组织培养中褐化现象的研究进展[J]. 中草药,2016,47(2):344-351.
DAI Y,YANG S H,ZHAO H Z,et al. Research progress on browning phenomenon in tissue culture of medicinal plants[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs,2016,47(2):344-351.

[7] 杨雪,梁世琦,李晶晶,等. 唐古特大黄组织培养与植株再生体系的建立[J/OL]. 分子植物育种,1-19[2025-10-13]. https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240920.1610.002.
YANG X,LIANG S Q,LI J J,et al. Tissue culture and establishment of regeneration system of *Rheum tanguticum*[J/OL]. Molecular Plant Breeding,1-19[2025-10-13]. https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240920.1610.002.

[8] 徐铭,聂昕怡,陈虎,等. 低温诱导蛋白在拟南芥花药晚期的转录组分析[J]. 基因组学与应用生物学,2017,36(7):2954-2964.
XU M,NIE X Y,CHEN H,et al. Transcriptome analysis of low-temperature-induced proteins in late-stage anther of *Arabidopsis thaliana*[J]. Genomics and Applied Biology,2017,36(7):2954-2964.

[9] 韩超,谢文华,李建贵,等. 夏季高温干旱逆境下梭梭枝条中转录组表达谱分析[J]. 基因组学与应用生物学,2015,34(3):607-614.
HAN C,XIE W H,LI J G,et al. Gene expression profile of *Haloxylon* branch under the stresses of drought and heat in su-mmer season[J]. Genomics and Applied Biology,2015,34(3):607-614.

[10] 刘汉成,陈庆圆,董刚,等. 不同生长年限唐古特大黄根部土壤中微生物量及酶活性变化规律研究[J]. 中国野生植物资源,2024,43(3):44-50.
LIU H C,CHEN Q Y,DONG G,et al. Study on the changes of microbial biomass and enzyme activity in the root soil of *Rheum tanguticum* in different growth years[J]. Chinese Wild Plant Resources,2024,43(3):44-50.

[11] 庞沁,崔云斌,孙士浩,等. 唐古特大黄地上部分研究现状[J]. 青海草业,2023,32(3):20-22,30.
PANG Q,CUI Y B,SUN S H,et al. Research status of the upper part of *Rheum tanguticum*[J]. Qinghai Prataculture,2023,32(3):20-22,30.

[12] 叶蕾蕾,张成园,翟婷,等. 唐古特大黄抗炎成分的纯化工艺优化及其抗炎作用研究[J]. 华西药学杂志,2024,39(5):503-508.
YE L L,ZHANG C Y,ZHAI T,et al. Optimization of the purification process for anti-inflammatory constituents of *Rheum tanguticum* and study on its anti-inflammatory effects[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences,2024,39(5):503-508.

[13] 赵硕,王玲玲,李嘉楠,等. 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,et al. 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.

[14] LIVAK K J,SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the

$2^{-\Delta\Delta Ct}$ method[J]. Methods，2001，25(4)：402-408.

[15] 王萍，王罡，季静. 马铃薯两个基因型不同外植体的组织培养与植株再生[J]. 中国马铃薯，2006，20(6)：326-328.
WANG P，WANG G，JI J. Tissue culture and plant regeneration of various explants of two potato genotypes[J]. Chinese Potato Journal，2006，20(6)：326-328.

[16] 岳剑茹，赫云建，邱天麒，等. 植物微管骨架参与下胚轴伸长调节机制研究进展[J]. 植物学报，2021，56(3)：363-371.
YUE J R，HE Y J，QIU T Q，et al. Research advances in the molecular mechanisms of plant microtubules in regulating hypocotyl elongation[J]. Chinese Bulletin of Botany，2021，56(3)：363-371.

[17] 龚容，高琼. 叶片结构的水力学特性对植物生理功能影响的研究进展[J]. 植物生态学报，2015，39(3)：300-308.
GONG R，GAO Q. Research progress in the effects of leaf hydraulic characteristics on plant physiological functions[J]. Chinese Journal of Plant Ecology，2015，39(3)：300-308.

[18] WANG F X，SHANG G D，WU L Y，et al. Chromatin accessibility dynamics and a hierarchical transcriptional regulatory network structure for plant somatic embryogenesis[J]. Developmental Cell，2020，54(6)：742-757.

[19] 吴丽芳，魏晓梅，陆伟东. 白刺花胚性愈伤组织诱导和植株再生体系建立[J]. 植物生理学报，2019，55(2)：218-224.
WU L F，WEI X M，LU W D. Embryogenic callus induction and establishment of plant regeneration system of *Sophora davidii*[J]. Plant Physiology Journal，2019，55(2)：218-224.

[20] 向亚男，黄蕊蕊，顾婷婷，等. 基于RNA-Seq的拟南芥不定芽再生过程的基因表达谱分析[J]. 南京农业大学学报，2018，41(2)：308-320.
XIANG Y N，HUANG R R，GU T T，et al. Analysis of RNA-Seq-based expression profiles during adventitious shoot regeneration in *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Nanjing Agricultural University，2018，41(2)：308-320.

[21] HECHT V，VIELLE-CALZADA J P，HARTOG M V，et al. The *Arabidopsis* somatic embryogenesis receptor kinase 1 gene is expressed in developing ovules and embryos and enhances embryogenic competence in culture[J]. Plant Physiology，2001，127(3)：803-816.

[22] HORSTMAN A，LI M F，HEIDMANN I，et al. The BABY BOOM transcription factor activates the LEC_1-ABI_3-FUS_3-LEC_2 network to induce somatic embryogenesis[J]. Plant Physiology，2017，175(2)：848-857.

[23] ZHANG T Q，LIAN H，ZHOU C M，et al. A two-step model for de Novo activation of *WUSCHEL* during plant shoot regeneration[J]. The Plant Cell，2017，29(5)：1073-1087.

[24] CHATFIELD S P，CAPRON R，SEVERINO A，et al. Incipient stem cell niche conversion in tissue culture：using a systems approach to probe early events in *WUSCHEL*-dependent conversion of lateral root primordia into shoot meristems[J]. The Plant Journal，2013，73(5)：798-813.

[25] XU M W，LI H W，LUO H Y，et al. Unveiling the role of β-glucosidase genes in *Bletilla striata*'s secondary metabolism：a genome-wide analysis[J]. International Journal of Molecular Sciences，2024，25(23)：13191.

[26] 柯丹霞，刘永辉，张静静，等. 大豆*BGLU*基因家族全基因组鉴定与表达分析[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版)，2019，32(3)：372-378.
KE D X，LIU Y H，ZHANG J J，et al. Genome-wide identification and expression analysis of *BGLU* family genes in soybean[J]. Journal of Xinyang Normal University (Natural Science Edition)，2019，32(3)：372-378.

[27] WEIJERS D，WAGNER D. Transcriptional responses to the auxin hormone[J]. Annual Review of Plant Biology，2016，67：539-574.

[28] NELSON S K，KANNO Y，SEO M，et al. Seed dormancy loss from dry after-ripening is associated with increasing gibberellin hormone levels in *Arabidopsis thaliana*[J]. Frontiers in Plant Science，2023，14：1145414.

[29] GE W J，STEBER C M. Positive and negative regulation of seed germination by the *Arabidopsis* GA hormone receptors，GID1a，b，and c[J]. Plant Direct，2018，2(9)：e00083.

[30] 郑钏，杨颖增，罗晓峰，等. 植物激素ABA调控植物根系生长的研究进展[J]. 植物科学学报，2019，37(5)：690-698.
ZHENG C，YANG Y Z，LUO X F，et al. Current understanding of the roles of phytohormone abscisic acid in the regulation of plant root growth[J]. Plant Science Journal，2019，37(5)：690-698.

[31] PIZZIO G A，RODRIGUEZ L，ANTONI R，et al. The PYL_4 A_{194}T mutant uncovers a key role of PYR_1-$LIKE_4$/PROTEIN PHOSPHATASE $_2$CA interaction for abscisic acid signaling and plant drought resistance[J]. Plant Physiology，2013，163(1)：441-455.

[32] IKEUCHI M，FAVERO D S，SAKAMOTO Y，et al. Molecular mechanisms of plant regeneration[J]. Annual Review of Plant Biology，2019，70：377-406.

[33] JAMALUDDIN N D，MOHD NOOR N，GOH H H. Genome-wide transcriptome profiling of *Carica papaya* L. embryogenic callus[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants，2017，23(2)：357-368.

[34] FAN M Z，XU C Y，XU K，et al. Lateral organ boundaries domain transcription factors direct callus formation in *Arabidopsis* regeneration[J]. Cell Research，2012，22(7)：1169-1180.

[35] XU C Y，CAO H F，ZHANG Q Q，et al. Control of auxin-induced callus formation by $bZIP_{59}$ - LBD complex in *Arabidopsis* regeneration[J]. Nature Plants，2018，4(2)：108-115.

[36] BOUTILIER K，OFFRINGA R，SHARMA V K，et al. Ectopic expression of BABY BOOM triggers a conversion from vegetative to embryonic growth[J]. The Plant Cell，2002，14(8)：1737-1749.

[37] FAN Y，LAI D L，YANG H，et al. Genome-wide identification and expression analysis of the bHLH transcription factor family and its response to abiotic stress in foxtail millet (*Setaria italica* L.)[J]. BMC Genomics，2021，22(1)：778.

(责任编辑：陈丽)