• 药材与资源 •

基于转录组测序揭示光质对刺五加实生苗基因表达的调控作用

张 爽[1]，王谦博[2]，郭盛磊[3]，王振月[3*]

1. 贵州中医药大学，贵州 贵阳 550000
2. 广东药科大学附属第一医院，广东 广州 510000
3. 黑龙江中医药大学，黑龙江 哈尔滨 150040

摘 要：目的 对刺五加 *Acanthopanax senticosus* 实生苗进行转录组测序，分析其响应不同光质调控的分子机制。**方法** 以生长 60 d 的刺五加实生苗为材料，设置不同光质处理组（LED-1、LED-2）和对照组 [高压钠灯（high pressure sodium，HPS）]，应用 Illumina HiSeq™ 对其叶片进行转录组测序，对测序后的结果进行基因功能注释、差异表达基因（differentially expressed genes，DEGs）筛选和共表达网络分析。**结果** 转录组测序共获得 126 252 条 Unigene。其中 92 681 条被注释，3 个处理组中筛选出 DEGs 7664 个。基因本体（gene ontology，GO）富集结果表明，DEGs 在代谢过程、刺激响应、细胞结构、催化活性等功能中得到显著富集。京都基因与基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）途径富集分析表明，DEGs 显著富集在植物激素传导、糖代谢、苯丙烷类生物合成、类黄酮生物合成。适度光质胁迫可以促进刺五加实生苗中苯丙素类化合物生物合成途径关键酶基因的表达，是促进刺五加有效成分累积的基础。**结论** 通过高通量转录组测序，揭示了不同光质对刺五加实生苗基因表达的调控特征，可为深入研究刺五加药效成分的生物合成机制及栽培中的光环境设置提供科学依据。

关键词：刺五加；光质；转录组测序；差异表达基因；转录因子

中图分类号：R286.12 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2023)15 - 4973 - 08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.15.022

Sequencing and analysis of transcriptome to reveal regulation of gene expression in *Acanthopanax senticosus* seedling under light quality

ZHANG Shuang[1], WANG Qian-bo[2], GUO Sheng-lei[3], WANG Zhen-yue[3]

1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550000, China
2. The First Affiliated Hospital/School of Clinical Medicine of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510000, China
3. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To analyze the molecular mechanism of different tissues of Ciwujia (*Acanthopanax senticosus*) seedling in response to light quality by transcriptome sequencing. **Methods** The seedlings of 60 d *A. senticosus* from moderate light quality group and control group (LED-1, LED-2) were used as the test material. And the transcriptome sequencing analysis was carried out by using Illumina HiSeq™. After obtaining transcriptome data, gene function annotation, differentially expressed genes (DEGs) screening and and co-expression network analysis were performed. **Results** A total of 126 252 unigenes were obtained by transcriptome sequencing. Among them, 92 681 unigenes were annotated, and 7664 DEGs were screened out from three treatment groups. The GO enrichment results showed that the DEGs of the roots and leaves were both significantly enriched in metabolic process, stimulus response, cell structure, catalytic activity and other functions. The KEGG pathway enrichment analysis showed that DEGs in leaves were mainly concentrated in phytohormone transduction, sugar metabolism, phenylpropanoid biosynthesis, and flavonoid biosynthesis. Moderate light quality stress can promote the expression of key enzyme genes of phenylpropanoid biosynthesis pathway in *A. senticosus* seedlings, which is the basis for promoting the accumulation of effective components of *A. senticosus*. **Conclusion** The high-throughput transcriptome sequencing revealed the regulatory characteristics of light quality stress on gene expression in different tissues of *A. senticosus*, which could provide scientific basis for further research on the biosynthesis mechanism of medicinal components of *A. senticosus* and reasonable luminous environment in cultivation.

Key words: *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms; light quality; transcriptome sequencing; differentially expressed genes; transcription factors

收稿日期：2023-02-03

基金项目：“十三五”国家重点研发计划（2016YFC0500303）

作者简介：张 爽（1991—），女，汉族，博士，讲师，研究方向为中药资源与栽培方向。E-mail: rocmsw@163.com

***通信作者：**王振月，男，教授，从事中药资源研究方向。E-mail: wangzhen_yue@163.com

刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms 为五加科多年生植物，以干燥根和根茎或茎入药，具有益气健脾、补肾安神等传统功效，于脾肺气虚、体虚乏力、食欲不振、肺肾两虚，久咳虚喘、肾虚腰膝酸痛、心脾不足、失眠多梦等症[1-2]。刺五加是我国传统大宗药材，药用历史悠久且市场需求量大，目前以人工栽培为主[3]。研究发现，适度的光胁迫不仅能促进刺五加生长，对刺五加中次生代谢产物的累积具有显著影响，但过多的光干预不利于植株的生长[4-5]。因此在刺五加的栽培过程中，通过合理的光质配比控制药材的产量和质量显得尤为重要。近年来随着高通量转录组测序技术的快速发展，通过比较多个样本间的差异表达基因，来探讨植物响应环境胁迫的分子机制已成为目前研究的热点[6-8]。光胁迫对植物形态结构、生理和生化反应的影响已有深入研究，但对次生代谢调控机制的研究还较少[9-10]。本研究以刺五加为材料，分别设置对照组和适度光质处理组，利用转录组测序和差异表达基因（differentially expressed genes，DEGs）分析和实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）技术，分析不同光质培养的刺五加幼苗转录组水平的变化，以期在从基因表达水平上揭示光质对刺五加幼苗生长发育影响的分子调控机制。

1　材料与仪器

1.1　材料

刺五加实生苗所用种子采自于黑龙江省七台河市（45°37′ N，31°15′ E），经黑龙江中医药大学王振月教授鉴定为刺五加 *A. senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms。

1.2　仪器

LED 可控光质照射灯，长春智伦圃道农业科技有限公司；HPS 型高压钠灯，湖州欧迪照明有限公司；Total RNA Extractor（Trizol），上海生工有限公司；Qubit2.0 RNA 检测试剂盒，Life 公司；Qubit2.0 DNA 检测试剂盒，Life 公司；4S Red Plus 核酸染色剂，BBI Life Science 公司；第一链 cDNA 合成试剂盒 EP0733，Thermo Scientific™公司；SG Fast qPCR Master Mix（2×），BBI Life Science 公司；VAHTSTM mRNA-seq V2 Library Prep Kit for Illumina®，南京诺唯赞公司；VAHTSTM DNA Clean Beads，南京诺唯赞公司；Q32866 Qubit 2.0 荧光计，Invitrogen 公司；WH-3 微型漩涡混合仪，上海沪西分析仪器厂有限公司；Thermo Scientific Sorvall Legend Micro21R 台式高速低温离心机，Thermo 公司；Cycler T100™ Thermal PCR 仪，BIO-RAD 公司；DYY-11 电泳仪，北京市六一仪器厂；H6-1 型微型电泳槽，上海精益有机玻璃制品仪器厂；FR-980A 型生物电泳图像分析系统，复日科技；SW-CJ-1D 型洁净工作台，江苏苏洁净化设备厂；SMA4000 型微量分光光度计，Merinton 公司；StepOne 型荧光定量 PCR 仪，ABI 公司。

2　方法

2.1　样品处理

试验在该温室中进行，4 月选取生长势一致的种苗移植于将其播种于以草炭土和珍珠岩的混合物为的栽培基质（3∶1，pH≈6.0）直径 12 cm 的营养钵中，每盆 1 株刺五加幼苗。为充分利用光照且互不遮蔽，将 12 个盆间隔构放置在一个托盘中，采用低水位灌溉自吸式供水；定植 10 d 后，将所有盆随机排列并放入 3 个操控架中，每个操控架设置不同光质的培养光源，进行不同光质处理。光质处理分别为 LED-1、LED-2 和对照光源高压钠灯（high pressure sodium，HPS），测得 HPS 灯的 R/G/B 的光合光子通量密度（PPFD）比为 43.7∶54.6∶1.7；因此，LED-1 处理用适当增加了蓝光配比的光谱（R/G/B，43.8∶47∶9.2）。LED-2 处理增强了 R 光比（R/G/B，74.3∶12.5∶13.2）。每个操控架的所有内部空间被设置为 16 h 光周期，照明周期为 5:00 am～21:00 pm。在整个实验中，监测相对湿度（RH）和温度分别为（70±10）%和 25 ℃/18 ℃（白天/夜晚）。移动苗床上方 55 cm 处的 PPFD 为（94±5）μmol/(m^2·s)。处理 60 d 后，分别采收对照组和光质处理的刺五加叶，洗净后用液氮速冻，置于−80 ℃保存备用。

2.2　总 RNA 的提取与转录组测序

取刺五加叶在液氮中研成粉末，用 Total RNA Extractor（Trizol）提取试剂盒进行总 RNA 提取，并用 Qubit 2.0 检测 RNA 浓度，琼脂糖凝胶检测 RNA 完整性以及基因组污染情况。每处理 3 份生物学重复。将每处理 3 份样品等量混合，委托上海生工有限公司构建测序文库，并使用 Illumina HiSeq™ 测序平台进行转录组测序。

2.3　测序数据组装及 Unigene 功能注释

对原始测序数据进行滤过，去除测序接头、引物以及低质量的序列后，获得高质量的 clean reads。使用 Trinity 软件将 clean reads 组装成 contig，利用 De Bruijn 进一步简化后获得 Unigene。然后使用 BLAST 软件将 Unigene 序列与 Non-Redundant

Protein Sequence Database（NR）、Swiss-Prot、基因本体（gene ontology，GO）、clusters of orthologous groups （COG）、真核生物蛋白相邻类的聚簇（Clusters of orthologous groups for eukaryotic complete genomes，KOG）、京都基因与基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）数据库比对，获得 Unigene 的注释信息。

2.4 DEGs 分析

使用 FPKM（fragments per kilobase oftranscript per million mapped reads）计算 Unigene 的表达量，利用 EBseq 平台筛选叶中的 DEGs 基因，筛选条件为 q 值≤0.05 且差异倍数（fold change，FC）≥1.5。并对筛选出的 DEGs 进行 GO、KEGG 富集分析。

2.5 qRT-PCR 验证

采用 qRT-PCR 的方法对刺五加生长和苯丙素类成分合成途径中的 5 个关键酶基因，在不同光质作用下对 Daucus carota、PETH、GRH1、PAL3、GH31 的 PCR 扩增引物设计见表 1。qRT-PCR 为 20 µL 反应体系，包括 cDNA 模板 2 µL、上游引物 0.4 µL、下游引物 0.4 µL、SybrGreen qPCR Master Mix 10 µL、ddH$_2$O 7.2 µL。检测 *PETH*、*GRH1*、*PAL3*、*GH31* 共 4 个皂苷合成相关酶基因的表达量，以在各处理组和对照组中表达比较稳定的管家基因 *Daucus carota* 作为内参基因，每个样品进行 3 个技术重复。基因表达量以 HPS 对照组的基因的表达量为 1，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

表 1 qRT-PCR 引物

Table 1 Primers for real-time fluorescent quantitative PCR

基因		引物
内参基因	*Daucus carota*	5’-AACGAGGGTGGCTGGTAAAT-3’
		3’-CATAAGCGAACAAGTGGTCAAA-5’
目的基因	*PETH*	5’-GAGCCCAGGTCACAACAGAG-3’
		3’-GCTGAATACCATGTGCCAAGT-5’
	GRH1	5’-ACTGGCAAAGTTTAACACTTCCA-3’
		3’-AATTCGCTAGAAACTCCAAACTT-5’
	PAL3	5’-CATTTGACGAAGATTAAAGGC-3’
		3’-TTCAAGTTGTACTAAAGTGAATT-5’
	GH31	5’-AAGCAATTTCCACAAATACATTT-3’
		3’-GATCACATTATAATTCTCTCTTGT-5’

3 结果与分析

3.1 测序数据与基因注释

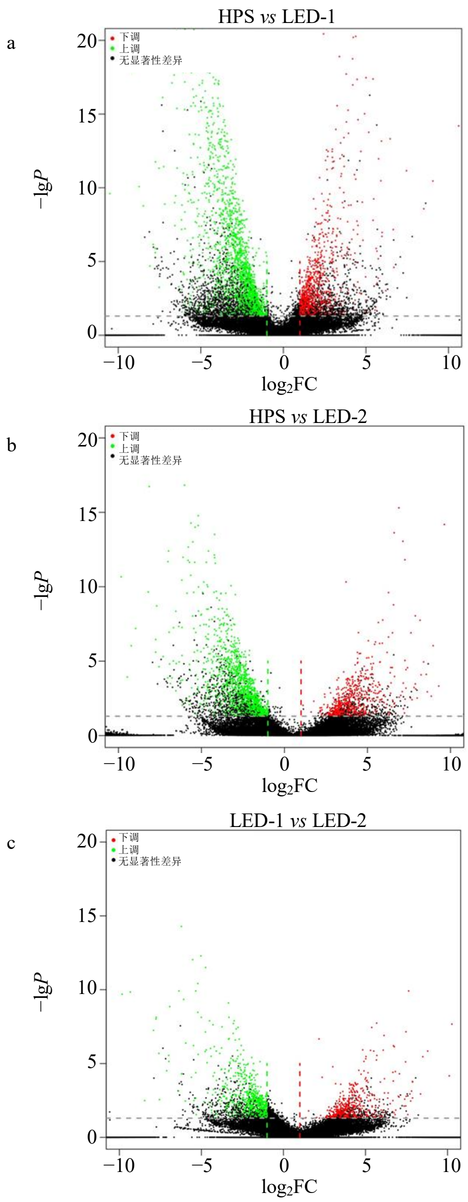
过滤原始数据后，各样品的 Q_{30} 碱基百分比在 95%以上，且 GC 含量均在 50%左右。将 clean reads 进行组装共得到 126 252 条 Unigene，Unigene 的 N_{50} 为 812，其中长度在 1 kb 以上的 Unigene 有 17 932 条。通过选择 BLAST 参数 E 值≤1×10^{-5} 和 HMMER 参数 E 值≤1×10^{-10}，最终获得 92 681 个有注释信息的 Unigene，约占 Unigene 总数的 73.41%。Unigene 与 NCBI 和 NT 数据库进行 blastn 比对，取 E 值≤1×10^{-10} 并且相似度＞90%，coverage＞80%的比对结果，计算其物种分布，进行污染检测，目前刺五加全基因组测序尚未完成，NT 数据库中刺五加的碱基序列有限，虽未比对到刺五加，但比对到的 eads 远远小于总 reads 数，足以说明本实验所有样品未受到其他物种污染。但 HPS 和 LED-1 所有样品的首位比对结果都是人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 排在第 1 位，而 LED-2 处理组样品均是西洋参 *Panax quinquefolius* L.排在第 1 位，且前 10 位中 HPS 与 LED-1 品种相近，而与 LED-2 差别较大，表明不同处理方式对基因的注释信息具有一定影响。

3.2 Unigene 总体差异分析

为了解光质对刺五加生理代谢影响的分子机制，采用 DESeq 进行分析研究 2 种光质培育刺五加幼苗与对照组间的显著性差异基因，将筛选的条件设定为｜FC｜＞1.5 且 q 值＜0.05。从 3 个处理中筛选得到 7664 个 DEGs。与 HPS 对照组相比，LED-1 组中筛选出 3699 个 DEGs，其中 2549 个上调基因和 1150 个下调基因，LED-2 组中筛选出 2428 个 DEGs，1662 个上调基因和 766 个下调基因，LED-1 与 LED-2 相比筛选出 1537 个 DEGs，893 个上调基因和 644 个下调基因。将不同组样品中基因的差异倍数变化值绘制在横轴上，并将基因表达量 P 值的变化的统计学显著性绘制在纵轴上。图 1 结果宏观显示，LED-1 和 LED-2 组虽然差异基因少，但表达差异倍数较大，而 HPS 与 LED-1 组的表达差异倍数小，但是差异显著。

3.3 差异基因功能注释

为了阐释 3 种处理间差异基因的功能信息，根据 GO、KOG 和 KEGG 数据库进行注释。图 2 显示了 DEG 的 GO 分类结果，其总结为 3 类：生物过程，细胞组分和分子功能。在这些类别中，“细胞凋亡”“膜质体”“共质体”“营养库活性”“核酸结合转录因子活性”和“结合体”在各差异间均表现显著。其中“共质体”“核酸结合转录因子活性”和“电子载荷活性”呈显著减少趋势，“节律过程”、“抗氧化活性”和“营养库活性”被增加显著富集。此外，LED-1 *vs* LED-2、HPS *vs* LED-2 和 HPS *vs*



a-HPS *vs* LED-1 中 DEGs　b-HPS *vs* LED-2 中 DEGs　c-LED-1 *vs* LED-2 中 DEGs　图中的每个点代表一个基因，其中红色表示上调基因，绿色表示下调基因，黑色表示非差异基因

a-DEGs between HPS and LED-1　b-DEGs between HPS and LED-2　c-DEGs between LED-1 and LED-2　Every point in the graph represents a gene, the red indicating upregulated genes, green indicating downregulated genes, and black indicating non differentially expressed genes

图 1　不同光质处理组间 DEGs 火山图

Fig. 1　Volcanic map of differentially expressed genes between light treatment groups

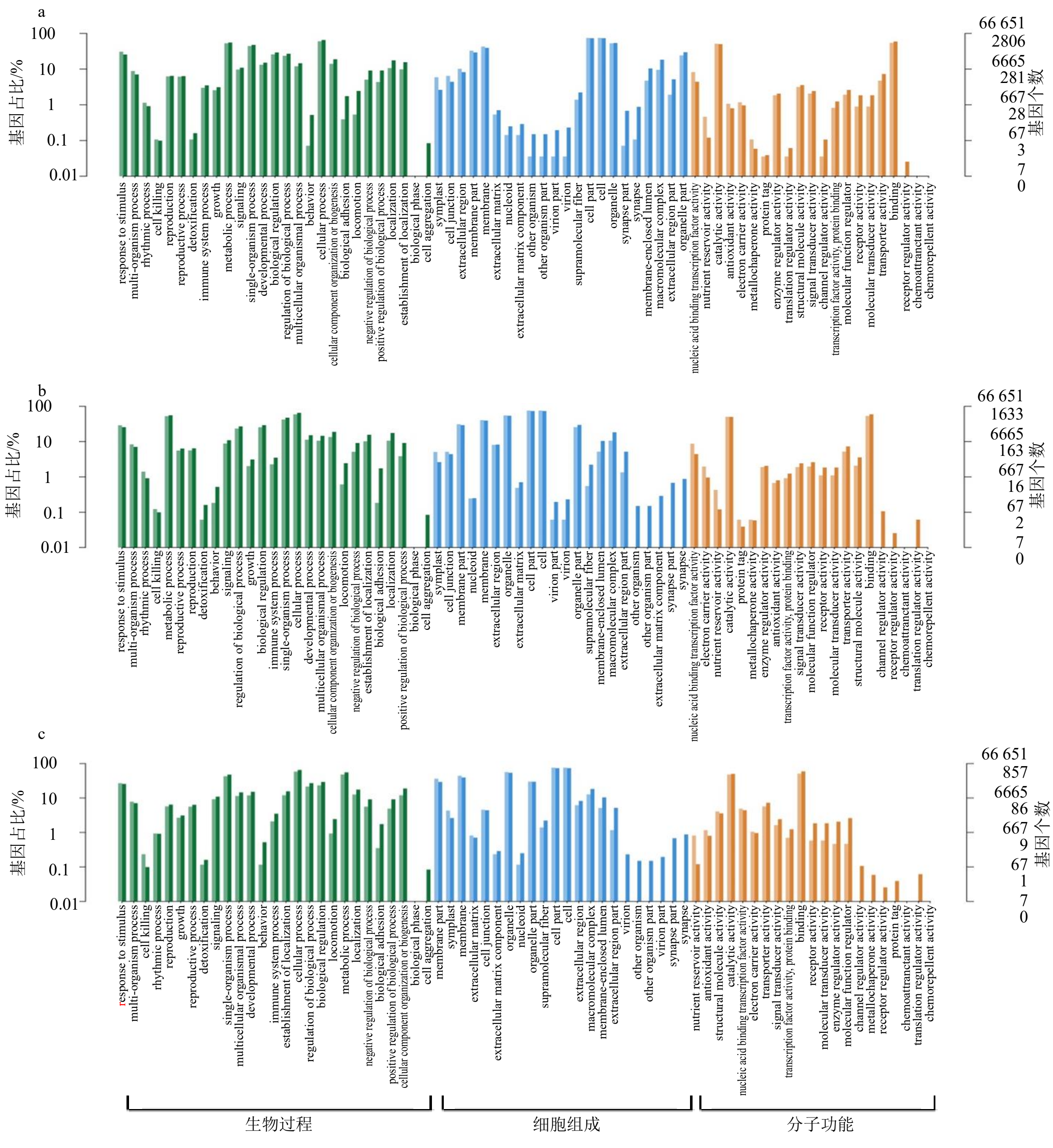
LED-1 分别有 484、939 和 1686 个 DEGs 被注释于 22 个 KOG 分类中（图 3）。在 KOG 中，“翻译后修饰和分子伴侣蛋白质周转”占最大比例，其次是“细胞壁、膜、包膜生物发生”和“次生代谢物生物合成、运输和分解代谢”，然而“细胞迁移”在 LED-1 *vs* LED-2 和 HPS *vs* LED-2 之间没有响应基因。为了鉴定转录组中代表的潜在生物途径。将 KEGG 用于进一步分析。结果显示，LED-1 vs LED-2 中有 733 个 DEGs 分配到 189 个 KEGG 途径，其中在“氧化磷酸化”“内质网中的蛋白质加工”和“核糖体”途径中显著富集。在 HPS *vs* LED-1 中，有 1078 个差异基因被注释在 220 个 KEGG 途径，其中在“氧化磷酸化”“氨基酸的生物合成”和“碳水化合物代谢”途径中显著富集。在 HPS *vs* LED-1 中，有 1865 个 DEGs 注释于 248 个 KEGG 途径，其中在“苯丙烷类生物合成”“植物-病原体相互作用”“植物激素信号转导”和“核糖体”显著富集。

3.4　DEGs 功能富集分析

为了提高 2 种光质对刺五加生长影响研究可靠性，识别出生物现象最相关生物学途径，采用超几何分布对基因富集分析，找出 2 种光质处理后与 HPS 对照组相比较，表达水平有差异的基因集。结果表明，与 HPS 对照组相比，LED-1 光质处理组苗具有 q 值＜0.05 的显著差异性基因集共 392 个，其中上调基因集 273，下调基因集 119 个，在这些基因集所标注中可以看出，LED-1 显著促进了刺五加细胞壁组织、细胞基质的合成过程，为刺五加生长提供了物质基础，而且，LED-1 处理还促进了激素接到和激素传递等反应功能基因，并显著提高了细胞对激素表达刺激的基因表达，证明其有效促进了刺五加实生苗体内激素含量，具体激素类型可结合 KEGG 激素相关合成通路进行分析；LED-2 光质处理组苗具有 q 值＜0.05 的显著差异性基因集共 201 个，其中上调基因集 152 个，下调基因集 59 个，LED-2 光质与 LED-1 光质促进的基因集具有显著差异，LED-2 光质似乎更有刺激刺五加实生苗光合系统的发育，其对叶绿体、类囊体的基因集具有显著影响，LED-2 对于次生代谢产物具有非常显著的基因集提高，但由于 LED-2 光质的光能较强，对于刺五加实生苗具有一定的刺激作用，从显著的基因集中可以看出，其显著提高了应激性防御基因集的表达。根据显著富集的功能最高的前 30 个 DEGs 集绘制散点图，见图 4。

3.5　光质对刺五加实生苗生长代谢相关通路影响

为深入探究 2 种光质模式对刺五加苗生长影响机制，分别将 2 处理组与 HPS 对照组的差异基因进



a-HPS *vs* LED-1 DEGs b-HPS *vs* LED-2 DEGs c-LED-1 *vs* LED-2 DEGs

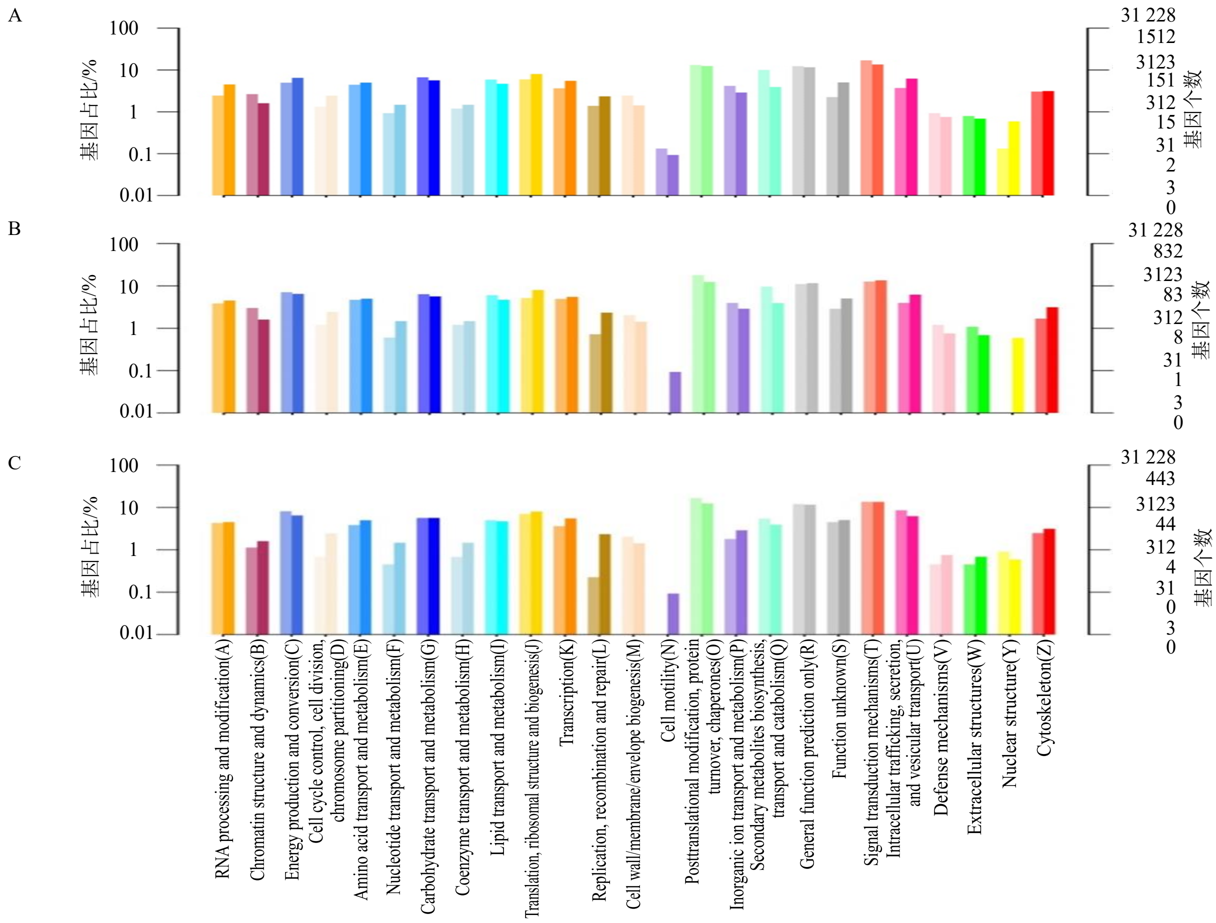
图 2 GO 注释不同光质处理组 DEGs

Fig. 2 GO annotation of DEGs between different light spectrum treatments

行生长和营养代谢相关通路富集，研究发现 LED-1 处理光质对植物激素传导、糖代谢和类固醇生物合成等 9 条与生长相关通路有影响，其中 4 条具有显著性影响；LED-2 处理对植物激素传导等 7 条与生长相关通路产生影响，但仅对植物激素方向具有显著性影响，通路名称、注释差异基因个数及显著性见表 2。

3.6 光质对刺五加实生苗次生代谢产物相关通路影响

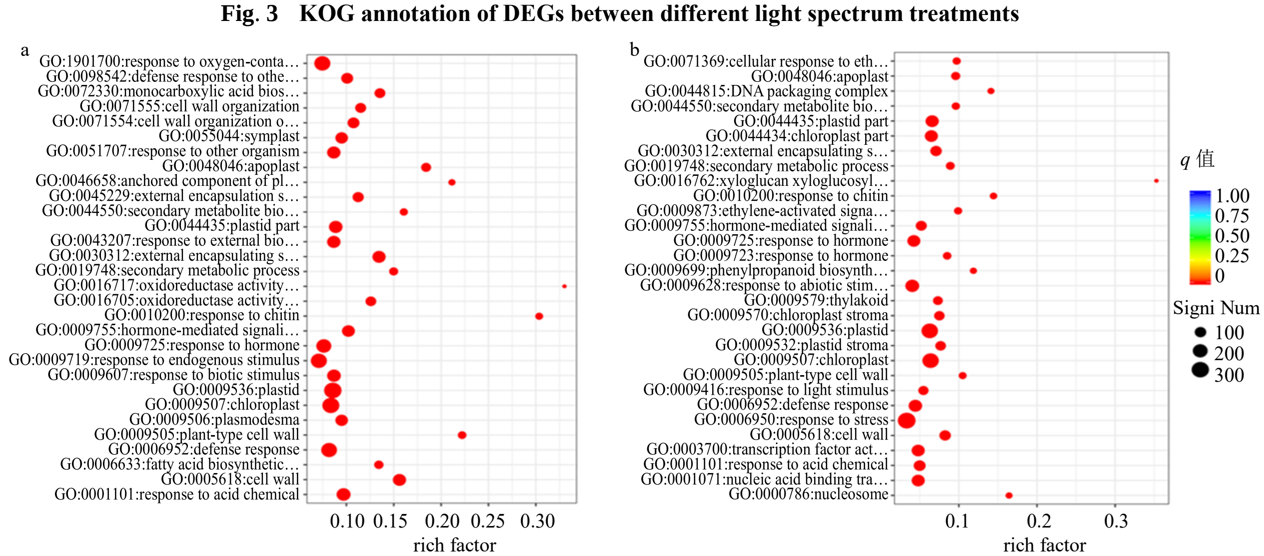
为了深入了解 2 种生产模式光质对于刺五加苗次生代谢影响，分别将 2 处理组与 HPS 对照组的差异基因进行次生代谢相关通路富集，通路名称、注释差异基因个数及显著性见表 3。结果表明，2 种光质种植模式对于苯丙烷类生物合成、苯丙氨酸代谢



A-HPS/LED-1 DEGs　B-HPS/LED-2 DEGs　C-LED-1/LED-2 DEGs

图 3　KOG 注释不同光质处理组 DEGs

Fig. 3　KOG annotation of DEGs between different light spectrum treatments



a-HPS/LED-1 DEGs　b-HPS/LED-2 DEGs　纵坐标代表功能注释信息，横坐标表示对应的 rich factor，*q* 值大小由点颜色表示，颜色越深，*q* 值越小，每个功能下包含的 DEG 多少用点大小表示

a-DEGs between HPS and LED-1　b-The DEGs between HPS and LED-2　The vertical axis represents the functional annotation information, the horizontal axis represents the corresponding rich factor, and the *q* value size is represented by the dot color. The darker the color, the smaller the *q* value. The amount of DEG included in each function is represented by the dot size

图 4　显著富集功能散点图

Fig. 4　KOG annotation of DEGs between different light spectrum treatments

表 2 不同处理与 HPS 对照组生长代谢显著差异通路

Table 2 Significant difference pathway in growth metabolism between different treatments and HPS control group

处理	通路 ID	通路	P 值
LED-1	ko04075	植物激素信号转导	1.25×10^{-7}
	ko00520	氨基糖和核苷酸糖代谢	0.008
	ko00905	油菜素甾体生物合成	0.028
	ko00500	淀粉和蔗糖代谢	0.036
	ko00910	氮代谢	0.152
	ko00908	玉米素生物合成	0.374
	ko00620	丙酮酸代谢	0.999
	ko01200	碳代谢	0.999
	ko00020	柠檬酸循环（TCA 循环）	0.999
LED-2	ko04075	植物激素信号转导	0.021
	ko00500	淀粉和蔗糖代谢	0.328
	ko00908	玉米素生物合成	0.337
	ko00905	油菜素甾体生物合成	0.622
	ko00910	氮代谢	0.650
	ko01200	碳代谢	0.908
	ko00020	柠檬酸循环（TCA 循环）	0.982

和类黄酮生物合成均有极显著的影响，而这 3 条途径包括刺五加绝大多数的药效成分。此外，LED-2 光质对于刺五加苗的次生代谢产物萜类合成，尤其是倍半萜类和三萜类化合物的生物合成具有显著影响。

3.7 qRT-PCR 验证基因表达

为验证转录组数据中差异表达基因的可靠性，选取了刺五加生长发育和苯丙氨酸类合成途径相关途径的 3 个关键酶基因进行 qRT-PCR 分析。结果如表 4、5 所示，根据 2 种光质不同处理中所选定的 3 条代谢相关途径，可以看出 LED-1 光质处理对于植物生理生长和苯丙氨酸类合成途径中的 GRH1 和 PAL3 与 HPS 对照组相比在刺五加苗体内极显著表达，LED-2 处理组促生长和苯丙氨酸类化合物合成的相关基因 GH31 和 PAL3 表达量显著高于 HPS 对照组。这些基因 qRT-PCR 研究结果与转录组分析结果一致。

表 3 不同光质处理组与 HPS 对照组次生代谢相关显著差异基因表达通路

Table 3 Significantly different gene expression pathways related to secondary metabolism in different light quality treatment groups and HPS control groups

处理	通路 ID	通路	P 值
LED-1	ko00940	苯基丙烷生物合成	4.57×10^{-16}
	ko00360	苯丙氨酸代谢	1.29×10^{-7}
	ko00941	类黄酮生物合成	4.82×10^{-5}
	ko00904	二萜生物合成	0.078 4
	ko00902	单萜生物合成	0.852 052
	ko00960	托烷、哌啶和吡啶生物碱生物合成	0.972 693
LED-2	ko00940	苯基丙烷生物合成	2.66×10^{-6}
	ko00941	类黄酮生物合成	2.46×10^{-5}
	ko00360	苯丙氨酸代谢	1.42×10^{-4}
	ko00909	倍半萜和三萜生物合成	0.031
	ko00900	萜类骨架生物合成	0.041 815
	ko00902	单萜生物合成	0.080 549
	ko00904	二萜生物合成	0.226 124

表 4 LED-1 处理组与 HPS 对照组关键基因 qRT-PCR 结果

Table 4 qRT-PCR results of key genes in LED-1 treatment and HPS control group

关键基因	HPS			LED1		
	ΔC_t	$\Delta\Delta C_t$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔC_t	$\Delta\Delta C_t$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
GRH1	5.199 29	0	1	0.734 39	−4.464 9	22.083 546 89
PAL3	4.403 29	0	1	0.687 39	−3.715 9	13.140 060 38

表 5 LED-2 处理组与 HPS 对照组关键基因 qRT-PCR 结果

Table 5 qRT-PCR results of key genes in LED-2 treatment and HPS control group

关键基因	HPS			LED-2		
	ΔC_t	$\Delta\Delta C_t$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔC_t	$\Delta\Delta C_t$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
GH31	2.397 61	0	1	0.599 30	−1.798 31	3.478 125 524
PAL3	0.343 29	0	1	−1.582 36	−1.925 65	3.799 079 757

4 讨论

光质对植物的生长和生理代谢至关重要，它不仅作为能量来源直接影响植物的光合作用，还是一种影响植物光形态建成和体内物质代谢活动主要触发信号[11]。近年来，LED 灯光和不同颜色的滤光膜常被研究者用来探究光质对植物生长和次生代谢物质积累的影响。相对于滤光膜，LED 灯光有着光谱波段更加精密的优点，备受学者们关注[12]。本研究通过比较其丰度和相关基因上调显著性和差异性，在分子机制研究过程中发现，LED-1 光照处理对于刺五加生长和发育在分子水平表现出主要促进生理机制发生和激素水平，进而促进的刺五加苗的快速生长；而 LED-2 对于刺五加生长则有刺激性，虽然株高增长更快，但是却是一种类似于刺激性生长；这一点除了在次生代谢相关途径差别印证，与 LED-1 光质处理组差异基因注释通路明显不同，LED-2 光质处理对于刺五加苗生长过程中，有多种应激性的促生长调节方式反馈。LED-2 光质处理作为刺五加苗生长过程中一种环境胁迫，使得刺五加幼苗产生了一系列的防卫反应，有相当数量涉及到 PPAR 信号通路、TGF-β 信号通路、Ras 信号通路、PI3K-Akt 信号通路”等应激性反应生物学过程的 unigene 得到了差异表达。与此同时，涉及过氧物应激系统、钙离子、茉莉酸和苯丙氨酸等信号转导过程的 unigene 差异表达也非常显著。因此，基于转录组学和 qRT-PCR 的研究结果，认为 LED-2 光质影响刺五加苗的代谢轮廓是主要是通过这些信号转导基因的差异表达促使转录因子等基因表达水平发生变化，而 PAL3 作为 PAL 基因家族成员是参与苯丙烷代谢途径的重要酶，是生物合成苯丙烷类天然产物的第 1 步，而且可以参与植物色素的形成。本实验不同处理对于 PAL3 的表达量均有显著影响，且 LED-1 中表达量显著高于 LED-2 处理，这也印证了光质对于植物的刺激反应和激发植物体内“防御基因”，进而促进次生代谢产物的合成。

刺五加作为世界重要的药用植物，国内外研究者对其物质基础、药理活性及其药效学等方面展开了广泛而深入的研究。目前已有学者对于刺五加有效成分合成的关键基因进行克隆研究，但是目前还未见刺五加整个基因组信息公布，公共数据库可获得的刺五加基因组信息非常有限。因此，本实验通过基于 Illumina HiseqTM 测序平台，对刺五加叶转录组进行深度测序和 de-novo 组装，获得的 unigene，与 NR、SWISS-PROT 等公共数据库进行比对和注释，建立了刺五加功能基因数据库。同时，对不同光质照射处理下的刺五加 unigene 的表达情况进行了深度分析，从中筛选出主要涉及信号转导、植物激素调控、糖代谢等生物学过程的差异表达 unigene。本研究通过高通量转录组测序，初步揭示了光质改变对刺五加基因表达的调控特征，对其中一些关键基因和转录因子进行深入研究，可为刺五加药效成分的生物合成机制以及在大田生产育苗中的合理优化光环境提供科学依据。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国科学院北京植物研究所南京地质古生物研究所《中国新生代植物》编写组. 中国植物化石（第三册-中国新生代植物） [M]. 北京: 科学出版社, 1978: 99.

[2] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 215.

[3] 孙晓琛, 栗锦鹏, 原静静, 等. 基于转录组测序分析干旱胁迫对党参不同组织基因表达的调控 [J]. 中草药, 2022, 53(14): 4465-4475.

[4] 鲁招弟, 张桦, 刘忠颖. 刺五加的经济价值及栽培技术综述 [J]. 世界热带农业信息, 2022(5): 31-33.

[5] 宋莹. 不同光质对刺五加生理代谢影响 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2021.

[6] Molina C, Rotter B, Horres R, *et al*. SuperSAGE: The drought stress-responsive transcriptome of chickpea roots [J]. *BMC Genomics*, 2008, 9: 553.

[7] Feng Y, Gu D Z, Wang Z Y, *et al*. Comprehensive evaluation and analysis of the salinity stress response mechanisms based on transcriptome and metabolome of *Staphylococcus aureus* [J]. *Arch Microbiol*, 2021, 204(1): 28.

[8] Chen Y Y, Xu H W, He T, *et al*. Comparative analysis of morphology, photosynthetic physiology, and transcriptome between diploid and tetraploid barley derived from microspore culture [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 626916.

[9] Li W X, Lu X, Li J M. The effect of organic nutrient solution on flavor in ripe cherry tomato fruit—Transcriptome and metabolomic analyses [J]. *Environ Exp Bot*, 2022, 194: 104721.

[10] Gao S, Wang K, Li N, *et al*. The growth and photosynthetic responses of white LEDs with supplemental blue light in green onion (*Allium fistulosum* L.) unveiled by Illumina and single-molecule real-time (SMRT) RNA-sequencing [J]. *Environ Exp Bot*, 2022, 197: 104835.

[11] 潘俊倩, 佟曦然, 郭宝林. 光对植物黄酮类化合物的影响研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(21): 3897-3903.

[12] 胡阳, 江莎, 李洁, 等. 光强和光质对植物生长发育的影响 [J]. 内蒙古农业大学学报: 自然科学版, 2009, 30(4): 296-303.

[责任编辑　时圣明]