

分子生物学技术在薯蓣属植物中的应用研究进展

朱绍杰, 王宇飞, 于丹, 都晓伟*

黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150000

摘要: 薯蓣属植物作为一个重要的药用类群, 其分子生物学研究受到了普遍的关注。分子生物学技术在薯蓣属植物中的应用不仅可以有效地解决近缘物种及混伪品的鉴别问题, 同时还可促进其优良品种的开发与利用。从遗传多样性、种质资源、分子鉴定、系统进化、物种起源和功能基因多组学角度, 对分子生物学技术在薯蓣属植物中的应用进行了全面的综述, 并分析了现存的问题及未来发展, 以期薯蓣属植物种质资源的深度开发与可持续利用提供有价值的参考。

关键词: 分子生物学技术; 薯蓣属植物; 遗传多样性; 系统进化; 功能基因

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)20-7192-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.20.034

Application of molecular biology technology in *Dioscorea*

ZHU Shaojie, WANG Yufei, YU Dan, DU Xiaowei

Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150000, China

Abstract: *Dioscorea* species belong to a significant medicinal phyto-group, and the studies of molecular biology on them have attracted general attention. The application of molecular biology technology in *Dioscorea* can not only effectively solve the problems of identifying closely related species and distinguishing confusable varieties, but also improve the development and utilization of quality varieties. This paper comprehensively reviewed the application of molecular biology technology in *Dioscorea* plants from the perspectives of genetic diversity, germplasm resources, molecular identification, phyletic evolution, species origin, and functional gene multiomics, and analyzed current issues and future developments. It is expected to provide a valuable reference for the in-depth development and sustainable utilization of *Dioscorea* plant resources.

Key words: molecular biology technology; *Dioscorea* plants; genetic diversity; systematic evolution; functional gene

薯蓣属 *Dioscorea* L. 为缠绕性藤本植物, 多生长于热带和亚热带地区, 部分温带地区也有分布^[1]。据不完全统计, 我国现有薯蓣属植物约 49 种, 可以划分为根状茎组、基生翅组、周生翅组、顶生翅组、丁字形毛组和复叶组。薯蓣属植物具有良好的药用价值, 可用于治疗风湿痹病、关节肿胀、疼痛麻木、跌扑损伤、咳嗽气喘、脾虚食少、久泻不止、肺虚喘咳、肾虚遗精等疾病^[2-3], 日益增多的市场需求量导致大部分野生薯蓣属药用植物资源锐减, 如我国穿龙薯蓣 *D. nipponica* Makino 在 20 世纪 80 年代蕴藏量非常大, 由于受环境因素和人为因素影响, 其药材穿山龙的储量从 1980 年的 300 000 t 骤降到 2011 年的 2 000 t, 但相对社会需求和应用范围都在

不断扩大, 从而造成了产量供不应求的局面^[4]。同时, 由于薯蓣属植物种类较多, 经常发生使用混乱的现象, 不仅出现了近缘品种的替代, 甚至存在混伪问题, 如薯蓣属其他植物根茎的性状特征与薯蓣 *D. opposita* Thunb. 比较接近, 因此参薯 *D. alata* L.、山薯 *D. fordii* Prain & Burkill 等同属植物的根茎经常被用作山药的混伪品进行销售^[5], 造成中药材市场的产品质量参差不齐, 严重影响了临床用药的安全性和有效性。此外, 目前薯蓣属的研究大多集中在薯蓣、穿龙薯蓣、盾叶薯蓣 *D. zingiberensis* C. H. Wright 和黄独 *D. bulbifera* L. 等常用植物上, 部分同属其它植物的应用尚不明确, 一定程度上限制了该属植物的充分开发和利用。因此, 分子生物学技术

收稿日期: 2024-07-09

基金项目: 国家自然科学基金联合基金重点项目 (U22A20369); 国家自然科学基金面上项目 (82373980)

作者简介: 朱绍杰, 硕士研究生, 研究方向为天然药物质量评价与开发。E-mail: 13309303808@163.com

*通信作者: 都晓伟, 女, 教授, 从事天然药物质量评价与开发研究。E-mail: xiaoweidu@hotmail.com

的应用不仅可以有效地解决薯蓣属植物品种及混伪品的鉴别问题，还可促进薯蓣属植物的优良品种选育，提高其生产和应用价值。

近年已有学者通过分子生物学技术对薯蓣属植物的遗传多样性、种质资源以及功能基因等方面开展了大量科学研究，但仍缺乏对该属相关研究进展的系统总结。鉴于此，本文对近年来分子生物学技术在薯蓣属植物中的应用进展进行综述，包括薯蓣属植物的遗传多样性、种质资源、分子鉴定、系统进化、物种起源和功能基因多组学方面，以期对薯蓣属植物的深度开发与可持续利用提供参考。

1 物种遗传多样性及种质资源分析

1.1 遗传多样性及亲缘关系分析

遗传多样性分析对薯蓣属植物的物种进化、资源开发以及品种保护等方面具有重要意义。近年来，众多学者利用简单重复序列（simple sequence repeat, SSR）、分子标记技术（inter-simple sequence repeat, ISSR）、扩增的限制性内切酶片段长度多态性（amplified fragment length polymorphism, AFLP）和特异引物PCR标记随机扩增多态性DNA（random amplified polymorphic DNA, RAPD）等分子标记方法，对薯蓣属植物不同物种的遗传多样性进行了多

方位、深层次的研究。通过分子标记的遗传多样性统计发现^[6-7]，薯蓣属植物的多态性率（percentage of polymorphic loci, PPL）较高，多态性位点丰富，特别是对山药、盾叶薯蓣、参薯的遗传多样性研究较为深入。Darkwa 等^[8]以单核苷酸多态性技术（single nucleotide polymorphism, SNP）为分子标记，对自几内亚山药 *D. rotundata* Poir.进行遗传多样性分析，联合形态性状分析，以表型和分子信息全面评估了173份样品的遗传多样性，为其育种和定量遗传变异研究提供了实验基础。

目前，分子标记技术被更多用于薯蓣属植物种间的亲缘关系研究，如蔡锦玲等^[9]采用RAPD分子标记技术深入分析了7个淮山种质资源的遗传多样性，并通过聚类分析揭示了其品种间的亲缘关系。研究表明，分子水平的遗传关系与传统形态学分类结果一致。同时，该研究联合种质资源进行评价分析，揭示了亲缘关系与其产量间存在一定的相关性。此外，郭文等^[10]的SSR分子标记研究指出，我国的山药与盾叶薯蓣亲缘关系较近，与野生黄独存在显著的遗传差异。目前已有大量薯蓣属植物遗传多样性的研究报道，可为后续该属植物亲缘关系的分析提供理论参考，相关信息见表1。

表1 薯蓣属植物遗传多样性参数

Table 1 Genetic diversity parameters of *Dioscorea* species

标记方法	分类种数	样本总数	总引物数	有效引物	总条带	多态性条带	PPL/%	遗传多样性	Shannon's 信息指数	等位基因数	有效等位基因数	文献
SSR	/	64	20	20	69	59	85.51	0.38	0.57	2.00	1.57	7
RAPD	2	7	63	31	/	/	/	/	/	/	/	9
SSR	/	17	42	22	138	136	98.55	/	/	/	/	10
ISSR	4	44	100	8	87	87	100.00	/	/	/	/	11
ISSR	4	94	100	24	352	344	97.70	/	/	/	/	12
SSR	8	22	200	10	88	88	100.00	/	/	1.78	1.78	13
RAPD	4	30	80	20	283	241	85.16	/	/	/	/	14
AFLP	4	22	8	8	790	461	90.00	/	/	/	/	14

1.2 种质资源分析

优良的种质是薯蓣属植物资源研究和开发利用的重要保证。在薯蓣属植物种内水平上的多态性研究中，辛佳佳等^[15]对同一种质山药的遗传多样性进行SSR分析，11对引物共扩增出113个条带，其中PPL为82.3%。亦有学者采用分子标记技术深入分析了不同种质山药的遗传多样性，其多态性均达到

75%以上^[16-17]。这些研究揭示了山药种质资源在分子水平上具有丰富的多态性，且多态性的高低与种源地具有一定相关性。在种质资源的遗传变异研究中，分子标记技术为研究薯蓣属植物的分子育种和资源保护提供了重要的参考，如Amponsah等^[18]通过SNP技术和分子方差分析（analysis of molecular variance, AMOVA）揭示了乌干达山药 *D. rotundata*

Poir.的遗传变异特征,该物种居群内遗传变异率远高于居群间遗传变异率,证明其大多数遗传变异存在于种群内部。除山药以外,孙小芹等^[19]基于 RAPD 分子标记对叉蕊薯蓣 *D. collettii* Hook. f.和粉背薯蓣 *D. collettii* var. *hypoglauca* (Palib.) C. Pei & C. T. Ting 的遗传多样性展开研究,发现二者的种群内部遗传变异达到 76.9%,远高于种群间,该结果符合“薯蓣属植物种内遗传变异大于种间遗传变异”的普遍性规律。同时,赵容等^[20]采用 SRAP 和 SSR 技术分析了不同地区穿龙薯蓣的遗传分化水平,结果显示辽宁省新宾县平顶山镇与北京市的穿龙薯蓣遗传差异最大,地理距离较远;黑龙江省尚志市与黑龙江省牡丹江市的穿龙薯蓣遗传相似性最大,地理距离也较近,表明遗传相似性和地理距离可能存在一定关系。曾昭清等^[21]揭示了褐苞薯蓣 *D. persimilis* Prain & Burkill.的遗传分化水平,发现广西省钦州市和广西省贺州市样品的遗传相似度最低,遗传距离最大。湖南省永州市与广东省韶关市的样品遗传相似度最大,遗传距离最小,且聚类分析结果将相近的居群分别聚在一起,同样提示样品的遗传相似度与地理距离有关。上述研究证明,不同居群间的地理距离是影响种质资源遗传变异的主要原因之一,种质资源分布的地理距离越小,基因交流越丰富,进而会影响种质资源的遗传变异分化。此外,王葡萄等^[22]通过 SRAP 和 SSR 分析将 12 份不同产地的山药栽培品种划分为 3 类,表明栽培品种间存在一定的遗传分化,且材料间的遗传分化与其地域分布也有一定的相关性。邻近产地的山药栽培品种遗传相似度较高,如瑞昌市南阳乡产山药与瑞昌市洪下乡产山药的遗传相似系数高达 0.964,这可能与相邻乡镇间的频繁交叉引种有关。因此,人为因素亦是薯蓣属植物种质资源遗传分化程度高低的重要原因之一,即人为跨区域引种越频繁,薯蓣属植物的遗传相似系数越高,进而影响到种质资源的遗传分化。

2 物种及混伪品的分子鉴定研究

2.1 物种的分子鉴定研究

我国薯蓣属植物种类丰富,且分布区域广泛,传统方法对不同薯蓣属物种的鉴别难度较大,因此需要建立准确、快速、稳定的分子鉴定技术方法。

Techen 等^[23]对 6 种薯蓣属近缘物种的 LFY2 序列进行测序分析,发现能有效区分薯蓣属植物,且物种识别率为 100%。Sun 等^[24]以 *rbcL*、*matK* 及 *psbA-trnH* 序列探讨薯蓣属植物的分子鉴定方法,

结果表明 *matK* 序列的引物扩增率和物种识别率最高,因此筛选其作为薯蓣属物种鉴别的最佳 DNA 候选序列。孙华钦^[25]基于 *psbA-trnH* 序列对穿龙薯蓣及同属物种展开研究,证明了 *psbA-trnH* 片段序列在该物种与其他物种间存在明显差异。同时,马双姣等^[26]对薯蓣和叉蕊薯蓣进行了系统进化分析,研究显示薯蓣属叶绿体基因组中蛋白编码区序列变异程度低于非编码区,并通过综合比较序列长度以及变异程度,筛选出 10 个适合作为分子标记的候选序列,其中包括 5 个蛋白编码基因和 5 个基因间隔区,该研究证明叶绿体全基因组序列能有效鉴别薯蓣属物种,可以作为薯蓣属物种鉴定的超级条形码。DNA 条形码研究为薯蓣属植物的物种鉴定和系统进化研究提供了理论依据,进一步开发和完善 DNA 条形码数据库,提高其覆盖面和准确性,将有助于解决薯蓣属植物鉴别中存在的难题。

2.2 薯蓣属品种和混伪品的分子鉴别研究

研究表明薯蓣属植物生长发育容易受到环境的影响,即同一物种在不同生长环境下,会发生不同程度的形态特征变化和化学成分差异,从而形成一系列的地方品种,并且大多品种遗传背景复杂,导致传统方法达不到有效鉴定的目的。因此,对于薯蓣属植物需要建立一种准确、可靠的品种鉴定和系统分类方法。研究人员发现,采用多位点分子标记和新型分子标记引物,可以显著提高薯蓣属植物品种鉴别的效率。Diouf 等^[27]从 18 个 SSR 随机标记中筛选得到 17 个有效标记,能快速有效区分山药的不同品种和倍性。Agre 等^[28]对 6 个山药品种进行分析,从 374 个基因型中筛选出在物种间具有高度多态性的 50 个 SNP 标记,能够高效区分不同来源的品种。此外,研究者通过分子标记技术建立了薯蓣属植物的指纹图谱数据库,为其指纹图谱的构建提供了重要的数据支持,也为其品种鉴别提供了新的选择,如郭文等^[29]利用 AFLP 分子标记对 4 种薯蓣属植物的多个品种构建了指纹图谱数据库,其中小花盾叶薯蓣 *D. sinoparviflora* C. T. Ting, M. G. Gilbert & Turland.、盾叶薯蓣、黄独以及山药的种内多态率分别为 84.06%、99.08%、72.87%和 98.79%,表明薯蓣属植物种内均存在较大差异。

近年来,DNA 条形码为薯蓣属植物的品种鉴别提供了科学参考,其中主要涉及 *atpI-rsp2*、*psbC-trnS*、*ITS1*、*ITS2*、*trnQ-rps16*、*psbM-trnD* 等序列。张静珍等^[30]对不同品种山药的 *atpI-rsp2* 和 *psbC-*

trnS 序列进行对比分析,发现 atpI-rsp2 和 psbC-trnS 序列可通过自身碱基差异有效区分不同的品种。同时,吴志刚^[31]的研究表明 ITS1 序列和 ITS2 序列亦有鉴定山药品种的功能。此外,有报道通过 DNA 条形码序列建立品种鉴定体系,不仅有助于目标品种的有效鉴定,亦有利于系统进化的深入研究。程月琴等^[32]通过比较怀山药与其他品种在叶绿体 DNA 的 trnQ-rps16 和 psbM-trnD 片段上的差异,利用这些序列建立了一种准确、快速、便捷的品种鉴别方法。彭斌^[33]基于铁棍山药中 ISAP 和 ISSR 标记的特异性谱带,开发出其道地产区特异性鉴定体系,在准确鉴别的基础上还可筛选出道地产区的铁棍山药品种。此外,赵琳娜等^[34]指出 rpoC1 序列在山药中显示出很高的扩增效率和测序成功率,可对该物种及其混伪品进行有效鉴别;高慧新^[35]利用 ISSR 分子标记建立了褐苞薯蓣及其混伪品的鉴别方法,并证明 psbA-trnH 序列可以作为其与易混淆品种鉴别的 DNA 条形码候选序列。

3 物种起源与系统进化研究

3.1 物种起源研究

由于长期自然选择与人工驯化,薯蓣属植物衍生了多个亚种或变种,利用传统方法对其起源及进化分析所能获得的信息较少,具有一定的局限性。因此,基于分子生物学技术研究薯蓣属植物的物种起源成为一个新的途径。Sonibare 等^[36]在研究杜氏薯蓣 *D. dumetorum* (Kunth) Pax. 遗传多样性和地理分布的过程中,发现 AMVOA 分析中的国家间方差成分仅占 3%,且尼日利亚和多哥聚为一组,其他国家则散布于这 2 个群体之间。同时,这些国家中尼日利亚和多哥的遗传多样性最高,表明尼日利亚和多哥是杜氏薯蓣的起源地和遗传多样性中心。此外,因大量的基因流动、生物传播和人类活动对其他国家引入的杜氏薯蓣遗传多样性产生了影响。Sharif 等^[37]收集了横跨四大洲的 643 个参薯样本,探讨其遗传多样性和多倍性,结果显示东南亚大陆和太平洋大陆的山药基因库在早期出现分化,参薯在向西传播之前起源于这两个地区,并验证了亚洲和太平洋 2 个主要参薯基因库独立进化形成的假设。Cao 等^[38]采用分子标记技术深入分析了中国薯蓣的遗传差异和群体结构,推测薯蓣可能起源于中国并由野生种驯化而来。张玉君^[39]对多个产地的薯蓣和参薯进行遗传多样性水平分析,基于其系统发育进化树推测栽培薯蓣主要起源于河南省云台

山,栽培参薯主要起源于江西省袁州区。大量研究表明,分子生物学技术在薯蓣属植物中的应用有助于研究其起源与传播,并对于充分发掘野生种质资源、利用基因和分子信息开展育种改良、从头驯化等具有重要意义。

3.2 系统进化研究

随着分子生物学技术的发展,薯蓣属植物的叶绿体基因组逐渐成为研究热点,不但可用于了解属内组间的进化,亦可分析该属与其他物种之间的系统发育关系,Wu 等^[40]以穿龙薯蓣为材料,采用高通量测序和最大拟然法(maximum likelihood method, ML)构建系统发育树,可以将其与近缘物种有效区分,同时发现穿龙薯蓣与龟甲龙 *D. elephantipes* (L'Hér.) Engl.、几内亚薯蓣间的亲缘关系最近;也有学者利用高通量测序技术对多种薯蓣属植物的全叶绿体基因组进行分析,并基于薯蓣属物种的叶绿体基因组信息构建系统发育树,这些研究采用的实验方法与参数略有不同,但分析结果均在一定程度上揭示了薯蓣属内的进化关系,认为参薯与薯蓣、叉蕊薯蓣与福州薯蓣 *Dioscorea futschauensis* Uline ex R. Knuth 及黄独与杜氏薯蓣的亲缘关系较近^[41-43]。此外,叶绿体全基因组测序研究亦能阐释同种植物不同品种之间的进化关系,如曾晓璇^[44]测序得到 4 种薯蓣的叶绿体基因组数据,并通过 ML 法对 73 个薯蓣及其近缘种进行分析,发现共可分为 8 个组别,其中薯蓣种下可分为 5 组,研究显示各类样本叶绿体基因组差异较小,但各分支的支长不同,说明这些品种在叶绿体层面存在进化不一致的情况。

DNA 条形码作为被子植物中应用较广的一种分子技术,也已成功应用于薯蓣属植物的系统进化研究,通过 DNA 条形码技术揭示了薯蓣属植物的遗传变异特征,如 Lu 等^[45]深入分析了多个薯蓣属物种的叶绿体序列,结果将 trnC-petN、trnL-rpl32、ndhD-ccsA 和 clpP 序列确定为潜在的 DNA 条形码,系统发育分析表明参薯与短柄薯蓣 *D. brevipetiolata* Prain & Burkill、光叶薯蓣 *D. glabra* Roxb. 的亲缘关系较近,与薯蓣 *D. cirrhosa* Lour.、日本薯蓣 *D. japonica* Thunb.、薯蓣的亲缘关系较远。同时,利用 DNA 条形码技术能够获取薯蓣属植物更为全面的遗传信息。Xia 等^[46]通过 ycf4-cemA、psaA-ycf3、clpP-psbB、rpl14-rpl16 序列对 11 个薯蓣属物种进行聚类分析,发现同一物种基本聚为一类,这些序列可作为薯蓣属植物聚类分析和物种划分的候选 DNA 条形码。

4 功能基因的组学研究

4.1 转录组学

应用转录组学技术对薯蓣属植物的研究主要体现在 2 个方面,一是基于转录组数据揭示植物活性成分的生物合成途径以及生长发育机制,目前,已有多篇采用转录组测序技术对薯蓣属植物中活性成分生物合成的研究报道,鉴定出了多个参与黄酮类、甾体皂苷类以及类胡萝卜素等成分生物合成的基因^[47-52]。薯蓣属植物的块茎部分具有很高的经济价值,块茎发育的转录组测序研究尤其受到关注,Li 等^[53]基于转录组数据研究不同时期薯蓣块茎的生长发育机制,结果显示差异表达基因富集在氨基酸生物合成、核糖体组分生物合成、淀粉和蔗糖代谢等通路。宋岩^[54]对不同发育阶段的山药块茎进行转录组研究,并注释得到了与块茎膨大相关的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)。另一方面,通过转录组数据分析薯蓣属植

物体内物质对基因表达的影响,如 Rieckötter 等^[55]分析了不同形状薯蓣块茎的转录组信息,研究表明山药块茎的形状取决于自身复杂的植物素信号调控网络,其中油菜素甾醇(brassinosteroids, BRs)起着核心作用。通过对比分析其 DEGs,证明 BRs 能够通过调控与生长素信号相关的 DEGs 来控制该物种块茎的形状,且 BRs 的含量与其块茎短粗程度成正比。Wu 等^[56]通过对比分析不同时期参薯珠芽的转录组数据,发现多种植物素(生长素、CKs 和 ABA)和蔗糖对涉及细胞分裂、增殖及珠芽形成的功能基因转录表达有正向影响,通过调控上述功能基因来促进其珠芽的形成及生长,尤其是生长素可促进珠芽的启动,这为珠芽生长发育的基因调控研究提供了参考。转录组学是揭示基因表达与生命现象内在联系的重要工具,尤其对深入了解植物的发育和进化具有重要作用,有关薯蓣属植物的转录组测序情况详见表 2。

表 2 薯蓣属植物转录组测序情况

Table 2 Transcriptome sequencing of *Dioscorea* species

对象	注释单基因数	Nr 数据库	NT 数据库	GO 数据库	KOG 数据库	KEGG 数据库	SwissProt 数据库	InterPro 数据库	差异表达基因	文献
薯蓣	60 020	58 439	/	43 594	/	24 289	/	/	511	47
参薯	108					108			108	48
薯蓣	131 334	88 183		70 409	55 987	66 135	61 518		22 865	50
薯蓣	63 357			13 790		4 281			13 694	52
薯蓣	71 739			21 514	9 404	7 278			2 751	53
山药	203 062			6 539		321			8 023	54
薯蓣	105 710	105 710	80 140	47 384	44 848		99 364		30 033	55
薯蓣	213 566	25 684	16 891	17 603	19 472	20 191	22 159	8 270	14 238	57

近几年,关于 miRNA 在植物生长发育中的调控作用研究不断深入,Zhou 等^[57]对薯蓣块茎的 miRNA 进行测序研究,结果表明 miRNA160、miRNA396、miRNA535 和 miRNA5021 参与了该物种块茎膨大的复杂网络调控。从转录水平上探究薯蓣属植物的生长发育机制,对相关基因的调控及其开发利用具有重要意义,为控制其基因的遗传转化奠定理论基础。

4.2 蛋白质组学

蛋白质组学的出现标志着生命科学进入后基因组时代^[58],为深入研究薯蓣属植物的生长发育、应激响应、代谢调控等关键过程提供指导。索宁宁^[59]在研究山药块茎发育的过程中,经过蛋白质组学的测

序分析发现差异表达蛋白主要分布在糖代谢、淀粉代谢以及脂质代谢 3 类过程中,其中块茎大小与淀粉含量密切相关。Sharma 等^[60]对不同发育阶段的参薯块茎进行蛋白组学研究,结果表明 1131 个蛋白主要分布在细胞和代谢 2 类过程中,且块茎的生长发育与 ASH-GSH 循环、能量代谢和碳水化合物代谢密切相关,并进一步筛选出了调控生长发育的关键酶。同时,汪宝卿等^[61]深入研究不同耐旱性甘薯品种的蛋白质组,注释分析显示 2 品种块根差异蛋白分子功能主要涉及过氧化物酶活性、氧化还原酶活性等。在干旱胁迫条件下,耐旱性强的品种可通过诱导产生过氧化物酶抵御干旱胁迫,而耐旱性弱的品种则通过蔗糖合酶维持能量代谢。该研究探讨了甘

薯耐旱性的生理机制, 并发现了一些潜在的耐旱基因。

4.3 重要功能基因研究

4.3.1 活性成分相关基因 薯蓣皂苷是薯蓣属植物最主要的活性成分, 被广泛用于多种药物的合成, 需求量极大, 因此对参与薯蓣皂苷合成的关键酶基因进行克隆成为主要研究方向。为深入解析薯蓣皂苷的合成机制, 科学工作者们以盾叶薯蓣为研究对象, 分别克隆获得了 *SQS* 基因、*CS* 基因、*C24* 甲基转移酶 (sterol C24-methyltransferase, *SMT*) 基因、4-羟基-3-甲基-2-丁烯基焦磷酸还原酶 (4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl diphosphate reductase, *HDR*) 基因、4-羟基-3-甲基-2-赤藓磷酸合酶 (4-hydroxy-3-methyl-2-butenyl diphosphate synthase, *HDS*) 基因、1-脱氧-木酮糖-5-磷酸还原异构酶 (1-deoxy-D-xylulose5-phosphate reductoisomerase, *DXR*) 基因、4-胞苷 5-磷酸-2-C-甲基-D-赤藓糖醇激酶 (4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol Kinase, *CMK*) 基因、2-C-甲基赤藓醇-2, 4-环焦磷酸合酶 (2-C-methyl-D-erythritol2, 4-cyclodiphosphate synthase, *MDS*) 基因、3-羟基-3-甲基戊二单酰辅酶 A 还原酶 (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, *HMGR*) 基因, 并发现 *HDR* 基因、*CMK* 基因、*HDS* 基因、*DXR* 基因以及 *MDS* 基因等可在大肠杆菌中进行表达^[62-69], 为探索薯蓣属植物皂苷合成的作用机制和表达调控提供信息。此外, 许娃丽^[70]对菊叶薯蓣 *D. composita* Hemsl. 的 *SQS* 基因、鲨烯环氧酶 (squalene epoxidase, *SE*) 基因、*CS* 基因和 *HMGR* 基因的差异表达展开研究, 证明 *HMGR* 基因在叶、茎和根中的表达量最高, 且只有 *HMGR* 基因在不同组织中的表达量存在显著性差异。冯宇梅等^[71]克隆得到穿龙薯蓣的 *SQS* 基因, 发现该基因与盾叶薯蓣 *SQS* 基因的相似性最高, 而且 *SQS* 基因在不同组织中的差异性表达与薯蓣皂苷元的含量差异规律相一致, 据此推测 *SQS* 基因对穿龙薯蓣的薯蓣皂苷元合成具有重要作用。

有关薯蓣属植物其他成分合成途径中关键酶基因的发掘克隆, 以山药块根淀粉合成相关酶的研究为主。据报道^[72-74], 已从山药中成功克隆得到了淀粉合成代谢关键酶, 包括己糖激酶基因 (hexokinase, *HXK*)、果糖激酶基因 (fructokinase, *FRK*)、颗粒结合型淀粉合成酶基因 (granule-bound starch

synthase, *GBSS*) 和异淀粉酶基因 (isoamylase, *ISA*), 并基于生物学分析证明了上述基因对淀粉合成代谢的关键作用。同时, 关键酶基因的结构分析也逐渐成为研究的热点, Xue 等^[75]从日本薯蓣中克隆得到储藏蛋白基因, 并对其结构和生物活性进行研究, 结果发现克隆的储藏蛋白与天然储藏蛋白具有相同的生物活性, 但生物活性显著降低, 这可能与克隆基因结构糖基化有密切关系。另一方面, 对于克隆基因的体外表达研究也逐渐增多, Song 等^[76]从盾叶薯蓣中克隆到 *SE* 基因和细胞色素 P450 还原酶 (cytochrome P450 reductase, *CPR*) 基因, 并成功实现了基因的体外表达; 王宏鹏等^[77]克隆得到菊叶薯蓣的磷酸甲羟戊酸激酶 (phosphomevalonate kinase, *PMK*) 基因, 并发现水杨酸诱导后的 *PMK* 表达与薯蓣皂素的积累具有正比关系。此外, 还有学者^[78-79]分别从参薯中成功克隆得到花青素合成酶 (anthocyanidin synthase, *ANS*) 基因、查耳酮合成酶 (chalcone synthase, *CHS*) 基因和查耳酮异构酶 (chalcone isomerase, *CHI*) 基因, 并证明上述基因与花青素在不同组织中含量的差异性高度一致。这些研究为解析薯蓣属植物萜类、甾醇、花青素和淀粉等成分生物合成机制、探究关键酶基因功能研究奠定基础。薯蓣属植物可通过甲羟戊酸途径 (mevalonate, *MVA*) 生成薯蓣皂苷, 其中角鲨烯合酶 (squalene synthase, *SQS*)、3-羟基-3-甲基戊二单酰辅酶 A 还原酶 (3-hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA Reductase, *HMGR*)、环阿屯醇合成酶 (cycloartenol synthase, *CS*) 是 *MVA* 途径的主要关键酶, 相关基因克隆情况详见表 3。

4.3.2 其他重要基因研究 除上述相关基因研究外, 在薯蓣属植物的生长发育中, 亦有许多其他重要基因被报道, 其中 Danny 等^[80]研究发现胁迫应答的转录因子在薯蓣属植物的生长发育中发挥着关键作用。例如, 山药中的多种抗逆基因已被成功克隆, 并发现在不同环境胁迫中抗逆基因的表达具有明显的差异, 且与环境恶劣程度有一定的相关性^[81-84]。张青等^[85]利用逆转录聚合酶链式反应 (RT-PCR) 技术, 克隆出患高抗炭疽病参薯的病程相关蛋白 1 (Pathogenesis-Related Protein 1, *DaPRI*), 研究发现 *DaPRI* 基因在受炭疽菌侵染样品中的表达明显增高, 在浸染 48h 时表达量最大。此外, 为探究参薯的抗大肠杆菌机制, 刘林娅等^[86]克隆得到其贮藏蛋白 (*Da-dio4*) 基因, 验证 *Da-dio4* 可以增强参薯对

表3 薯蓣属植物功能基因克隆情况
Table 3 Cloning of functional genes in *Dioscorea*

基因	物种	cDNA全长/bp	ORF开放阅读框/bp	ORF编码氨基酸/个	相对分子质量	等电点	同源性/%	编码蛋白结构	文献
<i>SQS</i>	盾叶薯蓣	1 453	1 230	409	46 000	6.20	70.00	/	62
<i>HMGR</i>	盾叶薯蓣	/	663	221	/	/	63.00	/	63
<i>CS</i>	盾叶薯蓣	/	1 245	335	/	/	80.00	具有OSCs酶特异性的DCTAE结构域	63
<i>HDR</i>	盾叶薯蓣	1 570	1 386	461	54 900	5.11	76.00	以 α -螺旋与不规则卷曲为主	64
<i>CMK</i>	盾叶薯蓣	1 303	1 170	389	42 990	6.77	82.00	具有CMK蛋白典型的3个结合域以及N末端有1个质体信号肽	65
<i>HDS</i>	盾叶薯蓣	2 488	2 250	749	82 700	6.08	88.00	在N末端有1个由43氨基酸残基组成的质体信号肽	65
<i>DXR</i>	盾叶薯蓣	1 643	1 413	470	50 900	5.98	82.00	具有DXR酶典型的4个基序以及N端富含脯氨酸的基序	66
<i>MDS</i>	盾叶薯蓣	893	717	238	25 100	6.54	73.00	具有2个高度保守的基序以及构成MDS蛋白的两个位点	66
<i>DWF1</i>	盾叶薯蓣	2 057	1 686	561	65 410	8.81	73.00	以不规则卷曲和 α -螺旋为主,且有5个蛋白结合区域	67
<i>DzS3GT</i>	盾叶薯蓣	1 944	1 731	577	63 000	6.42	76.00	以 α -螺旋和不规则盘绕为主,延伸链	68
<i>DzF26G</i>	盾叶薯蓣	1 873	1 641	547	62 300	6.05	67.00	以 α -螺旋和不规则盘绕为主,延伸链	68
<i>SQS1</i>	穿龙薯蓣	1 238	1 230	409	46 030	6.76	94.00	由 α -螺旋、延伸链、 β 转角以及无规则卷曲所构成	70
<i>SQS2</i>	穿龙薯蓣	1 309	1 302	433	48 960	7.56	94.00	由 α -螺旋、延伸链、 β 转角以及无规则卷曲所构成	70
<i>HXK3</i>	薯蓣	1 488	666	221	23 920	5.62	81.00	/	72
<i>FRK2</i>	薯蓣	1 342	1 002	333	35 820	5.27	82.00	/	72
<i>SQS</i>	黄独	1 548	415	/	48 780	5.97	96.40	由 α -螺旋,延伸链以及无规则卷曲所构成	73
<i>DaGBSS</i>	薯蓣	/	1 845	614	67 870	6.27	70.03	α -螺旋和无规则卷曲占主要部分	73
<i>ISA3</i>	薯蓣	/	1 584	527	60 210	6.15	/	α -螺旋、 β -转角、无规则卷曲和延伸链构成,无规则卷曲最多	75
<i>PMK</i>	菊叶薯蓣	/	1 536	511	54 830	5.63	72.85	/	77
<i>CHS</i>	紫参薯	922	825	274	/	/	90.00	/	78
<i>CHI</i>	紫参薯	764	663	221	/	/	67.00	/	78
<i>ANS</i>	参薯	1 534	1 320	356	40 220	5.81	73.00	/	79

大肠杆菌的抗性,并推测与其具有脱氢抗坏血酸还原酶活性(*DHA*)和单脱氢抗坏血酸还原酶活性(*MDA*)有关。

特异型转录因子亦调控植物的生长发育过程。如邢丽南等^[87]克隆山药 *DoWRKY40* 基因,并进行生物信息学和表达模式分析及亚细胞定位,构建山药块茎不同发育时期酵母文库,通过酵母双杂交技术筛选得到4类与 *DoWRKY40* 相互作用的蛋白,即内切葡聚糖酶蛋白、DNA结合蛋白 *BIN4*、蛋白磷酸酶蛋白和 *BAG* 家族分子伴侣蛋白。该研究表明,克隆得到的 *DoWRKY40* 基因响应山药的生长发育过程,选到的4类互作蛋白分别参与了山药的生长发育、细胞周期调节与细胞扩增、信号转导及环境胁迫应答,暗示其在山药细胞膨大及信号转导中起到调控作用。此外, *SPL* (squamosar promoter-binding-like) 基因家族

是在高等植物中广泛存在的一类转录因子家族,其参与免疫应答、代谢调节、逆境响应和生长发育等过程。刘铭等^[88]通过PCR从参薯中克隆获得 *DaSPL3* 的基因序列并分析其特征,采用酵母双杂交技术筛选到 *DaSPL3* 的6个互作蛋白,分别为 *WAT1*、*eIF4A-3*、*AKR1*、2-羧基-*D*-阿拉伯糖醇-1-磷酸酶、叶绿体茎环结合蛋白和叶绿素还原酶,并推测 *DaSPL3* 除参与参薯块茎发育过程外,还可能与互作蛋白参与免疫反应过程,响应逆境胁迫等过程,为后期探究 *DaSPL3* 基因功能及其调控机制提供了必要信息。综上所述,其他重要功能基因的研究为薯蓣属植物优良育种提供科学参考,对提升薯蓣属植物生产效益、保障用药安全具有重要的意义。

5 结语与展望

薯蓣属植物数量较多,且大多含有薯蓣皂苷类

化学成分,具有较高的药用价值,因此,分子生物技术的在该属植物中的应用也受到普遍关注。目前应用 DNA 条形码技术和分子标记技术在薯蓣属植物的种质资源评价、品种鉴别、遗传多样性和亲缘关系等方面开展了大量的研究工作,有效地解决了其与近缘物种及混伪品的鉴别、系统进化及物种起源等方面的问题。同时,基于转录组学、蛋白质组学和基因克隆技术深入研究了薯蓣属植物主要活性成分的生物合成途径,并已筛选获得相关重要功能基因,有力推进了该属植物活性成分生物合成机制的研究进程。

然而,在薯蓣属植物的分子标记研究中,对于部分植物亲缘关系的分析结果仍存在差异性,例如都是采用 ISSR 分子标记技术关于参薯、山薯、褐苞薯蓣及薯蓣亲缘关系的研究,有学者认为参薯与薯蓣的亲缘关系最远^[11],而另一文献的结果为参薯与褐苞薯蓣的亲缘关系最远^[12];又例如基于 SSR 分子标记的聚类分析显示铁棍山药与其组培苗聚为一类^[13],但在另一实验中利用 RAPD 分子标记的检验结果为铁棍山药与其组培苗各自为一组^[14]。这些相同研究得出不同研究结果的现象,可能与实验中分子标记技术获取的 DNA 信息不完整有关。未来可以通过扩展引物库或采用更高精度的分子标记技术手段,例如 SCoT 分子标记技术、SRAP 分子标记技术等,或者开发多种分子标记的联合应用技术,获取更多的 DNA 信息,从而提高薯蓣属植物亲缘关系信息结果的准确性和一致性。

现阶段分子生物学技术在薯蓣属植物中应用广泛,通过搭建基因组,解决了其系统进化方面的问题,并揭示了薯蓣属植物重要活性成分薯蓣皂苷的主要合成途径。未来可通过联合基因组学、转录组学等多组学技术,深入发掘调控薯蓣皂苷生物合成的相关基因,完整解析薯蓣皂苷类成分的生物合成途径,阐释其合成机制。另一方面,随着分子生物技术的不断发展和普及,拓展薯蓣属物种的研究范围,发现新的药用资源,促进优良种质的培育,为薯蓣属植物种质资源的深度开发、持续利用及有效保护提供有力支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 裴鉴,丁志遵. 中国植物志(薯蓣科,16卷1分册)[M]. 北京: 科学出版社,1985: 23.
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2020: 263.

- [3] 王丹,王肖龙. 基于网络药理学、分子对接与实验验证揭示薯蓣皂苷元治疗动脉粥样硬化的作用机制[J]. 中草药, 2022, 53(24): 7783-7794.
- [4] 丁立威. 东北穿山龙产销分析[J]. 中国现代中药, 2011, 13(10): 62-64.
- [5] 梁欣健. 南板蓝根与山药的DNA条形码鉴定研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2012.
- [6] Nudin N F H, Ali A M, Ngah N, et al. ISSR marker-assisted genetic diversity analysis of *Dioscorea hispida* and selection of the best variety for sustainable production[J]. *C R Biol*, 2017, 340(8): 359-366.
- [7] 张静珍. 基于叶绿体 DNA 分析的山药种质遗传多样性研究[D]. 荆州: 长江大学, 2022.
- [8] Darkwa K, Agre P, Olasanmi B, et al. Comparative assessment of genetic diversity matrices and clustering methods in white guinea yam (*Dioscorea rotundata*) based on morphological and molecular markers[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 13191.
- [9] 蔡锦玲, 凌永胜, 林文磊, 等. 应用 RAPD 标记检测淮山种质资源的遗传多样性[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(12): 120-122.
- [10] 郭文, 黄贤兰, 郭华春. 四种薯蓣属植物的 SSR 分析[J]. 分子植物育种, 2014, 12(2): 278-286.
- [11] 陈阳, 周先治, 马丽娜, 等. 基于 ISSR 分子标记的 44 种山药种质资源遗传多样性分析[J]. 福建农业科技, 2023, 54(2): 1-7.
- [12] 雷伏贵, 华树妹, 涂前程, 等. 山药种质资源亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 福建农业学报, 2013, 28(1): 27-32.
- [13] 张文芳. 基于怀山药转录组测序的 SSR 分子标记的开发与应用[D]. 新乡: 河南师范大学, 2018.
- [14] 徐鑫. 山药种质资源遗传多样性的 RAPD 和 AFLP 分析[D]. 新乡: 河南师范大学, 2006.
- [15] 辛佳佳, 汤洁, 张洋, 等. 基于表型性状和 SSR 标记的江西地方山药种质遗传多样性分析[J]. 江西农业学报, 2023, 35(5): 7-13.
- [16] 李锦超, 董俊美, 贾凯旋, 等. 基于山药转录组测序的 EST-SSR 信息分析及分子标记开发[J/OL]. 分子植物育种. (2022-10-17)[2024-07-09]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20221017.1120.008.html>.
- [17] 赵圆, 张艳芳, 杨帆, 等. 基于形态标记和 AFLP 标记的山药种质资源遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(6): 47-54.
- [18] Amponsah Adjei E, Esuma W, Alicai T, et al. Genetic diversity and population structure of Uganda's yam (*Dioscorea* spp.) genetic resource based on DArTseq[J]. *PLoS One*, 2023, 18(2): e0277537.
- [19] 孙小芹, 郭建林, 周义锋, 等. 基于 RAPD 标记的叉蕊薯蓣和粉背薯蓣不同居群遗传多样性研究[J]. 植物资

- 源与环境学报, 2010, 19(4): 12-17.
- [20] 赵容, 邵飞, 尹海波, 等. 利用 SRAP 和 ISSR 标记分析穿龙薯蓣遗传多样性 [J]. 中药材, 2018, 41(6): 1285-1292.
- [21] 曾昭清, 高慧新, 朱华, 等. 基于 ISSR 的野生和栽培的褐苞薯蓣遗传多样性分析 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2020, 22(10): 3781-3787.
- [22] 王葡萄, 单楠, 朱强龙, 等. 瑞昌山药遗传多样性及块茎品质变异分析 [J]. 中国蔬菜, 2020(8): 57-63.
- [23] Techen N, Parveen I, Khan I A. A single molecular marker to distinguish between species of *Dioscorea* [J]. *Genome*, 2017, 60(3): 201-207.
- [24] Sun X Q, Zhu Y J, Guo J L, et al. DNA barcoding the *Dioscorea* in China, a vital group in the evolution of monocotyledon: Use of matK gene for species discrimination [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e32057.
- [25] 孙华钦. 中药穿龙薯蓣、黄山药和盾叶薯蓣的分子鉴别研究 [D]. 成都: 中国科学院研究生院 (成都生物研究所), 2006.
- [26] 马双姣, 周建国, 李滢, 等. 薯蓣和叉蕊薯蓣叶绿体基因组及特异性 DNA 条形码鉴定序列筛选研究 [J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(5): 571-582.
- [27] Diouf M, Zoelclounon Y A B, Mboup P A, et al. Genome-wide development of intra-and inter-specific transferable SSR markers and construction of a dynamic web resource for yam molecular breeding: Y2MD [J]. *Plant Genome*, 2024, 17(2): e20428.
- [28] Agre P A, Clark L V, Garcia-Oliveira A L, et al. Identification of diagnostic KASP-SNP markers for routine breeding activities in yam (*Dioscorea* spp.) [J]. *Plant Genome*, 2024, 17(2): e20419.
- [29] 郭文, 李婉琳, 肖继坪, 等. 利用 AFLP 标记构建 4 种薯蓣属植物的指纹图谱 [J]. 分子植物育种, 2015, 13(3): 547-555.
- [30] 张静珍, 张文英, 雷剑, 等. 基于叶绿体 DNA 序列 atpI-rsp2 和 psbC-trnS 的山药种质资源遗传多样性分析 [J]. 南方农业学报, 2022, 53(1): 125-133.
- [31] 吴志刚, 范传颖, 包晓青, 等. 山药种质资源核糖体 rDNA-ITS 区序列分析 [J]. 中草药, 2014, 45(8): 1136-1142.
- [32] 程月琴, 李萍萍, 王梦云, 等. 基于叶绿体 DNA 变异的怀山药鉴定体系构建 [J]. 河南农业大学学报, 2019, 53(5): 759-765.
- [33] 彭斌. 山药基源植物分子鉴别体系建立与珠芽相关基因的转录组分析 [D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- [34] 赵琳娜, 刘娜, 王学硕, 等. 基于叶绿体 rpoC1 序列在山药分子鉴定中的应用 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(14): 5644-5650.
- [35] 高慧新. 褐苞薯蓣 ISSR 标记及其 DNA 条形码研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2018.
- [36] Sonibare M A, Asiedu R, Albach D C. Genetic diversity of *Dioscorea dumetorum* (Kunth) Pax using Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP) and cpDNA [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2010, 38(3): 320-334.
- [37] Sharif B M, Burgarella C, Cormier F, et al. Genome-wide genotyping elucidates the geographical diversification and dispersal of the polyploid and clonally propagated yam (*Dioscorea alata*) [J]. *Ann Bot*, 2020, 126(6): 1029-1038.
- [38] Cao T X, Sun J Y, Shan N, et al. Uncovering the genetic diversity of yams (*Dioscorea* spp.) in China by combining phenotypic trait and molecular marker analyses [J]. *Ecol Evol*, 2021, 11(15): 9970-9986.
- [39] 张玉君. 基于叶绿体分子谱系地理学的山药的系统进化和品种鉴定研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- [40] Wu L, Wang B, Yang J, et al. The chloroplast genome sequence of an important medicinal plant *Dioscorea nipponica* [J]. *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal*, 2016, 27(4): 2559-2560.
- [41] Chen X, Cai L, Zhang Y, et al. The complete chloroplast genome sequence of the *Dioscorea esculenta* (Lour.) Burkill (Dioscoreaceae) [J]. *Mitochondrial DNA B*, 2020, 05(3): 3804-3806.
- [42] Hu N, Gong J W, Zhang B M. Characterization of the complete chloroplast genome of *Dioscorea polystachya* Turcz. [J]. *Mitochondrial DNA B Resour*, 2021, 6(5): 1652-1653.
- [43] Wonok W, Sudmoon R, Tanee T, et al. Complete chloroplast genome of four Thai native *Dioscorea* species: Structural, comparative and phylogenetic analyses [J]. *Genes*, 2023, 14(3): 703.
- [44] 曾晓璇. 山药种质资源整理研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2021.
- [45] Lu R S, Hu K, Zhang F J, et al. Pan-plastome of greater yam (*Dioscorea alata*) in China: Intraspecific genetic variation, comparative genomics, and phylogenetic analyses [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(4): 3341.
- [46] Xia W, Zhang B, Xing D, et al. Development of high-resolution DNA barcodes for *Dioscorea* species discrimination and phylogenetic analysis [J]. *Ecol Evol*, 2019, 9(18): 10843-10853.
- [47] Wu Z G, Jiang W, Mantri N, et al. Transcriptome analysis reveals flavonoid biosynthesis regulation and simple sequence repeats in yam (*Dioscorea alata* L.) tubers [J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 346.
- [48] Wang Y, Lu R S, Li M H, et al. Unraveling the molecular basis of color variation in *Dioscorea alata* tubers:

- Integrated transcriptome and metabolomics analysis [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(4): 2057.
- [49] Li J, Liang Q, Li C F, *et al.* Comparative transcriptome analysis identifies putative genes involved in dioscin biosynthesis in *Dioscorea zingiberensis* [J]. *Molecules*, 2018, 23(2): 454.
- [50] Yan L, Yang H J, Ye Q, *et al.* Metabolome and transcriptome profiling reveal regulatory network and mechanism of flavonoid biosynthesis during color formation of *Dioscorea cirrhosa* L [J]. *Peer J*, 2022, 10: e13659.
- [51] Lin Y, Hu Q Y, Ye Q, *et al.* Diosgenin biosynthesis pathway and its regulation in *Dioscorea cirrhosa* L [J]. *Peer J*, 2024, 12: e16702.
- [52] Guo S, Wang D, Ma Y, *et al.* Combination of RNA-Seq transcriptomics and iTRAQ proteomics reveal the mechanism involved in fresh-cut yam yellowing [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 7755.
- [53] Li J H, Zhao X T, Dong Y H, *et al.* Transcriptome analysis reveals key pathways and hormone activities involved in early microtuber formation of *Dioscorea opposita* [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 8057929.
- [54] 宋岩. 内蒙古毕克齐山药 (*Dioscorea opposita* Thunb.) 块茎膨大的转录组分析 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.
- [55] Riekötter J, Oklestkova J, Muth J, *et al.* Transcriptomic analysis of Chinese yam (*Dioscorea polystachya* Turcz.) variants indicates brassinosteroid involvement in tuber development [J]. *Front Nutr*, 2023, 10: 1112793.
- [56] Wu Z G, Jiang W, Tao Z M, *et al.* Morphological and stage-specific transcriptome analyses reveal distinct regulatory programs underlying yam (*Dioscorea alata* L.) bulbil growth [J]. *J Exp Bot*, 2020, 71(6): 1899-1914.
- [57] Zhou Y Y, Luo S Z, Hameed S, *et al.* Integrated mRNA and miRNA transcriptome analysis reveals a regulatory network for tuber expansion in Chinese yam (*Dioscorea opposita*) [J]. *BMC Genomics*, 2020, 21(1): 117.
- [58] 钟永达, 胡淼, 余发新. 鹅掌楸属树种分子生物学研究进展 [J]. 中国科学: 生命科学, 2016, 46(3): 260-268.
- [59] 索宁宁. 基于蛋白质组学的山药 (*Dioscorea opposita* Thunb.) 块茎膨大的分子机理研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.
- [60] Sharma S, Deswal R. *Dioscorea alata* Tuber proteome analysis uncovers differentially regulated growth-associated pathways of tuber development [J]. *Plant Cell Physiol*, 2021, 62(1): 191-204.
- [61] 汪宝卿, 张海燕, 解备涛, 等. 不同耐旱性甘薯柴根和块根的差异蛋白组分析 [J]. 核农学报, 2019, 33(11): 2133-2146.
- [62] Ye Y, Wang R F, Jin L, *et al.* Molecular cloning and differential expression analysis of a squalene synthase gene from *Dioscorea zingiberensis*, an important pharmaceutical plant [J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(9): 6097-6104.
- [63] 秦玉芝, 邓克勤, 林建中, 等. 盾叶薯蓣 3-羟基, 3-甲基戊二单酰辅酶 A 还原酶和环阿屯醇合成酶基因克隆及序列分析 [J]. 湖南大学学报: 自然科学版, 2007, 34(7): 61-66.
- [64] 杨婷. 盾叶薯蓣 4-羟基-3-甲基-2-丁烯基焦磷酸还原酶基因克隆与功能分析 [D]. 武汉: 湖北大学, 2014.
- [65] 乔洋洋. 盾叶薯蓣 CMK 基因和 HDS 基因的克隆与功能验证 [D]. 武汉: 湖北大学, 2017.
- [66] 王润发. 盾叶薯蓣 DXR 基因和 MDS 基因的克隆与功能验证 [D]. 武汉: 湖北大学, 2014.
- [67] 张鸿. 盾叶薯蓣 DzDWF1 基因克隆及表达分析 [D]. 武汉: 武汉大学, 2019.
- [68] 叶婷. 盾叶薯蓣 DzS3GT 与 DzF26G 基因表征及功能分析 [D]. 武汉: 武汉大学, 2017.
- [69] 金亮. 盾叶薯蓣 SMT 基因克隆、表达及其低表达转基因植株的培育 [D]. 武汉: 湖北大学, 2012.
- [70] 许娃丽. 菊叶薯蓣皂素合成相关基因的克隆及 WRKY 转录因子的初步分析 [D]. 广州: 华南农业大学, 2017.
- [71] 冯宇梅, 王帅, 高润梅, 等. 穿龙薯蓣 DnSQS 基因的克隆及表达分析 [J]. 西北植物学报, 2023, 43(3): 389-400.
- [72] 王金鑫. 山药 (*Dioscorea opposita* Thunb.) 块茎碳水化合物代谢关键基因克隆及表达分析 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2021.
- [73] 王培龙, 徐婉, 杨燕萍, 等. 山药颗粒结合型淀粉合成酶基因 DaGBSS 的克隆与分析 [J]. 中国粮油学报, 2024, 39(3): 79-88.
- [74] 赵令敏, 张艳芳, 邢雨南, 等. 山药异淀粉酶基因克隆及其在淀粉代谢中的作用 [J]. 西北植物学报, 2022, 42(11): 1827-1834.
- [75] Xue Y L, Miyakawa T, Sawano Y, *et al.* Cloning of genes and enzymatic characterizations of novel dioscorin isoforms from *Dioscorea japonica* [J]. *Plant Sci*, 2012, 183: 14-19.
- [76] Song W, Yan S, Li Y, *et al.* Functional characterization of squalene epoxidase and NADPH-cytochrome P450 reductase in *Dioscorea zingiberensis* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 509(3): 822-827.
- [77] 王宏鹏, 李一丹, 汪耀, 等. 菊叶薯蓣 DcPMK 基因克隆及互作蛋白筛选 [J]. 植物研究, 2022, 42(5): 855-865.

- [78] 赵景梅, 黄东益, 张青, 等. 紫参薯查尔酮合成酶及异构酶基因的克隆与表达分析 [J]. 热带作物学报, 2018, 39(5): 920-925.
- [79] 陈跃华, 许云, 吴文婧, 等. 参薯 *DaANS* 基因克隆及表达差异分析 [J]. 植物生理学报, 2015, 51(6): 853-859.
- [80] Ng D W K, Abeyasinghe J K, Kamali M. Regulating the regulators: The control of transcription factors in plant defense signaling [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12): 3737.
- [81] 王琪, 岳宁波, 黄鑫, 等. 山药 *DoARID4* 基因克隆与表达特异性分析 [J]. 西北农业学报, 2021, 30(11): 1648-1655.
- [82] 唐文芳, 徐升胜, 段延碧, 等. 山药 *DoIPTs* 基因克隆及珠芽发芽期表达分析 [J]. 华北农学报, 2022, 37(1): 27-34.
- [83] Chen Z H, Lu H H, Hua S M, *et al.* Cloning and overexpression of the ascorbate peroxidase gene from the yam (*Dioscorea alata*) enhances chilling and flood tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *J Plant Res*, 2019, 132(6): 857-866.
- [84] 陈妍, 张艳芳, 赵令敏, 等. 光照强度对山药光合特性的影响和 Rubisco 羧化酶基因的克隆及表达分析 [J]. 植物生理学报, 2023, 59(6): 1169-1183.
- [85] 张青, 赵景梅, 黄东益, 等. 大薯病程相关蛋白 1 (PR1) 基因及其启动子序列的克隆与分析 [J]. 分子植物育种, 2018, 16(7): 2078-2084.
- [86] 刘林娅, 黄亚成, 黄东益, 等. 参薯贮藏蛋白 *Da-dio4* 基因的原核表达、酶活分析及其功能鉴定[J/OL]. 分子植物育种. (2022-10-28) [2024-07-09]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20221028.1009.004.html>.
- [87] 邢丽南, 张艳芳, 葛明然, 等. 山药 *DoWRKY40* 基因表达特征分析及互作蛋白筛选 [J/OL]. 生物技术通报, 1-11(2024-06-26) [2024-08-11]. <https://doi.org/10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2024-0177>.
- [88] 刘铭, 林方惠, 辛立海, 等. 参薯 SPL3 蛋白的生物信息学分析及互作蛋白筛选 [J/OL]. 分子植物育种, (2024-03-15) [2024-08-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20240314.1919.010.html>.

[责任编辑 时圣明]