• 药材与资源 •

基于转录组测序的天冬块根膨大相关基因的筛选与分析

李端阳[1]，袁鑫怡[1]，晏飞利[2]，高继海[1]，侯飞侠[1*]

1. 成都中医药大学药学院 西南特色中药资源国家重点实验室，四川 成都　611137
2. 四川省内江市农业科学院，四川 内江　641000

摘　要：目的　为探知天冬 *Asparagus cochinchinensis* 块根生长膨大的分子机制，对不同膨大期的天冬进行转录组测序，挖掘促使块根生长膨大的关键基因。**方法**　以不同膨大期的天冬为材料，采用 Illumina HiSeq 高通量测序平台进行转录组测序，组装与注释后进行差异表达基因（differential gene，DEGs）筛选。**结果**　转录组测序共获得 59.20 Gb clean data，Q_{30} 均不小于 94.23%，共得到 99 930 条 Unigene，其中 47 857 条被注释。3 种不同膨大状态的天冬中的 DEGs 有 1 429 个，GO 富集结果表明，3 种不同膨大期天冬的 DEGs 主要富集于细胞过程、代谢过程、结合力与催化活性等功能，同源蛋白簇（clusters of orthologous groups，COG）富集结果表明，3 种不同膨大期的天冬中 DEGs 主要富集于信号转导机制、碳水化合物转运代谢以及细胞壁/膜/被膜的生物合成。京都基因与基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）富集分析显示，与根膨大相关的通路[植物激素信号传导、丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinases，MAPK）信号通路、淀粉与蔗糖代谢以及苯丙烷生物合成]为 DEGs 代表性富集通路。结合差异基因的注释信息以及表达量情况分析表明，多种酶类（SAUR、XTH、LRR-RLPK、SPP、EG、BGLU、TPP、AMY、BAMY、PAL、PER）参与天冬块根膨大，其中 XTH 可能是影响天冬块根的膨大发育过程的最主要的酶类。**结论**　通过对不同膨大状态天冬的高通量转录组测序，揭示了天冬块根生长膨大的关键酶基因，可为天冬根系生长膨大的生物学机制提供参考。

关键词：天冬；块根；膨大；转录组；木葡聚糖内转糖基酶/水解酶

中图分类号：R286.12　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2025)06 - 2092 - 19

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.06.022

Screening and analysis of genes related to root tuber expansion in *Asparagus cochinchinensis* based on transcriptome sequencing

LI Duanyang[1], YUAN Xinyi[1], YAN Feili[2], GAO Jihai[1], HOU Feixia[1]

1. State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
2. Neijiang Academy of Agricultural Sciences, Neijiang 641000, China

Abstract: Objective　The underground expanded tuberous roots of *Asparagus cochinchinensis* are used as the herbal medicine Tiandong (*Asparagi Radix*). In order to investigate the molecular mechanism of *A. cochinchinensis* tuber growth and expansion, transcriptome sequencing of *A. cochinchinensis* at different expansion stages was carried out, and the key genes contributing to tuber growth and expansion were excavated. **Methods**　*A. cochinchinensis* at different expansion stages were used as materials for transcriptome sequencing using Illumina HiSeq high-throughput sequencing platform, and screening of differentially expressed genes was performed after assembly and annotation. **Results**　A total of 59.20 Gb clean data were obtained from transcriptome sequencing, and none of the Q30 was less than 94.23%, and a total of 99 930 Unigenes were obtained, of which 47 857 were annotated. There were 1 429 DEGs in the three different size states of *A. cochinchinensis*, and GO enrichment results showed that DEGs in asparagus of three different expansion stages were mainly enriched in cellular processes, metabolic processes, and functions such as binding and catalytic activities, and the COG enrichment results showed that DEGs in asparagus of three different expansion stages were mainly enriched in the signal transduction mechanism, carbohydrate transport metabolism, and biosynthesis of cell wall/membrane/transparenchyme,

收稿日期：2024-09-03

基金项目：四川药品监督管理局科技计划项目（2023MS615）

作者简介：李端阳，女，硕士研究生，研究方向为中药资源学。E-mail: liduanyang@stu.cdutcm.edu.cn

***通信作者：**侯飞侠，博士，副教授，研究方向为中药资源与鉴定。E-mail: houfeixia123@163.com

KEGG enrichment analysis showed that the pathways related to root expansion (Plant hormone signal transduction, MAPK signaling pathway-plant, Starch and sucrose metabolism, and Phenylpropanoid biosynthesis) were the main pathways enriched in DEGs. Combined with the annotation information of the differential genes and the analysis of the expression profiles showed that a variety of enzymes (SAUR, XTH, LRR-RLPK, SPP, EG, BGLU, TPP, AMY, BAMY, PAL, PER) are involved in *A. cochinchinensis* root tuber expansion, among which XTH may be the most important enzyme affecting the expansion and development process. **Conclusion** By high-throughput transcriptome sequencing of different sizes of *A. cochinchinensis*, key genes involved in root growth and enlargement were revealed, which can provide reference for the biological mechanism of root growth and enlargement in *A. cochinchinensis*.

Key words: *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr.; root tuber; expansion; transcriptome; xyloglucan endotransglycosylase/hydrolase

天冬 *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr.是百合科天门冬属多年生草本植物，广泛分布于温带和热带地区，包括中国、日本、韩国和越南[1-3]。作为常用的传统草药之一，许多国家都有文献记载天冬的临床治疗效果[4-5]。天冬作为一种中药最早出现在中国医学经典著作《神农本草经》中，其药用历史悠久，其药用价值已被临床经验所证明。1977 年第 1 次作为临床常用中药列入《中国药典》，并连续收录至最新的 2020 年版。在中国，几个世纪以来，天冬通常单用或与其他中药联合应用治疗肺燥干咳、顿咳痰黏、腰膝酸痛、骨蒸潮热、内热消渴、热病津伤、咽干口渴、肠燥便秘等[6]。许多含有天冬的经典配方已被广泛应用于临床，并为中国和亚洲其他传统医学体系的人们的健康做出了重要贡献。除了药用价值外，天冬在保健品、食品和化妆品中也有各种商业应用[7]。它通常被用作食品或营养补充剂[8]，具有美白和抗衰老作用的化妆品，甚至被用作发酵和酿酒的原料[9-10]。

天冬根在中部或近末端呈纺锤状膨大形成块根，膨大部分略弯曲，长 5～18 cm，直径 0.5～2 cm[11]，是天冬的主要药用部位。对于天冬这类膨大根类药用植物，块根的品质和产量决定了药材的价格和种植收益。而块根生长膨大是多因素作用的复杂过程，根膨大的启始和后续增厚涉及到植物生长、发育和环境适应等复杂的生物学过程，包含了形态建成和同化产物的累积等[12]。酶的变化及基因的表达显著影响植物根的膨大，其中内源激素、蔗糖及淀粉代谢以及木脂素的合成等相关基因主要调控块根的膨大[13-15]。块根不同膨大时期差异较多，根膨大过程中，形成层的分裂活动变得活跃，并抑制了根的木质化，生成了众多能够大量储存淀粉的薄壁细胞[16-17]。膨大根形态建成包括根部纵向生长的停止，细胞生长方向由纵向伸长转变为横向扩张以实现径向生长，并开始细胞分裂和扩张以便快速增厚[18-19]。

目前，天冬受植物激素信号传导、蔗糖及淀粉代谢等其他内环境因素影响的分子机制目前尚不明确，本研究利用转录组测序技术，选择不同膨大状态的天冬块根进行转录组测序研究，对天冬块根膨大相关的差异表达基因进行筛选，从转录组水平探究天冬块根膨大发育的基因表达特征，可为实际生产中天冬栽培、育种以及进一步提高天冬产量提供数据支持。

1 材料

本研究所涉及的天冬材料于 2023 年 2 月采集于四川省都江堰（31°13′12″N，103°68′50″E），经成都中医药大学国家中药种质资源库高继海副教授鉴定为百合科植物天冬 *A. cochinchinensis* (Lour.) Merr.，采集 3 株根系发育成熟时期且长势相近的天冬植株，设置 3 个生物学重复，洗净后剪断取其膨大初期（S）、中期（M）、末期（B）3 种不同膨大状态的块根（图 1）（膨大初期块根为 S1～S3；膨大中期块根为 M1～M3；膨大末期块根为 B1～B3，具体评价指标见表 1），液氮速冻过后于−80 ℃冰箱保存备用。

2 方法

2.1 总 RNA 的提取与文库构建

将置于−80 ℃冰箱保存的各样品组织在研钵中用液氮研磨成粉状，然后移入无 RNAase 的离心管中，采用 Trizol 试剂盒（加拿大伯灵顿公司生产）提取每个样品组织总 RNA，提取步骤参照试剂盒说明书。使用微量紫外检测仪 NanoDrop 测定 RNA 浓



膨大初期块根　膨大中期块根　膨大末期块根

图 1　天冬块根 3 种不同膨大阶段的表型

Fig. 1　Phenotypes of three different expansion stages of *A. cochinchinensis* tuberous

表 1 3 种不同膨大状态天冬评价指标

Table 1 Evaluation indicators for three different size states of *A. cochinchinensis*

不同膨大期	长度/cm	直径/mm	鲜质量/g	根皮颜色
膨大初期块根（S1～S3）	3.0～5.5	8.00～11.00	2.00～8.00	白色
膨大中期块根（M1～M3）	5.5～8.5	11.00～14.00	8.00～14.00	黄白色
膨大末期块根（B1～B3）	8.5～11.5	14.00～17.00	14.00～20.00	黄棕色

度，RNA 的完整性由琼脂糖凝胶电泳（1%）检测，使得文库构建和后续分析能够顺利进行。用 Oligo（dT）磁珠分离纯化 mRNA，加入 Fragmentation Buffer 将 mRNA 进行随机打断，以 mRNA 为模板，用六碱基随机引物（random hexamers）合成第 1 条 cDNA 链，然后加入缓冲液、dNTPs、RNase H 和 DNA Polymerase I 合成第 2 条 cDNA 链。利用 AMPure XP beads 纯化 cDNA，然后对其进行末端修复、加 A 尾并连接测序接头，用 AMPure XP beads 进行片段大小选择，最后通过 PCR 富集得到 9 个天冬样品的 cDNA 文库。

2.2 转录组测序、组装

使用 Illumina Hiseq 2500 高通量测序平台对天冬 cDNA 文库进行测序，截取测序接头引物并过滤原始碱基序列的低质量值数据后获得高质量序列（clean data），对 clean reads 进行质量评估后使用 Trinity 软件（2.14.0）将测序 reads 打断为较短片段（K-mer），再延伸成较长的片段（contig），并得到长片段集合（comonent），拼接后得到 Unigene。其中原始数据存放于国家基因库生命大数据平台（https://db. cngb.org/），编号为 CNP0005959。

2.3 Unigene 功能注释

使用 DIAMOND（v2.0.4）序列比对软件将 Unigene 序列与 NR（NCBI 非冗余蛋白质序列）、KOG/COG/eggNOG（直系同源蛋白簇）、手动注释和审查的蛋白质序列数据库（Swiss-Prot）、京都基因和基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）数据库比对，使用 KOBAS 3.0 得到 Unigene 在 KEGG 中的 KEGG Orthology 结果，InterProScan（5.34～73.0）利用 InterPro 整合的数据库分析新基因的基因本体论（gene ontology，GO）Orthology 结果，预测完 Unigene 的氨基酸序列之后使用 HMMER（v3.1b2）软件与蛋白质家族（Pfam）数据库比对，最终获得 Unigene 的注释信息。

2.4 块根膨大相关差异表达基因的筛选

使用 DESeq2（1.30.1）软件对天冬不同膨大期块根的差异表达基因（differentially expressed genes，DEGs）进行分析。在 FPKM（fragments per kilobase million）表达量分析的基础上，筛选差异的条件设置为 $P<0.05$ 且差异倍数（fold change，FC）>2[20]对 DEGs 做 KEGG 通路显著性分析。整合所有差异基因的注释信息，检索出天冬块根膨大的关键基因。

2.5 RT-qRCR 验证

以测序实验同批次样品的 cDNA 为模板，以 Actin 作为内参基因[21]，根据目的基因的转录组测序序列采用 Primer 5 软件设计特异性引物。采用 SsoFastTM Eva Green Su-peremix（Bio-Rad 公司，美国）进行定量表达检测。扩增体系各组分为 SsoFastTM Eva Green Su-peremix 10 μL、10 μmol/L Primer-F 1 μL、10 μmol/L Primer-R 1 μL、Template（cDNA）2 μL、ddH_2O 6 μL，扩增程序为 98 ℃预变性 3 min；随后 98 ℃变性 15 s；65 ℃退火 20 s；温度 72 ℃延伸 20 s、循环数 40；熔解阶段：98 ℃变性时间 15 s。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算基因的相对表达量。

2.6 关键酶基因的氨基酸序列特征分析

将筛选出的候选基因蛋白序列导入 NCBI（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/）进行预测，利用在线软件 Pfam（https://Pfam.xfam.org/）以及 NCBI 的 CDD（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd）进行保守结构域分析，然后利用 InterProScan（v5.17-56.0）进行进一步的验证，筛选得到关键基因序列。使用 MEME（http://meme-suite.org/tools/meme）网站工具预测氨基酸序列 motif。使用 ProtParam tool（https://web.expasy.org/protparam/）在线软件预测蛋白序列等电点和相对分子质量等理化性质预测。使用 MEGA11 软件对氨基酸序列进行比对分析。在线亚细胞定位软件 Plant-mPLoc（http://www.csbio.-sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/）预测亚细胞定位。

3 结果与分析

3.1 转录组测序、clean data 组装与注释

对 3 种膨大状态共 9 个样品的转录组文库进行

测序，质控后一共得到 59.20 Gb clean data，其中小块根 65 379 409 个 read，中块根 65 379 240 个 read，大块根 66 559 829 个 read，各样品的 Q_{30} 碱基百分比均大于等于 94.23%（表 2），说明此次测序数据质量较好、比较完整。Trinity 软件对各样本的 clean data 数据进行组装后得到 99 889 条 Unigene，总长度为 79 327 799，Unigene 的 N_{50} 为 1 348 bp，平均长度为 794.16 bp，N_{50} 值大于平均值说明此次测序深度大，其次长度在 1 kb 以上的 Unigene 有 21 201 条，Unigene 数量最多是长度区间位于 300～500 bp，为 30 984 条，占总数的 31.02%（表 3），说明此次组装的完整度较好，能够用于后续的数据分析。

表 2 转录组测序输出统计

Table 2 Statistics of transcriptome sequencing output

样品	读取数	碱基数	GC/%	Q_{30}/%
S1	22 064 345	6 619 303 500	47.59	94.66
S2	22 377 590	6 713 277 000	47.02	94.56
S3	20 937 474	6 281 242 200	46.97	94.42
M1	22 498 384	6 749 515 200	48.07	94.27
M2	21 473 113	6 441 933 900	47.26	94.62
M3	21 407 743	6 422 322 900	47.54	94.40
B1	22 658 785	6 797 635 500	47.54	94.36
B2	22 083 374	6 625 012 200	47.46	94.23
B3	21 817 670	6 545 301 000	47.68	94.37

表 3 组装结果统计

Table 3 Statistics of assembly results

序列长度/bp	基因数（占比/%）
200～300	26 996（27.03）
300～500	30 984（31.02）
500～1 000	20 708（20.73）
1 000～2 000	12 419（12.43）
＞2 000	8 782（8.79）

通过选择 BLAST 参数 *E*-value 不大于 1×10^{-5} 和 HMMER 参数 *E*-value 不大于 1×10^{-10}，最终获得 47 922 个有注释信息的 Unigene，统计结果见表 4。

3.2 Nr 数据库物种分布统计

在 Nr 数据库中，天冬转录组大部分 Unignene 与芦笋（54.49%）的同源性最大，其次为立枯丝核菌（6.54%）、玫瑰木（2.66%），同时与棕榈科植物（油棕、海枣）也有一定的同源性（表 5）。

3.3 差异表达分析

设置条件为 $P<0.05$ 且 FC＞2 作为筛选标准，在中期块根相对于初期块根（S *vs* M）中共获得 749 个差异基因，表达量上调基因为 142 个，下调基因 607 个（图 2-a）；末期块根相对于中期块根（M *vs* B）中共获得 700 个差异基因，表达量上调基因为 522 个，下调基因 178 个（图 2-b）；在末期块根相对于初期块根（S *vs* B）中共获得 1 394 个差异基因，表达量上调基因为 835 个，下调基因 559 个（图 2-c）。可见天冬膨大初期（S）与膨大末期（B）的差异基因数量最多，差异明显，符合实际样品情况。

表 4 Unigene 注释信息

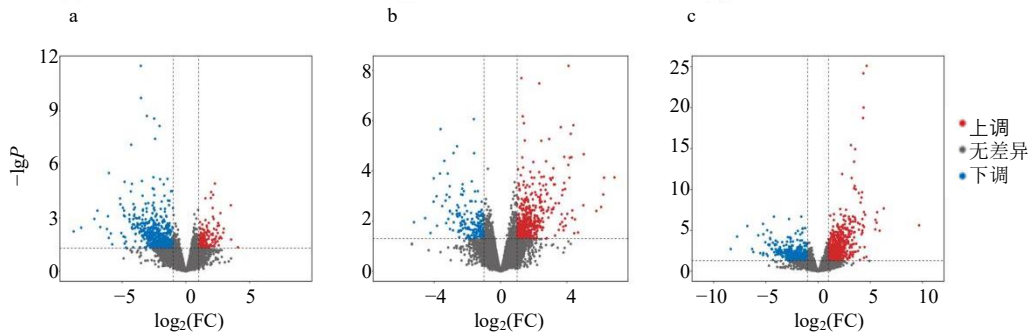
Table 4 Unigene information annotated in different databases

数据库	注释数量	Unigene数量	
		长度≥300 bp	长度≥1 000 bp
COG	10 025	3 298	5 817
GO	31 928	13 150	14 433
KEGG	25 155	9 766	12 195
KOG	23 198	9 533	10 753
Pfam	27 704	10 877	13 996
Swiss-Prot	21 326	7 581	11 722
TrEMBL	38 348	16 021	16 842
eggNOG	29 134	11 500	14 237
NR	44 597	19 592	17 317
总计	47 922	21 606	17 841

表 5 基因同源性对照

Table 5 Gene homology control

物种名称	同源性比例/%
芦笋*Asparagus officinalis*	53.75
立枯丝核菌*Rhizoctonia solani*	6.54
玫瑰木*Rhodamnia argentea*	2.66
油棕*Elaeis guineensis*	1.50
单细胞阿米巴*Capsaspora owczarzaki*	1.40
海枣*Phoenix dactylifera*	1.18
其他	32.97



a、b、c-分别为 S *vs* M、M *vs* B、S *vs* B 的差异基因火山图（图中蓝色的点代表下调差异表达基因，红色的点代表上调差异表达基因，灰色的点代表非差异表达基因）。

a, b, and c-differential gene volcano plots for S vs M, M vs B, and S vs B, respectively (blue dots in the plots represent down-regulated differentially expressed genes, red dots represent up-regulated differentially expressed genes, and gray dots represent non-differentially expressed genes).

图 2　3 种膨大状态的 DEGs 统计

Fig. 2　Statistics of DEGs in three size states

3.4　天冬不同膨大状态块根 DEGs 分析

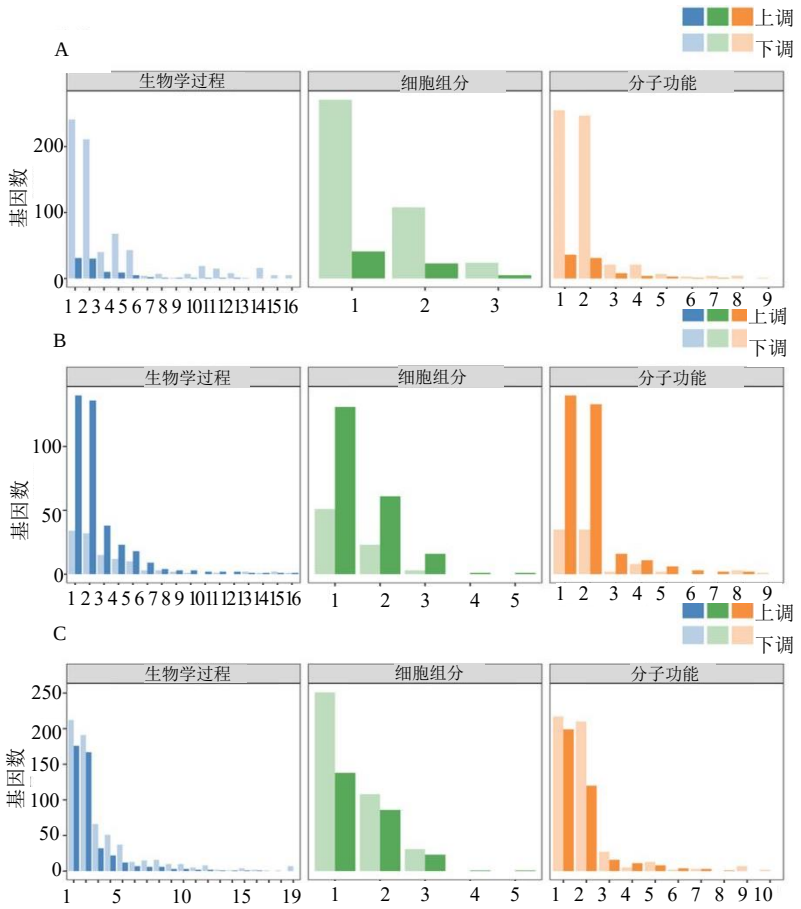
为了进一步确定不同膨大期的所有差异基因的主要生物学功能，将天冬大块根、中块根和小块根之间的 DEGs 注释到 GO 蛋白质数据库，按照功能被注释到生物学过程（biological process）、细胞组分（cellular component）、分子功能（molecular function）3 个大类 30 个功能小类，富集最多的是生物学过程亚类。在 S *vs* M、M *vs* B、S *vs* B 3 个组中与生物学过程相关的功能均主要富集于细胞过程、代谢过程；与细胞组分相关的富集功能最多均是细胞解剖实体；与分子功能相关的富集功能主要均是结合力与催化活性（图 3）。

对不同膨大期天冬的差异基因进行 COG 注释，在注释到的 26 个功能分类中，在 S *vs* M 中细胞壁/膜/被膜的生物合成包含的 Unigene 数量最多（M，37），其次是碳水化合物转运代谢（G，33）、信号转导机制（T，28）、抵御机制（V，17）、次级代谢物生物合成，转运和代谢（Q，17）（图 4-a）；在 M *vs* B 中信号转导机制包含的 Unigene 数量最多（T，15），其次是细胞壁/膜/被膜的生物合成（M，11）、碳水化合物转运代谢（G，11）（图 4-b）；在 S *vs* B 中碳水化合物转运代谢包含的 Unigene 数量最多（G，35），其次是信号传导机制（T，29）、细胞壁/膜/被膜的生物合成（M，29）（图 4-c）。

GO 富集结果表明，3 种不同膨大期天冬的 DEGs 主要富集于细胞过程、代谢过程、结合力与催化活性等功能，COG 富集结果表明，3 种不同膨大期的天冬中 DEGs 主要富集于信号转导机制、碳水化合物转运代谢以及细胞壁/膜/被膜的生物合成。3 个时期 DEGs 注释信息表明这些功能类别参与天冬生长发育的各个阶段，可见天冬块根膨大是复杂多样的过程。

3.5　DEGs 的 KEGG 代谢通路分析

为了进一步确定常见差异基因可能参与块根膨大的代谢或信号转导途径，使用 KEGG 数据库进行了途径富集分析。通过对比发现 3 个比较组分别有 221 条（S *vs* M）、180 条（M *vs* B）、315 条（S *vs* B）差异基因被注释到包括细胞过程、环境信息处理、遗传信息处理、新陈代谢和生物系统的 5 个大类中，富集最多的为新陈代谢类别中。3 个比较组中差异基因分别被富集到 86（S *vs* M）、70（M *vs* B）、101（S *vs* B）个代谢通路，按照差异基因注释量大小依次排序（表 6），可见膨大前期（S *vs* M）差异基因主要注释到植物-病原互作、植物激素信号转导、MAPK 信号通路-植物、戊糖和葡萄糖醛酸相互转化、淀粉和蔗糖代谢、苯丙烷生物合成等通路。而膨大后期（M *vs* B）差异基因主要注释到植物-病原互作、植物激素信号转导、MAPK 信号通路-植物、淀粉和蔗糖代谢、氧化磷酸化等通路。而植物-病原互作、MAPK 信号通路–植物、植物激素信号转导、淀粉和蔗糖代谢、氧化磷酸化、苯丙烷生物合成是 S *vs* B 中具有代表性的通路。综合以上结果，研究认为参与植物激素信号传导（ko04075）、MAPK 信号通路-植物（ko04016）、淀粉和蔗糖代谢（ko00500）以及苯丙烷生物合成（ko00940）的基因可能在天冬块根膨大中发挥重要作用（图 5）。此

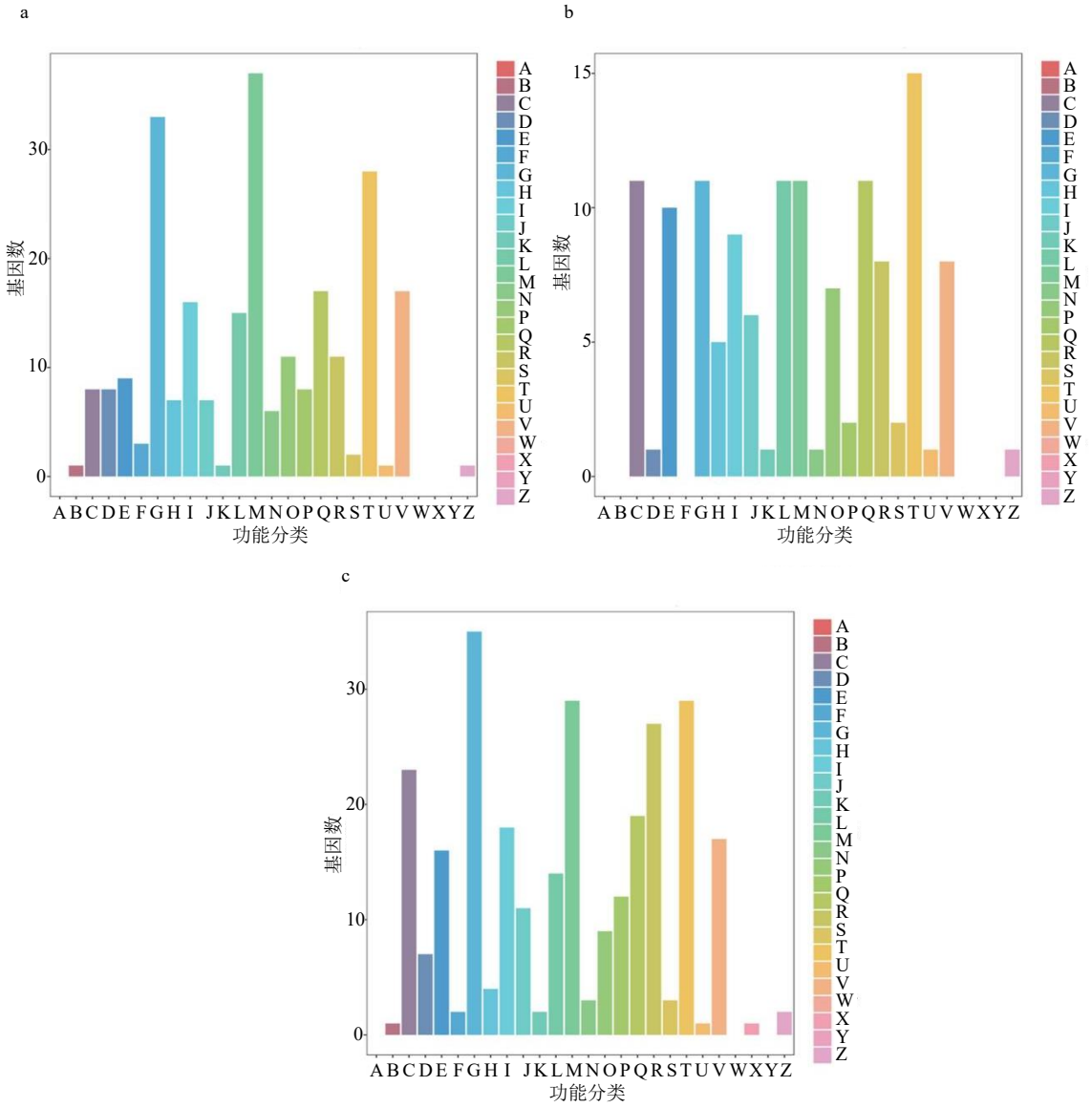


A-S *vs* M：生物学过程中 1～16 分别为细胞过程、代谢过程、定位、生物调节、刺激反应、生物种间相互作用、繁殖、行为、繁殖过程、信号传导、多细胞生物过程、多机体过程、免疫系统过程、发育过程、生长、解毒；细胞组分中 1～3 分别为细胞解剖实体、细胞内、含蛋白质的复合体；分子功能中 1～9 分别为催化活性、结合力、转运体活性、转录调节器活性、结构分子活性、分子转换器活性、分子功能调节器、抗氧化活性、营养库活性；B-M *vs* B：生物学过程中 1～16 分别为细胞过程、代谢过程、生物调节、刺激反应、定位、信号、发育过程、多细胞生物过程、多生物体过程、生长、生物种间相互作用、解毒、繁殖、免疫系统过程、繁殖过程、节律过程；细胞组分中 1～5 分别为细胞解剖实体、细胞内、含蛋白质的复合体、病毒、病毒部分；分子功能中 1～9 分别为结合力、催化活性、转录调节器活性、转运体活性、结构分子活性、分子转换器活性、抗氧化活性、分子功能调节剂、小分子传感器活性。C-S *vs* B：生物学过程中 1～19 分别为细胞过程、代谢过程、生物调节、定位、刺激反应、信号传导、多细胞生物过程、发育过程、繁殖、生殖过程、生物种间相互作用、多生物过程、免疫系统过程、行为、生长、节律过程、运动、生物种内相互作用、解毒；细胞组分中 1～5 分别为细胞解剖、细胞内、含蛋白质的复合体、病毒、病毒部分；分子功能中 1～10 分别为结合力、催化活性、转运活性、结构分子活性、转录调节剂活性、分子功能调节器、分子转换器活性、翻译调节剂活性、抗氧化活性、毒素活性。

A-S *vs* M: Biological processes 1 to 16 are cellular process, metabolic process, localization, biological regulation, response to stimulus, interspecies interaction between organisms, reproduction, behavior, reproductive process, signaling, multicellular organismal process, multi-organisma process, immune system process, developmental process, growth, detoxification. Cellular components 1 to 3 are cellular anatomical entity, intracellular, protein-containing complex. Molecular functions 1 to 9 are catalytic activity, binding, transporter activity, transcription regulator activity, structural molecule activity, molecular transducer activity, molecular function regulator, antioxidant activity, nutrient reservoir activity. B- M *vs* B: Biological processes 1 to 16 are cellular process, metabolic process, biological regulation, response to stimulus, localization, signaling, developmental process, multicellular organismal process, mulTi-organism process, growth, interspecies interaction between organisms, detoxification, reproduction, immune system process, reproductive process, rhythmic process. Cellular components 1 to 5 are cellular anatomical entit, intracellular, protein-containing complex, virion, virion part. Molecular functions 1 to 9 are binding, catalytic activity, transcription regulator activity, transporter activity, structural molecule activity, molecular transducer activity, antioxidant activity, molecular function regulator,small molecule sensor activity. C-S *vs* B: Biological processes 1 to 19 are cellular process, metabolic process, biological regulation, localization, response to stimulus, signaling, multicellular organismal process, developmental process, reproduction, reproductive process, interspecies interaction between organisms, multi-organism process, immune system process, behavior, growth, rhythmic process, locomotion, intraspecies interaction between organisms, detoxification. Cellular components 1 to 5 are cellular anatomical entit, intracellular, protein-containing complex, virion, virion part. Molecular functions 1 to 10 are binding, catalytic activity, transporter activity, structural molecule activity, transcription regulator activity, molecular function regulator, molecular transducer activity, translation regulator activity, antioxidant activity, toxin activity.

图 3　天冬 DEGs 的 GO 分类富集分析

Fig. 3　GO classification enrichment analysis of DEGs in *A. cochinchinensis*



a-S *vs* M；b-M *vs* B；c-S *vs* B；A-RNA 加工修饰；B-染色质结构和动力学；C-能量生成和转换；D-细胞周期控制、细胞分裂和染色体分裂；E-氨基酸转运代谢；F-核苷酸转运和代谢；G-碳水化合物转运代谢；H-辅酶转运和代谢；I-脂肪转运代谢；J-翻译，核糖体结构和生物合成；K-转录；L-复制，重组和修复；M-细胞壁/膜/被膜的生物合成；N-细胞运动；O-翻译后修饰，蛋白质折叠和伴侣蛋白；P-无机离子转运代谢；Q-次级代谢物生物合成，转运和代谢；R-主要功能预测；S-未知功能；T-信号转导机制；U-胞内转运、分泌和小泡运输；V-抵御机制；W-胞外结构；X-动员组：噬菌体原，转座子；Y-核酸结构；Z-细胞骨架。

a-S *vs* M; b-M *vs* B; c-S *vs* B; A-RNA processing and modification; B-Chromatin structure and dynamics; C-Energy production and conversion; D-Cell cycle control, cell division, chromosome partitioning; E-Amino acid transport and metabolism; F-Nucleotide transport and metabolism; G-Carbohydrate transport and metabolism; H-Coenzyme transport and metabolism; I-Lipid transport and metabolism; J-Translation, ribosomal structure and biogenesis; K-Transcription; L-Replication , recombination and repair; M-Cell wall/membrane/envelope biogenesis; N-Cell motility; O-Posttranslational modification, protein turnover, chaperones; P-Inorganic ion transport and metabolism; Q-Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism; R-General function prediction only; S-Function unknown; T-Signal transduction mechanisms; U-Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport; V-Defense mechanisms; W-Extracellular structures; X-Mobilome: prophages, transposons; Y-Nuclear structure; Z-Cytoskeleton.

图 4　天冬 DEGs 的 COG 分类

Fig. 4　COG classification of DEGs in *A. cochinchinensis*

外，通过注释信息发现有许多基因富集到这 4 个通路，说明这 4 条通路在天冬块根膨大过程中发挥了重要作用。因此，对这些途径相关的基因进行了进一步分析。

表 6 不同膨大状态的天冬差异基因 KEGG 通路分析统计

Table 6 Statistics of KEGG pathway analysis of differential genes in different expansion states of *A. cochinchinensis*

组别	通路名称	KEGG ID	DEGs数量
S *vs* M	植物-病原互作（plant-pathogen interaction）	ko04626	32
	植物激素信号转导（plant hormone signal transduction）	ko04075	26
	MAPK信号通路-植物（MAPK signaling pathway-plant）	ko04016	24
	戊糖和葡萄糖醛酸相互转化（pentose and glucuronate interconversions）	ko00040	11
	淀粉和蔗糖代谢（starch and sucrose metabolism）	ko00500	11
	苯丙烷生物合成（phenylpropanoid biosynthesis）	ko00940	10
	DNA复制（DNA replication）	ko03030	9
	泛素介导的蛋白水解作用（ubiquitin mediated proteolysis）	ko04120	7
	氧化磷酸化（oxidative phosphorylation）	ko00190	6
	半胱氨酸和甲硫氨酸代谢（cysteine and methionine metabolism）	ko00270	6
M *vs* B	植物-病原互作（plant-pathogen interaction）	ko04626	31
	植物激素信号转导（plant hormone signal transduction）	ko04075	13
	MAPK信号通路-植物（MAPK signaling pathway-plant）	ko04016	14
	淀粉和蔗糖代谢（starch and sucrose metabolism）	ko00500	9
	氧化磷酸化（oxidative phosphorylation）	ko00190	9
	光合作用（photosynthesis）	ko00195	8
	泛素介导的蛋白水解作用（ubiquitin mediated proteolysis）	ko04120	8
	核糖体（ribosome）	ko03010	8
	戊糖和葡萄糖醛酸相互转化（pentose and glucuronate interconversions）	ko00040	8
	苯丙烷生物合成（phenylpropanoid biosynthesis）	ko00940	6
S *vs* B	植物-病原互作（plant-pathogen interaction）	ko04626	36
	MAPK信号通路-植物（MAPK signaling pathway-plant）	ko04016	21
	植物激素信号转导（plant hormone signal transduction）	ko04075	21
	淀粉和蔗糖代谢（starch and sucrose metabolism）	ko00500	20
	氧化磷酸化（oxidative phosphorylation）	ko00190	19
	苯丙烷生物合成（phenylpropanoid biosynthesis）	ko00940	16
	光合作用（photosynthesis）	ko00195	15
	RNA聚合酶（RNA polymerase）	ko03020	14
	RNA运输（RNA transport）	ko03013	12
	碳代谢（carbon metabolism）	ko01200	10

3.5.1 植物激素信号转导 植物的生长发育、器官的形态建成、性状的表现都受到内源激素的调控。植物内源激素在植物体内含量虽少，但对植物生长发育却起着重要作用[22-23]。已有许多研究表明，内源激素对植物块根膨大起关键作用，膨大根产量与植物体内的内源激素含量密切相关[24-25]。研究筛选了天冬不同膨大期植物激素信号通路中的关键差异基因，3 个比较组中各得到 26（S *vs* M）、13（M *vs* B）、21（S *vs* B）条差异显著的基因（图 6）。其中在 S *vs* M 中，上调基因 3 条，下调基因 25 条；在 M *vs* B 中，上调基因 9 条，下调基因 5 条；在 S *vs* B 中，上调基因 9 条，下调基因 12 条。生长素信号传导最为活跃，其次为细胞分裂素信号。生长素应答蛋白 SAUR32 显著上调、生长素诱导蛋白 AUX/IAA 家族基因（*IAA4*、*IAA18*、*AUX22D*）和细胞分裂素信号相关的基因（*APRR2* 和 *PHL11*）显著下调。木葡聚糖内转葡糖基酶/水解酶类（xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase，XTH）在 3 个比较组中各有 3、2、1 条差异表达，且主要表达在膨大前期和末期。在本研究中，植物激素信号转导通路是 3 个比较组中富集最多的 KEGG 通路之一，这表明各种激素信号综合作用，在天冬块根膨大阶段起着至关重要的作用。

3.5.2 MAPK 信号通路-植物 MAPK 信号通路作为 3 个比较组中富集差异基因最为丰富的通路之一，在天冬块根膨大的过程中发挥着重要作用。既往研究表明 MAPK 信号通路，不仅介导植物响应环境变化，而且在调节植物生长发育过程中发挥重要作用[26-27]。本研究获得的转录数据显示，在 S *vs* M、M *vs* B、S *vs* B 3 个比较组中，MAPK 信号通路中

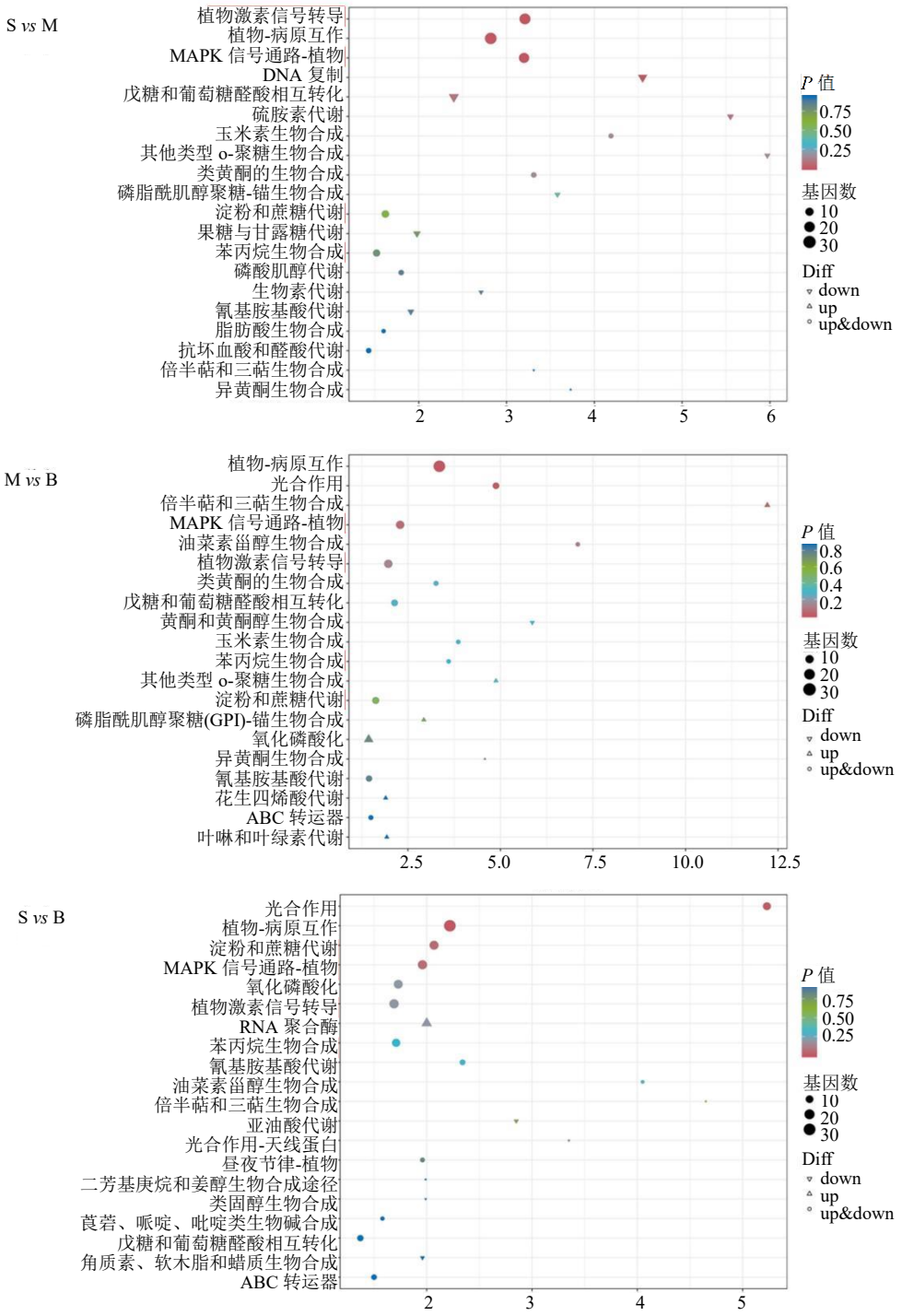
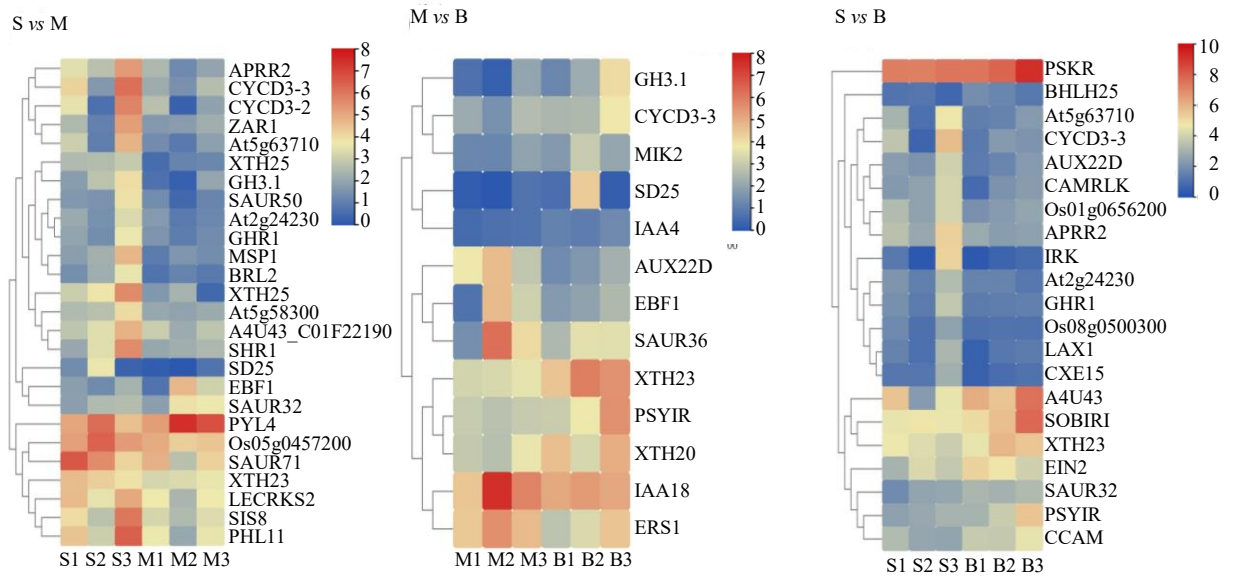


图 5　天冬不同膨大期前 20 个 KEGG 富集途径

Fig. 5　Top 20 KEGG enrichment pathways during different root expanding periods of *A. cochinchinensis*

的差异基因表达活跃，分别有 24、14、21 条显著差异表达（图 7）。在 S *vs* M 膨大前期，多数差异基因，包括 LRR 类受体丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶类（probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase，LRR-RLPK）中 *SD25*、*At5g48740*、*ZAR1*、*IRK*、*At1g12460*、*GHR1*、*SIK1*、*At5g63710* 表达下调，而在 M *vs* B 膨大后期 *IRK*、*At1g12460*、*At4g37250* 则显著上调。表明 *SD25*、*At5g48740*、*ZAR1*、*GHR1*、*SIK1*、*At5g63710* 主要调控在块根膨大前期，*At4g37250* 主要调控在膨大后期，而 *IRK*、*At1g12460* 2 个基因作用贯穿在天冬块根的整个膨大过程，发挥着调控细胞分化的功能，影响细胞增

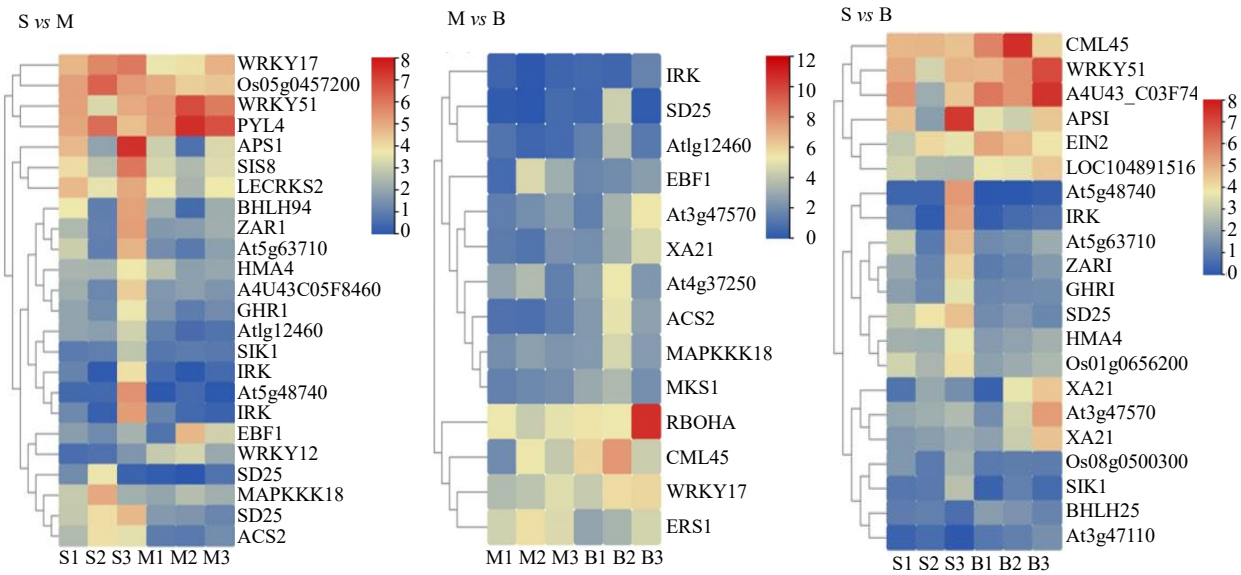


APRR2-双组分响应调节因子类似蛋白 APRR2；CYCD3-3-细胞周期蛋白 D3-3；CYCD3-2-细胞周期蛋白 D3-2；ZAR1-受体蛋白激酶类似蛋白 ZAR1；At5g63710-可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At5g63710；XTH25-可能的木葡聚糖内转葡糖基酶/水解酶蛋白 25；GH3.1-可能的吲哚-3-乙酸-酰胺合成酶 GH3.1；SAUR50-生长素响应蛋白 SAUR50；At2g24230-可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At2g24230；GHR1-LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 GHR1；MSP1-富含亮氨酸重复受体蛋白激酶 MSP1；BRL2-丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 BRI1 类似蛋白 2；At5g58300-可能的失活受体激酶 At5g58300；A4U43C01F22190-含激酶结构域蛋白；SHR1-蛋白 SHORT-ROOT 1；SD25-G 型凝集素 S 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 SD2-5；EBF1-EIN3 结合 F-box 蛋白 1；SAUR32-生长素响应蛋白 SAUR32；PYL4-脱落酸受体 PYL4；Os05g0457200-可能的蛋白磷酸酶；SAUR71-生长素响应蛋白 SAUR71；XTH23-可能的木葡聚糖内转葡糖基酶/水解酶蛋白 23；LECRKS2-受体样蛋白激酶 S.2；SIS8：可能的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 SIS8；PHL11-Myb 家族转录因子 PHL11；IRK-可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 IRK；PSY1R-酪氨酸硫酸化糖肽受体 1；XTH20-木葡聚糖内转葡糖基酶/水解酶蛋白 20；MIK2-MDIS1 互作受体样激酶 2；IAA4-生长素响应蛋白 IAA4；IAA18-生长素响应蛋白 IAA18；ERS1-可能的乙烯响应传感器 1；SAUR36-生长素响应蛋白 SAUR36；AUX22D-生长素诱导蛋白 22D；SOBIR1-富含亮氨酸重复受体样丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸蛋白激酶 SOBIR1；PSY1R-酪氨酸硫酸化糖肽受体 1；XTH23-可能的木葡聚糖内转葡糖基酶/水解酶蛋白 23；EIN2-乙烯不敏感蛋白 2；BHLH25-转录因子 bHLH25；SAUR32-生长素响应蛋白 SAUR32；PSKR-植物磺化肽受体 1；Os08g0500300-可能的蛋白磷酸酶 2C 66；Os01g0656200-可能的蛋白磷酸酶 2C 8；At2g24230-可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At2g24230；AUX22D-生长素诱导蛋白 22D；CAMRLK-钙调素结合受体激酶 CaMRLK；GHR1-LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 GHR1；LAX1-生长素转运蛋白类似蛋白 1；CXE15-可能的羧酸酯酶 15；At5g63710-可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At5g63710。

APRR2-Two-component response regulator-like APRR2; CYCD3-3-Cyclin-D3-3; CYCD3-2-Cyclin-D3-2; ZARI-Receptor protein kinase-like protein ZAR1; At5g63710-Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At5g63710; XTH25-Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 25; GH3.1:Probable indole-3-acetic acid-amido synthetase GH3.1; SAUR50-Auxin-responsive protein SAUR50; At2g24230-Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At2g24230; GHR1-LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase GHR1; MSP1-Leucine-rich repeat receptor protein kinase MSP1; BRL2-Serine/threonine-protein kinase BRI1-like 2; At5g58300-Probable inactive receptor kinase At5g58300; A4U43C01F22190-Protein kinase domain-containing protein; SHR1-Protein SHORT-ROOT 1; SD25-G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase SD2-5; EBFI-EIN3-binding F-box protein 1; SAUR32-Auxin-responsive protein SAUR32; PYL4-Abscisic acid receptor PYL4; Os05g0457200-Probable protein phosphatase; SAUR71-Auxin-responsive protein SAUR71; XTH23-Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 23; LECRKS2-Receptor like protein kinase S.2; SIS8-Probable serine/threonine-protein kinase SIS8; PHL11-Myb family transcription factor PHL11; IRK-Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase IRK; PSY1R-Tyrosine-sulfated glycopeptide receptor 1; XTH20-Xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 20; MIK2-MDIS1-interacting receptor like kinase 2; IAA4-Auxin-responsive protein IAA4; IAA18-Auxin-responsive protein IAA18; ERS1-Probable ethylene response sensor 1; SAUR36-Auxin-responsive protein SAUR36; AUX22D-Auxin-induced protein 22D; SOBIR1-Leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine/tyrosine-protein kinase SOBIR1; PSY1R-Tyrosine-sulfated glycopeptide receptor 1; XTH23-Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 23; EIN2-Protein ETHYLENE-INSENSITIVE 2; BHLH25-Transcription factor bHLH25; SAUR32-Auxin-responsive protein SAUR32; PSKR-Phytosulfokine receptor 1; Os08g0500300-Probable protein phosphatase 2C 66; Os01g0656200-Probable protein phosphatase 2C 8; At2g24230-Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At2g24230; AUX22D-Auxin-induced protein 22D; CAMRLK-Calmodulin-binding receptor kinase CaMRLK; GHR1-LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase GHR1; LAX1-Auxin transporter-like protein 1; CXE15-Probable carboxylesterase 15; At5g63710-Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At5g63710.

图 6　植物激素信号传导途径中显著表达 DEGs 热图

Fig. 6　Heatmap of highly expressed DEGs of plant hormone signal transduction pathway



WRKY51-可能的 WRKY 转录因子 51；EBF1-EIN3 结合 F-box 蛋白 1；PYL4-脱落酸受体 PYL4；WRKY12-可能的 WRKY 转录因子 12；SD25-G 型凝集素 S 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 SD2-5；At5g48740-可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At5g48740；ZAR1-受体蛋白激酶类似蛋白 ZAR1；IRK-可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 IRK；SIS8-可能的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 SIS8；At1g12460-可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At1g12460；WRKY17-可能的 WRKY 转录因子 17；HMA4-铜转运 ATP 酶 HMA4；GHR1-LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 GHR1；MAPKKK18-丝裂原活化蛋白激酶激酶激酶 18；SIK1-LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 SIK1；At5g63710-可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At5g63710；LECRKS2-受体样蛋白激酶 S.2；APS1-酸性磷酸酶 1；BHLH94-转录因子 bHLH94；Os05g0457200-可能的蛋白磷酸酶 2C 49；ACS2-1-氨基环丙烷-1-羧酸合酶 2；At1g12460-可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At1g12460；RBOHA-呼吸爆发氧化酶同源蛋白 A；At4g37250-可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At4g37250；XA21-受体激酶类似蛋白 Xa21；MAPKKK18-丝裂原活化蛋白激酶激酶激酶 18；CML45-可能的钙结合蛋白 CML45；ACS2-1-氨基环丙烷-1-羧酸合酶 2；MKS1-蛋白 MKS1；XA21-受体激酶类似蛋白 Xa21；BHLH25-转录因子 bHLH25；EIN2-乙烯不敏感蛋白 2；CML45-可能的钙结合蛋白 CML45；At5g48740-可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At5g48740；HMA4-铜转运 ATP 酶 HMA4；Os01g0656200-可能的蛋白磷酸酶 2C 8；Os08g0500300-可能的蛋白磷酸酶 2C 66；At5g63710-可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At5g63710。

WRKY51-Probable WRKY transcription factor 51; EBF1-EIN3-binding F-box protein 1; PYL4-Abscisic acid receptor PYL4; WRKY12-Probable WRKY transcription factor 12; SD25-G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase SD2-5; At5g48740-Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At5g48740; ZAR1-Receptor protein kinase-like protein ZAR1; SIS8-Probable serine/threonine-protein kinase SIS8; At1g12460-Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g12460; WRKY17-Probable WRKY transcription factor 17; HMA4-Copper-transporting ATPase HMA4; GHR1-LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase GHR1; MAPKKK18-Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 18; SIK1-LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase SIK1; At5g63710-Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At5g63710; LECRKS2-Receptor like protein kinase S.2; APS1-Acid phosphatase 1; BHLH94-Transcription factor bHLH94; Os05g0457200-Probable protein phosphatase 2C 49; ACS2-1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase 2; IRK-Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase IRK; At1g12460-Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g12460; RBOHA-Respiratory burst oxidase homolog protein A; At4g37250-Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At4g37250; XA21-Receptor kinase-like protein Xa21; MAPKKK18-Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 18; CML45-Probable calcium-binding protein CML45; ACS2-1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase 2; MKS1-Protein MKS1; XA21-Receptor kinase-like protein Xa21; XA21-Receptor kinase-like protein Xa21; BHLH25-Transcription factor bHLH25; EIN2-Protein ETHYLENE-INSENSITIVE 2; CML45-Probable calcium-binding protein CML45; At5g48740-Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At5g48740; HMA4-Copper-transporting ATPase HMA4; Os01g0656200-Probable protein phosphatase 2C 8; Os08g0500300-Probable protein phosphatase 2C 66; At5g63710-Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At5g63710.

图 7　MAPK 信号通路中显著表达 DEGs 热图

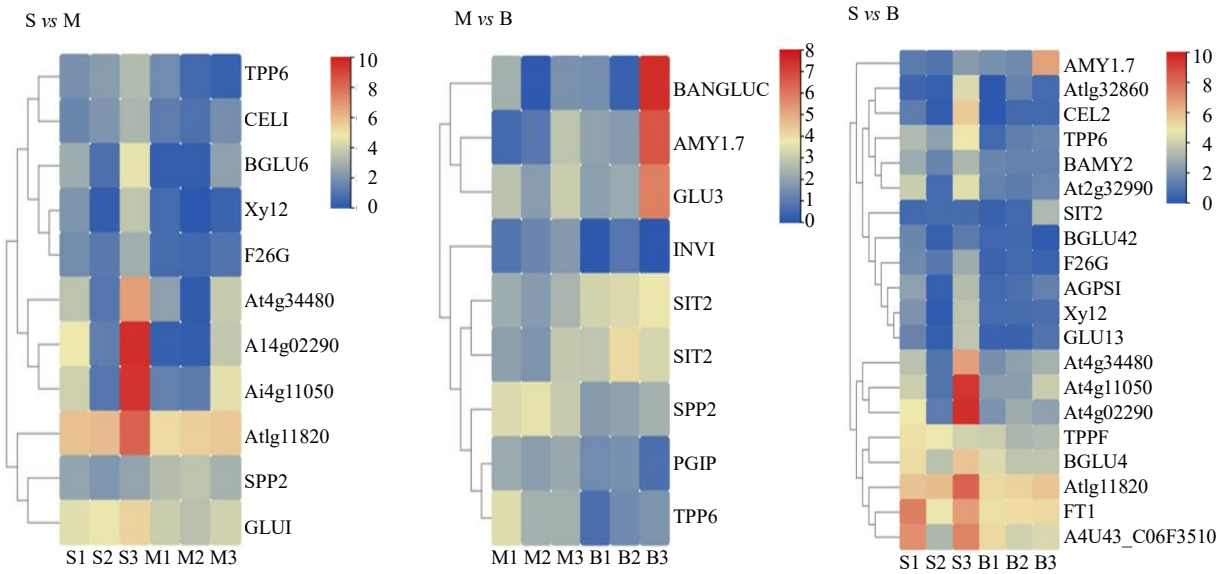
Fig. 7　Heatmap of highly expressed DEGs of MAPK signaling pathway-plant

殖，从而影响天冬块根的膨大发育。

3.5.3　淀粉与蔗糖代谢途径　淀粉与蔗糖代谢是植物生长发育和次生代谢的重要途径之一。在这个代谢途径中，涉及到多个基因的调节，这些基因的变化影响着根膨大过程。内切葡聚糖苷酶类（endoglucanase，EG）包括 At4g02290、CEL1、GLU1、At4g11050 以及 β-葡萄糖苷酶类（β-glucosidase，BGLU）包括 BGLU6、At4g34480、F26G、At1g11820、BGLU4、BGLU42、At1g32860、海藻糖-6-磷酸酯酶（trehalose 6-phosphate phos-

phatase，TPP）包括 TPP6、TPPF、α-淀粉酶类（α-amylase isozyme，AMY）、β-淀粉酶类（β-amylase，BAMY）、蔗糖磷酸酶类（sucrose phosphatase，SPP）在天冬块根不同膨大状态中表达活跃。在 S *vs* M 中共有 11 条蔗糖与淀粉代谢途径的差异表达基因，其中 4 条 EG 与 4 条 BGLU 显著下调，1 条 TPP 下调，1 条 SPP2 上调；在 M *vs* B 中有 9 条显著差异表达的基因，EG、BGLU 和 TPP 各有 1 条下调，AMY1.7 上调、SPP2 下调；而在 S *vs* B 比较组中共有 20 条富集在淀粉与蔗糖代谢途径的 DEGs，其中有 5 条 EG 下调，6 条 BGLU 下调，另外有 2 条 TPP 表达下调，AMY1.7 上调、BAMY2 下调（图 8）。可以推测，天冬块根膨大过程中的调控糖的积累的基因主要表达在膨大前期，而调控淀粉积累的关键基因则主要表达在块根膨大中后期阶段。

3.5.4 苯丙烷生物合成途径 苯丙烷代谢途径与木质素的合成密切相关。木脂素是植物骨架的主要组成部分，在植物根系的生长过程中起着重要的作用[14, 28]。通过对苯丙烷生物合成途径的差异表达基因进行分析，在 M *vs* B 膨大后期与木质素合成相关的苯丙氨酸解氨酶 1（phenylalanine ammonia-lyase 1，PAL1）显著上调。另外发现木质素生物合成途径中主要是下游关键基因过氧化物酶类（peroxidase，PER）显著差异表达（图 9）。在 S *vs*

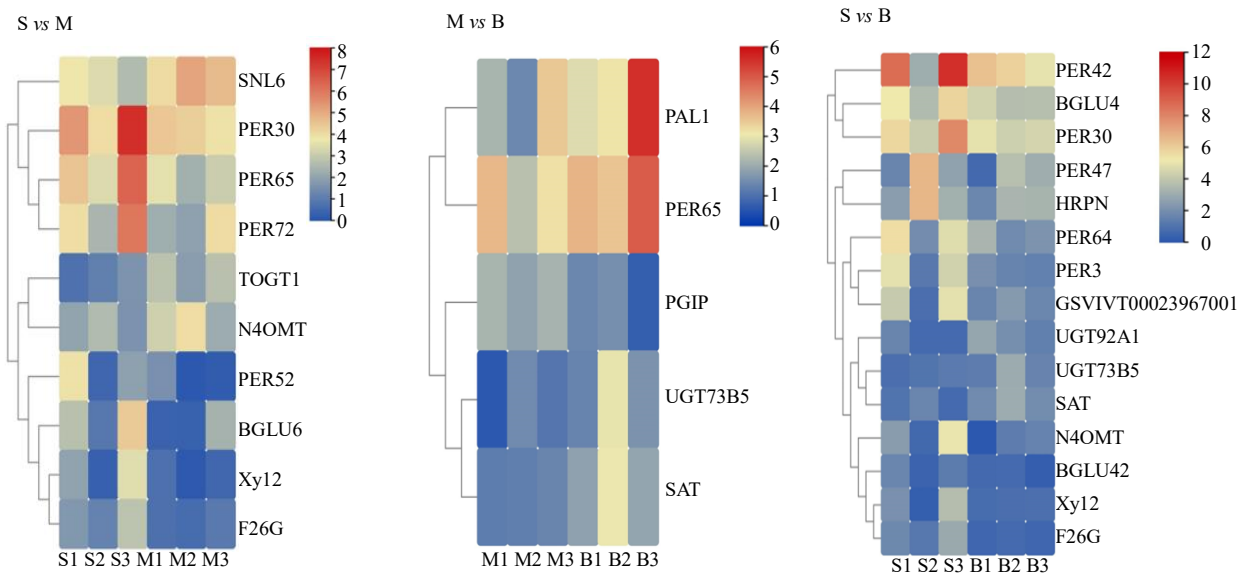


SPP2-可能的蔗糖磷酸酶 2；At4g02290-内切葡聚糖酶 17；Xyl2-β-木糖苷酶/α-L-阿拉伯呋喃糖苷酶 2；BGLU6-β-葡萄糖苷酶 6；TPP6-可能的海藻糖-磷酸磷酸酶 6；CEL1-内切葡聚糖酶 1；At4g34480-内切-1,3-β-葡聚糖葡萄糖苷酶 7；F26G-呋甾烷醇糖苷 26-*O*-β-葡萄糖苷酶；At1g11820-内切-1,3-β-葡聚糖葡萄糖苷酶 1；GLU1-内切葡聚糖酶 9；At4g11050-内切葡聚糖酶 19；BANGLUC-内切-1,3-β-葡聚糖葡萄糖苷酶；AMY1.7-α-淀粉酶同工酶 3C；GLU3-内切葡聚糖酶 12；SIT2-含 L 型凝集素结构域受体激酶 SIT2；PGIP-多聚半乳糖醛酸酶抑制剂；INV1-β-呋喃果糖苷酶不溶性同工酶 1；TPPF-可能的海藻糖-磷酸磷酸酶 F；BGLU4-β-葡萄糖苷酶 4；BAMY2-β-淀粉酶 2；At1g11820-内切-1,3-β-葡聚糖葡萄糖苷酶 1；FT1-6(G)-果糖基转移酶；BGLU42-β-葡萄糖苷酶 42；AGPS1-葡萄糖-1-磷酸腺苷酰转移酶大亚基；At2g32990-内切葡聚糖酶 11；F26G-呋甾烷醇糖苷 26-*O*-β-葡萄糖苷酶；At4g34480-内切-1,3-β-葡聚糖葡萄糖苷酶 7；GLU13-内切葡聚糖酶 17；At1g32860-内切-1,3-β-葡聚糖葡萄糖苷酶 11；At4g11050-内切葡聚糖酶 19；CEL2-内切葡聚糖酶 2。

SPP2-Probable sucrose-phosphatase 2; At4g02290-Endoglucanase 17; Xyl2-Beta-xylosidase/alpha-L-arabinofuranosidase 2; BGLU6-Beta-glucosidase 6; TPP6-Probable trehalose-phosphate phosphatase 6; CEL1-Endoglucanase 1; At4g34480-Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 7; F26G-Furostanol glycoside 26-*O*-beta-glucosidase; At1g11820-Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 1; GLU1-Endoglucanase 9; At4g11050-Endoglucanase 19; BANGLUC-Glucan endo-1,3-beta-glucosidase; AMY1.7-Alpha-amylase isozyme 3C; GLU3-Endoglucanase 12; SIT2-L-type lectin-domain containing receptor kinase SIT2; SIT2-L-type lectin-domain containing receptor kinase SIT2; PGIP-Polygalacturonase inhibitor; INV1-Beta-fructofuranosidase, insoluble isoenzyme 1; TPPF-Probable trehalose-phosphate phosphatase F; BGLU4-Beta-glucosidase 4; BAMY2-Beta-amylase 2, chloroplastic; At1g11820-Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 1; FT1-6(G)-fructosyltransferase; BGLU42-Beta-glucosidase 42; AGPS1-Glucose-1-phosphate adenylyltransferase large subunit, chloroplastic/amyloplastic; At2g32990-Endoglucanase 11; F26G-Furostanol glycoside 26-*O*-beta-glucosidase; At4g34480-Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 7; GLU13-Endoglucanase 17; At1g32860-Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 11; At4g11050-Endoglucanase 19; CEL2-Endoglucanase 2.

图 8 蔗糖与淀粉代谢途径中显著表达 DEGs 热图

Fig. 8 Heatmap of highly expressed DEGs of starch and sucrose metabolism



SNL6-肉桂酰辅酶 A 还原酶类似蛋白 SNL6；TOGT1-东莨菪苷葡萄糖基转移酶 TOGT1；N4OMT-降贝拉定 4'-氧甲基转移酶 N4OMT；Xyl2-β-木糖苷酶/α-*L*-阿拉伯呋喃糖苷酶 2；PER52-过氧化物酶 52；PER30-过氧化物酶 30；BGLU6-β-葡萄糖苷酶 6；PER65-过氧化物酶 65；F26G-呋甾烷醇糖苷 26-*O*-β-葡萄糖苷酶；PER72-过氧化物酶 72；PAL1-苯丙氨酸解氨酶 1；UGT73B5-UDP-糖基转移酶 73B5；SAT-Stemmadenine 氧-乙酰转移酶；PER65-过氧化物酶 65；PGIP-多聚半乳糖醛酸酶抑制剂；UGT92A1-UDP-糖基转移酶 92A1；UGT73B5-UDP-糖基转移酶 73B5；SAT-Stemmadenine 氧-乙酰转移酶；PER3-过氧化物酶 3；BGLU42-β-葡萄糖苷酶 42；PER64-过氧化物酶 64；BGLU4-β-葡萄糖苷酶 4；Xyl2-β-木糖苷酶/α-*L*-阿拉伯呋喃糖苷酶 2；GSVIVT00023967001-过氧化物酶 4；PER30-过氧化物酶 30；PER47 -过氧化物酶 47；F26G-呋甾烷醇糖苷 26-*O*-β-葡萄糖苷酶；HRPN-过氧化物酶 N；PER42-过氧化物酶 42。

SNL6-Cinnamoyl-CoA reductase-like SNL6; TOGT1-Scopoletin glucosyltransferase; N4OMT-Norbelladine 4'-*O*-methyltransferase; Xyl2-Beta-xylosidase/alpha-*L*-arabinofuranosidase 2; PER52-Peroxidase 52; PER30-Peroxidase 30; BGLU6-Beta-glucosidase 6; PER65-Peroxidase 65; F26G-Furostanol glycoside 26-*O*-beta-glucosidase; PER72-Peroxidase 72; PAL1-Phenylalanine ammonia-lyase 1; UGT73B5-UDP-glycosyltransferase 73B5; SAT-Stemmadenine *O*-acetyltransferase; PER65-Peroxidase 65; PGIP-Polygalacturonase inhibitor; UGT92A1-UDP-glycosyltransferase 92A1; UGT73B5-UDP-glycosyltransferase 73B5; SAT-Stemmadenine *O*-acetyltransferase; PER3-Peroxidase 3; BGLU42-Beta-glucosidase 42; PER64-Peroxidase 64; BGLU4-Beta-glucosidase 4; Xyl2-beta-xylosidase/alpha-*L*-arabinofuranosidase 2; GSVIVT00023967001-Peroxidase 4; PER30-Peroxidase 30; PER47-Peroxidase 47; F26G-Furostanol glycoside 26-*O*-beta-glucosidase; HRPN-Peroxidase N; PER42-Peroxidase 42.

图 9　苯丙烷生物合成途径中显著表达 DEGs 热图

Fig. 9　Heatmap of highly expressed DEGs of phenylpropanoid biosynthesis

M、M *vs* B、S *vs* B 3 个比较组中苯丙烷生物合成途径中分别有 10、5、15 条显著差异表达，其中各有 4 条（PER52、PER30、PER65、PER72）、1 条（PER65）和 5 条 PER（PER3、PER64、PER30、PER47、PER42）差异表达基因，多数为下调，可见木质素沉积主要集中在膨大前期，从而影响块根的膨大程度。

3.6　天冬块根膨大关键基因的筛选

天冬块根膨大同其他肉质根一样，是植物激素、信号传导、淀粉与糖积累、木脂素合成等共同作用的结果。本研究结果表明 3 种不同膨大状态天冬的差异基因在这 4 个信号通路中表达上有较大差异。在植物激素信号传导、淀粉与蔗糖代谢途径、MAPK 信号通路-植物、苯丙烷生物合成途径中共鉴定出以下与块根膨大相关的关键酶类：SAUR、XTH、LRR-RLPK、SPP、EG、BGLU、TPP、AMY、BAMY、PAL、PER。根据图 10 总表达量结果综合分析推测出 XTH 可能是影响在天冬块根膨大发育过程最主要的酶类。

3.7　转录因子分析

将所注释的 Unigene 与 Plant TFDB（plant transcription factor database）和 Animal TFDB（animal transcription factor database）数据库进行比较，在天冬不同膨大期差异基因转录组数据中共有 2 635 条 Unigene 被注释为转录因子（图 11-a）。bHLH、NAC 与 bZIP、MYB、WRKY 这些 TF 家族代表，在细胞分化、分裂和扩增中起着关键的调节作用，众多研究表明参与了块根膨大发育过程[29-30]。对这些转录

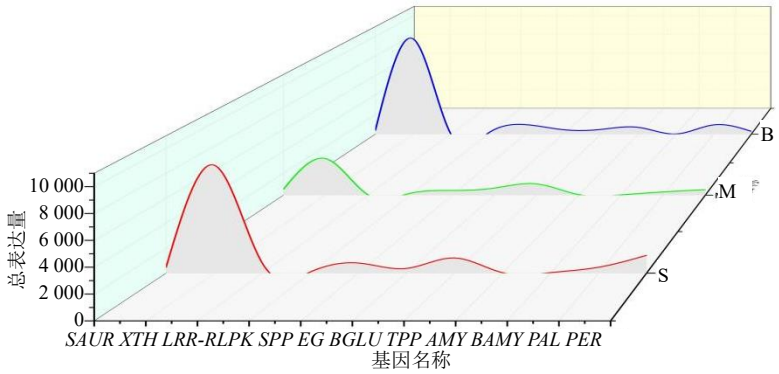


图 10　总表达量峰峦图

Fig. 10　Peak of total expression

因子在 3 个比较组中进行差异表达分析，多数转录因子在 S *vs* M 中下调；在 M *vs* B 中 NAC、bZIP 以及 WRKY 主要为上调，其他转录因子主要表现为下调；在 S *vs* B 中 WRKY 皆为上调，其余转录因子主要为下调。在 3 个比较组中，WRKY 转录因子差异表达数量最多，分别有 6、6、4 条（图 11-b）。综合以上结果，推测这 5 个转录因子中 WRKY 是主要调控的转录因子，且主要调控在天冬块根膨大的后期。

3.8　qRT-PCR 验证

为了确认 RNA-seq 结果的可靠性，随机选取 6 个参与植物激素信号传导、淀粉与蔗糖代谢、MAPK 信号通路以及苯丙烷生物合成途径中与块根膨大相关的差异表达基因进行 RT-qRCR 验证，6 个差异基因为 SAUR32、AUX22D、GHR1、BGLU42、TPP6、SNL6，设计 RT-qRCR 特异性引物见表 7。实验结果表明，6 个差异基因的 qRT-PCR 定量结果和转录组测序获得的 FPKM 值在天冬 3 种膨大期的块根中表达趋势相似（图 12），这表明转录组测序结果是可靠的。

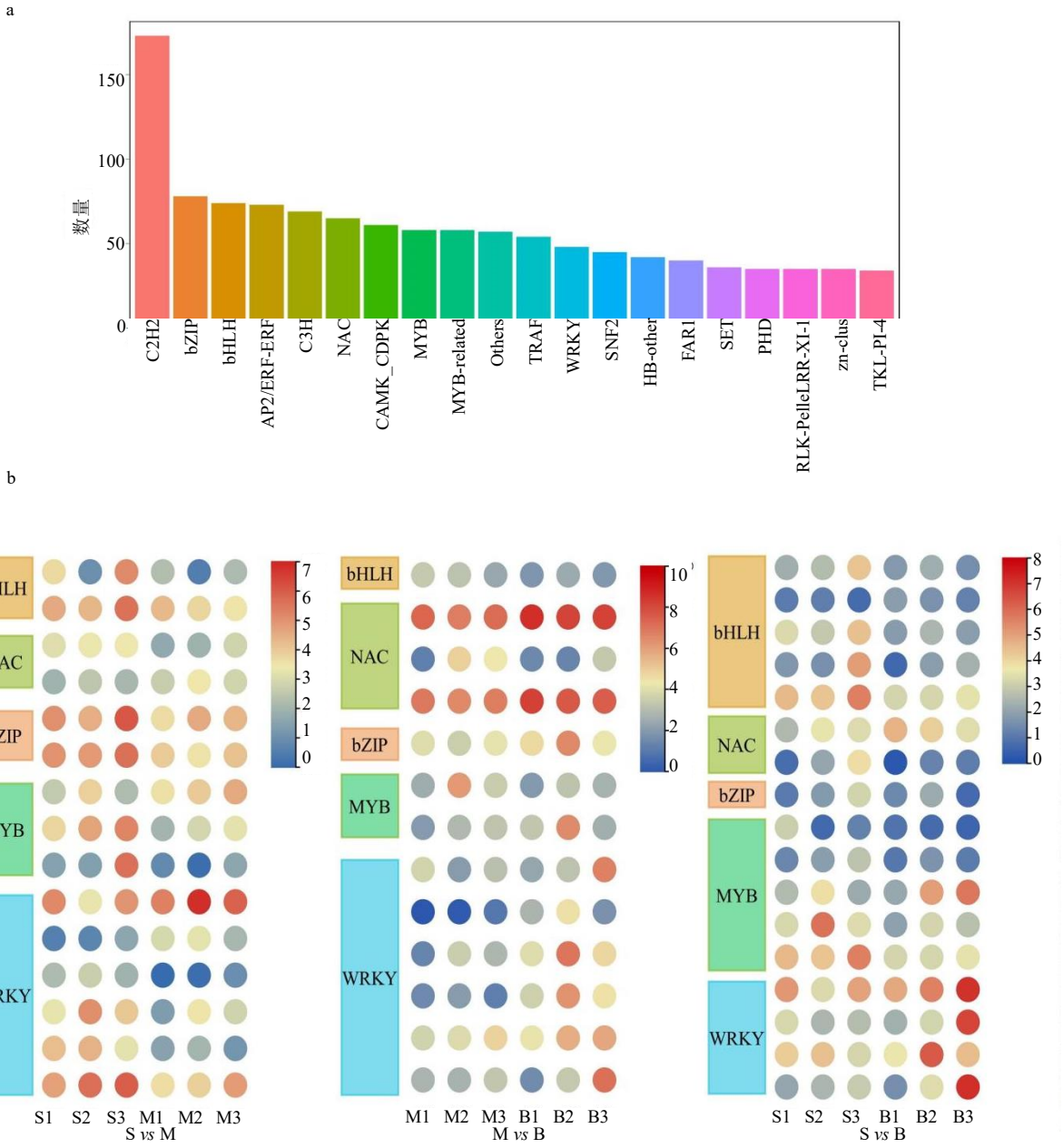
3.9　XTH 蛋白序列分析

对数据库 NR，KOG 和 Swiss-Prot 分别注释，将筛选出的 XTH 蛋白序列导入 NCBI 进行预测，利用在线软件 Pfam 以及 NCBI 的 CDD 进行保守结构域分析，然后利用 InterProScan（v5.17-56.0）进行进一步的验证，筛选含有 PF00722（Glyco-hydro_16）和 PF06955（XET_C）保守结构域的蛋白序列，共筛选得到 10 个天冬 *XTH* 基因家族成员进行深入分析，预测其 Motif 区段和保守结构域，结果见图 13。

对 XTH 蛋白序列进行多序列比对发现，在天冬 XTH 蛋白中代表催化活性残基的活性位点（ExDxE）高度保守，且所有 XTH 蛋白都具有 DE（I/L/F/V）D（F/I/M）EFLG 保守结构域，氨基酸序列中多个氨基酸位点都是稳定不变的，为 DEXDXEFLG，见图 13-a，10 个天冬 XTH 蛋白的催化残基附近具有潜在的 *N*-连接糖基化位点：N（Y/H）V（R/L/T/I/S/K/E/A）T（S/K/R/P）G（A/D/R）。将天冬 XTH 序列导入 MEME 软件，对其家族成员的保守序列验证分析。结果显示，得到 6 个 XTH 基因家族的保守基序，并为其从 Motif 1 依次命名至 Motif 6（图 13-c），长度在 6～50 aa，且天冬 XTH 中都含 Motif 1～3、Motif 5～6 的基序。这 6 个保守基序通过 InterPro 数据库进行功能注释，发现 Motif 1～Motif 4 为 Glyco-hydro_16，Motif 5 为 XET-C。对 10 个 XTH 蛋白序列进行理化性质预测，结果显示氨基酸数目介于 195～377 aa；相对分子质量在 22 451.86～42 668.84；理论等电点介于 4.97～9.32。其中稳定蛋白有 6 个，不稳定蛋白有 4 个。亲水系数均为负值，说明 14 个 XTH 蛋白属于亲水性蛋白，在线亚细胞定位软件结果显示，XTH 亚细胞定位多处于细胞壁中，少数位于细胞质中（表 8）。

4　讨论

块根的膨大发育直接影响天冬的产量。因此，研究块根膨大的机理对提高天冬产量具有重要意义。为了挖掘天冬块根膨大过程的主要代谢过程以及参与调控的关键基因，本研究选取不同膨大状态的天冬块根进行转录组测序，并对测序结果进行质量评估，确保了后续数据分析的可靠性，主要结合了 Nr、GO、KEGG 3 大数据库对基因进行注释及分



C2H2-C2H2 型锌指蛋白；bZIP-碱性亮氨酸拉链；bHLH-碱性螺旋-环-螺旋；AP2/ERF-ERF-乙烯响应因子/AP2 结构域转录因子；C3H-C3H 型锌指蛋白；NAC-NAC 转录因子；CAMK_CDPK-钙调素依赖蛋白激酶/钙依赖蛋白激酶；MYB-MYB 转录因子；MYB-related-MYB 相关转录因子；Others-其他未分类转录因子；TRAF-肿瘤坏死因子受体相关因子；WRKY-WRKY 转录因子；SNF2-SNF2 型染色质重塑因子；HB-other-同源框其他转录因子；FAR1-远红光响应缺陷蛋白 1；SET-SET 结构域蛋白；PHD-PHD 指结构（锌指亚型）；RLK-PelleLRR-XI-1-LRR-XI-1 类受体样激酶 Pelle 亚家族；zn-clus-锌簇结构转录因子；TKL-PI-4-酪氨酸激酶样-PI-4 亚类。

C2H2-Cys2His2 Zinc Finger; bZIP-Basic Leucine Zipper; bHLH-Basic Helix-Loop-Helix; AP2/ERF-ERF-Ethylene Response Factor (ERF) / APETALA2 (AP2); C3H-C3H-type Zinc Finger; NAC-NAM, ATAF1/2, CUC2; CAMK_CDPK-Calcium/Calmodulin-Dependent Protein Kinase (CAMK)/Calcium-Dependent Protein Kinase (CDPK); MYB-Myeloblastosis (v-Myb oncogene); MYB-related-MYB-related Transcription Factors; Others-Other Unclassified Transcription Factors; TRAF-TNF Receptor-Associated Factor; WRKY-WRKY Domain; SNF2-Sucrose Non-Fermenting 2; HB-other-Homeobox-Other; FAR1-FAR-RED IMPAIRED RESPONSE 1; SET-Su(var)3-9, Enhancer of zeste, Trithorax; PHD-Plant Homeodomain Finger; RLK-PelleLRR-XI-1-Receptor-Like Kinase Pelle LRR-XI-1; zn-clus-Zinc Cluster; TKL-PI-4-Tyrosine Kinase-Like (TKL) Phosphatidylinositol 4-kinase.

图 11　天冬转录因子家族统计 (a) 和 3 个比较组中差异表达的转录因子 (b)

Fig. 11　Transcription factor family statistics of *A. cochinchinensis* (a) and differential expression of transcription factors in three comparative groups (b)

表 7 RT-qPCR 引物序列

Table 7 RT-qPCR primer sequence

基因ID	基因名称	正向引物（5’-3’）	反向引物（5’-3’）
内参	*actin*	AGGAACCACCGATCCAGACA	GGTGCCCTGAGGTCCTGTT
TRINITY_DN25062_c0_g1	*SAUR*32	ACGCCACAGGCACAACGAAC	CCCACCTCAAGAAGGAAAACTCA
TRINITY_DN2136_c1_g1	*AUX22D*	AGCCTAAGCTCCGTAGCCCT	CCCCACTCAACCGACCATTC
TRINITY_DN2822_c0_g2	*GHR*1	TTCAAATCTGACGTCTACGCCTT	CATCTCCTCCACTCCCTTCTCC
TRINITY_DN7424_c0_g2	*BGLU*42	CTGAACTCTATCCCCTACCCCAT	CCAACGATCCTACAGCTCCTTG
TRINITY_DN8531_c0_g1	*TPP*6	TCGTAATCCAAGAACATCGCAA	ACTCATAGAACCCCCGCCTC
TRINITY_DN6827_c0_g1	*SNL*6	GAGGGTTTGAGTGTGAGGCAGC	TTGTTTGAAAGGAGGGGGGA

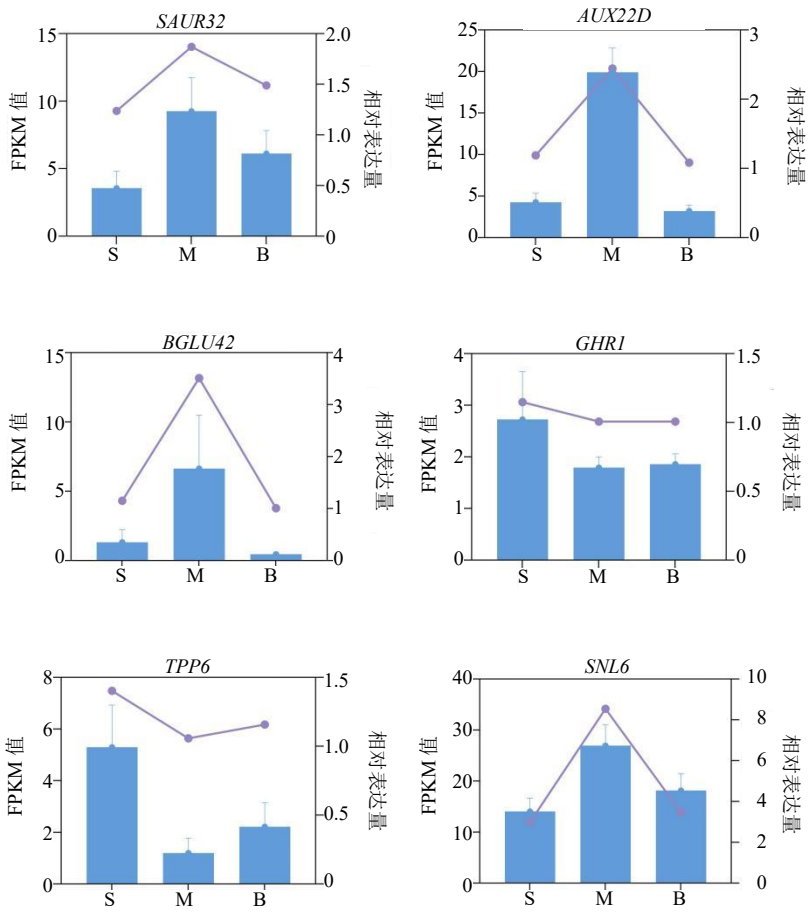


图 12 差异基因 RT-qPCR 验证

Fig. 12 RT-qPCR validation of differentially expressed genes

析。Nr 数据库分析结果表明天冬与芦笋的基因同源性较高。富集分析发现影响根膨大的植物激素信号传导（ko04075）、MAPK 信号通路-植物（ko04016）、淀粉与蔗糖代谢（ko00500）以及苯丙烷生物合成（ko00940）这 4 个代谢通路在富集差异基因最丰富前几个通路中，通过对这 4 个代表性通路进行分析，发现 SAUR、XTH、LRR-RLPK、SPP、EG、BGLU、TPP、AMY、BAMY、PAL、PER 等多种酶类参与了天冬的块根膨大，这与既往报道植物根发育膨大的主要代谢通路研究结果相符[31]。但目前对于根膨大的研究，在农作物中已有较为系统深入的研究[32]，而在药用植物中，根发育及膨大的研究从深度与广度上来看都十分欠缺。

通过对关键基因进行总表达量分析，发现在天冬块根膨大的整个过程中 XTH 的表达量最高。XTH 是植物细胞壁重构过程中的关键酶，内切木葡聚糖

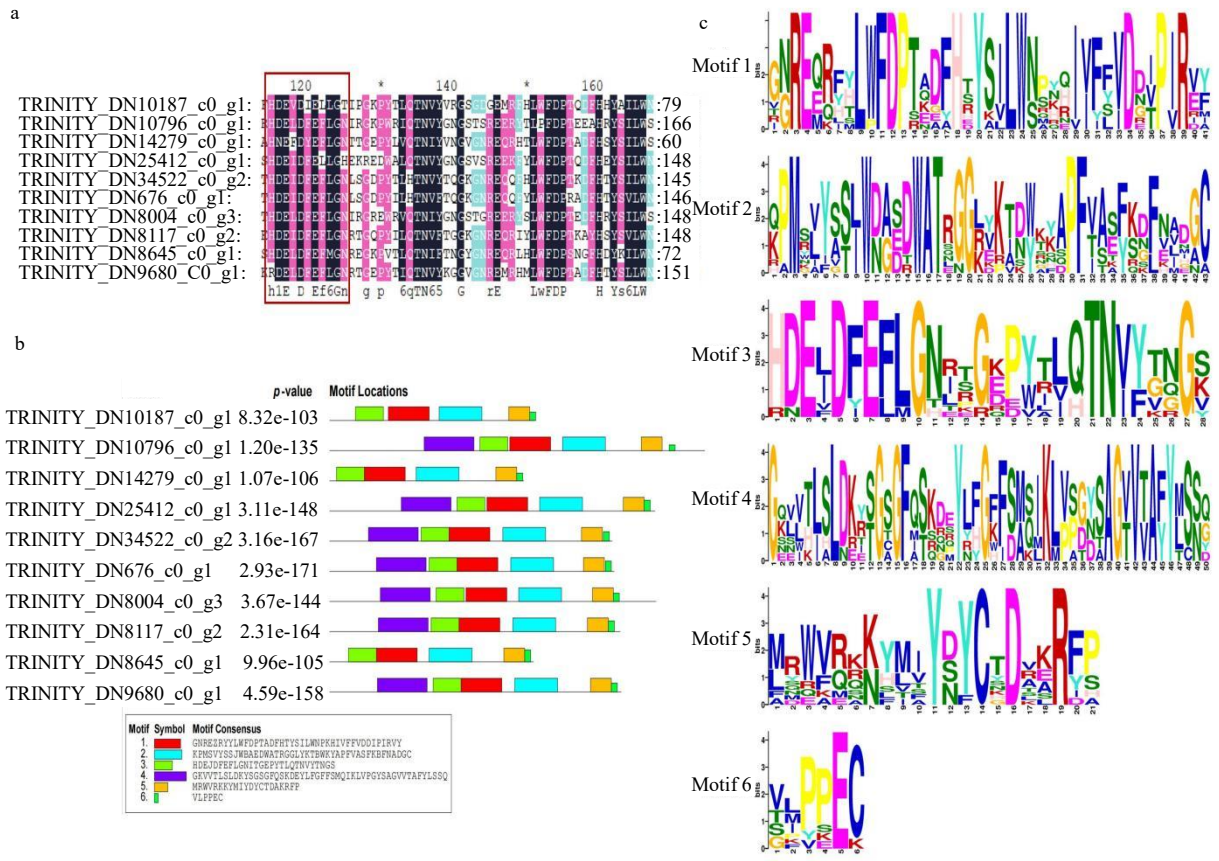


图 13　天冬 XTH 蛋白序列分析 (a)、多序列比对蛋白基序 (b) 及保守结构域分析 (c)

Fig. 13　XTH protein sequence analysis of *A. cochinchinensis* (a) multiple sequence alignment (b) protein motif (c) conservative domain analysis

表 8　XTH 蛋白序列理化性质

Table 8　Physicochemical properties of XTH protein sequences

基因ID	氨基酸	理论等电点	相对分子质量	不稳定系数	脂肪系数	亚细胞定位
>TRINITY_DN10187_c0_g1	207	8.30	23 971.90	42.64	57.10	细胞壁
>TRINITY_DN10796_c0_g1	377	9.32	42 668.84	48.11	63.13	细胞壁
>TRINITY_DN14279_c0_g1	195	5.22	22 451.86	37.67	55.90	细胞壁
>TRINITY_DN25412_c0_g1	327	7.76	37 570.36	47.06	64.98	细胞壁
>TRINITY_DN34522_c0_g2	284	6.51	32 355.41	39.90	68.70	细胞壁、细胞质
>TRINITY_DN676_c0_g1	286	8.73	32 090.27	35.25	69.23	细胞壁、细胞质
>TRINITY_DN8004_c0_g3	328	6.16	37 655.11	50.92	69.88	细胞壁
>TRINITY_DN8117_c0_g2	292	8.41	33 456.86	36.50	67.77	细胞壁、细胞质
>TRINITY_DN8645_c0_g1	205	6.20	23 950.81	37.35	54.15	细胞壁
>TRINITY_DN9680_c0_g1	293	4.97	34 286.33	32.06	58.91	细胞壁

将产生的还原性末端连接到另外 1 个木葡聚糖链上，在细胞壁重构和影响植物生长发育方面有重要作用[33]。既往研究表明，*XTH* 基因表达与植物根的伸长具有相关性[34]；*XTH* 基因还可响应生长素、油菜素甾醇等植物激素和其他环境信号，在植物生长调控的生理过程中起重要作用[35-36]。植物细胞的伸长和扩张是一个高度协调的复杂过程。在细胞伸长过程中，细胞形态受由纤维素结晶、半纤维素和纤维素微纤丝等多聚物组成的细胞壁控制。细胞壁生化特性改变使膨压驱动细胞扩张。XTH 活性需要以基本的葡聚糖结构为前提如 β-1,4 糖苷键。一般认为木葡聚糖是基本多聚物的重要组成部分[37]，木葡聚糖的断裂和再生在细胞壁的扩张过程中发挥着重要作用，例如木葡聚糖与纤维素微纤丝表面结合，介导形成纤维素微纤丝-木葡聚糖交联网络系统，XTH 被认为是参与细胞壁松弛过程的一种重要的

酶[38]。XTH 在细胞壁伸长和细胞体积膨大等过程中发挥的重要作用，这一点体现在“①内切木葡聚糖分子②将新产生的木葡聚糖分子交联到另一木葡聚糖分子的非还原端”这 2 个 XTH 催化的过程。有报道表明 XTH 表达的空间分布与细胞伸长、非伸长区和细胞壁的二次生成有关，而且 XTH 能通过调节插入细胞壁中的木葡聚糖长度，从而调节细胞的延展性[37]，从而影响植物的根膨大。近年来 XTH 在植物根中的研究在葛根[36]、甜菜[39]、甘薯[40]、胡萝卜[41]等膨大根中有所报道，但对于调控根膨大的功能研究还不够深入。

转录组学研究可以从基因的转录调控及表达对根膨大发育做出合理的阐释，本文通过表达量分析结合 *XTH* 高表达基因的结构与功能分析推测出 XTH 是天冬膨大过程细胞增大的关键影响因素。后续可进一步根据 XTH 高表达基因序列设计引物进行质粒构建，通过同源表达验证其调控细胞壁伸长和细胞体积膨大的功能，为天冬块根膨大机制的深入研究奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Kubota S, Konno I, Kanno A. Molecular phylogeny of the genus *Asparagus* (Asparagaceae) explains interspecific crossability between the garden *Asparagus* (*A. officinalis*) and other *Asparagus* species [J]. *Theor Appl Genet*, 2012, 124(2): 345-354.

[2] Pegiou E, Mumm R, Acharya P, *et al*. Green and white *Asparagus (Asparagus officinalis*): A source of developmental, chemical and urinary intrigue [J]. *Metabolites*, 2019, 10(1): 17.

[3] Pahwa P, Singh T, Goel R K. Anticonvulsant effect of *Asparagus racemosus* Willd. in a mouse model of catamenial epilepsy [J]. *Neurochem Res*, 2022, 47(2): 422-433.

[4] Sheng W T. The complete chloroplast genome of two traditional medical plants: *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr. and *Asparagus dauricus* Fisch. ex Link [J]. *Mitochondrial DNA B Resour*, 2022, 7(5): 725-726.

[5] PLOS ONE Staff. Correction: Complete chloroplast genomes of *Asparagus aethiopicus* L., *A. densiflorus* (kunth) jessop 'myers', and *A. cochinchinensis* (Lour.) Merr.: Comparative and phylogenetic analysis with congenerics [J]. *PLoS One*, 2024, 19(5): e0303739.

[6] Wang M, Wang S, Hu W J, *et al*. *Asparagus cochinchinensis*: A review of its botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and applications [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1068858.

[7] Safriani N, Zakaria F R, Prangdimurti E, *et al*. Using metabolomics to discover the immunomodulator activity of food plants [J]. *Heliyon*, 2022, 8(5): e09507.

[8] Sikand G, Kris-Etherton P, Boulos N M. Impact of functional foods on prevention of cardiovascular disease and diabetes [J]. *Curr Cardiol Rep*, 2015, 17(6): 39.

[9] Kim M, Kim W B, Koo K Y, *et al*. Optimal fermentation conditions of hyaluronidase inhibition activity on *Asparagus cochinchinensis* Merrill by *Weissella cibaria* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2017, 27(4): 701-708.

[10] Topolska K, Florkiewicz A, Filipiak-Florkiewicz A. Functional food-consumer motivations and expectations [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2021, 18(10): 5327.

[11] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 56-57.

[12] 方毅杰. 番薯中 DELLA 调控储藏根膨大的分子机制 [D]. 上海: 上海师范大学, 2023.

[13] Gui J S, Shen J H, Li L G. Functional characterization of evolutionarily divergent 4-coumarate: Coenzyme a ligases in rice [J]. *Plant Physiol*, 2011, 157(2): 574-586.

[14] Wang H X, Yang J, Zhang M, *et al*. Altered phenylpropanoid metabolism in the maize lc-expressed sweet potato (*Ipomoea batatas*) affects storage root development [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 18645.

[15] Natarajan B, Kondhare K R, Hannapel D J, *et al*. Mobile RNAs and proteins: Prospects in storage organ development of *Tuber* and root crops [J]. *Plant Sci*, 2019, 284: 73-81.

[16] 王丰青, 李欣容, 杨超飞, 等. 遮阴对地黄块根性状、光合特性及基因转录的影响 [J]. 中草药, 2019, 50(18): 4419-4429.

[17] Li X J, Yang J L, Hao B, *et al*. Comparative transcriptome and metabolome analyses provide new insights into the molecular mechanisms underlying taproot thickening in *Panax notoginseng* [J]. *BMC Plant Biol*, 2019, 19(1): 451.

[18] Smetana O, Mäkilä R, Lyu M N, *et al*. High levels of auxin signalling define the stem-cell organizer of the vascular cambium [J]. *Nature*, 2019, 565(7740): 485-489.

[19] Shi D B, Lebovka I, López-Salmerón V, *et al*. Bifacial cambium stem cells generate xylem and phloem during radial plant growth [J]. *Development*, 2019, 146(1): dev171355.

[20] Chen X Y, Yang M, Hao W J, *et al*. Differentiation-inducing and anti-proliferative activities of isoliquiritigenin and all-trans-retinoic acid on B16F0 melanoma cells: Mechanisms profiling by RNA-seq [J]. *Gene*, 2016, 592(1): 86-98.

[21] Chen M D, Wang Z B, Hao Z Y, *et al*. Screening and validation of appropriate reference genes for real-time quantitative PCR under PEG NaCl and $ZnSO_4$ treatments in *Broussonetia papyrifera* [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(20): 15087.

[22] Motte H, Vanneste S, Beeckman T. Molecular and environmental regulation of root development [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2019, 70: 465-488.

[23] Kumari S, Panigrahi K C S. Light and auxin signaling cross-talk programme root development in plants [J]. *J Biosci*, 2019, 44(1): 26.

[24] Roumeliotis E, Kloosterman B, Oortwijn M, *et al*. The PIN family of proteins in potato and their putative role in tuberization [J]. *Front Plant Sci*, 2013, 4: 524.

[25] Liu J L, Moore S, Chen C L, *et al*. Crosstalk complexities between auxin, cytokinin, and ethylene in *Arabidopsis* root development: From experiments to systems modeling, and back again [J]. *Mol Plant*, 2017, 10(12): 1480-1496.

[26] 黄荣峰, 徐通达. 生长素通过 MAPK 介导的超长链脂肪酸合成调控侧根发育 [J]. 植物学报, 2021, 56(1): 6-9.

[27] Pi K, Huang Y, Luo W, *et al*. Overdominant expression of genes plays a key role in root growth of tobacco hybrids [J]. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1107550.

[28] Xin W, Zhang L N, Zhang W Z, *et al*. An integrated analysis of the rice transcriptome and metabolome reveals root growth regulation mechanisms in response to nitrogen availability [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(23): 5893.

[29] He S T, Wang H X, Hao X M, *et al*. Dynamic network biomarker analysis discovers IbNAC083 in the initiation and regulation of sweet potato root tuberization [J]. *Plant J*, 2021, 108(3): 793-813.

[30] 宋炜涵, 董婷婷, 郁佳雯, 等. 薯类作物储藏根/茎形成和膨大中的转录因子 [J]. 分子植物育种, 2017, 15(5): 1708-1717.

[31] Pi K, Huang Y, Luo W, *et al*. Overdominant expression of genes plays a key role in root growth of tobacco hybrids [J]. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1107550.

[32] Zierer W, Rüscher D, Sonnewald U, *et al*. *Tuber* and tuberous root development [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2021, 72: 551-580.

[33] Han J J, Liu Y C, Shen Y T, *et al*. A surprising diversity of xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase in wheat: New in sight to the roles in drought tolerance [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(12): 9886.

[34] Xu P P, Fang S, Chen H Y, *et al*. The brassinosteroid-responsive xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 19 (XTH19) and XTH23 genes are involved in lateral root development under salt stress in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2020, 104(1): 59-75.

[35] Gao Y C, Wang L M, Li D, *et al*. Genome-wide characterization of the xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase family genes and their response to plant hormone in sugar beet [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2024, 206: 108239.

[36] Xiao X F, Hu Y F, Zhang M, *et al*. Transcriptome profiling reveals the genes involved in tuberous root expansion in *Pueraria* (*Pueraria montana* var. *thomsonii*) [J]. *BMC Plant Biol*, 2023, 23(1): 338.

[37] Nishitani K, Vissenberg K. *Roles of the XTH protein family in the expanding cell* [M]. Springer Berlin Heidelberg: The Expanding Cell, 2006: 89-116.

[38] Miedes E, Zarra I, Hoson T, *et al*. Xyloglucan endotransglucosylase and cell wall extensibility [J]. *J Plant Physiol*, 2011, 168(3): 196-203.

[39] Li N N, Zhang Y F, Wang X F, *et al*. Integration of transcriptomic and proteomic profiles reveals multiple levels of genetic regulation of taproot growth in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 882753.

[40] Zhang J Z, He P W, Xu X M, *et al*. Genome-wide identification and expression analysis of the xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase gene family in sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) lam [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(1): 775.

[41] Cheng W W, Tang M J, Xie Y, *et al*. Transcriptome-based gene expression profiling of diploid radish (*Raphanus sativus* L.) and the corresponding autotetraploid [J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(1): 933-945.

[责任编辑 时圣明]