白花前胡主要香豆素在生长期与组织间的差异积累规律及其转录组分析

罗奕瑾[1]，舒国平[1, 2]，李鹏飞[1, 2, 3]，杨昌贵[1, 2]，周　涛[1, 2, 3]，杨　阳[1, 2*]

1. 贵州中医药大学 中药民族药资源研究院，贵州 贵阳　550025
2. 贵州省道地药材种质创新与资源高效利用全省重点实验室，贵州 贵阳　550025
3. 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室，北京　100700

摘　要：目的　阐明白花前胡 *Peucedanum praeruptorum* 主要香豆素成分在不同生长期的积累规律及其分子调控机制。**方法**　以幼苗期、膨大期和成熟期的白花前胡植株为材料，采用 HPLC 系统测定其主根韧皮部、髓部、须根、叶片及叶柄中前胡甲素（praeruptorin A，PA）、前胡乙素（praeruptorin B，PB）和前胡戊素（praeruptorin E，PE）的含量。同时，对不同组织和时期的样品进行转录组测序，通过差异表达基因（differentially expressed gene，DEGs）分析、京都基因与基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）通路富集分析以及加权基因共表达网络分析（weighted gene co-expression network analysis，WGCNA），筛选与香豆素生物合成相关的关键酶基因和转录因子。**结果**　HPLC 结果显示，PA、PB 和 PE 的积累具有显著的时空特异性。根部是香豆素类成分的主要积累器官，且含量随生育进程推进而显著增加，在成熟期达到峰值。不同香豆素成分在地上部与地下部的分配模式存在差异。转录组分析表明，组织间的 DEGs 数量远多于同一组织不同时期间的数量。KEGG 富集分析显示，差异基因主要涉及苯丙烷类生物合成及植物激素信号转导等通路。结合 WGCNA，成功筛选出 *PpC2'H*、*PpU8PT*、*PpOC* 等关键结构基因，以及 MYB、bHLH、ERF 等转录因子家族成员（如 *PpbHLH94*、*PpbHLH93*、*PpILR3*、*PpERF74*、*PpCDC5L*、*PpNDUA5*、*PpNAC53*、*PpERF8*），它们可能共同调控白花前胡香豆素的合成与积累。**结论**　揭示了白花前胡主要香豆素成分的时空积累特征，并从转录组水平解析了其品质形成的分子调控网络，为白花前胡的定向栽培和品质提升提供了理论依据和关键的分子靶点。

关键词：白花前胡；香豆素；生长期；组织特异性；转录组；共表达分析

中图分类号：R282.6　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2026)22 - 9099 - 12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.22.023

Differential accumulation patterns and transcriptomic analysis of major coumarins across growth stages and tissues in *Peucedanum praeruptorum*

LUO Yijin[1], SHU Guoping[1, 2], LI Pengfei[1, 2, 3], YANG Changgui[1, 2], ZHOU Tao[1, 2, 3], YANG Yang[1, 2]

1. Resource Institute for Chinese & Ethnic Materia Medica of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China
2. Guizhou Key Laboratory for Germplasm Innovation and Resource-Efficient Utilization of Dao-di Herbs, Guiyang 550025, China
3. State Key Laboratory for Quality Ensurance and Sustainable Use of Dao-di Herbs, Beijing 100700, China

Abstract: Objective　To clarify the accumulation patterns and molecular regulatory mechanisms of major coumarins in *Peucedanum praeruptorum* at different growth stages. **Methods:** Plants of *P. praeruptorum* at the seedling, root expansion, and mature stages were used as materials. The contents of praeruptorin A (PA), praeruptorin B (PB), and praeruptorin E (PE) in the phloem, pith, fibrous roots, leaves, and petioles were quantified via high-performance liquid chromatography (HPLC). Meanwhile, transcriptome sequencing was performed on samples from different tissues and stages. Key enzyme genes and transcription factors related to coumarin biosynthesis were screened through differentially expressed gene (DEG) analysis, Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis, and weighted gene co-expression network analysis (WGCNA). **Results**　HPLC results showed that the accumulation of PA, PB, and PE exhibited significant spatiotemporal specificity. Roots served as the primary accumulation organ, with

收稿日期：2026-08-02

基金项目：贵州省基础研究（自然科学）项目（黔科合基础 MS［2025］156）；名贵中药资源可持续利用能力建设项目（2060302）；国家自然科学基金项目（82560754）

作者简介：罗奕瑾，硕士研究生，主要从事中药有效成分生物合成途径研究。E-mail: 2223829386@qq.com

***通信作者：**杨　阳，主要从事道地药材分子机制研究。E-mail: yangyangyy91@163.com

content increasing significantly along the growth process and peaking at the mature stage. The distribution patterns of different coumarin components in the above-ground and below-ground parts were different. Transcriptome analysis indicated that the number of inter-tissue DEGs significantly exceeded that of intra-tissue DEGs across stages. KEGG enrichment analysis revealed that these DEGs were mainly involved in phenylpropanoid biosynthesis and plant hormone signal transduction pathways. Furthermore, integration of expression profiles of key enzyme genes and co-expression network analysis successfully identified core structural genes (*PpC2'H*, *PpU8PT*, *PpOC*) and candidate regulatory transcription factors from the MYB, bHLH, and ERF families (e.g., *PpbHLH94*, *PpbHLH93*, *PpILR3*, *PpERF74*, *PpCDC5L*, *PpNDUA5*, *PpNAC53*, *PpERF8*), which may jointly regulate coumarin synthesis and accumulation. **Conclusion** This study reveals the spatiotemporal accumulation characteristics of major coumarins in *P. praeruptorum* and elucidates the molecular regulatory network underlying quality formation at the transcriptome level. These findings provide a theoretical basis and key molecular targets for oriented cultivation and quality improvement of *P. praeruptorum.*

Key words: *Peucedanum praeruptorum* Dunn; coumarins; growth stages; tissue specificity; transcriptome; co-expression analysis

前胡为常用化痰止咳平喘中药，临床用于痰热咳喘、胸膈满闷等证候。白花前胡 *Peucedanum praeruptorum* Dunn 是中药前胡的唯一基原，具有明确的道地性与产业基础[3]。随着中药现代化与药材标准化生产推进，阐明前胡药材品质形成规律、提升质量稳定性已成为当前科研与生产实践共同关注的核心问题[3]。前胡以香豆素类物质为主要活性成分，其中角型吡喃香豆素更是其关键药效物质基础。以前胡甲素（praeruptorin A，PA）、前胡乙素（praeruptorin B，PB）和前胡戊素（praeruptorin E，PE）等作为该类复杂香豆素的典型代表，具有抗炎、舒张血管等多方面药理活性，同时 PA、PB 也是药材质量评价与控制的核心指标[4]。然而，在实际生产中，不同产地、生长年限或组织部位的前胡药材，其主要香豆素含量波动明显，严重影响药材质量一致性与临床应用可控性[5]。

中药植物次生代谢物的积累通常具有显著的发育阶段与组织部位特异性，其差异不仅与底物供给、代谢通量分配有关，还受到关键酶基因表达、转录因子调控及环境/激素信号等多层网络共同作用[8]。对于伞形科植物香豆素生物合成而言，苯丙烷途径提供基础前体，随后经历羟化、甲基化及异戊烯基化等修饰过程形成结构多样的复杂香豆素，相关研究已在多种伞形科，香豆素富集植物中报道，包括多个关键酶基因，及其调控因子[10]。但就白花前胡而言，现有研究多集中于药材化学成分鉴定、药理活性与质量评价等方面，关于不同生长期及其不同组织部位香豆素积累差异的系统比较鲜有报道，尤其是与差异积累相对应的关键酶基因及潜在调控因子尚缺乏组学层面的系统筛选与整合分析。

基于此，本研究以白花前胡幼苗期、膨大期和成熟期为时间梯度，结合组织分离（主根韧皮部、髓部、须根、叶片和叶柄）开展主要香豆素（PA、PB、PE）含量测定，并通过转录组测序与差异基因表达分析、功能富集与共表达关系挖掘等，筛选与香豆素差异积累相关的候选关键酶及潜在调控因子基因。研究结果可为白花前胡香豆素品质形成机制阐释及品质定向栽培调控提供分子线索与理论依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

所用试验材料来自贵州省毕节市大方县白花前胡种植基地（采样点：北纬 27°14'40"，东经 105°44'8"），海拔 1 841.7 m。白花前胡于冬季播种，在春末、夏末、秋末进行样品采集，记为幼苗期（T1）、膨大期（T2）和成熟期（T3）。本研究采集的白花前胡样品已由贵州中医药大学中药民族药资源研究院李鹏飞副教授鉴定，经鉴定确认其为伞形科植物白花前胡 *P. praeruptorum* Dunn 的干燥根，样品鉴定合格，符合《中国药典》2025 年版规定。

1.2 仪器与试剂

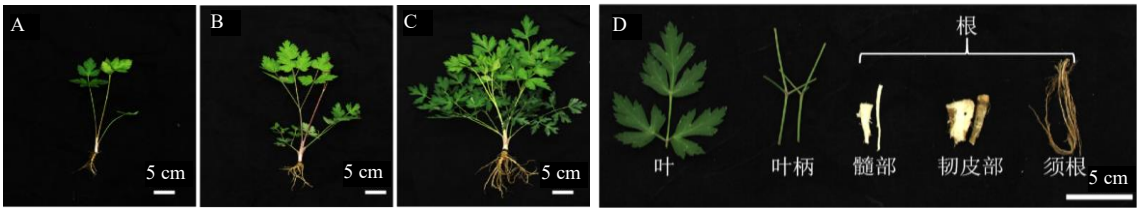
PCR 扩增仪（美国 Bio-Rad 公司）；实时荧光定量分析仪（美国 Bio-Rad 公司）；Waterse2695 高效液相色谱仪（美国 Waters 公司）；5424R 型离心机（德国 Eppendorf 公司）；MS105DM 型十万分之一电子天平（瑞士 Mettler Toledo 公司）。

总 RNA 提取试剂盒（南京诺唯赞生物科技股份有限公司）；RNA 反转录试剂盒（南京诺唯赞生物科技股份有限公司）；对照品 PA（批号 AF8070201）、PB（批号 AF8070202）（成都埃法生物科技有限公司）；PE（批号 P190011S127956）（上海源叶生物科技有限公司），质量分数均大于 98%；乙腈、甲醇（国药集团化学试剂有限公司）；娃哈哈纯净水。

2 方法

2.1 白花前胡样品采集与处理

材料采自贵州省毕节市大方县白花前胡种植基地。分别采集幼苗期、膨大期与成熟期长势一致的植株（图 1-A～C），10 株混合为 1 个生物学重复，每时期设 3 个重复。采挖后迅速洗净，按组织部位[须根（FR）、根韧皮部（PH）、根髓部（PI）、叶柄（PE）和叶片（L）]分离取样（图 1-D），所取样品一半液氮速冻，用于总 RNA 提取；另一半样品放至 55 ℃烘干，用于 PA、PB 和 PE 含量测定。



A-幼苗期；B-膨大期；C-成熟期；D-成熟期植株各组织。
A-seedling stage; B-expansion stage; C-maturity stage; D-tissues of plants at mature stage.

图 1 不同生长时期的白花前胡植株

Fig. 1 Plants of *P. praeruptorum* at different growth stages

2.2 PA、PB 与 PE 的测定

参照《中国药典》2025 年版前胡测定方法[1]。

2.2.1 供试品溶液的制备 精确称量 0.1 g 粉末，精密加入 5 mL 三氯甲烷，250 W、33 kHz 超声处理 10 min，冷却后滤过，滤液蒸发挥干，再甲醇复溶至 5 mL，即得供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密取 PA、PB、PE 对照品适量，精密称定，加甲醇制成质量浓度均为 1.0 mg/mL 的混合溶液，即得混合对照品溶液。

2.2.3 色谱条件 色谱柱 Symmetry® C_{18} 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为甲醇-水（75∶25）；检测波长 321 nm；柱温 30 ℃；体积流量 0.8 mL/min；进样量 10 μL；进样时间 25 min。

2.2.4 线性方程的绘制 精密吸取对照品溶液储备液（PA、PB、PE）各适量，分别用甲醇稀释。制成质量浓度为 50、100、150、200、250、300 μg/mL 的系列混合对照品溶液。按“2.2.3”项色谱条件进样测定。以对照品的质量浓度为横坐标（X）、平均峰面积积分值为纵坐标（Y），进行线性回归方程，PA、PB、PE 在 50～300 μg/mL 内线性关系良好。PA 的回归方程为 Y＝7 196.4 X－84 454，r＝0.999 2；PB 的回归方程为 Y＝8 539.1 X－61 370，r＝0.999 7；PE 的回归方程为 Y＝8 669.9 X－85 158，r＝0.999 4。结果表明，在该浓度范围内，进样量与峰面积响应值呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 取同一供试品溶液，按“2.2.3”项色谱条件连续进样 6 次。测定 PA、PB、PE 的峰面积，计算各成分质量分数的。PA、PB、PE 的 RSD 分别为 1.77%、1.86%、1.63%。

2.2.6 重复性试验 取同一供试品溶液，按“2.2.2”项方法平行制备 6 次，按“2.2.3”项色谱条件进样测定，计算 PA、PB、PE 质量分数的 RSD。结果 PA 为 2.68%，PB 为 2.41 %，PE 为 1.98%。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液，于室温下分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样分析。计算 PA、PB、PE 相对峰面积的 RSD。PA、PB、PE 的 RSD 值分别为 1.35%、1.24%、1.61%。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取已测定含量的同一批供试品粉末 0.05 g，共 6 份，分别精密加入与 PA、PB 与 PE 含量相当的混合对照品溶液适量，按“2.2.2”“2.2.3”项下方法制备供试品溶液并测定。计算各成分的回收率及 RSD 值。结果表明，PA 平均回收率为 98.27%，RSD2.63%；PB 平均回收率 99.15%，RSD 为 2.01%；PE 平均回收率为 97.65%，RSD 为 1.98%。表明该方法准确度良好。

2.3 转录组测序与生物信息学分析

选取幼苗期、成熟期的根韧皮部和叶片，设 3 个生物学重复，共计 12 份样品（T1-PH1/2/3、T1-L1/2/3、T3-PH1/2/3、T3-L1/2/3）用于转录组分析。

2.3.1 RNA 提取、cDNA 文库构建及转录组测序 RNA 提取参照南京诺唯赞总 RNA 提取试剂盒说明书，取 100 mg 冷冻样品，液氮研磨后加裂解液，经涡旋、室温孵育、离心去沉淀，再过柱吸附、洗涤、洗脱获得总 RNA。进一步利用 Nanodrop 2000 对所提 RNA 的浓度和纯度进行检测，琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性，Agilent5300 测定 RQN 值。仅样品 RNA 检测值 A_{260}/A_{280}＝1.8～2.2，A_{260}/A_{230}≥2.0，RQN≥6.5，28S∶18S≥1.0，用于 cDNA 文库构建。

利用带有 Oligo（dT）的磁珠对合格的前胡 mRNA 样品进行纯化，去除 rRNA 和 tRNA，每个样品取 2 μg RNA 用于后续实验。用片段化缓冲液将纯化后的 mRNA 随机断裂成 300 bp 左右的小片段。在逆转录酶的作用下，利用随机引物，以 mRNA 为模板反转录合成 cDNA 第一、二链，经末端修复、加 A 尾、连接头后，筛选 150～250 bp 片段，PCR 扩增获得文库，合格文库经 Illumina NovaSeq X Plus 测序获取 raw reads。

2.3.2 数据组装与质量评估 原始测序数据经 FastQC 软件初步处理，去除测序接头、低质量 reads，并评估数据质量，包括 clean reads 的 Q_{20} 和 Q_{30} 碱基占比、GC 含量等，最终获得高质量 clean reads。以白花前胡参考基因组（登录号 PRJNA910498）为参考序列[16]，利用 HISAT2 软件（https://daehwankimlab.github.io/hisat2/）将 clean reads 比对到参考基因组上，获得基因及转录本在参考基因组上的位置信息。关于样本重复性，对基因表达量（TPM 值）进行主成分分析（principal component analysis，PCA），评估组内样品的聚集程度及组间样品的分离程度。

2.3.3 差异表达基因（differentially expressed genes，DEGs）鉴定与功能注释分析 使用软件 RSEM 分别对基因和转录本的表达水平进行定量分析，通过 DESeq2（v1.36.0）按 $\log_2$FC≥1 且 FDR＜0.05 标准，对 T1-PH *vs* T3-PH、T1-L *vs* T3-L、T1-L *vs* T1-PH、T3-L *vs* T3-PH 4 组样品两两比对，筛选 DEGs 并以火山图可视化。通过 BLAST（v2.12.0，E 值＜1×10^{5}），将 DEGs 与 Nr、Swiss-Prot、GO、KEGG、KOG 数据库比对完成功能注释。采用 ClusterProfiler（v4.4.4）进行 GO 富集分析，分别评估生物过程（biological process，BP）、细胞组分（cellular component，CC）、分子功能（molecular function，MF）三类条目，京都基因与基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）富集定位代谢通路，均以校正 P 值＜0.05 为显著标准，KEGG 富集结果用气泡图可视化。

2.4 基因共表达网络分析

为探究香豆素结构基因与转录因子（TF）之间的关联，采用皮尔逊相关分析，计算转录组数据中各生长时期、组织部位中基因的平均表达量，及各组间差异倍数，使用 DPS 软件（v15.10）计算各基因的对数化差异倍数 lg(TPM＋1)。为可视化结构基因与转录因子之间的关系，选取皮尔逊相关系数 |R|＞0.95 且 P＜0.01 作为筛选阈值，并利用 Cytoscape 软件进行可视化分析。

2.5 数据分析

利用 GraphPad Prism 10 绘制各类图表，标注统计显著性。多因素方差分析（ANOVA）后，采用 Tukey 多重比较检验进行统计比较。转录组 DEGs 筛选、功能注释及富集分析分别通过 DESeq2、BLAST、clusterProfiler 完成，基因共表达网络分析借助 DPS 和 Cytoscape 实现。

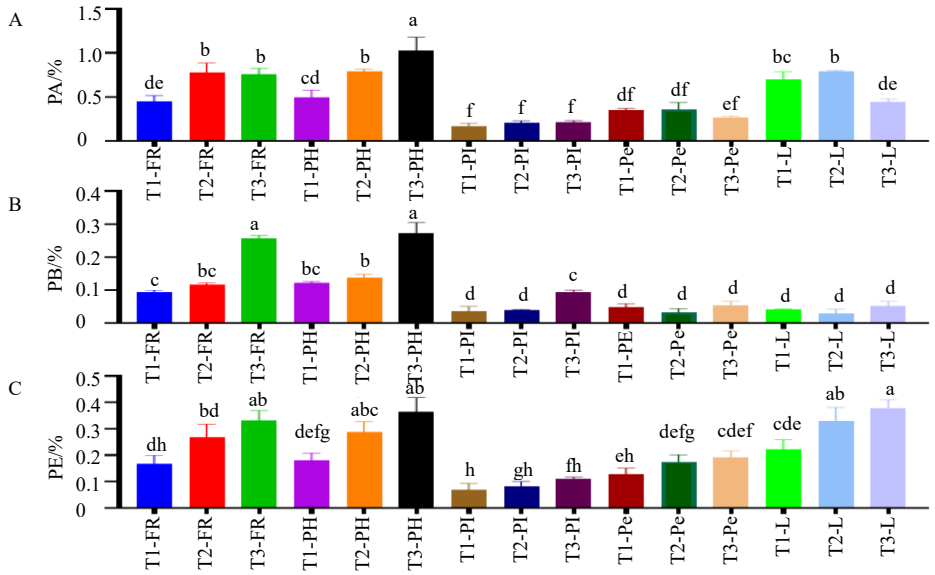
3 结果与分析

3.1 不同生长期与组织部位 PA、PB 和 PE 的含量变化

为明确白花前胡主要香豆素在不同生长期及组织部位中的积累差异，对幼苗期、膨大期和成熟期植株的须根、根韧皮部、根髓部、叶柄和叶片中 PA、PB 和 PE 进行含量测定。结果表明，3 种成分均呈现显著的时空组织特异性，尤其根韧皮部为主要积累部位，且多数成分在成熟期表现出更强的积累优势（图 2）。PA 在根韧皮部中随生长期推进显著升高，成熟期达到最高水平，含量为 1.03%（DW）；须根中膨大期与成熟期也明显高于幼苗期。与地下部持续升高不同，地上部叶片中的 PA 在膨大期较高，而成熟期出现回落（图 2-A）。PB 表现出更为明显的根部偏好性，主要富集于成熟期根韧皮部和须根中，叶柄、叶片及髓部中含量整体处于较低水平，且早期阶段变化不大（图 2-B）。PE 在根韧皮部与叶片中均可检测到较高含量，并随生长期推进总体呈上升趋势；叶柄中亦表现为逐步升高，而髓部始终较低（图 2-C）。

3.2 转录组测序数据质量控制

幼苗期与成熟期材料中香豆素积累差异最显著，为高效筛选关键调控基因，本研究选取白花前胡幼苗期、成熟期的叶片和根韧皮部，共 12 组样品进行转录组分析。测序序列经过滤后共获得 91.31 Gb 数据，平均每组样品产出 7.61 Gb；所有样品的 Q_{30} 碱基百分比均在 94.00%以上，序列 GC 含量为 43.69%～44.83%。将质控后的序列与白花前胡参考基因组进行比对，各组比对率均高于 89.00%，其中唯一序列比对占比均高于 84.32%（表 1）。对测序样品进行 PCA，结果显示组内样品具有相似性，组间样品明显分离，不同组织间差异较大，且不同生长时期的转录组数据也存在显著差异（图 3）。



T1、T2、T3 分别表示幼苗期、膨大期和成熟期；FR-须根；PH-根韧皮部；PI-根髓部；Pe-叶柄；L-叶片。不同字母表示差异显著 $P<0.05$。下图同。

T1, T2, and T3 represent the seedling stage, expansion stage, and mature stage, respectively. FR, fibrous roots; PH, root phloem; PI, root pith; PE, petioles; L, leaves. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$), same as below.

图 2　白花前胡不同生长期及组织部位中 PA (A)、PB (B) 和 PE (C) 的含量

Fig. 2　Contents of PA (A), PB (B) and PE (C) at different growth stages and tissues in *P. praeruptorum*

表 1　转录组测序数据质量控制统计

Table 1　Quality control statistics of transcriptome sequencing data

生长期	组织	测序样品	原始序列	过滤后序列	质控碱基数/Gb	Q_{30}碱基占比/%	GC/%	比对基因组/%	唯一比对/%
幼苗期	叶片	T1-L1	50 735 968	50 240 112	7.49	94.21	44.66	91.61	85.28
		T1-L2	58 719 000	57 987 026	8.68	94.35	44.50	92.10	86.47
		T1-L3	49 807 316	49 276 560	7.34	94.05	44.23	91.23	86.25
	韧皮	T1-P1	49 418 718	49 045 164	7.31	94.19	43.83	89.13	85.31
		T1-P2	48 397 670	47 874 190	7.12	94.01	43.88	89.08	85.06
		T1-P3	49 711 706	49 241 056	7.33	94.22	43.69	89.04	85.04
成熟期	叶片	T3-L1	46 255 934	45 638 044	6.82	94.23	44.75	92.06	86.77
		T3-L2	52 265 028	51 716 788	7.71	94.34	44.62	91.43	86.42
		T3-L3	59 722 288	59 061 338	8.79	94.60	44.83	92.10	86.95
	韧皮	T3-P1	52 617 110	52 171 352	7.76	94.26	43.99	89.00	84.32
		T3-P2	51 694 868	51 221 276	7.61	94.12	44.27	89.34	84.81
		T3-P3	49 790 564	49 391 718	7.34	94.04	44.24	89.45	85.04

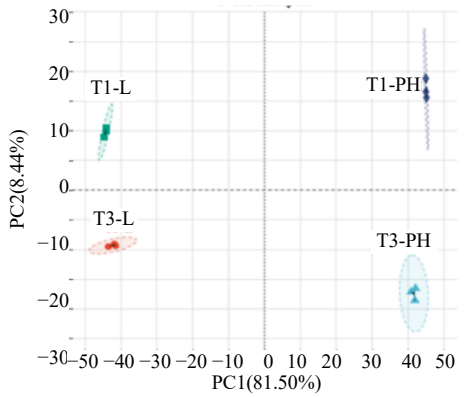


图 3　白花前胡测序样品主成分分析

Fig. 3　Principal component analysis of sequencing samples of *P. praeruptorum*

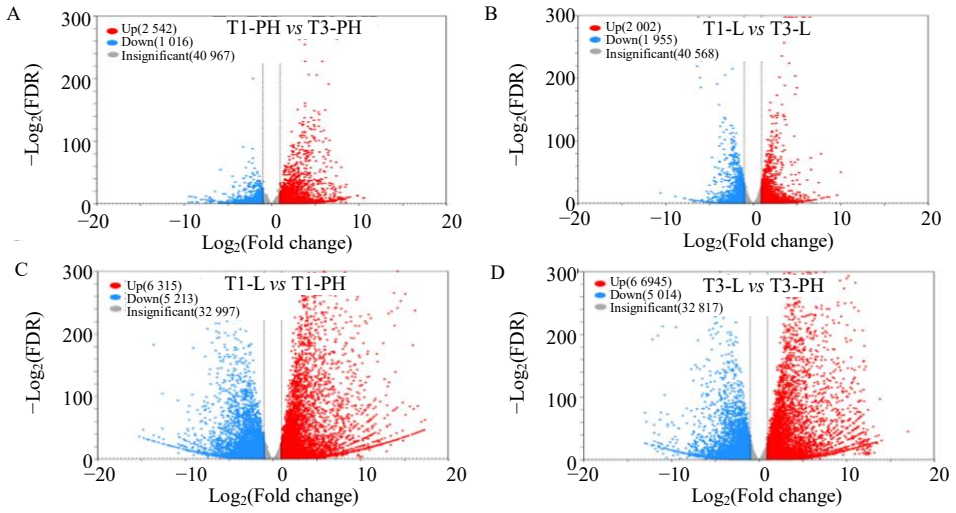
3.3　差异表达基因筛选

幼苗期与成熟期根韧皮部对比共获得 3 558 个 DEGs，其中上调基因 2 542 个、下调基因 1 016 个（图 4-A）；幼苗期与成熟期叶片对比共获得 3 957 个 DEGs，上调 2 002 个、下调 1 955 个（图 4-B）；幼苗期叶片与根韧皮部对比共检测到 11 528 个 DEGs，上调 6 315 个、下调 5 213 个（图 4-C）；成熟期叶片与根韧皮部对比共得到 11 708 个 DEGs，上调 6 694 个、下调 5 014 个（图 4-D）。组织差异导致的 DEGs 数量显著高于同一组织内的生长期差异。

3.4　差异表达基因富集分析

根韧皮部在幼苗期与成熟期之间（T1-PH *vs*

T3-PH）的 DEGs 主要富集于苯丙烷类生物合成、植物激素信号转导、类胡萝卜素生物合成、类黄酮生物合成等通路，其中苯丙烷类生物合成富集程度较高且涉及基因数量较多（图 5-A）。叶片在幼苗期与成熟期之间（T1-L *vs* T3-L）的 DEGs 显著富集于核糖体、植物昼夜节律等基础生命活动相关通路，同时也富集到苯丙烷类生物合成、类胡萝卜素生物合成等次生代谢相关通路（图 5-B）。幼苗期叶片与根韧皮部（T1-L *vs* T1-PH）以及成熟期叶片与根韧皮部（T3-L *vs* T3-PH）的 DEGs 富集通路总体相似，均显著富集于光合作用、光合天线蛋白等与光能捕获和碳同化相关通路，以及苯丙烷类生物合成、萜类骨架生物合成



A-T1-PH *vs* T3-PH；B-T1-L *vs* T3-L；C-T1-L *vs* T1-PH；D-T3-L *vs* T3-PH：红色点表示上调基因，蓝色点表示下调基因，灰色点表示差异不显著基因。差异筛选阈值为$|\log_2FC|\geqslant 1$ 且 FDR＜0.05。

A-T1-PH *vs* T3-PH; B-T1-L *vs* T3-L; C, T1-L *vs* T1-PH; D-T3-L *vs* T3-PH. Red dots represent upregulated genes, blue dots represent downregulated genes, and gray dots represent non-significant genes: thresholds for screening differentially expressed genes were $|\log_2FC| \geqslant 1$ and FDR < 0.05.

图 4　不同生长期及组织部位白花前胡 DEGs 火山图

Fig. 4　Volcano plot of DEGs at different growth stages and tissues in *P. praeruptorum*

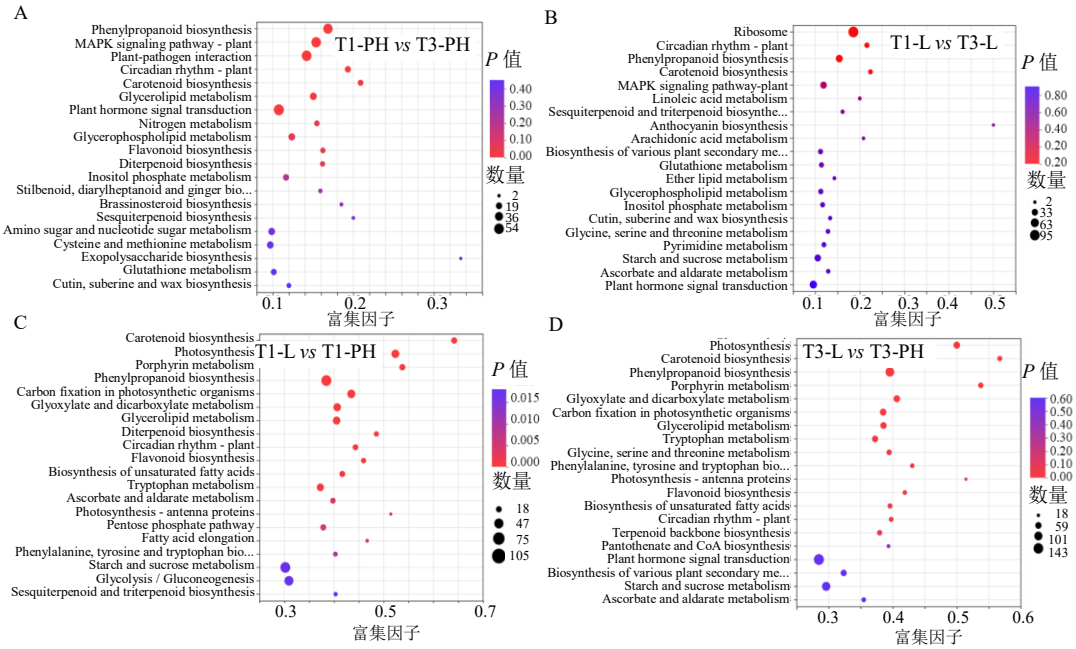


图 5　不同生长期及组织部位 DEGs 的 KEGG 富集通路

Fig. 5　KEGG enrichment analysis of DEGs at different growth stages and tissues

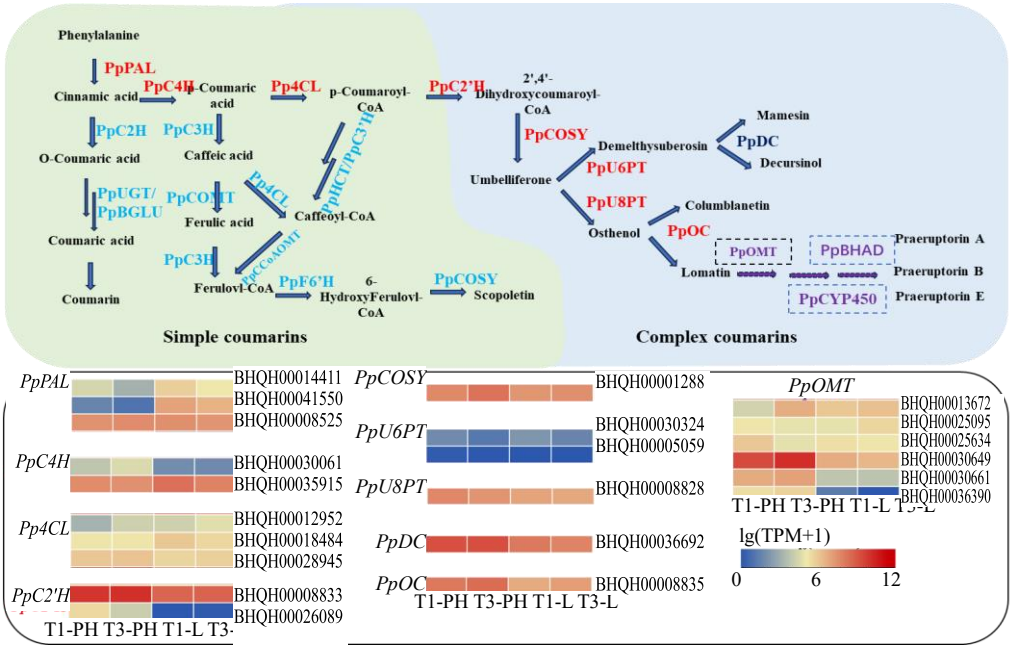
等次生代谢通路（图 5-C～D）。

3.5 香豆素类化合物生物合成途径关键酶基因分析

L-苯丙氨酸解氨酶（phenylalanine ammonia-lyase，PAL）、肉桂酸 4-羟化酶（cinnamate-4-hydroxylase，C4H）和 4-香豆酸 CoA 连接酶（4-coumarate CoA ligase，4CL）编码基因 *PpPAL*、*PpC4H*、*Pp4CL* 在幼苗期与成熟期的根韧皮部、叶片中均具有一定表达，不同家族成员存在表达偏好。香豆酰 CoA2′-羟化酶编码基因 *PpC2′H* 在根韧皮部的表达水平整体高于叶片中的表达，表现出根部偏好性。香豆素合酶编码基因 *PpCOSY* 在 4 组样本中均保持较高表达。伞形酮 8-异戊烯基转移酶编码基因 *PpU8PT* 在根韧皮部与叶片中均维持较高表达，伞形酮 6-异戊烯基转移酶编码基因 *PpU6PT* 整体表达相对偏低。Osthenol 环化酶和 Demelthyisuberosin 环化酶编码基因 *PpOC*、*PpDC* 在各组样本中均呈高表达，且在成熟期根韧皮部中表达量较高。O-甲基转移酶（OMT）家族成员基因表达分化明显，其中 *PpOMT_4*（BHQH00030649）在根韧皮部中表达较高，*PpOMT_2*（BHQH00025095）在叶片或成熟期叶片中表达较高（图 6）。

3.6 转录因子的鉴定及差异表达概况

基于转录组数据，对白花前胡转录因子的组成及表达差异进行鉴定与统计。结果显示，共鉴定到 2 253 个转录因子（TF），隶属于 47 个 TF 家族（图 7-A）。其中 MYB 家族成员数最多（191 个），其次为 ERF（186 个）、B3（181 个）、MYB_related（171 个）、NAC（164 个）和 bHLH（149 个）等；HB-other、bZIP、WRKY 和 GRAS 等家族亦占较大比例。不同组织间（叶片与根韧皮部）的差异表达 TF 数量明显高于同一组织不同时期（幼苗期与成熟期）的差异数量（图 7-B）。根韧皮部从幼苗期到成熟期的比较（T3-PH *vs* T1-PH）以下调 TF 为主，叶片从幼苗期到成熟期的比较（T3-L *vs* T1-L）下调数量多于上调数；根韧皮部与叶片之间的比较（T1-PH *vs* T1-L、T3-PH *vs* T3-L）中，差异表达 TF 数目显著增加，且以上调 TF 占比更高。



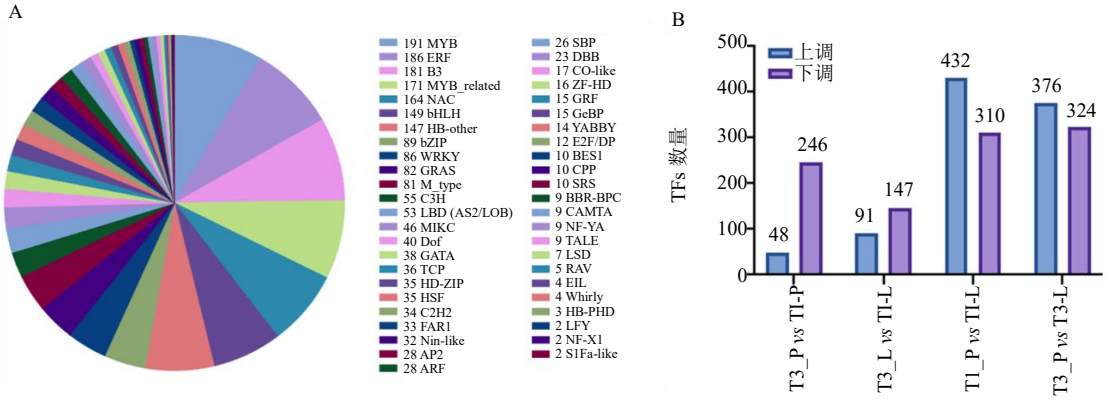
T1-幼苗期；T3-成熟期；PH-根韧皮部；L-叶片；颜色表示归一化表达量的相对高低。

The samples in the heatmap are arranged in the order of T1-PH, T3-PH, T1-L, and T3-L (T1-seedling stage; T-3 mature stage; PH-root phloem; L-leaves). Colors indicate the relative levels of normalized expression.

图 6 白花前胡香豆素生物合成途径示意（A）及关键酶基因表达热图（B）分析

Fig. 6 Schematic diagram of coumarin biosynthetic pathway (A) and heatmap analysis (B) of key enzyme gene expression in *P. praeruptorum*

差异表达 TF 主要集中于 MYB、ERF、MYB_related、NAC、HB-other、bHLH 与 WRKY 等家族，这些家族在多个比较组中均占据较高比例。不同组织间比较（叶片与根韧皮部）中，上述家族的差异表达成员数整体更为丰富，家族构成谱与同一组织不同时期比较具有一定共性，但在 MYB、ERF、NAC、bHLH 与 WRKY 家族的上/下调贡献上存在差异（图 8）。



A-转录因子家族分布饼图，47 个注释的转录因子家族各对应一个扇形区块，区块旁数字代表各家族包含的单基因序列数量。B-差异表达的转录因子数统计。

A-Pie chart of transcription factor family distribution, each of the 47 annotated transcription factor families corresponds to a sector block, and the numbers beside the block represent the number of single-gene sequences contained in each family. B-number of differentially expressed transcription factors.

图 7　白花前胡转录因子家族组成及 DEGs 统计

Fig. 7　Family composition of transcription factors and DEGs statistics of *P. praeruptorum*

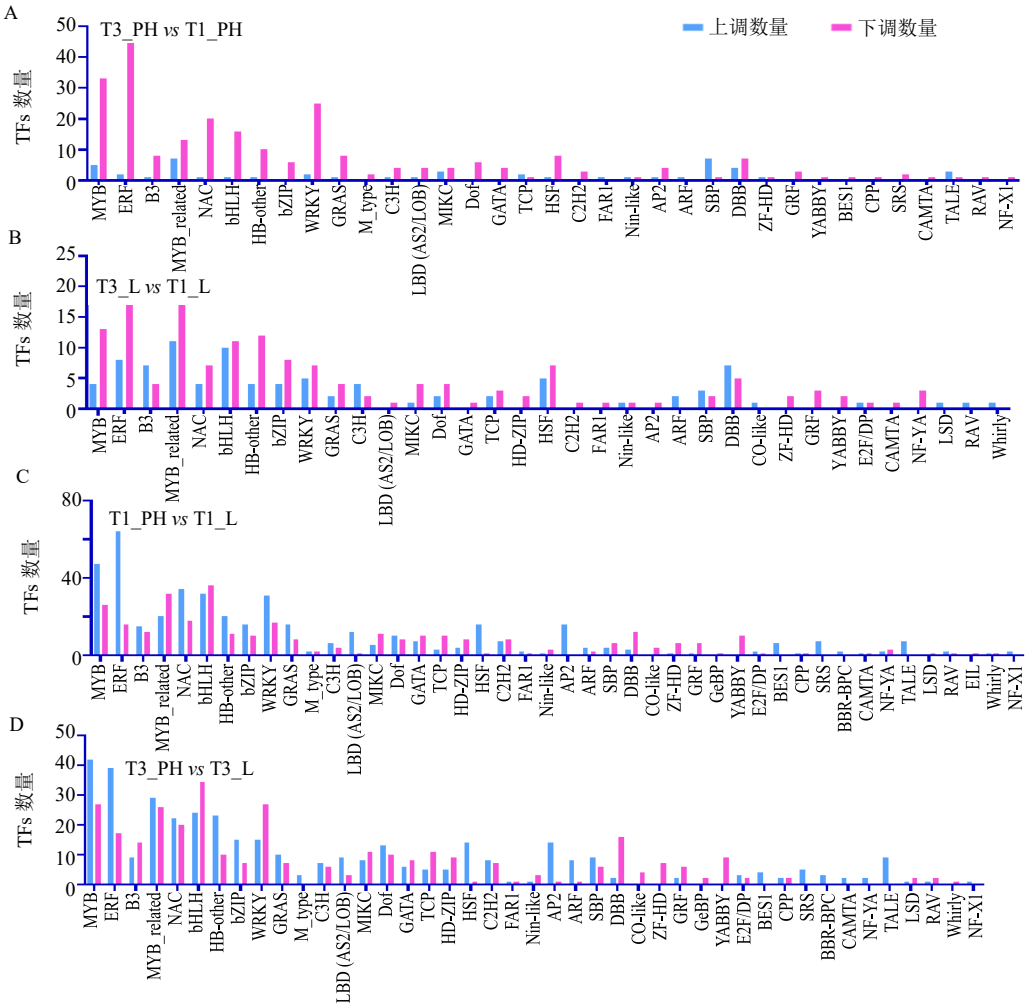


图 8　不同比较组中差异表达转录因子在各家族中的分布情况

Fig. 8　Distribution of differentially expressed transcription factors among different families in different comparison groups

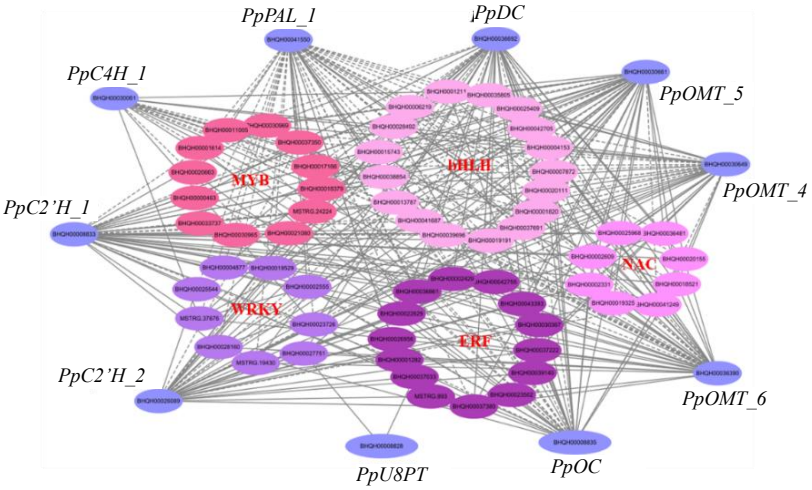
3.7 香豆素合成相关结构基因与转录因子基因共表达网络分析

为挖掘其潜在转录调控因子，本研究选取复杂香豆素合成通路关键酶 PpPAL、PpC4H、Pp4CL、PpC2’H、PpCOSY、PpUGPT、PpU8PT、PpDC、PpOC 及 PpOMT 的编码基因 22 个（表 2），并结合差异表达转录因子中成员较多的 MYB、ERF、NAC、bHLH 和 WRKY 家族，开展共表达网络分析。分析结果显示：筛选到 10 个关键酶基因与 60 个 *TF* 基因存在显著共表达关系（筛选标准：相关系数|*R*|>0.95 且 *P*<0.01），其中 MYB 成员 12 个，ERF 成员 14 个，NAC 成员 8 个，bHLH 成员 17 个，WRKY 成员 9 个（图 9）。

表 2 白花前胡复杂香豆素生物合成途径关键酶基因信息

Table 2 Information of key enzyme genes in biosynthetic pathway of complex coumarins

序号	基因ID	基因名称	关键酶	缩写
1	BHQH00014411	*PpPAL_1*	苯丙氨酸解氨酶	PpPAL
2	BHQH00041550	*PpPAL_2*	苯丙氨酸解氨酶	PpPAL
3	BHQH00008525	*PpPAL_3*	苯丙氨酸解氨酶	PpPAL
4	BHQH00030061	*PpC4H_1*	肉桂酸4-羟化酶	PpC4H
5	BHQH00035915	*PpC4H_2*	肉桂酸4-羟化酶	PpC4H
6	BHQH00012952	*Pp4CL_1*	4-香豆酰辅酶A连接酶	Pp4CL
7	BHQH00018484	*Pp4CL_2*	4-香豆酰辅酶A连接酶	Pp4CL
8	BHQH00028945	*Pp4CL_3*	4-香豆酰辅酶A连接酶	Pp4CL
9	BHQH00008833	*PpC2'H_1*	肉桂酸2′-羟化酶	PpC2’H
10	BHQH00026089	*PpC2'H_2*	肉桂酸2′-羟化酶	PpC2’H
11	BHQH00001288	*PpCOSY*	香豆素合酶	PpCOSY
12	BHQH00008828	*PpU8PT*	异戊烯基转移酶	PpPT
13	BHQH00030324	*PpU6PT_1*	异戊烯基转移酶	PpPT
14	BHQH00005059	*PpU6PT_2*	异戊烯基转移酶	PpPT
15	BHQH00036692	*PpDC*	7-去甲基软木花椒素环化酶	PpDC
16	BHQH00008835	*PpOC*	Ostenol环化酶	PpOC
17	BHQH00013672	*PpOMT_1*	*O*-甲基转移酶	PpOMT
18	BHQH00025095	*PpOMT_2*	*O*-甲基转移酶	PpOMT
19	BHQH00025634	*PpOMT_3*	*O*-甲基转移酶	PpOMT
20	BHQH00030649	*PpOMT_4*	*O*-甲基转移酶	PpOMT
21	BHQH00030661	*PpOMT_5*	*O*-甲基转移酶	PpOMT
22	BHQH00036390	*PpOMT_6*	*O*-甲基转移酶	PpOMT



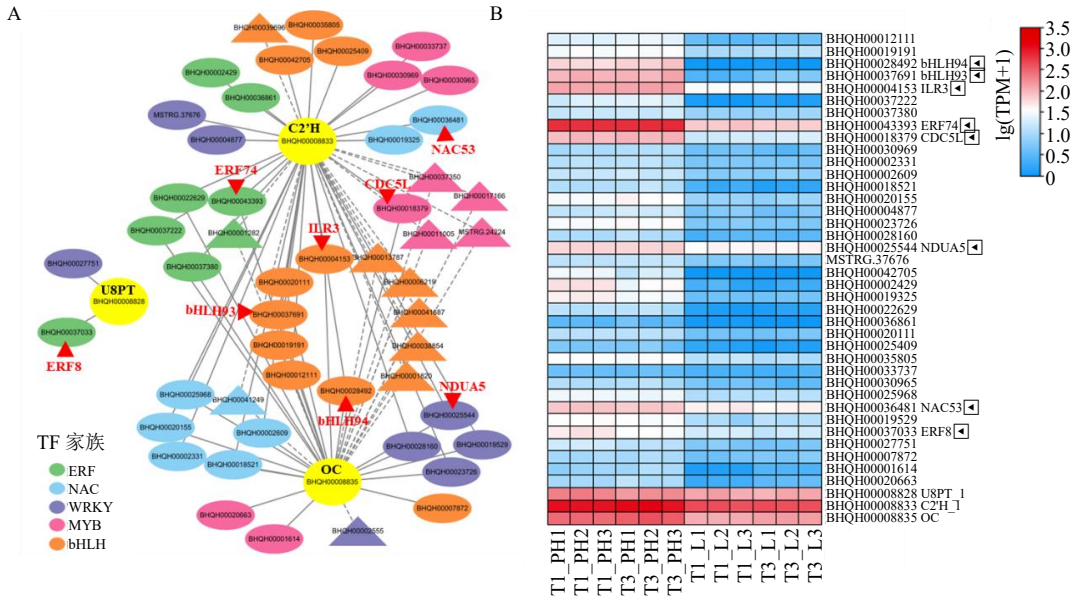
表达量正相关用实线链接（*R*>0.95）；表达量负相关用虚线链接（*R*<−0.95）。

Positive correlations in expression levels are indicated by solid lines (*R* > 0.95), and negative correlations are indicated by dashed lines (*R* < −0.95).

图 9 白花前胡复杂香豆素合成关键酶与转录因子基因共表达网络分析

Fig. 9 Co-expression network analysis of key enzyme and transcription factor genes involved in synthesis of complex coumarins in *P. praeruptorum*

结合关键酶基因表达特征，*PpC2'H_1*（BHQH00008833）、*PpU8PT*（BHQH00008828）与 *PpOC*（BHQH00008835）在检测样本中呈相对较高表达（其基于转录组 lg（TPM＋1）表达分析，相较于其他关键酶基因呈现更高表达水平）（图 6）。进一步以 *PpC2'H_1*、*PpU8PT* 与 *PpOC* 为核心节点进行筛选，共获得与其呈显著正相关的候选转录因子 37 个（图 10-A）。对候选转录因子进行表达量热图比较，*PpbHLH94* 、*PpbHLH93* 、*PpILR3* 、*PpERF74* 、*PpCDC5L*、*PpNDUA5*、*PpNAC53*、*ERF8* 等 8 个转录因子在相关样本中表达水平较高，且与 *PpU8PT*、*PpC2'H* 和 *PpOC* 的编码基因表达趋势一致（图 10-B），提示其可能作为参与上述关键酶基因表达调控的候选因子，为后续功能验证提供了优先筛选对象。



A-关键酶基因与转录因子共表达网络图：圆圈为表达量正相关（R＞0.95），用实线链接；三角形为表达量负相关（R＜−0.95），用虚线链接；B-基因表达量热图。

A-Co-expression network of key enzyme genes and transcription factors. Circles indicate positive correlations in expression (R > 0.95) connected by solid lines; triangles indicate negative correlations (R < −0.95) connected by dashed lines. B-Heatmap of gene expression levels.

图 10　*PpC2'H*、*PpU8PT*、*PpOC* 与转录因子基因共表达网络图及表达量热图

Fig. 10　Co-expression network diagram and heatmap of *PpC2'H*, *PpU8PT*, *PpOC* and transcription factors

4　讨论

本研究基于不同生长期与组织部位的化学成分定量结果，结合转录组差异表达、通路富集与共表达网络分析，系统比较了白花前胡主要香豆素（PA、PB 和 PE）的时空积累规律，并为角型吡喃香豆素合成相关的关键结构基因与候选调控因子挖掘提供了组学线索。

香豆素含量在生长期与组织间呈显著差异，根部，尤其根韧皮部为主要积累部位，成熟期整体表现出更强的积累，这与生产上成熟期采收、以根入药的实践相一致[5]。药用植物次生代谢物普遍具有发育阶段与组织特异性积累特征，其形成往往与碳流分配、代谢通量调控及器官功能分工密切相关[21]。本研究还观察到 PA 与 PE 在叶片中亦可检测到较高水平，但 PA 在成熟期叶片出现回落而根韧皮部持续升高，提示生育后期可能存在地上部与地下部之间的代谢分配调整或产物再分配；相比之下，PB 主要富集于根部且地上部含量较低，反映其合成/积累具有更强的组织特异性调控特征。上述现象从化学成分层面为前胡药材适宜采收期及关键入药部位提供了数据依据。

在分子层面，KEGG 富集分析显示 DEGs 显著涉及苯丙烷类生物合成等通路，提示香豆素差异积累过程与前体供给、下游结构修饰等关键环节密切相关。既往研究指出，香豆素生物合成与苯丙烷代谢紧密相连，上游供给强度、关键分支节点的变化可显著影响下游香豆素衍生物的积累[21]，例如，苯丙烷代谢途径中过度表达基因 F6′H1 和 COSY 可增强木质纤维素生物质的加工[22]；过表达基因 SdC2′H 可提高防风毛状根香豆素含量[23]；CYP450 家族基因 *CYP71AJ49* 过表达可同时调控香豆素次级代谢物的积累[24]。本研究中，关键结构基因表达谱显示，

PpPAL、*PpC4H*、*Pp4CL* 等上游结构基因在叶片与根韧皮部均具有基础表达，为香豆素骨架形成提供前体底物；而在香豆素生物合成途径中涉及羟化、异戊烯基化、环化等关键步骤的结构基因 *PpC2'H*、*PpU8PT* 和 *PpOC* 等[5]，均呈现更明显的组织/时期偏好性，与根韧皮部香豆素高积累现象相呼应。考虑到白花前胡中以角型吡喃香豆素（如 PA、PB）为主要香豆素，上述关键节点酶基因的时空表达偏好，为角型吡喃香豆素特异性高积累提供了合理解释，但其限速作用及因果调控关系仍有待于后续功能验证。

转录因子作为核心调控元件，是植物次生代谢调控网络的重要上游节点[25]。本研究鉴定到的转录因子以 MYB、ERF、bHLH、NAC 和 WRKY 等家族成员最为丰富，且在多个比较组中贡献了大量差异表达转录因子。前人研究表明，苯丙烷次生代谢途及其下游分支常由 MYB、ERF、bHLH 与 WRKY 等家族成员参与调控，且代谢通路的通量提升往往由少数关键调控节点或关键结构基因变化驱动[28]，例如 *MYB63* 可通过作用 *COSY* 和 *F6'H1* 表达来控制香豆素的合成[31]。因此，尽管同一组织不同时期比较中下调转录因子数量多于上调，这并不必然与香豆素积累升高相矛盾，一方面可能存在少数关键正调控因子驱动关键结构基因表达增强；另一方面，下调的转录因子中也可能包含负调控因子，其表达降低可能解除对目标通路的抑制。本研究中，共表达网络分析筛选到与关键结构基因 *PpU8PT*、*PpC2'H* 和 *PpOC* 呈高度正相关的候选转录因子基因，为构建“转录因子-关键酶基因-香豆素积累”的调控框架提供了候选节点，相关调控关系可在后续结合启动子顺式元件预测分析，并通过酵母单杂交和双荧光素酶报告实验等方法加以验证。此外，在后续解析关键基因功能时，还可利用 qRT-PCR、RNA 原位杂交等技术分析各关键基因在不同生长期及组织间的基因表达特征。

综上，本研究通过主要香豆素成分定量与转录组联合分析，明确了白花前胡香豆素的生长期、组织特异性积累规律，并提出了与角型吡喃香豆素形成相关的关键结构基因与候选调控因子基因，为前胡药材品质形成机制解析与品质定向调控提供了依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 285.

[2] 江康丽, 杜伟锋, 应泽茜, 等. 中药前胡产地变迁、炮制沿革及质量控制的研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(9): 5416-5420.

[3] 刘天亮, 江维克, 舒国平, 等. 前胡产地与市场调研及研究热点与趋势可视化分析 [J]. 中草药, 2022, 53(24): 7855-7863.

[4] 王帅, 石燕红, 王瑞, 等. 中药前胡中香豆素类化学成分及其分析方法、药理作用研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2022, 56(9): 89-99.

[5] 葛颖华, 钱敏, 王俊波, 等. 不同种植模式及采收期前胡药材的多指标综合评价 [J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(15): 2633-2640.

[6] Song C, Li X L, Jia B, *et al*. Comparative transcriptomics unveil the crucial genes involved in coumarin biosynthesis in *Peucedanum praeruptorum* Dunn [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 899819.

[7] 杨柳, 康显杰, 杜伟锋, 等. 产地海拔等对前胡中白花前胡甲、乙含量的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(8): 14-18.

[8] Zhao Y, Liu G Z, Yang F, *et al*. Multilayered regulation of secondary metabolism in medicinal plants [J]. *Mol Hortic*, 2023, 3(1): 11.

[9] Fu X Q, Zhang Y J, Yu M Y, *et al*. Specialized structures and developmental mechanisms of secondary metabolite-synthesizing organs and tissues in medicinal plants [J]. *J Integr Plant Biol*, 2026, 68(4): 926-941.

[10] 段珍, 吴凡, 闫启, 等. 植物香豆素生物合成途径及关键酶基因研究进展 [J]. 草业学报, 2022, 31(1): 217-228.

[11] Huang X C, Tang H Y, Wei X F, *et al*. The gradual establishment of complex coumarin biosynthetic pathway in Apiaceae [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 6864.

[12] Yao R L, Zhao Y C, Liu T T, *et al*. Identification and functional characterization of a *p*-coumaroyl CoA 2′-hydroxylase involved in the biosynthesis of coumarin skeleton from *Peucedanum praeruptorum* Dunn [J]. *Plant Mol Biol*, 2017, 95(1): 199-213.

[13] Sui Z W, Luo J, Yao R L, *et al*. Functional characterization and correlation analysis of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) in coumarin biosynthesis from *Peucedanum praeruptorum* Dunn [J]. *Phytochemistry*, 2019, 158: 35-45.

[14] Liu T T, Yao R L, Zhao Y C, *et al*. Cloning, functional characterization and site-directed mutagenesis of 4-coumarate: Coenzyme a ligase (4CL) involved in coumarin biosynthesis in *Peucedanum praeruptorum* Dunn [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 4.

[15] Zhao Y C, He Y D, Han L L, *et al*. Two types of coumarins-specific enzymes complete the last missing steps in pyran-

and furanocoumarins biosynthesis [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(2): 869-880.

[16] Song C, Zhang Y Y, Manzoor M A, *et al*. A chromosome-scale genome of *Peucedanum praeruptorum* provide insights into apioideae evolution and medicinal ingredient biosynthesis [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 255: 128218.

[17] 俞年军, 吴文铃, 刘守金, 等. 前胡根的干物质积累与香豆素类成分含量动态研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(10): 1489-1492.

[18] Wieloch T, Sharkey T D, Werner R A, *et al*. Intramolecular carbon isotope signals reflect metabolite allocation in plants [J]. *J Exp Bot*, 2022, 73(8): 2558-2575.

[19] Wu X Z, Zhu S Q, He L S, *et al*. Phenylalanine ammonia-lyase: A core regulator of plant carbon metabolic flux redistribution-from molecular mechanisms and growth modulation to stress adaptability [J]. *Plants*, 2025, 14(24): 3811.

[20] Carqueijeiro I, Guimarães A L, Bettencourt S, *et al*. Isolation of cells specialized in anticancer alkaloid metabolism by fluorescence-activated cell sorting [J]. *Plant Physiol*, 2016, 171(4): 2371-2378.

[21] Vanholme R, Sundin L, Seetso K C, *et al*. COSY catalyses *trans-cis* isomerization and lactonization in the biosynthesis of coumarins [J]. *Nat Plants*, 2019, 5(10): 1066-1075.

[22] Hoengenaert L, Wouters M, Kim H, *et al*. Overexpression of the scopoletin biosynthetic pathway enhances lignocellulosic biomass processing [J]. *Sci Adv*, 2022, 8(28): eabo5738.

[23] 苏文慧, 齐迎春, 张利超, 等. 过表达 *SdC2'H* 基因对防风毛状根香豆素含量的影响 [J]. 华南农业大学学报, 2025, 46(5): 759-766.

[24] Wang M S, Wang S H, Chu H F, *et al*. Functional genomic investigation of CYP71AJ49 in *Peucedanum praeruptorum* Dunn: *Agrobacterium*-mediated overexpression reveals dual roles in drought adaptation and coumarin biosynthesis [J]. *Front Plant Sci*, 2025, 16: 1707087.

[25] 朱三明, 郑敏敏, 田恬, 等. 植物次生代谢途径与调控研究进展 [J]. 植物生理学报, 2023, 59(12): 2188-2216.

[26] Ma Z M, Hu L J, Zhong Y. Structure, evolution, and roles of MYB transcription factors proteins in secondary metabolite biosynthetic pathways and abiotic stresses responses in plants: A comprehensive review [J]. *Front Plant Sci*, 2025, 16: 1626844.

[27] Liao R R, Yao J Z, Zhang Y Y, *et al*. MYB transcription factors in *Peucedanum praeruptorum* Dunn: The diverse roles of the R2R3-MYB subfamily in mediating coumarin biosynthesis [J]. *BMC Plant Biol*, 2024, 24(1): 1135.

[28] Liu J Y, Osbourn A, Ma P D. MYB transcription factors as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants [J]. *Mol Plant*, 2015, 8(5): 689-708.

[29] Zhao Y, Zhang Y Y, Liu H, *et al*. Functional characterization of a liverworts bHLH transcription factor involved in the regulation of bisbibenzyls and flavonoids biosynthesis [J]. *BMC Plant Biol*, 2019, 19(1): 497.

[30] 张佳琪, 刘晓冉, 陈佳茜, 等. 参与连翘苯丙烷合成途径的 WRKY 转录因子的筛选与鉴定 [J]. 中草药, 2023, 54(18): 6055-6064.

[31] DeLoose M, Cho H, Bouain N, *et al*. PDR9 allelic variation and MYB_63 modulate nutrient-dependent coumarin homeostasis in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2024, 117(6): 1716-1727.

[责任编辑 时圣明]