生物资源　2026,48(5):520～530
Biotic Resources

研究报告

DOI:10.14188/j.ajsh.20260052

三种黄精皂苷积累差异比较及其关键合成基因筛选

刘　蓉[1,2†],程滟淋[1†],陆丕健[1],陕　婧[1],吴　望[1],王晓华[1],吴　瑜[3],代　娅[1,2],曹　俊[1*]

(1. 宜宾学院 农林与食品工程学部,四川 宜宾 644000;
2. 四川省油樟工程技术研究中心,四川 宜宾 644000;
3. 中国科学院成都生物研究所,四川 成都 610042)

摘要: 滇黄精(*Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl)、鸡头黄精(*Polygonatum sibiricum* Red.)与多花黄精(*Polygonatum cyrtonema* Hua)种间及其不同组织部位间皂苷含量差异明显。结合理化检测与代谢组学分析,系统比较了3种黄精皂苷的含量与种类差异,并针对皂苷含量最高的滇黄精进行了不同组织部位的转录组测序分析。通过分析差异表达基因和代谢物,鉴定出调控萜类及皂苷生物合成的关键代谢途径和候选基因,并对关键基因进行了RACE(cDNA末端快速扩增,rapid amplification of cDNA ends)克隆和亚细胞定位分析。结果显示,在3种黄精的主根中,滇黄精的总皂苷含量最高(3 142.8 μg/g);而在须根中,滇黄精的含量最低(1 383.8 μg/g),表明皂苷积累存在显著的种质与组织特异性。代谢组学分析共鉴定出27种萜类与皂苷类化合物,其中甾体皂苷占比最高(44%),滇黄精在皂苷种类与含量上均表现最优。转录组分析表明不同组织部位基因表达具有明显特异性,并筛选出6个表达模式与皂苷积累趋势一致的关键基因,包括*MVD*(甲羟戊酸焦磷酸脱羧酶,mevalonate diphosphate decarboxylase)和*HDR*(1-羟基-2-甲基-2-(E)-丁烯基-4-焦磷酸还原酶,1-hydroxy-2-methyl-2-(E)-buteny-4-pyrophosphate)基因。克隆滇黄精*PkHDR*,发现其cDNA全长为1 386 bp,编码461个氨基酸,翻译产物亚细胞定位于叶绿体区域。3种黄精在根组织的总皂苷含量上存在显著的种间差异,为解析黄精皂苷生物合成机制与相关关键基因功能验证提供重要理论依据。

关键词: 黄精;皂苷;代谢组学分析;转录组学分析;甲羟戊酸焦磷酸脱羧酶;1-羟基-2-甲基-2-(E)-丁烯基-4-焦磷酸还原酶

中图分类号: Q956.8　　文献标志码:A　　文章编号:2096-3491(2026)05-0520-11

Comparison of saponin accumulation differences among three *Polygonatum* species and screening of their key biosynthetic genes

LIU Rong[1,2†], CHENG Yanlin[1†], LU Pijian[1], SHAN Jing[1], WU Wang[1], WANG Xiaohua[1], WU Yu[3], DAI Ya[1,2], CAO Jun[1*]

(1. College of Agriculture, Forestry and Food Engineering, Yibin University, Yibin 644000, Sichuan, China; 2. Sichuan Oil Camphor Engineering Technology Research Center, Yibin 644000, Sichuan, China; 3. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610042, Sichuan, China)

Abstract: There are significant differences in saponin content among different species and tissue parts of *P. kingia-*

收稿日期:2026-08-07　修回日期:2026-10-12　接受日期:2026-10-19
作者简介:刘蓉,女,博士,副教授,研究方向:药用植物学,E-mail:liurong@yibinu.edu.cn;;程滟淋,专业:药用植物学,E-mail:2166352920@qq.com;†为共同第一作者,对本文有相同的贡献
*通信作者:曹俊,男,讲师,研究方向:植物保护研究;E-mail:767496844@qq.com
基金项目:宜宾市科技计划项目(2025MZ001);四川省油樟工程技术研究中心开放基金(21YZY05);2026年四川省大学生创新创业项目(S202610641107);企业委托项目(25HXXNL024)

引用格式:刘蓉,程滟淋,陆丕健,等. 三种黄精皂苷积累差异比较及其关键合成基因筛选[J]. 生物资源, 2026, 48(5): 520-530.
Liu R, Cheng Y L, Lu P J, et al. Comparison of saponin accumulation differences among three *Polygonatum* species and screening of their key biosynthetic genes [J]. Biotic Resources, 2026, 48(5): 520-530.

num Coll. et Hemsl, *P. sibiricum* Red., and *P. cyrtonema* Hua. This study combined physicochemical detection and metabolomic analysis to systematically compare differences in saponin content and composition among the three *Polygonatum* species. Transcriptome sequencing was further performed on different tissue parts of *P. kingianum*, which had the highest saponin content. By analyzing differentially expressed genes and metabolites, key metabolic pathways and candidate genes regulating terpenoid and saponin biosynthesis were identified, and key genes were cloned by RACE (rapid amplification of cDNA ends) and subjected to subcellular localization analysis. The results showed that among the main roots of the three *Polygonatum* species, *P. kingianum* had the highest total saponin content (3 142.8 μg/g), whereas in fibrous roots, *P. kingianum* had the lowest content (1 383.8 μg/g), indicating significant species- and tissue-specific saponin accumulation. Metabolomic analysis identified 27 terpenoid and saponin compounds, among which steroidal saponins accounted for the highest proportion (44%). *P. kingianum* showed the best performance in both saponin variety and content. Transcriptome analysis indicated obvious tissue-specific gene expression and identified six key genes with expression patterns consistent with saponin accumulation trends, including *MVD* (mevalonate diphosphate decarboxylase) and *HDR* (1-hydroxy-2-methyl-2-(E)-butenyl-4-diphosphate reductase) genes. *PkHDR* was cloned from *P. kingianum*, its full-length cDNA was 1 386 bp, encoding 461 amino acids, and its translated product was subcellularly localized to the chloroplast region. In summary, significant interspecific differences in total saponin content are found in root tissues of the three *Polygonatum* species, providing an important theoretical basis for elucidating the saponin biosynthetic mechanism and functional verification of its relative key genes in *Polygonatum*.

Key words: *Polygonatum*; saponins; metabolomic analysis; transcriptomic analysis; mevalonate diphosphate decarboxylase; 1-hydroxy-2-methyl-2-(E)-butenyl-4-diphosphate reductase

0 引 言

黄精为天门冬科黄精属(*Polygonatum*)药食同源植物,其干燥根茎为传统中药材[1]。《中华人民共和国药典》(2020版)收录了滇黄精(*P. kingianum* Coll. et Hemsl)、鸡头黄精(*P. sibiricum* Red.)和多花黄精(*P. cyrtonema* Hua)3种基原植物[1]。黄精富含多糖、皂苷、黄酮、木脂素、生物碱和微量元素等多种活性成分[2]。其中皂苷作为第二大活性成分,含量介于1.82%~6.49%[3],主要分为甾体皂苷和三萜皂苷两大类,具有抗疲劳、抗氧化、降血糖、降血脂及增强免疫力等多种药理活性[4-5]。甾体皂苷多数存在于单子叶植物中,如百合科的知母(*Anemarrhena asphodeloides* Bge)和重楼属(*Paris* spp.)植物[6]。目前,已有研究证实的黄精甾体皂苷类化合物有67种,大都为螺甾烷型和呋喃甾烷型[7]。三萜皂苷则主要分布于双子叶植物中,包括五加科的人参(*Panax ginseng* C. A. Meye)和三七(*P. notoginseng*),豆科的甘草(*Glycyrrhiza uralensis*)和黄芪(*Astragalus* spp.),桔梗科的桔梗(*Platycodon grandiflorus*),远志科的远志(*Polygala tenuifolia*)及伞形科的柴胡(*Bupleurum* spp.)等[8]。上述不同药用植物中的皂苷类成分的药理活性已有广泛研究,如知母皂苷对人肺癌A549细胞的增殖和迁移具有抑制效应[9];重楼皂苷对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、溶血性链球菌(*Streptococcus hemolyticus*)等致病菌具有抑菌活性[10];人参皂苷对慢性应激模型动物的抑郁样行为具有改善效应,亦对去卵巢小鼠的骨质流失具有保护作用[11-12];甘草酸皂苷对乙型肝炎病毒的分泌具有抑制效应[13];柴胡皂苷通过降低下丘脑cAMP分泌和PKA活性发挥解热效应[14]。总体来看,甾体皂苷与三萜皂苷在植物类群分布、化合物类型及生理药理功能上均表现出丰富的多样性。

现阶段对于黄精皂苷生物合成的机制研究相对较少。已有研究初步解析皂苷生物合成的主要途径包括细胞质甲羟戊酸(mevalonate,MVA)和2-C-甲基-*D*-赤藓醇-4-磷酸(2-C-methl-*D*-erythritol-4-phospate,MEP)两条途径,二者均会生成中间产物异戊烯焦磷酸(isopentenylpyrophosphate,IPP)[15]。除此之外,在不同植物中已鉴定出参与这两种生物合成途径的多种关键酶基因,如MEP途径的末端限速酶*HDR*基因(1-羟基-2-甲基-2-(E)-丁烯基-4-焦磷酸还原酶基因,1-hydroxy-2-methyl-2-(E)-buteny-4-pyrophosphate reductase gene)[16];水稻内MEP途径的*DXR*基因(1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸还原异构酶基因,1-deoxy-*D*-xylulose-5-phosphate reductoisomerase gene)[17];青蒿内MEP途径的*MCT*基因(2-C-甲基-*D*-赤藓醇-4-磷酸胞苷转移酶基因,2-C-methyl-*D*-erythritol-4-phosphate cytidylyltransferase gene)[18]等。

本研究旨在系统性阐明滇黄精、鸡头黄精和多

花黄精种间及其不同组织部位间皂苷含量差异的分子机制。基于理化检测和代谢组学技术揭示了皂苷含量及种类在3种黄精中的积累差异。后重点聚焦皂苷含量与种类最丰富的滇黄精,对其不同组织部位进行了转录组测序分析。通过对差异表达基因的分析,筛选并鉴定出调控萜类及皂苷生物合成的关键代谢途径和关键候选基因。本研究为未来深入解析药用植物皂苷积累的遗传调控及关键基因功能验证研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

3年生和5年生滇黄精(PK)、鸡头黄精(PS)和多花黄精(PC)分别采自云南文山(23°18′N,104°12′E)、陕西商洛(33°48′N,109°54′E)和安徽九华山(28°42′N,104°36′E)。选取黄精主根(CK/Rf)、须根(R)、叶(Le)、茎(St)、果皮与种子(Fs)作为试验材料。亚细胞定位实验所用的本氏烟草(*Nicotiana benthamiana*)种子由宜宾学院农林与食品工程学部的刘蓉提供。

1.2 香草醛-高氯酸显色法检测总皂苷含量

用总皂苷含量检测试剂盒(货号:AKOT006M,北京盒子生工科技有限公司)测定黄精总皂苷。步骤如下:(1)待测液的制备:将样本烘干,粉碎,过筛。称取0.05 g,加入1 mL提取液,超声(40 kHz,240 W)提取1 h,8 000×*g* 25 ℃离心10 min,取上清作为待测液;(2)样品的测定:吸取待测液60 μL于10 mL具塞试管中,70 ℃水浴挥干溶剂,加入0.2 mL 5%香草醛-冰醋酸溶液,再加入0.8 mL高氯酸溶液,摇匀,于55 ℃水浴中加热20 min,后立即取出用流水冷却至室温,加入冰醋酸5 mL,摇匀,于589 nm波长处测定吸光度值。以等体积提取液替代样品待测液进行空白管的测定。样品测定管吸光度值记为*A*1,空白管吸光度值记为*A*2,*A*=*A*1—*A*2。(3)以人参皂苷Re为对照品,绘制标准曲线,其回归方程为:$y=2.046\ 6x-0.012$,$R^2=0.996\ 8$,x为对照品浓度,y为吸光度值。

总皂苷含量=$(A+0.012)\div 2.046\ 6\times V_{样}\div(V_{样总}\times W)\times 1\ 000=488.62\times(A+0.001\ 6)\div W$,式中,$W$表示样本干重;$V_{样}$表示测定时吸取的待测液体积;$V_{样总}$表示样品提取液总体积。

1.3 液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)分析皂苷类代谢组学

将三种黄精的主根样品置于冷冻干燥机中进行真空冷冻干燥,使用带有氧化锆珠的混合研磨机将其研磨至粉状。称量100 mg样品粉末,溶解于1.2 mL体积分数为70%的甲醇水溶液中,4 ℃过夜提取,期间每30 min涡旋30 s,共6次。10 000×*g*离心10 min后,经Millipore过滤系统(Millex-LG,德国Merck-Millipore公司)过滤,滤液储存注射瓶中用于LC-MS/MS分析。代谢组检测委托武汉迈维代谢生物科技股份有限公司进行。质谱定性和定量分析参考文献[19]的方法。

1.4 RNA提取和转录组测序分析

样品总RNA提取采用纯RNA分离试剂盒(货号:AKNA001-1,北京盒子生工科技有限公司),使用Agilent 2100生物分析仪评估其完整性并片段化后,构建18个带索引的测序文库,在Illumina HiSeq 2000平台进行双端测序。原始数据经去除低质量读段和包含ploy-N的读段后获得过滤后读段,并基于NR、KOG/eggNOG、Pfam、SwissProt、GO和KEGG数据库进行基因功能注释。使用R的DESeq2包基于负二项分布模型鉴定样本间的差异表达基因(differentially expressed genes,DEGs)。差异显著性阈值设定为:|log2(Fold Change)|≥1(即基因表达倍数变化≥2或≤0.5),且错误发现率(false discovery rate,FDR)<0.05(即校正后的*P*值)。满足上述两个条件的基因被认定为显著差异表达基因,用于后续的京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)代谢通路富集分析。用R语言prcomp函数执行主成分分析(principal component analysis,PCA),分析黄精各样本间基因表达的整体差异,评估组内重复性与组间分离程度。采用R语言kmeans函数对目标基因集开展K-means聚类分析,结合轮廓系数确定最优聚类数目,将基因划分为不同表达模式的亚簇,挖掘不同组织部位特异性表达基因。本实验转录组检测委托武汉迈维代谢生物科技股份有限公司进行。

1.5 黄精皂苷关键合成调控基因的组织表达分析

从滇黄精各组织样品中提取总RNA,使用反转录试剂盒(货号:RR047A,宝日医生物技术(北京)有限公司)合成cDNA。利用primer 5设计引物,引物信息见表1。采用SYBR Green PCR试剂盒(货号:204054,德国Qiagen公司)对筛选到的黄精皂苷关键合成调控基因进行实时荧光定量PCR(real-time quantitative PCR,qPCR)。以微管蛋白基因*TUB*为内参基因,采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算分析各基因表达水平。

表 1 差异表达基因及其检测引物序列

Table 1 Differentially expressed genes and their detection primer sequences

基因名称	基因全称	正向引物(5′～3′)	反向引物(5′～3′)	产物长度/bp
MVD	甲羟戊酸焦磷酸脱羧酶	CCTCGTGGAGAGATGGAACC	TTCATTGTCGGGAGGTGGTG	157
HDR	4-羟基-3-甲基-2-丁烯-1-基二磷酸还原酶	TCGGCCACAAGAAAGAGACC	GACGTTGCCCCATGTGTACT	104
DXR		CCTGATCGGCCAAGAGAGTC	TGTTGCTGAAGAAGGACGCA	170
MCT	2-C-甲基-*D*-赤藓醇-2,4-环二磷酸合成酶	ATGCACAAGGCAGGTTACGA	ATAAGTTGGCCCCTGATGGC	101
IDI	异戊烯基二磷酸Δ-异构酶	GCATCCGCTTTCCTCAATAGC	TTCACTCCTCTCGGACGCAT	182
TUB		CCGTTTCCCTGGTCAACTCAA	CTGGGTCAGCTCAGGAACC	135

1.6 黄精*HDR*基因的RACE扩增

基于1.4节获得的*HDR*基因部分cDNA序列，采用RACE技术获取全长cDNA，实验步骤如下。3′端扩增时，利用mRNA 3′端poly(A)尾，用含锚定序列的寡聚dT引物引导反转录合成包含mRNA 3′端的第一链cDNA，再基于已知序列设计基因特异性反向引物(gene-specific primer 1，GSP1)，与锚定序列引物组成引物对，通过PCR特异性扩增3′端片段；5′端扩增时，先以已知序列设计的基因特异性反转录引物(GSP-RT)引导合成第一链cDNA，再用末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)在该cDNA的5′端添加poly(C)尾，随后用与poly(C)尾互补的单核苷酸寡聚引物和已知序列设计的基因特异性正向引物(GSP2)进行PCR，扩增获得5′端片段；最后对两个RACE产物测序，通过分析其与已知序列的重叠区域拼接得到全长cDNA。通过设计产物可覆盖全长的引物对进行PCR验证并进行测序确认[20]。

1.7 黄精*HDR*产物的亚细胞定位分析

选取饱满烟草种子进行消毒和播种，在22～25 ℃、光照度160 lx、12 h光照/12 h黑暗、相对湿度60%～70%条件下培养1个月，获得适宜侵染的本氏烟草植株；将构建含*PkHDR-GFP*基因的载体质粒电转化农杆菌GV3101，30 ℃培养2 d后，用接种环将农杆菌从含相应抗生素(利福平50 mg/L、庆大霉素50 mg/L、卡那霉素50 mg/L)的YEB固体培养皿上刮下，接于10 mL对应抗性(利福平、庆大霉素、卡那霉素)YEB液体培养基中，170 rpm/min培养1 h，4 000 rpm/min离心4 min，去上清，再用含120 μmol/L乙酰丁香酮的10 mM氯化镁悬浮液重悬菌体，调OD_{600}至0.6左右；注射前将含叶绿体标记基因质粒(Pt-rbcS-mCherry)的农杆菌菌液与含*PkHDR-GFP*基因质粒的农杆菌菌液按体积比1∶1混合。挑选生长状况良好的烟草植株，用去针头的1 mL注射器注射烟草叶片下表皮并标记侵染区域；弱光(100 lx)培养2 d后，取标记区域的农杆菌注射叶片，避开主脉取注射区叶圆片，置于载玻片上，滴加PBS后加盖玻片，轻压展平并吸去多余液体，制成临时装片，激光共聚焦显微镜(型号：C2-ER，日本Nikon公司)下观察并拍照，以空载体[EV(CK)]的农杆菌转化样本作为对照，确定HDR蛋白的亚细胞定位[21]。

1.8 统计学分析

所有实验均进行3次独立重复，结果以均值±标准差表示。使用SPSS 26.0软件进行统计学分析。多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)，事后多重比较采用Tukey's *HSD*检验。两组间比较采用独立样本*t*检验。$^*P<0.05$，$^{**}P<0.01$表示差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 三种黄精根茎中总皂苷含量的比较

本实验检测了3种黄精主根和须根中的总皂苷含量，并进行了比较。结果表明，在主根中，滇黄精总皂苷含量(3 142.8 μg/g)显著高于多花黄精(2 996.2 μg/g)和鸡头黄精(2 712.8 μg/g)($P<0.05$)，鸡头黄精主根中总皂苷含量为最低，见图1(a)。在须根中，滇黄精总皂苷含量最低(1 383.8 μg/g)，显著低于多花黄精(2 693.3 μg/g)和鸡头黄精(2 742.1 μg/g)($P<0.01$)，见图1(b)。由此可见，不同种质黄精中的总皂苷含量差异显著，且主根和须根中含量也存在显著差异。

2.2 三种黄精中皂苷类化合物积累模式的比较

在滇黄精、鸡头黄精和多花黄精中共分离鉴定到萜类和皂苷类化合物27种。结果显示，占比最高的为甾体皂苷类(44%)，其次为三萜皂苷(26%)和

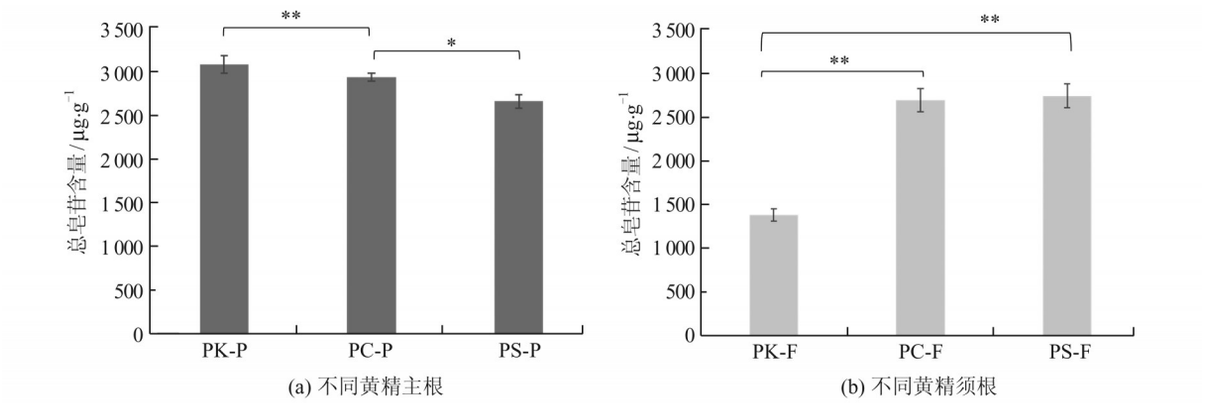


图1 3种黄精主根与须根中总皂苷含量的比较

Figure 1 Comparison of total saponin contents in main roots and fibrous roots of three *Polygonatum* species

三萜类化合物(22%),二萜类化合物和倍半萜占比较少,分别为4%。进一步对这几大类化合物的各自数量和相对含量进行了分析,黄精中的甾体皂苷数量显著多于三萜类皂苷,与鸡头黄精和多花黄精相比,绝大部分化合物在滇黄精中含量更高,包括滇黄精皂苷、纤细薯蓣皂苷等甾体皂苷和延龄草苷、人参皂苷、三七皂苷等三萜皂苷,见图2。

2.3 主成分分析与差异表达基因分析

由于滇黄精萜类与皂苷类化合物种类和含量均最高,故本研究以其不同组织部位为材料进行了转录组测序分析。首先,对测序结果依据滇黄精不同组织部位(CK为3年生主根、Rf为5年生主根、R为5年生须根、St为茎秆、Le为叶片、Fs为果皮与种子)进行了主成分分析。结果显示,在第一主成分(PC1)上,3年生滇黄精主根基因表达模式与5年生滇黄精各不同部位明显不同,见图3(a);结果表明,黄精年份对于其基因表达模式有显著影响,这可能也是造成药效成分积累差异的主要原因。在第二主成分(PC2)上,Le和St与其他部位显著分离。不管在第一主成分和第二主成分上,Rf、R和Fs几个组织部位均相互靠近,说明这几个部位的基因表达模式相似。

进一步对差异表达基因进行K-means分析,结果显示,共得到两类基因表达模式,见图3(b)。与PCA分析结果相一致,亚分类1和亚分类2内基因在FS、R和Rf中的表达模式均相似,而在Le和St中表达模式差异明显。

2.4 萜类、皂苷类合成相关代谢途径分析

通过对差异表达基因进行KEGG富集后,筛选到了参与调节萜类与皂苷类物质合成的主要代谢途

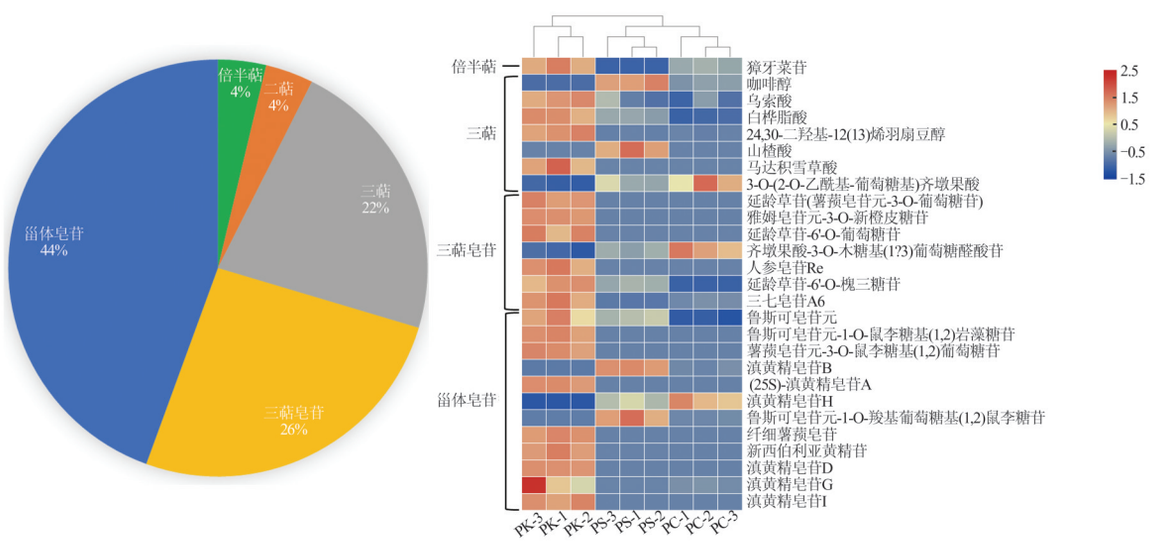
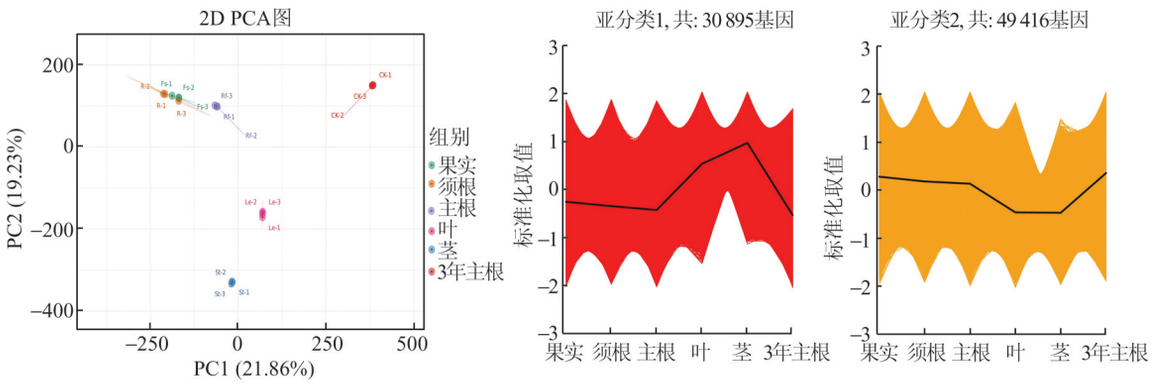


图2 3种黄精中萜类及甾体皂苷类化合物的分类、占比与相对含量分析

Figure 2 Classification, proportion, and relative content analysis of terpenoids and steroidal saponins in three *Polygonatum* species



(a)主成分分析图　　(b) 差异表达基因的K-means分析图

图3　滇黄精不同组织部位转录组测序结果的主成分分析与差异表达基因的K-means分析

Figure 3　Principal component analysis of transcriptome sequencing results and K-means analysis of differentially expressed genes in different tissue parts of *Polygonatum kingianum*

径(图4)。萜类与皂苷类化合物(甾体皂苷和三萜皂苷)的生物合成可从甲羟戊酸途径(MVA)的乙酰辅酶A和脱氧木酮糖-4-磷酸途径(MEP)的丙酮酸与甘油醛-3-磷酸开始。甲羟戊酸焦磷酸脱羧酶(mevalonate diphosphate decarboxylase, MVD)和HDR分别为MVA和MEP途径中的最后一个关键限速酶,分别催化甲羟戊酸-5-焦磷酸、羟甲基丁烯基-4-磷酸转化为异戊烯焦磷酸和二甲基烯丙基焦磷酸,这2类化合物可作为上游前体物质流向后续萜类与皂苷类化合物的合成途径[22-24]。根据表达水平,本实验筛选出了如*PkMVD*、*PkHDR*等调控萜类、皂苷类化合物合成代谢的关键基因。其中,qPCR结果显示(图5),*PkMVD*基因在须根(R)中的表达量约为茎(St)的3.2倍($P<0.01$),与转录组结果一致。而*PkHDR*基因在果皮与种子(Fs)中相对表达量最高,在须根(R)中表达量最低。*PkHDR*在Fs中的表达量约为主根(Rf)的5.8倍($P<0.01$),在叶片(Le)中的表达量也显著高于主根。表明*PkHDR*基因的表达具有极强的组织特异性,其高表达并不局限于皂苷积累最高的根部组织。。

2.5　关键调控基因的表达量及其与皂苷物质积累的相关性分析

为进一步验证筛选到的关键调控基因,从转录组数据中筛选了6个差异表达基因,并在5年生滇黄精的5个组织部位(Rf、R、Le、St、Fs)进行了qPCR检测,其结果如图5所示。其中,*PkMVD*与*MCT*(2-C-甲基-*D*-赤藓醇-4-磷酸胱氨酰转移酶,2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate cysteinyltransferase)较于其他基因在黄精各部位中均有一定的表达量,其可能与黄精生长发育过程中必需的皂苷类化合物合成调控有关。在黄精皂苷类化合物最多的主根组织中,异戊烯基焦磷酸异构酶(isopentenyl diphosphate isomerase, IDI)基因表达量最高,1-脱氧-*D*-木酮糖-5-磷酸还原异构酶(1-deoxy-*D*-xylulose-5-phosphatereductoisomerase, DXR)基因在滇黄精茎秆中(St)表达量最高。为深入挖掘调控黄精特异性萜类/皂苷类化合物积累的关键基因,本研究将滇黄精6个组织部位中鉴定到的27种萜类/皂苷类化合物含量与转录组中所有差异表达基因的FPKM(Fragments Per Kilobase of transcript per Million mapped reads)值进行了皮尔逊(Pearson)相关性网络分析,见图5和图6(a)。以相关系数$r>0.85$且$P<0.01$为标准,共筛选出191个表达模式与特定皂苷含量呈显著正相关的基因。其中,与纤细薯蓣皂苷(gracillin)含量呈显著正相关的基因不仅包含本研究已克隆的*PkHDR*及*PkMVD*(r值介于0.75～0.82),还涵盖多个未注释的糖基转移酶(*UGTs*)和细胞色素P450(*CYP450*)家族成员。这些基因在根茎(Rf、R)中高表达,且表达趋势与特定甾体皂苷的积累模式高度吻合,推测它们可能参与了黄精皂苷骨架后修饰(如糖基化、羟基化)过程。

2.6　*HDR*基因克隆及其产物亚细胞定位分析

根据转录组测序组装的序列对滇黄精*PkHDR*基因进行了RACE扩增,结果表明,cDNA全长1 386 bp,共编码461个氨基酸,见图6(b)。实验构建了PkHDR-GFP融合表达载体,利用GFP绿色荧光标记PkHDR蛋白,以携带mCherry红色荧光的叶绿体Marker Pt-rbcS-mCherry作为叶绿体参照。激光共聚焦显微镜观察结果显示:阴性对照组空载体EV的GFP绿色荧光弥散分布于整个细胞;实验组PkHDR-GFP的绿色荧光信号能够与叶绿体Marker的mCherry红色荧光信号高度重合,在Merge叠加

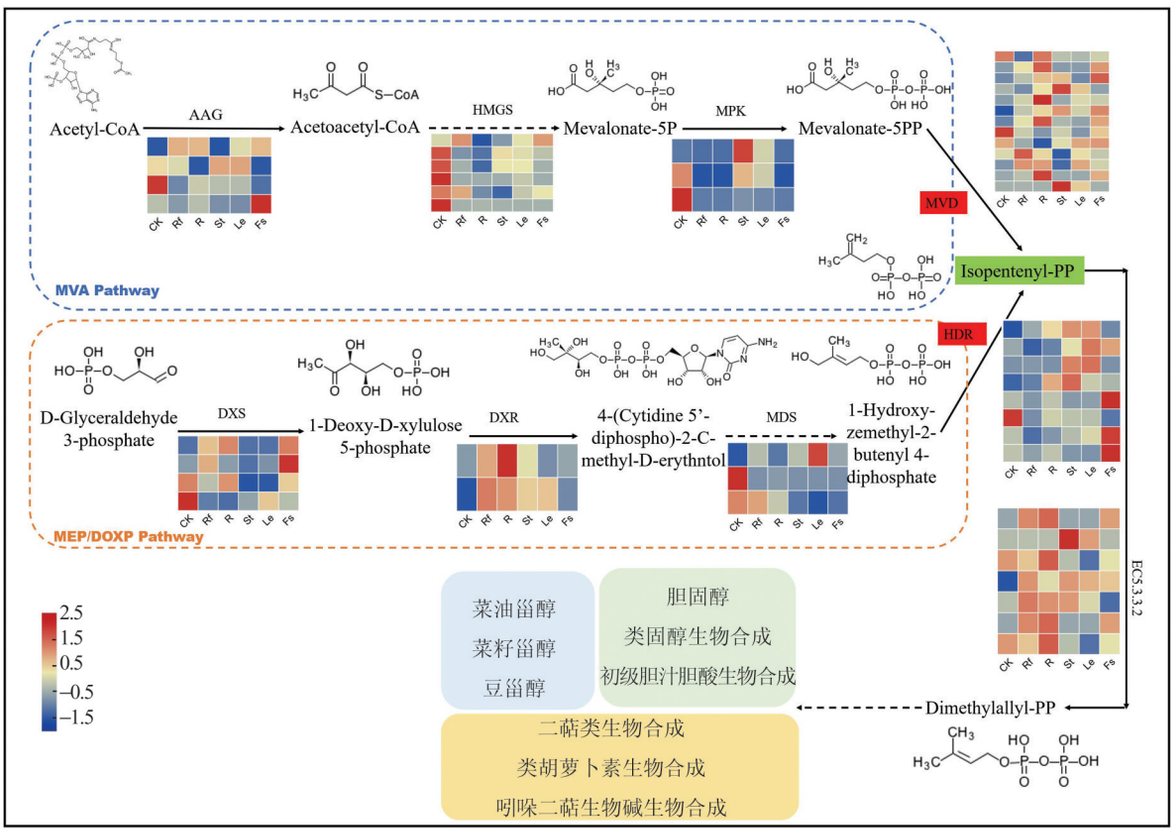


图 4　萜类、皂苷类化合物合成途径及滇黄精不同组织部位相关代谢酶基因的表达热图

Figure 4　Biosynthetic pathways of terpenoids and saponins and heat map of the expression of related metabolic enzyme genes in different tissue parts of *Polygonatum kingianum*

CK，3年生主根；Rf，5年生主根；R，须根；St，茎秆；Le，叶片；Fs，果实

CK, 3-year-old main root; Rf, 5-year-old main root; R, fibrous root; St, stem; Le, leaf; Fs, fruit

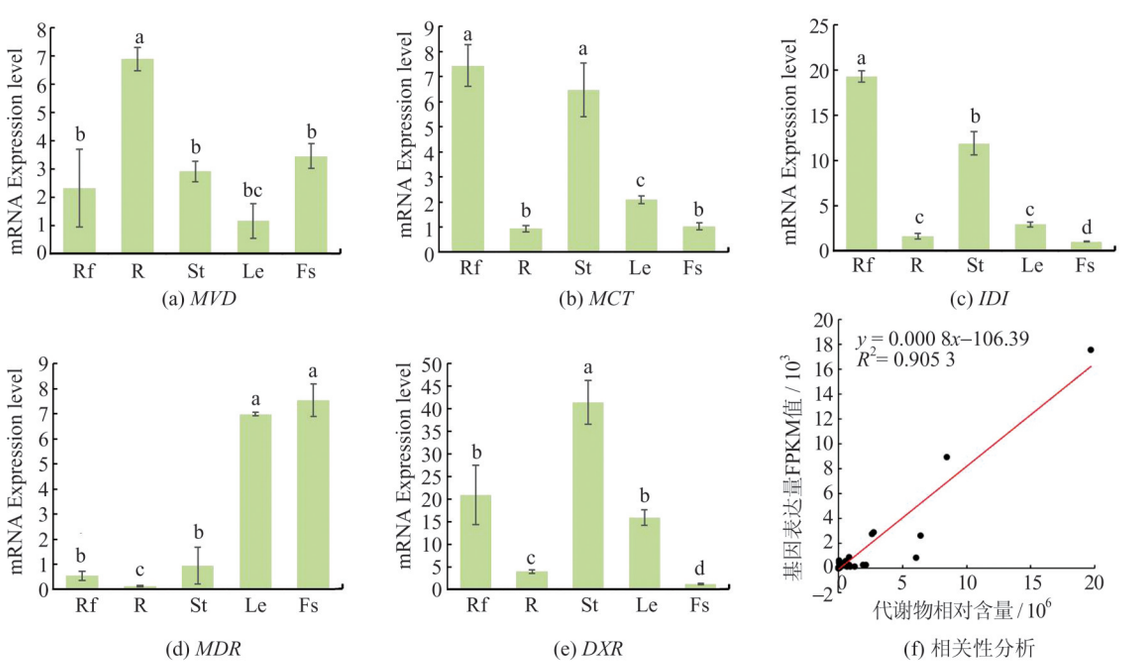
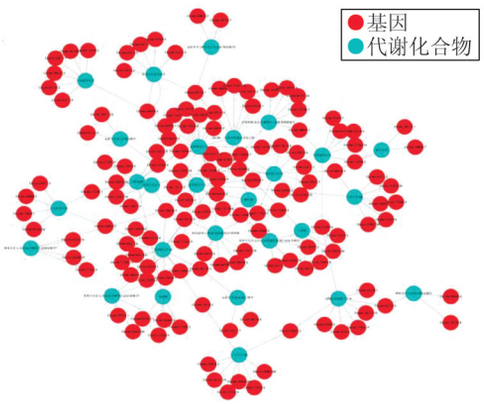


图 5　差异表达基因在滇黄精各部位中的相对表达量及代谢物含量与基因表达量相关性分析

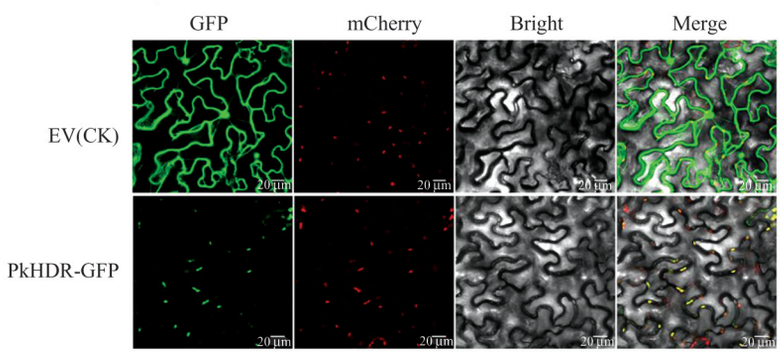
Figure 5　Relative expression levels of differentially expressed genes in different tissues of *Polygonatum kingianum* and correlation analysis between metabolite content and gene expression levels



(a) 相关性网络图

```
1     MAIQL GRFSN FLFPS CQFRS RSAAK
26    PSFSF RCSAA GGGET TGEAA AALDS
51    EFDKK AFRHN LARSD NYNRK GFGHK
76    KETME LMNLE YTSDV IKTLR DNGNE
101   YTWGN VTVKL AEAYG FCWGV ERAVQ
126   IAYEA RKQFP EERIW ITNEI IHNPT
151   VNKRL EEMEV QNIPI EDGQK QFDVV
176   DEGDV VVLPA FGAAV DEMFT LSQKK
201   VQIVD TTCPW VSKVW NTVEK HKKGD
226   YTSII HGKYA HEETI ATASF AAKYI
251   IVKNI TEAMY VCDYI LGGKL DVSSS
276   TKEEF LEKFK FAVSP GFDPD TDLIK
301   VGIAN QTTML KDETE EIGKL VEKTM
326   MRKYG IENIN EHFVS FNTIC DATQE
351   RQDAM YKLVE EKIDL ILVVG GWNSS
376   NTSHL QEIAE LRGIP SYWVD SDKRI
401   GPGNR ISYKL LHGEL VEKEN WLPSG
426   PATIG ITSGA STPDK VVELV LSKVF
451   DIKRE ESMQL A
```

(b) 滇黄精HDR氨基酸序列



(c) 亚细胞定位分析结果

图6　滇黄精代谢物相对含量与基因表达量FPKM值的相关性网络分析、HDR氨基酸序列及亚细胞定位

Figure 6　Correlation network analysis between the relative content of metabolites and the FPKM value of gene expression levels (red dots represent genes and blue dots represent metabolic compounds), amino acid sequences and subcellular localization of HDR in *Polygonatum kingianum*

视野中出现共定位黄色信号。结果证实PkHDR蛋白定位于叶绿体区域，见图6(c)。

3　讨　论

黄精作为中国重要的药食同源中药材，其活性成分(如黄精多糖、薯蓣皂苷元、总酚与总黄酮)的积累易受种质、气候、纬度、光照及水肥管理等多种因素影响，导致不同产地、不同种质间存在显著差异[25-27]。药食同源已成为现代养生领域的特色，未来研究将聚焦于深入挖掘传统资源、阐明作用机制、创新食品加工工艺、并推动中医药与大健康产业的融合发展[25-26]。因此，系统解析不同黄精种质间皂苷含量差异的遗传基础，对于黄精药材的品质评价与优良品种选育具有重要意义。

本研究发现三种黄精在主根与须根中的总皂苷含量均存在显著种间差异，且滇黄精在总含量与种类丰富度上均表现最优。该发现与LC-MS/MS代谢组学结果高度一致，进一步证实了皂苷类化合物在三种黄精中的组成多样性。其中，甾体皂苷类在检测到的皂苷中占比最高(44%)，这与单春苗等[28]的报道相符。值得注意的是，在本研究中，滇黄精在皂苷积累方面呈现出显著优势，提示其可作为研究黄精皂苷生物合成与调控机制的理想材料。然而，部分文献报道表明多花黄精的总皂苷含量相对较高[29-30]，这种差异可能与种质资源、生长环境、取样部位/时期及检测方法等因素有关。

为深入解析上述存在于种间及组织间皂苷积累差异的分子机制，本研究对皂苷积累优势种质滇黄精的不同组织进行了转录组测序分析。结果表明，滇黄精不同组织部位间的转录组基因表达水平存在显著差异，基因表达模式具有高度的组织特异性。通过K-means聚类分析与KEGG富集分析，差异表达基因显著富集到萜类骨架生物合成、倍半萜和三萜生物合成等与皂苷前体合成密切相关的代谢途径中。从关键通路中筛选出6个表达模式与皂苷积累趋势一致的关键基因，包括编码甲羟戊酸焦磷酸脱羧酶的*PkMVD*基因和编码4-羟基-2-甲基-2-E-丁烯基-4-焦磷酸还原酶的*PkHDR*基因(分别为MVA和MEP途径的末端限速酶)。这两个基因表达水平直接影响萜类前体IPP/二甲基烯丙基焦磷酸(dimethylallyl pyrophosphate，DMAPP)的供应，进而调控下游皂苷的合成通量[31-33]。

组织表达特异性分析显示,滇黄精*PkHDR*在果皮与种子中表达量最高,在主根中最低,这与北苍术*HDR*在根中低表达的模式一致,且*HDR*的表达调控还具有物种特异性。例如,马尾松[34]的老叶中*HDR*表达量明显高于其他部位,其次是幼叶、幼茎和老茎,在根中表达量最低。*HDR*基因在秦艽花中的表达水平最高,显著高于在根、茎、叶中的表达量[35]。研究还发现在橡胶树[36]的*HDR*基因在根中表达量显著高于茎和叶。表达量不同之处可能是由于*HDR*基因在不同物种中具有组织特异性,从而发挥不同功能。

研究表明,HDR是MEP途径中萜类前体合成的末端限速酶,该蛋白的亚细胞定位直接决定IPP/DMAPP前体物质的生成场所,进而影响萜类、皂苷类代谢物的合成通量与组织供给。芍药[37]*PlHDR*基因cDNA全长1 559 bp,共编码462个氨基酸,是定位于叶绿体内的亲水性蛋白。马尾松[34]*PmHDR*基因编码区长度为1 458 bp,编码485个氨基酸,定位于叶绿体的亲水性蛋白。"鄞红"葡萄[16]*HDR*基因cDNA全长为1 143 bp,编码380个氨基酸,被证实定位于叶绿体且*HDR*蛋白与MEP途径上游关键酶关系紧密。本实验结果表明,滇黄精*PkHDR*基因cDNA全长1 386 bp,共编码461个氨基酸,亚细胞定位于叶绿体区域,这与前人报道的结果相一致。该定位结果提示,滇黄精PkHDR可能主要在叶绿体内行使MEP途径催化功能,为叶绿体来源的萜类物质提供IPP/DMAPP前体。结合本研究qPCR结果,*PkHDR*在皂苷大量积累的主根中表达量较低,说明黄精根部皂苷的大量积累可能并不主要依赖叶绿体MEP途径内PkHDR催化供给的前体,细胞质MVA途径很可能在根茎皂苷合成中发挥主导的作用,两种途径可能存在组织间的功能分工。已有部分研究报道了*HDR*与*MVD*普遍存在的紧密互作关系(如在芍药和葡萄内)[16,37],以及二者在MEP途径中的协同作用。本研究后续将同步解析黄精中MEP途径核心基因的表达模式,重点考察其在不同物种、组织及发育时期的表达动态与皂苷积累的关联。

MVD与HDR作为MVA和MEP途径的末端关键酶,在植物萜类骨架合成中功能相对保守,属于维持基础通量的重要代谢节点[4,7,9,14]。本研究在代谢组与转录组关联分析的基础上,分析了化合物含量与基因表达的相关性。结果表明,除已知的保守基因外,一些在滇黄精根茎中特异性高表达且与特定甾体皂苷含量呈显著正相关的CYP450和UGT家族候选基因也被筛选到。这些基因可能参与了黄精皂苷特有的侧链修饰过程(如羟基化、糖基化等),可作为后续深入解析黄精属药效成分多样性形成机制的重要分子突破口。本实验结果弥补了前人研究仅关注单一保守基因在解释种质特异性差异方面的不足,为后续深入开展黄精品质改良与合成生物学研究提供了具有针对性的分子靶标。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:319-320.
National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Part I [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 319-320.

[2] 宋添力,张钰,肖强,等. 黄精化学成分以及药用价值的研究进展[J]. 中华中医药学刊,2024,42(11):119-126.
Song T L, Zhang Y, Xiao Q, et al. Research progress on chemical composition and medicinal value of Huangjing (*Polygonatum sibiricum*) [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2024, 42(11): 119-126.

[3] 陈婷,黄斌,杨超,等. 黄精炮制前后化学成分变化研究[J]. 山东化工,2021,50(1):103-104.
Chen T, Huang B, Yang C, et al. Study on chemical composition changes of *Polygonatum sibiricum* before and after processing[J]. Shandong Chemical Industry, 2021, 50(1): 103-104.

[4] 翟玉凤,丁兰,余叶敏,等. 黄精皂苷的化学成分、生物合成及药理作用研究进展[J]. 中国农学通报,2024,40(29):21-30.
Zhai Y F, Ding L, Yu Y M, et al. The chemical constituents, biological synthesis and pharmacological effects of the genus *Polygonatum* saponins: a review[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2024, 40(29): 21-30.

[5] Rai S, Acharya E, Kafle A, et al. Plant-derived saponins: a review of their surfactant properties and applications[J]. Preprints 2021, 2021080152.

[6] 王迪,姜艳艳,石任兵. 中药知母质量控制方法研究[J]. 北京中医药大学学报,2011,34(04):263-265.
Wang D, Jiang Y Y, Shi R B. Study on quality control methods of *Anemarrhena asphodeloides* [J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2011, 34(04): 263-265.

[7] 许方舟,张士凯,马航宇,等. 黄精皂苷的研究进展[J]. 饮料工业,2022,25(2):71-80.
Xu F Z, Zhang S K, Ma H Y, et al. The research prog-

ress on saponins of Rhizoma Polygonati[J]. Beverage Industry, 2022, 25(2): 71-80.

[8] Chen Y, Yao F K, Ming K, et al. Polysaccharides from traditional Chinese medicines: extraction, purification, modification, and biological activity[J]. Molecules, 2016, 21(12): 1705.

[9] 刘艳平. 知母皂苷成分的药理活性及作用机制研究进展[J]. 药学实践杂志, 2018, 36(1): 24-29.
Liu Y P. Progress on pharmacological activities and mechanism of *Anemarrhena* saponin[J]. Journal of Pharmaceutical Practice, 2018, 36(1): 24-29.

[10] 朱燕, 谢丽, 杨觅, 等. 重楼抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. 癌症进展, 2015, 13(2): 164-166.
Zhu Y, Xie L, Yang M, et al. Research progress on anti-tumor mechanism of *Paris polyphylla*[J]. Oncology Progress, 2015, 13(2): 164-166.

[11] 苗常鑫, 冷锦红. 薯蓣皂苷的药理作用及机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(11): 113-118.
Miao C X, Leng J H. Research progress on pharmacological effects and mechanism of dioscin[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2024, 42(11): 113-118.

[12] 曹静怡, 曹园, 张佳汝, 等. 人参皂苷CK的规模化制备及生物活性研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(5): 371-379.
Cao J Y, Cao Y, Zhang J R, et al. Research progress on large-scale preparation and biological activity of ginsenoside CK[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(5): 371-379.

[13] 郑海新, 李婷, 殷宏艳, 等. 甘草酸药理作用及其作为药物载体的应用研究进展[J]. 神经药理学报, 2025, 15(1): 43-48.
Zheng H X, Li T, Yin H Y, et al. Progress in pharmacological effects of glycyrrhizic acid and its application as drug carrier[J]. Journal of Hebei North University (Medical Edition), 2025, 15(1): 43-48.

[14] 袁林, 李万利, 靳玮, 等. 柴胡皂苷的生物学功能研究进展[J]. 中国兽医学报, 2024, 44(6): 1307-1315.
Yuan L, Li W L, Jin W, et al. Research progressin biological functions of saikosaponins[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2024, 44(6): 1307-1315.

[15] Wang X, Chen D J, Wang Y Q, et al. *De novo* transcriptome assembly and the putative biosynthetic pathway of steroidal sapogenins of *Dioscorea composita*[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0124560.

[16] 陈天池, 张巧, 王锦阳, 等. '鄞红'葡萄*HDR*基因的克隆与生物信息学分析[J]. 分子植物育种, 2023, 21(2): 409-419.
Chen T C, Zhang Q, Wang J Y, et al. Cloning and bioinformatics analysis of *HDR* gene from 'Yinhong' Grape[J]. Molecular Plant Breeding, 2023, 21(2): 409-419.

[17] Cao P H, Wang D, Gao S, et al. OsDXR interacts with OsMORF1 to regulate chloroplast development and the RNA editing of chloroplast genes in rice[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2023, 22(3): 669-678.

[18] 张曼, 向礼恩, 王辉, 等. 青蒿2-C-甲基-D-赤藓醇-4-磷酸胱氨酰转移酶基因克隆与分析[J]. 药学学报, 2016, 51(8): 1334-1339.
Zhang M, Xiang L E, Wang H, et al. Molecular cloning and characterization of the 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate cytidylyltransferase gene from *Artemisia annua* L[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2016, 51(8): 1334-1339.

[19] Liu R, Lu J, Xing J Y, et al. Transcriptome and metabolome analyses revealing the potential mechanism of seed germination in *Polygonatum cyrtonema*[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 12161.

[20] 王邦俊, 王强, 张志刚, 等. 利用RACE技术扩增大豆抗病基因同源cDNA 5'末端序列[J]. 遗传, 2003, 25(4): 425-427.
Wang B J, Wang Q, Zhang Z G, et al. Amplification of 5′cDNA end of a disease resistance gene homolog using RACE system from soybean[J]. Hereditas (Beijing), 2003, 25(4): 425-427.

[21] 邓萍, 原梦, 许家齐, 等. 连翘低温相关基因*FsADH1*的克隆、亚细胞定位及表达分析[J]. 中草药, 2025, 56(15): 5571-5577.
Deng P, Yuan M, Xu J Q, et al. Cloning, subcellular localization and expression analysis of low-temperature-related gene *FsADH1* in *Forsythia suspensa*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2025, 56(15): 5571-5577.

[22] Wanke M, Skorupinska-Tudek K, Swiezewska E. Isoprenoid biosynthesis via 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate/2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate (DOXP/MEP) pathway[J]. Acta Biochimica Polonica, 2001, 48(3): 663-672.

[23] 肖亦菽, 王如锋, 赵淑娟. 中药黄芪皂苷类成分生物合成研究进展[J]. 上海中医药大学学报, 2021, 35(5): 80-88, 96.
Xiao Y S, Wang R F, Zhao S J. Research progress on biosynthesis of saponins of Astragali Radix[J]. Acta Universitatis Traditionis Medicalis Sinensis Pharmacologiaeque Shanghai, 2021, 35(5): 80-88, 96.

[24] Cheng T, Wang L L, Sun C, et al. Optimizing the downstream MVA pathway using a combination optimi-

zation strategy to increase lycopene yield in *Escherichia coli*[J]. Microbial Cell Factories, 2022, 21(1): 121.

[25] Ng C Y J, Bun H H, Zhao Y, et al. TCM "medicine and food homology" in the management of post-COVID disorders [J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14: 1234307.

[26] 唐雪阳, 谢果珍, 周融融, 等. 药食同源的发展与应用概况[J]. 中国现代中药, 2020, 22(9): 1428-1433.
Tang X Y, Xie G Z, Zhou R R, et al. Development and application of "one root of medicine and food"[J]. Modern Chinese Medicine, 2020, 22(9): 1428-1433.

[27] 沈登锋,李元春,周和锋,等. 不同种源黄精块茎的营养成分分析[J]. 浙江农业科学,2020,61(11):2253-2254, 2259.
Shen D F, Li Y C, Zhou H F, et al. Analysis of nutritional components of *Polygonatum sibiricum* from different provenances[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2020, 61(11): 2253-2254, 2259.

[28] 单春苗, 王晨凯, 施圆圆, 等. 多花黄精甾体皂苷生物合成途径分析及关键酶基因研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(12): 2847-2857.
Shan C M, Wang C K, Shi Y Y, et al. Identification of key enzyme genes involved in biosynthesis of steroidal saponins and analysis of biosynthesis pathway in *Polygonatum cyrtonema*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(12): 2847-2857.

[29] 马永强, 沈盈, 王鑫, 等. 不同品种和地区黄精成分的主成分分析及聚类分析[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(11): 141-145.
Ma Y Q, Shen Y, Wang X, et al. Principal component analysis and cluster analysis of the components of *Polygonatum* from different varieties and regions[J]. Cereals & Oils, 2021, 34(11): 141-145.

[30] 焦劼, 陈黎明, 孙瑞泽, 等. 不同产地黄精主要化学成分比较及主成分分析[J]. 中药材, 2016, 39(3): 519-522.
Jiao J, Chen L M, Sun R Z, et al. Comparison and principal component analysis of main chemical components of *Polygonatum sibiricum* from different habitats [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2016, 39(3): 519-522.

[31] Barta M L, McWhorter W J, Miziorko H M, et al. Structural basis for nucleotide binding and reaction catalysis in mevalonate diphosphate decarboxylase[J]. Biochemistry, 2012, 51(28): 5611-5621.

[32] Krepkiy D, Miziorko H M. Identification of active site residues in mevalonate diphosphate decarboxylase: implications for a family of phosphotransferases[J]. Protein Science, 2004, 13(7): 1875-1881.

[33] Ganjewala D, Kumar S, Luthra R. An account of cloned genes of methyl-erythritol-4-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants[J]. Current Issues in Molecular Biology, 2009, 11(s1): 35-45.

[34] 王嘉雯, 姚圣, 苏欢, 等. 马尾松*HDR*基因克隆及其对旱与盐胁迫的响应[J]. 广西植物, 2024, 44(2): 216-234.
Wang J W, Yao S, Su H, et al. Cloning of *HDR* gene in *Pinus massoniana* and its response to drought and salt stresses[J]. Guihaia, 2024, 44(2): 216-234.

[35] 王晓宇, 李肖慧, 闫会景, 等. 北苍术*HDR*基因克隆及表达分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2025, 53(12): 199-207.
Wang X Y, Li X H, Yan H J, et al. Cloning and expression analysis of the *HDR* gene in *Atractylodes chinensis*(DC.)Koidz[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2025, 53(12): 199-207.

[36] 李辉亮, 雷美玉, 彭世清. 巴西橡胶树4-羟基-3-甲基-2-(E)-丁烯基-4-磷酸还原酶基因(*HbHDR*)的克隆及表达分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2009, 28(1): 15-21.
Li H L, Lei M Y, Peng S Q. Cloning and expression of *HbHDR* from *Hevea brasiliensis*[J]. Genomics and Applied Biology, 2009, 28(1): 15-21.

[37] 范丙友, 王静, 陈洁, 等. 芍药*PlHDR*基因的克隆及生物信息学分析[J]. 榆林学院学报, 2024, 34(5): 37-42, 47.
Fan B Y, Wang J, Chen J, et al. Cloning and bioinformatics analysis of the *PlHDR* gene from *Paeonia lactiflora*[J]. Journal of Yulin University, 2024, 34(5): 37-42, 47.