



多花黄精种子解除休眠和萌发的代谢产物变化机制

牛雨晴, 朱育菁, 郑梅霞, 朱雁鸣, 陈宏, 黄贤贵, 苏海兰

引用本文:

牛雨晴, 朱育菁, 郑梅霞, 等. 多花黄精种子解除休眠和萌发的代谢产物变化机制[J]. 热带亚热带植物学报, 2025, 33(5): 555–565.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4938>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

海南省入侵杂草假高粱种子萌发特性研究

Seed Germination Traits of Invasive Weed *Sorghum halepense* in Hainan Island

热带亚热带植物学报. 2021, 29(3): 285–292 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4302>

不同处理方法对油楠成熟和过熟种子萌发特性的影响

Effects of Different Treatments on Germination Characteristics of Mature and Over-mature Seeds of *Sindora glabra*

热带亚热带植物学报. 2017, 25(4): 331–338 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3698>

铁皮石斛*DoSMT2*基因的克隆与表达分析

Cloning and Expression Analysis of *DoSMT2* Gene in *Dendrobium officinale*

热带亚热带植物学报. 2020, 28(6): 591–598 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4234>

印度梨形孢对铁皮石斛种子萌发和原球茎生长的影响

Effects of *Piriformospora indica* on Seed Germination and Protocorm Growth of *Dendrobium officinale*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(1): 59–66 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4231>

东乡野生稻苗期响应低温胁迫的转录组分析

Transcriptome Analysis of Response to Low Temperature Stress in Dongxiang Wild Rice at Seedling Stage

热带亚热带植物学报. 2021, 29(6): 616–625 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4387>

向下翻页，浏览PDF全文

多花黄精种子解除休眠和萌发的代谢产物变化机制

牛雨晴¹, 朱育菁¹, 郑梅霞¹, 朱雁鸣¹, 陈宏¹, 黄贤贵^{2*}, 苏海兰^{1*}

(1. 福建省农业科学院作物研究所, 福建省种质资源中心, 福州 350013; 2. 福建省农业科学院植物保护研究所, 福州 350012)

摘要: 多花黄精(*Polygonatum cyrtonema*)种子存在综合性休眠, 严重制约其生产和产业发展。该研究利用暖温沙藏处理打破种子休眠, 并以休眠解除和萌发过程的6个阶段为研究对象, 进行代谢组学、转录组学以及二者的联合分析。结果表明, 氨基酸代谢与合成在多花黄精种子解除休眠和萌发过程中发挥关键作用; 联合分析氨基酸代谢与合成相关通路中L-苏氨酸、L-谷氨酸、吲哚、S-腺苷甲硫氨酸和胆碱5个代谢物及10个差异基因的相关性; 挖掘了二磷酸腺苷、丙氨酸-色氨酸、香豆素151、女贞苷、N-甲基苏氨酸和景天庚酮糖-7-磷酸作为多花黄精种子萌发的重要特征分子以及与它们相关的10个基因, 并通过qPCR验证了部分基因的表达趋势。该研究从代谢物变化和分子机制层面揭示了多花黄精种子休眠解除的关键代谢通路和基因调控网络, 为进一步解析种子休眠解除的分子机制和优化多花黄精种子萌发条件提供了理论依据。

关键词: 多花黄精; 沙藏; 种子休眠; 萌发; 代谢组学; 转录组学

doi: 10.11926/jtsb.4938 CSTR: 32235.14.jtsb.4938

Changes of Metabolites in Dormancy Release and Germination of *Polygonatum cyrtonema* Seeds

NIU Yuqing¹, ZHU Yujing¹, ZHENG Meixia¹, ZHU Yanming¹, CHEN Hong¹, HUANG Xiangui^{2*}, SU Hailan^{1*}

(1. Institute of Crop Sciences, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fujian Germplasm Resources Center, Fuzhou 350013, China; 2. Institute of Plant Protection, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350012, China)

Abstract: The seeds of *Polygonatum cyrtonema* have a comprehensive dormancy, which seriously restricts its production and industrial development. The seed dormancy was broken by using warm sand storage treatment, and the changes in metabolomics, transcriptomics at six stages of dormancy release and germination were analyzed. The results showed that amino acid metabolism and synthesis played a key role in the process of dormancy release and germination of *P. cyrtonema* seeds. The correlation between five metabolites (L-threonine, L-glutamic acid, indole, S-adenosylmethionine and choline) and ten differentially expressed genes in the amino acid metabolism and synthesis related pathways was analyzed. Adenosine diphosphate, alanine-tryptophan, coumarin 151, loniceroside, N-methylthreonine and sedoheptulose-7-phosphate were identified as important characteristic molecules for the germination of *P. cyrtonema* seeds, and ten related genes were also identified. The expression trends of some genes were verified by qPCR. The key metabolic pathways and gene regulatory networks were revealed for the release of seed dormancy of *P. cyrtonema* from the levels of metabolite changes and molecular mechanisms, which would provide a theoretical basis for further understanding the molecular

收稿日期: 2024-07-02 接受日期: 2025-01-16

基金项目: 福建省属公益项目(2023R1032003); 福建省重大科研专项(2022NZ029017); 福建省农科院英才项目(YC2021002); 福建省农科院科技创新及服务团队项目(2022KF01-1)资助

This work was supported by the Project for Public Welfare in Fujian (Grant No. 2023R1032003), the Project for Major Scientific Research in Fujian (Grant No. 2022NZ029017), the Project for Talent Development at Fujian Academy of Agricultural Sciences (Grant No. YC2021002), and the Project for Scientific Innovation and Service Teams at Fujian Academy of Agricultural Sciences (Grant No. 2022KF01-1).

作者简介: 牛雨晴(1993年生), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向为中药材遗传育种。E-mail: niuyuqing804@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: suhailan2019@163.com; hxg323@163.com

mechanism of seed dormancy release and optimizing the germination conditions of *P. cyrtoneura* seeds.

Key words: *Polygonatum cyrtoneura*; Sand storage; Seed dormancy; Germination; Metabolomics; Transcriptomics

多花黄精(*Polygonatum cyrtoneura*)是天门冬科(Asparagaceae)黄精属多年生草本植物^[1],其根状茎肥厚且富含黄精多糖,能够提高人体内的细胞超氧化物歧化酶活性和机体免疫力,具有很好的补气养阴、健脾和降脂等功效^[2-5]。多花黄精作为“药食同源”的中药材,由于其食用及药用价值突出,市场需求逐步扩大。多花黄精传统的繁殖方式包括根茎繁殖和种子繁殖,根茎繁殖浪费根茎,还易因长期无性繁殖造成种质退化和病虫害频发,而其种子产量大,种子繁殖能有效避免种质退化还能降低育苗成本^[6]。但是,多花黄精种子休眠是由其种皮与胚乳结构、内源激素以及胚的发育情况等综合因素造成的,表现为自然条件下萌发率低,萌发生时间长^[7-8],严重影响多花黄精的生产和产业发展。种子休眠解除过程中的物质代谢对种子发芽及植株形态建成至关重要,逐渐成为评价种子活力和品质的重要指标^[9]。因此,研究多花黄精种子解除休眠和萌发过程中关键代谢物的变化规律,对如何“解休眠、促萌发、助生产”具有重要现实意义。

陈怡等^[8]指出多花黄精种子萌发过程中脱落酸(abscisic acid, ABA)含量降低并维持在较低水平,生长素(3-indoleacetic acid, IAA)、赤霉素(gibberellins, GA₃)和反式玉米素(transzeatin, TZR)含量呈上升-下降-上升趋势;张武君等^[10]报道多花黄精种子萌发过程中可溶性糖、粗脂肪、蛋白质、 α -和 β -淀粉酶活性频繁波动;Qi等^[11]研究表明多花黄精种子中含有类黄酮、酯类和有机酸等多种物质;刘保财等^[12-13]研究表明多花黄精种子沙藏前后的差异基因显著富集在激素信号转导、蔗糖与淀粉代谢途径。总之,有关多花黄精种子休眠解除与萌发的研究集中在转录组测序及生理指标测定^[14-15]等方面,对代谢物的变化了解甚少。本实验室前期已经对多花黄精休眠解除过程的蛋白质、脂肪和淀粉等能量物质变化进行了研究^[16],但对调节其休眠解除的关键代谢物尚未明确。本研究利用暖温沙藏打破多花黄精种子休眠,以6个萌发阶段种子为试验材料,采用代谢组学和转录组学相结合的方法,分析多花黄精种子休眠解除过程的代谢物变化,研究该过程差异代谢物和差异基因的相关性,旨在为从代谢物变化和分子机制上理解多花黄精种子休眠解除提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料于2023年10月采集于福建省光泽县多花黄精种植示范基地,选取健康且均匀一致的种子备用,所有样本来源的植株均经福建省农业科学院农业生态研究所陈敏健副研究员鉴定为多花黄精(*Polygonatum cyrtoneura*)。

1.2 方法

材料处理 将细沙过100目筛子后用水浸湿,将湿润的细沙与种子按5:1拌匀,于23℃培养箱中避光培养。分别在0、15、25、35、40和45 d取样。每个阶段每份样品取样2 g,液氮速冻后保存于-80℃超低温冰箱。取样均3次生物学重复。

代谢组测序 本研究委托北京诺和致源有限公司完成。实验过程中,将100 mg多花黄精种子经液氮冷冻研磨后,采用预冷的80%甲醇溶液(500 μ L)进行重悬处理。样品经冰浴5 min后,在4℃下15 000 $\times$ g离心20 min。随后取适量上清液,用质谱级水稀释至甲醇终浓度为53%,再次在相同条件下离心,收集上清液用于LC-MS分析。质谱参数设置如下:质量扫描范围为 m/z 100~1 500;采用电喷雾离子源(ESI),喷雾电压3.5 kV,鞘气压力35 psi,辅助气流量10 L/min;离子传输管温度维持在320℃,射频电平设为60,辅助气加热器温度350℃;检测模式包括正负离子模式;MS/MS采用数据依赖型扫描模式。数据分析在Linux系统环境下,运用R语言和Python编程实现^[17-18]。

代谢组数据统计分析 本研究采用多数据库联合策略对鉴定到的代谢物进行功能注释,具体包括KEGG通路数据库、人类代谢组数据库(HMDB)和脂质代谢物数据库(LIPID Maps)。代谢物表达模式的可视化分析通过R语言中的Pheatmap包实现,其中代谢物丰度数据经z-score标准化处理。为探究差异代谢物间的相互作用关系,采用Pearson相关分析法计算相关系数,相关性的统计学显著性通过cor.mtest()函数进行评估(显著性水平设定为 $P < 0.05$),最终利用corrplot包实现相关性网络的可视化呈现^[18]。

转录组测序 委托北京诺和致源有限公司

进行。使用 TIANGEN 试剂盒(DP419)提取 6 个阶段样品的 RNA,每个阶段 3 次生物学重复,使用 Nano-drop 和 Agilent 2100 bioanalyzer 检测 RNA 纯度和完整性。参考 Novogene 生物信息学研究所的方法^[19],用 DNase I 处理在总 RNA 中富集到的 mRNA,完全去除基因组 DNA 污染,然后用与磁珠结合的 oligo poly-T 进行纯化。利用 AMPure XP 系统(Beckman Coulter, Beverly, USA)合成和筛选 370~420 bp 大小的 cDNA,构建 mRNA-seq 文库。文库构建完成后,进行 Illumina NovaSeq 6000 测序,测序片段被高通量测序仪测得的图像数据经 CASAVA 软件碱基识别转化为序列数据(reads),采用 Trinity 软件^[20]

对 clean reads 进行拼接。
转录组数据统计分析 以 $\text{padj}<0.05$ & $|\log_2(\text{fold change})|>1$ 为显著差异表达的阈值^[21]。

代谢组数据与转录组数据联合分析 对筛选出来的差异代谢物和差异基因进行联合分析,并基于 KEGG 数据库进行富集和功能注释,进一步分析基因和代谢物之间的关系。

实时荧光定量 PCR 利用 NCBI 中 Primer-BLAST 页面设计引物(表 1)。使用 *PerfectStart® Taq* 热启动酶(全式金)进行荧光定量 PCR,3 次生物学重复。用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法^[22]计算相对表达量。内参基因为 *GAPDH*。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列
Table 1 Sequence of qPCR primers

基因 Gene	正向引物 Forward primer (5'~3')	反向引物 Reverse prime (5'~3')
Cluster-29214.101805	TGCAATAATGTCATCAAGGAC	ATCCAAATTGGTGAGATAG
Cluster-29214.101806	CAACCTTGAATTCTGCTGCA	CTACAGGTTGCAATCTACAA
Cluster-29214.12982	GTAGGCAATTCAACATCTA	TTAGTTGTCCTGGTCCAG
<i>GAPDH</i>	GCCTGTGGTTATCACTGCCT	CGGATCGTCTGCTCCACTAC

数据处理 采用 Excel 2010 进行数据处理和图表绘制,SPSS 进行方差分析(ANOVA)。

2 结果和分析

2.1 多花黄精种子萌发过程的形态变化

多花黄精种子萌发过程分为 6 个阶段(图 1)。0 d (T0): 种子未萌发,处于完全休眠状态;15 d (T1): 胚组织开始萌动,微微从种脐露出;25 d (T2): 胚组织开始生长;35 d (T3): 胚伸长超过 1 cm,视为种子休眠完全解除;40 d (T4): 胚组织膨大,并开始长出侧芽;45 d (T5): 微根茎形成。因此,T3 阶段是休眠解除的分界点。

2.2 不同萌发阶段的代谢组学分析

对多花黄精种子萌发过程中的 6 个阶段进行代

谢组分析,并分析 5 个比较组(T1 vs T0、T2 vs T1、T3 vs T2、T4 vs T3、T5 vs T4)的差异代谢物数量,随着种子休眠解除和萌发,从差异代谢产物数量(图 2: A)和代谢物聚类分析(图 2: B)来看,部分代谢物在休眠解除期(T0~T2)和种子萌发期(T3~T5)内变化不大。但是众多代谢物在种子休眠解除期低表达,种子萌发期时表达量变高,而部分休眠解除期高表达的代谢物在种子萌发期表达量变低,说明多花黄精种子从休眠解除到种子萌发是因为大量代谢物含量发生了显著变化。

2.3 差异代谢物的比较分析

采用可变重要度投影(VIP)值结合差异多重度(fold-change)值进一步筛选差异代谢物,判定标准为 $\text{VIP}>1$ 和 $\text{FC}\geq 2.0$ 或 ≤ 0.5 ,并以火山图的形式呈现(图 3)。T1 和 T0 比较负离子模式下共有 11 个差

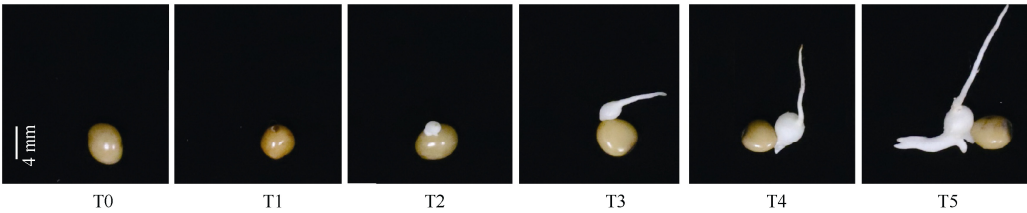


图 1 多花黄精的种子萌发过程。T0~T5 分别为萌发 0、15、25、35、40、45 d。下同

Fig. 1 Germination process of *Polygonatum cyrtonema* seeds. T0~T5 is 0, 15, 25, 35, 40, and 45 days, respectively. The same below

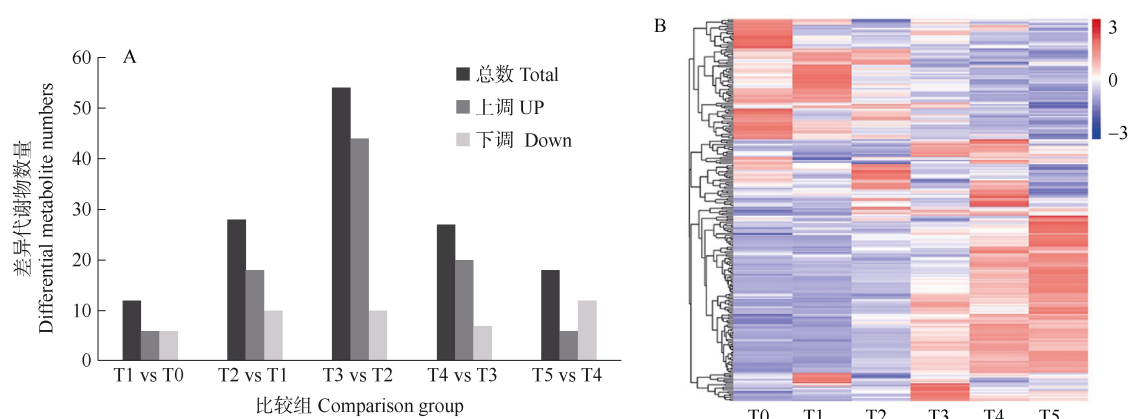


图 2 多花黄精种子萌发过程中的差异代谢物数量(A)和聚类分析(B)

Fig. 2 Number (A) and cluster analysis (B) of differential metabolites in *Polygonatum cyrtoneura* seeds during germination

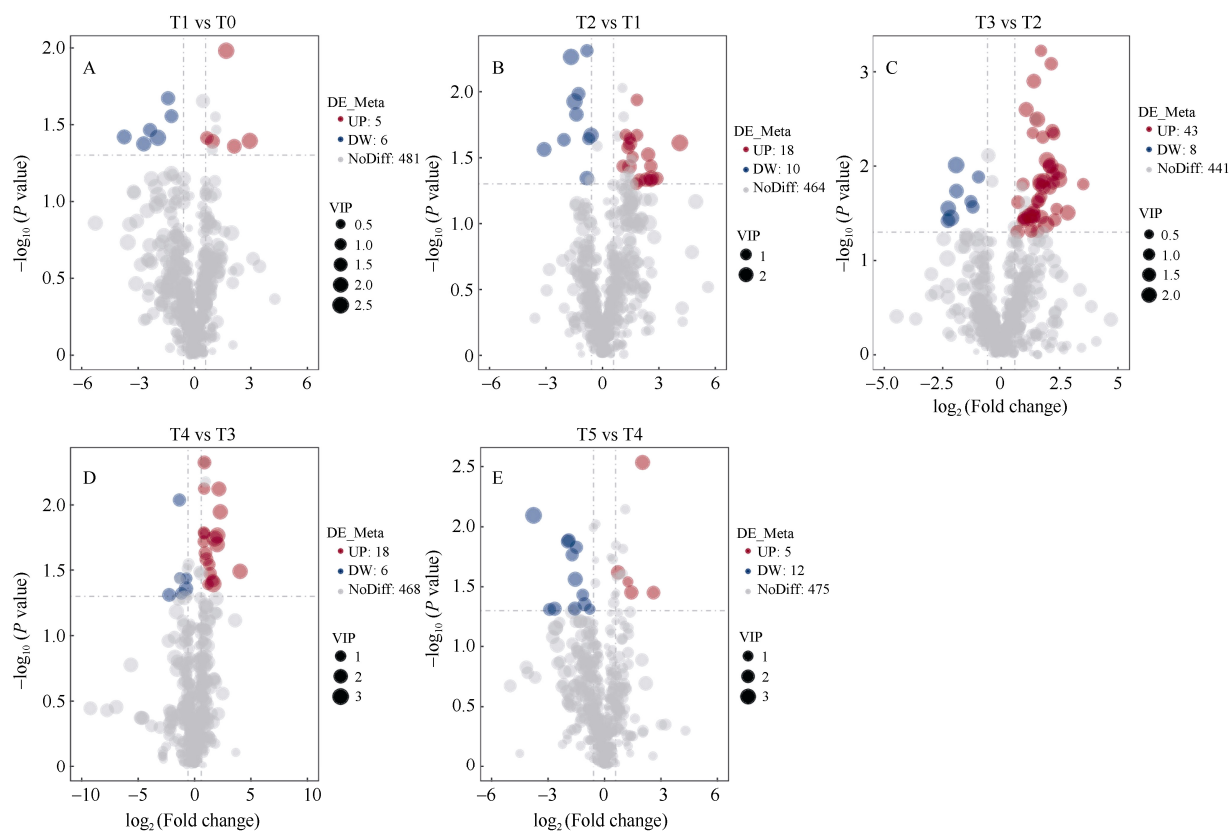


图 3 差异代谢物的火山图

Fig. 3 Volcanic map of differential metabolites

异代谢物, 其中上调 5 种, 下调 6 种; T2 和 T1 比较负离子模式下共有 28 个差异代谢物, 其中上调 18 种, 下调 10 种; T3 和 T2 比较负离子模式下共有 51 个差异代谢物表达, 其中上调 43 种, 下调 8 种。T4 和 T3 比较负离子模式下共有 24 个差异代谢物, 其中上调 18 种, 下调 6 种; T5 和 T4 比较负离子模式下共有 17 个差异代谢物表达, 其中上调

5 种, 下调 12 种。由此可见, T3 期是休眠结束和开始萌发的关键期, 也是明显的分界点, 种子休眠解除期(T0~T2)差异代谢物数量不断增多, 种子萌发期(T3~T5)差异代谢物数量开始下降。

2.4 差异代谢物的 KEGG 富集分析

T3 阶段是休眠解除的分界点, 对解除休眠及萌发的代谢物进行比较分析。在负离子模式下, T3 vs

T2、T4 vs T3 和 T5 vs T4 比较组中氨基酸生物合成、次生代谢产物的生物合成、萜类化合物和聚酮类化合物的代谢等是显著富集的代谢通路(图 4)。氨基酸生物合成途径富集到 2-酮戊二酸、4-氧代脯氨酸、

L-色氨酸、瓜氨酸等；次生代谢产物的生物合成途径富集到肉桂酸、芥子酸、紫丁香苷；萜类化合物和聚酮类化合物的代谢途径富集到车叶草苷、腺苷 5'单磷酸。

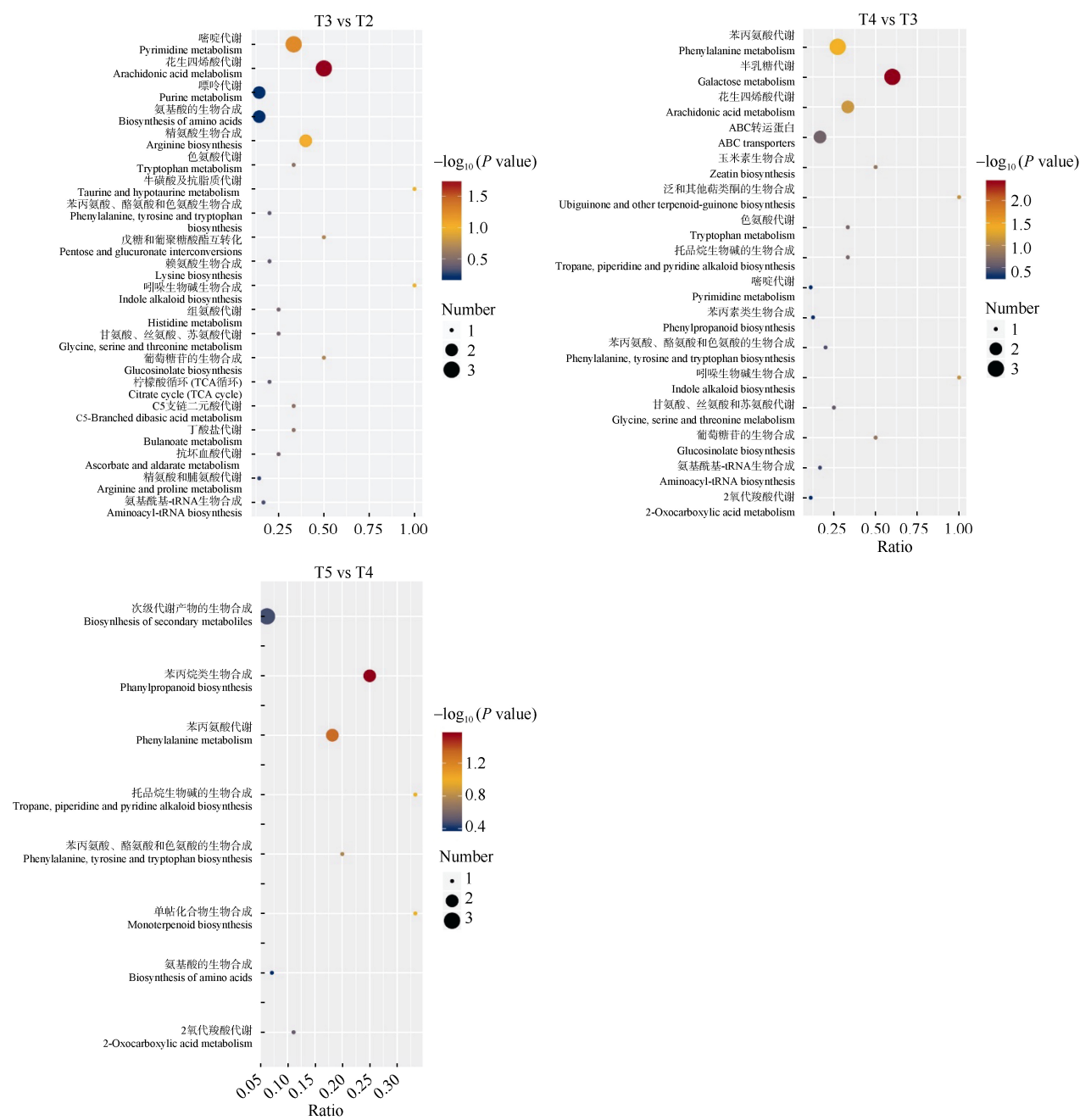


图 4 差异代谢物的 KEGG 富集分析。Ratio: 差异代谢物在通路中的比例。下同

Fig. 4 KEGG enrichment analysis of differentially expressed metabolites. Ratio: Proportion of differential metabolites in the pathway. The same below

2.5 差异代谢物联合差异基因的 KEGG 富集分析

对 T3 vs T2、T4 vs T3 和 T5 vs T4 比较组中的差异代谢物和差异基因进行联合分析(图 5)。3 个比较组中共同富集的代谢通路分别有 36、32 和 33 条。

11 条代谢通路与氨基酸的代谢及合成相关，包括氨基酸的生物合成(biosynthesis of amino acids)、精氨酸和脯氨酸代谢(arginine and proline metabolism)、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢(glycine, serine and

metabolism)、组氨酸代谢(histidine metabolism)、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(alanine, aspartate and glutamate metabolism)、半胱氨酸和蛋氨酸代谢(cysteine and methionine metabolism)。可见,氨基酸的代谢与合成在多花黄精种子休眠解除与萌发过程中发挥关键作用。

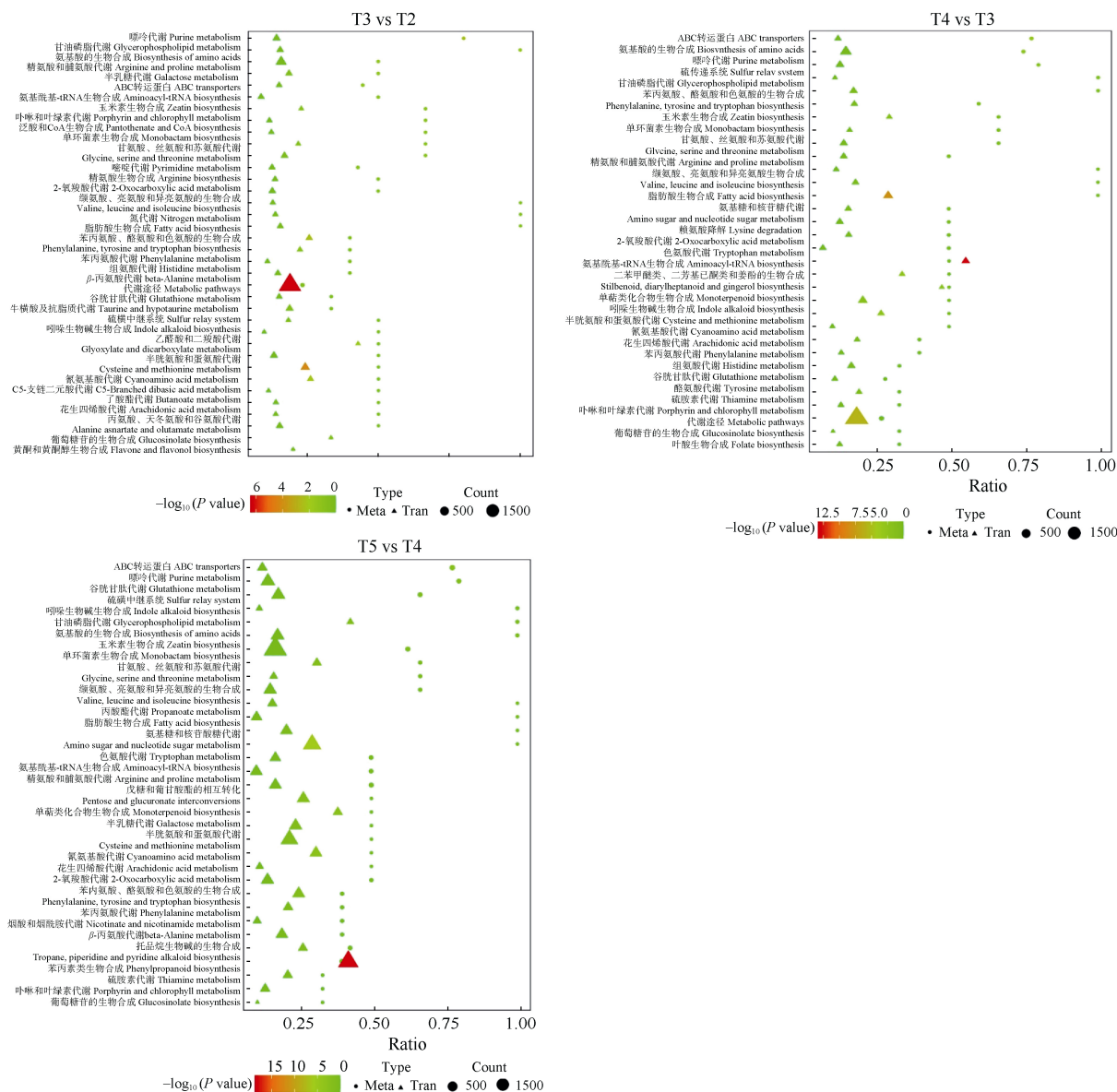


Fig. 5 Combined KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes and metabolites

差异基因和差异代谢物联合 KEGG 富集分析结果中,有 11 条代谢通路与氨基酸的合成与代谢相关。其中,氨基酸的生物合成通路中有 4 个差异代谢物(L-苏氨酸、S-腺苷蛋氨酸、L-鸟氨酸、L-苯

丙氨酸)、精氨酸和脯氨酸代谢通路中有 4 个差异代谢物(银杏内酯、L-谷氨酸、S-腺苷甲硫氨酸、L-鸟氨酸)、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢通路中有 2 个差异代谢物(胆碱、L-苏氨酸)、精氨酸生物合成通路中有 2 个差异代谢物(L-谷氨酸、L-鸟氨酸)、缬

氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成通路中有 1 个差异代谢物(L-苏氨酸)、苯丙氨酸代谢通路中有 2 个差异代谢物(苯乙酰氧酸、L-苯丙氨酸)、苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成通路中有 2 个差异代谢物(吲哚、L-苯丙氨酸)、 β -丙氨酸代谢通路中有 2 个差异代谢物(泛酸、尿嘧啶)、组氨酸代谢通路中有 2 个差异代谢物(咪唑乙酸、L-谷氨酸)、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢通路中有 1 个差异代谢物(L-谷氨酸)、半胱氨酸和蛋氨酸代谢通路中有 1 个差异代谢物(S-腺苷甲硫氨酸)。根据差异代谢物和差异基因的相关性和富集结果对 5 个差异代谢物和前 10 的差异基因(按 P 值从小到大排序)绘制相关性网络图(图 6)。

2.7 种子萌发过程中重要特征代谢物与差异基因的相关性

多花黄精种子萌发过程中, 二磷酸腺苷、丙氨酸-色氨酸、香豆素 151、女贞苷、 N -甲基苏氨酸和景天庚酮糖-7-磷酸是差异变化最明显的 6 个化合物, 可见它们也是种子休眠解除的重要特征分子(表 2)。通过

转录组测序分析, 选取了 10 个与 6 个化合物相关的基因, 并将代谢组分析结果同转录组分析结果基于皮尔森相关系数进行相关性分析, 以度量差异基因与差异代谢物之间的关联程度(图 7: A)。Cluster 29214.101805 与二磷酸腺苷、女贞苷和 N -甲基苏氨酸显著负相关, 与丙氨酸-色氨酸和景天庚酮糖-7-磷酸显著正相关。因此, 挖掘到 6 个多花黄精种子休眠解除的重要特征分子以外, 还挖掘了调控 6 个化合物的关键调控基因。另外, 从中选取 3 个基因进行 qRT-PCR 检测, 结果表明这 3 个基因在 T3、T4、T5 阶段的变化与转录组结果一致(图 7: B~D)。

3 结论和讨论

3.1 氨基酸合成与代谢通路是多花黄精种子解除休眠与萌发的关键通路

多花黄精种子表现为综合性休眠, 其萌发是一个复杂且动态的生理过程^[20-25]。已有研究表明, 特定代谢途径在植物种子解除休眠和萌发过程中发

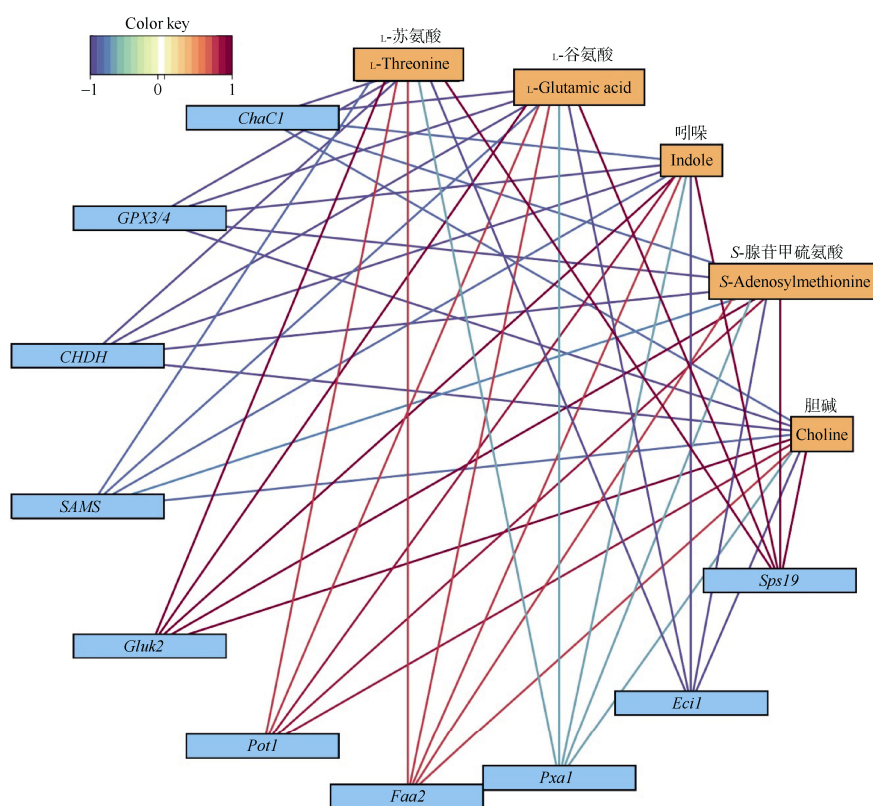


图 6 氨基酸合成与代谢通路上关键差异基因和关键差异代谢物相关性网络图。黄色框: 代谢物; 蓝色框: 基因; 红色线: 正相关; 蓝色线: 负相关; 相关性系数越大, 颜色越深。

Fig. 6 Correlation network map of key differential genes and key differential metabolites in amino acid synthesis and metabolic pathways. Yellow box: Metabolite; Blue box: Gene; Red line: Positive correlation; Blue line: Negative correlation; the higher the correlation coefficient, the darker the line color.

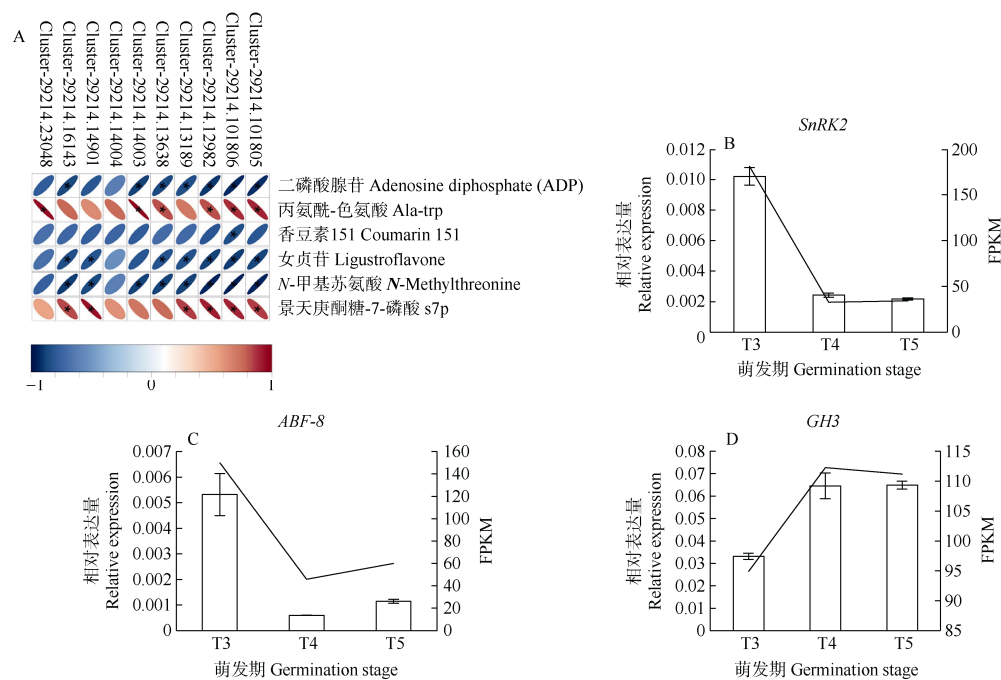


图 7 种子萌发过程差异代谢物与差异基因相关性热图(A)和差异基因的 qPCR 分析(B~D)。A: 颜色越红, 正相关性越强, 颜色越蓝, 负相关性越强, 椭圆越扁, 代表相关性的绝对值越高; *: $P<0.05$; B~D: 柱形: qPCR; 折线: FPKM。

Fig. 7 Correlation heat map of differential metabolites and differential genes (A) and qPCR analysis of differential genes (B-D) during seed germination. A: The redder the color, the stronger the positive correlation, the bluer the color, the stronger the negative correlation, and the flatter the ellipse, which means the absolute value of the correlation is higher. *: $P<0.05$. B-D: Bar: qPCR; Line: FPKM.

表 2 种子萌发过程重要特征代谢物变化

Table 2 Changes in important characteristic metabolite during seed germination

分类 Classification	代谢物 Metabolite	差异倍数 Fold change		
		T3 vs T2	T4 vs T3	T5 vs T4
核苷、核苷酸和类似物 Nucleosides, nucleotides, and analogues	二磷酸腺苷 ADP	4.82	3.61	3.90
苯丙烷类和聚酮类 Phenylpropanoids and polyketides	女贞苷 Ligustroflavone	3.80	2.87	2.93
苯丙烷类和聚酮类 Phenylpropanoids and polyketides	香豆素 151 Coumarin 151	2.51	3.34	2.65
有机酸及其衍生物 Organic acids and derivatives	N-甲基苏氨酸 N-Methylthreonine	6.06	5.43	4.78
有机氧化合物 Organic oxygen compounds	景天庚酮糖-7-磷酸	1.35	2.56	2.72
有机酸及其衍生物 Organic acids and derivatives	丙氨酸-色氨酸 Ala-Trp	2.34	3.68	2.87

挥关键作用。Zhang 等^[26]报道 CTK 的玉米素生物合成途径在黄精种子的上胚轴休眠解除中发挥了重要作用, 其中黄精细胞分裂素脱氢酶基因(*PcCKXs*)与类黄酮生物合成代谢物以及精氨酸和脯氨酸代谢物具有显著相关性, 揭示了其与黄精休眠解除密切相关。此外, 张文武等^[27]对多花黄精种子不同萌发时间点(0、7、14、21 和 35 d)的代谢物分析表明, TCA 循环, 精氨酸和脯氨酸代谢及淀粉和蔗糖代谢是影响种子萌发的主要代谢途径。不同于以往研究, 本研究表明除了嘧啶代谢和嘌呤代谢等基础代谢过程, 氨基酸合成与代谢在多花黄精种子休眠解

除过程中发挥关键作用, 并分析了关键差异代谢物与差异基因的相关性。本研究检测到, 氨基酸代谢相关的差异代谢物如 L-苏氨酸、S-腺苷蛋氨酸、L-鸟氨酸和 L-苯丙氨酸在不同阶段(T0~T5)发生了显著变化。L-苏氨酸在多个氨基酸代谢途径中发挥重要作用, 包括其在 T3 期显著上调, 这与休眠解除和萌发开始的关键节点相一致。同时, L-谷氨酸和 S-腺苷甲硫氨酸等代谢物在精氨酸和脯氨酸代谢途径中的显著上调, 进一步支持了氨基酸代谢在多花黄精种子解除休眠中的中心枢纽作用, 游离氨基酸的动态变化为种子的萌发提供了代谢物质基础。

氨基酸不仅显著参与了种子成熟和早期萌发,还在种子的代谢网络中扮演了能量枢纽的角色^[28]。童金凤^[29]的研究指出,多花黄精种子萌发过程中,氨基酸、糖和糖苷及有机酸的合成途径共同作用,这与本研究结果高度相似。通过 KEGG 富集分析,本研究进一步揭示了氨基酸的代谢与合成途径(如精氨酸和脯氨酸代谢、甘氨酸代谢、苯丙氨酸代谢)在多花黄精种子解除休眠和萌发中的关键地位。

除氨基酸合成与代谢通路外,有机酸及其衍生物共同参与了种子萌发的代谢过程^[30-31]。已有研究表明,多花黄精种子萌发 0~14 d 内,苹果酸,琥珀酸,柠檬酸等含量在显著升高,而在 14 d 后显著降低^[32],这与本研究结果一致。本研究表明大部分有机酸在 T3、T4 和 T5 显著低于休眠阶段(T0~T2),这种下降可能与多花黄精种子形成初生根茎后的上胚轴休眠相关。绝大多数有机氧化合物在 T3、T4 和 T5 显著低于 T0 阶段,这可能是由于萌发早期以呼吸作用为主,消耗有机物生成能量,尚未进行光合作用制造有机物,从而导致有机氧化物含量的降低。这支持了种子萌发需大量氧气的结论^[33]。

3.2 6 个代谢物和 10 个基因与多花黄精种子解除休眠和萌发高度相关

本研究结果表明,二磷酸腺苷、丙氨酸-色氨酸、香豆素 151、女贞苷、*N*-甲基苏氨酸和景天庚酮糖-7-磷酸共 6 个代谢物在多花黄精种子解除休眠和萌发过程中起关键作用。这些代谢物在种子萌发后期含量下降,暗示这些代谢通路在萌芽过程中被激活,强化了多花黄精种子中生物活性分子的富集,同时也表明代谢物被快速的用于多花黄精种子萌发。对与上述 6 个代谢物显著相关的 10 个差异基因,通过相关性网络分析,进一步明确这些基因在多花黄精种子萌发过程中的潜在调控作用。这些基因可能作为种子萌发过程中的调控核心,为进一步解析其在调控氨基酸代谢、能量生成及其他基础代谢中的作用提供了方向。此外,这些基因的表达模式为探索“主基因”或调节基因提供了基础,未来的研究应聚焦于这些基因是否能够调控游离氨基酸的水平,尤其是在种子发育早期游离氨基酸如何从营养组织转运到生殖组织的问题。

香豆素 151 和女贞苷属于苯丙烷类和聚酮类物质,苯丙烷代谢是最重要的植物次生代谢途径之一,产生超过 8 000 种代谢物,对植物生长发育及

植物环境互作有重要作用^[34]。乐昌含笑(*Michelia chapensis*)、兜兰(*Paphiopedilum* sp.)等植物种子的萌发过程中,苯丙烷生物合成和苯丙氨酸代谢途径的关键基因表现出显著差异表达^[35-36]。与此相一致,本研究也表明苯丙烷类代谢物(如香豆素 151)在多花黄精种子休眠解除的关键阶段显著富集,进一步支持了这一代谢途径在种子萌发过程中的中心作用。苯丙烷类与聚酮类物质如何调控氨基酸、糖类及有机酸等基础代谢过程,仍需通过转录组学和基因组学等综合分析进一步阐明,从而为提升多花黄精种子萌发率提供理论依据。有研究表明,苯丙烷代谢在植物发育及环境适应中具有高度可塑性,其代谢过程受多种调控机制影响,包括转录水平和翻译后修饰等途径^[37-38]。多花黄精种子萌发过程中,苯丙烷代谢是否与氨基酸合成、糖类代谢及有机酸代谢共同调控仍有待进一步探索。这些复杂的代谢互作关系为种子休眠解除和萌发机制研究提供了新的研究视角。

综上,本研究系统性揭示了多花黄精种子休眠解除过程中氨基酸的合成与代谢途径的核心作用,运用转录组学和代谢组学联合分析氨基酸代谢与合成相关通路中 L-苏氨酸、L-谷氨酸、吡咯、*S*-腺苷甲硫氨酸和胆碱 5 个代谢物及 10 个差异基因的相关性。多花黄精种子萌发过程中有机酸及其衍生物、有机氧化合物、苯丙烷类和聚酮类物质的生物代谢过程活跃,其中,二磷酸腺苷、丙氨酸-色氨酸、香豆素 151、女贞苷、*N*-甲基苏氨酸和景天庚酮糖-7-磷酸被鉴定为多花黄精种子萌发过程的重要特征分子。

参考文献

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 319. [国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 319.]
- [2] YANG Y, HOU T T, WANG W, et al. Research progress on pharmacological effects of polysaccharides from *Polygonati rhizoma* [J]. Drugs Clin, 2022, 37(3): 659-665. [杨迎, 侯婷婷, 王威, 等. 黄精多糖的药理作用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2022, 37(3): 659-665. doi: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.03.038.]
- [3] LI L, LI Y, YANG S J. Investigation on the action mechanism of HJ pill in the prevention and treatment of Alzheimer's disease based on network pharmacology [J]. China Med Pharm, 2022, 12(13): 76-81. [李莉,

- 李钰, 杨绍杰. 基于网络药理学研究黄精丸防治阿尔茨海默病的作用机制 [J]. 中国医药科学, 2022, 12(13): 76–81. doi: 10.3969/j.issn.2095-0616.2022.13.019.]
- [4] CHEN X J, DUAN J F, LIU K Q, et al. Botany, traditional uses, and pharmacology of *Polygonati Rhizoma* [J]. Chin Med Cult, 2021, 4(4): 251–259. doi: 10.4103/CMAC.CMAC_39_21.
- [5] [5] LI X L, ZHANG X X, MA R H, et al. Integrated miRNA and mRNA omics reveal dioscin suppresses migration and invasion via MEK/ERK and JNK signaling pathways in human endometrial carcinoma *in vivo* and *in vitro* [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 303: 116027. doi: 10.1016/j.jep.2022.116027.
- [6] ZHU M Z, YU N J, SHI S Y, et al. Study on the relationship between seed structure and germination of *Polygonatum cyrtonema* Hua [J]. Seed, 2020, 39(3): 7–12. [祝明珠, 俞年军, 史素影, 等. 多花黄精种子结构与休眠及萌发的关系研究 [J]. 种子, 2020, 39(3): 7–12. doi: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2020.03.007.]
- [7] HUANG W J, YANG M J, YE C H, et al. Research progress in seed propagation of original plant of *Polygonati rhizoma* [J]. Biot Resour, 2023, 45(6): 564–571. [黄文娟, 杨马进, 叶昌华, 等. 黄精基原植物种子繁育研究进展 [J]. 生物资源, 2023, 45(6): 564–571. doi: 10.14188/j.ajsh.2023.06.006.]
- [8] CHEN Y, YANG F Q, CHEN S S, et al. Study on the changes of endogenous hormones contents in *Polygonatum cyrtonema* seed germination [J]. J Chin Med Mat, 2020, 43(3): 523–527. [陈怡, 杨赋祺, 陈松树, 等. 多花黄精种子萌发过程的內源激素含量变化研究 [J]. 中药材, 2020, 43(3): 523–527. doi: 10.13863/j.issn1001-4454.2020.03.002.]
- [9] ZHAO W Q, JI L. Research progress on mechanism of seed dormancy and dormancy breaking [J]. J Shanxi Agric Sci, 2017, 45(3): 477–481. [赵文琦, 季兰. 种子休眠与解除机理的研究进展 [J]. 山西农业科学, 2017, 45(3): 477–481. doi:10.3969/j.issn.1002-2481.2017.03.38.]
- [10] ZHANG W J, ZHAO Y Q, LIU B C, et al. Physiological changes of *Polygonatum cyrtonema* Hua seeds during stratification [J]. Fujian J Agric Sci, 2022, 37(8): 995–1007. [张武君, 赵云青, 刘保财, 等. 多花黄精种子层积过程生理变化研究 [J]. 福建农业学报, 2022, 37(8): 995–1007. doi: 10.19303/j.issn.1008-0384.2022.008.005.]
- [11] QI J J, WEI J H, LIAO D Q, et al. Untargeted metabolomics analysis revealed the major metabolites in the seeds of four *Polygonatum* species [J]. Molecules, 2022, 27(4): 1445. doi: 10.3390/molecules27041445.
- [12] LIU B C, CHEN J Y, ZHANG W J, et al. Analysis of gene expression characteristics before and after seed germination of *Polygonatum cyrtonema* [J]. Guihaia, 2023, 43(11): 2078–2090. [刘保财, 陈菁瑛, 张武君, 等. 多花黄精种子萌发前后基因表达特征分析 [J]. 广西植物, 2023, 43(11): 2078–2090. doi: 10.11931/guihaia.gxzw202210040.]
- [13] LUO L N, XIANG Z X. The relative difference genes in the process of dormancy release of *Polygonatum sibiricum* Red. based on the transcriptome sequencing analysis [J]. Chin Agric Sci Bull, 2021, 37(11): 1–8. [罗丽娜, 向增旭. 基于转录组测序分析的黄精种子休眠解除相关差异基因研究 [J]. 中国农学通报, 2021, 37(11): 1–8.]
- [14] MA J H, REN Q F, LIU F, et al. Development of dormancy characteristics and sleep breaking techniques of medicinal spermatophyte seeds [J]. Agric Sci Technol Comm, 2023, (4): 149–151, 156. [马菁华, 任启飞, 刘芳, 等. 药用黄精种子休眠特性及破眠技术进展 [J]. 农业科技通讯, 2023, (4): 149–151, 156. doi: 10.3969/j.issn.1000-6400.2023.04.042.]
- [15] LIAO F J, WU L T. Advances in studies on chemical constituents and germination of *Polygonatum cyrtonema* seeds [J]. Seed, 2021, 40(8): 64–67. [廖发娇, 伍林涛. 多花黄精种子化学成分及萌发的研究进展 [J]. 种子, 2021, 40(8): 64–67. doi: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2021.08.064.]
- [16] SU H L, NIU Y Q, CHENG J H, et al. Physiobiochemical changes and gene expressions of *Polygonatum cyrtonema* Hua seeds undergone post ripening treatment [J]. Fujian J Agric Sci, 2024, 39(6): 662–670. [苏海兰, 牛雨晴, 成建华, 等. 多花黄精种子生理后熟过程的生理变化及基因表达模式分析 [J]. 福建农业学报, 2024, 39(6): 662–670. doi: 10.19303/j.issn.1008-0384.2024.06.005.]
- [17] WANT E J, MASSON P, MICHPOULOS F, et al. Global metabolic profiling of animal and human tissues via UPLC-MS [J]. Nat Protoc, 2013, 8(1): 17–32. doi: 10.1038/nprot.2012.135.
- [18] WANG Q, GAO Y, XUE J J, et al. Liquid chromatography-mass spectrometry-based untargeted metabolomics analysis of differential metabolites in three types of Boza made from different raw materials [J]. Food Sci, 2024, 45(23): 81–92. [汪琪, 高雁, 薛娟娟, 等. 液相色谱-质谱非靶向代谢组学分析 3 种不同生产原料波杂发酵饮品的代谢差异 [J]. 食品科学, 2024, 45(23): 81–92.]
- [19] ZHANG S, ZHU D N, LI H, et al. Analyses of mRNA profiling through RNA sequencing on a SAMP8 mouse model in response to ginsenoside Rg1 and Rb1 treatment [J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 88. doi: 10.3389/fphar.2017.00088.
- [20] GRABHERR M G, HAAS B J, YASSOUR M, et al. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome [J]. Nat Biotechnol, 2011, 29(7): 644–652. doi: 10.1038/nbt.1883.
- [21] LIANG W F, ZENG J J, HU R Q, et al. Transcriptional and metabolomic analysis of carotenoid accumulation in *Anoectochilus roxburghii*

- during different growth periods [J]. *Biotechnol Bull*, 2024, 40(10): 262–274. [梁婉凤, 曾菁菁, 胡若群, 等. 转录组与代谢组分析不同生长期金线莲类胡萝卜素的积累 [J]. *生物技术通报*, 2024, 40(10): 262–274. doi: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2024-0408.]
- [22] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402–408. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
- [23] CHEN Y, LIU X C, CHEN S S, et al. Morphological and anatomical studies during seed germination of *Polygonatum cyrtoneura* Hua [J]. *Seed*, 2020, 39(2): 5–10. [陈怡, 柳雪晨, 陈松树, 等. 多花黄精种子萌发过程的形态和解剖研究 [J]. *种子*, 2020, 39(2): 5–10. doi: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2020.02.005.]
- [24] LI X, DONG C M, XING B, et al. Study on the characteristics of seed germination inhibitors of *Polygonatum cyrtoneura* Hua [J]. *Seed*, 2020, 39(6): 108–110. [李询, 董诚明, 邢冰, 等. 多花黄精种子萌发抑制物特性研究 [J]. *种子*, 2020, 39(6): 108–110. doi: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2020.06.108.]
- [25] AN R P. Study on germination conditions and dormancy mechanism of Chinese medicinal material *Polygonatum sibiricum* seeds [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2020. [安瑞朋. 中药材黄精种子萌发条件和休眠机制探究 [D]. 保定: 河北农业大学, 2020. doi: 10.27109/d.cnki.ghbnu.2020.000266.]
- [26] ZHANG W W, XIA L, PENG F L, et al. Transcriptomics and metabolomics changes triggered by exogenous 6-benzylaminopurine in relieving epicotyl dormancy of *Polygonatum cyrtoneura* Hua seeds [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 961899. doi: 10.3389/fpls.2022.961899.
- [27] ZHANG W W, TONG J F, PENG P L, et al. Analysis of differential metabolites during germination process of *Polygonatum cyrtoneura* Hua seeds in sand storage based on untargeted metabolomics [J]. *Biot Resour*, 2023, 45(2): 164–176. [张文武, 童金凤, 彭甫蕾, 等. 基于非靶代谢组学的多花黄精沙藏种子萌发过程差异代谢物分析 [J]. *生物资源*, 2023, 45(2): 164–176. doi: 10.14188/j.ajsh.2023.02.008.]
- [28] AMIR R, GALILI G, COHEN H. The metabolic roles of free amino acids during seed development [J]. *Plant Sci*, 2018, 275: 11–18. doi: 10.1016/j.plantsci.2018.06.011.
- [29] TONG J F. Sand storage and phytohormone on seed germination of *Polygonatum cyrtoneura* Hua and analysis of metabolomics [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2019. [童金凤. 沙藏和激素处理对多花黄精种子萌发的影响及代谢组分析 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2019. doi: 10.26919/d.cnki.gannu.2019.000893.]
- [30] SONG S Q, TANG C F, LEI H P, et al. Research progress of seed dormancy and germination regulation [J]. *Acta Agron Sin*, 2024, 50(1): 1–15. [宋松泉, 唐翠芳, 雷华平, 等. 种子休眠与萌发调控的研究进展 [J]. *作物学报*, 2024, 50(1): 1–15. doi: 10.3724/SP.J.1006.2024.34012.]
- [31] ARAÚJO W L, TOHGE T, ISHIZAKI K, et al. Protein degradation: An alternative respiratory substrate for stressed plants [J]. *Trends Plant Sci*, 2011, 16(9): 489–498. doi: 10.1016/j.tplants.2011.05.008.
- [32] LIU R, LU J, XING J Y, et al. Transcriptome and metabolome analyses revealing the potential mechanism of seed germination in *Polygonatum cyrtoneura* [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 12161. doi: 10.1038/s41598-021-91598-1.
- [33] WANG H D. The relative study of seeds dormancy and the specific structure of the endosperm cells of *Rhizoma Polygonati* seeds [D]. Xianyang: Northwest A&F University, 2018. [王宏迪. 黄精种子胚乳细胞特异结构与种子休眠相关性研究 [D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2018.]
- [34] SONG F, HU J H, LIANG W L, et al. Differential expression analysis of genes related to phenylpropane metabolism in *Lycium barbarum* under salt stress [J]. *Acta Bot Boreali-Occid Sin*, 2023, 43(8): 1286–1294. [宋繁, 胡进红, 梁旺利, 等. 盐胁迫下宁夏枸杞苯丙烷代谢相关基因差异表达分析 [J]. *西北植物学报*, 2023, 43(8): 1286–1294. doi: 10.7606/j.issn.1000-4025.2023.08.1286.]
- [35] ZHOU W X, DUAN Y Y, JIANG X G, et al. Transcriptome and metabolome analyses reveal novel insights into the seed germination of *Michelia chapensis*, an endangered species in China [J]. *Plant Sci*, 2023, 328: 111568. doi: 10.1016/j.plantsci.2022.111568.
- [36] FANG L, XU X, LI J, et al. Transcriptome analysis provides insights into the non-methylated lignin synthesis in *Paphiopedilum armeniacum* seed [J]. *BMC Genom*, 2020, 21(1): 524. doi: 10.1186/s12864-020-06931-1.
- [37] DONG N Q, LIN H X. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant-environment interactions [J]. *J Integr Plant Biol*, 2021, 63(1): 180–209. doi: 10.1111/jipb.13054.
- [38] XIE F. Mechanism analysis of *RMES1* locus regulating phenylpropanoid metabolism to participate in sorghum resistance to aphids [D]. Baotou: Inner Mongolia University of Science & Technology, 2023. [谢凤. *RMES1* 位点调控苯丙烷代谢参与高粱抗蚜的机制分析 [D]. 包头: 内蒙古科技大学, 2023. doi:10.27724/d.cnki.gnmkg.2023.000685.]