

· 研究论文 ·

不同叶形五指毛桃补骨脂素和佛手柑内酯含量及转录特征比较

唐美琼¹, 梁春英², 胡营¹, 林杨¹, 韦范¹, 梁莹¹, 李林轩^{1*}, 李刚^{1*}

¹广西壮族自治区药用植物园, 国家中医药传承创新中心, 西南濒危药材资源开发国家工程研究中心, 广西药用资源保护与遗传改良重点实验室, 广西壮族自治区中药资源智慧创制工程研究中心, 南宁 530023; ²广西大学农学院, 南宁 530004

摘要 五指毛桃(*Ficus hirta*)是一种重要的药食两用植物, 但叶片形态变异较大。为揭示其叶形差异与主要活性物质含量的关系, 采用LC-MS/MS测定全缘型(EL)、浅裂型(LL)和五指深裂型(PDL) 3种叶形五指毛桃根中补骨脂素和佛手柑内酯的含量, 进一步利用转录组测序技术探讨其含量差异的分子机制。结果表明, PDL五指毛桃的补骨脂素含量显著高于EL和LL; EL五指毛桃的佛手柑内酯含量显著高于LL, 但与PDL无显著差异。转录组测序共获得60.9 Gb clean reads, 组装获得46 194个unigenes, 同源序列比对显示五指毛桃与川桑(*Morus notabilis*)的同源性最高。从PDL_vs_EL、PDL_vs_LL和LL_vs_EL比较组分别筛选出2 355、2 067和2 001个差异表达基因(DEGs), DEGs主要富集在苯丙烷生物合成、淀粉和蔗糖代谢以及植物-病原体相互作用等通路上, 其中苯丙烷生物合成和植物-病原体相互作用可能是五指毛桃主要活性物质生物合成与积累的重要通路。研究初步探讨了五指毛桃不同叶形与主要活性物质积累之间的关系, 丰富了五指毛桃转录组数据库, 为进一步利用不同叶形五指毛桃种质资源及育种提供参考依据。

关键词 五指毛桃, 叶形, 活性成分, LC-MS/MS, 转录组

唐美琼, 梁春英, 胡营, 林杨, 韦范, 梁莹, 李林轩, 李刚 (2026). 不同叶形五指毛桃补骨脂素和佛手柑内酯含量及转录特征比较. 植物学报 61, 223–237.

五指毛桃(*Ficus hirta*)是岭南地区民间常用的中草药和药膳食材, 素有“南芪”之称, 具有补肺健脾、行气化痰、舒筋活络等功效, 常用于治疗脾虚浮肿、肺癆咳嗽、产后无乳和风湿痹痛等症。现代药理研究表明, 五指毛桃具有镇咳平喘、保护脾胃和提高免疫力等作用(曾晓春等, 2002; 张志超等, 2017; 曾信平等, 2020), 还能通过调节脂质代谢和肠道菌群来改善非酒精性脂肪肝(Quan et al., 2022)。五指毛桃除用作中药材外, 还大量用于煲汤和制作功能性食品, 已开发出五指毛桃酒、冲剂、复合颗粒剂、含片和乳酸菌发酵制品等系列产品(王晓敏, 2012; 刘文美, 2024)。五指毛桃不仅具有极高的药用和食用价值, 还在发展林下经济方面有较大潜力。五指毛桃与碳汇林、马尾松(*Pinus massoniana*)林和橡胶(*Hevea*

brasiliensis)林等林-药种植模式均被证实具有较高的可行性(洪维等, 2020; 田茂秀等, 2023; 袁淑娜等, 2023)。由此可见, 五指毛桃是一种极具开发潜力的植物资源。

一直以来, 五指毛桃资源以野生为主, 近年来开始人工栽培, 但由于良种繁育滞后, 五指毛桃的大面积栽培和推广受到一定限制, 五指毛桃产业也多局限于一些初级产品(陈庆梅等, 2023)。现阶段, 五指毛桃尚未划分品种, 大多依据叶形进行分类, 而叶形差异主要体现在叶片分裂的数量和深度。五指毛桃通常分为全缘型、浅裂型、三指深裂型、五指深裂型和七指深裂型等(秦译炜等, 2008; 张宏伟等, 2013)。研究表明, 不同叶形五指毛桃叶片中脯氨酸和总酚的含量及多酚氧化酶和抗氧化酶活性等生理指标存在显著差

收稿日期: 2025-03-28; 接受日期: 2025-07-01

基金项目: 广西重点研发计划(桂科No.AB24010004)、广西自然科学基金(No.2025GXNSFAA069027)、广西药用植物保育人才小高地自主研究项目(No.GXYXGD202201)和广西药用植物园重点研发计划(桂药重No.202305)

* 通讯作者。E-mail: lilixuan1125@163.com; lgxu07@hotmail.com

异(陶瑜等, 2019; 陈荣珠等, 2021b), 而对不同叶形五指毛桃中主要活性物质含量比较的研究得出不同结论。补骨脂素含量是评价五指毛桃内在质量的主要指标, 佛手柑内酯含量次之(马雅静等, 2017), 它们主要累积于五指毛桃的根中。温玲等(2008)研究表明, 不同叶形五指毛桃根中补骨脂素含量存在差异, 以五指深裂型五指毛桃中含量最高。桂青等(2018)对全缘型、浅裂型和深裂型五指毛桃根部的补骨脂素含量进行测定, 结果显示补骨脂素含量在这3种叶形的五指毛桃中无显著差异。

补骨脂素和佛手柑内酯属于线型呋喃香豆素类化合物, 该类物质合成分为2个阶段。第1阶段是苯丙氨酸代谢, 即苯丙氨酸在苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)的作用下脱去氨基形成肉桂酸, 肉桂酸依次在肉桂酸4-羟化酶(cinnamic acid 4-hydroxylase, C4H)、4-香豆素辅酶A连接酶(4-coumarate-CoA ligase, 4CL)和对香豆酰CoA 2'-羟化酶(p-coumaroyl CoA 2'-hydroxylase, C2'H)的作用下形成二羟基肉桂酰辅酶A, 继而内酯化形成呋喃香豆素的母体化合物伞形花内酯, 其中PAL、C4H和4CL是第1阶段的关键酶。第2阶段是呋喃香豆素的形成, 伞形花内酯在6-异戊烯基转移酶(6-*preyll*transferases, 6PT)的作用下形成去甲基软木花椒素, 继而在异紫花前胡内酯合成酶(marmesin synthase, MS)和补骨脂素合成酶(psoralen synthase, PS)的作用下形成补骨脂素, 补骨脂素又在一系列酶的作用下形成佛手柑内酯, 该过程中的关键酶包括6PT、MS和PS (Bourgau et al., 2006; Munakata et al., 2016; 段珍等, 2022)。由于香豆素类化合物的生物合成途径及关键酶的鉴定较为复杂, 其生物合成的主要细节仍在探索中, 尤其是下游的许多关键酶基因尚待挖掘。

多年来, 有关五指毛桃的研究大多集中在化学成分和药理作用等方面(叶亚娜等, 2024), 而对其活性成分尤其是香豆素类物质的生物合成与调控报道较少。本研究对3种最常见且叶形差异非常明显的五指毛桃(全缘型、浅裂型和五指深裂型)根中的补骨脂素和佛手柑内酯含量进行测定, 并探讨不同叶形五指毛桃与药材质量之间的相关性; 进一步利用高通量RNA-seq技术分析它们的转录特征, 以丰富不同叶

形五指毛桃的转录组信息, 为解析五指毛桃活性物质的生物合成与调控机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2023年3月在广西南宁市石埠镇增年农林发展有限公司五指毛桃种植基地(108°08'E, 22°82'N)采集全缘型、浅裂型和五指深裂型五指毛桃(*Ficus hirta* Vahl.)植株。植物材料由广西壮族自治区药用植物园韦筱媚高级工程师鉴定。样本均种植3年, 每个叶形五指毛桃的样本量为12株。每处理4株, 设3个生物学重复。

1.2 方法

1.2.1 取样

取五指毛桃根, 洗净擦干, 选取直接从根茎结合处长出的主根, 切成2 cm小段, 立即用液氮冷冻, 于-80°C冰箱保存备用。

1.2.2 补骨脂素和佛手柑内酯含量测定

样品经冷冻干燥后放入研磨仪中研磨至粉状, 分别称取0.05 g粉末溶解于1.2 mL 70%甲醇水溶液中, 漩涡混匀后, 离心取上清, 经0.22 μm微孔滤膜过滤, 稀释100倍后保存于进样瓶中, 用于液相色谱(LC) (Shim-pack UFLC SHIMADZU CBM30A, 日本岛津)-MS/MS (Applied Biosystems 4500 QIRAP, 美国Applied Biosystems)分析。参照Chen等(2013)的LC-MS/MS采集条件进样。液相条件: Waters ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(C18 1.8 μm, 2.1 mm × 100 mm); 流动相A和流动相B分别为超纯水(加入0.04%乙酸)和乙腈(加入0.04%乙酸)。梯度洗脱程序: 0分钟, A:B=95:5 (v/v); 10分钟, A:B=5:95; 11分钟, A:B=5:95; 11.1分钟, A:B=95:5; 14分钟, A:B=95:5。流速0.4 mL·min⁻¹, 柱温40°C, 进样量5 μL。质谱条件: 电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI), 温度550°C; 离子源电压5.5 kV; 气帘气(curtain gas, CUR), 35 psi; 碰撞诱导电离(collison-activated dissociation, CAD) 2/-2。配制质量浓度为10-1 000 ng·mL⁻¹的补骨脂素/佛手柑内酯标准溶液, 根据标准曲线(图1)计算目标检测物含量。

1.2.3 转录组测序

提取各样品总RNA, 经纯度和完整性检测合格后构建测序文库。委托武汉康之代谢生物科技有限公司进行转录组测序。对原始数据进行过滤, 得到clean reads, 通过Trinity软件 (<https://github.com/trinityrnaseq/trinityrnaseq/wiki/Output-of-Trinity-Assembly>)对clean reads进行拼接, 再利用Tgicl 2.0软件将转录本进行聚类去冗余, 最终获得unigene。使用BLAST软

件(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)将unigene与公共数据库Nr (Non-redundant protein sequence database, <http://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/db>)、Swiss-prot (swiss-prot protein sequence database, <http://ftp.ebi.ac.uk/pub/databases/swissprot>)、GO (gene ontology, <http://geneontology.org>)、eggNOG (evolutionary genealogy of genes, <http://ncbi.nlm.nih.gov/COG>)、KEGG (kyoto encyclopedia of genes and genomes, <http://www.genome.jp/kegg>)和Pfam (<http://pfam.xfam.org>)进行序列比对, 获得基因的注释信息。用RSEM软件 (<http://deweylab.github.io/RSEM/>)对基因表达水平进行定量, 结合DESeq2 (<http://bioconductor.org/packages/stats/bioc/DESeq2/>)提取样本间差异表达基因, 依据FDR (false discovery rate) <0.05 & $|\log_2FC$ (fold change) ≥ 1 的筛选标准鉴定不同叶形间差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs), 并对差异表达基因进行KEGG富集分析。采用MISA软件 (<http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa>)对unigene进行简单重复序列 (simple sequence repeat, SSR)检测。

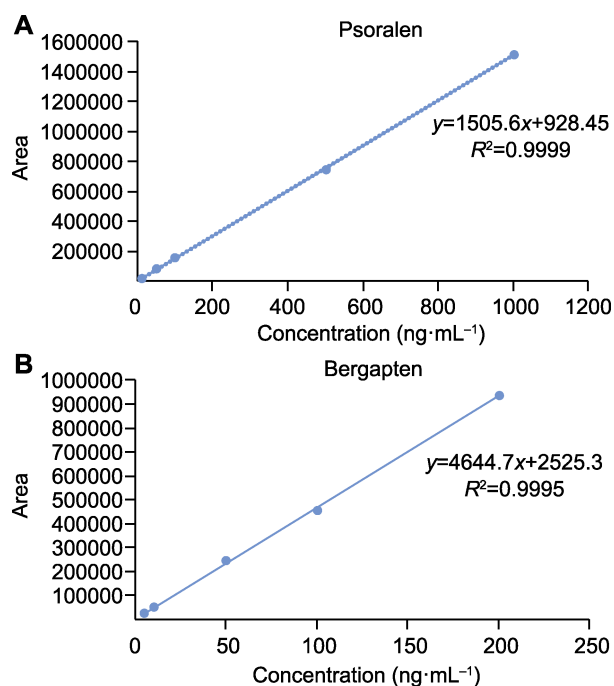


图1 补骨脂素和佛手柑内酯标准曲线
(A) 补骨脂素标准曲线; (B) 佛手柑内酯标准曲线

Figure 1 The standard curves of psoralen and bergapten
(A) The standard curve of psoralen; (B) The standard curve of bergapten

表1 qRT-PCR所用引物序列

Table 1 Sequences of specific primers used for qRT-PCR

| Gene ID | Upstream primer (5'-3') | Downstream primer (5'-3') | Product length (bp) |
|-----------|-----------------------------|---------------------------|---------------------|
| g1845_i0 | GTCCGAGTACGCCAACAAGAAG | GAACGCACCTGAAACGATTAAGC | 115 |
| g3326_i0 | CTGTTGTAGGAGGCGTTGAAGTAG | CCGTGGAGGTTCTGGATCTGTC | 100 |
| g6649_i0 | TGAGTGTGCTTACCAGAGTTTCG | CTGTTATGAGCCAAGGAGGTGTTG | 103 |
| g7900_i0 | TTATCTTAGCCATATCGTCAAGGAAGG | CCTCTTCTCGCCATACCAATTCTC | 106 |
| g7965_i0 | TCACTCTCTTCTCTCAATTCTCTCC | CCTCTGGCTCTGGCTCTGC | 110 |
| g9650_i0 | GTGGCGGGTGGTGAGAGAC | TGGCTTACTCCTTGGATCTGTGG | 120 |
| g14593_i0 | CCATAAGACACACCTCCAACACTC | ATTGAAGGCTCTTACACGCACAG | 110 |
| g9413_i0 | TTAAGAAGCTTTCCCTTATCCTC | AATTAGAAGCGGCATACCTA | 120 |
| g16782_i0 | TCACTCCTCACCACGCCTTG | CGCTCACATCAGTCCGATCAC | 105 |
| actin | TTAGACGTTGTGTAGCCAGCA | CTACTGCGTTGTGATCCGG | 120 |

1.2.4 qRT-PCR分析

利用HiScript III RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)试剂盒(南京诺唯赞生物科技有限公司, Cat No.R223-01)将各样品构建转录组测序文库时所预留的RNA反转录成cDNA。qRT-PCR分析按照ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix (南京诺唯赞生物科技有限公司, Cat No.Q311-03)说明书进行, 以actin为内参基因, 通过Quant Studio3荧光定量PCR仪(Applied Biosystems, 美国)进行扩增。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算基因的相对表达量。引物信息见表1。

2 结果与分析

2.1 不同叶形五指毛桃的补骨脂素和佛手柑内酯含量

对全缘型、浅裂型和五指深裂型3种叶形的五指毛桃(图2)根中补骨脂素和佛手柑内酯含量进行测定(图3; 表2), 结果表明, 五指深裂型五指毛桃根中的补骨脂素含量最高, 为 $0.5114 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 与全缘型($0.3119 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

和浅裂型($0.3212 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)存在显著差异; 浅裂型五指毛桃根中的佛手柑内酯含量最低, 为 $0.0239 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 全缘型($0.1144 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)与五指深裂型($0.1045 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)无显著差异(表2)。综上, 不同叶形五指毛桃的补骨脂素和佛手柑内酯含量均具有差异, 补骨脂素含量在五指深裂型与全缘型和浅裂型五指毛桃之间差异显著, 佛手柑内酯含量在全缘型和五指深裂型与浅裂型五指毛桃之间差异显著(表2)。

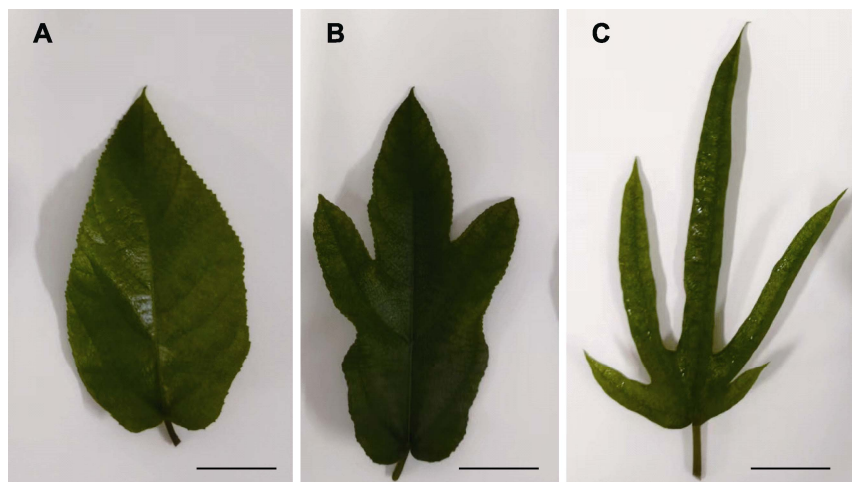


图2 五指毛桃不同叶形
(A) 全缘型(EL); (B) 浅裂型(LL); (C) 五指深裂型(PDL)。Bars=3 cm

Figure 2 Different leaf shapes of *Ficus hirta*
(A) Entire leaf (EL); (B) Lobed leaf (LL); (C) Palmately deeply lobed leaf (PDL). Bars=3 cm

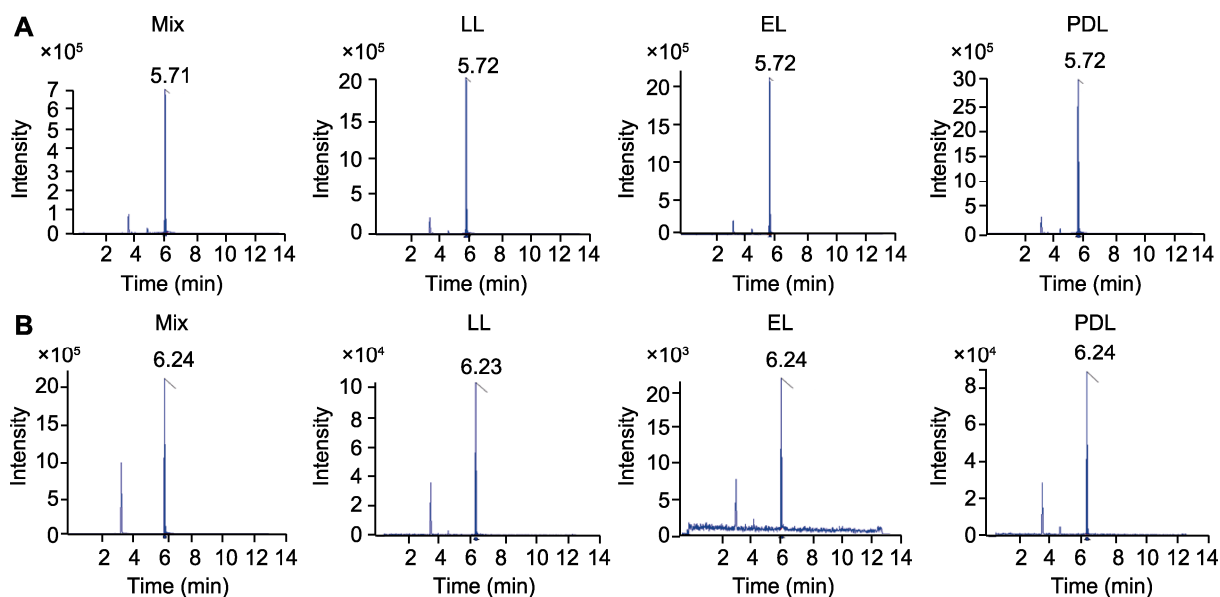


图3
Figure 3

图3 不同叶形五指毛桃补骨脂素和佛手柑内酯的LC-MS/MS图谱

(A) 补骨脂素; (B) 佛手柑内酯。Mix: 混样质控QC样本。EL、LL和PDL同图2。

Figure 3 LC-MS/MS spectra of psoralen and bergapten from different leaf shapes of *Ficus hirta*

(A) Psoralen; (B) Bergapten. Mix: Mixed quality control samples. EL, LL, and PDL are the same as shown in Figure 2.

表2 不同叶形五指毛桃根中补骨脂素和佛手柑内酯含量**Table 2** The contents of psoralen and bergapten in the root of *Ficus hirta* with different leaf shapes

| Leaf shapes | The content of psoralen (mg·g ⁻¹ DW) | The content of bergapten (mg·g ⁻¹ DW) |
|-------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| EL | 0.3119±0.0233 b | 0.1144±0.0066 a |
| LL | 0.3212±0.0322 b | 0.0239±0.0025 b |
| PDL | 0.5114±0.0684 a | 0.1045±0.0093 a |

EL、LL和PDL同图2。同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。EL, LL, and PDL are the same as shown in Figure 2. The same column with different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

2.2 转录组测序和组装

进一步对3种叶形共9个五指毛桃样品进行转录组测序(表3), 经过滤去除冗余片段后获得60.9 Gb clean reads, 测序数据平均Q30值为94.27%, GC含量为46.17%–46.93%, 表明测序数据可靠。原始数据已提交至NCBI数据库(ID为PRJNA1037593), 并在ScienceDB数据库中备份(数据集doi: 10.57760/sciencedb.j00154.00009)。经组装后共得到71 430个transcripts和46 194个unigenes。Unigenes的长度主要集中在200–500 bp, 有19 893个; 长度在500–1 000 bp的unigenes有8 867个; 长度在1 000–2 000 bp

的unigenes有8 219个; 长度大于2 000 bp的unigenes有9 215个。总体上, 超过500 bp的unigenes有26 301个, 占比56.94%, 表明获得的unigenes完整性较好。

2.3 Unigenes功能注释

将组装得到的unigenes在Nr、Swiss-port、GO、eggNOG、KEGG和Pfam数据库中进行比对, 结果表明, 在Nr数据库中注释到的unigenes最多, 达14 872个, 占比为32.19%; 其次是Pfam数据库, 注释到13 792个unigenes (占比29.86%); 从Swiss-port、GO、eggNOG以及KEGG数据库分别注释到11 618 (占比25.15%)、11 327 (占比24.52%)、9 577 (占比20.73%)和5 498 (占比11.90%)个unigenes。Unigenes注释同源基因的物种分布显示, 川桑(*Morus notabilis*)在相似序列匹配度较高的物种中占比最高, 达81.98%; 其次是异色山麻黄(*Trema orientale*)和糙叶山麻黄(*Parasponia andersonii*), 占比分别为8.54%和4.47%; 与枣(*Ziziphus jujuba*)和葡萄(*Vitis vinifera*)的相似序列匹配度占比分别为1.46%和1% (图4)。综上所述, 五指毛桃unigenes序列与川桑具有明显的相似性。

表3 测序数据统计结果**Table 3** Statistical results of sequencing data

| Sample | Total reads | Clean reads | Clean bases (bp) | Q20 (%) | Q30 (%) | GC (%) |
|--------|-------------|-------------|------------------|---------|---------|--------|
| EL-1 | 48828448 | 48366118 | 7082094566 | 97.91 | 94.00 | 46.93 |
| EL-2 | 48824960 | 48402188 | 7082671186 | 98.15 | 94.62 | 46.91 |
| EL-3 | 49736990 | 49260712 | 7195342035 | 97.99 | 94.22 | 46.61 |
| LL-1 | 53283182 | 52878272 | 7745367825 | 97.94 | 93.97 | 46.67 |
| LL-2 | 42061364 | 41646886 | 6093739383 | 98.15 | 94.59 | 46.44 |
| LL-3 | 42642136 | 42257084 | 6189627068 | 98.03 | 94.25 | 46.66 |
| PDL-1 | 41074490 | 40674184 | 5941654993 | 98.00 | 94.28 | 46.17 |
| PDL-2 | 48135216 | 47776358 | 6984940329 | 98.14 | 94.54 | 46.90 |
| PDL-3 | 45302458 | 44878188 | 6566856537 | 97.93 | 93.99 | 46.86 |

EL、LL和PDL同图2。EL, LL, and PDL are the same as shown in Figure 2.

2.4 差异表达基因分析

利用DESeq对3种叶形五指毛桃的样品进行两两比较, 结果表明, PDL_vs_EL共有2 355个DEGs, 其中415个基因表达上调, 1 940个基因表达下调; PDL_vs_LL共有2 067个DEGs, 其中749个基因表达上调, 1 318个基因表达下调; LL_vs_EL共有2 001个DEGs, 其中397个基因表达上调, 1 604个基因表达下调(图5A)。从3个比较组差异表达基因数整体情况来看, PDL_vs_EL组的差异表达基因数最多, 其次为PDL_vs_LL组, LL_vs_EL组差异表达基因数最少, 说明全缘型五指毛桃基因的表达模式与浅裂型五指毛桃更为接近。进一步统计发现, 100个DEGs在3个比较组中均有分布(图5B), 说明这些DEGs在五指毛桃的生长发育过程中可能起重要作用。

将3个比较组DEGs进行KEGG富集分析, 结果

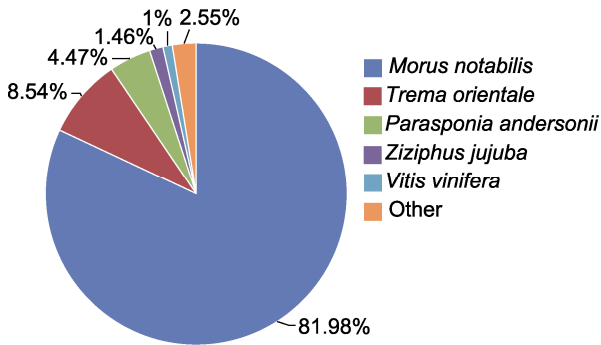
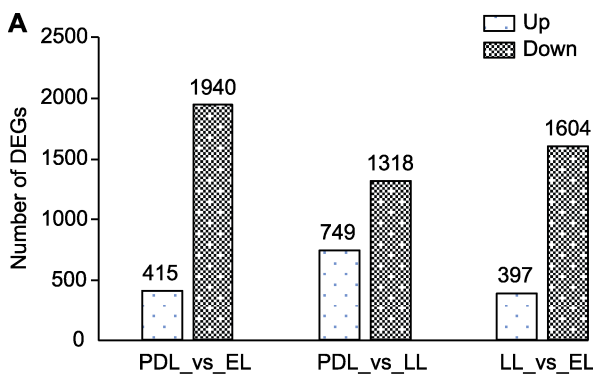


图4 五指毛桃unigenes序列在Nr数据库匹配物种分布
Figure 4 Species distribution of unigenes sequences of *Ficus hirta* against the Nr database



表明, PDL_vs_EL、PDL_vs_LL和LL_vs_EL比较组中分别有614、550和483个DEGs在KEGG途径中显著富集, 其中碳水化合物代谢和氨基酸代谢在3个比较组均为富集DEGs数量最多的通路。PDL_vs_EL、PDL_vs_LL和LL_vs_EL在碳水化合物代谢途径中分别富集97、108和88个DEGs, 在氨基酸代谢途径中分别富集73、63和53个DEGs。此外, PDL_vs_EL和PDL_vs_LL中其它次生代谢产物途径富集的DEGs较多, 分别有72和53个; LL_vs_EL中环境适应途径富集的DEGs较多, 有50个。进一步分析PDL_vs_EL、PDL_vs_LL和LL_vs_EL比较组中具有显著差异的三级代谢通路, 发现它们的DEGs分别显著富集在23、18和9条通路。按照P值排序, PDL_vs_EL显著富集的前5条通路分别为类黄酮生物合成(flavonoid biosynthesis, $P=1.02\times 10^{-5}$)、苯丙烷生物合成(phenylpropanoid biosynthesis, $P=6.47\times 10^{-5}$)、植物-病原体相互作用(plant-pathogen interaction, $P=1.561\times 10^{-3}$)、二萜类生物合成(diterpenoid biosynthesis, $P=1.966\times 10^{-3}$)和 α -亚麻酸代谢(alpha-linolenic acid metabolism, $P=3.249\times 10^{-3}$) (图6A); PDL_vs_LL显著富集的前5条通路分别为苯丙烷生物合成($P=6.059\times 10^{-6}$)、类黄酮生物合成($P=9.283\times 10^{-5}$)、脂肪酸延伸率(fatty acid elongation, $P=1.12\times 10^{-2}$)、淀粉和蔗糖代谢(starch and sucrose metabolism, $P=1.18\times 10^{-2}$)以及泛醌和其它萜类醌的生物合成(ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis, $P=3.39\times 10^{-2}$) (图6B);

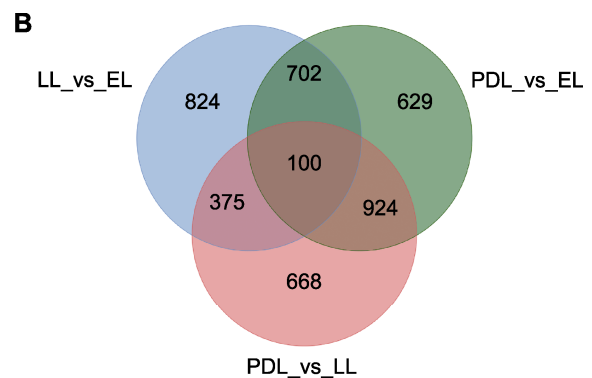


图5 不同叶形五指毛桃差异表达基因(DEGs)数量统计
(A) 各比较组DEGs统计; (B) 各比较组DEGs的维恩图。EL、LL和PDL同图2。

Figure 5 Numbers of differentially expressed genes (DEGs) among different leaf shapes of *Ficus hirta*
(A) Statistics of DEGs in different comparison groups; (B) Venn diagram of DEGs in different comparison groups. EL, LL, and PDL are the same as shown in Figure 2.

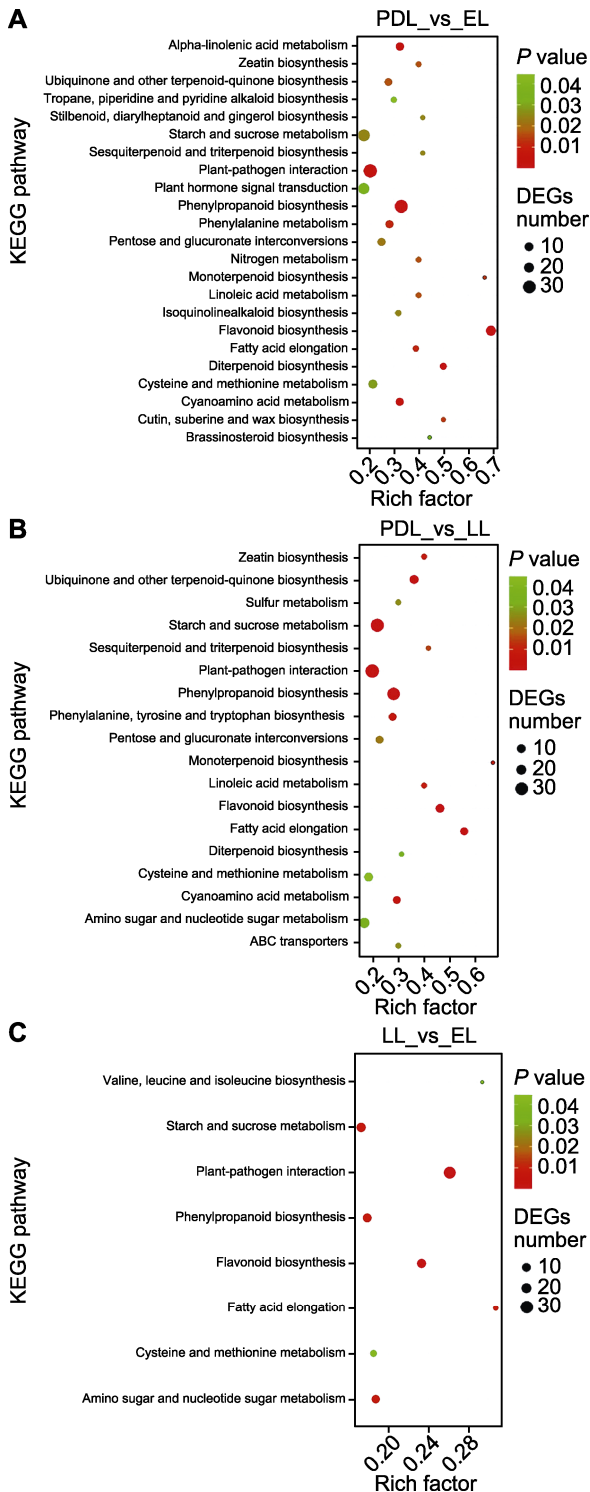


图6 差异表达基因(DEGs)的KEGG富集分析
(A) PDL_vs_EL; (B) PDL_vs_LL; (C) LL_vs_EL。EL、LL和PDL同图2。

Figure 6 KEGG analysis of differentially expressed genes (DEGs)
(A) PDL_vs_EL; (B) PDL_vs_LL; (C) LL_vs_EL. EL, LL, and PDL are the same as shown in Figure 2.

LL_vs_EL显著富集的前5条通路分别为植物-病原体相互作用($P=2.574\times 10^{-8}$)、苯丙烷生物合成($P=2.74\times 10^{-2}$)、淀粉和蔗糖代谢($P=6.886\times 10^{-2}$)、植物激素信号转导(plant hormone signal transduction, $P=7.507\times 10^{-2}$)以及氨基糖和核苷酸糖代谢(amino sugar and nucleotide sugar metabolism, $P=7.917\times 10^{-2}$) (图6C)。综合分析表明, 这些通路主要与次级代谢物生物合成、抗逆性、碳水化合物代谢以及信号转导有关。值得注意的是, 苯丙烷生物合成、淀粉和蔗糖代谢、植物-病原体相互作用、类黄酮生物合成、半胱氨酸和蛋氨酸代谢(cysteine and methionine metabolism)为3个比较组共有的显著富集通路, 而植物-病原体相互作用是在3个比较组中均富集DEGs数量最多的通路(PDL_vs_EL有36个DEGs; PDL_vs_LL有35个DEGs; LL_vs_EL有46个DEGs) (图6)。

2.5 与补骨脂素和佛手柑内酯合成相关的苯丙烷生物合成通路

补骨脂素和佛手柑内酯均属于苯丙烷类物质, 苯丙烷生物合成通路与次生代谢产物苯丙烷类化合物的生物合成有直接关系, 该途径是五指毛桃活性成分生物合成的必经阶段。通过KEGG富集分析发现, 苯丙烷生物合成通路是DEGs最显著富集的通路之一(图6), 综合分析3个比较组中DEGs, 发现在该通路中DEGs涉及编码7种酶, 分别为苯丙氨酸解氨酶(PAL)、咖啡酸3-O-甲基转移酶(caffeic acid 3-O-methyltransferase, COMT)、4-香豆素辅酶A连接酶(4CL)、咖啡酰辅酶A O-甲基转移酶(caffeoyl-CoA O-methyltransferase, OMT)、松柏醛脱氢酶(coniferyl-aldehyde dehydrogenase, REF)、莽草酸O-羟基肉桂酰转移酶(shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase, HCT)和肉桂醇脱氢酶(cinnamyl-alcohol dehydrogenase, CAD)。将这些DEGs在各叶形五指毛桃中的相对表达水平经Z-score归一化处理, 结果显示, 编码PAL、HCT和4CL等蛋白的unigenes在全缘型五指毛桃根中的相对表达量较高(图7)。

2.6 植物-病原体相互作用通路差异表达基因与微生物序列连锁分析

本研究中, 植物-病原体相互作用通路富集的DEGs数量最多, 推测该通路对五指毛桃在生长发育过程中适

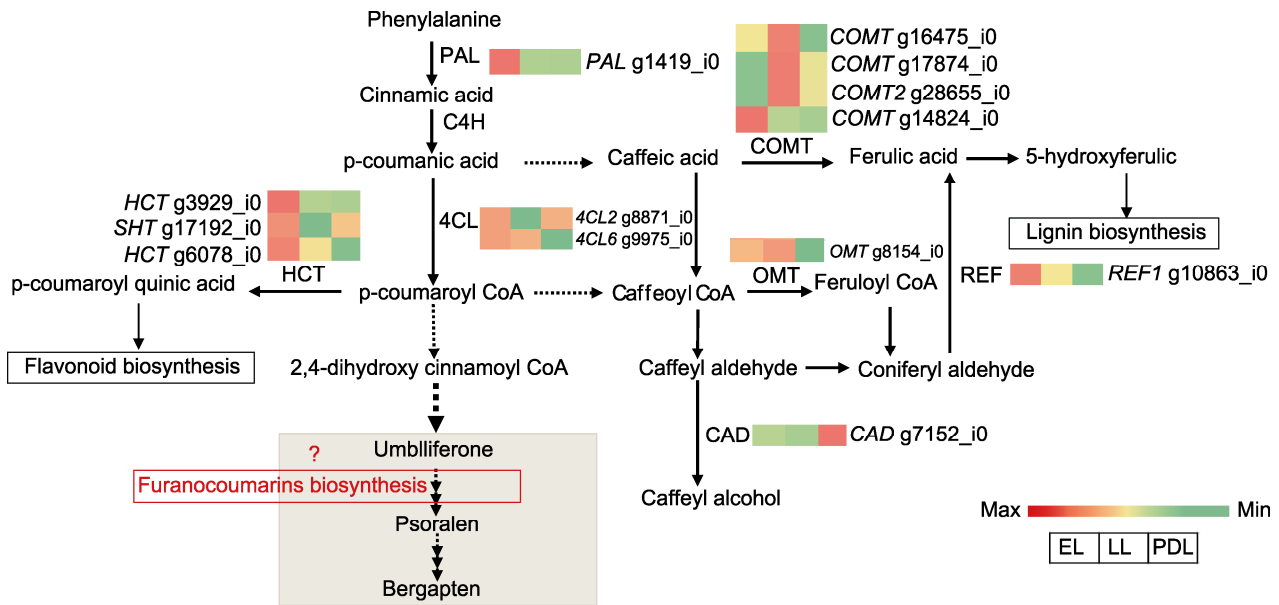


图7 五指毛桃中苯丙烷生物合成通路

PAL: 苯丙氨酸解氨酶; C4H: 肉桂酸4-羟化酶; COMT: 咖啡酸3-O-甲基转移酶; 4CL: 4-香豆素辅酶A连接酶; OMT: 咖啡酰辅酶A O-甲基转移酶; REF: 松柏醛脱氢酶; HCT: 莽草酸O-羟基肉桂酰转移酶; CAD: 肉桂醇脱氢酶。虚线单箭头表示推测步骤; 虚线三箭头表示可能不止一步反应。EL、LL和PDL同图2。

Figure 7 Phenylpropanoid biosynthesis pathway in *Ficus hirta*

PAL: Phenylalanine ammonia-lyase; C4H: Cinnamic acid 4-hydroxylase; COMT: Caffeic acid 3-O-methyltransferase; 4CL: 4-coumarate-CoA ligase; OMT: Caffeoyl-CoA O-methyltransferase; REF: Coniferyl-aldehyde dehydrogenase; HCT: Shikimate O-hydroxycinnamoyl transferase; CAD: Cinnamyl-alcohol dehydrogenase. Dashed single arrows indicate speculation steps; Dashed three arrows indicate more than one step. EL, LL, and PDL are the same as shown in Figure 2.

应外界环境有重要作用。因此,为发掘其抗逆相关的SSR,我们对植物-病原体相互作用通路中差异表达基因与微卫星序列进行连锁分析。通过对不同叶形五指毛桃的基因进行SSR分析,共发现2 940条unigenes分布有SSR位点,包含从单核苷酸到六核苷酸共6种重复位点类型。进一步将连锁条件设置为KEGG注释DEGs与SSR存在于同一unigene中,发现9个基因与SSR序列连锁,它们分别涉及编码病程相关蛋白(disease resistance protein RPM1, RPM1; disease resistance protein RFL1, RFL1)、抗病蛋白(probable disease resistance protein At1g15890, At1g15890)、钙依赖性蛋白激酶(calcium-dependent protein kinase 19, CDPK19; CDPK15)、钙调素类似蛋白(calcium-binding protein CML37, CML37; CML27)、植物呼吸爆发氧化酶(respiratory burst oxidase homolog protein E, AtRBOHE)和WRKY转录因子(WRKY transcription factor 22, WRKY22)。其

中,CDPK19在3个比较组中均与SSR存在连锁关系,CDPK15和CML37均与2个SSRs连锁(表4)。

2.7 qRT-PCR验证转录组测序结果

为了验证转录组测序结果,我们随机选择12个表达变化趋势明显的DEGs进行qRT-PCR检测,其中7个DEGs与植物抗逆性相关,分别是g1845_i0(无机磷酸盐转运蛋白)、g3326_i0(LRR受体类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶)、g6649_i0(蛋白磷酸酶)、g7900_i0(AAA-ATP酶1)、g9650_i0(扩展蛋白A15)、g14593_i0(protein LURP-one-related 17)、g9413_i0(钙依赖性蛋白激酶19)。这些基因大多参与植物生长发育或生物/非生物胁迫响应。例如,磷酸盐转运蛋白参与植物对磷酸盐的吸收和转运,在非生物胁迫下,该蛋白可被诱导表达从而提高植物的抗氧化能力,增强植物对非生物胁迫的耐受性(张学琼等, 2025); LRR受体类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶通过磷酸化其它蛋白质来调

表4 植物-病原体相互作用通路差异表达基因(DEGs)与微卫星序列连锁分析**Table 4** Linkage analysis between differentially expressed genes (DEGs) of the plant-pathogen interaction pathway and microsatellite sequences

| Gene ID (name) | KEGG term | Comparison group | Simple sequence repeats | Logarithmic of expression |
|------------------------------|-----------|------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------|
| g4357_i0 (<i>RPM1</i>) | K13457 | LL_vs_EL | (A) ₁₁ | -1.19 |
| g3815_i0 (<i>RFL1</i>) | K13459 | LL_vs_EL | (AAG) ₆ | 1.23 |
| g419_i0 (<i>At1g15890</i>) | K13459 | LL_vs_EL | (GAAGAT) ₄ | -1.56 |
| g9413_i0 (<i>CDPK19</i>) | K13412 | PDL_vs_EL/PDL_vs_LL/LL_vs_EL | (CAA) ₇ | -9.24/-7.01/-2.22 |
| g10804_i0 (<i>CDPK15</i>) | K13412 | PDL_vs_EL/PDL_vs_LL | (CGA) ₈ , (ACG) ₇ | -8.61/-7.62 |
| g12975_i0 (<i>CML37</i>) | K13448 | PDL_vs_EL/LL_vs_EL | (TGC) ₇ , (AAG) ₇ | -2.67/-3.95 |
| g11722_i0 (<i>CML27</i>) | K13448 | PDL_vs_LL/LL_vs_EL | (TG) ₁₀ | 2.45/-3.17 |
| g2878_i0 (<i>AtRBOHE</i>) | K13447 | LL_vs_EL | (AT) ₁₂ | -1.94 |
| g11426_i0 (<i>WRKY22</i>) | K13425 | PDL_vs_LL/LL_vs_EL | (ACC) ₈ | 2.52/-2.06 |

EL、LL和PDL同图2。EL, LL, and PDL are the same as shown in Figure 2.

节细胞内信号转导途径, 从而影响植物的生长发育及应急防御等(Zhao et al., 2023); 蛋白磷酸酶作为一种参与ABA信号通路的调控因子, 在植物胁迫响应中发挥重要作用(Jung et al., 2020); AAA-ATPases基因家族是一类在真核生物和原核生物中广泛存在且与多种细胞活动有关的ATPase类, 在水稻(*Oryza sativa*)中超表达OsAAA1对稻瘟病和白叶枯病均表现出良好抗性, 表明OsAAA1是一个具有广谱抗性的新基因(Chen et al., 2017)。另5个DEGs为苯丙烷生物合成通路富集基因, 分别为g1419_i0 (苯丙氨酸解氨酶)、g28655_i0 (咖啡酸3-O-甲基转移酶2)、g10863_i0 (松柏醛脱氢酶1)、g3929_i0 (莽草酸O-羟基肉桂酰转移酶)和g7152_i0 (肉桂醇脱氢酶)。qRT-PCR检测结果显示, 这些基因在PDL、LL和EL五指毛桃中的相对表达水平与RNA-seq数据中外显子每千碱基片段百万比(fragments per kilobase of exon model per million mapped fragments)值的变化趋势基本一致(图8), 表明转录组测序结果真实可靠。

3 讨论

3.1 苯丙烷代谢通路与补骨脂素和佛手柑内酯生物合成密切相关

目前, 有关五指毛桃的生长发育、有效成分生物合成与调控以及抗逆等分子机制研究非常有限。陈荣珠等(2021a)对五指毛桃根、茎和叶进行转录组测序, 鉴定出16个参与黄酮类化合物生物合成途径的差异表达基因。本课题组前期对五指毛桃叶片进行转录组测序,

发现叶片中大量unigenes参与药效形成密切相关的生物学过程(唐美琼等, 2023)。然而, 目前有关五指毛桃中主要活性成分补骨脂素和佛手柑内酯的生物合成途径尚不清楚。Zeng和Yu (2022)用氢气处理五指毛桃后, 对其根进行转录组和代谢组联合分析, 发现苯丙烷生物合成途径在五指毛桃响应氢气的过程中发挥主要作用。有研究表明, 植物中香豆素类物质来源于苯丙烷生物合成途径, 大致需经过苯丙氨酸代谢和香豆素形成2个阶段(李凯薇等, 2025)。本研究通过综合分析3个比较组(PDL_vs_EL、PDL_vs_LL和LL_vs_EL)的DEGs, 推测五指毛桃中从苯丙氨酸到呋喃香豆素的母体化合物伞形花内酯形成过程中可能存在多个代谢支路。例如, 中间物质对香豆酸(p-coumaric acid)可形成咖啡酸(caffeic acid), 在COMT等酶的作用下进入木质素生物合成途径; 中间物质对香豆酰辅酶A (p-coumaroyl CoA)也可在HCT的作用下形成对香豆酰奎宁酸, 然后进入黄酮类生物合成途径(图7)。本研究在苯丙烷代谢通路上鉴定到的DEGs包括PAL、4CL、COMT和HCT等基因, 位于补骨脂素/佛手柑内酯生物合成途径上游的通路或支路上, 这些基因的表达影响其母体化合物伞形花内酯的形成及含量。伞形花内酯进一步在C6或C8位置发生异戊烯基取代, 分别形成线型或角型呋喃香豆素。在欧防风(*Pastinaca sativa*)中鉴定到2个异戊烯基转移酶PT, 其中PsPT1主要作用于C6位置的取代并形成线型呋喃香豆素, PsPT2更倾向于C8位置的取代而形成角型呋喃香豆素(Munakata et al., 2016)。伞形花内酯发生C6位异戊烯基取代后, 依次经过MS和PS

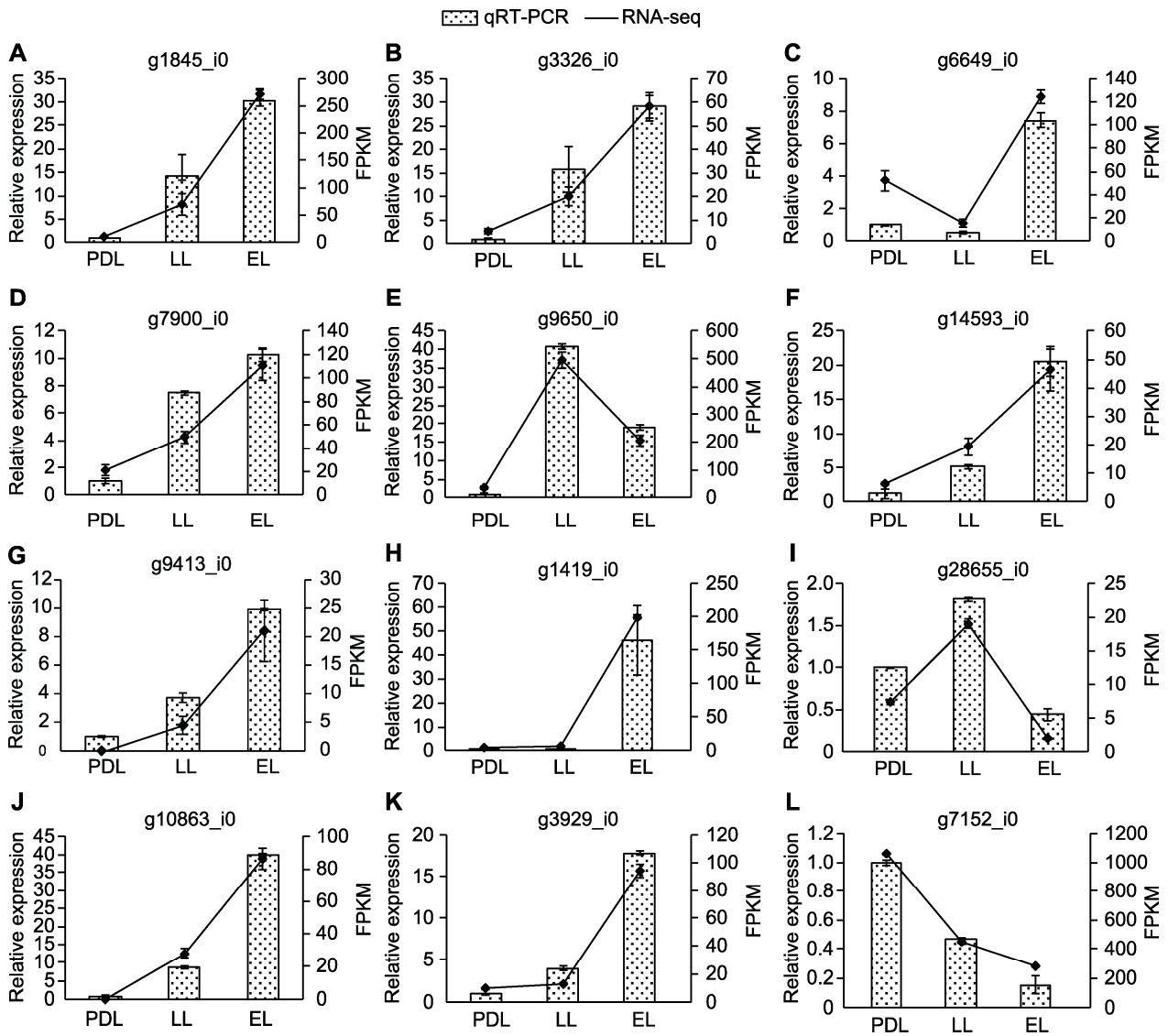


图8 利用qRT-PCR验证转录组结果

(A) g1845_i0, 磷酸无机盐转运蛋白; (B) g3326_i0, LRR受体类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶; (C) g6649_i0, 蛋白磷酸酶; (D) g7900_i0, AAA-ATP酶1; (E) g9650_i0, 扩展蛋白A15; (F) g14593_i0, protein LURP-one-related 17; (G) g9413_i0, 钙依赖性蛋白激酶19; (H) g1419_i0, 苯丙氨酸解氨酶; (I) g28655_i0, 咖啡酸3-O-甲基转移酶2; (J) g10863_i0, 松柏醛脱氢酶1; (K) g3929_i0, 莽草酸O-羟基肉桂酰转移酶; (L) g7152_i0, 肉桂醇脱氢酶。EL、LL和PDL同图2。FPKM: 外显子每千碱基片段百万比

Figure 8 Verification of transcriptome results through qRT-PCR

(A) g1845_i0, inorganic phosphate transporter; (B) g3326_i0, LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase; (C) g6649_i0, protein phosphatase; (D) g7900_i0, AAA-ATPase 1; (E) g9650_i0, expansin-A15; (F) g14593_i0, protein LURP-one-related 17; (G) g9413_i0, calcium-dependent protein kinase 19; (H) g1419_i0, phenylalanine ammonia-lyase; (I) g28655_i0, caffeic acid 3-O-methyltransferase 2; (J) g10863_i0, coniferyl-aldehyde dehydrogenase 1; (K) g3929_i0, shikimate O-hydroxycinnamoyl transferase; (L) g7152_i0, cinnamyl-alcohol dehydrogenase. EL, LL, and PDL are the same as shown in Figure 2. FPKM: Fragments per kilobase of exon model per million mapped fragments

催化作用后形成补骨脂素, 在无花果(*F. carica*)中已发现MS是去甲基软木花椒素转化为异紫花前胡内酯的关键酶 (Villard et al., 2021)。在白花前胡

(*Peucedanum praeputorum*)中已证实PS是异紫花前胡内酯转化为补骨脂素的关键酶(Jian et al., 2020)。补骨脂素在不同酶的作用下, 可进一步生成花椒毒

醇、佛手酚、花椒毒素和佛手柑内酯等物质,但具体哪些酶发挥主导作用还不清楚(Bourgau et al., 2006)。相比苯丙氨酸代谢通路,呋喃香豆素合成过程的许多细节还在探索之中。综合分析表明,从起始物苯丙氨酸到香豆素类物质的母体化合物伞形花内酯,再到补骨脂素/佛手柑内酯的形成,整个过程非常复杂,存在多个代谢支路,受大量基因调控,但目前五指毛桃中尚未见相关报道。本研究鉴定到苯丙烷代谢通路上的DEGs均位于香豆素类物质生物合成途径的上游, *PAL*、*HCT*和*OMT*等基因在全缘型(EL)五指毛桃中的FPKM值均高于五指深裂型(PDL)(图7), qRT-PCR结果也表现出与FPKM值变化相一致的趋势(图8),但LC-MS结果显示补骨脂素在EL五指毛桃中的含量低于PDL,佛手柑内酯在二者之间无差异(表2)。综上我们推测,一方面可能是下游途径中基因的表达影响补骨脂素的生物合成,导致PDL五指毛桃中形成更多的补骨脂素;另一方面,由于补骨脂素不是最终产物,EL五指毛桃中的补骨脂素可能被转化为佛手柑内酯。

3.2 植物-病原体相互作用通路在补骨脂素和佛手柑内酯积累中发挥重要作用

植物为固着生物,在长期应对生物/非生物胁迫过程中进化出多种防御机制(Du et al., 2024)。本研究中对3个比较组(PDL_vs_EL、PDL_vs_LL和LL_vs_EL)的DEGs进行KEGG富集分析,发现植物-病原体相互作用通路的DEGs数量最多,暗示该通路在五指毛桃适应外界环境中可能起重要作用。本研究检测的SSR存在于发生转录的基因序列中,其可能与基因功能直接相关,从而与性状的形成相关,可广泛用于植物育种和亲缘关系研究(Wang et al., 2007; 何杰丽等, 2019; 杨梦婷等, 2019; 王建婷等, 2021)。因此,本研究进一步结合SSR分析,从植物-病原体相互作用通路中鉴定到9个DEGs与SSR存在连锁关系,它们可分为病程相关蛋白、抗病蛋白、钙依赖性蛋白激酶、钙调素类似蛋白、植物呼吸爆发氧化酶和转录因子6类(表4)。值得注意的是, *CDPK19*在3个比较组中均与SSR有连锁关系,且在3种叶形五指毛桃中的表达量存在显著差异,以PDL五指毛桃中的表达量最低(图8)。钙依赖性蛋白激酶是植物特有的一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,既参与植物的生长发育,也受植物激

素、低温、干旱和病原菌等诱导并通过磷酸化下游相互作用因子来响应逆境(Mittal et al., 2017)。利用qRT-PCR验证转录组结果,随机挑选7个基因g1845_i0、g3326_i0、g6649_i0、g7900_i0、g9650_i0、g14593_i0和g9413_i0,研究表明它们参与调控植物生长发育和生物/非生物胁迫响应(Chen et al., 2017; Baig, 2018; Jung et al., 2020; Samalova et al., 2022; Zhao et al., 2023; 张学琼等, 2025),且在PDL五指毛桃中的表达量最低(图8),暗示PDL五指毛桃的抗逆能力可能弱于EL和LL。研究表明,逆境促进植物次生代谢物质积累,而大多数积累呋喃香豆素的植物都具有高度可诱导的生物合成途径,该途径由各种生物和非生物胁迫触发(Katz et al., 1998; Hagemeyer et al., 1999),而补骨脂素等线型呋喃香豆素被认为是一种有效的植物抗毒素和化感化合物(Beier and Oertli, 1983)。因此,我们推测这些抗性相关基因在PDL五指毛桃中的低表达从某种程度上诱导补骨脂素/佛手柑内酯的积累以适应外界环境,植物-病原体相互作用通路可能在诱导五指毛桃补骨脂素/佛手柑内酯的生物合成与积累中发挥重要作用。

3.3 叶形与补骨脂素/佛手柑内酯生物合成和积累的潜在联系

叶片是植物吸收光能和二氧化碳产生碳水化合物的主要器官,也是对环境变化最敏感和可塑性最强的器官,其形态结构在不同的生态条件下进化和变化,以适应外界环境(Chitwood and Sinha, 2016)。五指毛桃具有丰富的遗传多样性,其叶片形状变异很大(Lu et al., 2022),但其叶形变化是否与药材质量存在相关性还不清楚。研究表明,植物叶形对药材质量有影响。例如,药食两用植物紫苏(*Perilla frutescens*)的叶形是其作为药用/食用的重要鉴定依据,药用紫苏的叶片褶皱、卷曲、边缘呈锯齿状,而食用紫苏的叶片无褶皱、边缘光滑无锯齿状(Shen et al., 2020)。本研究表明,不同叶形五指毛桃的主要活性物质含量存在差异,且PDL五指毛桃的补骨脂素含量显著高于EL和LL; EL和PDL五指毛桃的佛手柑内酯含量显著高于LL(表2),综合分析表明, PDL五指毛桃的主要活性物质含量最高。本研究结果与温玲等(2008)的研究结果类似,即不同叶形五指毛桃中补骨脂素含量存在差异;但与桂青等(2018)的研究结果不同,其原因可能

与样品的产地、种植条件及采集时间等因素有关。环境因子影响五指毛桃有效成分的积累(陈荣珠等, 2022)。基于此, 我们建议后续可增加采样地点, 以及不同种植环境、不同采集时间下各叶形五指毛桃样本量, 以进一步明确叶形变化与五指毛桃药材质量的相关性。研究表明, 叶片表皮毛具有保护植物免受昆虫和病原体侵害以及减轻机械损伤和紫外光伤害等作用, 比较EL、LL和PDL叶片表皮毛形态, 发现PDL叶片的表皮毛长度和密度均最小, 自我保护能力最弱(陶瑜等, 2019)。脯氨酸是在植物中广泛分布的渗透保护物质, 脯氨酸的积累能够提高植物对环境胁迫的耐受力, EL、LL和PDL叶片中脯氨酸含量呈现LL>EL>PDL的趋势, 且三者之间差异显著, 因此LL叶片的抗胁迫能力最强(陶瑜等, 2019)。总酚含量可作为初步判定不同叶形五指毛桃抗氧化能力的一个重要指标, 多酚具有很好的抗氧化活性, 不同叶形五指毛桃的总酚含量和多酚氧化酶活性均不同, PDL五指毛桃根、茎和叶总酚含量以及多酚氧化酶活性均低于其它叶形(陈荣珠等, 2021a)。形态和生理学研究表明, PDL五指毛桃的抗逆性弱于EL和LL, 结合本研究3种叶形五指毛桃的补骨脂素和佛手柑内酯含量测定结果(表2)及抗逆相关基因的表达水平(图8), 我们推测PDL五指毛桃形态和生理上的低自我保护能力以及抗逆相关基因的低表达, 可能与其次生代谢物质(如补骨脂素)的生物合成与积累存在潜在联系, 其自我保护能力较弱, 需要积累更多补骨脂素/佛手柑内酯以增强防御反应, 尚待进一步证实。

4 结论

本研究以种植3年的全缘型、浅裂型和五指深裂型五指毛桃为研究对象, 明确了不同叶形五指毛桃根中补骨脂素和佛手柑内酯的含量存在差异, 其中以五指深裂型五指毛桃中的补骨脂素含量最高, 为 $(0.5114 \pm 0.0684) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 全缘型五指毛桃中佛手柑内酯含量最高, 为 $(0.1144 \pm 0.0066) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。利用转录组测序从PDL_vs_EL、PDL_vs_LL和LL_vs_EL比较组分别获得2 355、2 067和2 001个差异表达基因。苯丙烷生物合成通路和植物-病原体相互作用通路可能在五指毛桃主要活性物质补骨脂素/佛手柑内酯的生物合成与积累中具有重要作用。研究结果为五指毛桃种质

鉴定和优良品种选育提供了重要依据。

作者贡献声明

唐美琼: 设计并完成实验, 撰写论文初稿; 梁春英: 完成实验; 胡营, 林杨, 韦范, 梁莹: 分析数据; 李林轩: 修改论文; 李刚: 构思、审阅及修订论文。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests: The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

参考文献

- 陈庆梅, 周琼, 庾韦花 (2023). 广西五指毛桃产业发展的SWOT分析及建议. 南方农业 17(13), 206–210.
- 陈荣珠, 李珍, 林美珍, 王小平, 赖钟雄 (2021a). 五指毛桃转录组及黄酮类化合物生物合成关键基因分析. 热带作物学报 42, 675–684.
- 陈荣珠, 王小平, 高伟城, 李珍 (2022). 不同产地五指毛桃根中补骨脂素、芹菜素、佛手柑内酯含量的比较. 中医临床研究 14(8), 124–127.
- 陈荣珠, 王小平, 李珍 (2021b). 不同叶型五指毛桃总酚含量和多酚氧化酶及抗氧化活性的比较分析. 福建热作科技 46(4), 14–17, 28.
- 段珍, 吴凡, 闫启, 张吉宇 (2022). 植物香豆素生物合成途径及关键酶基因研究进展. 草业学报 31, 217–228.
- 桂青, 周立军, 郑定华, 潘剑, 黄坚雄, 袁淑娜 (2018). 橡胶林下不同叶型五指毛桃中活性成分的研究. 食品工业 39(11), 188–191.
- 何杰丽, 石甜甜, 陈凌, 王海岗, 高志军, 杨美红, 王瑞云, 乔治军 (2019). 糜子EST-SSR分子标记的开发及种质资源遗传多样性分析. 植物学报 54, 723–732.
- 洪维, 郑妍, 张干荣, 黄碧金, 曾昭佳 (2020). 碳汇林套种五指毛桃的林下经济经营模式研究——以广东省九连山林场五指毛桃特色经济林基地为例. 林业与环境科学 36(3), 100–104.
- 李凯薇, 庄以彬, 唐俊, 范晓光, 毕慧萍, 刘涛 (2025). 植物苯丙素类天然产物生物合成研究进展. 中国科学: 生命科学 55, 647–660.
- 刘文美 (2024). 五指毛桃乳酸菌发酵制品制备工艺优化. 食

- 品安全导刊 (23), 124–126, 163.
- 马雅静, 刘焕, 史晶晶, 尚明英, 李耀利, 刘广学, 徐风, 蔡少青 (2017). 五指毛桃的质量标准研究. *中草药* **48**, 782–791.
- 秦译炜, 郭志坚, 罗庆群, 肖亚聪, 刘家华, 马骥 (2008). 广州白云山五指毛桃叶型变异情况的调查. *科技创新导报* (34), 83–84.
- 唐美琼, 林杨, 李刚, 胡营, 韦筱媚, 马梅冰, 吴庆华, 施力军, 李林轩, 缪剑华 (2023). 基于RNA-Seq高通量测序的五指毛桃叶片转录组特征分析. *分子植物育种*. 2023.09.14 <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20230906.1949.008>.
- 陶瑜, 劳景莉, 于旭东, 蔡泽坪, 胡金彪, 罗佳佳 (2019). 不同叶型五指毛桃的形态及生理指标测定. *分子植物育种* **17**, 4080–4088.
- 田茂秀, 高雅莉, 岑小妹, 田茂靖, 黄国旅, 莫子洪, 兰文明, 吴丽娜 (2023). 马尾松林下种植五指毛桃的生长性状及最佳采收期研究. *绿色科技* **25**(3), 119–123.
- 王建婷, 刘广达, 吴归, 安天琪, 李娜 (2021). 微型月季抗性基因表达与微卫星序列连锁分析. *安徽农业科学* **49**(21), 124–127, 132.
- 王晓敏 (2012). 五指毛桃的免疫活性研究及其功能性产品开发. 硕士论文. 广州: 华南师范大学. pp. 19–20.
- 温玲, 吴华碧, 杨文豪, 梁苇颜, 刘沙, 马骥 (2008). 不同叶型不同采收部位五指毛桃中补骨脂素含量的测定. *时珍国医国药* **19**, 687–688.
- 杨梦婷, 黄洲, 干建平, 徐君驰, 庞基良 (2019). SSR分子标记的研究进展. *杭州师范大学学报(自然科学版)* **18**, 429–436.
- 叶亚娜, 燕青, 李文秀, 贺军军, 罗萍, 张华林 (2024). 五指毛桃化学成分、提取工艺和药理作用研究进展. *药学研究* **43**, 1001–1007, 1028.
- 袁淑娜, 涂寒奇, 潘剑, 黄坚雄, 王秀全 (2023). 种植方式和种植年限对五指毛桃植株生物量和矿质元素含量的影响. *热带作物学报* **44**, 2043–2050.
- 曾晓春, 陈淑慧, 赖斯娜, 陈建 (2002). 粗叶榕的镇咳、祛痰、平喘作用. *中国中医药信息杂志* **9**(2), 30–32.
- 曾信平, 李茹柳, 梁欣仪, 朱惠彬, 张东, 罗蒙, 谢海媚, 胡玲 (2020). 从细胞连接蛋白角度探讨五指毛桃防治胃黏膜损伤的作用机制. *中药新药与临床药理* **31**, 583–589.
- 张宏伟, 李渠筹, 张淑园, 马骥 (2013). 华南植物园五指毛桃百年标本调查分析. *海峡药学* **25**(12), 54–56.
- 张学琼, 潘素君, 李魏, 戴良英 (2025). 植物磷酸盐转运蛋白在胁迫响应中的研究进展. *生物技术通报* **41**(7), 28–36.
- 张志超, 刘江红, 潘远安 (2017). 五指毛桃与黄芪提取物对免疫抑制小鼠细胞免疫的影响. *中国民族民间医药* **26**(5), 58–59.
- Baig A (2018). Role of *Arabidopsis LOR1* (*LURP-one* related one) in basal defense against *Hyaloperonospora arabidopsidis*. *Physiol Mol Plant Pathol* **103**, 71–77.
- Beier RC, Oertli EH (1983). Psoralen and other linear furocoumarins as phytoalexins in celery. *Phytochemistry* **22**, 2595–2597.
- Bourgau F, Hehn A, Larbat R, Doerper S, Gontier E, Kellner S, Matern U (2006). Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochem Rev* **5**, 293–308.
- Chen W, Gong L, Guo ZL, Wang WS, Zhang HY, Liu XQ, Yu SB, Xiong LZ, Luo J (2013). A novel integrated method for large-scale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: application in the study of rice metabolomics. *Mol Plant* **6**, 1769–1780.
- Chen YH, Dai K, Zhang H, Wu YH, Wang CT, Liu XQ, Liu XQ (2017). Spectroscopic and molecular docking study on the interaction between salicylic acid and the induced disease-resistant protein OsAAA1 of rice. *Spectrochim Acta Pt A Mol Biol Spectrosc* **173**, 1001–1006.
- Chitwood DH, Sinha NR (2016). Evolutionary and environmental forces sculpting leaf development. *Curr Biol* **26**, R297–R306.
- Du BG, Haensch R, Alfarraj S, Rennenberg H (2024). Strategies of plants to overcome abiotic and biotic stresses. *Biol Rev* **99**, 1524–1536.
- Hagemeyer J, Batz O, Schmidt J, Wray V, Hahlbrock K, Strack D (1999). Accumulation of phthalides in elicitor-treated cell suspension cultures of *Petroselinum crispum*. *Phytochemistry* **51**, 629–635.
- Jian XY, Zhao YC, Wang ZW, Li S, Li L, Luo J, Kong LY (2020). Two CYP71AJ enzymes function as psoralen synthase and angelicin synthase in the biosynthesis of furanocoumarins in *Peucedanum praeruptorum* Dunn. *Plant Mol Biol* **104**, 327–337.
- Jung C, Nguyen NH, Cheong JJ (2020). Transcriptional regulation of protein phosphatase 2C genes to modulate abscisic acid signaling. *Int J Mol Sci* **21**, 9517.
- Katz VA, Thulke OU, Conrath U (1998). A benzothiadiazole primes parsley cells for augmented elicitation of defense responses. *Plant Physiol* **117**, 1333–1339.
- Lu Y, Chen JL, Chen B, Liu QQ, Zhang HL, Yang LY, Chao Z, Tian EW (2022). High genetic diversity and low population differentiation of a medical plant *Ficus hirta* Vahl., uncovered by microsatellite loci: implications for conservation and breeding. *BMC Plant Biol* **22**, 334.
- Mittal S, Mallikarjuna MG, Rao AR, Jain PA, Dash PK,

- Thirunavukkarasu N** (2017). Comparative analysis of CDPK family in maize, *Arabidopsis*, rice, and sorghum revealed potential targets for drought tolerance improvement. *Front Chem* **5**, 115.
- Munakata R, Olry A, Karamat F, Courdavault V, Sugiyama A, Date Y, Krieger C, Silie P, Foureau E, Papon N, Grosjean J, Yazaki K, Bourgaud F, Hehn A** (2016). Molecular evolution of parsnip (*Pastinaca sativa*) membrane-bound prenyltransferases for linear and/or angular furanocoumarin biosynthesis. *New Phytol* **211**, 332–344.
- Quan T, Zhou FY, Chen HY, Jian LN, Yang YX, Xia F, Xiang SJ, Zhou BJ, Li SS** (2022). *Ficus hirta* Vahl. ameliorates nonalcoholic fatty liver disease through regulating lipid metabolism and gut microbiota. *Oxid Med Cell Longev* **2022**, 3474723.
- Samalova M, Gahurova E, Hejatko J** (2022). Expansion-mediated developmental and adaptive responses: a matter of cell wall biomechanics? *Quant Plant Biol* **3**, e11.
- Shen Q, Zhang D, Zhang TY, Xu YY, Zhao DG** (2020). Comparative transcriptome and co-expression analysis reveal key genes involved in leaf margin serration in *Perilla frutescens*. *Chin Herb Med* **12**, 265–272.
- Villard C, Munakata R, Kitajima S, van Velzen R, Schranz ME, Larbat R, Hehn A** (2021). A new P450 involved in the furanocoumarin pathway underlies a recent case of convergent evolution. *New Phytol* **231**, 1923–1939.
- Wang HY, Wei YM, Yan ZH, Zheng YL** (2007). EST-SSR DNA polymorphism in durum wheat (*Triticum durum* L.) collections. *J Appl Genet* **48**, 35–42.
- Zeng JQ, Yu H** (2022). Integrated metabolomic and transcriptomic analyses to understand the effects of hydrogen water on the roots of *Ficus hirta* Vahl. *Plants* **11**, 602.
- Zhao XY, Zhang KP, Zhang HD, Bi MX, He Y, Cui YQ, Tan CH, Ma J, Qi MF** (2023). Tomato *short internodes and pedicels* encode an LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase ERECTA regulating stem elongation through modulating gibberellin metabolism. *Front Plant Sci* **14**, 1283489.

Comparative Analysis of Psoralen and Bergapten Contents and Transcriptome Characterization in *Ficus hirta* with Different Leaf Shapes

Meiqiong Tang¹, Chunying Liang², Ying Hu¹, Yang Lin¹, Fan Wei¹, Ying Liang¹, Linxuan Li^{1*}, Gang Li^{1*}

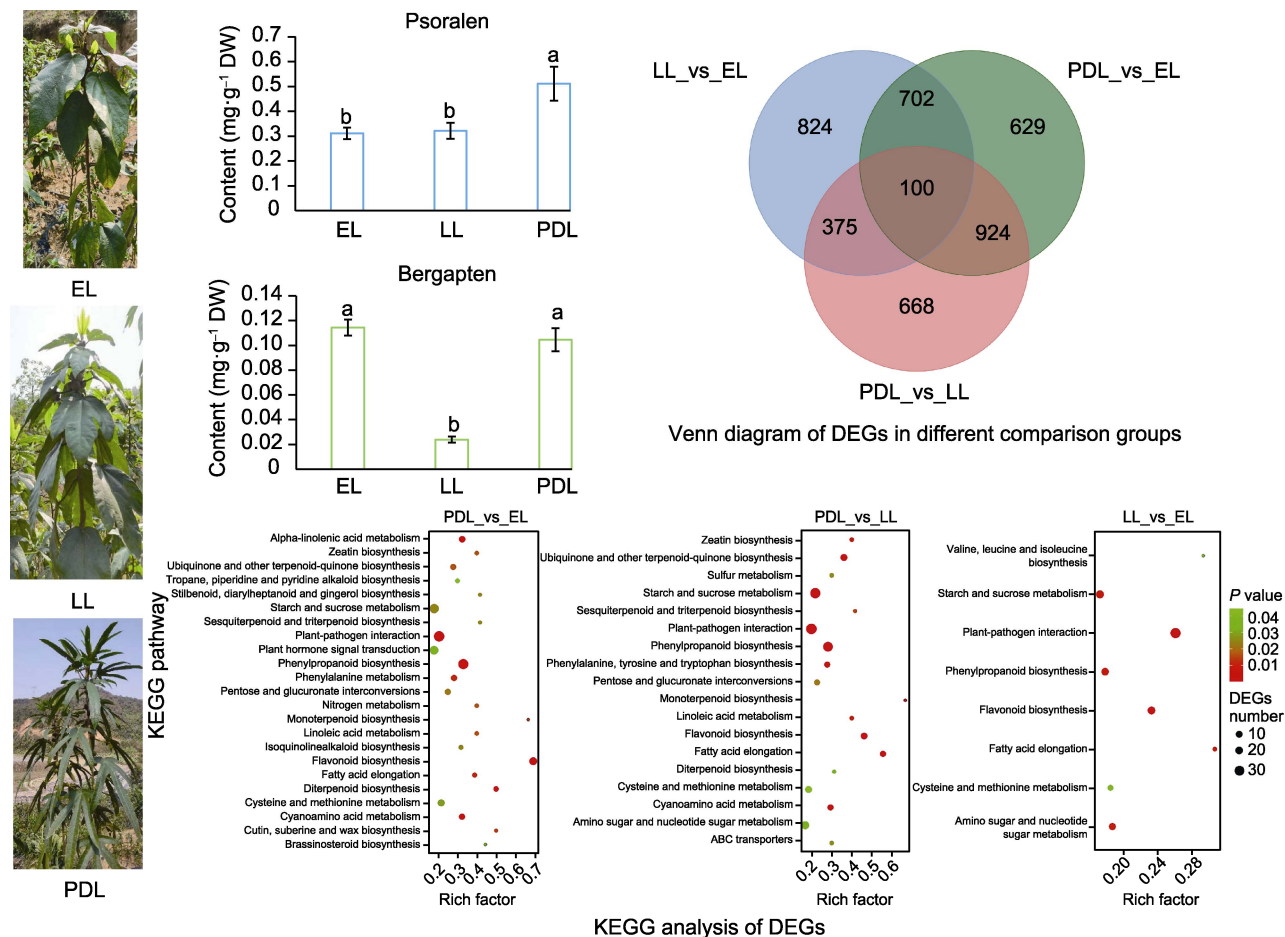
¹Guangxi Engineering Research Center of TCM Resource Intelligent Creation, Guangxi Key Laboratory of Medicinal Resources Protection and Genetic Improvement, National Engineering Research Center for Southwest Endangered Medicinal Materials Resources Development, National Center for TCM Inheritance and Innovation, Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Nanning 530023, China; ²College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530004, China

INTRODUCTION: *Ficus hirta* is a common Chinese herbal medicine and edible plant resource in the Lingnan area of China. It contains coumarins, flavonoids and other chemical compounds, which have antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, antiviral and antitumor effects. However, *F. hirta* exhibits significant morphological variation in leaf shapes due to its high genetic diversity.

RATIONALE: To investigate the relationship between leaf shape differences and the contents of major active compounds, LC-MS/MS was performed to determine the contents of psoralen and bergapten in *F. hirta* roots from three different leaf shapes (entire leaf (EL), lobed leaf (LL), and palmately deeply lobed leaf (PDL)), and transcriptome sequencing was further employed to explore the potential molecular mechanisms underlying these content variations.

RESULTS: The results showed that PDL exhibited significantly higher psoralen content than EL and LL, while EL had significantly higher bergapten content than LL, but no significant difference was observed between EL and PDL. A total of 60.9 Gb clean reads were obtained, and 46 194 unigenes were assembled. *F. hirta* had the highest homology with *Morus notabilis*, according to the homologous sequencing alignment. A total of 2 355, 2 067 and 2 001 differentially expressed genes (DEGs) were screened from three comparison groups, PDL_vs_EL, PDL_vs_LL, and LL_vs_EL, respectively. These DEGs were primarily enriched in pathways such as phenylpropanoid biosynthesis, starch and sucrose metabolism, and plant-pathogen interactions.

CONCLUSION: There were differences in the contents of psoralen and bergapten among the three leaf shapes of *F. hirta*. The phenylpropanoid biosynthesis and plant-pathogen interaction pathways may play crucial roles in the biosynthesis and accumulation of psoralen and bergapten in *F. hirta*. This study preliminarily revealed the correlation between the leaf morphology and major active compounds of *F. hirta* and extended its public transcriptome database, which will provide a reference for further utilizing different leaf shapes of *F. hirta* germplasm resources and quality breeding.



Comparative analysis of psoralen and bergapten contents and transcriptome characterization in *Ficus hirta* with three different leaf shapes (entire leaf (EL), lobed leaf (LL), and palmately deeply lobed leaf (PDL)). 2 355, 2 067 and 2 001 differentially expressed genes (DEGs) were identified from three comparison groups PDL_vs_EL, PDL_vs_LL, and LL_vs_EL, respectively. The phenylpropanoid biosynthesis and plant-pathogen interaction pathway may play crucial roles in the biosynthesis and accumulation of psoralen and bergapten in *F. hirta*.

Key words *Ficus hirta*, leaf shape, active ingredients, LC-MS/MS, transcriptome

Tang MQ, Liang CY, Hu Y, Lin Y, Wei F, Liang Y, Li LX, Li G (2026). Comparative analysis of psoralen and bergapten contents and transcriptome characterization in *Ficus hirta* with different leaf shapes. *Chin Bull Bot* 61, 223–237.

* Authors for correspondence. E-mail: lilinxuan1125@163.com; lggxu07@hotmail.com

(责任编辑: 白羽红)

通讯作者简介

李林轩, 正高级工程师。主要从事药用植物保育研究。

李刚, 博士, 副研究员。主要从事药用植物遗传育种相关研究。主持国家自然科学基金1项, 广西科学研究与技术开发项目1项, 广西自然科学基金2项。