

田佳启,王树彦,旭 日,等. 基于转录组测序挖掘藜麦三萜皂苷合成相关基因[J]. 江苏农业科学,2026,54(13):110-118.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2026.13.013

基于转录组测序挖掘藜麦三萜皂苷合成相关基因

田佳启¹, 王树彦¹, 旭 日², 范晓林³, 郭占斌⁴, 刘瑞香², 李名娟¹, 岳 辉¹

(1. 内蒙古农业大学农学院, 内蒙古呼和浩特 010019; 2. 内蒙古农业大学沙漠治理学院, 内蒙古呼和浩特 010019;

3. 内蒙古自治区武川县气象局, 内蒙古呼和浩特 011700; 4. 内蒙古蒙农藜麦产业研究院, 内蒙古呼和浩特 010010)

摘要:为系统探究藜麦三萜皂苷的生物合成关键调控基因及代谢通路,解析其分子调控机制,为藜麦皂苷代谢调控研究及低皂苷品种的选育提供理论依据,通过测定 30 份藜麦品系的总皂苷含量,筛选出总皂苷含量差异显著的 QB9 和 QB10 品系,进行转录组测序技术分析。2 个品系间共鉴定到 2 304 个差异表达基因,其中 789 个基因显著上调,1 515 个基因显著下调。KEGG 富集结果中存在 4 条与三萜皂苷生物合成相关的代谢通路,其中萜类骨架生物合成途径、倍半萜和三萜生物合成途径是藜麦三萜皂苷形成的关键合成通路。4 条合成通路共富集到与藜麦皂苷生物合成相关基因 22 个。在藜麦皂苷生物合成途径中的前体物质合成阶段,基因 LOC110692772、LOC110732629、LOC110713460 在此阶段发挥关键作用。在三萜骨架形成阶段,基因 LOC110705162、LOC110705167、LOC110707032 参与其中。在皂苷元修饰阶段,LOC110714192、LOC110725244 赋予三萜骨架功能多样性。这些发现为深入解析藜麦皂苷生物合成的分子机制提供了重要线索。

关键词:藜麦;三萜皂苷;转录组测序;差异表达基因;qTR-PCR;生物合成

中图分类号:S188;S519.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2026)13-0110-09

藜麦(*Chenopodium quinoa* Willd)为苋科藜属一年生双子叶植物^[1],原产于南美洲安第斯山脉^[2-3]。藜麦具有耐寒、耐旱、耐盐碱等特点^[4],对生物和非生物胁迫表现出优异的抗性^[5]。藜麦富含蛋白质、矿物质等多种营养物质^[6-7],以及黄酮、皂苷等多种生物活性物质^[7-8]。藜麦皂苷是三萜化合物生物合成途径中重要的次生代谢产物^[9-10],广泛存在于藜麦的叶片、种皮等器官中^[11],具有抗氧化、降血糖等多种药理活性^[12-13]。随着分子生物学技术的不断发展,对植物次生代谢途径及其调控机制的研究成为热点^[14]。研究藜麦皂苷相关基因的转录表达,有助于揭示皂苷合成的分子机制,为其他植物次生代谢产物的研究提供借鉴和参考。

近年来,转录组学分析已被广泛应用于多种植物三萜皂苷生物合成途径的研究中^[15]。例如甘草^[16]、人参^[17]、罗汉果^[18]、岗梅^[19]、刺五加^[20]、桔梗^[21]等物种中,相关研究丰富了三萜皂苷生物合成关键基因的资源库。利用转录组学和蛋白组学关联分析,Zhan 等以鹅掌草为研究对象,筛选出 126 个 CYP450 和 32 个 UGT 基因^[22]。姜晓东等以陇藜 1 号为材料,利用 RT-PCR 技术成功筛选出鲨烯合酶和 β -香树酯醇合成酶基因^[23]。Jennifer 等发现皂苷生物合成关键基因 *CqbaSL* 的表达可经茉莉酸甲酯处理后被显著诱导表达^[24]。Jarvis 等以鹅藜麦为试验材料,借助连锁图和 BSA 方法,在 CqB16 染色体上定位到 2 个调控三萜皂苷合成的转录因子基因 *TSARL1* 和 *TSARL2*^[25-26]。

现有藜麦皂苷的研究,主要围绕于皂苷的提取、分离及纯化工艺,而关于其生物合成途径的分子机制研究仍处于初步探索阶段。仅有少数关键酶基因被初步鉴定,但藜麦三萜皂苷合成的完整代谢网络、关键限速步骤及调控因子尚未系统解析。基于此,本研究以 30 份藜麦品系为材料,测定其总皂苷含量,从中筛选出总皂苷含量差异显著的 QB9 和 QB10 品系进行转录组测序分析,通过基因功能注释、代谢通路等分析,挖掘参与藜麦三萜皂苷合

收稿日期:2025-07-15

基金项目:内蒙古自治区燕麦藜麦现代农牧业产业技术体系建设专项(编号:IMARS-03-G-07);内蒙古自然科学基金(编号:2024LHMS03050);呼和浩特市应用技术与开发资金项目(编号:2023-农-1)。

作者简介:田佳启(2000—),女,内蒙古乌兰察布人,硕士研究生,主要从事藜麦种质资源创新与遗传改良相关研究。E-mail:2717706922@qq.com。

通信作者:王树彦,博士,教授,主要从事藜麦种质资源创新与遗传改良研究。E-mail:wangshuyan2006@163.com。

成的关键通路及相关基因,为后续深入探究皂苷合成相关基因功能、明确代谢通路调控机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究以内蒙古蒙农藜麦产业研究院提供的 30 份藜麦品系为试验材料,于 2024 年 5 月在内蒙古呼和浩特市武川县西乌兰不浪镇东后河村(40°47′~41°23′N,110°31′~111°53′E)开展田间试验。该地区属温带大陆性季风气候,年平均气温 5.3 ℃,年平均降水量为 511 mm。土壤类型为栗钙土,适宜藜麦种植。

1.2 试验方法

试验采用单因素随机区组设计,小区面积 6 m²,株距 20 cm,行距 50 cm。全生育期按大田常规管理措施进行统一管理。于成熟期分别收取各品系穗部籽粒样品,每个品系设 3 次生物学重复。测定所有品系的总皂苷含量后,选择含量差异显著的 2 个品系进行转录组测序分析。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 藜麦总皂苷含量的测定 本研究选用 Boxbio-AKOT006M 总皂苷含量检测试剂盒,以齐墩果酸作为标准品,建立标准曲线 $y = 0.0037x - 0.015$, $r^2 = 0.9991$,运用香草醛-冰醋酸法测定藜麦籽粒的总皂苷含量。该方法借助超声波辅助提取技术,利用皂苷在酸性条件下与香草醛发生特异性显色反应,通过测定 589 nm 处吸光度的变化,实现对总皂苷含量的精准定量分析。总皂苷含量按下列公式计算:

$$\text{总皂苷含量}(\text{mg/g}) = \frac{270.27 \times (\Delta A + 0.0042)}{W} \times 1000.$$

式中:270.27 为待测样本总体积;W 为样本重,g。

1.3.2 转录组学分析 选取总皂苷含量差异显著的 2 份藜麦籽粒材料,提取总 RNA 并检测合格后,委托北京诺禾致源科技股份有限公司进行测序。利用 Oligo(dT) 磁珠从藜麦籽粒总 RNA 中富集出 mRNA。将 mRNA 片段化后作为模板,逆转录合成双链 cDNA。对 cDNA 进行末端修复、加 A 尾并连接测序接头,并通过 PCR 扩增完成文库构建。对构建好的文库进行质量评估和精确定量,质检合格后使用 Illumina NovaSeq 6000 平台进行上机测序。对测序后的数据进行过滤,得到高质量的 clean reads。将 clean reads 与藜麦参考基因组(ASM168347v1)进行对比分析。使用 DESeq2 筛选不同样本间的显著差异基因(DEG),进行后续结果分析。

1.3.3 qRT-PCR 分析 对 QB9 和 QB10 品系藜麦籽粒的 RNA 进行提取,使用 MightyScript 第一链 cDNA 合成 Master Mix(去基因组 DNA)试剂盒对提取的总 RNA 逆转录为 cDNA,以 cDNA 为模板,使用 SGExcel FastSYBR qPCR 预混液试剂盒对候选基因进行 qRT-PCR 检测。根据转录测序数据中的 CDS 序列,使用 Primer 5.0 进行引物设计,qPCR 引物序列如表 1 所示。使用藜麦 *CqActin1* 为内参基因,基因表达量使用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 公式计算。qRT-PCR 反应程序为:95 ℃ 预变性 3 min;95 ℃ 变性 5 s,60 ℃ 退火 20 s,72 ℃ 延伸 30 s,设置 40 次循环。熔解曲线为 95 ℃,15 s;60 ℃,1 min;设置升温速度为 0.5 ℃/15 s。qRT-PCR 试验设置 3 次重复。

表 1 用于 qRT-PCR 检测的目的基因与引物序列

引物名称	引物序列(5'→3')
<i>CqActin1</i> - F	F:ATTGAGCGTCTACCTACACTA;R:TGGTCTGGAACCTATTCACATC
<i>LOC110733209</i> - F	F:GGCAGTTCATAGGTGGGACT;R:ATGACCTGCCTTCTTCAGCT
<i>LOC110688005</i> - F	F:TCCTTGACCATGGTAGCGTT;R:AAAGACGGAAGGAGCCAGAA
<i>LOC110707032</i> - F	F:GAGACCCGGAATTCATTGGC;R:ACCCTGAAGATCGAGCACAT
<i>LOC110732629</i> - F	F:TCCTTGACCATGGTAGCGTT;R:AAAGACGGAAGGAGCCAGAA
<i>LOC110713460</i> - F	F:TGGACCCTTTGAGCTCGAAT;R:TACACCAACTCGACCAAGCT
<i>LOC110692772</i> - F	F:ATAACTTCCCCACTGCTGCT;R:CACTGCTTCTCATCTGCGAC

2 结果与分析

2.1 不同藜麦品系总皂苷含量变化

本研究对 30 份藜麦品系的总皂苷含量进行测定,各品系的总皂苷含量波动明显,呈现出不同的

变化趋势(图 1)。其中 QB9 品系总皂苷含量显著低于其他品系,为 3.14 mg/g,QB10 品系总皂苷含量显著高于其他品系,为 4.89 mg/g。独立样本 *t* 检验证实,两者总皂苷含量差异显著($P < 0.001$),可作为理想对照材料,为后续分子机制研究提供可靠

的表型差异基础。从整体分布特征来看,多数品系的总皂苷含量分布在 3.4 ~ 4.2 mg/g,如 H1、H2、QD9 等品系在此区间内波动。部分品系如 YN、QB5、QB6 等总皂苷含量相对较高,处于 4.4 ~

4.7 mg/g 范围。这种含量差异可能与藜麦不同品系的遗传特性、生长环境及生理特性等多种因素相关,为后续研究藜麦皂苷含量的影响因素及开发利用提供了基础数据参考。

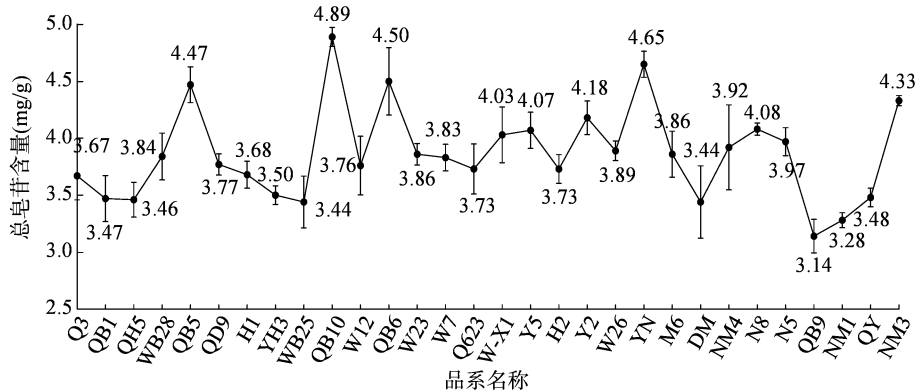


图1 不同藜麦品系总皂苷含量变化

2.2 转录组测序质量分析

通过对 30 份藜麦品系总皂苷含量的测定,筛选了皂苷含量较高的 QB10(4.89 mg/g)和皂苷含量较低的 QB9(3.14 mg/g)2 个藜麦品系进行转录组测序,各样品的测序数据的质量和统计数据见表 2。共得到有效 Reads 235 497 428 条,Clean Data 为

35.32 GB;Q20、Q30 碱基百分比分别在 98.85% ~ 99.11%、96.59% ~ 97.29%;GC 碱基含量之和占总碱基数量的百分比为 44.22% ~ 46.01%,且各样本测序错误率仅占 0.01%,说明测序质量较好,可用于后续的序列组装及分析等。

表2 藜麦转录组测序统计结果

样本名称	原始序列	有效序列	有效数据库 (G)	错误率 (%)	Q20 (%)	Q30 (%)	GC 含量 (%)
QB9_1	41 303 506	39 751 270	5.96	0.01	99.02	96.95	45.73
QB9_2	40 565 732	39 220 668	5.88	0.01	99.03	96.99	44.83
QB9_3	40 936 316	39 038 870	5.86	0.01	99.11	97.29	46.01
QB10_1	39 209 380	37 824 412	5.67	0.01	99.01	96.91	44.67
QB10_2	41 662 324	40 397 792	6.06	0.01	98.85	96.59	45.62
QB10_3	40 372 306	39 264 416	5.89	0.01	99.03	96.98	44.22

2.3 差异表达基因分析

本试验以 $P \leq 0.05$ 且 $|\log_2 FC| \geq 1$ 为筛选阈值,使用 DESeq 2 软件对 QB9(低皂苷含量)和 QB10(高皂苷含量)2 份藜麦种质对差异表达基因进行分析,分析结果如图 2 所示。由图 2 可知,QB9 和 QB10 样本之间存在显著的基因表达差异,共筛选出 2 304 个差异表达基因,其中 789 个基因显著上调,1 515 个基因显著下调。层次聚类分析结果(图 3)表明,各品系的生物学重复均能独立成簇,表明试验重复性良好,结果可靠。

2.4 差异表达基因 GO 注释分析

GO 富集分析能够从整体上观察不同皂苷含量藜麦品系基因的分布情况,将上述筛选出的差异基

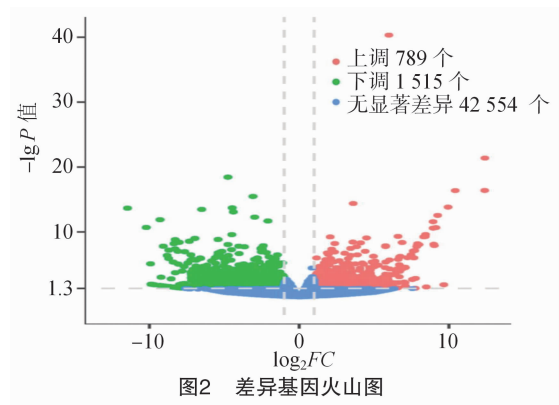


图2 差异基因火山图

因进行 GO 注释,并将 GO term 按照生物学过程、细胞组分、分子功能进行分类,通过 P 值进行排序。由图 4 可知,6 个样本共富集到 694 个 GO 条目,其

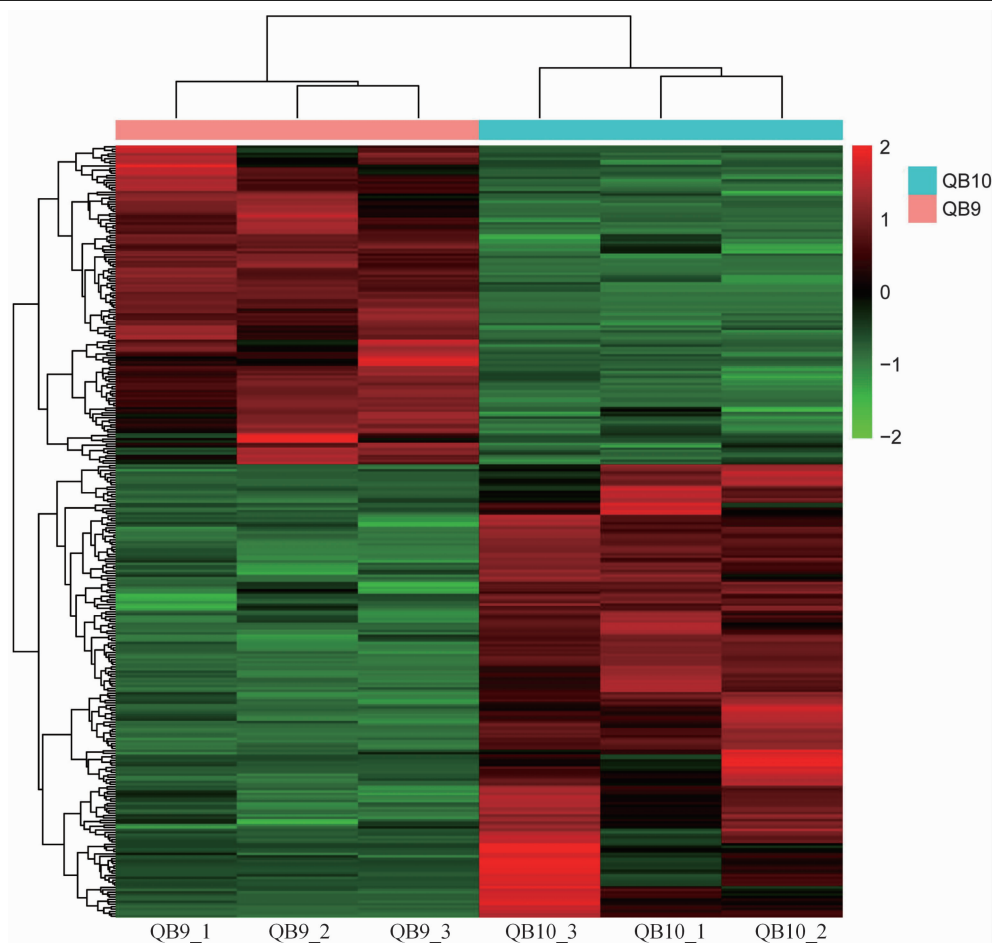


图3 差异表达基因聚类分析结果

中生物过程 356 条、分子功能 261 条和细胞组分 77 条,其中生物过程占有最高的比例。在生物过程 (BP) 大类中,有 21 个 DEG 注释到光合作用 (photosynthesis, GO:0015979),有 32 个 DEG 注释到氧化应激反应 (response to oxidative stress, GO:0006979),有 21 个 DEG 注释到细胞或亚细胞组分的运动 (movement of cell or subcellular component, GO:0006928),有 53 个 DEG 注释到胁迫响应 (response to stress, GO:0006950)。在细胞组分 (CC) 大类中,差异基因在光系统 I (photosystem I, GO:0009522)、光合膜 (photosynthetic membrane, GO:0034357)、类囊体 (thylakoid, GO:0009579) 等细胞组分分类功能中富集最显著。在分子功能 (MF) 大类中,差异基因富集到内肽酶抑制剂活性 (endopeptidase inhibitor activity, GO:0004866)、微管蛋白结合 (tubulin binding, GO:0015631)、过氧化物酶活性 (peroxidase activity, GO:0004601)、萜烯合成酶活性 (terpene synthase activity, GO:0010333)、细胞骨架蛋白结合 (cytoskeletal protein binding, GO:

0008092)、氧化还原酶活性 (oxidoreductase activity, GO:0016705) 等分类中。其中萜烯合成酶活性 (GO:0010333) 和氧化还原酶活性 (GO:0016705) 的显著富集尤为关键,这些基因可能直接参与皂苷骨架的合成与修饰。在细胞组分方面,差异基因主要富集于质体、类囊体和叶绿体等结构,这一结果表明质体可能是藜麦籽粒中次生代谢物合成的关键场所。该发现与 Tessa 等研究团队关于植物萜类生物合成前体物质 (IPP 和 DMAPP) 主要分布于质体、线粒体和内质网的研究结果^[27]相吻合。这些发现为阐明藜麦三萜皂苷合成的分子机制提供了新的研究思路。

2.5 KEGG 富集分析

为揭示差异表达基因的潜在生物学功能,通过 KEGG 富集分析将显著性最高的前 20 条通路展示于图 5 中。图 5 中横坐标为 GeneRatio,纵坐标为不同的生物学过程描述;气泡的颜色代表 P_{adj} ,颜色越趋近红色表示 P_{adj} 越小,即富集越显著;气泡大小对应 Count 值,反映相关基因的数量。将富集到的差异表达基因 (DEG) 进行 KEGG 代谢通路注释,能够

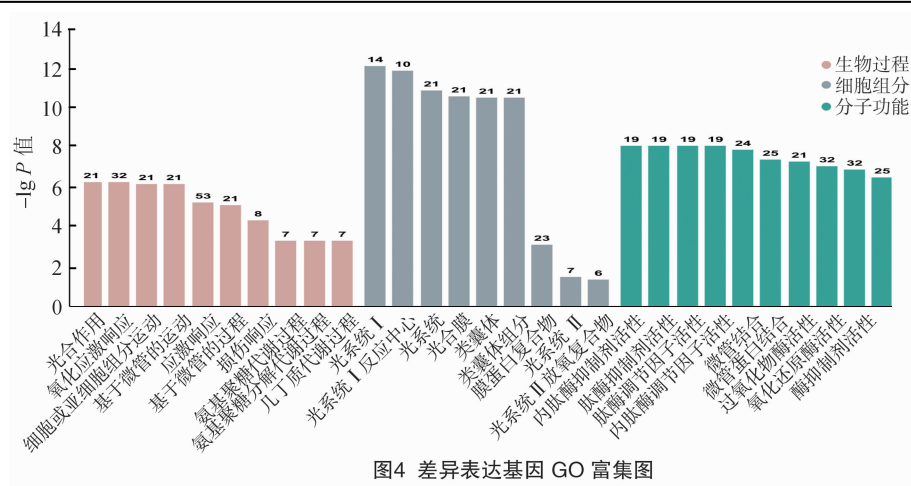


图4 差异表达基因 GO 富集图

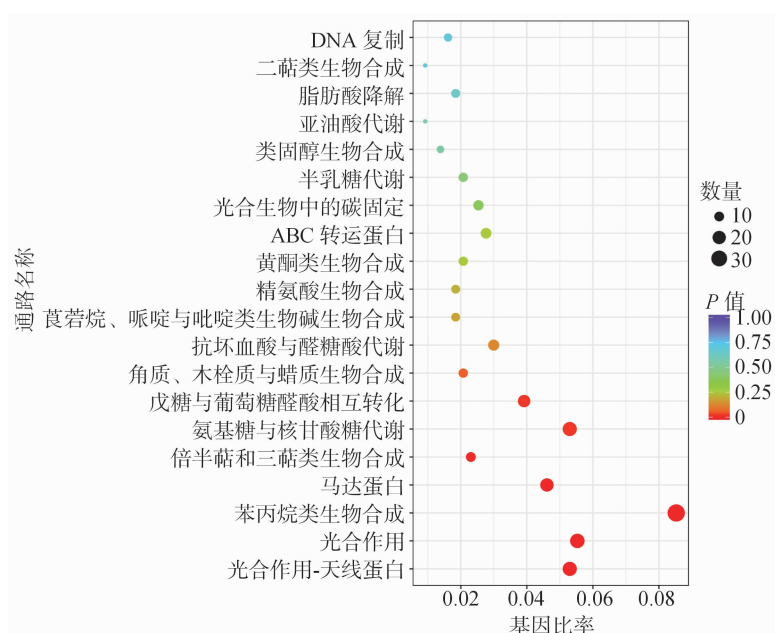


图5 差异表达基因 KEGG 通路富集分析

识别在不同品系间的差异表达与哪些 KEGG 代谢通路密切相关。

对差异表达的 2 304 个差异基因进行 KEGG 富集分析,共富集到 118 条途径,具有显著变化的 KEGG 途径有 14 条,极显著变化的途径有 9 条。在前 20 条 KEGG 通路富集图中,KEGG 通路主要富集在光合作用-触角蛋白 (photosynthesis - antenna proteins)、苯丙烷类生物合成 (phenylpropanoid biosynthesis)、运动蛋白 (motor proteins)、倍半萜和三萜类化合物的生物合成 (sesquiterpenoid and triterpenoid biosynthesis)、氨基糖和核苷酸糖代谢 (amino sugar and nucleotide sugar metabolism)、光合作用 (photosynthesis)、戊糖和葡萄糖醛酸相互转化 (pentose and glucuronate interconversions) 等途径。其中,光合作用通路和苯丙烷类生物合成通路中注

释到的 DEG 最多,分别是 24 个和 37 个。

2.6 藜麦三萜皂苷合成路径富集分析

藜麦皂苷属于三萜类皂苷,其生物合成过程涉及萜类骨架构建、三萜骨架形成以及糖基化修饰等关键步骤。通过藜麦 KEGG 通路富集结果分析(表 3),存在 4 条与三萜皂苷生物合成相关的代谢通路,主要包括倍半萜和三萜生物合成 (cqi00909)、类固醇生物合成 (cqi00100)、萜类骨架生物合成 (cqi00900)、各种植物次生代谢物的生物合成 (cqi00999)。共富集到 25 条差异表达基因,其中基因 LOC110705162、LOC110705167 在倍半萜和三萜生物合成、类固醇生物合成通路中均有出现; LOC110696566 在倍半萜和三萜生物合成、萜类骨架生物合成通路中均有出现。差异基因表达分析中,以高皂苷品系 QB10 为对照组、低皂苷品系 QB9 为

试验组,发现与藜麦皂苷合成相关的基因存在显著表达差异。其中有 4 条 (LOC110688005、LOC110733209、LOC110729050、LOC110696082) 与藜麦皂苷合成相关的基因为上调表达,这些基因在低皂苷品系 QB9 中的表达量显著高于高皂苷品系 QB10。有 18 条 (LOC110713460、LOC110707032、LOC110732629、LOC110692772 等) 与藜麦皂苷合成相关的基因为下调表达,这些相关差异基因在低皂苷品系 QB9 中的表达量显著低于高皂苷品系 QB10。

在倍半萜和三萜生物合成通路中,富集到相关的基因共 10 条,可能编码 5 种主要酶:类瓦伦烯合

酶、倍半萜合酶、(3*S*,6*E*) - 橙花醇合酶、角鲨烯合酶、二氢黄酮醇 4 - 还原酶。在萜类骨架生物合成途径中,富集到相关的基因共 4 条,可能编码 4 种主要酶:二磷酸甲羟戊酸脱羧酶、磷酸甲羟戊酸激酶、1 - 脱氧 - *D* - 木酮糖 - 5 - 磷酸合酶、法尼烯焦磷酸合酶。在类固醇生物合成途径中,富集到相关的基因共 4 条,可能编码 3 种主要酶:固醇 14 - 去甲基酶、环桉烯醇环异构酶、甲基固醇单加氧酶。在各种植物次生代谢物的生物合成途径中,富集到相关的基因共 4 条,可能编码 2 种主要酶: β - 香树脂醇 28 - 氧化酶、 β - 葡萄糖苷酶。

表 3 三萜皂苷生物合成通路相关基因信息表

代谢编号	代谢途径	基因 ID 及相关酶
cqi00909	倍半萜和三萜生物合成	LOC110733209 类瓦伦烯合酶
		LOC110693176 倍半萜合酶
		LOC110729050 倍半萜合酶
		LOC110687263 (3 <i>S</i> ,6 <i>E</i>) - 橙花醇合酶
		LOC110705162 角鲨烯合酶
		LOC110693172 倍半萜合酶
		LOC110693462 (3 <i>S</i> ,6 <i>E</i>) - 橙花醇合酶
		LOC110696566 二氢黄酮醇 4 - 还原酶
		LOC110696082 倍半萜合酶
		LOC110705167 角鲨烯合酶
cqi00100	类固醇的生物合成	LOC110688005 固醇 14 - 去甲基酶
		LOC110704787 环桉烯醇环异构酶
		LOC110707516 环桉烯醇环异构酶
		LOC110684683 甲基固醇单加氧酶
		LOC110705162 角鲨烯合酶
		LOC110705167 角鲨烯合酶
cqi00999	各种植物次生代谢物的生物合成	LOC110714192 β - 香树脂醇 28 - 氧化酶
		LOC110725244 β - 香树脂醇 28 - 氧化酶
		LOC110736157 β - 葡萄糖苷酶
		LOC110712919 β - 葡萄糖苷酶
cqi00900	萜类骨架的生物合成	LOC110707032 法尼烯焦磷酸合酶
		LOC110692772 二磷酸甲羟戊酸脱羧酶
		LOC110696566 二氢黄酮醇 4 - 还原酶
		LOC110732629 磷酸甲羟戊酸激酶
		LOC110713460 1 - 脱氧 - <i>D</i> - 木酮糖 - 5 - 磷酸合酶

在藜麦皂苷生物合成途径中的前体物质合成阶段,主要通过甲羟戊酸途径 (MVA) 和甲基赤藓醇磷酸途径 (MEP) 提供前体物质。基因 LOC110692772、LOC110732629、LOC110713460 在此阶段发挥作用。在三萜骨架形成阶段,基因 LOC110705162、LOC110705167、LOC110707032 参与其中。在皂苷元修饰阶段,LOC110714192、

LOC110725244 发挥重要作用 (图 6)。

2.7 qRT - PCR 验证关键差异表达基因

为了验证转录组测序结果的可靠性及准确性,从上述差异基因中随机挑选 6 个进行 qRT - PCR 验证,qRT - PCR 结果如图 7 所示。虽然差异基因在 RNA - Seq 和 qRT - PCR 中的差异表达倍数不同,但总体表达趋势一致。

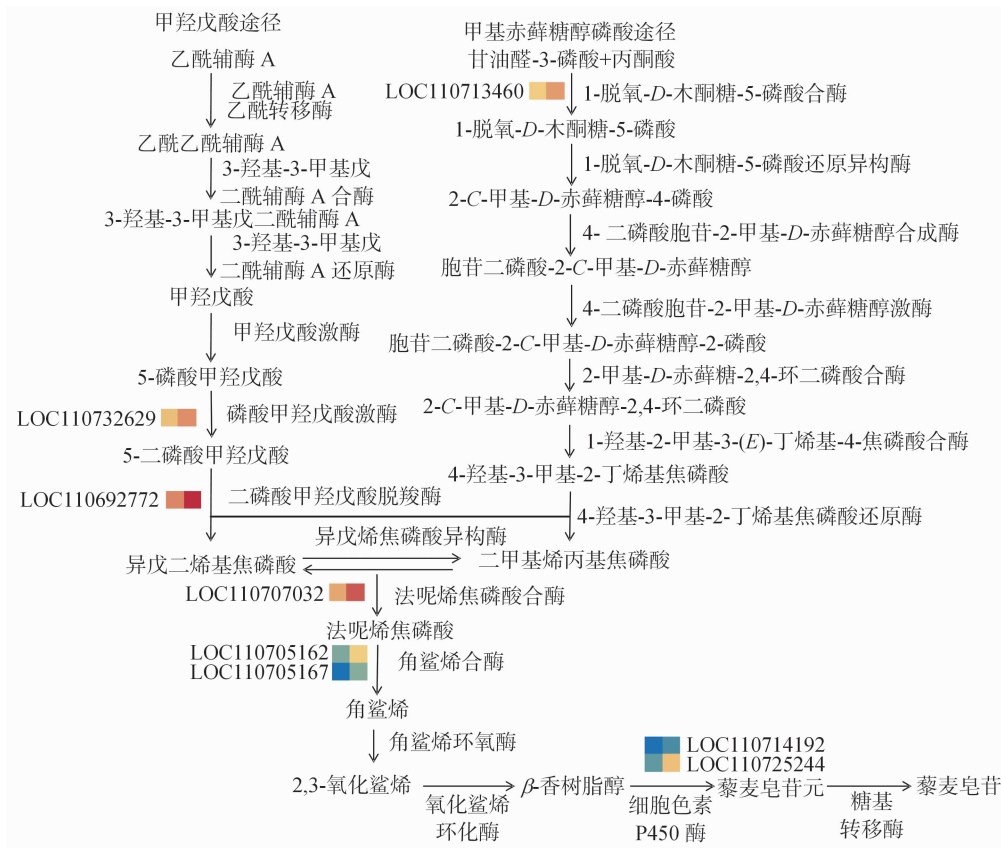


图6 藜麦皂苷生物合成通路相关基因

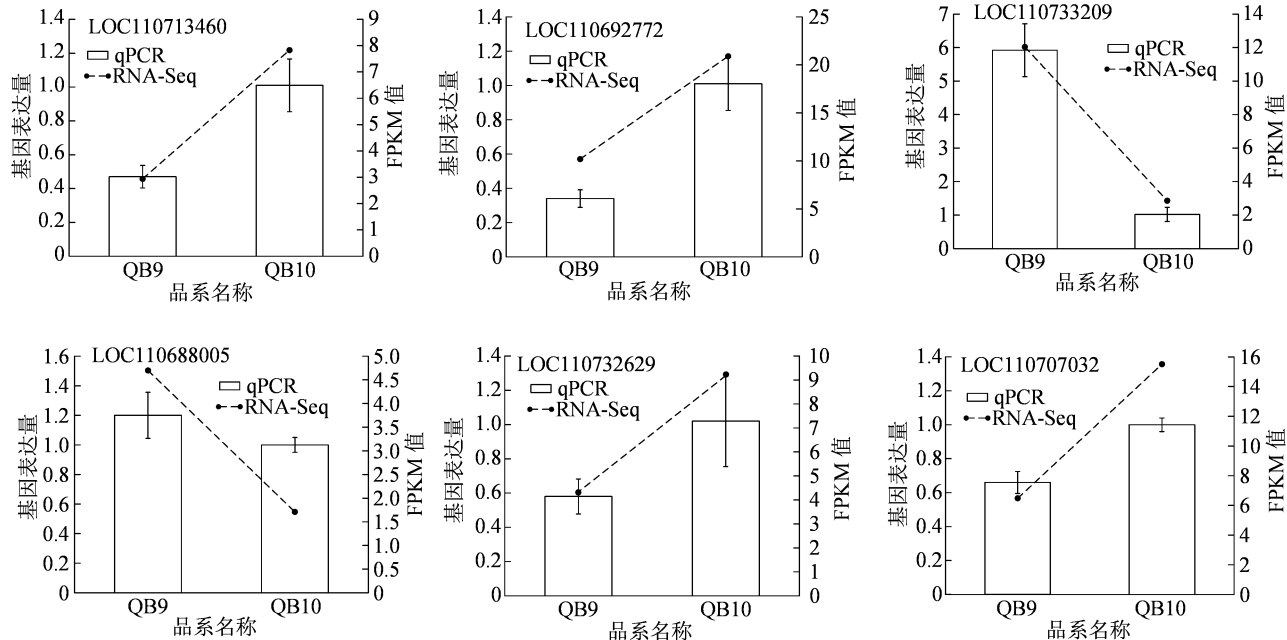


图7 差异基因的实时荧光定量 PCR 结果

3 讨论

被誉为“超级食物”的藜麦,因其丰富且优质的营养成分,以及较强的环境适应性备受关注。藜麦皂苷作为藜麦重要的次生代谢产物,不仅影响作物

的抗病虫害能力,还因其多样的生物活性拥有巨大的应用潜力^[28]。不同藜麦品种间皂苷含量差异显著。这种差异主要由遗传因素决定,与调控皂苷合成的关键酶基因的表达水平密切相关。然而目前关于藜麦皂苷的生物合成机制及其调控网络研究

仍处于初步探索阶段,相关领域的科研团队和系统性研究相对匮乏。尽管藜麦的基因组测序已完成,但皂苷合成途径中关键酶基因的功能解析、代谢调控节点以及品种间含量差异的分子基础仍存在大量未知。除遗传背景外,环境条件和栽培措施也会显著影响皂苷积累。此外,收获后的加工方式(如浸泡、发酵或机械脱壳)可有效降低皂苷含量,这对改善藜麦适口性和减少苦味至关重要。

随着转录组测序技术的进步和基因组学的发展,相关技术在研究不同植物活性成分生物合成途径的分子调控机制方面得到了广泛应用。Sun 等筛选出氧化鲨烯环化酶(OSC)、 β -香树酯合成酶(AS1、AS2)等调控人参皂苷生物合成的关键基因^[29]。Niu 等基于转录组数据,系统揭示了角鲨烯合成酶(SS)、法呢基焦磷酸合酶(FPS)、鲨烯环氧酶(SE)等三七皂苷生物合成途径中的关键基因^[30]。这些研究表明,组学技术不仅能系统解析植物活性成分生物合成途径中的关键基因及其调控网络,还能为功能基因的鉴定和作物遗传改良提供重要的理论依据和技术支撑。

本研究测定了 30 份藜麦品系的总皂苷含量,研究发现不同品系间总皂苷含量存在显著差异。这些差异可能与植物品种、生长环境、栽培措施等因素有关。后续研究可进一步探究造成这种含量差异的内在机制。依据总皂苷含量测定方法,对高皂苷含量材料 QB10 和低皂苷含量材料 QB9 品系进行转录组测序,旨在解析不同藜麦品系间皂苷含量差异的分子调控机制,通过系统鉴定皂苷生物合成途径中的关键调控基因,阐明其遗传基础。并采用 qRT-PCR 技术对差异表达基因进行验证,以明确其在皂苷合成代谢通路中的调控作用。根据转录组结果可知,QB9 和 QB10 样本共得到 2 304 个差异表达基因,其中 789 个基因显著上调,1 515 个基因显著下调。通过对 KEGG 通路富集结果分析发现,存在 4 条与三萜皂苷生物合成相关的代谢通路,主要包括倍半萜和三萜生物合成(cqi00909)、类固醇生物合成(cqi00100)、萜类骨架生物合成(cqi00900)、各种植物次生代谢物的生物合成(cqi00999)。

在藜麦皂苷的生物合成过程中,甲羟戊酸途径(MVA)和甲基赤藓糖醇磷酸途径(MEP)作为 2 条核心代谢途径,共同参与并推动其合成。LOC110692772 基因编码的二磷酸甲羟戊酸脱羧酶(MVD)催化 5-二磷酸甲羟戊酸(MVAPP)脱羧生

成 IPP,LOC110732629 基因编码的磷酸甲羟戊酸激酶(PMK)将 5-磷酸甲羟戊酸(MVAP)向 MVAPP 转化,共同推动 MVA 途径的进行。在 MEP 途径中,LOC110713460 基因编码的 1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸合酶(DXS)参与 IPP 的合成。随后,LOC110707032 基因编码的法尼烯焦磷酸合酶(FPPS)催化 IPP 与二甲基烯丙基焦磷酸(DMAPP)缩合形成法尼烯焦磷酸(FPP),而 LOC110705162 和 LOC110705167 编码的角鲨烯合酶(SQS)催化 2 分子 FPP 缩合生成角鲨烯,为三萜骨架的构建提供前体物质。在三萜骨架修饰阶段,基因 LOC110714192 和 LOC110725244 编码的 β -香树脂醇 28-氧化酶通过特异性氧化修饰赋予三萜骨架功能多样性。本研究基于低皂苷品系 QB9(试验组)与高皂苷品系 QB10(对照组)的转录组比较分析,发现在 QB9 品系中,从 IPP 的生成到三萜骨架修饰等过程中,上述参与皂苷合成的关键基因均为下调表达,显著阻碍了皂苷生物合成通路中 IPP、FPP 及鲨烯等关键前体物质的生成与积累,被确认为 QB9 品系总皂苷含量显著低于 QB10 的关键分子机制,揭示了藜麦皂苷合成通路中基因表达网络与表型形成的关联性。

除上述已明确功能的基因外,还存在多个与藜麦皂苷合成相关但功能尚未完全阐明的基因。这些基因虽然位于与皂苷合成相关的代谢途径中,但其在皂苷合成各阶段(如前体合成、三萜骨架形成、皂苷元修饰及糖基化修饰等)的具体作用机制仍需进一步研究。

本试验以藜麦籽粒为试验材料,采用转录组测序技术研究藜麦皂苷生物合成机制,通过基因功能注释、代谢通路等相关分析,挖掘了参与藜麦三萜皂苷的合成通路及关键基因,这些关键基因的挖掘,不仅揭示了藜麦皂苷生物合成的分子基础,为今后进一步研究藜麦皂苷的主要关联基因及代谢通路的功能以阐明其合成机理奠定了基础。更为后续结合基因编辑、转基因技术等方法,培育符合市场需求的特异性藜麦品种提供了重要的理论支撑和应用前景。

4 结论

本研究通过对 30 份藜麦品系的籽粒总皂苷含量进行分析,筛选出皂苷含量差异显著的 QB9 (3.14 mg/g) 和 QB10 (4.89 mg/g) 品系,基于转录组分析结果,揭示了藜麦三萜皂苷合成的关键基因及代谢通路。在藜麦皂苷合成途径中,基因 LOC110692772 和 LOC110732629 参与 MVA 途径生

成 IPP; LOC110713460 参与 MEP 途径生成 IPP; LOC110707032 催化 IPP 和 DMAPP 缩合形成 FPP; LOC110705162 和 LOC110705167 催化 FPP 生成角鲨烯; LOC110714192 和 LOC110725244 催化三萜骨架 C-28 位氧化修饰。上述基因在萜类骨架生物合成 (ko00900) 和倍半萜与三萜生物合成 (ko00909) 等关键代谢通路中发挥调控作用, 且 qRT-PCR 验证结果与转录组数据一致。本研究系统解析了藜麦皂苷生物合成通路中不同阶段的关键候选基因, 相关发现为阐明藜麦皂苷生物合成的分子调控机制及低皂苷品种的定向选育提供了重要参考。

参考文献:

- [1] Vega - Gálvez A, Miranda M, Vergara J, et al. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), an ancient Andean grain; a review[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(15): 2541 - 2547.
- [2] 毛 琪, 晏兴珠, 王仕玉, 等. 30 份藜麦资源的穗发芽抗性评价[J]. 种子, 2021, 40(10): 62 - 66, 73, 2.
- [3] Gómez - Caravaca A M, Iafelice G, Lavini A, et al. Phenolic compounds and saponins in quinoa samples (*Chenopodium quinoa* Willd.) grown under different saline and nonsaline irrigation regimens[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(18): 4620 - 4627.
- [4] 环秀菊, 孔治有, 张 慧, 等. 海拔和播期对藜麦主要品质性状的影响[J]. 西南农业学报, 2020, 33(2): 258 - 262.
- [5] Bazile D, Bertero H D, Nieto C. State of the art report on quinoa around the world in 2013[R]. Rome: FAO and CIRAD, 2015: 603 - 604.
- [6] Pereira E, Encina - Zelada C, Barros L, et al. Chemical and nutritional characterization of *Chenopodium quinoa* Willd. (quinoa) grains; a good alternative to nutritious food[J]. Food Chemistry, 2019, 280: 110 - 114.
- [7] Nowak V, Du J, Charrondière U R. Assessment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) [J]. Food Chemistry, 2016, 193: 47 - 54.
- [8] 郭子渊, 邓晓青, 平椿源, 等. 藜麦营养组分及功能活性研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(22): 49 - 57.
- [9] 霍俊奇, 尚鹤婷, 郭 晨, 等. 藜麦皂苷的研究进展[J]. 农产品加工, 2025(3): 86 - 94.
- [10] 王 风, 孙冰华, 钱晓洁, 等. 藜麦皂苷及降皂技术研究进展[J]. 中国粮油学报, 2023, 38(1): 162 - 168.
- [11] 侯召华, 傅茂润, 张威毅, 等. 藜麦皂苷研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(19): 5146 - 5152.
- [12] 赵二劳, 杨 洁. 藜麦中皂苷提取纯化工艺及其生物活性研究现状[J]. 分子植物育种, 2019, 17(17): 5816 - 5821.
- [13] 林冰洁, 荆金金, 张若愚, 等. 藜麦皂苷生物活性与化学结构研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(24): 300 - 306.
- [14] 王伟宏. 藜麦皂苷生物合成基因挖掘及其安全性评价[D]. 成都: 成都大学, 2023: 3 - 4.
- [15] 徐圆圆, 陈 仲, 贾黎明, 等. 植物三萜皂苷生物合成途径及调控机制研究进展[J]. 中国科学(生命科学), 2021, 51(5): 525 - 555.
- [16] Li Y, Luo H M, Sun C, et al. EST analysis reveals putative genes involved in glycyrrhizin biosynthesis[J]. BMC Genomics, 2010, 11(1): 268.
- [17] Chen S, Luo H, Li Y, et al. 454 EST analysis detects genes putatively involved in ginsenoside biosynthesis in *Panax ginseng* [J]. Plant Cell Reports, 2011, 30(9): 1593 - 1601.
- [18] Tang Q, Ma X J, Mo C M, et al. An efficient approach to finding *Siraitia grosvenorii* triterpene biosynthetic genes by RNA - Seq and digital gene expression analysis[J]. BMC Genomics, 2011, 12(1): 343.
- [19] Zheng X S, Xu H, Ma X Y, et al. Triterpenoid saponin biosynthetic pathway profiling and candidate gene mining of the *Ilex asprella* root using RNA - Seq[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2014, 15(4): 5970 - 5987.
- [20] Hwang H S, Lee H, Choi Y E. Transcriptomic analysis of Siberian ginseng (*Eleutherococcus senticosus*) to discover genes involved in saponin biosynthesis[J]. BMC Genomics, 2015, 16(1): 180.
- [21] Ma C H, Gao Z J, Zhang J J, et al. Candidate genes involved in the biosynthesis of triterpenoid saponins in *Platycodon grandiflorum* identified by transcriptome analysis[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 673.
- [22] Zhan C S, Li X H, Zhao Z Y, et al. Comprehensive analysis of the triterpenoid saponins biosynthetic pathway in *Anemone flaccida* by transcriptome and proteome profiling [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1094.
- [23] 姜晓东, 李新风, 郝艳平, 等. 藜麦 β - 香树酯醇合酶和鲨烯合酶基因的克隆与表达[J]. 土壤, 2018, 50(6): 1214 - 1221.
- [24] Fiallos - Jurado J, Pollier J, Moses T, et al. Saponin determination, expression analysis and functional characterization of saponin biosynthetic genes in *Chenopodium quinoa* leaves [J]. Plant Science, 2016, 250: 188 - 197.
- [25] Jarvis D E, Ho Y S, Lightfoot D J, et al. The genome of *Chenopodium quinoa* [J]. Nature, 2017, 542(7641): 307 - 312.
- [26] 龙 茜, 牛 蓓, 时小东, 等. 藜麦的基因及基因组研究进展[J]. 南方农业, 2019, 13(21): 171 - 173.
- [27] Moses T, Pollier J, Thevelein J M, et al. Bioengineering of plant (tri) terpenoids: from metabolic engineering of plants to synthetic biology *in vivo* and *in vitro* [J]. New Phytologist, 2013, 200(1): 27 - 43.
- [28] 琦明玉, 张立媛, 李志光, 等. 40 份藜麦种质资源的农艺性状遗传多样性分析与评价[J]. 江苏农业科学, 2025, 53(1): 73 - 78.
- [29] Sun C, Li Y, Wu Q, et al. *De novo* sequencing and analysis of the American ginseng root transcriptome using a GS FLX Titanium platform to discover putative genes involved in ginsenoside biosynthesis[J]. BMC Genomics, 2010, 11(1): 262.
- [30] Niu Y Y, Luo H M, Sun C, et al. Expression profiling of the triterpene saponin biosynthesis genes FPS, SS, SE and DS in the medicinal plant *Panax notoginseng* [J]. Gene, 2014, 533(1): 295 - 303.