

紫外光促进苦荞中黄酮类化合物积累的分子机制探究

朱智慧^{1,2}, 温东³, 张栋¹, 晁二昆², 董刚强⁴, 杜伟⁵, 孙伟¹, Krzysztof Dziedzic⁶, 师玉华^{1*}, 薛建平^{2*}

1. 中国中医科学院中药研究所, 中药鉴定与安全性评估北京市重点实验室, 北京 100700

2. 淮北师范大学生命科学学院, 安徽 淮北 235000

3. 黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

4. 安利(中国)植物研发中心, 江苏 无锡 214115

5. 安捷伦科技(中国)有限公司, 北京 100102

6. 波兹南生命科学大学 植物源食品技术系, 波兰 波兹南 31, 60-624

摘要: 目的 研究紫外光对苦荞 *Fagopyrum tataricum* 幼苗中黄酮类化合物的影响及其分子机制。方法 采用中波紫外线 B (Ultraviolet Radiation B, UVB) 处理苦荞幼苗, 通过超高效液相色谱仪检测紫外光处理前后苦荞中芦丁等黄酮类化合物含量变化, 同时采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测苦荞中黄酮类化合物合成途径中关键酶基因的表达量。结果 紫外光处理后苦荞中芦丁、儿茶素和表儿茶素 3 种黄酮类化合物的含量均显著增加, 其中芦丁含量是黑暗处理对照组的 1.5 倍。同时通过 qRT-PCR 检测发现苦荞中黄酮类化合物合成途径中苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonia lyase, PAL)、肉桂酸-4-羟化酶 (cinnamate-4-hydroxylase, C4H)、黄烷酮-3-羟化酶 (flavanone-3-hydroxylase, F3H)、二氢黄酮醇-4-还原酶 (dihydroflavonol-4-reductase, DFR) 等 11 个关键酶基因的表达量均有不同程度升高。结论 UVB 通过正调控多个黄酮合成关键酶基因的表达促进苦荞中黄酮类化合物的积累, 为阐明 UVB 对苦荞中黄酮类化合物的调控机制奠定基础。

关键词: 苦荞麦; 紫外光处理; 芦丁; 黄酮; 生物合成途径

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)05-1448-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.05.026

Molecular mechanisms of UVB-induced flavonoid accumulation in *Fagopyrum tataricum*

ZHU Zhi-hui^{1, 2}, WEN Dong³, ZHANG Dong¹, CHAO Er-kun², DONG Gang-qiang⁴, DU Wei⁵, SUN Wei¹, Krzysztof Dziedzic⁶, SHI Yu-hua¹, XUE Jian-ping²

1. Key Laboratory of Beijing for Identification and Safety Evaluation of Chinese Medicine, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

2. College of Life Sciences, HuaiBei Normal University, HuaiBei 235000, China

3. College of Pharmaceutical Sciences, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Haerbin 150040, China

4. Amyway (China) Botanical R&D Centre, Wuxi 214115, China

5. Agilent Technologies (China) Co., Ltd., Beijing 100102, China

6. Department of Food Technology of Plant Origin, Poznań University of Life Sciences, Wojska Polskiego 31, 60-624, Poland

Abstract: Objective Study on the effect of UVB on flavonoids in *Fagopyrum tataricum* seedlings and its molecular mechanism. **Methods** In this study, the *F. tataricum* seedlings were treated with UVB light, and the content changes of rutin and other flavonoids in *F. tataricum* before and after UVB treatment was detected by Ultra-high performance liquid chromatography, and then the expression of key enzyme genes in the biosynthesis pathway of flavonoids in *F. tataricum* was detected by qRT-PCR. **Results** The content of rutin, catechin and epicatechin in *F. tataricum* increased significantly after UVB treatment, among which the content of rutin was 1.5 times than that of the dark treatment group. At the same time, qRT-PCR showed that the expression levels of 11 key enzyme genes such as phenylalanine ammonia lyase (PAL), cinnamate-4-hydroxylase (C4H), flavanone-3-hydroxylase (F3H) and dihydroflavonol-4-reductase (DFR) in *F. tataricum*

收稿日期: 2020-06-06

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金 (ZZ13-YQ-101); “重大新药创制”科技重大专项 (2019ZX09201005-006-004); 国家自然科学基金项目 (31501368); 国家自然科学基金项目 (81573518); 安徽省教育厅高校科研平台创新团队项目 (KJ2015TD001)

作者简介: 朱智慧 (1991—), 女, 在读硕士, 研究方向为药用植物学。Tel: 18510611561 E-mail: zzh08031108@outlook.com

*通信作者: 师玉华, 助理研究员, 研究方向为药用植物代谢调控。Tel: 13581732761 E-mail: yhshi@icmm.ac.cn

薛建平, 教授, 研究方向为药用植物学。Tel: 13030601261 E-mail: xuejp@163.com

were increased to different degrees in the biosynthesis pathway of flavonoids. **Conclusion** This study indicated that UVB light can promote the accumulation of flavonoids in *F. tataricum* by upregulating the expression levels of key enzyme genes in flavonoid biosynthesis pathway, which will provide scientific basis for elucidating the regulation mechanism of UVB light on flavonoids in *F. tataricum*.

Key words: *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn; UVB treatment; rutin; flavonoid; biosynthesis pathway

苦荞 *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn 为双子叶蓼科荞麦属植物, 是一种重要的杂粮作物和药食同源植物, 在我国西南地区分布广泛^[1-2]。苦荞中富含黄酮类化合物, 具有抗癌、抗氧化、抗炎、抗肿瘤等较好的药理作用。其中芦丁是苦荞中特有的黄酮类化合物, 具有降低毛细血管通透性, 改善微循环, 改善脂质代谢及调血脂等作用^[3]。早在 20 世纪 40 年代中期, 苦荞麦就被用作药用芦丁的重要来源, 因此, 苦荞麦中芦丁等黄酮类化合物合成及调控研究尤为重要^[4]。

苦荞中黄酮类化合物的生物合成途径及其关键的合成酶研究已经比较清晰。该合成途径属于苯丙烷代谢途径 (phenylpropanoid pathway)。首先, 由苯丙氨酸经过苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonia lyase, PAL)、肉桂酸-4-羟化酶 (cinnamate-4-hydroxylase, C4H) 和 4-香豆酸:辅酶 A 连接酶 (4-coumarate: coenzyme A ligase, 4CL) 3 步酶促反应生成起始前体香豆酰-CoA^[5]。然后, 在查耳酮合成酶 (chalcone synthase, CHS)、查耳酮异构酶 (chalcone isomerase, CHI) 催化下转化为柚皮素^[6]。柚皮素是该途径的主要代谢产物, 之后进入不同的合成分支途径。其中一个分支经过黄烷酮-3-羟化酶 (flavanone-3-hydroxylase, F3H)、黄酮醇合成酶 (flavonol synthase, FLS) 和 F3H 形成槲皮素, 最后经类黄酮糖基转移酶 (flavonoid glycosyltransferase, GTR) 催化形成芦丁; 另 1 个分支由二氢黄酮醇-4-还原酶 (dihydroflavonol-4-reductase, DFR)、花青素合成酶 (anthocyanidin synthase, ANS)、花青素还原酶 (anthocyanidin reductase, ANR) 进一步还原生成儿茶素 (catechin), 或经无色花色素还原酶 (leucoanthocyanidin reductase, LAR) 催化形成表儿茶素 (epicatechin)^[7-8]。

植物次生代谢受遗传因素、生物因素和温度、光和水等非生物因素影响^[9]。其中紫外光在植物光形态建成、次生代谢和叶色形成方面具有重要作用^[10-11]。研究发现, 植物在受到紫外光辐射时本身会产生大量的次生代谢物质来抵御紫外光的损害, 这些次生代谢物质包括苯丙素类化合物、酚类、生物碱、萜类化合物等^[12-13]。例如, 紫外光照射

处理番茄显著提高了其中没食子酸、绿原酸、丁香酸、对香豆酸和槲皮素等酚类单体的含量^[14]; 紫外光照能够促进黄芪中异黄酮类化合物的积累^[15]。目前, 有研究报道紫外光处理影响苦荞中黄酮类化合物的含量^[16], 但是紫外光尤其是紫外线 B (ultraviolet radiation B, UVB) 在苦荞中影响芦丁等黄酮类化合物代谢的调控机制尚不清楚。本研究拟用 UVB 处理苦荞幼苗, 通过超高效液相色谱仪检测紫外光处理前后苦荞中芦丁等黄酮类化合物含量变化, 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测苦荞中黄酮类化合物合成通路中关键酶基因的表达量, 初探紫外光照射对苦荞中黄酮类化合物的积累及其分子机制。

1 材料与仪器

1.1 材料

苦荞 *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn 种子选用晋荞 2 号, 由贵州师范大学陈庆富教授鉴定并提供。对照品芦丁 (CAS 号 153-18-4)、儿茶素 (CAS 号 154-23-4)、表儿茶素 (CAS 号 490-46-0) 均购自于 Chemfaces 公司, 质量分数均大于 98%。

1.2 仪器

UPLC-MS 系统, 包括 1290 系列超高效液相色谱仪、6470 型三重四极杆质谱仪购自安捷伦科技有限公司; qTOWER3G 实时荧光定量 PCR 仪购自德国耶拿分析仪器股份公司; BS210S 型 1/1 万电子分析天平购自德国赛多利斯公司; 紫外灯管 UVB (275~320 nm, UVB10.0-43B) 购自广东华强电器集团有限公司; DS-11 超微量紫外/可见分光光度计购自美国 Denovix 公司。

2 方法

2.1 UVB 处理

选取籽粒饱满的苦荞种子, 浸泡水中约 8 h 后用镊子种入土壤中, 25 °C 黑暗生长 6 d。然后取一部分苦荞幼苗放置在紫外灯 UVB (波长 275~320 nm, 光照强度 2 W/m²) 下处理 6、12、24 h, 另一部分苦荞幼苗仍在黑暗下生长, 作为对照组。每个处理取 10 株幼苗, 做 3 个生物学重复。最后, 将处理组和对照组材料编号收集, 液氮速冻后存放于 -80 °C 冰箱待测。

2.2 黄酮类化合物含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取芦丁、儿茶素、表儿茶素的对照品 1 mg，加入 1000 μL 70% 甲醇，制成质量浓度为 1 mg/mL 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 将 UVB 和对照处理后的苦荞幼苗进行液氮冷冻研磨成粉。用分析天平精确称量 0.1 g 样品粉末，加入 1000 μL 70% 的甲醇提取剂进行提取；然后将制备样品 1500 r/m 涡旋 3 min，超声 30 min，12 000 r/min 离心 10 min；离心后的样品取上清，用 0.22 μm 有机滤膜过滤样品；最后装入进样瓶，并将样品进行稀释。检测芦丁含量时，样品稀释 1000 倍，检测儿茶素、表儿茶素时，样品稀释 10 倍，备用，待测。

2.2.3 色谱条件 色谱柱为 Eclipse Plus C₁₈ (50 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm)；流动相为 0.1% 甲酸水 (A)-乙腈 (B)；梯度洗脱：0~3.5 min, 10%~45%B；3.5~3.6 min, 45%~90%B；3.6~4.5 min, 90%B；4.5~4.6 min, 90%~10%B；4.6~6.0 min, 10%~10%B。体积流量 0.3 mL/min；柱温 45 $^{\circ}\text{C}$ ；进样量 1 μL 。色谱图见图 1。

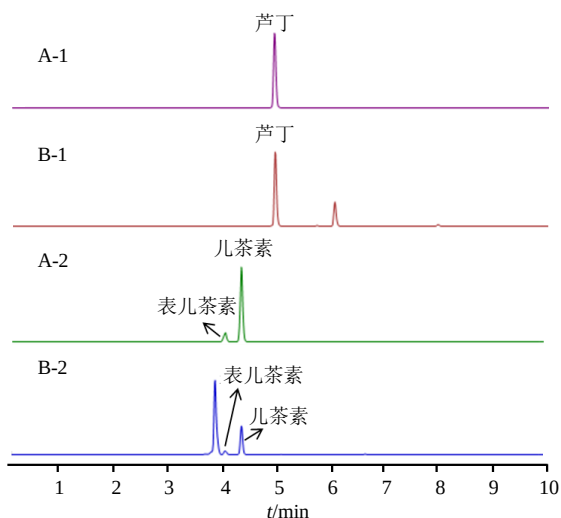


图 1 对照品 (A) 和供试品 (B) 的 UPLC 图

Fig. 1 UPLC chromatogram of standard solution (A) and sample (B)

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取各对照品储备液，加 70% 甲醇稀释成梯度浓度，进样检测，记录色谱峰面积，以对照品溶液的浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y)，绘制标准曲线。对苦荞中 3 种黄酮类化合物芦丁、儿茶素和表儿茶素进行线性考察， r^2 值均大于 0.999 (表 1)。

表 1 标准曲线方程

Table 1 Standard curve of reference materials

化合物	标准曲线	r^2	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
芦丁	$Y=46.069 X-161.53$	0.999 7	17.28~1728.00
儿茶素	$Y=37.607 X+221.24$	0.999 4	18.24~1824.00
表儿茶素	$Y=73.505 X-1250.7$	0.999 6	19.36~1936.00

2.2.5 精密度试验 取“2.2.1”项下制备的 1 mg/mL 的对照品溶液，按照“2.2.3”项下色谱条件连续进样 6 次，结果显示 3 种化合物的对照品峰面积的 RSD 在 0.71%~1.75%。

2.2.6 重复性试验 取“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按照“2.2.3”项下色谱条件进样检测，记录色谱峰面积，结果显示，3 种化合物质量分数的 RSD 在 0.95%~2.05%，表明方法具有良好的重复性。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液，于室温下放置，分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样，按照“2.2.3”项下色谱条件进样测定，记录 3 种化合物的峰面积，结果峰面积的 RSD 在 0.76%~2.15%。

2.2.8 加样回收率试验 取已测定的苦荞样本 9 份，每份约 0.05 g，精密称定，分别精密加入低、中、高浓度 (按 50%、100% 和 150% 3 个水平) 的芦丁、儿茶素和表儿茶素对照品溶液，按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，平行 3 份，再按照“2.2.3”项下色谱条件进样检测，计算加样回收率。结果显示 3 个化合物的加样回收率在 95.82%~105.65%，RSD 均小于 0.3%。

以上结果表明本研究建立的检测方法精密度高、准确度好、方法稳定，可有效用于苦荞中这 3 个化合物的检测。

2.3 RNA 提取和 cDNA 制备

取苦荞苗 100 mg，按照 TaKaRa 公司 MiniBEST Plant RNA Extraction Kit 提取试剂盒 (9769) 说明书提取总 RNA。用 DS-11 超微量紫外分光光度计 (美国 DeNovix 公司) 检测 RNA 浓度。取 2.5 μg 总 RNA，按照 PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒 (6210A)，进行第一链 cDNA 的合成，-20 $^{\circ}\text{C}$ 贮存待用。

2.4 qRT-PCR 检测

选用 PAL、C4H、CHS、CHI、FLS 等 11 个黄酮合成途径的关键酶基因^[6]。qRT-PCR 引物使用 Primer 5.0 软件设计，并由生工生物工程 (上

海)股份有限公司合成。qRT-PCR 所用基因名称、基因 ID、引物序列、扩增片段长度等信息详见表 2。qRT-PCR 反应按照试剂盒 Trans Start Green qPCR Super MixUDGG (北京全式金生物技术有

限公司 TransGen Biotech) 说明书进行。选取 Histone H3 (JF769134) 作为内参基因^[17], 每个样品 3 次重复, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因相对表达量。

表 2 实时定量 PCR 引物

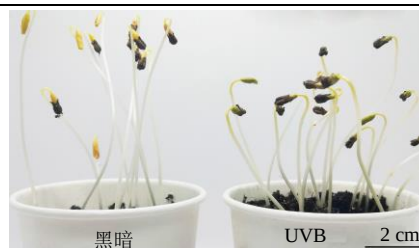
Table 2 Primers of quantitative PCR in this study

基因	中文名称	基因 ID	引物	引物序列 (5'→3')	扩增片段/bp
PAL	苯丙氨酸解氨酶	FtPinG0005713400	PAL-QF	ACAAGGCGTTACATGGAGGA	180
			PAL-QR	CCAAGCTAGGGTTTCTCCCA	
CHS1	查耳酮合成酶 1	FtPinG0008806400	CHS1-QF	TCTCGACAACCGTCAAGACA	121
			CHS1-QR	GCACATGATGACGTGTGTGA	
CHS2	查耳酮合成酶 2	FtPinG0008131000	CHS2-QF	GGACTCTATGGTCGGACAGG	181
			CHS2-QR	ATGGAACGTGAGTCCAACCT	
4CL	4-香豆酸:辅酶 A 连接	FtPinG0005072700	4CL-QF	GCAACCATAGACGCTCAAGG	174
			4CL-QR	TGCATCGGCTATGGATGGAT	
C4H	肉桂酸-4-羟化酶	FtPinG0001575100	C4H-QF	GTCCTGGTATCATCCTCGCA	172
			C4H-QR	GCGGTGGGCTTCATAACAAT	
F3'H	类黄酮-3'-羟化酶	FtPinG0002353900	F3'H-QF	GCTGGCGTATGCTTAGGAAG	119
			F3'H-QR	GGCCTTGGATAATGCCCTTG	
F3H	黄烷酮-3-羟化酶	FtPinG0008251700	F3H-QF	AACAGCAGCCGTTTGTCAAT	185
			F3H-QR	TGCTCCTTAGCCAGCTTCTT	
DFR	二氢黄酮醇-4-还原酶	FtPinG0002371500	DFR-QF	GGAGTGACGTTGACTTCTGC	177
			DFR-QR	GACTTGGAGGGAACTTGGC	
FLS	黄酮醇合成酶	FtPinG0006907100	FLS-QF	TCGATCAAGAAGGCGAGTGA	125
			FLS-QR	TTCTCCTCGATCGGAAGCTC	
CHI	查耳酮异构酶	FtPinG0002790600	CHI-QF	GCTCACGATCAATGGTGCAT	158
			CHI-QR	CGAATTGACCGGTGACAACA	
GTR	类黄酮糖基转移酶	FtPinG0006606900	GTR-QF	GGAGCTCAGCTGACACATTG	112
			GTR-QR	GCCGCTCGTTAACTTCTGT	
Histone3	组蛋白 3	JF769134	Histone3-QF	AAGGAAGCAATTGGCAAC	102
			Histone3-QR	TCACGAAGAGCAACGGTA	

3 结果与分析

3.1 UVB 处理后苦荞苗表型及黄酮类化合物变化

为了探究紫外光对苦荞苗中黄酮类化合物积累的影响, 对黑暗培养 6 d 的苦荞幼苗进行紫外光 UVB 处理。实验结果发现, UVB 照射处理 6 h 后的苦荞苗幼苗生长状态良好, 且表现出一些光形态建成的表型 (图 1), 但随着紫外照射时间延长, 苦荞苗受到紫外损伤, 开始萎蔫。因此, 本研究选用紫外光 UVB 处理 6 h 苦荞苗进行黄酮类化合物含量变化。进一步, 本实验检测紫外光 UVB 处理前后苦荞中这 3 种黄酮类化合物的含量变化。结果发现紫外光 UVB 处理 6 h 后苦荞幼苗中芦丁、儿茶素、表儿茶素均出现不同程度的积累, 其中芦丁含量为对照组的 1.5 倍 (图 2-A), 儿茶素和表儿茶素含量均约为对照组的 1.3 倍 (图 2-B、C)。显著性

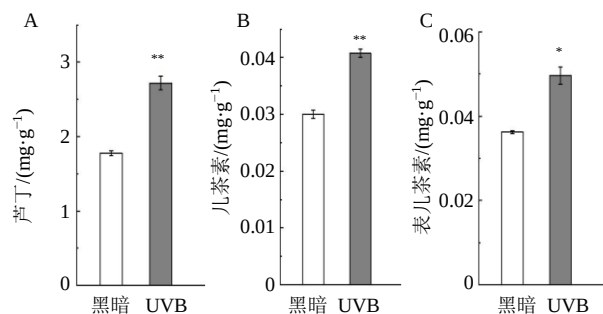


左侧为黑暗条件下对照组, 右侧为紫外光 UVB 处理 6 h 后苦荞幼苗
Control group of Tartary buckwheat seedlings under dark condition was on the left, and the treatment group of UVB irradiation for six hours was on the right

图 1 UVB 处理后苦荞幼苗表型

Fig. 1 Morphological responses of tartary buckwheat seedlings under UVB radiation

分析表明, 紫外光 UVB 照射后苦荞幼苗中芦丁、儿茶素的含量与对照组相比呈极显著增加; 表儿茶素与对照组相比呈显著增加。



**表示在 0.01 水平上显著相关, *表示在 0.05 水平上显著相关。
Significant correlation at 0.01 level is denoted by **, and significant correlation at 0.05 level is denoted by *

图 2 UVB 处理后苦荞中芦丁 (A)、儿茶素 (B)、表儿茶素 (C) 含量变化

Fig. 2 Changes in contents of rutin (A), catechin (B) and epicatechin (C) in Tartary buckwheat under UVB radiation

3.2 紫外光 UVB 处理后苦荞黄酮合成途径中关键基因表达量变化

本研究进一步分析苦荞幼苗中黄酮类合成通路中关键基因 *CHS1*、*CHS2*、*C4H*、*F3H*、*DFR*、*F3'H*、*CHI*、*4CL*、*PAL*、*FLS*、*GTR* 的相对表达量, 探究紫外光对苦荞苗中黄酮类化合物的合成和积累的影响机制。qRT-PCR 结果发现, 与对照组相比, 紫外光 UVB 处理后黄酮类合成通路中关键基因相对表达量均有上调 (图 3-A)。其中 *F3'H* 和 *4CL* 基因的表达量显著上升, 约为对照组的 8 倍, *CHS1* 和 *DFR* 基因的相对表达量约为对照组的 6 倍, 其他基因的表达量与对照组相比也均上调 2~3 倍 (图 3-A)。黄酮合成途径见图 3-B。

4 讨论

本研究通过 UVB 照射苦荞幼苗, 发现苦荞中芦丁、儿茶素、表儿茶素 3 种黄酮类化合物含量均有不同程度的增加。崔晓鹏等^[18]用紫外光照射苦荞幼苗, 用紫外-分光光度法检测发现处理 3 d 的苦荞苗与普通光照对比总黄酮类含量显著增加, 与本研究得出的结果一致。因此, 紫外光 UVB 有利于促进苦荞中黄酮类化合物的积累。张继斌等^[19]对主产地云南、贵州、陕西、四川的苦荞黄酮类成分的含量分析比较, 结果发现紫外光较强的云南产地的苦荞中槲皮素等黄酮类明显高于其他产地^[20]。因此, 推测苦荞在受到紫外光胁迫时, 机体会通过积累大量的黄酮类物质来抵御紫外光的辐射伤害, 紫外光可能是促进苦荞中芦丁等黄酮类化合物累积的关键环境因子之一。

2017 年, Zhang 等^[7]发表了苦荞的基因组, 为苦荞黄酮类化合物合成调控机制的研究奠定了基础。本

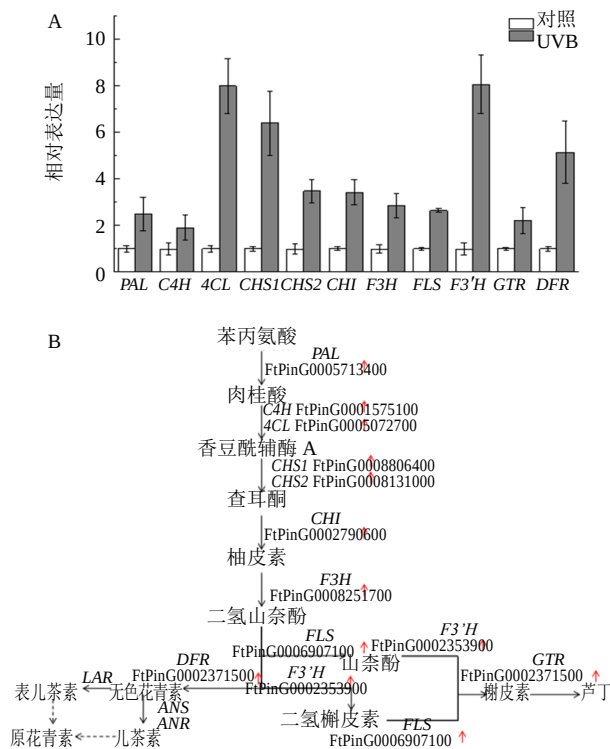


图 3 UVB 处理后黄酮合成途径中关键基因表达量变化 (A) 及合成途径 (B)

Fig. 3 Expression changes of genes involved in flavonoid synthesis pathway under UVB radiation

研究筛选了黄酮合成途径中的 11 个关键酶基因, 通过 qRT-PCR 检测发现, 这 11 个关键基因的表达量均有不同程度的上升。其中, 芦丁合成支路上的重要关键酶 *F3'H*、*FLS*、*GTR* 等明显上调, 这与紫外光 UVB 处理后苦荞幼苗中芦丁含量上升的结果相对应; 此外, 实验还发现花青素/原花青素合成支路上的关键酶基因 *DFR* 的表达量上升了 6 倍, 这也就解释了紫外光 UVB 处理后苦荞幼苗中儿茶素和表儿茶素含量增加的原因。进一步分析黄酮合成途径上游的一些关键酶基因的变化, 发现 *PAL*、*C4H*、*4CL*、*CHS1*、*CHS2*、*CHI* 6 个上游的基因也均有不同程度的表达上升, 说明紫外光 UVB 照射不仅是影响了苦荞黄酮类化合物合成途径中个别基因的表达, 而是诱发了整个苦荞黄酮类化合物合成途径中从上游到下游多个基因的表达上调, 从而促进苦荞体内芦丁、儿茶素和表儿茶素等多个黄酮类化合物的积累。有研究表明黄酮类化合物的合成与 bHLH (basic helix-loop-helix)、bZIP (basic region-leucine zipper)、MYB (v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog) 等家族的转录因子的调控密切相关^[21-24]。研究发现玉米中

的MYB P1和P2通过与黄酮合成途径的关键酶CHS、CHI1和DFR等主要靶基因结合影响黄酮类化合物的合成^[25]。Zhang等^[26]研究也发现苦荞FtMYB116通过与F3'H的启动子结合,促进苦荞中芦丁等化合物的累积。然而,苦荞是如何响应紫外光UVB照射,又是通过与哪些调控因子互作来调控体内黄酮类化合物积累的,这些机制尚不清晰,有待于进一步的研究。植物的次生代谢调控是一个复杂的、动态的过程,本研究发现紫UVB能够通过正调控苦荞黄酮合成途径中多个基因的表达从而促进芦丁、儿茶素、表儿茶素等化合物的积累,为进一步理解苦荞中芦丁等黄酮类化合物的调控奠定基础,同时也为苦荞的育种提供了科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Suzuki T, Morishita T, Mukasa Y, et al. Breeding of 'Manten-Kirari', a non-bitter and trace-rutinosidase variety of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) [J]. *Breed Sci*, 2014, 64(4): 344-350.
- [2] 李双江, 朱冬寅, 秦东, 等. 苦荞类黄酮3'-羟化酶基因的克隆及其冷胁迫下的组织表达 [J]. *中草药*, 2014, 45(9): 1300-1306.
- [3] 李洁, 梁月琴, 郝一彬. 苦荞类黄酮降血脂作用的实验研究 [J]. *山西医科大学学报*, 2004, 35(6): 570-571.
- [4] 张继斌, 王玉, 徐浪, 等. 不同产地苦荞麦中黄酮类成分的含量测定与分析 [J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(24): 143-148.
- [5] Punyasiri P A, Abeyasinghe I S, Kumar V, et al. Flavonoid biosynthesis in the tea plant *Camellia sinensis*: Properties of enzymes of the prominent epicatechin and catechin pathways [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2004, 431(1): 22-30.
- [6] Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology [J]. *Plant Physiol*, 2001, 126(2): 485-493.
- [7] Zhang L J, Li X X, Ma B, et al. The tartary buckwheat genome provides insights into rutin biosynthesis and abiotic stress tolerance [J]. *Mol Plant*, 2017, 10(9): 1224-1237.
- [8] 康亚兰, 裴瑾, 蔡文龙, 等. 药用植物黄酮类化合物代谢合成途径及相关功能基因的研究进展 [J]. *中草药*, 2014, 45(9): 1336-1341.
- [9] Arguello-Astorga G, Herrera-Estrella L. Evolution of light-regulated plant promoters [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998, 49: 525-555.
- [10] Chessin M, Cohen L I. Induction of chlorosis by ultraviolet light in non-irradiated plant tissues [J]. *Photochem Photobiol*, 1962, 1(2): 131-133.
- [11] Morales L O, Tegelberg R, Brosché M, et al. Effects of solar UVA and UVB on gene expression and phenolic accumulation in *Betula pendula* leaves [J]. *Comp Biochem Physiol Part A: Mol Integr Physiol*, 2009, 153(2): S202.
- [12] 姚银安, 祖艳群, 李元. 紫外线B辐射与植物体内酚类次生代谢的关系 [J]. *植物生理学通讯*, 2003, 39(2): 179-184.
- [13] 陈润泽. 紫外诱导对圆锥铁线莲次生代谢的影响及其差异蛋白质组学研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [14] 刘长虹. 中短波紫外线调节采后番茄品质及相关次生代谢的效应与机理 [D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [15] Liu Y, Liu J, Wang Y, et al. The different resistance of two *Astragalus* plants to UV-B stress is tightly associated with the organ-specific isoflavone metabolism [J]. *Photochem Photobiol*, 2018, 94(1): 115-125.
- [16] 温东, 师玉华, 赵锐, 等. 苦荞MYB家族转录因子研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(6): 227-234.
- [17] Matsui K, Hisano T, Yasui, et al. Isolation and characterization of genes encoding leucoanthocyanidin reductase (FeLAR) and anthocyanidin reductase (FeANR) in buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) [J]. *J Plant Physiol*, 2016, 205: 41-47.
- [18] 雒晓鹏, 卜星星, 赵海霞, 等. LED光源对芽期苦荞黄酮合成的影响 [J]. *食品科学*, 2015, 36(3): 86-89.
- [19] 张继斌, 王玉, 徐浪, 等. 不同产地苦荞麦中黄酮类成分的含量测定与分析 [J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(24): 143-148.
- [20] 廖永丰, 王五一, 张莉, 等. 到达中国陆面的生物有效紫外线辐射强度分布 [J]. *地理研究*, 2007, 26(4): 821-827.
- [21] Liu M Y, Ma Z T, Wang A H, et al. Genome-wide investigation of the auxin response factor gene family in Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): E3526.
- [22] Zhou M L, Sun Z M, Ding M Q, et al. FtSAD2 and FtJAZ1 regulate activity of the FtMYB11 transcription repressor of the phenylpropanoid pathway in *Fagopyrum tataricum* [J]. *New Phytol*, 2017, 216(3): 814-828.
- [23] Matus J T, Loyola R, Vega A, et al. Post-veraison sunlight exposure induces MYB-mediated transcriptional regulation of anthocyanin and flavonol synthesis in berry skins of *Vitis vinifera* [J]. *J Exp Bot*, 2009, 60(3): 853-867.
- [24] Lea U S, Slimestad R, Smedvig P, et al. Nitrogen deficiency enhances expression of specific MYB and bHLH transcription factors and accumulation of end products in the flavonoid pathway [J]. *Planta*, 2007, 225(5): 1245-1253.
- [25] Lai Y S, Li H X, Yamagishi M. A review of target gene specificity of flavonoid R2R3-MYB transcription factors and a discussion of factors contributing to the target gene selectivity [J]. *Front Biol*, 2013, 8(6): 577-598.
- [26] Zhang D, Jiang C L, Huang C H, et al. The light-induced transcription factor FtMYB116 promotes accumulation of rutin in *Fagopyrum tataricum* [J]. *Plant Cell Environ*, 2019, 42(4): 1340-1351.

[责任编辑 时圣明]