

## 苦荞芽和苗中黄酮类化合物含量差异及关键基因表达分析

钱广涛<sup>1</sup>, 晁二昆<sup>1</sup>, 孙伟<sup>2</sup>, 杨维<sup>2</sup>, 董刚强<sup>3</sup>, 杜伟<sup>4</sup>, 陈庆富<sup>5</sup>, 朱智慧<sup>1</sup>, 盛玮<sup>1\*</sup>, 薛建平<sup>1\*</sup>

(1. 淮北师范大学 生命科学学院 资源植物生物学安徽省重点实验室, 安徽 淮北 235000;

2. 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;

3. 安利(中国)植物研发中心有限公司, 江苏 无锡 214115;

4. 安捷伦科技(中国)有限公司, 北京 100102;

5. 贵州师范大学, 贵阳 550001)

**[摘要]** 目的:研究新资源食品苦荞芽和苦荞苗中黄酮类化合物儿茶素、表儿茶素、芦丁和槲皮素的含量差异及相关基因表达情况,揭示苦荞麦种子发芽过程中黄酮类次生代谢产物及相关基因表达的动态变化趋势,为苦荞芽苗菜的品质选择提供科学依据。方法:运用超高效液相色谱-串联四级杆质谱(UPLC-ESI-QQQ-MS)对苦荞芽和苦荞苗中儿茶素、表儿茶素、芦丁和槲皮素进行含量检测,并通过实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)技术检测苦荞芽和苗中有关黄酮类化合物合成相关基因的表达水平。结果:通过多反应MRM模式检测发现苦荞芽和苦荞苗中儿茶素、表儿茶素、芦丁、槲皮素的相对含量及合成路径中相关基因 *FtPAL*, *FtC4H*, *Ft4CL*, *FtCHS*, *FtCHI*, *FtF3H*, *FtF3'H*, *FtFLS*, *FtDFR*, *FtLAR*, *FtANS*, *FtANR* 的表达量均存在差异,苦荞芽中黄酮类化合物含量和相关基因表达量均高于苦荞苗。结论:苦荞芽中黄酮类次生代谢物的更多积累可能和苦荞麦种子萌发初始阶段抵御外界环境有关。从应用角度来看,苦荞芽中的黄酮类化合物含量高于苦荞苗,具有更高的营养价值。

**[关键词]** 苦荞芽; 苦荞苗; 黄酮类化合物; 基因表达; 发芽过程; 动态变化

**[中图分类号]** R22;R289;R2-031;R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)13-0174-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20201513

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200413.2021.004.html>

**[网络出版日期]** 2020-4-14 9:45

### Analysis of Flavonoid Content and Key Gene Expressions in Sprout and Seedling of Tartary Buckwheat

QIAN Guang-tao<sup>1</sup>, CHAO Er-kun<sup>1</sup>, SUN Wei<sup>2</sup>, YANG Wei<sup>2</sup>, DONG Gang-qiang<sup>3</sup>, DU Wei<sup>4</sup>,  
CHEN Qing-fu<sup>5</sup>, ZHU Zhi-hui<sup>1</sup>, SHENG Wei<sup>1\*</sup>, XUE Jian-ping<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Resource Plant Biology of Anhui Province, School of Life Sciences, Huaibei Normal University, Huaibei 235000, China;

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

100700, China; 3. Amway (China) Botanical R&D Centre, Wuxi 214115, China;

4. Agilent Technology (China) Co. Ltd., Beijing 100102, China;

5. Research Center of Buckwheat Industry Technology, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China)

**[收稿日期]** 20200117(014)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(31501368,81573518);安徽省教育厅高校科研平台创新团队项目(KJ2015TD001)

**[第一作者]** 钱广涛,在读硕士,从事中药资源与鉴定研究,E-mail:Qgtwu20@163.com

**[通信作者]** \*盛玮,教授,从事食品生物技术研究,E-mail:biosw2006@126.com;

\*薛建平,教授,硕士生导师,从事中药资源学研究,Tel:0561-3807507,E-mail:xuejp@163.com

**[Abstract]** **Objective:** To reveal the dynamic changes of flavonoids secondary metabolites and relevant genes expressions in the process of germination of tartary buckwheat seeds by investigating the content of catechins, epicatechins, rutin, and quercetin, and the expressions of their relevant genes in tartary buckwheat sprouts and seedlings, in order to provide scientific basis for the selection of high-quality, high-nutrition tartary buckwheat sprouts. **Method:** Contents of catechin, epicatechin, rutin, and quercetin in tartary buckwheat sprouts and seedlings were detected by UPLC-ESI-QQQ-MS, and the expression levels of genes relating to flavonoids synthesis in tartary buckwheat sprouts and seedlings were detected by real-time quantitative PCR. **Result:** There were differences between tartary buckwheat sprouts and seedlings in the relative contents of catechin, epicatechin, rutin and quercetin, as well as the expressions of relevant genes in the synthesis pathway, including *FtPAL*, *FtC4H*, *Ft4CL*, *FtCHS*, *FtCHI*, *FtF3H*, *FtF3'H*, *FtFLS*, *FtDFR*, *FtLAR*, *FtANS*, *FtANR*. The contents of flavonoids and the expressions of relevant genes in tartary buckwheat sprouts were higher than those in tartary buckwheat seedlings. **Conclusion:** The higher accumulation of secondary metabolites and flavonoids in tartary buckwheat sprouts may be related to tartary buckwheat seeds' resistance to the external environment in the initial growth stage of germination. From the perspective of application, there are more flavonoids in tartary buckwheat sprouts than in tartary buckwheat seedlings, indicating that tartary buckwheat sprouts have a higher nutritional value.

**[Key words]** tartary buckwheat sprout; tartary buckwheat seedling; flavonoids; gene expression; germination; dynamic change

苦荞麦又称鞑靼荞麦,是双子叶石竹目蓼科荞麦属一年生草本植物,主要分布在我国西南山区以及部分高寒偏冷地区,是一种重要的药食同源植物<sup>[1]</sup>。苦荞麦种子中含有丰富的次级代谢产物,黄酮类、酚类、萜类、有机酸类等是其成分。黄酮类成分主要包括黄酮醇、黄烷醇、查尔酮、黄烷酮、原花青素和花青素等。药理学研究显示苦荞麦种子中的原花青素、芦丁、槲皮素等黄酮类化合物具有消炎抗菌、抗氧化、降血糖、抗肿瘤等药理作用<sup>[2-4]</sup>。

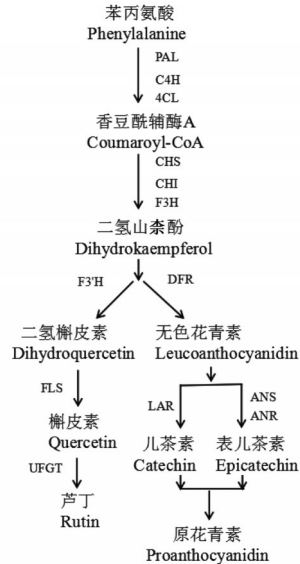
近年来随着苦荞麦苗被列为新资源食品,市场上出现了以苦荞芽和苦荞苗为代表的新型芽苗类蔬菜,同时苦荞麦苗在医药、化妆品、保健品、食品等方面也具有广阔的应用前景<sup>[5-7]</sup>,因此有关对苦荞芽和苗的研究越来越受到重视。研究表明苦荞麦种子萌发后可有效克服芦丁的降解,降低胰蛋白酶抑制剂活性,显著提高了苦荞麦种子中活性营养物质的含量<sup>[8]</sup>。当前针对苦荞种子萌发过程中苦荞芽和苦荞苗的研究多集中在改变外界环境等层面,结果表明改变苦荞生长环境可提高苦荞芽苗中黄酮类化合物的合成量,如李海平等<sup>[9]</sup>研究发现UV-C照射可提高苦荞芽总黄酮量;雒晓鹏等<sup>[10-11]</sup>发现LED蓝光、红光以及喷施茉莉酸甲酯都可提高苦荞芽苗中总黄酮含量。但是这些研究仅关注了总黄酮含量或者芦丁含量,基因表达层面也只涉及到部分

黄酮代谢的上游基因,因此,从代谢水平和基因水平分析苦荞芽和苦荞苗中主要黄酮类化合物含量差异情况及合成路径相关酶基因的表达情况显得尤为重要。

苯丙烷代谢途径中关于黄酮类化合物的合成除了与苯丙氨酸解氨酶(PAL),查尔酮异构酶(CHI),查尔酮合成酶(CHS)等酶有关外,还与花青素还原酶(ANR),无色花青素还原酶(LAR),黄酮醇合成酶(FLS)等酶有关<sup>[12-14]</sup>。黄烷醇化合物(+)儿茶素和(-)表儿茶素作为原花青素合成的直接前体受到基因LAR和ANR的控制,LAR可将无色花色素催化成儿茶素,ANR利用NADPH将花色素催化成表儿茶素<sup>[15]</sup>,见图1。同时二氢槲皮素在FLS的催化下产生槲皮素,槲皮素在糖基转移酶(UFGT)的催化下生成芦丁。已有研究表明在改变光源和培养基成分条件下,LAR表达量与儿茶素含量呈显著正相关;山葡萄花后2周至成熟阶段ANR表达量同表儿茶素的相对含量也呈正相关关系<sup>[16-17]</sup>。

本研究以苦荞芽和苦荞苗为研究对象,采用超高效液相色谱电喷雾四级杆飞行时间串联质谱(UPLC-ESI-QQQ-MS)分别对苦荞芽和苦荞苗中儿茶素、表儿茶素、芦丁和槲皮素的含量进行测定,并通过实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测苦荞芽和苦荞苗中相关基因的表达情况,旨在揭示苦荞芽和苦荞苗中黄酮类化合物合

成过程中转录水平和代谢水平上的差异,为高品质、高营养的苦荞芽苗菜的选择提供一定的理论依据。



PAL. 苯丙氨酸解氨酶; C4H. 肉桂酸-4-羟化酶; 4CL. 4-香豆酸: 辅酶A连接酶; CHS. 查尔酮合成酶; CHI. 查尔酮异构酶; F3H. 黄烷酮-3-羟化酶; F3'H. 类黄酮-3'-羟化酶; FLS. 黄酮醇合成酶; DFR. 二氢黄酮醇-4-还原酶; LAR. 无色花青素还原酶; ANS. 花色素合成酶; ANR. 花青素还原酶; UFGT. 糖基转移酶

图1 黄酮类化合物代谢途径

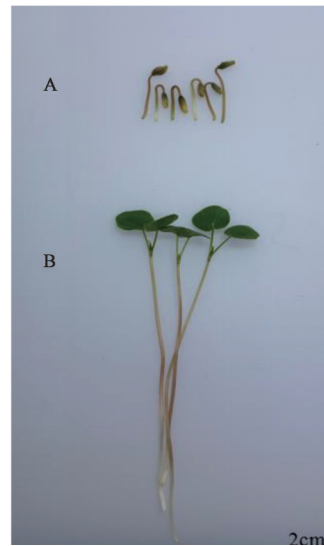
Fig. 1 Metabolic pathway of flavonoids

### 1 材料

EASYspin Plus 型植物 RNA 快速提取试剂盒(北京爱博森生物科技有限公司,批号 RA38); TransStart Top Green qPCR SuperMix, EasyScript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒(北京全式金生物技术有限公司,批号分别为 N10627, L21108); 对照品儿茶素、表儿茶素、芦丁、槲皮素(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 Z8J7B8461, C20N6Q5882, Y06J8S37439, C20J6Y1722, 纯度均 $\geq 98\%$ ); 甲醇、乙腈、乙酸、乙酸铵[色谱纯,赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; BioTek® Epoch™ Microplate Spectrophotometer 超微量微孔板分光光度计(美国伯腾仪器有限公司); Rotor-Gene Q 实时荧光定量(Real-time)PCR 仪(德国 QIAGEN 公司); 安捷伦 1290 系列超高效液相色谱仪, 6400 型三重四级杆质谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司]; BS210S 型 1/1 万电子分析天平(德国赛多利斯公司); 舒美 KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率 100 W,频率 40 kHz)。

苦荞麦种子由贵州师范大学石桃雄老师提供,

经贵州师范大学陈庆富教授鉴定为蓼科植物苦荞麦 *Fagopyrum tataricum* 的种子(种子形态为黑短状,产自贵州咸宁,名称为黑苦1号, Gaertn TB115)。挑选颗粒饱满、无破损、无霉变的苦荞麦种子在 25 °C,光周期 14 L:10 D 的植物间培养,分别采收苦荞芽(播种大约 3 d 后子叶未张开呈浅黄色,下胚轴长 3~5 cm)和苦荞苗(大约 8 d 后子叶展平为绿色,下胚轴长 10~15 cm)置液氮中速冻,-80 °C 冰箱储藏备用,见图 2。



A. 苦荞芽; B. 苦荞苗

图2 苦荞芽和苦荞苗的形态特征

Fig. 2 Morphological characteristics of tartary buckwheat sprouts and seedlings

### 2 方法

2.1 RNA 的提取, cDNA 的制备 按照北京爱博森生物科技有限公司 EASYspin Plus 植物 RNA 快速提取试剂盒方法分别提取苦荞芽和苦荞苗总 RNA, 液氮充分研磨后取样品 50~100 mg 转入装有 RLT 500  $\mu\text{L}$  和 PLANTaid 50  $\mu\text{L}$  的离心管中, 充分震荡离心, 将裂解物上清液转到离心管, 并加入 0.5 倍体积的无水乙醇; 混合液加入到基因组消除柱中, 离心(13 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 2 min) 去掉废液; 基因组消除柱中加入 RLT Plus 500  $\mu\text{L}$ , 离心收集废液并加入 0.5 倍体积的无水乙醇, 将混合物加入到吸附柱 RA 中离心去掉废液; 分别加入 RW 1 700  $\mu\text{L}$  离心去掉废液, 加入 RW 500  $\mu\text{L}$  离心去掉废液并重复 1 次, 将吸附柱 RA 放入 RNase free 离心管中加入 70~90 °C RNase free water 30  $\mu\text{L}$  离心即可获得 RNA 产物, 对提取的 RNA 分别进行浓度和纯度检测。结果显示  $A_{260/280}$  在 2.0 左右, 说明 RNA 的浓度和纯度在正常

范围内,没有明显的DNA和蛋白污染,同时琼脂糖凝胶电泳检验结果也显示了RNA的完整性。利用EasyScript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix试剂盒方法将RNA反转录成cDNA并检测其浓度,制备出的cDNA稀释10倍,保存在-20℃冰箱中备用。

**2.2 对照品、供试品溶液的制备** 分别精密称取对照品儿茶素、表儿茶素、芦丁、槲皮素,按照约每1 mg加入甲醇1 mL的浓度进行制备,充分溶解后将4种对照品溶液混合并稀释成质量浓度为100 μg·L<sup>-1</sup>的对照溶液备用;取苦荞芽和苦荞苗样品各3份,每份1 g,液氮充分研磨后加入70%甲醇5 mL,4℃冷藏2 h,超声提取30 min,12 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,0.22 μm微孔滤膜过滤备用。

**2.3 色谱条件** 安捷伦Eclipse Plus C<sub>18</sub>色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)。流动相5%乙酸+5 mmol·L<sup>-1</sup>乙酸铵(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~2 min, 5%B; 2~2.5 min, 5%~18.5%B; 2.5~10.5 min, 18.5%~41%B; 10.5~11 min, 41%~59%B; 11~12 min, 59%~100%B; 12~15 min, 100%B);流速0.3 mL·min<sup>-1</sup>;全波长DAD扫描;柱温35℃;进样量3 μL。

**2.4 质谱条件** 采用电喷雾离子源(ESI),检测方式多反应监测(MRM),干燥气氮气(N<sub>2</sub>),干燥气温度300℃,干燥气流速5 L·min<sup>-1</sup>,雾化器压力310.275 kPa,鞘气温度250℃,鞘气流速11 L·min<sup>-1</sup>,毛细管电压3 500 V;儿茶素、表儿茶素、芦丁采用正离子模式检测,槲皮素采用负离子模式检测,对照品质谱条件见表1。

表1 对照品质谱参数

Table 1 Mass spectrum parameters

对照品	定量离子对	能量/V
儿茶素	291/139	10
表儿茶素	291/139	10
芦丁	611/303.1	25
槲皮素	301/151.1	30

注:电压均为120 V。

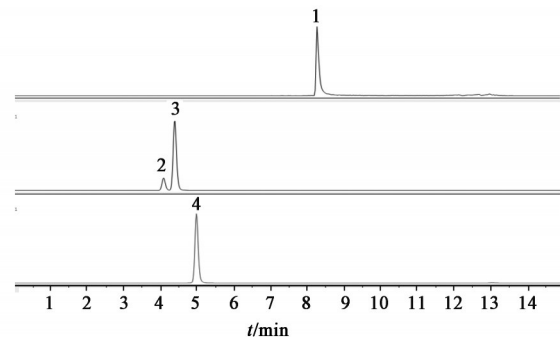
**2.5 Real-time PCR引物设计及基因表达分析** 实验以苦荞组蛋白*FtH3*基因为内参基因<sup>[18]</sup>,选择苦荞黄酮类化合物合成相关基因*FtPAL*, *FtC4H*, *Ft4CL*, *FtCHS*, *FtCHI*, *FtF3H*, *FtF3'H*, *FtFLS*, *FtDFR*, *FtLAR*, *FtANS*, *FtANR*作为本实验黄酮代谢途径基因表达情况的研究对象<sup>[19]</sup>。引物送至生物工程(北京)股份有限公司合成,引物信息

见表2。

反应按照Real-time PCR试剂盒说明进行,反应体系20 μL,包括2×TransStart Green qPCR SuperMix UDG 10 μL, cDNA 1 μL, Primer F和Primer R各0.4 μL; Nuclease-free Water 8.2 μL。反应条件:50℃ 2 min; 95℃ 10 s, 60℃ 15 s, 72℃ 15 s, 40个循环。PCR反应后温度从50℃上升到95℃绘制溶解曲线以检测扩增产物的正确性,每个样品进行技术重复3次,利用2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>法计算基因的相对表达量。

### 3 结果

**3.1 苦荞芽和苦荞苗中黄酮类化合物峰面积差异** 对儿茶素、表儿茶素、芦丁和槲皮素对照品及苦荞芽和苦荞苗进行多反应监测(MRM)模式检测,结果显示儿茶素、表儿茶素、芦丁和槲皮素保留时间分别为4.087, 4.382, 4.974, 8.308 min,苦荞芽苗中4种黄酮类化合物的MRM模式质谱见图3,每个样品重复3次进行检测,重复性良好。



1.槲皮素;2.儿茶素;3.表儿茶素;4.芦丁

图3 苦荞芽和苦荞苗中4种黄酮类成分的离子色谱

Fig. 3 Ion chromatograms of four types of flavonoids in tartary buckwheat sprouts and seedlings

利用MRM模式检测样品中各黄酮类化合物峰面积,结果显示苦荞芽和苦荞苗作为2种形态,苦荞芽中儿茶素、表儿茶素、芦丁和槲皮素含量均高于苦荞苗,测定结果见表3。

**3.2 苦荞芽和苦荞苗相关基因表达分析** 本实验通过研究黄酮类化合物合成的基因表达量,探究苦荞芽和苦荞苗中相关基因的差异情况。采用Real-time PCR检测各基因表达情况,结果苦荞苗中基因*FtPAL*, *FtC4H*, *Ft4CL*, *FtCHS*, *FtCHI*, *FtF3H*, *FtF3'H*, *FtFLS*, *FtDFR*, *FtLAR*, *FtANS*, *FtANR*表达量均未1,苦荞芽中对应基因表达量分别为3.234, 2.627, 1.757, 13.056, 2.796, 5.075, 2.468, 3.655, 3.298, 1.243, 8.614, 3.074,苦荞芽均高于苦荞苗。

表 2 Real-time PCR 引物序列

Table 2 Primers for Real-time PCR

基因	中文名称	基因 ID	引物	引物序列(5'-3')
PAL	苯丙氨酸解氨酶	FtPinG0005713400	PAL-QF	ACAAGGCGTTACATGGAGGA
			PAL-QR	CCAAGCTAGGGTTTCTCCCA
C4H	肉桂酸-4-羟化酶	FtPinG0001575100	C4H-QF	GTCCTGGTATCATCCTCGCA
			C4H-QR	GCGGTGGGCTTCATAACAAT
4CL	4-香豆酸:辅酶 A 连接酶	FtPinG0005072700	4CL-QF	GCAACCATAGACGCTCAAGG
			4CL-QR	TGCATCGGCTATGGATGGAT
CHS	查尔酮合成酶	FtPinG0008806400	CHS-QF	AAGGAGGAGAAGCTCAAGGC
			CHS-QR	AAGACACCCCAATCCAACC
CHI	查尔酮异构酶	FtPinG0002790600	CHI-QF	TACTTTGAGGAATCCGCTGTGA
			CHI-QR	AGGGCTTCAACATGGTGATCTG
F3H	黄烷酮-3-羟化酶	FtPinG0008251700	F3H-QF	AACAGCAGCCGTTTGTCAAT
			F3H-QR	TGCTCCTTAGCCAGCTTCTT
F3'H	类黄酮-3'-羟化酶	FtPinG0002353900	F3'H-QF	GACCCACGATGCTAACTTCT
			F3'H-QR	AAATCCCTACCTCCTCTCA
FLS	黄酮醇合成酶	FtPinG0006907100	FLS-QF	TCGATCAAGAAGGCGAGTGA
			FLS-QR	TTCTCCTCGATCGGAAGCTC
DFR	二氢黄酮醇-4-还原酶	FtPinG0002371500	DFR-QF	TAAGATGACTGGCTGGATGT
			DFR-QR	GAGTTGGGATAATGCTAATG
LAR	无色花青素还原酶	FtPinG0002428800	LAR-QF	GGTTACGCCACCTATCGACC
			LAR-QR	GCTGCTGCTAGCAAATCGAC
ANS	花色苷合成酶	FtPinG0006306200	ANS-QF	GGAAGTAGGAGGGATAGAGGA
			ANS-QR	TGGAGAATGAAGGTCAAGGCA
ANR	花青素还原酶	FtPinG0007896600	ANR-QF	CTTGGGGCTATCCTGCATCC
			ANR-QR	GTGGCGAGTCCAATACTGCT

表 3 苦荞芽和苦荞苗中儿茶素、表儿茶素、芦丁、槲皮素的峰面积

Table 3 Peak area of catechins, epicatechins, rutin and quercetin in tartary buckwheat sprouts and seedlings

形态	儿茶素	表儿茶素	芦丁	槲皮素
苦荞芽	3 408	318 880	7 506 763	1 642 231
苦荞苗	681	155 969	6 058 573	292 779

*FtCHS*和*FtCHI*作为儿茶素、表儿茶素、芦丁、槲皮素合成的上游基因,在苦荞苗中基因表达量均低于苦荞芽,其中*FtCHS*相对表达量降低了约12倍。而*FtFLS*作为槲皮素、芦丁合成的直接上游基因,与苦荞芽相比,其在苦荞苗中基因相对表达量呈下降趋势。针对原花青素合成的前体物质即儿茶素和表儿茶素相关基因*FtLAR*,*FtANS*和*FtANR*的表达情况,本研究发现苦荞芽与苦荞苗相比,*FtLAR*的表达量略高于苦荞苗,而*FtANS*,*FtANR*的表达量则大约分别提升了约8倍和4倍。

#### 4 讨论

苦荞种子萌发成芽后,其体内黄酮、黄酮醇、花青素、类胡萝卜素等生物活性物质含量得到极大提升,其中芦丁含量比苦荞种子中提高了4~6倍<sup>[20-22]</sup>。同时苦荞麦种子萌发后的不同生长阶段也体现出了代谢品质上的区别,例如在适宜温度下,苦荞芽中总黄酮含量在前6 d呈上升趋势,之后则开始下降<sup>[23]</sup>;石磊等<sup>[24]</sup>发现苦荞种子在萌发中芦丁含量整体呈先上升后下降再上升趋势;胡俊君等<sup>[25]</sup>研究苦荞发芽期不同阶段不同部位活性成分变化情况后发现苦荞全粉中芦丁含量呈先上升后下降趋势。本实验经过对苦荞芽和苦荞苗中儿茶素、表儿茶素、槲皮素、芦丁相对定量后发现,苦荞芽中的儿茶素、表儿茶素、槲皮素、芦丁含量高于苦荞苗,变化趋势与前人的研究结果相类似。同时从基因水平上对黄酮类化合物合成路径中相关基因进行实时

定量基因检测后发现黄酮代谢途径相关基因的表达量在芽中高于苗中的表达,这与代谢结果变化趋势相一致。

苦荞芽菜作为一种新型功能型健康蔬菜,因其具有独特的口感及丰富的生物活性,受到日本、韩国等东南亚国家的欢迎<sup>[26]</sup>,同时苦荞芽菜具有降血糖、降血脂等功能,也可开发成糖尿病和心血管病患者的食疗蔬菜。

苦荞芽和苦荞苗在形态上差异明显。当前,苦荞芽菜的开发加工与综合利用在原料选择上大都为生长较成熟的苦荞苗。吴昆明<sup>[27]</sup>选取避光催芽2 d后光照培养10 d的苦荞苗作为原料制备苦荞芽粉;李俊等<sup>[28]</sup>选择生长8~10 d的苦荞苗来制备苦荞芽茶饮。苦荞芽菜食用部位为子叶和胚轴,因此本研究以2种不同发育阶段的苦荞芽和苦荞苗整株为材料,从代谢水平和基因表达上发现苦荞芽体内黄酮类化合物含量和基因表达量均高于苦荞苗,为今后苦荞芽菜产品原料的选择提供了借鉴,也为选育高营养的苦荞芽菜产品提供理论基础。同时,这一现象可能与苦荞萌发初始阶段抵御外界环境有关,但具体的作用机制尚需进一步探究。

该研究是在本实验室对40种不同品种的苦荞芽和苦荞苗组学研究基础上进行的,种子颜色上分为黑色( $n=20$ ),黄褐色( $n=20$ );按照形状分为长( $n=20$ ),短( $n=20$ ),产地包括云南、贵州、湖南、四川等地,所有品种苦荞芽和苦荞苗种子均由贵州师范大学石桃雄老师提供。分别对苦荞芽和苦荞苗样品进行MRM模式检测,通过对实验数据进行OPLS-DA分析发现不同品种苦荞苗和苦荞芽在种子颜色和种子形状上均可筛选出差异化合物,而苦荞芽和苦荞苗相比,苦荞芽中大多数差异化合物峰面积均高于苦荞苗,例如儿茶素、表儿茶素、芦丁、槲皮素、柚皮素、山柰酚等,因此本实验在此基础上选取了TB115(种子形态为黑短状,产自贵州咸宁,名称为黑苦1号)作为实验材料,通过对样品化合物峰面积测定和相关基因Real-time PCR检测验证了苦荞芽中4种黄酮类化合物峰面积和相关基因表达量均高于苦荞苗,为后期苦荞芽和苦荞苗转录组、相关分子实验以及优良品种选育奠定了基础。

#### [参考文献]

[1] 姜春丽,苏新堯,许亚春,等.光照对药食同源植物苦荞芽种子中原花青素积累关键酶*FtANR*,*FtLAR*基因表达的影响[J].中国中药杂志,2018,43(3):

469-477.

- [2] 谭萍,方玉梅,王毅红,等.苦荞种子黄酮类化合物清除DPPH自由基的作用[J].食品研究与开发,2008,29(12):20-23.
- [3] ZHANG W, YANG Q, XIA M, et al. Effects of nitrogen level on the physicochemical properties of tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.) starch[J]. Int J Biol Macromol, 2019, 129: 799-808.
- [4] 杨雄榜.不同胁迫对不同生长期苦荞黄酮积累及其合成相关酶基因表达的影响[D].雅安:四川农业大学,2014.
- [5] KIM S J, ZAIDUL I S M, MAEDA T, et al. A time-course study of flavonoids in the sprouts of tartary (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) buckwheats [J]. Sci Hortic(Amsterdam), 2007, 115(1): 13-18.
- [6] LIU C L, CHEN Y S, YANG J H, et al. Antioxidant activity of tartary (*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.) and common (*Fagopyrum esculentum* Moench) buckwheat sprouts[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(1): 173-178.
- [7] 王静波,赵江林,彭镰心,等.苦荞芽中黄酮类化合物含量及其抗氧化性的研究[J].现代食品科技,2013,29(5):965-968.
- [8] 陈鹏,侯智法.苦荞种子萌发过程芦丁降解酶的代谢规律[J].西北农业学报,2010,19(7):48-52.
- [9] 李海平,邢国明,李灵芝,等.UV-C照射对苦荞芽生长及品质的影响[J].激光生物学报,2010,19(2): 169-173,183.
- [10] 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.
- [11] 雒晓鹏,朱冬寅,黄云吉,等.茉莉酸甲酯对芽期苦荞黄酮积累及相关基因表达的影响[J].基因组学与应用生物学,2015,34(5):1040-1046.
- [12] WINKEL-SHIRLEY B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology[J]. Plant Physiol, 2001, 126(2): 485-493.
- [13] TIAN L, PANG Y, DIXON R A. Biosynthesis and genetic engineering of proanthocyanidins and (iso) flavonoids[J]. Phytochem Rev, 2008, 7(3):445-465.
- [14] 孙威,申欢,陈婷,等.日本蛇根草花青素还原酶基因的克隆及其生物信息学分析[J].基因组学与应用生物学,2019,38(1):233-238.
- [15] 夏涛,高丽萍,韦朝领,等.茶树儿茶素生物合成研究进展[C]//中国茶叶科技创新与产业发展学术研讨会论文集,重庆:出版社不详,2009:529-534.
- [16] 钟春水,赖瑞联,刘生财,等.光源或培养基成分对金

- 花茶愈伤组织中DFR、LAR与PPO基因表达及总儿茶素含量的影响[J]. 广西植物, 2016, 36(12): 1410-1415.
- [17] 赵权, 王军, 杨成君. 山葡萄黄烷-3-醇类生物合成及ANR和LAR2的表达[J]. 东北林业大学学报, 2013, 41(4): 136-139.
- [18] MATSUI K, HISANO T, YASUI Y, 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.
- [19] 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.
- [20] KIM S J, MAEDA T, ZAIDUL I S M, et al. Identification of anthocyanins in the sprouts of buckwheat [J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(15): 6314-6318.
- [21] KIM S J, ZAIDUL I S M, SUZUKI T, et al. Comparison of phenolic compositions between common and tartary buckwheat (*Fagopyrum*) sprouts [J]. Food Chem, 2008, 110(4): 814-820.
- [22] ZHOU Y M, WANG H, CUI L L, et al. Evolution of nutrient ingredients in tartary buckwheat seeds during germination [J]. Food Chem, 2015, 186: 244-248.
- [23] 刘金福, 李晓雁, 孟蕊. 苦荞发芽过程中促进黄酮合成的因素初探[J]. 食品工业科技, 2006, 27(10): 106-108.
- [24] 石磊, 刘超, 梁霞, 等. 萌发荞麦中芦丁和槲皮素含量变化的研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(15): 30-33.
- [25] 胡俊君, 仪鑫, 李红梅, 等. 苦荞发芽期不同部位的活性成分含量变化[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(23): 13-17, 87.
- [26] KIM S L, KIM S K, PARK C H. Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sprouts as a new vegetable [J]. Food Res Int, 2004, 37(4): 319-327.
- [27] 吴昆明. 苦荞芽粉的制备、体内抗氧化活性评价及产品开发[D]. 西安: 陕西师范大学, 2017.
- [28] 李俊, 卢阳, 刘永翔, 等. 乳酸菌发酵对苦荞芽苗饮料品质和营养成分的影响[J]. 食品与机械, 2018, 34(12): 195-199.

[责任编辑 顾雪竹]