

蓝光连续光照对大豆芽苗菜类黄酮合成的影响

李娜, 张晓燕, 田纪元, 贾礼, 龚春燕, 居鑫, 刘自力, 崔瑾

(南京农业大学 生命科学院, 江苏 南京 210095)

摘要:以黑暗培养(D)为对照,阐明了蓝光(B)连续光照对大豆(*Glycine max* L. Merr.)芽苗菜品种东农690生长和类黄酮合成的影响。结果表明:与对照组相比,蓝光连续光照36 h显著提高了大豆芽苗菜子叶中山奈酚(kaempferol)和黄豆苷元(daidzein)的含量,同时子叶中蓝光光受体基因 $CRY1$ 、 $CRY2$,类黄酮合成相关基因 IFS 的表达量也显著提高。处理组中,大豆芽苗菜下胚轴中黄豆苷(daidzin)含量逐渐增加,黄豆苷元(daidzein)、染料木素(genistein)、染料木苷(genistin)和山奈酚(kaempferol)的含量先升高后下降,但在36 h时均显著高于黑暗处理。在蓝光光照6和24 h时,大豆芽苗菜下胚轴中苯丙氨酸解氨酶(PAL)与查尔酮异构酶(CHI)活性与对照组相比均显著提高。类黄酮合成途径相关基因 PAL 、 CHS 、 ANS 、 IFS 的表达量在蓝光处理下均是先升高后下降,而蓝光光受体基因 $CRY1$ 与 $CRY2$ 的表达量随着光照时间延长逐渐升高。

关键词:大豆芽苗菜;类黄酮;蓝光

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2017.01.0051

Effect of Blue Light Continuous Illumination on Flavonoid Synthesis in Soybean Sprouts

LI Na, ZHANG Xiao-yan, TIAN Ji-yuan, JIA Li, GONG Chun-yan, JU Xin, LIU Zi-li, CUI Jin

(College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The effects of continuous blue light illumination on the growth and flavonoid synthesis of soybean sprouts were studied. Dark treatment was used as control. It turned out that compared with the dark, continuous blue light illumination for 36 h significantly improved the content of Kaempferol and Daidzein in the cotyledon, and the expression of related genes $CRY1$, $CRY2$ and IFS were significantly up-regulated. The Daidzein content in hypocotyls was increased gradually with the illumination time going on. As the extension of illumination time, the content of daidzein, genistein, genistin and kaempferol increased and then decreased in the hypocotyls, which was significantly higher than those in the dark. Constant blue light treatment for 6 and 24 h significantly increased the activity of phenylalanine ammonia lyase (PAL) and chalcone isomerase (CHI), respectively. Moreover, continuous blue light treatment up-regulated the expression of flavonoid biosynthesis-related structural genes (PAL , CHS , ANS , IFS) and decreased afterwards, while the expression of blue light receptor genes ($CRY1$, $CRY2$) increased progressively.

Keywords: Soybean sprouts; Flavonoid; Blue light

大豆(*Glycine max* L. Merrill)芽苗菜风味独特、口感脆嫩,富含抗坏血酸、膳食纤维、蛋白质、多酚以及类黄酮等^[1-2]对人体有益的物质,深受消费者喜爱。其含有的类黄酮是植物中广泛存在的一类次生代谢产物,赋予植物花、果实以及种子鲜艳的色泽,使植物避免病原微生物侵袭和防御紫外线。作为天然的自由基清除剂与抗氧化剂,类黄酮具有抗衰老、增强免疫力、预防癌症的功效,还具有降低心肌耗氧量、防治血管硬化等作用^[3-5]。因此,如何提高包括大豆芽苗菜在内的大豆制品中类黄酮的含量受到了国内外研究者的广泛关注。

在植物生长过程中,类黄酮的合成受到多种环

境因子的影响^[6],其中光照有利于类黄酮积累^[7]。有研究表明,适度蓝光照射可以引起植物特定的生理生化反应,使植物表皮积累黄酮醇,进而增强植物对UV的防御能力^[8]。连续光照是指利用人工光源确保光质及光照强度都恒定的条件下,光照时间超过24 h的光周期管理方法^[9]。连续光照在人工光环境工厂中具有广泛的应用价值。有研究表明,水培生菜在采收之前,若利用LED红蓝光连续光照3~5 d,可显著提高产量和品质,提高抗坏血酸与可溶性糖的含量,显著降低硝酸盐含量^[10]。若适当地将连续光照的方法应用在植物工厂中,可以在提高品质与产量的同时,减少植物伤害的发生。大豆芽

收稿日期:2016-09-20
基金项目:江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(15)1040);国家自然科学基金(31572169)。
第一作者简介:李娜(1990-),女,硕士,主要从事植物光生物学方面的研究。E-mail:2014116009@njau.edu.cn。
通讯作者:崔瑾(1974-),女,博士,教授,主要从事植物光生物学、作物品质调控及抗性生理等研究。E-mail:cuijin@njau.edu.cn。

苗菜在连续光照 4 ~ 6 d 后与黑暗处理下相比,总酚、酚酸和黄酮类化合物的含量显著提高^[11]。

在类黄酮合成过程中,苯丙氨酸解氨酶(PAL)和查尔酮异构酶(CHI)是其合成的关键酶,其活性受光的影响。CRY1、CRY2 是已知的两种蓝光/UV-A 的光受体,有研究表明,光照可以诱导植物中花青苷、异黄酮等次生代谢物的合成,在此过程中光受体基因(CRY1、CRY2)发挥着重要作用^[12]。拟南芥蓝光受体隐花色素 CRY1 和 CRY2 在光信号调控植物的一些生理功能过程中起关键作用,包括抑制下胚轴的伸长、促进花色素苷的积累和子叶展开等^[13]。Hoffmann 等^[12]和 Li 等^[13-14]证明 CRY1、CRY2 是苹果中花青苷合成的重要参与者。研究发现,类黄酮合成相关的早期基因(如 PAL、CHS)及晚期基因(如 IFS、ANS)的表达量与检测的代谢产物的含量有相关性^[15-16]。目前为止,有关蓝光连续光照影响大豆芽苗菜黄酮类化合物合成的报道尚不多见。本文初步探究了蓝光连续光照对大豆芽苗菜类黄酮合成的影响,旨在提高大豆芽苗菜的品质,并为光环境调控技术在芽苗菜工业化生产中的应用提供一定的科学依据。

表 1 不同 LED 光谱能量分布的主要技术参数

光质	光谱能量分布	峰值波长	波长半宽	光强
Light quality	Light spectral energy distribution	λ_p/nm	$\Delta\lambda/\text{nm}$	Light intensity/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$
D	100% 黑暗 100% Dark	—	—	—
B	100% 蓝光 100% Blue	460	5	30 ± 3

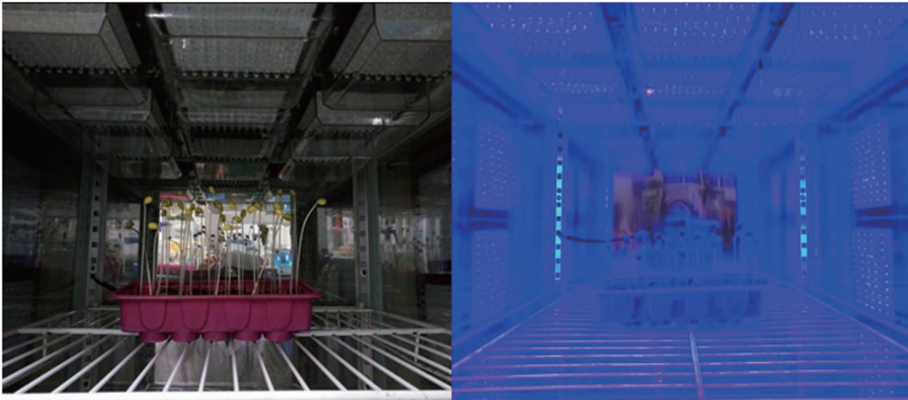


图 1 光源小区示意图

Fig. 1 General view of LED light plot

1.3 测定项目与方法

1.3.1 生长指标 对照组及蓝光连续光照培养至第 0,6,12,24 和 36 小时后随机取样,每处理分别取 15 株,用直尺测量下胚轴长和根长;另外,每处理分别取 10 株,用万分之一天平(Sartorius, BSA 124S)测定可食鲜质量和全株鲜质量,然后 105℃ 杀青 15 min,85℃ 烘至恒质量,测定可食干质量和全株干

1 材料与方法

1.1 材料

试验大豆品种为东农 690,购买于江苏苏芽食品有限公司。

1.2 试验设计

选择大小均匀、颗粒饱满且无破损的大豆种子,在 25℃ 浸泡 6 ~ 8 h,然后催芽 24 h,待大豆发芽约 0.5 ~ 1.0 cm 时,将发芽种子播种到含蛭石育苗盆中,每盆 55 株左右。将育苗盆转移到培养箱中进行黑暗培养 60 h,然后处理组大豆芽苗菜蓝光(B)连续光照 36 h 处理,对照组继续黑暗(D)培养 36 h。培养箱相对湿度(75 ± 5)%,温度为(25 ± 2)℃。

光源为内置 LED 灯的培养箱(浙江宁波海曙赛福实验仪器厂),可发出蓝光。光质的光谱能量分布为 100%,主要技术参数见表 1。调节光源与植株的距离、电流及占空比,并使用光量子计(GLZ-C,浙江托普云农科技股份有限公司)测量光强,确保光强为(30 ± 3) $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 左右,培养至第 0,6,12,24 和 36 小时分别采收,测量各项指标。

质量,3 次重复。

可食率(%) = 可食鲜质量/全株鲜质量 × 100

含水率(%) = (全株鲜质量 - 全株干质量)/全株鲜质量 × 100

1.3.2 类黄酮含量测定 类黄酮主要单体黄豆苷元、黄豆苷、染料木素、染料木苷、芦丁(rutin)和山奈酚含量采用超高效液相色谱(UPLC)进行定性定

量分析。色谱条件:色谱柱为 Phenomenex C18 (150 mm×4.6 mm, 0.5 μm),流动相由 A 相(乙腈)和 B 相(0.2% 甲酸)组成。采用梯度洗脱,洗脱程序为:0~3.5 min, B:5%~80%;3.5~5.5 min, B:80%;5.5~6.5 min, B:80%~5%。体 积 流 量:0.3 mL·min⁻¹;进样量:1 μL;柱温:30℃;检测波长:260 nm。标样为黄豆苷元、染料木苷、染料木素、山奈酚(成都曼思特生物科技有限公司)、黄豆苷(阿拉丁公司)、芦丁(源叶生物公司)。花青苷含量的测定参照 Zhou 等^[17]报道的方法。称取 0.8 g 大豆芽苗菜下胚轴,浸泡于 8 mL 1% 盐酸-甲醇溶液中,避光 24 h 后用分光光度计测定溶液 530 和 657 nm 处的吸光值, A₅₃₀-0.25A₆₅₇ 即为花青苷的相对含量。差值每增加 0.01 定义为一个单位 U,取样测定重复 3 次。

1.3.3 PAL、CHI 粗酶液提取及酶活性测定 连续光照培养至第 0,6,12,24 和 36 小时后,测定大豆芽苗菜子叶和下胚轴中 PAL、CHI 酶活性,重复 3 次。PAL 酶活性参照刘金等^[18]和 Lister 等^[19-20]的方法测定。CHI 酶活性参照 Miao 等^[21]方法测定。

1.3.4 样品总 RNA 提取及荧光实时定量 PCR 分析 样品总 RNA 采用 Trizol 法^[22]提取,琼脂糖凝胶电泳确定 RNA 未降解后反转录成 cDNA,反转录按照试剂盒内说明进行(Thermo Fisher Scientific Inc., USA)。荧光定量 PCR 反应在实时定量监测系统 (ABI 7500, USA)内进行。反应体系为 20 μL:cDNA 模板 1 μL,上下游引物各 0.5 μL, ddH₂O 8.0 μL, Bestar[®] SybrGreen qPCR mastermix 10 μL (DBI[®] Bioscience, Germany)。采用三步法 PCR 反应程序:(1)95℃ 预变性 2 min;(2)95℃ 变性 10 s, 60℃ 退火 34 s, 72℃ 延伸 30 s, 进行 40 个循环;(3)融解曲线:95℃, 1 min; 55℃, 1 min; 55~98℃ (10 s·cycle⁻¹, 0.5℃·cycle⁻¹)。每个基因重复 3 次,以 *Actin* 为内参基因,对试验数据进行标准化,采用比较阈值法表示基因的相对表达量,通过计算 2^{-ΔΔCT} 来表示。

表 3 蓝光连续光照对大豆芽苗菜生长的影响

Table 3 Effect of blue light continuous illumination on the growth of soybean sprouts						
培养时间	下胚轴长	根长	全株鲜重	全株干重	可食率	含水率
Incubation time/h	Hypocotyl length/cm	Root length/cm	Total fresh mass/g	Total dry mass/g	Edible rate/%	Water content/%
D-0	6.66 ± 0.34 h	9.63 ± 0.77 e	4.68 ± 0.18 d	0.64 ± 0.03 c	79.81 ± 0.41 a	84.24 ± 0.06 e
D-6	7.65 ± 0.39 f	10.12 ± 0.99 e	4.89 ± 0.10 d	0.72 ± 0.04 ab	79.36 ± 0.21 ab	85.22 ± 0.56 d
D-12	8.36 ± 0.43 e	11.18 ± 1.21 d	4.91 ± 0.10 d	0.73 ± 0.05 a	78.35 ± 2.56 abc	86.86 ± 0.77 c
D-24	10.84 ± 0.40 b	13.67 ± 1.19 c	6.09 ± 0.18 b	0.74 ± 0.03 a	78.57 ± 0.52 abc	87.72 ± 0.25 b
D-36	13.58 ± 0.48 a	15.96 ± 1.30 b	6.79 ± 0.22 a	0.75 ± 0.04 a	77.44 ± 0.84 c	89.31 ± 0.35 a
B-0	6.66 ± 0.34 h	9.63 ± 0.77 e	4.68 ± 0.18 d	0.64 ± 0.03 c	79.81 ± 0.41 a	84.24 ± 0.06 e

引物设计如表 2。

表 2 qRT-PCR 引物表

Table 2 Primers of quantitative RT-PCR		
基因名称	引物序列(5'→3')	登录号
Gene	Primer sequences(5'→3')	Accession No.
Actin	F:TCCCAGTATTGTTGGCCGA	J01298
	R:TTCCATGTCATCCCAGTTGCT	
CRY1	F:TCCAGTATGGTCTCCCCCAG	DQ401046
	R:AGCTGCCTCCAATTCAGCAT	
CRY2	F:ATGCATTGCTAGGACGGGC	DQ401047
	R:GGGACAAGAGTGAGGTGGAC	
PAL	F:TCCATGGATAACACCCGTTT	X52953
	R:TTCCTTGATGAAATCAGCCC	
CHS	F:CCTACTTGCTACTTCCCAC TTCA	FJ770471
	R:TTGAGCTCGGTCATGTGCTC	
ANS	F:CCCACACCGATGTCAGTTCA	AY382828
	R:GCTGTGAACCATTTGGCCTTG	
IFS	F:AAACCAAGGACGAGAACACG	AF195798
	R:TGGCCACTGAGCTATCATAG	

1.4 数据分析

采用 Excel 2003 进行数据的整理,SPSS 17.0 进行方差统计分析,Origin 8.5 进行作图,显著性测验采用邓肯氏新复极差法(P<0.05)。

2 结果与分析

2.1 蓝光连续光照对大豆芽苗菜生长的影响

由表 3 可知,与对照相比,从第 6 小时开始,蓝光处理均显著降低大豆芽苗菜下胚轴长。在培养至第 6 和 36 小时,蓝光下大豆芽苗菜根长显著高于黑暗。蓝光下,除了第 24 小时全株鲜重显著低于黑暗,其它培养时间均无显著差异;全株干重从第 12 小时开始,均显著低于黑暗;可食率从第 24 小时开始显著低于黑暗;含水率与对照相比无显著变化。

续表 3

培养时间	下胚轴长	根长	全株鲜重	全株干重	可食率	含水率
Incubation time/h	Hypocotyl length/cm	Root length/cm	Total fresh mass/g	Total dry mass/g	Edible rate/%	Water content/%
B-6	7.24 ± 0.33 g	11.08 ± 0.84 d	4.76 ± 0.17 d	0.67 ± 0.05 b	78.82 ± 0.51 abc	85.35 ± 0.65 d
B-12	7.45 ± 0.36 fg	11.43 ± 0.84 d	4.84 ± 0.19 d	0.67 ± 0.02 b	77.82 ± 0.40 bc	86.26 ± 0.22 c
B-24	8.59 ± 0.67 d	13.96 ± 0.88 c	5.78 ± 0.08 c	0.70 ± 0.01 ab	75.57 ± 0.09 d	87.75 ± 0.36 b
B-36	9.47 ± 0.57 c	16.68 ± 1.45 a	6.49 ± 0.27 a	0.70 ± 0.03 ab	73.04 ± 1.31 e	89.24 ± 0.03 a

同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
Values within a column followed by different lowercase are significantly difference at 0.05 level.

对照组大豆芽苗菜子叶为黄色,下胚轴中没有花青苷积累;处理组子叶为绿色,并随着光照时间的延长,下胚轴中花青苷积累逐渐增加(图2)。与对照相比,蓝光连续光照促进大豆芽苗菜子叶的扩展。总之,蓝光连续光照抑制了大豆芽苗菜下胚轴的生长,显著降低了下胚轴长与可食率。

2.2 蓝光对大豆芽苗菜中类黄酮含量的影响

图3 A、F 显示,蓝光连续光照 24 和 36 h 时与对照相比,大豆芽苗菜子叶中黄豆苷元和山奈酚的含量显著提高,且在连续光照 36 h 时含量达到最大值;由图 3B 可知,在蓝光连续光照 24 和 36 h 时,黄豆苷的含量显著低于对照。图 3 C、D 显示,蓝光连续光照 12 h 时,染料木素和染料木苷的含量达到最大值并且显著高于对照。不同光照时间下,芦丁的含量在蓝光和对照之间没有显著差异(图 3E)。



图2 蓝光连续光照对大豆芽苗菜生长的影响
Fig.2 Effect of blue light continuous illumination on the growth of soybean sprouts

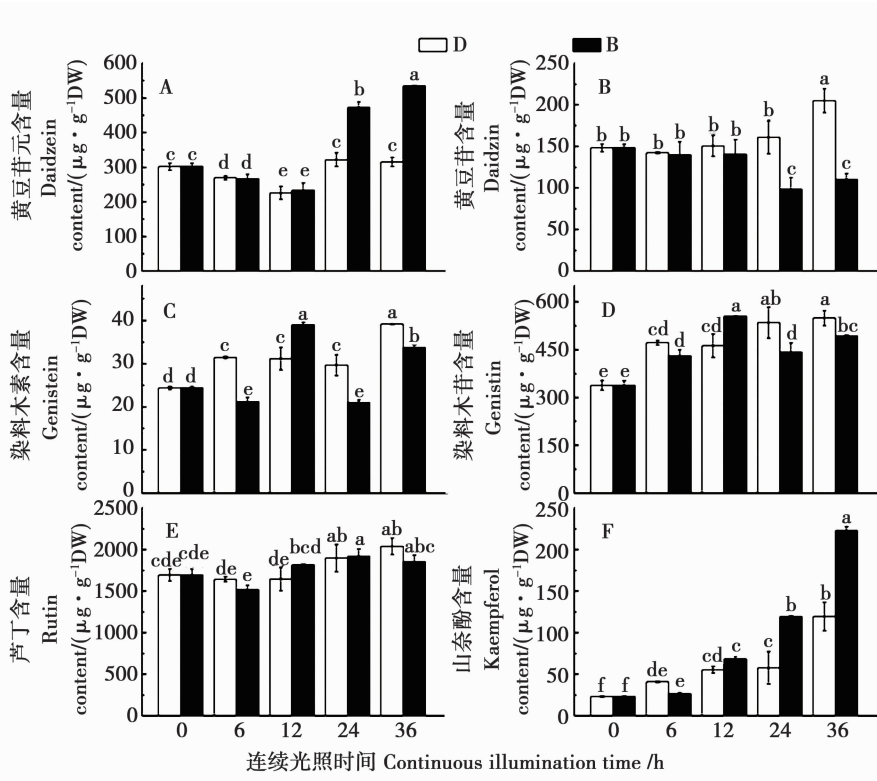


图3 蓝光连续光照对大豆芽苗菜子叶中类黄酮含量的影响
Fig.3 Effect of blue light continuous illumination on flavonoid content in the cotyledon of soybean sprouts

由图 4A、C 与 F 可知,随着培养时间的增加,大豆芽苗菜下胚轴中黄豆苷元、染料木素与山奈酚的含量均呈先升高后降低的趋势;然而黄豆苷元的含量在蓝光下第 24 小时后显著高于对照,染料木素与山奈酚的含量从第 6 小时后均高于对照。由图 4B 可知,黄豆苷的含量逐渐升高,且在蓝光连续光照 36 h 时达到最高,显著高于对照,但其它时间点均低于对照。由图 4D 可知,在蓝光下,染料木苷的含量先下降后上升,在第 6 小时与第 12 小时含量低于对照,但在第 24 小时与 36 小时含量高于对照。由图 4E 可知,从第 12 小时开始,蓝光显著提高了

下胚轴中芦丁的含量。

由图 5 可知,随着培养时间的延长,处理组下胚轴中花青苷含量逐渐增加,从蓝光光照 12 h 开始,大豆芽苗菜下胚轴中花青苷含量显著高于对照,并且在蓝光连续光照 36 h 时花青苷含量达到最高,约是对照的 7 倍。总的来说,蓝光连续光照显著提高了大豆芽苗菜子叶中黄豆苷元与山奈酚的含量,在采收时间即连续光照 36 h,下胚轴中黄豆苷元、黄豆苷、染料木素、染料木苷、芦丁、山奈酚及花青苷的含量均显著高于对照,说明蓝光对大豆芽苗菜中类黄酮合成的影响因器官而异。

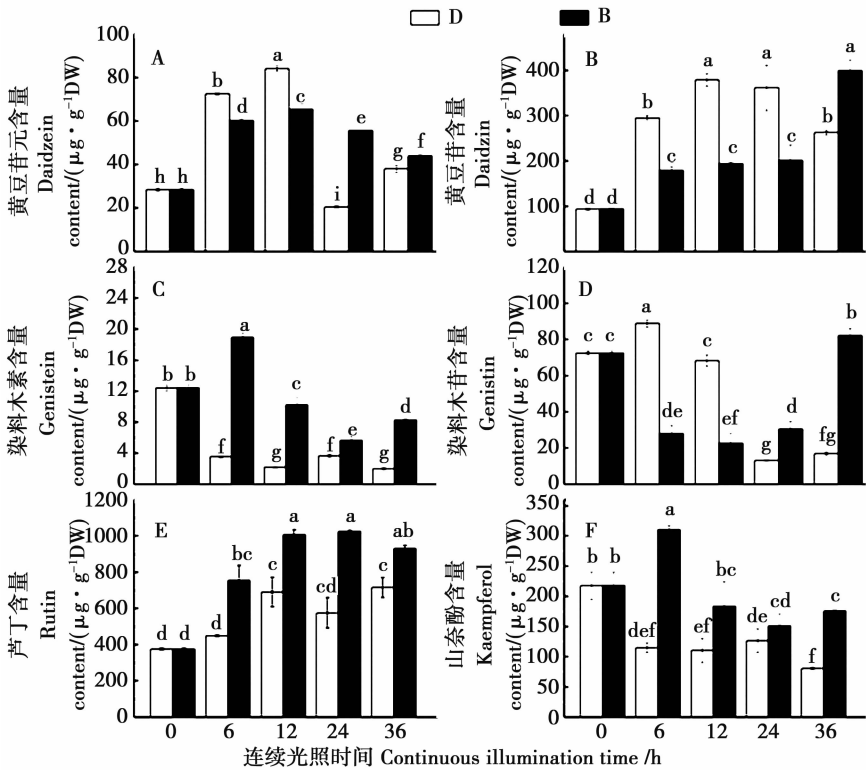


图 4 蓝光连续光照对大豆芽苗菜下胚轴中类黄酮含量的影响

Fig. 4 Effect of blue light continuous illumination on flavonoid content in the hypocotyl of soybean sprouts

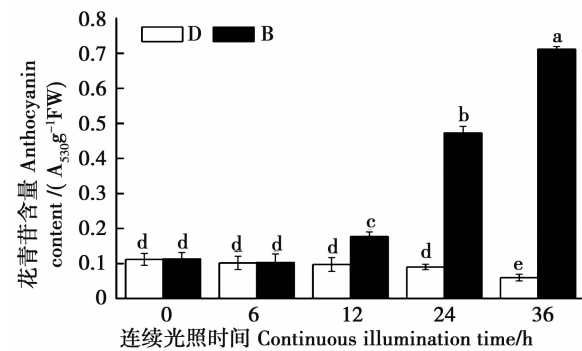


图 5 蓝光连续光照对大豆芽苗菜下胚轴中花青苷含量的影响

Fig. 5 Effect of blue light continuous illumination on anthocyanin content in the hypocotyl of soybean sprouts

2.3 蓝光对大豆芽苗菜中 PAL、CHI 酶活性的影响

由图 6 可知,在黑暗培养和蓝光处理下,大豆芽苗菜下胚轴中 PAL 和 CHI 酶活性均显著高于子叶。在蓝光连续光照下,大豆芽苗菜子叶中 PAL 活性先下降后上升,下胚轴中 PAL 活性在蓝光连续光照 24 h 时显著高于对照。在黑暗培养和蓝光处理下,大豆芽苗菜子叶中 CHI 活性均低于对照,而下胚轴中 CHI 活性均显著高于对照,且呈现先上升后下降的趋势。同时,大豆芽苗菜下胚轴中 CHI 活性在蓝光光照 6 h 时达到最高,约为对照的 2.32 倍。总之,大豆芽苗菜下胚轴中 PAL 与 CHI 活性均比子叶中高,并且只有下胚轴中 CHI 活性在蓝光下显著提高。

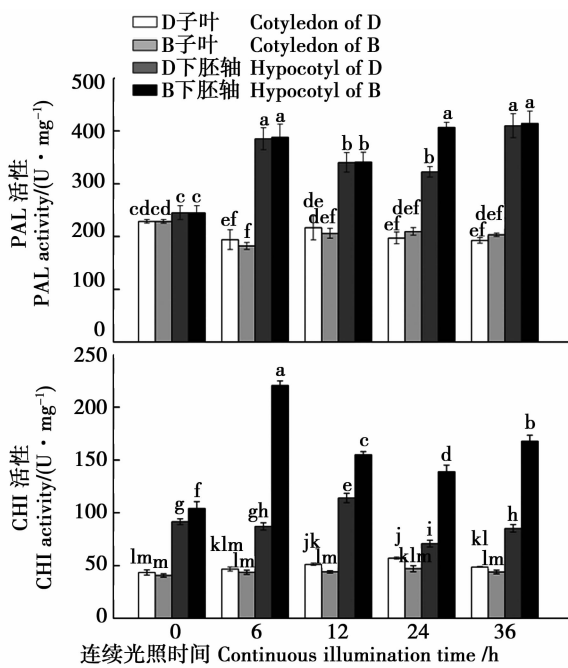


图 6 蓝光连续光照对大豆芽苗菜中 PAL 和 CHI 酶活性的影响

Fig.6 Effect of blue light continuous illumination on the activities of PAL and CHI enzymes in soybean sprouts

2.4 蓝光对大豆芽苗菜中蓝光光受体及类黄酮合成相关基因表达量的影响

由图 7A、B 可知,与对照相比,蓝光上调子叶中

CRY1 与 *CRY2* 的表达量,两者分别在第 36 小时和第 24 小时达到最高,约是对照组的 2.45 倍与 3 倍。由图 8A、B 可知,蓝光连续光照下,下胚轴中 *CRY1* 与 *CRY2* 表达量逐渐升高,*CRY1* 的表达量从第 6 小时开始显著高于对照,*CRY2* 的表达量在第 36 小时显著高于对照。

由图 7C、F 可知,子叶中 *PAL* 与 *ANS* 的表达量在对照组及处理组中都比较低。与对照相比,蓝光显著上调了 *CHS* 的表达,在蓝光连续光照 12 h 时 *CHS* 表达量达到最高(图 7D)。在蓝光连续光照下,*IFS* 的表达量逐渐升高,在第 36 小时其表达量达到最高,与对照相比约提高了 3.13 倍(图 7E)。

由图 8C、E 可知,蓝光连续光照显著上调了 *PAL* 与 *ANS* 的表达,两者均在蓝光连续光照 12 h 时表达量达到最高,分别约是对照组的 7 倍与 24 倍。蓝光连续光照 12 h 时,下胚轴中 *CHS* 的表达量显著高于对照(图 8D)。蓝光光照 6 h 时,下胚轴中 *IFS* 的表达显著上调(图 8F)。

总之,蓝光连续光照显著提高了大豆芽苗菜子叶中 *CRY1*、*CRY2*、*CHS* 与 *IFS* 的表达量,显著提高了下胚轴中 *CRY1*、*CRY2*、*PAL* 与 *ANS* 的表达量。

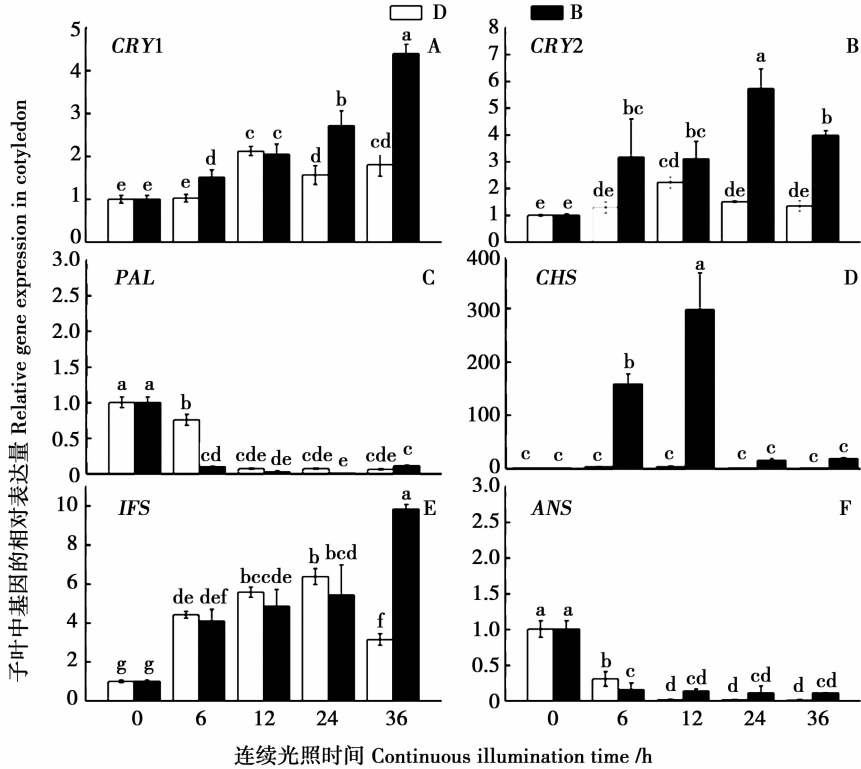


图 7 蓝光连续光照对子叶中蓝光受体及类黄酮合成相关基因相对表达量的影响

Fig.7 Effect of blue light continuous illumination on the expression of photoreceptor genes and flavonoid structure genes in the cotyledon of soybean sprouts

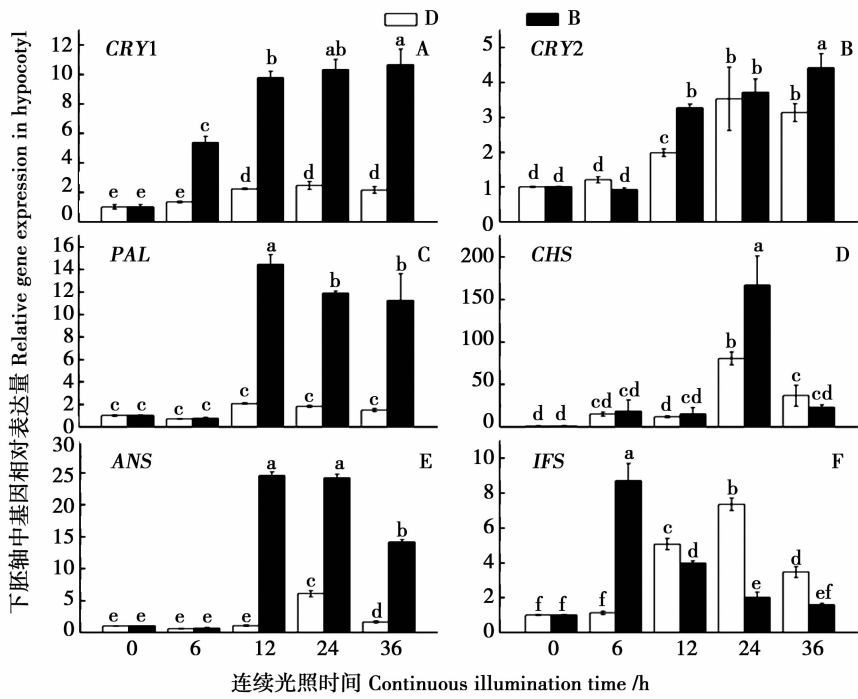


图8 蓝光连续光照对下胚轴中蓝光受体及类黄酮合成相关基因相对表达量的影响
Fig.8 Effect of blue light continuous illumination on the expression of photoreceptor genes and flavonoid structure genes in the hypocotyl of soybean sprouts

3 结论与讨论

3.1 蓝光连续光照对大豆芽苗菜生长的影响

光照是调控植物生长发育与光形态建成最重要的环境因子之一^[23],也是促进植物体中花青苷合成的重要影响因子^[24]。植物对蓝光的响应包括抑制下胚轴伸长、刺激子叶扩展、调节开花时间、控制气孔开放、引导昼夜节律等生理活动^[25]。本试验结果显示,蓝光连续光照与对照相比,显著降低了大豆芽苗菜下胚轴长与可食率,表明蓝光抑制大豆芽苗菜下胚轴的生长,这与 Bergstrand 等^[26]的研究结果一致。

3.2 蓝光对大豆芽苗菜中类黄酮含量的影响

大豆经发芽处理后类黄酮含量显著增加,而抗营养因子含量显著减少^[27]。蓝光处理下,子叶中黄豆苷元与山奈酚含量在 0 ~ 36 h 逐渐增加,这与张晓燕等^[28]和 Ribeiro 等^[29]的研究结果一致。在豆类种子萌发过程中,大豆异黄酮的种类与含量会发生很大变化,其中游离的大豆异黄酮苷元含量升高,使营养价值得以提高。本试验发现,与对照相比,蓝光连续光照 24 和 36 h 时,大豆芽苗菜子叶中黄豆苷、染料木苷与染料木素的含量下降,而黄豆苷元含量升高。在类黄酮含量方面,相对于黑暗培养,蓝光对下胚轴中染料木素、芦丁、山奈酚含量的促进作用大于子叶,对子叶中黄豆苷元与山奈酚含量的促进作用大于下胚轴中的含量。

Zhou 等^[17]和 OHTO 等^[30]研究发现,蓝光和紫外光与其它光质相比,能明显诱导花青苷的合成。本研究发现,蓝光连续光照与黑暗培养相比,能显著诱导大豆芽苗菜下胚轴中花青苷的积累,这与前人研究结果一致。大豆芽苗菜子叶与下胚轴的生理功能不同,两者的物质代谢途径也不同,因此大豆芽苗菜子叶及下胚轴中类黄酮含量亦有所不同。

3.3 蓝光对大豆芽苗菜 PAL、CHI 活性的影响

PAL 和 CHI 作为类黄酮合成关键酶,其活性变化跟总黄酮类物质含量的变化有密切关系,PAL 和 CHI 活性越高,总黄酮含量越高^[31]。本研究发现,大豆芽苗菜下胚轴 PAL 与 CHI 活性均比子叶中高,并且只有下胚轴中的 CHI 活性在蓝光连续光照下显著提高,表明蓝光连续光照对 PAL 与 CHI 活性的影响存在一定的组织特异性。本试验中,蓝光光照处理均能显著地提高大豆芽苗菜下胚轴中 CHI 酶的活力,且 CHI 酶活力的变化趋势与下胚轴中黄豆苷元、染料木素与芦丁含量的变化趋势基本一致,具有良好的相关性。

3.4 蓝光对大豆芽苗菜蓝光受体基因及类黄酮合成相关基因表达的影响

本研究发现,蓝光连续光照 36 h 显著提高了大豆芽苗菜子叶及下胚轴中蓝光受体基因 CRY1、CRY2 的表达,并显著提高下胚轴中花青苷的含量,这与 Li 等^[13-14]的研究结果一致。在蓝光连续光照 12 h 后,与对照相比,大豆芽苗菜下胚轴中类黄酮

合成结构基因 *PAL* 与 *ANS* 的表达量均显著提高;而下胚轴中 *IFS* 与 *CHS* 的表达量分别在第 6 和 24 小时达到最高,这可能是由于这些结构基因对蓝光连续光照的响应时间不同。总的来说,蓝光对子叶中 *CRY2*、*CHS* 和 *ANS* 基因表达的促进作用大于下胚轴中,蓝光对下胚轴中 *CRY1*、*PAL* 和 *IFS* 基因表达的促进作用大于子叶中。

3.5 蓝光下大豆芽苗菜中类黄酮含量与相关基因表达量趋势的分析

随着蓝光光照时间的延长,大豆芽苗菜子叶中黄豆苷元与山奈酚的含量逐渐升高且显著高于对照,这与子叶中 *CRY1*、*IFS* 的表达量趋势相一致;染料木素与染料木苷的含量先升高后下降,在第 12 小时显著高于对照,这与子叶中 *CHS* 的表达量趋势相一致。在下胚轴中,黄豆苷元的含量在连续光照 24 h 后显著高于对照,染料木素与山奈酚的含量在连续光照 12 h 之后显著高于对照,同时黄豆苷元、染料木素与山奈酚的含量对蓝光光照的响应特点基本一致,均呈先升高后降低的趋势,这与下胚轴中类黄酮合成相关基因 *ANS*、*IFS* 和 *CHS* 的表达量趋势相一致;黄豆苷与芦丁的含量随着光照时间的延长逐渐升高,这与下胚轴中 *CRY2* 表达量趋势相一致。

有研究表明,*PAL* 在植物的不同组织和部位分布不同^[32]。在本文中,对照与蓝光下大豆芽苗菜子叶中 *PAL* 表达量与酶活性都比较低,而蓝光连续光照 12 h 显著上调下胚轴中 *PAL* 的表达,同时下胚轴中染料木素与山奈酚的含量显著高于对照。因此 *PAL* 表达量的差异可能会引起黄酮类化合物含量与代谢相关酶活性的组织差异性。*ANS* 是调控花青苷合成的关键基因^[33],大豆芽苗菜子叶中花青苷含量较低,这与子叶中 *ANS* 的表达量结果相一致。在异黄酮合成途径中,异黄酮合酶(*IFS*)基因起着重要作用^[34-35],且 *CHS* 和 *CHI* 作为异黄酮合成途径中的两个关键酶,其表达量的改变直接影响到黄酮类代谢产物的含量^[36]。在蓝光下,子叶中异黄酮单体黄豆苷元的含量逐渐升高,这与子叶中 *IFS* 与 *CHS* 的表达量升高相一致。

下胚轴是大豆芽苗菜的主要食用部分,下胚轴中类黄酮含量的提高可以显著提升大豆芽苗菜的营养品质。本研究发现,蓝光连续光照 36 h 即采收时,大豆芽苗菜下胚轴中类黄酮的含量显著高于黑暗处理,但对子叶的影响不显著。由此推测,蓝光连续光照通过提高下胚轴中相关合成基因的表达来促进类黄酮的积累。

综上所述,蓝光连续光照提高大豆芽苗菜中类黄酮的含量主要是通过提高合成相关基因的表达,

提高 *PAL* 与 *CHI* 酶活性,显著提高大豆芽苗菜的营养品质。

参考文献

- [1] Ziegler V, Vanier N L, Ferreira C D, et al. Changes in the bioactive compounds content of soybean as a function of grain moisture content and temperature during long-term storage[J]. *Journal of Food Science*, 2016, 81(3): 762-768.
- [2] Yuan M, Jia X, Yang Y, et al. Effect of light on structural properties and antioxidant activities of polysaccharides from soybean sprouts[J]. *Process Biochemistry*, 2015, 50(7): 1152-1157.
- [3] Knekt P, Isotupa S, Rissanen H, et al. Quercetin intake and incidence of cerebrovascular disease[J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2000, 54: 415-417.
- [4] Knekt P, Jayvinen R, Seppanen R, et al. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant Neoplasms[J]. *American Journal of Epidemiology*, 1997, 146(3): 223-230.
- [5] Winkel-Shirley B, Flavonoid B. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology[J]. *Plant Physiology*, 2001, 126: 485-493.
- [6] Flamini R, Mattivi F, Rosso M, et al. Advanced knowledge of three important classes of grape phenolics: Anthocyanins, stilbenes and flavonols[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14(10): 19651-19669.
- [7] Knight H, Knight M R. Abiotic stress signalling pathways: Specificity and cross-talk[J]. *Trends in Plant Science*, 2001, 6(6): 262-267.
- [8] Hoffmann A M, Noga G, Hunsche M. High blue light improves acclimation and photosynthetic recovery of pepper plants exposed to UV stress[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2015, 109: 254-263.
- [9] 刘文科,杨其长. 植物工厂 LED 照明应用的几点思考[J]. *照明工程学报*, 2015, 26(4): 98-102. (Liu W K, Yang Q C. Insights into some key technological issues on LED lighting in plant factory[J]. *China Illuminating Engineering Journal*, 2015, 26(4): 98-102.)
- [10] 余意,杨其长,刘文科. LED 短期连续光照与氮营养对水培生菜品质的影响[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(11): 3361-3366. (Yu Y, Yang Q C, Liu W K. Effects of short-term continuous lighting with LED lamps and nitrogen nutrition conditions on quality of hydroponically grown purple lettuce[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(11): 3361-3366.
- [11] świeca M, Gawlik-Dziki U, Kowalczyk D, et al. Impact of germination time and type of illumination on the antioxidant compounds and antioxidant capacity of *Lens culinaris* sprouts[J]. *Scientia Horticulturae*, 2012, 140: 87-95.
- [12] Hoffman P D, Batschauer A, Hays J B. *PHH1*, a novel gene from *Arabidopsis thaliana* that encodes a protein similar to plant blue-light photoreceptors and microbial photolyseses[J]. *Molecular and General Genetics*, 1996, 253: 259-265.
- [13] Li Y, Mao K, Zhao C, et al. Molecular cloning of cryptochrome 1 from apple and its functional characterization in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 67: 169-177.

- [14] Li Y, Mao K, Zhao C, et al. Molecular cloning and functional analysis of a blue light receptor gene *MdCRY2* from apple (*Malus domestica*) [J]. Plant Cell Reports, 2013, 32(4): 555-566.
- [15] Kadomura-Ishikawa Y, Miyawaki K, Noji S, et al. Phototropin 2 is involved in blue light-induced anthocyanin accumulation in *Fragaria x ananassa* fruits [J]. Journal of Plant Research, 2013, 126(6): 847-857.
- [16] Kadomura-Ishikawa Y, Miyawaki K, Takahashi A, et al. Light and abscisic acid independently regulated *FaMYB10* in *Fragaria x ananassa* fruit [J]. Planta, 2015, 241(4): 953-965.
- [17] Zhou B, Wang Y, Zhan Y, et al. Chalcone synthase family genes have redundant roles in anthocyanin biosynthesis and in response to blue/UV-A light in turnip (*Brassica rapa*; *Brassicaceae*) [J]. American Journal of Botany, 2013, 100(12): 2458-2467.
- [18] 刘金,魏景立,刘美艳,等. 早熟苹果花青苷积累与其相关酶活性及乙烯生成之间的关系 [J]. 园艺学报, 2012(7): 1235-1242. (Liu J, Wei J L, Liu M Y, et al. The relationships between the enzyme activity of anthocyanin biosynthesis, ethylene release and anthocyanin accumulation in fruits of precocious apple cultivars [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2012, 39(7): 1235-1242.
- [19] Lister C E, Lancaster J E. Developmental changes in enzymes biosynthesis in the skins of red and cultivars [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1996, 71: 313-330.
- [20] Xu F, Cao S, Shi L, et al. Blue light irradiation affects anthocyanin content and enzyme activities involved in postharvest strawberry fruit [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(20): 4778-4783.
- [21] Miao L, Zhang Y, Yang X, et al. Colored light-quality selective plastic films affect anthocyanin content, enzyme activities, and the expression of flavonoid genes in strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit [J]. Food Chemistry, 2016, 207: 93-100.
- [22] Su N, Wu Q, Liu Y Y, et al. Hydrogen-rich water reestablishes ROS homeostasis but exerts differential effects on anthocyanin synthesis in two varieties of radish sprouts under UV-A irradiation [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(27): 6454-6462.
- [23] Smith H. Light quality, photo perception, and plant strategy [J]. Annual Review of Plant Physiology, 1982, 33: 481-518.
- [24] Kondo S, Hiraoka K, Kobayashi S, et al. Changes in the expression of anthocyanin biosynthetic genes during apple development [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2002, 127(6): 971-976.
- [25] Lin C. Plant blue-light receptors [J]. Trends in Plant Science, 2000, 5(8): 1360-1385.
- [26] Bergstrand K, Mortensen L M, Suthaparan A, et al. Acclimatisation of greenhouse crops to differing light quality [J]. Scientia Horticulturae, 2016, 204: 1-7.
- [27] Yuan M, Jia X, Ding C, et al. Effect of fluorescence light on phenolic compounds and antioxidant activities of soybeans (*Glycine max* L. Merrill) during germination [J]. Food Science and Biotechnology, 2015, 24(5): 1859-1865.
- [28] 张晓燕,鲁燕舞,魏圣军,等. 光质对大豆芽苗菜生长和大豆异黄酮含量及 PAL 活性的影响 [J]. 大豆科学, 2014, 33(1): 46-52. (Zhang X Y, Lu Y W, Wei S J, et al. Effects of light quality on growth, soy isoflavone content and PAL activity of soybean sprouts [J]. Soybean Science, 2014, 33(1): 46-52.)
- [29] Ribeiro M L L, Mandarino J M G, Carrão-Panizzi M C, et al. β -Glucosidase activity and isoflavone content in germinated soybean radicles and cotyledons [J]. Journal of Food Biochemistry, 2006, 30: 453-465.
- [30] Ohto M, Onai K, Furukawa Y, et al. Effects of sugar on vegetative development and floral transition in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2001, 127(1): 252-261.
- [31] Chen K, Feng H, Zhang M, et al. Nitric Oxide alleviates oxidative damage in the green alga *Chlorella pyrenoidosa* caused by UV-B radiation [J]. Folia Microbiologica, 2003, 48(3): 389-393.
- [32] 欧阳光察,薛应龙. 植物苯丙烷代谢的生理意义及调控 [J]. 植物生理学通讯, 1988(3): 9-16. (Ouyang G C, Xue Y L. Physiological role and regulation of phenylpropanoid metabolism in plant [J]. Plant Physiology Communications, 1988(3): 9-16.
- [33] Miao L, Zhang Y, Yang X, et al. Colored light-quality selective plastic films affect anthocyanin content, enzyme activities, and the expression of flavonoid genes in strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit [J]. Food Chemistry, 2016, 207: 93-100.
- [34] Jung W, Yu O, Lau S M, et al. Identification and expression of isoflavone synthase, the key enzyme for biosynthesis of isoflavones in legumes [J]. Nature Biotechnology, 2000(18): 208-212.
- [35] Pregelj L, McLanders J R, Gresshoff P M, et al. Transcription profiling of the isoflavone phenylpropanoid pathway in soybean in response to *Bradyrhizobium japonicum* inoculation [J]. Functional Plant Biology, 2010, 38(1): 13-24.
- [36] Muir S R, Collins G J, Robinson S, et al. Overexpression of petunia chalcone isomerase in tomato results in fruit containing increased levels of flavonols [J]. Nature Biotechnology, 2001, 19: 470-474.