

## 干旱胁迫及复水对马铃薯类黄酮合成途径中关键酶及基因表达的影响

刘素军<sup>1,2</sup>, 蒙美莲<sup>1,\*</sup>, 陈有君<sup>3</sup>

<sup>1</sup>内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特010019

<sup>2</sup>内蒙古师范大学生命科学与技术学院, 呼和浩特010022

<sup>3</sup>内蒙古农业大学生命科学院, 呼和浩特010019

**摘要:** 为研究干旱胁迫及复水对马铃薯(*Solanum tuberosum*)类黄酮合成途径影响的机制, 以‘克新1号’为试验材料, 利用高通量测序技术分析苗期干旱处理(40%土壤相对含水量维持14 d, DT)与对照(70%土壤相对含水量维持14 d, DCK)、复水处理(40%土壤相对含水量持续14 d, 然后恢复到70%土壤相对含水量维持7 d, RT)与对照(70%土壤相对含水量维持21 d, RCK)之间类黄酮合成途径中基因表达的差异。结果表明, 干旱胁迫后, 马铃薯中类黄酮合成途径变化显著( $P < 0.01$ ), 该途径共有10个基因发生了差异表达, 影响7个酶的合成, 其中查尔酮合酶(EC 2.3.1.74)、柚皮素3-双加氧酶(EC 1.14.11.9)、类黄酮3',5'-羟化酶(EC 1.14.13.88)的基因表达显著上调, 从而可能促进了异黄酮、黄酮醇和黄酮以及高圣草素、二氢杨梅素的形成。PGSC0003DMG400019110和PGSC0003DMG400003563的上调表达导致查尔酮合酶和柚皮素3-双加氧酶的合成加快。复水对类黄酮合成途径的恢复效果较好, 差异表达基因减少到2个, 除莽草酸邻羟基肉桂酰转移酶(EC 2.3.1.133)与咖啡酰CoA-O-甲基转移酶(EC 2.1.1.104)的基因表达仍存在显著差异外, 其余酶均已无差异。

**关键词:** 马铃薯; 干旱胁迫; 复水; 类黄酮; 查尔酮合酶

黄酮类化合物是高等植物中的一类次生代谢产物, 是植物体中重要的抗氧化物质(Treutter 2006), 具有多重功能, 可以通过提高过氧化物酶的活力和减少丙二醛含量来消除和减轻由干旱引发的活性氧伤害(Rice-Evans 2001; Niyogi等1997, 1998; Tattini等2004), 还可通过增加脱落酸(abscisic acid, ABA)间接增强植物的抗旱性, 因此植物体中类黄酮的合成对于提高植株抗旱能力起着极其关键的作用。

前人对马铃薯(*Solanum tuberosum*)体内类黄酮生物合成途径中一些生物学信息及基因进行了研究, 结果表明, 不同组织器官中类黄酮含量不同, 花中类黄酮含量最高, 叶次之, 块茎最低(马连杰2011); 彩色马铃薯块茎中类黄酮-3-O-葡萄糖基转移酶的含量高于叶片(肖继坪等2015), 类黄酮-3-O-葡萄糖基化酶在根、叶和块茎中的表达量远高于茎和花(卢其能等2009)。对柑橘的研究表明, 不同类型柑橘的类黄酮组成也存在较大差异(刘贤青等2015)。项亚等(2016)的研究表明, 红肉苹果果皮的类黄酮提取物质可以有效清除1,1-二苯基-2-苦基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH), 清除率高达92.77%。

有关干旱胁迫对植物体内类黄酮的影响学者们也做了大量研究工作, 结果表明干旱胁迫会导致植株体内类黄酮含量发生变化。范敏等(2008)

的研究表明, 3-二氢黄酮羟化酶(flavonone-3-hydroxylase, F3H)和黄酮合成酶(flavonol synthase, FLS)基因在轻度或中度胁迫下呈不同程度的增加, 其中叶片中F3H基因表达量的增加快于根系; 适度干旱可以促进银杏黄酮类物质的合成, 当土壤相对含水量介于40%~45%时, 叶内黄酮类物质的合成显著增多(朱灿灿等2010); 黄酮类化合物在黄芪不同器官中分布和含量不尽相同, 在遭受干旱胁迫时毛蕊异黄酮葡萄糖苷大量积累, 但过度干旱胁迫不利于其积累(李光跃等2017)。孙坤等(2015)对沙棘的研究结果显示, 随干旱胁迫程度的增强, 总黄酮、槲皮素、山奈酚和杨梅素含量均表现为先降低后增加的趋势; 但肋果沙棘试管苗叶片中总黄酮含量并没有显著变化。干旱胁迫对不同植物根和叶总黄酮含量影响较明显(王军喜等2011; 张成军等2005; 蔡娜等2008)。叶梅荣等(2008)的研究显示, 低浓度的大豆异黄酮能明显减轻干旱胁迫对油菜幼苗生长的伤害作用。综上, 在遭受干旱胁迫后, 植株体内类黄酮含量会受到不同程度的影响, 但对其变化机制系统研究较少。马铃薯作为重要的粮

收稿 2017-05-22 修定 2017-12-20

资助 国家现代农业产业技术体系建设(CARS-10-P17)。

\* 通讯作者(mmeilian@126.com)。

蔬兼用作物,是继玉米、水稻、小麦之后的第四大作物,在保障粮食安全、促进农民增收中具有重要作用。我国马铃薯种植主要分布在干旱半干旱地区,根系浅对水分较敏感(李勤志2008; Anithakumari等2012),水分不足成为马铃薯产量和品质提高的主要限制因素。因此,研究马铃薯遭受干旱胁迫后体内类黄酮含量变化机制,对明确马铃薯抗旱机制,筛选抗旱基因有重要的指导意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

以内蒙古地区种植面积较大的马铃薯(*Solanum tuberosum* L.) ‘克新1号’为试验材料,种薯级别为原原种,由内蒙古民丰薯业有限责任公司提供。

### 1.2 试验设计

试验于2015年12月在内蒙古农业大学马铃薯研究室进行。采用盆栽法,选择规格为高50 cm、上口直径为30 cm的塑料桶,内装过筛沙壤土4 kg,土壤取自内蒙古农业大学教学农场,土壤田间持水量为28.51%,选取大小均一、重5~7 g的母薯原原种整薯播种,每盆播种3块,播种后保持土壤相对含水量70%左右。出苗后在株高约5 cm时施以干旱处理(40%土壤相对含水量维持14 d, DT)和对照(保持土壤相对含水量为70%并持续14 d, DCK),复水处理(40%土壤相对含水量持续14 d, 然后恢复到70%土壤相对含水量维持7 d, RT)与对照(70%土壤相对含水量维持21 d, RCK),每处理10个重复。处理期间每天9:00~10:00采用称重法控水和补水,确保每个处理土壤含水量保持在处理水平。胁迫

14 d后取干旱处理和对照样品,复水7 d取复水处理和对照样品。取样时,每处理分别采集30个单株上马铃薯幼嫩叶片并混合均匀。每次样品采集后用液氮速冻,置于-80°C冰箱中储存备用。试验期间,室内温度保持在(23±2)°C,平均相对湿度为50%。

### 1.3 试验方法

试验从4个处理的样品中分别随机取3份,即3个生物学重复,用于高通量测序,测序数据经过比对,得出不同处理间的差异表达基因,再对差异表达基因与已公布的基因组进行比对,将差异表达基因进行功能分类(GO富集),同时对差异表达基因所在的代谢通路(KEGG)进行显著性分析,明确干旱胁迫下马铃薯体内代谢通路与对照的差异性。若差异显著( $P<0.05$ ),则对该通路做进一步深入分析,明确其变化机制。

## 2 实验结果

### 2.1 干旱胁迫后类黄酮合成途径中表达发生显著变化的基因

高通量测序结果表明,马铃薯苗期连续干旱胁迫14 d,叶片中与对照间差异表达基因为655个,其中与类黄酮合成途径相关的差异表达基因有10个(表1)。从表1中可以看出,马铃薯遭受干旱胁迫后,类黄酮合成途径发生极显著变化( $P<0.01$ )。10个差异表达基因中,与甲基转移酶相关的基因有2个,分别是PGSC0003DMG400006448和PGSC-0003DMG400006214;与细胞色素P450单氧化酶相关的基因有4个,分别是Novel100078、PGSC-0003DMG40000425、PGSC0003DMG400003289

表1 干旱胁迫后马铃薯类黄酮合成途径中的差异表达基因

Table 1 Differentially expressed genes in the flavonoid biosynthesis pathway in potato under drought stress

序号	基因编码	KO路径	描述
1	Novel100078	sot:102585799	与细胞色素P450 98A3相似
2	PGSC0003DMG400006448	sot:102599242	S-腺苷-L-蛋氨酸依赖性甲基转移酶类  氧甲基转移酶家族
3	PGSC0003DMG400003563	sot:102577463	酮戊二酸/铁依赖二氧酶  异青霉素N合成类酶  非血红素加氧酶N-末端结构域
4	PGSC0003DMG400000425	sot:102577676	细胞色素P450, 保守区域
5	PGSC0003DMG400011189	sot:102577662	氯霉素乙酰转移酶类结构域  转移酶
6	PGSC0003DMG400006214	sot:102595685	S-腺苷-L-蛋氨酸依赖性甲基转移酶类  氧甲基转移酶家族
7	PGSC0003DMG400003289	sot:102590870	细胞色素P450, 保守区域
8	PGSC0003DMG400024643	sot:102593656	细胞色素P450, 保守区域
9	PGSC0003DMG400019110	sot:102577598	N-末端  查尔酮/二苯乙烯合酶, C-末端  亚硫酸酶类  硫酸酶类
10	PGSC0003DMG400014152	sot:102588095	氯霉素乙酰类转移酶结构域  转移酶

和PGSC0003DMG400024643; 与加氧酶相关的基因有1个, 为PGSC0003DMG400003563; 与查尔酮合酶相关的基因有1个, 为PGSC0003DMG4-00019110; 与乙酰转移酶相关的基因有2个, 分别

是PGSC0003DMG400011189和PGSC0003DMG400014152。

**2.2 类黄酮合成途径中差异基因Gene Ontology注释**  
表2显示, 类黄酮合成途径中的10个表达有差

表2 类黄酮合成途径中9个差异基因对应的前5位GO富集通路

Table 2 The top five GO accession of nine differential genes in the flavonoid biosynthesis pathway

基因编码	GO富集	功能类型	描述
PGSC0003DMG400014152	GO:0003824	分子功能	催化活性
	GO:0016747	分子功能	转移酶活性
	GO:0003674	分子功能	分子功能
	GO:0016746	分子功能	转移酶活性, 酰基转移
	GO:0016740	分子功能	转移酶活性
PGSC0003DMG400019110	GO:0044710	生物过程	单体代谢过程
	GO:0044699	生物过程	单体生物过程
	GO:0008150	生物过程	生物过程
	GO:0044763	生物过程	单细胞过程
	GO:0003824	分子功能	过氧化氢酶活性
PGSC0003DMG400003289	GO:0044710	生物过程	单体代谢过程
	GO:0044699	生物过程	单体生物过程
	GO:0008150	生物过程	生物过程
	GO:0003824	分子功能	催化活性
	GO:0008152	生物过程	代谢过程
PGSC0003DMG400006214	GO:0044710	生物过程	单体代谢过程
	GO:0044699	生物过程	单体生物过程
	GO:0008150	生物过程	生物过程
	GO:0003824	分子功能	催化活性
	GO:0044711	生物过程	单体生物合成过程
PGSC0003DMG400011189	GO:0003824	分子功能	催化活性
	GO:0016747	分子功能	转移酶活性
	GO:0003674	分子功能	分子功能
	GO:0016746	分子功能	转移酶活性
	GO:0016740	分子功能	转移酶活性
PGSC0003DMG400000425	GO:0044710	生物过程	单体代谢过程
	GO:0044699	生物过程	单体生物过程
	GO:0008150	生物过程	生物过程
	GO:0003824	分子功能	催化活性
	GO:0008152	生物过程	代谢进程
PGSC0003DMG400003563	GO:0044710	生物过程	单体代谢过程
	GO:0044699	生物过程	单体生物过程
	GO:0008150	生物过程	生物过程
	GO:0003824	分子功能	催化活性
	GO:0051213	分子功能	双加氧酶活性
PGSC0003DMG400006448	GO:0044710	生物过程	单体代谢过程
	GO:0044699	生物过程	单体生物过程
	GO:0008150	生物过程	生物过程
	GO:0003824	分子功能	过氧化氢酶活性
	GO:0044711	生物过程	单体生物合成过程
Novel00078	GO:0044710	生物过程	单体代谢过程
	GO:0044699	生物过程	单体生物过程
	GO:0008150	生物过程	生物过程
	GO:0003824	分子功能	催化活性
	GO:0008152	生物过程	代谢过程

异的基因中,除PGSC0003DMG400024643基因未注释到Gene Ontology (GO)任何条目外,其余9个基因均不同程度注释到GO的条目中,其中PGSC-0003DMG400019110基因注释到36个GO条目,包括27个代谢过程,7项分子功能,2项细胞组成,而PGSC0003DMG400014152和PGSC0003DMG4-00011189基因只注释到5个GO富集,均与分子功能有关。表明基因在植物体内具有多重功效,在不同的通路中发挥着不同的功效。从各基因注释的前5个GO条目可以看出,功能描述基本可以划分为两类,其中PGSC0003DMG400011189和PGSC-0003DMG400014152的GO通路与催化活性和转移酶活性相关,其他7个基因则与催化活性和单体生物代谢过程相关。

### 2.3 干旱胁迫对马铃薯类黄酮合成途径的影响

从图1中可以看出,遭受干旱胁迫后,马铃薯类黄酮合成途径中有10个基因的表达发生了显著变化,其中PGSC0003DMG400006448、PGSC-0003DMG400003563、Novel00078、PGSC0003DMG400000425、PGSC0003DMG400019110呈上调表达,PGSC0003DMG400011189、PGSC0003DMG400006214、PGSC0003DMG400003289、PGSC0003DMG400024643、PGSC0003DMG-400014152呈下调表达,对类黄酮合成途径中的柚皮素3-双加氧酶(EC 1.14.11.9)、咖啡酰CoA-*O*-甲基转移酶(EC 2.1.1.104)、类黄酮3',5'-羟化酶(EC 1.14.13.88)、查尔酮合酶(EC 2.3.1.74)、香豆酰莽草酸3'-单加氧酶(EC 1.14.13.36)、黄酮醇合酶(EC 1.14.13.21)、莽草酸邻羟基肉桂酰转移酶(EC 2.3.1.133) 7个酶的合成产生了影响,其中参与查尔酮合酶、柚皮素3-双加氧酶、类黄酮3',5'-羟化酶合成的差异表达基因呈上调表达,参与莽草酸邻羟基肉桂酰转移酶、黄酮醇合酶合成的差异基因呈下调表达,而参与香豆酰莽草酸3'-单加氧酶、咖啡酰CoA-*O*-甲基转移酶合成的差异表达基因中既有下调基因又有上调基因。从图1中还可以看出,查尔酮合酶、柚皮素3-双加氧酶、类黄酮3',5'-羟化酶涉及到的分支途径较多,对类黄酮的生物合成途径影响较大,特别是查尔酮合酶介导了黄酮类化合物合成的第一步,对类黄酮合成途径的影响较为关键。

### 2.4 干旱胁迫对马铃薯类黄酮生物合成途径中高圣草素合成的影响

由图2可以看出,干旱胁迫对马铃薯类黄酮合成途径中高圣草素的合成影响显著。在该途径中,有7个基因变化显著,其中Novel00078和PGSC-0003DMG400003289基因共同对香豆酰莽草酸3'-单加氧酶造成影响,PGSC0003DMG400019110的上调表达促进了查尔酮合酶的合成,PGSC0003DMG400014152和PGSC0003DMG400011189基因的下调表达抑制了莽草酸邻羟基肉桂酰转移酶的生成,PGSC0003DMG400006448的上调表达和PGSC0003DMG400006214的下调表达对咖啡酰CoA-*O*-甲基转移酶造成影响,进而影响高圣草素的合成。

### 2.5 干旱胁迫对马铃薯异黄酮、黄酮醇和黄酮合成的影响

图3显示,马铃薯类黄酮合成途径中,异黄酮、黄酮和黄酮醇是主要产物。异黄酮、黄酮醇和黄酮三者生物合成途径均有2条,均以苯丙氨酸为底物,且由苯丙氨酸到对香豆酰CoA的途径为共有途径,之后查尔酮合酶作为中介酶对异黄酮、黄酮醇和黄酮合成的影响发生了显著变化。在控制查尔酮合酶的基因中,PGSC0003DMG400019110的表达发生了显著变化,表明干旱胁迫激发了该基因的表达,进而影响到查尔酮合酶的形成,加速了异黄酮、黄酮醇和黄酮的合成,对马铃薯自身起到保护作用。在黄酮醇和黄酮生物合成的第二条途径中,由于PGSC0003DMG400003563基因的上调表达,促使柚皮素3-双加氧酶的合成发生显著变化,从而加速了黄酮醇和黄酮的合成。反-肉桂酸4-单加氧酶、查尔酮异构酶、黄酮醇合酶在干旱胁迫下未发生变化,表明这3种酶对干旱胁迫不敏感。

### 2.6 干旱胁迫对马铃薯类黄酮生物合成途径中二氢杨梅素合成的影响

从图4可以看出,二氢杨梅素的形成过程中,除查尔酮合酶呈显著变化外,柚皮素3-双加氧酶、类黄酮3',5'-羟化酶、类黄酮3-单加氧酶也发生了显著变化,其中柚皮素3-双加氧酶、类黄酮3',5'-羟化酶对应的基因PGSC0003DMG400003563和PGSC0003DMG400000425均呈上调表达,类黄酮

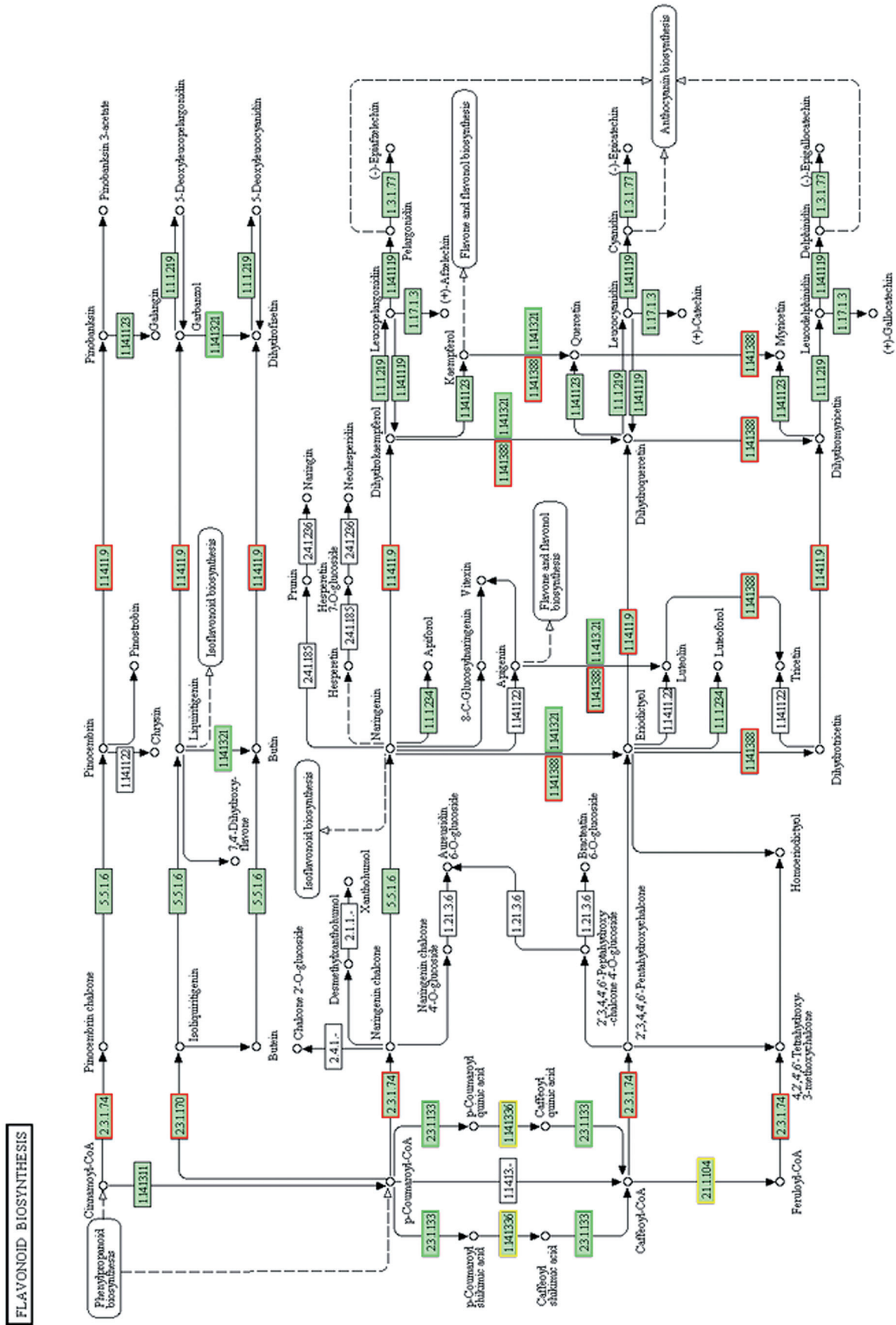


图1 干旱胁迫对马铃薯类黄酮合成途径的影响  
Fig.1 Effects of drought stress on flavonoid biosynthesis pathway in potato  
红色框代表基因上调表达; 绿色框代表基因下调表达; 黄色框内的基因既有上调表达, 又有下调表达。

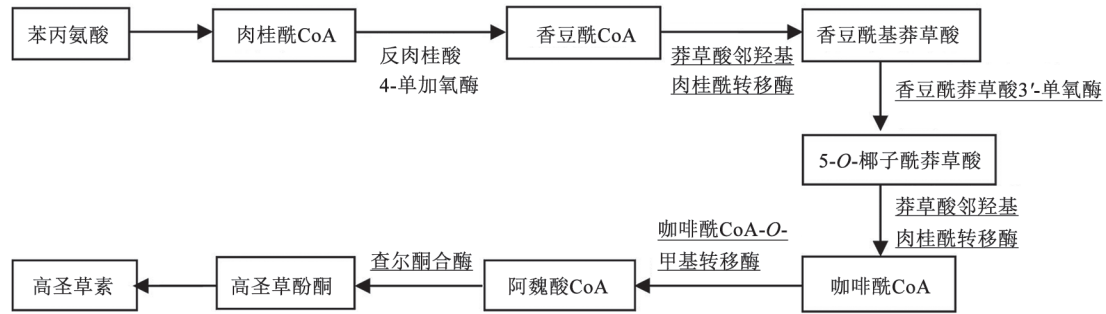


图2 干旱胁迫对马铃薯类黄酮生物合成途径中高圣草素合成的影响  
 Fig.2 Effects of drought stress on homoeriodictyol synthesis in flavonoid biosynthesis pathway in potato  
 下划线表示控制该酶活性的基因呈显著差异。

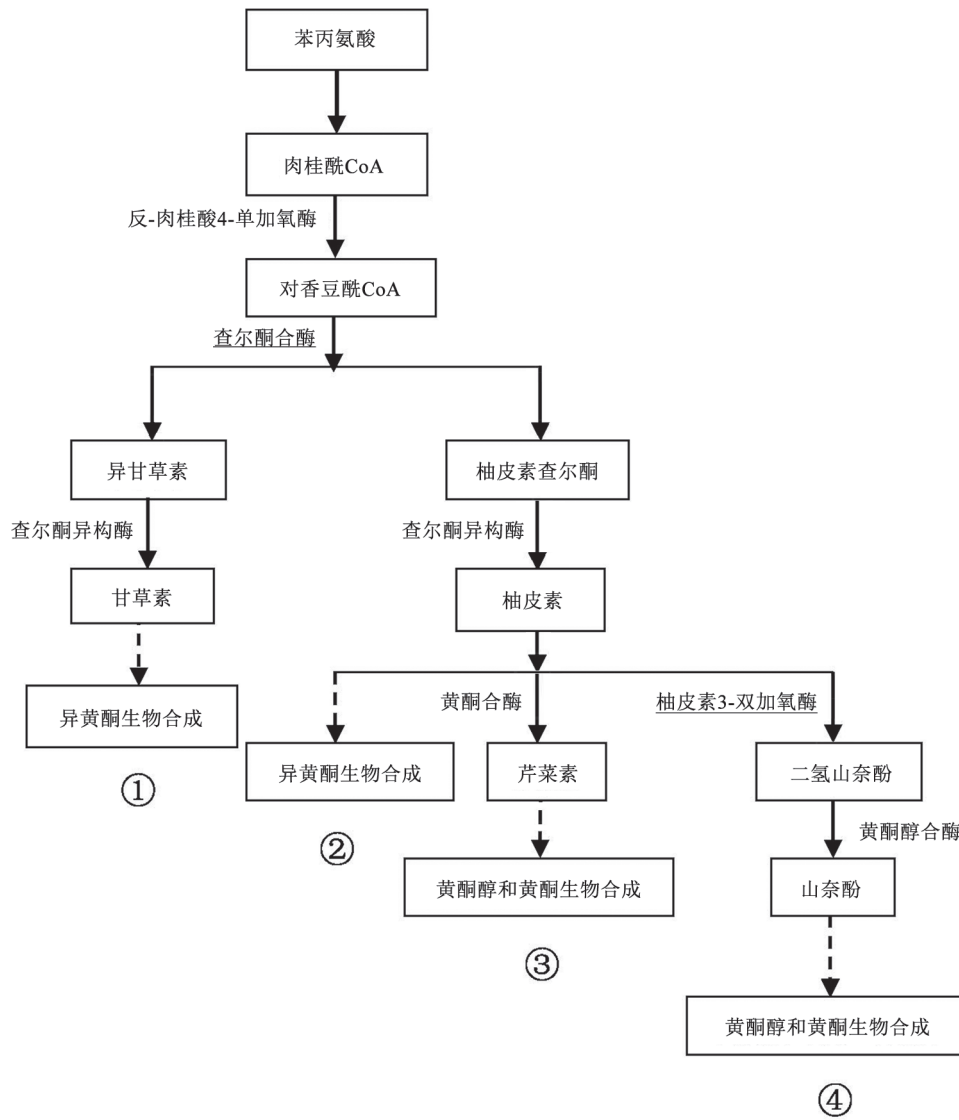


图3 干旱胁迫对马铃薯异黄酮、黄酮醇和黄酮生物合成的影响  
 Fig.3 Effects of drought stress on isoflavonoid, flavone and flavonol biosynthesis in potato  
 下划线表示控制该酶合成的基因呈显著差异。

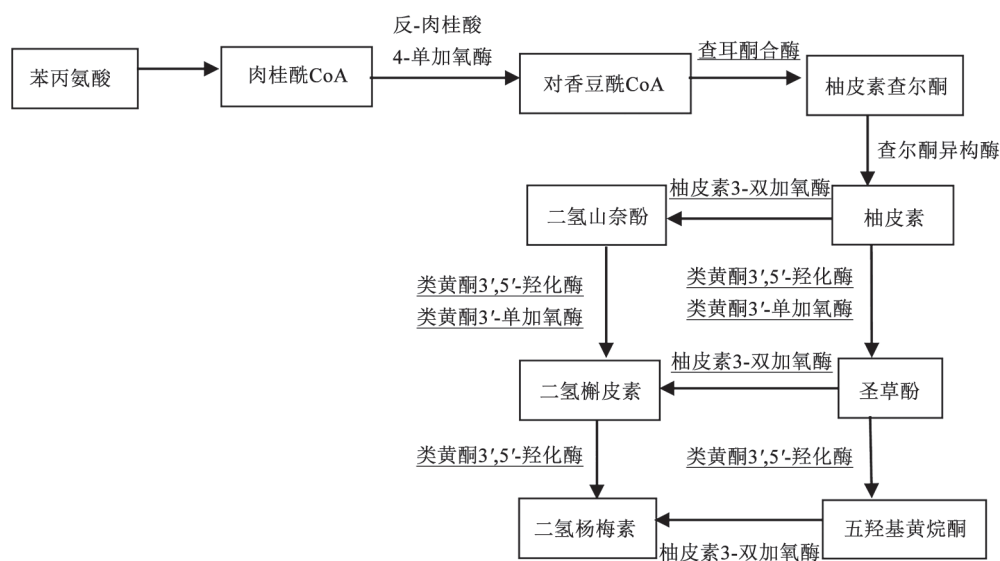


图4 干旱胁迫对马铃薯类黄酮生物合成途径中二氢杨梅素合成的影响

Fig.4 Effects of drought stress on dihydromyricetin synthesis in flavonoid biosynthesis pathway in potato

下划线表示控制该酶合成的基因呈显著差异。

3-单加氧酶对应的基因PGSC0003DMG400024643呈下调表达。由于类黄酮3',5'-羟化酶、类黄酮3-单加氧酶共同参与了柚皮素到圣草酚过程及二氢山奈酚到槲皮素过程,而柚皮素3-双加氧酶参与了柚皮素到二氢山奈酚、圣草酚到二氢槲皮素、五羟基黄烷酮到二氢杨梅素3个过程,因此在干旱胁迫下,上述基因的变化促进了类黄酮合成途径中二氢杨梅素的合成。

### 2.7 复水对马铃薯类黄酮生物合成途径的影响

复水后,马铃薯类黄酮合成途径中仍有2个差异表达基因,分别是参与莽草酸邻羟基肉桂酰转移酶合成的PGSC0003DMG400011189基因和参与咖啡酰CoA-O-甲基转移酶合成的Novel01237基因。前者是干旱胁迫下产生的差异表达基因,复水后仍未得到显著恢复,后者是复水后产生的基因差异表达。与干旱胁迫时相比,复水后参与莽草酸邻羟基肉桂酰转移酶合成的差异表达基因PGSC0003DMG400014152、参与咖啡酰CoA-O-甲基转移酶合成的差异表达基因PGSC0003DMG400006448和PGSC0003DMG400006214均已恢复到正常表达水平。表明旱后复水对某些基因表达的恢复不彻底,还会产生一些新的差异表达基因。总体来看,旱后复水对马铃薯类黄酮合成途径的恢复效果显著,途径中查尔酮合酶、类黄酮

3',5'-羟化酶等关键酶的基因表达均恢复到正常水平,由于未恢复的基因只影响高圣草素合成途径中的一个分支,并不会显著影响高圣草素的合成,因此旱后复水对马铃薯类黄酮生物合成途径恢复效果较好。

## 3 讨论

遭受干旱胁迫后,植物体内会产生一些适应性变化来维持植株正常的代谢活动,体内抗氧化物质的增加可以有效抵抗干旱胁迫(Kranner和Birtic 2005)。黄酮类化合物作为植物体中重要的抗氧化物质(Koes等1994),在抵御逆境引发的伤害时起调节作用(Niyogi等1997, 1998; Tattini等2004)。类黄酮包括黄酮、黄酮醇、异黄酮、黄烷酮、黄烷醇、花色素(Rice-Evans等1996)。本研究结果表明,马铃薯体内的类黄酮包括异黄酮、黄酮醇和黄酮,遭受干旱胁迫后,异黄酮、黄酮醇和黄酮有增长的潜势,起主导作用的是查尔酮合酶的变化;乔小燕等(2009)对茶叶的研究也得出相似的结论。干旱胁迫后,马铃薯类黄酮合成途径中,控制查尔酮合酶合成的PGSC0003DMG400019110基因呈上调表达,导致查尔酮合酶合成加速,进而促进异黄酮、黄酮醇和黄酮的形成。由此可见,编号为PGSC0003DMG400019110的基因对水分胁迫较

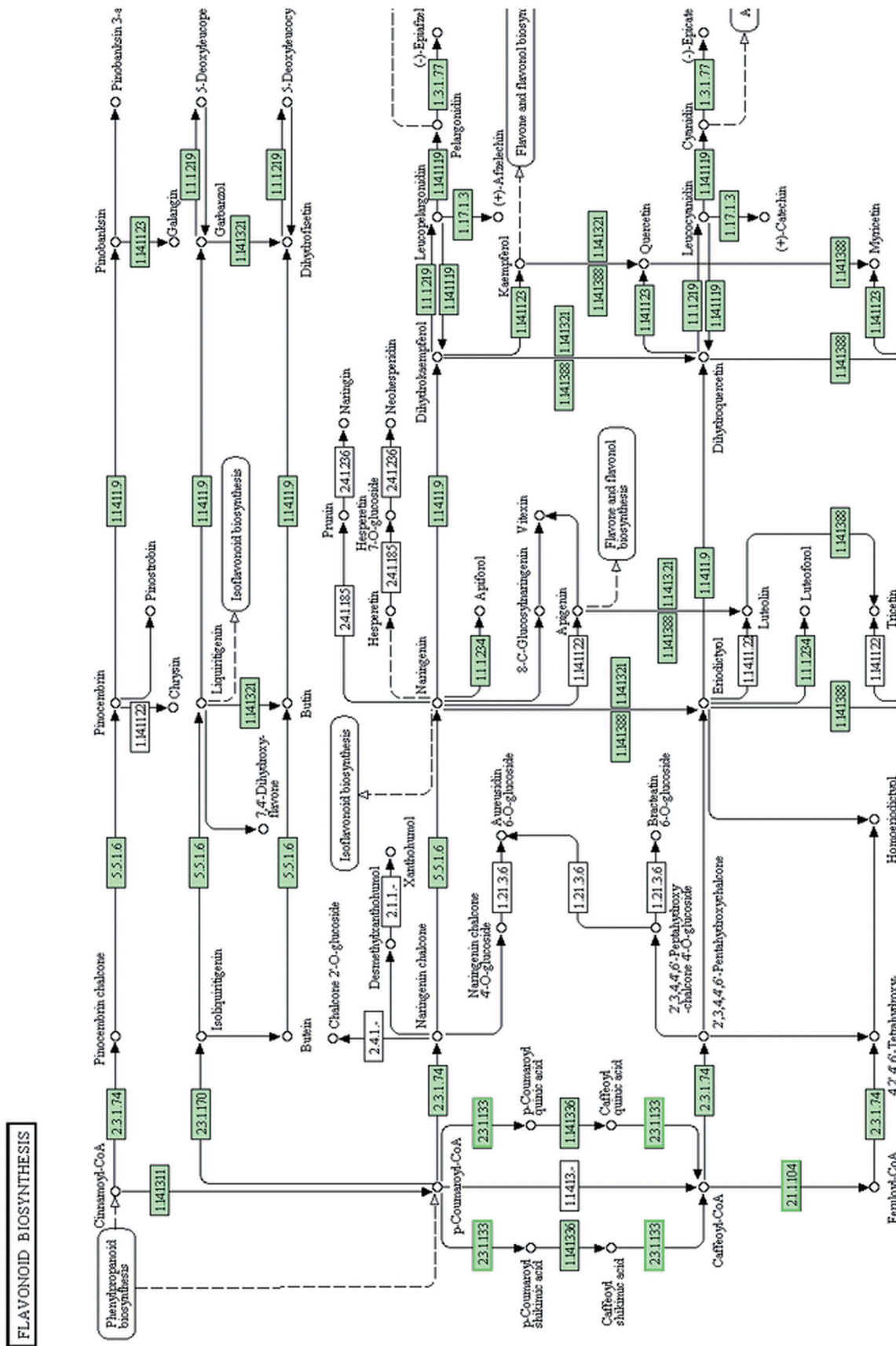


图5 复水对马铃薯黄酮类合成途径的影响  
绿色框代表基因下调表达。

Fig.5 Effects of rehydration on flavonoid biosynthesis pathway in potato  
Green boxes represent down-regulated genes.



敏感, 在马铃薯类黄酮合成途径中起重要的作用。在黄酮醇和黄酮合成途径中, 干旱胁迫激发了PGSC0003DMG400003563基因的上调表达, 导致柚皮素3-双加氧酶合成速度加快, 从而促进黄酮醇和黄酮的生物合成; 这与前人的研究结论一致(朱灿灿等2010; 谢宝东等2002)。

在异黄酮、黄酮醇和黄酮合成途径中, 参与的酶还包括查尔酮异构酶、黄酮醇合酶, 但干旱胁迫后这两个酶的合成并未发生变化, 表明查尔酮异构酶、黄酮醇合酶对干旱胁迫不敏感。也说明在外界环境发生变化时, 植物代谢途径的改变是由于部分关键基因表达的变化对某种酶的合成产生影响所造成, 并不是该途径中的所有酶均发生显著变化。

干旱胁迫后类黄酮代谢途径中产生10个差异表达基因, 但并非所有差异表达基因都注释到GO条目, 本研究中编号为PGSC0003DMG400024643的基因未注释到GO条目。其他9个基因注释的前5位GO条目中, 功能类型主要集中在生物过程和分子功能这两类, 条目对应的功能描述也主要集中在生物代谢过程、催化活性和转移酶活性3个方面。其中PGSC0003DMG400011189和PGSC0003DMG400014152与转移酶活性和催化活性相关, 其他7个基因与生物代谢过程及催化活性相关。GO富集基因功能的相对集中性体现了在同一代谢途径中不同基因功能的统一性。

圣草素合成途径中, 共有4个酶的合成发生了改变, 其中查尔酮合酶合成速度加快, 莽草酸羟基肉桂酰转移酶合成速度则有所下降, 说明干旱胁迫不仅会激发一些基因的表达, 同时也会抑制某些基因的表达, 而香豆酰莽草酸3'-单加氧酶、咖啡酰CoA-O-甲基转移酶的合成变化更为复杂, 参与该酶合成的既有上调表达基因, 又有下调表达基因, 因此干旱胁迫对香豆酰莽草酸3'-单加氧酶、咖啡酰CoA-O-甲基转移酶合成的影响机制还需进一步研究。

复水后, 处理与对照间比较, 类黄酮代谢途径中差异表达基因数目大幅减少, 除莽草酸邻羟基肉桂酰转移酶和咖啡酰CoA-O-甲基转移酶合成仍存在一定的差异外, 其他酶的合成均恢复到对照水平, 说明马铃薯苗期遭受干旱胁迫后恢复供水,

对马铃薯类黄酮合成途径具有显著恢复效果, 其中查尔酮合酶、柚皮素3-双加氧酶等在异黄酮、黄酮醇和黄酮生物合成途径中的关键酶得到恢复, 这对维持马铃薯体内类黄酮的正常含量起到决定性的作用。但旱后复水并不能使干旱造成的差异基因得到完全恢复, 甚至还会产生一些新的差异基因, 表明旱后复水补偿机制较为复杂, 还需深入研究。

### 参考文献(References)

- Anithakumari AM, Nataraja K, Visser RF, et al (2012). Genetic dissection of drought tolerance and recovery potential by quantitative trait locus mapping of a diploid potato population. *Mol Breed*, 30 (3): 1413-1429
- Cai N, Dan R, Chen P (2008). Effects of water stress on flavonoids content of tartary buckwheat seedlings. *Acta Agric Boreal-Occident Sin*, 17 (4): 91-93 (in Chinese with English abstract) [蔡娜, 淡荣, 陈鹏(2008). 水分胁迫对苦荞幼苗黄酮类物质含量的影响. *西北农业学报*, 17 (4): 91-93]
- Fan M, Jin LP, Huang SW, et al (2008). Effects of drought on gene expressions of key enzymes in carotenoid and flavonoid biosynthesis in potato. *Acta Horti Sin*, 35 (4): 535-542 (in Chinese with English abstract) [范敏, 金黎平, 黄三文等(2008). 干旱胁迫对马铃薯类黄酮和类胡萝卜素合成关键酶基因表达的影响. *园艺学报*, 35 (4): 535-542]
- Koes RE, Quattrocchio F, Mol JNM (1994). The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. *BioEssays*, 16 (2): 123-132
- Kranner I, Birtic S (2005). A modulating role for antioxidants in desiccation tolerance. *Integr Comp Biol*, 45 (5): 734-740
- Li GY, Luo XY, Sun CS, et al (2017). Effects of progressive drought stress on the accumulation of flavonoids in the growth of *Astragalus membranaceus* var. *mongolicus* (Bge.) Hsiao. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 37 (1): 138-143 (in Chinese with English abstract) [李光跃, 罗晓雅, 孙窗舒等(2017). 干旱胁迫对黄芪植株生长中黄酮类成分积累的影响. *西北植物学报*, 37 (1): 138-143]
- Li QZ (2008). Economic analysis of potato production in China (dissertation). Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [李勤志(2008). 中国马铃薯生产的经济分析(学位论文). 武汉: 华中农业大学]
- Liu XQ, Tu H, Wang SC, et al (2016). Flavonoid composition of *Citrus* juice sacs determined by high-performance liquid chromatography coupled with tandem electrospray ionization mass spectrometry. *Plant Physiol J*, 52 (5): 762-770 (in Chinese with English abstract) [刘贤青, 涂

- 虹, 王守创等(2016). 不同类型柑橘果实汁胞中类黄酮的液相色谱质谱联用分析. 植物生理学报, 52 (5): 762–770]
- Lu QN, Yang Q, Shen CX (2009). Cloning and expression analysis of flavonoids 3-*O*-glucosyltransferase gene from potato. *Acta Agric Boreal Sin*, 24 (4): 11–16 (in Chinese with English abstract) [卢其能, 杨清, 沈春修(2009). 马铃薯类黄酮-3-*O*-葡萄糖基化酶基因的克隆与表达分析. 华北农学报, 24 (4): 11–16]
- Ma LJ (2011). The transgenic study on mark-free, flavonoids-enriched and late blight resistance potato (dissertation). Taian: Shandong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [马连杰(2011). 无选择标记高含类黄酮抗晚疫病马铃薯转基因研究(学位论文). 泰安: 山东农业大学]
- Niyogi KK, Bjorkman O, Grossman AR (1997). The roles of specific xanthophylls in photoprotection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94: 14162–14167
- Niyogi KK, Grossman AR, Bjorkman O (1998). *Arabidopsis* mutants define a central role for the xanthophyll cycle in the regulation of photosynthetic energy conversion. *Plant Cell*, 10: 1121–1134
- Qiao XY, Ma CL, Chen L (2009). Plant flavonoid biosynthesis pathway and regulation of its important genes. *Nat Prod Res Dev*, 21: 354–360, 207 (in Chinese with English abstract) [乔小燕, 马春雷, 陈亮(2009). 植物类黄酮生物合成途径及重要基因的调控. 天然产物研究与开发, 21: 354–360, 207]
- Rice-Evans C (2001). Flavonoid antioxidants. *Curr Med Chem*, 8 (7): 797–807
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol Med*, 20 (7): 933–956
- Sun K, Zhang HT, Chen W, et al (2015). Effects of drought stress on flavonoids metabolism involved in test-tube plantlets leaves of *Hippophae neurocarpa*. *J Northwest Normal Univ (Nat Sci)*, 51 (3): 72–78 (in Chinese with English abstract) [孙坤, 张宏涛, 陈纹等(2015). 干旱胁迫对肋果沙棘(*Hippophae neurocarpa*)试管苗叶片黄酮类化合物代谢的影响. 西北师范大学学报(自然科学版), 51 (3): 72–78]
- Tattini M, Galardi C, Pinelli P (2004). Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. *New Phytol*, 163 (3): 547–561
- Treutter D (2006). Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environ Chem Lett*, 4 (3): 147–157
- Wang JX, MA RJ, Zhu H, et al (2011). Effects of water stress on flavonoids content of invasive plant *Ipomoea cairica*. *Hubei Agric Sci*, 50 (8): 1677–1680 (in Chinese with English abstract) [王军喜, 马瑞君, 朱慧等(2011). 干旱胁迫对五爪金龙总黄酮含量的影响. 湖北农业科学, 50 (8): 1677–1680]
- Xiang Y, Zhao RX, Lai FN, et al (2016). Components of flavonoids and antioxidant activity analysis of the extracts from red-flesh apple peel. *Plant Physiol J*, 52 (9): 1353–1360 (in Chinese with English abstract) [项亚, 赵瑞雪, 赖方稔等(2016). 红肉苹果果皮类黄酮组分及抗氧化活性分析. 植物生理学报, 52 (9): 1353–1360]
- Xiao JP, Yang XN, Guo HC (2015). Bioinformatical and expression analysis of flavonoid-3'5'-hydroxylase gene from pigmented potato named 'Zhuanxinwu'. *Genomics Appl Biol*, 34 (7): 1494–1502 (in Chinese with English abstract) [肖继坪, 杨晓娜, 郭华春(2015). 彩色马铃薯品种'转心乌'类黄酮-3'5'-羟化酶(F3'5'H)基因的生物信息学和表达分析. 基因组学与应用生物学, 34 (7): 1494–1502]
- Xie BD, Wang HT, Chang LH, et al (2002). Study on the factors related to the communication of flavonoids and terpene in *Ginkgo biloba* leaves. *Shandong Forest Sci Technol*, (4): 1–3 (in Chinese with English abstract) [谢宝东, 王华田, 常立华等(2002). 土壤水分含量对银杏叶黄酮和内酯含量的影响. 山东林业科技, (4): 1–3]
- Ye MR, Liu AR, Chen LM, et al (2008). Effects of soybean isoflavones on rape seedlings under drought stress. *Acta Bot Yunnan*, 30 (3): 351–354 (in Chinese with English abstract) [叶梅荣, 刘爱荣, 陈利明等(2008). 大豆异黄酮对干旱胁迫下油菜幼苗生长的影响. 云南植物研究, 30 (3): 351–354]
- Zhang CJ, Guo JQ, Chen GX, et al (2005). Effects of high temperature and/or drought on growth and secondary metabolites in *Ginkgo biloba* leaves. *Rural Eco-Environ*, 21 (3): 11–15 (in Chinese with English abstract) [张成军, 郭佳秋, 陈国祥等(2005). 高温和干旱对银杏光合作用、叶片中黄酮苷和萜类内酯含量的影响. 农村生态环境, 21 (3): 11–15]
- Zhu CC, Tian YL, Cao FL, et al (2010). Effects of drought stress on annual dynamic change of flavonoid contents in *Ginkgo biloba* leaves. *Appl Res*, 24 (4): 67–71 (in Chinese with English abstract) [朱灿灿, 田亚玲, 曹福亮等(2010). 干旱胁迫对银杏叶类黄酮年动态变化的影响. 应用研究, 24 (4): 67–71]

## Effects of drought stress and rehydration on gene expression of key enzymes in the flavonoid biosynthesis pathway in potato

LIU Su-Jun<sup>1,2</sup>, MENG Mei-Lian<sup>1,\*</sup>, CHEN You-Jun<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Agronomy College, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China

<sup>2</sup>College of Life Sciences and Technology, Inner Mongolia Normal University, Hohhot 010022, China

<sup>3</sup>College of Life Sciences, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China

**Abstract:** In order to understand the influence of drought stress and rehydration on the synthesis and regulation of flavonoids in potato (*Solanum tuberosum*), differential gene expression of flavonoid synthesis was investigated in this study. Using cultivar 'Kexin No.1' as experimental material, high-throughput sequencing technique was used. The experimental treatments included drought treatment (40% relative soil water content for 14 d, DT) and its control (70% relative soil water content for 14 d, DCK), rehydration treatment (40% relative soil water content for 14 d and then rehydrated to 70% for 7 d, RT) and its control (70% relative soil water content for 21 d, RCK). The results showed that flavonoids biosynthesis in potato was significantly regulated by drought stress ( $P < 0.01$ ). Altogether 10 genes in the pathway were differentially expressed between DT and DCK treatments, which could affect the activities of seven enzymes. The genes encoding chalcone synthase (EC 2.3.1.74), naringenin-3-dioxygenase (EC 1.14.11.9) and flavonoid 3',5'-hydroxylase (EC 1.14.13.88) were up-regulated significantly under drought stress, which might further affect the formation of isoflavones, flavonols, flavonoids, homoeriodictyol and dihydromyricetin. The upregulation of PGSC0003DMG400019110 and PGSC0003DMG400003563 promoted the biogenesis of chalcone synthase and naringenin-3-dioxygenase. Rehydration after drought stress restored flavonoid biosynthesis to an extent, the number of differentially expressed genes reduced from 10 to 2, only genes encoding shikimate *O*-hydroxycinnamoyl transferase (EC 2.3.1.133) and caffeoyl coenzyme A *O*-methyltransferase (EC 2.1.1.104) were differentially expressed.

**Key words:** potato; drought stress; rehydration; flavonoid; chalcone synthase

Received 2017-05-22 Accepted 2017-12-20

This work was supported by National Modern Agricultural Industry Technological System Construction Special Funds (CARS-10-P17).

\*Corresponding author (mmeilian@126.com).