

超声诱导对发芽花生的转录组分析及 苯丙烷类合成相关基因的挖掘

解梦汐, 于淼, 鲁明, 付欣, 张良晨, 石太渊*

(辽宁省农业科学院食品与加工研究所, 辽宁沈阳 110034)

摘要: 为解析超声处理对花生发芽过程中基因及代谢通路的变化差异, 本研究以前期筛选出适宜富集白藜芦醇的花生品种为试验原料, 以经超声诱导后的发芽花生 (CS) 为研究对象, 并以未经诱导处理的发芽花生 (KB) 作为对照组开展试验。结果表明: 共获得 1104 个差异表达基因 (DEG), 其中 521 个上调表达基因和 583 个下调基因。在差异表达基因的 GO 富集分析中, 对富集程度明显的前 20 个类别做出功能分析。共得到 21 个不同的 COG 功能注释, 主要参与碳水化合物的运输和代谢、翻译后修饰和蛋白质转换。有 21 个 DEGs 富集到苯丙烷类的生物合成途径, 是 KEGG 富集分析最显著的通路。发芽花生转录本与 KEGG 数据库中的苯丙烷类生物合成途径比对结果表明共 3 个基因 *arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.DXZI51*、*arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.VGN2GE* 和 *arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.Y23DM6* 参与发芽花生苯丙烷类物质的合成。上述结果表明超声诱导能够调控发芽花生苯丙烷类生物合成代谢途径的基因表达。

关键词: 发芽花生; 超声; 转录组; 苯丙烷类合成

文章编号: 1673-9078(2022)02-64-71

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.2.0622

Transcriptomic Analysis of the Effects of Ultrasound Induction on Peanut Sprout and the Mining of Genes Involved in Phenylpropanoid Biosynthesis

XIE Mengxi, YU Miao, LU Ming, FU Xin, ZHANG Liangchen, SHI Taiyuan*

(Food and Processing Research Institute, Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang 110034, China)

Abstract: To analyze the differences in genetic and metabolic pathways during germination in peanuts, peanut varieties were pre-screened to identify those with resveratrol enrichment for further evaluation. Germinated peanuts subjected to induction with ultrasound (CS) were used as the experimental group, and uninduced germinated peanuts (KB) were used as the control group. A total of 1104 differentially expressed genes (DEGs) was obtained, including 521 upregulated genes and 583 downregulated genes. In the Gene Ontology enrichment analysis of the DEGs, functional analysis of the top 20 categories with obvious enrichment levels was performed. Twenty-one different cluster of orthologous group functional annotations were obtained, which primarily involved carbohydrate transportation and metabolism, post-translational modification, and protein conversion. There were 21 biosynthetic pathways in which DEGs were enriched in phenylpropanoids, which are the most significant pathways for Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis. The KEGG database showed that the genes *arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.DXZI51*, *arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.VGN2GE*, and *arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.Y23DM6* are involved in phenylpropanoid biosynthesis. These results indicate that ultrasound induction can regulate the expression of genes related to phenylpropanoid

引文格式:

解梦汐, 于淼, 鲁明, 等. 超声诱导对发芽花生的转录组分析及苯丙烷类合成相关基因的挖掘[J]. 现代食品科技, 2022, 38(2): 64-71

XIE Mengxi, YU Miao, LU Ming, et al. Transcriptomic analysis of the effects of ultrasound induction on peanut sprout and the mining of genes involved in phenylpropanoid biosynthesis [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(2): 64-71

收稿日期: 2021-06-11

基金项目: 辽宁省博士科研启动基金计划项目 (2020-BS-038); 辽宁省“揭榜挂帅”科技攻关项目: 花生全产业链提质增效关键技术 (2021JH1/10400034)

作者简介: 解梦汐 (1990-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 食品营养与质量安全, E-mail: 308309205@qq.com

通讯作者: 石太渊 (1965-), 男, 研究员, 研究方向: 食品营养与质量安全, E-mail: 326595539@qq.com

biosynthetic pathways in germinating peanuts, and transcriptomic changes can be determined at the molecular level in peanut buds induced by ultrasound.

Key words: peanut sprout; ultrasonication; transcriptomic; phenylpropanoid biosynthesis

花生 (*Arachis hypogaea* L.) 又名“长生果”，是我国一种重要的经济作物和油料作物，含有大量蛋白质、膳食纤维和不饱和脂肪酸。花生发芽过程中总酚含量和反式白藜芦醇等生物活性成分增加，具有高抗氧化活性，因此发芽花生被专家视为理想的新型功能芽菜品种，也称花生芽^[1]。花生在发芽过程中通过调控苯丙烷代谢途径提高苯丙烷类化合物如酚酸、白藜芦醇和黄酮类物质的含量。大量研究证实了酚类物质的产生有助于植物应对多种外界生物和非生物的胁迫，而这些物质的产生涉及植物次生代谢过程信号传导途径的调控作用^[2,3]。

在实际生产中，为解决花生芽生产周期长、活性成分富集消减速度慢等问题，国内外学者通过利用物理场诱导如超声处理^[4,6]、紫外照射^[7,8]、外源添加^[9]、高压静电场^[10]等手段对花生或发芽花生的生物活性成分进行富集。Sales 等^[8]研究表明，经过超声诱导的花生总酚含量从 0.84 mg GAE/g 提升至 1.22~1.89 mg GAE/g; Yu 等^[4,5]研究表明超声诱导能够显著提高发芽花生的白藜芦醇含量，且随着超声频率和发芽时长而变化，此现象也与花生品种的差异密切相关。但是未见超声诱导对发芽花生苯丙烷类活性物质合成相关基因的表达调控的研究报道。

为了加强对发芽花生更深层次的开发利用，本研究选用超声诱导处理后的发芽花生作为研究对象进行转录组测序，并利用生物信息学方法对其测序数据进行功能注释分类、代谢通路分析，探讨超声诱导处理对发芽花生苯丙烷类合成相关基因的表达的作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料及超声处理

材料于 2020 年 6 月采自辽宁省农业科学院沙地治理研究所花生研究基地，所选品种为阜花 23 号。选取大小均一且无破损的 200 粒花生籽粒放在纱布上，用体积分数为 1% 的次氯酸钠（次氯酸钠:水=1:100）浸泡消毒 20 min，再用纯净水冲洗三次，避光浸泡 6 h 后，连同纱布放在烧杯里，烧杯加水没过花生，放入超声仪器中进行超声处理。超声参数设置为 35 °C、30 min、240 W (60%)、85 kHz。处理后，种子放置在托盘上，底部铺上滤纸，铺上纱布然后另一半纱布盖上进行避光发芽。经过 72 h 后，取空白对照组和超

声诱导下的花生胚芽置于液氮中快速冷冻，于 -80 °C 冰箱中保存备用，送至上海美吉生物有限公司。

1.2 总 RNA 提取、cDNA 文库构建和测序

从组织样品中提取 total RNA，利用 Nanodrop 2000 对所提 RNA 的浓度和纯度进行检测，琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性，Agilent 2100 测定 RIN 值。样品检测合格后利用带有 Oligo (dT) 的磁珠与 polyA 进行 A-T 碱基配对，加入 fragmentation buffer，可以将 mRNA 随机断裂，通过磁珠筛选分离出 300 bp 左右的小片段。在逆转录酶的作用下，加入六碱基随机引物 (random hexamers)，以 mRNA 为模板反转合成一链 cDNA，随后进行二链合成，形成稳定的双链结构。然后加入 End Repair Mix 将其补成平末端，随后在 3' 末端加上一“A”碱基，用于连接 Y 字形的接头。最后通过 PCR 扩增，纯化 PCR 产物，得到最终文库。文库质量检测合格后，不同文库按照目标下机数据量进行 pooling，利用 Illumina 平台进行测序 (PE 文库，读长 2×150 bp)。

1.3 测序数据质控

使用软件 SeqPrep 去除 reads 中的接头序列，去除由于接头自连等原因导致没有插入片段的 reads；将序列末端 (3' 端) 低质量 (质量值小于 30) 的碱基修剪掉，如剩余序列中仍然有质量值小于 10 的碱基，则将整条序列剔除，否则保留；去除含 N 比率超过 10% 的 reads；舍弃去 adapter 及质量修剪后长度小于 50 bp 的序列得到 clean data，使用 TopHat2 (<http://tophat.cbcb.umd.edu/>) 软件进行序列比对分析。

1.4 差异表达基因的筛选

以样品 KB 组作为对照样品，与样品 CS 进行基因表达量的比较。将错误发现率 (false discovery rate, FDR) ≤ 0.001 且差异倍数 (fold change) ≥ 2 作为 DEG 的筛选标准，满足此筛选标准的基因即为 DEG。

1.5 DEG 的功能注释

通过 BLAST 软件将筛选到的所有 DEG 分别与 NCBI 非冗余蛋白数据库 (Non-redundant Protein Sequence Database, NR)、京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 数据库、基因本体论 (Gene Ontology, GO)、蛋白质

直系同源簇数据库 (COG)、蛋白质序列数据库 (Swiss-Prot)、蛋白数据库 (TrEMBL) 和非冗余蛋白序列库 (NR) 等一系列数据库, 并对基因进行功能注释、分析以及统计。

2 结果与讨论

2.1 发芽花生转录组测序数据统计分析

表 1 发芽花生转录组测序统计

Table 1 Transcriptomic sequencing statistics of peanut sprout

样品编号	Read Sum	Clean bases	Q20/%	Q30/%	GC/%
CS3_1	41076398	5921050834	98.5	95.23	44.64
CS3_2	54729862	7963769963	98.47	95.13	45.17
CS3_3	42818848	6229123218	98.4	94.91	45.2
KB3_1	53736262	7863065452	98.5	95.14	45.17
KB3_2	45490608	6632624241	98.35	94.76	45.18
KB3_3	48874254	7145042689	98.49	95.13	45.04

注: (1) Sample: 样品名称; (2) Raw Sum: 原始测序数据的总条目数 (reads, 代表测序读段, 一个 reads 即为一条); (3) Clean bases: 质控后测序总数据量 (即 Clean reads 数目乘以 reads 长度); (4) Q20 (%), Q30 (%): 对质控后测序数据进行质量评估, Q20、Q30 分别指测序质量在 99% 和 99.9% 以上的碱基占总碱基的百分比, 一般 Q20 在 85% 以上, Q30 在 80% 以上; (5) GC content (%): 质控数据对应的 G 和 C 碱基总和占总碱基的百分比。

表 2 基因功能注释统计

Table 2 Functional annotation of ref genes

Sample	Raw reads	Raw bases	Clean reads	GC/%
GO	27880(0.573)	32507(0.5851)	33775(0.5032)	43951(0.5188)
KEGG	22200(0.4562)	26104(0.4699)	28853(0.4298)	37824(0.4465)
COG	46411(0.9538)	53312(0.9596)	60883(0.907)	77079(0.9099)
NR	47998(0.9864)	54935(0.9888)	65247(0.972)	82113(0.9693)
Swiss-Prot	39446(0.8106)	45725(0.8231)	49409(0.7361)	63545(0.7501)
Pfam	40083(0.8237)	45639(0.8215)	50644(0.7545)	63691(0.7518)
Total_anno	48056(0.9876)	54980(0.9896)	65374(0.9739)	82254(0.971)
Total	48660(1.0)	55555(1.0)	67124(1)	84714(1)

将构建好的发芽花生转录组文库通过 HiSeq 2000 高通量测序, 得到超声处理 CS 组和空白对照组 KB 的三次生物学重复间的相关系数均大于 0.9, ReadSum 的平均值分别为 46208369 条和 49367041 条, 数据过滤后超声处理 CS 组和空白对照组 KB 的平均总碱基数分别是 6.98 Gb 和 7.45 Gb, GC 含量分别为 45.00% 和 45.13%, 这些序列的 Q20 和 Q30 分别在 98% 和 94% 以上。以上数据说明全部样品转录组测序质量较高, 可为后续的差异表达基因分析提供了科学的依据。

2.2 发芽花生转录组功能注释

将组装获得的所有基因和转录本与 NR、Swiss-Prot、Pfam、EggNOG、GO 和 KEGG 六个常用数据库进行序列比对 (图 1), 最终获得有注释信息的表达基因数目为 48660, 各个数据库注释到的表达基因有较大的区别, 其中 NR 数据库注释到 47998 个表达基因, 占比 98.64%, GO 和 COG 分别有 27880

个和 46411 个表达基因, 占比 57.30% 和 95.38%, 得到注释最少的数据库为 KEGG, 仅有 22200 个表达基因, 占比为 45.62%。长度位于 300~1000 bp 和长度 ≥ 1000 bp 的数目分别有 18310 个和 19233 个 (表 2)。

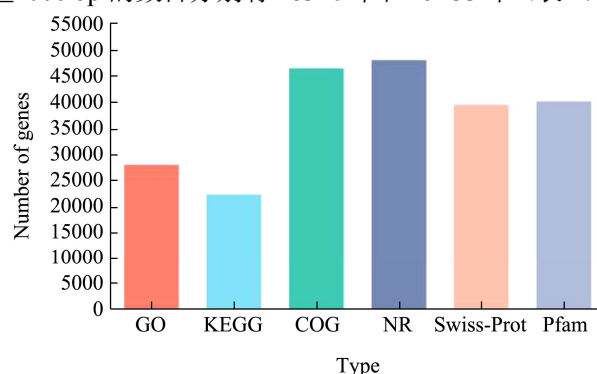


图 1 基因功能注释统计

Fig.1 Functional annotation of ref genes

2.3 花生芽响应超声诱导 DEGs 数目的分析

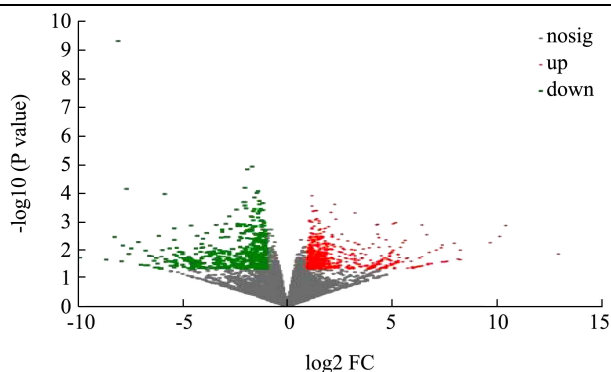


图2 花生芽响应超声诱导 DEGs 比较的火山图

Fig.2 Volcano map of Differential gene under ultrasound induction

为研究发芽花生响应超声诱导的基因表达情况，对超声处理后的差异表达基因进行分析（图2）。两组样品中共筛选出 1104 个 DEGs，其中上调 DEGs 共有 583 个，用红色点表示；下调 DEGs 共有 521 个，用绿色点表示；灰色点代表非差异表达基因。结果表明，上调 DEGs 的数目低于下调 DEGs 的数目。

2.4 DEGs 的蛋白聚类分析

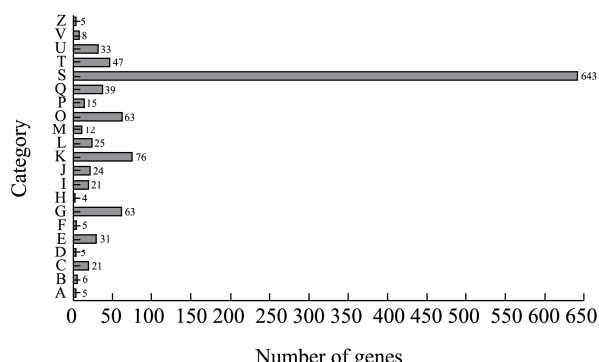


图3 COG 功能注释

Fig.3 COG classification

注：A：RNA 加工和修饰；B：染色体结构和动力学；C：能量生产及转换；D：细胞周期调控，细胞分裂，染色体分离；E：氨基酸转运和代谢；F：核酸转运和代谢；G：碳水化合物转运和代谢；H：辅酶转运和代谢；I：脂类转运和代谢；J：翻译，核糖体结构和生物起源；K：转录；L：复制，重组和修复；M：细胞壁/细胞膜/包膜的生物发生；N：细胞活性；O：翻译后修饰，蛋白转运；P：无机离子的转运和代谢；Q：次生代谢产物的合成，转运和代谢；R：一般功能预测；S：未知功能；T：信号传导机制；U：细胞内运输，分泌和囊泡运输；V：防御机制；W：细胞外结构；Y：核结构；Z：细胞骨架。

将 DEGs 和 COG 数据库进行比对，并对 DEGs 的功能进行预测和统计归类，结果显示，共有 14497 条 DEGs 与数据库中的基因相似度高。根据功能分类，可初步将花生种子转录组中的差异基因分为 21 类(图

3)，数据分析发现，DEGs 的 COG 功能涉及大多数的生命活动，其中种类全面，数量最多的是转录类的基因，其次是碳水化合物的运输和代谢、重复和修复及翻译后修饰、蛋白代谢、信号转导机制、氨基酸转运和代谢等类别；辅酶的运输和代谢类数量最少，只有 4 个；与油脂转运及代谢相关的基因有 654 个；此外仍有 643 个 DEGs 未知功能类别（图3）。

2.5 基因功能分类分析

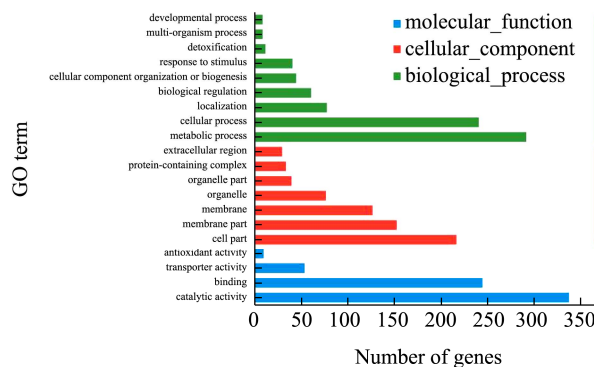


图4 GO 注释

Fig.4 GO annotations analysis

对超声诱导下发芽花生的 DEGs 进行了 GO 富集分析，共分为生物进程（biological process）、分子功能（molecular functions）和细胞组分（cellular component）三个大类。在 DEGs 富集数目的共 33 个亚类中（图4），生物进程注释到 13 个分支，DEGs 主要集中在细胞组成或生物发生和细胞进程，分别有 292 个和 241 个基因功能得到注释，说明细胞组分分类的相关基因在超声诱导花生发芽的生物进程中起着非常重要的作用。富集在细胞组分的 DEGs 主要分为 10 个分支，其中细胞组分包含的基因数目最多，共有 217 个，其次是膜的组成部分。在分子功能的 9 个分支中，参与催化活性和涉及结合功能的基因数量远超过参与其他生物过程的基因数，分别有 338 个和 245 个基因。

2.6 DEGs 的代谢通路富集分析

为了进一步探索 DEGs 的生物学功能，解析花生芽在超声诱导下的代谢调控网络，对 DEGs 进行了 KEGG 富集分析，共有 327 个 DEGs 富集到了 97 条通路中。在富集显著的前 20 条代谢通路中（图5），包含苯丙烷生物合成（24）、植物激素信号转导（15）、胞吞作用（12）、植物与病原体的相互作用（11）、黄酮类生物合成（10）、淀粉和蔗糖代谢（8）、核糖体（8）、剪接体（7）、亚油酸代谢（6）、磷酸肌醇代谢（6）、谷胱甘肽代谢（6）、甘油磷脂代谢（6）、错配修复（6）、同源重组（6）、基因复制（6）、内

质网中的蛋白质加工(5)、类胡萝卜素的生物合成(5)、氨酰基 tRNA 的生物合成(5)、抗坏血酸和藻酸盐代谢(5)、 α -亚麻酸代谢(5)、精氨酸和脯氨酸代谢(5)、氨基糖和核苷酸糖代谢(5)、糖酵解/糖异生(5)、RNA 转运(5)、核苷酸切除修复(5)等。富集分析结果说明花生芽通过代谢、合成次生代谢物等途径参与超声诱导的响应。

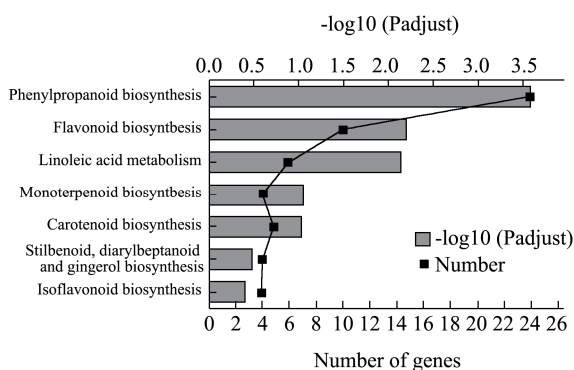


图5 KEGG 功能富集统计

Fig.5 KEGG enrichment analysis

注：纵坐标表示 KEGG pathway，下方横坐标表示比对该通路的基因/转录本数量，对应的是折线上的不同的点；上方横坐标表示富集的显著性水平，对应的是柱子的高度，其中，FDR 越小， $-\log_{10}(\text{padjust})$ 值越大，该 KEGG pathway 越显著富集。(注：默认按 $\text{padjust} < 0.5$ 的前提下显示 top20 的富集结果，若提醒“没有数据”请确定下是否满足条件)。

2.7 花生芽在超声诱导下的转录因子分析

转录因子在调控植物非生物胁迫抗性方面起着重要作用^[11-13]，本研究分析超声诱导下花生芽的 DEGs，共属于 48 个转录因子家族。其中 B3 家族包含 293 个基因，其次是 MYB 家族 288 个、bHLH 家族 281 个，MYB_related 家族 261 个以及 ERF 家族 210 个，说明这些家族转录因子的表达在发芽花生受超声诱导下调控效果显著。

本研究发现 B3 转录因子是发芽花生在超声处理下表达量变化最多的家族。研究表明已知 MYB、B3、WRKY、bHLH、bZIP 等转录因子表达量变化能提高植物适应逆境的能力^[14]。其中 B3 家族是一类含有 B3 功能域的转录因子家族，在植物的生长发育过程中发挥重要的调控作用，其功能域是一种可以和 DNA 特异结合且高度保守的结构域^[15]。B3 家族转录因子除了有参与 DNA 结合 B3 结构域外，还有其他保守的结构域，包括 AP2，生长素应答因子，生长素/吲哚-3-乙酸等。bHLH 转录因子家族是植物中最大的基因家族之一，广泛的参与了植物代谢、发育及对各种胁迫的应答机制^[16]。MYB 转录因子是植物中最大的转录因子

家族之一，广泛参与植物生理生化过程，包括植物表皮组织细胞分化、外界环境因素响应、激素应答等^[17]。研究表明，MYB 转录因子的功能多种多样，对植物的生长发育至关重要。例如，MYB 转录因子可通过控制各个细胞分裂时期来实现对细胞周期的调控，也可通过调节植物次生代谢相关基因的表达来调节花青素、类黄酮等次生代谢产物的合成，在非生物胁迫和生物胁迫响应中也扮演了重要的角色^[15]。此外，MYB 转录因子还能调控植株对植物激素的响应^[16]。

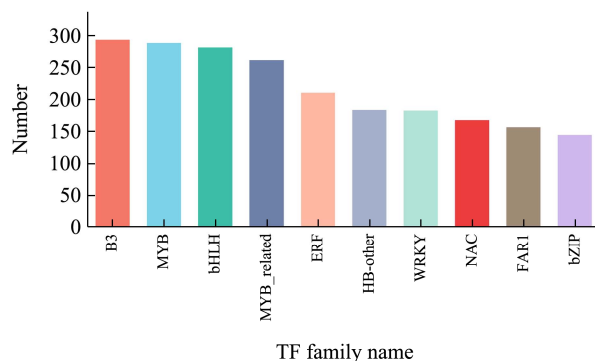


图6 转录因子家族统计

Fig.6 Statistics of TF family

2.8 花生芽在超声诱导下 DEGs 的苯丙烷类生物合成途径

苯丙烷类生物合成途径为 DEGs 富集数目最多的代谢通路，分析该调控途径对研究玉米响应盐胁迫的分子机制具有重要意义(图7)。发现共有 21 DEGs 得到富集，其中过氧化物酶(E1.11.1.7)注释到 10 个，下调 3 个，上调 7 个； β -葡萄糖苷酶上调(EC3.2.1.21) 1 个；四氢大麻酸合酶上调 1 个；甘露醇脱氢酶上调 2 个；网状氧化酶样蛋白上调 1 个；4-香豆酸酯-CoA 连接酶上调 2 个；亚精胺羟肉桂酰基转移酶上调 1 个；氰基 β -葡萄糖苷酶上调 1 个，下调 1 个；咖啡酰-CoA-甲基转移酶上调 2 个；肉桂酰基-CoA 还原酶上调 2 个。

前人研究报道白藜芦醇在植物体内是以苯丙氨酸为底物，通过苯丙烷途径生成^[18]，因此本研究所得的所有转录本与KEGG通路数据库中的苯丙烷合成途径(map00940)进行比对，结果发现花生芽中 arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.DXZI51、arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.VGN2GE、arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.Y23DM6 这三个基因显著上调与白藜芦醇合成途径相关，其中 arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.DXZI51 为肉桂酰基辅酶A 还原酶(Cinnamoyl-CoA reductase 2)参与了肉桂酸的合成。苯丙氨酸(PHE, Phenylalanine)首先经过苯丙氨酸解氨酶(PAL, phenylalanine ammonia lyase)

脱氨基作用失去氨基之后转化为肉桂酸 (Cinnamic acid), 肉桂酸再通过肉桂酸羟化酶(C4H, cinnamate-4-hydroxylase) 发生羟基化磷脂反应得到对香豆酸 (Cinnamoyl-CoA), 在本通路结果中 arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.VGN2GE、arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.Y23DM6 基因均为 4-香豆酸酯-CoA 连接酶 (4-coumarate-CoA ligase), 参与了由 4-香豆酸辅酶 A 连接酶 (4CL, 4-coenzyme A ligase) 得到对香豆辅酶 A 的生物合成。前人报道香豆辅酶 A (4-coumaroyl-

COA) 最后在外界因素刺激下, 开启白藜芦醇生成途径, 由 1 分子的对香豆酰辅酶 A 和 3 分子的丙二酰辅酶 A (Malonyl-CoA) 在芪合酶 (STS, stilbene synthase) 的催化作用下缩合生成 1 分子的反式白藜芦醇^[19]。由此可以说明在花生芽在超声诱导下产生机械损伤, 通过调控 arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.DXZI51、arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.VGN2GE、arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.Y23DM6 促进白藜芦醇的富集。

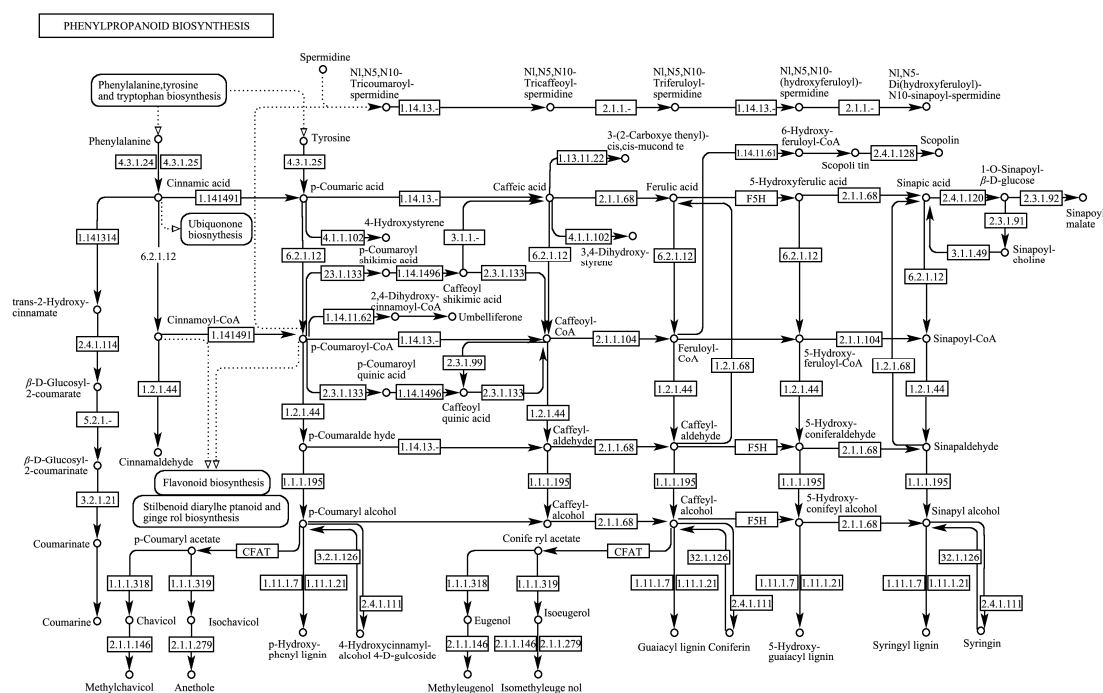


图 7 苯丙烷类生物合成途径

Fig.7 Phenylpropanoid biosynthesis pathway

本研究发现苯丙烷类生物合成途径是富集数目最显著的一条代谢通路, 共有 21 个相关基因得到注释。在植物次生代谢途径中, 所有黄酮类物质、木质素和白藜芦醇等大部分酚类物质均经苯丙氨酸代谢途径合成, 研究已经表明, 植物体内这些关键酶在应对外界生物及非生物逆境时起到至关重要的调控次生代谢作用^[20-23]。例如, PAL 活性的提高增强了大豆根部木质素的合成; 甘草黄酮类物质的提高与 PAL、C4H 基因及其酶活性的增加有着不可分割的联系^[24,25]。上述结果表明, 超声诱导提高了发芽花生苯丙烷类合成途径中基因的表达, 这意味着发芽花生苯丙烷代谢途径中的下游产物也将可能被超声诱导所改变, 这也进一步验证了本研究在前期试验中发现超声诱导能够显著提高发芽花生的白藜芦醇含量的结果^[4-6]。殷向静^[26]利用超声诱导葡萄富集白藜芦醇, 发现白藜芦醇的富

集受到白藜芦醇合酶的转录控制, 而超声处理能够引起白藜芦醇合酶活性升高。此外, 李淑莹^[27]的研究表明, 超声联合苯丙氨酸诱导可对花生芽中白藜芦醇的富集产生协同效应, 原因是由于超声可以提高肉桂酸-4-羟基化酶、4-香豆酸-辅酶 A 连接酶、类黄酮 3-O-葡萄糖基转移酶 4 种酶的活性。Ling 等^[28]研究超声处理 (400 W, 6 min) 与 0.4% 过乙酸在 20 °C 对枇杷贮藏过程中生理变化的影响, 结果表明, 联合超声和乙酸处理后, 枇杷果实中总黄酮含量在第 3 d 达到最高值, 且高于对照组。这可能是由于超声联合过乙酸在处理可以提高枇杷果实内多酚氧化酶和过氧化物酶的活性, 而这两种酶则是参与苯丙烷途径和氧化过程的重要酶, 从而产生多种具有结构和防御功能的酚类化合物^[2]。此外, 卞紫秀等^[23]研究表明, 利用超声处理可以有效地促进苦荞麦种子的萌发, 从而富集苦荞芽苗中

黄酮类化合物。这可能要归因于超声处理能有效激活植物种子萌发期的各种酶类的活性^[24], 显著提高种子萌发率, 同时诱导种子中一些生物活性成分的合成, 这与本研究发现的结果相一致, 说明超声诱导能够调控发芽花生苯丙烷类生物合成代谢途径的基因表达情况。

3 结论

为了揭示发芽花生如何应答超声外源场诱导, 筛选在超声诱导后起重要调节作用的基因, 本研究在前期研究基础上, 选出适宜富集白藜芦醇的花生品种阜花 23 号为试验原料, 是较有代表性的一个研究材料, 为此次研究奠定了良好的材料基础。研究了经超声诱导后的发芽花生 (CS) 和未经诱导处理的发芽花生 (KB) 的转录组差异, 证实了超声能够影响发芽花生苯丙烷类物质的生物合成, 从两组样品中共筛选出 1104 个差异基因, 其中上调 583 个, 下调 521 个。通过与七大数据库的比对分析, 解析了发芽花生在超声诱导下所涉及到的功能分类、代谢通路及生物进程的调控, 功能注释表明差异基因主要富集在遗传信息处理、代谢途径和蛋白质转换。并挖掘到 3 个 (arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.DXZI51、arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.VGN2GE、arahy.Tifrunner.gnm1.ann1.Y23DM6) 参与发芽花生苯丙烷类物质的显著基因, 这些研究结果为揭示发芽花生苯丙烷类物质的生物合成途径提供一定的参考依据。但众多基因复杂的调控网络及发芽过程中酚酸、木质素及总黄酮等物质在超声诱导处理下的代谢机理需要进一步深入探讨, 目的在于将来通过外援手段改变此类基因的调节功能, 让发芽花生的营养和功能性成分的变化向对人类有利的发现发展。

参考文献

- [1] 夏小勇, 郭芹, 刘红芝, 等. 发芽花生生产工艺、发芽过程中营养成分变化及加工利用研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(13): 346-351
XIA Xiaoyong, GUO Qin, LIU Hongzhi, et al. Advances in the research of preparation technology, nutrient composition change, processing and utilization of germinated peanuts [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(13): 346-351
- [2] 李先翠, 李保国, 姜元荣, 等. 花生萌发方法及营养物质变化研究进展[J]. 食品与发酵科技, 2020, 56(4): 55-59
LI Xiancui, LI Baoguo, JIANG Yuanrong, et al. Advances in the research of germination methods and nutrient composition changes of peanuts [J]. Food and Fermentation Sciences & Technology, 2020, 56(4): 55-59
- [3] Liu Q, Li S, Zhang Y, et al. Total phenolic, resveratrol content, antioxidant and antimicrobial activity in five cultivars of peanut sprouts [J]. American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 2020, 16(1): 51-59
- [4] Yu M, Liu H, Shi A, et al. Preparation of resveratrol-enriched and poor allergic protein peanut sprout from ultrasound treated peanut seeds [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2016, 1(28): 334-340
- [5] Yu M, Zhou Y, Wang X, et al. Effect of ultrasonic pre-treatment on Ara h 1 in peanut sprouts [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 75: 105607
- [6] Miao Y, Liu H, Ying Y, et al. Optimisation for resveratrol accumulation during peanut germination with phenylalanine feeding & ultrasound-treatment using response surface methodology [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2016, 51(4): 938-945
- [7] Joaquina, Pinheiro, Carla, et al. Use of UV-C postharvest treatment for extending fresh whole tomato (*Solanum lycopersicum*, cv. Zinac) shelf-life [J]. Journal of Food Science & Technology, 2015, 52: 5066-5074
- [8] Sales J M, Resurreccion A. Maximizing phenolics, antioxidants and sensory acceptance of UV and ultrasound-treated peanuts [J]. LWT - Food Science and Technology, 2010, 43(7): 1058-1066
- [9] 王小鹤, 于淼, 付欣, 等. 不同外源添加诱导方式对花生芽品质特性的影响[J]. 农业科技与装备, 2019, 2: 39-41
WANG Xiaohu, YU Miaomiao, FU Xin, et al. Effect of different exogenous addition induction on the quality character of peanut sprout [J]. Agricultural Science & Technology and Equipment, 2019, 2: 39-41
- [10] 张茜, 郑雅莹, 李妍, 等. 高压静电场预处理对花生芽活性物质及抗氧化能力的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(17): 190-195
ZHANG Qian, ZHENG Yaying, LI Yan, et al. Effect of high-voltage electrostatic field on bioactive components and antioxidant activity of peanut sprouts [J]. Food Science, 2019, 40(17): 190-195
- [11] ZHANG Tingting, LV Wei, ZHANG Haisen, et al. Genome-wide analysis of the basic Helix-Loop-Helix (bHLH) transcription factor family in maize [J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 235
- [12] Wei X, Lu W, Mao L, et al. AFB2 and MYB transcription factors dominate feruloyl transferase FHT gene involved in ABA-mediated wound suberization of kiwifruit [J]. Journal of

- Experimental Botany, 2019, 71(1)
- [13] Shikha M, Pooja B, Mallikarjuna M G, et al. Structural, functional, and evolutionary characterization of major drought transcription factors families in maize [J]. *Frontiers in Chemistry*, 2018, 6: 177
- [14] Zheng K, Wang Y, Wang S. The non-DNA binding bHLH transcription factor paclobutrazol resistances are involved in the regulation of ABA and salt responses in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 139: 239-245
- [15] 方亦圆,严维,吴建新,等.花生MYB转录因子的鉴定与生物信息学分析[J].*生物信息学*,2021,19(2):115-127
FANG Yiyuan, YAN Wei, WU Jianxin, et al. Genome-wide identification and bioinformatics analysis of MYB transcription factor family in peanut (*Arachis hypogaea*) [J]. *Chinese Journal of Bioinformatics*, 2021, 19(2): 115-127
- [16] Chen N, Yang Q, Pan L, et al. Identification of 30 MYB transcription factor genes and analysis of their expression during abiotic stress in peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *Gene*, 2014, 533(1): 332-345
- [17] 莫晓婷,赵军,范云六,等.玉米转录因子结构与功能研究进展[J].*中国农业科技导报*,2013,3:7-17
MO Xiaoting, ZHAO Jun, FAN Yunliu, et al. Research progress on structure and function of maize transcription factors [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2013, 3: 7-17
- [18] 李玲玲,刘雪,邱泽天,等.植物多酚的微生物合成[J].*生物工程学报*,2021,37(6):2050-2076
LI Lingling, LIU Xue, QIU Zetian, et al. Microbial synthesis of plant polyphenols [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2021, 37(6): 2050-2076
- [19] 陶志杰,胡瑞瑞,颜成瑞,等.物理法诱导花生芽细胞白藜芦醇生产条件优化[J].*蚌埠学院学报*,2021,10(2):1-5
TAO Zhijie, HU Ruirui, YAN Chengrui, et al. Optimization of resveratrol produced conditions in peanut bud cell induced by physical method [J]. *Journal of Bengbu University*, 2021, 10(2): 1-5
- [20] Hu C J, Da L, Ma Y X, et al. Formation mechanism of the oolong tea characteristic aroma during bruising and withering treatment [J]. *Food Chemistry*, 2018, 269: 202-211
- [21] Yu J, Engeseth N J, Feng H. High intensity ultrasound as an abiotic elicitor - effects on antioxidant capacity and overall quality of romaine lettuce [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2016, 9(2): 262-273
- [22] Zhang X, Yanwu Lu, 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
- [23] 卞紫秀,汪建飞,王顺民.超声波处理下苦荞麦萌发及富集黄酮工艺优化研究[J].*安徽工程大学学报*,2018,33(5):7-13
BIAN Zixiu, WANG Jianfei, WANG Shunmin. Optimization of flavonoid enrichment technology and germination of buckwheat seed by ultrasonic method [J]. *Journal of Anhui Polytechnic University*, 2018, 33(5): 7-13
- [24] 徐清清,刘苗苗,孙培龙,等.功率超声富集植物性食品次生代谢产物的研究进展[J].*食品安全质量检测学报*,2021,12(4):1343-1348
XU Qingqing, LIU Miaomiao, SUN Peilong, et al. Advances in enrichment of plant food secondary metabolites by power ultrasound [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2021, 12(4): 1343-1348
- [25] 寇兴然,朱松,马朝阳,等.植物多酚生物利用度及提高方法研究进展[J].*食品与生物技术学报*,2017,36(1):1-7
KOU Xingran, ZHU Song, MA Zhaoyang, et al. Research progress of plant polyphenols oral bioavailability and enhancement strategies [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2017, 36(1): 1-7
- [26] Yin Xiangjing, Singer S D, Qiao H, et al. Insights into the mechanisms underlying ultraviolet-C induced resveratrol metabolism in grapevine (*V. amurensis* Rupr.) cv. Tonghua-3 [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 503
- [27] 李淑莹,刘国琴.发芽提高花生中主要脂溶性营养物质的含量[J].*现代食品科技*,2018,34(4):30-38
LI Shuying, LIU Guoqin. Increase of lipid-soluble nutritional components content in peanuts by germination [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2018, 34(4): 30-38
- [28] Ling C, Jia X, Shao S, et al. Effect of ultrasonic treatment combined with peracetic acid treatment reduces decay and maintains quality in loquat fruit [J]. *Journal of Food Quality*, 2018, 2018: 1-8