

# 马铃薯糖苷生物碱的合成及光调控研究进展

张小璐<sup>1,2</sup>, 姜红<sup>2</sup>, 王雅<sup>1\*</sup>, 曾凡逵<sup>2,3,4</sup>, 苏萱<sup>5</sup>

(1. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州 730050) (2. 中国科学院兰州化学物理研究所, 环境材料与生态化学研究发展中心, 甘肃兰州 730000) (3. 青岛市资源化学与新材料研究中心, 山东青岛 266100)  
(4. 烟台中科先进材料与绿色化工产业技术研究院, 山东烟台 264006)  
(5. 甘肃科技馆, 甘肃兰州 730000)

**摘要:** 糖苷生物碱 (Glycoside Alkaloids, Gas) 作为马铃薯中天然存在的次生代谢产物, 既能帮助植物抵抗昆虫及微生物的侵害, 又因其广泛药理学活性应用于医药研究, 但高含量的糖苷生物碱又会对人类生命健康造成威胁。GAs 生物合成起始于乙酰辅酶 A, 其中胆固醇是重要合成中间体, 胆固醇通过一些羟基化、氧化、转氨化和糖基化反应最终合成 GAs。糖苷生物碱合成受到遗传、栽培与储存方式以及环境因素的影响, 光是调节植物生长发育过程的重要环境信号, 糖苷生物碱的生物合成亦会受到光信号调节, 光照会诱导其含量显著提高。此外, 植物激素作为影响光响应的内源信号也参与到了 GAs 生物合成途径中。该文从马铃薯糖苷生物碱的特性、生物合成途径、光调控机制以及提取与检测方法等方面进行综述, 以进一步加深对糖苷生物碱的认识, 完善糖苷生物碱的分子调控机制。

**关键词:** 糖苷生物碱; 合成途径; 信号分子; 光调控机制; 提取与检测方法

文章编号: 1673-9078(2024)09-370-378

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.9.1057

## Research Progress on the Synthesis and Photoregulation of Glycoalkaloids in Potatoes

ZHANG Xiaolu<sup>1,2</sup>, JIANG Hong<sup>2</sup>, WANG Ya<sup>1\*</sup>, ZENG Fankui<sup>2,3,4</sup>, SU Xuan<sup>5</sup>

(1. School of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)  
(2. Development Center for Eco-materials and Eco-chemistry, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China) (3. Qingdao Center of Resource Chemistry and New Materials, Qingdao 266100, China) (4. Yantai Zhongke Research Institute of Advanced Materials and Green Chemical and Engineering, Yantai 264006, China) (5. Gansu Science and Technology Museum, Lanzhou 730000, China)

**Abstract:** As a naturally occurring secondary metabolite in potatoes, glycoalkaloids (GAs) not only help plants resist attacks from insects and microorganisms, but are also used in medical research due to their extensive pharmacological activities. However, high levels of glycoside alkaloids pose a threat to human life and health. GA biosynthesis begins with acetyl-CoA, in which cholesterol is an important synthesis intermediate. Cholesterol is then synthesized into GAs via a series

引文格式:

张小璐, 姜红, 王雅, 等. 马铃薯糖苷生物碱的合成及光调控研究进展[J]. 现代食品科技, 2024, 40(9): 370-378.

ZHANG Xiaolu, JIANG Hong, WANG Ya, et al. Research progress on the synthesis and photoregulation of glycoalkaloids in potatoes [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(9): 370-378.

收稿日期: 2023-09-06

基金项目: 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系 (CARS-09); 吉林省与中国科学院科技合作高技术产业化项目 (2021SY-HZ0005); 东西协作专项 (津甘合作、鲁甘合作) (23CXNJ0013); 中央引导地方科技发展项目 (YDZX2023029)

作者简介: 张小璐 (1998), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 3021255078@qq.com

通讯作者: 王雅 (1974-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品科学, E-mail: wangya502@163.com

of reactions, including hydroxylation, oxidation, transamination. GA synthesis is affected by genetics, cultivation, storage methods, and environmental factors. Light is an important environmental signal for regulating the growth and development processes of plants. GA biosynthesis is also regulated by light signals, which can significantly increase their content. In addition, plant hormones are also involved in the GAs biosynthesis pathway as endogenous signals that affect light responses. In this study, the characteristics, biosynthetic pathways, photoregulatory mechanisms, extraction, and detection methods of potato GAs are reviewed to further our understanding of glycoalkaloids and their molecular regulation mechanisms.

**Key words:** glycoalkaloid; synthetic pathway; signaling molecule; photoregulatory mechanism; extraction and detection method

马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 原产于南美洲是茄科一年生双子叶草本植物, 作为世界第四大粮食作物在我国大部分地区均有种植, 种植面积和产量均居世界首位。马铃薯作为一种粮饲菜兼用的作物对人体有诸多益处, 马铃薯富含多种微量元素, 如维生素 C、维生素 B1、B2、铁和磷等。另外马铃薯还含有其他蔬菜缺乏的赖氨酸和色氨酸因而与谷类混合食用时可提高蛋白质利用率。除此之外马铃薯还具有广泛的药用价值, 马铃薯淀粉在体内吸收缓慢, 不会导致血糖上升过快; 高含量的膳食纤维可促进肠胃蠕动同时有助于降低结肠癌和心脏病的患病风险; 块茎中含量丰富的钾还有助于降低血压。

在马铃薯中普遍存在一类具有广泛生物学效应的次生代谢物质, 即糖苷生物碱, 又被认为是抗营养因子。糖苷生物碱是一类次生代谢物, 存在于茄科和百合科植物的根、茎、花和果实中<sup>[1]</sup>。在可食的马铃薯中, GAs 的分布并不均匀, 其浓度通常与正在经历的代谢活动有关, 大多数 GAs 位于距离块茎外表面的前 1 mm 内, 浓度沿着块茎中心下降<sup>[2]</sup>。在 19 世纪初首次在龙葵中发现其存在<sup>[3]</sup>, 随后在植物中分离鉴定出 100 多种糖苷生物碱, 目前在茄科植物马铃薯和番茄中发现了约 46 种糖苷生物碱<sup>[4]</sup>, 比如来源于番茄的番茄碱番茄皂苷 A 和番茄皂苷 B 以及马铃薯的茄碱和卡茄碱。糖苷生物碱是由亲水性的寡糖链和疏水性的糖苷配基组成其化学结构, 这种化学结构能够抑制乙酰胆碱酯酶活性和破坏细胞膜功能<sup>[5]</sup>, 根据糖苷生物碱配基的结构糖苷生物碱可以分为五类: (1) 茄次碱烷 (Solanidane); (2) 螺旋甾碱烷 (Spirosolanes); (3) 22, 26- 缩亚胺胆甾烷; (4) 3- 氨基螺旋甾烷 (3-aminospirostane); (5)  $\alpha$ - 表氨基环半缩酮 ( $\alpha$ -epiminocyclohemiketals)<sup>[6]</sup>。马铃薯块茎中糖苷生物碱含量通常很少, 但在贮藏

过程中极易受到环境因素影响, 其中光照时间、光照强度和光质均会影响糖苷生物碱的积累量, 当每 100 g 含量超过 20 mg 时就会引起严重中毒反应甚至导致死亡, 因此如何降低糖苷生物碱含量一直是研究热点。光调控糖苷生物碱生物合成机理的研究为靶向干预信号通路减少甚至阻断糖苷生物碱合成的设想带来了希望, 为糖苷生物碱积累导致马铃薯绿化浪费问题提供了一个分子框架与解决方法、为培育优良品种提供了理论依据。本文就糖苷生物碱的功能特性和生物合成途径、光与内源激素对糖苷生物碱的调控机理、提取与检测方法进行综述, 以进一步加深对糖苷生物碱的认识并完善糖苷生物碱的分子调控机制。

## 1 糖苷生物碱

### 1.1 糖苷生物碱的抗病作用

作为保护植物免受真菌、害虫和其他食草动物侵害的天然代谢物糖苷生物碱糖具有非常广泛的生理功能<sup>[7]</sup>。糖苷生物碱可以通过诱导枸杞对病害的抗性效应来降低采后鲜果的病情指数<sup>[8]</sup>, 有研究发现, 还可以通过抑制软腐病菌和果胶杆菌从而减少马铃薯黑腿病发病率<sup>[9]</sup>。GAs 对真菌具有一定的抗性, 可有效抑制真菌孢子的萌发和真菌的生长, 如通过阻止苜蓿茎点霉真菌孢子的萌发从而起到抑菌作用<sup>[10,11]</sup>。在适宜条件下  $\alpha$ - 茄碱可以有效抑制灰葡萄孢菌, 此外糖苷生物碱可以抑制经济林主要病原真菌, 如腐皮镰刀菌、核桃盘二孢菌、煤炱菌、链格孢菌和胶孢炭疽菌, 且抑制效果随浓度增加而增强<sup>[12]</sup>。

糖苷生物碱不但能够抵抗真菌侵染而且对昆虫还有驱拒作用。糖苷生物碱浓度的变化与蛭螭偏好相关, 含量高的马铃薯品种鲜少受到蛭螭的侵

害<sup>[13]</sup>, 据报道, 一定量的  $\alpha$ -茄碱和  $\alpha$ -卡茄碱会导致腹足类软体动物死亡<sup>[14]</sup>, 同时一定浓度的糖苷生物碱对科罗拉多马铃薯甲虫的生产性能有显著的负面影响<sup>[15]</sup>。马铃薯糖苷生物碱不仅对颗粒菌成虫具有相当大的毒性, 与沙拉霍德叶提取物混合使用还有助于提高杀螨活性<sup>[16]</sup>。除了防御天敌侵袭的功能之外, 在医药上也具有广泛药理学活性, 如抗病原微生物、抗原虫、抗病毒、抗炎、强心降压、消炎镇痛以及调节免疫力等<sup>[17]</sup>, 研究发现, GAs 可在体外促进纤维细胞迁移, 影响炎症、重塑和生长因子基因表达<sup>[18]</sup>。马铃薯糖苷生物碱可通过下调 ICAM-1、E-selectin 水平, 改善化疗性静脉炎的病理损伤, 因此糖苷生物碱可以作为治化疗性静脉炎的有效成分被使用<sup>[19]</sup>。

## 1.2 糖苷生物碱的毒性

糖苷生物碱现已被认为是人类食物中最严重的有毒物质之一<sup>[20]</sup>, 其毒性作用机理主要有两方面: 一是它们对生物膜的溶解和破坏, 二是对胆碱酯酶的抑制作用<sup>[21]</sup>。当马铃薯块茎中糖苷生物碱含量大于 140 mg/kg·FW 时, 会导致味道变苦从而影响马铃薯的食用风味; 当含量超过安全食用性阈值 200 mg/kg·FW 时, 会影响消化系统和其他器官, 引发一系列的中毒症状<sup>[22,23]</sup>。马铃薯糖苷生物碱毒性表现症状极广, 高剂量摄入会导致急性中毒或更严重的症状出现, 如肠胃功能紊乱、神经系统障碍即意识混乱出现幻觉和昏迷、全身抽搐甚至死亡, 长期摄入还能引起人和动物的发育畸变<sup>[24,25]</sup>。

## 2 糖苷生物碱的生物合成

### 2.1 糖苷生物碱合成途径

目前研究主要集中在阐明它们在不同物种中的结构和组成并揭示它们的生物合成途径上<sup>[26]</sup>。GAs 的合成以乙酰辅酶 A 为起始物, 经过 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (3-Hydroxy-3-methylglutaryl CoA, HMGR)、角鲨烯合成酶 1 (Squalene Synthase 1, SQS1) 和角鲨烯环氧化酶 1 (Squalene Epoxidase, SQE1) 的催化合成 2,3-环氧化鲨烯, 然后由环甾醇合成酶 (Cycloartenol Synthase, CAS1) 和羊毛固醇合成酶 (Lanosterol Synthases 1, LAS1) 催化环阿屯醇和羊毛固醇来共同合成胆固醇, 甾醇侧链还原酶 (Sterol Side-chain Reductase 2, SSR2) 作为关键酶参与到了胆固醇的生物合成中。上游途径除了形成

胆固醇等物质以外还会产生油菜甾醇, 随后这些物质会分别成为糖苷生物碱类次代谢产物以及油菜素甾醇类激素。下游途径则是胆固醇进一步通过羟基化、氧化、转氨化和糖基化反应合成糖苷生物碱; 该途径是由细胞色素 P450 单加氧酶 (Cytochrome P450 Monooxygenase, PGA) 分别催化 C-22 和 C-26 的羟基化合成 22,26 二羟基胆固醇, 然后通过酮戊二酸双加氧酶 (Ketoglutarate Dioxygenase, 16DOX) 进一步氧化合成 22,26 三羟基胆固醇, 最终由乳糖基转移酶 (Galactotransferase 1, SGT1)、葡糖基转移酶 (Glucosyltransferase 2, SGT2) 和鼠李糖基转移酶 (Rhamnosyltransferase 3, SGT3) 催化合成糖苷生物碱。

### 2.2 糖苷生物碱合成途径中的关键基因

通过改变合成途径中的相关酶活性来调控 GAs 的积累已形成一种新的研究趋势。研究发现在马铃薯中沉默 GAME4 (Glycoalkaloid Metabolism Glycosyltransferase 4) 和 16DOX 会导致糖苷生物碱积累水平显著降低<sup>[27]</sup>。LAS 和 CAS 在马铃薯中的异位表达会导致叶片中糖苷生物碱的含量增加, 而块茎中 GAs 含量则降低<sup>[28]</sup>。马铃薯中 PGA1 和 PGA2 的沉默显著降低了 GAs 的生物合成<sup>[29]</sup>, 在转基因马铃薯品系“SGT9-2”中 SGT1 基因的下调则导致了  $\alpha$ -茄碱含量骤减。安然等<sup>[30]</sup>采用 RNAi 技术, 对糖苷生物碱合成代谢途径末端酶 SGT 基因家族成员在转录水平进行共调控, 从而改变糖苷生物碱含量。研究发现在响应基因 HMGR 和 SSR2 过表达马铃薯转化体中叶片 GAs 水平增加高达 1 倍。通过 RNAi 抑制 GAME4 的表达不仅能显著降低 GAs ( $\alpha$ -茄碱和  $\alpha$ -卡茄碱) 合成, 还可以抵消光照后 GAs 的增加<sup>[31]</sup>。

## 3 光对糖苷生物碱合成的影响

光是调控马铃薯生长发育中重要的信号因子, 不同的光强度和质量显著影响了基因表达水平和糖苷生物碱的积累<sup>[32]</sup>。马铃薯块茎中糖苷生物碱的积累随着光照强度进行变化, 在光照强度  $L \leq 500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2/\text{s}$  时, GAs 的积累随着光强增大而增加, 而在  $L \geq 750 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2/\text{s}$  时, 随着光照的增强, 糖苷生物碱的浓度反而降低<sup>[33]</sup>。

休眠马铃薯块茎对光源更为敏感<sup>[34]</sup>, 并且红光在马铃薯块茎 GAs 积累过程中起决定性作用, 蓝

光次之<sup>[34]</sup>。红光表现出较高的 GAs 积累，随后是蓝光和紫光，并且在 9 d 后诱导 GAs 积累以递减顺序增加。经不同光照处理，糖苷生物碱含量存在差异，红光中为 41.1 mg/100 g·FW，白光中为 31.7 mg/100 g·FW，在绿光中观察到较低水平的总 GAs (30.6 mg/100 g·FW)，紫光中显示出最少量的 GAs (24.8 mg/100 g·FW)，紫光对糖苷生物碱的合成诱导效果存在较大争议，结果仍有待考证。马铃薯块茎中 GAs 的积累和叶绿素的合成虽然是两个独立的机制，但马铃薯块茎的绿化程度和 GAs 的积累成正比<sup>[35]</sup>，其中红光是通过促进叶绿体发育，增加叶绿素荧光参数 Fv/Fm 和表观电子转移速率 (ETR) 来促进叶绿素合成<sup>[36]</sup>；蓝光则是提高磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶的活性来降低钙调素的含量，

进而导致乙酰 CoA 含量的降低，最终影响到糖苷生物碱的积累<sup>[37,38]</sup>。

#### 4 光信号传导途径

马铃薯 GAs 含量受栽培方式、贮藏条件等多种因素影响，其中最主要的是遗传与环境因素。在诸多环境因素中光对糖苷生物碱含量的调控尤为明显，光感受器可以精确地感知环境中的光信号并调节其合成。四种感受器在马铃薯光形态建成中起主要作用，分别是光敏色素 (Phytochrome, PHY)、隐花色素 (Cryptochrome, CRY)、向光素 (Phototropin, PHOT) 和紫外光受体 (Ultraviolet-B Receptor, UVR)<sup>[39]</sup>。

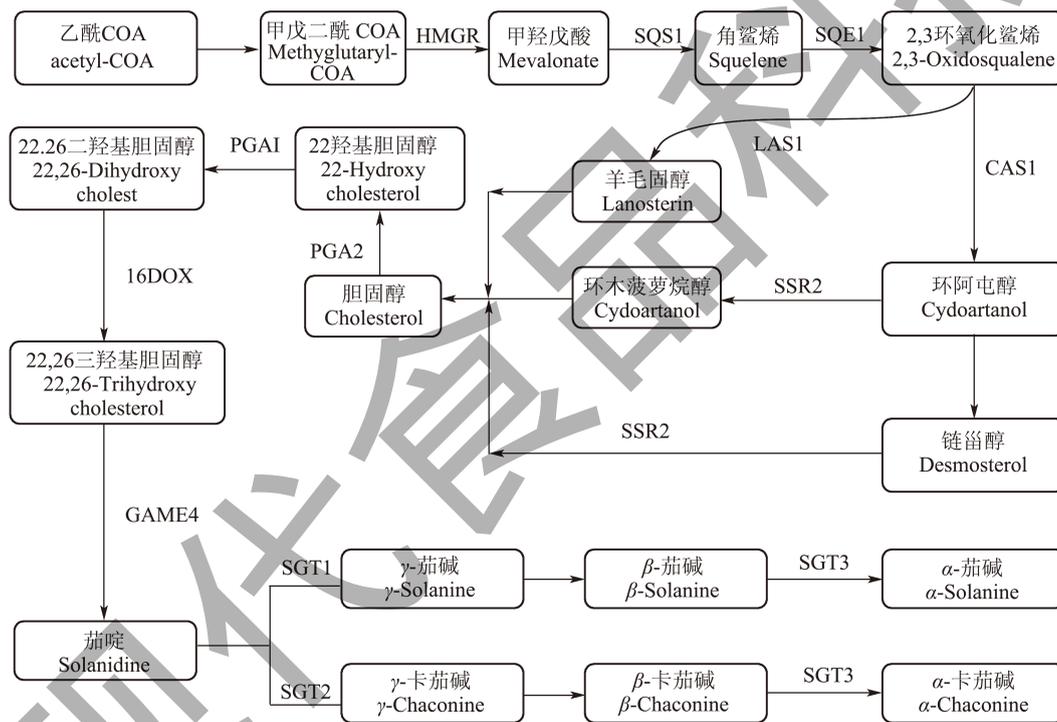


图 1 糖苷生物碱合成途径

Fig.1 Glycoside alkaloid synthesis pathway

注：HMGR 为 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶，SQS1 为角鲨烯合成酶；SSR2 为甾醇侧链还原酶 2，PGA1、PGA2 为细胞色素 P450 单加氧酶，GAME4 为糖苷生物碱代谢糖基转移酶 4，16DOX 为酮戊二酸双加氧酶，SGT1 为半乳糖基转移酶，SGT2 为葡萄糖基转移酶 2，SGT3 为鼠李糖基转移酶。

表 1 马铃薯光受体种类及结构

Table 1 Potato photoreceptor species and structure

光受体	基因	光源	结构
光敏色素	<i>PHYA</i> , <i>PHYB</i> , <i>PHYC</i> , <i>PHYB2</i> , <i>PHYE</i>	红光 / 远红光 Red/Far red light (600~780 nm)	N 端: 光感受结构域 PAS、GAF、PHY C 端: 光调节结构域 PAS、HKRD
隐花色素	<i>CRY1a</i> , <i>CRY1b</i> , <i>CRY2</i> , <i>CRYDASH</i> , <i>CRYPHO</i> , <i>CRYPHR2</i> , <i>CRYSF</i>	蓝光 Blue light (400~475 nm)	N 端: PHR 结构域 C 端: CCE 结构域

#### 4.1 光敏色素与光互作因子

马铃薯中光敏色素分属于 *PHYA*、*PHYB*、*PHYC* 和 *PHYE* 四个亚族，其中 *PHYA* 和 *PHYB* 起着主导作用，*PHYB* 介导连续红光反应。光敏色素以两种状态存在，非活性 Pr 和生物活性 Pfr 形式，在接收红光信号后钝化态 (Pr) 转化为活化态 (Pfr) 发挥作用<sup>[40,41]</sup>。远红光 FR 减少了光敏色素的活性以及吸收 FR 的 Pfr 形式的量，从而减少了 GAs 积累。光照射后 Pfr 型光敏色素通过抑制光敏色素相互作用因子 (Phytochrome-interacting Factors, PIFs) 来启动光形态建成<sup>[42]</sup>。PIFs 是调控植物发育的核心组分，参与了多种信号途径，包括内源性植物激素以及非生物 (光照、温度、昼夜节律) 和生物 (防卫反应) 途径<sup>[43]</sup>。

PIF 家族的成员 PIF1 已经被确定为连接红光感知和调节植物激素途径的分子开关<sup>[44]</sup>，转录因子 HY5 (Longated Hypocotyl 5) 是光信号传导途径的另一个主要成分，被认为是连接多种激素信号传导的汇聚点，包括赤霉素、细胞分裂素、生长素和脱落酸<sup>[45]</sup>，HY5 在所有光照条件下发挥作用，并直接调节光响应基因的转录<sup>[46]</sup>。光敏色素相互作用因子 PIF3、PIF4、PIF1 (PIL5) 和 HY5 是关键的红光信号分子，它们将光信号与植物激素信号联系起来并在糖苷生物碱合成中起到一定作用。

#### 4.2 光信号传导机制

四种光受体 - 光敏色素 (*PHYA*、*PHYB*) 和隐花色素 (*CRY1*、*CRY2*) 分别感知红光与蓝光，在光诱导下信号分子之间协同工作<sup>[47,48]</sup>。在蓝光和红光处理下糖苷生物碱合成基因 *HMG*、*SQS*、*CASI*、*SSR1*、*SGT2* 和 *SGT1* 均被不同程度诱导。在被红光激活后，光敏色素从细胞质转移到细胞核中，在那里它们通过抑制 PIFs 与其靶标启动子的结合并靶向它们进行降解以及稳定 COP1 复合物的靶标来触发光形态反应<sup>[49]</sup>。在光感受器的下游，有两个主要的光信号分支，COP1-HY5 和 PIFs 途径，正是通过这些关键成分使得光和激素的信号汇聚。PIF1、PIF3、PIF4、PIF5 和 PIF6<sup>[50]</sup> 直接作用于光敏色素的下游并介导其信号传导，PIF3 和 HY5 通过感应外界光信号来调控与 GAs 合成相关基因 (*GAME1*、*GAME4*、*GAME17*) 的表达，促进糖苷生物碱生物合成<sup>[51,52]</sup> (图 1)。光信号传导过程中，HY5 可以直

接或间接调节该过程中的多种激素反应，如正向调节 ABA 信号传导<sup>[53]</sup>。研究表明 GA 通过调节 COP1 (Constitutively Photomorphogenic 1) 活性来调节 HY5，细胞分裂素 (CTK) 在所有光照条件下均会诱导 HY5 蛋白积累。

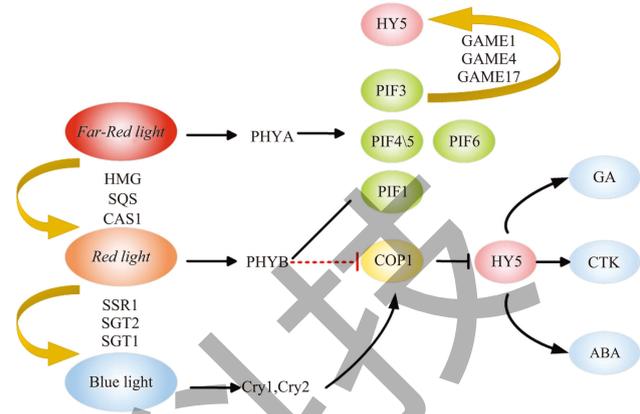


图 2 光信号传导途径

Fig.2 Optical signal conduction

注: HMGR: 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶; SQ: 角鲨烯合成酶; SSR1: 甾醇侧链还原酶1; PGA1、PGA2: 细胞色素P450单加氧酶; GAME1,4,17: 糖苷生物碱代谢糖基转移酶1,4,17; 16DOX: 酮戊二酸双加氧酶; SGT1: 半乳糖基转移酶; SGT2: 葡萄糖基转移酶2; SGT3: 鼠李糖基转移酶; GA: 赤霉素, CTK: 细胞分裂素; ABA: 脱落酸; PHYA、PHYB: 光敏色素受体; Cry1、Cry2: 隐花色素受体; PIF1,3,4,5,6: 光敏色素互作因子。实线表示直接作用, 而虚线表示间接调节。

#### 4.3 植物激素参与光信号调控GAs

GAs 生物合成可能受到多种植物激素的调节，发芽马铃薯代谢分析表明， $\alpha$ - 茄碱含量增加，糖苷生物合成相关基因的表达上调，赤霉素 (Gibberellin, GA) 和茉莉酸 (Jasmonic, JA) 水平升高，而脱落酸 (Abscisic Acid, ABA) 水平降低<sup>[54]</sup>。因此我们认为光调控糖苷生物碱合成网络与相关植物激素 (GA、JA、ABA 等) 合成存在交织途径。DELLA 家族蛋白 (DELLAs) 是 GA 信号传导的关键负调节因子，光会促进 DELLAs 积累，在高 GA 水平下，DELLAs 被蛋白酶靶向降解释放 PIFs，游离的 PIF3 和 PIF4 结合并促进光形态发生从而促进糖苷生物碱积累。红光激活的 PHYB 促进了 26S 蛋白酶体对 PIF1 的降解<sup>[55]</sup>，在低 R/FR 比下，PIF1 在细胞核中积累并激活 DAG1 (Dof Affecting Germination) 转录，进一步抑制赤霉素 3- $\beta$ - 双氧化酶 (Gibberellin

3- $\beta$ -dioxigenase, GA3ox1) 的表达, 阻断 GA 生物合成<sup>[56]</sup>(图 1)。PIF1 直接激活两个 DELLA 基因 GAI(GA Insensitive) 和 RGARGA(Repressor of gal-3) 的转录, 同时 PIF1 分别直接或间接激活 SOM (Somnus) 和 DAG1 (图 3)。

光调控糖苷生物碱过程中植物激素含量存在变化, 研究发现 GAs 合成基因 HMGR、PGA1、16-DOX、GAME12、SSR2、SGT2 和 SGT3 的启动子序列至少包含一个 TCP (Teosinte Branched1/Cycloidea/Proliferating Cell Factor) 结合位点。TCP14 参与 GA 信号转导并诱导 GA-20 氧化酶 (Gibberellin 20-oxidase, GA20ox-1) 表达<sup>[57]</sup>, 细胞分裂素和水杨酸可以增加 TCP14 的表达, JA 则会抑制其表达<sup>[58]</sup>。在 PIF1 下游起作用的另一种蛋白质是 DOF 转录因子 (DNA Binding with One Finger), DOF 转录因子 DAG1 则可以与 DELLA 蛋白发生相互作用来抑制赤霉素合成途径中 GA3ox1 的表达, 其中 DOF6 是一个 ABA 信号途径中的正调控子, PIF1 在黑暗中正向调节 DAG1。因此, PIF1 通过降低 GA 信号和 GA 水平的响应性, 并上调 ABA 水平 DAG2 控制 PHYB 信号通路中的 DELLA 蛋白 RGA (Repressor of gal-3)<sup>[59]</sup>(图 3)。

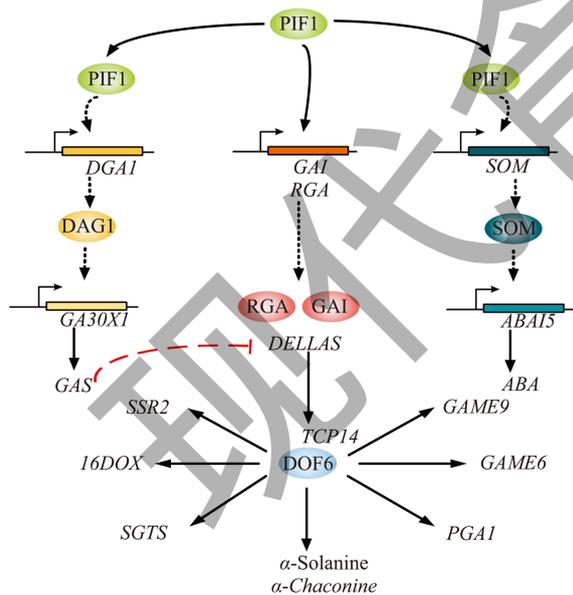


图 3 光调控机制

Fig3. Light regulation mechanism

注: 实线表示直接作用, 而虚线表示间接调节。PIF1: Phytochrome-interacting Factors; GAI: GA insensitive; RGA: repressor of gal-3; SOM: somnus; DAG1: dof affecting germination; ABAI5: ABA Insensitive 5; RGA: REPRESSOR OF gal-3。

## 5 提取与检测方法

### 5.1 提取方法

糖苷生物碱性质较稳定, 目前广泛使用的提取方法有浸提法、回流提取法、索氏抽提法、超声波提取法和微波提取法 5 种<sup>[60]</sup>。其中超声波提取法操作简单、效率高, 使用最为广泛, 余静<sup>[61]</sup>通过研究证明超声波提取提取效果最佳, 其次是索氏提取与回流提取, 提取温度则是影响提取率的最关键因素, 并且在最优条件下测得马铃薯薯芽的糖苷生物碱提取效果最佳, 其次是发绿的马铃薯薯皮, 而正常的马铃薯薯肉中提取率取最低。张玮琴等<sup>[62]</sup>通过优化后的超声波提取法增大了马铃薯中糖苷生物碱提取率, 达到 3.19%。另外在常规固液萃取的基础上增大萃取压力, 同时配合响应面分析法筛选最优条件的方法也极大地增加了的糖苷生物碱的萃取率<sup>[63]</sup>。

### 5.2 检测方法

高效液相色谱-紫外检测 (HPLC-UV)、液相-质谱联用 (LC-MS)、气相-质谱联用 (GC-MS)、酶联免疫 (ELISA) 和生物传感器是广泛用于测定糖苷生物碱含量的方法。其中常用的 HPLC 法是基于糖苷配基上连接了不同的糖从而形成了整个分子极性差异的原理来进行检测, 此方法检测中反向色谱柱 C18 柱的使用率最高, 曾凡逵<sup>[64]</sup>报道的改良版 HPLC 方法能够同时准确检测出  $\alpha$ -茄碱和  $\alpha$ -卡茄碱的含量。与 HPLC 法相比, 超高效液相色谱-串联三重四级杆质谱法 (UHPLC-MS) 具有进样速度快、分离效果好、准确度高和灵敏性好等优点, 并且通过此方法能快速定量出了马铃薯中糖苷生物碱含量<sup>[65]</sup>。新建立的 LC-MS 分析方法不仅能同时高效地检测出  $\alpha$ -茄碱和  $\alpha$ -卡茄碱还提高了检测方法的方法的灵敏度<sup>[66]</sup>。然而, 所有这些方法都需要复杂的样品制备过程, 而且费时费力。例如, 气相色谱-质谱总是需要复杂的衍生或水解才能获得挥发性生物碱, LC-MS 必须经过复杂的样品提取和纯化过程<sup>[67]</sup>。

近年来随着研究的不断深入, 更多高效的方法被应用于糖苷生物碱的测定。万丽斌等<sup>[68]</sup>发明的三相电膜萃取技术不仅具有突出的样品净化能力, 还能够降低杂质对检测的干扰, 在很大程度上提高了检测准确度和精度。Deng 等<sup>[69]</sup>则利用基质辅助激光解吸电离质谱成像技术建立起了糖苷生物碱的可视

化分布并探索其变化规律,该方法样品前处理简单,空间分辨率高,建立的模型还能够较好的预测的其生长趋势,为马铃薯贮藏及食品安全提供了理论指导。

## 6 结论与展望

自研发马铃薯主食关键技术、开发薯类主食新产品,共同推进马铃薯主粮化战略实施以来,马铃薯食用安全问题愈发受到关注。马铃薯糖苷生物碱因此逐渐成为了研究热点,目前已发现光是马铃薯块茎糖苷生物碱积累的重要环境信号分子,同时内源植物激素也参与了光调控网络,这些发现为研究GAs响应环境胁迫开辟了新路径,为其生物合成和调控奠定了理论基础,并对马铃薯块茎的育种和消费提供了新的参考。

## 参考文献

- [1] WANG C C, MENG L H, GAO Y, et al. Manipulation of light signal transduction factors as a means of modifying steroidal glycoalkaloids accumulation in tomato leaves [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 437.
- [2] SHEPHERD L V, HACKETT C J, ALEXANDER C J, et al. Modifying glycoalkaloid content in transgenic potato metabolome impacts [J]. *Food Chemistry*, 2015, 187: 437-443.
- [3] 李绍文.生态生物化学[M].北京:北京大学出版社,2001.
- [4] MILNER S E, BRUNTON N P, JONES P W, et al. Bioactivities of glycoalkaloids and their aglycones from *Solanum* species [J]. *Food Chemistry*, 2011, 59: 3454-3484.
- [5] KEUKENS E A, VRIJE T, WAARD P, et al. Molecular basis of glycoalkaloid induced membrane disruption [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1995, 1240(2): 216-228.
- [6] 赵骥民.茄科植物糖苷生物碱Chaconine, Solanine和Tomatine抗真菌的防御作用及生态意义[D].长春:东北师范大学,2006.
- [7] NENAAH G E. Toxic and antifeedant activities of potato glycoalkaloids against *Trogoderma granarium* [J]. *Journal of Stored Products Research*, 2011, 47(3): 185-190.
- [8] 陈伟.马铃薯糖苷生物碱对枸杞鲜果采后诱导抗病性及保鲜作用研究[D].兰州:甘肃农业大学,2018.
- [9] KALINA D, GRUPA U A, LEBECKA R, et al. Increase of glycoalkaloid content in potato tuber by greening as a method to reduce the spread of *Pectobacterium* and *Dickeya* spp. in seed production systems [J]. *Microorganisms*, 2023, 11(3): 605.
- [10] SMITH D B, RODDICK J G, JONES J L. Synergism between the potato glycoalkaloids  $\alpha$ -chaconine and  $\alpha$ -solanine in inhibition of snail feeding [J]. *Phytochemistry*, 2001, 57(2): 229-234.
- [11] 孙培珍.马铃薯 $\alpha$ -茄碱对灰葡萄孢菌的体外抑菌活性研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2014.
- [12] 多甜甜.马铃薯糖苷生物碱对五种经济林病原真菌的抑菌活性及其机理研究[D].兰州:甘肃农业大学,2017.
- [13] CALF O W, HUBER H, PETERS J L, et al. Glycoalkaloid composition explains variation in slug resistance in *Solanum dulcamara* [J]. *Oecologia*, 2018, 187(2): 495-506.
- [14] SILVA T M S, CELSO A, CAMARA CA, et al. Steroidal glycoalkaloids and molluscicidal activity of *Solanum asperum* Rich fruits [J]. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2008, 19: 1048-1052.
- [15] FRIEDMAN M. Potato glycoalkaloids and metabolites: roles in the plant and in the diet [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(23): 8655-8681.
- [16] JARED J J, MURUNGI L K, WESONGA J, et al. Steroidal glycoalkaloids: chemical defence of edible African nightshades against the tomato red spider mite, *Tetranychus evansi* [J]. *Pest Management Science*, 2016, 72(4): 828-836.
- [17] 牛继平.马铃薯GAs合成代谢途径末端酶基因克隆及相关miRNA筛选[D].兰州:甘肃农业大学,2012.
- [18] DI R, MURRAY A F, XIONG J E, et al. Lily steroidal glycoalkaloid promotes early inflammatory resolution in wounded human fibroblasts [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2020, 258: 112766.
- [19] 付晓燕,苏韞,颜春鲁,等.马铃薯糖苷生物碱减轻化疗性静脉炎作用机制的实验研究[J].*护理学杂志*,2018,33(1): 31-33.
- [20] MEKAPOGU M, SOHN H B, KIM S J, et al. Effect of light quality on the expression of glycoalkaloid biosynthetic genes contributing to steroidal glycoalkaloid accumulation in potato [J]. *American Journal of Potato Research*, 2016, 93(3): 264-277.
- [21] 丁晓雯.食品安全学[M].北京:中国农业大学出版社,2011.
- [22] 季彦林,王旺田,王蒂,等.光质与马铃薯块茎细胞信号分子和糖苷生物碱积累的关系[J].*作物学报*,2010,36(4): 629-635.
- [23] 王旺田,张金文,白江平,等.马铃薯糖苷生物碱研究进展[J].*分子植物育种*,2017,15(2):744-749.
- [24] FRIEDMAN M, MCDONALD G M, FILADELFI P M. Potato glycoalkaloids: chemistry, analysis, safety, and plant physiology [J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 1997, 16(1): 55-132.
- [25] MILNER S E, BRUNTON N P, JONES P W, et al. Bioactivities of glycoalkaloids and their aglycones from *solanum* species [J]. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 2011, 59: 3454-3484.

- [26] ITKIN M, HEINIG U, TZFADIA O, et al. Biosynthesis of antinutritional alkaloids in Solanaceous crops is mediated by clustered genes [J]. *Science*, 2013, 41: 175-179.
- [27] NAHAR N, WESTERBERG E, ARIF U, et al. Transcript profiling of two potato cultivars during glycoalkaloid-inducing treatments shows differential expression of genes in sterol and glycoalkaloid metabolism [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 43268.
- [28] KUMAR A, FOGELMAN E, WEISSBERG M, et al. Lanosterol synthase-like is involved with differential accumulation of steroidal glycoalkaloids in potato [J]. *Planta*, 2017, 246: 1189-1202.
- [29] UMEMOTO N, NAKAYASU M, OHYAMA K Y, et al. Two cytochrome P450 monooxygenases catalyze early hydroxylation steps in the potato steroid glycoalkaloid biosynthetic pathway [J]. *Plant Physiol*, 2016, 171: 2458-2467.
- [30] 安然,张晶晶,郭海霞. 沉默马铃薯 *Sgt1-3* 基因减少块茎糖苷生物碱积累 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2017, 33(8):826-834.
- [31] NAHAR N, WESTERBERG E, ARIF U, et al. Transcript profiling of two potato cultivars during glycoalkaloid-inducing treatments shows differential expression of genes in sterol and glycoalkaloid metabolism [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 43268.
- [32] YU W W, LIU Y, SONG L L, et al. Effect of differential light quality on morphology, photosynthesis, and antioxidant enzyme activity in *Camptotheca acuminata* seedlings [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2016, 36: 148-160.
- [33] NITITHAMYONY A, VONELBE J H, WHEELER R M, et al. Glycoalkaloids in potato tubers grown under controlled environments [J]. *Am Potato J*, 1999, 76(6): 337-343.
- [34] LACHMAN J, HAMOUZ K, ORS A K M, et al. Potato glycoalkaloids and their significance in plant protection and human nutrition-review [J]. *Rostlinna Vyroba-UZPI*, 2001, 47: 181-191.
- [35] OKAMOTO H, DUCREUX L J, Allwood J W, et al. Light regulation of chlorophyll and glycoalkaloid biosynthesis during tuber greening of potato *S. tuberosum* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 753.
- [36] 许莉,刘世琦,齐连东,等. 不同光质对叶用葛芭光合作用及叶绿素荧光的影响 [J]. *中国农学通报*, 2007, 23(1):96-100.
- [37] 蒲高斌,刘世琦. 不同光质对番茄幼苗生长和生理特性的影响 [J]. *园艺学报*, 2005, 32(2):420-425.
- [38] YE S, SHAO Q, XU M, et al. Effects of light quality on morphology, enzyme activities, and bioactive compound contents in *Anoectochilus roxburghii* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 857.
- [39] HUBER M, NIEUWENDIJK N M, PANTAZOPOULOU C K, et al. Light signalling shapes plant-plant interactions in dense canopies [J]. *Plant Cell*, 2021, 44: 1014-1029.
- [40] 杨有新,王峰,蔡加星,等. 光质和光敏色素在植物逆境响应中的作用研究 [J]. *进展园艺学报*, 2014, 41(9):1861-1872.
- [41] 王旺田. 马铃薯块茎GAs合成的光信号应答基础及关键酶基因克隆和调控设计 [D]. 兰州:甘肃农业大学, 2012.
- [42] 姜丽丽,金光辉,张桂芝,等. 光质对马铃薯试管薯诱导结薯和膨大的研究进展 [J]. *中国马铃薯*, 2023, 37(1):70-75.
- [43] PAIK I, KATHARE PK, KIMJI, et al. Expanding roles of PIFs in signal integration from multiple processes [J]. *Molecular Plant*, 2017, 10: 1035-1046.
- [44] VAISTIJ FE, BARROS T, COLE AF. *MOTHER-OF-FT-AND-TFL1* represses seed germination under far-red light by modulating phytohormone responses in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(33): 8442-8447.
- [45] TAKASE M, MIZOGUCHI T, KOZUKA T, et al. The unique function of the *Arabidopsis* circadian clock gene *PRR5* in the regulation of shade avoidance response [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2013, 8(4): e23534-1.
- [46] LIAN H, XU P, HE S, et al. Photoexcited CRYPTOCHROME 1 interacts directly with g-protein  $\beta$  Subunit AGB1 to regulate the DNA-Binding activity of HY5 and photomorphogenesis in *Arabidopsis* [J]. *Molecular Plant*, 2018, 1(10): 1248-1263.
- [47] OLMSTEAD RG, BOHS L, MIGID HA, et al. A molecular phylogeny of the *Solanaceae* [J]. *Taxon*, 2008, 57(4): 1159-1181.
- [48] 李绍文. 生态生物化学 [M]. 北京:北京大学出版社, 2001.
- [49] 安然,张晶晶,郭海霞. 沉默马铃薯 *Sgt1-3* 基因减少块茎糖苷生物碱积累 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2017, 33(8):826-834.
- [50] SHEERIN D J, OVEN-KROCKHAUS S, MENON C, et al. Lightactivated phytochrome A and B interact with members of the SPA family to promote photomorphogenesis in *Arabidopsis* by reorganizing the COP1/SPA complex [J]. *Plant Cell*, 2015, 27(1): 189-201.
- [51] 白江平,崔同霞,张金文,等. 马铃薯块GAs合成途径关键基因表达量的GGE双标图分析 [J]. *植物研究*, 2014, 34(2): 238-244.
- [52] WANG C C, MENG L H, GAO Y, et al. Manipulation of light signal transduction factors as a means of modifying steroidal glycoalkaloids accumulation in tomato leaves [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 437.
- [53] LOPEZ J A, SUN Y, BLAIR P B, et al. TCP three ways handshake: linking developmental processes with plant immunity [J]. *Trends Plant Science*, 2015, 20: 238-245.
- [54] SHEN D D, HUA Y P, HUANG J Y, et al. Multiomic analysis reveals core regulatory mechanisms underlying steroidal

- glycoalkaloid metabolism in potato tubers [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(1): 415-426.
- [55] WIT M, GALVÃO V C, FANKHAUSER C. Light-mediated hormonal regulation of plant growth and development [J]. *Annu Rev Plant Biology*, 2016, 67: 513-537.
- [56] YANG L, LIU S, LIN R. The role of light in regulating seed dormancy and germination [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2020, 62(9): 1310-1326.
- [57] SEVEN M, AKDEMIR H. DOF, MYB and TCP transcription factors: Their possible roles on barley germination and seedling establishment [J]. *Gene Expression Patterns*, 2020, 37: 119116.
- [58] LUCERO L E, UBERT I-MANASSERO N G, ARCE A L, et al. TCP15 modulates cytokinin and auxin responses during gynoecium development in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 2015, 84: 267-282.
- [59] SANTOPOLO S, BOCCACCINI A, LORRAI R, et al. DOF AFFECTING GERMINATION 2 is a positive regulator of light-mediated seed germination and is repressed by DOF AFFECTING GERMINATION 1 [J]. *BMC Plant Biology*, 2015, 15: 72.
- [60] 余永霞,蒋雅楠,刘清亮,等.龙葵素检测技术研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*,2020,11(12):3930-3936.
- [61] 余静.马铃薯糖苷生物碱的提取与纯化[D].武汉:华中农业大学,2010.
- [62] 张玮琴,童军茂.马铃薯中糖苷生物碱的提取及其工艺条件的优化[J].*农产品加工*,2014,20:43-45.
- [63] HOSSAIN M B, RAJ D K, BRUNTON N P. Optimization and validation of ultra-high performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometry method for qualitative and quantitative analysis of potato steroidal alkaloids [J]. *Journal of Chromatography B*, 2015, 997: 110-115.
- [64] 曾凡逵.马铃薯糖苷生物碱的结构特征,生物合成,毒性及加工对其含量的影响[J].*中国马铃薯*,2022,36(2):155-164.
- [65] 李玉珠,郭华春,王琼.马铃薯不同品种各器官糖苷生物碱累积规律研究[J].*食品工业科技*,2020,41(22):1-7.
- [66] 任兴权,苏菊,苏阿龙,等.液相色谱-串联质谱分析监测马铃薯中的主要糖苷生物碱[J].*食品与发酵工业*,2020,46(14):6.
- [67] 陈琳珊,陈佩佩,陈茹,等.高效液相色谱-串联质谱法测定马铃薯中 $\alpha$ -茄碱 $\alpha$ -卡茄碱[J].*现代食品*,2021,14:202-205.
- [68] 万丽斌,高海东,高火亮,等.一种检测马铃薯中糖苷生物碱的方法,中国:CN112557556A[P].2021-03-26.
- [69] DENG Y, HE M, FENG F, et al. The distribution and changes of glycoalkaloids in potato tubers under different storage time based on MALDI-TOF mass spectrometry imaging [J]. *Talanta*, 2021, 221(1): 121453.