

青稞蓝粒花青素合成相关基因 HvnGST 的克隆及表达分析

周文燕 姚有华 吴昆仑 姚晓华

1 青海大学, 青海西宁, 810016;

2 青藏高原种质资源研究与利用实验室/青海省青稞遗传育种重点实验室/国家麦类改良中心青海青稞分中心, 青海西宁, 810016;

摘要: 为挖掘青稞蓝粒花青素合成相关基因, 该研究以‘蓝二棱’和‘白 91-97-3’两个不同粒色的青稞品种为实验材料, 通过前期转录组测序筛选青稞蓝粒花青素合成相关基因 HvnGST, 并进行了克隆; 通过实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 技术分析了其在两个不同粒色品种的乳熟早期、乳熟晚期、软面团时期三个不同时期的表达模式。结果表明, HvnGST 基因 CDS 长 732 bp, 编码 243 个氨基酸。启动子区域含有脱落酸、苯丙烷类次生代谢途径、Myb 结合位点等顺式作用元件。HvnGST 蛋白与大麦的亲缘关系最近, 与燕麦亲缘关系最远, 且具有 GST_C_Tau 和 GST_N_Tau 结构域。经预测发现, 与其存在互作的有谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽 S 转移酶等。青稞 HvnGST 基因在不同组织的表达量结果表明, 该基因在乳熟期表达量处于最高水平 ($P < 0.01$); 青稞 HvnGST 基因在籽粒形成不同时期的表达量结果表明, ‘蓝二棱’ HvnGST 基因的表达量在三个时期均极显著高于‘白 91-97-3’ ($P < 0.01$), 且在乳熟晚期表达量最高 ($P < 0.01$)。研究结果为进一步揭示青稞蓝粒花青素合成相关酶的调控机制提供了理论依据。

关键词: 青稞; 花青素; HvnGST; 基因克隆; 基因表达

DOI:10.69979/3041-0673.25.03.041

青稞 (*Hordeum vulgare* L. var. *nudum*. Hook. F) 是青藏高原地区裸大麦的统称, 籽粒内外稃与颖果分离, 籽粒裸露, 与小麦遗传背景极其相似^[1]; 也是青藏高原地区藏族百姓的重要食粮, 其种植和食用历史迄今长达 3500 年^[2]。青稞生长期短、耐寒性强, 适宜在青藏高原地区种植, 主要产于西藏、青海、云南和四川等地^[3]。在青稞籽粒成熟过程中, 种皮和胚乳层内所沉积的色素可能会导致不同的色素沉淀现象, 从而形成彩色青稞^[4]。研究表明, 紫色青稞是由于花青素在种皮和糊粉层中累积而形成的, 蓝色青稞是由于花青素在糊粉层中累积而形成的, 黑青稞是由于色素在种皮中累积而形成的^[5]。彩色青稞富含丰富的天然色素, 其所含的多酚、类黄酮和花青素等酚类化合物的含量更为丰富, 在营养价值方面更具优势^[6-7]。彩色青稞相较于白色青稞, 在淀粉、膳食纤维、蛋白质等营养品质方面表现出显著差异, 且抗氧化活性物质含量更高, 日益成为研究热点^[8]。

花青素, 又称花色苷, 是一类广泛存在于植物中的水溶性天然色素, 属于生物类黄酮物质^[9]。具有极强的抗氧化能力, 能够有效中和体内自由基, 保护细胞免受

氧化应激的损害^[10]。花青素合成关键基因包括查尔酮合成酶 (CHS)、查尔酮异构酶 (CHI)、黄烷酮 3-羟化酶 (F3H)、黄酮 3'-羟化酶 (F3'H)、类黄酮 3', 5'-羟化酶 (F3'5'H)、谷胱甘肽转移酶 (GST)、二氢黄酮醇-4-还原酶 (DFR) 和花青素合成酶 (ANS) 等^[11], 其中植物谷胱甘肽 S-转移酶 (Glutathione S-transferases, GSTs; EC 2.5.1.18) 是参与花青素运输的多功能酶, GST 基因家族的一些成员参与了花青素的液泡积累^[12]。与花青素相关的 GST 基因最早是在玉米中发现的, 由于 BZ2 基因突变, 导致玉米籽粒无法积累花青素^[13]。在苹果中, MdGSTU12 基因与花青素变异显著相关, 功能鉴定和亚细胞定位证实 MdGSTU12 在苹果花青素积累中具有重要意义^[14]。在仙客来中, CkmGST3 基因同样与花青素积累相关, 其表达模式与其他花青素生物合成基因相关^[15]。然而蓝粒青稞富含花青素, 但对其合成相关基因及其调控机制的研究仍相对匮乏。

本研究通过课题组前期对蓝白青稞品种进行转录组测序的数据结果, 对获得的大量差异基因进行筛选, 最终成功锁定一个在花青素合成途径中表达差异显著

法。

2 结果与分析

2.1 青稞 HvnGST 基因的克隆及其编码蛋白的理化性质

以‘HvnRGA3-F/R’为引物，蓝色青稞品种‘蓝二棱’和白色青稞品种‘白91-97-3’的籽粒总RNA反转录获得的cDNA为模板，对该基因进行扩增，得到了一条约732bp长度的基因片段。该基因包含1个编码区(CDS)，可编码243个氨基酸。‘蓝二棱’与‘白91-97-3’的HvnGST的CDS核苷酸序列不存在差异，序列一致性均为100%。采用NCBI中的CD-search对氨基酸序列的保守结构域进行预测，发现该基因具有GST_C_Tau和GST_N_Tau两个结构域(图1A)，属于谷胱甘肽转移酶(GST)超家族中的Tau家族。

利用在线工具ProtParam预测其理化性质，结果表明，HvnGST蛋白分子式为C1117H1836N3200688S7，分子量为26021.89 Da，不稳定指数为33.83，脂溶指数为90.16，理论等电点为5.52，其中负电荷残基为30个，正电荷残基为26个。对HvnGST蛋白亲疏水性、信号肽和跨膜结构预测发现，HvnGST蛋白为亲水性不稳定蛋白，且均不存在信号肽。利用TMHMM Server v.2.0对HvnGST蛋白跨膜结构分析结果显示，该蛋白不存在跨膜结构域(图1B、C)。

利用STRING和SWISSMODEL在线工具对两个品种H

vnGST蛋白进行二、三级结构预测，结果发现，该蛋白主要二级结构依此为 α -螺旋(53.09%)、无规则卷曲(36.63%)和伸展链(10.29%)，该蛋白为低聚态单体，含有 α -螺旋与无规卷曲结构(图1D、E)。

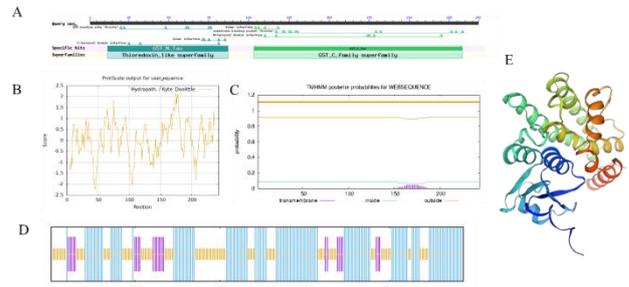


图1 HvnGST 基因的序列预测结果

注：A：HvnGST蛋白的保守结构域预测图；B：HvnGST蛋白的跨膜结构预测图；C：HvnGST蛋白的信号肽预测图；D：HvnGST蛋白的二级结构预测结构图，其中蓝色、紫色、红色和绿色部分该蛋白二级结构的四种主要形式，分别为 α -螺旋结构、无规则卷曲结构、 β -转角结构；E：HvnGST蛋白的三级结构预测图。

2.2 HvnGST 基因的顺式作用元件

据分析结果显示，大量的顺式作用元件被发现于HvnGST基因的启动子区域。其中包括脱落酸响应元件(ABRE)、植物苯丙烷类次生代谢途径调节元件(MYB)以及Myb结合位点元件(Myb-binding site)。此外还包括激素响应、生长素响应、光响应等相关的顺式作用原件，见表2。

表2 青稞 HvnGST 基因启动子区域顺式元件分析表

位点名称 Site name	序列 Sequence	数量 Number	功能 Function
AAGAA-motif	GAAAGAA	1	参与脱落酸反应的顺式作用元件 cis-acting element involved in the abscisic acid responsiveness
ABRE	CACGTG/ACGTG/	9	参与脱落酸反应的顺式作用元件 Cis-acting element involved in the abscisic acid responsiveness
ARE	ACGTG	3	厌氧诱导所必需的顺式作用元件 Cis-acting regulatory element essential for the anaerobic induction
ACE	CTAACGTATT	1	参与光响应的顺式作用元件 cis-acting element involved in light responsiveness
AuxRR-core	AAACCA	1	参与植物生长素反应性的顺式作用调控元件 cis-acting regulatory element involved in auxin responsiveness
Box 4	ATTAAT	1	参与光响应的保守DNA模块的一部分 part of a conserved DNA module involved in light responsiveness
CAAT-box	CAAT/CCAAT/CAAT	24	启动子和增强子区的共同顺式作用元件 common cis-acting element in promoter and enhancer regions
CCAAT-box	CAACGG	2	MYBHv1 结合位点 MYBHv1 binding site
G-Box	CACGTT	2	参与光响应的顺式调节元件 Cis-acting regulatory element involved in light responsiveness
G-box	CACGTG/CACGAC/CCACGTAA	10	参与光响应的顺式调节元件 Cis-acting regulatory element involved in light responsiveness

GT1-motif	TCTGTTG	1	光响应元件 light responsive element
LTR	CCGAAA	1	参与低温反应的顺式元件 Cis-acting element involved in low-temperature responsiveness
MBS	CAACTG	1	参与干旱诱导的 MYB 结合位点 MYB binding site involved in drought-inducibility
MYB	TAACCA/ CAACAG	5	参与植物苯丙烷类次生代谢途径的调节 Involvement in the regulation of secondary metabolic pathways in plant phenolpropanoids
Myb-binding site	CAACAG	1	Myb 结合位点 Myb-binding site
O2-site	GTTGACGTGA	1	玉米蛋白代谢调控的顺式调控元件 Cis-acting regulatory element involved in zein metabolism regulation
TATA-box	TATAAA/T TATAA/TATA/taTA TAAAtc/TATATA/A TATAT/ATATAT	24	-30 区左右核心启动子元件 Core promoter element around -30 of transcription start
TGA-element	AACGAC	1	激素响应元件 auxin-responsive element

2.3 HvnGST 蛋白同源序列比较、蛋白互作分析

2.3.1 HvnGST 蛋白的同源序列比较分析

通过 DNAMAN 6.0 软件对 HvnGST 蛋白和其他禾本科植物蛋白氨基酸序列进行对比, 分析结果表明, HvnGST 蛋白质序列与大麦 GST (KAE8817931.1) 的蛋白质序列一致性最高, 为 99.18%; 与普通小麦 (XP_044434898.1) 和野生二粒小麦 (XP_037460286.1) 的 GST 蛋白序列一致性为 94.24% 和 93.00%; 与乌拉尔图小麦 (VAI89381.1) 和硬直黑麦草 (XP_047057723.1) 的 GST 蛋白序列一致性分别为 91.77% 和 79.84%。与玉米 (AAV64226.1)、黍 (XP_025798058.1) 和水稻 (KAB8112633.1) 的 GST 蛋白序列一致性分别为 69.26%、69.40% 和 66.4% (图 2)。

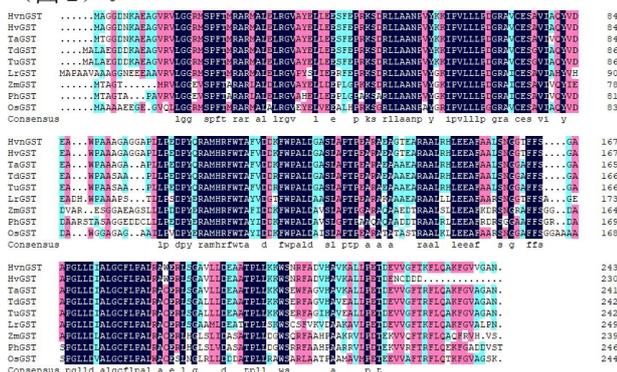


图 2 青稞 HvnGST 与其他禾本科植物蛋白氨基酸序列对比

注: Hvn. 青稞; Hv. 大麦; Ta. 小麦; Tu. 野生二粒小麦; Tu. 乌拉尔图小麦; Lr. 硬直黑麦草; Zm. 玉米; Ph. 黍; Os. 水稻

2.3.2 HvnGST 蛋白相互作用分析

蛋白质相互作用预测结果表明, HvnGST 与多个蛋白存在相互作用关系 (图 3)。在粳米中与 GST (Q6QN18_0 RYSJ) 相互作用关联性强且有着蛋白注释的蛋白共 10 个, 分别为: 1 个过氧化还原酶 (OJ1340_C08.107), 4 个谷胱甘肽过氧化物酶 (Q10L56_ORYSJ, QOITA3_ORYSJ, B7FAE9_ORYSJ, Q6ESJ0_ORYSJ), 1 个 Os12g0263050 蛋白 (C7JA12_ORYSJ), 2 个属于 GST 超家族的谷胱甘肽 S 转移酶 (DHAR1、DHAR2), 1 个谷胱甘肽还原酶 (GRC2), 1 个谷胱甘肽合成酶 (QOIRE6_ORYSJ) (图 3A)。在小麦中, 与 GST (A0A080YTY2) 相互作用关联性强的蛋白共 10 个, 分别为: 2 个属于 GST 超家族未鉴定的蛋白 (A0A3B5XVD9, A0A3B5YRG3), 3 个谷胱甘肽过氧化物酶 (A0A3B6CHO4, T1WSS4_WHEAT, A0A3B6IRX8), 3 个未鉴定的蛋白 (A0A1D5UTZ4, A0A3B6C7Z9, A0A3B6B0T0), 1 个过氧化物还原酶 (DOPRB4_WHEAT), 1 个过氧化物还原酶 PER1 (PER1) (图 3B)。在玉米中与 GST (B6TL20_MAIZE) 相互作用关联性强且有着蛋白注释的蛋白共 10 个, 分别为: 3 个谷胱甘肽过氧化物酶 (A0A1D6K2F9, Pco114914, GP), 2 个属于 GST 超家族的脱氢抗坏血酸还原酶 (Dhar1, Dhar3), 2 个属于 GST 超家族的 DHAR 类谷胱甘肽 S-转移酶 (Dhar2, DHAR4), 2 个过氧化物酶 (A0A1D6GUF7, B8A1T1_MAIZE), 1 个叶绿体外膜蛋白 (A0A1D6N0B4) (图 3C)。

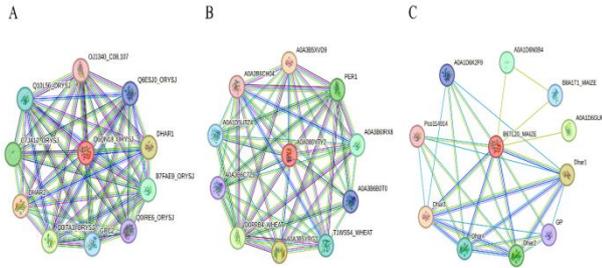


图3 粳米、小麦和玉米 GST 蛋白相互作用网络图

注：上图表示与 GST 具有相互作用的蛋白网络图。图表中的圆圈代表与其互作的蛋白。红色圆圈表示查询的 GST 蛋白；其他颜色圆圈代表与查询的 GST 蛋白具有相互作用关系的其他蛋白；不同颜色代表不同的作用类型，其中连接的蓝色线条、紫色线条、绿色线条、红色线条、深蓝色线条、浅绿色线条、黑色线条、浅紫色线条分别代表来自策划的数据库、实验确定的数据、基因邻接、基因融合、基因同源、文本挖掘、共同表达、蛋白同源性

2.4 青稞 HvnGST 基因在不同组织和不同时期的表达量模式分析

2.4.1 青稞 HvnGST 基因在不同组织的表达

分析发现, *HvnGST* 基因在青稞各个组织中的表达存在显著差异, 其中在胚胎发育期、幼嫩花序期、幼芽期、灌浆期、抽穗期、分蘖第三节间、表皮层和根系中几乎不表达; 在嫩叶期和衰老的叶片中有少量表达; 在乳熟期中呈现极显著高表达, 为嫩叶期的 34.8 倍, 是衰老的叶片的 30.2 倍 ($P < 0.01$) (图 4)。

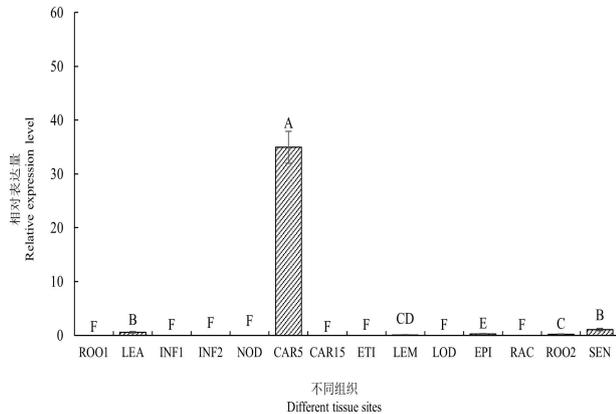


图4 HvnGST 基因在不同组织的相对表达量

注：EMB, 大麦为期 4 天的胚胎期; ROO1, 大麦幼苗的根 (约为 10 cm 嫩芽阶段); LEA, 大麦嫩叶 (约为 10 cm 的嫩叶阶段); INF1, 正在发育中大麦的开花期幼嫩花序 (约为 5 mm); INF2, 大麦开花期花序 (约为 1-1.5 cm); NOD, 大麦抽穗期的第 3 节间分蘖期 (约为 42 DAP); CAR5, 大麦的乳熟期 (约为 5 DAP); CAR15, 大麦的灌浆期 (约为 15DAP); ETI, 出土幼苗; LEM, 花序; LOD, 花序、鳞茎; PAL, 剖开的花序、内稃; EPI, 表皮带; RAC, 花序、花轴; ROO2, 根; SEN,

衰老的叶片。

2.4.2 HvnGST 基因在粒色形成不同时期的表达分析

利用 RT-qPCR 检测该基因在蓝色青稞品种‘蓝二棱’和白色青稞品种‘白 91-97-3’籽粒颜色形成的乳熟早期、乳熟晚期、软面团期的相对表达量。结果表明, *HvnGST* 基因在‘白 91-97-3’三个时期表达水平较低, 而在‘蓝二棱’的三个时期均极显著表达 ($P < 0.01$), 且乳熟晚期表达量约为乳熟早期的 2.50 倍, 软面团期的 1.33 倍 ($P < 0.01$) (图 5)。由此可见, *HvnGST* 基因的表达量随着青稞籽粒花青素的合成而逐渐升高, 推测该基因正调控花青素的积累。

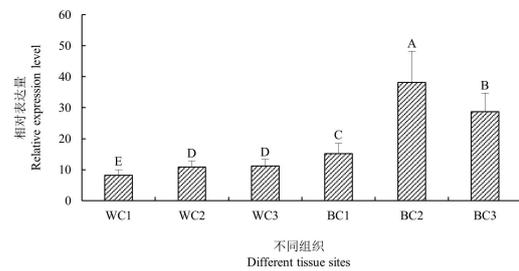


图5 不同粒色青稞品种粒色形成的 HvnGST 基因在乳熟早期、乳熟晚期、软面团期的表达量

注：WC1 代表白粒青稞乳熟早期; WC2 代表白粒青稞乳熟晚期; WC3 代表白粒青稞软面团期; BC1 代表蓝粒青稞乳熟早期; BC2 代表蓝粒青稞乳熟晚期; BC3 代表蓝粒青稞软面团期; 不同大写字母代表差异极显著 ($P < 0.01$)。

3 讨论

花青素作为一种强效的抗氧化剂, 对人体生理活性具有显著的促进作用^[18]。蓝青稞富含花青素, 因其独特的营养价值和保健功能而受到人们的喜爱^[19]。然而, 青稞中与花青素合成相关的基因研究较少, 其确切功能还尚不明确。大麦的花青素含量各不相同, 且平均含量由高到低依次为紫大麦 > 蓝大麦 > 黑大麦, 这种差异直接导致了籽粒颜色的不同^[20]。花青素含量与大麦籽粒成熟度密切相关, 随着花青素的积累, 部分基因的表达量也会显著增加^[21]。王燕等人研究发现^[22]在白粒青稞‘昆仑 12 号’在乳熟早期、乳熟晚期和软面团期 3 个时期中 *HvnF3'* M 表达量差异不显著, 而紫粒青稞‘达章紫’中 *HvnF3'* M 基因在乳熟期的表达量极显著高于‘昆仑 12 号’ ($P < 0.01$)。在本研究中, 蓝色青稞籽粒着色过程中 *HvnGST* 基因的表达量极显著高于白粒青稞 ($P < 0.01$)。推测 *HvnGST* 基因在青稞蓝粒花青素合成过程中起到了正调控作用, 研究结果为进一步揭示青稞粒色形成过程中的花青素相关酶的调控机制提供了理论依据。

GST在花青素代谢中起着重要作用^[23]。在不结球白菜中，BcGSTF6基因被证实参与花青素的转运过程。通过异源回补试验和基因沉默试验，验证了BcGSTF6是花青素转运和积累的重要基因^[24]。在草莓中，克隆得到的FaGST173和FaGST660基因也与花青素合成和转运过程相关，这些基因在花青素积累阶段高度表达，表明它们可能参与花青素的生物合成或转运^[25]。在大麦中，HvGST基因被鉴定为调控籽粒花青素积累的关键基因，其不同单倍型显著影响大麦糊粉层花青素的积累^[26]。本研究结果表明，青稞HvnGST基因CDS序列在蓝粒和白粒青稞中并无差异，推测粒色差异的原因可能与其启动子区域的序列差异有关。分析启动子顺式作用元件可以推测基因潜在的功能^[27]。在棉花中，启动子上的顺式作用元件(GCCbox、ARE)的变异可以影响特定基因(GhRPRS1)的转录活性。当某些元件发生缺失或变化时，可能导致相关基因转录活性降低，进而影响由细胞质向液泡转运花青素的载体数量，最终改变花瓣颜色^[28]。在蓝莓中，转录因子VcMYB1通过与花青素合成结构基因VcDFR启动子上的特异位点(即Myb-binding site)相结合，正向调控VcDFR基因的表达。这种结合作用促进了花青素的合成和积累，从而影响了蓝莓果实的色泽和营养价值^[29]。研究表明，MYB、MYC和bHLH三类转录因子在花青素合成中发挥总要作用^[30]。例如，在菊花中，转录因子CmMYB4和CmMYB5也通过Myb-binding site来调控花青素苷的合成；CmMYB4和CmMYB5能够直接结合到花青素苷合成相关结构基因CmDFR、Cm3GT和Cm3MT以及CmF3'H和CmDFR等的启动子上，抑制这些基因的表达，从而负调控花青素苷的生物合成^[31]。HvnGST基因启动子区域也具有ARE和MYB结合位点等元件，且启动子序列存在较大差异，两个品种出现了多处碱基突变，这可能是引起青稞粒色改变的原因，后续将重点对该两段区段主要变异处进行酵母单杂等机制方面研究。由此推测，在青稞花青素积累过程中，HvnGST基因启动子区域的ARE和MYB结合位点元件可能起到关键作用。

蛋白互作结果显示，在粳米、小麦、玉米中与GST互作最多的蛋白为谷胱甘肽过氧化物酶谷和胱甘肽转移酶。在花青素降解过程中，谷胱甘肽过氧化物酶可以抑制自由基的产生，减少花青素的降解，从而维持花青素的稳定性和生物活性^[32]。特定的谷胱甘肽转移酶(如arGSTs)能够催化花青素生物合成中的关键步骤，从而直接影响花青素的产生^[33]。由此推测谷胱甘肽过氧化物酶在花青素合成过程中起到了关键作用。

本研究蓝色青稞品种‘蓝二棱’和白色青稞品种‘白

91-97-3’中克隆了HvnGST基因。该基因全长为732bp，编码243个氨基酸，属于谷胱甘肽转移酶(GST)超家族中的Tau家族。RT-qPCR结果显示，HvnGST基因在‘白91-97-3’三个时期表达水平较低，而在‘蓝二棱’的三个时期均极显著表达。因此推测，该基因在蓝粒青稞着色过程中起着重要的正向调控作用。本研究结果为阐明HvnGST基因在花青素合成中的作用及调控机制奠定了理论基础。

参考文献

- [1]郭本兆. 青海经济植物志(全一册)[M]. 青海人民出版社, 1987: 701.
- [2]王薇. 青藏高原的青稞产业插上科技的翅膀[N]. 中国食品报, 2022: 01-26(004).
- [3]冯朵, 王靖, 季晓娇, 等. 青稞功效成分和保健功能研究进展[J]. 食品科技, 2020, 45(09): 57-61.
- [4]华为, 朱靖环, 尚毅, 等. 有色大麦研究进展. 植物遗传资源学报, 2013, 14(6): 1020-1024.
- [5]杨希娟, 党斌, 徐菲, 等. 不同粒色青稞酚类化合物含量与抗氧化活性的差异及评价[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(09): 34-42.
- [6]Jin H.M, Dang B, Zhang W G, et al. Polyphenol and Anthocyanin Composition and Activity of Highland Barley with Different Colors[J]. Molecules, 2022, 27, 3411.
- [7]苏乐平, 姚晓华, 吴昆仑, 等. 大麦(青稞)籽粒粒色相关研究进展[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(18): 70-74.
- [8]张帅. 彩色青稞的功能成分分析及粒色基因的分子标记[D]. 青海西宁: 青海大学, 2017.
- [9]戴思兰, 洪艳. 基于花青素苷合成和呈色机理的观赏植物花色改良分子育种[J]. 中国农业科学, 2016, 49(03): 529-542.
- [10]李春阳, 许时婴, 王璋. DPPH法测定葡萄籽原花青素清除自由基的能力[J]. 食品与生物技术学报, 2006, (02): 102-106.
- [11]苏培森, 隋超, 颜君, 等. 不同小麦品种花青素含量多样性及其合成基因表达分析[J]. 山东农业科学, 2022, 54(12): 9-17.
- [12]金雪花, 洪艳, 黄河, 等. 瓜叶菊谷胱甘肽转移酶基因GST的分离及表达分析[J]. 园艺学报, 2013, 40(06): 1129-1138.
- [13]Marrs K A, Alfenito M R, Lloyd A M, et al

- l. A glutathione S-transferase involved in vacuolar transfer encoded by the maize gene[J]. *Nature*, 2024-12-16.
- [14] Zhao Y W, Wang C K, Huang X Y, et al. Genome-Wide Analysis of the Glutathione S-Transferase (GST) Genes and Functional Identification of MdGSTU12 Reveals the Involvement in the Regulation of Anthocyanin Accumulation in Apple. *Genes (Basel)*. 2021, 12(11): 1733.
- [15] Kitamura S, Akita Y, Ishizaka H, et al. Molecular characterization of an anthocyanin-related glutathione S-transferase gene in cyclamen [J]. *J Plant Physiol*. 2012, 169(6): 636-42.
- [16] 姚晓华, 王越, 安立昆, 等. 青稞 HvtAG01 基因的克隆及其在条纹病胁迫下的表达[J]. *西北植物学报*, 2021, 1(01): 20-28.
- [17] 苏乐平, 姚晓华, 安立昆, 等. 黑粒青稞 HvtUF3GT 基因的克隆与表达分析[J]. *西北植物学报*, 2019, 39(10): 1750-1757.
- [18] Zhang L, Su W Q, Tao R, et al. RNA Sequencing provides insights into the evolution of lettuce and the regulation of flavonoid biosynthesis[J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 2264.
- [19] 王姗姗, 刘小娇, 胡赞, 等. 西藏地区不同粒色青稞多酚及花青素含量分析[J]. *现代农业科技*, 2020, (19): 217-220.
- [20] 张毅, 东强, 冯西博, 等. 不同粒色大麦花青素含量与籽粒颜色关系的研究[J]. *高原农业*, 2022, 6(03): 213-219.
- [21] 李琳玲, 程华, 陈小玲, 等. 银杏类黄酮 3' 羟化酶基因的克隆与表达分析[J]. *园艺学报*, 2015, 42(04): 643-654.
- [22] 王燕, 姚晓华, 姚有华, 等. 青稞籽粒花青素合成相关基因 HvnF3' M 的克隆与表达分析[J]. *西北农业学报*, 2022, 31(09): 1174-1184.
- [23] 王璐, 戴思兰, 金雪花, 等. 植物花青素苷转运机制的研究进展[J]. *生物工程学报*, 2014, 30(06): 848-863.
- [24] 尹雨钦, 徐欢欢, 唐丽萍, 等. 不结球白菜 GST 基因家族的全基因组鉴定及花青素相关基因 BcGSTF6 的功能分析[J]. *中国农业科学*, 2024, 57(16): 3234-3249.
- [25] 薛婷婷. GST 调控草莓果实花青素积累的分子机理[D]. 安徽合肥: 安徽农业大学, 2019.
- [26] Xu D, Dondup D, Dou T, et al. HvGST plays a key role in anthocyanin accumulation in colored barley[J]. *Plant J*. 2023, 113(1): 47-59.
- [27] 李文静, 张新业, 王佳音, 等. 番茄 S1PP2C67 启动子克隆及表达分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2023, 42(06): 593-600.
- [28] Hu W, Chen Y, Xu Z, et al. Natural variations in the Cis-elements of GhRPRS1 contributing to petal color [J]. *Plant J*. 2023, 113(1): 47-59.
- [29] Single-Molecule Real-Time and Illumina Sequencing to Analyze Transcriptional Regulation of Flavonoid Synthesis in Blueberry[J]. *Front Plant Sci*. 2021 30;12:754325.
- [30] our diversity in cotton[J]. *Plant Biotechnol J*. 2024, 22(12): 3473-3488.
- [31] 陈林. 青稞紫粒花青素合成相关 MBW 复合物的筛选及功能研究[D]. 青海西宁: 青海大学, 2023.
- [32] 李梦灵. CmMYBs 转录因子调控菊花花青素苷依光合成的分子机制[D]. 北京: 北京林业大学, 2022.
- [33] 李春阳, 许时婴, 王璋. DPPH 法测定葡萄籽原花青素清除自由基的能力[J]. *食品与生物技术学报*, 2006, (02): 102-106.
- [33] Eichenberger, M., Schwander, T., Hüppi, S. et al. The catalytic role of glutathione transferases in heterologous anthocyanin biosynthesis. *Nat Catal* 6, 927-938 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41929-023-01018-y>.

基金项目: 本研究由青海省青稞育种联合攻关项目, 青海省青稞遗传育种重点实验室项目(2023_1_5)和国家大麦产业技术体系(CARS-05)资助

作者简介: 周文燕(1999—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事青稞遗传育种相关研究

*通信作者: 姚晓华, 研究员, 博士生导师, 主要从事青稞遗传育种相关研究