



三角梅*cDOPA 5GT*基因的克隆和光照对其表达的影响

刘姗, 孙蓉, 高静雷

引用本文:

刘姗, 孙蓉, 高静雷. 三角梅*cDOPA 5GT*基因的克隆和光照对其表达的影响[J]. *热带亚热带植物学报*, 2021, 29(1): 75–81.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4233>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

铁皮石斛*DoSMT2*基因的克隆与表达分析

Cloning and Expression Analysis of *DoSMT2* Gene in *Dendrobium officinale*

热带亚热带植物学报. 2020, 28(6): 591–598 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4234>

毛竹APX家族基因鉴定和表达分析

Identification and Expression Analysis of the APX Gene Family in *Phyllostachys edulis*

热带亚热带植物学报. 2020, 28(3): 255–264 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4155>

de novo转录组学分析华南地区入侵植物五爪金龙代谢特征

Metabolic Characteristics of Invasive Plant *Ipomoea cairica* in South China by de novo Transcriptomics

热带亚热带植物学报. 2016, 24(2): 128–142 <https://doi.org/10.11926/j.issn.1005-3395.2016.02.002>

红掌佛焰苞基因qRT-PCR分析中内参基因的筛选

Screening of Reference Genes in *Anthurium andraeanum* Spathes for qRT-PCR Analysis

热带亚热带植物学报. 2015, 23(1): 51–58 <https://doi.org/10.11926/j.issn.1005-3395.2015.01.008>

RNA干扰20S蛋白酶体 α 亚基基因对莱茵衣藻油脂代谢的影响

Effect of RNA Interference 20S Proteasome α Subunit A Gene on Lipid Metabolism in *Chlamydomonas reinhardtii*

热带亚热带植物学报. 2020, 28(4): 329–338 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4165>

三角梅 *cDOPA 5GT* 基因的克隆和光照对其表达的影响

刘珊, 孙蓉, 高静雷

(攀枝花学院生物与化学工程学院, 干热河谷特色生物资源开发四川省高校重点实验室, 四川 攀枝花 617000)

摘要: 为了解光照对三角梅(*Bougainvillea glabra*)葡糖基转移酶基因表达的影响, 从其苞片中克隆了环多巴 5-糖基转移酶基因(*cDOPA 5GT*)。结果表明, 三角梅 *cDOPA 5GT* 基因的 cDNA 全长为 1 446 bp, 编码 482 个氨基酸, 生物信息学分析表明 *cDOPA 5GT* 蛋白的等电点(PI)为 5.77, 具有糖基转移酶的特征基序, 为酸性亲水跨膜蛋白, 不含信号肽, 二级结构以 α -螺旋和无规则卷曲为主, 氨基酸序列保守性较差。qRT-PCR 分析表明, 遮光处理 *cDOPA 5GT* 基因表达量和植株的甜菜红素含量均显著下降。这表明三角梅的色素合成受糖基转移酶基因调控, 并与光照呈正相关关系。

关键词: 三角梅; 葡糖基转移酶; 基因表达; 光照

doi: 10.11926/jtsb.4233

Cloning of Cyclo-DOPA-5-glucosyltransferase Gene from *Bougainvillea glabra* and Effect of Illumination on Its Expression

LIU Shan, SUN Rong, GAO Jing-lei

(Key Laboratory of Dry-hot Valley Characteristic Bio-Resources Development at University of Sichuan Province, Department of Biological and Chemical Engineering, Panzhihua University, Panzhihua 617000, Sichuan, China)

Abstract: In order to understand the effect of illumination on the expression of glucosyltransferase gene in *Bougainvillea glabra*, the cyclo-DOPA-5-glucosyltransferase gene (*cDOPA 5GT*) was cloned from bracts. The results showed that the full length cDNA of *cDOPA 5GT* was 1 446 bp, encoding 482 amino acids. The bioinformatics analysis showed that isoelectric point of *cDOPA 5GT* was 5.77, showing an acidic and hydrophilic transmembrane protein without signal peptide. The *cDOPA 5GT* protein had characteristic motifs of glucosyltransferase, and the secondary structure was dominant of α -helices and random coils, and the amino acid sequence was less conserved. The results of qRT-PCR and spectrophotometry showed that the expression of *cDOPA 5GT* gene and betacyanin accumulation in plants decreased significantly under shading by qRT-PCR and spectrophotometry. Therefore, it was suggested that the synthesis of betacyanin was regulated by glucosyltransferase gene, and positively correlated with light time.

Key words: *Bougainvillea glabra*; Cyclo-DOPA-5-glucosyltransferase; Gene expression; Illumination

三角梅 (*Bougainvillea glabra*) 是紫茉莉科 (Nyctaginaceae) 三角梅属植物, 为常绿攀援状灌木, 原产于南美洲的巴西、秘鲁等国, 因其发现者法国探险家、植物学家 Louis-antoine de Bougainville 而

得名, 意思为“宝巾”^[1]。三角梅属中只有叶子花 (*B. spectabilis*)、三角梅和秘鲁三角梅 (*B. peruviana*) 具有观赏价值^[2-3]。三角梅喜光不耐寒, 主要观赏部位是苞片, 色素通过甜菜色素途径合成, 主要为甜菜红素

收稿日期: 2020-04-10

接受日期: 2020-06-10

基金项目: 四川省国际科技合作项目(2019YFH0136)资助

This work was supported by the Cooperation Project of International Science and Technology in Sichuan (Grant No. 2019YFH0136).

作者简介: 刘珊(1980~), 女, 博士, 副教授, 从事植物生物技术研究。E-mail: liushan@pzh.edu.cn

和甜菜黄素, 并通过两种色素间相对含量的转化实现对花色的调节, 使苞片呈现不同颜色^[4-5]。

甜菜色素途径的起始物是酪氨酸, 中间产物多巴在不同酶的催化下分别合成环状多巴和甜菜醛氨酸, 两者再自发形成甜菜红素, 与甜菜黄素的积累不在同一个分支。葡糖基转移酶(glycosyltransferases, GTs)是甜菜色素代谢过程中重要的关键酶, 该途径涉及的糖基转移酶分为 2 类: 5-O、6-O 糖基转移酶和环多巴 5-糖基转移酶(cyclo-DOPA-5-glucosyltransferase, cDOPA 5GT), 其中环多巴糖苷在合成末端把糖基转移至甜菜苷配基上^[6-7], 产物在甜菜红素的总含量中占比较大, 该过程可以是环状多巴先被 cDOPA 5GT 催化形成环多巴葡萄糖, 再与甜菜醛氨酸结合, 也可以是环状多巴先结合甜菜醛氨酸, 再催化连接糖基形成甜菜苷。三角梅的优势色素是甜菜红素, 在苞片表皮和对紫外线较为敏感的组织中积累^[8-9], 其积累量与葡糖基转移酶表达量相关。葡糖基转移酶目前已在植物类黄酮生物合成中被大量鉴别, 但在甜菜色素代谢途径的生物合成中还较少报道, 本研究对三角梅的 *cDOPA 5GT* 基因进行了同源克隆, 并对 cDOPA 5GT 蛋白进行了生物信息学分析, 同时对三角梅 *cDOPA 5GT* 基因的表达和甜菜红素的积累进行了分析, 初步探讨了甜菜红素的积累与光照的相关性, 为研究三角梅甜菜红素的生物合成提供试验基础。

1 材料和方法

1.1 材料

试验用三角梅(*Bougainvillea glabra*)购买后于实验室中培育, 由同一母本扦插批量培养。挑选花期花蕾数量较多且生长一致的三角梅植株, 在花芽发育初期, 将植株分成二组, 一组正常日照(对照), 另一组用黑色塑料膜包裹进行遮光处理(试验组)。2 周后, 选取大小和形态一致的苞片作为试验材料。

1.2 *cDOPA 5GT* 基因的克隆

按照柱式植物 RNAout 2.0 试剂盒说明书提取三角梅花期苞片总 RNA^[10]。按照 Thermo 公司反转录试剂盒说明书合成 cDNA, 以 cDNA 为模板, 进行 PCR 扩增。根据 NCBI 中植物 *UGT* 基因同源比对结果, 设计 1 对特异引物 GUTBDS (5'-CGGGGT-ACCATGGAGTATAACTCAGAAACAGAGCACA-3',

引入 *Kpn* I 酶切位点)和 UGTBDX (5'-CCGCTCGA-GTCATTATCCTTACTCGTTTTAGCTGAG-3', 引入 *Xho* I 酶切位点), 以反转录产物为模板扩增三角梅苞片 *UGT* 基因, 反应体系总体积为 30 μ L, 包含 Max DNA Polymerase 15 μ L、cDNA 1 μ L、UDPBDS 和 UDPBDX 引物各 0.5 μ L 和 ddH₂O 13 μ L, PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳后, 回收目的片段在末端添加多聚 A 尾, 连接 pMD19-T 载体并转入大肠杆菌 DH5 α 感受态中, 筛选阳性转化子送上海英潍捷基贸易有限公司进行测序, 将序列命名为 *cDOPA 5GT*。

1.3 生物信息学分析

采用 BLAST P 软件(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)进行氨基酸同源序列比对分析; 采用 ProtParam 软件(<http://expasy.org/tools/protparam/html>)进行蛋白质理化性质分析; 采用 PSIPRED 软件(<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred>)进行蛋白二级结构预测; 采用 SWISS MODEL 软件(<https://swissmodel.expasy.org/interactive>)进行蛋白三级结构预测; 采用 Signal P 4.1 软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)进行信号肽预测; 采用 TMHMM 软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM>)进行蛋白跨膜结构预测。采用 MEGA 6.0 软件构建系统进化树, 进行系统进化分析。

1.4 实时荧光定量 PCR 分析

根据 *cDOPA 5GT* 全长序列设计 1 对荧光定量引物 cDOPA 5GTqS 和 cDOPA 5GTqX, 以 18S rRNA 基因作为内参^[11], 采用实时荧光定量 PCR 技术分析遮光处理对 *cDOPA 5GT* 基因表达量的影响。PCR 反应体系总体积为 15 μ L, 包含 SYBR Premix Ex Taq II 7.5 μ L、cDNA 1.0 μ L、引物各 0.5 μ L 和 ddH₂O 5.5 μ L, 反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 3 min, 95 $^{\circ}$ C 10 s, 64.5 $^{\circ}$ C (cDOPA 5GT)/55.7 $^{\circ}$ C (18s rRNA) 30 s, 72 $^{\circ}$ C 40 s, 72 $^{\circ}$ C 10 min, 共 39 次循环。

1.5 甜菜红素含量的测定

甜菜红素含量的测定采用改进的 Stintzing 等^[12]方法, 称取 0.15 g 三角梅苞片干粉于预冷的研钵中, 加入预冷的甲醇 2 mL 研磨, 全部转入 10 mL 离心管中; 置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中 30 min; 然后在 16 099.2 \times g 下离心 10 min 并收集沉淀, 加入 4 mL ddH₂O 重悬沉淀, 置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中 30 min; 在 16 099.2 \times g 下离

心 10 min 后收集上清液; 重复操作 1 次, 合并上清液用 ddH₂O 定容至 10 mL, 在波长 536 nm 处测定吸光值, 甜菜红素含量(C, mg/g)=(A×M×V×1000)/(ε×m)^[6,13], 式中, A 为 536 nm 下的吸光度, M 为甜菜红素的相对摩尔质量(550.47 g/mol), V 为溶液的总体积(L), ε 为甜菜红素的摩尔消光系数[5.66×10⁴ L/(mol·cm)], m 为样品质量(g)。

2 结果和分析

2.1 *cDOPA 5GT* 基因的克隆

以三角梅苞片 cDNA 为模板进行 PCR 扩增, 获得了一条长为 1 446 bp 的片段(图 1), 测序结果与预期吻合。经 Blast P 序列比对分析表明该片段序列与叶子花葡萄糖基转移酶基因的相似度高达 99%, 命名为 *cDOPA 5GT*, GeneBank 登录号为 MT239387。

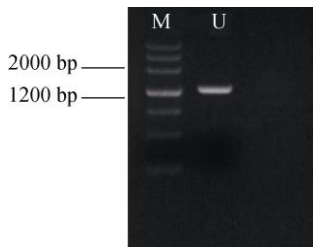


图 1 *cDOPA 5GT* 基因的 PCR 扩增。M: DNA Marker; U: *cDOPA 5GT*。
Fig. 1 PCR amplification of *cDOPA 5GT*. M: DNA Marker; U: *cDOPA 5GT*PCR.

2.2 *cDOPA 5GT* 的生物信息学分析

理化性质和结构预测 *cDOPA 5GT* 基因编码 482 个氨基酸, BLAST 分析表明 *cDOPA 5GT* 氨基酸序列的保守性相对较差, 与同科植物紫茉莉 (*Mirabilis jalapa*, 登录号 BAD91803.1) 的葡萄糖基转移酶的氨基酸序列相似度为 65%, 而与奎奴亚藜 (*Chenopodium quinoa*, 登录号 XP021748306.1) 和

齿苋(*Spinacia oleracea*, 登录号 XP021847933.1) 的相似度为 63% 和 62%。*cDOPA 5GT* 的相对分子质量为 54.66 kD, 蛋白等电点(PI)为 5.77, 为酸性稳定亲水性蛋白, 推测的分子式为 C₂₄₆₃H₃₇₇₉N₆₅₅O₇₁₂S₂₂; 同时, 该蛋白中含有 22 种氨基酸, 其中 47 个带正电荷, 61 个带负电荷, 含量较多的为亮氨酸(Leu, 10%), 而酪氨酸(Tyr)和半胱氨酸(Cys)较少, 仅为 1.7% 和 1%。利用 PSIPRED 预测 *cDOPA 5GT* 蛋白二级结构主要由 α-螺旋和无规则卷曲构成, 还有一定量的折叠结构。应用 SWISS MODEL 预测蛋白三级结构如图 2。采用在线工具 Signal P4.1 分析结果表明, *cDOPA 5GT* 蛋白不具有信号肽结构; TMHMM 预测 *cDOPA 5GT* 蛋白可能为跨膜蛋白。

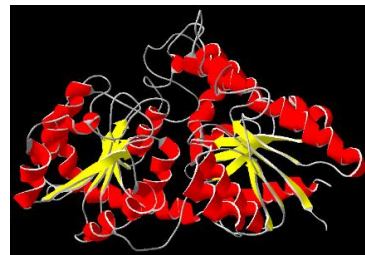


图 2 三级结构预测
Fig. 2 Tertiary structure prediction

序列分析 通过 BLAST P 比对, *cDOPA 5GT* 蛋白存在 1 个 Glycosyltransferase-GTB-type 超家族成员 PLN02863 结构区域(图 3)。不同植物 *5GT* 基因编码的氨基酸序列差异很大, 保守性较差。三角梅 *cDOPA 5GT* 的 C-端具有 UGTs 家族的 44 个氨基酸高度保守序列 PSPG (图 4), 说明三角梅 *cDOPA 5GT* 基因编码的蛋白是可溶性的酶, 葡萄糖基结合位点可能是 WGPQLEILNHESTGGFLSHCGWNSVLE SLREGVPILGWPLAAEQ。

将 *cDOPA 5GT* 蛋白的氨基酸序列与 NCBI 上已知的其他植物 UGTs 蛋白的氨基酸序列进行比

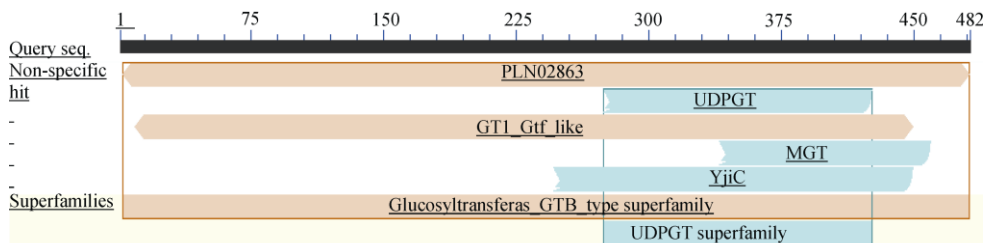


图 3 BLAST P 序列比对结果
Fig. 3 Sequence alignment result by BLAST P

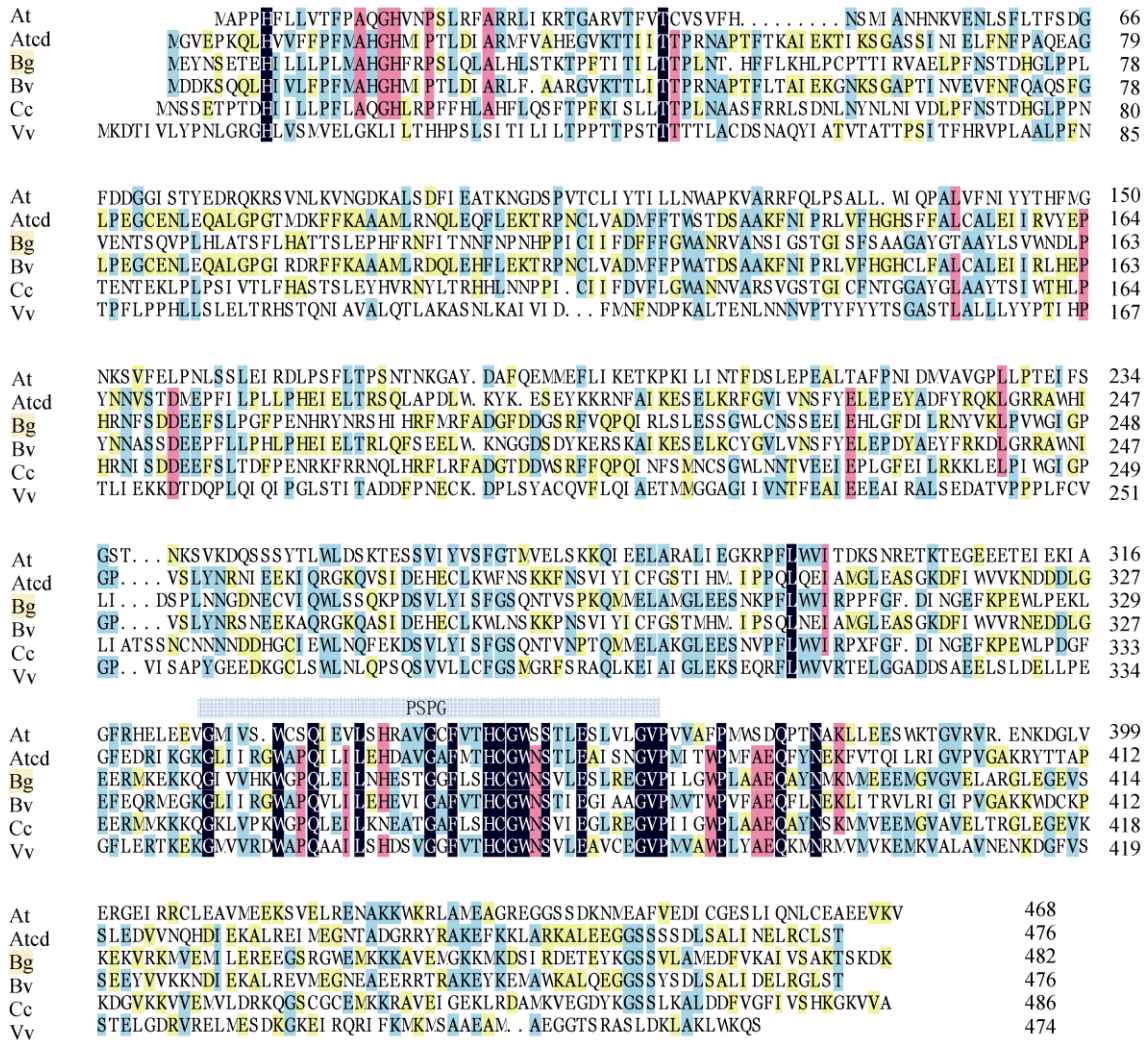


图 4 cDOPA 5GT 氨基酸序列的保守结构域预测。At: 拟南芥; Atcd: 苋菜; Bg: 三角梅; Bv: 甜菜; Cc: 鸡冠花; Vv: 葡萄。

Fig. 4 Deduced conservation domains in amino acid sequence of cDOPA 5GT. At: Arabidopsis thaliana; Atcd: Amaranthus tricolor; Bg: Bougainvillea glabra; Bv: Beta vulgaris; Cc: Celosia cristata; Vv: Vitis vinifera.

对, 结果表明, 三角梅 cDOPA 5GT 蛋白与紫茉莉 (Mirabilis jalapa, 登录号 AB182643.1)、甜菜 (Beta vulgaris subsp. vulgaris, 登录号 XP010681653.1) 的亲缘关系较近, 而与拟南芥 (Arabidopsis thaliana, 登录号 AF196777.1)、菊花 (Chrysanthemum × morifolium, 登录号 MN364678.1) 的亲缘关系较远 (图 5)。

2.3 cDOPA 5GT 的表达和甜菜红素积累量的相关性

荧光定量分析结果表明 (图 6), 遮光处理后, cDOPA 5GT 基因表达量明显下降 (P < 0.01), 而且遮光处理的三角梅甜菜红素含量也下降 (P < 0.01)。这表明三角梅苞片中的 cDOPA 5GT 基因表达受光照的调节, 其表达量和甜菜红素含量的 Pearson 相关系数为 0.9998, 呈极显著正相关, 表明 cDOPA 5GT

基因在其甜菜红素合成通路中作用重要。

3 结论和讨论

糖基化反应是植物体内重要的次生代谢反应, 糖基转移酶 (GTase) 催化特定位点的糖基化反应合成糖苷。GTs 被分为 99 个家族^[14], 其中以尿嘧啶核糖基转移酶苷二磷酸-葡萄糖 (UDP-sugar) 为供体的 UGTs 属于家族 1, 是植物主要的糖基转移酶。本研究获得的糖基转移酶在 C-末端含有该家族特有的植物次生产物糖基转移酶 (PSPG) 基序, 因此推测 cDOPA 5GT 蛋白属于 UGT-1 家族。UGT 表达量的提高能够促进重要次生代谢产物的合成, 在大肠杆菌 BL21 中表达红景天 (Rhodiola sachalinensis) 的

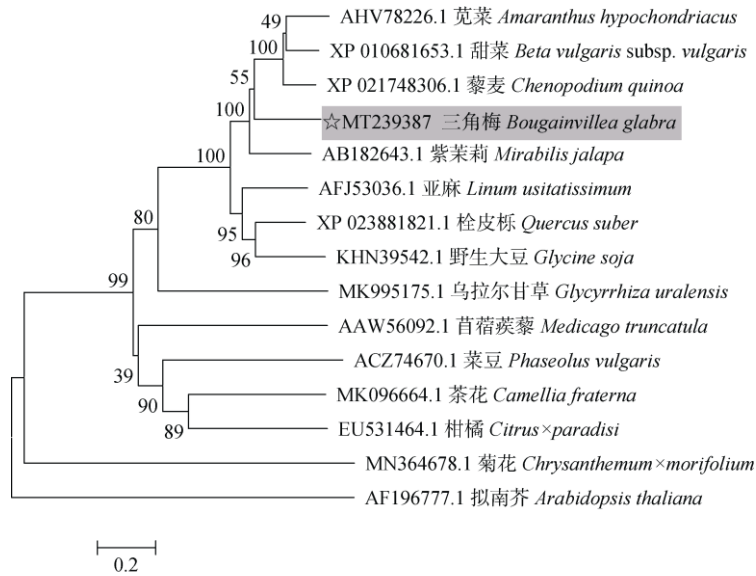
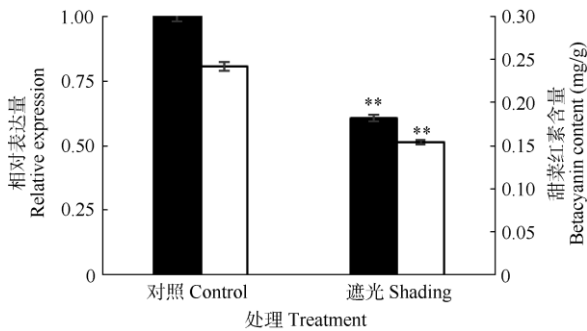


图 5 基于 UGTs 氨基酸序列的系统进化分析

Fig. 5 Phylogenetic analysis based on amino acid sequences of UGTs

图 6 *cDOPA 5GT* 的相对表达量(■)和甜菜红素含量(□)。**: $P < 0.01$ 。Fig. 6 Relative expression (■) of *cDOPA 5GT*, and betacyanin content (□).**: $P < 0.01$.

UGT73B6 基因, 获得了 8 种酚苷类天然产物^[15]; 拟南芥(*Arabidopsis*) UGT 的异位表达提高了花青素和原花青素的含量, 并赋予拟南芥较高的耐光性^[16]。糖基转移酶是分歧较多的多源基因家族, 目前的研究表明 UGTs 与糖基受体结合的结构域没有显著保守性, 尚未有某个特定的氨基酸可以决定 UGTs 的酶学特征, 尽管已有研究表明甜菜色素积累与糖基转移酶转录量正相关^[17-19], 但三角梅植物的基因组序列尚未公布, 其 *cDOPA 5GT* 还有待深入研究。

甜菜红素在多数石竹目植物中替代花青素使植物产生艳丽的颜色, 目前尚未发现同一种植物同时存在这两种色素, 但有报道表明参与两种色素途径的酶和转录因子可以在不含此色素的植物中相互表达^[20-22], 可能是甜菜红素和花青素具有相同的

进化起源, 合成途径相类似^[7,23]。甜菜红素合成受多种因素的影响, 其中光对色素的累积影响较大^[24], 而蓝光比红光更有利于甜菜红色素的积累^[25]。本研究表明, 遮光会影响糖基转移酶基因的表达, 相对表达量降低了 38.3%, 同时甜菜红素的合成也降低 36.3%, 这表明光照与三角梅色素合成呈极显著相关。本试验是自然光照培养植物, 虽然有报道探讨了光质、光强对甜菜红素合成的影响, 但光改变后上游代谢物的流向未见报道研究, 同时遮光并非必然降低基因表达量, 在适当的遮光率下, 关键酶基因的表达量可能还比全光照高, 如 30% 的遮阴处理, 珠子参(*Panax japonicus* var. *major*) 皂苷合成关键酶的表达量和皂苷的积累都得到提升^[26], 可能光照率对不同关键酶的活性影响不一样, 造成目标代谢物合成受多因素影响, 因此在三角梅甜菜色素合成的光照条件上还需要进一步摸索。对于三角梅而言, 艳丽的色彩中缺少了蓝色系, 而蓝色是甜菜红色素途径不产生的下游产物, 显示蓝色的是黄酮类化合物, 为花青素代谢途径, 而有研究表明花青素代谢途径和甜菜色素代谢途径有相同的起源, 结合本研究结果, 甜菜红色素代谢重要关键酶之一的糖基转移酶基因表达和甜菜红素含量成正相关关系, 那么今后是否可以利用基因工程手段将编码类黄酮-3'-5'-羟化酶(F3',5'H)的基因引入下调某些甜菜色素途径关键酶基因, 从而达到内源表达花青素代谢途径的下游产物, 促使花色素苷的合成转向翠雀

素糖苷的合成方向^[27], 使三角梅苞片颜色更丰富, 是未来值得深入探讨的课题。

参考文献

- [1] XU S X, WANG L S, SHU Q Y, et al. Progress of study of the biology of the resource plant bougainvillea [J]. Chin Bull Bot, 2008, 25(4): 483–490. doi: 10.3969/j.issn.1674-3466.2008.04.015.
徐夙侠, 王亮生, 舒庆艳, 等. 三角梅属植物的生物学研究进展 [J]. 植物学通报, 2008, 25(4): 483–490. doi: 10.3969/j.issn.1674-3466.2008.04.015.
- [2] HUANG Y J. ISSR analysis of germplasm resources of *Bougainvillea brasiliensis* Raeusch [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2010: 1–2.
黄彦晶. 三角梅(*Bougainvillea brasiliensis* Raeusch.)种质资源的 ISSR 分析 [D]. 福州: 福建农林大学, 2010: 1–2.
- [3] TANG Y J, WU X Y, CAO W J. Genetic diversity and relationship of *Bougainvillea* germplasm resources based on SRAP markers [J]. J Trop Subtrop Bot, 2014, 22(2): 147–154. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2014.02.007.
唐源江, 武晓燕, 曹雯静. 基于 SRAP 的叶子花种质资源遗传多样性及遗传关系分析 [J]. 热带亚热带植物学报, 2014, 22(2): 147–154. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2014.02.007.
- [4] LEE D W, COLLINS T M. Phylogenetic and ontogenetic influences on the distribution of anthocyanins and betacyanins in leaves of tropical plants [J]. Int J Plant Sci, 2001, 162(5): 1141–1153. doi: 10.1086/321926.
- [5] KUGLER F, STINTZING F C, CARLE R. Characterisation of betalain patterns of differently coloured inflorescences from *Gomphrena globosa* L. and *Bougainvillea* sp. by HPLC-DAD-ESI-MSⁿ [J]. Anal Bioanal Chem, 2007, 387(2): 637–648. doi: 10.1007/s00216-006-0897-0.
- [6] ZHENG X L. Studies on physiology, biochemistry and molecular biology on betalain synthesis in *Amaranthus tricolor* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2016: 15–22.
郑学立. 莧菜甜菜红素合成的生理生化与分子生物学研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2016: 15–22.
- [7] SAKUTA M. Diversity in plant red pigments: Anthocyanins and betacyanins [J]. Plant Biotechnol Rep, 2014, 8(1): 37–48. doi: 10.1007/s11816-013-0294-z.
- [8] WANG C Q, LIU T, WANG B S. Advances in betalain research in higher plants [J]. Chin Bull Bot, 2006, 23(3): 302–311. doi: 10.3969/j.issn.1674-3466.2006.03.011.
王长泉, 刘涛, 王宝山. 植物甜菜素研究进展 [J]. 植物学通报, 2006, 23(3): 302–311. doi: 10.3969/j.issn.1674-3466.2006.03.011.
- [9] Bock K W. The UDP-glycosyltransferase (UGT) superfamily expressed in humans, insects and plants: Animal-plant arms-race and co-evolution [J]. Biochem Pharmacol, 2016, 99: 11–17. doi: 10.1016/j.bcp.2015.10.001.
- [10] SUN R, LIU S, TANG Z Z, et al. β -Amyrin synthase from *Conyza blinii* expressed in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. FEBS Open Biol, 2017, 7(10): 1575–1585. doi: 10.1002/2211-5463.12299.
- [11] ZHOU X F, WANG J, SHI H W, et al. The exploration of 18S rRNA for quantitative RT-PCR as reference gene in plant [J]. J Jilin Norm Univ (Nat Sci), 2016, 37(2): 115–119. doi: 10.16862/j.cnki.issn1674-3873.2016.02.025.
周晓馥, 王晶, 史宏伟, 等. 18S rRNA 作为植物实时荧光定量 PCR 内参基因的探究 [J]. 吉林师范大学学报(自然科学版), 2016, 37(2): 115–119. doi: 10.16862/j.cnki.issn1674-3873.2016.02.025.
- [12] STINTZING F C, SCHIEBER A, CARLE R. Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose [J]. Food Chem, 2002, 77(1): 101–106. doi: 10.1016/s0308-8146(01)00374-0.
- [13] ZHAO S Z, SUN H Z, CHEN M, et al. Light-regulated betacyanin accumulation in euhalophyte *Suaeda salsa* calli [J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 2010, 102(1): 99–107. doi: 10.1007/s11240-010-9710-z.
- [14] QIN J J, SUN C Y, ZHANG M P, et al. Classification, function and evolution of plant UDP-glycosyltransferase [J]. Genom Appl Biol, 2018, 37(1): 440–450. doi: 10.13417/j.gab.037.000440.
秦晶晶, 孙春玉, 张美萍, 等. 植物 UDP-糖基转移酶分类、功能以及进化 [J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(1): 440–450. doi: 10.13417/j.gab.037.000440.
- [15] HE Q L, BAI Y F, ZHOU W, et al. Biocatalysis of phenolic glycosides natural products in *Escherichia coli* strain using UGT73B6 [J]. Biotechnol Bull, 2017, 33(11): 136–142. doi: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2017-0363.
何庆林, 白艳芬, 周威, 等. 利用糖基转移酶 UGT73B6 在大肠杆菌中生物催化酚苷类天然产物 [J]. 生物技术通报, 2017, 33(11): 136–142. doi: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2017-0363.
- [16] RAO M J, XU Y T, HUANG Y, et al. Ectopic expression of citrus UDP-GLUCOSYL TRANSFERASE gene enhances anthocyanin and proanthocyanidins contents and confers high light tolerance in *Arabidopsis* [J]. BMC Plant Biol, 2019, 19(1): 603. doi: 10.1186/s12870-019-2212-1.
- [17] SEPÚLVEDA-JIMÉNEZ G, RUEDA-BENÍTEZ P, PORTA H, et al. A red beet (*Beta vulgaris*) UDP-glucosyltransferase gene induced by wounding, bacterial infiltration and oxidative stress [J]. J Exp Bot, 2004, 56(412): 605–611. doi: 10.1093/jxb/eri036.
- [18] SASAKI N, WADA K, KODA T, et al. Isolation and characterization of

- cDNAs encoding an enzyme with glucosyltransferase activity for *cyclo*-DOPA from four o'clocks and feather cockscombs [J]. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46(4): 666–670. doi: 10.1093/pcp/pci064.
- [19] HATLESTAD G J, LLOYD A. The betalain secondary metabolic network [M]// CHEN C X. *Pigments in Fruits and Vegetables*. New York: Springer, 2015: 127–140. doi: 10.1007/978-1-4939-2356-4_6.
- [20] CHENG M N, HUANG Z J, HUA Q Z, et al. The WRKY transcription factor HpWRKY44 regulates *CytP450-like1* expression in red pitaya fruit (*Hylocereus polyrhizus*) [J]. *Hort Res*, 2017, 4: 17039. doi: 10.1038/hortres.2017.39.
- [21] XU S X, HUANG Q Y, LIN C S, et al. Transcriptome comparison reveals candidate genes responsible for the betalain-/anthocyanidin-production in bougainvilleas [J]. *Funct Plant Biol*, 2016, 43(3): 278–286. doi: 10.1071/FP15246.
- [22] XU S X, HUANG Q Y, LIN C S, et al. Progress of betalains biology [J]. *Subtrop Plant Sci*, 2019, 48(4): 378–383. doi: 10.3969/j.issn.1009-7791.2019.04.014.
徐夙侠, 黄青云, 林春松, 等. 甜菜色素的生物学研究进展 [J]. *亚热带植物科学*, 2019, 48(4): 378–383. doi: 10.3969/j.issn.1009-7791.2019.04.014.
- [23] HATLESTAD G J, AKHAVAN N A, SUNNADENIYA R M, et al. The beet Y locus encodes an anthocyanin MYB-like protein that activates the betalain red pigment pathway [J]. *Nat Genet*, 2015, 47(1): 92–96. doi: 10.1038/ng.3163.
- [24] WONG Y M, SIOW L F. Effects of heat, pH, antioxidant, agitation and light on betacyanin stability using red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice and concentrate as models [J]. *J Food Sci Technol*, 2015, 52(5): 3086–3092. doi: 10.1007/s13197-014-1362-2.
- [25] ZHENG X L, LIU S C, XIE L Y, et al. Promoter-cloning, protein subcellular localization, and expression analysis for *AmaDOPA5-GT* gene of *Amaranth tricolor* [J]. *Fujian J Agric Sci*, 2015, 30(11): 1064–1070. doi: 10.3969/j.issn.1008-0384.2015.11.008.
郑学立, 刘生财, 谢礼洋, 等. 苋菜 *AmaDOPA5-GT* 基因的启动子克隆、亚细胞定位及表达分析 [J]. *福建农业学报*, 2015, 30(11): 1064–1070. doi: 10.3969/j.issn.1008-0384.2015.11.008.
- [26] HUANG W J, SUN X C, LI B, et al. Effects of shading on key enzyme gene expression and accumulation of saponins in *Panax japonicus* var. *major* [J]. *China J Chin Mat Med*, 2018, 43(19): 3855–3861. doi: 10.19540/j.cnki.cjcm.20180528.007.
黄文静, 孙晓春, 李铂, 等. 遮阴对珠子参皂苷合成关键酶基因表达和皂苷积累的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(19): 3855–3861. doi: 10.19540/j.cnki.cjcm.20180528.007.
- [27] LI M R, CHEN J T, SUN Z J, et al. Advances in molecular breeding of ornamental plants [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2003, 11(1): 87–92. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2003.01.017.
李美茹, 陈金婷, 孙梓健, 等. 花卉分子育种的研究进展 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2003, 11(1): 87–92. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2003.01.017.