作物学报 ACTA AGRONOMICA SINICA 2021, 47(8): 1624–1630 http://zwxb.chinacrops.org/
ISSN 0496-3490; CN 11-1809/S; CODEN TSHPA9 E-mail: zwxb301@caas.cn

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.01069

研究简报

大麦籽粒发育进程中 7 种黄酮类化合物的积累特性分析

贺军与 钟 伟 陈云琼 王卫斌 熊静蕾 蒋亚丽 施辉蒙 陈升位*

云南农业大学农学与生物技术学院, 云南昆明 650201

摘 要: 解析大麦籽粒中黄酮类化合物的积累特性有利于其含量检测、积累机制和生理功能研究。本文采用高效液相色谱测定了 8 个大麦材料籽粒、7 个发育时期 15 种黄酮类化合物的含量。在 7 个时期, 15 种化合物总含量呈上升—下降的变化趋势, 在花后 10 d 最高(335.71± 41.63) μg g^{-1}, 成熟籽粒最低(165.52±38.63) μg g^{-1}。花后 10 d 曲克芦丁、芹菜素、短柄花素和白杨素的含量最高, 分别为(155.75±30.76) μg g^{-1}、(8.41±1.54) μg g^{-1}、(10.71±1.53) μg g^{-1} 和(4.41±0.60) μg g^{-1}; 花后 5 d 柚皮素查尔酮、花后 15 d 二氢槲皮素和花后 25 d 木犀草素的含量最高, 分别为(42.41±15.39) μg g^{-1}、(17.92±6.60) μg g^{-1} 和(5.19±1.37) μg g^{-1}。其中, 柚皮素查尔酮的含量变化趋势为下降—平台—下降; 曲克芦丁和白杨素的含量变化趋势为上升—下将—平台—下降; 二氢槲皮素、木犀草素、芹菜素和芒柄花素的含量变化趋势为上升—下降。在含量检测等研究中, 大麦籽粒曲克芦丁、芹菜素、短柄花素和白杨素的适宜取样时间均为花后 10 d, 柚皮素查尔酮、二氢槲皮素和木犀草素的适宜取样时间分别为花后 5、15 和 25 d。上述结果为大麦籽粒黄酮类化合物含量测定等研究提供了理论支持。

关键词: 大麦籽粒; 发育时期; 黄酮类化合物; 积累特性

Analysis on the accumulation characteristics of seven flavonoids at grain development stage in barley

HE Jun-Yu, ZHONG Wei, CHEN Yun-Qiong, WANG Wei-Bin, XIONG Jing-Lei, JIANG Ya-Li, SHI Hui-Meng, and CHEN Sheng-Wei*

Collage of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, Yunnan, China

Abstract: The analysis on the accumulation characteristics of flavonoids in barley grain is helpful for the studies, such as the content detection, accumulation mechanism and physiological function of these compounds. In this study, the contents of 15 flavonoids of eight barley material grains during seven development stages were determined by HPLC. The total contents of 15 compounds were exhibited the trend of up–down variation, reaching the highest value (335.71±41.63) μg g^{-1} on the 10th day after anthesis, and the lowest (165.52±38.63) μg g^{-1} in mature grain. The highest contents of troxerutin, apigenin, formononetin, and chrysin were (155.75±30.76) μg g^{-1}, (8.41±1.54) μg g^{-1}, (10.71±1.53) μg g^{-1}, and (4.41±0.60) μg g^{-1} on the 10th day after anthesis, respectively. The highest contents of naringenin chalcone, dihydroquercetin, and luteolin were (42.41±15.39) μg g^{-1}, (17.92±6.60) μg g^{-1}, and (5.19±1.37) μg g^{-1} on the 5th, 15th, and 25th day after anthesis, respectively. The content of naringenin chalcone was changed with down–platform–down trend during development of barley grain, but the contents of troxerutin and chrysin were changed with up–down–platform–down trend, and the contents of dihydroquercetin, luteolin, apigenin and formononetin were changed with up-down trend. In terms of flavonoids content detection, the appropriate sampling time of for troxerutin, apigenin, formononetin and chrysin in barley grains was 10 days after post-anthesis stage, and the appropriate time of naringenin chalcone, dihydroquercetin, and luteolin was 5, 15, and 25 days after post-anthesis stage. These results can provide the theoretical support for the content detection of flavonoids in barley grains.

Keywords: barley grain; development stage; flavonoids; accumulation characteristics

本研究由国家自然科学基金项目(32060457)资助。

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (32060457).

* 通信作者(Corresponding author): 陈升位, E-mail: ynkmcsw@126.com

第一作者联系方式: E-mail: etfiee_coisini@126.com

Received (收稿日期): 2020-08-28; Accepted (接受日期): 2021-01-14; Published online (网络出版日期): 2021-02-19.

URL: https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20210219.1454.004.html

黄酮类化合物是植物特有的次生代谢产物[1], 具有抗氧化、抗过敏和预防心血管疾病等功效[2]。该类化合物由植物苯丙烷代谢途径合成, 经甲基化、乙酰化和糖基化等修饰后形成不同的修饰产物, 并储存于植物细胞液泡中[1,3]。但不同物种、不同器官(或组织)及其发育进程均可影响黄酮类化合物的积累特性[4-7]。大麦是药食同源植物, 其黄酮类化合物及其含量已备受关注[1]。到目前为止, 已构建并完善了大麦黄酮化合物提取、纯化和鉴定的技术体系[8], 并鉴定了大麦叶片、茎和籽粒等组织(或器官)中山奈酚、槲皮素和杨梅素等 10 多种黄酮类化合物, 测定了所鉴定化合物的含量[2,8-15]。已有报道表明, 大麦基因型可有效影响其叶片、茎和籽粒等组织(或器官)中黄酮类化合物的含量[16-20]。但对大麦籽粒中曲克芦丁、二氢槲皮素和木犀草素等 7 种黄酮类化合物的含量及其积累特性缺乏报道。本研究采用高效液相色谱测定了 7 个发育时期, 籽粒颜色不同的 8 个大麦品种(或品系)籽粒中 15 种黄酮类化合物的含量, 分析了不同时期 15 个化合物的总含量及特定化合物在不同发育时期的含量差异, 解析了 7 种化合物在籽粒发育进程中的积累特性, 以期为大麦籽粒中 7 种黄酮类化合物的含量检测、及其积累机制和生理功能等研究提供理论支持。

1　材料与方法

1.1　试验材料

试验材料均为遗传稳定的品种或品系, 其中 3 个为地方品种、其余为育成品种(或品系), 见表 1。所有材料由课题组繁育并保存。

表 1　试验材料及其基本特性

Table 1　Experimental materials and their basic characteristics

材料编号 Code of materials	材料名称 Name	籽粒颜色 Coat color of grains	材料类型 Material type
Yel1	Bowman	黄色籽粒 Yellow grain coat	育成品种 Improved variety
Yel2	Morex	黄色籽粒 Yellow grain coat	育成品种 Improved variety
Yel3	光头大麦 Guangtoudamai	黄色籽粒 Yellow grain coat	地方品种 Landrace
Pur1	淳安六棱胭脂大麦 Chunanliulengyanzhidamai	紫色籽粒 Purple grain coat	地方品种 Landrace
Pur2	紫青稞 Purple highland barley	紫色籽粒 Purple grain coat	育成品种 Improved variety
Pur3	定海红绿黄 Dinghaihonglyuhuang	紫色籽粒 Purple grain coat	地方品种 Landrace
Bla	云南高世代 Yunnan gaoshidai	黑色籽粒 Black grain coat	育成品系 Developed line
Blu	北青 7 号 Beiqing 7	蓝色籽粒 Blue grain coat	育成品系 Improved variety

1.2　试验方法

1.2.1　*材料繁殖*　试验材料均种植于云南农业大学昆明市盘龙区教学试验农场, 播种期为 2018 年 11 月 9 日。随机排列, 每个品系种植 6 行, 每行 20 株, 行距 20 cm, 株距 5 cm, 重复 3 次。其他管理措施与常规大田生产一致。

1.2.2　*黄酮类化合物提取与纯化*　自开花后 5 d 起, 间隔 5 d 取 1 次籽粒, 直至花后 30 d, 完熟期取成熟籽粒。将收取的不同处理的籽粒用锡箔纸包裹后置于牛皮纸袋, 于–80℃冰箱储存备用。采用 LGJ-12C 真空冷冻机干燥籽粒, 将干燥的籽粒碾磨至粉末状(AM600 研磨仪、研磨 5 min)。等量混合 3 个重复的籽粒粉末, 构建不同材料的样品池。每个样品池称取 2.0 g 粉末溶于 20.0 mL、70%的甲醇溶液, 采用 YQ-1001A 超声波清洗仪处理浸提液 30 min, 取上清液。采用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤提取物。

1.2.3　*高效液相色谱检测*　色谱柱: Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 (5 μm×4.6 mm×150 mm)。流动相: A 相为 0.1%的冰醋酸, B 相为乙腈, 洗脱梯度: 0 min A∶B 为 95∶5 (v/v), 60.0 min 为 95∶5 (v/v), 60.1 min 为 95∶5 (v/v), 65.0 min 为 95∶5 (v/v); 流速 0.8 mL min^{-1}; 柱温 30℃; 进样量 10 μL; 检测波长: 280 nm。重复试验 3 次。

1.2.4　*高效液相色谱标准品制作*　将二氢杨梅素、曲克芦丁和染料木苷等 15 种标准品溶入 70%甲醇, 分别配制 100 mg L^{-1} 的母液, 置于 4℃暗储存备用。基于母液分别配制 1、2、4、8、16、32、64 和 128 μg mL^{-1} 的工作液和 15 种不同浓度的标准品混合工作液。按 1.2.3 部分的高效液相色谱条件分别检测不同浓度条件下 15 种标准品的滞留时间和色谱峰。基于 SPSS 20.0 软件中回归模块默认参数构建标准品峰面积与浓度的回归方程(相关系数 $r \geq 0.99$)。

1.2.5　*黄酮类化合物及其含量差异分析*　利用标准品峰面积与浓度的回归方程计算样品浓度, 并将其转换为含量。基于 SPSS 20.0 软件中方差和多重比较模块分析 7 个时期各化合物的含量差异, 显著和极显著水平分别为 0.05 和 0.01。

2　结果与分析

2.1　15 种化合物总含量的差异分析

本试验测定了 7 个发育时期、8 个材料籽粒的二氢杨梅素、曲克芦丁和染料木苷等 15 种黄酮类化合物的含量, 作者发现 15 种化合物的总含量自花后 5 d 上升、花后 10 d 最高, 然后逐渐下降、到成熟籽粒达到最低(图 1)。但独立样本 t 测验结果表明, 仅有花后 10 d 与花后 30 d (t=2.71、df=14, $0.05 \geq P \geq 0.017$)和成熟籽粒(t=3.00、df=14, 0.05≥

P≥0.01), 花后 15 d 与成熟籽粒(t=2.25、df=14, 0.05≥P≥0.41)的总含量差异达到了显著水平。

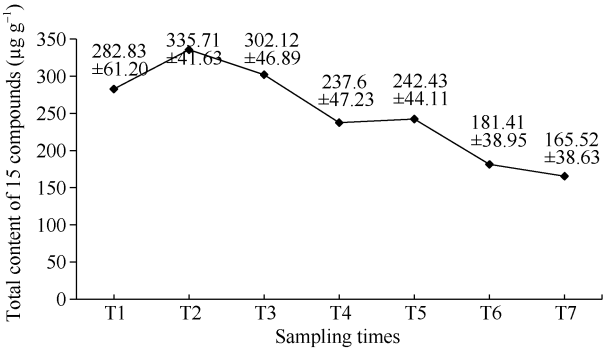


图 1 大麦籽粒 7 个发育时期 15 种化合物总含量曲线

Fig. 1 Total content curve of 15 compounds during seven development stages in barley grain.

T1~T7: 花后 5、10、15、20、25、30 d 和成熟籽粒。

T1−T7: on the 5th, 10th, 15th, 20th, 25th, 30th day after anthesis, and at mature stage, respectively.

2.2 不同发育时期化合物含量的差异分析

虽然 15 种化合物总量在籽粒发育的 7 个时期存在差异, 但只有曲克芦丁、二氢槲皮素和木犀草素等 7 种化合物的含量达到了显著或极显著水平。多重比较结果表明, 花后 10 d 与花后 15 d 曲克芦丁含量间没有显著差异, 但显著或极显著高于其他 5 个时期的含量(表 2)。花后 10 d 与花后 15、20 和 25 d 二氢槲皮素的含量间均没有差异, 但显著或极显著高于花后 5 d、30 d 和成熟籽粒的含量(表 2)。花后 20 d 与花后 25 d、花后 30 d 和成熟籽粒 4 个时期木犀草素的含量间均没有显著差异, 但显著或极显著高于其他 3 个时期的含量(表 2)。花后 5 d 柚皮素查尔酮的含量极显著或显著高于其他 6 个时期的含量(表 2)。花后 5、10、15 和 20 d 4 个时期的芹菜素含量间和短柄花素含量间均没有显著差异, 但极显著或显著高于其他 3 个时期的含量(表 2)。花后 15 d 白杨素的含量显著或极显著高于其他 6 个时期的含量(表 2)。

2.3 籽粒发育期间化合物的积累规律分析

本研究分析了籽粒发育进程中 7 种化合物的含量变化趋势, 结果显示可将 7 种化合物的积累模式分为 3 类。第 1 类为下降—平台—下降趋势, 平台期为花后 15~30 d, 涉及化合物为柚皮素查尔酮; 第 2 类为上升—下将—平台—下降趋势, 平台期出现在花后 20~30 d, 涉及化合物包括曲克芦丁和白杨素; 第 3 类为上升—下降趋势, 涉及化合物为二氢槲皮素、木犀草素、芹菜素和芒柄花素(图 2)。柚皮素查尔酮的含量峰值出现在花后 5 d、二氢槲皮素的含量峰值出现在花后 15 d, 木犀草素的含量峰值出现在花后 25 d, 其余 4 种化合物的峰值均出现在花后 10 d (图 2)。

3 讨论

虽然已报道了大麦籽粒中槲皮素、杨梅素和山奈酚及其含量[2,8,9-22], 但少有二氢槲皮素、木犀草素和柚皮素等其余 12 种化合物及其含量的报道。通过高效液相色谱, 本文鉴定了二氢杨梅素、曲克芦丁和染料木苷等 15 种化合物, 并测定了 7 个发育时期大麦籽粒中各化合物的含量。在 8 个大麦材料成熟籽粒中杨梅素和山奈酚的平均含量分别为(53.62±28.61) μg g^{-1} 和(23.68±15.00) μg g^{-1}, 与谢文英等人报道的平均含量基本一致[13]; 槲皮素平均含量与余春磊等人报道的花后 10 d 大麦根、花后 25 d 大麦叶中的基本一致[21-22]。

在相同发育时期、不同材料间化合物的含量存在较大差异, 如花后 5、10 和 15 d 等前 4 个时期二氢杨梅素在光头大麦中均未被有效检测, 但在花后 25 d、30 d 和成熟籽粒中其含量分别达到了 45.23、18.18 和 2.34 μg g^{-1}。化合物含量的差异必然导致组内方差增大, 从而降低其组间达到显著水平的概率。因此 15 个化合物中只有曲克芦丁、二氢槲皮素和木犀草素等 7 个化合物在不同时期间的含量差异达到了显著或极显著水平。

影响大麦籽粒中黄酮类化合物相对含量的因素主要包括籽粒重量增速(主要是淀粉含量增速)、化合物合成效率和衰减效率(降解速率和转化速率), 但少有相关研究报道。王芳等[23]发现花后 5~8 d 左右小麦籽粒淀粉含量急剧增加, 花后 20~25 d 增速减慢、直到成熟期淀粉含量方可达到最高。小麦淀粉合成关键酶基因, 如 *AGPase*、*GBSS* 和 *SSS* 等在花后 13 d 表达量最高、随后下降, 4 种酶在 5~8 d 有较高水平表达、在花后 20~25 d 达到最高[24]。罗小娇等[25]发现大麦籽粒中黄酮类化合物合成关键酶基因, 如查尔酮合成酶基因在花后 2 d 表达量最大、随后维持较低表达量; 4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4CL)基因在花后 4 d 的籽粒中表达量最高、花后 8 d 后基本不检测到该基因的表达[26]。因此, 在黄酮类化合物代谢酶活性已衰减、甚至失活时淀粉含量仍可快速增加, 从而导致了大麦籽粒黄酮类化合物的相对含量下降。

在曲克芦丁、二氢槲皮素和木犀草素等 7 个化合物中, 曲克芦丁和白杨素处于苯丙烷代谢分支途径的下游或末端位置, 其积累模式较为相似, 为上升—下降—平台—下降模式。作者认为在花后 5~10 d 两种化合物合成效率高于淀粉的合成效率, 因此其相对含量不断增加。在花后 10 d 以后淀粉合成效率提高、2 种化合物的下游修饰反应已被激活, 在 2 种因素作用下该化合物含量急剧下降。当淀粉合成效率趋于稳定、修饰产物浓度增加并形成反馈抑制后, 2 种化合物的相对含量降速趋缓、进入平台期。在平台期末, 2 种化合物的合成速率下降、淀粉持续高效合成, 从而再次导致 2 种化合物的相对含量再次下降。柚皮素查尔酮属苯丙烷代谢上游中间产物、其催化产物构成了黄酮醇、异黄酮和花色苷等下游多种化合物的合成分支途径。在花后 5 d 其下游合成反应已被有效启动并导致该化合物含量急剧下降。由于需要高含量的柚皮素查尔酮维持下游产物合成, 其合成效率仍需维持较高水平, 因此在 15~30 d

表 2　在不同发育时期特定化合物的平均含量及其差异

Table 2　Average contents and the differences of specific compounds at different developmental stages (μg g^{-1})

化合物 Compound	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
曲克芦丁 Troxerutin	91.75±23.78 bc ABC	155.75±30.76 a A	134.88±24.36 ab AB	65.23±27.44 cd B	56.07±12.95 cd BC	53.42±16.27 cd BC	21.64±6.37 d C
二氢槲皮素 Dihydroquercetin	6.52±2.37 cd BC	21.80±5.19 a A	17.92±6.60 ab AB	16.48±3.97 abc ABC	13.37±3.17 abcd ABC	9.55±2.82 bcd ABC	2.63±0.90 d C
木犀草素 Luteolin	0.60±0.36 b B	1.75±0.89 b AB	1.32±0.68 b AB	5.02±1.97 a A	5.19±1.37 a A	3.45±1.10 ab AB	3.49±0.87 ab AB
柚皮素查尔酮 Naringenin chalcone	42.41±15.39 a A	11.31±6.69 b AB	13.63±12.95 b AB	10.23±7.89 b AB	6.60±6.60 b B	0.00±0.00 b B	4.17±2.36 B B
芹菜素 Apigenin	7.31±1.81 ab A	8.41±1.54 a A	5.51±0.80 abc AB	5.81±0.94 ab AB	4.23±1.00 bcd AB	2.47±0.61 cd B	2.24±1.03 c B
芒柄花素 Formononetin	7.83±3.03 ab AB	10.71±1.53 a A	10.71±1.25 a A	6.67±0.59 ab ABC	5.84±0.43 b ABC	4.21±0.48 bc BC	1.44±0.71 c C
白杨素 Chrysin	1.48±0.53 cd BC	4.41±0.60 a A	2.90±0.30 b B	1.58±0.18 c BC	1.98±0.30 bc B	1.76±0.23 c BC	0.42±0.32 d C

T1~T7:花后 5、10、15、20、25、30 d 和成熟籽粒。不同小写字母和大写字母分别表示 0.05 和 0.01 显著水平差异。

T1−T7: on the 5th, 10th, 15th, 20th, 25th, 30th day after anthesis, and at mature stage, respectively. Values followed by different lowercase and supercase letters indicate significantly differences at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

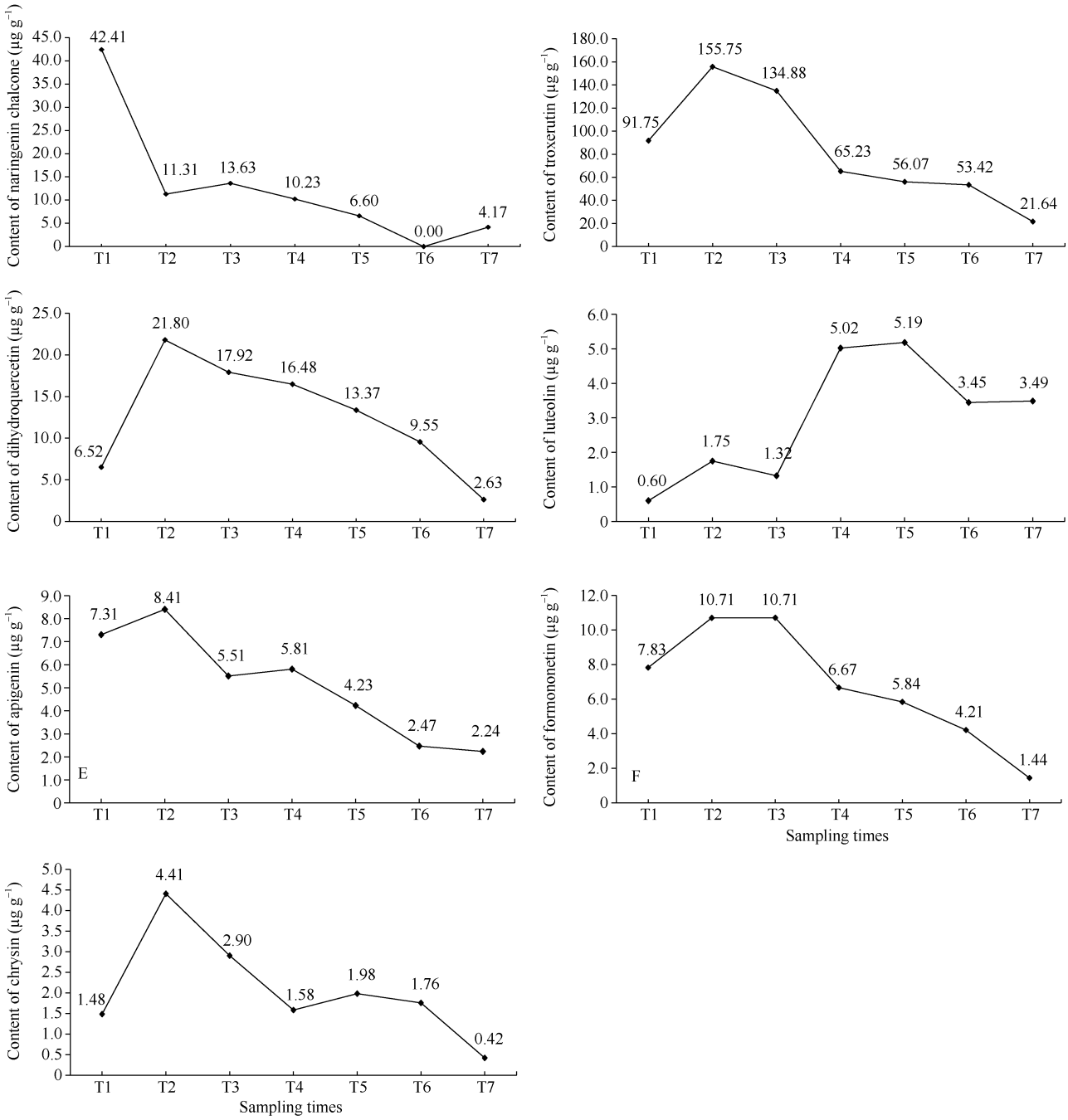


图 2 籽粒发育进程中 7 种化合物含量测定曲线

Fig. 2 Measured curves of seven compounds content during grain development

A~G: 柚皮素查尔酮、曲克芦丁、二氢槲皮素、木犀草素、芹菜素、短柄花素和白杨素; T1~T7: 花后 5、10、15、20、25、30 d 和成熟籽粒。

A–G: naringenin chalcone, troxerutin, dihydroquercetin, luteolin, apigenin, formononetin, and chrysin. T1−T7: on the 5th, 10th, 15th, 20th, 25th, 30th day after anthesis and at mature stage, respectively.

淀粉合成效率较高时其相对含量并未急剧下降, 从而进入平台期。在平台期末, 柚皮素查尔酮及其下游合成均降低、但淀粉仍持续高效合成, 从而再次降低了该化合物的相对含量。二氢槲皮素、木犀草素、芹菜素和短柄花素 4 种化合物均属苯丙烷代谢途径下游中间产物, 其下游合成反应启动相对较晚, 花后 10、15 甚至 25 d 其含量仍可维持较高水平。当下游反应被激活、淀粉合成效率还较高时, 其相对含量便急剧下降。由于下游分枝途径较多、难以形成有效的协同反馈抑制, 因此其含量可随淀粉含量的增加和下游反应推进而持续下降、直至籽粒成熟。

7 种化合物含量分析结果表明, 大麦籽粒发育进程中曲克芦丁、二氢槲皮素和木犀草素等 7 种化合物的最高含

量出现在不同时期, 如曲克芦丁的最高含量出现在花后 10 d、二氢槲皮素的最高含量出现花后 15 d。与最高含量相比, 至少在 2 个时期化合物的含量显著或极显著偏低。因此, 在大麦籽粒 7 种化合物的含量测定、及其积累机制和生理功能研究中曲克芦丁、芹菜素、短柄花素和白杨素的适宜取样期为花后 10 d, 柚皮素查尔酮、二氢槲皮素和木犀草素的适宜取样期分别为花后 5、15 和 25 d。

References

[1] 诸姮, 胡宏友, 卢昌义, 李雄. 植物体内的黄酮类化合物代谢及其调控研究进展. 厦门大学学报(自然科学版), 2007, 46: 136–143.
Zhu H, Hu H Y, Lu C Y, Li X. Progresses on flavonoid metabolism in plants and its regulation. *J Univ Xiamen* (Nat Sci), 2007, 46: 136–143 (in Chinese with English abstract).

[2] 杨涛, 曾亚文, 萧凤回, 普晓英, 杜娟, 杨树明. 药用大麦及其活性物质研究进展. 麦类作物学报, 2007, 27: 1154–1158.
Yang T, Zeng Y W, Xiao F H, Pu X Y, Du J, Yang S M. Research progress on medicinal barley and its active substance. *J Triticeae Crops*, 2007, 27: 1154–1158 (in Chinese with English abstract).

[3] 周明, 沈勇根, 朱丽琴, 艾啸威, 曾璟, 杨洪烨. 植物黄酮化合物生物合成、积累及调控的研究进展. 食品研究与开发, 2016, 37(18): 216–221.
Zhou M, Shen Y G, Zhu L Q, Ai X W, Zeng J, Yang H Y. Research progress on biosynthesis, accumulation and regulation of flavonoids in plants. *Food Res Dev*, 2016, 37(18): 216–221 (in Chinese with English abstract).

[4] 胡少伟, 钟昆芮, 杨佳颖, 苏磊, 姜艳艳, 刘斌. 薄荷茎、叶中黄酮类成分在不同采收期的含量差异性研究. 中国中药杂志, 2018, 43: 544–550.
Hu S W, Zhong K R, Yang J Y, Su L, Jiang Y Y, Liu B. Study on difference of flavonoids content in stems and leaves of Mentha Haplocalycis Herba in different harvest periods. *China J Chin Mat Med*, 2018, 43: 544–550 (in Chinese with English abstract).

[5] 代吉瑞, 魏文峰, 霍金海, 王伟明. 不同采收期刺五加叶黄酮类成分动态变化分析. 中国农学通报, 2019, 35(12): 151–156.
Dai J R, Wei W F, Huo J H, Wang W M. Dynamic analysis of flavonoids in leaves of *Acanthopanax senticosus* in different harvest periods. *Chin Agric Sci Bull*, 2019, 35(12): 151–156 (in Chinese with English abstract).

[6] 王帅, 贾琦珍, 陈根元, 张玲, 马春晖. 不同生长时期小花棘豆总黄酮含量及其抗氧化活性研究. 家畜生态学报, 2014, 35(8): 61–65.
Wang S, Jia Q Z, Chen G Y, Zhang L, Ma C H. Total flavonoids of *Oxytropis glabra* dc at different growth phases and their anti-oxidative ability. *J Domest Anim Ecol*, 2014, 35(8): 61–65 (in Chinese with English abstract).

[7] 马英丽, 赵桦, 闫蕊, 王霞. 蜜楝叶、花及果实中总黄酮含量积累动态研究. 天然产物研究与开发, 2016, 28: 1572–1575.
Ma Y L, Zhao H, Yan R, Wang X. Accumulation of total flavonoids in different parts of *Evodia lenticellata* Huang. *Nat Prod Res Dev*, 2016, 28: 1572–1575 (in Chinese with English abstract).

[8] 华为, 朱靖环, 尚毅, 贾巧君, 汪军妹, 杨建明. 有色大麦研究进展. 植物遗传资源学报, 2013, 14: 2024–1026.
Hua W, Zhu J H, Shang Y, Jia Q J, Wang J M, Yang J M. Research advances in colored barley. *J Plant Genet Resour*, 2013, 14: 2024–1026 (in Chinese with English abstract).

[9] Bellido G G, Beta T. Anthocyanin composition and oxygen radical scavenging capacity (ORAC) of mill ed and pearled purple, black, and common barley. *J Agric Food Chem*, 2009, 57: 1022–1028.

[10] Kim M J, Hyun J N, Kim J A, Park J C, Kim M Y, Kim J G, Lee S J, Chun S C, Chung I M. Relationship between phenolic compounds, anthocyanins content and antioxidant activity in colored barley germplasm. *J Agric Food Chem*, 2007, 55: 4802–4809.

[11] 胡家坤, 谢文英, 陈升位, 王楠, 杨映宝, 王乐. 25 个大麦地方品种籽粒总黄酮和花色苷的含量差异. 云南农业大学学报(自然科学版), 2015, 30: 522–527.
Hu J K, Xie W Y, Chen S W, Wang N, Yang Y B, Wang L. The content difference of total flavonoids and anthocyn in from the grains of 25 local barley varieties. *J Agric Univ Yunnan* (Nat Sci Edn), 2015, 30: 522–527 (in Chinese with English abstract).

[12] 曾亚文, 杨涛, 普晓英, 杜娟, 杨树明, 张晓燕. 大麦籽粒中γ-氨基丁酸、总黄酮和生物碱含量在发芽过程中的变化. 麦类作物学报, 2012, 32: 135–139.
Zeng Y W, Yang T, Pu X Y, Du J, Yang S M, Zhang X Y. Transformation of γ-aminobutyric acid and total flavones and alkaloids content in barley grains during germination process. *J Triticeae Crops*, 2012, 32: 135–139 (in Chinese with English abstract).

[13] 谢文英, 陈升位, 王楠, 王家曦, 杨映宝, 王乐. 25 个地方大麦籽粒黄酮类化合物及其含量的差异分析. 云南农业大学学报(自然科学), 2015, 30: 657–664.
Xie W Y, Chen S W, Wang N, Wang J X, Yang Y B, Wang L. The difference analysis of the grain flavonoid components and their contents of 25 local barley varieties. *J Agric Univ Yunnan* (Nat Sci), 2015, 30: 657–664 (in Chinese with English abstract).

[14] 王楠, 王家曦, 谢文英, 陈升位, 杨映宝, 王乐. 25 个地方大麦品种籽粒中花色苷成分及其含量差异. 云南农业大学学报(自然科学版), 2015, 30: 829–835.
Wang N, Wang J X, Xie W Y, Chen S W, Yang Y B, Wang L. Difference of the anthocyanin components and their contents of 25 local barley variety grains. *J Agric Univ Yunnan* (Nat Sci Edn), 2015, 30: 829–835 (in Chinese with English abstract).

[15] Kohyama N, Ono H, Yanagisawa T. Changes in anthocyanins in the grains of purple waxy hull–less barley during seed maturation and after harvest. *J Agric Food Chem*, 2008, 56: 5770–5774.

[16] 杨晓梦, 李霞, 普晓英, 杜娟, Muhammad K A, 杨加珍, 曾亚文, 杨涛. 大麦重组自交系群体籽粒总花色苷含量和千粒重 QTL 定位. 作物学报, 2020, 46: 52–61.
Yang X M, Li X, Pu X Y, Du J, Muhammad K A, Yang J Z, Zeng Y W, Yang T. QTL mapping for total grain anthocyanin content and 1000-kernel weight in barley recombinant inbred lines population. *Acta Agron Sin*, 2020, 46: 52–61 (in Chinese with English abstract).

[17] Zhang X W, Jiang Q T, Wei Y M. Inheritance analysis and mapping of quantitative trait loci (QTL) controlling individual anthocyanin compounds in purple barley (*Hordeum vulgare* L.) grains. *PLoS One*, 2017, 12: e0183704.

[18] 杨晓梦, 曾亚文, 普晓英, 杨涛, 杨树明, 杜娟. 大麦籽粒功能成分含量的遗传效应分析. 麦类作物学报, 2016, 33:

635–639.
Yang X M, Zeng Y W, Pu X Y, Yang T, Yang S M, Du J. Inheritance analysis of functional components in barley grains. *J Triticeae Crops*, 2016, 33: 635–639 (in Chinese with English abstract).

[19] 沈真辉, 王楠, 李静烨, 王家曦, 陈升位, 李应秋, 吴海燕, 王卫斌, 陈柚汐. 25 份大麦材料成熟籽粒中黄酮醇化合物含量的差异分析和 QTLs 检测. 分子植物育种, 2016, 14: 2197–2204.
Shen Z H, Wang N, Li J Y, Wang J X, Chen S W, Li Y Q, Wu H Y, Wang W B, Chen Y X. The variance analysis and the QTLs detection on the content of flavonol compounds from the grains of 25 barley materials. *Mol Plant Breed*, 2016, 14: 2197–2204 (in Chinese with English abstract).

[20] Abdel-Aal E S M, Young J C, Rabalski I. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *J Agric Food Chem*, 2006, 54: 4696–4704.

[21] 余春磊, 齐国昌, 张鹃飞, 袁金娥, 罗小娇, 冯宗云. 大麦花后四种主要黄酮物质含量的动态变化. 麦类作物学报, 2016, 34: 222–226.
Yu C L, Qi G C, Zhang K F, Yuan J E, Luo X J, Feng Z Y. Studies on the accumulation of four major flavonoids after flowering in barley. *J Triticeae Crops*, 2016, 34: 222–226 (in Chinese with English abstract).

[22] 张鹃飞, 余春磊, 齐国昌, 袁金娥, 刘新春, 冯宗云. 大麦籽粒不同部位黄酮含量的比较分析. 麦类作物学报, 2014, 34: 1441–1446.
Zhang K F, Yu C L, Qi G C, Yuan J E, Liu X C, Feng Z Y. Comparative analysis on the flavonoids content in different parts of barley grains. *J Triticeae Crops*, 2014, 34: 1441–1446 (in Chinese with English abstract).

[23] 王芳, 王宪泽. 小麦籽粒淀粉合成动态及其相关酶活性的研究. 麦类作物学报, 2004, 24: 57–60.
Wang F, Wang X Z. Study on the dynamic changes of starch synthesis and their related enzymes in wheat. *J Triticeae Crops*, 2004, 24: 57–60 (in Chinese with English abstract).

[24] 谭彩霞, 封超年, 郭文善, 朱新开, 李春燕, 彭永欣. 花后不同时期高温处理下小麦籽粒的淀粉合成及相关酶基因表达. 核农学报, 2012, 26: 1311–1316.
Tan C X, Feng C N, Guo W S, Zhu X K, Li C Y, Peng Y X. Effect of high temperature during different growth stage after anthesis on starch synthesis and related enzyme gene expression in wheat grains. *J Nucl Agric Sci*, 2012, 26: 1311–1316 (in Chinese with English abstract).

[25] 罗小娇, 刘新春, 杨晓云, 袁金娥, 冯宗云. 青稞 C_4H 基因的克隆及组织表达分析. 植物遗传资源学报, 2014, 15: 589–596.
Luo X J, Liu X C, Yang X Y, Yuan J E, Feng Z Y. Cloning and tissue expression analysis of HvC4H gene in Hulless barley. *J Plant Genet Resour*, 2014, 15: 589–596 (in Chinese with English abstract).

[26] 杨晓云, 杨智敏, 罗小娇, 孔德媛, 袁金娥, 刘新春, 冯宗云. 青稞 4-香豆酸辅酶A连接酶基因 *4CL* 的克隆及表达分析. 麦类作物学报, 2014, 34: 1603–1610.
Yang X Y, Yang Z M, Luo X J, Kong D Y, Yuan J E, Liu X C, Feng Z Y. Cloning and expression analysis of 4-ceoumarate: CoA ligase gene *4CL* in hulless barley. *J Triticeae Crops*, 2014, 34: 1603–1610 (in Chinese with English abstract).