

冯发强, 张 晶, 王青峰, 等. 甜玉米 *LCYE* 等位基因多态性及功能分析[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(5): 25-30.

甜玉米 *LCYE* 等位基因多态性及功能分析

冯发强^{1†}, 张 晶^{1†}, 王青峰¹, 杨瑞春¹, 王国华¹, 李小琴^{1,2}

(1 华南农业大学 农学院, 广东 广州 510642;

2 华南农业大学, 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】鉴定甜玉米材料中 *LCYE* 基因的多态性和 β -胡萝卜素和类胡萝卜素含量的变异, 为了解甜玉米 *LCYE* 基因的等位基因功能及维生素 A 源强化育种提供参考和依据。【方法】以 47 份甜玉米自交系为材料, 用高效液相色谱法检测 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素的含量, 扩增 *LCYE* 基因并测序, 结合 *LCYE* 基因的测序结果和 β -胡萝卜素、总类胡萝卜素含量的表型值作关联分析。【结果和结论】在 47 份甜玉米自交系的 *LCYE* 基因的测序结果中共发现 75 个多态性位点, 其中 49 个多态性位点分布在非编码区, 26 个多态性位点分布于 *LCYE* 基因的外显子区, 且均为 SNP, 第 5 外显子区多态性位点最丰富, 第 4 和第 9 外显子区未检测到多态性位点, 其保守程度较高。关联分析检测到与 β -胡萝卜素相关联的位点 3 个, 与总类胡萝卜素含量关联的位点 6 个, 位点 exon1-2 和 exon5-6 与 2 种表型极显著相关。本研究证明在甜玉米中 *LCYE* 基因与 β -胡萝卜素和类胡萝卜素的合成显著相关, 为甜玉米的维生素 A 源强化育种提供了理论基础。

关键词: 等位基因; 甜玉米; *LCYE* 基因; 维生素 A 源; 多态性
中图分类号: S513 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-411X(2014)05-0025-06

Identification of polymorphism and function
of *LCYE* allele in sweet corns

FENG Faqiang^{1†}, ZHANG Jing^{1†}, WANG Qingfeng¹, YANG Ruichun¹, WANG Guohua¹, LI Xiaoqin^{1,2}
(1 College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
2 State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources,
South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】The purpose of this investigation was to identify the polymorphisms of *LCYE* gene and the variation of β -carotene and carotenoids for understanding *LCYE* allele function in sweet corns and providing the reference and basis for biofortification breeding of pro-vitamin A. 【Method】The contents of β -carotene and total carotenoid were measured by HPLC in 47 sweet corn inbred lines. The whole length of *LCYE* was amplified, cloned and sequenced. Association analysis was performed by combining the sequences of *LCYE* gene with the content of β -carotene and total carotenoid. 【Result and conclusion】The total of 75 polymorphism sites were detected in this study, which included 49 polymorphism sites located on the non-coding chromosome region and 26 polymorphism sites located on the exons of the *LCYE* gene. All these sites on the exons were SNPs and most of them were located on the fifth exon except for the forth and the ninth exon with a conserved sequence. All 13 detected INDELs located on the non-coding region. The fragment of these INDELs ranged from 1 to 40 bp and most of them were from 4 bp to 8 bp. Three polymorphic sites were detected to be associated with β -carotenoid and 6 polymorphic sites were detected

收稿日期: 2013-09-24 优先出版时间: 2014-07-17
优先出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20140717.0909.025.html>
作者简介: 冯发强(1976—), 男, 助理研究员, 博士, E-mail: fengfq@scau.edu.cn; 张 晶(1981—), 女, 博士研究生, E-mail: 24970989@qq.com; †: 对本文贡献相同; 通信作者: 李小琴(1967—), 女, 教授, 博士, E-mail: xiaoqinli2000@126.com
基金项目: 国家自然科学基金(31071427)

to be associated with total carotenoid. Exon 1 – 2 and exon 5 – 6 were found to be significantly associated with these two phenotypes. The result identifies that *LCYE* gene is related to the biosynthetic pathway of the carotenoids and provides the theoretical basis for biofortified breeding of pro-vitamin A in sweet corns.

Key words: allele; sweet corn; *LCYE* gene; pro-vitamin A; polymorphism

维生素 A 是脂溶性醇类物质,是人类及动物所必需的一种营养素. 维生素 A 主要的生理功能包括维持正常的视觉反应、维持上皮组织的正常形态与功能、维持正常的骨骼发育、维护皮肤细胞功能的作用等^[1-2]. 维生素 A 缺乏在世界范围内广泛存在,已和铁缺乏、碘缺乏一同被定为世界性三大微量营养素缺乏性疾病,正受到越来越多的关注^[3]. 植物组织中并不直接含有维生素 A,而是以维生素 A 源——类胡萝卜素的形式存在,维生素 A 源能在人体内转变为具有生理活性的维生素 A.

玉米 *Zea mays* 是富含维生素 A 源的主要粮食作物之一,其籽粒包含 5 种主要的类胡萝卜素: α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素、 β -隐黄质、叶黄素和玉米黄质,这些类胡萝卜素 95% ~ 97% 都位于胚乳中,1% 左右位于胚中^[4]. 人们利用类胡萝卜素合成突变体及类胡萝卜素生物合成阻断的抑制剂,逐渐阐明了类胡萝卜素的生物合成代谢途径^[5],其中 *PSY*、*LCYE* 和 *HYD* 是重要的合成限速基因. Harjes 等^[5]采用关联分析、连锁作图、表达分析及突变体分析的方法对玉米类胡萝卜素合成途径中的关键限速基因 *LCYE* 进行了克隆,1 个单拷贝的 *LCYE* 基因全长 3 640 bp,包含 10 个外显子,位于第 8 号染色体 8.05Bin,其变异可改变胡萝卜素合成途径 α -胡萝卜素分枝和 β -胡萝卜素分枝的流量,4 个 *LCYE* 等位基因可解释 58% 的 (α -胡萝卜素 + 叶黄素) / (β -胡萝卜素 + β -隐黄质 + 玉米黄质) 表型变异,可产生 3 倍的维生素 A 源活性差异.

目前国内鲜见对鲜食玉米材料进行 *LCYE* 等位基因多样性分析的报道,本研究以 47 份甜玉米自交系为材料,采用高效液相色谱法检测其 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素的含量,在甜玉米的基因组中扩增了 *LCYE* 基因,通过克隆测序对 *LCYE* 基因进行遗传变异分析,发现了新的等位基因,对 *LCYE* 基因的遗传多态性及功能进行分析,以期对甜玉米的维生素 A 源强化育种奠定基础.

1 材料与方法

1.1 材料

47 份甜玉米材料是由华南农业大学农学院甜玉米组自行选育的骨干系,来源及表型多样. 于 2009 年秋在华南农业大学增城实验基地种植,行长 4 m、
<http://xuebao.scau.edu.cn>

宽 0.67 m,每个基因型种植 2 行,顺序排列,田间管理与大田管理基本相同. 每个甜玉米通过自交授粉保持基因型稳定,于授粉后第 21 天每种基因型选取 5 个无病虫害感染的果穗风干后脱粒、混匀,同一材料取样 3 次,磨粉后避光保存于 4 ℃ 冰箱.

1.2 类胡萝卜素的提取与检测

样品中类胡萝卜素的提取与检测均在中国农业大学国家玉米改良中心实验室进行. 类胡萝卜素的提取方法参考 Egesel 等^[6]的方法进行. 采用高压液相色谱法(HPLC)分离样品类胡萝卜素各组分,基于外标法^[7]构建的回归方程对样品类胡萝卜素各组分含量进行量化分析. 其标样由中国农业大学国家玉米改良中心提供,液相色谱系统为日本岛津公司生产的 2001 Simzdu 操作系统,色谱柱为反相 YMC 类胡萝卜素 C30 柱子(5 μ m,4.6 mm $\times$ 250 mm, Waters chromatography, Milford, MA). 采用等度洗脱,流速是 2 mL $\cdot$ min⁻¹,柱温控制在 30 ℃,检测波长为 450 nm. 检测的类胡萝卜素组分有叶黄素、玉米黄质、 β -隐黄质、 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素共 5 种,总类胡萝卜素含量等于 5 种成分含量之和.

1.3 DNA 的提取及主要试剂

采用改良 CTAB 法提取叶片 DNA^[8],叶片于大喇叭口期采集、储存于 -70 ℃ 冰箱备用.

Taq DNA 聚合酶、dNTPs、Buffer、MgCl₂ 等购自晶美生物工程有限公司;UNIQ-10 柱式 DNA 胶回收试剂盒购自上海生物工程有限公司,pGEM-T Easy vector 试剂盒购自 Promega 公司,*Ex-Taq* DNA 聚合酶购自大连宝生物工程公司,高保真 *Taq* DNA 聚合酶购自 Toyobo 公司,DL-2000 购自大连宝生物工程公司产品;大肠杆菌 JM109 感受态细胞由华南农业大学农学院水稻研究室惠赠. 引物合成及 PCR 产物测序由北京奥科鼎盛生物科技有限公司完成.

1.4 引物设计和 PCR 反应体系

用于扩增玉米 *LCYE* 基因的引物序列信息由中国农业大学国家玉米改良中心提供,将 *LCYE* 基因全长分为 9 段,设计 9 对引物,引物位置及引物名称见图 1,扩增包括 *LCYE* 基因的 5'UTR 到 3'UTR,拼接为全长为 3 640 bp 的片段,引物合成由北京奥科鼎盛生物科技有限公司完成.

PCR 反应在 PTC-100TMPCR 仪上完成,反应总体系为 20 μ L,其中玉米材料基因组 DNA 50 ~ 60 ng,

10 × PCR Buffer (含 Mg^{2+}) 2.00 μ L, 25 mmol · L⁻¹ dNTPs 0.20 μ L, 2 U · μ L⁻¹ *Taq* 酶 0.50 μ L, 每种引物质量浓度为 30 ng · μ L⁻¹, ddH₂O 12.30 μ L. PCR 扩增程序为: 94 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 1 min, 55 ℃ 1 min, 72 ℃ 1 min, 35 个循环; 最后 72 ℃ 再延伸 5 min, 不同的引物扩增时退火温度不同. 经 20 g · L⁻¹ 的琼脂糖凝胶电泳检测后, 产物用于克隆测序.

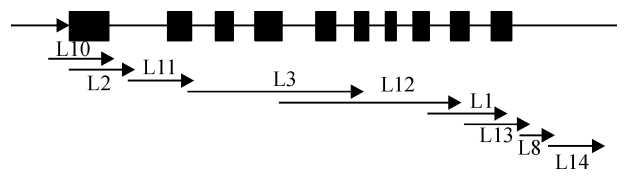


图1 *LCYE* 基因结构及测序引物位置
Fig.1 The structure of *LCYE* gene and the position of sequencing primers

1.5 PCR 产物的回收与纯化

从每种基因型中筛选 2 个典型单株进行 PCR 扩增及序列测定. 用 20 g · L⁻¹ 的琼脂糖凝胶分离 PCR 产物, 将目的带切下后用上海生物工程公司 UNIQ-10 柱式 DNA 胶回收试剂盒纯化回收; 对每个单株的 PCR 产物进行独立扩增、纯化, 产物与 pGEM-T Vectorsystem 连接后转化到大肠杆菌感受态细胞, 提取质粒作为测序模板, 每个基因型至少挑取 2 个克

隆子分别测序. 测序反应由北京奥科鼎盛生物科技有限公司完成.

1.6 DNA 序列分析及多态性位点功能分析
通过美国国家生物技术信息中心 (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 网站的 BLAST (Basic local alignment search tool) 软件, 将测序后获得的 DNA 序列与 GenBank 数据库中公布的 *LCYE* 基因进行序列同源性比较, 以鉴定所获得的 DNA 序列. 采用 TASSEL2.0 中的 GLM (General linear model) 模型结合 *LCYE* 基因测序数据、群体结构数据和表型性状数据进行标记 - 性状的关联分析, 确定关联位点.

2 结果与分析

2.1 47 份甜玉米材料的类胡萝卜素含量变异
对 47 份超甜玉米自交系籽粒类胡萝卜素各组分含量进行了测定. 结果 (表 1) 表明, 47 份甜玉米自交系中 β -胡萝卜素质量分数的均值为 0.88 μ g · g⁻¹, 变幅为 0.02 ~ 4.48 μ g · g⁻¹, 变异系数为 1.04; 总类胡萝卜素质量分数的均值为 28.94 μ g · g⁻¹, 变幅为 1.44 ~ 75.98 μ g · g⁻¹, 变异系数为 0.54, 不同基因型的 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素含量存在显著差异, 47 份甜玉米中 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素均存在丰富的变异.

表 1 47 份甜玉米材料 β -类胡萝卜素和总类胡萝卜素含量

Tab.1 The content of β -carotene and total carotenoid in 47 sweet corn lines

			<i>w</i> /(μ g · g ⁻¹)		
材料编号	β -胡萝卜素	总类胡萝卜素	材料编号	β -胡萝卜素	总类胡萝卜素
A01	0.33 ± 0.00	17.61 ± 1.12	A25	0.78 ± 0.28	24.25 ± 2.41
A02	1.09 ± 0.07	28.16 ± 4.03	A26	0.66 ± 0.03	32.87 ± 2.13
A03	1.34 ± 0.10	23.76 ± 0.70	A27	0.37 ± 0.22	14.65 ± 2.82
A04	0.22 ± 0.00	11.06 ± 2.73	A28	0.46 ± 0.03	23.56 ± 3.90
A05	4.48 ± 0.00	75.98 ± 2.02	A29	0.31 ± 0.02	18.49 ± 1.77
A06	1.86 ± 0.13	60.62 ± 5.34	A30	0.44 ± 0.09	21.48 ± 1.44
A07	2.17 ± 0.32	39.05 ± 0.54	A31	0.41 ± 0.03	23.49 ± 1.05
A08	2.13 ± 0.40	33.36 ± 1.62	A32	0.43 ± 0.01	24.86 ± 0.13
A09	0.68 ± 0.05	5.81 ± 0.04	A33	0.56 ± 0.14	57.58 ± 2.13
A10	0.91 ± 0.22	7.46 ± 1.94	A34	0.06 ± 0.01	19.89 ± 0.45
A11	0.66 ± 0.01	20.33 ± 0.97	A35	0.06 ± 0.01	18.70 ± 2.56
A12	0.98 ± 0.13	25.78 ± 1.04	A36	3.14 ± 0.36	40.05 ± 1.52
A13	0.53 ± 0.01	26.00 ± 2.80	A37	3.69 ± 0.23	67.18 ± 3.34
A14	0.65 ± 0.03	21.27 ± 3.44	A38	0.41 ± 0.01	29.80 ± 1.42
A15	0.50 ± 0.03	25.90 ± 0.75	A39	0.42 ± 0.02	25.18 ± 1.33
A16	0.65 ± 0.01	26.14 ± 1.78	A40	0.63 ± 0.02	30.96 ± 1.63
A17	1.75 ± 0.03	31.81 ± 2.59	A41	0.62 ± 0.06	25.12 ± 1.12
A18	0.72 ± 0.00	44.63 ± 3.78	A42	0.66 ± 0.06	22.10 ± 0.62
A19	0.48 ± 0.02	42.45 ± 2.98	A43	0.44 ± 0.03	15.80 ± 0.63
A20	0.17 ± 0.01	20.97 ± 2.28	A44	1.14 ± 0.05	36.65 ± 1.28
A21	0.46 ± 0.09	24.79 ± 0.73	A45	0.33 ± 0.06	24.88 ± 2.05
A22	0.84 ± 0.19	40.36 ± 2.94	A46	0.04 ± 0.04	3.09 ± 1.80
A23	1.02 ± 0.23	50.59 ± 2.17	A47	0.02 ± 0.01	1.44 ± 0.21
A24	0.64 ± 0.18	54.02 ± 3.91	均值	0.88 ± 0.92	28.94 ± 15.85

2.2 47 份甜玉米材料 *LCYE* 基因的同源性与变异分析

经比对和统计,47 份甜玉米的 *LCYE* 基因中共检测到 75 个多态性位点,其中在第 1 至 10 外显子区共检测到 26 个多态性位点,均为 SNP,平均每 60 bp 检测到 1 个多态性位点(表 2). 第 5 外显子区多态性位点最丰富,有 8 个 SNP 位点,第 4 和第 9 外显子无多态性位点,保守程度较高.

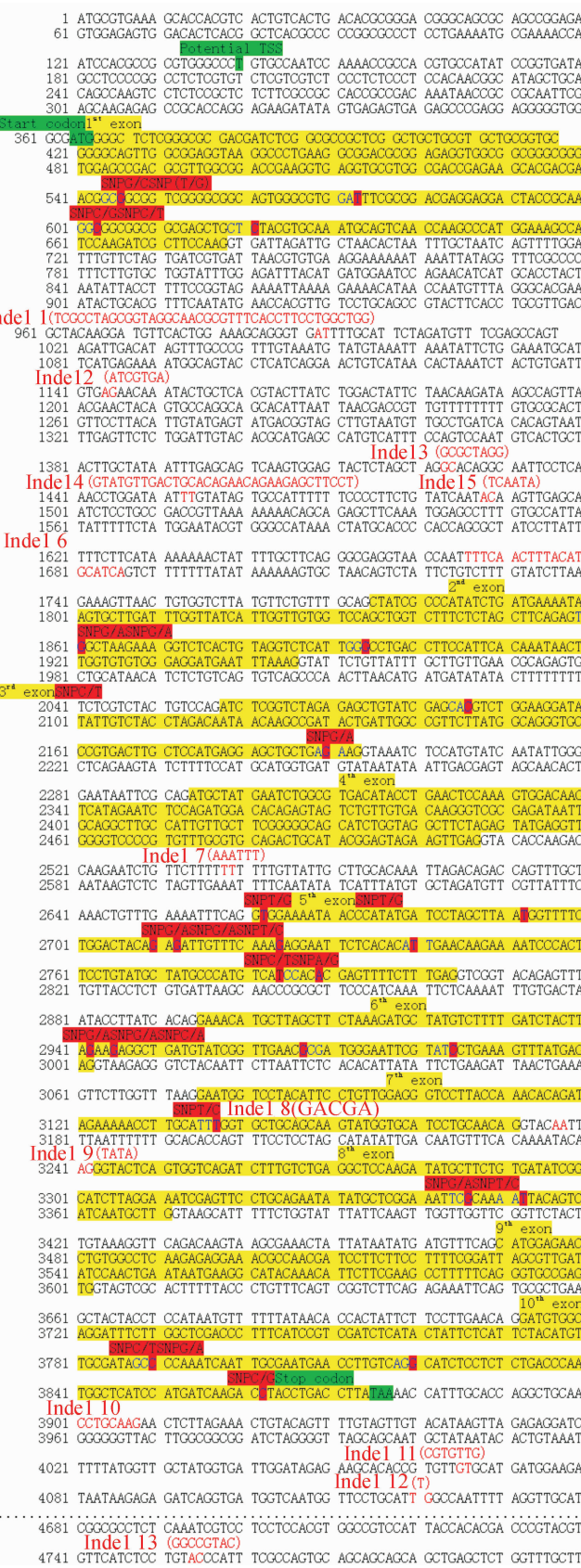
表 2 *LCYE* 基因外显子序列多态性分布
Tab.2 Polymorphic locations within exons of *LCYE* gene

外显子	序列长度	多态位点数目	多态位点类型
1st	315	4	SNP
2nd	172	2	SNP
3rd	136	2	SNP
4th	214	0	SNP
5th	144	8	SNP
6th	108	4	SNP
7th	97	1	SNP
8th	129	2	SNP
9th	133	0	SNP
10th	166	3	SNP

在 *LCYE* 基因的非编码区共检测到 49 个多态性位点,平均每 94 bp 检测到 1 个. 检测到的 49 个非编码区的多态性位点中包含 13 个 Indel 位点,其中,Indel 12 是单核苷酸的 Indel,6 个 Indel 的插入与相邻序列相同,实质是多了 1 个拷贝,Indel 片段的长度在 1~40 bp 之间,长度在 6~8 bp 之间的 Indel 最多,达 7 个,超过所检测到的 Indel 总数的 50% (表 3 和图 2). 多态性位点在整个基因上的分布很不均匀,检测

表 3 *LCYE* 基因的 Indel 多态性位点
Tab.3 Indel polymorphic sites of *LCYE* gene

位点编号	插入的序列	插入位点/bp
Indel 1	TCGCCTAGCGGTAGGCAACGCG- TTTCACCTTCCTGGCTGG	993
Indel 2	ATCGTGA	1 144
Indel 3	GCGCTAGG	1 423
Indel 4	GTATGTGACTGCACAGAA- CAGAAGAGCTTCCT	1 453
Indel 5	TCAATA	1 488
Indel 6	TTTCAACTTTACATGGGCATCA	1 665
Indel 7	AAATTT	2 538
Indel 8	GACGA	3 176
Indel 9	TATA	3 241
Indel 10	CCTGCAAG	3 900
Indel 11	CGTGTG	4 065
Indel 12	T	4 120
Indel 13	GGCCGTAC	4 753



表中红色字体表示插入/缺失,Indel 后面的数字表示插入/缺失的长度,红色填充表示 SNP 位置及碱基变化,黄色填充表示 exon 的位置及长度.

图 2 47 份甜玉米自交系中 *LCYE* 基因位点的序列变异
Fig.2 The variation of *LCYE* gene in 47 sweet corn lines

到的 13 个 Indel 中有 6 个集中在第 1 外显子和第 2 外显子之间 696 bp 的区域内,而 SNP 位点在整个基因上的分布相对比较均匀。

2.3 *LCYE* 基因多态性位点的功能分析

为了检测已发现的 *LCYE* 基因序列的多态性位点与维生素 A 源含量表型之间真实存在的关联,在考虑群体结构影响的基础上,进行候选基因与表型性状的关联分析. 其中,群体结构分析来源于黄君^[9]已获得的结果. 将获得的甜玉米自交系的 *LCYE* 基因序列比对结果、群体结构以及这些自交系授粉后第 21 天收获籽粒得到的 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素含量表型值一起导入 TASSEL 软件,使用 GLM (General linear model) 模型进行关联分析,当 $P < 0.05$ 时认为该多态性位点与所分析表型值存在显著关联. 共检测到 7 个与 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素有显著关联的多态性位点,其中与 β -胡萝卜素相关联的位点有 3 个,与总类胡萝卜素总含量关联的多态性位点有 6 个. exon 1-2 和 exon 5-6 这 2 个位点同时与 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素总含量显著关联, Exon 1-2 与这 2 种表型关联的程度达到极显著,分别可解释 β -胡萝卜素 13% 的表型变异和维生素 A 源 15% 的表型变异(表 4)。

表 4 *LCYE* 基因多态性位点与 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素含量的关联分析

Tab.4 Association analyse of β -carotene, total carotenoid content and polymorphic sites of *LCYE* gene

性状	多态性位点	<i>P</i>	<i>R</i> ²
β -胡萝卜素	exon 1-2	0.000 4	0.13
	exon 1-4	0.034 2	0.03
	exon 5-6	0.001 7	0.04
总类胡萝卜素	exon 1-2	0.000 3	0.15
	exon 2-2	0.043 2	0.01
	exon 5-6	0.002 0	0.06
	exon 5-8	0.022 1	0.04
	exon 6-3	0.010 4	0.02
	exon 6-4	0.035 8	0.05

3 讨论

甜玉米品质有外观品质、营养品质、食用品质等,其中营养品质和食用品质在育种过程中占据首要地位^[10]. 维生素是有机体中极其重要的微量营养素,甜玉米中维生素的含量是评价甜玉米营养品质的重要指标之一. 在甜玉米籽粒中只有部分类胡萝卜素是维生素 A 的前体物质,可在人体内转变为具有生理活性的维生素 A. 玉米籽粒中可转化为维生

素 A 的类胡萝卜素包括 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素和 β -隐黄质等^[4, 7, 11-13],还有不能转化为维生素 A 的物质,即玉米黄质和叶黄素,它们是眼睛合成黄斑色素的必要物质^[13]. 而甜玉米以鲜食为主,强化其营养品质的研究,提高其微营养元素含量对于防止微营养缺乏,增进人体健康有重要意义。

普通玉米中已有大量关于类胡萝卜素的研究. Wong 等^[14]对普通玉米 200 个 F_{2:3} 家系和 185 个杂交种的类胡萝卜素含量进行了测定, β -胡萝卜素和总类胡萝卜素的质量分数最大分别 3.97 和 33.21 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. Harjes 等^[5]对 204 份黄玉米自交系的类胡萝卜素含量进行了测定,发现 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素质量分数的变化范围为 0.06 ~ 13.60 和 5.5 ~ 66.0 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. 对于甜玉米中的类胡萝卜素研究较少,本研究以 47 份甜玉米自交系为材料,发现 β -胡萝卜素质量分数均值为 0.88 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,变幅为 0.02 ~ 4.48 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,总类胡萝卜素质量分数的均值为 28.94 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,变幅为 1.44 ~ 75.98 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,结果表明甜玉米中的 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素含量存在丰富的变异,其变异范围与普通玉米相当,可利用甜玉米材料本身的 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素含量变异进行高维生素 A 源的新品种选育。

而关于玉米维生素 A 源遗传规律的研究由来已久, Mangelsdorf 等^[15]于 1931 年提出深黄色玉米的类胡萝卜素含量比淡黄色和白粒玉米丰富,且类胡萝卜素的遗传符合孟德尔规律,随后, Aurand 等^[16]发现玉米类胡萝卜素受遗传控制. 随着分子标记技术的发展, QTL 定位广泛应用于玉米的数量性状研究, Wong 等^[14]首次对类胡萝卜素进行了基因定位,检测到 17 个 QTL 位点与 β -胡萝卜素、 β -隐黄质、玉米黄质和叶黄素含量相关. Chander 等^[17]进行了类胡萝卜素的基因定位,检测到 31 个 QTL 与 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素、 β -隐黄质、玉米黄质和叶黄素含量相关. Harjes 等^[5]和 Yan 等^[18]分别克隆了玉米维生素 A 合成中的 2 个关键基因 *LCYE* 和 *crtR1*,为分子标记辅助转育维生素 A 合成关键基因强化玉米的维生素 A 源打下了坚实的基础. 在 Harjes 等^[5]的研究中,普通玉米中 *LCYE* 基因共检测到 7 个位点与 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素含量均存在显著关联,分别位于 5'-TE、第 1 外显子、第 4 内含子和第 10 内含子. 本研究以 47 份甜玉米材料对 *LCYE* 基因进行了等位基因的多样性研究,检测到 75 个多态性位点,7 个与 β -胡萝卜素和总类胡萝卜素含量有显著关联,2 个位点与 Harjes 等^[5]检测到的位点相同,说明在甜玉米背景下 *LCYE* 基因是影响其类胡萝卜素合成途径的重要

基因,已开发的 *LCYE* 基因功能标记可应用于甜玉米的高维生素 A 源含量分子标记辅助选择育种.

致谢:感谢中国农业大学国家玉米改良中心李建生教授对本试验的指导与支持!

参考文献:

- [1] 常世敏,张智强. 浅谈维生素 A 代谢与生理功能[J]. 中国食物与营养, 2005(2): 55-57.
- [2] 张雅稚. 维生素 A 的生理功能与应用方法[J]. 中国食物与营养, 2007(12): 55-56.
- [3] 王朝阳,邓立新,郭延俭,等. 维生素 A 缺乏对机体影响的研究进展[J]. 畜牧与饲料科学, 2012(1): 47-48.
- [4] WURTZEL E T. Chapter five Genomics, genetics, and biochemistry of maize carotenoid biosynthesis [J]. Recent Adv Phytochem, 2004, 38: 85-110.
- [5] HARJES C E, ROCHEFORD T R, BAI L, et al. Natural genetic variation in *lycopene epsilon cyclase* tapped for maize biofortification [J]. Science, 2008, 319(5861): 330-333.
- [6] EGESELE C O, WONG J C, LAMBERT R J, et al. Combining ability of maize inbreds for carotenoids and tocopherols[J]. Crop Sci, 2003, 43(3): 818-823.
- [7] KURILICH A C, JUVIK J A. Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays*[J]. J Agric Food Chem, 1999, 47(5): 1948-1955.
- [8] DOYLE J J, DOYLE J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochem Bull, 1987, 19: 11-15.
- [9] 黄君. 甜玉米自交系遗传多样性及群体结构分析[D]. 广州: 华南农业大学, 2011.
- [10] 牛丽影,宋江峰,李大婧,等. 甜玉米及其加工品营养特点与食用品质评价研究进展[J]. 粮食与油脂, 2011(4): 9-11.
- [11] MUZHINGI T, YEUM K, RUSSELL R M, et al. Determination of carotenoids in yellow maize, the effects of saponification and food preparations[J]. Int J Vitam Nutr Res, 2008, 78(3): 112-120.
- [12] CHANDER S, GUO Y Q, YANG X H, et al. Using molecular markers to identify two major loci controlling carotenoid contents in maize grain [J]. Theor Appl Genet, 2008, 116(2): 223-233.
- [13] SANDMANN G. Genetic manipulation of carotenoid biosynthesis: Strategies, problems and achievements [J]. Trends Plant Sci, 2001, 6(1): 14-17.
- [14] WONG J C, LAMBERT R J, WURTZEL E T, et al. QTL and candidate genes phytoene synthase and ζ -carotene desaturase associated with the accumulation of carotenoids in maize[J]. Theor Appl Genet, 2004, 108(2): 349-359.
- [15] MANGELSDORF P C, FRAPS G S. a direct quantitative relationship between vitamin A in corn and the number of genes for yellow pigmentation [J]. Science, 1931, 73(1887): 241-242.
- [16] AURAND L W, HUBER L L, MILLER R C. Influence of heredity on carotene and protein contents of corn [M]. Pennsylvania State :Pennsylvania State College, 1950.
- [17] CHANDER S, GUO Y, YANG X, et al. Genetic dissection of tocopherol content and composition in maize grain using quantitative trait loci analysis and the candidate gene approach[J]. Mol Breeding, 2008, 22(3): 353-365.
- [18] YAN J, KANDIANIS C B, HARJES C E, et al. Rare genetic variation at *Zea mays crtRBI* increases [β]-carotene in maize grain[J]. Nat Genet, 2010, 42(4): 322-327.

【责任编辑 周志红】