



崔喜艳, 胡广宇, 孙小杰, 等. 1 个新的玉米半透明皱缩胚乳突变体的遗传分析及基因定位[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(5): 31-35.

1 个新的玉米半透明皱缩胚乳突变体的遗传分析及基因定位

崔喜艳^{1,2}, 胡广宇¹, 孙小杰³, 佟珊珊¹, 陈众峰¹, 刘相国²

(1 吉林农业大学 生命科学学院, 吉林 长春 130118; 2 吉林省农业科学院 农业生物技术研究所, 吉林 长春 130124; 3 吉林省中玉农业有限公司, 吉林 长春 130012)

摘要:【目的】解析半透明皱缩玉米胚乳形成机制.【方法】以纯合玉米突变体 M-E-479 为供试材料, 通过对 M-E-479 籽粒进行表型鉴定、遗传分析、主要成分测定及扫描电镜观察, 构建定位群体, 利用图位克隆技术对突变基因进行遗传定位.【结果和结论】M-E-479 突变体胚乳中脂肪含量增加, 蛋白质和淀粉含量下降, 淀粉粒的大小、形状、排列空间发生改变; 用 F₂ 群体将突变基因定位在 10 号染色体 SSR 标记 bnlg1074 与 umc1506 之间, 两标记的遗传距离约为 3.6 cM, 两标记的物理距离约为 2.2 Mb. 可见 M-E-479 是一个新的玉米半透明皱缩胚乳突变体, 突变性状是由隐性单基因控制.

关键词:玉米; 胚乳突变体; 遗传分析; 基因定位

中图分类号: S513.035.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2014)05-0031-05

A genetic analysis and gene mapping of a new translucent and shrunken endosperm mutant in maize

CUI Xiyen^{1,2}, HU Guangyu¹, SUN Xiaojie³, TONG Shanshan¹, CHEN Zhongfeng¹, LIU Xiangguo²

(1 College of Life Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

2 Institute of Agricultural Biotechnology in Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130124, China;

3 Jilin Sino-Corn Agricultural Co., Ltd., Changchun 130012, China)

Abstract:【Objective】To analyze the formation mechanism of translucent and shrunken maize endosperm. 【Method】The mutant M-E-479 of homozygous maize was used as experimental materials in our study. Through phenotypic identification, genetic analysis, main ingredients measurement and scanning electron microscopy, mapping population of M-E-479 was selected and map-based cloning technology was performed to locate the mutant gene. 【Result and conclusion】The result showed that the amount of fat increased, while the protein and starch decreased, and the starch grains changed in size, shape and space configuration in the mutant endosperm of M-E-479. The mutant gene is located between SSR markers bnlg1074 and umc1506 of chromosome 10 by using F₂ population. Meanwhile, the genetic distance is about 3.6 cM and the physical distance is about 2.2 Mb. The results suggest that M-E-479 is a new translucent and shrunken maize endosperm mutant, and its mutant character may be controlled by a recessive single gene.

收稿日期: 2013-09-21 优先出版时间: 2014-07-17

优先出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20140717.0909.027.html>

作者简介: 崔喜艳 (1971—), 女, 副教授, 博士, E-mail: cuixiyan2005@163.com; 通信作者: 刘相国 (1983—) 男, 助理研究员, 博士, E-mail: lxgyj@foxmail.com

基金项目: 国家自然科学基金 (31170731, 31200611); 上海市科学技术委员会资助项目 (10DZ2271800); 吉林省科技发展计划项目 (20130206012NY)

Key words: maize; endosperm mutant; genetic analysis; gene mapping

玉米是重要的粮食作物,也是饲料、工业、化工、医药等的重要原料,在世界经济作物发展中也占据举足轻重的地位^[1]. 玉米的价值主要体现在籽粒上,籽粒中胚乳部分占籽粒干质量的 70% ~ 90%^[2]. 玉米胚乳分为角质和粉质 2 种类型,角质胚乳中淀粉粒小、结构致密,较硬,半透明,富含蛋白质;粉质胚乳中淀粉粒大、结构松散,较软,不透明,蛋白质含量比较少. 玉米胚乳性状突变在突变体研究中较为常见,目前发现的胚乳突变体表型主要包括:皱缩、不透明、透明、凹陷、不育等多种^[3-6]. 随着玉米基因组学研究的不断深入,利用自然突变体或者人工突变体材料研究基因生物学功能,已成为功能基因组学研究的热点领域,越来越多的玉米胚乳突变体相继报道^[7-10].

本课题组前期研究中,从自主构建的玉米自交系 Mo17 石蜡油 - 花粉 - EMS 诱变库中筛选得到 1 个胚乳突变体,编号为 479. 该突变体具有半透明、皱缩等性状(待发表). 本研究以突变体 479 为试验材料,开展玉米籽粒的形态特征、遗传特性、主要成分、突变基因定位等方面研究工作,期望能够明确该突变基因的基因定位和可能的生物学功能,为进一步克隆突变基因及解析半透明皱缩玉米胚乳形成机制提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 供试材料

亲本 1: 玉米突变体(编号 479),用甲基磺酸乙酯(EMS)的石蜡油溶液处理玉米自交系品种 Mo17 的成熟花粉自交后,筛选获得. 该材料经过 3 代的遗传,鉴定为纯合突变体,命名为 M-E-479(Mo17-EMS-编号 479). 亲本 2: 玉米自交系 Mo17(野生型). 亲本 3: 玉米自交系 B73(野生型). 以上玉米材料均由吉林省农业科学院农业生物技术研究所提供.

1.2 构建定位群体和遗传分析

于 2010 年夏季吉林省公主岭市试验田,玉米自交系 Mo17、B73 作为母本, M-E-479 作为父本,组配 F1 杂交种. 同年冬季海南加代, F1 代果穗套袋自交,获得 BC1 和 F2 群体. BC1 和 F2 群体用于遗传分析, F2 分离群体用于基因定位.

根据表型观察结果,将 BC1 和 F2 群体中籽粒分为突变籽粒和正常籽粒 2 类. 统计籽粒个数,利用 χ^2 测验进行遗传分析.

1.3 玉米籽粒主要成分测定

粗蛋白(干基)^[11]、粗脂肪(干基)^[12]、粗淀粉

(干基)^[13]、直链淀粉(占淀粉质量)和支链淀粉(占淀粉质量)^[14]按国家标准或农业部标准方法测定.

以上玉米籽粒主要成分由农业部参茸产品质量监督检验测试中心(吉林省)测定.

1.4 胚乳的扫描电镜观察

M-E-479 和对照组自交系 Mo17 的成熟胚乳干燥后纵切,双面胶将胚乳样品固定于检测铜台上,置于离子溅射仪中镀金膜,制备观察样本. HITACHI S-570 型扫描电子显微镜进行胚乳内部结构观察.

1.5 玉米基因组 DNA 提取

在温室中种植 F2 群体突变籽粒和正常籽粒、亲本 2、亲本 3. 三叶期剪取叶片,提取叶片基因组 DNA 用于基因定位分析. DNA 的提取采用 CTAB 法^[15],略作修改:即在用氯仿/异戊醇抽提后直接加入冷的异丙醇以沉淀 DNA.

1.6 突变基因的 BSA 分析和定位

根据玉米数据库(<http://www.maizegdb.org.ssr/>)公布信息,设计分子标记 SSR 引物用于基因定位. 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成.

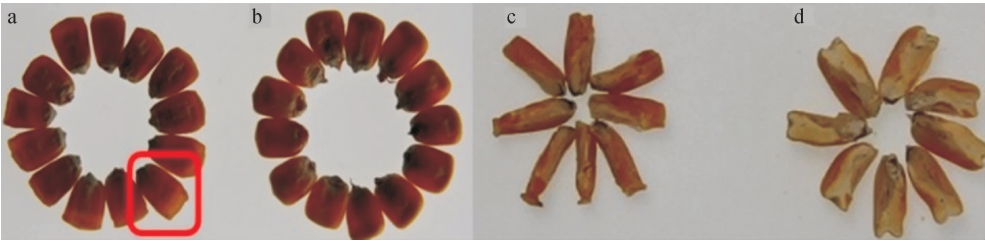
BSA 分析(Bulked segregation analysis)法也称集团分离分析法,该方法根据目标基因表型差异,构建 2 个相对性状的“基因池”,若在 2 类“基因池”中分子标记表现出多态性,说明该分子标记在遗传上与目标性状基因相连锁.

PCR 总反应体系为 20 μL ,包括 10 $\times$ Buffer (Mg²⁺ Plus) 1 μL , dNTP (10 mmol $\cdot$ L⁻¹) 0.4 μL , 上游引物和下游引物 (10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 各 0.25 μL , Taq DNA Polymerase (5 U $\cdot$ L⁻¹) 0.2 μL , ddH₂O 5.9 μL , DNA 模板 (50 ng $\cdot$ μL^{-1}) 12 μL . 在 BioRad PCR 仪上进行 PCR 扩增, PCR 反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 45 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 共进行 36 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 再延伸 10 min. 反应产物在 80 g $\cdot$ L⁻¹ 的聚丙烯酰胺凝胶上电泳,经质量分数为 0.2% 硝酸银染色后观测并成像分析.

2 结果与分析

2.1 M-E-479 表型分析

如图 1 所示, M-E-479 籽粒表面种皮皱缩,顶端质地透明(图 1a), 自交系 Mo17 的籽粒饱满(图 1b); M-E-479 的胚乳纵切(图 1c)与 Mo17(图 1d)相比,表现为体积变小,种皮皱缩,角质化明显,质地透明,顶端粉质部分严重缺失.



a: M-E-479 的籽粒;b: 自交系 Mo17 的籽粒;c: M-E-479 的胚乳(纵切);d: 自交系 Mo17 的胚乳(纵切).

图 1 M-E-479 和自交系 Mo17(野生型)籽粒表型比较

Fig. 1 A comparison of grain phenotypes of M-E-479 and inbred line Mo17 (wild type)

2.2 M-E-479 遗传分析

利用自交系 Mo17、自交系 B73 与 M-E-479 构建 BC1、F2 分离群体,各获得 30 个具有突变籽粒的果穗,统计正常籽粒与突变籽粒的数目,计算分离比

(表 1). χ^2 测验结果表明: $\chi^2 < \chi^2_{0.05} = 3.84$, 即正常籽粒与突变籽粒之比符合 3:1 的孟德尔遗传规律分离比例,证实 M-E-479 的性状是由隐性单基因控制的.

表 1 BC1 和 F2 群体性状分离结果

Tab. 1 The segregation results of F2 and BC1 populations

群体	总籽粒数/个	正常籽粒数/个	突变籽粒数/个	实际比例	理论比例	χ^2
M-E-479 × B73	13 178	9 961	3 217	3.09: 1	3: 1	2.399 6
M-E-479 × Mo17	9 821	7 323	2 498	2.93: 1	3: 1	0.969 4

2.3 M-E-479 籽粒主要成分测定

从表 2 中可以看出,与对照组 Mo17 相比,突变体 M-E-479 的蛋白质和淀粉含量均呈现下降趋势,分别减少 5.96% 和 9.89%. 其中,淀粉含量的减少主要体现在支链淀粉含量的剧烈下降,减少 11.63%,而直链淀粉含量增加 1.74%. 突变体的粗脂肪含量较对照组呈现上升趋势,增加 1.82%. 结果表明,该突变基因与玉米胚乳中脂肪、蛋白质及淀粉等储藏物质合成代谢相关.

表 2 自交系 Mo17 和 M-E-479 胚乳主要成分占干质量比例
Tab. 2 The percentage of the endosperm main ingredients of Mo17 and M-E-479 (dry mass) %

品种	蛋白质	粗脂肪	淀粉	直链淀粉	支链淀粉
Mo17	17.14	4.24	78.96	15.99	62.97
M-E-479	11.18	6.06	69.07	17.73	51.34

2.4 M-E-479 胚乳扫描电镜观察

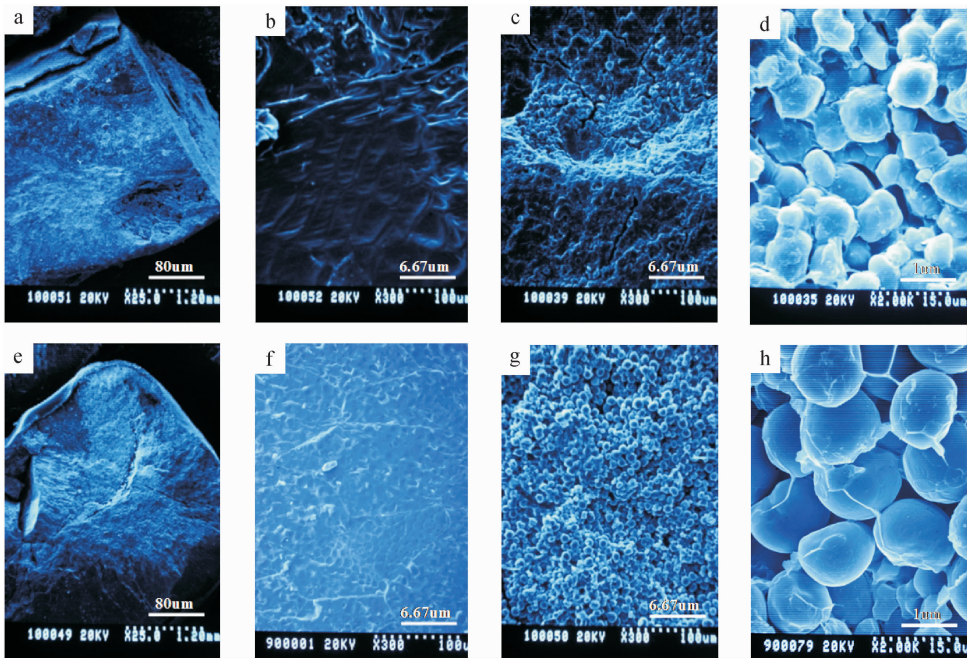
对 M-E-479 和自交系 Mo17 的成熟胚乳进行扫描电镜观察,结果表明:自交系 Mo17 角质胚乳细胞被大量淀粉粒充实,呈较规则的长多面体排列;M-E-479 角质胚乳细胞则呈圆形、椭圆形、多边形等不规则排列(图 2b、2f). 粉质部分 300 倍和 2 000 倍的放大图片显示:M-E-479 中胚乳细胞排列无规则,且大小不均一(图 2c),淀粉粒排列紧密,积压呈多面体状,表面附着大量基质蛋白(图 2d);Mo17 中胚乳细

胞规则,呈圆形,大小均一(图 2g),淀粉粒排列松散,表面较光滑,附着少量基质蛋白(图 2h);从 M-E-479 和自交系 Mo17 胚乳结构比较来看,突变基因能够导致胚乳中淀粉粒的大小、形状、排列空间发生改变.

2.5 M-E-479 突变基因的 BSA 分析及定位

从玉米数据库中选择均匀覆盖玉米基因组的 350 对 SSR 标记,对亲本进行多态性的筛选,筛选到有多态性的引物 112 对. 在 F2 代中分别选取 10 株正常籽粒和 10 株突变籽粒构建正常基因池和突变基因池. 利用这 112 对 SSR 引物对构建好的正常基因池和突变基因池进行扩增. 结果发现位于 10 号染色体上的 SSR 分子标记 umc1789 在 2 个池中表现出多态性(图 3 中的 17、18 泳道),表明 M-E-479 的突变基因位于 10 号染色体长臂上,在 umc1789 附近.

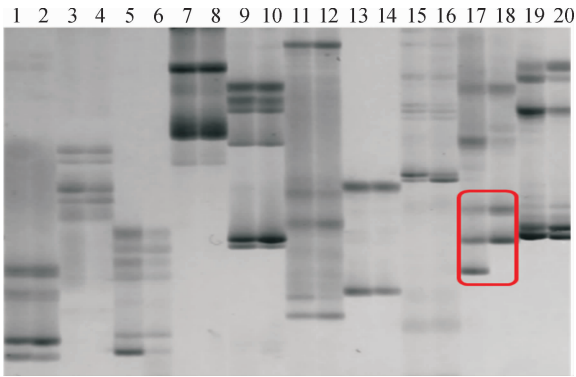
为了进一步界定突变基因的位点,在 SSR 标记 umc1789 的上游、下游设计新的引物,对 513 份 F2 代突变个体进行分析. 研究结果表明:M-E-479 的突变基因定位于 SSR 分子标记 bnlg1074 与 umc1506 之间. 在 513 份个体中,对于 bnlg1074 共筛选到 6 个交换单株,对于 umc1506 共筛选到 12 个交换单株,根据遗传距离的计算方法,bnlg1074 与突变基因的遗传距离是 1.2 cM,umc1506 与突变基因的遗传距离是 2.3 cM(图 4),两个 SSR 标记之间的物理距离约 2.2 Mb.



a~d 为 M-E-479, e~h 为 Mo17. 其中, a、e: 为胚乳整体图(25 ×); b、f: 为胚乳角质图(300 ×); c、g: 为胚乳粉质图(300 ×); d、h: 为胚乳粉质图(2 000 ×).

图 2 M-E-479 与自交系 Mo17 胚乳的扫描电镜图片

Fig. 2 The scanning electron microscopy of M-E-479 endosperm and Mo17 endosperm



奇数泳道为正常个体的基因池, 偶数泳道为突变个体的基因池.

图 3 M-E-479 的 BSA 分析结果

Fig. 3 The BSA analysis of M-E-479

十号染色体

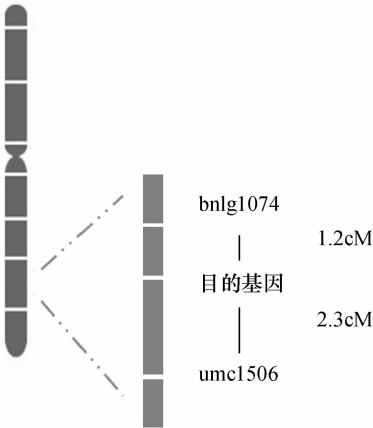


图 4 M-E-479 突变基因的遗传图谱

Fig. 4 The genetic map of M-E-479 mutant genes

<http://xuebao.scau.edu.cn>

3 讨论

在众多玉米突变体研究中,粉质型胚乳突变体研究最为深入. 粉质型胚乳突变体即 *opaque* 突变体, 主要表现不透明的且硬质淀粉部分缺失. 1935 年 Emerson 等^[16]首次发现玉米 *o2* (*opaque2*) 突变. 1964 年美国普渡(Purdue)大学 Mertz 等^[17]发现隐性突变基因 *o2* 能够抑制胚乳玉米醇溶蛋白合成, 提高胚乳中赖氨酸含量. 1971 年 McWhirter^[18]发现一个玉米高赖氨酸粉质胚乳突变体, 命名为 *o7* (*opaque7*) 突变体, 该突变基因位于玉米第 10 号染色体. 2005 年 Yang 等^[19]从 Robertson 增变子 Mu (Mutator) 突变群体中, 分离得到一个胚乳质地不透明、高赖氨酸突变自交系, 命名为 *o16* (*opaque16*), 定位于第 8 号染色体长臂上 *umc1141* 和 *umc1121* 这 2 个分子标记之间, 遗传距离约为 5 cM. 除了粉质型胚乳突变体之外, 透明/半透明玉米胚乳突变体的研究也备受关注. 该类型突变体主要表现为粉质淀粉部分缺失. 目前, 关于该类突变体的研究主要有 *su1* (*sugary1*) 突变体和 *ael* (*amylose extender1*) 突变体 2 种. 1911 年 East 等^[20]首先描述 *su1* 突变体, 突变基因在乳熟期能阻止糖分向淀粉转化, 使还原糖、蔗糖含量显著高于普通玉米, 使玉米未成熟籽粒中大量累积水溶性多糖, 成熟时籽粒皱缩且透明. 1952 年 Vineyard 等^[21]首次记述 *ael* 突变体, 它是由编码淀粉分支酶 SBEIIb 的

基因突变形成的. 该突变基因降低了支链淀粉的 α -1,6 糖苷键分支点的数量而相应地增加了籽粒表观直链淀粉含量. 大量玉米突变体的发现及突变基因的分离可为特异玉米品种的创制提供种质资源及候选基因.

随着玉米自交系 Mo17 和 B73 全基因组序列测序的完成^[22],以及玉米高密度遗传图谱和物理图谱相继构建成功^[23],图位克隆技术在玉米功能基因研究领域开始广泛应用. 2011 年 Wang 等^[24]和孙大元等^[25]利用图位克隆技术对突变基因 *o7* 进行了深入分析,克隆该基因全序列,分析表明,其编码一个草酰辅酶 a 合成酶,参与储藏蛋白质的合成代谢.

本研究利用图位克隆技术将 M-E-479 的突变基因定位于 10 号染色体上 Bin10.04 处,根据玉米数据库公布信息发现,在 10 号染色体上有 2 个关于胚乳突变的突变体:*o7*(*opaque7*)和 *du1*(*dull1*)^[22],但 *o7* 和 *du1* 突变基因位点分别在 10 号染色体上 Bin10.03 和 Bin10.07 处,与 M-E-479 的突变基因位点不同;*o7* 和 *du1* 籽粒表现型为不透明且饱满,M-E-479 籽粒表现型为半透明且皱缩,从表型上来看,M-E-479 不是 *o7* 或 *du1* 的这类胚乳突变体. 此外,M-E-479 的突变基因定位在 SSR 分子标记 bnlgl074 与 umc1506 之间,查阅文献可知两标记之间已经公布了 4 个玉米基因 *wsm3*、*AY110167*、*IDP2392* 和 *TIDP2822*,其中基因 *wsm3* 导致玉米叶片出现黄绿斑,其余 3 个基因只是被克隆了全序列,鲜见基因功能验证的报道^[24-28]. 本研究中基因定位区段还未发现与玉米胚乳发育和形成相关基因克隆的报道. 综上所述,本研究鉴定 M-E-479 是一个新的玉米半透明皱缩胚乳突变体.

扫描电镜观察结果发现,该基因突变导致胚乳中淀粉粒的形态和空间排列发生显著改变,M-E-479 突变基因可能是通过影响胚乳中淀粉粒的形成来调控玉米淀粉合成代谢. 从玉米籽粒物质含量测定数据可以看出,突变体胚乳中蛋白质和淀粉含量显著下降,脂肪含量却明显增加. 由此推测该突变基因不仅参与淀粉合成代谢,还可能参与调控玉米胚乳中脂肪、蛋白质及淀粉等储藏物质间的协同转换.

本研究将玉米胚乳突变基因定位在 10 号染色体上 SSR 分子标记 bnlgl074 与 umc1506 之间,在两标记之间尚无公布的对于定位群体具有多态性的 SSR 引物. 虽然我们已经开发与该突变基因紧密连锁的新的 SSR 分子标记,但由于筛选到的交换单株较少,目前还无法进行 M-E-479 突变基因的精细定位. 未来的研究中,我们会加大定位群体数量,筛选

更多的交换单株,完成突变基因定位、克隆和功能解析等研究工作. 这些研究的顺利进行对于未来解析半透明皱缩玉米胚乳形成机制具有重要意义.

参考文献:

- [1] 安国民,赵化春,徐世艳. 世界玉米产业现状及发展前景[J]. 世界农业,2004,303(7):38-40.
- [2] ROSSI V, HARTINGS H, THOMPSON R D, et al. Genetic and molecular approaches for upgrading starch and protein fractions in maize kernels [J]. Genetika,2000,32(3):283-301.
- [3] DOUGLAS C D. Gene expression in developing kernels of some endosperm mutants of maize[J]. Plant Cell Physiol, 1994,35(3):411-418.
- [4] DICKINSON D B, PREISS J. Presence of ADPG pyrophosphorylase activity in *sh2* and *bt2* mutants of maize [J]. Plant Physiol,1969,44(7):1058-1062.
- [5] YUN S H, MATHESON N K. Structures of the amylopectins of waxy, normal, amylose-extender, and wx; ae genotypes and of the phytylglycogen of maize[J]. Carbohydrate Res,1993, 243(2):307-321.
- [6] JAMES M G, ROBERTSON D S, MYERS A M. Characterization of the maize gene *sugary1*, a determinant of starch composition in kernels[J]. Plant Cell,1995,7(4):417-429.
- [7] BERBERICH T, SUGAWARA K, HARADA M. Molecular cloning, characterization and expression of an elongation factor 1 alpha gene in maize [J]. Plant Mol Biol, 1995,29(3):611-615.
- [8] 程红亮,陈甲法,丁俊强,等. 一个玉米叶色突变体的遗传分析与基因定位[J]. 华北农学报,2011,26(3):7-10.
- [9] FAN Z, GU H, CHEN X. Cloning and expression analysis of *Zmglp1*, a new germin-like protein gene in maize[J]. Biochem Biophys Res Commun,2005,331(4):1257-1263.
- [10] 宋同明,陆效武. 对一个玉米双重标记新突变基因(*os*)的染色体定位和初步遗传研究[J]. 遗传学报,1993,20(5):432-438.
- [11] 全国粮油标准化技术委员会. GB/T 5511—2008 谷物和豆类:氮含量测定和粗蛋白质含量计算:凯氏法[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
- [12] 全国粮油标准化技术委员会. GB/T 24902—2010 粮油检验:玉米粗脂肪含量测定:近红外法[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
- [13] 中华人民共和国农牧渔业部. NY/T 11—1985 谷物籽粒粗淀粉测定法[S]. 北京:中国标准出版社,1985.
- [14] 中华人民共和国农牧渔业部. NY/T 55—1987 水稻、玉米、谷子籽粒直链淀粉测定法[S]. 北京:中国标准出版社,1987.

(下转第 56 页)

- [7] 刘晓鹏,姜宁. 微波辅助提取辣椒中辣椒素的研究[J]. 江西师范大学学报:自然科学版, 2008,32(3):286-289.
- [8] 李鑫,马斌强,胡晓娟,等. 辣椒素的提取与分析工艺研究[J]. 江西农业学报, 2009,21(3):139-141.
- [9] 李鑫,吴莉莉,袁超,等. 辣椒素提取方法的比较研究[J]. 河南农业大学学报, 2008,42(2):231-235.
- [10] 严伟,李淑芬,田松江. 超声波协助提取技术[J]. 化工进展, 2002,21(9):649-651.
- [11] 张晶,孙长波,石磊岭,等. RP-HPLC 法测定辣椒中辣椒素、二氢辣椒素和降二氢辣椒素含量[J]. 药物分析杂志, 2011,31(2):244-246.
- [12] 邓明华. 辣椒胞质雄性不育的分子生理机制及亲缘关系研究[D]. 长沙:中南大学, 2011.
- [13] GOODWIN D C, HERTWIG K M. Peroxidase-catalyzed oxidation of capsaicinoids: Steady-state and transient-state kinetic studies [J]. Arch Biochem Biophys, 2003, 417(1):18-26.
- [14] 富宏丹,何莉莉,陈俊琴,等. 不同品种辣椒 POD 和 PPO 活性与辣椒素含量的关系[J]. 沈阳农业大学学报, 2006,37(6):479-481.
- [15] 徐毅. 干辣椒的开发前景及高产高效栽培[J]. 江西园艺, 2004,36(6):68-70.
- [16] 狄云,蒋健箴,石正强. 辣椒果实中的辣椒素类物质研究进展[J]. 食品科学, 1999,20(6):30-32.
- [17] 狄云,蒋健箴,石正强,等. 辣椒果实成熟过程中辣椒素的降减[J]. 食品科学, 2000,21(6):19-23.

【责任编辑 李晓卉】

(上接第35页)

- [15] 高玲. 水稻长护颖突变体基因图位克隆[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2005.
- [16] EMERSON R A, FRASER A C, BEADLE G W. A summary of linkage studies in maize[M]. New York: Cornell University Agricultural Experiment Station Memoir, 1935: 1-83.
- [17] MERTZ E T, BATES L S, NELSON O E. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm[J]. Science, 1964,145(2):279-280.
- [18] McWHIRTER K S. A floury endosperm, high lysine locus on chromosome 10[J]. Maize Genet Coop News Letter, 1971,45:184.
- [19] YANG W P, ZHENG Y L, ZHENG W T, et al. Molecular genetic mapping of a high-lysine mutant gene (*opaque-16*) and the double recessive effect with *opaque-2* in maize[J]. Mol Breeding, 2005, 15(3):257-269.
- [20] EAST E M, HAYES H K. Inheritance in maize[M]. New Haven: Connecticut Agricultural Experiment Station, 1911: 1-142.
- [21] VINEYARD M L, BEAR R P. Amylose content[J]. Maize Genet Coop News Lett, 1952,26:5.
- [22] SCHNABLE P S, WARE D, FULTON R S, et al. The B73 maize genome: Complexity, diversity, and dynamics [J]. Science, 2009,326(5965):1112-5.
- [23] 兰进好,张宝石. 玉米分子遗传图谱的 SSR 和 AFLP 标记构建[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2004,32(12):28-37.
- [24] WANG G, SUN X, WANG G. *Opaque7* encodes an acyl-activating enzyme-like protein that affects storage protein synthesis in maize endosperm[J]. Genetics, 2011, 189(4):1281-1295.
- [25] 孙大元,肖武名,杨祁云,等. 空间诱变水稻 DH104 的稻瘟病抗性分析及抗病基因定位[J]. 华南农业大学学报, 2011,32(3):18-21.
- [26] GARDINER J, SCHROEDER S, Mary L. Anchoring 9, 371 maize expressed sequence tagged unigenes to the bacterial artificial chromosome contig map by two-dimensional overgo hybridization[J]. Plant Physiol, 2004, 134(4):1317-1326.
- [27] SODERLUND C, DESCOUR A, KUDRNA D. Sequencing, mapping, and analysis of 27,455 maize full-length cDNAs[J]. PLOS Genetics, 2009,5(11):1-13.
- [28] JONES M W, BOYD E C, REDINBAUGH M G. Responses of maize (*Zea mays* L.) near isogenic lines carrying Wsm1, Wsm2, and Wsm3 to three viruses in the potyviridae[J]. Theor Appl Genet, 2011,123(5):29-40.

【责任编辑 李晓卉】