

研究报告

Research Report

功能稻紫宝香糯 1 号维生素 A 合成相关 QTL 定位

周大虎^{1,2,3} 杜慧^{1,2,3} 黎毛毛⁴ 谢薇^{1,2,3} 边建民^{1,2,3} 彭小松^{1,2,3} 傅军如^{1,2,3} 贺浩华^{1,2,3*}

1 江西农业大学农学院, 南昌, 330045; 2 江西省作物生理生态与遗传育种教育部重点实验室, 南昌, 330045; 3 江西省超级稻工程技术研究中心, 南昌, 330045; 4 江西省农业科学院, 水稻研究所, 南昌, 330200

* 通信作者, hhhua64@163.com

摘要 随着人们生活水平的日益提高, 富含各种营养成分且具有保健功效的功能稻也越来越受到关注。挖掘和利用功能稻中的相关内源基因来用于育种实践显得尤为重要。本研究利用富含天然维生素 A (VA) 的功能稻品种紫宝香糯 1 号作为实验材料, 通过与 93-11 进行正反交构建遗传群体, 并测定其 F1 代及 F2 代群体的 VA 含量, 表明 VA 合成是隐性核基因控制的数量性状。为了进一步对控制水稻含 VA 性状的基因进行 QTL 定位分析, 利用紫宝香糯 1 号与明恢 63 通过单粒传构建重组自交系(RIL)并绘制遗传图谱, 最终定位了 3 个与 VA 性状相关的 QTL, 这些结果为调控 VA 合成相关基因的精细定位和富含 VA 新型功效稻选育提供依据。

关键词 功能稻; 维生素 A; 重组自交系; QTL 定位

Vitamin A Synthesis Related QTL Mapping in Functional Rice Zibaoxiangnuo 1

Zhou Dahu^{1,2,3} Du Hui^{1,2,3} Li Maomao⁴ Xie Wei^{1,2,3} Bian Jianmin^{1,2,3} Peng Xiaosong^{1,2,3} Fu Junru^{1,2,3} He Haohua^{1,2,3*}

1 College of Agronomy, Jiangxi Agricultural University, Nanchang, 330045; 2 Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Genetic Breeding, Ministry of Education, Jiangxi province, Nanchang, 330045; 3 Research Center of Super Rice Engineering and Technology, Jiangxi Province, Nanchang, 330045; 4 Rice Research Institute, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang, 330200

* Corresponding author, hhhua64@163.com

DOI: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0054

Abstract The functional rice, as a new and special rice variety, has some special composition to balance and adjust to the body's physiological functions. So far, Zibaoxiangnuo 1 (ZBXN) is the first functional rice in the world, which contains natural endogenous genes derived from cultivated rice associated with vitamin A (VA). In the experiment, we used ZBXN and 93-11 to do reciprocal crosses, and generated F1 generation and F2 population. Through measuring the VA content of each plant we could analyze the genetic mechanism of the VA trait. Meanwhile we built a recombinant inbred line (RIL) derived from ZBXN and Minghui 63 by A single pass. Then we structured a genetic mapping, and mapped the QTLs controlling VA trait in rice and carried out effect analysis. Finally, we mapped three QTLs about VA trait, this would provide the foundation for fine mapping of genes and breeding some new rice varieties containing a lot of VA.

Keywords Functional rice; Vitamin A; Recombinant inbred lines; QTL mapping

本文首次发表在《分子植物育种》上, 现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License, 协议对其进行授权, 再次发表与传播

收稿日期: 2020 年 11 月 20 日; 接受日期: 2020 年 11 月 23 日; 发表日期: 2020 年 11 月 30 日

引用格式: 周大虎, 杜慧, 黎毛毛, 谢薇, 边建民, 彭小松, 傅军如, 贺浩华, 2020, 功能稻紫宝香糯 1 号维生素 A 合成相关 QTL 定位, 分子植物育种 (网络版) 18(54): 1-7 (doi: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0054) (Zhou D.H., Du H., Li M.M., Xie W., Bian J.M., Peng X.S., Fu J.R., and He H.H., 2020, Vitamin A synthesis related QTL mapping in functional rice Zibaoxiangnuo 1, Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding (online)), 18(54): 1-7 (doi: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0054))

水稻是世界上一半以上人口的主食作物, 稻米的营养价值在饮食中具有非常重要的地位, 因此将水稻开发成具有保健作用的功能性产品是势在必行的。功能型水稻是指富含特殊的营养成分, 且食用后能改善人体生理功能的新型水稻品种或组合, 同时这些水稻品种中的营养物质具有稳定遗传特性(廖江林等, 2003)。目前, 富含维生素、抗性淀粉和某种氨基酸等功能型水稻品种已相继被选育出来, 食用这些功能水稻可以有效改善维生素缺乏、缺铁性贫血症等营养缺乏症状, 同时也可以预防一些高血压和糖尿病等疾病(陈光等, 2005; 朱秀灵等, 2005; 刘仲华等, 2007; 张祥喜等, 2007; Englyst et al., 2010)。紫宝香糯 1 号是江西省玉山县特种水稻研究开发中心育成的紫色功能稻, 是当前世界上第一个栽培稻内源基因型含天然维生素 A 的水稻品种, VA 含量为 11 IU/100g, 其基因是天然无公害优质基因, 也是维生素 A 合成相关的优质基因(刘克琦等, 2010a; 2010b)。目前利用紫宝香糯已开发出系列功能性食品, 产生了显著的社会和经济效益。因此, 利用分子技术对维生素 A 相关基因进行分离克隆, 并将相关基因用于改良和培育富含天然维生素 A 的营养保健型食用新品种, 是一项为人类造福的事业。

QTL 定位和图位克隆作为数量性状相关基因克隆的有效方法, 已经在许多作物重要性状研究中发挥重大作用。QTL 定位一般需要合适的群体和分子标记, 同时要选择恰当的定位分析方法和工具。重组自交系(RIL)群体作为 QTL 初步定位的群体, 是 F2 个体通过单粒传或单穗传方式自交多代(5 代以上), 杂合位点不断分离重组纯合获得。RIL 群体作为一种永久保存群体, 群体一旦构建成功, 并对各家系基因分型后, 可以同时多地多年考察研究多个性状。

本研究用紫宝香糯 1 号与 93-11 正反交, 测定其 F1 及 F2 群体各株系维生素 A 含量, 对紫宝香糯 1 号维生素 A 性状进行遗传分析。同时以紫宝香糯 1 号为母本, 明恢 63 为父本构建了 RIL F5 代群体, 测定各家系的维生素 A 含量; 并利用 SSR 引物对每个家系进行基因分型绘制遗传图谱; 最终将基因型与表型性状结合初步定位维生素 A 合成相关 QTL, 为水稻含维生素 A 性状的精细定位与克隆提供依据。

1 结果与分析

1.1 紫宝香糯 1 号维生素 A 性状的遗传分析

由紫宝香糯 1 号做母本, 93-11 做父本杂交和

93-11 做母本, 紫宝香糯 1 号做父本杂交分别获得 F1 代种子, 同时用紫宝香糯 1 号 /93-11 杂交 F1 代产生 F2 群体, 通过对双亲和杂交后代的维生素 A 含量分析检测发现, 紫宝香糯 1 号维生素 A 含量为 10 IU/100 g, 93-11 含量为 0, 紫宝香糯 1 号 /93-11 F1 代和 93-11/ 紫宝香糯 1 号 F1 代含量都为 0。F2 代群体含量变化比较大, 含量最高达到 233.87 IU/100 g, 最低为 0。F2 群体一共 200 个家系, 其中含有维生素 A 的单株数为 30, 其余 170 株含量为 0, 分离比例为 5.67, 不符合孟德尔遗传分离比例。分析表明, 维生素 A 合成是隐性核基因控制的数量性状。

1.2 RIL 群体遗传图谱构建和含维生素 A 的性状相关 QTL 定位

选取 R15 代重组自交系中种子量足够的 153 个家系, 与亲本紫宝香糯 1 号和明恢 63 一起进行维生素 A 含量检测, 检测结果情况分布(图 1)。其中亲本紫宝香糯 1 号含量为 10 IU/100g, 明恢 63 含量为 0。R15 代重组自交系群体中有 111 个家系检测含有维生素 A 另外有 42 个家系不含维生素 A。水稻糙米中维生素 A 含量呈现向低含量的偏态分离(图 2), 各家系的含量处于两亲本之间, 并且呈连续分布。该结果表明, 水稻糙米维生素 A 含量由多基因控制。

1.3 维生素 A 性状 QTL 定位

利用 QTL IciMapping 4.0 对 200 个家系的带型进行分析, 构建了一个包含 156 个标记的遗传图谱(图 3); 其中总图距约 1 084.91 cM, 标记间图距范围为 0.27~27.95 cM, 平均间距 7.53 cM。所构建图谱可以满足 QTL 定位要求, 并且与已经公布的水稻高密度遗传图谱一致性较好。

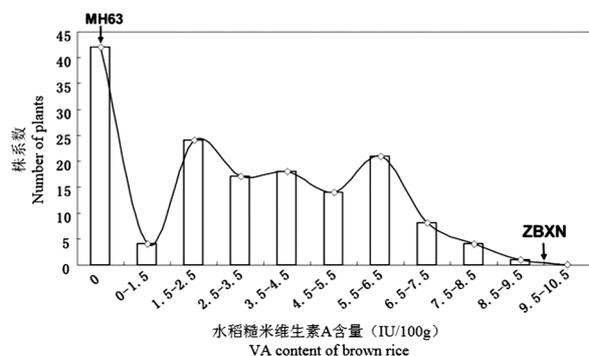


图 1 重组自交系群体糙米维生素 A 含量的分布
注: ZBXN: 紫宝香糯 1 号; MH63: 明恢 63

Figure 1 Vitamin A content distribution for recombinant inbred lines group

Note: ZBXN: Zibaoxiangnuo 1; MH63: Minghui 63

利用 QTL IciMapping 4.0 软件,采用完备区间作图法(ICIM)对 RIL 群体各家系糙米的维生素 A 含量进行 QTL 定位分析。最终在第 5 和 6 号染色体上共找到 3 个水稻维生素 A 相关 QTLs (表 1; 图 2; 图 3), 并依据 McCouch 水稻命名方法, 分别命名为 qVA5、qVA6-1、qVA6-2, 对表型变异的贡献率分别为 9.25%、18.95%、8.99%, 3 个 QTL 共同解释的表型变异为 37.19%。其中位于 6 号染色体 RM3187~RM3827 间的 qVA6-1 的贡献率为 18.95%, 为主效 QTL, 增效基因来源于紫宝香糯 1 号; 位于 5 号染色体 RM169~RM289 间的 qVA5 和 6 号染色体 RM162~RM528 间的 qVA6-2 的增效基因来源于明恢 63。

2 讨论

为了让主要的粮食作物水稻富含维生素 A, 解决人类缺乏维生素 A 的问题, 德国、瑞士、英国等不同国家的科学家(Ye et al., 2000; Beyer et al., 2002; Paine et al., 2005), 通过将外援胡萝卜素合成基因转入水稻中, 获得胚乳含胡萝卜素的转基因品系, 人们通过食用含胡萝卜素的稻米, 在体内将胡萝卜素转换成维生素 A。然而本研究的地方品种紫宝香糯 1 号

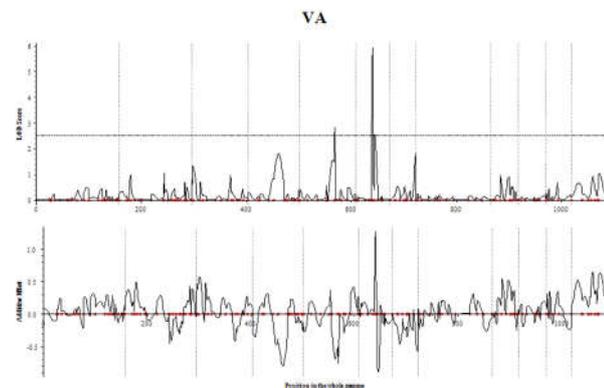


图 2 完备区间作图法定位维生素 A 含量 QTL 的图谱
Figure 2 Graph of mapping QTL for vitamin a content using ICIM method

表 2 紫宝香糯 1 号/明恢 63 RIL 群体维生素 A 合成相关 QTL 定位

Table 2 QTL mapping about vitamin A content for Zibaoxiangnuo 1/ Minghui 63 RIL group

染色体	QTL 名称	位置(cM)	标记区间	LOD 值	贡献率(%)	加性效应	等位基因来源
Chromosome	QTL name	Location	Marker interval	LOD value	Contribution value (%)	Additive effect	ALLELE source
5	qVA5	67	RM169~RM289	2.82	9.25	-0.76	明恢 63 Minghui 63
6	qVA6-1	32	RM3187~RM3827	5.91	18.95	1.27	紫宝香糯 1 号 Zibao Xiangnuo No.1
6	qVA6-2	37	RM162~RM528	2.54	8.99	-0.88	明恢 63 Minghui 63

自身就含有维生素 A, 因此, 人们可以直接食用该品种来补充体内的维生素。另外研究者还发现在不同种植地区对紫宝香糯 1 号维生素 A 含量的影响不大(刘克琦, 2011)。杨玉梁等(2013)人研究发现, 紫宝香糯 1 号维生素 A 合成相关基因在后代中能够稳定表达, 并且在不同品种间可以通过杂交的方式进行转移。本试验利用紫宝香糯 1 号与不含维生素 A 的 93-11 正反交 F1 代及 F2 分离后代维生素 A 含量测定发现, 紫宝香糯中维生素 A 含量是由隐形核基因控制的数量性状。

同时, 本试验用于 QTL 定位的重组自交系群体与用于遗传分析的 F2 代群体的维生素 A 含量分布存在较大差异, 其中 F2 代群体中含维生素 A 的家

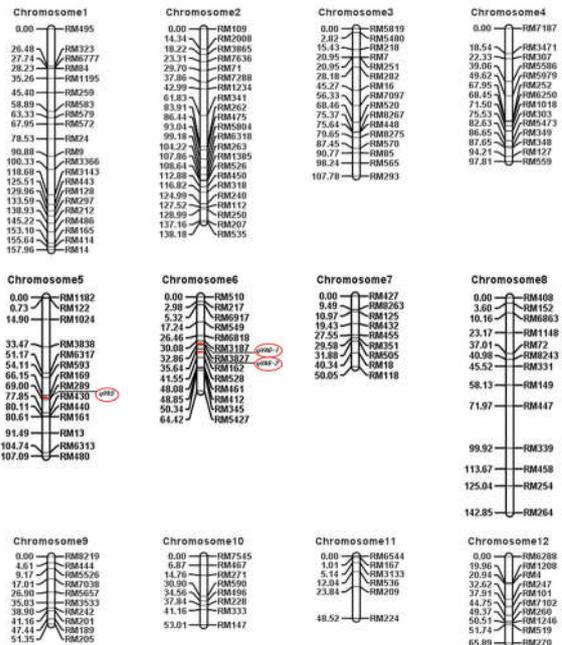


图 3 RIL 群体维生素 A 含量的 QTL 定位图谱
注: 红色标注代表水稻维生素 A 相关 QTL
Figure 3 Map Locations of QTLs associated with vitamin A content of RIL populations
Note: Red indicates the QTL associated with vitamin A

系占少数,而重组自交系群体中含维生素的家系占多数。从遗传角度来看,维生素 A 合成基因由隐性基因控制,F₂ 代群体许多家系还处于杂合状态,未表现出含维生素 A 的性状;RIL 群体许多位点已经纯合,隐性性状可以表现出来。同时,由于 F₂ 代群体是在浙江省食品质量监督检验站检测完成,检出线为 2 IU/100g,RIL 群体由江西省分析测试中心检测完成,2 IU/100 g 以下也可以检测出来。对 RIL 群体维生素 A 含量的检测分析进一步证实,维生素 A 合成由隐性多基因控制。

目前关于维生素 A 相关的 QTL 还未见报道,但在维生素 A 原一类胡萝卜素合成相关基因和 QTL 的研究方面,人们已经获得了一些进展。研究者用甘蓝品种 VI-158 和 BNC 构建了一个 F₂:3 群体,通过 SNP 芯片分型构建了一张平均间距 1.7 cM 的高密度遗传图谱,利用两年的类胡萝卜素含量数据鉴定出 3 个相关 QTL,可以解释 50%以上的表型变异(Brown et al., 2014)。除此之外,还有研究者利用两个土豆二倍体群体通过全基因组 QTL 定位的方法,在 3 号染色体上找到了一个两群体共有的主效 QTL,对土豆块茎类胡萝卜素含量变异的贡献率为 71%,但发现类胡萝卜素成分组成相关的 QTL 仅可以解释很小的变异(Campbell et al., 2014);同时在一个群体中找到一个可以解释 20%变异的次主效 QTL,位于 9 号染色体上;分析发现位于 3 号染色体上的 QTL 可能是一个编码 β 胡萝卜素羟化酶的基因,而位于 9 号染色体上的 QTL 可能是未知的类胡萝卜素合成基因(Campbell et al., 2014)。在玉米中,维生素 A 原生物合成相关基因已经有许多被定位和克隆,其中两个单拷贝基因 PDS 和 ZDS 分别被定位在 1 号和 7 号染色体(Hable et al., 1998; Matthews et al., 2003),利用转座子标签技术定位并克隆了 LCYB 基因(Singh and Brutnell, 2003)。同时,研究发现玉米粒中类胡萝卜素水平与 *LCYE*、*crtR1*、*PSY1* 基因的多态有关联,因此基于 PCR 的功能标记已经被开发出来用于含类胡萝卜素玉米品种的选育(Harjes et al., 2008; Yan et al., 2010; Zhou et al., 2012)。

本试验利用紫宝香糯 1 号与明恢 63 构建重组自交系群体,采用水稻基因组上公布的 SSR 标记对群体中 200 个家系进行基因分型,构建了一个总图距约 1 084.91 cM,标记间平均间距为 7.53 cM 的遗传图谱。利用该图谱结合 153 个有表型的家系进行了 QTL 定位分析,检测到 3 个 QTL,位于 5 和 6 号染色体上,其中位于 6 号染色体的 qVA6-1,贡献率

为 18.95%,为主效 QTL,增效基因来源于紫宝香糯 1 号;另外两个 QTLs 对表型变异的贡献率分别为 9.25%、8.99%,增效基因来源于明恢 63。由此结果,可以在以后研究中进一步扩大群体,对主效 QTL 所在区间加密标记,找到紧密连锁的标记,用于精细定位和辅助育种。另外,本试验中检测到的维生素 A 含量高的家系可以作为育种中间材料,用于选育富含维生素 A 的高产优质新品种。

3 材料与方法

3.1 试验材料及群体构建

利用江西省玉山县特种水稻研究开发中心提供的富含维生素 A 功能稻紫宝香糯 1 号,以及不含维生素 A 品种 93-11 和明恢 63 作为亲本材料。连续三年在南昌和三亚两地穿梭种植群体构建材料,田间种植株行距为 16.7 cm×20 cm,全部采用单本插秧。田间管理肥水管理参照当地大田生产进行。

用紫宝香糯 1 号和 93-11 进行正反交,分别收取 F₁ 种子,用于检测维生素 A 含量和构建 F₂ 代群体;F₂ 群体种植时采取种一株空两株的,待植株分蘖到 10 个左右,将其拔出拔成三株,再分三株重新插秧继续生长,待单株成熟收取所有种子用于检测维生素 A 含量。

以紫宝香糯 1 号为母本,明恢 63 为父本进行杂交,F₁ 代收其中一株的种子(大约 400 粒);将 F₁ 代收的种子全部播种,随机拔取 200 株苗种植,种子成熟后,每株只收主茎穗;F₃,F₄,F₅ 代播种时,将上一代收的整穗直接种植(按照单穗种植方式),每穗随机拔取一株苗种植;其中 R₁₅ 代种植时采取种一株空两株的方式,待植株分蘖到 6~10 个左右,为了保障后续种子量,将其掰孽分三株重新插秧继续生长,待单株成熟收取所有种子用于留种和检测维生素 A 含量(表 2)。

用 516 对引物对两亲本筛选,找出存在多态的引物用于 RIL 群体中各家系的基因分型。

3.2 PCR 扩增及电泳分析

采用十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法(Murray and Thompson, 1980)(略有改进)提取水稻分蘖期叶片 DNA,-20℃保存。PCR 扩增采用 10 μL 体系:1 μL 10×Buffer,0.2 μL dNTP Mix (各 2 mmol/L),2 μL 引物(F/R 各 2 μmol/L),0.1 μL *rTaq* 酶,1 μL DNA 模板,ddH₂O 补足至 10 μL。PCR 程序:94℃预变性 2 min;94℃变性 30 s,50℃退火 30 s,72℃延伸

表 2 试验材料构建时间计划

Table 2 Time plan for building experimental materials

时间	事宜	地点
Time	Task list	Site
2012.1~2012.4	用紫宝香糯 1 号和 93-11, 明恢 63 杂交 Hybridize Zibaoxiangnuo No.1 with 93-11 and Minghui 63	三亚 Sanya
2012.6~2012.9	获取紫宝香糯 1 号和 93-11 正反交 F1 种子, 紫宝香糯与明恢 63 F1 代种子 The reciprocal F1 seeds of Zibaoxiangnuo No.1 and 93-11, F1 generation seeds of Zibaoxiangnuo and Minghui 63 were obtained	南昌 Nanchang
2013.1~2012.4	种植紫宝香糯 1 号 /93-11, 紫宝香糯 1 号 / 明恢 63 F2 代 Planting hybrid F2 generation from Zibaoxiangnuo No.1/93-11, Zibaoxiangnuo No.1/Minghui 63	三亚 Sanya
2013.6~2012.9	单粒传种植紫宝香糯 1 号 / 明恢 63 RI3 代 Single seed transfer planting RI3 from Zibaoxiangnuo No.1/Minghui 63	南昌 Nanchang
2014.1~2012.4	单粒传种植紫宝香糯 1 号 / 明恢 63 RI4 代 Single seed transfer planting RI4 from Zibaoxiangnuo No.1/Minghui 63	三亚 Sanya
2014.6~2012.9	单粒传种植紫宝香糯 1 号 / 明恢 63 RI5 代 Single seed transfer planting RI5 from Zibaoxiangnuo No.1/Minghui 63	南昌 Nanchang

30 s, 设置 35 个循环; 72 °C 5 min。PCR 产物采用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分析, 电泳结果经 0.1% 硝酸银染色, 蒸馏水洗涤, 1.5% NaOH 溶液显色后, 观察带形。

3.3 糙米中维生素 A 含量检测

将每个家系的材料从田间收取回来整理好, 置于干燥处风干, 保存于 4 °C 冷柜中; 当测定后代 VA 含量时, 用砻谷机去除每个家系稻谷的米糠, 得到糙米; 然后用样品粉碎仪将糙米打成粉末。

所有亲本及后代材料的维生素 A 含量检测均参照《食品中维生素 A 和维生素 E 的测定》(中华人民共和国国家标准 5009.82—2003) 中维生素 A 检测高效液相色谱法的步骤, 其检出线为 2 IU/100 g, 分别由浙江省食品质量监督检验站和江西省分析测试中心检测完成。

3.4 遗传图谱构建和含维生素 A 性状相关 QTL 定位

根据两亲本基因型, 分别读取 RIL 群体 200 个家系的基因型。对这些数据进行初步整理, 利用中国农科院作物所王建康课题组开发的 QTL IciMapping 4.0 软件中 MAP 功能构建遗传图谱。

将 RIL 群体的维生素 A 含量数据与遗传距离数据整理到一起, 导入 QTL IciMapping 4.0, 利用 BIP 功能的 ICIM 算法进行 QTL 分析。

作者贡献

周大虎、杜慧、谢薇和贺浩华是本研究的实验设

计者和实验研究的执行人, 周大虎和杜慧完成数据分析, 论文初稿的撰写; 贺浩华和黎毛毛是项目的构思想者及负责人, 指导实验设计和数据分析; 边建民、彭小松和傅军如参与实验设计, 实验执行, 论文修改和数据分析。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家自然科学基金(31360326)和江西省重大科技创新项目(2012ACB00500)共同资助。

参考文献

- Beyer P., Al-Babili S., Ye X.D., Lucca P., Schaub P., Welsch R., and Potrykus I., 2002, Golden rice: introducing the beta-carotene biosynthesis pathway into rice endosperm by genetic engineering to defeat vitamin a deficiency, *J. Nutr.*, 132(3), 506S-510S
- Brown A.F., Yousef G.G., Chebroolu K.K., Byrd R.W., Everhart K.W., Thomas A., Reid R.W., Parkin I.A., Sharpe A.G., Oliver R., Guzman I., and Jackson E.W., 2014, High-density single nucleotide polymorphism (SNP) array mapping in *Brassica oleracea*: identification of QTL associated with carotenoid variation in broccoli florets, *Theor. Appl. Genet.*, 127(9): 2051-2064
- Campbell R., Pont S.D., Morris J.A., McKenzie G., Sharma S.K., Hedley P.E., Ramsay G., Bryan G.J., and Taylor M.A., 2014, Genome-wide QTL and bulked transcriptomic analysis reveals new candidate genes for the control of tuber carotenoid content in potato (*Solanum tuberosum* L.), *Theor. Appl. Genet.*, 127(9): 1917-1933

- Chen G., Gao J.P., Wang G., and Xue J., 2005, Functional characteristics of resistant starch and present situations of researches on its application, *Jilin Nongye Daxue Xuebao (Journal of Jilin Agricultural university)*, 27(5): 678-700 (陈光, 高俊鹏, 王刚, 薛健, 2005, 抗性淀粉的功能特性及应用研究现状, *吉林农业大学学报*, 27(5): 678-700)
- Englyst H.N., Anderson V., and Cummings J.H., 2010, Starch and non-starch polysaccharides in some cereal foods, *J. Sci. Food Agric.*, 34(12): 1434-1440
- Harjes C.E., Rocheford T.R., Bai L., Brutnell T.P., Kandianis C. B., Sowinski S.G., Stapleton A.E., Vallabhaneni R., Williams M., Wurtzel E.T., Yan J., and Buckler E.S., 2008, Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification, *Science*, 319(5861): 330-333
- Hable W.E., Oishi K.K., and Schumaker K.S., 1998, *Viviparous-5* encodes phytoene desaturase, an enzyme essential for abscisic acid (ABA) accumulation and seed development in maize, *Molecular & General Genetics Mgg.*, 257(2): 167-176
- Liao J.L., Xiao G.Y., Li Y.S., and Li D.M., 2003, Developing progress and strategy of functional nutritional rice in China, *Nongye Xiandaihua Yanjiu (Research of Agricultural Modernization)*, 24(3): 170-173 (廖江林, 肖国樱, 李阳生, 李达模, 2003, 我国功能营养稻研究进展及发展对策, *农业现代化研究*, 24(3): 170-173)
- Liu K.Q., 2011, Breeding and genetic analysis of rich in vitamin A functional rice, Dissertation for Ph.D., Jiangxi Agriculture University, Supervisor: He H.H., pp.65-66 (刘克琦, 2011, 含维生素 A 功能稻的选育及遗传分析, 博士学位论文, 江西农业大学, 导师: 贺浩华, pp.65-66)
- Liu K.Q., Yang Y.L., Guo L.P., Li M.M., and He H.H., 2010, Analysis on combining ability of major agronomic characteristics in two-line special hybrid rice with vitamin A, *Jiangxi Nongye Daxue Xuebao (Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis)*, 32(2): 247-253 (刘克琦, 杨玉梁, 郭龙平, 黎毛毛, 贺浩华, 2010a, 含维生素 A 两系特种杂交稻主要农艺性状的配合力分析, *江西农业大学学报*, 32(2): 247-253)
- Liu K.Q., Yang Y.L., Li M.M., Guo L.P., Lan Y.R., Zhou X.H., Hu C.Z., Zhou W.H., He H.H., and Zhang Y., 2010, Breeding and utilization of rich vitamin A function rice *Zibaoxiangnuo1*, *Zhiwu Yichuan Ziyuan Xuebao (Journal of Plant Genetic Resources)*, 11(6): 823-826 (刘克琦, 杨玉梁, 黎毛毛, 郭龙平, 兰义荣, 周晓华, 胡长战, 周文红, 贺浩华, 张玉, 2010b, 含维生素 A 功能稻紫宝香糯 1 号的选育与利用, *植物遗传资源学报*, 11(6): 823-826)
- Liu Z.H., Li L.P., Zeng H.Y., Zeng X.J., Ma J.W., and Weng Z.Q., 2010, Progress of functional rice research today, *Guangdong Weiliang Yuansu Kexue (Guangdong Trace Elements Science)*, 17(12): 13-20 (刘仲华, 李来平, 曾海燕, 曾霞娟, 马杰文, 翁志强, 2010, 国内外功能性稻米研究进展, *广东微量元素科学*, 17(12): 13-20)
- Matthews P.D., Luo R., and Wurtzel E.T., 2003, Maize phytoene desaturase and zeta-carotene desaturase catalyze a poly-Z desaturation pathway: implications for genetic engineering of carotenoid content among cereal crops, *J. Exp. Bot.*, 54(391): 2215-2230
- Murray M.G., and Thompson W.F., 1980, Rapid isolation of high molecular weight plant DNA, *Nucleic Acids Research*, 8(19): 4321
- Paine J.A., Shipton C.A., Chaggar S., Howells R.M., Kennedy M.J., Vernon G., Wright S.Y., Hinchliffe E., Adams J.L., Silverstone A.L., and Drake R., 2005, Improving the nutritional value of golden rice through increased pro-vitamin A content, *Nat. Biotechnol.*, 23(4): 482-487
- Singh M., and Brutnell T.P., 2003, Activator mutagenesis of the *Pink scutellum1/viviparous7* locus of maize, *Plant Cell*, 15(4): 874
- Yan J., Kandianis C.B., Harjes C.E., Bai L., Kim E.H., Yang X., Skinner D.J., Fu Z., Mitchell S., Li Q., Fernandez M.G., Zaharieva M., Babu R., Fu Y., Palacios N., Li J., Dellapenna D., Brutnell T., Buckler E.S., Warburton M.L., and Rocheford T., 2010, Rare genetic variation at *Zea mays crtRB1* increases beta-carotene in maize grain, *Nat. Genet.*, 42(4): 322-327
- Yang Y.L., Fu J.R., Liu K.Q., Wang J.L., Yang P.H., Li J.W., Zhan H.Y., Mao H.F., and Wu T.L., 2013, Breeding and utilization of two-line restoring line "Zihui 07" with vitamin A, *Jiangxi Nongye Xuebao (Acta Agriculturae Jiangxi)*, 25(4): 5-7 (杨玉梁, 傅军如, 刘克琦, 万建林, 杨屏华, 李健文, 占唤永, 毛海富, 吴通礼, 2013, 含维生素 A 两系恢复系紫恢 07 的选育与应用, *江西农业学报*, 25(4): 5-7)
- Ye X., Al-Babili S., Kl?ti A., Zhang J., Lucca P., Beyer P., and Potrykus I., 2000, Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm, *Science*, 287(5451): 303-305
- Zhang X.X., Yuan L.F., Liu K., Wei B.H., and Luo L.G., 2007, Research progress in giant-embryo functional rice rich in gamma-amino butyric acid (GABA), *Jiangxi Nongye Xuebao (Acta Agriculturae Jiangxi)*, 19(1): 36-39 (张祥喜, 袁林峰, 刘凯, 魏本华, 罗林广, 2007, 富含 γ -氨基丁酸(GABA)的巨胚功能稻研究进展, *江西农业学报*, 19(1): 36-39)
- Zhou Y., Han Y.J., Li Z.G., Fu Y., Fu Z.Y., Xu S.T., Li J.S., Yan J.B., and Yang X.H., 2012, *ZmcrtrB3* encodes a carotenoid hydroxylase that affects the accumulation of α -carotene in maize kernel, *Journal of Integrative Plant Biology*, 54(4): 260-269
- Zhu X.L., Che Z.M., Xu W., Jiao Y.P., and Xiong H., 2005, The

advancement of the physiological functions and extraction technology of β -carotene, Xihua Daxue Xuebao (Journal of Xihua University (Natural Science Edition)), 24 (1): 71-76

(朱秀灵, 车振明, 徐伟, 焦云鹏, 熊华, β -胡萝卜素生理功能及提取技术的研究进展, 2005, 西华大学学报 (自然科学版), 24(1): 71-76)