

基于诊断标记的 LOX-1 活性缺失大麦种质鉴定评价

赵海鹏^{1,2}, 赵雪芳², 孙建^{1,2}, 窦婷语², 张仁旭², 阿卜来提·阿力木², 郭爱奎²,
王春超², 王化俊¹, 张京², 孟亚雄¹, 郭刚刚^{1,2}

(¹ 甘肃农业大学农学院 / 甘肃省干旱生境作物学重点实验室 / 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室,

兰州 730070; ² 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 在啤酒酿造和储藏过程中, 所含脂类物质代谢是影响啤酒风味稳定性和啤酒货架期长短的主要原因。研究表明, 大麦脂肪氧化酶 1 (LOX-1) 是导致籽粒中脂类代谢的关键酶, 筛选和创制 LOX-1 活性缺失 (null LOX-1) 的大麦种质是促进啤酒大麦品质育种的有效途径。为提高检测效率, 针对前期鉴定出的中国 null LOX-1 大麦稀有 SNP 功能变异, 开发出特异性 KASP 快速诊断标记, 并利用该标记对来源于河南和山东两省的 633 份大麦地方品种进行鉴定评价, 共计筛选出 8 份 LOX-1 活性缺失新种质, 同时明确了该变异的地理分布及其在不同地方品种中的变异频率。本研究不仅为啤酒大麦分子辅助育种提供了优异种质和快速检测手段, 也为大麦种质资源遗传完整性保护与利用提供了参考。

关键词: 大麦; 种质资源; 遗传完整性; 鉴定评价

Diagnostic Marker Based Null LOX-1 Barley Germplasm Identification

ZHAO Hai-peng^{1,2}, ZHAO Xue-fang², SUN Jian^{1,2}, DOU Ting-yu², ZHANG Ren-xu²,
ABLAT Alim², GUO Ai-kui², WANG Chun-chao², WANG Hua-jun¹, ZHANG Jing²,
MENG Ya-xiong¹, GUO Gang-gang^{1,2}

(¹ College of Agronomy, Gansu Agricultural University/Key Laboratory of Arid Land Crop Science in
Gansu Province/Gansu Key Laboratory of Crop Improvement and Germplasm Enhancement, Lanzhou 730070;

² Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: The components, which are derived from the lipid metabolism of barley malt, destabilizes the beer flavor and its shelf life in the brewing industry. The lipoxygenase 1 (LOX-1) has been approved as the key enzyme involved in lipid metabolism in barley seeds. The identification and development of null LOX-1 barley germplasm might be of interest to promote high-quality malting barley breeding. By taking use of the previously-identified null LOX-1 Chinese barley rare allelic variation, here a Kompetitive Allele Specific PCR (KASP) based diagnostic marker was generated and subjected for a test in 633 barley landraces which originated from Shandong and Henan province. A total of eight null LOX-1 barley accessions were identified, the geographic distribution and the allele frequency were further investigated. Taken together, this work provided LOX-1 free germplasm accessions valuable for the malting barley breeding especially in conjugation with the newly-generated KASP diagnostic

收稿日期: 2020-04-05 修回日期: 2020-04-25 网络出版日期: 2020-05-08

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20200405001>

第一作者研究方向为生物技术育种, E-mail: 18194212091@163.com

通信作者: 孟亚雄, 研究方向为生物技术育种, E-mail: yxmeng1@163.com

郭刚刚, 研究方向为大麦种质资源保护与鉴定评价, E-mail: guoganggang@caas.cn

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD1000706-1); 小宗作物种质资源保护与利用专项 (2019NWB036-06); 国家大麦青稞产业技术体系建设专项 (CARS-05)

Foundation projects: The National Key R&D Program of China (2018YFD1000706-1), The Conservation and Utilization for Crop Germplasm Resources (2019NWB036-06), The China Agriculture Research System (CARS-05)

marker. Moreover, this study is an example that highlights the importance of the barley genetic integrity in conservation and utilization of germplasm resources.

Key words: barley; germplasm resources; genetic integrity; identification and evaluation

随着人们生活水平和消费水平的不断提高,我国啤酒消费需求正由量的增加逐步转变为质的提升。在啤酒工业中,啤酒的风味稳定性(醇度)和货架寿命(鲜度)是衡量啤酒品质的重要指标^[1-3]。

研究表明,脂类物质代谢是影响啤酒风味稳定性和啤酒货架寿命的主要原因。在啤酒加工储藏过程中,脂肪氧化酶(LOX)参与催化亚油酸的氧化反应,使抗氧化性下降,加速麦汁和成品啤酒的老化^[4]。具体过程为:由 LOX-1 催化 9-HPOD 产生^[5-7],在 HPL 等酶的进一步作用下转化为三羟基十八烯酸(THODs)和反-2-壬烯醛(T2N)^[8-10],其中 THODs 影响啤酒的泡沫稳定性,并使啤酒产生涩味,影响啤酒品质^[8, 11-12],而 T2N 是啤酒老化物质,严重影响啤酒的风味和货架寿命^[9, 12-13]。由于当前啤酒酿造工艺日臻完善,通过改变生产工艺来降低脂肪氧化酶活性、提高啤酒品质,存在能耗高、成本增加等问题^[8, 11-12]。因此,通过筛选低或无 LOX-1 活性的优异种质,培育高品质啤酒大麦新品种,对于提升麦芽加工品质,提高啤酒质量和生产效益等都具有重要意义。

在 LOX-1 活性缺失种质资源鉴定、种质创新和育种方面, Hirota 等^[14]利用 CDC Kendall 与无 LOX-1 活性的地方品种 SBOU2 杂交获得的 F₂ 群体进行了遗传分析和育种应用; Oozeki 等^[15]从日本大麦种质中鉴定出脂肪氧化酶缺失的大麦品种,并通过 LOX 活性测定和分子标记辅助选择,选育出脂肪氧化酶缺失的高产大麦新品种。此外, Hoki 等^[16]通过连续回交和分子标记辅助选择,将品种“Satuiku 2 go”中 LOX-1 的缺失基因成功导入到春大麦品种 Ryohfu 中。本团队从 1083 份中国大麦种质资源中,筛选出 4 份 LOX-1 活性缺失种质,等位变异分析发现 *Lox-1* 基因第 2 内含子存在的 1 个稀有 SNP 变异,导致转录剪接位点改变和移码突变^[17]。针对前期开发的等位基因特异性标记(AS-PCR)对 DNA 模板质量要求高,在分子标记辅助选择育种应用中易受反应体系与反应程序的影响等问题,本研究进一步开发出稳定性和效率更高的竞争性等位基因特异性 PCR(Kompetitive allele specific PCR, KASP)快速诊断标记,同步开展了该

变异在中国大麦地方品种中的地理分布和变异频率分析。

1 材料与方法

1.1 试验材料

根据前期研究结果,中国大麦 null LOX-1 稀有变异仅存在于山东、河南两省种质中^[17]。因此,选用源自山东(278 份)、河南(355 份)两省的全部大麦地方品种,共计 633 份种质为试验材料,所用种质及其地理来源信息均来自国家粮食作物种质资源中期库。

1.2 实验方法

1.2.1 DNA 提取 将 633 份种质分别取 20 粒种植于 96 穴苗盘中,出苗 1 周后,每份种质各取 16 个单株的等量叶片置于 8 连管中,采用改良的 CTAB 法^[18]批量提取叶片基因组 DNA,稀释后放置于 96 孔板中备用。

1.2.2 大麦 null LOX-1 诊断标记、测序验证引物设计与合成 根据前期发掘出的稀有 SNP-61 功能变异位点(C/G),利用 Primer3 软件在线设计^[19]出等位基因特异性 KASP 诊断标记引物: Forward Primer_Allele(C): 5'-TTACGTCTGCGAGTGTGGAGCCC-3'; Forward Primer_Allele(G): 5'-TTACGTCTGCGAGTGTGGAGCCC-3'; Common Reverse Primer: 5'-AAAGATCGTATATTTTGAACGGA-3'; 以及测序验证引物: Lox1.F1: 5'-GGTAAGGGTGGTCGGAGTTG-3'; Lox1.R1: 5'-ATATGGTTTGGTGCAGATCGAC-3'。

所有引物均由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。

1.2.3 诊断标记分型 采用标准 KASP 反应体系与程序,用诊断标记对地方品种进行 KASP 分型^[20]。在 Veriti® 384-Well 梯度 PCR 仪中进行扩增反应,并通过 ABI 7900 HT 荧光定量 PCR 仪读取产物荧光信号后,再用 Kluster Caller™ 软件进行基因分型结果统计,其中 FAM 荧光对应野生型等位变异(C 型,软件中标记为蓝色),HEX 荧光对应 null LOX-1 突变型等位变异(G 型,软件中标记为红色)。

1.2.4 突变单株的测序验证 对携带稀有 SNP-

61 功能变异的单株,利用测序验证引物进行 PCR 扩增,产物纯化后利用 ABI3730XL 进行测序验证。

1.2.5 脂肪氧化酶活性检测 利用改良的化学比色法检测大麦脂肪氧化酶活性^[21]。活性检测液母液: 10 mM MBTH (100 倍终浓度,冰箱 4 ℃ 保存)、5 mg/mL 血红蛋白 (100 倍终浓度,冰箱保存)、20 mM DMAB/100 mM 磷酸缓冲液、亚油酸底物溶液。工作液 A 和 B 现用现配,避光保存: 溶液 A (20 mL): 20 mM DMAB/100 mM 磷酸缓冲液 10 mL, 25 mM 亚油酸储存液 0.4 mL 和水 9.6 mL; 溶液 B (20 mL): 10 mM MBTH 0.4 mL, 5 mg/mL 血红蛋白 0.4 mL, 水 19.2 mL;

脂肪氧化酶活性测定步骤:(1)称取 0.1 g 的大麦干粉溶于 1 mL 的蒸馏水中,用涡旋搅拌器混合均匀;(2)3000 rpm 离心 2 min,取 2 中的上清液 0.05 mL 至另一 2 mL 的离心管中;(3)向 2 mL 的

离心管中一次加 0.5 mL 的 A 溶液,反应 20 min;再加入 0.5 mL 的 B 溶液反应 10 min;(4)加入 0.5 mL 1% 的 SDS 终止反应,用分光光度计测量 598 nm 处溶液的吸光值。

2 结果与分析

2.1 基于 null LOX-1 诊断标记的大麦种质筛选与鉴定

利用 KASP 诊断标记对 633 份种质进行检测,在原先已筛选出城武芒大麦 (ZDM00279)、黑箸大麦 (ZDM00626)、笨大麦 (ZDM00677)、东明下营芒大麦 (ZDM05300) 等 4 份 null LOX-1 大麦种质基础上,新筛选出六楞白 (ZDM00301)、火芒大麦 (ZDM00518)、三月黄 (ZDM00660) 和长芒糙大麦 (ZDM00747) 等 4 份包含 null LOX-1 的大麦种质,共计确定出 8 份 null LOX-1 大麦种质 (表 1)。

表 1 利用 null LOX-1 快速诊断标记筛选出的大麦地方品种

Table 1 The barley landraces that harbored null LOX-1 allele using the diagnostic marker

序号 No.	统一编号 Germplasm accession ID	品种名称 Name of landrace	null LOX-1 (G 型) 粒数 / 检测总粒数 null LOX-1 (G type) seeds No. / total seeds No.	百分比 (%) Ratio	种质来源 Origin of germplasm
1	ZDM00279 ^a	城武芒大麦	1/16	6.25	山东平原
2	ZDM00301	六楞白	7/16	43.75	山东胶南
3	ZDM00518	火芒大麦	14/16	87.50	河南伊川
4	ZDM00626 ^a	黑箸大麦	3/16	18.75	河南滑县
5	ZDM00660	三月黄	15/16	93.75	河南柘城
6	ZDM00677 ^a	笨大麦	1/16	6.25	河南睢县
7	ZDM00747	长芒糙大麦	1/16	6.25	河南柘城
8	ZDM05300 ^a	东明下营芒大麦	4/16	25.00	山东东明

^a: 前期研究中已鉴定到携带 null LOX-1 变异的地方品种^[17]

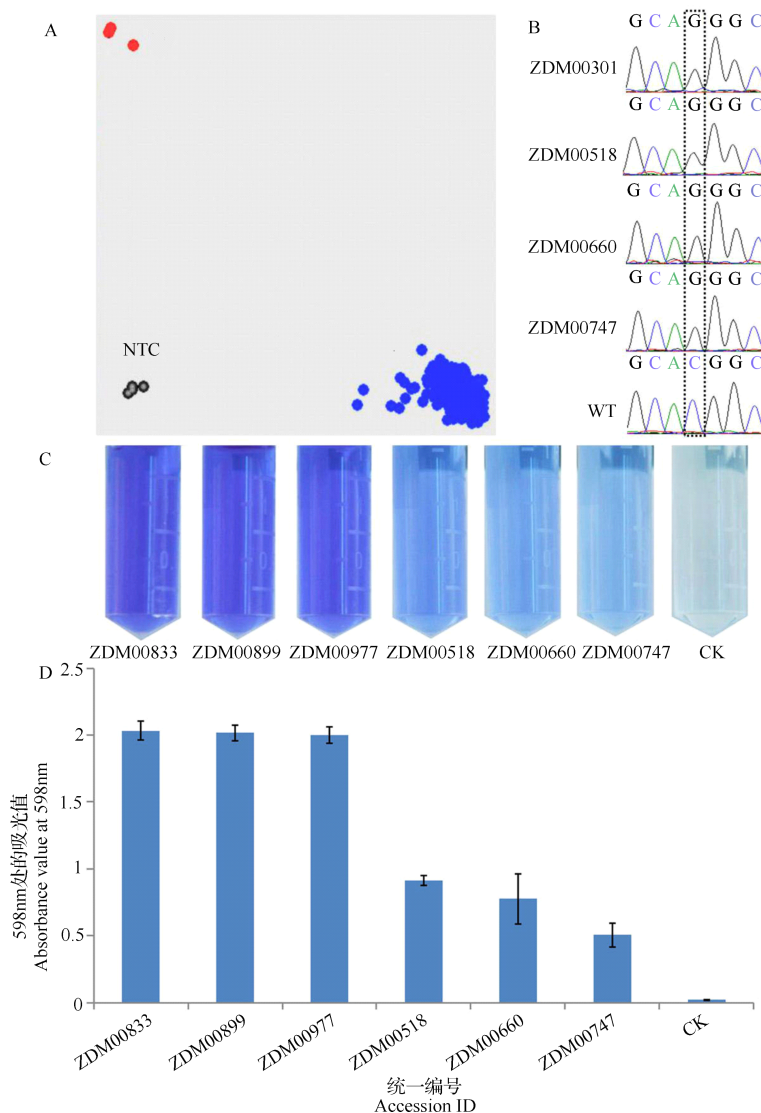
^a: The landraces carrying null LOX-1 mutations have been identified in previous studies^[17]

PCR 产物测序结果显示,新筛选出 null LOX-1 种质的单株均携带突变型等位变异,与 KASP 基因分型结果一致 (图 1B)。对检测为 null LOX-1 的大麦种质单株收获后得到的种子进行脂肪氧化酶活性检测的定性分析结果显示,与野生型对照相比, null LOX-1 大麦种质脂肪氧化酶活性显著下降 (图 1C)。定量分析结果显示, null LOX-1 大麦种质在 598 nm 处的吸光值仅为野生型的一半左右 (图 1D),表明由于 LOX-1 活性缺失导致其总脂肪

氧化酶活性降低了一半。

2.2 大麦地方品种中 null LOX-1 的变异频率及其地理分布

地方品种中 null LOX-1 变异频率分析结果显示,城武芒大麦 (ZDM00279)、笨大麦 (ZDM00677) 和长芒糙大麦 (ZDM00747) 等 3 份种质变异频率较低,均为 6.25%;黑箸大麦 (ZDM00626)、东明下营芒大麦 (ZDM05300)、六楞白 (ZDM00301) 等 3 份种质变异频率稍高,分别为 18.75%、25.00%



A: KASP 诊断标记分型示意图;野生型 FAM 荧光用蓝色标示, null LOX-1 突变型 HEX 荧光用红色标示, NTC 为空白对照用黑色标示; B: 测序验证结果; C-D: 脂肪氧化酶活性化学法检测的定性 (C) 和定量 (D) 结果

A: schematic diagram of KASP diagnostic marker typing. Wild type allele with FAM fluorescence shown as blue dots, null LOX-1 allele with HEX fluorescence shown as red dots, NTC are blank control and shown as black dots.

B: sequencing verification results, C-D: qualitative (C) and quantitative (D) results of lipoxigenase activity chemical detection

图 1 基于 KASP 分子标记技术的 null LOX-1 变异检测体系构建和 LOX 活性检验

Fig.1 Development of a KASP diagnostic marker typing the null LOX-1 mutation and the quantification of LOX activity

和 43.75%; 火芒大麦 (ZDM00518) 和 三月黄 (ZDM00660) 等 2 份种质变异频率较高, 分别为 87.50%、93.75% (表 1)。

地方品种地理分布显示, null LOX-1 种质在河南 4 个县有分布, 其中柘城 2 份, 伊川、睢县、滑县各 1 份; 在山东省平原、胶南、东明 3 个县各 1 份。值得注意的是, 5 份不同变异频率的 null LOX-1 种质在位于黄河下游山东和河南两省交界地区的 4 县集中分布 (图 2)。

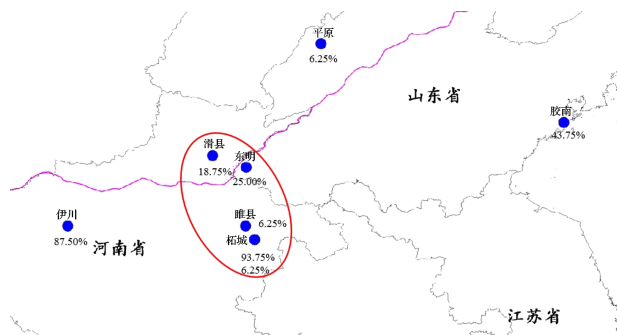


图 2 null LOX-1 的大麦地方品种地理分布图

Fig.2 The collection sites of barley landraces carrying null LOX-1

3 讨论

大麦基因组中包含 *Lox-1* (*LoxA*)、*Lox-2* (*LoxC*) 和 *Lox-3* (*LoxB*) 等 3 个脂肪氧化酶基因, 但脂质降解途径中, 仅 *Lox-1* 编码的 LOX-1 是负责亚油酸向 9-HPOD 转化的关键酶, 其他 2 个基因分别参与机械损伤反应和植物对病原菌防御反应等过程^[22]。因此, 仅对 *Lox-1* 基因的优异等位变异进行选择, 与大豆、小麦等作物相似, 基本不会对植株抗性产生影响。此外, 青稞(裸大麦)储藏加工过程中脂质代谢促使籽粒陈化, 导致其食用品质下降^[23]。因此, null LOX-1 变异除可用于优质啤酒大麦育种外, 在加工专用型青稞育种方面的作用有待进一步深入研究。

随着新型分子育种技术的快速发展, 开发能够开展功能基因鉴定的快速诊断标记, 提高分子标记辅助效率的需求越来越强。尽管可以通过已有的直接扩增测序、DNA 芯片^[24]、变性高效液相色谱 (DHPLC) 分析^[25]、质谱检测^[26]、高分辨溶解曲线分析 (HRM)^[27]等方法用于单核苷酸多态性 (SNP) 检测, 但稳定性、易用性和时效性是决定检测效率高低的关键。本研究针对前期研究开发出的 AS-PCR 检测方法技术要求高、对大量样本检测成本高等问题, 进一步针对位于 *Lox-1* 第 2 内含子上的功能性 SNP 变异, 开发出检测效率高且稳定性好的 KASP 快速诊断标记用于种质筛选, 在已鉴定出 4 份 null LOX-1 种质基础上, 又新鉴定出 4 份大麦种质, 为丰富育种种本来源, 以及未来利用诊断标记提升种质创新和分子辅助育种效率提供了技术和材料基础。

在作物种质资源的收集和保护过程中, 遵循尽可能保留其原有遗传完整性的原则。因此, 不可避免有一些地方品种样品中存在表型性状不可区分的遗传变异^[28]。本研究结果也显示, 鉴定出的不同 null LOX-1 大麦地方品种, 所携带的基因变异频率各异, 可为作物种质资源收集保护制定科学依据提供参考。同时, 在利用发掘出的优异种质开展种质创新和育种利用过程中, 应尽量进行单株样品的鉴定和提纯利用, 并在育种全程跟踪检测, 确保所携带优异等位变异仍在选择范围内。

与 Oozeki 等^[29]通过叠氮化钠 (NaN_3) 诱变的栽培品种中鉴定出编码区发生 SNP 变异 (C/T) 的 LOX 缺陷型突变株不同, Hirota 等^[14]筛选到 6 个具有相同自然变异的 null LOX-1 地方品种, 其变异类型为第 5 个内含子的剪接供体位点 (AltD) 发生

单碱基替换, 且集中分布于印度 - 尼泊尔地区。本研究鉴定出的 null LOX-1 种质也属于自然发生的稀有等位变异, 特别是 62.5% 的资源集中分布于黄河下游地区河南、山东两省交界区域, 且该区域检测出含有不同变异频率的大麦种质。因此, 初步推断河南、山东两省交界区域为中国大麦 null LOX-1 变异的起源地。由于不同地区的大麦种植者, 均有意识地将自然发生的 null LOX-1 大麦种质保留下来, 是否与其减缓脂质代谢提高了食用品质有关不得而知。此外, 由于缺少相应种质的全基因组基因型鉴定结果, 所以无法确定这些地方品种是否属于相似或相同品种, 这为下一步开展该变异的产生和传播机制研究提供了线索。

参考文献

- [1] 沈会权, 陈和, 陈健, 乔海龙, 陶红, 陈晓静, 臧慧. 啤酒大麦新品种苏啤 6 号的选育及特征特性. 大麦与谷类科学, 2010 (1): 52-53
Shen H Q, Chen H, Chen J, Qiao H L, Tao H, Chen X J, Zang H. Breeding and characteristics of new beer barley variety Subei 6. Barley and Cereal Sciences, 2010 (1): 52-53
- [2] Shimizu C, Nara Y, Takashio M. Ethyl pyruvate—a new indicator of flavor stability of beer and its controlling factors. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2005, 63 (3): 135-141
- [3] Jaskula-Goiris B, De Causmaecker B, De Rouck G, Aerts G, Paternoster A, Braet J, De Cooman L. Influence of transport and storage conditions on beer quality and flavour stability. Journal of the Institute of Brewing, 2019, 125 (1): 60-68
- [4] Yu J H, Huang S X, Dong J J, Fan W, Huang S L, Liu J, Chang Z M, Tian Y H, Hao J G, Hu S M. The influence of LOX-less barley malt on the flavour stability of wort and beer. Journal of the Institute of Brewing, 2014, 120 (2): 93-98
- [5] Jacques R, Robert L, John M, Cameron-Mills V. Identification of a methyl jasmonate-responsive region in the promoter of a lipoxygenase 1 gene expressed in barley grain. The Plant Journal, 1997, 11 (3): 513-523
- [6] Rouster J, Van Mechelen J, Cameron-Mills V. The untranslated leader sequence of the barley *lipoxygenase 1* (*Lox1*) gene confers embryo-specific expression. The Plant Journal, 1998, 15 (3): 435-440
- [7] Mechelen J R V, Schuurink R C, Smits M, Graner A, Douma A C, Sedee N J A, Schmitt N F, Valk B E. Molecular characterization of two lipoxygenases from barley. Plant Molecular Biology, 1999, 39 (6): 1283-1298
- [8] Kuroda H, Furusho S, Maeba H, Takashio M. Characterization of factors involved in the production of 2(E)-nonenal during mashing. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2003, 67 (4): 691-697
- [9] Kuroda H, Kojima H, Kaneda H, Takashio M. Characterization of 9-fatty acid hydroperoxide lyase-like activity in germinating barley seeds that transforms 9(S)-hydroperoxy-10(E), 12(Z)-octadecadienoic acid into 2(E)-nonenal. Bioscience,

- Biotechnology, and Biochemistry, 2005, 69(9): 1661-1668
- [10] 杨树明, 普晓英, 张京, 曾亚文, 杨涛, 杜娟. 不同地区啤酒大麦品种农艺性状鉴定与分类研究. 植物遗传资源学报, 2011, 12(1): 37-41
Yang S M, Pu X Y, Zhang J, Zeng Y W, Yang T, Du J. Agronomic characteristics and classification of malting barley from different regions. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12(1): 37-41
- [11] Drost B W, Van D B R, Freijee F J M, Van D V E G, Hollemans M. Flavor stability. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2003, 48(4): 124-131
- [12] Kaneda H, Takashio M, Shinotsuka K, Okahata Y. Adsorption to or desorption of beer components from a lipid membrane related to sensory evaluation. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2001, 92(3): 221-226
- [13] Szwajcer D E, Magdalena S, Mariola P, Maria K, Jacek R, Andrzej G, Bengt D. The cytotoxic and genotoxic effects of conjugated trans-2-nonenal (T2N), an off-flavor compound in beer and heat processed food arising from lipid oxidation. Polish journal of microbiology, 2005, 54: 47-52
- [14] Hirota N, Kaneko T, Kuroda H, Kaneda H, Takashio M, Ito K, Takeda K. Characterization of lipoxygenase-1 null mutants in barley. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111(8): 1580-1584
- [15] Oozeki M, Sotome T, Haruyama N, Yamaguchi M, Watanabe H, Okiyama T, Kato T, Takayama T, Oyama M, Nagamine T, Suzuki Y, Toyoshima T, Sekiwa T, Oono K, Saito T, Usui M, Arai S, Kumekawa, Suzuki E, Shirama K, Kihara M, Hoki T, Matsubara H, Ohsawa R. The two-row malting barley cultivar 'New Sachiho Golden' with null lipoxygenase-1 improves flavor stability in beer and was developed by marker-assisted selection. Breeding Science, 2017, 67(2): 165-171
- [16] Hoki T, Kanatani R, Saito W, Iimure T, Zhou T S, Takoi K, Tanigawa A, Kihara M, Ogushi K. Breeding of lipoxygenase-1-less malting barley variety 'Satuiku 2 go'. Journal of the Institute of Brewing, 2018, 124(2): 112-120
- [17] Guo G G, Dawa D, Yuan X M, Gu F H, Wang D L, Jia F C, Lin Z P, Michael B, Zhang J. Rare allele of *HvLx-1* associated with lipoxygenase activity in barley (*Hordeum vulgare* L.). Theoretical and Applied Genetics, 2014, 127(10): 2095-2103
- [18] Hu X H, Chen X, Liao X J, Ju J W. Optimization of extraction methods for genomic DNA in *comecon chinantha hance*. Medicinal Plants, 2010, 3: 13-15
- [19] You F M, Huo N, Gu Y Q, Luo M C, Ma Y, Hane D, Lazo G R, Dvorak J, Anderson O D. Anderson BatchPrimer3: A high throughput web application for PCR and sequencing primer design. BMC Bioinformatics, 2008, 9: 253
- [20] 张利莎, 董国清, 扎桑, 卓嘎, 王德良, 谷方红, 袁兴森, 张京, 郭刚刚. 基于 EST-SSR 和 SNP 标记的大麦麦芽纯度检测. 作物学报, 2015, 41(8): 1147-1154
Zhang L S, Dong G Q, Zha S, Zhuo G, Wang D L, Gu F H, Yuan X M, Zhang J, Guo G G. EST-SSR and SNP markers based barley malt purity detection. Acta Agronomica Sinica, 2015, 41(8): 1147-1154
- [21] Anthon G E, Barrett D M. Colorimetric method for the determination of lipoxygenase activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(1): 32-37
- [22] 扎桑, 卓嘎, 徐东东, 张利莎, 董国清, 袁兴森, 张京, 郭刚刚. 作物脂肪氧化酶的研究进展. 大麦与谷类科学, 2015(2): 12-20
Zha S, Zhuo G, Xu D D, Zhang L S, Dong G Q, Yuan X M, Zhang J, Guo G G. Research progress of crop lipoxygenase. Barley and Cereal Sciences, 2015(2): 12-20
- [23] 胡敏, 林亲录, 罗章, 孙术国. 青稞储藏过程中与脂质氧化相关的陈化分子机制研究. 粮食与油脂, 2017, 30(2): 22-25
Hu M, Lin Q L, Luo Z, Sun S G. Study on the molecular mechanisms for aging associated with lipid oxidation of highland barley during storage. Cereals & Oils, 2017, 30(2): 22-25
- [24] Butcher L M, Meaburn E, Liu L, Fernandes C, Hill L, Al-Chalabi A, Plomin R, Schalkwyk L. Genotyping pooled DNA on microarrays: a systematic genome screen of thousands of SNPs in large samples to detect QTLs for complex traits. Behavior Genetics, 2004, 34(5): 549-555
- [25] Fasano T, Bocchi L, Pisciotto L, Bertolini S, Calandra S. Denaturing high-performance liquid chromatography in the detection of ABCA1 gene mutations in familial HDL deficiency. Journal of Lipid Research, 2005, 46(4): 817-822
- [26] Bray M S, Boerwinkle E, Doris P A. High-throughput multiplex SNP genotyping with MALDI-TOF mass spectrometry: practice, problems and promise. Human Mutation, 2001, 17(4): 296-304
- [27] Gundry C N, Vandersteen J G, Reed G H, Pryor R J, Chen J, Wittwer C T. Amplicon melting analysis with labeled primers: a closed-tube method for differentiating homozygotes and heterozygotes. Clinical Chemistry, 2003, 49(3): 396-406
- [28] 李松, 张世成, 董云武, 施德林, 史云东. 基于 SSR 标记的云南腾冲水稻的遗传多样性分析. 作物杂志, 2019(5): 15-21
Li S, Zhang S C, Dong Y W, Shi D L, Shi Y D. Genetic diversity analysis of rice varieties in tengchong, Yunnan based on SSR markers. Acta Agronomica Sinica, 2019(5): 15-21
- [29] Oozeki M, Nagamine T, Ikeda T M, Suzuki Y, Sekiwa T, Yamaguchi E, Kato T. Genetic variation in lipoxygenase activity among Japanese malting barley cultivars and identification of a new lipoxygenase-1 deficient mutant. Breeding Research, 2007, 9(2): 55-61