

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.02073

高油和普通玉米自交系类胡萝卜素和生育酚含量的比较分析

周毅¹ 付志远¹ 李青¹ 徐淑兔¹ CHANDER Subhash¹ 杨小红
李建生¹ 严建兵^{1,2,*}

¹ 中国农业大学 / 国家玉米改良中心 / 农业部作物基因组学与遗传改良重点实验室, 北京 100193; ² International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Apdo. Postal 6-641, 06600 Mexico, D.F., Mexico

摘要:建立了利用高效液相色谱法同时测定玉米籽粒类胡萝卜素和生育酚各组分含量的技术体系, 分析了 112 份黄色胚乳玉米自交系的类胡萝卜素和生育酚含量, 其中包括 32 份高油自交系和 80 份在生产上广泛应用的普通玉米自交系。结果表明, 不同自交系间存在广泛的变异, 各组分含量变幅最大的是 α -生育酚, 含量相差达 162 倍; 变幅最小的是 δ -生育酚, 含量相差也接近 4 倍。类胡萝卜素各组分含量在高油和普通玉米自交系之间并没有显著差异, 但普通玉米的变异范围更为广泛; 高油玉米生育酚各组分含量显著高于普通玉米, 其中 γ -生育酚、 α -生育酚和总生育酚含量的均值分别是普通玉米均值的 2.4、2.5 和 2.4 倍。尽管供试的高油玉米材料仅 32 份, 但其生育酚的某些组分比普通玉米具有更广泛的遗传变异。这为进一步的玉米高油、高维生素 A 原、高维生素 E, 即“三高”品质成分育种提供了有益参考。

关键词: 高油玉米; 维生素 A 原; 维生素 E; 高效液相色谱; “三高”玉米

Comparative Analysis of Carotenoid and Tocopherol Compositions in High-Oil and Normal Maize (*Zea mays* L.) Inbreds

ZHOU Yi¹, FU Zhi-Yuan¹, LI Qing¹, XU Shu-Tu¹, CHANDER Subhash¹, YANG Xiao-Hong¹, LI Jian-Sheng¹, and YAN Jian-Bing^{1,2,*}

¹ National Maize Improvement Center of China/Key Laboratory of Crop Genomics & Genetic Improvement of Ministry of Agriculture/China Agricultural University, Beijing 100193, China; ² International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Apdo. Postal 6-641, 06600 Mexico, D.F., Mexico

Abstract: Among staple crops, maize has a high amount of carotenoids and tocopherols, which have a number of beneficial effects on human health. The former is the main dietary precursor of vitamin A. The latter is an essential macronutrient which acts as antioxidant shows the benefit in the prevention of certain types of diseases for human. In this study, high performance liquid chromatography (HPLC) was developed and used for simultaneously measuring the contents of carotenoids and tocopherols in maize grain for 112 yellow-endosperm inbred lines, including 32 high-oil lines and 80 normal lines widely used in Chinese breeding programs. Broad phenotypic diversity was observed for all measured traits. Among the eight components analyzed, α -tocopherol showed the largest variation with 162 times content difference while δ -tocopherol showed the smallest variation with four times content difference. The tocopherol content in high-oil maize lines was significantly higher than that in normal lines. However, the carotenoids content in high-oil lines showed no significant differences from that in normal lines, which had wider phenotypic variations. The mean values of γ -tocopherol, α -tocopherol, and total tocopherol contents in high-oil lines were 2.4, 2.5, and 2.4 times higher than those in normal lines. Compared with normal lines, the high-oil lines contained broader genetic variations for some tocopherols though the number of high-oil lines (32) was far smaller than that of normal lines (80). All the present results provided some beneficial informations for future breeding at the target of three-high nutritional maize: high-oil, high provitamin A, and high vitamin E.

Keywords: High-oil maize; Pro-vitamin A; Vitamin E; HPLC; “Three-high” maize

本研究由国家自然科学基金项目(30821140352)和中国生物强化(HarvestPlus-China)项目资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 严建兵, E-mail: yjianbing@cau.edu.cn; Tel: 010-62733808

Received(收稿日期): 2009-04-23; Accepted(接受日期): 2009-07-20.

类胡萝卜素是维生素 A 的前体,它与维生素 E (生育酚)都是抗氧化剂,可以清除体内自由基,提高动物的免疫功能,延缓衰老^[1-3]。同时,维生素 A 和 E 也是人体所必需的脂溶性维生素,两者具有协同作用,维生素 E 可保护维生素 A 免遭氧化作用^[4]。严重缺乏维生素 A 不仅会引起夜盲症,还会导致儿童生长缓慢,骨骼、牙齿发育不正常以及生殖失调等疾病^[5]。缺乏维生素 E 会导致动脉粥样硬化、血溶性贫血、癌症等疾病^[6]。根据 West^[7]的统计,维生素 A 缺乏已经影响 118 个国家中的 1 亿多儿童和 700 万左右孕妇,每年有超过 25 万的儿童因为维生素 A 缺乏而失明,其中,一半的失明儿童在 1 年内死亡。解决微营养不良带来的健康问题,对广大发展中国家仍是一个巨大挑战。饮食多样性、食物强化和药丸补充是目前世界上解决微营养缺乏问题的主要方法^[8],但这些方法往往受季节、地区、目标微量元素含量、强化技术体系、分发渠道等因素限制,从而导致微营养缺乏的贫困群体不能有效地获得强化食物或药丸或提高饮食多样性^[9]。生物强化是指通过育种或生物技术的方法来提高水稻、玉米、小麦等主要粮食作物籽粒中的微量元素含量,从而解决以这些粮食为主食的贫困人群的微营养缺乏问题。相对于以上 3 种策略,生物强化不依赖于分发渠道,成本低,是解决微营养缺乏的最佳选择^[10]。

玉米是一种遗传变异非常广泛的物种,其自交系间的遗传变异甚至大于人与黑猩猩之间的差异^[11]。长期以来,类胡萝卜素和生育酚含量等品质性状在育种中并未受到重视,其在育种材料中的遗传变异并不清楚。Harvest Plus 计划的目标是维生素 A 原含量达到 $15 \mu\text{g g}^{-1}$,这样才能满足生物强化的要求(<http://www.harvestplus.org/>),但对近十年来中国生产上广泛应用的 87 个普通玉米自交系籽粒分析发现,维生素 A 原含量最高的自交系也不超过 $3.58 \mu\text{g g}^{-1}$,远低于目标要求^[12]。高油玉米是指籽粒含油量超过 6%的玉米。据北京大北农科技公司分析,高油玉米品种“高油 115”的粗脂肪和生育酚含量显著高于普通玉米,达到 1 倍以上;类胡萝卜素、铁等人体必需的微量营养也比普通玉米高 10%~20%。这一结果表明高油玉米可能为高维生素 A 原和高维生素 E 育种提供新的种质来源。

建立玉米籽粒类胡萝卜素与生育酚各组分含量快速、准确的测定方法是进行高维生素 A 原及高维生素 E 玉米育种的基础。目前类胡萝卜素与生育酚

的测定方法主要有分光光度法、薄层色谱法、气相色谱法和高效液相色谱法等^[13]。其中,高效液相色谱法(HPLC)是最普遍的测定方法。相对于其他方法,HPLC 法具有高选择性、高灵敏度、高效性等优点,目前已广泛应用于化工、医药、农业等方面的科学研究^[14]。

本研究就是在建立玉米籽粒类胡萝卜素和生育酚各组分的 HPLC 分析技术的基础上,评估类胡萝卜素和生育酚各组分在高油玉米自交系和中国生产上主要应用的普通玉米自交系中的遗传变异情况,为进一步的玉米高油、高维生素 A 原、高维生素 E,即“三高”品质成分育种提供有益参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 种植材料 2006 年夏在中国农业大学上庄试验站种植 112 份黄色胚乳玉米自交系(32 份高油和 80 份普通玉米自交系^[15])(表 1),采取随机区组试验设计,单行区,两重复,行长 3 m,行间距 0.67 m,田间管理与大田管理相似。单株自交授粉,单行收获。

1.1.2 标准样品 α -胡萝卜素(α -carotene)标样自提; β -胡萝卜素(β -carotene)、玉米黄素(zeaxanthin)、叶黄素(lutein)标样由 HarvestPlus 项目提供; β -隐黄质(β -cryptoxanthin)标样购自 Chromadex 公司; α -生育酚(α -tocopherol)、 γ -生育酚(γ -tocopherol)和 δ -生育酚(δ -tocopherol)标样均购自 Sigma 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 混合标准样品的制备 参考 Kimura 和 Rodriguez^[16]的方法,略作改进提取 α -胡萝卜素标样,直接用于混合标样的制备; β -胡萝卜素标样用石油醚溶解;叶黄素标样用无水乙醇和乙醚溶解; β -隐黄质标样用乙醚和石油醚溶解;玉米黄素用丙酮溶解; α -生育酚、 γ -生育酚和 δ -生育酚标样均用无水乙醇溶解。将标准样品溶解后各取 100 μL 至 5 mL 容量瓶定容,用紫外-可见分光光度计在各成分特定波长下测定吸光值。根据公式(1)计算浓度,公式(2)校对浓度,公式(3)配置 50 mL 混合标样。混合标样经氮气浓缩后,用石油醚定容^[17]。各成分吸光系数、测定波长和含量范围见表 2。

$$\text{浓度 } c (\mu\text{g mL}^{-1}) = (OD \times 10^4) / (A_{1\text{cm}}^{1\%}) \times \text{稀释倍数} \quad (1)$$

式中 OD 为吸光值; $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ 为吸光系数(详细参数见表 2)。

表 1 112 个自交系信息及其来源
Table 1 List of 112 maize inbred lines and pedigree information

编号 No.	自交系 Inbred	系谱 Pedigree	编号 No.	自交系 Inbred	系谱 Pedigree
高油玉米 High-oil maize					
1	By4839	北农大高油	17	Gy462	亚利山索高油
2	By4944	北农大高油	18	Gy798	亚利山索高油
3	By4960	北农大高油	19	Gy923	亚利山索高油
4	By804	北农大高油	20	Ry684	瑞得高油
5	By807	北农大高油	21	Ry713	瑞得高油
6	By809	北农大高油	22	Ry729	瑞得高油
7	By813	北农大高油	23	Ry732	瑞得高油
8	By815	北农大高油	24	Sy1032	抗病高油
9	By843	北农大高油	25	Sy1035	抗病高油
10	By855	北农大高油	26	Sy1039	抗病高油
11	Gy1007	亚利山索高油	27	Sy1052	抗病高油
12	Gy1032	亚利山索高油	28	Sy1077	抗病高油
13	Gy220	亚利山索高油	29	Sy1128	抗病高油
14	Gy237	亚利山索高油	30	Sy3073	抗病高油
15	Gy246	亚利山索高油	31	Sy998	抗病高油
16	Gy386	亚利山索高油	32	Sy999	抗病高油
普通玉米 Normal maize					
33	812	8112 改良系	75	Lx9801	西 502×H21
34	832	美国单交种	76	MO113	不详
35	5237	丹 340×黄早四	77	Mo17	187-2×C103
36	5311	贵州晴隆五穗白	78	南 21-3	南斯拉夫杂交种 BC8241Ht
37	8701	美国杂交种	79	P138	美国单交种 78599
38	8902	掖 107×81162	80	P178	美国单交种 78599
39	3H-2	(威大 202×自 330)×H84	81	Q1261	K12
40	7884-4Ht	C17 杂 L289or78-6×H84	82	齐 205	(潍矮 141×中系 017)×群体 70
41	B73	BSSS	83	齐 319	美国单交种 78599
42	BT1	8085×泰国杂交种	84	S22	美国杂交种
43	C8605-2	铁 7922×沈 5003	85	S37	苏湾 1
44	长 3	地方品种	86	沈 137	先锋 6J1K111
45	昌 7-2	黄早四×维春	87	沈 5003	美国单交种 3147
46	成 698	美国单交种	88	四 434	四 466×粹 94
47	川 48-2	综合种	89	四 444	A619×黄早四
48	长阳 72	地方品种	90	四 446	曲 43×自 330
49	丹 340	旅 9×野生近缘有稃玉米	91	苏湾 1611	苏湾 2
50	丹 598	(丹 340×丹黄 11)×(丹黄 02×丹 599)	92	铁 7922	美国单交种 3382
51	丹 599	美国杂交种 78599	93	U8112	美国杂交种 3382
56	海 014	不详	94	文黄 413	黄早四×汶青 1331
57	海 1134	黄芽×粹 94	95	武 109	西单 7 号(武 102×武 105)
58	荻唐黄-17	荻唐白 42×海 1917×Mo17Ht	96	西 502	丹 340×黄早四
59	沪 803	U8112×沈 5003	97	沿 414	黄早四
60	黄 C	(黄小 162×330/O2)×Tuxpenno	98	掖 107	国外杂交种 XL80
61	黄野四	(黄早四×野鸡红)×黄早四	99	掖 478	U8112×沈 5003
62	黄早四	塘四平头	100	掖 488	U8112×沈 5003
63	J4112	A619×U8112	101	掖 515	(华风 100×矮 Go352)×黄早四
64	冀 53	冀群 2CO-2	102	掖 52106	(掖 1075×掖 106)×矮金 525
65	吉 63	(127-32×铁 84)×(威 24×威 20)	103	掖 8001	掖 488×3189
66	吉 842	吉 63×Mo17	104	豫 374	综合种
67	吉 846	吉 63×Mo17	105	杂 C546	C103 杂株
68	吉 853	(黄早四×自 330)×自 330	106	郑 22	丹 340×E28
69	交 51	地方品种	107	郑 32	美国单交种 3382
70	K10	(长 3×5003)×长 3	108	郑 58	掖 478 变异株
71	K12	黄早四×维春	109	郑 653	(沈 5003×综 31)×沈 5003
72	K14	5005×6917	110	自 330	OH43×可利 67
73	K22	K11×掖 478	111	综 3	综合种
74	旅 28	旅大红骨	112	综 31	综合种

表 2 标准溶液吸光系数和浓度范围^[18-19]

Table 2 The spectral absorption coefficients and concentration ranges of the standard carotenoid and tocopherol samples

成分 Component	吸光系数($A_{1\text{cm}}^{1\%}$) Absorption coefficient	测定波长 Detection wavelength (nm)	浓度范围 Concentration range ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
叶黄素 Lutein	2550	445	0.116–150.000
玉米黄素 Zeaxanthin	2340	452	0.069–90.000
β -隐黄质 β -cryptoxanthin	2386	449	0.022–14.000
α -胡萝卜素 α -carotene	2800	444	0.013–8.000
β -胡萝卜素 β -carotene	2592	450	0.016–10.000
δ -生育酚 δ -tocopherol	91.2	297	0.400–50.000
γ -生育酚 γ -tocopherol	91.4	298	1.440–180.000
α -生育酚 α -tocopherol	75.8	292	0.400–50.000

校对浓度($\mu\text{g mL}^{-1}$) = 浓度 c × 纯度(%) (2)

纯度(%) = 标样 HPLC 峰面积/HPLC 峰总面积 × 100

$$a = (50 \times b)/c \quad (3)$$

式中 50 为混合标样总体积 50 mL; b 为浓度范围中值($\mu\text{g mL}^{-1}$); c 为校对浓度($\mu\text{g mL}^{-1}$); a 为加入标样量($\mu\text{g mL}^{-1}$)。

1.2.2 维生素 A 原和生育酚含量的测定 收获玉米材料后, 每重复选取 5~6 个无病虫害感染穗子中部的籽粒, 混样, 四分法^[19]取 50 粒左右种子, 去除籽粒尖端麸皮后于 45 °C 烘 60 h。用万能粉碎机磨成粉, -20 °C 避光干燥保存。玉米籽粒维生素 A 原和生育酚的提取参考 Kurilich 和 Juvik^[18]的方法, 略有改进。各组分的含量测定采用高效液相色谱(HPLC)方法。高效液相色谱仪为美国 Agilent 公司 1200 型; 色谱柱为日本 YMC CT99S05-2546WT C_{30} 高效液相色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)。色谱流动相 A 为乙腈(75%); 色谱流动相 B 为甲醇: 二氯甲烷(20% : 5%)。其中, 流动相 B 含 0.05% 总体积的三乙胺和 BHT (0.0028 g 100 mL⁻¹) 的混合物。色谱条件为柱温 30 °C; 流速 1.8 mL min⁻¹; 类胡萝卜素和生育酚的检测波长分别为 450 nm 和 295 nm; 进样量 50 μL 。先对各组分的峰面进行积分, 然后用外标法^[18-19]进行量化分析。

2 结果与分析

2.1 类胡萝卜素和生育酚各组分混合标样的 HPLC 分析

经 HPLC 分析, 各标样的纯度均在 95% 以上。图 1 和图 2 表明, 在本试验所用的色谱条件下, 叶黄素、玉米黄素、 β -隐黄质、 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素的保留时间分别为 7.435、9.916、16.962、20.818 和 29.127 min; δ -生育酚、 γ -生育酚、 α -生育酚的保留时间分别为 3.845、4.338 和 5.142 min。

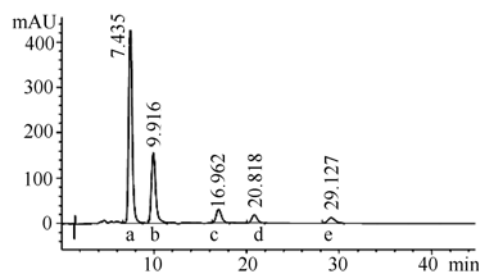


图 1 类胡萝卜素标准样品的 HPLC 峰值图

Fig. 1 HPLC chromatogram for standard samples of carotenoids

a: 叶黄素; b: 玉米黄素; c: β -隐黄质; d: α -胡萝卜素; e: β -胡萝卜素。mAU: 毫吸收单位(Agilent 1100 使用指导手册)。

a: lutein; b: zeaxanthin; c: β -cryptoxanthin; d: α -carotene; e: β -carotene. mAU: milli-absorbance unit.

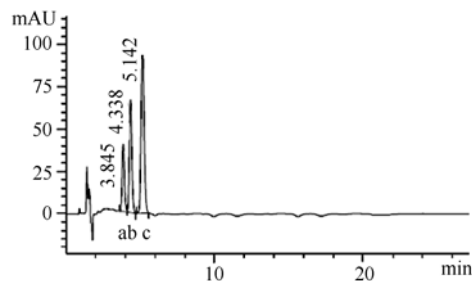


图 2 生育酚标准样品的 HPLC 峰值图

Fig. 2 HPLC chromatogram of standard samples of tocopherols

a: δ -生育酚; b: γ -生育酚; c: α -生育酚。

a: δ -tocopherol; b: γ -tocopherol; c: α -tocopherol.

2.2 标准曲线的建立和精密度检测

从 50 mL 混合标样中依次吸取 1 μL 、50 μL 、100 μL 、500 μL 、1 mL、2 mL、3 mL、4 mL、5 mL 各 3 个重复至玻璃离心管中, 浓缩后用 1 mL 流动相 ($V_{\text{乙腈}} : V_{\text{甲醇}} : V_{\text{二氯甲烷}} = 45 : 20 : 35$) 重新定容。在确定的色谱条件下, 分别将不同浓度的混合标准溶液进样分析。根据峰面积与标准品浓度的线性关系, 以峰面积为横坐标(x), 浓度为纵坐标(y)绘制标准曲线, 成功建立了各组分的标准曲线, 其相关系数均

大于 0.999 (表 3)。分别取上述混合标样溶液, 重复进样 5 次, 5 种类胡萝卜素、3 种生育酚的峰面积的相对标准偏差(RSD)都小于 2%(表 3), 表明仪器重复性能良好。

2.3 112 个玉米自交系类胡萝卜素及生育酚各组分含量分析

利用建立的标准曲线, 分析了 112 份玉米自交系类胡萝卜素及生育酚各组分的含量(表 4)。各组分在所分析玉米自交系中都具有丰富的遗传变异(表 4 和表 5)。总类胡萝卜素含量最低值为 $1.55 \mu\text{g g}^{-1}$ (黄野四), 最高值为 $19.56 \mu\text{g g}^{-1}$ (自 330), 相差 13 倍。能够在人体里转化为维生素 A 的维生素 A 原含量在 $0.18\sim 2.66 \mu\text{g g}^{-1}$ 之间, 相差高达 15 倍。维生素 A 原各组分含量的变幅分别为 $0.47\sim 12.38 \mu\text{g g}^{-1}$ (叶黄素), $0.44\sim 8.16 \mu\text{g g}^{-1}$ (玉米黄素), $0.07\sim 1.97 \mu\text{g g}^{-1}$ (β -隐黄质), $0.01\sim 0.39 \mu\text{g g}^{-1}$ (β -胡萝卜素), $0.11\sim 1.59 \mu\text{g g}^{-1}$ (α -胡萝卜素)。总生育酚含量最低值为 $10.56 \mu\text{g g}^{-1}$ (Q1261), 最高值为 $213.36 \mu\text{g g}^{-1}$ (By809), 相差高达 20 倍。生育酚各组分含量分别为 $1.74\sim 6.74 \mu\text{g g}^{-1}$ (δ -生育酚), $7.19\sim 132.70 \mu\text{g g}^{-1}$ (γ -生育酚), $0.48\sim 7.77 \mu\text{g g}^{-1}$ (α -生育酚)。 α -生育酚与 γ -生育酚比值的最低值为 0.01(Ry732), 最高值为 1.29(By843), 相差 129 倍。

2.4 高油玉米和普通玉米自交系类胡萝卜素及生育酚各组分含量的比较

本研究用到 32 份高油和 80 份普通玉米自交系, 比较了这两类材料类胡萝卜素和生育酚各组分含量的差异(表 5)。对类胡萝卜素, 大多数情况下普通玉米含量(平均值)要略高于高油玉米, 但高油玉米类胡萝卜素各组分的最低值均显著高于普通玉米的最低值, 即高油玉米的变异范围要比普通玉米的变异范围小。对生育酚, 除 α/γ 比值外, 其他各组分, 高油玉米的均值均显著高于普通玉米的平均值。其中

高油玉米 γ -生育酚、 α -生育酚和总生育酚含量的均值分别是普通玉米平均值的 2.4、2.5 和 2.4 倍。尽管供试高油玉米材料仅 32 份, 其生育酚的某些组分比普通玉米具有更广泛的遗传变异, 如 α -生育酚, 高油玉米的变化范围为 $0.48\sim 77.77 \mu\text{g g}^{-1}$, 最大变化达到 162 倍, 而普通玉米的变化范围是 $0.81\sim 26.20 \mu\text{g g}^{-1}$, 最大变化只有 32 倍。

3 讨论

3.1 利用 HPLC 法可以准确测定玉米籽粒类胡萝卜素和生育酚各组分含量

HPLC 法是测定脂溶性维生素最常用的方法, 这是由于其分子结构中含有共轭不饱和结构, 在可见光区有强烈的光吸收。Granado 等^[20]采用 Spheri-5-RP-18 及 Spheri-5-ODS 色谱柱, 以 $V_{\text{乙醇}}: V_{\text{甲醇}}=85:15$ 为流动相, 流速 1.8 mL min^{-1} , 检测波长 450 nm 和 325 nm, 有效测定了 18 种绿色、橙色、黄色新鲜蔬菜的叶黄素、玉米黄素、番茄红素、 β -隐黄素、 γ -胡萝卜素、 α -胡萝卜素及 β -胡萝卜素等组分的含量。同样, Akhtar 等^[21]采用 Develosil $5 \mu\text{m}$ RP-AQUEOUS C_{30} 色谱柱, 以甲醇:异丙醇为流动相, 100:0 至 40:60 ($V:V$) 梯度洗脱, 流速 1.0 mL min^{-1} , 检测波长 450 nm 和 325 nm, 测定了胡萝卜素补充药品、胡萝卜汁中的叶黄素、玉米黄素、 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素和视黄醇、维生素 A 乙酸酯、棕榈酸视黄醇等组分的含量。Renata 等^[22]采用 Teknokroma C18 反向色谱柱(Nucleosil 100, $250 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}, 5 \text{ mm}$), 以 $V_{\text{乙醇}}: V_{\text{甲醇}}: V_{\text{水}}=72:8:1$ 为流动相, 流速 1.5 mL min^{-1} , 检测波长 290 nm 和 330 nm, 测定了菠菜、莴苣、烟草、水稻等植物叶片中的 α -生育酚、 δ -生育酚和 γ -生育酚的含量, 并进行了比较分析。反相色谱柱具有色谱柱稳定、保留时间短、重现性好及易于平衡的优点^[23], 是最常用的色

表 3 类胡萝卜素、生育酚标准曲线和相对标准偏差

Table 3 Standard curves of carotenoids and tocopherols and relative standard deviation

成分 Component	标准曲线 Standard curve	决定系数 R^2	相对标准偏差 Relative standard deviation (%)
叶黄素 Lutein	$y = 435.08x + 103.34$	0.9998	1.5
玉米黄素 Zeaxanthin	$y = 287.10x + 162.11$	0.9995	1.7
β -隐黄质 β -cryptoxanthin	$y = 535.74x + 12.703$	0.9996	1.4
α -胡萝卜素 α -carotene	$y = 524.92x - 35.045$	0.9997	1.3
β -胡萝卜素 β -carotene	$y = 324.24x - 50.424$	0.9995	1.6
δ -生育酚 δ -tocopherol	$y = 47.982x - 33.198$	0.9994	1.7
γ -生育酚 γ -tocopherol	$y = 2.0674x + 7.5291$	0.9995	1.9
α -生育酚 α -tocopherol	$y = 0.7006x + 9.5370$	0.9995	1.7

表 4 112 个玉米自交系类胡萝卜素及生育酚各组分含量

Table 4 Contents of the carotenoids and tocopherols in 112 maize inbred lines ($\mu\text{g g}^{-1}$)

自交系 Inbred line	叶黄素 Lutein	玉米黄素 Zeaxanthin	β -隐黄质 β -cryptoxanthin	α -胡萝卜素 α -carotene	β -胡萝卜素 β -carotene	总类胡萝卜素 Total carotenoids	维生素 A 原 Pro vitamin A	δ -生育酚 δ -tocopherol	γ -生育酚 γ -tocopherol	α -生育酚 α -tocopherol	总生育酚 Total tocopherol	α/γ 比值 Ratio of α/γ
高油玉米 High-oil maize												
By4839	3.90	1.47	0.44	0.04	0.70	6.56	0.94	2.13	59.82	16.54	78.49	0.28
By4944	6.74	1.95	0.63	0.13	0.94	10.38	1.31	2.15	57.30	9.56	69.00	0.17
By4960	7.74	0.95	0.17	0.09	0.74	9.69	0.87	4.10	92.25	24.78	121.12	0.27
By804	8.67	1.15	0.32	0.33	0.58	11.05	0.91	2.36	113.69	33.86	149.91	0.30
By807	7.81	1.12	0.32	0.26	0.55	10.05	0.83	3.52	101.60	49.24	154.36	0.49
By809	2.95	1.00	0.29	0.03	0.40	4.67	0.56	2.90	132.70	77.77	213.36	0.59
By813	3.13	0.95	0.22	0.02	0.42	4.74	0.54	1.89	98.11	35.63	135.63	0.37
By815	5.10	1.14	0.27	0.03	0.50	7.03	0.65	2.01	89.79	37.25	128.03	0.42
By843	4.10	1.95	0.36	0.07	0.61	7.09	0.82	1.88	45.75	58.82	105.52	1.29
By855	3.77	1.32	0.64	0.19	1.44	7.35	1.85	2.27	85.13	6.91	94.31	0.08
Gy1007	6.86	1.71	0.28	0.11	0.35	9.31	0.54	2.45	57.71	17.77	77.93	0.31
Gy1032	7.19	2.46	0.47	0.03	0.46	10.60	0.71	6.74	68.49	17.07	92.29	0.25
Gy220	6.06	1.97	0.88	0.19	0.77	9.87	1.31	2.07	99.79	14.13	115.98	0.14
Gy237	7.27	2.70	0.80	0.11	1.35	12.23	1.81	2.50	92.95	8.50	103.94	0.09
Gy246	5.03	1.54	0.62	0.39	0.90	8.47	1.40	2.17	75.43	27.27	104.87	0.36
Gy386	5.85	1.79	0.85	0.24	0.75	9.47	1.29	2.00	72.64	16.80	91.44	0.23
Gy462	6.09	1.86	0.52	0.27	0.83	9.57	1.23	2.43	67.24	16.39	86.06	0.24
Gy798	4.30	3.61	0.90	0.08	0.81	9.69	1.30	1.82	57.83	22.30	81.95	0.39
Gy923	4.04	1.46	0.28	0.05	0.86	6.69	1.02	2.27	35.58	13.16	51.01	0.37
Ry684	4.78	1.99	0.40	0.03	0.40	7.59	0.62	2.43	65.75	9.03	77.21	0.14
Ry713	3.96	1.36	0.10	0.04	0.19	5.65	0.26	2.39	62.95	11.25	76.59	0.18
Ry729	5.41	1.73	0.45	0.05	0.58	8.21	0.83	2.40	78.14	4.31	84.85	0.06
Ry732	3.04	1.98	0.88	0.04	0.72	6.65	1.18	2.20	61.07	0.48	63.74	0.01
Sy1032	4.73	1.78	0.23	0.02	0.31	7.06	0.43	2.26	42.95	10.52	55.73	0.25
Sy1035	5.63	1.46	0.16	0.05	0.32	7.61	0.42	5.18	77.27	12.82	95.27	0.17
Sy1039	2.32	1.97	0.34	0.02	0.57	5.21	0.75	3.02	50.82	5.34	59.19	0.11
Sy1052	3.52	1.20	0.14	0.03	0.19	5.08	0.27	4.30	59.46	15.56	79.31	0.26
Sy1077	2.52	1.62	0.13	0.01	0.19	4.48	0.26	3.72	71.13	4.95	79.81	0.07

(续表 4)

自交系 Inbred line	叶黄素 Lutein	玉米黄素 Zeaxanthin	β -隐黄质 β -cryptoxanthin	α -胡萝卜素 α -carotene	β -胡萝卜素 β -carotene	总类胡萝卜素 Total carotenoids	维生素 A 原 Pro vitamin A	δ -生育酚 δ -tocopherol	γ -生育酚 γ -tocopherol	α -生育酚 α -tocopherol	总生育酚 Total tocopherol	α/γ 比值 Ratio of α/γ
Sy1128	6.04	2.25	0.34	0.03	0.41	9.07	0.60	4.55	65.99	13.17	83.71	0.20
Sy3073	4.28	1.85	0.36	0.03	0.47	6.99	0.67	2.13	35.75	5.99	43.86	0.17
Sy998	4.17	5.17	0.36	0.03	1.11	10.83	1.30	2.87	72.18	20.02	95.06	0.28
Sy999	3.93	2.91	0.36	0.05	1.08	8.33	1.29	3.57	130.99	1.41	135.97	0.01
普通玉米 Normal maize												
812	9.12	2.72	0.27	0.05	0.35	12.52	0.51	2.33	31.02	10.15	43.50	0.33
832	7.46	1.98	0.36	0.12	0.30	10.22	0.54	2.49	36.34	16.47	55.30	0.45
5237	5.15	6.02	0.93	0.03	0.71	12.84	1.19	1.75	19.08	9.80	30.62	0.51
5311	7.88	1.24	0.22	0.07	0.43	9.83	0.58	2.21	34.14	2.80	39.15	0.08
8701	12.38	2.67	0.63	0.03	0.74	16.46	1.07	1.78	23.44	3.46	27.79	0.15
8902	5.18	3.60	0.80	0.05	0.61	10.25	1.04	2.16	37.56	7.18	46.90	0.20
3H-2	2.82	4.84	1.07	0.01	0.72	9.45	1.26	2.08	25.84	6.45	34.37	0.25
7884-4Ht	5.51	6.85	0.66	0.01	0.70	13.73	1.04	1.95	50.77	9.50	62.22	0.19
B73	6.96	2.36	0.50	0.18	0.35	10.36	0.69	3.05	34.85	5.29	43.19	0.15
BT1	1.94	5.72	1.20	0.01	0.58	9.45	1.19	1.86	14.94	4.53	21.32	0.30
C8605	8.35	3.24	0.34	0.10	0.58	12.60	0.79	2.11	43.79	21.53	67.42	0.49
长 3 Chang 3	3.86	2.93	0.56	0.03	0.53	7.92	0.83	2.25	36.42	2.24	40.91	0.05
昌 7-2 Chang 7-2	4.77	6.34	0.98	0.07	0.51	12.68	1.04	2.88	47.27	8.11	58.26	0.17
成 698 Cheng 698	3.11	3.39	1.09	0.03	0.75	8.35	1.30	1.80	15.82	8.06	25.68	0.51
川 48-2 Chuan 48-2	7.32	2.60	0.56	0.05	0.32	10.83	0.62	3.07	67.15	12.09	82.30	0.18
长阳 72 Changyang 72	7.37	3.93	0.52	0.04	0.42	12.27	0.70	1.93	29.00	14.66	45.58	0.51
丹 340 Dan 340	10.63	2.68	0.52	0.13	1.54	15.51	1.87	1.88	36.01	3.91	41.81	0.11
丹 598 Dan 598	2.75	6.47	1.16	0.02	0.56	10.95	1.14	1.93	33.23	16.11	51.27	0.54
丹 599 Dan 599	3.99	3.10	0.40	0.03	0.43	7.96	0.65	1.74	19.02	12.02	32.78	0.63
丹 9046 Dan 9046	6.72	0.72	0.35	0.10	0.69	8.58	0.91	1.86	19.19	12.09	33.14	0.63
东 237 Dong 237	4.47	4.94	1.45	0.03	0.59	11.47	1.33	1.85	21.24	0.81	23.90	0.05
东 46 Dong 46	3.36	1.50	0.25	0.06	0.42	5.58	0.57	null	20.69	2.53	23.22	0.12
H21	0.85	1.11	0.44	0.01	0.32	2.73	0.55	2.57	29.17	15.49	47.24	0.53

(续表 4)

自交系 Inbred line	叶黄素 Lutein	玉米黄素 Zeaxanthin	β -隐黄质 β -cryptoxanthin	α -胡萝卜素 α -carotene	β -胡萝卜素 β -carotene	总类胡萝卜素 Total carotenoids	维生素 A 原 Pro vitamin A	δ -生育酚 δ -tocopherol	γ -生育酚 γ -tocopherol	α -生育酚 α -tocopherol	总生育酚 Total tocopherol	α/γ 比值 Ratio of α/γ
海 014 Hai 014	2.12	2.46	0.36	0.02	0.28	5.24	0.47	2.13	57.31	6.66	66.10	0.12
海 1134 Hai 1134	5.13	2.97	1.97	0.22	0.65	10.94	1.74	2.62	37.19	0.87	40.68	0.02
获唐黄-17 Huotanghuang-17	6.12	7.48	1.94	0.21	1.59	17.34	2.66	1.81	24.77	2.94	28.62	0.12
沪 803 Hu 803	7.98	3.37	0.26	0.04	0.31	11.96	0.46	2.30	33.97	21.12	57.38	0.62
黄 C Huang C	8.20	4.64	0.74	0.05	1.32	14.94	1.71	1.76	23.57	26.20	51.52	1.11
黄野四 Huangye 4	0.55	0.60	0.26	0.01	0.13	1.56	0.27	1.83	12.07	6.96	20.85	0.58
黄早四 Huangzao 4	1.78	1.62	0.67	0.03	0.33	4.42	0.68	2.31	23.03	9.45	34.80	0.41
J4112	6.92	4.96	0.97	0.04	1.09	13.99	1.60	2.06	44.76	5.10	51.92	0.11
冀 53 Ji 53	2.29	7.89	1.70	0.01	1.01	12.91	1.87	1.78	23.17	10.24	35.19	0.44
吉 63 Ji 63	6.18	0.67	0.51	0.05	0.54	7.95	0.82	2.15	28.37	1.90	32.42	0.07
吉 842 Ji 842	4.24	0.88	0.17	0.02	0.17	5.48	0.27	null	12.07	4.48	16.56	0.37
吉 846 Ji 846	9.17	0.99	0.40	0.07	0.35	10.98	0.58	2.31	28.67	10.89	41.87	0.38
吉 853 Ji 853	5.03	2.10	0.41	0.04	0.23	7.81	0.46	2.28	32.11	8.25	42.64	0.25
交 51 Jiao 51	1.55	2.36	0.12	0.01	0.20	4.25	0.27	2.90	55.49	4.54	62.92	0.08
K10	4.22	3.35	0.60	0.03	0.52	8.73	0.84	2.68	46.32	7.08	56.07	0.15
K12	8.57	5.82	0.50	0.04	0.86	15.79	1.13	1.76	10.57	7.55	19.00	0.71
K14	3.16	1.73	0.22	0.01	0.14	5.26	0.26	1.91	33.65	12.98	48.54	0.38
K22	3.95	8.16	0.66	0.01	0.75	13.54	1.08	1.76	10.19	8.21	19.28	0.82
旅 28 Lü 28	1.63	3.19	0.61	0.01	0.27	5.72	0.59	2.30	49.32	1.37	52.99	0.03
Lx9801	0.95	0.86	0.77	0.02	0.33	2.94	0.73	2.35	28.09	6.96	37.40	0.25
M0113	4.25	2.51	0.59	0.06	0.29	7.70	0.61	2.87	40.23	1.19	44.28	0.03
Mo17	7.64	6.08	0.67	0.05	0.78	15.20	1.13	1.89	31.73	10.78	43.46	0.34
南 21-3 Nan 21-3	5.97	3.75	0.54	0.06	0.44	10.77	0.74	3.16	50.48	5.68	59.33	0.11
P138	1.72	4.39	1.19	0.02	0.47	7.79	1.07	1.89	17.70	6.45	26.04	0.37
P178	6.98	2.07	1.19	0.04	1.11	11.39	1.72	1.86	19.57	16.09	37.52	0.82
Q1261	10.92	5.40	0.61	0.05	0.52	17.49	0.84	null	7.19	3.37	10.56	0.47
齐 205 Qi 205	5.92	1.77	0.12	0.02	0.11	7.94	0.18	2.21	9.55	9.98	20.63	1.04
齐 319 Qi 319	5.02	2.79	0.59	0.02	0.35	8.77	0.66	3.84	51.27	10.27	65.39	0.20
S22	5.46	3.80	0.22	0.02	0.13	9.63	0.25	1.77	12.38	5.34	19.49	0.43
S37	1.97	6.68	1.71	0.01	0.76	11.12	1.62	1.78	21.80	9.89	33.47	0.45

(续表 4)

自交系 Inbred line	叶黄素 Lutein	玉米黄素 Zeaxanthin	β -隐黄质 β -cryptoxanthin	α -胡萝卜素 α -carotene	β -胡萝卜素 β -carotene	总类胡萝卜素 Total carotenoids	维生素 A 原 Pro vitamin A	δ -生育酚 δ -tocopherol	γ -生育酚 γ -tocopherol	α -生育酚 α -tocopherol	总生育酚 Total tocopherol	α/γ 比值 Ratio of α/γ
沈 137 Shen 137	4.98	1.89	0.34	0.20	0.24	7.65	0.51	2.67	34.64	8.10	45.41	0.23
沈 5003 Shen 5003	9.80	2.31	0.28	0.03	0.29	12.71	0.45	1.94	33.82	3.47	39.23	0.10
四 434 Si 434	8.25	1.59	0.47	0.11	0.43	10.85	0.72	2.25	31.34	1.37	34.97	0.04
四 444 Si 444	4.53	2.31	0.30	0.05	0.73	7.91	0.91	1.82	12.77	5.93	20.52	0.47
四 446 Si 446	7.01	5.05	0.81	0.05	0.90	13.83	1.33	2.00	39.97	12.66	54.63	0.32
苏湾 1611 Suwan 1611	2.88	5.22	1.21	0.06	0.87	10.24	1.50	3.00	55.68	1.84	60.53	0.03
铁 7922 Tie 7922	2.52	4.01	0.90	0.02	0.39	7.84	0.85	1.86	23.69	17.47	43.02	0.74
U8112	6.56	2.76	0.35	0.05	0.31	10.04	0.51	2.63	29.17	10.85	42.65	0.37
文黄 413 Wenhuang 413	0.47	0.44	0.54	0.01	0.44	1.90	0.72	2.22	25.45	3.26	30.93	0.12
武 109 Wu 109	3.68	2.49	0.20	0.02	0.23	6.61	0.34	1.97	36.39	5.97	44.32	0.16
西 502 Xi 502	5.33	5.89	0.81	0.02	0.68	12.73	1.10	1.78	21.99	9.85	33.62	0.44
沿 414 Yan 414	1.92	2.18	0.21	0.01	0.33	4.65	0.44	1.81	17.19	1.84	19.94	0.20
掖 107 Ye 107	2.82	8.01	1.42	0.01	0.86	13.12	1.57	1.96	32.10	0.92	34.98	0.03
掖 478 Ye 478	7.29	2.62	0.18	0.03	0.22	10.33	0.32	2.89	42.30	5.96	51.15	0.14
掖 488 Ye 488	5.11	0.70	0.07	0.05	0.15	6.07	0.21	3.68	46.21	1.96	51.86	0.05
掖 515 Ye 515	7.09	6.15	1.14	0.03	0.71	15.12	1.30	2.26	42.28	3.47	48.00	0.07
掖 52106 Ye 52106	7.84	2.87	0.30	0.08	0.16	11.25	0.35	2.13	28.89	10.76	41.78	0.37
掖 8001 Ye 8001	8.57	1.37	0.13	0.03	0.27	10.37	0.35	2.57	38.09	11.47	52.13	0.30
豫 374 Yu 374	3.26	5.66	0.82	0.01	0.85	10.60	1.27	null	24.84	10.95	35.79	0.44
杂 C546 Za C546	5.94	3.26	0.42	0.03	0.23	9.88	0.45	1.75	15.01	4.19	20.95	0.28
郑 22 Zheng 22	4.62	3.39	0.45	0.02	0.34	8.81	0.57	1.78	19.75	2.85	24.37	0.14
郑 32 Zheng 32	8.20	2.10	0.41	0.15	0.26	11.12	0.54	5.19	36.41	4.44	46.04	0.12
郑 58 Zheng 58	6.53	4.91	0.90	0.05	0.30	12.69	0.78	2.32	55.01	10.13	67.46	0.18
郑 653 Zheng 653	9.72	4.46	0.77	0.05	0.76	15.77	1.18	2.49	43.94	2.35	48.78	0.05
自 330 Zi 330	10.48	6.57	1.32	0.07	1.13	19.56	1.82	null	27.61	11.24	38.84	0.41
综 3 Zong 3	5.06	5.85	1.43	0.03	1.05	13.41	1.78	null	18.01	2.18	20.20	0.27
综 31 Zong 31	4.43	2.00	0.73	0.07	0.43	7.65	0.83	2.13	38.65	3.42	44.21	0.10

null: 可能由于品种该组分含量较低, 无法测出。 null: the amount of these compositions in maize kernel was too low to be detected.

表 5 胡萝卜素和生育酚各组分含量的比较
Table 5 Comparisons of carotenoids and tocopherols components

成分 Component	全部材料 Entire material (n=112)		高油玉米 High-oil maize (n=32)		普通玉米 Normal maize (n=80)	
	范围 Range ($\mu\text{g g}^{-1}$)	平均值 \pm SD Average \pm SD	范围 Range ($\mu\text{g g}^{-1}$)	平均值 \pm SD Average \pm SD	范围 Range ($\mu\text{g g}^{-1}$)	平均值 \pm SD Average \pm SD
叶黄素 Lutein	0.47–12.38	5.30 \pm 2.46	2.32–8.67	5.03 \pm 1.66	0.47–12.38	5.40 \pm 2.71
玉米黄素 Zeaxanthin	0.44–8.16	3.05 \pm 1.90	0.95–5.17	1.85 \pm 0.84	0.44–8.16	3.53 \pm 2.00
β -隐黄质 β -cryptoxanthin	0.07–1.97	0.60 \pm 0.41	0.10–0.90	0.42 \pm 0.24	0.07–1.97	0.67 \pm 0.44
α -胡萝卜素 α -carotene	0.01–0.39	0.06 \pm 0.07	0.01–0.39	0.10 \pm 0.10	0.01–0.22	0.05 \pm 0.05
β -胡萝卜素 β -carotene	0.11–1.59	0.56 \pm 0.32	0.19–1.44	0.64 \pm 0.32	0.11–1.59	0.53 \pm 0.32
总类胡萝卜素 Total carotenoids	1.56–19.56	9.57 \pm 3.47	4.48–12.23	8.04 \pm 2.09	1.56–19.56	10.18 \pm 3.73
维生素 A 原 Provitamin A	0.18–2.66	0.89 \pm 0.47	0.26–1.85	0.90 \pm 0.42	0.18–2.66	0.89 \pm 0.50
δ -生育酚 δ -tocopherol	1.74–6.74	2.43 \pm 0.82	1.82–6.74	2.83 \pm 1.11	1.74–5.19	2.25 \pm 0.58
γ -生育酚 γ -tocopherol	7.19–132.70	43.32 \pm 25.96	35.58–132.70	74.32 \pm 24.32	7.19–67.15	30.92 \pm 13.05
α -生育酚 α -tocopherol	0.48–77.77	11.03 \pm 11.36	0.48–77.77	19.33 \pm 17.09	0.81–26.20	7.71 \pm 5.24
总生育酚 Total tocopherol	10.56–213.36	56.58 \pm 33.60	43.86–213.36	96.42 \pm 34.80	10.56–82.30	40.64 \pm 14.51
α/γ 比值 α/γ ratio	0.01–1.29	0.30 \pm 0.24	0.01–1.29	0.27 \pm 0.23	0.02–1.11	0.31 \pm 0.24

谱柱。说明选择合适的色谱柱和流动相能测定不同物种类胡萝卜素和生育酚各组分的含量, YMC (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)C₃₀ 色谱柱对类胡萝卜素和生育酚的分离及测定效果要优于其他色谱柱^[24]。本研究采用 YMC C₃₀ 色谱柱, 以 $V_{\text{乙腈}} : V_{\text{甲醇}} : V_{\text{二氯甲烷}} = 75 : 20 : 5$ 为流动相, 流速 1.8 mL min⁻¹ 检测波长 450 nm 和 295 nm, 也准确地测定了玉米籽粒类胡萝卜素和生育酚各组分的含量。到目前为止, 对于类胡萝卜素和生育酚的研究, 无论是定性分析还是定量分析, 或是分离和制备, 液相色谱都是不可缺少的技术手段, 但一般是将类胡萝卜素与生育酚单独测定。本试验采用外标法, 利用 YMC (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm) C₃₀ 色谱柱对玉米籽粒的叶黄素、玉米黄素、 β -隐黄质、 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素 5 种类胡萝卜素组分以及 α -生育酚、 γ -生育酚、 δ -生育酚 3 种生育酚组分同时进行定量分析, 方法相对简便, 结果可靠, 而且节省了时间和费用。使用 BHT 作为抗氧化剂降低类胡萝卜素的损失, 能够起到较好的效果。同时, 通过调节可见光区的吸光值及流动相比, 还可以测定更多类胡萝卜素组分, 如虾青素 ($V_{\text{乙腈}} : V_{\text{甲醇}} : V_{\text{二氯甲烷}} = 95 : 4 : 1$ 为流动相, 流速 1 mL min⁻¹, 测定波长 476 nm, 保留时间 3.6 min) 等。根据目标组分保留时间的不同, 我们可以一次测定更多组分, 节省费用和提高效率。

3.2 玉米籽粒中广泛存在的油分、维生素 A 原、维生素 E 变异为“三高”玉米育种提供了可能

提高玉米产量一直以来是我们追求的最重要育种指标, 但随着生活质量的提高, 需求的改变, 提

高籽粒品质也得到越来越多的关注。本试验和前人研究结果^[12,25-26]类似, 也发现玉米籽粒中类胡萝卜素及生育酚各组分含量存在显著的变异, 如各组分含量变幅最大的 α -生育酚, 含量相差达 162 倍; 变化幅度最小的 δ -生育酚, 含量相差也接近 4 倍(表 5)。这些广泛的变异, 为我们下一步的品质育种提供了材料基础。但前人研究都是针对普通玉米材料, 本研究比较分析了普通和高油玉米类胡萝卜素及生育酚含量的差别。类胡萝卜素和生育酚都是脂溶性物质, 从理论上讲油分能促进类胡萝卜素和生育酚含量的提高, 但类胡萝卜素主要存在于胚乳中, 油分和生育酚主要存在于胚中。研究结果显示, 普通和高油玉米类胡萝卜素各组分的含量差异并不明显; 但高油玉米生育酚的平均含量却是普通玉米平均含量的 2.4 倍(表 5), 说明油分含量和生育酚的含量具有显著的相关性。这也为我们下一步的“三高”玉米(高油、高维生素 A 原、高维生素 E)育种提供了新的思路, 我们只需要在现有高油玉米的基础上, 提高维生素 A 原的含量, 就可能同时实现这三个目的, 从而加速品质育种进程。

3.3 “三高”玉米育种还需要考虑引进新的种质资源和应用新的研究手段

尽管本试验所用的材料中类胡萝卜素和生育酚各组分含量存在广泛的变异, 但还不足以满足未来的育种需要。比如对高维生素 A 原的玉米育种, HarvestPlus 计划认为玉米籽粒维生素 A 原的含量达到 15 $\mu\text{g g}^{-1}$ 才能满足生物强化的要求(<http://www.harvestplus.org/>), 但目前 112 个自交系中最高值也不过 2.66 $\mu\text{g g}^{-1}$, 离

目标有相当的差距。Harjes 等^[25]采用与本试验相似的测定方法对 281 个具有广泛多样性的温带和热带自交系分析结果显示, 有少数材料的维生素 A 原的含量已经达到 $15 \mu\text{g g}^{-1}$, CIMMYT 也有部分材料维生素 A 原的含量稳定达到 $8\sim 10 \mu\text{g g}^{-1}$ (Kevin Pixley, 私人通讯)。引进和利用这些材料并结合我们现有的高油玉米材料必将加速“三高”玉米的育种进程。

尽管 HPLC 技术能准确测定玉米籽粒类胡萝卜素和生育酚的含量, 但也存在两个明显的缺点。第一, 成本高, 耗时长。根据我们的估算, 试剂和仪器的耗费, 每个样本大约需要 50 元人民币; 一天 24 h 连续工作, 也只能测定 24 个样本。从而限制了这一技术的大规模应用。第二, 测定需要破坏性地粉碎籽粒, 给育种选择带来困难, 我们只能根据家系的表型来估计选择的效果, 遗传增益较小。因此, 在未来的育种中, 我们需要考虑两个方面的改进, 一是发展更快捷、低成本和无破坏性的测定方法, 如近红外光谱(NIR)方法^[27]。二是考虑采用新近发展起来的关联分析和等位基因挖掘(allele mining)等手段, 寻找控制这些性状的优良等位基因, 开发功能分子标记, 利用分子标记辅助选择的办法加速育种研究^[28]。植物中类胡萝卜素和生育酚的代谢途径研究相对清楚, 只受有限的基因控制^[29-30], 这为候选基因的关联分析提供了契机。Harjes 等^[25]利用关联分析和等位基因挖掘等方法证明了 *LcyE* 基因在玉米籽粒维生素 A 原合成中的重要作用, 基于这个基因开发的 3 个功能标记在美国 Illinois 大学、CIMMYT 和本实验室等单位高维生素 A 原玉米的分子育种中已经得到广泛的应用, 大大加速了育种的进程。据 Harjes 等^[25]估算, 利用这个基因的标记进行分子标记辅助选择比传统的表型选择所需费用降低数百倍之多。

4 结论

建立了准确、快速地测量玉米籽粒维生素 A 原和维生素 E 各组分含量的高效液相色谱体系。112 份玉米自交系籽粒维生素 A 原和维生素 E 8 种组分的含量存在广泛的表型变异, 变异最广泛的是 α -生育酚, 变异最小的是 δ -生育酚。高油玉米维生素 A 原各组分含量与普通玉米自交系没有显著差异, 其表型变异相对较小; 而生育酚各组分含量显著高于普通玉米, 且具更广泛的表型变异。这些结果为今后“三高”玉米的培育提供了有益的表型信息。

References

- [1] Handelman G. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition*, 2001, 17: 818-822
- [2] Brmlley P M, Elmadfa I, Kafatos A, Kelly F J, Manios Y, Roxborough H E, Schuch W, Sheehy P J, Wagner K H. Vitamin E. *J Sci Food Agric*, 2000, 80: 913-938
- [3] Kanwischer M, Porfirova S, Bergmulier E, Dormann P. Alterations in tocopherol cyclase activity in transgenic and mutant plants of *Arabidopsis* affect tocopherol content, tocopherol composition and oxidative stress. *Plant Physiol*, 2005, 137: 713-723
- [4] Sklan D, Donoghue S. Vitamin E response to high dietary vitamin A in the chick. *J Nutr*, 1982, 112: 759-765
- [5] Astrog P. Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research. *Trends Food Sci Technol*, 1997, 8: 406-413
- [6] Jacques P F. The potential preventative effects of vitamins for cataract and age-related macular degeneration. *Int J Vitam Nutr Res*, 1999, 69: 198-205
- [7] West K P. Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *J Nutr*, 2002, 132: 2857S-2866S
- [8] Clive E W. Meeting requirements for vitamin A. *Nutr Rev*, 2000, 58: 341-345
- [9] Graham R D, Welch R M, Bouis H E. Addressing micronutrient malnutrition through enhancing the nutritional quality of staple foods: Principles, perspectives and knowledge gaps. *Adv Agron*, 2001, 70: 77-142
- [10] Philip J W, Martin R B. Biofortifying crops with essential mineral elements. *Trends Plant Sci*, 2005, 10: 586-593
- [11] Buckler E S, Stevens N M. *Maize Origins, Domestication and Selection*. New York: Columbia University Press, 2005. pp 67-90
- [12] Chander S, Meng Y J, Zhang Y R, Yan J B, Li J S. Comparison of nutritional traits variability in selected eighty-seven inbreds from Chinese maize (*Zea mays* L.) germplasm. *J Agric Food Chem*, 2008, 56: 6506-6511
- [13] Hui B-D(惠伯棣). *Carotenoid Chemistry and Biochemistry (类胡萝卜素化学和生物化学)*. Beijing: China Light Industry Press, 2005. pp 90-91 (in Chinese)
- [14] Shao T-Y(邵桃玉), Zhao G-Q(赵国琦). Research of vitamins measuring by HPLC. *Feed Industry (饲料工业)*, 2007, 28(18): 55-58 (in Chinese)
- [15] Teng W-T(滕文涛), Cao J-S(曹靖生), Chen Y-H(陈彦惠), Liu X-H(刘向辉), Jing X-Q(景希强), Zhang F-J(张发军), Li J-S(李建生). Analysis of maize heterotic groups and patterns during past decade in China. *Sci Agric Sin (中国农业科学)*, 2004, 37(12): 1804-1811 (in Chinese with English abstract)
- [16] Kimura M, Rodriguez A D. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. *Food Chem*, 2002, 78: 389-398
- [17] Kimura M, Cintia N K, Delia B R A, Penelope N. Screening and HPLC methods for sweetpotato, cassava and maize. *Food Chem*, 2007, 100: 1734-1746

- [18] Kurilich A C, Juvik J A. Simultaneous quantification of carotenoids and tocopherols in corn kernel extracts by HPLC. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 1999, 22: 2925–2934
- [19] Rodriguez-Amaya D B, Kimura M. HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis. Washington D C: International Center for Tropical Agriculture, 2004. p 34
- [20] Granado F, Olmedilla B, Blanco I. Carotenoid composition in raw and cooked Spanish vegetables. *J Agric Food Chem*, 1992, 40: 2135–2140
- [21] Akhtar M H, Michael B. Extraction and quantification of major carotenoids in processed foods and supplements by liquid chromatography. *Food Chem*, 2008, 111: 255–261
- [22] Renata S, Jerzy K. Tocopherol content and isomers' composition in selected plant species. *Plant Physiol Biochem*, 2008, 46: 29–33
- [23] Fan M-T(樊明涛), Wu S-Y(吴守一), Ma H-L(马海乐). Research progress in determination methods of vitamin E. *J Jiangsu Univ (Nat Sci)*(江苏大学学报·自然科学版), 2002, 23(1): 54–57 (in Chinese with English abstract)
- [24] Darnoko D, Cheryan M, Emoros J, Perkins E G. Simultaneous HPLC analysis of palm carotenoids and tocopherols using a C-30 column and photodiode array detector. *J Liq Chromatogr Related Technol*, 2000, 23: 873–885
- [25] 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 B, Buckler E S. Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification. *Science*, 2008, 319: 330–333
- [26] Rocheford T R, Wong J C, Egesel C O, Lambert R J. Enhancement of vitamin E levels in corn. *J Am Coll Nutr*, 2002, 21: 191S–198S
- [27] Maria G, Salas F, Hamblin M T, Li L, Rooney W L, Tuinstra M R, Kresovich S. Trait loci analysis of endosperm color and carotenoid content in sorghum grain. *Crop Sci*, 2008, 48: 1732–1743
- [28] Yang X-H(杨小红), Yan J-B(严建兵), Zheng Y-P(郑艳萍), Yu J-M(余建明), Li J-S(李建生). Reviews of association analysis for quantitative traits in plants. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(4): 523–530 (in Chinese with English abstract)
- [29] Dean D P, Barry J P. Vitamin synthesis in plants: Tocopherols and carotenoids. *Annu Rev Plant Biol*, 2006, 57: 711–738
- [30] Wurtzel E T. Genomics, Genetics and Biochemistry of Maize Carotenoid Biosynthesis. New York: Elsevier Press, 2004. pp 85–110