

# 普通小麦 D 染色体组上 *psy* 基因位点的分子证据

蔡 华<sup>1,2</sup>, 马传喜<sup>2</sup>, 司红起<sup>2</sup>, 乔玉强<sup>2</sup>

(1. 滁州学院化学与生命科学系, 安徽滁州 239000; 2. 安徽农业大学农学院, 安徽合肥 230036)

**摘要:** 为检测普通小麦 D 染色体组是否存在 *psy* 基因, 以扩增普通小麦 ( $2X=AABBDD=42$ ) *psy* 基因的同源引物 *psy02* 和 *psy06* 在节节麦 ( $2X=DD=14$ ) 中进行 PCR 反应。结果表明, 引物 *psy02* 在节节麦基因组 DNA 中的扩增产物长 206 bp, 与普通小麦中扩增的 196 bp 序列同源率为 93.0%, 对应的第 2 外显子区域内仅有 1 SNP; 引物 *psy06* 在节节麦基因组 DNA 中的 PCR 产物长 305 bp, 与普通小麦中扩增的 302 bp 序列同源率达 95.77%, 对应的第 6 外显子区域内无 SNP, 说明在小麦 D 染色体组中存在 *psy* 基因, 且 *psy* 基因部分外显子序列在 D 染色体组的进化过程中相对保守。

**关键词:** 普通小麦; 节节麦; D 染色体组; 黄色素; *psy* 基因

中图分类号: S512.1; S336

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2010)06-1006-05

## Molecular Evidence of *psy* Gene Loci on the DD Genome of *Triticum aestivum*

CAI Hua<sup>1,2</sup>, MA Chuan-xi<sup>2</sup>, SI Hong-qi<sup>2</sup>, QIAO Yu-qiang<sup>2</sup>

(1. Department of Chemistry and Life Science, Chuzhou University, Chuzhou, Anhui 239000, China;

2. College of Agronomy, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036, China)

**Abstract:** In order to verify whether there is *psy* gene on the DD genome of *Triticum aestivum* or not, the same primers, *psy02* and *psy06*, were used to amplify *psy* gene in *Triticum tauschii* ( $2X=DD=14$ ) and *Triticum aestivum* ( $2X=AABBDD=42$ ). The results showed that a 206 bp DNA fragment was amplified by the primers *psy02* in *Triticum tauschii* and a 196 bp DNA fragment was amplified in *Triticum aestivum*, sequences analysis displayed the homology of the two DNA fragment was 93.0%, and there was only one SNP in the 2nd exon region of *psy* gene; To the primers *psy06*, a 305 bp DNA fragment was amplified in *Triticum tauschii*, a 302 bp DNA fragment in *Triticum aestivum*, the homology of the two fragment was 95.77%, and there was no SNP in the 6th exon area of *psy* gene, these results indicated that there was *psy* gene on the DD genome of *Triticum aestivum*, and some exons sequence of *psy* gene in the DD genome were relatively conservative in *Triticum tauschii* and *Triticum aestivum*.

**Key words:** *Triticum aestivum*; *Triticum tauschii*; DD genome; Yellow Pigment; *psy* gene

普通小麦 (*Triticum aestivum* L.  $2n=6x=AABBDD=42$ ) 籽粒黄色素 (Yellow pigment, YP) 是造成面粉白度下降的重要因素, 黄色素含量对蒸煮面食品的色泽以及小麦的营养品质等均有显著影响<sup>[1]</sup>。对硬粒小麦 (*Triticum turgidum*

L.  $2n=4x=AABB=28$ ) 而言, 黄色素含量高的品种可制作出黄亮的高品质面食品<sup>[2]</sup>。黄色素是由多种物质组成的混合物, 其主要成分是类胡萝卜素<sup>[3-4]</sup>。类胡萝卜素的生物合成是在八氢番茄红素合成酶 (phytoene synthase, *psy*) 作用下进行

\* 收稿日期: 2010-05-01 修回日期: 2010-06-28

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2006BAD01A02); 公益性行业 (农业) 科研专项 (nyhyzx07-002); 农业部“引进国际先进农业科学技术”项目 (2006-G2); 安徽省教育厅自然科学重点项目 (KJ2010A252)。

作者简介: 蔡 华 (1972-), 男, 博士, 副教授, 主要从事小麦遗传育种研究。E-mail: caihua19721220@163.com

通讯作者: 马传喜 (1963-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事小麦遗传育种及品质检测研究。E-mail: machx@163.net

的,此酶是类胡萝卜素合成途径中的首要限速酶,其基因也是类胡萝卜素基因操作的首选基因<sup>[5-7]</sup>。

1968 年,Knott<sup>[8]</sup>在长穗偃麦草(*Lophopyrum ponticum* L.  $2n=2x=EE=14$ )的 7EL 染色体上发现了一条特异片段直接影响黄色素含量,并将其命名为黄色素基因 Y;Zhang 等<sup>[2]</sup>通过人工诱变的方法使其与硬粒小麦发生染色体易位形成 7E/7B 易位系,发现易位系不仅使黄色素含量显著增加,而且还携带一个抗小麦条锈病的 *Lr19* 基因。Pozniak<sup>[9]</sup>在四倍体硬粒小麦 7B 染色体长臂上发现了一个黄色素含量的 QTL,命名为 *psy-B1* 基因,并认为该基因可能成为禾谷类植物黄色素育种的一个重要候选基因。此外,在硬粒小麦的 5A 和 5B 染色体上也发现了 *psy* 基因位点<sup>[10]</sup>。在二倍体大麦(*Hordeum vulgare* L.,  $2n=2x=HH=14$ )中,高黄色素含量基因被定位于 2Hch 和 7Hch 染色体上,由二倍体大麦和四倍体硬粒小麦远缘杂交获得的六倍体黄色素含量显著高于硬粒小麦<sup>[11-13]</sup>。在普通小麦方面,Parker<sup>[14]</sup>报道了一个黄色素的 RFLP 标记位于 7A 染色体上,可解释黄色素变异的 60%。对 7A 的进一步分析找到 7 个 AFLP 标记,并将主要的 AFLP 标记发展为 STS 标记。但是这种标记只能对与定位亲本面粉黄色素来源相同的品种起到标记作用,而与其他许多品种的黄色素几乎没有关系,因而不具有普遍性<sup>[15]</sup>。上述研究提示在麦类植物(*Triticum*,  $X=7$ )中黄色素含量作为数量性状,应包含复杂的基因家族,因此推测在异源六倍体普通小麦中,*psy* 基因应该拥有更为丰富的基因位点。鉴于此,本研究选择具有 DD 染色体组的节节麦(*Aegilops squarrosa* L.,  $2n=2x=DD=14$ ),以其基因组 DNA 为模板,应用普通小麦中克隆出 *psy* 基因的引物,在节节麦 DD 染色体组中扩增 *psy* 基因(片段),基于普通小麦和节节麦同一引物的 PCR 产物序列同源性分析,检测普通小麦 DD 染色体组上存在 *psy* 基因的可能性,旨在为普通小麦 *psy* 基因家族新成员的发掘和染色体定位提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

供试小麦品种(系)为安徽农业大学小麦育种与品质改良实验室的育种材料,于 2004—2006 两年分别种植于安徽农业大学试验农场(合肥)和校

外试验基地(凤阳)。试验选用的 3 个小麦品种分别为高黄色素含量的周麦 18 和低黄色素含量的毕红穗和梁来友白皮小麦。节节麦为本实验室保存的野生种质。实验材料均为当年新收获种子,普通小麦正常收获期收获,节节麦经鉴定后于黄熟期但穗节尚未脱落时单株采样,自然干燥后保存。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 节节麦染色体标本制备

将节节麦每一小穗中的种子小心剥出,选择籽粒饱满的种子,清水洗净后分别放至培养皿里已清毒的湿细砂中浸泡(20℃),待根长约 1~2 cm 时,剪取根尖放入 20℃的 0.002 mol·L<sup>-1</sup>的 8-羟基喹啉溶液中处理 3 h,4℃卡诺氏溶液(无水乙醇:冰醋酸=3:1,V/V)固定 24 h 以上,取出材料用蒸馏水洗净后放入 1 mol·L<sup>-1</sup>盐酸溶液,在 60℃水浴中解离 3~5 min,蒸馏水漂洗干净,改良苯酚品红染色液染色 10 min 后镜检。

#### 1.2.2 普通小麦和节节麦基因组 DNA 的提取

采用改良的单籽粒法,取 1 粒饱满的小麦籽粒和节节麦籽粒分别充分研碎后放入 1.5 mL 离心管中,加入 700 μL SDS 样品提取液(288 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl, 200 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 8.0), 25 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA, 0.5% SDS), 60℃水浴 45 min,酚+氯仿+异戊醇(25:24:1,V/V)抽提蛋白,DNA 经预冷异丙醇沉淀、乙醇漂洗后真空干燥,1%琼脂糖凝胶检测 DNA 浓度, -20℃保存备用。

#### 1.2.3 引物设计和合成

从 NCBI 网站(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>)上获取玉米 *psy* 基因序列,以其 cDNA 为探针 BLAST 搜索小麦 EST 序列,选择同源性较高的序列拼接后应用 Premier 5.0 软件设计引物,经试扩增获得 2 对有效引物 *psy02* 和 *psy06*。*psy02* 序列为 Forward: 5'-GGACCTTGCTGAT-GACCGAG-3'; Reverse: 5'-TGACGGTCTGAAGTGAGAATGA-3'; *psy06* 序列为 Forward: 5'-GGGCTCAAATGGAAGATA-3'; Reverse: 5'-GCTCCAAGGCAGATGTCG-3'。引物交由上海 Sango 生物工程公司合成。

#### 1.2.4 PCR 反应体系和扩增程序

优化的 PCR 反应体系总体积为 20 μL,各成分如下:10×PCR 的 buffer(2.0 μL)、2.5 mmol·L<sup>-1</sup>的 dNTP(0.8 μL)、1 μmol·L<sup>-1</sup>的 For-

ward Primerr 和 Reverse Primerr(各 5 μL)、1U 的 Taq DNA 聚合酶(0.2 μL)、2.5 mmol · L<sup>-1</sup> 的 MgCl<sub>2</sub> (1.2 μL)、50 ng DNA 模板、无菌去离子水(补足至 20 μL)。以上试剂均购自上海 Sango 生物工程公司。PCR 反应扩增程序如下:95℃ 预变性 5 min;95℃ 变性 30 s,59℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1.5 min,共循环 40 次;最后 72℃ 延伸 5 min。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离检测,电泳缓冲液为 1×TAE 溶液,100~120 V 电压电泳 1 h,溴化乙锭(EB)染色,凝胶成像系统扫描并保存图像。

1.2.5 PCR 扩增产物的测序及序列分析

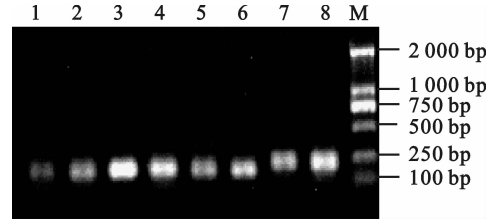
PCR 扩增产物交由上海 Sango 生物工程公司纯化、测序(每对引物的 PCR 扩增结果至少测序列 3 次以上,以确保测序结果的正确性)。测序结果递交至 <http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic=fgenesh&group=programs&subgroup=gfind> 网站进行基因结构预测,并在 NCBI 网站上进行 BLAST 分析。

2 结果与分析

2.1 引物 psy02 的 PCR 扩增结果和序列分析

3 个普通小麦样品(每样品重复 2 次)和 2 个节节麦样品在同一条件下以 psy02 为引物进行 PCR 扩增,结果表明,引物 psy02 在 8 个样品中

均能扩出目的 DNA 片段,经测序后 6 个普通小麦样品的序列完全一致,长 196bp。而在节节麦中扩增出一条较大的片段(图 1),表明 DD 染色体组上有该引物的结合位点。



1,2:周麦 18;3,4:毕红穗;5,6:梁来友白皮小麦;7,8:节节麦样品;M:marker  
1,2 are wheat cultivar Zhoumai 18;3,4 are Bihongsui;5,6 are Lianglaiyou;7,8 are *Triticum tauschii*; M:marker

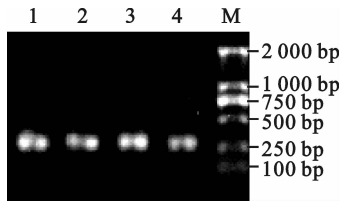
图 1 psy02 引物在普通小麦和节节麦中的扩增  
Fig. 1 Amplified results of primers sets psy02 in *Triticum aestivum* and *Triticum tauschii*

测序结果表明,psy02 引物在节节麦中的扩增片段长 206 bp,序列分析表明该片段与 psy02 引物在普通小麦中扩增的 196 bp 同源率为 93.0%,对应的第 2 外显子区域内仅有 1SNP(图 2)的差异。因此,可以确定在具有 DD 染色体组的节节麦中利用引物 psy02 扩增出的目的片段是 *psy* 基因,也进一步说明 psy02 引物扩增出的普通小麦 *psy* 基因应定位于 D 染色体组上。

<i>Triticum tauschii</i>	TGGACGTTGCTGATGACCGAGGAGCGGCGCGCCATATGGGCCATCTACGGTA	55
<i>Triticum aestivum</i>	-----c-----	55
EF600063-800-993	-----c-----	55
EF600064-800-1030	-----c-----	55
<i>Triticum tauschii</i>	ATC.....AATCTGGAACCTCACCATG	77
<i>Triticum aestivum</i>	---tgaaaattcgccgccaatattgggccaatetacggt-----a--at-----	110
EF600063-800-993	---tgaaaattcgccgccaatattgggccaatetacggt-----a--at-----	73
EF600064-800-1030	---tgaaaattcgccgccaatattgggccaatetacggt-----a--at-----	110
<i>Triticum tauschii</i>	CCTGGCTTGGACCCTCCATTGTTGCTCCCCTGTTGTAGTATCAGTATGTGTCACA	132
<i>Triticum aestivum</i>	-----t-----g-----	165
EF600063-800-993	-----t-----g-----	128
EF600064-800-1030	-----t-----g-----	165
<i>Triticum tauschii</i>	CAGTGTCAGTTAGTTTCAGTAATGTGACTGAAAATGAAGCTAGTTTCATTCTCAC	187
<i>Triticum aestivum</i>	-----t-----g-----tc-----	220
EF600063-800-993	-----t-----g-----tc-----	183
EF600064-800-1030	-----t-----g-----tc-----	220
<i>Triticum tauschii</i>	TTCAGACCGTCAA	200
<i>Triticum aestivum</i>	-----	233
EF600063-800-993	-----	196
EF600064-800-1030	-----	233

阴影部分为 *psy* 基因第 2 外显子区域 The 2th exon of *psy* gene was shadowed

图 2 节节麦和高/低黄色素含量小麦样品在 psy02 引物中的 PCR 产物序列对比  
Fig. 2 Sequences alignment between the PCR products of *Triticum aestivum* with high/low YPC and *Triticum tauschii* by primer psy02



1~4 分别为周麦 18、毕红穗、梁来友白小麦、节节麦; M: marker

1~4 are Zhoumai 18, Bihongsui, Lianglaiyou and *Triticum tauschii*; M: marker

图 3 引物 *psy06* 在普通小麦和节节麦中的扩增

Fig. 3 Amplified results of primers sets *psy06* in *Triticum aestivum* and *Triticum tauschii*

### 2.2 引物 *psy06* 的 PCR 扩增结果

采用同样方法研究引物 *psy06* 在普通小麦和节节麦中的 PCR 扩增情况,结果表明,该引物在两种材料中均可扩增出长度 302 bp 的条带(图 3)。序列分析表明,二者同源率达 95.77%,对照已发表的小麦 *psy* 基因序列 EF600063、EF600064,发现该序列覆盖了小麦 *psy* 基因第 6 外显子区域,区域内仅有 2 SNPs(图 4),因此可以推测在普通小麦 D 染色体组上存在 *psy* 基因或其等位变异。

<i>Triticum tauschii</i>	----t----a-----c-----a	55
<i>Triticum aestivum</i>	GGGCTCAAATGGAAGATAATATGGTTTTGCATTGCATTGCAATTGCAGGTTTGGG	55
EF600063-3607-3992	GGGCTCAAATGGAAGATAATATGGTTTTGCATTGCATTGCAATTGCAGGTTTGGG	55
<i>Triticum tauschii</i>	-----c-----	110
<i>Triticum aestivum</i>	CCTCTCTGTTGTTGTACCGGCAGATCCTTGACGAGATCGAAGCGAATGACTACAA	110
EF600063-3607-3992	CCTCTCTGTTGTTGTACCGGCAGATCCTTGACGAGATCGAAGCGAATGACTACAA	110
<i>Triticum tauschii</i>	-----	165
<i>Triticum aestivum</i>	CAACTTCACCAAGAGGGCCTATGTTGGGAAGGCGAAAAAGGTGCTTGCCTCCCT	165
EF600063-3607-3992	CAACTTCACCAAGAGGGCCTATGTTGGGAAGGCGAAAAAGGTGCTTGCCTCCCT	165
<i>Triticum tauschii</i>	-----	220
<i>Triticum aestivum</i>	GTGCGGTACGGGAGATCGCTGCTCTTACCGTATTCACTGAGAAATAACCAGACCT	220
EF600063-3607-3992	GTGCGGTACGGGAGATCGCTGCTCTTACCGTATTCACTGAGAAATAACCAGACCT	220
<i>Triticum tauschii</i>	-----t-----t-c-----g-----g-----	275
<i>Triticum aestivum</i>	AGAAGAAAGAACAAGCAAGATGAAGATGGTCAGGTTAGGCTAGATAGAATGAAA	275
EF600063-3607-3992	AGAAGAAAGAACAAGCAAGATGAAGATGGTCAGGTTAGGCTAGATAGAATGAAA	275
<i>Triticum tauschii</i>	---T-----a-----	306
<i>Triticum aestivum</i>	CATGGCAGTGTGGCGACATCTGCCTTGGAGC.	306
EF600063-3607-3992	CATGGCAGTGTGGCGACATCTGCCTTGGAGC.	306

阴影部分为第 6 外显子区域 The 6th exon of *psy* gene was shadowed

图 4 引物 *psy06* 对小麦和节节麦扩增产物的序列比对

Fig. 4 Sequences alignment between the amplified results of primers sets *psy06* in *Triticum aestivum* and *Triticum tauschii*

### 3 讨论

虽然小麦黄色素含量的 QTL 及分子标记研究取得了一定进展,但到目前为止,对普通小麦 *psy* 基因的染色体定位因所需遗传材料的不足或 QTL 定位的误差而受到影响。Alvarez<sup>[16-17]</sup> 利用小麦-*H. chilense* 附加系获得的 *Tritordeum* 材料,其中一些品系的黄色素含量是普通小麦的 4~5 倍,后又证实控制黄色素含量的基因位于 7Hch 染色体的  $\alpha$  臂上。He 等<sup>[18]</sup> 和 Zhang 等<sup>[1]</sup> 分别利用普通小麦中国春的缺体-四体染色体数目变异材料对小麦 *psy* 基因进行克隆和定位,并在 7A 和 7B 上分别定位了 *psyA* 和 *psyB* 基因,D 染色体组上 *psy* 基因的发现已见相关报道<sup>[19]</sup>,所用方法是应用中国春缺体-四体的非整倍体材料

进行鉴定的。但研究者同时指出,因所用材料不完整,定位结果可能不准确,而且某些引物对一些非整倍体系的 PCR 扩增并不稳定。实际上,普通小麦缺体-四体系是很难获得的染色体数目变异遗传材料,该材料难以繁殖保存,且不同材料间(特别是籽粒)表型差异不明显,这就要求用这套材料进行基因定位前,必须先对其进行细胞学鉴定,也就是对实验材料的可靠性进行染色体核型或带型分析鉴定。而实际上,大多数研究者往往忽略这一重要步骤,而导致研究结果产生错误;同时本套材料因难以繁殖,室内保存随着时间的延长可能使某些材料丢失,使用成本高。相比之下,如能用来源于 AA 染色体组的一粒小麦、BB 染色体组的拟斯皮尔特小麦和 DD 染色体组的方穗山羊草(节节麦)代替上述非整倍体材料进行试验,

可能更为可行。这是因为这三种材料的二倍体祖先种的表型差异明显,易于鉴别,这样不仅可以降低研究成本,而且增加试验结果的准确性。

结合前人的报道,我们认为小麦 *psy* 基因为典型的数量性状基因,其基因位点在小麦第7同源群的7A、7B和7D或其他染色体上应有分布,但是因普通小麦的巨大基因组和异源六倍体特性,因此在普通小麦中克隆基因非常困难,不同研究者所用实验材料和方法不同可能导致克隆的基因序列存在差异,这一方面说明小麦 *psy* 基因可能存在广泛的等位变异,同时也为小麦黄色素含量育种提供遗传资源。本次试验的引物是以玉米 *psy* 基因序列为探针,根据高同源性小麦 EST 序列的保守区设计的,因此有些在节节麦中没有扩出目的基因片段的引物,并不一定是 DD 染色体组中没有该基因,更合理的解释应该是该引物在节节麦中没有适当的结合位点。因此,根据节节麦或普通小麦 D 染色体的全基因组序列,结合 *psy* 基因信息,有可能设计出在 DD 染色体组中能扩出 *psy* 基因的引物。

#### 参考文献:

- [1]Zhang L P, Yan J, Xia X C. QTL mapping for kernel yellow pigment content in common wheat [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2006, 32(11): 51-45.
- [2]Zhang W, Dubcovsky J. Association between allelic variation at the Phytoene synthase 1 gene and yellow pigment content in the wheat grain [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 116(5): 635-45.
- [3]Naik P S, Khurana S M, Kalloo G. Genetic manipulation of carotenoid pathway in higher plants [J]. *Current Science*, 2003, 85 (1): 1423-1430.
- [4]Sharp P J. Validation of molecular markers for wheat breeding [J]. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2001, 52: 1357-1366.
- [5]Fraser P D, Mer S, Shipton C A. Biochemical evaluation of transgenic tomato plants expressing an addition phytoene synthase in a fruit specific manner [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99: 1092-1097.
- [6]Gallagher C E, Matthews P D, Li F Q. Gene duplication in the carotenoid biosynthetic pathway preceded evolution of the grasses [J]. *Plant Physiology*, 2004, 135: 1776-1783.
- [7]R emer S, Fraser P D. Recent advances in carotenoid biosynthesis, regulation and manipulation [J]. *Planta*, 2005, 211: 305-308.
- [8]Knott D R. Translocations involving *Triticum* chromosomes and *Agropyron* chromosomes carrying rust resistance [J]. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 1968, 10: 695-696.
- [9]Pozniak C J, Knox R E, Clarke F R. Identification of QTL and association of a phytoene synthase gene with endosperm colour in durum wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2007, 114: 525-537.
- [10]Cenci A, Somma S, Chantret N, et al. PCR identification of durum wheat BAC clones containing genes coding for carotenoid biosynthesis enzymes and their chromosome localization [J]. *Genome*, 2004, 47: 911-917.
- [11]Ruther A, Misawa N, Boger P. Production of zeaxanthin in *Escherichia coli* transformed with different carotenogenic plasmids [J]. *Applied Microbiol Biotechnology*, 1997, 48: 162-167.
- [12]Atienza S G, Avila C M, Ramirez M C, et al. Application of near infrared reflectance spectroscopy to the determination of carotenoid content in tritordeum for breeding purposes [J]. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2005, 56: 85-89.
- [13]Atienza S G, Ballesteros J, Mart N A, et al. Genetic variability of carotenoid concentration and degree of esterification among tritordeum ( $\times$  *Tritordeum Ascherson* et Graebner) and durum wheat accessions [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55: 4244-4251.
- [14]Parker G D, Chalmers K J, Rathjen A J, et al. Mapping loci associated with flour colour in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 97: 238-245.
- [15]Sharp P J. Validation of molecular markers for wheat breeding [J]. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2001, 52: 1357-1366.
- [16]Alvarez J B, Martin L M, Martin A. Chromosomal localization of genes for carotenoid pigments using addition lines of *Hordeum chilense* in wheat [J]. *Plant Breeding*, 1998, 117: 287-289.
- [17]Alvarez J B, Martin L M, Martin A. Genetic variation for carotenoid pigment content in the amphiploid *Hordeum chilense*  $\times$  *Triticum turgidum* conv. durum [J]. *Plant Breeding*, 1995, 118: 187-189.
- [18]He X Y, Zhang Y L, He Z H. Characterization of phytoene synthase 1 gene (*psy1*) located on common wheat chromosome 7A and development of a functional marker [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 116: 213-221.
- [19]Sun D J, He Z H, Wang H. Genes related with yellow pigments in wheat flour [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2006, 26 (4): 0655-0660.