

# 薏苡分子生物学研究进展

王红娟, 江本利, 於春, 路献勇, 胡积送, 闫晓明\*, 朱加保\* (安徽省农业科学院棉花研究所, 安徽合肥 230001)

**摘要** 目前关于薏苡分子生物学方面的研究虽然相对其他作物起步较晚, 但也取得了一些重要进展。从分子标记、功能基因和基因组测序 3 个方面综述了国内外关于薏苡的分子生物学研究, 讨论了薏苡分子水平研究的现状和发展方向, 为其分子生物学进一步研究提供参考。

**关键词** 薏苡; 分子标记; 基因克隆; 分子生物学

**中图分类号** S519 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)01-0010-04

## Research Progress in Molecular Biology of *Coix lacryma-jobi* L.

WANG Hong-juan, JIANG Ben-li, YU Chun et al (Cotton Research Institute of Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui 230031)

**Abstract** Studies on the molecular biology of *Coix lacryma-jobi* L. have made some important progress now, although relatively later than other crops. In this paper, the molecular biology study of *C. lacryma-jobi* L. was reviewed from three aspects: molecular marker, functional gene and genomic sequencing. The existing problems and development direction of *C. lacryma-jobi* L. molecular level were discussed, which provided a reference for molecular biology research.

**Key words** *Coix lacryma-jobi* L.; Molecular marker; Gene cloning; Molecular biology

薏苡(*Coix lacryma-jobi* L.), 属于禾本科(Gramineae)薏苡属(*Coix*)一年生或多年生草本植物。薏苡是一种药食兼用的粮食作物, 同时也具有保健美容的功效, 在我国有着悠久的栽培历史<sup>[1-2]</sup>。薏苡仁营养丰富, 富含蛋白质、脂肪、淀粉、维生素、氨基酸及钙、铁等营养成分<sup>[3]</sup>。作为传统中药材, 薏苡具有健脾利湿、清热排脓等药效, 薏苡还含有多种生物活性物质, 在抗肿瘤、抗炎、降血糖、免疫调节、DPPH 自由基清除等方面具有显著作用<sup>[4]</sup>。随着社会对健康保健的广泛重视, 薏苡的价值逐渐凸显出来, 生产需求不断增加, 围绕薏苡展开的各项研究也逐渐增多。近年来, 国内外学者将分子生物学技术应用到薏苡的种质鉴定、生长发育、代谢调节等方面的研究中, 深入解析了薏苡的分子遗传机理, 为薏苡的应用开发提供了研究基础。笔者综述了近年来薏苡分子生物学方面的相关研究, 为薏苡的基础及应用研究提供参考。

## 1 薏苡分子标记的相关研究

分子标记是分子生物学中的一项重要应用技术, 能从 DNA 水平进行个体或种群间差异的分析, 主要用于遗传多样性分析、分子标记辅助育种、亲缘关系分析、分子遗传图谱构建和性状的定位分析等。随着分子标记的广泛应用和薏苡研究深入的需求, 分子标记已较多地被应用于薏苡的相关研究。

**1.1 遗传多样性分析** 科研工作者利用多种分子标记研究了薏苡的遗传多样性, 可为种质资源的收集、评价和保护提供分子依据。

**1.1.1 RAPD 标记** Li 等<sup>[5]</sup>通过 RAPD(random amplified

polymorphic DNA) 标记对 21 份薏苡资源的遗传关系进行了分析。利用 31 对引物扩增以上 21 份材料, 共得到 205 条 DNA 片段, 每对引物平均可以扩增 6.61 条带。统计以上扩增出的 205 条 DNA 片段, 发现 115 条多态性条带, 每对引物平均可以扩增 3.71 条多态性带, 共有 56.1% 具有多态性, 表明这 21 份材料在 DNA 水平上具有比较丰富的变异, 而且有的材料具有特异条带。基于以上 DNA 水平的扩增条带计算得到这 21 份材料两两间的遗传相似系数为 0.301~0.809。聚类分析显示这 21 份薏苡被划分为 2 个主要类群, 其中, 3 个外来的种质被聚在一起, 3 个中国广西的种质被聚在同一亚群, 4 个野生型被聚在同一亚群。以上 RAPD 标记数据的聚类结果反映了薏苡在地理起源和进化上的遗传差异。

**1.1.2 SSR 标记** Ma 等<sup>[6]</sup>构建了薏苡的富含微卫星序列的文库, 并从中筛选出了 17 个 SSR(simple sequence repeats) 标记应用于 30 份薏苡资源的多样性分析, 每个位点的等位基因数为 1~5 个, 平均 2.8 个, 期望杂合度(He)、多态信息含量(PIC)分别为 0~0.676 和 0~0.666, 分析结果表明所检测的薏苡资源有较窄的遗传基础, 但这些引物可以应用到更多薏苡资源的遗传多样性评价。Ma 等<sup>[7]</sup>进一步利用以上 17 个标记评估了 79 份来自中国和韩国的薏苡资源的遗传多样性和遗传关系, 共检测到 57 个等位基因, 平均每个位点 3.4 个等位基因。聚类分析结果显示, 大部分中国的薏苡资源被划分为一个类群, 而所有的韩国薏苡材料被划分在另一个类群, 这说明两国的薏苡资源在遗传关系上截然不同。相比韩国的薏苡资源, 来自中国的薏苡种质资源表现出较大的种群多样性, 表明这些薏苡种质资源可以提供新型等位基因, 在薏苡育种改良中具有很大的潜力。郭银萍等<sup>[8]</sup>从玉米和水稻的 SSR 引物中筛选出 11 对多态性较好的引物, 并对 22 份薏苡种质进行了遗传多样性分析, 共检测出 105 个等位基因, PIC 是 0.304 8~0.923 8, 聚类分析将其分为 4 个类群, 结果与供试种质的亲缘关系一致, 进一步证明 SSR 标记能有效

**基金项目** 安徽省农业科学院学科建设项目(17A0719、16A0722)。  
**作者简介** 王红娟(1987—), 女, 吉林四平人, 研究实习员, 硕士, 从事经济作物的生物学和营养学研究。\* 通讯作者, 闫晓明, 研究员, 硕士, 从事农业生态环境、农产品质量安全研究; 朱加保, 高级农艺师, 硕士, 从事特色经济作物及有害生物综合治理研究。  
**收稿日期** 2017-10-25

地鉴定薏苡种质资源的遗传变异关系。

**1.1.3 SRAP 标记。**SRAP(sequence-related amplified polymorphism)也是一种高效的分子标记,俞旭平等<sup>[9]</sup>根据前人的结果设计了8个正向引物和11个反向引物,并通过对 $Mg^{2+}$ 、dNTP、BSA的浓度和模板、引物、聚合酶的用量进行单因素试验分析,建立了优化的薏苡的SRAP-PCR反应体系。王硕等<sup>[10]</sup>在俞旭平等<sup>[9]</sup>的研究基础上,对正反引物进行随机组合,得到88对SRAP标记引物,从中筛选出6对理想组合,并用这6对引物对收集到的25份薏苡种质进行遗传多样性分析,其扩增结果通过软件运算得出种质间的遗传相似系数为0.48~0.82,聚类分析将这25个薏苡种质分为4个类群,不同地区的种质并没有完全聚类在一起,说明薏苡各生态区内依然保持着较好的遗传多样性。研究发现,薏苡种质资源分子标记聚类结果<sup>[10]</sup>与表型多样性聚类分析<sup>[11]</sup>相似程度低,这可能与标记和性状的连锁紧密度有关,也可能与环境对表型的影响等有关,其原因有待进一步探索。夏法刚等<sup>[12]</sup>筛选出26对SRAP标记用于收集到的90份薏苡种质的分析,显示出丰富的遗传多样性,并利用16对SRAP标记构建了73份薏苡资源的指纹图谱,为分子标记辅助育种等提供了基础。

**1.1.4 ISSR 标记。**Xi等<sup>[13]</sup>报道他们利用10对ISSR(inter-simple sequence repeat)标记分析了来自2份野生薏苡和9份栽培薏苡的218份样品,共检测到103条可重复检测的片段,其中91(84.47%)条具有多态性。通过多态性条带分析显示以上11份薏苡材料的遗传多样性很低,Nei氏平均预期基因杂合度( $h$ )=0.07,Shannon's信息指数( $I$ )=0.10,不同材料间的遗传分化系数很高( $G_{ST}$ =0.6702)。此外,根据ISSR多态性条带结果进行聚类分析显示,11份薏苡材料中的9份栽培材料被划分成3个类群,2份野生型材料各自单独归为一类。该聚类结果与基于地理位置进行划分的结果一致。

**1.2 物种亲缘关系研究** 薏苡由于其独有的营养、功效成分和抗性等特性,长期以来被看作是改良玉米等禾本科作物种质的有利资源,薏苡与其他禾本科作物的亲缘关系也得到了很多研究。通过传统的分类学可以分析物种间的近缘关系,Clayton<sup>[14]</sup>指出薏苡属是在摩擦禾属(*Tripsacum*)之后,距离玉米最近的一个属。Wang等<sup>[15]</sup>通过研究直系同源区段得出以下结论:薏苡和玉米是在大约1210万年前产生分化;摩擦禾和玉米则是在大约850万年前产生分化;薏苡和高粱是在大约930万年前产生分化;高粱和玉米则是在大约1240万年前产生分化。Takahashi等<sup>[16]</sup>以3个玉米、3个大刍草种、3个高粱、1个摩擦禾种和1个薏苡种质为试验材料,利用基因组原位杂交技术(GISH)对以上材料进行了研究,结果发现玉米、大刍草、摩擦禾和薏苡的原位杂交模式相似,显示出由分散信号组成的相似杂交模式,相比之下,高粱则只在核仁区域显示出杂交信号。

田松杰等<sup>[17]</sup>利用21对AFLP(amplified fragment length polymorphism)标记研究了50个栽培玉米、大刍草、摩擦禾、薏苡材料的遗传关系。聚类分析将50个材料分为三大类:

摩擦禾属、薏苡属、玉蜀黍属。结果表明摩擦禾属是亲缘关系仅次于大刍草的玉米近缘属,比薏苡属关系更近,此结果与前人结果一致。

**1.3 遗传连锁图谱构建及QTL(quantitative trait locus)定位** 遗传图谱即遗传连锁图谱,指基因组中基因及专一的多态性标记之间相对位置的图谱。李雪峰<sup>[18]</sup>利用61对AFLP标记和21对RFLP(restriction fragment length polymorphism)标记将131株薏苡分离群体划分为11个遗传连锁群,并进行了QTL分析。针对该群体的5个重要农艺性状:株高、茎粗、叶长、叶宽及雄穗长,利用WinQTLCart软件中的复合区间作图法进行QTL扫描,结果表明共检测到31个QTL位点:株高3个、茎粗8个、叶长7个、叶宽7个及雄穗长6个,解释的表型变异方差最小的是12.16%,最大的是64.39%。Qin等<sup>[19]</sup>针对一个包含131个单株的薏苡 $F_2$ 群体,利用80对AFLP标记和10对RFLP标记构建了长为1339.5cM,平均14.88cM的薏苡遗传图谱。该图谱共包含10条连锁群,该结果和薏苡细胞学观察到的10条连锁群的结果一致。这一结果为定位分离薏苡中的重要基因,研究薏苡基因组结构、起源及与玉米的关系提供了基础。

## 2 薏苡功能基因的相关研究

目前,很多有关薏苡的研究均是围绕高粱、玉米等禾本科的亲缘关系展开,相比重要粮食作物来说,薏苡基因水平上的研究相对迟缓。近年来逐渐也有不少薏苡功能基因的研究得到开展,薏苡的文库构建为其功能基因组的研究提供了基础;基因克隆及鉴定是其主要途径;转录组分析为其提供了大量调控相关基因的信息。

**2.1 BAC文库的构建** Meng等<sup>[20]</sup>在2010年完成了薏苡的第1个BAC(bacterial artificial chromosome)文库的构建,该文库包含230400个克隆,平均插入片段为113kb,具有较低的细胞器DNA污染,覆盖薏苡基因组16.3倍。他们将该文库存储在可以用PCR方法筛选的12个96孔板中。Meng等<sup>[20]</sup>利用该文库筛选分离了19个包含22kDa $\alpha$ -coixin(薏苡的 $\alpha$ -醇溶蛋白)基因的BAC克隆。该文库能够为薏苡重要基因分离鉴定、比较基因组研究等提供依据。

**2.2 基因的克隆及鉴定** 薏苡的醇溶蛋白(prolamin),称为coixin,是种子的主要存储蛋白,于1990年分离得到<sup>[21]</sup>。基于溶解性的差异,这些醇溶蛋白被分为 $\alpha$ -prolamin, $\gamma$ -prolamin<sup>[22]</sup>。薏苡的 $\alpha$ -prolamin约占总醇溶蛋白的70%,由25和27kDa的大型多基因家族编码<sup>[23]</sup>。此外,薏苡中含有17kDa coixin<sup>[24]</sup>,是一个富含硫的蛋白,和玉米的14kDa $\beta$ -zein(玉米的 $\beta$ -醇溶蛋白)有高度的相似性<sup>[25]</sup>,命名为 $\beta$ -coixin<sup>[26]</sup>。Neto等<sup>[26]</sup>在薏苡中分离出了玉米中的同源基因Opaque 2(O2),该基因编码包含一个基本结构域-亮氨酸拉链(a basic domain-leucine zipper, bZIP)的DNA结合因子。研究发现Opaque 2基因在薏苡中能够调控25kDa $\alpha$ -coixin基因家族,同时,该基因转录调控不同类别的 $\beta$ -coixin的结构和形成过程。Vettore等<sup>[27]</sup>在薏苡中进一步分离了Opaque 2的cDNA和基因组序列。根据bZIP结构域相似性分析发

现 O2 蛋白与 OHP1, OsBZIPPA, SPA, CPRF2 和 RITA1 一起被划分到植物 bZIP 家族五类中的同一个分枝中。

Dante 等<sup>[28]</sup>从薏苡中克隆了 *DapA* 基因, 该基因包含 2 个内含子, 编码 326 个氨基酸构成的赖氨酸生物合成酶——二氢吡啶二羧酸合酶 (DHPS); 与玉米的 DHPS 相似性高达 95%。RNA 凝胶印迹分析显示 DHPS 转录本存在于胚芽鞘、胚胎、胚乳和根中, 但是在薏苡的叶片中几乎无法检测到。Yoza 等<sup>[29]</sup>从薏苡成熟种子构建的 cDNA 文库中克隆了薏苡中的半胱氨酸蛋白酶抑制剂基因 (*Cystatin*), 其 cDNA 长 757 bp, 编码 135 个氨基酸。序列分析发现 *Cystatin* 蛋白的中央区氨基酸 Gln - Val - Val - Ala - Gly 可能是其结合区域。吴功庆<sup>[30]</sup>根据玉米等作物的乙醇脱氢酶基因 (*ADH1*) 和丙酮酸脱羧酶基因 (*PDC1*) 的保守序列设计引物, 分析了淹水胁迫下二者在薏苡根尖及叶片中的表达模式和相对应的酶活性变化, 并以薏苡根尖的总 RNA 为材料分离得到 743 bp 的 *ADH1* 基因 cDNA 片段 (Accession DQ455071) 和 498 bp 的 *PDC1* 基因 cDNA 片段 (Accession DQ455583), 生物信息学分析发现克隆得到片段与其他禾本科物种的基因相似性很高。RT-PCR 检测结果显示 *ADH1* 和 *PDC1* 基因在叶片中表达量很低, 然而在根尖组织里二者具有较高的表达量。朱云芬等<sup>[31]</sup>通过 RACE 技术在吴功庆<sup>[30]</sup>的基础上克隆了薏苡的乙醇脱氢酶基因 (*ADH1*) 的 cDNA 3' 末端, 与已知的 cDNA 片段 (Accession DQ455071) 进行拼接得到 1 个 1 234 bp 的 cDNA 序列。Fu 等<sup>[32]</sup>克隆了玉米、大刍草、摩捺禾、薏苡、高粱和水稻中的类胡萝卜素合成第一限速酶 (八氢番茄红素合成酶) *PSY1-like* 基因, 并分析了核酸多态性和这些基因间的系统进化关系。*PSY1-like* 基因系统进化树分析显示薏苡和玉米在很早期就开始分化。Hachiken 等<sup>[33]</sup>通过 PCR 的方法从非糯性薏苡品种中分离得到了 *Waxy* 基因的全长编码序列, 该基因是直链淀粉合成途径中的关键基因。比对 2 个非糯性品种和 3 个糯性品种的基因全长序列, 发现糯性品种中该基因编码区中有 275 bp 片段缺失。PCR 分析发现在日本和韩国的薏苡品种中普遍存在这个缺失。在花粉和胚乳中这个基因的多态性与表型共分离。这个共分离 PCR 标记将对薏苡的遗传育种非常有用。王健等<sup>[34]</sup>报道他们在薏苡中克隆了 *Waxy* 基因, 序列分析表明该基因全长 1 845 bp, 包含 13 个内含子, 编码 614 个氨基酸组成的蛋白质, 包含 3 个保守结构域。该基因蛋白序列与高粱中的 *Waxy* 基因的蛋白序列同源性最高 (93%), 蛋白保守性较高。

Dias 等<sup>[35]</sup>在组织、转录和 RNA 编辑水平上鉴定了薏苡线粒体中 *trn S/pseudo-t RNA/nad3/rps12* 基因簇的特征特性。他们利用线粒体探针 *orf167* 将以上基因簇杂交出来之后进行克隆、测序及基因的表达分析。通过和小麦及玉米中对应的基因簇比对分析发现以上基因簇的基因序列及基因位置具有相似的特征。Northern 杂交和 RT-PCR 反应分析表明, *nad3* 和 *rps12* 基因共转录为 1.25 kb RNA 分子。转录本分析表明 *nad3* 和 *rps12* 基因中分别有 20 和 6 个 RNA 编辑位点, 导致密码子改变, 这些变化在不同物种中具有较好的

保守性。

**2.3 转录组分析** 黄玉兰等<sup>[36]</sup>通过对薏苡抗旱品种薏苡 5 号转录组测序分析了薏苡的基因数据和功能, 共获得 92 865 条 unigenes, 通过数据库比对发现有 39.87% (35 813 条) 的 unigenes 在数据库中有注释。GO (Gene Ontology) 分析显示, 有 1 053 条 unigenes 可能是由参与干旱胁迫的基因转录而形成。进一步分析显示其中包含有 409 条编码植物激素和 125 条渗透因子合成酶的 unigenes。

### 3 薏苡基因组测序的相关研究

在基因组水平上, 研究者率先展开了薏苡的质体基因组研究。Leseberg 等<sup>[37]</sup>对薏苡的叶绿体进行测序分析, 得到薏苡叶绿体基因组序列长为 145 745 bp, 分析发现 62 个编码蛋白质的基因中有 50 个具有部分或者全长的编码区, 测序数据包含薏苡叶绿体中近 70% 的基因。此外, 他们发现序列发生了很大变异的一些基因家族, 还观察到易于解释的突变模式, 例如在发夹环区和 indel 中的小的反转, 其在基因间是常见的。

薏苡属包含不同倍性 ( $2n = 10, 20, 30$  和  $40$ ) 的材料<sup>[38]</sup>。Cai 等<sup>[39-40]</sup>对栽培种薏苡 (*C. lacryma-jobi* L.,  $2n = 20$ ) 和一种不育类型的水生薏苡 (*C. aquatica* HG,  $2n = 30$ ) 进行了基因组低覆盖度随机测序, 并通过重复序列分析和精细核型分析了二者在基因组组成和进化历史上的差异。基因组序列分析显示 *C. lacryma-jobi* L. 76% 的基因组和 *C. aquatica* HG 73% 的基因组为重复 DNA 序列。长末端重复 (LTR) 反转录元件是这 2 个基因组中的主要重复序列, 并且全基因组中许多重复序列的比例在 2 个物种之间变化很大, 表明它们的进化差异。染色体原位杂交 (减数分裂中期染色体配对) 结果显示 *C. lacryma-jobi* L. 可能是二倍体物种, *C. aquatica* HG 可能是最近形成的杂交种。此外, 与玉米相比, *C. lacryma-jobi* L.、*C. aquatica* HG 和高粱具有更多共同的重复家族以及更高的序列相似性。

### 4 薏苡分子生物学研究的问题及展望

薏苡是药食同源的传统作物, 近年来受到广泛关注, 关于薏苡分子生物学研究的相关报道也逐年增多, 但是研究还处于初级阶段。利用分子标记开展薏苡种质资源的遗传多样性分析和分析薏苡与其他禾本科作物的亲缘关系已得到较全面的研究, 能为薏苡种质的收集、评价、利用与保护提供重要的参考。但由于薏苡可应用的序列信息很少, 遗传育种也处于起步阶段, 所以深入的基因定位和分子标记辅助育种也没有得到更多的关注。虽然薏苡中陆续也有一些基因报道, 但大多停留在生物信息学分析或表达分析的层面, 切实的基因功能、代谢与调控等都没有得到很好的解析, 相应的遗传转化等技术手段也有待完善。测序技术也被应用于薏苡的基因组学研究, 揭示了大量的薏苡基因信息, 但由于薏苡还没有完成全基因组测序, 所以, 相应的生长发育、代谢调控等信息也不能很好地被揭示。

随着薏苡保健功能的开发利用, 薏苡的相关研究将进一步深入。后续研究需要继续开发更多的分子标记, 丰富指纹

图谱, 加密遗传图谱, 建立大规模的定位群体, 为分子标记辅助选择育种、优良农艺性状的基因定位和创新种质资源等创造基础。薏苡以其特殊的成分和较强的抗性一直被作为改良玉米等主要作物的基因来源, 所以针对薏苡优良性状的基因克隆和功能鉴定值得被广泛关注。薏苡的转基因或基因沉默等技术的建立完善, 将为薏苡和玉米等作物的性状改良提供储备。高通量测序技术也应被更多地应用到薏苡的研究中, 可以为研究者提供大量的基因组信息, 为全面认识薏苡调控发育网络提供帮助。此外, 将分子生物学相关技术全面地应用到薏苡研究中, 才能更好地解析薏苡的遗传基础, 为薏苡资源的应用奠定基础。

### 参考文献

- [1] 赵晓明, 宋芸, 乔永刚, 等. 薏苡文化与河姆渡文化[J]. 山西农业大学学报(社会科学版), 2009, 8(2): 136-139.
- [2] WANG J J, LIU L, BALL T, et al. Revealing a 5,000-year-old beer recipe in China[J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2016, 113(23): 6444-6448.
- [3] 王颖, 赵兴娥, 王微, 等. 薏苡不同部位营养成分分析及评价[J]. 食品科学, 2013, 34(5): 255-259.
- [4] 杨爽, 王李梅, 王妹麒, 等. 薏苡化学成分及其活性综述[J]. 中药材, 2011, 34(8): 1306-1312.
- [5] LI X H, HUANG Y Q, LI J S, et al. Characterization of genetic variation and relationships among Choix germplasm accessions using RAPD markers[J]. Genetic resources and crop evolution, 2001, 48(2): 189-194.
- [6] MA K H, KIM K H, DIXIT A, et al. Newly developed polymorphic microsatellite markers in Job's tears (*Coix lacryma-jobi* L.) [J]. Molecular ecology resources, 2006, 6(3): 689-691.
- [7] MA K H, KIM K H, DIXIT A, et al. Assessment of genetic diversity and relationships among *Coix lacryma-jobi* accessions using microsatellite markers[J]. Biologia plantarum, 2010, 54(2): 272-278.
- [8] 郭银萍, 彭忠华, 赵致, 等. 基于 SSR 标记的贵州薏苡种质资源遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(2): 317-320.
- [9] 俞旭平, 李钧敏, 金则新. 薏苡 SRAP 反应体系的优化[J]. 中草药, 2009, 40(S1): 243-245.
- [10] 王硕, 何金宝, 农民英, 等. 薏苡种质资源的 SRAP 分子标记研究[J]. 中草药, 2015, 46(1): 112-117.
- [11] 王硕, 张世鲍, 何金宝, 等. 薏苡资源性状的主成分和聚类分析[J]. 云南农业大学学报, 2013, 28(2): 157-162.
- [12] 夏法刚, 黄金星, 李彪俊, 等. 基于 SRAP 标记的薏苡种质资源遗传多样性及 DNA 指纹图谱构建[J]. 植物遗传资源学报, 2017, 18(3): 413-420.
- [13] XI X J, ZHU Y G, TONG Y P, et al. Assessment of the genetic diversity of different Job's tears (*Coix lacryma-jobi* L.) accessions and the active composition and anticancer effect of its seed oil[J]. PLoS One, 2016, 11(4): 153269.
- [14] CLAYTON W D. Notes on the tribe *Andropogoneae* (Gramineae) [J]. Kew Bulletin, 1980, 35(4): 813-818.
- [15] WANG Q H, DOONER H K. Dynamic evolution of *bz* orthologous regions in the *Andropogoneae* and other grasses[J]. The plant journal, 2012, 72(2): 212-221.
- [16] TAKAHASHI C, MARSHALL J A, BENNETT M D, et al. Genomic relationships between maize and its wild relatives[J]. Genome, 1999, 42(6): 1201-1207.
- [17] 田松杰, 石云素, 宋燕春, 等. 利用 AFLP 技术研究玉米及其野生近缘种的遗传关系[J]. 作物学报, 2004, 30(4): 354-359.
- [18] 李雪峰. 薏苡遗传图谱的构建及重要性状 QTL 定位的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2003.
- [19] QIN F, LI J S, LI X H, et al. AFLP and RFLP linkage map in *Coix* [J]. Genetic resources and crop evolution, 2005, 52(2): 209-214.
- [20] MENG X Z, HUANG B B, ZHOU L L, et al. Construction of a *Coix* BAC library and isolation of the 22 kDa  $\alpha$ -coixin gene cluster[J]. Genome, 2010, 53(9): 667-674.
- [21] OTTOBONI L M M, LEITE A, TARGON M L N, et al. Heterogeneity of *Coix*, maize, and teosinte prolamins detected by isoelectric focusing[J]. Revista Brasileira De Genetica, 1990, 13(2): 313-322.
- [22] LEITE A, OTTOBONI L M M, TARGON M L P N, et al. Phylogenetic relationship of zeins and coixins as determined by immunological cross-reactivity and Southern blot analysis[J]. Plant molecular biology, 1990, 14(5): 743-751.
- [23] OTTOBONI L M M, LEITE A, YUNES J A, et al. Sequence analysis of 22 kDa-like  $\alpha$ -coixin genes and their comparison with homologous zein and kafirin genes reveals highly conserved protein structure and regulatory elements[J]. Plant molecular biology, 1993, 21(5): 765-778.
- [24] LEITE A, YUNES J A, TURCINELLI S R, et al. Cloning and characterization of a cDNA encoding a sulfur-rich coixin[J]. Plant molecular biology, 1992, 18(1): 171-174.
- [25] PEDERSEN K, ARGOS P, NARAVANA S V, et al. Sequence analysis and characterization of a maize gene encoding a high-sulfur zein protein of Mr 15,000[J]. Journal of biological chemistry, 1986, 261(14): 6279-6284.
- [26] NETO G C, YUNES J A, DA SILVA M J, et al. The involvement of *Opaque 2* on  $\beta$ -prolamin gene regulation in maize and *Coix* suggests a more general role for this transcriptional activator[J]. Plant molecular biology, 1995, 27(5): 1015-1029.
- [27] VETTORE A L, YUNES J A, NETO G C, et al. The molecular and functional characterization of an *Opaque 2* homologue gene from *Coix* and a new classification of plant bZIP proteins[J]. Plant molecular biology, 1998, 36(2): 249-263.
- [28] DANTE R A, NETO G C, LEITE A, et al. The *DapA* gene encoding the lysine biosynthetic enzyme dihydrodipicolinate synthase from *Coix lacryma-jobi*: Cloning, characterization, and expression analysis[J]. Plant molecular biology, 1999, 41(4): 551-561.
- [29] YOZA K I, NAKAMURA S, YAGUCHI M, et al. Molecular cloning and functional expression of cDNA encoding a cysteine proteinase inhibitor, cystatin, from Job's tears (*Coix lacryma-jobi* L. var. *Ma-yuen* Stapf) [J]. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 2002, 66(10): 2287-2291.
- [30] 吴功庆. 淹水胁迫下薏苡乙醇脱氢酶 (ADH1) 和丙酮酸脱羧酶 (PDC1) 基因 cDNA 片段的克隆及其表达的初步分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
- [31] 朱云芬, 陈大清, 李亚男. 薏苡乙醇脱氢酶基因 (ADH1) 3' 末端序列的克隆[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2008, 5(1): 52-54.
- [32] FU Z Y, YAN J B, ZHENG Y P, et al. Nucleotide diversity and molecular evolution of the *PSY1* gene in *Zea mays* compared to some other grass species[J]. Theoretical and applied genetics, 2010, 120(4): 709-720.
- [33] HACHIKEN T, MASUNAGA Y, ISHII Y, et al. Deletion commonly found in *Waxy* gene of Japanese and Korean cultivars of Job's tears (*Coix lacryma-jobi* L.) [J]. Molecular breeding, 2012, 30(4): 1747-1756.
- [34] 王健, 罗凯, 杨成龙, 等. 薏苡 *Waxy* 基因的克隆与生物信息学分析[J]. 分子植物育种, 2017, 15(4): 1273-1279.
- [35] DIAS S M G, SIQUEIRA S F, LEJEUNE B, et al. Identification and characterization of the *trnS*/pseudo-*tRNA*/*nad3*/*rps12* gene cluster from *Coix lacryma-jobi* L.: Organization, transcription and RNA editing[J]. Plant science, 2000, 158(1): 97-105.
- [36] 黄玉兰, 殷奎德, 向君亮. 薏苡幼苗叶片转录组分析[J]. 农业生物技术学报, 2017, 25(3): 386-396.
- [37] LESEBERG C, HDUVAL M R. The complete chloroplast genome of *Coix lacryma-jobi* and a comparative molecular evolutionary analysis of plastomes in cereals[J]. Journal of molecular evolution, 2009, 69(4): 311-318.
- [38] RAO P N, NIRMALA A. Chromosomal basis of evolution in the genus *Coix* L. (Maydeae): A critical appraisal[J]. The nucleus, 2010, 53(1/2): 13-24.
- [39] CAI Z X, LIU H J, HE Q Y, et al. Differential genome evolution and speciation of *Coix lacryma-jobi* L. and *Coix aquatica* Roxb. hybrid guangxi revealed by repetitive sequence analysis and fine karyotyping[J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 1025.
- [40] 蔡泽熙. 薏苡属基因组重复序列分析[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.