

水稻 W_x 基因与稻米 AC、GC 和 GT 的遗传关系

孙业盈¹ 吕彦² 董春林¹ 王平荣¹ 黄晓群¹ 邓晓建^{1,*}

(¹ 四川农业大学水稻研究所, 四川成都 611130; ² 烟台大学化学生物理工学院, 山东烟台 264005)

摘要: 以 60 个籼稻品种(或品系)和 57 个(G46B/D 香 1B) B_3F_5 株系为材料,通过检测 W_x 基因型,同时测定 AC、GC 和 GT,探讨了水稻 W_x 基因与稻米 AC、GC 和 GT 的遗传关系。结果 AC 与 GC 极显著负相关,且两者均与 W_x 基因型密切相关, W_x 基因的 GG 型材料具有较高的 AC 和较硬的 GC,而 TT 型材料具有中等的 AC 和较软的 GC,在全部 57 个 B_3F_5 代株系中,AC 的高低和 GC 的硬软与 W_x 基因型同步分离,表明 AC 主要由 W_x 基因控制,GC 也由 W_x 基因或与其紧密连锁的基因位点控制。此外,在 60 个品种中 GT 与 AC 和 W_x 基因型均无明显相关性,推断控制 GT 的基因位点不是 W_x 基因位点。
关键词: 水稻; W_x 基因;直链淀粉含量(AC);胶稠度(GC);糊化温度(GT)

中图分类号: S511

Genetic Relationship among W_x Gene, AC, GC and GT of Rice

SUN Ye-Ying¹, LÜ Yan², DONG Chun-Lin¹, WANG Ping-Rong¹, HUANG Xiao-Qun¹, DENG Xiao-Jian^{1,*}

(¹ Rice Research Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan; ² College of Chemistry Biology and Technology, Yantai University, Yantai 264005, Shandong, China)

Abstract: By testing W_x genotype and measuring amylose content (AC), gel consistency (GC) and gelatinization temperature (GT) of 60 *indica* cultivars (or lines) and 57 B_3F_5 breeding lines of G46B/D Xiang 1B, the genetic relationship among W_x gene, AC, GC and GT of rice was explored. The results showed that there were significant negative correlations between AC and GC, with - 0.836 and - 0.906 of correlation coefficients in the two material groups, respectively. Moreover, both of AC and GC were closely related to W_x genotypes, i. e. the materials with GG-type of W_x gene had higher AC and harder GC, however, the materials with TT-type of W_x gene had moderate AC and softer GC. Among 57 B_3F_5 lines, AC ranged from 20.4% to 27.0% with the mean value of 24.9% and GC from 25 mm to 31 mm with the mean value of 27 mm in 26 lines with GG-type of W_x gene, however, AC ranged from 10.8% to 13.4% with the mean value of 11.8% and GC from 46 mm to 77 mm with the mean value of 57 mm in 31 lines with TT-type of W_x gene. So the GG-type of lines always had high AC and hard GC, the TT-type of lines always had moderate AC and soft GC, and no recombinant lines were found. In other words, high or low AC and hard or soft GC were synchro-segregated with W_x genotypes. It was suggested that AC was mainly controlled by W_x gene and GC by W_x gene or one locus tightly linked to it. On the other hand, GT was not significantly correlated to AC and W_x genotype in 60 *indica* cultivars. For the cultivars that had different AC or W_x genotypes, the range of GT was the same on the whole. GT of 21 cultivars with GG-type of W_x gene ranged from 3.3 to 7.0 with the mean value of 4.9, however, GT of 39 cultivars with TT-type of W_x gene ranged from 3.0 to 7.0 with the mean value of 5.2. So it was inferred that the locus controlling GT was not W_x locus.

Key words: Rice; W_x gene; Amylose content; Gel consistency; Gelatinization temperature

直链淀粉含量(AC)、胶稠度(GC)和糊化温度(GT)是衡量稻米蒸煮与食用品质的 3 项重要指标。国内外学者对 AC、GC 和 GT 的遗传进行了较多研

究,其中尤以 AC 研究最多^[1]。一般认为直链淀粉是由 W_x 基因编码的颗粒结合淀粉合成酶(granule-bound starch synthase)催化合成的^[2],稻米 AC 即由

*基金项目: 四川省应用基础研究计划课题(02N Y029-063)。

作者简介: 孙业盈(1979-),男,山东泰安人,在读硕士,研究方向为分子标记辅助育种。* 通讯作者: 邓晓建。Tel:028-82745350; E-mail:dengxj@mail.sc.cninfo.net

Received(收稿日期):2004-09-20, Accepted(接受日期):2004-11-25.

该 W_x 基因控制并受一些微效基因的影响^[3-5]。近年研究表明,不同品种 AC 的高低由该品种 W_x 基因第 1 内含子的剪接效率所决定^[6],而 W_x 基因第 1 内含子的剪接效率又与第 1 内含子中供体 +1 位的碱基是正常的 G 或是突变的 T 有关^[7]。以此为基础,蔡秀玲等创立了 W_x 基因的 PCR-*Acc* 分子标记^[8]。Tan 等认为 AC、GC 和 GT 受同一基因位点控制,并指出此位点就是 W_x 基因位点或与其紧密连锁的位点^[9]。然而,黄祖六等研究认为稻米 GC 主要受第 3 染色体的 2 个连锁位点控制^[10],何平等利用 DH 群体的 QTL 分析在第 2 和第 7 染色体上检测到 2 个分别能解释 20.2% 和 14.2% 变异的控制稻米 GC 的 QTL 位点^[5],包劲松等研究表明,位于第 6 染色体短臂靠近 W_x 基因的 *ALK* 基因是控制 GT 的主效基因^[11],最近,高振宇等分离并克隆了 *ALK* 基因^[12]。本文选取 60 个籼稻品种(或品系)以及利用具有不同 W_x 等位基因且在 AC 和 GC 上有较大差异的 2 个杂交籼稻保持系(G46B 和 D 香 1B)构建的 57 个 B_3F_5 代株系,运用 PCR-*Acc* 分子标记检测 W_x 基因型,并进行稻米品质分析,以此对 W_x 基因与 AC、GC 和 GT 的遗传关系进行探讨。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验材料包括 2 个部分。(1) 籼稻品种(或品系)60 个,包括常规品种 22 个,杂交水稻保持系 12 个和恢复系 26 个。(2) 用 2 个杂交籼稻保持系 G46B 和 D 香 1B 构建的 B_3F_5 代株系,G46B 具有 GG 型 W_x 基因、高的 AC(25.3%) 和硬的 GC(28 mm),而 D 香 1B 具有 TT 型 W_x 基因、中等 AC(10.3%) 和软的 GC(70 mm),将 G46B 与 D 香 1B 杂交,以 G46B 为轮回亲本,采用回交、自交与育种选择(未对 GC 和 GT 实施选择,但对 AC 和其他农艺性状实施了选择)等方法,获得 57 个 B_3F_5 代株系。以上材料均由四川农业大学水稻研究所提供,并于 2003 年种植于该所在成都市温江区的实验农场。

1.2 品质测定

供试材料成熟时及时收获适量稻谷样品,干燥。然后,按中国农业部部颁标准 NY/T 83-1988《米质测定方法》^[13],对稻米 AC、GC 和 GT 进行测定。

1.3 W_x 基因型的检测

每个材料取适量叶片,按 Murray 等的 CTAB 方法提取 DNA^[14],按照蔡秀玲等 PCR-*Acc* 标记方法

检测 W_x 基因型^[8]。该方法根据 W_x 基因第 1 内含子与第 1 外显子连接处的上、下游设计 1 对引物(引物 1: 5'-GCTTCACTTCTCTGCTTGTG-3',引物 2: 5'-ATGATTTAACGAGAGTTGAA-3'),PCR 扩增出的 460 bp DNA 片段经 *Acc* 酶切后在 2% 的琼脂糖凝胶上电泳。如果 W_x 基因第 1 内含子 +1 位是 G,PCR 产物能被 *Acc* 酶切为 403 bp 和 57 bp 两个片段,称为 GG 型;如果 +1 位为 T 则不被酶解,称为 TT 型;如果该位点是杂合型,则为 GT 型。

2 结果与分析

2.1 籼稻品种 W_x 基因型与 AC、GC 和 GT 的遗传关系分析

由图 1 和表 1 可知,(1) 稻米 AC 与 GC 存在极显著的负相关性,统计分析得出两者的相关系数达 -0.836。(2) 稻米 AC 和 GC 与水稻品种 W_x 基因型密切相关,GG 型品种具有较高的 AC 和较硬(或较低)的 GC,而 TT 型品种具有中等的 AC 和较软(或较高)的 GC。21 个 GG 型供试品种的 AC 为 19.2%~25.9%,平均值为 23.9%,GC 为 26~40 mm,平均值为 30 mm,而 39 个 TT 型供试品种的 AC 为 11.4%~18.2%,平均值为 13.8%,GC 为 45~82 mm,平均值为 64 mm,可见 GG 型品种的 AC 显著高于 TT 型品种的 AC,而 GG 型品种的 GC 明显比 TT 型品种的 GC 硬(或低)。因为已知稻米 AC 主要由 W_x 基因控制,上述结果暗示了稻米 GC 也可能主要由 W_x 基因或与其紧密连锁的基因位点控制。

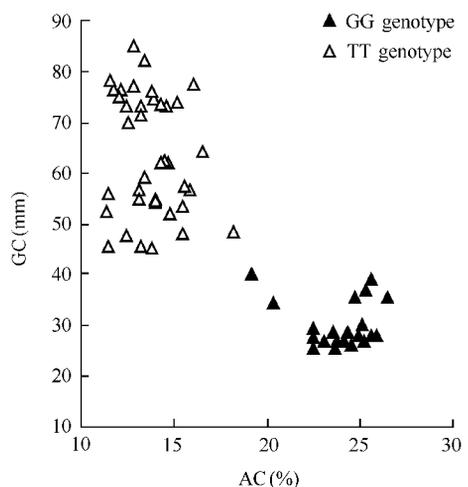


图 1 不同 W_x 基因型 AC、GC 间的相关性
Fig. 1 Correlation between AC and GC of various W_x genotypes

表 1 水稻品种 W_x 基因型与 AC、GC 和 GT 的关系
Table 1 The relationship among W_x genotypes, AC, GC and GT of rice cultivars

性状 Trait	GG 型 GG genotype			TT 型 TT genotype		
	品种数 No. of cultivars	平均值 Mean \pm SD	变化范围 Range	品种数 No. of cultivars	平均值 Mean \pm SD	变化范围 Range
AC (%)	21	23.9 \pm 1.8	19.2 - 25.9	39	13.8 \pm 1.5	11.4 - 18.2
GC (mm)	21	30 \pm 5	26 - 40	39	64 \pm 12	45 - 82
GT	21	4.9 \pm 1.1	3.3 - 7.0	39	5.2 \pm 1.7	3.0 - 7.0

由图 2 和表 1 可知,稻米 GT 与稻米 AC 和品种 W_x 基因型均没有明显的相关性,不同 AC 的品种和不同 W_x 基因型的品种,GT 有高的也有低的,分布范围大致相同。如按 W_x 基因型分类,21 个 GG 型供试品种的 GT 为 3.3~7.0,平均值为 4.9,而 39 个 TT 型供试品种的 GT 为 3.0~7.0,平均值为 5.2。由此,可以推断控制 GT 的基因位点不是 W_x 基因位点。

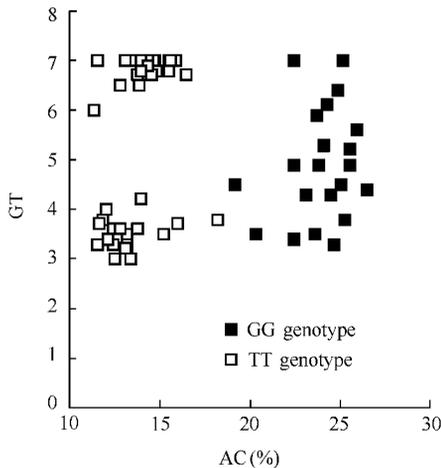


图 2 不同 W_x 基因型 AC、GT 间的相关性
Fig. 2 Correlation between AC and GT of various W_x genotypes

2.2 (G46B/D 香 1B) B_3F_5 代株系 W_x 基因型与 AC 和 GC 的遗传关系分析

对 57 个 (G46B/D 香 1B) B_3F_5 代株系的 W_x 基因型、AC、GC 进行了分析,结果如图 3 和表 2。

由图 3 和表 2 可知,(1)2 个亲本的 W_x 基因型不同,G46B 为 GG 型,D 香 1B 为 TT 型,与此相对应,这 2 个亲本的 AC 和 GC 均有明显差异,G46B 具有高的 AC(25.3%)和硬的 GC(28 mm),而 D 香 1B 具有中等 AC(10.3%)和软的 GC(70 mm)。(2) B_3F_5 代

株系的 AC 与 GC 存在极显著的负相关性,相关系数达 -0.906。(3) B_3F_5 代株系的 AC 和 GC 与其 W_x 基因型密切相关。26 个 GG 型株系的 AC 为 20.4%~27.0%,平均值为 24.9%,GC 为 25~31 mm,平均值为 27 mm,而 31 个 TT 型株系的 AC 为 10.8%~13.4%,平均值为 11.8%,GC 为 46~77 mm,平均值为 57 mm,可见 GG 型株系的 AC 显著高于 TT 型株系的 AC,而 GG 型株系的 GC 明显比 TT 型株系的 GC 硬(或低)。(4) AC 的高低和 GC 的硬软与 W_x 基因型共分离,因为 57 个 B_3F_5 代株系中 GG 型 W_x 基因始终对应着高 AC 和硬 GC,TT 型 W_x 基因始终对应着中等 AC 和软 GC,没有发现重组株系。这些结果再次证实稻米 AC 主要由 W_x 基因控制,同时,也表明稻米 GC 由 W_x 基因或与其紧密连锁的基因位点控制。

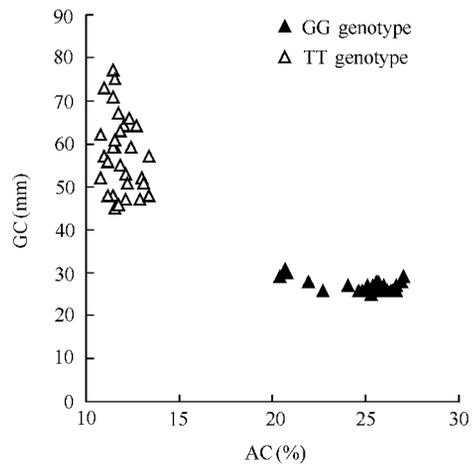


图 3 (G46B/D 香 1B) B_3F_5 代株系 W_x 基因型、AC、GC 间的相关性
Fig. 3 Correlation between AC and GC of W_x genotypes of (G46B/D Xiang 1B) B_3F_5 lines

表 2 G46B 和 D 香 1B 及其 B_3F_5 代株系的 W_x 基因型的 AC 和 GC
Table 2 AC and GC of G46B, D Xiang 1B and GG, TT genotypes of their B_3F_5 lines

性状 Traits	亲本 Parent		GG 型 GG genotype			TT 型 TT genotype		
	G46B	D 香 1B D Xiang 1B	株系数 No. of lines	平均值 Mean \pm SD	变化范围 Range	株系数 No. of lines	平均值 Mean \pm SD	变化范围 Range
AC (%)	25.3	10.3	26	24.9 \pm 2.2	20.4 - 27.0	31	11.8 \pm 0.7	10.8 - 13.4
GC (mm)	28	70	26	27 \pm 2	25 - 31	31	57 \pm 9	46 - 77

3 讨论

AC、GC 和 GT 是决定稻米蒸煮与食用品质的 3 个重要性状。在水稻蒸煮与食用品质的遗传研究中,AC 研究最多,研究表明非糯性品种中 AC 由 1 个主效基因及几个修饰基因控制, W_x 基因是控制 AC 的主效基因^[5],并对其分子机制有了较清楚的了解。因而研究 W_x 基因与 AC、GC 和 GT 的遗传关系,有利于探讨 GC 和 GT 的遗传机制。Tan 等利用杂交组合“汕优 63”(珍汕 97A/明恢 63) F_2 、 F_2 和 F_3 代材料研究了 AC、GC 和 GT 的遗传关系,认为三者受 W_x 基因位点或与 W_x 基因紧密连锁的同一位点控制^[9]。本试验利用的(G46B/D 香 1B) B_3F_5 代材料经多次回交很可能打破一般的紧密连锁关系,再经多次自交,材料的基因型与品质性状已趋于纯合,从而使试验结果具有较高的可靠性。本试验的 2 个亲本材料 G46B 和 D 香 1B 只在 AC 与 GC 上存在较大的差异,故利用 B_3F_5 代材料只对 AC 与 GC 的遗传关系做了分析,结果与 Tan 等关于 W_x 基因与 AC 和 GC 遗传关系的结论一致。然而,用 60 个水稻品种(或品系)分析的结果表明,不同品种间 GT 与 AC 和 W_x 基因型几乎不存在相关性。已有研究表明位于第 6 染色体短臂靠近 W_x 基因的 *ALK* 基因是控制 GT 的主效基因^[11],并且该基因已被分离并克隆^[12],说明控制 GT 的主效基因不是 W_x 基因位点,这佐证了本试验的相关结论。

一般认为稻米 AC 主要由 W_x 基因控制。本试验无论从选取的不同品种还是从(G46B/D 香 1B) B_3F_5 代株系的分析结果来看,AC 与 GC 总是存在极显著的相关性,故可以认为位于第 6 染色体短臂上的 W_x 基因或与其紧密连锁的某一位点是控制 GC 的主效基因。同时,本试验(G46B/D 香 1B) B_3F_5 代 TT 型株系 GC 的变幅较大(46~77 mm),而且即使 AC 相近的株系 GC 也有很大不同,说明除了主效基因外 GC 还受到一些微效基因的较大影响。然而,何平等在第 2 和第 7 染色体上发现了 2 个分别能解释 20.2%和 14.2%变异的控制 GC 的 QTL^[5],黄祖六等研究认为稻米 GC 主要受控于第 3 染色体的 2 个连锁位点^[10],这与本试验和 Tan 等的结论不太一致,究竟是确实存在多个控制 GC 的主效基因位点,还是试验材料或研究方法的不同所产生的差异,需进一步探讨。

根据前人和本试验的研究结果,GC 受 W_x 基因位点或与其紧密连锁的一个基因位点控制,但到底是前者还是后者,至今尚无定论。包劲松等研究指出与 W_x 基因位点紧密连锁的一位点是控制 GC 的主要位点,又由于 GC 与 AC 显著相关,由此推断这一位点便是 W_x 基因位点^[11]。Septiningsih 等研究表明只有一个控制 GC 的 QTL 在第 6 染色体上被检测到,并且位于 W_x 基因位点的下方,与控制 AC 的 QTL 在同一染色体上,但不重叠^[15]。这将涉及到控制 GC 的基因克隆问题,在 AC、GC 和 GT 三个重要的稻米蒸煮与食用品质指标中,控制 AC 的 W_x 基因和控制 GT 的 *ALK* 基因已被克隆,并且 2 个基因均位于第 6 染色体的短臂上。但至今未见有克隆控制 GC 基因的报道。要解决控制 GC 的基因克隆问题,就必须弄清楚是 W_x 基因位点还是与其紧密连锁的位点控制着 GC 的变化。

研究水稻 W_x 基因与稻米 AC、GC 和 GT 的遗传关系,不仅对阐明 GC 和 GT 的遗传机制及有关基因的定位和克隆有所帮助,而且对改良稻米品质也具有现实意义。本试验利用 PCR-*Acc* 标记方法检测了(G46B/D 香 1B) B_3F_5 代材料的 W_x 基因型,并测定了相应材料的稻米 AC 和 GC,这就在蔡秀玲等人研究的基础上进一步证明了通过检测水稻 W_x 基因型可以预测稻米的 AC,又因为控制 AC 与 GC 的基因存在紧密的连锁关系(或同为 W_x 基因),因而检测 W_x 基因型也可以同时对 GC 做出预测,从而达到对 AC 与 GC 进行同步改良的目的,这对改良我国稻米蒸煮与食用品质有很大的促进作用。

References

- [1] Wu C-M(吴长明). Headways of quality heredity studding and discuss of improvement strategy in rice(*Oryza sativa* L). *Chinese Agricultural Science Bulletin*(中国农学通报),2002,18(6):66-71(in Chinese with English abstract)
- [2] Shu Q-Y(舒庆尧),Wu D-X(吴殿星),Xia Y-W(夏英武),Gao M-W(高明尉),Ayres N M,Larkin P D,William D Park. Microsatellites polymorphism on the *Waxy* gene locus and their relationship to amylose content in *indica* and *japonica* rice,*Oryza sativa* L. *Acta Genetica Sinica*(遗传学报),1999,26(4):350-358(in Chinese with English abstract)
- [3] Shen Y-Z(申岳正),Min S-K(闵绍楮),Xiong Z-M(熊振民),Luo Y-K(罗玉坤). Genetical studies on amylose content of rice grain and modifies on the determination method. *Scientia Agricultura Sinica*(中国农业科学),1990,23(1):60-68(in Chinese with

- English abstract)
- [4] Chen Y-J(陈业坚), Shu Q-Y(舒庆尧), Zhang Z-Q(张增勤), Cheng S-H(程式华), Sun Z-X(孙宗修), Wu P(吴平). Apparent amylose content of rice grain is controlled by two non-allelic genes. *Chinese J Rice Sci* (中国水稻科学), 2002, **16** (4): 369 - 371 (in Chinese with English abstract)
- [5] He P, Li S G, Qian Q, Ma Y Q, Li J Z, Wang W M, Chen Y, Zhu L H. Genetic analysis of rice grain quality. *Theor Appl Genet*, 1999, **98**: 502 - 508
- [6] Wang Z Y, Zeng F Q, Shen G Z, Gao J P, Snustad D P, Li M G, Zhang J L, Hong M M. The amylose content in rice endosperm is related to the post-transcriptional regulation of the *waxy* gene. *Plant J*, 1995, **7**: 613 - 622
- [7] Cai X L, Wang Z Y, Xing Y Y, Zhang J L, Hong M M. Aberrant splicing of intron 1 leads to the heterogeneous 5' UTR and decreased expression of *waxy* gene in rice cultivars of intermediate amylose content. *Plant J*, 1998, **14** (4): 459 - 465
- [8] Cai X-L(蔡秀玲), Liu Q-Q(刘巧琴), Tang S-Z(汤述翥), Gu M-H(顾铭洪), Wang Z-Y(王宗阳). Development of a molecular marker for screening the rice cultivars with intermediate amylose content in *Oryza sativa* subsp. *indica*. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology* (植物生理与分子生物学学报), 2002, **28** (2): 137 - 144 (in Chinese with English abstract)
- [9] Tan Y F, Li J X, Yu S B, Xing Y Z, Xu C G, Zhang Q F. The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid, Shanyou 63. *Theor Appl Genet*, 1999, **99**: 642 - 648
- [10] Huang Z-L(黄祖六), Tan X-L(谭学林), Xu C-W(徐辰武), Vanavichit A. Mapping QTLs for gel consistency in rice (*Oryza sativa* L.). *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2000, **33** (6): 1 - 5 (in Chinese with English abstract)
- [11] Bao J-S(包劲松), Harold Corke, He P(何平), Zhu L-H(朱立煌). Analysis of quantitative trait loci for starch properties of rice based on an RIL population. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 2003, **45** (8): 986 - 994
- [12] Gao Z Y(高振宇), Zeng D-L(曾大力), Cui X(崔霞), Zhou Y-H(周奕华), Yan M-X(颜美仙), Huang D-N(黄大年), Li J-Y(李家洋), Qian Q(钱前). Map-based cloning of the *AL K* gene, which controls the gelatinization temperature of rice. *Science in China* (Series C) (中国科学 C 辑), 2003, **46** (6): 661 - 668
- [13] Standard of Ministry of Agriculture, P R China NY147-88(中华人民共和国农业部部颁标准 NY147-88). Measurement Methods for Rice Quality(米质测定方法). Beijing: China Standard Press, 1988 (in Chinese)
- [14] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res*, 1980, **8**: 4 241 - 4 245
- [15] Septiningsih E M, Trijatmiko K R, Moeljopawiro S, McCouch S R. Identification of quantitative trait loci for grain quality in an advanced backcross population derived from the *Oryza sativa* variety IR64 and the wild relative *O. rufipogon*. *Theor Appl Genet*, 2003, **107**: 1 433 - 1 441

作物类经典图书

杂交水稻学

袁隆平 著

定价: 150.00 元

本书除了保存杂交水稻经典技术的一些精华部分外,着重从理论和方法上阐述了两系法杂交水稻,超级杂交水稻、杂交水稻分子育种以及繁殖、制种、栽培方面的新技术。是一本能比较全面、比较系统地反映当前杂交水稻最新研究成果的科学著作。

土壤肥力与肥料

金吉运译

定价: 120.00 元

全书共 17 章,内容包括植物必需营养元素,土壤与植物的基本关系,土壤营养,各种营养元素及其肥料产品的生产、施肥、土壤肥力评价、施肥原理、耕作制度与土壤管理,肥料利用效率,植物养分的交互作用等,对土壤肥力与肥料的有关问题作了全面详细的讨论,内容丰富,资料翔实。

拉汉英种子植物名称(第二版)

定价: 120.00 元

本书收集我国分布较广、有价值的和一些外国产的种子植物名称约 30 000 条。名称有拉、汉、英三种文字对照。书后附有汉-拉丁植物科名对照表、英文俗名索引和汉文名索引。本书可供大学生物系及农、林院校师生,有关科研工作者和外贸、编译人员使用。

作物产量形成的生理学基础

张正斌 编著

定价: 178.00 元

全书包括植物细胞信号传导、作物光合作用与作物抗旱和水分养分利用效率等方面的研究进展,与实现中国资源节约型农业发展战略、降低农业成本、改善农业生态环境都有着密切的关系。本书是中国论述作物产量形成机理的第一部专著。(下转第 591 页)