

云南软米直链淀粉含量的遗传分析与基因定位

赵国珍, 邹 茜, 陈于敏, 苏振喜, 朱振华, 袁平荣

(云南省农业科学院粮食作物研究所, 昆明 650205)

摘要:以低直链淀粉(软米)品种毫木细与高直链淀粉品种桂朝2号杂交 F_2 分离群体为试验材料,研究水稻低直链淀粉含量的遗传规律和基因定位。结果表明,软米品种毫木细直链淀粉含量受一个隐性主效基因/QTL控制,该基因位点(QTL)与糯性基因(wx)为非等位。除主效QTL外,可能还有微效基因的作用。用SSR标记检测到该主效基因/QTL位于11号染色体上RM224附近, LOD 值为15.4,可解释的表型变异率为32%。

关键词:软米;直链淀粉含量;遗传分析;基因定位

Genetic Analysis and Mapping QTLs for Amylose Content of Soft Rice Variety from Yunnan

ZHAO Guo-zhen, ZOU Qian, CHEN Yu-min, SU Zhen-xi, ZHU Zhen-hua, YUAN Ping-rong

(Institute of Food Crops, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205)

Abstract: Genetic analysis and QTLs mapping of amylose content were conducted using a F_2 segregation population of Haomuxi/Guichao 2. The results showed that the amylose content of Haomuxi was controlled by a recessive major QTL which was not allelic to the wx locus. Besides the major QTL there were several minor QTLs. The major QTL was detected on chromosome 11 with LOD scores of 15.4 using SSR markers, which was linked to RM224. This major QTL could explain 32% of phenotypic variation.

Key words: soft rice; amylose content; genetic analysis; QTLs mapping

直链淀粉含量是衡量稻米蒸煮食味品质优劣的重要指标之一。水稻中催化直链淀粉合成的颗粒结合淀粉合成酶(GBSS, granules bound starch synthase)由水稻蜡质基因(Wx)编码,位于第6号染色体上。迄今为止,有关稻米直链淀粉含量的遗传模式主要有3种观点:一是受1对基因和部分修饰基因的控制^[1-2];二是受2对显性和互补基因控制^[3];三是受多基因控制^[4]。另外,还发现直链淀粉含量的合成和 Wx 基因的表达除受 Wx 本身的影响外,还受低直链淀粉含量突变体基因的调控^[5]。至今,已报道的控制低直链淀粉含量的突变体基因分为与 Wx 基因等位和非等位两大类,其中, Wx^{mq} 和 Wx^{op} 等属于与 Wx 等位的低直链淀粉含量基因,而 du 和 lam

(t)属于与 Wx 非等位的基因。 du 基因是利用EMS(甲基磺酸乙酯)或MNU(N-甲基-N亚硝基脲)等化学诱变剂处理水稻种子而获得的粳稻低直链淀粉突变体,现在已经发现了8个 du 基因,分别命名为 $du-1$ 、 $du-2$ 、 $du-3$ 、 $du-4$ 、 $du-5$ 、 $du(EM47)$ 、 $du(2120)$ 和 $du(2035)$ ^[6]。软米是一种特异的优质稻米类型,在云南、东南亚、日本等国家和地区均有种植,是从野生稻中经多代选择培育出的一种优质稻,品质介于糯米和粘米之间,直链淀粉含量一般为6%~15%,米饭软而不粘,富有弹性,具有冷不回生、冷饭食口性和膨化性好等特点,且加工方便,是调理米饭、膨化食品和各种米类点心的上等原料。因此,软米市场前景好,潜力大。云南是中国稻种最大的遗传和生

收稿日期:2013-01-28 修回日期:2013-03-08 网络出版日期:2013-08-09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130809.1447.029.html>

基金项目:云南省科技攻关项目(2012BB013);云南省技术创新人才培养项目(2008PY089);云南省基金项目(2009ZC141M)

第一作者主要从事水稻遗传育种工作。E-mail: guozhenzhao@163.com

态多样性中心,软米品种类型丰富,著名的品种有毫木西、毫目吕、毫屁、毫安弄、毫八碗等^[7]。云南软米属于籼稻类型,是野生稻中自然发生的低直链淀粉含量突变体^[8]。云南地方软米品种植株高大,叶片披散,不耐肥抗倒,产量很低,产量构成性状之间存在不同类型和不同程度的遗传相关性^[9]。20世纪70年代开始,云南省农业科学院和云南德宏州农业科学研究所等单位对地方软米品种进行改良,育成了滇陇201、滇屯502等软米品种,但这些品种有严格的地域适应性,推广面积受到限制,不能满足广大群众对软米的需求。近几年来,多个育种单位也相继利用软米资源进行稻米品质改良,取得了较好的成绩。但有关云南软米低直链淀粉含量的遗传规律和基因位点还不明确,为了更好地利用软米资源,选育优良的软米品种,有必要对云南软米低直链淀粉含量的遗传规律和基因位点进行研究,为水稻品质改良提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

软米品种(低直链淀粉含量)毫木细,高直链淀粉含量品种桂朝2号,糯稻品种黄皮糯。

1.2 试验方法

1.2.1 田间试验 2010年,在昆明温室种植毫木细、桂朝2号和黄皮糯,配制毫木细和桂朝2号以及毫木细和糯稻的杂交组合,所得杂交种子于2010年冬季种植于海南省三亚市荔枝沟师部农场海南南繁基地云南育种站试验田,形成F₁群体,同时用毫木细和糯稻分别与毫木细/桂朝2号和毫木细/黄皮糯杂交形成的F₁进行回交,成熟时分别收获BC₁和F₁植株上的种子,部分F₁用作直链淀粉含量分析,选择1株结实正常的F₁种子和BC₁种子于2011年冬季种植于海南省三亚市荔枝沟师部农场海南南繁基地云南育种站试验田,形成F₂群体和BC₁F₁,成熟时按单株收获种子,用于直链淀粉含量分析。田间管理同其他常规管理。

1.2.2 直链淀粉含量分析 亲本、F₁、BC₁F₁、F₂的直链淀粉含量按农业部颁标准(NY/T83-1998)方法测定。

1.2.3 基因定位 分蘖盛期取毫木细、桂朝2号、毫木细/桂朝2号的F₁和F₂的叶片,参考文献[10]提取基因组DNA。从已公布的SSR分子标记数据库(<http://www.gramene.org>)中选出300对均匀

分布于水稻全基因组的引物,其遗传图距参考International Rice Genome Sequencing Project。在毫木细和桂朝2号及F₁间进行多态引物筛选,对有多态性的SSR标记在F₂分离群体中进行基因型检测。

1.2.4 数据分析 用Excel、MAPMAKER/EXP 3.0和WinQTLCart 2.5软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 直链淀粉含量遗传分析

供试亲本及杂交F₁的直链淀粉含量列于表1。

表1 亲本及杂交F₁的直链淀粉含量

Table 1 Amylose content of F₁ and its parents

材料名称 Materials	直链淀粉含量 (%) AC
毫木细 Haomuxi	13.5
桂朝2号 Guichao2	23.9
黄皮糯 Huangpinuo	1.8
毫木细/桂朝2号 F ₁ Haomuxi/Guichao2 F ₁	20.9
毫木细/黄皮糯 F ₁ Haomuxi/Huangpinuo F ₁	10.3

表1表明,软米品种毫木细与高直链淀粉含量的水稻品种桂朝2号杂交F₁直链淀粉含量居于双亲之间,偏向高直链淀粉含量亲本,说明高对低为不完全显性。软米品种毫木细和桂朝2号杂交F₂分离群体直链淀粉含量的测定结果列于图1,从图中可看

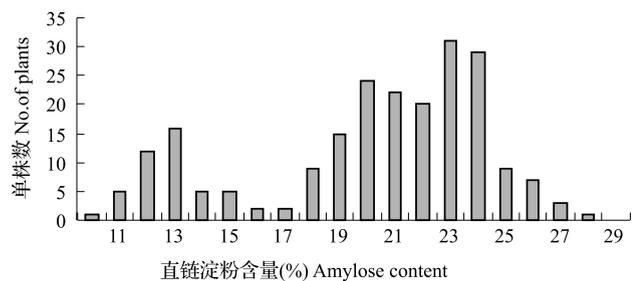


图1 毫木细/桂朝2号F₂分离群体直链淀粉含量分布图
Fig. 1 Frequency of amylose contents of F₂ segregation population of Haomuxi/Guichao 2

出,F₂植株稻米直链淀粉含量分布有2个明显的峰,双峰分别为直链淀粉含量13%和23%,分别趋于双亲值。以峰谷为界,其中低直链淀粉含量单株43株,高直链淀粉含量单株175株,高、低直链淀粉含量单株比例符合3:1($\chi^2_{0.05} = 3.23 < \chi^2_{0.05} = 3.84$)。由此推断,云南软米品种毫木细的低直链淀粉含量对桂朝2号的高直链淀粉含量为隐性,并且由1个主效基因/QTL控制。试验还分析了132

株 BC_1F_1 的直链淀粉含量,结果表明低直链淀粉含量的单株和高直链淀粉含量单株的分离比符合 1:1 ($\chi^2 = 2.78$),进一步说明直链淀粉含量由 1 个主效基因/QTL 控制。此外,图 1 还表明,有几个单株的直链淀粉含量(直链淀粉含量为 16% ~ 17%)介于双峰之间,也就是说直链淀粉含量呈连续分布,说明除了 1 个主效基因/QTL 控制毫木细直链淀粉含量外,可能还有微效基因/QTL 的作用。

表 2 毫木细与黄皮糯杂交后代的直链淀粉含量分布

Table 2 The amylose contents of the progenies of Haomuxi/Huangpinuo

杂交后代 Progenies	直链淀粉含量频次分布 The frequency of AC																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
F_2	1	5	10	9	7	10	12	14	11	9	17	16	18	15	10	4	2	3
BC_1F_1	3	5	15	9	10	4	14	7	13	11	16	8	10	7	3	0	1	0

2.3 基因定位

用 300 对均匀分布于水稻全基因组的 SSR 标记引物对毫木细、桂朝 2 号和毫木细/桂朝 2 号杂交 F_1 进行多态性分析,结果表明有 47 对 SSR 引物在两亲本间有多态性,并且 F_1 具有两亲本的杂合带型。利用筛选出来的 47 对差异引物对 218 个 F_2 单株进行检测分析(图 2),将数据在 Excel 中进行整理。用 MAPMAKER/EXP 3.0 构建局部连锁图,确定标记间的顺序,采用 WinQTLCart 2.5 软件进行直链淀粉含量的 QTL 检测,LOD 值以经验值 2.5 为阈值。用 QTL 分析软件 WinQTLCart 2.5 进行区间作图分析,同时对相关染色体筛选标记进行加密。结果表明,控制毫木细直链淀粉含量的 1 个主效 QTL 在 RM224 附近(图 3),LOD 值为 15.4,可解释的表型变异率为 32%。

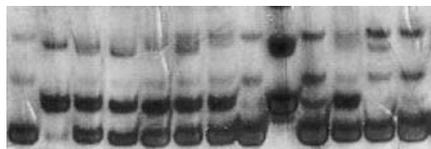


图 2 SSR 检测结果图

Fig. 2 The result of SSR test

3 讨论

3.1 软米直链淀粉含量的遗传规律及育种利用

软米品种直链淀粉含量的遗传,前人做了大量研究,曾亚文等^[11]认为云南软米品种八宝米的直链淀粉含量受隐性主效基因控制;周勇等^[12]认为毫目吕的直链淀粉含量为隐性单基因控制;辜琼瑶等^[13]和朱昌兰^[14]认为云南软米的直链淀粉含量受 1 对

2.2 与 wx 基因的等位性分析

将软米品种毫木细与持有 wx 基因的糯稻品种黄皮糯杂交, F_1 种子的直链淀粉含量介于两亲本之间,接近高值亲本(表 1)。 F_2 和 BC_1F_1 种子的直链淀粉含量不出现明显的分离比(表 2),说明控制软米品种毫木细的低直链淀粉含量基因与糯性基因(wx)是非等位基因。

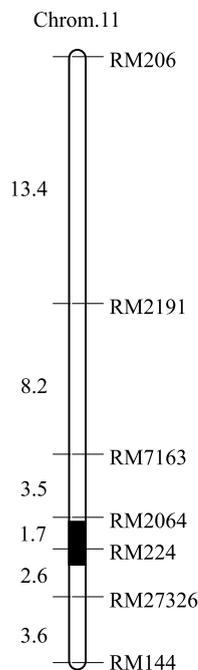


图 3 水稻第 11 染色体上低直链淀粉含量主效 QTL 所在区域的分子标记连锁图

Fig. 3 Linkage map of molecular makers near major QTL of low amylose content at chromosome 11 in rice

与 wx 基因等位的隐性基因控制;黄祖六等^[15]认为毫木西的直链淀粉含量受 1 对主基因和若干微效基因控制;孙有泉等^[16]认为,粳稻品种合系 4 号低直链淀粉突变体的直链淀粉含量受 1 对与 wx 基因不等位的隐性基因控制。郭涛等^[17]认为 2 个空间诱变低直链淀粉含量籼稻突变体 $XLA-1$ 和 $XLA-2$ 的低直链淀粉含量分别受 2 对隐性基因控制和 1 对隐性主效基因控制,后者为 Wx 的等位基因,同时受微效

基因的修饰。本研究利用具有低直链淀粉含量的云南软米品种毫木细和高直链淀粉含量的品种桂朝 2 号进行杂交,通过分析杂交亲本、 F_1 、 F_2 和 $BC_1 F_1$ 分离群体的直链淀粉含量,结果表明 F_1 种子的直链淀粉含量偏向于含量高的亲本, F_2 和 $BC_1 F_1$ 的高直链淀粉与低直链淀粉含量单株分别符合 3:1 和 1:1 的分离比,说明软米品种毫木细的直链淀粉含量符合 1 对基因控制的遗传模型,即受 1 对主效基因/QTL 控制,这与前人的研究结果基本一致。

育种经验表明,突破性品种的取得依赖于优异种质资源的利用和育种方法的应用,软米作为一种优异类型的种质资源,对改良当前我国稻米品质具有积极的作用。本研究结果表明,软米品种的直链淀粉含量受 1 个主效隐性基因/QTL 控制,因此,软米品质改良可以在低世代进行选择。由于低直链淀粉含量的稻米外观浑浊(云雾状)^[18-19],在软米品种选育过程中,对于杂交低世代育种材料,可以通过肉眼判断其直链淀粉含量,淘汰直链淀粉含量高的单株,有利于提高软米品种的选择效率。

3.2 低直链淀粉含量的基因定位

曾亚文等^[11]利用 RM190 附近的 SSR 标记将八宝米的低直链淀粉基因定位于第 6 染色体上与 RM190 连锁,其遗传距离为 18.8 cM;朱昌兰^[14]利用 Wx 基因附近的 SSR 标记将毫屁的低直链淀粉基因定位于第 6 染色体上与 RM190 和 RM588 连锁,其遗传距离分别为 3.9 cM 和 5.4 cM;周勇^[20]利用“极端集团法”将毫目吕的低直链淀粉基因定位于第 11 染色体上 RM5349 和 RM224 之间,其遗传距离分别为 10.2 cM 和 17.3 cM;黄祖六等^[21]认为泰国香软米 KDML105 的直链淀粉含量受 2 个主效 QTL 和 5 个微效 QTL 的共同控制,2 个主效 QTL 分别位于第 3 和第 6 染色体上,与 R2170 和 R1962 距离分别为 10.5 cM 和 3.6 cM,其中 R1962 与 Wx 基因紧密连锁。M. Yano 等^[22]和 R. P. Kaushik 等^[5]将 $du-1$ 、 $du-4$ 、 du (EM47)、 du (2120) 和 du (2035) 分别定位于第 7、4、6、9 和 6 染色体上。本研究用 SSR 标记检测到 1 个控制软米品种毫木细直链淀粉含量的主效 QTL,该主效 QTL 位于 11 号染色体上 RM224 附近,LOD 值为 15.4,说明毫木细第 11 号染

色体上确实存在效应较大的 QTL,并且该 QTL 与黄祖六等^[15]检测到的低直链淀粉含量基因在同一区域,具体位置有待进一步精细定位而确定。

参考文献

- [1] 梁满中, Zaman F U, Dikshit H K. 杂交水稻直链淀粉含量遗传分析[J]. 生命科学研究, 1998, 2(3): 224-228
- [2] 申正岳, 闵绍楷, 熊振民, 等. 稻米直链淀粉含量的遗传及测定方法的改进[J]. 中国农业科学, 1990, 23(1): 60-68
- [3] Mackenzie K S. Genetic analysis of amylase content, alkali spreading score, and grain dimensions in rice[J]. Crop Sci, 1983, 23(2): 306-313
- [4] Pooni H S, Kumar I S H, Khushi G S. Genetic control of amylase content in a diallel set of rice crosses[J]. Heredity, 1993, 71: 603-613
- [5] Kaushik R P, Khush G S. Genetic analysis of endosperm mutants in rice, *Oryza sativa* L. [J]. Theor Appl Genet, 1991, 83: 146-152
- [6] 朱昌兰, 沈文飏, 瞿虎渠, 等. 水稻低直链淀粉含量基因育种利用的研究进展[J]. 中国农业科学, 2004, 37(2): 157-162
- [7] 林世成, 闵绍楷. 中国水稻品种及其系谱[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 278-289
- [8] 李铮友, 师常俊, 李晓艾, 等. 软米滇屯 502 的选育[J]. 云南农业大学学报, 1999, 14(1): 27-31
- [9] 罗龙, 陶永宏, 韦永贵, 等. 云南香型软米水稻资源农艺性状遗传效应研究[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(6): 992-996
- [10] 赵国珍, 贾育林, 严宗卜, 等. 一种高效便捷的 DNA 提取法及其应用[J]. 中国水稻科学, 2012, 26(4): 495-499
- [11] 曾亚文, 申时全, 徐绍忠, 等. 云南软米低直链淀粉含量及其相关性状遗传分析[J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(1): 12-16
- [12] 周勇, 夏九成, 黄世军, 等. 软米直链淀粉含量的遗传分析[J]. 西南农业学报, 2008, 21(4): 906-910
- [13] 辜琼瑶, 刘家富, 卢义宣, 等. 云南软米低直链淀粉含量的遗传及其温度敏感性分析[J]. 西南农业学报, 2007, 20(4): 569-572
- [14] 朱昌兰. 水稻低直链淀粉含量的遗传及品质形成对高温耐性的 QTL 分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2004
- [15] 黄祖六, 许如根, 陈德辉, 等. 中泰软米资源直链淀粉含量的遗传研究[J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2003, 24(1): 34-40
- [16] 孙有泉, 伊势一男, 奥野员敏, 等. 合系 4 号 5 个低直链淀粉突变体的遗传分析[J]. 中国水稻科学, 1999, 13(1): 1-5
- [17] 郭涛, 韦璇, 王慧, 等. 2 个低直链淀粉含量籼稻突变体的遗传分析[J]. 华南农业大学学报, 2009, 30(1): 10-13
- [18] 吴殿星, 舒庆尧, 夏英武. 低表观直链淀粉含量早籼稻的胚乳外观快速识别及其品质改良应用分析[J]. 作物学报, 2000, 26(6): 763-768
- [19] 赵国珍, 刘吉新. 粳稻低直链淀粉 $dull$ 基因的遗传分析[J]. 西南农业学报, 1998, 11(3): 1-4
- [20] 周勇. 云南软米直链淀粉含量的遗传分析和基因定位及在四川生态区的品质特征研究[J]. 雅安: 四川农业大学, 2008
- [21] 黄祖六, 谭学林. 稻米直链淀粉含量基因座位的分子标记定位[J]. 作物学报, 2000, 26(6): 777-782
- [22] Yano M, Okuno K, Satoh H, et al. Chromosomal location of genes conditioning low amylase content of endosperm starches in rice, *Oryza sativa* L. [J]. Theor Appl Genet, 1988, 76: 183-189