

# 导入反义 $W_x$ 基因对珍汕 97A 及其 $F_1$ 稻米品质的影响

方加海<sup>1</sup>, 魏雪娇<sup>2</sup>, 王来春<sup>1</sup>

(1. 江西农业大学 作物生理生态与遗传育种教育部重点实验室, 江西 南昌 330045; 2. 江西农业大学 国土资源与环境学院, 江西 南昌 330045)

**摘要:** 利用反义  $W_x$  基因珍汕 97B 阳性转化植株, 通过单株选择、回交转育, 育成反义  $W_x$  基因珍汕 97A——优质珍汕 97A。优质珍汕 97A 与珍汕 97A 比较, 直链淀粉含量从 25.6% 下降到 9.3%, 胶稠度从 45 mm 提高到 86 mm, 垩白度从 23.5% 下降到 7.1%; 利用优质珍汕 97A 配制的  $F_1$  稻米品质具有同样效应。

**关键词:** 反义  $W_x$  基因; 珍汕 97A; 稻米品质

**中图分类号:** S511.032 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000 - 2286(2010)03 - 0436 - 04

## Effects of Introducing Antisense $W_x$ Gene on Grain Quality of Rice Cultivar Zhenshan97A and Its $F_1$ Generations

FANG Jia-hai<sup>1</sup>, WEI Xue-jiao<sup>2</sup>, WANG Lai-chun<sup>1</sup>

(1. Jiangxi Agricultural University, Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Genetic Breeding, Ministry of Education, Nanchang 330045, China; 2. College of Land Resources and Environment, JAU, Nanchang 330045, China)

**Abstract:** Through single plant selection and successive backcross, the transgenic rice Zhenshan 97A with antisense  $Waxy$  ( $W_x$ ) gene, called the fine-quality Zhenshan 97A, was bred from the transgenic lines of Zhenshan 97B which positively expressed antisense  $W_x$  gene. Compared with non-transgenic Zhenshan 97A, the amylose content in grains of the transgenic Zhenshan 97A (fine-quality Zhenshan 97A) decreased by 16.3%, and the chalkiness degree decreased by 16.4%, while the gel consistency increased by 41mm. Its hybrid  $F_1$  generations had the same effect on rice quality as the fine-quality Zhenshan 97A.

**Key words:** antisense  $W_x$  gene; Zhenshan 97A; rice quality

水稻直链淀粉含量是影响稻米品质最重要因子之一。水稻胚乳中直链淀粉含量越高, 米饭的黏性、柔软性及口感越差<sup>[1-3]</sup>。我国一些优良的籼型杂交稻重点品种如汕优 46、汕优 63 等具有高产稳产特性, 但米质较差, 主要原因就是其亲本不育系稻米直链淀粉含量过高, 同时与直链淀粉含量相关的性状变劣<sup>[4]</sup>, 导致米饭口感硬、渣感明显, 品质较差。

水稻胚乳中直链淀粉的合成受第六染色体上蜡质基因  $Waxy$  ( $W_x$ ) 控制, 该基因同时还控制水稻花粉和胚囊中直链淀粉的合成, 是一个组织和发育特异性表达基因<sup>[5]</sup>。刘巧泉等<sup>[6-9]</sup>将反义  $W_x$  基因导入粳稻及籼型杂交稻重点保持系龙特甫 B、协青早 B 中, 李建粤等将反义  $W_x$  基因导入两系不育系 261S

收稿日期: 2010 - 03 - 03 修回日期: 2010 - 04 - 01

基金项目: 江西省科技厅项目 (赣科发计字 [2000]130号) 和江西省教育厅项目 (赣财教 [2003]73号、GJJ08184)

作者简介: 方加海 (1966 - ), 男, 副研究员, 硕士, 主要从事作物生理生态与遗传育种研究, E-mail: fjh - 86@163.com。

中<sup>[10]</sup>,均证明转基因水稻成熟种子中的直链淀粉含量有不同程度的下降,且可以稳定遗传<sup>[11]</sup>。刘巧泉等<sup>[7]</sup>同时发现,导入反义  $W_x$  基因下调稻米中直链淀粉含量后,对稻米中的碱消值和胶稠度也有一定的影响,表现为直链淀粉含量下降,胶稠度相应提高,碱消值略减小。但反义  $W_x$  基因导入籼型杂交稻重点保持系并与相应不育系多代回交后,不育系稻米品质性状有何改变目前还未见报道;以反义  $W_x$  基因不育系为亲本配制的杂交稻稻米品质及产量如何等研究目前亦未见报道。本研究分析了反义  $W_x$  基因对珍汕 97A 及以优质珍汕 97A 为亲本配制的杂交稻汕优 644 稻米品质的影响,并对优质汕优 644 的产量及产量构成因素进行分析。

## 1 材料与方 法

### 1.1 优质珍汕 97A 的选育

以珍汕 97B 为对照,对转反义  $W_x$  基因珍汕 97B 阳性转化株进行单株选择,2003 年获得稳定的优质珍汕 97B 纯合株系(优质珍汕 97B),以优质珍汕 97B 纯合株系为父本,原珍汕 97A 为母本进行单株回交转育,经过 3 年 6 代的回交,2006 年育成优质珍汕 97A。

### 1.2 米质分析

由农业部食品质量监督检验测试中心(武汉)进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 反义 $W_x$ 基因对珍汕 97A 的米质改良效果

优质珍汕 97A 与珍汕 97A 的米质比较见表 1。从表 1 可看出,优质珍汕 97A 的外观品质有明显改善,虽然垩白粒率变化不大,但单粒垩白面积明显变小,垩白度下降了 69.9%;粒型也更细长,长宽比从 2.2 提高到 2.5,但透明度没有变化;其次是食用品质明显改善,胶稠度从 45 mm 提高到 86 mm,提高了 91.11%;直链淀粉含量从 25.6% 下降到 9.3%,下降 63.7%,优质珍汕 97A 已成为一个软米型优良不育系。表 1 也反映出反义  $W_x$  基因对加工品质指标影响较小。研究还发现,优质珍汕 97A 的千粒重为 23.84 g,比珍汕 97A 的千粒重(25.77 g)下降 7.49%。

表 1 优质珍汕 97A 与珍汕 97A 的米质比较

Tab 1 Comparison of rice quality between transgenic Zhenshan 97A and non-transgenic Zhenshan 97A

品种 Types	出糙率 /%	精米率 /%	整精米率 /%	垩白粒率 /%	垩白度 /%	直链淀粉 /%	胶稠度 /mm	粒长 /mm	粒型(长宽)	透明度(级)	碱消值(级)
	Brown rice rate	Milled rice rate	Head rice rate	Chalky grain rate	Chalkiness degree	Amylose content	Gel consistency	Grain length	Grain type (length/width)	Transparency /degree	Alkali spreading value/degree
珍汕 97A Non-transgenic Zhenshan 97A	80.7	70.4	33.6	90	23.5	25.6	45	5.7	2.2	3	5.8
优质珍汕 97A Transgenic Zhenshan 97A	76.7	68.8	32.2	89	7.1	9.3	86	5.8	2.5	3	6.0

### 2.2 反义 $W_x$ 基因对珍汕 97A 配制的杂交稻米质改良效果

优质汕优 644 与汕优 644 比较,外观品质上有明显改善(表 2)。从 2007 年产汕优 644 米质分析数据来看,优质汕优 644 的垩白粒率为 50%,比汕优 644 的垩白粒率下降 41.9%;垩白度下降 49.3%;优质汕优 644 的粒型更细长,长宽比为 2.5。其次是食用品质明显改善,优质汕优 644 的胶稠度达到 86 mm,比汕优 644 的 50 mm 提高 72%;直链淀粉含量从 18.8% 下降到 12.8%,下降 31.9%,但碱消值变化很小。从表 2 可看出,反义  $W_x$  基因对稻米加工品质影响很小。从 2007 年和 2008 年 2 年产优质汕优 644 稻米品质分析数据来看,结果基本相同,表明反义  $W_x$  基因在优质汕优 644 中的表达是稳定的。

表 2 优质汕优 644 与汕优 644 的米质比较

Tab 2 Comparison of rice quality between transgenic Shanyou644 and non-transgenic Shanyou644

品种 Types	出糙率 /%	精米率 /%	整精米率 /%	垩白粒率 /%	垩白度 /%	直链淀粉 /%	胶稠度 /mm	粒长 /mm	粒型 (长/宽)	透明度 (级)	碱消值 (级)
	Brown rice rate	Milled rice rate	Head rice rate	Chalky grain rate	Chalkiness degree	Amylose content	Gel consistency	Grain length	Grain type (length/width)	Transparency /degree	Alkali spreading value/degree
汕优 644 Non-transgenic Shanyou644	80.6	70.2	51.6	86	6.9	18.8	50	6.0	2.3	2	5.0
优质汕优 644* Transgenic Shanyou644	80.8	70.4	53.5	50	3.5	12.8	86	5.8	2.5	2	5.0
优质汕优 644** Transgenic Shanyou644	81.4	70.2	53.4	55	4.4	12.6	86	6.0	2.4	2	5.0

\* 为 2007 年所产稻谷, \*\* 为 2008 年所产稻谷。

“\*” is rice produced in 2007, “\*\*” is rice produced in 2008

### 2.3 反义 $W_x$ 基因对珍汕 97A 配制的杂交稻农艺性状及产量的影响

优质汕优 644 与汕优 644 全生育期一致, 茎叶形态相似。但优质汕优 644 株高比汕优 644 略高 (表 3)。

表 3 优质汕优 644 与汕优 644 产量构成因素比较

Tab 3 Comparison of yield components between transgenic Shanyou644 and non-transgenic Shanyou644

品种 Types	全生育期 /d	株高 /cm	有效穗 / (万穗 · hm <sup>-2</sup> )	穗长 /cm	穗粒数 / (粒 · 穗 <sup>-1</sup> )	结实率 /%	千粒重 /g	理论产量 / (kg · hm <sup>-2</sup> )
	Whole growth stages	Plant height	Number of panicles	Panicle length	No. of spikelets per panicle	Seed setting rate	Grain weight	Grain yield
汕优 644 Non-transgenic Shanyou644	118.20	91.00	273.25	23.41	143.01	87.43	26.48	9047.01
优质汕优 644 Transgenic Shanyou644	118.30	93.00	292.50	22.84	141.57	85.99	26.14	9307.88

优质汕优 644 单位面积有效穗数达 292.50 万穗 /hm<sup>2</sup>, 比汕优 644 增加 6.95%; 优质汕优 644 平均穗长 22.84 cm, 比汕优 644 平均穗长短 0.57 cm, 但穗粒数基本相同, 结实率略低; 优质汕优 644 的千粒重比汕优 644 有所下降, 从 26.48 g 下降到 26.14 g, 下降 1.28%, 远低于优质珍汕 97A 相对于珍汕 97A 的下降幅度。由于优质汕优 644 有效穗数的正向优势超过粒重、结实率的负向优势, 优质汕优 644 的理论产量略高于汕优 644, 增产幅度为 2.88%。

## 3 讨论

(1) 从本研究结果来看, 反义  $W_x$  基因导入籼型杂交稻保持系珍汕 97B 中, 与珍汕 97A 多代回交后, 珍汕 97A 稻米品质性状发生明显变化。主要表现在直链淀粉含量明显下降, 胶稠度相应提高, 垩白度明显降低, 而碱消值、透明度及稻米的加工品质指标变化较小。研究表明反义  $W_x$  基因不仅能稳定遗传, 而且可以通过回交手段转育到不育系中。

(2) 反义  $W_x$  基因能显著降低受体品种的直链淀粉含量, 这与刘巧泉、李建粤等<sup>[6-10]</sup>的研究结果相同, 进一步说明利用反义 RNA 技术下调稻米胚乳中直链淀粉的合成是一种非常有效的手段。同时发现, 反义  $W_x$  基因下调受体品种直链淀粉含量的同时, 对稻米中的胶稠度有较大影响, 表现为直链淀粉含量下降, 胶稠度相应提高, 这与刘巧泉等的研究结果相同<sup>[7]</sup>。从本试验结果来看, 反义  $W_x$  基因下调受体品种直链淀粉含量的同时, 对稻米中的垩白度也有较大影响, 表现为直链淀粉含量下降, 垩白度相应降低, 主要原因是其降低了稻米垩白面积, 其结果在此之前未见相关报道。而对碱消值、透明度及加工品质指标影响较小, 这一结果预示稻米中的胶稠度和垩白度可能与胚乳中淀粉的组成有很大的关系,

而碱消值、透明度及稻米的加工品质可能与胚乳中淀粉的组成关系不大。

(3)本研究将反义  $W_x$  基因导入珍汕 97B 中,再通过多代回交,实现珍汕 97A 的米质改良,再通过优质珍汕 97A 配制优质汕优 644,米质分析结果证明优质汕优 644 稻米品质明显优于汕优 644,特别是在垩白度、胶稠度上改善明显,表明将反义  $W_x$  基因导入高直链淀粉含量三系杂交稻亲本,能达到全面改良相应杂交稻米质的目的。

(4)利用反义  $W_x$  基因改良杂交稻稻米品质的同时,其产量能否保持原有杂交稻水平,是值得关注的问题。反义  $W_x$  基因导入受体品种后,影响淀粉在胚乳中的积累,其可溶性糖含量在灌浆中后期要比其相应的亲本高,不利于粒重的形成<sup>[13-16]</sup>。本研究中的优质珍汕 97A 比珍汕 97A 的粒重下降 7.49%,但与恢复系杂交后,其  $F_1$  优质汕优 644 比汕优 644 的粒重只下降 1.28%,而优质汕优 644 单位面积有效穗数比汕优 644 增加 6.95%,理论产量略高于汕优 644。本研究利用优质珍汕 97A 只配制了一个杂交稻优质汕优 644,用优质珍汕 97A 配制的其它杂交品种表现如何有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 蔡一霞,朱智伟,王维,等.直链淀粉含量与稻米品质主要性状及米饭质地关系的研究[J].扬州大学学报,2005,26(4):52-56
- [2] 朱庆森,杜永,王志琴,等.杂交稻米的直链淀粉含量与米饭口感粘度硬度关系的研究[J].作物学报,2001,27(3):377-382
- [3] 朱昌兰,沈文飏,翟虎渠,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
- [4] 吴顺,李晓芳,萧浪涛,等.稻米垩白与直链淀粉含量的数量性状位点及其相互关系研究[J].华南师范大学学报,2005,(2):90-94
- [5] Okagaki R J, Wessler S R. Comparison of non-mutant and mutant *Waxy* genes in rice and maize[J]. Genetics, 1988, 120: 1137-1143.
- [6] 陆美芳,刘巧泉,陈秀花,等.反义  $W_x$  基因导入我国常规籼稻品种的研究[J].扬州大学学报,2003,24(3):32-36
- [7] 陈秀花,刘巧泉,王宗阳,等.反义  $W_x$  基因导入我国籼型杂交稻重点亲本[J].科学通报,2002,47(9):684-689
- [8] 郎良平,起登凤,李平,等.利用农杆菌介导法将反义  $W_x$  基因导入水稻的研究[J].分子植物育种,2004,2(6):765-770
- [9] 高方远,王宗阳,李浩杰,等.导入反义  $W_x$  基因改良杂交籼稻保持系直链淀粉含量[J].作物学报,2005,31(7):876-881
- [10] 李建粤,尹中明,吕英海,等.导入反义  $W_x$  基因降低两系不育系稻米直链淀粉含量[J].上海师范大学学报,2006,35(8):82-86
- [11] Terada R, Nakajima M, Ishiki M, et al Antisense *Waxy* genes with highly active promoters effectively suppress *Waxy* gene expression in transgenic rice[J]. Plant Cell Physiol, 2000, 41(7): 881-888
- [12] Liu Q, Wang Z, Chen X, et al Stable inheritance of the antisense *Waxy* gene in transgenic rice with reduced amylose level and improved quality[J]. Transgenic Res, 2003, 12(1): 71-82
- [13] 刘巧泉,王兴稳,陈秀花,等.转反义  $W_x$  基因糯稻的显性遗传及对稻米粒重的效应分析[J].中国农业科学,2002,35(2):117-122
- [14] 陈刚,王忠,刘巧泉,等.转反义  $W_x$  基因水稻颖果的发育及物质积累[J].中国水稻科学,2006,20(3):277-282
- [15] Boyer C D. Biochemical genetics of carbohydrate metabolism in source and sink tissue[C]//Photosynthate distribution and partitioning in plant and crops: Source-sink relationships, New York: Marcel Dekker, 1996: 341-368
- [16] 何祖华,王金渭,申宗坦.水稻  $W_x$  基因对籽粒糖类积累和萌发种子淀粉酶活力的影响[J].中国水稻科学,1994,8(1):21-26