

云南稻微核心种质及其回交高代糙米 功能成分含量的遗传变异

魏明亮¹, 杜娟², 曾亚文^{2,3*}, 杨树明², 普晓英², 杨涛²

(1.云南农业大学农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201; 2.云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所, 云南 昆明 650205; 3.云南省农业生物技术重点实验室, 云南 昆明 650223)

摘要:测定了作为供体的 95 份云南稻微核心种质、籼稻轮回亲本滇屯 502、粳稻轮回亲本合系 35 及其籼粳交和粳粳交的 95 份回交高代糙米的总黄酮、 γ -氨基丁酸和抗性淀粉含量, 并进行遗传变异分析。结果表明: 1) 供体及其回交高代糙米的 3 种功能成分含量变幅和变异系数均较大, 大小依次为抗性淀粉、 γ -氨基丁酸、总黄酮; 2) 受体糙米的功能成分含量较低, 回交高代 3 种功能成分含量比受体有提高, 供体糙米总黄酮含量极显著高于回交高代, 粳稻糙米回交高代的 γ -氨基丁酸含量大于其对应的供体, 供体与对应的回交高代糙米抗性淀粉含量均呈双峰分布且遗传稳定, 说明抗性淀粉含量主要受基因型控制。

关键词: 水稻; 微核心种质; 回交高代; 总黄酮; γ -氨基丁酸; 抗性淀粉; 遗传变异; 云南

中图分类号: S511.01

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2013)02-0121-05

Genetic variation of functional components in brown rice of mini core collection of Yunnan landrace rice and its advanced backcross lines

WEI Ming-liang¹, DU Juan², ZENG Ya-wen^{2,3*}, YANG Shu-ming², PU Xiao-ying², YANG Tao²

(1.College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2.Biotechnology and Genetic Resources Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China;3. Agricultural Biotechnology Key Laboratory of Yunnan Province, Kunming 650223, China)

Abstract: Ninety-five accessions from the mini core collection of Yunnan rice and their advanced backcross lines, which were obtained using the 95 accessions as donor, the Diantun 502 as the recurrent parent of Indica rice and the Hexi35 as the recurrent parent of *japonica* rice, were tested for their genetic variation, and the content of 3 functional components, namely, total flavonoids (TF), γ -aminobutyric acid (GABA) and resistant starch (RS) in the brown rice were determined. The results show that (1) there are significant difference in the variation coefficients and the ranges of FL, GABA and RS contents, with RS showing the highest variation coefficients followed by GABA and TF. (2) the contents of 3 functional components in brown rice of the acceptor are low, which were increased in the corresponding advanced backcross lines, the content of total flavonoids in brown rice of the donor were significantly higher than those of the advanced backcross lines, the content of GABA in brown rice of *japonica* advanced backcross lines was higher than those of the corresponding donor. The content of RS in brown rice of the donor and its advanced backcross lines are bimodally distributed, with low genetic variation, indicating the the content of RS is controlled by genotype.

Key words: rice; mini core collection; advanced backcross lines; total flavonoids; γ -aminobutyric acid; resistant starch; genetic variation; Yunnan

收稿日期: 2012-12-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(31260326); 云南省重点新产品开发项目(2010BB001); 昆明市创新型试点企业项目(昆科计字 10N060204 号); 云南省技术创新人才培养项目(2012HB050; 2011CI059)

作者简介: 魏明亮(1986—), 男, 江西南昌人, 硕士研究生, 主要从事水稻遗传育种研究, wml0225@126.com, 杜娟与魏明亮同等贡献; *通信作者, zengyw1967@126.com

富含总黄酮、 γ -氨基丁酸和抗性淀粉等生理活性物质的功能食品对预防糖尿病、高血压、胃肠道病、高血脂和肥胖等多种慢性疾病功效显著^[1-2]。糙米中总黄酮、 γ -氨基丁酸和抗性淀粉功能成分的提高将对人类营养和健康的改善产生巨大影响。生物强化途径提高糙米中功能成分含量^[3],培育功能稻品种是当前水稻育种的主要目标之一,因此,明确糙米功能成分含量的遗传变异规律,对于功能稻育种具有重要的指导意义。谢勇武等^[4]用粳稻 02428 突变体的 RIL 群体 336 个 F_9 家系,揭示了糙米中总黄酮和生物碱含量的变异及其与主要农艺性状的相关性;孙丹等^[5]对以功米 3 号与滇屯 502 杂交的 219 个 F_3 株系糙米与精米中总黄酮和 γ -氨基丁酸(GABA)含量进行了遗传变异及其相关性分析。

云南是世界稻种最大的遗传生态多样性中心之一^[6],是功能稻米品种资源的富集区^[7],微核心种质是在核心种质的基础上进一步压缩而更有代表性的样本,可用较小成本更有效地对种质资源进行利用,笔者以云南稻微核心种质及其回交高代为材料,对糙米总黄酮、 γ -氨基丁酸和抗性淀粉含量的遗传变异进行了分析,旨在为功能稻的遗传育种及其产业化提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

从 548 份云南稻核心种质^[10]中选出 95 份微核心种质作为供体,其中籼稻 47 份,粳稻 48 份。以籼稻滇屯 502 和粳稻合系 35 为轮回亲本,分别按籼籼交、粳粳交配制,获得一一对应的回交高代 95

份(BC₅F₄)。所有供试材料于 2011 年 3—9 月在籼粳交错区的玉溪市研和镇种植收获,用糙米机将稻谷脱壳成糙米,再用打粉机将糙米粉碎作样品,检测其功能成分。

1.2 糙米功能成分含量的测定

参照文献[8]方法测定糙米总黄酮含量;采用文献[9]方法测定糙米抗性淀粉含量;按文献[10]方法测定糙米 γ -氨基丁酸含量。重复 3 次,结果取平均值。

1.3 数据处理

糙米总黄酮、 γ -氨基丁酸和抗性淀粉含量的变异及遗传差异,采用 SPSS17.0 统计分析,亲本及回交高代糙米功能成分含量频数的分布按(最大值-最小值)/ N 为分布间距,并统计各分布间距的频数,用 Excel 作图。

2 结果与分析

2.1 云南稻微核心种质及其回交高代糙米功能成分含量变异

由表 1 可知,云南稻微核心种质供体及回交高代糙米总黄酮、 γ -氨基丁酸和抗性淀粉含量的变幅和变异系数均较大,抗性淀粉含量变异系数最大,总黄酮含量变异系数最小,其中粳稻回交高代糙米的抗性淀粉含量变异系数高达 59.2%,表明水稻 3 种功能成分含量存在明显的基因型差异。从表 1 还可以看出,籼稻糙米总黄酮和 γ -氨基丁酸含量的变异系数大于粳稻,供体大于回交高代,但糙米抗性淀粉含量的变异系数变化则相反。

表 1 不同类型水稻功能成分含量的变幅和变异系数

Table 1 The ranges and coefficient of variation of functional component contents in different rice types

材料	类型	总黄酮含量/ (mg·(100 g) ⁻¹)	变异系数/%	γ -氨基丁酸含量/ (mg·(100 g) ⁻¹)	变异系数/%	抗性淀粉 含量/%	变异系数/%
供体	籼稻	56.18 ~ 256.15	36.30	6.50 ~ 27.57	41.24	0.84 ~ 4.54	44.94
	粳稻	75.75 ~ 284.51	35.17	1.58 ~ 22.05	41.00	0.76 ~ 4.54	49.90
受体	滇屯 502	35.36		5.75		0.51	
	合系 35	48.75		3.29		0.94	
回交高代	籼稻	46.13 ~ 129.80	25.00	3.89 ~ 16.52	26.80	0.5 ~ 3.87	55.10
	粳稻	49.00 ~ 96.72	18.03	7.05 ~ 18.51	19.30	0.34 ~ 4.63	59.20

2.2 云南稻微核心种质及其回交高代糙米功能成分含量的频数分布

由图 1 和图 2 可知,籼稻和粳稻供体糙米总黄

酮含量的频数分布都呈近似正态分布,籼稻供体糙米总黄酮含量在 102 ~ 132 mg/(100 g)的频数最多,出现 1 个波峰,其间频数的频率为 54.2%;粳稻供体糙

米总黄酮含量频数分布的波峰在 97 ~ 127 mg/(100 g), 其间频数的频率为 47.9%。籼稻回交高代糙米总黄酮含量频数分布呈现双峰分布, 在 57 mg/(100 g)和 72 ~ 87 mg/(100 g)之间各出现 1 个峰, 其间频数的频率分别为 55.3%、22.9%; 粳稻回交高代糙米总黄酮含量频数分布则呈现类似偏态的单峰分布, 在 67 ~ 82 mg/(100 g)出现 1 个高峰, 其间频数的频率为 43.8%。

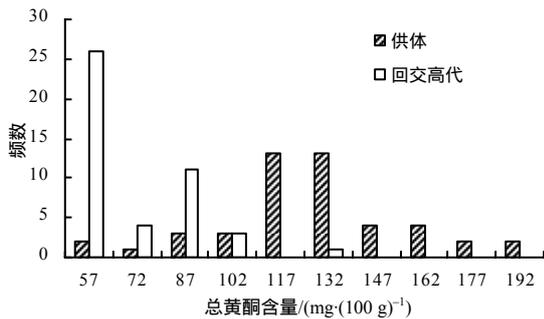


图1 籼稻供体及其回交高代总黄酮含量频数分布
Fig.1 Distribution of total flavonoid content of *indica* donor and their advanced backcross lines

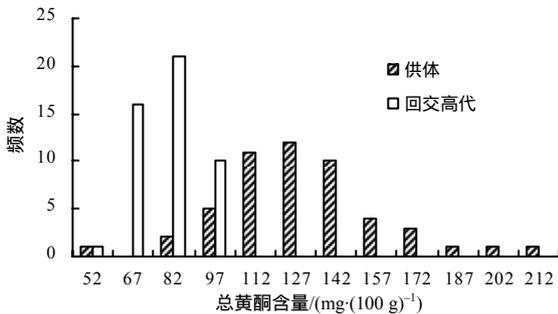


图2 粳稻受体及其回交高代总黄酮含量频数分布
Fig.2 Distribution of total flavonoid content of *japonica* donor and their advanced backcross lines

从图 3 和图 4 可知, 籼稻和粳稻回交高代糙米 γ -氨基丁酸含量的频数分布都呈近似正态分布, 籼稻回交高代在 7.68 ~ 9.63 mg/(100 g)出现 1 个峰, 其间频数的频率为 41.7%, 粳稻回交高代在 9.19 ~ 13.25 mg/(100 g)出现 1 个峰, 其间频数的频率为 72.9%。籼稻供体的 γ -氨基丁酸含量频数分布呈类似偏态的单峰分布, 在 7.68 ~ 9.73 mg/(100 g)出现 1 个峰, 其间频数的频率为 41.7%; 粳稻供体糙米的 γ -氨基丁酸含量频数分布呈现双峰分布, 在 7.16 ~ 11.22 mg/(100 g)和 17.31 ~ 19.34 mg/(100 g)各出现 1 个峰, 其间频数的频率分别为 54.2%和 14.6%。

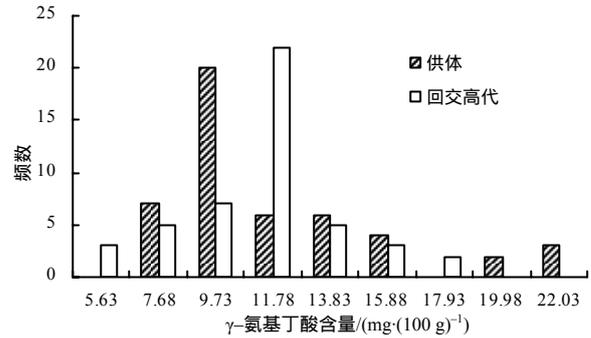


图3 籼稻供体及其回交高代 γ -氨基丁酸含量频数分布
Fig.3 Distribution of total GABA content of *indica* donor and their advanced backcross lines

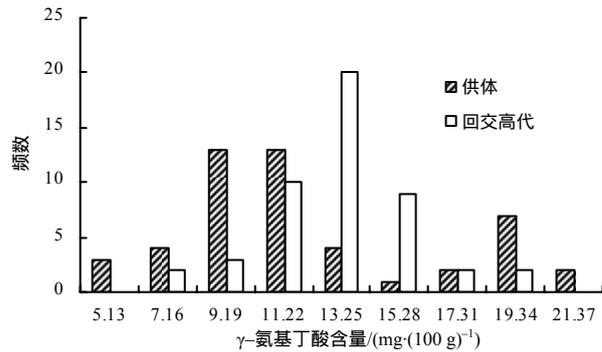


图4 粳稻受体及其回交高代 γ -氨基丁酸含量频数分布
Fig.4 Distribution of GABA content of *japonica* donor and their advanced backcross lines

从图 5 和图 6 可知, 籼稻和粳稻供体及其回交高代糙米抗性淀粉含量频数的分布都呈现双峰分布, 籼稻供体在 1.42% ~ 1.86%和 3.18% ~ 3.62%各出现 1 个峰, 其间频数的频率分别为 20.8%和 12.5%; 籼稻回交高代在 0.98% ~ 1.42%和 3.18% ~ 3.62%各出现 1 个峰, 其间频数的频率分别为 20.8%和 12.5%。粳稻供体和回交高代的 2 个峰都是在 0.98% ~ 1.43%和 2.33% ~ 2.78%, 供体第 1 峰和第 2 峰之间频数的频率分别为 27.1%和 20.8%; 回交高代第 1 峰和第 2 峰之间频数的频率分别为 29.2%和 20.8%。

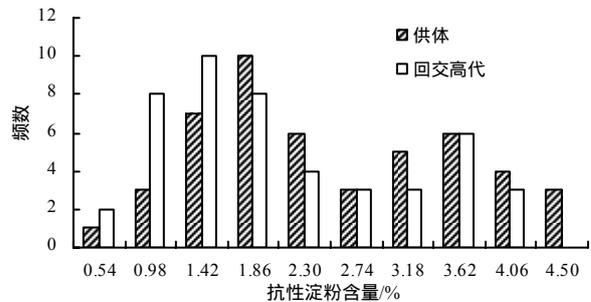


图5 籼稻供体及其回交高代抗性淀粉含量频数分布
Fig.5 Distribution of total RS content of *indica* donor and their advanced backcross lines

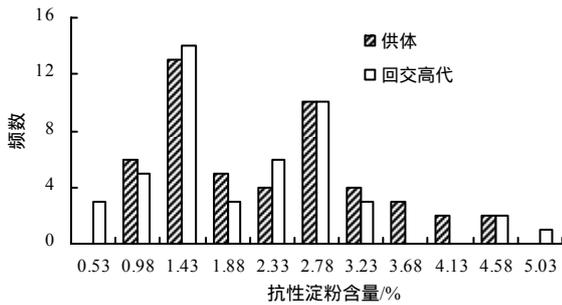


图6 粳稻受体及其回交高代抗性淀粉含量频数分布
Fig.6 Distribution of RS content of japonica donor and their advanced backcross lines

2.3 云南稻微核心种质及其回交高代糙米功能成分含量差异

从表2可知,回交高代比受体糙米的3种功能成分含量均有明显的提高;粳稻糙米总黄酮含量比籼稻高;籼稻供体糙米的 γ -氨基丁酸、抗性淀粉含量要比粳稻高,但在回交高代中,结果相反。与供体相比,除 γ -氨基丁酸外,回交高代糙米总黄酮和抗性淀粉含量均呈极显著或显著下降的趋势,表明回交高代总黄酮含量受轮回亲本的影响很大,粳稻

表2 亲本与回交高代功能成分的含量

Table 2 Comparison of functional component contents of the parents and their advanced backcross lines

类型	比较组	总黄酮含量/(mg·(100 g) ⁻¹)		γ -氨基丁酸含量/(mg·(100 g) ⁻¹)		抗性淀粉含量/%	
		均值	T值	均值	T值	均值	T值
籼稻	供体/回交高代	132.96/65.58	11.698**	11.31/10.37	0.976	2.33/1.88	2.087*
粳稻	供体/回交高代	137.45/73.19	8.884**	11.23/11.62	0.532	2.19/1.95	1.004
供体	籼稻/粳稻	132.96/137.45	0.518	11.31/11.23	0.106	2.33/2.19	0.647
回交高代	籼稻/粳稻	65.58/73.19	2.324*	10.37/11.62	2.43*	1.88/1.95	0.335
受体	滇屯 502/合系 35	35.36/48.75	-	5.75/3.29	-	0.51/0.94	-

回交高代抗性淀粉和 γ -氨基丁酸含量比籼稻回交高代容易提高。

3 讨论

水稻基因型间功能成分含量存在显著差异。本试验微核心种质中有27份有色米,回交高代中2份有色米;供体糙米总黄酮含量极显著高于回交高代。曾亚文等^[7]的研究指出,云南稻核心种质糙米中红米和紫米的总黄酮和抗性淀粉含量极显著高于白米,因此微核心种质中27份有色米,培育2份有色米回交高代,是微核心种质糙米总黄酮含量极显著高于回交高代的原因。另外,供体及回交高代糙米的总黄酮、GABA、抗性淀粉含量均存在丰富的变异,说明从中筛选出糙米功能成分含量高的品系是可行的。孙丹等对功米3号和滇屯502及其219个F₃株系的研究表明,糙米总黄酮含量的平均值为130.15 mg/(100 g),其变异系数为18.83%,糙米GABA含量的平均值为6.91 mg/(100 g),其变异系数为44.28%,抗性淀粉含量的平均值为2.86%,变异系数为55.24%。谢勇武等对粳稻02428突变体的RIL群体336个F₉家系分析表明,糙米总黄酮含量的平均值为69.8 mg/(100 g),其变异系数为

22.67%。杨武振等^[11]对水稻02428与合系35杂交培育的222个RIL研究可知,糙米总黄酮含量的平均值为58.15 mg/(100 g),变异系数为25.23%。本研究结果表明,供体及回交高代糙米3种功能成分含量变异系数大小依次为抗性淀粉、 γ -氨基丁酸、总黄酮,其中95份供体糙米总黄酮含量及其变异系数大于上述研究结果,这可能与试验所用材料不同有关。

糙米 γ -氨基丁酸含量受生态条件影响较大,总黄酮为基因型与环境互作的共同调节且受多基因控制的数量遗传,抗性淀粉含量主要受基因型控制^[11-12]。逆境条件下增加植物体内功能成分;干旱、低温等胁迫时,植物体内GABA合成和积累会增加^[13];高温和增加光照以及紫外光辐射有利于总黄酮的合成^[14-15];小麦籽粒高抗性淀粉含量由多隐性基因控制,显性作用大于加性效应,符合加性-显性模型^[16]。本研究结果表明,回交高代糙米总黄酮含量极显著低于供体亲本,这可能是受细胞质遗传影响较大和回交高代培育中色素基因丢失造成,这与孙明茂等^[17]和孙玲等^[18]的研究报道相符。粳稻回交高代糙米GABA含量整体略大于其对应的供体,这是因为粳稻逆境胁迫下增加了回交高代糙米

GABA累积,有利于高GABA功能稻新品种培育。亲本与对应的回交高代糙米抗性淀粉含量均呈双峰分布且遗传稳定,说明抗性淀粉含量主要受基因型控制。

种质资源是作物基因发掘、遗传改良及新品种培育的重要基础^[19-20]。微核心种质可以通过比较测序进行关联分析,通过大规模的高世代回交,真正实现基因高通量挖掘^[21]。云南稻微核心种质及其回交高代糙米功能成分的遗传变异大,选拔出供体亲本及其对应回交高代糙米总黄酮、 γ -氨基丁酸和抗性淀粉含量分别都较高的共12对优良品系,这可看作是糙米功能成分的近等基因系材料,近等性的高低还有待于进一步评价。笔者正对微核心种质及其对应的回交高代材料进行SSR标记全基因组扫描,从分子水平筛选近等性较好的近等基因系材料并进行关联分析作图,定位出总黄酮、GABA、抗性淀粉含量的基因位点,为分子标记辅助选择打下基础。

参考文献:

- [1] 郑建仙.功能性食品学[M].北京:中国轻工业出版社,2009.
- [2] Swinbanks D, O'Brien J. Japan explore the boundary between food and medicine[J]. Nature, 1993, 364: 180.
- [3] Graham R D. Biofortification: A global challenge program[J]. IRRN, 2003, 28(1): 4-8.
- [4] 谢勇武, 杨树明, 曾亚文, 等. 粳稻 02428 突变体重组自交系糙米功能成分含量及其与农艺性状的相关分析[J]. 西南农业学报, 2011, 24(5): 1620-1624.
- [5] 孙丹. 水稻 F₃ 群体糙米功能成分含量的遗传变异及其 QTLs 分析[D]. 昆明: 云南大学生命科学学院, 2012.
- [6] Zeng Y W, Zhang H L, Li Z C, et al. Evaluation of genetic diversity of rice Landraces (*Oryza sativa* L.) in Yunnan, China [J]. Breeding Science, 2007, 57(2): 91-99.
- [7] 曾亚文, 杜娟, 杨树明, 等. 云南稻核心种质糙米功能成分栽培型差异及其地带性特征[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(12): 3388-3394.
- [8] 庄向平, 虞杏英. 银杏叶中黄酮含量的测定和提取方法[J]. 中草药, 1992, 23(3): 122-144.
- [9] Inatomi K, Slaughter J C. The role of glutamate decarboxylase and γ -aminobutyric acid in germinating barley[J]. Journal of Experimental Botany, 1971, 22: 561-571.
- [10] Goñi I, García-Díaz L, Mañas E, et al. Analysis of resistant starch: a method for food products[J]. Food Chemistry, 1996, 56: 445-449.
- [11] 杨振武, 杨涛, 王荔, 等. 02428×合系 35 的 RIL 群体糙米总黄酮与总生物碱含量的遗传分析[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(3): 477-480.
- [12] 杨树明, 夏小环, 赵旭, 等. 不同基因型粳稻籽粒产量与功能成分的生态变异[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2012, 38(5): 464-471.
- [13] Kinnersley A M, Turano F J. Gamma-amino butyric acid(GABA) and plant responses to stress[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 2000, 19(6): 479-509.
- [14] 鲁守平, 隋新霞, 孙群, 等. 药用植物次生代谢的生物学作用及生态环境因子的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18: 1027-1032.
- [15] 王红星, 乔传英, 古红梅. 影响植物次生代谢产物形成的因素[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(35): 11376-11377.
- [16] 庞欢, 李卫华, 张宏斌, 等. 小麦籽粒抗性淀粉含量的分析[J]. 遗传, 2010, 32(2): 170-176.
- [17] 孙明茂, 韩龙植, 李圭星, 等. 水稻花色苷含量的遗传研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2006, 7(12): 239-245.
- [18] 孙玲, 陈俊秋, 张名位, 等. 稻米颜色及其抗氧化性的关系[J]. 中国粮油学报, 2002, 17(4): 25-27.
- [19] Zhao K Y, Tung C W, Eizenga G C. Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa* [J]. Nat Commun, 2011(2): 1-10.
- [20] Glaszmann J C, Kilian B, Upadhyaya H D, et al. Accessing genetic diversity for crop improvement [J]. Curr Opin Plant Biol, 2010, 13: 1-7.
- [21] 余四斌. 水稻重要性状的等位基因研究进展[J]. 分子植物育种, 2010(6): 1059-1067.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 罗维