

裔传灯, 李 玮, 王德荣, 等. 水稻 *GW5* 基因的 1212-bp Indel 变异对粒形的影响[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(6): 1201-1205.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2016.06.001

## 水稻 *GW5* 基因的 1212-bp Indel 变异对粒形的影响

裔传灯, 李 玮, 王德荣, 蒋 伟, 王 颖, 周 勇, 梁国华, 顾铭洪

(扬州大学江苏省作物遗传生理国家重点实验室培育点/粮食作物现代产业技术协同创新中心, 教育部植物功能基因组学重点实验室, 江苏 扬州 225009)

**摘要:** 为了探明粒宽基因 *GW5* 对水稻粒形的作用, 本研究利用 DNA 序列分析技术和 PCR 技术, 对已测序的稻属野生种、水稻微核心种质以及 2007–2013 年江苏省审定的粳稻品种中 *GW5* 的变异类型进行了鉴定。研究结果表明, 野生稻都含有 *GW5* 基因的 1212-bp 序列, 但 DNA 序列有着明显的分化。在水稻微核心种质的粳亚种中, 相对于 *GW5* 插入型(Ins)而言, 缺失型(Del)水稻品种有着较短的粒长、较宽的粒宽、较厚的粒厚、较小的长宽比和较重的千粒质量, 并且 *GW5* 基因的变异对粳亚种的粒形和千粒质量的影响均达到极显著水平。江苏省近年审定的绝大部分粳稻品种中 *GW5* 基因为缺失型。*GW5* 基因的 1212-bp Indel 变异对水稻粒形和千粒质量有着不同程度的影响, 这些研究结果对利用 *GW5* 的等位基因进行水稻育种有着重要的指导价值。

**关键词:** 水稻; 粒形; *GW5* 基因; 插入缺失变异

**中图分类号:** S511.035.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-4440(2016)06-1201-05

## Effect of 1212-bp Indel variation of gene *GW5* on rice grain shape

YI Chuan-deng, LI Wei, WANG De-rong, JIANG Wei, WANG Ying, ZHOU Yong, LIANG Guo-hua, GU Ming-hong

(*Jiangsu Key Laboratory of Crop Genetics and Physiology/Co-Innovation Center for Modern Production Technology of Grain Crops, Key Laboratory of Plant Functional Genomics of the Ministry of Education, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China*)

**Abstract:** To explore the effect of grain width gene *GW5* on rice grain shape, the analysis of genomic DNA sequence and PCR were conducted in sequenced wild species of genus *Oryza*, rice mini core collection (RMCC) and certificated japonica varieties in Jiangsu province from 2007 to 2013. We found that *GW5* involved 1212-bp sequence in the wild rices. The phylogeny demonstrated an apparent differentiation on DNA sequence of *GW5* among these species. In the RMCC, rice varieties with the Del genotype of *GW5* had shorter grain length, wider grain width, thicker grain thickness, smaller ratio of length to width and larger 1000-grain weight, as compared with the ones of the Ins genotype. And very significant differences in the grain shape and 1000-grain weight were found in the *Indica* subspecies. Subsequently, the rice of Del genotype of *GW5* was detected in the vast majority of japonica varieties certificated in Jiangsu province. There are different effects of

*GW5* related 1212-bp Indel allelic variation on rice grain shape and 1000-grain weight, which will pay the way to utilize the allelic variations of gene *GW5* in the rice yield breeding program.

**Key words:** rice; grain shape; gene *GW5*; indel variation

收稿日期: 2016-06-07

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(31571624, 31071382); 国家重点基础研究发展计划(2010CB125904、2013CBA01405); 江苏省高校自然科学研究重大项目(15KJA210004); 江苏高校优势学科建设工程项目

**作者简介:** 裔传灯(1973-), 男, 江苏盐城人, 博士, 副教授, 主要从事水稻遗传育种研究。(Tel) 0514-87937619; (E-mail) cdyi@yzu.edu.cn

水稻的产量和稻米品质都是受多因素控制的复杂性状<sup>[1-4]</sup>。粒形性状包括粒长、粒宽、粒厚和长宽

比是影响水稻产量和稻米品质的重要因素之一<sup>[5-7]</sup>。近年来,许多与水稻粒形相关的基因被相继克隆,如与粒长相关的基因(*GS3*<sup>[8]</sup>、*qPE9-1*<sup>[9]</sup>、*qGL3/GL3.1*<sup>[10-11]</sup>、*GW7*<sup>[1]</sup>、*SLG7*<sup>[12]</sup>和*TGW6*<sup>[13]</sup>)、与粒宽相关的基因(*GW2*<sup>[14]</sup>、*qSW5/GW5*<sup>[15-16]</sup>、*GS5*<sup>[17]</sup>、*GS6*<sup>[18]</sup>、*GW8*<sup>[7]</sup>)。解析粒形性状的调控机理对提高水稻产量、改善品质有重要的指导意义。

*GW5/qSW5* 基因是控制水稻粒宽的重要基因之一。Shomura 等<sup>[15]</sup>通过对日本晴(粳稻品种)与 Kasalath(籼稻品种)杂交的 F<sub>2</sub> 和近等基因系材料的研究发现,水稻第 5 染色体存在 1 个控制粒宽的主效 QTL *qSW5*, 可以通过改变籽粒外颖细胞的数量来调节粒宽。Weng 等<sup>[16]</sup>以 Asominori(粳稻品种)与 IR64(籼稻品种)的重组自交系为试验材料,在第 5 染色体的相同区域也定位到 1 个控制粒宽的主效 QTL *GW5*, 功能分析结果表明,该基因通过泛素-蛋白酶体途径调节粒宽。基因克隆的研究结果证实,*qSW5* 和 *GW5* 中都存在 1212-bp Indel 变异,并与水稻籽粒的粒宽密切相关。DNA 序列的物理位置表明,基因 *qSW5* 和 *GW5* 是同一个基因。目前,该基因对水稻粒形其他性状的影响还不清楚。

为了加强 *GW5* 在水稻育种工作中的应用,本研究拟通过对 DNA 的序列进行比对,探究该基因在稻属 AA 染色体组中的分布及其类型。同时,结合水稻微核心种质和近年江苏审定粳稻品种的基因型检测结果,分析这些变异位点对水稻粒形性状的影响,以期为提高水稻产量并改善其品质提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试水稻材料包括从中国农业大学引进的 294 份水稻微核心种质和江苏省农业科学院引进的 65 份江苏省 2007–2013 年审定的粳稻品种<sup>[19]</sup>。水稻微核心种质为来自国内外不同稻作区的水稻品种,含 96 份国外栽培品种和 198 份中国栽培品种<sup>[20]</sup>,具有丰富的遗传多样性,其感光性也存在较大的差异。为了确保正常抽穗,所有供试水稻品种于 2014 年 11 月在海南陵水播种和育苗,2015 年 1 月移栽于大田,进行常规的田间管理。

### 1.2 水稻成熟种子粒形相关性状数据的测定

参照《水稻种质资源描述规范和数据标准》的方法<sup>[21]</sup>,待水稻种子完全成熟后收获并风干,挑选

5 粒籽粒饱满的种子,用游标卡尺(精确到 0.01 mm)测量其粒长、粒宽和粒厚,重复 5 次,计算平均值。使用电子天平测定 1 000 粒种子的质量,重复 3 次,计算平均值。

### 1.3 基因 *GW5* 的序列比对和分析

从 Rice Genome Annotation Project 网站(<http://rice.plantbiology.msu.edu/>)下载水稻粒形基因 *GW5* 的基因组 DNA 序列 DQ991205<sup>[16]</sup>(来源于籼稻品种 IR24)和 AB433345<sup>[15]</sup>(来源于籼稻品种 Kasalath)。以这些序列作为种子序列,分别对 NCBI 和 Ensembl plants 网站已测序的栽培稻和野生稻核酸序列数据库进行检索,以获得同源的 DNA 序列。目前为止,Ensembl plants 网站已公布稻属不同染色体组序列的稻种主要包括:非洲栽培稻(*O. glaberrima*, AA 组)、普通野生稻(*O. rufipogon*, AA 组)、巴蒂野生稻(*O. barthii*, AA 组)、展颖野生稻(*O. glumaepatula*, AA 组)、长雄蕊野生稻(*O. longistaminata*, AA 组)、南方野生稻(*O. meridionalis*, AA 组)、尼瓦拉野生稻(*O. nivara*, AA 组)、斑点野生稻(*O. punctata*, BB 组)、短药野生稻(*O. brachyantha*, FF 组)。借助 BioEdit 软件对获得的同源 DNA 序列进行比对分析。

### 1.4 DNA 提取

收集供试材料分蘖盛期新鲜幼嫩的叶片,采用 CTAB 法<sup>[22]</sup>提取水稻基因组 DNA。

### 1.5 PCR 扩增和检测

参照 Weng 等<sup>[16]</sup>发现的引物信息,重新合成了鉴定 *GW5* 的 1212-bp Indel 变异的标记 Indel2F 和 Indel2R。PCR 反应参照 Weng 等<sup>[16]</sup>的方法进行,扩增产物经 3.0% 的琼脂糖凝胶电泳,EB 染色,紫外凝胶成像系统成像。

### 1.6 数据分析

利用 Excel 和 SPSS 软件分析和处理相关数据,利用 Mega 软件构建进化树。

## 2 结果与分析

### 2.1 *GW5* 基因的序列分析

通过序列搜索,在 NCBI 网站核酸序列数据库中找到高度同源的 4 个亚洲栽培稻(*O. sativa*, AA 组)基因组 DNA 序列,即来自籼稻品种 RP Bio-226 的 DNA 序列 CP012613,来自籼稻品种珍汕 97 的 DNA 序列 HQ658631,来自粳稻品种 02428 的 DNA 序列 HQ658633 和来源于粳稻品种日本晴的 DNA

序列 AC093954。另外,在 Ensembl plants 网站公布的稻属不同染色体组核酸序列数据库中,只在非洲栽培稻、普通野生稻、巴蒂野生稻、展颖野生稻和尼瓦拉野生稻基因组 DNA 序列中发现与 DQ991205 序列高度同源的 DNA 片段。

将上述检索到的同源 DNA 序列进行比对(图 1),序列号 AB433345、HQ658631、HQ658633 和 DQ991205 对应的序列仅分别显示了籼稻 Kasalath、

籼稻珍汕 97、粳稻 02428 和籼稻 IR24 的 *qSW5* 或 *GW5* 的碱基序列,说明这些栽培稻品种都包含该 1212-bp 的 DNA 片段。由图 1 可知,只有序列号 AC093954 对应的的粳稻日本晴的 *GW5* 表现为缺失型(Del),其他栽培稻和野生稻的 *GW5* 为插入型(Ins),这表明 *GW5* 的 1212-bp 缺失型是在野生稻驯化为栽培稻之后获得的变异类型。

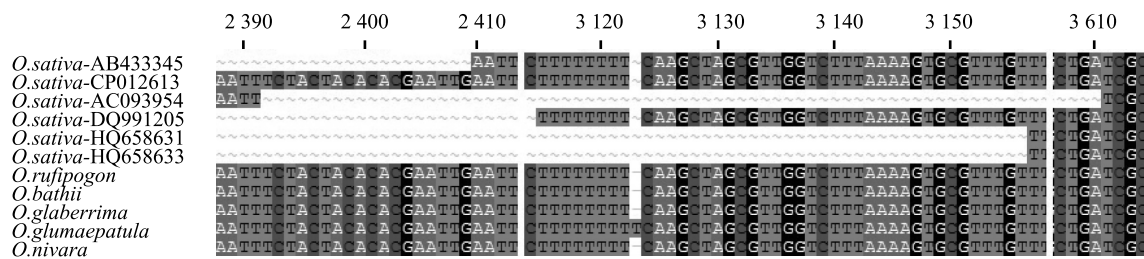


图 1 基于基因 *GW5* 的基因组 DNA 序列比对结果

Fig.1 Genomic DNA sequence alignment of gene *GW5*

## 2.2 *GW5* 基因的进化树分析

Weng 等<sup>[13]</sup>的研究结果表明,*GW5* 的编码区长度为 435 bp,位于 1212-bp 的 Indel 变异中。为了探究 *GW5* 在稻属中的进化关系,将其编码区的 DNA 序列作为种子序列,重新对 NCBI 和 Ensembl plants 的核

酸序列数据库进行检索,并对获得的同源 DNA 序列进行进化树的构建(图 2)。由图 2 可知,FF 染色体组的短药野生稻中没有同源序列,斑点野生稻、长雄蕊野生稻、南方野生稻与亚洲栽培稻亲缘关系较远,稻属 AA 染色体内的 8 个种也存在不同程度的分化。

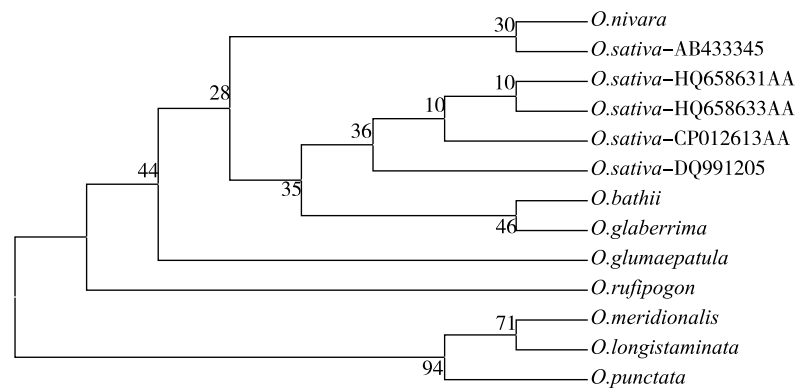


图 2 基于基因 *GW5* 编码序列构建的进化树

Fig.2 Phylogeny tree based on coding sequences of gene *GW5*

## 2.3 *GW5* 基因的 Indel 变异对水稻粒形的影响

为了解析 *GW5* 的 Indel 序列变异对水稻籽粒相关性状的影响,利用 Weng 等<sup>[16]</sup>发现的分子标记 Indel2F 和 Indel2R 对 294 份水稻微核心种质的基因型进行了测定,并对不同变异类型进行 *t* 测验,结果列于表 1。

表 1 显示,在水稻微核心种质的籼亚种中,*GW5* 缺失型(Del)和插入型(Ins)的代表性品种分别有 97 个和 61 个。相对于插入型而言,缺失型水稻籽粒有粒长减小、粒宽增大、粒厚增大、长宽比减小和千粒质量增大的趋势。*t* 测验结果表明,该 Indel 序列变异对籼稻粒长、粒宽、粒厚、长宽比和千粒质量

的影响都达到极显著水平。

在水稻微核心种质的粳亚种中, *GW5* 的缺失型和插入型的代表性品种分别有 105 个和 31 个。相对于插入型而言, 缺失型水稻籽粒同样有粒长减小、粒

宽增大、粒厚增大、长宽比减小、千粒质量增大的趋势。*t* 测验结果表明, 该 Indel 序列变异对粳稻的粒长和长宽比有极显著影响, 对粒宽和粒厚有显著影响, 而对千粒质量的影响没有达到显著水平(表 1)。

表 1 *GW5* 基因的 Indel 变异位点的籽粒粒形性状及其 *t* 测验

Table 1 Grain-related traits and their *t*-tests of Indel variation in gene *GW5*

性状	水稻微核心种质-籼稻				水稻微核心种质-粳稻				江苏省审定粳稻品种			
	基因型	样本数	平均数±标准误	<i>t</i> 测验	基因型	样本数	平均数±标准误	<i>t</i> 测验	基因型	样本数	平均数±标准误	<i>t</i> 测验
粒长 (mm)	Del	97	8.27±0.08	3.23 **	Del	105	7.69±0.08	3.52 **	Del	63	7.39±0.04	0.35
	Ins	61	8.71±0.11		Ins	31	8.29±0.13		Ins	2	7.48±0.04	
粒宽 (mm)	Del	97	3.02±0.03	8.54 **	Del	105	3.22±0.03	2.20 *	Del	63	3.38±0.02	1.26
	Ins	61	2.65±0.03		Ins	31	3.06±0.07		Ins	2	3.25±0.04	
粒厚 (mm)	Del	97	2.11±0.01	5.68 **	Del	105	2.20±0.02	2.48 *	Del	63	2.38±0.01	0.58
	Ins	61	1.99±0.01		Ins	31	2.12±0.03		Ins	2	2.35±0.01	
长宽比	Del	97	2.77±0.05	6.95 **	Del	105	2.42±0.04	3.89 **	Del	63	2.19±0.02	1.01
	Ins	61	3.32±0.06		Ins	31	2.76±0.09		Ins	2	2.31±0.05	
千粒重 (g)	Del	97	24.75±0.36	3.14 **	Del	105	25.71±0.39	0.80	Del	63	27.47±0.24	1.07
	Ins	61	22.94±0.45		Ins	31	25.09±0.56		Ins	2	26.03±0.10	

\*\* 表示差异达 0.01 水平, \* 表示差异达 0.05 水平。

从 *GW5* 基因型的分布频率来看, 在籼亚种中, 缺失型所占比例为 61.39%, 而在粳亚种中, 缺失型所占比例为 77.21% (表 1)。因此, 不论在籼稻还是粳稻中, 育种家都加强了对基因 *GW5* 缺失型的利用, 粳稻中尤其明显。

#### 2.4 江苏育成品种的 *GW5* 基因型分析

对 2007–2013 年江苏省审定的 65 个粳稻品种中 *GW5* 的 Indel 变异位点进行了基因型测定(表 1)。在检测的 65 个粳稻品种中, *GW5* 的缺失型和插入型对应的水稻品种分别为 63 个和 2 个, 这表明江苏省的水稻育种家已经充分利用了 *GW5* 序列变异对水稻籽粒的影响, 即在育种实践中已利用 *GW5* 缺失型对水稻籽粒有减小粒长、增加粒宽、增加粒厚、减小长宽比, 增加千粒质量的效应。

### 3 讨论

稻属有 2 个栽培种, 即亚洲栽培稻和非洲栽培稻。全球广泛栽培传播的亚洲栽培稻起源于尼瓦拉野生稻/普通野生稻, 其驯化历史可追溯到 10 000 年前<sup>[23]</sup>。在西非主要种植的非洲栽培稻起源于巴蒂野生稻, 其驯化历史可追溯到 3 000 年前<sup>[24]</sup>。Duan 等<sup>[25]</sup>通过对核基因组的转录间隔区和质基因组(叶绿体和线粒体)相关基因的内含子序列进行分析, 将亚洲栽培稻、普通野生稻和尼瓦拉野生稻归为一

类, 非洲栽培稻、巴蒂野生稻和长雄蕊野生稻归为一类。本研究对 *GW5* 基因的 435 bp 编码区序列的分析也同样将亚洲栽培稻、尼瓦拉野生稻与非洲栽培稻、巴蒂野生稻分别归到不同的类别, 这个结果符合稻属 2 个栽培种的起源理论。但是, 本研究将长雄蕊野生稻、南方野生稻和斑点野生稻归为另一类, 这可能是由于分析的目标序列不同。Zhu 等<sup>[26]</sup>在稻属 AA 染色体组 8 个种全基因组测序的研究中也发现了相似的现象, 表明它们与亚洲栽培稻的亲缘关系相对较远。

籽粒是水稻经济产量形成的主要目标器官。籽粒的大小和形状决定了水稻光合产物转化为经济产量的潜力, 对于提高产量的构成因子——千粒质量有着重要的作用。*qSW5/GW5* 基因克隆结果表明, 该基因所在区域 1212-bp 的缺失导致水稻粒宽增加, 进而提高水稻的产量。Shomura 等<sup>[15]</sup>利用粳稻品种(日本晴)为背景的近等基因系研究结果表明, *qsu5* 导致粒宽增加 17.86%, 千粒质量增加 12.89%, 产量增加超过 10%。Weng 等<sup>[16]</sup>利用粳稻品种(Asominori)为背景的近等基因系研究结果表明, *GW5* 导致粒宽增加 19.57%, 千粒质量增加 22.97%。在本研究中, 水稻微核心种质材料的结果也表明, 相对于 *GW5* 插入型而言, *GW5* 缺失型导致籼稻品种的粒宽增加 13.90%, 千粒质量增加 7.89%, 导致粳稻品种的粒宽



增加 5.21%, 千粒质量增加 2.50%。此外,本研究还发现,基因 *GW5* 缺失型导致水稻粒长缩短、粒厚增加,但在籼粳亚种中的变化幅度不同,这可能与籼粳亚种群体含有不同的粒形相关基因有关。在近年江苏省审定的 65 份粳稻品种中,绝大部分品种利用了基因 *GW5* 的缺失型,说明水稻育种家在实际育种过程中,通过表型选择已经将有助于提高水稻产量的有利基因保留下来。

## 参考文献:

- [1] WANG S, LI S, LIU Q, et al. The *OsSPL16-GW7* regulatory module determines grain shape and simultaneously improves rice yield and grain quality [J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(8):949-954.
- [2] 蔡永盛,郑桂萍,奚浩然,等. 高垩白与低垩白水稻穗部性状及产量的比较[J]. *江苏农业科学*, 2014, 42(12):79-82.
- [3] XING Y, ZHANG Q. Genetic and molecular bases of rice yield [J]. *The Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61:421-442.
- [4] 陈 静. 江苏省水稻食味改良育种研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(12):77-80.
- [5] HUANG R, JIANG L, ZHENG J, et al. Genetic bases of rice grain shape: so many genes, so little known [J]. *Trends in Plant Science*, 2013, 18(4):218-226.
- [6] 丁 丹,张亚东,郑 佳,等. 水稻粒长基因 *GS3* 和 *qGL3* 功能标记的设计及应用[J]. *江苏农业学报*, 2014, 30(6):1191-1197.
- [7] WANG S, WU K, YUAN Q, et al. Control of grain size, shape and quality by *OsSPL16* in rice [J]. *Nature Genetics*, 2012, 44(8):950-954.
- [8] FAN C, XING Y, MAO H, et al. *GS3*, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 112(6):1164-1171.
- [9] ZHOU Y, ZHU J, LI Z, et al. Deletion in a quantitative trait gene *qPE9-1* associated with panicle erectness improves plant architecture during rice domestication [J]. *Genetics*, 2009, 183(1):315-324.
- [10] ZHANG X, WANG J, HUANG J, et al. Rare allele of *OsPPKL1* associated with grain length causes extra-large grain and a significant yield increase in rice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(52):21534-21539.
- [11] QI P, LIN Y S, SONG X J, et al. The novel quantitative trait locus *GL3.1* controls rice grain size and yield by regulating Cyclin-T1 [J]. *Cell Research*, 2012, 22(12):1666-1680.
- [12] ZHOU Y, MIAO J, GU H, et al. Natural variations in *SLG7* regulate grain shape in rice [J]. *Genetics*, 2015, 201(4):1591-1599.
- [13] ISHIMARU K, HIROTSU N, MADOKA Y, et al. Loss of function of the IAA-glucose hydrolase gene *TGW6* enhances rice grain weight and increases yield [J]. *Nature Genetics*, 2013, 45(6):707-711.
- [14] SONG X J, HUANG W, SHI M, et al. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase [J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(5):623-630.
- [15] SHOMURA A, IZAWA T, EBANA K, et al. Deletion in a gene associated with grain size increased yields during rice domestication [J]. *Nature Genetics*, 2008, 40(8):1023-1028.
- [16] WENG J, GU S, WAN X, et al. Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight [J]. *Cell Res*, 2008, 18(12):1199-1209.
- [17] LI Y, FAN C, XING Y, et al. Natural variation in *GS5* plays an important role in regulating grain size and yield in rice [J]. *Nature Genetics*, 2011, 43(12):1266-1269.
- [18] SUN L, LI X, FU Y, et al. *GS6*, a member of the GRAS gene family, negatively regulates grain size in rice [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2013, 55(10):938-949.
- [19] 王 军,杨 杰,徐 祥,等. 水稻千粒重基因 *TGW6* 功能标记的开发与利用[J]. *中国水稻科学*, 2014, 28(5):473-478.
- [20] ZHANG H, ZHANG D, WANG M, et al. A core collection and mini core collection of *Oryza sativa* L. in China [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2011, 122(1):49-61.
- [21] 韩龙植,魏兴华. 水稻种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京:中国农业出版社, 2006:18-19.
- [22] TAPIA-TUSSELL R, QUIJANO-RAMAYO A, ROJAS-HERRERA R, et al. A fast, simple, and reliable high-yielding method for DNA extraction from different plant species [J]. *Molecular Biotechnology*, 2005, 31(2):137-139.
- [23] JIANG L, LIU L. New evidence for the origins of sedentism and rice domestication in the Lower Yangzi River, China [J]. *Antiquity*, 2006, 80:355-361.
- [24] WANG M, YU Y, HABERER G, et al. The genome sequence of African rice (*Oryza glaberrima*) and evidence for independent domestication [J]. *Nature Genetics*, 2014, 46(9):982-988.
- [25] DUAN S, LU B, LI Z, et al. Phylogenetic analysis of AA-genome *Oryza* species (Poaceae) based on chloroplast, mitochondrial, and nuclear DNA sequences [J]. *Biochemical Genetics*, 2007, 45(1/2):113-129.
- [26] ZHU T, XU P Z, LIU J P, et al. Phylogenetic relationships and genome divergence among the AA-genome species of the genus *Oryza* as revealed by 53 nuclear genes and 16 intergenic regions [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2014, 70:348-361.

(责任编辑:王 妮)