

## 高粱品质性状改良的分子遗传学基础

张春来<sup>1,2,3,\*</sup>, 李艳锋<sup>1</sup>, 赵威军<sup>2</sup>, 赵靛<sup>1</sup>, 王晨<sup>1</sup>, 梁笃<sup>2</sup>, 周福平<sup>2</sup>

<sup>1</sup>山西农业大学农学院, 山西太谷030801; <sup>2</sup>山西省农业科学院高粱研究所, 山西省高粱工程技术研究中心, 山西省高粱遗传与种质创新重点实验室, 山西榆次030600; <sup>3</sup>农业部黄土高原基因资源与种质创制重点实验室, 太原030031

**摘要:** 在非洲和一些亚洲国家高粱为重要的粮食作物, 也是酿造、饲料加工和生物能源的原料。近年来高粱已成为重要的模式植物, 分子生物学研究已发掘出与淀粉和蛋白的含量、可消化性、籽粒香味、花青素、单宁和前维生素含量及粒重等性状连锁的分子标记, 找到了控制重要性状的关键功能基因包括糯性(*wx*-Sb10g002140)、淀粉含量(淀粉合成酶SSIIb基因Sb04g028060)、蛋白组分(22 kDa  $\alpha$ -醇溶蛋白基因Sb05g024420)、籽粒花青素(*myb*转录因子Y-Sb01g037670和二氢黄酮醇还原酶基因Sb03g028880和Sb03g028890)、单宁(WD40-结构域蛋白TTG1基因Sb04g031730)等, 为分子标记辅助选择育种和转基因途径改良高粱籽粒品质奠定了基础。

**关键词:** 高粱; 籽粒品质性状; 基因控制; 分子育种

## Molecular Genetic Basis for Biotechnological Improvement of Grain Quality Characteristics in Sorghum

ZHANG Chun-Lai<sup>1,2,3,\*</sup>, LI Yan-Feng<sup>1</sup>, ZHAO Wei-Jun<sup>2</sup>, ZHAO Jing<sup>1</sup>, WANG Cheng<sup>1</sup>, LIANG Du<sup>2</sup>, ZHOU Fu-Ping<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Agronomy College, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China; <sup>2</sup>Institute for Sorghum Research, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Shanxi Province Sorghum Technology Research & Development Centre, Shanxi Key Laboratory for Sorghum Genetics and Germplasm Development, Yuci, Shanxi 030600, China; <sup>3</sup>Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement on Loess Plateau, Ministry of Agriculture, Taiyuan 030031, China

**Abstract:** Sorghum is an important staple food in African and several Asian countries while it is used as animal feed/biofuel in many nations. Sorghum has recently become a model plant with significance. Molecular markers linked to the content and digestibility of starch and protein, grain fragrance, anthocyanin and carotenoid content and grain weight have been developed. Several key functional genes controlling important traits have been identified including *wx* locus (Sb10g002140) and starch synthase SSIIb gene Sb04g028060 for starch content, a WD40-domain protein TTG1 (Sb04g031730) for tannin content, *myb* transcription factor gene Y-Sb01g037670 and dihydroflavonol-4 reductase (Sb03g028880 and Sb03g028890) for anthocyanin content and 22 kDa  $\alpha$ -kafirin gene (Sb05g024420) mutation for high protein digestibility. It is promising to foresee sorghum improvement through marker-assisted selection and transgenesis.

**Key words:** sorghum; grain quality characteristics; gene control; molecular breeding

高粱(*Sorghum bicolor*)属于禾谷类作物, 具有C<sub>4</sub>光合特性、抗旱和耐盐碱性能, 已经成为遗传和基因组学研究上重要的模式植物。一般认为高粱起源于非洲, 现在非洲和印度等亚洲国家和半干旱地区仍作为口粮, 服务于30多个国家总计5亿多人口。在印度高粱主产区人均消费为每年75 kg, 是最便宜的能量、蛋白、铁和锌供源之一(Kumar等2013a)。在我国高粱籽粒主要作为白酒和陈醋的酿造原料, 也用于饲料加工, 少量供食用和食品加工。这些需求对高粱品质提出了不同要求, 如高淀粉含量、高赖氨酸含量, 适量单宁。传统的遗传育种技术不能对这些性状进行深入研究, 而

且选择的效率也较低, 很难培育出具突破性的品种。随着分子生物学技术的发展, 特别是高粱全基因组DNA序列的测定和高通量基因型分析技术的应用, 在高粱品质性状的研究上取得了较大突破, 也为作物改良提供了更多的机遇(Taylor等

收稿 2015-01-22 修定 2015-03-31

资助 山西省农业科学院博士研究基金(ybsjj1404)、山西省自然科学基金重点项目(2014011004-1)、国家自然科学基金(31470285)和山西省百人计划项目(晋组2014-18)。

致谢 本文得到山西省农业科学院高粱研究所柳青山研究员的修改和指导。

\* 通讯作者(E-mail: chunlaiz@hotmail.com; Tel: 0354-6286892)。

2014)。本文依次对形成高粱籽粒品质性状的各个因素的分子遗传作了综合分析并评述, 为高粱品质改良提供指导, 也为谷子、玉米、燕麦和糜子等同类作物的品质改良研究提供参考。

### 1 淀粉特性与含量

淀粉是高粱籽粒中所占比重最大的成分, 一般含量可达50%~70%。淀粉的特征会直接影响到食物的可消化性和营养值, 甚至决定在加工业上淀粉的工艺表现。詹鹏杰等(2013)对糯、粳、半糯3种类型高粱的酿酒相关性能(吸水快慢、吸水率和耐蒸煮性)进行了比较, 结果表明, 糯高粱吸水最快, 粳高粱吸水慢且少, 半糯高粱介于糯高粱与粳高粱之间; 糯高粱与粳高粱间吸水率存在显著差异; 高粱的耐蒸煮性则与淀粉类别关联性不强。周福平等(2014)研究高粱不同品系测出的直链淀粉含量变幅为0.29%~29.5%, 直链淀粉含量低的品系具高糊化温度和较高的峰值粘度。

高粱的糯性(*waxy*, *wx*)最早于1933年发现, 胚乳淀粉中没有麦芽糖或含量很少。颗粒结合淀粉合成酶(*granule-bound starch synthase*, *GBSS*)基因 *Wx*-Sb10g002140控制麦芽糖的合成。Pedersen等(2005)研究表明, *wx*存在2种等位基因, *wx<sup>a</sup>wx<sup>a</sup>* (如RTx2907和BTx630)在第3外显子含一个大的插入, 根本不产生GBSS, *wx<sup>b</sup>wx<sup>b</sup>* (如BTxARG1和B9307)产生无活性的GBSS; 在产生GBSS上, *wx<sup>b</sup>*对*wx<sup>a</sup>*为显性; 在麦芽糖含量上, *wx<sup>b</sup>*和*wx<sup>a</sup>*对*Wx*为隐性。McIntyre等(2008)将该基因定位于第10号染色体上, 发现了2个等位突变, *wx<sup>b</sup>*含indel导致编码氨基酸链中268位的谷氨酰胺变为组氨酸。Lu等(2013)鉴定了2个新的*wx*等位基因, *wx<sup>c</sup>*为第9内含子5'端剪接位点发生G的缺失导致翻译提前终止, *wx<sup>d</sup>*为第10内含子3'端剪接位点发生突变导致推测的翻译产物缺少5个氨基酸, 分析发现中国主要糯性品系含*wx<sup>a</sup>*或*wx<sup>c</sup>*。

de Alencar Figueiredo等(2010)对高粱品质性状做了候选基因的全基因组关联分析, 结果显示 *SssI* (*soluble starch synthase I*, 可溶性淀粉合成酶 I, 位于ch10, Sb10g004160)和 *Ael* (*amylose extender1*, 麦芽糖伸长1, 位于ch4, Sb04g021540)与糊化温度峰值(该性状受支链淀粉含量影响)相关联, *Sh2* (*Shrunken2*编码AGPase的大亚基, 位于ch3 57 013 200~57 013 891 bp, Sb03g028850)与麦芽糖

含量相关联, *Wx*与硬度和胚乳质地相关联。Sukumaran等(2012)对一个由300份高粱种质构建的反映多样性的核心收集群进行关联作图分析, 表明一个淀粉合成酶IIb基因(*SSIIb* Sb04g028060)的SNP与淀粉含量相关联( $R_{LR}^2=0.10$ ), 在*pSB1120* (在UGA03高粱遗传图谱ch3的60 cM, 45 666 371~45 665 926 bp)位点的SNP也与淀粉含量相关联( $R_{LR}^2=0.09$ ), 淀粉合成酶IIa基因(*SSIIa* Sb10g008200)的单碱基多态性(SNP)与谷粒硬度(KH)相关联( $R_{LR}^2=0.08$ )。Hill等(2012)研究表明, *GBSSI*的多态性与总淀粉含量相关联, *SSIIa*有3种SNP单倍型, 与糊化温度相关联, H1、H2和H3系号具明显低的糊化温度, 分别为80.5、87.6和91.5 °C; 淀粉分支酶基因 *SBEIIb* (*Ael* Sb04g021540)的多态性导致12 °C的糊化温度差异。

与主要禾谷类作物相比, 高粱籽粒中的淀粉较难降解, 其淀粉降解性由淀粉组成、籽粒结构和胚乳中玻璃状层与不透明层的比例决定。Gilding等(2012)发现编码淀粉脱分支酶(*pullulanase*)基因Sb06g001540的一个低频率位点与高淀粉消化率相关, 该位点发生了24个碱基的缺失, 导致2个氨基酸G35R和D105A的变化, 可作为选育高淀粉消化率品种分子标记。

### 2 蛋白质含量和组分

高粱籽粒蛋白质含量的变幅为4.4%~21.1%, 籽粒蛋白包括水溶蛋白类的白蛋白(*albumin*)、球蛋白和交联醇溶蛋白(*prolamin*), 后者占总蛋白质含量的70%以上, 按其分子量大小分为4类, 包括 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -kafirin (高粱醇溶蛋白), 储藏在球形蛋白体的内质网上。*O2* (*Opaque2*, Sb02g004600)为参与调控蛋白储藏的转录因子, Rami等(1998)在分析功能基因和QTL位置关系时指出, *O2*与麦芽糖含量、胚乳质地、硬度、白蛋白量和交联醇溶蛋白量的QTL共位; 用候选基因GWAS分析, de Alencar Figueiredo等(2010)指出*O2*与硬度和胚乳质地相关联。

高粱籽粒蛋白的特点是动物必需的赖氨酸和甲硫氨酸含量低。赖氨酸的含量与其合成、转化和分解相关, 控制赖氨酸合成的酶有天门冬氨酸激酶(AK, EC 2.7.2.4)、同丝氨酸(*homoserine*)脱氢酶(HSDH, EC 1.1.1.3)和二氢吡啶二羧酸合成酶(DHDPS, EC 4.2.1.52)。Ferreira等(2006)从高粱种

子中纯化了AK和HSDH,发现存在对赖氨酸和苏氨酸敏感的AK同工酶,以前者为主;HSDH存在对苏氨酸不/敏感的同工酶。我们BLAST搜寻到的高粱AK基因为Sb01g001140、Sb03g044650和Sb02g009570, HSDH基因为Sb02g019450和Sb08g001720, DHDPS基因为Sb10g026260和Sb06g026060。Zhou等(2009)指出转基因水稻超量表达天门冬氨酸转氨酶*OsAAT1*和*OsAAT2*的种子氨基酸含量较对照增加16%和12%,蛋白质含量较对照增加20%。我们找到的高粱同源基因为Sb04g036060。

Xu和Messing (2008)指出高粱基因组含23个 $\alpha$ -kafirin (仅19个表达),其中2个A1型 $\alpha$ -kafirin和20个C1型 $\alpha$ -kafirin分布在ch5,多达10个呈簇串联排列,1个D型 $\alpha$ -kafirin位于第8染色体上。Laidlaw等(2010)已检测了 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -kafirin基因的等位基因变异, $\beta$ -kafirin由Sb09g000360编码,发现其失活突变体具最低粘度(viscosity)。2个 $\gamma$ -kafirin基因位于ch2,包括Sb02g025510。 $\delta$ -kafirin为富甲硫氨酸蛋白,由Sb10g013050编码,表达活性很低,蛋白量少于1%的成熟籽粒总蛋白。

与其他禾谷类谷粒相比,高粱表现为低蛋白消化率,一般认为是由种子储藏蛋白 $\beta$ 和 $\gamma$ -kafirins间的二硫键互相交联所致。显微观察蛋白的分布表明, $\beta$ -和 $\gamma$ -kafirin位于蛋白体的外层,而 $\alpha$ 和 $\delta$ -kafirin被包围在内部。Kumar等(2012)在转基因植株上抑制29 kDa  $\alpha$ -kafirin基因表达,降低了 $\alpha$ -kafirin积累,改变了蛋白体形态,在未加工和蒸煮的谷粒上均提高了蛋白消化率,同时指出仅抑制 $\gamma$ -kafirin达不到上述效果。da Silva等(2011)通过共抑制6个kafirin基因( $\alpha$ -A1, 25 kDa;  $\alpha$ -B1, 19 kDa;  $\alpha$ -B2, 22 kDa;  $\gamma$ -kaf1, 27 kDa;  $\gamma$ -kaf 2, 50 kDa;  $\delta$ -kaf 2, 18 kDa)获得了高蛋白消化率株系。Grootboom等(2014)以转基因技术对2个编码 $\gamma$ -kafirin-1 (25 kDa)和 $\gamma$ -kafirin-2 (50 kDa)的基因共抑制可明显增加kafirin的体外可降解性,共抑制第3个A1  $\alpha$ -kafirin (25 kDa),进一步增加了kafirin的体外可降解性,证明抑制其中3个kafirin即可改变蛋白交联和蛋白体微结构为非规则内陷(invaginate)表型,与较高的胃蛋白酶(pepsin)接近性能和高消化性一致。硫氧还蛋白(thioredoxin)使kafirin蛋白交联,超量表达Sb01g032890和Sb01g032910也可提高消化性。

Winn等(2009)得到了高蛋白消化率的突变体P850029,数量性状位点(QTL)分子标记定位研究表明,在染色体1上找到2个QTL,分别靠近SSR标记Xtxp11和Xtxp329,它们间距为20 cM,分别控制蛋白难降解性和易降解性。Mehlo等(2013)报道了gamma辐射所获得的具蛋白多态性的突变体,其胚乳中27 kDa  $\gamma$ -、24 kDa  $\alpha$ -A1和22 kDa  $\alpha$ -A2 kafirins的合成与积累受到抑制,但合成和积累了大量的白蛋白、球蛋白和其他蛋白。Wu等(2013)发现了一个高蛋白消化率/赖氨酸含量的突变体P721Q,其22 kDa  $\alpha$ -kafirin (Sb05g024420)发生了一个点突变,导致其信号肽难以加工,间接地降低了赖氨酸含量低的kafirin,而相对增加了赖氨酸含量高的蛋白的含量。韦耀明等(1995)在(‘571台忻’/‘晋5’)×(B27/‘鲁1’)的F<sub>3</sub>后代中发现3株高赖氨酸凹陷型籽粒突变,杂交后代遗传分析表明,其高赖氨酸含量性状受一对隐性基因控制,在此基础上育成了一个高赖氨酸高粱品系265-1Y,该品系可作为A1、A2不育系的恢复系和A3不育系的保持系在杂交育种中加以应用;以它为父本,已育成高蛋白、高赖氨酸的品种‘晋杂14号’。

Cremer等(2014)用基于凝胶分离和液相色谱-串联质谱鉴定出一些具还原活性的蛋白影响储藏蛋白的生化特性,发现硫氧还蛋白是影响蛋白可消化性的重要因素,其编码基因Sb02g004850和Sb06g029490在品种间存在DNA变异。

### 3 花青素、多酚、单宁含量和香味

决定高粱的籽粒色遗传因子包括果皮色基因(*R*和*Y*)和厚度控制基因(*Z*)、具备或缺失种皮层(*B1*和*B2*)和扩散因子(*spreader*)基因(*S*)。果皮色分黄色(*rrY\_*)、红色(*R\_Y\_*)和无色(*rryy*) 3种,由花青素的种类和含量决定,多种花青素可作为食品色素。Mace和Jordan (2010)已对控制果皮色的这些基因做了定位:*Y*定位于ch1 121.9~123.8 cM处,推测为Sb01g037670,编码myb转录因子;*R*定位于ch3 87.9 cM处,推测为Sb03g028880和Sb03g028890,编码二氢黄酮醇(dihydroflavonol)-4还原酶;一个果皮色增强因子*I*定位于ch7 91.1~103.3 cM处,与SSR标记msbcir300连锁。Guindo (2014)得到一系列与谷粒品质相关的QTL,包括解释92%的花青素、55%的果皮厚度和22%的脱粒谷粒产量的变异,一个QTL可解释19%的圆粒性和11%的谷粒质地。



黑色果皮高粱作为特色食品受到亲睐。Hayes和Rooney (2014)测定了6个黑高粱杂交种性状表现的基因型和环境效应,发现酚类[10.1~16.9 mg (等同于大蒜酸)·g<sup>-1</sup>]、缩合单宁[16.7~30.8 mg (等同于儿茶素)·g<sup>-1</sup>]和3-脱氧花青素(107.9~168.0 吸光度·mL<sup>-1</sup>·g<sup>-1</sup>)的浓度均较高且受环境影响小,但这3种物质的亲本间杂种优势较低,应加强育种选择;黑高粱谷粒产量较低,仅为非黑高粱对照种的78%,但产量性状具有较高的杂种优势。

单宁属于一类多酚(黄烷-3-醇类)的聚合物,可与蛋白结合而降低其可降解性,但它们为很好的氧化剂,可减缓食品水解,生产天然色素,增加食用纤维含量,对保证加工食品的质量和动物健康都有重要意义。遗传作图显示位于ch2和ch4的两个位点控制单宁含量,高粱种质‘山雀红’(Shan-QueRed)的*Tan1* (Sb04g031730)为显性,无单宁系的*tan1*发生碱基缺失(Wu等2012)。Morris等(2013)用协因子GLM-GWAS分析高粱色素沉积性状表明,位于ch2的单宁合成位点为Sb02g006390,且与具备有色种皮层*B2*同位,编码bHLH类转录因子。另外,在ch1上也检测到单宁含量位点信号,位于Sb01g001230,编码谷胱甘肽-S-转移酶。

Rhodes等(2014)用381份材料的全球多样性组和404 628个SNP标记发现了新的多酚含量QTL,且许多与黄酮类代谢途径基因同位,包括与玉米*Pr1* (编码F3'H1)同源的Sb04g024710、Sb04g024750和Sb04g024730,与拟南芥*TT16* (编码AGL32)同源的Sb04g004736。

香味由挥发性物质2-乙酰-1-吡咯啉(2-acetyl-1-pyrroline, 2AP)形成,由甜菜碱醛脱氢酶(beta-ine aldehyde dehydrogenase, BADH2, 编码基因为Sb07g020650)失活所致(Yundaeng等2013),序列比较显示香高粱种质IS9912的基因有1 444 bp缺失,建立了一个Indel标记来选择香味。

#### 4 谷粒中前维生素A的生物强化(biofortification)

为防止非洲亚撒哈拉地区居民的维生素A缺乏,高粱谷粒的改良具有很大的潜力。高粱的类胡萝卜素包括叶黄素(lutein)、玉米黄素(zeaxanthin)和β-胡萝卜素, Fernandez等(2008)对基因分子标记定位研究表明,5个β-胡萝卜素QTL分别位于ch1、ch2和ch10,其中位于ch2的位点贡献最大,与八氢番茄红素(phytoene)合成酶PSY3基因(Sb02g-

032370)关联。

周紫阳等(2008)在回顾国内高粱品质改良时指出,已筛选出胡萝卜素含量高的黄色胚乳高粱突变体,用于育种改良。Lipkie等(2013)开始探索创制前维生素A生物强化转基因高粱,此项技术已在前维生素A生物强化转基因水稻(即“金稻”)上实现。测试结果表明非转基因和转基因高粱的β-胡萝卜素等同物分别为1.0~1.5和3.3~14.0 μg·g<sup>-1</sup> (DW),转基因谷粒的总β-胡萝卜素萃取(micellarization)效率(1%~5%)低于非转基因的(6%~11%),因此通过增加在测定麦片中的配制脂质量由5%提高到10% (W/W),类胡萝卜素生物消化性得到显著改良。虽然仍需要试验来对前维生素A(类胡萝卜素)的生物可供性和可转化性做体内测定,生物强化的转基因高粱可提高类胡萝卜素的总产量和生物可消化部分的水平。

#### 5 谷粒中铁、锌、硒和植酸含量

为了对付微量元素的缺失症, Kumar等(2013a)较早开始了高粱育种以提高谷粒铁、锌含量,建立了定量测定的原子光度计法(AAS)和X-射线荧光光度计法(XRF),对63个印度商业种的测定结果显示较大变异,铁含量为22~44 mg·kg<sup>-1</sup>,锌含量15~33 mg·kg<sup>-1</sup>。Kumar等(2013b)以谷粒铁、锌含量差异较大的亲本双列杂交研究了性状的基因效应和杂种优势,均受加性和非加性效应控制,但锌含量以加性为主,铁含量以非加性为主,谷粒铁含量与锌含量呈正相关;为培育谷粒高铁、锌含量的杂交种,需要对双亲进行改良,同时可利用杂种优势提高铁含量。Xin等(2008)用EMS诱变BTx623得到了高铁含量(46.8 mg·kg<sup>-1</sup>)突变体,开始用TILLING法分析发生突变的基因。

在研究矿质营养反应和积累时, Cheng等(2007)发现禾谷类作物根部合成并分泌麦根酸(mugineic acid, MA),由烟酰胺转氨酶(NAAT1, Sb02g003520)控制, MA类植物铁载体(phytosiderophores)可作为金属螯合剂将土壤中的铁(FeIII)螯合,帮助从根部吸收铁。Kobayashi等(2013)发现了可与铁、锌结合的具蚯蚓血红蛋白(haemerythrin)结构域、RING和锌指蛋白的OsHRZ1 (AK-288394)、OsHRZ2 (AK068028)和BTS (At3g-18290),具泛素裂合酶活性。在转基因水稻中抑制OsHRZ1或OsHRZ2均增加了植株和谷粒的铁含

量。我们找到高粱的同源基因分别为Sb09g-027620和Sb03g031610, 可用于通过分子技术提高籽粒的铁含量。

硒作为人类必需微量营养元素, 在抗氧化功能、免疫甚至癌症发病的危险性上发挥作用, 增加其含量也成为谷物育种目标。研究表明, 拟南芥的高亲和力硫酸盐转运子*AtSultr1;2*参与硒(selenate)吸收, 而水稻的磷转运子*OsPT2*可高效吸收亚硒酸盐(selenite), 转基因植株中*OsPT2*超表达可显著提高硒含量, 展示了其分子育种潜力(Zhang等2014)。在高粱基因组上存在数个相似基因, Sb01g044090和Sb07g020050与*AtSultr1;2*最相似, *OsPT2*在高粱上的同源基因为Sb01g020580、Sb01g046890、Sb01g020570、Sb01g046900和Sb07g023780, 关于他们可否转运硒有待深入研究, 以确定分子育种的目标基因。

植酸(phytate)为谷物中磷的主要储存方式, 可与营养性金属结合而降低矿质有效性, 因此降低植酸含量对于改善营养品质具有重要的意义, 培育低植酸品种是一种有效降低植酸的途径。Badigannavar等(2014)分析了印度高粱种质间植酸和无机磷含量的遗传变异, 发现植酸含量在基因型效应和与环境互作方面差异显著, 植酸和无机磷含量呈负相关, 已筛选出了具低植酸和高产的种质和品种。植酸含量与植酸酶(phytase)活性是影响铁、锌等微量元素生物有效性的关键因子。已有研究表明合成植酸的首要步骤由磷酸肌醇合成酶(MIPS)控制, 玉米低植酸突变体*lpa1*控制基因为*ZmMRP4*, *lp2*突变体由磷酸肌醇激酶基因*Zmlpk*引起。我们用BLAST法找到的高粱同源基因分别为Sb0012s002210、Sb01g047430和Sb01g028090, 可供分析种质资源的等位基因变异。

## 6 谷粒含油量

高粱籽粒的含油量约为3%, 在胚芽中含量最高。在高粱含油量的分子研究上, 已分析了脂肪酸脱饱和酶FAD2 (ACA28704), 编码基因为Sb04g029900和Sb02g003840, 我们已发掘出他们的Indel标记, 发现Sb02g003840有两处Indel变异导致编码区移位(未发表数据)。最近在玉米和拟南芥等植物上发现了参与油体大小形成的油体相关蛋白OBAP1, 我们搜寻到的高粱同源基因分别为Sb04g031810及其相似基因Sb03g033490和Sb03g-

034600。Wrinkled1是调节种子胚中油份积累的转录因子, 高粱的同源基因有Sb02g025080、Sb05g-001790、Sb09g026800和Sb10g003160。

Li等(2013)在对玉米含油量进行GWAS分析时得到74个位点, 这些位点中的三分之一位于编码油份代谢酶的基因处, 包括酰基载体蛋白ACP、富Ser/Thr/Gly基长链酰基辅酶A (Acyl-CoA)裂合酶LACS、*sec23*或*sec24*蛋白COPII等。高粱基因分别为*sbACPI* (Sb01g015260)、*sbLACSI* (Sb05g-004500)和*sbsec23* (Sb03g013100)。

## 7 粒重、容重

籽粒大小和密度对高粱加工也有影响, 酿造上要求籽粒大小适中和一致。Rami等(1998)定位了3个千粒重的QTL, 分别位于SBI-01、SBI-03和SBI-07, 后两者分别与*Sh2*和*Bt2*同位。Feltus等(2006)定位了3个粒重QTL, 分别位于SBI-04、SBI-06和SBI-10, 共解释了35%的加性遗传变异。Srinivas等(2009)定位了3个粒重QTL, 分别位于SBI-01、SBI-04和SBI-06, 分别与Xcup24 (靠近sb01g-014640, 编码核糖体5S rRNA E-环结合蛋白Ctc/L25/TL5)、Xtxp12 (靠近Sb04g020670, 编码热激蛋白)和Xtxp145 (靠近Sb06g019710, 编码WRKY转录因子)连锁, 可分别解释14.8%、9.5和7.0%的表型变异。de Alencar Figueiredo等(2010)指出*Sh2* (Sb03g028850)、*Bt2* (*Brittle2*编码AGPase的小亚基, 位于ch7, Sb07g012315)、*Ae1* (Sb04g021540)和*Wx* (Sb10g002140)均与千粒重相关联。Hill等(2012)指出*SSIIa* (Sb10g008200)的SNP单倍型和千粒重相关联。Upadhyaya等(2012)用242个系号的核心收集群对43个SSR标记和百粒重作了关联作图, 发现ch10 50 643 649 bp处(Sb10g022620, 编码半乳糖苷酶9)的4-162标记与粒重相关联。

在水稻和玉米上已克隆了数个控制籽粒大小和粒重的基因, 如*GS3*、*GW2*、*GW8*、*CKX2*和*IPT2*, 我们根据已克隆的禾谷类粒重基因BLAST获得的高粱同源基因为: *GS3* (Sb01g032830)、*GW2* (Sb04g008760)、*GW8* (Sb07g026220)、*CKX2* (Sb03g002810)和*IPT2* (Sb06g014810), 可作为解析高粱粒重的候选基因。虽然Wang等(2013)在分析大量资源后指出在驯化过程中*GS3*处存在选择信号(selective sweep), 位于连锁不平衡区, 但我们分析了数个粒重差异较大的品系, 发现Sb01g032830

不存在DNA变异,但在*CKX2*和*IPT2*上发现很明显的SNP和Indel变异,为分子育种提供了标记(未发表数据)。

容重作为籽粒性状在现今高粱加工业上较粒重更受重视。Reddy等(2013)对容重QTL的作图结果为,3个QTL位于SBI-01,2个QTL位于SBI-04,在SBI-03、SBI-07和SBI-09各有1个QTL,可解释3%~15%的表型变异,其中在SBI-09上的为主效QTL。这些位点有些与千粒重QTL同位,但还未找到控制容重的功能基因。

## 8 展望

高粱为抗旱和高光效粮食作物研究的模式作物,近来的分子生物学研究发展较快,发掘出了与糯性、淀粉和蛋白可消化性、香味、谷粒花青素、单宁和前维生素含量等性状的分子标记,找到几个参与淀粉合成、花青素和香味形成的关键功能基因,为分子标记辅助选择育种和转基因途径改良高粱谷粒品质奠定了基础。但这些都与水稻和玉米相比较,还不够深入,开发出的功能基因也较少,有些标记还有待得到更多的实验室验证,全基因组选择应用于高粱育种的研究才刚刚开始。

我国已建立了培育高淀粉和高蛋白高粱的育种体系,找到了新的控制糯质性状的等位基因,但对其他品质性状的基础研究才刚刚开始。随着大量研究资金和人力的投入,新技术如高通量基因型和表型鉴定的广泛应用,开发出的功能基因会更多,分子改良高粱籽粒品质会取得更大进展。

## 参考文献

- 韦耀明,李团银,李三棉,柳青山,张克强,李秀英(1995). 高赖氨酸高粱265-1Y选育研究初报. 山西农业科学, 23 (1): 3~6
- 詹鹏杰,张福耀,王瑞,赵婧,于纪珍,李燕(2013). 不同淀粉类别高粱品种酿酒相关性能分析. 山西农业科学, 41 (9): 897~898, 952
- 周福平,柳青山,张晓娟,张一中,邵强,张春来(2014). 不同高粱品系的淀粉糊化特征. 植物学报, 49 (3): 306~312
- 周紫阳,李光华,王江红,马英慧,阎鸿雁(2008). 我国高粱品质改良研究. 杂粮作物, 28 (6): 353~356
- Badigannavar A, Girish G, Ganapathi TR (2014). Genetic variation for seed phosphorus and yield traits in Indian sorghum landraces and varieties. *Crop J*, doi: 10.1016/j.cj.2014.09.003
- Cheng L, Wang F, Shou H, Huang F, Zheng L, He F, Li J, Zhao F-J, Ueno D, Ma JF, Wu P (2007). Mutation in nicotianamine aminotransferase stimulated the Fe(II) acquisition system and led to iron accumulation in rice. *Plant Physiol*, 145: 1647~1657
- Cremer JE, Bean SR, Tilley MM, Ioerger BP, Ohm JB, Kaufman RC, Wilson JD, Innes DJ, Gilding EK, Godwin ID (2014). Grain sorghum proteomics: integrated approach toward characterization of endosperm storage proteins in kafirin allelic variants. *J Agric Food Chem*, 62 (40): 9819~9831
- da Silva LS, Jung R, Zhao Z, Glassman K, Taylor J, Taylor JRN (2011). Effect of suppressing the synthesis of different kafirin sub-classes on grain endosperm texture, protein body structure and protein nutritional quality in improved sorghum lines. *J Cereal Sci*, 54: 160~167
- de Alencar Figueiredo LF, Sine B, Chanterreau J, Mestres C, Fliedel G, Rami J-F, Glaszmann J-C, Deu M, Courtois B (2010). Variability of grain quality in sorghum: association with polymorphism in *Sh2*, *Bt2*, *Sss1*, *Ael1*, *Wx* and *O2*. *Theor Appl Genet*, 121: 1171~1185
- Feltus FA, Hart GE, Schertz KF, Casa AM, Kresovich S, Abraham S, Klein PE, Brown PJ, Paterson AH (2006). Alignment of genetic maps and QTLs between inter- and intra-specific sorghum populations. *Theor Appl Genet*, 112 (7): 1295~1305
- Fernandez MGS, Hamblin MT, Li L, Rooney WL, Tuinstra MR, Kresovich S (2008). Quantitative trait loci analysis of endosperm color and carotenoid content in sorghum grain. *Crop Sci*, 48: 1732~1743
- Ferreira RR, Meinhardt LW, Azevedo RA (2006). Lysine and threonine biosynthesis in sorghum seeds: characterisation of aspartate kinase and homoserine dehydrogenase isoenzymes. *Ann Appl Biol*, 149: 77~86
- Gilding EK, Frere CH, Cruickshank A, Rada AK, Prentis PJ, Mudge AM, Mace ES, Jordan DR, Godwin ID (2012). Allelic variation at a single gene increases food value in a drought-tolerant staple cereal. *Nat Commun*, 4: 1483
- Grootboom AW, Mkhonza NL, Mbambo Z, O'Kennedy MM, da Silva LS, Taylor J, Taylor JR, Chikwamba R, Mehlo L (2014). Co-suppression of synthesis of major  $\alpha$ -kafirin sub-class together with  $\gamma$ -kafirin-1 and  $\gamma$ -kafirin-2 required for substantially improved protein digestibility in transgenic sorghum. *Plant Cell Rep*, 33: 521~537
- Guindo D (2014). Evaluation of sorghum grain quality for QTL analysis and marker assisted recurrent selection (MAS). *Plant & Animal Genome XXII*. San Diego, CA: International Plant & Animal Genome Conference, 1121
- Hayes CM, Rooney WL (2014). Agronomic performance and heterosis of speciality grain sorghum hybrids with a black pericarp. *Euphytica*, 196: 459~466
- Hill H, Lee LS, Henry RJ (2012). Variation in sorghum starch synthesis genes associated with differences in starch phenotype. *Food Chem*, 131: 175~183
- Kobayashi T, Nagasaka S, Senoura T, Itai RN, Nakanishi H, Nishizawa NK (2013). Iron-binding haemerythrin RING ubiquitin ligases regulate plant iron responses and accumulation. *Nat Commun*, 4: 2792
- Kumar AA, Reddy BVS, Ramaiah B (2013a). Biofortification for combating micronutrient malnutrition: identification of commercial sorghum cultivars with high grain iron and zinc concentra-



- tions. *Indian J Dryland Agric Res Dev*, 28: 89~94
- Kumar AA, Reddy BVS, Ramaiah B, Sahrawat KL, Pfeiffer WH (2013b). Gene effects and heterosis for grain iron and zinc concentration in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Field Crops Res*, 146: 86~95
- Kumar T, Dweikat I, Sato S, Ge Z, Nersesian N, Chen H, Elthon T, Bean S, Ioerger BP, Tilley M, Clemente T (2012). Modulation of kernel storage proteins in grain sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Plant Biotechnol J*, 10 (5): 533~544
- Laidlaw HK, Mace ES, Williams SB, Sakreowski K, Mudge AM, Prentis PJ, Jordan DR, Godwin ID (2010). Allelic variation of the  $\beta$ -,  $\gamma$ - and  $\delta$ -kafirin genes in diverse *Sorghum* genotypes. *Theor Appl Genet*, 121 (7): 1227~1237
- Li H, Peng Z, Yang X, Wang W, Fu J, Wang J, Han Y, Chai Y, Guo T, Yang N et al (2013). Genome-wide association study dissects the genetic architecture of oil biosynthesis in maize kernels. *Nat Genet*, 45: 43~50
- Lipkie TE, De Moura FF, Zhao Z, Albertsen MC, Che P, Glassman K, Ferruzzi MG (2013). Bioaccessibility of carotenoids from transgenic provitamin A biofortified sorghum. *J Agric Food Chem*, 61 (24): 5764~5771
- Lu Y, Zhao G, Li Y, Fan J, Ding G, Zhao J, Ni X, Xu Y, Wang W (2013). Identification of two novel *waxy* alleles and development of their molecular markers in sorghum. *Genome*, 56 (5): 283~288
- Mace ES, Jordan DR (2010). Location of major effect genes in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Theor Appl Genet*, 121: 1339~1356
- McIntyre CL, Drenth J, Gonzalez N, Henzell RG, Jordan DR (2008). Molecular characterization of the *waxy* locus in sorghum. *Genome*, 51: 524~533
- Mehlo L, Mbambo Z, Bado S, Lin J, Moagi SM, Buthelezi S, Stoychev S, Chikwamba R (2013). Induced protein polymorphisms and nutritional quality of gamma irradiation mutants of sorghum. *Mutat Res*, 749 (1-2): 66~72
- Morris GP, Rhodes DH, Brenton Z, Ramu P, Thayil VM, Deshpande S, Hash CT, Acharya C, Mitchell SE, Buckler ES et al (2013). Dissecting genome-wide association signals for loss-of-function phenotypes in sorghum flavonoid pigmentation traits. *Genes Genom Genet*, 3: 2085~2094
- Pedersen JF, Bean SR, Graybosch RA, Park SH, Tilley M (2005). Characterization of waxy grain sorghum lines in relation to granule-bound starch synthase. *Euphytica*, 144: 151~156
- Rami JF, Dufour P, Trouche G, Fliedel G, Mestres C, Davrieux F, Blanchard P, Hamon P (1998). Quantitative trait loci for grain quality, productivity, morphological and agronomical traits in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Theor Appl Genet*, 97: 605~616
- Reddy RN, Madhusudhana R, Mohan SM, Chakravarthi DVN, Mehtre SP, Seetharama N, Patil JV (2013). Mapping QTL for grain yield and other agronomic traits in post-rainy sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Theor Appl Genet*, 126: 1921~1939
- Rhodes DH, Hoffmann L, Rooney WL, Ramu P, Morris GP, Kresovich S (2014). Genome-wide association study of grain polyphenol concentrations in global sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] germplasm. *J Agric Food Chem*, 62 (45): 10916~10927
- Srinivas G, Satish K, Madhusudhana R, Reddy RN, Mohan SM, Seetharama N (2009). Identification of quantitative trait loci for agronomically important traits and their association with genetic-microsatellite markers in sorghum. *Theor Appl Genet*, 118: 1439~1454
- Sukumaran S, Xiang W, Bean SR, Pedersen JF, Kresovich S, Tuinstra MR, Tesso TT, Hamblin MT, Yu J (2012). Association mapping for grain quality in a diverse sorghum collection. *Plant Genome*, 5: 126~135
- Taylor JRN, Belton PS, Beta T, Duodu KG (2014). Increasing the utilisation of sorghum, millets and pseudocereals: Developments in the science of their phenolic phytochemicals, biofortification and protein functionality. *J Cereal Sci*, 59: 257~275
- Upadhyaya HD, Wang YH, Sharma S, Singh S, Hasenstein KH (2012). SSR markers linked to kernel weight and tiller number in sorghum identified by association mapping. *Euphytica*, 187: 401~410
- Wang YH, Upadhyaya HD, Burrell AM, Sahraeian SM, Klein RR, Klein PE (2013). Genetic structure and linkage disequilibrium in a diverse, representative collection of the C4 model plant, *Sorghum bicolor*. *G3 (Bethesda)*, 3 (5): 783~793
- Winn JA, Mason RE, Robbins AL, Rooney WL, Hays DB (2009). QTL mapping of a high protein digestibility trait in *Sorghum bicolor*. *Int J Plant Genom*, 2009: ID471853
- Wu Y, Li X, Xiang W, Zhu C, Lin Z, Wu Y, Li J, Pandravada S, Ridder DD, Bai G et al (2012). Presence of tannins in sorghum grains is conditioned by different natural alleles of *Tannin1*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109: 10281~10286
- Wu Y, Yuan L, Guo X, Holding DR, Messing J (2013). Mutation in the seed storage protein kafirin creates a high-value food trait in sorghum. *Nat Commun*, 4: 2217
- Xin ZG, Wang ML, Barkley NA, Burow G, Franks C, Pederson G, Burke J (2008). Applying genotyping (TILLING) and phenotyping analyses to elucidate gene function in a chemically induced sorghum mutant population. *BMC Plant Biol*, 8: 103
- Xu J-H, Messing J (2008). Organization of the prolamin gene family provides insight into the evolution of the maize genome and gene duplications in grass species. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105: 14330~14335
- Yundaeng C, Somta P, Tangphatsornruang S, Wongpornchai S, Srinives P (2013). Gene discovery and functional marker development for fragrance in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Theor Appl Genet*, 126 (11): 2897~2906
- Zhang L, Hu B, Li W, Che R, Deng K, Li H, Yu F, Ling H, Li Y, Chu C (2014). OsPT2, a phosphate transporter, is involved in the active uptake of selenite in rice. *New Phytol*, 201 (4): 1183~1191
- Zhou Y, Cai H, Xiao J, Li X, Zhang Q, Lian X (2009). Over-expression of aspartate aminotransferase genes in rice resulted in altered nitrogen metabolism and increased amino acid content in seeds. *Theor Appl Genet*, 118: 1381~1390