

利用回交重组自交系定位稻米赖氨酸含量的基因座位

唐绍清^{1,2} 胡培松² 罗 炬² 焦桂爱² 万建民³ 石春海^{1,*}

(¹浙江大学 农业与生物技术学院 农学系,浙江 杭州 310029 ;²中国水稻研究所 水稻生物学国家重点实验室,浙江 杭州 310006 ;³南京农业大学 农学院,江苏 南京 210095 ; * 通讯联系人 ,E-mail : chhshi@zju .edu .cn)

QTLs Mapping for Lysine Content of Rice Using Backcross Inbred Lines

TANG Shao qing^{1,2} , H U Pei song² , L U O Ju² , J I A O Gu i ai² , W A N Jian min³ , S H I Chun hai^{1,*}

(¹ Department of Agronomy , College of Agriculture and Biotechnology , Zhejiang University , Hangzhou 310029 , China ;² State Key Laboratory of Rice Biology , China National Rice Research Institute , Hangzhou 310006 , China ;³ College of Agriculture , Nanjing Agricultural University , Nanjing 210095 , China ; * Corresponding author , E mail : chhshi@zju .edu .cn)

Abstract : A backcross inbred lines (BILs) population consisting of 98 lines derived from a cross of Nipponbare (japonica)/Kasalath (indica)//Nipponbare was used to detect QTLs controlling the lysine content of milled rice in two distinct environments Zhejiang and Hainan Provinces ,China . The lysine content of BILs ranged from 2 .19 mg/g to 4 .03 mg/g in Zhejiang and 2 .39 mg/g to 4 .29 mg/g in Hainan , with continuous variation and transgressive segregation . Two putative QTLs (qLYS6 1 and qLYS6 2) with genetic main effects were detected on chromosome 6 , which contributed to 27 .08% and 47 .56% of the total phenotypic variations , respectively . qLYS6 1 was also detected to have significant genotype × environment interaction effects . The additive effect of qLYS6 1 came from Kasalath , while qLYS6 2 from Nipponbare . In addition , no additive additive epistasis for QTLs was detected .

Key words : rice ; backcross inbred lines ; lysine content ; quantitative trait locus ; genetic main effect ; genotype × environment interaction effect

摘 要 : 利用日本晴(粳稻)/Kasalath(籼稻)//日本晴组合衍生的 98 个回交重组自交系(BILs)株系和具有 245 个 RFLP 标记的遗传图谱 ,在浙江和海南 2 个环境条件下 ,开展了精米赖氨酸含量的 QTL 定位。精米赖氨酸含量在浙江和海南均表现连续变异和超亲分离。在第 6 染色体发现 2 个具有显著遗传主效应的 QTL (qLYS6 1 和 qLYS6 2) ,表型贡献率分别为 27.08% 和 47.56% 。 qLYS6 1 还具有显著的环境互作效应。 qLYS6 1 的增效基因来自 Kasalath ,而 qLYS6 2 的增效基因来自日本晴。未检测到显著的上位性效应。

关键词 : 水稻 ; 回交重组自交系 ; 赖氨酸含量 ; 数量性状座位 ; 遗传主效应 ; 基因型 × 环境互作效应

中图分类号 : Q943 .2 ; S511 .033 文献标识码 : A 文章编号 : 1001-7216(2008)04-0435-04

世界上约有 1/2 的人口以稻米为主食 ,而赖氨酸含量是稻米营养品质的一个重要指标^[1-2]。赖氨酸是合成脑神经、生殖细胞等细胞核蛋白及血红蛋白的必要成分 ,在动物体内完全不能自行合成 ,是最易缺乏的必需氨基酸之一 ,属于“第一限制性氨基酸”^[3]。然而 ,有关稻米赖氨酸性状的遗传研究较少^[2,4] ,有关稻米赖氨酸性状的 QTL 定位迄今未见报道。因此 ,开展稻米赖氨酸含量的 QTL 定位研究 ,对于提高优质稻米遗传育种水平、促进稻米营养品质的改良具有重要意义。本研究旨在应用籼粳杂交组合(日本晴/Kasalath//日本晴)衍生的回交重组自交系群体 ,对赖氨酸含量进行多环境条件下的遗传分析和基因定位。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

用于稻米赖氨酸含量 QTL 定位的遗传群体为 1 个包括 98 个株系的回交重组自交系(backcross inbred lines ,BILs) ,是日本晴/Kasalath//日本晴的回交组合 ,通过单粒传法获得。亲本日本晴为典型的粳稻品种 ,为日本基因组计划 DNA 测序品种 ;Kasalath 为印度籼稻品种。亲本 BIL 群体分子图谱包括 245 个 RFLP 标记位点 ,覆盖水稻基因组 1179.9 cM ,标记间平均图距为 4.8 cM。且标记均匀地分布

于 12 条染色体上 ,符合 QTL 区间作图的要求。分子数据由日本农林水产省农业研究中心提供。

1.2 田间试验与设计

用于稻米赖氨酸含量 QTL 定位的 BIL 群体及其亲本 ,于 2001 年 6 月 10 日播种于中国水稻研究所浙江富阳试验基地 ,7 月 2 日移栽 ,种植密度 16.7 cm×20.0 cm 4 行区 ,每行 12 株 ,2 次重复 ,随机排列。2003 年在中国水稻研究所海南陵水基地种植上述 BIL 群体及其亲本 ,12 月 4 日播种 ,次年 1 月 3 日移栽 ,4 行区 ,2 次重复 ,随机排列。种植方式同 2001 年富阳试验。两年的田间管理同生产大田。抽穗时分株系记载抽穗期(50%植株抽穗时) ,成熟后收获每个株系和亲本中间 16 株的种子 ,储藏 3 个月后进行稻米氨基酸含量分析。

收稿日期 : 2007-09-04 ; 修改稿收到日期 : 2008-03-18。

基金项目 : 浙江省科技攻关资助项目 (2005C22003) ; 国家 863 计划资助项目 (2006AA100101) ; 科技部国际合作重点资助项目 (2005DFA31080) ; 国家科技攻关资助项目 (2004BA540C) ; 浙江省自然科学基金资助项目 (R304482)。

第一作者简介 : 唐绍清 (1965 -) , 男 , 博士 , 研究员。

表 1 3 g 精米粉赖氨酸含量近红外定标方程交叉检验

Table 1 . Calibration and cross validation statitics in near-infrared reflectance equation for lysine content in 3 g milled rice powder .

校正 Calibration					交叉检验 Cross validation	
平均值 ± 标准差 Mean± SD /(mg · g ⁻¹)	最小值 Min . /(mg · g ⁻¹)	最大值 Max . /(mg · g ⁻¹)	定标标准误 SEC	定标决定系数 RSQ	标准误 SECV	交叉检验决定系数 1 - VR
3.32 ± 0.54	2.18	6.13	0.257	0.848	0.272	0.829

SEC , Standard error of calibration ; RSQ , Regression squared ; SECV , Standard error of cross validation ; VR , Variance ratio .

表 2 BIL 株系及其双亲在浙江和海南种植时的稻米赖氨酸含量

Table 2 . Lysine contents of the parents and BILs planted in Zhejiang and Hainan Provinces .

地点 Location	亲本 Parent		回交重组自交系 BILs			
	日本晴 Nipponbare /(mg · g ⁻¹)	Kasalath /(mg · g ⁻¹)	平均值 ± 标准差 Mean± SD /(mg · g ⁻¹)	变幅 Range /(mg · g ⁻¹)	偏度 Skewness	峰值 Kurtosis
浙江富阳 Fuyang , Zhejiang	2.99	2.84	3.31 ± 0.35	2.19 ~ 4.03	- 0.382	0.116
海南陵水 Lingshui , Hainan	3.04	2.77	3.14 ± 0.40	2.39 ~ 4.29	0.342	0.459

1.3 赖氨酸含量测定

BIL 群体及其亲本收获后的稻谷 ,按农业部部颁标准 NY 147 88 的方法碾磨后获得糙米(日本佐竹制作所 Satake 糙米机)、精米(JNMJ3 型精米机 ,浙江黄岩粮油仪器厂)。利用 3010 019 旋风式磨粉机(Udy ,Fort Collins ,Co .,USA)高速粉碎得到精米粉 ,过 100 目筛。在扫描前 ,将样品在近红外分析室内平衡 24 h ,使样品环境条件与仪器的条件一致。分析室的温度和湿度由空调器和除湿机调节 ,温度控制在 22 ~ 25 。待近红外分析仪预热 40 min 以上 ,计算机系统自动检测仪器稳定后 ,进行定标样品光谱的收集。每个样品称取 3 g 精米粉 ,置于 35 mm 石英杯中 ,采用美国近红外分析仪 (Fossy NIRSystems 5000 Silver Spring ,MD ,USA)扫描采集反射光谱 ,每份样品重复扫描 32 次 ,贮存于计算机中 ,取平均值 ,并转化为 log(1/ R) ,最后贮存成 1 个计算机文件 ,形成一条谱带。根据样品光谱特征 ,利用已建立的氨基酸定量分

析模型分析稻米赖氨酸含量^[5-6] ,该模型的主要参数见表 1。

1.4 QTL 定位分析

采用 QTLMAPPER 1.6 分析软件^[7-8] ,对 BIL 群体在浙江和海南 2 个环境下的稻米赖氨酸含量数据进行 QTL 定位检测和分析 ,选用 LOD 3.0 作为阈值来判断 QTL 的存在与否。加性效应、上位性效应及其环境互作效应分析均用 *P* < 0.001 为显著水平进行检验。对所检测到的 QTL ,按 McCouch 等^[9]描述的方法命名。

2 结果与分析

2.1 稻米赖氨酸含量的表现

对双亲和 BIL 群体的稻米赖氨酸含量的分析表明 ,该性状属于较为复杂且明显受多基因控制的数量性状(表 2、图 1)。BIL 群体的双亲赖氨酸含量均为中等 ,两个环境下日本晴赖氨酸含量均略高于 Kasalath。BIL 群体的稻米赖氨酸含

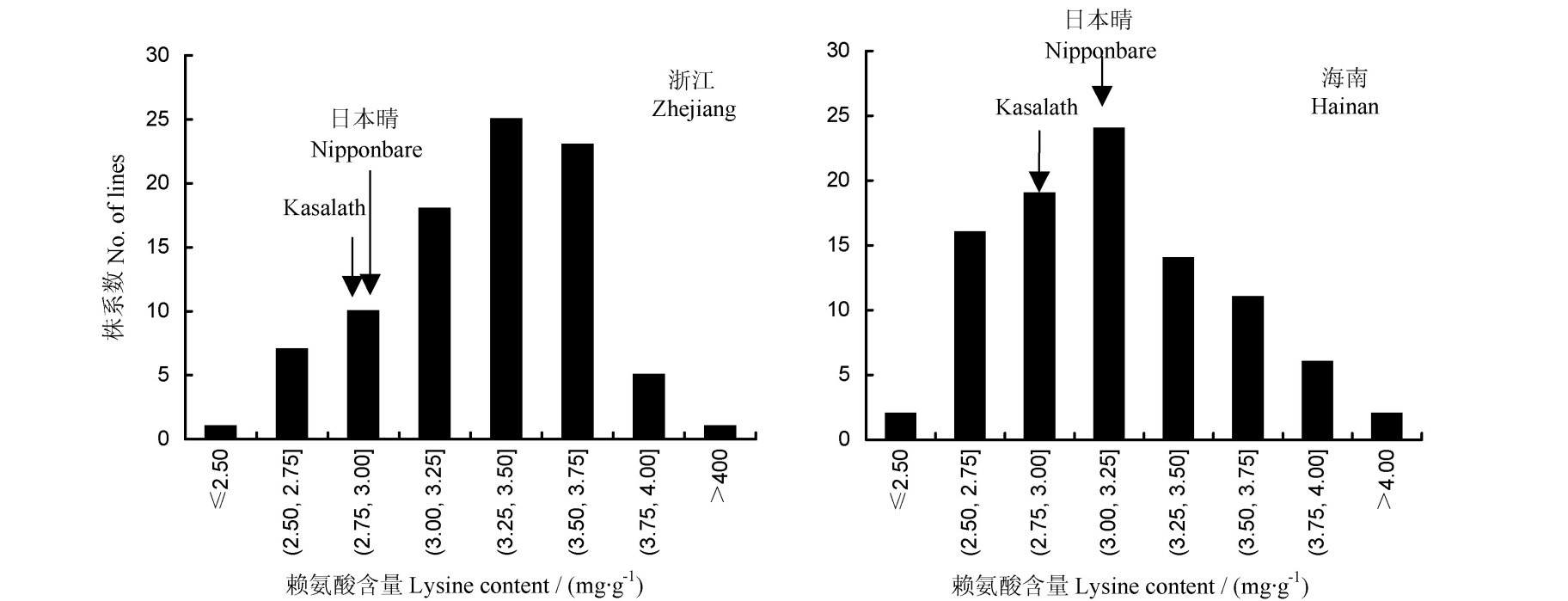


图 1 BILs 群体中精米赖氨酸含量的分布

Fig. 1 . Distribution for lysine content of milled rice in BILs population .

量呈现连续变异,存在较多的超亲株系,稻米赖氨酸含量平均值在浙江与海南两地较为接近,浙江略高于海南,但差异不显著,且群体赖氨酸含量在两地均接近正态分布。BIL 株系精米赖氨酸含量在浙江与海南间的相关系数为 0.591^{**},呈极显著正相关。

2.2 稻米赖氨酸含量的 QTL 定位

在第 6 染色体上检测到 2 个具有显著加性效应的赖氨酸含量 QTL (*qLYS6 1* 和 *qLYS6 2*),总遗传贡献率为 74.64%,分别位于第 6 染色体的 R1962 - C191B 和 C1478 - R2171 标记区域(表 3、图 2)。其中 *qLYS6 1* 的贡献率为 27.08%,提高赖氨酸含量的增效基因来源于 Kasalath,该 QTL 的环境互作效应也已达显著水平,可解释变异的 10.11%,表现为在浙江环境中增加赖氨酸含量,在海南环境中则降低赖氨酸含量;*qLYS6 2* 的贡献率为 47.56%,提高赖氨酸含量的增效基因来源于日本晴,但其环境互作效应不明显,说明该 QTL 在不同环境下所表现的遗传效应较为稳定。本研究中未检测到显著的上位性效应。

3 讨论

迄今为止,对氨基酸性状的遗传研究相对较少,主要开展了氨基酸的遗传效应研究。张小明等^[2]在开展富含氨基酸的品质育种中,认为选用亲本至关重要,平均氨基酸总量和必需氨基酸含量都有一定的杂种优势,但各组合间差异明显。Wu 等^[10]研究了籼稻 7 种必需氨基酸的基因型与环境的互作效应;Zhang 等^[11]开展了籼粳交组合蛋氨酸的发育遗传研究。有关氨基酸含量的 QTL 定位研究在水稻中则鲜见报道,这可能与水稻氨基酸含量较低和分析成本较高有关,而在大豆^[12]和玉米^[13]中已有氨基酸成分的 QTL 定位分析报道。

本研究在水稻第 6 染色体上定位到 2 个控制赖氨酸含量的主效应 QTL(*qLYS6 1* 和 *qLYS6 2*),分别可解释表型变异的 27.08%和 47.56%,增效基因分别来自该 BIL 群体的双亲 Kasalath 和日本晴,其中 *qLYS6 1* 位点还检测到与环境的显著互作效应。研究中未检测到显著的上位性效应。由于本试验发现的 2 个影响赖氨酸含量的 QTL 具有较大的贡献率,而且在浙江和海南两个环境条件下均能检测到,其结果为通过分子标记辅助选择聚合赖氨酸含量基因、选育高赖氨酸品种提供了良好的遗传信息,为进一步开展稻米赖氨酸

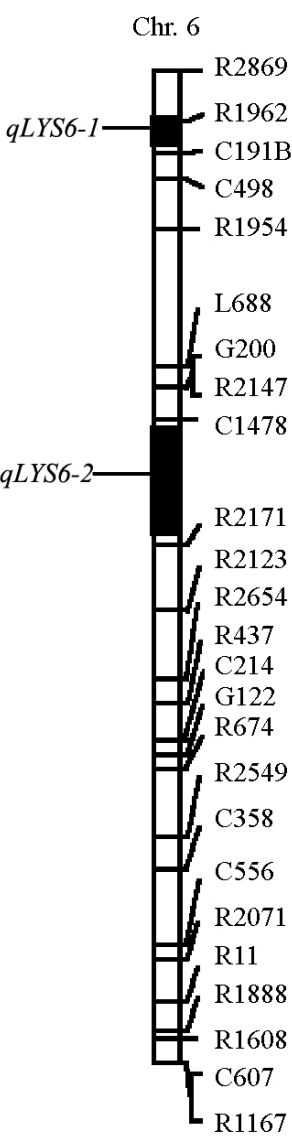


图 2 第 6 染色体上赖氨酸含量 QTL 定位结果
Fig. 2 Main effect QTLs for rice lysine content detected on chromosome 6 .

含量的精细定位和图位克隆奠定了基础。
2 个赖氨酸含量主效应 QTL 分别位于控制直链淀粉含量和胶稠度主效应 QTL 的 R1962 - C191B 区间和控制碱消值主效应 QTL 的 C1478 - R2171 标记区间^[14],说明赖氨酸含量与蒸煮品质关系密切。这些区间在今后的研究中值得重视,同时也反映出稻米蒸煮品质和营养品质改良的复杂性。而相关分析则表明^[14],赖氨酸含量与稻米蒸煮品质性状直链淀粉含量、胶稠度和碱消值相关不显著。两者结果似乎不一致。分析赖氨酸含量 QTL 的定位结果,发现定位到的 2 个主效应 QTL 的贡献率均较大,且位于同一条染色体上,2 个主效应 QTL 在染色体上的遗传距离约为

表 3 日本晴/Kasalath//日本晴的 BIL 群体赖氨酸含量的 QTL 加性效应
Table 3 .QTLs showing significant additive effects for grain lysine content in Nipponbare/Kasalath//Nipponbare BIL population .

基因座位 QTL	染色体 Chromosome	区间 Interval	LOD 值 LOD score	A_i	$H_{A_i}^2$ /%	AE_1	AE_2	$H_{AE_n}^2$ /%
<i>qLYS6 1</i>	6	R1962 - C191B	19.53	-0.206	27.08	0.089	-0.089	10.11
<i>qLYS6 2</i>	6	C1478 - R2171	26.75	0.273	47.56			

A_i 为 QTL 的加性效应,正值表示日本晴的等位基因具有增效作用,负值表示 Kasalath 的等位基因具有增效作用; $H_{A_i}^2$ 为 QTL 加性效应的表型贡献率; AE_1 为加性×环境 1(浙江)互作效应, AE_2 为加性×环境 2(海南)互作效应; $H_{AE_n}^2$ 为 QTL 加性×环境互作效应的表型贡献率。
 A_i , The additive effect: Positive values indicate that the positive effect is from the parent Nipponbare, whereas the negative effect is from Kasalath; $H_{A_i}^2$, The contribution of the additive effect from QTL; AE_1 and AE_2 , The additive × environment interaction effects in environment 1(Zhejiang Province) and environment 2(Hainan Province), respectively; $H_{AE_n}^2$, The contributions of the additive× environment interaction effect from QTL .

23 cM ,存在一定遗传连锁 ,而 2 个主效应 QTL 位点的增效基因分别来源于不同亲本 ,这从遗传上解释了造成以上差异的原因 ,这也提示我们不能以简单的相关分析结果来完全解释遗传现象和揭示遗传差异。

参考文献：

[1] Shi C H , Xue J M , Yu Y G , et al . Analysis of genetic effects for nutrient quality traits in indica rice . *Theor Appl Genet* , 1996 , 92(8) : 1099-1102 .

[2] 张小明 , 石春海 , 吴建国 , 等 . 杂交稻米必需氨基酸含量与亲本的关系 . 中国水稻科学 , 2003 , 17(1) : 91-94 .

[3] 赵则胜 , 蒋家云 , 戚家华 , 等 . 特种稻遗传研究现状 . 上海农业学报 , 2002 , 18(增) : 40-46 .

[4] 石春海 , 朱 军 , 杨肖娥 , 等 . 籼型杂交稻稻米赖氨酸性状的基因型 × 环境互作效应分析 . 中国农业科学 , 1999 , 32(1) : 8-14 .

[5] Wu J G , Shi C H , Zhang X M , et al . Estimating the amino acid composition in the milled rice powder by near-infrared reflectance spectroscopy . *Field Crops Res* , 2002 , 75(1) : 1-7 .

[6] 吴建国 , 石春海 , 张小明 , 等 . 用近红外反射光谱法分析稻米 3 种必需氨基酸含量的研究 . 作物学报 , 2003 , 29(5) : 688-692 .

[7] Wang D L , Zhu J , Li Z K , et al . Mapping QTLs with epistatic

effects and QTL × environment interactions by mixed linear model approaches . *Theor Appl Genet* , 1999 , 99(7/8) : 1255-1264 .

[8] Wang D L , Zhu J , Li Z K , Paterson A H . QTL Mapper Version 1.6 . Hangzhou : Zhejiang University , China , and Texas A & M University , USA , 2003 .

[9] McCouch S R , Cho Y G , Yano M , et al . Report on QTL nomenclature . *Rice Genet Newsl* , 1997 , 14 : 11-13 .

[10] Wu J G , Shi C H , Zhang X M , et al . Genetic and genotype × environment interaction effects for the content of seven essential amino acids in indica rice . *Genetics* , 2004 , 83(2) : 19-24 .

[11] Zhang X M , Shi C H , Ye S H , et al . Genetic analysis of methionine content in indica japonica hybrid rice (*Oryza sativa* L .) at different grain developmental stages . *Euphytica* , 2004 , 139(3) : 249-256 .

[12] Panthee D R , Pantalone V R , Saxton A M , et al . Genomic regions associated with amino acid composition in soybean . *Mol Breeding* , 2006 , 17 : 79-89 .

[13] 柯永培 . 玉米营养品质性状的遗传分析与育种研究 [学位论文] . 成都 : 四川大学 , 2006 .

[14] 唐绍清 . 稻米蒸煮与营养品质的 QTL 定位 [学位论文] . 杭州 : 浙江大学 , 2007 .