

稻米淀粉 RVA 谱特征值与直链淀粉、蛋白含量的相关性及其 QTL 定位分析

张杰[#] 郑蕾娜[#] 蔡跃 尤小满 孔飞 汪国湘 燕海刚 金洁 王亮 张文伟^{*} 江玲
(南京农业大学 作物遗传与种质创新国家重点实验室/江苏省植物基因工程技术研究中心, 南京 210095; [#] 共同第一作者; ^{*} 通讯联系人, E-mail: zhangww@njau.edu.cn)

Correlation Analysis and QTL Mapping for Starch RVA Profile Properties and Amylose and Protein Contents in Rice

ZHANG Jie[#], ZHENG Leina[#], CAI Yue, YOU Xiaoman, KONG Fei, WANG Guoxiang, YAN Haigang, JIN Jie, WANG Liang, ZHANG Wenwei^{*}, JIANG Ling

(State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement/Research Center of Jiangsu Plant Gene Engineering, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; [#] These authors contributed equally to this paper; ^{*} Corresponding author, E-mail: zhangww@njau.edu.cn)

Abstract: 【Objective】The detection of new quantitative trait loci (QTLs) and the correlation analysis between different rice quality traits are used to dissect the genetic mechanism underlying rice quality and to breed high-quality rice varieties. 【Method】The backcross inbred lines (BILs) of Sasanishiki × Habataki planted in two environments were used to detect additive QTLs for amylose content, protein content and RVA profiles. 【Result】Phenotypic analysis showed the protein content of Habataki was higher than that of Sasanishiki while other rice quality parameters of Sasanishiki were generally higher than those of Habataki except the setback viscosity. A total of 42 additive QTLs were detected, and ten of them could be repeatedly detected in two environments, including *qPC8*, *qAC4*, *qAC10*, *qPKV2*, *qPKV7*, *qHPV7*, *qCPV1*, *qBDV4*, *qBDV7* and *qSBV7*. Of them, *qCPV1*, *qBDV4*, *qPKV7*, *qHPV7* and *qAC10* had not been reported previously. Moreover, the environmental stability of 10 QTLs, was further confirmed across two different environments by chromosome segment substitution lines (CSSLs). 【Conclusion】Significant correlations were observed between RVA profiles and protein or amylose contents, and many QTLs affecting different quality traits were co-localized.

Key words: rice; grain quality; quantitative trait locus; backcross inbred lines; chromosome segment substitution lines

摘要: 【目的】检测到新的控制稻米品质性状相关的 QTL 并分析各性状间的相关性, 为了解控制水稻品质的遗传机理和培育优质水稻品种奠定基础。【方法】利用 Sasanishiki × Habataki 回交重组自交系 (backcross inbred lines, BILs) 群体在两个环境下种植的结果, 检测与稻米直链淀粉含量、蛋白质含量及 RVA 谱特征值相关的加性 QTL。【结果】表型分析结果显示, Habataki 的蛋白含量明显高于 Sasanishiki; 而除消减值以外其余的稻米品质性状指标, Sasanishiki 均高于 Habataki。利用 BIL 群体共检测到加性 QTL 42 个, 其中 10 个 QTL 位点在 2 个环境中均能被检测到, 即 *qPC8*、*qAC4*、*qAC10*、*qPKV2*、*qPKV7*、*qHPV7*、*qCPV1*、*qBDV4*、*qBDV7*、*qSBV7*, 且 *qCPV1*、*qBDV4*、*qPKV7*、*qHPV7* 和 *qAC10* 等 5 个 QTL 尚未见报道。同时, 我们还利用 Sasanishiki × Habataki 染色体片断置换系 (Chromosome segment substitution lines, CSSLs) 验证了 10 个稳定表达的 QTL 位点。【结论】稻米 RVA 谱特征值与直链淀粉含量、蛋白质含量之间呈现一定相关性, 且控制不同品质性状的 QTL 之间具有共定位现象。

关键词: 水稻; 稻米品质; 数量性状基因座; 回交重组自交系; 染色体片段置换系

中图分类号: Q343.1⁺5; S511.032

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2017)01-0031-09

随着生活水平的不断提高, 人们对稻米品质的要求也越来越高, 改良稻米品质已经成为育种家们追求的重要育种目标。稻米的品质性状包括碾磨品质、外观品质、蒸煮与食味品质和营养品质, 其中以

收稿日期: 2016-03-17; 修改稿收到日期: 2016-04-09。

基金项目: 国家转基因生物新品种培育重大专项(2014ZX08001006); 国家自然科学基金资助项目(31301296); 国家科技支撑计划资助项目(2013BAD01B02-16); 江苏省科技支撑计划资助项目(BE2014394)。

外观品质及与食味相关的理化性状尤为重要^[1]。直链淀粉含量是决定稻米蒸煮食味品质的重要因素^[2]。此外,淀粉 RVA 谱特征值与蒸煮食味品质间具有很高的相关性,可以作为评价粳米蒸煮食味品质优劣的首选指标^[3],并且可望取代目前较为繁琐的蒸煮食用品质的评价方法^[4]。蛋白质在稻米中含量仅次于淀粉,是衡量稻米营养品质的重要指标,并且影响水稻的蒸煮食味品质^[5]。因此,综合考查稻米直链淀粉含量、RVA 谱特征值及蛋白质含量等品质指标,有助于对稻米品质的优劣进行全面考量。

稻米品质性状的遗传组成较为复杂,既受主效基因作用,又受微效基因影响^[6],同时还受到基因型与环境互作效应的影响^[2]。目前利用 DH(double haploid)、RIL(recombinant inbred lines)等初级分离群体已检测到多个控制水稻直链淀粉含量、RVA 谱和蛋白质含量的 QTL^[7-12]。此外,利用染色体片段置换系(CSSLs),翁建锋等^[13]、杨亚春等^[14]、张昌泉等^[15]也检测到多个与稻米品质性状相关的 QTL。为了深入研究稻米品质性状的遗传机制,以期挖掘出优质的基因资源,本研究利用 Sasanishiki/Habataki 回交重组自交系(BILs)在 2 个环境下种植的结果,对 RVA 谱特征值与直链淀粉、蛋白质含量进行相关性分析,同时检测与 RVA 谱特征值、直链淀粉及蛋白含量相关的加性 QTL,并在 2 个环境下利用染色体片段置换系验证了相关 QTL 的稳定性,这为优质水稻蒸煮食味品质分子标记辅助育种奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

Sasanishiki×Habataki BIL 群体是采用单粒传法获得的 85 个 BC₂F₅ 株系;Sasanishiki 作为遗传背景的 CSSL 群体,含有 39 个具有供体 Habataki 染色体片段的纯合置换系,即 SL401~SL439^[16]。这两个群体及其分子数据由日本农业生物资源研究所 Yano 博士提供。

1.2 田间实验

Sasanishiki(粳)、Habataki(粳)及其 BIL、CSSL 群体于夏季种植在江苏南京土桥实验基地和江苏省金湖县。亲本及其群体的各个株系分别种植 10 行,重复 2 次;成熟后,每个株系混合收种,正常晾晒至含水量为 14.0%,室温下保存 3 个月,出糙米、精米,磨米粉用于品质性状的测定。

1.3 蛋白质含量(Protein content, PC)测定

准确称量 1.0000 g 米粉,利用 FOSS 公司 KJELTEC2300 型全自动凯氏定氮仪,按半微量凯氏法测定糙米粉全氮含量,蛋白质含量按系数 6.25 换算。每份样品重复测定 2 次,取其平均值。

1.4 直链淀粉含量(Amylose content, AC)测定

直链淀粉含量的测定按照中华人民共和国国家标准 GB/T 15683—1995 的方法进行,参比样品购自中国水稻研究所。

1.5 RVA 谱(RVA profile)的测定

稻米淀粉 RVA 谱采用德国 Brabender 仪器公司生产的 Micro-Visco-Amylo-Graph 黏度速测仪测定,用 Brabender Windows Software 配套软件进行数据分析。根据 1998 年美国谷物化学协会年会上发布的标准操作规程^[17],含水量为 14.0%时,米粉样品量为 10.0 g,加入蒸馏水量为 100.0 mL。具体加热过程如下:30℃时开始,以 7.5℃/min 的速度上升到 93℃(8 min 24 s),93℃下保持 5 min,再以 7.5℃/min 的速度下降到 55℃(5 min 4 s),55℃下保持 1 min。搅拌器以 250 r/min 的速度转动。每个样品重复测定 2 次,取重复的平均值为性状表型值(单位:Brabender Units, BU)。包括 5 个一级数据,即峰值黏度(peak viscosity, PKV)、热浆黏度(hot paste viscosity, HPV)、冷胶黏度(cool paste viscosity, CPV)、峰值时间(peak time, PeT)和糊化温度(paste temperature, PaT),以及 3 个二级数据,即崩解值(breakdown viscosity, BDV)、消减值(set-back viscosity, SBV)和回复值(consistence viscosity, CSV)。

1.6 统计分析

利用软件 SPSS 13.0 对稻米品质性状进行相关性分析。

QTL 定位采用 WinQTL Cartograph 2.0 软件^[18]的复合区间作图,以 LOD 值 2.0 为阈值,以此来检测所有可能存在的 QTL,计算每个 QTL 的贡献率和加性效应。QTL 的命名遵循 McCouch 的原则^[19]。

利用两组样本等方差 *t*-测验法分析稻米品质加性 QTL 对应的置换系相应表现型在 2 个环境中与背景亲本 Sasanishiki 之间的差异显著性,如果在 2 种环境中的差异都显著,说明该 QTL 控制相应性状的功能显著且表达稳定。

表 1 BIL 群体及其亲本的品质性状在两个环境中的表型变异

Table 1. Descriptive statistics of the rice quality traits(parameters) in parents and BIL population in two environments.

性状 Trait	亲本(平均值±标准差) Parent(Mean±SD)		BIL 群体 BIL population	
			平均值±标准差	变异范围
	Sasanishiki	Habataki	Mean±SD	Range
蛋白质含量 Protein content/%	7.15±0.01	8.09±0.02	7.96±0.78	6.52~9.94
	7.36±0.02	8.79±0.01	7.96±0.75	6.55~9.78
直链淀粉含量 Amylose content/%	14.18±0.11	12.89±0.22	13.09±2.14	9.58~24.87
	14.32±0.12	13.04±0.20	13.08±2.12	9.65~24.95
峰值黏度 Peak viscosity/BU	362.75±12.00	222.58±12.80	345.86±35.90	167.67~396.33
	301.83±4.00	279.25±3.00	299.32±21.89	244.50~349.25
热浆黏度 Hot paste viscosity/BU	229.75±8.00	102.42±6.90	206.62±25.30	134.75~267.08
	134.58±4.50	121.42±6.00	324.02±52.02	106.75~179.50
崩解值 Breakdown viscosity/BU	133.00±4.00	120.17±7.20	139.24±24.30	32.92~186.75
	167.25±0.50	157.83±3.00	212.26±120.06	114.50~186.58
冷胶黏度 Cool paste viscosity/BU	326.67±20.20	178.67±9.30	298.16±23.77	241.08~352.67
	235.75±1.50	225.33±1.00	416.30±53.47	202.42~314.67
消减值 Setback viscosity/BU	-36.08±8.10	-43.92±3.50	-47.70±35.24	-119.58~134.25
	-66.08±5.50	-53.92±2.00	-120.17±113.11	-108.00~29.50
回复值 Consistence viscosity/BU	96.92±12.20	76.25±2.40	91.54±14.86	61.66~167.17
	107.17±6.00	103.91±5.00	92.28±39.78	62.50~144.00
峰值时间 Peak time/min	6.27±0.03	5.73±0.08	6.21±0.18	5.73~6.53
	5.87±0.16	5.67±0.10	5.91±0.42	5.25~6.83

同一指标的上下数据分别来自江苏省南京市和金湖县。
The upper and lower data for the same index come from Nanjing and Jinhu, Jiangsu Province, respectively.

2 结果与分析

2.1 BIL 群体及亲本品质性状的表型变异

Sasanishiki×Habataki BIL 群体及其亲本蛋白质含量、直链淀粉含量和 RVA 谱 7 个特征值在两个环境中的表型变异见表 1。Habataki 在蛋白质含量上表现为高值亲本,而 Sasanishiki 在除消减值以外的其他性状上均表现为高值亲本。除蛋白质含量、直链淀粉含量和峰值时间在 2 种环境下变异幅度较小,其余 6 项受环境影响较大(表 1)。此外,蛋白质含量、直链淀粉含量、峰值黏度、回复值、崩解值、峰值时间、消减值这 7 个性状呈现双向超亲分离,而热浆黏度、冷胶黏度的双向超亲分离现象不能在两个环境中重复出现。

2.2 各品质性状的相关性分析

蛋白质含量、直链淀粉含量与 RVA 谱特征值之间的相关系数见表 2。

直链淀粉含量与峰值黏度、热浆黏度、崩解值在至少一种环境中呈显著或极显著负相关,而与冷胶黏度、消减值、回复值、峰值时间在至少一种环境下呈显著或极显著正相关。蛋白质含量与热浆黏度、冷胶黏度、崩解值呈显著或极显著负相关。此外,

RVA 谱 7 个特征值之间的相关性较高。这说明水稻品质性状间是相互关联、相互影响的。虽然稻米品质性状受环境影响较大,但在 2 个环境中稻米品质性状间的相关性基本一致,表明水稻品质性状受遗传主效位点控制。

2.3 稻米品质性状的 QTL 定位

结合重组自交系的表型值、基因型以及构建好的连锁图谱,采用复合区间作图方法,对 2 个不同生态地点的 Sasanishiki×Habataki BIL 群体的稻米品质性状进行 QTL 分析,共定位到 42 个加性 QTL(表 3,图 1),其加性效应贡献率为 7.70%~29.11%。其中 3 个 QTL 与直链淀粉含量相关,5 个 QTL 与蛋白质含量相关,34 个与 RVA 谱特征值相关,分布在 1、2、3、4、5、7、8、9、10、12 等 10 条染色体上(表 3)。然而多数位点只能在单一的环境中被检测到,只有 10 个位点,即 *qPC8*、*qAC4*、*qAC10*、*qPKV2*、*qPKV7*、*qHPV7*、*qCPV1*、*qBDV4*、*qB-DV7*、*qSBV7* 在 2 个环境中均能被检测到。

在第 1、2 染色体上都分别检测到了 6 个 QTL,贡献率为 8.86%~22.34%,其中只有 *qCPV1*、*qP-KV2* 在 2 个环境下均能被检测到,且在第 1 染色体上检测到了 2 个控制峰值时间的 QTL。位于第 3

表 2 BIL 群体及其亲本的品质性状在两种环境中的相关系数

Table 2. Coefficients of pairwise correlations of the rice quality traits in a BIL population observed in two environments.

指标 Index	蛋白质含量 PC	直链淀粉含量 AC	峰值黏度 PKV	热浆黏度 HPV	崩解值 BDV	冷胶黏度 CPV	消减值 SBV	回复值 CSV
直链淀粉含量 AC	−0.22 −0.14							
峰值黏度 PKV	−0.24 −0.17	−0.60** −0.20						
热浆黏度 HPV	−0.36** −0.39**	−0.23* −0.15	0.74** 0.73**					
崩解值 BDV	−0.29* −0.26*	−0.64** −0.54**	0.71** 0.70**	0.05 0.03				
冷胶黏度 CPV	−0.38** −0.33**	0.26* 0.17	0.36** 0.44**	0.82** 0.83**	−0.32** −0.21			
消减值 SBV	0.19 0.12	0.78** 0.86**	−0.78** −0.62**	−0.20 −0.10	−0.94** −0.89**	0.31** 0.43**		
回复值 CSV	0.02 0.02	0.81** 0.78**	−0.68** −0.27*	−0.40** −0.41**	−0.60** −0.41**	0.21 0.58**	0.83** 0.78**	
峰值时间 PeT	0.07 0.02	0.46** 0.38**	−0.17 −0.27*	0.45** 0.41**	−0.72** −0.41**	0.69** 0.58**	0.64** 0.78**	0.34** 0.92**

同一指标的上下数据分别来自江苏省南京市和金湖县；*，** 分别表示显著相关($P<0.05$) 和极显著相关($P<0.01$)。

The upper and lower data of the same index come from Nanjing and Jinhu, Jiangsu Province, respectively; *, ** Significantly correlated at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively. PC, Protein content; AC, Amylose content; PKV, Peak viscosity; HPV, Hot paste viscosity; BDV, Breakdown viscosity; CPV, Cool paste viscosity; SBV, Setback viscosity; CSV, Consistence viscosity; Pet, Peak time.

染色体上的 2 个 QTL 只能在单一环境中被检测到,且其加性效应贡献率都小于 10%,属于微效基因。第 4、12 染色体上分别存在 3 个控制稻米品质性状相关的 QTL,但仅第 4 染色体上的 *qAC4*、*qBDV4* 可稳定存在。第 5、10 染色体上各检测到了 4 个 QTL,除在 2 个环境中均能检测到的 *qAC10* 贡献率较高,达到 16%,其余的 QTL 只能在单一环境下被检测到,并且贡献率都在 10%左右。第 9 染色体上也检测到了 4 个 QTL,其中 *qBDV9*、*qSBV9* 贡献率较高,分别为 22.47%、29.11%。在第 7 染色体上检测到的 5 个 QTL 中,4 个能够稳定在不同环境下存在,并且都位于 R2829—R2401 标记区间。而位于第 8 染色体上的 5 个 QTL 中,只有 *qPC8* 可以在 2 个环境下被检测到。此外,能够稳定存在的 10 个 QTL 中的 *qAC4*、*qAC10* 和 *qSBV7* 的增效等位基因来自于 Habataki,其余 7 个 QTL 的增效等位基因均来自 Sasanishiki。

同时,控制不同品质性状的 QTL 位点存在共定位的现象。*qPC8* 和 *qBDV8*、*qCPV8* 以及 *qPeT8* 所处区间一致;在第 12 染色体 C1336—R367 区间检测到了同时控制蛋白质含量和消减值的 QTL;*qAC5* 与 *qBDV5* 均定位于第 5 染色体 R3166—

R708 区间,并且标记 R708 为 *qCSV5*、*qSBV5* 共用;在第 10 染色体上也检测到同时控制直链淀粉含量和峰值黏度的 QTL。此外,控制 RVA 谱特征值相关的 QTL 也存在共定位的现象。*qCSV1* 和 *qPeT1* 均位于 R1613—S1778 区间,且与 *qCPV1* 相邻;在第 2 染色体 G1340—C499 区间,检测到控制不同 RVA 指标的多个 QTL,包括 *qPKV2*、*qCPV2*、*qPBDV2*、*qSBV2* 以及 *qCSV2*;第 7 染色体标记 R2829—R2401 区间,也检测到多个控制 RVA 谱特征值的 QTL,包括 *qPKV7*、*qHPV7*、*qBDV7*、*qSBV7* 以及 *qCSV7*,组成一个基因簇;第 9 染色体 G36—R1164 区间检测到控制崩解值和消减值的 QTL,并且与控制冷胶黏度的 *qCPV8* 位置邻近,共用标记为 G36;*qBDV10* 和 *qSBV10* 都位于 S2083—R2174 区间。这些 QTL 位点的共定位现象说明控制不同稻米品质性状的基因座紧密连锁。

2.4 QTL 的稳定性分析

本研究检测到多个品质性状 QTL(图 1),但大多数只能在单个环境中被检测到。为了验证检测结果的可靠性,利用以 Sasanishiki 为遗传背景构建的染色体置换系(CSSL)群体,对两个环境中均能被检测到的 10 个 QTL,即 *qPC8*、*qAC4*、*qAC10*、

表 3 BIL 群体中检测到的控制稻米品质的 QTL

Table 3. QTL affecting rice quality detected in Sasanishiki/Habataki BIL.

位点	染色体	标记区间	地点	LOD 值	贡献率	加性效应	效应来源
Loci	Chr.	Marker interval	Location	LOD value	PVE/%	Effect	Positive allele
<i>qPC1</i>	1	R1485 — R886	E1	2.71	11.46	−0.47	Habataki
<i>qPC8</i>	8	R2382 — S14074	E1	3.26	14.44	0.45	Sasanishiki
			E2	2.44	11.47	0.39	Sasanishiki
			E1	2.25	10.23	−0.61	Habataki
<i>qPC9</i>	9	R1751 — G385	E1	2.25	10.23	−0.61	Habataki
<i>qPC12.1</i>	12	C1336 — R367	E2	3.31	13.89	0.47	Sasanishiki
<i>qPC12.2</i>	12	S1436 — R1709	E2	3.35	16.16	−0.44	Habataki
<i>qAC4</i>	4	G264 — G177	E1	2.91	10.69	−1.16	Habataki
			E2	2.94	10.71	−1.15	Habataki
			E1	2.01	7.70	1.24	Sasanishiki
<i>qAC5</i>	5	R3166 — R708	E1	2.01	7.70	1.24	Sasanishiki
<i>qAC10</i>	10	R2447 — R3285	E1	3.82	16.38	−2.09	Habataki
			E2	4.00	16.97	−2.09	Habataki
			E1	2.78	22.34	26.89	Sasanishiki
<i>qPKV2</i>	2	R1843 — S2068	E1	2.78	22.34	26.89	Sasanishiki
			E2	2.99	12.67	14.48	Sasanishiki
<i>qPKV3</i>	3	S1466 — R19	E2	2.45	9.96	−11.87	Habataki
<i>qPKV4</i>	4	G271 — C513	E2	2.20	10.13	10.51	Sasanishiki
<i>qPKV7</i>	7	R2829 — R2401	E1	2.10	7.72	13.69	Sasanishiki
			E2	3.32	21.72	16.30	Sasanishiki
<i>qPKV10</i>	10	R2447 — R3285	E1	2.35	8.74	16.30	Sasanishiki
<i>qHPV2</i>	2	C37 — C1236	E2	3.35	15.32	11.53	Sasanishiki
<i>qHPV7</i>	7	R2829 — R2401	E1	2.87	14.66	8.65	Sasanishiki
			E2	2.69	11.74	8.05	Sasanishiki
			E1	3.10	15.38	14.15	Sasanishiki
<i>qCPV1</i>	1	C470 — R1944	E1	3.10	15.38	14.15	Sasanishiki
			E2	2.56	9.47	8.94	Sasanishiki
<i>qCPV2</i>	2	G1340 — R1843	E1	2.39	11.31	13.39	Sasanishiki
<i>qCPV8</i>	8	R2382 — S14074	E1	2.88	12.51	14.96	Sasanishiki
<i>qCPV9</i>	9	C711 — G36	E2	2.40	15.68	−9.69	Habataki
<i>qCPV10</i>	10	R716 — C16	E1	2.38	12.82	15.08	Sasanishiki
<i>qBDV1</i>	1	G393 — C813	E1	2.51	8.86	−11.74	Habataki
<i>qBDV2</i>	2	R1843 — S2068	E1	3.21	11.77	14.38	Sasanishiki
<i>qBDV3</i>	3	C1351 — C1468	E2	2.14	7.87	−6.47	Habataki
			E1	2.96	10.55	12.93	Sasanishiki
<i>qBDV4</i>	4	G264 — G177	E1	2.96	10.55	12.93	Sasanishiki
			E2	3.02	11.45	13.04	Sasanishiki
<i>qBDV5</i>	5	R3166 — R708	E1	2.03	7.90	−11.59	Habataki
<i>qBDV7</i>	7	R2829 — R2401	E1	2.98	17.66	8.97	Sasanishiki
			E2	3.24	19.36	9.43	Sasanishiki
			E1	2.82	10.45	−11.47	Habataki
<i>qBDV8</i>	8	R2382 — S14074	E1	2.82	10.45	−11.47	Habataki
<i>qBDV9</i>	9	G36 — R1146	E2	5.21	22.47	12.74	Sasanishiki
<i>qSBV2</i>	2	S2068 — C499	E1	2.79	21.70	−26.49	Habataki
<i>qSBV5</i>	5	R708 — R372	E2	2.29	9.39	11.84	Sasanishiki
<i>qSBV7</i>	7	R2829 — R2401	E1	3.90	14.99	−19.42	Habataki
			E2	2.84	18.41	−13.72	Habataki
<i>qSBV9</i>	9	G36 — R1146	E2	2.75	29.11	−18.62	Habataki
<i>qSBV10</i>	10	S2083 — R2174	E1	2.80	10.50	−17.12	Habataki
<i>qSBV12</i>	12	C1336 — R367	E2	2.73	11.73	−10.91	Habataki
<i>qCSV1</i>	1	R1613 — S1778	E2	2.81	13.44	6.50	Sasanishiki
<i>qCSV2</i>	2	S2068 — C499	E1	2.13	13.66	−11.18	Habataki
<i>qCSV5</i>	5	R708 — R372	E1	2.80	10.61	8.30	Sasanishiki
<i>qCSV7</i>	7	R2829 — R2401	E1	2.55	8.13	7.29	Sasanishiki
<i>qCSV8</i>	8	R1943 — G278	E1	2.15	8.13	7.29	Sasanishiki
<i>qPeT1.1</i>	1	R1613 — S1778	E2	2.81	13.44	6.50	Sasanishiki
<i>qPeT1.2</i>	1	G393 — C813	E1	2.70	12.75	0.10	Sasanishiki
<i>qPeT8</i>	8	R2382 — S14074	E1	3.49	20.47	0.13	Sasanishiki

E1 表示江苏省南京市；E2 表示江苏省金湖县。

E1, Nanjing, Jiangsu Province, China; E2, Jinhu, Jiangsu Province, China.

qPKV2、*qPKV7*、*qHPV7*、*qCPV1*、*qBDV4*、*qBDV7* 和 *qSBV7*，进行验证。利用两组样本等方差 *t*-测验分析发现，Sasanishiki 与相应置换系的表型值差异在 2 个环境中都达到了显著或极显著水平(表 4)，说明来自 Habataki 的等位基因能使背景亲本的

表型值发生显著变化，且在 2 个环境中能稳定表达。

3 讨论

本研究利用初级作图群体(回交重组自交系)对品质性状QTL进行检测，同时依靠由共同背景亲

表 4 稻米品质性状 QTL 对应置换系与背景亲本 Sasanishiki 在 2 个环境中的表型差异

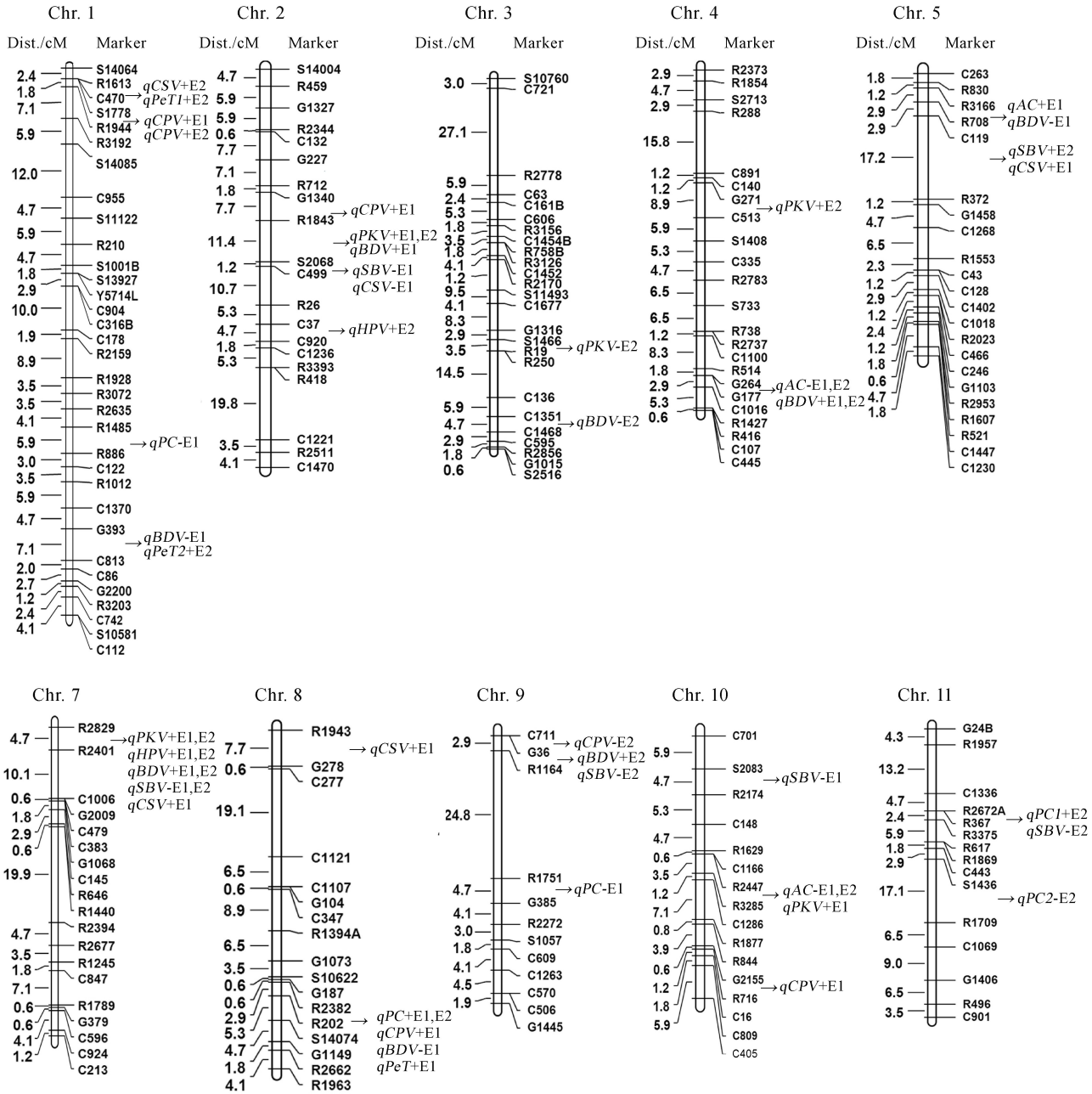
Table 4. Phenotypic differences between genetic background parent Sasanishiki and target CSSLs carrying rice quality traits QTLs across two environments.

QTL 位点 Target QTL	目标置换系 CSSLs	南京市 Nanjing, Jiangsu Province		金湖县 Jinhu, Jiangsu Province	
		平均值	P 值	平均值	P 值
		Mean	P-value	Mean	P-value
<i>qPC8</i>	Sasanishiki	7.15		7.36	
	SL428	6.58	0.003**	6.62	0.001**
<i>qAC4</i>	Sasanishiki	14.18		14.32	
	SL414	13.15	0.004**	13.06	0.002**
<i>qAC10</i>	Sasanishiki	14.18		14.32	
	SL431	11.43	0.002**	11.56	0.005**
	SL432	14.42	0.030*	15.38	0.010**
<i>qPKV2</i>	Sasanishiki	362.75		301.83	
	SL406	208.70	0.004**	155.08	0.005**
	SL407	197.40	0.008**	153.83	0.002**
<i>qPKV7</i>	Sasanishiki	362.75		301.83	
	SL422	393.50	0.005**	345.60	0.004**
<i>qHPV7</i>	Sasanishiki	229.75		134.58	0.003**
	SL422	322.50	0.004**	210.50	0.008**
<i>qCPV1</i>	Sasanishiki	326.67		235.75	
	SL401	367.50	0.020*	257.80	0.030*
<i>qBDV4</i>	Sasanishiki	133.00		167.25	
	SL414	178.50	0.007**	200.60	0.006**
<i>qBDV7</i>	Sasanishiki	133.00		167.25	
	SL422	71.00	0.002**	135.10	0.005**
<i>qSBV7</i>	Sasanishiki	-36.08		-66.08	
	SL422	-16.50	0.009**	-47.60	0.006**

* 和 ** 分别表示 Sasanishiki 与目标置换系之间的差异分别达到 5% 和 1% 的显著水平。
* and ** mean significant differences at 5% and 1% between the phenotype value of Sasanishiki and target CSSLs carrying QTL alleles, respectively.

本衍生的染色体片段置换系作为次级分离群体来验证 QTL 检测的结果,提高了定位结果的准确性。虽然本研究定位到多个与稻米品质相关的 QTL,但能够在 2 种环境下同时检测到的位点较少,说明这些位点对环境敏感,受环境效应的影响^[20]。利用已发表的高密度标记整合图谱,并与前人定位到的 QTL 进行比较^[7-15,21-26]。孙亚伟^[21]和彭军成^[22]利用 Sasanishiki×Habataki CSSL 群体均检测到了一个控制蛋白含量的 *qPC-1-1*,其所在区间包含本研究中定位的 *qPC1*,并且 *qPC1* 的定位区间与 Leng 等^[12]存在部分重叠。孙亚伟^[21]利用该 CSSL 群体检测到的另一个控制蛋白含量的位点 *qPC12.1* 与本研究中的 *qPC12.2* 的定位区间存在部分重叠。此外,本研究在 2 个环境下均能检测到的 *qPC8* 所在区间与孙亚伟等^[21]检测到的 *qPC-8-1* 不同,但与翁建峰等^[13]利用 Asominori×IR24 CSSL 群体检测到的稳定 QTL *qPC8*,定位在同一区间。同时,

位于第 12 染色体的 *qPC12.1* 也与翁建峰等^[13]定位在同一位点;*qAC4* 与 Lanceras 等^[9]定位在相近位点;*qPKV3*、*qHPV2*、*qCPV9* 与邵昕等^[25]定位在同一位点,而 *qBDV1* 与邵昕等^[25]定位在相近位点;*qPKV10*、*qSBV10* 与杨亚春等^[14]定位在同一位点,而 *qPeT1.1*、*qCSV7*、*qCPV8* 与杨亚春等^[14]定位在相近位点;*qPKV2*、*qBDV7*、*qCPV2* 与张巧凤等^[11]定位在同一位点,而 *qPKV4*、*qCSV2* 与张巧凤等^[11]定位在相近位点;*qPKV4*、*qSBV9*、*qBDV9* 与 Cho 等^[26]定位在同一位点。此外,张昌泉等^[15]在第 7 染色体上检测到了一个范围较大控制消减值的位点 *qSBV7.1*,其区间包含本研究中的 *qSBV7* 位点。位于水稻第 6 染色体上的 *Wx* 是控制水稻直链淀粉含量的主要基因^[27],然而我们并未在 *Wx* 基因附近定位到控制 AC 的 QTL,这可能是由于本研究使用的群体材料亲本(Sasanishiki 和 Habataki)是直链淀粉含量相似的品种,这与吴长明等^[8]、Bao 等^[10]、



E1 表示江苏省南京市；E2 表示江苏省金湖县；“+”和“-”分别代表增效等位基因来自于 Sasanishiki 和 Habataki。
E1, Nanjing, Jiangsu Province, China; E2, Jinhu, Jiangsu Province, China; “+”和“-” following the abbreviation of traits indicate the additive effects of the alleles are contributed by Sasanishiki and Habataki, respectively.

图 1 利用 Sasanishiki/Habataki BIL 群体在 2 个环境检测到的品质性状 QTL 的染色体位置

Fig. 1. Locations of the identified QTL for rice grain quality using Sasanishiki/Habataki BIL population in two environments.

翁建峰等^[13]、邵昕等^[25]的报道相似。此外，在 2 个环境中均能检测到的 5 个 QTL 位点，即 *qCPV1*、*qBDV4*、*qPKV7*、*qHPV7*、*qAC10*，分别位于第 1、4、7、10 染色体上，尚未见报道，我们可以通过构建

它们的近等基因系进行精细定位和图位克隆，为分子设计育种改良稻米品质奠定基础。
本研究发现蛋白质含量、直链淀粉含量与崩解值之间存在显著的负相关性，与 Cho 等^[26]和 Zheng

等^[28]结果一致。按照经典数量遗传学观点,性状相关是“一因多效”或紧密连锁的结果,因此本研究所检测到的 QTL 成簇分布,如 *qPC8* 和 *qBDV8*,以及 *qAC4*、*qAC5* 和 *qBDV4*、*qAC5* (它们的加性效应分别来自于不同亲本),可视为这些性状显著相关的主要遗传基础。Cho 等^[26]、Liu 等^[29]也发现控制蛋白质含量、直链淀粉含量与崩解值的 QTL 共定位的现象;另一方面,有关 QTL 的多效性,即处于同一区间的 QTL 同时对多个性状产生作用,已有诸多报道^[30-31]。同时,我们还发现第 2、7 和 8 染色体 G1340—C499、R2829—R2401 和 R2382—S14074 区间,存在多个与 RVA 谱特征值相关的 QTL,属于一个基因簇,杨亚春等^[14]也发现类似现象。这种控制 RVA 谱特征值的 QTL 簇,以及蛋白质含量、直链淀粉含量与之共定位的 QTL 簇在以往报道中也出现过^[28]。然而,这种 QTL 多效性的产生究竟是由基因的一因多效,或者是由紧密连锁的许多 QTL 的综合效应引起的,还需要通过构建它们的近等基因系进行精细定位和克隆,才能够真正了解。此外,由于蛋白质含量和直链淀粉含量较低、崩解值较大的稻米食味值较好^[2,32],我们可以针对来源于优质亲本的等位基因,结合分子标记辅助来培育优质稻米。

谢辞:感谢农业部长江中下游粳稻生物学与遗传育种重点实验室、长江流域杂交水稻协同创新中心、江苏省现代作物生产中心给予支持,谨致谢意。

参考文献:

- [1] 黄发松,孙宗修,胡培松,唐绍清.食用稻米品质形成研究的现状与展望.中国水稻科学,1998,12(3):172-176.
Huang F S, Sun Z X, Hu P S, Tang S Q. Present situations and prospects for the research on rice grain quality forming. *Chin J Rice Sci*, 1998, 12(2):172-176. (in Chinese with English abstract)
- [2] 包劲松.稻米淀粉品质遗传与改良研究进展.分子植物育种,2007,5(F11):1-20.
Bao J S. Progress in studies on inheritance and improvement of rice starch quality. *Mol Plant Breeding*, 2007, 5(F11):1-20. (in Chinese with English abstract)
- [3] 陈书强.粳稻米蒸煮食味品质与其他品质性状的典型相关分析.西北农业学报,2015,24(1):60-67.
Cheng S Q. Canonical correlation between cooking, eating quality and other quality traits in japonica rice. *Acta Agric Borali-Occ Sin*, 2015, 24(1):60-67. (in Chinese with English abstract)
- [4] 朱满山,汤述骞,顾铭洪.RVA谱在稻米蒸煮食用品质评价及遗传育种方面的研究进展.中国农学通报,2005,21(8):59-64.
Zhu M S, Tang S Z, Gu M H. Progresses in the study on the assessing, genetic and breeding of the rice starch RVA profile in rice quality. *Chin Agric Sci Bull*, 2005, 21(8):59-64. (in Chinese with English abstract)
- [5] 张启莉,谢黎虹,李仕贵,胡培松.稻米蛋白质与蒸煮食味品质的关系研究进展.中国稻米,2012,18(4):1-6.
Zhang Q L, Xie L H, Li S G, Hu P S. Progress in the Study on the relationship between protein and eating and cooking quality of rice. *China Rice*, 2012, 18(4):1-6. (in Chinese)
- [6] 黎用朝,李小湘.影响稻米品质的遗传和环境因素研究进展.中国水稻科学,1998,12:56-62.
Li Y C, Li X X. Advances in studies on genetic and environmental factors influencing rice grain quality. *Chin J Rice Sci*, 1998, 12:56-62. (in Chinese with English abstract)
- [7] Tan Y F, Sun M, Xing Y Z, Hua J P, Sun X L, Zhang Q F, Corke H. Mapping quantitative trait loci for milling quality, protein content and color characteristics of rice using a recombinant inbred line population derived from an elite rice hybrid. *Theor Appl Genet*, 2001, 103(6-7):1037-1045.
- [8] 吴长明,孙传清,付秀林,王象坤,李自超,张强.稻米品质性状与产量性状及籼粳分化度的相互关系研究.作物学报,2003,29(6):822-828.
Wu C M, Sun C Q, Fu X L, Wang X K, Li Z C, Zhang Q. Study on the relationship between quality, yield characters or indica-japonica differentiation in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Agron Sin*, 2003, 29(6):822-828. (in Chinese with English abstract)
- [9] Lanceras J C, Huang Z L, Naivikul O, Vanavichit A, Ruan-jaichon V, Tragoonrun S. Mapping of genes for cooking and eating qualities in Thai jasmine rice(KDML105). *DNA Res*, 2000, 7(2):93-101.
- [10] Bao J S, Corke H, He P, Zhu L H. Analysis of quantitative trait loci for starch properties of rice based on an RIL population. *Acta Bota Sin*, 2003, 45(8):986-994.
- [11] 张巧凤,张亚东,朱镇,赵凌,赵庆勇,许凌,王才林.稻米淀粉黏滞性(RVA谱)特征值的遗传及 QTL 定位分析.中国水稻科学,2007,21(6):591-598.
Zhang Q F, Zhang Y D, Zhu Z, Zhao L, Zhao Q Y, Xu L, Wang C L. Analysis of inheritance and QTLs of rice starch viscosity(RVA profile) characteristics. *Chin J Rice Sci*, 2007, 21(6):591-598. (in Chinese with English abstract)
- [12] Leng Y J, Xue D W, Yang Y L, Hu S K, Su Y, Huang L C, Wang L, Zheng T T, Zhang G H, Hu J, Gao Z Y, Guo L B, Qian Q, Zeng D L. Mapping of QTLs for eating and cooking quality-related traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 2014, 197(1):99-108.
- [13] 翁建峰,万向元,吴秀菊,王海莲,翟虎渠,万建民.利用 CSSL 群体研究稻米 AC 和 PC 相关 QTL 表达稳定性.作物学报,2006,32(1):14-19.
Weng J F, Wan X Y, Wu X J, Wang H L, Zhai H Q, Wan J

- M. Stable expression of QTL for AC and PC of milled rice (*Oryza sativa* L.) using a CSSL population. *Acta Agron Sin*, 2006, 32(1): 14-19. (in Chinese with English abstract)
- [14] 杨亚春, 倪大虎, 宋丰顺, 李莉, 陆徐忠, 李泽福, 杨剑波. 不同生态环境下稻米淀粉 RVA 谱特征值的 QTL 定位分析. *作物学报*, 2012, 38(2): 264-274.
Yang Y C, Ni D H, Song F S, Li L, Lu X Z, Li Z F, Yang J B. Identification of QTL for rice starch RVA profile properties under different ecological sites. *Acta Agron Sin*, 2012, 38(2): 264-274. (in Chinese with English abstract)
- [15] 张昌泉, 胡冰, 朱孔志, 张华, 冷亚麟, 汤述翥, 顾铭洪, 刘巧泉. 利用重测序的水稻染色体片段置换系定位控制淀粉黏滞性谱 QTL. *中国水稻科学*, 2013, 27(1): 56-64.
Zhang C Q, Hu B, Zhu K Z, Zhang H, Leng Y L, Tang S Z, Gu M H, Liu Q Q. Mapping of QTLs for rice RVA properties using high-throughput re-sequenced chromosome segment substitution lines. *Chin J Rice Sci*, 2013, 27(1): 56-64. (in Chinese with English abstract)
- [16] Ando T, Yamamoto T, Shimizu T, Ma X F, Shomura A, Takeuchi Y, Liu S Y, Yano M. Genetic dissection and pyramiding of quantitative traits for panicle architecture by using chromosomal segment substitution lines in rice. *Theor Appl Genet*, 2008, 116(6): 881-890.
- [17] Brabender M. The new MICRO-VISCO-AMYLO-GRAPH: Comparison of some results with those of the Viscograph. American Association of Cereal Chemists Annual Meeting, Minneapolis, 1998.
- [18] Wang S, Basten J, Zeng Z. Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. 2007; http://statgen.ncsu.edu/qlcart/WQTL_Cart.htm.
- [19] McCouch S R. Gene nomenclature system for rice. *Rice*, 2008, 1(1): 72-84.
- [20] 包劲松, 夏英武. 基因型×环境互作效应对籼稻蒸煮食用品质的影响. *浙江大学学报*, 2000, 26(2): 29-35.
Bao J S, Xia Y W. Effects of genotype × environment interaction on eating and cooking quality of indica rice. *J Zhejiang Univ*, 2000, 26(2): 29-35. (in Chinese with English abstract)
- [21] 孙亚伟. 水稻染色体单片段代换系农艺性状分析及 QTL 定位. 扬州: 扬州大学, 2009.
Sun Y W. QTL mapping for agronomic traits in chromosome segment substitution lines of rice. Yangzhou: Yangzhou University, 2009. (in Chinese with English abstract)
- [22] 彭军成. 水稻精米蛋白质含量精细定位分析. 扬州: 扬州大学, 2011.
Peng J C. Fine-mapping analysis for protein content of milled rice. Yangzhou: Yangzhou University, 2011. (in Chinese)
- [23] Zhang W W, Bi J C, Chen L M, Zheng L N, Ji S L, Xia Y M, Zhao Z G, Wang Y H, Liu L L, Jiang L, Wan J M. QTL mapping for crude protein and protein fraction contents in rice (*Oryza sativa* L.). *J Cereal Sci*, 2008, 48(2): 539-547.
- [24] Wang L Q, Liu W J, Xu Y, He Y Q, Luo L J, Xiang Y Z, Xu C G, Zhang Q F. Genetic basis of 17 traits and viscosity parameters characterizing the eating and cooking quality of rice grain. *Theor Appl Genet*, 2007, 115(4): 463-476.
- [25] 邵昕, 陈忠明, 刘正辉, 丁承强, 唐设, 李刚华, 王绍华, 丁艳锋. 越光/9311 染色体片段置换系的构建及稻米黏滞性谱特征值 QTL 分析. *分子植物育种*, 2015, 13(2): 261-268.
Shang X, Chen Z M, Liu Z H, Ding C Q, Tang S, Li G H, Wang S H, Ding Y F. QTL Mapping for rice RVA properties using chromosome segment substitution lines derived from a cross between Koshihikari and 9311. *Mol Plant Breeding*, 2015, 13(2): 261-268. (in Chinese with English abstract)
- [26] Cho Y C, Suh J P, Yoon M R, Baek M K, Won Y J, Lee J H, Park H S, Baek S H, Lee J H. QTL mapping for paste viscosity characteristics related to eating quality and QTL-NIL development in japonica rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breeding & Biotechnol*, 2013, 1(4): 333-346.
- [27] 朱霁晖, 张昌泉, 顾铭洪, 刘巧泉. 水稻 *Wx* 基因的等位变异及育种利用研究进展. *中国水稻科学*, 2015, 29(4): 431-438.
Zhu J H, Zhang C Q, Gu M H, Liu Q Q. Progress in the allelic variation of *Wx* gene and its application in rice breeding. *Chin J Rice Sci*, 2015, 29(4): 431-438. (in Chinese with English abstract)
- [28] Zheng L N, Zhang W W, Liu S J, Liu X, Chen L M, Chen X G, Ma J, Chen W W, Zhao Z G, Jiang L, Wan J M. Genetic relationship between grain chalkiness, protein content, and paste viscosity properties in a backcross inbred population of rice. *J Cereal Sci*, 2012, 56(2): 153-160.
- [29] Liu X L, Wan X Y, Ma X D, Wan J M. Dissecting the genetic basis for the effect of rice chalkiness, amylose content, protein content, and rapid viscosity analyzer profile characteristics on the eating quality of cooked rice using the chromosome segment substitution line population across eight environments. *Genome*, 2011, 54(1): 64-80.
- [30] Peng J H, Ronin Y, Fahima T, Röder M S, Li Y C, Nevo E, Korol A. Domestication quantitative trait loci in *Triticum dicoccoides*, the progenitor of wheat. *Proc Natl Acad Sci*, 2003, 100(5): 2489-2494.
- [31] Tanksley S, Nelson J. Advanced backcross QTL analysis: A method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTL from unadapted germplasm into elite breeding lines. *Theor Appl Genet*, 1996, 92(2): 191-203.
- [32] 钱春荣, 冯延江, 杨静, 刘海英, 金正勋. 水稻籽粒蛋白质含量选择对杂种早代蒸煮食味品质的影响. *中国水稻科学*, 2007, 21(3): 323-326.
Qian C R, Feng Y J, Yang J, Liu H Y, Jin Z X. Effects of protein content selection on cooking and eating properties of rice in early-generation of crosses. *Chin J Rice Sci*, 2007, 21(3): 323-326. (in Chinese with English abstract)