

应用东乡野生稻回交重组自交系群体分析糙米矿质含量 QTL

胡标林^{1,2} 黄得润¹ 肖叶青² 何强生³ 万勇^{2,*} 樊叶杨^{1,*}

(¹中国水稻研究所 国家水稻改良中心/水稻生物学国家重点实验室, 杭州 310006; ²江西农业科学院 水稻研究所/国家水稻改良中心南昌分中心, 南昌 330200; ³江西兴安种业有限公司, 江西 上饶 334300; *通讯联系人, E-mail: wanyong025@163.com, fanyeyangcnrri@163.com)

QTL Analysis for Mineral Contents in Brown Rice Using a BC₂F_{4.5} Population Derived from Dongxiang Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.)

HU BiaoLin^{1,2}, HUANG Derun¹, XIAO Yeqing², HE Qiangsheng³, WAN Yong^{2,*}, FAN Yeyang^{1,*}

(¹State Key Laboratory of Rice Biology/Chinese National Center for Rice Improvement, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China;

²Rice Research Institute, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences and Nanchang National Sub-center for Rice Improvement, Nanchang 330200, China;

³Jiangxi Xingan Seed Industry Co. Ltd, Shangrao 334300, China; *Corresponding author, E-mail: wanyong025@163.com, fanyeyangcnrri@163.com)

Abstract: 【Objective】Biofortifying food crops with essential minerals would alleviate mineral deficiencies in humans.

【Method】One plant A58 was selected from Xieqingzao B// Xieqingzao B /Dongxiang wild rice BC₁F₅ population, and was backcrossed with Xieqingzao B to develop a BC₂F_{4.5} population. The contents of Mg, Ca, Zn, Fe, Mn and Cu in brown rice of 132 BC₂F_{4.5} lines were measured with an inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP-AES). Detection of quantitative trait loci (QTLs) for mineral contents in brown rice was conducted using Windows QTL Cartographer 2.5. **【Result】**A total of 17 QTLs for mineral contents in brown rice were detected on chromosomes 1, 4, 6, 8, 9 and 11, respectively, including one for Mg content, four for Ca content, four for Zn content, two for Fe content, two for Mn content, and four for Cu content. The explained phenotypic variations ranged from 5.0% to 47.2%, and eight QTLs of them had the enhancing alleles derived from *Oryza rufipogon*. **【Conclusion】**Twelve QTLs were clustered in five chromosomal regions, indicating that common genetic-physiological mechanisms were involved for different mineral nutrients, and the beneficial alleles could be utilized to improve grain nutritional quality by marker-assisted selection.

Key words: Dongxiang wild rice; brown rice; mineral content; QTL mapping

摘 要: 【目的】强化粮食作物的必需矿物质有利于缓解人们矿质营养缺乏症。**【方法】**从协青早B//协青早B/东乡野生稻BC₁F₅群体中挑选到1个单株A58, 与协青早B回交, 构建了BC₂F_{4.5}群体。采用电感耦合等离子体原子发射光谱仪ICP-AES测定132个BC₂F_{4.5}株系的糙米Mg、Ca、Zn、Fe、Mn和Cu含量, 应用Windows QTL Cartographer 2.5进行糙米矿质QTL分析。**【结果】**共检测到17个糙米矿质含量QTL, 分别位于第1、4、6、8、9和11等6条染色体上, 包括Mg含量1个、Ca含量4个、Zn含量4个、Fe含量2个、Mn含量2个和Cu含量4个。这些QTL解释表型变异的5.0%~47.2%, 其中8个QTL的增效等位基因来自东乡野生稻。**【结论】**12个QTL聚集于5条染色体上的5个QTL簇, 表明不同矿质营养元素涉及到共同遗传生理机制, 可通过分子标记辅助选择方法将有利等位基因应用于稻米营养品质改良。

关键词: 东乡野生稻; 糙米; 矿质含量; QTL 定位

中图分类号: Q343.1⁺5; S511.03

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2018)01-0043-08

矿质元素在人体内具有很多细胞代谢和生理生化功能, 参与人体内的多种酶结构和激活^[1]。随着人们膳食结构和生活方式的变化, 矿质营养失衡日渐凸显, 已成为影响人类健康的重要因素。在人类流行的镁(Mg)、钙(Ca)、锌(Zn)、铁(Fe)、锰(Mn)和铜(Cu)等元素缺乏症中^[2], 以 Zn 和 Fe 缺乏最为

普遍^[3]。由于矿质元素不能在体内合成, 过去主要依靠保健品和药物补充等方法补充人体缺乏矿质元素以缓解矿质元素缺乏症^[4]。然而这些传统方法覆盖面小、费用高, 由此主食被认为是一种经济有效的矿质元素补充途径。因此, 通过生物强化方法提高粮食作物可食用部位中的矿质含量日益受到

收稿日期: 2017-01-19; 修改稿收到日期: 2017-04-02。

基金项目: 国家 863 计划资助项目(2014AA10A604); 江西省重点研发计划重大专项(20161ACF60022); 江西省自然科学基金资助项目(20171ACB21071); 江西省农业科学院创新基金资助项目(20161CBS002)。

研究者们的关注。

水稻作为超过 50% 全球人群赖以生存的主要粮食之一,是矿质元素生物强化的重要对象^[5]。研究表明不同基因型水稻的稻米矿质含量存在广泛的遗传变异,且遗传成分在决定稻米矿质含量中起主要作用^[6],这为筛选和选育富含矿质元素的水稻品种提供了可能性。

水稻传统育种方法主要通过表型间接对基因型进行选择,需要丰富的育种经验和较长时间;同时如稻米矿质含量等特殊性状的选择受到很多因素限制,选择效率低下。QTL 分析是解析稻米矿质含量等数量性状的有效方法,广泛应用于作物数量遗传研究。小麦^[7]、玉米^[8]和水稻^[9]等禾谷类作物中已有大量籽粒矿质含量 QTL 的研究报道。就水稻而言,已检测到稻米 Mg、Ca、Zn、Fe、Mn 和 Cu 含量 QTL 分别有 23、24、64、52、41 和 29 个,分布于水稻的 12 条染色体上,其中 Mg 含量 QTL 热点区域位于第 9 染色体上, Ca 含量 QTL 热点区域聚集于第 10 染色体上, Zn 含量 QTL 热点区域聚集于第 6、7、8、9 和 10 染色体上, Fe 含量 QTL 热点区域聚集于第 1、3 和 6 染色体上, Mn 含量 QTL 热点区域聚集于第 1、3、7、8 染色体上,而 Cu 含量 QTL 热点区域聚集于 1、2 和 4 染色体上^[9-21]。这些稻米矿质含量 QTL 大多为初定位结果,精细定位的较少,目前仅有 Yu 等^[18]利用珍汕 97/密阳 46 近等基因系将 *qZn6* 精细定位至 29.9 kb 区域,含有 3 个候选基因。上述 QTL 研究所使用的定位材料包括窄叶青 8 号/京系 17、Sasanishiki/Habataki、Ce258/IR75862、ZGX1/IR7586、Lemont/特青、春江 06/TN1 及 Bala/Azucena 等粳粳交^[9-15]、Madhukar/Swarna、PAU201/Palman 579、珍汕 97/明辉 63 及珍汕 97/密阳 46 等籼籼交^[16-19]、特青/云南野生稻^[20]野栽交和红香 1 号/松 98-131 粳粳交^[21]等不同类型的遗传群体,主要为亚种间组合群体,野栽交种间组合群体较少^[20],说明野生稻稻米矿质含量基因发掘研究还应进一步加强。

由于过去水稻育种目标过分集中于提高产量,忽视其矿质元素含量^[22],在一定程度上导致所育成水稻品种的稻米矿质营养含量较低。研究表明地方品种和野生稻等种质资源的稻米矿质含量高于栽培稻^[23,24],是水稻矿质含量改良育种的重要资源。野生稻为水稻遗传改良提供了丰富的基因库^[25],如 Garcia-Oliveira 等^[20]研究表明 31 个稻米矿质含量 QTL 中 26 个(83.9%)增效等位基因来自野生稻,因此,从野生稻中发掘有利等位基因可为栽培稻的稻

米矿质含量遗传改良提供有效途径。

东乡野生稻是全球分布最北(28°14' N)的普通野生稻,蕴含丰富的重要农艺性状有利等位基因^[26],利用这一珍稀水稻资源开展稻米矿质含量 QTL 研究具有重要意义。本研究利用协青早 B 和东乡野生稻杂交衍生的 BC₂F_{4.5} 群体,开展糙米矿质含量 QTL 分析,旨在鉴定控制矿质含量 QTL,并分析东乡野生稻有利等位基因在遗传改良上的前景。

1 材料与方法

1.1 水稻材料

本研究所用 BC₂F_{4.5} 株系材料的构建过程(图 1)如下:以前期研究^[26]的协青早 B/协青早 B/东乡野生稻 BC₁F₃ 回交重组自交系群体中的 1 个单株 A58 为母本,以协青早 B 为父本,回交 1 次并自交 1 次,获得 415 个 BC₂F₂ 单株,并自交产生 415 个 BC₂F_{2.3} 株系;利用 169 个 SSR 标记检测由 30 个 BC₂F_{2.3} 株系组成的 3 个 DNA 混池,发现 47 个 SSR 标记位点(表 1)呈杂合,其余 122 标记位点均呈纯合。利用上述 47 个 SSR 标记检测 415 个 BC₂F_{2.3} 株系,结合农艺性状考查,得到 4 个候选株系;进一步检测 4 个候选株系各 6 个单株,挑选到农艺性状接近于亲本协青早 B 的 5 个 BC₂F₃ 单株,自交收获种子;种植其自交产生的 5 个 BC₂F₄ 分离群体,每个群体种植 72 个单株,经农艺性状考查和 SSR 标记检测后,挑选到 132 个 BC₂F_{4.5} 单株,自交产生 132 个

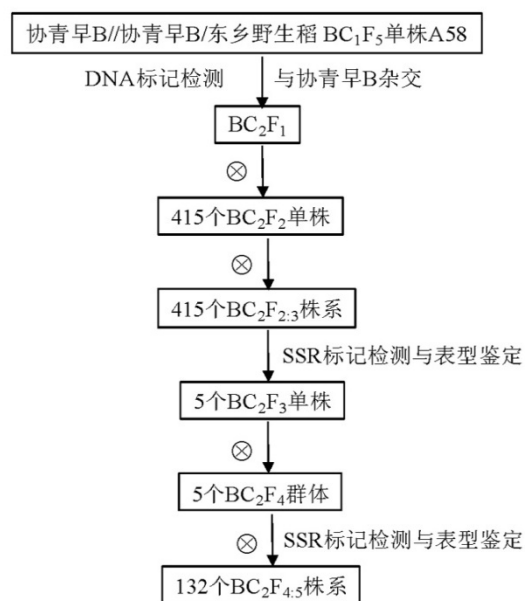


图 1 BC₂F_{4.5} 材料构建过程

Fig. 1. Procedure for developing the BC₂F_{4.5} population.

BC₂F_{4.5} 株系。

1.2 SSR 标记多态性分析

前期构建的协青早 B//协青早 B/东乡野生稻 BC₁F₅ 群体遗传图谱中共包含 41 个 RFLP 标记和 108 个 SSR 标记^[26]，针对 41 个 RFLP 标记所处区间，应用 Gramene 数据库(<http://www.gramene.org>)中的 110 对 SSR 引物，开展多态性筛选，以便应用 SSR 标记替代 RFLP 标记。由于协青早 B//协青早 B/东乡野生稻 BC₁F₅ 群体的原始杂交亲本东乡野生稻单株丢失，故随机挑选 30 份 BC₂F_{2.3} 株系 DNA 等量混合，组成 3 个 DNA 混池，结合亲本协青早 B 共计 4 份 DNA 模板进行多态性检测。在协青早 B 和 3 个 DNA 混池间筛选到 61 个呈多态的 SSR 标记，结合 BC₁F₅ 群体遗传图谱中 108 个 SSR 标记，总共 169 个 SSR 标记用于 BC₂F_{2.3} 群体基因型检测。

1.3 田间试验

2012 年 11 月–2013 年 4 月，在海南陵水种植 415 个 BC₂F_{2.3} 株系及亲本协青早 B，每个株系种植 12 个单株。株行距 16.7 cm × 26.7 cm，正常田间管理。移栽后 10 d，各株系混取中间 10 株幼苗叶片，用于 DNA 提取。2013 年 5–10 月在浙江杭州种植 5 个 BC₂F₃ 单株自交产生的 BC₂F₄ 群体，每群体种植 72 个单株。株行距 16.7 cm × 26.7 cm，正常田间管理。移栽后 10 d，每株幼苗取约 2 cm 叶片，用于 DNA 提取。2014 年 5–10 月在浙江杭州种植 132 个 BC₂F_{4.5} 株系及亲本协青早 B，重复 2 次。每个重复中各株系种植 1 行 12 个单株，株行距 16.7 cm × 26.7 cm，完全随机区组设计，正常田间管理。移栽后 10 d，选 1 个重复各株系混取 10 株幼苗叶片，约 2 cm，用于 DNA 提取。采用简易法^[27]提取所有试验材料总 DNA。

1.4 标记检测

PCR 扩增反应在 PCR 热循环仪上进行。PCR

反应体系含 10 μL 溶液，包含 5.0 μL 2×*Taq* 预混合溶液(CWBIO，北京康为世纪生物科技有限公司)、3 μL 去 RNase 酶水、1 μL DNA 模板和 3.3 ng/μL SSR 引物各 0.5 μL。PCR 扩增条件：94℃下预变性 2 min；94℃下变性 30 s，55℃下退火 30 s，72℃下延伸 30 s，共循环 29 次；最后 72℃下延伸 2 min。PCR 扩增产物检测视带型片段大小和清晰度，分别采用 2.5%琼脂糖胶分离后 GelRed 染色和 6%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后银染显色进行检测。

基因型鉴定按如下进行：协青早 B 带型记为“1”，东乡野生稻带型记为“2”，杂合带型记为“3”，缺失带型记为“0”。

1.5 糙米米粉制备和矿质含量测定

在 2014 年浙江杭州试验点，待稻谷成熟后，2 次重复中各株系混收中间 5 株稻穗，晒干脱粒后，置于常温下保存 3 个月。称取 20 g 稻谷，用 THU-35A 型砬谷机(日本佐竹公司)脱壳成糙米，再将糙米用 1093 型旋风式磨粉机(瑞典 FOSS 公司)磨制成粉，过 0.18 mm 孔径的不锈钢网筛(80 目筛)，得到糙米米粉样品，装入塑料密封袋中待测。

准确称取 0.500 g(± 0.002 g)米粉试样置于 25 mL 聚丙烯塑料管中，加入 8 mL 68%~70%硝酸(HNO₃)。将聚丙烯塑料管中混合溶液放入置于通风柜中的 DigiBlock ED54 型石墨消解仪(LabTech 中国公司)在 110℃下加热消化，约 2.5 h。溶液加热直至不再产生棕色气体且变为清亮无色，溶液剩余体积 2 mL 左右取出，切不可蒸干。再加入 3 mL 30%双氧水(H₂O₂)混合摇匀，继续在 110℃下消化 0.5 h，溶液剩余体积 1 mL 左右取出，切不可蒸干。待消化残留液冷却至室温后，用去离子水定容至 25 mL，上下摇匀。同时做空白试剂和大米米粉标准物质(GW10010)试验。

吸取 10 mL 消化溶液置于 15 mL 玻璃管中待测，

表 1 用于 BC₂F_{4.5} 群体基因型检测的 47 对 SSR 标记
Table 1. Forty-seven pairs of SSR markers for genotyping of the population.

染色体 Chromosome	标记名称 Name of marker
1	RM10176, RM10300, RM6466, RM129, RM11126
4	RM401, RM273, RM303, RM3474, RM5709, RM349, RM348
5	RM4777
6	RM588, RM190, RM6003, RM19387, RM510, RM3805, RM276, RM19795, RM527, RM3724, RM7311, RM3330, RM564, RM19953, RM1161, RM20130, RM20591, RM340
8	RM547, RM22654, RM22684, RM72, RM339, RM42
9	RM1896
11	RM229, RM254, RM21, RM206, RM254, RM1233, RM224
12	RM28597, RM270

利用去离子水、标准液制作测定标准曲线后, IRIS Intrepid II XSP 型原子发射光谱仪(Inductively coupled plasma atomic emission spectrometer, ICP-AES)进行测定, 并在工作曲线上计算出米粉样品中的 Mg、Ca、Zn、Fe、Mn 和 Cu 等矿质含量。

1.6 数据分析

在前期的遗传图谱基础上^[26], 将检测到新的 61 个 SSR 标记加密到遗传图谱, 利用 MapMaker 3.0 软件构建含 169 个 SSR 标记的遗传图谱。以 2 个重复中各性状数据的均值为基础进行数据分析, 结合新构建的遗传图谱, 应用 Windows QTL Cartographer 2.5 软件^[28], 采用复合区间作图法(composite interval mapping, CIM)进行 QTL 分析, 以 LOD=3.0 作为 QTL 阈值, 将 LOD 值最高处所对应的加性效应、显性效应和贡献率记为该 QTL 的效应。QTL 命名遵循 McCouch 和 CGSNL^[29]提出的命名法则。

2 结果与分析

2.1 BC₂F_{4:5} 群体的表型变异

BC₂F_{4:5} 群体及亲本协青早 B 的糙米 6 种矿质含量基本统计参数列于表 2。除 Fe 含量外, 其余 5 种糙米矿质含量分布均呈正态分布。6 种糙米矿质含量的遗传变异均较小, 其中 Mg 含量的变异系数最

小, 为 6.54%; 而 Ca 含量的变异系数最大, 为 12.33%。与亲本协青早 B 相比, 群体的 Mg、Ca、Zn、Fe、Mn 和 Cu 含量均值分别高 9.21%、9.14%、0.70%、2.10%、11.40%和 13.00%。

2.2 糙米矿质含量间相关性分析

由糙米矿质含量间相关性分析(表 3)可知, 有较强的证据表明 Mg、Ca、Zn、Fe 和 Mn 之间显著性较高, 而 Cu 含量与其余 5 种糙米矿质含量的相关性较低。具体表现为: 除 Ca 和 Zn 以及 Fe 和 Mn 之间不呈现显著相关外, Mg、Ca、Zn、Fe 和 Mn 含量两两之间均呈极显著正相关; Cu 含量仅与 Mg 和 Zn 含量呈显著正相关, 与 Ca 含量呈显著负相关。

2.3 糙米矿质含量 QTL 分析

采用 CIM 法对 6 个糙米矿质含量进行 QTL 分析, 以 LOD=3.0 为 QTL 阈值, 共检测到 17 个控制糙米矿质含量 QTL(表 4, 图 2), 分别位于第 1、4、6、8、9 和 11 等 6 条染色体上, LOD 介于 3.12~18.58。单个 QTL 解释糙米矿质含量的表型贡献率介于 5.0%~47.2%, 其中表型贡献率大于 10%的 QTL 有 13 个, 8 个 QTL 增效等位基因来自东乡野生稻。

本研究仅检测到 1 个控制糙米 Mg 含量 QTL *qMg1*, 位于第 1 染色体上的 RM10176—RM10300 区间内, 表型贡献率为 15.5%, 遗传作用模式为部分显性, 其协青早 B 增效等位基因可增加糙米 Mg 含量 41.76 mg/kg。

表 2 协青早 B³/东乡野生稻 BC₂F_{4:5} 群体糙米矿质含量

Table 2. Performance of mineral contents in brown rice in a Xieqingzao B³/Dongxiang wild rice BC₂F_{4:5} population.

含量 Content	BC ₂ F _{4:5} 群体 BC ₂ F _{4:5} population						协青早 B Xieqingzao B /(mg·kg ⁻¹)
	平均值 Mean /(mg·kg ⁻¹)	标准差 SD	变异系数 CV/%	范围 Range /(mg·kg ⁻¹)	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	
Mg	1384.00	90.56	6.54	1207~1637	0.61	0.17	1256.00
Ca	148.20	18.28	12.33	115.2~201.4	0.54	-0.35	134.70
Zn	26.90	2.07	7.70	22.66~32.06	0.27	-0.46	26.71
Fe	12.64	1.11	8.78	10.70~16.13	1.46	3.87	12.38
Mn	43.11	3.93	9.12	35.61~53.56	0.33	-0.55	38.21
Cu	3.19	0.26	8.15	2.64~3.87	0.14	-0.44	2.77

表 3 协青早 B³/东乡野生稻 BC₂F_{4:5} 群体糙米矿质含量间相关分析

Table 3. Correlation analysis between mineral contents in brown rice in a Xieqingzao B³/Dongxiang wild rice BC₂F_{4:5} population.

性状 Trait	Mg	Ca	Zn	Fe	Mn
Ca	0.288**				
Zn	0.362**	-0.057			
Fe	0.343**	0.241**	0.263**		
Mn	0.514**	0.568**	0.387**	0.048	
Cu	0.186*	-0.212*	0.188*	-0.013	0.164

*, ** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上显著相关。
*, ** significant at 0.05 and 0.01 level, respectively.

表 4 协青早 B³/东乡野生稻 BC₂F_{4.5} 群体糙米矿质含量 QTL
Table 4. QTLs for mineral contents in brown rice in the BC₂F_{4.5} population derived from Dongxiang wild rice.

性状 Trait	QTL	区间 Interval	LOD 值 LOD value	加性效应 ^a Additive effect ^a	显性效应 Dominance effect	显性度 Dominance degree	贡献率 Proportion of the variance explained/%	文献 Reference
Mg	<i>qMg1</i>	RM10176–RM1030	4.86	−41.76	−18.81	−0.45	15.5	20
Ca	<i>qCa1</i>	RM10176–RM1030	8.73	−9.00	−4.36	−0.48	15.1	
	<i>qCa4</i>	RM273–RM303	3.12	17.88	−4.98	−0.28	13.6	20
	<i>qCa6</i>	RM588–RM204	9.62	10.11	9.66	0.96	17.2	18
	<i>qCa11</i>	RM21–RM206	7.27	−5.17	10.56	2.04	13.5	
	<i>qZn4</i>	RM3474–RM5709	11.01	0.99	0.06	0.06	16.1	9, 11
Zn	<i>qZn6.1</i>	RM588–RM204	3.77	−0.66	−0.24	−0.37	5.0	9, 11, 14, 15, 18
	<i>qZn6.2</i>	RM20591–RM340	6.10	−0.92	0.21	0.22	8.3	13
	<i>qZn8</i>	RM72–RM22654	7.48	−0.97	−0.02	−0.02	11.2	10, 15
	<i>qFe1</i>	RM140–RM129	3.66	1.31	0.82	0.63	38.8	19
Fe	<i>qFe11</i>	RM206–RM254	3.73	0.25	0.99	3.93	23.1	
	<i>qMn6</i>	RM7311–RM3330	3.24	−0.49	2.06	4.18	5.8	
Mn	<i>qMn11</i>	RM21–RM206	18.58	−2.81	1.90	0.68	47.2	9
	<i>qCu6.1</i>	RM588–RM204	3.85	−0.11	0.34	3.14	10.7	15, 18, 20
Cu	<i>qCu6.2</i>	RM3724–RM7311	6.08	0.05	0.20	3.66	16.6	
	<i>qCu8</i>	RM547–RM72	7.40	0.14	−0.18	−1.29	21.9	15
	<i>qCu9</i>	RM1896–RM566	3.59	0.09	0.08	0.86	9.6	21

^a 加性效应是指东乡野生稻等位基因取代协青早 B 等位基因。
^aAdditive effect of replacing an Xieqingzao B allele by Dongxiang wild rice allele.

检测到 4 个控制糙米 Ca 含量的主效 QTL，分布于第 1、4、6 和 11 染色体上，贡献率介于 13.5%~17.2%。其中 *qCa1* 和 *qCa4* 的遗传作用模式均为部分显性，其增效等位基因分别来自协青早 B 和东乡野生稻，加性效应分别为 9.00 mg/kg 和 17.88 mg/kg；*qCa6* 表现完全显性，加性效应和显性效应分别为 10.11 mg/kg 和 9.66 mg/kg；*qCa11* 的遗传作用模式为超显性，增效等位基因来自协青早 B，显性效应值为 10.56 mg/kg。

共检测到 4 个糙米 Zn 含量 QTL，分别位于第 4、6 和 8 等 3 条染色体上，贡献率介于 5.0%~16.1%。其中 *qZn4* 和 *qZn8* 的遗传作用模式均为加性，其增效等位基因分别来自东乡野生稻和协青早 B，加性效应为 0.99 mg/kg 和 0.97 mg/kg；其余 *qZn6.1* 和 *qZn6.2* 的遗传作用模式为部分显性，其增效等位基因均来自协青早 B，加性效应分别为 0.66 mg/kg 和 0.92 mg/kg。

检测到 2 个控制糙米 Fe 含量 QTL，*qFe1* 和 *qFe11*，表型贡献率分别为 38.8%和 23.1%，其中 *qFe1* 的遗传作用模式为部分显性，其东乡野生稻等位基因分别增加糙米 Fe 含量 1.31 mg/kg；*qFe11* 的遗传作用模式为超显性，增效等位基因来自东乡野生稻，显性效应值为 0.99 mg/kg。

检测到 2 个控制糙米 Mn 含量 QTL，分别位于第 6 和 11 染色体上，表型贡献率分别为 5.8%和 47.2%。其中，*qMn6* 的遗传作用模式为超显性，增效等位基因来自协青早 B，显性效应值为 2.06 mg/kg；*qMn11* 的遗传作用模式为部分显性，增效等位基因来自协青早 B，加性效应值和显性效应值分别为 2.81 mg/kg 和 1.09 mg/kg。

检测到 4 个控制糙米 Cu 含量 QTL，分别位于第 6、8 和 9 等 3 条染色体上，其贡献率介于 9.6%~21.9%。其中 *qCu6.1*、*qCu6.2* 和 *qCu8* 的遗传作用模式均为超显性，前者的增效等位基因来自协青早 B，后两者的增效等位基因来自东乡野生稻，显性效应值分别为 0.34、0.20 和 0.18 mg/kg；*qCu9* 的遗传作用模式为显性，增效等位基因均来自东乡野生稻，显性效应值为 0.08 mg/kg。

3 讨论

近年来，随着人们膳食结构和生活方式的变化，矿质营养缺乏已成为影响人体健康的重要因素。由于稻米的全球消费量大，稻米矿质含量略微增加便可有效缓解人类矿质元素缺乏症^[6]。理解稻米矿质含量遗传变异和矿质含量等位基因间的差异对稻

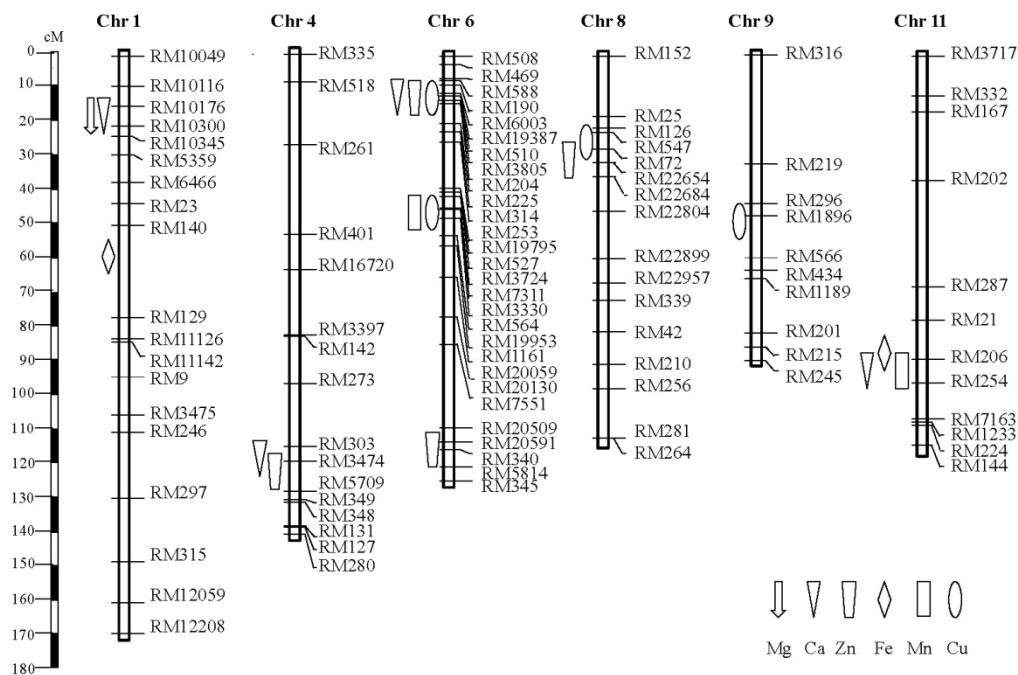


图2 糙米Mg、Ca、Zn、Fe、Mn及Cu含量QTL的染色体位置

Fig. 2. Chromosomal positions of the QTLs conferring Mg, Ca, Zn, Fe, Mn and Cu contents in brown rice.

米矿质含量的遗传改良非常重要。人们习惯食用稻米部位为精米，尽管其矿质含量低于糙米^[30]，但与糙米矿质含量密切相关；其次，高矿质含量稻米可以通直接食用糙米或加工成米制品以提高稻米矿质含量的利用效率。为此，本研究利用野生稻和栽培稻种杂交构建BC₂F_{4.5}群体开展糙米矿质含量QTL分析。

3.1 糙米矿质含量间的相关性

糙米矿质含量间的相关性已有较多报道。糙米Mg含量与Ca含量^[18, 31, 32]、Zn含量^[18, 31]、Fe含量^[31, 33]、Mn含量^[18, 31-33]及Cu含量^[18]呈显著或极显著正相关。糙米Ca含量与Zn、Fe含量^[18, 31, 33]及Mn含量^[18, 31-34]呈极显著正相关，而与Cu含量^[33]呈极显著负相关。糙米Zn含量与Fe含量^[23, 31-33]、Mn含量^[18, 23]及Cu含量^[18, 32, 33]均呈显著或极显著正相关。糙米Fe含量与Cu含量^[34]及Mn含量^[23, 31, 33]均呈显著或极显著正相关。糙米Mn含量与Cu含量均呈显著或极显著正相关^[18, 31, 33]。

本研究结果表明，Mg含量与Ca、Zn、Fe及Mn含量呈极显著正相关，与Cu含量呈显著正相关；Ca含量与Fe和Mn含量呈极显著正相关，而与Cu含量呈显著负相关；Zn含量与Fe和Mn含量呈极显著正相关，与Cu含量呈显著正相关。上述结果与前人结果较为一致，尤其是Mg、Zn和Mn含量间均呈显著

或极显著正相关，表明这些矿质含量间存在稳定的协同效应，将有助于稻米不同矿质元素的聚合改良，应在育种实践中得到重视。

3.2 糙米矿质含量QTL

本研究共检测到17个糙米矿质含量QTL，其中8个QTL的有利等位基因来自东乡野生稻，这些有利的野生稻等位基因成功导入到协青早B背景将促进稻米矿质营养的遗传改良。

在17个QTL中，有13个QTL与前人报道的糙米矿质含量QTL区间重叠或相近(表3)。其中Mg含量和Fe含量QTL各1个QTL，即 $qMg1$ 与Garcia-Oliveira等^[20]报道的糙米Mg含量QTL重叠， $qFe1$ 位于Anuradha等^[19]检测到的糙米Fe含量QTL $qFe1.1$ 区间内。Ca含量和Mn含量QTL各2个，即 $qCa4$ 和 $qCa6.1$ 分别与糙米含量QTL $qCa4-1$ ^[20]和糙米及精米Ca含量QTL^[18, 35]相近， $qMn6$ 和 $qMn11$ 分别与糙米Mn含量QTL^[9]和精米Mn含量QTL^[18]部分重叠。Cu含量QTL有3个，即 $qCu6.1$ 分别与2个报道中的糙米Cu含量QTL^[15, 20]及Yu等^[18]报道的精米Cu含量QTL重叠； $qCu8$ 位于Norton等^[15]检测到的 $qCu8$ 标记区间内； $qCu9$ 与黄莹莹等^[21]报道的糙米Cu含量QTL相同。Zn含量QTL有4个，分别为 $qZn4$ 与2个报道中的糙米Zn含量QTL^[9, 11]区间一致； $qZn6.1$ 与3个研究中的糙

米 Zn 含量^[9, 11, 15]和 2 个研究中的精米 Zn 含量 QTL^[14, 18]部分重叠；*qZn6.2* 位于 Xu 等^[13]检测的精米 Zn 含量 QTL *qZn6* 区间内；*qZn8* 与糙米 Zn 含量 QTL^[10, 16]和 Xu 等^[13]检测的精米 Zn 含量 QTL 重叠。值得注意的是，本研究检测到 LOD 值最高的矿质含量 QTL 均在前人相同元素含量 QTL 定位研究中被检测到。上述在不同环境和遗传背景中共同检测到的控制稻米矿质含量染色体区间，可能是有潜在利用价值的稻米含量 QTL。此外，由于本研究利用 BC₂F_{4.5} 分离群体的遗传背景较为纯合(纯合率为 72.19%)，一定程度上也导致已报道的位于这些纯合区域的稻米矿质含量 QTL 在本研究中未被检测到。

在 QTL 定位研究中，相关性状 QTL 通常成簇分布于相同或相邻的染色体区间内，这可能是由基因的多效性和多个基因的紧密连锁引起的。本研究检测到的 17 个糙米矿质含量 QTL 分别聚集于 6 条染色体上的 5 个 QTL 簇中，这也证实了 QTL 多效性的存在。控制 3 种不同糙米矿质含量 QTL 分别位于第 6 和第 11 染色体上的 2 个 QTL 簇中，如控制 Ca、Zn 和 Cu 含量 QTL 位于第 6 染色体的 RM588–RM204 区间和控制 Ca、Fe 和 Mn 含量 QTL 第 11 染色体上的 RM206–RM254 区间。控制 2 个不同稻米矿质含量 QTL 位于第 1、6 和 8 染色体上的 3 个 QTL 簇，如控制 Ca 和 Zn 含量 QTL 位于第 4 染色体上 RM273–RM5709 区间，且这 2 个 QTL 的有利等位基因均来自东乡野生稻。由上述分析可知，除了第 1 染色体上的 RM10176–RM10300 区间和第 4 染色体上的 RM273–RM5709 区间的 QTL 增效等位基因方向一致外，其余 3 个 QTL 簇中的 QTL 增效等位基因方向不同，表明对某些性状有利的野生稻等位基因可能对另一些性状的影响不利。在 5 个 QTL 簇中，QTL 簇 *qCa4/qZn4* 均为主效 QTL，且其有利等位基因来自东乡野生稻，将成为进一步精细定位和克隆的候选对象；相应地，从群体中挑选到含该 QTL *qCa4/qZn4* 的株系 108，其糙米 Ca 和 Zn 含量分别为 142.80 mg/kg 和 32.06 mg/kg，该株系可应用于稻米 Zn 和 Ca 含量改良育种。由于初定位区间较大，一般难以判断 QTL 簇的成因。因此，需将 QTL 簇中的不同 QTL 分解到更小的区间内，以探究 QTL 的一因多效机理以及不同性状 QTL 簇的存在形式，可为多性状的同步改良或标记辅助选择提供有力的手段，如同时开展稻米中多个矿质元素的聚合改良。

谢辞：感谢中国水稻研究所庄杰云研究员对本研究的悉心指导！

参考文献：

- [1] Stein A J. Global impacts of human mineral malnutrition. *Plant Soil*, 2010, 335(1/2): 133-154.
- [2] White P J, Brown P H. Plant nutrition for sustainable development and global health. *Ann Bot*, 2010, 105(7): 1073-1080.
- [3] Rawat N, Neelam K, Tiwari V K, Dhaliwal H S. Biofortification of cereals to overcome hidden hunger. *Plant Breeding*, 2013, 132: 437-455.
- [4] Bashir K, Takahashi R, Nakanishi H, Nishizawa N K. The road to micronutrient biofortification of rice: Progress and prospects. *Front Plant Sci*, 2013, 4: 15.
- [5] Bhullar N K, Gruissem W. Nutritional enhancement of rice for human health: The contribution of biotechnology. *Biotech Adv*, 2013, 31(1): 50-57.
- [6] Gregorio G B, Senadhira D, Htut T. Breeding for trace mineral density in rice. *Food Nutr Bull*, 2000, 21(4): 382-386.
- [7] Srinivasa J, Arun B, Mishra V K, Singh G P, Velu G, Babu R, Vasistha N K, Joshi A K. Zinc and iron concentration QTL mapped in a *Triticum spelta* × *T. aestivum* cross. *Theor Appl Genet*, 2014, 127(7): 1643-1651.
- [8] Šimić D, Mladenovic D S, Zdunic Z, Jambrović A, Ledencan T, Brkić J, Brkić A, Brkić I. Quantitative trait loci for biofortification traits in maize grain. *J Hered*, 2012, 103: 47-54.
- [9] Zhang M, Pinson S R M, Tarpley L, Huang X Y, Lahner B, Yakubova E, Baxter I O, Guerinot M L, Salt D E. Mapping and validation of quantitative trait loci associated with contents of 16 elements in unmilled rice grain. *Theor Appl Genet*, 2014 127: 137-165.
- [10] Du J, Zeng D L, Wang B, Qian Q, Zheng S, Ling H Q. Environmental effects on mineral accumulation in rice grains and identification of ecological specific QTLs. *Environ GeoChem Health*, 2013, 35(2): 161-170.
- [11] Zhang X Q, Zhang G P, Guo L B, Wang H, Zeng D L. Identification of quantitative trait loci for Cd and Zn concentrations of brown rice grown in Cd-polluted soils. *Euphytica*, 2011, 180(2): 173-179.
- [12] Ishikawa S, Abe T, Kuramata M, Yamaguchi M, Ando T, Yamamoto T, Yano M. A major quantitative trait locus for increasing cadmium-specific concentration in rice grain is located on the short arm of chromosome 7. *J Exp Bot*, 2010, 61: 923-934.
- [13] Xu Q, Zheng T Q, Hu X, Cheng L R, Xu J L, Shi Y M, Li Z K. Examining two sets of introgression lines in rice (*Oryza sativa* L.) reveals favorable alleles that improve grain Zn and Fe concentrations. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0131846. doi:10.1371/journal.pone.0131846.

- [14] Norton G J, Deacon C M, Xiong L Z, Huang S Y, Meharg A A. Genetic mapping of the rice ionome in leaves and grain: Identification of QTLs for 17 elements including arsenic, cadmium, iron and selenium. *Plant Soil*, 2010, 329(1/2): 139-153.
- [15] Norton G J, Duan G L, Lei M, Zhu Y G, Meharg A A, Price A H. Identification of quantitative trait loci for rice grain element composition on an arsenic impacted soil: Influence of flowering time on genetic loci. *Ann Appl Biol*, 2012, 161(1): 46-56.
- [16] Kumar K, Jian S, Jian R K. Linkage mapping for grain iron and zinc content in F₂ population derived from the cross between PAU201 and Palman 579 in rice (*Oryza sativa* L.). *Cereal Res Comm*, 2014, 42(3): 389-400.
- [17] Lu K Y, Li L Z, Zheng X F, Zhang Z, Mou T, Hu Z. Quantitative trait loci controlling Cu, Ca, Zn, Mn and Fe content in rice grains. *J Genet*, 2008, 87(3): 305-310.
- [18] Yu Y H, Shao Y F, Liu J, Fan Y Y, Sun X C, Cao Z Y, Zhuang J Y. Mapping of quantitative trait loci for contents of macro- and microelements in milled rice (*Oryza sativa* L.). *J Agric Food Chem*, 2015, 63, 7813-7818.
- [19] Anuradha K, Agarwal S, Rao K V, Rao K V, Viraktamath B C, Sarla N. Mapping QTLs and candidate genes for iron and zinc concentrations in unpolished rice of Adhukar × Swarna RILs. *Gene*, 2012, 508(2): 233-240.
- [20] Garcia-Oliveira A L, Tan L B, Fu Y C, Sun C Q. Genetic identification of quantitative trait loci for contents of mineral nutrients in rice grain. *J Integr Plant Biol*, 2009, 51: 84-92.
- [21] 黄莹莹, 邹德堂, 王敬国, 刘化龙, 兴旺, 马婧, 武琦. 水稻子粒锰、铁、锌、铜含量的QTL定位分析. 作物杂志, 2012(6): 77-81.
Huang Y Y, Zou D T, Wang J G, Liu H L, Xing W, Ma J, Wu Q. QTL mapping for Mn, Fe, Zn and Cu contents in rice grains. *Crops*, 2012(6): 77-81. (in Chinese with English abstract)
- [22] Sands D C, Morris C E, Dratz E A, Pilgeram A. Elevating optimal human nutrition to a central goal of plant breeding and production of plant-based foods. *Plant Sci*, 2009, 177(5): 377-389.
- [23] Anandan A, Rajiv G, Eswaran R, Prakash M. Genotypic variation and relationships between quality traits and trace elements in traditional and improved rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *J Food Sci*, 2011, 76(4): 122-130.
- [24] Jiang S L, Shi C H, Wu J G. Studies on mineral nutrition and safety of wild rice (*Oryza* L.). *Int J Food Sci Nutr*, 2009, 60(s1): 139-147.
- [25] Tanksley S D, McCouch S R. Seed banks and molecular maps: Unlocking genetic potential from the wild. *Science*, 1997, 277: 1063-1066.
- [26] 黄得润, 陈洁, 侯丽娟, 樊叶杨, 庄杰云. 协青早B/协青早B/东乡野生稻BC₁F₃群体产量性状QTL分析. 农业生物技术学报, 2008, 16(6): 977-982.
Huang D R, Chen J, Hou L J, Fan Y Y, Zhuang J Y. Identification of QTLs for yield traits in the BC₁F₃ population of Xieqingzao B//Xieqingzao B/Dongxiang wild rice. *J Agric Biotech*, 2008, 16(6): 977-982. (in Chinese with English abstract)
- [27] Zheng K L, Huang N, Bennet J. PCR-based marker-assisted selection in rice breeding//IRRI Discussion Paper Series No. 12. Manila: IRRI, 1995: 1-24.
- [28] Wang S C, Basten C J, Zeng Z B. Windows QTL cartographer 2.5. Raleigh, NC: Department of Statistics, North Carolina State University, 2012. <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>.
- [29] McCouch S R, CGSNL. Gene nomenclature system for rice. *Rice*, 2008, 1: 72-84.
- [30] Jiang S L, Wu J G, Thang N B, Feng Y, Yang X E, Shi C H. Genotypic variation of mineral elements contents in rice (*Oryza sativa* L.). *Eur Food Res Technol*, 2008, 228: 115-122.
- [31] Jiang S L, Wu J G, Feng Y, Yang X E, Shi C H. Correlation analysis of mineral element contents and quality traits in milled rice (*Oryza sativa* L.). *J Agric Food Chem*, 2007, 55(23): 9608-9613.
- [32] 孙明茂, 杨仁昌, 李点浩, 崔仁守, 曹桂兰, 李圭星, 金弘烈, 于元杰, 李英泰, 韩龙植. 粳稻“龙锦1号/香软米1578”F₃家系群糙米矿质元素含量变异及相关性分析. 中国水稻科学, 2008, 22(3): 290-296.
Sun M M, Yang R C, Li D H, Choi I S, Cao G L, Lee K S, Kim H Y, Yu Y J, Lee Y T, Han L Z. Variation and correlation analysis of mineral element contents in brown rice of F₃ lines from japonica combination “Longjin 1/Xiangruanmi 1578”. *Chin J Rice Sci*, 2008, 22(3): 290-296. (in Chinese with English abstract)
- [33] 曾亚文, 申时全, 汪禄祥, 刘家富, 普晓英, 杜娟. 云南稻种矿质元素含量与形态及品质性状的关系. 中国水稻科学, 2005, 19(2): 127-131.
Zeng Y W, Shen S Q, Wang L X, Liu J F, Pu X Y, Du J. Relationship between morphological and quality traits and mineral element content in Yunnan rice. *Chin J Rice Sci*, 2005, 19(2): 127-131. (in Chinese with English abstract)
- [34] Pinson S R M, Tarpley L, Yan W G, Yeater K, Lahner B, Yakubovich E, Huang X Y, Zhang M, Mary G M L, Salti D E. Worldwide genetic diversity for mineral element concentrations in rice grain. *Crop Sci*, 2015, 55(1): 294-311.
- [35] Huang Y, Tong C, Xu F F, Chen Y L, Zhang C Y, Bao J S. Variation in mineral elements in grains of 20 brown rice accessions in two environments. *Food Chem*, 2016, 192: 873-878.