

籼爪交水稻 F₂ 群体的蒸煮食味品质研究

康翠芳, 向珣朝, 龙小林, 苏文丽, 许顺菊

(西南科技大学植物分子遗传育种实验室, 四川 绵阳 621010)

摘要: 分析了籼型高直链淀粉恢复系 CG133R 与糯性爪哇稻 22 号杂交衍生的 F₂ 群体的蒸煮品质变异及其与淀粉粘滞性特征间的相关性, 以及 F₂ 群体颗粒结合淀粉合成酶 (*Wx^a* 基因) 和可溶性淀粉合成酶 (*SS II-3* 基因) 主效基因的遗传。结果表明: 蒸煮品质指标和 RVA 谱特征值在 F₂ 群体中广泛分离, 其中变异最大的是消减值, 其次为胶稠度、直链淀粉含量。高直链淀粉材料各理化指标与 RVA 谱特征值的相关性不显著; RVA 谱特征值在中、低直链淀粉含量和糯稻群体中与各理化指标存在显著或极显著相关; 在中、低直链淀粉材料中, RVA 谱特征值与糊化温度 (GT) 也存在显著或极显著相关。用 *Wx^a* 基因和 *SS II-3* 基因的分子标记检测到这两个基因在 F₂ 群体中存在偏分离, 分别指向两个亲本类型。除高直链淀粉材料外, 可以通过 RVA 谱特征值来辅助筛选优质水稻品种。

关键词: 水稻 (*Oryza sativa* L.); 蒸煮食味品质; 籼爪交; 变异; 相关分析; 偏分离

Studies on Cooking and Eating Quality of F₂ Population of *Indica/Javanica* Rice

KANG Cui-fang, XIANG Xun-chao, LONG Xiao-lin, SU Wen-li, XU Shun-ju

(Lab of Plant Molecular Genetics and Breeding, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010)

Abstract: A rice F₂ population was obtained from a hybrid cross of the *indica* restorer line CG133R with high amylose content and the glutinous rice variety *javanica* 22. The variation and their correlation between the cooking and eating quality and starch RVA characteristic values were analyzed and the genetics of the major genes (*Wx^a* and *SS II-3*) controlling the physicochemical indexes in the F₂ population were examined. The results indicated that the physicochemical indexes and RVA profile characteristics widely separated in F₂ population, among these indices, setback with the maximum variation, followed by gel consistency and amylose content. A correlation of physicochemical indexes of materials with high amylose content were not significant with RVA profile characteristics. RVA profile characteristics in materials with medium, low amylose content and glutinous rice groups had significant or extremely significant correlation with the physical and chemical indices. In materials with medium and low amylose content, there also had significant or extremely significant correlation with gelatinization temperature (GT). Separation of *Wx^a* and *SS II-3* genes in F₂ population was detected using molecular marker and showed that the two molecular markers existed partial separation and deviated to two parent types, respectively. There was more variation in the F₂ population except for the materials with high amylose content. RVA profile characteristics could be used for assisted-selection for quality rice breeding.

Key words: rice (*Oryza sativa* L.); cooking and eating quality; crossing of *indica* and *javanica*; variation; correlation analysis; distorted-segregation

收稿日期: 2014-08-28 修回日期: 2014-10-19 网络出版日期: 2015-04-10

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20150410.1603.002.html>

基金项目: 四川省教育厅重点项目 (13ZA0272); 四川省生物质资源利用与改性工程技术研究中心开放基金项目 (12ZXSK08); 西南科技大学研究生创新基金资助项目 (14ycx075)

第一作者研究方向为植物分子遗传育种。Email: kangcuifang@126.com

通信作者: 向珣朝。E-mail: xiangxunchao@swust.edu.cn

优质的稻米品质是育种研究者和消费者首要考虑的主要目标。国内外对稻米品质方面的研究已有不少报道,关于稻米品质的评价基本相同^[1-4]。稻米品质的评价主要有4个方面:外观品质、碾磨品质、蒸煮食味品质、营养品质,其中蒸煮食味品质是最重要的指标。蒸煮食味品质的评价主要从表观直链淀粉含量(AAC, apparent amylose content)、胶稠度(GC, gel consistency)、糊化温度(GT, gelatinization temperature)来进行。淀粉黏滞性特征谱(RVA, rapid visco analyzer)^[5]由于其能更真实地反映米饭的质地和口感,稻米淀粉的黏滞特性作为体现食用品质的重要指标之一备受重视。RVA辅助评价稻米品质的研究已有不少报道,不同水稻品种的RVA谱差异较大^[6],特别是糯稻与非糯稻的RVA谱差异悬殊。此外,暗胚乳米、软米、饵块米之间的品质也差异较大^[7]。黏稻与糯稻、软米在食味品质方面存在显著差异。软米是一种优质的稻种资源,直链淀粉介于黏糯稻之间,一般为6%~15%,米饭软而不粘,富有弹性,具有冷不回生,冷饭口感和膨化性好等特点^[8]。前人研究所用材料多为不同水稻品种,蒸煮食味品质各有特色,研究结果的可靠性就取决于收集材料的代表性和广泛性,导致研究结论之间差异较大。

稻米胚乳淀粉由直链淀粉和支链淀粉组成。大量研究表明,编码颗粒结合淀粉合成酶的Wx基因是控制AAC、GC以及大部分RVA特征值的主效基因^[9-13],而可溶性淀粉合成酶SS II-3(SSIIa)基因是控制糊化温度GT的主效基因^[14-18]。吴洪恺等^[19]利用苏御糯为供体构建的近等基因系的研究表明,Wx基因对RVA谱特征值的表现起主要作用。L. Jin等^[20]的研究表明,SS IIa标记位点表现为偏分离。目前在Wx座位上已经发现存在5种复等位基因(Wx^a、Wx^b、Wx^{op}、Wxⁱⁿ和wx),分别存在于普通籼稻、粳稻、云南软米品种、美国长粒粳稻Lemont和糯稻中^[21-23]。有关2个主效基因对稻米蒸煮食味品质的影响已有不少报道,已经证明非糯性基因(Wx)对糯性基因(wx)表现为不完全显性,存在较为明显的剂量效应^[24],但是关于Wx^a和SS II-3这2个基因的遗传分析报道较少。

鉴于上述问题,本研究利用糯性爪哇稻22与籼型高直链淀粉CG133R为亲本杂交衍生出的F₂群体为材料进行蒸煮食味品质指标的变异和相关性分析,并对Wx^a与SS II-3基因在F₂群体中的遗传分离进行分析,以期揭示各指标对食味品质评价的影响。由于F₂群体在蒸煮食味品质性状上的变异丰富,避免了不同水稻品种差异造成的影响,能更准确地反

应蒸煮食味品质和RVA谱之间的关系,为分子标记辅助选择优质水稻品种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

利用籼型高直链淀粉恢复系CG133R(AAC~28%)和糯性爪哇稻22(AAC~0.7%,来自爪哇稻资源香大粒的自然突变)为亲本配制组合,杂种F₁自交获得由109个单株组成的F₂群体。田间管理按照常规进行。稻谷成熟后单株收获种子,自然风干后,在50℃恒温烘箱中烘48h存放备用。经TR-200电动砻谷机(日本Kett)脱壳成糙米,用AH000121试验用小型精米机(日本Kett)磨成精米后,进一步经Lm3100高速锤式通用粉碎磨(瑞典Perten)磨成米粉,过100目筛后用于品质测定。

1.2 稻米蒸煮品质指标的测定

1.2.1 理化指标测定 糊化温度以碱消值(ASV)表示,糊化温度和胶稠度按农业部标准NY147-88测定^[25],表观直链淀粉含量测定方法按中华人民共和国国家标准GB/T 15683-1995进行测定^[26]。重复测定2次。

1.2.2 稻米淀粉粘滞性测定 采用澳大利亚Newport Scientific仪器公司生产的“3D”型黏度速测仪,及TCW(Thermal Cycle for Windows)配套软件,按AACC(美国谷物化学家协会)操作规程(1995 61-02)进行测定^[27],稻米粉含水量为12.0%时,取样3.00g,蒸馏水25.00mL,加于罐内。仪器开始运行后,搅拌器在起始10s内以960r/min转动,之后保持在160r/min;罐内温度变化如下:50℃保持1min,以12℃/min升温到95℃,95℃保持2.5min,再以12℃/min降温到50℃,50℃保持1.4min。RVA谱特征值用峰值黏度(PKV, peak viscosity)、热浆黏度(HPV, hot paste viscosity)、冷胶黏度(CPV, cool paste viscosity)、崩解值(BDV, breakdown value)、消减值(SBV, setback value)、回复值(CSV, consistence value)、峰值时间(PeT, peak time)和成糊温度(PaT, pasting temperature)表示。黏滞性特征值以“Rapid Visco Units”(RVU)为单位。重复测定2次。

1.3 DNA提取和基因型检测

采用CTAB法提取水稻叶片基因组DNA,利用蔡秀林等^[28]开发的分子标记PCR-AccI检测亲本Wx基因第一内含子+1位碱基类型;利用P. Bundock等^[29]开发的引物SNP2FF&SNP2FR&SNP2R5、SSIIAFF1&SSIIAFR1&SNP3F2、SSIIAFF1&SSIIAFR1&FNPR3分别检测

亲本 *SS IIa* 基因第 8 外显子的单倍型;再利用田志喜等^[30]发展的分子标记 *W_xM1*、*SSII-3M1* 检测亲本及 F₂ 群体的 *W_x* 和 *SS II-3* 基因的基因型。这些用于检测的分子标记的碱基序列见表 1。

表 1 水稻淀粉合成相关基因的分子标记

Table 1 Molecular markers used to amplify starch synthesis-related genes in rice

基因 Gene	分子标记 Molecular marker	引物碱基序列(5'-3') Primer sequence	标记类型 Type	预期片段(bp) Predicted fragment
<i>SS IIa</i>	SS II-3 M1	[F] CCAATACCGTAAACTAGCGACTATG	STS	90
		[R] TACAGGTAGAATGGCAGTGCTG		81
<i>W_x</i>	<i>W_x</i> M1	[F] CACAGCAACAGCTAGACAACCAC	STS	275
		[R] CACGACGACGGAGGGGAAC		252
<i>W_x</i>	PCR-AccI	[F] gCTTCACTTCTCTGCTTGTG [R] ATGATTTAACGAGAGTTGAA	CAPS(AccI)	460 403 + 57
<i>S IIa</i>	SNP2FF	[F] AGAACGACTGGAAGATGAACG	SNP2(A/G)	100 ~ 300 之间
	SNP2FR	[R] GATGTCCACACCTTCTGCC		
	SNP2R5	CTTGACCCGCGCTTGCC		
	SSIIAFF1	[F] GGGTGGGTGGGGTTCTCG	SNP3(A/G)	350 ~ 450 之间
	SSIIAFR1	[R] CACCATTGGTACTTGGCCTTG AC		
	SNP3F2	GCGGGCTGAGGGACAGCA		
	SSIIAFF1	[F] GGGTGGGTGGGGTTCTCG	SNP4(GC/TT)	350 ~ 450 之间
	SSIIAFR1	[R] CACCATTGGTACTTGGCCTTG AC		
	FNPR3	GCCGCGCACCTGGAAA		

PCR 反应在 Bio-Rad DNA Engine Dyad 上运行, PCR 反应体系为 10 μL; 2 × Reaction Mix(500 μmol/L dNTP each, 20 mmol/L Tris-HCl(pH 8.3), 100 mmol/L KCl, 3 mmol/L MgCl₂, 其他稳定剂和增强剂) 5 μL, 5 U/μL *Taq* DNA Polymerase 0.3 μL, 1 μmol/L 前后引物各 1 μL; 25 ng/μL DNA 模板 1 μL; ddH₂O 1.7 μL。所用药品和试剂购置于天根生化科技(北京)有限公司和成都市博瑞克生物技术有限公司。

分子标记 PCR-AccI 的扩增程序为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 55 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 35 个循环, 72 °C 延伸 10 min。扩增产物需要进一步酶切验证。

15 μL 酶切体系: 10 μL 扩增产物 + 1.5 μL 10 × 酶切缓冲液 + 0.5 μL 内切酶 + 3 μL ddH₂O。37 °C 保温 2 h 后, 取酶切产物 2% 琼脂糖电泳检测。

分子标记 *W_xM1* 和 *SSII-3M1* 的 PCR 扩增程序: 94 °C 预变性 4 min; 45 个循环 (94 °C 变性 1 min, 58 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min); 最后 72 °C 延伸 10 min。

SNP2 扩增程序: 94 °C 预变性 5 min; 35 个循环 (94 °C 变性 30 s, 62 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min); 最后 72 °C 延伸 7 min。

SNP3、SNP4 扩增程序: 94 °C 预变性 5 min; 35

个循环 (94 °C 变性 30 s, 68 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min); 最后 72 °C 延伸 7 min。

扩增产物用 3% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4 统计分析

采用 Excel 2003、IBM SPSS Statistics 和 DPS 7.5 数据处理系统对数据进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 亲本基因型检测及淀粉理化特性分析

2.1.1 亲本基因型检测 根据田志喜等^[30]人开发的分子标记 *W_xM1*、*SS II-3M1* 检测亲本的 *W_x* 和 *SS II-3* 基因的基因型。分子标记 *W_xM1* 能特异性地将糯稻从其他材料中区分出来。该分子标记检测亲本结果见图 1。糯稻中有一个 23 bp 的重复序列插入, 爪哇稻为 275 bp 的特征带, CG133R 为 252 bp 的特征带。根据蔡秀玲等^[28]设计的标记 PCR-AccI 检测 *W_x* 基因第一内含子 + 1 位碱基类型, 检测结果见图 2。CG133R 表现为 G/G 型 (包含一个 AccI 酶切位点), 酶切后得到 403 bp 和 57 bp 的片段, 爪哇稻表现为 T/T 型 (无 AccI 酶切位点), 酶切后只有 1 个 460 bp 的片段; CG133R 为非糯水稻, 基因型为 *W_x^aW_x^a*, 记为 I 型; 爪哇稻为糯稻类型, 其基因型为

wxwx, 记为 II 型。与理化指标测定结果相符。

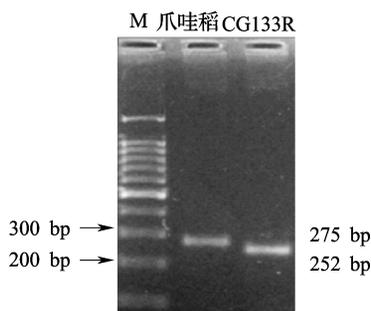


图 1 分子标记 WxM1 检测结果

Fig. 1 The results of the molecular markers WxM1

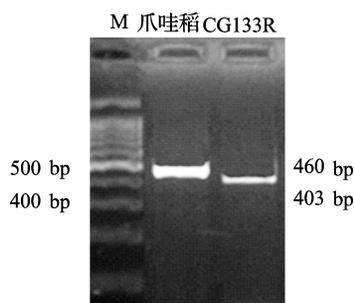


图 2 分子标记 PCRAccI 检测结果

Fig. 2 The results of the molecular markers PCRAccI

用 P. Bundock 等^[29]开发的 3 对分子标记 SNP2FF&SNP2FR&SNP2R5, SS II AFF1&SSIIAFR1&SNP3F2, SSIIAFF1&SSIIAFR1&FNPR3 分别鉴定 I 型和 II 型 *SS II-3* (*SS IIa*) 基因第八外显子的 SNP2 (A/G)、SNP3 (A/G)、SNP4 (GC/TT), 结果见图 3。I 型的 *SS II-3* 基因, 其单倍型为 A/G/TT, 为低糊化温度类型, II 型的 *SS II-3* 基因, 其单倍型为 G/G/GC, 为高糊化温度类型。与糊化温度测定结果相一致。用田志喜等^[30]开发的分子标记 SSII-3M1 对亲本及后代的部分检测结果见图 6。爪哇稻 (II 型) 为 81 bp 的特征带, CG133R (I 型) 为 90 bp 的特征带。

2.1.2 淀粉理化特性分析 在 2 个亲本中, 各指标

表 2 亲本与 F₂ 群体主要蒸煮品质指标的比较

Table 2 Comparison of rice quality of parents and F₂ population

	亲本 Parents		F ₂ 群体 F ₂ population				
	爪哇稻 22	CG133R	均值 ± 标准差	变异范围	变异系数 (%)	偏度	峰度
			Mean ± SE	Range of variation	CV	Skewness	Kurtosis
AAC (%)	0.70	28.10	16.17 ± 7.56	0.60 ~ 27.60	46.75	-0.59	-0.17
GC (mm)	102.50	48.00	42.69 ± 23.81	19.0 ~ 110.00	55.77	1.55	1.40
ASV	2.00	6.83	3.86 ± 1.49	2.00 ~ 6.83	38.60	0.57	-0.82
PKV (RVU)	301.54	267.54	293.84 ± 23.60	214.75 ~ 345.25	8.03	-0.88	1.24
HPV (RVU)	142.08	209.92	186.50 ± 32.72	95.04 ~ 257.13	17.54	-0.42	0.32
CPV (RVU)	186.96	380.67	359.80 ± 86.67	124.96 ~ 522.67	24.09	-1.01	1.02
BDV (RVU)	159.46	57.63	107.34 ± 24.99	58.46 ~ 199.33	23.28	0.23	0.54
SBV (RVU)	-114.58	113.13	65.95 ± 72.63	-122.04 ~ 207.08	110.13	-0.84	0.76
CSV (RVU)	44.88	170.75	173.30 ± 56.71	29.91 ~ 274.58	32.72	-1.16	1.30
PeT (min)	4.19	6.15	5.67 ± 0.68	3.45 ~ 6.50	11.99	-2.08	3.96
PaT	81.85	71.03	77.86 ± 3.39	70.65 ~ 84.17	4.35	-0.71	-0.55

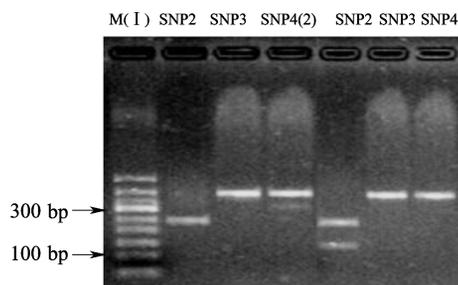


图 3 I 型 *SS IIa* 基因和 II 型 *SS IIa* 基因的单倍型

Fig. 3 The haplotype of type I *SS IIa* gene and type II *SS IIa* gene

都有显著性差异, 在 F₂ 群体中也检测到了各指标的广泛分离 (表 2, 图 4)。在 F₂ 群体中, 除了 GC 略低于双亲, CSV 略高于双亲外, 其余各指标都介于两个亲本之间。由表 2 可知, F₂ 群体变异分布中, 消减值 (SBV) 的变异系数最大, CV = 110.13%, 变异范围为 -122.04 ~ 207.08 RVU; 其次为胶稠度 (GC) 和表观直链淀粉 (AAC), 变异系数 (CV) 分别为 55.77%、46.75%, 变异范围分别为: GC (19 ~ 110 mm), AAC (0.60% ~ 27.60%)。变异较小的品质性状为起降温度 (PaT), CV = 4.35%, 变异范围为 70.65 ~ 84.17 °C; 峰值粘度 (CV = 8.03%), 变异范围为 214.75 ~ 345.25 RVU。各性状的变异大小依次为 SBV > GC > AAC > ASV > CSV > CPV > BDV > HPV > PeT > PKV > PaT。

在 F₂ 群体中, 各指标呈连续分布 (图 4)。GC、CPV、CSV、PeT 的偏度和峰度大于 1, 表明这几个性状是偏离正态分布的。其余各性状的分布基本符合正态分布。就偏度而言, GC (1.55)、ASV (0.57)、BDV (0.23), 这 3 个性状的个体分布向大于平均数的方向偏斜, 其余性状个体分布都是向小于平均数的方向偏斜。PeT 的峰度大于 3, 表明它的分布比较陡峭, 峰态明显, 总体变异的分布比较集中; 其他的峰度较小, 分布平缓, 总体变异分布比较分散。

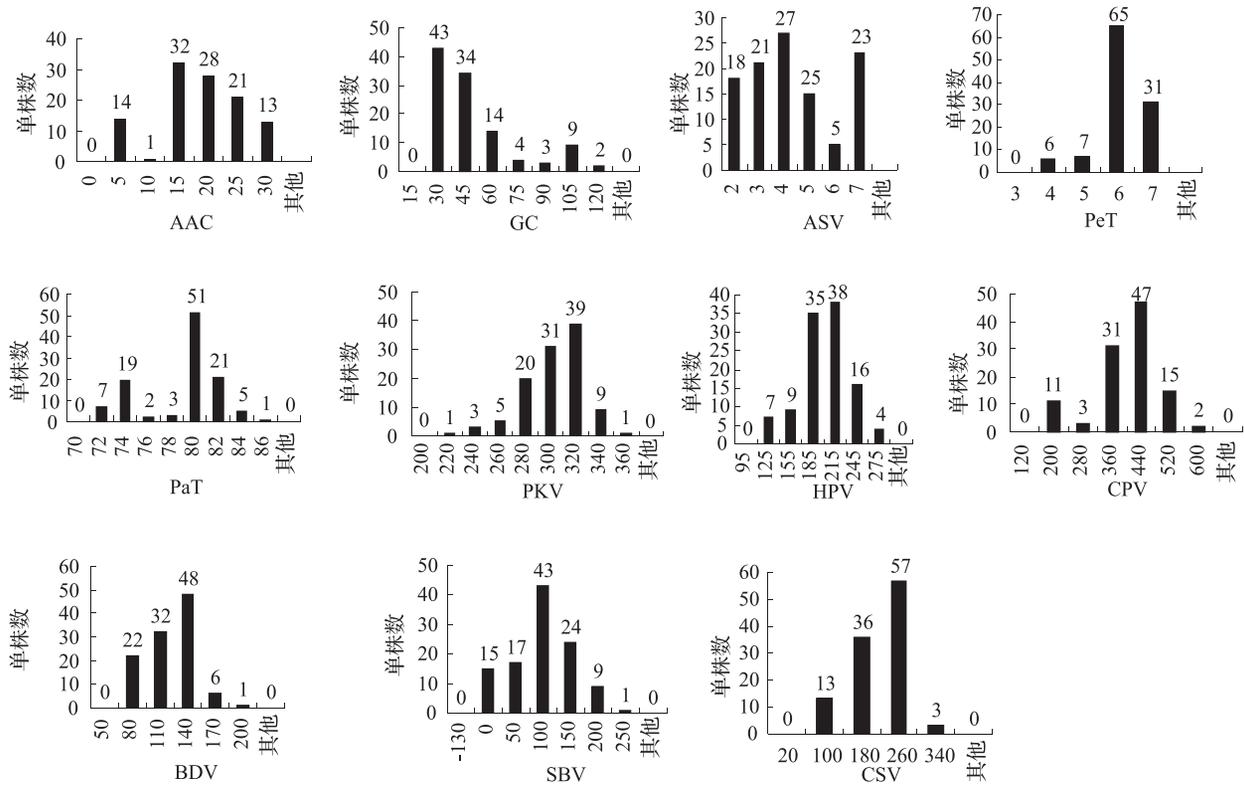


图4 各理化指标的频率分布图

Fig. 4 Frequency distribution of physico-chemical indice

2.2 F₂群体蒸煮品质指标之间的相关性分析

F₂群体的各蒸煮品质指标之间的相关系数见表3。由表可知,除 PaT 外,AAC 与其他的各指标具有极显著相关性,除与 BDV、GC 呈负相关外,与其他指标均呈正相关关系。其中,AAC 与 CPV 的相关系数最大(0.925),与 GT 相关系数最小。AAC 与各指标相关性大小顺序依次为 CPV > CSV > SBV > HPV > GC > PeT > PKV > BDV > GT。GT 与 BDV、PaT、GC 呈显著或极显著负相关,与 HPV、CPV、SBV、CSV、PeT 呈极显著正相关;其大小依次为 SBV > HPV > CPV > CSV > PeT > PaT > GC > BDV。除 PaT 外,GC 与其他各指标具有显著或极显著相关性,其中与 PKV、HPV、CSV、SBV、CPV、PeT、GT 呈显著的负相关,与 BDV 呈显著正相关。

由于2个亲本的直链淀粉含量差异大,其配组所得 F₂群体中直链淀粉含量变异丰富。根据直链淀粉含量的高低,按《中国优特稻种资源评价》分类标准将供试材料分为高(AAC > 25%)、中(20% ≤ AAC ≤ 25%)、低(10% ≤ AAC < 20%)、极低(2% < AAC < 10%)、糯稻(AAC ≤ 2%)5种^[31],分别研究蒸煮食味品质指标与 RVA 谱特征值之间的相关性。由于极低直链淀粉材料较少,未进行相关性分析。由表4可知,高直链淀粉含量单株的 RVA 谱特征值

与其他理化指标相关性均不显著。中等直链淀粉材料中,AAC 与 HPV、CSV、ASV 呈显著正相关,与 BDV、GC 呈显著负相关;与 CPV、SBV 呈极显著正相关。GC 与 HPV、CPV、SBV、PeT 呈极显著负相关,与 BDV 呈极显著正相关。碱消值与 HPV、CPV、SBV、CSV、PeT 呈极显著或显著正相关;与 BDV 呈极显著负相关。低直链淀粉材料除了 PKV、CSV、PaT 无显著相关性外,其余指标与 AAC 相关性均达到显著或极显著水平;GC 与 PKV、PeT、PaT 外的其他指标的相关性均达到显著或极显著水平;ASV 与 RVA 各指标相关性达显著或极显著水平。糯稻的 AAC 与 CPV、SBV、CSV、GC 呈显著或极显著相关;GC 与 CPV、SBV、CSV、PeT 呈显著或极显著负相关。

通过以上对直链淀粉含量高、中、低、糯稻4类型材料的蒸煮食味品质指标与 RVA 谱特征值的相关性分析可知,对于高直链淀粉含量的材料,直链淀粉的变化对 RVA 谱特征值的影响不明显。此外,在中、低及糯稻中,RVA 谱特征值对 AAC 或 GC 有显著或极显著影响。在糯稻中,ASV 对 RVA 谱特征值无显著的影响。另外,在未进行直链淀粉分类比较的情况下,直接将所有材料进行相关性分析,结果见表3,结果与前人的研究结果基本一致。然而,结合

表4的结果分析可知,表3结果只反映了表4的中、低直链淀粉材料的蒸煮食味品质与RVA之间的关系,而对与高直链淀粉含量、糯稻材料与淀粉粘滞性

特征的关系没有得到反映。因此,对直链淀粉进行分类后,再进行与粘滞性特征关系的分析,才能更准确地对食味品质进行评价。

表3 F₂群体RVA谱与理化指标的相关性分析

Table 3 Correlation between RVA profile characteristics and physico-chemical indices indicate indicate in F₂ population

	PKV	HPV	CPV	BDV	SBV	CSV	PeT	PaT	GC	GT
GT	0.105	0.523**	0.484**	-0.586**	0.543**	0.438**	0.431**	-0.341*	-0.357**	1
AAC	0.684**	0.874**	0.925**	-0.499**	0.882**	0.909**	0.779**	0.135	-0.796**	0.346**
GC	-0.604**	-0.827**	-0.889**	0.513**	-0.865**	-0.882**	-0.886**	-0.183	1	-0.357**

*, ** 分别表示差异达5%和1%显著水平,下同

*, ** Represent significant at 0.05 and 0.01 levels, respectively, the same as below

表4 RVA谱与理化指标的相关性分析

Table 4 Correlation between RVA profile characteristics and physico-chemical indices

高直链淀粉含量(AAC > 25%) High amylose content(AAC > 25%)										
	PKV	HPV	CPV	BDV	SBV	CSV	PeT	PaT	ASV	GC
AAC	0.347	0.428	0.451	-0.291	0.360	0.283	0.223	0.147	0.228	-0.360
GC	-0.521	-0.470	-0.435	0.251	-0.277	-0.224	-0.299	-0.113	0.449	1
ASV	-0.049	0.323	0.317	-0.453	0.365	0.181	0.174	0.391	1	0.449
中等直链淀粉含量(20% ≤ AAC ≤ 25%) Medium amylose content(20% ≤ AAC ≤ 25%)										
	PKV	HPV	CPV	BDV	SBV	CSV	PeT	PaT	ASV	GC
AAC	-0.088	0.442*	0.556**	-0.442*	0.570**	0.537*	0.231	0.022	0.434*	-0.438*
GC	0.085	-0.647**	-0.569**	0.622**	-0.582**	-0.422	-0.622**	-0.020	-0.378	1
ASV	-0.360	0.526*	0.734**	-0.666**	0.818**	0.746**	0.547*	0.208	1	-0.378
低直链淀粉含量(10% ≤ AAC < 20%) Low amylose content(10% ≤ AAC < 20%)										
	PKV	HPV	CPV	BDV	SBV	CSV	PeT	PaT	ASV	GC
AAC	-0.003	0.427**	0.410**	-0.292*	0.343**	0.246	0.352**	-0.484	0.337**	0.036
GC	0.177	-0.410**	-0.484**	0.400**	-0.496**	-0.386**	-0.466**	0.243	-0.227	1
ASV	-0.354**	0.609**	0.565**	-0.670**	0.656**	0.321*	0.706**	-0.783**	1	-0.227
糯稻直链淀粉含量(AAC ≤ 2%) Glutinous rice(AAC ≤ 2%)										
	PKV	HPV	CPV	BDV	SBV	CSV	PeT	PaT	ASV	GC
AAC	0.209	0.358	0.742**	-0.050	0.629*	0.854**	0.517	0.441	0.072	0.853**
GC	-0.169	-0.556	-0.872**	0.230	-0.785**	-0.921**	-0.659*	-0.508	0.262	1
ASV	0.031	0.201	0.369	-0.113	0.357	0.411	0.129	0.010	1	0.262

2.3 F₂群体中Wx^a及SS II-3基因型分析

利用糯性爪哇稻22与籼型高直链淀粉CG133R为亲本配组, F₁自交获得F₂群体109个单株,用田志喜等^[30]开发的分子标记WxM1和SS II-3M1检测F₂群体109个单株的基因型。在F₂后代群体中有3种带型:爪哇稻型(II型)、CG133R型(I型)及其杂合型,部分检测结果见图5、图6。

对于Wx^a基因,在F₂群体的109个单株中,II类基因型单株有19个,I类基因型有37个单株,杂合型单株有53个,3类不同基因类型的分离比与1:2:1不符,其卡方检验 $\chi^2 = 6.03 > \chi^2_{(0.05,2)} = 5.99$ 。

对于SS II-3基因,在F₂群体的109个单株中,I型有36个,II型17个,杂合型有56个。3类不同基因类型的分离比与1:2:1不符,其卡方检验

$$\chi^2 = 6.71 > \chi^2_{(0.05,2)} = 5.99。$$

II型I型杂合型

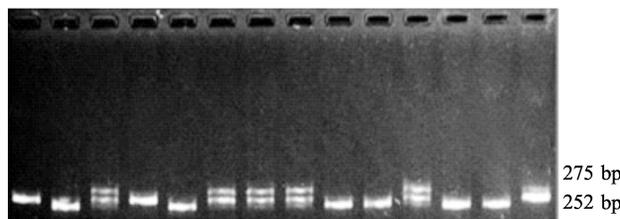


图5 分子标记WxM1检测结果

Fig. 5 The results of the molecular markers WxM1

3 讨论

3.1 F₂群体的理化指标与RVA谱特征值的变异分布
本研究以一个高直链淀粉恢复系和一个爪哇型

MII 型 I 型杂合型

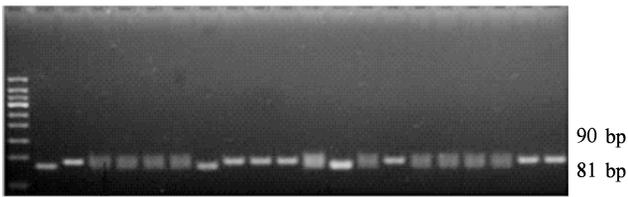


图 6 分子标记 SS II-3M1 检测结果

Fig. 6 The results of the molecular markers SS II-3M1

糯稻构建的 F_2 群体为材料,对 F_2 群体中的淀粉理化指标及 RVA 谱特征值的变异及相关性进行分析,表明 3 个理化指标及 RVA 谱均有较大变异,其中变异最大的是消减值,其次为胶稠度、直链淀粉含量。在该群体内对直链淀粉、胶稠度的选择空间较大,可根据这 3 个指标的变异,对后代进行选择。除 PeT 外,其他指标的分布平缓,峰态不明显,总体变数的分布比较分散。

3.2 理化指标与 RVA 谱特征值相关性

本研究发现在该材料中,高直链淀粉材料与 RVA 谱特征值的相关性不显著。其他类型的材料与 RVA 谱的部分特征值相关性显著或极显著。此外,不进行直链淀粉含量高低分类的情况下,RVA 谱各特征值与 AAC、GC、ASV 相关性显著或极显著,表明对水稻材料根据直链淀粉含量高低进行分类后,再研究其与淀粉粘滞性特征之间的关系是重要的前提,这样才能更真实的应用 RVA 谱来反映稻米的蒸煮食味品质,这与李刚等^[32]选用不同的水稻材料根据直链淀粉含量分类后进行的相关性分析的研究结果相一致。本研究直接选用一对直链淀粉差异大的亲本衍生的 F_2 群体进行研究,避免了不同材料之间差异造成的影响。隋炯明等^[33]研究表明,AAC、GC 与 RVA 谱特征值之间存在显著或极显著相关,与 GT 相关不显著。本研究结果表明,在中、低直链淀粉材料中,RVA 谱特征值与 GT 也存在显著或极显著相关性。吴殿星等^[34]的研究指出,依据消减值可有效区分品种 AAC 的高低。消减值是冷胶粘度与最高粘度的差值,又称回生值,回生指数。消减值是蒸煮米饭软硬的指标,值越大其米饭越硬。米饭硬度与消减值呈显著或极显著正相关,与崩解值呈极显著负相关。消减值与 AAC 呈极显著正相关^[35],依据消减值可有效区分表现直链淀粉含量的高低,中、高 AAC 的品种消减值为正值,低 AAC 或糯稻的消减值多为负值。消减值为负值的品种其米饭粘性较大,消减值为正值且过大的米饭硬而糙,小则软而不粘。有关消减值与 AAC、GC 对稻米蒸煮食味品质的影响已有大量的报

道,大量研究表明消减值与 AAC 存在显著或极显著的相关性。因此,在优质育种的早期阶段,通过 RVA 谱特征值,能对食味品质较好的单株进行更准确的筛选,在一定程度上可以取代传统的蒸煮食味品质的评价方法,如何建立最佳的蒸煮食味品质评价体系值得进行深入研究。

直链淀粉含量高低对蒸煮食味品质极为重要。本文将 F_2 分离群体按直链淀粉划分为高 ($AAC > 25\%$)、中 ($20\% \leq AAC \leq 25\%$)、低 ($10\% \leq AAC < 20\%$)、极低 ($2\% < AAC < 10\%$)、糯稻 ($AAC \leq 2\%$) 五种,其中 9% ~ 15% 之间类似云南软米特性。一般籼型软米直链淀粉为 9% ~ 15%,食味品质较好的籼、粳米为 16% ~ 19%^[7]。辜琼瑶等^[36]提出将粒型 > 3.0 ,直链淀粉含量 7.1% ~ 15.0%,胶稠度为 45 ~ 80 mm,蛋白质含量 $< 9\%$,且亲本系谱中有云南软米地方品种的材料,鉴定为软米材料。本文中低直链淀粉含量的单株是基因型为杂合型的水稻材料,故其直链淀粉含量较低,与软米相区别。

3.3 Wx^a 及 $SSII-3$ 基因的遗传分析

由于常规方法改良稻米品质的效率较低,而控制淀粉合成关键基因的分子标记可用于单株的早期选择,可对被选单株基因型进行准确锁定,加快稻米品质的改良。 Wx^a 基因和 $SS II-3$ 基因对调控稻米蒸煮食味品质的优劣起着重要作用。前人做了大量有关直链淀粉含量的遗传研究,对遗传模式有 3 种看法,一是受 1 对基因和部分修饰基因控制;二是受 2 对显性和互补基因的控制;三是受多基因控制。郭咏梅等^[37]研究表明,与软米有关的低直链淀粉含量基因受 1 对隐性主效基因控制。赵国珍等^[8]研究表明,软米品种毫木细直链淀粉含量受 1 个隐性主效基因/QTL 控制,该基因位点与糯性基因 wx 为非等位。孙有泉等^[38]认为粳稻品种合系 4 号低直链淀粉突变体的直链淀粉受 1 对与 wx 基因不等位的隐性基因控制。由于不同研究者的研究材料不同,研究结果也大相径庭。对于直链淀粉的遗传及其他蒸煮品质指标的遗传分析,需根据不同材料具体分析,对稻米的蒸煮品质指标的遗传研究及改良还有待更深入的研究。

本研究表明, Wx^a 基因和 $SS II-3$ 基因在该群体中分离与 1:2:1 的分离比不符, Wx^a 卡方检验值仅超过临界值 0.04,可能是由于 Wx 和 $SS II-3$ 都是胚乳性状基因,胚乳为三倍体组织,与二倍体植株性状存在分离和表达方面的差异,其遗传方式与二倍体不同。这 2 个基因的分子标记偏分离方向一致,均

为爪哇稻类型的基因型数量较少,而CG133R类型的基因型较多,CG133R类型个体为爪哇稻类型个体的2倍多,而杂合型比例基本正常。这与郭晶心等^[39]的研究结果相一致,偏离分别指向2个亲本基因型。可能在这些基因分离的区域存在着一些调控因子对配子的选择效应起作用。关于 Wx^a 基因和 *SS II-3* 基因的分离如何影响稻米的蒸煮食味品质,是本研究下一步努力的方向。

本研究对 F_2 群体蒸煮食味品质的各理化指标变异及其与淀粉粘滞性特征的相关性进行了分析,并就控制蒸煮食味品质各指标的主效基因 Wx^a 和 *SS II-3* 在 F_2 群体中的遗传特性进行了诠释;各指标中,消减值的变异最大,其次为胶稠度和直链淀粉含量;研究材料中直链淀粉含量不确定的情况下,运用RVA谱辅助评价稻米蒸煮食味品质的结果不可靠;在进行分子标记辅助选择的同时,应注意这些分子标记的分离状况对选择的影响。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家标准 GB/T 17891-1999 优质稻谷[S]. 北京:中国标准测定出版社,1999:1-5
- [2] 中华人民共和国农业部标准 NY 122 -86 优质食用稻米[S]. 北京:中国标准测定出版社,1986:1-4
- [3] 中华人民共和国国家标准 GB/T 15682-1995 稻米蒸煮试验品质评定[S]. 北京:中国标准测定出版社,1995:1-5
- [4] Juliano B O. Rice Chemistry and Technology AACCC[M]. American Association of Cereal Chemists inc. ,1985:443 - 524
- [5] Juliano B O. Rice quality screening with the Rapid Visco Analyser[M]//Walker C E, Hazelton J L, eds. Applications of the Rapid Visco Analyser. Sydney:Newport Scientific,1996:19-24
- [6] 刘义富,奎丽梅,辜琼瑶,等. 稻米 RVA 谱特征值辅助鉴定云南软米品种的研究[C]. 长沙:第1届中国杂交水稻大会论文集,2010:360-366
- [7] 曾亚文,申时全,徐绍忠,等. 云南软米低直链淀粉含量及其相关性状遗传分析[J]. 植物遗传资源学报,2004,5(1):12-16
- [8] 赵国珍,邹倩,陈于敏,等. 云南软米直链淀粉含量的遗传分析与基因定位[J]. 植物遗传资源学报,2013,14(5):975-978
- [9] Tan Y F, Li J X, Yu S B, et al. The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in anelite rice hybrid, Shanyou 63[J]. Theor Appl Genet, 1999,99:642-648
- [10] Wang L Q, Liu W J, Xu Y, et al. Genetic basis of 17 traits and viscosity parameters characterizing the eating and cooking quality of rice grain[J]. Theor Appl Genet,2007,115:463-476
- [11] Wan X Y, Wan J M, Yoshimura A, et al. QTL detection for eating quality of cooked rice in a population of chromosome segment substitution lines[J]. Theor Appl Genet,2004,110:71-79
- [12] Fan C C, Yu X Q, Xing Y Z, et al. The main effects, epistatic effects and environmental interactions of QTLs on the cooking and eating quality of rice in a doubled-haploid line population[J]. Theor Appl Genet,2005,110:1445-1452
- [13] He Y, Han Y P, Jiang L, et al. Functional analysis of starch-synthesis genes in determining rice eating and cooking qualities[J]. Mol Breed,2006,18:277-290
- [14] Gao Z Y, Zeng D L, Cui X, et al. Map-based cloning of the ALK gene, which controls the GT of rice[J]. Sci China(Ser C),2003,46:661-668
- [15] Umemoto T, Aoki N. Single-nucleotide polymorphisms in rice starch synthase IIa that alter starch gelatinization and starch association of the enzyme[J]. Funct Plant Biol,2005,32:763-768
- [16] Umemoto T, Yano M, Satoh H, et al. Mapping of a gene responsible for the difference in amylopectin structure between japonica-type and indica-type rice varieties[J]. Theor Appl Genet,2002,104:1-8
- [17] Bao J S, Corke H, Sun M. Nucleotide diversity in starch synthase IIa and validation of single nucleotide polymorphisms in relation to starch gelatinization temperature and other physicochemical properties in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2006,113:1171-1183
- [18] Nakamura Y, Francisco Jr P B, Hosaka Y, et al. Essential amino acids of starch synthase IIa differentiate amylopectin structure and starch quality between japonica and indica rice varieties [J]. Plant Mol Biol,2005,58:213-227
- [19] 吴洪恺,梁国华,顾燕娟,等. 水稻淀粉合成基因对稻米 RVA 谱特征的影响[J]. 作物学报,2006,11(32):1597-1603
- [20] Jin L, Lu Y, Shao Y F, et al. Molecular marker assisted selection for improvement of the eating, cooking and sensory quality of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. J Cereal Sci,2010,51:159-164
- [21] Wang Z Y, Zheng F Q, Shen G Z, et al. The amylose content in rice endosperm is related to the post-transcriptional regulation of the *waxy* gene[J]. Plant J,1995,7:613-622
- [22] Sano Y. Different regulation of *Waxy* gene expression in rice endosperm[J]. Theor Appl Genet,1984,68:4567-4573
- [23] Mikami I, Uwatoko N, Ikeda Y, et al. Allelic diversification at the *wx* locus in landraces of Asianrice[J]. Theor Appl Genet,2008,116:979-989
- [24] 孙义伟,刘宜柏. 稻米胚乳直链淀粉含量的基因效应[J]. 江西农业大学学报,1989,1(11):38
- [25] 中华人民共和国农业部标准 NY 147-88 米质测定方法[S]. 北京:中国标准测定出版社,1988:4-6
- [26] 中华人民共和国国家标准 GB/T 15683-1995 稻米直链淀粉含量的测定[S]. 北京:中国标准测定出版社,1995
- [27] American Association of Cereal Chemists (AACCC). Approved methods of the AACCC [M]. USA:AACCC,2000.
- [28] 蔡秀玲,刘巧泉,汤述翥,等. 用于筛选直链淀粉含量为中等的籼稻品种的分子标记[J]. 植物生理与分子生物学学报,2002,28(2):137-144
- [29] Bundock P, Cross M, Shapter F, et al. Robust allele-specific polymerase chain reaction markers developed for single nucleotide polymorphisms in expressed barely sequences [J]. Theor Appl Genet, 2006,112:358-365
- [30] 田志喜,严长杰,钱前,等. 水稻淀粉合成相关基因分子标记的建立[J]. 科学通报,2010,55(26):2591-2601
- [31] 罗玉坤,杨金华. 中国优特稻种资源评价[M]. 北京:中国农业出版社,1998
- [32] 李刚,邓其明,李双成,等. 稻米淀粉 RVA 谱特征值与品质性状的相关性[J]. 中国水稻科学,2009,23(1):99-102
- [33] 隋炯明,李欣,严松,等. 稻米淀粉 RVA 谱特征值与品质相关性研究[J]. 中国农业科学,2005,38(4):657-663
- [34] 吴殿星,舒庆尧,夏英武. RVA 分析辅助选择食用优质早籼稻的研究[J]. 作物学报,2001,27(2):165-172
- [35] 舒庆尧,吴殿星,夏英武,等. 稻米淀粉 RVA 谱特征与食用品质的关系[J]. 中国农业科学,1998,31(3):25-29
- [36] 辜琼瑶,刘家富,李自超,等. 云南软米品质特性比较研究[J]. 西南农业学报,2006,19(5):787-790
- [37] 郭咏梅,陈建华,贺长树,等. 云南软米直链淀粉含量遗传分析[J]. 西南农业学报,2009,22(6):1505-1507
- [38] 孙有泉,伊势一男,奥野员敏,等. 合系4号5个低直链淀粉突变体的遗传分析[J]. 中国水稻科学,1999,13(1):1-5
- [39] 郭晶心,刘耀光. 水稻籼粳杂交 F_2 群体中分子标记的异常分离及染色体定位[J]. 分子植物育种,2003,1(3):331-336