

林 静, 张所兵, 张云辉, 等. 利用染色体片段置换系定位水稻米糠油含量的 QTL[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(2): 231-235.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.02.001

利用染色体片段置换系定位水稻米糠油含量的 QTL

林 静, 张所兵, 张云辉, 汪迎节, 方先文

(江苏省农业科学院粮食作物研究所/江苏省种质资源保护与利用研究中心/江苏省优质水稻工程技术研究中心/国家水稻改良中心南京分中心, 江苏 南京 210014)

摘要: 染色体片段置换系由于减少了个体间遗传背景的干扰, 已经成为鉴定复杂性状 QTL 的新型遗传材料。本研究以 9311 为受体、日本晴为供体的 119 个染色体片段置换系为试验材料, 借助近红外光谱分析技术, 对米糠油含量进行了测定, 通过差异显著性测验及代换作图, 鉴定了置换片段上米糠油相关的 QTL。以 $P \leq 0.001$ 为阈值, 共检测到 4 个米糠油相关的 QTLs, 其加性效应值的变化范围为 0.91% ~ 1.48%, 加性效应百分率的变化范围为 3.96% ~ 6.46%。

关键词: 水稻; 米糠油含量; 染色体片段置换系; QTL 定位

中图分类号: S511 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2015)02-0231-05

Mapping of quantitative trait locus (QTL) for rice oil content using chromosome segment substitution lines of rice (*Oryza sativa* L.)

LIN Jing, ZHANG Suo-bing, ZHANG Yun-hui, WANG Yin-jie, FANG Xian-wen

(Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Research Center for Protection and Utilization of Agricultural Germplasm Resource in Jiangsu Province/Jiangsu High Quality Rice R&D Center/Nanjing Branch of Chinese National Center for Rice Improvement, Nanjing 210014, China)

Abstract: 119 chromosome segment substitution lines (CSSLs) derived from the cross between 9311 (the receptor) and Nipponbare (the donor) were used to map the QTLs controlling rice bran oil. QTLs were analysed through the test of significance of difference on bran oil content and substitution mapping. Four QTLs were detected using $P \leq 0.001$ as the threshold, with the additive effect value varying from 0.91% to 1.48%, and the percentage of additive effect varying from 3.96% to 6.46%.

Key words: rice (*Oryza sativa* L.); bran oil content; chromosome segment substitution line; quantitative trait locus (QTL) mapping

中国约有 8×10^8 人口以稻米为主食, 是世界上最

大的稻米生产国和消费国, 近 10 年来平均每年稻米产量为 $1.8 \times 10^8 \sim 2.0 \times 10^8$ kg, 约占中国粮食总产量的 2/5。米糠是稻谷脱壳后依附在糙米上表面层, 由果皮、种皮、外胚乳、糊粉层及胚组成, 是稻米加工中最为宝贵的副产品。一般来说, 稻米加工中的出糠率为 7% 左右, 其含油率与稻谷品种有关, 籼稻米糠含油率为 18% ~ 20%, 粳稻米糠含油率为 16% ~

收稿日期: 2014-08-05

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目 [CX(13)2019]

作者简介: 林 静 (1981-), 女, 江苏海安人, 硕士, 副研究员, 从事水稻品种资源研究。(Tel) 025-84390321; (E-mail) 534663739@qq.com

通讯作者: 方先文, (E-mail) 2431240491@qq.com

18%, 出油率在 12% ~ 18%^[1]。如果以每年 2×10^8 kg 的稻米加工来计算, 其米糠产出量为每年 1.4×10^7 kg, 出油率按 15% 算, 则每年理论产稻米油 2.1×10^6 kg, 这已经快赶上中国第二大油料花生的产油量。据估算, 在不与粮争地的基础上, 发展稻米油可将中国的食用油自给率提高 5% ~ 10%。此外, 米糠油是一种营养丰富的植物油, 其中饱和脂肪酸占 15% ~ 20%, 不饱和脂肪酸含量在 80% 以上, 亚油酸含量约 38%, 油酸含量约 42%, 符合国际卫生组织推荐的油酸和亚油酸的 1.0 : 1.1 的最佳比例^[2]。

不同水稻品种的米糠中含油量有较大的差异, 筛选高米糠油含量的水稻品种, 定位、克隆水稻高米糠油位点, 开发与主效位点连锁的分子标记, 通过分子标记辅助选择, 创造高米糠油水稻新品种(系), 对于提高水稻副产品的利用率具有重要意义。本研究利用籼粳杂交组合(9311/日本晴)衍生的染色体片段置换系群体, 应用近红外技术对置换系的米糠油含量进行测定, 对米糠油含量 QTL 进行定位分析。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以籼稻品种 9311 为轮回亲本, 粳稻品种日本晴为供体亲本, 通过杂交和连续回交构建了 95 个染色体片段置换系(CSSLs)^[3]。该 95 个 CSSLs 中有置换系交换片段长度较大, 同时染色体部分区段未被覆盖。因此在 Zhu 等^[3]的基础上, 从原有 BC₄F₁ 保存的材料中选出检测背景一致而覆盖区段与原 95 个 CSSLs 不同的材料自交, 从 BC₄F₂ 中选取纯合系。同时 95 个 CSSLs 中片段长度过大的材料与轮回亲本回交, 从后代中挑选片段较小的系自交后选取 24 个新增纯系, 共 119 个系用于本试验。置换系总长度(去除重叠片段)为 1 202 cM, 占染色体总长度的比例约为 78.6%。

1.2 试验方法

119 个置换系与 2 个亲本于 2012 年 5 月 10 日播种于江苏省农业科学院院部试验田, 6 月 10 日进行移栽, 每个系栽 2 行, 每行 15 株, 行、株距分别为 26.7 cm 和 13.3 cm, 采用常规大田管理, 成熟后每个系取 3 株, 按单株收获。晾干后出糙, 糙米经 LTJM-2099 小型精米机 90 s 出精后的米糠用于米糠油含量的测定。为防止米糠酸败变质后对米糠油含

量测定的影响, 出精后的米糠随即进行米糠油的测定。测定借助近红外光谱分析仪, 该仪器为波通公司(Perten)DA7200 型近红外成分测定仪, 外部与计算机联机。该仪器配有数据采集及数据分析软件。取平均值作为性状的表型值。

1.3 QTL 定位

QTL 分析参照刘冠明等^[4]方法, 通过 *t* 测验, 检测染色体片段置换系与受体亲本 9311 之间米糠油含量差异的显著性, 以 $\alpha = 0.001$ 为阈值, 即 $P \leq 0.001$ 时, 认为置换片段上有相关 QTL 的存在。

参照 Eshed 等^[5]方法估算各个 QTL 的加性效应值及加性效应贡献率。

加性效应值 = (CSSL 的表型值 - 9311 的表型值) / 2;

加性效应百分率 = (加性效应值 / 9311 的表型值) × 100% ;

由多个置换系重叠定位到的 QTL, 其 CSSL 的表型值则由各重叠株系含量的平均值来进行估算。

QTL 命名遵循 McCouch 等^[6]制定的原则。

1.4 QTL 代换作图

参照 Paterson 等^[7]方法, 如果在含有重叠置换片段的不同染色体片段置换系中都检测到米糠油相关 QTL, 且遗传效应方向一致, 则认为该 QTL 存在于置换片段的重叠区段上; 如果在 1 个染色体片段置换系中检测到米糠油相关 QTL 的存在, 而在置换片段有重叠关系的另 1 个染色体片段置换系中未检测到, 则认为该 QTL 位于这 2 个染色体片段置换系非重叠区段上。

1.5 置换片段长度的计算

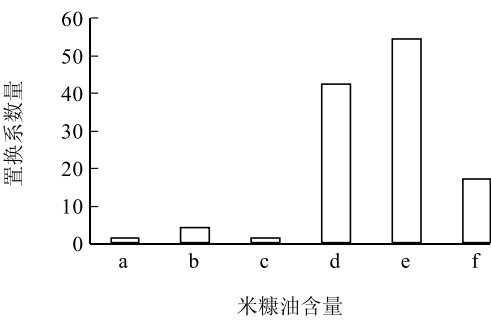
按照 Young 等^[8]方法确定置换片段的位置以及计算置换片段的长度, 首先不考虑相邻 2 个标记之间的双交换情况, 当相邻标记基因型均为供体亲本基因型时, 认为这 2 个标记之间的区段为供体的置换片段, 然后在每个置换片段两端增加分子标记, 直至亲本间有多态性的标记表现为受体亲本纯合基因型为止。最后以置换片段末端标记与相邻的受体标记之间的中点为该末端边界点, 两末端边界点之间的距离就是该置换片段的长度。

2 结果与分析

2.1 亲本及 119 个染色体片段置换系的米糠油含量

对双亲和 CSSL 群体的米糠油含量测定结果显

示, 119 个染色体片段置换系的米糠油含量为 19.26% ~24.68%, 主要集中在22.1%至24.0% 范围内(图 1)。受体亲本 9311 的米糠油含量较高, 为 22.84%, 供体亲本日本晴的米糠油含量较低, 为 19.71%, 两亲本米糠油含量存在极显著差异(表 1)。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。



a;19.0% ~20.0% ;b;20.1% ~21.0% ;c;21.1% ~22.0% ;d; 22.1% ~23.0% ;e;23.1% ~24.0% ;f;24.1% ~25.0% 。

图1 CSSL 群体中米糠油含量分布

Fig.1 Distribution of content of rice bran oil in CSSL population

表 1 亲本及 8 个置换系的米糠油含量

Table 1 Rice bran oil contents in the parents and eight CSSLs

材料	米糠油含量 (%)	材料	米糠油含量 (%)
9311	22.84	CSSL59	20.87 **
日本晴	19.71 **	CSSL73	21.09 **
CSSL8-4	20.51 **	CSSL74	20.04 **
CSSL46-65	19.26 **	CSSL35-6	24.68 **
CSSL55	20.75 **	CSSL221	24.62 **

** 表示与 9311 差异达 0.01 显著水平。

2.2 水稻米糠油相关 QTLs 分析

t 测验结果显示,119 个染色体片段置换系中, 有 8 个系的米糠油含量与受体亲本 9311 存在极差异显著。CSSL8-4、CSSL46-65、CSSL55、CSSL59、CSSL73、CSSL74 的米糠油含量比亲本 9311 显著降低,CSSL35-6、CSSL221 的米糠油含量比亲本 9311 显著提高(表 1)。共检测到 4 个米糠油相关 QTLs, 分布于第 1、第 3、第 5 和第 12 染色体上。这些 QTLs 中表现为增效的只有第 12 染色体上 *qRO-12*, 其加性效应值为 0.91%, 加性效应百分率为

3.96%。*qRO-1*、*qRO-3* 和 *qRO-5* 均表现为减效,其加性效应值分别为 1.48%、1.02% 和 1.14%,加性效应百分率分别为 6.46%、4.44% 和 4.97%。

2.3 水稻米糠油相关 QTLs 的代换作图

对检测到的 8 个米糠油相关 QTLs 进行重叠片段分析,4 个 QTLs 均在 2 个染色体片段置换系中同时被检测到。*qRO-1* 被定位于第 1 染色体 *RM3627* 附近的 *CSSL8-4*、*CSSL46-65* 重叠区段上,长度约为 7.45 cM; *qRO-3* 被定位于第 3 染色体 *RM3513* 附近的 *CSSL55*、*CSSL59* 重叠区段上,长度约为 15.95 cM; *qRO-5* 被定位于第 5 染色体 *RM267* 附近的 *CSSL73*、*CSSL74* 重叠区段上,长度约为 14.05 cM; *qRO-12* 被定位于第 12 染色体 *RM7619* 附近的 *CSSL221*、*CSSL35-6* 重叠区段上,长度约为 10.75 cM (图 2)。

3 讨论

本研究利用近红外广谱分析技术对受体亲本 9311 和供体亲本日本晴构建而成的 119 个染色体片段置换系的米糠油含量进行了分析。结果表明米糠油含量是由多基因控制的数量性状,本试验共鉴定出 4 个与水稻米糠油含量相关的 QTLs,加性效应值的变化范围为 0.91% ~1.48%,均较低。加性效应百分率的变化范围为 3.96% ~6.46%,其中 *qRO-12* 表现为增效,其余均表现为减效。与初级定位群体相比,染色体片段置换系只在置换片段上发生分离,从而有效地减少了遗传背景的干扰,大大提高了对复杂农艺性状基因定位的精确性,特别是能检测出遗传效应较小的数量性状基因座,被认定为是进行 QTL 定位的最理想群体^[9]。因此本研究加性效应值均较小的米糠油性状 QTL 可以被检测到。

对米糠油性状的研究,目前主要集中在功能分析、开发利用等方面^[1, 10-11]。米糠油不仅脂肪酸组成完全、合理,而且含有丰富的维生素 E、谷维素、植物甾醇、角鲨烯等几十种生理活性成分。此外,米糠油还具有耐长时间贮存和几乎无有害物质生成等优点,使得米糠油成为继葵花籽油,玉米胚芽油之后又一新型食品用油受到普遍关注。此外,米糠油还是一种用途很广泛的油脂化工原料,可用于生产表面活性剂、化妆品、香料等产品。对米糠油的遗传研究分析较少。主要由于米糠中有 30 余种酶,其中以降脂酶活性最高,米糠极易受解脂酶的作用而发生油

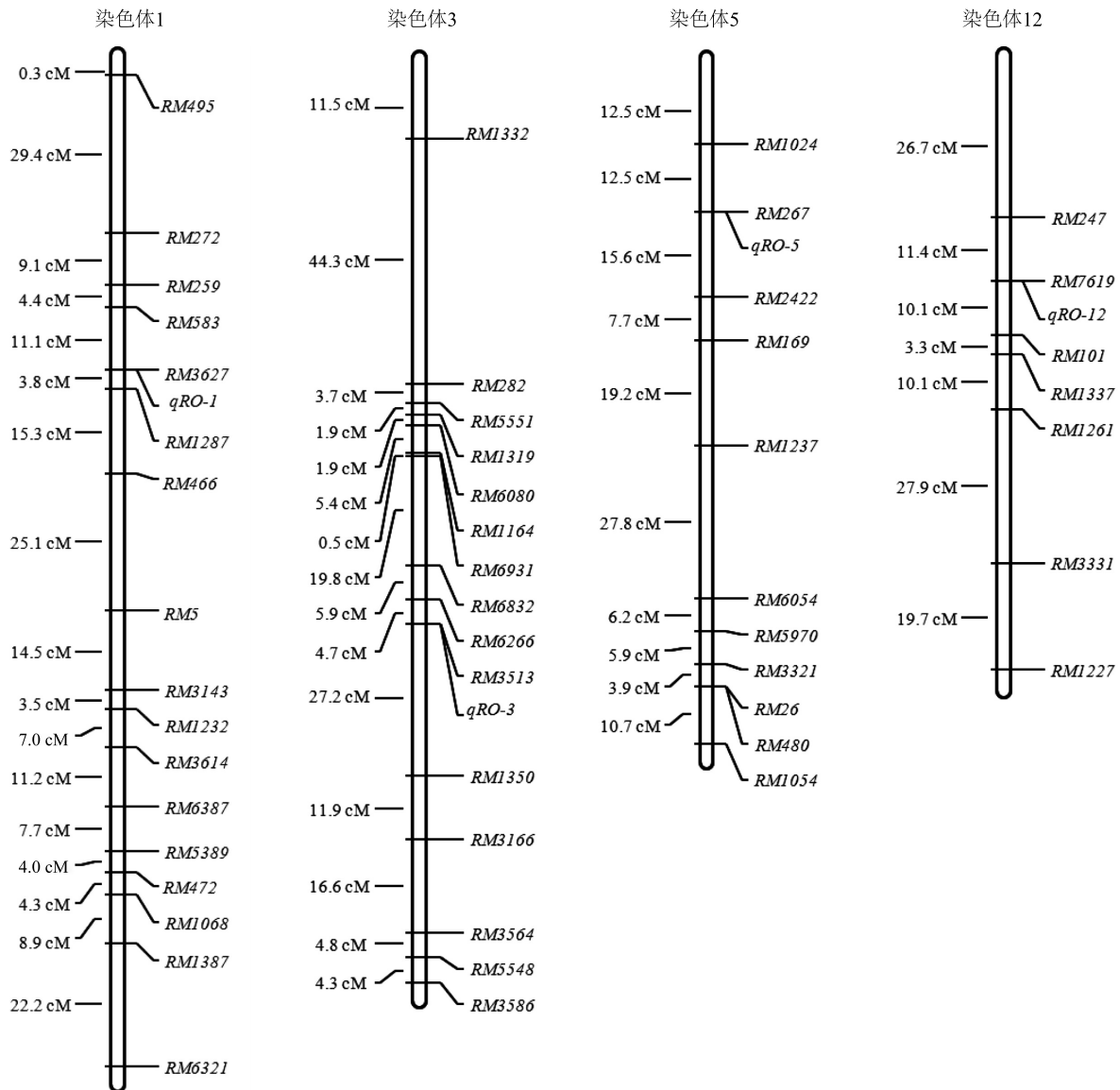


图2 水稻米糠油 QTLs 在染色体上的位置

Fig. 2 Location of QTLs for rice bran oil on the chromosomes

脂酸败。新出米机的米糠若不及时杀酶,在最初 24 h 内,每放置 1 h,酸值可增加 1 mg/g,1 个月后酸值可能提高 60%~70%,这些因素不利于米糠油的研究,另外,对影响米糠油含量的关键位点及相关因素也均未有研究报道。

本研究利用染色体片段置换系对米糠油的遗传进行了一些初步分析,检测到的米糠油相关 QTL 效应值也较小,日后通过分子标记辅助选择聚合米糠油含量基因,是否可以选育出高米糠油品种还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 欧阳建勋. 米糠油资源开发应用探讨[J]. 粮食科技与经济, 2011, 36(3): 24-26.
- [2] 陈正行,王 韧,王 莉,等. 稻米及其副产品深加工技术研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(4): 355-364.
- [3] ZHU W Y, LIN J, YANG D W, et al. Development of chromosome segment substitution lines derived from backcross between two sequenced rice cultivars *indica* recipient '93-11' and japonica donor 'Nipponbare' [J]. Plant Mol Biol Rep, 2009, 27(2): 126-131.

- [4] 刘冠明,李文涛,曾瑞珍,等. 水稻单片段代换系片段的 QTL 鉴定[J]. 遗传学报,2004,31(12):1395-1400.
- [5] ESHED Y, ZAMIR D. An introgression line population of lycopersicon pennellii in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL[J]. Genetics, 1995, 141: 1147-1162.
- [6] MCCOUCH SR, CHO YG, YANO M. Report on QTL nomenclature[J]. Rice Genetics Newsletter,1997,14:11-13.
- [7] PATERSON A H, DEVEMA J W, LANINI B, et al. Fine mapping of quantitative trait loci using selected overlapping recombinant chromosomes in an interspecies cross of tomato [J]. Genetics,1990,124:735-742.
- [8] YOUNG N D, TANKSLEY S D. Restriction fragment length polymorphism maps and the concept of graphical genotypes[J]. Theor Appl Genet, 1989, 77:95-101.
- [9] ALPERT K B, TANKSLEY S D. High-resolution mapping and resolution of a yeast artificial chromosome contig containing fw 2-2 a major fruit weight quantitative trait locus in tomato[J]. Proc Natl Acad Sci USA,1996, 93:15503-15507.
- [10] REZA F, REZA E K. Anti-rancidity effects of sesame and rice bran oils on canola oil during deep frying[J]. J Am Oil Chem Soc,2009,86:539-544.
- [11] 周秀琴. 大米副产物米糠的价值与国内外的开发应用[J]. 发酵科技通讯,2010,39(2):40-42.

(责任编辑:袁 伟)