



回交重组自交系中 *SSⅢ-1*、*SBE3* 和 *PUL* 基因对稻米蒸煮食味品质的影响

许顺菊,向珣朝*,康翠芳,龙小林,苏文丽,杨博文,吴家富

(西南科技大学 植物分子遗传育种实验室,四川绵阳 621010)

摘要:该研究利用颗粒结合淀粉合成酶基因(Wx^b)与可溶性淀粉合成酶Ⅱa基因($SS\text{II-3}$)均相同的籼型光温敏核不育系‘广占63S’和潜力恢复系CG173R为亲本,经过回交和多代自交,以构建的回交重组自交系(BILs) BC_1F_{10} 代株系为供试材料,分析各株系的基因型组成及其蒸煮食味品质(ECQs)和RVA谱,以解析与品质相关微效基因的遗传效应。结果显示:(1)双亲在焦磷酸化酶大亚基基因(*AGP1ar*)、分支酶基因Ⅲ(*SBE3*)、脱分支酶基因(*PUL*)、可溶性淀粉合成酶Ⅰ基因(*SS I*)和可溶性淀粉合成酶*SSⅢ-1*基因(*SSⅢ-1*)的基因位点存在差异。(2)*SSⅢ-1*、*SBE3* 和 *PUL* 基因分别在 BC_1F_{10} 代株系中存在单基因分离,*SSⅢ-1* 和 *SBE3* 基因、*SSⅢ-1* 和 *PUL* 基因在 BC_1F_{10} 代株系中均存在双基因的分离。(3)不同基因型及其互作与蒸煮食味品质(ECQs)中的表观直链淀粉含量(AAC)、胶稠度(GC)以及RVA谱的部分特征值存在显著或极显著的效应。(4)*SSⅢ-1*单基因只对AAC有极显著影响;*SBE3*基因和*SSⅢ-1*基因互作对AAC有极显著影响,对峰值时间(PeT)、成糊温度(PaT)、GC有显著性影响;*PUL*基因和*SSⅢ-1*基因互作对PeT、PaT和回复值(CSV)有极显著影响,对最高粘度(PKV)、热浆粘度(HPV)、崩解值(BDV)、冷浆粘度(CPV)、消减值(SBV)、AAC和GC有显著影响。研究表明,在 Wx^b 和 $SS\text{II-3}$ 基因背景下,参与淀粉合成的微效基因 *SSⅢ-1* 与 *SBE3* 和 *SSⅢ-1* 的互作效应极显著影响水稻AAC, *SBE3* 和 *SSⅢ-1* 的互作效应与 *PUL* 和 *SSⅢ-1* 的互作效应显著影响GC, *PUL* 和 *SSⅢ-1* 的互作效应极显著影响PaT,这些发现将对改良稻米品质和加快水稻优质育种具有重要意义。

关键词:水稻(*Oryza sativa L.*);回交重组自交系(BILs);*SSⅢ-1*基因;*SBE3*基因;*PUL*基因

中图分类号:Q789 文献标志码:A

Effects of *SSⅢ-1*, *SBE3* and *PUL* on Eating and Cooking Qualities of Rice under the Background of Backcross Inbred Lines

XU Shunju, XIANG Xunchao*, KANG Cuifang, LONG Xiaolin, SU Wenli, YANG Bowen, WU Jiafu
(Lab of Plant Molecular Genetics and Breeding, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China)

Abstract: Rice is one of the major cereal crops and eating and cooking qualities are very important for improving commodification of rice and people's life. We used backcross inbred lines(BILs) of BC_1F_{10} generation as materials which were constructed by two parents of *indica* photo-thermo-sensitive gene male sterile(PT-GMS) line Guangzhan 63S and rice potential restorer line CG173R and they contained the same alleles of starch synthaseⅡa gene($SS\text{II-3}$) and granule bound starch synthase gene(Wx^b), and their hybrid by back-crossing and selfing for several generations. Furthermore, the genotypes, the eating and cooking qualities (ECQs) and RVA profiles were measured among the lines of BILs so that genetic effects of the minor genes

收稿日期:2015-07-10;修改稿收到日期:2015-08-29

基金项目:四川省教育厅重点项目(13ZA0272);西南科技大学重点科研平台专职科研创新团队建设基金(14tdgc07);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(12ZXSK08)

作者简介:许顺菊(1989—),女,在读硕士研究生,主要从事分子标记辅助选择改良稻米品质研究。E-mail:505525398@qq.com

*通信作者:向珣朝,博士,教授,硕士生导师,主要从事分子遗传与育种研究。E-mail:xiangxunchao@swust.edu.cn

were analyzed. The results showed that: 1) Five different starch synthesis-related genes ADP-glucose pyrophosphorylase large subunit ADPG (*AGPlar*), starch branching enzyme III (*SBE3*), Pullulanase gene (*PUL*), Soluble Starch Synthase I gene (*SS I*) and Soluble Starch Synthase III-1 gene (*SS III-1*) existed difference for two parents. 2) *SSIII-1*, *SBE3* and *PUL* genes had single gene separation, and two genes separation of *SSIII-1* and *SBE3* genes, *SSIII-1* and *PUL* genes in lines of $BC_1 F_{10}$. 3) Their different effect of genotypes, and interaction had significant influence at 0.05 level or at 0.01 level on apparent amylose content (AAC), the gel consistency (GC) and part indices of RVA profiles. 4) Effects of *SSIII-1* had significant influence on AAC at 0.01 level. Interaction effect of *SBE3* and *SSIII-1* had significant influence on AAC at 0.01 level and had significant influence on Peak time (PeT), Pasting temperature (PaT) and GC at 0.05 level. Interaction effect of *PUL* and *SS III-1* genes had significant influence on PeT, PaT and consistency value (CSV) at 0.01 level and had significant influence on peak viscosity (PKV), hot paste viscosity (HPV), Breakdown value (BDV), Cool paste viscosity (CPV), Setback value (SBV), AAC and GC at 0.05 level. In the background of *Wx^b* and *SS II-3* genes, the results demonstrated that effects of *SSIII-1* and the genes interaction between *SBE3* and *SSIII-1* have significant influence on AAC at 0.01 level; Interaction effects between *SBE3* and *SSIII-1* and between *PUL* and *SSIII-1* have significant influence on GC at 0.05 level; Interaction effect between *PUL* and *SSIII-1* has significant influence on PaT at 0.01 level. The studies have importance for improving the rice eating and cooking qualities and accelerating the research on rice quality breeding.

Key words: rice (*Oryza sativa* L.); backcross inbred lines (BILs); soluble starch synthase III-1 gene (*SS III-1*); starch branching enzyme 3 gene (*SBE3*); pullulanase gene (*PUL*)

水稻是以淀粉为主的粮食作物之一。近几十年来,水稻产量得到了大幅度提高,稻米品质依旧普遍较低,使得育种研究者更加关注稻米品质的改良。蒸煮食味品质(eating and cooking qualities, ECQs)是稻米品质的主要指标之一,通常用3个理化特性来衡量:表观直链淀粉含量(apparent amylose content, AAC)、胶稠度(gelconsistency, GC)和糊化温度(gelatinization temperature, GT)。稻米淀粉粘滞性谱(rice starch viscosity, RVA profile)反映的是稻米淀粉与一定量的水混合后的米浆在加热、高温和冷却等条件下粘度不断变化而呈现的糊化曲线,可以比较灵敏地反映不同水稻品种间淀粉的品质差异^[1],因此稻米淀粉的粘滞特性也是反映食味品质的重要指标之一。稻米品质很大程度上取决于淀粉的品质,稻米淀粉可分为直链淀粉和支链淀粉,支链淀粉的结构及两类淀粉所占比例共同决定了稻米淀粉品质^[2]。因此,深入研究稻米淀粉合成相关基因对稻米理化特性的影响是开展淀粉品质遗传改良的基础。

直链淀粉的合成主要由颗粒结合淀粉合成酶基因(*Wx*)调控。支链淀粉的生物合成过程相当复杂,由可溶性淀粉合成酶基因(*SSS*)、分支酶基因(*SBE*)和脱分支酶基因(*DBE*)协同调控合成^[3-4],每一类酶又有多个同工型(isoform)。近年来,稻米淀粉合成相关基因(starch synthesis-related genes, SSRGs)对理化指标和 RVA 特征值的影响已经有

大量的报道,表明 *SS II-3*(可溶性淀粉合成酶基因)是调控 GT 的主效基因^[5-9],而 GC、AAC 以及大部分的 RVA 谱特征值主要由基因 *Wx* 调控^[10-15]。已有的研究表明,控制各理化指标的主效基因相同的品种,其品质指标却存在着很大差异^[16],表明稻米淀粉合成不仅由上述主效基因调控,其他淀粉合成相关基因也参与其中,因此,也应当重视研究除主效基因以外的其他淀粉合成相关基因对稻米品质的影响。

可溶性淀粉合成酶(soluble starch synthase, SS)主要存在于质体的基质中,在叶片和贮藏器官中有多种同工型^[17-20],其与分支酶一起参与支链淀粉的合成。水稻可溶性淀粉合成酶包括 *SS I*、*SS II*、*SS III* 和 *SS IV*。*SS III-1* 和 *SS III-2* 是 *SS III* 基因的2种同工型,*SS III-1* 主要在叶片中特异性表达^[21-22]。与 *SS III-1* 相比,*SS III-2* 与稻米品质的关系更密切,但是王芳等研究表明 *SS III-1* 对稻米 ECQs 及 RVA 谱同样有影响。*SBE3*(*SBE II b*)是淀粉分支酶(starch branching enzyme, SBE)基因的1种,Nishi 等研究发现水稻和玉米的直链淀粉扩展体(ae)属于 *SBE3* 功能缺失突变体,*RBE3*(*SBE3* 家族)的活力减弱,或消失可能引起突变植株中直链淀粉含量的提高。同时他们发现 *RBE3* 突变引起支链淀粉 $DP < 17$ 的分支降低,特别是 $8 < DP < 12$ 的分支比例^[23]。*PUL*(即极限糊精酶基因)是脱分支酶(debranching enzyme, DBE)基因的1种,在水稻

基因组中,只存在1个拷贝的PUL基因^[24]。Kubo A等^[25]和Fujita N等^[26]研究证实PUL不仅参与水稻胚乳中的淀粉降解过程,而且在淀粉的合成过程中也发挥有一定作用。PUL基因发生突变后,胚乳中支链淀粉聚合度小于13的短链明显增加,而B2-3链的平均链长要比野生型增加约3个葡萄糖残基,说明PUL基因对支链淀粉的精细结构起重要作用^[26]。因此,研究SSⅢ-1、SBE3和PUL基因对稻米品质的影响有重要意义。

康翠芳等^[27]研究了水稻淀粉合成相关基因SSⅠ、SSⅢ-1和PUL对稻米品质的影响,表明PUL基因在后代分离过程中,不同基因型之间,GC、CSV具有显著性差异。SSⅢ-1和SSⅠ基因的互作效应对GT的效应达极显著水平,对AAC、GC、PKV、SBV的效应达显著水平。由于实验样本数较少,仅给出了平均值,未能对不同基因型组合品质性状的平均值作方差分析。基于上述工作基础,本研究仍然利用以Wx^b和SSⅡ-3主效基因相同,AGP_{lar}、SBE3、PUL、SSⅠ和SSⅢ-1基因有多态性的双亲构建的BILs高世代株系为研究材料,增加样本数量,分析非糯水稻中SSⅢ-1、PUL和SBE3基因在后代中单基因分离、双基因分离以及双基因互作对稻米ECQs的影响,解析上述3个基因的主要作用因子及其功能,以期为稻米品质改良提供更充分的理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

水稻籼型(*Oryza sativa* ssp. *indica*)光温敏核不育系‘广占63S’和潜力恢复系CG173R[广恢128×BC₂{[(蜀恢527×Kitaake)×蜀恢527]}即蜀恢527与梗稻Kitaake杂交,F₁用蜀恢527做轮回亲本再回交2代后,选优株做父本与广恢128做母本再杂交于F₇代稳定,测恢后定名]杂交得到F₁代,与潜力恢复系回交产生的BC₁F₁,通过单株选择构建的BC₁F₁₀株系作为实验材料,属于回交重组自交系(backcross inbred lines, BILs)。

利用田志喜等^[28]开发的19对SSRGs的分子标记和蔡秀玲等^[29]开发的分子标记PCR-AccI,检测双亲‘广占63S’和CG173R在淀粉合成相关基因位点上的基因型。双亲Wx^b和SSⅡ-3基因型相同,AGP_{lar}、SBE3、PUL、SSⅠ和SSⅢ-1基因型不同。2014年4月将这些基因型有多态性的单株种植于西南科技大学农学实验基地,当年8月底收获

种子,得到4个BC₁F₁₀株系:株系S10共15株、株系S134共17株、株系S63共29株和株系S52共19株。对BILs不同株系分单株取样,稻谷经过电动砻谷机(日本Kett,型号TR-200)脱壳为糙米,通过实验用小型精米机(Pearlest,日本Kett)磨成精米后,进一步经高速锤式通用粉碎磨(瑞典Perten, Lm3100型)磨成米粉,过100目筛后放置1~2个月当含水量达到12%时测定稻米ECQs。

1.2 亲本及各株系基因型检测

对BILs不同株系分单株取样,每个单株取适量叶片,经MP Fastprep样品快速破碎系统(美国MP medicals)处理,按微量SDS法提取基因组DNA^[30],重复2次。

利用田志喜等^[28]开发的分子标记检测亲本淀粉合成相关基因的基因型。利用蔡秀玲等^[29]开发的分子标记PCR-AccI检测Wx基因第一内含子+1位碱基类型。这些用于检测的分子标记的碱基序列见表1,PCR扩增程序参见田志喜等^[28]和蔡秀玲等^[29]。

PCR反应在BIO RAD DNA Engine Dyad Peltier Thermal Cycler上运行,PCR反应为10 μL体系:2×Reaction Mix(含Mg²⁺)5 μL,5 U/μL Taq DNA Polymerase 0.3 μL,1 umol/L引物各1 μL;25 ng/μL DNA模板1 μL;ddH₂O 1.7 μL。所有药品和试剂购置于成都市博瑞克生物技术有限公司和天根生化技术科技(北京)有限公司。

分子标记SSⅢ-1M1和PUL M2扩增程序为:94 °C预变性4 min;94 °C变性1 min,58 °C退火30 s,72 °C延伸30 s,45个循环;最后72 °C延伸10 min,PCR产物保存于4 °C,取产物3%琼脂糖电泳。

分子标记SBE3 M2扩增程序为:94 °C预变性4 min;94 °C变性1 min,58 °C退火1 min,72 °C延伸1 min,45个循环;最后72 °C延伸10 min,PCR产物保存于4 °C,取产物3%琼脂糖电泳。

1.3 表观直链淀粉含量与胶稠度的测定

按国家标准GBT15683-1995^[31]测定各试样稻米粉的AAC和GC,每个指标重复测定3次。

1.4 RVA谱粘滞性的测定

采用配套软件为TCW(Thermal Cycle for Winows,4500型)的粘度速测仪(澳大利亚Newport Scientific仪器公司)来测定稻米淀粉粘滞性谱(RVA谱)。按照AACC操作规程^[32],稻米粉含水量为12.0%时,取样3.0 g和蒸馏水25.00 mL加于罐内。仪器开始运行后,搅拌器在起始10 s内以

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	引物序列 Sequence of primers(5'→3')	标记类型 Marker type
<i>Wx</i>	PCR-Acc I	F:GCTTCACTTCTCTGCTTGTG ;R:ATGATTAAACGAGAGTTGAA	CAPS(Acc I)
SSⅡ-3	SSⅡ-3 M1	F:CCAATACCGTAAACTAGCGACTATG;R:TACAGGTAGAATGGCAGTGGTG	STS
AGPlar	AGPlar M1	F:CGTTCAGGTTCAAGGCAATCA;R:GGAAAGGGTGGTATGTGGAG	STS
SSⅠ	SSⅠ M1	F:GGTAGGGTAGGTCAATCTGGC;R:ATAGAGAACAAATGTGGCAACC	CAPS(Nru I)
	SSⅠ M2	F:CTTCTATCCATTCCCTTAATCCCA;R:ATGCTATTGATGTTAACAGAGGGC	STS
SSⅢ-1	SSⅢ-1 M1	F:AAGAAGGGAAGGGAGTCAGC;R:GCCATCTCCATTGCCAGC	SSR
SBE3	SBE3 M2	F:GTGGGGTTCTCAACTTAGC;R:CATCAGCATTGTTAGGCAG	STS
PUL	PUL M1	F:AGAGAAGGAGAAAGAAGTGGAGA;R:GTCCAAACTGAATCACTCAATCG	STS
	PUL M2	F:GACAACCGTCCGCTTAGTTTC;R:GCATTGAGAGGGTTGGATTC	STS

960 r/min 转动,之后保持在 160 r/min;罐内温度变化如下:50 ℃保持 1 min,以 12 ℃/min 升温到 95 ℃,95 ℃保持 2.5 min,再以 12 ℃/min 降温到 50 ℃,50 ℃保持 1.4 min。粘度单位是随机单位(RVA arbitrary unit, RVU)。重复测定 3 次。

1.5 统计方法

研究所得数据采用 Excel 2003 和 DPS 9.50 统计软件进行单因素方差分析,根据基因型检测结果对数据进行分类,利用 DPS 9.50 进行二因素裂区试验统计分析不同基因在不同基因型下 AAC、GC 及 RVA 谱特征值的变化特征。

2 结果与分析

2.1 BC₁F₁₀株系各单株的基因分型

利用上述 5 个品质相关基因位点的分子标记,对 BC₁F₁₀后代株系基因型进行检测,双亲有差异的分子标记检测结果见图 1。BC₁F₁₀后代株系中的各单株在某一基因位点上的等位基因与亲本‘广占 63S’一致的基因型即为广占 63S 型,与亲本

CG173R 一致的即为 CG173R 型,等位基因杂合的基因型即为杂合型。各单株在 SSⅢ-1 位点的基因型为广占 63S 型、CG173R 型及杂合型时分别标记为 G 型、C 型和 H 型。单株在 SBE3 位点基因型为广占 63S 型、CG173R 型及杂合型时分别标记为 I 型、II 型和 III 型。单株在 PUL 位点基因型为广占 63S 型、CG173R 型以及杂合型时分别标记为 1 型、2 型和 3 型。

BC₁F₉ 中有 2 个单株在 *Wx*^b、SSⅡ-3、AGPlar、SSⅠ、SBE3 和 PUL 基因位点的基因型相同,均只在 SSⅢ-1 位点发生了单基因分离。因此,这 2 个单株的种子在 BC₁F₁₀ 种成株系得 S10 和 S134。2 个株系中各单株在 SSⅢ-1 位点存在 3 种基因型分别为 G 型、C 型和 H 型。另外,不分离的基因中除 SBE3 基因外,其余各基因位点基因型均一致,株系 S10 中 SBE3 的基因型为 II 型,株系 S134 中 SBE3 基因型为 I 型,株系 S10 中 SSⅢ-1 基因分离情况为:5 株为 G 型、7 株为 C 型、3 株为 H 型;株系 S134 中 SSⅢ-1 基因分离情况为:5 株为 G 型、7 株

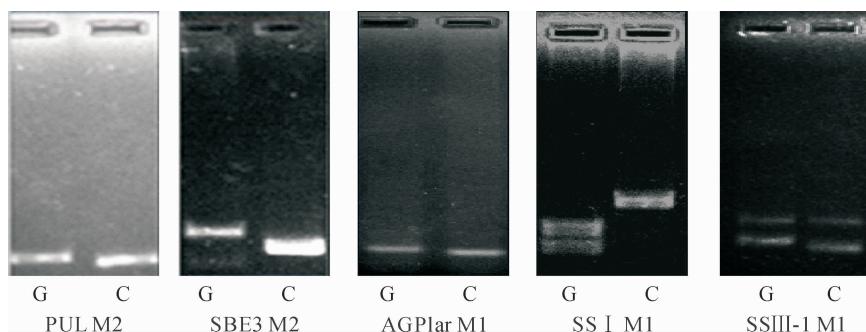


图 1 差异分子标记的检测结果

G. 广占 63S; C. CG173R

Fig. 1 The testing results of different molecular markers with polymorphism in parents
G. Guangzhan 63S; C. CG173R

表2 后代BC₁F₁₀株系在各基因位点的遗传表现Table 2 The genetic characteristics of different gene loci in BC₁F₁₀ lines

BC ₁ F ₁₀ 株系 BC ₁ F ₁₀ line	样本数 Sample number	存在等位分离的基因 Allele of separation	不发生分离的基因 Allele of no separation
S10	15	SSⅢ-1(G型5株、C型7株、H型3株) SSⅢ-1(G-type 5 plants, C-type 7 plants, H-type 3 plants)	W _x ^b 、SSⅡ-3、AGPlar、SBE3 (Ⅱ型)、SSⅠ、PUL
S134	17	SSⅢ-1(G型5株、C型7株、H型5株) SSⅢ-1(G-type 5 plants, C-type 7 plants, H-type 5 plants)	W _x ^b 、SSⅡ-3、AGPlar、SBE3 (Ⅰ型)、SSⅠ、PUL
S63	29	SBE3(Ⅰ型12株、Ⅱ型15株)SBE3(I-type 12 plants, II-type 15 plants) SSⅢ-1(G型5株、C型11株、H型3株) SSⅢ-1(G-type 5 plants, C-type 11 plants, H-type 3 plants)	W _x ^b 、SSⅡ-3、AGPlar、SSⅠ、 PUL
S52	19	PUL(1型5株、2型11株)PUL(1-type 5 plants, 2-type 11 plants) SSⅢ-1(C型5株、H型11株)SSⅢ-1(C-type 5 plants, H-type 11 plants)	W _x ^b 、SSⅡ-3、AGPlar、SSⅠ、 SBE3

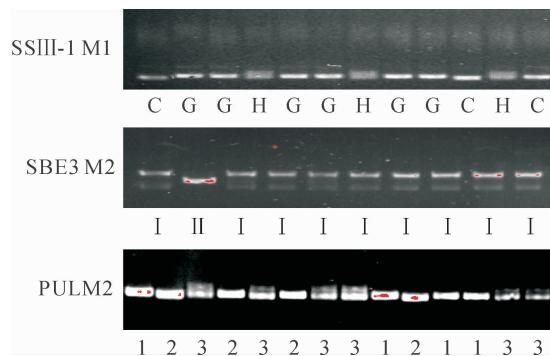
图2 分子标记在部分供试材料中的多态性
G. 广占 63S; C. CG173R; H. 广占 63S 和 CG173R 杂合

Fig. 2 Polymorphism of molecular markers in partial materials tested
G. Guangzhan63S; C. CG173R; H. Heterzygote of
Guangzhan 63S and CG173R

为C型、5株为H型;BC₁F₉中有1个单株在W_x^b、SSⅡ-3、AGPlar、SSⅠ和PUL基因位点的基因型相同,在SSⅢ-1和SBE3位点同时存在分离,在BC₁F₁₀种成株系得S63。该株系在SBE3位点存在2种基因型为:I型和Ⅱ型;SSⅢ-1位点存在3种基因型为:G型、C型和H型。SBE3基因在株系S63中分离情况为:12株为I型、15株为Ⅱ型;SSⅢ-1基因分离情况为:5株为G型、11株为C型、3株为H型;BC₁F₉中有1个单株在W_x^b、SSⅡ-3、AGPlar、SSⅠ和SBE3基因位点的基因型相同,在SSⅢ-1和PUL基因位点同时存在分离,在BC₁F₁₀种成株系得S52。该株系在PUL位点存在2种基因型为:1型和2型,SSⅢ-1位点存在2种基因类型为:C型和H型。PUL基因分离情况为:5株为1型、11株为2型。SSⅢ-1基因分离情况为:5株为C型、11株为H型。结果列于表2。图2列出部分检测结果,表明供试单株发生分离的基因可分为

3种基因类型:广占 63S、CG173R型和杂合型。

2.2 各基因对稻米品质的效应分析

2.2.1 SSⅢ-1基因对稻米品质的影响 由表3可知,株系S10和株系S134中的AAC,在SSⅢ-1各基因型间存在显著性差异,但不同株系的AAC排列均值大小不同。株系S10中3种基因型的AAC均值大小依次为C型<H型<G型,H型样本的AAC介于两亲本类型之间,G型的AAC高于C型;株系S134中3种基因型的AAC均值大小依次为H型<C型<G型,H型样本的AAC最小,G型的AAC最高。二者AAC均值大小顺序不同,可能原因是由于两个株系在SBE3位点的基因型不同,使得SBE3和SSⅢ-1基因间因相互作用而导致的。其他的理化指标及RVA特征值在不同的SSⅢ-1基因型之间未达到显著性水平,说明SSⅢ-1基因的分离在该株系中对RVA谱各特征值以及对GC的影响较小。

对株系S10和S134混合成一个大群体进行分析,由表3可知,SSⅢ-1基因在AAC上,各基因型间达到了极显著性差异,3种基因型的AAC均值大小依次为C型<H型<G型,G型的AAC高于C型。其他的理化指标及RVA特征值在不同的SSⅢ-1基因型之间未达到显著性水平。由此可知SSⅢ-1基因的分离对AAC有极显著影响,而对RVA谱各特征值和GC的影响均较小。

2.2.2 SBE3和SSⅢ-1基因对稻米品质的影响

(1)SBE3和SSⅢ-1基因同时分离时单基因对稻米品质的影响 由表4可知,SBE3不同的基因型效应除PKV外,在AAC和GC及其他理化指标上均达到显著或极显著差异水平。其中在HPV、CPV、CSV、SBV、PaT、PeT和GC上达到极显著水平,在BDV和AAC上达到显著水平。其中

表3 不同SSⅢ-1基因型稻米品质的均值及差异显著性
Table 3 The means of quality traits and their significant test of different SSⅢ-1 genotypes

RVA谱特征值 Index of RVA profiles	S10				S134				S10 & S134			
	G型 Genotype G	C型 Genotype C	H型 Genotype H	G型 Genotype G	C型 Genotype C	H型 Genotype H	G型 Genotype G	C型 Genotype C	H型 Genotype H	G型 Genotype G	C型 Genotype C	H型 Genotype H
PKV/RVU	316.97±11.50	327.94±7.51	328.17±11.35	323.47±6.47	311.41±18.79	317.83±4.70	320.22±6.31	319.67±9.99	21.70±5.03			
HPV/RVU	139.63±4.43	142.49±2.41	145.64±3.59	153.18±2.37	149.52±6.63	143.76±1.97	146.40±3.27	146.00±3.53	144.46±1.70			
CPV/RVU	274.87±3.27	274.87±3.45	273.04±4.09	263.65±2.92	258.28±8.34	252.10±3.07	269.26±2.79	266.58±4.91	259.96±4.45			
BDV/RVU	177.33±7.54	185.45±5.90	182.53±11.15	170.30±6.050	161.89±12.67	174.07±4.66	173.82±4.71	173.67±7.47	177.24±4.85			
CSV/RVU	135.23±4.19	132.38±2.13	127.40±5.42	110.47±2.19	108.77±2.30	108.34±1.74	122.85±4.69	120.58±3.60	115.49±4.05			
SBV/RVU	-42.10±10.17	-53.07±6.35	-55.12±15.37	-59.82±5.08	-53.13±11.29	-65.72±5.56	-50.96±6.12	-53.10±6.22	-61.75±6.33			
PaT/°C	75.54±0.50	75.51±0.11	75.32±0.24	75.81±0.30	77.69±1.63	74.92±0.21	75.67±0.28	76.60±0.84	75.07±0.16			
PeT/min	5.89±0.04	5.93±0.04	5.99±0.01	5.95±0.02	5.98±0.06	5.90±0.02	5.92±0.02	5.95±0.03	5.93±0.02			
AAC/%	13.29±1.06a	8.15±1.38b	11.38±0.68ab	14.69±1.21a	14.12±0.35ab	11.24±1.47b	13.99±0.79aA	10.41±0.54bB	13.09±1.03aAB			
GC/mm	5.39±0.80	5.81±0.52	5.65±0.79	11.29±0.30	10.59±0.85	11.39±1.22	8.34±1.06	8.20±0.82	9.24±1.30			

注:差异显著性检测是每一个RVA谱特征值在不同基因型间的比较。PKV,最高粘度;HPV,热浆粘度;CPV,冷浆粘度;BDV,崩解度;SBV,消减值;PaT,成糊温度;PeT,峰值时间;AAC,表观直链淀粉含量;GC,胶稠度;RVU,粘滞性特征值单位。各数值表示为平均值±标准误。不同小写字母表示0.05水平显著差异。不同大写字母表示0.01水平显著差异。下同
Notes: The significance was tested in different genotypes of every RVA profile characteristics. PKV, Peak viscosity; HPV, Hot paste viscosity; CPV, Cool paste viscosity; BDV, Breakdown; CSV, Consistency; SBV, Setback; PaT, Pasting temperature; PeT, Peak time; AAC, Apparent Amylose content; GC, Gel consistency; RVU, Rapid visco units. All the data show AVE±SE. Different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level; Different capital letters indicate significant differences at 0.01 level. The same as below

在 HPV、CPV、CSV、SBV 和 PeT 上 I < II；在 PKV、BDV、PaT、PeT、AAC 和 GC 上 II < I。SS III-1 不同的基因型效应除 PKV 和 AAC 外，在 GC 及其他的合理化指标上均达到显著或极显著差异水平。其中在 HPV、CPV、CSV、SBV、PaT、PeT 和 GC 指标上达到极显著水平，在 BDV 上达到显著水平。在 PKV、BDV、PaT 和 GC 上 G < C < H，在 HPV、CPV、CSV、SBV 和 PeT 上 H < C < G，在 AAC 上 C < H < G。表明在相同 Wx^b 基因表达的非糯水稻中 SS III-1 和 SBE3 基因对稻米蒸煮食味品质有显著影响。由于 SS III-1 和 SBE3 基因在株系 S63 中同时存在基因分离，可能存在两者之间的互作效应。

表 4 SBE3 和 SS III-1 不同基因型稻米品质性状的均值及差异显著性

Table 4 The means of quality traits and their significant test of different SBE3 and SS III-1 genotypes

RVA 谱各特征值 Index of RVA profiles	SBE3		SS III-1		
	I 型 Genotype I	II 型 Genotype II	G 型 Genotype G	C 型 Genotype C	H 型 Genotype H
PKV/RVU	327.21 ± 4.85	324.33 ± 5.43	316.97 ± 11.50	326.07 ± 5.04	329.07 ± 5.56
HPV/RVU	131.96 ± 1.41cB	142.17 ± 1.93aA	139.63 ± 4.43abAB	139.05B ± 2.14abcA	135.30 ± 2.60bcAB
CPV/RVU	230.87 ± 2.10bC	274.50 ± 1.98aA	274.87 ± 3.27aA	260.36 ± 6.45aAB	240.88 ± 6.63bBC
BDV/RVU	190.76 ± 2.55a	182.16 ± 4.10ab	177.33 ± 7.54b	187.02 ± 4.09 ab	188.87 ± 3.60a
CSV/RVU	98.91 ± 1.31cC	132.34 ± 1.99abA	135.23 ± 4.18aA	121.31 ± 4.83bAB	105.58 ± 4.57cBC
SBV/RVU	-96.35 ± 5.28cB	-49.82 ± 5.18aA	-42.10 ± 10.17aA	-65.71 ± 6.75abAB	-88.20 ± 9.02bcB
PaT/℃	80.78 ± 0.18 aA	75.48 ± 0.17bC	75.54 ± 0.50 bC	77.25C ± 0.74bB	79.46B ± 0.82 aA
PeT/min	5.58 ± 0.02cC	5.93 ± 0.02 aA	5.89 ± 0.04aA	5.81 ± 0.06abAB	5.68 ± 0.06bcBC
AAC/%	15.19 ± 1.29a	10.51 ± 0.94b	13.29 ± 1.06ab	11.78 ± 2.06ab	13.08 ± 0.67ab
GC/mm	12.17 ± 0.90aA	5.64 ± 0.37cB	5.39 ± 0.80cB	8.78 ± 1.30bcAB	9.73 ± 1.19abA

注：差异显著性检测是每一个 RVA 谱特征值在不同基因型间的比较。SBE3 位点存在 2 种基因型：广占 63S 型和 CG173R 型，分别标记为 I 和 II；SS III-1 位点存在 3 种基因型：广占 63S 型，CG173R 型和杂合型，分别标记为 G 型、C 型和 H 型。下同

Notes: The significance was tested in different genotypes of every RVA profile characteristics. SBE3 gene locus exists two kinds of genotypes: Guangzhan 63S type and CG173R type; They are marked as I and II, respectively. SS III-1 locus exists three kinds of genotypes: Guangzhan 63S type, CG173R type and heterozygous; They are marked as G type, C type and H type, respectively. The same as below.

表 5 不同 SS III-1 和 SBE3 基因型组合稻米品质的均值及差异显著性

Table 5 The means of quality traits and their significant test of different combinations of SBE3 and SS III-1 genotypes

RVA 谱各特征值 Index of RVA profiles	IC 型 Genotype IC	IH 型 Genotype IH	II G 型 Genotype II G	II C 型 Genotype II C	II H 型 Genotype II H
PKV/RVU	322.81 ± 5.51	329.42 ± 6.84	316.97 ± 11.50	327.94 ± 7.51	328.17 ± 11.35
HPV/RVU	133.03 ± 1.64b	131.42 ± 2.00b	139.63 ± 4.43ab	142.49 ± 2.41a	145.64 ± 3.59a
CPV/RVU	234.97 ± 1.30bB	228.81 ± 2.87bB	274.87 ± 3.27aA	274.87 ± 3.45aA	273.04 ± 4.09aA
BDV/RVU	189.78 ± 5.31	191.25 ± 3.03	177.33 ± 7.54	185.45 ± 5.89	182.53 ± 11.15
CSV/RVU	101.94 ± 1.10bB	97.40 ± 1.67bB	135.23 ± 4.19aA	132.38 ± 2.13aA	127.40 ± 5.42aA
SBV/RVU	-87.85 ± 4.47bB	-100.60 ± 7.33bB	-42.10 ± 10.17aA	-53.07 ± 6.35aA	-55.12 ± 15.37aA
PaT/℃	80.31 ± 0.24aA	81.02 ± 0.20aA	75.54 ± 0.50bB	75.51 ± 0.11bB	75.32 ± 0.24bB
PeT/min	5.59 ± 0.03bB	5.57 ± 0.02bB	5.89 ± 0.04aA	5.93 ± 0.04aA	5.99 ± 0.01aA
AAC/%	13.13 ± 0.79a	13.72 ± 0.78a	13.29 ± 1.06a	9.58 ± 0.96b	11.38 ± 0.68ab
GC/mm	13.98 ± 0.55aA	11.26 ± 1.21aA	5.39 ± 0.80bB	5.81 ± 0.52bB	5.65 ± 0.79bB

注：差异显著性检测是每一个 RVA 谱特征值在不同基因型间的比较。

Note: The significance was tested in different genotypes of every RVA profile characteristics.

(2) SBE3 和 SS III-1 基因的互作效应分析 为探讨 SS III-1 和 SBE3 基因间的互作效应，根据株系中两基因不同的基因型组合方式，将此株系参试材料分为 5 类(表 5)，这些不同 SS III-1 和 SBE3 基因型组合的稻米品质的均值及差异显著性见表 5。由表 5 可知在不同的组合方式下 HPV 和 AAC 在各基因型间存在显著差异；CPV、SBV、PeT、PaT、CSV 和 GC 在各基因型间存在极显著性差异。在不同 SS III-1 基因型的遗传背景下各理化指标 BDV、PaT 和 GC 中 SBE3 基因型为 I 型的值均大于 II 型，而 HPV、CPV、SBV、PeT 和 CSV 中 SBE3 基因型为 II 型的值均大于 I 型。说明 SS III-1 和 SBE3 基因存在相互作用。

进一步将SBE3基因型作为主因素,SSⅢ-1基因作为副因素,进行裂区试验分析,探究SBE3基因和SSⅢ-1基因的互作效应,结果见表6。由表6可知,SBE3基因对HPV、BDV和AAC的效应达到极显著水平。SSⅢ-1基因对SBV、PaT、CSV、AAC的效应达显著性水平。SBE3基因和SSⅢ-1基因的互作对AAC的效应达到极显著水平,对PeT、PaT和GC的效应达到显著水平。

2.2.3 PUL和SSⅢ-1基因对稻米品质的影响

(1)PUL和SSⅢ-1基因同时分离时单基因对稻米品质的影响 株系S52中各单株在Wx^b、SS

Ⅱ-3、AGPlar、SSⅠ和SBE3基因位点的基因型相同,在SSⅢ-1和PUL位点同时存在分离。由表7可知,不同的PUL基因在SBV和PeT上存在显著性差异,而且在SBV指标上其均值为2<1,在PeT指标上其均值为1<2。不同的SSⅢ-1基因同样在SBV和PeT上存在显著性差异;在SBV上其均值大小为H<C,在PeT上其均值大小为H<C。由于SSⅢ-1和PUL基因在株系S52中同时存在基因分离,可能在两者之间存在互作效应。

(2)PUL和SSⅢ-1基因的互作效应分析 根据株系中SSⅢ-1和PUL基因型组合方式不同,将

表6 SBE3基因与SSⅢ-1基因的裂区设计分析结果

Table 6 The results of split block design for SBE3 gene and SSⅢ-1 gene

RVA谱各特征值 Index of RVA profiles	SBE3		SSⅢ-1		SBE3×SSⅢ-1	
	F	P	F	P	F	P
PKV/RVU	1.055	0.334 3	2.227	0.155 1	0.138	0.715 2
HPV/RVU	27.679	0.000 8	0.125	0.728 4	1.615	0.222 0
CPV/RVU	1 057.194	0.000 0	1.740	0.205 7	1.735	0.206 3
BDV/RVU	13.706	0.006 0	1.470	0.243 0	0.705	0.413 4
CSV/RVU	630.989	0.000 0	4.926	0.041 3	0.257	0.619 0
SBV/RVU	155.235	0.000 0	4.621	0.047 2	0.026	0.873 3
PaT/℃	684.880	0.000 0	3.490	0.080 2	4.055	0.061 2
PeT/min	208.899	0.000 0	0.366	0.553 6	3.850	0.067 4
AAC/%	13.338	0.006 5	7.639	0.013 8	14.479	0.001 6
GC/mm	100.432	0.000 0	5.003	0.185 0	9.241	0.063 0

注:列区设计分析结果中的F值、P值是每一个RVA谱特征值在不同基因型间的比较。

Note: F and P values of split block design came from the comparison of different genotypes of every RVA profile characteristics.

表7 PUL和SSⅢ-1不同基因型稻米品质性状的均值及差异显著性

Table 7 The means of quality traits and significance of difference for different PUL and SSⅢ-1 genotypes

RVA谱各特征值 Index of RVA profiles	PUL		SSⅢ-1	
	1型 Genotype 1	2型 Genotype 2	C型 Genotype C	H型 Genotype H
PKV/RVU	302.64±36.63	322.71±2.78	326.49±5.96	311.53±15.77
HPV/RVU	121.29±14.13	131.96±1.41	132.76±2.17	126.67±6.31
CPV/RVU	236.15±1.84	230.86±2.10	235.10±1.05	230.43±2.57
BDV/RVU	181.35±23.62	190.68±2.59	193.74±7.43	184.77±9.71
CSV/RVU	90.96±10.30	98.91±1.31	102.34±1.46	93.43±4.47
SBV/RVU	-113.72±14.41b	-91.86±2.58a	-91.40±6.08a	-102.05±6.85ab
PaT/℃	72.99±8.16	80.78±0.18	80.59±0.26	77.34±3.70
PeT/min	5.00±0.55ac	5.58±0.02a	5.58±0.04ab	5.32±0.25abc
AAC/%	14.40±0.38	15.19±1.29	17.07±2.20	13.8±0.57
GC/mm	10.73±1.42	12.17±0.90	13.07±0.92	11.02±1.01

注:差异显著性检测是每一个RVA谱特征值在不同基因型间的比较。PUL位点存在2种基因型:广占63S型和CG173R型,分别标记为1型和2型,SSⅢ-1位点存在2种基因型:CG173R型和杂合型,分别标记为C型和H型。下同。

Notes: The significance was tested in different genotypes of every RVA profile characteristics. PUL gene locus exists two kinds of genotypes: Guangzhan 63S type and CG173R type; They are marked as 1 type and 2 type, respectively. SSⅢ-1 locus exists two kinds of genotypes: CG173R type and heterozygous; They are marked as C type and H type, respectively. The same as below.

表 8 PUL 和 SS III-1 不同基因型组合品质性状的均值及差异显著性

Table 8 The means of quality traits and significance of difference for different combinations of PUL and SS III-1 genotypes

RVA 谱各特征值 Index of RVA profiles	1C 型 Genotype 1C	1H 型 Genotype 1H	2C 型 Genotype 2C	2H 型 Genotype 2H
PKV/RVU	333.86±16.40	281.83±61.99	322.81±5.51	322.67±3.42
HPV/RVU	132.21±7.38	114.02±24.11	133.03±1.64	131.54±2.00
CPV/RVU	235.36±2.53	196.86±40.14	234.97±1.30	228.80±2.87
BDV/RVU	201.65±23.77	167.82±37.98	189.78±5.31	191.13±3.10
CSV/RVU	103.15±4.86a	82.84±16.22b	101.94±1.10a	97.27±1.67ab
SBV/RVU	-98.50±18.92	-84.98±23.13	-87.85±4.47	-93.86±3.07
PaT/℃	81.16±0.41a	67.53±13.59ac	80.31±0.24ab	81.03±0.20a
PeT/min	5.55±0.15ab	4.64±0.91ac	5.59±0.03a	5.56±0.02ab
AAC/%	14.96±0.39	14.03±0.49	13.13±0.79	13.73±0.78
GC/mm	11.26±2.43	10.38±2.15	13.98±0.55	11.28±1.21

注: 差异显著性检测是每一个 RVA 谱特征值在不同基因型间的比较。

Note: The significance was tested in different genotypes of every RVA profile characteristics.

表 9 PUL 基因与 SS III-1 基因的列区设计分析结果

Table 9 The results of split block design for PUL gene and SS III-1 gene

RVA 谱各特征值 Index of RVA profiles	PUL		SS III-1		PUL×SS III-1	
	F	P	F	P	F	P
PKV/RVU	2.381	0.161 4	7.508	0.014 5	7.424	0.015 0
HPV/RVU	7.401	0.026 2	7.644	0.013 8	5.356	0.034 3
CPV/RVU	7.335	0.026 7	14.142	0.001 7	7.411	0.015 1
BDV/RVU	0.750	0.411 6	6.291	0.023 3	7.376	0.015 3
CSV/RVU	6.131	0.038 4	25.381	0.000 1	10.210	0.005 6
SBV/RVU	0.046	0.835 4	0.677	0.422 8	4.588	0.047 9
PaT/℃	10.457	0.01 2	10.815	0.004 6	13.320	0.002 2
PeT/min	15.030	0.004 7	12.141	0.003 1	11.087	0.004 2
AAC/%	4.849	0.058 8	0.244	0.627 8	4.784	0.043 9
GC/mm	2.954	0.124 0	14.469	0.001 6	3.820	0.068 4

注: 列区设计分析结果中的 F 值、P 值是每一个 RVA 谱特征值在不同基因型间的比较。

Note: F and P values of split block design came from the comparison of different genotypes of every RVA profile characteristics.

此株系参试材料分为 4 类(表 8), 在不同组合的情况下, PeT、PaT 和 CSV 各特征值在各基因型间均存在显著性差异。在相同 PUL 基因型的遗传背景下, PeT、PaT 和 CSV 各指标的 C 型的均值均大于 H 型, 也即 SS III-1 基因的 CG173R 基因型的均值均大于杂合型的均值。

进一步将 PUL 基因型作为主因素, SS III-1 基因作为副因素, 进行裂区试验分析, 探究 PUL 基因和 SS III-1 基因的互作效应, 结果见表 9。由表 9 可知, PUL 基因对 PeT 的效应达到极显著水平, 对 HPV、CPV、PaT、CSV 和 AAC 的效应达到显著水平。SS III-1 基因对 CPV、PeT、PaT、CSV 和 GC 的效应达到极显著水平, 对 PKV、HPV 和 BDV 的效应达到显著水平。PUL 基因和 SS III-1 基因的互作效应对 PeT、PaT 和 CSV 的效应达到极显著水平, 对 PKV、HPV、BDV、CPV、SBV、AAC 和 GC 的

效应达到显著水平。

3 讨 论

水稻品质改良是水稻育种的一个重要目标, 稻米淀粉合成通路由多个基因共同协作调控完成, 解析各基因在调控过程中的功能是水稻品质改良的前提。因此深入研究稻米淀粉合成代谢途径中的一系列基因对稻米理化特性的影响及其遗传规律具有十分重要的意义。

SS III-1 基因是可溶性淀粉合成酶基因家族中的一种类型, 主要参与分支链的延长。王芳等构建了以‘苏御糯’为供体亲本, ‘桂朝 2 号’为轮回亲本的淀粉合成相关基因的近等基因系, 研究表明 SS III-1 基因对 RVA 谱特征值 HPV、SBV 和 CSV 有显著影响^[33]。本研究也发现在 S10 和 S134 株系中仅有 SS III-1 单基因分离的情况下, SS III-1 基因对

稻米的AAC有极显著性的影响。

SBE3(SBEⅡb)基因主要在种子中特异性表达,主要影响淀粉A链B1链的合成^[34]。王芳等研究认为SBE3被‘苏御糯’相应基因置换后使得PKV、HPV和CPV极显著下降,对其他特征值没有显著的影响,但在BC₃F₂代,SBE1和SBE3基因被‘苏御糯’相应基因置换后,对近等基因系的PKV和HPV没有显著的影响,但使CPV显著下降,SBV、PeT和PaT极显著下降。在汪结明等利用RVA干扰技术干涉水稻SBE3基因的表达,发现SBE3活性的下降也导致转基因株系AAC显著提高,同时还发现转基因株系成熟籽粒千粒重显著下降^[35]。在S63株系中存在SBE3和SSⅢ-1双基因分离的情况下,本研究发现SBE3基因对HPV和BDV的效应达到极显著水平,SSⅢ-1基因对SBV、PaT、CSV和AAC的效应达显著性水平;SBE3和SSⅢ-1的互作效应对AAC及RVA谱的部分特征值有显著或极显著性的影响,其中对AAC达极显著水平,对PeT、PaT和GC的效应达到显著水平。

PUL以极限糊精为底物,仅在胚乳中表达,在淀粉合成中起最后修饰作用,能切去支链淀粉的不恰当分支^[36]。房玉伟等研究发现,PUL基因对GC的变异有一定的影响,并且在糯稻背景下,PUL基因对RVA谱的影响最为显著,包括PKV、HPV、CPV、SBV、PeT和PaT在内的多个特征值都受到PUL基因影响^[37]。He等利用‘南京11’和Balilla

为亲本构建加倍单倍体群体,结果认为PUL基因对AAC、GC和GT没有遗传效应;在‘苏御糯’×‘扬辐糯4号’衍生的F₂群体中PUL基因对AAC和GC等指标的变异没有影响,却发现PUL与SSⅡa之间存在互作,对PaT的变异有显著的影响^[38]。康翠芳等^[27]研究发现在BC₁F₉代的305株系中,仅有PUL基因发生分离时,PUL基因对稻米的AAC有显著性的影响。本研究发现,在BC₁F₁₀代的S52株系中存在PUL和SSⅢ-1双基因分离的情况下,PUL基因对HPV、CPV、PaT、CSV和AAC等指标有显著影响,对PeT有极显著影响。SSⅢ-1基因对PeT、HPV和BDV有显著影响,对CPV、PeT、PaT、CSV和GC有极显著影响,并且PUL和SSⅢ-1的互作对PKV、HPV、BDV、CPV、SBV、AAC、GC有显著影响,对PeT、PaT和CSV有极显著影响。

在Wx^b和SSⅡ-3基因背景下,利用回交重组自交系通过对参与淀粉合成的SSⅢ-1、SBE3和PUL等微效基因效应的研究,表明SSⅢ-1单基因效应及SBE3和SSⅢ-1的互作效应对水稻的AAC有极显著影响,SBE3和SSⅢ-1的互作效应及PUL和SSⅢ-1的互作效应对水稻的GC有显著影响,PUL和SSⅢ-1的互作效应对水稻的PaT有极显著影响,这些发现将对改良稻米品质和加快水稻优质育种具有重要意义。

参考文献:

- [1] WU H K(吴洪恺),LIANG G H(梁国华),GU Y J(顾燕娟),et al. The effect of the starch-synthesizing genes on RVA profile characteristics in rice(*Oryza sativa* L.)[J]. *Acta Agronomica Sinica*(作物学报),2006,32(11):1 597—1 603(in Chinese).
- [2] 韩月澎. 稻米淀粉合成相关基因对品质的影响及分支酶基因Sbe1、Sbe3克隆与分析[D]. 江苏扬州:扬州大学,2004.
- [3] OHDANT,FRANCISCO PB JR,SAWADA T,et al. Expression profiling of genes involved in starch synthesis in sink and source organs of rice[J]. *Journal of Experimental Botany*,2005,56(422):3 229—3 244.
- [4] PANDEY M K,RANI N S,MADHAV M S,et al. Different isoforms of starch-synthesizing enzymes controlling amylose and amylopectin content in rice(*Oryza sativa* L.)[J]. *Biotechnology Advances*,2012,30(6):1 697—1 706.
- [5] GAO Z Y,ZENG D L,CUI X,et al. Map-based cloning of the ALK gene,which controls the GT of rice[J]. *Science China(Ser C)*,2003,46:661—668.
- [6] UMEMOTO T,AOKI N. Single-nucleotide polymorphisms in rice starch synthaseIIa that alter starch gelatinization and starch association of the enzyme[J]. *Functional Plant Biology*,2005,32:763—768.
- [7] UMEMOTO T,YANO M,SATO H,et al. Mapping of a gene responsible for the difference in amylopectin structure between japonica-type and indica-type rice varieties[J]. *Theoretical and Applied Genetics*,2002,104:18.
- [8] BAO J S,CORKE H,SUN M. Nucleotide diversity in starch synthaseIIa and validation of single nucleotide polymorphisms in relation to starch gelatinization temperature and other physicochemical properties in rice(*Oryza sativa* L.)[J]. *Theoretical and Applied Genetics*,2006,113:171—1183.
- [9] NAKAMURA Y,FRANCISCO JR P B,HOSAKA Y,et al. Essential amino acids of starch synthaseIIa differentiate amylopectin structure and starch quality between japonica and indica rice varieties[J]. *Plant Molecular Biology*,2005,58:213—227.
- [10] 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

- an elite rice hybrid, Shanyou 63[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 99: 642–648.
- [11] BAO J S, ZHENG X W, XIA Y W, et al. QTL mapping for the paste viscosity characteristics in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100: 280–284.
- [12] 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]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2007, 115: 463–476.
- [13] WAN X Y, WAN J M, SU C C, et al. QTL detection for eating quality of cooked rice in a population of chromosome segment substitution lines [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 110: 71–79.
- [14] 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]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2005, 110: 1445–1452.
- [15] HE Y, HAN Y P, JIANG L, et al. Function analysis of starch-synthesis genes in determining rice eating and cooking qualities [J]. *Molecular Breeding*, 2006, 18: 277–290.
- [16] YAN CH J (严长杰), FANG Y W (房玉伟), LI M (李敏), et al. Effect of *PUL* allelic variation on rice cooking and eating quality [J]. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2010, 6(5): 728–732 (in Chinese).
- [17] NAKAMURA Y, TAKWICHI T, KAWAGUCHI K. Changes in enzyme activities associated with carbohydrate metabolism during the development of rice endosperm [J]. *Plant Physiology*, 1992, 84: 329–335.
- [18] NAKAMURA Y. Towards a better understanding of the metabolic system for amylopectin biosynthesis in plants: rice endosperm as a model tissue [J]. *Plant Cell Physiology*, 2002, 43: 718–725.
- [19] KRISHNAN H B, REEVES C D, OKITA T W. ADP glucose pyrophosphorylase is encoded by different mRNA transcripts in leaf and endosperm of cereals [J]. *Plant Physiology*, 1986, 81(2): 642–645.
- [20] MU FORSTER C, HUANG R, POWERS J R, et al. Physical association of starch biosynthetic enzymes with starch granules of maize endosperm [J]. *Plant Physiology*, 1996, 111: 821–829.
- [21] BOYER C D, PREISS J. Properties of citrate-stimulated starch synthesis catalyzed by starch synthase I of developing maize kernels [J]. *Plant Physiology*, 1979, 64(6): 1039–1042.
- [22] KREIS M. Primer dependent and independent forms of soluble starch synthetase from developing barley endosperms [J]. *Planta*, 1980, 148(4): 412–416.
- [23] NISHI A, NAKAMURA Y, TANAKA N, et al. Biochemical and genetic analysis of the effects of amylose-extender mutation in rice endosperm [J]. *Plant Physiology*, 2001, 127(2): 459–472.
- [24] JAMES M G, ROBERTSON D S, MYERS A M. Characterization of the maize gene *sugary1*, a determinant of starch composition in kernels [J]. *Plant Cell*, 1995, 7: 417–429.
- [25] KUBO A, FUJITA N, HARADA K, et al. The starch debranching enzymes isoamylase and pullulanase are both involved in amylopectin biosynthesis in rice endosperm [J]. *Plant Physiology*, 1999, 121: 399–409.
- [26] FUJITA N, TOYOSAWA Y, UTSUMI Y, et al. Characterization of pullulanase (*PUL*)-deficient mutants of rice (*Oryza sativa* L.) and the function of *PUL* on starch biosynthesis in the developing rice endosperm [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60: 1009–1023.
- [27] KANG C F (康翠芳), XIANG X CH (向珣朝), LONG X L (龙小林), et al. Effects of the starch-synthesizing Genes *SS1*, *SS3*-1 and *PUL* on rice (*Oryza sativa* L.) Quality [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology* (农业生物技术学报), 2015, 23(3): 311–319 (in Chinese).
- [28] TIAN ZH X (田志喜), YAN CH J (严长杰), QIAN Q (钱前), et al. Development of gene-tagged molecular markers for starch synthesis-related genes in rice [J]. *Chinese Science Bulletin* (科学通报), 2010, 55(26): 2591–260 (in Chinese).
- [29] CAI X L (蔡秀玲), LIU Q Q (刘巧泉), TANG S Z (汤述翥), et al. Development of a molecular marker for screening the rice cultivars with intermediate amylose content in *Oryza sativa* subsp. *indica* [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology* (植物生理与分子生物学学报), 2002, 28(2): 137–144 (in Chinese).
- [30] XIANG X CH (向珣朝), LI J H (李季航), HE L B (何立斌), et al. Marker 2 assisted selection of *ZmC4Ppc* transformed rice and their performance of yield components [J]. *Chinese Journal of Rice Science* (中国水稻科学), 2007, 21(1): 25–30 (in Chinese).
- [31] 中华人民共和国国家标准. GB/T15683—2008. 大米—直链淀粉含量的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [32] American Association of Cereal Chemists (AACC). Approved methods of the AACC. 10th ed. Methods 61-02 for RVA. St. Paul, MN [S], USA: AACC, 2000.
- [33] 王芳. 淀粉合成相关基因近等基因系的构建及其对稻米蒸煮品质影响的初步研究 [D]. 江苏扬州: 扬州大学, 2007.
- [34] 闵绍楷, 熊振民. 水稻遗传与品质改良 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1984.
- [35] WANG J M (汪结明), ZHANG J (张建), JIANG H Y (江海洋), et al. Effects of RNA interference of *SBE3* gene expression on starch accumulation and key enzymes activities involved in starch synthesis in transgenic rice grain [J]. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2010, 36(2): 313–320 (in Chinese).
- [36] LOYD J R, LANDSCHUTZE V, KOSSMARM J. Simultaneous antisense inhibition of two starch-synthase isoforms in potato tubers leads to accumulation of grossly modified amylopectin [J]. *The Biochemical Journal*, 1999, 338(2): 515–521.
- [37] 房玉伟. 榴稻背景下淀粉合成相关基因遗传网络初步探析及功能验证 [D]. 江苏扬州: 扬州大学, 2009.
- [38] HE Y, HAN Y P, JIANG L, et al. Functional analysis of starch-synthesis genes in determining rice eating and cooking qualities [J]. *Molecular Breeding*, 2006, 18(4): 277–290.