

## 文献综述

## REVIEW

## 稻米营养品质的研究现状及分子改良途径

江良荣<sup>1</sup> 李义珍<sup>2</sup> 王侯聪<sup>3</sup> 黄育民<sup>3\*</sup>

1 海南省农作物分子育种重点实验室, 三亚, 572025

2 海南省热带农业资源开发利用研究所, 三亚, 572025

3 厦门大学生命科学院, 厦门, 361005

\* 通讯作者, [zjhym@public.xm.fj.cn](mailto:zjhym@public.xm.fj.cn)

## 摘要

本文综述了稻米营养品质(蛋白质、赖氨酸和微量营养素)的经典遗传学和分子遗传学、分子育种的研究现状,并对利用分子标记辅助育种方法提高稻米营养品质作了展望。

## 关键词

水稻, 营养品质, 微量营养素, 分子标记辅助育种

## Research Progresses on Nutrient Quality of Rice Grain and Molecular Breeding Approach

Jiang Liangrong<sup>1</sup> Li Yizhen<sup>2</sup> Wang Houcong<sup>3</sup> Huang Yumin<sup>3\*</sup>

1 Hainan Provincial Key Laboratory of Crop Molecular Breeding, Sanya, 572025

2 Hainan Provincial Institute of Tropical Agricultural Resources, Sanya, 572025

3 School of life Science, Xiamen University, Xiamen, 361005

\* Corresponding author, [zjhym@public.xm.fj.cn](mailto:zjhym@public.xm.fj.cn)

## ABSTRACT

This paper reviewed the classical and molecular genetic research progresses on nutrient quality (including protein, lysine and micronutrient) of rice grain and its molecular breeding, furthermore, the molecular marker-assisted breeding strategy for nutrient quality improvement was put forward.

## KEYWORDS

Rice (*Oryza sativa* L.), Nutrient quality, Micronutrient, Molecular marker-assisted breeding

随着稻米蛋白、维生素和矿质元素等营养品质的改良和提高,将来人类每天只需食用足量的米饭,就能获得每天生长活动所需的蛋白营养、维生素和矿质元素。人类不再因为贫穷或是偏食造成营养蛋白或微量元素的缺乏而导致各种疾病,

将来人们饮食更重要的是追求品味的享受。这不是梦想,这就是所谓的功能营养稻。

功能营养稻是指“具有稳定遗传性状,富含一种或几种营养元素,食用后能改善人体生理功能的特种用途的新型水稻品种或组合”(廖江林

等, 2003)。自 1985 年以来, 我国对功能营养稻的研究取得了长足的进展, 开发培育出一系列的彩色米 (如中国水稻研究所的七彩米) 及其各类加工制品。然而功能营养稻普遍产量低, 适应性窄, 很难得以大面积推广 (廖江林等, 2003)。所以如何提高常规、杂交稻的各类营养元素, 提高各类功能营养稻的产量及适应性, 同时保持甚至提高其食味是当前育种工作者亟待解决的问题。为达到这一目的, 世界各国专家对此投入了巨大的热情, 积极地探索营养品质各性状的遗传规律及育种的新途径。

本文综述了稻米各种营养元素在经典遗传与分子遗传学和转基因育种的研究进展, 并探讨了改良营养品质的分子育种途径。

## 1 营养品质的组成及评价标准

稻米营养品质涵盖的内容没有统一的标准, 不同的研究者有不同的说法。综合不同研究者对普通稻和功能营养稻的研究状况, 本作者认为稻米营养品质应主要包括蛋白质、游离氨基酸、维生素及微量矿质元素四个方面。

蛋白质的评价指标主要包括蛋白质含量和蛋白质质量两个方面。蛋白质含量是指糙米中蛋白质占糙米干重的百分含量; 蛋白质质量通常以稻米第一限制氨基酸—赖氨酸的含量来衡量。大米中蛋白质的含量约在 6% ~ 8% (张国民等, 2001), 而中国农业科学院作物品种资源所等单位在 1981 年—1990 年鉴定来自世界各地的 8 300 余份稻种资源, 发现其蛋白质含量的总体加权平值为 9.69%, 变幅为 8% ~ 14%。我国的稻米赖氨酸含量处于 0.11% ~ 0.61% 之间, 且品种间差异大 (应存山, 1993)。石春海和朱军 (1995) 利用 6 个粳型不育系与 3 个早粳恢复系进行不完全双列杂交组合 (6 × 3) 的稻米营养品质种子效应和母体效应的遗传分析中检测到不育系、恢复系及其 F<sub>2</sub> 的蛋白质含量分别为 16.67%、14.13% 和 16.27%, 赖氨酸含量分别为 0.606%、0.529% 和 0.589%。徐庆国和黄丰 (1998) 在用 3 个不育系和相应的保持系、5 个恢复系组配研究杂交稻与亲本稻米蛋白质及氨基酸含量的关系显示, 不育系、保持系、恢复系和杂交稻 F<sub>1</sub> 的蛋白质含量分别为 13.33%、11.10%、10.74% 和 10.56%, 赖氨酸含量分别为 4.964mg/g (0.4964%)、4.275

mg/g (0.4275%)、3.793 mg/g (0.3793%) 和 4.426mg/g (0.4426%)。石春海等 (1999) 利用 9 个不育系和相应的保持系、5 个恢复系的不完全双列杂交组合研究显示, 亲本和 F<sub>1</sub> 的赖氨酸平均值分别为 0.4015% 和 0.387% (取 1995 和 1996 两年平均值)。从上可见, 我国当前主栽杂交稻品种稻米蛋白质平均含量已达 10% 以上, 赖氨酸含量与应存山 (1993) 的结论相符。功能营养稻的蛋白质、氨基酸、维生素和微量元素通常比普通稻丰富。如黑色稻的蛋白质含量大约为 10.5%, VB<sub>1</sub>、VB<sub>2</sub> 的含量分别为 4.1mg/kg 和 2.7mg/kg, 是普通白米的 1.5 ~ 6.8 倍 (周云和张守文, 2002); 中国水稻研究所选育出的七色米微量元素如锌、铜、铁、硒、钙、锰等含量是普通大米的 1.3 ~ 4 倍 (吕子同, 2001), 而廖江林等 (2003) 筛选的功能稻 1 号和 3 号糙米含铁量分别是普通稻的 4.6 和 4.5 倍, 含锌量分别是 2.4 和 2.8 倍。

在农业部的行业标准《食用稻品种品质》(NY/T-593-2002) 的食用稻品质指标分级中, 在营养品质方面只对蛋白质含量作了规定。粳稻和粳糯稻蛋白质含量 (%) 指标 1-5 级分别是 ≥ 10.0、9.0~9.9、8.0~8.9、7.0~7.9、< 7.0; 籼稻和籼糯稻的分别是 ≥ 9.0、8.0~8.9、7.0~7.9、6.0~6.9、< 6.0。显然现行的品质指标中缺乏蛋白质质量、维生素及微量元素等评价指标。

## 2 营养品质的经典遗传学研究进展

### 2.1 养品质各性状的遗传效应

稻米品质性状的遗传同时受到胚、胚乳、母体植株基因以及细胞质的影响, 是相当复杂的。上世纪 90 年代以来, 许多学者利用各种方法对此作了深入地研究, 目前普遍认为, 稻米的蛋白质属数量性状, 受多基因控制; 在遗传过程中同时受到母体植株和种子基因的控制, 还受到细胞质基因的影响, 存在显性、加性等效应; 并受到环境的影响。

石春海和朱军 (1995) 应用谷类作物种子数量性状的遗传模型对 6 个不育系与 3 个恢复系的不完全双列杂交组合研究表明, 蛋白质含量和蛋白质指数同时受到母体植株和种子遗传效应的影响, 以前者为主 (分别占总遗传方差的 53.95% 和 64.70%); 氨基酸含量和氨基酸指数主要受种子遗传效应的影响 (分别占总遗传方差的 95.42% 和

100%)。何光华等 (1995)、陈建国和朱军 (1999) 的研究均表明, 蛋白质含量的遗传表达主要受种子直接加性效应和母体效应控制, 而且以母体效应为主, 但前者认为以母体显性效应最为重要, 而后者则认为母体加性效应最为重要。何光华等 (1996) 分析利用 Griffing 模型 I 配组的 5 × 5 双列杂交组合表明蛋白质、游离氨基酸含量同时受加性和非加性效应的影响, 前者以加性效应为主, 这与陈建国和朱军 (1999) 的研究结果一致, 后者以非加性效应为主。杨正林等 (1997) 的研究则显示显性、加性、上位性效应对游离氨基酸含量都具极重要的作用。在细胞质影响方面观点也较为一致: 蛋白质、游离氨基酸或赖氨酸含量都受到细胞质的显著影响 (Shi et al., 1996; 易小平和陈远芳, 1992; 石春海和朱军, 1996; 何光华等, 1996; 徐庆国和黄丰, 1998; 陈建国和朱军, 1999)。但何光华等 (1996) 的研究显示稻米蛋白质不存在显著的细胞质效应。功能营养稻的蛋白质与赖氨酸的遗传效应与普通稻的基本一致 (张名位和彭仲明, 1997)。

关于稻米微量元素遗传研究的报道很少, 目前的研究主要针对功能营养稻。功能营养稻微量元素的遗传效应与蛋白质和氨基酸相似, 也是同时受母体效应、种子直接效应、细胞质遗传效应和环境的影响 (张名位等, 2000; 2002; 廖江林等, 2003)。张名位等 (2000; 2002) 对黑米的 Fe、Zn、Mn、P 含量的研究表明 4 种元素的含量都受到母体、种子直接遗传效应和细胞质效应的影响, 其中 Fe、Zn、Mn 含量主要受种子直接遗传效应的控制, 而 P 则主要受种子直接和母体效应的共同作用。

蛋白质与氨基酸受环境的影响是很大的, 蛋白质含量主要受种子直接加性和环境及母体加性和环境互作效应的影响, 在粳/籼组合中遗传方差分别为 12.23<sup>\*\*</sup> 和 41.30<sup>\*\*</sup> (陈建国和朱军, 1999); 赖氨酸含量和赖/蛋比值的胚环境互作效应方差分别占总方差的 35.23% 和 52.39%, 而赖氨酸指数的母体环境和胚环境互作方差分别占总方差的 48.64% 和 21.20% (石春海等, 1999)。

## 2.2 营养品质各性状间的遗传和表型相关性

容易理解, 蛋白质是由氨基酸组成的, 氨基酸的绝对含量一般与蛋白质呈正相关 (施木田等, 1995; 徐庆国和黄丰, 1998)。然而在施木田等

(1995) 的研究发现, 就单个氨基酸来说, 并不是所有的氨基酸含量与蛋白质呈正相关, 其中赖氨酸含量与蛋白质含量呈显著负相关 ( $r = 0.347^*$ )。石春海和朱军 (1996) 对 9 个粳型不育系和 5 个恢复系的不完全双列杂交组合的研究表明蛋白质含量和蛋白质指数、蛋白质含量和赖氨酸含量、蛋白质指数和赖氨酸指数间的种子直接加性、母体加性和显性的正向相关都达到显著水平; 蛋白质含量、赖氨酸含量、赖氨酸指数和赖/蛋, 以及赖氨酸含量和赖氨酸指数之间的细胞质相关为显著正值。石春海等 (1999) 的研究也显示赖氨酸含量、赖氨酸指数与赖/蛋的比值的细胞质协方差、胚乳显性互作协方差、母体显性互作协方差达显著正值。在功能营养稻方面, 张名位等 (1993) 对黑米的蛋白质、色素、P、Fe、Zn 和 Mn 六种营养元素以及其它相关性状的研究表明 P 与蛋白质、色素和 Zn 的遗传极显著正相关, 而其它营养性状间的相关性并不显著。刘宪虎等 (1995) 对我国不同地区 115 份稻种资源的 Fe、Zn、Ca、Se 元素的含量分析表明, Zn 和 Ca 极显著正相关, 相关系数为 0.7949<sup>\*\*</sup>, 很可能两者具协同吸收的作用。

## 2.3 品质与其它品质的相关关系

### 2.3.1 与加工品质的相关性

关于营养品质与加工品质的相关方面的报道甚少。石春海和朱军 (1996) 对粳稻多个杂交组合的研究表明, 在胚乳直接加性相关方面, 糙米重、精米重、精米率与蛋白质含量或精米率与蛋白质指数表现极显著或显著负相关, 精米率与赖氨酸含量、赖氨酸指数分别为显著、极显著正相关; 在母体加性相关方面, 糙米重、精米重、精米率与蛋白质含量或精米率与蛋白质指数极显著或显著负相关; 在胚乳直接显性方面, 多数加工品质与蛋白质含量、蛋白质指数、赖氨酸含量、赖氨酸指数呈现极显著负相关; 在母体显性方面, 糙米重、精米重、精米率与蛋白质含量的相关性均为极显著负值, 糙米率和整精米率与蛋白质指数相关性达极显著正值和负值, 糙米重、糙米率与赖氨酸指数, 糙米率与赖氨酸含量呈极显著正相关; 在细胞质相关方面, 所有加工品质与蛋白质含量间的细胞质相关均为极显著正值, 而除整精米率与蛋白质指数间的细胞质相关为显著负值

外, 其它性状与蛋白质指数间的正相关性达极显著水平, 糙米重、精米重、糙米率、精米率和赖氨酸含量、赖氨酸指数呈极显著正相关, 整精米率则相反。Tan 等 (2001) 对珍汕 97、明恢 63 及其后代研究则显示蛋白质与糙米率、精米率和整精米率不存在表型上的显著相关性。在黑米中, 蛋白质含量与糙米率呈极显著负相关, 与精米率呈极显著正相关, 遗传相关系数分别为 $-0.420^{**}$ 和 $0.734^{**}$  (张名位等, 1993)。同时张名位等 (1993) 也发现 P、Mn 与糙米率、精米率、整精米率遗传相关性达显著、极显著水平, Fe、Zn 与之呈显著、极显著负相关。

### 2.3.2 与外观品质的相关性

稻米外观品质与蛋白质含量、蛋白质指数的胚乳直接加性、母体加性的相关性大都达到显著、极显著负值, 与蛋白质含量的直接、母体显性相关性也以负值为主, 与蛋白质指数 (除米宽) 的直接显性呈极显著负相关, 米长、米厚、长宽比与蛋白质含量和指数间的细胞质正相关系数较大, 达极显著水平; 米长、米厚与赖氨酸指数的直接、母体加性相关表现为显著或极显著正值, 米长、长厚比与赖氨酸含量间的直接加性相关为极显著负值 (石春海和朱军, 1996)。石春海和申宗坦 (1994) 方差分析表明粒长与蛋白质、赖氨酸含量的表型协方差和遗传协方差均达到显著或极显著水平。张名位等 (1993) 研究表明蛋白质含量与米长、长宽比的遗传相关系数为正值, 但表现不显著; 与粒宽的遗传相关系数表现为显著负值。杨联松等 (2001) 的研究中却显示粒长、长宽比与蛋白质含量的正相关性, 粒宽、千粒重与蛋白质含量的负相关性都不显著。在外观品质与矿质元素方面, 张名位等 (1993) 在黑米的品质性状的遗传相关性研究中发现米长与色素、P、Zn 成正相关, 与 Fe、Mn 成负相关, 但未达到显著水平; 长宽比与色素、P、Zn、Mn 成正相关, 有些达显著或极显著水平; 米宽与色素和四种矿质元素都呈负相关, 大都为显著水平。张名位等 (2002) 采用禾谷类作物种子数量性状的遗传模型分析粳型黑米杂交组合时发现, 粒长、粒宽和长宽比与 Fe、Zn、Mn、P 间有较强的种子直接加性和显性相关、母体加性和显性相关及细胞质相关, 而每个成对性状间的具体相关性根据不同遗传效应表现各异。

关于营养品质与蛋白质的相关性, Schaeffer 和 Sharpe (1997a; 1997b) 在对一个水稻高赖氨酸株及其回交育种研究中发现, 高赖氨酸含量与蛋白连锁; 而高蛋白质含量则不然, 在软胚乳、蛋白胚乳和透明胚乳稻米中都有出现。这表明在育种过程中, 可以通过提高蛋白质含量以达到提高赖氨酸总量的目的, 而不导致其蛋白增加。

### 2.3.3 蒸煮食味品质的相关性

营养品质与蒸煮品质相关性, 不同研究者得到不同的结果。李贤勇等 (2001) 在对 49 个杂交和常规水稻品种 (组合) 的研究中发现蛋白质含量与胶稠度和碱消值不存在明显的相关性。而吴长明等 (2002) 研究显示蛋白质含量与米饭光泽、冷饭质地和碱消值的负相关性达显著水平。张名位等 (1993) 在对 49 份黑稻品种的品质性状相关性研究中发现, 胶稠度、碱消值-糊化温度与 Zn 含量呈显著正相关, 与 Mn 呈显著负相关, 与蛋白质含量、色素、P、Fe 的相关性不明显; 直链淀粉含量与色素、P、Zn 含量极显著负相关, 与蛋白质、Fe、Mn 的负相关性不显著。

大部分研究显示蛋白质含量与食味呈负相关, 但显著水平有所不同 (陈能等, 1997; 向远鸿等, 1990; 吴长明等, 2002; 孙平, 1998; 张国民等, 2001)。在陈能等 (1997)、向远鸿等 (1990) 的研究中, 两性状的负相关性不显著; 而吴长明等 (2002) 则显示, 两性状呈极显著负相关, 相关系数为 $-0.3124^{**}$ 。孙平 (1998)、张国民等 (2001) 认为影响稻米食味的蛋白质主要是醇溶性蛋白 (PBI), 而其它蛋白 (主要是 PBII) 并不影响米饭的食味, 游离氨基酸还能促进食味。一般认为精米中可允许的食味的蛋白质上限指标为 $6\% \sim 7\%$  (孙平, 1998)。然而, 从本文可知, 世界主栽水稻的稻米蛋白质含量早已超过了这一水平, 并且有着步提高的趋势, 而稻米的食味并未见下降的迹象。向远鸿等 (1990) 在对不同品质等级稻米的研究表明, 在优质米组中, 蛋白质含量和食味表现显著的正效应; 在中质米一组中, 两性状却表现显著的负效应, 在两个组中出现截然相反的结果。这是否与稻米中 PBI 和 PBII 的相对含量不同有关? 是否在优质组中 PBII/PBI 的比值比中质米组中高? 这一切都说明蛋白质含量与食味的关系是相当复杂的, 要解开这个迷, 有待于世界各国科学家进行深入地探索。

### 3 营养品质的分子遗传学研究进展

目前, 数量性状的分子遗传学方面的主要研究手段是数量性状基因座位 (QTL) 分析。由于营养品质遗传复杂、检测相对困难, 关于营养品质的 QTL 分析的报道甚少, 只搜索到两篇, 而且都只是对蛋白质含量的 QTL 分析 (Tan et al., 2001; 吴长明等, 2002)。Tan 等 (2001) 在蛋白质的 QTL 分析中获得两个座位, C952- *W<sub>x</sub>* 和 R1245- RM 234, 加性效应值分别为 - 0.61 和 - 0.43, 贡献力分别为 13.0% 和 6.0% (表 1)。吴长明等 (2002) 则检测到 3 个座位, XNpb346- XNpb54、3089- C145 和 XNpb106- C451, 加性效应值分别为 - 1.50、1.30 和 1.20, 贡献力分别为 17.2%、16.1% 和 10.9% (表 1)。这两次检测的座位数都很少, 每个座位解释的遗传变异的方

差并不大。这可能与作图群体亲本间蛋白质含量差异小导致小效应位点无法检测出来或是蛋白质的遗传力较低有关 (Tan et al., 2001)。从表 1 看到, Tan 等 (2001) 在 7 号染色体上检测到 1 个座位 (R1245- RM234), 而吴长明等 (2002) 则检测到两个座位 (R3089- C145 和 XNpb106- C451), 这三个位点并列排在 7 号染色体上, R3089- C145 处于中间, 与两者的距离大约在 20cM。6 号染色体上的座位处于 *W<sub>x</sub>* 基因区域, *W<sub>x</sub>* 基因是水稻蜡质基因, 编码水稻中负责稻米直链淀粉合成的淀粉合成酶 (蔡秀玲等, 2002)。Tan 等 (1999) 和 Lanceras 等 (2000) 在胶稠度、糊化温度和直链淀粉含量的 QTL 分析中表明, 这三个性状主要受 *W<sub>x</sub>* 基因及其邻近座位的控制。这从基因水平上说明蛋白质含量与这三个性状具有遗传相关性。

表 1 稻米蛋白质含量的 QTL 列表

Table 1 QTL analysis for protein content of rice grain

作图群体 population	染色体 Chr.	区 间 interval	LOD	加性效应 Add. effect	贡献力 % Var	参考文献 reference
RIL (ZS97B × MH63)	6	C952- <i>W<sub>x</sub></i>	6.80	- 0.61	13.0	Tan et al., 2001
	7	R1245- RM 234	3.20	- 0.43	6.00	
RIL (Asominori × IR24)	1	XNpb346- XNpb54	3.28	- 1.50	17.20	吴长明等, 2002
	7	R3089- C145	2.83	1.30	16.10	
	7	XNpb106- C451	2.00	1.20	10.90	

### 4 营养品质的分子改良途径

稻米营养品质的相关因素很多, 关系较为复杂, 就常规育种而言, 要在一株上同时提高所有营养品质是不太可能的, 但要同时提高其中的某几个营养因素是可以做到的, 如赖氨酸与蛋白质含量, 维生素 A 与 Fe 等。目前报道的水稻营养品质改良育种的主要方法有高营养元素含量品种的筛选、远缘杂交育种、诱变育种、细胞质工程育种和分子育种方面。分子育种主要包括转基因育种和分子标记辅助育种两个途径。目前转基因育种方面报道较多, 而分子标记辅助育种方面还未见有报道。

#### 4.1 基因育种

国内的营养品质改良转基因育种, 主要集中

在蛋白质含量方面, 大都是应用外源总 DNA 导入的方法。国外更多报道的是微量元素的改良, 利用已克隆的特定功能基因导入水稻。目前用于转化的基因主要有与 β- 胡萝卜素合成有关的植物八氢番茄红素合成酶、八氢番茄红素脱氢酶、番茄红素 β- 环化酶等基因, 与铁的吸收有关的大豆铁蛋白基因、植酸酶、铁蛋白等基因, 与含 S 氨基酸有关的来自各物种的白蛋白、球蛋白等基因。这些基因在改良相应的营养品质方面已得到广泛的应用。

在蛋白质与氨基酸改良方面, 国内做得比较多, 主要是应用总 DNA 导入法。早在 1985 年段晓岚等利用显微注射法将玉米总 DNA 导入水稻中, 后代中发现了一株蛋白质含量高达 12.75% (比受体提高了 41.7%), 而株高仅有 35cm 的特殊株。董延瑜等 (1994) 用了多种方法将玉米和高粱总 DNA 导入水稻, 获得 6 个蛋白质含量高达

10%~11.8%的新品系。方金梁等(1994)应用总DNA浸泡法将玉米和高蛋白水稻HNR相关基因导入到优质稻91-L、85-5,特种稻紫香糯、补血粘、京香2号以及高粱稻886030、早稻S383等7个栽培品种中,从后代中选育出一批蛋白质含量高,品质优良的品种,其中娄玉HND3蛋白质含量提高到14.03%,蛋白质生产力达1312kg/hm<sup>2</sup>。Goto等(1999)将水稻种子贮藏蛋白谷蛋白启动子(GluB-1)与大豆铁蛋白基因相连接,利用农杆菌介导法导入到水稻中,Western杂交分析表明,水稻种子中的铁蛋白亚基能够稳定的积累。洪亚辉等(2000)利用高蛋白玉米马齿黄的总DNA浸泡优质早籼稻91-L,通过多代的选择,获得5个高蛋白品系,平均蛋白含量为13.65%,最高的达14.9%。刘国华等(2000)对接受外源DNA水稻的后代蛋白质含量变化规律的研究发现,后代籽粒蛋白质含量广泛变异,在每个世代中的变异系数随种植世代的增加而变小,且趋于稳定,从中可以选择出高蛋白含量的优良单株。高越峰等(2001)将强启动子与四棱豆的高赖氨酸蛋白质基因连接,用基因枪法将其导入到水稻胚愈伤组织中,再生成植株,结果表明大部分的转基因水稻叶片中赖氨酸含量都有所提高。

在微量元素方面,国外做得比较多。瑞士联邦技术中心(the Swiss Federal Institute of Technology)的分子生物学家Ingo Potrykus和他的同事经过7年的努力,育成了携带7种外源基因(4个与合成 $\beta$ -胡萝卜素有关的酶基因、3个促进Fe元素在谷粒中额外积累相关的基因)的金色稻(golden rice),每天食用300g的这种米饭就足以满足人体一天对维生素A的需求(Gura, 1999)。Goto等(1999)为提高水稻铁含量,将大豆铁蛋白基因转入水稻中,并利用水稻贮藏蛋白谷蛋白启动子来启动,结果发现铁蛋白在水稻体内能稳定表达并积累,同时T<sub>1</sub>中Fe的含量比对照植株高3倍。Lucca等(2001)将铁蛋白质基因和耐热植酸酶基因转入水稻中,同时促使富含半胱氨酸的金属硫蛋白过度表达,结果发现半胱氨酸残基的含量约提高了7倍,籽粒中植酸水平是原来的130倍,这将大大提高人体对铁素营养的吸收。Ye等(2000)将完成 $\beta$ -胡萝卜素生物合成途径所需的植物八氢番茄红素合成酶(*psy*)、细菌八氢番茄红素脱氢酶(*crtI*)和番茄红素 $\beta$ -环化酶成功地同时转入水稻中,获得的z11b品系,其胚

乳中类胡萝卜素的含量高达1.6 $\mu$ g/g。Gatta等(2003)利用生物转化系统,也育成了具有八氢番茄红素合成酶(*psy*)、番茄红素 $\beta$ -环化酶和八氢番茄红素脱氢酶(*crtI*),又能广泛适应世界各地环境的栽培稻,由于类胡萝卜素的积累,胚乳显示黄色。这是第一个使用非抗生素筛选的转基因籼稻,可能比较为人类所接受。从以上看出,目前微量元素的改良主要集中在Fe和维生素A上,这两者恰是人类最易缺乏的微量元素(Hambidge, 2000)。

## 4.2 分子标记辅助育种

目前还没有关于利用分子标记辅助育种方法改良营养元素的报道。这可能与各营养元素性状遗传方式较为复杂、检测不方便等有关。不过,随着稻米营养品质分子遗传学研究的深入,分子标记技术的进一步发展,分子标记辅助选择技术必将很快应用于稻米营养品质的改良育种。分子标记辅助育种主要包括了以下五部分工作(方宣钧等, 2001; 江良荣等, 2003)。

(1) 亲本的选配 亲本的选配是育种的前提,根据实际选择适宜的亲本。一般要求供体亲本的目标性状对受体亲本有绝对的优势,即双亲差异大、DNA多态性高;双亲配合力高,后代可育性好等因素。

(2) QTL分析 利用F<sub>2</sub>群体,对目标性状进行QTL分析,以获得用于前景选择的分子标记。在基因座位定位时,注意将数量性状质量化,即将许多遗传因子共同决定的某一性状,分成由单个遗传因子或某个主效因子决定的多个细化的性状。如稻米蛋白质含量,可以分为谷蛋白、球蛋白、清蛋白、醇溶性蛋白含量等性状。这样有助于定位出精确的基因座位和定向地选择优良蛋白,以达到提高蛋白含量的同时提高蛋白质量。就目前国家重大项目要求,水稻QTL定位的标记距离一般要在5cM以内。

(3) 前景选择 利用目标性状QTL分析所得到的分子标记,进行目标性状的定向选择。提取回交后代秧苗的总DNA,用目标标记进行检测,选取具目标性状DNA片段的单株(一般为杂合体),进一步作背景选择。

(4) 背景选择 用双亲的总DNA筛选引物,获得具多态的引物,用于背景选择。通过这些引物检测经前景选择出来的每个单株,计算其遗传

背景占改良亲本的比例。选择遗传背景最接近改良亲本的几个个体，用于下一次回交。

(5) 回交育种 分子育种并不同于转基因育种，其始终离不开常规的杂交育种。所以分子标记辅助育种过程中连续几代回交的是少不了的。分子标记辅助选择育种中一般回交三代就能得到较为理想的结果。

分子标记以其选择效率高等诸多潜在的优势而为人们广泛接受 (方宣钧等, 2001), 并得到快速的发展。Tan 等 (2001)、吴长明等 (2002) 的蛋白质含量的 QTL 分析, 可能将揭开分子标记辅助育种在稻米营养品质提高与改良方面应用的序幕。

## 5 分子标记辅助选择育种改良稻米营养品质的展望

稻米是世界 50% 以上人口的主食, 也是其蛋白营养的重要来源。所以提高稻米蛋白质含量对人类改善蛋白和氨基酸营养具有重要的意义。据日本石谷孝佑计算, 假如大米蛋白质含量平均提高 1%, 每年生产 100 亿 kg 的大米, 那蛋白质将增产 1 亿 kg, 相当于 100 万头牛的可食用蛋白 (每头牛食用部分以 500kg, 蛋白质含量为 20% 计) (金田忠吉, 1992)。可见通过提高和改良稻米蛋白质, 是提高和改善人类蛋白营养的一个经济、有效的手段。这对人类的健康都具有重要意义。然而, 由于受到“稻米蛋白质含量与食味呈负相关”这一普遍观点的影响, 水稻的高蛋白质含量育种并没得到普遍认可, 这对本项课题的全面发展产生了一定的影响。在实际研究中, 确实有不少研究表明, 蛋白质含量与食味成负相关 (陈能等, 1997; 向远鸿等, 1990; 吴长明等, 2002; 孙平, 1998; 张国民等, 2001), 但也有不少研究表明两者相关不显著 (陈能等, 1997; 向远鸿等, 1990), 而向远鸿等 (1990) 在中质稻和优质稻的对比研究中却得到相反的结果, 在优质稻组合中, 蛋白质含量能促进食味。方金梁等 (1994) 总结十多年的水稻蛋白质改良育种研究与实践经验后指出: 高蛋白质含量与高产、蛋白质品质、食味和抗性的矛盾是可以克服的。他们也因此育成了娄玉、瑰宝等一系列的蛋白含量高且各项品质优良的水稻新品种。一般认为稻米蛋白质中影响稻米食味的罪魁祸首是 PB I。它是非常

稳定的醇溶性贮藏蛋白, 占稻米蛋白的 20% ~ 30%, 不被人体吸收; 而 PB II 为可溶性蛋白, 主要是谷蛋白质和少量球蛋白, 大约占稻米蛋白的 65%, 易被人体吸收 (孙平, 1998; 张国民等, 2001; Takemoto et al., 2002)。由此可见, 要提高稻米蛋白质含量及品质而又不影响其食味, 可以考虑提高稻米中 PB II/PB I 的值。目前, 以外源总 DNA 浸泡种子为手段来提高和改良水稻蛋白质含量的方法难以达到这一目标。分子标记辅助育种中在进行蛋白质含量的 QTL 分析中, 将数量性状质量化, 分别将各类蛋白的基因座位定位在染色体上, 然后在回交过程中进行有目标的选择各类优良蛋白, 完全可以达到提高 PB II/PB I 值的目的, 实现蛋白含量、品质与食味兼顾的效果。

微量元素只占人体质量的 0.05%, 但在人体的生理代谢过程中起着至关重要的作用。尽管当今科学如何发达, 世界上还有大量的人由于缺乏各种微量元素而导致各种疾病。如世界 30% 的人口患贫血症, 大部分是缺铁性贫血 (占世界人口的 10% ~ 20%), 遍布世界各地 (Goto, 2000; <http://zhenfukang.com/zfkw eb-15.htm>); 400 百万人受缺乏维生素 A 的困扰, 造成易感传染病、失明等后果 (Gura, 1999)。在我国上亿人口, 主要是妇女和儿童, 因硒、钙、锌、铁等微量元素摄入不足难以维持免疫系统的健康 (朱建宜, 2001)。世界各国科学家认为, 摆脱微量元素严重缺乏的一个有效途径是发掘富含微量元素的作物种质, 通过育种方法提高作物微量元素含量 (朱建宜, 2001; Welch, 2002)。为提高稻米微量元素营养的含量, 目前主要的手段是转基因育种, 而且几乎是利用外源基因 (Gura, 1999; Goto et al., 1999; Ye et al., 2000; Lucca et al., 2001; Gatta et al., 2003)。这一方面存在一个转基因安全性问题, 产品将普遍受到抵制。另一方面却表明, 人们对稻米本身微量元素的代谢过程、基因遗传状况研究了解得不多, 基因的定位与克隆甚是困难。分子标记辅助育种虽然排除了安全性问题, 但由于后者的原因, 目前也很难利用。充分利用水稻本身微量元素优良基因, 通过分子标记辅助育种方法提高水稻微量元素含量将会是一条廉价、高效, 而又极受欢迎的途径。

总之, 由于各种原因, 目前水稻营养品质各性状的分子遗传研究相对滞后, 这是利用分子标记辅助选择来提高和改良稻米营养品质的主要障

碍。本作者认为, 人类必须加快水稻营养品质性状的分子遗传学研究, 寻找各类营养品质性状的相关基因座位, 并将其定位于染色体上, 以促进分子标记辅助育种在提高与改良稻米营养品质中广泛应用, 这样稻米营养品质的提高与改良育种必将进入一个经济、实效、全面发展的新局面。

## 致谢

本研究由国家 863 项目 (2002AA211091) 及 (20001AA11091) 资助。感谢方宣钧博士对本文的审阅并提出宝贵意见。

## 参考文献

Datta K., Baisakh N., Oliva N., Torrizo L., Abrigo E., Tan J., Rai M., Rehana S., Al-Babili S., Beyer P., Potrykus I., and Datta S. K., 2003, Bioengineered 'golden' indica rice cultivars with  $\beta$ -carotene metabolism in the endosperm with hygromycin and mannose selection systems, *Plant Biotechnology Journal*, 1 (2): 81–90

Goto F., Yoshihara T., Shigemoto N., Toki S., and Takaiwa F., 1999, Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene, *Nat Biotechnol*, 17 (3): 282–286

Goto F., Yoshihara T., and Saiki H., 2000, Original: Iron accumulation and enhanced growth in transgenic lettuce plants expressing the iron-binding protein ferritin, *Theor. Appl. Genet.*, 100 (5): 658–664

Gura T., 1999, New genes boost rice nutrients, *Science*, 285 (5430): 994–995

Hambidge M., 2000, Human Zinc deficiency, *J. Nutr.*, 130: 1344S–1349S

Lanceras J. C., Huang Z. L., Naivikul O., Vanavichit A., Ruanjaichon V., Tragoonrungs S., 2000, Mapping of genes for cooking and eating qualities in Thai Jasmine rice (KDML105), *DNA Res.*, 7 (2): 93–101

Lucca P., Hurrell R., Potrykus I., 2001, Genetic engineering approaches to improve the bioavailability and the level of iron in rice grains, *Theor. Appl. Genet.*, 102: 392–397

Schaeffer G. M., and Sharpe F. T., 1997a, Electrophoretic profiles and amino acid composition of rice endosperm proteins of a mutant with enhanced lysine and total protein after backcrosses for germplasm improvements, *Theor. Appl. Genet.*, 95: 230–235

Schaeffer G. M., Sharpe F. T., 1997b, Free and bound acids and proteins in developing grains of rice with enhanced lysine/proteins, *Theor. Appl. Genet.*, 94: 878–881

Shi C. H., Yu Y. G., Xue J. M., Yang X. E., and Zhu J., 1996, Genetic Correlations Analysis of Seed, Cytoplasm and Maternal Plant for Nutrient Quality in Indica Rice, *Chinese J. Rice Sci.*, 10 (3): 143–146 (Chinese Journal in English)

Takemoto Y., Coughlan S. J., Okita T. W., Satoh H., Ogawa M., and Kumamaru T., 2002, The rice mutant *esp2* greatly accumulates the glutelin precursor and deletes the protein disulfide isomerase, *Plant Physiology*, 128: 1212–1222

Tan V. F., Li J. X., Yu S. B., Xu C. G., and Zhang Q. F., 1999, The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid, Shanyou63, *Theor. Appl. Genet.*, 99: 642–648

Tan Y. F., Sun M., Xing Y. Z., Hua J. P., and Sun X. L., Zhang Q., and Corke H., 2001, 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.*, 103: 1037–1045

Welch R. M., 2002, Breeding strategies for biofortified staple plant foods to reduce micronutrient malnutrition globally, *J. Nutr.*, 132 (3): 495S–499S

Ye X., Al-Babili S., Klöti A., Zhang Jing, Lucca P., Beyer P., and Potrykus I., 2000, Engineering the provitamin A ( $\beta$ -Carotene) biosynthetic pathway into (Carotenoid-Free) rice endosperm, *Science*, 287: 303–305

陈建国, 朱军, 1999, 籼粳交稻米蛋白质含量的基因型与环境互作效应的分析, *作物学报*, 25 (5): 579–584

陈能, 罗玉坤, 朱智伟, 张伯平, 郑有川, 谢黎虹, 1997, 优质食用稻米品质的理化指标与食味的相关性研究, *中国水稻科学*, 11 (2): 70–76

蔡秀玲, 刘巧泉, 汤述翥, 顾铭洪, 王宗阳, 2002, 用于筛选直链淀粉含量为中等的籼稻品种分子标记, *植物生理与分子生物学报*, 28 (2): 137–144

董延瑜, 洪亚辉, 任春梅, 张学文, 刘春林, 赵燕, 严钦泉, 莫爱华, 董秀云, 1994, 外源 DNA 导入技术在植物分子育种上的应用研究, *湖南农业大学学报*, 20 (6): 513–521

方金梁, 方宁, 肖红梅, 宁桂蓉, 1994, 高蛋白质水稻育种的新进展, *作物研究*, 8 (3): 6–9

方宣钧, 吴为人, 2003, 分子选择, *分子植物育种*, 1 (1): 1–5

方宣钧, 吴为人, 唐纪良, 编著, 2001, 作物 DNA 标记辅助育种, 科学出版社, 中国, 北京, P. 22–80

高越峰, 荆玉祥, 沈世华, 田世平, 匡廷云, Samuel S. M. S., 2001, 高赖氨酸蛋白基因导入水稻及可育转



- 基因植株的获得, 植物学报, 43 (5): 506- 511
- 何光华, 袁祚谦, 郑家奎, 谢戎, 杨正林, 黄建国, 邵启明, 袁玲, 1996, 水稻籽粒蛋白质、游离氨基酸含量的配合力与杂种优势的分析, 作物学报, 22 (2): 192- 196
- 何光华, 袁祚谦, 郑家奎, 谢戎, 黄建国, 邵启明, 袁玲, 杨正林, 1995, 水稻粒蛋白质含量及其产量的遗传效应, 西南农业学报, 8: 4- 9
- 洪亚辉, 萧浪涛, 董延瑜, 2000, 玉米 DNA 导入水稻选育高蛋白品系, 湖南农业大学学报, 26 (1): 28- 30
- 江良荣, 李义珍, 王侯聪, 黄育民, 2003, 稻米外观品质的研究进展与分子改良策略, 分子植物育种, 1 (2): 243- 255
- 金田忠吉, 1992, IV 加工用品种の育种, 栢濶钦也编著, 日本の稻育种, 农业技术协会, 日本, pp. 195
- 李贤勇, 王元凯, 王楚桃, 2001, 稻米蒸煮品质与营养品质的相关性分析, 西南农业学报, 14 (3): 21- 24
- 廖江林, 肖国樱, 李阳生, 李达模, 2003, 我国功能营养稻研究进展及发展对策, 农业现代化研究, 24 (3): 170- 173
- 刘国华, 陈立云, 洪亚辉, 李国泰, 肖应辉, 唐文邦, 2000, 外源 DNA 导入诱导水稻高蛋白质变异的研究, 湖南农业大学学报, 26 (6): 415- 417
- 刘宪虎, 孙传清, 王象坤, 1995, 我国不同地区稻种资源的铁、锌、钙、硒四种元素的含量初析, 北京农业大学学报, 21 (2): 138- 142
- 吕子同, 2001, 纯天然保健米, 21 世纪的一优三高特种稻: 七彩香米, 中国水稻研究所, <http://www.chinarice-info.com/rice/eliterice/inner/20011026/00000207.asp>
- 石春海, 申宗坦, 1994, 早籼稻谷粒性状遗传效应分析, 浙江大学学报 (农业与生命科学版), 20 (4): 405- 410
- 石春海, 朱军, 1995, 稻米营养品质种子效应和母体效应的遗传分析, 遗传学报, 22 (5): 372- 379
- 石春海, 朱军, 1996, 稻米营养品质性状的间接选择和遗传改良, 生物数学学报, 11 (2): 90- 96
- 石春海, 朱军, 杨肖娥, 余允贵, 1999, 籼型杂交稻稻米赖氨酸性状的基因型 × 环境互作效应分析, 中国农业科学, 32 (1): 8- 14
- 石春海, 杨肖娥, 薛建明, 余永贵, 朱军, 1996, 种子、细胞质和母体遗传效应对籼型杂交稻米营养品质杂种优势的影响, 杂交水稻, (1): 23- 27
- 施木田, 蔡秋红, 杨仁崔, 1995, 早籼稻米的蛋白质含量及其氨基酸组成, 福建农业大学学报, 24 (3): 358- 362
- 孙平, 1998, 蛋白质含量多会降低稻米食味吗? - 试析日本产销界关于稻米食味和应否追肥问题的争议, 中国稻米, (5): 31- 33
- 吴长明, 孙传清, 陈亮, 李自超, 王象坤, 2002, 稻米营养品质的 QTL 及其与食味品质的关系研究, 吉林农业科学, 27 (4): 3- 7
- 徐庆国, 黄丰, 1998, 杂交稻与亲本稻米蛋白质及氨基酸含量的关系, 杂交水稻, 13 (5): 21- 25
- 向远鸿, 唐启源, 黄燕湘, 1990, 稻米品质相关性研究: I 籼型粘稻食味与其它米质性状的研究, 湖南农学院学报, 16 (4): 325- 329
- 应存山, 1993, 中国稻种资源, 中国农业出版社, 中国, 北京
- 杨联松, 白一松, 张培江, 许传万, 胡兴明, 王伍梅, 余德红, 陈桂芝, 2001, 谷粒形状与稻米品质相关性研究, 杂交水稻, 16 (4): 48- 50, 54
- 易小平, 陈远芳, 1992, 籼型杂交水稻稻米蒸煮品质、碾米品质及营养品质的细胞质遗传效应, 中国水稻科学, 6 (4): 187- 189
- 杨正林, 何光华, 谢戎, 郑家奎, 左永树, 1997, 水稻籽粒游离氨基酸含量的基因效应分析, 西南农业学报, 10 (1): 14- 17
- 张国民, 张玉华, 宋立泉, 郭旭欣, 2001, 浅谈大米中的蛋白质对营养价值及食味品质的影响, 黑龙江农业科学, (3): 38- 39
- 中华人民共和国农业部行业标准, 食用稻品种品质 NY/T - 593- 2002
- 朱建宜, 2001, 药食兼用高产优质高硒富钙营养米问世, 中国种业, (1): 38
- 张名位, 杜应琼, 彭仲明, 何慈信, 2000, 黑米中矿质元素铁、锌、锰、磷含量的遗传效应研究, 遗传学报, 27 (9): 792- 799
- 张名位, 郭宝江, 彭仲明, 2002, 籼型黑米粒形性状的遗传效应及其与矿质元素含量的遗传相关性, 遗传学报, 29 (8): 688- 695
- 张名位, 彭仲明, 1997, 特种稻蛋白质含量的遗传效应分析, 中国青年农业科学学术年报, 中国农业出版社, 中国, 北京, pp. 141- 146
- 张名位, 彭仲明, 徐运启, 1993, 黑米品质性状的相关性研究, 广东农业科学, (5): 32- 35
- 周云, 张守文, 2002, “特种稻米”功能特性及其开发利用, 粮食与油脂, (7): 36- 38