

于梅梅,陶权丹,华杰,等.香软米水稻的研究进展[J].江苏农业科学,2019,47(10):11-15.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.10.003

香软米水稻的研究进展

于梅梅,陶权丹,华杰,王时超,计文,刘岩,刘康伟,张建祥,于恒秀

(江苏省作物遗传生理重点实验室/植物功能基因组学教育部重点实验室/江苏省作物基因组学和分子育种重点实验室/江苏省粮食作物现代产业技术协同创新中心/扬州大学农学院,江苏扬州 225009)

摘要:随着生活水平的提高,人们不仅仅满足于解决温饱问题,对稻米品质的要求日益提高,促使科学家们对于我国香稻和软米资源越来越重视。近年来,随着水稻功能基因组和测序技术的快速发展,针对水稻香味基因和软米相关基因的研究取得了较大进展,并开发了一系列的功能标记应用于香软米品种培育。本文在了解了近年来相关研究现状的基础上,归纳了香味基因、淀粉合成相关基因、软米相关基因的研究进展以及香软米水稻品种培育的研究进展,并对基因编辑技术在香软米水稻培育的应用前景作综述。

关键词:水稻;香味基因;软米;食味品质;研究进展

中图分类号: S511.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)10-0011-05

水稻是我国主要的粮食作物之一。一直以来,我国育种家注重提高水稻产量,而对于品质方面的研究起步较晚。随着经济的发展和人民生活水平的提高,人们对稻米品质的要求越来越高。品质的优劣直接影响了水稻的种植推广和商品价值,所以优质的水稻品种不仅要丰产,而且加工成的稻米外观要好看,具有较好的口感和食味。本文综述了近年来水稻香味基因以及软米相关基因研究取得的进展及其在育种中的应用,以期优质香软米水稻新品种的培育提供借鉴与参考。

1 稻米香味基因研究进展

香味是稻米的重要食味品质性状之一。因此,稻米香味的研究已经成为一项重要的研究课题。国内外学者早在 20 世纪 70 年代就对稻米香味化学组分进行了研究,可能由于所选材料、品种来源和地域条件的不同,结果也不一致^[1]。Yajima 等的研究表明,香米中挥发性化合物约含有 114 种^[2]。Buttery 等以无香味品种 Long、Texars、Grain 和 Calrose 为对照,测定了 Malagkit、Basmati370、Hierl 和 Sungsong 等 8 个香稻品种,发现香稻糙米和精米的蒸馏挥发物 2-乙酰基-1-吡咯啉的含量是对照品种的 5~10 倍,同时发现 8 个香稻品种的稻米香味强弱排序结果与其含有 2-乙酰基-1-吡咯啉浓度的变化趋势一致,得出稻米香味形成的主要成分为 2-乙酰基-1-吡咯啉的结论^[3],后来这一结果得到了许多学者研究结果的支持。而孙树侠等的研究结果也表明,2-乙酰基-1-吡咯啉在水稻中是一种重要香味成分^[4]。

从 19 世纪开始,研究者们就致力于对于香味基因的定位工作。Ziegler 等利用分子标记和气相色谱的方法,发现控制

水稻香味性状的主基因(*fgr*)位于第 8 条染色体的 RG28/Y5 与 RG1 之间,调控水稻香味主要成分 2-乙酰基-1-吡咯啉的产生^[5]。张涛等以粳型香稻和籼型非香水稻为试验材料,通过精细定位将香味基因定位在水稻第 8 号染色体的 20 175 367~20 386 172 bp 之间约 252 kb 的区域内^[6]。后来,Chen 等克隆了 *BADH2P* 基因,*BADH2* 位于 8 号染色体,cDNA 全长 7 776 bp,包含有 15 个外显子,编码 1 个由 503 个氨基酸组成的蛋白质产物,产物含有 NAD 结合结构域、底物结合结构域和低聚体化结构域^[7]。香稻品种苏玉糯中,*BADH2* 基因的第 7 外显子中发生 8 bp 缺失和 3 bp 的变异,造成蛋白移码突变,该等位基因称为 *BADH2-E7*;另一个香稻品种武香梗中,*BADH2* 基因的第 2 外显子中发生 7 bp 缺失,造成蛋白移码突变,该等位基因称为 *BADH2-E2*^[8]。但也有研究者认为,香稻性状受 2 对独立遗传的隐性基因控制的同时,可能还受微效多基因的修饰,属于质量-数量性状遗传^[9]。

BADH2 编码 1 个甜菜碱醛脱氢酶,具有醛脱氢酶活性,可能催化甜菜碱醛、4-氨基丁醛(AB-ald)和 3-氨基丙醛的氧化^[10]。在非香米水稻品种中,*BADH2* 蛋白质催化 4-氨基丁醛的氧化,而 4-氨基丁醛是水稻香米品种香味的主要成分 2-乙酰基-1-吡咯啉的合成前体,当 4-氨基丁醛被 *BADH2* 氧化后,2-乙酰基-1-吡咯啉的合成受到抑制,因此稻米丧失了香味;相反,在香米品种中,由于 *BADH2* 基因发生功能丧失型突变,导致 *BADH2* 蛋白丧失功能,不能催化 4-氨基丁醛的氧化而导致 4-氨基丁醛积累,从而促进了 2-乙酰基-1-吡咯啉的合成,使稻米产生香味,这种香味被称为茉莉花香^[3]。

甜菜碱被认为是细胞质渗透压起调节作用的一种物质,它可以使得植物在各种胁迫作用下正常生长,包括盐碱地和干旱的环境,而在水稻中完整的 *BADH2* 基因编码的由 503 个氨基酸组成的 *BADH2* 蛋白具有很高的甜菜碱醛脱氢酶活性,因此该基因可能与非香稻的渗透压调节相关。但是由于突变而造成的 *BADH2* 基因的功能缺失并没有给某些香稻品

收稿日期:2018-12-08

基金项目:国家自然科学基金(编号:31872859);江苏省扬州市科技计划(编号:YZ2017059);江苏高校优势学科建设工程。

作者简介:于梅梅(1991—),女,山东潍坊人,硕士研究生,主要从事水稻作物遗传育种研究。E-mail:18252710779@163.com。

通信作者:于恒秀,博士,教授,主要从事水稻作物遗传育种研究。

E-mail:hxyu@yzu.edu.cn。

种的生长带来负面影响,泰国香稻品种 Khao Dawk Mali 105 在干旱区域仍然生长良好。这有可能意味着存在其他编码甜菜碱脱氢酶的基因,从而实现对高盐、干旱环境的耐受力。*BADH2* 除了在根中不表达外,在所有检测的组织中包括叶、茎和穗部都表达,其中在幼叶中表达量最高。*BADH2* 蛋白定位在细胞质中。*BADH2* 基因中具有多个转录起始位点,其中完整的全长转录本比部分形式的转录本丰度低,但只有全长转录本翻译出的蛋白具有甜菜碱脱氢酶的功能。

2 稻米淀粉研究进展

2.1 稻米淀粉的组成及结构

稻米中最主要的成分是淀粉,由支链淀粉(70%~80%)和直链淀粉(20%~30%)组成^[11]。在粮食作物中,稻米的淀粉粒直径在 3~10 μm 之间,其中纤维的含量仅占 2.2%,稻米中的蛋白质含量不多,在 7%~10% 之间。因此,米饭不仅口感好,而且稻米中各种营养成分都容易被消化和吸收,营养价值也比较高。淀粉分子以淀粉颗粒的形式存在于大米中,其形状大多是不规则的多边形。

2.2 植物淀粉合成概述

高等植物淀粉的合成是在质体中进行的,在淀粉体基质中,淀粉的形成是通过高分子量的聚合体结晶而完成的,高分子量的聚合体包括无定形淀粉分子、蛋白质以及脂类物质。淀粉合成的整个过程主要由四大酶类共同协同完成,包括 ADP(二磷酸腺苷)-葡萄糖焦磷酸化酶、淀粉合(成)酶、淀粉分支酶和淀粉去分支酶。整个完整的生物合成可分为 3 个途径:(1)ADP 葡萄糖的产生;(2)支链淀粉的合成和淀粉粒的形成;(3)直链淀粉的合成。

在水稻胚乳中,合成淀粉的葡萄糖来源于 2 种途径,第 1 种是由叶片光合作用直接合成葡萄糖;第 2 种是由淀粉降解产生葡萄糖。葡萄糖在酶的作用下转化为蔗糖,这些蔗糖都通过韧皮部长距离运输至胚乳细胞中。在细胞液当中,蔗糖首先在蔗糖酶的作用下分解,形成果糖和二磷酸尿苷(UDP)-葡萄糖,随后将果糖通过果糖激酶水解成 6-磷酸果糖,然后在磷酸葡萄糖异构酶的作用下形成 6-磷酸葡萄糖,或者在葡萄糖磷酸变位酶的催化作用下形成 1-磷酸葡萄糖同分异构体。而 UDP-葡萄糖也可形成 1-磷酸葡萄糖。将生成的 1-磷酸葡萄糖通过 ADP 葡萄糖焦磷酸化酶的催化作用形成 ADP 葡萄糖。ADP 葡萄糖最后在淀粉合成酶和分支酶二者共同作用下合成淀粉。

2.3 参与淀粉合成的关键酶类的研究现状

在水稻基因组中,大概有 26 个已知的相关基因编码各种酶参与淀粉的合成,其中淀粉形成过程中涉及到的关键淀粉合成酶有四大类,ADP-葡萄糖焦磷酸化酶(AGPase)、淀粉合(成)酶(SS)、淀粉分支酶(SBE)和淀粉去分支酶(DBE)。

2.3.1 ADPG 焦磷酸化酶(AGPP)

ADPG 焦磷酸化酶是由 2 个大亚基和 2 个小亚基组成的异型四聚体。大亚基是酶活性调节中心,小亚基是酶活性催化中心。4 个亚基是由不同的基因编码,在不同的组织中表达,聚合形成不同的 AGPase。对水稻叶片的 AGPP 免疫分析表明,它由 2 个不同亚基(43 ku 和 46 ku)组成,而水稻胚乳只由 1 个亚基(50 ku)组成。在蔗糖进入造粉质体前,蔗糖被分解成葡萄糖-1-磷

酸,在 ADPG 焦磷酸化酶的催化下,并结合三磷酸腺苷(ATP),生成腺苷酸葡萄糖(ADPG),同时释放焦磷酸,该过程是淀粉合成的起始步骤。对不同水稻籽粒灌浆过程中焦磷酸化酶活性规律研究表明,在水稻开花后 15 d 活性最高,并且该酶活性的大小对水稻籽粒灌浆速率以及垩白形成有重要作用。籽粒灌浆过程中,不同品质类型的品种中 ADPG 焦磷酸化酶活性出现峰值的时间无差异,该酶的活性与直链淀粉含量、支链淀粉含量、味度值、淀粉粘滞性(RVA 谱)间的相关性因灌浆时期不同而发生变化^[12]。在灌浆前期 ADPG 焦磷酸化酶的活性与味度值间呈负相关,但在 25~35 d 酶的活性与味度值呈正相关;另外在灌浆前期 ADPG 焦磷酸化酶与直链淀粉含量呈正相关关系,而在关键后期呈负相关关系,并且在抽穗后 30 d 的时候,其酶的活性与直链淀粉含量呈极显著负相关关系^[12]。

2.3.2 淀粉合成酶

淀粉合成酶是以 ADPG 为葡萄糖的供体,对葡萄糖聚合体通过糖基(glycosyl)转移而催化 α-1,4 糖苷键延长作用的酶。根据水溶性的不同,淀粉合成酶分为淀粉粒结合淀粉合成酶(GBSS)和可溶性淀粉合成酶(SSS),前者的功能是合成直链淀粉,而后的功能则是合成支链淀粉。

颗粒结合淀粉合成酶由蜡质基因(*Waxy*, *Wx*)编码,包裹于淀粉粒中,而游离的 GBSS 基本丧失了淀粉合成酶的活性。GBSS 有 2 种不同的同工型 *GBSS I* 和 *GBSS II*。其中 *GBSS I* 广泛存在于各种植物中^[13],只在储藏组织中表达,负责直链淀粉的合成;而 *GBSS II* 在叶片和其他非储藏组织中都有表达,负责临时淀粉的合成。

可溶性淀粉合成酶(SSS)是一大类淀粉合成酶,可分为 *SSS I*、*SSS II*、*SSS III* 以及 *SSS IV* 等 4 个亚家族^[14]。在水稻中,SSS 有 8 个同工型,即 *SSS I*、*SSS II-1*、*SSS II-2*、*SSS II-3*、*SSS III-1*、*SSS III-2*、*SSS IV-1* 和 *SSS IV-2*。SSS 主要存在于质体的基质中,同淀粉分支酶和淀粉脱分支酶一起参与支链淀粉的合成。有研究表明,水稻 SSS 各同工型基因对花后高温胁迫的响应表达模式明显不同,呈上调模式的基因有 *SSS II-2*、*SSS II-3*、*SSS III-2* 以及 *SSS IV-1*; *SSS II-1* 和 *SSS III-1* 呈下调表达模式。*SSS I* 和 *SSS III-1* 是水稻 SSSs 基因在胚乳中表达的主要形式,而另外 6 种同工型基因的相对表达量均比较低。

通过对缺失某一同工型的突变体研究可以获得这些同工酶在淀粉合成中各自的作用。水稻 *SSS I* 基因在水稻胚乳发育的整个过程中都发挥着作用,它的主要功能是将支链淀粉中聚合度为 6~7 的链延伸至 8~12^[15]。当 *SSS I* 基因缺失时,水稻淀粉颗粒形状大小以及胚乳淀粉的结晶度没有变化,说明其他 SSS 同工型可以弥补该基因缺失带来的影响。*SSS I* 在植物中表达部位有所不同,其中水稻中的 *SSS I* 基因在胚乳中表达最高。马铃薯 *SSS I* 基因主要在叶片中表达,玉米 *SSS I* 基因也只在胚乳中表达^[16]。

水稻中 *SSS II* 有 3 种同工型,即 *SSS II-1*、*SSS II-2* 和 *SSS II-3*。*SSS II-1* 的突变体 DP<11 增加,DP12~25 减少,易糊化,易溶于尿素。推测 *SSS II-2* 作用是延长 A 和 B1 链^[17]。

在水稻中, *SSS III-1* 基因主要在叶片中表达,而

SSS III -2 基因主要在胚乳中表达^[18]。当 SSS III -1 缺失时, 淀粉 DP > 30, DP6 ~ 9 以及 DP16 ~ 19 的支链降低, DP = 10 ~ 15 和 DP20 ~ 25 增加。直链淀粉含量增加, 淀粉颗粒形态发生变化, 长支链增加, 形状变圆, 结晶度也降低。因此, 得出 SSS III -1 的主要作用是延长 B2 链^[19]。当 SSS III -2 缺失后, 稻米品质变化明显。AC 含量有一定增加, 其中支链淀粉 B 链 DP ≥ 30 合成受阻, 超长支链 (ELC) DP ≥ 500 有所增加; DP6 ~ 9 和 DP16 ~ 19 减少, 而 DP10 ~ 15 和 DP20 ~ 25 间有所增加^[20]。SSS IV 亚家族有 2 个同工型, 即 SSS IV -1 和 SSS IV -2。因为在水稻中还未能获得突变体, 所以该基因家族对稻米品质的具体影响还不清楚。

目前除了已知的淀粉合成相关基因外, 已经发现了部分转录因子对淀粉合成也有调控作用。最近发现一种亮氨酸拉链转录因子 *OsbZIP58*, 该转录因子直接调节 6 种淀粉合成基因的表达, 包括 *AGPL3*、*Wx*、*SSS II -1*、*SBE I*、*SBE II -2* 和 *ISA2*^[21-24]。

淀粉合成酶的活性还受温度影响, 直链淀粉和支链淀粉在水稻灌浆过程中几乎是同步积累的。淀粉合成酶在不同时间活性也不一样, 可溶性淀粉合成酶的活性在水稻籽粒灌浆初期最高^[21-24]。水稻 SSS 各同工型基因对花后高温胁迫的响应表达模式明显不同, 在胚乳中表达的主要形式是 SSS I 和 SSS III -1, 而其他 6 种同工型基因相对表达量均较低; 水稻胚乳中 SSS II -2、SSS III -1 和 SSS IV -1 等同同工型基因相对于其他几种基因, 对高温胁迫的响应表达更敏感^[21-24]。

2.3.3 淀粉分支酶 淀粉分支酶是淀粉体内合成支链淀粉的关键酶, 它的作用是切开 α -1,4 葡聚糖直链供体的 α -1,4 糖苷键, 同时催化切开的短链与受体链间 α -1,6 糖苷键的形成, 从而产生分支。

SBE 有 3 种同工型, 即 *SBE I*、*SBE II* 和 *SBE III*。Fisher 等从玉米 (*Zea mays*) 胚乳中克隆出了 3 种同工型, 通过序列比较发现, *SBE II -2* 的 N 端相对于 *SBE II -1* 有另外 49 个氨基酸的延伸^[25]。水稻 SBE 酶是由 Yamanouchi 等分离得到的^[26], 在此基础上, Mizuno 等克隆了水稻种子 *SBE I* 和 *SBE III* 编码基因 cDNA^[27]。SBE I 的分子量为 86 ku, 与玉米的 *SBE I* 有 86% 同源性; *SBE III* 基因和 *SBE I* 具有高同源性, *SBE III* 在水稻种子组织中是转移表达的, 该基因编码分子量为 87 ku 的蛋白质。Sun 等分别克隆了大麦 *SBE II -1* 和 *SBE II -2* 编码基因的 cDNA 和 gDNA^[28]。2 个基因都是单拷贝, 分别位于大麦第 2 号和第 5 号染色体上。在大麦中, *SBE II -1* 表达不具有组织专一性, 而 *SBE II -2* 基因表现为胚乳表达专一性。虽然各物种 SBE 各种同工型都有一定程度的同源性, 但各物种之间都存在明显的差别。

2.3.4 淀粉去分支酶 DBE 催化多糖链中 α -1,6 糖苷键的水解, 根据其作用底物的不同, 分为异淀粉酶 (*isoamylase*, *ISA*) 和普鲁蓝酶 (*pullulanase*)。异淀粉酶是以变性支链淀粉、糖原以及支链淀粉类似物为底物, 催化的是 α -1,6 糖苷键, 将其水解, 但是该酶不能水解普鲁蓝; 普鲁蓝酶水解的是普鲁蓝和极限糊精的 α -1,6 糖苷键, 但是对糖原和变性支链淀粉的 α -1,6 糖苷键则无活性或者弱活性。

当 DBE 不能正常行使功能的时候, 植株体内的多糖结构更趋向于形成多分支的小分子多糖和糖原。原因有 2 个: 一

是 DBE 直接发挥作用, 它从多糖中切断 α -1,6 糖苷键, 通过 SBE 利用空间紧密排列的原则, 将 DBE 切下的较小分子通过 α -1,6 糖苷键连接到其他的位置, 从而形成大分子支链淀粉; 二是 DBE 间接发挥作用, 只有当 DBE 发挥功能的时候, 某些其他酶类才能起到作用, 也就是说 DBE 功能缺失的时候, 其他酶类就发生异常, 从而使得支链淀粉的合成受阻。

3 软米水稻的研究现状

籼稻稻谷直链淀粉含量为 15% ~ 24%, 粳稻稻谷直链淀粉含量为 15% ~ 20%, 糯稻直链淀粉含量 ≤ 2%, 软米是直链淀粉含量介于 2% ~ 15% 的新型稻谷类型。一般而言, 直链淀粉含量 > 20% 的稻米食味品质会比较差, 而直链淀粉含量 < 15% 的稻米食味品质则较好^[29]。因此软米具有软而不烂、膨化性好、富有弹性、冷后不易变硬、回生程度小等优点, 是制作方便米饭、米类点心等速食食品的优质原材料。

由于软米的米质介于糯米与黏米之间, 故又称之为半糯米。根据植物分类学, 软米通常可分为籼、粳两大类型, 一般晚籼型软米所占比例较高^[30]。除上述分类指标外, 育种家一般将直链淀粉含量作为软米的主要分类指标。徐绍忠等结合软米发展历史指出, 直链淀粉含量为 8% ~ 16%^[31]。李铮友则认为软米是直链淀粉含量低于 18% 的稻米品种^[32]; 王新其等认为稻米直链淀粉含量在 5% ~ 14% 时就可称之为软米^[33]。曾亚文等认为, 籼稻中 9.1% ~ 15% 的直链淀粉可作为籼型软米的重要指标, 而糊化温度 (6 ~ 7 级) 和胶稠度 55 ~ 85 mm 是籼型软米评价的辅助指标^[34]。因此, 在软米上至今没有规范化、系统化的分类指标, 有必要在软米的分类上提出一套系统、可行、适合的标准。总之, 粳稻中 2% ~ 9% 可作为粳型软米的重要指标, 籼稻中 9.1% ~ 15% 的直链淀粉可作为籼型软米的重要指标。

蜡质基因 (*Waxy*, *Wx*) 是影响稻米蒸煮与食味品质的最重要基因, 通过编码淀粉粒结合淀粉合成酶 (GBSSI) 控制着稻米中直链淀粉的合成, 直接影响水稻胚乳和花粉中直链淀粉的含量 (AC)。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^[35], *Wx* 基因等位变异的挖掘和利用是解析水稻质量变异一个重要的方法, 也是稻米品质改良的一个重要方面。目前在栽培稻中已鉴定了多个 *Wx* 基因的复等位变异, 包括 *Wx^a*、*Wx^b*、*wx*、*Wx^{op}*、*Wxⁱⁿ*、*Wx^{mq}*、*Wx^{mp}*、*Wx^{hp}* 等, 这些等位变异是造成稻米品质差异的主要原因^[36]。*Wx^b* 与 *Wx^a* 相比, 第 1 内含子 +1 位碱基由 G 变为 T, 降低了 *Wx* 基因转录后 mRNA 的剪接效率, 明恢 63 的腊质基因基因型为 *Wx^b*, IR36、特青的基因型为 *Wx^a*; 在 *Wx* 基因的第 2 外显子中 23 bp 的插入, 导致终止密码子提前出现, 是形成 *wx* 等位基因的原因; *Wx^{op}* 与 *Wx^a* 相比, 在第 4 外显子的 A762 突变为 G762, 导致氨基酸由 Asp 变为 Gly; 而 *Wxⁱⁿ* 与 *Wx^a* 相比, 则是在第 6 外显子中的 A1132 突变为 C1132, 其编码的氨基酸由 Tyr 变为 Ser^[37], IR64 的腊质基因基因型为 *Wxⁱⁿ*。云南软米低直链淀粉含量由 *Wx^{hp}* 基因的遗传控制。来自日本的软米含 *Wx^{mq}*, 如品种关东大 194 的直链淀粉含量较低, 显示软米的特点。借助分子标记, 姚妹等将 *Wx^{mq}* 基因导入水稻高产粳稻品种, 培育了南粳 46、南粳 9108 粳型软米品种。利用香味的功能标记 In Del - E7 进行检测时, 南粳 46 和南粳

9108 具有一致的条带^[38]。

4 香软米研究进展

目前,我国香软米培育主要依赖于传统育种,如何把稻米香味基因导入软米水稻中,创建又香又软的品质优异的水稻亲本,进而选育出产量高、品质特优的香型软米水稻品种,从根本上解决我国当前优质水稻品种较少的被动局面。

云南香型软米水稻资源是云南特有的一种籼稻类型,具有直链淀粉含量低,软胶稠度,低糊化温度,香味浓馥,米饭芬芳,柔润爽口,冷后不回生、不变硬,冷热均可食用,不易变馊,饭粒晶莹,富有光泽等优质特性,古往今来就有贡米之美誉^[39]。而近期上海市农业科学院作物栽培研究所选育的特种水稻品种紫香糯 861,其米粒具有味香软糯、米粒大、米皮黑色、富有光泽等优点,是一种集色、香、味与营养于一体的特种米^[40]。云梗 20 号为首个高原梗型香软米品种,随后选育出了云梗 29 号、云梗 37 号和云梗 41 号等一批香软米新品种(系),稻米食味品质好,一上市便赢得广大消费者青睐。该类型品种在生产上得到了很好的种植,稻米优质优价,产值较高^[41]。上海市青浦区农业技术推广服务中心和上海良金种业发展有限公司采用常规杂交方法,选育了早熟中梗水稻新品种青角 22。该品种经品尝,口感香软柔滑,甜润爽口,食味佳,且冷饭不回生,食用时冷热皆宜,米质优,直链淀粉含量在 11.6% 以下,胶稠度在 76 mm 以上,为香型软米类品种^[42]。

目前我国稻种资源虽然丰富,但资源毕竟有限,特别是可以应用的品质优异的恢复源和保持源还是相当匮乏,在杂交水稻优质育种中除了充分发掘国内外优异种质资源特别是类似云南香型软米稻种资源等优质资源外,应该引起水稻育种家关注的是,在不断扩大种质亲本遗传差异时,必须改良亲本选育方法,克服优良基因在亲本测配选育中流失。目前我国杂交水稻育种中,不论是保持系测配选育,还是恢复系的测恢选择,绝大多数采取系谱法与增加选择压方法,于中低代边测恢(保)边选亲本,这虽然有利于加快选择对象个体基因型的纯合力度,较快培育出优异亲本,但同时也造成大量优良基因的流失,显然是不利于丰富杂交亲本的遗传基础或者扩大杂交亲本遗传差异^[43]。泸优明占是三明市农业科学研究院用四川省农业科学院水稻高粱研究所育成的香型优质三系不育系泸香 618A 与抗稻瘟病和稻飞虱的优质恢复系双抗明占配组育成的杂交水稻新组合,具有产量高、米质优、米饭柔软有清香味等特点^[44]。南梗 9108 是江苏省农业科学院粮食作物研究所日本优质梗稻关东 194 为父本,与江苏优质高产梗稻武香梗 14 杂交,经数代条纹叶枯病抗性基因与半糯性基因的分子标记辅助选择以及外观与食味品质筛选培育而成的又一个优良香软米梗稻新品种^[45]。山软 8 号是用丰富占与粤泰丝苗杂交育成的感温型籼稻常规优质品种,表现生长势强,株型好,抗稻瘟病,穗大粒多,结实率高,抗倒力强,适应性广,适合机械化种植,外观品质、食味品质好,直链淀粉 14.2% ~ 14.5%,食味品质 73 ~ 78 分,饭粒延伸不破裂,口感软滑,饭味好,是色香味俱全的优质香软米品种^[46]。

5 展望

近年,国内外对优质香软米的消费需求越来越大,香软米

水稻的研究及优质香软米水稻的选育也越来越受到科学家的重视。随着水稻功能基因组研究的快速发展,关于水稻中香味基因以及各种软米相关基因的遗传基础、功能及其调控机理等将会越来越明朗。最近十几年,基因测序技术突飞猛进,大量不同来源的水稻品种和种质资源完成测序分析,不仅发现了一系列香味基因的变异位点及其等位基因,还发掘了一系列的软米品质基因的变异位点及其等位基因^[47]。针对这些变异位点,基因功能标记也被不断开发并已经广泛应用于基因筛选和杂交骨干亲本培育。但是,在育种家们育种过程中,与直链淀粉相关的基因在改变稻米品质的同时,改变了其通透度,所以如何改良现有香软米品种的通透度问题备受人们关注。

随着分子技术的不断发展和完善,分子标记辅助选择(MAS)也越来越多地应用在水稻品质基因及水稻育种的研究中。在香软米水稻育种中,通过分子标记辅助选择不但可以快速准确地搜集香软米水稻的种质资源,同时还可以加速种质资源的创新,通过与基因紧密连锁的标记辅助选择,不但可以提高育种的准确性,还可以缩短育种年限,加速育种进程。

基因编辑技术能够让人类对目标基因进行“编辑”,实现对特定 DNA 片段的敲除、加入等。利用序列特异性核酸酶 SSNs 的基因编辑技术(包括 TALEN、ZFN 和 CRISPR)进行分子设计育种,要比传统育种和转基因(RNAi 或者反义 RNA)育种具有明显的优势:(1)准确编辑目标基因;(2)不需要杂交和回交过程,省时方便;(3)能够得到无筛选标记的后代^[48]。而 CRISPR/Cas9 技术自问世以来,就有着其他基因编辑技术无可比拟的优势,技术不断改进后,更被认为能够在活细胞中最有效、最便捷地编辑任何基因。

水稻香软米育种涉及遗传、育种、分子生物学、生理、病理以及栽培等诸多学科,需要把常规育种与新技术,特别是分子生物学相关技术相结合,有效地开展分子标记辅助选择育种,基因聚合育种以及基因编辑技术,培育出高产、优质、抗逆的香软米新品种。

参考文献:

- [1] Bradbury L M T, Fitzgerald T L, Henry R J, et al. The gene for fragrance in rice [J]. Plant Biotechnology Journal, 2010, 3 (3): 363 - 370.
- [2] Yajima I, Yanai T, Nakamura M, et al. Volatile flavor components of cooked Kaorimai (scented rice, *Oryza sativa japonica*) [J]. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 1979, 43 (12): 2425 - 2429.
- [3] Buttery R G, Ling L C, Juliano B O, et al. Cooked rice aroma and 2 - acetyl - 1 - pyrroline [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1983, 31 (4): 823 - 826.
- [4] 孙树侠, 刘书城. 水稻的香味及 N、Zn 肥对香味效应的研究 [J]. 作物学报, 1991 (6): 430 - 435.
- [5] Ziegler L, Gerstner W. Synaptic tagging and capture: a bridge from molecular to behaviour [J]. BMC Neuroscience, 2011, 12 (Suppl 1): 122.
- [6] 张涛, 张红宇, 蒋开锋, 等. 水稻香味基因的精细定位 [J]. 分子植物育种, 2008 (6): 1038 - 1044.

- [7] Chen S H, Yang Y, Shi W W, et al. Badh2, encoding betaine aldehyde dehydrogenase, inhibits the biosynthesis of 2 - acetyl - 1 - pyrroline, a major component in rice fragrance[J]. The Plant Cell, 2008, 20(7): 1850 - 1861.
- [8] 许言福, 黄菊, 王英存, 等. 2 种筛选水稻 badh2 - E2 类型香味基因分子标记的建立[J]. 分子植物育种, 2015, 13(11): 2441 - 2445.
- [9] 徐辰武, 莫惠栋. 胚乳性状的质量 - 数量遗传分析[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 1995, 16(1): 9 - 13.
- [10] 陈明亮. 人工 miRNA 干扰共转化法获得无筛选标记转基因香稻[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- [11] 黄发松, 孙宗修, 胡培松, 等. 食用稻米品质形成研究的现状与展望[J]. 中国水稻科学, 1998, 12(3): 172 - 176.
- [12] 黄琴, 王志敏. 禾谷类作物胚乳淀粉的生物合成[J]. 中国农业大学学报, 1999, 4(增刊1): 8 - 15.
- [13] 刘玉玲, 韩兴杰, 李同建, 等. 植物多倍体中的基因组印记[J]. 广西植物, 2014, 34(3): 290 - 293.
- [14] 曲莹, 金正勋, 刘海英, 等. 粳稻杂种后代胚乳可溶性淀粉合成酶及同工型基因表达特性分析[J]. 中国水稻科学, 2014, 28(1): 23 - 31.
- [15] 姜丽. 水稻淀粉合成酶 *OsSSS I* 基因的等位变异与功能研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2007.
- [16] 段骅, 唐琪, 剧成欣, 等. 抽穗灌浆早期高温与干旱对不同水稻品种产量和品质的影响[J]. 中国农业科学, 2012, 45(22): 4561 - 4573.
- [17] 徐志豪. 无抗性选择标记转 *OsSSS II* - 2 基因 RNA 干扰结构水稻的品质分析及其分子特性研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2018.
- [18] Ye R J, Huang H Q, Yang Z, et al. Development of insect - resistant transgenic rice with Cry1C * - free endosperm [J]. Pest Management Science, 2010, 65(9): 1015 - 1020.
- [19] Tang W, Chen H, Xu C G, et al. Development of insect - resistant transgenic indica rice with a synthetic *cry1C* * gene[J]. Molecular Breeding, 2006, 18(1): 1 - 10.
- [20] 吴兴超. 水稻 PUL 和 SSIII - 1 下调对淀粉合成酶基因表达及胚乳淀粉含量的影响[D]. 武汉: 湖北大学, 2017.
- [21] Wang J C, Xu H, Zhu Y, et al. OsbZIP58, a basic leucine zipper transcription factor, regulates starch biosynthesis in rice endosperm [J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 64(11): 3453 - 3466.
- [22] Wu J H, Zhu C F, Pang J H, et al. OsLOL1, a C2C2 - type zinc finger protein, interacts with OsbZIP58 to promote seed germination through the modulation of gibberellin biosynthesis in *Oryza sativa* [J]. Plant Journal, 2015, 80(6): 1118 - 1130.
- [23] Hong W J, Yoo Y H, Park S A, et al. Genome - wide identification and extensive analysis of rice - endosperm preferred genes using reference expression database[J]. Journal of Plant Biology, 2017, 60(3): 249 - 258.
- [24] 张昌泉, 赵冬生, 李钱峰, 等. 稻米品质性状基因的克隆与功能研究进展[J]. 中国农业科学, 2016, 49(22): 4267 - 4283.
- [25] Fisher D K, Gao M, Kim K N, et al. Allelic analysis of the maize amylose - extender locus suggests that independent genes encode starch - branching enzymes IIa and IIb[J]. Plant Physiology, 1996, 110(2): 611 - 619.
- [26] Yamanouchi H, Nakamura Y. Organ specificity of isoforms of starch branching enzyme (Q - enzyme) in rice [J]. Plant & Cell Physiology, 1992, 33(7): 985 - 991.
- [27] Mizuno K, Gonzalez F J, Kimura S. Thyroid - specific enhancer - binding protein (T/EBP): cDNA cloning, functional characterization, and structural identity with thyroid transcription factor TTF - 1 [J]. Molecular & Cellular Biology, 1991, 11(10): 4927 - 4933.
- [28] Sun C X P, Ahlandsberg S, Jansson C, et al. The two genes encoding starch - branching enzymes IIa and IIb are differentially expressed in barley[J]. Plant Physiology, 1998, 118(1): 37 - 49.
- [29] 朱昌兰, 沈文彪, 翟虎渠, 等. 水稻低直链淀粉含量基因育种利用的研究进展[J]. 中国农业科学, 2004, 37(2): 157 - 162.
- [30] 辜琼瑶, 卢义宣, 刘小利, 等. 云南软米资源研究与利用[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2006, 21(2): 255 - 258.
- [31] 徐绍忠, 毛孝强, 陈升位, 等. 云南软米育成品种品质的分析与鉴定[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2002, 33(3): 380 - 383.
- [32] 李铮友. 溧型软米杂交籼稻的选育进展[J]. 杂交水稻, 2001, 16(5): 16.
- [33] 王新其, 殷丽青, 沈革志. 用转基因技术培育水稻软米品种[J]. 上海农业学报, 2002, 18(增刊1): 69 - 73.
- [34] 曾亚文, 申时全, 杨忠义, 等. 云南稻种资源的蒸煮食味品质研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2001, 23(5): 410 - 413.
- [35] 陈培峰, 王建平, 乔中英, 等. 糯稻 *wx* 基因的遗传分析[J]. 江西农业学报, 2013(7): 7 - 9.
- [36] 朱晖晖, 张昌泉, 顾铭洪, 等. 水稻 *Wx* 基因的等位变异及育种利用研究进展[J]. 中国水稻科学, 2015, 29(4): 431 - 438.
- [37] Mikami I, Uwatoko N, Ikeda Y, et al. Allelic diversification at the *wx* locus in landraces of Asian rice [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2008, 116(7): 979 - 989.
- [38] 郭凯, 宋宁垣, 孙红正, 等. 河南沿黄稻区粳稻种质资源香味基因筛选[J]. 河南农业大学学报, 2017, 51(3): 308 - 311.
- [39] 李存龙, 杨芬, 罗龙, 等. 香型软米恢复系文恢 206 选育与应用研究[J]. 西南农业学报, 2007, 20(4): 581 - 586.
- [40] 金芝辉, 王起, 潘康蓉. 优良特种水稻品种——紫香糯 861 [J]. 农村百事通, 2018(8): 24.
- [41] 李农飞, 钟丽华, 单艳, 等. 云南粳型香软米品种产量和品质特性分析[J]. 西南农业学报, 2016, 28(2): 329 - 333.
- [42] 胡大明, 钱益芳, 蒋其根, 等. 优质中梗新品种青角 22 的选育与栽培技术要点[J]. 上海农业科技, 2018(4): 36 - 37, 39.
- [43] 李存龙, 罗龙, 杨芬, 等. 香型软米种质资源遗传差异及其与杂种产量优势关系研究[J]. 西南农业学报, 2010, 23(4): 1003 - 1008.
- [44] 黄显波, 邓则勤, 林成豹, 等. 优质高产杂交水稻新组合沪优明占[J]. 杂交水稻, 2014, 29(4): 86 - 87.
- [45] 王才林, 张亚东, 朱镇, 等. 优良食味粳稻新品种南梗 9108 的选育与利用[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(9): 86 - 88.
- [46] 高焕东, 梁见冰. 优质高产、高抗稻瘟病水稻新品种莉丰占的选育及栽培技术[J]. 农业科技通讯, 2012(2): 91 - 92.
- [47] He Q, Park Y J. Discovery of a novel fragrant allele and development of functional markers for fragrance in rice: new strategies in plant improvement[J]. Molecular Breeding, 2015, 35(11): 217.
- [48] Shan Q W, Zhang Y, Chen K L, et al. Creation of fragrant rice by targeted knockout of the *OsBADH2* gene using TALEN technology [J]. Plant Biotechnology Journal, 2015, 13(6): 791 - 800.