

徐茂森,张 涛,孙亚丽,等. 功能水稻研究领域热点之一——高抗性淀粉水稻[J]. 江苏农业科学,2022,50(11):23-30.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.11.003

功能水稻研究领域热点之一——高抗性淀粉水稻

徐茂森,张 涛,孙亚丽,冯潇潇,唐家琪,王子瑞,张 超,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:抗性淀粉作为一种高膳食纤维的功能性食品成分,因其独特的功能特性和有利于健康的益处而受到重视,其生理作用包括对血糖、空腹血浆甘油三酯和胆固醇水平的控制以及促进吸收矿物质,是近年来功能食品和作物遗传领域的研究热点之一。水稻产量约占全球粮食作物的一半,高抗性淀粉水稻具有重大的研究意义和应用潜力。随着育种技术的不断进步,高抗性淀粉水稻的研究也取得了飞速突破。本文介绍了抗性淀粉的分类和制备方法,抗性淀粉有利于健康的益处及其在食品中的应用,以及国内外通过常规育种、诱变育种、基因工程技术等手段培育具有不同抗性淀粉含量水稻的研究进展,以为高抗性淀粉水稻遗传育种研究提供参考。

关键词:水稻;抗性淀粉;作用;研究进展;基因工程技术;应用

中图分类号: S511.203 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2022)11-0023-08

全球经济迅猛发展,人们生活水平日益提升,高热量、高盐、高脂肪食物在饮食中占比逐渐增大,导致高血糖、高血压、高血脂等慢性疾病的发病率越来越高^[1]。截至2019年底,全球糖尿病患者总数达到4.63亿人,我国则达到1.16亿人,并呈逐年增长的趋势^[2]。人们日益重视饮食健康,对食品中维生素、不饱和脂肪酸等营养物质的含量越来越关注^[3]。然而,添加普通膳食纤维易对食物的口感、外观、质地等方面产生负面影响,限制了其广泛应用^[4-5]。淀粉作为碳水化合物主要来源于膳食,是植物中含量最丰富的多糖,抗性淀粉的出现使这些问题得到很好的解决^[6-7]。针对高血压、糖尿病等慢性病患者,我们将传统育种技术与新兴的基因编辑技术相结合,培育具有辅助治疗和保健作用的高抗性淀粉水稻新品种,这对于改善我国以稻米为主食人群的营养与健康状况具有十分重要的意义^[8]。

1 抗性淀粉的定义及类型

抗性淀粉(resistant starch, RS)一词最早由

Englyst 等于1982年在英国剑桥大学的邓恩临床营养中心提出^[9]。RS是不能被人体小肠降解和吸收,但能在结肠中被发酵利用的淀粉或淀粉类食品的总称^[10]。抗性淀粉存在于天然食物中,也可作为食品添加剂加入食物中。根据其理化特性,RS分为5类:RS1(物理包埋淀粉)、RS2(抗性淀粉颗粒)、RS3(老化回生淀粉)、RS4(化学改性淀粉)、RS5(淀粉-脂质复合物)^[11-16]。表1概述了这5类抗性淀粉和它们在小肠内的抗消化能力以及每种类型抗性淀粉的食物来源,下面对其进行简要总结。

1.1 RS1

RS1是一种在物理上无法消化的抗性淀粉,可能是由于全部或部分碾磨的谷物、种子以及块茎中存在完整的细胞壁^[17]。在这种情况下,淀粉无法接触到淀粉分解酶和消化酶,并由于缺乏细胞壁降解酶,胃肠道也不可能降解细胞壁成分。这种淀粉只有经过适当的咀嚼或研磨,才能在小肠内完全消化。

1.2 RS2

RS2是天然淀粉颗粒,例如生马铃薯、绿香蕉、直链玉米中的淀粉颗粒,其构象或结构可防止消化。由于其结晶性质,天然的未煮熟淀粉颗粒不易水解^[18]。RS2紧凑的结构使其不易被消化酶和淀粉酶吸收。小肠对RS1、RS2的消化缓慢且不完全。1937年,Nowotny首次观察到生马铃薯淀粉的抗性,他对多种植物的生淀粉进行酶水解,并观察到生马铃薯淀粉的酶水解程度很小。

收稿日期:2022-02-10

基金项目:国家自然科学基金(编号:31872859);江苏省太仓市科技计划(编号:TC2019JC10);江苏高校优势学科建设工程。

作者简介:徐茂森(1997—),男,安徽合肥人,硕士研究生,主要从事水稻遗传育种研究。E-mail:X19970927S@163.com。

通信作者:于恒秀,博士,教授,主要从事水稻遗传育种研究。
E-mail:hxyu@yzu.edu.cn。

表 1 抗性淀粉 (RS) 的类型,食物来源和影响因素的分类^[9,12-16]

RS 分类	类型	食物来源	抗性减小方法	小肠内消化速度
RS1	物理包埋	全部或部分碾磨的谷物和种子、豆类	碾磨,咀嚼	速度慢,如果适当研磨,部分可完全消化
RS2	具有 B 型结晶的未糊化的抗性颗粒,可被 α -淀粉酶水解	生马铃薯、绿香蕉、一些豆类、高直链淀粉玉米	食品加工和烹饪	速度非常慢,煮熟可完全消化
RS3	老化回生淀粉	煮熟和冷却的马铃薯、面包、玉米片,反复湿热处理的食物	食品加工和烹饪	慢速,部分可逆消化;通过再加热改善消化率
RS4	经化学修饰形成的抗性淀粉	使用改性淀粉的食品	体内不易消化	抗水解
RS5	直链淀粉-脂质复合物	直链淀粉含量高的食物	食品加工	速度慢,部分被消化

1.3 RS3

物理改性淀粉属于这一类。RS3 是变性淀粉,主要指变性、再结晶直链淀粉,在糊化淀粉冷却过程中以及在低温或室温下保存的熟食中形成。RS3 在热学上非常稳定,通常在潮湿的食物中形成。由于热稳定性好,它是一种重要的淀粉组分,也存在于多种传统食品中^[18]。RS3 比颗粒状淀粉具有更高的持水性^[19],例如煮熟冷却的马铃薯和玉米片。

1.4 RS4

RS4 是一种经过化学修饰的淀粉,主要通过淀粉聚合物上引入化学键来制备,这些化学键会干扰消化淀粉酶的作用,类似于抗性低聚糖和聚葡萄糖^[20]。已醚化、酯化或与化学品交联以降低其消化率的淀粉属于这一类别。

1.5 RS5

RS5 是由于淀粉和脂质之间发生相互作用时,直链淀粉和支链淀粉的长支链与脂肪醇或脂肪酸结合形成的单螺旋复合物,具有热稳定性^[21-22]。这些复合物可以在食品加工过程中形成,也可以在受控条件下制备。RS5 的结构和形成取决于植物来源。RS5 是由水不溶性线性聚 α -1,4-葡聚糖组成的多糖,对 α -淀粉酶的降解具有抗性^[17]。这些多糖促进短链脂肪酸特别是丁酸的形成,是结肠细胞的首选能量来源。

2 抗性淀粉有利于健康的益处及其在食品中的应用

2.1 糖尿病管理和预防

糖尿病是一种影响血糖水平的疾病。糖尿病患者的身体难以消化碳水化合物,这会导致危险的低血糖或高血糖发作。随着时间的推移,糖尿病会导致肾病、心脏病、中风或更严重的疾病。简单的碳水化合物会迅速升高食用者的血糖,这可能对糖

尿病患者有害^[23]。而富含抗性淀粉的食物需要很长时间才能消化,它们可以使身体的血糖水平保持稳定,有助于避免短期的糖尿病紧急情况。

2.2 预防疾病

抗性淀粉在小肠中逃脱消化并进入肠道,被肠道中的益生菌发酵,产生短链脂肪酸(SCFA),主要是乙酸盐、丁酸盐和乳酸盐等^[24]。SCFAs 作为大脑、心脏和肌肉的能量来源,增加或促进胆盐溶解度、矿物质吸收、瘦素产生和调节,这些都有助于预防肥胖和代谢紊乱^[25]。据报道,丁酸盐还可以提高结肠细胞对食物有毒物质的抵抗力,并提高结肠黏膜中谷胱甘肽的含量^[26]。研究表明,在食用富含抗性淀粉的食物 4 周后,健康成人粪便中的胆汁酸显著减少^[27]。健康人群的粪便与结肠癌患者的粪便相比,含有较少的胆汁酸和类固醇^[28],由此推断 RS 对预防结肠癌具有积极作用。

2.3 饱腹感

抗性淀粉的热量相比普通淀粉少 8.4 ~ 16.8 J/g,食物中的抗性淀粉含量越高,热量就越少。另外研究表明,抗性淀粉似乎与可溶性纤维补充剂有同样的效果,在膳食中添加抗性淀粉可以增加饱腹感,减少食欲和食物摄入量^[29]。

2.4 矿物质吸收

与其他可发酵纤维一样,抗性淀粉与更多的矿物质吸收有关。动物研究表明,食用抗性淀粉可以对肠道钙、镁、锌等矿物质吸收产生积极影响^[30-31]。不过目前这些研究是在动物身上进行的,需要更多的研究来确定对人类的影响。

2.5 抗性淀粉作为益生元

益生元是指那些不易消化的食物成分,选择性地刺激益生菌生长,从而有益地影响宿主健康^[32-33]。抗性淀粉促进大鼠胃肠道双歧杆菌^[34]、乳杆菌的生长^[35],并提高双歧杆菌在酸性缓冲液或

胆汁酸溶液中的存活率^[36]。由于 RS 几乎完全通过小肠,它可以作为益生菌生长和活力的底物。富含抗性淀粉的饮食显著增加乳杆菌、双歧杆菌、链球菌的数量,减少肠杆菌数量,并改变大鼠结肠中的微生物酶代谢^[37]。对猪和人类的试验表明,粪便和大肠的 SCFA 谱随时间的推移发生变化,说明益生菌与抗性淀粉之间存在有利的相互作用^[38]。

3 抗性淀粉的制备方法

3.1 热处理

淀粉加热到不同程度,会导致抗性淀粉的形成。RS 可以通过在高于糊化温度的条件下蒸煮淀粉,并在加热辊同时进行干燥来获得^[39]。淀粉在 120 ℃ 下糊化 20 min,然后冷却至室温可以提供良好的 RS 回收率^[40]。慢消化淀粉(SDS)的最大产量(39.3% ~ 56.7%)是通过在大米淀粉中双重回生(糊化-回生-糊化-回生)获得的^[41]。通过对各种天然淀粉进行时间和温度的各种组合处理,获得良好的 RS3 产量。

3.2 酶处理

RS 用高直链淀粉通过糊化制备,然后用脱支酶(如支链淀粉酶)处理浆液,并干燥分离出淀粉产品^[42]。RS 含量至少为 50% 的 RS 产品通过形成水-淀粉悬浮液,在高压釜中 100 ℃ 加热悬浮液,使淀粉完全糊化,冷却,以直链淀粉回生来制造。

3.3 化学处理

长期以来,通过对抗性淀粉进行化学修饰降低淀粉的体外消化率^[20,43-45]。RS4 中的酶抗性通过与化学试剂交联完成^[46]。交联淀粉通过淀粉与双官能或多官能试剂如三氯化磷、三偏磷酸钠或乙酸和二羧酸如己二酸的混合酸酐反应获得。使用三偏磷酸钠(STMP)、三聚磷酸钠(STPP)、环氧氯丙烷或磷酰氯(POCl_3)交联来自大米、小麦、玉米、马铃薯、木薯、燕麦和绿豆的淀粉,产生 RS4^[45,47]。

4 抗性淀粉在食品中的应用

抗性淀粉可以逃避小肠中的消化,仅在结肠中发酵,从而产生短链脂肪酸。RS 通过改善血糖和胰岛素反应、控制脂质代谢、调节类似于益生菌的肠道微生物群以及预防结肠癌,对人体新陈代谢和结肠健康产生有益影响。另外 RS 具有如不溶于水、粒径小、赋形性能强、口感舒适、颜色浅等物理特性,赋予了抗性淀粉广泛的应用价值^[48]。由于其独

特的有利于健康的好处和作为功能性纤维的特性,RS 具有用于加工各种食品的潜力。

4.1 饮料

RS 具有膳食纤维的功能,通过糯米淀粉酸水解制备淀粉纳米颗粒,经过超声处理和冷冻干燥处理,制备出 RS 纳米粒子。结果表明,它是一种稳定的胶体分散体,其胶体稳定性可用于酸性和中性食品分散体,如碳酸和非碳酸饮料、果汁、调味品、酱汁,还可广泛应用于开发富含膳食纤维的饮料^[49]。

4.2 面条

面食产品是基本产品,具有多种营养价值并在饮食中发挥重要作用。先前的研究表明,RS 具有商业潜力,可用于制作营养特性得到改善的面条产品^[50]。RS 是膳食纤维的最佳替代来源,与传统膳食纤维相比,它具有温和的理化性质及更好的外观、质地和口感^[51]。面团的吸水率随着 RS 的增加而增加,加入 5% 左右的 RS 可以显著改善面条的色泽,降低面条的黏弹性,而对面条的蒸煮特性影响不大,不影响面条的口感^[52]。

4.3 烘焙食品

RS 作为质地改良剂被添加到各种烘焙食品中,制备出对消费者有益的功能性健康食品。在面包配方中添加 RS,面包屑具有良好的脆性和柔软性^[53]。在饼干面粉中添加 RS 可制备出高纤维、低血糖生成指数的饼干,显著提高饼干的宽度和厚度,品质得到明显改善^[54]。

4.4 肉制品

RS 用于肉制品中时,还可改善肉制品保水、质构、冻融稳定性等品质特性。在低脂低盐肉制品体系下,降脂降盐会增加蒸煮损失,降低产品的硬度和弹性^[55]。有研究发现,RS 作为一种碳水化合物,受热时能与蛋白质发生相互作用而结合大量的水分,进而提高肉制品的保水性^[56]。Maria 等研究发现,RS 与其他功能性成分(如菊粉、聚葡萄糖等)结合,能提高肉制品的凝胶温度,增加低脂低盐肉制品的乳化稳定性^[57]。Yang 等研究发现,RS 能显著提高肉凝胶的硬度和保水性,并降低其蒸煮损失率^[58]。RS 除了可以提升肉制品的物化性质之外,还可赋予肉制品一定的生理功能。Toden 等通过大鼠模型研究发现,添加 RS 可以对大鼠因食用肉制品引起的结肠损伤产生保护作用^[59]。随着大量研究的开展,RS 相继被发现具有减少胆结石的发病率^[60],及提高大鼠和人体回肠对镁、钙、铁、锌和铜

离子的吸收率等功能^[61]。

4.5 微胶囊技术

淀粉就像海藻酸盐一样,是一种可生物降解的聚合物,无毒,与食品基质具有生物相容性,可以低成本获得^[62]。与天然淀粉相比,抗性淀粉对天然存在于食品基质中或由细菌在发酵食品中产生的酶具有抗性。因此,抗性淀粉在食品储存过程中稳定,并提供生物活性物质的释放^[63],藻酸盐和抗性淀粉聚合物可以形成一种有前景的混合物,具有大规模生产食品应用的能力。此外,这些混合物是低成本的食品级微胶囊,具有巨大的商业开发潜力。

5 高抗性淀粉水稻的研究进展

水稻为全世界超过 35 亿人提供食物^[64],是我国第一大粮食作物,稻米胚乳中淀粉含量约占 70%。Hu 等对我国 200 个以上不同类型水稻品种进行热米饭 RS 含量测定^[65],绝大多数品种水稻的 RS 含量在 1% 左右,极少数水稻 RS 含量能接近 3%。因此,接下来应围绕高抗性淀粉水稻展开研究,将传统育种技术和基因编辑技术相结合,培育出能改善人们饮食的高抗性淀粉水稻品种。

淀粉是水稻籽粒中碳水化合物主要的储存态,由葡萄糖聚合物、直链淀粉和支链淀粉组成,它们通过 $\alpha-1,4$ 和 $\alpha-1,6$ 键聚合。直链淀粉具有罕见的 $\alpha-1,6$ 键和较低的聚合度(DP),而支链淀粉是一种具有较高聚合度的树枝形分支结构的多糖。在熟食中,直链淀粉分子在冷却后迅速重新结合形成沉淀或凝胶,形成抗消化的复合物,而支链淀粉分子重新结合的速度较慢,形成的复合物更容易消化。因此,高直链淀粉产品总是具有较高的 RS 含量^[66]。直链淀粉和抗性淀粉含量高的谷物具有潜在的健康益处,可以降低许多疾病的风险^[67]。

谷物胚乳淀粉生物合成涉及一系列具有多种异构体的生物合成酶,主要是淀粉合酶(SS)、淀粉支化酶(SBE)、淀粉脱支酶(DBE)和 ADP-葡萄糖焦磷酸化酶多肽(AGPase)的协同作用^[68-69]。其中,SBE 是一种将 $\alpha(1\rightarrow6)$ 糖苷键引入 α -葡聚糖的酶,因此,它对支链淀粉的生物合成至关重要。它将现有的 $\alpha-1-4$ 糖苷键切断,再将葡萄糖残基的糖链转移至另外的或同一葡萄糖链上的 C6 位置上,引入直链与支链的分支点^[70]。在水稻胚乳中,至少存在 3 种 SBEs 亚型:SBEI、SBEIIa、SBEIIb,其中 SBEIIa 和 SBEIIb 具有 80% 的序列同源性^[71-72]。

SBEIIa 主要在叶片中表达,而 SBEIIb 主要在水稻籽粒中表达^[73-75]。SBEIIb 是水稻胚乳中一种主要的 SBEII 亚型^[73]。为了进一步增加直链淀粉含量,通过表达合适的 GBSS(蜡质)等位基因^[76-77]或抑制支链淀粉生物合成相关酶的表达^[76,78-79]。近年来,研究人员通过化学诱变、辐射诱变和基因工程等方法,创制高抗性淀粉的突变体。Butardo 等使用 RNA 干扰技术,使得淀粉分支酶相关基因表达水平下调,得到 RS 含量高达 4.8% 的转化植株,较其原始亲本 Nipponbare 高 10 倍^[80]。2005 年,杨朝柱等以我国主推杂交水稻 R7954 为起始材料,经航天搭载诱变,筛选获得富含抗性淀粉的突变体 RS111,其抗性淀粉含量高达 7.0%^[81]。临床试验表明,RS111 稻米对调控患者餐后血糖浓度的效果良好^[82]。2006 年,沈伟桥等利用 ⁶⁰Co γ 辐照诱变早籼稻新品系 201,经多代选育,获得高抗性淀粉早籼稻突变新品种浙辐 201,其抗性淀粉含量为 3.6%^[83]。2011 年,张宁等以 R7954 为母本、源于美国的高 RS 粳稻突变体 RS102 为父本进行杂交,育成糖尿病患者专用的水稻品种。该品种热米饭中抗性淀粉含量高达 10.17%^[82],其稻米加工产品被命名为“宜糖米”。后续浙江大学和绿巨人生物技术有限公司对食用人群开展了长时间的回访调查,结果表明,“宜糖米”可显著增加人们的饱腹感,有效平稳餐后血糖指数。2008 年,云南省农业科学院以云南稻微核心种质及其回交高代材料,系统选育出高抗性淀粉籼稻品种,用它煮制的米饭抗性淀粉含量高达 10%~13%^[84-85],后被用于商业开发,被命名为“功米 3 号”。

国际水稻研究所利用水稻品种 Kinmaze 经过化学诱变获得的 *ae* 突变体与 IR36 杂交得到富含抗性淀粉水稻突变体 AE,其抗性淀粉含量达到 8.25%^[86]。2012 年,Nishi 等将 *wx* 突变体 EM21 和 *ae* 突变系 EM16 杂交获得双突变体 AMF18,其糙米抗性淀粉含量达 27.8%^[86-87]。2013 年,韩国利用优质粳稻品种 Ilpumbyeo 进行化学诱变,获得高直链淀粉突变体 Goamy2^[88-91],抗性淀粉含量为 13.69%。2021 年,上海市农业科学院对筛选出来的几十个品种进行诱变处理、反复观察和分析鉴定,最终得到了高膳食纤维含量的遗传稳定突变体——“优糖稻”,它的抗性淀粉含量达到 13.2%,并且已进入大规模育种阶段,即将走上百姓的餐桌^[92],让更多“糖友”受益。

然而,传统育种技术存在多重局限性,新兴的

基因组学技术给高抗性淀粉水稻培育提供了新途径。CRISPR 相关蛋白 Cas9 介导的基因组修饰已成为在水稻中进行基因组编辑的最简单经济有效的技术,该技术允许精确的位点特异性基因修饰或整合。CRISPR/Cas9 通过 2 种成分切割外源 DNA,即 Cas9 和单向导 RNA (sgRNA)。Cas9 是一种 DNA 核酸内切酶,来源于不同的细菌,如侧孢短芽孢杆菌^[90]、金黄色葡萄球菌^[91]。通过 CRISPR/Cas9 技术在水稻基因组中产生靶向诱变,敲除 SBE 相关基因已成为高抗性淀粉水稻培育的重要手段。

Sun 等利用 CRISPR/Cas9 技术在水稻 SBEI 和 SBEIIb 中产生靶向诱变,制备高直链淀粉水稻^[92]。研究结果显示,*sbeI* 突变体和它的野生型之间没有观察到明显差异,*sbeII* 突变体相较于其野生型,它的直链淀粉、抗性淀粉含量分别增加至 25.0%、9.8%,改变了淀粉的精细结构和营养特性,首次证明了通过 CRISPR/Cas9 介导的 SBEIIb 编辑创建高抗性淀粉水稻的可行性。Baysal 等通过 CRISPR/Cas9 定点突变 *OsSBEIIb* 基因揭示了其通过转录重编程对胚乳新陈代谢的影响^[93]。该研究表明,*OsSBEIIb* 活性丧失会改变水稻籽粒淀粉的含量和结构特征,其中直链淀粉和抗性淀粉含量显著提高,但总淀粉含量降低。此外,种子呈现不透明表型且淀粉粒大小、形状和分布异常。总之,CRISPR/Cas9 系统具有所有的基因组编辑能力,例如敲入、敲除、敲低和表达激活。该系统为植物生物学家研究功能基因组学提供了一个不断扩大的遗传工具箱,是育种者将重要基因整合到重要作物基因组中的助力,大大提升了育种效率。

6 研究高抗性淀粉水稻面临的问题

目前,从现有水稻品种中筛选出高抗性淀粉水稻品种的难度较大。国内外主要用化学诱变、辐射诱变或基因工程等手段创制高 RS 水稻种质和遗传改良^[80-81]。扩大高 RS 水稻的遗传资源数量和来源是研究高 RS 水稻品种要解决的主要问题之一。

现今,国内已经培育出少量的高 RS 水稻品种。降糖稻 1 号是国内首个高抗性淀粉粳稻新品种,有稳定糖尿病患者餐后血糖、防治肠道疾病等功效,但其产量较低、抗逆性、抗病性较差,导致成本偏高。另外,降糖稻 1 号煮制的米饭较硬,口感较差,严重影响该品种的推广。之后,经过杨瑞芳等的不断研究,降糖稻 1 号的后续品种优糖稻 2 号、优糖稻

3 号等在产量方面的问题得到改善,亩产千斤左右,成本降低,减轻了“糖友”的负担^[94]。但是该品种仍无法克服口感差的缺点,限制了其价值发挥,影响推广利用。今后培育兼具优良食味品质的高抗性淀粉水稻品种,也是育种者重要的研究方向。

抗性淀粉的概念过于超前,大众知之甚少,绝大多数人对于健康饮食的关注点主要还是放在膳食纤维上面。日常人们购买一些饮料、零食,其产品介绍可能着重标注膳食纤维含量,还会介绍膳食纤维的好处。与此相比,抗性淀粉的概念、益处在生活中宣传太少,因此认可度不高,难以得到消费者的接受。积极加强抗性淀粉的宣传和市场推广,也是抗性淀粉不断研究发展的重要推动力。

7 高抗性淀粉水稻研究展望

药食是中医的重要组成部分,是中华民族经过几千年的不断探索、积累而形成的宝贵财富。与从食物中提取或用化学合成等手段制成的保健产品相比,天然的功能性食物更让人放心,也更容易被消费者接受。因此,对高血糖、高胆固醇血症、高甘油三酯血症等疾病有辅助治疗作用的高抗性淀粉水稻在国内具有巨大的市场前景和社会意义。

随着科学技术飞速进步,水稻、小麦等作物育种技术也得到了突破,已从传统的杂交育种发展到诱变育种、分子标记辅助育种以及转基因育种等^[95]。近年来,随着分子生物学、基因组学以及生物信息学等学科的迅猛发展,一些新的育种方法应运而生,如基因编辑育种、分子设计育种等^[96-97]。这些育种方法能够高效、精准、定向地推动水稻育种计划的实施,加速获得需要的水稻品种。

当前世界经济在飞速发展,人们的生活条件也越来越好,各种因为营养过剩而导致的患者也越来越多,最典型的就是糖尿病患者呈明显增加的趋势。因此,研究高抗性淀粉水稻对世界各国具有十分重要的意义^[98-99],也是未来水稻研究领域的热点之一。将传统育种手段和新兴的基因编辑技术结合,培育优质高产的高抗性淀粉水稻品种,并与营养学、生理学、医学等学科交叉融合,相互促进,共同推进该领域的发展,最终为人类健康谋福祉。

参考文献:

- [1] GBD Chronic Kidney Disease Collaboration. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990—2017: a systematic

- analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. The Lancet, 2020, 395 (10225) : 709 – 733.
- [2] Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition [J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2019, 157: 107843.
- [3] Amini K A, Birch J, Bekhit A E D A. Production, application and health effects of banana pulp and peel flour in the food industry [J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 56 (2) : 548 – 559.
- [4] Saa D T, di Silvestro R, Dinelli G, et al. Effect of sourdough fermentation and baking process severity on dietary fibre and phenolic compounds of immature wheat flour bread [J]. LWT – Food Science and Technology, 2017, 83: 26 – 32.
- [5] Hua M, Lu J X, Qu D, et al. Structure, physicochemical properties and adsorption function of insoluble dietary fiber from ginseng residue: a potential functional ingredient [J]. Food Chemistry, 2019, 286: 522 – 529.
- [6] Ma Z, Hu X Z, Boye J I. Research advances on the formation mechanism of resistant starch type III: a review [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60 (2) : 276 – 297.
- [7] Higgins J A. Resistant starch and energy balance: impact on weight loss and maintenance [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2014, 54 (9) : 1158 – 1166.
- [8] 刘传光, 周新桥, 陈达刚, 等. 功能性水稻研究进展及前景展望 [J]. 广东农业科学, 2021, 48 (10) : 87 – 99.
- [9] Englyst H, Wiggins H S, Cummings J H. Determination of the non – starch polysaccharides in plant foods by gas – liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates [J]. The Analyst, 1982, 107 (1272) : 307 – 318.
- [10] Brereton R G, Millership J S, Favell D, et al. Book and video reviews [J]. The Analyst, 1996, 121 (9) : 129N.
- [11] 米红波, 邓婷月, 李毅, 等. 抗性淀粉的消化特性及其在食品中的应用 [J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40 (9) : 9 – 15.
- [12] Fuentes – Zaragoza E, Sánchez – Zapata E, Sendra E, et al. Resistant starch as prebiotic: a review [J]. Starch, 2011, 63 (7) : 406 – 415.
- [13] Nugent A P. Health properties of resistant starch [J]. Nutrition Bulletin, 2005, 30 (1) : 27 – 54.
- [14] Sajilata M G, Singhal R S, Kulkarni P R. Resistant starch—a review [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2006, 5 (1) : 1 – 17.
- [15] Sharma A, Yadav B, Yadav R B. Resistant starch: physiological roles and food applications [J]. Food Reviews International, 2008, 24 (2) : 193 – 234.
- [16] Lunn J, Buttriss J L. Carbohydrates and dietary fibre [J]. Nutrition Bulletin, 2007, 32 (1) : 21 – 64.
- [17] Leszczynski W. Resistant starch – classification, structure, production [J]. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 2004, 13 (54) : 37 – 50.
- [18] Hernández O, Emaldi U, Tovar J. *In vitro* digestibility of edible films from various starch sources [J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 71 (4) : 648 – 655.
- [19] Sanz T, Salvador A, Fiszman S M. Resistant starch (RS) in battered fried products: functionality and high – fibre benefit [J]. Food Hydrocolloids, 2008, 22 (4) : 543 – 549.
- [20] Wepner B, Berghofer E, Miesenberger E, et al. Citrate starch—application as resistant starch in different food systems [J]. Stärke, 1999, 51 (10) : 354 – 361.
- [21] 张振, 张文峰, 孟鑫, 等. 交联小米抗性淀粉的制备工艺研究 [J]. 饲料研究, 2016 (21) : 52 – 54.
- [22] 张振, 张文峰, 李丹丹. 普鲁兰酶法制备小米抗性淀粉的工艺优化 [J]. 饲料研究, 2016 (19) : 44 – 46.
- [23] 不同器官缺氧可选食相应的蔬菜 [J]. 求医问药, 2011 (4) : 54.
- [24] Cummings J H, Englyst H N. Measurement of starch fermentation in the human large intestine [J]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 1991, 69 (1) : 121 – 129.
- [25] Lin H V, Frassetto A, Kowalik E J Jr, et al. Butyrate and propionate protect against diet – induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3 – independent mechanisms [J]. PLoS One, 2012, 7 (4) : e35240.
- [26] Hamer H M, Jonkers D M A E, Bast A, et al. Butyrate modulates oxidative stress in the colonic mucosa of healthy humans [J]. Clinical Nutrition, 2009, 28 (1) : 88 – 93.
- [27] Hylla S, Gostner A, Dusel G, et al. Effects of resistant starch on the colon in healthy volunteers: possible implications for cancer prevention [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 1998, 67 (1) : 136 – 142.
- [28] Reddy B S, Wynder E L. Metabolic epidemiology of colon cancer: fecal bile acids and neutral sterols in colon cancer patients and patients with adenomatous polyps [J]. Cancer, 1977, 39 (6) : 2533 – 2539.
- [29] Anderson G H, Cho C E, Akhavan T, et al. Relation between estimates of cornstarch digestibility by the Englyst *in vitro* method and glycemic response, subjective appetite, and short – term food intake in young men [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2010, 91 (4) : 932 – 939.
- [30] Lopez H W, Levrat – Verny M A, Coudray C, et al. Class 2 resistant starches lower plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats [J]. The Journal of Nutrition, 2001, 131 (4) : 1283 – 1289.
- [31] Younes H, Levrat M A, Demigné C, et al. Resistant starch is more effective than cholestyramine as a lipid – lowering agent in the rat [J]. Lipids, 1995, 30 (9) : 847 – 853.
- [32] Scholz – Ahrens K E, Ade P, Marten B, et al. Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure [J]. The Journal of Nutrition, 2007, 137 (3) : 838 – 846.
- [33] Roberfroid M B. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2000, 71 (6) : 1682 – 1687.
- [34] Rodríguez – Cabezas M E, Camuesco D, Arribas B, et al. The combination of fructooligosaccharides and resistant starch shows prebiotic additive effects in rats [J]. Clinical Nutrition, 2010, 29

- (6):832–839.
- [35] Ying D Y, Schwander S, Weerakkody R, et al. Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein and resistant starch matrices: probiotic survival in fruit juice[J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(1): 98–105.
- [36] Barczynska R, Slizewska K, Jochym K, et al. The tartaric acid – modified enzyme – resistant dextrin from potato starch as potential prebiotic[J]. Journal of Functional Foods, 2012, 4(4): 954–962.
- [37] Silvi S, Rumney C J, Cresci A, et al. Resistant starch modifies gut microflora and microbial metabolism in human flora – associated rats inoculated with faeces from Italian and UK donors[J]. Journal of Applied Microbiology, 1999, 86(3): 521–530.
- [38] Topping D L, Fukushima M, Bird A R. Resistant starch as a prebiotic and synbiotic: state of the art[J]. The Proceedings of the Nutrition Society, 2003, 62(1): 171–176.
- [39] Holm J, Lundquist I, Björck I, et al. Degree of starch gelatinization, digestion rate of starch *in vitro*, and metabolic response in rats[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 1988, 47(6): 1010–1016.
- [40] García – Alonso A, Jiménez – Escrig A, Martín – Carrón N, et al. Assessment of some parameters involved in the gelatinization and retrogradation of starch[J]. Food Chemistry, 1999, 66(2): 181–187.
- [41] Tian Y Q, Zhan J L, Zhao J W, et al. Preparation of products rich in slowly digestible starch (SDS) from rice starch by a dual – retrogradation treatment[J]. Food Hydrocolloids, 2013, 31(1): 1–4.
- [42] Haralampu S G, Gross A. Granular resistant starch and method of making: US, 08/622844[P]. 1998–12–15.
- [43] Leegwater D C, Luten J B. A study on the *in vitro* digestibility of hydroxypropyl starches by pancreatin[J]. Starch, 1971, 23(12): 430–432.
- [44] Conway R L, Hood L F. Pancreatic alpha amylase hydrolysis products of modified and unmodified tapioca starches[J]. Starch, 1976, 28(10): 341–343.
- [45] Zhao J W, Schols H A, Chen Z H, et al. Substituent distribution within cross – linked and hydroxypropylated sweet potato starch and potato starch[J]. Food Chemistry, 2012, 133(4): 1333–1340.
- [46] Haynes L, Gimmler N, Locke J P, et al. Process for making enzyme – resistant starch for reduced – calorie flour replacer: US 7531199[P]. 2003–08–29.
- [47] Seib P A, Woo K. Food grade starch resistant to α – amylase and method of preparing the same: US, 08/870955[P]. 1999–01–05.
- [48] 苏雪锋, 黄继红, 侯银臣, 等. 抗性淀粉研究进展[J]. 食品工业, 2014, 35(12): 208–211.
- [49] Jeong O, Shin M. Preparation and stability of resistant starch nanoparticles, using acid hydrolysis and cross – linking of waxy rice starch[J]. Food Chemistry, 2018, 256: 77–84.
- [50] Sim S Y, Noor Aziah A A, Cheng L H. Quality and functionality of Chinese steamed bread and dough added with selected non – starch polysaccharides[J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(1): 303–310.
- [51] Baixauli R, Salvador A, Martínez – Cervera S, et al. Distinctive sensory features introduced by resistant starch in baked products[J]. LWT – Food Science and Technology, 2008, 41(10): 1927–1933.
- [52] Yadav B S, Yadav R B, Kumari M, et al. Studies on suitability of wheat flour blends with sweet potato, *Colocasia* and water chestnut flours for noodle making[J]. LWT – Food Science and Technology, 2014, 57(1): 352–358.
- [53] Djurle S, Andersson A A M, Andersson R. Effects of baking on dietary fibre, with emphasis on β – glucan and resistant starch, in barley breads[J]. Journal of Cereal Science, 2018, 79: 449–455.
- [54] Kahraman K, Aktas – Akyildiz E, Ozturk S, et al. Effect of different resistant starch sources and wheat bran on dietary fibre content and *in vitro* glycaemic index values of cookies[J]. Journal of Cereal Science, 2019, 90: 102851.
- [55] Hamm R. Kolloidchemie des fleisches. Das Wasserbindungsvermögen des Muskelweies in theorie und praxis[M]. Berlin: Verlag Paul Parey, 1972.
- [56] Chen H H, Xu S Y, Wang Z. Interaction between flaxseed gum and meat protein[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 80(4): 1051–1059.
- [57] Felisberto M H F, Galvão M T E L, Picone C S F, et al. Effect of prebiotic ingredients on the rheological properties and microstructure of reduced – sodium and low – fat meat emulsions[J]. LWT – Food Science and Technology, 2015, 60(1): 148–155.
- [58] Yang Z, Wang W, Wang H Y, et al. Effects of a highly resistant rice starch and pre – incubation temperatures on the physicochemical properties of surimi gel from grass carp (*Ctenopharynxodon idellus*) [J]. Food Chemistry, 2014, 145: 212–219.
- [59] Toden S, Bird A R, Topping D L, et al. High red meat diets induce greater numbers of colonic DNA double – strand breaks than white meat in rats: attenuation by high – amylose maize starch [J]. Carcinogenesis, 2007, 28(11): 2355–2362.
- [60] Fuentes – Zaragoza E, Riquelme – Navarrete M J, Sánchez – Zapata E, et al. Resistant starch as functional ingredient: a review[J]. Food Research International, 2010, 43(4): 931–942.
- [61] Mermelstein N H. Laboratory: analyzing for resistant starch[J]. Food Technology, 2009, 63(4): 80.
- [62] Dumoulin Y, Cartilier L H, Mateescu M A. Cross – linked amylose tablets containing α – amylase: an enzymatically – controlled drug release system[J]. Journal of Controlled Release, 1999, 60(2/3): 161–167.
- [63] Santander – Ortega M J, Stauner T, Loretz B, et al. Nanoparticles made from novel starch derivatives for transdermal drug delivery [J]. Journal of Controlled Release, 2010, 141(1): 85–92.
- [64] Parmar R R, Jain K R, Modi C K. Unified approach in food quality evaluation using machine vision[C]//Advances in Computing and Communications, 2011.
- [65] Hu P S, Zhao H J, Duan Z Y, et al. Starch digestibility and the estimated glycemic score of different types of rice differing in amylose contents[J]. Journal of Cereal Science, 2004, 40(3): 231–237.
- [66] Regina A, Bird A, Topping D, et al. High – amylose wheat generated by RNA interference improves indices of large – bowel health in rats

- [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(10): 3546–3551.
- [67] Jiang H X, Lio J, Blanco M, et al. Resistant – starch formation in high – amylose maize starch during Kernel development[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(13): 8043–8047.
- [68] Akihiro T, Mizuno K, Fujimura T. Gene expression of ADP – glucose pyrophosphorylase and starch contents in rice cultured cells are cooperatively regulated by sucrose and ABA[J]. Plant and Cell Physiology, 2005, 46(6): 937–946.
- [69] Hennen – Bierwagen T A, Liu F S, Marsh R S, et al. Starch biosynthetic enzymes from developing maize endosperm associate in multisubunit complexes[J]. Plant Physiology, 2008, 146(4): 1892–1908.
- [70] Guariguata L. By the numbers; new estimates from the IDF Diabetes Atlas Update for 2012[J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2012, 98(3): 524–525.
- [71] Nakamura Y, Takeichi T, Kawaguchi K, et al. Purification of two forms of starch branching enzyme (Q – enzyme) from developing rice endosperm[J]. Physiologia Plantarum, 1992, 84(3): 329–335.
- [72] Mizuno K, Kimura K, Arai Y, et al. Starch branching enzymes from immature rice seeds[J]. The Journal of Biochemistry, 1992, 112(5): 643–651.
- [73] Yamanouchi H, Nakamura Y. Organ specificity of isoforms of starch branching enzyme (Q – enzyme) in rice[J]. Plant and Cell Physiology, 1992, 33(7): 985–991.
- [74] Ohdan T, Francisco P B, 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): 3229–3244.
- [75] Yamakawa H, Hirose T, Kuroda M, et al. Comprehensive expression profiling of rice grain filling – related genes under high temperature using DNA microarray[J]. Plant Physiology, 2007, 144(1): 258–277.
- [76] Hanashiro I, Abe J I, Hizukuri S. A periodic distribution of the chain length of amylopectin as revealed by high – performance anion – exchange chromatography[J]. Carbohydrate Research, 1996, 283: 151–159.
- [77] Itoh K, Ozaki H, Okada K, et al. Introduction of *wx* transgene into rice *wx* mutants leads to both high – and low – amylose rice[J]. Plant and Cell Physiology, 2003, 44(5): 473–480.
- [78] Morell M K, Myers A M. Towards the rational design of cereal starches[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2005, 8(2): 204–210.
- [79] Rahman S, Bird A, Regina A, et al. Resistant starch in cereals; exploiting genetic engineering and genetic variation[J]. Journal of Cereal Science, 2007, 46(3): 251–260.
- [80] Butardo V M, Fitzgerald M A, Bird A R, et al. Impact of down – regulation of starch branching enzyme IIb in rice by artificial microRNA – and hairpin RNA – mediated RNA silencing[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(14): 4927–4941.
- [81] 杨朝柱, 李春寿, 舒小丽, 等. 富含抗性淀粉水稻突变体的淀粉特性[J]. 中国水稻科学, 2005, 19(6): 516–520.
- [82] 张 宁, 孙 健, 熊海铮, 等. 高抗性淀粉含量糖尿病专用梗稻的选育及其特征特性[J]. 中国稻米, 2011, 17(6): 63–65.
- [83] 沈伟桥, 舒小丽, 张琳琳, 等. 加工型功能早籼稻新品种“浙辐 201”的选育与特性[J]. 核农学报, 2006, 20(4): 312–314.
- [84] 曾亚文, 杜 娟, 杨树明, 等. 云南稻核心种质糙米功能成分栽培型差异及其地带性特征[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(12): 3388–3394.
- [85] 魏明亮, 杜 娟, 曾亚文, 等. 云南稻核心种质及其回交高代糙米功能成分含量的遗传变异[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2013, 39(2): 121–125.
- [86] 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.
- [87] Matsumoto K, Maekawa M, Nakaya M, et al. *Wx/ae* double – mutant brown rice prevents the rise in plasma lipid and glucose levels in mice[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2012, 76(11): 2112–2117.
- [88] Kim K S, Kang H J, Hwang I K, et al. Fibrillar microfilaments associated with a high – amylose rice, goami 2, a mutant of *ilpumbyeo*, a high – quality *Japonica* rice [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(7): 2600–2608.
- [89] Butardo V M Jr, Daygon V D, Colgrave M L, et al. Biomolecular analyses of starch and starch granule proteins in the high – amylose rice mutant Goami 2 [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(46): 11576–11585.
- [90] Karvelis T, Gasiunas G, Young J, et al. Rapid characterization of CRISPR – Cas9 protospacer adjacent motif sequence elements[J]. Genome Biology, 2015, 16: 253.
- [91] Ran F A, Cong L, Yan W X, et al. *In vivo* genome editing using *Staphylococcus aureus* Cas9[J]. Nature, 2015, 520(7546): 186–191.
- [92] Sun Y W, Jiao G A, Liu Z P, et al. Generation of high – amylose rice through CRISPR/Cas9 – mediated targeted mutagenesis of starch branching enzymes [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 298.
- [93] Baysal C, He W S, Drapal M, et al. Inactivation of rice starch branching enzyme IIb triggers broad and unexpected changes in metabolism by transcriptional reprogramming [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2020, 117(42): 26503–26512.
- [94] 杨瑞芳, 朴钟泽, 万常照, 等. 高抗性淀粉水稻新品种优糖稻 2 号的选育及其特征特性[J]. 中国稻米, 2020, 26(1): 3.
- [95] 陈 欢, 张文英, 樊龙江. 作物育种方法研究进展与展望[J]. 科技通报, 2011, 27(1): 61–65.
- [96] 陈文艺. 作物育种方法研究进展与展望[J]. 科技展望, 2015, 25(13): 88.
- [97] 齐世杰, 赵静娟, 郑怀国. 基于 ESI 的全球作物生物育种领域研究前沿分析[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(19): 9–19.
- [98] Serageldin I. Biotechnology and food security in the 21st century [J]. Science, 1999, 285(5426): 387–389.
- [99] Beyer P, Al – Babili S, Ye X D, et al. Golden rice; introducing the β – carotene biosynthesis pathway into rice endosperm by genetic engineering to defeat vitamin A deficiency [J]. The Journal of Nutrition, 2002, 132(3): 506S–510S.