

# 02428 × 合系 35 的 RIL 群体糙米总黄酮与总生物碱含量的遗传分析

杨武振<sup>1</sup>, 杨涛<sup>2</sup>, 王荔<sup>1</sup>, 曾亚文<sup>2</sup>, 文国松<sup>1</sup>, 杜娟<sup>2</sup>, 杨树明<sup>2</sup>, 普晓英<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>云南农业大学农学与生物技术学院, 昆明 650201; <sup>2</sup>云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所, 昆明 650205)

**摘要:**测定了水稻 02428 与合系 35 杂交培育的 222 个 RIL(重组自交系)及其亲本的发芽糙米和糙米总黄酮和生物碱含量, 对其进行遗传分析及探讨了发芽糙米和糙米中总黄酮、生物碱的含量变化。结果表明, RIL 群体发芽糙米和糙米中总黄酮、生物碱呈现广泛的遗传变异, 糙米总黄酮含量略高于发芽糙米, 但两者均呈正态分布, 类似于数量性状的分布特征。RIL 群体发芽糙米生物碱含量是糙米的 1.5 倍, 且两者呈偏态分布; 为功能水稻的遗传及品种选育提供了一定的理论依据。

**关键词:**水稻重组自交系; 总黄酮; 总生物碱; 遗传分析; 糙米

## Genetic Analysis on Total Flavonoids and Total Alkaloids Content in Brown Rice of 02428 × Hexi 35 RIL Population

YANG Wu-zhen<sup>1</sup>, YANG Tao<sup>2</sup>, WANG Li<sup>1</sup>, ZENG Ya-wen<sup>2</sup>, WEN Guo-song<sup>1</sup>, DU Juan<sup>2</sup>,

YANG Shu-ming<sup>2</sup>, PU Xiao-ying<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201;

<sup>2</sup>Biotechnology and Genetic Resources Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205)

**Abstract:** Genetic and difference of total flavonoids and alkaloids content were studied, based on germinated brown rice and brown rice of 222 RILs as well as their parents. The results showed that total flavonoids and alkaloids presented a wide range of genetic variation in germinated brown rice and brown rice of RILs, the total flavonoids content in brown rice was slightly higher than germinated brown rice, but all appeared the normal distribution and similar to the qualitative traits the distribution. Total alkaloids content in germinated brown rice was 1.5 times as much as the brown rice, but all appeared the skewed distribution. This study can be a theoretical basis for genetic and breeding of the functional rice.

**Key words:** RIL; Total flavonoids; Alkaloids; Genetic analysis; Brown rice

生态环境污染、饮食结构不合理、生活节奏快等因素导致人类患高血糖、高血压、高血脂、糖尿病、肾脏病、癌症、肥胖、骨质疏松和生长发育不均等疾病。长期采用药物治疗对人体易产生药物依赖, 且副作用大。功能稻米是兼有营养和调节人体生理活动功能、不以治疗疾病为目的、适宜特定人群的稻米<sup>[1]</sup>, 功能稻米中的有效活性物质主要在胚乳、胚和米糠等部分。糙米中功能性成分集

中分布于约占糙米重量 10% 的皮层和胚中, 以精米为主食比糙米易诱发慢性病<sup>[2]</sup>。功能稻米由于富集生理活性成分, 其功能性成分的发掘利用潜力很大, 人们通过食用这种具有营养性、治疗性和保健性的稻米可望实现医食同源, 最终达到健康及延年益寿的作用。

糙米中总黄酮和生物碱含量丰富, 其中黄酮类化合物以儿茶素、杨梅素、槲皮素、山奈酚为主<sup>[3]</sup>,

收稿日期: 2010-08-18 修回日期: 2011-01-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(31060186); 云南省重点新产品开发项目(2010BB001); 昆明市科技局项目(昆科计字 10N060204 号)

作者简介: 杨武振, 在读博士, 主要从事水稻资源创新方面的研究。杨涛贡献同一作者

通讯作者: 王荔。E-mail: wangli5820840@yahoo.com.cn; 曾亚文。E-mail: zengyw1967@126.com

具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抑制胆固醇与血脂增加、抑制血糖上升、预防心血管疾病、促进免疫能力等作用,对提高智力、改善肝功能、提高肝组织中自由基清除系统的功能,加强肝组织清除自由基及MDA,减轻自由基对肝组织的损害都有重要意义<sup>[4-9]</sup>,而且据潘伟明等<sup>[10]</sup>报道水稻黄酮含量的增加在培育耐寒性水稻上有积极作用,其对水稻的壮苗有相当的好处。

生物碱又称植物碱,是生物体内的碱性含氮有机化合物,具环状结构,难溶于水,与酸可形成盐,有一定的旋光性与吸收光谱,大多有苦味,呈无色结晶状,少数为液体。生物碱有数千种,由不同的氨基酸或其直接衍生物合成而来,是次级代谢物之一,对生物机体有毒性或具有强烈的生理作用<sup>[11-12]</sup>。植物体内生物碱含量虽少,但与人类关系密切,它具有抗肿瘤、松弛肌肉稳定神经系统、降血压、镇静安神、抗菌消肿等作用<sup>[13]</sup>。综上所述,如果挖掘出兼具多种功能性成分的食品则对人体的健康益处颇多<sup>[14]</sup>。然而,发芽糙米和糙米生物碱含量的检测及其遗传分析国内鲜见报道。本文通过 02428 × 合系 35 的 RIL 群体发芽糙米与糙米总黄酮与总生物碱含量的遗传分析,为功能稻育种及其基因定位提供参考依据。

## 1 材料及方法

### 1.1 材料

供试材料为江苏省农科院选育的广亲和粳稻品种 02428 (P1),云南省农科院选育的云南主栽粳稻品种合系 35 (P2) 及其杂交  $F_1$ , 并加代培育至高代形成的 222 个重组自交系群体的糙米,及各糙米发芽 24h 后的发芽糙米。

试验仪器为:Beckman 的 DU640 型紫外-可见分光光度计;HY-2 型往复振荡器;Beckman J2-21 型高速离心机;FA1104 型电子天平(精度  $\pm 1\text{mg}$ ,上海民桥科学仪器有限公司);芬兰百得移液枪;SHZ-88 水浴恒温振荡器;打粉机。所有化学试剂购自天津化学第三试剂厂,纯度为分析纯;酶类及标样购自 Sigema 公司;芦丁、盐酸小檗碱购于 Sigma 公司。其他试剂均为分析纯,购于天津市化学试剂三厂。

### 1.2 方法

**1.2.1 水稻中总黄酮提取及含量的测定方法** 按庄向平等<sup>[15]</sup>的硝酸铝络合比色法测定总黄酮。准

确称取水稻子粒精米样品  $500 \pm 1\text{mg}$  于 10ml 带盖离心管中,每管加 5ml 50% 乙醇,放入振荡器上(200 次/min)震荡 2h,取上清液 1.5ml 于另一离心管,5000r/min 离心 3min,离心之后取 1ml 上清液于 10ml 离心管中,加入 0.4ml 5%  $\text{NaNO}_2$ ,混匀后静置 6min;加入 0.4ml 10% 的  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ,混匀后静置 6min;加入 4ml 5%  $\text{NaOH}$ ,混匀后静置 15min,在波长 500nm 处测定吸光值。

以 Sigma 公司购买的芦丁标准样品浓度(按 0、200、400、600、800、1000mg/100ml)与其吸光度之间呈良好的线性关系: $y = 0.4852x + 0.00116$ ,相关系数为  $R^2 = 0.9996$ ;标准直线绘制试验重复进行 3 次。因此,该水稻总黄酮的测定方法是可行的,试验准确性高、结果稳定。

**1.2.2 水稻中总生物碱的提取及含量的测定方法** 分别吸取 1、2、3、4、5ml 对照品溶液,置于 20ml 试管中,加水补至 5ml,依次加入溴甲酚绿、磷酸缓冲液 2ml 和 10ml 氯仿溶液,振摇 1min 后,倒入分液漏斗中静置 1h,分取氯仿层,在此波长下测吸光度值,以生物碱含量为横坐标,吸光度值为纵坐标,做标准曲线得到线性关系: $y = 1.2184x - 0.0318$ ,相关系数为: $R^2 = 0.9929$ 。

精确称取水稻子粒粉 5g,分别加入 95% 乙醇进行提取,并用稀盐酸调节 pH 值 = 3,震荡提取 1h,过滤,取滤液 5ml,滤液用浓氨水调节至中性 (pH = 7.0)。分别取 2ml 溴甲酚绿、磷酸缓冲液和 10ml 氯仿溶液,振摇 1min 后,倒入分液漏斗中静置 1h,分取氯仿层,在 425nm 波长下测吸光度值,同法操作的氯仿为空白,利用标准曲线计算生物碱含量。

### 1.3 统计分析

采用 Beckman 公司 DU640 型紫外-可见分光光度计测定总黄酮与生物碱的含量,利用 Excel2003 和 SPSS16.0 进行数据处理和统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 发芽糙米和糙米总黄酮含量遗传分析

02428 与合系 35 糙米总黄酮含量分别为 16.11mg/100g 和 40.80mg/100g,两者相差 24.69mg/100g。如表 1 所示,222 个 RILs 糙米总黄酮平均含量略高于该群体发芽糙米;其发芽糙米总黄酮最高含量是最低含量的 3.19 倍,糙米总黄酮最高含量是最低含量的 8.73 倍。

表 1 02428 × 合系 35 的 RILs 发芽糙米和糙米总黄酮和总生物碱含量

Table 1 Total flavonoids content and Alkaloids content between germinated brown rice and brown rice of RILs of 02428 × Hexi 35 (mg/100g)

项目 Item	处理 Treatment	02428	合系 35 Hexi 35	RILs 群体平均值 RILs population average	标准差 <i>s</i>	变异系数 (%) CV	最大值 Max	最小值 Min
总黄酮 Total flavonoids	发芽糙米	40.33	50.69	51.96	12.46	23.98	85.52	26.85
	糙米	16.11	40.80	58.15	14.67	25.23	98.26	11.26
总生物碱 Alkaloids	发芽糙米	19.59	23.64	17.12	11.44	66.82	47.91	0.15
	糙米	3.95	5.48	11.12	8.46	76.11	48.52	0.85

由图 1 得知,222 个 RILs 发芽糙米总黄酮含量 40~60mg/100g 分布的株系数最高,高于高值亲本有 113 株,低于低值亲本有 40 株;而糙米总黄酮含

量 50~60mg/100g 分布株数最高,高于高值亲本有 199 株,低于低值亲本有 2 株。但两者都出现正态分布,类似于数量性状的分布特征。

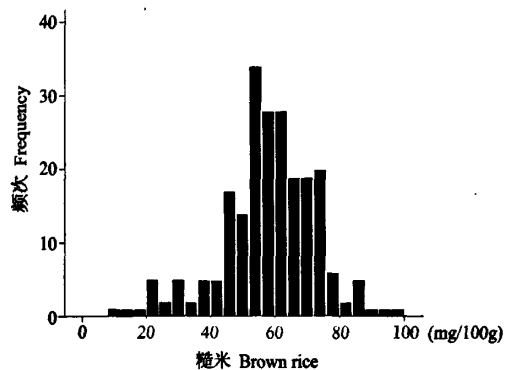
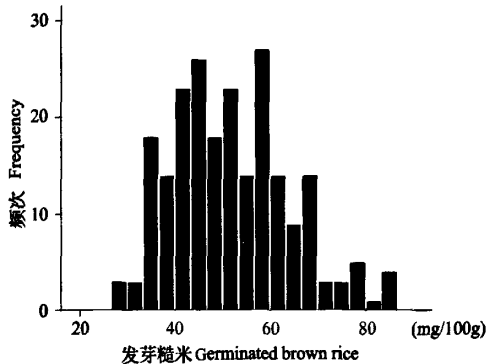


图 1 02428 × 合系 35 的 RILs 发芽糙米和糙米总黄酮含量分布

Fig. 1 The distribution of total flavonoids content between germinated brown rice and brown rice of RILs of 02428 × Hexi 35

## 2.2 发芽糙米和糙米总生物碱含量遗传分析

02428 与合系 35 糙米总生物碱含量分别为 3.95mg/100g 和 5.48mg/100g, 两者相差 1.53mg/100g。如表 1 所示,222 个 RILs 发芽糙米和糙米总生物碱平均含量分别为 17.12mg/100g 和 11.12mg/100g, RILs 发芽糙米总生物碱平均含量是该群体糙米的 1.5 倍;其发芽糙米总生物碱最高含

量与最低含量相差巨大;糙米总生物碱最高含量是最低含量的 57.1 倍。由图 2 看出,222 个 RILs 发芽糙米总生物碱含量在 0~5mg/100g、20~25mg/100g 分布株系数最高,高于高值亲本有 71 株,低于低值亲本有 105 株;糙米总生物碱含量在 2~10mg/100g 的株系数最高,高于高值亲本有 168 株,低于低值亲本有 24 株。而两者呈现偏态分布特征。

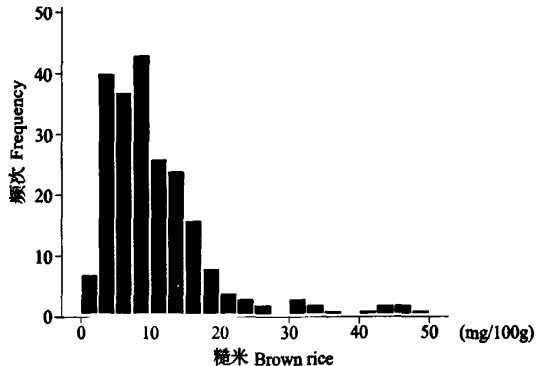
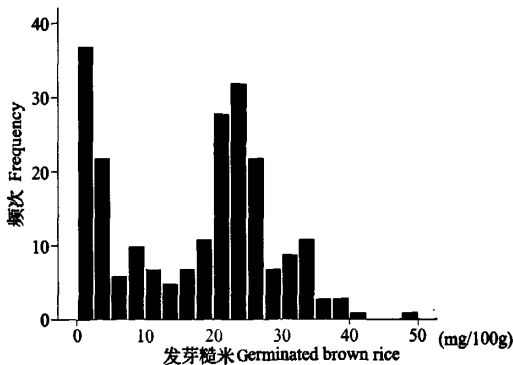


图 2 02428 × 合系 35 的 RILs 发芽糙米和糙米总生物碱含量分布

Fig. 2 The distribution of alkaloids content between germinated brown rice and brown rice of RILs of 02428 × Hexi 35

### 3 讨论

#### 3.1 RILs 发芽糙米和糙米总黄酮含量呈现广泛的遗传变异

尽管粳稻 02428 × 合系 35 的 RILs 的发芽糙米和糙米总黄酮含量差异不大,但 RIL 群体间遗传多样性较为突出,呈现了广泛的遗传变异;02428 × 合系 35 的 RILs 发芽糙米和糙米总黄酮含量呈现数量性状的分布特征,表明发芽糙米和糙米总黄酮含量是受多基因控制的数量遗传特征,这与孙正海等<sup>[16]</sup>对十和田与丽梗 2 号培育的近等基因系下的 RIL 群体糙米锌含量的分布类似。大多数数量性状可能是微效基因突变累积到一定程度进化成主效基因而形成的<sup>[17]</sup>。说明利用单粒传法选育的重组自交系群体能够代表后代的遗传变异,这些材料可以用于黄酮和生物碱的分子定位,也可以在这些材料中选育出高黄酮和高生物碱含量的育种材料,进一步培育成功能性水稻品种。另外,02428 × 合系 35 的 RILs 无论是发芽糙米还是糙米总黄酮含量均呈现众多明显的超高亲优势,由于该 RIL 群体是在高原粳稻区培育而成的,高海拔冷凉气候是否有利于糙米高黄酮含量的提升与进化尚待深入研究,这对选育高总黄酮含量的功能稻米提供了材料基础。

#### 3.2 RILs 发芽糙米和糙米总生物碱含量呈现广泛的遗传变异

粳稻 02428 × 合系 35 的 RILs 的发芽糙米和糙米总生物碱含量相差较大,且 RIL 群体间遗传多样性较为突出,呈现了广泛的遗传变异;02428 × 合系 35 的 RILs 发芽糙米和糙米总生物碱含量呈偏态分布特征。RILs 发芽糙米总生物碱平均含量是该群体糙米的 2 倍,与麦芽制造有类似之处,如皮大麦的  $\alpha$ -淀粉酶由原麦 0.1U/g 提高到麦芽的 258.4U/g,糖化率由 71.0°ABC 升至 189.5°ABC,蛋白质水解酶活性由 42.0mg NPN/kg 升至 112.0mg NPN/kg<sup>[18]</sup>。另外,02428 × 合系 35 的

RILs 无论是发芽糙米还是糙米生物碱含量均呈现众多明显的超高亲优势,由于该 RIL 群体是在高原粳稻区培育而成的,高海拔冷凉气候是否有利于糙米高生物碱含量的提升与进化尚待深入研究,这对选育总生物碱量高的功能稻米提供了材料基础。

#### 参考文献

- [1] 李学进,曾亚文. 功能稻米研究利用进展[J]. 种子,2008,9(9):64
- [2] 曾亚文,汪禄祥,杜娟,等. ICP-AES 法检测云南稻精米和糙米与土壤矿物质元素间的关联性[J]. 光谱学与光谱分析,2009,29(5):1413-1417
- [3] Kim M J, Hyun J N, Kim J A, et al. Relationship between phenolic compounds, anthocyanins content and antioxidant activity in colored barley germplasm[J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(12):4802-4809
- [4] 赵春艳,普晓英,曾亚文,等. 大麦麦芽总黄酮类化合物含量的测定分析[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(4):498-502
- [5] 唐霖,张莉静,王明谦. 杨梅中活性成分杨梅素的研究进展[J]. 中成药,2006,28(1):121-122
- [6] 谭小蓉,张伟敏,龚正礼. 槲皮素功能特性研究概况[J]. 粮食与油脂,2005,11:46-48
- [7] 杨涛,曾亚文,萧风回,等. 药用大麦及其活性物质研究进展[J]. 麦类作物学报,2007,27(6):1154-1158
- [8] 俞培忠,姚莉韵,王丽平. HPLC 法测定八角莲注射液山奈酚的含量[J]. 中成药,1988,20(6):19-20
- [9] 赵大伟,普晓英,曾亚文,等. 大麦子粒  $\gamma$ -氨基丁酸含量的测定分析[J]. 麦类作物学报,2009,29(1):69-72
- [10] 潘伟明,梁红,洪梅. 银杏黄酮对水稻幼苗生长的影响[J]. 农业与技术,2002,22(5):1-5
- [11] 秦竹丽,江元汝. 超临界萃取技术在生物碱提取中的应用进展[J]. 化工时刊,2006,20(7):60-63
- [12] 梁丹,李志伟,李明,等. 天然生物碱的研究与应用[J]. 安徽农业大学学报,2007,35(35):11340-11324
- [13] 金婷. 生物碱的药物作用与提取分离研究进展[J]. 新学术,2008(2):209-212
- [14] Wang Z H. Physiological activities of functional components in rice and its productions development[J]. J Nucl Agric Sci, 2005, 19(3):241-244
- [15] 庄向平,虞杏英,杨更生,等. 银杏叶黄酮含量的测定和提取方法[J]. 中草药,1992,23(3):122-124
- [16] 孙正海,曾亚文,杨树明,等. 十和田/丽梗 2 号回交重组自交系糙米 Zn 含量与其他元素和农艺性状相关性[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(1):23-27
- [17] 曾亚文,申时全,文国松. 小白谷 × 大理早粳重组自交系耐冷性遗传研究[J]. 西南农业大学学报,2001,23(6):494-497
- [18] Bhatti R S. Production of food malt from hull-less barley[J]. Cereal Chem, 1996, 73(1):75-80

## 分析

作者: [杨武振](#), [杨涛](#), [王荔](#), [曾亚文](#), [文国松](#), [杜娟](#), [杨树明](#), [普晓英](#), [YANG Wu-zhen](#), [YANG Tao](#), [WANG Li](#), [ZENG Ya-wen](#), [WEN Guo-song](#), [DU Juan](#), [YANG Shu-ming](#), [PU Xiao-ying](#)

作者单位: [杨武振](#), [王荔](#), [文国松](#), [YANG Wu-zhen](#), [WANG Li](#), [WEN Guo-song](#) (云南农业大学农学与生物技术学院, 昆明, 650201), [杨涛](#), [曾亚文](#), [杜娟](#), [杨树明](#), [普晓英](#), [YANG Tao](#), [ZENG Ya-wen](#), [DU Juan](#), [YANG Shu-ming](#), [PU Xiao-ying](#) (云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所, 昆明, 650205)

刊名: [植物遗传资源学报](#) **ISTIC|PKU**

英文刊名: [JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES](#)

年, 卷(期): 2011, 12(3)

## 参考文献(18条)

1. [Bhatti R S](#) Production of food malt from hull-less barley 1996(01)
2. [曾亚文](#); [申时全](#); [文国松](#) 小白谷×大理早籼重组自交系耐冷性状遗传研究 2001(06)
3. [孙正海](#); [曾亚文](#); [杨树明](#) 十和田/丽粳2号回交重组自交系糙米Zn含量与其他元素和农艺性状间相关性 2010(01)
4. [庄向平](#); [虞杏英](#); [杨更生](#) 银杏叶黄酮含量的测定和提取方法 1992(03)
5. [Wang Z H](#) Physiological activities of functional components in rice and its production development 2005(03)
6. [金婷](#) 生物碱的药物作用与提取分离研究进展 2008(02)
7. [梁丹](#); [李志伟](#); [李明](#) 天然生物碱的研究与应用 2007(35)
8. [秦竹丽](#); [江元汝](#) 超临界萃取技术在生物碱提取中的应用进展 2006(07)
9. [潘伟明](#); [梁红](#); [洪梅](#) 银杏黄酮对水稻幼苗生长的影响 2002(05)
10. [赵大伟](#); [普晓英](#); [曾亚文](#) 大麦子粒γ-氨基丁酸含量的测定分析 2009(01)
11. [俞培忠](#); [姚莉韵](#); [王丽平](#) HPLC法测定八角莲注射液中山奈酚的含量 1988(06)
12. [杨涛](#); [曾亚文](#); [萧凤回](#) 药用大麦及其活性物质研究进展 2007(06)
13. [谭小蓉](#); [张伟敏](#); [龚正礼](#) 槲皮素功能特性研究概况 2005
14. [唐霖](#); [张莉静](#); [王明谦](#) 杨梅中活性成分杨梅素的研究进展 2006(01)
15. [赵春艳](#); [普晓英](#); [曾亚文](#) 大麦麦芽总黄酮类化合物含量的测定分析 2010(04)
16. [Kim M J](#); [Hyun J N](#); [Kim J A](#) Relationship between phenolic compounds, anthocyanins content and antioxidant activity in colored barley germplasm 2007(12)
17. [曾亚文](#); [汪禄祥](#); [杜娟](#) ICP-AES法检测云南稻精米和糙米与土壤矿质元素间的关联性 2009(05)
18. [李学进](#); [曾亚文](#) 功能稻米研究利用进展 2008(09)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zwyczyxb201103025.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201103025.aspx)