

Pea-Fer 基因导入与表达对水稻植株和子粒重要矿质元素积累的影响

赵 霏¹, 任三娟¹, 孙 出¹, 郭泽建², 沈圣泉¹

(¹浙江大学农业与生物技术学院, 杭州 310029; ²中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100094)

摘要: 为研究外源豌豆铁蛋白基因(*Pea-Fer*)的导入和表达对水稻植株和子粒重要矿质元素的积累所产生的影响, 本试验以原始受体亲本粳稻品种秀水 11 为轮回亲本, 外源豌豆铁蛋白转基因纯系 Fer34 为非轮回亲本, 采取连续回交, 结合 GUS 标记基因辅助选择技术, 在 BC₆F₃ 获得含 *Pea-Fer* 的 Fer34-XS11, 它与秀水 11 构成一对近等基因系。并利用该近等基因系, 研究 *Pea-Fer* 基因导入对水稻植株不同生长发育阶段(幼苗期、分蘖期、成熟期)的根、茎(叶鞘)、叶及子粒不同部分(谷壳、米糠、糙米、精米)的主要矿质元素(Fe、Ca、Mn、Zn)积累的影响。结果表明: 外源豌豆铁蛋白基因(*Pea-Fer*)的导入, 使得水稻植株在不同生长发育时期的根、茎(叶鞘)、叶等器官中的 Fe 含量较对照品种秀水 11 明显增加, 而对于 Ca、Mn 和 Zn 的含量并没有显著影响; 同时, 水稻子粒中 Fe 含量积累也有较高提升, 而 Ca、Mn 和 Zn 的积累却未出现显著变化。这为深入开展转基因富铁水稻新种质的研究和利用提供了一定依据。

关键词: 水稻; *Pea-Fer*; 近等基因系; 基因表达; 矿质元素

Effect of Transfection and Expression of Exogenous *Pea-Fer* Gene on Major Mineral Elements Accumulation in Rice Plant and Grain

ZHAO Fei¹, REN San-juan¹, SUN Chu¹, GUO Ze-jian², SHEN Sheng-quan¹

(¹College of Agriculture and Biotechnology Zhejiang University Hangzhou 310029; ²College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University Beijing 100094)

Abstract: To investigate the effect of exogenous pea ferritin gene(*Pea-Fer*) on major mineral elements accumulation in transgenic rice a near isogenic line(NIL BC₆F₃) Fer34-XS11 was developed from the donor parent(exogenous ferritin transgenic pure line Fer34) and the recurrent parent(*Oryza sativa* ssp. *japanica*) (Xiushui 11) through repeated backcrossing and self-crossing. The contents of major mineral elements, including Fe, Ca, Mn and Zn from various tissues(root, stem and leaf sheath) at different developmental stages(seedling, tillering and maturing) of the transgenic plants and grains were further analyzed. The results showed that the iron content of Fer34-XS11 increased significantly in different organs, developmental stages and grains, but no obvious difference was observed in other mineral elements(Ca, Mn and Zn) compared to the wild type Xiushui 11. This result provides important information for further studying and utilizing the new iron-rich rice.

Key words: Rice; *Pea-Fer*; Near isogenic lines; Gene expression; Mineral elements

种质资源是植物新品种培育和重要性状遗传研究的基础材料, 开展种质资源的鉴定和评价对于科学合理地发掘和利用种质资源具有重要意义。近年来, 随着基因工程技术的发展, 转基

因植物极大地拓宽了植物种质资源, 为植物新品种改良和育种开辟了新的途径。转基因富铁水稻作为一种新的转基因植物, 也丰富了作物种质资源的研究范围。

收稿日期: 2011-09-06 修回日期: 2012-03-07

基金项目: 浙江省科技攻关项目(2008C22075); 农业部行业专项(200803034); 浙江省“8812”计划专项(2007C12020-1)

作者简介: 赵霏, 硕士研究生, 主要从事水稻转基因应用研究

通讯作者: 沈圣泉, 博士, 硕士生导师, 研究方向: 水稻诱变种质创新和植物转基因研究。E-mail: shenshq@zju.edu.cn

外源基因的导入会改变原植物基因组,可能会带来植株生理生态的不确定变化,影响植物对矿质元素的吸收和代谢。如 *Bt* 基因的导入因影响了玉米根系吸收能力,使得玉米种子中微量元素和重金属的吸收减少^[1-2];芮玉奎等^[3]还发现转基因抗虫棉种子吸收和积累矿质元素的能力下降。

这种转基因当代植株及其自交后代,在农艺、经济品质等性状与原亲本相比,表现较差的现象在转基因植物研究中普遍存在。然而,随着转基因技术的应用和发展,有关转基因植株性状变异的报道日益增多,发现导致这些变异的原因存在多种可能。或是转基因培养过程中无性系变异引起的^[4];也可能是外源基因的导入破坏了受体基因的活性,影响了受体植株的代谢过程^[5];还可能是由于转基因表达消耗了植株体内的部分能量,打破了原有的能量供给和平衡,造成一些性状表达所需能量的不足,使表型发生了变化^[5]。

为了客观评价外源基因导入对转基因作物各种重要生物学性状造成的影响,沈圣泉等^[6]曾利用近等基因系研究 *Bt* 基因对转基因抗虫水稻性状表达的影响,成功排除了由于转基因植株再生过程中可能产生的无性系变异等诸多因素对稳定转基因纯系性状变异的干扰。为此,本试验采用类似方法,通过多代回交和自交,获得了外源铁蛋白(*Pea-Fer*)近等基因系。利用该近等基因系研究外源 *Pea-Fer* 基因所引起的转基因导入系和非转基因对照植株(CK)中主要矿质元素在各个器官内积累的动态变化及种子各部分中主要矿质元素的含量差别。进而深入了解外源铁蛋白基因的导入和表达对水稻矿质元素吸收和积累所造成的影响。为利用铁蛋白基因培育水稻富铁新品种提供依据,并进一步充实我国水稻种质资源库。

1 材料与方法

1.1 *Pea-Fer* 转基因水稻近等基因系的获得

浙江大学生物技术研究所与本实验室合作,利用农杆菌介导法将豌豆铁蛋白基因(*Pea ferritin*, *Pea-Fer*)转化到粳稻品种秀水 11 中,获得大量独立转基因植株^[7];并经连续多代的自交纯化、单株选择,GUS 分子检测和稻米全铁含量测定,筛选得到稻米铁含量显著高于秀水 11(CK)的若干份 *Pea-Fer* 转基因系^[8-10]。

再以原亲本秀水 11 为轮回亲本,*Pea-Fer* 转基

因植株(*Fer34*)为非轮回亲本^[8],采用连续回交和自交法,即自 BC_1F_1 起,每代结合 GUS 组织染色检测,选取其中的 GUS 阳性株继续与轮回亲本秀水 11 回交,直到 BC_6F_1 ,此后,再选取该代 GUS 阳性株自交,种成株系,并在 BC_6F_3 筛选得到了性状稳定,且带有 *Fer34* 插入位点的外源铁蛋白基因(*Pea-Fer*)的秀水 11 纯系(记为 *Fer34-XS11*),它与原轮回亲本秀水 11 组成一对近等基因系。

1.2 田间试验及其样品制备

参试材料为 *Pea-Fer* 转基因水稻近等基因系(*Fer34-XS11* 和秀水 11)。试验于 2009 年夏季在浙江大学华家池校区实验农场大田进行,试验田为小粉土,肥力中等,pH6.8。5月20日播种,6月20日移栽,每小区种植 300 株,单本插,行株距为 25cm×25cm,2 次重复,田间管理及栽培措施同大田生产。

全株取样分为幼苗期、分蘖期、灌浆期 3 个不同生育阶段。其中,幼苗期植株取样在秧田进行,秧龄 20d,分蘖期植株取样在移栽后 40d,灌浆期植株取样在抽穗后 20d(即乳熟期),每样本分别随机选取代表性植株 20 株。对田间取回的植株,洗净并在 65℃ 下烘 48h,再将根、茎(或叶鞘)、叶分离,用于植株不同时期的不同器官矿质元素含量测定。

成熟稻谷取样在黄熟期进行,经收割、脱粒、晒干,室温下放置 3 个月后,利用出糙机(Satake,日本)、精米机(Satake,日本)、旋风式磨粉机(UDY,美国)等设备收集并制成谷壳粉、米糠粉、糙米粉和精米粉,用于稻谷不同部位的矿质元素含量测定。

1.3 PCR 检测

参试水稻叶片基因组 DNA 的提取采用 CTAB 法^[11];检测植株的外源 *Pea-Fer* 基因 PCR 法,与徐晓晖等^[7]相同,正向引物 P1: 5'-ATCTTGCTGTTCCCT-TCTGTTCC-3'和反向引物 P2: 5'-ATTGTTGCGTTCT-GCCACAC-3',可扩增出 *Pea-Fer* 基因中的 400bp 片段。

1.4 矿质元素的分析

待测试样用 MM301 型玛瑙磨样机(德国 Retsch 公司)粉碎备用。在分析元素含量之前,样品在 70℃ 下再烘干一次。所有样品先在 200℃ 的电热板上完全碳化,然后在 550℃ 的马弗炉中灰化 6h,冷却后用 5ml 体积比为 1:1 优级纯盐酸溶解灰分,并用超纯水定量到 50g,最后用 ICP2MS(Agilent 7500a)测定 Fe、Ca、Mn、Zn 含量^[12]。

2 结果与分析

2.1 近等基因系外源 *Pea-Fer* 基因 PCR 检测

随机选取 Fer34-XS11 和秀水 11 代表性植株



图 1 单株 *Pea-Fer* 外源基因的 PCR 分析

Fig. 1 PCR analysis of *Pea-Fer* gene

M: DNA 分子量标准; 1 ~ 12: Fer34-XS11 单株; 13 ~ 24: 秀水 11 单株 M: DNA ladder; 1-12: Fer34-XS11; 13-24: Xs11

2.2 *Pea-Fer* 基因对不同时期营养器官重要矿质元素积累的影响

2.2.1 对根、茎、叶中铁元素积累的影响 取 Fer34-XS11 和秀水 11 的幼苗期、分蘖期、灌浆期植株进行根、茎(叶鞘)、叶分离,并检测其铁元素含量(表 1)。

根器官 外源 *Pea-Fer* 基因导入水稻后,幼苗期

12 株,其叶片经 DNA 提取,并进行外源 *Pea-Fer* 基因 PCR 检测(图 1),结果显示, Fer34-XS11 的 *Pea-Fer* 外源基因完全纯合,无任何分离现象。

Fer34-XS11 与秀水 11 铁含量相对较低,且较为接近,两者无显著差异。待分蘖期时,两者铁含量大幅度提高,含量达到幼苗期的 4 ~ 5 倍,此时 Fer34-XS11 铁含量明显高于秀水 11,两者达显著差异,表明该时期 *Pea-Fer* 基因有促进根大量吸收并积累铁元素功能。至成熟期, Fer34-XS11 仍保持较高铁含量,而秀水 11 则有明显下降趋势,两者差异显著。

表 1 Fer34-XS11 和秀水 11 的根、茎(叶鞘)、叶在不同生育期铁含量

Table 1 Contents of Fe in root stem(leaf sheath) and leaf at different growth stages of Fer34-XS11 and Xs11 ($\mu\text{g/g}$)

材料 Material	根 Root			茎(叶鞘) Stem(leaf sheath)			叶 Leaf		
	幼苗期	分蘖期	成熟期	幼苗期	分蘖期	成熟期	幼苗期	分蘖期	成熟期
Fer34-XS11	3827.2 ± 227.7	24008.4 $\pm 657.4^*$	23690.2 $\pm 1211.3^*$	431.7 ± 17.7	635.3 $\pm 20.8^*$	538.5 $\pm 20.7^*$	429.3 ± 62.2	374.4 ± 9.7	619.7 ± 62.0
秀水 11	3232.1 ± 235.7	19445.2 ± 781.9	17613.3 ± 1416.9	414.2 ± 10.6	454.2 ± 19.5	392.9 ± 14.7	405.0 ± 10.8	324.5 ± 15.5	567.2 ± 28.5

* 表示在 5% 水平上差异显著。下同

* The asterisk indicates significant difference at $P \leq 0.05$. The same as below

茎(叶鞘)器官 幼苗期 Fer34-XS11 与秀水 11 铁含量较低,分别为 $431.7 \mu\text{g/kg}$ 和 $414.2 \mu\text{g/kg}$,两者差异不显著,这与同期根对铁元素吸收较弱有关。分蘖期 Fer34-XS11 铁含量显著上升,达 $635.3 \mu\text{g/kg}$,而秀水 11 较幼苗期相对含量仅略增加,为 $454.2 \mu\text{g/kg}$,两者差异显著,这与该期 Fer34-XS11 根对铁元素吸收能力大大高于秀水 11 的趋势相一致。成熟期时, Fer34-XS11 与秀水 11 两者铁含量均比分蘖期有所降低,这可能与成熟期茎(叶鞘)中铁元素积极向子粒运输有关,相比而言, Fer34-XS11 还是明显高于秀水 11,两者差异显著。

叶器官 幼苗期 Fer34-XS11 与秀水 11 铁含

量与同期茎(叶鞘)接近,分别为 $429.3 \mu\text{g/kg}$ 和 $405.0 \mu\text{g/kg}$,两者差异不显著。分蘖期 Fer34-XS11 和秀水 11 均较前个生育时期有明显下降,分别为 $374.4 \mu\text{g/kg}$ 和 $324.5 \mu\text{g/kg}$ 。成熟期 Fer34-XS11 与秀水 11 两者含量又大大升高,表明铁含量在叶片中有较多积累,相比而言, Fer34-XS11 较秀水 11 积累更多些,分别为 $619.7 \mu\text{g/kg}$ 和 $567.2 \mu\text{g/kg}$,两者间差异较为明显。

2.2.2 对根、茎、叶中钙、锰、锌积累的影响 取 Fer34-XS11 和秀水 11 的幼苗期、分蘖期、灌浆期植株,分别检测根、茎(叶鞘)、叶中钙、锰、锌含量(表 2)。

表 2 Fer34-XS11 和秀水 11 的根、茎(叶鞘)、叶在不同生育期钙、锰、锌含量

Table 2 Contents of Ca, Mn and Zn in root, stem(leaf sheath) and leaf at different growth stages of Fer34-XS11 and XS11 ($\mu\text{g/g}$)

矿质元素 Mineral elements	材料 Line	根 Root			茎(叶鞘) Stem(leaf sheath)			叶 Leaf		
		幼苗期	分蘖期	成熟期	幼苗期	分蘖期	成熟期	幼苗期	分蘖期	成熟期
Ca	Fer34-XS11	5128.4	3431.6	3732.0	2218.5	1394.1	2039.2	4209.4	442.0	8207.1
		$\pm 96.4^*$	± 100.0	± 89.1	± 198.3	± 208.4	± 288.3	± 280.3	± 20.4	± 250.7
	秀水 11	5742.4	3669.1	3823.8	2556.4	1460.1	2565.9	4280.8	454.0	7874.3
		± 134.0	± 49.9	± 84.9	± 129.4	± 233.8	± 173.1	± 27.6	± 30.7	± 295.5
Mn	Fer34-XS11	667.9	326.2	208.5	943.0	391.9	401.7	1395.1	313.5	554.6
		± 27.6	$\pm 14.8^*$	$\pm 2.4^*$	± 5.1	± 14.6	± 63.4	$\pm 60.0^*$	± 12.7	± 24.9
	秀水 11	736.3	383.6	285.6	1186.0	441.0	512.2	1719.8	324.0	624.9
		± 16.7	± 8.7	± 11.0	± 97.9	± 4.7	± 32.4	± 50.3	± 14.9	± 34.6
Zn	Fer34-XS11	92.7	97.0	181.1	60.5	40.7	134.9	58.2	27.6	43.2
		$\pm 1.5^*$	± 1.0	± 35.7	± 4.3	± 1.9	± 16.0	± 3.8	± 1.4	± 3.0
	秀水 11	80.2	58.6	129.0	61.4	43.8	141.4	53.9	25.9	43.6
		± 3.2	± 2.7	± 7.6	± 1.5	± 0.4	± 4.6	± 2.6	± 0.6	± 1.3

钙元素 Fer34-XS11 均较秀水 11 根中钙含量呈现出下降趋势,尤其在幼苗期,两者存在显著差异;在分蘖期和成熟期,这种差异未达显著水平。在茎(叶鞘)中, Fer34-XS11 仍较秀水 11 含量少,经检测,在幼苗期、分蘖期、成熟期两者不显著。在叶中, Fer34-XS11 与秀水 11 含量则较为接近,在 3 个生育期均无显著差异。综合来说, *Pea-Fer* 基因导入水稻,对钙的积累影响程度是根 > 茎(叶鞘) > 叶;幼苗期 > 分蘖期和成熟期。

锰元素 Fer34-XS11 与秀水 11 在根、茎(叶鞘)和叶器官间积累均有较为相似规律,即幼苗期远大于分蘖期及成熟期。具体而言,在根中, Fer34-XS11 锰含量较秀水 11 显著降低,在分蘖期、成熟期均存在显著差异。在茎(叶鞘)中, Fer34-XS11 仍较秀水 11 含量低,但因检测标准误差较大,结果是在幼苗期、分蘖期、成熟期差异均不显著。在叶中,幼苗期的 Fer34-XS11 与秀水 11 含量存在显著差异,而分蘖期和成熟期的差异则不显著。

锌元素 Fer34-XS11 与秀水 11 相比,规律性较好,在根中, Fer34-XS11 在幼苗期、分蘖期、成熟期锌含量均较秀水 11 升高,但只有幼苗期出现显著性差异;而在茎(叶鞘)或叶中,不论幼苗期、分蘖期或成熟期, Fer34-XS11 与秀水 11 积累趋势均相当接近,无显著差异。

2.3 *Pea-Fer* 基因对稻米子粒的不同部位重要矿质元素积累的影响

2.3.1 对子粒的不同部位铁元素积累的影响

取 Fer34-XS11 和秀水 11 成熟子粒,将不同部位(谷壳、米糠、糙米、精米)分离,检测其相应的铁元素含量(表 3)。

从表 3 可以看出,铁含量在谷壳中最多,分别为 $974.7 \mu\text{g/kg}$ 和 $940.9 \mu\text{g/kg}$,两份参试材料间无显著差异;在米糠中含量次之,分别为 $127.3 \mu\text{g/kg}$ 和 $91.9 \mu\text{g/kg}$,差异显著;在糙米中含量较米糠明显降低,分别为 $28.2 \mu\text{g/kg}$ 和 $20.4 \mu\text{g/kg}$ (差异显著);在精米中最低,分别为 $13.7 \mu\text{g/kg}$ 和 $9.1 \mu\text{g/kg}$ (差异显著)。表明, *Pea-Fer* 基因导入水稻后,对谷壳铁含量增加相对较小,但对糙米铁含量增加较大,致使米糠和精米中铁含量也有较大幅度的升高。

表 3 Fer34-XS11 和秀水 11 的稻米子粒的不同部位铁含量
Table 3 Contents of Fe in different parts of grain of Fer34-XS11 and XS11 ($\mu\text{g/g}$)

材料 Line	谷壳 Hull	米糠 Rice bran	糙米 Brown rice	精米 Milled rice
Fer34-XS11	974.7 ± 25.8	$127.3 \pm 14.9^*$	$28.2 \pm 1.8^*$	$13.7 \pm 1.5^*$
秀水 11	940.9 ± 78.5	91.9 ± 6.0	20.4 ± 1.8	9.1 ± 1.3

2.3.2 对稻米子粒的不同部位钙、锰、锌积累的影响 取 Fer34-XS11 和秀水 11 的成熟子粒,检测不同部位(谷壳、米糠、糙米、精米)的钙、锰、锌含量(表 4)。

钙元素 Fer34-XS11 和秀水 11 在子粒不同部位的积累规律相似,即谷壳 > 米糠 > 糙米 > 精米; Fer34-XS11 较秀水 11 略有下降,经检测,两份材料在谷壳、米糠、糙米、精米间均无显著差异。

锰元素 Fer34-XS11 与秀水 11 相比,在子粒的谷壳、米糠、糙米、精米 4 个部位,其规律与钙元素相似,即含量趋势是谷壳 > 米糠 > 糙米 > 精米;而两份

表 4 Fer34-XS11 和秀水 11 稻米子粒的不同部位钙、锰、锌含量

矿质元素 Mineral element	材料 Line	谷壳 Hull	米糠 Rice bran	糙米 Brown rice	精米 Milled rice
Ca	Fer34-XS11	1437.5 \pm 59.5	451.8 \pm 23.4	157.5 \pm 2.7	74.9 \pm 2.1
	秀水 11	1500.5 \pm 79.1	464.8 \pm 16.3	166.4 \pm 2.2	88.2 \pm 8.3
Mn	Fer34-XS11	219.9 \pm 24.8	151.3 \pm 6.6	32.3 \pm 0.7	11.4 \pm 2.0
	秀水 11	272.4 \pm 11.4	174.2 \pm 11.5	35.8 \pm 1.8	13.6 \pm 1.8
Zn	Fer34-XS11	45.5 \pm 4.1	80.5 \pm 4.0	28.5 \pm 2.0	21.0 \pm 1.2
	秀水 11	48.6 \pm 4.5	78.3 \pm 3.6	27.8 \pm 1.7	19.9 \pm 1.4

3 讨论

植物铁蛋白主要积累在一些低光合活性的组织,即非绿色质体中,如前质体、黄化质体、造粉质体、芽、根的顶部、种子^[13]或豆科植物的根瘤等特异组织^[14]中。它通过其亚铁氧化酶活性的改变控制对铁的吸收^[15],其基本功能是吸收铁,并以无毒害的形式储存起来,根据代谢功能的需要再将铁释放出去。因此,植物铁蛋白在植物的生长发育过程以及植物对环境胁迫的适应性中发挥着重要作用^[16]。

本试验通过检测水稻植株体内铁含量的变化证实,外源豌豆铁蛋白基因(*Pea-Fer*)表达量在水稻的生育过程中具有明显的时空动态变化。总的趋势是,幼苗期 Fer34-XS11 的根、茎(叶鞘)、叶中铁含量都相对较低,主要原因可能是该阶段幼苗生长所需营养从胚乳提供向光合作用转换,吸收能力较弱。但比较发现, Fer34-XS11 的铁含量积累高于秀水 11,表明其适应环境能力相对较强。

进入分蘖期后, Fer34-XS11 根部和茎秆(叶鞘)

参试材料间,前者有下降趋势,但均未达显著水平。

锌元素 Fer34-XS11 和秀水 11 共同点是米糠中积累最多,其次是谷壳、糙米和精米。除谷壳外, Fer34-XS11 在米糠、糙米和精米含量上均比秀水 11 高些,但经检测,两份参试材料在子粒的 4 个组成部分(谷壳、米糠、糙米和精米)方面,均无显著差异。

综上所述, *Pea-Fer* 基因导入水稻,对转基因稻米尤其是糙米、精米中的钙、锰、锌 3 种重要矿质元素积累,其影响程度均较小,未达显著或极显著水平。

中铁含量显著增加,而叶片中铁含量则出现下降趋势,有可能是因为此阶段水稻植株正处于高速生长状态,铁蛋白所吸收的铁离子并没有储存起来,而是以生物体可以利用的形式将铁释放出来,使其分布于植株最幼嫩叶端以及快速伸长的根尖和茎尖分生组织中,从而促进植株的快速生长。这与 Theil 等^[17]所发现的富含成熟叶绿体和烯醇丙酮酸磷酸羟基酶的处于发育阶段的玉米叶片中心部分不存在铁蛋白相一致。但 Fer34-XS11 的铁含量还是大于秀水 11。

当水稻植株进入成熟期时,秀水 11 的根、茎(叶鞘)中铁含量显著下降,可能是因为此阶段体内铁蛋白表达量已经达到顶峰,所吸收的铁开始大量向叶片转移;而 Fer34-XS11 由于体内外源铁蛋白基因(*Pea-Fer*)的高效表达,使得铁蛋白含量增加,提高了植株吸收铁的能力,并以可溶、无毒的形式储存起来。因此,此阶段 Fer34-XS11 根中继续保持高铁含量。尽管茎秆(叶鞘)中铁元素要向叶片转移,使得茎秆(叶鞘)中铁含量有所下降,但 Fer34-XS11 茎秆(叶鞘)中铁含量仍然显著高于秀水 11。而此时 Fer34-XS11 叶片中铁含量显著增加,作为最初的铁

储存库^[18],为 Fer34-XS11 种子中高铁储存量做好准备。

当水稻植株从营养生长进入生殖生长,植株吸收铁素逐渐流向种子,并且外源豌豆铁蛋白基因(*Pea-Fer*) 在种子中也开始高效表达。Fer34-XS11 的糙米、精米、米糠中铁含量都显著高于秀水 11。但是糙米中铁含量相对来说增加量更大,因此,在今后的研究中不能仅仅追求高精米率,同时还要兼顾营养的保存量。

相对于植株体内铁含量的变化,外源豌豆铁蛋白基因(*Pea-Fer*) 的导入和表达对植株体内 Ca、Mn 和 Zn 的影响较小。说明外源豌豆铁蛋白基因(*Pea-Fer*) 的导入和表达,并没有因为提高铁含量而抑制植株对 Ca、Mn 和 Zn 的吸收和转运,更不可能引起植株铁锌失调以扰乱锌的正常代谢,诱发植株缺锌症状发生。

综上所述,外源豌豆铁蛋白基因(*Pea-Fer*) 的导入以及在水稻中的时空表达显著提高了水稻植株各个器官中的铁含量,再次证明铁蛋白可以提高植株对铁的吸收率以及可以高效储存多余铁的功能,从而对水稻提高耐铁胁迫及其抗氧化能力提供了一定依据^[7]。同时,本文对子粒中各部分铁含量的研究分析,也有助于对转基因富铁稻米研究和利用的深入了解。

参考文献

- [1] 芮玉奎,郭晶,黄昆仑,等.应用 ICP-MS 检测转 *Bt* 基因玉米中的重金属含量[J].光谱学与光谱分析,2007,27(4):796-798
- [2] 张卓勇,陈杭亭,王丹,等.电感耦合等离子体发射光谱法测定东北大豆中微量元素[J].光谱学与光谱分析,2002,22(4):673-675
- [3] 芮玉奎,张福锁,王正瑞. ICP-MS/ICP-AES 法快速测定转基因棉花种子中的矿质元素和重金属含量[J].光谱学与光谱分析,2008,28(1):188-190
- [4] Lynch P T, Jones J, Blackhall N W, et al. The phenotypic characterization of R₂ generation transgenic rice plants under field and glasshouse conditions [J]. Euphytica, 1995, 85: 395-401
- [5] 崔海瑞,王忠华,舒庆尧,等.转 *Bt* 基因水稻克螟稻杂交转育后代农艺性状的研究[J].中国水稻科学,2001,15(2):101-106
- [6] 沈圣泉,舒庆尧,包劲松,等.应用近等基因系研究 *Bt* 基因对水稻性状表现的影响[J].浙江大学学报:农业与生命科学版,2005,31(3):283-287
- [7] 徐晓晖,郭泽建,程志强,等.铁蛋白基因的水稻转化及其功能初步分析[J].浙江大学学报:农业与生命科学版,2003,29(1):49-54
- [8] 叶红霞,郭泽建,舒庆尧,等.两份转 *Fer* 基因富铁水稻特异物质应用价值的初步评价[J].中国水稻科学,2007,21(3):270-274
- [9] 叶红霞,郭泽建,李梅,等.豌豆铁蛋白转基因水稻纯系重要生物学特性的变异[J].农业生物技术学报,2007,15(2):251-256
- [10] 叶红霞,郭泽建,陈淑玲,等.豌豆铁蛋白转基因水稻纯系的稻米矿质元素及淀粉特性研究[J].中国粮油学报,2007,22(5):1-6
- [11] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA [J]. Nucleic Acid Res, 1980, 8: 4321-4325
- [12] 郝虎林,魏幼璋,杨肖娥,等.供氮水平对稻株铁、锰、铜、锌含量和稻米品质的影响[J].中国水稻科学,2007,21(4):411-416
- [13] Leacure A M, Proudhon D, Pesey H, et al. Ferritin gene transcription is regulated by iron in soybean cell cultures [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 8222-8226
- [14] Ragland M, Theil E C. Ferritin (mRNA, protein) and iron concentrations during soybean nodule development [J]. Plant Mol Biol, 1993, 21: 555-560
- [15] Van Wuytswinkel O, Briat J F. Conformational change and *in vitro* core-formation modifications induced by site-directed mutagenesis of the specific N-terminus of pea seed ferritin [J]. Biochem J, 1995, 305: 959-965
- [16] Andrews S C, Arosio P, Bottke W, et al. Structure, function and evolution of ferritins [J]. J Inorg Chem, 1992, 47: 161-174
- [17] Theil E C, Hase T. Plant and microbial ferritin and cellular function in animals, plants and microorganisms [J]. Annu Rev Biochem, 1993, 56: 289-315
- [18] Joseph S. Studies on the deposition of plant ferritin as influenced by iron supply to iron-deficient beans [J]. Ultrastruct Res, 1968, 22: 413-423