

引用格式:

袁洁, 何登骥, 何加太, 詹庆才, 周昆, 何艳, 阳永建, 魏颖娟, 陶湘林, 唐汉军. 苦瓜功能稻的全基因组重测序及精米营养品质分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2021, 47(4): 378–384.

YUAN J, HE D J, HE J T, ZHANG Q C, ZHOU K, HE Y, YANG Y J, WEI Y J, TAO X L, TANG H J. WGS and white rice nutrition quality analysis of the function of balsam pear rice[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2021, 47(4): 378–384.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



苦瓜功能稻的全基因组重测序及精米营养品质分析

袁洁¹, 何登骥², 何加太², 詹庆才³, 周昆², 何艳¹, 阳永建¹, 魏颖娟⁴, 陶湘林⁴, 唐汉军^{1,4*}

(1.湖南大学研究生院隆平分院, 湖南 长沙 410125; 2.湖南省农业科学院水稻研究所, 湖南 长沙 410125; 3.湖南省农业科学院生物技术研究所, 湖南 长沙 410125; 4.湖南省农业科学院农产品加工研究所, 湖南 长沙 410125)

摘要: 针对花粉管通道法导入苦瓜 DNA 的籼稻子代 D9 和受体 RT, 采用 Illumina HiSeq™ 平台进行全基因组重测序, 分析了精米的基本营养成分、总皂苷成分以及膨胀势和米饭的食味品质。结果表明: 苦瓜的部分 DNA 片段被整合进了受体水稻的 DNA 中, 使生理活性成分总皂苷含量显著提高; 苦瓜基因对水稻的营养成分有改善作用, 使脂肪含量增加, 膳食纤维与灰分的含量有所减少。

关键词: 籼稻; 苦瓜; 花粉管通道法; 碱基序列; 营养品质

中图分类号: S511.035.3

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2021)04-0378-07

WGS and white rice nutrition quality analysis of the function of balsam pear rice

YUAN Jie¹, HE Dengji², HE Jiatai², ZHANG Qingcai³, ZHOU Kun², HE Yan¹, YANG Yongjian¹, WEI Yingjuan⁴, TAO Xianglin⁴, TANG Hanjun^{1,4*}

(1.Longping Branch, Graduate School of Hunan University, Changsha, Hunan 410125, China; 2.Rice Research Institute of Hunan Agricultural Sciences Academy, Changsha, Hunan 410125, China; 3.Biotechnology Research Institute of Hunan Agricultural Sciences Academy, Changsha, Hunan 410125, China; 4.Agricultural Products Processing Institute of Hunan Agricultural Sciences Academy, Changsha, Hunan 410125, China)

Abstract: Offspring D9 from indica rice imported bitter melon DNA by pollen tube channel method and the receptor(RT), and the whole genome was sequenced by Illumina HiSeq™. Meanwhile, the nutritional composition contents and total saponin content in milled rice, and the swelling power and the edible quality of milled rice were analyzed. The results indicated that parts of the melon's DNA fragment were integrated into the rice's DNA and the total saponin content of physiological active ingredient was significantly increased. The bitter melon gene caused the improvement on the nutrients and make the fat content increase, dietary fiber and ash content to reduce.

Keywords: indica rice; bitter melon; pollen tube channel method; base sequence; nutritional quality

花粉管通道法是周光宇等^[1]于 20 世纪 80 年代创立的一种远缘 DNA 片段杂交的分子育种方法。近 20 年来, 科学家们基于该技术相继在玉米^[2-3]、小麦^[4-7]、水稻^[8-9]、棉花^[10-11]、芝麻^[12]、胡麻^[13]、

杨树^[14]等粮食作物、经济作物和林业领域创制出大量的新品种或新品系, 创造了众多新的种质资源, 为农业和经济发展作出了重要的贡献。这些研究成果主要以改进作物农艺性状和提高产量为目的。随

收稿日期: 2020-04-13

修回日期: 2021-04-30

基金项目: 湖南省重点研发计划项目(2019NK2121); 湖南省农业科学院创新基金项目(2018ZD04-1-2)

作者简介: 袁洁(1991—), 女, 湖南龙山人, 硕士研究生, 主要从事食品生物化学研究, 17673049260m@sina.cn; *通信作者, 唐汉军, 博士, 研究员, 主要从事作物淀粉化学研究, tanghanjun@yeah.net

随着社会经济的发展,生活节奏加快,工作压力加大,亚健康人群激增,人们的健康意识普遍增强。在此大背景下,普通食品功能化和功能食品主食化成为大健康产业发展的一个重要趋势^[15]。近年以强化或降低稻米原有某个成分的功能稻新品种相继问世,主要为富 β -胡萝卜素^[16-17]、富花色苷类化合物^[18]、富功能肽、富直链淀粉^[19]、富 γ -氨基丁酸(GABA)^[20-21]、富锌、富硒^[22]、富铁^[23]、抗高血压^[24]、抗氧化^[25-26]、抗过敏^[27]、巨胚^[28]、低谷蛋白质等水稻品种,但以导入远缘物种活性物质为目的的水稻品种还少见。

苦瓜富含多肽、黄酮类、多糖、生物碱和皂苷类等活性化合物,具有降血糖^[29-30]、减肥^[31-32]、防止骨质疏松^[33]、抗氧化^[34]、预防脂肪肝^[35]、抗癌^[35]等作用。何登骥团队应用花粉管通道法将苦瓜 DNA 导入籼稻,经过多年的筛选,获得了农艺性状较好、遗传稳定的子代(2017年农业部审定名‘早优 517’)。本研究中,主要通过全基因组重测序法、比色法与 AOAC 法,进行基因序列分析及精米营养品质研究,旨在验证农艺性状优良的子代中是否含有苦瓜皂苷等生理活性成分,是否对稻米的营养品质具有改善作用。

1 材料与方法

1.1 材料

苦瓜 DNA 导入受体籼稻稻谷后培育的第 9 代稻谷(试验编号 D9)和受体籼稻稻谷(试验编号 RT)为湖南省水稻研究所何登骥提供。稻谷样品种植在湖南汨罗的 4 片相连的水田中,总面积约 6670 hm²,其中 1 片种植 RT,其他 3 片田种植 D9,分别收获。每片田随机选取稻谷样品约 10 kg,晒干至适当水分含量后去壳。

1.2 主要试剂与仪器

主要试剂: Tris、HCl、蔗糖、琼脂糖、人參皂苷标准物质、香草醛、醋酸酐、乙醇、硫酸及其他试剂均采用优级纯或分析纯。

主要仪器: FC2K-Y 型砬谷精米机组(株式会社山本制作所)、SCIENTZ-950E 超声波细胞破碎仪(宁波新芝生物科技股份有限公司)、Eppendorf Centrifuge 5418 R 冷冻离心机(德国 Eppendorf)、PF-20R 高速冷冻离心机(长沙平凡仪器有限公司)、NanoDrop 2000 全光谱-可见光分光光度计(美国

Thermo Scientific)、Illumina HiSeqTM 测序仪(美国 Illumina)、BF51894JC-1 马弗炉(美国 Thermo Fisher)、XJS20 石墨消解仪(天津莱伯特科技有限公司)、STA1B 米饭食味仪(日本佐竹公司)。

1.3 方法

1.3.1 总 DNA 的提取与检测

盆栽育苗,植株生长至 20 cm 左右,取幼苗叶片组织,参照闫双勇等^[36]的方法提取叶片全 DNA。采用 NanoDrop 2000 分光光度计检测 DNA 纯度;采用 Picogreen 方法检测 DNA 浓度;采用琼脂糖凝胶电泳方法检测 DNA 完整性。

1.3.2 DNA 全基因组测序

基因测序委托上海美吉生物医药科技有限公司实施。样品基因组 DNA 检测合格后,利用超声波将 DNA 序列片段化形成随机片段,对片段化的 DNA 依次进行末端修复,3'端加 A 连接测序接头后,再利用磁珠吸附富集基因组长度为 400 bp 左右的片段,经过 PCR 扩增形成测序文库。建好的文库先进行质检,合格的文库用 Illumina HiSeqTM 平台进行测序。测序策略为 Illumina PE150,总测序读长为 300 bp。Illumina 测序错误率见表 1。

在 Illumina HiSeqTM 平台测序的原始数据下机后,采用 Fastp 应用软件(0.19.6 版)对下机数据进行质量控制,过滤其中低质量的数据;对获得的高质量数据,利用 BWA 应用软件(0.7.17 版),将高质量数据比对到参考基因组序列上,获得序列的位置归属,即 BAM 文件。

表 1 Illumina HiSeqTM 的测序错误率

Table 1 Illumina HiSeq TM sequencing error rate	
碱基质量值	错误率/%
13	5.00
20	1.00
30	0.10
40	0.01

1.3.3 苦瓜基因序列的鉴定

将 D9 样本的测序序列与苦瓜基因组比对,保留完全比对的序列,再将保留的序列与 RT 样本序列比对,去除与 RT 比对相同的 reads,获取苦瓜独有的基因序列。比对用的苦瓜基因组数据来源于 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Momordica+charantia>。

1.3.4 精米基本营养成分含量的测定

采用 AOAC 法^[37]检测样品中的水分、灰分、粗脂肪、粗蛋白、粗纤维含量。

糖含量=100% - 粗蛋白含量 - 粗脂肪含量 - 粗纤维含量 - 灰分含量。

1.3.5 精米总皂苷含量的分析

运用醋酸酐-硫酸法观察样品的显色反应；采用香草醛-硫酸比色法测定皂苷含量^[38-39]。

醋酸酐-硫酸法：精确称取 D9 和 RT 精米粉末样品各 5 g，加入 80%乙醇溶液 75 mL，90℃下回流提取 1 h，重复 2 次，合并提取液定容后作为分析样品。运用 Liebermann Burchard(醋酸酐-硫酸)方法观察 D9 和 RT 的乙醇提取物的显色反应。分别取等量 D9 和 RT 的乙醇提取物溶于醋酸酐中，再加入浓硫酸，观察颜色变化。

香草醛-硫酸法：精确称取 D9 和 RT 精米粉末样品各 5 g，加入 80%乙醇溶液 75 mL，90℃下回流提取 1 h。重复 2 次。合并提取液定容后作为分析样品，以人参皂苷为标准样品，参照文献^[38-39]的香草醛-硫酸比色法测定总皂苷含量。取 100 μL 样品溶液，用无水乙醇溶液补足至 300 μL 于 10 mL 具塞试管中，依次加入 8%的香草醛乙醇溶液 0.7 mL、80%的浓硫酸 5 mL，轻轻晃匀，于 60℃水浴中加热 15 min，取出后在冰水中冷却，以不加样品的平行样为空白，扫描其最大吸收波长。按上述方法做 5 份平行样，在最大吸收波长下，测其吸光度。

标准曲线的绘制：精确移取人参皂苷标准品溶液(质量浓度为 1 mg/mL) 30、60、90、120、150、

180 μL，分别加无水乙醇补足至 300 μL 于 10 mL 具塞试管中，再加入 700 μL 8%香草醛-乙醇，然后加入 5 mL 80%浓硫酸，摇匀，于 60℃水浴中加热 15 min，取出后立即用自来水冷却至室温，以不加样品的平行样作为空白，于 560 nm 处测定其吸光度，以吸光度值(A)为纵坐标，以人参皂苷含量(C，单位为 μg/mL)为横坐标，作回归曲线，得回归方程 $A=679.2C$ ， $R^2=0.996$ 。

1.3.6 膨胀势的测量

采用 TANG 等^[40]的方法，准确称取精米粉 1 g，记为 m_1 ；加水 20 mL，制取糊化胶体后，称重，记为 m_2 。膨胀势为糊化胶体质量 m_2 与精米粉质量 m_1 的比值。

1.3.7 米饭质构和食味分析

参照赵春芳等^[41]的方法，采用日本佐竹食味仪分析米饭质构和食味。

1.3.8 数据统计与分析

采用 Excel 2016 和 SPSS 7.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 谷粒和糙米形态

从图 1 可以看出，D9 和受体水稻 RT 谷粒及糙米的形貌和颜色无明显的差异。对 100 粒完整糙米的粒长、长腰径和短腰径进行测量，D9 平均值分别为 6.83、2.21、1.77 mm，RT 的平均值分别为 6.77、2.25、1.74 mm。糙米的三维尺寸也没有显著差异。



a RT 的谷粒和糙米；b D9 的谷粒和糙米。

图 1 水稻籽粒的形态

Fig.1 Morphology of rice grains

2.2 苦瓜基因序列鉴定

采用 Illumina HiSeqTM 平台进行测序。获得的高质量读段结果如表 2 所示。测序共获得 33.7 G 的

数据量，RT 和 D9 的平均样本量为 16.85 G。基因 RT 和 D9 的高质量读段数分别为 57 565 143 和 54 414 968，总碱基数分别为 17 343 050 961 和

表 2 水稻幼叶 DNA 片段测序数据过滤结果

Table 2 Filtering results of sequencing DNA data from rice young leaves

样品	高质量读段数	总碱基数	GC/%	Q30/%
RT	57 565 143	17 343 050 961	43.13	93.19
D9	54 414 968	16 394 835 413	43.06	92.92

16 394 835 413, GC 含量分别为 43.13%和 43.06%, 修剪接头后质量值大于或等于 30 碱基片断(Q30)占

总读段的比例分别达 93.19%和 92.92%。

将 D9 样本的高质量读段测序序列与苦瓜基因组进行比对, 保留 100%比对上的序列, 再将保留序列与 RT 样本序列进行比对, 去除与 RT 比对上的读段, 最终获得了如图 2 所示的 11 条苦瓜特有的基因序列。说明通过花粉管导入法, 苦瓜的部分 DNA 片段整合进了水稻 DNA 中, 并能稳定遗传给子代, 形成了新的水稻品种。



图 2 D9 幼叶 DNA 中苦瓜独有碱基序列

Fig.2 Unique base sequence of bitter melon in D9 young leaf DNA

2.3 精米的基本营养成分分析

RT 和 D9 精米的基本营养成分如表 3 所示。总体上各成分含量与之前报道的籼稻米营养成分相近^[41-43]。D9 和 RT 的粗蛋白含量、糖含量无显著性

差异, D9 的粗脂肪含量增加, 但膳食纤维与灰分的含量有所减少。从现代大健康产业和消费者意向的角度考察, 苦瓜基因的导入对精米的营养成分组成有改善作用。

表 3 精米的基本营养成分

Table 3 Basic nutritional content of polished rice

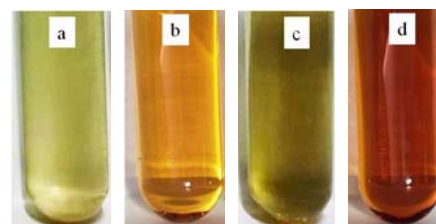
样品	粗蛋白含量	粗脂肪含量	糖含量	膳食纤维含量	灰分含量
RT	5.06±0.01	(2.68±0.21)b	88.57	(0.78±0.04)b	(2.50±0.28)b
D9	5.04±0.00	(3.58±0.36)a	88.62	(0.67±0.01)a	(2.01±0.01)a

同列数据不同小写字母表示样品间差异显著 (P < 0.05)。

2.4 精米的总皂苷含量分析

苦瓜的主要活性成分是皂苷类化合物^[38-39], 针对精米的乙醇提取物, 采用醋酸酐-硫酸法和香草醛-硫酸法进行了总皂苷显色分析(图 3)。2 种方法 D9 均发生了与张中伟等^[38]相同的显色反应。以人参皂苷为标准物质作定量分析, RT 的总皂苷含量为 1082 mg/kg, D9 的总皂苷含量为 6051 mg/kg, 两者具有极显著差异(P < 0.05, n=3)。由于皂苷类化合物的复杂性, 该分析样品为粗提取物, 糖类、黄酮类、其他生物碱等成分也可能有显色, 导致分析值偏高, RT 的总皂苷含量值也许是非皂苷类的贡献^[38]。为获得更准确的数据, 有待进一步提高分

析样品的纯度。但从目前的分析结果看, 已达成了预期的育种目标, 可期待该品种在高血糖等亚健康人群的健康饮食上发挥积极作用。



a 和 b 为 RT 的乙醇提取物; c 和 d 为 D9 的乙醇提取物。a 和 c 使用醋酸酐-硫酸法; b 和 d 使用香草醛-硫酸法。

图 3 总皂苷的比色分析结果

Fig. 3 Colorimetric analysis result of total saponins

2.5 精米及米饭的物理特性和食味分析

从表4可以看出,RT的膨胀势为15.5 g/g, D9的膨胀势为14.8 g/g; D9的硬度高于RT,黏度和弹性差异不显著。D9食味评价的3个指标值(外观值、口感值和综合值)均低于RT,其与之前报道的

‘南粳5055’和‘美东194’等粳稻食味评价价值^[41-43]接近,说明D9在食味品质上虽比RT有所降低,但依然达到了优质米的级别。这些结果表明,苦瓜基因对受体的淀粉合成基因表达可能有不良干扰,其影响和机理有待进一步研究。

表4 精米及米饭的物理特性和食味评价

Table 4 Physical properties and taste evaluation of polished rice and rice

指标	膨胀势/(g·g ⁻¹)	硬度/g	黏度/g	弹性/g	外观值	口感值	综合值
RT	15.5±0.6	(1.6±0.3)a	0.1±0.0	0.9±0.0	6.7a	6.8a	77.4a
D9	14.8±0.2	(2.5±0.3)b	0.1±0.0	0.9±0.0	6.0b	6.1b	71.8b

同列不同小写字母表示显著差异($P < 0.05$), $n=6$ 。

3 结论与讨论

本研究中,对通过花粉管通道法导入苦瓜DNA且稳定遗传子代的第9代(D9)稻谷基因,采用Illumina HiSeqTM平台进行了全基因组测序。基于与苦瓜基因100%匹配的原则,最终从D9基因序列中确定了包含11条苦瓜独有基因片段。说明通过花粉管导入法苦瓜的部分DNA片段被整合进了水稻的DNA中,并稳定遗传给子代,形成了新的水稻材料。

本研究中,对精米的苦瓜皂苷等生理活性成分含量和基本营养成分进行了分析。结果表明,基本营养成分含量与之前报道的籼稻米数据接近^[41-43],但与RT比较,D9的脂肪含量增加,膳食纤维与灰分的含量有所减少。从现代大健康产业和消费者的角度考察,D9精米的营养成分组成更有利于健康。精米乙醇提取物的皂苷比色分析显示,D9精米的总皂苷达到6051 mg/kg,显著高于RT,达到了预期的育种目标,完全可期待该品种在高血糖等亚健康人群的健康饮食上发挥积极作用。

通过精米及米饭的品质特性分析发现,D9精米与RT精米比较,在膨胀势、米饭黏度和弹性等客观指标上没有显著差异,而米饭硬度有所增高,食味评价价值有所降低。但所有指标与之前报道的籼稻米特性类似^[42],甚至食味值接近‘南粳5055’和‘美东194’等粳稻^[41-43]。说明苦瓜基因对受体的淀粉合成基因表达可能有不良干扰,其影响和机理有待今后进一步研究。

参考文献:

[1] 周光宇,翁坚,龚葵葵,等.农业分子育种 授粉后外源DNA导入植物的技术[J].中国农业科学,1988,21(3):1-6.
ZHOU G Y, WENG J, GONG Z Z, et al. Molecular

breeding of agriculture: a technique for introducing exogenous DNA into plants after self pollination[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1988, 21(3): 1-6.
[2] 孟宪玉,单长建,王乾坤,等.玉米花粉管通道法转化脱水素BDN1基因[J].玉米科学,2014,22(6):32-35.
MENG X Y, SHAN C J, WANG Q K, et al. Introduction of dehydrin gene(BDN1) into maize by pollen tube pathway[J]. Journal of Maize Sciences, 2014, 22(6): 32-35.
[3] 高树仁,王霞,孙丽芳,等.玉米导入碱蓬DNA后代主要农艺性状和品质性状的变异分析[J].黑龙江八一农垦大学学报,2016,28(5):9-13.
GAO S R, WANG X, SUN L F, et al. Analysis of variation on main agronomic traits and quality traits of offspring of leading Suaeda DNA into maize[J]. Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2016, 28(5): 9-13.
[4] 贾影影,刘凤楼,王掌军,等.大豆DNA导入春小麦后的农艺性状和品质性状分析及RAPD标记验证[J].麦类作物学报,2016,36(7):833-840.
JIA Y Y, LIU F L, WANG Z J, et al. Study on agronomic and quality traits and RAPD marker analysis of transgenic spring wheat with soybean DNA[J]. Journal of Triticeae Crops, 2016, 36(7): 833-840.
[5] 郭向萌,周晓君.花粉管通道法介导辣椒总DNA获得转基因小麦[J].江苏农业科学,2018,46(8):36-38.
GUO X M, ZHOU X J. Molecular breeding of wheat by introducing total DNA of chili pepper in pollen-tube pathway[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2018, 46(8): 36-38.
[6] 周岩,游建,魏琦超,等.花粉管通道法转基因对小麦主要农艺性状的影响[J].河南科技学院学报(自然科学版),2011,39(4):5-8.
ZHOU Y, YOU J, WEI Q C, et al. Study on the influence of agronomic traits of transformed wheat by pollen tube pathway[J]. Journal of Henan Institute of Science and Technology (Natural Sciences Edition), 2011, 39(4): 5-8.
[7] 郑会敏,冯海嫣,周海鹏,等.野生二粒小麦与二倍体野燕麦远缘杂交后代的核型分析及进化关系[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2011,37(6):598-602.

- ZHENG H M , FENG H Y , ZHOU H P , et al . Karyotype of the progeny of a wide cross between *Triticum dicoccoides* and diploid wild oat and their evolutionary relationship[J] . Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences) , 2011 , 37(6) : 598–602 .
- [8] 刘传雪, 潘国君, 冯雅舒, 等. 应用花粉管通道技术选育超级稻龙粳 14 试验研究[J]. 北方水稻, 2009, 39(1) : 14–17 .
- LIU C X , PAN G J , FENG Y S , et al . Study on application of pollen-tube pathway transformation to breeding Longjing 14 , a super rice variety[J] . North Rice , 2009 , 39(1) : 14–17 .
- [9] 罗洪发, 杨正林, 钟秉强, 等. 外源 DNA 导入水稻后代变异性的 SSR 分析[J]. 中国农学通报, 2005, 21(7) : 28–30 .
- LUO H F , YANG Z L , ZHONG B Q , et al . The SSR molecular analysis of rice transformation via pollen tube pathway[J] . Chinese Agricultural Science Bulletin , 2005 , 21(7) : 28–30 .
- [10] 王志才, 廖茂森, 木合热皮亚·艾尔肯, 等. 盐穗木耐盐基因通过花粉管通道法对棉花遗传转化的研究[J]. 分子植物育种, 2011, 9(2) : 180–184 .
- WANG Z C , LIAO M S , MUHEREPIYAA , et al . Study on pollen-tube pathway mediated cotton(*Gossypium hirsutum*) transformation with salt-tolerant gene from *Halostachys caspica*[J] . Molecular Plant Breeding , 2011 , 9(2) : 180–184 .
- [11] 王峰, 张秋平, 陈金湘, 等. *Bt-Cry5Aa* 基因转化棉花及其抗性鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(4) : 877–881 .
- WANG F , ZHANG Q P , CHEN J X , et al . Transformation of *Bt-Cry5Aa* in cotton and identification of its insect-resistant[J] . Journal of Plant Genetic Resources , 2014 , 15(4) : 877–881 .
- [12] 李雪, 安胜军, 邵铁梅, 等. 芝麻花粉管介导胰岛素基因的遗传转化[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(5) : 1013–1017 .
- LI X , AN S J , SHAO T M , et al . Insulin gene transformation into sesame via pollen-tube pathway[J] . Jiangsu Journal of Agricultural Sciences , 2016 , 32(5) : 1013–1017 .
- [13] 刘栋, 郭娜, 马建富, 等. 外源野生胡麻总 DNA 遗传转化栽培胡麻及 RAPD 分子验证[J]. 华北农学报, 2018, 33(增刊) : 29–32 .
- LIU D , GUO N , MA J F , et al . Exogenous DNA of wild flax introduced into cultivated flax and its RAPD molecular verification of transferred progenies[J] . Acta Agriculturae Boreali-Sinica , 2018 , 33(S1) : 29–32 .
- [14] 杜人杰, 曲跃军, 金虎, 等. 水曲柳 DNA 浓度及滴加时间对杨树花粉管通道法结实率的影响[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(22) : 7323–7324 .
- DU R J , QU Y J , JIN H , et al . Effect on concentration of *Fraxinus mandshurica* DNA and time of dripping on seed setting rate via pollentube pathway in poplar[J] . Journal of Anhui Agricultural Sciences , 2014 , 42(22) : 7323–7324 .
- [15] 张辉, 王文月, 段玉清, 等. 我国功能食品创新发展趋势、重点及政策建议[J]. 食品工业科技, 2015, 36(8) : 361–364 .
- ZHANG H , WANG W Y , DUAN Y Q , et al . The developments trends , key points and policy recommendations of functional foods innovation in China[J] . Science and Technology of Food Industry , 2015 , 36(8) : 361–364 .
- [16] BEYER P , AL-BABILI S , YE X D , et al . Golden Rice : introducing the beta-carotene biosynthesis pathway into rice endosperm by genetic engineering to defeat vitamin A deficiency[J] . The Journal of Nutrition , 2002 , 132(3) : 506S–510S .
- [17] YE X , AL-BABILI S , KLÖTIA A , et al . Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm[J] . Science , 2000 , 287 : 303–305 .
- [18] KIM M Y , LEE S H , JANG G Y , et al . Effects of high pressure treatment on antioxidant compounds and activity of germinated rough rice (*Oryza sativa* L .)[J] . Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition , 2013 , 42(11) : 1783–1791 .
- [19] ZHU L J , GU M H , MENG X L , et al . High-amylose rice improves indices of animal health in normal and diabetic rats[J] . Plant Biotechnology Journal , 2012 , 10(3) : 353–362 .
- [20] 张祥喜, 袁林峰, 刘凯, 等. 富含 γ -氨基丁酸(GABA)的巨胚功能稻研究进展[J]. 江西农业学报, 2007, 19(1) : 36–39 .
- ZHANG X X , YUAN L F , LIU K , et al . Research progress in giant-embryo functional rice rich in gamma-amino butyric acid(GABA)[J] . Acta Agriculturae Jiangxi , 2007 , 19(1) : 36–39 .
- [21] 舒小丽, 吴殿星. 功能稻米育种[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2007, 33(增刊 1) : 208 .
- SHU X L , WU D X . Functional rice breeding[J] . Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences) , 2007 , 33(S1) : 208 .
- [22] SU N , WAN X Y , ZHAI H Q , et al . Progress and prospect of functional rice researches[J] . Agricultural Sciences in China , 2008 , 7(1) : 1–9 .
- [23] LUCCA P , HURRELL R , POTRYKUS I . Genetic engineering approaches to improve the bioavailability and the level of iron in rice grains[J] . Theoretical and Applied Genetics , 2001 , 102(2/3) : 392–397 .
- [24] KANG M Y , SON J , CHUNG S I , et al . Functional rice cultivars goami and nokwon may lower body weight and improve lipid metabolism in high fat-fed mice cultivars[J] . Journal of Crop Science and Biotechnology , 2014 , 17(3) : 111–116 .
- [25] MIN B , GU L W , MCCLUNG A M , et al . Free and bound total phenolic concentrations , antioxidant capacities , and profiles of proanthocyanidins and anthocyanins in whole

- grain rice(*Oryza sativa* L.) of different bran colours[J]. Food Chemistry, 2012, 133(3): 715-722.
- [26] SEO W D, KIM J Y, PARK D S, et al. Comparative analysis of physicochemicals and antioxidative properties of new giant embryo mutant, YR23517Acp79, in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 2011, 54(5): 700-709.
- [27] 刘仲华, 李来平, 曾海燕, 等. 国内外功能性稻米研究进展[J]. 广东微量元素科学, 2010, 17(12): 13-20. LIU Z H, LI L P, ZENG H Y, et al. Progress of functional rice research today[J]. Guangdong Trace Elements Science, 2010, 17(12): 13-20.
- [28] 向敏, 黄鹤春. 功能性稻米研究进展[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(12): 2997-3000. XIANG M, HUANG H C. Progress of functional rice research[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2016, 55(12): 2997-3000.
- [29] JIANG S, XU L, XU Y, et al. Antidiabetic effect of *Momordica charantia* saponins in rats induced by high-fat diet combined with STZ[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2020, 43: 41-47.
- [30] MALEKSHAHI H, BAHRAMI G, MIRAGHAEI S, et al. *Momordica charantia* reverses type II diabetes in rat[J]. Journal of Food Biochemistry, 2019, 43(11): e13021.
- [31] 尤玲玲, 陈永慧, 刘金福, 等. 苦瓜皂苷对胰岛素抵抗 HepG2 细胞葡萄糖消耗量的影响[J]. 食品工业科技, 2014, 35(5): 338-340. YOU L L, CHEN Y H, LIU J F, et al. Influence of bitter melon saponin on the glucose consumption of insulin resistance HepG2 cell in vitro[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(5): 338-340.
- [32] LIN C X, LIN Y Z, CHEN Y, et al. Effects of *Momordica* saponin extract on alleviating fat accumulation in *Caenorhabditis elegans*[J]. Food & Function, 2019, 10(6): 3237-3251.
- [33] 杨志刚, 沈宗根, 张燕萍. 苦瓜皂苷对成骨细胞增殖和 ALP 的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(23): 383-385. YANG Z G, SHEN Z G, ZHANG Y P. Effect of *Momordica charantia* L. saponins on osteoblast proliferation and alkaline phosphatase expression[J]. Food Science, 2010, 31(23): 383-385.
- [34] 王步江, 王瑞, 张平平, 等. 苦瓜皂苷的制备及体外抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2011(3): 153-157. WANG B J, WANG R, ZHANG P P, et al. Preparation of saponins from bitter melon and its antioxidative activity in vitro[J]. China Food Additives, 2011(3): 153-157.
- [35] ZHANG J, HUANG Y, KIKUCHI T, et al. Cucurbitane triterpenoids from the leaves of *Momordica charantia*, and their cancer chemopreventive effects and cytotoxicities[J]. Chemistry & Biodiversity, 2012, 9(2): 428-440.
- [36] 闫双勇, 苏京平, 王胜军, 等. 一种同时适用于水稻种子和叶片的简单快速 DNA 提取方法[J]. 中国稻米, 2011, 17(5): 11-13. YAN S Y, SU J P, WANG S J, et al. A simple and rapid DNA extraction method for rice seeds and leaves [J]. China Rice, 2011, 17(5): 11-13.
- [37] AOAC. Official methods of analysis[M]. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1975.
- [38] 张中伟, 谢明勇, 王远兴, 等. 比色法测定苦瓜总皂苷[J]. 南昌大学学报(理科版), 2005, 29(5): 447-450. ZHANG Z W, XIE M Y, WANG Y X, et al. Determination of the content of total mormodicoside in *Monodrama charactia* L. by colorimetry[J]. Journal of Nanchang University (Natural Science), 2005, 29(5): 447-450.
- [39] 朱群娣, 吴康郁, 袁伟彬. 苦瓜中总皂苷的比色法测定[J]. 中医学报, 2014, 29(10): 1469-1472. ZHU Q D, WU K Y, YUAN W B. Colorimetric method determination of total saponins from *Momordica charantia* L[J]. China Journal of Chinese Medicine, 2014, 29(10): 1469-1472.
- [40] TANG H J, MITSUNAGA T, KAWAMURA Y. Relationship between functionality and structure in barley starches[J]. Carbohydrate Polymers, 2004, 57(2): 145-152.
- [41] 赵春芳, 岳红亮, 黄双杰, 等. 南粳系列水稻品种的口感品质与稻米理化特性[J]. 中国农业科学, 2019, 52(5): 909-920. ZHAO C F, YUE H L, HUANG S J, et al. Eating quality and physicochemical properties in Nanjing rice varieties[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2019, 52(5): 909-920.
- [42] 范华, 苏钰亭, 刘友明, 等. 不同品种稻米的化学成分和理化特性研究[J]. 粮食与饲料工业, 2014(3): 1-5. FAN H, SU Y T, LIU Y M, et al. Chemical composition and physicochemical properties of different paddy[J]. Cereal & Feed Industry, 2014(3): 1-5.
- [43] 张美, 杨登想, 张丛兰, 等. 不同品种大米营养成分测定及主成分分析[J]. 食品科技, 2014, 39(8): 147-152. ZHANG M, YANG D X, ZHANG C L, et al. Determination of nutrient components and principal component analysis of different varieties of rice[J]. Food Science and Technology, 2014, 39(8): 147-152.

责任编辑: 毛友纯

英文编辑: 柳正