

ICP-AES 法测定粳稻近等基因系群体间糙米的矿质元素

曾亚文^{1,3}, 汪禄祥^{2*}, 孙正海^{1,4}, 杨树明¹,
杜娟¹, 黎其万², 普晓英¹, 杜威¹, 萧凤回³

1. 云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所, 云南 昆明 650205
2. 云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所, 云南 昆明 650223
3. 云南农业大学, 云南 昆明 650201
4. 西南林学院园林学院, 云南 昆明 650224

摘要 采用电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)对粳稻近等基因系(NILs)BC₅F₅ 群体 264 个株系 17 种矿质元素(S, Mo, Ni, Fe, Cr, Na, Al, Cu, P, Sn, Zn, B, Mn, Mg, Ca, Sr, K)进行了测定。加标回收率为 92.3%~110.2%, RSD<6%。结果表明:以丽梗 2 号作供体及十和田受体培育出糙米多种高矿质元素基因定位的 NILs, 是迄今首次培育出粳稻孕穗期耐冷性及其关联矿质元素的近等基因系;该群体糙米中 P, K, Mg, S, Ca, Zn, Mn, Na, Fe, Cu 和 Al 等 11 种人体必须的生命元素含量较高;群体间糙米矿质元素中五种宏量元素含量变异小(11.15%~16.45%)和 12 种微量元素变异大(16.57%~94.96%);群体糙米 17 种矿质元素间 136 对性状间有 95 对性状呈显著或极显著相关,而与功能稻米活性成分有关的 Mo, Ni, Al, Sn, Cr 和 Sr 矿质元素 15 对性状相关(0.531**~0.921**)明显高于 P, K, Ca, Mg 和 S 宏量元素 10 对性状相关(0.175**~0.867**)。研究结果为糙米矿质元素的基因定位克隆提供了有益的参考数据。

关键词 ICP-AES; 矿质元素; 近等基因系; 糙米

中图分类号: O657.3; S511 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2008)12-2966-04

引言

矿质元素是酶、激素、维生素等活性物质的重要组成部分,对人体的生长、发育、疾病、衰老等有重要影响^[1]。例南瓜富 Zn, Mn 和 Cr 元素防治糖尿病^[2];车前子富 Mg 防治心血管病^[3];葛根富含 Ca^[4]预防高血压;Fe, Cu, Zn 和 Mn 含量高是苦菜根和当归入药的关键^[1,5];猫爪草块根有抗癌作用^[6];茶叶富含许多矿质元素^[7]。水稻是世界最重要的食粮^[8],含有丰富的矿质元素。例如 583 份云南稻糙米元素平均含量(mg·kg⁻¹):P(3861.91)>K(2589.70)>Mg(1516.19)>Ca(142.35)>Zn(36.22)>Fe(33.12)>Cu(16.02)>Mn(14.78)^[9],NILs 是除 1 个或少数位点外遗传相同的成对样品^[10],是糙米高矿质元素基因精细定位克隆、分子育种及其生理机制研究的理想群体;已克隆的水稻低硅基因 Lis1 是丙氨酸突变为苏氨酸形成的^[8]。电感耦合等离子体原子发射光谱(ICP-AES)因有检出限低,线性范围宽,灵敏度高等优点而广泛应用于元素测定^[1-6]。以耐冷性 NIL

揭示丽梗 2 号孕穗期耐冷性受 2 对主基因和多基因控制,其主基因遗传率为 90.97%^[11]。本文用 ICP-AES 法测定粳稻近等基因系群体及其亲本间糙米的 17 种矿质元素和相关分析,可作为研究糙米矿质元素间内在关系、基因克隆和功能稻米产业化的参考。

1 实验部分

ICP-AES 测定^[12]用美国 BAIRD PS-4 型真空直读型 35+1 道电感耦合等离子体原子发射光谱仪,石英同心雾化器,旋流雾化室。光谱仪分析条件:冷却气 11.0 L·min⁻¹,等离子气 0.5 L·min⁻¹,试液提升量 1 mL·min⁻¹,积分次数为 5 s/4 次。硝酸、高氯酸、盐酸为优级纯。S, P, K, Na, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, B, Mo, Al, Sn, Sr, Ni, Cr 标准储备液浓度均为 1 000 mg·L⁻¹(GSB072125722000, 国家环境保护总局标准样品研究所),混合标准液用基体匹配法配制,根据分析元素浓度大小逐级稀释成标准系列工作溶液,水为去离子水。2006 年昆明常温下种植粳稻十和田×NIL

收稿日期:2007-08-08, 修订日期:2007-11-16

基金项目:国家自然科学基金项目(30660092),云南省院省校合作项目(2006YX12)和人才培养项目(2005PY01-14)资助

作者简介:曾亚文,1967 年生,云南省农业科学院研究员 e-mail: zengyw1967@126.com

(十和田和丽梗 2 号 BC₄F₅) 杂种后代 BC₅F₅ 群体 261 个株系、获得 NIL 及其亲本共 264 份样品, 每份稻谷经磨谷机脱壳成糙米并粉碎, 准确称取 0.50 g 置于烧杯中, 加入 5 mL 硝酸和 1 mL 高氯酸, 电热板上加热消解至溶液清亮, 蒸至近干, 加入 1:1 盐酸 5 mL 溶解残渣, 转入 50 mL 容量瓶定容待测; 样品经湿法消解后, 用盐酸溶解残渣, 使得测元素转变为无机离子态; 每个样品作 3 次重复, 同时作样品空白处理, 用等离子体发射光谱仪测定。

Table 1 Precision and recovery of the method

元素	分析线 /nm	检出限 /($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率 /%	RSD /%
S	180.73	0.026 4	92.3	0.9
Fe	259.94	0.006 4	97.1	1.7
Al	308.21	0.039 8	92.6	3.1
Sn	189.99	0.008 5	93.1	4.9
Mn	257.61	0.000 4	101.4	4.2
Sr	421.55	0.001 8	92.8	1.3
Mo	202.03	0.001 8	98.0	5.2
Cr	267.72	0.003 5	109.5	1.4
Cu	324.75	0.001 5	100.9	3.4
Zn	213.86	0.001 5	98.4	2.3
Mg	279.55	0.002 0	101.2	0.6
K	766.49	0.204 9	101.4	2.1
Ni	231.60	0.004 4	94.3	2.8
Na	589.59	0.054 9	96.5	3.8
P	178.28	0.029 7	110.2	1.8
B	249.77	0.002 2	93.1	2.6
Ca	317.93	0.013 1	95.8	2.4

2 结果与讨论

2.1 方法的精密度和回收率试验

元素分析线按检出限低、灵敏度高、干扰元素少等原则选择, 根据仪器分析线波长手册选用元素的最佳分析谱线。取 $0.100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准溶液进行实验。各元素的回收率为 92.6%~110.2%; 12 次平行测定 RSD 为 0.6%~5.2%, 说明本法具有较好的准确性和精密度, 符合分析要求(见表 1)。

2.2 亲本及近等基因系 BC₅F₅ 群体糙米矿质元素的消解分析

昆明常温条件下亲本及其群体 264 份糙米 17 种元素平均值、标准差和变异大小见表 2。该群体糙米 17 种元素含量平均值为 P>K>Mg>S>Ca>Zn>Mn>Na>Fe>Cu>Al>Sn>B>Mo>Ni>Cr>Sr(除十和田 Na>Mn 和 NIL Cu>B>Fe>Al), 其中 152~3 375 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 有五种元素(P, K, Mg, S, Ca), 10~32 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 有五种元素(Mn, Na, Fe, Cu, Al), 0.3~3.7 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 有六种元素(Sn, B, Mo, Ni, Cr, Sr); 而变异系数依次为 Na>Ni>Cr>Cu>Mo>B>Sn>Al>Sr>Fe>Zn>Mn>P>Ca>Mg>S>K, 其中五种宏量元素变异小(11.15%~16.45%), 12 种微量元素变异大(16.57%~94.96%)。而群体 264 个株系有 10 个株系未检测出 Mo, Ni, Cr 和 Sn; 9 个株系未检测出 Ni, Na, Al 和 Sr; 单个元素未检测出(括号内为株系数)的依次为 Ni(55)>Na(38)>Al(15)>Sn(13)=Cr(13)>Mo(11)>Sr(10)>B(1)。以高 S, Fe, Na, P, Zn, Mg, Ca 和 K 的糙米丽梗 2 号

Table 2 Determination results of mineral element contents in brown rice for parents and populations

元素	亲本含量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)			BC ₅ F ₅ 群体 261 系/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	
	NIL	十和田	丽梗 2 号	平均值±标准差	变异系数%
S	1 132.637	1 035.580	1 207.047	1 054.948±121.865	11.55
Ni	1.208	1.208	1.208	1.625±1.259	77.49
Cr	0.997	0.932	1.046	1.287±0.884	68.67
Al	9.365	7.395	6.685	10.102±5.372	53.18
P	3 279.528	2 977.318	3 253.228	3 373.997±555.110	16.45
Zn	47.858	33.845	42.228	43.042±7.353	17.08
Mn	24.922	26.562	26.668	31.213±5.172	16.57
Ca	162.675	147.069	182.177	152.373±19.990	13.12
K	2 343.830	2 234.580	2 485.050	2 342.105±261.132	11.15
Mo	1.480	1.380	1.474	2.020±1.237	61.21
Fe	24.388	11.612	24.006	11.378±3.191	28.05
Na	25.853	17.110	25.633	13.084±12.425	94.96
Cu	16.637	16.741	16.130	14.236±7.626	53.57
Sn	3.268	3.515	2.816	3.627±1.951	53.80
B	8.202	11.789	0.335	2.135±1.289	60.41
Mg	1 213.256	1 131.046	1 162.376	1 136.282±141.838	12.48
Sr	0.340	0.256	0.343	0.355±0.130	36.55

为供体, 低 S, Fe, Na, P, Zn, Mg, Ca 和 K 的十和田为受体, 通过杂交、4 次回交和连续 5 次加代, 培育出的八种高矿质元素 NIL(BC₄F₅), 属于孕穗期耐冷性 NIL^[13]。这是迄今

为止首次培育出粳稻孕穗期耐冷性及其相关富含矿质元素(S, Fe, Na, P, Zn, Mg, Ca 和 K)的近等基因系, 有利于粳稻孕穗期耐冷性及其矿质元素基因定位克隆和揭示分子生理

学机制。这与 2006 年 Nature 报道^[8]的克隆出影响水稻抗病虫害和抗倒性有关的低硅基因 *Lis1* 相似。

2.3 亲本及 BC₅F₅ 群体 264 个株系糙米矿质元素间的相关性

亲本及其 BC₅F₅ 群体 264 个株系糙米 17 种元素组成的 136 对性状有 95 对性状达显著或极显著相关(表 3): (1) 糙米 Fe 含量与 16 种元素均呈极显著正相关, B 与 15 种元素、P 与 14 种元素、Mn 与 13 种元素均呈极显著或显著正相关; (2) Mo 与 12 种元素、Ni 与 12 种元素、Al 与 11 种元素、Sn 与 11 种元素、Cr 与 11 种元素、Sr 与 11 种元素呈极显著或

显著正相关; (3) S 与 11 种元素、Na 与 9 种元素、K 与 9 种元素、Mg 与 8 种元素、Zn 与 8 种元素和 Cu 与 6 种元素呈极显著正相关, Ca 与 10 种元素(0.175***)呈极显著正相关与 Sn 呈显著负相关; (4) Mo, Ni, Al, Sn, Cr 和 Sr 微量元素 15 对性状极显著相关(0.531**~0.921***)明显高于 P, K, Ca, Mg 和 S 宏量元素 10 对性状相关(0.175**~0.867***)。这与世界稻种最大遗传多样性中心的云南^[14]653 份稻种糙米宏量元素(P, K, Ca, Mg)间相关(0.182**~0.634***)明显高于微量元素间(Fe, Zn, Cu 和 Mn)相关(-0.026~0.269***)^[15]相似。

Table 3 Correlation of mineral element contents in brown rice for parents and populations($n=264$)

元素	S	Mo	Ni	Fe	Cr	Na	Al	Cu	P	Sn	Zn	B	Mn	Mg	Ca	Sr
Mo	0.194**															
Ni	0.172**	0.896**														
Fe	0.169**	0.200**	0.345**													
Cr	0.115	0.758**	0.921**	0.462**												
Na	0.062	0.338**	0.365**	0.181**	0.345**											
Al	0.036	0.718**	0.719**	0.343**	0.680**	0.484**										
Cu	0.068	0.162**	0.463**	0.455**	0.671**	0.076	0.184**									
P	0.539**	0.254**	0.191**	0.357**	0.168**	0.004	0.205**	0.006								
Sn	0.166**	0.914**	0.804**	0.177**	0.675**	0.236**	0.588**	0.210**	0.228**							
Zn	0.404**	-0.077	-0.054	0.297**	-0.053	0.009	0.054	-0.009	0.547**	-0.099						
B	0.317**	0.191**	0.206**	0.180**	0.161**	0.273**	0.186**	0.042	0.140*	0.123*	0.176**					
Mn	0.248**	0.146*	0.158*	0.223**	0.154*	0.001	0.172**	0.056	0.571**	0.084	0.407**	0.184**				
Mg	0.462**	-0.009	-0.039	0.328**	-0.022	0.032	0.034	-0.030	0.795**	-0.048	0.679**	0.238**	0.559**			
Ca	0.175**	-0.107	-0.053	0.278**	-0.031	0.221**	0.098	-0.027	0.285**	-0.153*	0.463**	0.219**	0.449**	0.527**		
Sr	0.018	0.668**	0.683**	0.331**	0.647**	0.530**	0.794**	0.114	0.185**	0.531**	0.110	0.270**	0.246*	0.122	0.364**	
K	0.289**	-0.047	-0.046	0.349**	-0.001	0.063	0.045	-0.004	0.690**	-0.102	0.598**	0.180**	0.587**	0.867**	0.527**	0.152**

参 考 文 献

- [1] WANG Nai-xing, CUI Xue-gui, DU Ai-qin, et al(王乃兴, 崔学桂, 杜爱琴, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2007, 27(6): 1229.
- [2] FAN Wen-xiu, LI Xin-zheng, JING Rui-jun(范文秀, 李新峥, 荆瑞俊). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(3): 567.
- [3] FU Zhi-hong, XIE Ming-yong, ZHANG Zhi-ming, et al(付志红, 谢明勇, 章志明, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(6): 737.
- [4] ZHANG Sheng-bang, ZHANG Xue-jun, GUO Yu-sheng(张胜帮, 张学俊, 郭玉生). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(10): 1260.
- [5] WAN Yi-qun, LIU Ying-xia, GUO Lan, et al(万益群, 柳英霞, 郭 岚, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2007, 27(1): 160.
- [6] CHEN Jun, YAO Cheng, OUYANG Ping-kai(陈 军, 姚 成, 欧阳平凯). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(4): 560.
- [7] WANG Xiao-ping, MA Yi-jin, Mitso Itoh(王小平, 马以瑾, 伊藤光雄). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(10): 1703.
- [8] Ma J F, Tamai K, Yamaji N, et al. Nature, 2006, 440: 688.
- [9] ZENG Ya-wen, LIU Jia-fu, WANG Lu-xiang, et al(曾亚文, 刘家富, 汪禄祥, 等). Acta Agronomica Sinica(作物学报), 2006, 32(8): 1166.
- [10] ZENG Ya-wen, SHEN Shi-quan, YE Chang-rong(曾亚文, 申时全, 叶昌荣). Progress in Natural Science(自然科学进展), 2001, 11(1): 94.
- [11] YANG Shu-ming, ZENG Ya-wen, DU Juan, et al(杨树明, 曾亚文, 杜 娟, 等). Journal of Plant Genetic Resources(植物遗传资源学

- 报), 2006, 7(3): 306.
- [12] ZHANG Xiao-ling, DUAN Yu-yun, HE Li-zhong, et al(张小林, 段玉云, 和丽忠, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 1992, 12(2): 99.
- [13] Zeng Y W, Pu X Y. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding, 2006, 66(2): 100.
- [14] Zeng Y W, Zhang H L, Li Z C, et al. Breeding Science, 2007, 57(2): 91.
- [15] ZENG Ya-wen, LIU Jia-fu, WANG Lu-xiang, et al(曾亚文, 刘家富, 汪禄祥, 等). Chinese Journal of Rice Science(中国水稻科学), 2005, 19(2): 127.

Determination of Mineral Elements in Brown Rice of Near-Isogenic Lines Population for Japonica Rice by ICP-AES

ZENG Ya-wen^{1,3}, WANG Lu-xiang^{2*}, SUN Zheng-hai^{1,4}, YANG Shu-ming¹, DU Juan¹, LI Qi-wan², PU Xiao-ying¹, DU Wei¹, XIAO Feng-hui³

1. Biotechnology and Genetic Resources Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China

2. Institute of Quality Standards and Testing Technology, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China

3. Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

4. School of Horticulture and Gardening, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China

Abstract In the present paper, the contents of 17 mineral elements (S, Mo, Ni, Fe, Cr, Na, Al, Cu, P, Sn, Zn, B, Mn, Mg, Ca, Sr and K) in brown rice of 264 plant lines in near-isogenic lines (NILs) population and parents for *Japonica* rice were determined by ICP-AES technique. The method proved to be simple, rapid, highly sensitive and accurate, and can be used to determine many elements at the same time. Its recovery ratio obtained by standard addition method ranged between 92.3% and 110.27%, and its RSD was lower than 6%. The analytical results showed that NILs for various mineral elements based on the BC₅F₅ population consisting of 261 lines were developed from a cross between NIL (BC₄F₅) and Towada. To our knowledge, this is the first report on that near-isogenic lines NIL(BC₄F₅) with the important value for high mineral elements associated with cold tolerance at booting stage have been bred. The results of the determination show that the brown rice is rich in eleven elements such as P, K, Mg, S, Ca, Zn, Mn, Na, Fe, Cu and Al necessary to human health. There is smaller variation of 5 macroelements (11.15%-16.45%) but larger variation of 12 microelements (16.57%-94.96%) in brown rice from populations. There is significant correlation among 95 from 136 pairs in 17 elements, moreover, especially the correlation (0.531** - 0.921**) among 15 pairs of six micro-elements (Mo, Ni, Al, Sn, Cr and Sr) associated with the active components of functional rice is relatively higher than that of 10 pairs (0.175** - 0.867**) of 5 macroelements (P, K, Ca, Mg and S), revealing the importance of microelements to catalysing and synthesizing the active components of functional rice. The above results provided reliable data and theory bases for gene location and cloning of controlling elements contents in brown rice, and further revealed the molecular and physiological mechanism of the relation between mineral elements in brown rice and cold tolerance at booting stage in japonica rice from Yunnan Province of China.

Keywords ICP-AES; Mineral elements; Near-isogenic lines; Brown rice

* Corresponding author

(Received Aug. 8, 2007; accepted Nov. 16, 2007)