

# 富含叶酸水稻研究进展

韩娟英<sup>1</sup> 何曦<sup>2</sup> 蒋宙蕾<sup>2</sup> 梅沙<sup>2</sup> 张宁<sup>2\*</sup> 吴殿星<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 余姚市种子管理站, 浙江 余姚 315400; <sup>2</sup> 浙江大学农业生物技术学院, 杭州 310058; 第一作者: 1293288389@qq.com;

\* 通讯作者: 11216028@zju.edu.cn)

**摘要:** 叶酸缺乏是世界性的公共健康问题, 严重影响人类健康。水稻是世界第一大主粮, 也是我国大部分人日常能量摄入的主要来源。但是水稻籽粒中叶酸含量极低, 因此, 通过提高水稻的叶酸含量将有助于解决我国以及全球许多以水稻为主粮的国家和地区的叶酸缺乏问题。本文介绍了叶酸的结构、在生物中的生理功能及叶酸缺乏带来的影响, 阐述了叶酸在植物体内生物合成的途径, 以及目前水稻叶酸强化的研究进展。

**关键词:** 水稻; 叶酸; 叶酸代谢; 生物强化

**中图分类号:** S511 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-8082(2017)06-0007-06

叶酸 (Folates) 系一种水溶性 B 族维生素, 又称 VB11 或 VB9, 化学名蝶酰谷氨酸 (Pteroylglutamic acid, PGA), 是四氢叶酸 (Tetrahydrofolate, THF) 及其系列衍生物的总称。叶酸是生物体内转移甲基、甲酰基、甲烯基、次甲基以及羟甲基等“一碳基团”过程中的重要辅酶, 在嘌呤、胸苷酸、DNA、氨基酸和蛋白质的生物合成与甲基循环等诸多反应中起关键作用。

叶酸是人体不可或缺的微营养, 人体自身不能合成, 只能通过膳食补充, 缺乏可导致巨幼红细胞贫血、胎儿畸形、胎儿神经管发育缺陷、妊娠高血压综合症等生理代谢疾病。无论是发达国家还是发展中国家均存在叶酸摄入不足的情况, 我国北方是叶酸重缺乏区<sup>[1]</sup>。

水稻是我国及世界重要的主粮, 但其籽粒中的叶酸含量极低, 无法满足人体的叶酸需求而易引起叶酸缺乏。目前, 水稻叶酸的生物强化主要采取两种策略: 通过加强叶酸合成通路中关键酶的表达量提高叶酸的绝对含量或通过叶酸结合蛋白 (Folate binding protein, FBP) 来提高叶酸的稳定性。

## 1 叶酸的生理功能

作为一碳单位转移酶系的辅酶, 叶酸参与体内嘌呤和胸腺嘧啶的合成, 参与氨基酸代谢、血红蛋白及肾上腺素、胆碱、肌酸等甲基化合物的合成, 对细胞的分裂生长和核酸、氨基酸与蛋白质的合成起重要的作用。叶酸的缺乏使 S-腺苷甲硫氨酸的合成受阻, 导致胞嘧啶不能甲基化, 从而造成全基因组甲基化程度低, 最终导致原癌基因的激活和染色体的不稳定。同时, 叶酸的缺乏还导致腺苷和嘌呤合成不足进而影响到 DNA 的

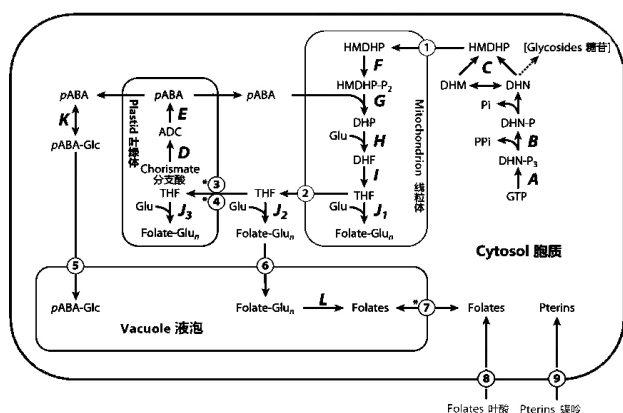
修复。人体缺乏叶酸可导致血红球的异常、未成熟细胞的增加、贫血及白血球减少。据统计, 全球由叶酸缺乏而引起的贫血高达 30%, 仅次于缺铁而导致的贫血<sup>[2]</sup>。

叶酸是胎儿发育不可缺少的营养素, 对孕妇尤其重要。孕妇缺乏叶酸可能会导致胎儿出生时出现低体重、唇腭裂、心脏缺陷等, 且孕早期缺乏叶酸可以引起胎儿畸形、胎儿神经管缺陷而导致畸形。已有研究表明, 叶酸摄入水平不足可以导致巨幼红细胞贫血、胎儿神经管缺陷、增加患心血管疾病和直肠癌等消化道癌症的风险, 且低水平的叶酸摄入与老年痴呆症的发生密切相关<sup>[3-6]</sup>。神经管缺陷是一种常见的先天性畸形之一, 由于在胚胎发育的第 26~28 d 神经管未闭合而造成的头部至脊柱部位从无脑到轻度脊柱裂等不同程度的畸形。全球每年约有 25 万新生儿患病, 发病率达 0.5‰~2.0‰。我国是神经管畸形的高发区, 发病率约为 2.74‰。Daly 等<sup>[3]</sup>研究表明, 在怀孕前每天服用 400 μg 叶酸, 可以降低 70% 的神经管缺陷的发生机率。Daly 等<sup>[7]</sup>深入研究表明, 如果坚持食用强化食物每天补充 200 μg 或 100 μg 叶酸, 能预防几乎所有可用叶酸预防的神经管缺陷, 而 Scott 等<sup>[8]</sup>认为最佳的情况是每天补充 400 μg 叶酸。

叶酸缺乏能引起高同型半胱氨酸血症, 从而增加患心血管病的风险<sup>[9-10]</sup>。越来越多的流行病学、实验和临床证据表明, 人体内适宜的叶酸水平可以降低心血管疾病的发生, 其作用机制包括 3 个方面: (1) 充足的

收稿日期: 2017-08-07

基金项目: 浙江省水稻育种 (2016C2050-6)



数字为物质转运所需载体,只有加星号的3个载体(3,4和7)合成基因被克隆,虚线代表假设的步骤。

ADC:氨基脱氧分支酸;DHF:二氢叶酸;DHM:二氢单蝶呤;DHN:二氢新蝶呤;DHP:二氢蝶酸;-Glc:葡萄糖酯;-Glu<sub>n</sub>:多聚谷氨酸;HMDHP:羧甲基二氢新蝶呤;-Pi:磷酸盐;-PPi:二磷酸盐;-P<sub>3</sub>:三磷酸盐;THF:四氢叶酸;pABA:p-氨基苯甲酸酶;A:GTP环化水解酶GTPCHI;B:DHN-P<sub>3</sub>焦磷酸酶DHNA;C:二氢新蝶呤醛缩酶;D:氨基脱氧分支酸合成酶ADCS;E:氨基脱氧分支酸裂解酶ADCL;F:羧甲基二氢蝶呤焦磷酸化酶HHPK;G:二氢蝶酸合成酶DHPS;H:二氢叶酸合成酶DHFS;I:二氢叶酸还原酶DHFR;J:多聚谷氨酸合成酶FPGS;K:p-ABA葡萄糖基转移酶;L:γ-谷酰基水解酶GGH。

图1 植物体内叶酸的生物合成途径及转运步骤(引自 Bekaert 等<sup>[7]</sup>;Hanson and Gregory III<sup>[18]</sup>)

叶酸摄取能够增加血管内皮细胞 NO 的浓度,达到保护血管的作用;(2)叶酸具有预防高脂负荷诱导的高脂血症发生的作用;(3)叶酸缺乏会引起同型半胱氨酸水平的增加,体内叶酸的缺乏和高同型半胱氨酸血症会改变 DNA 合成和甲基化修饰,从而抑制血管内皮细胞的生长。

叶酸的缺乏还会导致阿尔茨海默病等神经退行性疾病,提高冠状动脉和心血管疾病的风险,同时也与一系列癌症如白血病、结肠癌、乳腺癌、宫颈癌、胰腺和支气管癌等有关<sup>[1]</sup>。

## 2 叶酸缺乏现状与强化措施

我国约20%的人叶酸摄入量不足,尤其是我国北方和西北部地区叶酸摄入量严重不足,每年约有1.8万幼儿患有神经管缺陷。Li等<sup>[12]</sup>调查发现,山西省的新生儿神经管缺陷发病率世界最高,部分年份高达14.9%,其中60%是由叶酸缺乏引起。De Steur等<sup>[13]</sup>实行强化面粉项目的研究表明,山西省的神经管缺陷儿高发地区能够通过面粉强化达到降低和预防的效果。

随着人们认识的不断深化,在膳食中补充叶酸逐渐被重视。尽管许多食物中含有叶酸,但因叶酸对光和热具有不稳定性,容易失活,所以人体能从食物中真正获得的叶酸并不多。营养不良或一些吸收不良综合症,如胃切除术造成不充分吸收、因妊娠需求量的增加或因使用了一些干扰叶酸吸收的药物等,均可导致叶酸的缺乏。

采取在食品中添加人工合成叶酸和口服补充叶酸含片的措施,已成为改善人们叶酸摄入状况的有效方法。有研究表明,实行面粉强化叶酸规定后,神经管缺陷新生儿的发病率分别减少了26%、42%和40%<sup>[14-16]</sup>。但对居住在贫穷和偏远地区的发展中国家人群来说,该方法尚难以推广。

## 3 叶酸的生物合成及水稻中相关基因

### 3.1 叶酸的生物合成

叶酸分子结构由喋啶(Pteridine)、苯基甲酸(PABA)和谷氨酰胺(Glutamate)三部分组成,其生物合成途径较为保守,分别由叶酸的三部分合成并组装,见图1。各种生物的不同之处在于,细菌的叶酸合成过程发生在细胞质中,而植物中叶酸三个部分的合成分别发生于质体、线粒体和细胞质中。喋啶部分由质体中的三磷酸鸟苷(GTP)合成而来,PABA部分则由质体中分支酸盐转化而来。喋啶和PABA之后被转运至线粒体,被还原成单谷氨酸的四氢叶酸。在多聚谷氨酸酶的催化下四氢叶酸的谷氨酸γ位连上多个谷氨酸残基,成为具有多聚谷氨酸尾的叶酸。叶酸也分布于植物液泡中,培养基中的叶酸可直接被植物细胞吸收。叶酸的细胞膜间分布需要大量的转运过程,绝大多数的转运过程需要载体介导,而疏水性弱酸PABA可以通过扩散直接跨细胞膜进行转运。目前,唯一已知的植物叶酸转运载体位于质体上,因此至少还有3个叶酸转运载体(线粒体、液泡和质膜)和线粒体喋啶转运载体有待发现。转运载体的发现,有利于通过基因编辑技术从代谢途径层面提高叶酸的含量。

### 3.2 水稻中叶酸的生物合成途径相关基因

水稻的全基因组测序已在2002年完成,通过与已被鉴定的拟南芥等植物叶酸合成途径的各种酶的同源比对分析,水稻的整个叶酸合成过程中参与酶及其基因都已经清楚,汇总见表1。这些基因编码了GTPCHI、DHNA、ADCS、ADCL等蛋白,分布在胞质、叶绿体、线粒体和液泡等不同细胞器中。水稻中的大多数叶酸合

表 1 水稻中叶酸生物合成途径的相关基因

叶酸生物合成酶	缩写	定位	编码基因
GTP 环化水解酶 GTP cyclohydrolase I	<i>GTPCH 1</i>	胞质	LOC_Os04g56710
DHN-P3 焦磷酸酶 Dihydroneopterinaldolase	<i>DHNA</i>	胞质	LOC_Os06g06100 LOC_Os08g44210 LOC_Os09g38759
氨基脱氧分支酸合成酶 Aminodeoxychorismate synthase	<i>ADCS</i>	质体	LOC_Os06g48620
氨基脱氧分支酸裂解酶 Aminodeoxychorismatylase	<i>ADCL</i>	质体	LOC_Os01g13690 LOC_Os02g17330 LOC_Os05g15530
羟甲基二氧蝶呤焦磷酸化酶 6-hydroxymethyldihydropterin pyrophosphokinase	<i>HHPK</i>	线粒体	LOC_Os07g42632
二氢蝶酸合成酶 Dihydropteroate synthase	<i>DHPS</i>	线粒体	
	<i>DHFS</i>	线粒体	LOC_Os12g42870
二氢叶酸合成酶 Dihydrofolate synthase	<i>DHFR</i>	胞质	LOC_Os11g29390
二氢叶酸还原酶 Dihydrofolatereductase			LOC_Os12g26060
多聚谷氨酸合成酶 Folylpolyglutamate synthase	<i>FPGS</i>	胞质	LOC_Os03g02030 LOC_Os10g35940
γ-谷酰基水解酶 γ- glutamyl hydrolase	<i>GGH</i>	液泡	LOC_Os05g44130
5-甲酰四氢叶酸环连接酶 5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase	<i>5-FCL</i>	胞质	LOC_Os07g39070 LOC_Os12g07020

水稻基因号来自于 Gramene database (www.gfamene.org),定位信息引自 Storozhenko 等<sup>[19]</sup>。

成酶的预测定位与拟南芥中的同源蛋白相同。首先在蝶啶合成途径中,水稻中有一个编码 *GTPCH1* 蛋白的基因位于第 4 染色体上,与拟南芥 *GTPCH1* 基因(AT3G07270)具 66.2%的同源性,且都定位于细胞质中。与拟南芥一样,共有 3 个编码 *DHNA* 蛋白的基因在水稻中被发现,它们可能在不同的器官或组织、不同的发育阶段或是不同的环境条件下起作用。其次,在苯基甲酸合成途径中,编码 *ADCS* 和 *ADCL* 的基因在拟南芥和水稻中高度保守,定位于质体上,但是水稻中有 2 个编码 *ADCL* 的基因分别位于第 2 号和第 5 号染色体上,而拟南芥中只有 1 个。再次,在 THF 合成途径中,水稻中的 *HHPK/DHPS* 和 *DHFS* 分别由单个基因编码,且都含有线粒体信号肽,但拟南芥中分别有 2 个基因编码 *HHPK/DHPS* 和 *DHFS*,且定位于胞质和线粒体中。拟南芥中分别有 3 个基因编码 *DHFP* 和 *FPGS*,且定位于质体、线粒体和胞质中,而水稻分别有 2 个基因编码这 2 个酶,因为不含信号肽,都被预测定位于胞质中。最后,在叶酸的组装途径中,拟南芥中有 3 个编码 *GGH* 的基因,而水稻中仅有 1 个,但都定位于液泡中。叶酸的合成机制在植物中高度保守,对其中相关基因的深入研究将会为提高水稻中的叶酸含量提供更多理论基础。

4 水稻中叶酸的生物强化

4.1 水稻中的叶酸含量

水稻中的叶酸含量极低且在储存过程中极易损耗<sup>[20]</sup>,蒸煮过程中也会损失 26%<sup>[21]</sup>。即便是我国糙米中叶酸含量高达 26.3 μg/100 g 的水稻品种朝阳早 18、特青、大白谷 13 和青丰矮,精加工中也会丧失 95%,经蒸煮后又会进一步损失近 50%,远远无法达到国际推荐成人每日叶酸摄入量(400 μg/日)。因此,十分必要通过水稻育种强化叶酸含量以缓解我国叶酸缺乏的现状。

Dieter 等<sup>[22]</sup>分析检测了 12 个不同来源水稻品种的总叶酸含量,发现来自塞拉利昂的水稻品种 Rok 叶酸含量最低,为 32 μg/100 g 鲜质量;来自圭亚那的水稻品种 Blue Belle 叶酸含量最高,为 68 μg/100 g 鲜质量,其差异主要源于 5-甲基四氢叶酸含量的差异。Dong 等<sup>[23]</sup>分析检测了我国 78 份水稻种质资源的叶酸含量,发现糙米的叶酸含量存在 8.4 倍的变异,变异范围为 13.3~111.4 μg/100 g,糙米平均叶酸含量为 48.8 μg/100 g;精米中平均叶酸含量为 24.6 μg/100 g,其叶酸含量存在 7.6 倍的变异,变异范围为 10.3~77.7 μg/100 g;不同类型种质划分上,糙米中的叶酸含量籼稻比粳稻高 32%,精米中籼稻比粳稻高 24%。另外,稻米的蒸煮加工和储藏都会引起叶酸含量的降低,其中参试品种储藏 2 年引起的叶酸损失达 19.9%~56.5%,平均每年的叶酸损失量为 23.0%;蒸煮引起的叶酸损失为 37.7%~68.9%,平均为 48.3%。鉴于水稻品种间叶酸含量差异显著且变幅大,为此采用传统育种提高叶酸含量的空



表 2 拟南芥和各种作物叶酸代谢基因工程汇总

年份	物种	供试器官	增加或抑制的基因	叶酸改变的比例	相关化合物的变化	参考文献
2004	拟南芥	叶	+大肠杆菌 <i>GCHI</i>	+2~4 倍	蝶呤增加 1250 倍	[23]
2004	番茄	果实	+小鼠 <i>GCH<sup>f</sup></i>	+2 倍	蝶呤增加 140 倍	[24]
2005	拟南芥	叶	5-FCL 抑制	+2 倍	生长减缓 20%,花期延迟	[25]
2007	番茄	果实	+拟南芥 <i>ADCS</i>	无变化	p-ABA 增加至 40 倍	[26]
2007	水稻	种子	+ <i>Mouse GCH<sup>f</sup></i> / 拟南芥 <i>ADCS</i>	最高+25 倍	p-ABA 和蝶呤增加超过 25 倍	[19]
			+拟南芥 <i>GCHI</i>	无变化	蝶呤增加至 29 倍	
			+拟南芥 <i>ADCS</i>	最高 6 倍	p-ABA 增加至 89 倍	
			+拟南芥 <i>GCHI/ADCS</i>	最高+100 倍	蝶呤增加 40 倍,p-ABA 增加 25 倍	
2008	水稻	叶、种子	+小麦 <i>HPPK/DHPS</i>	叶片+75%、种子+40%	未分析前体物质	[27]
2009	玉米	叶	+大肠杆菌 <i>GCHI</i>	+2 倍	未分析前体物质	[28]
2009	生菜	叶	+ <i>Chicken GCH<sup>f</sup></i>	+2~9 倍	未分析前体物质	[29]
2010	拟南芥	叶	+ <i>AtGGH2</i>	-39%	多聚谷氨酸尾增长	[30]
2010	番茄	果实	+ <i>LeGGH2</i>	-46%	多聚谷氨酸尾增长	
2011	水稻	种子	+ <i>AtGTPCHI</i>	+3.7~6.1 倍	未分析前体物质	[31]
			+ <i>AtADCS</i>	+1.5~1.8 倍	未分析前体物质	
			+ <i>AtDHFS</i>	+4.5%~27.2%	未分析前体物质	
			+ <i>AtFPGS</i>	+7.5%~19.9%	未分析前体物质	
2010	拟南芥	叶	+ <i>GGHRNAi</i>	+30%	多聚谷氨酸尾变短	[32]
2012	烟草	叶	+利什曼原 <i>PTAR<sup>a</sup></i>	-47%~+15%	未分析前体物质	
	拟南芥			平均+79%		
2013	马铃薯	块茎	+拟南芥 <i>GCHI</i>	无变化	蝶呤增加 12.7 倍	[33]
			+拟南芥 <i>ADCS</i>	最高 2 倍	p-ABA 增加至 3 倍	
			+拟南芥 <i>GCHI/ADCS</i>	无变化	蝶呤平均增加 17.9 倍	

利用编码区增加植物基因的表达;5-FCL: 甲酰四氢环连接酶;ADCS: 氨基脱氧分支酸合成酶;GCHI:GTP 环化水解酶;HHPK/DHPS: 羟甲基二氢蝶呤焦磷酸化酶/二氢蝶呤合成酶;p-ABA: 对氨基苯甲酸酯;PTAR : 蝶呤醛还原酶;GGH:γ-谷酰基水解酶;RNAi:RNA 干扰。

间较大。

4.2 转基因技术提高水稻中叶酸的含量

迄今为止，唯一提高叶酸含量的方法是转基因过表达叶酸合成过程中的酶。提高植物中叶酸的含量可通过过表达 GTP 环化水解酶 I(GTPCHI)和氨基脱氧分支酸合成酶(ADCS)来实现。单独 GTPCHI 的过表达会引起蝶呤的大幅积累，单独 ADCS 的过表达会引起 p-ABA 的大幅提高，均不会引起叶酸含量的大幅变化，只有当两者共同过表达才表现出叶酸含量的大幅提高。叶酸代谢基因工程研究汇总结果见表 2。

Storozhenk 等<sup>[19]</sup>将拟南芥 *ADCS* 和 *GCH I* 基因分别连接到水稻胚乳特异性启动子 *gluB1* 和 *glb-1* 下,使叶酸合成途径中的 pABA 和喋呤支路均得到加强,转基因水稻中叶酸的最高含量为 1 723 μg/100 g,是野生型对照的 100 倍，也是迄今为止粮食作物中报道的叶酸最高含量,超过正常人群每日推荐摄入量 400 μg 的 4 倍多。提高的叶酸含量中,89%为 5-甲基四氢叶酸,仅 2.6%~14.0%为多谷氨酸化叶酸,而野生型中 50%的叶酸为多谷氨酸化叶酸；喋呤和 PABA 含量分别提高 4 倍和 25 倍。在仅过表达 *GTPCHI* 的水稻株系中,未发

现叶酸含量的提高,仅提高了 25 倍的喋呤含量;在仅过表达 *ADCS* 的水稻株系中,PABA 含量提高了 49 倍同时提高了 6 倍的叶酸含量。在同时过表达 *GTPCHI* 和 *ADCS* 基因的水稻株系中，叶酸:PABA:喋呤含量为 1:0.5:0.013,说明在叶酸合成过程中,高 PABA 含量也是提高叶酸含量的制约因素。

Gillies 等<sup>[27]</sup>将小麦 *HPPK/DHPS* 导入水稻,检测表明叶片中叶酸表达增加 75%,籽粒中增加 40%。董薇<sup>[31]</sup>研究发现,分别过表达 *AtGTPCHI*、*AtADCS*、*AtDHFS* 和 *AtFPGS* 基因可提高水稻籽粒中的叶酸含量。在过表达 *AtGTPCHI* 的转基因株系中,前后两代水稻的籽粒叶酸含量分别是野生型的 3.7~6.1 倍和 3.3~3.7 倍；在过表达 *AtADCS* 的转基因株系中，叶酸含量与野生型相比提高 1.5~1.8 倍。该研究结果与以往结果不同,可能是由于所用启动子序列不同。在过表达 *AtDHFS* 的转基因株系 T1 代中,叶酸含量提高 14.5%~27.2%;在过表达 *AtFPGS* 的转基因株系 T1 代和 T2 代，分别比野生型叶酸含量增加 7.5%~19.9%和 4.3%~45.5%。然而,转 *AtDHNA* 和 *AtADCL* 的转基因株系的叶酸含量下降。Blancquaert 等<sup>[33]</sup>分析了水稻籽粒发育过程中叶酸、PA-

BA 和蝶呤的积累情况,结果表明叶酸强化水稻籽粒中 *GTPCHI* 和 *ADCS* 基因的表达不会影响其他内源性叶酸的生物合成基因。

### 4.3 转基因提高水稻中叶酸的稳定性

叶酸结合蛋白对提高叶酸稳定性具有显著作用。在哺乳动物细胞中,已发现叶酸结合蛋白家族<sup>[34]</sup>。Jones 和 Nixon<sup>[35]</sup>在牛奶中发现了 FBP。牛奶中所有的叶酸均与 FBP 结合。根据缓冲液体系和温度的不同,叶酸与 FBP 形成的化合物将极不稳定的四氢叶酸稳定性提高了 2~1 000 倍。在 4℃、pH 值为 6.7 时四氢叶酸与可溶性 FBP 结合后可稳定存在超过 100 d,而对照组寿命小于 1 h。目前的困境是尚未发现植物源的 FBP。Goto 等<sup>[36]</sup>通过过表达大豆储铁蛋白,大豆中铁含量提高 2 倍。因此,在水稻中转入 FBP 相关基因并过表达可能是提高水稻中叶酸稳定性的一种较为可行的方法。

## 5 结语和展望

水稻是我国约 60%人口的主食。普通大米尤其是经蒸煮加工的大米叶酸含量很低,仅为 3 μg/100 g,尽管通过添加人工合成的叶酸,采取食品强化叶酸增加叶酸摄入已证明是补充叶酸的有效措施,但是在偏远地区该措施很难付诸实践。培育高叶酸含量的水稻新品种,在叶酸缺乏地区推广不仅是源头膳食策略,也是更为经济可行的技术方案。

不同水稻种质资源的叶酸含量检测表明,水稻品种间叶酸含量差异显著且变幅大,这无疑为采用传统育种方法选育高叶酸水稻品种提供了巨大的空间和可能性。与此同时,采用转基因技术,已证明可以使稻米的叶酸含量提高 20~100 倍。在高叶酸水稻推广应用之前,有必要了解基因型、环境因素及其互作对水稻籽粒中叶酸积累的影响,并协同解决好高叶酸含量与稻米品质、产量和抗性的关系。

### 参考文献

- [1] Storozhenko S, De Brouwer V, Volckaert M, et al. Folate fortification of rice by metabolic engineering[J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25: 1 277-1 279.
- [2] Kam K, Arcot J, Adesina AA. Folic acid fortification of parboiled rice: Multifactorial analysis and kinetic investigation [J]. *J Food Eng*, 2012, 108: 238-243.
- [3] Daly LE, Kirke PN, Molloy A, et al. Folate levels and neural tube defects[J]. *JAMA*, 1995, 274: 1 698-1 702.
- [4] Ma J, Stampfer MJ, Giovannucci E, et al. Methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer[J]. *Cancer Res*, 1997, 57: 1 098-1 102.
- [5] Stover PJ. Physiology of folate and vitamin B12 in health and disease [J]. *Nutr Rev*, 2004, 62: S3-S12.
- [6] Wang H, Odegaard A, Thyagarajan B, et al. Blood Folate is associated with asymptomatic or partially symptomatic Alzheimer's disease in the Nun study[J]. *J Alzheimer Dis*, 2012, 28: 637-645.
- [7] Daly S, Mills JL, Molloy AM, et al. Minimum effective dose of folic acid for food fortification to prevent neural-tube defects [J]. *The Lancet*, 1997, 350: 1 666-1 669.
- [8] Scott J, Kirke P, Molloy A, et al. The role of folate in the prevention of neural-tube defects[J]. *Proc Nutr Soc*, 1994, 53: 631.
- [9] De Vriese AS, Blom HJ, Heil SG, et al. Endothelium-derived hyperpolarizing factor - mediated renal vasodilatory response is impaired during acute and chronic hyperhomocysteinemia [J]. *Circulation*, 2004, 109: 2 331-2 336.
- [10] De Wals P, Tairou F, Van Allen MI, et al. Reduction in neural-tube defects after folic acid fortification in Canada [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357: 135-142.
- [11] 张永军. 叶酸能够降低患阿尔茨海默病的危险 [J]. 中国保健食品, 2006(3): 16.
- [12] Li Z, Ren A, Liu J, et al. Maternal flu or fever, medication use, and neural tube defects: A population - based case - control study in Northern China [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2007, 79: 295-300.
- [13] De Steur H, Gellynck X, Storozhenko S, et al. Health impact in China of folate-biofortified rice[J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28: 554-556.
- [14] Williams LJ, Mai CT, Edmonds LD, et al. Prevalence of spina bifida and anencephaly during the transition to mandatory folic acid fortification in the United States[J]. *Teratology*, 2002, 66: 33-39.
- [15] Hertrampf E, Cortés F. Folic acid fortification of wheat flour: Chile [J]. *Nutr Rev*, 2004, 62: S44-S48.
- [16] De Wals P, Tairou F, Van Allen MI, et al. Reduction in neural-tube defects after folic acid fortification in Canada[J]. *N Eng J Med*, 2007, 357: 135-142.
- [17] Bekaert S, Storozhenko S, Mehrshahi P, et al. Folate biofortification in food plants[J]. *Trend Plant Sci*, 2008, 13: 28-35.
- [18] Hanson AD, Gregory III JF. Folate biosynthesis, turnover, and transport in plants[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2011, 62: 105-125.
- [19] Storozhenko S, De Brouwer V, Volckaert M, et al. Folate fortification of rice by metabolic engineering[J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25: 1 277-1 279.
- [20] Brouwer VD, Storozhenko S, Van De Steene JC, et al. Optimisation and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for folates in rice[J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1215: 125-32.
- [21] Blancaquaet D, Storozhenko S, Loizeau K. Folate and folic acid: from fundamental research toward sustainable health [J]. *Crit Rev Plant Sci*, 2010, 29(3): 14-35.
- [22] Dong W, Cheng Z, Wang X, et al. Determination of folate content in rice germplasm (*Oryza sativa* L.) using tri-enzyme extraction and

- microbiological assays[J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2011, 62: 537-543.
- [23] Hanson AD, Gregory III JF. Synthesis and turnover of folates in plants[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5: 244-249.
- [24] de la Garza RD, Quinlivan EP, et al. Folate biofortification in tomatoes by engineering the pteridine branch of folatesynthesis [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2004, 101: 13 720-13 725.
- [25] Goyer A, Collakova E, de la Garza RD, et al. 5-Formyltetrahydrofolate is an inhibitory but well tolerated metabolite in Arabidopsis leaves[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 26 137-26 142.
- [26] Bekaert S, Storozhenko S, Mehrshahi P, et al. Folate biofortification in food plants[J]. *Trends Plant Sci*, 2007, 13: 28-35.
- [27] Gillies SA, McIntosh SR, Henry RJ. A cereal crop with enhanced folate: Rice transgenic for wheat HPPK/DHPS [J]. *Aust Cereal Chem Conference*, 2008.
- [28] Naqvi S, Zhu C, Farre G, et al. Transgenic multivitamin corn through biofortification of endosperm with three vitamins representing three distinct metabolic pathways[J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2009, 106: 7 762-7 767.
- [29] Nunes AC, Kalkmann DC, Aragao FJ. Folate biofortification of lettuce by expression of a codon optimized chicken GTP cyclohydrolase I gene[J]. *Transgenic Res*, 2009, 18: 661-667.
- [30] Akhtar TA, Orsomando G, Mehrshahi P, et al. Central role for gamma-glutamyl hydrolases in plant folate homeostasis [J]. *Plant J*, 2009, 2010, 64: 256-266.
- [31] 董薇. 水稻籽粒叶酸含量 QTL 分析及生物强化[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.
- [32] 鹿晔, 刘晓宁, 姜凌, 等. 过表达蝶呤还原酶 *PTR1* 基因促进植物叶酸合成的研究[J]. 中国农业科技导报, 2012, 14(5): 49-56.
- [33] Blancquaert D, Van Daele J, Storozhenko S, et al. Rice folate enhancement through metabolic engineering has an impact on rice seed metabolism, but does not affect the expression of the endogenous folate biosynthesis genes[J]. *Plant Mol Biol*, 2013, 83(4): 329-349.
- [34] Henderson G B. Folate-binding proteins [J]. *Annu Rev Nutr*, 1990, 10(1): 319-335.
- [35] Jones M L, Nixon P F. Tetrahydrofolates are greatly stabilized by binding to bovine milk folate-binding protein [J]. *J Nutr*, 2002, 132: 2 690-2 694.
- [36] Goto F, Yoshihara T, Shigemoto N. Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene[J]. *Nat Biotechnol*, 1999, 17(3): 282-286.

## Progress on High Folate Content Rice

HAN Juanying<sup>1</sup>, HE Xi<sup>2</sup>, JIANG Zhoulei<sup>2</sup>, MEI Sha<sup>2</sup>, ZHANG Ning<sup>2\*</sup>, WU Dianxing<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Yuyao Seed Administration Station, Yuyao, Zhejiang 315400, China; <sup>2</sup> College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou, 310029, China; 1st author: 1293288389@qq.com; \*Corresponding author: 11216028@zju.edu.cn)

**Abstract:** Folate deficiency is a global public health problem, has profound effects on human health. Rice is the most important staple crops in the world, and provides most population energy intake in China. Since rice seeds contain very little folates, enhancing folates content in rice would be a cost-effective way to solve folates deficiency in China and some countries and regions where the staple crop is rice. This review introduced the structure and physiological functions of folates, and the influences of folates deficiency. The biosynthetic pathway in plant and progress in folates-biofortification rice were also reported.

**Key words:** rice; folates; folate metabolism; biofortification

(上接第6页)

## Analysis on Characteristics of Rice Varieties Registered in China in 2016

LIN Hai, WANG Zhigang, E Zhiguo, PANG Qianlin\*

(China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China; \*Corresponding author)

**Abstract:** 492 rice varieties, including 36 conventional *indica* rice, 137 two lines *indica* hybrid rice, 166 three lines *indica* hybrid rice, 87 conventional *japonica* rice, 25 *japonica* hybrid rice, 41 sterile lines, were registered by Crop Variety Approval Committee in China in 2016. Average yield of conventional *indica* rice was 501.36 kg/667 m<sup>2</sup>, increased by 3.86% compared with the control; two lines *indica* hybrid rice was 592.54 kg/667 m<sup>2</sup>, increased by 5.46% compared with the control; three lines *indica* hybrid rice was 552.96 kg/667 m<sup>2</sup>, increased by 5.16% compared with the control; conventional *japonica* rice was 624.94 kg/667 m<sup>2</sup>, increased by 7.48% compared with the control; *japonica* hybrid rice was 651.96 kg/667 m<sup>2</sup>, increased by 8.91% compared with the control. The quality of *japonica* rice was significantly better than *indica* rice; the quality of conventional rice was significantly better than hybrid rice. The quality compliance rate of *japonica* rice was 51.79%, *indica* rice was 43.95%, conventional rice was 56.91%, hybrid rice was 41.77%. Some varieties with good resistance to single disease were listed.

**Key words:** rice; registered varieties; yield; grain quality; resistance to diseases and insect pests; China