

网络出版日期:2016-12-29
网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1220.S.20161229.1005.016.html>

转 C₄ 基因水稻籽粒产量及品质分析

张边江, 唐 宁, 陈全战, 杨 平, 王立科
(南京晓庄学院 食品科学学院, 南京 211171)

摘 要 为了分析 C₄ 基因导入 C₃ 水稻后对其籽粒产量及品质的影响,以日本水稻品种‘Kitaake’(*Oryza sativa* L. subsp. *japonica*)及其转玉米 *PEPC*、*PPDK*、*ME* 基因水稻为材料,测定 C₄ 光合酶活性、光合速率、产量以及主要营养成分。结果表明,转 C₄ 基因水稻的 4 种光合酶活性显著增加,*PEPC* 基因的导入使光合效率显著提高,与对照相比各转基因株系籽粒中水分、灰分和淀粉质量分数无显著差异,而含有 *PEPC* 基因株系的蛋白质和脂肪质量分数显著增加,可溶性糖质量分数降低。可见,*PEPC* 基因的导入加强了籽粒中蛋白质和脂肪的积累,从而使转基因水稻千粒质量和单株穗数显著提高,这可能是转基因水稻光合生产力提高的生理生化基础。

关键词 水稻;C₄ 基因;籽粒产量;营养成分
中图分类号 S511. 01 **文献标志码** A **文章编号** 1004-1389(2017)02-0210-06

水稻是中国主要的粮食作物,属 C₃ 植物,可通过导入 C₄ 光合基因改良水稻光合性能,以进一步提高水稻的光合生产力。丙酮酸磷酸二激酶(*PPDK*)、依赖于 *NADP* 的苹果酸酶(*NADP-ME*)和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(*PEPC*)等 C₄ 光合途径的酶基因已成功地导入水稻中,并证明转 C₄ 基因水稻在高光下表现出高光合生产力^[1-5],有利于水稻更好的积累有机物,提高产量。

糙米含 75%以上的淀粉,8%左右的蛋白质,0.5~1%的脂肪,并含有丰富的维生素和矿物质等^[6]。水稻从环境吸收水分及 CO₂ 等,合成复杂的有机物质。可溶性糖、淀粉、蛋白质、脂肪主要由 C、H、O 元素构成,代谢之间能相互转化,通过丙酮酸、乙酰 CoA 等中间代谢物质联系在一起。*PEPC* 是叶片中最初固定 CO₂ 的酶,是丙酮酸进入蛋白质合成循环的关键酶。转基因水稻光合速率的提高,有利于有机物质的积累,吴关庭等^[7]将反义 *PEPC*ase 基因导入粳稻品种‘秀水 11’,发现转基因水稻株系的稻米脂肪质量分数比对照显著提高,说明碳代谢物质可以相互转化,代谢趋向脂肪的合成方向,从而提高种子中脂肪的质量分数。

有关转 C₄ 基因水稻的研究多集中在光合^[8]、抗氧化能力^[9]、荧光特性^[10] 和杂交选育^[11] 等方面,尚无人专门针对导入 C₄ 基因水稻的营养成分进行比较研究。本试验以日本粳稻品种‘Kitaake’(*Oryza sativa* L. subsp. *japonica*)及其转 C₄ 基因水稻为材料,比较分析转 *PEPC*(*PC*)、*PPDK*(*PK*)、*ME* 基因,转 *PEPC*+*PPDK* 基因(*CK*)和转 *PEPC*+*PPDK*+*ME* 基因(*PKM*)水稻的水分、灰分、脂肪、蛋白质及碳水化合物等主要营养成分,探索转 C₄ 基因水稻光合生产力增加后,不同碳代谢产物质量分数变化使单株产量提高的原因。

1 材料与方法

1.1 材料

以日本粳稻品种‘Kitaake’(*Oryza sativa* L. subsp. *japonica*)为材料,分别导入玉米的 *PEPC*、*PPDK*、*ME* 基因,获得不同的转基因水稻株系。在南京通过常规杂交方法,多代筛选获得稳定的转 *PEPC*+*PPDK* 双基因和转 *PEPC*+*PPDK*+*ME* 三基因水稻材料^[5,12]。水稻于 2013 年 5 月和 2014 年 5 月初在南京播种,每个

材料播 25 盆,每桶(36 cm×32 cm×33 cm)直播 5 穴,每穴 1 苗,在自然温光条件下按常规管理。在水稻成熟后各处理均取 5 盆计产,并取 25 株挂牌单株,进行产量构成因素分析和营养成分测定。

1.2 酶活的测定

去除主要叶脉,准确称取 2 g 抽穗期剑叶,在缓冲液(含 50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl, 10 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 5 mmol·L⁻¹ DTT, 质量分数为 2% PVP 和体积分数为 10% 甘油, pH 7.8) 中冰浴研磨, 8 层纱布过滤, 滤液 4 ℃ 离心, 上清液即为粗酶液。磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、丙酮酸磷酸二激酶、NADP-苹果酸酶、NADP-苹果酸脱氢酶(NADP-MDH)的活性分别参照 Gonzalez 等^[13]、Hatch 等^[14]、陈景治等^[15]和李斌等^[16]的方法测定。重复 5 次,取平均值,后同。

1.3 光合速率测定

在水稻抽穗期,选取株长势一致的水稻,用 CIRAS-2 便携式光合测定系统测定主茎连体剑叶不同光强下光合速率, CO₂ 浓度为 340 μmol·L⁻¹, O₂ 为 21%, 温度为 30 ℃, 绘制光强度—光合曲线。

1.4 营养成分测定

稻谷样品脱壳后于 50℃ 烘干至恒质量, 粉碎过 40 目筛后用于营养成分分析。分别称取分别 2.0 g 采用直接干燥法(GB5009.3-2010)^[17]、灼烧重量法(GB5009.4-2010)^[18]、索式提取法(GB/T5009.6-2003)^[19]、凯氏定氮法(GB5009.5-2010)^[20]、酸水解法(GB5009.9-2008)^[21]、蒽酮比色法^[22], 分别测定水稻中水分、灰分、脂肪、蛋白质、淀粉、可溶性糖的质量分数。

2 结果与分析

2.1 C₄ 基因水稻光合关键酶活性

由表 1 可知,水稻‘Kitaake’中 4 种 C₄ 光合酶活性较低; 导入 *PEPC*、*ME* 和 *PPDK* 基因后的水稻, *PEPC*、*ME* 和 *PPDK* 活性分别比 WT 高约 21.56、5.04 和 5.95 倍, 差异显著 ($P < 0.05$); 转 *PEPC*+*PPDK* 基因水稻的 *PEPC* 和 *PPDK* 活性分别是 WT 的 18 倍和 3 倍; 转 *PEPC*+*PPDK*+*ME* 基因水稻中, *PEPC*、*PPDK* 和 *ME* 活性分别是 WT 的 18.69、3.54 和 4.94 倍, 说明在各转基因株系中都高表达了相应的 C₄ 酶。

表 1 转 C₄ 基因水稻光合关键酶活性

Table 1 Activities of C₄ photosynthesis key enzymes in transgenic rice

品种 Variety	酶活性/(μmol·mg ⁻¹ ·h ⁻¹) Enzymes activities			
	PEPC	PPDK	ME	MDH
WT	62.10±3.85 b	23.52±1.08 c	20.64±1.76 c	93.24±4.91 a
PC	1 337.46±33.82 a	23.17±3.40 c	39.70±8.89 b	100.10±5.90 a
PK	57.08±11.98 b	116.66±8.34 a	25.43±6.12 c	99.30±4.39 a
ME	56.96±13.65 b	31.32±5.24 c	122.65±3.35 a	107.61±6.77 a
CK	1 252.09±65.65 a	96.61±7.64 a	41.04±2.58 b	108.97±5.33 a
PKM	1 159.55±65.64 a	83.47±6.80 b	102.60±6.64 a	98.05±5.44 a

注: WT. 野生型水稻‘Kitaake’; PC. 转 *PEPC* 基因水稻; PK. 转 *PPDK* 基因水稻; ME. 转 *NADP-ME* 基因水稻; CK. 转 *PEPC*+*PPDK* 双基因水稻; PKM. 转 *PEPC*+*PPDK*+*ME* 基因水稻。数据为“平均值±标准差”(n=5), 同列不同字母表示组间存在显著性差异 ($P < 0.05$), 下同。

Note: WT. un-transformed rice ‘Kitaake’; PC. *PEPC* transgenic rice; PK. *PPDK* transgenic rice; ME. *NADP-ME* transgenic rice; CK. transgenic rice with *PEPC* and *PPDK* genes; PKM. transgenic rice with *PEPC*, *PPDK* and *ME* genes. “Mean±standard deviation”, values with different superscripts (a,b,c) in same column have significant difference at 0.05 level, the same as below.

2.2 转 C₄ 基因水稻的光合速率(P_n)和单株产量

在低光强下, 转 C₄ 基因水稻的光合作用与 WT 没有明显差异。此后随着光强的加强, WT、PK 和 ME 的饱和 P_n 为 20 μmol·m⁻²·s⁻¹, 而 PC、CK 和 PKM 转基因水稻饱和 P_n 可达到 30 μmol·m⁻²·s⁻¹, 比水稻‘Kitaake’中提高近 50%(图 1)。PC、CK 和 PKM 由于其高的光合速

率和 *PEPC* 酶活性, 其单株产量和千粒质量显著高于 WT, PK 和 ME, 这主要是由于每株穗数的增加而产生的产量提高(表 2)。

2.3 转 C₄ 基因水稻籽粒的营养成分分析

从表 3 可以看出, 转 C₄ 基因各水稻株系与原种水稻‘Kitaake’相比均无显著差异 ($P > 0.05$)。常温常湿条件下长期储藏大米, 建议含水量在

14.0%以下^[23],5 种转基因水稻的水分质量分数均在此建议值以下。与原种 WT 相比,转 PK 基因、ME 基因、PC 基因、CK 和 PKM 转基因水稻灰分质量分数未见明显提高($P>0.05$),说明 C₄ 基因的导入对灰分的积累几乎没有影响。

与 WT 相比,转 PPDK、ME 基因水稻未见明显增加,而转 PEPC、PEPC + PPDK 和 PEPC + PPDK + ME 转基因水稻脂肪质量分数分别增加 31.2%、38.4%和 46.1%,说明 PEPC 基因的导入有利于脂肪质量分数的积累。转 PPDK、ME、PEPC 基因水稻的淀粉质量分数略有提高,转 PEPC + PPDK、PEPC + PPDK + ME 基因水稻的淀粉质量分数略有降低,但与 WT 相比,均无显著性差异,说明 C₄ 基因的导入对淀粉的积累没有明显作用。从表 3 可以看出,分别导入 PPDK、ME 基因后,转基因水稻与原种水稻在蛋白质质量分数上无显著性差异,而 PEPC、PEPC + PPDK 和 PEPC + PPDK + ME 转基因水稻蛋白质显著提高,分别增加 36.02%、39.40%和 37.01%,说明 C₄ 基因的导入有利于水稻积累更多的蛋白质,可提高水稻的营养品质。

营养学上的可溶性糖主要指单糖和寡聚糖,

不包括淀粉、果胶等多糖,淀粉不溶于 80%乙醇,而与可溶性糖分离。导入 PPDK、ME 基因后,转基因水稻与原种水稻在可溶性糖质量分数上无显著性差异,而 PEPC、PEPC + PPDK 和 PEPC + PPDK + ME 转基因水稻总糖质量分数明显降低,分别降低 26.02%、16.4%和 24.01%。PEPC 基因的导入降低单糖和蔗糖等寡聚糖在种子中的积累,对淀粉等多糖的影响整体呈下降趋势,但差异不明显。

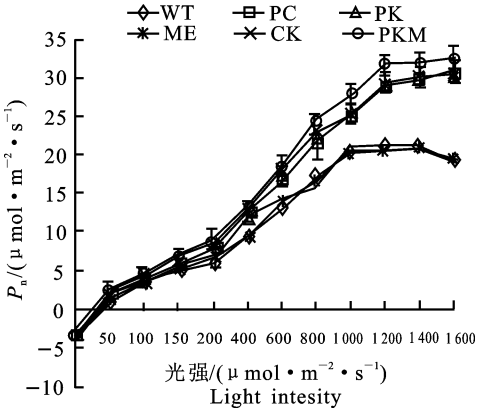


图 1 不同转 C₄ 基因水稻与原种叶片的光-光合曲线
Fig. 1 Light-photosynthesis curve in flag leaves of transgenic rice with C₄ genes and WT

表 2 转 C₄ 基因水稻和原种产量构成因素的比较
Table 2 Comparison of component factors and yield with C₄ transgenic rice and WT

品种 Variety	单株穗数 Panicle number per plant	每穗实粒 No. of grain per panicle	千粒质量/g 1 000-grain mass	单株产量/g Grain yield per plant
WT	14.61±1.21 b	71.67±4.16 b	19.3±1.20 b	28.46±3.18 b
PC	17.23±1.42 ab	77.93±5.26 a	25.03±0.54 a	33.32±1.85 a
PK	13.34±0.87 b	69.23±6.43 b	20.04±1.97 b	27.54±2.88 b
ME	15.32±1.32 b	70.23±6.55 b	21.44±2.12 b	29.47±2.68 b
CK	18.23±3.35 a	78.33±3.06 a	25.13±1.94 a	33.32±1.85 a
PKM	19.44±2.45 a	78.75±4.55 a	26.14±1.67 a	34.71±1.50 a

表 3 转 C₄ 基因水稻的营养成分质量分数
Table 3 Nutrient components mass fraction of C₄ photosynthesis enzymes in transgenic rice

品种 Variety	水分/% Moisture	灰分/% Ash	脂肪/% Fat	淀粉/% Starch	蛋白质/% Protein	可溶性糖/% Soluble sugar
WT	11.87±0.94 a	1.47 ±0.062 a	1.28 ±0.052 b	72.23 ±5.42 a	6.33 ±0.38 b	12.18 ±1.17 a
PK	13.73±1.13 a	1.39 ±0.093 a	1.28 ±0.057 b	73.91 ±4.25 a	6.45±0.49 b	12.62±0.96 a
ME	13.25 ±0.87 a	1.32 ±0.079 a	1.37 ±0.064 b	74.15±7.43 a	6.73±0.32 b	13.21 ±0.83 a
PC	12.38 ±1.06 a	1.46 ±0.11 a	1.92 ±0.079 a	72.71 ±6.26 a	7.92 ±0.47 a	9.03 ±0.67 b
CK	11.45±1.11 a	1.34 ±0.094 a	1.96 ±0.082 a	71.23 ±5.77 a	8.04±0.63 a	10.36 ±0.75 b
PKM	11.85 ±0.93 a	1.41 ±0.086 a	2.08±0.095 a	70.44 ±4.98 a	7.96 ±0.59 a	9.59 ±0.81 b

3 讨论

已有报道的研究表明,转 PEPC 基因水稻用¹⁴C 标记后,¹⁴C 较多地固定在 C₄ 原初光合产

物天冬氨酸中,天冬氨酸盐是天冬氨酸代谢途径的最初化合物,而天冬氨酸的积累有利于蛋白质的合成^[24]。种子贮藏的油脂和蛋白质均来自葡萄糖酵解产物(丙酮酸),两物质的合成存在底物

的竞争关系,关键酶丙酮酸羧化酶(PEPCase)和乙酰辅酶 A 羧化酶(ACCase)的相对活性决定两物质的合成数量^[25]。陈锦清等^[26]和张银波等^[27]利用反义技术抑制油菜 *PEPC* 基因表达,使油菜含油量显著提高。虽然很多中间代谢产物把蛋白质和脂肪酸代谢连接在一起,但可能存在空间阻隔或其他障碍阻止了它们之间的联系。油脂和蛋白质合成在一定程度上具有相对独立性。也可能由于“源”的增加,本研究发现转基因水稻中脂肪和蛋白质质量分数均有所提高。

种子是植物的“库”端,由“源”端叶片合成的蔗糖运输到种子中,叶片在光合固定过程中产生的蔗糖是植物有机物质储存和运输的主要形式,也是“库”代谢的主要基质^[28]。*PEPC* 是植物叶片中固定 CO₂ 的主要光合酶,在固定和利用能量物质方面占有突出地位。叶片细胞中 *PEPC* 催化磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)转化为草酰乙酸,由 NADP-苹果酸脱氢酶催化形成苹果酸,而后在叶绿体内 NADP-苹果酸酶催化苹果酸脱羧生成丙酮酸,生成的 NADPH 进入三羧酸循环^[29]。糖代谢的中间产物草酰乙酸、丙酮酸、PEP 等,同时需要消耗 ATP。蔗糖和淀粉合成的原料都是磷酸丙糖,磷酸丙糖是用来合成淀粉,还是用来合成蔗糖,受多种因素的影响,而淀粉、蛋白质和油脂等的积累是一个平衡。本研究发现转 *PEPC* 基因水稻中可溶性糖质量分数下降,而淀粉质量分数差异不显著($P>0.05$),蛋白质和脂类质量分数升高,与碳代谢没有直接关系的灰分和水分的的质量分数则没显著差异。各转基因水稻相应 C₄ 基因酶活性和光合速率都得到显著提高,导入 *PEPC* 基因,使籽粒中单糖和蔗糖等寡聚糖的积累减少,对淀粉等多糖的积累影响较小,促进籽粒中合成更多的脂肪和蛋白质,转基因水稻的千粒质量和单株穗数显著提高,这可能是转基因水稻光合生产力提高的生理生化基础。

淀粉、糖、蛋白质和脂肪等的质量分数与各成分的构成比例决定水稻的品质,本研究比较转 C₄ 基因水稻在农艺性状和营养品质等方面的差异,探讨 C₄ 基因的导入对水稻籽粒中有机物合成的影响,但在脂肪成分的组成,蛋白质氨基酸的结构,糖的类型等方面有待以后深入研究,为水稻的选育以及人类饮食的选择提供更多参考。

参考文献 Reference:

[1] KU MSB, AGARIE S, NOMURA M, *et al.* High level ex-

pression of maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice plant [J]. *Nature Biotechnology*, 1999, 17(1):76-80.

[2] BANDYOPADHYAY A, DATTA K, ZHANG J, *et al.* Enhanced photosynthesis rate in genetically engineered indica rice expressing *pepc* gene cloned from maize [J]. *Plant Science*, 2007, 172(6):1204-1209.

[3] FUKAYAMA H, TSUCHIDA H, AGARIE S, *et al.* Significant accumulation of C₄-specific pyruvate, orthophosphate dikinase in a C₃ plant rice [J]. *Plant and Physiology*, 2001, 127(3):1136-1146.

[4] TAKEUCHI Y, AKAGI H, KAMASAWA N, *et al.* Aberrant chloroplasts in transgenic rice plants expressing a high level of maize NADP-dependent malic enzyme [J]. *Planta*, 2000, 211(2):265-274.

[5] 张边江, 华 春, 周 峰, 等. 转 *PEPC*+*PPDK* 双基因水稻的光合特性 [J]. 中国农业科学, 2008, 41(10):3008-3014.
ZHANG B J, HUA CH, ZHOU F, *et al.* Photosynthetic characteristics of transgenic rice with *PEPC*+*PPDK* gene [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(10):3008-3014 (in Chinese with English abstract).

[6] 王红梅, 刘清泉, 顾铭洪. 稻米蛋白营养品质及其遗传改良 [J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(2):391-396.
WANG H M, LIU Q Q, GU M H. The nutritional quality of rice proteins and its genetic improvement [J]. *Plant Physiology and Molecular Biology*, 2007, 43(2):391-396 (in Chinese with English abstract).

[7] 吴关庭, 郎春秀, 胡张华, 等. 应用反义 *PEP* 基因表达技术提高稻米脂肪质量分数 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2006, 32(3):339-344.
WU G T, LANG CH X, HU ZH H, *et al.* Raising fat content in transgenic rice by anti-*PEP* gene transformation [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2006, 32(3):339-344 (in Chinese with English abstract).

[8] JIAO D M, LIN L L, ZHANG B J. Performance of transgenic rice expressing C₄ photosynthesis enzyme [J]. *IRRN*, 2007, 32:26.

[9] ZHANG B J, LING L L, WANG R F, *et al.* Photosynthetic characteristics and effect of ATP in transgenic rice with phosphoenolpyruvate carboxylase and pyruvate orthophosphate dikinase genes [J]. *Photosynthetica*, 2009, 47(1):133-136.

[10] LING L L, LIN H H, JI B H, *et al.* CO₂ exchange and chlorophyll fluorescence of phosphoenolpyruvate carboxylase transgenic rice pollen lines [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2006, 48(12):1431-1438.

[11] 王德正, 王守海, 吴 爽, 等. 玉米 *pepc* 基因在杂交转育的转基因水稻后代中的传递和表达特征 [J]. 遗传学报, 2004, 31(2):195-201.

WANG D ZH, WANG SH H, WU SH, *et al.* Inheritance and expression of the maize *pepc* gene in progenies of transgenic rice bred by crossing [J]. *Acta Genetica Sinica*,

- 2004,31(2):195-201(in Chinese with English abstract).
- [12] 张边江,凌丽俐,陈全战,等. ATP 是构建类似 C_4 水稻的重要限制因素[J]. 华北农学报,2009,24(4):17-22.
ZHANG B J, LING L L, CHEN Q ZH, *et al.* A key limited factor ATP of constructing C_4 -like rice[J]. *Acta Agricultura Boreali-Sinica*, 2009, 24(4):17-22(in Chinese with English abstract).
- [13] GONZALEZ D H, IGLESIAS A A, ANDEO C S. On the regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase activity from maize leaves by L-malate; effect of pH[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1984, 116(5):425-429.
- [14] HATCH M D, SLACK C R. Pyruvate, Pi dikinase from leaves[M]// *Methods in Enzymology*. New York: Academic Press, 1975:212-219.
- [15] 陈景治,陈冬兰,吴敏贤,等. 高粱和小麦叶片苹果酸酶某些特性比较[J]. 植物生理学报,1981,7(4):345-350.
CHEN J ZH, CHEN D L, WU M X, *et al.* Comparison of some characteristics of NADP-malic enzyme from sorghum and wheat leaves[J]. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1981, 7(4):345-350(in Chinese with English abstract).
- [16] 李 斌,陈冬兰,施教耐. 高粱 NADP 苹果酸脱氢酶的纯化及其分子特性[J]. 植物生理学报,1994,13(2):113-121.
LI B, CHEN D L, SHI J N. Purification and molecular properties of NADP dependent malate dehydrogenase from sorghum leaves[J]. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1994, 13(2):113-121(in Chinese with English abstract).
- [17] 中华人民共和国国家标准. 食品中水分的测定 GB5009. 3-2010[S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2010.
National Standards of the People's Republic of China. Determination of Moisture in Foods GB5009. 3-2010[S]. Beijing:Minister of Health of the People's Republic of China, 2010(in Chinese).
- [18] 中华人民共和国国家标准. 食品中灰分的测定 GB5009. 4-2010[S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2010.
National Standards of the People's Republic of China. Determination of Ash in Foods GB5009. 4-2010[S]. Beijing:Minister of Health of the People's Republic of China, 2010(in Chinese).
- [19] 中华人民共和国国家标准. 食品中脂肪的测定 GB/T 5009. 6-2003 [S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2003.
National Standards of the People's Republic of China. Determination of Fat in Foods GB/T 5009. 6-2003 [S]. Beijing:Minister of Health of the People's Republic of China, 2003(in Chinese).
- [20] 中华人民共和国国家标准. 食品中蛋白质的测定 GB5009. 5-2010 [S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2010.
National Standards of the People's Republic of China. Determination of Protein in Foods GB5009. 5-2010[S]. Beijing:Minister of Health of the People's Republic of China, 2010(in Chinese).
- [21] 中华人民共和国国家标准. 食品中淀粉的测定 GB5009. 9-2008 [S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2010.
National Standards of the People's Republic of China. Determination of Starch in Foods GB5009. 9-2008[S]. Beijing:Minister of Health of the People's Republic of China, 2008(in Chinese).
- [22] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2009.
ZHANG ZH L. Plant Physiology Experiment Instruction [M]. Beijing:Higher Education Press, 2009(in Chinese).
- [23] 韩 赞,李 成,张 远,等. 稻米储藏加工过程中水分控制与调节的研究[J]. 粮食与食品工业,2014,21(4):44-46.
HAN Y, LI CH, ZHANG Y, *et al.* Research on moisture control and conditioning of rice in storage and processing [J]. *Cereal and Food Industry*, 2014, 21(4):44-46(in Chinese with English abstract).
- [24] JIAO D M, KUANG T Y, LI X, *et al.* Physiological characteristics of the primitive CO_2 concentrating mechanism in PEPc transgenic rice[J]. *Science China-Life Sciences*, 2003, 46(4):438-446.
- [25] 赵翠格,刘 颀,李凤兰,等. 植物种子油脂的生物合成及代谢基础研究进展[J]. 种子,2010,29(4):55-62.
ZHAO C G, LIU D, LI F L, *et al.* Advances in research on seed oil biosynthesis and basal metabolism [J]. *Seed*, 2010, 29(4):55-62(in Chinese with English abstract).
- [26] 陈锦清,黄锐之,郎春秀,等. 油菜 PEP 基因的克隆及 PEP 反义基因的构建[J]. 浙江大学学报,1999,25(4):365-367.
CHEN J Q, HUANG R ZH, LANG CH X, *et al.* Molecular cloning and sequencing of the PEP gene from *Brassica napus* and the construction of the antisense PEP gene [J]. *Journal of Zhejiang Agricultural University*, 1999, 25(4):365-367(in Chinese with English abstract).
- [27] 张银波,江木兰,胡小加. 油菜 PEPase 基因的克隆及其对应 RNAi 载体的构建[J]. 中国油料作物学报,2005,27(1):1-4.
ZHANG Y B, JIANG M L, HU X J. Molecular cloning of the PEPase gene from *Brassica napus* and the construction of its corresponding RNAi vectors[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Scieives*, 2005, 27(1):1-4(in Chinese with English abstract).
- [28] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,2012.
PAN R CH. Plant Physiology [M]. Beijing:China Higher Education Press, 2012(in Chinese).
- [29] 崔继林. 光合作用与生产力[M]. 南京:江苏科技出版社,2000:347.
CUI J L. Photosynthesis and Productivity [M]. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press, 2000:347(in Chinese).

Grain Yield and Quality Analysis of Transgenic Rice Expressing C₄ Enzymes

ZHANG Bianjiang, TANG Ning, CHEN Quanzhan, YANG Ping and WANG Like
(School of Food Science, Nanjing Xiaozhuang University, Nanjing 211171, China)

Abstract Taking untransformed rice (*Oryza sativa* L. subsp. *japonica*) and transgenic rice with different C₄ photosynthesis genes as materials, the activity of C₄ photosynthesis enzymes and the net photosynthetic rate (P_n), the moisture, ash, fat, starch, protein and total sugar mass fraction were measured. The results showed that C₄ photosynthesis enzymes activities in different transgenic rice had high expression and P_n of *PEPC* transgenic rice increased significantly. The moisture, ash and starch mass fraction in the transgenic rice were similar to that of control. The protein and fat mass fraction significantly increased in *PEPC* transgenic rice, the *PEPC*, *PPDK* transgenic rice and the transgenic rice with *PEPC*, *PPDK* and *ME* genes, while the soluble sugar mass fraction was significantly lower than those of the control. The *PEPC* gene was beneficial to protein and fat accumulation in transgenic rice, and it maybe the physiological and biochemical basis for improving photosynthetic productivity in transgenic rice expressing C₄ enzymes.

Key words Transgenic rice; C₄ genes; Grain yield and quality; Nutritional components

Received 2015-12-08 **Returned** 2016-03-09

Foundation item Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. SBK2015040083); Natural Science Foundation of Jiangsu's Universities(No. 14KJB210005).

First author ZHANG Bianjiang, male, Ph. D, associate professor. Research area: crop physiology and molecular biology. E-mail: zhangbjiang1979@aliyun.com

(责任编辑:成 敏 **Responsible editor: CHENG Min**)