

DOI: 10.13376/j.cblls/2015144

文章编号: 1004-0374(2015)08-1047-08



何中虎, 博士, 中国农业科学院作物科学研究所研究员, 兼 CIMMYT 中国办事处主任、*Journal of Cereal Science* 编委。在小麦品质研究与优质品种培育、分子标记开发与应用、推动国内外学术交流和人才培养方面做出重要贡献。作为第一完成人, 获国家科技进步奖一等奖 1 项和北京市科技奖一等奖 2 项, 以及中华农业英才奖和光华工程科技奖。此外, 还当选为美国作物学会和美国农学会 Fellow 及 CIMMYT 杰出科学家。领导的小麦品质团队被农业部授予“中华农业科技创新团队奖”。

作物锌生物强化研究进展

郝元峰^{1,2}, 张 勇¹, 何中虎^{1,2*}

(1 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; 2 国际玉米小麦改良中心(CIMMYT), 墨西哥 56237)

摘 要: 微量营养素缺乏又称“隐性饥饿”, 已经成为全球最普遍的公共健康问题, 尤其是对于发展中国家的妇女和学前儿童。锌是人体必需的微量营养素, 培育和推广富锌作物品种是减少贫困地区锌缺乏的有效手段, 国际生物强化项目 (HarvestPlus) 在这一领域处于全球领导地位。介绍了 HarvestPlus 项目的发展历程, 总结了国内外锌生物强化的最新进展, 并结合 CIMMYT 开展小麦锌生物强化育种的实例, 对育种中相关问题进行了探讨。

关键词: 生物强化; 锌; 微量营养素缺乏; 品种培育; HarvestPlus

中图分类号: Q945.14 **文献标志码:** A

Progress in zinc biofortification of crops

HAO Yuan-Feng^{1,2}, ZHANG Yong¹, HE Zhong-Hu^{1,2*}

(1 Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

2 International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Mexico 56237)

Abstract: Micronutrient malnutrition, the so-called hidden hunger, affects more than one third of the world's population, especially women and preschool children in developing countries. Zinc is an essential trace element for humans. HarvestPlus is a global leader in reducing zinc deficiency by breeding zinc-enriched crops, which are accessible to remote resource-poor people. In this paper, we reviewed the starting and three developmental phases of the HarvestPlus program, the latest progress on zinc biofortification, and the breeding practice in CIMMYT for zinc-biofortified wheat cultivars. The issues related to biofortification breeding were also discussed.

Key words: biofortification; zinc; micronutrient deficiency; crop development; HarvestPlus

收稿日期: 2015-01-04

基金项目: 引进国际先进农业科学技术计划2011-G3 (4)

*通信作者: E-mail: zhhecaas@163.com; Tel: 010-82108756

锌是人体必需的微量营养元素。自 20 世纪 60 年代在伊朗和埃及报道锌缺乏患者以来^[1-2], 锌在人体中的重要生物学功能得到了广泛深入的研究^[3-5]。与铁元素不同, 锌属于“II 型”元素。当锌缺乏程度加剧时, 机会会释放骨骼及肌肉中的锌以维持血液中的锌含量^[6]。因此, 只有对个体的身高体重等进行长期跟踪监测, 才能发现锌缺乏症状。另外, 锌参与几乎所有的人体代谢活动, 导致锌缺乏症状类型复杂并因人而异, 故辨别难度大, 特别是轻度锌缺乏患者。一般来讲, 中度或重度锌缺乏患者主要表现为生长发育迟缓、皮肤粗糙、食欲不振、精神倦怠、青少年男性性腺机能减退、细胞介导的免疫功能障碍以及异常的感觉神经变化等^[3]。目前还没有有效方法来检测个体锌水平, 这也是锌缺乏被长期忽视的主要原因^[7]。根据食物供给中有效锌的总量及 5 岁以下儿童身高不足发生率估计, 全世界约 17% 的人口锌摄入量不足^[8], 5 岁以下儿童因锌缺乏而导致死亡的人数每年达 11.6 万人^[9]。因此, 人体缺锌已成为非常普遍的公共健康问题。

土壤缺锌广泛存在。对来自 25 个国家 190 个作物主产区的土壤进行分析, 发现近 50% 的土壤都存在缺锌问题^[10]。孟加拉、土耳其等国家土壤缺锌非常严重^[11-12]。土壤缺铁的比例仅为 3% 左右^[10], 但高达 30% 的世界人口患有贫血, 多数都为缺铁性贫血(世界卫生组织, 2011)。Graham 等^[13]综合了农学及医学两方面的文献, 提出缺铁性贫血在很大程度上是由于缺锌引起的, 锌缺乏是终极意义上的“隐性饥饿”。

人体锌缺乏的干预手段主要有 4 种, 即膳食多样化、营养补充剂、食物强化和生物强化(biofortification)^[14]。膳食多样化被认为是解决微量营养元素缺乏的最终途径, 与营养补充剂、食物强化类似, 这些方法仅局限于发达城市或者经济状况较好的地区^[15]。对于发展中国家的边远贫困地区, 比如非洲撒哈拉以南及南亚等锌缺乏最严重的区域^[8], 人体所需的锌主要来源于作为主食的粮食作物^[16], 在这些地区生物强化被认为是最有前景、经济有效并可持续的一种干预手段^[15]。

生物强化是指通过育种等手段提高农作物微量营养元素含量的方法^[14], 即通过遗传改良提高作物自身营养价值, 不同于食品加工过程中添加营养物质的食物强化^[15]。本文将作者在国际玉米小麦改良中心(CIMMYT)从事的国际生物强化项目(HarvestPlus)培育富锌小麦品种为例, 对锌生物强

化的研究进行评述。

1 国际生物强化项目概况

1993 年前后, 国际农业研究磋商组织(CGIAR)下属的研究中心首先提出培育富含微量营养元素作物新品种的设想^[17]。1995~2002 年, 在 CGIAR 微量营养元素项目支持下, 相关研究中心启动了这方面的工作, 主要目标作物是富铁水稻、高维生素 A 玉米、富铁大豆及高维生素 A 甘薯。项目由国际粮食政策研究所(IFPRI)发起并负责协调, 主要参加单位包括澳大利亚阿德莱德大学威特农业研究所、美国农业部作物土壤及营养实验室(位于康奈尔大学)、国际水稻研究所(IRRI)、国际玉米小麦改良中心(CIMMYT)及国际热带农业研究中心(CIAT)。这些初步研究为后来生物强化挑战项目(biofortification challenge program)的立项奠定了基础, 并使其成为首批资助的 3 个 CGIAR 挑战项目之一。值得强调的 3 位专家, 即澳大利亚阿德莱德大学的 Robin Graham 教授、美国农业部康奈尔大学的植物生理学家 Ross Welch 及国际粮食政策研究所的 Howarth Bouis 博士(HarvestPlus 项目主任), 为世界范围内开展生物强化研究做出了杰出贡献^[16-21]。

生物强化挑战项目于 2003 年启动, 同年 7 月更名为“HarvestPlus”, 更名的目的是便于与 CGIAR 系统以外的学者及媒体进行更好地交流。“Plus”不仅指在高产的基础上, 作物新品种富含更多营养, 还是为联合多学科与多部门共同解决隐性饥饿问题而搭建的一座桥梁。2004 年, 比尔和梅琳达·盖茨基金会开始资助该项研究, HarvestPlus 项目正式成立(<http://www.harvestplus.org/>), 由国际热带农业研究中心和国际粮食政策研究所共同协调。HarvestPlus 项目涉及多个学科的合作, 主要有育种、栽培与土壤营养、人类营养、农业经济、市场营销、社会科学等领域, 来自 40 多个国家的 300 多位科学家参加。经过 10 多年的运行、总结、修订和不断完善, HarvestPlus 项目经历了 3 个阶段: 发现(discovery)、发展(development)和发送(delivery)。第一阶段 2003~2008 年, 内容包括明确隐性饥饿发生严重的人群及他们主要的粮食结构, 设定作物微量营养元素需要达到的育种目标, 筛选种质资源和开发高通量的营养元素分析技术等。第二个阶段 2009~2013 年, 在前期基础上继续进行作物品种改良即育种、基因型和环境的互作效应、营养元素的保持及生物有效性、营养元素在人体中的有效性研究等。第三

个阶段 2014~2018 年, 主要内容包括生物强化作物新品种的审定、品种推广、市场调研、大众接受度以及能否改善目标群体的营养状况等^[15]。通过对以上各方面的综合研究, 将彰显 HarvestPlus 项目的影响力, 基本实现其既定的宗旨和目标, 即通过培育富含微量营养元素的作物品种来减少世界范围内的隐性饥饿, 让一粒种子改变世界。

目前 HarvestPlus 项目生物强化涉及的作物包括水稻、小麦、玉米、大豆、甘薯、木薯和珍珠粟等, 目标营养元素包括维生素 A、锌和铁等, 目标国家和地区主要集中在非洲和南亚^[22]。截至目前, 项目总投入已超过 2 亿美元, 资助主要来自比尔和梅琳达·盖茨基金会、世界银行、美国国际开发署 (USAID)、英国国际发展部 (DFID)、丹麦皇家外交部 (DANIDA)、瑞典国际发展部 (SIDA)、亚洲开发银行 (ADB)、国际生命科学研究所 (ILSI) 及奥地利财政部等。

2 锌生物强化研究进展

从 2003 年项目启动以来, HarvestPlus 已经取得了许多令人瞩目的成果。2014 年 3 月 31 日~4 月 2 日, 在卢旺达召开了“第二届生物强化全球会议”, 主题是“为人们提供富含营养的食物”(Getting Nutritious Foods for People)。会上系统总结了过去 10 多年 HarvestPlus 取得的进展, 并根据最新的研究成果对原来设定的目标进行了调整。比如, 富锌水稻和小麦的育种目标从原来比对照品种增加 8 mg/kg 调整为现在的增加 12 mg/kg, 富锌小麦在人体的吸收率从 25% 下降为 15% 等。主要 7 种作物的铁、锌和维生素 A 育种都取得了较好进展, 通过传统育种方法, 均有品种在目标地区审定。下面将集中论述锌生物强化取得的进展。

2.1 新品种培育及其他强化措施

在 HarvestPlus 项目支持下, 锌生物强化的目标作物主要为水稻和小麦。水稻锌生物强化的目标国家为孟加拉国和印度, 育种工作主要由国际水稻研究所 (IRRI)、孟加拉水稻研究所 (BRRI) 及印度农业科学研究所 (NARS) 承担。设定的育种目标为较普通对照品种籽粒锌含量 (约 16 mg/kg) 增加 12 mg/kg, 达到 28 mg/kg。这一目标分三个阶段来实现, 第一阶段增加 6~8 mg/kg, 第二阶段增加 8~12 mg/kg, 第三阶段增加值超过 12 mg/kg。IRRI 通过筛选 7 500 多份水稻种质, 发现了一些锌含量高的种质资源, 并与适应性广的高产品种进行杂交,

培育出高产、抗病、耐逆、优质、适应性广并富锌的水稻新品系。IRRI 每年为 BRRI 等提供超过 3 000 份不同世代的富锌材料, 显著加快了当地育种进程。2013 年, 孟加拉审定了第一个富锌生物强化水稻品种“BRRI dhan62”, 表现为极早熟, 籽粒锌含量为 20 mg/kg 左右。另外, BR7840-54-3-1、BR7840-54-2-5-1 和 BR7840-54-1-2-5 等新品系在区试中也表现突出, 锌含量比对照增加 6~8 mg/kg, 预计至少有一个会通过审定。富锌水稻品种也将于近期在印度审定。

小麦锌生物强化主要由 CIMMYT、印度和巴基斯坦承担, 目标国家为印度和巴基斯坦, 设定的育种目标为, 较普通对照品种 (如 PBW343) 的籽粒锌含量 (约 25 mg/kg) 增加 12 mg/kg, 达到 37 mg/kg。与水稻类似, 也是分 3 个阶段来逐步实现育种目标。CIMMYT 通过筛选 3 000 余份种质资源, 发现籽粒锌含量的变异范围为 16~142 mg/kg。其中小麦近缘种及地方品种中的变异范围高, 现代品种中的变异范围较小, 为 16~35 mg/kg^[23-24]。基本思路是将富锌基因型与高产、抗病、适应性好的品种进行杂交, 选择富锌并且农艺性状更优良的锌生物强化小麦, 通过 HarvestPlus 小麦南亚鉴定圃 (South Asia screening nursery) 发送到目标国家和地区。在印度, 第一批的 6 个品种即 BHU1、BHU3、BHU5、BHU6、BHU17 和 BHU18 等已经开始商业化, 其籽粒锌含量平均增加约 7 mg/kg。从 2014 年起, 生物强化小麦品系开始参加印度全国区域试验, 可对苗头品系在不同生态环境、不同播期进行鉴定。巴基斯坦的 3 个候选品系 (NR-419、NR-420 和 NR-421) 已经于 2012 年参加区试, 预计至少有一个品种可以于近期通过审定。

除了通过品种遗传改良来实现生物强化 (genetic biofortification) 外, 农艺措施如施肥等也是对作物进行生物强化的有效途径 (agronomic biofortification)。在 HarvestPlus 锌肥料专项 (HarvestPlus zinc fertilizer project, HarvestZinc) 的支持下, 研究人员发现通过叶面喷肥或者叶面喷肥结合土壤施肥可以显著提高籽粒锌含量, 且对产量没有负效应, 甚至可以略微提高产量^[25]。通过叶面喷肥实验还发现, 氯化锌及硫酸锌是利用锌肥比较好的形式, 叶面喷肥可以和杀虫剂、杀菌剂混合使用, 增加氮肥使用有利于锌的转移和籽粒中锌的积累, 降低喷施锌溶液 pH 值, 如从 8.3 降至 5, 可以提高籽粒锌含量 60%~70%。

除有足够的遗传变异外, 研究快速测定微量元素含量的方法也是生物强化项目的重要内容。电感耦合等离子体发射光谱 (inductively coupled plasma optical emission spectroscopy, ICP-OES)、电感耦合等离子体质谱 (inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)、原子吸收光谱 (atomic absorption spectroscopy, AAS)、比色染色 (colorimetric staining) 和 X 射线荧光光谱 (X-ray fluorescence spectroscopy, XRF) 等技术已经用于这一领域。在 HarvestPlus 项目中, 主要采用 X-Supreme 8000 (Oxford Instruments plc, Abingdon, UK) 或 Bruker S2 Ranger (Bruker Corporation, Massachusetts, USA) 仪器, 利用 X 射线荧光光谱的方法对水稻和小麦育种材料锌元素进行分析^[26-27]。XRF 分析方法基于所有的元素在 X 射线照射下, 都能发射具有特定能量特征或波长特性的次级 X 射线荧光, 通过软件将探测系统收集到的信息转换成样品中各种元素的种类及含量。与其他方法相比, 该方法具有不破坏种子, 检测后的材料可以继续种植, 分析前准备简便、检测快速、低成本、高通量等优点, 一台仪器每天可以检测样品 200 份左右。HarvestPlus 项目组已经在所属研究单位安装了 18 台仪器, 大大提高了育种选择效率。

除了主食作物水稻和小麦外, 扁豆、马铃薯及高粱等的锌生物强化工作也在进行中, 分别由国际干旱地区农业研究中心 (ICARDA)、国际马铃薯中心 (CIP) 和国际半干旱地区热带作物研究中心 (ICRISAT) 负责, 并与目标国家的农业研究单位合作, 预计未来几年也将有品种审定。

2.2 疗效试验、大众接受度及成本效益研究

育成的锌生物强化品种要大面积推广, 还必须经过疗效试验 (efficacy trial), 即通过食用生物强化的食品能显著改善人的营养状况。前期在墨西哥进行的小麦对比吸收试验 (absorption trial) 表明, 成年女性连续 2 d 食用锌生物强化小麦 (41 mg/kg) 或对照普通小麦 (24 mg/kg) 后 (300 g/d), 身体吸收锌的总量前者比后者高 0.5 mg/d, 差异显著^[28]。瑞典也正在类似试验, 研究结果待发表。两组疗效试验正在印度展开, 一组试验对象为学龄儿童, 由瑞士国家理工学院 (ETH-Zurich) 负责; 另一组为学前儿童及其母亲, 由美国康奈尔大学负责。但在水稻上的吸收试验结果却不尽相同。例如, 孟加拉国学前儿童分别喂食锌生物强化大米和普通大米后, 发现人体吸收锌总量没有差异, 可能是由于供试锌生

物强化大米的含量增幅太低及含有较高的叶酸所致^[29]。重复试验及进一步的疗效试验正在进行中。珍珠粟虽然被选为铁生物强化的作物, 但最近在印度进行的吸收试验表明, 与普通对照品种相比, 食用铁生物强化的珍珠粟可使人体所吸收锌的总量大幅提升, 生物强化珍珠粟可以完全满足 2 岁儿童对锌及铁元素的生理需求^[30]。

生物强化项目能否达到预期目标, 很大程度上还依赖于目标国家对生物强化食品接受程度。以高维生素 A 生物强化玉米为例, 很多地区的消费者认为富含维生素 A 前体的桔色玉米适合于做饲料, 而人只能食用白粒玉米, 但白粒玉米恰恰缺乏维生素 A 前体。在大众接受方面, 富锌作物优势较大, 不存在感官问题。所有生物强化作物品种都要做到高产广适与高微量营养相结合, 这是大面积推广的前提^[23]。

成本效益分析 (cost-effectiveness analysis, CEA) 可以用来比较和衡量不同营养干预措施的效果, 医学上一般用失能调整生命年 (disability-adjusted life years, DALY) 作为指标。DALY 是指某一特定情况比如锌微量营养元素缺乏所引起的患病、残疾及早亡等所有疾病负担的总和, 以失去的生命年数来表示。通过计算“每挽回 1 个失能调整生命年的费用” (cost per DALY saved), 可以评价各种营养干预措施的成本效益。世界卫生组织 CHOICE (choosing interventions that are cost effective) 认为, 如果挽回 1 个 DALY 的费用低于每年的人均国民收入, 那么这种干预措施就是“非常经济有效”。如果费用是年人均国民收入的 1~3 倍, 那么干预措施为“经济有效”。初步研究表明, 在减少锌缺乏方面, 每挽回 1 个 DALY, 印度和巴基斯坦利用富锌小麦的花费分别为 1~4 美元和 3~18 美元, 远远低于其 1 499 美元和 1 299 美元的人均国民收入 (未发表资料)。因此, 锌生物强化作为营养干预措施“非常经济有效”。这与食物强化 (cost per DALY saved 为 16~27 美元) 及营养补充剂 (7~58 美元) 相比, 单从成本效益来看, 生物强化项目具有非常大的优势^[31]。

2.3 品种推广

Bouis 和 Welch^[22] 提出生物强化要取得成功, 必须具备三个条件。一是育种工作必须成功, 选育的生物强化品种既要富含营养也要高产; 二是疗效试验验证有效, 通过食用生物强化的食品能显著改善人们的营养状况; 三是生物强化的作物品种能被种植业主和消费者接受, 并大面积推广。经过审定

的品种能大面积推广应用是生物强化项目研究的出发点和落脚点,也是整个生物强化项目成功与否的最关键所在。早在2010年于美国召开的“第一届生物强化全球会议”上,HarvestPlus就突出强调品种推广的重要性,将会议主题定为“从发现到发送”(from discovery to delivery),并以项目的旗舰产品高维生素A的桔色甘薯为案例,深入探讨其在非洲推广的方式与方法,以及在推广过程中积累的经验教训。

富锌水稻和小麦目前已有品种通过审定或即将审定,下一步的推广工作将成为HarvestPlus项目的重要内容。预计在2013~2018年,项目将投入约290万美元用于富锌小麦品种推广,约1000万美元用于富锌水稻品种推广。据估计,巴基斯坦在2018年将有25万农户种植锌生物强化小麦品种,约占市场份额的1.5%左右;孟加拉国在2016年将有50万农户种植锌生物强化水稻品种,在2018年富锌水稻品种的市场占有率将超过3%。

2.4 中国生物强化研究

在国际生物强化项目(HarvestPlus)的协助下,“中国生物强化项目”(HarvestPlus-China)于2004年11月启动,由中国农业科学院主持,全国约40家单位参加。历经10年的发展和100余名中外科学家的共同努力,项目已经基本达到预期目标。培育了18个生物强化的苗头品系,其中8个(1个小麦、1个水稻、1个玉米和5个甘薯品种)已经审定,另外一个玉米杂交种即将审定。高维生素A桔色甘薯的疗效试验已经完成。小麦和甘薯的成本效益分析及影响力评价表明,生物强化在边远贫困地区是减少隐性饥饿经济有效的方法,能显著改善人们的营养状况。

品种扩繁和推广也取得显著进展。2010~2011年,10个高维生素A的甘薯品种或品系在维生素A缺乏的四川、重庆、江苏、山东、福建、广东及广西等地区种植,超过2万株脱毒甘薯被分发到种植户手中;2011~2012年,桔色或者紫色甘薯在四川、重庆、江苏和山东的推广面积达到2000hm²;2010~2014年度,富锌小麦品种“中麦175”累计推广面积超过27万hm²,该品种不仅高产,而且水肥利用效率高,已成为中国北方冬麦区第一大品种和区域试验的对照品种。

由张春义、王磊主编的《生物强化在中国》一书全面系统地介绍了生物强化工作在中国开展的背景、现状、进展和研究意义等,在此不再赘述,建

议关注中国作物营养强化网(<http://www.harvestplus-china.org/>)。

3 CIMMYT小麦锌生物强化育种

3.1 种质资源筛选

在HarvestPlus项目启动初期甚至之前,CIMMYT就开始筛选富锌小麦种质资源。这些材料包括野生(栽培)一粒小麦、野生(栽培)二粒小麦、硬粒小麦、粗山羊草、小黑麦、人工合成小麦、小麦地方品种、前育种材料及现代品种等^[23-24]。以种植于墨西哥Oregon的170份材料为例,籽粒锌含量范围为25~65mg/kg,平均值为35mg/kg。在锌含量最高的12个材料中,来自栽培二粒小麦、地方品种、前育种材料和普通小麦品种的各占3个。栽培二粒小麦PI254187锌含量最高为65mg/kg,为锌生物强化育种的重要资源^[24]。

3.2 组合配制与分离世代选择

在种质资源库中发现的富锌材料,大多农艺性状较差,如植株偏高、熟期偏晚、籽粒性状不佳、抗病性较差等,需要与农艺性状优良的品种或高代品系进行杂交,大部分还需要回交。HarvestPlus小麦育种项目每年(含两个生长季)大约配制800个左右的组合,单交、顶交(回交或三交)各一半,约为普通小麦育种配制组合的1/4左右。因为籽粒锌含量是较为复杂的数量性状,由多个微效位点控制,采用一次回交,以使更多的富锌位点保留下来^[32]。分离世代的选择采用选择混合法(selected bulk),即将一个组合内标记中选单株的穗子(1穗每株)混收混脱,经过网筛剔除小的籽粒后,随机取出一定量种子种植为下一世代^[32-33]。在HarvestPlus项目中,一般一个组合F₂群体为1800个单株左右,F₃和F₄约600个单株,为普通小麦育种群体大小的1.5倍。F₅或者F₆较稳定世代种成穗行,以便进行农艺性状初步鉴定。

3.3 高代农艺性状评价及锌含量测定

高代稳定的穗行经过田间农艺性状初步考察,主要包括株高、成熟期、抗病性、生物量、抗倒伏等及籽粒性状筛选,然后测定入选品系籽粒锌和铁含量,根据锌含量和综合农艺性状等来决定品系取舍。中选的品系经过第一年产量试验(1个环境,3次重复)及锌含量测定后,成为HPAN(HarvestPlus advanced nursery,或HarvestPlus South Asia screening nursery)的候选材料,并进入第二年的产量试验(6个环境,各3次重复)。经过第二年产量试验的筛选,

约 100 份材料进入 HPAN, 在印度的 10~15 个试验点以及巴基斯坦和墨西哥各 5 个试验点进行多点种植, 检测籽粒锌含量的基因型与环境的互作效应 ($G \times E$)。产量和锌含量均表现突出且稳定的约 50 个品系最终进入 HPHYT (HarvestPlus South Asia yield trial), 在印度和巴基斯坦的 20 多个地区进行产量试验。如前所述, 从 2014 年起生物强化小麦开始参加印度全国区域试验。

3.4 高代品系的释放

2013~2014 年度, 第一个锌生物强化小麦品种“SAI ZINC SHAKTHI”由印度“Sai”种业公司审定并推广。“SHAKTHI”在印度语中意为“力量”。SAI ZINC SHAKTHI (CMSA06M00195T-099Y-099Y-9M-0Y-7B-0Y) 的系谱为: CROC/SQUARROSA (210)//INQALAB91*2/KUKUNA/3/PBW343*2/KUKUNA, 为早熟品种, 锌含量比对照品种增加 14 mg/kg, 且增产 2% 左右, 可以在印度和巴基斯坦等国种植, 其锌供体为人工合成小麦 CROC/SQUARROSA (210), 这是继中国的川麦 42 成功利用人工合成小麦育成新品种的又一突破。在 CIMMYT 推荐的 10 个苗头品系中, 除了这一审定的品种外, 有 5 个品系的锌供体来源于地方品种, 3 个来自人工合成小麦, 1 个来自斯贝尔托小麦。与小麦近缘种属材料及人工合成小麦相比, 地方品种的农艺性状更容易改良。

3.5 育种中的几个问题

生物强化是作物育种的一个新方向, 在 HarvestPlus 的支持下, 小麦生物强化育种已取得较大进展, 但仍以下几个问题值得关注。

提高锌含量的其他技术途径。一是多糊粉层小麦 (multiple aleurone layer): 糊粉层是锌富集的区域, 借鉴多糊粉层玉米的成功案例^[34], 通过诱变的方法创制多糊粉层小麦。二是高植酸酶小麦: 小麦含有丰富的植酸酶变异, 目前 CIMMYT 已经开始利用比普通小麦酶活性高 5~8 倍的高植酸酶小麦 (“HighPhy”, 受专利保护) 提高锌元素的生物有效性 (bioavailability), 但目前材料的农艺性状较差, 类似人工合成小麦, 改良难度较大。

早代选择。对早期分离群体进行选择一直是培育富锌小麦的难点。在 CIMMYT, 早代以农艺性状选择为主, 高代再进行籽粒锌含量的选择, 这样在育种中就会不可避免地丢失富锌的位点, 目前急需发掘在不同背景下都能稳定表达的主效 QTL, 利用连锁的分子标记在早代进行辅助选择, 或其固

定到一系列高产亲本材料中, 早期可以不用对锌含量选择, 因为这些位点已经固定在了分离群体中, 而集中在农艺性状的选择上^[35]。这一方法本身是成熟的, 在主效矮秆基因 (*Rht*) 和微效慢锈病 (Slow rusting) 基因的应用中都取得了成功, 已经分别固定在美国和 CIMMYT 的种质材料中^[36-37]。

穿梭育种。在锌肥充足的土壤环境下收获的分选世代单株, 如果籽粒锌含量高的单株比低的在缺锌土壤环境中更具优势, 可以尝试将 F_2 代种植于富锌环境中, 将中选收获的 F_3 代再种植于缺锌环境, 实现不同环境的穿梭育种。当然这需要进一步设计试验来检验其可行性。

产量和营养元素同步选择。继续发现和利用能同时提高微量营养元素含量及产量相关性状的一因多效位点。在选择农艺性状的同时, 也能提高微量营养元素含量, 如在 CIMMYT 种质中发现了位于 2B 染色体上的既能提高籽粒锌含量、千粒重, 又能增加籽粒大小的位点^[35]。

4 展望

“绿色革命”起始于 20 世纪 60 年代, 二三十年的时间里, 虽然全球人口增加了一倍, 粮食的总产量却提高了近两倍, 使数以亿计的人口免于饥荒^[38]。由于育种中单一追求产量, 与营养相关的品质性状被忽略, 微量营养元素甚至从来没有被列为育种目标, 导致绿色革命育成的品种微量营养元素下降, 不能满足人体健康需要, 伴随而来的就是 20 世纪 80 年代后, 在以粮食作物为主食的贫困人群中, 缺铁性贫血及其他微量营养元素缺乏的人口不断增加^[13]。“印度绿色革命之父”、首届“世界粮食奖”获得者 Monkombu Swaminatha 多次指出: “我们必须让农业和营养再次联姻, 两者已经被分开的太久。”^[39] 国际生物强化项目就是在这种背景下产生, 并逐渐发展为联系农业与营养和人类健康的重要纽带。

本文通过介绍 HarvestPlus 项目的创立、发展及在锌生物强化方面的最新进展, 结合 CIMMYT 开展小麦锌生物强化育种的实例, 以期让读者更好地了解生物强化, 让育种家更加重视生物强化育种, 让营养学家不断参与并验证生物强化食物的功效, 让消费者接受生物强化的产品, 让经营生物强化产品的经营者获利, 最终让微量营养元素缺乏的人群, 特别是边远贫困地区人们的营养状况得到改善。在 HarvestPlus 项目 10 多年来的推动下, 如前所述,

生物强化取得了巨大的成就。展望未来, 从育种者的角度来看, 还有一些需要注意或强调的问题。首先, 确定微量营养元素的育种目标, 甚至把它放到更高的位置, 充分挖掘现有的种质资源, 将尽量多的优异位点固定到高产品种中。其次, 及时应对全球气候变化及温室效应等对作物中微量营养元素含量可能造成的影响。比如, 二氧化碳浓度的增加会引起 C₃ 作物籽粒锌、铁含量的下降, 而对 C₄ 作物的影响不大^[40]。再次, 继续加大多学科之间的交流与合作。以育种为例, 目前只有高通量的分析技术大大提高了选择效率, 降低了育种成本, 而大多数生物技术研究成果还没有直接应用于育种, 需要不同学科之间配合, 开发更有应用价值的产品或技术。最后, 平衡高产和营养的关系至关重要, 提高营养不能以牺牲产量为代价, 而是要继续增加产量。目前, 产量已经达到瓶颈, 与产量相关的主效基因, 甚至数目更多的微效基因都已经被选择固定, 将来大幅度提高产量将非常困难, 除非从其他基因库里发现新的高产位点并转移到小麦中^[32], 而从野生材料转移富含微量营养元素的位点到小麦, 不仅丰富了小麦的遗传背景, 创造了新变异, 而且使产量和营养品质同步提高成为可能。

[参 考 文 献]

- [1] Prasad A, Miale Jr A, Farid Z, et al. Zinc metabolism in patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, dwarfism, and hypogonadism. *J Lab Clin Med*, 1963, 61: 537-49
- [2] Prasad AS, Halsted JA, Nadimi M. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. *Am J Med*, 1961, 31(4): 532-46
- [3] Prasad AS. Discovery of human zinc deficiency: its impact on human health and disease. *Adv Nutr*, 2013, 4(2): 176-90
- [4] Chasapis C, Loutsidou A, Spiliopoulou C, et al. Zinc and human health: an update. *Arch Toxicol*, 2012, 86(4): 521-34
- [5] Hershinkel M. Zn²⁺, a dynamic signaling molecule[M]// Tamas MJ, Martinoia E. *Molecular biology of metal homeostasis and detoxification*. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2006: 131-53
- [6] Golden M. Specific deficiencies versus growth failure: type I and type II nutrients. *SCN News*, 1995, 12: 10-4
- [7] Prasad AS. Zinc deficiency: has been known of for 40 years but ignored by global health organisations. *BMJ*, 2003, 326(7386): 409-10
- [8] Wessells KR, Brown KH. Estimating the global prevalence of zinc deficiency: results based on zinc availability in national food supplies and the prevalence of stunting. *PLoS One*, 2012, 7(11): e50568
- [9] Black RE, Victora CG, Walker SP, et al. Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. *Lancet*, 2013, 382(9890): 427-51
- [10] Sillanpaa M. *Micronutrients and the nutrient status of soils: A global study*[M]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United, 1982: 444
- [11] Cakmak I, Kalayci M, Ekiz H, et al. Zinc deficiency as a practical problem in plant and human nutrition in Turkey: A NATO-science for stability project. *Field Crop Res*, 1999, 60(1-2): 175-88
- [12] Morris ML, Chowdhury N, Meisner CA. *Wheat production in Bangladesh. Technological, economic and policy issue*[R]. IFPRI Res Report, 1997, 106: 95
- [13] Graham R, Knez M, Welch R. How much nutritional iron deficiency in humans globally is due to an underlying zinc deficiency? *Adv Agron*, 2012, 115: 1-40
- [14] 张春义, 王磊. *生物强化在中国*[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2009
- [15] Bouis HE, Hotz C, McClafferty B, et al. Biofortification: a new tool to reduce micronutrient malnutrition. *Food Nutr Bull*, 2011, 32(Supplement 1): 31S-40S
- [16] Graham RD, Welch RM, Bouis HE. Addressing micronutrient malnutrition through enhancing the nutritional quality of staple foods: principles, perspectives and knowledge gaps. *Adv Agron*, 2001, 70: 77-142
- [17] Bouis H. Enrichment of food staples through plant breeding: a new strategy for fighting micronutrient malnutrition. *Nutr Rev*, 1996, 54(5): 131-7
- [18] Welch RM, Graham RD. A new paradigm for world agriculture: meeting human needs, productive, sustainable, nutritious. *Field Crop Res*, 1999, 60(1-2): 1-10
- [19] Graham R, Senadhira D, Beebe S, et al. Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: conventional approaches. *Field Crop Res*, 1999, 60(1-2): 57-80
- [20] Bouis HE. Economics of enhanced micronutrient density in food staples. *Field Crop Res*, 1999, 60(1): 165-73
- [21] Welch RM, Combs GF, Duxbury JM. Toward a "greener" revolution. *Issues Sci Technol*, 1997, 14: 50-8
- [22] Bouis HE, Welch RM. Biofortification-A sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the global south. *Crop Sci*, 2010, 50(Supplement 1): S20-32
- [23] Ortiz-Monasterio J, Palacios-Rojas N, Meng E, et al. Enhancing the mineral and vitamin content of wheat and maize through plant breeding. *J Cereal Sci*, 2007, 46(3): 293-307
- [24] Monasterio I, Graham RD. Breeding for trace minerals in wheat. *Food Nutr Bull*, 2000, 21(4): 392-6
- [25] Zou C, Zhang Y, Rashid A, et al. Biofortification of wheat with zinc through zinc fertilization in seven countries. *Plant Soil*, 2012, 361: 119-30
- [26] Paltridge NG, Palmer LJ, Milham PJ, et al. Energy-dispersive X-ray fluorescence analysis of zinc and iron concentration in rice and pearl millet grain. *Plant Soil*,

- 2012, 361: 251-60
- [27] Paltridge NG, Milham PJ, Ortiz-Monasterio JI, et al. Energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry as a tool for zinc, iron and selenium analysis in whole grain wheat. *Plant Soil*, 2012, 361: 261-9
- [28] Rosado JL, Hambidge KM, Miller LV, et al. The quantity of zinc absorbed from wheat in adult women is enhanced by biofortification. *J Nutr*, 2009, 139(10): 1920-5
- [29] Islam MM, Woodhouse LR, Hossain MB, et al. Total zinc absorption from a diet containing either conventional rice or higher-zinc rice does not differ among Bangladeshi preschool children. *J Nutr*, 2013, 143(4): 519-25
- [30] Kodkany BS, Bellad RM, Mahantshetti NS, et al. Biofortification of pearl millet with iron and zinc in a randomized controlled trial increases absorption of these minerals above physiologic requirements in young children. *J Nutr*, 2013, 143(9): 1489-93
- [31] Meenakshi J, Johnson NL, Manyong VM, et al. How cost-effective is biofortification in combating micronutrient malnutrition? An *ex ante* assessment. *World Dev*, 2010, 38(1): 64-75
- [32] Singh R, Huerta-Espino J, Sharma R, et al. High yielding spring bread wheat germplasm for global irrigated and rainfed production systems. *Euphytica*, 2007, 157(3): 351-63
- [33] Singh RP, Rajaram S, Miranda A, et al. Comparison of two crossing and four selection schemes for yield, yield traits, and slow rusting resistance to leaf rust in wheat. *Euphytica*, 1998, 100(1-3): 35-43
- [34] Banziger M, Long J. The potential for increasing the iron and zinc density of maize through plant-breeding. *Food Nutr Bull*, 2000, 21(4): 397-400
- [35] Hao Y, Velu G, Peña R, et al. Genetic loci associated with high grain zinc concentration and pleiotropic effect on kernel weight in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Mol Breed*, 2014, 34(4): 1893-902
- [36] Guedira M, Brown-Guedira G, Van Sanford D, et al. Distribution of *Rht* genes in modern and historic winter wheat cultivars from the Eastern and Central USA. *Crop Sci*, 2010, 50(5): 1811-22
- [37] Singh R, Huerta-Espino J, Bhavani S, et al. Race non-specific resistance to rust diseases in CIMMYT spring wheats. *Euphytica*, 2011, 179(1): 175-86
- [38] Pingali PL. Green Revolution: Impacts, limits, and the path ahead. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(31): 12302-8
- [39] Swaminathan MS. Combating hunger. *Science*, 2012, 338(6110): 1009
- [40] Myers SS, Zanobetti A, Kloog I, et al. Increasing CO₂ threatens human nutrition. *Nature*, 2014, 510(7503): 139-42