水稻品種機能性成分篩 檢與育種策略規劃

撰文/楊嘉凌·李益榮·鄭佳綺·許志聖

言值

人類演化過程對糧食作物的發展步驟依序為安全、衛生、主食、品質與營養,也就是食物吃後先求不傷生命與健康,再求果腹止飢,「吃飽」之後,希望能吃巧」,更進而能有豐富營養,有益人體健康。臺灣稻作經歷 40-60 年代的增產,70-90 年代的品質增進,良質米的概念已深植消費者的生活中,「吃飽」、「吃巧」後,更要「吃營養」、「吃健康」已經是不變的趨勢。育成國人熟知良質米品種—臺稉9號的臺中區農業改良場深知這種趨勢,也體認國內消費大眾對稻米具有保健、營養成分的需求,近年來著力稻米品種礦物元素含量的研究,與國立嘉義大學進行 γ-胺基丁酸 (gamma-aminobutyric acid,GABA) 含量與抗氧化能力等篩檢,並依此規劃適宜的育種策略。

水稻品種高礦物元素含量的篩檢與遺傳行 為

礦物元素影響人體的生理功能,據統計缺乏微量元素的營養問題影響全球數十億人口,因此 1990 年後國際稻米研究所與若干國家都興起稻米礦物元素含量的研究,期望藉由提升高礦物元素含量稻米的產量一舉解決未開發國家的飢餓與營養失調問題。臺中區農業改良場以感應耦合電漿原子發射光譜儀 (ICP-AES, Inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy) 測定 385 個稻種原米粒中大

量元素磷 (P)、鉀 (K)、鎂 (Mg)、鈣 (Ca) 與微量元素 鐵 (Fe)、銅 (Cu)、鋅 (Zn) 與錳 (Mn) 的含量,發現 種原間各元素含量的差異達 2 倍以上,尤其以 Fe、 Zn 與 Mn 含量的變異更大,暗示增加米粒礦物元素 含量的可行性。

若將 385 個種原依其來源地區劃分東亞、東南 亞、南亞、非洲與美洲等五個地區進行比較分析, 非洲稻種原有較高的 Fe 含量,而中、日、韓與臺 灣的東亞地區則有較高的 Mg 含量。日本的相關研 究指出米粒中 Mg 含量與米飯食味有正相關,可能 東亞地區民眾對稻米口感的喜好已影響到該地區的 品種改良, 並已造成該地區米粒礦物元素含量的偏 移。研究也發現:有色米、香米與一些地方種的 Fe 與 Zn 含量較改良品種為高, 若將參試的臺灣地區 100個品種區分為在來種(Landraces) 1985年前以增 加產量」為主的改良品種及1985年後以「提昇米質」 為主的改良品種三個時期,在來種的 Fe、Zn 與 Ca 含量均高於其他兩個時期(表一),顯示臺灣的品種 改良已造成地方品種豐富的礦物元素顯著的下降, 也與前人研究發現之「高產品種並無增加礦物元素 含量的效果」結果相呼應。

利用不同礦物元素進行全互交分析與不同雜交 組合進行世代平均數分析,以了解米粒礦物元素含 量的遺傳行為及其選拔效應,發現礦物元素含量受 到累加性及非累加性效應的影響,且多數礦物元素 含量存在細胞質效應,但相對小於累加性與顯性效 應。由於各礦物元素的遺傳行為各有不同,無法採用同一模式進行探討,就其重要者概述如下: Fe 與 K 含量的顯性效應大於累加性效應,世代平均數的研究更發現 Fe 含量符合簡單累加性模式或累加性一加性×加性交感效應模式; Mg 與 P 含量符合簡單累加性 - 顯性遺傳模式; Zn 與 K 含量符合累加性 - 加性×加性交感模式。各元素含量的狹義遺傳率不高,顯示有明顯的非累加性效應存在,而 Zn、Mn 與 Ca 含量的廣義遺傳率較其他元素含量者為高,顯示此三元素含量較不易受到環境的影響。

水稻品種 γ-胺基丁酸含量的篩檢與其產 出的時差

γ- 胺 基 丁 酸 (gamma-aminobutyric acid,GABA) 是學者在傳統發酵食品發現的有益人體循環與神經系統的化合物,通常發芽稻米富含此營養保健成分。但 GABA 生產量受物 (品)種、溫度、光照等環境因素影響極大,在水稻方面,日本學者發現巨胚的水稻品種含有較高的 GABA 成分,但泰國學者 Warunee et al.(2005) 以 5 個品種進行分析,發現 GABA 的生成量與發芽的芽重無關,但與品種間有相關。本場與嘉義大學食品科學研究所合作,依

據杵淵美倭子等人 (1999) 之方法進行修正,並建立 穩定的 GABA 萃取及定量方法,依此方法進行各稻 米品種間 GABA 含量的檢測。

臺梗9號等7個稉稻品種與臺中和10號等3個和稻品種,共計10個水稻品種在室溫、黑暗條件下發芽,並於發芽12小時後每6小時進行取樣,測定GABA的萃取與定量,發現不同品種在尚未發芽時,其GABA的含量就有所不同,以臺種5號的11.118mg/100g糙米最高,臺中和10號的5.965mg/100g糙米最低;而在發芽後36小時的GABA含量仍以臺梗5號的15.735mg/100g糙米最高,臺中和10號的5.831mg/100g糙米最低(表二)。

由於每個品種 GABA 含量的最高量產出時間各有不同,比較 10 個品種的 GABA 最高含量應以臺種 9 號在發芽後 24 小時的 GABA 含量 17.641 g/100g 糙米最高,若與其在發芽前的原有含量相比,最大增加比率高達 127.8%;次為臺中秈 17 號與臺中秈 10 號在發芽後 24 小時的 GABA 含量分別為 16.944mg/100g 糙米與 16.813mg/100g 糙米,若與其在發芽前的原有含量相比,最大增加比率分別達160.8%與 181.9%(表三)。產業量產高 GABA 含量米時,若再考量品種的食味,則以臺種 9 號與臺中

表一臺灣三個時期稻種原礦物元素含量的比較										
種類	時期	品種數	Fe	Zn	Mn	Ca	Mg	K	Р	
	mg kg ⁻¹									
	A^1	9	21.4a ²	27.1a	18.2a	155a	1109a	2579bc	3122ab	
稉稻	В	18	16.0b	23.1bc	15.3b	123c	989b	2392c	2754c	
	С	34	16.3b	23.8b	15.2b	128bc	1030ab	2506c	2785c	
	А	13	19.4a	27.1a	13.6bc	156a	1106a	2795a	3221a	
秈稻	В	17	12.6c	20.9c	13.2c	119c	1022ab	2445c	2902bc	
	С	9	13.3c	21.8bc	14.5bc	138b	1099a	2708ab	3065ab	
E:¹A, B與 C 三個時期分別代表在來種、1985年以前及1985年以後的改良品種三個時期。 ²同一直列所附英文字母相同者係經LSD 測定 (α=0.05) 差異不顯著。										

表二 室溫遮光下水稻品種於發芽後不同時間的GABA含量 (mg/100g糙米) 品種 高雄139 6.966 10.901 11.162 14.466 8.629 臺稉2 8.778 12.263 10.883 11.318 10.992 臺稉5 11.118 9.713 13.849 15.735 11.472 7.406 9.029 11.282 13.004 臺稉8 10.248 臺稉9 15.889 17.641 14.159 7.745 12.429 臺稉14 7.761 11.822 13.031 14.395 11.236 12.297 14.092 10.903 臺稉16 7.614 11.593 6.667 8.349 11.939 14.150 8.670 臺秈2 5.965 7.949 10.828 16.813 5.831 臺中秈10 6.497 8.810 臺中秈17 8.561 10.064 16.944

表三 各品種於發芽前後GABA含量的最大增加比率

品種	發芽前GABA 含量 (mg/100g糙米)	發芽後GABA 最高含量所需時間 (小時)	發芽後GABA 最高含量 (mg/100g糙米)	最高比率(%)
高雄139	6.966	24	14.466	107.7
臺稉2	8.778	12	12.263	39.7
臺稉5	11.118	36	15.735	41.5
臺稉8	7.406	36	13.004	75.6
臺稉9	7.745	24	17.641	127.8
臺稉14	7.761	24	14.395	85.5
臺稉16	7.614	24	14.092	85.1
臺秈2	6.667	24	14.150	112.2
臺中秈10	5.965	24	16.813	181.9
臺中秈17	6.497	24	16.944	160.8



和 10 號作為發芽糙米產業的生產較佳,而各品種在 發芽後不同時間點呈現不同的 GABA 含量,可作為 產業界生產發芽糙米的參考。

水稻品種抗氧化能力的篩檢

醫學界在疾病與老化研究提出「自由基-抗氧化物質」理論,概要的說,人體生理代謝的過程會產生帶有一個單獨不成對電子的原子、分子或離子」的自由基,而這種自由基性質不穩定,會搶奪其他物質的電子,使自己不成對的電子變得成對(較穩定),此種氧化還原的連鎖反應直接或間接的影響了人體對疾病與老化的抗(耐)性。幸好人體具有修復與抗氧化系統可以對抗或預防自由基的傷害,然而隨著年齡與生理代謝的衰弱,人體的修復與抗氧化功能將逐漸變弱,因此由外來補充輔助人體製造超氧化歧化酶(Superoxide Dismutase,簡稱 SOD)、穀胱甘肽過氧化物酶(Glutathione Peroxidase,簡稱 GSHP)等抗氧化酶的礦物元素(銅、鋅、硒、鐵等)或含抗氧化物質(維生素 C、E、β- 胡蘿蔔素、蕃茄紅素、黃酮類物質等)成為養生保健的方式。

目前用來評估食物抗氧化活性的方法很多,常見的有清除 $DPPH(\alpha,\alpha-diphenyl-\beta-pricrylhydrazyl)$ 自由基能力測定、捕捉過氧化氫 (H_2O_2) 能力測定、還原力測定、硫代巴比妥酸 (thiobarbituric acid, TBA) 法等。本場與國立嘉義大學食品科學系合作測定 29個水稻品種的 DPPH 自由基清除能力與還原力,本文僅介紹 DPPH 自由基清除能力的研究結果。

DPPH 是一種較穩定的自由基,而 DDPH 自由基的甲醇溶液在波長 517nm 有最強吸收值,當 DPPH 自由基與抗氧化物質作用後,抗氧化物質提供 氫質子而清除 DPPH 的自由基,因而自由基就會失 去本身藍紫色的特性而造成吸光值的下降,因此藉由測定 517nm 的吸光值將可判斷樣品抗氧化能力之強弱,因此吸光值越低的樣品對 DPPH 自由基清除能力越佳,其結果可以清除自由基的百分比 (%)表示。

本研究將收穫的29種水稻品種在不同濃度萃 取液測定其 DPPH 自由基清除能力,並以良好的抗 氧化劑 trolox 和 BHT 作為對照標準,各水稻品種 的 DPPH 自由基清除能力隨著萃取液濃度的增加而 增加, 若以對照樣品抗氧化劑 BHT 的 100ppm 之 DPPH 自由基清除能力數值 48.7% 為對照標準,在 1000-2000ppm 即可以達到相等 DPPH 自由基清除 能力的品種有臺農 67、臺農 74、桃園 3、臺稉 5、臺 種 9、桃園 1、臺東 30、臺中 194、臺中和 10、臺中 和 17、臺中糯 70 與臺中和糯 2 等 12 個品種。若以 達到 80% 以上的 DPPH 自由基清除能力作為標準 時,則僅有臺種9、臺中和10與臺中和17等3個品 種可以在 4000ppm 的萃取液濃度達成。在 8000ppm 的萃取液濃度下,除越光、臺農71 與臺種2等3品 種外,所有品種的 DPPH 自由基清除能力都躍升至 80% 以上, 而桃園 3、臺種 5、臺東 30、臺種 9、臺 中和 10 與臺中和 17 等 5 個品種可以達到 90% 以上 的 DPPH 自由基清除能力(表四)。

水稻機能性成分含量的育種規畫

在研發程序上,進行品種機能性成分的篩檢

	表四 第一期作水稻品種之不同濃度萃取液的DPPH自由基清除能力(%)								
品種	濃度(ppm)								
四作里	100	600	1000	2000	4000	8000	10000		
臺中65	22.6	29.6	33.9	43.1	62.6	86.1	89.1		
臺農67	24.5	31.9	39.2	51.2	68.6	89.1	89.8		
臺農74	29.7	30.8	37.0	50.7	71.2	89.6	89.4		
桃園3	29.3	32.7	40.8	56.3	76.5	90.0	93.9		
臺中193	13.5	22.6	27.3	44.6	65.0	87.7	88.1		
臺中191	29.6	28.8	33.0	44.2	62.5	81.3	91.5		
越光	11.4	19.0	25.7	35.5	51.5	74.5	82.3		
臺農71	12.4	18.1	22.9	34.0	51.2	75.0	78.0		
高雄139	13.5	21.1	29.8	43.5	64.3	84.5	88.5		
臺稉2	29.8	27.7	33.4	40.8	58.0	79.1	83.7		
臺稉5	24.0	32.6	37.0	55.6	78.6	90.6	91.2		
臺稉8	10.6	19.1	27.4	44.9	70.0	88.6	89.5		
臺種9	29.7	34.1	44.8	62.2	83.1	91.0	90.9		
臺稉14	10.5	19.1	24.7	42.4	65.2	86.9	89.0		
桃園1	25.9	38.4	48.2	48.9	72.8	89.0	90.3		
臺東30	24.0	33.4	39.3	53.9	76.0	90.5	91.2		
高雄145	13.7	20.2	26.2	39.3	56.6	85.0	84.6		
臺南11	8.0	19.3	27.1	45.4	69.8	88.1	89.9		
臺中192	14.2	22.6	30.5	47.2	73.2	88.6	88.6		
臺中194	23.6	29.8	35.7	48.9	70.7	88.6	90.5		
臺中秈10	30.0	33.1	43.0	59.0	83.3	91.2	91.4		
臺秈2	13.3	22.4	31.5	47.2	74.3	89.5	89.3		
臺農秈22	10.1	17.1	24.1	36.5	56.6	81.9	86.3		
臺中秈17	24.7	32.7	41.8	59.4	81.7	90.6	91.0		
			(待續))					



	表四 第一期作水稻品種之不同濃度萃取液的DPPH自由基清除能力(%)(續)								
品種	濃度(ppm)								
	100	600	1000	2000	4000	8000	10000		
臺中糯70	30.1	29.3	36.7	49.7	71.4	88.1	90.4		
臺稉糯5	13.0	22.6	28.1	44.1	64.6	86.6	89.0		
臺中秈糯1	10.4	16.2	20.9	35.4	55.4	82.4	86.5		
臺中秈糯2	24.1	31.0	37.7	51.1	70.2	89.0	90.5		
臺農秈糯21	29.0	29.0	35.5	47.3	68.0	82.6	89.6		
Check	濃度 (ppm)								
Officer	100	200	300	400	500				
trolox	91.7	86.3	91.8	91.8	91.8				
ВНТ	48.7	91.8	90.3	91.0	91.0				

表五 經分群後之水稻品種DPPH自由基清除能力比較(%)									
分群	品種數	濃度 (ppm)							
刀 相 +			600	1000	2000	4000	8000	10000	
 種稻	20	20.0±7.9	20.8±5.9	29.2±6.6	33.2±7.0	67.4±8.6	86.2±5.0	88.5±3.7	
<u> </u>	4	19.5±9.4	19.5±6.3	29.5±8.4	35.1±9.0	74.0±12.2	88.3±4.3	89.5±2.3	
糯稻	5	21.3±9.1	19.9±5.8	28.6±6.9	31.8±7.2	65.9±6.4	85.7±3.1	89.2±1.6	
稻糯稻	2	21.6±12.1	19.7±5.2	30.0±6.6	32.4±6.1	68.0±4.8	87.4±1.1	89.7±1.0	
籼糯稻	3	21.2±9.6	20.1±7.3	27.6±8.3	31.4±9.2	64.5±8.0	84.7±3.8	88.9±2.1	
良質米推薦品種	14	18.4±8.3	19.7±6.4	28.3±7.5	32.8±8.2	68.1±10.7	85.9±5.7	87.8±4.1	
非良質米推薦品種1*	15	21.8±7.6	21.1±5.1	30.0±5.8	33.5±6.1	67.9±7.1	86.9±3.3	89.7±1.9	
非良質米推薦品種2*	10	22.1±7.3	21.7±5.0	30.7±5.4	34.4±5.7	69.0±7.5	87.5±3.3	89.9±2.0	
註:*非良質米推薦品種分為(1)包含糯稻(2)不含糯稻者。									

後,進一步應進行產業的生產應用與更高含量或品質的品種研發,產業的生產應用著重在高產能流程的規劃,以目前的研究僅高 GABA 產出的時差結果可作為應用,至於新品種研發上,則應再進一步

明瞭其遺傳率與外顯率行為才可進行,通常以具有 較高的累加性效應較易進行育種,顯性效應與細胞 質等母系效應會干擾選拔的結果與效率。在上述的 機能性成分研究僅在8種礦物質含量進行過遺傳分

析,但結果顯示各礦物質含量的狹義遺傳率較低, 意即進行此 8 個高礦物質含量新品種的研發是較為 困難的,然而 Zn、Mn 與 Ca 含量因其廣義遺傳率 較高,較不易受到環境的影響,可能是高礦物質含 量品種研發的標的。雖然若干研究指出:穀類作物 的礦物元素多與植酸(phytic acid,又稱肌醇六磷酸) 結合,形成植酸鹽 (phytate),不易被人體吸收,所以 生物利用 (bioavailability) 效率不高,然而高礦物元 素品種的研發有益於低開發國家的營養改善與糧食 生產。

而在 GABA 含量與抗氧化能力的篩檢以品種為 分析材料,並沒進行其遺傳行為分析,所以僅能以目 前之資料與品種間之親緣推斷其育種之可行性。由 於我國水稻品種間的親緣關係密切,當品種的特性 可以明確地傳至下一個育成的品種,則該特性的遺 傳率可能較高,如以臺南9的休眠性與生育後期耐 寒性就可傳至其後育成的臺種 2、臺種 8 等品種,藉 此可推斷育成具有此兩項特性的品種較為容易。若 以此方式檢視各品種 DPPH 自由基的清除能力,由 臺種 2、臺種 8 與高雄 139 等品種及由其所育出品 種的關聯性而言, DPPH 自由基清除能力的遺傳率 不高, 唯此推論仍需進一步進行相關之遺傳研究方 能確認。但此種結果可以理解,因為 DPPH 自由基 的清除能力是一種綜合能力的評估,可能是多種抗 氧化酶的作用結果,若能針對其中的抗氧化酶(維 生素 E 等) 進行含量分析則較為精確,而此應是未 來的發展重點。

遵循邏輯思考分析,目前機能性成分多數都是 二次代謝產物,需由一次代謝合成進行移轉,也就 是一次代謝產物是二次代謝的基石,所以一次代謝 產物的過多溢流或為了適應環境改變所導引出的生 理代謝流程改變才會增加二次代謝產物,這可能也 是目前國內在益全香米的生產求高產則不香,而香 氣高的產品多數都是產量不高的原因,也因此很多 機能性植物栽培與環境的因素可能都大於其品種上 的差異,這也是在進行機能性育種時需先考量的。 以稻米 GABA 含量而言,目前國內育成的 3 個高 GABA 含量品種,除臺農 78 號由誘變而來,臺農 80 號與臺南 15 號以日本高 GABA 品種 Haiminori 作為親本選育而來,顯示育成高 GABA 含量品種已不成問題,但由於 GABA 在米的利用上多以食米為主要消費型態,因此產業應用除考量採用高 GABA 的品種外,其品質與高 GABA 產出量的流程都是應該考量的項目,也由於此生產流程的考量大於育種的考量,本場僅將高 GABA 列為傳統育種改善項目之一,而嘉義大學李益榮教授(本文第 2 作者)對生產流程與環境的改善研究頗多,值得產業界參考。

基於上述,本場機能性水稻育種植基於(1)口感優良的優質米品種、(2)機能性產物穩定且目標明確、(3)機能性產物遺傳影響大於環境、(4)篩檢方法簡便且穩定、(5)採用能創造穩定變異的傳統育種方法等,在此條件下,本場機能性水稻育種步驟將以目前育成的良質米品種為基礎,針對較明確的維生素 E 等代謝產物為目標,選用具有高含量的品種與能高產出機能成分的栽培環境,田間管理採用優質栽培模式,並明確建立選拔的指標與方法,運用能創造穩定變異的雜交與回交等傳統育種法選育,期待能選出具有高機能性含量成分的水稻品種。

結語

機能性水稻品種篩檢與選育是近年來新興的研究,在糧食作物的發展是一定的趨勢,然而產業上的應用可導引研發的方向,以米為消費型態的機能產品,必須考量育成品種的口感優質與優質栽培模式的生產;但若純粹以萃取機能性產物為產業利用標的時,育成品種可暫不考慮其米飯適口性,但需尋求最佳的產製與萃取流程,唯無論採用何種方式,在育出高機能成分含量品種後,需再研發適合其機能成分最高產出量的低投入、高產出栽培模式,才能建立可長可久的水稻機能性產業。

鄭佳綺 行政院農業委員會 臺中區農業改良場 助理研究員 許志聖 行政院農業委員會 臺中區農業改良場 研究員



參考文獻

- 1. 李晨、涂從勇、潘大建、周漢欽、范芝蘭 (2003) 富鐵稻米遺傳育種研究現況與展望。植物遺傳資源學報,4:355-359。
- 2. 張名位、杜應瓊、彭仲明、何慈信 (2000) 黑米中礦質元素鐵、鋅、錳、磷含量的遺傳效應研究。遺傳學報,27:792-799。
- 3. 杵淵美倭子、関谷美由紀、山崎彬、山元皓二 (1999) 高圧処理を利用した玄米中への γ-アミノ酪酸(GABA)の蓄積。日本食品科 学工学会誌,46(5):323-328。
- 4. Gregorio, G. B., D. Senadhira, H. Htut and R. D. Graham. (2000) *Breeding for trace mineral density in rice*. Food Nutr. Bull. 21:382-386.
- 5. Htut, T., G. B. Gregorio, D. Senadhira, R. D. Graham, G. S. hush, R. O. Mendoza and A. N. R. Monroy. (2000) *Genetic analysis of rice grain mineral density. In* "Program report for 1999", ed. W. Rockwood, pp.66-69. Philippines, IRRI.
- 6. Juliano, B. O. (1993) Rice in human nutrition. Rome: Food and agricultural organization (FAO). Pp.35-83.
- 7. Michiyo, W., Maeda, T., Tsukahara, K., Kayahara, H. and Morita, N. (2004) *Application of pregerminated brown rice for breadmaking*. Cereal Chem.81:450-455.
- 8. Warunee, V., Patcharee, T., Vipa, S., Ladda, W. and Wang, L. (2005) Effects of water soaking on gamma-aminobutyric acid (GABA) in germ of different Thai rice varieties. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 39:411-415.
- 9. World Bank. (1994) *The challenge of dietary deficiencies of vitamins and minerals*. In "Enriching lives:overcoming vitamin and mineral malnutrition in developing countries", pp.6-13. Washington DC: World Bank.