

# 植物的分子育种

雷勃钧

(黑龙江省农业科学院大豆所)

## 前言

生物技术即遗传操作技术,近年来在迅速发展。其中将不同生物的具有已知遗传信息的 DNA 片段导入受体生物细胞内,并使之表达、遗传,达到预期工程设计效果的基因工程的研究,更为引人注目。所谓基因工程包括如下步骤:目的基因的分离和制备;体外 DNA 重组和扩增;转移并整合到受体细胞染色体上;在受体中复制、转录、翻译和表达;并能稳定遗传。其每一步骤都需较高的操作技术和投入一定的资金(主要用于昂贵的试剂和必备的仪器)。在我们现有条件下,马上要完成这一过程还有一定困难。即使在国外某些发达国家也仍然存在一些没有解决的难题,如农杆菌 Ti 质粒,作为植物基因工程的载体是给人们带来了希望和喜悦,但农杆菌系统还存在大量困难、应用范围受局限、基因转移效率不很高,基因表达效率更低<sup>[1]</sup>。更主要的是对有关植物基因的基础知识了解贫乏,基因表达研究太落后,其起始终止信号还没有很好地被确定。总之,无论国内外实现植物基因工程最主要的问题还是植物遗传背景没有被深刻认识。因此,在开展植物基因工程研究的同时,国内外研究人员都在寻找将目的基因直接导入植物的技术,即将带有目的性状的基因供体总 DNA 片段导入受体植物中,筛选获得目的性状的后代,达到改良品种,使植物的遗传操作技术在近期得到了效益。这就是本文

所要阐述的有关个体与分子水平相结的低层次的生物工程技术——利用外源 DNA 导入来达到植物的分子育种。

## 早期工作与论证

植物分子育种的提出,可以说是七十年代周光宇先生<sup>[2]</sup>对“玉米稻”杂交性质的探讨中所提出的远缘遗传分子 DNA 的整体排斥性和局部亲和性理论的具体应用和发展。

对于远缘杂交后代的研究,还可以追溯到六十年代陈英等<sup>[3]</sup>,吴素萱等<sup>[4]</sup>对不同组合水稻和高粱杂交后代其形态,性状、细胞和胚发育的详细研究。玉米与高粱,水稻与高粱的杂交后代,在光学显微镜下观察其染色体数目、形状、大小基本属母本类型。但在株型,穗部及其它经济性状等方面,却发现不同于母本的远缘父本的某些特征。1977年美国科学院院报刊登了 Herlen 和 Dewet 的报道<sup>[5]</sup>:玉米和摩擦禾的杂交后代的遗传转移。发现有的后代的染色体完全恢复为玉米的( $2n=20$ ),但性状上有摩擦禾影响的明显变异。然而,这种杂交现象用经典遗传育种理论是很难解释的。

七十年代初,李贞生培育玉米稻的研究发表后,在生物学界引起了不小的波澜,也吸引了育种学、细胞遗传学、生物化学、分子

注:本文得到哈尔滨师范大学李集临教授的指导和审阅,在此表示深切谢意。

生物学等许多学者对其本质的探讨。周光宇等通过对高粱稻及其亲本同工酶分析,提出并论证了 DNA 片段杂交的假设<sup>[6]</sup>。她们发现高粱稻中有一条来自高粱(父本)而水稻(母本)没有的酯酶同工酶谱带。因为酶蛋白是基因活动的直接产物,所以这条谱带肯定是来自父本的控制酶蛋白合成的 DNA 片段表达的结果。她们还通过分子杂交的工作<sup>[7]</sup>,以高粱 DNA 制成探针与水稻 DNA 进行杂交,发现高粱 DNA 序列重组入水稻基因组内,进一步证明了高粱稻的分子基础。这就解释了为什么远缘杂交后代在染色体水平上没有变化,而却存在与母本不同的显示父本性状的某些变异,同样也可以说明玉米和水稻杂交,虽然不是精卵结合或染色体加倍,但不能排除由于局部分子的亲和性而产生片段 DNA 的杂交。

从近代分子生物学,分子遗传学和基因工程的角度来看就更清楚了。

生物尽管千变万化,但同出于一源,它们都是在遗传保守的基础上变异进化而来的。因此,从不同生物体中可以找到结构极为相似的蛋白质<sup>[2]</sup>。例如:染色体上的组蛋白,从豌豆到牛的差异只有两个氨基酸。生物的基础代谢如糖酵解,能量代谢以及生物大小分子的合成与分解代谢,从细菌到人基本上是相同的。任何生物的 DNA 都是由四种基本的核苷酸排列而成的,这样就可能在顺序上出现程度不同的相同排列,在成百万到十亿以上的核苷酸排列顺序中应不难遇到长短不一的相同顺序,这就提供了分子局部亲和的可能而产生片段 DNA 杂交。当然,就整体而言,远缘生物间的 DNA 大多很难亲和,它们的结构不同,携带的遗传信息、所反映的代谢及调控功能有很大差异,彼此很难调节,共处于一个细胞中。因此,异源 DNA 进入后,往往被细胞的各种酶所分解或排斥。而且亲缘关系愈远,染色体和染色体外 DNA 的结构愈不易亲和,常常引起杂交不易成功,或杂交后出现不育,即互相排

斥。但就个别基因或 DNA 序列而言,则可能存在着一程度的亲和性。因而,当远缘 DNA 片段在母本 DNA 复制过程中就有可能被重组,进而影响受体基因组的表达而出现子代的变异,有的也可能是无意义的。

从分子水平看,远缘杂交的成功大多数只能是 DNA 片段的杂交。既然远缘植物间通过有性过程可以进行部分 DNA 片段的交流,那么在分子生物学,分子遗传学及遗传操作技术迅速发展,并不断被深化认识的今天,采用提取总 DNA,通过受精过程导入受体的简单程序,来实现目的基因转移、表达、遗传的基因工程的设想,进而筛选能表达、遗传的有益变异体,达到品种改良或用于丰富遗传基础,不是完全可以达到的一个行之有效的途径吗?

### 近期工作及效果

近年,特别是进入八十年代以来,将不同生物的已知遗传信息总 DNA 直接导入受体生物细胞并使之表达的研究取得了很大进展。有用微量注射法和以花粉作为外源 DNA 的载体。如苏联 H.B.Тырбаш 等将野生型 DNA 注射乳熟期 Waxy 大麦硕果,而引起大麦 Waxy 性状的变异。Hess 等<sup>[8]</sup>利用花粉萌发时吸收外源 DNA 由伸长的花粉管携带进入受体胚囊,诱导矮牵牛和烟草花色和叶形发生了变异。新西兰 K.K.Pandey 利用钴照射杀死烟草的蒙导花粉和具有生活力的母本不亲和花粉混合授粉,打破了自交不亲和系统,产生了自交后代,并在后代中出现了花色由白变红的基因转移现象。国外这些工作除 Hess 的技术曾有人于 1983 年开始应用于玉米抗叶斑病育种之外,均属于技术探索水平。而国内工作者一开始即以育种为目标,自 1977 年开始先后以棉花、水稻、白菜、高粱、小麦等农作物为受体,主要采用微注射导入外源 DNA,均获明显效果。其中在高粱和小麦上张孔活等是利用恢复系花粉匀浆或用恢复系 DNA 参与不育系×保持

系的受精过程,都获得了恢复系可育性状转移的结果。并能稳定遗传。其基本性状仍保持着母本特征,说明通过新方法能达到单一或少数性状转移的目的。黄骏麟和周光宇等<sup>[9]</sup>利用外源 DNA 导入的技术成功地将抗枯萎病的棉花 DNA,注射到感病棉花的子房中,使其后代出现了抗枯萎病的植株。他们还用外源海岛棉 DNA 诱导了中棉、陆地棉性状的变异<sup>[10,11]</sup>,使其后代出现了一些超亲的变异体。陈善葆、段晓岚<sup>[12]</sup>在水稻上的研究结果也是喜人的,他们将大米草 DNA 导入水稻“早丰”中,其后代出现了一种新的变异类型,与受体比较,种子粗蛋白和 16 种氨基酸含量均显著高于受体,也高于一般水稻。钟文田等<sup>[13]</sup>用紫菜苔的 DNA 注射给大白菜子房,其后代叶片上出现了紫色色素条纹和叶形变异,并能遗传给后代和出现较大幅度的分离。

上述实验均选择在受体受精过程和胚胎发育早期,这一时期和发育阶段是接受异源遗传物质的敏感期还由于种胚(早期)细胞不具有细胞壁易于 DNA 的转化。此时期细胞分裂最旺盛,也易于导入和转化。受精后细胞的 DNA 复制活跃,易于整合。特别是花粉管通道的技术方法比较简单,输入外源 DNA 参与受精和原胚发育及胚分化,易于导致产生变异,也能获得较多的当代种子。另外,这种在整体植株上进行的转化体系,由于外源 DNA 进入受体的胚囊,在胚胎发育早期完成转化过程,产生的子代是在受体亲本型基础上出现性状变异,因此,稳定较快,可以用于推广品种达到目的性状基因的转移,从而改良品种。还由于提取的是总 DNA,所以可能带入目的性状以外的片段,加上导入的时机和技术等原因,子代性状变异和遗传现象就有随机性,经过筛选有的可直接利用,有的可提供种质以丰富遗传基础。

## 远景与展望

高等植物外源 DNA 导入的遗传转化研

究可以克服植物自然繁育的障碍、打破基因连锁关系,有选择地单独转移需要的基因。它可以避免远缘有性杂交所带来的不亲和性。甚至可以实现纲间杂交<sup>[14]</sup>。事实证明,此种外源 DNA 导入技术,完全可以引起受体的变异,创造出我们意想不到的品种新类型,从而大大丰富了植物基因库,为解决育种实践中遗传基础贫乏的问题,开辟了一条新途径。同时,此种技术也较通过 Ti 质粒等载体转移体系简易得多。长期以来尽管对这项研究存在着争议,但却一直是人们十分感兴趣的研究课题。并在微观和宏观上不断揭示了外源 DNA 导入引起遗传变异的可能与本质,从而使这种争执愈趋一致。

外源 DNA 导入植物的技术,可以作为分子育种的第一个层次的生物工程技术。进一步完善导入技术,深入研究其机理,开展不同植物间有利基因的导入和选择,从而使这种遗传转化成为崭新的农作物育种方法。这也是植物基因工程的另一途径。当然,要完全达到人工控制的分子育种只有基因工程才能实现。目前这种外源 DNA 导入技术, Hess 的花粉技术以及 Ti 实验体系,均可看作是这一技术在不同层次上的突破,一旦被人们掌握就可以变成生产力。

农业分子育种是人们多年以来的愿望尽管我们的工作刚刚起步,但成果令人鼓舞,前景十分诱人。

## 参考文献

1. 林忠平、尹光初:植物遗传工程概况,大豆科学 1982,Vol.1, No2
2. 周光宇:也谈玉米稻遗传与育种 1977,6:24-25
3. 陈英等:遗传学集刊 1980 第一期,第 40-61
4. 吴素葳等:植物学报 1961, 9(3-4):191-218
5. Harlen, J. R. and J. m. J. Dewet., 1977 Proc. Natl. Acad. Sci. 74(8):3496-3497
6. 周光宇等:远缘杂交的分子基础, 1979 遗传学报 Vol.6, No.4
7. 周光宇等:远缘杂交的分子基础 1980 遗传学报

8. Hess, D. 1980 Investigations on the intra and interspecific transfer of anthocyanin genes using pollen as vectors. *Z. pflanzenphysiol.* 98, 321-337
9. 黄骏麒、周光宇等：外源抗枯萎病棉 DNA 导入感病棉的抗性转移 中国农业科学 1986.3.
10. 黄骏麒、翁坚等：外源海岛棉 DNA 导致陆地棉性状变异遗传学报 1981 8(1):56-62
11. 黄骏麒、翁坚等：外源海岛棉 DNA 诱导中棉性状的变异 江苏农业科学 (11):18-20
12. 陈善葆、段晓岚：外源 DNA 直接引入江水的方方法与结果，第一次全国农业生物技术学术讨论会论文摘要汇编 1986.11.
13. 钟文田等：外源紫菜苔 DNA 诱导大白菜表型变异，第一次全国农业生物技术学术讨论会论文摘要汇编 1986.11
14. 朱培坤：高等植物网间杂交探索，植物分子育种资料汇编 1986.5.

# 大豆品种蛋白质和脂肪含量稳定性的研究

王 玫

赵 军

(黑龙江省农科院大豆所) (黑龙江农业现代化所)

## 摘 要

本文用回归分析法对七个大豆品种，五个地点，二年的蛋白质和脂肪含量的试验结果进行了稳定性分析；并通过相关和通径分析对蛋白质、脂肪含量的稳定性与七个农艺性状的相互关系进行了初步探讨。结果表明：不同品种蛋白质、脂肪含量的回归系数存在很大差异，每一品种的回归系数均达到了显著或极显著水平，说明各品种蛋白质和脂肪含量与环境指数存在真实直线关系。在蛋白质、脂肪含量的稳定性与七个农艺性状的相互关系研究中，蛋白质含量的稳定性与产量、脂肪含量呈较强的负相关，其中与脂肪含量和生育日数的  $r$  达显著水平；脂肪含量的稳定性与产量、蛋白质、脂肪含量的高低呈较强正相关，与百粒重呈较强负相关。

近年来，对大豆产量进行稳定性分析已引起大豆学者们的重视。但大豆子粒蛋白质和脂肪含量的稳定性分析是否必要，换句话说，不同的环境条件究竟对大豆蛋白质、脂肪

含量有多大程度的影响，不同品种蛋白质、脂肪含量的相对稳定性有何差异，仍是一个未解而又急待解决的问题。为此本研究的目的旨在：1. 对大豆品种蛋白质、脂肪含量的稳定性进行分析，比较各品种蛋白质、脂肪含量稳定性的差异。2. 分别比较年份间地点对不同大豆品种蛋白质、脂肪含量稳定性造成的差异，探讨各供试品种遗传型和环境互作的效应。3. 对蛋白质、脂肪稳定性与七个农艺性状进行相关分析和通径分析，从而为培育蛋白质、脂肪含量稳定性好的品种提供理论依据。

## 材料与方 法

本文采用 1985 年、1986 年黑龙江省与日本三菱商事株式会社合作引入外国大豆品种区域性鉴定试验的部分蛋白质、脂肪分析的资料。供试品种 7 个，从中采用不同的试验点 5 个，这些试验点的地理纬度、气候条件，土壤情况均有一定程度的差异，各试验

注：本文承王彬如研究员提供蛋白质、脂肪含量分析资料，并蒙杨庆凯副教授审阅，谨致谢忱。