

苏焕然
张丹
汪清胤
黄永芬

花卉基因工程研究进展

基因工程是诞生于本世纪 70 年代的高新技术。它是将不同生物的遗传物质,在体外进行“切割”、“重组”、“连接”,然后通过载体或直接导入受体细胞,进行无性繁殖,使新的基因在受体细胞中得以表达,产生出特殊的代谢产物或优良的生物类型,其目的就是要定向改变生物性状。

80 年代以来,随着基因分离,基因载体的构建,植物遗传转化系统的完善和外源基因在植物细胞中的表达等方面研究的深入,植物基因工程蓬勃开展,许多重要农作物的转基因研究有了重大突破,获得了一系列高产优质,抗除草剂,抗虫,抗病的转基因植物,花卉基因工程也随之迅速发展。并且显示出其特有的优势与潜力,一些生物工程公司成为这方面的主导力量,目前花卉领域的基因工程已经形成产业化的趋势,并孕育着巨大的经济效益。

一、开花基因的研究

开花基因虽属理论方面的研究,但其应用价值

是不可估量的,开花基因首先由英国诺里奇的 Enrico. coen 博士和 Rosemary. capenter 领导的研究小组从金鱼草属(Antirrhinum)植物分离出来的,当这种基因经突变失活后,植物便不能开花,代之的是连续不断地产生叶芽。研究小组随后研究了携带这种基因的不能开

花的植物,发现该突变的植物偶尔也能够开正常的花,所以他们怀疑该突变可能是由转位因子的插入引起,通过探测具 Tam3 的 Flo 突变体 DNA,他们设法在适当位置找到携带 Tam3 转位因子的基因拷贝,然后他们利用突变基因片段从野生植物中分离出正常基因。

Flo 基因在开花的早期开始转译,并在苞片原基以及随后的萼片,花瓣和心皮原基中得以表达。这种专一性表达在时间和空间上类似于同源异型体的基因。Flo 基因通过与其它同源异型基因的相互作用,影响着花器官的一致性,该基因的鉴定为我们了解如何控制植物的发育提供了证据,它还可以应用于农业上,最终能够控制开花的数量,时间及位置。

美国洛克菲勒大学植物分子生物学研究所 Nawa. Hai chua 教授和日本九州农业试验场作物部育种工程研究室研究员森里树,克隆出对花特异表达的莽草酸合成酶基因表达起诱导作用的转录调节因子 EPF1,这种控制花形的因子 EPF1 是诱导开花基因表达的转录因子。利用调节基因表达的转录调节因子的启动子,不仅能设计花色和花形,如进行开花调节机理研究,将来也能改变早熟和晚熟作物的收获期。

二、改变花色的转基因花卉

这是花卉基因工程改良工作最多的方面。荷兰的 FLORIGENE · B · V 公司首先成功地用基因工程方法将一种粉红色菊花变成白色,他们把决定花瓣色素形成的查尔酮合成酶基因导入到了这种畅销花的植株中。

随后,FLORIGENE 公司在 1992 年培育出基因重组菊花新品种“FLORI—ANT”并准备在欧洲销售,由于菊花销售在荷兰排行第二,1989 年的销售就已经达到 2.9 亿美元,所以该公司积极推进其商业化。“FLORI—ANT”是用基因重组技术向菊花品种“MONEYMARK”导入色素合成关键酶,查尔酮合成酶基因(CHS)的反义基因,来抑制色素合成而培育的反义菊花。启动子用的花椰菜花叶病毒的 35S 启动子。抑制 CHS 基因表达的重组菊花的花色从白色变成黄色,紫色,奶油色,反义表达的情况多种多样。白色菊花中有中心是白色的品种,也有仅花瓣是白色的,中心是黄色的品种。该公司选择栽培了人们喜爱的后者。

* 黑龙江省自然科学基金资助项目

同年,澳大利亚的 CAIGENE PACIFIC 公司与日本三得利公司合作向蔷薇导入合成蓝色色素基因获得成功。导入的基因是 CALGENE PACIFIC 公司首先克隆的 3'5' 羟基氧化酶基因,这种基因编码合成蓝色色素,花翠素的关键酶,蔷薇中缺少这种酶基因。三得利公司同年在白色牵牛花中导入该酶基因变成了蓝色牵牛, CAL·PAC 公司从花瓣特异地表达的查尔酮合成酶,查尔酮异构酶基因中克隆启动子,在这种启动子上结合 3'5' 羟基氧化酶基因,蔷薇花瓣只合成蓝色色素。

通过导入 3'5' 羟基氧化酶基因,即使不能马上变成蓝蔷薇,目前也可培育出发蓝的颜色。扩大花色的颜色(如紫色等),开发新品种,蔷薇,菊花,石竹等作切花的三种植物都缺失 3'5' 羟基氧化酶基因,如完成技术开发,就将开拓了蓝色菊花和石竹等的市场。

另外,CAIGENE PACIFIC 公司曾使用 Ti 质粒对茎尖进行性状转化,效果不明显。三得利公司准备从其他机构引入新技术,开发更有效的转化系统。三井石化则从西德 Max—Pianck 公司购入重组植物(含玉米 2 氢黄酮—3—醇还原酶基因)的独家生产。销售权。这种酶是决定花色苷合成的关键酶之一。三井石化的目的是利用该基因开发深红色牵牛花。

随后,美国 DNA Plant Technology 公司科学家提出一套获得转基因玫瑰花色品种的实验技术。玫瑰是全世界最重要的观赏作物,但是由于其高度杂合性,缺乏近交系,再加上其多年生性状以及染色体数目多引起的高度不育性,使得用传统改良较为困难。而应用转化方法就可改变花形、花色、花寿命、习性及其病虫害抗性。从而,有助于解决玫瑰品种某些园艺学形状基因库有限的问题。

这项技术的研究人员是 DNAP 的 Mark Sondahi 和 C. Norioga。他们将幼嫩花芽的花丝做为外植体培养在含有 B5 改良盐的培养基上,使外植体形成半硬性愈伤。经继代培养后,用 2,4-D 和玉米素使初生愈伤分化出球形胚,这些胚是在 NNA 和玉米素存在下产生易碎胚发生组织的最好来源。且通过在高浓度 2,4-D/玉米素培养基上的周期性继代培养可保持其再生能力达 18 个月以上。SONDHI 和 Noriegan 从这一胚发生组织分离出体细胞胚,证实了它能进行分化,成熟,萌发并再生成小植株。用该方法获得的小植株在温室里发育正常,类似于微繁殖对照株。

Firoozabady 及其同事应用这一方法结合根癌农杆菌转化方法有效而且重复地获得了转基因玫瑰。对此,他们认为,这一转化和再生方法可以应用于任何能

产生易碎胚发生组织的其它玫瑰品种。一旦获得胚发生愈伤,就可进行冷却保存或增殖,从而源源不断地为转化提供材料,且不丧失其胚胎发育潜力。迄今为止,应用这一方法保存组织已达四年之久。不仅方法简单,劳动强度低,而且重复性好,有效性高,一次试验就可接种数百克玫瑰易碎胚发生组织,并很易获得许多转化植株。如从土壤农杆菌接种的每克组织里获得约 50~60 个卡那霉素抗性胚发生愈伤系。从一次转化能获得无数个转基因植株。试验的所有转基因植株均获得完全转化,未出现嵌合体现象。

同时,该研究组通过把一配基查尔酮合成酶基因导入 Rolacty 品种已分离出花色强度明显减弱的玫瑰花。据乐观估计,在今后几年,这种转基因玫瑰花品种就可上市。

三、形态改变的转基因花卉

日本麒麟啤酒公司基础技术研究所采用 Ti 质粒载体把 rolc 基因(调节细胞激动素水平)导入植株,育成株矮,花芽多的土耳其桔梗和牵牛花,在土耳其桔梗上效果尤其明显。节间缩短,株高矮化 20%~60%,花数提高 2 倍以上;有花期提前效果(短 1~3 个月);不形成花粉,以上特征使其具有开发盆栽市场的潜力。

随后又有报道,法国 MOEZ HENNZSSY LOUS VOITTON 公司利用基因操作技术成功地使蔷薇枝数增加,其结果大幅度提高了切花生产量。该公司从 1981 年就着手植物生物技术研究,可以说是起步较早的公司。他们利用基因操作技术进行蔷薇和菊花的育种,利用土壤农杆菌在蔷薇和菊花中导入基因,该公司成功的原因在于 3 年间集中探讨蔷薇和菊花的再生条件,该公司未公布其名称,但是发现一旦添加某种物质就能高效地诱导再生。

该公司与德国 Max—Plaulk institute 的 J. scheu 合作在蔷薇中导入某种基因,使其不发生矮化而增加枝数。枝数可达 2~3 倍,于是使花数大幅度增加。其中 15% 的没有任何变异,但在其余 85% 的重组蔷薇中花色,形状,枝条长度,开花期等形状与亲株品种マダムデルベヘド相同。现在就重组体的稳定性,插花的增级性还有优良重组蔷薇的选择开始大规模的温室栽培实验。虽然未说明导入的基因是什么,但专家们猜测可能使用的是植物生长激素调节基因。该项技术有可能在 1996 年实现商业化生产。

四、保鲜花卉研究

荷兰的 Calgene Pacific 公司在 1993 年曾试图获得重组菊花的销售,但未获本国 EC(遗传修饰委员会)批准。因为花卉业是荷兰的一个大产业,在这方面管理

相当严格(当时只允许在密封的温室中进行重组菊花的工作)。该公司后来被澳大利亚 Florigene 公司收购成立 Florigene Australian 公司。

今年, Florigen. Australian 公司在澳大利亚计划考察了一种重组麝香石竹花,这种花比非转基因品种维持的时间长一倍。该公司人员称这是第一种上市的重组花卉。他们所采用的技术类似于 Calgene inc 和 DNA plant Technology cor(DNAP)用于重组番茄货架期的技术。通过抑制乙烯的生成推迟番茄成熟,Florigene 也是用这种方法防止石竹凋谢。反义操作 ACC 合成酶基因,抑制花中乙烯生成,从而延迟石竹的凋萎。

乙烯是一种控制果实,蔬菜和其它多种作物成熟的激素。ACC 合成酶作用于乙烯生成的最初几步,它将 S-腺甘甲硫氨基转变成一种乙烯前体 1-氨基环丙烷-(ACC)。ACC 在酶 EFE 作用下转变成乙烯。由于用这种方式抑制了乙烯合成,Florigene 的 rDNA 花卉在采摘后可维持比正常花卉长一倍的时间。

尽管目前还没有出售,但这种花已在澳大利亚培育。Florigene 计划不久将开始促销活动,到今年秋,该公司将完成在欧洲各国销售这种石竹的申请,在这些地区田间试验已完成,明年初这种花将在美国露面。

五、草坪品种改良

草坪品种改良是近年来迅速发展起来的植物生物技术开发热点。1991 年日本草坪公司在日本首次从结缕草原生质体中再生成植株,为使用基因工程方法培育抗病、抗虫及绿化期长的品种开辟了道路,这种草是日本最普通的草坪品种。在此之前,农产省生物资源研究所已成功由红顶草原生质体再生成植株。此外,筑友金属工业公司于 1985 年建立植物生物技术研究室,在草坪改良研究方面有数年经验,已建立了暖地系品种和寒地系品种的原生质体融合与再生技术。再生的培养苗具有在高温(25~30℃)及低温(0~5℃)条件下生长发育的特征。驯化工作已经开展,不久将进入试栽阶段。

转基因植物培育成功并初步投入生产使用,这是生物高技术领域的一项重大进展。花卉在这方面有其自身的优势,因为仅供观赏而非食用,就安全性方面而言,较其它作物更容易被批准投放市场而实现商业化,因此转基因花卉必将为花卉业这一极具活力的产业带来一个繁荣而有前途的市场。(参考文献 17 篇略 邮编 150080 哈尔滨师范大学生物系)

蔬菜种子新陈识别

张世春 张文华 顾义海
张万发 李淑娟

蔬菜种子的新与陈,与种子的生活力有着直接的关系。一般来说,蔬菜种子较新,生活力亦较强,使用价值也较高;种子越陈,生活力越弱,使用价值越低。为避免伪劣蔬菜种子坑农害农,提高广大菜农对伪劣蔬菜种子的识别能力。下面是几种主要蔬菜种子新与陈的感观识别:

一、白菜、萝卜籽:新种子表皮光滑,富有光泽和清香味,用指甲压开后成饼状,油脂多,子叶呈浅黄色或黄绿色;陈种子表皮发暗无光泽,常有一层“白霜”,用指甲压易碎而种皮脱落,油脂少,子叶深黄色,可闻出“哈喇”味。

二、黄瓜籽:黄瓜籽不超过三年,否则出苗率只在 20%,即使出来,有的无真叶,不能成活。新种子表皮有光泽,为浮白色或白色,种红含油分,有香味,尖端刚毛较尖,将手插入种子袋内,拿出时手上往往挂有种子;陈种子表皮无光泽,常有黄斑,子叶深黄色,种红色发乌,顶端刚毛钝而脆,用手插入种子袋内再拿出来,种子往往不挂在手上。

三、茄子籽:可保存六年,过三年成活率低,新种子表皮为浮黄色,有光泽,如用门齿咬种子易滑掉;陈种子表皮红黄色,无光泽,如用门齿咬种子易咬住。

四、辣椒籽:辣椒籽存放期不得超过三年,过三年成活率减少。新种子表皮有光泽,呈金黄色,辣味浓;陈种子表皮无光泽,呈杏黄色,如变褐色千万不能用。

五、芹菜籽:芹菜籽可存放五年,过六年不出苗。新种子表皮土黄色稍带绿,辛香气味较浓;陈种子表皮为深土黄色,辛香气味较淡,但当年籽不能用。

六、菠菜籽:新种子表皮黄绿色、清香,种子内部淀粉为白色;陈种子表皮黄色或灰黄色,有霉味,种子内部淀粉浅灰色到灰色。

七、柿子籽:可存放四年,过长不出苗。新种子有茸毛,并有腐败味;陈种子外皮滑茸毛,没有味。

八、瓜类籽:新种子种仁黄绿色或白色,油脂多,有香味;陈种子种仁深黄,油脂少,有“哈喇”味。(黑龙江省海伦市种子管理站 邮编:152300)