

植物基因工程雄性不育研究进展

贾利元, 张建祥

(商丘职业技术学院, 河南 商丘 476005)

摘要:在对构建植物基因工程雄性不育基因的几种技术路线及其保持和恢复措施进行概述的基础上,分析了转基因雄性不育的遗传特征及影响不育基因表达效果的因素;指出了国内当前研究中应当注意的问题,并提出了应注重创新、减少重复,走产学研相结合之路,缩短研究与应用的距离,加强对自发突变雄性不育基因的转基因应用研究等建议;同时对其应用前景进行了展望,认为基因工程雄性不育很有可能成为植物雄性不育利用的主流。

关键词:植物;基因工程;雄性不育;杂种优势

中图分类号:Q 943.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)08-0181-05

利用作物杂种优势是农业生产中培育高产、优质、抗病、抗逆新品种的最主要手段。雄性不育性是迄今为止利用杂种优势最经济、最有效的途径之一。Mariani 等^[1]于 1990 年成功地以基因工程的方法,创造了人工雄性不育系,翻开了植物雄性不育研究及应用新的一页。自 20 世纪 90 年代以来,国内外在该领域的研究取得了突破性进展,为作物杂种优势的利用开创了新的前景。

1 人工构建雄性不育基因的技术路线

大量的研究证明,植物的雄性育性是由基因控制并受特定生态环境因素影响的一系列有时有序的生理过程、生化反应、形态构建的最终表型结果^[2]。雄性器官发育过程中任何一个环节受阻或异常,都有可能产生雄性不育。因而,通过基因工程的方法,在植物基因组中引入特定的外来基因,以阻断、干扰、抑制或破坏小孢子发育过程,可导致雄性不育。目前人工构建雄性不育基因的技术路线主要有以下几种。

1.1 利用植物花粉花药特异启动子控制表达毒素基因获得雄性不育

该路线的原理是利用细胞毒基因在花药花粉特异启动子的调控下选择性地破坏花粉、花药结构,阻断花粉发育的正常进程。Mariani 等^[1]利用该思路构建了第 1 个人工雄性不育基因。该课题组将从烟草中分离的花药绒毡层特异表达基因 *TA29* 的启动子区域(*pTA29*)分别与 2 个不同的核糖核酸酶(*Rnase*)基因融合,转化烟草和油菜。*pTA29-Rnase* 基因选择性地破坏了花药绒毡

层的 RNA,导致绒毡层细胞过早降解死亡,成功得到了工程雄不育株。此后该方法被国内外广泛用于在多种作物上转导产生雄不育,我国的第 1 个基因工程雄不育基因就是由李胜国等^[2]用相似的办法构建并在烟草上成功表达的。后来的研究者将 *barnase* 与来自多种作物的花粉、花药特异表达启动子 *A9*、*pCA55*、*pE1*、*pZM13*、*pT72*、*pS1*、*pRTS* 等融合转化植物,多数成功得到雄性不育株^[3-7]。该途径是最早也是目前应用最广、最成熟的一种产生基因工程雄不育的办法。*pTA29* 表达特异性好,并在多种双子叶及单子叶植物上都表现了良好的生物活性、未发现对植物其它性状有不良影响,是该途径应用最多的启动子。利用花药花粉特异启动子与 *barnase* 之外的其它细胞毒素基因相连,也可用于培育工程不育株,但目前 *barnase* 仍是培育工程雄不育株的最佳细胞毒素基因^[8]。

1.2 通过提前降解胼质壁导致雄性不育

在花粉发育过程中,花药绒毡层分泌胼质酶的时间非常关键。如胼质壁过早降解,会影响小孢子外壁形成,造成小孢子败育。Worrall 等^[9]将 β -1,3-葡聚糖酶基因分别与拟南芥花粉发育早期表达基因 *A3*、*A9* 启动子及 *CaMV 35S* 启动子嵌合后转化矮牵牛, Tsuchiya 等^[10]利用大豆中的 1 个 *PR- β* -1,3-葡聚糖酶基因与水稻花药绒毡层特异启动子 *Osg6B* 嵌合后转化烟草,均获得了雄不育植株。目前应用该路线产生雄性不育的研究还比较少。

1.3 导入使线粒体结构或功能异常的基因获得雄性不育

大量的研究发现,天然细胞质雄性不育植株线粒体基因组中存在嵌合基因,并确定它们和 CMS 存在某种联系^[11]。通过基因工程的手段扰乱线粒体功能,可获得

第一作者简介:贾利元(1967-),男,河南夏邑人,硕士,副教授,现主要从事蔬菜育种及种子生产方面的教学与科研工作。E-mail: sqzyjly@126.com

收稿日期:2012-12-10

雄性不育。如在植物体中,线粒体 ATP 合成酶(ATPase)亚基 9 基因(*atp9*)转录产物需进行编辑后才能形成成熟的 mRNA;Hernould 等^[12]将未编辑的 *atp9* 基因(*u-atp9*)与酵母 *coxIV* 转导肽编码序列融合转化烟草,在线粒体中形成一种 12 KD 蛋白,获得了雄不育株。Heiser 等^[13]将呼吸链 complex I 55 kDa NADH 结合亚基反义基因导入马铃薯植株,植株育性受到很大影响。He 等^[14]将烟草线粒体 ATP 合酶 β -亚基靶序列与玉米细胞质雄性不育有关的线粒体基因 *T-urf13* 融合后转化烟草实现了可稳定遗传的胞质不育。目前该技术路线中应用的启动子都是 CaMV 35S 启动子。CaMV 35S 启动子可使靶基因在植物体中系统性表达,可能会给植株除雄性器官外的其它部位也造成不良影响。能否将花粉花药特异表达基因与该类基因联合,从而既提高了不育度又不致影响其它性状,值得思考和尝试。

1.4 通过反义技术阻断花粉发育有关基因表达获得雄性不育

该技术路线的特点是利用反义技术,阻断花粉发育相关基因的表达获得雄性不育。这方面应用最早成功的例子是 Vander Meer 等^[15]在矮牵牛花药中特异表达苯基苯乙烯酮合成酶(CHS)反义基因(*as-chs*)导致雄性不育。阎隆飞等^[16]、李艳红等^[17]将反义肌动蛋白基因与花药花粉特异启动子嵌合转化小麦、番茄和烟草,反义基因特异性地封闭或抑制了花药和花粉中内源肌动蛋白的表达,导致花药和花粉细胞畸形或无活力,花粉粒中微丝明显减少,产生了雄性不育,这是我国首例具有独立知识产权的转基因雄性不育。通过反义技术对很多基因进行遗传操作均可获得雄性不育^[18-22]。反义技术操作简单、准确、高效,适用范围广泛;反义 RNA 具有特异的阻抑对象,本身不能翻译成蛋白质,具有很大的安全性,是实现基因工程雄性不育的 1 条很好的技术路线。另外,用农杆菌 *rolC*、*rolB* 基因转化植物^[23]、通过转座子突变的方式^[24],模拟化学杀雄的过程将特异启动子与化学诱导表达的毒素相连转化植物^[25-26],均可产生雄性不育株。

2 基因工程雄性不育的遗传特征

除个别将嵌合基因导入线粒体基因组而使不育性表现为胞质遗传的特例之外,凡导入植物核基因组引起不育的人工雄不育基因,几乎全部符合孟德尔遗传模式,可稳定遗传,且相对于野生类型表现为显性。人工构建的恢复基因对不育基因又表现为显性。Zabaleta 等^[27]对 *u-atp9* 及 *as-atp9* 的遗传进行了分子水平的分析。利用其转基因不育株自然状态下不结实,但能产生极少量有效花粉的特点,通过强制自交获得了非常难得的纯合不育株。用该株与恢复基因纯合可育株杂交, F_1

代均含有不育及恢复基因,表现全可育。 F_2 代表现 13 (21/28) : 3 (7/28) 的育性分离,并且出现 7% 既不含不育基因、也不含恢复基因的野生型可育株,表明不育与恢复基因并非同一位点的(复)等位基因,恢复基因对不育基因起上位抑制作用。其它人工不育与恢复基因的遗传关系尚未确证,但由于二者插入到同一位点的机率很小,很可能也属于上位抑制作用。

根据花粉粒基因型与表现型之间的关系,作者将基因工程雄性不育分为孢子体与配子体遗传型 2 类。靶基因一般只有与典型的花粉特异启动子相连才能产生配子体型不育,基因表达空间局限于花粉粒,表达时间一般在小孢子有丝分裂之后,最早开始于减数分裂完成后的四分体时期,花粉粒育性由各自基因型决定,不育基因对花粉粒不具有整体效应,最多只能产生 50% 的败育花粉,为配子体型不育。如玉米 *Zm13* 基因的 mRNA 最早在小孢子有丝分裂时开始转录,*Zm13-barnase* 嵌合基因转化的玉米植株最多只能产生 40%~50% 的败育花粉^[4]。由系统性表达启动子如 CaMV 35S 或花药绒毡层特异启动子如 TA29 调控表达的嵌合不育基因对花粉具有整体效应,花粉粒育性由母体基因型决定,表型一致,能产生全不育花粉,为孢子体型。目前人工构建的雄不育基因多属此类型。水稻 pSl 启动子虽也属花粉特异启动子,但由于其从花粉母细胞时期即开始作用,对花粉具整体效应,故其引导的不育基因属孢子体型,可产生近 100% 的不育花粉。

3 植物基因工程雄性不育的保持和恢复

目前转基因产生的雄性不育多属显性核不育。当核不育基因为单基因显性表现时,可用传统“两用系”的办法进行保持。Mariani 等^[28]将工程不育基因与抗除草剂基因连锁,在苗期喷施除草剂可选择性地杀死“两用系”中的可育株,从而成功解决核不育基因不能 100% 保持的难题。目前基因工程雄性不育基因多采用此办法实现半保持和全保持。

对于以果实或种子为产品器官、又不能单性结实的自花及常自交授粉作物,必需有 100% 恢复系才能保证不育系杂种产量。对于孢子体型不育,目前创造恢复系的途径有 2 个。1 种是导入不育基因表达产物的抑制剂基因,1 种是利用反义技术或核酶(Ribozyme)技术阻断不育基因的表达。Mariani 等^[28]将 *Rnase* 的天然抑制剂基因 *barstar* 转入的油菜,在蛋白质水平上抑制了核酸酶活性,从而实现育性的恢复。Huttner 等^[29]以 β -1,3-葡聚糖酶不育基因为底物设计了 Ribozyme,转化矮牵牛实现了恢复。*u-atp9* 及 *rolC* 基因是分别构建了相应的反义基因实现了育性恢复^[27,30]。值得关注的是配子体型不育基因的保持和恢复问题。这类不育系只能产生部分花粉的不育。针对 *Zm13-barnase* 嵌合基因在生产上

的利用,刘大文等^[24]认为可利用 Williams 2 提出的策略:克隆 1 个隐性核不育基因 *rf* 的等位基因 *Rf*,将 *Rf* 与不育基因连锁转化植物,筛选获得 *rf/rfRfZm13-barnase* 植株,这种植株产生可育的 *rf* 与不育的 *rfRfZm13-barnase* 2 类花粉,将其与不育系 *rfrf* 授粉,可实现 100% 保持,该种植株自交后代一半为不育,另一半与亲本相同,可自身繁殖。这种不育系将孢子体不育与配子体不育、隐性核不育与显性核不育有机结合起来,既不需要创造恢复系,也不需要转入抗除草剂基因,具有独特的优点和一定的现实意义。

目前还有一些人工创造的不育基因尚未找到恢复的办法,如 van der Meer 等设计的 *as-chs* 基因。但相信人们只要能创建不育基因,就能找到理想的恢复办法。

4 影响基因工程雄不育基因表达效果的因素

4.1 嵌合不育基因类型及其插入位置与拷贝数

不同的不育靶基因结构特点不同,不育机制不同,所产生的不育表型肯定存在差异。这已在以前的研究中得到证实。在所有的不育基因转化体系中,只有一部分且通常只有一少部分转化体表现雄性不育。Mariani 等^[1]研究发现,单拷贝 *TA29-Barnase* 基因足可在转基因烟草中引起完全雄性不育,而至少 4 个拷贝的 *TA29-RNase T1* 基因才可导致烟草雄性不育。说明嵌合基因插入的位置及拷贝数直接影响育性表达效果。Denis 等^[31]发现 *TA29-Barnase* 及 *TA29-RNase T1* 转化的油菜不育株对温度敏感,不同个体间敏感程度不同,而其中 1 株高温不育稳定的转化体只含 1 个拷贝的 *RNase T1* 基因,说明至少在某些情况下,基因插入的位置比拷贝数对表达的效果影响更明显。

4.2 启动子

启动子调控靶基因的表达,在不育性的表达中起着与靶基因同等重要的关键作用。不同启动子在不同植物种类中表达活性不同。来源于烟草的 pTA29 在众多双子叶及单子叶植物中都表现了高表达活性。pZm13 在玉米、小麦、水稻、番茄、烟草中有特异活性,而在油菜中无活性^[32]。同是来源于水稻,pS1 在转基因烟草中可以表达,而 pRTS 则不然^[7]。将启动子结构进行某种修饰改造,是雄不育基因构建中常用的方法。Van der Meer 将 *ChiB* 基因中的 *anther box* 序列插入 CaMV 35S 启动子,嵌合启动子产生了花药表达特异性,使 *as-chs* 基因得以在花药中专一表达^[15]。针对 *TA29-RNase* 转基因不育株的温敏问题,陈潜等对 *TA29* 启动子进行了改造,构建成嵌合启动子 *antherbox-CaMV35S-pTA29*,成功获得了对温度不敏感的雄不育拟南芥菜和大豆。此外,启动子克隆的准确性也很重要。由于目的基因在转化体中不能自交纯合,而总是处于杂合状态,小的表达载体更有利于不育性的稳定遗传。在包含所有必要调节信

息的前提下,启动子碱基序列应越短越好。张爱民等^[33]对国内不同学者克隆的 *TA29* 启动子进行了比较,发现其片段大小差别达 5 倍之多,实质上只要包含 5' 端-207-85 序列,就具有完全的特异表达功能。

4.3 环境因子

Denis 等^[31]和李胜国等^[34]研究中均发现, *TA29-RNase* 基因介导的雄性不育性具有温度敏感性,其油菜及烟草转化体在夜温 15~17℃ 以上出现不育性降低,在 27~30/23~25℃ 条件下育性回复现象明显。但 2 种作物上都发现了极少数对温度不敏感的植株。这可能是因为在遗传因素对育性的影响是更明显的,温度只在某些情况下影响其表达效果。

5 国内植物基因工程雄性不育研究中应注意的问题及应用前景展望

5.1 注重创新,减少重复

中国是一个农业大国这一现实,加上在转基因雄不育研究领域起步晚、资金投入少等因素,决定了注重创新、减少重复具有特殊重要的意义。如不具有知识产权,遗传工程不育基因在生产上的应用代价将是高昂的。阎隆飞等^[16]、郑宏红等^[19]、陈建南等^[22]在创新方面做了有益的尝试,并取得了可喜的进展,表明完全有能力开展独创性的工作。相关科研机构应注重加强协作,拉开研究的广度和层次。较大程度上重复国内外已完成或正在进行的工作,或在同一水平线上作平行研究,是当前国内相关研究中表现较普遍的另一个问题。

5.2 走产学研相结合之路,缩短研究与应用的距离

相关科研机构应特别注意与国内大型种子公司合作,走产学研密切结合之路,将资本与技术优化组合,使双方优势互补,在研究与应用 2 个阶段之间减少环节、少走弯路,尽早排除应用中可能出现的各种实际问题,尽早实现与市场对接,促进科技成果迅速转化为现实生产力。

5.3 加强对自发突变雄性不育基因的转基因应用研究

应用自然界自发突变产生的雄不育基因,可提高雄不育转基因产品的安全系数,并有可能提高不育基因与遗传背景的谐调性及表达的稳定性。因此认为,至少可在下面几个方向上对自发突变雄不育基因进行基因工程操作。其一,将天然显性核不育基因及相应恢复基因克隆后分别与抗除草剂基因融合,实现对天然不育基因的工程化操作。其二,对于隐性核不育基因,按上文中 Williams 等提出的策略与花粉特异启动子配合应用。其三,克隆胞质不育类型的恢复基因并进行遗传转化,解决恢复基因在一般材料中分布较少的问题,大大拓展现有胞质不育基因的利用范围,同时保留三系配套制种的品种保护优势。

5.4 应用前景展望

随着种子市场竞争加剧,新一轮的品种竞争将越来越多地集中在种子成本及质量上。利用雄不育技术可简化制种程序和难度、有利于供种保障,有效降低制种成本、提高制种纯度,使种子企业在竞争中处于有利位置。天然核不育基因及质核互作不育基因在应用中各有明显缺陷;而人工构建的雄不育基因及其不育系不育机制清楚、遗传简单、通用性强,在转育速度、配组自由度、利用范围、易用性等诸多方面都有明显的优越性。转基因雄不育系应用的主要不利因素是产品的安全性问题。贾士荣等^[35]认为,国际转基因作物安全性争论的实质并不纯粹是科学问题,而是经济和贸易问题。对目前国际上安全性争论的几个典型事件进行的科学分析表明,这些事件没有一例造成了确凿的安全危害。很多学者认为,植物基因工程在育种上应用是必然的,转基因植物在全球的商业化趋势不可逆转,并最终为人们所接受。生产中,转基因大豆、玉米及棉花品种已迅速大面积推广。转基因不育系在加拿大已用于油菜的商业化制种。随着技术的成熟,人类可以趋利避害,利用该技术为人类造福。因而,作者认为基因工程雄不育系将进一步拓宽植物杂种优势利用范围,很有可能发展成为雄不育利用的主流,进而发展成为植物杂优利用的主要途径之一。

参考文献

- [1] Mariani C, De Beuckeleer M, Truettner M, et al. Induction of male sterility in plants by a chimaeric ribonuclease gene [J]. *Nature*, 1990, 347: 737-741.
- [2] 李胜国, 刘玉乐, 康良仪, 等. 烟草花药特异启动子的克隆、活性测定及雄性不育基因和恢复基因的构建[J]. *农业生物技术学报*, 1995, 3(3): 25-31.
- [3] Block M D, Debrouwer D, Moens F, et al. The development of a nuclear male sterility system in wheat; Expression of the barnase gene under the control of tapetum specific promoters[J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 125-131.
- [4] 刘大文, 王守才, 谢友菊, 等. 转 Zm13-Barnase 基因玉米的获得及其花粉育性研究[J]. *植物学报*, 2000, 42(6): 611-615.
- [5] Zhan X Y, Wu H M, Cheung A Y, et al. Nuclear male sterility induced by pollen specific expression of a ribonuclease[J]. *Sex plant Reprod*, 1996, 9(1): 35-43.
- [6] 凌定厚, 陶利珍, 马镇荣, 等. 以基因枪介导获转 *ps1-barnase* 基因的工程雄性不育水稻植株[J]. *遗传学报*, 1998, 25(5): 433-442.
- [7] 陆桂华, 孙海涛, 张景六, 等. 由 *RTS-barnase* 嵌合基因的表达导致的雄性不育水稻植株[J]. *植物生理学报*, 2000, 26(2): 171-176.
- [8] 缪颖, 伍炳华, 陈德海. 植物雄性不育基因工程的研究及应用(综述)[J]. *亚热带植物通讯*, 2000, 29(1): 55-60.
- [9] Worrall D, Hird D L, Hodge R, et al. Premature dissolution of the microsporocyte callose wall causes male sterility in transgenic tobacco [J]. *Plant Cell*, 1992, 4(7): 759-771.
- [10] Tsuchiya T, Toriyama K, Yoshikawa M, et al. Tapetum-specific expression of the gene for an endo-beta-1,3-glucanase causes male sterility in transgenic tobacco[J]. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36(3): 487-494.
- [11] 刘良式. 植物分子遗传学[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 105-117.
- [12] Hernould M, Suharsono S, Litvaks, et al. Male-sterility induction in transgenic tobacco plants with an unedited *atp9* mitochondrial gene from wheat [J]. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 1993, 90: 2370-2374.
- [13] Heiser V, Rasmusson A G, Thieck O, et al. Antisense repression of the mitochondrial NADH-binding subunit of complex I in transgenic potato plants affects male fertility [J]. *Plant Science*, 1997, 127: 61-69.
- [14] He S. A cytoplasmic male sterility-associated mitochondrial protein causes pollen disruption in transgenic tobacco[J]. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 1996, 93(21): 11763-11768.
- [15] Vander Meer I M, Stam M E, van Tunen A J, et al. Antisense inhibition of flavonoid biosynthesis in petunia anthers results in male sterility [J]. *The Plant Cell*, 1992(4): 253-262.
- [16] 阎隆飞, 刘国琴, 肖兴国. 从花粉肌动蛋白到作物雄性不育[J]. *科学通报*, 1999, 44(23): 2471-2475.
- [17] 李艳红, 肖兴国, 赵广荣, 等. 将新的人工雄性不育基因导入小麦栽培品种的研究初报[J]. *农业生物技术学报*, 1999, 7(3): 255-258.
- [18] Liu J Q, Richard Thompson, Ao G M. Antisense inhibition of an anther-expressed protein kinase gene lead to male sterility in transgenic plants [C]. *Proceedings for the Sino-Korean symposium on agricultural biotechnology*, Suwon, Korea, 1996.
- [19] 郑宏红, 瞿礼嘉, 刘美华, 等. 花药特异性表达的类查尔酮合酶基因 *D5* 与水稻花粉发育相关[J]. *科学通报*, 2000, 45(11): 1132-1138.
- [20] Goetz M, Godt D E, Guivarc'h A, et al. Induction of male sterility in plants by metabolic engineering of the carbohydrate supply[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(11): 6522-6527.
- [21] Zhang Y, Shewry P R, Jones H, et al. Expression of antisense SnRK1 protein kinase sequence causes abnormal pollen development and male sterility in transgenic barley[J]. *Plant J*, 2001, 28(4): 431-441.
- [22] 陈建南, 傅鸿仪, 路子显, 等. HSP70 反义 RNA 对高粱花粉正常形成的影响[J]. *科学通报*, 1997, 42(18): 1993-1997.
- [23] Spena A, Estruch J J, Prensens E, et al. Anther-specific expression of the *rolB* gene of *Agrobacterium rhizogenes* increase IAA content in anthers and alters anther development in whole flower growth [J]. *Theor Appl Genet*, 1992, 84: 520-527.
- [24] Arts M G M, Dirkse W G, Stiekens W J. Transposon tagging of a male sterility gene in *Arabidopsis*[J]. *Nature*, 1993, 363: 715-717.
- [25] Kriete G, Niehaus K, Perlick A M, et al. Male sterility in transgenic tobacco plants induced by tapetum-specific deacetylation of the externally applied non-toxic compound N-acetyl-L-Phosphinothricin[J]. *Plant J*, 1996, 9(6): 809-818.
- [26] O'Keefe D P, Tepperman J M, Dean C, et al. Plant expression of a bacterial cytochrome p450 that catalyzes activation of a sulfonylurea proherbicide[J]. *Plant Physiol*, 1994, 105: 473-482.
- [27] Zabaleta E, Mouras A, Hernould M, et al. Transgenic male-sterile plant induced by an unedited *atp9* gene is restored to fertility by inhibiting its expression with antisense RNA [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 11259-11263.
- [28] Mariani C, Gossele V, De Beuckeleer M, et al. A chimaeric ribonuclease-inhibitor gene restores fertility to male sterile plants[J]. *Nature*, 1992, 357(4): 384-387.
- [29] Huttner E J. Cellular Biochemistry, Keystons symposium on molecular and cellular biology[M]. Hoboken: Wiley-Liss Press, Supplement, 1995: 19A.

杓兰属植物研究现状

赵国英¹, 徐宝萍², 董 然¹

(1. 吉林农业大学 园艺学院, 吉林 长春 130118; 2. 通化市国土局 东昌分局, 吉林 通化 134000)

摘 要:从杓兰种质资源分布、生殖生物学、菌根生物学、药用与化学成分及栽培管理等方面综述了该属植物的研究现状, 发现了杓兰属植物研究与利用存在的问题及不足, 对未来发展方向进行了展望和建议。

关键词:杓兰属; 研究进展; 前景展望

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)08-0185-04

杓兰属(*Cypripedium*)是兰科植物中具有重要观赏价值的属之一, 该属植物株型秀美多姿、花色艳丽、花形奇特, 许多种是重要的观赏花卉, 深受国内外广大花卉爱好者和科研人员的喜爱。国外对资源保护工作十分

重视, 目前美国已将 11 种杓兰列入不同的濒危等级^[1]。尽管所有野生兰科植物均被列入《野生动植物濒危物种国际贸易公约》的保护范围^[2], 但我国的杓兰资源仍被滥采乱挖, 人为破坏严重, 许多种类已处于濒危的地步。目前国内外对杓兰属植物的研究报道并不多见, 该文对近年有关杓兰属资源研究成果进行总结。

第一作者简介:赵国英(1986-), 女, 硕士, 现主要从事园林植物栽培与应用研究等工作。E-mail: zhaoguojiang@126.com.

责任作者:董然(1966-), 女, 博士, 教授, 现主要从事长白山野生植物的引种驯化等科研工作。

基金项目:吉林省科技厅科技支撑资助项目(20100259)。

收稿日期:2012-12-10

1 杓兰属资源研究现状

1.1 种质资源及其分布

杓兰属植物是兰科(Orchidaceae)杓兰亚科(*Cypripedioideae*)的一个保育研究的热点类群, 全属植物约

[30] Schmulling T, Rohrig H, Pilz S, et al. Restoration of fertility by antisense RNA in genetically engineered male sterile tobacco plants[J]. Mol Gen Genet, 1993, 237(3): 385-394.

[31] Denis M, Delourme R, Gourrent J P, et al. Expression of engineered nuclear male sterility in *Brassica napus* [J]. Plant Physiol, 1993, 101: 1295-1304.

[32] 潘照明, 刘玉乐, 李胜国, 等. 玉米花粉特异启动子 Zm13 的克隆及活性测定(简报)[J]. 农业生物技术学报, 1997, 5(2): 203-204.

[33] 张爱民, 肖兴国, 聂秀玲. 中国的植物转基因雄性不育研究[J]. 中国科学基金, 2000(3): 132-136.

[34] 李胜国, 刘玉乐, 朱峰, 等. 基因工程雄性不育烟草及其温度敏感性[J]. 植物学报, 1997, 39(3): 231-235.

[35] 贾士荣, 金尧军. 国际转基因作物的安全性争论—几个事件的剖析[J]. 农业生物技术学报, 2003, 11(1): 1-5.

Review on Male Sterility of Genetical Engineering in Plants

JIA Li-yuan, ZHANG Jian-xiang

(Shangqiu Vocational and Technical College, Shangqiu, Henan 476005)

Abstract: The strategy for constructing plant male sterile genes by genetic engineering as while as the maintaining and restoring methods of the male sterility were generalized. The hereditary property of transgenic male sterile genes and the factors affecting the expression of them were analyzed. Issues deserving of attention in the research in our country and author's suggestions were put forward, including paying attention to innovation, reducing duplication, combination of research, production and teaching, shorten the distance of research and application, strengthen the application and research on transgenic of spontaneous mutant male sterility and so on. The application prospects of transgenic male sterility were discussed. It's considered that genetically engineered ones will probably be the main type of male sterile genes applied in plant breeding.

Key words: plant; genetic engineering; male sterility; heterosis