常见的植物转基因技术及方法研究进展

徐丽萍，刘树英，于　淼，刘洪章

（吉林农业大学 生命科学学院，吉林 长春 130118）

摘　要：该研究总结了目前最常见的几种植物转基因方法：基因枪法、农杆菌介导法、花粉管通道法、聚乙二醇介导法、病毒介导法的遗传转化原理，及其适用范围、应用实例和发展过程，并对每一种方法的优缺点进行了归纳和总结。

关键词：转基因方法；基因枪法；农杆菌介导法；花粉管通道法；聚乙二醇介导法；病毒介导法

中图分类号：Q 943.2　**文献标识码**：A　**文章编号**：1001－0009(2014)20－0184－05

植物转基因技术(transgenic technology)，又称遗传转化技术(genetic transformation)，是指把从动物、植物或微生物中分离到的目的基因或者经过修饰的基因导入植物体内，使目的基因能够在受体内进行稳定的表达和遗传并赋予植物人们所需的性状。由于转基因技术的发展能够克服常规育种手段培育时间长、工作量大等方面的不足，20 世纪 80 年代以来，研究者们在不断的实践探索中建立起多种植物转基因技术体系，人们从分子水平对生物学和遗传学有了更为深刻的认知，并且结合组织培养技术，基因工程技术已开始应用于植物基因组的修饰和改变，外源基因(如抗虫或抗病基因等)的导入，新的基因型的出现，实现了基因型改良，从而为植物的遗传育种开辟了广阔前景，至今植物转基因技术的研究与应用在世界各地蓬勃发展，并创造了巨大的经济效益。

1　载体介导法

1.1　农杆菌介导法

农杆菌是一种革兰氏阴性土壤杆菌。1907 年，Smith 和 Townsent 发现它是植物致瘤的起因，它感染大多数双子叶植物的受伤部位形成肿瘤，能够诱发冠瘿瘤的称为根癌农杆菌，诱导毛状根的称为发根农杆菌，它对寄主细胞的转化是借助诱导根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)的 Ti(Tumer induce)质粒或发根农杆菌(*Agrobaterium rhizogenis*)的 Ri(Root induce)质粒将其中一段特定的 DNA 片断转入寄主细胞基因组的过程。

然而随着人们对转化机理的了解以及转化方法的改进农杆菌的宿主范围已经逐步拓宽。酚类化合物的添加能够促进农杆菌内 Ti 或 Ri 质粒 DNA 上的 *vir* 基因的诱导，并加强细菌在植物细胞上的吸附力，从而提高转化率。由此农杆菌介导法逐渐开始应用于单子叶植物的基因转化研究，尤其是禾谷类作物。Wu 等[1]研究发现，侵染和共培养培养基中加入 200 mmol/L 酚类化合物乙酰丁香酮和 0.01%的表面活性剂 Silwet-L77 能显著提高小麦幼胚农杆菌转化中 T-DNA 的转移效率。Cheng 等[2]于 1997 年首次以刚剥离的幼胚、预培养的幼胚和幼胚愈伤组织为受体获得农杆菌介导的转基因小麦植株。到目前为止，农杆菌介导的转基因小麦不单单只局限在选择标记基因和 *GUS* 报告基因建立和优化转化体系，已经逐渐走向优质基因的应用。He 等[3]成功的利用农杆菌介导法将胆碱脱氢酶基因(*bet A*)导入小麦中，试验结果证明转基因植株小麦体内渗透调节物甜菜碱的含量大大提高，从而提高小麦的抗旱性，农杆菌介导的单子叶植物转化试验在水稻、玉米上也取得了成功。人类食物的 70%为禾谷类作物，所以单子叶植物的基因工程研究对人类具有十分重要的意义。Zhang 等[4]利用原始的紫花新疆大叶苜蓿愈伤组织建立苜蓿再生体系，并对紫花苜蓿再生体系进行优化。选择生长力旺盛的愈伤组织将 2 个谷氨酰胺合成酶(*GS*1 和 *GS*2)基因和 Δ1- 吡咯啉-5- 羧酸合成酶(*P5CS*)基因通过农杆菌转化法导入苜蓿中，并结合 PCR 分析和 Southern 杂交技术进行检测，分析结果证明外源基因已经整合到转基因紫花苜蓿植物的基因组中。该试验通过农杆菌介导法让谷氨酰胺合成酶在转基因苜蓿植株中高效表达赋予其除草剂抗性和抗渗透性，这项工作为今后改进苜蓿产量以及分子生物学操作与研究奠定了基础。海甘蓝是一种高芥酸新兴油料作物，作为生物燃料以及对被重金属污染的土壤和水体进行的植物修复有着重要作用，因此受到越来越多的关注[5]。目前已经开发了一种

第一作者简介：徐丽萍(1988-)，女，硕士研究生，研究方向为观赏植物转基因研究。E-mail:359200123@qq.com.

责任作者：刘洪章(1957-)，男，博士，教授，博士生导师，研究方向为观赏植物资源。E-mail:lhz999@126.com.

基金项目：农业部“948”资助项目(2012Z32)。

收稿日期：2014－07－14

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

高效的农杆菌介导转化系统，以预培养的海甘蓝下胚轴为外植体，将细菌砷酸还原酶(*ARSC*)基因及 γ-谷氨酰半胱氨酸合成酶(γ-*ECS*)基因通过农杆菌介导法成功的将外源基因导入，该方法有更高的转化效率，大大提高了紫甘蓝潜在的油分含量及重金属植物修复效果。潘映雪等[6]以马铃薯品种“东农 303”微型薯为试验材料，通过根癌农杆菌介导法，把耐旱植物厚叶旋蒴苣苔的脱水蛋白基因 *BDN*1 导入马铃薯中，并研究了对其遗传转化的影响因素，对获得的抗性再生植株进行 PCR 检测、Southern-blot 检测、半定量 RT-PCR 检测并且测定了转基因植株的相对含水量、脯氨酸、丙二醛含量和超氧化物歧化酶活性，试验结果表明，*BDN*1 基因在马铃薯中高效表达，转基因植株的叶片锁水能力强，渗透调节物质含量增幅较大，酶活性高，从而忍受干旱胁迫能力增强。该试验为培育抗旱马铃薯新品种及提高马铃薯的产量打下夯实基础。农杆菌遗传转化已经突破了植物物种领域，近几年对非植物物种也进行遗传转化的研究[7]，更是将农杆菌推向了未来生物技术应用的最前沿。利用此方法已成功转化的真菌有 100 种[8]。1998 年 Groot 等[9]利用根癌农杆菌成功转化了 5 个丝状真菌，首次为丝状真菌开辟了一种新的、有效且稳定的转化途径。王艳玲等[10]利用农杆菌介导的方式建立了粘帚菌的遗传转化体系，结合正交实验研究了影响转化效率的因素，首次成功建立了农杆菌介导的粘帚菌的遗传转化体系，得到了转化的最佳条件，分别将潮霉素 B 磷酸转移酶基因(*hph*)和绿色荧光蛋白基因(*egfp*)转入粘帚菌中并实现了稳定表达，该试验为研究 ETP(epipoly thiodioxo piperazine)类化合物的生物合成及其调控机制奠定了基础。农杆菌已被广泛用作载体介导法来创建转基因植物。农杆菌介导的基因转移是由细菌、宿主和环境等各种因素决定。这项技术的应用具有增强植物的耐生物(非生物)逆境、提高作物产量、培育出抗性植株、进行植物修复、生物制药生产等作用，还可以增强农作物的营养成分。农杆菌已被成功用于转化各种园艺上和经济上重要的单子叶植物和双子叶植物。此外，莨菪根癌农杆菌 T-DNA 衍生的纳米复合物的方法已经开发并将用于植物生物学[11]。

1.2 病毒介导转化法

近年来出现了一种新的用于植物转化的载体-病毒。病毒介导法是将外源基因插入到病毒基因组中，病毒核酸能在寄主细胞中进行复制和表达，因此病毒通过对植物细胞的感染而将外源基因导入植物细胞[12]。与农杆菌介导法相比病毒载体不受寄主是单子叶或是双子叶植物的限制。该方法更易在实验室进行操作。目前正在研究的植物病毒载体系统有单链 RNA 植物病毒载体系统，单链 DNA 植物病毒载体系统，双链 DNA 植物病毒载体系统。

烟草花叶病毒 TMV(Tobacco Mosaic Virus)是迄今为止研究得最为深入的一种单链 RNA 病毒，是以单链 RNA 为模板经反转录酶作用合成双链的 cDNA，将其克隆到质粒或粘粒载体上，把外源基因插入到病毒的 cDNA 部分，通过体外转录，将带有外源基因的病毒 DNA 感染并进入寄主植物细胞。1989 年，Dawson 用烟草花叶病毒(TMV)载体系统表达了 *CAT* 基因，发现其表达率非常高。

花椰菜花叶病毒(Cauliflower Mosaic Virus)CaMV 双链 DNA 植物病毒，将其病毒基因组中对病毒繁殖非必需的 1 段核苷酸序列去掉，将外源目的基因插入到 CaMV DNA 上，具有感染能力的病毒包裹着重组 DNA 分子，以获得外源基因的转移。其缺点在于：病毒载体可插入的外源 DNA 片段小；CaMV 的寄主范围有一定的局限性，且寄主植物受 CaMV 感染后易患病，产量和品质得不到理想效果；感染病毒的受体只能限制在原生质体；复制稳定性差，转录和复制机理复杂外源基因无法稳定地在后代中得到表达。

2 DNA 直接导入法

2.1 以原生质体为转化受体最常见的方法为 PEG 法

PEG 介导的遗传转化是使用较早较普遍的细胞融合方法，Hinnen 等首先利用聚乙二醇作介质转化酵母原生质体获得成功。PEG 能促使细胞膜之间或外源 DNA 与膜之间的接触和粘连，并可通过改变细胞膜表面的电荷，引起细胞膜通透性的改变，通过原生质体的内吸作用使外源 DNA 进入原生质体，随机插入并整合到染色体上，通过原生质体再生形成完整植株。早在 1992 年丁群星等对 PEG 介导方法进行了研究，试验表明 PEG 浓度、PEG 处理时间、质粒 DNA 浓度对都对转化频率有着不可忽视的影响。PEG 法容易操作且实验设备简单，对原生质体的伤害小，一次转化原生质体数量较多。并且对外源基因的整合率高，重复性好[13]。利用原生质体的全能性目前此种方法已在多种禾谷类作物及一些双子叶植物中获得了转基因植株[14]，但此方法的原生质体的培养过程较为繁琐，且转化率低[15]。近年来，随着分子生物学不断的发展，PEG 介导的原生质体转化法逐渐延伸向植物病理学领域[16]。2009 年宁平等通过制备丝黑穗病菌的原生质体，应用 PEG 介导的原生质体转化技术建立玉米丝轴黑粉菌遗传转化体系为发展出高效的玉米丝轴黑粉菌遗传转化体系和阐明其致病机制等方面奠定基础。2011 年高静等[17]利用带 *hph* 基因的质粒以苹果腐烂病菌(*Valsa mali* var. *mali*)03-8 为受体菌株，通过 PEG 融合法对其原生体进行转化，试验结果表明，外源基因 *hph* 能在苹果树腐烂病菌中稳定遗传，为苹果树腐烂病菌的致病机制研究、致病相关基因克隆以及为寻求控制该病害的有效途径奠定基础。为了探索不同酶系组成对玉米弯孢叶斑病菌原生质体制备的影响，建

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

立该病菌原生质体遗传转化系统，刘铜等[18]采用酶系混合物裂解菌丝体制备原生质体，应用 PEG 介导方法进行原生质遗传转化，通过 PCR 和 Southern blotting 技术对转化子进行验证。结果表明，玉米弯孢叶斑病菌原生质体制备的最佳酶系为1%溶壁酶+1%蜗牛酶+1%纤维素酶混合酶系，原生质体长生量为 6.78×10^6 cfu/mL。用 PEG 介导方法转化共获得 16 个稳定的转化子，从中随机挑取 5 个转化子发现质粒 PV2 已被成功整合到基因组中。该研究获得了制备玉米弯孢叶斑病菌原生质体的最佳酶系，建立了 PEG 介导的原生质体遗传转化体系，为开展该菌致病相关基因克隆和基因功能研究提供一种手段。

2.2 以细胞、细胞团、小愈伤组织转化受体最常见的方法为基因枪法

早先人们认为农杆菌不能感染单子叶植物，于是以原生质体为受体进行研究，但是由于原生质体再生困难，研究方向又转向了基因枪法[19]。美国康乃尔大学 Sanford 等于 1987 首次提出基因枪法，Klein 等最早应用基因枪法转化并成功的转化了洋葱表皮的细胞[20]。基因枪法是外源 DNA 在钨粉或金粉微粒包裹下借助基因枪装置使微弹加速穿透植物的细胞壁和细胞膜到达细胞内，使目的基因进入植物细胞并整合到植物基因组中进行遗传表达。基因枪可分为火药式基因枪、压缩气体型基因枪、高压放电型基因枪 3 种类型。由于外源 DNA 整合的位点较为不固定，可在 1 条染色体或不同染色体上进行组合出现多拷贝现象，易造成转基因的失活或沉默[21]，此外在轰击过程中可因基因断裂易出现嵌合体，基因枪法费用较为昂贵且转化率低，因此对基因枪法的改进还有待深入研究，但是其方法无宿主限制提高了禾谷类植物的转化率。并且其靶受体类型广泛可包括原生质体、悬浮细胞、根或茎的切段、叶圆盘以及种子胚、分生组织、幼胚、愈伤组织等[22]，同时此方法可控性高、操作简便，转化时间短可快速获得第 1 代种子[23]。随着基因枪技术的不断成熟，该技术已经在转基因植物、转基因药物、生物反应器、转基因动物组织器官移植、供体，以及基因治疗和基因免疫方面均有广泛的应用。Alexander Lipsky 等以虎眼万年青和同属植物锥花纸三宝木的愈伤组织为受体，*GUS* 基因为报告基因，通过基因枪转化法将抗菌肽 *I* 基因和新霉素磷酸转移酶(*NPTII*)基因通过表达载体 pCAMBIA2301 转入虎眼万年青，并用 GUS 染色、PCR 扩增和 RT-PCR 等技术进行转基因株系的检测，且对其进行 PPC 抗性检测。检测结果表明外源基因已成功转入植株中，且抗病性状稳定表达。该试验成功培育出对胡萝卜果胶杆菌引起的细菌性软腐病(Pcc)有抗病性的虎眼万年青，对虎眼万年青及同属种植物的育种和品质改良奠定了基础。Raveevatoo 等[24]建立了荷花的再生体系并用其愈伤组织作为转化受体将 *anti-DFR*+*GUS*+*NPTII* 融合基因通过表达载体 pCAMBIA2301anti-DFR 导入荷花中，以普通荷花为阴性对照，以携带外源目的基因的植株为阳性对照。结合 PCR 和 RT-PCR 等检测鉴定转化植株。试验结果表明已成功的将反义 *DFR* 基因导入到荷花中并且确定了最佳基因枪轰击参数。基因枪轰击时氦压力值为 1 100 psi，轰击距离为 6 cm 时才能在转化植株中体检测出 *GUS* 基因的瞬时表达。该试验首次将反义 *DFR* 基因导入荷花中，为培育其它花色的荷花奠定了基础。王海凤等[25]以“陕农 138”小麦为供试材料，利用 *GFP* 作为安全标记基因，与从玉米中克隆出可增加种子体积的目的基因 *ZmalI*，并且构成融合蛋白基因通过基因枪发法转入受体中通过对载体上安全标记基因 *GFP* 的 PCR 检测，获得了转基因植株 16 株，转化率为 0.53%，增加小麦籽粒大小提高籽粒质量，从而为提高小麦产量奠定基础。

3 自身机制法

粉管通道法可分为 2 个不同阶段进行遗传转化。一是在花粉未受精阶段外源基因转化花粉并整合到精核基因组中通过受精得到转化植株。二是在植物完成双受精一段时间内受精卵细胞不具备完整的细胞壁和核膜系统，外源基因可通过花粉管通道进入受精卵并转化没有形成完整细胞壁的卵、合子或早期胚胎细胞，然后依靠生物自身的种质系统或细胞结构功能来实现外源基因转化。

花粉管通道法试验操作过程简捷，不需要大量的时间和金钱，且有效的利用了自然生殖过程不需要对其进行后期的组织培养和再生，此外也避免了对植物受体选择上的困难。但是该方法也存在一定的局限性，工作时间有花期上的限制，操作需要经验，对于小花农作物操作难度较大[26]。该方法遗传转化具有随机性、遗传机制亦不明确。曾君祉等[27]以小麦为研究材料发现，通过此方法得到的转基因的小麦要连续培育 4 代后才能成为遗传性状稳定的植株，而且会发生转基因沉默现象。自从 1975 年 pandey 提出了花粉管通道法后国内外都对此方法进行研究，我国科学家 Zhou 等[28]在 1981 年成功地将外源海岛棉基因导入陆地棉，培育出抗枯萎病的栽培品种。而花粉管通道法因其独具匠心的优势也被众多研究人员采用，在植物遗传转化及作物育种领域取得了可喜的成展果例如水稻、小麦、玉米、大豆、棉花、烟草、番茄等已成功被转化。为了筛选小麦的新抗病基因，进而培育抗病种质材料，Zhou 等[28]以小麦品种“小偃 22”、“小偃 6”和“西农 1376”为受体，利用花粉管通道法将防御素基因 *alfAFP*、脂质转运蛋白基因 *LTP* 和抗菌肽基因 *spCEMA* 转入栽培品种中，并对转基因植株进行了目的基因和 *bar* 基因的 PCR 鉴定，获得了转化 *alfAFP* 基因和 *LTP* 基因的转基因后代，总体转化率为 0.135%。

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

并对转基因后代进行的条锈病抗性鉴定,发现 *alfAFP* 基因对小麦抗病性提高有一定的作用,该试验为获得小麦育种中可应用的新型抗源材料奠定基础。丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)不仅对生物和非生物胁迫有影响,对植物生长和发育也起关键作用,为了解开 MAPK 对黄瓜的作用,了解转基因黄瓜植物表达被反义技术所减少原因。Xu 等[29]以 *CsNMAPK* 为目的基因,将 PBI-CsNMAPK 质粒 DNA 由花粉管通道法导入黄瓜胚。将黄瓜种子播种在土壤中,并使用卡那霉素筛选转化体,结合 PCR 检测,Northern 杂交,RT-PCR 分析,成功的获得了 2 个独立的转基因植物,结果表明,转基因的黄瓜植物表现出生长迟缓切高度更短,叶片较小,转基因黄瓜植株对盐胁迫比野生型(WT)植物更为敏感。经 NaCl 胁迫处理后 7 年转基因植物的地上部鲜重下降量大于 WT,转基因植株的丙二醛含量相对于 WT 较高,而超氧化物歧化酶活性和脯氨酸的聚集物比 WT 低。试验表明 CsNMAPK 参与了活性氧在植物体内的作用并且对盐胁迫下的渗透正调控功能也有一定影响。曹士亮等[30]利用花粉管通道法将含有 PPT 抗性筛选标记的 BcWRKY2 转录因子基因导入优良玉米自交系。对 T_0 代种子进行了除草剂抗性筛选,结合正交实验对品种、导入时间及导入浓度 3 个条件进行筛选,结果表明,玉米品种“龙抗 11”授粉后 16 h 是最佳导入时间,且 DNA 导入最佳浓度为 200 ng/μL 对获得的除草剂抗性植株进行 PCR 及 PCR-Southern 检测,得到 PCR 阳性植株 71 株,初步证明了外源目的基因已整合到玉米基因组中,为玉米抗逆资源创新奠定一定理论和实践基础。

4 展望

植物转基因技术经过 20 多年的进展,在世界范围内得到了广泛的应用。在农业、生物领域对植物品质改良、新品种的培育以满足人类不断增长的物质生活需要;医药研究领域通过生物反应器生产生物药物和疫苗等为人类健康服务,但植物转基因技术还普遍存在着不可忽视的问题,例如作物遗传转化体系不稳定、转化效率低、外源基因的定位和导入存在一定的局限性,试验重复性差等问题。随着科技的发展和研究人员的不断探索研究,该项技术巨大的生产潜力将为人类带来很大的经济效益和社会效益,推动生物产业和生物经济的大发展。

参考文献

[1] Wu S C,Amoah B. Factors influencing successful Agrobacterium-mediated genetic transformation of wheat[J]. Plant Cell Rep,2003,21:659-668.

[2] Cheng M,Fry J. Genetic transformation of wheat mediated by *Agrobacterium tumefaciens*[J]. Plant Physiol,1997,115:971-980.

[3] He C,Zhang W,Gao Q,et al. Enhancement of drought resistance andbiomass by increasing the amount of glycine betaine in wheat seedlings[J]. Euphytica,2011,177:151-167.

[4] Zhang H,Huang Q M,Su J,et al. Development of alfalfa(*Medicago sativa* L.)regeneration system and *Agrobacterium*-Mediated genetic transformation[J]. Agricultural Sciences in China,2010,9(2):170-178.

[5] Sudesh C,Indrajit D,Bibin P,et al. Development of an Agrobacterium-mediated stable transformation method forindustrial oilseed crop Crambe abyssinica ‘BelAnn’[J]. Industrial Crops and Products,2012,55:457-465.

[6] 潘映雪,张丽莉,石瑛,等. 根癌农杆菌介导 BDN1 基因转化马铃薯的研究[J]. 中国蔬菜,2013(6):37-43.

[7] 李彩红,李志芳,冯自力,等. 农杆菌介导的基因敲除技术在丝状真菌基因功能研究中的应用[J]. 棉花学报,2013,25(3):262-268.

[8] 陈东亮,李纪元,范正琪,等. 根癌农杆菌介导真菌遗传转化的影响因素及应用[J]. 安徽农业科学,2010,38(7):3317-3320.

[9] Groot J M,Bundock P,Hooykaas J P,et al. Agrobacterium tumefa-ciens-mediated transformation of filamentous fungi[J]. Nature Biotechnol,1998(16):839-842.

[10] 王艳玲,胡鹏杰,李二伟,等. 农杆菌介导的粘帚菌遗传转化[J]. 微生物学报,2013,53(11):1233-1239.

[11] Alicja Z. Agrobacterium-mediated plant transformation:Factors,applications and recent advances[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology,2013(6):410-417.

[12] 高俊山,林毅,叶兴国,等. 植物转基因技术和方法概述[J]. 安徽农业科学,2003,31(5):802-805.

[13] 郑祥正. 几种常见的植物转基因技术概述[J]. 宜春学院学报,2012,34(12):107-109.

[14] 高俊山,林毅,叶兴国,等. 植物转基因技术和方法概述[J]. 安徽农业科学,2003,1(5):802-805.

[15] 董福双,张艳敏,吕孟雨,等. 植物转基因技术的进展存在问题及突破方向[J]. 河北农业科学,2011,15(3):57-65.

[16] 王永锋,栾雨时,高晓蓉,等. 花粉管通道法在植物转基因中的研究与应用[J]. 东北农业大学学报,2004,35(6):764-768.

[17] 高静,李艳波,柯希望,等. PEG 介导的苹果腐烂病菌原生质体转化[J]. 微生物学报,2011,51(9):1194-1199.

[18] 刘铜,侯巨,梅陈捷,等. PEG 介导的玉米弯孢叶斑病菌遗传转化[J]. 植物保护,2012,38(6):27-30.

[19] 董福双,张艳敏,吕孟雨,等. 植物转基因技术的进展存在问题及突破方向[J]. 河北农业科学,2011,5(3):57-65.

[20] 卢萍,王宝兰. 基因枪法转基因技术的研究综述[J]. 内蒙古师范大学学报,2006,35(1):112-115.

[21] Travella S,Ross S M,Harden J,et al. A comparison of transgen-ic barley lines produced by particle bombard ment and Agrobacterium-mediated techniques[J]. Plant Cell Reports,2008,27(10):1601-1609.

[22] Sonriza R G,Amanda R,Martin C,et al. Procedures allowing the transformation of a range of European elite wheat(*Triticum aestivum* L.)varieties via particle bombardment[J]. Journal of Experimental Botany,2001,52(4):865-874.

[23] 师守国,梁东,王顺才,等. 兰州百合基因枪转化方法的研究[J]. 西北植物学报,2010,30(4):0645-0651.

[24] Raveevatoo B,Kanjana S,Salak P,et al. Tissue culture and transformation of the antisense DFR gene into lotus(*Nelumbo nucifera* Gaertn.)through particle bombardment[J]. Scientia Horticulturae,2013,36(5):216-222.

[25] 王海凤,韩冉,张东武,等. 基因枪法介导转 *ZmalI* 基因小麦植株的获得和鉴定[J]. 西北农林科技大学学报,2011,39(8):91-101.

[26] 陈彦. 花粉管通道导入外源 DNA 方法的研究[J]. 北方园艺,2010(13):226-228.

[27] 曾君祉,吴有强,王东江,等. 花粉管通道(或运载)法转化的植株后代遗传表现及转化机理的探讨[J]. 科学通报,1988,43(6):561-566.

[28] Zhou G Y,Weng J,Zeng Y,et al. Introduction of exogenous DNA into cotton embryos[J]. Meth Enzymol,1983,101:433-481.

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

植物叶片中花青素的积累规律及生物学作用

张佩佩，张　亮，郑凤霞，王天琪，冯娜娜，王太霞

(河南师范大学 生命科学学院,河南 新乡 453007)

摘　要:植物幼叶呈红色而随着叶片的发育逐渐呈绿色的现象在自然界十分常见,该现象与花青素之间的关系以及花青素在营养器官中的作用等研究已持续有百年,但关于植物叶片中花青素的合成积累机理、花青素的生物学作用及作用机制至今尚未统一结论。为此,该研究就花青素在叶片的分布、发生机制和花青素合成与基因表达等方面进行了整理,结合不同环境下花青素的光保护和抗氧化等作用研究结果,认为花青素在逆境胁迫中有着一定保护作用。在此基础上,提出花青素分布和发生是否存在空间关系,花青素生物活性与分子构性和产生部位是否统一性等研究过程中存在的问题,并对今后的研究方向提出建设性意见。

关键词:花青素;叶片;分布;发生;保护

中图分类号:Q 945　**文献标识码**:A　**文章编号**:1001－0009(2014)20－0188－05

植物在从水生环境逐步进化到陆生环境的过程中,一直是绿色占据着重要地位,随着显花植物和受精的出现,花和果实为了从绿色的环境中突显出来,从而进化出不同的颜色以便吸引传粉者和种子传播者[1]。其中花青素是赋予植物花瓣和果实颜色的一种主要色素,是植物次级代谢产物类黄酮中的一种重要的水溶性色素,具有C6-C3-C6结构(2个芳香环之间由1个成环或不成环的C3单元相联接)[2]。花青素位于植物细胞的液泡中,在不同的pH值条件下可以使花瓣和果实呈现出多种颜色,在酸性条件下以内盐形式呈红色,在碱性条件下则以醌式呈现蓝色,且其颜色的深浅与花青素呈正相关性[3-5]。近几年除了研究果实中花青素的代谢途径、分子调控、生理功能及应用技术外,营养器官中花青素的分布、发生机制和生理作用也成为研究的热点。该研究主要从花青素的合成积累规律和生理功能作用2个方面,总结叶片中花青素在植物进化和适应环境中的具体生理功能,旨在为植物叶片中花青素的研究提供系统的理论依据。

第一作者简介:张佩佩(1989-),女,河南新乡人,硕士研究生,现主要从事植物形态解剖学等研究工作。E-mail:zpp198904@163.com.

责任作者:王太霞(1964-),女,河南新乡人,博士,教授,现主要从事植物结构学等教学与科研工作。E-mail:wtaixia@sina.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31300163,31270225);河南师范大学科研启动基金资助项目(qd12133)。

收稿日期:2014－05－19

[29] Xu H N,Sun X D,Wang X F,et al. Involvement of a cucumber MAPK gene(CsNMAPK) in positive regulation of ROS scavengence and osmotic adjustment under salt stress[J]. Scientia Horticulturae,2011,127:488-493.

[30] 曹士亮,王成波,史桂荣,等.利用花粉管通道法将*BcWRKY2*抗旱基因导入玉米的研究[J].作物杂志,2013(1):32-36.

Research Progress on Common Plant Transgenic Technology and Method

XU Li-ping,LIU Shu-ying,YU Miao,LIU Hong-zhang

(College of Life Science,Jilin Agricultural University,Changchun,Jilin 130118)

Abstract:The study discussed the genetic transformation principle of some common plant transgenic methods by far: particle bombardment, agrobacterium mediated method, pollen tube pathway method, polyethylene glycol mediated method,virus mediated method,the scope and examples of its application and the development process. Advantages and disadvantages of each method were summarized.

Keywords:genetically modified (gm) method;gene marksmanship;agrobacterium mediated method;pollen tube channel method;polyethylene glycol (peg) mediated method;virus mediated method

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn