

# 外源 DNA 导入技术在蔬菜上应用 现状与发展前景

郭亚华

(黑龙江省农业科学院园艺研究所·哈尔滨)

近几年来,植物基因工程的研究进展十分迅速,在植物抗病、抗虫、抗除草剂和改变植物的某种成分方面都得到了不少转基因植株,有的已构成品系。为提高作物产量、抗逆能力、改进它们的品质,进行快速、优质、稳产的良好选育提供了一条诱人的全新途径。

自 70 年代以来,首次从分子水平上证实了有一种细菌,即土壤农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*),在浸染植物细胞以后,不但能将它的一段 DNA 插入到被浸染的细胞基因组中,并且还能稳定地随着植物遗传给后代。最近 10 年内,人们从植物基因的分离、基因工程载体的组合、细胞的基因转化、转化细胞的组织培养和植株再生,直到外源基因的表达检测手段等方面,都取得了相当大的进展。

## 1 植物基因的分离

目前国际上已分离出可供植物基因工程使用的目的基因已超过 80 余个。这些基因的表达产物有的能抵抗病毒、细菌和真菌;有的能抗虫害或逆境;有的能抗除草剂等化学药品;有的则能提高植物体中的蛋白质或某些氨基酸的含量。取得目的基因,可以说是植物基因工作中的一个核心部分。不但技术要求高,需要投入的经费和工作量也很大,而且最终得到有用基因的成功率也并不很高。

## 2 植物基因工程载体的构建

最早期的植物基因工程实验室都是通过土壤农杆菌 Ti 质粒来完成的,工作发展到现在,国际上已有好几套现代的植物基因载体可供使用,其中大部分我国已经引进。最近一两年已发展了一些新的方法,其中有的并不需要通过组建的 Ti 质粒作为中间载体。另外还有人利用病毒等材料来构建载体。总之,就载体方面的研究来说,已有不少现成的能有效利用的载体供我们

使用,国内进行这方面的实验室不多,似乎没有太大必要在这方面投入太多精力。

## 3 植物基因转移到植物细胞的方法

### 3.1 DNA 直接导入法(略)

3.2 载体法 当前已获得成功的几项植物基因工程研究。

3.2.1 改良作物品质和适应性的基因工程 目前有的工作主要着重于提高蛋白质的质量,当前在成功转移的植物中,在必需氨基酸提高的同时,由于外源基因的导入,总蛋白质的量也有所提高。外源基因的蛋白质积累量可以达到总蛋白质量的 1% 左右。

3.2.2 培育抗病毒植物的基因工程 一是向植物转入病毒的外壳蛋白基因:1986 年,美国通过植物基因工程,成功的获得抗病毒基因植株,首次把 TMV 的外壳蛋白基因转移到烟草和番茄细胞上去, TMV 外壳蛋白基因在细胞中存在能抑制 TMV 在寄主细胞中的复制,并能阻止或降低 TMV 在植物体中传递。二是通过病毒的卫星 RNA 的植物基因工程来防治病毒:1986 年美国科学家把 CMV 的卫星 RNA 转成 CDNA,再将它转到植物体中去,得到了 CMV 的工程植株。三是利用病毒的反义 RNA 将病毒 RNA 浸染进入植物细胞后,和这些细胞里编码出来的反义 RNA 形成互补,构成双链 RNA,使病毒无法复制,减轻了病毒的为害。四是利用植物自己编码的抗病基因:育种专家有许多抗源材料,我们可以通过克隆这类抗源基因,得到转基因植物。

3.2.3 转入抗虫的基因工程 人们早已发现,苏云金杆菌能够杀死一些昆虫,因为它体内有一种结晶的蛋白毒素,这种毒素能引起某些昆虫神经中毒,使其在短期内死亡。但对人、畜是安全的,目前国际上已进入大田试验。

### 3.2.4 抗除草剂基因工程(略)

关于载体法技术目前较发达的国家。如:美、英、

黑龙江省科委“八五”“九五”攻关课题

稿件修回日期:1998-05-30

法、德、比利时等都很重视。国际上几个较大的农药公司都有这方面的专利。在国内,徐香玲(1994)等曾用发根农杆菌转化大豆,获得再生植株。我国王玉文等(1994)在甜椒基因转化中发现双元载体 PB121有较好的反应,将双元载体转入到不同菌株中,以探讨高效率地进行甜椒的基因转化。同时他还用了发根农杆菌 R1000进行转化。叶志彪等(1993)用改进农杆菌转化辣椒,获得了 8株含有 NPTII 基因的再生植株。张宗江等借助二元 Ti质粒载体系统,将 CMV- CP基因转化辣椒,得到再生植株,并经鉴定表现了抗 CMV 的性能。

#### 4 植物基因在农作物上的应用前景

总之,植物基因工程为人们开辟了一条诱人的新育种途径,植物基因工程和传统的育种手段相结合,在今后的 10年内,人们将会有目的育出大批高产、稳产、优质和抗逆的新品种。我国在这一新发展的技术领域内和世界先进水平相距不远,而且投资小、效益高。

黑龙江省农科院园艺研究所目前进展的情况:总 DNA 导入青椒:1992年导入后代,供体为 84- 1小尖椒,受体为龙椒二号甜椒。导入 D<sub>3</sub> 代的表现如下表。

将 84- 1小尖椒 DNA 导入龙椒二号甜椒  
后代表现情况表

品种(品系)	病情 指数	比供 体土	比受 体土	产量 斤/区	比供 体土%	比受 体土%	果型	果色
84- 1供体	8.22	0		31.59	0		小羊角	深绿色
龙椒二号受体	43.75		0	17.49		0	方	深绿
9219	28.0	+ 70.54	- 36.0	24.19	- 30.59+	34.84	长羊角	浅黄
9218	11.67	+ 29.6	- 73.73	38.33	+ 21.34+	119.15	羊角	绿
9216	8.88	+ 7.70	- 79.70	41.03	+ 29.88+	134.59	长牛角	深绿
9215	12.39	+ 33.7	- 71.68	44.69	+ 41.47+	155.52	方	深绿
9214	4.02	- 51.07	- 90.81	40.62	+ 28.58+	132.25	长羊角	深绿
9213	12.95	+ 36.56	- 70.4	34.05	+ 7.79+	49.68	牛角	深绿
9212	19.23	+ 57.27	- 56.06	22.71	- 31.30+	37.56	柱型	深绿

在 D<sub>3</sub> 代田间表现,达到了预期结果,出现了明显变异:第一果色:出现了二个突变体,9219果色浅黄,9218浅绿,并且稳定遗传。第二果型变异:除 9215保持受体果型(方型)外,其余全部变为与亲本不同的型状(羊角、长羊角、牛角、长牛角、柱型)。第三抗病性:导入后代全部比受体病情明显减轻,其中 9214抗性超双亲。第四产量:多数子代株系(9213 9214 9215 9216 9218)产量明显超双亲,只有 9212 9219产量低于供体,而比受体明显增产。

目的基因转化实验我们于 1996年开始进行,采用载体法,获得再生植株。1997年在田间表现,抗性强、无病毒,已经结果并采收种子,目前正进行血清免疫检测及 D<sub>3</sub> 代田间鉴定。

(哈尔滨市哈平路义发源 邮编:150069)

# 花椰菜制种技术

班文杰 赵恒田 张 杰

花椰菜又名菜花、花菜,是北方近年来迅速发展起来的一种名贵细菜。由于黑龙江省的特殊气候,菜花制种较困难,制种技术性很强,种子价值高。现将其制种技术介绍如下。

1.适时播种。以黑龙江省第一积温带为例,于 2月中下旬播种最为适宜。偏早,采种植株小,花球性状优劣难于鉴别,种性易退化,种子产量低;偏晚,抽苔,开花期推迟,花期遇高温多雨授粉不良或不能授粉结实,种子产量也低,甚至收不到种子。此时播种,盛花期正值 6月 20日左右,盛荚期在 6月末 7月初。

2.分苗和培育壮苗。1- 2片真叶及时分苗,并采用营养钵,在温床培育壮苗,加强定植前的低温锻炼。

3.扣小棚适时定植。4月中旬定植加扣小棚,保证定植质量,促进缓苗,小棚可扣至 5月初再撤除。

4.合理密植。行株距以 50cm× 25cm 或 60cm× 20cm 最为适宜,亩保苗 5000株。

5.激素处理。于花椰菜种株 4- 6叶期始喷施 50 (10<sup>-6</sup>)赤霉素,共喷 2次,隔周进行,促进抽苔,可使花期提前 3- 5天。

6.适时割花。花球长至 6- 7成时,可切除花球中部,保留边缘花梗 3- 4枝,以减少养分消耗,促进早抽苔、早开花结实。

7.支架。及时支架,防止倒伏。

8.加强肥水管理,及时防治病虫害。

9.隔离。在菜花采种田周围 1000m 以内不得种植其它菜花或甘蓝类蔬菜的种株。

另外,如果所制种的菜花为冬性强的品种,其播种期和定植期还应提前,以满足其对低温要求,达到春化采种目地。这在制种时应引起注意。

(第一作者:哈尔滨市动力区朝阳乡农技站 第二作者:哈尔滨市农业科学研究所 第三作者:哈尔滨市种子公司)