

生物技术在玉米育种上的应用

史桂荣

(黑龙江省农科院玉米研究中心, 哈尔滨 150086)

玉米是我国的主要粮食作物之一。自从 50 年代应用杂交种以来, 玉米的单产有了大幅度的提高。然而, 近 10 年来玉米的单产虽有提高, 但幅度不大, 不如杂种优势利用初期那样效果明显, 其主要原因有两点: 第一, 对玉米自交系的遗传基础、配合力、生理、生化特性了解比较少, 影响育种进度和效率。第二, 现有玉米自交系遗传基础狭窄, 育种的基础材料不够丰富, 很难选育出杂交优势很强的杂交种。目前, 我国生产上大面积应用的玉米杂交种的亲本主要集中在少数骨干系上。如自 330、获白、Mo17、黄早 4 等等。这 4 个骨干系在百万亩以上杂交种的亲本中所占的比例高达 40%。这种遗传基础狭窄, 杂种优势差, 产量也就很难有较大的突破。尽管我们开展了群体改良工作, 试图丰富遗传基础, 但收效慢, 工作量大, 很多育种单位不得不放弃。为解决育种界目前面临的两大难题, 育种工作者开始将生物技术应用到玉米育种工作中, 并已初见成效。

1 应用生物技术研究玉米的遗传背景

生物技术是一个含义广泛的名词, 它包括组织培养、原生质体融合、DNA 序列分析、基因工程及细胞工程、染色体工程等。

1.1 利用限制性酶切片段长度的多态性分析不同品种间的差异

生物技术在玉米育种中应用最明显的优势是分析不同品种间的遗传背景差异。目前已有人开始用“限制性酶切片段长度的多态性”分析和鉴定玉米的基因型差异, 并已发现不同品种的基因组具有不同的多态性。

1.1.1 提取并纯化玉米的染色体 DNA, 分

离出目的 DNA。

1.1.2 用一种限制性核酸内切酶切割目的 DNA, 形成一系列长度不等的 DNA 片段(即限制性酶切片段)。

1.1.3 用琼脂糖凝胶进行电泳。电泳结束后在电泳平板上不同长度的 DNA 片段就根据它们分子量的不同而被分离开, 短的 DNA 片段在前面, 长的在后面, 这样就形成了一条该 DNA 的酶切片段谱带, 这条谱带就叫做限制性酶切片段长度的多态性。对于一个品种的特定的一段 DNA 来说, 其多态性是固定的。即不同品种的酶切片段的多态性是不同的。亲缘关系越远, 差异越大。了解了这一点, 就可以在尽短的时间内掌握现有自交的亲缘关系, 减少育种的盲目性。另外, 对于同一个品种来说, 如果它的酶切片段的多态性发生了变化, 即说明这一品种的基因结构发生了变化。这样可以指导我们在后代选育中(特别是诱变处理后的材料的后代选育)选择那些基因型发生改变的个体, 淘汰环境改变带来的表现型改变的个体。所以, 这是一种灵敏、准确地分析品种间基因结构差异和分析基因突变的方法。这种方法的主要优势在于它是在 DNA 水平上, 而不是在表现型水平上研究品种间的差异, 用这种方法鉴定出的差异是差异的根本所在。

1.2 利用转座子进行基因定位

转座子是一种能在细胞内不同的 DNA 间自由转移的 DNA 序列。它可在基因组内的各个基因位点上自由跳跃, 它插入某基因位点后就使该基因失效, 那么原来由该基因控制的性状就会发生突变。这一突变也表明

转座子插入了该基因位点。然后再进行 DNA 序列分析就可以找出转座子的插入位置,也就找到了控制这一性状的基因。现在鉴定转座子的方法比较成熟,因为转座子往往都带有可选择的遗传标志基因容易鉴定。

1.3 直接进行 DNA 序列分析

这种方法可以分析品种的基因结构,但很麻烦,花费大,所以,目前尚不能普及,只用来对玉米的个别具有重要价值的基因进行序列分析。

2 利用生物技术进行基因转移,丰富玉米的遗传基础,创造优良的育种材料

2.1 电融合技术

电融合技术就是在电场的作用下,使供体与受体的细胞融合,受体细胞吸收外源 DNA 并进行表达。目前美国已经用这种技术将抗卡那霉素的基因转移到了玉米细胞内,获得了稳定的抗卡那霉素的玉米株系。

2.2 用质粒作载体进行基因转移

目前用的比较多的是农杆菌的 Ti 质粒。这是一个大有潜力的基因载体,现已被用来进行玉米的遗传转化研究。Grimsley 等人(1987)用玉米条纹病(MSV)的 DNA 检测 Ti 质粒能否转化玉米。完整的玉米条纹病病毒能够侵染玉米,出现病症。但条纹病病毒的裸露 DNA 本身不能侵染玉米植株,如果把这种裸露的 DNA 重组到 Ti 质粒的 T-DNA 区上,再把这种带有重组 Ti 质粒的农杆菌接种到玉米上,那么整个玉米植株出现病毒感染症状。因此,证实了农杆菌的 Ti 质粒能够作为载体将外源 DNA 转移到玉米基因组内,而且重组到 Ti 质粒上的条纹病毒的 DNA 具有生物活性。

2.3 用转座子作载体进行基因转移

因为在玉米中有很多转座子的存在,这些转座子可以自由移动,可以插入到玉米基因组的任意位点上,所以,将你要转移的目的基因重组到某一转座子上,该转座子就可将

外源目的基因带入玉米基因组内,完成基因转移。目前这种方法还不成熟,仅限于实验室内的理论研究。

2.4 将外源 DNA 直接注入发育中植物

这是另一种基因转移的简便而独特的方法。它不必进行离体培养,也不需要载体,直接用注射器将外源 DNA 注入到植物体内即可。但这种方法相对以上几种方法来说效率比较低,目的性不强。用这种方法,kinsian 和 Denic(1988)将控制卡那霉素抗性的基因直接注入了不同发育阶段的玉米植株内,然后将这些植株的自交子代在硫酸卡那霉素溶液中进行筛选、检测,结果 7000 份被接的幼苗有 8 株是抗卡那霉的。这说明抗卡那霉素的基因已经转入了玉米植株中。

3 生物技术与抗逆育种

3.1 生物技术与抗螟虫育种

应用生物技术进行抗螟虫育种的具体做法是:首先提取并选择能产生毒素的基因,然后选择适宜的基因载体,将毒素基因通过载体转移到玉米植株内,使植株的每个细胞都按基因的指令制造毒素,当害虫侵入时抑制其生长。

目前,美国国际生物技术公司已经成功地将外源毒素基因转移到了玉米中,即保持了玉米植株的育性、生理生化特性,又使毒素基因成功地传给了下一代。通过生化方法的提取和选择,目前该公司已从豇虫中分离出了理想的胰蛋白酶限制基因,该基因能使螟虫的幼虫在植株上取食后因不能消化某些重要的蛋白质而饿死,以此来加强植株的抗螟虫能力,应用这项技术改良的玉米已进行了田间试验。

3.2 生物技术与耐旱育种

最近,美国斯坦福大学植物学研究小组,研究出一种电子技术与基因技术相结合的方法。应用这种方法可以把异种植物的遗传物质移入到主要的粮食作物中,其生物学原理

是:当特殊溶液中的细胞受到强烈电击时,可引起细胞互相碰撞,使细胞壁上出现一些微孔,外源基因很容易通过微孔进入细胞,并与胞内遗传物质结合,跟随其复制、分离并遗传下去。应用这种方法可以极大地丰富玉米的遗传基础,改良品种特性,缩短育种周期。目前,已成功地将仙人掌的耐旱基因嵌入到玉米中,培育出了耐旱品种。

另外,美国专家已分离出一种农作物耐旱基因,这种基因可以先移到一种细菌的单个细胞内,经分裂、繁殖后移入植物体内。该基因移入植株后,可以促进植株体内脯氨酸的生物合成和代谢,而脯氨酸可抑制水分从植物细胞内渗出,因此提高耐旱能力。

4 生物技术的应用现存的主要问题

生物技术是一门新兴学科,其内容和方

法尚未完善和成熟,很多试验仅限于实验室的理论研究,尚未进行田间验证,还需要进一步发展和完善。

例如,应用生物技术进行抗虫育种方面,由于大自然的选择作用,会导致害虫的基因发生突变,很可能对玉米植株上的毒素产生适应性,而重新危害玉米。

另外,由于环境的改变,病原菌的生理小种可能发生变化,而更换抗性基因尚需一定的时间,因此,病原菌会重新侵染植物。再者,我们转移到玉米中的优良基因有时也有可能失活。(如DNA复制错误等)这样,有可能失去已得到的优良性状。

纵观生物技术在玉米育种中应用的现在与未来,尽管还存在许多问题,但这不失为一条丰富玉米遗传基础、改变玉米育种目前困境的有效途径。