

王沛雅, 杨 晖, 郭 琪, 等. 分子遗传改良技术在杨树上的研究与应用进展[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(20): 17–24.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.20.004

分子遗传改良技术在杨树上的研究与应用进展

王沛雅, 杨 晖, 郭 琪, 杜维波, 张 军, 杨 涛

(甘肃省科学院生物研究所/甘肃省微生物资源开发利用重点实验室, 甘肃兰州 730000)

摘要:杨树作为全球使用最为广泛的生态、能源、分子遗传木本模式植物之一, 其种质资源研究改良对我国生态环境建设意义重大。综述不同目的基因(抗虫、抗病、抗除草剂、抗逆境、降低木质素、促生长等)转化杨属植物的研究与应用, 分析目前为止杨树分子改良研究应用发展现状、存在问题及解决途径, 为杨树遗传改良的进一步发展提供参考。

关键词:杨树; 遗传; 种质资源; 基因工程; 生态环境建设; 目的基因; 分子改良; 研究进展; 存在问题; 解决途径

中图分类号: S792.110.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)20-0017-07

杨树是杨柳科(Salicaceae)杨属(*Populus*)物种的统称, 全球约有 100 多种, 一般在北纬 30°~72°范围, 垂直分布多在海拔 3 km 以下^[1]。杨树是优良的造林绿化树种、建筑用材和造纸原料, 此外, 杨树拥有很高的生物质产量, 是重要的可再生生物质能源植物。杨属植物单倍体基因组含有 19 条染色体, DNA 含量为 1.2 pg, 总遗传图距约为 2 500 cM^[2-3]。杨属植物因其基因组具有构成精简、物种丰富、分布广泛、童期短、生长快、遗传转化容易、再生能力强、严格的异交树种、位点组成高度杂合, 已构建成较饱和的各种连锁图等这些特点, 使其成为林木基因工程模式物种^[4-6]。2011 年 7 月北京林业大学的科学家以百年古树——白杨组毛白杨(*Populus tomentosa*)为样本, 绘制完成了毛白杨的基因组序列图谱, 这标志着杨树分子育种正式进入基因组时代, 推动了杨树育种技术的全面进步。

杨树作为保护脆弱生态环境的生态树种, 须要耐受恶劣的自然环境(如干旱、低温、盐碱、病虫害等), 因此培育生长迅速、抗逆性强的杨树品种一直是全球相关科学家努力的方向之一。相对于常规育种方法费时、效率低的缺陷, 现代分子育种方法高效、靶向的优点为杨树改良品种开辟了新的途径。Fillatti 等将从沙门氏菌中分离出来的 *AroA* 基因导入杨树 NC-5339 无性系并获得了一批抗草甘膦植株^[7], 使人们对树木育种研究的认识有了重大的改变, 基因工程逐渐成为树木育种研究的焦点。1991 年我国首次利用抗虫基因成功转化了欧洲黑杨^[8]。到目前为止, 进行的转基因树木有 30 多个属, 而研究最多、应用最广泛的为杨属, 约占 50%^[9]。众多科学家通过分子遗传转化的方法对杨树现有品种进行了优化改良, 尤其是在抗性育种(包括抗虫、抗病、抗旱、耐盐碱等)

方面。对近年来杨树转基因的研究应用现状进行总结分析, 以期作为杨树的分子育种研究及其应用的进一步发展提供参考。

1 不同目的基因的杨树转化

1.1 抗虫基因转化

杨树的虫害十分普遍, 主要类型有蛀干害虫, 如光肩星天牛、桑天牛、云斑天牛等; 食叶害虫, 如杨尺蠖、分月扇舟蛾、杨梢叶甲等; 枝梢害虫和吸汁害虫, 如杨黄卷叶螟、草履蚧等, 每年给杨树的生长和生产造成巨大的损失。抗虫基因工程为解决这一问题提供了非常有效的方法, 我国对抗虫转基因杨树研发处于国际前列, 利用转基因技术已获得多种转基因抗虫杨树, 有效降低了林木虫害的危害。

1.1.1 转单个抗虫基因 1993 年田颖川等用带有 35S- Ω -*Bt*-Nos 嵌合基因的双元载体农杆菌转化欧洲黑杨的叶片外植体, 获得再生植株, 对杨尺蠖的毒理试验表明, 5~9 d 内死亡率达 80%~96%, 存活昆虫的生长和发育受到明显抑制^[10]。大田试验结果表明, 转基因欧洲黑杨田间抗虫效果明显, 转基因试验林叶片损失率不超过 20%, 健杨林带和欧洲黑杨林带土壤中的虫蛹数分别为转基因试验林土壤中虫蛹数的 4.9、4.1 倍^[11]。2002 年转抗虫基因欧洲黑杨获得了商品化许可, 2003 年通过良种审定, 我国成为世界上第 1 个商业化栽培转基因林木的国家^[12]。还有其他杀虫基因也被导入杨树中, 郝贵霞等将广谱抗虫基因豇豆蛋白酶抑制剂基因(*cowpea trypsin inhibitor*, 简称 *CpTI*)导入毛白杨雌株和毛新杨×毛白杨回交杂种, 获得转基因植株, 现已进入大田检测阶段^[13]。伍宁丰等将昆虫特异性神经毒素基因(*AaIT*)导入杨树杂种 N-106, 获得的转基因植株 A5 对 1 龄舞毒蛾幼虫的虫试 7 d 的死亡率达 80%^[14]。

1.1.2 转双抗虫基因 研究表明, 昆虫易对单个基因产生耐受性, 将多个不同类型的抗虫基因导入植物, 转基因植株的杀虫活力增强。2000 年, 李明亮等用农杆菌介导 2 次转化的方法, 将蛋白酶抑制剂基因(*proteinase inhibitor*, 简称 *PI*)导入含 *Bt* 基因的欧洲黑杨, 含有双抗基因杨树的抗虫能力明显高于含单一 *Bt* 毒蛋白基因或单一 *PI* 基因的植株^[15]。饶红宇等采用双基因共转法将经改造的 *Bt-CryIAa* 基因和 *CpTI* 基因转入杨树 NL-80106, 获得的转双价基因杨树对 1 龄舞毒蛾

收稿日期: 2016-05-16

基金项目: 甘肃省国际科技合作项目(编号: 1504WKCA073); 甘肃省科学院青年科技创新基金(编号: 2013QN-06); 甘肃省基础研究创新群体计划(编号: 1606RJIA325); 甘肃省科学院创新团队项目(编号: CX201601)。

作者简介: 王沛雅(1979—), 女, 甘肃兰州人, 硕士, 研究方向为种质资源遗传育种及保育、繁育。E-mail: wpeiya@163.com。

通信作者: 杨 晖, 博士, 研究员, 研究方向为基因工程、发酵工程及生物工程等。E-mail: yanghui43@163.com。

幼虫有明显的杀虫活性,转 *Bt* 基因的植株经过 2~3 年的抗虫测定和优良性状选择,目前已有 3 个无性系在我国 6 个省种植进行评估^[16]。郑均宝等首次将 *Bt* 毒蛋白基因和 *Apl* 构建成一个双价表达载体成功导入 741 杨,对美国白蛾、杨扇舟蛾、杨小舟蛾、古毒蛾、舞毒蛾、盗蛾等具有较高抗性,幼虫总死亡率达 83%~90%,这是国内外首次报道用双价抗虫基因获得的抗虫杨植株^[17]。张冰玉等将 *BtCry3A* 和 *OCI* 导入银腺杂种杨基因组中,获得转双价抗蛀干害虫基因杨树,并初步筛选出抗性株系^[18]。诸葛强等以南林 895 杨为受体,进行了 *Bt* 基因和 *CpTI* 基因的遗传转化,饲虫试验结果表明,杨小舟蛾的生长发育受到了明显抑制^[19]。

1.1.3 转抗虫基因杨树的生物安全性研究 我国在抗虫转基因方面的技术体系已基本成熟,具备不断推出抗虫基因工程新品种并用于杨树人工林建设的能力,走在世界研究的前列。随着抗虫转基因杨树的环境释放及其商业化,近年来的研究多针对转抗虫基因杨树的生物、生态安全性探讨^[20~23]。

1.2 抗病基因转化

由于抗病基因常与一些不良基因连锁在一起,往往并非仅由单基因控制,所以利用有性杂交的传统抗病育种研究受到一定程度的局限。目前,克隆的抗病基因主要有 2 类:抗病毒基因和抗菌基因。抗病毒基因的研究主要是通过导入病毒外壳蛋白基因,并借助交叉保护作用机制,达到降低病毒侵染的目的。杨树抗菌性研究的主要病害有杨树溃疡病、烂皮病、锈病,导入的抗菌基因主要有几丁质酶基因、抗菌肽基因(天蚕素基因、防御素基因等)。将几丁质酶基因导入杨树,通过几丁质酶对真菌或细菌细胞壁成分几丁质的降解达到抑菌的目的。抗菌肽是广泛存在于动植物体中的一类广谱微生物抗性肽,其以物理的方式作用于微生物的细胞膜,使细胞膜穿孔、细胞质外溢而将微生物杀死。

1.2.1 抗病毒基因转化 在杨树的抗病毒基因研究中,英国牛津大学病毒所 Cooper 领导的研究小组将克隆的杨树花叶病毒(*poplar mosaic virus*,简称 *PMV*)外壳蛋白基因(*PMV-cp*)导入杨树,育成了抗杨树病毒病的无性系,对杨树 *PMV* 的侵染起到一种类似于免疫学的交叉保护作用^[24]。在杨树的抗菌基因研究中,Rradshaw 等从杨树中克隆出类似于大豆胰蛋白酶抑制剂和几丁质酶的损伤激活基因的 cDNA 并进行了转化研究^[25]。Nicolescu 等将矮牵牛查尔酮合成酶 *CHSA* 基因导入杨树,提高杨树的抗病性^[26]。Mentag 等利用农杆菌介导法将抗菌肽基因 *D4E1* 转入杂交杨树中,转化植株对多种病菌均有明显抗性^[27]。

1.2.2 抗菌基因转化 国内学者赵世民等将兔防御素基因 *NP-1* 导入毛白杨,转基因植株组织提取液对枯草杆菌、农杆菌、立枯病原菌等的生长均有抑制作用^[28]。Liang 等将小麦的草酸盐氧化酶(*oxalate oxidase*,简称 *OxO*)基因转化杂交杨树无性系,提高了转化植株的抗病和抗胁迫能力^[29]。孟亮等利用植物几丁质酶基因转化美洲黑杨,提高了美洲黑杨对部分真菌性病害的抗性^[30]。Jia 等分别将来源于球孢白僵菌的几丁质酶基因 *Bbchit1* 与益母草的阳离子抗菌肽基因 *LJAMP2* 成功导入毛白杨中,结果发现,转 *Bbchit1* 基因杨树对叶枯病具有良好的抗病效果,转 *LJAMP2* 基因杨树能显著提高溃疡病抗病性^[31~32]。牛庆霖等将 β -1,3-葡聚糖酶基因

(*BG₂*)转入欧美杨 107 杨中,经抑菌试验表明,*BG₂* 基因的表达提高了 107 杨对杨树溃疡病的抗性^[33]。黄艳等利用农杆菌介导的二次遗传转化,将 *Bbchit1* 基因转入过量表达无色花色素还原酶基因 *LAR3* 转基因毛白杨中,结果表明,*Bbchit1* + *LAR3* 共表达转基因毛白杨细胞粗提液对杨树叶枯病菌具有明显的抑制作用,进一步将叶枯病菌接种在转基因和非转基因毛白杨叶片上培养 30 d,转基因植株的感病面积均低于非转基因植株且 *Bbchit1* + *LAR3* 共表达转基因株系抗病效果更明显^[34]。

目前为止,国内外转基因的抗杨树叶锈病、抗杨树叶枯病、抗日本山杨肿瘤病等的研究还在进一步的试验当中。近些年来,人们利用多种基因克隆技术,如图位克隆法、转座子标签法等,克隆出了大量的抗病基因,相信这些基因的发现将给抗病基因工程带来巨大的推动力,将会有更多成功的报道。

1.3 抗除草剂基因转化

抗除草剂基因已经成功应用于林木基因工程研究。例如草甘膦,作为一种筛选标记既可用于转化植株的筛选,又便于转基因植株的苗期除草管理。除草剂的应用在发达国家已相当普及,几乎 85%~100% 的栽培作物上都使用除草剂。1987 年,Fillatti 等将 *aroA* 基因转入杨树无性系 NC-5339,首次报道培育出杨树抗除草剂植株,这是杨树抗性基因工程研究的开端,也是基因工程技术在林木遗传育种中应用成功的首例^[7]。de Block 将抗膦丝菌素除草剂基因转入杨树^[35]。Chupeau 等以杨树叶片原生质体作为受体,运用电激法将乙酰乳酸合成酶(*acetolactate synthase*,简称 *Als*)突变基因转入杨树,获得了抗磺胺类的杨树植株;又分别转化乙酰转移酶(*phosphinothricin acetyltransferase*,简称 *PAT*)基因和新霉素磷酸转移酶(*neomycin phosphotransferase*,简称 *NPT*)基因,获得了抗草甘膦类除草剂的杨树植株^[36]。Confalonieri 等得到了高抗草丁膦类除草剂-Basta 的转基因银白杨^[37]。Gullner 等将编码专一性抗除草剂乙酰替氯苯胺的谷氨酰丙氨酶(*glutathione S-transferase*,简称 *GST*)基因转入杨树杂交种内,转基因植株叶片的 γ -*GST* 和还原性谷胱甘肽(*glutathione*,简称 *GSH*)含量提高,杨树的除草剂抗性也得到提高^[38]。2002 年,Meilan 等获得了一批携带有 *CP4* 基因的抗草甘膦白杨杂种^[39]。

抗除草剂转基因植株可能出现负面影响,在抗除草剂转基因植物应用的同时,农作人员会因为他的目标植物耐受除草剂,反而会加大除草剂的使用量,增加了土壤以及植株中的除草剂残留。这个度的把握还需要科研人员与农作人员共同去实践摸索。

1.4 抗逆境基因转化

由于环境的不断恶化,越发严重的非生物胁迫降低了林木产量。氧化剂、低温、土壤的盐渍化和沙漠化是限制森林树木生长生存的重要因素,利用基因工程技术培育抗氧化、耐霜冻、耐干旱、耐盐碱等品质的树木新品种无疑具有广阔的应用前景。杨树的抗逆性研究主要集中在耐盐、抗旱、抗寒等方面。用于抗逆研究的基因主要有编码细胞渗透压调节物质基因、逆境诱导的植物蛋白激酶基因、抗氧化基因、保护生物大分子及膜结构的蛋白质基因、编码转录因子的调节基因等。

1.4.1 抗旱及耐盐碱基因转化 我国森林覆盖率仅为 18.21%,且分布不均,严重的干旱、半干旱、盐碱地、荒漠化等

极端脆弱生态区已占国土面积的近 1/2,盐渍化土地近 0.4 亿 hm^2 。抗旱、耐盐碱林草品种培育是实现困难立地造林、植被恢复的前提,可以阻止荒漠化、盐渍化的进一步加剧,又能扩大种植面积,解决人口增加与耕地骤减的矛盾,促进我国生态环境特别是脆弱生态环境建设,保障社会经济发展和人们生产生活安全^[40]。

有学者将来自枯草杆菌的果聚糖蔗糖转移酶基因 (*SacB*) 导入银腺杨, *SacB* 基因在 50 个无性系中获得表达,生物学检测也证明植株的抗旱能力明显提高^[41~42]。研究人员将来自极端抗逆木本植物霸王 C_2H_2 锌指蛋白转录因子基因 (*ZxZF*) 作为外源基因,对欧美杨渤丰 1 号进行遗传转化,转基因株系叶片相对含水量和脯氨酸含量均显著高于非转基因植株 10% 以上,转基因株系抗旱性得到一定程度提高^[43~44]。王沛雅等将油菜素内酯合成酶基因 *DAS5* 转入河北杨中,在干旱胁迫条件下转基因植株的生长状况和相关生理生化指标测定发现,转 *DAS5* 基因河北杨的抗旱能力明显提高^[45]。

经多年研究,2004 年世界上第 1 个可用于大田生产的转基因抗盐碱杨树——中天杨(八里庄杨)培育成功,由中国科学院、山东农业大学、山东金水木抗逆植物研究院联合成立的课题组将 *mtlD* 基因转入其中。1996 年,研究人员将 *mtlD* 基因导入了八里庄杨,获得了一批具较高抗盐性的转化植株,结果表明,转化植株较对照有明显提高,生长良好。后续的大田释放造林试验验证,与对照相比,转 *mtlD* 基因杨树的造林成活率明显提高,在 0.3% ~ 0.4% 土壤盐化范围内提高 0.7 倍;林木生长量显著增大、树体健壮、耐盐能力增强,转基因杨的田间耐盐极限为土壤含盐量的 0.43%,可在中度盐碱地上正常生长^[46]。刘桂丰等以小黑杨花粉植株为受体将 *betA* 基因转入小黑杨,经检测获得的 4 个转基因株系的甜菜碱含量显著高于对照,显著提高了转基因株系的耐盐性^[47]。转胆碱氧化酶基因 (*codA*) 的小黑杨也已被转化成功,耐盐性试验证明转化植株能在 0.6% 的 NaCl 浓度下生长^[48]。杨春霞等将胁迫脱水应答基因 *DREB1C* 转入南林 895 抗性试验结果初步表明,转基因植株的抗旱性、耐盐性均有所提高^[49]。

蒺藜将甜菜碱醛脱氢酶 (betaine aldehyde dehydrogenase, 简称 BADH) 基因和胆碱单加氧酶 (choline monooxygenase, 简称 CMO) 以 2 个独立的表达框形式构建在 1 个载体上,转入三倍体毛白杨中发现,转 *BADH* + *CMO* 植株的抗旱、耐盐、抗氧化、耐高/低温能力均高于转 *BADH*、转 *CMO* 及野生型植株^[50]。姜超强等将拟南芥的 *AtNHX1* 基因转入杨树 Tr 品系,显著提高了杨树的耐盐性^[51]。2010 年,周陈力分别将吉春半乳糖苷酶基因 *AtGalS2* 和蔗糖非发酵相关蛋白激酶基因 *SRK2C* 转入南林 895 杨,耐盐性初步试验表明,转基因植株的耐盐性有一定程度的提高^[52]。

1.4.2 抗氧化基因转化 由于环境的污染及大气层的破坏,臭氧逐渐成为森林树木的重要胁迫。一般情况下,臭氧可以破坏植物体内抗氧化剂的防御机制、破坏细胞膜、降低叶绿素的活性及核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶和氧化酶的活性,进而降低植物的光合作用,使植物体过早地衰老,同时降低植物体对其他胁迫的抗性。在 1998 年, Arisi 等将拟南芥的含有结合铁的超氧化物歧化酶 ($\text{Fe} - \text{superoxide dismutase}$, 简称 $\text{Fe} - \text{SOD}$) 基因导入杨树,提高了工程植株的耐冻性和抗氧化

能力^[53]。Gallardo 等将松树胞质谷胱甘肽合成酶基因导入杂种杨获得表达^[54]。Foyer 等将谷胱甘肽还原酶基因转入杂种白杨,得到了过量表达谷胱甘肽还原酶的转基因植株,大大提高了杂种白杨对氧化剂的抗性,同时也解除了光合作用中产生的氧自由基对植物体的光合抑制现象^[55]。Strohm 等利用谷胱甘肽合成酶基因 *GshS* 和谷胱甘肽降解酶基因 *GR* 转化杂种杨树,结果表明 *GshS* 基因和 *GR* 基因的过量表达并不能缓解暴露在高浓度臭氧环境中转基因杨树受到的伤害^[56]。陈彩霞等利用农杆菌介导的叶盘法将 *PeNhaD1* 基因转入盐敏感且速生的派间杂种 110 杨中,获得转 *PeNhaD1* 基因的 110 杨再生植株^[57]。Wang 等将 *Mn - SOD* 基因导入杨树,使转基因杨树 SOD 活性增强^[58]。

1.4.3 抗寒、耐涝基因转化 植物在生长发育过程中,温度作为一个重要的环境因子对其生长、生殖和分布起着关键的作用。低温不仅在很大程度上限制植物的分布区域,而且严重影响生物产量,甚至造成大面积死亡。研究人员虽然从生理学、形态学、生物化学、生物物理学等多学科对植物抗冻机制进行深入广泛地研究,找到了一些与抗寒相关的基因,如抗冻蛋白基因 (*antifreeze protein gene*, 简称 *AFP*)、低温信号转录因子基因 (*C - repeat binding transcription factor*, 简称 *CBF*)、膜稳定相关基因 (*FAD*、*GPAT*、*SAD*)、抗氧化酶活性基因 (*Fe - SOD*、*Mn - SOD*)、渗透调节蛋白 (*BADH*、*LEA*、*SacB*)、但是目前林木抗寒育种还主要依靠天然杂种选育和人工杂交育种,通过基因工程手段改良林木的抗寒性育种发展还较为缓慢,尚处在探索阶段。法国农业科学研究院 (Institut National de la Recherche Agronomique, 简称 INRA) 的 Lise Jouanin 实验室将查尔酮合成酶 (*chalcone synthase*, 简称 *CHS*) 基因导入杨树,转基因植株对低温的敏感性降低。1998 年, Arisi 等用拟南芥的 *Fe - SOD* 基因转化杨树时发现,转基因杨树不仅叶绿体中 *Fe - SOD* 活性高于对照 5 ~ 8 倍,而且杨树的抗冻性也明显提高^[53]。李春霞从胡萝卜中克隆到抗冻蛋白基因,对山杨进行遗传转化,PCR 检测初步证明 *AFP* 基因已整合到山杨基因组中^[59]。周洲利用 2 个与增加不饱和脂肪酸相关的基因 (*fatty acid desaturase*, 简称 *FAD*) 及其相应的反义表达载体,分别转化 84K 杨,对脂肪酸去饱和酶基因的表达水平进行调控发现,这 2 个基因都可以提高转化植株三烯酸的含量,能在一定程度上改变杨树脂肪酸组成,转化植株在低温胁迫下表现出较强耐抗能力,这为杨树的抗寒基因工程育种提供了一个研究方向^[60]。2011 年,张薇用抗冻转录因子 *CBF3* 基因转化欧美杨 108,通过 PCR、RT-PCR 检测初步认定转化成功,对其抗冻能力还未研究^[61]。

杨树耐涝性较差,南方常常由于大量降水造成长时间积水,给杨树生产造成了巨大损失。对转基因杨树的耐涝能力的研究鲜见报道。2009 年,李义良等对转透明颤菌血红蛋白基因 (*vitreoscilla hemoglobin gene*, 简称 *vgh*) 的银腺杨杂种进行耐涝能力的试验研究,淹水胁迫下 *vgh* 基因的表达增强了银腺杂种杨叶绿素含量的积累,进而促进了转基因植株的生长,提高了转基因株系对淹水的忍受能力^[62]。这是国内首例转基因杨树耐涝性研究。

1.5 降木质素基因转化

杨树木质素生物合成基因工程是当前研究的热点,在纸

浆和造纸工业的林木培育中具有广阔的前景。木质素硬度很大,在植物的生长过程中具有很重要的作用,但它的存在严重阻碍了造纸业的发展,很难从木浆里将其剔除,须要加入多种化学试剂去除,增加环境污染与生产成本。木质素的生物合成是一个复杂的生理生化过程,研究人员通过导入反义抑制、正义共抑制和 RNA 干扰的相关酶基因载体方法使木质素生物合成过程中一个或几个酶的表达抑制,降低木质素的含量来改良木材品质。

1995 年,Doorsselaere 等将甲基转移酶基因导入杨树中,其工程植株的甲基转移酶活性减少达 93%^[63]。Hu 等从白杨中克隆得到 4CL 基因,通过反义抑制使木质素的含量降低 45%,而纤维素的含量升高 15%,并能大大促进白杨的生长^[64]。2000 年,Jouanin 等发现,由于基因沉默使再生杨树苗中 35S 启动子作用的儿茶酚-O-甲基转移酶(catecholamine-O-methyl transferase,简称 COMT)活性降低为 0,木质素含量降低 17%,木质素的结构得到显著改变,纤维素含量提高,使木质素更易被工业降解,而 CAD 启动子作用下的 COMT 转基因杨树的纤维素含量增加^[65]。2000 年,Franke 等在转基因杨树中证实了 F5H 的过量表达对木质素单体含量的影响,并认为林木中过量表达 F5H 是对木质素生物合成进行修饰的有效代谢基因工程策略^[66]。几乎与国外同步,我国报道了利用反义 RNA 技术、通过抑制编码木质素合成关键酶基因的表达,获得了木质素显著降低的转基因植株。魏建华等将 CCoAOMT 基因的反义表达载体转入杨树,检测发现,内源 CCoAOMT 基因的表达在转录和翻译水平均受到抑制,木质素含量均有不同程度的降低,其中木质素含量下降幅度较大的株系比非转基因对照下降最高可达 41.73%^[67-68]。碱法制浆试验表明,转基因杨树在降低碱量的同时,还可以获得高的纸浆得率,显示了该转基因杨树用于纸浆材培育的潜在应用价值。贾彩红等将反义 4CL 基因转入三倍体毛白杨中发现,木质素含量下降,但总纤维素含量没有明显区别,推测 4CL 基因可能并非木质素与碳水化合物的代谢调节节点^[69]。Li 等将反义 CoA 连接酶基因和有义 *Cald5H* 基因同时导入杨树,获得了 3 种工程植株,携带反义 CoA 连接酶基因的植株木质素含量降低 40%,纤维素增加 14%;在携带有义 *Cald5H* 基因植株中,木质素含量基本保持不变;而携带 2 个基因的植株中,木质素含量下降 52%,纤维素含量增加 30%^[70],这个试验是首次进行改良杨树生物质的双价基因转接,在杨树木质素基因改良工程起到了引领作用。2014 年,Wilkerson 等将当归的阿魏酸转移酶基因(ferulic acid transferase,简称 *FMT*)转入杨树中,干扰了杨树的木质素的合成,使木质素更易处理^[71],此结果得到了学术界的认同。

在林木材性转基因改良方面,研究主要集中在改变杨树木材化学成分,通过改变木质素、纤维素、半纤维素的含量,木质素的化学组成等,降低造纸成本和减少环境污染,而对于其物理材性(木材密度、微纤丝角)的改良,基本上还未见报道。

1.6 激素合成酶相关基因转化

提高林木的生长速率、增加茎干生物量积累、缩短轮伐时间、改良林木的木材性状是林木育种的重要目标。树木被看作是潜在的低碳生物燃料的重要组成部分,是具有广阔应用

前景的生物质能源。将激素合成相关基因导入杨树中,有利于提高杨树生物性能。

Tuominen 等将与生长素合成有关的 *IaaM*、*IaaH* 基因导入杨树,获得 2 个基因同时表达的工程植株,使杨树木材的维管直径变小、维管密度增大、射线发育模式发生改变,该研究团队又将带有 *rolC* 启动子的 *IaaM* 基因导入杨树,使工程植株形成层的吲哚乙酸(indole-3-acetic acid,简称 IAA)浓度显著提高^[72-73]。Nilsson 等将 *rolC* 基因导入杨树,提高了杨树中游离态细胞分裂素的浓度,进而影响杨树的生长和发育^[74]。Eriksson 等将赤霉素生物合成关键酶基因 *GA20* 导入杨树,提高了杨树的生长速率^[75]。拟南芥内源葡萄糖酶 *CELI* 基因在杨树中的过量表达也能显著增加树高、叶面积、树干直径和纤维素含量^[76-77]。李伟等将 *rolB*/*pttGA20ox* 双价基因导入银白杨中,获得 4 株转基因植株,分析转化与非转化组育苗在生根与生长方面的差异,发现转双价基因银白杨在形态特征方面具有 *rolB* 和 *pttGA20ox* 单个基因在其他植物中表达的优良性状,且生根速度快、量多、转化植株生长率高^[78]。郝宇等将多拷贝 *rolB*、*rolC* 基因转入三倍体毛白杨中发现,*rol* 基因的多拷贝促使转化植株快速大量生成毛状根^[79]。将棉花中的油菜素内酯合成酶基因 *DET2* 导入毛白杨,可以增加转基因植株的生长量,使木质部纤维细胞增长,还可以打破芽休眠^[80-81]。研究人员将油菜素内酯合成酶基因 *DAS5* 导入河北杨中发现,转 *DAS5* 基因河北杨的生长量显著提高,特别是根干质量显著增加,同时转化植株较野生型的抗旱能力明显增强^[45,82]。通过研究证实了将激素相关基因导入杨树,可以明显改良杨树的生物特征,进而达到改良生长周期、抗性、木材质量的效果。

2 研究进展

对林木来说,繁殖周期长、遗传杂合性高、许多性状的遗传机制不明、性状分析困难及种间地理隔离、生殖隔离等因素的限制,使利用常规育种手段完成优质、高抗、高森林生产力等育种目标十分困难。借助现代分子生物学技术手段,尤其是利用基因工程手段解决一些用经典遗传育种方法很难解决或根本解决不了的问题,使之成为常规育种方式的有力补充,大力推进我国林木育种进程。从第 1 个转基因杨树工程植株的产生到现在,已经约有 30 年的时间。在这一时期,分子生物学、植物组织培养蓬勃发展,为杨树转基因打下了牢固的基础。目前已将不少的目的基因和标记基因导入杨树,完成了遗传转化的系统构建,有些已经开始进行商品化生产。

2.1 我国抗虫转基因研究应用处于世界前列,安全性评价同步进行

国内外对抗虫转基因杨树的研发工作都高度重视,而我国在这一领域的研究水平处于世界前列。由我国林业科学院林业研究所培育的转 *Bt* 基因 *CryIA* 欧洲黑杨和河北农业大学培育的转双抗虫基因(*CryIaC* + *API*) 741 杨 2 个抗食叶害虫转基因杨树品种已进入了商业化应用阶段,我国也因而成为林木抗虫基因工程应用最早的国家,其中转 *Bt* 基因欧洲黑杨是目前世界上释放面积最大的转基因林木品种,栽培面积已达 450 hm²。我国获得的欧美杨、美洲黑杨、小黑杨、毛白杨等 10 多个抗虫转基因杨树品系(无性系)也已相继进入了

田间试验阶段^[83]。面对转基因抗虫杨树的商业化步伐,研究人员近几年来开展了转抗虫基因杨树对生态安全性的评价研究,包括对非靶标生物的影响、昆虫抗性的影响、昆虫群落结构的影响以及对土壤微生态系统的影响等方面。有研究发现,抗虫转基因杨树对非靶标生物无明显毒害作用、对根际土壤微生物群落无明显影响,其节肢动物群落更稳定、多样^[20,22,84]。也有研究发现,转抗虫基因杨树在杀虫的同时,有可能会破坏局部地区的生态种群平衡,或会促使靶标害虫产生抗性并遗传。李海峰等对移栽 7 个月的转 *Bt* - 蜘蛛神经毒素重组基因的小黑杨根际土壤微生物数量与基因水平转移情况检测发现,转基因植株根际土壤微生物数量略有升高,但其中有部分微生物产生抗生素抗性,并且有转基因植株目的基因水平转移到根际土壤微生物的情况发生,这一结果还须更大范围地检测验证^[23]。转基因树木的安全评估是一个长期而复杂的过程,必须进行长期的持续跟踪研究,才能获得较全面的数据,以评估其大面积释放的安全性。

2.2 耐寒转基因杨树研究尚在探索阶段进展缓慢

在我国北方地区,杨树在生长过程中经常会遇到低温胁迫,尤其是在晚秋和早春时期,由于现有的许多速生丰产系不耐低温,气温的骤然下降会对树木产生极大伤害。而林业上通常使用的防寒措施,如施肥、树干涂白也只能在一定程度上提高杨树的抗寒能力,却又费时费力,难以广泛开展。因此,对杨树进行抗寒机制研究,从而筛选出不同抗寒能力的杨树品种,为杨树的适地、适树、适品种推广提供理论依据,对杨树速生丰产林的发展意义重大。在对杨树的转基因和抗冻基因工程研究中,用于杨树抗寒遗传转化的外源基因较少,因此,对其他林木中的抗寒相关基因进行克隆、分离,为杨树抗寒基因工程提供基因储备,这些都须要进一步深入研究。有学者将抗冻相关基因导入杨树中,对其抗冻性还未检测^[59,61]。周洲将增加不饱和脂肪酸相关的基因(*PtFAD2*、*PtFAD2*)转化 84K 杨发现,可以提高转化植株三烯酸的含量,能在一定程度上改变杨树脂肪酸组成,转化植株在低温胁迫下表现出较强耐寒能力^[60],这为杨树的抗寒基因工程育种提供了一个新的研究方向。目前在杨树的抗寒性研究上,对引起这些抗寒生理生化变化的分子机制研究甚少,而且通过转基因或植入抗冻蛋白等技术来提高杨树抗寒性的研究也较缺乏,这将会是下一步研究的重点^[85]。

2.3 多基因共转化研究初见成效

迄今为止,已有诸多遗传转化成功的报道,但获得理想的转基因杨树并不多。究其原因,首先是自然界生物的多数性状往往是由多基因控制的,多数的遗传转化研究是将 1 个或 2 个外源基因转入受体杨树。对转基因杨树的多数性状来说,一两个外源基因可能因为表达强度不够或作用机制单一,难以实现转基因的目的,为达到培育高产、优质、多抗等性状的品种目的,就须要把 3 个或更多有用基因导入杨树中进行多基因操纵。夏永刚等利用基因枪共转化法将 5 个外源基因[调节基因(*JERF36*)、枯草杆菌果聚糖蔗糖酶基因(*SacB*)、透明颤菌血红蛋白基因(*vgb*)、双价抗蛀干害虫基因(*BtCry3A + OC - 1*)、报告基因(*NPT II*)]导入库安托杨,获得含有 5 个外源基因的转基因杨树新品种,经在盐碱地中试验表现出较强的耐盐碱性,随后进行抗旱、耐涝、及生产能力

试验均表现良好,对目标害虫有一定抗虫性,对昆虫群落多样性无明显影响,*NPT II* 蛋白的表达量并没有随着目的基因数量的增加而升高,转多个基因杨树可能由标记基因引起的生物安全问题并不会加剧^[22,86-88]。这开创了多价基因同时转入杨树,并同时表达的实践先河。目前尚未获得可以大面积推广的具有优良基因的杨树新品种,未来的发展方向是进行多基因共价转化、试图获得优良的杨树新品种。

3 杨树转基因研究存在问题及展望

杨树基因的改良虽然取得了不少的成果,但在实际应用中还存在很多困难,有很多问题亟须解决。目前杨树基因改良的总体特征是进行杨树遗传转化体系研究的多,进入大田栽培的品种少;进行单个基因转化的多,多个基因共同转化的少,而且所选用的目的基因大都不是来自杨树本身,多数是来源于微生物和草本植物。应加快对杨树本身基因组的研究,针对抗旱耐盐、抗病虫等关键抗逆性状,开展杨树多基因遗传转化研究,建立转多基因杨树种苗繁育、生物安全评价及管理示范体系,构建高效、安全、快捷的林木转基因及评价技术平台,为我国林业可持续发展提供技术支撑。目前,我国是以美洲黑杨种质为基础的品种国产化育种,将杨树产业种质扩大到江淮流域,但黑杨派种质不能很好地适应西北干旱、半干旱地区栽种,亟须培育抗旱、抗寒、耐盐碱能力强的杨树品种,使我国辽阔的荒漠化日益严重的西北干旱、半干旱地区获得性状优良的更新换代品种。

在化石燃料急剧枯竭、温室效应不断加剧的今天,杨树作为可持续再生生物质能源中重要的一员,可为新能源的开发利用贡献力量。但其自身丰富的木质素组成阻碍了对纤维素的降解利用,降低了生物染料产出,同时也增加了造纸生产中的污染与成本。在过去的几十年中,研究工作者们一直致力于通过改造植株中的木质素组成,来降低其对工业生产和畜牧造成的影响。能否通过改造得到自身合成易于处理或消化的木质素的植株,成为整个纤维素利用领域的关键。2014 年,一项由威斯康星大学麦迪逊分校生物化学系教授 Ralph 负责的研究,即从当归中克隆得到阿魏酸辅酶 A 转移酶基因并导入杨树中,通过对木质素取样并使用高效液相色谱检测,转基因杨树合成的木质素中含有阿魏酸,用 6.25 mmol/L NaOH 在 90 ℃ 下处理 3 h 后,木质素含量就减少到满足进行后续工业生产的标准,而目前常用的处理温度是 160 ~ 200 ℃。这使进一步改造和设计易于利用纤维素和木质素的植物的设想成为了可能。这一研究结果为杨树木材利用提供了新基础,相信在不久的将来,木质素降解与促进生长相结合的转基因杨树在造纸工业及新能源等领域扮演重要角色。

在全球范围内,转基因树木的发展将在优良树种的选育、濒危树种保护等方面发挥更大的作用。随着我国已绘制出毛白杨基因组序列框架,杨树的基因改良将进入一个新的时代,运用杨树自身庞大丰富的优良基因进行多基因共价转化,获取性状优良的杨树新品种^[79]。随着分子生物学理论和技术的进步,各种转化体系的建立和逐步完善,遗传转化技术将得到进一步的发展,这些都为转基因树木的研究奠定了坚实的基础。通过基因工程手段改造的树木新品种,必在净化大气、改良土壤、恢复生态、生物质能源及提供优质木材等方面发挥巨大作用。

参考文献:

- [1] 应俊生. 中国植物志: 第 29 卷[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 50–214.
- [2] Yin T M, Zhang X Y, Huang M R, et al. Molecular linkage maps of the *Populus* genome[J]. Genome, 2002, 45(3): 541–555.
- [3] Yin T M, Difazio S P, Gunter L E, et al. Large-scale heterospecific segregation distortion in *Populus* revealed by a dense genetic map[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(3): 451–463.
- [4] Bradshaw H D, Ceulemans R, Davis J, et al. Emerging model systems in plant biology: poplar (*Populus*) as a model forest tree[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2000, 19(3): 306–313.
- [5] Brunner A M, Busov V B, Strauss S H. Poplar genome sequence: functional genomics in an ecologically dominant plant species[J]. Trends in Plant Science, 2004, 9(1): 49–56.
- [6] Taylor G. *Populus*: arabidopsis for forestry. do we need a model tree? [J]. Annals of Botany, 2002, 90(6): 681–689.
- [7] Fillatti J A, Sellmer J, Mccown B, et al. Agrobacterium mediated transformation and regeneration of *Populus* [J]. Molecular and General Genetics, 1987, 206(2): 192–199.
- [8] 伍宇丰, 范云六. 含苏云金芽孢杆菌杀虫蛋白基因的杨树工程植株的建立[J]. 科学通报, 1991(9): 705–708.
- [9] 廖维华, 安新民. 转基因树木发展现状及发展趋势[J]. 中国生物工程杂志, 2013, 33(5): 148–160.
- [10] 田颖川, 李太元, 莽克强, 等. 抗虫转基因欧洲黑杨的培育[J]. 生物工程学报, 1993, 9(4): 291–297.
- [11] 胡建军, 刘庆一, 王克胜, 等. 欧洲黑杨转 *Bt* 毒蛋白基因植株大田抗性测定[J]. 林业科学研究, 1999, 12(2): 202–205.
- [12] 侯英杰, 张冰玉, 苏晓华. 转基因林木潜在生态风险研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2006, 26(12): 117–121.
- [13] 郝贵霞, 朱 桢, 朱之悌. 豇豆胰蛋白酶抑制剂基因转化毛白杨的研究[J]. 植物学报, 1999, 41(12): 1276–1282.
- [14] 伍宇丰, 孙 芹, 姚 斌. 抗虫的转 *Aa1T* 基因杨树的获得[J]. 生物工程学报, 2000, 16(2): 129–133.
- [15] 李明亮, 张 辉, 胡建军, 等. 转 *Bt* 基因和蛋白酶抑制剂基因杨树抗虫性的研究[J]. 林业科学, 2000, 36(2): 93–97.
- [16] 饶红宇, 陈 英, 黄敏仁, 等. 杨树 NL-80106 转 *Bt* 基因植株的获得及抗性[J]. 植物资源与环境学报, 2000, 9(2): 1–5.
- [17] 郑均宝, 梁海永, 田颖川, 等. 转双抗虫基因 741 毛白杨的选择及抗性[J]. 林业科学, 2000, 36(2): 13–19.
- [18] 张冰玉, 苏晓华, 李义良, 等. 转双价抗蛀干害虫基因杨树的获得及其抗性鉴定[J]. 林业科学研究, 2005, 18(3): 364–368.
- [19] 诸葛强, 房 丹, 李秀芬, 等. 美洲黑杨杂种优良无性系转抗虫基因(*Bt* 和 *CpTI*)的研究[J]. 分子植物育种, 2006, 4(6): 819–824.
- [20] 张 雁, 郭同斌, 潘惠新, 等. 转 *Bt* 基因南林 895 杨抗虫性及对土壤微生物影响分析[J]. 林业科学研究, 2012, 25(3): 346–350.
- [21] 李志新, 赵曦阳, 杨成君, 等. 转 *TaLEA* 基因小黑杨株系变异及生长稳定性分析[J]. 北京林业大学学报, 2013, 35(2): 57–62.
- [22] 夏永刚, 李 密, 李永进, 等. 转多基因库安托杨对昆虫群落的影响[J]. 中国农学通报, 2013, 29(19): 84–88.
- [23] 李海峰, 刘 岩, 康 颖, 等. 转基因小黑杨对土壤微生物群落结构的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2014, 38(2): 75–80.
- [24] 许 农, 黄敏仁, 陈道明. 杨树基因工程研究进展[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 1993, 17(4): 78–82.
- [25] Bradshaw H D, Hollick J B, Parsons T J, et al. Systemically wound-responsive genes in poplar trees encode proteins similar to sweat potato spormins and legume kwnitz trypsin inhibitors [J]. Plant Molecular Biology, 1989, 14(1): 51–59.
- [26] Nicolescu C, Sandre C, Jouanin L, et al. Genetic engineering of phenolic metabolism in poplar in relation with resistance against pathogens[J]. Acta Botanica Gallica, 1996(143): 539–546.
- [27] Mentag R, Luckevich M, Morency M J, et al. Bacterial disease resistance of transgenic hybrid poplar expressing the synthetic antimicrobial peptide D4E1 [J]. Tree Physiology, 2003, 23(6): 405–411.
- [28] 赵世民, 祖国诚, 刘根齐, 等. 通过农杆菌介导法将免防御素 *NP-1* 基因导入毛白杨 (*P. tomentosa*) [J]. 遗传学报, 1999, 26(6): 711–714.
- [29] Liang H Y, Maynard C A, Allen R D, et al. Increased *Septoria musiva* resistance in transgenic hybrid poplar leaves expressing a wheat oxalate oxidase gene[J]. Plant molecular biology, 2001, 45(6): 619–629.
- [30] 孟 亮, 李红双, 金德敏, 等. 转几丁质酶基因黑杨的获得[J]. 生物技术通报, 2004(3): 48–51.
- [31] Jia Z C, Sun Y M, Yuan L, et al. The chitinase gene (*Bbchit1*) from *Beauveria bassiana* enhances resistance to *Cytospora chrysosperma* in *Populus tomentosa* Carr. [J]. Biotechnology Letters, 2010, 32(9): 1325–1332.
- [32] 贾之春, 孙一铭, 秦志超, 等. 转抗菌肽基因毛白杨的培育及其对溃疡病的抗性[J]. 林业科学, 2011, 47(7): 123–127.
- [33] 牛庆霖, 王 迎, 罗 磊, 等. 欧美杨 107 杨 $\beta-1,3$ -葡聚糖酶 (*BG₂*) 基因遗传转化及对溃疡病的抗性分析[J]. 林业科学, 2013, 49(11): 60–66.
- [34] 黄 艳, 刘 虹, 袁 丽, 等. 过量表达 *LAR3* 和 *Bbchit1* 以提高毛白杨对叶枯病的抗性[J]. 林业科学, 2012, 48(7): 92–97.
- [35] de Block M. Factors influedcing the tissue culture and the *Agrobacterium tumefaciens* - mediated transformation of hybrid aspen and poplar clones[J]. Plant Physiology, 1990, 93(3): 1110–1116.
- [36] Chupeau M C, Pautot V, Chupeau Y. Recovery of transgenic trees after electroporation of poplar protoplasts[J]. Transgenic Research, 1994, 3(1): 13–19.
- [37] Confalonieri M, Belenghi B, Balestrazzi A, et al. Transformation of elite white poplar (*Populus alba* L.) cv. ‘Villafranca’ and evaluation of herbicide resistance[J]. Plant Cell Reports, 2000, 19(10): 978–982.
- [38] Gullner G, Komives T, Rennenberg H. Enhanced tolerance of transgenic poplar overexpressing gamma-glutamyl-cysteinine synthetase towards choroacetanilide herbicide [J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 52(358): 971–979.
- [39] Meilan R, Han K H, Ma C, et al. The CP4 transgene provides high levels of tolerance to roundup (R) herbicide in field-grown hybrid poplars[J]. Canadian Journal of Forest Research, 2002, 32(6): 967–976.
- [40] 卢孟柱, 胡建军. 我国转基因杨树的研究及应用现状[J]. 林业科技开发, 2006, 20(6): 1–4.
- [41] 张冰玉, 苏晓华, 黄秦军, 等. 转果聚糖蔗糖转移酶基因银腺杨的获得[J]. 林业科学, 2005, 41(3): 48–53.
- [42] 李义良, 苏晓华, 张冰玉, 等. 外源 *SacB* 基因在银腺杂种杨基因组中的表达及抗旱性分析[J]. 北京林业大学学报, 2007, 29

- (2):1-6.
- [43] 刘淳洋. 锌指蛋白基因 *ZxZF* 对杨树的转化及抗旱性研究[D]. 北京:北京林业大学,2013.
- [44] 张伟溪,刘淳洋,丁昌俊,等. 欧美杨锌指蛋白转录因子基因 (*ZxZF*) 的遗传转化及抗旱性初步分析[J]. 林业科学,2014,50(3):31-37.
- [45] 王沛雅,周剑平,王治业,等. 油菜素内酯合成酶基因 *DAS5* 促进杨树生长及提高抗旱性的作用[J]. 植物学报,2014,49(4):407-416.
- [46] 尹建道,孙仲序,王玉祥,等. 转抗盐碱基因八里庄杨大田释放试验[J]. 东北林业大学学报,2004,32(3):23-25.
- [47] 刘桂丰,程贵兰,姜 静,等. 以胆碱脱氢酶基因对小黑杨花粉植株的遗传转化[J]. 植物生理与分子生物学学报,2006,32(2):163-168.
- [48] 姜 静,王 雷,詹立平,等. 小黑杨花药培养植株转化胆碱氧化酶基因提高耐盐性转化胆碱氧化酶基因提高耐盐性[J]. 植物学通报,2008,25(1):80-84.
- [49] 杨春霞,李火根,程 强,等. 南林 895 杨抗旱耐盐基因 *DREB1C* 的转化[J]. 林业科学,2009,45(2):17-21.
- [50] 蔺 娜. 转 *AhBADH*、*PsCAT* 基因烟草和杨树的获得及其抗性分析[D]. 泰安:山东农业大学,2007.
- [51] 姜超强,郑青松,刘兆普,等. 转 *AtNHX1* 基因杨树 Tr 品系的耐盐性研究[J]. 植物生态学报,2010,34(5):563-570.
- [52] 周陈力. 杨树转 *AtGols2* 和 *SRK2C* 基因的遗传转化研究[D]. 南京:南京林业大学,2010.
- [53] Arisi A C M, Cornic G, Jouanin L, et al. Overexpression of iron superoxide dismutase in transformed poplar modifies the regulation of photosynthesis at low CO₂ partial pressures or following exposure to the prooxidant herbicide methyl viologen[J]. Plant Physiology, 1998,117(2):565-574.
- [54] Gallardo F, Fu J M, Cantón F R, et al. Expression of a conifer glutamine synthetase gene in transgenic poplars[J]. Planta, 1999,210(1):19-26.
- [55] Foyer C H, Souriau N, Perret S, et al. Overexpression of glutathione reductase but not glutathione synthetase leads to increases in antioxidant capacity and resistance to photoinhibition in poplar trees[J]. Plant physiology, 1995,109(3):1047-1057.
- [56] Stroh M, Eiblmeier M, Langebaetels C, et al. Responses of transgenic poplar (*Populus tremula* × *P. alba*) overexpressing glutathione synthetase or glutathione reductase to acute ozone stress visible in jury and leaf gas exchange[J]. Journal of Experimental Botany, 1999,50(332):365-374.
- [57] 陈彩霞,司瑞新,沈 昕,等. 转 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白 (*PeNhaD1*) 基因派间杂种 110 杨的获得[J]. 西北林学院学报, 2009,24(1):61-65.
- [58] Wang Y C, Qu G Z, Li H Y, et al. Enhanced salt tolerance of transgenic poplar plants expressing a manganese superoxide dismutase from *Tamarix androssowii* [J]. Molecular Biology Reports, 2010,37(2):1119-1124.
- [59] 李春霞. 抗冻蛋白基因对山杨等植物遗传转化的研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2003.
- [60] 周 洲. 转脂肪酸去饱和酶基因 *PtFAD2* 和 *PtFAD3* 银腺杨 84K 的抗寒性研究[D]. 北京:中国林业科学研究院,2007.
- [61] 张 薇. 抗冻转录因子 *CBF3* 基因转化欧美杨 108 的研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2011.
- [62] 李义良,苏晓华,张冰玉,等. 转 *rgb* 基因银腺杂种杨的耐涝性[J]. 林业科学,2009,45(7):26-31.
- [63] Doorselaere J, Baucher M, Chognot E, et al. A novel lignin in poplar trees with a reduced caffeic acid/5-hydroxyferulic acid-O-methyltransferase activity[J]. The Plant Journal, 1995,8(6):855-864.
- [64] Hu W J, Harding S A, Popko J L, et al. Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees[J]. Nature Biotechnology, 1999,17(8):808-812.
- [65] Jouanin L, Goujon T, de Nadai V, et al. Lignification in transgenic poplars with extremely reduced caffeic acid O-methyltransferase activity[J]. Plant Physiology, 2000,123(4):1363-1374.
- [66] Franke R, McMichael C M, Meyer K, et al. Modified lignin in tobacco and poplar plants over-expressing the *Arabidopsis* gene encoding ferulate 5-hydroxylase[J]. Plant Journal, 2000,22(3):223-234.
- [67] 魏建华,赵华燕,张景昱,等. 毛白杨 *CCoAOMT* cDNA 片段的克隆与转基因杨木质素含量的调控[J]. 植物学报,2001,43(11):1179-1183.
- [68] 赵华燕,魏建华,路 静,等. 利用反义 *CCoAOMT* 基因培育低木质素含量毛白杨的研究[J]. 自然科学进展,2004,14(9):1067-1071.
- [69] 贾彩红,赵华燕,王宏芝,等. 抑制 *4CL* 基因表达获得低木质素含量的转基因毛白杨[J]. 科学通报,2004,49(7):662-666.
- [70] Li L, Zhou Y H, Cheng X F, et al. Combinatorial modification of multiple lignin traits in trees through multigene cotransformation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003,100(8):4939-4944.
- [71] Wilkerson C G, Mansfield S D, Lu F, et al. Monolignol ferulate transferase introduces chemically labile linkages into the lignin backbone[J]. Science, 2014,344(6179):90-93.
- [72] Tuominen H, Siitton F, Jacobeeon C, et al. Altered growth and wood characteristics in transgenic hybrid Aspen expressing *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA indoleacetic acid biosynthetic genes[J]. Plant Physiology, 1995,109(4):1179-1189.
- [73] Tuominen H, Poeh L, Regan S, et al. Cambial-region-specific expression of the *Agrobacterium* *iaa* genes in transgenic Aspen visualized by a linked uidA reporter gene[J]. Plant Physiology, 2000,123(2):531-542.
- [74] Nilsson O, Moritz T, Sönderberg B, et al. Expression of the *Agrobacterium rhizogenes* *rolC* gene in deciduous forest tree alters growth and development and leads to stem fasciation[J]. Plant Physiology, 1996,112(2):493-502.
- [75] Eriksson M E, Israelsson M, Olsson O, et al. Increased gibberellin biosynthesis in transgenic trees promotes growth, biomass production and xylem fiber length[J]. Nature Biotechnology, 2000,18(7):784-788.
- [76] Shani Z, Dekel M, Tsabary G, et al. Growth enhancement of transgenic poplar plants by overexpression of *Arabidopsis thaliana* endo-1,4-β-glucanase (*cel1*) [J]. Molecular Breeding: New Strategies in Plant Improvement, 2004,14(3):321-330.
- [77] Park Y W, Baba K, Furuta Y, et al. Enhancement of growth and cellulose accumulation by overexpression of xyloglucanase in poplar[J]. FEBS Letters, 2004,564(1/2/3/4/5):183-187.
- [78] 李 伟,李 慧,陈晓阳. 转 *rolB/pAtGA20ox* 双价基因提高银白

吕振宇,牛灵安,郝晋珉. 中国基本农田的研究综述[J]. 江苏农业科学,2017,45(20):24-27.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.20.005

中国基本农田的研究综述

吕振宇¹, 牛灵安¹, 郝晋珉²

(1. 中国农业大学曲周实验站,河北曲周 057250; 2. 中国农业大学资源与环境学院,北京 100193)

摘要:为系统总结中国基本农田的研究成果,进而为新时期基本农田保护及建设提供借鉴,采用文献综合法及归纳总结法,阐述基本农田的内涵,分析基本农田的保护制度、基本农田划定以及基本农田建设的研究进展,并提出基本农田保护及建设未来需要深入研究的内容。

关键词:中国基本农田;划定;保护;高标准基本农田建设;研究进展;生态化高标准基本农田

中图分类号: F301.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)20-0024-04

自 1989 年 5 月农业部与原国家土地局在湖北省监利县召开基本农田保护现场会以来,中国的基本农田保护已历时近 30 年。在近 30 年间,伴随着基本农田保护、建设的实践,众多学者在基本农田的内涵、保护制度、划定、建设等方面取得了丰富的研究成果。综观已有文献,缺乏对该领域研究成果的系统总结。因此,本文梳理基本农田的研究成果,以期为新时期更加科学有效地进行基本农田保护及建设提供借鉴。

1 基本农田的内涵

基本农田是中国特有的一个概念。“基本农田”一词首现于 1963 年中国召开的“黄河中下游水土保持工作会议”,该会议提出了“通过水土保持,逐步建立旱涝保收、产量较高的基本农田”^[1]。可见首次提出的基本农田具备 2 个特征:旱涝保收、产量较高,即能够抵御旱涝自然灾害实现稳产且又高产的农田即为基本农田。至 20 世纪 80 年代末期,基本农田的核心内容一直是指高产稳产的农田^[2]。1994 年国务院颁布的《基本农田保护条例》定义的基本农田,是指根据一定时期人口和国民经济对农产品的需求以及建设用地的预测而确定的长期不得占用的和基本农田保护区规划期内不得占用

的耕地^[3]。相较 20 世纪 80 年代末之前,该条例所指的基本农田的内涵已变更为综合考虑农产品的需求及建设用地的预测而确定的长期不得占用的耕地,其关注的焦点已非高产稳产,此时基本农田的确定是基于“要吃饭,也要建设”。由于耕地保护形势的严峻,1998 年国务院修订颁布的《基本农田保护条例》定义的基本农田是指按照一定时期人口和社会经济发展对农产品的需求依据土地利用总体规划确定的不得占用的耕地^[4]。此时期基本农田的内涵已演进为不再考虑对建设用地的预测而只考虑农产品的需求且依据土地利用总体规划确定的不得占用的耕地,基本农田的确定已是只考虑“吃饭”,首要目标是保证农产品的需求。此外,与一般农田相比,基本农田具有以下特征:肥力较高、农田立地条件较优、且因牵涉到人地关系平衡而具有时段性^[1]。可见,基本农田的内涵已演化为保障一定时期农产品的需求依据土地利用总体规划确定的不得占用的优质耕地。

2 中国基本农田保护制度的研究

基本农田保护制度是指以实现基本农田总量不减少、用途不改变、质量有提高为目的的法律、政策的总体。中国基本农田保护制度的变迁具有明显的供给主导型制度变迁的特征^[5]。基本农田保护制度是中国中央政府保护“保命田”、约束行为主体的强制性制度安排,体现了中央政府保护基本农田的强烈意愿与不可动摇的决心^[5]。基于博弈论的纳什均衡分析,中央政府、地方政府、农村集体经济组织、村民在现有

收稿日期:2016-08-10

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2015BAD06B01)。

作者简介:吕振宇(1974—),男,河北邯郸人,博士,农艺师,主要研究方向为土地整治与评价。E-mail:shiyanzhan163@163.com。

杨生根能力及生长速度的研究[J]. 北京林业大学学报,2009,31(2):92-95.

[79] 郝宇,梁海永,杨敏生. 多拷贝 *rol* 基因对转基因杨树生长及内源激素的影响[J]. 林业科学,2010,46(5):58-63.

[80] 严飞. 棉花油菜素内酯合成酶基因(*GhDET2*)在杨树上的遗传转化及转基因植株的表型分析[D]. 重庆:西南农业大学,2004.

[81] 邓伟,吕立堂,罗克明,等. 油菜素内酯合成酶(steroid 5 α -reductase)基因的超表达对毛白杨生长的影响[J]. 植物生理学通讯,2008,44(3):399-403.

[82] 王沛雅,杨晖,杨涛,等. 农杆菌介导的河北杨遗传转化体系的建立[J]. 生物技术通报,2012(3):141-147.

[83] 胡建军,杨敏生,卢孟柱. 我国抗虫转基因杨树生态安全性研究进展[J]. 生物多样性,2010,18(4):336-345.

[84] 康薇. 转 *Bt* 杨树对杨扇舟蛾的田间抗性 & 生物安全性[J]. 湖北理工学院学报,2013,29(4):28-31.

[85] 胡建芳,陈建中,姚延铸. 杨树抗寒性研究进展[J]. 世界林业研究,2011,24(3):32-36.

[86] 王建革,苏晓华,纪丽丽,等. 基因枪转多基因库安托杨的获得[J]. 科学通报,2006,51(23):2755-2760.

[87] 李环. 转多基因库安托杨抗逆性研究与评价[D]. 保定:河北农业大学,2008.

[88] 侯英杰,苏晓华,张冰玉,等. 转多基因杨树中抗生素标记基因 *NPTII* 表达量分析研究[J]. 林业科学研究,2009,22(5):630-634.