

用基因工程为棉花“涂”上五颜六色

◎洪恒飞 张若娴 本报记者 江耘

谁说棉花只有白色？近日，记者从浙江理工大学获悉，该校生命科学与医药学院孙玉强教授团队通过基因工程，创制了一个棉花紫色突变体，解析了该突变体GhOMT1基因的功能缺失调控花青素积累的内在机理。由此，团队通过杂交育种技术提高纤维中原花青素（一种色素成分，在酸性介质中加热后可产生花青素）含量，开辟出培育多种颜色的彩色棉新途径。相关研究论文近日在线发表于国际期刊《植物生物技术杂志》。

从植株紫色“顺藤摸瓜”

棉花是世界性的重要经济作物，是纺织工业的主导原料。此前，天然彩色棉品种资源多为棕色和绿色系列，颜色单调、色牢度及色饱和度不足成为限制彩色棉产业发展的瓶颈。

“用传统的遗传育种手段无法解决目前彩色棉颜色单调的问题。”孙玉强解释道，挖掘彩色棉纤维色素物质合成和调控的关键基因，阐明纤维色素形成的机理，通过基因工程获得多种颜色的彩色纤维，是棉花纤维色素改良的新方向和突破点。

从2010年起，孙玉强团队就利用农杆菌介导的棉花转基因技术，创制棉花突变体，其中一个紫色突变株系HS2从种子萌发到植株衰老，整个生育期茎、叶、蕾等组织器官都呈紫色，并稳

定遗传。

通过分析花青素含量和成分发现，导致植株紫色突变的主要原因是HS2中积累了大量游离态无色花青素、有色花青素及中间产物，并且花青素的组成也发生了改变。

“紫色突变体HS2中的花青素种类主要有矢车菊素、飞燕草素和天竺葵色素3种羟基化花青素单体，其含量显著增加，而另外3种植物中常见的花青素单体——芍药素、矮牵牛素、锦葵素，几乎检测不到。”孙玉强说。

研究结果表明，在紫色突变体HS2中，类黄酮代谢通路中游核心——花青素途径的关键酶基因表达量大幅上调，导致大量游离态花青素累积，呈现紫色性状。

天然彩色棉新增亮眼色系

在之前的研究中，孙玉强团队发现HS2突变体从茎、叶到花、铃等器官都呈现紫色，唯独纤维颜色没有改变。

对此，他分析道，这可能与突变体中原花青素合成的GhANR和GhLAR两组通路表达水平比较低有关，导致纤维中原花青素累积不够，所以棉花纤维仍然呈现白色。

那么HS2突变体能否用于棉花彩色纤维的遗传改良从而使纤维颜色加深甚至出现新的颜色呢？从2012年开始，孙玉强团队利用紫色突变体HS2分别与9个棕色棉和绿色棉的品种进



视觉中国供图

行正反交，并利用紫色性状、纤维颜色结合分子标记选择稳定的杂交后代株系。

经过连续多代的选育，团队已经获得纤维色泽稳定、颜色显著改变的多个杂交组合，包括深棕色至咖啡色，绿色、军绿色和深绿色，橙色，还有深浅不一的蓝色。

在此研究基础上，该团队提出彩色棉纤维颜色分子改良的新策略：在HS2紫色突变体提供大量花青素合成的基础上，通过遗传操纵不同基因，改变花青素种类、含量，或进一步提高原花青素的聚合度等，从而培育更多颜色的彩色棉。

通过上述步骤培育出的彩色棉天然具有颜色，可以无需印染直接纺纱成布，避免了纺织品化学印染带来的环境污染和对人们健康的危害，是纺织产业绿色发展重要的物质基础。彩色棉纤维因其花青素类物质含量较高，还具有较高的抗氧化性、抗菌性等优点。

“团队在培育彩色棉方面取得重大突破，创制了大量的彩色棉种质资源和新品系。”孙玉强表示，团队正持续开展彩色棉纤维改良实验，推动彩色棉应用于婴幼儿衣物、玩具和医用纱布等领域。

跳过组织培养过程 纳米磁珠助玉米花粉“移花接木”

◎本报记者 马爱平

近日，《植物学报》英文版(JIPB)在线发表了北京市农林科学院生物技术研究所吴忠义研究员课题题为《利用纳米磁珠介导的花粉转染法建立不依赖基因型的玉米高效转化体系》的研究论文。

论文详细介绍了基于纳米磁珠介导的、不依赖基因型的高效玉米遗传转化全新方法。该方法借助纳米磁珠将外源基因通过花粉萌发孔(指花粉外壁上的薄壁区域所形成的开口)导入玉米花粉，然后经过人工授粉和自然结实过程，将外源基因转入多种玉米自交系中，成功解决了玉米遗传转化过程中“依赖组培体系，严重受基因型限制”的瓶颈问题。该方法的成功将其他植物开发花粉转化体系提供有力借鉴。北京市农林科学院博士后王作平和副研究员张中保为该论文的第一作者，研究员吴忠义和魏建华为通讯作者。该研究得到了北京市科技计划项目、北京市农林科学院创新能力建设专项和北京市博士后基金的资助。

“此转化体系将外源基因转入玉米中，从而实现玉米的遗传转化。这是课题组借鉴了中国农业科学院发明的棉花纳米磁珠转化方法，并结合玉米花粉本身的特点而创立的新型高效的玉

米遗传转化方法，是具有中国自主知识产权的一种新的遗传转化方法。”吴忠义在接受科技日报记者采访时表示。

打破基因型限制

“目前全球玉米遗传工程育种的主流方法是基于植物组织培养体系，通过农杆菌介导的方法进行育种；然后进行回交转育，创制优良玉米品种。但是该方法还存在一些缺陷，即依赖植物组培体系、受基因型限制，可用于高效转化的玉米材料少，并且转化成本高，严重限制了玉米品种的精准改良，特别是育种的效率。”魏建华介绍。

因此急需一种不依赖组培体系、不受基因型限制的玉米新型高效DNA导入方法。虽然过去也有关于利用纳米磁珠介导的花粉转化方法的报道，但众多实验室利用的方法，成功率都不高。

“我们的新型玉米转化方法则不同，其借助纳米磁珠将外源基因导入玉米花粉，再通过人工授粉和自然结实过程，不需要经过‘植物组织培养’就可以将外源优异基因通过花粉转入玉米中，操作简便、省时省力、成本低，由于品种之间花粉没有太大的区别，因此打破了基因型限制。”吴忠义说。

解决两个关键问题

该方法借助了作物自然开花结实的过程

进行遗传转化。大部分禾本科作物如玉米、水稻、小麦、高粱、谷子等，其花粉都有一个萌发孔，正常条件下萌发孔有一个孔盖结构。“我们通过低温条件维持玉米花粉活力，并通过转化液预处理方法使玉米花粉萌发孔盖打开，从而使外源基因通过纳米磁珠的介导在磁场作用下高效地导入玉米花粉中。”吴忠义说，“其他植物可在本研究方法的基础上，借鉴转化方法中两个共性条件——维持花粉活力和打开萌发孔，依据目标植物生长条件和花粉特性，探索维持花粉活力和花粉萌发孔打开的最佳条件，突破遗传转化的瓶颈，特别是针对不好建立组培体系的一些园艺植物，建立高效的生物育种体系。”经过多年不断探索，课题组建立了纳米磁珠介导的不依赖基因型的玉米遗传转化方法，并成功解决了该遗传转化方法的两个关键问题。

“玉米花粉离体后，在室温条件下特别容易萌发而失去活性，并在普通溶液中极易破裂，且玉米花粉萌发孔的孔盖中细胞壁结构会阻挡外源基因的进入。我们通过低温和配方适宜的溶液，减缓玉米花粉的萌发过程并阻止花粉破裂，最大限度地维持玉米花粉的活力，为授粉后玉米的结实率提供了保障；同时通过转化液预处理的诱导使玉米花粉萌发孔打开，为外源基因高效进入花粉提供了保障。通过

以上这两方面优化，使该转化方法实现稳定和高效。”吴忠义表示。

有望在不同植物中得到推广

该研究还发现，温室中种植的玉米材料，花粉的萌发孔很难被打开，使用该方法难以完成玉米的遗传转化。这又意味着什么？

吴忠义解释，研究人员在田间种植材料中收集玉米花粉，发现有约1%的花粉萌发孔是自然打开的；而他们对冬季温室中种植玉米材料的上万粒花粉进行观测，却未能发现这种萌发孔自然打开的花粉，这样的花粉即使用转化液进行预处理，萌发孔也很难被诱导打开，因此外源基因难以有效导入。

“这意味着，田间材料和温室材料花粉萌发孔打开的条件是不同的，目前使用温室种植的玉米材料的花粉，很难利用纳米磁珠介导的方法完成玉米的遗传转化。不过我们正在进行技术攻关，目标是找到合适的方法诱导这些花粉的萌发孔打开，如解决此问题，同样可以高效地完成温室种植玉米材料的遗传转化。”魏建华说。

魏建华表示，在不远的将来，该方法有望在不同的植物中得到推广，并形成一种各种科研院所和育种单位均能普遍采用的低成本的低简化遗传转化方法。同时，该方法将极大提高品种精准定向改良的效率。

有了新型疫苗，家兔业不再谈瘟色变

◎本报记者 张晔

对兔产业来说，兔出血症是头号杀手。其自1984年出现后就席卷全球，传染性极强，致死率极高，一旦染病，兔子会在数天内死亡，因此人们又把它称为“兔瘟”。

20世纪60年代以来，江苏省农科院兔重大疫病防控创新团队一直在向兔瘟宣战。“今年5月，我们向农业农村部申报应急评价疫苗，有望用最快速度阻断兔病毒性出血症2型病毒(RHDV2)在国内的传播。”江苏省农科院兔重大疫病防控创新团队王芳研究员告诉记者。此外，该团队还分离发现了多个菌毒种，在国际上率先研发出兔瘟基因工程疫苗，实现家兔主要疾病的诊断、免疫、监测技术全覆盖，为我国兔产

业问鼎世界第一作出重大贡献。

兔瘟灭活疫苗面临三大问题

养兔是我国的传统特色产业，同时我国也是养兔大国，年出栏量约6—7亿只，占全球总出栏量的60%以上。

近年来，家兔养殖成为脱贫攻坚的重要产业，新疆、甘肃、四川等西部地区，建设了很多大型家兔养殖场，在助力当地老百姓脱贫致富方面起到重要作用。

“家养三只兔，不愁油盐醋；家养十只兔，不愁棉和布；家养百只兔，走上致富路。”这首“致富经”已在养兔人之间广为流传。

然而，兔瘟一直是笼罩在兔农头顶的一朵乌

云，让兔农谈瘟色变。

为了在短时间内抑制病毒的扩散，人们用最传统的灭活技术生产疫苗。兽药厂家将病毒注射到健康兔子体内，兔子染病死亡后，将其肝脏、肾脏等组织取出，研磨成粉末，将粉末灭活后制成疫苗。

然而，这样制作灭活疫苗面临三大问题，第一需要大量的活兔，仅我国每年就需要60万只兔子；第二，在内脏研磨粉碎的过程中，带有病毒的气溶胶会在空气中扩散，生物安全性较差；第三，这种方法不能规模化生产。

研发全球首个兔瘟基因工程亚单位疫苗

家兔与人类都属于哺乳动物，同样具有免疫应答功能。其免疫系统会对体内或体外的抗原物质产生免疫应答和免疫记忆，使得每个病原体都可以通过特征性的抗原表位而被免疫系统“记住”。

为了解决灭活疫苗的问题，江苏省农科院兔重大疫病防控创新团队设计构建了一个重组病毒，在这个新的病毒里，让兔瘟病毒保护性抗原得以表达。

“这个病毒名叫重组杆状病毒，它有个特点就是感染哺乳动物等脊椎动物，因此，对人类是非常安全的。”王芳说。

病毒生存必须依赖活体，用病毒制作疫苗首先要让它能在细胞里不断复制。记者看到，科研人员在发酵罐里装满一种黄色的液体作为培养基，培养大量的细胞，然后把重组后的杆状病毒注入罐内，让病毒在细胞中大规模复制，最后将这些培养物灭活并制成疫苗。

研究进展

青藏高原牦牛酸奶 蕴藏丰富乡土乳酸菌菌种

◎法伊莎 本报记者 颌满斌

乳酸菌作为一种益生菌与人们的生活和健康息息相关，是人类最早利用的微生物之一。我国青藏高原由于其特殊的地理和气候环境，孕育了独特的生物物种资源。具有上千年制作历史的传统发酵牦牛酸奶中蕴藏着丰富且具有特殊生物学功能的乡土乳酸菌菌种，是全球极端环境条件下宝贵而特有的微生物种质资源，同时也是我国藏族地区人民的重要饮食和经济来源。已有研究表明，传统发酵牦牛乳中的乳酸菌和酵母菌数量高于其他传统发酵乳。

兰州大学生命科学学院郭旭生教授团队经过近10年研究，厘清了青藏高原不同生态区传统发酵牦牛酸奶中的微生物群落组成与多样性特征，该成果于近日在《LWT-食品科学与技术》上发表。这是青藏高原范围内首次大范围报道传统发酵牦牛酸奶中乳酸菌的多样性。

郭旭生团队在西藏、青海、四川和甘肃等4省份的青藏高原5个主要生态区大范围开展了传统发酵牦牛酸奶样品的采集、乳酸菌的分离和鉴定工作，保存鉴定乳酸菌菌株3200余株。发现传统发酵牦牛乳微生物组成复杂，共鉴定出47种乳酸菌或亚种以及9种酵母。

研究团队通过微生物高通量测序研究，发现传统发酵牦牛酸奶中乳酸菌的多样性与低海拔环境条件下传统发酵食品中的乳酸菌多样性存在明显的差别。其乳酸菌优势菌株为德氏乳杆菌、唾液链球菌和嗜热链球菌、瑞士乳杆菌以及杆菌属和链球菌属的未知种；酿酒酵母、库德毕赤酵母和汉斯德巴氏酵母为优势真菌，其中酿酒酵母是最主要的真菌种类。同时，研究发现与低海拔乳酸菌相比，青藏高原传统发酵牦牛酸奶源乳酸菌具有很强的抗氧化活性。

在5个生态区中，位于青藏高原西部(气候环境最恶劣，海拔4591—4977米)生态区的样品德氏乳杆菌相对丰度最低，但唾液链球菌和嗜热链球菌相对丰度最高。温和气候生态区的样品细菌多样性较低，但真菌多样性较高。

本研究提供了青藏高原传统发酵牦牛乳中微生物资源概况的重要信息，发现生态区对传统发酵牦牛乳的微生物组成有显著影响，从而建立起青藏高原传统发酵牦牛酸奶源乡土乳酸菌种质资源库，为自主知识产权乳酸菌菌种的研发提供了宝贵的乳酸菌种质资源。

据悉，研究团队已发掘出具有多种特殊生物学功能的乳酸菌菌种，在生物保健、生物医药、功能性乳制品与饮品发酵以及生物美容等方面具有巨大的开发利用价值。

郭旭生介绍，研究团队已与哈尔滨滨华生物科技股份有限公司签署了全面合作开发协议，共同建立了益生菌与健康校企联合研究中心，旨在通过产学研合作，充分发掘利用我国青藏高原所孕育的这一特有家乡乡土乳酸菌种质资源，为大健康产业作出应有的贡献。



视觉中国供图

我研究人员提出 土壤微生物群落定量研究策略

科技日报讯(记者马爱平 通讯员金云翔 艾超)近日,中国农业科学院农业资源与农业区划研究所植物营养团队研究提出土壤微生物群落定量研究策略。该研究得到国家自然科学基金、中国科协青年托举计划等项目资助。相关成果发表在《土壤生物学与生物化学》上。

微生物群落的组成和功能在人类健康、全球元素循环、作物生长和植物抗病中发挥着关键作用。随着高通量测序等技术的革命性突破,极大地增加了我们对微生物多样性、群落结构和物种组成的认识。然而,测序数据仅提供微生物群落的相对丰度变化,忽略了微生物绝对数量的变化规律。针对高通量测序数据的这一缺陷,研究人员已经开发出多种微生物绝对丰度定量方法,例如内参法、荧光定量法与高通量测序结合法、流式细胞仪与高通量测序结合法等。然而,这些定量方法的普遍适用性和精确度尚不清楚。

研究团队利用采自黑龙江海伦和海南三亚的两类差异较大的土壤样品,评估了土壤微生物研究中最常用的两种绝对丰度定量方法——内参法和荧光定量法与高通量测序结合法。结果表明:内参法在准确性、稳定性和工作量等方面没有显示出任何优势。相比之下,更常用的荧光定量法与高通量测序结合法对探究环境扰动对土壤微生物动力学的影响提供了有价值的见解。考虑其稳定性和技术可行性,荧光定量法与高通量测序结合法可广泛应用于土壤微生物群落的定量研究。



视觉中国供图



视觉中国供图