

文章编号:1003-8701(2010)04-0013-06

# 植物代谢工程研究进展

于志晶,李淑芳,孙立影,李海云,  
李俊波,林秀峰\*,马瑞\*

(吉林省农业科学院生物技术研究中心,长春 130033)

**摘要:**植物代谢工程是采用分子生物学、生物化学、功能基因组学、蛋白组学和代谢组学方法阐明植物复杂的代谢途径和代谢网络的分子机理,通过遗传工程技术在分子水平上调控代谢途径,以提高目标代谢物产量或降低有害代谢物的积累。本文综述了植物代谢工程,包括次生代谢关键酶基因工程、转录因子或调节基因的基因工程等方面的研究进展,以及系统生物学在植物代谢工程研究方面的应用。

**关键词:**植物;代谢工程;次生代谢物;系统生物学

中图分类号:Q819

文献标识码:A

## Progress in Studies on Genetic Engineering of Secondary Metabolites in Plant

YU Zhi-jing, LI Shu-fang, SUN Li-ying, LI Hai-yun, LI Jun-bo, LIN-Xiufeng, MA Rui

(Biotechnology Research Center, Academy of Agricultural Science of Jilin Province, Changchun 130033, China)

**Abstract:** Plant Metabolic engineering is the practice of optimizing genetic and regulatory processes within cells to enhance the production of known target metabolites or to reduce the accumulation of harmful metabolites, by combining the molecular biology, biochemistry, functional genomics, proteomics and metabolomics approach to clarify the complexity of plant metabolic pathways and molecular mechanism of metabolic networks. In this paper, the recent advances in plant metabolic engineering, including genetic engineering of key enzymes for secondary metabolism, transcription factors or regulate genes, and the applications of systematic biology to plant metabolic engineering were reviewed.

**Keywords:** Plant; Metabolite engineering; Secondary metabolites; Systematic biology

### 1 概述

植物次生代谢及其产物在植物与环境互动和整个生命活动中行使着重要的功能:它们可构成植物防御体系的一部分(单宁和棉酚等抗病虫化合物),参与植物的逆境胁迫反应(如甜菜碱、甘露醇等)。棉花抗蚜虫机制的研究结果表明,次生代谢物(棉酚、单宁和黄酮类等)及其相关酶基因的

时空表达和积累所造成的生化异质性是植物防御虫害的主要机制之一<sup>[1-3]</sup>。一些次生代谢物(如花青素等)使花瓣产生各种色泽、吸引昆虫传粉,有利于植物繁殖。生长素等次生代谢物可调节植物的生长发育。此外,许多植物次生代谢产物还具有重要经济价值。25%的临床药物都是直接或间接地来自于植物的次生代谢产物。植物次生代谢物还可用于生产染料、杀虫剂、食品的调味剂及香料等。因此,对植物次生代谢进行遗传改良,以培育能够大量合成和积累目标次生代谢物的品种,受到科研工作者愈来愈多的关注。应用常规育种方法改良植物次生代谢已有成功的经验,富含芥子油苷的花椰菜品种的育成就是一例。芥子油苷被认为有预防癌症的功效,它是作为抗癌变的标识

收稿日期:2009-12-26;修回日期:2010-01-20

基金项目:吉林省农业科学院博士后基金和博士启动基金资助

作者简介:于志晶(1982-),女,硕士,主要从事植物分子生物学、遗传转化与代谢工程研究。

通讯作者:林秀峰,女,研究员, E-mail: linxiufeng8581@163.com

马瑞,男,博士,研究员, E-mail: ruimaa@yahoo.com

酶即苯酮还原酶的诱导物来起作用的。新育成的杂交种在诱导此酶的能力上提高了 100 倍<sup>[4]</sup>。然而植物次生代谢物种类繁多,生物合成途径也千差万别,应用常规技术改良植物次生代谢的遗传特性进展缓慢。

随着对植物次生代谢网络的研究和认识的深入,以及分子克隆和遗传转化技术的飞速发展,应用基因工程对植物次生代谢途径的遗传特性进行改造已成为具有广阔应用前景的研究热点领域。迄今,已建立的植物次生代谢途径基因修饰的策略主要有,导入单个、多个靶基因(例如编码目标途径限速酶的基因)或一个完整的代谢途径,使宿主植物合成新的目标产物;通过反义 RNA 和 RNA 干涉等技术减少靶基因的表达,从而抑制竞争性代谢途径,改变代谢流向和增加目标产物的含量;对控制多个生物合成基因的转录因子进行修饰,更有效地调控植物次生代谢以提高特定化合物的积累。目前,在基因水平上研究得最清楚的植物次生代谢途径是合成黄酮类及花青素的次生代谢途径<sup>[5]</sup>。已经鉴定出许多具有重要医药价值的次生代谢物,如吲哚和异喹啉类生物碱等<sup>[6]</sup>。

## 2 植物次生代谢基因工程分类

次生代谢产物 (secondary metabolites) 的低产现象是制约细胞培养法生产植物天然产物技术产业化应用的主要瓶颈之一<sup>[7]</sup>。针对这一问题,国内外研究者从细胞系选育,培养条件优化,培养技术改进等方面进行了广泛的研究<sup>[8]</sup>。然而到目前为止植物培养细胞中次生代谢产物的低产问题仍未得到很好解决。近年来,随着分子生物学等相关学科的快速发展,从分子水平上对植物细胞的次生代谢进行调控以提高次生产物的含量已成为国内外植物细胞代谢调控研究中一个非常活跃的领域,并被视为是解决植物培养细胞中次生产物低产问题的一条新途径<sup>[9]</sup>。人们尝试利用基因调控手段来调节植物细胞的次生代谢,如采用关键酶基因调控技术、转录因子调控技术等从分子水平上解决药用植物细胞次生代谢产物的低产问题。植物次生代谢途径的基因工程主要有次生代谢关键酶基因工程及其转录因子或调节基因的基因工程两个方面。

### 2.1 次生代谢途径中关键酶的基因工程

#### 2.1.1 基因的添加

通过基因工程提高控制某一特定次生代谢物合成的限速酶活性或在植物中引入新的次生代谢

物合成途径,可提高转基因植物目标次生代谢物含量或合成外源次生代谢物。前一种策略可通过强启动子与关键酶基因的嵌合转化,后一种策略往往采用次生代谢物合成途径中下游一个或若干个有关键酶基因的协同转化。例如, HMGR 基因在烟草中的组成型表达,导致了甾醇环阿屯醇合成量的提高<sup>[10]</sup>。将长春花的 TDC 连接组成型启动子再转入到长春花中,转基因长春花中色胺的含量有显著增加<sup>[11]</sup>;将长春花中 TDC 和 STR 的嵌合基因连接组成型启动子再转入长春花,转基因长春花培养细胞中喹类吲哚生物碱含量有所提高<sup>[12]</sup>。将次生代谢物合成途径的下游关键酶基因转入目标植物,在植物细胞内存在反应底物时,外源基因的表达可使转基因植物启动新的次生代谢物合成支路。例如,将花生芪合酶(STS)基因转入烟草,使转基因烟草表达了 STS 酶活性,合成了白藜芦醇并使转基因烟草的抗病水平有了显著的提高<sup>[13-14]</sup>。

#### 2.1.2 基因的剔除

对于部分不利于营养品质或加工品质提高的植物次生代谢物,可通过反义基因的遗传转化抑制其合成途径中有关基因的表达,减少植物合成特定次生代谢物,从而提高植物产品的品质。例如,通过反义基因技术,可降低饲料和树木中木质素含量,从而提高饲料的饲用价值和木材的造纸质量和效益<sup>[15]</sup>。

### 2.2 次生代谢途径中调节基因或转录因子的基因工程

特定次生代谢物合成主要是通过其合成途径中的多个合成酶活性表达所决定的,这些合成酶的活性表达受到相应的转录因子及其它调控基因的调节,其中,转录因子对合成酶基因的转录激活是植物次生代谢最为重要的调节环节之一。转录因子通过激活植物次生代谢物合成途径中多个合成酶基因的表达,可有效地启动或关闭次生代谢合成途径,从而调节特定次生代谢物的合成。转录因子的基因工程是植物次生代谢遗传改良的有效途径,随着植物次生代谢调控机制的阐明,特别是随着调节特定次生代谢物合成的转录因子的分离和鉴定,转录因子基因工程将为人类开发利用植物次生代谢物提供有效的手段。

对于涉及多个基因表达的植物次生代谢,同时增强多个基因的协同表达是提高次生代谢物产量所必需的。次生代谢途径中多个酶基因的协同表达与这些基因调控序列中相同或相似的顺式作用元件受到相同的转录因子或调节基因的作用有

关<sup>[16]</sup>。因此,增强这些重要酶基因的转录因子基因或调节基因的表达,是实现增强多个基因协同表达的可行途径。目前,已分离了多种有关次生代谢基因表达的调节基因或转录因子基因,为开展植物次生代谢基因工程开辟了新途径。例如,已从玉米中分离了 Myb 区域和 bHLH 转录因子基因 R、B、C1 和 P,从拟南芥中分离了 AN11、TTG1、PAP1 等类黄酮合成的调节蛋白基因,从长春花中分离了 ORCA3(茉莉酸诱导型的 AP2 区域转录因子)<sup>[17-18]</sup>。将玉米的 R 和 C1 基因置于强启动子控制之下的转基因拟南芥中,花色素苷大量合成<sup>[19]</sup>;ORCA3 基因在长春花中的组成型表达,使生物碱合成途径中的酶的表达增强,导致了喹类吲哚生物碱合成量的提高<sup>[18]</sup>。植物次生代谢的基因工程只有采取针对特定次生代谢物合成的限速酶多基因家族的特定成员并结合诱导型或发育、组织器官特异性启动子,才有可能获得预期的目标。通过基因添加,将多个基因共转化,在目标植物中开启新的次生代谢物合成支路是对植物进行次生代谢遗传修饰的有效途径之一;另一方面,植物次生代谢调节基因或转录因子的基因工程在强化植物特定次生代谢中也极具应用潜力。

### 2.3 反义核酸与 RNA 干扰(RNA interference, RNAi)技术

反义核酸是指能够与靶 DNA 或 RNA 片断互补、结合的一段 DNA 或 RNA 序列,反义核酸技术即利用反义核酸关闭目标基因表达的技术。目前,应用该技术对植物次生代谢调控常常与关键酶基因技术相结合。在药用植物次生代谢调控过程中可以利用反义核酸技术关闭某个基因的表达或切断某个代谢分支,从而使合成代谢向预期目标转移。紫草中暗诱导基因 LeDI-2 是紫草宁合成过程中的关键编码基因,利用反义核酸技术将其表达抑制后会降低紫草宁的产量<sup>[20]</sup>。尽管是对目的产物的负调节,但说明利用反义核酸技术对代谢途径进行调节是可行的。当然,由于植物细胞内反馈抑制等多种调节机制的存在,以及目前药用植物功能基因组和次生代谢途径研究还不够深入,为利用该技术提高细胞中的次生代谢产物量,尤其是对细胞具有一定毒性的防御性次生代谢产物的量带来了一定的难度。

RNAi 是指特定的双链 RNA 分子使基因在转录或翻译阶段沉默的现象,利用 RNA 分子可以对基因表达进行调控<sup>[21]</sup>。张荫麒<sup>[22]</sup>利用反义 DNA 或 RNA 片段导入亚麻植物毛状根中抑制肉桂醇脱

氢酶活性,使分支代谢中木质素的合成受到抑制,而使主要抗癌活性成分 5-甲氧基鬼臼素的含量提高。Allen 等<sup>[23]</sup>利用该技术使罂粟中的可待因酮还原酶(codeinone reductase, COR)基因家族沉默,阻断了阿片类物质的合成,同时导致可待因前体物质网状番荔枝碱[(S)-reticuline]大量累积,而番荔枝碱是治疗疟疾的有效成分。利用 RNAi 技术对药用植物细胞次生代谢途径中的目的基因进行调控,为一种新的分子调控策略。

## 3 植物次生代谢物生物合成途径的基因修饰

### 3.1 生物碱合成途径的基因修饰

#### 3.1.1 吲哚生物碱

生物碱是含氮有机化合物中最大的一类次生代谢物,主要包括异喹啉类、吲哚类和多炔类等,许多生物碱是药用植物的有效成分。Park 等<sup>[24]</sup>已经证明罂粟细胞中的黄连素桥接酶具有反馈抑制作用,会减少苯菲啶的产量,但会增加多种氨基酸的产量。近年来科学家们已经开始努力研究吲哚类生物碱的生物合成途径,这些途径能合成具有重要药用价值的化合物,如具有抗癌作用的长春花碱和长春花新碱、喜树碱等。

Whitmer 等<sup>[25]</sup>将裂环马钱子苷添加到带有 STR cDNA 的转基因细胞系的培养物中,在低色氨酸脱羧酶(TDC)情况下,色胺合成速率高,只要有少量色胺存在即可提高裂环马钱子苷合成速率,同时诱导因子的添加也能提高总碱含量。将编码长春花 TDC 和 STR 的 cDNA 用 CaMV35s 启动子转入烟草中,TDC 的活力基本不变,STR 活力提高 2~6 倍,饲喂环马钱子苷后转化物中积累了异胡豆苷。

#### 3.1.2 异喹啉生物碱

黄连素、吗啡和可待因等异喹啉生物碱是重要的医用药物。对合成这类生物碱的次生代谢途径进行基因工程改良,经济价值更高。有关黄连素生物合成途径的研究发现,13 种不同的酶参与从酪氨酸到黄连素合成过程。

Frick 等<sup>[26]</sup>提出了另一条遗传改良的策略,即通过对具有不同底物特异性的酶进行基因修饰,从而使植物能够合成新的生物碱。他们对块根唐松草 O-转甲基酶亚基进行重组,使其形成异型二聚体酶,它的底物特异性与同型二聚体酶的底物特异性不同,这一异型二聚体酶的表达,导致细胞合成新的生物碱。

#### 3.1.3 莨菪烷生物碱和吡咯烷生物碱

东莨菪碱和颠茄碱等莨菪烷生物碱是一类重要的药物,这些次生物质主要在茄科天仙子属、颠茄属、*Dudaisia* 属和莨菪属等植物中合成。该生物碱代谢途径基因工程的主要目标之一是通过遗传修饰使植物本身能够将天仙子胺(Hyoscyamine)转化生成医药价值更高的东莨菪碱(scopolamine)(可用做镇静剂)。Jouhikainen 等<sup>[27]</sup>将编码 H6Hd 的基因导入该植物,并使该基因在毛状根细胞中超表达,该转基因植物细胞系中东莨菪碱含量比非转基因植物细胞系中东莨菪碱含量高 100 倍,而天仙子胺含量在转基因植物根部和非转基因对照植株根部则基本相近。Zhang 等<sup>[28]</sup>(2004)在国际上首次利用基因共转化技术将 PMT 和 H6H 基因导入莨菪发根中,使转基因莨菪发根中东莨菪碱含量提高了 9 倍。

### 3.2 萜类化合物生物合成途径的基因修饰

萜类化合物是异戊二烯单元(5 碳)组成的化合物,通过异戊二烯途径(又称甲羟酸途径)合成,由 2 个、3 个或 4 个异戊二烯单元分别组成产生的单萜、倍半萜和二萜称为低等萜类,单萜和倍半萜是植物挥发油的主要成分,也是香料的主要成分,植保素很多是一些倍半萜和二萜化合物。萜类化合物虽然形态各异,但所有的萜类化合物都是从异戊二烯基二磷酸(IPP)和二甲基烯丙基二磷酸(DMAPP)聚合而成。将 LIS 基因导入土豆中,在水果特异性启动子的作用下能引起土豆中芳樟醇的积累<sup>[29]</sup>。许多水果、蔬菜和鲜花的香味来源于挥发性萜类化合物,通过萜类代谢基因工程改良植物的香味也有成功的实例。

此外,萜类代谢基因工程在提高植物抗性和增加一些药物生物合成方面也取得了成功。Wang 等<sup>[30]</sup>采用共抑制和反义策略敲除烟草毛状腺体中细胞色素 P450 单加氧酶基因的表达,结果导致了毛状腺体中萜类化合物组成的改变,双萜 *embratriene-ol* 增加了 19 倍,使转基因烟草对蚜虫的抗性也明显提高。Chen 等<sup>[31]</sup>将来自棉花的法呢基二磷酸合酶(farnesyl diphosphate synthase, FDS)基因导入黄花蒿中,通向倍半萜生物合成途径的代谢流明显增加,导致抗疟类药物-青蒿素比野生株系高 2~3 倍。

### 3.3 黄酮类生物合成途径的基因修饰

黄酮类化合物是一种小分子酚类物质,广泛存在于植物界,具有多种生物功能,如调节植物生长,保护植物免受紫外线的损伤和抗病虫等。花青素和黄酮类物质还具有较高的抗氧化活性,富含

这两种物质的植物食品有利于人类健康和疾病预防。对这两条生物合成途径的研究比较清楚,其生物合成途径的改变能很容易通过花色的改变来鉴定。Muir 等<sup>[32]</sup>发现查尔酮异构酶(CHI)是增加黄酮醇产物的关键酶。将查尔酮合成酶和黄酮醇合成酶基因导入番茄后,转基因果肉中黄酮醇类物质积累显著增加,表明应用基因工程技术增加番茄果实中有益于人体健康的化合物生物合成量是可行的。

豆类植物的异黄酮是一类植物抗毒素,在植株受微生物侵染后,这些抵抗微生物的活性化合物可被诱导合成。正常情况下,拟南芥、烟草和玉米等植物缺少合成这类化合物的能力。Jung 等<sup>[33]</sup>将一种细胞色素 P450 单加氧酶-异黄酮合成酶的基因导入这些植物,使该基因超表达,这些转基因植物均能合成异黄酮类物质。因此,苯丙烷类代谢途径的基因工程可进一步应用于提高异源植物中异黄酮的生物合成<sup>[34]</sup>。

### 3.4 醌和苯甲酸衍生物生物合成途径的基因修饰

醌是从苯甲酸衍生而来的环化合物,作为植物中的电子传递物起作用。植物中从苯甲酸开始的分别合成水杨酸、紫草宁和维生素 E 的代谢途径已经有被改进的例子。目前已经证实在拟南芥中可以增加维生素的含量,例如 Savidge<sup>[35]</sup>等已经将拟南芥 2,5-二羟苯乙酸异戊烯转移酶过度表达使普通植物中的维生素 E 的含量增加 2 倍。编码 2-甲基-6-叶绿甲基萘醌甲基转移酶和  $\gamma$ -生育酚甲基转移酶的拟南芥 VTE3 和 VTE4 基因的表达使转基因大豆的  $\alpha$ -生育酚的含量比原来增加了 8 倍,而维生素 E 的含量增加了 5 倍。

### 3.5 新的代谢途径

代谢工程过去经常修饰或扩展寄主植物中已经存在的途径,但是目前已经有把基因工程用在全新的代谢途径中,以此来生产不同的产物的例子。例如将高粱中的两个多功能细胞色素酶 P450 和尿苷二磷酸葡萄糖(UDPG)-葡糖基转移酶基因转到拟南芥中,产生含蜀蜀黍糖<sup>[36]</sup>。

## 4 药用植物次生物合成关键酶基因的克隆

在药用植物次生代谢网络中,一些关键酶基因表达水平对某些目的产物的生物合成水平有着重要的调节作用。将次生代谢途径中的关键酶基因克隆,重组后导入到植物细胞中,通过提高次生代谢途径中关键酶的活性和数量,增加代谢强度,

提高目的次生代谢产物的产量。

利用关键酶基因调控技术调控局部代谢途径中的某个限速步骤,对提高药用植物细胞中次生代谢产物的含量有一定效果,但也存在不足之处。首先,由于植物细胞次生代谢是一个复杂的网络,仅仅依靠增加代谢途径中一两个关键酶基因的表达水平往往对产物的代谢流量增加作用效果有限<sup>[37-39]</sup>。其次,目前对许多药用植物次生产物的代谢途径研究尚不深入,因而克隆这类代谢途径中关键酶基因的难度较大,制约了该技术在药用植物细胞培养过程中的应用。近年来,药用植物有效成分的生物合成基因调控研究进展迅速,克隆了抗肿瘤药物紫杉醇、长春花碱、抗菌药紫草宁、抗疟疾药青蒿素以及镇痛药吗啡等次生代谢物的生物合成相关酶的基因<sup>[40-44]</sup>。

## 5 应用功能基因组学方法研究植物次生代谢途径及其调控机理

随着系统生物学的发展,后基因组时代的到来,人们更加注重功能基因的研究。代谢组学是继基因组学和蛋白质组学之后出现的一门新学科,已成为后基因组学时代的一个非常重要的分支。

代谢组学为研究植物复杂代谢过程及其产物,分析植物次生代谢网络结构、限速步骤、解析细胞活动过程,以及寻找植物间的亲缘关系等提供了可能。将植物代谢分析的结果与转录组学、蛋白质组学和基因组学相结合将有利于建立基因和代谢产物之间的完整网络关系,从而为进一步全面阐明植物代谢规律及其关键步骤奠定基础。

图 1 所示为一种利用功能基因组学研究植物

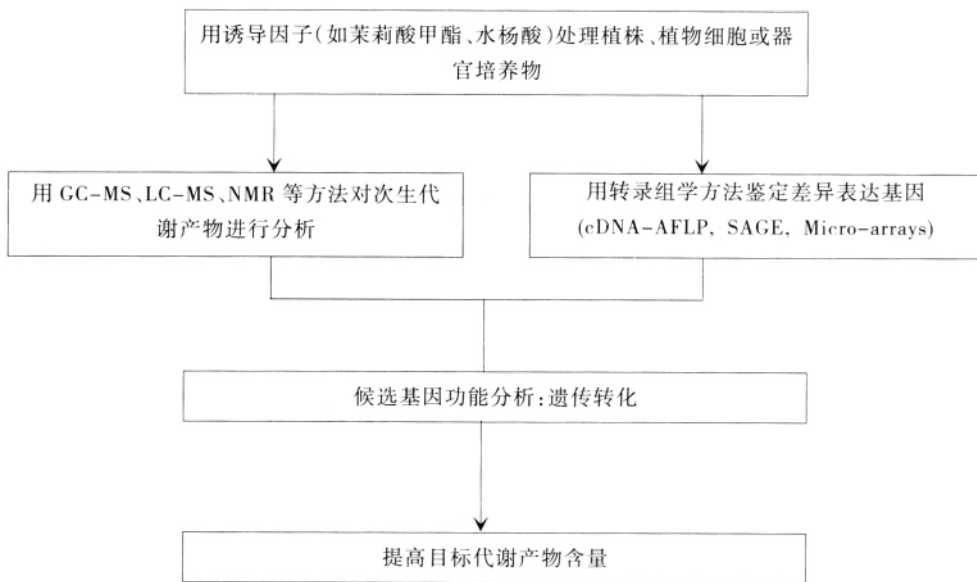


图 1 利用功能基因组学方法研究植物次生代谢途径及其调控机制

次生代谢途径及调控机制的方法,此方法是以高通量筛选和分析参与次生代谢的基因为基础的。从理论上说,该方法适用于任何植物或细胞培养物。最近对烟草细胞中尼古丁的生物合成代谢的研究验证了这个方法的可行性。用茉莉酸甲酯处理烟草细胞,比较分析处理后一段时间内 cDNA 扩增片段长度多态性转录谱和目的代谢产物图谱。结果在 2 万个检测到的差异片段中有 591 个为诱导因子诱导转录的基因,其中 58% 的基因具有已知的功能,包括了几乎所有已知的参与尼古丁生物合成的基因。对其余未知功能基因的研究将有助于阐明尼古丁生物合成代谢及调控机理<sup>[45]</sup>。Rischer 等<sup>[46]</sup>利用该方法研究长春花悬浮培养细胞系萜类生物碱合成,获得了 417 个受茉莉酸甲

酯调控的基因标签,分离出几乎所有的已报导的萜类生物碱合成途径相关的基因。

植物次生代谢产物复杂,而且具有化学结构的多样性。这是利用功能基因组学方法研究次生代谢时遇到的普遍问题。虽然应用功能基因组学方法研究植物次生代谢还有许多问题需要解决,但功能基因组学将会大大加速克隆参与次生代谢的酶的基因,为应用生物技术提高植物次生代谢产物的产量奠定基础。植物成分化学结构的多样性比人类所建的任何一个化学库要多得多,植物作为一个巨大药物资源库越来越引起人们的关注。目前人类面临多种顽疾的威胁,如癌症、心血管病及多种传染性疾病等。由于合成化学的局限性,在植物次生代谢产物中寻找新药,也是制药产

## 业新的希望。

## 参考文献：

- [1] Li RZ, Li CX, Gao LF, et al. Studies on the biochemical mechanism of Cotton resistance to aphids. In: wang LZ, Dai JR (eds). Proceedings of National CroP Breeding Symposium. Beijing: China Agricultural Sci — Tech Press (1998a) 286–290.
- [2] Li RZ, Mao X, Li CX, et al. The relationship between activities of Secondary metabolism — related enzymes and induced resistance to aphids in cotton plants [J]. J Shanxi Agr Univ, 1998b, 18(2):165–168.
- [3] Mao X, Li CX, Li RZ, et al. Temporal and spatial Characteristic of induced defense to *Aphis gossypii* feeding suppression in cotton Plants. In: China Association of Agricultural Science Societies (ed). Research Progress in plant Protection & Plant Nutrition. Beijing: China Agriculture press, 1999 232–235.
- [4] Harborne JB; Twenty-five years of chemical ecology. Nat Prod ReP, 18:361–379.
- [5] Forkmann G, Martens S. Metabolic engineering and Applications of flavonoids [J]. Curr Opin Biotechnol, 2001, 12:155–160.
- [6] Faehini PJ. Alkaloid biosynthesis in Plants: biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications [J]. Annu Rev Plant Mol Biol, 2001, 52:29–66.
- [7] Sato F, Hashimoto T, Hachiya A, et al. Metabolic engineering of plant alkaloid biosynthesis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98: 367–372.
- [8] Verpoorte R, Van der Heijden R, Van Gulik WM, et al. Biosynthesis of terpene indole alkaloids in *Catharanthus roseus* cells. In: Brossi A, ed. The Alkaloids. New York: Academic press, 1991, 40: 2–187.
- [9] Capell T, Christou P. Progress in plant metabolic engineering [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2004, 15: 148–154.
- [10] Chappell J. Biochemistry and molecular biology of the isoprenoid biosynthetic pathway in plants [J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1995, 46:521–547.
- [11] Goddijn OJM, Pennings EJ, van der Helm P, et al. Overexpression of a tryptophan decarboxylase cDNA in *Catharanthus roseus* crown gall calluses results in increased tryptamine levels but not in increased terpenoid indole alkaloid production [J]. Transgene Res, 1995, 4:315–323.
- [12] Canel C, Lopes-Cardoso MI, Whitmer S, et al. Effects of overexpression of strictosidine synthase and tryptophan decarboxylase on alkaloid production by cell cultures of *Catharanthus roseus* [J]. Plant, 1998, 205:414–419.
- [13] Hain R, Bleseler B, Kindl H, et al. Expression of a stilbene synthase gene in *Nicotiana tabacum* results in synthesis of the phytoalexin resveratrol [J]. Plant Mol Biol, 1990, 15:325–335.
- [14] Hain R, Reif HJ, Krause E, et al. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant [J]. Nature, 1993, 361:153–156.
- [15] Baucher M, Monties B, Van Montagu M, et al. Biosynthesis and genetic engineering of lignin [J]. Crit Rev Plant Sci, 1998, 17: 125–197.
- [16] 何水林. 植保素代谢与植物防御反应 [M]. 广州: 广东科技出版社 2002 :1–25.
- [17] Winkel-Shirley B. Flavonoids biosynthesis: a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology [J]. Plant Physiol, 2001, 126:485–493.
- [18] Leslie van der Fits, Johan M emelink. ORCA3, a jasmonate-responsive transcriptional regulator of plant primary and secondary metabolism [J]. Science, 2000, 289:295–297.
- [19] Alan ML, Walbot V, Davis RW. Arabidopsis and *Nicotiana* anthocyanin production activated by maize regulator R and C1 [J]. Science, 1992, 258:1773–1775.
- [20] Yazaki K, Matsuoka H, Shimomura K, et al. A novel dark-inducible protein, LeDI-2, and its involvement in root-specific secondary metabolism in *Lithospermum erythrorhizon* [J]. Plant Physiol, 2001, 125: 1831–1841.
- [21] Novian CD, Sharp PA. The RNAi revolution [J]. Nature, 2004, 430: 161–164.
- [22] 张荫麟. 迈向二十一世纪的药用植物生物技术 [J]. 中国医药情报, 1995, 1(3) :168.
- [23] Allen RS, Millgate AG, Chitty JA, et al. RNAi-mediated replacement of morphine with the nonnarcotic alkaloid reticulin in Opium poppy [J]. Nat Biotechnol, 2004, 22 (12):1559–1566.
- [24] Park SU, Yu M., Facchini PJ. Antisense RNA-mediated suppression of benzophenanthridine alkaloid biosynthesis in transgenic cell cultures of California poppy [J]. Plant Physiol, 2002, 128: 696–706.
- [25] Whitmer S, Camilo C, Robert H, et al. Long-term instability of alkaloid production by stably transformed cell lines of *Catharanthus roseus* [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2003, 74: 73–80.
- [26] Friek S, Ounaron A, Kutehan TM. Combinatorial Biochemistry in Plants: the case of O-methyltransferases [J]. Phytochemistry, 2001, 56: 1–4.
- [27] Oksman-Caldentey, KM. Enhancement of scopolamine Production in *Hyoscyamus muticus* L. hairy root cultures by genetic engineering [J]. Plant, 1999, 208:545–551.
- [28] Zhang L, Ding R, Chai Y, et al. Engineering tropane biosynthetic pathway in *Hyoscyamus niger* hairy root cultures [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2004, 101(17): 6786–6791.
- [29] Teresa Capell, Paul Christou. Progress in plant metabolic engineering [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2004, 15:148–154.
- [30] Wang E, Wang R, DeParasis J, et al. suppression of a P450 hydroxylase gene in *Plant triehome* glands enhances natural-product-based aphid resistance [J]. Nat Biotechnol, 2001, 19:371–374.
- [31] Chen DH, Ye HC, Li GF. Expression of a chimeric farnesyl diphosphate synthase gene in *Artemisia annua* L. transgenic Plants via *Agrobacterium tumefaciens*-Mediated transformation [J]. Plant Sci, 2000, 155:179–185.
- [32] Muir SR, Collins GJ, Robinson S, et al. Overexpression of *Petunia chalcone* isomerase in tomato results in fruits containing increased levels of flavonols [J]. Nat Biotechnol, 2001, 19: 470–474.
- [33] Jung W, Yu O, Lau S, et al. Identification and expression of isoflavone synthase, the key enzyme for biosynthesis of isoflavones in legumes [J]. Nat Biotechnol, 2000, 18:208–212. (下转第 21 页)

得很好,这应该是试验管理部门应关注的问题。

品种矮秆,其双亲就不能高,母本应保持株高 2.1 m 左右,父本株高不能超出 2.3 m,母本过矮,其产量也就低,制种产量低,成本就高,市场竞争力就差,繁育单位效益就受到影响。

品种株高的稳定性也应该是育种家特别关注的问题,双亲株高稳定性好,品种就好,雨水调和与干旱年份株高差异不应超过 10 cm。通育 99 品种的株高不管何种年份,株高就是 2.6 m,根系发达,茎秆下部粗,上部细,高抗倒伏。

加强对矮秆种质资源的挖掘利用,对不同优势系统的矮秆材料进行归类、测配和分析,利用国外资源积极创制矮秆材料,选育高产稳产矮秆新品种。

#### 4.4 熟期和米质稳定性

熟期和米质是相关联的,熟期稳定,米质也就稳定,有的品种熟期对环境气候不敏感,吐丝期和成熟期稳定,米质就好,如先玉 335 和通育 99,无论是在黑龙江省,还是在河北承德,不管是在白城地区,还是在延边地区,就是一个中熟品种,米质好。而通单 24 和通育 112 在 2009 年表现的不十分理想,在部分地区由于干旱导致生育期延迟,米质达不到原来的程度。熟期稳定、产量稳定、米质稳定,单位效益就稳定,就会有很好的发展前景。

(上接第 18 页)

- [34] Yang ZR, Mao X, Yang ZF, et al. Cytochrome P450 genes and their plication in plant improvement[J]. *Hereditas*, 2003, 25(2): 237-240.
- [35] 刘志,吴树敬,杨永华.紫草宁形成相关的基因克隆及其代谢工程[J]. *中国生物工程杂志*, 2004, 24(4): 26-29.
- [36] Walker K, Croteau R. Toxol biosynthesis: Molecular cloning of a benzoyl-CoA: taxane 2 $\alpha$ -O-benzoyltransferase cDNA from *Taxus* and functional expression in *Escherichia coli*[J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2000, 97(25): 13591-13596.
- [37] Rontein D, Dieuaide- Noubhani M, Erick J, et al. The Metabolic architecture of plant cells. Stability of central metabolism and flexibility of anabolic pathways during the growth cycle of tomato cells[J]. *Biol Chem*, 2002, 277:43948-43960.
- [38] Rontein D, Basset G, Hanson AD. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants[J]. *Metab Eng*, 2002, 4(1): 49-56.
- [39] Lloyd JC, Zakhleniuk OV. Responses of primary and secondary metabolism to sugar accumulation revealed by microarray expression analysis of the *Arabidopsis* mutant, *pho3*. [J]. *Exp Bot*, 2004, 55(400): 1221-1230.
- [40] Walker K, Fujisaki S, Long R, et al. Molecular cloning and heterologous expression of the C-13phenylpropanoid side chain-CoA acyltransferase that functions in taxol[J]. *biosynthe-*

#### 4.5 子粒品质

育种是为农业生产服务的,品种推广的好坏最终取决于粮商,粮商按品质说话。首先是品种的百粒重要大,不能太小,目前以 42 g 左右为宜。百粒重过小,没有市场;百粒重过大,虽然市场需求,但遇到低温、干旱年份,成色欠佳,也影响销售。子粒大小要均匀,穗尖部子粒不能太小,即使尖部粒小,所占比重不能太大。再则是子粒颜色要正黄色,有亮度。最后是容重要高,水分要低。在生产上推广较好的玉米品种都兼顾了这些特点。

参考文献:

- [1] 吴景锋.我国主要玉米杂交种种质基础评述[J]. *中国农业科学*, 1983, 16(2): 1-8.
- [2] 王懿波.玉米主要种质遗传类群划分与利用[J]. *华北农学报*, 1991, 6(增刊).
- [3] 高之仁.数量遗传学[M].成都:四川大学出版社,1986.
- [4] 莫惠栋.双列资料的遗传模型分析[J]. *江苏农学院学报*, 1987, 8(1): 59-61.
- [5] 彭泽斌,张世煌,等.我国玉米种质的改良创新与利用[J]. *玉米科学*, 1997, 5(2): 5-8.
- [6] A.R. 略洛威.玉米轮回选择的理论与实践[M].北京:农业出版社,1989.
- [7] 杨孝忱,高旭东,薛兵东,等.玉米的耐密性及耐密型品种的选育[J]. *种子世界*, 2010(1): 31-32.
- [8] Proc Nat Acad Sci USA, 2002, 99(20): 12715-12720.
- [41] Van Der Fits L, Hilliou F, Memelink JT. DNA activation tagging as a tool to isolate regulators of a metabolic pathway from a genetically non-tractable plant species[J]. *Transgeni Res*, 2001, 10(6): 513-521.
- [42] Grothe T, Lenz R, Kuchan TM. Molecular characterization of the salutaridinol 7-O-acetyltransferase involved in morphine biosynthesis in opium poppy *Papaver somniferum* [J]. *J Bio Chem*, 2001, 276(33): 30717-30723.
- [43] Yazak K, Knihisa M, Fujisaki T, et al. Geranyl diphosphate:4-Hydroxybenzoate geranyltransferase from *Lithospermum erythrorhizon*. Cloning and characterization of a key enzyme in shikonin biosynthesis[J]. *J Bio Chem*, 2002, 277(8): 6240-6246.
- [44] Wallaart TE, Bouwmeester HJ, Hille J, et al. A morpho-4,11-diene synthase: Cloning and expression of a key enzyme in the biosynthetic pathway of the novel antimalarial drug artemisinin[J]. *Plant*, 2001, 212(3): 460-465.
- [45] Goosens A, et al. A functional genomics approach toward the understanding of secondary metabolism in plant cells [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2003, 100: 8595-8600.
- [46] Rischer H, et al. Gene-to-metabolite networks for terpenoid indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* cells [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2006, 103: 5614-5619.