

## 2010~2014年小麦遗传转化文献分析

刘涛, 周正剑, 王萍, 成雄鹰\* (中国种子集团生命科学技术中心, 湖北武汉 430075)

**摘要** 自从1992年第一株转基因小麦诞生以来, 小麦的转基因技术有了很大的发展。该研究分析了 Web of knowledge 数据库和 CNKI 数据库收录的 2010~2014 年发表的关于普通小麦转基因的文献。筛选得到 102 篇英文文献和 103 篇中文文献, 涉及 296 个试验, 共对 152 个普通小麦品种进行了遗传转化研究。目前小麦遗传转化主要采用基因枪和农杆菌介导法, 分别占总试验数的 68.25% 和 30.4%; 少数试验使用花粉管通道和电转化进行转基因。转化靶标组织主要是幼胚及其愈伤组织, 占试验总数的 80.35%; 其次为成熟胚来源的愈伤组织, 占 8.62%。Bar、HPT、NPTII、PMI 和 AtMYB12 分别在不同的试验中被使用, 但 Bar 是最常用的筛选标记, 占试验总数的 61.22%。不同试验的转化率相差较大, 从 0.1% 到 45% 不等。

**关键词** 小麦; 转化体系; 文献分析

**中图分类号** S126 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)34-345-05

## Analysis on the Literature of Wheat Transgenic Studies during 2010-2014

LIU Tao, ZHOU Zheng-jian, WANG Ping, CHENG Xiong-ying\* (Life Science and Technology Center, China Seed Group Co. Ltd, Wuhan, Hubei 430075)

**Abstract** Since the first report of wheat transgenic plants in 1992, significant progress has been made in wheat transformation technology. The paper reporting wheat transgenic studies in Web of knowledge and CNKI published during 2010-2014 were analyzed. 296 experiments and 152 wheat varieties were used in 103 English papers and 103 Chinese papers. Analysis showed that the particle bombardment and the agrobacterium-mediated transformation remain to be the two major approaches for wheat transformation, representing 68.25% and 30.4% of all experiment reported, in few experiments pollen tube and electroporation were used to transform wheat. Immature embryo and derived callus were used as recipient tissue in the most studies. Bar, Hpt, NptII, PMI and AtMYB12 were used in different experiments as selection or report genes. The most commonly (61.22%) used selection gene is bar. As for the transformation efficiency reported in wheat, a big variation existed in different experiments, ranging from 0.1% - 45%.

**Key words** Wheat; Transgenic system; Literature analysis

小麦是世界上主要的粮食作物之一, 2013 年全球小麦产量 7.15 亿 t, 仅次于玉米 (10.18 亿 t) 和水稻 (7.4 亿 t)。然而小麦的生产受到多方面的威胁, 分析 2004~2013 年的全球小麦单产, 发现小麦单产不稳定, 且增幅较小。最低单产是 2007 年的 2 828.08 kg/hm<sup>2</sup>, 最高的是 2013 年的 3 268.30 kg/hm<sup>2</sup>。我国已成为世界上最大的小麦生产国, 2013 年我国小麦产量占世界产量的 17.03%。2010~2014 年, 我国小麦产量增速减缓, 平均年增长率仅为 1.5%<sup>[1]</sup>。鉴于目前人口的持续增长和耕地的不断减少。有必要采用多种措施稳定或增加产量。

植物转基因技术是利用现代生物技术的方法, 将有利基因导入受体植物的基因组中, 产生有附加值的性状。近年来, 转基因产品在大豆、玉米和棉花上取得巨大的成功, 创造了良好的经济和社会效益。作为世界 3 大粮食作物之一, 小麦的转基因研究滞后于水稻和玉米, 直到 1992 年才有 Vasil 利用基因枪法获得世界上第一株转基因小麦<sup>[2]</sup>。但至今小麦的遗传转化率仍较低, 容易导致插入沉默, 且表现出很强的品种依赖性<sup>[3]</sup>。但随着技术的发展, 新的遗传改良工具 CRISPR-Cas<sup>[4]</sup> 和 TALE-N<sup>[5]</sup> 等技术的发展, 为高效的植物改良提供了新的途径。而且这些技术的应用都需要通过遗传转化技术来实现。

在 Web of knowledge 数据库是由汤森路透 (Thomson Reuters) 开发维护的全球最大的生命科学数据库, 包括 2 000

多种来自世界各地的期刊<sup>[6]</sup>。CNKI 是我国最大的文献数据库, 覆盖 96% 的中文期刊<sup>[7]</sup>。笔者搜集整理了 2010~2014 年 Web of knowledge 数据库和 CNKI 的文献数据库收录的关于普通小麦转基因的文献, 系统地分析以往的小麦遗传转化研究, 旨在更全面地了解小麦遗传转化的过程和现状, 比较不同实验技术的优缺点, 为进一步提高小麦遗传转化效率提供新的思路。

## 1 研究方法 with 数据来源

**1.1 文献收集方法** 在 Web of knowledge 数据库中, 首先使用“Year Published = (2010-2014) Timespan = All years Search language = English”搜索组合搜索统计文献数目; 再使用“Topic = (transgenic) AND Year Published = (2010-2014) Timespan = All years. Search language = English”搜索组合搜索统计文献数目; 然后使用“Topic = (wheat) AND Topic = (transgenic) AND Year Published = (2010-2014) Refined by: Databases = (BCI OR WOS OR MEDLINE) Timespan = All years. Search language = English”搜索组合进行搜索, 统计文献数目; 在 CNKI 的文献数据库 (<http://epub.cnki.net/>) 首先使用发表时间 2010-01-01~2015-01-01, 进行搜索, 统计文献数目。再使用关键词“转基因”, 范围选择为主题+发表时间为 2010-01-01~2015-01-01, 进行搜索, 统计文献数目。使用关键词“转基因”和“小麦”, 范围选择为“主题”+发表时间为 2010-01-01~2015-01-01 进行搜索, 统计文献数目。使用同样的方法对玉米和水稻的文献状况进行搜索, 只统计文献数目, 不进行人工判读。同时使用 CNKI 的成果数据库 ([http://epub.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix =](http://epub.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=)

**作者简介** 刘涛 (1986-), 男, 安徽淮北人, 硕士, 从事作物转化研究。

\* 通讯作者, 高级研究员, 从事植物遗传转化研究。

**收稿日期** 2015-11-04

SNAD)、CIMMYT的wheat atlas数据库(<http://wheatatlas.cimmyt.org/>)和USDA的GRIN数据库(<http://www.ars-grin.gov/>)获得文献中使用小麦品种的详细信息。

**1.2 文献的筛选和信息收集** 对搜索出的文献进行人工判读,排除摘要、重复文章、会议文章、综述文章和以非普通小麦为受体的文章。收集筛选出的文献的下列试验信息:受体品种、外植体、转基因方法、筛选基因和转基因效率。其中外植体主要分为幼胚和成熟胚2类:转化受体为幼胚和幼胚诱导的愈伤都被归为幼胚类;受体为成熟胚和成熟胚诱导的愈伤归为成熟胚类。转基因效率=阳性植株/侵染受体数目。

## 2 结果与分析

**2.1 小麦转基因研究的活跃度** 对上述搜索条件下获取的文献数目进行分析,用相关作物文献所占的比例来表示该作物转基因研究的活跃度,结果见表1。由表1可知,在Web of knowledge数据库中,水稻转基因的文献数目是小麦转基因文献数目的5.86倍。玉米转基因文献数目是小麦转基因文献数目的1.88倍。在CNKI数据库中同样发现,水稻转基因的文献数目是小麦转基因文献数目的2.98倍,玉米转基因文献数目是小麦转基因文献数目的2.18倍。说明在这3种作物中,水稻转基因研究最活跃,玉米转基因研究次之,小麦转基因研究最少。

**2.2 受体品种** 小麦按低温春化时间长短,可分为春性小麦和冬性小麦。按播种时间可分为春小麦和冬小麦。春小麦一般是春性小麦,而冬小麦可能是春性小麦或冬性小麦<sup>[8]</sup>。春性品种小麦被选为受体材料的比例远大于(3:1)非春性品种。春性小麦不需要低温春化即可抽穗结实,可以春播,生育期短。而冬性品种因需要低温春化才可抽穗结实,必须秋播或人工春化,生育期较长。例如春性品种“陇春

23”在甘肃省春播,生育期只有100 d<sup>[9]</sup>,而半冬性品种“周麦16”在河南省秋播,生育期为236 d<sup>[10]</sup>。因此春性小麦在幼胚供应、培养周期和转基因苗结实率3个方面具有明显的优势。

表1 不同作物转基因研究的文献数目

数据库	文献总量	转基因文献总量	作物	分作物	
				文献数目	比例*
Web of knowledge	19 244 674	151 410	小麦	921	0.61
			玉米	1 739	1.15
			水稻	5 400	3.57
CNKI	14 502 472	12 346	小麦	834	3.75
			玉米	1 820	8.19
			水稻	2 489	11.21

注:\*作物文献数目占转基因文献总量的百分比。

在Web of knowledge数据库中检索到921篇文献,经筛选得到103篇英文文献,信息收集结果如表2。103篇文献涉及137个转化试验,共用了68个普通小麦品种。137个试验中,41个试验采用品种Bobwhite,占试验总数29.93%。CNKI数据库中检索到834篇文献中,经筛选103篇中文文献符合要求。信息收集结果如表3。103篇文献涉及157个转化试验,对84个普通小麦品种进行了转化。157个试验中,25个使用扬麦系列品种做为受体材料,占实验总数15.92%。小麦品种按生态类型进行分类,Web of knowledge数据库收集的139个试验中有103个试验的受体品种确定了生态类型,其中使用春性品种的有94个,占试验总数的91.26%。CNKI数据库收集的157个试验中,130个试验所采用的品种确定了生态类型。其中82个试验使用了春性品种,占试验总数的63.08%。总共233个转基因试验中有176个使用了春性品种,占试验总数的75.54%。

表2 Web of knowledge数据库小麦转基因文献概况

文献数目	品种	生态类型	外植体	方法	筛选标记	转化率//%
20	Bobwhite	春小麦	幼胚 IE	基因枪 PBT	Bar	1.44 ~ 2.6/ -
27	Zhengmai9023, Yangmai12, Yangmai18, CY-45, Cadenza, ChineseSpring, Butte86, Yangmai158, Yangmai11, Emai12, Longchun26, Liaochun10, Yangmai6	春小麦	幼胚 IE	基因枪 PBT	BAR	0.33 ~ 9.4/ -
7	Zhoumai19, Xin-mai19, 00H97-54-2-7, 171, Brundage96, Kenong199, Xindong26, Zhoumai19, Florida	冬小麦	幼胚 IE	基因枪 PBT	Bar	0.4 ~ 4.01/ -
6	Cadenza, Bobwhite	春小麦	幼胚 IE	基因枪 PBT	NPTII	1.5 ~ 3.5/ -
2	Xinong 88, Baofeng 7228, 80101T, Ganmai	冬小麦	幼胚 IE	基因枪 PBT	NPTII	1/ -
3	Bobwhite	春小麦	幼胚 IE	基因枪 PBT	HPT	-
7	Yangmai11, BW26SUI, Bobwhite, Frisal	春小麦	幼胚 IE	基因枪 PBT	PMI	-
9	Certo, Recital, Cadenza, Mianyang19, BS93, Shi4185, Bobwhite	春/冬小麦	幼胚 IE	基因枪 PBT	无	0.28/ -
6	Janz, Kontesa, Torka, Pastor, Sunstate, Bobwhite, Frame, Fielder, Gascoigne, Sunvale, Gladius, Westonia, Jagger	春小麦	幼胚 IE	农杆菌 PBT	Bar	0 ~ 45/ -
2	Yumai34, Certo	春小麦	幼胚 IE	农杆菌 AMT	HPT	2.65/ -
6	Bobwhite, Torka, Kontesa, Nongda146, Jimai6353, NB1, Fielder, CPAN1676	春小麦	幼胚 IE	农杆菌 AMT	NPTII	0.4 ~ 5.6/ -
1	Zheng9023	春小麦	幼胚 IE	农杆菌 AMT	PMI	-
4	Chakwal-97, Tartara-2002, Inqilab-91, CPAN1676	春小麦	成熟胚 ME	农杆菌 AMT	HPT	7.5 ~ 40/ -
2	Khyber-87, Inqilab-90, Gemmiza-9, Gemmiza-10	春小麦	成熟胚 ME	农杆菌 AMT	NPTII	4 ~ 8.8
2	Hdf77, Zhengyin1	-	成熟胚 ME	基因枪 PBT	Bar/无	-
7	Chris, WED202-16-2, NPBCT, Jinan17, Chinese Spring, Xinong1376, CB037, Bobwhite, Fielder	春小麦	其他 Other	PBT/AMT/ET/PTP	Bar, HPT, AtMYB12	-

注:1. IE(Immature embryo);2. ME(Mature embryo);3. PBT(Particle Bombardment Technology);4. AMT(Agrobacterium-mediated transformation);5. ET(Electric transformation);6. PTP(Pollen tube pathway)。

表 3 CNKI 中小麦转基因文献概况

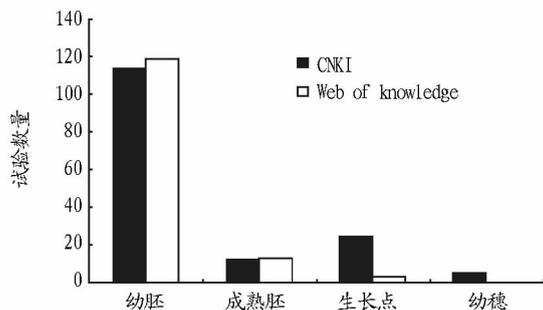
文献数目	品种	生态类型	外植体	方法	筛选标记	转化率/%
43	陇春 23, 扬麦 18, 扬麦 19, 川农 23, 绵阳 11, 郑麦 9023, 豫麦 18, 鄂麦 12, Alondra, 新春 9, 扬麦 158, 西 2000, bobwhite, 宁麦 13, 扬麦 16, 西农 1376, 扬麦 12, 小偃 22, 华麦 2152, 华麦 2566, 华麦 2668, 绵阳 19, 宁春 16, 中国春, 辽春 10, 新春 9 号	春性	幼胚 IE	基因枪 PBT	Bar	0.1 ~ 15.88/ -
6	Alondra, 绵阳 19, 扬麦 12, 华麦 2566, 西农 1376, 郑麦 9023, 新春 26	春性	幼胚 IE	基因枪 PBT	HPT	0.19 ~ 0.47/ -
3	扬麦 158, 郑麦 9023, 扬麦 16	春性	幼胚 IE	基因枪	PMI	0.29 ~ 0.4
3	扬麦 158, 郑麦 9023, 中国春	春性	幼胚 IE	基因枪 PBT	ATMYB12/ -	-
13	济麦 22, 科农 199, 济麦 19, 西农 928, 京 411, 周麦 27, 丰优 6, 中优 9507, 济麦 20, 轮选 987, 石 4185	冬性	幼胚 IE	基因枪 PBT	Bar	0.19 ~ 13.3/ -
2	河农 825, 河农 827, 良星 99	冬性	幼胚 IE	基因枪 PBT	NPTII	0.7/ -
3	山农 15, 石 4185, 济麦 22, 科农 199	冬性	幼胚 IE	基因枪 PBT	PMI/HPT/ -	0.1 ~ 1.87/ -
4	核生 3 号, bobwhite, 豫麦 18, 华麦 13, 扬麦 158	春性/冬性	幼胚 IE	农杆菌 AMT	Bar	0.33 ~ 4/ -
5	陇春 22, 济引 1 号, CB037, 济麦 6358, 农大 146	春性/冬性	幼胚 IE	农杆菌 AMT	NPTII	0.4 ~ 1.68/ -
6	品种, Thatcher, 扬麦 18, 绵阳 19, 西农 928, bobwhite, CB037	春性/冬性	成熟胚 ME	基因枪 PBT	Bar	0.28 ~ 8.73/ -
4	品种, 济麦 22, 泰农 18, 郑麦 9023, 周麦 18, 豫麦 18, 矮抗 58, 郑麦 336	春性/冬性	成熟胚 ME	农杆菌 AMT	NPTII/Bar/ -	0.11 ~ 0.18/ -
8	07YT2122, 济麦 17, 济麦 22, 山融 3 号, 郑麦 366, 周麦 18, 周麦 20, 河农 58-3, 河农 827, 河农 828, 陕麦 159, 龙麦 30, 扬麦 15, 烟优 2801, 烟优 361, 京 841, 新春 2 号	春性/冬性	生长点 Growing tip	农杆菌 AMT	NPTII/Bar/ HPT/ -	0.19 ~ 14.76/ -
3	品种, 矮败小麦, 济麦 19, 新春 9 号, K35	春性/冬性	花药 Semet	ET/AMT / PBT	NPTII/Bar/ -	1.79
2	小偃 22, 小偃 6 和 西农 1376, 新冬 26	冬性/ -	花 Flower	PTP	Bar/ -	0.14 ~ 0.2
3	扬麦 158, CB037, 冀麦 38, 周麦 16	春性/冬性	幼穗/大龄幼胚 Spike/IE	AMT	NPTII/ -	1.5 ~ 34.8

注: 1. IE(Immature embryo); 2. ME(Mature embryo); 3. PBT(Particle Bombardment Technology); 4. AMT(Agrobacterium-mediated transformation); 5. ET(Electric transformation); 6. PTP(Pollen tube pathway)。

英文文献试验中使用频率最高的 Bobwhite 为墨西哥春性小麦品种。CIMMYT 研究了 129 个 Bobwhite 姐妹系的转化效率。其中 Bobwhite SH9826 获得了 73.81% 的转化效率, 在所见文献中最高<sup>[11]</sup>。但品种 Bobwhite 的农艺性状较差, 影响转基因技术的直接应用<sup>[12]</sup>。中文文献中使用最多的小麦品种为扬麦系列。张月婷等<sup>[13]</sup>使用品种“扬麦 158”的幼胚为外植体, 经过农杆菌介导、Bar 基因筛选, 获得了 2.33% 的转化效率。在总共 178 个试验中有 28.65% 选择了这 2 个系列的品种, 可以推测它们在目前的转化体系下的转化效率是稳定的。Terese Richardson 等<sup>[14]</sup>用同样的转化方法对 10 个小麦品种的进行转化, 比较转化率发现, 差异巨大, 最高的转化率为 45%, 最低为 0。Pellegrineschi 等<sup>[11]</sup>研究了 129 个 Bobwhite 姐妹系的转化效率, 得到了类似的结论, 转化率的分布从 0 到 73.81%。由此可以看出小麦转化表现出很强的品种依赖性。表明转化效率在一定程度上受品种的遗传特性影响。

**2.3 外植体** 由图 1 可知, Web of knowledge 数据库收集的 137 个试验, 使用了 3 种外植体, 分别为幼胚、成熟胚、生长点。117 个试验采用幼胚为外植体, 占试验总数的 85.40%。13 个试验选用成熟胚为外植体, 占试验总数的 9.49%。CNKI 数据库收集的 157 个试验, 使用了 4 种外植体, 分别为幼胚、幼穗、成熟胚和生长点。114 个试验以幼胚为外植体, 占试验总数的 72.61%。12 个试验以成熟胚为外植体, 占试验总数的 7.64%。25 个试验采用生长点为外植体, 占试验总数的 15.92%。

高通量的转化体系要求外植体具有稳定高效的再生能



**1 CNKI 和 Web of science 数据库中使用各种外植体的频数分布** 一般不应低于 80%, 且以丛生芽再生植株形式为宜<sup>[15]</sup>。幼胚是目前使用频率最高的外植体, 且获得的转化率也最高。一般选取开花后 12 ~ 14 d 左右的幼胚, 大小为 0.5 ~ 1.5 mm<sup>[16-22]</sup>。但幼胚的供应受时间限制且幼胚的状态也很难控制, 造成以幼胚为外植体的转化实验的重复性差。成熟胚则没有以上问题, 种子可以方便的保存在实验室内, 随时使用且质量均一, 试验重复性好<sup>[23-24]</sup>。但成熟胚的再生能力不如幼胚。近些年在有许多学者对成熟胚的再生能力进行研究。Moghaieb 等<sup>[25]</sup>使用小麦品种“Gemmiza-10”和“Gemmiza-9”的成熟胚进行农杆菌转化试验, 获得了 95% 和 87.5% 的再生频率, 最终的转化率为 8.8% 和 6.9%<sup>[25]</sup>。Raja 等<sup>[26]</sup>使用小麦品种“Tartara-2002”的成熟胚进行农杆菌转化试验, 获得了 40% 的转化效率。我国学者张东武等<sup>[27]</sup>使用品种“西农 928”的成熟胚为外植体, 通过基因枪介导转化, 以 Bar 基因为筛选标记, 获得了 1.2% 的转化效率。Ding 等<sup>[28]</sup>使用“鄂麦 12”的成熟胚为外植体, 用农杆菌介导转化,

以 Bar 基因为筛选标记,获得了 1.52% 的转化效率。生长点和幼穗是植物生长分化的活跃部位,利用农杆菌对这些部位进行活体侵染,在后代可得到阳性转化苗<sup>[29-30]</sup>。生长点和幼穗为外植体进行转化有明显的优势,主要包括不依赖于组织培养、不受基因型限制、操作方便,不受设备限制;同时劣势也十分明显,转化率低、容易产生嵌合体 and 转化体系不成熟,限制了这些外植体的使用<sup>[31]</sup>。

**2.4 转化方法** 由图 2 可知,Web of knowledge 数据库收集的 137 个试验,使用了 3 种方法介导小麦转基因,分别为基因枪介导法、农杆菌介导法和花粉管通道法。91 个试验采用基因枪介导法进行转基因,占试验总数的 66.42%。45 个试验使用农杆菌介导法完成基因导入,占总数的 32.85%。CNKI 数据库收集的 157 个试验使用了 4 种转化方法(基因枪介导法、农杆菌介导法、花粉管通道法和电转化法)。111 个试验应用基因枪介导法,占总试验数的 70.7%。43 个试验采用农杆菌介导法,占试验总数的 27.39%。

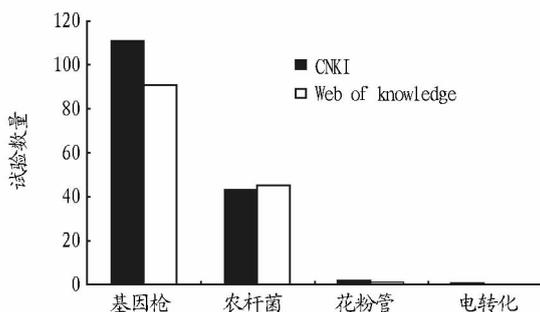


图2 CNKI 和 Web of science 数据库中使用不同转基因方法的频数分布

可以看出,目前小麦转基因主要使用基因枪和农杆菌介导法。在总共 294 个试验中,68.7% 采用基因枪介导,31.29% 使用农杆菌介导完成转化。从转化效率上看,基因枪法目前最高获得 73.81% 的转化率<sup>[11]</sup>。农杆菌法最高获得 41.00% 的转化率<sup>[14]</sup>。Hu 等<sup>[18]</sup> 比较了基因枪法和农杆菌法的转化质量,发现农杆菌法得到的低拷贝的转化事件优于基因枪法。Sparks 使用同一个转化系统,基因枪介导可以实现 35 个小麦品种的转化。而农杆菌介导只有少数几个品种获得了转基因植株<sup>[32]</sup>,推测原因是小麦品种对农杆菌不敏感。Li 等<sup>[33]</sup> 研究发现与基因枪法比较,农杆菌介导的转化事件能在后代中稳定的遗传表达,不会出现基因沉默的现象。

花粉管通道技术是利用作物授粉后所形成的天然花粉管通道(又称花粉管引道组织)经珠心通道将外源 DNA 携带入胚囊,转化受精卵和其前后的生殖细胞(精子、卵子),由于它们仍处于未形成细胞壁类似于“原生质体”状态,并且正在进行活跃的 DNA 复制、分离和重组,所以很容易将外源 DNA 的片段整合到受体基因组中,达到遗传转化的目的<sup>[34]</sup>。该法操作简单,易于推广,不受基因型限制,但转化机理不清晰,受环境影响大,转化效率低<sup>[35]</sup>。

**2.5 筛选标记** 由图 3 可知,Web of knowledge 数据库收集

的 137 个试验,使用了 5 种筛选标记,分别为 Bar、HPT、NPTII、PMI 和 AtMYB12。Bar 基因使用最为普遍,占试验总数的 59.12%。HPT 基因和 NPTII 基因次之,分别占试验总数的 10.22% 和 14.60%。AtMYB12 是一种可视的报告基因,是黄酮醇生物合成专一性的激活因子。AtMYB12 导入小麦中,提高小麦黄酮和花甘色素的含量。花甘色素的大量表达能够使小麦表现出红色或紫色<sup>[36]</sup>。CNKI 数据库收集的 157 个试验也采用了上述 5 种筛选标记。Bar 基因被 97 个试验采用,占试验总数的 61.78%。NPTII 基因在 25 个试验中出现,占试验总数的 15.92%。

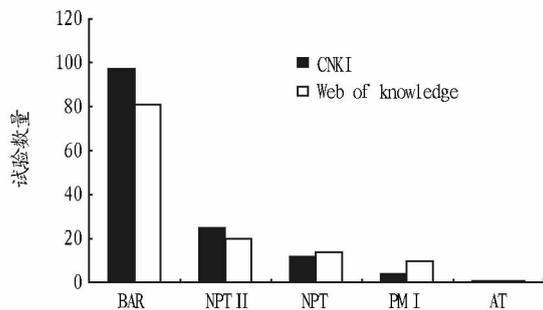


图3 CNKI 和 Web of science 数据库中使用各种筛选基因的频数分布

Vasil 等<sup>[2]</sup> 获得第一株转基因小麦,使用的筛选标记是 Bar 基因。此后 Bar 基因在小麦转化中被广泛利用。在此次收集到的 294 个试验中,180 个试验使用 Bar 基因为筛选标记,占试验总数的 61.22%。2002 年 Pellegrineschi 等<sup>[11]</sup> 使用 Bobwhite 的幼胚为外植体,用基因枪介导,以 Bar 基因为筛选标记,获得了 73.81% 转化效率,在所见文献中最高。2003 年 Hu 等<sup>[18]</sup> 采用 Bobwhite 的幼胚为外植体,农杆菌介导,EPSPS 基因为筛选标记,获得了 4.4% 的转化效率,说明 EPSPS 在小麦中也可应用<sup>[37]</sup>。

2012 年 Agnieszka Bińska 等<sup>[38]</sup> 在 2 个小麦品种“Kontesa”和“Torka”对比了 Bar 和 NptII 2 种筛选标记的效率,发现在这 2 个小麦品种中,以 NptII 为筛选标记的转化体系的转化率显著大于以 Bar 为筛选标记的转化体系的转化率<sup>[38]</sup>。由此可以看出转化率和筛选标记之间存在关系,选择合适的筛选标记,可以提高转化效率。

**2.6 转化效率** Web of knowledge 数据库收集的 137 个试验中有 50 个提供了转化效率,最小的转化效率为 0.28%,最大的为 45%,中位数是 2.1%。最大的转化效率来源于 Richardson 等<sup>[14]</sup>,试验采用小麦品种 Westonia 的成熟胚为外植体,诱导愈伤组织。使用农杆菌(AGL1)介导进行遗传转化,bar 为筛选基因。CNKI 数据库收集的 157 个试验中有 100 个提供了转化效率,其中最小的为 0.1%,最大的为 34.8%,中位数为 0.66%。王维<sup>[30]</sup> 采用农杆菌(EHA105)将水稻 Os-DREB2.1 基因导入小麦品种周麦 16 和冀麦 38 的幼穗中,获得了 34.8% 的转化效率。蔡琳<sup>[39]</sup> 使用基因枪介导法,以小麦品种陇春 23 的幼胚为外植体,Bar 基因为筛选基因,获得了 15.88% 的转化效率。值得一提的是,在所有提供转化效

率的试验中,75.33%转化率低于3%。

### 3 结论

文献分析结果表明,农杆菌和基因枪法能有效地转化小麦,Bar 基因是可靠的筛选标记,受体材料受基因型限制明显。受体组织主要依赖于幼胚,但有些基因型的成熟胚转化成功,说明在小麦遗传转化中成熟胚有进一步利用的潜力。

### 参考文献

- [1] [1] FAO. FAO Statistics [EB/OL]. [2015-02-12]. <http://www.fao.org/statistics/en/>.
- [2] VASIL V, CASTILLO A M, FROMM M E, et al. Herbicide resistant fertile transgenic wheat plants obtained by microprojectile [J]. *Nature Biotechnology*, 1992, 10: 667-674.
- [3] 喻修道, 徐兆师, 陈明, 等. 小麦转基因技术研究及其应用 [J]. *中国农业科学*, 2010, 43(8): 1539-1553.
- [4] UPADHYAY S K, KUMAR J, ALOK A, et al. RNA-guided genome editing for target gene mutations in wheat [J]. *Genomes genetics*, 2013, 3(12): 2233-2238.
- [5] WANG Y, CHENG X, SHAN Q, et al. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew [J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32: 947-951.
- [6] Reuters T. Web of Science Core Collection [EB/OL]. [2015-02-12]. <http://thomsonreuters.com/web-of-knowledge/>.
- [7] CNKI. 中国学术期刊网络出版总库 [DB/OL]. [2015-02-12]. <http://cnki.hznet.com.cn/kns55/brief/result.aspx>.
- [8] 曹新有, 刘建军, 程敦公, 等. 小麦品种冬春性、抗寒性与广适性的关系 [J]. *麦类作物学报*, 2012, 32(6): 1210-1214.
- [9] 袁俊秀, 杨文雄. 丰产广适优质春小麦新品种: 陇春 23 号 [J]. *麦类作物学报*, 2009(4): 740.
- [10] 殷贵鸿, 韩玉林, 黄峰, 等. 小麦新品种周麦 16 的选育及其特征特性 [J]. *作物杂志*, 2005(2): 54.
- [11] PELLEGRINESCHI A, NOGUERA L M, SKOVMAND B, et al. Identification of highly transformable wheat genotypes for mass production of fertile transgenic plants [J]. *Genome*, 2002, 45(2): 421-430.
- [12] PÉREZ-PIÑEIRO P, GAGO J, LANDÍN M, et al. Agrobacterium-mediated transformation of wheat: general overview and new approaches to model and identify the key factors involved [M]//ÇİFTÇİ Ö. *Transgenic plants-Advances and limitations*. Agricultural and Biological Sciences, 2012.
- [13] 张月婷, 廖玉才, 黄涛, 等. 农杆菌介导的小麦转化体系的优化 [J]. *华中农业大学学报*, 2012(1): 23-27.
- [14] RICHARDSON T, THISTLETON J, HIGGINS T J, et al. Efficient Agrobacterium transformation of elite wheat germplasm without selection [J]. *Plant cell, tissue and organ culture*, 2014, 119(3): 647-659.
- [15] 谢从华, 柳俊. *植物细胞工程* [M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2004.
- [16] CHENG M, FRY J E, PANG S, et al. Genetic transformation of wheat mediated by Agrobacterium tumefaciens [J]. *Plant physiology*, 1997, 115(3): 971-980.
- [17] MELCHIORRE M N, LASCANO H R, TRIPPI V S. Transgenic wheat plants resistant to herbicide BASTA obtained by microprojectile bombardment [J]. *Biocell*, 2002, 26(2): 217-223.
- [18] HU T, METZ S, CHAY C, et al. Agrobacterium-mediated large-scale transformation of wheat (*Triticum aestivum* L.) using glyphosate selection [J]. *Plant cell reports*, 2003, 21(10): 1010-1019.
- [19] PRZETAKIEWICZ A, KARAS A, ORCZYK W, et al. Agrobacterium-mediated transformation of polyploid cereals. The efficiency of selection and transgene expression in wheat [J]. *Cellular & molecular biology letters*, 2004, 9(4B): 903-917.
- [20] MACKINTOSH C A, GARVIN D F, RADMER L E, et al. A model wheat cultivar for transformation to improve resistance to Fusarium Head Blight [J]. *Plant cell reports*, 2006, 25(4): 313-319.
- [21] PELLEGRINESCHI A, NOGUERA L M, SKOVMAND B, et al. Identification of highly transformable wheat genotypes for mass production of fertile transgenic plants [J]. *Genome*, 2002, 45(2): 421-430.
- [22] HENSEL G, KASTNER C, OLESZCZUK S, et al. Agrobacterium-mediated gene transfer to cereal crop plants: Current protocols for barley, wheat, triticale, and maize [J]. *International journal of plant genomics*, 2009, 2009: 835608.
- [23] YE X G, WANG D W, TAO L L, et al. Transgenic wheat plants derived from Agrobacterium-mediated transformation of mature embryo tissues [J]. *Cereal research communications*, 2009, 37(1): 1-12.
- [24] PATNAIK D, KHURANA P. Genetic transformation of Indian bread (*T. aestivum*) and pasta (*T. durum*) wheat by particle bombardment of mature embryo-derived calli [J]. *BMC plant biology*, 2003, 3: 5.
- [25] MOGHAIEB R E, EL-ARABI N I, MOMTAZ O A, et al. Genetic transformation of mature embryos of bread (*T. aestivum*) and pasta (*T. durum*) wheat genotypes [J]. *GM crops*, 2010, 1(2): 87-93.
- [26] RAJA N I A B, BANO A, RASHID H, et al. Improving agrobacterium mediated transformation protocol for integration of XA21 gene in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Pakistan journal of botany*, 2010, 42(5): 3613-3631.
- [27] 张东武, 刘辉, 赵惠贤. 小麦成熟胚组织培养再生体系的优化及高再生率基因型的筛选 [J]. *麦类作物学报*, 2011(5): 847-852.
- [28] DING L, LI S, GAO J, et al. Optimization of Agrobacterium-mediated transformation conditions in mature embryos of elite wheat [J]. *Molecular biology reports*, 2009, 36(1): 29-36.
- [29] He C M, ZHANG W W, GAO Q, et al. Enhancement of drought resistance and biomass by increasing the amount of glycine betaine in wheat seedlings [J]. *Euphytica*, 2011, 177(2): 151-167.
- [30] 王维. 利用农杆菌介导的幼穗法将水稻 OsDREB2.2 基因导入小麦的研究 [D]. 保定: 河北农业大学, 2012.
- [31] 叶兴国, 陈明, 杜丽璞, 等. 小麦转基因方法及其评述 [J]. *遗传*, 2011(5): 422-430.
- [32] SPARKS C A, JONES H D. Biolistics transformation of wheat [J]. *Methods in molecular biology*, 2009, 478: 71-92.
- [33] LI J R, YE X G, AN B Y, et al. Genetic transformation of wheat: Current status and future prospects [J]. *Plant biotechnology reports* 2012, 6(3): 183-193.
- [34] 李志亮, 吴忠义, 杨清, 等. 花粉管通道法在玉米基因工程改良中的应用 [J]. *玉米科学*, 2010(4): 71-73, 76.
- [35] 简纯平, 李开锦, 欧文军. 花粉管通道法转基因育种研究进展 [J]. *热带作物学报*, 2012(5): 956-961.
- [36] GAO X, ZHANG L, ZHOU S, et al. AtMYB12 gene: A novel visible marker for wheat transformation [J]. *Molecular biology reports*, 2011, 38(1): 183-190.
- [37] Center for Environmental Risk Assessment. MON71800 [EB/OL]. [2015-02-12]. [http://www.cera-gmc.org/action=gm\\_crop\\_database&mode>ShowProd&data=MON71800](http://www.cera-gmc.org/action=gm_crop_database&mode>ShowProd&data=MON71800).
- [38] BINKA A, ORCZYK W, NADOLSKA-ORCZYK A. The Agrobacterium-mediated transformation of common wheat (*Triticum aestivum* L.) and triticale (*x Triticosecale* Wittmack): Role of the binary vector system and selection cassettes [J]. *Journal of applied genetics*, 2012, 53(1): 1-8.
- [39] 蔡琳. 小麦组织培养体系优化及抗冻基因 KN2 转化小麦的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.

(上接第 344 页)

- [10] 温孚江. 农业大数据研究的战略意义与协同机制 [J]. *高等农业教育*, 2013(11): 3-6.
- [11] 孟祥宇, 谢秋波, 刘海峰, 等. 农业大数据应用体系架构和平台建设 [J]. *广东农业科学*, 2014, (14): 173-178.
- [12] 许世卫. 农业大数据与农产品监测预警 [J]. *中国农业科技导报*, 2014, 16(5): 14-20.
- [13] CHEN M, MAO S W, LIU Y H. Big data: A survey [J]. *Mobile networks and application*, 2014, 19(4): 171-209.
- [14] GU J F, ZHANG L L. Some comments on big data and data science [J]. *Annals of data science*, 2014, 1(3/4): 283-291.
- [15] TOEN J M. Big data: Unleashing information [J]. *Journey of systems science and systems engineering*, 2013, 22(2): 127-151.