

文章编号: 1001-1498(2003)01-0095-09

转基因林木研究进展

苏晓华, 张冰玉, 黄烈健, 黄秦军, 张香华

(中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091)

摘要: 着重论述了林木抗虫、抗病、抗除草剂、生殖发育调控、抗逆境、材性改良等转基因林木的研究进展, 简述了转基因林木的应用现状, 提出了林木基因工程现存的问题, 并对该领域进行了展望。

关键词: 林木; 转基因; 基因工程

中图分类号: S722.3⁺6

文献标识码: A

自从 Parson 等^[1]证实杨树可以进行遗传转化和外源基因在林木细胞中表达以来, 林木基因工程研究已经取得很大进展。现已对杨树 (*Populus* spp.)、火炬松 (*Pinus taeda* Linn.)、桉树 (*Eucalyptus* spp.) 等 20 多个树种进行了转化研究。许多树种已获得了转基因植株, 其中杨树、松树 (*Pinus* spp.)、桉树、云杉 (*Picea* spp.) 等树种已经进入田间试验阶段, 在抗虫、抗病、抗除草剂、耐盐、耐旱、耐冻、耐高温等方面也进行了转化研究。

1 林木转基因研究

1.1 抗虫基因工程

McNabb 等^[2]已将马铃薯胰蛋白酶抑制剂基因 (*PinII*) 导入杂种杨 NC5339。利用电击法将抗虫 *Bt* 基因导入银白杨 × 大齿杨 (*P. alba* L. × *P. grandidentata* Michx.) 和欧洲黑杨 × 毛果杨 (*P. nigra* L. × *P. trichocarpa* Torr.) 并获得了抗舞毒蛾 (*Lymantria dispar* Linnaeus) 和天幕毛虫 (*Malacosoma neustria* Linnaeus) 的转基因植株^[3]。将 *Bt* 基因转入欧洲落叶松 (*Larix decidua* Mill.) 并检测到该基因的表达^[4]。在核桃 (*Juglans regia* L.) 上也获得了转 *CryIA* 基因的抗虫植株^[5]。

在国内, 已将对鳞翅目 (Lepidoptera) 昆虫有毒性的 *Bt* 毒蛋白基因导入欧洲黑杨并获得转基因植株^[6]。将 *Bt* 基因导入毛白杨 (*P. tomentosa* Carr.) 和美洲黑杨 × 小叶杨 (*P. deltoides* Marsh. × *P. simonii* Carr.)^[7]。用带有 35S⁻-*Bt*-NOS 双元载体的农杆菌 LBA4404 转化欧洲黑杨获得转基因植株, 经抗虫生物测定证实, 杨尺蠖 (*Apocheima cinerarius* Erschoff) 和舞毒蛾的死亡率可达 80%~100%, 并有明显的抑制害虫生长和发育的作用, 该转基因杨树已进入大田测试阶段^[8]。用含有完全改造的 *Bt* 抗虫基因表达载体 PB48.7 和部分改造 *Bt* 抗虫基因表达载体 PB48.7 转化白杨 741 (*P. alba* L. × (*P. davidiana* Dode + *P. simonii* Carr.) × *P. tomentosa* Carr.) 雄株, 获得了转基因植株^[9]。转 *Bt* 基因的欧洲黑杨植株, 经 2~3 a 的抗虫测定和优良

收稿日期: 2001-10-11

基金项目: 国家总理专项基金转基因植物研究与产业化专项课题“西部地区转基因林草新品种培育与示范”(J00-B-001)子课题“杨树抗旱基因工程育种研究”(J00-B-001-07)研究内容

作者简介: 苏晓华(1961—), 女, 黑龙江克山人, 研究员。

性状选择,目前已有3个无性系(12、153、192)在中国6个省种植进行评估^[10]。广谱抗虫基因豇豆胰蛋白酶抑制剂(CPTI)基因也已导入毛白杨,获得转基因植株,现已进入大田测试^[11]。特异毒杀鳞翅目昆虫的神经毒素 *AalT* 基因用农杆菌介导法导入南方杨树 N-106 中,获得 62 株再生植株,经 Southern 杂交检测到目的基因的整合,杀虫实验证实转基因杨树对 1 龄期舞毒蛾生长有明显的抑制作用^[12]。

迄今为止,表达 *Bt* 基因的树种有杨树、核桃(*J. spp.*)、落叶松(*L. spp.*)、花旗松(*Pseudotsuga menziesii* (Mirbel) Franco)和云杉等。此外,人们也开始将多个不同类型的基因导入林木的研究。郑均宝等^[13]用农杆菌(*Agrobacterium*)介导法,将部分改造的 *C₁Ac* 基因与慈姑蛋白酶抑制剂(APD)基因构建的双抗虫基因表达载体转入白杨杂种 741,检测结果证明已得到转基因植株。用农杆菌介导二次转化的方法,将蛋白酶抑制剂(PI)基因导入含 *Bt* 基因的欧洲黑杨,杀虫实验结果表明,含有双抗基因的植株的抗虫能力明显高于仅含 *Bt* 基因的植株^[14]。

1.2 抗病基因工程

在林木抗病毒基因工程方面,已将克隆的杨树花叶病毒(PMV)外壳蛋白基因转化杨树,育成抗病无性系;将杨李痘病毒(PPV)外壳蛋白基因导入杏(*Armeniaca vulgaris* Lam.)中^[15]。在林木抗菌基因工程方面,李玮等^[16]已将抗菌肽基因导入杨树,使转基因杨树对蛀干害虫光肩天牛(*Anoplophora glabripennis* Motsch.)的杀虫率达70%以上。利用次生代谢产物的抗病作用将矮牵牛黄酮合成酶 CHSA 基因导入杨树,提高了杨树的抗病性。将兔 *NP-1* 基因导入毛白杨,转基因植株组织提取液对枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn)等多种微生物的生长均有不同程度的抑制作用^[18]。将过氧化物酶基因导入枫香(*Liquidambar styraciflua* L.),获得抗病的转基因植株。将 *glu* 和 *chi* 基因转入欧洲板栗(*Castanea sativa* Mill.),提高了对樟疫霉(*Phytophthora cinnamomi* Sacc.)真菌病害的抗性^[19]。

1.3 抗除草剂基因工程

用基因工程手段创造的第一个转基因林木是 20 世纪 80 年代末获得的抗除草剂杨树^[20]。在针叶树中,获得了抗草甘膦的转基因欧洲落叶松^[4];抗膦丝菌素的抗性基因(*bar* 基因)也已被导入辐射松(*P. radiata* D. Don)和挪威云杉(*P. abies* Karst.)中,获得了抗实用剂量膦丝菌素的无性系,目前已进入田间试验阶段,并且正在开展针对磺酰脲类和草甘膦类除草剂的转基因实验^[21]。最近,又获得了抗膦丝菌素的黑挪威云杉(*P. abies* Karst. var. *nigra* Th. Fries)^[22];用基因枪法成功地将 *bar* 基因转入辐射松和挪威云杉,获得了抗实用除草剂 Baster 的转基因的针叶树^[23]。

已有抗膦丝菌素^[24,25]、草甘膦^[26,27]和 chlorsulfuron^[28]转基因杨树的报道。采用电激转化法,将 *NPT-II*、*als* 突变基因和 *Pat* 基因转入杨树,再生植株经 Southern 杂交检测到抗磺酰脲类除草剂的 *als* 基因已整合到亲本基因组中^[29]。最近, Gullner^[30]等人发现编码专一性抗除草剂乙酰替氯苯胺(chloroacetanilide)的谷氨酰丙氨酸(GST)基因转入杨树杂交种内,得到的转基因植株叶片富含 -GST 和谷光甘肽(GSH),并提高杨树的除草剂抗性,研究者^[31]也获得了高抗膦丝菌素类除草剂——Basta 的转基因银白杨(*P. alba* L.)。Harcourt 等^[32]用农杆菌介导法转化赤桉(*E. camaldolensia* Dehnhardt)获得了抗高剂量广谱除草剂 Liberty 的转化系,其实验剂量(6 L hm^{-2})为田间实际用量的两倍。

1.4 生殖发育调控基因工程

目前,用于林木不育基因工程的基因主要有 BARNASE(芽孢杆菌 RNA 酶)基因和 *DTA* 基因,一般将其置于花特异性启动子 TA-29 下进行表达。研究者^[33]将 *DTA* 基因转入银灰杨 × 大齿杨(*P. canescens* (Ait.) Smith × *P. grandidentata* Michx.)中,获得转基因植株,经检测表现为雄性不育;将 TA-29-BARNASE 嵌和基因导入抗虫的转基因欧洲黑杨幼嫩叶片中,经 PCR、Southern Blot、Dot Blot 分析证实了外源基因已经整合到再生植株的基因组中^[34]。

用基因工程手段培育提早开花的林木可大大加速遗传改良的进程。有报道认为,发根农杆菌的 *rolC* 致癌基因也可使转基因的植物花期提前,如用 35S-*rolC* 基因转化的颠茄(*Atropa L.*),其花期显著提前^[35]。虽然在林木中有转该基因的报道,但转基因林木并未表现出花期的变化。组成性表达了拟南芥 LEAFY 基因的转基因欧洲山杨 × 美洲山杨(*P. tremula L.* × *P. tremuloides* Michx.)的花期明显提前^[36]。另外,用染色体步行法已在挪威云杉中分离出了与拟南芥(*Arabidopsis* spp.)的 LEAFY 花序特异基因同源的 PAHL 基因,同时对挪威云杉和蓝色花旗松(*P. menziesii* var. *glauca* (Boiss.) Franco)进行了基因枪转化法研究,所用基因包括拟南芥的 LEAFY、CAULIFLOWER、APETALA1、CONSTANS 基因,金鱼草(*Antirrhinum majus L.*)的 CENTRORADIALIS 基因,辐射松的 PRFL 基因以及发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes* (Riker et al.) Conn)的 *rolC* 基因^[37]。

目前,已从林木中分离出了 *MADS-box* 基因家族的基因。例如,从由巨桉(*E. grandis* Hill ex Maiden)的幼花建立的 cDNA 文库中鉴定出了 3 个 *MADS-box* 基因(*egm1-3*)^[38]。从美洲山杨(*P. tremuloides* Michx.)中分离出了 2 个 *MADS-box* 基因——*PtMAGL4* 和 *PtFAGL4*(私人通讯)。这为利用 *MADS-box* 基因工程调控林木的生殖发育打下了良好基础。然而,尚未见有将 *MADS-box* 基因成功地转移到林木中的报道。

1.5 抗逆境基因工程

在利用基因工程创造耐重金属的林木中,转基因北美鹅掌楸(*Liriodendron tulipifera L.*)能够将高毒性的汞离子转化为低毒的汞离子,表明在汞污染地区用转基因林木进行植物治理的可能性^[39]。

林木上的抗旱耐盐基因工程的研究也取得了一定进展。在基因克隆方面,利用北美短叶松(*P. banksiana* Lamb.)幼苗筛选出干旱诱导基因 *JPD16* 和 *JPD18*。从火炬松中克隆出干旱诱导基因 *lp3*。培育抗旱耐盐的转基因林木的研究也在进行,例如,利用 *mtlD-gutD* 基因转化美洲山杨,筛选到 $4.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{NaCl}$ 转基因植株,获得了转 *BspA* 基因(一种水分诱导蛋白基因)的欧洲山杨(*P. tremula L.*),并对转基因欧洲山杨和非转化欧洲山杨在失水 20% 以及 $8.766 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{NaCl}$ 盐胁迫下的渗透势和电解质渗漏进行了检测。结果表明,在干旱和盐胁迫下,转基因植株的渗透势较对照明显降低,但落叶率稍高,总体上说转基因杨树在逆境胁迫下营养运输和渗透势调节力仍进行良好,因而其生长较快。另外,通过转化菠菜碱脱氢酸(BADH)、磷酸山梨醇脱氢酶基因(*gutD*)获得耐盐杨树的研究目前也在进行之中。

在植物抗寒、冻基因工程方面,黄永芬等^[40]对鱼类抗冻蛋白基因(*afp*)做了深入研究,并将其整合在 Ti 质粒上,用叶盘法转化郁金香(*Tulipa gesneriana L.*)、烟草(*Nicotiana rustica L.*)和油菜(*Bassica campestris L.*),使之获得了一定的抗冻能力。用真空透析法将 *afp* 基因导入马铃薯(*Solanum tuberosum L.*)、拟南芥和欧洲油菜(*B. napus L.*),使植物自然结冰平均温度降

低 1.8^[41];将鱼类 *afp* 基因导入烟草和番茄中,发现产生的融合蛋白具有抑制冰晶形成的作用^[42]。将人工合成的比目鱼 *afp* 基因及 *afp* 与编码植物凝集素的 *Pha* 基因的融合基因分别导入马铃薯,均能减少马铃薯在低温下电解质的渗漏,提高了马铃薯的抗冻能力^[43]。采用花粉管导入法及子房注射法,将整合在 Ti 质粒上的 *afp* 基因导入番茄并获得表达^[40]。由此可见,导入鱼类抗冻蛋白基因(*afp*)提高植物抗冻性具有巨大的潜力,通过基因工程手段可提高林木的抗冻性。

研究表明,抗氧化物如超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽(GSH)具有清除超氧化自由基、保护植物体的作用^[44,45]。因此,提高林木体内 SOD 活性及 GSH 含量是提高林木抗逆性的重要途径之一。目前已鉴定出了 3 种类型的 SOD:Cu/Zn-SOD、Fe-SOD 和 Mn-SOD。在许多植物已获得了相应的 cDNA 的克隆,并在少数植物中获得了这 3 种类型 SOD 的基因组克隆^[46-49]。在杨树中,克隆了美洲山杨叶绿体中 Cu/Zn-SOD 的 cDNA^[50],获得了细胞质 Cu/Zn-SOD 的 cDNA 克隆和基因组克隆。Bowler 等^[51]首次将烟草 Mn-SOD 的 cDNA 导入到苜蓿(*Medicago falcata* Linn.)中,发现转基因植物 SOD 活性增强。Gupta 等^[52]将 Cu/Zn-SOD 导入烟草,发现转基因烟草抗氧化能力得到提高,与非转化植株相比转化植株在中度氧化胁迫下仍保持较高的光合活性。Arisi 等^[53]把拟南芥的 Fe-SOD 基因导入杨树,发现转基因杨树叶绿体中 Fe-SOD 活性高于对照 5-8 倍,杨树的抗冻性也明显提高。Gallardo 等^[54]将松树胞质谷胱甘肽合成酶基因用农杆菌介导法导入杂种杨(*P. tremula* L. × *P. alba* L.) 株系 INRA7171-B4 获得表达。

1.6 材性改良基因工程

卢善发等^[55]已相继从多种植物中克隆出与木质素生物合成有关的基因,如苯丙氨酸裂解酶(PAL)、咖啡酰辅酶 A 甲基转移酶(CCoAOMT)、肉桂酰辅酶还原酶(CCR)、香豆酸 CoA 连接酶(4CL)和肉桂酰乙醇脱氢酶(CAD)等基因。这些基因的克隆为通过基因工程方法降低木质素含量,改变木质素组成创造了条件。

至今,已将 4CL、CAD 和豆科植物的阳离子过氧化物酶基因(*Shpx6a*)反义导入美洲山杨^[56]、欧洲山杨^[57]和欧洲山杨 × 银白杨(*P. tremula* L. × *P. alba* L.)^[58]。4CL 表达被抑制的转基因美洲山杨木质素含量也明显下降,木质素下降最高达 45%,同时纤维素含量增加 15%。Zeliha 等^[58]将 *Shpx6a* 转入欧洲山杨,使转基因植株木质素的含量降低 10%-20%。Mackay 等^[59]研究表明,抑制针叶林木 CAD 的表达,虽然不能使木质素含量明显降低,却能改变其组成,使其非常适合于林木加工中的温和制浆的工艺条件。Jouanin^[60]发现由于基因沉默使得再生杨树苗中 35S 启动子作用的 COMT 活性降低为零,木质素含量降低 17%,而 CAD 启动子作用下的 COMT 转基因杨树苗的纤维素含量增加,木质素缩合程度也提高,更加不利于纸浆加工。

提高林木的生长速率,改良林木的木材性状是林木育种的重要目标。Mawnders 等^[61]对胶皮枫香树(*Liquidambar styraciflua* L.)进行了转基因改良纤维。Tzifira 等^[62]采用农杆菌介导法,将 *rol* 基因导入欧洲山杨的嫩茎,研究了茎干生长、腋芽萌发和分枝习性。研究表明:转 *rol* 基因植株表现为顶端优势被打破,每个外植体产生多达 4 个腋芽,累积茎干长度较大和生长速率较快,茎干生长指数增加。Hu 等^[56]通过对美洲山杨转 *P4CL1* 基因的研究表明:由于对 *P4CL1* 基因进行反义抑制,生长 10 个月的转基因植株木质素减少 45%,纤维素增加 15%,叶、根和茎生长加快,木质素和纤维素的沉积为一种补偿性调控模式。Gallardo^[63]将针叶树的

GS 基因导入杨树,由于 GS 在转基因植物体内过量表达,引起谷氨酰胺合成大量增加,植物的可溶性总蛋白及叶绿素含量也相应增加。与对照植物相比,转基因幼苗的株高在 2 个月内增加了 76.0%,6 个月增加了 21.3%。Eriksson 等^[64]通过转基因使欧洲山杨 × 美洲山杨中的 GA 过量表达,提高了生长速率和生物产量。

Franke 等^[65]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。Jouanin 等^[60]通过转 COMT 基因,6 月龄的转基因欧洲山杨 × 银白杨的木质素含量下降 17%,木质素的结构得到显著改变,几乎没有紫丁香基型木质素,纤维素含量提高,使木质素更容易被工业降解。

Claudia 等^[66]研究了 3 年生的转 *rolC* 基因欧洲山杨 × 美洲山杨的木材形成及结构特点。该转基因植株具有明显的茎生长减少和芽的萌发提前等特点,芽的萌发和叶片形成后并不立即开始形成木材,而对照却开始形成木材;转基因杨树和对照的木材结构没有明显的区别,转基因植株的矮化可能是细胞数的减少所导致的。转 *rolC* 基因的杨树可以作为研究木材形成机制的一种有用的模式。

我国已利用 PCR 快速分离了我国林木品种的相应基因,如从杨树 (*P. spp.*) 品种中分离了 PAL、COMT、CCR 的基因序列,从落叶松 (*L. spp.*) 中分离了 4CL 的编码基因等。另外,正在对杨树进行与降低木质素有关基因的遗传转化研究。

2 转基因林木应用情况

国外转基因林木除了抗病毒的番木瓜 (*Carica papaya* L.) 已商品化外^[67],其它转基因林木均处于小规模田间试验阶段(表 1)。我国的转 *Bt* 基因抗虫欧洲黑杨经农业部生物基因工程安全委员会批准后,已在北京、吉林、河南、山东、新疆、陕西、江苏 7 省 8 个基点大田释放,是世界上释放面积最大的转基因林木。目前扩繁的转基因苗木可供造林 347 hm²。河北农业大学的双抗转基因 (*Bt*rylAc + *API* 基因)毛白杨 741 已于 2001 年 9 月 4 日经林业生物基因工程安全委员会批准在 14 个环境释放点进行环境释放。

表 1 已进入田间试验的转基因林木^[68]

树种	品系数	基因
杨树	51	<i>uidA</i> ; <i>nptII</i> ; <i>bar</i> ; <i>gox</i> ; <i>cryIIA</i> ; <i>sterility</i> ; <i>lignin</i> ; <i>cellulose</i> ; <i>aphIV</i>
胶皮枫香树	6	<i>nptII</i> ; <i>herbicide resistance</i>
松树	5	<i>uidA</i> ; <i>nptII</i>
桉树	3	<i>uidA</i> ; <i>nptII</i> ; <i>lignin</i> ; <i>pat</i>
云杉	3	Marker genes

3 存在问题及展望

目前,多数林木的外植体再生频率低,严重影响了林木的遗传转化研究。另外,林木自身存在的许多优良基因尚未得到有效的利用。今后,应加强林木中有益基因资源的鉴定和分离,并对其功能进行深入的研究,为用基因工程手段改良林木奠定基础。

林木基因工程研究中对抗除草剂、抗病、抗食叶虫等方面的研究较多,但对抗非生物逆境的研究相对薄弱。而随着生态环境的恶化,对林木的抗逆境能力的要求不断增加。用基因工

程手段培育高抗型(抗干旱、耐盐碱等)林木必将成为今后的研究热点。

由于林木生长周期长,其产生的有毒基因产物的累积会对周围的生物如土壤中的有益细菌/真菌造成毒害,影响林木的生长发育甚至造成其死亡,因此,转基因林木的稳定性和生态安全性问题就更加突出。为此,应加强对转基因特异表达的研究,同时要发掘林木内的基因资源来进行转化。对由于病虫抗性的增加而丧失的转基因抗性,可采用各种方法加以克服,如构建伤害诱导型启动子、在转基因林分中引入异质性、采取多基因转化等。另外,James等^[69]通过对已获得的转 *Cry A*、*Cry B* 和 *Cry B* 基因的转基因杨树对鞘翅目(Coleoptera)害虫抗性的研究表明,来自于美国3个州的该鞘翅目害虫对 *Cry A* 的敏感性不同,说明该鞘翅目害虫中某些群体对 *Bt* 的抗性在其进化过程中就已经存在。因此,应该寻找新的抗性基因,创造新品系。

总之,应用基因工程进行林木育种不仅可以缩短育种周期,又可在基因水平上改造林木抗性遗传物质,提高了育种的的目的性和可操作性。所以,只要加大研究投入,并有效地与常规的林业技术措施相配合,必将培育出更多更有价值的林木基因工程新品种。

参考文献:

- [1] Parsons T J, Sinkar V P, Settler R F, et al. Transformation of Poplar by *Agrobacterium tumefaciens* [J]. *Biotechnology*, 1986, 4(6): 533-536
- [2] McNabb H S. Genetic transformation and its application to future forests[J]. *Trends Biotechnol*, 1987, 5(4): 155-159
- [3] McCown B H, McCabe D E, Russell D R, et al. Stable transformation of *Populus* and incorporation of pest resistance by electric discharge particle acceleration[J]. *Plant Cell Reports*, 1991, 9: 590-594
- [4] Shin D I, Pbdila G K, Huang Y H, et al. Transgenic larch expressing genes for herbicide and insect resistance[J]. *Can J for Res*, 1994, 24: 2059-2067
- [5] Dandekar A M, McGranahan G H, Vail P V, et al. High levels of expression of full-length *cryIA (c)* gene from *Bacillus thuringiensis* in transgenic somatic walnut embryos[J]. *Plant Science Limerick*, 1998, 131(2): 181-193
- [6] 伍宁丰,范云六. *Bt* 杀虫晶体蛋白基因导入杨树获得再生的转基因植株[A]. 见:中国遗传学会. 植物遗传理论与应用研讨会文集[C]. 南京:南京林业出版社,1990. 43-47
- [7] 许农,黄敏仁,陈道明. 杨树基因工程进展[J]. *南京林业大学学报*, 1993, 17(4): 80-81
- [8] 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
- [9] 郑均宝,张玉满,杨文芝,等. 741 杨离体叶片再生及抗虫基因转化[J]. *河北农业大学学报*, 1995, 18(3): 20-25
- [10] Wang G J, Stefano C, Chen Y, et al. Poplar (*Populus nigra* L.) plants transformed with a *Bacillus thuringiensis* toxin gene: insecticidal activity and genome analysis[J]. *Transgenic Research*, 1996, 5: 289-301
- [11] 郝贵霞,朱祯,朱之悌. 毛白杨遗传转化系统优化的研究[J]. *植物学报*, 1999, 41(7): 936-940
- [12] 伍宁丰,孙芹,姚斌,等. 抗虫的转 AaIT 基因杨树的获得[J]. *生物工程学报*, 2000, 16(2): 129-133
- [13] 郑均宝,梁海永,高宝嘉,等. 转双抗虫基因 741 毛白杨的选择及抗虫性[J]. *林业科学*, 2000, 36(2): 13-19
- [14] 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
- [15] 林善枝,肖基汧,张志毅. 杨树抗性基因工程研究进展[J]. *北京林业大学学报*, 2000, 22(6): 85-88
- [16] 李玮,陈颖,李玲,等. 抗菌肽 *LcI* 基因转化杨树的阶段研究[J]. *林业科学研究*, 1996, 9(6): 646-649
- [17] Nicolescu C, Sandre C, Jouanin L, et al. Genetic engineering of phenolic metabolism in poplar in relation with resistance against pathogens[J]. *Acta Bot Gallica*, 1996, 143: 539-546
- [18] 赵世民,祖国诚,刘根齐,等. 通过农杆菌介导法将免防毒素 *NP-1* 基因导入毛白杨(*Populus tomentosa*) [J]. *遗传学报*, 1999, 26(6): 711-714
- [19] Seabra R, Pais M S. Genetic transformation of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) [J]. *Swilva Lusitana*, 1999, 7(2): 199

232

- [20] Moffat A. Moving forest trees into the modern genetics era[J]. *Science*, 1996, 271:760-761
- [21] Walter C, Grace L J, Donaldson S S, et al. An efficient Biolistic^R transformation protocol for *Picea abies* embryonic tissue and regeneration of transgenic plants[J]. *Can J For Res*, 1999, 29(10):1539-1546
- [22] Brukhin V, Clapham D, Elfstrand M, et al. Basta tolerance as a selectable and screening marker for transgenic plants of Norway spruce[J]. *Plant Cell Reports*, 2000, 19:899-903
- [23] Bishop-Hurley S L, Zabkiewicz R J, Grace L, et al. Conifer genetic engineering: transgenic *Pinus radiata* (D. Don) and *Picea abies* (Karst) plants are resistant to the herbicide Buster[J]. *Plant Cell Reports*, 2001, 20:235-243
- [24] De Block M. Factors influencing the tissue culture and the *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of hybrid aspen and poplar clones[J]. *Plant Physiol*, 1990, 93:1110-1116
- [25] Devillard C. Transformation in vitro du tremble (*Populus tremula* × *Populus alba*) par *Agrobacterium rhizogenes* et regeneration de plantules tolérantes au Basta[J]. *C R Acad Sci Paris Ser*, 1992, 314:291-298
- [26] Fillatti J J, Sellmer J, McCown B, et al. *Agrobacterium*-mediated transformation and regeneration of *Populus*[J]. *Mol Gen Genet*, 1987, 206:192-199
- [27] Donahue R A, Davis T D, Michler C H, et al. Growth, photosynthesis, and herbicide tolerance of genetically modified hybrid poplar[J]. *Can J For Res*, 1994, 24:2377-2383
- [28] Brasileiro A C M, Tourneur C, Leple J C, et al. Expression of the mutant *Arabidopsis thaliana* acetolactate synthase gene confers chlorsulfuron resistance to transgenic poplar plants[J]. *Transgenic Res*, 1992, 1:133-141
- [29] Chupeau M C, Pautot V, Chupeau Y. Recovery of transgenic trees after electroporation of poplar protoplasts[J]. *Transgenic Res*, 1994, 3:13-19
- [30] Gullner G, Komives T, Renneberg H. Enhanced tolerance of transgenic poplar overexpressing gamma-glutamylcysteine synthetase towards chloracetanilide herbicide[J]. *J Exp Bot*, 2001, 52:971-979
- [31] 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, 19:978-982
- [32] Harcourt R L, Kozuka J, Floyd R B, et al. Insect- and herbicide-resistant transgenic *eucalypts*[J]. *Molecular Breeding*, 2000, 6(3):307-315
- [33] David F K, Banalata S, Junghee K, et al. Engineering reproductive sterility in forest trees[A]. In: Bista M S, Joshi R B, Amatya S M, et al. Proceedings of the 8th International workshop of BIO-REFOR[C]. Nepal: BIO-REFOR, 1999. 7-11
- [34] 李玲, 齐力旺, 韩一凡, 等. TA-29-BARNASE 基因导致抗虫转基因欧洲黑杨雄性不育的研究[J]. *林业科学*, 2000, 37(1):28-32
- [35] Kurioka M. Transformation of *Acropa belladonna* [J]. *Plant Cell Reports*, 1992, 12:1-6
- [36] Weigel B L, Nilsson H G. Modification of reproductive development of *Populus tremula* × *P. tremuloides*[J]. *Nature*, 1995, 377:495-500
- [37] Foure J L, Niquet L, Walter C. Genetic transformation and modification of reproductive development in conifers[R]. In proceedings of international congress "applications of biotechnology to forest genetics", Vitoria-Gasteiz:Biofor-99, 1999. 339-345
- [38] Southerton S G, Marshall H, Mouradov A, et al. Eucalyptus MADS-box genes expressed in developing flowers[J]. *Plant physiology*, 1998, 118(2):365-372
- [39] Rugh C L, Senecoff J E, Meagher R B, et al. Development of transgenic yellow poplar for mercury phytoremediation[J]. *Nature Biotechnol*, 1998, 16:925-928
- [40] 黄永芬, 付桂荣, 赵晓祥, 等. 美洲拟鲈抗冻蛋白基因导入番茄的研究[J]. *生物化学杂志*, 1997(4):418-419
- [41] Cutler A J, Saleem M, Kandan E, et al. Winter flounder antifreeze protein improves the cold hardiness of plant tissues[J]. *Plant Physiol*, 1998, 118(2):351-354
- [42] Hightower R, Saleem M, Cutler A J. Design and cloning of a synthetic gene for the flounder antifreeze protein and its expression in plant cells[J]. *Gene*, 1990, 91:159-165
- [43] Wallis J G, Wang H, Guerra D J. Expression of a synthetic antifreeze protein in potato reduces electrolyte release at freezing tempera-

- ture[J]. *Plant Mol Biol*, 1997, 35:323-330
- [44] Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves[J]. *Plant Physiol*, 1995, 109(4): 1222-1227
- [45] Hausladen A, Madmanchi N R, Fellows S, et al. Seasonal changes in antioxidants in red spruce as affected by O₃[J]. *New Phytologist*, 1990, 115:447-458
- [46] Brwler C, van Montagu M, Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance[J], *Annu Rev Plant Physiol*, 1992, 100(1): 83-116
- [47] Sakamoto A, Okumura T, Ohsuga H, et al. Genomic structure of the gene for copper-zinc-superoxide dismutase in rice[J]. *FEBS Lett*, 1992, 301:185-189
- [48] Lin C T, Lin M, Chen Y T, et al. The gene structure of Cu/Zn-superoxide dismutase from sweet potato[J], *Plant Physiol*, 1995, 109(3): 827-828
- [49] Sakamoto A, Okumura T, Kaminaka H, et al. Molecular cloning of the gene (SodCc1) that encodes a cytosolic Copper/Zinc-superoxide dismutase from rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant Physiol*, 1995, 109(2): 651-652
- [50] Akkapeddi A S, Shin D I, Stanek D F, et al. cDNA and derived amino acid sequence of the chloroplastic copper/zinc-superoxide dismutase from Aspen (*Populus tremuloides*) [J]. *Plant Physiol*, 1994, 106(3): 1231-1232
- [51] Bowler C, Slooten L, Vandenbranden S, et al. The induction of manganese superoxide dismutase in response to stress in *Nicotiana glauca* [J]. *EMBO J*, 1989, 8:31-38
- [52] Gupta S A, Heinen J L, Hladay A S, et al. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants that overexpress chloroplastic Cu/Zn superoxide dismutase[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90:1629-1633
- [53] Arisi A C, Cornic G, Jouanin L, et al. Over-expression of Fe-SOD in transformed poplar modifies the regulation of photosynthesis at low CO₂ partial pressures or following exposure to the prooxidant herbicide methyl viologen[J]. *Plant Physiol*, 1998, 117(2): 565-574
- [54] Gallardo F, Fu J M, Canton F R et al. Expression of a conifer glutamine synthetase gene in transgenic poplar[J]. *Planta*, 1999, 210(1): 19-26
- [55] 卢善发, 宋艳茹. 维管组织分化的分子生物学研究[J]. *植物学通报*, 1999, 16(3): 219-227
- [56] Hu W J, Harding S A, Lung J, et al. Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees [J]. *Nat Biotechnol*, 1999, 17: 808-812
- [57] Lapiere C, Pollet B, Petit-Conil M, et al. Structural alteration of lignins in transgenic poplars with depressed cinnamyl alcohol dehydrogenase or caffeic acid O-methyltransferase activity have an opposite impact on the efficiency of industrial kraft pulping[J]. *Plant Physiol*, 1999, 119(1): 153-163
- [58] Zeliha I, Tijien O, Ahu A, et al. Reduced leaf peroxidase activity is associated with reduced lignin content in transgenic Poplar[J]. *Plant Biotech*, 1999, 16(5): 381-387
- [59] Mackay J, Presnell T, Jameel H, et al. Modified lignin and delignification with a CAD-deficient loblolly pine[J]. *Holzforchung*, 1999, 53(4): 403-410
- [60] Jouanin L, Goujin T, Nadai V, et al. Lignification in transgenic poplar with extremely reduced caffeic acid O-methyltransferase activity [J]. *Plant Physiol*, 2000, 123(4): 1363-1373
- [61] Maunders M J, Carter D, Richardson P, et al. Genetic transformation of *eucalyptus* species towards the modification of fibre characteristics[A]. In: *Proceedings of the Second International Wood Biotechnology Symposium*[C]. Canberra, Australia: BIO-REFOR, 1997. 253-259
- [62] Tzifira T, Vainstein A, Altman A. *RoI*-gene expression in transgenic aspen (*Populus tremula*) plants results in accelerated growth and improved stem production index[J]. *Trees*, 1999, 14: 49-54
- [63] Gallardo F, Fu J M, Canton F R, et al., Expression of a conifer glutamine synthetase gene in transgenic poplar[J]. *Planta*, 1999, 210(1): 19-26
- [64] 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
- [65] Franke R, McMichael C M, Meyer K, et al. Modified lignin in tobacco and poplar plants over-expressing the *Arabidopsis* gene encod-

- ing ferulate 5-hydroxylase[J]. *Plant J*, 2000,22(3):223-234
- [66] Claudia G, Frank D, Dieter E. Wood formation in *rolC* transgenic aspen trees[J]. *Trees*, 2000, 14:297-304
- [67] Gonsalves D. Control of Papaya Ringspot Virus in Papaya: A Case Study[J]. *Annu Rev Phytopathol*, 1998, 36: 415-437
- [68] Walter C. Genetic transformation of forest tree species. state of the art and future challenges[A]. In: Proceedings of international congress "applications of biotechnology to forest genetics"[C], Vitoria-Casteiz: Biofor, 1999. 331-338
- [69] James R R, Croft B A, Strauss S H. Susceptibility of the cottonwood leaf beetle (*Coleoptera chrysomelidae*) to different strains and transgenic toxins of *Bacillus thuringiensis*[J]. *Environmental Entomology*, 1999,28(1):108-115

Genetic Engineering of Forest Trees

SU Xiaohua, ZHANG Bingyu, HUANG Liejian, HUANG Qinjun, ZHANG Xianghua

(Research Institute of Forestry, CAF, Beijing 100091, China)

Abstract : This review summarizes the research advance in genetic transformation of forest trees, including the following aspects: insect-resistance, disease-resistance, herbicide-resistance, modification of reproductive development, abiotic-stresses, wood-property improvement and the status of release and application of transgenic trees. Meanwhile, the general situation of basic research in transgenic forest trees are also reviewed. The problems and future prospects in genetic transformation of forest trees are discussed.

key words : forest tree; genetic engineering; research progress