

CRISPR/Cas9 技术在大豆抗病虫 育种中的应用前景

徐杰飞 郭 泰 王志新 郑 伟 李灿东 赵海红 张振宇 郭美玲

(黑龙江省农业科学院佳木斯分院,佳木斯 154007)

摘要:为减少大豆病虫害对我国大豆产量及品质的影响,需尽快培育出大豆抗病虫品种。将现有的抗病虫育种方法进行了优缺点的分析,并阐述了 CRISPR/Cas9 技术的优点以及在大豆育种中的应用现状,经过综合分析提出该技术的应用能够加快大豆抗病虫育种的效率,并为生产提供理论基础,因此,CRISPR/Cas9 技术在大豆抗病虫育种中具有很好的应用前景。

关键词:大豆病虫害;转基因育种;CRISPR/Cas9 技术

大豆是世界上主要的粮食作物之一,其含油量较高,是重要的油料作物之一,又由于其蛋白质含量也很高,具有很高的营养价值。现在食品加工和工业技术发展较快,使得大豆的用途更加广泛,如大豆冰淇淋^[1]、大豆酸奶^[2]等。人们对大豆需求量越来越大,我国大豆的产量早已不能满足人们的需求,造成大豆产量低的原因有很多,病虫害是很重要的因素之一,病虫害同时也影响其质量。为了减少大豆病虫害对产量的影响,众多防治方法中最为有效的办法是选择抗病品种,因此,抗病虫品种的培育就显

得尤为重要。培育大豆的抗病虫品种一般通过常规育种、分子育种、转基因育种,其中常规育种育种年限长,具有物种界限等缺点;转基因育种,人们对其安全性争议较大;CRISPR/Cas9 技术的出现可能会消除人们对转基因安全性的顾虑。CRISPR/Cas9 技术可能会推动大豆抗病虫育种的进程,为大豆抗病虫育种提供一种新的途径。

1 大豆病虫害

目前对我国甚至全世界大豆产量和质量影响较大的病虫害主要有 3 种:疫霉根腐病、花叶病毒病、孢囊线虫病^[3];另外在我国东北地区,灰斑病对大豆的产量影响也较为严重。生产上应用化学防治和耕作栽培措施能够降低一定的产量损失,但这些

基金项目:生物育种科技重大专项(2019ZX16B01);黑龙江省农科院成果转化中试项目(2020ZSXM008)

通信作者:郭泰

由 20 世纪 70 年代末的每年 2658h 降至 2016 年的 2401h^[8-9]。所以利用 PA 血缘或者先玉 335 母本类血缘为主的种质资源时,在京津唐夏播区须关注光温敏感度问题。近几年来不断有公司在试图攻占该生态区,随着我国种业竞争进一步加剧,或有越来越多的种业人关注此区域,该区域的玉米育种、生产水平一定会快速得到提升。

参考文献

- [1] 杨国航,孙世贤,张春原,刘春阁,赵久然. 京津唐夏播早熟玉米区玉米生产现状和发展趋势. 种子, 2007, 26 (2): 86-88
- [2] 赵久然,郭强,郭景伦,尉德铭,王长武. 从唐抗 5 号看北京市夏玉米新品种的选育目标. 北京农业科学, 1997, 15 (1): 14-16

- [3] 吴绍宇,周润民,聂长松. 夏玉米新品种唐抗 5 号的特征特性及栽培技术. 北京农业科学, 1995, 13 (3): 12-13
- [4] 闫玉基,张佩兰,程柱. 玉米新品种:纪元 1 号. 农业科技通讯, 2006 (11): 56
- [5] 叶翠玉,张春原,张华生. 不同种质密度对玉米新品种京农科 728 主要农艺性状及产量的影响. 中国种业, 2015 (1): 50-51
- [6] 石云翔,杜静,孙志友,路明远,任佳伟,邢春景. 京津冀三地联合审定夏玉米新品种 NK815. 中国种业, 2017 (9): 75-76
- [7] 李元华,刘学锋,刘莉,张梅. 河北省近 50 年 0℃界限温度积温变化特征分析. 干旱区资源与环境, 2006, 20 (4): 12-15
- [8] 王遵亲,丁一汇,何金海,虞俊. 近 50 年来中国气候变化特征的分析. 气候学报, 2004, 62 (2): 228-236
- [9] 李慧群,付遵涛,闻新宇,黄建斌. 中国地区日照时数近 50 年来的变化特征. 气候与环境研究, 2013, 18 (2): 203-209

(收稿日期: 2020-04-13)

措施能够起到的作用有限,且化学防治还会有环境污染等缺点;又由于这些病害的生理小种会随着时间的推移产生变异,防治会更加困难。因此,培育抗病虫品种就显得尤为重要,能从根本上解决问题,并且是目前最为经济有效的手段。

2 抗病虫品种的培育方法

可以通过传统的育种手段,通过遗传改良,抗性基因的聚合培育抗病虫品种,但由于其育种周期长、预见性差并且不能利用外源的抗性基因等缺点,使得新品种的培育比较困难。现在随着分子生物学、基因工程的发展,使得转基因技术发展较快,转基因技术可以将抗性基因聚合,甚至可以打破物种界限引用外源抗性基因,目前应用转基因技术来达到改良作物抗性,已经得到了很广泛的应用;但转基因一般会引入外源基因,所以人们对转基因食品安全性有所担心。

3 CRISPR/Cas9 技术在大豆中的应用

近年来,随着 CRISPR/Cas9 技术的出现,其能够识别目标基因并进行切割,在细胞中又具有核酸修复机制,因此在这个过程中能够引起基因突变或缺失,由于在整个过程中不会引入外源基因,因此,美国将 CRISPR/Cas9 技术编辑过的作物定义为非转基因作物。CRISPR/Cas9 技术已经应用于大豆^[4]、玉米^[5]、水稻^[6]等作物。

在玉米、水稻、番茄等作物中 *DDM1* 是维持基因组甲基化水平的重要调节因子,利用 CRISPR/Cas9 技术在大豆中创制了 *Gmddm1* 突变体,大豆 *Gmddm1* 突变体由于 *DDM1* 基因突变降低了基因组 DNA 甲基化水平,并且 *Gmddm1* 突变体在田间表现和对照相比分枝增多、植株矮化并且易断枝,单株产量降低^[7]。

WRINKLED (WRI) 在大豆油脂合成中具有关键作用,在大豆中利用 CRISPR/Cas9 技术将 *WR11a* 基因的表达进行抑制,甚至是沉默,创制 *GmWR11a* 基因突变体,研究发现转基因突变体植株中糖酵解和脂肪合成相关基因的表达量下降,揭示了 *WR11a* 基因在大豆中增加油分含量发挥作用机理^[8]。

4 大豆病虫害基因的相关研究

Wang 等^[9] 通过农杆菌介导的方法将带有 SMV 3' -UTR 的 CP 基因转入感大豆花叶病毒的大豆品种,结果发现转基因植株对大豆花叶病毒具有一定的抗性。几丁质是真菌细胞壁的成分之一,如果植物中存在几丁质酶,几丁质酶能够分解真菌细胞壁,使

得真菌死亡。Salehi 等^[10] 采用农杆菌介导的方法将来自菜豆的几丁质酶插入到 pBI121 载体上,并转入到感立枯丝核菌的大豆品种中,通过 PCR 分子检测出阳性转基因植株,并将叶片进行立体鉴定,发现与其对照相比,能有效控制立枯丝核菌在叶片上的蔓延,说明转基因植株对立枯丝核菌具有一定的抗性。

5 展望

CRISPR/Cas9 技术编辑的植物,能减少人们对转基因食品安全的担忧,同时该技术也是转基因育种技术的一次革新,会加快转基因育种的发展进程,可以结合前人对大豆抗病和感病基因的研究,利用 CRISPR/Cas9 技术进行基因的编辑,能够加快大豆的抗病虫育种进程,从而降低大豆在病虫害方面的产量损失。

参考文献

- [1] 许娜,贾宁,生庆海,王安平,刘云鹏,陈望华,刘卫星. 大豆冰淇淋中豆浆发酵技术的应用及稳定性研究. 食品研究与开发,2010,31 (7): 23-26
- [2] 徐泽琦,周芳,李雪琪,吕志华,于雪枫,马玲. 甜菊糖苷低糖大豆发酵酸奶的工艺研究. 农产品加工,2019 (10): 29-32
- [3] 王武全,余麟,曾德志,向仕华,李霖超,杨华伟. 大豆抗病、耐逆性的研究进展. 南方农业,2018,12 (15): 7-9
- [4] Jacobs T B, LaFayette P R, Schmitz R J, Parrott W A. Targeted genome modifications in soybean with CRISPR/Cas9. BMC Biotechnology, 2015, 15 (1): 16-25
- [5] Qi W, Zhu T, Tian Z, Li C, Zhang W, Song R. High-efficiency CRISPR/Cas9 multiplex gene editing using the glycine tRNA-processing system-based strategy in maize. BMC Biotechnology, 2016, 16 (1): 58-65
- [6] Jiang W, Zhou H, Bi H, Fromm M, Yang B, Weeks D P. Demonstration of CRISPR/Cas9/sgRNA-mediated targeted gene modification in arabidopsis, tobacco, sorghum and rice. Nucleic Acids Research, 2013, 41 (20): e188
- [7] 马爽. 利用 CRISPR/Cas9 系统构建大豆 *GmDDM1* 突变体及功能解析. 哈尔滨: 东北林业大学, 2019
- [8] 闫丽. 利用 CRISPR/Cas9 技术创制大豆 *GmWR11a* 基因突变体. 哈尔滨: 东北农业大学, 2017
- [9] Wang X Y, Eggenberger A L, Nutter F W, Hill H J. Pathogen-derived transgenic resistance to soybean mosaic virus in soybean. Molecular Breeding, 2001, 8 (2): 119-127
- [10] Salehi A, Mohammadi M, Okhovvat S M, Omid M. Chitinase gene transformation through Agrobacterium and its explanation in soybean in order to induce resistance to root rot caused by Rhizoctonia solani. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 2005, 70 (3): 399-406

(收稿日期: 2020-04-14)