

年度考核报告

2014 年度

山地植物资源保护与种质创新省部共建教育部重点实验室

2014 年 12 月 30 日

一、实验室管理与平台建设工作

1、积极配合农业部农业转基因生物安全监管检查

2014年9月26日农业部科教司转基因生物安全与知识产权处寇建平处长和中国农学会学术交流处安岩副处长到贵阳检查农业转基因生物安全监管工作。实验室积极配合检查工作,认真准备汇报材料,并进行汇报。农业部对实验室的农业转基因生物安全工作给予高度评价。

2、喀斯特山区植物资源利用与育种国家地方联合工程研究中心建设

2014年10月29日贵州省发展与改革委员会张晓萍副主任一行调研喀斯特山区植物资源利用与育种国家地方联合工程研究中心建设情况。工程中心的分子育种实验大楼已进入竣工阶段,大楼的内部装修招标工作即将展开。

3、南区分析测试中心工作

南区分析测试中心本着服务全校教学科研,服务地方经济的宗旨,按照年初计划逐步展开工作。

①正常运行扫描电镜、透射电镜、超临界萃取仪、电镜制样装置、氨基酸自动分析仪、原子吸收分光光度计。所有设备开机运行时间达到每台480机时。扫描电子显微镜及能谱仪共检测样品1200个左右,透射电子显微镜共检测样品300个左右,超临界萃取仪共检测样品约100个,氨基酸自动分析仪共检测样品约450个左右,原子吸收分光光度计共检测样品约200个左右。

②承担研究生、本科生《电镜技术》、《生物显微与超微技术》课程的实验教学任务。共完成生物科学2013级50人《生物显微与超微技术》2400生时数的实验教学工作。承接《仪器分析》、《理论物理》

等实验教学参观课程 300 生时数。

4、 转基因植物试验示范基地建设

2014 年转基因植物试验示范基地主要承担植物材料种植、保种、杂交育种及特色资源圃种植等任务，为国家 863 计划“特色植物功能基因组学研究与应用”子项目、国家自然科学基金项目、贵州省重大科技专项计划、贵州省中药现代化科技产业研究开发专项等科研课题提供支持，建有杜仲 (*Eucommia ulmoides* Oliv.) 种植圃、头花蓼 (*Polygonum capitatum* Buch.-Ham. ex) 种植圃、水稻种植圃、玉米 (*Zea mays* L. , JIAO 51) 种植圃、贵州黄平线椒 (*Capsicum frutescens*.L) 种植圃、朝仓花椒 (*Nicotiana rustica*) 种植圃和贵州小黄姜生物工程产业化研究种植圃。

2014 年转基因植物试验示范基地温室大棚维修、品种指示牌制作花费了 9780 元。

5、 抓好仪器设备论证和管理

实验室在仪器管理上采用“统一管理，责任到人”的管理方法，每台科研仪器都有专职教师和研究生（协管）共同管理，仪器损坏及时联系维修，提高设备使用效率。本年度实验室利用课题经费维修仪器共 10460 元，报废 2001-2004 年间购买的仪器 24 台，总价值 729416 元。接收生命科学学院、农学院、林学院和动物科学学院等单位研究人员使用仪器设备。促进实验室开放度和实验室研究资源共享。

2014 年完成生命科学实验共享平台提升计划 1500 万元大型设备的论证工作。

6、 狠抓实验室安全管理

实验室严格按照《农业转基因生物安全管理条例》的要求，对实

实验室进行日常管理。坚持对新进实验室研究人员开展安全培训，合格者才能进入实验室做实验。实验室安全管理责任以实验房间为单位具体落实到人，具体安全责任人要求 24 小时保持手机畅通，做到环环紧扣，以预防为主，提前消除隐患。2014 年 9 月 28 日对全院师生和开放平台申请使用人员进行实验室安全管理培训，对新进人员进行重点考核，考核不合格者不允许进入实验室。

二、 加强学科与人才队伍建设

2014 年 12 月 3 日“贵州省植物基因工程创新人才团队”验收结题，获得较高评价。通过引进和培养的方式，夯实现有基础，进一步加强科技创新人才队伍建设，建成农业生物工程人才培养基地。团队已经建成了特色鲜明、充满活力的植物分子生物学与基因工程、树木基因工程与分子细胞生物学和动物基因工程与分子生物学三个主要研究方向，在此三个方向上培养了一批青年优秀科技骨干。

2014 年实验室赵德刚教授和王嘉福教授获得贵州省“核心专家”殊荣。

三、 积极开展科研工作

积极推动实验室科学研究工作，2014 年实验室组织教师积极申报国家自然科学基金、贵州省科技厅农业攻关和贵州省科学技术基金并获立项。实验室获准立项共 15 项。目前在研项目有国家自然科学基金、贵州省科技厅农业攻关、贵州省省长基金、贵州省自然科学基金等国家及省部级重大项目 80 项。2014 年发表学术论文 68 篇。

部分研究进展：

1) 新品种选育与优良性状株系筛选

玉米自交系 BAKL 的培育及鉴定。利用传统杂交育种技术培育新型玉米自交系 BAKL。以 B73 为母本，8112 为父本进行杂交，获得基础群体材料 B73×8112，次年套袋自交，第三年从基础群体中选择符合选育目标要求的优良单株再进行套袋自交，育成自交系 BAKL。利用 SSR 分子标记方法对获得的自交系进行亲缘关系鉴定，结果表明，BAKL 与 B73 相似性达到 79.17 %，与 8112 相似性达 68.57 %，其籽粒颜色、籽粒类型、穗形等部分农艺性状保留了亲本的特征，但株高等大部分性状发生了变化。后期研究发现该自交系具有高效组织培养再生能力，是玉米转基因研究的良好材料。

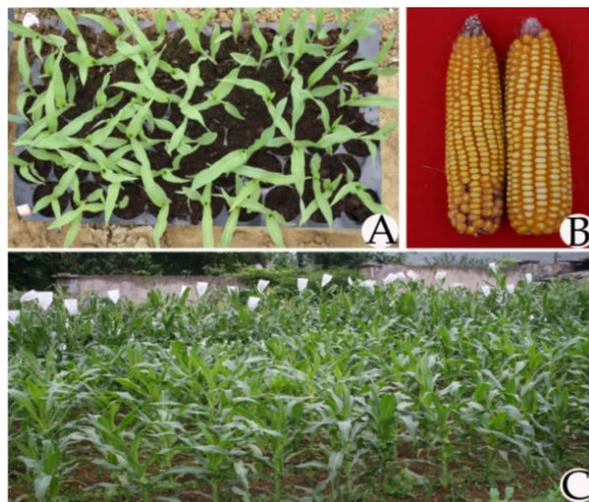


图 1 自交系幼苗 (A)、果穗 (B)、及田间生长的植株 (C)

水稻突变体优良性状株系筛选。构建贵州香禾与日本晴、平塘黑糯、*bgsd-1* 突变体的 F1 代杂交群体，获得穗型大、穗粒数增加的杂交后代；从黎平杂边禾×平塘黑糯的 F2 代中筛选出中具有半矮化、大穗的单株进行种植，对获得的具有半矮化的 F3 代进行农艺性状考察。从平塘长粒少分蘖与平塘野生型杂交的 F3 代中筛选出 4 份具有

长粒、大穗型分蘖正常的杂交后代。同时和平塘长粒少分蘖与培矮 64 杂交后代中筛选出 5 份具有长粒性状的单株，其中 1 份为长粒黑色种皮。

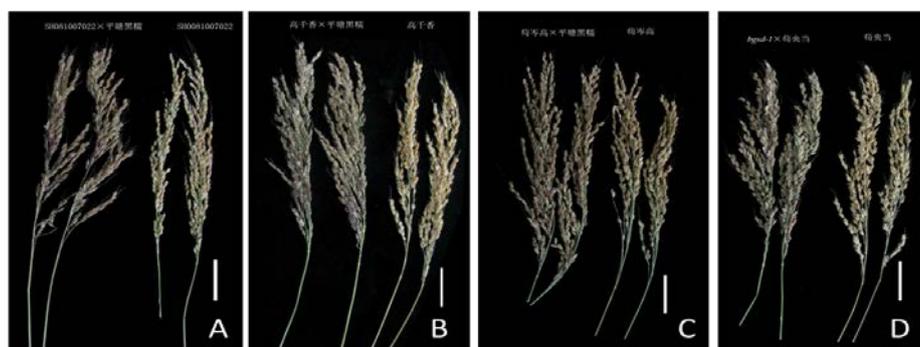


图 2 贵州禾与黑糯杂交 F1 代穗部表型



图 3 培矮 64 与长粒少分蘖杂交 F3 代籽粒性状 bar=1cm

2) 贵州地方稻种突变体库构建、筛选、鉴定与考察

团队项目组以 EMS 处理水稻成熟种子，获得 EMS 处理的贵州地方稻种：有来拢 229 份家系、镇远猴糯 98 份家系、平塘黑糯 233 份家系、平塘黑糯 2000 份突变家系，黎平杂边禾（SH08043）3000 份突变家系。对处理的 M_2 代水稻群体进行突变体筛选，建立了水稻突变体库。对获得的水稻突变体家系进行了筛选和鉴定，从中获得连续种植两代未出现分离的水稻突变体共 32 份。对获得的平塘黑糯突变体进行农艺性状考察。2013 年又获得黎平杂边禾突变体 22 份，包括矮化及半矮化突变体 4 份，单分蘖突变体 1 份，大粒突变体 8 份，小粒突

变体 3 份，长粒突变体 1 份。

表 1 获得的能稳定遗传的水稻突变体

来拢相关突变体	平塘黑糯突变体	黎平杂边禾突变体
来拢稍大粒	平塘黑糯半不育	黎平杂边禾半矮化 1
来拢高秆多分蘖	平塘黑糯半矮化直立穗	黎平杂边禾半矮化 2
来拢小粒无芒 1	平塘黑糯细长粒 1	黎平杂边禾半矮化 3
来拢小粒无芒 2	平塘黑糯细长粒 2	黎平杂边禾半矮化 4
来拢大粒 <i>bs-1</i>	平塘黑糯细长粒 3	黎平杂边禾半矮化 5
来拢小粒矮化 1	平塘黑糯半矮化	黎平杂边禾半矮化 6
来拢小粒矮化 2	平塘黑糯白穗轴 1	黎平杂边禾半矮化 7
来拢黄绿叶 <i>yg1-8</i>	平塘黑糯白穗轴 2	黎平杂边禾半矮化 8
来拢半矮化	平塘黑糯少蘖长粒 <i>bl</i>	黎平杂边禾大穗
来拢小圆粒 <i>srd</i>	平塘黑糯半矮化突变体 <i>bgsd-1</i>	黎平杂边禾小粒矮化 <i>ssd-1</i>
	平塘黑糯半矮化突变体 <i>bgsd-2</i>	
	平塘黑糯开颖突变 1	

平塘黑糯半矮化突变体 *bgsd-1* 研究。研究表明，*bgsd-1* 半矮化突变体株高为正常植株的 54%，各节及穗长均较对照减半，属于 NL 突变类型，其表现出半矮化、节间长缩短、穗长、粒长、剑叶长均缩短，叶色深绿，分蘖数增加等性状，苗期突变体苗及根生长均弱于对照。突变体株型分散，抽穗开花正常，但株高、总穗粒数、有效粒数及千粒重、剑叶长度、粒长与野生型存在显著差异。其籽粒外稃腺毛减少、变短，籽粒护颖变长。其成熟时结实率低（仅为 47.5%）是由于花粉粒半不育所引起的。

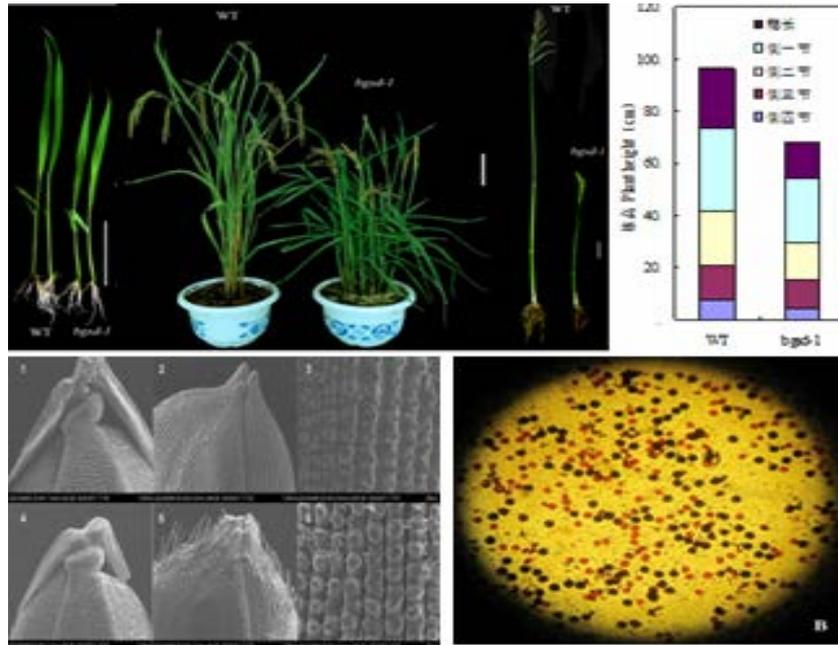


图 4 平塘黑糯半矮化突变体 *bgsd-1* 特征

平塘黑糯半矮化突变体 *bgsd-1* 矮化机制研究表明，突变体半矮化是节间缩短导致，表皮细胞长度缩短是导致突变体半矮化的原因之一。暗形态建成研究表明，*bgsd-1* 突变体不是 BR 合成及信号转导途径相关的突变，但突变体对外源 GA 敏感，喷施 GA₃ 可使突变体株高可恢复至野生型高度，内源活性赤霉素含量降低是引起其矮化的一个主要原因，突变体体内 GA 合成相关基因的下调和钝化有活性 GA 的基因上调，导致了突变体的内源 GA 含量比正常植株低，从而导致突变体植株株高降低。以 *bgsd-1* 为父本和母本，分别与其野生型、粳稻日本晴、来拢，籼稻 9311、培矮 64 杂交，对杂交 F1 代进行农艺性状考察发现，矮化突变为隐性突变，杂交 F2 代正反交测定结果表明 *bgsd-1* 植株矮化是单基因突变所致。

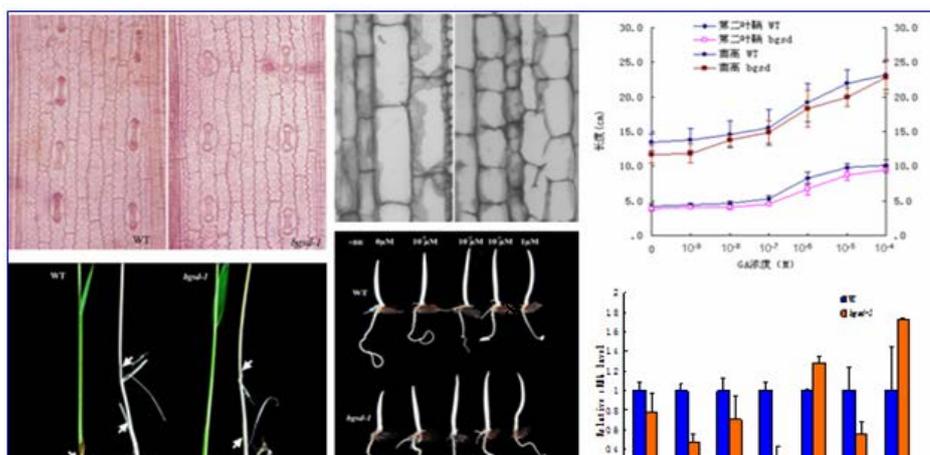


图 5 *bgsd-1* 矮化机制研究

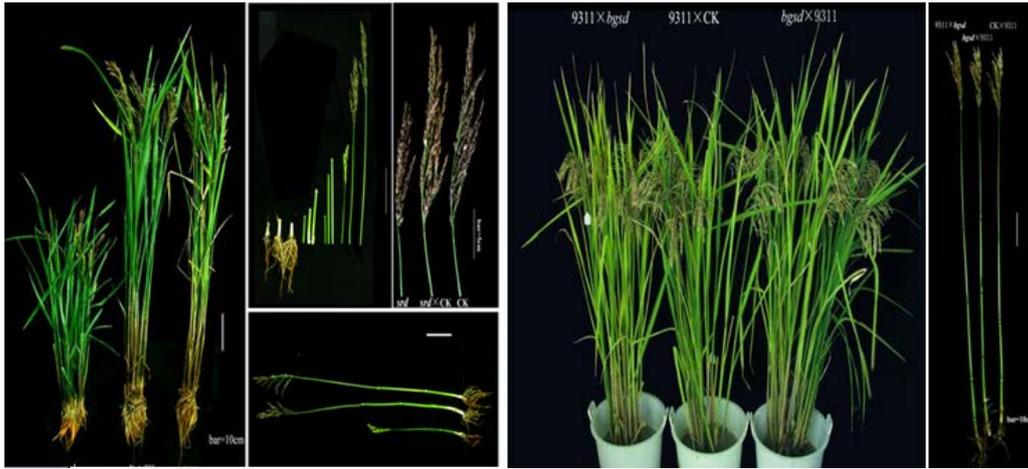


图 6 半矮化突变体与野生型及 9311 对照杂交 F1 植株形态

3) 安全转基因技术应用研究

共转化技术研究 项目组以质粒 pSH737 进行改造，构建了不含标记基因和报告基因的植物表达载体 pSH-TH，研究烟草共转化技术。该载体含有 2 个功能基因的表达元件，一个是以 *N. tabacum Ubi. U4* 基因的启动子驱动野生黄花烟草单显性抗病基因 *CM*、*Ubi. U4* 终止信号为终止子的表达元件；另一个表达元件是以 *N. tabacum* 的 *rbcs* 基因启动子驱动烟草 K⁺ 转运蛋白基因 *NtHAK1*、*N. tabacum Ubi. U4* 的终止信号为终止子的表达元件，载体中各基因序列均来源于烟草 (*Nicotiana tabacum*)。其 T-DNA 区段仅含 *HAK1* 及 *CM* 目的基因，不含标记基因。利用共转化法将 pSH-TH 表达载体与仅含 *GUS::NPTII* 基因的 pSH737 表达载体共转化烟草 K326，成功获得抗性

植株 171 株，抗性植株经 GUS 组织化学染色和 *Ubi. U4-CN* 片段的 RCR 鉴定，共获得 32 株 T_0 代植株。选择其中表型差异明显的 8 个 T_0 代株系，通过自交获得了 131 株 T_1 代烟株，对部分 T_1 代烟株再通过 GUS 组织染色、*Ubi. U4-CN* 片段 RCR 扩增筛选出无选择标记的 T_1 代植株 43 株，对其中部分植株的 PCR 产物测序及 Southern 分析，证明外源基因已成功整合到烟草基因组中，而且不同 T_1 代烟株的外源基因拷贝数不同，三个株系分别检测到了 1-3 条杂交带。pSH-TH 和 pSH737 两种植物表达载体不同菌液体积比 ($V_{\text{pSH-TH}} : V_{\text{pSH}}$ 分别为设置了 1 : 1、2 : 1、3 : 1、4 : 1) 四中处理，共转化烟草叶片后，其中菌液比为 2:1 时的共转化率最高，为 27.91%；1:1 次之，为 20.00%；3:1 处理的共转化率为 19.35%；而 4:1 的最低，为 10.00%。说明在用这两种载体共转化烟草时，选用 2:1 的体积比可以获得比较高的共转化率。

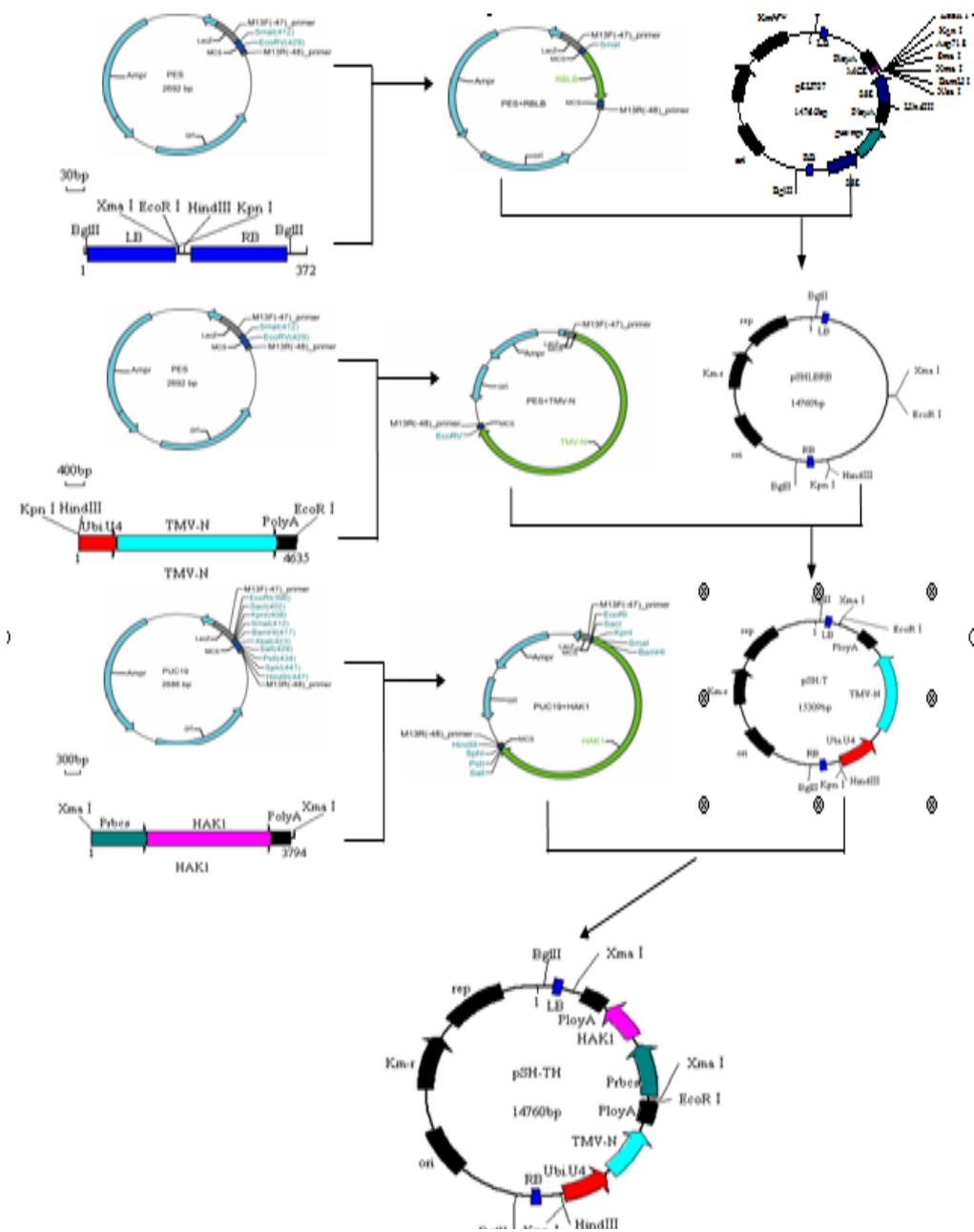


图 7 pST-TH 植物表达载体的构建路线

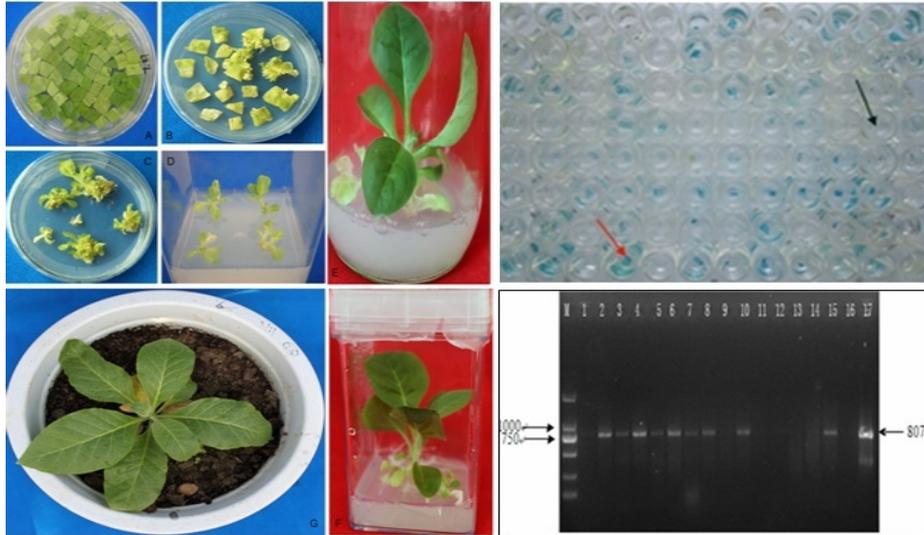


图 8 烟草的遗传转化与 T1 代转基因烟草的 GUS 染色和 PCR 检测

Cisgenesis 技术研究 为研究 Cisgenesis 技术转化同源基因创制安全转基因产品，设计了水稻 P-DNA 序列功能验证表达载体和全部来源于水稻自身的载体表达元件的水稻同源转化表达载体 pCAMBIA-T-DNA 和 pCAMBIA-P-DNA；并构建同样的 pCAMBIA-P-35S、pCAMBIA-T-35S 、 pCAMBIA-P-Actin1 、 pCAMBIA-T-Actin1 、 pCAMBIA-P-GUS、pCAMBIA-T-GUS 3 套载体，携带水稻 Actin11 启动子驱动水稻 ALS 功能及筛选标记基因片段。采用农杆菌介导法将水稻上述载体转化烟草叶片，通过潮霉素抗性筛选获得含有潮霉素抗性基因的转基因烟草植株。水稻 P-DNA 载体通过农杆菌介导法将瞬时表达载体和对照载体转化水稻幼胚 GUS 瞬时表达检测，转化两种载体的幼胚均检测到蓝色信号，结果显示在水稻中 P-DNA 序列同样具有功能。研究表明，水稻 P-DNA 序列同 T-DNA 序列一样具有功能，可作为传统 T-DNA 边界的替代物，由于 P-DNA 来源于植物，所以提高了转基因安全性。

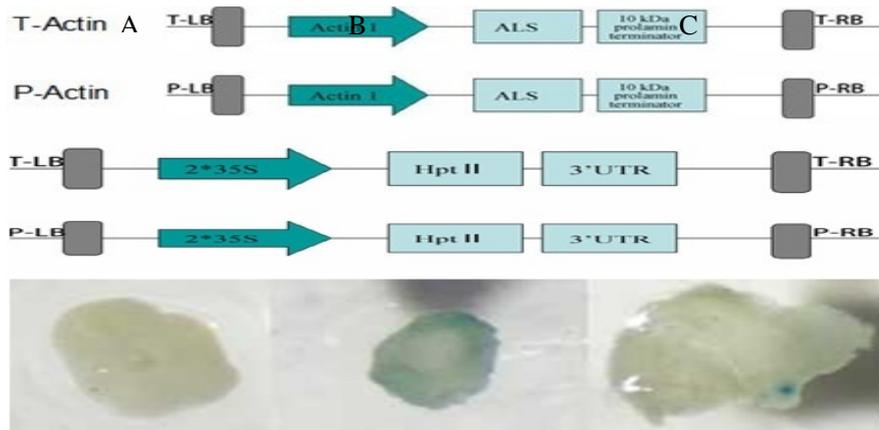


图 9 质粒载体结构及其转化水稻幼胚愈伤组织 GUS 化学染色

4) 优异木本植物的基因资源发掘与评价

实验室收集、保存了樱桃、苹果、梨、马尾松等植物种质 200 余份，并利用现代生物技术对其亲缘关系、遗传多样性、DNA 指纹图谱、主要农艺/经济性状及生态适应性等进行了较系统研究，发掘了一些极具开发潜力的基因资源等。选育大樱桃新品系 1 个，早果优质梨新品系 1 个；筛选出对大樱桃根瘤病高抗的基因资源 2 份，发掘大樱桃矮化、早果、抗根瘤病且亲和性良好的砧木资源 1 份，发掘火龙果抗寒种质 1 份，苹果耐旱砧木资源 1 份，发掘马尾松耐低磷新家系 1 份。利用细胞工程技术，探索出火龙果、马樱杜鹃、樱桃、半夏等植物离体诱变技术体系，获得一批突变新种质。这些技术体系及新种质为进一步遗传改良奠定了坚实的技术和物质基础，具有重要的理论和实际意义。

5) 中国地方猪种优异特色性状的功能基因组学研究

国家 863 计划课题“中国地方猪种优异特色性状的功能基因组学研究”从 2014 年 1 月 1 日开始实施，主要以我国具有特色的地方猪种

为对象，系统开展功能基因组学研究。对整个从江县香猪养殖、繁殖状况的调查，并分别对高产和低产群体进行引种，建立种群繁殖养殖场。基于高产与低产香猪个体的全基因组 60K SNP 芯片数据，在全基因组范围内首次检测香猪产仔数这一数量性状相关的变异位点或基因，并对某些潜在关联的基因进行功能注释。采取 98 头从江香猪的血液或组织提取基因组，委托博奥公司进行 SNP 芯片分型。从江香猪样品的采集和基因组的提取，并委托北京博奥公司进行 SNP 分型并完成部分位点的 AS-PCR 验证。采用荧光定量 PCR 对推断的 CNVRs 作了准确性验证。构建了香猪全基因组 CNVRs 图谱。对所有 CNVRs 内的基因进行了注释，发现了与繁殖性状相关基因的拷贝数变异。

四、加强研究生培养管理及教育工作

实验室与生命科学学院合作，共同加强生物学一级学科博士点及植物学、细胞生物学和生物化学与分子生物学三个二级学科博士点的建设工作。完成了 2014 年生物学博士和硕士的招生和管理工作，组织各硕士点研究生的入学复试。组织生物学点博士研究生、生物工程专业和生物化学与分子生物学专业硕士研究生完成开题报告和中期考核。在 2014 年 12 月 7 日组织完成农药学和植物调控与化学专业博士研究生毕业答辩。

五、加大对外交流与合作

实验室组织承办全国性学术会议活动 2 次，组织研究人员参加全国性学术会议 19 人次，邀请国内外著名专家做学术报告 7 次，接待省内外同行参观考察 23 人次。

承办的学术会议

1. 由中国科技大学发起，由贵州大学主办，贵州大学农业生物工程实验室、贵州大学生命科学学院和贵州大学实验室与设备管理处共同承办的“第七届中国生命科学公共平台管理与发展研讨会”于 2014 年 7 月 25 日-26 日在贵州大学举行，来自清华大学、中国科技大学、复旦大学等全国 25 所高校及研究所 70 多人参加了会议。本次大会是为了探讨生命科学公共平台的建设规律，交流管理经验，以便为能充分发挥大型仪器设备的使用效率与功能，促进各单位之间的相互交流和学习。会议取得了圆满成功，参会代表对贵州大学有更多、更新的认识，对大会会务组工作的认真、耐心、负责给予了高度的评价。
2. 中国植物生理与植物分子生物学学会第十一次会员代表大会暨全国学术年会于 8 月 5-8 日在贵州贵阳召开，来自全国 29 个省、市、自治区的近 800 位代表参加会议。会议由中国植物生理与分子生物学学会、中科院上海生科院植物生理生态研究所共同主办，贵州大学、贵州植物生理与植物分子生物学学会、上海市植物生理学会承办。实验室师生负责具体会议会务工作。本次大会共收录了 330 篇论文摘要。特邀李家洋、张启发、朱健康、邓兴旺、韩斌、朱玉贤、陈晓亚、马红、万建民 9 位院士、专家做了大会主题报告，代表了植物生物学近年快速发展的多个领域。

参加的学术会议

3. 赵德刚教授、赵懿琛副教授、博士生曾晓芳、戴焱及硕士研究生李磊参加在福建厦门国际会议中心召开的中国生物化学与分子生物学会第十一次会员代表大会暨 2014 年全国学术会议。赵德刚教授再次当选中国生物化学与分子生物学会理事并参加了第十一届理事会第一次理事会议。实验室共发表 3 篇会议论文摘要, 2014. 8. 21- 23
4. 博士研究生韩丽珍参加在沈阳市召开的第十一届全国生物多样性科学与保护研讨会, 2014. 8. 14-16
5. 赵德刚教授、韩丽珍副教授、吕立堂副教授、李岩讲师、博士研究生曾晓芳和刘延波参加在安徽屯溪召开的全国农业生物化学与分子生物学会第三届全国代表大会暨第十三次学术研讨会，李岩讲师及博士生刘延波还参加了本次大会第五届青年论坛分别作“水稻 *os1t1* 突变体少分蘖机制研究”及“超量表达玉米 *SDD1* 基因 (*ZmSDD1*) 提高玉米抗旱性研究”报告。李岩讲师还获得本届青年论坛优秀论文二等奖，刘延波获得青年论坛优秀论文奖。本次会议进行了中国生物化学与分子生物学会农业生

物化学与分子生物分会理事会理事换届大会，并选举产生第三届理事会，我校赵德刚教授当选本届中国生物化学与分子生物学会农业生物化学与分子生物分会理事长。

6. 文晓鹏，乔光，杨鵬，2014 年果树分子生物学与基因组学学术研讨会，武汉华中大学，2014. 10. 18-20.
7. 文晓鹏，乔光等，中国植物生理与植物分子生物学学会，第十一次会员代表大会暨全国学术年会，贵阳，2014. 8. 5-8
8. 文晓鹏，乔光等，2014 中国樱桃年会，郑州，2014. 5. 12-15

外校专家学术报告

1. 2014 年 1 月 13 日晚上，海南师范大学杨国峰博士到实验室做了《PRSV 编码基因同源 dsRNA 的原核表达及其抗番木瓜环斑病毒的研究》学术报告，杨国峰是海南师范大学教授，于 2012 年博士毕业，主要开展抗番木瓜环斑病毒相关研究。
2. 2014 年 3 月 27 日，西北农林科技大学李竞教授受邀来实验室与全体师生进行学术交流。交流会由王嘉福副院长主持，李竞教授就其国内外研究经历，研究方向进行了交流，目前致力于提高植物蛋白含量的工作。
3. 2014 年 3 月 27 日，美国康涅狄格大学 LiYi 教授受邀来实验室与全体师生做学术交流。LiYi 教授针对实验室水稻基因工程改良研究提出很多宝贵的建议。
4. 2014 年 8 月 4 日，北京大学白书农教授受邀来实验室与全体师生做学术交流。白教授详细介绍了他的研究内容，并介绍了他本人走上科研道路的经历，鼓励同学们要不怕辛苦，机会总是留给有准备的人。
5. 2014 年 9 月 17 日，全国政协委员、原国家林业局副局长李育材教授做《中国油用牡丹发展的战略思考》学术报告。
6. 2014 年 10 月 8 日，美国康涅狄格大学 LiYi 教授带领他在南京农业大学的科研团队骨干受邀到实验室就《国家转基因新品种培育重大专项》的研究内容和研究进展进行协商，并和全院师生对“安全转基因技术”进行学术座谈。
7. 2014 年 10 月 20 日，美国田纳西大学 Robert Trigiano 做《Assessing Genetic Diversity of Viburnum Species with Simple Sequence Repeats》学术报告，Robert Trigiano 教授在 2011 年 10 月被我校聘为客座教授，三年来 Robert Trigiano 教授与实验室展开科研合作，每年来学校为师生讲课，并和实验室联合培养博士研究生，今年 Robert Trigiano 教授续聘为我校客座教授。

接待来访

1. 2014 年 7 月 12 日，湖南科技大学和岭南师范学院教师一行 13 人到实验室参观考察。
2. 2014 年 8 月 15 日，贵阳市园林科研所娄玉龙实验室一行 5 人到实验室参观考察。
3. 2014 年 8 月 16 日，青海农科院王舰副所长到实验室参观考察。
4. 2014 年 10 月 17 日，中国科协副主席陈章良教授莅临实验室参观指导，并为全院师生作了生动精彩的报告。
5. 2014 年 10 月 29 日，贵州省发改委张晓萍副主任一行 3 人到实验室调研，视察喀斯特山区植物资源利用与育种国家地方联合工程研究中心大楼建设情况。

六、 科技下乡、服务三农

2014 年实验室多次组织专家团、博士团前往六盘水市、凯里市、从江县、息烽县开展科技下乡活动。对水城县米箩乡的贵州省猕猴桃产学研基地进行实地调研。针对猕猴桃基地的苗木繁育、无公害栽培技术、新品种选育及市场前景等进行实地考察和现场技术指导。对大风洞老君寨无公害蔬菜基地实地调研，专家们下到田间地头，仔细查看早春蔬菜长势，解答农民提出的各种疑难问题，指导农民掌握土地轮作、农膜更换、茬口安排等种植要领。到大风洞杉树林村万亩水晶葡萄种植基地对葡萄换种改良工作进行现场指导。针对从江县香猪养殖产业发展中资源保护与利用、香猪养殖关键技术进行技术培训，从江县农业局、香猪产业办、有关乡镇技术骨干等 20 多人参加了培训，并在从江县香猪保种场进行实地操作指导。专家组三次前往息烽县温泉镇三交村对当地农民培训花椒种植技术。

七、 实验室教学工作

实验室教师积极承担教学任务，本年度承担了本科生《生命科学导论》、《高级分子生物学》，硕士研究生《分子生物学》、《基因工程原理与技术》、《基因表达与调控》、《植物细胞工程》；博士研究生《基因工程研究进展》、《调控生物学研究新进展》等课程。