

文章编号: 1003-8701(2001)04-0019-04

植物基因工程在农业生产中的应用

程业明¹, 王玉民², 刘国金¹, 周波¹, 姜虎生¹, 陆静梅¹

(1. 东北师范大学生命科学学院植物教研室, 吉林 长春 130024;

2. 吉林省农科院生物技术重点实验室, 吉林 公主岭 136100)

摘要: 植物基因工程是 20 世纪末迅速发展起来的新兴生物技术, 它的出现为农业生产提供了前所未有的机遇和挑战, 尤其是在作物的抗病、抗虫、抗除草剂、抗逆及品种改良等方面提供了更为广阔的应用前景。

关键词: 基因工程; 转基因植物; 抗性

中图分类号: Q943.2

文献标识码: A

1 发展现状

1986 年美国 and 法国的科学家在世界上第一次进行了抗除草剂转基因烟草的田间实验, 自此之后植物基因工程的研究与应用在世界各地蓬勃发展, 被认为是 21 世纪农业的希望, 是新的农业革命的重要组成部分。

2000 年全球转基因作物种植面积估计达 4 420 万 hm^2 , 其面积增加约是 1998~1999 年之间增加量的 1/4。2000 年全球转基因作物种植面积由 1996 年的 170 万 hm^2 , 增加到 4 420 万 hm^2 , 增加了 25 倍之多。2000 年美国、加拿大、阿根廷、中国 4 个国家转基因作物的种植面积占全球种植面积的 99.9%, 全世界转基因作物按种植面积排序分别为大豆、玉米、棉花、油菜籽。1996~2000 年的 5 年间抗除草剂作物种植面积一直占首位, 其次是抗虫作物。种植转基因作物面积最大的前 4 个国家是美国、阿根廷、加拿大和中国^[1]。

我国的农业基因工程研究于 80 年代初期开始启动, 并于 80 年代中期开始将生物技术列入国家“863”高科技发展计划。据中国农业生物技术学会统计, 截止 1996 年底, 我国正在研究的转基因植物种类达 47 种, 涉及各类基因 103 个。目前我国有 6 种转基因植物被批准进行商品化生产, 包括华中农业大学的转基因耐储藏的番茄, 北京大学的转查尔酮合成酶基因矮牵牛、抗病毒甜椒、抗病毒番茄, 中国农科院的抗虫棉花和美国孟山都公司的保龄棉在河北省的商品化生产。据国际农业生物技术应用机构(International Service for the Agrobiotech Applications, ISAAA)统计和预测, 在全球范围内, 1998 年转基因作物的销售额为 12.15 亿美元, 2000 年将达到 30 亿美元, 2005 年达到 80 亿美元, 2010 年达到 280 亿美元^[2]。

2 在农业生产中的应用

收稿日期: 2001-02-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(30070460)

作者简介: 程业明(1974-), 男, 吉林九台人, 硕士, 主要从事结构植物学研究。

2.1 抗病毒

病毒病是植物的主要病害之一,利用植物基因工程技术防治病毒病取得了巨大的进展。目前所用的技术路线主要有:

2.1.1 植物编码抗性基因介导的抗性

植物在长期进化过程中形成了一套对付病毒等病原体的防御系统,如:一些植物在受到病毒侵染时可以表现出一定的抵抗力,还有很多植物在受到细菌、病毒、真菌或逆境时可产生多种病原相关蛋白(PR 蛋白等),如何激发、利用植物本身的这种抗性是植物抗病毒基因工程的另一方向,有可能获得多种病原体的基因工程植株。

2.1.2 外壳蛋白基因介导的抗性

1986年美国科学家 Beachy 等将烟草花叶病毒(TMV)UI 株的外壳蛋白 cDNA 转入烟草细胞,转基因植物及其后代有明显的抗性,甚至还可以有效地减轻和延迟另一种相关的强病毒株的症状。大田实验结果表明,在接种了 TMV 以后,转基因植物只有约 5%的植株得病,几乎不减产;而对照植株的发病率为 99%,产量损失达 26%~35%。

2.1.3 病毒卫星 RNA(Sat-RNA)和缺损干扰 RNA 介导的保护作用

病毒卫星 RNA(Sat-RNA)一般与辅助病毒无序列同源性,而缺损干扰(DI-RNA)与辅助病毒有序列同源性,但利用 Sat-RNA 和 DI-RNA 均能达到干扰病毒复制、扩散及其它生物功能,从而减轻症状。1986年英国科学家 Harrison 等首次将黄瓜花叶病毒(CMV)的 Sat-RNA 反转录成 cDNA 后转入植物中,获得了抗 CMV 的转基因植株。国内外利用的 CMV Sat-RNA 转化,在烟草和番茄上获得成功,转基因植物在田间表现出对 CMV 侵染的高度抗性。

2.1.4 复制酶基因介导的抗性

利用 RNA 复制酶(replicase)的一部分基因的 cDNA 转化植物,可以获得抗病毒植株。Golembooki 等应用这一策略将 TMV UI 株系核酸第 3472-4916 处的一段 RNA 序列转入烟草,所获得的转基因植物具有非常强的抗性^[3]。复制酶基因介导的抗病性既可在 RNA 水平上,又可在蛋白质水平上通过抑制入侵病毒的复制或阻断病毒在细胞之间的移动及长距离转移而实现的。

2.1.5 移动蛋白基因介导的抗性

目前,对移动蛋白基因的应用主要是将其克隆,经缺失改造后转化植株,赋予转基因植株对病毒产生抗性,这类抗性是广谱的。Cooper 等将 TMV 的移动蛋白基因缺失后导入烟草,转基因植株不仅对同一属的多种病毒具有抗性,而且还对烟草脆裂病毒(TRV)、黄瓜花叶病毒(CMV)、花生褪绿线条病毒(PCSV)等也有抗性^[4]。Duan 等人对番茄斑驳双生病毒(TMGV)移动蛋白的缺失突变体转化烟草的研究也有相似的结果^[5]。

2.1.6 反义链 RNA 介导的抗性

反义链 RNA(antisense)是指能和 mRNA 的碱基互补配对的 RNA。反义链 RNA 与其相应的 mRNA 互补,则该基因的表达受到抑制。

人们设计了植物病毒不同基因的反义链基因,转入植物体内,希望利用病毒的反义链 RNA 在控制病毒病中发挥作用,但所获得的转基因植物的抗病效果都不明显。最近 Nelson 用 TMV 为材料的研究发现,只有表达病毒基因组的 3'端非编码区的反义链的转基因植株才对 TMV 有较强的抗性^[6]。

2.2 抗虫

据不完全统计,全世界作物每年因病虫害造成的损失约占其总产量的 37%,其中 13%

是由虫害引起的^[7]。目前,对农作物害虫的防治主要依赖化学药物。化学药物对害虫的防治起到重要的作用,同时也有其成本高、污染环境、易残留、会毒害有益的昆虫及害虫的天敌等弊端。常规育种技术和试管培养技术已获得某些抗虫害的作物品种,如野生型马铃薯(*Solanum chacoense*)和栽培型马铃薯(*S. tuberosum*)的原生质体电融合获得的体细胞杂合品系对一种马铃薯甲虫有抗性。但选育新品种耗时长,并且某些虫害尚无基因资源作为杂交的亲本,所以,此种方法用来培育抗虫植物很困难。目前,基因工程技术的发展为培育抗虫作物提供了有力手段。主要途径是利用苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)的内毒素基因获得抗虫植物。另外,也可利用植物和动物来源的抗虫基因来获得抗虫植物。此外还有胆固醇氧化酶基因和营养杀虫蛋白基因,前者杀虫谱相当宽,对鞘翅目、鳞翅目、双翅目、直翅目和同翅目的害虫都有不同程度的作用^[8];后者是另一种高效杀虫蛋白质,它的敏感害虫是另一种对毒蛋白不敏感的重要农业害虫——鳞翅目的小地老虎^[9]。最早获得的转 Bt 毒素基因植物是烟草和番茄(1987 年),随后 Bt 毒素基因相继被转化到许多其它农作物中,如棉花、水稻和玉米等。1996 年转 Bt 基因棉花在美国种植 66 万 hm^2 ,经中国农科院棉花所引进在华北试种,在完全不喷杀虫剂的情况下,单产仍高于喷洒 2~3 倍杀虫剂的中国推广棉花,表现突出,显示出了控制棉铃虫的极好前景。采用转基因技术改良品种,不仅可抗虫、抗病,还可以提高产品的品质和价值。如荷兰的一家植物生物技术公司应用转基因技术培育出一种真菌草莓新品种,减少了草莓的病害,并延长了草莓的保鲜期,使每 0.405 hm^2 的草莓在美国出售多获利 1 800 美元。

我国在 80 年代中后期开展了这方面的研究。1992 年底中国农科院生物技术研究中心的郭三堆等人在国内首先合成了 CryIA 杀虫晶体蛋白结构基因^[10]。郭三堆等研究人员在人工合成 GFM CryIA Bt 杀虫基因的基础上,又对豇豆胰蛋白酶抑制剂(CpII)基因进行了修饰,构建了同时带有这两种杀虫基因的双价基因植物表达载体。再通过花粉管通道转化技术导入我国不同棉花生产区的主栽品种,已获得了数十个双价转基因抗虫棉株系。双价抗虫转基因棉花研制成功并大面积进入田间试验,目前在国内外尚未见报道,标志着我国在抗虫棉的研究方面已达到了国际先进水平^[11]。

由于植物来源的杀虫蛋白的杀虫效率远不及 Bt 毒蛋白,所以到目前为止,抗虫植物基因工程的研究主要集中在杀虫晶体蛋白基因方面。

2.3 抗除草剂

施用除草剂,在杀死杂草的同时污染环境,有的对农作物产生不利的影 响。培育抗除草剂的作物是一种高效、低成本、无公害控制杂草的手段。目前,世界上采用的除草剂主要分为两大类:一类是通过破坏氨基酸合成途径来杀死杂草;另一类则是通过破坏植物光合作用中电子传递链的蛋白来杀死杂草。根据除草剂的特点,抗除草剂基因工程的第一种方法就是把除草剂作用的酶或蛋白质的基因转进植物,使其拷贝数增加,从而达到转基因植物中这种酶或蛋白质的量大大增加;第二种方法是转移一种能以除草剂为底物的酶的基因到植物中,该基因编码的酶在转基因植物中将除草剂催化掉,从而保住植物不被杀死,这种方法成功的例子是抗磷酸黄酮的基因工程;第三种方法是针对除草剂能识别其作用的酶上的一定位点这一特点,用基因突变的方法使该位点上的相应氨基酸发生突变,但这种突变并不破坏酶的二级结构和酶促功能,只是除草剂不能识别,这样转基因植物就表现对除草剂不敏感。

目前,已实现商品化的有以下作物:(1)美国孟山都公司创制的一系列抗农达(草甘膦)的作物品种,如大豆、玉米、油菜、向日葵、甜菜。(2)艾格福公司的抗草铵膦的作物品种,如

大豆、玉米、油菜、甜菜、棉花、水稻。(3)美国氰胺公司主要研制抗咪唑啉酮类除草剂的转基因作物,已成功的有玉米、油菜、甜菜、小麦。(4)杜邦公司研制的抗豆黄隆与阔叶散的大豆、棉花。(5)巴斯夫公司转基因拿扑净杂交种玉米 1997 年出售种子。(6)罗纳-卜朗克公司研制的抗溴苯腈转基因棉花,1997 年种植面积达 20 万~50 万 hm^2 ;抗溴苯腈烟草于 1997~1998 年向其他国家出售种子。法国、加拿大抗除草剂的研究以油菜为主。我国已获得的抗除草剂转基因作物有:抗 Bsata 水稻、小麦、抗 2,4-D 棉花、抗阿特拉津大豆和抗溴苯腈油菜和小麦^[12]。

2.4 品质改良及抗逆性

改进作物品质主要是质量上的改变,其次是作物抗性的改变,即抗旱、抗盐、抗热,提高光合作用效率和固氮效率等等。改进品质主要依据单、双子叶植物的种子中蛋白质、各种氨基酸的成分和比例不相同,其中所含必需氨基酸的量也不同。如玉米的 15kb 的贮藏蛋白质基因转移到大豆中去,可以得到蛋氨酸含量高的转基因大豆。最近发现,一种红藻中 RuBisCO 的活性比一般植物中的 RuBisCO 高 3 倍,科学家正利用叶绿体转化技术将该基因导入植物,以使植物具有更高的 RuBisCO 活性^[13,14]。而根据植物抵抗逆境的生理反应,可以将自然界中多种适应性基因发掘出来,如将大豆的抗热性基因分离并转移到烟草中获得了成功。

3 展 望

从目前的研究进展和发展趋势看,农作物基因工程的热点主要有以下几方面:(1)基因组学(Genomics)。基因组研究被认为是 20 世纪最重大的科研计划之一。1998 年美国启动了以玉米为主包括棉花、大豆、高粱和番茄在内的作农作物基因组计划。美国国会批准投资近 2 亿美元进行该项研究,旨在全面获得功能性新基因并占有该基因的知识产权,这充分说明了各国对基因资源的重视。21 世纪基因组的研究将由“结构基因组”向“功能基因组”转变。目前许多国家纷纷投入巨资针对主要的农作物(水稻)构建其突变体库,然后利用转座子标签(Transposon tagging)、T-DNA 标签(T-DNA tagging)或图位克隆(map-based cloning)技术分离和克隆基因,完成对基因功能的认识。(2)单基因生物性抗逆向持久性抗逆转化分子标记辅助选择育种可以实现多种基因的累加,培育出多抗或广谱的种质或品种。国际水稻所已通过分子标记辅助选择将 4 种不同的抗稻瘟病基因累加到同一品种中,获得了广谱抗稻瘟病材料。最近,一个非常鼓舞人心的新发现是美国 Wisconsin 大学的科学家从寄生在异小杆线虫消化道内的一种发光杆菌(*Photobacterium luminescens*)的细菌中找到一个蛋白复合物,它由 A、B、C、D 四种成分组成。这种蛋白复合物除了对鳞翅目具有杀虫活性外,对鞘翅目和双翅目也都有很强的毒杀活性,是一种广谱杀虫基因^[15]。这种新基因对于农作物持久性抗虫育种具有很大的应用潜力。(3)生物性抗逆向非生物抗逆转移。(4)利用转基因植物生产稀有蛋白等产品。

21 世纪农作物基因工程的发展前景将是非常美好和令人鼓舞的,除了有重大经济价值的转基因植物将陆续进入大田生产以外,转基因技术也将有大突破。已经掌握的技术会不断得到完善,新的基因导入技术还会出现。不久的将来,可望出现高产优质、集高光效、抗病、抗虫和抗逆等特性于一身的作物新品种。许多科学家甚至预言,21 世纪的所有主导农作物都将是基因工程产品。当然,要实现这一目标尚需时间和努力,但我们深信,植物基因工程将在第二次“绿色革命”中发挥巨大的作用。

种可以放置 3 d,但考虑在既保证有较高的出苗率,又有较高的秧苗素质,则催芽种放置的时间以不超过 2 d 为宜。放置 2 d 以内,白根数多,单株分蘖数、成秧率、百株地上部干重高,这样的秧苗带蘖下田插秧后能早生快发,早成熟;放置 3 d 后对白根数和单株分蘖个数有显著影响。因此,建议在生产上催芽种放置时间以不超过 2 d 为好,最好是当天催出的种芽当天播种。

对于催芽种放置时间的延长对产量有多大影响,还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 高灿伦,金锡奎·作物种子学[M]. 郑州:河南科学技术出版社,1988.
- [2] 张俊国,等·不同粳稻品种整齐度的比较分析 II·超稀植栽培对品种性状及整齐度的影响[J]. 吉林农业科学,1999,(1):18-22.

(上接第 16 页)从表 2 可以看出,晚熟品种的产量按标准水折算后产量并不高,而且干燥后子粒外形、色泽和品质较差,今后在以质论价的收购政策中,四密 25 具有较强的竞争优势。

7 推广应用

四密 25 自 1991 年试验示范推广以来,以高产稳产、适应性广、抗逆性强等特点,深受广大种植户的好评,特别是经过 2000 年特大干旱的考验,四密 25 以高产、优质、抗病、抗旱、抗倒、耐瘠、耐密等特点,被更多农户所接受,到目前累计推广面积 40 万 hm^2 ,今后仍具有较好的发展前景。

(上接第 22 页)

参考文献:

- [1] 闫新甫·全球转基因作物种植概况[J]. 世界农业,2001,4:22-23.
- [2] 范云六,张春义·迎接 21 世纪农作物生物技术的挑战[J]. 生物技术通报,1999,5:1-6.
- [3] Golemboski D B, Lomonosoff G P, et al. Plants transformed with a tobacco mosaic virus nonstructural gene sequence are resistant to the virus[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1990, 87: 6311-6315.
- [4] Cooper B, Lapidot M, et al. A defective movement protein of TMV in transgenic plants confers resistant to multiple viruses whereas the functional analog increases susceptibility[J]. Virology, 1995, 206: 307-313.
- [5] Duan Y P. Gem inivirus resistance in transgenic tobacco expressing mutated Bci protein [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 1997, 10: 617-623.
- [6] Nelson R S. Tobacco mosaic virus infection of transgenic *Nicotiana tabacum* plants is inhibited by antisense constructs directed at the 5' region of viral-RNA[J]. Gene, 1993, 127: 227-232.
- [7] Gathehouse A M R, et al. Plant Genetic Manipulation for Crop Protection. CAB international. 1992, 155-181.
- [8] Jongma M A, Bakker P L, Peters J, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1995, 92: 8041-8045.
- [9] 张 锐,郭三堆·植物抗虫基因工程研究进展[J]. 生物技术通报,2001,2:8-12.
- [10] 陈章良·植物基因工程研究[M]. 北京:北京大学出版社,1993.
- [11] 崔洪志·我国双价抗虫棉的研究取得突破性进展[J]. 生物技术通报,1999,5:51-52.
- [12] 梁雪莲,王引斌,卫建强,等·作物抗除草剂转基因研究进展[J]. 生物技术通报,2001,2:17-21.
- [13] Charles C Mann. Genetic engineers aim to soup Up corp photosynthesis[J]. Science, 1999, 283, 314-316.
- [14] 朱玉贤,李 毅·现代分子生物学[M]. 北京:高等教育出版社,1997,475-478.
- [15] David Bowen, et al. Insecticidal toxins from the bacterium *photorhabdus luminescens* [J]. Science, 1999, 285, 369-370.