

突飞猛进的植物抗性基因工程

孟建华 · 中国科学院文献情报中心副研究馆员



植物抗性基因工程是80年代中期发展起来的新兴学科。它一出现,就以突飞猛进的发展速度站在生物工程研究领域的前列。经过美国、日本、中国等国科研人员的努力攻关,目前已在大豆、小麦、玉米、棉花、马铃薯、蕃茄、烟草、水稻、甘蔗等作物上开发出抗逆性很强的基因工程植株和种子,成果显著。

植物抗性基因工程是生物工程领域的重要分支。它处于植物抗性生理与植物基因工程两大学科的交叉点,加之植物抗性基因本身的复杂性,所以这方面研究的难度相当大。80年代以来,随着在基因分离、基因载体的构建、植物的遗传转化和外源基因在高等植物细胞中的表达等方面研究的深入,特别是由于利用真核基因启动子构建融合基因的工作解决了外源基因在植物转化细胞中表达问题,使科研人员增强了对发展植物抗性基因工程的信心。

从80年代中期开始,科研人员将研究的重点,深入到植物抗性基因工程的研究上来,力图在短期内开发出具有抗病虫害、耐高温耐寒、耐旱耐涝、抗除草剂、抗软化等抗逆性更强的植物基因工程植株,为解决粮食、环境、能源等日益严重的问题,发挥巨大作用。

一、美国率先起步,成绩斐然

1987年,美国 Agracetus 公司首先在棉花抗病虫害基因工程的研究上取得突破。他们利用农杆菌 Ti 质粒介导法将苏云金芽孢杆菌毒素基因(Bt 基因)转入商品棉,并从1989年起开始进行大田试验,结果表明抗虫基因棉花受棉铃虫等危害的棉铃比正常棉花低50%,目前已实现商品化。Calgene 公司已将耐两种除草剂(草甘膦和溴苯腈)的基因导入棉花中,田间试验表明育成的耐溴苯腈棉花能抗比田间用药量高10倍的除草剂用量,这种抗除草剂棉花也获得美国农业部投放市场的批准。此外,美国还进行了蝎毒素、蜕皮激素、昆虫病毒等基

因转入棉花的研究,以培育具有多种抗逆基因的基因工程棉花。

玉米在世界上的种植极为广泛,仅在美国市场,玉米种子的销售额每年即达15亿美元。1992年,美国 Agracetus 公司用 Accell™ 基因枪向玉米细胞内引进基因,从而成功地开发出抗病、抗虫、抗旱性以及养份含量更高的转基因玉米。这是一项具有巨大经济效益的突破性成果,引起了生物学界的极大关注。

小麦是世界上产量最大的谷物,年产量为5.5亿公吨,年收入为600亿美元。1992年,美国 Monsanto 公司宣布,他们研制出世界上第一种 rDNA 小麦,这也是一项重大突破。这项突破可导致抗病毒、抗霜冻、抗干旱小麦的出现。目前 Monsanto 公司正集中进行抗除草剂小麦的大田试验并争取通过3~5年的联邦审查程序。

甘蔗是世界上十大粮食作物之一,但甘蔗的新品种培育单靠传统育种手段需15年,再加上甘蔗对多种病源体敏感,因而常常导致育种的失败。细菌、病毒、真菌如根蘖矮化病(ratoon stunting disease)、红腐病(redrot)等感染每年给甘蔗生产者造成上亿美元的损失。1992年,美国昆士兰大学的植物学家 Robert Birch 和同事们采用酶法脱去甘蔗的细胞壁,再用自制的基因枪将一标记基因打入甘蔗基因组。这一实验结果为上述问题的解决找到了一种新方法。

在蕃茄抗性基因植株的研究上,美国也取得飞速发展。1990年已培育出抗病虫蕃茄基因植株,1991年研究成功抗软化耐贮

藏的蕃茄。1994年,美国市场上又出现了保味蕃茄,这种蕃茄摸上去跟普通蕃茄一样硬,但是它的经过遗传改性的脱氧核糖核酸(DNA)可以允许它在藤上成熟更长的时间,一方面可使蕃茄积累更多糖和酸的成份,另一方面可抗软化。保味蕃茄的投放市场,预示着 DAN 经过改性的农产品涌入市场的时代已经来临。

二、日本因地制宜,独具特色

日本在植物抗性基因工程研究方面有自己的特色。他们根据国情,将研究的重点定在水稻抗性基因的研究方面。1991年他们制定了专门的水稻基因组计划。计划加大投入,尽快培养出具有抗逆(包括各种逆境和病虫害)、高产而又节省肥料等理想农艺性状的新品种水稻植株,使水稻在产量、质量、成本诸方面居于世界领先水平。朝着这个目标不断努力,日本国立农业环境研究院植物技术研究所把水稻条纹枯叶病毒中为病毒蛋白编码的基因移植到水稻 DAN 中,然后从水稻愈伤组织细胞团中生长抗病植株。1990年末,该所已经开发出抗水稻条纹枯叶病的水稻植株。这项成就是首次利用外壳蛋白性基因法使水稻作物不受水稻条纹枯叶病侵害的尝试。水稻条纹病是由一种行动非常迅速的褐色小虫传播的。在日本有10%的稻田受到这种病的危害,化学杀虫剂的效果不好。1992年,该研究所已将开发出的这种水稻植株放入非封闭系温室中栽培,以便在接近野外栽培的条件下检定抗性。此外,三井土津化学工业公司宣称,他们运用反义 RNA 技术已开发出

一种无过敏原的转基因水稻新品种,其所含引起皮炎的过敏性蛋白质不到原先品种的20%。他们还将进一步改进此转基因水稻品种,研制出一种完全无过敏原的水稻品种。从而将使水稻免去为去除过敏原而采用的昂贵的酶制加工,价格远远低于现有的水稻品种。

三、中国急起直追,发展迅速

中国的植物基因工程以及植物抗性基因工程都始于1986年。在国家“七五”计划的推动下,科研人员从零开始奋力拼搏,在短短五年时间里就实现重大突破,获得了四种抗病毒、抗虫、耐盐烟草和一种抗除草剂大豆的转基因植株,使中国植物抗性基因研究跃上了国际80年代中期(大约1987~1988年)水平。国家“八五”计划启动以后,他们瞄准国际先进水平,协力攻关,至1994年底,又取得许多突破性进展。

在烟草方面,中国科学院微生物所首先把分别具有早期抗性(抗黄瓜花叶病毒CMV的外壳蛋白CP)基因和晚期抗性的卫星RNA基因构建成嵌合基因。再将嵌合基因引入农杆菌并转化烟草品种G-140后,获得了能稳定表达CP基因和卫星RNA的转基因植株。攻毒结果表明该植株病毒感染降低,病毒的积累量也大为减少。中国科学院遗传所克隆了一种广谱抗虫基因——豇豆胰蛋白酶抑制基因,经分子修饰和重组构建成有效的植物表达载体,并导入烟草中,获得了能显著抗虫的转基因烟草植株。该项成果属国内领先,接近国外同类工作的先进水平。

在大豆方面,华中农业大学从江汉平原土壤中的快生型根瘤菌中分离出优良基因,构建了基因文库,然后通过三亲本杂交方式将其基因片段导入黑龙江地区的慢生型菌株中,培育出转基因“工程菌HN32”。两年来,在黑龙江、广西、四川、内蒙古等地累计推广128万亩,增产大豆17700多吨,创经济效益2800多万元。这也是一件具有国际先进水平的成果。

马铃薯方面,中国微生物所首先找到了一种用核酶基因防治类病毒的方法,其研究成果居国际领先水平。他们针对核内复制的类病毒,设计了具有切割类病毒功能的核酶基因,并将这一基因转化马铃薯,于1993年获得了转核酶基因的马铃薯植株。这一成果对阻止马铃薯退化效果显著,目前已在野外实验中取得成功,一旦到大田推广,将产生十分可观的经济效益。

在棉花方面,中国已在抗虫转基因棉花的研究方面取得重要进展。据《科技日报》1994年11月17日报道,中国科技人员已将苏云杆菌毒素蛋白基因(Bt基因)和胰蛋白酶抑制剂基因(Cpt基因)成功地导入晋棉7号、翼合321、泗棉3号和中棉12号等生产用品种中,共获转化植株300余株,其中经分子生物学鉴定的转基因植株有100多株,部分植株经室温抗性鉴定有明显杀虫能力,抗棉铃虫死亡率达60~91.6%。目前,科学家们正集中力量对现有抗虫转基因植株统一进行大规模田间试验。此项成果对防治我国大面积棉铃虫灾害有十分重要的意义。

在蕃茄方面,耐储藏蕃茄转基因植株研究也取得重大进展。中国科学院植物研究所和微生物研究所的科技人员利用反义RNA技术,通过基因工程方法专一性地抑制多聚半乳糖醛酸酶(PG)与ACC合成酶基因的表达,在整体水平上调节基因活动。1991年,他们将两个蕃茄商业品种的批量转基因植株移入温室大棚种植,经过连续两年的观察实验证明,该转基因植株的果实抗真菌侵染能力明显提高,延长储存期一个月以上。他们于1993年获得的转反义Acc合成酶基因的植株中有4株的工程果实由绿熟转为红软比未转基因果实慢得多,储存50~70天转为橙黄或红色时仍保持一定硬度,而未转基因株的对照果实采后二周即转红变软,该项成果已通过了专家组的中期评估。

此外,中国在“七五”攻关期间研制成功的授粉后外源DNA引入植物的生物工程育种技术在植物抗性种子的培育方面也取得了累累硕果。江苏省农科院培育出抗枯黄病棉和耐黄抗枯新种,在长江下游地区已累计种植5万余亩,大田增产50%。中国农科院作物所育出了耐旱种和早熟的水稻后代,已试种数百亩。广西农科院品质所选育出了耐旱、瘠、抗早衰和高产D1号糯稻,早、晚稻产量均在千斤以上,已经签定推广。河南省农科院小麦研究所将大麦基因导入小麦,选育出抗白粉病小麦。这些成果都具有国际选进水平,进一步显示出中国在植物抗性基因工程方面的雄厚实力。

(本文编辑 左琼峰)