

植物生物技术与我国农业的发展

朱 至 清

(中国科学院植物研究所)

由于在农村推行生产责任制和实行科学种田,近年来我国农业生产有了全面、稳定和持续的增长,初步解决了十亿人口的温饱问题。但是要进一步满足对农产品的需求,仍需要作出巨大的努力,其中包括发展传统的农业科学和尽量采用植物生物技术。植物生物技术包括五个分支领域,即用离体技术改良植物品种、经济植物的快速繁殖、超低温种质保存、植物细胞的大量培养和植物遗传工程,这些领域的进展都会直接或间接地对农业的发展产生影响。本文不打算全面评述植物生物工程的进展,仅就那些在今后 5—15 年可能在农业发展上产生实际效果的技术作一粗略的估价和展望。

生物技术与植物品种改良

选育和推广优良品种一直是提高农作物产量和改善农作物品质的重要环节。今后 15 年中,我国粮食和经济作物产量的增长只能在不扩大耕地面积的前提下进行,育种工作就显得更加重要。按照“绿色革命之父”、诺贝尔和平奖金获得者 N. E. Borlaug 的观点,在本世纪内植物改良的主要支柱仍然是常规的育种方法,然而这并不意味着生物技术不可能在中短期内对植物的改良产生积极的作用。历次的国际生物技术会议都提到花药培养与单倍体技术以及细胞突变体筛选技术可以在 5—10 年内选育出新品种用于农业生产,我国从事这两项研究的基础良好,人员较多,有可能取得比其他国家更快的进展。

花药培养研究在我国已有 15 年的历史,并取得了许多具有国际先进水平的研究成果。1970 年以来,中国科学院遗传所和植物所首先培育出十余种农作物及经济植物的花粉植株,提供了目前世界上效率最高的花药培养方法,并率先育成了烟草、水稻和小麦的新品种。尽管如此,这种技术能否作为一种可靠和有效的育种方法应用于实践,在我国学术界一直是有争议的。从理论上讲,花药培养与单倍体技术不仅可以明显缩短育种年限,提高特定基因型的选择效率,而且可以固定那些在常规育种上无法显现的配子重组体,从而得到具有较多的双亲优良性状的基因型,这些优点应当说是无可争议的。争议的焦点是,植物组织培养学家能否提供足够数量的纯合二倍体花粉植株来满足育种学家的要求,因为要选择特定的基因型必须有足够大的供选择的群体。由此看来,花药培养能否用于育种,仅仅是一个如何改进花药培养技术的实践问题。事实上由于中国科学院植物所、遗传所和其它单位在改进方法上所作的努力,使这项有争议的技术终于在育种单位获得较广泛的应用,并在近几年中育成了十余个在生产上大面积推广的水稻、小麦和烟草新品种。其中由中国农科院李梅芳、陆银全等同志育成的“中花 8 号”和“中花 9 号”水稻,高产、优质并带有抗稻瘟病基因,已经在京津唐地区推广 100 万亩以上,很受农民欢迎。其它如“京花 1 号”小麦、“豫花 1 号”小麦、“新秀”水稻和“单育”号的烟草品种也都是用 3—4 年时间选出品系,6 年左右就开始作为品种小面积试种,并且现已推广使

用。以上事实表明,在烟草、粳稻和小麦上花粉单倍体育种已经可以作为一种较成熟的手段用于品种选育工作,而且在品种急需更新换代的情况下,它的作用尤为明显。因此,从1980年以来,中国农业科学院很重视这项新技术,先后召开过两次全国水稻花药培养会议,大力倡导用花药培养选育新品种,可以预料今后的5年中会选出更多更好的新品种。目前存在的问题是,籼稻、玉米、冬小麦、橡胶和一些蔬菜的花药培养成功率还不够高,需要进一步加强应用基础研究,提供更好的培养方法,消除基因型对花药培养反应的差异,使这项新技术在植物的育种工作中得到广泛应用。

细胞突变体筛选技术是在六十年代至七十年代植物组织和细胞培养研究飞速发展的基础上发展起来的。1958年 Steward 证明,单个的胡萝卜细胞能够形成胚状体和再生植株,1960年 Cocking 研究出大量分离高等植物原生质体的酶解方法,1964年 Guha 等从曼陀罗未成熟的花粉得到了单倍体植株,1971年建部等从烟草原生质体再生植株,七十年代以后这几方面的研究扩展到更多的植物上,并取得令人眼花缭乱的进展。这些成果不仅从理论上充分证明了植物细胞的全能性,而且使我们可以像对待微生物那样来对高等植物细胞进行遗传操作,特别有意义的是用于选择单细胞突变体。如采用二倍体细胞的培养物,染色体水平上的变异和显性基因变异可以在再生植株当代表现出来,而那些隐性变异可以通过分离在再生植株的第二代得到表达。如果采用单倍体细胞培养物,包括隐性变异在内的任何变异都可以在再生植株的当代得到表达,也就是说,从遗传操作特性来说,一个高等植物的单倍体的培养细胞与一个微生物机体没有什么两样。当我们向培养基中加入某种选择剂,例如病菌毒素,就可使大量的野生型细胞死亡,只允许抗病菌毒素的细胞生长,并进一步由这些细胞得到抗病突变体植株。在1973年以前人们认为这些突变的产生必须要用物理或化学诱变剂来诱发,但以后发现不经诱变剂处理的培养细胞也表现很高的变异频率。为了区别于一般的诱发突变,我们把这种变异叫做体细胞无性系变异。体细胞变异频率之高,在一些高等植物上达到令人惊奇的程度。例如甘蔗的再生植株的变异率为15—20%,菠萝的为90%,水稻的为70%,在由马铃薯叶片原

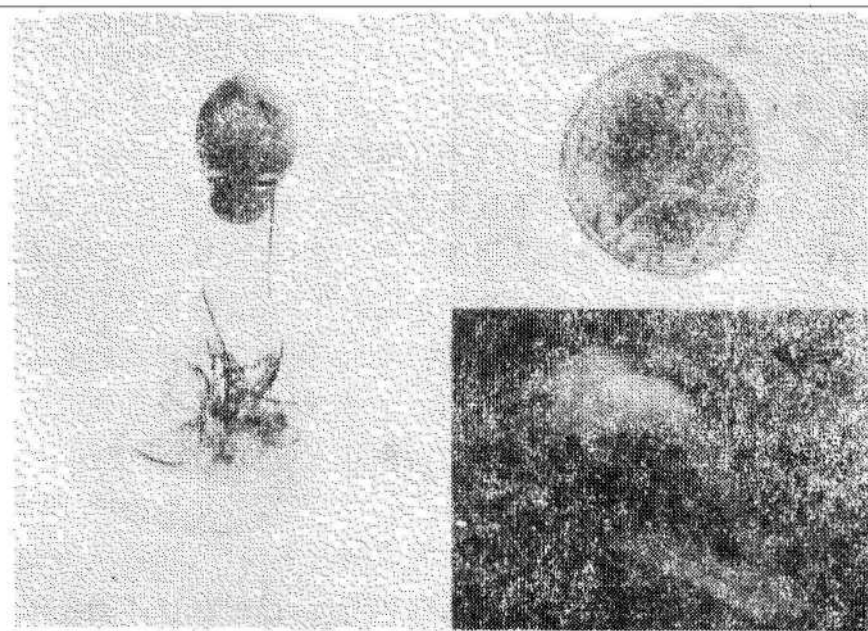


图1 中国科学院遗传所和植物所的科研人员在世界上首先获得小麦花粉植株(左),右上为由小麦花粉分裂形成的细胞团,右下为花粉胚。

生质再生植株中竟然找不到一株与供体植株完全相同的。这种变异的原因目前还不清楚,这是一个很值得深入探讨的理论课题。利用这种现象,再加上培养物的诱变处理,各种细胞突变体被陆续在试管中筛选出来。1978年据 Maliga 统计已有 60 余种,到 1984 年在 Flick 的评述文章中列举出 48 个抗氨基酸或其类似物的细胞系,其中 12 个系可以再生植株;抗嘌呤或其类似物的突变细胞系 15 个,其中 5 个可再生植株;抗抗生素突变体 13 个,其中 10 个可再生植株;自养突变体 13 个,其中 9 个可再生植株;农业上有用的突变体 21 个(主要的抗病、耐盐和抗除草剂突变体),14 个可再生植株;其它突变体 7 个,2 个可再生植株。共计为 117 种突变细胞系,其中 52 个可以再生植株。另据 Hughes 1984 年的资料,仅抗除草剂突变体就已得到 24 个,8 个可再生植株,可见 Flick 的统计很不完全。据作者估计,国内外已得到的各种细胞突变体至少在 200 种以上,在田间观测到的形态和生理变异个体更是不计其数。更加令人鼓舞的是美国 DNAP 公司已利用体细胞无性系变异和田间筛选方法得到干物质含量很高的番茄新品种,在我国浙江省农科院也用这种方法得到高产水稻品系。采用离体试管内筛选的方法,中国科学院植物所已得到抗盐芦苇和含糖量高的甘蔗,遗传所已获得抗盐和赖氨酸含量高的水稻,上海农科院和江苏农科院也分别选择出抗稻瘟病和抗白叶枯病的水稻。无怪菲律宾国际水稻研究所的所长 Swaminathan 认为:“在细胞水平上诱导和选择有用的突变体,大概是水稻改良中最有希望的途径。”看来细胞突变体筛选不仅在水稻上,在其它作物上同样是大有可为的。在“七五”期间应当开展活跃的研究工作,并争取选育出一批农业生产上可用的新品种。

无论是单倍体育种还是细胞突变体的研究都需要以组织培养和细胞培养的技术为基础,才能顺利进行。重要农作物大都属于禾本科和豆科,而这两科植物的组织、细胞和原生质体培养恰好是最困难的。近十年来这两科植物的离体培养虽有进展,但仍需在以下几方面加强基础研究。(1)筛选具有植株再生能力的大豆基因型,进而改进培养技术,建立能高频率再生植株的组织或细胞培养系统;(2)加强水稻、小麦、谷子、玉米等主要粮食作物的细胞悬浮培养和原生质体培养研究,使得能从单个细胞大量再生植株;(3)进一步提高籼稻、冬小麦、玉米等作物花粉植株的诱导率;(4)广泛开展油料、蔬菜、果树、纤维等经济植物的组织培养和花药培



图2 中国科学院植物所和黑龙江农科院的科研人员正在评价用花药培养法培育出的第一个水稻新品种单丰1号。

养的研究。

快速繁殖与种苗工厂化生产

植物快速繁殖是一种比较成熟的生物技术。最早是采用茎尖培养方法去除病毒,然后大量繁殖无病毒种苗。1952年法国的 Morel 首先用这种方法得到无病的大理花和马铃薯,以后在 1960 年又得到兰属的无病植株。他的这一发现很快地受到兰花生产者的注意。几年以后伦敦种子子公司就开始出售用组织培养法生产的兰花,使名贵热带兰花的价格大幅度下降,在国际市场上表现出强大的竞争力。此后许多国家建立了所谓“兰花工厂”,进行种苗的工厂化生产。经过 20 多年的努力,茎尖培养又在甘薯、百合、大蒜、草莓、鸢尾、石竹和石刁柏等植物上获得成功,并在马铃薯、石刁柏和草莓的种苗生产上得到应用和取得经济效益。近十年来植物学家又在探索通过胚状体和愈伤组织途径进行快速繁殖。目前已在 30 个科 150 种植物上观察到可由愈伤组织或单细胞培养物分化胚状体,它们一般可以保持倍性和遗传特性的相对稳定,产生出大量与原种一致的种苗。近来美国还在芹菜和胡萝卜上试验将胚状体用一种包含化肥、杀菌剂和除草剂的介质包裹起来,制成人工种子进行播种,这样就不必每年配制优良的杂种种子。此外像百合、菊花、萱草和小苍兰的愈伤组织分化的植株也可保持遗传稳定性,因而也可以作为一种快速繁殖的途径。国外已经采用上述各种方法建立近百家“植物工厂”,估计年产值可达 10 亿美元以上。我国目前正在倡导农作物和名贵花卉的快速繁殖和种苗生产,首先取得成效的是马铃薯无病种薯生产。1974 年以来,中国科学院植物所、微生物所、动物所和内蒙等许多省(区)协作,用茎尖培养方法建立了无病马铃薯良种繁育体系,在全国 25 个省、市、自治区推广应用,增产幅度在 50% 以上,取得一千多万元的经济效益。目前茎尖培养脱毒技术正扩大到草莓、黑穗醋栗、大蒜和葡萄等各种营养繁殖的经济植物上去,同时花卉的组织培养和快速繁殖也方兴未艾。看来经过 5—10 年的努力,有可能在我国逐步发展出一种新兴产业——植物工业。起初可能是小规模的植物种苗工厂,在打开国内外市场后,逐步积累资金,再发展成大型的种苗公司。估计最有发展前途的几个领域是:(1)名贵、珍奇野生花卉的快速繁殖。据了解,目前日、美等国开始流行观赏与种植野生花卉,追求自然情趣,而我国有许多珍奇野生花卉,如毛叶秋海棠、兜兰、唐松草、金花茶和石合科、报春花科以及苦苣苔科的许多植物均有很高的观赏价值,有的在国际市场上售价甚高,是很值得组织力量进行调查、引种和快速繁殖的;(2)用组织培养法快速繁殖刚从国外引进的优良的水果、蔬菜和花卉种苗,加速更新我国现有的性状不佳过时的品种。例如中国科学院植物所和遗传所已经用快速繁殖方法将国外的三倍体无籽西瓜、非洲紫罗兰、小花萱草、重瓣玉簪、花叶芋引进国内,并开始小批量生产。同时上海植物生理研究所等单位在兰花、非洲菊、香石竹的快速繁殖上也做出了很好的成绩。在果树上,甘肃农业大学采用试管扦插技术快速繁殖从日本引进的先丰、红富士等优良葡萄品种也取得显著的经济效益;(3)扩大茎尖脱毒技术的应用范围,特别是组织力量研究草莓和大蒜的脱毒技术,病毒鉴定技术和建立种苗生产基地。

目前在快速繁殖的研究和组织生产方面也存在不少问题。首先是过多地偏重于短期开发工作和眼前的利益,对于那些对国民经济有重要影响而组织培养难度较大的植物材料不愿投入资金和人力去进行中长期的研究工作。举例来说,橡胶、椰子、油棕、山楂等木本经济植物的快速繁殖具有极高的经济价值,良种繁育及组织培养方面难度都比较大,但只要投入研究力

量,加强应用基础研究,将来会有所突破的。在技术开发和生产经营上的问题是,对国内外市场需求情况了解不够,研究和生产带有一定的盲目性。

细胞杂交和基因工程的潜在价值

细胞杂交和植物基因工程目前仍停留在应用基础研究阶段,据日本科技情报部门预测,大约要到本世纪末,才能用这两项技术育出有用的植物新品种。

国内外目前已使大约70种植物的原生质体再生完整植株,也得到了一批种间、属间乃至科间的细胞杂种,与此同时,细胞融合、杂种细胞的辨认和细胞杂种的鉴定技术也已经相当成熟。提到日程上的问题是,如何将这一技术用于品种改良。早期研究过程中,人们希望通过性不亲和的物种间的体细胞杂交来产生新的能育双二倍体杂种植株,然后用于进一步的育种工作。但是由于体细胞杂种双亲的关系过于疏远,两组染色体常互相排斥,结果有一个亲本的染色体组逐渐被排除。在有些情况下两个染色体组虽然可以共存于细胞之中,但再生植株仍然是不育的,在马铃薯和番茄的杂种中就看到了这种现象。因此整个染色体组的结合,甚至个别染色体的引入都不会在品种改良中发生作用。后来在拟南芥菜和油菜的体细胞杂种中,人们注意到两个染色体组的成员之间发生重排和交换。在矮牵牛和爬山虎的杂种中观察到爬山虎染色体消失,但它的特异的过氧化物酶的同工酶并不消失。在胡萝卜白化突变体与绿色的羊角芹原生质体融合后再生的杂种植株中,虽然只有胡萝卜的染色体,但分子杂交的测定表明,羊角芹的染色体片断已掺入胡萝卜的染色体。这些现象表明在远缘的细胞杂种中,一个亲本的染色体组可以完全保留,另一个亲本的染色体基本上被排除,但保留着一些染色体片断或基因,并可能整合到前一亲本的染色体组中去。这样我们就可以在杂种细胞培养物中加入某种选择剂,使带有外缘基因的细胞系被筛选出来,在育种上加以利用。用这种方法可以通过体细胞杂交将一些野生茄科植物的抗病基因引入到番茄、马铃薯或烟草中去。另一种更为可靠的方法是事先将带有有用基因的野生种的原生质体用X射线照射,使其染色体失活,这样在以后的融合体中失活的染色体必然被排除,只会有部分的片断结合到栽培亲本的染色体组中去,结果是既转移了遗传物质又防止了由双亲染色体不亲和或不规则的丢失引起杂种不育或畸形。欧洲共同体研究委员会和美国的研究机构已经开始按照上述设想进行研究工作。

总的说来,用细胞杂交技术解决育种问题仍然是一个较长期的研究课题,但也不应忽视。当前除了寻找利用细胞融合转移遗传物质的途径外,还应当继续进行小麦、水稻、大麦和玉米等主要农作物的原生质体培养的研究,争取在5—10年内将在茄科和伞形科植物上建立的细胞融合技术移植到禾谷类上去,为改良大田作物提供新途径。

植物基因工程可以划分为三个组成部分:从供体植物分离和克隆目的基因,将目的基因通过载体整合到受体植物细胞,以及通过受体细胞(主要采用原生质体)的培养再生完整植株。简而言之,即基因分离、载体系统和受体系统。分离某种植物基因的前提是该基因的转录产物(RNA)至少在某些植物组织中有足够的浓度,容易被纯化和浓缩,然后才可以它为探针去分离进而克隆该种基因。目前能满足这种条件的基因主要是r-RNA、种子贮藏蛋白和豆血红蛋白基因,国外现在已经分离和克隆的20多种植物基因也都属于这三类基因。由于方法上的限制,许多与农艺性状有关的基因或基因族还无法分离,甚至某些重要性状如抗盐性、抗寒性、抗病性、抗虫性和高光合效率的遗传背景还没有查明,因而只有加强基础研究,才能解决这方面遇

到的困难。载体系统(主要是 Ti 质粒系统)的进展令人鼓舞,已有几例报道通过改造的 Ti 质粒将抗抗生素基因和种子贮藏蛋白基因整合到受体细胞,有的情况下还在再生植株中得到表达。今后利用 Ti 质粒系统有可能引入一些已经可以克隆而又有农业价值的基因,例如引入从微生物中分离的脯氨酸合成酶基因(调渗基因),增加植物细胞中游离脯氨酸的含量来提高植物的抗旱性,以及引入由苏云金杆菌中分离的毒蛋白基因使植物产生毒素以抵抗虫害等。至于受体系统,可以采用原生质体、悬浮培养的细胞、愈伤组织、离体的植物器官乃至整株植物,但无论采取何种系统,都必须使被 Ti 质粒转化的细胞再生为完整植株,因此农作物组织培养物再生植株的技术就成为基因工程的重要一环。不巧的是,目前再生植株频率较高的,主要是一些次要的农作物,如烟草、胡萝卜、芹菜和油菜等。许多重要作物或者不能再生植株(如绝大部分大豆品种),或者再生植株频率很低(如许多豆类作物、棉花及蔬菜类)。水稻、小麦、玉米和谷子等禾谷类的某些组织或器官虽然可较高频率地再生植株,但培养物经过一段时间培养又会失去分化植株的能力,同时还难于从单个细胞或原生质体再生植株,这都给基因工程操作带来极大困难。由此可见加强农作物植物组织及细胞培养的理论和技术的研究是不可忽视的。

我国植物基因工程的研究还处在培养人才和建立基本技术的开创阶段,近年来研究工作主要集中在中国科学院的几个研究所内。在基因分离和克隆方面,微生物研究所已经克隆了抗黄瓜花叶病毒的卫星 RNA 基因和一些膜蛋白基因,遗传所和上海植生所正在分离大豆种子的贮藏蛋白基因。在 Ti 质粒研究上,微生物所、上海植生所和昆明植物所都在进行带有抗抗生素基因的 Ti 质粒的改建工作,试图得到既能转移外源基因又不干扰受体细胞植株再生的 Ti 质粒运载系统。在受体系统方面,中国科学院植物所和上海植生所已从胡萝卜、烟草、油菜、甘蓝和苜蓿等植物的原生质体培养得到了再生植株,目前正在开展禾谷类粮食作物的原生质体培养的研究。预计在“七五”期间,中国科学院系统可以建立起完备的植物基因工程技术,并且实现外源基因导入植物细胞和在整株水平上的表达。

综上所述,植物生物技术的各个分支处在不同的发展水平,其中许多技术还停留在基础研究阶段。为了促进生物技术 in 农业生产上的应用,我们对发展研究和基础研究应给予同等的重视。同时在体制上要加强基础研究部门和应用部门之间的协作,鼓励人才和技术的交流,妥善解决经费分配问题。既要重视直接的经济效益,又要注意间接的经济效益和社会效益。对于那些预计在 5—10 年内可以在农业生产上见到效益的生物技术,应当选准课题,集中人力物力,取得实际效果,不要搞“一哄而起,一哄而散”。可以相信,由于国家对生物技术的重视和我国科技人员的努力,植物生物技术会对我国农业生产发展作出应有的贡献。