

现代生物技术前沿

PLANT BIOTECHNOLOGY:

Current and Future Applications of Genetically Modified Crops

〔英〕N. 哈弗德 编著

薛庆中 等 译

章旺根 校

遗传工程作物



科学出版社
www.sciencep.com



现代生物技术前沿

PLANT BIOTECHNOLOGY:
Current and Future Applications of Genetically Modified Crops

〔英〕 N. 哈弗德 编著
薛庆中等 译
章旺根 校

遗传工程作物

科学出版社
北京

图字:01-2006-7457 号

内 容 简 介

遗传工程(GM),是人为地将一个目标单基因或基因组合导入生物DNA的技术,已成为植物遗传改良的重要手段,并已在世界各国广泛开展,至今棉花、大豆、油菜、玉米等遗传工程作物开始得到大面积应用。但是遗传工程作物的种植和应用是一个颇有争议的问题,受到各国政府部门和民众的密切关注。本书主要概括遗传工程作物的应用和调控研究进展。第1章介绍GM作物及其应用情况。第2章展示新开发的技术和方法,包括GM食物营养价值的改良,具潜在疫苗作用的GM作物的产生和对盐、干旱及对真菌病原体的抗性工程。第3章涉及GM作物和产品的安全和立法,包括过敏性、环境影响、风险评估和标记等重要问题。

本书对从事生物学、农学、环境科学、食品科学和化学等领域的高等院校学生 and 研究人员是很好的参考书,也对植物生物技术产业或环境部门公务员制订相关政策有所帮助。

Plant Biotechnology: Current and Future Applications of Genetically Modified Crops

Copyright © 2006. All rights reserved. Authorised translation from the English language edition published by John Wiley & Sons, Ltd.

图书在版编目(CIP)数据

遗传工程作物/(英)哈弗德(Halford, N.)编著,薛庆中等译,章旺根校.

—北京:科学出版社,2008

(现代生物技术前沿)

ISBN 978-7-03-020630-5

I. 遗… II. ①哈…②薛…③章… III. 作物-遗传工程 IV. S33

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第108308号

责任编辑:李悦刘晶/责任校对:桂伟利

责任印制:钱玉芬/封面设计:陈敬

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

新蕾印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008年8月第一版 开本:787×1092 1/16

2008年8月第一次印刷 印张:16 1/2

印数:1—3 000 字数:376 000

定价:58.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换(环伟))

译者序

遗传工程作物(genetically modified crops)是应用遗传工程手段进行 DNA 重组,采用农杆菌介导和基因枪等手段进行基因转化而创造的新作物。它与借助传统杂交育种方法选择的品种有本质上的区别。目前在抗虫、抗除草剂等重要性状遗传改良方面已经取得重大突破。近年来,遗传工程作物正在世界各国迅速发展,迎来了农业上第二次“绿色革命”。随之而来也引发了当代一次公众大辩论,波及全球,世人关注。在此背景下,2006 年 John Wiley & Sons Ltd. 出版社在全球发行了英国 Rothamsted 研究所 Nigel Halford 博士编著的 *Plant Biotechnology: Current and Future Applications of Genetically Modified Crops* 一书。为及时将此书的内容信息传播到国内,我们组织翻译了此书。

genetic modification(GM)直译为遗传修饰。在国外,GM 已被非专业人士广泛熟知,科学家则偏爱使用“转基因”。在国内,人们习惯称呼“转基因”或“遗传工程”,而对“遗传修饰”还较陌生。在大多情况下遗传修饰可以和遗传工程(genetic engineering)、基因工程(gene engineering)、生物技术(biotechnology)、转基因(transgenic)等视为同义词,考虑到国内术语的使用习惯,本书中文版书名定为《遗传工程作物》。

本书作者 Nigel Halford 博士是国际上著名的生物学家,他在英国 Rothamsted 研究所从事作物遗传改良和基因信号传递等项目研究。Rothamsted 研究所是英国最著名的农业科学研究机构,创建已有 160 余年,历史悠久,科研力量强盛。Nigel Halford 博士与世界各国科学家有广泛的联系和协作。他组织多国科学家撰写本书,旨在及时报道世界主要国家遗传修饰作物的发展,体现出作者注重全球性的写作风格,同时本书还具有选题涵盖范围广、专题讨论层次深、结构体系视野宽等特点。

全书从三个层面展开,并在书后附有索引及中英文专业词汇。第一层面介绍现状,从最初原始选择一直到现代遗传修饰(GM)技术的使用,概述了植物育种方法一万年的演变和发展历程,简单介绍了美国和中国生物技术作物的培育情况,尤其是在控制虫害和防治杂草实践上的应用及其对农业产生的深远影响。第二层面描述 GM 技术原理和方法,包括改良 GM 食物的营养价值,增强 GM 作物对盐、干旱及真菌病原体的抗性,产生具潜在疫苗作用的 GM 作物等内容。随着基因转化技术的进步和完善,愈发显示出生物技术对植物遗传改良的生命力和重大突破。第三层面涉及 GM 作物及其产品的安全和立法,包括过敏性、环境影响、风险评估和标记等有争议的问题。

书中对长期以来民众特别关心的两个重要问题——食品过敏性和基因漂流进行了较深入的研讨,在对环境污染的分析中,不仅仅停留在植物上,还注意到对微生物和动物的影响,并对 GM 作物的安全性评估、标记和跟踪能力的调控一一做了较深入的介绍。这不仅表明作者在积极推进生物技术对植物遗传改良上的信心,同时也体现了作者对 GM 作物应用认真负责的态度。

2004 年我们有幸接受 Nigel Halford 博士的邀请,编写了其中一章——中国生物技术作物的选育。为尽可能较全面地反映我国作物遗传修饰的工作进展,我们收集了

1996~2003 年期间国内核心期刊发表的重要科研论文及部分英文文献,在此基础上重点对水稻、棉花等主要 GM 农作物进行了综述,旨在反映我国早期 GM 作物科研进展。四年后当我们再翻译这章内容时,明显感到原先所述内容已不够全面,理解也欠深入。因为近年来,中国 GM 作物研究无论在理论和实践应用上都已取得迅猛发展。

1993 年我在美国 Cornell 大学做访问研究期间,十分荣幸有机会和该校国际著名的分子生物学科学家吴瑞教授建立水稻转基因科研协作联系,并将该实验室的有关技术引进、消化和发展。在介绍生物技术作物一章中,我们也简要地报道了吴教授实验室的一些科研成果。正当我们在翻译此书时,得悉吴瑞教授不幸病故,心情万分悲痛,在此表示我们对这位前辈的敬仰和纪念。

本书翻译工作得到张玉华、叶琳、张宪银、朱惠琴、单鹏飞、刘庆坡、赵心爱、华大颂、苏锓锓、陈晓龙、陆晓春、李娟、应杰政、季芝娟、付立忠等译者的热心支持并共同完成。完稿后,孟山都公司的章旺根博士协助进行了细致校对。但由于译者水平所限,翻译不当之处,恳请读者批评指正。本书中文版的出版得到 Nigel Halford 博士的热心支持,Rothamsted 研究所张玉华博士为促成此书的出版做了很多工作,在此一并致谢。

薛庆中

2008 年 6 月于浙江大学

前言

20 世纪初, Gregor Mendel 在“植物表型特性遗传”方面的研究得以重新发现, 由此奠定了现代植物育种学的基础。于是, 植物育种学家能够预知性状如何导入育种品系, 并确信它们能够真实遗传。从 20 世纪开始, 科学的植物育种使作物产量出现大幅度提高, 现代人口因此得以持续发展。随后的数十年间, 科学取得了长足进展, 阐明了遗传及基因(遗传单位)的分子过程: 证实它们与蛋白质相关联, 证明 DNA 是遗传物质, 明确了 DNA 结构。同时, DNA 聚合酶、连接酶和限制酶的发现, 以及 DNA 分子核苷酸序列的测定技术的开发, 使得 DNA 分子能够在体外重组。

与此同时, 植物科学家迅速地开发和利用 DNA 分子操作的新技术, 而且惊奇地发现自然界的农杆菌(一种细菌), 在其正常的感染过程中, 能将自身的 DNA 片段插入植物细胞。20 世纪 80 年代中期, 应用这些科学发现和技术已实现了将外源基因成功导入作物, 预期作物的产量和品质将得到进一步改良。

所有的植物育种, 其目的就是将新的基因导入作物基因库对其进行改良, 其中技术包括不同品种间的杂交、远缘杂交、人为诱导的随机突变、通过化学药剂或辐射诱变等。遗传工程* 是指人为地将某个单一基因或组合基因导入某生物 DNA 中的新技术; 携带外源基因的作物被称为遗传修饰[或 GM(genetic modification)]作物。科学家花费整整十年才使第一个 GM 作物得以在商业上应用。此后, 遗传工程技术在植物育种界趋于成熟。到 2004 年, 全世界 17 个国家 GM 作物的种植面积达到了 8100 万 hm^2 。

在 GM 作物的种植将近十周年之际, 我觉得有必要对其十年来市场化的成功和失败做一评价, 以及对未来十年中将有有哪些新的 GM 产品投放市场做一预测。本书旨在向学术界和产业界的专家及不同程度的植物生物技术专业的学生介绍美国和中国这两个重要国家在植物生物技术产品商业市场上的应用及其 GM 作物栽培的进展和对农业的影响; 并且总结了遗传工程在增强作物对生物或非生物性胁迫的抗性、改良作物产品加工和营养的价值, 以及使植物用于新领域如疫苗生产等方面的新进展。诚然, GM 作物的生产也是我们这个时代极具争议的领域。让公众最担心的两个主要问题是 GM 作物是否会合成有危害的抗原, 以及 GM 与非 GM 作物间、GM 作物与野生近缘物种间, 有无基因漂流的风险。各国政府(特别是欧洲国家)针对民众对于这些问题的反应, 已经通过立法来调控 GM 作物的生产和应用。这些内容本书均有涉及。

我感到非常荣幸能够邀请到各个领域的优秀专家学者, 为本书不同的题目写出单独章节, 对各自的领域作出全面、深入地探讨。在此, 我谨向本书的所有作者深表谢意。

Nigel G. Halford

(薛庆中 译)

*“遗传工程”、“基因工程”和“遗传修饰”在大多情况下都是同义语, 对应英文中的“genetic engineering”、“gene engineering”和“genetic modification”。

目 录

译者序

前言

第 1 章 遗传工程(GM)作物的现况	1
1.1 万年植物育种史:从原始选择到遗传工程.....	1
1.2 美国生物技术作物的经验及影响.....	20
1.3 中国生物技术作物的选育.....	40
第 2 章 遗传工程作物最新进展	52
2.1 基因转化技术的发展.....	52
2.2 增强粮食作物的营养价值.....	69
2.3 转基因植物中长链多不饱和脂肪酸的产生.....	91
2.4 应用基因工程手段改良禾谷类作物的籽粒品质	104
2.5 提高淀粉质量	120
2.6 利用转基因植物生产疫苗	132
2.7 遗传工程在农作物耐旱性中的应用	154
2.8 耐盐性	166
2.9 作物抗真菌基因工程	182
第 3 章 遗传工程作物安全性和管理	195
3.1 植物类食物过敏原	195
3.2 环境影响和基因漂流	214
3.3 GM 作物风险评估、管理和标记制度	226
英汉对照词汇	236
中文索引	250

第 1 章 遗传工程 (GM) 作物的现况

1.1 万年植物育种史：从原始选择到遗传工程

Nigel G. Halford

Crop Performance and Improvement, Rothamsted Research Harpenden,
Hertfordshire, AL5 2JQ, United Kingdom

引言

20 世纪 90 年代中期，植物生物技术在世界农业领域内取得突破，启动了第二次“绿色革命”，同时也引发了一次当代公众大辩论。约十几年后，本书介绍了遗传工程 (GM) 作物对世界农业的影响、技术最新进展、下一代 GM 作物概貌，尤其是欧洲对于 GM 作物的安全和监控问题的关注。

本章节正确定义了 GM 作物的概念（换言之，GM 作物与其他作物有什么不同），也报道了当前正在商业性应用的 GM 作物，其中包括除草剂耐性、抗虫性、病毒抗性、植物保鲜和种子油分改良，以及提供这些特性的基因。同时还介绍了世界范围内从 1996 年起对 GM 作物品种的广泛引入，到目前对 GM 品种的应用，并就此比较西欧与美洲，澳大利亚和亚洲地区的不同情况。首先，让我们在植物育种和遗传学悠久的历史背景下讨论植物遗传工程技术的发生。

早期植物育种

在人类历史上最具有争议的重要事件发生在大约 10 000 年前，当时生活在中东地区的人们，开始进行家畜和作物驯化，同时逐渐开始定栖的生活。他们不再依赖狩猎和游牧群聚，而是依靠农业为生，此后形成村庄、乡镇和城市。随着生活逐渐趋于稳定，人们有时间进行思考、试验、发明和创新，使此前 50 万年来几乎没有进步的技术得到了极大地发展（图 1.1.1）。在距今几千年内出现了美索不达米亚（Mesopotamia）、亚述、苏美尔和古巴比伦及古埃及的古代文明，为现代文明奠定了基础。

小麦也许是变化最大的重要物种。大约 6000 年前，埃及人已能制作由小麦烘烤的面包，其方法和现在的方法相仿；那时在南美洲和中国，农业得到了极大的发展。马铃薯和水稻分别成为南美洲和中国的主要种植作物。

作物改良也许在物种驯化和栽培开始时就已发生。最初这种改良是不自觉的，人们从变异丰富的群体中，挑选最优良的个体收获和种植，随后这种选择就更为系统化了。例如，已有证据表明，古巴比伦人选择雄性树给雌性树授粉，使椰树某些特性得以改良。

公元前 8000 年	农业最早开始于美索不达米亚 (Mesopotamia)。
公元前 4000 年	埃及种植面包小麦, 中国栽培水稻。
公元前 3000 年	秘鲁种植马铃薯, 欧亚大陆栽培所有重要粮食作物。
公元前 1000 年	美洲栽培所有重要粮食作物。
公元前 700 年	巴比伦人在椰枣 (date palm) 上采用了选择育种技术。
公元 1600 年	原产美洲的马铃薯、玉米及番茄被引入欧洲。
1753 年	Linnaeus 发表植物种志 (Species Plantarum), 对植物开始进行科学分类。
1843 年	John Lawes 获得了人工肥料——过磷酸钙的专利。
1859 年	Darwin 发表《物种起源》。
1866 年	Mendel 发表《植物杂交实验》。
1869 年	Miescher 发现 DNA。
1900 年	Mendel 的论文被重新发现。
1902 年	Garrod 将遗传特性和蛋白质功能进行联系。
1923 年	Russet Burbent 选育出杂交马铃薯新品种。
1933 年	第一个杂种玉米品种开始在美国发放。
1941 年	Beadle 和 Tatum 发表“一个基因一个酶”的假说, 第一个现代除草剂 (2,4-D) 合成。
1944 年	Avery、Macleod 和 McCarthy 证明, DNA 是遗传物质。
20 世纪 50 年代	通过化学药品和辐射诱变产生的商业作物首次发放。
1953 年	Watson 和 Crick 公布了 DNA 结构。
1957 年	Kornberg 分离出 DNA 聚合酶。
20 世纪 60~70 年代	“绿色革命”导致作物产量大幅度增加, 绿色革命是基于 Norman Borlaug 发现的矮秆基因和对农产品普遍应用的整合。
1966 年	Weiss 和 Richardson 发现 DNA 连接酶。
1969 年	第一个商业小黑麦 (小麦/黑麦杂种) 品种发布。
1970 年	Harmilton Smith 发现限制酶。
1972 年	Berg 构建成功第一个重组 DNA 分子。
1973 年	Boyer、Chang、Cohen 和 Helling 构建成功重组质粒 DNA 分子。
1977 年	Gilbert 和 Sanger 独立开发决定 DNA 分子核苷酸序列技术, Nester、Gordon 和 Chilton 表明, 农杆菌能对宿主植物细胞做遗传修饰。
1981 年	GM 大肠杆菌产生胰岛素并在医学上应用。
1983 年	Ghent、Leiden、St Louis 和 Cambridge 小组通过农杆菌将细菌基因导入植物细胞。
1983 年	Hall 构建成功 GM 向日葵植物, 内含扁豆基因。
1985 年	GM 植物率先在英国田间种植。
1988 年	Grierson 和 Schuch 报道 GM 植物反义抑制基因表达。
1994 年	延迟成熟的 GM 番茄被批准可供食用。
1996 年	首次大规模栽培 GM 大豆和玉米。
2000 年	完成拟南芥全基因组核苷酸测序。
2001 年	全世界 GM 作物种植区域超过 5000 万 hm^2 。
2003 年	GM 作物已在 18 个国家种植 6500 万 hm^2 。

图 1.1.1 农业和植物育种史上重大标记事件发生时间表

随着长期实践, 作物特性发生了明显变化。例如, 在古埃及坟墓里发现的小麦谷粒与现代小麦较为相似, 而与其野生亲族相比差异较大。事实上, 面包小麦是通过小麦种间杂交产生的, 这样的杂交事件只会在农业实践中发生, 而不会在野生环境中发生。可能在 10 000~6000 年前, 美索不达米亚人, 已将小麦种子向西传播到欧洲。

简单选择效应的另一个优秀实例是卷心菜家族 (包括无头甘蓝、卷心菜, 花椰菜、硬花甘蓝及孢子甘蓝)。卷心菜家族的野生亲族首次被驯化, 大约发生在 7000 年前欧洲的地中海地区。通过许多世纪的选择育种, 使得植株变大并且叶片茂盛。公元前 5 世纪, 已经产生了与现代无头甘蓝非常相似的植株。大约公元 1 世纪, 嫩叶簇顶部的卷心菜出现了。在 15 世纪, 通过选择具可食的头状花序植株, 南欧洲产生了花椰菜; 一个世纪后, 硬花甘蓝在意大利也以相似的方式产生。最后, 在 18 世纪, 比利时育成茎上有大芽的孢子甘蓝。所有这些蔬菜都是孢子甘蓝的变种。

建立遗传学科学

上述实例说明几千年来农民是如何进行作物改良的，但是，在达尔文和孟德尔建立遗传学科学以前，农民们并不知道系统植物育种的科学基础。达尔文被人们称为现代遗传学之父，孟德尔的工作表明达尔文的理论可以在自然选择基础上实施。然而，他们两个人却从未见过面，并且达尔文直到死时，也不知道孟德尔的研究成果。达尔文的经典书《物种起源》1859年发表。在该书中，达尔文阐述基于自然选择原理的进化理论。几乎与此同时，Alfred Russell Wallace独立地提出了相同的理论。正是达尔文几十余年细心积累的证据使这一理论受到重视。

简言之，达尔文的进化理论认为：地球上生命多样性产生于物种对各种环境变化的适应性，从而导致某些物种的灭绝和另一些物种的出现。来自共同祖先的物种表现出相似性。这个过程受自然选择控制，个体互相竞争过程中那些最适应环境生存的个体将最有可能被保留、繁殖并且将其特性传递到下一代。如果环境改变或种群开拓了一个新环境，被选择的不同特性会发生变异并且最终可能进化为一个新物种。

正因为种内个体不完全相同，个体之间存在差异或显示变异，才能进行自然选择（或人工选择，就此而言）。达尔文和他的支持者相信，双亲特性在后代会被混合，并且后代特性总是介于双亲之间。这给达尔文进化理论提出了一个问题，因为随着每个世代延续，其突变效应会减少，选择就不能进行了。

孟德尔是位于布鲁诺的 Augustinian 修道院的一名修士，他提供了解决问题的办法。1857年，孟德尔开始豌豆实验，他注意到不同的特性，如植株高度、种子颜色和荚果形状，有时后代特性和其亲本不一样。在他的第一个实验中发现，植株矮和高是真实遗传的，即矮小植株的后代是矮的，高植株的后代是高的；但将矮植株和高植株杂交时，其后代全部呈现高植株。将后代再做杂交时，后代中矮秆特性大约呈现 $1/4$ 。

孟德尔从实验中得出的结论是，每个亲本特性从一个世代传到下一个世代是成对传递的，某些特性对其相对的特性呈显性。极为重要的是，他认为，从一个世代到下一个世代其变异不会丢失。后代总是或与一个亲本类似或介于两个亲本间，即从每个亲本中遗传了一个单位。这些单位在每个世代中能再组合，因而其特性能再现。这些能遗传的单位后被命名为基因，虽然孟德尔当时没有使用这个术语。

1866年孟德尔的研究结果由自然研究协会发表，题目为《植物杂交实验》，但他的论文被视为一个业余爱好者的研究结果，因而被忽视，直到20世纪初期才被重新发现。其后被称为著名的“孟德尔定律”，同时孟德尔也被誉为现代植物育种的奠基人。

遗传学分子基础的阐明

20世纪，遗传学发展的步伐加速（图1.1.1），遗传学定律的分子基础逐渐被揭示。1902年，Archibold Garrod发现了一种人类遗传疾病——尿黑酸症（alkaptonuria），患者由于体内缺乏分解尿黑酸（alkapton）的酶，因此，排出的尿呈深红色。这是首次将一个遗传性状和一个蛋白质的活性进行了链接。Garrod工作的意义数十年后才被证明。

当时 George Beadle 和 Edward Tatum 试验表明,在真菌粗糙脉孢菌 (*Neurospora carssa*) 中,某一个遗传突变体会影响一个酶的合成,而这个酶是合成某种必需营养元素所必需的。1941 年 Beadle 和 Tatum 发表了“一个基因一个酶”假说 (Beadle and Tatum, 1941),此后他们被授予诺贝尔奖。该假说基本上是正确的,只有一些由多个亚基组成的蛋白质例外,这些亚基也许由不同的基因编码。

生物具有向后代传递生长和发育指令的信息的能力,这是遗传学和进化定律的基础。于是人们不禁要问,什么物质可以携带信息?换言之,什么是遗传物质?1944 年 Oswald Avery、Colin MacLeod 和 Maclyn McCarty 将脱氧核糖核酸 (DNA) 鉴定为遗传物质。他们的实验证明,将 DNA 分子从一个细菌品系转移到另一个品系时,其特性也随之发生改变 (Avery et al., 1944)。

1869 年 DNA 首次被 Friedrich Miescher 发现,但当时对其结构还不明确。84 年后,James Watson 和 Francis Crick 终于取得了突破 (Watson and Crick, 1953),他们在分析 Rosalind Franklin 和 Maurice Wilkins 的 X 射线晶体衍射图 (crystallographs) 的基础上提出了 DNA 模型。平心而论, Watson 和 Crick 取得的成就,是 Franklin 和 Wilkins 工作上的一个智力飞跃。Watson、Crick 和 Wilkins 荣获了诺贝尔奖;遗憾的是, Franklin 没有获奖,因为在授奖之前她已去世,而诺贝尔奖不授予已故的科学家。

DNA 结构竟是如此的优美:它含有两条 DNA 分子链 (通常称双链),每条单链由附有碱基的脱氧核糖 (deoxyribose) 组成,并由磷酸基团连接。每个单位称为核苷酸,共有 4 种,每个核苷酸具有不同的碱基:腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤或胸腺嘧啶,通常表示为 A、C、G 和 T。两条单链运行方向相反,卷曲成双螺旋结构,成对的碱基间由氢键连接。双链之间的距离意味着碱基对应发生 (碱基对),即一条链上的腺嘌呤与另一条链的胸腺嘧啶总是配对,同样胞嘧啶总与鸟嘌呤配对。这就表明,当分子被复制时,一条链上的碱基序列决定了另一条链的碱基序列 (它们彼此相反并且互补)。当双链的 DNA 被解开形成两条单链时,每条链又可作为一个模板,合成其互补链,并且原始的双链分子可产生 2 个复制单链。地球上所有的生命信息用 DNA 核苷酸链序列上的 4 个字母足以概括。

DNA 分子内的信息通过基因表达的过程决定蛋白质的结构。这个过程的第一部分称为转录,与 DNA 相关的核糖核酸分子 (RNA) 的合成以 DNA 分子为模板。和 DNA 一样, RNA 含有有机碱基的糖-磷酸盐骨架,但 RNA 分子是由单链组成,而不是双链,同时碱基中胸腺嘧啶 (T) 被尿嘧啶 (U) 替换。在新合成的 RNA 分子中,其核苷酸序列由 DNA 模板碱基序列所决定。

RNA 分子通过加工并且运输到核糖体的蛋白质复合体,这是合成蛋白质的地方,其过程称为翻译。蛋白质由氨基酸组成,而氨基酸序列由 RNA 分子序列决定。蛋白质的每个氨基酸通过核苷酸三联体表示,被称为密码子。正是氨基酸序列决定其蛋白质结构和功能,以致最后决定一种生物的特异性。

从 DNA 到 RNA 到蛋白质的链接可以用来解释 Garrod 的观察,并且验证 Beadle 和 Tatum 的“一个基因一个酶”假说。此外,通过选择性育种可以引发进化的过程及动植物的变异,这是由于 DNA 序列的变异 (突变) 导致的个体间和被选择性的变异。

DNA 分子很大。在动物、植物及真菌的细胞核内，DNA 和蛋白质缠在一起，形成染色体。人体细胞含有 23 对染色体，每个染色体含有 50 个到 2.5 亿个碱基对，所以 23 个独立的染色体（性细胞里的染色体数目构成基因组）含有总数大约 30 亿个碱基对。如果将 DNA 延伸，其长度整整可达几厘米，因此，它必须卷曲包装到细胞内。水稻基因组具 12 个染色体，有 4.66 亿个碱基对；在植物遗传学广泛应用的模式植物拟南芥中，包含 5 个染色体大约 1.26 亿个碱基对；玉米基因组的 26 亿个碱基对，分布在 10 个染色体上；小麦基因组有 7 个染色体，其碱基对估计超过 160 亿。

基因在这些巨大的 DNA 分子上参差不齐，不均匀地分布着。拟南芥基因约为 30 000 个，人类为 30 000~40 000，水稻为 45 000~56 000。一个基因可能长达百万个碱基对，但通常较小，平均长度大约为 3000 个碱基对。事实上，它们只占整个基因组的一小部分；其他部分（通常指“垃圾 DNA”）似乎没有功能。在不同物种中，基因数量上变异很大。即使是种间关系密切的物种，如水稻和小麦，基因组的大小也相差极大。

基因没有什么起点和终点结构标记，当然，由孟德尔报道的遗传单位可以简单定义为 DNA 分子内的功能单位。或许这是基因最易识别的部分，包括基因编码蛋白质的氨基酸序列信息。这个部分被称为编码区，至少它有明确的起点和终点。基因通常被分成外显子及内含子（非编码区部分）。在 DNA 编码区“上游”，有启动子，它具有决定基因何时、何地显示活性的信息。但这些信息也有可能位于下游编码区或内含子内。而编码区“下游”有基因终止子。它含有从基因转录并正确加工 RNA 分子的信息。

一个生物体内任何时间都表达、起作用的基因称为组成型基因或持家基因（house-keeping gene），而其他基因只在某些器官、组织或细胞类型中，或在一些特定发育阶段具有活性或受刺激而激发活性。在植物中，基因会对许多刺激发生反应，包括光、温度、霜、草、病害、遮阴及营养状态等。

DNA 和基因操作

DNA 一经被确定为遗传物质并且结构被确定后，有关 DNA 自身特性及细胞内酶的效应也开始得以认真研究。1955 年 Arthur Kornberg 分离出 DNA 聚合酶（合成 DNA 的酶，Lehman et al., 1958）；Bernard Weiss 和 Charles Richardson 分离了 DNA 连接酶，（黏合 DNA 两个末端的酶，Weiss and Richardson, 1967）；1970 年 Hamilton Smith 和 Wilcox 报道了限制性内切核酸酶（亦称限制酶）的功能，它能识别 DNA 分子特异短序列碱基对并在那个位点上切断分子。由此，Kornberg 和 Smith 两位科学家获得了诺贝尔奖。

现在，借助修复 DNA 分子工具，在特异位点进行切割，并在试管内将切割片段再连接形成新分子，这些操作已经可以实现。1972 年 Paul Berg 利用限制酶切开病毒和细菌的 DNA 序列，然后，将它们重组构建另一个 DNA 分子（Jackson et al., 1972），1980 年他荣获诺贝尔奖。在 Berg 实验后一年，Stanley Cohen、Annie Chang、Herbert Boyer 和 Roberts Helling 证明用限制酶切开，重组的细菌质粒能复制 DNA 分子（Cohen et al., 1973）。然后，新质粒可能被再导入细菌细胞，进行复制。如果培养细菌细

胞, 每个细胞携带重组质粒的拷贝, 细菌内含有新插入 DNA 片段的大量质粒 DNA, 可能从培养物中被分离。这使得来自任何一个物种的部分 DNA 可以被克隆, 并且在细菌中聚集产生足够数量, 对其发生影响。这个过程通常称为基因克隆。通常选择的细菌是大肠杆菌 (*Escherichia coli*)。这是一种人类肠道细菌, 但用于实验室里的品系已失去功能, 因而它们对生物不再具致病性。

克隆基因能对基因结构与功能的分子分析提供技术手段。有些人认为这是一个科学的新分支, 并称它为分子生物学, 其商业开发术语称为生物技术。它的第一个实例出现在药品产业上, 1981 年通过一个经过修饰的人类基因, 在大肠杆菌内生产了胰岛素, 这已获得美国粮食与药物调控局批准。

另外两个进展也值得一提: 1977 年, Walter Gilbert 和 Fred Sanger 分别提出了测定 DNA 分子核苷酸序列的方法 (Maxam and Gilbert, 1977; Sanger et al., 1977); 1983 年, Kary Mullis 发明了聚合酶链反应 (PCR), 使 DNA 的短片段能在体外被扩增, 而不是在细菌内克隆产生 (Mullis and Faloona, 1987)。这三个人都荣获了诺贝尔奖。测定 DNA 分子核苷酸序列方法已被开发, 并在 20 世纪 90 年代初期达到自动化程度, 全基因组核苷酸序列项目获得启动。2001 年人类基因组、2000 年第一个植物基因组序列拟南芥和 2002 年第一个作物基因组水稻核苷酸序列框架图, 相继得以发表。

现代植物育种

生产杂交种子的方法是在毗邻的小区种植同一作物的不同品系*。今天该技术已被农民和植物育种者广泛应用, 并且将可能沿用数千年。杂种优势 (即杂种优于其双亲的现象) 发生是通过突变体将遗传变异持续的过程。一个群体内保存着相同基因的不同形式称为等位基因。两个具不同特性的亲本通过杂交产生杂种群, 它们具有两个不同等位基因组合 (基因型), 这些组合具有优势。

20 世纪初, Mendel 有关特性遗传和植物杂种的遗传学研究论文被重新提及, 这为植物育种者提供了一个正确的科学依据。通过不同的基因型之间杂交, 植物育种者可以了解遗传特性发生什么样的变化, 如何产生真实遗传的育种系 (品种), 使其特性及特征在每个世代每个个体中得以保存。不言而喻, 此过程看似简单, 但事实上植物基因组内成千上万个基因会形成无数组合, 当进行杂交时其变异难以预测。此外, 理想的特性也许与不理想的特性通常连锁在一起, 这是由于它们位于同一个染色体上, 其位置非常接近的缘故。

尽管出现这样那样的困难, 植物育种者在改良作物产量上, 仍然难以置信地取得了成功。18 世纪末期, 牧师 Thomas Malthus 在写《人口原理》时称: 食品供应将跟不上人口的增长 (Malthus, 1798)。那时, 世界人口大约是 10 亿, 到了 1999 年, 世界人口已达到 60 亿, 饥荒却只在局部地区才发生, 而且往往是由极端气候条件, 加上政府无能力和 (或) 战争所造成的, 而非粮食生产不济所致。

在英国小麦栽培上曾有作物产量激增的实例。在过去 800 年间, 小麦产量大约已增

* 译者注: 如不育系和恢复系。

加了 10 倍，而半数以上却发生在 1900 年以后。其他不同作物也有相似的情况、增产最快的时期则发生在 20 世纪 60 和 70 年代。当时世界由于在谷类作物中整合了矮秆基因，同时实施机械化和普遍应用氮肥、除草剂和杀虫剂，引发了“绿色革命”。矮秆基因对于植物激素、赤霉素的合成产生显著的影响。虽然当时对其影响方式并不清楚。但矮秆基因整合到谷类作物后大量养分都进入种子，而进入非食用部位则减少，同时使植物在潮湿和（或）强风发生情况下，不易受到损伤。Norman Borlaug 是矮秆基因应用的先驱之一，他不仅自己在小麦育种上应用此技术，而且说服亚洲小麦育种同行也那样做。人们普遍认为，由于 Borlaug 的工作使亚洲人避免了主要食物的短缺。有史以来，Borlaug 所拯救的生命比任何个人所拯救的都要多。当 Louis Pasteur 等在一次辩论中提出这一观点时，当即得到了人们的赞同。当然，Borlaug 的成功也是所有植物科学家引以为荣的成功。

作物产量持续性增加也许表明，这种改良也将会长久地继续下去。但是，通过现有基因型重组进行改良受到遗传变异的限制。产量取决于许多因子，并受许多基因的影响。基因型的可能组合最终将会被用尽。此外，对于植物学家而言，他们也不可能简单地发现种内存在的某些基因型。不论是抗病性、除草剂耐性或在特殊环境条件下具有的生存能力或高产能力等性状，如果在该物种里不存在，那么育种家也不可能简单地创造出来。

20 世纪中期，植物育种家开始采用两种新方法，以增加其育种品系内的遗传变异。其一是“远缘杂交”，即用远缘的物种进行杂交，而通常在自然界里，它们是不会产生后代的；其二是通过电离辐射（中子、 γ 射线、X 射线或紫外辐射）或化学药品诱变剂处理以诱导变异。

远缘杂交通常要求进行胚的特别培养（胚挽救）以防止败育；从一颗发育的种子在无菌条件下切下胚，并在培养基上培养，直到发芽。如果两个不同种间杂交，杂种通常表现不育。这是因为每对染色体成员在减数分裂过程中一定会聚在一起，通过这一过程，精核和卵细胞形成。在远缘杂种细胞中，来自每个亲本的一套染色体可能完全不配对或错配；其结果是，所形成的精核和卵细胞或太多、太少，或染色体的错误组合导致活力丧失。但这可以通过染色体加倍克服，如通常对花药、未成熟花序或培养细胞进行化学药剂（如 colchicine）处理。由于杂种细胞内来源于每个亲本的染色体可以加倍成对而成活，因而它们就被称为多倍体（多于一个基因组）。

以这种方式产生作物的最佳实例是小黑麦，即小麦和黑麦间杂种。通常在硬粒小麦（四倍体；2 个基因组）和黑麦（二倍体）间产生杂种小黑麦（六倍体；3 个基因组）；也可能用六倍体小麦和黑麦杂交产生八倍体小黑麦（4 个基因组）。小黑麦首次由 Tschermak 于 1935 年命名，但直到 1969 年，经过相当长时间的育种改良后，第一个小黑麦商业品种才被发放。现在小黑麦在全世界种植面积已超过 240 万 hm^2 ，每年生产超过 600 万 t 谷粒。小黑麦能把黑麦对酸性土壤，潮湿及极端温度的胁迫和小麦的产量潜力融合在一起，小黑麦主要作为动物饲料。

作物诱变实验始于 20 世纪 20 年代。通常种子经辐射或化学处理，DNA 受到损伤，产生 DNA 序列变化，引起遗传变异。这些变异具有完全随机性，因此，诱变程序通常需要有非常大的群体（至少 10 000 个体）才能确保有用突变体产生。通过突变育种程序

出现的第一个商业品种在 50 年代发放。这项育种技术在六七十年代被广泛应用，一直沿用至今。这无疑表明技术是成功的。

在油菜质量的改良上诱变育种发挥过重要作用，以这种方式产生的第一个油菜品种 ReginaII 于 1953 年发放。油菜是在第二次世界大战期间被引进英国旨在提供工业用油，至今仍有一些品种以这个目的而种植。这种油不适合人们食用，因为它含有较高含量的芥酸和硫苷。这两种化合物毒性很大并且硫苷有苦涩味。育种家应用诱变和杂交逐渐减少它们的含量，直到 20 世纪 80 年代油菜才可供人们食用和动物饲养。在北美洲将可食用的油菜品种命名为 canola，这个名字现在已用于世界上所有品种。此外，诱变育种在面团小麦、水稻、白豆和大麦的改良上，同样发挥着重要作用。

遗传修饰

1977 年，第一个重组质粒 DNA 分子产生四年之后，Nester、Gordon 和 Chilton 证明，在农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 感染期间，细菌的 DNA 能插入宿主植物细胞的 DNA 中 (Chilton et al., 1977)。这种细菌能诱导植物感染癌肿病，在土层之上形成肿胀物 (癌肿)。插入植物基因组 DNA 的片段称转移 DNA (T-DNA)，携带 T-DNA 的质粒称肿瘤诱导质粒或 Ti 质粒。除诱导寄主细胞激增形成癌瘤外，农杆菌还能诱发糖和氨基酸衍生物的异常分泌物 (opinen)，农杆菌以此为生。不同的细菌品系感染植物后，会产生数种不同类型的 opinen，包括 nopaline 和 octopine。

癌瘤的细胞不能分化，换言之，它们不能发育成正常植物的特定分化细胞。如果把它们从植物体上取下来，在避免真菌和细菌感染的同时，供给它们光和营养元素，它们就可以无限期地得以培养。这种未分化的细胞团称为愈伤组织。愈伤组织可以在实验室里，通过农杆菌 (*A. tumefaciens*) 感染外植体 (叶、茎或块根的部分组织) 而产生。愈伤组织中所有的细胞都含有来自细菌的 T-DNA。

这个发现令人振奋，因为借助这一手段使植物细胞遗传组成可能被转换，其过程通常称为转化 (transformation)。1983 年，Schell 和 Van Montagu, Schilperoort、Chilton 和 Bevan 及 Fraley、Rogers 和 Horsch 研究小组均表明，细菌抗药性基因能插入 T-DNA 并且通过 Ti 质粒将其转移到植物细胞 (Bevan et al., 1983; Fraley et al., 1983; Herrera-Estrella et al., 1983; Hoekema et al., 1983)。Michael Bevan 在剑桥开发了所谓的载体 (质粒)，该质粒能在大肠杆菌及农杆菌这两种细菌 (双元载体) 中复制，这样人们就可以在大肠杆菌内进行操作和收集质粒，而后再把质粒放到农杆菌中进行植物转化 (Bevan, 1984)。双元载体上的 T-DNA 含有左右边界，转化的基因不存在于“野生型”的 T-DNA 中。因为这些质粒缺少必需的毒性 (VIR) 基因，而不能单独将 T-DNA 转移到植物细胞。它们只有同农杆菌中的 VIR 基因或其他质粒一起存在时，才可以把 T-DNA 左右边界中间的 DNA，进行植物转化。

愈伤组织必须被保存在无菌情况下，以防止细菌或真菌感染。通过植物激素处理，愈伤组织可以诱导形成苗，当苗与茎形成后除去激素，然后，诱导生根并且形成完整小植株，而后像其他植物一样，移植到土壤中。转基因植物的所有细胞 DNA 中已整合了 T-DNA。T-DNA 的全部基因将和植物其他基因一样可以在后代遗传。1983 年，Tim

Hall 应用这个方法产生携带扁豆种子蛋白质基因的向日葵植物 (Murai et al., 1983), 该基因不仅存在于植物每个细胞内, 而且能被稳定地遗传和具有活性。这一成果开创了植物转化时代。

对植物进行这样的遗传操作被称为转化, 也称为转基因、遗传工程。对于这个术语, 科学家偏爱使用转基因, 但非专业人士却广泛认可 GM*。虽然, 所有植物育种工作包含了基因的变异 (或修饰), 这些变异可以通过对自然突变体的选择, 不同品种甚至相关种的杂交, 也可以通过化学药品或辐射诱变人为诱导或随机变异发生。然而, 这里所述的术语“遗传修饰 (GM)”则是专门指通过人为插入单基因或基因组合转化的植物。现在农杆菌介导遗传的方法已为科学家们所接受。其他方法, 包括最新的进展, 将在本书第 2 章 2.1 节中报道。

遗传修饰是一个极有价值的植物遗传学研究工具。它能用于分析基因启动子活性、基因启动子内调节因子功能特性、基因代谢途径的功能, 了解植物对光、病害、草、干旱、营养及其他刺激反应机理、对蛋白质结构、功能和调控的分析。但是, 本书仅涉及在作物育种上的应用。

在实验室外和进入大田; 商业性 GM 作物

与其他植物育种技术相比, 遗传修饰有一些优点: ①能将任何来源的基因导入作物, 至少从技术而言, 可以获得的基因资源极为丰富; ②操作相对精确, 只转移一个或少数基因; ③在育种程序进入应用阶段前, 其基因及其产品安全性在实验室内可以进行广泛地测试; ④基因在插入植物之前, 可能通过实验室操作改变其何时和何地显示活性, 或改变其产生蛋白质的特性。这为植物育种者增添了一个不可替代并切实可行的新工具。

延迟成熟或延长保质期

第一个商业性发放的 GM 植物品种是能延缓成熟过程的番茄品种, 它具有较长的保质期 (shelf life)。1994 年它们首次在美国被批准可供食品应用。在水果生产中有一个显著问题, 是消费者想要买成熟果实, 但是快速地成熟, 通常会伴随着品质退化和腐烂。果实成熟是一个复杂过程, 其间细胞壁变得柔和, 变甜并且能生成有颜色、味道和芳香的化合物。该过程通常受植物激素乙烯所诱导。通过干扰乙烯的合成或对乙烯反应的过程进行遗传修饰, 可以减慢果实成熟过程, 延长成熟果实保质期。

这些品种的培养与遗传修饰技术的发明有密切联系, 科学家应用遗传修饰降低 (或沉默) 特定植物基因的活性。首先得到应用的是反义链法 (Grierson, 1996)。反义基因沉默首先涉及基因的构建, 即基因的一部分 DNA 片段以相反方向连接在启动子下游。启动子也许可从相同基因获得, 但它通常是较强有力的。当 GM 植物携带这个基因时, 它由转化基因合成反向的并且是互补序列的 RNA。这个反义 RNA 干涉了体内基因 RNA 的积累, 阻止它作为一个蛋白质合成模板。在植物中沉默目标基因的第二个

* 译者注: 在中国, 人们习惯称为转基因或遗传工程。

技术起始于一个似乎是反常的观察：一个或多个基因的全部或部分附加拷贝，即使是正向的，也具有如反义基因一样的效应。这种基因沉默的方法称为共抑制。

基因沉默其实是植物对病毒感染的自然防御。该机制包括产生许多小的、反义RNA，25个核苷酸长。由这些反义RNA干扰体内正常的RNA加工、运输和翻译。这种使基因沉默的第三个方法，称为RNA干扰(RNAi)，其关键是在植物体内合成目标基因的双链RNA分子。具体的做法是在启动子下游先组装一段顺序为从头到尾的基因片段，再接一段从尾到头的相同片段(反向相同的DNA序列)。这样的基因导入植物体后，会产生RNA分子并形成发夹结构(双链)，这些双链的RNA分子能被天然存在于植物细胞内的酶切成为小分子，每个分子长23个核苷酸。

反义链和共抑制已被用于降低编码多聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonase, PG)的基因活性，该酶使成熟期间的细胞壁软化而产生了第一个GM番茄品种。两个竞争小组大约在相同时间培育了这些品种。美国Calgene是基于反义技术；而Zeneca与Grier-son小组合作则应用共抑制技术。Calgene生产的是鲜果品种，商品名为“Flavr Savr”。1996年它首次大规模种植，但商业上并不成功，在一年内撤出市场。

Zeneca选择此特性并将其导入番茄用的加工业产品，并取得圆满成功。这些番茄比常规品种有较高的固体含量，在酱的生产中可以减少浪费和降低加工成本并且保持酱的厚度一致。此产品在许多国家市场上出售，并且在英国非常流行。其1996年引入直到1999年撤出，原因是英国大众对GM的反对。

一些延迟成熟的GM番茄品种仍然在美国市场上销售。它们降低了aminocyclopropane-1-羧基酸(ACC)合成酶的活性，此酶是合成乙烯所必需的。人们用绿针假单胞菌(*Pseudomonas chlororaphis*)基因编码的ACC脱氨基酶能分解体内的ACC。另一种相似的遗传修饰策略是，应用基因SAM编码水解酶分解乙烯前体S-腺苷甲硫氨酸(SAM)，使果实延迟成熟并且改良其收获后的保质期，虽已用于番木瓜、芒果、菠萝等果树作物试验，但还没有商业品种出售。

除草剂耐性

番茄是一种重要的果实作物，但其生产与重要农作物比较则相形见绌。大豆和玉米这两种作物GM品种的开发和成功才真正表明遗传修饰已成为植物育种的重要工具。这些品种于1996年首次在美国大规模种植，包括除草剂耐性大豆及抗虫性玉米。这些特性现在已被导入其他作物并被结合到一些品种中。

耐除草剂GM作物的产生，简化了除草剂的使用并降低了除草剂的费用。当然，除草剂在遗传修饰发明之前就已经使用。第一个现代除草剂——2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)，于1941年合成并在1946年发放，它们现在是发达国家农民防治杂草的重要手段。但是，除了考虑其设备、人工成本及化学药品本身的费用以外，除草剂也给农民带来了许多的问题，多数除草剂对植物有选择性的杀伤，因此，农民必须使用那些耐除草剂作物以及有特异性的除草剂及其组合，以便能杀死杂草但不会伤害作物；又比如在生长季节的不同时间应用，有一些除草剂在作物种植之前就应施入地面，以免对人构成健康风险；此外，土壤存留还会使轮作产生困难。

迄今导入植物最成功的除草剂耐性是广谱的草甘膦(glyphosate)抗性。孟山都公