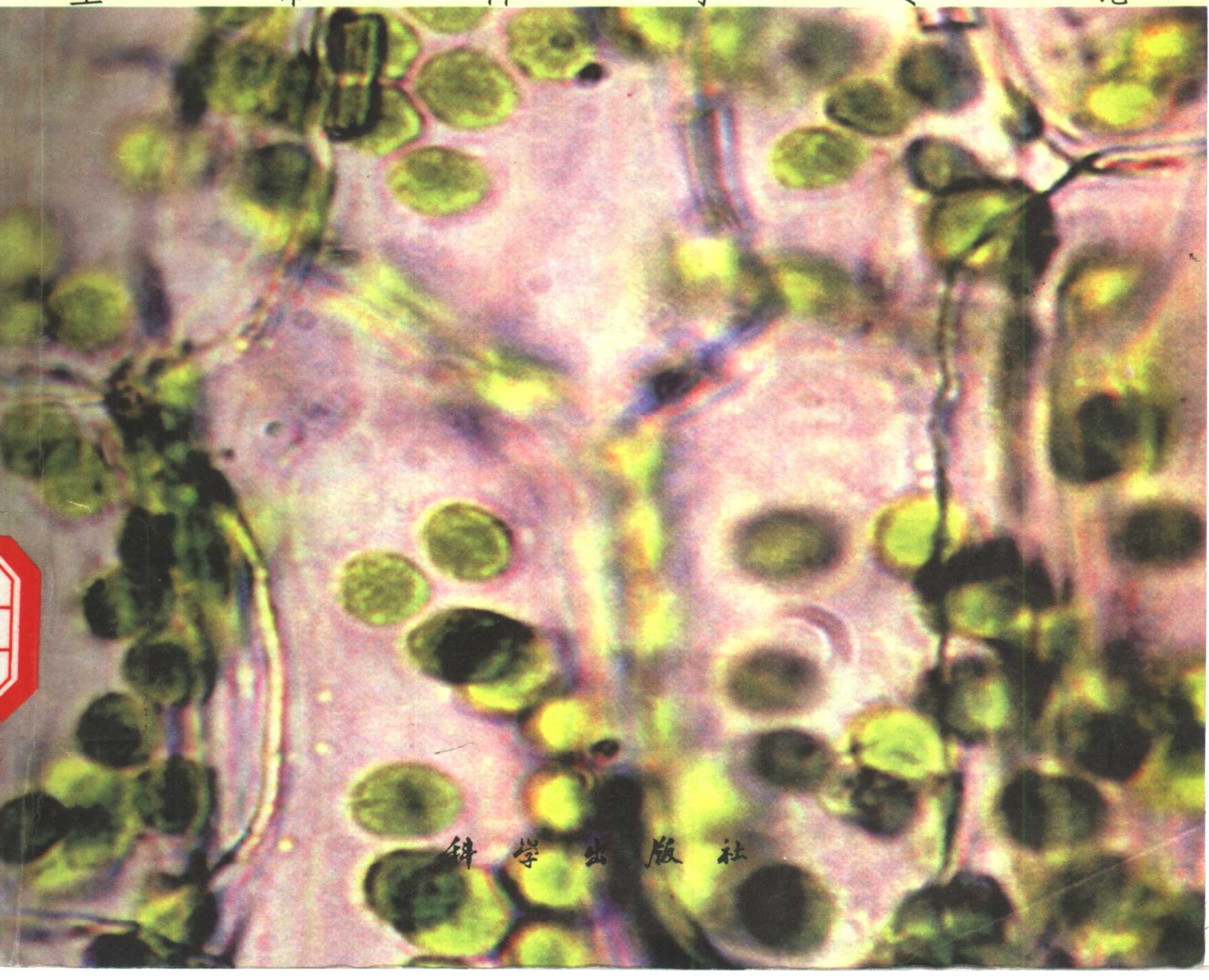


GREEN GENE FOR 21st CENTURY

走向21世纪的植物分子生物学

林忠平 等 编著

生 ■ 命 ■ 科 ■ 学 ■ 专 ■ 论



科学出版社

内 容 简 介

本书反映了生命科学前沿之一的植物分子生物学及有关生物技术的国内外最新进展。主要内容涉及植物发育的分子调控、植物代谢过程的调节、植物与生物及非生物环境关系的分子生物学、植物演化的分子机制、植物基因克隆的现状与方法学探讨、植物基因工程的现况与应用前景、有关生物技术学的新进展与新技术的开发应用等。本书从基础研究、应用基础研究到开发研究都有广泛而系统的论述,重点在于阐述研究现状、提出发展方向。

读者对象包括从事植物生物学研究和教学的广大科研人员和教学工作者,尤其是从事植物基因工程、生物技术、遗传和农学的研究人员及研究生。

图书在版编目(CIP)数据

走向 21 世纪的植物分子生物学 (GREEN GENE FOR 21st CENTURY) / 林忠平等 编著. - 北京: 科学出版社, 2000.5

ISBN 7-03-007943-4

I. 走… II. 林… III. 植物学: 分子生物学-研究 IV. Q946

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 63485 号

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号
邮政编码: 100717

新 蕾 印 刷 厂 印 刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

2000 年 5 月 第 一 版 开本: 787 × 1092 1/16
2000 年 5 月 第一次印刷 印张: 31 1/2
印数: 1—3 000 字数: 738 000

定价: 60.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换〈北燕〉)

前 言

20 世纪生命科学在分子生物学领域中取得了一系列重大成就: DNA 结构、生物信息传递过程、蛋白质的结构与功能、聚合酶链式反应、分子标记技术等等。以重组 DNA 技术为核心的各种分子生物学技术在各学科之间广泛渗透, 大大推动了生命科学各领域的进展。在植物生物学领域情况亦然。从拟南芥 (*Arabidopsis*) 等植物中克隆了大量的基因, 极大地推动了植物基因结构、功能及调控的研究。转基因技术的迅速发展, 不仅提供了重要的和具广泛应用价值的转基因实验系统 (transgenic approach), 而且由于超越了物种间的隔离, 使一个物种的基因 (甚至人工设计的基因) 可以在另外一个物种中表达。多种多样的转基因植物的出现, 为基因工程育种展示了无限美好的前景。

未来的世纪人类在粮食生产、环境改良、资源保护、医疗保障等诸多方面面临严重挑战。人们普遍认为仅仅沿用传统的以杂交育种为核心的农业技术很难满足世界对各种植物产品的需要。因而对现代植物生物技术的崛起寄予厚望。

目前已有一大批具有优质、高产、抗虫、抗病和抵抗不良环境能力的工程植物 (engineered plants) 步入产业化的进程。人们期望采用更多的基因和更为精妙的调控手段来创造具有崭新遗传特征的植物。于是, 人们加紧了对新基因的探索步伐。拟南芥基因组计划将提前两年在 2003 年完成, 水稻等重要作物的基因组计划也在大力推进中。水稻基因组中估计基因总数在 3 万左右, 在其图谱中已定位的可表达序列 (ESTs) 超过了 1/3。植物中功能基因的研究和专利所有权的争夺, 已成为全世界植物生物技术竞争的焦点。

植物分子生物学做为 一门新兴的前沿学科已经渗透到植物研究的各个领域。它和遗传学、生物化学、生理学、分类学和生态学等学科一起在探索植物生物学的一些基本问题中已经取得了可喜的进展。这些问题包括: 植物物种的形成, 演化机制及物种兴衰与灭亡的分子过程, 生命周期和细胞周期的控制, 发育的调节与细胞程序死亡的控制, 植物基因表达的时空特性, 植物基因对环境变化的应答过程, 光合作用产物的分配和有效积累, 植物与微生物的相互关系等等。

植物分子生物学做为植物生物技术的基础具有巨大的应用潜力。它和农学、园艺学、育种学、植物保护学等学科一起, 不仅为农作物的高产、优质、耐贮、抗虫、抗病、抗逆和减少农药使用做出贡献, 而且在农作物品种鉴定、纯度鉴定、病害鉴定等方面开始了广泛的应用。

1997 年中国植物学会分子生物专业委员会在洛阳市举行学术研讨会之时, 学界的朋友们认为有必要将目前植物分子生物学的国内外进展做一个回顾和展望。本人做为会议的组织者深为感动。会后专家们踊跃写稿, 内容涉及上述重要研究领域的进展情况。华恒医药保健品公司等 在出版经费上给予了一定的支持, 本人愿借此机会向学界同仁及本书的支持者表示衷心的感谢。

林忠平

1998 年岁末于北京大学生命科学院

目 录

前言

农业生物工程研究及产业的现状及我国发展的策略·····	陈章良 (1)
植物生殖发育分子机理的研究·····	许智宏 (13)
TRANSGENIC APPROACH TO IMPROVE CROP QUALITY ·····	
····· Samuel S. M. Sun, Ming-li Wang, Helen M.	
Tu, Wei-neng Zuo, Liwen Xiong, Simon M. K. Cheng and Joyce C. W. Leung (22)	
生命科学及植物分子生物学的百年回顾及展望·····	李宝健 (44)
转基因沉默及其控制·····	贾士荣 (55)
定位重组系统在外来基因活性调控中的应用·····	
····· 林忠平 胡鳶雷 李 雷 秦京东 (66)	
植物 DNA 分子进化及系统发育研究进展 ·····	王金铃 顾红雅 陈章良 (72)
肌动蛋白分子生物学的研究进展 ·····	胡松年 阎隆飞 (81)
植物分子生态学的进展·····	胡志昂 王洪新 (89)
植物 R 基因介导抗病反应的分子机制 ·····	陈章良 瞿礼嘉 杨崇林 (105)
植物抗虫遗传操作策略 ·····	朱 赧 (117)
植物抗病毒基因工程研究进展 ·····	李恩虎 李 毅 陈章良 (131)
抗真菌蛋白基因在植物抗病基因工程中的应用与前景·····	
····· 冯道荣 卫剑文 李宝健 (138)	
水杨酸在花生四烯酸诱导马铃薯系统获得抗病性建立之中的必需作用 ··· 余迪求	
Zhixin Xie, Yidong Liu, Baofan Fan, Daniel F. Klessig and Zhixiang Chen (142)	
植物抗病基因和无毒基因的瞬时表达定量分析·····	
····· 张彦斌 袁风华 Fumiaki Katagiri (160)	
菜豆重金属胁迫响应基因 II: 富含脯氨酸蛋白 cDNA 克隆及基因表达分析 ·····	
····· 柴团耀 张玉秀 张正东 (165)	
马铃薯 Y 病毒移码突变 NIb 复制酶基因转化烟草及其介导的相对广谱抗病性	
····· 鲁瑞芳 吕鹏飞 彭学贤 (172)	
高等植物重金属抗性的分子机理研究 ·····	麻 密 贾燕涛 黄玉山 (178)
云南稻种扎昌龙抗白叶枯病新基因的分析与定位·····	
····· 林兴华 王春台 文国松 徐 鑫 张端品 谢岳峰 张启发 (186)	
植物春化作用的生理、遗传与分子基础分析 ·····	赵大中 种 康 谭克辉 (192)
高等植物转录因子与发育调控 ·····	刁丰秋 吴乃虎 (208)
植物对环境胁迫的分子应答 ·····	周志琦 张贵友 刘 强 (234)
植物脱水耐性的分子基础 ·····	宋松泉 林忠平 傅家瑞 (242)
植物的血红蛋白 ·····	张静娴 荆玉祥 (253)

配子体自交不亲和性的分子控制和进化·····	
····· 薛勇彪 杨慧君 张燕生 谭志远 赖钊 崔海洋 梁丽芝 齐瀛川 (261)	
钙和钙调素信号传导作用的分子机制 ·····	陈绍荣 梁述平 吕应堂 (266)
非固氮植物初级氮同化相关的基因及其基因表达调控·····	
····· 印莉萍 刘祥林 洪剑明 邱泽生 林忠平 (271)	
CHARACTERIZATION OF HETR PROTEIN OF ANABAENA PCC 7120 ·····	
····· Yuqing Dong, Ruanbao Zhou, Xingcheng Wei, Nan Jiang, and Jindong Zhao (288)	
苯丙氨酸代谢途径分子调控的某些方面 ·····	刘 静 胡鳶雷 高 音 林忠平 (294)
高等植物铁营养的生理学和分子生物学·····	
····· 刘维仲 印莉萍 刘祥林 邱泽生 张福锁 (300)	
F snoRNA, A novel intron - encoded ACA snoRNA in rice ·····	
····· Zhong Ling , Qu Lianghu, Lu Yongjun, Zhou Hui (317)	
铜转运机制及其相关基因的研究进展 ·····	宋秀芳 印莉萍 (323)
光敏核不育水稻 (PGMR) 的研究概况、进展及策略·····	康 健 吴乃虎 (335)
AFLP 的原理及其在植物分子生物学研究中的应用 ·····	王 斌 (348)
温敏核不育水稻等位突变系的 AFLP 分析 ·····	
····· 王 斌 李传友 郑洪刚 金德敏 伏健民 贾建航 杨仁崔 (359)	
mRNA 差异显示技术及其在植物基因工程中的应用 ·····	黄 旭 龚蓁蓁 (364)
植物染色体微切割、微分离与微克隆技术研究进展·····	
····· 党本元 胡赞民 陈正华 (367)	
王百合单染色体的微分离及其 DNA 片段的微克隆 ·····	
····· 党本元 胡赞民 周奕华 崔丽华 王兰岚 李良材 陈正华 (373)	
RAPD 技术在悬钩子属系统分类与遗传多样性研究中的应用 ·····	
····· 李维林 贺善安 顾 烟 (379)	
外源基因在转化植株中的遗传稳定性 ·····	王关林 方宏筠 那 杰 (387)
农杆菌 T-DNA 区激素调节基因在生物技术上的应用 ·····	
····· 贾燕涛 麻 密 林忠平 (400)	
通过农杆菌原位真空渗入法获得转基因小白菜 ·····	曹鸣庆 刘 凡 姚 磊 (409)
转基因植物生产生物分子的研究进展 ·····	李 枞 叶 梁 宋艳茹 (416)
有关经遗传修饰生物体的讨论 ·····	钱迎倩 (430)
工程抗体基因在植物中的表达 ·····	曾君祉 付 钰 黄华梁 (440)
植物遗传转化技术的研究进展 ·····	赵恢武 胡鳶雷 林忠平 (446)
真菌多糖——一类新的生物技术产品 ·····	林忠平 (455)
二十一世纪的中国农业 ·····	苏彦辉 阎秋霞 朱玉贤 (459)
分子生物信息数据库及其应用 ·····	罗静初 黄 弋 顾孝诚 (466)
植物的同源异型转换基因和植物的发育 ·····	王春新 刘良式 (472)
抗除草剂基因工程研究进展及其在水稻上应用 ·····	黄大年 (494)

农业生物工程研究及产业的现状及我国发展的策略

陈章良

(北京大学副校长 中国生物工程学会副理事长)

从 80 年代初美国科学家获得第一株转基因植物到现在，短短的十多年时间内，农业生物工程迅猛发展，日新月异，成为高新技术领域中进展最快的领域之一。到目前为止，已有大量的转基因工程植物（包括大多数农作物）从实验室走进了大田，甚至有不少转基因工程产品已成为商品，进入市场。可以预计在未来的 20 年内，随着转基因工程植株在大田的释放及推广，农业生产及其方式在很大程度上将有较大的改变。我国农业生物工程研究也发展得很快，目前的总体水平居亚洲之首，在世界上也是中上水平；作为世界上最多人口，最大的农业生产国，如何进一步发展农业生物工程研究，推广农业生物工程成果，关注生物工程的安全性问题以及如何在农村培养有一定农业生物工程知识的技术推广人员，将是我们未来将要遇到的主要挑战。

一、农业生物技术的技术现状及发展

80 年代初，随着可供选择的标记基因的应用，第一批转基因矮牵牛和烟草问世了；随后大量的不同来源、不同功能的基因被转入植物，从而在植物的抗病毒、抗虫、抗除草剂工程、制造雄性不育的植物、利用植物生产医药蛋白、调节次生代谢大量生产有重要价值的蛋白质、以及改变植物的质量性状等方面取得了一系列令人瞩目的进展。

1. 生物工程抗病毒

(1) 向植物中转入病毒的外壳蛋白基因

植物的病毒病害是造成农业生产损失最大的病害中的一种。目前仍没有很有效的方法来防治，通常的方法是利用传染病毒的昆虫，及通过育种的方法或通过使用脱毒后的或无毒的种苗来防治这种病害。麦金西于 1929 年首次描述了一种病毒的交叉保护现象，即当一种弱侵染性烟草花叶病毒（TMV）侵染烟草后，这株烟草在一定程度上出现了抵抗强病毒的侵染。1972 年这项技术被成功地用于番茄，1980 年用于柑橘，1984 年用于木瓜环斑病毒。但是用这种方法来抵抗病毒有一些缺点：首先需要几年时间，才能得到一种合适的弱病毒植株；其次，虽然是弱毒病毒，但也能在一定程度上使产量减少同时需要接种，工作量大；而且弱毒株只能交叉抵抗与它相类似的病毒，而对相差较大的病毒则无作用，有时还会和这些不相关的病毒相互作用，使植物受到更大的损失。

1985 年美国科学家 Beachy 等就设想将病毒的外壳蛋白基因转入植物基因组中，看其是否能产生类似交叉保护的现象。植物基因工程技术使这一设想得以实现。1986 年他们将 TMV U1 株的外壳蛋白 cDNA 转入烟草细胞，转基因植物及其后代都高水平地表

达了外壳蛋白, 这些植株有明显的抗病性, 甚至还可以有效地减轻和延迟另一种相关的烈性病毒株的病症。进一步的大田实验结果表明, 在接种了 TMV 以后, 转基因番茄只有约 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%。从此, 植物基因工程为抗病毒提供了一条十分诱人的途径, 利用外壳蛋白基因抗病毒的方法很快地被应用到其他病毒和植物上。到目前为止, 已有 TMV、苜蓿花叶病毒 (ALMV)、CMV、烟草脆裂病毒 (TRV)、木瓜黄斑病毒、PVX、PVY 和大豆花叶病毒 (SMV) 等的外壳蛋白基因在烟草、番茄、马铃薯和大豆中得到表达, 这些转基因植株都获得了阻止或延迟相关病毒病发生的能力。

用病毒外壳蛋白基因培育抗病毒植株是一种相对安全的工程。但迄今尚未证明这种方法对防治所有的病毒都有效, 而且人们担心这种转基因植物中所表达的病毒外壳, 若能装配其他一些虫传的病毒 RNA, 可能还有一些安全方面的问题, 但大田试验几年来还没有明显发现这类问题, 另外抗性因感染的病毒量增加而减弱。

(2) 向植物中转入病毒的卫星 RNA 基因

有些种类的病毒是带有卫星 RNA 的。1986 年英国科学家 Harrison 等人首次将 CMV 的卫星 RNA 反转录成 cDNA, 然后转进植物中, 获得了抗 CMV 的转基因植株; 紧接着澳大利亚的 Gerlach 等人也报道了他们将烟草环斑病毒 (TobRV) 卫星 RNA 在转基因植物中表达的成果, 我国田波教授也获得抗 CMV 的转基因烟草。尽管表达卫星 RNA 的植株可以获得抵抗相应病毒的能力, 但这种方法仍有一些缺陷: 例如, 这种方法只适合于含有卫星 RNA 的病毒种类, 而含有卫星 RNA 的病毒在自然界为数不太多; 其次, 人们还认为, 病毒的卫星 RNA 对抑制它的互补病毒的复制方面不是太完善; 而且卫星 RNA 的高突变率也限制了此项技术的运用, 因此, 大面积推广使用这种方法时可能还需要一些安全性方面的考虑。若能对这种方法做些设计更新, 如对卫星 RNA 的 cDNA 上搞些点突变, 也许效果要好些。

(3) 利用病毒的反义 RNA

这种方法最早是用在动物病毒上的, 作法是将病毒的基因反向地结合在启动子之后, 这样转基因细胞里就能编码出反义基因的 RNA, 当外源 RNA 病毒侵入时, 反义 RNA 就与入侵的病毒 RNA 形成互补, 构成双链结构, 从而使病毒无法复制, 减轻了病毒危害。这种方法被植物领域的科学家们借鉴过来用在植物病毒的基因上, 转反义基因的植物获得了能抵抗病毒的能力。但是这种方法仍有一些缺点, 主要的问题是需比较大量的反义 RNA 才能彻底抵抗外源病毒的入侵, 而目前的植物启动子水平都还不够高, 按现在的启动子水平, 反义 RNA 的产量至少需提高 50 倍。因此, 利用病毒反义 RNA 的方法可以抵抗不太严重的病毒侵染; 当侵入的病毒数量较大时, 就起不到太大的作用了。

(4) 利用植物编码的抗病毒基因

有些植物在受到病毒侵染的时候能表现出一定的抵抗能力, 最明显的例子就是有的番茄品种能够抵抗 TMV 的侵染; 还有许多植物 (如烟草、番茄、菜豆等) 在受到病原真菌、细菌、病毒或逆境诱发后体内能产生多种蛋白 (简称 PR 蛋白)。现已克隆了不少 PR 蛋白的基因, 发现是各种水解酶或蛋白酶抑制剂以及其他一些抗性蛋白的基因。这类 PR 基因表达蛋白似乎是植物天然防御体系的反应。一旦将来我们克隆到了植物本

身抗病毒的抗原基因,那这将是最佳的抗病毒基因工程途径之一。

(5) 利用 Ribozyme 裂解病毒基因组

类病毒(viroid)、拟病毒(virusoid)以及卫星RNA的复制都是以滚环式方式先合成一个大链条,然后经自我裂解,断成若干个与原基因组相同的单体分子。目前科学家们利用此原理设计合成一种具有核酸酶活性的寡聚核苷酸(核酶),以裂解病毒的基因组;从现有的资料看,作用效果不明显。

(6) 利用病毒上的其他基因

在病毒基因组中除了外壳蛋白基因以外,还有其他一些可用作抗病毒基因工程的基因,其中包括运动蛋白基因、复制酶基因等。1991年Carr和Zaitlin将TMV编码的54kDa蛋白基因转入烟草中,转基因烟草完全能抵抗TMV U1及与其相近的株系的侵染。这种获得的抗性有几个特点:①转基因植株的抗性水平与整合到烟草染色体上的基因拷贝数无关;②这种抗性植株对裸露的TMV-RNA也具有抗性;③这种抗性植株的抗病水平很高,并且抗性植株在整个生长过程中都不发病。

2. 生物工程抗虫

虫害是农业生产一大害,化学药剂杀虫不仅成本高,而且严重污染环境。用植物基因工程的方法已成功地获得抗虫的转基因植物。

(1) 苏云金芽孢杆菌毒蛋白

很早人们就知道苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)能够杀死一些昆虫,目前已弄清楚其杀虫机制在于这种杆菌体内有一种结晶的蛋白毒素: δ 内毒素,它以原毒素的形式存在,在昆虫幼虫的中肠道内,借助于蛋白酶的水解,原毒素转化为较小的毒性多肽,这种被转化的毒素与昆虫中肠道的上表皮细胞表面的特异受体相互作用,诱导细胞膜产生一些通道,扰乱细胞的渗透平衡,并引起细胞肿胀甚至裂解,昆虫幼虫停止进食,最终导致死亡。这些毒素基因被分为I、II、III和IV四类,统称为结晶蛋白(cry)基因。

1987年比利时PGS公司Vaeck等首先报道了将前端缺失的cryI A基因与卡那霉素抗性基因融合后,通过农杆菌Ti质粒转入烟草,转基因烟草对烟草天蛾(*M. sexta*)的毒杀率在三天内可达95%~100%,接着美国Monsanto公司Fischhoff等人和Agrocetus公司Barton等人相继报道了他们用3'端缺失的cryI A(b)和cryI A(a)基因转化番茄和烟草的结果,所有这些转基因植株都获得了对烟草天蛾的高抗性(死亡率达100%),但杀虫蛋白在上述转基因植物中表达水平非常低,仅占叶总可溶性蛋白0.001%左右,这样的表达水平对不太敏感的昆虫如棉铃虫、玉米螟、粘虫等就不能达到有效的杀虫目的。

Monsanto公司的Perlak等人在保留原基因的氨基酸顺序前提下,采用了植物偏爱的密码子,人工合成了全长的cryI A,在转基因棉花植株中的表达水平达到了叶总可溶性蛋白质的0.05%~0.1%,获得了能有效毒杀棉铃虫的转基因棉花,用合成的Bt毒素基因转化马铃薯获得了对CPB(colorado potato beetle)有很强抗性的基因植株,这两种转基因植物已被美国农业部批准应用于商业性种植。另外转人工合成Bt毒素基因的玉米田间试验结果表明对欧洲玉米螟防治效果很好,可望批准用于商业性种植。

无疑Bt毒素基因是目前应用得最广泛和最有潜力的一个抗虫基因,但其在应用中

的潜在问题也日益受到人们的关注,首先 Bt 毒素基因抗虫谱窄是一个很大的缺点,虽然已经分离到众多的 Bt 毒素基因,抗虫谱几乎覆盖了所有鳞翅目昆虫,但是具体而言,每一种 Bt 毒素基因的抗虫谱却十分有限。另一个严重的问题是随着利用 Bt 毒素基因的转基因植物大面积的推广应用,Bt 毒素在植物体内持续表达必将给目标昆虫造成很高的选择压力,使这类昆虫产生对该转基因植物的抗性,从而使抗虫植物很快失去应用价值。使用 Bt 毒素杀虫剂的大田试验和 Barinaga 实验室的研究结果表明,昆虫在连续受高剂量 Bt 杀虫蛋白处理后即产生了抗性,所以如何延期或防止昆虫对 Bt 毒素转基因植物产生抗性也是目前人们关注的焦点之一。

(2) 植物蛋白酶抑制剂

植物蛋白酶抑制剂 (proteinase inhibitor, PI) 一般为 60~120 个氨基酸组成的多肽,分子量 8~25kDa,它们存在于许多禾本科、豆科和茄科植物的种子、块茎中。蛋白酶抑制剂杀虫的机制在于它能与昆虫消化道内的蛋白消化酶相互作用,形成酶-抑制剂复合物,阻断或减弱消化酶的蛋白水解作用,所以一旦昆虫摄食进蛋白酶抑制剂,就会影响正常的消化,而得不到足够的营养。同时,蛋白酶抑制剂和消化酶形成的复合物,能刺激消化酶的过量分泌,通过神经系统的反馈,使昆虫产生厌食反应,最终导致昆虫的非正常发育或死亡。但是,大多数植物中的蛋白酶抑制剂的含量较低,达不到抑制昆虫取食或抑制微生物危害的水平,因此,需要通过生物工程的方法将编码植物蛋白酶抑制剂的基因转入植物中高效表达,以达到抗虫的目的。目前已知的用于抗虫的植物蛋白酶抑制剂主要有马铃薯蛋白酶抑制剂、豇豆胰蛋白酶抑制剂 (cowpea trypsin inhibitors, Cp-TI)、水稻巯基蛋白酶抑制剂 (oryzacystatin)、淀粉酶抑制剂 (α -amylase inhibitor)、植物凝集素 (lectin) 等。

最近还有人发现抗真菌的几丁质酶 (chitinase)、核糖体失活蛋白 (ribosome inactivating protein, RIP) 也具有抗虫的效果。1993 年, Purcell 从链霉菌培养液中分离到一种蛋白,具有胆固醇氧化酶活性,实验证明这种蛋白对棉铃虫具有强烈毒杀作用。用这种蛋白基因转化烟草,得到的转基因烟草能引起棉铃虫死亡,另外一些专利报道,从蛇和蝎子毒液中分离到的杀虫肽,其基因能在植物中表达,并能增强植物的抗虫能力。澳大利亚 Deakin 公司从澳洲漏斗蜘蛛 (Australian funnel web) 毒液中分离纯化到一种杀虫肽,由 37 个氨基酸组成,分子量为 4kDa,体外实验证明,它能杀死多种对农作物有害的昆虫,特别是对棉铃虫属有很强的毒害作用,但对哺乳动物没有毒害作用。我们实验室与该公司合作,参照植物偏爱的密码子,人工合成了此杀虫肽的全长基因并将该基因转入烟草,对转基因烟草的分析表明,杀虫肽基因插入到转基因烟草植株的染色体上并表达出有活性的杀虫肽,为将来将此基因应用在一些重要的农作物如棉花等上打下了基础。这些新的毒性基因的发现为利用生物工程更为有效地控制虫害提供了广泛的选择。

3. 抗除草剂工程

应该说这是一项比较成功的植物基因工程,一些技术发达的国家,如美、英、法、德、比利时等都非常重视这项技术。目前世界上采用的除草剂主要分两大类,一类主要是通过破坏氨基酸合成途径来杀死杂草, Monsanto 公司除草剂多为此类;另一类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, Dupont 公司产的除草剂多属此类。

根据除草剂的不同作用特点,我们采用几种方法来实现抗除草剂的基因工程。

第一种方法,我们可以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,从而转基因植物中这种酶或蛋白质的量大大增加。如果除草剂的浓度不足以全部破坏植物体内的这种酶或蛋白质,那么就不能把植物杀死,而杂草则因为酶和蛋白质被除草剂破坏而被杀死。一个成功的例子就是将 EPSP 合成酶基因转入植物抗除草剂。EPSP 合成酶催化的是芳香族氨基酸生物合成中的一个步骤,广谱除草剂 glyphosate 就是以 EPSP 合成酶为目标,破坏其结构,从而破坏氨基酸的合成途径。1987 年美国科学家成功地将 EPSP 合成酶基因转进油菜细胞的叶绿体中,转基因植物叶绿体中 EPSP 合成酶活性大大提高,并能抵抗 glyphosate 的作用。利用这一原理成功的例子还有抗磺酰脲(sulfonylurea)类除草剂和抗三嗪(triazines)类除草剂的工作。

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。例如有人从土壤微生物真养产碱菌(*Alcaligenes eutrophus*)克隆了编码 2,4-D 单氧化酶的基因 *Tfda*,催化从 2,4-D 分子上移去侧链使之失活,转入植物,已获得抗 2,4-D 烟草和棉花;比利时科学家从 *Shygroscopicus* 克隆了 *Bar* 基因,编码 PPT 乙酰转移酶,导入烟草、番茄和马铃薯等作物后使之抗除草剂 PPT (phosphinothricin);还有人从土壤细菌肺炎杆菌(*Klebsiella ozaenae*)克隆的 *Bxn* 基因,编码对除草剂溴苯氰(bromoxynil)专一的腈水解酶,使溴苯氰转变成 3,5-二溴-4-羟基苯甲酸而脱毒,将此基因导入烟草和番茄,使转基因植物获得抗性。

还有一种方法,针对除草剂能识别其作用的酶上的一定位点这一特点,人们用基因突变的方法使该位点上的相应氨基酸发生突变,但这种突变并不损坏这个酶的二级结构和酶促功能,只是除草剂不能识别它了,这样转基因植物就表现出对除草剂的不敏感。现在已有的抗除草剂的转基因植物约有 20 多种,这些植物给农业生产带来了极大的便利。

4. 抗真菌和细菌病害工程

植物细菌和真菌病害一直是农业生产的大敌,病菌的侵染可造成农作物生产的巨大损失。为了有效地防治植物病害,在近一个世纪的时间里,植物病理学家和育种学家付出了艰辛的劳动。到目前为止,控制植物真菌和细菌病害扩展的主要方法为:①采用不同的栽培管理方式,如轮作、避免带菌土壤和植物材料的传播;②培育和利用抗病品种;③使用化学杀菌药物。由于抗病育种的周期长,病原小种的分化速度往往超过品种更新换代的速度,抗病育种难以对新的病原小种做出及时反应。于是人们不得不使用化学杀菌剂,然而杀菌剂的成本较高,长期使用将导致病原菌的抗药性,其残毒还会引起环境污染等问题。

随着现代分子生物学的发展以及植物基因工程技术的日趋完善,人们开始着眼于鉴定和克隆抗病相关蛋白的基因,并期望通过将外源抗病基因导入植物从而提高植物对病害的抗性。在植物抗病毒基因工程方面,已经有几种成功的策略,新的方法也逐渐成熟。近年来,随着对植物抗病机制及病原菌致病机制的深入研究,加上植物抗病基因的克隆,使得利用基因工程技术来控制植物真菌和细菌病害成为可能。

最主要的是利用植物抗病基因(*R*)。经典遗传学的研究已经鉴定出植物抗病基因的遗传位点,它决定对特定的病原菌生理小种的抗性,并被育种学家广泛利用。但是,

由于绝大多数抗病基因的产物目前还不清楚,因而难以用传统的方法来克隆抗病基因。分子生物学技术的发展为植物抗病基因的分离奠定了基础。目前,用于抗病基因克隆的方法主要有两种:①转座子标签法(transposon tagging),该技术的一个显著特点是可以用来分离预先不清楚表达产物的基因。第一个克隆的植物抗病基因是玉米 *Hm1* 基因。该基因的鉴定是利用玉米转座子(*Mu*)通过转座子示踪进行的,它负责对真菌 *Cochliobolus carbonum* 小种 I 的抗性。另外几个由转座子标签法克隆的植物抗病基因分别为:烟草的 *N* 基因、番茄的 *Cf9* 基因及亚麻的 *L6* 基因。②依据作图克隆技术(map-based cloning)即用 RFLP 或 RAPD 等分子标记构建遗传图谱,寻找与抗病基因紧密连锁的 RFLP 或 RAPD 标记,然后以染色体步查法(chromosome walking)来克隆抗病基因。采用图谱克隆技术分离的植物抗病基因有:番茄的 *Pto* 基因、拟南芥的 *RPS2* 基因及水稻的 *Xa21* 基因。

一旦分离到农作物的抗病基因,就可以把它导入其他作物以提高抗病性。但是这种抗病性具有十分专化的小种-品种特异性,因而获得的转基因植物仍然不能抵抗其他生理小种的侵染,而且在病原菌新的毒力小种出现后,这种转基因植物就会丧失其抗病性而发病。因此,利用这些小种-品种特异性的抗病基因来培育转基因的抗病作物,其前景可能有限。

除了利用植物的 *R* 基因外,还可以利用与植物防御反应有关的基因。众所周知,植物受到病原菌的侵染时,会诱导产生一系列拮抗物质,以阻止病害的传播和病原菌的进一步侵入,此为植物的防御反应(defense reaction)。植物的防御反应极为复杂,主要包括植物病原相关蛋白及水解酶类的产生,植保菌素的合成与积累,细胞壁木质化及富含羟脯氨酸糖蛋白在细胞壁上的积累等;将这些与防御反应相关的基因,例如编码几丁质酶(chitinase)、葡聚糖酶(glucanase)、核糖体灭活蛋白(RIP)、植保菌素(phytoalexin)、病原相关蛋白(PR)、溶菌酶(lysozyme)、硫堇(thionins)及富含羟脯氨酸糖蛋白(HGRP)等蛋白的基因导入植物,使它们在植物体内表达从而提高植物的抗病能力。

除以上两类可资利用的基因以外,自然界中还广泛存在对微生物生长具有抑制或杀伤作用的抗菌蛋白,它们分别来自动物(包括人类)、植物和微生物本身。尽管它们的结构和理化性质不尽相同,但是都具有体外抑菌或杀菌活性。克隆其中对植物病原菌生长有抑制或毒杀作用的抗菌蛋白的编码基因,将它们导入植物体内并使之高效表达,有可能提高转基因植物的抗细菌和真菌的能力,这其中包括昆虫分泌的一类存在于血淋巴中的杀菌肽(cecropins)和另一类抗菌蛋白(attacins)等等。

5. 改进植物品质和适应性

这方面的工程主要有两大部分:其一是质量上的改变,例如作物蛋白质的改变;其二是植物抗性的改变,主要是抗旱、抗盐、抗热、提高光合作用效率和固氮效率等。

在作物的品质改良方面,种子及其他贮藏器官(块茎、块根、鳞茎等)中蛋白质的含量及其氨基酸组成、淀粉和其他多糖化合物以及脂类物质的组成,直接关系到这些食物的营养价值或在工业上的用途。由于不少贮藏蛋白的基因或与这些贮藏物质代谢过程有关的酶的基因已经克隆,通过导入有关的基因或相应的反义 RNA 基因,就有可能通过调控有关的代谢过程而改变这些器官中的物质组成,甚至使植物产生新的或者修饰过

的化合物。在蛋白质的改良方面,由于特定的作物种子往往缺少某几种必需氨基酸(如赖氨酸),人们希望通过基因工程改变蛋白质的必需氨基酸的组成而改善植物的营养价值。例如,将巴西豆(Brazil nut)的富含甲硫氨酸的2S清蛋白基因转入烟草,在菜豆种子的贮藏蛋白基因的启动子的驱动下,表达的蛋白质中18%的氨基酸为甲硫氨酸,在转基因烟草的种子蛋白质中甲硫氨酸的含量增加了30%;还有人将人工合成的富含必需氨基酸的DNA片段(HEAAE DNA)导入马铃薯,并在马铃薯块茎的特定贮藏蛋白基因的启动子的作用下,使之在块茎中高效表达;澳大利亚科学家将编码高含硫氨基酸的蛋白质基因导入豆科牧草,使之在茎叶中高效表达,以提高其作为饲料的营养价值等等。在调控植物的淀粉及其他多糖化合物方面,人们关心的是在种子或其他贮藏器官中积累的淀粉或其他多糖类物质的种类和含量。在植物碳代谢中所积累的大量酶学方面的知识已驱使人们开始进行这方面的遗传操作的尝试。例如,由大肠杆菌的突变体克隆的不受反馈抑制的腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(ADP-glucose pyrophosphorylase)基因,与拟南芥二磷酸核酮糖-1,5-羧化酶-加氧酶(rubisco)小亚基的转运肽序列组成融合基因,导入烟草和番茄后,果实和叶片中淀粉含量增加近8倍。有人甚至还通过导入淀粉粒结合的淀粉合成酶的反义RNA基因,则可获得仅含有支链淀粉而无直链淀粉的马铃薯。

1988年美国科学家对番茄的品质进行了改良,为改进植物品质找到了一条新路:运用反义基因。番茄成熟时,自身即开始合成多聚半乳糖醛酸酶(简称PG酶),PG酶分解细胞壁的有效成分,从而番茄变软,这样给运输和贮藏造成极大的不便。为了解决这个问题,科学家们把PG酶基因的反义基因转入了番茄,这样,PG酶基因产生的mRNA都与反义RNA结合而不能编码出正常的PG酶。在检测含单拷贝反义基因的番茄时,发现其中的PG酶活性降低到正常的5%~55%,并且PG酶基因表达被抑制的性状稳定遗传。同年,荷兰科学家Krol等人将查尔酮合成酶(CHS)的反义基因转入矮牵牛中,导致CHS的mRNA水平以及CHS的酶活性都大大降低了,最终竟使矮牵牛的花的颜色发生了改变。如果搞清楚CHS在次生代谢中的作用,那么人们要控制植物开花的颜色这一天也许已经不远了。

进入1990年,通过基因工程技术培育出雄性不育植物成为一个热门课题。美国和比利时的科学家相继从植物(如烟草、油菜等)的花药中分离出了与花粉发育有关的基因启动子,将这种启动子与雄性不育基因或水解酶基因构成嵌合基因,然后转入植物,转基因植物产生的蛋白或酶可以阻止花粉的产生,杀死所有的花粉,从而获得雄性不育植物。这项技术的应用是植物育种技术上的重大突破,可能会导致育种方法的彻底革命。

在植物抗寒基因工程方面,Wada等人从一抗寒的蓝绿藻(*Synechocystis*)克隆了一与脂肪酸不饱和度有关的基因*Des A*,并导入另一不耐寒的蓝绿藻(*Anacystis nidulans*),改变了后者膜脂的组成,从而使其光合作用在5℃下可不受明显抑制;另外日本科学家Murata等人通过向烟草导入拟南芥叶绿体的甘油-3-磷酸乙酰转移酶基因,以调节叶绿体膜脂的不饱和度,也使获得的转基因烟草的抗寒性增加。

在提高光合作用效率和固氮效率方面,用传统的育种方法育种,并不能选育出具有高光合作用率的品种,而应用植物基因工程可以从根本上解决这一问题。光合作用包括

光反应和暗反应,通过这一过程将光能转变为化学能,并固定 CO_2 。rubisco 是固定 CO_2 的关键酶。存在于叶绿体中的这种酶催化 CO_2 与二磷酸核酮糖反应,形成磷酸甘油酸,这个固定 CO_2 的作用称为羧化作用。同时, rubisco 还能催化加氧反应,这一过程涉及氧的净吸收和 CO_2 的释放,由于依赖光,所以又称其为光呼吸。但该过程是一个浪费的过程,因为它不仅使已经固定的碳丢失,而且使 rubisco 在 CO_2 的固定作用中发生逆转。然而这不是一种无足轻重的损失,因为当光呼吸被抑制后, CO_2 净固定率可以提高 50%! 应用植物基因工程技术能降低 rubisco 加氧酶的功能而不影响其羧化酶的功能,即能使其他限制光合作用的因素仍保持不变,作物的生产能力却可显著提高。但这在植物基因工程中是一项艰巨的工作,需要很长时间才能收到实效,尽管它的成功会带来巨大的效益。

6. 用于医药生产的植物基因工程

现在国际上植物基因工程的一个新的发展趋势就是利用转基因植物生产药物。这方面的工作最早是 1988 年比利时 PGS 公司的科研人员做的,他们将一个脑啡肽(enkephalin, 5 肽)的编码基因转入烟草中表达,也许本意是想让瘾君子们不用抽烟只需拿烟叶闻闻或放在嘴里嚼嚼就过烟瘾,以此来减少尼古丁对人体的毒害。做法是在小肽基因的两端设计两个蛋白酶的酶切位点,然后将许多改造后的基因串起来,转入烟草。这样在烟草中编码出的小肽是以组合的多聚体形式存在的。这是用胰蛋白酶和羧肽酶进行酶切,最后得到高产量的五肽神经肽,产量竟高达 200nmol/种子。由此,他们意外地找到一条利用转基因植物合成生产神经肽的途径,而他们本来的目的反而没有达到。因为神经肽是通过血液运输起作用的,它在口中会被降解掉。其他国家的科学家随即也加入了这一领域的竞争。1989 年美国 Scripps 研究所将抗体的重链基因和轻链基因分别克隆,并分别转入烟草中,然后让这两种转基因烟草杂交,结果在子代的烟草叶片中产生了大量的单克隆抗体,其表达水平达到叶子总蛋白量的 1.3%。根据计算,按照这种表达水平,美国只需用其烟草土地面积的 1% (约 $4 \times 10^6 \text{m}^2$) 用来种这种转基因烟草,就可以生产出 270kg 的抗体,足以提供给 27 万癌症患者 1 年治疗之用。尽管如此,叶子还不是一个理想的受体系统,叶子中蛋白质含量只在 10% 左右,极易混杂其他代谢产物,因此目前人们正试图在种子系统中表达生产这种治疗性蛋白。近两年还有不少这类成果公诸于世,例如:美国 Bio-resources 公司利用植物基因工程手段生产白细胞介素 2 (IL2),荷兰用转基因马铃薯来生产人的血清白蛋白(尽管表达水平很低),南朝鲜用转基因烟草和番茄来生产人的胰岛素等等。利用植物基因工程方法生产药物应该说还刚刚起步,发展潜力非常大。可以预言,在不久的将来,将会有越来越多的用植物基因工程生产的药物问世。但目前还有很多问题仍没有解决,特别是临床试验,将是很漫长的时间。

二、国际农业生物技术发展的现状及趋势

随着抗病毒、抗虫、抗除草剂、雄性不育、改变品质等的工程植物的大量出现,并且随着许多农作物的基因测序项目的开展,农业生物技术逐渐在全世界范围内形成了一

个研究热点。据专家预测,未来的农业生物技术产品将集中在农业性状、食品加工、医药生产和特殊化学药品的生产等几方面。农业生物技术研究主要集中在美国、加拿大和欧洲的一些发达国家以及南美和亚洲的一些国家,到1995年12月为止,基因工程农作物进入大田试验最多的几个国家,包括美国(1952次)、加拿大(486次)、法国(253次)、英国(133次)、荷兰(113次)和比利时(97次),南美洲的阿根廷(78次)和亚洲的中国(60次)也位于转基因农作物大田试验发展较快的国家之列;其中的美国到1997年9月份共批准了在13518个地区进行的3176个大田试验,大田试验增长十分迅速。从基因工程农作物大田试验的种类上看,试验次数最多的是抗除草剂类的基因工程作物1018次(约占29%),其次是抗虫类的工程农作物853次(约占24.3%),品质改良、抗病毒和抗真菌类的工程植株分别占21.3%、10.1%和4%。从进入大田试验的基因工程农作物品种上看,已经进行大规模大田测试的农作物有玉米(44%)、番茄(11.9%)、马铃薯(10.8%)、大豆(10.6%)、棉花(7.6%)、瓜类(3.9%)、烟草(3.7%)、油菜(2.3%)、甜菜(1.2%);同时,进入中型规模大田试验的农作物有苜蓿、甜瓜、亚麻、水稻、甜菜、向日葵、南瓜等,另外,还有苹果、大麦、甘蓝、胡萝卜、花椰菜、葡萄、木瓜、小麦、甘蔗、花生、青椒等48种作物品种已在进行小规模的大田试验。除此以外,目前已经有多种基因工程农作物成为商品,进入了市场;到1996年10月份,美国批准进入市场的基因工程农作物包括延迟成熟和增厚果皮的番茄、抗虫的马铃薯、抗虫和抗除草剂的棉花、抗除草剂的大豆、抗虫、抗除草剂和雄性不育的玉米、提高了月桂酸油组成成分的油菜、抗病毒的南瓜和木瓜等等。值得注意的是,参与农业生物工程研究的有各个国家的大学,但更多的是各种公司,包括许多农用化学药品公司和农业生物技术公司都参与了研究和应用开发。

三、我国农业生物技术研究的发展

在国家“六五”、“七五”、“八五”攻关项目和国家科委“863”高技术项目以及农业部生物技术项目和国家自然科学基金等相关机构的支持下,我国约有100多个实验室进行了一系列以主要农作物、经济作物为对象的生物工程试验,主要研究覆盖抗病毒、抗虫害、改良作物品质以及RFLP技术在基因组分析和育种中的应用等等。总的来说,我国农业生物工程的研究进展是非常迅速的,同时,有大量的转基因植物进入到大田试验,使我国成为世界上有推广面积最大的转基因作物的国家之一。

从1986年开始,我们实验室在国家科委、计委、教委和农业部的支持下,有针对性地开展了一些适合我国国情和技术发展水平的生物工程研究。我们克隆了TMV、CMV、PVX、PVY等病毒的中国株的外壳蛋白基因并把它们转入了烟草、番茄和马铃薯;克隆了苏云金芽孢杆菌Bt毒素基因,构建了单价和双价两种载体,分别都转入了烟草和番茄;从多种植物中克隆了与花青素代谢有关的查耳酮合酶基因,并且利用该基因对改变矮牵牛花卉的颜色进行了研究;从水稻的萌发种子中分离纯化了一种具有抗真菌特性的蛋白,并且克隆到编码该蛋白的基因,该基因已被转入烟草和水稻,目前正在检测对真菌的抗性;克隆了与果实成熟相关的ACC合酶、乙烯合成酶等基因并将它们转入了烟草和番茄,获得了耐贮存的番茄果实;我们还与澳大利亚Deakin公司合作,

人工合成了一个短的杀虫肽基因，并把该基因转入烟草，获得了抗虫植株；同时，我们还从多种细菌中筛选出了一些抗菌蛋白，对它们进行了分离、纯化和鉴定，基因工程的工作正在进行。

除了以上的实验室研究以外，我们实验室在农业部的大力支持下，于 1989 年起开始在北京果林所进行了可控制范围内小规模转基因植物种植试验（10 亩）。工程植物包括抗病毒的烟草和番茄，获得了一些转基因作物种植的基本数据。1990 年以后，我们又相继在北京、辽宁、河南、云南、海南、江苏和广东等 10 多个地区进行了中小规模的转基因作物大田试验。转基因作物包括抗病毒、抗虫和品种改良过的烟草、番茄和甜椒，获得了一系列的重要的研究数据，目前我们实验室转基因作物的大田试验的规模已经超过 10 万亩。这些年的转基因作物种植大田实验的结果表明：①这些转基因植物中的外源基因在大田中的遗传表现是比较稳定的，虽然有少量外源基因丢失的情况，但绝大多数转入的基因能够稳定的遗传，这一特点对我们今后更大规模地推广转基因作物的种植无疑是有帮助的；②外源基因在转基因植物中表达稳定，植株后代经过六七代的分离，抗性仍然保持稳定；③由于栽种转基因作物的农民自己留种并由此而产生后代分离的情况，我们认为需要建立起一些必要的、相关配套的栽培措施和方法，筛选纯合子，减少不必要的麻烦和损失。

除了我们实验室以外，中国科学院微生物研究所莽克强和田波实验室在河南等地也进行了较大规模的转外壳蛋白和转卫星 RNA 的烟草的种植试验；中国农业科学院生物工程中心郭三堆实验室获得的转 Bt 毒素的抗虫棉花也在河南等地进行了较大规模的大田试验；农业科学院生物工程中心贾士荣实验室的转基因抗青枯病马铃薯已经进入大田试验；除此之外，其他单位如中国科学院遗传所、农业科学院植保所、中国农业大学、浙江农业大学、上海植物生理研究所、中山大学、江苏农业科学院等都已进行了转基因植株的大田试验。另外，我国农科院原子能所等单位还进行了固氮菌的生物工程试验，通过改变某些基因，获得具有更高水平固氮能力的重组微生物，这些重组微生物已经释放进入水稻和大豆的大田中。还有中国农科院的科研人员通过花药培养培育的中花等系列的优质水稻以及湖南袁隆平等人的两系法杂交水稻都给我国的农业生产带来了很大的增产。与此同时，从 1992 年开始，我国的水稻基因图谱项目正式启动，中国科学院上海生物化学研究所洪国藩领导的一个中心实验室和中国科学院遗传研究所、北京大学、华中农业大学、复旦大学、杭州水稻所五个卫星实验室参加了这个项目。目前国内在小麦、玉米、油菜等农作物的育种过程中应用 RFLP 技术也已成为一个热点。

关于我国动物生物工程的发展方面已经获得有转基因的猪和鱼类，但这些转基因动物目前仍然停留在实验室观察的阶段。

四、关于农业生物工程安全性的问题

农业生物工程技术由于能将一个物种的基因转入另一个物种，在某种程度上说，是改变了一个物种的遗传物质，而且这些会有异源基因的物种是否会对周围的物种产生预料不到的威胁，或这些异源基因是否会被意外地转入非目的生物中而产生一些有害的生物等问题就引发了大众都很关心的转基因农作物的安全性问题。美国于 80 年代初由农

业部设立机构统管转基因农作物进入大田试验的审批工作,最初的审批申请是非常严格的,美国只有转基因抗虫的棉花等少数几个转基因作物被批准进入大田试验;但随着农业生物工程技术研究的飞速进展,各种其他农作物的转基因工作相继获得成功,出现了一大批的转基因植物,申请进入大田试验的转基因农作物越来越多,因此,进入大田试验的要求就被逐渐地放松。到1995年,美国政府正式批准了转基因农作物进入市场。

我国于1993年12月24日由国家科委颁布了《基因工程安全管理办法》,去年的7月份农业部又批准了《农业生物基因工程安全管理实施办法》,转基因农作物进入大田试验可望在明年年初申请审批。1991年德国的Casper教授和我在欧共体资助下在我国主持召开了第一次农业生物工程安全研讨会,会上讨论了如何进行大田试验的安全性评估的问题。1995年我国由于已有大量的农业生物工程作物进入大田试验,由欧共体派出的一批农业生物工程专家到我国河南、辽宁等地的转基因作物释放大田中进行采样观察,最终他们的考察报告结果认为:目前在已考察的大田中释放的转基因农作物表现正常,没有发现突变的病毒等相关问题。从目前来看,只要操作严格,管理得当,有相应的防范措施和法律保证,基因工程的农作物是安全的。

五、关于发展我国农业生物工程产业的思考

我国是世界上人口最多的国家,并且人口的数量每年仍是上升的趋势,而全国可耕地的面积却没有上升,例如1980年,我国的人均耕地面积是0.101公顷,到1995年已降至0.08公顷,预计到2010年,人均耕地面积将少于0.07公顷。而在这些耕地当中,水灾面积占耕地面积总量的46%,严重干旱面积也达到30%,再加上每年病虫害造成的粮食损失占粮食总量的20%~30%。因此,我国的粮食问题将面临极其严峻的挑战。据专家估计,我国今后每年粮食的缺口为2200万~2500万吨,植物油180万~240万吨,肉类200万~250万吨,水产品50万~100万吨。农业生物工程技术给农业的增产(无论是农作物还是畜牧业)带来了新的希望。我国有丰富的物种资源,有大量富有组织培养经验的科研人员,如何发挥我们的优势,迅速把农业生物技术广泛地应用到农业增产中,这是我们目前首先需要解决的问题。

- 1) 我国拥有强大的传统育种科研队伍,应该立即着手理顺关系,让获得转基因农作物的实验室和掌握RFLP技术的实验室以及传统育种学家有机地结合起来,使农业生物技术成果迅速从实验室走向推广应用。
- 2) 目前我国参与农业生物工程研究的实验室除了农业部以外,各主要综合性大学、中国科学院不少研究所也都在针对农作物的生物工程方面做了大量的工作,因此,我们应迅速理顺机制,协调好关系,农业部应该制定政策,让非农业部的实验室介入到农业部的农业生物工程发展计划当中,统一调配,避免项目的无效重复。
- 3) 建立有效的机制,从有关部门获得更多的资助,支持我国农业生物工程的研究。众所周知,从基因的克隆到转化再到转基因植物释放进入大田需要大量的资金。目前农业生物工程研究的主要资助来源于国家“863”高技术计划,但“863”高技术计划的覆盖面相对较窄,而且对于获得的成果的推广应用没有特定的经费支持,因此,我们需要申请更多的经费支持科研成果从实验室走向应用。

- 4) 我们要迅速开拓农业生物工程研究的新的研究资源, 尽管我国的资源丰富, 但到目前为止, 农业生物工程研究中所用的目的基因、载体等都与国际上所用的基因和载体没有太大区别, 创新的属于我们自己的东西很少, 这种局面将使我国农业生物工程领域面临知识产权方面的严重挑战。例如 Monsanto 公司的抗虫工程棉花在我国进入大田试验就是对我国该领域的一次强烈竞争, 我们很快会在很多其他领域遇到类似的专利问题, 因此, 如何让我们拥有自己的专利是今后我国农业生物工程研究中急待解决的一个问题, 我们应该鼓励科研人员利用我国丰富的资源优势, 大力创新, 以期走出一条适合于我国农业生物技术发展的新路。
- 5) 人才培养问题。改革开放以后, 我国政府向国外送出了大量的留学人员, 这些留学人员当中有很多人现在都已成为很有作为的科学家, 回国人员也已经在我国的农业生物工程研究发展中做出了一些贡献, 但是, 由于农业生物工程研究领域发展极其迅速, 我们要注意吸收更多的留学人员回国参加祖国建设, 同时更要注意对国内科研人员的人才培养, 提供舞台, 让他们充分发挥自己的聪明才智。就目前我国农业生物工程研究发展的现状看, 我们特别需要大量培养既懂得分子育种又懂得大田推广应用的科研人才。
- 6) 加强国内各研究单位之间的密切合作。我们现在已经面临如何开展各单位间的合作和联合的问题, 长期以来, 我国的研究单位一直存在“与国外单位合作容易, 与国内单位合作难”的问题; 我们是社会主义的体制, 按理说应该更容易形成合作的关系, 面对激烈的国际竞争, 我们只有充分利用我国的资源, 充分利用少量的资金, 进行有机的、有效的合作, 才能在竞争中立于不败之地。因此, 如何协调好国内各单位的联合与合作, 统一调配好有限的科研经费应该是目前我国农业生物工程领域发展的侧重点。

总之, 通过 10 多年的努力, 我国农业生物技术领域与世界水平差得尚不远, 只要我们抓住机会, 奋起努力, 是可以迎头赶上的, 但如果我们现在不重视对农业生物工程领域研究和应用的投入, 我们就会很快落后于世界发达国家。因此, 我们请求各级领导重视农业生物工程的研究和应用, 也希望农学会能够有效地组织力量, 争取保持我国在组织培养方面的优势, 充分利用我国丰富的物种资源, 进一步创新, 使我国的农业生物技术能够在世界上占有一席之地, 为我国的农业生产发挥更加重要的作用。