

1 技术与产业形势分析

1.1 生物技术

1.1.1 植物基因工程食品采用的转基因策略及其安全性

植物基因工程食品指作为传统食物来源和非食物来源的植物经遗传工程改良后形成的新植物食品，是转基因食品即遗传修饰食品（genetically modified foods, GM 食品）的一大类。自 1983 年第一例转基因植物问世以来，植物基因工程发展日新月异。以转基因作物为主要来源的植物基因工程食品已成为食品产业中一支不容忽视的新生力量。据统计，至 1999 年底已有 50 多个转基因工程体进入商品化生产，种植面积约 3990 万公顷。在转基因作物种植面积位居世界之首占 72% 的美国消费的 50% 的大豆和 30% 以上的玉米来自转基因作物，有 4000 多种食品含有转基因成分。此外，转基因作物在加拿大、阿根廷、澳大利亚、墨西哥、西班牙、法国、南非和日本均有一定范围的种植和消费。我国的转基因耐贮存番茄华番一号和转基因抗虫棉于 1997 年进入商品化生产，目前转基因作物的种植面积约为 40 万公顷，处于中试阶段的与食品有关的转基因植物有抗除草剂水稻、抗虫水稻、抗病毒大白菜、抗病毒番茄、转 Bt 基因抗虫棉花、抗青枯叶病马铃薯、抗旱马铃薯、高氨基酸马铃薯等。世界范围内还有数十种与食品有关的转基因植物等待批准进入市场。在 1995~1999 年的 5 年间，转基因作物产品全球市场收益大约增加了 30 倍，预计今年将达到 30 亿美元，2005 年将达到 80 亿美元，2010 年将达到 250 亿美元。下面就植物基因工程食品所采用的转基因策略、安全性及发展前景作一概述。

1.1.1.1 植物基因工程食品的转基因策略和作用机制

与食品相关的基因工程植物的转基因性状主要有抗除草剂、抗病虫害、耐贮存保鲜、改善营养品质、抗逆境胁迫、提高产量等六大类，所采用的转基因策略及作用机制分述如下：

(1) 抗除草剂

在商品化种植的转基因作物中，抗除草剂性状占 71% 在各转基因性状中高居榜首。作物种类包括大豆、玉米、水稻、油菜、棉花（棉籽做食用油）。我国也于 1999 年申请登记抗除草剂水稻的商业化种植。抗除草剂有两种转基因策略：一是修饰除草剂作用的靶蛋白，使其对除草剂不敏感，或导入靶蛋白基因使之过量表达以使植物吸收除草剂后仍能正常代谢；二是引入酶或酶系统，在除草剂发生作用前将其降解或解毒。降解或解毒策略更有效应用也最成功。抗除草剂基因大多从微生物中分离而来，如广泛应用的 *bar* 基因来自链霉菌，它编码的乙酰 CoA 转移酶催化除草剂草丁膦乙酰化而使其失活。由于 *bar* 基因可提供转化体对除草剂的抗性，在作物基因转化中一直作为较好的选择标记基因。*bar* 基因源于土壤微生物，基因产生的酶和其他蛋白质一样经加热和体内降解被破坏，分解成不同的氨基酸，证实对人类和环境安全。

(2) 抗病虫害

目前使用的抗病虫害基因有 10 余种，根据作用对象分为抗虫基因、抗病毒基因、抗真菌和细菌基因三类。已商业化种植的和食品相关的是抗虫和抗病毒转基因作物，其中抗虫转基因作物种植面积占转基因作物总面积的 22%，仅次于抗除草剂作物。抗植物虫害的基因有两类：一是从微生物苏云金芽孢杆菌中分离的编码伴胞晶体杀虫毒素的 Bt 基因，二是植物来源的抗营养因子类基因，如蛋白酶抑制剂基因、淀粉酶抑制剂基因、植物凝集素基因。这些基因编码的产物均以原毒素形式存在，昆虫取食转基因植物后，在昆虫消化道内活化为毒性分子，破坏昆虫的消化酶或消化道，最终使昆虫停食而亡。抗营养因子基因工程食品有水稻、油菜、苹果。虽然这些原毒素被认为在人的胃内会被胃蛋白酶分解而解除毒性，但植物中天然存在的

抗营养因子不经处理会影响人体健康，如豆角类蔬菜。因此抗营养因子在转基因食品中含量的增加或不经处理都可能成为安全隐患。

(3) 延熟保鲜

番茄、草莓、香蕉、葡萄、柑橘等在贮存运输时由于果实熟化过程难以控制，常导致过熟、腐烂，造成很大经济损失。利用反义基因策略控制果实成熟、延长果实采后保鲜是植物基因工程中较为成功的。果实成熟主要由内源乙烯生成量控制，在果蔬植物中导入乙烯生物合成之关键酶类，如 ACC 合成酶、乙烯形成酶的反义基因，反义基因转录成的反义 RNA 可与这些酶基因转录成的 mRNA 互补结合，从而阻止其翻译成有活性的酶，使乙烯合成量减少，因此果实成熟被延缓，便于贮存运输。但这种转基因番茄对外源乙烯仍能正常感受，上市前喷洒适量乙烯即可促其成熟。经 FDA 批准，美国 Calgene 公司的延熟转基因番茄于 1994 年上市，成为首例通过安全性评价的转基因植物食品。我国的耐贮存番茄已于 1997 年获准上市。反义基因策略并未在受体植物中引入新的蛋白质，故转基因本身安全性较高。

(4) 改良植物食品营养品质

应用基因工程手段改良植物食品的营养品质和保健功能是转基因食品的发展趋势之一。近几年在改良作物种子的蛋白质、淀粉、脂肪三大营养素方面已初见成效。对种子贮藏蛋白的改良主要通过修饰植物自身基因或导入富含必需氨基酸的蛋白质基因来实现，如有人将人工合成的富含必需氨基酸的 DNA 片段导入马铃薯，在马铃薯块茎的特定贮藏蛋白基因启动子的驱动下，该基因在块茎中高效表达。对植物淀粉中支链淀粉和直链淀粉组成比例、脂肪中饱和与不饱和脂肪酸组成比例的改进，主要通过导入相关合成代谢途径中的关键酶基因以增加其表达量，或导入其反义基因降低其表达量来实现。Knutzon 等把来自甘蓝型油菜的硬脂酰 ACP 脱饱和酶的反义基因导入油菜，使种子硬脂酸的含量提高了 20 倍。通过导入淀粉粒结合的淀粉合成酶的反义基因获得了仅含支链淀粉的马铃薯。此外，在提高谷物种子维生素和矿物质含量方面也展现了诱人前景。稻米胚乳中缺乏 β -胡萝卜素但富含前体物质焦牛儿焦牛儿二磷酸

(geranyl geranyl diphosphate, GGPP) 由 GGPP 合成 β -胡萝卜素需在质体中经 4 种特定植物酶催化。瑞士科学家将来源于黄水仙的 4 种酶的基因导入水稻, 使之在胚乳中特异表达, 获得了富含 β -胡萝卜素的稻米。日本科学家将抑制胆固醇合成的大豆球蛋白基因与能降低高血压的卵分裂素基因融合后导入水稻, 得到了能抑制人体胆固醇和高血压升高的功能稻米。针对稻米矿质元素含量低且含有抗矿质元素吸收的植酸 (phytin) 的特点, 科学家提出了导入植酸分解酶的基因, 以提高水稻对矿质元素利用率的策略。

(5) 抗逆境胁迫

作物抗逆境胁迫基因工程正在成为当前的研究热点, 转基因性状包括抗旱、耐盐、抗涝、抗寒等。干旱和盐碱胁迫通过改变植物细胞内的渗透压而伤害细胞, 改良植物抗旱和耐盐能力主要依靠转入渗透压调节物质如脯氨酸、甜菜碱、调渗蛋白的合成酶基因。抗涝作物基因工程策略是向受体植物导入乙醇脱氢酶基因, 增加该酶的含量以保证植物在缺氧条件下通过无氧酵解获得足够维持生活力的 ATP, 同时解除醇类的毒害。这些基因多来源于植物, 转基因的表达产物较安全。抗寒植物基因工程中应用的基因包括改善受体植物膜脂组分 (如增加不饱和脂肪酸含量) 的反义基因和抗冻蛋白基因 *afp*, 其中来源于极区深海鱼类的 *afp* 基因编码的抗冻蛋白能抑制细胞内冰晶的形成和生长, 在改良植物抗冻性和浆果类果蔬的耐低温贮存方面具有广阔应用前景。但该基因来自鱼类, 转 *afp* 基因植物食品必须经严格的检测证实食用安全后才能商品化生产。

(6) 提高作物产量

应用基因工程技术提高光合作用效率以大幅度提高作物产量被认为是缓解世界粮食危机的重要策略之一, 研究主要集中在改造光合作用中催化 CO_2 固定的 Robisco 酶、PEPC 酶的催化活性和导入淀粉合成的关键酶如 ADPG 焦磷酸酶基因提高其含量两方面。尽管目前进展缓慢 但前景诱人。

1.1.1.2 植物基因工程食品的安全性及评价

转基因植物由于采用遗传工程操作的特殊手段, 因而可能存在

无法预测的其他性状的变化，从而带来某些转基因植物食品的安全性问题。转基因植物食品可能产生危害的机制有三种：

(1) 转基因本身

非食用生物来源的基因（如微生物来源的 Bt 基因）的表达产物蛋白有可能作为毒素或过敏原危害人体健康，食用生物来源的抗营养因子基因（如豇豆蛋白酶抑制剂基因）的表达产物仍为抗营养因子，受体植物食品中抗营养因子质和量的增加极可能是安全隐患。而反义基因策略中转基因不表达成蛋白质产物，故安全性较高。

(2) 筛选标记基因

植物基因工程食品中采用的标记基因包括卡那霉素、潮霉素、链霉素、新霉素、氯霉素、庆大霉素等抗生素的抗性基因和草胺膦、草甘膦、氯磺隆等除草剂的抗性基因。标记基因与目的基因一样导入受体并表达 标记基因主要来源于非食用微生物 如处理不当 其表达产物蛋白有可能引起某些人的不良反应或对相应抗生素的临床抗性。

(3) 受体植物 DNA 发生突变

转基因及其载体 DNA 分子整合到受体植物基因组时，必然引起植物体内的 DNA 发生突变，除插入突变外，还可能导致植物基因组 DNA 的重排、缺失等遗传突变事件，因现在的技术条件仍无法有效控制 and 预测转基因在受体植物中的插入位置和拷贝数，这些突变可能改变受体植物的代谢系统，从而改变植物食品的营养组成或产生新的未知的毒素和过敏原。

转基因植物食品与人们生活直接相关，对其安全性评价十分重要。欧美国家从 1990 年开始对 GM 食品的评价基于“实质等同性”原则，即利用一个现有的食物或食物成分与新食物或新食物成分相比较，比较对象按食品的使用情况可以是整个植物体、食用部分或食物成分。比较内容包括两者的分子特征、表型特征、主要营养物质、毒素和过敏原。若转基因新食品与现有食品完全等同，则认为其与现有食品一样安全，允许其不加标签上市；若 GM 食品与对照食品大部分等同，仅有一点明确差异且该差异由转基因引起，则差异组分的安全性需经进一步检测，证明无害后方可加标签上市；对与现有食

品完全不等同的 GM 食品也不能认为不安全，但需要严格检测和评价。美国 Maharishi 大学的 Fagan 博士指出，生物技术食品可能存在不可预料的副作用，而且可能产生某些有害的衍生物，他建议对每一种生物技术食品进行临床检测，包括动物体内、体外和喂食试验以及人类的短期和长期试验，并加标签注明为生物技术产品。详细的检测和评价措施已有文献介绍，本文不再赘述。

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》，2000 年 7 月农业部又批准了《农业生物基因工程安全管理实施办法》，转基因农作物可望在 2002 年获准进入大田试验。江苏省农科院的刘霭民等对转抗营养因子基因食品的安全性评价提出了建议，认为对转抗营养因子基因植物食品的安全性评价应该在了解基因供体生物和受体植物中抗营养因子的组分和含量的基础上，对转基因食品进行急性和亚急性毒性试验，证明安全者加标签后上市。

随着我国转基因作物的商品化及加入 WTO 后进口 GM 食品的冲击 GM 食品将很快进入我们的生活，制定我国的 GM 食品安全性评价体系及管理法规势在必行。在目前情况下应注意以下几点：

在依据欧美国家的“实质等同性原则”的基础上，应将 GM 食品安全性评价的重点放在对动物和人体的临床毒理学检测上，进行一定数量的动物和人体进食试验，确认其食用安全性。

在市场销售任何 GM 食品和向农民出售任何可能作为食品的转基因植物种子时，应加标签并说明其中转基因及标记基因产物的名称、含量和相应的去除方法（如必要）充分尊重消费者的知情权。

严格禁止孕妇及婴儿使用 GM 食品。

开展转基因植物食品的检测和鉴别技术方法的研究，尽快建立切实可行的鉴别 GM 食品的技术方法以用于商检。

1.1.1.3 小结

尽管个别 GM 食品植物基因工程体因安全性被禁止释放，如转巴西坚果的 S 清蛋白基因大豆引起 1% 的人过敏 我国的转 afp 基因的抗寒番茄对试验小白鼠表现出一定的毒性，从而引起了人们对

GM食品的安全性的种种担忧，甚至激烈抵制。但应该明确的是，一方面传统农业的精耕细作已将产量的增加发展到极限，依靠传统耕作技术无法解决人口快速增长所带来的粮食危机；另一方面为了控制病虫害造成的巨大损失，在农作物生长过程中化学农药使用的范围之广和剂量之大更令人担忧，使用过农药的食品在市场上比比皆是且无任何标签，潜在危害更不容忽视。因此应用生物工程技术发展植物基因工程食品是大势所趋，且不说随着生物技术的发展，植物基因工程技术无疑将进一步完善，科学家将可能有效控制转基因在受体植物基因组内的整合位点和拷贝数，并获得无标记基因的“安全”的基因工程体。即使在目前情况下，只要对GM食品进行严格评价规范管理，GM食品就能成为我们生活中一种丰富的食品来源。

作者：赵 艳 黄大年

1.1.2 转基因食品的优点和安全性

自有生命以来，基因在自然界中已跨越了相关物种及不相关物种的界线。人类利用生物技术可以追溯到公元前 1800 年以前，那时有人开始用酵母发酵制作面包和酒。到了 19 世纪 60 年代，人们开始通过人工杂交受精来进行植物育种。他们在并不知道基因的编码特征的情况下，通过杂交来转移或选择基因，使植物具有更多的有益性状。大多数食品，包括水稻、燕麦、马铃薯、玉米、小麦和番茄，都是传统杂交培植的产品。这种已经受了时间考验的方法正继续用于获取具有理想性状的作物。

然而，传统的杂交方法具有其自身的局限性。它只能在相同或相似的物种之间进行，所以使得应用那些对任何植物均有用的基因资源受到了限制。而且在植物杂交过程中，每种植物含有十万种左右的基因，它们是通过随机方式结合的，培植者最后仅需要一部分基因或性状得到转移。为此，他们常需花费 10~12 年的时间，用最初的植物品种进行反复杂交，获取杂种，以得到所期望的性状，同时也培植出几万种不需要的基因。很明显，这一过程是很慢和不够精确的。

现代生物技术和基因修饰方法使这一过程变得更为快速和精确。这是科学家们了解了生命起源和进化的整个过程以后，自觉运用这一机理的结果。

1.1.2.1 什么是基因修饰

基因修饰通常指采用 DNA 重组技术 (rDNA) 来改变微生物及动植物遗传物质的组成的一种方法。这种分子生物技术开发于 1973 年，它可以将遗传物质从一种生物体有效地转入另一种生物体。

科学家们可以不再采用多年来一直沿用的杂交手段，而采用快速鉴别、插入能表达特殊性状的单基因片断，来获取所需要的性状。这样，基因并不一定要从相关的物种中提取才能表达其生物功能，基因可以在所有存活的生物体之间进行转移。

1.1.2.2 采用 rDNA 技术的好处是什么

据世界卫生组织 (WHO) 估计，到 2050 年全球人口将翻一番，达到 90 多亿。显然，食品产量也必须相应增加，但是可耕作的土地又所剩无几。简言之，rDNA 技术是通过减少作物损失，提高作物产量，保护耕地来提高全球的粮食产量。它是一种很有前途、简便、尖端的技术。rDNA 技术的应用已经表明了它可以减少化学杀虫剂的使用，减少可能引起土壤侵蚀的农业耕作，并能够提高作物的营养价值。基因工程作物的主要优点有：

(1) 增加作物对特殊病虫害的生物抗性

包括由病毒引起的病害，从而减少化学杀虫剂的使用，降低耕作失败的风险，提高产量。比如，用 rDNA 技术处理过的非洲甜番茄能抵抗致命的花斑病毒，使产量翻倍。通常如果不用杀虫剂，每年将有 60% 的甜番茄作物受这种病毒的侵染而遭受损失。美国人用 *Bacillus thuringiensis* (Bt) 的基因对玉米进行了基因修饰，使玉米能够抵抗顽固的玉米虫害，从而达到提高产量，减少杀虫剂用量的目的。据美国艾奥瓦州立大学 1999 年报道，1998 年美国中西部地区有 26% 的农民种植了这种经基因修饰的玉米，他们普遍减少了杀虫剂的用量，有一半以上的农民完全没有使用杀虫剂。同样，美国国家食

品与农业政策中心(NCFAP)1999年7月报道,美国棉农在1996年使用了抗虫害棉花种子以后,杀虫剂使用量减少了12%约907t。

(2) 对恶劣生长环境的适应性

诸如干旱、高盐分土壤、极端温度等生长环境。通过基因修饰,可以使植物产生亚油酸,这样,植物能够更好地耐低温,抗冷害。

(3) 提高作物对除草剂的耐性

提高作物对除草剂的耐性从而使除草剂能抑制杂草的生长,而对期望生长的作物无影响。对除草剂的耐性提高后,作物可以在几乎不需要耕作的情况下生长,从而保护了水土,节约了燃料。

(4) 获得期望的功能和性状

如降低致敏物质和有毒物质的含量,延缓成熟,增加淀粉含量,延长货架寿命等。比如,采用rDNA技术可以培植出一种高淀粉含量的土豆,这种土豆在油炸时,吸油量少,能制成一种低脂的法式煎炸食品。又如,用于延缓番茄成熟的生物技术同样也可使葡萄的保藏寿命延长,在采摘前和进入市场时具有更好的色泽和风味。

(5) 获取期望的营养性状

如改变蛋白质和脂肪的含量,提高植物中有用物质或营养物质的含量。全世界营养缺乏问题普遍存在,如缺乏维生素A、铁、碘、锌等采用rDNA技术可以增加作物中营养物质的种类和数量,从而彻底解决这一问题。又如在以稻米为主食的国家中,水稻经基因修饰以后可含有 β -胡萝卜素及更多的铁,从而解决这些元素缺乏的问题。这些采用rDNA技术后营养物质增多或达到一个最佳的营养水平的食品不仅仅可以治疗营养缺乏症,甚至还有助于防治一些慢性疾病。

1.1.2.3 rDNA 技术安全吗

据美国国家科学院(NAS)报道,不相关生物体之间的转基因并无多大危险。用这种方法获得的基因同由自然选择或传统同种间的杂交方法获取的基因一样安全。而且并没有迹象表明异种生物体之间的转基因,尤其是在食品生产领域的转基因技术,会将一种无害的生物体转变为有害的生物体。转基因过程本身不会对生物体造成

任何危害。

所有生物体的基因具有相似性，所以异种生物体之间的转基因是可能的。自然演化史表明随着时间的推移，微生物、动植物之间存在着许多相同的代谢过程。虽然生物体中蛋白质具有一定的特异性，但是许多动植物的蛋白有着一些相同或相近的功能。比如，人脑和水稻均载有能够产生溶菌酶的遗传物质。

不仅如此，自然界中的遗传物质的转移可以跨越种属之间的界线。如冠胆菌菌株的基因可以被转移到植物细胞之中，并在植物细胞中得以表达。这种细菌的基因进入植物细胞以后，进行基因表达，产出的产物可以作为培养细菌用的营养。

但是，异种生物体之间的遗传物质的转移并不会改变物种，如不能使鱼变成番茄，也不能使番茄变成鱼。这种基因的转移仅仅是指生物体中一些能表达有益性状基因的转移。由于每一种生物体含有成千上万的基因，所以一两种基因的转移不会改变生物体的根本属性。

据世界卫生组织 WHO 和美国食品与农业组织 FAO 报道，生物技术在食品生产和加工过程中的应用有着悠久的历史，它将继续包含传统的杂交培植技术和现代基于分子生物学的基因工程技术。特别是最新的基因工程技术为迅速提高食品的产量和质量提供了可能性。这些尖端技术的应用并不会给人类带来不安全的食品，这些食品同传统方法生产出来的食品相比，不会有任何差别。

1.1.2.4 经基因修饰得到的食品安全吗

在美国，食品与药物管理局（FDA）有责任对包括基因修饰食品在内的所有食品进行监督。近 20 年来，他们对 rDNA 技术生产出来的作物进行实验室研究以及一定规模的试验，结果表明它们所造成的危害并不比用传统方法获得的作物大。

到目前为止，科学证据继续支持刊登在 1992 年 5 月美国联邦登记志（Federal Register）上 FDA 的结论：媒体并不清楚以下信息，即通过这些高新技术开发出来的食品与传统食品相比，其安全性如何？

更重要的是，所有食品开发商和制造商必须通过 FDA 来确保其

食品的安全性和质量。美国联邦食品、药物和化妆品法案规定：新型食品的生产商有义务遵守这一法规，他们提供给消费者的食品必须是安全的，并且符合法规要求。这些要求包括：

保证基因修饰食品中一些已知的有毒物质含量不会升高，不含有新的有害物质，其所含的营养成分与相应的传统食品相比无显著差别。

② 确定是否有已知或新的致敏物质存在于基因修饰食品中，如果存在，必须在标签上注明。这种用于所有食品的标注制度可以避免食品中出现异常蛋白质的可能性。

另外，还有一项现在尚未强制执行的制度，就是采用基因工程开发食品的开发商要在其产品商业化之前同 FDA 进行洽谈。这一商谈程序可以对食品的安全性作出一个科学的估计，是非常有必要的，它既可以保护消费者，又可以保护开发商。因为对转基因食品的要求比常规食品高，因此，食品开发商对其产品在商业化以前同 FDA 进行的这次商谈有着很高的积极性。

1.1.2.5 谁来保证转基因生物体不会危害环境

同食品安全性的评估一样，对环境安全的评估也是依据转基因植物的生物成分来进行的。美国农业部（USDA）对这些植物的大田试验以及规模化生产进行监督，美国环保署也对抗病害的 rDNA 工程植物的抗病成分进行了规定。

另外，不论是转基因植物还是传统选育的植物，都必须履行由国家农检站系统设立的检查 and 批准程序。私立公司也常和当地认可的大学一起对类似的生物和环境评价进行指导。rDNA 技术的优点之一在于科学家掌握了第一手资料，所以他们在回答问题时，就可提供有关安全或不安全的信息，而这些都是传统育种方法所无法做到的。在成千上万的 rDNA 工程植物大田试验中，还没有出现由于这些植物而造成对环境的负面影响的例子。

不管是对转基因植物还是对传统方法培植出来的植物，并非所有关于植物繁育对环境的影响问题都可以得到解释。比如亲缘关系较近的杂草不断繁盛，以及耐除草剂效果的长期性等问题还不清楚。

不过，监控机理正用于探寻和消除潜在的危险。

1.1.2.6 rDNA 工程植物与属性相近的杂草进行异型杂交的可能性如何

异型杂交 (outcrossing) 即指驯化了的作物与属性相近的植物发生无目的性的繁育。美国农业部的植物卫生调查组 (APHIS) 在对新植物品种进行检查时，对此给予了关注。这一组织确认耐除草剂和抗病害植物不会通过与属性相近的杂草进行异型杂交而自身成为植物病害。选育者们确保只选育这样的新品种，即它给种属相近的杂草转移基因这一危害发生的可能性极小或可忽略不计。像传统方法选育的植物一样，转基因植物不会在自然界中将其特征传给不相关联的植物。万一种属相近的杂草存在，那么植物卫生调查组将对可能发生的基因转移就其影响与危险进行评估。如果某种植物与相关杂草发生异型杂交的可能性很大，并且杂草获取的新特征又会产生许多麻烦，那么植物卫生调查组将有权停止大田试验及与新品种计划有关的进一步开发工作。

耐除草剂植物今后会不会使亲缘关系较近的杂草趋于繁茂，这一点还未可知。然而，传统选育的植物照样也会产生杂草，因此，随着农业环境条件的变化，需要对田间管理进行不断调整和更新。

1.1.2.7 抗病害植物会不会使病害变为“超级病害”

“超级病害” (super pest) 被定义为是不可控制或不可制服的，这与生物学原理大相径庭。一种病害群适应了过去用过的杀虫剂或基因，这种能力是为确保生存而产生的自然方式。然而，即使病害对一种杀虫剂或基因产生了抵抗，它仍然对新的或其他的控制机理敏感，比如不同的杀虫剂或重新转基因的植物。这一做法已在农业、园艺和林业中反复应用。科学家们还有许多途径扩展病害控制机理的应用。就拿 rDNA 技术来说，可以循环利用植物抗病基因、改变植物自身抗病机理，或是将几种抗病基因同时使用，这样就使病害没有任何可能战胜新的抗病性。

相比用喷洒化学杀虫剂杀灭目标病害，抗病害植物从以下两方面表现出更高的效果和优势。

相比杀虫剂，基因产品在控制病害时针对性更强。

基因病害控制机理只杀死吃植物的有害昆虫，但不杀死其他昆虫；而化学杀虫剂会把有害和有益的昆虫一概杀死。

1.1.2.8 转基因技术在非植物生物体中的应用

DNA 重组技术已经应用于家畜繁殖和利用微生物生产的食品和药品中。比较熟悉的例子是重组生长素提高奶牛的产奶量。基因重组微生物也用于食品加工和临床诊断。比如现在的大多数奶酪是利用叫做凝乳酶的基因工程酶生产的，过去凝乳酶是从小牛胃中获取的。通过重组 DNA 技术也生产了大量的药物，比如用于治疗糖尿病的胰岛素。

1.1.2.9 基因修饰食品应该标注吗

虽然把基因修饰食品的信息告诉顾客是很重要的，但标注并非最佳的方式，因为人们有一种本能的抵触情绪。食品标签是美国食品与药物管理局（FDA 强制规定的，上面必须注明配料成分、营养素含量、对健康危害的警告，如潜在的过敏性等。由于转基因食品已经经过仔细的验证，并不会对人体构成新的或特殊的危害，所以这种标注实际上就是一种对消费者警告性的误导。同样的理由，传统食品的标签并未把某些食品能导致少数消费者过敏或不适的可能性标注上去，如某些人由于乳糖不耐症而对牛奶过敏，但在牛奶标签上却并未注明。

此外，对转基因食品的标注是不经济的，因为成千上万种仅含有少量基因修饰组分的食品，如经修饰过的大豆、玉米，都需要进行标注，标注所需的费用最终还是由生产商和消费者来承担。尤其是农民，他们必须花费一笔很大的费用来采购一些设备和相关的材料，以便将转基因作物和常规作物分开。

1.1.2.10 结论

美国食品学会对用基因修饰方法得到的转基因食品的发展历程和相关政策进行了回顾，得出了以下结论：

① DNA 重组技术有望用于提高世界食品的产量和改善作物的性状，农民、消费者以及他们所处的环境都将获益于这种方法。

基因修饰食品的安全性将由 FDA 和农作物的培植者通过有效地执行科学程序来得以足够的保证。

十多年来对基因修饰作物安全性的评估和经验充分证明了这类作物对环境可能造成的风险不会超过传统培植的作物。

没有迹象表明异种生物体之间的转基因会造成新的危害，或者说它们可能造成的危害会与一些新的植物物种造成的危害有所不同。

⑤ rDNA 工程作物对害虫的抗性能减少化学杀虫剂的用量，因而可以提供一种更为安全的控制病虫害的环境策略。

⑥ 采用基因修饰的方法有利于环境保护和农业可持续发展，因为这种方法利用了大自然已适应了的生物调控机制。

⑦ 制定有关能确保食品安全和有利于环境保护的政策应该基于食品本身的特征，而不是基于用来开发这些食品的方法。

⑧ 应用 rDNA 技术所带来的社会和经济效应已引起了公众的极大关注。

⑨ 对转基因食品的反対呼声更多地出自政治和外贸（贸易技术壁垒）的目的 而并非对技术本身的怀疑。

作者：励建荣 邓 刚 杨新辉

1.1.3 植物细胞培养研究进展

1.1.3.1 原生质体培养

1971 年 ,日本的 Takebe 和 Nagata 首次利用烟草叶片分离原生质体并获得再生植株。到 1976 年 ,有 12 种植物的原生质体能再生植株 ,1983 年增加到 70 种 ,1986 年超过 80 种 ,到 20 世纪 90 年代初期达到 100 种以上。原生质体培养是 20 世纪 80 年代的一个研究热点。我国获得了 30 个以上品种的原生质体再生植株，其中包括难度较大的重要粮食作物和经济作物大豆、水稻、玉米、小麦、谷子、高粱、大麦、棉花、油菜、马铃薯。

下面以谷子原生质体培养及融合为例，简单介绍原生质体融合。

原生质体融合是实现体细胞杂交的有效途径，它以原生质体培

养为基础。其步骤一般为将继代培养后 4~5d 的谷子愈伤组织悬浮培养用含 2%纤维素酶和 0.1%果胶酶的酶溶液分离出原生质体。赵连元等(1991)通过交换培养基成分调控谷子愈伤组织,从不能直接作用于原生质体培养的致密型愈伤组织中选出了生长旺盛的松软性愈伤组织。将其用于原生质体培养从而获得高频表达细胞分裂,又从不能直接作用于植株分化的松软型再生组织中选出了致密性愈伤组织,并诱导分化出大量原生质体再生植株。1997年董晋江等研究表明,谷子胚性愈伤组织黏液提取物有助于谷子原生质体形成细胞壁,相应地通过增加形成完整细胞的数量,较大幅度地提高原生质体的植板率。研究还发现,不同种植物愈伤组织作看护培养对谷子原生质体培养植板率有不同的影响。如用光头稗草愈伤组织对谷子胚性愈伤组织的原生质体进行看护培养效果最好。1991年赵连元等首次报道了用 PEG 及电融合技术(XRY-1 型细胞电融合仪)实现了谷子原生质体的融合研究。

1.1.3.2 组织及细胞培养生产有用物质历史进展及技术探讨

组织及细胞培养生产有用物质在近 50 年来取得了飞速的发展。已经对 400 多种植物进行过研究,从培养细胞中分离到 600 多种次级代谢产物,其中 60 多种在含量上超过或等于其原植物,20 种以上干重超过 1%。紫草、人参、黄连、老鹳草等已达到商品化水平,长春花、毛地黄、烟草等已实现工业化生产,牙签草、三分三、红花等 20 多种植物正在向商品化过渡。在日本,人参细胞培养已达 130.6kl 发酵罐,人参根培养达 2kl 发酵罐,德国用 1kl 发酵罐培养毛地黄细胞;加拿大用 200L 发酵罐培养长春花细胞。在我国,人参细胞培养技术也已实现产业化,三分三在 20 世纪 80 年代即完成了 10L 发酵罐中试;紫草、三七等的细胞培养也取得了较大的进展。西洋参、云南萝芙木、三尖杉、盾叶薯蓣、九连小檗、薄荷、柴胡、丹参、当归、青蒿、长春花、紫背天葵、延胡索、水仙、粗榧、水飞蓟、罗锅底、重楼等的细胞培养研究也已进行。利用培养细胞的生物转化能力生产高值化合物,德国科学家进行了出色的研究。他们在毛地黄细胞的培养中加入生物合成途径的中间化合物毛地黄毒素和 β -甲基毛地黄毒素,

培养细胞以几乎 100% 的转化速率使之羟基化，变为医药强心剂地高辛。这一技术已实现工业化生产。1983 年，日本利用紫草细胞培养工业化生产紫草素，是世界上第一个利用植物细胞培养工业化生产次级产物的例子。到 1989 年达到 72m³ 的培养罐内大规模培养植物细胞生产药物的植物种类已有 8 种。

下面以卵巢癌治疗药物——紫杉醇（1992 年 12 月 29 日 FDA 批准此药物上市）的生产为例，介绍近代植物细胞培养技术的发展情况。

（1）外植体的选择

紫杉醇 (taxol) 是红豆杉科红豆杉属 (*Taxus* sp) 植物的树皮、枝叶等组织中含有的一种四环二萜酰胺类化合物，具有独特的抗癌作用，高效、低毒等，被称为过去几十年中出现的最好的抗癌药。紫杉醇在紫杉树的各种组织中的含量都很少，紫杉的生长也非常缓慢，土地资源的减少，限制着种植计划的发展。而紫杉醇的复杂结构和多达 12 个的手性原子的存在，使合成法几乎不可能具有商业价值。真菌的紫杉醇含量仅有植物细胞的 1/10⁵，离生产规模的距离太远。从长远来看，选择具有高生物转化能力的细胞株进行紫杉细胞培养才是解决紫杉醇供需矛盾的最佳途径。因此，紫杉细胞培养的研究近年来十分活跃。

（2）愈伤组织的诱导及培养

植物细胞一般选用 B₅ 培养基，也有选用 LS、MS、N₆ 培养基作为比较培养基的。如剑麻愈伤组织培养的最佳培养基就是 N₆ 而杜仲愈伤组织最佳培养基则是 B₅。实验中，往往是通过改变植物激素 (KT、GA₃、NAA、IBA 等) 的种类和加入量来促进紫杉愈伤组织的生长。激素的浓度一般为 0.112mg/L 过高的激素浓度反而会抑制愈伤组织的生长。一般情况下，两周左右愈伤组织可以从外植体上长出。新诱导的愈伤组织至少 15~25d 要进行继代。

（3）摇瓶液体悬浮培养

当愈伤组织经过长时期固体培养，表现出相当的生理稳定性后，才能进行悬浮培养。摇瓶培养也是生物反应器培养的基础。植物细

胞从固体培养向悬浮培养过渡，需要有一个适应过程。驯化过程在 25℃ 进行暗培养。每个 300ml 的三角瓶装 100ml 培养液 摇床旋转速度 145r/min 定期用 $0.76\mu\text{m} \times 0.176\mu\text{m}$ 的不锈钢筛网对细胞进行过滤，并换成新鲜培养液。可以说，植物细胞培养的放大操作过程完全是微生物培养过程的移植。因此，在对悬浮培养进行研究时，研究者们不可避免地沿用了微生物培养研究的思路。研究工作包括对细胞培养基组成的改良，细胞培养过程中的物理条件如：温度、接种量、光照强度等，化学条件如 pH 等的改变，以使细胞达到最大的生长率和产物合成。紫杉细胞液体培养也大都选用改良 B₅ 培养基。当然，植物细胞具有其特殊的生理特性，研究方法也必然有相当特异性，例如，培养基的组成要考虑到植物激素种类、浓度对其生长和产物合成的影响、细胞聚团的生理特性、二氧化碳、乙烯对植物细胞的特殊意义等。植物细胞液体培养过程需要一个最小的接种量，低于这个接种量植物细胞生长减慢甚至停止。Wickrenesinhe 等 1994 的实验证明，紫杉细胞培养接种量不应低于 70g 细胞(鲜重)/L 接种量低于 50g 细胞/L 时生长停止。Fett-Neto 发现紫杉醇的合成主要发生在细胞生长后期即静止期表现出非生长偶联特征。因此紫杉醇合成促进物的加入也应是在生长基本结束的第 26d。

(4) 大规模培养

Fett-Neto 等(1994)在 1L 容量的摇瓶中进行了紫杉细胞的培养 确定培养条件为 25℃, 110 r/min 暗培养 这是紫杉细胞大规模培养的一种尝试。Srinivasan 等(1995)在 1L 工作体积的气动混合生物反应器 PMB 和 1L 工作体积的搅拌式生物反应器 (STB) 中进行了紫杉细胞的培养。在 PMB 放大培养中，通气量为 0.137VVM 时紫杉醇产量很大，培养液中的含量达到了 115mg/L 是 STB 培养的 5 倍以上。Fett-Neto 等(1994)根据紫杉醇生物合成的非生长偶联，提出了两步法培养紫杉细胞的设想。前期利用碳水化合物的选择加快细胞生长，使细胞量迅速增加。达到一定细胞量后，改用利于紫杉醇合成的培养液。通过调整合成培养液的组成，延长静止期，也就是延长紫杉醇合成时间，从而使细胞合成较多的紫杉醇。这种设想已