

我国作物生物技术育种的进展

Progress in Crop Breeding by Biotechnology in China

黄群策 孙敬之 白素兰

(中国科学院植物研究所 北京 100093)

本世纪 70 年代以来,随着生物细胞组织培养、DNA 重组和转基因技术等一系列现代生物技术的不断改进和完善,生物技术已经成为当今世界发展最快、最活跃和最具潜力的高新技术领域之一。从我国农业生产的现状和发展趋势来看,仅仅利用传统的常规育种方法已经很难满足我国农业生产对作物新品种的要求,因而借助于农业生物技术与常规育种方法相结合的方式将会创造出更多的新种质,进而培育出更多高产、优质和多抗的新品种。作物生物技术育种所研究的主要内容涉及到在生物体内的细胞组织、染色体和基因等方面对其遗传基础进行改造和改良,以便获得具有更大增产潜力的作物新品种。

一、在细胞组织水平上作物生物技术育种的进展

植物细胞工程是生物技术的重要分支,它是利用先进生物技术在细胞组织水平上对植物的遗传基础进行改造和改良,其研究内容主要涉及花药培养、组织培养、原生质体培养和融合,快速繁殖和无毒种苗的生产以及异源核质之间的组配等。

1. 花药培养和组织培养

Guha 和 Maheshwari (1964) 在毛叶曼陀罗花药培养中发现由其花药长出了许多胚状体,直到两年后才证实这些胚状体是由花粉发育而成的单倍体植株。随后,研究者相继在烟草、水稻、小麦和玉米等作物中开展了花药培养。我国虽然从 1970 年才开始进行花药培养,但却是世界上首先将水稻花药培养品种应用于生产上的国家。1975 年我国首先成功地培育出新丰 1 号和花育 1 号等水稻花培品种,以后培育的中花 8 号、中花 9 号和中花 10 号各自在生产上累计种植面积均达到 200 万亩以上,中花 11 号达到 100 万亩以上。中花 12 号在生产上表现为抗病虫能力强,耐盐碱耐干旱,品质优良,高产稳产。除此之外,中花 6 号、汕花 369、汕花 2 号、浙梗 66、花寒早、合单 76-085、花培 528 和 SH-188-26 等花培品种具有各自的一些特殊的农艺

性状,适合在特定的生态条件下种植。近年来由世界著名的优质米品种 Basmati 370 的胚状体为供体,我国已成功地培育出具有很高营养价值的“黑珍珠”,它具有“四高一优”的特点,即紫色素含量高(2.6%),蛋白质含量高(17.3%)、硒元素含量高和维生素 C、B、E 含量高,其米质达到一级优质米的技术指标。

1971 年我国首次从小麦花药中培养出再生植株。随后培育的京花 1 号在生产上累计播种面积达到 800 多万亩;丰产优质新品种京花 3 号达到 70 多万亩。花培 764 适宜在沙漠边缘地区种植,具有高产稳产的特性。豫花 1 号、花培 28 和 555 等小麦花培新品种(系)都分别适宜在特定生态条件下种植并表现出非常明显的增产潜力。

油菜花药主要是通过形成花粉胚的途径再生植株。我国在 80 年代中期发明了油菜花药液体漂浮分步培养法。利用这种培养法能使花粉胚状体的诱导频率大大地提高。在 80 年代末,对花粉胚中的脂肪酸组分,硫苷含量与芥子酶活性进行了分析,为将花药培养技术引入油菜品质育种做了有益的探索。除此之外,利用子房培养技术获得 *B. napus* × *Eruca sativa* (芝麻菜) 属间杂种再生株;通过胚珠培养从湘矮不育系油菜 × 萝卜的胚珠获得了再生绿苗;通过幼胚培养得到了甘蓝型华油 2 号 × 芥菜型遵义竹桠的杂种植株。通过试管受精技术克服了甘蓝型油菜雄性不育系与菜心种间杂交的不亲和性障碍,为植物远缘杂交寻找到一条新途径。

棉花的组织培养工作在 70 年代初才开始,一直被认为是作物中进行体细胞遗传操作最为困难的作物之一。在“八五”期间,我国从中棉 13、鲁棉 6 号和泗棉 3 号等陆地棉获得了再生植株。随后,通过将植物激素种类和浓度调节为适宜配比,能有效地将组织培养中的异常苗转化为正常苗,基本上解决了在棉花组织培养中长期存在的畸形苗多和玻璃苗多的难题。在鲁棉 6 号再生植株后代中所获得的棕色纤维棉花品系在棉铃重量和产量性状等方面均表现出明显的优势。对野生棉进行花药培养已经获得了愈伤组织胚状体和再生植株,而目前国外

的同类研究仍然停留在愈伤组织水平上。

在花药培养和组织培养中已经发现,无性系变异是植物界的普遍现象,它在作物改良中将具有特殊的应用价值。

2. 原生质体培养和融合

自从 1971 年 Nagata 和 Takbe 首次报道由烟草叶肉原生质体培养获得了再生植株以来,至今已有 140 多种植物能通过原生质体培养来获得再生植株。在玉米、大豆、高粱、谷子、棉花、猕猴桃和黄瓜等作物的原生质体培养中我国最早获得再生植株。在水稻和小麦等主要谷类作物的原生质体培养中我国基本上与国际水平相当。

植物原生质体培养并非细胞工程的研究目的,它只是一种细胞操作的技术,利用这种技术来完成异源原生质体之间的融合,打破植物物种之间的生殖隔离,进而获得融合体或遗传物质发生变异的新个体。通过异源原生质体融合来实现不同物种之间体细胞杂交是 70 年代兴起的一项新技术,它能克服远缘杂交中异源物种之间的不亲和性并能完成异源基因的转移。在烟草体细胞杂交中已经获得对称杂种、胞质杂种和非对称杂种,经过大田选育后已经获得了多个遗传性状稳定的株系,同时获得了品质优良、高抗黑胫病和耐 CMV 病毒的 2 个新品系。利用 PEG 融合法已经成功地实现了小麦同簇毛麦与高冰草之间的体细胞杂交并获得了再生植株。采用电融合技术获得了普通小麦与多花黑麦草不对称体细胞杂种再生植株。普通栽培稻与药用野生稻的原生质体融合后,药用野生稻的抗病性在再生植株中得到充分地表达。通过普通栽培稻与无融合生殖大黍进行原生质体不对称融合所得到的再生植株及其后代在生殖性状上产生明显变异,表现出多胚珠、多胚囊和多柱头等特殊现象,这为水稻无融合生殖种质的创造和筛选找到一条新途径。

3. 植物的快速繁殖和无毒种苗的生产

60 年代,随着无病毒兰花植株快速繁殖的成功,在国际上逐渐建立起试管苗工业,无病优质种苗的生产已广泛应用于花卉和蔬菜。“六五”期间,除了马铃薯无毒种薯和甘蔗种苗生产之外,我国在这方面的研究还只停留在实验室阶段。“七五”期间,香蕉、柑桔、苹果、葡萄、山葡萄、草莓和西瓜的试管苗已经在生产上大规模推广;菊花、香石竹和唐菖蒲的无毒种苗的生产技术已基本完善,一些花卉和观叶植物也开始了商业化生产,造林树种如桉树也已经建立起试验苗基地。“八五”期间,我国在脱毒结合快繁方面主要以果树为主,兼顾了花卉、林木、蔬菜和药材等。在热带和亚热带果树中,除香蕉和柑桔外,还扩展到荔枝、龙眼、柚子、芒果和菠萝。在温带水果中,除苹果、葡萄和草莓外,还对梨、枣、樱桃、山楂、柿子和猕猴桃进行了研究。

4. 异源核质组配

我国在 60 年代末就已开展水稻核质杂种的研究,通过利用不同类型的普通栽培稻品种分别与“野败”及其后代进行回交核代换,于 1973 年培育出第一批育性稳定且具有实用价值的雄性不育系“二九南 1 号 A”、“珍汕 97A”和“V20A”等,为我国杂交水稻的培育成功和在生产上大面积推广利用提供了理想的遗传工具。随后,在 80 年代初,袁隆平等培育的“NC 湘矮早 9 号”、“NC 广陆矮 4 号”、“NCIR₈₆”和“NCIR₈₈”等一大批具有一定超亲优势的水稻核质杂种在生产上试种过程中也表现出明显的增产潜力。

除此之外,麦类作物核质杂种的培育也有新的苗头。目前已经培育出分别具有节节麦、偏凸山羊草和粗厚山羊草细胞质的核质杂种,其中包括同质异核系和同核异质系,从这些材料中已经选育出抗逆丰产和适应性强的麦核质杂种新品系。在此基础上,我国近年来在异源细胞质效应和特定染色体与细胞质相互作用等基础性研究方面都已取得了重要进展。试验结果表明,异源细胞质能提高普通小麦籽粒蛋白质含量,增强其抗病性和耐盐性。

二、在染色体水平上作物生物技术育种的进展

植物染色体工程就是通过细胞内染色体的添加、削减、代换和易位,有目的、有计划地改造农作物品种的育种技术,其主要研究内容就是按照人们的意图在受体细胞内添加同源或异源染色体,消除同源染色体以及替代同源和异源染色体。我国利用蓝粒小麦所表现的蓝色色素性状为标记,选育出蓝单体小麦,然后通过蓝单体小麦自交,在其自交群体中选到缺体单株,再经过连续多代自交选育后培育出能自交结实的 4D 缺体品系,因而提出快速选育普通小麦异代换系的新方法即缺体回交法。这种回交法已在两个方面得到了应用:第一,通过缺体与二倍体近缘种属间杂交和回交可以选育到异代换系;第二,通过缺体与多倍体近缘种属间杂交和回交也可以选育到异代换系。

在远缘杂交中,利用染色体消除法获得特定物种的单倍体植株已在很大程度上克服了因基因型的限制而导致花药培养中亲本材料利用的局限性。在普通小麦的花药培养中,诱导单倍体受基因型的影响很大,对那些对花药培养不敏感,很难获得单倍体再生植株的基因型小麦,采用普通小麦与玉米或高粱杂交的方法就可以获得单倍体。普通小麦与玉米或高粱杂交都有较高的受精率,但在杂种胚发育过程中胚乳退化,同时玉米或高粱的染色体丢失,及时进行幼胚培养就可以获得再生植株,这种

植株全部为只携带普通小麦染色体的单倍体。

除此之外,植物染色体组工程在农作物改良中也有明显的作用,它研究的主要内容就是在受体细胞内添加同种或异种染色体组,消除同种或异种染色体组。如小黑麦是人工合成的第一个大田作物。鲍文奎等培育的八倍体小黑麦在 70 年代试种成功之后,迅速在我国西南和西北 15 个省区广泛种植,其产量一般比当地种植的小麦品种高 30% 左右,籽粒的蛋白质含量高 3~5%。

三、在基因水平上作物生物技术育种的进展

自从 1983 年首次通过植物基因工程获得转基因烟草和马铃薯以来,目前已在 54 种植物中获得了转基因植株,其中包括粮食作物(马铃薯、水稻、小麦和玉米),经济作物(棉花、大豆、油菜、亚麻和向日葵),蔬菜作物(番茄、黄瓜、芥菜、甘蓝、花椰菜、胡萝卜、茄子、生菜和芹菜),牧草(苜蓿和三叶草),瓜果(苹果、核桃、李、木瓜、甜瓜和草莓),花卉(矮牵牛、菊花、香石竹和伽蓝菜)和多种造林树种等。迄今已经将具有很大实用价值的目的基因如抗病基因、抗虫基因、抗除草剂基因、改变蛋白质组分基因、雄性不育基因、改变花色花形基因和延长保鲜期基因分别转入烟草、马铃薯、水稻、小麦、棉花、番茄、大豆、苜蓿和矮牵牛等作物中。转基因成功的植物物种不断增加,基因转化效率及其可重复性不断提高,基因转化途径不断创新及研究方法不断改进是目前我国转基因工程的主要特点。

通过花粉管导入和土壤农杆菌介导这两种遗传转化途径已经将 GEMCryIA 杀虫基因导入我国生产上推广应用的棉花主栽品种,由此获得了高抗棉铃虫的转基因棉花。将抗菌肽 B 基因导入水稻则受体对百叶枯病和细菌性条斑病表现出高抗特性,抗黄矮病毒转基因小麦植株在我国成功地获得被誉为全世界 10 大科技新闻之一。抗青枯病马铃薯和含 HNPi(10kD 硫醇蛋白基因)苜蓿在生产上的试种过程中都表现出比较大的实用价值。

我国植物基因工程技术将在两个方面有明显的发展。第一,转基因的技术将会有新的突破。80 年代初,最早利用一种叫土壤农杆菌的微生物作为载体将目的基因转入受体。这种细菌只能侵染大部分双子叶植物和少数单子叶植物,因而使农作物的基因工程受到很大限制。80 年代末以来人们不断地探索转化农作物的新方法,其中包括使用电击法、微弹射击法、PEG 法和其它一些直接将 DNA 导入受体的方法。今后这些新技术将不断完善,同时还会有一些新的基因导入技术出现。第二,分离基因的技术将会有新的突破。目前在植物基因工程中所采

用的基因基本上是控制生物体质量性状的单基因,即只要转入一个基因就能获得所需要的目标性状,例如抗病毒特性、抗虫特性和抗除草剂特性等。从分离单基因到成功地分离出多基因,其技术要求会更严格,这将是今后植物基因工程有待突破的一个重要方面。

除此之外,我国农业分子育种经过 20 多年的艰苦探索之后,已经形成了比较完善的技术体系,培育了一大批新种质和新品种。这项探索性研究始于 1974 年,其理论依据就是 DNA 片段杂交假说,即在远缘生物间的杂交种中,细胞内的异源染色体在减数分裂中不可能进行正常配对,但异源染色体在受体细胞内一旦被裂解之后所产生的 DNA 片段有可能随其同源 DNA 顺序进入受体染色体,由此会使受体所产生的子代群体发生某些遗传性变异。目前,我国农作物分子育种在外源 DNA(基因)导入受体的技术上已日趋完善,其中包括授粉后花粉管通道技术、幼穗穗茎注射技术、种子胚浸泡技术和茎端 DNA 枪击技术等。在水稻、普通小麦、棉花和大豆等主要作物上均已获得了一大批转基因新种质和新品种(品系),这些新品种(系)在生产上的增产效益非常明显。

四、在作物生物育种中亟待研究的问题

1. 建立各种主要农作物高效的细胞培养体系和转基因体系

细胞培养效果与试验材料的遗传背景密切相关。在不同物种之间其培养效果明显不同,而在同一物种的不同品种之间其培养效果也存在着很大差异。虽然我国在植物细胞培养和转基因受体培养方面已经取得了很大成就,但是有关植物细胞培养的许多技术环节还有待于进一步探索,细胞脱分化和再分化的内部机制还需要更深入地研究和认识。只有在更深入地了解各种细胞发育的内部机理,掌握了各种细胞培养的关键技术环节的前提下,才有可能寻找到细胞培养的共有规律和特殊规律,才能针对不同基因型材料而采用不同的技术措施,由此建立起各种主要农作物高效的细胞培养体系和转基因体系,特别是不依赖于基因型的培养技术和转化技术,以便在任一作物和任一品种上都能获得成功。

2. 进一步提高外源基因在受体中的表达水平

农作物育种的关键就是要采用适当方式创造出尽可能多的遗传性变异,进而为优良基因型的筛选提供物质基础。与传统的常规育种相比,利用生物技术,特别是基因转移技术来创造作物的遗传性

(下转第 8 页)

观已经永久性地熔铸到发展的概念中,任何力量都不可能再将二者肢解开来了。

然而,生态文化认为,解决人类所面临的各种棘手问题的契机、方案和办法不可能产生于某种单一的理论、学科或文化,而只能得之于多种理论、学科的协同谐振,以及多种文化、思想的融汇互补。生态文化并不排斥或取消其他文化,但也不是其他文化所能排斥或取消的。新兴的生态文化固然不能单独照亮人类的未来,然而,缺少了这一盏明灯,要想越过横在人类前进道路上的重重障碍和陷阱也是难以想象的。

对新文明、新世纪的来临,人们总是以一种敬畏、神往、疑虑而又怀有希望的复杂心情去迎接的。著名的系统哲学家、钢琴家、美籍匈牙利裔学者拉兹洛以《即将来临的人类生态学时代》为题撰文写道:“过了当前这段杂乱无章的过渡时期,人类渴望进入一个更公平、更具有承受力的时代,那时,人类生态学将起关键作用,在我们为达到这一新时代而努力的过程中……生态观念必将成为有指导意义的原则……。只要我们没有先毁灭自己,人类生态

学时代的文明将在 21 世纪逐渐放出异彩。”

目前这个时期是杂乱无章的。但这正是世界酝酿着进行深刻社会变革的边缘时期。这一次变革无疑会使人类文明升华到一个更加清明高远的境界,人性的水平也必将随之来一次大跨度的飞跃。前进的途中,不可避免地还会有争端、歧见、危机,甚至动乱和流血。应当相信,这一切将不会再一次导致人类的迷惘和沉沦,而只不过是同一种崭新文明的诞生相伴随的阵痛和痉挛。

正是对以上这样一些问题和其它有关问题的思索,以及由之而产生和形成的种种认识,促进了拙著《生态文化与文明前景》一书的撰写和面世。

从现在起,人类应当而且必须具有这样一种悟性:在开发自然、变革社会、推进文明的过程中,经常反思内省,不断自我调控,使自己的欲望和行为不超越客观上所能承受的限度,保持人类社会内部环境各种关系间的协调,也保持人类社会的文明发展同自然界之间的协调。这就是生态文化的真谛,也是“可持续发展”这一时下广泛流行的口号的真正内涵。

(责任编辑 蔡德诚)

(上接第 21 页)

变异则更容易。然而,在利用特定的生物技术对受体进行改良和改造中已经发现,在某些情况下,目的基因已经进入受体的遗传组成中,但目的基因所控制的性状只是在部分个体中表达或很难表达或完全不表达。这将涉及到目的基因在受体的遗传背景中定点整合、转录和翻译水平,在 RNA 的稳定性、目的基因的时空表达及其调控等问题。只有对这些问题进行更深入的研究才有可能寻找到更适合的方法来提高外源基因在受体中的表达水平,进而提高转基因的效果。

3. 寻找和创造新的种质资源

种质资源是农作物育种的物质基础。没有优良的种质资源则很难培育出优良的新品种;缺少特异的目的基因则生物技术在农作物育种中也很难开创新局面。在农业生物技术育种中基因资源的多寡直接关系到其育种效果的好坏。因而,进一步寻找和创造出更多具有特殊价值的种质资源将是今后作物生物技术育种的一项非常重要的研究内容。根据农作物的亲缘关系,在野生的近缘植物中寻找具有特殊价值的种质后再通过生物技术将其转入到栽培作物中,由此创造出新的可以被直接利用的种质资源将是今后有待于进一步加强的非常重要的方面。除此之外,对同一物种在不同染色体组倍性条件下其特征特性的研究,特别是对不同倍性水平与特定基因表达的关系进行研究则有可能挖掘

出某些潜在的基因资源。

4. 研究应该与产业密切配合

我国目前已具备了深入开展作物生物技术育种的技术基础,在某些方面已接近或超过国际先进水平。然而,我国在作物生物技术育种方面研究与产业脱节现象比较严重,许多研究成果很难在生产上推广应用。例如,我国在 90 年代初率先在世界上成功地获得玉米、水稻、小麦和大豆的原生质体再生植株。然而,第一株转基因的玉米却首先在国外出现并产生了一定的经济效益。这说明我国在产业化方面还有许多薄弱环节有待于进一步加强。

目前,世界各国尤其是经济发达国家已经将生物技术确定为 21 世纪的关键技术并给予高度重视和支持,以此来增强本国的经济实力和国际竞争能力。现代生物技术在农业上的广泛应用将作为生物技术的“第二次浪潮”在下一个世纪全面展开,这将给农业生产带来新的飞跃。当今生命科学发展的一个主流方向就是进一步阐明生物体基因组及其编码蛋白质的结构与功能。作物生物技术育种在今后一个时期内的研究重点就是研究与农作物产量、品质和抗性有关的基因结构、功能及其应用。随着研究的不断深入,生物体内部的许多奥秘将被揭开,生物体生长发育和繁殖的一些机理将被掌握。

(责任编辑 肖庆山)