

作物育种的未来

今后的二十年,为使粮食的生产跟上人口增长的需要。就必需把目前的粮食产量增加一倍,因此培育植物新品种的工作从未如此重要和紧迫。

我们现有的谷物、水果、蔬菜的产量十倍甚至百倍地超过它们的野生祖先,但它们通过光合作用捕捉空气中的碳,以及摄取的营养与生成的果实之比都惊人地低,有些还丧失了祖先的优点。有些野生土豆,豆类的抗病性较之栽培品种强,中东高地上的野生大麦的蛋白含量高达百分之三十(比种植的大麦高一倍多),这些丢失的优点有待育种家去恢复。自然界不同种的作物一般不能杂交。如何把某些西红柿品种的抗病力引入土豆,如何使谷物具有豆类的固氮能力,这些都是育种家们面临的重要课题。

传统的育种家为了得到一个优良品种,多采用杂交的办法。杂交后代的性状会发生分离。通过近交和杂交交替使用的方法可增加纯合性,从而提高所需基因型的稳定性。此外,还使用回交的方法,经过多次回交可产生具有亲本一方的全部性状,而具有另一方亲本的某一性状的后代。采用以上方法必需经过五、六代,以至更多代才能得到一个改良品种。如培育出冬大麦的一个新品种需要十二年。

英国剑桥农业研究协会的植物育种研究院,研究出快速育种的方法,即单倍体育种法,使植物的生殖细胞不经受精结合单性发育成植株。单倍体自发地或经人工处理(如用秋水仙碱处理)成为二倍体。二倍体的一切基因都是纯合的,它的遗传性能相对稳定,后代性状整齐一致。采用这种办法可以缩短育种周期。在实际应用中,有时用花粉培养法,获得单倍体植株,再使染色体加倍,经过选育可使新品种的形成提前数年。

传统的育种法可使植物的性状发生巨大改变,但是和分子生物学带来的一系列新技术相比就相形见绌了。传统的育种法不能控制遗传物质 DNA,对于一些不能相互交配的植物就显得无能为力,而且培育一个新品种往往旷日持久。遗传工程技术打破了种间不能交配的障碍,甚至可以突破科或纲的界限。比如使植物和细菌,或植物和动物的染色体组结合。一旦这项技术能在实际中应用,将会产生惊人的变化。

今天的遗传工程可按照需要精确地取出给体的 DNA,用限制性内切酶切割,然后将切下的一段放进适当的载体,再由载体把它们带到受体的染色体中。现在已成功地将在人胰岛素基因转移到大肠杆菌中,通过

大肠杆菌制造胰岛素,使产量增加,成本降低。

遗传工程技术之所以能在微生物中运用自如,根本原因在于专家们对其整个基因组中每段 DNA 的实际功能都很了解。在植物界,每种植物可能含有三万个不同的基因,而目前在几十万种植物中我们仅了解其中的二十种植物的基因组,因此尽管从植物染色体中取下一段 DNA 并不难,但取哪一段,就不清楚了。目前遗传工程正愈来愈依赖于组织培养技术。典型的例子是用组织培养技术获得油棕榈的无性繁殖系,使得这种经济作物的地位,在马来西亚已可与橡胶相抗衡。早在 1960 年诺丁汉大学的泰德·柯金和他的同事用组织培养技术试图改良一些重要的作物。用这种方法可使在自然状态下不能交配的植物的遗传物质结合在一起。如果将两种去除细胞壁的植物细胞放在一起,它们的原生质体在适当条件下发生融合,产生含有两种植物基因的杂种。例如可使不能杂交的具有抗盐能力的野生水稻与栽培水稻原生质体融合,产生出杂种细胞。现在的问题是如何使这类细胞形成完整的植株,以及对其变异的控制,而后者往往是作物改良的关键。

植物遗传工程中有待解决的问题有两个,其一是确定外来的 DNA 在宿主的插入部位。因为它们的染色体并不包含所有的 DNA,细胞质内的细胞器如线粒体,叶绿体都有它们自己的 DNA。其二是插入的方法。自然界提供了把遗传物质从一个细胞传递到另一细胞的方法,细菌中的环状 DNA 即质粒就具备此种功能。自然界有一种普通细菌叫根癌病土壤杆菌,它可把自身的 DNA 通过质粒输送到植物细胞中,诱发它们形成肿瘤。因此这种质粒叫 Ti 质粒(Tumour-inducing)。遗传工程学家从中得到启发,用经过修饰的 Ti 质粒把需要的 DNA 带进宿主植物,再将其整合到宿主中,以达到改良植物的目的。要做到这一点,首先要解决进入植物体内的新基因的表达问题,只有当宿主给出正确的信息后,外来的基因才能表达,做到这一点在目前还很困难。

尽管如此,有些新的进展还是很令人鼓舞的。比如对 Ti 质粒的修饰已经成功,作为载体它已被用来把酵母基因送进植物中;把菜豆的基因转移到向日葵的愈伤组织中得到有菜豆蛋白质特性的“向日葵”。但根癌病土壤杆菌不能感染单子叶植物,而许多重要的粮食作物恰恰是单子叶植物。

诺维奇约翰·英纳研究院的罗格·哈尔发现了一种病毒可以作为载体,即花椰菜花叶病毒。由于植物病毒基因在植物的一生中不断表达,所以在传递抗病性基因方面,它是一个很有用的载体。美国和德国已用病毒作载体将细菌的 DNA 转移到植物宿主内,虽然引进的 DNA 不是一个完整的基因,而未能表达。罗格·哈尔还设想把鸡蛋中生产脂蛋白的基因引进到植物细胞中去。

赫特福德郡的罗塞姆斯泰德实验站的拜恩·密福林和他的同事企图增加谷物蛋白中的赖氨酸含量。一旦成功,谷物蛋白就可与蛋类的蛋白媲美。植物存储蛋白的基因在成熟的种子内非常活泼,可以通过它们产生的大量信使 RNA 跟踪这些基因,因此研究起来要比较容易。为了增加谷物蛋白的赖氨酸含量仅需存储蛋白的基因在种子内,并且要在种子成熟期间表达;而移入植物的抗病基因又需要在植物的一生中不断表达。这就涉及到另一个有意义的问题——基因控制。

另一个很有意义的课题是把豆科植物的固氮能力传递给谷类作物。豆科作物的根瘤菌中有一组 *nif* 基因,它能产生一种固氮酶,因此豆科作物通过它可以利用大气中的氮。这使人们想到把这种基因插入到谷类

作物中去,让它们自己具有固氮能力。

要做到这一点,有一些技术问题要解决,例如把基因插入单子叶植物就不容易。苏塞克斯大学的约翰·波斯格特认为 *nif* 是复杂的成簇的基因,因此较插入单个基因要困难得多。由于 *nif* 基因的表达受宿主植物的控制,而细菌和植物内控制基因表达的机制又不同,因此如何使 *nif* 基因表达也是一个难点。但他仍认为可以把 *nif* 基因插入植物叶绿体的 DNA 内,因为叶绿体的 DNA 与细菌的 DNA 有些相象。这样做如果成功,植物就可以在自身叶片里固氮,叶子中的氮可直接与叶子制造的碳水化合物结合生产氨基酸,这比在根内固氮更可取。但这在理论上有困难,因为 *nif* 基因对氧非常敏感。可是水生的蕨类植物可以在叶中固氮,因为它有一套精巧的排氧的机构。

可以预期植物育种家们将在时机成熟时,利用遗传工程培育出更多的优良品种,例如能在海水中生长的,抗病且不需施肥的粮食作物,不怕霜冻结草莓的树等等。由于我们对植物的分子遗传学知道得太少,因此植物遗传工程的黄金时代还未到来,但它是一定会来的。

[*New Scientist*, 5(26), 547, 1983. 陈子毅摘译]

液体闪烁计数器用于蛋白质 Lowry 比色法

蛋白质 Lowry 比色测定是生物学研究中应用最广的方法。不言而喻,比色须在比色计上完成。然而,苏格兰 Hannah 研究所的 Noble 等成功地使液体闪烁计数器用于蛋白质 Lowry 比色定量测定。基本原理是:放射性标准源产生的光子被有色蛋白质溶液淬灭,淬灭程度与蛋白质浓度成正比,制备计数率对蛋白质浓度标准校正曲线,即可进行蛋白质定量测定。

方法很简单。用低钾玻璃管制成长 42 毫米、内径 10 毫米、体积 4 毫升的小瓶(内杯),放入 100 微升(1×10^4 dpm)的 ^{14}C -胆固醇苯溶液,在氮气流下吹干,加入 3.0 毫升闪烁液(每升甲苯含 5.5 克的 91% PPO 和 9% POPOP 混合物),缓慢充入氩气,烧封管口。把这放射性标准小瓶装玻璃闪烁杯(外杯)中央特制的坐子上,内、外杯间的环状间隙体积约 16.0 毫升。放射性标准的平均净计数为 $87465 \pm 120 \text{ cpm}$ ($M \pm SE$)。按 Lowry 法制备蛋白质显色溶液,将适量(至少须加 12.0 毫升方可浸没内杯)待测溶液注入内、外杯间环状间隙,在液体闪烁计数器上测放射性强度。

• 用液体闪烁计数器代替比色计作蛋白质比色测定,主要优点有二:(1)可测量蛋白质浓度范围大,至少是传统比色法的 10 倍。在传统比色法,光吸收度超过 0.8,测定准确度就得不到保证,因而需要大量稀释样品,使操作麻烦、测定准确度下降;而且,当吸收度很高时,比色计上虽有电子放大装置,但最多只能放大 2—3 倍,高倍数放大之测量准确度是值得怀疑的,可是,用液体闪烁计数器测量,通过加大放射源强度或延长计数时间(使计数率不低于 $1 \times 10^4 \text{ cpm}$)就能保证测量值的准确度;还有,由于可测范围大,无需事先知道待测溶液的蛋白质浓度,这在传统比色时是必不可少的。(2)可以利用现代液体闪烁计数器先进的样品和数据处理系统,使测定简单、准确、自动化。

也可用 ^3H 标记化合物作标准放射源,但由于 ^3H 能量低,经不起淬灭,可测量范围较小。

[*J. Biochem. Biophys. Method*, 8(3), 223, 1983 首都医院 贺新军摘]