



国家出版基金项目
NATIONAL PUBLICATION FOUNDATION

现代农业高新技术成果丛书

棉花分子育种学

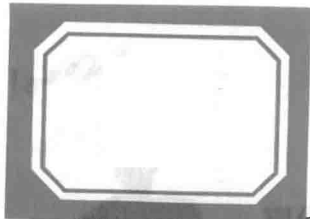
Cotton Molecular Breeding

李付广 袁有禄 主编



中国农业大学出版社

CHINA AGRICULTURAL UNIVERSITY PRESS



现代农业高新技术成果丛书

国家出版基金项目
NATIONAL PUBLICATION FOUNDATION

棉花分子育种学

Cotton Molecular Breeding

李付广 袁有禄 主编



中国农业大学出版社

• 北京 •

内 容 简 介

本书由总论、棉花分子标记研究进展、棉花基因工程、棉花分子聚合育种进展、转基因棉花安全评价、棉花分子育种展望 6 部分组成。本书以与棉花分子育种相关的主要学科为中心,全面阐述了棉花在上述学科中的主要研究进展,重点论述了分子标记辅助育种及基因工程在生物信息学及基因组学高速发展背景下的主要研究进展,分析了棉花分子育种中存在的主要问题,提出了棉花分子育种的最新进展及发展方向。本书可以作为棉花遗传育种及生物技术研究人员、品种推广人员、科技管理人员、研究生等的参考用书,也可以作为相关领域研究人员的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

棉花分子育种学/李付广,袁有禄主编. —北京:中国农业大学出版社,2013.5
ISBN 978-7-5655-0678-9

I. ①棉… II. ①李… ②袁… III. ①棉花—作物育种 IV. ①S562.03

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 050495 号

书 名 棉花分子育种学

作 者 李付广 袁有禄 主编

责任编辑 魏秀云

封面设计 郑 川

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

电 话 发行部 010-62818525,8625

编辑部 010-62732617,2618

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2013 年 5 月第 1 版 2013 年 5 月第 1 次印刷

规 格 787×1 092 16 开本 23.25 印张 580 千字 彩插 3

定 价 118.00 元

责任校对 王晓凤 陈 莹

邮政编码 100193

读者服务部 010-62732336

出 版 部 010-62733440

e-mail cbsszs @ cau.edu.cn

图书如有质量问题本社发行部负责调换

现代农业高新技术成果丛书

编审指导委员会

主 任 石元春

副主任 傅泽田 刘 艳

委 员 (按姓氏拼音排序)

高旺盛 李 宁 刘庆昌 束怀瑞

佟建明 汪懋华 吴常信 武维华

编 委 会

主 编	李付广	袁有禄			
副主编	刘传亮	石玉真	张朝军	商海红	崔金杰
参 编	郭香墨	王红梅	庞念厂	刘 坤	巩万奎
	李俊文	杨晓杰	兰孟焦	杨泽茂	李文坦
	张建宏	孙福鼎	董章辉	孔凡金	赵云雷
	王倩华	孔德培	秦文强	雒珺瑜	张 帅
	马 艳	马小艳	张金凤	邹长松	刘爱英
	龚举武	王 晔	王天抗	宋威武	张 震

出版说明

瞄准世界农业科技前沿,围绕我国农业发展需求,努力突破关键核心技术,提升我国农业科研实力,加快现代农业发展,是胡锦涛总书记在 2009 年五四青年节视察中国农业大学时向广大农业科技工作者提出的要求。党和国家一贯高度重视农业领域科技创新和基础理论研究,特别是“863”计划和“973”计划实施以来,农业科技投入大幅增长。国家科技支撑计划、“863”计划和“973”计划等主体科技计划向农业领域倾斜,极大地促进了农业科技创新发展和现代农业科技进步。

中国农业大学出版社以“973”计划、“863”计划和科技支撑计划中农业领域重大研究成果为主体,以服务我国农业产业提升的重大需求为目标,在“国家重大出版工程”项目基础上,筛选确定了农业生物技术、良种培育、丰产栽培、疫病防治、防灾减灾、农业资源利用和农业信息化等领域 50 个重大科技创新成果,作为“现代农业高新技术成果丛书”项目申报了 2009 年度国家出版基金项目,经国家出版基金管理委员会审批立项。

国家出版基金是我国继自然科学基金、哲学社会科学基金之后设立的第三大基金项目。国家出版基金由国家设立、国家主导,资助体现国家意志、传承中华文明、促进文化繁荣、提高文化软实力的国家级重大项目;受助项目应能够发挥示范引导作用,为国家、为当代、为子孙后代创造先进文化;受助项目应能够成为站在时代前沿、弘扬民族文化、体现国家水准、传之久远的国家级精品力作。

为确保“现代农业高新技术成果丛书”编写出版质量,在教育部、农业部和中国农业大学的指导和支持下,成立了以石元春院士为主任的编审指导委员会;出版社成立了以社长为组长的项目协调组并专门设立了项目运行管理办公室。

“现代农业高新技术成果丛书”始于“十一五”,跨入“十二五”,是中国农业大学出版社“十二五”开局的献礼之作,她的立项和出版标志着我社学术出版进入了一个新的高度,各项工作迈上了新的台阶。出版社将以此为新的起点,为我国现代农业的发展,为出版文化事业的繁荣做出新的更大贡献。

中国农业大学出版社

2010 年 12 月

前言

作为战略物资,棉花纤维在国民经济中的地位举足轻重。棉花既是一种重要的天然纺织纤维作物,又是重要的种子油料作物,同时棉花种子也是一种重要的饲料资源。目前世界上超过 80 个国家种植棉花。中国是最大的原棉生产国和消费国,常年植棉面积 8 000 万亩,总产 650 万吨左右。

近年来,随着棉纺织业的迅猛发展,我国棉花需求与日俱增,供需矛盾日益突出。我国棉花从 2002 年进口 18 万吨猛增至 2011 年的 335.6 万吨,2002—2011 年累计净进口 2 148 万吨,占同期全球棉花净出口量的 26.9%。我国棉纤维内在品质相对较差,纤维比强度偏低;长度、强度、细度等主要品质指标不协调;纤维类型单一,我国棉纤维 95% 主要集中在中绒棉类型,缺乏适纺 60 支以上高支纱的长纤维和适纺牛仔布、地毯、纱布的粗短纤维。在稳定棉花种植面积的情况下,解决上述问题最有效的途径是培育高产、优质、多抗、高效的棉花新品种。由于陆地棉的遗传基础狭窄,纤维品质、产量和抗性等重要性状之间存在负相关,使得以表型选择为主的传统育种技术难以实现棉花纤维品质、产量和抗逆性等多基因的有效聚合。

进入 21 世纪后,随着基因组学、生物信息学等新兴学科的迅猛发展,植物育种理论和技术正在发生重大变革,多学科深度的交叉融合催生育种技术进入分子水平,育种效率得到了极大提升。通过多基因聚合等分子育种手段培育高产、优质、多抗、高效农作物新品种,已成为国内外学者研究的热点。随着国家转基因重大专项、“863”计划和“973”计划等项目的实施,以分子标记和转基因等为代表的现代分子育种技术在棉花遗传改良研究中得到了广泛应用。我国在棉花陆海遗传图谱构建及陆地棉优异纤维品质基因的 QTL 定位及分子标记辅助选择方面取得了较大进展;转基因抗虫棉在我国的黄河流域、长江流域棉区已广泛种植,以优质纤维(高衣分、大铃、高比强)为主的第二代转基因棉花已开始应用于育种;中国农业科学院棉花研究所与深圳华大基因研究院等合作,已完成了二倍体雷蒙德氏棉(D)和亚洲棉(A)的测序,四倍体陆地棉的测序正在进行,为全基因组水平上开展 SNP 及 SSR 标记开发奠定了基础。

本书主要是基于“863”计划“高产优质多抗棉花分子育种与品种创制”(2012—2015)、“优质高产棉花分子品种创制”(2006—2010)、“棉花纤维品质相关功能基因的克隆与验证”(2006—2010)、“973”计划“棉花纤维品质功能基因组研究及优质高产新品种的分子改良”

(2010—2014)、“棉花纤维品质功能基因组学与分子改良”(2004—2009),国家转基因生物新品种培育重大专项“转基因优质纤维棉花新品种培育”(2008—2015)等项目在转基因、分子标记等方面的研究成果,经进一步梳理而成。

本书由中国农业科学院棉花研究所生物技术研究室的转基因研究课题组和分子育种课题组、遗传育种研究室的中熟课题组和中早熟育种课题组、植物保护研究室的虫害研究课题组的科研人员及研究生共同编写而成。本书由李付广、袁有禄任主编,刘传亮、石玉真、张朝军、商海红、崔金杰任副主编,主编和副主编对全书进行了统稿工作。

我国棉花分子育种正处在即将取得重大突破的关键时期,希望本书的出版为我国棉花分子育种的研究与发展起到积极的推动作用。

受编者水平的限制,书中错误和不足在所难免,欢迎广大读者批评指正。

编 者

2013年3月18日

目 录

第 1 章 总论	1
1.1 棉花育种技术进展	1
1.1.1 我国棉花育种技术的发展与品种的系统更换	2
1.1.2 我国棉花育种技术创新	6
1.1.3 棉花主要性状的遗传研究进展	11
1.2 棉花生产及育种中存在的问题	17
1.2.1 我国棉花产业中存在的问题	17
1.2.2 我国棉花育种中存在的问题	18
1.3 分子育种概念的提出	18
1.3.1 分子标记育种	18
1.3.2 转基因育种	19
1.3.3 分子设计育种	19
主要参考文献	20
第 2 章 棉花分子标记研究进展	22
2.1 分子标记种类及新型标记开发	22
2.1.1 分子标记的种类	22
2.1.2 新型标记开发	29
2.2 分子标记群体类型及分析方法	31
2.2.1 分子标记群体类型	32
2.2.2 分子标记群体的分析方法	35
2.3 棉花遗传图谱构建	46
2.3.1 如何构建分子连锁图谱	47
2.3.2 陆海种间遗传图谱研究进展	47
2.3.3 陆地棉种内遗传图谱研究进展	51
2.3.4 棉花分子标记连锁群的染色体定位	53

2.4 重要性状的 QTL 定位	54
2.4.1 纤维产量性状的 QTL 定位	54
2.4.2 纤维品质性状的 QTL 定位	69
2.4.3 抗病性状的 QTL 定位	74
2.4.4 其他性状的 QTL 定位	88
主要参考文献	89
第3章 棉花基因工程	103
3.1 应用于棉花的主要基因及其遗传转化载体构建	103
3.1.1 现代基因分离策略和克隆技术及应用原则	104
3.1.2 重要基因的克隆及在棉花转基因育种中的应用	107
3.1.3 遗传转化载体系统	116
3.2 棉花细胞工程	123
3.2.1 棉花细胞工程的研究历史与现状	123
3.2.2 实验室设备及一般技术	125
3.2.3 原生质体培养和体细胞杂交	128
3.2.4 外植体的选择和灭菌	130
3.2.5 棉花体细胞胚胎发生与植株再生	132
3.3 棉花转基因技术发展	142
3.3.1 棉花规模化转基因技术体系平台建设及其应用	142
3.3.2 高效、安全转基因技术的研究进展	164
3.3.3 其他有应用价值的转化手段	177
3.3.4 其他转化技术及各转化技术的比较	180
3.4 转基因材料的筛选	181
3.4.1 标记基因筛选	182
3.4.2 转基因材料的抗性鉴定	184
3.4.3 转基因材料的遗传特征及稳定性分析	191
3.5 转基因技术体系平台建设	195
3.5.1 转基因技术体系平台建设概况	195
3.5.2 主要技术指标	196
3.5.3 主要服务对象	198
3.6 棉花转基因新材料创制	200
3.6.1 转化再生植株的移栽	200
3.6.2 再生植株的分子检测	201
3.6.3 转基因材料的创制概况	207
3.6.4 转基因材料在生产中存在的问题	216
主要参考文献	216
第4章 棉花分子聚合育种进展	226
4.1 棉花分子标记辅助选择	226
4.1.1 遗传标记的类型及其特点	226

4.1.2	分子标记辅助选择的基本原理及其特点	228
4.1.3	分子标记辅助选择的基本方法	228
4.1.4	棉花分子标记辅助选择的意义	229
4.1.5	棉花分子标记辅助选择的研究进展	229
4.1.6	影响分子标记辅助选择(MAS)的因素	235
4.1.7	棉花分子标记辅助选择的基本策略	237
4.1.8	棉花分子标记辅助选择存在的问题及展望	238
4.2	转基因抗虫棉花新品种培育	238
4.2.1	用于抗虫研究的重要基因	239
4.2.2	抗虫基因的遗传与表达	246
4.2.3	转基因抗虫棉的生理特性及生长规律研究	253
4.2.4	抗虫基因对棉花农艺性状的影响	254
4.2.5	抗虫基因对棉花纤维品质性状的影响	254
4.2.6	转基因抗虫棉新品种培育	255
4.2.7	转基因抗虫棉新品种的应用	257
4.3	分子聚合培育高产、优质、多抗棉花新品种	257
	主要参考文献	260
第5章	转基因棉花安全评价	269
5.1	安全评价内容和要求	269
5.1.1	安全评价的目的	269
5.1.2	安全评价的原则	270
5.1.3	安全评价的内容	271
5.1.4	各阶段安全评价的要求	275
5.2	转 <i>Bt</i> 基因棉花安全性研究进展	279
5.2.1	对棉铃虫控制作用	280
5.2.2	对主要害虫种群动态的影响	282
5.2.3	对自然天敌的影响	283
5.2.4	对棉田节肢动物群落的影响	285
5.2.5	不同种植条件下转 <i>Bt</i> 基因棉对节肢动物群落的影响	292
5.3	转 <i>Bt</i> + <i>CpTI</i> 基因棉花安全性研究进展	293
5.3.1	对棉铃虫的控制作用	293
5.3.2	对主要非靶标害虫的影响	294
5.3.3	对棉田节肢动物群落结构的影响	296
5.3.4	对自然天敌的影响	298
5.3.5	外源基因导入对棉株体内生化物质含量的影响	301
5.3.6	对土壤微生物的影响	304
5.3.7	外源基因漂移的研究	304
5.4	转基因抗除草剂棉花安全性研究进展	304
5.4.1	对草甘膦的耐药性	305

5.4.2 对棉田节肢动物群落的影响	306
5.4.3 对主要害虫种群动态的影响	307
5.4.4 对主要天敌种群动态的影响	308
5.4.5 对棉田主要病害的影响	309
主要参考文献	310
第6章 棉花分子育种展望	314
6.1 棉花结构基因组	314
6.1.1 棉花遗传图谱	314
6.1.2 棉花物理图谱	318
6.2 棉花功能基因组学	319
6.2.1 棉花功能基因组学研究的遗传材料	319
6.2.2 功能基因组学的主要研究手段	320
6.2.3 新一代测序技术在棉花转录组学研究中的应用	324
6.2.4 棉花蛋白组学研究进展	324
6.3 棉花全基因组测序	325
6.3.1 棉花基因组测序的意义	325
6.3.2 棉花基因组测序的策略	327
6.3.3 棉花细胞质基因组	327
6.3.4 棉花基因组学的最新进展	328
6.4 新基因的挖掘与利用	329
6.4.1 新型抗虫基因	329
6.4.2 抗病相关基因	330
6.4.3 抗逆相关基因	337
6.4.4 纤维品质和产量相关基因	341
6.4.5 棉花内源基因的分离和应用	342
6.5 转基因新技术	342
6.5.1 基因叠加	342
6.5.2 TALEN 靶向基因敲除	344
6.5.3 纳米基因载体转化法	346
6.6 棉花分子设计育种	346
6.6.1 目前分子育种中存在的主要问题	346
6.6.2 棉花分子育种的发展方向	347
6.6.3 棉花分子育种未来发展任务	347
6.6.4 分子育种技术平台的建立	349
主要参考文献	350

1.1 棉花育种技术进展

中国是有悠久植棉历史的国家。棉花生产及种植技术的发展经历了约 2 000 年的漫长历程,直到 20 世纪 50 年代前仍处于一个较低水平。而近半个多世纪以来,由于品种不断更新,种植技术不断完善,我国棉花生产获得了长足进展。

中华人民共和国成立以来,棉花种植面积、皮棉总产和单产均获得了大幅度增长。1949 年全国棉田面积 277 万公顷,皮棉总产量 44.4 万吨,占当时世界总产量的 6.2%,居世界第四位,每公顷皮棉单产 165 kg;到 20 世纪 80 年代,全国平均年产皮棉 400.4 万吨,比 1949 年增长 9 倍,约占世界总产量的 1/4,居世界首位(潘家驹等,1998)。20 世纪 80 年代,单产提高到 742 kg/hm²。2001—2010 年平均棉花平均单产 1 182.52 kg/hm²,进入了世界棉花高产国行列。棉花的纤维品质也有很大改进,纤维长度由 1949 年的 21 mm,提高到目前的 29 mm 左右,还生产了 35 mm 以上的超级长绒棉,基本满足了纺织工业和人民生活的需要。2000 年全国棉布产量 277.00 亿米,棉纱产量达到 760.68 万吨,到 2010 年,棉纱产量达到 2 717 万吨,棉布产量更是达到了 800 亿米(国家统计局资料)。根据国家海关总署资料,到 2011 年,我国服装以及纺织品等出口 2 478.90 亿美元,比 2010 年(2 065.3 亿美元)增加 20.03%。所以,我国的植棉业在世界上已具有举足轻重的地位。

半个世纪以来我国植棉业的巨大成就,除政策因素外,与科学技术的发展密切相关,其中新品种对棉花生产的贡献具有重要作用。从国外引种到自育良种,由常规育种技术发展 to 生物技术与常规育种技术相结合,良种繁育程序由“三年三圃制”发展到以育种家种子为源头的四级种子生产程序(郭香墨等,2006),自 1949 年中华人民共和国成立到现在,我国主产棉区先后进行了 6 次大规模的品种更换更新,每一次更换都使棉花产量和品质得到较大幅度的提高,棉花育种技术达到新的水平。

1.1.1 我国棉花育种技术的发展与品种的系统更换

1.1.1.1 国外引种与第一次品种更换

第一次品种更换的特点主要靠引进美国以及前苏联陆地棉(*Gossypium hirsutum* L.)和海岛棉(*G. barbadense* L.)品种取代我国长期种植的亚洲棉(*G. arboreum* L.)和草棉(*G. herbaceum* L.)及混杂退化的陆地棉品种。我国历史上长期种植的是亚洲棉,在西北内陆棉区也有部分草棉种植,它们都是二倍体棉种,耐旱耐瘠,抗逆性强,但植株较小,纤维短,产量低。陆地棉最早引入中国是1865年,海岛棉(*G. barbadense* L.)引入中国是在20世纪初。1949年陆地棉在全国种植面积占全国棉田总面积的52%。在这次品种更换中,主要用岱字棉15及斯字棉2B、斯字棉5A、珂字棉等品种进一步更换了亚洲棉和退化的陆地棉。在黄河流域和长江流域棉区用岱字棉15进一步更换斯字棉、德字棉和珂字棉等,在特早熟棉区推广锦育5号和克克1543等,在西北内陆棉区推广前苏联的108夫、克克1543、2依3、5904依及长绒3号等海岛棉品种,亚洲棉基本被淘汰。至1958年推广美国品种岱字棉15后,陆地棉在我国种植面积已占棉田总面积的98%,其余为少量海岛棉及亚洲棉,而草棉已被淘汰,海岛棉开始种植。这次换种使棉花单产提高15%,绒长增加2~4 mm,我国棉花种植面积和单产迅速提高,1952年我国植棉面积比1949年扩大1倍,棉花总产达130.4万吨,比1949年增长近2倍,棉纱产量达362万吨,棉布产量达38亿米,均达到历史最高水平。

1.1.1.2 系统育种与第二次品种更换

1964—1968年间,我国棉花育种家利用系统育种技术改进国外陆地棉品种,使品种的产量水平和生态适应性进一步改观。这一时期棉花育种的主要技术是系统育种,即在美国品种中选择变异植株,建立株行圃、株系圃和原种圃,重点是提高铃重、衣分和适应性。这种系统育种技术原理与从前苏联引进的“三圃制”良种繁育技术基本一致。应用上述技术,长江流域以岱字棉15复壮种和洞庭1号、沪棉204、鄂光棉等品种替代了岱字棉15;黄河流域推广如徐州1818、徐州209和中国农业科学院棉花研究所育成的中棉所2号、中棉所3号等;特早熟棉区种植朝阳棉1号等;西北内陆棉区推广新海棉、8763依等海岛棉品种。

中棉所2号是从岱字棉15中通过系统育种法于1959年育成,在1960—1962年黄河流域区域试验56个点中,平均比对照岱字棉15增产14.3%,1968年在河北、山东、河南等省推广13.3万公顷;中棉所3号是中国农业科学院棉花研究所1960年从岱字棉15中系统选育而成,1972年在河南、陕西、山西、山东、河北等省推广种植20万公顷。中棉所3号属于耐病丰产品种,对枯萎病具有较强的耐病性,全国许多育种单位以该品种为抗病种质,育成了多个新品种;中棉所7号是从乌干达棉中用系统育种法于1971年育成,生长势强,后期叶片保持青绿不衰,累计推广6.7万公顷。

1.1.1.3 杂交育种与第三、四次品种更换

第三次换种发生在20世纪70年代,其技术标志是通过杂交育种技术培育新品种,即通过不同基因型的亲本之间的有性杂交,使得两个或多个亲本的某些遗传物质结合形成新的基因

组合,是棉花品种改良的主要途径之一,包括两亲本杂交和复合杂交。应用上述技术,我国育成了一批产量明显优于美国引进品种和我国系统育种技术育成的棉花新品种,并在主产棉区迅速推广应用。黄河流域棉区的推广品种是以鲁棉1号、徐州142、邢台6871、中棉所5号和中棉所7号等为主,长江流域推广品种以泗棉1号、泗棉2号、鄂沙28、沪棉204和徐州142等为代表,使推广面积一度居首位的美国品种岱字棉15在南北棉区被取代;在特早熟棉区黑山棉1号和辽棉4号等得到了大面积推广;西北内陆棉区推广军棉1号等,其中鲁棉1号的年推广面积曾达210万公顷,是我国棉花品种推广面积最大、推广速度最快的品种,1982年通过国家审定,曾获得国家技术发明一等奖。这些丰产良种对提高我国的棉花产量和品质都不同程度地发挥了积极作用。20世纪50年代,在我国自育的推广面积在6.5万公顷以上的陆地棉品种中,通过杂交育种育成的品种占13%,20世纪60年代占21.2%,70年代占38.3%。

中棉所5号是中国农业科学院棉花研究所从徐州209×(岱字棉15×紫锦葵)组合后代选育而成的中早熟品种,1969年育成,耐旱涝性较强,20世纪70年代在黄河流域大面积推广。

第四次换种自1980—1984年,其特点是杂交育种技术进一步发展为利用多亲本的复合杂交技术培育新品种,国产品种完全取代国外引进品种,品种的熟性更加多元化,为棉花耕作制度改革提供了优质种源。黄河流域重点推广中棉所8号、鲁棉1号、冀棉8号及短季棉品种中棉所10号。中棉所10号为中国农业科学院棉花研究所育成的第一个短季棉品种,从引进品种黑山棉1号中系统选育而成,其育种策略是根据我国黄河流域广大棉区人多地少、粮棉争地矛盾突出的客观实际,选育适合麦棉夏套种植的新品种类型。中棉所10号具有早熟、高产等突出特点,成为20世纪80年代黄河流域短季棉的当家品种,是我国短季棉育种的开创性品种。长江流域推广泗棉2号和鄂沙28等;特早熟棉区推广辽棉8号、辽棉9号;西北内陆棉区推广军棉1号和新陆早1号,其中军棉1号在西北内陆棉区推广应用时间一直持续到21世纪初。经过这次换种,我国自育陆地棉品种基本普及,品种的丰产性有较大提高。

1.1.1.4 抗性育种与第五次品种更换

20世纪80年代中期至90年代中期,棉花枯萎病(*Fusarium vasinfectum*)和黄萎病(*Verticillium daliae* Kleb.)呈快速发展态势,其对棉花生产造成的损失日益严重,因此,从遗传育种角度控制上述病害成为棉花育种目标的新内容。该阶段育种目标是在高产、早熟的基础上考虑影响棉花生产的枯萎病和黄萎病,并培育早熟、优质、抗病的春套棉和短季棉品种。在西北农业大学高永成教授提出棉花品种病地鉴定和强化选择理论后,中国农业科学院棉花研究所谭联望等认真总结育种经验,通过选择高产、抗病的引进品种乌干达3号和优质、广适的邢台6871作亲本,杂交后代连续在试验田接种棉花枯萎病、黄萎病菌,连续鉴定和强化选择育成了丰产、抗病、优质棉花品种——中棉所12。

中棉所12打破了高产与抗病性和纤维品质的遗传负相关,先后通过国家和河南、山东等6省审定,推广范围遍及全国三大棉区的12个产棉省,至1993年累计推广种植730万公顷,1990年获国家技术发明一等奖。

中棉所16是从中10选系×辽4086组合后代中经连续选择而成的抗病、早熟短季棉品种,1990年通过河南、山东两省品种审定委员会审定。该品种生长发育快,生育期114d,吐絮期落叶晚,表现早熟不早衰,丰产、优质,高抗枯萎兼抗黄萎病,成功地解决了麦田夏套棉早熟、抗病和不早衰的难题,累计种植面积67万公顷以上,1993年获农业部科技进步一等奖,1995

年获国家科技进步一等奖。至此,中棉所系列品种成为我国棉花生产的主导品种,迅速覆盖黄河流域、长江流域和西北内陆三大棉区,“中”字号棉花品种年推广面积 270 万公顷左右,占全国棉田面积 50%。长江流域以泗棉 2 号、江苏棉 1 号、盐棉 48 和鄂抗棉 5 号为主,特早熟棉区推广辽棉 12。中棉所 17 是以抗病、优质材料 7259×6651 的后代为母本,以早熟、高产的中棉所 10 号作父本进行复合杂交育成,具有早熟、高产、优质、抗病、综合性状优良、适于麦棉套种等优良特性,1990 年山东省审定,纤维品质优异,洁白有丝光,主体长度 31.47 mm,强力 3.99 g,细度 6 402 m/g,断裂长度 25.5 km,成熟系数 1.58。中棉所 17 生育期 125 d,比春棉短 10~15 d,比夏棉长 10 d,适播期长,抗枯萎耐黄萎病,是黄淮海棉区麦棉套种、夺取粮棉双丰收的理想品种,1994 年获农业部科技进步一等奖,1996 年获国家科技进步二等奖,是黄淮海棉区麦棉套种的主导品种,耐盐碱,适于黄淮海棉区麦棉套种和滨海滩涂碱地种植,累计推广种植 75 万公顷以上,对于发展麦棉套种,缓解粮棉争地矛盾以及开拓滨海滩涂碱地植棉有重要意义。中棉所 19 在 1989—1990 年河南省抗病区域试验中,每公顷霜前皮棉平均产量 1 017.0 kg,比对照中棉所 12 增产 2.6%,1990 年河南省麦套棉区域试验,每公顷霜前皮棉平均产量 1 068.0 kg,比对照中棉所 17 增产 4.3%。1991—1992 年长江流域抗病区域试验,每公顷霜前皮棉平均产量 987.0 kg,比对照中棉所 12 增产 12.9%,居首位。北京市纤维检验所测试,纤维主体长度 30.9 mm,单纤维强力 3.77 g,细度 6 448 m/g,1992 年和 1993 年分别由陕西省、河南省和全国农作物品种审定委员会审定,1997 年获农业部科技进步一等奖,1998 年获国家科技进步一等奖。

1.1.1.5 转基因育种与第六次品种更换

自 1995 年以来,随着现代生物技术和棉花生产中棉铃虫、棉红铃虫的严重危害,棉花育种目标也迅速调整,在黄河流域和长江流域逐步以培育和推广转基因抗虫棉和抗虫杂交棉为特征,逐步进入分子育种技术与常规技术相结合的新阶段,品种的科技含量进一步提升。

20 世纪 90 年代,棉铃虫和红铃虫的危害成为我国棉花生产的灾难性害虫,棉铃虫每年造成的直接经济损失高达 100 亿元以上(夏敬源等,1995)。继美国 Agrocitus 公司成功构建来自苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)的 *Bt* 基因并在棉花上表达后,美国孟山都公司采用改造土壤农杆菌的 Ti 质粒转化载体的启动子,即在 35S 小亚基作启动子的基础上加入重复的强化表达区,使基因合成毒素的表达水平提高 100 倍。同时在不改变 *Bt* 基因合成毒蛋白的氨基酸序列的情况下,对 *Bt* 基因进行修饰改造,对构成该基因的 21% 的核苷酸序列进行相应的替换,使 A、T、G、C 四种碱基趋于平衡,使其更适合在植物中表达;这样,*Bt* 基因合成杀虫晶体蛋白的量从原来的占可溶性蛋白的 0.001% 提高到 0.05%~0.1%,抗虫效果明显改善。美国育成的抗虫棉品种 33B、99B 迅速占领中国棉种市场,至 1998 年,美国抗虫棉面积占我国抗虫棉总面积的 95%,我国民族育种业面临严峻挑战(安道昌等,1997)。

继成功构建具有自主知识产权的 *Bt* 基因后,中国农业科学院生物技术研究所又将 *Bt* 毒蛋白与豇豆胰蛋白酶抑制剂(CpTI)构建了双价基因的复合体,使我国成为世界第二个拥有抗虫基因自主知识产权的国家(郭三堆等,1999)。河北省石家庄市农业科学院把该双价基因导入常规棉品种石远 321 中,育成的双价抗虫棉 SGK321 于 2001 年通过河北省审定,2002 年通过国家审定;中国农业科学院棉花研究所与中国农业科学院生物技术研究所合作,利用花粉管通道法将双价基因转入常规棉品种中棉所 23 中,经过多世代连续鉴定选择、分子检测、毒力试

验和转基因安全性评价,育成中棉所 41(郭香墨等,2002),该品种具有抗虫性强,产量与抗虫杂交棉持平的特点,2002 年通过国家审定,之后在黄河流域大面积推广应用,其中陕西、山西两省推广面积一度占棉花播种面积的 70%以上,全生育期节省农药投资 60%以上;2007 年,该品种获得陕西省科技进步一等奖,2008 年获得中国农业科学院科学技术成果一等奖,2009 年获得国家科技进步二等奖,至 2010 年,在黄河流域 6 省累计推广面积 300 万公顷。中棉所 41 之后,中棉所 45、47 等双价抗虫棉相继问世,品种综合性状不断提高,国产转基因抗虫棉的面积迅速扩大。据统计,1998 年我国自育转基因抗虫棉面积共 25 万公顷,占我国抗虫棉品种面积 5%;2002 年抗虫棉总面积 194.3 万公顷,国产抗虫棉面积占 73.3 万公顷,占抗虫棉总面积的 38%;2004 年抗虫棉总面积 310.4 万公顷,国产抗虫棉面积 186.7 万公顷,占 60%;2006 年我国抗虫棉面积已占我国抗虫棉面积的 80%以上。此后我国转基因抗虫杂交棉和中熟、中早熟、早熟常规棉品种不断涌现,至 2010 年,国产抗虫棉的市场占有率达到 97%以上,实现了转基因抗虫棉国产化。

此阶段我国转基因抗虫棉育种成绩斐然,主要育成品种有我国第一个国审双价转基因抗虫棉中棉所 41,以及中棉所 45、鲁棉研 15、16、22、28 和 SGK321。西北内陆棉区大面积推广中棉所 35、中棉所 36、中棉所 43、中棉所 49 和新陆中 5 号等。这次换种的显著特征是:常规育种技术与生物技术密切结合,育种水平和效率显著提高,我国棉花的抗虫性明显改善,我国自主知识产权的抗虫基因广为应用,节本增效和保护生态环境初见成效。2001—2010 年我国棉田面积、总产及单产呈现持续增加态势,在世界棉花生产中占重要地位(表 1.1)。

表 1.1 2001—2010 年中国和世界棉花种植面积、总产和单产比较*

年份	棉花产量/万吨			棉花种植面积/万公顷			单产/(千克/公顷)		
	中国	全球	中国占世界/%	中国	全球	中国占世界/%	中国	全球	中国比世界高/%
2001	532.35	2 148.77	24.77	480.980	3 371.700	14.27	1 106.80	637.29	73.67
2002	491.62	1 981.01	24.82	418.416	3 074.100	13.61	1 174.96	644.42	82.33
2003	485.97	2 108.51	23.05	511.053	3 231.600	15.81	950.92	652.47	73.67
2004	632.35	2 645.35	23.90	569.287	3 570.100	15.95	1 110.78	740.97	82.33
2005	571.42	2 534.57	22.55	506.180	3 472.400	14.58	1 128.89	729.92	45.74
2006	674.58	2 661.14	25.35	540.887	3 453.200	15.66	1 247.17	770.63	49.91
2007	762.36	2 604.98	29.27	592.610	3 284.600	18.04	1 286.44	793.09	54.66
2008	749.20	2 336.47	32.07	575.410	3 058.900	18.81	1 302.03	763.83	61.84
2009	637.70	2 225.80	28.65	495.180	3 016.000	16.42	1 287.81	738.00	62.21
2010	596.10	2 534.20	23.52	484.870	3 333.800	14.54	1 229.40	760.15	70.46

* 世界数据来自 USDA,中国数据来源中国农业部。

在转基因育种技术上,目前我国主要采用三种途径:一是农杆菌介导法转化技术,即利用棉花组织外植体与含有外源基因的农杆菌进行共培养后,再进行组织培养,获得转基因再生植株,如山西省农业科学院棉花研究所陈志贤等培育的转 *Bt* 基因抗虫棉品种 95-1 等就是利用此方法获得的。该技术的优点是转化效率较高,缺点是转化周期长,受到受体材料基因型限制,不是所有棉花品种都可以作为受体,受体形成再生植株较困难,而且从转化到形成再生植株一般需要 7~8 个月,甚至更长时间。二是花粉管通道法转化技术,即在棉花开花当天,用微