

863

生物高技术丛书

转基因棉花

贾士荣 郭三堆 安道昌 主编



科学出版社

“863”生物高技术丛书

转基因棉花

贾士荣 郭三堆 安道昌 主编

科学出版社

2001

内 容 简 介

本书是国家“863”计划中抗虫棉研究的重要成果之一。全书共分 14 章,以转基因抗虫棉为重点,从理论和实践两方面详尽阐述了 Bt 杀虫晶体蛋白及其基因、蛋白酶抑制剂基因及其他抗虫基因的结构、功能及其抗虫机理、植物表达载体的构建、棉花遗传转化、抗虫棉的抗性及其分子生物学检测、抗虫棉品种的培育及遗传、抗虫棉抗虫性治理对策、安全性评估、国产抗虫棉的品种特性、栽培特点及综合防治技术、抗虫杂种棉的培育、双价转基因抗虫棉的研制等等。同时,本书还论述了棉花基因工程,包括抗病、抗除草剂、抗逆及棉花纤维品质改良的基因工程。全书图表丰富,论述详细。

本书可供从事农学、分子生物学、遗传学、生物工程等专业研究和教学的科技人员、教师和学生参考,也可供从事农业技术推广和管理的工作人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

转基因棉花/贾士荣,郭三堆,安道昌主编. -北京:科学出版社, 2001. 2

(“863”生物高技术丛书)

ISBN 7-03-008743-7

I. 转… II. ①贾…②郭…③安… III. 基因转变-抗逆品种-棉花-科学研究 IV. S562-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 67534 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

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2001 年 2 月第 一 版 开本: 787 × 1092 1/16
2001 年 2 月第一次印刷 印张: 18 3/4 插页: 2
印数: 1—2 500 字数: 416 000

定价: 42.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈北燕〉)

“863”生物高技术丛书编辑委员会

丛书主编：

侯云德 强伯勤 沈倍奋

丛书编委会(按汉语拼音排序)：

陈永福	陈章良	陈 竺	丁 勇	顾健人	侯云德
黄大昉	贾士荣	李育阳	刘 谦	卢兴桂	马大龙
强伯勤	沈倍奋	唐纪良	许智宏	杨胜利	赵国屏

《转基因棉花》编辑委员会

主 编:

贾士荣

副主编:

郭三堆 安道昌

编 委:

田颖川	朱 祯	陈晓亚	倪万潮	张天真
芮昌辉	许崇任	崔洪志	刘昱辉	

编著者 (按姓氏笔画排序):

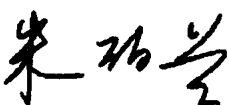
丁志勇	牛永章	王志兴	王武刚	王寰宇	冯德江
卢美光	田颖川	安道昌	刘 翔	刘玉乐	朱 玉
朱 祯	许崇任	吴孔明	张 宁	张天真	张玉满
李 卓	李旭刚	李松岗	李慧芬	李燕娥	芮昌辉
陈明南	陈晓亚	陈 蕾	吴 茜	周向军	林忠平
赵国忠	赵建周	倪万潮	唐灿明	夏桂先	徐军望
徐鸿林	袁正强	贾士荣	郭三堆	郭恒敏	崔洪志
常团结	程红梅	简桂良	路子显		

丛书序 I

生物技术是 20 世纪末期,在现代分子生物学等生命科学的基础上发展起来的一个新兴独立的技术领域,已被广泛应用于医疗保健、农业生产、食品生产、生物加工、资源开发利用、环境保护,对农牧业、制药业及其相关产业的发展有着深刻的影响,成为全球发展最快的高技术之一。在近 20 余年的时间里,各种生物新技术不断涌现。70 年代创建了重组 DNA 技术和杂交瘤技术之后,动植物转基因技术、细胞大规模培养技术,以及近几年的基因组学、蛋白组学、生物信息学、组合化学、生物芯片技术和自动化药物筛选技术等相继发展起来。可以说,生物技术的范围在不断地扩展,进入了蓬勃发展的新阶段。

我国的生物技术在“国家高技术研究与发展(863)计划”的支持下,经过 15 年全国生物技术科技人员的努力拼搏,在农业生物技术和医药生物技术的研究和开发方面都取得了很大的进展。一方面,我们在研究上取得了一批国际影响的创新成果,并获得一批拥有了自己知识产权的专利;另一方面,在开发上已有一批生物技术产品进入市场,还有相当一批产品正在研究开发中;海洋生物技术和环境生物技术也已起步。目前,生物技术研究产业化已引起了全社会的关注,并将成为我国 21 世纪的一个新兴支柱产业。

在辞别 20 世纪,迈入 21 世纪之际,“863”计划生物领域专家委员会回顾我国生物技术的发展历程,展望生物技术发展前景,编写了“‘863’生物高技术丛书”。借此机会,我希望所有从事生物技术研究 and 开发的科技人员,要进一步团结拼搏,增强创新意识,注重成果转化,为我国生物技术不断发展壮大做出新的贡献!

科学技术部 部长 

2000 年 7 月 15 日

丛书序 II

生物技术是 20 世纪末人类科技史中最令人瞩目的高新技术,为人类解决疾病防治、人口膨胀、食物短缺、能源匮乏、环境污染等一系列问题带来了希望。国际上科学家和企业界公认,信息技术和生物技术是 21 世纪关系到国家命运的关键技术和作为创新产业的经济增长增长点。

生物技术是指有机体的操作技术。它从史前时代起就一直为人类所开发利用,造福于人类。在我国的悠久历史中,传统的生物技术在经济的发展中一直起重要作用,特别是农业。据传,在石器时代的早期,神农氏曾传授人民如何种植谷物,并实行轮作制度;在石器时代的后期,我国早就善于酒精发酵;在公元前 221 年的周代后期,我国就能做豆腐并酿制酱油和醋,其所用的基本技术沿用至今。公元前 200 年,在我国最早的诗集——《诗经》中就提到过采用厌氧菌进行亚麻浸渍处理。早在 16 世纪,我国的医生就知道,被疯狗咬可以传播狂犬病。公元 10 世纪,就有了预防天花的活疫苗,到了明朝(1368~1644),这种疫苗就广泛用于大量人群接种,此后,这种疫苗接种技术通过有名的丝绸之路传入欧洲国家。

1953 年 Watson 和 Crick 提出了脱氧核糖核酸(DNA)的双螺旋结构模型,阐明了它是遗传信息的携带者,从而开辟了现代分子生物学的新纪元。DNA 分子是所有生命机体发育和繁殖的蓝本。众所周知,一切生命活动主要是蛋白质的功能,而蛋白质是由基因编码的。60 年代初就破译了“遗传密码”。生命现象千姿百态,但生命体的本质却有高度的一致性。它们的蛋白质都是由 20 种氨基酸以肽链连接而成,核酸都由 4 种核苷酸以磷酸链构成,其遗传密码在整个生物界也基本一致。于 70 年代,科学家们发展了一种新技术,也就是众所周知的 DNA 重组技术。它向人们提供了一种手段,人们可以在试管内,根据人们的意愿来操作基因、改造基因,新的基因信息可以转入一种简单的生命体中,如大肠杆菌,或转入另一种机体,借以提供一种手段来改造谷物和家畜品种,或生产有效药物,制作疫苗和一系列自然蛋白质,或进行基因治疗。显然,新生物技术是一场革命,是生产力的一次解放,被认为是 20 世纪人类的一项最伟大贡献,它必将深刻地促进世界经济的发展。

广义的新生物技术包括基因工程、细胞工程、发酵工程和酶工程,但新技术的核心是基因工程技术,它能带动其他生物技术的发展,最具有革命性。

近 20 年来,国际上生物技术飞跃发展,特别是基因操作技术、生物治疗技术、转基因动植物技术、人类和其他生命体基因组工程、基因治疗技术、蛋白质工程技术、生物信息技术、生物芯片技术等。生物技术的创新正在带动着生物技术巨大产业的发展,它包括基因药物、重组疫苗、生物芯片、生物反应器、基因工程抗体、基因治疗与细胞治疗、组织工程、转基因农作物、兽用生物制品、生物技术饲料、胚胎移植工程、基因工程微生物农药、环保、海洋生物技术,以及现代生物技术对发酵、制药、轻工食品等传统产业的改造等领域。

目前,生物技术产业与信息产业相比较还处于发展初期,至 1998 年全世界共有生物技术公司 3600 余家,主要集中在美国和欧洲,其中年产值超过 10 亿美元的有约 20 家。

生物技术产业在 20 年中市场总值增加了 50 多倍;涨幅最快是在近 10 年,例如美国在 1980 年生物技术产品的销售额还处于零增长,1991 年达到 59 亿美元,1996 年为 101 亿美元,1998 年增至 147 亿美元;目前,生物技术仍保持 25% 左右的增长速度,20% 左右的融资率和 12.5% 就业增长率以及 8.76% 平均股市涨幅。另一方面,也要看到,美国的 1300 余家生物技术公司中上市公司为 300 家,而赢利的公司约为 20 家,这是由于生物技术产品的研究和开发周期较长,因此从整体看生物技术产业还处在投入阶段。从另一方面来看,尽管美国公司的赢利公司不多,但赢利公司的数量却在稳步上升。

1999 年全球生物技术产品的总销售额约为 500 亿美元,而产生的间接经济效益超过 3000 亿美元,全球有一半以上的人直接享用过生物技术产品。其主要产品为医药产品、农产品和食品。

我国自 1986 年实施“863”计划以来的 15 年中,现代生物技术的开发研究与产业化进入飞速发展阶段;二系法杂交稻的开发与推广对我国的粮食增产起了重要作用,2000 年已推广 5000 万亩以上。1993 年我国第一例转基因作物抗病毒烟草进入了大田试验。1997 年第一例转基因耐贮存番茄获准进行商品化生产,至 1999 年 5 月共有 6 种转基因作物其产品投放市场。2000 年我国转基因抗虫棉花种植面积超过 550 万亩。1990 年我国研制了第一例转基因家畜,1991 年山羊克隆获得成功,生物技术饲料添加剂已经实现了规模化生产。我国自 1989 年第一种基因药物——重组 $\alpha 1b$ 干扰素获准投放市场以来,至 1999 年我国已有 18 种基因药物和疫苗获准进行商业化生产,另有 26 种基因药物处于临床前或临床 I、II 期试验,我国生物技术医药产业已初具规模。我国已列为人类基因组计划国际大协作的成员国,承担完成 1% 的任务,美、英、日、法、德、中科学家于 2000 年 6 月 26 日宣布人类基因组全部 DNA 序列的工作框架图已经完成。我国在国际上首先发现神经性耳聋的基因,基因治疗已有 4 个项目进入临床试验阶段;生物芯片技术的开发研究与产业化正在与国际上同步发展。15 年来我国在生物技术领域中取得的成就是举世瞩目的,同时还培养了一大批中青年科技人才,为下世纪初 S-863 计划的实施和生物高技术产业化奠定了扎实的基础,也将为下世纪初我国的经济建设做出应有的贡献。

本丛书是在科学技术部中国生物工程开发中心、“863”计划生物技术领域专家委员会的领导下,由在第一线从事“863”生物高技术研究开发的科技人员撰写的系列丛书。本丛书包括了农、医生物技术的各个方面,不仅基本上概括了近 10 年来国际上的研究进展和发展趋势,而且还全面反映了我国“863”计划实施 15 年来在生物技术领域取得的进展和成果。本丛书的出版无疑将进一步推动我国生物技术开发研究和产业化的进程,促进我国经济的持续发展。同时,本丛书也是培养新一代青年生物技术科学家的重要教科书。



2000 年 1 月 16 日

前 言

1986年3月,我国高技术研究与发展计划(863计划)启动,将生物技术列为“重中之重”。作为一个农业大国,“863”计划对农业生物技术和医药生物技术的投资大体上对半分配。一是期望有助于解决十多亿人口的吃饭穿衣问题,二是保障人民的身体健康,两者同等重要。这充分体现了我国政府高度重视生物技术在未来国民经济发展中的重要作用。

遵照邓小平同志“发展高技术,实现产业化”的指示,回顾15年生物技术的发展历程和取得的成就,我们高兴地看到,与我国医药生物技术产业崛起和形成的同时,农业上如抗虫棉花等转基因产品也正在我国辽阔的土地上开花结果。农作物基因工程和分子标记育种的发展,已为一次新的农业科技革命拉开了序幕。

“抗虫棉花等转基因植物”是“863”计划中的重大项目之一,其突破性研究进展使我国成为继美国之后独立自主地研制成Bt抗虫棉并在生产上推广应用的第二个国家。出于一种兴奋和冲动,我们欣然命笔,编著出版本书,以回顾总结并与读者分享我们所取得的成果和经验。如果不是编著者孤陋寡闻,在植物基因工程方面似乎还没有一本专为一种作物,或狭义地说专为棉花撰写的专著出版。编著中我们力求使本书与已经出版的农业生物工程或分子生物学方面的书籍有所不同,企望能在棉花的抗虫、抗病、纤维品质改良等基因工程上体现自己的特色,对有关的基因和蛋白质的功能,棉花遗传转化技术,转基因棉花的遗传、纯合、筛选和检测分析技术,Bt抗虫棉的抗性治理及安全性评估,以及配套的栽培和良种繁育技术等各个侧面作系统的论述,主体反映我国“863”计划中转基因棉花研制开发的成就,同时对国际植物基因工程的前沿和技术进展予以介绍和展望,使本书的各个章节之间有逻辑联系和前后呼应,而不是一本论文汇编或专辑。这虽然是一本转基因棉花的专著,但我们同样殷切地期望它也能对其他作物的基因工程及改良有一定的参考价值。

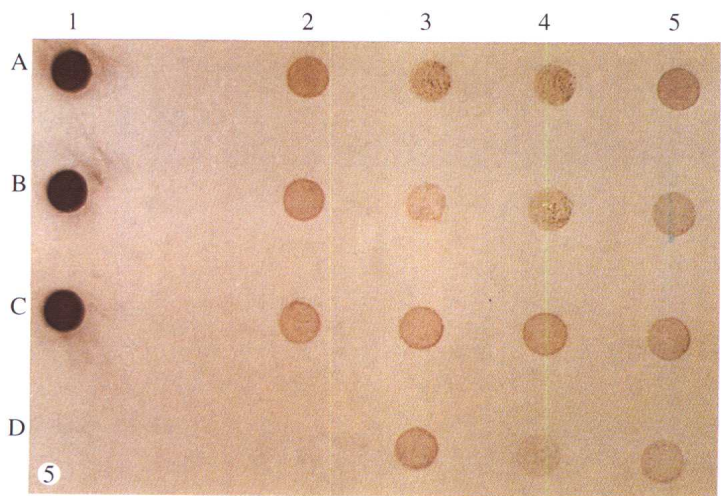
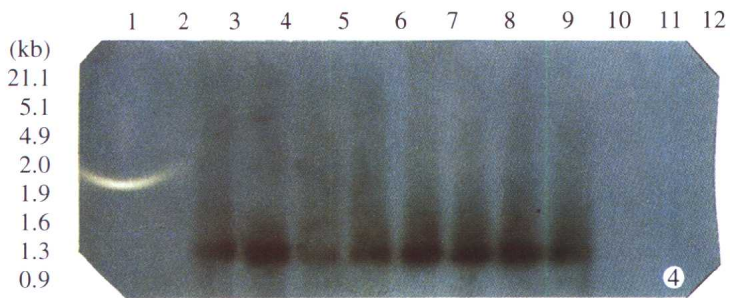
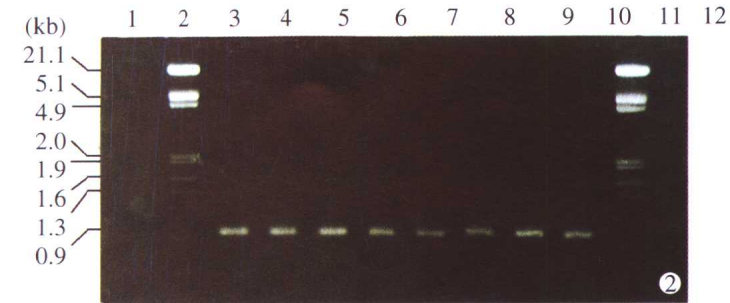
本书作者包括一批活跃在我国植物基因工程、遗传育种、植物保护、环境科学等研究领域第一线的专家,他们对我国转基因棉花研制开发和为本书撰稿中忘我地倾注的全部心血,令我们深感钦佩。更为可喜的是,许多年轻人参与了本项研究和本书的撰写,反映出我国转基因植物事业兴旺发达,后继有人。

需要说明的是,由于书中内容涉及多个学科,书稿出自多位作者,尽管我们十分认真地作了逐字逐句的推敲和通稿修改,几易其稿,力求使全书的写作风格保持一致,并不失其科学性、可读性,然因编著者水平所限,错误和疏漏之处仍在所难免,敬请读者批评指正。

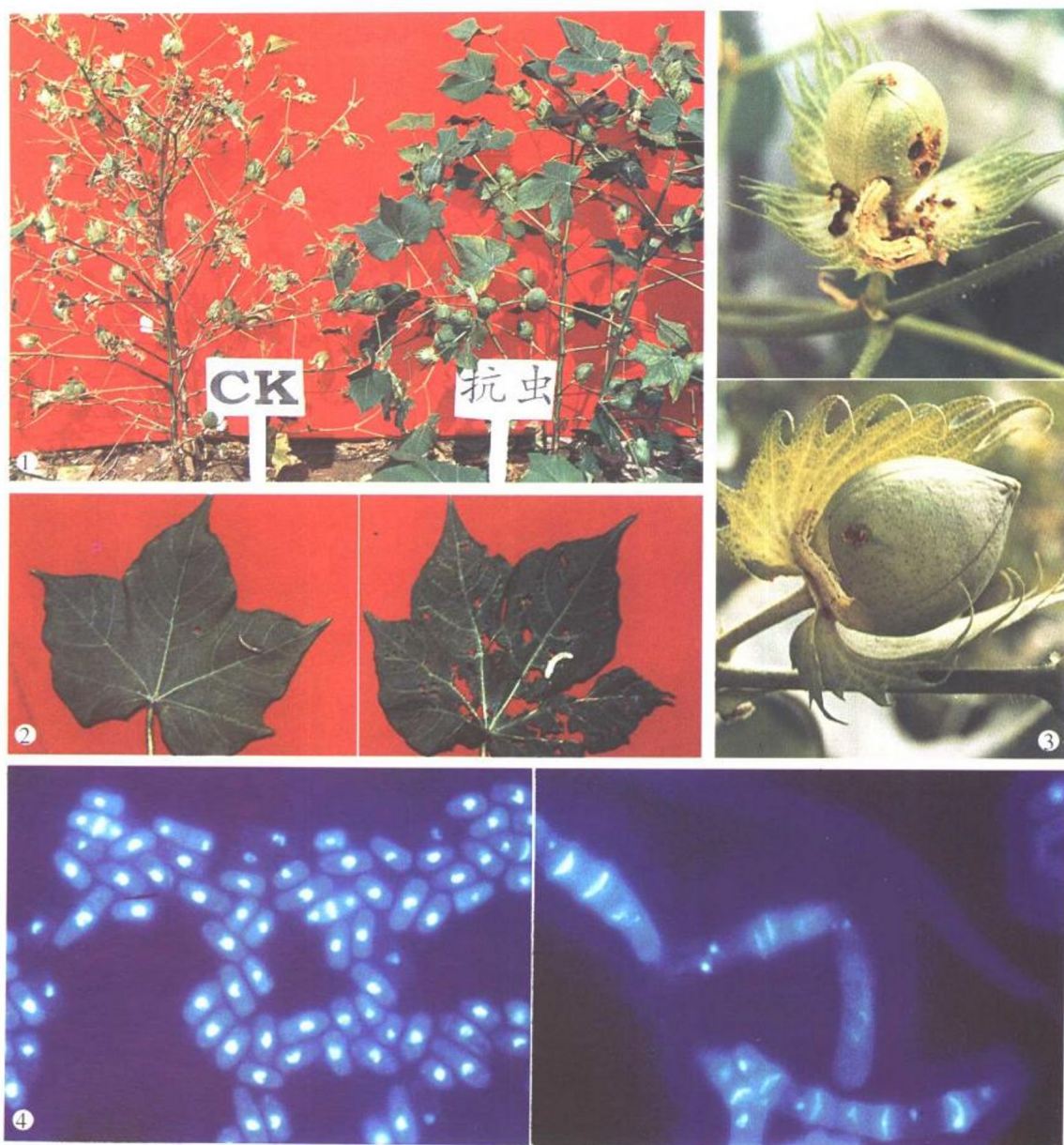
谨以此书奉献给“863”计划15周年,并向关心、支持本项研究和帮助出版本书的朋友们致以衷心的感谢!

贾士荣 郭三堆 安道昌

2000年4月



- 1 转基因棉株 GUS 活性快速检测
- 2 转基因棉叶 DNA PCR 检测琼脂糖凝胶电泳图, 示转基因棉样品中可扩增出特异性 DNA 条带
- 3 转基因棉种子萌发 Km^r 速测
上: 转基因 Km^r 棉苗, 绿色;
下: 对照 Km^s , 黄色
- 4 转基因棉的 PCR- Southern 检测结果, 示转基因棉样品的 PCR 产物杂交呈阳性
- 5 Western-blotting 检测转基因棉花中的抗虫基因表达 A1, B1, C1 为阳性对照; D1 为阴性对照; A、B、C、D 中 2~5 分别为不同的转基因棉花株系



- 1 转基因棉株的棉铃虫抗性 左: 对照植株; 右: 抗虫单株
- 2 转基因棉株叶片的棉铃虫抗性 左: 抗虫棉叶片; 右: 对照棉叶片
- 3 转基因棉株铃的棉铃虫抗性 上: 对照棉铃; 下: 抗虫棉铃
- 4 在裂殖酵母中过量表达植物细胞骨架基因所引起的细胞形态变化 左: 野生型裂殖酵母; 右: 过量表达拟南芥微管蛋白 α -6 tubulin 的裂殖酵母, 其细胞形态高度异常, 分裂受阻



- 1 TA29-*Barnase* 转基因烟草的育性受温度影响 左: 生长在 26℃ 的烟草育性恢复; 右: 生长在 20℃ 的烟草雄性不育
- 2 TA29-*Barnase* 及 TA29-*Barstar* 转基因油菜 左: 转入 TA29-*Barnase*; 中: 转入 TA29-*Barstar*; 右: 正常植株
- 3 A6-A9-TA29-*Barnase*(W3PN) 及 A6-*Barnase*(WA6N) 转基因烟草植株 左起: CK; A6-A9-TA29-*Barnase*; CK; A6-*Barnase*
- 4 TA29-*Barnase* 转基因棉花 左: CK; 中: 转基因植株花朵可育; 右: 转基因植株花朵不育
- 5 TA29-*Barnase* 转基因棉花的花药 左: 正常花药; 右: TA29-*Barnase* 花药
- 6 TA29-*Barnase* 转基因棉花基因的花粉经 KI 染色 左: 正常花粉; 右: 转基因花粉



照片 1-1 自然水域水面无土种稻现场



照片 1-2 大型水库水面无土种稻现场



照片 1-3 外荡水域水面无土种稻现场



照片 1-4 内荡水域水面无土种稻现场



照片 1-5 山塘水域水面无土种稻现场



照片 1-6 鱼塘水域水面无土种稻现场



照片1-7 鱼塘水域水面无土种稻现场



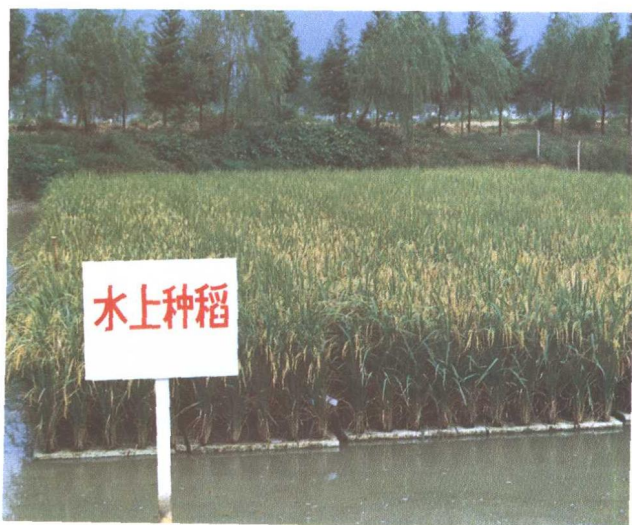
照片1-8 水面种稻评议会会场



照片1-9 水面种稻现场交流会会场



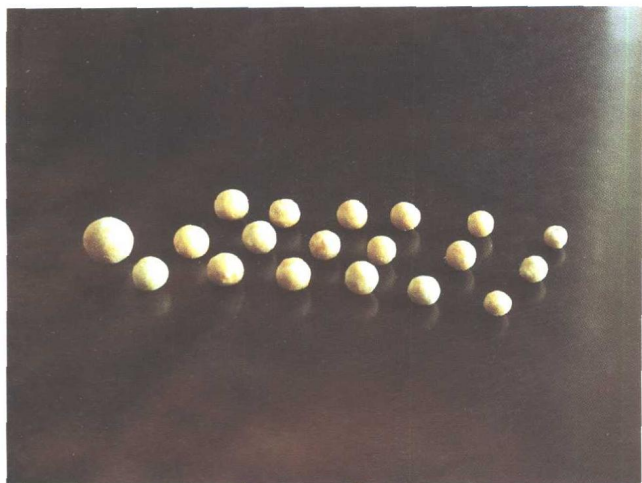
照片1-10 中国科学院院士徐冠仁、陈子元先生参观试验现场



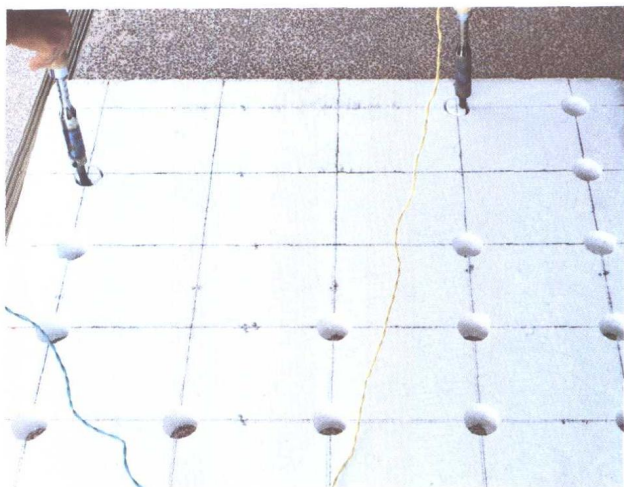
照片1-11 经过强台风“洗礼”后的水面种稻试验现场



照片1-12 中国科学院院士徐冠仁先生给水面种稻的题词



照片 2-1 水面种稻专用包膜肥



照片 2-2 水面种稻用浮床制作



照片 2-3 水面水稻移栽



照片 2-4 固定基质的操作要求



照片 2-5 连接后的水面种稻现场



照片 3-1 种植在富营养化水域的水稻



照片6-1 水面水稻的分枝根发生情况



照片6-2 水面水稻不同类型的狮子尾状根



照片6-4 从一丛水面水稻取下的完整根系（照片中可以清晰地区分不同衰老程度根）



照片6-3 单丛水面水稻根系



照片7-1 水面种植园区

目 录

丛书序 I

丛书序 II

前 言

绪 言 (1)

第一章 我国棉花育种和生产概况 (6)

一、 我国棉花生产概况 (6)

二、 我国棉花育种的成就及现状 (11)

第二章 Bt 杀虫晶体蛋白及其基因 (15)

一、 Bt 杀虫晶体蛋白的结构和功能 (15)

二、 Bt 杀虫蛋白的抗虫机理 (19)

三、 Bt 生物杀虫剂的应用及存在问题 (21)

四、 Bt 杀虫蛋白及基因的分类 (23)

第三章 蛋白酶抑制剂、凝集素及其他抗虫基因 (32)

一、 蛋白酶抑制剂的分类 (32)

二、 蛋白酶抑制剂的结构与功能 (37)

三、 蛋白酶抑制剂的杀虫机理 (41)

四、 凝集素及其基因 (44)

五、 其他抗虫基因及其抗虫机理 (50)

第四章 抗虫基因及基因表达调控元件 (58)

一、 Bt 杀虫蛋白基因的设计和人工合成 (58)

二、 Bt *GFM Cry 1A* 杀虫基因植物表达载体构建 (61)

三、 蛋白酶抑制剂基因 (65)

四、 蛋白酶抑制剂基因植物表达载体的构建 (67)

五、 基因表达调控元件 (71)

第五章 棉花的遗传转化 (92)

一、 农杆菌介导法 (92)

二、 花粉管通道法 (97)

第六章 抗虫棉的研制 (104)

一、 Bt 抗虫棉的分子生物学检测 (104)

二、 转基因抗虫棉中 Bt 杀虫蛋白的检测 (109)

三、 蛋白酶抑制剂转基因抗虫棉的分子生物学检测 (116)