



农业硕士研究生系列教材

NONGYE SHUOSHI YANJIUSHENG XILIE JIAOCAI

农业生物技术教程

NONGYE SHENGWU JISHU JIAOCHENG

主 编 ● 胡一鸿

副主编 ● 陈 勇



西南交通大学出版社

农业硕士研究生系列教材

国家自然科学基金 (31301978)

湖南省自然科学基金 (12JJ6019)

农田杂草防控技术与应用湖南省 2011 计划

农药无害化应用湖南省高校重点实验室

联合资助

农药学湖南省重点建设学科

湖南省农学与生物科学类专业校企合作人才培养示范基地

湖南人文科技学院硕士点建设基金

农业生物技术教程

主 编 胡一鸿

副主编 陈 勇

西南交通大学出版社

· 成 都 ·

内容简介

本书根据农业生物技术的研究进展,结合作者在教学、科研中的实践与体会,系统地介绍了生物技术的基础理论、基本技术以及生物技术在农业生产中的应用。全书共分两部分,第一部分为理论知识,共6章,包括绪论、基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程和生物技术在农业上的应用;第二部分为综合实验,包括5个实验。

本书可作为农业硕士研究生作物领域主干课程和植物保护、食品加工与安全领域选修课程的教材,也可作为相关专业选修课程的本科教材。

图书在版编目(CIP)数据

农业生物技术教程 / 胡一鸿主编. — 成都: 西南
交通大学出版社, 2015.8
农业硕士研究生系列教材
ISBN 978-7-5643-4107-7

I. ①农… II. ①胡… III. ①农业生物工程—研究生—教材 IV. ①S188

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 181796 号

农业硕士研究生系列教材

农业生物技术教程

主编 胡一鸿

责任编辑 牛 君

封面设计 何东琳设计工作室

出版发行 西南交通大学出版社
(四川省成都市金牛区交大路 146 号)

发行部电话 028-87600564 028-87600533

邮政编码 610031

网 址 <http://www.xnjdcbs.com>

印刷 成都勤德印务有限公司

成品尺寸 185 mm × 260 mm

印 张 13.75

字 数 337 千

版 次 2015 年 8 月第 1 版

印 次 2015 年 8 月第 1 次

书 号 ISBN 978-7-5643-4107-7

定 价 38.00 元

课件咨询电话: 028-87600533

图书如有印装质量问题 本社负责退换

版权所有 盗版必究 举报电话: 028-87600562

《农业生物技术教程》

编 委 会

主 编 胡一鸿

副主编 陈 勇

参 编 (以姓氏拼音排序)

陈 勇 贺爱兰 胡一鸿

蒋祖丰 金晨钟 刘泽发

谭显胜 王 艳 曾 智

张雪娇 邹婷婷

前言

农业生物技术是发展现代农业和实现农业可持续发展的重要手段。随着现代科学技术的飞速发展,农业生物技术日新月异,各种新方法、新成果已广泛应用于农业领域的各个方面。近年来,农业生物技术在改良动植物及微生物品种性状、培育新品种、农副产品储藏与深加工、农业生态环境修复、生物医药和生物农药研发等诸多方面均取得了不俗的成绩,农业生物技术已发展成为一门综合性的新兴学科。

鉴于该学科综合性强与知识更新快的特点,我们参考了相关专业教材和国内外大量最新研究文献,按照基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程以及生物技术在水农业生产中的应用为主线,结合我们在教学实践中的体会编写了本书,同时还精选了一些综合实例、思考题和综合实验,旨在拓展学生的视野和增强学生的实际动手操作能力。

本书分为两部分,第一部分为理论知识,分为6章,比较系统地介绍生物工程知识及其在水农业生产中的应用;第二部分为综合实验,包括4个生物技术综合实验和1个DPS软件操作实验。最后,还有附录,收集了农业生物技术常规实验操作中经常需查询的数据,如磷酸缓冲液的配制方法、离心力与转速换算、常见酸碱溶液配制方法等。

本书编写分工如下:第一部分第一章由陈勇编写,第二章由王艳编写,第三章由贺爱兰编写,第四章由胡一鸿编写,第五章由谭显胜编写,第六章由谭显胜、张雪娇、刘泽发、邹婷婷、蒋祖丰、金晨钟编写;第二部分综合实验由胡一鸿、王艳、曾智、贺爱兰、谭显胜编写。湖南九龙经贸集团有限公司蒋祖丰、龙丹霞等审读了全书并对部分章节提出了修改意见,在此一并表示衷心感谢。

本书可作为农业硕士研究生的教材,也可作为相关专业选修课的本科教材和教学参考书。

由于编者水平有限、编写时间仓促,编写的内容涉及面较广,书中难免会出现不足与疏漏之处,恳请广大读者批评指正。

湖南人文科技学院 胡一鸿

2015年4月于湖南省娄底市

目 录

第一部分 理论知识

第一章 绪 论	3
第一节 生物技术	3
第二节 农业生物技术简介	5
第三节 我国农业生物技术发展面临的问题	5
思 考 题	6
参考文献	6
第二章 基因工程	7
第一节 基因工程概述	7
第二节 植物基因转化系统及载体的构建	9
第三节 植物转基因操作技术	13
第四节 植物组织培养	20
第五节 转基因植物的鉴定	25
基因工程实例：利用转基因技术将外源抗虫 <i>Bt</i> 基因导入玉米	27
思 考 题	30
参考文献	30
第三章 细胞工程	32
第一节 细胞工程基本操作	32
第二节 细胞培养	37
第三节 转基因动物与生物反应器	44
第四节 核移植技术与动物克隆	52
第五节 细胞融合与单克隆抗体	55
细胞工程实例：单克隆抗体的制备	57
思 考 题	59
参考文献	60

第四章 酶工程	61
第一节 酶学与酶工程概况	61
第二节 天然酶的分离纯化	65
第三节 酶的固定化	69
第四节 酶的化学修饰	73
第五节 生物酶工程技术简介	75
酶工程实例：小麦草酸氧化酶的分离纯化与 K_m 、 v_m 的计算	77
思考题	79
参考文献	80
第五章 发酵工程	81
第一节 发酵工程基础	81
第二节 工业发酵微生物的选育	87
第三节 发酵培养基	90
第四节 工业发酵灭菌	94
第五节 生产菌种的扩大培养与保藏	97
第六节 发酵罐及其附属设备	104
第七节 发酵工艺控制	108
发酵工程实例：发酵罐生产酵母菌	114
思考题	116
参考文献	116
第六章 生物技术在农业上的应用	117
第一节 分子育种	117
第二节 试管苗木	121
第三节 无土栽培	129
第四节 农业工厂——设施农业	133
第五节 生物农药	136
第六节 环境污染与植物修复	148
第七节 生物技术在农产品加工中的应用	150
第八节 生物信息学及其在农业中的应用	172
思考题	180
参考文献	180

第二部分 综合实验

实验一	外源基因在大肠杆菌中的诱导表达检测	187
实验二	产碱性蛋白酶菌株的初步筛选及酶活性测定	190
实验三	红薯中过氧化物酶的分离纯化与鉴定	195
实验四	小鼠肝细胞的原代培养	199
实验五	基于 DPS 的方差分析	201
附 录		208
附录 A	离心机转速与相对离心力的换算	208
附录 B	几种常用的常数	209
附录 C	几种实验常用溶液的配制	209

第一部分

理论知识

第一章 绪 论

【内容提要】

- (1) 生物技术体系包含的内容与特点；
- (2) 简介农业生物技术的领域；
- (3) 介绍我国农业生物技术发展存在的问题。

第一节 生物技术

一、生物技术的定义

生物技术，也称生物工程，指以生命科学为基础，结合工程技术手段对生物进行改造、加工或用于产品生产的技术过程。传统的生物技术是指以微生物学为基础，利用发酵的方法制造服务于人类的产品，如医学领域抗生素、维生素的制造，食品行业酶的制备，酿酒，饮料的制造，环保行业采用微生物清洁环境污染等。自从 Waston 和 Crick 提出 DNA 的双螺旋结构以来，DNA 体外重组、单克隆抗体制备、DNA 和蛋白质的测序、PCR 等技术日臻成熟，转基因动植物、基因工程药物与疫苗、基因组学和蛋白组学、蛋白质工程和生物信息学取得了巨大的进步，现代生物技术获得飞速发展。

二、生物技术体系

按照生物技术操作的对象，可将生物技术分为 4 个方面：

1. 基因工程

基因工程即 DNA 的体外重组技术，指通过 PCR、RT-PCR 等方法获取 DNA，采用限制性内切酶对 DNA 进行剪切，然后转化入其他的宿主中，实现转基因。该项技术的成功与普及得益于 PCR 技术的发明和限制性内切酶的发现，PCR 使人们能够在体外大量复制 DNA，并对 DNA 进行改造、突变；限制性内切酶给人们提供了对基因进行操作的“剪刀”。

2. 细胞工程

细胞工程是利用现代生物学的理论和方法对细胞进行改造的技术，包括细胞移植、细胞融合、单克隆抗体等。细胞是细胞工程的操作对象，细胞工程包括植物细胞工程、动物细胞工程和微生物细胞工程。

3. 酶（蛋白质）工程

传统的酶（蛋白质）工程指天然酶的分离、纯化、制备和酶（蛋白质）分子的化学改造，并将这些方法在生产实践中加以利用的技术。现代酶（蛋白质）工程是指在基因工程技术的基础上，对酶（蛋白质）分子进行重组改造，提高酶的活性或按人们的设想制备自然界原本不存在的酶或蛋白质的技术。

4. 发酵工程

发酵工程指利用微生物发酵的方法制备人类所需物质的技术，是生物技术应用工业生产的最成熟的技术。目前，随着计算机技术、传感器技术和机电一体化技术的发展，发酵的过程控制已基本实现了自动化智能管理。

三、生物技术的特点

1. 高效经济

采用生物工程技术能够显著提高产品的品质与产量。例如，味精的生产最早采用从麦胚中直接提取谷氨酸的方法，后虽改用从海鲜中直接提取，但产率低、成本高。而现代工业中味精的制备采用发酵工程的方法，以微生物菌种中 L-谷氨酸脱氢酶采用发酵罐进行生产，这种谷氨酸发酵的生产方法大大降低了味精生产的成本，提高了生产效率和产品质量。

2. 可持续发展

工业生物技术是工业可持续发展最有希望的技术，而石油和煤炭能源是不可再生能源，其短缺势必对下游的加工产业造成冲击。因此，采用微生物、酶为催化剂对人类所需的医药、能源、材料进行生产，是解决上述问题的重要手段。目前，生物技术的应用在生物能源、化学品制造、生物材料等方面均取得了长足的进步，如燃料酒精生产、生物燃油、沼气的开发利用均已逐步实现了规模化生产。

3. 可遗传、易扩散

通过基因工程的技术可对异源生物进行基因改造，改变宿主的基因结构并进行遗传，但这种技术也存在很大风险，被改造的宿主生物容易扩散，如种子的扩散、工程菌株的扩散、基因漂移入野生近缘物种、转基因作物的安全性等都可能给人类社会带来潜在危害。现代转基因技术也带来了一系列的伦理问题，如克隆人与克隆人体器官的道德伦理问题。

第二节 农业生物技术简介

一、农业生物技术的定义

农业生物技术是指应用于农业领域的生物技术，包括种植业、养殖业和生产资料生产加工等方面的应用。现代农业实质上属于应用生物学的范畴，生物技术在农业中的应用使原始农业和传统农业发生了根本性的改变，其内涵与外延均发生了变化，使农业从单纯的初级农产品提供向食品科学、生物化工、能源、材料科学、医学和环境保护等各方向拓展。

二、生物技术与现代农业

1. 育种技术

传统的作物育种一般是在田间筛选种内杂交优势品种，育种的周期长、见效慢；而转基因技术能够使来源于不同物种的基因在作物中表达，如将棉花细胞染色体整合苏云金芽孢杆菌的 *Bt* 基因育成的抗虫棉对鳞翅目的害虫具有非常显著的抗性，能够减少农药使用量。作物育种中将分子育种技术与常规育种技术结合，也有望突破常规育种中杂交手段和杂种后代处理的两项关键性技术。

2. 农产品加工

通过生物技术对动物、植物、微生物进行遗传改良，可改善农产品的品质与功能；储存与保鲜技术的研发与应用，使农产品的外观、储运得到了很大的改进。通过现代工程技术，对农产品的加工过程和加工工艺进行标准化控制，可降低生产成本，提高品质，有利于实现深度开发和形成产业链。

3. 生物制药领域

生物农药是用生物活体或其次生代谢产物制成的对病虫害具有防效的一类药剂，具有无毒或低毒、低污染的特点，目前正逐步取代传统有机农药。传统的动物疫苗生产采用免疫动物的方法获得，成本较高；目前采用基因工程技术生产疫苗已经十分成熟。但我国在基因工程药物和疫苗生产领域的发展明显低于发达国家，发达国家从 20 世纪 80 年代就开始生产基因工程药物，而我国除干扰素具有自主知识产权外，其他药物均是在国外进入 2~3 期临床使用后才开始跟踪、仿制。

第三节 我国农业生物技术的发展面临的问题

一、整体发展水平落后于发达国家

我国的农业生物技术的发展从 20 世纪 70 年代开始，研究人工种子、快速繁育、雄性不

育、原生质体融合等技术。20 世纪 80 年代以来,我国开始对基因工程技术、转基因动植物展开研究,国家“863 计划”也把生物工程作为重点研究的领域。40 多年来,我国在雄性不育、作物的抗逆性、农产品品质提高、植物营养与生物固氮、现代生物技术运用于环境治理等方面取得了不俗的成绩,整体水平在发展中国家处于领先地位,有些领域已跨入世界先进行列。但与发达国家相比,我国的农业生物技术科研水平、商业化应用等方面还存在较大差距。

二、科研成果转化率低

经过 40 多年的农业生物技术研究,我国在作物遗传育种、作物基因工程方面取得了重大的成绩,如已拥有自主知识产权的抗虫棉技术、转基因水稻技术,在农药降解、抗除草剂基因等领域也取得了很大的成绩。但我国农业生物技术的科学研究工作与产业开发普遍存在严重脱节的现象,科研院所与高校一般是通过“申报项目→立项→结题→申报成果奖项”的流程进行科学研究,高校“产学研”一体化合作流于形式,大部分科研与教学单位无能力也无动力进行产业开发。而很多企业则没有足够的实力进行科学研究,同时企业逐利的短期行为也造成企业不愿意投入足够的资金进行前期开发研究,仅仅满足于跟踪、仿制。

随着国家科研体制改革的深入和对科技投入的逐年加大,农业生物技术发展正面临重大的机遇,发展过程中存在的问题也将被逐步克服,农业生物技术将成为实现我国农业现代化的关键技术,农业生物技术及相关产业将会出现新的局面。

思考题

1. 什么是农业生物技术?它对农业的现代化产生了哪些方面的影响?
2. 简述生物技术中基因工程、酶工程、蛋白质工程、细胞工程和发酵工程各项技术之间的关系。
3. 农业生物技术包含哪些主要领域?
4. 谈谈在当前日趋激烈的国际竞争中,我国如何抢占农业生物技术的制高点。

参考文献

- [1] 蔡文汉. 农业生物技术研究进展概况[J]. 北京农业, 2011 (3): 5-6.
- [2] 李宝健. 展望 21 世纪的农业生物技术[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2004, 43 (1): 56-61.
- [3] 潘月红, 逯锐, 周爱莲, 等. 我国农业生物技术及其产业化发展现状与前景[J]. 生物技术通报, 2011 (6): 1-6.
- [4] 石元春. 一座伟大的里程碑——农业生物技术[J]. 生物学通报, 2003, 38 (8): 1-5.
- [5] 宋思扬, 楼士林. 生物技术概论[M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2007.

第二章 基因工程

【内容提要】

- (1) 基因工程的诞生、基因工程的研究内容、基因工程的成就和前景展望；
- (2) 介绍植物基因工程载体种类及其构建；
- (3) 介绍植物转基因操作技术；
- (4) 简要介绍组织培养；
- (5) 简要介绍转基因分子的鉴定。

第一节 基因工程概述

一、基因工程的诞生

20 世纪中叶，Avery 证明了 DNA 是遗传物质，Watson 和 Crick 发现 DNA 双螺旋结构以及 Nireberg 提出了遗传信息传递的“中心法则”，称为基因工程理论“三大发现”。理论上的三大发现为基因工程的诞生奠定了理论基础；同时，技术上的“三大发明”，即限制性核酸内切酶、DNA 连接酶和基因载体，为基因工程的诞生奠定了技术基础。1973 年，Stanford 大学的 Cohen 等成功地利用体外重组实现了细菌间性状的转移，标志着基因工程的诞生。

二、基因工程简介

1. 基因工程的概念

基因工程指在分子水平上提取目的基因，在体外用限制性核酸内切酶进行切割，与某一载体进行重组，然后再将重组分子导入宿主细胞，从而实现目的基因稳定复制和表达的过程。

2. 基因工程研究的基本步骤

从生物体中提取目的基因(DNA 片段)，并将目的基因与载体结合，构成重组 DNA 分子，将重组 DNA 分子导入受体细胞；选择含有重组 DNA 分子的细胞进行克隆，并进行大量繁殖，得到扩增的目的基因，然后进一步对获得的目的基因进行序列分析、表达载体构建、原核表

达以及转基因研究和利用等。

三、基因工程的成就和前景展望

(一) 取得的主要成就

基因工程的成就主要体现在以下几方面：

1. 医药领域

近几十年来，基因工程技术在医药方面得到了迅猛的发展，如 1977 年激素抑制素的发酵生产获得成功，1978 年人胰岛素的发酵生产获得成功。随后的几年中，人们利用大肠杆菌成功表达了人生长激素基因，采用遗传工程菌成功生产了干扰素和生物制剂（如动物口蹄疫疫苗、乙型肝炎病毒表面抗原及核心抗原、牛生长激素等）。1982 年，利用重组 DNA 技术生产的人胰岛素进入商品化生产。随着分子生物学的快速发展，尤其是在国家“863 计划”的支持下，近年来我国在基因工程药物和蛋白质研究工程方面也取得了长足的进步。1989 年，国家批准了第一个基因工程药物——重组人干扰素；1998 年，我国批准上市的基因工程药物和疫苗达到 15 种。1996 年，我国基因工程药物和疫苗的销售额约为 2.2 亿元；2000 年，销售额超过了 20 亿元。2010 年，我国生物医药的产值规模达到了 1 100 亿元。

2. 植物基因工程

植物基因工程发展迅速，主要体现在以下几方面：

(1) 扩大了作物育种的基因库

转基因育种打破了常规育种的物种界限，来源于动植物和微生物的有用基因均可导入作物中，培育成具有某些特殊性状的新型作物品种。

(2) 提高了作物育种的效率

转基因育种的方法不仅缩短了育种年限，而且还能在不影响改良品种的原有优良特性的基础上，改良某些单一性状。

(3) 减轻了农业生产对环境的污染

大面积种植和推广转基因抗虫棉花和玉米，既可减少化学农药杀虫剂对农民及作物天敌的伤害，又可以降低农药和虫害防治的费用。

(4) 拓宽了作物生产的范畴

通过生物反应器可生产各种营养丰富的蛋白质产品，如利用番茄、马铃薯、莴苣和香蕉等作物生产口服疫苗；在植物分子育种和多抗性植物反应器等方面也取得了较好的成绩，使传统的作物生产领域得以扩大。

3. 工业领域

在环保工业中，人们利用基因工程菌降解工业废品、农药残留；在酶制剂工业中，利用耐热、耐压、耐盐、耐溶剂的酶基因转化构建的工程菌；在食品工业、化学与能源工业中也得到了应用，如改善食物品质的转基因作物和生产乙醇、甘油、丙酮等的转基因生物等。

（二）我国基因工程概况

1. 转基因抗虫植物

我国科学家将抗虫基因导入棉花和玉米获得了转基因抗虫棉植株,其抗虫效果十分显著;还研制成功了抗黄矮病、赤霉病、白粉病转基因小麦和抗青枯病马铃薯,并开始了田间快速繁殖试验。

2. 基因工程疫苗

基因工程疫苗克服了传统疫苗的缺陷,与传统疫苗相比具备价廉,安全,易生产、运输与保存,增强免疫保护力等特点。利用植物基因工程方法开发的新疫苗已成为疫苗研究和生产的重点,在转基因植物中表达的疫苗主要有大肠杆菌热敏肠毒素 B 亚单位、乙型肝炎病毒表面抗原、诺沃克病毒外壳蛋白、口蹄疫病毒、狂犬病病毒糖蛋白、变异链球菌表面蛋白和艾滋病病毒抗原等 10 多种疫苗。

3. 基因工程药物

干扰素是一种广谱的抗病毒和抗肿瘤剂,对防治病毒性肝炎和恶性肿瘤等疾病有重要的作用。从 1957 年发现干扰素至今,已有 3 个品种的基因工程干扰素获得国家新药证书,并投入批量生产。目前,国家食品药品监督管理局共批准了 17 个单克隆抗体药物,其中有 3 个是抗肿瘤新药,还有一些处于仿制与临床验证阶段。人们对基因工程药物的需求量日益增加,上海、杭州、南京、武汉、成都及重庆等大城市的医疗机构中,抗肿瘤单克隆抗体用药量每年成倍增长。

4. 动物克隆与转基因

我国转基因及体细胞克隆技术的研究与应用达到国际前沿水平。2003 年 10 月 16 日,在“神舟”五号返回舱成功着陆的同一天,山东梁山县的 10 头体细胞克隆牛集体亮相媒体。其中,我国首例转基因体细胞克隆牛“乐娃”中成功地转入了绿色荧光蛋白基因,标志着我国在转基因体细胞克隆技术方面取得了新突破。

第二节 植物基因转化系统及载体的构建

一、植物基因转化系统

1. 载体转化系统

载体转化系统主要有 Ti 质粒转化载体、Ri 质粒转化载体和病毒转化载体。Ti 质粒转化载体指在根癌农杆菌细胞中存在的一种染色体外自主复制、控制根瘤的形成的环形双链 DNA 分子;Ri 质粒是在发根土壤杆菌细胞中存在的一种染色体外自主复制、控制不定根形成的环形双链 DNA 分子;病毒转化载体是以病毒(RNA、单链 DNA 或双链 DNA)作为载体将遗