

## 转基因抗虫棉研究现状与展望

文 学 张宝红

(中国农业科学院, 北京 100081)

**摘要:** 本文从抗虫基因的分离与转基因棉株的获得、转基因抗虫棉品种的培育与推广使用两方面综述了转基因抗虫棉研究的现状与进展, 并在此基础上分析探讨了目前培育转基因抗虫棉存在的问题和将来的发展方向。

**关键词:** 转基因抗虫棉; 现状; 展望

## Progress and Prospects for Insect-resistant Transgenic Cotton

Wen Xue Zhang Baohong

(Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract:** This paper reviews the advance on the breeding of insect-resistant transgenic cotton. Both the problems, which should be tackled in cotton breeding, and the trends in insect-resistant transgenic cotton are discussed in detail.

**Key words:** insect-resistant transgenic cotton; breeding

棉花是重要的经济作物, 在我国农业生产及整个国民经济中占有重要的地位。影响棉花优质高产的因素很多, 而虫害是重要的原因之一。我国每年因虫害造成的棉花产量损失约为 10%~15%, 而在重灾年份损失更为严重, 全国每年用于棉花害虫防治的杀虫剂用量约占杀虫剂使用总量的 2/3。尽管化学农药的使用对减轻害虫的危害起到了明显的作用, 但随着害虫抗药性的增加, 棉田害虫的防治越来越显得困难。因此, 人们正在积极探索新的棉虫治理方法, 其中转基因抗虫棉的培育是人们研究的热点。

### 1 抗虫基因分离与转基因棉花植株获得

用于植物抗虫基因工程研究的基因很多, 但并不是所有的基因均可用于转基因抗虫棉的培育, 而应根据棉花自身受害虫的危害情况, 有针对性地选择那些对棉花害虫具有较强杀伤作用的基因。综观国内外的研究现状, 目前已用于或正在用于转基因抗虫棉培育的基因主要有以下几类:

**1.1 苏云金芽孢杆菌毒素蛋白基因 (Bt 基因)** Bt 制剂作为一种生物杀虫剂在农业上应用已有 30 余年的历史, 虽然它具有专一性强、效果好、对人畜安全等优点, 但在自然界易被阳光钝化、雨水冲淋, 从而限制了其在生产上的广泛应用。现代分子生物学证明, Bt 之所以具有较好的杀虫效果, 是因为它能产生一种叫 $\delta$ -内毒素的伴孢晶体蛋白, 当害虫吞

食后, 该蛋白在昆虫肠道碱性条件下被水解成毒性肽, 破坏昆虫中肠的上皮细胞及其体内器官, 从而导致昆虫死亡。

随着科学的发展, 人们从苏云金杆菌中分离出控制 Bt 毒蛋白合成的基因, 经过多次改造并导入棉株体内, 使棉花自身能够合成这种毒素, 从而达到有效防治棉田害虫的目的。

Bt 基因的种类很多, 且不同种类的 Bt 基因能合成不同结构特性的伴孢晶体毒素蛋白, 从而具备对不同种类害虫的杀伤能力。目前, 人们分离并导入到植物中而获得转基因抗虫植物的 Bt 基因很多<sup>[1,2]</sup>, 但获得转基因抗虫棉的 Bt 基因已见报道的仅有 CryIA (b)<sup>[3]</sup>、CryIA (c)<sup>[4]</sup>、CryIIA<sup>[5]</sup> 和 CryIVA 等少数几种。

转 Bt 基因抗虫棉的首次田间实验开始于 1989 年, 当时由于导入的 Bt 基因是原来未加改造的原始型的 Bt 基因, 其 $\delta$ -内毒素的表达量极低, 难以起到有效防治棉田害虫的目的<sup>[6,8]</sup>。随后 Perlak 等<sup>[6]</sup>通过对 Bt 基因特定位点的改造, 将 Bt 基因中不利于在植物细胞中表达的 A、T 碱基更换为 G、C, 并更换了适用于棉花的启动子, 从而使 Bt 基因得以在植物中高效表达, 用该改造后的 Bt 基因转化棉花获得的转基因棉株其毒蛋白的表达量提高了 100 倍, 使改良的 CryIA (c) 和 CryIA (b) 的表达量达到棉株中可溶性蛋白的 0.1% 和 0.05%<sup>[9]</sup>, 从而能有效地

文学: 副研究员, 先后从事棉花病虫害综合防治研究工作, 现在中国农业科学院科技局从事科研管理工作

收稿日期: 1999-03-19

杀死棉铃虫、红铃虫等鳞翅目害虫。目前, 已获得转 Bt 基因抗虫棉的国家有美国<sup>[10]</sup>、中国<sup>[14,15]</sup>、澳大利亚<sup>[11,12]</sup>、埃及、法国、印度、原苏联、泰国<sup>[25]</sup>等一些国家。

**1.2 蛋白酶抑制剂基因** 植物蛋白酶抑制剂是自然界含量最为丰富的蛋白种类之一, 它广泛存在于植物的各种组织及器官中, 其中以种子与块茎中的含量最高, 可达总蛋白含量的 1%~30%。蛋白酶抑制剂的种类很多, 目前在植物中发现的大体可分为三类: 丝氨酸蛋白酶抑制剂、巯基蛋白酶抑制剂和金属蛋白酶抑制剂, 其中丝氨酸蛋白酶抑制剂对人类的关系最为密切, 这是因为它能杀死大多数害虫(如大多数的鳞翅目、直翅目、双翅目、膜翅目及某些鞘翅目昆虫)。蛋白酶抑制剂的杀虫机理在于: 它能与昆虫消化道内的蛋白消化酶相互作用, 形成酶-抑制剂复合物(EI), 阻断或削弱消化酶的蛋白水解作用。因此, 一旦昆虫摄食蛋白酶抑制剂, 就会影响食物中蛋白的正常消化; 同时, 蛋白酶抑制剂和消化酶形成的 EI 复合物, 能刺激消化酶的过量分泌, 通过神经系统的反馈, 使昆虫产生厌食反应, 最终造成昆虫的非正常发育而死亡。人们试图将控制其合成的基因分离克隆出来以用于植物抗虫基因工程培育转基因抗虫植物。目前至少有 20 种不同的蛋白酶抑制基因导入到了 10 余种植物中, 获得了稳定表达并抗虫的转基因植株<sup>[1]</sup>。

蛋白酶抑制剂基因在棉花上的应用也较多, 目前用于转基因抗虫棉培育, 并已获得转化植株的蛋白酶抑制剂基因有: 大豆胰蛋白酶抑制剂基因(SKTI)<sup>[13]</sup>、豇豆胰蛋白酶抑制剂基因(CpTI)<sup>[14]</sup>、慈菇胰蛋白酶抑制剂基因(API)<sup>[15]</sup>等几类。

**1.2.1 大豆胰蛋白酶抑制剂基因(SKTI)** 大豆 Kunitz 型胰蛋白酶抑制剂基因是到目前为止人们发现的抗虫效果较好的胰蛋白酶抑制剂基因, 它对棉铃虫等棉花害虫的抗性比豇豆胰蛋白酶抑制剂基因强。SKTI 应用于抗虫基因工程的最主要优点在于其抗虫谱广泛, 其中包括鳞翅目、直翅目及鞘翅目等给农业生产造成重大经济损失的主要害虫。目前, 人们已获得转 SKTI 基因的转基因棉花<sup>[13]</sup>。

**1.2.2 豇豆胰蛋白酶抑制剂基因(CpTI)** 豇豆胰蛋白酶抑制剂基因(CpTI)的主要优点象大豆 Kunitz 型胰蛋白酶抑制剂基因一样, 具有广泛的抗虫谱, 对棉铃虫、棉蚜、红铃虫、棉象鼻虫、玉米螟等鳞翅目、直翅目、鞘翅目的害虫都有毒杀作用。

美国学者 Hilder 等首先分离并克隆了 CpTI 基因, 并于 1987 年获得了转 CpTI 基因的烟草植株。此后美国 Monsanto 公司也将 CpTI 基因导入陆地棉

栽培品种中。目前获得转 CpTI 基因植物的种类很多, 据不完全统计有苹果、油菜、水稻、番茄、向日葵、甘薯、烟草、马铃薯等 10 余种<sup>[1]</sup>。

我国转 CpTI 棉花的研究已开展多年, 并先后获得了转 CpTI 基因和转 Bt+CpTI 双价基因棉花。中国农业科学院生物技术研究中心将改造后的 CpTI 基因和人工合成的 Bt CryIA 杀虫基因重组, 成功地构建了双向双价基因的高效植物表达载体, 并导入到棉株中, 获得了十几个转 Bt+CpTI 双价基因抗虫棉优良品系, 试验表明抗虫效果显著, 开始大面积试种示范。

**1.2.3 慈菇蛋白酶抑制剂基因(API)** 慈菇块茎中富含蛋白酶抑制剂, 它对胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶均有不同程度的抑制作用。慈菇胰蛋白酶抑制剂分为 A 型和 B 型两种, 目前人们已分离出这两类基因并导入到了棉花植株体内, 获得了稳定表达的能抗棉铃虫、棉蚜等棉田害虫的转基因棉花<sup>[15]</sup>, 其后代在大田中的表现研究正在进行之中。

**1.2.4 马铃薯蛋白酶抑制剂-II 基因(PI-II)** 在马铃薯中有一类具有损伤诱导功能的蛋白酶抑制剂, 当该植物受到害虫攻击或机械损伤时, 叶组织中能诱导表达一系列的蛋白质, 其主要成分是蛋白酶抑制剂。人们很重视该类基因的分离和克隆工作, 以便能培育出害虫诱导表达抗虫性的转基因棉花。

蛋白酶抑制剂基因作为一种比较理想的抗虫基因, 这是与其自身特点分不开的。首先, 从杀虫机理上看, 其基因产物作用于昆虫消化酶的活性中心, 这是酶的最保守部位, 突变的可能性很小, 基本上可以排除害虫通过突变产生抗性的可能; 其次, 蛋白酶抑制剂的抗虫谱广泛; 另外, 蛋白酶抑制剂来源于植物自身, 对人畜无害。但是蛋白酶抑制剂基因要想达到理想的抗虫效果, 就必须要求转基因植物蛋白酶抑制剂的表达量远远高于转 Bt 基因植株的表达量, 这也给抗虫基因工程带来了一定的困难。

**1.3 外源凝集素基因** 外源凝集素是一组广泛存在于植物组织中的蛋白质成分, 在储藏器官和繁殖器官中的含量尤其丰富。外源凝集素对植物有许多很重要的生理作用, 其中在作物害虫防治方面所能表现出的作用是保护功能, 即在植物生长的各个阶段, 外源凝集素以不同的方式保护植物免受害虫的侵害。研究结果表明, 外源凝集素主要存在于植物细胞的蛋白粒中, 一旦被害虫摄食, 外源凝集素便会在昆虫的消化道内释放出来, 并与肠道围食膜上的糖蛋白相结合, 影响营养物质的正常吸收。同时, 还可能在昆虫的消化道内诱发病灶, 促进消化道内细菌的增殖, 对害虫本身造成危害, 从而达到杀虫的目的。

的。因而引起了人们对探讨外源凝集素基因在抗虫植物基因工程中应用的极大兴趣。

目前人们已分离出多种外源凝集素基因,然而由于多种外源凝集素对人和哺乳动物有较强的毒副作用,因而在生产上应用较少。但也有一些特例,其中豌豆外源凝集素和雪莲花外源凝集素(GNA)对人的毒性极低<sup>[1]</sup>,但对害虫却有极强的抑制作用,因而倍受人们的重视。现已证明GNA对稻褐飞虱、黑尾叶蝉有极强的毒杀作用,同时还能抑制蚜虫的生长。因而通过植物基因工程技术将GNA基因导入到植物体内,以培育出对稻褐飞虱、蚜虫等刺吸式害虫有抗性的转基因植物<sup>[17]</sup>。到目前为止,已有至少10种植物获得了转GNA基因抗虫植株,它们分别是油菜、西红柿、水稻、甘薯、甘蔗、向日葵、烟草、马铃薯、大豆和葡萄等,均表现出一定的抗虫性<sup>[1]</sup>。

蚜虫是棉花的主要害虫之一,尤其是在我国目前最主要的棉区棉蚜的危害更是严重,由其造成的危害已远远超过棉铃虫等其它害虫的危害。而目前种植的转基因抗虫棉均是转Bt基因抗虫棉,其仅对棉铃虫、红铃虫等鳞翅目害虫有效,而对棉蚜等刺吸式害虫无效。因而转GNA基因抗虫棉的培育更显的迫切和重要。目前,我国已开始这方面的工作,可望在不久的将来有所突破,培育出对棉蚜等刺吸式害虫产生高抗的转基因抗虫棉新品种。

**1.4 其它抗虫基因的研究及利用** 除上面所讲述的几种抗虫基因外,人们还在不断探索新的抗虫基因,以便创造出更多更好的抗虫转基因作物。目前人们研究较多且认为较有希望的抗虫基因还有以下几类:

**1.4.1 淀粉酶抑制剂基因** 淀粉酶抑制剂( $\alpha$ -AI)是用于植物改良的第二大类酶抑制剂,它在植物界中普遍存在,尤其是在禾谷类作物和豆科作物的种子中,含量更为丰富。它的杀虫机理也就在于其能抑制昆虫消化道内 $\alpha$ -淀粉酶的活性,使食入的淀粉无法正常消化水解,阻断了主要的能量来源;同时, $\alpha$ -AI和淀粉消化酶结合形成EI复合物,也会刺激昆虫的消化腺过量分泌消化酶,通过神经系统的反馈,使昆虫产生厌食反应,导致发育不良或死亡。并将三种淀粉酶抑制剂( $\alpha$ AI-Pv, WMAI-1和14K-CL)导入烟草、豌豆等植物的报道,并表现出对某些鳞翅目和鞘翅目害虫抗性的特性<sup>[1]</sup>。

**1.4.2 昆虫神经激素基因** 昆虫神经激素是已知三大类昆虫激素的一种。神经激素控制着昆虫许多关键的生理过程,且在极微量的情况下就能发生作用。目前人们已试图将它转入棉铃虫多角体病毒或其它害虫的病毒或细菌中,然后将含有这类基因的病毒

或细菌施入农田作物或土壤;或将该类基因导入作物基因组中,使转化的植株产生昆虫神经激素,破坏昆虫的生理平衡而最终达到防治目的。

**1.4.3 几丁质酶基因** 几丁质酶能够破坏昆虫肠上皮的保护层,从而导致昆虫消化道的损伤而死亡,目前人们已分离克隆出多种该类基因,并已获得转豌豆几丁质酶基因(BCH)和番茄几丁质酶基因(TCH)的马铃薯和洋菜<sup>[1]</sup>。

**1.4.4 核糖体失活蛋白基因(RIP)** RIP通过水解核糖体RNA上特异位点结合的碱基,从而使核糖体失活,业已证明RIP对鞘翅目的一些害虫有毒杀作用。

**1.4.5 脂肪氧化酶基因** 豌豆脂肪氧化酶对稻褐飞虱有毒害作用。

**1.4.6 蝎子和蜘蛛的多肽毒液**是一种极毒的杀虫蛋白,因而人们可将控制其合成的基因分离克隆出来并导入棉花等栽培作物使其产生蝎子和蜘蛛的多肽毒液,从而达到杀虫的目的。目前,人们已将蝎毒素AaIT基因导入到植株,结果表明其表达量仅需0.001%就具有很强的抗虫能力<sup>[18,19]</sup>。蒋红等采用人工合成的方法获得了控制该毒素合成的基因并已导入烟草,获得了明显的抗虫效果<sup>[19]</sup>。

**1.4.7 苦楝素合成基因** 苦楝素是楝树合成的一种对棉铃虫等棉花害虫产生毒性的生化代谢产物,目前人们已从楝树中分离出控制该类代谢产物合成的基因并准备导入到棉株中。

**1.4.8 棉铃虫致病基因** 目前人们还正在探讨另外一种途径来防治棉田害虫,即将一种棉铃虫的致病基因导入到棉株体内,当棉铃虫等棉花害虫吞食该类转基因植株后就会致病死亡,从而达到防治棉田害虫的目的,该项工作在国外尤其是法国和澳大利亚研究的较多,现已获得转基因植株。

**1.4.9 过氧化物酶基因** Dowd等人实验证明转烟草过氧化物酶基因的转基因植株对蚜虫等害虫具有较强的抗性<sup>[11]</sup>。

**1.5 不同基因抗虫性的比较** 在目前转化植物成功获得转基因抗虫植物的多种基因中,Bt抗虫基因是使用最广泛也是最有效的基因,因而到目前为止在生产上使用的转基因抗虫植物大多是转Bt抗虫基因植物,这是因为Bt基因表达产生的 $\delta$ -内毒素对棉铃虫等多种害虫具有很强的毒杀作用,再加上经过人们的不断修饰和改造现已能使该基因在植物体内达到高水平的表达。豇豆胰蛋白酶抑制剂基因(CpTI)虽然人们研究较早,但由于其表达量难以达到使大批害虫致死的浓度,故在国外人们已不再将该基因列入转基因抗虫植物培育的范畴<sup>[16]</sup>;而是根据豇豆

胰蛋白酶抑制剂富含硫的特点, 将它用于食物营养品质改良。在胰蛋白酶抑制剂基因中, 目前人们发现大豆 Kunitz 型胰蛋白酶抑制剂对棉铃虫等棉花害虫的杀伤性较强, 故可能是一种较理想的抗虫基因。GNA 是从雪莲花植物中分离出来的抗虫基因, 由于它能有效地杀死棉蚜等刺吸式害虫而倍受人们的欢迎<sup>[1,17]</sup>。

## 2 转基因抗虫棉的培育和使用

分离抗虫基因仅是棉花抗虫基因工程的第一步, 而只有将这些基因导入棉株体内并培育出转基因抗虫棉品种才能发挥出其在生产上的使用价值。目前培育转基因抗虫棉新品种的方法有多种, 但归纳起来不外乎下面两种: 一是通过转化直接获得转基因抗虫棉品种; 二是先获得转基因抗虫棉棉株, 然后再通过杂交转育的方法获得转基因抗虫棉品种。前一种方法省时省力, 但技术要求较高, 一般是选用目前生产上正在推广使用的优良品种或有丰产潜力即将在生产上推广种植的新品系采用农杆菌介导法、基因枪法、花粉管通道法等将外源抗虫基因直接导入这些品种 (或品系), 然后再在其后代选育出新品种的方法。后一种方法是建立在前一种方法之上的, 它首先是将外源抗虫基因导入棉花植株 (基因受体未必是优良品种), 然后在通过杂交转育的方法将该抗虫基因转育到当地优良品种中, 该方法简单有效。

美国是最先培育出可在生产上利用转基因抗虫棉的国家, 它们首先是在实验室内通过农杆菌介导法和基因枪法将不同类型的 Bt 基因导入到棉花植株中, 然后将通过该手段获得的转基因抗虫棉转移到棉花种子, 并由种子通过杂交转育的方法将该抗虫基因转育到当前优良推广品种 (如岱字棉、斯字棉、爱字棉等) 中而获得转基因抗虫棉新品种。目前美国已通过该方法获得了几十个适合于不同生态区种植的抗虫棉品种, 并在生产上大面积推广种植。如美国岱字棉公司以孟山都公司的转 Bt 基因系为供体亲本, 分别将 Bt 抗虫基因回交转育到常规推广品种 DP5415 和 DP5690 中, 育成了以新商标 “NuCOTN™” 命名的 NuCOTN™33 和 NuCOTN™35 两个抗虫棉新品种。1994~1995 年 NuCOTN™33 和 NuCOTN™35 在全美植棉带进行了多点试验示范, 结果表明这两个抗虫棉品种既保持了原转基因系的抗虫性, 在产量上也略高于其轮回亲本 DP5415 和 DP5690, 纤维品质与轮回亲本相当; 随后他们又对该品种进行了改良和培育了新的抗虫棉品种, 现在美国岱字棉公司培育出的抗虫棉品种无论产量还是纤维品质均优于或相当于当地推广品种。美国佐治

亚大学将 Bt 抗虫基因回交转育到爱字棉 90 中, 育成了 NuCOTN™37。除此之外, 美国斯字棉公司、Calange 公司等也通过杂交转育的方法将外源 Bt 抗虫基因导入到当地主栽品种中, 现已育成几十个含有外源 Bt 基因的抗虫棉新品种, 并在生产上推广种植或试种示范, 均取得了良好的效果。1996 年, 美国推广种植该类抗虫棉已超过 1200 万亩。1997 年, 种植转基因抗虫棉品种的面积已占美国棉田面积的 15% 以上。1998 年面积仍在上升。

澳大利亚是较早培育出转基因抗虫棉品种的国家之一。它们采用两种方法培育适合于其国家栽培的转基因抗虫棉, 首先它们分离和合成自己的抗虫基因, 然后通过农杆菌介导法转入本国的优良品种 Siokra 1-3、Siokra 1-4 等中; 与此同时, 它们还与美国 Monsanto 公司合作从该公司引进转基因抗虫棉种质, 然后通过杂交转育的方法导入当地主栽品种中, 已培育出适合本土栽培的优良抗虫棉品种十余个, 并于 1996/1997 年度允许在生产上大面积推广种植, 当年种植面积就达 3 万  $\text{hm}^2$ , 占全国棉田面积的 10%; 1998/1999 年种植面积进一步扩大, 可达 8 万  $\text{hm}^2$ <sup>[10]</sup>。

我国早在 1991 年就已有将外源 Bt 基因导入棉株中的报道, 但当时导入的基因表达量较低, 难以杀死棉田害虫。1992 年我国首次人工合成了拥有自己知识产权的 CryIA 杀虫基因, 并于 1993 年采用农杆菌介导法和外源基因胚珠直接注射法成功导入中棉 12、泗棉 3 号等主栽品种中, 获得了高抗棉铃虫的转基因棉花株系。此外, 我国在直接导入外源抗虫基因的同时, 还采用杂交转育的方法将转基因抗虫棉株中的抗虫基因转育到我国主栽品种中, 该工作的开展几乎与美国和澳大利亚同步, 但从其转育的效果来看不如美国和澳大利亚的成效好。目前我国已有 10 多个品种先后通过了国家或省市品种审定委员会的审定, 允许在生产上推广种植。如 GK-1、GK-12 等品种 1999 年种植面积超过 10 万  $\text{hm}^2$ 。此外, 我国还将 SKT1、CpTI、API 等基因导入到棉株体内。

另外, 埃及、法国、印度、泰国、前苏联等的一些国家也先后通过转化、杂交转育和引进的方法获得了适于本国推广种植的转基因抗虫棉。

人们在培育单基因抗虫棉的同时, 为了有效预防棉铃虫等棉花害虫有可能对其产生抗性, 人们对转双价基因甚至多价基因抗虫棉进行了研究, 先后培育出多种双价基因抗虫棉。美国先后培育出含有两种不同 Bt 基因的双价抗虫棉, 如同时将 CryIA 和 CryIIA 基因导入到同一棉株, 这样既有效地克服了害虫对其产生抗性, 延长了转基因抗虫棉的

使用年限,又能有效地提高抗虫能力和扩大抗虫范围。澳大利亚在这方面也进行了探讨。我国从1995年起也开展了双价抗虫棉的研究,通过花粉管通道转化技术将Bt + CpTI基因导入一批主栽品种中,培育出十几个含Bt + CpTI基因的双价抗虫棉优良品系,其中SGK321表现突出,在1999年试种面积达400万hm<sup>2</sup>。

### 3 转基因抗虫棉目前存在的问题

转基因抗虫棉的抗虫性已引起了人们的广泛重视,以此为基础的转基因抗虫棉的培育和推广已取得了很大的进展,但目前的转基因抗虫棉还存在着以下几方面的问题:

**3.1 转基因抗虫棉的产量有待提高** 目前我国培育出的转基因抗虫棉的产量与常规优良品种相比较显得偏低,在现有报道中,有些声称转基因抗虫棉比某个优良推广品种增产,其实是由于评比方法造成的。转基因抗虫棉的最显著特点是抗虫,因而在评比试验中应充分发挥转基因抗虫棉的抗虫特性。象美国、澳大利亚评比抗虫棉产量一样,在常规棉花品种正常治虫,转基因抗虫棉不治虫或少治虫的情况下比较抗虫棉品种的产量;而我国目前的抗虫棉评比试验,大多是在少治虫或不治虫的情况下进行的,这样转基因抗虫棉的产量潜力得到有效发挥,而常规棉花品种由于受棉铃虫等害虫的危害而减产,从而也就表现出产量不如转基因抗虫棉。

**3.2 转基因抗虫棉的抗虫范围有待拓宽** 据统计为害棉花的害虫大约有几十种,仅主要害虫就有棉铃虫、红铃虫、棉蚜、棉叶螨等多种。而目前种植的转基因抗虫棉仅只对棉铃虫等少数害虫具有毒杀作用,而对棉蚜等其它害虫则不产生任何作用,而且由于转基因抗虫棉的使用,虽然有效地预防了棉铃虫等一些主要害虫,但有可能造成次要害虫上升为主要害虫。这方面国内就有种植抗虫棉的棉田盲蝽象等害虫发生为害严重的报道。只有扩大转基因抗虫棉的抗虫范围,才能真正达到有效地预防棉花害虫的目的。

**3.3 害虫对转基因抗虫棉的抗性** 这是人们最为担心的问题,已有实验证明棉铃虫对Bt棉的忍耐性比先前提高了十余倍<sup>[21-23]</sup>,若任其发展大约需要80年的时间,棉铃虫就有可能对现在种植的转基因抗虫棉产生抗性。因此应尽早进行这方面的研究,以寻求阻止或延缓产生抗性的对策和措施。

### 4 转基因抗虫棉研究发展趋势

针对目前生产上遇到的一些问题和转基因抗虫棉自身的特点,我们认为今后转基因抗虫棉的研究

重点和发展趋势为:

**4.1 采用复合育种技术提高转基因抗虫棉的产量和品质** 美国、澳大利亚推广种植的转基因抗虫棉一般均比当地优良推广品种增产,有的甚至增产15%以上,这说明外源基因的导入并不影响棉花的产量,只要选择得当就能使抗虫棉的产量得到提高。因此采用杂交、回交等各种育种技术,并将它们结合起来,形成一种复合育种技术,使常规育种与生物技术育种紧密结合,将棉花的抗虫、丰产、优质和抗病等优良性状结合在一起,培育出优良的抗虫棉新品种。事实上,我国在这方面已取得了明显进展,在转基因抗虫棉出现的初期,其产量较低,经过近几年的改造,其产量已有明显的提高。

**4.2 转基因抗虫棉的杂种优势利用** 以抗虫棉为亲本,利用棉花的杂种优势,培育高产优质的抗虫杂交棉新品种,在现阶段某种程度上可以弥补转基因抗虫棉产量偏低等方面的问题。实践证明,抗虫杂交棉的推广应用有力地推动了我国抗虫棉产业化进程,加速了现代生物技术在生产上发挥巨大作用。目前我国培育成功的抗虫杂交棉品种一般增产均在15%以上。因此,今后应加强抗虫杂交棉的研究和培育。

**4.3 筛选新的抗虫基因,培育新的转基因抗虫棉品种** 为害棉花的害虫种类很多,除棉铃虫外,还有棉蚜、红铃虫、红蜘蛛等等。转入某一单抗基因只对某一类害虫有效,为了不造成产量损失,棉田还需用药防治其它害虫,而且单一抗虫基因害虫易产生抗性。因而我们应积极寻找筛选新的广谱性的抗虫基因,以培育出高效广谱性的抗虫棉花。

目前已导入棉株体内的基因仅有CryIA (b)、CryIA (c)、CryIIA、CpTI、API、STKI等少数几种,且在生产上应用的也仅是Bt基因,还不能完全有效地防治棉田害虫。为了达到有效防治棉田害虫,克服棉田害虫对抗虫棉产生抗性的问题,必须筛选新的抗虫基因,培育新的转基因抗虫棉。目前,有希望的抗虫基因有棉铃虫病毒基因、蝎毒素基因、外源凝集素基因等。

**4.4 复合抗性品种的培育** 棉花生产是一个多因素的复合体,实现高产优质高效是其根本目的。棉花在生长发育过程中除遭受虫害外,病害、草害、旱害、盐害、寒害等也同样影响着棉花的产量和品质。因此单单解决虫害问题并不是育种的最终目标,在转基因抗虫棉的培育过程中要有目的地将抗病、抗除草剂、抗旱、耐盐基因共同导入棉株体内,使棉花获得对各种逆境产生抗性的能力,才能实现棉花的高产优质高效生产。复合抗性品种的培育将是今后转基因抗虫棉研究发展方向和趋势。

4.5 重视外源与内源抗虫系统间的协调性, 加强现代基因工程与传统抗虫育种相结合 单一使用一种因子长期控制害虫是不现实的, 害虫防治必须强调多因子的协调综合作用。在利用基因工程改良棉花抗虫性的同时, 外源抗虫蛋白与内源抗虫物质的协调性很重要, 但这点尚未引起人们的足够重视。王琛柱等研究表明, 苏云金杆菌 $\delta$ -内毒素和大豆胰蛋白酶抑制素, 分别与棉酚和单宁对棉铃虫的协同作用有增效作用, 因此内毒素基因和蛋白酶抑制素基因转入较高棉酚和(或)单宁含量的棉花植株, 有望得到对棉铃虫高抗且稳定的棉花品种<sup>[24]</sup>。

#### 4.6 加强转基因抗虫棉栽培管理配套技术的研究

转基因抗虫棉毕竟是一新鲜事物, 其在生产上的推广种植也是近几年的事情, 人们对其自身特有的生长发育规律还缺乏深入研究, 有关的高产高效栽培配套措施还不完善。因此, 今后应加强这些方面的研究工作, 找出适合于转基因抗虫棉生长发育的各种有利环境条件, 提出配套的栽培管理措施, 做到良种配良法, 实现转基因抗虫棉的高产优质高效栽培。

#### 4.7 加强转基因抗虫棉田病虫害综合防治技术研究

抗虫棉的推广种植使得棉田的生态系统发生了变化。因此常规棉田的病虫害综合治理技术, 以及病虫害发生规律、防治指标等在抗虫棉田不宜适用, 应作相应调整和修订。今后应加强这方面的研究, 以尽早提出抗虫棉田病虫害综合防治技术。同时要注重棉铃虫等主要害虫对抗虫棉的抗性监测和治理对策研究。

本文承蒙郭三堆先生审阅并提出修改意见, 谨此致谢。

### 参 考 文 献

- Schuler TH, Poppy GM, Kerry BR, et al. Insect-resistant transgenic plants. TIBTECH, 1998, 16: 168~175
- Peferoen M. Progress and prospects for field use of Bt genes in crops. TIBTECH, 1997, 15: 17377
- Benedict JH, Sachs ES, Altman DW, et al. Field performance of cottons expressing transgenic Cry I A insecticidal proteins for resistance to *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). J Econ Entomol, 1996, 89: 230~238
- Parlak FJ, Deaton RW, Armstrong TA, et al. Insect resistant cotton plants. Bio/technology, 1990, 8: 93943
- Jenkins JN, McCarty JC, Buehler RE, et al. Resistance of cotton with  $\delta$ -endotoxin genes from *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki on selected Lepidopteran insects. Agronomy Journal, 1997, 89: 768~780
- Jenkins JN, Parrott WC, McCarty JC, et al. Field test of transgenic cotton containing a *Bacillus thuringiensis* gene. Miss Agric For Exp Stn Tech Bull, 174
- Perlak FJ, Fuchs DA, Dean SL, et al. Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 3324~3328
- Sachs ES, Benedict JH, Stelly DM, et al. Expression and segregation of genes encoding Cry I A insecticidal proteins in cotton. Crop Science, 1998 (1): 11~20
- Cousins YL, Lyon BR, Llewellyn DJ. Transformation of an Australian cotton cultivar: prospects for cotton improvement through genetic engineering. Australian Journal of Plant Physiology, 1991, 18: 481~494
- Constable GA, Fitt GP. Transgenic cotton in the field and marketplace. In: Larkin PJ (ed.) Agricultural Biotechnology. Canberra, UTC Publishing, 1998: 402~405
- 倪万潮, 张震林, 郭三堆. 转基因抗虫棉的培育. 中国农业科学, 1998, 31 (2): 83
- 谢道昕, 范云六, 倪万潮, 等. 苏云金芽孢杆菌杀虫蛋白基因导入棉花获得转基因植株. 中国科学(B), 1991, (4): 367~373
- Wang W, Zhu Z, Deng CY, et al. Obtaining of pest resistant cotton by transforming mediated *Agrobacterium*. New Frontiers in Cotton Research, Word Cotton Research conference-2. Athens, Greece, 1998: 119
- 李燕娥, 朱桢, 陈志贤, 等. 豇豆胰蛋白酶抑制剂转基因棉花的获得. 棉花学报, 1998, 10 (5): 237~243
- Thomas JC, Adams DG, Keppenne VD, et al. Protease inhibitors of *Manduca sexta* expressed in transgenic cotton. Plant Cell Reporters, 1995, 14: 758~762
- Santos MO, Adang MJ, All JN, et al. Testing transgenes for insect resistance using *Arabidopsis*. Molecular Breeding, 1997, 3: 183~194
- 朱玉, 吴茜, 高越峰, 等. 雪莲花外源凝集素基因的、序列分析和植物表达载体的构建. 农业生物技术学报, 1997, 5 (4): 331~338
- Barton KA. Insecticidal toxins in plants-express an insect-specific toxin from a scorpion. C12N015/82. European Patent, Patent No. EP0431829A1. 1990
- 蒋红, 朱玉贤, 陈章良. 导入蜘蛛杀虫肽基因的烟草具有抗虫性. 植物学报, 1996, 38: 959
- 刘春明, 朱桢, 周兆澜, 等. 豇豆胰蛋白酶抑制剂抗虫转基因烟草的获得. 科学通报, 1992, 18: 1694~1697
- Brewer GJ. Resistance to *Bacillus thuringiensis* sub sp. Kurstaki in the sunflower moth (Lepidoptera: Pyralidae). Environ Entomol, 1991, 20 (1): 316~322
- Gould F, Anderson A, Jones A, et al. Initial frequency of alleles for resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in field populations of *Heliothis virescens*. PNAS, 1997, 94: 3519~3523
- Tabashnik BE. Seeking the root of insect resistance to transgenic plants. PNAS, 1997, 94: 3488~3490
- 王琛柱, 钦俊德. 昆虫与植物相互作用的研究进展. 世界农业, 1998, (4): 33~35
- Chair H, Kuhapitum R, Attathom T, et al. Genetic transformation of a Thai cotton variety for insect resistant. In: Larkin PJ (ed.) Agricultural Biotechnology. Canberra, UTC Publishing, 1998: 470
- Roush R. Resistance management for Bt-transgenic cotton. The Australian Cotton grower, 1994, 15 (2): 170