

国产转基因抗虫棉研究回顾与展望

张锐, 王远, 孟志刚, 孙国清, 郭三堆

(中国农业科学院生物技术研究所, 国家农作物基因资源与基因改良重大科学工程, 北京 100081)

摘要:棉花是我国最重要的经济作物之一, 抗虫棉的研制成功与大规模产业化在保障我国植棉业的稳步发展、促进棉纺工业的快速增长、保护环境、增加农民收入和促进农业可持续发展方面作出了重要贡献。作者回顾了国产转基因抗虫棉从单价、双价到融合研究的重要历程, 介绍了国产抗虫棉产业化的突出成绩, 并对抗虫棉的深化研究、育种技术等作出展望。

关键词:国产; 抗虫棉; 研究; 产业化

中图分类号: Q813, S562 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0864(2007)04-0032-11

Retrospect and Prospect of Research on Chinese Transgenic Insecticidal Cotton

ZHANG Rui, WANG Yuan, MENG Zhi-gang, SUN Guo-qing, GUO San-dui

(Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agriculture Sciences, National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, NFCRI, Beijing 100081, China)

Abstract: Cotton is one of the most important cash crops in China. Successful research on transgenic insecticidal cotton and its large scale commercialization have ensured the steady development of cotton growing and rapid increase of textile industry in China. They have also protected environment, increased farmers' income and made important contribution in promoting the sustainable development of agriculture. The authors recall the key steps of research on Chinese transgenic insecticidal cotton, from one gene, double genes to fusion gene, introduce the excellent achievement of their industrialization, and look forward to further study and breeding technology for insecticidal cotton in the future.

Key words: Chinese; insecticidal cotton; research; commercialization

1 研究背景

全球人口快速增长使可耕地愈来愈少, 化学农药过度滥用引起生态系统严重破坏, 无机化肥不适当地大量使用带来土壤肥力退化, 不可降解塑料的白色污染已成为全球一大公害, 自然环境破坏引起的气候变暖在进一步加剧, 水土流失、土地沙漠化、盐碱化在进一步扩大, 人类面临的粮食安全、消除贫困、环境治理和农业可持续发展等问题将更加突出, 依靠传统常规的农业技术已不可能有效地解决以上问题。发展农业生物技术, 已成为现代农业生产及至人类生存的战略途径。国际上许多发达国家制定发展计划, 投入巨资、人力和物力, 开展转基因植物的研究与产业化。

我国既是棉花生产大国, 也是棉花消费大国; 棉花既是纺织业的重要原料, 也是重要战略物资, 栽培面积最高曾达 700 多万 hm^2 。20 世纪 90 年代以来, 我国内地主产棉区棉铃虫连年大暴发, 造成重大经济损失, 仅以 1992 年为例, 北方棉区减产皮棉 80 万 t, 直接经济损失超过 50 亿元, 间接损失超过 100 亿元。此外, 1992 年仅棉田使用化学杀虫剂 15 万 t 以上, 中毒人数超过数万人。棉铃虫的肆虐不但让当时我国棉花生产遭受巨大损失, 而且由于过量使用化学农药造成了严重的环境污染以及人、畜中毒死亡事故。

棉铃虫问题引起了国家的高度重视。中央及各主产棉省多次专门开会研究防治棉铃虫问题,

收稿日期: 2007-06-28; 修回日期: 2007-07-10

基金项目: 农业部发展棉花专项资金项目“转基因棉深化研究及商业化生产”资助。

作者简介: 张锐, 副研究员, 博士, 主要从事基因操作及棉花分子育种研究。通讯作者: 郭三堆, 研究员, 博士生导师, 主要从事植物分子生物学、基因工程等研究。Tel: 010-62136406; E-mail: gsd3ui@mail.caas.net.cn

与此同时,国际上植物基因工程技术的建立与日趋成熟,为解决棉铃虫问题提供了新的契机。1987年, Vaeck 等^[1]以及 Fischhof 等^[2]将修饰的 Bt 杀虫基因导入烟草和番茄,获得了转基因植株,但未获得理想的杀虫效果。分析杀虫效果不理想的原因是微生物和植物两个物种之间遗传基因使用的偏爱密码子和结构不同所引起的。Perlak 等^[3]按照植物优化密码子合成的 Bt 杀虫基因转入植物后,抗虫性提高 5~10 倍。我国郭三堆等也进行了大量有关 Bt 抗虫转基因植物的相关研究^[4~8],并取得类似结果。结果表明,利用基因工程技术培育转基因抗虫农作物已经成为可能。而且当时美国已投巨资开展了转基因抗虫棉的研究。

国家“863”计划遵循解决国家重大需求的立项宗旨,1991 年提出通过基因工程的方法解决棉铃虫问题。中国农业科学院生物技术研究所(原生物技术研究中心)抗虫棉课题组等研究小组承担了这项艰巨的任务,开始了国产转基因抗虫棉的研究。

2 国产抗虫棉研究历程

2.1 国产单价抗虫棉研制

Bt 杀虫晶体蛋白 Cry1A 可毒杀包括棉铃虫在内的鳞翅目害虫,因此根据 Cry1A 杀虫蛋白质的氨基酸序列,进行杀虫基因的设计。由于 Cry1Ab 具有较好的细胞裂解能力,而 Cry1Ac 与昆虫细胞膜的结合性较好,设计时毒性结构域和细胞结合结构域分别与 Cry1Ab 和 Cry1Ac 最大程度地保持了一致。为了使基因在植物中高效表达,完全采用植物偏爱密码子,并去除了所有多聚腺苷酸信号序列及其相似序列。共人工合成 82 个寡核苷酸片段,9 个大片段,总计 3 674 个碱基(表 1),于 1992 年底研制成功 *GFM Cry1A* 杀虫基因,全长 1 827 个碱基对,编码 608 个氨基酸。因为该基因编码的氨基酸序列来自 Bt 杀虫晶体蛋白(crystal protein) *Cry1A* 基因,而后经郭三堆领导的抗虫棉研究组设计并全修饰(full modification)后人工合成融合(fusion)基因,所以将其命名为 Bt *GFM Cry1A* 杀虫基因^[7]。

表 1 *GFM Cry1A* 杀虫基因的设计及人工合成

Table 1 Design and synthesis of *GFM Cry1A* insect-resistant gene.

设计片段编号 Fragment number	正链 Plus strand		负链 Minus strand		基因片段 5'	基因片段 3'
	小片段数	碱基数	小片段数	碱基数	末端情况	末端情况
	Amount of segment	Base	Amount of segment	Base	5'end of the fragment	3'end of the fragment
GFM1	4	198	4	202	<i>Pst</i> I 粘端 (adhesive)	<i>Nsi</i> I + <i>Hinc</i> II 平端 (blunt)
GFM2	5	251	5	255	<i>Nsi</i> I 粘端 (adhesive)	<i>Hinc</i> II 平端 (blunt)
GFM3	4	191	4	195	<i>Hinc</i> II 平端 (blunt)	<i>Xba</i> I 粘端 (adhesive)
GFM4	4	233	5	233	<i>Xba</i> I 粘端 (adhesive)	<i>Eco</i> RI 粘端 (adhesive)
GFM5	4	177	5	179	<i>Hpa</i> I 平端 (blunt)	<i>Acc</i> I 粘端 (adhesive)
GFM6	5	228	6	230	<i>Acc</i> I 粘端 (adhesive)	<i>Nco</i> I 粘端 (adhesive)
GFM7	3	127	3	119	<i>Nco</i> I 粘端 (adhesive)	<i>Pst</i> I 粘端 (adhesive)
GFM8	5	184	5	188	<i>Pst</i> I 粘端 (adhesive)	<i>Sma</i> I 平端 (blunt)
GFM9	5	240	6	244	<i>Sma</i> I 平端 (blunt)	<i>Sac</i> I 粘端 (adhesive)
合计 Total	39	1 829	43	1 845		

为了让合成的 *GFM CryIA* 杀虫基因能在植物中高效表达,郭三堆课题组设计在基因转录和翻译两个层面提高其表达水平,为此在构建其植物表达载体时,构建了包括2个增强子元件的35S启动子,并在基因5'端添加Ω和Kozak序列,在基因的3'端添加多联终止密码子、2个剪切序列、加工序列、Poly(A)序列以及Nos终止子,于1993年底,Bt *GFM CryIA* 杀虫基因植物高效表达载体pGBI4AB(图1)构建成功。之后,通过农杆菌介导法和花粉管通道法将Bt *GFM CryIA* 杀虫基因植物表达载体导入棉花,于1994年研制成功了国产单价抗虫棉^[9-12]。

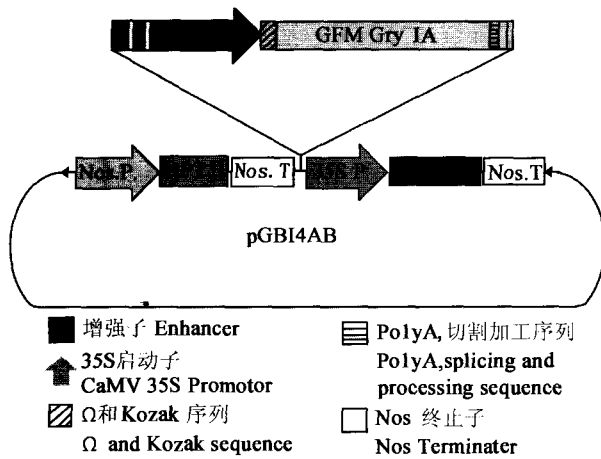


图1 pGBI4AB质粒结构示意图

Fig.1 Structure of plasmid pGBI4AB.

单价抗虫棉表达的Bt杀虫蛋白,可专门破坏鳞翅目害虫的消化系统,导致其死亡。实践证明单价抗虫棉对棉铃虫的杀虫活性达80%以上^[13]。1996年2月,经农业部组织的以田波院士为主席的专家委员会鉴定,此项成果已达到国际先进水平,其核心技术于1998年获中国专利^[9],使我国成为继美国之后,独立研制成功抗虫棉并拥有自主知识产权的第二个国家。

2.2 国产双价抗虫棉研制

为预防棉铃虫对单价抗虫棉产生抗性,1994年郭三堆课题组又创造性地将人工合成的Bt *GFM CryIA* 基因与修饰后的*CpTI*(豇豆胰蛋白酶抑制剂)基因构建成双价抗虫基因植物表达载体pGBI4ABC(图2),并导入棉花中,于1996年研制成功了能同时产生两种不同杀虫蛋白的双价抗虫棉^[14-17]。

CpTI 杀虫蛋白的作用机理与Bt杀虫蛋白不同,它通过抑制昆虫消化酶的功能使其产生厌食反应,并导致死亡。另外,两种杀虫蛋白在功能上

具有互补性和协同增效性,这使得双价抗虫棉不但可以有效延缓昆虫对抗虫棉产生抗性,而且可增强抗虫性。中国农业科学院植物保护研究所抗药性课题组(见《转基因棉花》)的实验证明,虽然双价棉叶对棉铃虫不同抗性种群的杀虫活性时间动态变化趋势与单价Bt棉类似,但变化幅度明显减小,特别是在7、8月份棉铃虫3、4代发生期单价棉的杀虫效果明显降低时,双价棉仍可对棉铃虫特别是对已产生抗性的棉铃虫(对*CryIAc*的抗性指数达16倍以上)保持较高杀虫活性(图3)。

另外,双价抗虫棉对大龄抗性棉铃虫的杀虫活性、抑制其体重增长、化蛹和羽化等方面的作用均显著强于单价抗虫棉,体现出双价棉在对抗性棉铃虫的杀虫效果和生长发育抑制作用等方面的明显优势,应用双价抗虫棉对控制棉铃虫抗性发展将起到关键作用。这项创新性的研究成果保持了我国抗虫棉研究的国际先进地位,其核心技术于2001年获得中国专利^[14]。

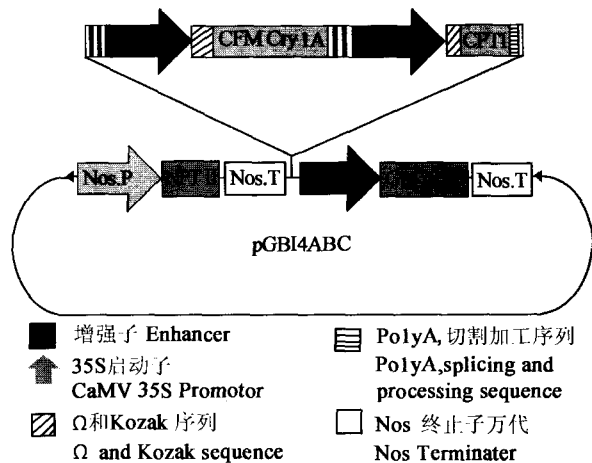


图2 pGBI4ABC质粒结构示意图

Fig.2 Structure of plasmid pGBI4ABC.

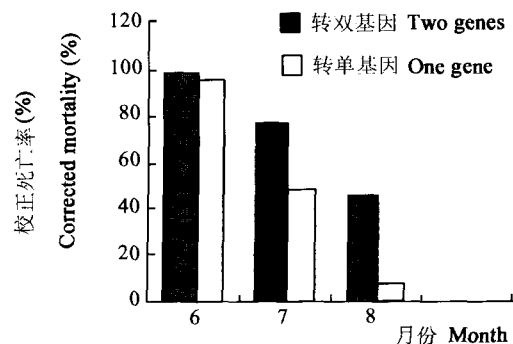


图3 单、双价抗虫棉对抗性棉铃虫杀虫活性的时间动态

Fig.3 Insecticidal efficiency development of one and two genes cotton to resistant cotton bollworm.

2.3 国产融合抗虫棉研究

通过对转基因双价抗虫棉自交后代进行 *CryIAc* 基因与 *CpTI* 基因的整合和共表达研究^[19-22],结果表明,大多数双价抗虫棉中两个杀虫基因的整合位点存在差异,并且不能完全同步表达。由此,我们推测,双价杀虫基因植物表达载体在整合进入受体棉花基因组时,两个杀虫基因表达盒可能是随机断裂整合的。虽然通过海量筛选转基因可以获得两个杀虫基因均高效表达的双价转基因抗虫棉,但为了节约人力、物力和财力,通过基因操作的方法,让两个杀虫基因在转基因棉花中同步高效表达才是最佳研究方案。因此,在双价抗虫棉的基础上,2000年,郭三堆课题组又进行了融合抗虫棉的研究。

研究设计策略是将具有不同杀虫机理、杀虫谱互补并可协同增效的 *CryIAc* 与 *CpTI* 编码基因,利用昆虫肠道消化酶切割位点的编码序列连接起来,构建出融合抗虫基因及其植物表达载体 pGBIF4ABC (图4)^[23],并导入棉花获得融合抗虫棉。采用抗性棉铃虫进行杀虫实验,结果表明单价抗虫棉对抗性棉铃虫的校正死亡率只有 22.2%,而融合抗虫棉可达 77.7% 的高抗虫性,说明融合抗虫棉可

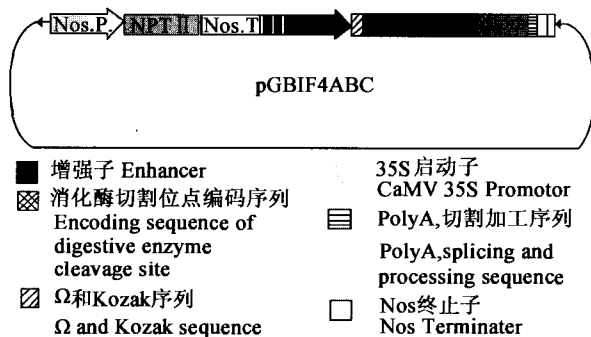


图4 pGBIF4ABC 质粒结构示意图

Fig. 4 Structure of plasmid pGBIF4ABC.

控制棉铃虫抗性发展。这项研究成果具有我国特色,其核心技术于 2005 年申请中国专利^[18]。

3 国产转基因抗虫棉品种安全性评价和品种审定

3.1 国产抗虫棉产品的动物安全性研究

分别以小鼠、斑马鱼及土壤线虫为实验对象,进行了单/双价转基因抗虫棉棉籽或棉籽油对实验动物的毒理学实验。通过对骨髓嗜多染红细胞微核率和精子畸变率的检测,证明抗虫棉对测试动物无任何毒性,是安全的。

2001 年又经国家指定部门“中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所”复鉴,以家兔为试验对象,分别进行了单/双价转基因抗虫棉棉籽油和棉籽粉对试验动物的眼刺激试验和皮肤刺激试验,以及以雌、雄大鼠为试验对象,分别进行了单/双价转基因抗虫棉棉籽油和棉籽粉对试验动物的急性经皮毒性试验(LD50)和急性经口毒性试验(LD50),结果再次表明单/双价转基因抗虫棉对动物无害,是安全的。

3.2 国产转基因抗虫棉品种安全性评价

自 1996 年起,国产转基因抗虫棉开始申报不同试验阶段的安全性评价。1997 年至 2000 年,共申报中间试验、环境释放和商品化生产安全性评价 27 项,获批 20 项(见表 2-1)。2001 年国家调整了安全性评价申报的试验阶段,在减去试验研究阶段申报的同时,将商品化生产阶段申报分成了生产性试验和应用安全证书两个阶段申报。调整后,从 2001 年至 2006 年,共申报 4 个试验阶段的安全性评价 635 项,获批 503 项(见表 2-2)。因此,郭三堆课题组在 10 年间共申报不同试

表 2-1 中国农业科学院生物技术所安全性评价申报及批准情况(1997-2000 年)

Table 2-1 Applying and authorization of biosafety evaluation about insecticidal cotton(1997-2000).

试验时间(年) Experiment time (Year)	试验研究 Laboratory experiment		中间试验 Median experiment		环境释放 Environment release		商品化生产 Commercialization	
	申报 Applying	批准 Authoried	申报 Applying	批准 Authoried	申报 Applying	批准 Authoried	申报 Applying	批准 Authoried
	1997	0	0	0	0	1	1	1
1998	0	0	0	0	1	1	0	0
1999	0	0	0	0	2	2	12	12
2000	0	0	3	3	1	0	6	0
合计 Total	0	0	3	3	5	4	19	13

表 2-2 中国农业科学院生物技术所安全性评价申报及批准情况(2001-2006年)

Table 2-2 Applying and authorization of biosafety evaluation about insecticidal cotton(2001-2006).

试验时间 阶段(年) Experiment time (Year)	中间试验 Median experiment		环境释放 Environment release		生产性试验 Production experiment		应用安全证书 Application certificate	
	申报 Applying	批准 Authoried	申报 Applying	批准 Authoried	申报 Applying	批准 Authoried	申报 Applying	批准 Authoried
	2001	45	21	9	7	0	0	7
2002	0	0	7	4	50	29	9	9
2003	5	5	2	2	35	33	49	2
2004	0	0	0	0	0	0	116	116
2005	0	0	0	0	5	5	118	118
2006	0	0	0	0	0	0	148	146
合计 Total	50	26	18	13	90	67	477	397

验阶段的安全性评价 662 项, 获批 523 项, 其中生产应用的安全证书申报 496 项, 获批 410 项。

3.3 国产转基因抗虫棉新品种审定

我国转基因抗虫棉技术成熟以后, 品种选育工作进展非常迅速。通过国家项目的带动以及科研单位之间的合作, 更由于市场的巨大需求, 迅速形成了国内棉花育种单位抗虫棉育种的大协作局面。从 1998 年到 2006 年, 共有近 90 个科研单位

和公司参与了转基因抗虫棉新品种的选育, 在我国形成了一支强大的育种团队, 涉及范围占我国版图的 2/3 强。通过各省和国家审定的抗虫棉品种超过 100 个, 其中通过国家审定的抗虫棉品种达 41 个(详见表 3)。从 2005 年我国开始实施申报棉花新品种保护至今, 申请转基因抗虫棉新品种保护共有 86 个, 占总申报数的 76%, 审定并推广 0.33 万 hm^2 以上的有 61 个, 占品种总数的 71%, 反映出了我国棉花育种的雄厚实力。

表 3 通过国家审定的国产抗虫棉品种

Table 3 Chinese insecticidal cotton varieties authorized by the nation.

序号 No.	品种类型 Variety type	安评名称 Safety evaluation name	审定名称 Variety name	国审时间(年份) Authorized time (Year)	育种单位 Breeding company / department / organization
1	单价常规	GK30	鲁棉研 16 LMY 16	2005	山东棉花研究中心, 中国农科院生物技术所 Shandong cotton research center, BRI-CAAS
2	抗虫棉	GK34	鲁棉研 21 LMY 21	2005	
3	Bt conventional	GK33	鲁棉研 19 LMY 19	2005	
4	insecticidal cotton	鲁 2015 Lu 2015	鲁棉研 29 LMY 29	2006	
5		鲁 9154 Lu 9154	鲁棉研 27 LMY 27	2006	
6		GK45	邯鄯 109 HD 109	2005	邯鄯市农科院, 中国农科院生物技术所 Handan AAS, BRI-CAAS
7		邯 5158 Han 5158	邯 5158 Han 5158	2006	
8		邯鄯 802 Handan 802	邯棉 802 HM 802	2006	
9		GK44	中植棉 2 ZZM 2	2006	中国农科院植物保护所, 新乡县七里营 新植原种场, 中国农科院生物技术所 PPI-CAAS, Qiliying Plantations(Xinxiang), BRI-CAAS
10		GK53	鑫秋 1 XQ 1	2006	山东金秋种业有有限公司, 中国农科院生物技术所 Jinqiu Seeds Co. (Shandong), BRI-CAAS
11		冀 1286 Ji 1286	冀棉 958 JM 958	2006	河北省农林科学院棉花所, 中国农科院生物技术所 CRI-Hebei AAS, BRI-CAAS
12		GK62	新陆棉 1 XLM 1	2006	新疆农科院经济作物所, 中国农科院生物技术所 Xinjiang AAS, BRI-CAAS

续表 3

序号 No.	品种类型 Variety type	安评名称 Safety evaluation name	审定名称 Variety name	国审时间(年份) Authorized time (Year)	育种单位 Breeding company / department / organization
13	单价杂交抗虫棉	GKz6	中棉所 38ZMS 38	1999	中国农科院棉花所,中国农科院生物技术所
14	Bt hybrid	GKz668	中棉所 52ZMS 52	2005	CRI-CAAS, BRI-CAAS
15	insecticidal cotton	GKz8	南抗 3MK 3	2005	南京农业大学,中国农科院生物技术所
16		GKz23	南农 6NM 6	2005	NAU, BRI-CAAS
17		GKz13	鲁 RH-1 Lu RH-1	2005	山东省棉花杂优利用协作组, 中国农科院生物技术所 Shandong Cotton Breeding Collaborative Group, BRI-CAAS
18		GKz33	鄂杂棉 10EZM 10	2005	湖北惠民种业有限公司,中国农科院生物技术所 Huiming Seeds Co. (Hubei), BRI-CAAS
19		GKz17	湘杂棉 8XZM 8	2005	湖南棉花科学所,中国农科院生物技术所 Hunan CRI, BRI-CAAS
20		GKz18	慈抗杂 3CKZ 3	2005	浙江慈溪市农科所,中国农科院生物技术所, 浙江大学农业与生物技术学院 Zhejiang Cixi ASI, BRI-CAAS, Zhejiang University
21		GKz10	鲁研棉 15LYM 15	2005	山东棉花研究中心,中国农科院生物技术所
22		GKz25	鲁棉研 24LMY 24	2005	Shandong cotton research center, BRI-CAAS
23		GKz12	鲁棉研 20LMY 20	2005	
24		GKz29	鲁棉研 25LMY 25	2005	
25		GKz11	邯杂 98-1HZ 98-1	2006	邯郸市农科院,中国农科院生物技术所 Handan AAS, BRI-CAAS
26		GKz21	国欣棉 6GXM 6	2006	河间市国欣农村技术服务总会, 中国农科院生物技术所, 北京市国欣科创生物技术有限公司 Guoxin Rural Technical Service Association(Hejian) , BRI-CAAS, Beijing Guoxin Kechuang Biotech. Co.
27		97H1	鄂杂 1EZ 1	2006	河北省农林科学院棉花所,中国农科院生物技术所 CRI-Hebei AAS, BRI-CAAS
28		JZHR99990	鄂杂棉 24EZM 24	2006	荆州农科院,中国农科院生物技术所 Jingzhou AAS, BRI-CAAS
29	双价常规抗虫棉 Bt + CpTI	sGK321	sGK321	2002	石家庄市农业科学研究院,中国农科院生物技术所 Shijiazhuang AAS, BRI-CAAS
30	Conventional insecticidal cotton	sGK9708	中棉所 41ZMS 41	2002	中国农科院棉花所,
31		sGK9822	中棉所 45ZMS 45	2003	中国农科院生物技术所
32		SGK 中-BZ12 SGK Zhong-B212	中棉所 51(棕色) ZMS 51(Brown)	2005	CRI-CAAS, BRI-CAAS
33		中 501Zhong 501	中棉所 58ZMS 58	2006	
34		sGK3	国欣棉 3GXM 3	2006	河间市国欣农村技术服务总会, 中国农科院生物技术所, 北京市国欣科创生物技术有限公司 Guoxin Rural Technical Service Association(Hejian) , BRI-CAAS, Beijing Guoxin Kechuang Biotech. Co.
35		鲁 272 Lu272	鲁棉研 28LMY 28	2006	山东棉花研究中心,中国农科院生物技术所 Shandong cotton research center, BRI-CAAS

续表 3

序号 No.	品种类型 Variety type	安评名称 Safety evaluation name	审定名称 Variety name	国审时间(年份) Authorized time (Year)	育种单位 Breeding company / department / organization
36	双价杂交抗虫棉	sGKz4	中棉所 47 ZMS 47	2004	中国农科院棉花所,
37	Bt + CpTI hybrid	中杂 302 Zhongza 302	中棉所 57 ZMS 57	2006	中国农科院生物技术所 CRI-CAAS, BRI-CAAS
38	insecticidal cotton	sGKz8	银棉 2 YM 2	2005	中国农科院生物技术所, 邯郸农科院,北京银土地公司 BRI-CAAS, Handan AAS, Beijing Yintudi Co.
39		SGKz9	苏杂 3 SZ 3	2005	江苏农科院经作所,中国农科院生物技术所 Jiangsu AAS, BRI-CAAS
40		sGKz21	豫杂 35 YZ 35	2006	河南省农科院棉花油料作物所, 中国农科院生物技术所 Henan AAS, BRI-CAAS
41		sCKz11 (湘 S-26) sCKz11 (Xiang S-26)	湘杂棉 11 XZM 11	2006	湖南省棉花科学所, 北京中农种业有限责任公司, 中国农科院生物技术所 Hunan CRI, Beijing Zhongnong Seeds Co., BRI-CAAS

4 国产抗虫棉的产业化及社会经济效益

4.1 产业化状况

在我国转基因抗虫棉研制成功时,美国抗虫棉已经先期进入中国市场(河北省),1996年和1998年相继成立的冀岱公司和安岱公司,开始了抗虫棉在中国的产业化,并计划在3~5年内占领整个中国市场。虽然我国的抗虫棉技术已经基本成熟,但面临美国的市场竞争,国产抗虫棉起步艰难:第一,我国的抗虫棉技术尚未完全成熟,部分试验数据正在完善和补充,品种选育工作刚刚开始,缺乏足够的竞争力;第二,市场已经不是处女地,需要面对强大的竞争对手;第三,我们缺乏产业化实施经验。但是,国产抗虫棉的发展也具有一系列有利条件:首先,我国政府对国产抗虫棉研究及产业化项目高度重视;其次,在国内与美国的竞争中,我们占有天时、地利、人和等有利条件。在这样的背景下,为促进我国棉花产业的发展,减轻我国广大棉农负担,避免我国的棉花种植业受制于跨国企业,在国家的大力支持下,国产抗虫棉开始了产业化。

在国家项目的带动下,抗虫棉的多元化产业化合作网络建成并不断地巩固和发展。1999年国产抗虫棉开始大面积推广,当年种植面积约

6万 hm^2 ,仅占国内抗虫棉份额的7%左右,市场基本是美国抗虫棉的天下。之后,随着国产抗虫棉技术的日趋成熟,国产抗虫棉发展迅速,其市场份额的增长率连续7年超过10%。至2006年,国产抗虫棉年推广面积近300万 hm^2 ,占国内抗虫棉市场份额的82%左右(见表4和图5)。从1999年至2006年,国产抗虫棉累计推广种植1130万 hm^2 。国产抗虫棉在国内市场上,成功地打破了美国的垄断,极大地保护了民族的利益。

随着国产抗虫棉研制技术越来越成熟,中国抗虫棉优良的抗虫性和突出的综合性状已引起了各产棉国尤其是东南亚各国的关注。印度、巴基斯坦、乌兹别克斯坦、越南、缅甸、菲律宾、巴西等产棉国的政府官员和专家纷纷来华考察。2001年10月,在第三届高交会上,“中印合作转基因抗虫棉新品种研究与产业化”项目得以签署,中国单价抗虫棉正式走进印度,走向国际市场。目前,印度已经审定了3个含有*GFM CryIA*抗虫基因的转基因棉花品种。另外,巴基斯坦、菲律宾、越南等国也已与有关单位签订了合作意向书。中国抗虫棉走出国门,进入国际市场并参与国际竞争的时机已经成熟。

4.2 产业化及社会经济效益

在美国孟山都公司的抗虫棉进入中国市场

表 4 国产抗虫棉历年推广种植情况表

Table 4 Planting area of Chinese insecticidal cotton in the past years.

年份 Year	国产抗虫棉面积(10^3 hm^2) Chinese insecticidal cotton area(kilo-hm ²)	抗虫棉总面积(10^3 hm^2) Total insecticidal cotton area(kilo-hm ²)	国产抗虫棉市场份额 Chinese insecticidal cotton market share (%)
1999	60	880	7
2000	320	1 800	18
2001	700	2 340	30
2002	1 320	2 750	48
2003	1 600	3 060	52
2004	2 080	3 330	62
2005	2 300	3 150	73
2006	2 960	3 600	82
累计 Accumulated	11 340	20 910	

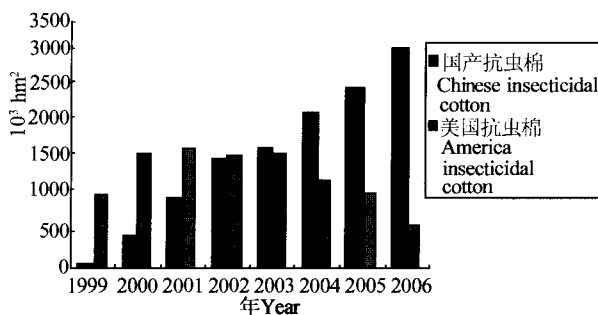


图 5 中国抗虫棉市场发展状况

Fig. 5 Market development of insecticidal cotton in China.

后,中国抗虫棉的迅速崛起打破了国外公司垄断中国市场、攫取高额利润的企图,有效地保护了国家和棉农的利益,具有非凡的意义。在国家的大力扶持下,经过数年的时间,国产抗虫棉产业化迅速崛起。2006年,国产抗虫棉的种植面积已经占到全国抗虫棉面积的82%,以绝对优势占据了国内抗虫棉市场。在国产抗虫棉实现产业化的过程中,共培训棉农2000多万人次,提高了农民对现代农业高新技术的认识和棉农的科学素质,受益农户累计超过3000万户,真正体现了文章写在大地上、成果受益千万家的科学精神。

无论对于棉农还是棉种生产经营单位,抗虫棉产业化所带来的经济效益均十分巨大。

据中国科学院农业政策研究中心2002年在河北和山东两省的一项专项调查表明,种植国产转基因抗虫棉每生长周期平均可减少农药喷施13次,抗虫棉田平均减少农药用量22.5 kg/hm²。

此外还显著减少了植棉用工投入。据统计,种植抗虫棉增收节支约2100元/hm²,至2006年国产转基因抗虫棉累计种植面积达到1134万hm²,累计减少农药用量25.5万t,为棉农增收节支超过238亿元。

目前,在国内市场,普通棉种价格为4~8元/kg,美国抗虫棉种价格为42元/kg左右,而国产抗虫棉种价格适中,为20~30元/kg。尽管抗虫棉种子价格高出普通棉许多,但仍深受农民喜爱,相当一部分棉区的棉农基本上非抗虫棉不种。按全国抗虫棉播种年平均面积360万hm²,国产抗虫棉推广种植率80%、平均每hm²用种量15kg计算,全国每年国产抗虫棉种的市场需求约5400万kg。按照国产抗虫棉的平均价格,抗虫棉产业的销售总额每年可达到13.5亿元;按照普通棉价格6元/kg,抗虫棉价格25元/kg计算,抗虫棉种的技术附加值为19元/kg。生产经营抗虫棉种相对于普通棉每年所增加的总经济效益约10.26亿元。因此,推广抗虫棉具有巨大的经济效益。

另外,如果按照种植抗虫棉平均减少化学农药使用量22.5 kg/hm²计算,全国国产抗虫棉年种植300万hm²,每年可减少杀虫剂用量6.75万t左右。在抗虫棉产业化之前,全国各棉区棉农因长期使用高毒农药杀虫造成中毒及死亡事故经常发生,而且,棉田农药残留非常高,严重破坏了农田生态环境。因此,国产抗虫棉的广泛种植,在减少农药使用量,保障人民身体健康,减少环境污

染,保护生态环境,实现农业可持续发展等方面具有重大的社会、生态和经济效益。

5 研究启示

国产单价抗虫棉的研制成功,使中国成为继美国之后独立自主研制成功抗虫棉的第二个国家,并享有我国自己的知识产权。此举打破了美国抗虫棉的垄断,保护了民族利益,提升了我国农业高新技术的国际竞争力。国产双价抗虫棉的培育成功并进入产业化,使我国在研制抗虫棉领域步入了国际先进行列。国产融合抗虫棉的研制成功进一步巩固了我国在研制抗虫棉领域的国际地位。作为国内第一个利用分子育种方法成功培育出的转基因作物新品种,也是国内大面积实现产业化的转基因作物第一例,国产抗虫棉的成功之路带给了我们多方面启示。

5.1 国家重视、项目扶持

国产转基因抗虫棉的研究于1988年开始启动,1991年被列为国家“863”重大关键技术项目,之后相继受到中华农业科教基金、农业部发展棉花专项资金、科技部转基因农作物产业化专项、财政部基础条件建设项目、国家计委产业化项目等国家重大项目的资助。而且,在国家项目的带动下,各级地方政府财政也积极参与,如省农业厅、财政厅、科技厅的良种产业化开发项目,省攻关项目等。同时,国产抗虫棉的产业化十多年来一直受到中央领导、省部领导、地方及单位领导的高度重视,专家及新闻界朋友的大力支持。

5.2 突出创新、精诚合作

国产抗虫棉的研制与产业化涉及上游的功能基因研究、载体构建与植物转化,中游的新品种培育以及下游的产业化开发三个主要环节,在其10多年的发展中,上游单位不断创新,在单价Bt转基因抗虫棉的基础上,发展了双价及融合转基因抗虫棉;中游单位能够进行高效率的遗传育种,目前国内每一个植棉区都有其适应的审定品种;下游单位承担国产抗虫棉的产业化,已经在江苏、安徽、山东、山西、湖南、湖北、河南、河北、辽宁、新疆、陕西、海南等省区建立了繁种育种、种子加工、质量检测基地和产业化企业,覆盖了我国黄河流

域和长江流域主产棉区。上游将具有原始创新的抗虫棉资源材料提供给中游育种,中游将农艺性状优良的抗虫棉新品种提供给下游产业化,下游则实现科技向生产力的转变。这种上、中、下游精诚合作、以企业为主实现产业化的模式形成了具有中国特色的转基因抗虫棉研究与开发体系,也为我国今后转基因植物的研、育、繁、推和产、供、加、销,将高科技成果快速实现产业化探索出了一条新途径。

6 抗虫棉研究展望

我国抗虫棉的研究已经达到了国际先进水平,在国际上具有了一定的影响。但同时也面临着激烈的国际竞争。如果我们仅满足于此,必然会逐渐落后并在竞争中被淘汰。因此,在我国抗虫棉研究的基础上应继续在广谱和长效抗虫、抗病、抗除草剂、抗逆、提高附加值以及突破育种技术手段等方面开展广泛深入的研究,不断提升我国转基因抗虫棉研究的整体水平。

6.1 转基因抗虫棉的深化研究

国产转基因抗虫棉虽然已经实现了大规模产业化,但仍存在一些有待解决的问题。例如所有的抗虫棉都存在后期抗虫性下降的难题,抗虫棉抗虫性单一的问题以及棉铃虫可产生抗性的风险等。有针对性地提高后期某些组织器官的抗虫性、拓宽现有抗虫棉的抗虫谱、克隆新型高效杀虫蛋白基因等可让抗虫棉较长期地造福于人类。

6.2 抗虫棉的其他抗性研究

病害、草害等生物逆境以及干旱、淹涝、盐碱等非生物逆境均是阻碍我国棉花生产进一步发展的因素。通过基因工程技术进行抗病、抗除草剂、抗旱、耐盐等转基因棉花研究,对我国棉花的持续稳步发展具有重大意义

6.2.1 抗虫棉的抗病研究 棉花枯黄萎病是影响棉花产量和品质的重要病害,尤其是黄萎病,被称为“棉花癌症”。有研究报道2003年我国棉花黄萎病流行的面积达320万 hm^2 ,而由此引起的皮棉减产达2.3亿kg,直接损失27.6亿元。由于陆地棉本身缺乏抗黄萎病资源,通过常规育种方法难以找到解决途径。借助基因操作手段,克隆

高效抗病基因的生物技术育种方法,或通过诱变育种、远缘杂交育种结合分子标记的育种方法,有望最终攻克棉花黄萎病。

6.2.2 抗虫棉的抗除草剂研究 早在 20 世纪末,国外就已经大面积商业化种植抗除草剂的转基因棉花。我国由于棉田较分散,对抗除草剂转基因棉花的需求相对较弱。但随着我国棉花区域化种植结构的调整,农村剩余劳动力向城市的转移,抗虫抗除草剂转基因棉花的育种及产业化研究显得日益重要。

6.2.3 抗虫棉的耐盐碱研究 我国盐碱地总面积约有 3 000 多万 hm^2 ,其中滨海宜棉区有近 1 000 万 hm^2 盐碱地。粮食作物无法在盐碱地种植,而棉花具有一定的耐盐性。据测算,滨海盐碱地可扩大植棉面积 130 多万 hm^2 。通过基因工程的方法,进一步提高棉花的耐盐性,可充分利用盐碱地,开发新的植棉区域,有效缓解因耕地不足而引起的粮棉争地矛盾。

6.2.4 抗虫棉的抗水分胁迫研究 棉花由于生长季相对较长,干旱(主要指北方棉区)、淹涝(主要指南方棉区)等水分胁迫对其产量和品质影响较大。而且,由于水资源紧缺等因素的影响,棉区面积有缩小的趋势。开展抗旱、耐涝转基因棉花研究,不仅可以保障棉花产量和品质不因水分胁迫而下降,还可以开垦新疆、河套地区及华北地区等干旱地区作为新的棉区,可扩大植棉面积 200 万 hm^2 左右。

6.3 抗虫棉的育种技术研究

我国人多地少,土地资源不足是个刚性问题。利用现代育种技术,培育高产、优质、早熟抗虫棉,提高土地资源利用效率是棉花育种的基本目标,也是现代农业发展的方向。

6.3.1 三系杂交抗虫棉育种研究 棉花具有明显的杂种优势,常规杂交种可提高 15% 左右的产量。由于其突出的产量优势,近几年来推广规模已占到我国植棉面积的 15% 左右。但其制种过程耗工多、成本高,制种规模受到限制,且纯度难以保证,常规杂交棉的种植比例缺乏进一步上升的空间。

三系配套技术在抗虫杂交棉上的应用可解决制约常规杂交棉发展的瓶颈问题。三系杂交棉品

种具有比常规品种增产 20% ~ 40% 的产量优势,同时有利于实现多个有利基因性状的聚合,并利于产业化的实现。目前我们实验室已经在国际上率先创建了高产量、高纯度、高效率、大规模、低成本、能够直接应用的转抗虫基因三系杂交棉分子育种新体系,并利用此体系成功地培育出通过国家审定的比对照“中棉所 41”平均增产 26.4% 的三系杂交抗虫棉新品种“银棉 2 号”。三系杂交抗虫棉分子育种体系的建成是棉花育种上的重大突破,居国际领先水平^[24,25]。随着我国棉纺工业的持续快速发展,皮棉供需失衡状况的加剧,大力加强抗虫三系杂交棉的研究与开发,降低杂交棉种植成本、扩大杂交棉种植面积从而增加我国皮棉总产具有积极的现实意义。

6.3.2 优质抗虫棉育种研究 我国棉花产量位居世界前列,大约占世界棉花总产量的四分之一。但我国优质的棉花产量很低,缺口达 90% 以上,因此我国棉纺织业每年仍需大量进口国外的优质棉花。开展棉花品质相关基因和分子标记辅助选择等研究,争取在优质抗虫棉育种研究方面取得突破。

6.3.3 早熟抗虫棉研究 因为棉花生长发育后期气候条件复杂多变,生育期相对较短有利于保障棉花的产量和品质。而且,开展生育期在 105 d 左右的超早熟抗虫棉育种研究,可以实现麦收后种植棉花,提高复种指数,充分利用土地资源。

6.4 抗虫棉的附加值提升研究

棉花的副产品棉籽因为含有棉籽酚,不适合人类食用,因此长期以来,人们普遍弃用棉籽,或者只简单加工,榨取棉籽油后把剩余粗粉制成动物饲料和肥料使用。现代基因工程技术不仅可以改变棉籽油的成分,使不饱和脂肪酸含量增加而提高其营养价值,还可以降低棉籽中棉酚含量,使其仅含微量甚至不含棉酚,这样,棉籽中含有的 23% 的蛋白质可以作为人类蛋白质的来源。全球每年产出棉籽约 4 400 万 t,转基因棉籽可食用后,每年有望满足全球 5 亿人口的蛋白质需求。

21 世纪是生命科学和生物技术的世纪。生命科学和生物技术不断取得的重大突破,正在成为新的科技革命的重要推动力,生物经济将在提高人民健康水平、保障粮食安全、缓解能源压力、

改善生态环境、保障国家安全以及提高综合国力等方面发挥重要的、不可替代的作用。转基因植物的研发和产业化正在迅猛发展。从1996年至2006年,种植转基因植物的国家从6个增至22个,另有29个国家已批准种植转基因植物的法规。现全世界累计种植转基因植物的面积超过5.77亿 hm^2 ,2006年,仅美国已超过5000万 hm^2 。累计减少杀虫剂超过24万t,对环境污染和破坏力指数下降了15%以上。累计净收益超过2880亿人民币(360亿美元)。由此可见,加速转基因植物的研发和产业化,已成为现代农业发展的重要方向。我国转基因抗虫棉的研究和产业化所取得的成绩是在政府、科研单位和企业多方面共同的努力下所取得的。作为传统的农业大国,我们应该重视国产抗虫棉研究和产业化发展过程中所积累的经验。政府、科研单位和企业共同努力,三方联动,密切配合,继续推进国产抗虫棉的深化研究和产业化发展工作。抓住实现中华民族伟大复兴的历史机遇,通过抗虫棉产业的发展,从整体上带动我国转基因农作物产业的迅速崛起。

参 考 文 献

- [1] Vaeck M, Reynaerts A, Hofte H *et al.*. Transgenic plants protected from insect attack [J]. *Nature*, 1987, 328: 33-37.
- [2] Fischhoff D A, Bowdish K S, Perlak F J *et al.*. Insect tolerant transgenic tomato plants [J]. *Biology Technology*, 1987, 5: 807-813.
- [3] Perlak F J, Deaton R W, Armstrong T A, *et al.*. Insect resistant cotton plants [J]. *Biology Technology*, 1990, 8: 939-943.
- [4] Lereclus D, Guo S D, Sanchis V, *et al.*. Characterization of two *Bacillus thuringiensis* plasmids whose replication is thermosensitive in *B. subtilis* [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1988, 49: 417-422.
- [5] 郭三堆, 陈学军, 杨虹, 等. 苏云金杆菌 δ -内毒素基因及3'末端缺失基因在大肠杆菌和农杆菌中的亚克隆和表达 [J]. *生物工程学报*, 1991, 7(1): 54-61.
- [6] 郭三堆, 洪朝阳, 王京红, 等. 苏云金芽孢杆菌鲎泽变种7-29杀虫蛋白质结构基因的改造和表达 [J]. *微生物学报*, 1992, 32(3): 167-175.
- [7] 郭三堆. Cry1A杀虫基因的人工合成 [J]. *中国农业科学*, 1993, 26(2): 85.
- [8] 郭三堆. 植物Bt抗虫基因工程研究进展 [J]. *中国农业科学*, 1995, 28(5): 8-13.
- [9] 郭三堆, 倪万潮, 徐琼芳. 编码杀虫蛋白质融合基因和表达载体及其应用 [P]. 1998, 中国专利号: ZL95119563.8
- [10] 崔洪志, 郭三堆. 我国抗虫转基因棉花研究取得重大进展 [J]. *中国农业科学*, 1996, 29(1): 93.
- [11] 毛利群, 郭三堆. Ω 序列和3'poly(dA)长度与基因表达效率的关系 [J]. *植物学报*, 1998, 40(12): 1166-1168.
- [12] 黄其满, 毛利群, 黄卫红, 等. 转人工合成GFM Cry1A基因烟草表现明显杀虫活性 [J]. *植物学报*, 1998, 40(3): 228-233.
- [13] 倪万潮, 张震林, 郭三堆. 转基因抗虫棉的培育 [J]. *中国农业科学*, 1998, 31(2): 8-15.
- [14] 郭三堆, 崔洪志, 徐琼芳, 等. 两种编码杀虫蛋白质基因和双价融合表达载体及其应用 [P]. 2001, 中国专利号: ZL 98 1 02885
- [15] 郭三堆, 崔洪志. 中国转基因抗虫棉研究又取得新进展 [J]. *中国农业科学*, 1998, 31(6): 91.
- [16] 崔洪志, 郭三堆. 双价杀虫基因植物表达载体的构建及其在烟草中的表达 [J]. *农业生物技术学报*, 1998, 6(1): 7-13.
- [17] 郭三堆, 崔洪志, 夏兰芹, 等. 双价抗虫转基因棉花研究 [J]. *中国农业科学*, 1999, 32(3): 1-7.
- [18] 郭三堆, 张锐, 武东亮. 融合杀虫基因 *cryci* 及其应用 [P]. 2005, 中国专利申请号: 200510076823.3
- [19] 夏兰芹, 郭三堆. Bt杀虫基因在转基因双价抗虫棉中的整合与遗传稳定性 [J]. *科学通报*, 2001, 46(7): 565-568.
- [20] Xia L, Guo S. Integration and inheritance stability of foreign Bt toxin gene in the bivalent insectresistant transgenic cotton plants [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2001, 46(6): 1372-1375
- [21] 夏兰芹, 郭三堆. 高温对转基因抗虫棉中Bt杀虫基因表达的影响 [J]. *中国农业科学*, 2004, 37(11): 1733-1737.
- [22] 康保珊, 张锐, 潘登奎, 等. 转基因双价抗虫棉中 *CryIIc* 基因与 *CpTI* 基因的共表达 [J]. *棉花学报*, 2005(17): 131-136.
- [23] 武东亮, 崔洪志, 郭三堆. 融合杀虫基因植物表达载体的构建及转基因烟草的获得 [J]. *中国农业科学*, 2001, 34(5): 491-495.
- [24] 张锐, 王远, 马维军, 等. 抗虫三系杂交棉分子育种技术获重大突破 [J]. *中国农业科学*, 2005, 38(5), 简讯.
- [25] 郭三堆, 张锐, 王远. “转抗虫基因的二系杂交棉分子育种的方法” [P]. 2005, 中国专利申请号: 200510109117.4