



专题与述评

转基因技术在棉花育种上的应用

秦永华, 乔志新, 刘进元*

(清华大学生物科学与技术系, 北京 100084)

摘要:综述了转基因技术在棉花遗传改良中的应用,包括棉花抗病、抗虫、抗除草剂、抗逆以及品质改良等方面的最新进展,并对棉花转基因研究中存在的主要问题和今后的研究与应用前景进行分析和展望。

关键词:棉花;转基因;棉花育种

中图分类号:S562.035 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2007)06-0482-07

Application of Genetic Transformation in Cotton Breeding

QIN Yong-hua, QIAO Zhi-xin, LIU Jin-yuan*

(Department of Biological Sciences and Biotechnology, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: Great advances have been made in cotton genetic transformation since the first transgenic cotton plant was obtained in 1987. Transgenic cotton for insect and herbicide resistance was obtained in the early years of 1990. Insect control protein genes of Bt, *PI* and *lectin* in cotton plants at levels that provided effective control of agronomically important *lepidopteran* insect pests. Weed control based on the application of herbicides to transgenic cotton crops has also been shown to be practical and useful. Thus, transgenic cottons have been generated using *aroA*, *BXN*, *tfda*, *AHAS* and *PAT* genes. Being low cost, high efficiency and environmental safety, transgenic cotton with Bt gene and anti-weedicide has been large-scale commercially applied and have brought great economic and social benefit to the world. Cotton is susceptible to biotic and abiotic stresses which prevent the development of cotton industry. In recent years, several disease resistance and salty tolerance genes have been transferred into cotton, such as *GO*, *Chi*, *Glu* gene and *MnSOD*, *ipt*, *betA* gene. However, most of these genetically modified cottons were not commercially applied due to their low effective to diseases and stresses. To make cotton fiber more versatile for textiles, there is a need to improve not only its strength and length but also its dye binding, thermal, wrinkle and shrinkage resistance properties. Cotton has been transformed for fibers having longer length, more tensile strength, colored and better insulating characteristics using genes of rabbit keratin, silkworm fibroin, *acsA*, *acsB*, *phaB* and *phaC* to meet the demands for textile industry and taste for better clothing. Transgenic cotton researches for improving insect resistance, herbicide resistance, disease resistance, stress tolerance and fiber quality modification are presented. Meanwhile, an assessment of performance of transgenic cotton and its potential in cotton genetic transformation are prospected.

Key words: *Gossypium hirsutum* L.; genetic transformation; cotton breeding

常规杂交育种技术在提高棉花产量、抗病和纤维品质等方面取得了一些进展,并获得了可观的经济效益,但由于棉花产量与品质之间为遗传负相关,单纯依靠常规育种技术在较短时间内大幅度同步改良棉花纤维品质与产量相当困难。基因工程的发展为打破这类不良连锁提供了机遇,它可以有目的、有计划地向棉花引入优良性状而无需改变它原有的其它特性,使棉花品种改良具有定向性和预见性,从而实现品质与产量同步改良。通过转基因技术将外源基因导入棉花是增强其抗虫、抗除草剂、抗逆境、抗病能力,提高棉花产量和改良纤维品质的有效手段。自从 1987 年 Umbeck 等^[1]人首次报道了利用农杆菌介导法将 *npt II* 基因和 *CAT* 基因导入陆地棉品种珂字 312、310 中以来,棉花基因工程研究进展迅速,并取得了一系列重要研究成果。其中以抗虫和抗除草剂为主要目标的转基因棉花已经在生产上大面积推广和应用,并取得了显著的经济效益和社会效益。结合本实验室的研究工作,对国内外棉花转基因方面的研究现状进行了介绍,并对今后的研究和应用前景进行了讨论。

1 抗虫基因工程

目前应用于棉花的抗虫基因主要有苏云金芽孢杆菌的内毒素蛋白(*Bt* 基因)、从植物中分离的昆虫蛋白酶抑制剂(*PI* 基因)和植物凝集素基因(*lectin*)。

1.1 转苏云金芽孢杆菌的内毒素蛋白基因

Bt 基因是抗虫棉中研究最多、进展最快、应用最广泛的一类基因,它对鳞翅目昆虫有专一杀伤作用。*Bt* 基因的种类很多,但获得转基因抗虫棉的 *Bt* 基因仅有 *Cry1A(b)*、*Cry1A(c)*、*Cry1A* 等少数几种。1990 年, Monsanto 公司的 Perlak 等将未加改造的 *Bt* 基因导入棉花,但因获得的转基因植株杀虫晶体蛋白表达量太低,抗虫效果不明显。他们将 *Bt* 基因改造后导入棉花,发现杀虫晶体蛋白在棉花中的表达量提高了 50~100 倍,占可溶性蛋白的 0.05%~0.1%。田间试验也表明转基因株系对棉铃虫、红铃虫等鳞翅目害虫有较强的抗性,抗棉铃虫能力达 70%~76%,且皮棉的产量高于对照^[2]。此后,谢道昕等^[3]将 *B. t. aizawai* 7-29 和 *B. t. kurstaki* HD-1 的杀虫基因分别导入我国陆地棉品种中,分子检测表明杀虫基因已经整合到棉花基因组中并得到了表达,这

是我国首次报道的转杀虫基因的棉花植株,为获得抗棉(红)铃虫的优良品种资源和发展棉花基因工程抗虫育种的新途径提供了科学基础。1998 年,倪万潮等^[4]将人工合成的 *Cry1A* 杀虫基因导入棉花,获得了高抗棉铃虫的转基因植株,使我国成为第 2 个独立成功研究转基因抗虫棉并拥有自主知识产权的国家,为我国转基因抗虫棉的应用奠定了基础。

Bt 抗虫棉对棉铃虫、红铃虫、玉米螟等害虫有较高的抗性,在减少农药施用、降低生产成本、减轻劳力投入以及增加农民收入等方面都起到显著的作用。转 *Bt* 基因抗虫棉的成功研制与大面积推广和应用,促进了高科技生产商品化趋势,降低了棉农和政府的投资风险,取得了显著的生态、社会和经济效益。

1.2 蛋白酶抑制剂基因的转化

蛋白酶抑制剂(*PI*)是自然界最为丰富的蛋白之一,是一种天然的杀虫物质,与 *Bt* 基因相比,由于其具有抗虫谱广,安全性高和害虫不易产生抗性等优点而广泛用于抗虫基因工程。目前应用于棉花的 *PI* 基因主要是豇豆胰蛋白酶抑制剂(*CpTi* 基因)和慈菇蛋白酶抑制剂(*API* 基因)。李燕娥等^[5]和陈宛新等^[6]分别将 *CpTi* 基因和修饰过的 *CpTi* 基因导入棉花,获得的转基因植株后代对抗棉铃虫具有明显的抗性。*API* 对多种蛋白酶具有抑制活性,其抗虫能力优于 *CpTi* 基因。Thomas 等^[7]将 *API* 基因导入棉花,获得了表达 *API* 基因的抗虫棉,用转基因棉花叶片饲喂白粉虱能降低成虫的羽化率。转蛋白酶抑制剂基因棉花的获得,使棉花的抗虫范围和抗虫能力有了新的扩展。但由于 *PI* 基因往往需要大量表达才能产生明显的抗虫效果,因而转 *PI* 基因棉还没有在生产中得到推广和应用。

1.3 转双价抗虫基因

Bt 杀虫蛋白和 *PI* 具有协同增强作用,将二者同时转入棉花中,可成倍提高抗虫效果。1999 年,郭三堆等^[8]将人工合成的 *GFM Cry1A* 和经过修饰的 *CpTi* 高效双价杀虫基因导入陆地棉品种,首次获得了双价转基因抗虫棉株系。抗虫鉴定表明,抗性好的株系棉铃虫幼虫校正死亡率大于 96%。而郭洪年等^[9]将 *Cry1Ac+API-B* 基因导入棉花,获得了抗棉铃虫 90.0%~99.7%且农艺性状优良的 9 个双价抗虫棉纯合品系。活性 *Cry1Ac* 和 *API-B* 蛋白在转基因抗虫棉株系中的

表达量分别约占总可溶性蛋白的 0.17% 和 0.09%，且双抗纯合系植株的抗虫性明显高于仅转 Bt 基因的。蝎毒是一种富含生物活性的多肽物质，其中有一类神经毒素专一作用于昆虫而对哺乳动物无害或毒性很小。将东亚钳蝎昆虫特异性神经毒素基因 *BmKITS* 与几丁质酶基因构建双价抗虫基因导入棉花后，获得的转基因棉花具有抗虫特性^[10]。

我国转双价抗虫棉棉花的研究已开展多年，并获得双价转基因棉花。试验表明，双价抗虫转基因棉抗虫效果显著，现已开始大面积试种示范。转双价抗虫棉的研制成功，对减少农药施用，保护人类赖以生存的环境，实现农业可持续发展，将产生巨大而深远的影响。

1.4 植物凝集素基因的转化

棉蚜是棉花的另一个主要害虫，随着抗棉铃虫转基因棉花的普遍种植，棉蚜的危害逐渐加重。因此，利用转基因技术获得抗蚜棉花品种已成为棉花抗虫育种的新课题。植物凝集素是一类具有特异糖结合的活性蛋白，有些具有抗虫性，特别是对蚜虫等同翅目害虫有极强的抗杀作用。将来源于小麦胚芽凝集素基因导入陆地棉后，转基因 T₂ 代能显著抑制棉铃幼虫和棉蚜的生长发育^[11]；而将 *Bz*+*GNA* 双价基因导入棉花后，获得的转基因株系对棉铃虫和棉蚜有较好的抑制效果^[12]。菊芋凝集素基因对棉蚜也具有一定的抗性，用菊芋凝集素 *HTA* 基因和尾穗苋凝集素 *ACA* 基因转化棉花，获得的转化植株对蚜虫有明显抗性^[13]。目前，国内外的研究者已开始这方面的工作，并获得了转基因植株^[14]，可望在不久的将来培育出抗蚜棉花新品种。

2 抗除草剂基因工程

棉田杂草种类繁多，给棉花生产造成严重干扰，而由于棉花不含抗除草剂基因，所以把外源抗除草剂基因转入棉花，使棉株对某种除草剂具有抗性，对棉花生产意义重大。棉花中成功应用的抗除草剂基因是：抗草甘膦 (glyphosate) 基因、抗溴苯腈 (bromoxynil) 基因和 2,4-D 单氧化酶基因 (*tfda*)。

2.1 抗草甘膦基因的转化

草甘膦是目前应用最广泛的一种非选择性广谱除草剂，它特异性地抑制植物和细菌中草莽酸羟基乙烯转移酶 (EPSPs) 的活性。1989 年，

Deaton 等^[15]将编码异构 EPSP 草甘膦合成酶基因 (*aroA*) 转入棉花，选育出抗草甘膦除草剂的转基因棉花。经过连续三代的研究，发现该基因以单拷贝方式整合到棉花基因组中，且遵循孟德尔的遗传分离规律。随后，Monsanto 公司的 Nida 等^[16]也获得了抗草甘膦除草剂的转基因棉花。而 Keller 等^[17]将来自链霉菌属的 *Bar* 基因分别导入棉花品种后，获得了可抗高达 15 g·kg⁻¹ 除草剂的 Basta@转基因株系。谢龙旭等^[18]将抗草甘膦突变基因 (*aroAM12*) 导入棉花品种，获得的转基因棉花对草甘膦具有较强的抗性。分子检测证实，*aroAM12* 基因整合到棉花基因组中并得到有效表达。

2.2 转 2,4-D 单氧化酶基因

2,4-D 是一种激素型除草剂，通过干扰植物细胞分裂的速率达到除草目的。2,4-D 是一种非常稳定的化合物，但它能被微生物中的 2,4-D 单氧化酶 (*tfda*) 所降解。棉花对 2,4-D 非常敏感，将微生物中分离出的 *tfda* 基因转入棉花后，可大大提高棉花对 2,4-D 的抗性。目前，国内外均获得了一些抗 2,4-D 的棉花品系。1992 年，Bayley 等^[19]首先把 *tfda* 基因导入棉花中，获得了能稳定遗传并表达的转基因棉系。而 Lyon 等^[20]将 *tfda* 基因导入棉花中，获得的转基因 T₁ 代植株对 2,4-D 的抗性比对照增加了 50~100 倍。1994 年，我国陈志贤等^[21]将 *tfda* 基因导入晋棉 7 号，抗性试验表明，转基因后代可耐 0.08% 以上 2,4-D，超过一般大田使用浓度水平。估计不久的将来，可以获得抗 2,4-D 的棉花新品种或新种质。

2.3 转溴苯腈水解酶基因

溴苯腈是除草剂 Buctril 的活性成分，通过抑制植物的光合作用中的电子传递发挥除草效能。抗溴苯腈的转基因棉是第一个在美国大面积种植的转基因作物。1989 年，Fillatti 等^[22]将编码溴苯腈的水解酶基因 *BXN* 转入棉花中，田间试验表明转基因植株仍能正常生长。棉花对除草剂咪唑啉酮也非常敏感。Grula 等^[23]和 Rajasekaran 等^[24]分别将乙酰羟酸合酶 *AHAS* 基因和磷丝菌素蛋白乙酰转移酶 *PAT* 基因导入陆地棉中，分子检测证实该基因已导入棉花基因组中并得到表达；抗性后代用平常使用 5 倍浓度的除草剂咪唑啉酮喷洒仍能正常生长。

抗除草剂棉花的选育成功并在生产上大面积应用，给棉花生产带来一场新的变革，育成一系列

转抗除草剂基因棉花新品种,并在生产上大面积应用,可取得良好的生态和经济效益。

3 抗病基因工程

棉花病害严重,尤其是黄萎病和枯萎病两种土传真菌性病害,根治非常困难,是棉花生产的主要障碍。目前,应用在棉花抗病基因工程中的基因主要有几丁质酶(Chi)、 β -1,3-葡聚糖酶(Glu)、葡萄糖氧化酶(GO)等外源抗病基因。

3.1 几丁质酶基因和 β -1,3-葡聚糖酶基因

几丁质酶(Chi)和 β -1,3-葡聚糖酶(Glu)是植物防御体系中的两种防卫因子,两者之间存在协同增效作用。为了提高棉花的抗枯萎病的能力,刘桂珍等^[25]和程红梅等^[26]先后将构建的 Chi 和 Glu 嵌合双价基因导入棉花,已选出对枯萎病抗性提高的转基因棉花株系。吴家和等^[27]将维管束特异启动子启动的 Chi 和 CaMV 35S 启动的 Glu 嵌合基因导入陆地棉品种,获得 3 个高抗黄萎病的转基因纯合系。

3.2 葡萄糖氧化酶基因的应用

葡萄糖氧化酶(GO)用于防治土传性病害的主要机制是通过该酶催化 β -D-葡萄糖氧化成葡萄糖酸和 H_2O_2 。生成的 H_2O_2 可直接诱发植物的抗病反应或作为抗菌剂,也可以作为第二信使诱导植株系统抗性的形成。将 GO 基因导入棉花后,转基因株系对抗黄萎病的抗性明显提高^[28];而刘慧君等^[29]将 GO 基因导入感病品种新陆早 7 号,获得的转 GO 基因棉对立枯病和枯萎病等苗期病害,以及炭疽病、黑果病、疫病等铃期病害的抗性有明显提高,并且转 GO 基因棉株型变矮、果柄变长、单株成铃数多和纤维品质明显提高等农艺性状变化。这表明 GO 基因是一种具有良好应用前景的广谱性基因,对棉花黄萎病育种有着非常重要的意义。

4 抗逆境基因工程

近年来,国内外围绕棉花抗盐性、抗旱衰等方面开展了一些研究,并取得了一定进展。研究发现,抗氧化酶如谷胱甘肽还原酶和超氧化物歧化酶的活性与逆境胁迫关系密切。Payton 等^[30]将锰超氧化物歧化酶 MnSOD 基因导入棉花,转基因棉花能表达叶绿体定位的 MnSOD,叶片中的 SOD 的活性增加了 3 倍,并且谷胱甘肽还原酶和抗坏血酸还原酶的活性也相应增加。沈法富

等^[31]将抗盐碱罗布麻 DNA 导入鲁棉 6 号,育成了两个耐盐碱品系“91-11”和“91-15”,在含盐量为 0.51% 的滨海盐碱地种植,其皮棉产量分别比受体鲁棉 6 号增产 191.7% 和 237.8%。根系是植物吸收水分和养分的主要器官,是决定植物生长状况和早衰与否的关键之一。将菜豆种子特异表达的蛋白启动子(Ph/P)调控的 *ipt* 基因导入棉花,发现转基因棉植株根系更加发达,同时转基因株系种子的细胞分裂、次生根数目和纤维长短发生了明显的变化^[32]。植物在逆境胁迫下积累甜菜碱,而来自大肠杆菌的 *betA* 基因编码胆碱脱氢酶能催化胆碱形成甘氨酸甜菜碱。吕素莲等^[33]将胆碱脱氢酶基因 *betA* 和突变的乙酰乳酸合成酶 *als* 基因导入到 3 个棉花优良品种中,获得了耐盐性明显提高的转基因植株及其子代,为棉花耐盐育种创造了优异材料。虽然棉花抗逆基因工程获得了一些进展,然而由于缺乏高抗的陆地棉种质,再加上受诸多外界因素的影响,其进展比较缓慢,还不能满足生产的需求。

5 纤维品质改良基因工程

5.1 增加纤维强度和长度

在棉花纤维中表达 Endoxyoglucan 转移酶、过氧化氢酶和过氧化物酶基因,可以提高棉花纤维初生壁的交联度和棉花纤维的强度,同时也可提高纤维的长度和整齐度,并且转基因棉花纤维品质明显优于对照^[34]。Richter 将编码 Val-Pro-Gly 重复单元的蛋白聚体基因(PBPs)导入棉花中,获得的转基因棉纤维细胞特异表达出 PBPs 蛋白,转基因棉纤维的弹性和比强度得到改善^[35]。May 和 Wofford^[36]将一种纤维改良基因和 GUS 报告基因导入陆地棉品种 DP50 中,对转基因后代的检测结果表明,大多数 GUS 阳性株的棉纤维比强度比非转基因对照增加 30%~70%。

动物毛发由角蛋白组成,利用转基因技术将动物角质蛋白基因导入棉花,是培育优良纤维棉花品种的一种快速高效的方法。1999 年,上海世华植物基因工程有限公司与中国科学院上海植物生理研究所合作,将兔毛角蛋白基因导入棉花,成功获得转兔毛角蛋白基因棉,这标志着我国利用基因工程改良棉纤维获得了创新性的突破。张震林等^[37]将棉纤维特异表达启动子 E₁ 驱动的蚕丝芯蛋白基因导入陆地棉中,发现转基因棉 T₁ 和 T₂ 代的纤维比强度分别比对照提高了 21% 和

23.3%。随后,他们又将E₆启动子驱动的兔角蛋白基因导入陆地棉中,转基因棉的比强度有较大幅度提高,平均比对照提高6.3 cN·tex⁻¹。而赵丽芬等^[38]将兔毛角蛋白基因导入到sGK321双价抗虫棉中,与对照相比,转化后代纤维长度增加3.3 mm,整齐度增加2.1%,比强度提高6.0 cN·tex⁻¹,其它指标也都有不同程度的提高,为选育超优质纤维棉花新品种打下基础。革兰氏阴性菌木醋杆菌合成一种由纤维素微纤丝组成的胞外带状物,与高等植物纤维素相比,它具有独特的结构和机械性能。将纤维素合成操纵子acsA和acsB基因导入棕色棉,转基因棉花纤维的比强度和长度比对照高15%,纤维素的含量比对照高7.06%,而细度比对照低11.76%^[39]。有“生物钢”之美誉的蜘蛛牵引丝是由蜘蛛主壶腹腺产生的一种蛋白质纤维,它将高抗张强度和高弹性奇妙地结合于一身,是自然界力学性能最优良天然蛋白质纤维。本实验室按照棉花密码子偏爱性规律,合成了3个牵引丝蛋白基因,分别构建了棉纤维特异启动子E₆调控的蛛丝蛋白基因表达盒,用农杆菌介导法已成功导入了陆地棉冀棉14中,目前正在进行转基因棉花纤维品质测定。转动物角质蛋白、蚕丝芯蛋白、兔角蛋白和蛛丝蛋白等基因棉的获得不仅为棉花纤维品质的基因工程改良奠定了理论基础;还为棉花纤维品质育种提供新的材料,具有重要的理论和实践意义。

5.2 增强纤维的保暖性

聚β-羟基丁酸(PHAs)是一种脂肪族热塑聚酯,具有热塑性好、可被微生物完全降解的特性,被认为是最好的无污染性塑料原料。1996年,John和Keller将纤维特异启动子E₆驱动的phaB基因(乙酰CoA还原酶基因)和phaC基因(PHA合成酶基因)导入陆地棉中,phaB和phaC基因在棉花纤维中特异表达,在棉花纤维中积累聚羟基丁酸,改善了棉花纤维的保暖性能。热学性质分析表明,转基因纤维的吸收率比对照纤维高11.6%,导电性比对照低6.7%,而隔热性因PHB基因的存在而明显提高^[40-42]。同年,Rinehart等^[43]也获得了表达PHB基因的棉花转基因植株。这些研究显示转PHB基因棉纤维在制作地毯和冬衣方面潜力很大,同时向世人展示了利用转基因技术改良棉纤维品质的良好前景。

5.3 改变纤维颜色的重组棉花

转基因彩色棉的出现可以免去漂白、染色等

过程,既对人体健康有利,也减轻了纺织过程的环境污染,并不同程度地满足了人们对彩色棉的需求,具有广阔的开发利用前景。有色纤维性状受不完全显性单基因的控制,目前还没有克隆出棉花自身调控颜色的基因,棉花纤维颜色的改良主要依赖棉花以外的外源基因。1987年,Calgene公司将番茄胚珠特异表达启动子pZ调控的合成黑色素melanin基因导入到棉花中,获得了产生深褐色或黑色纤维的转基因棉花^[44]。McBride等^[44]将纤维特异启动子调控的抗生链霉素菌TyrA和ORF438基因导入棉花基因组中,获得了色泽深度不同的棉花纤维。同样,他们将来源于大肠杆菌的Tna和来源于红球菌的Pig基因导入棉花中,获得了浅蓝色棉纤维。

6 存在的问题和建议

尽管转基因棉花育种已取得很大的成就,但仍存在着一些问题。主要表现在:1)周期长。棉花再生植株的获得需要经过愈伤组织的诱导和增殖、胚状体的发生、胚的萌发和生根成苗等复杂阶段,而且每一阶段都需要特定的条件;转化植株经检测确定后,还需要进行大田试验和有用性状的遗传性鉴定才能推广和生产,这需要很长时间。2)转化效率低。基因型是影响农杆菌转化率的一个重要因素,由于受基因型限制再加上外源基因的导入降低了棉花愈伤组织的诱导率和分化率。目前,棉花遗传转化以Coker棉系最为成功,而其它大部分品种的转化率都较低,这一问题在很大程度上影响了棉花转基因技术的发展。3)缺乏有重要应用价值的目的基因。由于棉花具有多倍性,遗传背景复杂,重要性状常受多基因控制,不易分离到有价值的目的基因。目前棉花遗传转化中所应用的基因很少来自棉花基因组本身,而与产量、品质等相关基因的分离及转化研究尚处于起步阶段。4)抗黄萎病育种进展缓慢。由于缺乏黄萎病抗源,且致病机理复杂,因此直到现在还没有育成高抗病的棉花品种。5)转基因棉的安全性。转基因棉可能存在潜在的生态风险,比如抗虫转基因棉花大面积的推广和应用可能导致对非靶标生物产生伤害、标记基因水平转移和抗虫基因漂移等。随着转基因抗虫和抗除草剂棉的不断产业化,其安全性问题已成为公众关注的焦点。

未来的研究应着重在以下几个方面:1)完善

棉花的转化体系,提高转化效率。广泛收集不同基因型的棉花种质资源,选用容易再生的基因型进行遗传转化,进一步探讨影响棉花转化效率的各种因素,建立高效、稳定而且对基因型不严格的遗传转化体系。2) 努力拓宽目的基因范围,全方位对棉花进行改良。除应加强转基因技术的研究外,还应加快棉花目的基因的分离与克隆研究^[45],拓宽种质资源和转基因目标性状的研究领域,以改良棉纤维品质及其它经济性状。3) 重点开展抗黄萎病棉花新品种的培育工作。需进一步加强转基因理论和技术研究,培育抗黄萎病的棉花新品种;与常规育种技术相结合,将具有抗病基因的棉株系与综合形状优良的常规品种杂交和回交,选育集抗病性好、产量高、适应性强、纤维品质好等于一体的转基因新品种,从根本上解决黄萎病的危害。4) 制定合理的育种策略。在进行转基因棉育种之前必需有科学合理的安全性育种策略;在推广和应用前后必需对其进行全面科学的安全性评价和监控。目前,科学工作者正在努力开发各种切实可行的安全性转基因途径,主要内容包括不使用标记基因的转基因体系、标记基因的敲除、外源目的基因的组织特异性表达和诱导性表达、转基因漂移的防止等。此外,也应重视棉花抗逆(如抗寒、抗旱、抗盐等)基因工程的研究。

参考文献:

- [1] UMBECK P, Johnson J, Barton K, et al. Genetically transformed cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plants [J]. *Biotech*, 1987, 5: 263-266.
- [2] PERLAK F J, Fuchs R L, Dean D A, et al. Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes [J]. *Proc Natl Acad Sci(USA)*, 1991, 88: 3324-3328.
- [3] 谢道昕, 范云六, 倪万潮, 等. 苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)杀虫晶体蛋白基因导入棉花获得转基因植株[J]. *中国科学: B辑*, 1991(4): 367-373.
- [4] 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): 8-13.
- [5] 李燕娥, 朱 祯, 陈志贤, 等. 豇豆胰蛋白酶抑制剂转基因棉花的获得[J]. *棉花学报*, 1998, 10(5): 237-243.
- [6] 陈宛新, 王 伟, 吴 茜, 等. 修饰的 *cp1* 基因在转基因棉花后代中的表达及其抗虫性分析[J]. *高技术通讯*, 2002, 12(6): 21-25.
- [7] THOMAS J C, Adams D G, Keppenne V D, et al. Protease inhibitors of *Manduca sexta* expressed in transgenic cotton [J]. *Plant Cell Rep*, 1995, 14(12): 758-762.
- [8] 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.
- [9] 郭洪年, 吴家和, 陈晓英, 等. 转 *Cry1Ac* 活性杀虫蛋白及慈菇蛋白酶抑制剂 B 基因的棉花[J]. *植物学报*, 2003, 45(1): 108-113.
- [10] 张志云, 张虎生, 孙 毅, 等. 双价抗虫基因植物表达载体的构建[J]. *西北植物学报*, 2004, 8(24): 1402-1408.
- [11] RAJGURU S N, Stewart J Mc D, Wilkin T A. Assessment of resistance of cotton transformed with lectin genes to tobacco budworm (*Heliothis virescens*) [C]// *Proc cotton research meeting and summaries of cotton research in progress*, Univ Ark Agric Expt Sta Special Report, 188, Oosterhuis (ed), 1998: 95-98.
- [12] 刘 志, 郭旺珍, 朱协飞, 等. 转 *Bt+GNA* 双价基因抗虫棉对棉铃虫抗性的遗传分析[J]. *农业生物技术学报*, 2003, 11(4): 388-393.
- [13] 李燕娥, 朱 祯, 上官小霞, 等. 棉花转凝集素基因的研究进展[J]. *中国棉花*, 2004, 31(6): 5-6.
- [14] 肖松华, 刘剑光, 吴巧娟, 等. 转外源凝集素基因棉花对棉蚜的抗性鉴定[J]. *棉花学报*, 2005, 17(2): 72-78.
- [15] DEATON A. Transgenic cotton plants exhibit expression of a chimeric gene for glyphosate tolerance [C]. *Proc Belt Cotton Prod Res Conf*, 1989: 641.
- [16] NIDA D L, Kolacz K H, Buehler R E, et al. Glyphosate-tolerant cotton: genetic characterization of protein expression [J]. *J Agri Food Chem*, 1996, 44(7): 1960-1966.
- [17] KELLER G, Spatola L, McCabe D E, et al. Transgenic cotton resistant to herbicide bialaphos [J]. *Transgenic Res*, 1997, 6(6): 385-392.
- [18] 谢龙旭, 李云锋, 徐培林. 根瘤农杆菌介导的转 *aroAM12* 基因棉花植株的草甘膦抗性[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2004, 30(2): 173-178.
- [19] BAYLEY C, Trolinder N, Ray C, et al. Engineering 2,4-D resistant into cotton[J]. *Theor Appl Genet*, 1992, 83(5): 645-649.
- [20] LYON B R, Cousins Y L, Llewellyn D J, et al. Cotton plants transformed with a bacterial degradation gene are protected from accidental spray drift damage by the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid [J]. *Transgenic Res*, 1993, 2(3): 162-169.
- [21] 陈志贤, Llewellyn D J, 范云六, 等. 利用农杆菌介

- 导法转移 *tfdA* 基因获得可遗传的抗 2,4-D 棉花 [J]. 中国农业科学, 1994, 27(2): 31-37.
- [22] FILLATTI J A, McAlla C, Comali L. Genetic engineering of cotton for herbicide and insect resistance [C]. Proc Beltwide Cotton Prod Conf, 1989, 17-19.
- [23] GRULA J W, Hudspeth R L, Hobbs S L, et al. Organization, inheritance and expression of acetohydroxyacid synthase genes in the cotton allotetraploid *Gossypium hirsutum* [J]. Plant Mol Biol, 1995, 28(5): 837-846.
- [24] RAJASEKARAN K, Grula J W, Hudspeth R L, et al. Herbicide-resistant Acala and Coker cottons transformation with a native gene encoding mutant forms of acetohydroxyacid synthase [J]. Mol Breed, 1996, 2: 307-319.
- [25] 刘桂珍, 蓝海燕. 利用激光微束穿刺法获得抗黄萎病转基因棉花的研究[J]. 中国激光, 2000, 27(3): 279-283.
- [26] 程红梅, 简桂良, 倪万潮, 等. 转几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶基因提高棉花对枯萎病和黄萎病的抗性 [J]. 中国农业科学, 2002, 35(6): 1160-1166.
- [27] 吴家和, 张献龙, 罗晓丽, 等. 转几丁质酶和葡聚糖酶基因棉花的获得及其对黄萎病的抗性[J]. 遗传学报, 2004, 31(2): 183-188.
- [28] MURRAY F, Llewellyn D, McFadden H, et al. Expression of the *Talaromyces flavus* glucose oxidase gene in cotton and tobacco reduces fungal infection, but is also phytotoxic [J]. Mol Breed, 1999, 5(3): 219-232.
- [29] 刘慧君, 简桂良, 邹亚飞. GO 基因导入对棉花农艺性状及抗病性的影响[J]. 分子植物育种, 2003, 1(5/6): 669-672.
- [30] PAYTON P, Allen R D, Trolinder N, et al. Overexpress of chloroplast-targeted Mn superoxide dismutase in cotton (*Gossypium hirsutum* L. cv Coker 312) does not alter the reduction of photosynthesis after short exposures to low temperature and high intensity [J]. Photosyn Res, 1997, 52(3): 233-244.
- [31] 沈法富, 于元杰, 尹承俊. 抗盐碱罗布麻 DNA 导入棉花的研究[J]. 棉花学报, 1995, 7(1): 18-21.
- [32] 于晓红, 朱勇清, 陈小亚, 等. 种子特异表达 *ipt* 转基因棉花根和纤维的改变[J]. 植物学报, 2000, 42(1): 59-63.
- [33] 吕素莲, 尹小燕, 张可炜, 等. 农杆菌介导的棉花茎尖遗传转化及转 *betA* 植株的产生[J]. 高技术通讯, 2004, 14(11): 20-25.
- [34] JOHN M E. Cotton crop improvement through genetic engineering [J]. Crit Rev Biotech, 1997, 17(3): 185-208.
- [35] RICHER D. Genetic engineering of cotton to increase fiber strength, water absorption and dye binding [C]. Proceedings Beltwide Cotton Conferences, San Diego, California, USA, 5-9, January, 1998: 595-598.
- [36] MAY O L, Wofford T J. Breeding transformed cotton expressing enhanced fiber strength [J]. Journal of New Seeds, 2000, 2(1): 1-13.
- [37] 张震林, 刘正鑫, 周宝良, 等. 转兔角蛋白基因改良棉纤维品质研究[J]. 棉花学报, 2004, 16(2): 72-76.
- [38] 赵丽芬, 赵国忠, 李爱国. 利用转角蛋白基因改良棉纤维品质的研究[J]. 中国农学通报, 2005, 21(7): 61-63.
- [39] LI Xiao, Wang Xue-de, Zhao xiang-qian, et al. Improvement of cotton fiber quality by transforming the *acsA* and *acsB* genes into *Gossypium hirsutum* L. by means of vacuum infiltration [J]. Plant Cell Rep, 2004, 22(9): 691-697.
- [40] JOHN M E, Keller G. Metabolic pathway engineering in cotton: biosynthesis of polyhydroxybutyrate in fiber cells [J]. Proc Natl Acad Sci (USA), 1996, 93: 1276-1277.
- [41] CHOWDHURY B, John M E. Thermal evaluation of transgenic cotton containing polyhydroxybutyrate [J]. Thermochimica Acta, 1998, 313: 43-53.
- [42] RINERHART J A, Peterson M W, John M E. Tissue-specific and developmental regulation of cotton gene *FbI.2A* (Demonstration of promoter activity in transgenic plants) [J]. Plant Physiol, 1996, 112(3): 1331-1341.
- [43] FIROOZABADY E, Deboer D L, Merlo D J, et al. Transformation of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) by *Agrobacterium tumefaciens* and regeneration of transgenic plants [J]. Plant Mol Biol, 1987, 10: 105-116.
- [44] MCBRIDE K, Stalker D M, Pear J R, et al. Cotton fiber transcriptional factors: China, 1189852A [P]. 1998.
- [45] 胡根海, 喻树迅. 棉花基因克隆研究进展 [J]. 棉花学报, 2005, 17(4): 240-244. ●