

Bt 转基因抗虫植物的研究进展

宋相杰

(青海大学生态环境工程学院 西宁 810016)

摘 要: 本文对 Bt 蛋白的杀虫机理、基因分类、Bt 转基因抗虫植物的发展状况以及 Bt 转基因抗虫植物未来的发展趋势进行了概述。

关键词: Bt 转基因抗虫植物; 苏云金芽孢杆菌; Bt 蛋白; 杀虫晶体蛋白(ICP)

中图分类号: S188

文献标识码: B

文章编号: 1003-7950(2017)02-0055-03

1 引言

根据国际农业生物技术应用服务组织(ISA)发布的年度报告,全球转基因作物的种植面积从 1996 年的 170 万 hm^2 上升至 2015 年的 1.797 亿 hm^2 ,20 年时间取得了 100 多倍的增长,让转基因技术成为近年来应用最为迅速的农业生物技术^[1]。先正达公司研发出了抗秋粘虫、甘蔗食心虫、玉米穗蛾等多种害虫的复合性状转基因抗虫玉米,已在美国、加拿大、巴西、阿根廷等地获得种植批准。美国新批准上市了抗虫和抗黄褐化的转基因苹果以及抗黄褐化的转基因土豆^[2]。

据估计,自 1996 年起,多达 28 个国家的农民已从转基因作物中获益超过 1500 亿美元。在政府的大力支持下,我国在转基因水稻、棉花、玉米、大豆等大宗作物以及转基因鱼、猪、牛、羊等转基因动物的研发方面都取得了巨大进展。在全球转基因植物研发和应用迅猛发展的同时,中国也先后批准了 7 种转基因植物的生产应用,其中,抗虫棉是唯一大规模应用的转基因农作物。Bt 转基因抗虫棉自 1997 年商业化种植以来,近几年的种植面积已经占我国棉花总种植面积的 90% 以上,大大降低了化学杀虫剂的用量,为棉花增产和农民增收做出了重要贡献^[3]。

世界上每年因虫害而造成的农产品损失估计为 13%。在我国,水稻每年因虫害减产 10% 以上,小麦减产近 20%,棉花产量损失在 30% 以上,如果加上这些农产品在贮藏过程中因虫害而造成的损失,数额将达 60~100 亿元^[4]。近几年来,基因工程技术的发展为培育抗虫作物提供了有力手段。利用基因工程技术把外源抗性基因转化至农作物中并使其表达,从而使农作物获得抗性。目前,已有多种途径可获得抗虫

植物,主要途径是利用苏云金芽孢杆菌的 δ -内毒素基因获得抗虫植物。

2 Bt 蛋白的杀虫机理及基因分类

2.1 Bt 蛋白的杀虫机理

苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*,简称 Bt)是一种分布十分广泛的革兰氏阳性土壤杆菌。Bt 于 1901 年由 Ishiwata 首先在受病害的蚕蛾中发现,但当时未保存下来。1909 年,Berliner 从德国苏云金省的地中海粉蛾上又重新分离到 Bt,并正式定名为苏云金芽孢杆菌。从 20 世纪 20 年代起,Bt 大规模生产用来防治欧洲玉米螟,但直到 1950 年才发现 Bt 杀虫活性是由它在形成芽孢时产生的晶体蛋白所决定。由于这些蛋白具杀虫活性,故被称为杀虫晶体蛋白(Insecticidal Crystal Proteins,ICPs) δ -内毒素或苏云杆菌毒蛋白。

Bt 杀虫晶体蛋白是一类分子量为 130~160 kD 的蛋白质,在昆虫中肠碱性和还原性的环境下,被降解成 65~75 kD 的活性小肽,并和中肠纹缘膜上的受体结合,现已证明受体为氨肽酶和钙粘着蛋白类似物^[5]。与受体结合的活性小肽插入到细胞膜上并形成穿孔,使细胞膜周质和中膜腔之间的离子平衡破坏,引起细胞肿胀甚至裂解,从而导致昆虫幼虫停止进食而最终死亡^[6,7]。目前已发现 Bt 杀虫蛋白对许多重要的农作物害虫,包括鳞翅目、鞘翅目、双翅目、膜翅目等都具有特异性的毒杀作用,而对人、畜、哺乳动物和天敌无害。

2.2 Bt 蛋白基因的分类

对于 Bt 的分类,前后有两种分类标准。首先是 1989 年 Hofte 和 Whiteley 根据 Bt 编码的 ICP 杀虫活性与其同源性进行分类。但是随着越来越多新 ICP

的分离鉴定,人们发现 ICP 氨基酸序列的同源性和杀虫特异性并不相关。之后 Crickmore 等人在 1995 年无脊椎动物病理协会年会上提出了根据 Bt 编码的 ICP 氨基酸序列同源性为唯一标准的分类方法。将具有溶胞作用的 ICP 归到 Cyt 类,其余归为 Cry 类,相应的基因记为 *cyt* 和 *cry*。彼此之间氨基酸同源性不超过 45% 的 ICP 命名为不同的第一分类等级,采用阿拉伯数字书写,如 Cry1 和 Cry2。氨基酸同源性在 45% ~ 78% 之间为第二分类等级,用大写英文字母表示,如 Cry1 A 和 Cry1 B。氨基酸同源性在 78% ~ 95% 之间为第三分类等级,用小写英文字母表示,如 Cry1 Aa 和 Cry1 Ab。氨基酸同源性大于 95% 为第四分类等级,用阿拉伯数字书写,如 Cry1 Aa1 和 Cry1 Aa2。目前,已报道的 Bt 已增至 476 种,其中 *cry* 分为 58 群、449 种, *cyt* 分为 2 群、27 种^[8],随着苏云金芽孢杆菌研究的深入和应用的发展,这些类别还会逐渐增加。Bt 转基因抗虫植物就是通过研究 Bt 菌 *cry* 和 *cyt* 的特性,并将其修饰改造后转入植物中表达,使植物具有抵抗特异害虫的能力。

3 Bt 转基因抗虫植物的发展状况

3.1 Bt 转基因抗虫植物的产生

1981 年 Schnepf 和 Nihiteley 首次将 Bt 毒蛋白基因进行分离克隆,紧接着 6 年后,世界上有 4 家实验室分别获得了转 Bt 基因的烟草或番茄^[9~12]。在我国 20 世纪 80 年代后期也开始了转基因抗虫植物的研究,中国农业科学院生物技术研究中心、中国科学院微生物研究所、中国科学院上海植物生理研究所等单位也将 Bt 杀虫晶体蛋白基因 *cry1 A* *cry1 C* 等进行了克隆和序列分析,并将 3' - 端缺失的 Bt 基因导入水稻、棉花、烟草、甘蓝、杨树等植物,得到了有抗性的转基因植株^[13]。

3.2 Bt 转基因抗虫植物的发展

自 1987 年第 1 个 Bt 转基因抗虫烟草问世以来, Bt 转基因抗虫植物的发展业已经历了 2 个阶段,其中第 1 阶段为 20 世纪 80 年代中后期,第 2 阶段为 20 世纪 90 年代^[4]。90 年代初期,经过大量实验室和田间试验后,转基因植物实现了商品化。1995 年在美国和加拿大 Bt 转基因的玉米、棉花和马铃薯被获准进行商业种植。1997 年中国批准了 Bt 转基因棉在河北省种植。这一年,中国还批准了由中国农科院研发的 Bt 棉 GK^[14]。

Bt 转基因作物可以控制一些害虫,并对虫害防治水平显著。如 Bt 转基因草地早熟禾植株对 1~2 龄棉

铃虫均具有抗性,其棉铃虫幼虫校正死亡率可高达 70% 以上^[15],且 Bt 转基因抗虫棉对棉蚜发育速度、成蚜寿命、4 龄若蚜体重、成蚜繁殖力差异均无显著影响^[16];田间玉米螟对 T5 - T8 代 Bt 转基因玉米叶片、茎秆、穗部危害程度极显著低于非 Bt 转基因玉米^[17]。转 *cry1 C* 基因和 *cry1 A* 基因的双价抗虫棉,不仅高抗棉铃虫等鳞翅目害虫,而且还抗双翅目等棉花害虫^[18]。我国对 Bt 的研究始于 1991 年,并由中国农业科学院首次在国内合成了第一个 Bt - *cry1 A*。随后将其转入烟草、甘蓝等植物中,获得了转基因抗虫植株。林拥军等人工合成了适合在植物中表达的 *cry1 C** 和 *cry2 A*^[19~20]。我国是继美国后育成抗虫转基因棉的第二个国家,育成中国第一代单价抗虫棉的抗虫性在 90% 以上,减少用药 60% ~ 80%,增产 30% ~ 40%^[21]。JP 目前我国已培育出含多种 Bt 基因的抗虫棉新品种,并在生产上推广种植^[22~24]。

迄今,全球总共已获得 50 多种 Bt 转基因抗虫植物,大多所用的基因均系 *cry1*,少数为 *cry3*,其中有些已进入大田试验,少数已商品化生产应用,如 Bt 转基因棉花、马铃薯和玉米等^[25]。国内已获得的 Bt 转基因植物有棉花、玉米、水稻、番茄、花椰菜、马铃薯、烟草等,其中棉花、玉米等已进入推广应用阶段。

4 展望

自从 1995 年 Bt 转基因玉米、棉花和马铃薯 3 种作物实现商品化以来, Bt 转基因抗虫植物越来越多。植物 Bt 转基因工程在短短十几年中已取得了丰硕成果,抗虫转基因作物的商业化推广证明了这项技术的实用性。Bt 转基因抗虫植物的种植面积不断扩大,抗虫转基因产品大量进入人们的日常生活,其所带来的经济效益、社会效益、环境效益是非常可观的。

但是目前 Bt 基因工程仍存在一些尚待解决的有效性、昆虫的抗药性、广谱抗性问题。随着研究的进一步深入, Bt 转基因抗虫育种具有广阔的前景,人类为寻找新的抗虫基因正在不懈努力,抗虫谱宽、抗虫性强、昆虫难以产生耐受性的转基因植物即将成为现实。相信在不远的将来,人们会实现培育抗虫作物,减少环境污染,保护人类健康的美好愿望。

参考文献:

- [1] 刘标. 抗虫转 Bt 基因植物的环境安全研究进展[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2016, (03): 1-9.
- [2] 何超. 转基因技术在农业领域的新应用[J]. 湖南农业, 2017, (02): 38.

(下转第 59 页)

适合鼠疫自然疫源地的健康教育模式^[10],进一步提高牧区群众的鼠防知识知晓率,增强鼠疫防治和健康意识,控制动物鼠疫,防治人间鼠疫的发生,对全面做好鼠疫防止工作具有重要意义。

参考文献:

- [1]毛辉青,王兆芬,张发斌.鼠疫防治[M].西宁:青海人民出版社,2011:1.
[2]王祖郎,李超.青海鼠疫[M].北京:人民卫生出版社,2016:31-32.
[3]姚呈祥,吴得强.鼠疫专业人员培训教材[M].兰州:甘肃科学出版社,2007:15-16.
[4]王兆芬,严崑,梁霞,等.青海省鼠疫流行病学特点演

变及预防[J].中国地方病学杂志,2002,21(3):202-203.

[5]王祖郎.青海省鼠疫防治现状及对策[J].地方病通报,2003,18(3):55-57.

[6]纪树立.鼠疫[M].北京:人民卫生出版社,1988:347-368.

[7]朱锦沁.青海鼠疫流行态势及控制对策[J].中国人兽共患病杂志,1995,11(6):51-54.

[8]朱锦沁.青藏高原喜马拉雅旱獭疫源地鼠疫流行态势及控制对策[J].地方病通报,1995,11(1):80-83.

[9]周玉伟,田富彰.青海省兴海县肺鼠疫疫情现场流行病学调查分析[J].疾病预防控制中心通报,2012,27(2):39-41.

[10]才吉卓玛,华尔丹.青海省海南州牧区鼠疫防治健康教育效果评价[J].青海医药杂志,2009,39(11):58-59.

(上接第 56 页)

[3]范存会,黄季馄,胡瑞法,等. *Bt* 抗虫棉的种植对农药施用的影响[J]. 中国农村观察,2002,(05):2-10.

[4]彭希文. 转基因抗虫植物研究进展[J]. 植物医生,2003,(02):5-6.

[5] Vadlamudi RK, Eric Weber, Inhae Ji, et al. J Biol Chem, 1995, 270: 5490-5494.

[6] Hilder VA, Gatehouse AMR, Sheerman SE, et al. Nature, 1987, 330: 160-163.

[7] Van Rie J, Mc Gaughey WI, Johnson DE. Science, 1990, 24(7): 72-74.

[8]王继磊,刘迪秋,丁元明,等. *Bt* 转基因抗虫植物研究进展[J]. 生物学杂志,2010,(04):75-78.

[9]Barton K. H, Whiteley N. S, Yang. *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin in transgenic *Nicotiana tabacum* provides resistance to lepidopteran insects. Plant Physiology, 1987, 85: 1103-1109.

[10]Fischhoff D. A, Bowditch K. S, Perlak F. J, et al. Insect tolerant transgenic tomato plants. Bio / Technology. 1987, 5: 807-813.

[11]Hilder V. A, Gatehouse S, Sheerman R, et al. A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. Nature, 1987, 330: 160-163.

[12]Vaeck M. A, Reynaerts H, Hofte S, et al. Transgenic plants protected from insect attack. Nature, 1987,(327):33-37.

[13]饶红宇,陈英,黄敏仁,等. 杨树 NL-80106 转 *Bt* 基因植株的获得及抗虫性[J]. 植物资源与环境学报,2000,9(2):2-6.

[14]龚豪. 转 *Bt* 基因抗虫植物研究进展[A]. 云南省昆虫学会,2009:8.

[15]余建明,梁流芳,张保龙,等. 农杆菌介导法获得草地早熟禾转 *Bt* 基因植株[J]. 江苏农业学报,2005,21(2):102-105.

[16]李海强,王冬梅,徐遥,等. 转 *Bt* 基因抗虫棉对棉蚜个体生长发育和繁殖能力的影响[J]. 新疆农业科学,2011,48(2):287-290.

[17]王延锋. 转 *Bt* 基因抗虫玉米田间试验与遗传稳定性分析[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2010:1-111.

[18]张宝红. 害虫对转 *Bt* 基因抗虫棉的抗性及其对策[J]. 棉花学报,2000,12(3):164-168.

[19]林拥军,张启发. 改造合成的苏云金芽孢杆菌杀虫晶体蛋白基因 *Cry1 C** [P]. 中国专利. 1483823. 2004-03-34.

[20]林拥军,张启发. 改造合成的苏云金芽孢杆菌杀虫晶体蛋白基因 *Cry2 A* [P]. 中国专利. 1480533. 2004-03-10.

[21]康俊梅,熊恒硕,杨青川,等. 植物抗虫转基因工程研究进展[J]. 生物技术通报,2008,(01):14-19.

[22]阮文丽. 植物抗虫转基因研究进展[A]. 中国农业科学院研究生院培训中心. 全国园艺植物生长繁育技术及应用研讨会论文集[C]. 中国农业科学院研究生院培训中心,2012:7.

[23]郭三堆,王远,孙国清,等. 中国转基因棉花研发应用二十年[J]. 中国农业科学,2015,(17):3372-3387.

[24]崔彦芹,李尚伟,张丽萍,等. 双价抗虫转基因水稻的育成及初步鉴定[J]. 南方农业学报,2016,(02):169-173.

[25]魏俊杰. *Bt* 毒蛋白在转基因植物中的表达[J]. 安徽农学通报,2012,(06):26-27.