

油菜转基因育种研究进展

官春云

(湖南农业大学油料作物研究所, 长沙 410128)

[摘要] 简要介绍了国外油菜转基因育种情况, 包括转除草剂抗性基因, 病原菌抗性基因, 耐重金属基因, 影响种子贮藏产物基因, 影响繁殖特性基因, 医药和工业产品基因, 以及启动子调节基因等。较详细介绍了湖南农业大学在 Bt 毒蛋白基因转化甘蓝型油菜育成抗虫新品系、基因工程雄性不育系、恢复系选育和杂种优势利用, 以及反义 FAD2 基因转化甘蓝型油菜双低品种提高油酸含量的研究结果; 浙江省农科院利用反义 PEP 基因转化甘蓝型油菜提高种子含油量的研究结果。

[关键词] 油菜; 转基因; 育种

[中图分类号] S565.4, Q78 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1009-1742(2002)08-0034-06

1 引言

自 1986 年 V. H. Mathew 等首先将 NPT-II 基因利用农杆菌介导法转入芥菜型油菜以来, 转基因油菜研究有了长足的发展^[1~3]。据 E. D. Earle 和 V. C. Knauf 报道 (1999), 从 1988 年到 1997 年 10 年间, 有 46 篇文章报道了 39 个不同的基因对甘蓝型油菜进行了遗传转化, 并育成一些转基因油菜品种在生产上应用 (表 1)^[4]。

据 C. James (2000) 报道, 1998 年全球转基因油菜种植面积为 $240 \times 10^4 \text{ hm}^2$, 占全球油菜种植面积的 9%, 1999 年增至 $280 \times 10^4 \text{ hm}^2$, 占全球油菜总面积 $2500 \times 10^4 \text{ hm}^2$ 的 11%, 2000 年全球转基因作物面积为 $4420 \times 10^4 \text{ hm}^2$, 占全球作物种植面积 $27100 \times 10^4 \text{ hm}^2$ 的 16%^[5]。

为了育成适于我国种植的转基因油菜品种, 我们于 1995 年开始进行 Bt 毒蛋白基因^[6]、TA29 核酸酶基因^[7]、反义 FAD2 基因^[8]转化甘蓝型油菜的研究; 浙江省农科院陈锦清博士等^[9~10]进行了利用反义 PEP 转化甘蓝型油菜提高种子含油量的研究。现将主要结果介绍如下 (表 1)。

由表 1 看出, 共有转移基因 39 个。其中, 抗除草剂基因 4 个, 抗病基因 4 个, 耐重金属基因 1 个, 改变脂肪酸组成基因 11, 改变种子蛋白基因 5 个, 影响次生代谢物基因 1 个, 影响繁殖特性基因 5 个, 可作医药和工业产品基因 5 个, 启动子调节基因 3 个。

2 Bt 毒蛋白基因转化甘蓝型油菜育成抗虫新品系的研究

2.1 意义

菜青虫 (*Artogeia*) 是危害油菜的重要害虫, 属鳞翅目, 在我国长江流域地区一年可发生 8~9 代, 且世代重叠危害, 严重影响油菜产量和品质形成, 同时还可传播软腐病, 在秋雨多的年份常导致成灾。用化学农药防治效果不佳, 且污染环境, 又增加成本。而来自苏云金杆菌的 Cry I 类 Bt 毒蛋白基因所编码的蛋白质特异地对鳞翅目昆虫有杀虫活性, 使油菜获得抗虫性, 并能在油菜中稳定遗传和表达, 为此进行本研究。

2.2 材料和方法

受体品种为湘油 13 号 (*B. napus*)。农杆菌

表1 已转移到甘蓝型油菜中的基因(不包括标记基因)
Table 1 Genes (other than markers) transferred to *B. napus* plants

受影响性状	基因	来源	参考文献
除草剂抗性:			
抗磺酰脲	乙酰乙酸合成酶 (除草剂作用位点)	拟南芥	Miki et al, 1990; Christ & Sincl, 1992; Blackshaw et al, 1994
抗草甘膦	AroA 基因	农杆菌 CP ₄ 菌株	Christ & Sincl, 1992
	草甘膦降解基因	无色细菌 LBAA 菌株	Barry et al, 1992
抗草胺膦	Bar 基因 (编码使除草剂失活的酶)	链霉菌属	DeBlock et al, 1989
抗病原真菌:			
丝核菌	几丁质酶	菜豆	Broglie et al, 1991, 1993; Benhamou et al, 1993
菌核病 黑胫病	几丁质酶	番茄 + 烟草	Grison et al, 1996
? 通过控制白藜芦醇合成	1, 2-二苯乙烯合成酶	花生	Thomzik, 1993
抗病毒: 芫菁花叶病毒	正义或反义非编码区	TYMV	Zaccomer et al, 1993
耐重金属: 耐镉	金属硫蛋白	人	Misra & Gedamu, 1989
贮藏产物			
种子油:			
C8: 0, C10: 0 脂肪酸	酰基-ACP 硫脂酶	Cuphea hookeriana	Dehesh et al, 1995
高月桂酸 (12: 0)	12: 0-ACP 硫脂酶	加州月桂树	Voelker et al, 1992, 1996
C12: 0 (在三酰甘油 sn-2 位上)	溶血磷脂酸酰基转移酶	可可	Knutzon et al, 1995
高棕榈酸 (16: 0)	棕榈酰-ACP 硫脂酶	Cuphea hookeriana	Jones et al, 1995
提高硬脂酸 (18: 0)	反义硬脂酰-ACP 硫脂酶	白菜型油菜	Knutzon et al, 1992
提高油酸 (18: 1)	ω -6-去饱和酶	甘蓝型油菜	Reiter et al, 1994
改变 C18 酸比率	3-酮脂酰-ACP 合成酶	大肠杆菌	Verwoert et al, 1995
增加 18C 以上脂肪酸 (20: 1, 22: 1, 24: 1)	β -酮脂酰-CoA 合成酶	西蒙德木	Lassner et al, 1996
三芥酸三酰甘油	溶血磷脂酸酰基转移酶	Limnanthes alba	Lassner et al, 1995
	1-酰基-sn-甘油-3-磷酸酰基转移酶	L. douglasii	Brough et al, 1996
24: 1 脂肪酸	酮脂酰-CoA 合成酶	Lunaria	Lassner 私人通讯
种子蛋白:			
提高 Cruciferin	<i>napin</i>	甘蓝型油菜	Raske et al, 1988
提高 <i>napin</i>	反义 <i>napin</i> 基因	甘蓝型油菜	Kohno-Murase et al, 1994
	反义 Cruciferin 基因	甘蓝型油菜	Kohno-Murase et al, 1995
提高甲硫氨酸	2S 白蛋白	巴西坚果	Guerche et al, 1990; Altenbach et al, 1992; Denis et al, 1995
提高赖氨酸	DapA (编码对赖氨酸不敏感的二羟基-吡啶甲酸合成酶)	Corynebacterium	Falco et al, 1995
次生代谢物:			
降低吲哚类硫苷	色氨酸脱羧酶	Catharanthus roseus	Chavedej et al, 1994
繁殖特性:			
诱导雄性不育	barnase	淀粉芽孢杆菌	Mariani et al, 1990
恢复雄性育性	barstar	淀粉芽孢杆菌	Mariani et al, 1992
自交不亲和性	S-位点基因	甘蓝、白菜型油菜	Nishio et al, 1992
对雄性育性无影响	反义绒毡层特异 A9 基因	甘蓝型油菜	Turgut et al, 1994
增强授粉能力	毒素 A 链	Corynebacterium diphtheriae	Kandasamy et al, 1993
医药和工业产品:			
医药	脑啡肽 (神经肽)	附加到拟南芥 2S 蛋白的编码区	Vanderkerckhove et al, 1989
塑料	PhaB, phaC	Alcaligenes eutrophus	Poirier et al, 1995
将蛋白导入油体	油体蛋白 (oleosin)	玉米, 拟南芥	Lee et al, 1991
	蛭素 + 油体蛋白	水蛭	VanRooijen & Moloney, 1995
	木聚糖酶 + 油体蛋白	Neocallimastix patriciarum	Parmenter et al, 1996; Liu et al, 1997
启动子调节	启动子来源:		
	油体蛋白基因	拟南芥	Plant et al, 1994
	低温反应基因	甘蓝型油菜	White et al, 1994
	S-位点糖蛋白基因	芸薹属植物	Sato et al, 1991

(*Agrobacterium tumefaciens*) 菌株为 LBA4404。表达载体为中国农业科学院生物技术中心范云六教授提供的 pEWZ10 质粒, 含有经过人工构建的 Bt 杀虫蛋白基因和筛选标记基因 NPTII。农杆菌介导转化方法是: 挑取含有 pEWZ10 质粒的农杆菌单菌落接种于含四环素 3 mg/L 的 YEB 液体培养基中, 28℃ 振荡培养过滤, 至 OD₆₀₀ 达 0.5, 然后离心收集菌体, 用 MS 液体培养基洗两次。切取长约 2 mm 的 4~5 天的无菌苗的子叶柄, 在 MS 培养基(附加 6-BA4.5 mg/L) 上预培养 10 h, 再放入用浓度为 1/10 的 MS 液体培养基稀释菌液中浸染 4~5 min, 用灭菌纸吸干菌液, 插入共培养基(MS + 6-BA4.5/Kanmycin15 mg/L), 在黑暗环境中培养 60~72 h。转移到筛选诱导培养基(MS + 6-BA4.5 mg/L + kan 15 mg/L + Carbenicillin 500 mg/L + AgNO₃ 5 mg/L) 上培养(25℃, 光照 16 h/d) 3~4 周, 切取再生的绿芽置生长培养基(MS + Kan 15 mg/L + Carb 250 mg/L + Kan 15 mg/L) 中, 2~3 周内即可生根, 待根系发达后移至盆钵。子房注射的方法是: 对即将开放的花蕾进行人工去雄, 并套袋挂牌, 在第 2 天或第 3 天上午 9:00~10:00 授粉, 重新套袋。在授粉后一定时间内, 用微玻针(针口直径 10~100 μm), 从子房不同部位注射 1~3 μL 质粒 DNA, 然后再套袋隔离 2 周, 成熟后收获种子。转化成功后, 对转基因植株进行农艺性状和品质性状的选择。

2.3 研究结果

2.3.1 转化结果 以子叶柄作转化受体进行农杆菌转化, 最佳浸染时间为 3~5 min, 最佳共培养时间为 60~72 h, 在最佳转化条件下, 共培养 350 个外植体, 获得小植株 14 株, 卡那霉素抗性植株频率为 8.3%。经 Dot blotting 和 Southern blotting 检测, 转化频率为 1.18%。采取子房注射法转化: 在授粉后 20~30 h 从子房中部注射 0.5~1.5 μg 外源 DNA, 从实验的 25 个子房中获种子 674 粒, 其中卡那霉素植株率为 12.8%。

2.3.2 表达检测 对转基因植株进行 GUS 基因表达检测, 结果呈阳性, 表明 Bt 毒蛋白基因在转基因植株中得到表达。分别收获转基因植株的自交种子(第 2 代), 在 MS 培养基上进行卡那霉素抗性筛选, 结果卡那霉素抗性植株和卡那霉素敏感植株的比例约为 3:1, 表明 Bt 毒蛋白基因是以单拷贝、

杂合地整合到油菜基因组中。此外, 分别提取形态及产量性状表现优异的转基因植株的基因组 DNA, 进行 PCR 扩增目的基因的分子检测, 绝大多数植株具有目的基因的扩增带, 表明目的基因在转基因植株中能稳定遗传。

2.3.3 抗虫试验 转 Bt 基因油菜苗期对菜青虫有明显抗虫性。经 3 次田间接虫试验, 菜青虫取食转基因油菜叶片后, 存活率明显下降, 在 4 龄后存活率显著降低, 平均死亡率比对照增加 60.7%。

2.3.4 转 Bt 基因抗虫油菜品种表现 对转 Bt 基因油菜进行农艺性状和品质性状选择, 获得性状稳定新品系。新品系株高 160.5 cm, 一次有效分枝 7.6 个, 单株角果数 368.2 个, 每果 22.7 粒, 千粒重 3.94 g, 无芥酸, 硫苷含量 20 μmol/g 以下, 种子含油量 39.3%, 与对照湘油 13 号不相上下。目前正进行安全性研究。

3 油菜基因工程雄性不育系和恢复系选育以及杂种优势利用的研究

3.1 意义

油菜杂种优势显著, 一般可增产 20%~30%, 甚至更高。再加上油菜花期长, 花龄长, 花器外露, 繁殖系数高, 有利于杂交制种。以往选育质不育杂种和核不育杂种, 育种周期长, 组合选配局限性大。用基因工程方法育成雄性不育系和恢复系, 利用杂种优势, 组合选配自由, 育种周期短, 有很好的应用前景。

3.2 材料和方法

受体品种为湘油 15 号 (*B. napus*) 和与之能形成强优势组合的品种 742 (*B. napus*)。雄性不育的表达载体为 PTABNBAR55(即 NOS - barnase - TA29 - bar), 育性恢复的表达载体为 PTABSBAR23(即 NOS - barstar - TA29 - bar), 分别由中国科学院遗传研究所李文彬教授构建。农杆菌转化甘蓝型油菜方法是: 甘蓝型油菜子叶柄预培养 20 h, OD₆₀₀ 为 0.5, 农杆菌菌液感染后共培养 3 天, 在 MS + AgNO₃ 2 mg/L + 6-BA 4.5 mg/L + Km 10 mg/L + Carb 300 mg/L 培养基上进行前期选择, 转化率为 8.8%, 在 MS + AgNO₃ 2 mg/L + Km 15 mg/L + Carb 200 mg/L 培养基上进行延迟选择, 净转化率为 19.1%; 在 MS + AgNO₃ 2 mg/L + NAA 0.1 mg/L + Km 20 mg/L + Carb 200 mg/L 培养基上进行后期选择, 净转化率为

20.8%，采用PCR检测外源基因是否进入甘蓝型油菜基因组。再生小植株经驯化后定植在盆钵中。

3.3 研究结果

3.3.1 转化结果 不育基因经农杆菌介导法转入湘油15号后，获得98株转基因植株，植株主要性状与供体亲本无明显差异，但其育性可分为完全不育、半不育和可育三种类型。其中，完全不育转基因植株约占4%，但雄蕊发育不良，花丝变短，花药小而干瘪，药室中无花粉，或仅有极少量畸形花粉，套袋自交不能结实，授予对照花粉能结实；半不育转基因植株约占40%，其雄蕊明显短于雌蕊，部分花药有少量可育花粉；可育的转基因植株约占56%，其雄蕊与对照无明显差异，花粉量多，可被*kI-I₂*染色。育性恢复基因经农杆菌介导法转入742品种后，共获15株转基因植株，其表现型与供体亲本无明显差异。

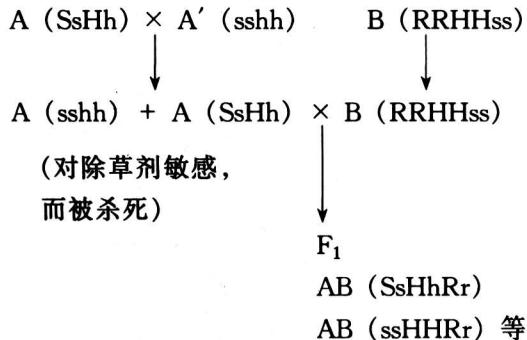
3.3.2 喷药试验 对转基因植株喷洒PPT除草剂600 mg/L后，有45%的不育基因转化植株和33%的恢复基因转化植株表现出不同程度的抗性。

3.3.3 效果 按以下制种方式生产的杂种，与常规品种进行产量比较，一般增产30%左右。

A系 雄性不育系（转不育基因的湘油15号，具有S显性不育基因，且与抗除草剂基因H紧密连锁）

A'系 保持系（未转不育基因的湘油15号，且无抗除草剂基因，表现可育）

B系 恢复系（具有显性基因R+H，雄性可育）



4 反义FAD₂基因转化甘蓝型油菜双低品种提高油酸含量的研究

4.1 意义

油酸脱氢酶FAD₂(EC1.3.1.35, 1-酰基-2-油酰基-sn-甘油-磷酸胆碱脱氢酶)是植物产生多聚不饱和脂肪酸的关键酶，它存于内质网膜

上，以1-酰基-2-油酰基-sn-甘油-磷酸胆碱为底物，需氧条件下NADH为还原剂。NADH:tyb5氧化还原酶和Cytb5生成多聚不饱和脂肪酸、亚油酸(Cis 9, 12-18: 2)和α-亚麻酸(Cis 9, 12, 15-18: 3)，它们在植物的膜系统中主要以酯化的形式存在。本研究拟从甘蓝型油菜中克隆FAD₂基因cDNA片段，并构建种子特异型表达载体，利用反义抑制技术，将FAD₂反义基因转化双低油菜品种，使种子中油酸含量提高到80%以上。

4.2 材料和方法

受体油菜材料为双低油菜品种湘油15号(油酸含量为60%)。克隆载体为pGEM-T Easy，受体菌为DH10B。mRNA及cDNA的合成采用试验盒。参照GenBank中甘蓝型油菜FAD₂基因序列设计引物，将FAD₂基因克隆于pBluescript SK⁺的EcoRV位点，并测序。油菜特异表达基因napin启动子的克隆：用SDS法从油菜种子中提取总DNA，根据已知napin基因序列设计引物扩增其1.15 kb的启动区，将napin启动子克隆于SK⁺载体的HindⅢ、EcoRI位点，测序。种子特异性FAD₂反义基因表达载体的构建：将pBI 101的HindⅢ、SacI区置换成pUC119的多克隆位点区，再用HindⅢ、SalI切开，回收大片段。用EcoRI、SalI将FAD₂基因切下。用HindⅢ将napin启动子切下。一起连接，即完成载体构建。表达载体转入农杆菌LBA4404。然后按已建立的再生体系转化双低油菜品种湘油15号。最后采用PCR扩增法进行检测。

4.3 研究结果

4.3.1 油菜FAD₂基因cDNA片段的克隆和序列分析 经1%的琼脂糖凝胶电泳分析表明PCR产物的大小为650个，特异性很强，与引物所对应的片段大小相符。我们提取的油菜叶片总DNA用同样引物进行PCR扩增，同样扩增出650 bp产物，说明FAD₂基因cDNA片段无插入序列。重组克隆质粒经NotI酶切消化后有一长约650 bp的DNA片段出现。酶切结果表明：PCR产物已插入载体pGEM-TEasy中。FAD₂基因cDNA片段的序列分析结果表明，PCR产物为654 bp，经与GenBank序列(AF243045)进行同源性比较，序列在比较区的同源性达100%。

4.3.2 油菜种子特异表达基因napin启动子的克隆 经1%琼脂糖凝胶电泳分析表明，PCR产物大

小约 1.1 kb，特异性很强，与引物所对应的片段大小相符。PCR 产物回收后，与 pBluescript II SK⁺连接，酶切分析确认其正确性。*napin* 启动子序列分析表明，序列长 1 147 个碱基，富含 AT、TATA 盒出现的 -70 位置，与 *napA* 只有 1 个碱基差别，即 462 位少 1 个 G，这正好与 *napB* 的启动子序列一致，它与 *napB* 有 7 个碱基差别，即 79 位多了 7 个碱基，这正好与 *napA* 启动子序列一致。因此我们认为，新的启动子是 *napA* 与 *napB* 在 86 位与 462 位之间发生交换产生的。现已将这一启动子登录到 GenBank，登录号为 Bank 1t 422796 AF 420598。

4.3.3 新的种子贮藏蛋白启动子 *napin* 已与反义 FAD2 基因连接，构建了种子特异表达载体，现正通过农杆菌介导法导入湘油 15 号油菜中。

5 利用反义 PEP 基因转化甘蓝型油菜提高种子含油量

5.1 意义

油菜是油料作物，提高种子含油量是油菜育种的重要目标。现有油菜品种种子含油量一般为 40% 左右。但高含油量种质资源种子含油量可达 50% 左右。利用基因工程技术提高油料作物种子含油量已有研究。据 V.Katajic 等报道（2000），在油菜中表达外源 ACC 基因，正向提高脂肪酸限速酶 ACCase（乙酰-CoA 羧化酶）的表达；或在油菜中导入酵母溶血磷脂酰基转移酶（LPAAT）基因，提高脂肪酸合成酯类的速度，消除脂肪酸合成中的反馈抑制。上述两条途径所获得的转基因油菜含油量分别仅较受体品种提高 5%~13.5%（相对值）。为此，浙江省农科院陈锦清博士提出了反义 PEP 技术途径。

在油脂、蛋白质生物合成途径中，糖酵解产物——磷酸烯醇式丙酮酸（PEP）可作为油脂、蛋白质生物合成的共同底物，PEPCase（磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶）是油脂合成途径中一个潜在关键调控点（即所谓“底物竞争说”）。如果运用反义基因技术，抑制油菜种子 PEP 基因表达，以降低种子 PEPCase 量，减少进入蛋白质合成途径的 PEP 量，使更多 PEP 流向脂肪酸的合成途径（图 1），从而为油脂合成提供更多底物，提高种子含油量。

5.2 材料与方法

PEP 基因系根据 Yanai 等（1989）公布的油菜

籽粒 PEPCase 同功酶基因序列，经 PCR 扩增获得。将 PEP 基因片段插入超级双元载体 pIG121 的 *Xba*I 位点，使 PEP 基因片段连接于 CaMV35S 启动子下、GUS 报告基因上游，并与 35S 启动子反向连接构建成反义 PEP 植物表达载体 pPEPAS，并用电击法导入根癌农杆菌 EHA101，然后与浙油 758 下胚轴共培养，将反义 PEP 转化到油菜基因组中，从而获得转基因油菜植株。

5.3 研究结果

获得高油量转基因油菜品系超油 1 号，生育期和种皮颜色等均与原品种浙油 758 相当，芥酸含量（0.82%）亦与浙油 758（0.78%）相当，硫苷含量（25.67 μmol/g）稍低。最大差别是超油 1 号种子含油量比浙油 758（38%）高 9.4 个百分点，达 47.4%。

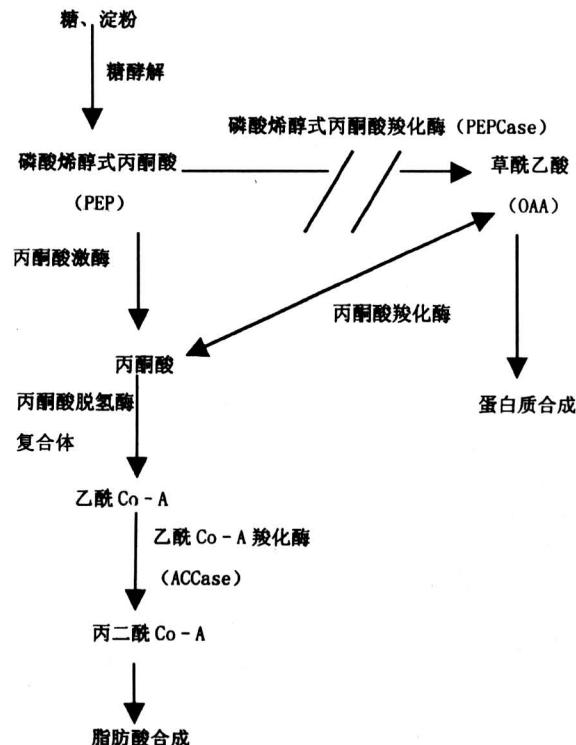


图 1 反义 PEP 基因提高油菜种子含油量原理

Fig. 1 Principle of anti-PEP gene to raise the oil content in seed of rapeseed

参考文献

- [1] 刘后利. 油菜遗传育种学 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2000
- [2] 付廷栋主编. 杂交油菜的育种与利用 [M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2000
- [3] 官春云, 李 梅, 李文彬. 芸薹属植物的生物工程

- [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1999
- [4] Earle E D, Knauf V C. Genetic engineering [M]. Edited by Gomez-Campo C. Biology of *Brassica* Coenospecies. ELSEVIER, 1999
- [5] James C. 2000年全球转基因作物商品化概述 [J]. 张银玉, 王琴芳译. 生物技术通报, 2001, (3): 41~44
- [6] 林良斌, 官春云, 李 榆, 等. 油菜高效转化系统的研究 [J]. 作物学报, 1999, 25(4): 447~450
- [7] 何业华. 利用基因工程技术获得甘蓝型油菜雄性不育系和恢复系的研究[R]. 湖南农业大学博士后研究
- 工作报告, 2001
- [8] 熊兴华, 官春云, 李 榆, 等. 甘蓝型油菜 FAD₂ 基因 cDNA 片段的克隆和序列分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2002, (2): 97~99
- [9] 陈锦清, 朗春秀, 胡张华, 等. 反义 PEP 基因调控油菜籽粒蛋白质/油脂含量比率的研究 [J]. 农业生物技术学报, 1999, 7(4): 316~320
- [10] 朗春秀, 胡张华, 陈锦清, 等. 油菜农杆菌转基因体系的建立及转 PEP 反义基因油菜的获得 [J]. 浙江农业学报, 1999, 11(2): 55~58

Advances of Transgenic Breeding on Rapeseed (*Brassica napus*)

Guan Chunyun

(Oil Crops Institute, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

[Abstract] The advances abroad of gene transformation on rapeseed (*Brassica napus*) were introduced, including genes of tolerance to herbicides, tolerance to fungus pathogens, tolerance to viral pathogens, tolerance to heavy metal, oil component of seed, protein component of seed, secondary metabolites, reproductive characteristics, medical or industry products and regulation of promoters. It described advances of transgenic breeding of rapeseed (*Brassica napus*) in Oil Crops Institute, Hunan Agricultural University and Institute for Application of Atomic Energy, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences. The paper dealt with Bt-transgenic insect-resistant rapeseed line, transgenic sterile line, restorer line and their hybrid, transgenic high oleic acid content rapeseed line and transgenic high oil content rapeseed lines.

[Key words] rapeseed; transgenic; breeding

《中国工程科学》2002年第4卷第9期要目预告

- | | |
|------------------------------|---|
| 信息化农业科技前沿与发展战略 孙九林 | 用遗传算法解决水泵站的效率优化问题 廖 莉等 |
| 论当前地下金属资源开发的科学技术前沿 于润沧 | 基于加速遗传算法的组合证券投资决策 王 硕等 |
| 连续铸钢前沿技术的工程化 干 勇 | 采集太阳光的照明系统研究 张耀明等 |
| 山水城市——21世纪中国的人居环境 鲍世行 | 冬小麦产量的水肥耦合模型 翟丙年等 |
| 当前我国灌区节水改造的问题与决策 孙雪涛 | Al ₂ O ₃ - M _x O _y 硬面陶瓷深层的喷焊制备及 |
| 我国探月工程运载火箭选型问题探讨 龙乐豪 | 性能研究 王 隆等 |
| 关于技术创新问题的若干认识 殷瑞钰 | 斜井全断面变径滑模新工艺 |
| 法医毒物分析的应用及其发展方向 刘 耀 | ——在三峡工程永久船闸地下输水系统斜井砼 |
| 高端计算软件平台的研发 陈左宁 | 施工中的应用 周 宇等 |
| 动态二叉树表示环境的 A 算法及其在足球 | 生物柴油技术进展与产业前景 冀 星等 |
| 机器人路径规划中的实现 唐 平等 | |