

转双价抗虫基因棉花的主要农艺性状的遗传变异

徐泽俊¹, 聂以春², 张献龙², 郭小平², 吴家和³

(¹江苏省徐淮地区徐州农业科学研究所, 徐州 221121; ²华中农业大学 作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070

³中国科学院微生物研究所 植物基因组国家重点实验室, 北京 100101)

摘要: 以 11 个转外源基因 (*CryIAc*+*API-B*) 系为材料, 受体亲本陆地棉品种鄂抗 9 号为对照, 研究其在抗棉铃虫性、产量和纤维品质性状上的差异。结果表明: 11 个转基因系的抗棉铃虫效果明显, 达到中抗和高抗水平; 转基因系及其受体、转基因系之间在单铃重等 10 个性状上均存在极显著性差异; 和受体亲本相比, 各个转基因系变异方向比较一致的性状有: 衣指、衣分降低; 而株高、单铃结铃数、单铃重、子指、皮棉产量、纤维长度、断裂比强度、马克隆值、伸长率等性状的变化方向不定。

关键词: 棉花; 抗虫性; 遗传变异; *CryIAc*+*API-B*

Genetic Variation of Main Agronomic Traits of Transgenic Insect Resistant Lines in Cotton

XU Ze-jun¹, NIE Yi-chun², ZHANG Xian-long², GUO Xiao-ping², WU Jia-he³

(¹Xuzhou Research Institute of Agricultural Sciences, Xuzhou 221121,

²National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070;

³State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101)

Abstract Eleven transgenic *CryIAc*+*API-B* cotton lines were evaluated on the agronomic traits like resistance to cotton bollworm, yield and fiber quality traits. Compared with their receptor Ekang 9, distinguished resistance to cotton bollworm was found among these transgenic lines, and most of them presented moderate resistance or high resistance to bollworm. Moreover, significant differences were also found in yield and yield related components between transgenic lines and Ekang 9. All transgenic lines decreased in lint percentage and lint index. But other agronomic traits like plant height, number of fruit branch, bolls per plant and fiber quality traits like length, micronaire and strength varied in different directions compared these transgenic lines with Ekang 9.

Key words Cotton; Insect resistance; Genetic variation; *CryIAc*+*API-B*

自转 *BT* 抗虫棉在大面积生产运用以来, 有力地控制了棉铃虫对棉花生产带来的危害。但在长期种植转 *BT* 基因抗虫棉的情况下, 目标害虫对 *BT* 毒蛋白的适应性会增强, 将导致抗性水平的下降。为了延缓棉铃虫对 *BT* 基因的抗性, 将 2 个或更多的抗虫基因结合在一起同时转入到棉花中, 是延缓和治理害虫抗性发展的有效措施^[1-2]。1993 年, 我国首次将人工合成的 *GFM CryIA* 杀虫基因和经过修饰的 *CpTI* 基因的高效双价杀虫基因转入到石远 321、

中棉所 19 号等棉花品种中, 获得了双价转基因抗虫棉株系^[3], 培育并审定了中棉所 41、中棉所 45、SGK321 等双价抗虫品种。慈菇蛋白酶抑制剂 (*API-B*) 是来源于慈菇储藏器官 (根茎) 的一种天然抗虫物质, 属于丝氨酸蛋白酶抑制剂类, 能抑制胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶和激肽释放酶, 对某些鳞翅目、双翅目以及鞘翅目等昆虫有毒杀作用。2003 年, 吴家和等^[4-5]用合成的 *CryIAc* 活性杀虫蛋白嵌合基因及慈菇蛋白酶抑制剂 (*API-B*) 基因表达框的双抗虫

收稿日期: 2010-03-04 修回日期: 2010-09-16

基金项目: 国家科技部转基因重大专项 (2008ZX08005-003); 湖北省“十一五”科技攻关资助课题 (2006AA201A02)

作者简介: 徐泽俊, 硕士, 现从事大豆遗传与育种研究。E-mail: xzjpicture@126.com

通讯作者: 聂以春, 教授, 从事棉花遗传育种研究和作物遗传育种教学。E-mail: ny@mail.hzau.edu.cn

基因植物表达载体,通过土壤根瘤杆菌介导转化棉花品种冀合 321,获得一批抗虫的转化植株。2004 年审定了转 *CryIAc* 和 *API-B* 双价的抗虫棉新品种晋棉 38^[6]。随后 *BT + SCK*、*BT + GNA*、*BT + CpTI* 等其他双价抗虫基因也被转入到陆地棉中^[7-9]。

由于不同的研究者利用的转基因方法、受体亲本以及转入的外源基因不同、插入的位点和拷贝数的差别,外源基因转入后会对受体基因组的表达产生影响,从而对形态学、农艺学和经济学性状带来一系列的特征特性的变异^[10-16]。造成的变异及其变异的方向所得出的结论也是不一致的。无论是何因素,但通过生物技术的方法创造变异,获得新材料或新品种是重要的途径之一。本试验以来自同一转基因受体陆地棉 (*Gossypium hirsutum* L.) 品种鄂抗 9 号、相同的 *CryIAc* 基因及 *API-B* 基因的 (*CryIAc + API-B*) 11 个转基因系为材料,与转基因受体亲本进行两年两地的比较,对其产量性状、纤维品质性状及抗棉铃虫特性进行综合评价,为通过转外源基因创造新材料,扩大棉花种质资源或培育新品种,提供育种实践运用上的依据。

1 材料与方法

1.1 材料和试验设计

以鄂抗 9 号下胚轴诱导的愈伤组织为受体,通过农杆菌介导法,将 *CryIAc + API-B* (由中国农科院微生物研究所提供) 基因导入到受体中,通过卡那霉素抗性愈伤组织筛选、植株再生和 PCR 分子检测,获得 25 个转基因植株 F₀, 分别经过 8 个世代的人工自交与选择,培育出来自不同克隆个体、植株形态性状稳定一致的 04-1004、04-1018、04-1023、04-1033、04-1063、04-1032、04-1003、04-1039、04-1011、04-1008、04-1031 等 11 个双价抗虫棉系。以它们为研究材料,受体亲本鄂抗棉 9 号为对照,进行比较试验。试验材料由华中农业大学作物遗传改良实验室棉花课题组提供。

2007–2008 年,试验采用完全随机区组设计,3 次重复,小区面积 12m²,种植密度 1850 株/667m²。营养钵育苗移栽,管理与大田生产相同。

1.2 室内接棉铃虫鉴定及统计

2007 年 8 月 17 日进行转基因植株的室内抗性鉴定,将湿纸巾垫放在培养皿(直径约 8.60cm)底部防止叶片失水萎蔫(纸巾的潮湿程度以没有明水流出为准),将采摘的幼嫩叶片(倒 2 叶或倒 3 叶)平放在培养皿内,每皿放置 2 片嫩叶,每张叶片

接初孵棉铃虫幼虫 5 头,在 26℃ 每天光照 14 h 的条件下饲养,设置 4 次重复。5d 后调查棉叶上存活的幼虫数以及叶片危害级别并统计棉铃虫的存活率和生长情况。

棉铃虫对叶片的危害级别及抗虫性分级的标准参照束春娥等^[17]的方法划分。

校正死亡率(%) = (鉴定材料的死亡率 - 对照组死亡率) / (100% - 对照组死亡率) × 100%

1.3 转基因系的卡那霉素鉴定

卡那霉素植株涂抹鉴定: 2007 年 8 月 15 日,利用 0.5% 的兽用卡那霉素溶液涂抹供试材料植株的倒 2 叶,涂抹面积约占叶面积的 1/3。5d 后记录涂抹部位的反应情况,叶色正常的为抗卡那霉素植株,叶色变黄的为卡那霉素敏感植株。

卡那霉素分子鉴定: DNA 的提取参照 Paterson 等^[18]以及本实验室加以改良的方法。用卡那霉素抗性基因的特异性引物进行 PCR 扩增,上游引物序列为: 5'-GGCACAAACAGACAATCGGC-3'; 下游引物序列为: 5'-CGCTTCCTCGTGCTTTACG-3'。扩增总体积为 20μl,包括 DNA 模板 2μl,引物各 0.2μl,10 × buffer 2μl(购自 Sunny 公司); MgCl₂ 2μl(购自上海申能博彩生物科技有限公司); dNTP 0.3μl(购至 BM 公司); Taq 酶 0.2μl(购自上海申能博彩生物科技有限公司); 双蒸水 13.1μl。扩增程序为: 94℃ 预变性 5min,按 94℃ 变性 30s, 57℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 40s 进行 35 个循环, 72℃ 延伸 5min, 4℃ 保存。取 10μl 扩增产物在 1% 的琼脂糖凝胶上电泳,鄂抗 9 号为阴性对照,质粒 402 为阳性对照,观察比较带型差异。

1.4 农艺性状调查及纤维品质测定

2007 年–2008 年 9 月 10 日调查单株成铃数、果枝数且每个小区收取植株中上部正常吐絮棉铃 20 个,将考种花按小区称重、轧花并考查单铃重、衣指、子指、衣分。随机抽取纤维 14g 左右送往农业部棉花品质监督检验测试中心进行纤维品质检验,主要指标有: 纤维长度、整齐度、马克隆值、比强度、伸长率。每一小区实收测定子棉产量并轧花计算衣分和皮棉产量。

调查数据进行方差分析,采用新复极差法(SSR)进行差异显著性测定。

2 结果与分析

2.1 转 *CryIAc + API-B* 基因系的抗性鉴定

2.1.1 转基因系抗卡那霉素标记基因分子检测与植株叶片涂抹 由于 *CryIAc + API-B* 双价基因带有抗卡那霉素的选择标记基因,根据卡那霉素抗性基

因设计特异性引物,进行了 PCR 检测,结果显示 (图 1): 阴性对照鄂抗 9 号和空白对照都没有出现扩增条带,而各转基因系和阳性对照 402 质粒载体均扩增出了清晰的条带 (580bp 左右),证明了抗虫基因

整合到了棉花基因组中。同时利用 0.5% 的兽用卡那霉素溶液涂抹供试材料植株叶片,统计数据表明 11 个双价抗虫系的阳性率在 91.3% ~ 100%,而对照植株无阳性反应 (表 1)。

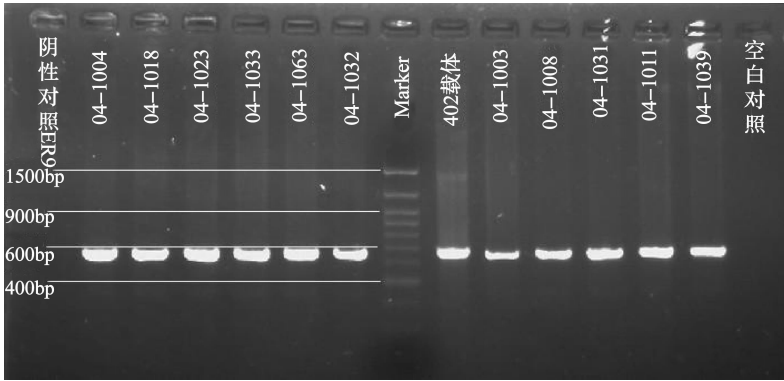


图 1 转基因抗虫系及鄂抗 9 号的卡那霉素抗性基因引物的 PCR 扩增结果

Fig 1 PCR of transgenic lines and their recipient with kanamycin resistance gene primer

2.1.2 室内喂虫鉴定 以受体亲本为对照,对 11 个转基因系进行室内饲养棉铃虫,5d 后的统计结果表明 (表 1): 各转基因系的棉铃虫危害程度较鄂抗 9 号明显减轻,转基因系的叶片表面只有针孔状取食,而基本没有连片取食的现象,每皿内存活的很小幼虫数为 1~3 头,表明其被饲养转基因系的叶片后,生长发育状况受到明显的抑制;而鄂抗 9 号被大

表 1 转基因系和受体鄂抗 9 号的抗虫性比较

Table 1 Difference of resistance to cotton bollworm larvae between transgenic lines and their recipient

材料 Sample	幼虫存活 / 死亡个数 Survival/Death	校正死亡率 (%) Corrected mortality	抗虫性级别 Resistance degree	卡那霉素阳性率 (%) Positive rate
04-1003	4/36	86.21	高抗	95.45
04-1004	9/31	68.97	低抗	93.48
04-1008	10/30	65.52	低抗	94.29
04-1011	4/36	86.21	高抗	91.67
04-1018	8/42	75.86	中抗	92.86
04-1023	7/33	75.86	中抗	91.30
04-1031	4/36	86.21	高抗	100.00
04-1032	8/42	77.93	中抗	93.75
04-1033	6/44	83.45	高抗	95.83
04-1039	6/34	79.31	中抗	91.67
04-1063	7/33	75.86	中抗	93.33
鄂抗 9 号 (CK)	29/11	-	-	0.00

量取食,叶片只剩下叶脉,危害级别多为 4 级以上,且幼虫长大明显,每皿内存活虫数均在 6 头以上,饲养鄂抗 9 号叶片的幼虫成活率达 72.5%,转基因系的校正死亡率在 65.52% ~ 86.21%,绝大部分转基因系表现为中抗或高抗棉铃虫。

2.2 转外源基因对主要农艺和经济性状的影响

对 11 个转基因系及其受体亲本的主要农艺和产量性状进行比较分析,结果见表 2。

株高与果枝数: 11 个转基因系的株高变幅在 102.0~140.1cm 之间,平均高度为 129.6cm,高于受体鄂抗 9 号 3.1cm。其中 04-1003 等 4 个转基因系的株高明显高于受体亲本,并达显著或极显著水平;而 04-1011 株高明显矮于受体,差异达极显著水平。果枝数没有差异。

单株结铃数与单铃重: 11 个转基因系的单株结铃数变幅在 28.7~48.3 个之间,平均结铃数为 38.2 个,低于受体鄂抗 9 号的单株结铃数 (45.8 个)。只有 04-1031 略高于鄂抗 9 号,但二者差异不显著,而其他的 10 个转基因系的单株结铃数明显的少于鄂抗 9 号,其中 04-1004 等 8 个转基因系达到了极显著水平,04-1032、04-1003 达到了显著水平。单铃重变幅在 4.66~6.26g 之间,平均重量为 5.24g,略低于受体鄂抗 9 号 0.14g。有 4 个转基因系的单铃重大于受体,其中 04-1008 达到了极显著水平;7 个转基因系的单铃重要小于受体,其中 04-1039 达到了显著性水平。

衣分与衣指: 11 个转基因系的衣分变幅在 36.97% ~ 43.80% 之间,平均值为 40.41%,要低于

受体鄂抗 9号。所有转基因系的衣分与受体鄂抗 9号相比都有一定程度的下降,除 04-1031外,其他 10个转基因系与鄂抗 9号的差异都达到了极显著性水平。衣指变幅在 5.86~7.41g 之间,平均值为 6.73g。除 04-1008、04-1018、04-1031和 04-1063等 4个与受体亲本鄂抗 9号相当外,其他 7个系都显著或极显著的降低,这种变化趋势与衣分一致。

子指: 11个转基因系的子指变幅在 9.19~11.10g之间,平均值为 9.92g。与受体鄂抗 9号比

较, 04-1008、04-1011的子指达极显著水平,其他 9个与受体相当,差异不显著。

皮棉产量: 11个转基因系的皮棉产量变幅在 701.2~1291.1kg/hm²之间,平均值为 1143.6kg/hm²,低于受体鄂抗 9号 1280.9kg/hm²。04-1031、04-1008的皮棉产量高于受体鄂抗 9号,其中 04-1031达到了显著性水平; 04-1011等 9个转基因系的皮棉产量低于受体鄂抗 9号,其中 04-1004等 4个达到了极显著性水平, 04-1033达到了显著性水平。

表 2 转基因系及受体的主要农艺和产量性状差异比较

Table 2 Difference for yield and yield elements between transgenic lines and their recipient

材料 Sample	株高 (cm) Plant height	果枝数 (个) Fruit Branch	单株结铃数 (个) Bolls per plant	单铃重 (g) Boll weight	衣指 (g) Lint index	子指 (g) Seed index	衣分 (%) Lint percentage	皮棉产量 (kg/hm ²) Lint yield
04-1003	140.1 aA	16.3 a	41.4 bBC	5.42 bB	6.56 cdeBCD	9.32 cC	40.44 cdCDE	1219.3 bcB
04-1004	138.1 aAB	16.3 a	40.4 bC	5.34 bB	6.30 deCD	9.95 bcABC	39.08 dE	1082.7 dCD
04-1008	130.7 abcABC	16.5 a	36.8 cD	6.26 aA	6.99 abcdABC	10.66 abAB	39.68 dDE	1291.1 hAB
04-1011	102.0 dD	15.7 a	28.7 dE	5.00 bcB	5.86 dD	11.10 aA	36.97 eF	701.2 eE
04-1018	133.8 abABC	16.8 a	38.0 bCD	5.39 bB	7.41 abAB	9.81 bcABC	42.22 bBC	1038.4 dD
04-1023	137.2 aAB	16.3 a	36.4 cdCD	5.01 bcB	6.77bcdEABCD	9.19 cC	41.63 bcBCD	1203.6 bcBC
04-1031	136.9 aAB	16.5 a	48.3 aA	5.42 bB	7.18 abcABC	9.81 bcABC	43.80 aAB	1385.5 aA
04-1032	130.3 abcABC	16.3 a	42.2 hABC	5.05 bcB	6.23 eCD	9.73 bBC	38.81 dE	1276.0 hAB
04-1033	131.2 abcABC	15.5 a	31.8 dDE	4.89 bcB	7.33 abAB	9.99 bcABC	40.22 cdCDE	1169.3 cBCD
04-1039	121.7 cC	15.8 a	38.1 bCD	4.66 cB	6.61 cdeBCD	9.71 cC	41.65 bcBCD	995.0 dD
04-1063	123.3 cC	15.8 a	38.2 bCD	5.23 bcB	6.85 bcdeABC	9.84 bcABC	40.01 cdCDE	1218.0 bcB
平均	129.6	16.2	38.2	5.24	6.73	9.92	40.41	1143.6
鄂抗 9号 (CK)	126.5 bcBC	16.8 a	45.8 aAB	5.38 bB	7.60 aA	9.22 cC	44.81 aA	1280.9 hAB

小写字母表示差异达到显著性水平,大写字母表示差异达到极显著水平。下同
The capital and small letters indicate the significant at 0.01 and 0.05 level The same as below

2.3 转外源基因对纤维品质性状的影响

11个转基因系及受体的主要纤维品质性状的方差分析结果表明(表 3): 11个转基因系的纤维长度变幅在 27.82~30.94mm,平均值为 29.26mm,要高于受体鄂抗 9号 0.84mm。转基因系 04-1018、04-1031、04-1039的纤维长度略低于受体鄂抗 9号,差异不显著。04-1033等 8个转基因系的纤维长度都高于鄂抗 9号,其中 04-1033达到了极显著性水平, 04-1004达到了显著性水平。纤维强度变幅在 27.20~31.35cN/tex,平均值为 29.23cN/tex,要高

于受体鄂抗 9号 1.0cN/tex。04-1023等 9个转基因系的纤维强度都优于鄂抗 9号,其中转基因系 04-1033达到了极显著性水平, 04-1023达到了显著性水平;转基因系 04-1018、04-1039的纤维强度略低于受体鄂抗 9号,但没有显著性差异。马克隆值变幅在 4.35~5.06,平均值为 4.72,低于受体鄂抗 9号 0.32。04-1033等 8个转基因系的马克隆值变小,其中 04-1033达到了显著性水平,其他的转基因系与鄂抗 9号没有显著性水平差异。11个转基因系的纤维整齐度和伸长率与受体无显著性差异。

表 3 转基因系及受体亲本的主要品质性状差异比较

Table 3 Difference for fiber quality between transgenic lines and their recipient

材料	纤维长度 (mm)	马克隆值	断裂比强度 (cN / tex)	整齐度 (%)	伸长率 (%)
Sample	Length	M icronaire	Strength	Un ifom ity	E lbgation
04-1003	29. 37 ab cdeA BCD	4. 58 abA B	29. 42 bcdA BCD	84. 50 a	6. 47 a
04-1004	30. 44 abA B	4. 83 abA B	29. 72 ab cABC	84. 20 a	6. 40 a
04-1008	29. 51 ab cdA BCD	4. 62 abA B	29. 97 ab cABC	85. 70 a	6. 47 a
04-1011	28. 48 cdeBCD	4. 98 aA B	29. 33 bcdA BCD	84. 10 a	6. 27 a
04-1018	27. 82 d)	4. 99 aA B	27. 88 deCD	84. 20 a	6. 47 a
04-1023	29. 99 ab cABCD	4. 68 adA B	30. 48 abA B	85. 00 a	6. 27 a
04-1031	28. 27 deBCD	4. 62 abA B	28. 60 cdeBCD	84. 20 a	6. 37 a
04-1032	29. 15 bcdeA BCD	4. 65 abA B	28. 82 bcdeBCD	84. 30 a	6. 57 a
04-1033	30. 94 aA	4. 35 bB	31. 35 aA	86. 00 a	6. 35 a
04-1039	27. 88 deCD	5. 06 aA	27. 20 eD	85. 10 a	6. 60 a
04-1063	30. 05 ab cABC	4. 61 abA B	29. 82 ab cAB	84. 60 a	6. 50 a
平均	29. 26	4. 72	29. 23	84. 81	6. 43
鄂抗 9号 (CK)	28. 42 cdeBCD	4. 98 aA B	28. 23 cdeBCD	85. 10 a	6. 52 a

综上所述, 外源基因整合到棉花染色体组中, 对部分性状会造成一定的遗传变异。从试验的结果中可以看出: 当 *CryIAc* + *API-B* 基因被转入到鄂抗 9 号中后, 选育出的 11 个转基因系与受体相比, 不同抗虫系性状变异方向比较一致的有: 衣指、衣分降低; 而株高、单株结铃数、单铃重、子指、皮棉产量、纤维长度、断裂比强度、马克隆值、伸长率的变化方向不定, 其相对值增大或变小; 而果枝数、纤维整齐度和伸长率的变异很小。在不同的抗虫系之间, 同一性状比较也存在一些明显差异, 有的达到显著或极显著水平。11 个转基因系与受体鄂抗 9 号比较, 抗棉铃虫特性都得到了很好的改良。其中 04-1003、04-1008、04-1023、04-1063 4 个系, 其产量水平与受体相当, 但在纤维的长度、比强度等方面又明显优于受体亲本, 表现为综合性状优良。以上获得的抗虫系材料, 扩大了棉花育种的遗传资源。

3 讨论

当外源基因导入到某一生物体并整合到染色体中, 就可以稳定的遗传给后代。由于外源基因插入位点的随机性及拷贝数多少不同, 对生物性状的遗传表现可能造成不同影响。

本试验中, 在抗虫性、农艺性状、产量性状、纤维品质性状上不仅在转基因系与受体亲本之间而且在各转基因系之间也存在较大的差异。说明这些转基

因系不仅引入了外源靶标性状, 而且还得到了许多非靶标性状的变异, 这与 Cuzzon i 等^[19]研究的转基因植物会表现出与外源基因似乎无关的表型性状变异的结果类似。这种变异可能是双价抗虫基因的随机整合对某些性状相关基因的表达产生了影响, 有待于进一步的研究。

本研究结果表明, 绝大多数的转基因系的纤维长度和强度同时得到了改良即纤维长度变长的同时其强度变强, 如株系 04-1004 和 04-1033 的纤维长度和强度与鄂抗 9 号相比差异均达到了显著或极显著水平, 这与已有的部分报道不完全一致。一般认为纤维长度和强度是呈负相关的即长度的增加会导致强度的下降, 强度的增加在一定程度上会影响纤维长度的增长, 如刘剑光等^[14]研究了转 *Bt* 基因棉 GK12 和受体泗棉 3 号诸多性状之后发现 *Bt* 基因导入使植株纤维比强度提高而纤维长度下降。而吕淑平等^[13]对 5 个不同抗虫系进行研究, 发现 SX921 的纤维长度比受体石远 321 增长了 1.4mm, 而纤维强度增长了 1.2cN / tex, 本试验的结果与之有相似之处, 造成转基因后代纤维品质变异不一致的原因之一, 可能与不同研究者所利用的转基因受体亲本的不同有关。

转外源基因的成功不仅仅可以利用外源基因的特性, 还可以利用外源基因的整合所造成的性状的变异来创造新种质, 改良现有的品种。转基因后代

的分离越广泛则出现有利性状的几率就会越大,而获得优异种质如结铃性强、长纤维、高强纤维等材料的几率也就会增大,这就有利于选择到合适的育种材料。

本研究所获得的 11 个转双价抗虫基因纯合品系的抗虫性与鄂抗 9 号比较抗虫性非常明显,除少数抗虫系外,多数系的产量水平、纤维品质却与受体相当或优异,这些抗虫纯合品系可作为我国的抗虫棉资源加以利用。

参考文献

[1] 喻树迅,李付广,刘金海.我国抗虫棉发展战略[J].棉花学报,2003 15(4): 238-242

[2] 崔峰,徐洪富,许永玉,等.抗虫棉研究的进展、问题与对策[J].植物保护学报,2002 29(4): 371-376

[3] 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

[4] 吴家和,张献龙,罗晓丽,等.转新型双抗虫基因棉花的遗传分析[J].遗传学报,2003(7): 631-636

[5] 吴家和,田颖川,罗晓丽,等.转两类抗虫基因棉花优良纯合品系的选育[J].中国农业科学,2003 36(6): 651-656

[6] 张安红,吴家和,罗晓丽,等.转双抗虫基因高产棉花新品种-晋棉 38[J].中国棉花,2005 32(2): 23

[7] 袁小玲,唐灿明,张天真.转 *Bt*+*CpTI* 双价抗虫棉的遗传及生育期对棉铃虫的抗性表现[J].作物学报,2002 28(2): 179-184

[8] 郭金英,朱协飞,郭旺珍,等.转 *Bt*+*Sck* 基因双价抗虫棉的抗性及遗传分析[J].棉花学报,2007,19(2): 88-92

[9] 丁叶掌,张天真.高衣分转 *BT*+*GNA* 双价抗虫棉新种质的选育与利用[J].分子植物育种,2008,6(5): 995-999

[10] 上官小霞,王凌健,李燕娥,等.对转蚕丝芯蛋白轻链基因棉花的分析[J].作物学报,2007,33(5): 697-702

[11] Li X, Wang X D, Zhao X, et al Improvement of cotton fiber quality by transform ing the *acsA* and *acB* genes into *Gossypium hirsutum* L. by means of vacuum infiltration[J]. Plant Cell Rep 2004 22 691-697

[12] 张燕红,王冬梅,周小云,等.转 *Susy* 基因对棉花农艺性状的影响[J].新疆农业科学,2008,45(1): 61-65

[13] 吕淑平,郭小平,赵元明.转基因抗虫棉 *Bt* 基因导入对受体材料农艺性状的影响[J].中国农学通报,2004,20(3): 36-37

[14] 刘剑光,肖松华,狄佳春,等.*Bt* 基因导入对棉花农艺性状的影响[J].中国棉花,2003 30(3): 15-17

[15] 上官小霞,吴霞,梁运生,等.兔角蛋白基因转化棉花及其纤维品质的改良[J].中国生态农学报,2008,16(2): 451-454

[16] 李瑞奇,马峙英,王勤英,等.转 *Bt/CpTI* 基因棉花抗虫性鉴定与筛选[J].植物遗传资源学报,2005,6(4): 409-413

[17] 束春娥,柏立新,孙以文,等.转基因抗虫棉的抗性鉴定[J].江苏农业学报,1997 13(1): 22-26

[18] Paterson A H, Brubaker C L, Wendell J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium spp.*) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis[J]. Plant Molecular Biology Reporter 1993, 11(2): 122-127

[19] Cuzzoni E, Ferretti L, Giordani C, et al A repeated chromosomal DNA sequence is amplified as a circular extrachromosomal molecule in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Molecular and General Genetics 1990 222: 58-64