

赵龙飞, 赵 亮, 狄佳春, 等. 陆地棉转 *GR79* 与 *GAT* 基因对草甘膦抗性的鉴定及其遗传规律分析[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(3): 531-536.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2019.03.005

## 陆地棉转 *GR79* 与 *GAT* 基因对草甘膦抗性的鉴定及其遗传规律分析

赵龙飞<sup>1</sup>, 赵 亮<sup>2</sup>, 狄佳春<sup>2</sup>, 陈旭升<sup>2</sup>

(1. 南京农业大学农学院, 江苏 南京 210095; 2. 江苏省农业科学院经济作物研究所, 江苏 南京 210014)

**摘要:** 本研究采用特异引物对陆地棉种质系 GGK-2 的抗草甘膦基因进行 PCR 鉴定, 结果显示: GGK-2 不仅扩增出 488 bp 的 *GR79* 基因的特征条带, 同时还扩增出 379 bp 的 *GAT* 基因特征条带。而后采用草甘膦对陆地棉与陆地棉杂交  $F_2$  分离群体进行浸种抗性鉴定, 结果显示 GGK-2 对草甘膦表现出良好抗性, 其抗草甘膦性状分离符合抗性株: 非抗性株 = 3:1 的质量性状分离规律, 显示抗草甘膦性状是受孟德尔单显性基因控制的质量性状。同时, 利用陆地棉与陆地棉杂交  $F_2$  群体对抗性基因 *GR79* 和 *GAT* 的分离进行 PCR 检测, 显示目的基因 *GR79* 和 *GAT* 导入棉花后, 以共有的方式在棉花杂交后代稳定地遗传传递, 共有比率高达 97.9%。而后, 采用海岛棉与陆地棉杂交  $F_2$  群体作为定位群体, 利用 SSR 分子标记对外源基因进行遗传定位, 结果显示 *GR79* 和 *GAT* 2 个基因均被定位于棉花第 20 号染色体上, 并表现为连锁遗传, 其遗传距离为 3.3 cM。在 *GR79* 基因位点一侧有 7 个 SSR 分子标记, 与其最近的标记为相距 7.1 cM 的 *NAU2579*; 在 *GAT* 基因位点一侧也有 7 个 SSR 分子标记, 与其最近的标记是相距 3.9 cM 的 *NAU3137*。本研究为品系 GGK-2 在抗除草剂棉花育种中的应用提供了理论依据。

**关键词:** GGK-2; 抗草甘膦基因; *GR79*; *GAT*; 遗传规律

**中图分类号:** Q78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2019)03-0531-06

## Identification and inheritance of glyphosate-resistant genes *GR79* and *GAT* in upland cotton

ZHAO Long-fei<sup>1</sup>, ZHAO Liang<sup>2</sup>, DI Jia-chun<sup>2</sup>, CHEN Xu-sheng<sup>2</sup>

(1. Agronomy College, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** The specific primer was used to identify glyphosate-resistant genes in upland cotton GGK-2. The results showed that GGK-2 not only amplified the *GR79* gene with 488 bp characteristic band, but also had the *GAT* gene with characteristic band of 379 bp. Then seeds of hybrid  $F_2$  population of upland cotton crossing upland cotton soaked by 0.3% glyphosate were used to study glyphosate-resistance inheritance. The results showed that GGK-2 had good resistance to glyphosate, and the glyphosate-resistant character was quality trait consistent with resistance plants to non-resistant plants equal to 3:1 separation ratio, showing that the resistance to glyphosate was the quality trait controlled by a single dominant

收稿日期: 2018-09-29

基金项目: 国家转基因生物新品种培育科技重大专项  
(2016ZX08005-005, 2016ZX08005001-008)

作者简介: 赵龙飞 (1990-), 男, 河南周口人, 硕士研究生。研究方向为棉花遗传育种。(Tel) 15261871076; (E-mail) 1107310135@qq.com

通讯作者: 陈旭升, (Tel) 025-84390371; (E-Mail) njcxs@126.com

gene. At the same time, the separation of resistance genes *GR79* and *GAT* in the  $F_2$  group of upland cotton crossing upland cotton was determined by PCR. After the target genes *GR79* and *GAT* were introduced into cotton, they were stably transferred in a coexistent manner in cotton hybrid offspring, with a total ratio of 97.9%. Then, the  $F_2$  group of upland cotton crossing sealand cotton was used to

make preliminary location of the exogenic genes by SSR molecular markers. The results showed that both *GR79* and *GAT* genes were mapped to the 20th cotton chromosome, with genetic distance of 3.3 cM. There were seven SSR molecular markers on the side of the gene *GR79*, the closest marker was *NAU2579*, with genetic distance of 7.1 cM. There were seven SSR molecular markers on the side of the gene *GAT*, the closest marker was *NAU3137*, with genetic distance of 3.9 cM. This study provides a theoretical basis for applying the strain G GK-2 in herbicide resistant cotton breeding.

**Key words:** G GK-2; glyphosate-resistant genes; *GR79*; *GAT*; inheritance

棉花是十分重要的经济作物,与国民生活以及国家的农业经济息息相关。中国棉花集约化生产水平相对落后,其中杂草对棉花的危害是导致棉花综合生产效益较低的一个重要因素。杂草不仅与农作物竞争水、肥、光和空间等,而且容易滋生病虫害,严重影响棉花个体的生长发育,造成棉花产量降低与品质的下降<sup>[1]</sup>。草甘膦是世界公认的优良除草剂之一,其除草范围广,高效、低毒、无残留,并且价格低廉,因此草甘膦尤其适合在作物大面积种植地区推广使用。这就需要种植的作物对草甘膦具有抗性,这样在使用草甘膦时不至于对作物造成药害<sup>[2]</sup>。

当今世界,作物生产逐渐向机械化和集约化方向发展。抗除草剂品种的培育将成为中国棉花机械化生产的一种迫切需求。棉花对草甘膦的抗性可通过以下 2 种主要途径获得:一是通过诱变或向棉株体内导入对草甘膦不敏感的基因,进而提高植物对草甘膦的耐受性。二是通过向棉株体内导入草甘膦降解基因,在草甘膦发挥作用前将其降解,使棉株对草甘膦产生抗性。Comai 等<sup>[3-4]</sup>在鼠伤寒门氏菌中筛选并分离出了抗草甘膦的突变基因 *aroA*,并成功在大肠杆菌中获得抗草甘膦特性的表达。Nida 等<sup>[5]</sup>将在土壤农杆菌变种 CP4 菌株中发现的莽草酸羟基乙烯转移酶基因(*EPSPS*),通过农杆菌介导的方法转移到棉花中,成功培育出具有抗草甘膦除草剂特性的棉花品种。中国在自主培育抗草甘膦棉花新种质系方面已有不少研究报道<sup>[6-10]</sup>,特别在自主筛选与克隆抗草甘膦基因方面已取得长足进步<sup>[11]</sup>。中国农业科学院生物技术研究所科研团队在草甘膦严重污染的土壤微生物中克隆到抗草甘膦新型 EPSP 合酶 *GR79* 及 *N*-乙酰转移酶 *GAT*,并进行植物偏爱性密码子改造,构建含 *GR79* 或 *GAT* 单基因和同时含有双基因的植物表达载体,并将这 2 种基因同时导入到棉花中,获得了双抗草甘膦基因的棉花新种质系,通过分子检测和功能鉴定发现,转

基因种质系的抗草甘膦能力达生产用量的 5 倍以上<sup>[12-14]</sup>。

本试验利用中国农业科学院生物技术研究所提供的抗草甘膦棉花新品系 G GK-2 作为试验材料,通过对这一抗草甘膦棉花新品系进行抗性基因的 PCR 鉴定和抗性遗传分析,并对抗性基因进行连锁遗传定位,旨在为国产抗除草剂棉花新材料育种提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

国产抗草甘膦陆地棉新种质系 G GK-2 由中国农业科学院生物技术研究所郭三堆研究员提供,胜利 1 号(V-1)为非抗草甘膦的海岛棉品种,YK1107 为非抗草甘膦的陆地棉种质系。

以 G GK-2 为母本,配置杂交组合:G GK-2 × YK1107、G GK-2 × V-1。其 F<sub>1</sub> 代自交获得 F<sub>2</sub> 代群体 [G GK-2 × YK1107] F<sub>2</sub>、[G GK-2 × V-1] F<sub>2</sub>。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 目的基因的 PCR 检测** 本试验所采用的特异引物是根据郭三堆等<sup>[12]</sup>公布的 *GR79* 和 *GAT* 基因序列自行合成。*GR79* 特异性引物序列如下,其目标条带总长 488 bp;F:5'-GATGCGAGCACGGCCTGCTACTT-3';R:5'-ATGCGAATGTGCGGAACCTTGAC-3';*GAT* 基因的特异性引物序列如下,其目标条带总长为 379 bp;F:5'-CCTATGAGTTGAGGCACCGTATT-3';R:5'-TGAGGTCCCACAGGAGGAGTGTG-3'。

取 G GK-2、V-1 与 YK1107 的种子,提取 DNA,方法参照匡猛等<sup>[15]</sup>的方法。PCR 扩增产物在恒压 90 V 条件下,使用 1% 琼脂糖凝胶进行电泳,在凝胶成像系统中观察目的基因片段。

**1.2.2 草甘膦抗性的生物学鉴定** 棉种对草甘膦的抗性鉴定参照陈旭升等报道的棉籽浸种鉴定法<sup>[16]</sup>。取 G GK-2 种子 50 粒,YK1107 种子 50 粒,

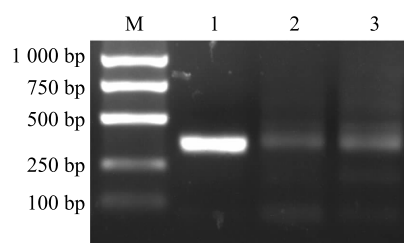
GGK-2×YK1107  $F_2$  种子 100 粒,将 41% 浓度的农达试剂稀释到 0.3%,在 150 ml 锥形瓶中用稀释后的农达试液浸没种子 24 h,取出棉种做沙基发芽试验。然后放入 25 °C 恒温培养箱中培养 7 d 后,计数各群体对草甘膦的抗性苗与非抗性苗。

**1.2.3 *GR79* 和 *GAT* 基因的染色体定位** 取 GGK-2×V-1  $F_2$  的种子提取 DNA,方法同上。在  $F_2$  分离群体中随机选取含有目的基因 *GR79* 和 *GAT* 个体各 10 个,对应不含有目标基因的个体 10 个,分别建立 *GR79* 和 *GAT* 的近等基因池。然后利用我们前期筛选获得的分布于棉花 26 对染色体上的 234 对 SSR 核心引物<sup>[17]</sup>,对双亲和近等基因池进行 PCR 扩增,筛选有多态性的引物。PCR 扩增反应体系为 10.0  $\mu$ l,反应程序为,*GR79* 基因:94 °C 预变性 10 min;94 °C 变性 15 s,63 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 1 min,35 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min;*GAT* 基因:94 °C 预变性 10 min;94 °C 变性 15 s,55 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 1 min,35 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min。扩增产物在 8.0% 的非变性 PAGE 凝胶上电泳,电压为恒压 220V,电泳缓冲液为 1×TBE。电泳结束后,参照张军等<sup>[18]</sup>的方法进行银染,在胶片观察灯下筛选多态性引物。用获得的多态性引物检测  $F_2$  代分离群体单株的标记基因型,统计多态性条带,将与 V-1 带型相同的个体基因型记为 1,与 GGK-2 带型相同的个体基因型记为 2,共显性杂合带型的基因型记为 3,条带为空或无法辨识的记为 0。采用 Join Map4.0 软件进行连锁分析,以锁定目标引物以及目的染色体。然后合成目的染色体上的其他 SSR 引物对图谱进行加密,绘制连锁遗传图谱。

## 2 结果与分析

### 2.1 GGK-2 抗性基因的 PCR 鉴定

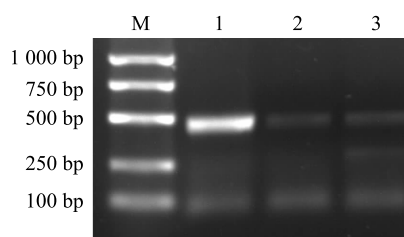
本试验依据 *GR79* 和 *GAT* 基因序列设计了 2 个基因的特异检测引物,其 PCR 扩增结果分别见图 1、图 2。两图中泳道 1 均为品系 GGK-2,它不仅扩增出 *GR79* 基因的特征条带(大小 488 bp),同时还扩增出 *GAT* 基因 379 bp 大小的特征条带。两图中的泳道 2、泳道 3 分别为 2 个对照品系:V-1(海岛棉)、YK1107(陆地棉),二者均不含 *GAT* 与 *GR79* 基因;因此都没有扩增出 488 bp 与 379 bp 大小的特征条带。以上结果表明,外源抗性基因 *GR79* 和 *GAT* 已成功转入品系 GGK-2。



M: Marker; 1: GGK-2; 2: V-1; 3: YK1107。

图 1 *GR79* 基因的 PCR 检测

Fig.1 PCR detection of *GR79* gene



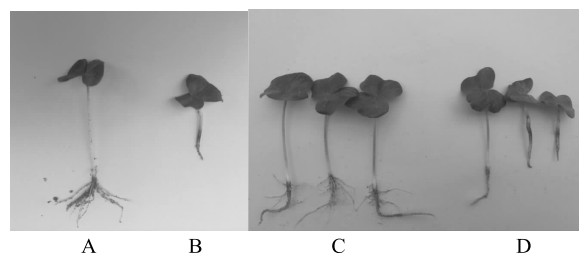
M: Marker; 1: GGK-2; 2: V-1; 3: YK1107。

图 2 *GAT* 基因的 PCR 检测

Fig.2 PCR detection of *GAT* gene

### 2.2 棉苗对草甘膦生物学抗性鉴定

用质量浓度为 0.3% 的草甘膦浸种,在温光培养箱培养 7 d 后取出棉苗,比较抗性苗与非抗性苗的表型差异(图 3)。由图 3 可见,GGK-2 棉苗发育正常,根系长出许多须根,表现出对草甘膦的良好抗性;而同等条件下的对照品系 YK1107 的棉苗发育矮小,根部未见须根,幼苗长势差,并有发黑坏死的症状,对草甘膦表现为不抗。杂交  $F_2$  分离群体的抗性苗与非抗性苗的发育情况见图 3C 和图 3D。



A、B 分别为品系 GGK-2 和 YK1107 品系的棉苗;C、D 分别为 [GGK-2×YK1107]  $F_2$  群体的抗性苗与非抗性苗。

图 3 草甘膦浸种鉴定抗性棉苗和非抗性棉苗结果

Fig. 3 Identification of resistant and non-resistant cotton seedling by glyphosate soaking

统计 2 个亲本与  $F_2$  群体的抗性苗与非抗性苗数,其结果列于表 1。由表 1 可见,GGK-2 棉苗全部

表现为抗性苗;YK1107 全部表现为非抗性苗。通过卡方检验, $F_2$ 代分离群体抗性苗和非抗性苗的比例符合孟德尔经典遗传学的 3:1 分离比例,说明 G GK-2 的抗草甘膦性状是受单个孟德尔显性基因控制的质量性状。

表 1 草甘膦浓度浸种苗期不同群体的抗性分离情况

Table 1 Isolation of resistant and non-resistant cotton seedling in different population

亲本及组合	抗性苗数	非抗性苗数	总苗数	3:1 理论比例 $\chi^2$ 值
G GK-2	33	0	33	—
YK1107	0	18	18	—
G GK-2 $\times$ YK1107 $F_2$	45	19	64	0.750 0

$$\chi^2_{0.05(1)} = 3.84。$$

### 2.3 GR79 和 GAT 基因在 $F_2$ 群体的分离特性

将 G GK-2 $\times$ YK1107  $F_2$  群体用于目的基因 GR79

表 2 陆陆杂交  $F_2$  群体的 GR79 和 GAT 基因共表达情况

Table 2 Coexistence of GR79 and GAT genes in  $F_2$  hybrid population

种群	杂交组合	外源基因	GR79 和 GAT 共有个体数	GR79 和 GAT 单有个体数	隐性个体数	3:1 理论比例 $\chi^2$ 值
$F_2$	G GK-2 $\times$ YK1107	GR79	94	1	42	2.338 2
		GAT	94	1	42	2.338 2

$$\chi^2_{0.05(1)} = 3.84。$$

### 2.4 GR79 和 GAT 基因的染色体定位

相比于陆地棉与陆地棉杂交分离群体 G GK-2 $\times$ YK1107  $F_2$ , 海岛棉与陆地棉杂交群体 G GK-2 $\times$ V-1  $F_2$  的凝胶电泳的多态性条带更加丰富, 故将 G GK-2 $\times$ V-1  $F_2$  群体用于目的基因的定位。通过对  $F_2$  分离群体 2 个目的基因做 PCR 检测, 其分离情况见表 3。表 3 中显示: 在海岛棉与陆地棉杂交  $F_2$  分离群体中, 外源基因 GR79 和 GAT 均符合 3:1 的孟德尔分离规律, 因此可以利用 SSR 分子标记对它们进行基因定位。

表 3 海岛棉与陆地棉杂交  $F_2$  后代 GR79 和 GAT 基因的独立分离情况

Table 3 Isolation of GR79 and GAT genes from  $F_2$  offspring of interspecific hybrid

杂交组合	外源基因	显性个体数	隐性个体数	3:1 理论比例 $\chi^2$ 值
G GK-2 $\times$ V-1	GR79	131	50	0.664 8
	GAT	134	47	0.090 2

$$\chi^2_{0.05(1)} = 3.84。$$

和 GAT 在杂交分离后代遗传表达特性的分析, 通过对分离群体 2 个目的基因的 PCR 检测, 其分离情况见表 2。由表 2 可知, G GK-2 $\times$ YK1107  $F_2$  群体中 GR79 基因的显性隐性个体通过卡方检验符合 3:1 的分离比例; 对 GAT 基因的检测也是同样的结果。这说明, 这 2 个目的基因都呈显性表达特征, 都符合单基因控制的质量性状遗传规律; 而且  $F_2$  分离群体中的 GR79 基因与 GAT 基因呈现明显的共有分离现象, 总共检测  $F_2$  群体 137 颗种子个体, 其中有 94 个个体表现为 GR79 与 GAT 基因的共有分离现象, 只有 2 个个体未出现 GR79 和 GAT 的共有分离现象, 共有比例高达 97.9%。至于 2 个个体为什么未能出现 GR79 和 GAT 的共有分离现象, 其内在原因尚需进一步研究探讨。

利用近等基因池筛选核心引物, 率先获得的连锁标记是 NAU2579, 这是一个位于棉花 20 号染色体上的 SSR 标记。外源基因 GR79 和 GAT 初步定位的目标染色体是相同的, 2 个基因均连锁于棉花 20 号染色体上。而后查找棉花 20 号染色体上的其他连锁分子标记, 以丰富其遗传图谱。最后通过 Join Map4.0 进行连锁分析, 获得抗草甘膦基因 GR79 和 GAT 的染色体定位图谱(图 4)。由图 4 可以看出, GR79 和 GAT 基因表现连锁, 两者遗传距离为 3.3 cM。共有 14 个 SSR 引物与这 2 个基因相连, 在 GR79 一侧有 7 个 SSR 分子标记, 在 GAT 一侧也有 7 个。与 GAT 相距最近的 SSR 标记是相距 3.9 cM 的 NAU3137, 与 GR79 最近的分子标记是相距 7.1 cM 的 NAU2579。整个遗传图谱的遗传距离为 120.9 cM。值得指出的是, GR79 和 GAT 基因虽然表现连锁, 但因采用的定位群体较小, 只有 181 个个体, 因此获得两目的基因的连锁遗传距离较大。

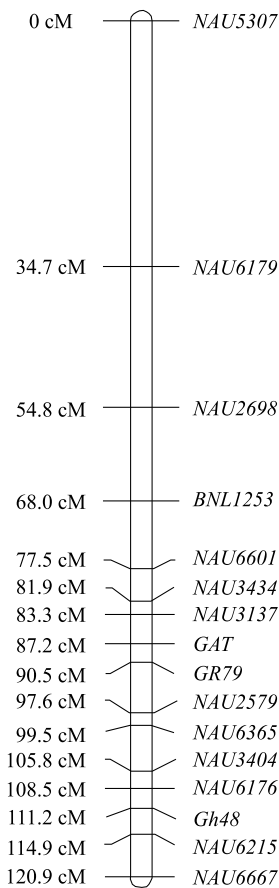


图4 抗草甘膦基因 *GR79* 和 *GAT* 在棉花第 20 号染色体上的连锁图谱

Fig.4 Linkage genetic map of glyphosate-resistant genes *GR79* and *GAT* in 20th cotton chromosome

### 3 讨论

外源基因导入棉花会产生不同的遗传转化事件,燕树锋等<sup>[10]</sup>分析转基因抗草甘膦棉花的遗传情况,曾检测 26 个抗草甘膦棉花转化事件,只有 20 个转化事件分离符合 3:1 的分离规律,其他 6 个转化事件出现了偏分离,不符合 1 对基因的分离规律,表明转基因植株中外源基因的整合和遗传机制相当复杂。本研究通过鉴定陆地棉抗草甘膦品系 GGK-2 外源基因类型以及抗草甘膦基因的遗传方式发现,抗草甘膦性状符合 1 对孟德尔显性基因控制的质量性状遗传规律。同时利用陆地棉与陆地棉杂交  $F_2$  群体以及海岛棉与陆地棉杂交  $F_2$  群体,分别检测基因 *GR79* 与 *GAT* 在杂交后代的分离,也均符合 3:1 的理论比例。前人研究结果表明,通过与某一染色体的多个 SSR 分子标记的连锁关联分析,可实现外

源基因的染色体定位<sup>[19-21]</sup>。本研究依据 Guo 等<sup>[22]</sup>、Zhao 等<sup>[23]</sup>公布的四倍体棉花分子标记遗传图谱,并利用自主筛选的分布在棉花 26 对染色体上的 234 对 SSR 核心引物,将基因 *GR79* 和 *GAT* 连锁定位在棉花第 20 号染色体上。该定位结果相当于多次 SSR 分子标记连锁重复验证,具有极高的可靠性。

对于棉花育种者来说,鉴定转基因种质系外源基因类型并探明其杂交后代的遗传规律,可以有效指导育种者依据育种目标来配置不同的杂交组合,从而有目的地实现不同外源基因的互补与整合。本研究为国产转抗草甘膦基因棉花新种质系 GGK-2 在育种中的应用提供了理论依据。

致谢: 本研究使用的抗草甘膦陆地棉品系 GGK-2,由中国农业科学院生物技术研究所在郭三堆研究员提供。在此谨表衷心感谢!

### 参考文献:

- [1] 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, 48(17):3372-3387.
- [2] 陈旭升. 抗除草剂棉花研究进展[J]. 江西农业学报, 2006, 18(1):94-98.
- [3] COMAI L, SEN L, STALKER D. An altered *aroA* gene product confers resistant to the herbicide glyphosate[J]. Science, 1983, 221:370-371.
- [4] COMAI L, FACCIONI D, HIATT W R, et al. Expression in plants of a mutant *aroA* gene from *Salmonella typhimurium* confers tolerance to glyphosate[J]. Nature, 1985, 371:741-744.
- [5] NIDA D L, KOLACZ K H, LEEMAN M, et al. Glyphosate-tolerant cotton: genetic characterization and protein expression[J]. Agric Food Chem, 1996, 44(7):1960-1966.
- [6] 祝水金,汪静儿,俞志华,等. 棉花抗草甘膦突变体筛选及其在杂种优势利用中的应用[J]. 棉花学报, 2003, 15(4):227-230.
- [7] 谢龙旭,李云锋,徐培林. 根癌农杆菌介导的转 *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.
- [8] 赵福永,谢龙旭,田颖川,等. 抗草甘膦基因 *aroAM12* 及抗虫基因 *BtIsIm* 的转基因棉株[J]. 作物学报, 2005, 31(1):108-113.
- [9] 马燕斌,王 霞,吴 霞,等. 新的抗草甘膦转基因棉花获得的初报[J]. 山西农业科学, 2013, 41(10):1046-1049.
- [10] 燕树锋,祝水金,刘海芳,等. 转 *EPSPS* 基因抗草甘膦棉花的遗传分析[J]. 华北农学报, 2015, 30(3):54-57.
- [11] 王 慧,闫晓红,徐 杰,等. 我国抗草甘膦基因的发掘现状[J]. 农业生物技术学报, 2014, 22(1):109-118.

- [12] 郭三堆,孙 豹,张 锐,等.一种含有草甘膦抗性基因的表达载体及其应用:201410204703.6[P]. 2014-05-15.
- [13] 郭三堆,孙 豹,孟志刚,等.转抗虫、抗除草剂基因棉花分子育种[C]//中国农学会棉花分会.中国棉花学会 2015 年年会论文汇编.安阳:中国棉花杂志社,2015: 50.
- [14] 梁成真,孙 豹,孟志刚,等. *GR79-epsps* 和 *GAT* 协同增效培育新型低残留高抗草甘膦棉花[C]//中国农学会棉花分会.中国农学会棉花分会 2017 年年会暨第九次会员代表大会论文汇编.安阳:中国棉花杂志社,2017:52.
- [15] 匡 猛,杨伟华,许红霞,等.单粒棉花种子 DNA 快速提取方法[J].分子植物育种,2010,8(4):827-831.
- [16] 陈旭升,刘新民,狄佳春,等.陆地棉抗草甘膦性状的遗传规律分析[J].江苏农业科学,2009(1):76-78.
- [17] 景 超,马晓杰,狄佳春,等.陆地棉超矮秆突变体基因的初步定位[J].遗传,2011(12):1393-1397.
- [18] 张 军,武耀廷,郭旺珍,等.棉花微卫星标记的 PAGE/银染快速检测[J].棉花学报,2000,21(5):267-269.
- [19] 刘吉焄,马晓杰,狄佳春,等.棉花草甘膦抗性基因 *CP4-EPSPS* 的初步定位[J].江苏农业学报,2013,29(3):480-484.
- [20] 安百伟,赵 亮,狄佳春,等.陆地棉 *Bt* 抗虫基因类型鉴定与染色体定位[J].江苏农业学报,2016,32(2):262-266.
- [21] 周向阳,赵 亮,狄佳春,等.抗虫杂交棉苏杂 6 号抗虫亲本的 *Bt* 基因鉴定与染色体定位[J].江苏农业学报,2016,32(5):987-991.
- [22] GUO W, CAI C, WANG C, et al. A microsatellite-based, gene-rich linkage map reveals genome structure, function and evolution in *Gossypium*[J]. Genetics, 2007, 176(1):527-541.
- [23] ZHAO L, LV Y D, CAI C P, et al. Toward allotetraploid cotton genome assembly: integration of a high-density molecular genetic linkage map with DNA sequence information[J]. BMC Genomics, 2012, 13:539-570.

(责任编辑:陈海霞)