

# 转 *Bt* 基因甘蔗抗虫性及重要经济、农艺性状的评价

陈勇生<sup>1</sup>, 翁丽星<sup>2</sup>, 劳方业<sup>1</sup>, 邓海华<sup>1</sup>, 汪联辉<sup>2</sup>, 齐永文<sup>1</sup>, 沈万宽<sup>1</sup>,  
刘福业<sup>1</sup>, 吴文龙<sup>1</sup>, 符成<sup>1</sup>, 陈健文<sup>1\*</sup>

(1. 广州甘蔗糖业研究所, 广东省甘蔗改良与生物炼制重点实验室, 广州 510316; 2. 复旦大学生命科学学院微生物学和微生物工程系, 上海 200433)

**摘要:** 为评价转 *Bt* 基因甘蔗的抗虫性, 对 6 份转 *Bt* 甘蔗品系(Y2、Y3、Y4、T1、T2 和 T3)进行室内抗虫性鉴定实验和田间自然感虫的抗虫性评价。结果表明, 室内人工抗虫性鉴定结果与田间自然感染结果大体吻合, 各参试材料在两个试验点的抗虫性表现基本一致, *Bt* 基因表达稳定, 所有参试品系抗虫性均明显比相应的供体品种强, 其中 Y4 和 T2 的抗性最强, T3 相对较弱; 在经济性状方面, Y3、Y4 和 T3 的蔗茎产量、含糖量与其供体品种‘新台糖 16 号’相当, 但甘蔗蔗糖含量较低; T2 的甘蔗蔗糖含量则超过其供体品种‘新台糖 16 号’, 但农艺性状较差, 茎产量和含糖量低。

**关键词:** 转 *Bt* 甘蔗; 抗虫性; 产量; 蔗糖含量; 评价

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2012.04.009

## Insect Resistance and Evaluation on Important Agronomic and Economic Characters of *Bt*-transgenic Sugarcane Lines

CHEN Yong-sheng<sup>1</sup>, WENG Li-xing<sup>2</sup>, LAO Fang-ye<sup>1</sup>, DENG Hai-hua<sup>1</sup>, WANG Lian-hui<sup>2</sup>,  
QI Yong-wen<sup>1</sup>, SHEN Wan-kuan<sup>1</sup>, LIU Fu-ye<sup>1</sup>, WU Wen-long<sup>1</sup>, FU Cheng<sup>1</sup>, CHEN Jian-wen<sup>1\*</sup>

(1. *Guangdong Key Laboratory of Sugarcane Improvement and Biorefinery, Guangzhou Sugarcane Industry Research Institute, Guangzhou 510316, China*; 2. *Department of Microbiology and Microbial Engineering, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China*)

**Abstract:** The insect resistances and evaluations on important agronomic and economic characters of 6 *Bt*-transgenic sugarcane lines, such as Y2, Y3, Y4, T1, T2 and T3, were studied both in the field and room. The results showed that the insect resistances of these *Bt*-transgenic sugarcane lines in the field were similar to those in the room, and the *Bt* gene expression was stable. All of these tested lines had stronger insect-resistance than their wild types, in which Y4 and T2 lines were the strongest and T3 line was the weakest. The cane yield and sugar content in Y3, Y4 and T3 lines were similar to those in their relative original lines, but the sucrose content of these transgenic lines was lower than that in original lines. In addition, although T2 line had higher sucrose content than original line ‘ROC16’, its main agronomic traits were worse with low cane yield and sugar content.

**Key words:** *Bt* transgenic sugarcane; Insect resistance; Yield; Sucrose content; Evaluation

甘蔗(*Saccharum sinensis*)是我国最重要的糖料作物,也是重要的能源作物。在甘蔗生产中,虫

害一直是最大的威胁因素之一,其中危害最严重的是螟虫(鳞翅目害虫)。目前几乎所有蔗区都受着

收稿日期: 2011-09-08

接受日期: 2011-12-18

基金项目: 广东省教育部产学研结合项目(2008B090500227); 广东省科技计划项目(2008B020200002); 现代农业产业技术体系建设专项资助

作者简介: 陈勇生(1980~), 男, 硕士, 研究方向为甘蔗遗传育种。E-mail: yongshengchen100@126.com

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: gxjianwen@163.com

不同程度的螟虫危害。螟虫危害常造成产量、糖分损失,一般达5%~20%,严重的可达40%以上<sup>[1-3]</sup>。作为能源甘蔗,一年四季都有处于不同生长期的甘蔗,这更有利于害虫的生长、繁殖,使得危害更加严重。目前,对甘蔗螟虫主要以农药防治为主,长期大量使用杀虫剂,既增加了生产成本,也造成环境污染,破坏生态平衡,而且螟虫危害并未得到控制。选育和因地制宜地推广抗虫甘蔗品种,可减少农药施用量和次数,对减轻虫害损失、降低生产成本和减少环境污染都有重要意义<sup>[4]</sup>。

然而,甘蔗转基因抗虫育种的进展较慢,目前尚未有转基因抗虫品种商品化推广种植。古巴科学家曾在1997年将*Bt*基因导入甘蔗中<sup>[5-6]</sup>,但因基因表达水平过低而失去商品化价值。澳大利亚糖业试验站管理局[The Bureau of Sugar Experiment Station (BSES)]将从马铃薯(*Solanum tuberosum*)中克隆的抗虫基因导入甘蔗‘Q117’品种,获得了转基因植株,1998年已通过温室盆栽试验证明转基因植株对金龟子有良好的抑制生长作用。

我国的转基因甘蔗研究开始于1997年,林俊芳等<sup>[7]</sup>用基因枪法将抗菌肽D基因导入甘蔗胚性愈伤组织,但转化体全为白化苗。目前,已有将抗线虫基因*HsIpro-1*、调控花组织分化的基因*LEAFY*、抗病毒基因*ScMV-CP*、抗旱基因*Tsase*及抗虫基因*Bt*成功转入甘蔗中的报道<sup>[8-13]</sup>,但均处于试验阶段。

近年来,广州甘蔗糖业研究所与新加坡分子与细胞生物学院合作,用*Bt*抗虫基因(*CryIAc*)转化我国大面积推广的甘蔗品种‘新台糖16号’和‘粤糖79-177’,培育出抗虫种质一批,这些材料是迄今国际上同类研究中毒蛋白表达量最高的材料<sup>[4]</sup>。本文对2006年-2008年在粤中和粤西2个地点进行的转*Bt*基因甘蔗品系中间试验结果进行分析,同时结合部分室内抗虫性鉴定实验结果,研究其中6个品系的抗虫性、经济性状表现,旨在探索转*Bt*基因甘蔗抗虫性评价方法,同时筛选优良抗虫品系,为今后开展有性杂交,深入研究*Bt*基因在甘蔗中的遗传规律及遗传稳定性等提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

供试的甘蔗(*Saccharum sinensis*)转基因品系包括以‘粤糖79-177’(Yck)为供体品种的Y2、Y3、

Y4等3个品系和以‘新台糖16号’(Tck)为供体品种的T1、T2、T3等3个品系,共6个转基因抗虫品系。以供体品种‘粤糖79-177’和‘新台糖16号’作为对照。

### 1.2 室内植株离体抗性鉴定

**供试虫源** 从广东省珠海市斗门县蔗区采集已交配成功的甘蔗条螟雌蛾,放入透明的塑料瓶内,每瓶1头雌蛾,让其产卵。约5~7 d后,初孵化的一龄幼虫即为转*Bt*基因甘蔗抗虫试验虫源。试验时尽量采用来自同一头雌蛾所产卵的初孵幼虫,或将2~3头雌蛾产卵的初孵幼虫平均分配到每株待测蔗株,根据同一雌蛾产的总卵数和待接虫的试验甘蔗的株数,计划每株甘蔗接虫的数量<sup>[15]</sup>。

**方法** 砍取温室桶栽的蔗株的梢部(最高可见肥厚带以下约10 cm的心叶群),带回室内,置清水中浸15~20 min,取出吸除并吹干表面水珠后,截至25 cm左右(含节间和部分心叶群)作为试验材料。每个梢部心叶上接入5条初孵一龄幼虫后,放进透明塑料瓶(30 cm×9 cm)中,用纱布封住瓶口保湿,以及防止幼虫逃离。每品系处理10株。接虫后第2天至第6天,每天每个品系取2株调查,检查和记录各株叶片、叶鞘和茎中的活虫和死虫数目,并计算幼虫死亡率。幼虫死亡率(%)=死虫数/(活虫数+死虫数)×100%。

### 1.3 田间自然虫害发生情况与抗虫性评价

试验分别在广东省广州市郊区(试点1)和广东省湛江市遂溪县新桥(试点2)进行。在试点1随机区组排列,2次重复;小区行距1 m,行长5.5 m,2行区,面积为11 m<sup>2</sup>;每小区种植58段双芽苗。试点2也是随机区组排列,3次重复;小区行距1 m,行长5 m,4行区,面积为20 m<sup>2</sup>;每小区种植80段双芽苗。两个试点均于2006年8-9月种植,2007年12月-2008年1月收获。下种前用0.2%多菌灵药液浸种10 min消毒,田间管理与当地大田生产相同。

在试验收获前调查螟虫危害情况,虫害指标包括螟害节率和螟害株率。其中螟害节率(%)=(蔗株螟害节总数/蔗株总节数)×100%;螟害株率(%)=(螟害株数/总株数)×100%。

### 1.4 主要性状的调查及分析

在抗虫性评价试验中分别调查甘蔗萌芽率、分

蘗率、株高、茎径和有效茎数, 12月进行甘蔗蔗糖含量、纤维含量等品质分析。收获时按小区实收产量, 折算成公顷产量, 以小区产量除以小区有效茎数得单茎重, 以公顷产量乘以12月甘蔗蔗糖含量得公顷含糖量。

产量和含糖量按单因素随机区组设计进行方差分析<sup>[16-17]</sup>, 多重比较采用邓肯氏新复极差法。

## 2 结果和分析

### 2.1 室内植株离体抗性试验

从幼虫死亡率的变化(表1)来看, 条螟幼虫取食转Bt基因甘蔗心叶后的表现大致可分为4类:(a)全部幼虫在取食后1~2d内死亡;(b)幼虫死亡速度较慢, 但在试验期内全部幼虫死亡;(c)幼虫明显滞育, 但在试验期内死亡率不高;(d)幼虫无明显滞育, 也无中毒死亡现象。这表明, 不同品系甘蔗对幼虫死亡和发育状况有较大差异。Y3、Y4和T1表现出很强的抗虫性, 接虫后3d幼虫死亡率达100%; T3品系的幼虫开始死亡的时间迟, 死亡率较低, 但滞育现象仍较明显。除在T3品系中发现有长至2龄的幼虫外, 其它转基因品系中幼虫均死于1龄期。

表1 室内心叶喂养试验的条螟幼虫死亡率(%)

Table 1 Dead rate of insects fed by heart leaves in room

品种(系) Variety (line)	喂养天数 Feeding days				
	2	3	4	5	6
Y2	0	75	100	100	100
Y3	67	100	100	100	100
Y4	25	100	100	100	100
Yck	0	0	0	0	0
T1	100	100	100	100	100
T2	50	50	60	100	100
T3	0	0	0	0	20
Tck	0	0	0	0	0

### 2.2 田间自然虫害发生情况

试点1以条螟危害为主。6个参试的转基因抗虫品系的螟害株率比相应的对照品种降低59.22%~100%, 螟害节率降低59.73%~100%(表2), 均表现出良好的抗(螟)虫性, 其中, Y4和T2的抗性最强, 螟害株率和螟害节率均为0, 而T3的抗性较差, 但其螟害株率和螟害节率仍比对照品种下降近60%。

表2 田间螟害情况调查

Table 2 Sugarcane damage caused by borers in the field

品种(系) Variety (line)	试点1 Site 1		试点2 Site 2	
	螟害株率 Damaged plant rate (%)	螟害节率 Damaged node rate (%)	螟害株率 Damaged plant rate (%)	螟害节率 Damaged node rate (%)
Y2	1.32	0.07	1.34	16.67
Y3	1.11	0.03	4.41	66.67
Y4	0	0	0	0
Yck	46.26	4.41	8.34	93.33
T1	3.57	0.25	2.1	33.33
T2	0	0	0.41	10
T3	13.33	0.69	3.43	63.33
Tck	32.7	1.7	7.91	93.33

试点2以二点螟危害为主, 有少量的条螟和黄螟。与相应的对照品种比较, 6个参试的转基因抗虫品系的螟害株率降低47.15%~100%, 螟害节率降低28.57%~100%(表2), 其中, Y4品系未检测到螟害株和螟害节, T2的螟害株率和螟害节率分别为对照的5.12%和10.71%, 它们的抗虫性最强。

上述结果表明, 各参试品系在二个试点的抗虫性表现基本一致。从对照品种的虫害来看, 试点2的螟害株率和螟害节率均比试点1的高, 这与试点2位于主产蔗区, 虫口密度的基数较大有关。在两个对照品种中, Tck的抗虫性较Yck的强, 这与生产的实际情况相符, 可能与前者的茎皮比后者的硬有较大的关系。条螟和二点螟的取食和入侵方式有所不同, 前者初孵幼虫在蔗株幼嫩心叶取食, 而后者初孵幼虫在叶鞘内取食, 这可能是造成品系在不同螟虫为主的地点间抗性表现略有差异的原因。

### 2.3 主要农艺、经济性状

对2个试点的蔗茎产量进行方差分析, 结果表明, 品种(系)间均达到差异极显著水平(表3)。

表4对二个试点中参试品种(系)的蔗茎公顷产量进行了比较分析, 结果表明, 试点1中的Y4与Yck产量最高, 差异不大, 达128.2 t hm<sup>-2</sup>, Y2、Y3产量都极显著低于对照品种; 而T1、T2和T3产量则与Tck相当。试点2中的Y3和Y4与其对照品种Yck产量差异均不大, 但前者显著高于后者, 达109.3 t hm<sup>-2</sup>。其余品系都极显著低于相应对照品种。

2个试点的公顷含糖量的比较分析结果(表4)表明, 6个参试品系的含糖量均比相应对照品

表3 不同试点下蔗茎产量的方差分析

Table 3 ANOVA analysis of cane yield in different sites

试点 Site	变异来源 Variance source	自由度 Degree of freedom	平方和 Sum of squares	均方 Mean squares	F	F <sub>0.05</sub>	F <sub>0.01</sub>
1	品种(系)间 Genotype	7	19836.6	2833.8	13.05**	3.787	6.993
	区组间 Block	1	480.0	480.0	2.210	5.591	12.25
	误差 Error	7	1520.5	217.2			
	总和 Sum	15	21837.0				
2	品种(系)间 Genotype	7	20654.9	2950.7	21.78**	2.764	4.278
	区组间 Block	2	571.3	285.7	2.108	3.739	6.515
	误差 Error	14	1896.7	135.5			
	总和 Sum	23	23123.0				

\*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ .

表4 不同试点下蔗茎产量和产糖量的多重比较

Table 4 Duncan analysis of cane yield and sugar yield among transgenic lines in each site

品种(系) Variety (line)	试点1 Site 1		试点2 Site 2	
	蔗茎产量 Cane yield (t hm <sup>-2</sup> )	含糖量 Sugar yield (t hm <sup>-2</sup> )	蔗茎产量 Cane yield (t hm <sup>-2</sup> )	含糖量 Sugar yield (t hm <sup>-2</sup> )
Y4	128.22aA	16.976aA	79.31bcABC	9.295bcABC
Yck	110.97aA	17.789aA	106.17abA	12.592abA
Tck	57.64bB	8.801bB	97.00abcAB	15.297aA
Y3	54.08bB	7.506bB	109.30aA	11.968abcAB
Y2	45.16bB	6.093bB	66.07cdBCD	6.746dD
T3	41.56bB	5.727bB	54.84dCD	7.558cdBCD
T1	34.49bB	4.857bB	50.59dD	6.876dCD
T2	22.04bB	3.443bB	18.48E	2.998eE

同列数据后不同大写和小写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ )和显著( $P < 0.05$ )。

Data followed different capital and small letters indicate significant differences at 0.01 and 0.05 levels, respectively.

种低, 约为 3.443~16.98 t hm<sup>-2</sup>(试点 1)和 2.998~11.97 t hm<sup>-2</sup>(试点 2)。其中 Y4 在两地的公顷含糖量均与其对照品种 Yck 差异不大, 分别为 16.98 和 9.30 t hm<sup>-2</sup>。Y3 在试点 2 的公顷含糖量与其对照品种差异不明显, 为 11.97 t hm<sup>-2</sup>; 但其在试点 1 的公顷含糖量却极显著低于 Yck, 仅 7.506 t hm<sup>-2</sup>。T1、T2 和 T3 含糖量在试点 1 中与 Tck 相当, 在试点 2 中则都极显著低于 Tck。

从表 5 可看出, 绝大多数转基因品系都表现出

较高的萌芽率和分蘖率, 尤其是 Y4, 其株高和公顷有效茎数超过对照品种 Yck, 分别达 359.6 cm 和 115425 条。其它品系在株高、茎径、单茎重和有效茎数等方面均不及对照。

在 12 月采样进行甘蔗品质分析, 结果表明(表 6), T2 品系的甘蔗蔗糖含量最高, 达 15.92%, 比对照品种 Tck 高 0.40%; 其余品系的蔗糖含量则低于相应的对照品种; 在甘蔗纤维含量方面, Y2、Y3 和 Y4 在两地的平均甘蔗纤维含量约为

表5 甘蔗的主要农艺、品质性状

Table 5 Main agronomic and qualitative traits of the transgenic lines

品种(系) Variety (line)	萌芽率 Germination rate (%)	分蘖率 Tillering rate (%)	株高 Plant height (cm)	茎径 Stem diameter (cm)	单茎重 Stalk weight (kg)	公顷有效茎数 Millable stalks per hm <sup>2</sup>	蔗糖含量 Sucrose content (%)	纤维含量 Fiber content (%)
Y2	73.37	55.97	216.9	2.37	1.45	65841	11.85	10.27
Y3	63.01	89.41	264.2	2.27	1.70	77985	12.42	10.80
Y4	70.25	85.29	359.6	2.06	1.46	115425	12.48	10.74
Yck	53.79	67.56	305.5	2.49	2.12	86863	13.95	11.10
T1	60.15	45.61	299.4	2.05	1.59	56367	13.84	13.31
T2	64.23	48.53	238.3	1.78	0.63	48826	15.92	10.47
T3	72.03	57.31	265.0	2.08	1.43	64657	13.78	11.33
Tck	62.25	37.17	310.6	2.30	1.71	68298	15.52	11.84

10.27%~10.80%，均略低于 Yck (11.10%)。T1 的纤维含量超过对照 Tck，而 T2 和 T3 的则不及 Tck。

### 3 讨论和结论

经分子鉴定后所获得的转 *Bt* 基因甘蔗品系，还必须经过生物学方法检测，即抗虫性鉴定，才能对其抗虫性做出正确的评价。但有关转 *Bt* 基因甘蔗的抗虫鉴定方法研究尚未见报道。目前对我国种植面积最大的转基因作物——转 *Bt* 基因棉花 (*Gossypium hirsutum*) 的抗虫性鉴定方法主要有：田间自然感虫鉴定、网室接虫鉴定、室内植株离体鉴定等。一般而言，田间自然感虫鉴定容易受发虫量、天敌及气候等复杂因素影响，不易掌控；网室接虫鉴定能避免其它害虫和一些自然因素的干扰；室内人工接虫鉴定简便快速，结果准确<sup>[18-19]</sup>。甘蔗既有与棉花等类似的地方，也有自身的特点。本研究的室内植株离体抗性鉴定法采用较大透明塑料瓶 (30 cm × 9 cm) 作为喂养场所，既可满足螟虫的生存环境，保持供试材料的新鲜度，又可以防止幼虫逃离以及天敌(主要是蚂蚁)的入侵。从实验结果来看，该方法是可行的。田间试验是转 *Bt* 基因甘蔗品系走向应用的关键环节，是 *Bt* 甘蔗抗虫性的真实测试，同时也是 *Bt* 基因整合到供体基因组后对甘蔗其它性状影响程度的重要检测。从抗虫性来看，本研究二个试验点的表现基本一致，而且与室内人工鉴定结果大体吻合，这说明 *Bt* 基因在甘蔗中的表达是稳定的，不管是室内植株离体抗性鉴定或田间自然感虫鉴定方法都是可行的，而且两者还可以相互取长补短。田间自然感虫鉴定法在转 *Bt* 抗虫棉的实际应用不多<sup>[20]</sup>，由于甘蔗生长周期长，而且各个时期都可能发生螟虫危害，加上 *Bt* 基因的表达可能还有时空性特点，显然，田间自然感虫鉴定更能真实反映转 *Bt* 甘蔗的抗虫性。

田间试验除了测试真实抗虫性外，另一个重要目的是检测转 *Bt* 甘蔗的生产性能。本研究的转 *Bt* 甘蔗品系是应用基因枪转化方法而获得的，一般含 *Bt* 基因 4~11 个拷贝数<sup>[14]</sup>。由于外源 *Bt* 基因在甘蔗基因组中的整合是随机的，因此，不同品系 *Bt* 基因拷贝数不同，整合的位点也不一样。由于受到位置效应、结构效应、共抑制效应等作用，使得外源基因以及供体某些基因的表达受到很大影响。因此不同的转 *Bt* 甘蔗品系不但抗虫性不同，而且农艺性

状也有较大差异。本研究的 6 个转 *Bt* 甘蔗品系，除了抗虫性外，总体来讲，经济性状不如原供体品种。由此看来，转 *Bt* 甘蔗在获得对目标害虫抗性的同时，某些与产量、糖分等密切相关的基因连锁亦被打破，从而导致这些重要经济性状可能受到某种程度的影响。这就给我们今后的甘蔗抗虫育种研究提出了一些思路，一方面在做遗传转化时需要增加转化的无性系数数量，从而提高筛选出优良抗性材料的机率；另一方面，还可从中筛选出抗虫性强、经济性状较好的品系，如 Y3、Y4 等作为种质，在严格控制杂交条件下开展有性杂交，深入研究 *Bt* 基因在甘蔗中遗传规律、遗传的稳定性、基因重排、丢失，以及遗传背景因素对 *Bt* 基因表达的影响等。

总之，室内植株离体抗性试验简单、快速、实用。田间自然感虫法除非遇上极端环境气候，否则更能真实反映甘蔗的抗虫性，而且还能同时检测经济性状受 *Bt* 基因的影响程度，便于综合评价转 *Bt* 基因甘蔗的应用前景。

### 参考文献

- [1] Li Q W. Improved Technology of Modern Sugarcane [M]. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2000: 53,249-259.  
李奇伟. 现代甘蔗改良技术 [M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2000: 53,249-259.
- [2] James C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2009 [EB/OL]. [2010-10-07] <http://www.isaaa.org/>.
- [3] Guangzhou Sugarcane Industry Research Institutent, Guangdong Academy of Agricultural Sciences. Sugarcane Cultivation in China [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1985: 366-367.  
轻工业部甘蔗糖业研究所, 广东省农业科学院. 中国甘蔗栽培学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1985: 366-367.
- [4] Institute of Crop Variety Resources, Chinese Academy of Agriculture Sciences. Research Methods of Crop Variety Resources [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1985: 244-246.  
中国农业科学院作物品种资源研究所. 作物品种资源研究方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1985: 244-246.
- [5] Arencibia A, Vázquez R I, Prieto D, et al. Transgenic sugarcane plants resistant to stem borer attack [J]. Mol Breed, 1997, 3(4): 247-255.
- [6] Fitch M, Chang V, Perlak F, et al. Sugarcane transformation with a *Bt* gene for resistance to the lesser cornstalk borer (LCB) [C]// Plant & Animal Genome V Conference. Washington Blvd: Scherago International, 1997: 341-345.
- [7] Lin J F, Zhang Y D, Chen R K, et al. Transgenic albino sugarcane seedlings obtained by transformation of embryogenic callus

- via microprojectile bombardment [J]. *J Fujian Agri Univ*, 1997, 26(1): 18–23.
- 林俊芳, 张银东, 陈如凯, 等. 基因枪法转化甘蔗胚性愈伤组织获得转基因甘蔗白化苗 [J]. *福建农业大学学报*, 1997, 26(1): 18–23.
- [8] Chen P H. The studies on constructing expression vector of nematode resistance gene and genetic transformation [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2001: 44–46.
- 陈平华. 线虫抗性基因表达载体的构建和遗传转化的研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2001: 44–46.
- [9] Li K G, Pan D R, Xu L P, et al. The study on transformation of *LEAFY* gene into sugarcane by particle bombardment [J]. *Acta Agro Sin*, 2003, 29(4): 541–544.
- 李克贵, 潘大仁, 许莉萍, 等. 基因枪法将*LEAFY*基因导入甘蔗的研究 [J]. *作物学报*, 2003, 29(4): 541–544.
- [10] Yao W, Yu A L, Xu J S, et al. Analysis and identification for transgenic sugarcane of *ScMV-CP* gene [J]. *Mol Plant Breed*, 2004, 2(1): 13–18.
- 姚伟, 余爱丽, 徐景升, 等. 转*ScMV-CP*基因甘蔗的分子生物学分析与鉴定 [J]. *分子植物育种*, 2004, 2(1): 13–18.
- [11] Wang Z Z, Zhang S Z, Yang B P, et al. Trehalose synthase gene transfer mediated by *Agrobacterium tumefaciens* enhances resistance to osmotic stress in sugarcane [J]. *Sci Agri Sin*, 2003, 36(2): 140–146.
- 王自章, 张树珍, 杨本鹏, 等. 甘蔗根瘤农杆菌介导转化海藻糖合酶基因获得抗渗透胁迫能力增强植株 [J]. *中国农业科学*, 2003, 36(2): 140–146.
- [12] Ye Y. Study on sugarcane by microprojectile bombardment-mediated transformation with *Bt* gene [D]. Nanning: Guangxi Normal University, 2003: 29–36.
- 叶云. 基因枪法将*Bt*基因导入甘蔗的研究 [D]. 南宁: 广西师范大学, 2003: 29–36.
- [13] Yu L, Qin X M, Huang D Q. Studies on *Bt* gene transformation sugarcane by *Agrobacterium* [J]. *J Guangxi Agri*, 2007, 22(6): 1–4, 67.
- 于兰, 秦新民, 黄德青. 农杆菌介导的*Bt*基因导入甘蔗的研究 [J]. *广西农学报*, 2007, 22(6): 1–4, 67.
- [14] Weng L X, Deng H H, Xu J L, et al. Regeneration of sugarcane elite breeding lines and engineering of stem borer resistance [J]. *Pest Manag Sci*, 2006, 62(2): 178–187.
- [15] Deng H H, Weng L X, Li J L, et al. Rapid identification of resistance to cotton boll worm of *Bt* transgenic cotton [P]. China: CN101113977A, 2008–01–30.
- 邓海华, 翁丽星, 黎教良, 等. 转*Bt*基因甘蔗对螟虫抗性的快速鉴定方法 [P]. 中国: CN101113977A, 2008–01–30.
- [16] Nanjing Agriculture University. Field Trials and Statistical Methods [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1979: 191–197.
- 南京农业大学. 田间试验和统计方法 [M]. 北京: 农业出版社, 1979: 191–197.
- [17] Tang Q Y, Feng M G. DPS Data Processing System: Experimental Design, Statistical Analysis and Data Mining [M]. Beijing: Science Press, 2007: 115–125.
- 唐启义, 冯明光. DPS数据处理系统: 实验设计、统计分析及其数据挖掘 [M]. 北京: 科学出版社, 2007: 115–125.
- [18] Chen D F, Hua J P. Breeding and applying on transgene *Bt* cotton [J]. *Hubei Agri Sci*, 2001(5): 23–25.
- 陈道甫, 华金平. 转*Bt*基因棉育种与应用 [J]. *湖北农业科学*, 2001(5): 23–25.
- [19] Li C F, Wu Z T, Shen J C, et al. Progress on testing and identification of resistance to cotton boll worm of *Bt* transgenic cotton [J]. *J Anhui Agri Sci*, 2002, 30(3): 346–349.
- 李长福, 吴振廷, 沈基长, 等. 转*Bt*基因棉的检测和抗虫性鉴定研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2002, 30(3): 346–349.
- [20] Shu C E, Sun H W, Sun Y W, et al. Toxic response of cotton bollworm to various parts of *Bt*-transgenic cotton in different growing stages [J]. *Acta Gross Sin*, 1998, 10(3): 131–135.
- 束春娥, 孙洪武, 孙以文, 等. 转基因棉*Bt*毒性表达的时空动态及对棉铃虫生存、繁殖的影响 [J]. *棉花学报*, 1998, 10(3): 131–135.