

## *Bt-BADH-GA20ox-rolB* 多基因在转化烟草中的表达分析

孙立洋<sup>1</sup> 李 静<sup>1</sup> 袁虎威<sup>1</sup> 姚景涵<sup>1</sup> 李 伟<sup>1</sup> 陈晓阳<sup>2</sup>

(1 北京林业大学林木育种国家工程实验室 2 华南农业大学林学院)

**摘要:** 为探讨 *Bt-BADH-GA20ox-rolB* 多基因转化烟草中外源基因的表达情况及对转化植株的影响,对转多基因烟草及对照植株进行了生理生化试验,包括内源激素含量测定、耐盐性试验、Bt 毒蛋白测定、移栽后植株生长的观测。结果表明:转基因植株生根能力强,根、茎、叶各部位内源激素(IAA、GA<sub>3</sub>)与对照差异明显;在低浓度 NaCl 下,转基因和对照植株生长差异不明显,当 NaCl 浓度达到 300 mmol/L 时,对照生长受到抑制,转基因植株生长正常;在转基因植株的茎、叶中均检测到高浓度的 Bt 毒蛋白,以叶片饲喂斜纹夜蛾幼虫明显抑制其发育。移栽后的转基因植株高生长更加明显,苗高和地茎分别为对照的 1.61 和 1.37 倍。

**关键词:** *Bt-BADH-GA20ox-rolB* 多基因; 内源激素; 耐盐性; Bt 毒蛋白

中图分类号: Q943.2; Q945 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2011)05-0086-05

SUN Li-yang<sup>1</sup>; LI Jing<sup>1</sup>; YUAN Hu-wei<sup>1</sup>; YAO Jing-han<sup>1</sup>; LI Wei<sup>1</sup>; CHEN Xiao-yang<sup>2</sup>. **Expression analysis of *Bt-BADH-GA20ox-rolB* multigenes in transgenic tobacco plants.** *Journal of Beijing Forestry University*(2011) **33**(5) 86-90 [Ch, 16 ref.]

1 National Engineering Laboratory for Tree Breeding, Beijing Forestry University, 100083, P. R. China;

2 College of Forestry, South China Agricultural University, Guangzhou, 510642, P. R. China.

In order to discuss the exogenous genes expression and effect of *Bt-BADH-GA20ox-rolB* multigenes on transgenic plants, four transgenic tobacco lines and a control strain were taken as materials and the experiments included determination of endogenous hormones, salt tolerance test, Bt toxic protein measurement and growth observation. The results indicated that the rooting ability of transgenic plants was enhanced. Endogenous hormones (IAA, GA<sub>3</sub>) derived from roots, stems and leaves were significantly different from controls. At a low concentration of NaCl, there is no difference between transgenic plant and control, while at 300 mmol/L of NaCl the growth of control was restrained with and the transgenic plant was normal. The Bt toxic protein was detected at a high level in both stems and leaves of the transgenic plants. The development of prodenia was obviously inhibited by feeding the leaves of transgenic plants. The transgenic plants grew vigorously after being transplanted. The average height and basal stem of transgenic plants were 1.61 and 1.37 times higher than those of control respectively.

**Key words** *Bt-BADH-GA20ox-rolB* multigenes; endogenous hormones; salt tolerance; Bt toxic protein

转基因作为当代分子育种的重要手段之一,在定向改良品种方面发挥着重要的作用。而转基因成功与否的关键在于外源基因能否在转化体内稳定的遗传与表达,这对于揭示生物基因与性状间的关系,从而精确地调控基因的表达具有十分重要的意义。目的基因插入后,在转基因植株中能否表达,是否产生所需要的功能,这些才是基因工程真正关注的问题,因为具有经济性状的外源基因在一

定水平上的有效表达是评价其经济价值的重要指标。熊瑾<sup>[1]</sup>、Zhu 等<sup>[2]</sup>通过转 *rolB* 基因到毛白杨 (*Populus tomentosa*) 中提高了扦插生根能力。李伟等<sup>[3]</sup>、辛蓓<sup>[4]</sup>构建了 *rolB/GA20ox* 双价基因分别转到银白杨 (*P. alba*) 和毛白杨中,提高了生根能力,高生长明显。杨敏生等<sup>[5]</sup>将双价抗虫基因转化三倍体毛白杨,其抗虫性增强。张艳敏等<sup>[6]</sup>、孙耀中等<sup>[7]</sup>的研究表明,以甜菜碱作为靶标性状采用基因

收稿日期: 2010-12-19

基金项目: 教育部科学技术研究重点项目(01028)。

第一作者: 孙立洋。主要研究方向: 林木基因工程。电话: 15901397829 Email: xiayu702@yahoo.com.cn 地址: 100083 北京市清华东路 35 号北京林业大学生物科学与技术学院。

责任作者: 李伟, 副教授。主要研究方向: 针叶树遗传改良。电话: 010-62331048 Email: liwei@bjfu.edu.cn 地址: 同上。陈晓阳, 教授, 博士生导师。主要研究方向: 林木基因工程。电话: 020-85280001 Email: xychen@scau.edu.cn 地址: 510642 广州市天河区华南农业大学林学院。

本刊网址: <http://journal.bjfu.edu.cn>

工程方法提高植物盐旱耐性是可行的。但以往的研究,多数集中在对 1 个或同一类少数外源功能基因的表达分析,并不能满足当代植物育种的需求。贾香楠等<sup>[8]</sup>利用位点特异性重组系统 *cre/loxP* 和 *Homing endonuclease*,成功构建了多基因表达载体 *pYLI305-Bt-BADH-GA20ox-rolB* 并转化烟草 (*Nicotiana*) 获得阳性植株,以期同时提高植株的抗虫性、耐盐性、高生长及扦插生根的能力。

单一外源基因的表达机制已经很复杂,多个外源基因的表达机制又会如何?多个外源基因能否全部表达,各基因的表达是否相互影响?这一系列的问题需要通过转基因植株的性状评价来验证。本研究通过对 *Bt-BADH-GA-rolB* 多基因转化烟草的研究,验证外源多基因的功能及对转基因植株的影响。转多价基因参与育种为实现一次转化达到多个性状的改良,进一步探讨多基因在植物中的表达机制,以及提高林木的抗虫性、耐盐性、促进高生长和生根能力奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以经过 Southern 杂交验证的转 *Bt-BADH-pttGA20ox-rolB* 多价基因烟草 T1 ~ T4 株系为材料<sup>[8]</sup>,以未经转化的烟草无性系 W38 为对照。

基因是由本实验室保存,苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt) 是一种从土壤分离出来的革兰氏阳性细菌,其突出特征是在芽孢内可产生 1 种具有特异性杀虫活性的蛋白质。BADH 是合成甜菜碱的关键酶,被大量用于提高植物耐盐性研究。GA20 氧化酶 (GA20ox) 直接催化生成了具有生物活性的赤霉素,而且对植物茎伸长、叶伸展有特殊作用<sup>[9]</sup>。*rol* 基因对提高植物生根能力具有重要意义,并且植物发根力的增强有利于增强植物的抗逆能力,因此在植物基因工程中的应用也越来越多<sup>[1,10]</sup>。

### 1.2 转多基因烟草内源激素含量的测定

将转基因烟草和对照接种在无激素 MS 培养基上,定期观察生长情况,30 d 后分别以转基因和对照植株新鲜的根、茎、叶为材料,每样品取 0.5 g,各重复 3 次,采取间接酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 进行 IAA、GA<sub>3</sub> 含量的测定 (ELISA 试剂盒由中国农业大学提供,在中国农业大学农学与生物技术学院进行激素的测定)。

### 1.3 转多基因烟草的耐盐性试验

选取基因表达量最高的 T2 组培苗进行耐盐性分析,以非转基因植株组培苗作为对照。配制生根培养基 MS 并附加不同浓度的 NaCl,使其终浓度分

别为 100、200、300、400 mmol/L。选取生长状态均匀一致株高 2.0 cm 左右的转基因和对照植株各 20 株,分别转接到 5 种生根培养基中,依次标号为 a ~ e,并定期观察记录其生长情况。生长至 30 d 时,取离体新鲜叶片 0.4 g,各重复 3 次,测定其超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和丙二醛 (MDA) 含量。

### 1.4 转多基因烟草的 Bt 毒蛋白含量测定和抗虫试验

#### 1.4.1 Bt 毒蛋白含量测定

采用酶联免疫吸附法,抗体和试剂盒由中国农业大学作物化学与控制实验室王保民教授提供。

#### 1.4.2 转基因烟草的抗虫试验

取温室生长的转基因和对照植株叶片,饲喂经饥饿处理的 3 龄斜纹夜蛾 (*Prodenia litura*) 和 2 龄舞毒蛾 (*Lymantria dispar*),分别从接种试虫后第 2 天开始隔天记录昆虫死亡数量,直到第 7 天,并计算试验组的校正死亡率。

$$\text{校正死亡率} = \frac{\text{试验组死亡率} - \text{对照组死亡率}}{1 - \text{对照组死亡率}} \times 100\%$$

### 1.5 转多基因烟草在温室中的生长测定

对移栽后的基因表达量最大及生长势最好的转基因株系 T2 (15 株) 和对照组 CK (15 株),进行各项生长指标的测定和生长形态的观察记录。移入营养杯后每隔 7 d 测量 1 次植株地上部 (茎基部至顶端) 的高度。用游标卡尺测量植株的茎基部的直径。

## 2 结果与分析

### 2.1 转多基因烟草生根状况与内源激素含量分析

将转基因烟草和对照植株接种在无激素 MS 培养基上培养 30 d 后,生根能力优于对照 (图 1)。转基因株系无论是从生根时间还是平均生根根数都明显优于对照,对各株系生根根数进行方差分析和多重比较可以看出,转基因株系与对照存在显著性差异,转基因株系间没有显著差异 (表 1)。

表 1 不同株系的生根效果

Tab. 1 Rooting result of the transgenic plants and control *in vitro*

株系	株数	起始生根时间/d	生根率/%	平均根数	LSD 多重比较	
					1%	5%
T1	10	4	100	101	A	a
T4	10	4	100	97	A	a
T2	10	4	100	96	A	a
T3	10	4	100	92	A	a
CK	10	6	100	25	B	b

分别取转基因和对照植株的根、茎、叶进行 IAA、GA<sub>3</sub> 含量的测定,结果见图 2。转基因和对照植株的内源 IAA 含量差异明显,转基因植株根部 IAA 的含量是对照的 1.90 倍,茎部是对照的 1.92



图1 转基因烟草和对照植株在无激素培养基上的生长情况

Fig. 1 Growth of the transgenic tobacco and control on hormone medium

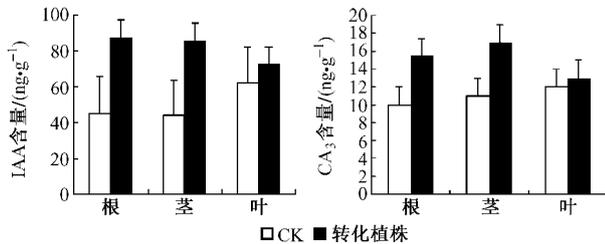


图2 转基因烟草不同部位内源激素含量分析

Fig. 2 Analysis of endogenous hormone contents in different parts of transgenic tobaccos

倍,叶片中差异较根、茎低,是对照的1.17倍。从对照各部位来看,叶片中 IAA 含量极明显地高于茎部和根部;而在转基因植株中,根部和茎部的 IAA 含量接近,均高于叶片中的 IAA 含量。转基因植株各部位的 GA<sub>3</sub> 含量均高于对照,其根、茎和叶中的 GA<sub>3</sub> 含量分别是对照 1.52、1.46 和 1.12 倍。转基因植株中茎部 GA<sub>3</sub> 含量最高,叶片最低;而对照表现为叶片中含量最高,根部最低。

综合以上分析可以看出,转基因植株体内各部位内源激素的水平 and 平衡关系发生了改变,推断可能是由于多基因的表达,改变了相关生理代谢途

径,继而生根能力和高生长能力增强。

## 2.2 转多基因烟草的耐盐性分析

### 2.2.1 NaCl 浓度对烟草生长的影响

选取基因表达量最高的 T2 组培苗进行耐盐性试验,将 T2 植株和对照 W38 分别接种于含 NaCl 为 0、100、200、300、400 mmol/L 的 MS 培养基上培养 30 d。结果表明:当 NaCl 含量为 0、100、200 mmol/L 时,转基因植株和对照的生长没有明显差异,但转基因植株节间较长,叶片呈椭圆形;NaCl 为 300 mmol/L 时,对照生长受到抑制,叶片膨大黄化,不能生根,转基因植株生长正常,叶片浓绿,并能正常生根;当 NaCl 浓度为 400 mmol/L 时,转基因和非转基因植株生长均受到严重抑制(图 3)。

### 2.2.2 NaCl 浓度对烟草 SOD 活性和 MDA 含量的影响

为了进一步了解盐胁迫下转基因烟草的抗逆机理,分别测定对照 W38 和转基因植株 T2 在 NaCl 浓度为 0、100、200、300、400 mmol/L 的 MS 培养基上培养 30 d 后的 SOD 活性和 MDA 含量。

不同盐浓度下,烟草 SOD 活性变化结果如图 4 所示:在各个盐浓度下,转基因烟草的 SOD 活性均显著高于对照,转基因烟草在不添加 NaCl 的培养基上培养 30 d 的 SOD 活性是对照的 3.88 倍。转基因烟草的 SOD 活性在 NaCl 浓度为 0、100 mmol/L 时,差异不明显,之后随盐浓度的增加 SOD 活性表现出同对照同样的趋势,逐渐降低。在长时间盐胁迫下, SOD 活性随着盐浓度的升高而逐渐降低<sup>[10]</sup>。

不同盐浓度下,烟草 MDA 含量变化结果如图 5 所示:当不添加 NaCl 时,转基因烟草的 MDA 含量显著低于对照;当盐浓度增加到 100 mmol/L 时,对照

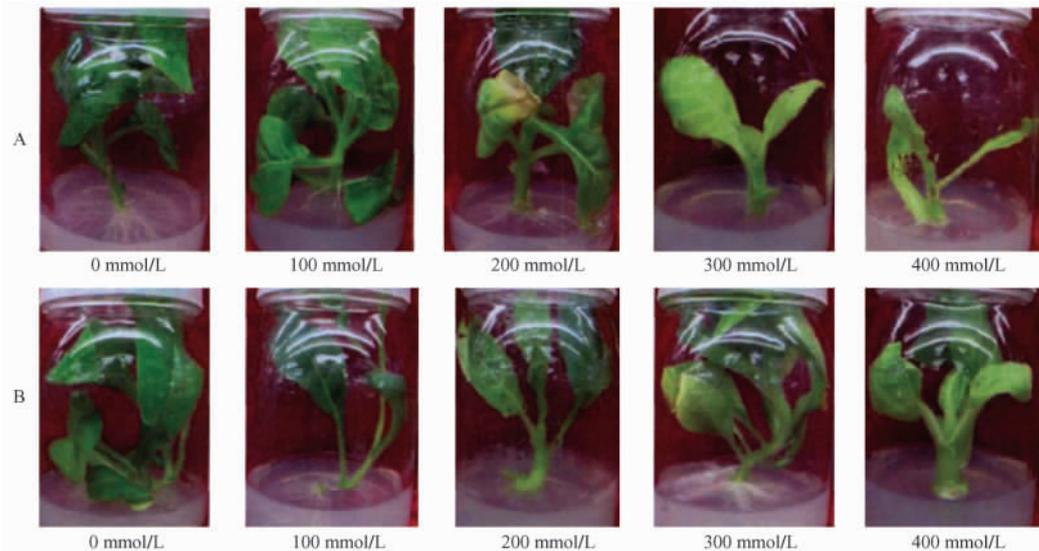


图3 不同盐浓度下转基因烟草和对照植株的生长情况

Fig. 3 Growth of the transgenic tobacco and control plant in different salt contents

注: A 为对照 W38 植株; B 为转基因植株。

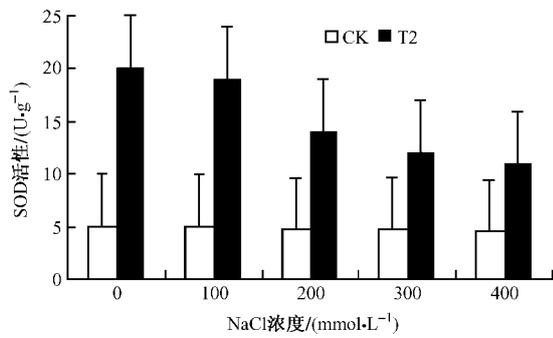


图 4 不同浓度 NaCl 胁迫下烟草 SOD 活性变化  
Fig. 4 Changes of SOD activity of tobacco at different concentrations of NaCl stress

MDA 含量大幅降低,说明 NaCl 已经影响了体内代谢,但形态上影响不明显,此浓度下转基因烟草 MDA 含量与不添加 NaCl 时差异不大,说明 100 mmol/L 的盐胁迫不影响转基因植株的正常代谢;当盐浓度增加到 200 mmol/L 时,对照 MDA 含量继续降低,叶片开始变黄,转基因烟草 MDA 含量有所增加,但与无盐时差异不显著,植株生长正常;当盐浓度增加到 300 mmol/L 时,对照 MDA 含量继续降低,体内代谢受到严重影响,生长受到抑制,转基因烟草 MDA 含量降低,但幅度较小,植株仍正常生长生根,叶片微有发黄;当盐浓度达到 400 mmol/L 时,对照和转基因烟草 MDA 含量均较低,转基因烟草 MDA 含量高于对照,此时植株生长均受到抑制,对照植株已濒临死亡,转基因植株状态优于对照,部分叶片保持绿色,但生长缓慢,不能生根(图 3)。

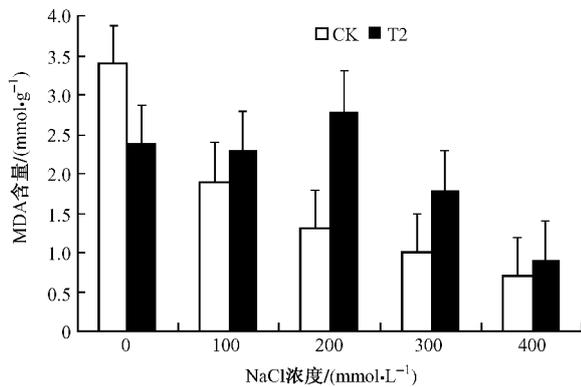


图 5 不同浓度 NaCl 胁迫下烟草 MDA 含量变化  
Fig. 5 Changes of MDA content of tobacco at different concentrations of NaCl stress

### 2.3 转多基因烟草的 Bt 毒蛋白检测和抗虫试验

#### 2.3.1 Bt 毒蛋白含量分析

采用酶联免疫吸附法测定了转基因株系叶和茎的 Bt 毒蛋白含量,结果见图 6。由图 6 可以看出:对照茎、叶中没有 Bt 毒蛋白检出,转基因株系 T1 ~ T4 的茎、叶中均检测到了 Bt 毒蛋白,但不同株系的 Bt 毒蛋白含量差异明显,而同一株系的茎、叶间差异不明显;T2 株系 Bt 毒蛋白含量最高,叶片中达到

了 585.53 ng/g,茎中为 573.66 ng/g,略低于叶片;T3 株系 Bt 毒蛋白含量也较高,叶片中为 490.84 ng/g,茎中为 453.37 ng/g;T4 和 T1 株系中 Bt 毒蛋白含量相对较低,T1 叶片中只检出 118.69 ng/g Bt 毒蛋白,T4 叶片中为 193.11 ng/g。对各株系的茎、叶毒蛋白含量分别进行方差分析,结果表明各株系间存在极显著差异(图 6)。

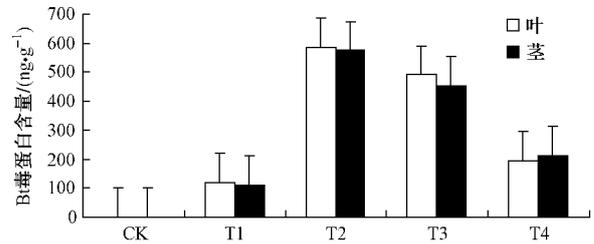


图 6 不同转基因株系中 Bt 毒蛋白含量分析  
Fig. 6 Content analysis of Bt toxin protein in different transgenic clones

注:大写字母为 5% 水平下的差异显著性分析;小写字母为 1% 水平下的差异显著性分析。

#### 2.3.2 转基因烟草的抗虫分析

取 Bt 毒蛋白含量最高的 T2 温室植株叶片和对照叶片分别饲喂 2 龄舞毒蛾和 3 龄斜纹夜蛾,各分为 3 组进行试验,定期观察死亡情况,并及时更换新鲜叶片,以 1 周后的结果进行分析,结果见表 2。由表 2 可知,转多基因烟草对 2 龄舞毒蛾具有较强的杀虫活性,对 3 龄斜纹夜蛾有一定的杀虫活性。但转基因烟草对目标害虫斜纹夜蛾的致死力低于对非目标害虫舞毒蛾致死力,分析原因可能为斜纹夜蛾虫龄较大,抗性相对高。虽然 1 周内转基因烟草对斜纹夜蛾的致死率不高,但试验组斜纹夜蛾明显发育缓慢,平均质量仅为 0.117 g,对照组平均质量为 0.209 g,且有化蛹趋势。

表 2 转多基因烟草抗虫试验结果

Tab. 2 Test analysis of insect resistant in transgenic tobaccos

	舞毒蛾		斜纹夜蛾	
	CK	T2	CK	T2
试虫数/头	47	47	30	30
死亡数/头	6	38	0	9
校正死亡率/%	12.77	78.05	0	30.00

#### 2.4 转多基因烟草的温室生长状况

将转基因和对照植株经炼苗后移栽温室营养杯中,1 周后进行苗高、地径的测量,此后每隔 1 周测量 1 次。转基因植株高生长明显,移栽 1 周后,平均苗高为对照的 1.61 倍,平均地径为对照的 1.37 倍,并且生长迅速;4 周后转基因植株平均苗高为 19.28 cm,地径为 5.34 mm,对照平均苗高为 11.18 cm,地径为 3.99 mm,转基因烟草叶片大而深绿,植株健壮。对 1 ~ 4 周各株系的苗高、地径进行方差分

析,转基因植株与对照存在极显著差异(表3)。

表3 转基因植株与对照苗高、地茎的统计分析  
Tab.3 Statistical analysis of height and basal stem  
between transgenic plants and control

	1周		2周		3周		4周	
	T2	CK	T2	CK	T2	CK	T2	CK
苗高/cm	12.33 <sup>a</sup>	7.93 <sup>b</sup>	15.16 <sup>a</sup>	8.77 <sup>b</sup>	17.78 <sup>a</sup>	9.93 <sup>b</sup>	19.28 <sup>a</sup>	11.18 <sup>b</sup>
地茎/mm	4.15 <sup>a</sup>	2.96 <sup>b</sup>	4.88 <sup>a</sup>	3.52 <sup>b</sup>	5.01 <sup>a</sup>	3.96 <sup>b</sup>	5.34 <sup>a</sup>	3.99 <sup>b</sup>

注:字母a、b为5%水平下的差异显著性分析。

### 3 结论与讨论

根据本研究植物激素水平的结果看,转基因植株的根、茎、叶部的 IAA 和  $GA_3$  含量都有明显提高,其中茎尖和根尖这些具有强分生能力的组织正是合成生长素最活跃的部位,这为 *rolB* 作用机理的假说“生长素代谢调节说”<sup>[11-12]</sup> 即 *rolB* 基因能够促进植物体内生长素的合成提供了支持证据。但同时由于 *PttGA20ox* 基因的超量表达提高了转基因植株体内具有生物活性  $GA_3$  的含量, $GA_3$  和 IAA 之间存在着相互正向调节的关系,所以转基因植株同时表现出高生长加快、根系发达的表型特征。这与已报道的转杨树 *GA20ox* 基因烟草和转棉花 *GA20ox* 基因毛白杨的形态特征相似<sup>[13-14]</sup>。

本研究选取温室移栽1周各转基因株系中部叶片和茎段进行 Bt 毒蛋白含量测定,发现对照没有 Bt 毒蛋白检出,转基因株系均检测到 Bt 毒蛋白,不同转基因株系的同一部位间 Bt 毒蛋白含量差异显著,而同一株系的茎、叶 Bt 毒蛋白含量差异不显著。不同株系间的差异可能是基因插入位点的不同所致,根据前人的研究报道,*Bt* 基因的表达具有时空性<sup>[15]</sup>。骆爱玲等<sup>[16]</sup> 认为抗氧化酶活性的提高可能是转 *BADH* 基因植株抗性提高的重要原因之一。本研究中,在无胁迫下,转基因烟草 SOD 活性显著高于对照;在不同浓度盐胁迫下,转基因植株的 SOD 活性均高于对照,说明 *BADH* 基因的转入提高了烟草的耐盐性。在经过长时间的不同浓度盐胁迫后,转基因烟草和对照的 SOD 活性均逐渐降低。综上所述,不同功能基因间的影响不大,相关基因可以正向协同调节植物生理效应,具体机制还有待进一步研究。

转基因在受体植物中的高频整合、稳定遗传和高效表达是转基因技术运用于植物种质改良和创新的关键。本研究首次对转 *Bt-BADH-GA-rolB* 四价基因烟草生根、高生长、耐盐性及抗虫性等表现进行了研究,结果表明,转基因植株各基因均正常表

达,得到多基因性状同时表达的植株,转基因植株的性状明显优于对照,转四价基因烟草跟对照比较更易生根,高生长明显,节间伸长,耐盐性和抗虫性也明显提高。各功能基因的正常表达为进一步探讨多基因在林木中的表达机制,选育高生长、高扦插成活率、耐盐碱性和抗虫性的林木新品种奠定了基础。

### 参 考 文 献

- [1] 熊瑾. 转 *rolB* 基因毛白杨植株性状变异的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2006.
- [2] ZHU L H, LI X Y, AHLMAN A, et al. The rooting ability of the dwarfing pear rootstock BP 10030 (*Pyrus communis*) was significantly increased by introduction of the *rolB* gene[J]. *Plant Science* 2003, 165: 829-835.
- [3] 李伟, 李慧, 陈晓阳. 转 *rolB/pptGA20ox* 双价基因提高银白杨生根能力及生长速度的研究[J]. 北京林业大学学报, 2009, 31(2): 92-95.
- [4] 辛蓓. *rolB-pptGA20ox* 双价基因转化毛白杨及遗传稳定性研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2009.
- [5] 杨敏生, 李志兰, 王颖, 等. 双抗虫基因对三倍体毛白杨的转化和抗虫性表达[J]. 林业科学, 2006, 42(9): 61-67.
- [6] 张艳敏, 丁占生, 温之雨. 逆境下转 *BADH* 基因小麦甜菜碱醛脱氢酶活性表达与甜菜碱积累[J]. 华北农学报, 2003, 18(院庆专辑): 36-39.
- [7] 孙耀中, 东方阳, 陈受宜. 盐胁迫下转甜菜碱醛脱氢酶基因水稻幼苗耐盐生理的研究[J]. 华北农学报, 2004, 19(3): 38-42.
- [8] 贾香楠, 李伟, 沈俊玲, 等. 基于 *Cre/loxP* 重组系统的多基因载体构建及烟草转化研究[J]. 北京林业大学学报, 2010, 32(5): 121-125.
- [9] 张国华, 张艳洁, 丛日晨, 等. 赤霉素作用机制研究进展[J]. 西北植物学报, 2009, 29(2): 412-419.
- [10] 蔡智军. 盐胁迫下转耐盐基因(*betA*) 小黑羊的生理指标和耐盐性分析[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2004.
- [11] ESTRUCH J J, SCHELL J, SPENA A. The protein encoded by the *rolB* plant oncogene hydrolyses indoleglucosides[J]. *EMBO J*, 1991, 10(1): 3125-3128.
- [12] SEPENCER T M, OBRIEN J V, START W G, et al. Segregation of transgenes in maize[J]. *Plant Mol Biol*, 1992, 18: 201-210.
- [13] 李伟, 陈晓阳, 杜金友, 等. *PttGA20ox* 基因在转化烟草植株中的表达[J]. 西北植物学报, 2006, 26(1): 7-11.
- [14] 邓伟, 吕立堂, 罗克明. 棉花 *GA20-氧化酶* 基因转毛白杨的研究[J]. 西北植物学报, 2008, 28(6): 1095-1100.
- [15] 夏兰芹, 徐琼芳, 郭三堆. 抗虫棉生长发育过程中 *Bt* 杀虫基因及其表达的变化[J]. 作物学报, 2005, 31(2): 197-202.
- [16] 骆爱玲, 刘家尧, 马德钦, 等. 转甜菜碱醛脱氢酶基因烟草叶片中抗氧化酶活性增高[J]. 科学通报, 2000(18): 1953-1956.

(责任编辑 董晓燕)