家蚕抗核型多角体病毒病育种研究进展*

叶明强 杨 琼 吴福泉 李庆荣 肖 阳 邝哲师 赵祥杰 罗国庆**

(广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所 广州 510610)

摘 要 家蚕核型多角体病毒(*Bombyx mori* nuclear polyhydrosis virus,BmNPV)病是蚕业界上最常见、危害比较严重的病害;遗传学研究和抗性分析表明,家蚕对核型多角体病毒抗性由主效基因和微效基因协同控制。在蚕病防治方面,除了加强消毒以外,选育抗病毒新品种无疑是更加经济有效的办法。近年来,随着基因组学和新一代测序技术的迅猛发展,覆盖深度达8.5倍家蚕基因组图谱完成和40个家蚕品种和野生种重测序的完成,为家蚕的抗核型多角体病毒病育种提供了理论依据和基因资源。本文综述了BmNPV基因组研究、家蚕基因组研究以及家蚕抗性品种培育方面取得的进展。

关键词 家蚕,核型多角体病毒,抗性,基因,育种

Progress in breeding BmNPV resistant varieties of *Bombyx mori*

YE Ming-Qiang YANG Qiong WU Fu-Quan LI Qing-Rong XIAO Yang KUANG Zhe-Shi
ZHAO Xiang-Jie LUO Guo-Qing**

(Sericulture & Agri-food Research Institute of Guangdong Academy of Agriculture Science, Guangzhou 510610, China)

Abstract *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus (BmNPV) is one of most serious diseases of the silkworm, *B. mori*. Resistance of *B. mori* to BmNPV is genetically controlled by the interaction of major and minor genes. Breeding for varieties resistant to BmNPV is the most effective and economical approach to this problem. Recent major advances in genomics and next generation sequencing technologies have led to the 8.5-fold sequence coverage of the *B. mori* genome being assembled and a single-base pair resolution silkworm genetic variation map being constructed from 40 domesticated and wild silkworms. These achievements can provide a molecular basis for the control of BmNPV and other traits. This paper reviews progress in the genomics of BmNPV and advances in breeding resistant varieties of silkworms, including traditional, molecular marker-assisted selection and transgenic breeding.

Key words *Bombyx mori*, nuclear polyhedrosis virus, resistance, gene, breeding

家蚕病毒病是长期以来对养蚕业危害较为严重的一类病害,其中的家蚕核型多角体病是昆虫病毒病中发现最早的一种病毒病,早在一千年以前,我国古农书对这种蚕病就有过记载。直到上世纪,科学家才发现家蚕脓病是由病毒引起的,并分离纯化了多角体病毒,发现此种病毒是由多角体蛋白质和杆状病毒粒子构成的(吕鸿声,1998)。家蚕核型多角体病毒(*Bombyx mori* nuclear polyhydrosis virus,BmNPV)病在世界养蚕地区常呈暴发态势,传染性极强,占蚕病总损失的70% ~ 90%,目前主要通过化学防治来预防该病的发生。然而,由于化学防治效果有限,且化学药物危害养蚕人员身体健康和污染环境,因此培育抗病品种是控制家蚕病害最为根本有效的方法。家蚕基因组研究和抗性基因研究、家蚕核型多角体病毒学的研究,为家蚕生产上进行病毒防治提供了理论基础和基因资源。家蚕分子标记技术的不断完善和应用及家蚕转基因技术的日趋成熟,也为家蚕核型多角体病毒病抗性品种培育提供了新的方法(李木旺,2009)。

* 资助项目:广东省教育部科技部产学研结合项目(2012B090600049)。

**通讯作者,E-mail:guoqingl@sina.com

收稿日期:2012-03-07,接受日期:2013-03-24

1 家蚕抗核型多角体病毒的遗传学和基因组学研究

从育种角度来看,培育对病毒有较强抗性的家蚕品种无疑是一种最为有效的途径。抗病性鉴定研究发现,不同的家蚕品种对家蚕核型多角体病毒的抗性,存在着很大的差异。陈克平等(1991)对中国农业科学院蚕业研究所保存的家蚕品种资源进行了抗性分析,发现家蚕品种间的抗性存在差异,幼虫期的攻毒发病率与全龄虫蛹率成极显著的负相关。利用从中发掘的高抗材料和敏感材料对抗性的遗传规律进行研究,发现家蚕对 NPV 的抗性呈不完全显性,存在一对主效基因。朱勇等(1998)以 10 个家蚕原种和 2 个杂交种为材料,采用机率分析法研究了不同家蚕品种对 NPV 的抗性差异,研究结果表明,不同家蚕品种对 NPV 的抗性存在极显著差异,这种差异主要受微效多基因控制。虽然由于研究材料和方法的不同,导致了诸多学者的研究结果有所不同,但是,现在公认家蚕对 NPV 抗性受位于常染色体上的一对主效基因和位于性染色体上的微效修饰基因协同调控的模型,属于质量-数量性状(陈克平等,1996;钱荷英等,2006)。

2004 年西南大学和中国科学院北京基因组研究所率先绘制完成世界第一张“家蚕全基因组框架图”(Xia *et al.*,2004),所获序列覆盖了家蚕基因组的 95.5%。2008 年通过国际合作,绘制了覆盖深度达 8.5 倍家蚕基因组图谱(International Silkworm Genome Consortium,2008)。2009 年,深圳华大基因研究院与西南大学开展合作研究,绘制完成了世界上家蚕第一张全基因组单碱基遗传变异图谱,具有重大基础科学价值与产业价值。该研究获得了 40 个家蚕突变品系和中国野桑蚕的全基因组序列,共获得 632.5 亿对碱基序列,覆盖了 99.8% 的基因组区域(Xia *et al.*,2009)。桑蚕大规模基因组重测序和遗传变异图谱构建的完成,有助于从全基因组范围研究驯化和人工选择对家蚕生物学的影响,阐明家蚕及野桑蚕之间生物学差异的遗传基础。更重要的是,鉴于与野桑蚕相比,家蚕具有更优良的经济性状,全基因组选择印记,特别是那些受到强烈选择的具体基因,对家蚕重要性状相关基因克隆及其形成分子机理的研究至关重要(Xia *et al.*,2009)。Zhao 等(2012)从家蚕全基因组中鉴定了 80 个丝氨酸蛋白酶抑制因子 SPIs,发现在家蚕核型多角体病毒等病原浸染过程中,这些因子的表达发生明显变化,揭示 SPIs 在家蚕免疫中起着非常重要的作用。

2 家蚕核型多角体病毒的基因组学和蛋白质组学研究

家蚕核型多角体病毒属于昆虫杆状病毒科(*Baculoviridae*),核型多角体病毒属(*Nucleopolyhedrovirus*),病毒粒子呈杆状。1999 年美日科学家合作完成了 BmNPV 全基因组测序,全基因组大小为 128 413 碱基,通过生物信息学鉴定出 136 个基因,其中包括了许多与 BmNPV 增殖相关的关键基因,例如编码 DNA 解旋酶、DNA 复制酶和衣壳蛋白的基因(Gomi *et al.*,1999),对其中的一些关键因子已开展功能研究(Du *et al.*,2006;Chen *et al.*,2007,2010;Ge *et al.*,2011)。Katsuma 等(2004)通过 cDNA 文库测序,发现了大量的、新的转录单元,包括非编码蛋白的 RNA,它们源自于病毒早期或晚期表达基因的启动子区域,研究结果表明,BmNPV 病毒基因表达受到复杂的调控。

病毒的早期表达基因容易受到宿主因子的影响(Okano *et al.*,2001)。DNA 解旋酶基因在病毒侵染家蚕的早期表达,是病毒的宿主域因子。各种病毒重组试验证明,只要拥有了对应的宿主域因子,就可以在对应的宿主中繁殖,反之则不能繁殖(Chen *et al.*,1998),可以作为生产上进行家蚕核型多角体病毒病的防治靶标基因。

目前,家蚕抗 NPV 蛋白质组水平研究还处于刚起步阶段,也已经取得了令人瞩目的成果。蔡克亚等(2008)通过杂交和回交的方法,建立了家蚕 NPV 抗性和感病近等基因系,利用双向电泳和飞行时间质谱技术,从蛋白质组水平上研究家蚕对 NPV 的抗性,获得了 5 龄家蚕的血淋巴液蛋白质差异表达谱,鉴定出 12 个明显差异蛋白点。江苏大学的研究人员利用高抗性和高感染性亲本家蚕株系构建具有 BmNPV 抗性的近等基因系家蚕,结合双向电泳和基质辅助激光解吸电离质谱技术,分离到两个差异表达的蛋白(Liu *et al.*,2010)。Yu 等(2012)采用酵母单杂交系统从构建的家蚕组织 cDNA 文库中筛选与多角体基因启动

子相互作用的蛋白因子。经过多轮筛选后,共获得 12 个阳性克隆分别属于 2 个不同蛋白的 cDNA 克隆,分别编码宿主来源的核糖体蛋白 RPSA (ribosome protein derived, RPSA) 和 BmNPV 来源的核型多角体病毒 DNA 结合蛋白(DBP),瞬时表达实验和 EMSA 证明 DBP 和 RPSA 分别以直接和间接结合多角体基因的启动子区域的方式,对其转录起很重要的调控作用。

3　家蚕抗核型多角体病毒育种研究

3.1　家蚕抗核型多角体病毒传统育种研究

传统的抗 NPV 品种选育,首先通过抗性筛选找到抗性很强的品种做亲本材料,然后将抗性基因导入性状优良的家蚕品种中,从而获得新的抗性品种。在育种过程中,必须实行多代连续接种 NPV 试验,以进行抗性鉴定。而且配制杂交组合时,一般要求中国系统品种、日本系统品种两方都应有强抗性的亲本。刘震等(2009)对 6 个家蚕品种中肠消化酶活性与家蚕对 NPV 病毒抗性进行了比较与分析,结果表明,家蚕中肠消化酶活性越强,则家蚕对 NPV 抗性越强,具有显著的正相关关系,因此传统的家蚕抗性品种的培育中,将家蚕中肠消化酶活性作为选育抗 NPV 病毒家蚕品种的一种辅助方法。

3.2　家蚕抗核型多角体病毒分子标记辅助育种研究

分子标记辅助选择(marker-assisted selection, MAS)是随着分子生物学技术的迅速发展而产生的新技术,它可以从分子水平上快速准确地分析个体的遗传组成,从而实现对基因型的直接选择。由于分子标记辅助选择方法相对简单,可以进行早期筛选,因此提高了选择强度和缩短了世代间隔,从而提高了选种的效率和准确性。

目前,已有多项分子标记技术用于家蚕基因组的研究,并构建了几种家蚕分子标记遗传图谱。随着分子标记技术的不断完善,已经迅速地被应用于家蚕新品种的选育过程中,在家蚕抗性品种辅助选育方面也取得了一定的成果。刘晓勇等(2004)利用家蚕核型多角体病毒高抗品系和高感品系及其近等基因系,采用分子标记进行相关性分析,获得了与家蚕抗 NPV 的 3 个分子标记。姚勤等(2002,2005)构建了家蚕抗核型多角体病毒病近等基因系,筛选到与抗性主效基因连锁的分子标记,并利用分子标记开展了家蚕抗性新品种的辅助育种选择,获得了家蚕抗 NPV 新品种。曹锦如等(2008)利用分子标记技术向家蚕实用品种中导入核型多角体病毒病抗性基因,获得了 NPV 抗性品种。

3.3　家蚕抗核型多角体病毒的转基因 RNAi 技术研究

转基因技术是指通过分子生物学手段,将外源基因(或特定的 DNA 片段)导入目的细胞或生物个体,并使其在细胞或生物体内稳定地表达或遗传,获得预期的性状和产物。转基因育种则根据育种目标,从供体生物中分离目的基因,经构建适合的转基因工程质粒后,通过转基因技术将其载入目标个体,经过筛选获得稳定表达的个体后形成的育种材料。利用转基因技术进行家蚕育种,可以克服家蚕和其它物种间的遗传壁垒和家蚕种质资源的局限,获得品质优良、抗逆和抗病的新品种。目前在家蚕转基因育种中使用的方法有显微注射法、基因枪法和电转移法等方法(陈金娥等,2008),而应用最多的是显微注射法。在卵期囊胚层前时期,显微注射法将外源基因导入家蚕卵细胞,并使外源基因整合到家蚕染色体,由于整合时期较早,从而能够获得可以稳定遗传的转基因家蚕品系。通过 20 多年的研究,家蚕转基因技术已从获得基因瞬时表达的细胞系,发展到能获得稳定遗传的生殖系转化。

家蚕转基因育种一般是利用病毒治病基因反义核酸来抑制病毒复制基因,或将基因治疗核酸或核酶高效结合,对外源致病基因既能阻止其表达,又有切割作用,从而提高家蚕的抵抗力。或者通过转基因技术把相关的抗病基因导人家蚕体内。获得具有抗病性的转基因家蚕,再通过常规育种技术育成抗病品系。张峰等(1999)将线性化的含核酶基因和荧光素酶报告基因的重组质粒 pGL2Rz 用基因枪导入家蚕早期受精卵中(G_0 代),检测了 G_1 代 5 龄蚕血淋巴的荧光素酶活性,并且从 G_2 代开始连续 3 代添毒筛选,在 G_4 代获得了 NPV 抗性强度比对照组高 10 倍的转基因家蚕。通过 PCR、RT-PCR 检测和 Southern 杂交证明,核酶基因多拷贝地整合在家蚕染色体上,即表明已获得了 BmNPV 的核酶转基因蚕。陈秀等

(1999)用基因枪法获得新霉素抗性转基因蚕和抗 NPV 核酶转基因蚕。Jiang 等(2012)构建了 IE1 启动子介导 Bmlipase-1 增量表达的转基因载体,通过显微注射家蚕大造品种,筛选得到两个转基因系统 LI-A 和 LI-B。以 106 多角体/头剂量经口添食 4 龄起蚕,LI-A 的死亡率比正常大造降低 33%,抗性得到显著提高,且经济性状未受不良影响。

目前有关转基因技术在家蚕抗病品种选育方面的应用研究报道较少,这主要是由于家蚕对病害的抵抗性一般受多基因控制,而且绝大部分基因在染色体上的位置尚不清楚,所以直接进行转基因抗病育种有较大的难度。近年发展起来的 RNA 干涉(RNAi) 技术将有望解决这一难题。

RNA 干扰(RNA interference,RNAi)是 dsRNA (double-strand RNA)介导的基因表达沉默现象。Sui 等(2002)在研究线虫 *parl* 基因功能时,首次发现 dsRNA 能抑制特定基因的功能。利用 RNAi 技术,抑制与病毒的宿主细胞识别和基因组复制等相关基因的表达,是目前真核生物病毒病防治的有效手段,为家蚕核型多角体病毒抗性品种的培育提供了新的方法。Isobe 等(2004)以病毒 *lef*-1 为靶基因,利用 RNAi 技术,通过转染或转基因获得表达 *lef*-1 dsRNA 的细胞系和转基因家蚕,在转染细胞及转基因家蚕中均显著抑制 BmNPV 的增殖。徐颖等(2004)将体外转录的 DNA 解旋酶基因和 DNA 聚合酶基因的不同长度的 dsRNA 转染家蚕培养细胞中,研究其对病毒复制抑制的效果,发现 dsRNA 能够成功抑制病毒 DNA 的复制,在转染后第 4 天效果最佳。夏定国等(2006)以病毒复制必需的极早期基因 *ie*-1 和细胞释放型病毒入侵关键基因 *gp64* 为靶序列,分别体外转录 438 bp 的 dsRNA I1 和 337 bp 的 dsRNA G1,用家蚕培养细胞研究其对 BmNPV 复制和增殖的抑制作用,结果表明:dsRNA I1 能有效地抑制 BmNPV 的增殖而 dsRNA G1 能显著地抑制新形成的病毒粒子的细胞侵染能力。夏定国等(2007)进一步研究了 *gp64* 基因的不同区域及不同长度与 RNAi 效果的关系,发现供试的 6 个 dsRNA 的最大抑制效果相当,经 RNAi 不同时间点的 *gp64* 基因表达水平均明显下调,并发现一个 RNAi 的较佳靶标位点。黄科等(2009)将 BmNPV 的 DNA 聚合酶基因、蛋白激酶基因(*PK1*)以及 *bro-d* 和 *orf1629* 基因的片段,构建了基于转基因表达载体,通过显微注射于家蚕卵中,攻毒试验结果表明,BmNPV DNA 聚合酶基因和 *PK*1 基因 dsRNA 对病毒的增殖有抑制作用,从而使家蚕对 BmNPV 具有一定的抗性,而 *bro-d* 和 *orf1629* 基因片段对病毒的增殖没有抑制作用。以上研究结果表明,利用 RNAi 技术,通过转基因家蚕稳定表达 BmNPV 的复制必需因子的 dsRNA,能够增强家蚕对 BmNPV 的抗性,进而培育抗性的新品种。

4 展望

由于家蚕核型多角体病毒病危害的严重性,长期以来,人们对该病害的病原类型、侵染途径、预防方法、家蚕抗性遗传规律等诸多方面进行了研究。培育抗性品种一直是家蚕育种工作者的努力目标,由于家蚕对 NPV 的抗性为不完全显性,受主效基因和微效基因的协同作用,加之环境因素的影响,使传统的育种方法难以育出实用性强的家蚕品种。近年来,生物技术和基因组学的飞速发展,特别是 RNAi 技术的发展,为家蚕抗病育种提供了理论基础和新的技术途径。

参考文献(References)

Chen CJ, Quentin ME, Brennan LA, Kukel C, Thiem SM, 1998. *Lymantria dispar* nucleopolyhedron virus hrf-1 expands the larval host range of autographa californica nucleo polyhedron virus. *J. Virol.*, 72(3):2526 – 2531.

Chen H, Li G, Huang G, Chen K, Yao Q, Guo Z, 2010. Characterization of ORF29 of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus. *Acta Virol.*, 2010; 54(4): 275 – 280.

Chen HQ, Chen KP, Yao Q, Guo ZJ, Wang LL, 2007. Characterization of a late gene, ORF67 from *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus. *FEBS Lett.*, 581(30):5836 – 5842.

Du MF, Yin XM, Guo ZJ, Zhu LJ, 2006. Characterization of a late gene, ORF60 from *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 39(6): 737 – 742.

Ge JQ, Gao GH, Xu YP, Zhang CX, 2011. Characterization of a late gene, ORF75 from *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus. *Mol. Biol. Rep.*, 38(3): 2141 – 2149.

Gomi S, Majima K, Maeda S, 1999. Sequence analysis of the genome of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus. *J. Gen.*

Virol., 80 (Pt 5):1323 – 1337.

International Silkworm Genome Consortium, 2008. The genome of a lepidopteran model insect, the silkworm *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38(12):1036 – 1045.

Isobe R, Kojima K, Matsuyama T, Quan GX, Kanda T, Tamura T, Sahara K, Asano SI, Bando H, 2004. Use of RNAi technology to confer enhanced resistance to BmNPV on transgenic silkworms. *Arch. Virol.*, 149(10):1931 – 1940.

Jiang L, Wang GH, Cheng TC, Yang Q, Jin SK, Lu G, Wu FQ, Xiao Y, Xu HF, Xia QY, 2012. Resistance to *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus via overexpression of an endogenous antiviral gene in transgenic silkworms. *Arch. Virol.*, 157(7):1323 – 1328.

Katsuma S, Kang W, Shin-i T, Ohishi K, Kadota K, Kohara Y, Shimada T, 2011. Mass identification of transcriptional units expressed from the *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus genome. *J. Gen. Virol.*, 92(Pt 1):200 – 203.

Liu X, Yao Q, Wang Y, Chen K, 2010. Proteomic analysis of nucleopolyhedrovirus infection resistance in the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *J. Invertebr. Pathol.*, 105(1):84 – 90.

Okano K, Shimada T, Mita K, Maeda S, 2001. Comparative expressed-sequence-tag analysis of differential gene expression profiles in BmNPV-infected BmN cells. *Virology*, 282(2):348 – 356.

Sui G, Soohoo C, Affar el B, Gay F, Shi Y, Forrester WC, Shi Y, 1995. A DNA vector-based RNAi technology to suppress gene expression in mammalian cells. *PNAS*, 99(8):5515 – 5520.

Xia Q, Guo Y, Zhang Z, Li D, Xuan Z, Li Z, Dai F, Li Y, Cheng D, Li R, Cheng T, Jiang T, Becquet C, Xu X, Liu C, Zha X, Fan W, Lin Y, Shen Y, Jiang L, Jensen J, Hellmann I, Tang S, Zhao P, Xu H, Yu C, Zhang G, Li J, Cao J, Liu S, He N, Zhou Y, Liu H, Zhao J, Ye C, Du Z, Pan G, Zhao A, Shao H, Zeng W, Wu P, Li C, Pan M, Li J, Yin X, Li D, Wang J, Zheng H, Wang W, Zhang X, Li S, Yang H, Lu C, Nielsen R, Zhou Z, Wang J, Xiang Z, Wang J, 2009. Complete resequencing of 40 genomes reveals domestication events and genes in silkworm (*Bombyx*). *Science*, 326(5951):433 – 436.

Xia Q, Zhou Z, Lu C, Cheng D, Dai F, Li B, Zhao P, Zha X, Cheng T, Chai C, Pan G, Xu J, Liu C, Lin Y, Qian J, Hou Y, Wu Z, Li G, Pan M, Li C, Shen Y, Lan X, Yuan L, Li T, Xu H, Yang G, Wan Y, Zhu Y, Yu M, Shen W, Wu D, Xiang Z, Yu J, Wang J, Li R, Shi J, Li H, Li G, Su J, Wang X, Li G, Zhang Z, Wu Q, Li J, Zhang Q, Wei N, Xu J, Sun H, Dong L, Liu D, Zhao S, Zhao X, Meng Q, Lan F, Huang X, Li Y, Fang L, Li C, Li D, Sun Y, Zhang Z, Yang Z, Huang Y, Xi Y, Qi Q, He D, Huang H, Zhang X, Wang Z, Li W, Cao Y, Yu Y, Yu H, Li J, Ye J, Chen H, Zhou Y, Liu B, Wang J, Ye J, Ji H, Li S, Ni P, Zhang J, Zhang Y, Zheng H, Mao B, Wang W, Ye C, Li S, Wang J, Wong GK, Yang H, 2004. A draft sequence for the genome of the domesticated silkworm (*Bombyx mori*). *Science*, 306(5703):1937 – 1940.

Yu W, Li J, Wang M, Quan Y, Chen J, Nie Z, Lv Z, Zhang Y, 2012. The screening and functional study of proteins binding with the BmNPV polyhedrin promoter. *Virol. J.*, 9(1):90 [Epub ahead of print].

Zhao P, Dong Z, Duan J, Wang G, Wang L, Li Y, Xiang Z, Xia Q, 2012. Genome-wide identification and immune response analysis of serine protease inhibitor genes in the silkworm, *Bombyx mori*. *PLoS ONE*, 7(2):e31168.

蔡克亚, 陈克平, 刘晓勇, 姚勤, 李军, 2008. 家蚕抗BmNPV 品系与感性品系血淋巴液蛋白质组的差异分析. 生物工程学报, 24(2):285 – 290.

曹锦如, 周文林, 翁宏飚, 叶爱红, 王永强, 2008. 家蚕抗核型多角体病毒病分子标记辅助新品种选育研究. 蚕桑通报, 39(3):19 – 22.

陈金娥, 翁宏飚, 孟智启, 2008. 家蚕转基因研究进展. 蚕桑通报, 39(3):5 – 8.

陈克平, 林昌麟, 姚勤, 1996. 家蚕对核型多角体病遗传规律的研究. 蚕业科学, 22(3):160 – 164.

陈克平, 林昌麒, 吴冬秀, 姚琴, 方琴琴, 1991. 家蚕保存种对核型多角体病的抗性. 蚕业科学, 19(1):45 – 46.

陈秀, 赵昀, 张峰, 彭卫平, 冯晓黎, 黄君霆, 陆长德, 1999. 新霉素抗性基因在家蚕中的插入和表达. 生物化学与生物物理学报, 31(1):90 – 92.

黄科, 李春峰, 甘进锋, 蒙炳超, 李智, 周泽扬, 2009. 利用转基因 RNA 干涉提高家蚕对 BmNPV 的抗性初探. 蚕业科学, 35(2):308 – 313.

李木旺, 2009. 家蚕分子育种现状及展望. 中国蚕业, 4:4 – 6.

刘晓勇, 姚勤, 陈克平, 2004. 利用 RAPD 技术筛选家蚕抗核型多角体病分子标记. 江苏大学学报(自然科学版), 25(1):17 – 20.

刘震, 鲍先巡, 尤征英, 杨莹, 徐家萍, 2009. 家蚕对 BmNPV 抗病性与中肠消化酶活性的关系. 安徽农业大学学报, 36(3):489 – 492.

吕鸿声, 1998. 昆虫病毒分子生物学. 北京:中国农业科技出版社. 1 – 15, 217 – 250.

钱荷英, 徐安英, 林昌麒, 赵云坡, 孙平江, 张月华, 2006. 家蚕对核型多角体病毒病抗性及遗传规律的研究. 河北农业大学学报, 29(4):77 – 79.

夏定国, 张国政, 王文兵, 赵巧玲, 沈兴家, 唐顺明, 张业顺, 韦亚东, 2006. dsRNA 对家蚕核型多角体病毒复制增殖的抑制效果. 蚕业科学, 32(2):206 – 210.

夏定国, 张国政, 王文兵, 赵巧玲, 唐顺明, 2007. gp64 基因相应 dsRNA 对家蚕核型多角体病毒(BmNPV)增殖的抑制. 中国农业科学, 40(12):2882 – 2887.

徐颖, 朱成钢, 金勇丰, 张耀洲, 2004. dsRNA 对家蚕核型多角体病毒(BmNPV)复制的抑制作用. 科学通报, 49(11):1073 – 1078.

姚勤, 刘晓勇, 陈克平, 李木旺, 2002. 家蚕抗核型多角体病分子标记筛选. 生命科学研究, 6(4):322 – 325.

姚勤,刘晓勇,唐旭东,陈克平,2005. 家蚕抗核型多角体病毒病分子标记辅助育种. 分子植物育种, 3(4):537 – 542.

张峰, 陈秀, 赵昀, 祁国荣, 黄君霆, 陆长德, 1999. 抗 NPV-核酶转基因蚕的研究. 生物学与生物物理学报,31(3):331 – 333.

朱勇, 鲁成, 陈萍, 余贵玲, 曾华明, 冉小曾, 赵邦美, 1998. 家蚕对核型多角体病毒(NPV)抗性的遗传学研究. 西南农业大学学报, 20(2):100 – 103.