

棉花耐盐性的 SSR 标记研究

张丽娜,叶武威*,王俊娟,樊保香

(中国农业科学院棉花研究所/农业部棉花遗传改良重点实验室,安阳 455000)

摘要:针对两个典型的棉花耐盐材料(中 07 和中棉所 35)和两个典型的盐敏感材料(新研 96-48 和中棉所 12),开展了寻找与棉花耐盐有关的 SSR 标记的研究。利用 3528 对引物,最终筛选出 274 对引物在 4 个材料间具有 SSR 多态性。其中,有 10 对引物 Y01、Y02、Y03、Y04、Y05、Y06、Y07、Y08、Y09、Y10 在耐盐性不同的材料中扩增出差异性片段。扩增图谱显示,同一引物在耐盐的中 07 和中棉所 35 中扩出的片段与盐敏感的新研 96-48 和中棉所 12 扩出的片段不同。初步研究结果认为,这 10 对引物有望成为鉴定棉花耐盐性的标准引物,从而将耐盐材料与盐敏感材料从分子角度鉴别开来,为棉花耐盐性分子鉴定等研究提供参考。

关键词:棉花;耐盐;SSR

中图分类号:S562.035 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2010)02-0175-06

Studies of Salinity-tolerance with SSR Markers on *G.hirsutum* L.

ZHANG Li-na, YE Wu-wei*, WANG Jun-juan, FAN Bao-xiang

(Cotton Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences; Key Laboratory of Cotton Genetic Improvement, Ministry of Agriculture, Anyang, Henan 455000, China)

Abstract:Two typical salinity tolerance varieties (Zhong 07 and CCRI 35) and two typical salinity sensitive varieties(Xinyan 96-48 and CCRI 12), were tested by SSR method in order to analyze the salinity-related SSR markers. 274 pairs of SSR primers with polymorphism on the four cotton varieties were screened from 3528 pairs of SSR primers. Especially, 10 pairs of them such as Y01, Y02, Y03, Y04, Y05, Y06, Y07, Y08, Y09, Y10 could distinguish salinity-tolerance varieties from salinity-sensitive varieties, each of those showed in the electrophoregram showed that the same primer amplified different DNA bands between the two salinity-tolerance varieties and the other two salinity-sensitive varieties, thus can identify salinity tolerance between different cotton varieties from molecular background. These results are useful to develop molecular identification method of salinity-tolerance about cotton germplasm.

Key words: cotton; salinity-tolerance; SSR

土壤盐渍化现已成为制约农业生产的一个全球性问题。由于大多数植物属盐敏感的淡土植物,因此开展植物耐盐性研究,培育耐盐品种成为近年来的研究热点^[1]。我国人多地少,盐碱地面积广,加之近年来粮棉争地问题突出,因此,培育棉花耐盐品种,将棉花种植引向盐碱荒地是缓解粮棉争地矛盾、保证棉花生产的一条有效途径。棉花的耐盐性鉴定工作对棉花耐盐品种的培育具有重要作用。而生产中常用的基于形态学的耐盐性鉴定方法周期长、成本高,且易受外界环境

变化的影响和季节的限制。因此,若能筛选出一种既简单有效又经济可靠的耐盐性分子鉴定方法,将对棉花种质评价、耐盐基因的定位和克隆及耐盐品种的选育具有重要意义。

分子生物学的发展,尤其是分子标记的问世,有力地推动了植物耐盐研究发展,同时,也为棉花耐盐鉴定工作带来新思路和新方法。目前开发的分子标记已有十多种,其中 SSR 标记因方法简便、呈共显性、检测成本低等优点,在鉴定技术中显示了独特的优越性。在植物耐盐分子标记方

收稿日期:2009-04-21 作者简介:张丽娜(1984-),女,在读硕士;*通讯作者,yeww@cricaas.com.cn

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划(2006BAD13B04-1)

面,国内对小麦、水稻、大豆的研究较多,而棉花上这方面的报道较少。王宏英^[2]、刘旭^[3]、单雷^[4]等采用 SSR 技术结合 BSA 方法分别在小麦中发现与耐盐性状连锁的 SSR 标记并对其中的耐盐相关基因进行了定位;汪斌等^[5]利用来自籼稻品种 H539 和 Acc8558 的 RILs 及相应的分子遗传图谱(包含 147 个 RFLP 和 79 个 SSR 标记),以水稻苗期地上部 Na⁺ 含量为指标检测到 13 个耐盐 QTL;张海燕等^[6]用 SSR 技术对大豆耐盐种质资源进行了遗传多样性分析;Lee 等^[7]用 SSR 标记研究了大豆耐盐材料 S-100 和盐敏感材料 Tokyo 组合的 NILs,将一个耐盐主效 QTL 定位在(LG) N 连锁群的 Sat-091 附近;刘志鹏等^[8-9]用 SSR 标记研究不同耐盐性状紫花苜蓿的遗传多样性,提出用四倍体法研究四倍体紫花苜蓿的微卫星多态性。前人在植物耐盐方面的研究多集中在基因定位、QTL 分析及遗传多样性分析等方面,而在耐盐性鉴定方面的研究较少。

本试验以两对耐盐性差异较大的陆地棉材料为研究对象,筛选在耐盐材料和盐敏感材料之间具有多态性的 SSR 引物,以期获得与棉花耐盐基因有关的分子标记,进而快速准确地鉴定棉花的耐盐性。

1 材料和方法

1.1 实验材料

耐盐材料中 07 和中棉所 35、盐敏感材料新研 96-48 和中棉所 12,均由中国农业科学院棉花研究所提供多年自交种。本课题组历年的盐池鉴定^[10]结果表明,中 07 和中棉所 35 均为耐盐材料,新研 96-48 和中棉所 12 均为盐敏感材料。

1.2 实验方法

1.2.1 室内鉴定。双层滤纸发芽法鉴定实验材料的耐盐性。采用 0.8% 的 NaCl 胁迫^[10-11],每个品种及对照(蒸馏水)各设 3 次重复,每个重复 30 粒。将滤纸用盐水(或蒸馏水)浸湿铺于培养皿中,然后将棉种在盐水(或蒸馏水)中轻轻搓几下,均匀摆放在滤纸上,最后再用一张浸湿的滤纸盖在种子上。每天用喷瓶将上层滤纸适量喷湿,同时观察记录种子发芽情况。7 d 后计算发芽率,以相对发芽率代表棉花的耐盐性强弱。计算公式如下:

$$\text{相对发芽率(\%)} = \frac{\text{盐处理发芽率}}{\text{对照发芽率}} \times 100$$

1.2.2 棉花基因组 DNA 的提取和检测。采用 CTAB 法^[12-13]分别提取供试材料各个单株的叶片基因组 DNA,并用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行质量检测。

1.2.3 PCR 扩增和电泳检测。反应体系为 10 μL , 10 \times buffer (含 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Mg^{2+}) 1 μL ; 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Each 的 dNTP 0.2 μL ; 2.5 $\text{U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 的 Taq 酶 0.2 μL ; 30 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 的模板 DNA 1 μL ; 前后引物 (5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 各 1 μL ; 然后加双蒸水补齐 10 μL 。PCR 反应在东胜龙 EDC-810 基因扩增仪(东胜创新生物科技公司生产)上进行。SSR-PCR 反应程序:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 然后 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 45 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 50 s, 30 次循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 再延伸 5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存待测。

扩增产物用 8% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,180 V 恒压下,在 1 \times TBE 缓冲液中电泳 1 h 左右。当溴酚蓝指示剂距电泳板底边约 2 cm 时,结束电泳,然后银染显色。先把胶放在固定液(10%乙醇,0.5%冰乙酸溶液)中,在摇床上轻摇 7~8 min; 倒掉固定液,用蒸馏水洗两遍,加入渗透液(0.2% AgNO_3 溶液),轻摇 12 min; 倒掉渗透液,用蒸馏水洗两遍,加入显色液(6 g NaOH, 5 mL 甲醛, 3 mL 0.2% 的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 加蒸馏水至 400 mL),轻摇至 DNA 条带显示清晰; 然后倒掉显色液,加入终止液(0.75% 的 Na_2CO_3 溶液)终止反应,观察记录带型并照相。

1.2.4 SSR 引物筛选。通过查阅文献及在棉花专业网站 Cotton DB (<http://www.cottondb.org/>) 和 Cotton Marker Database (<http://www.cottonmarker.org/>) 上搜索引物序列信息,最终选取棉花基因组上的 3528 对 SSR 引物,由上海 Invitrogen 公司合成。用四个供试材料中 07、中棉所 35、新研 96-48、中棉所 12 筛选多态性引物。

2 结果与分析

2.1 室内鉴定芽期耐盐性

双层滤纸发芽法鉴定棉花耐盐性的实验结果表明,在 0.8% NaCl 胁迫下,耐盐材料与盐敏感材料之间的相对发芽率差异极显著。中 07、中棉

所 35 的相对发芽率明显高于新研 96-48 和中棉所 12, 中 07 和中棉所 35 的相对发芽率分别高达 79.51% 和 76.23%, 表明其芽期耐盐性较强, 而新研 96-48 和中棉所 12 的相对发芽率较低, 分别为 42.84% 和 31.34%, 表明其芽期耐盐性相对较弱, (表 1、图 1 所示), 这与盐池鉴定结果基本吻合。

2.2 DNA 质量检测

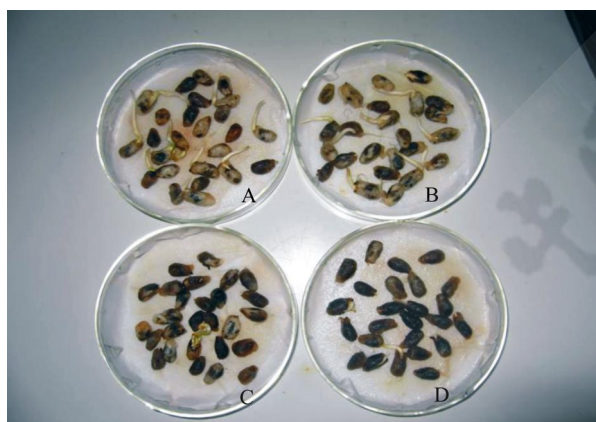
用 1% 琼脂糖凝胶电泳对所提取的 DNA 进行质量检测, 检测结果如图 2 所示。从图中可以看出, 提取的 DNA 条带清晰, 均无降解, 质量较好。

表 1 双层滤纸法鉴定棉花耐盐性的结果

Table 1 The identification results on salinity-tolerance by the method of Double Filter Paper

| 材料名称 | 盐处理发芽率 /% | 对照(蒸馏水)发芽率 /% | 相对发芽率 /% | 耐盐性 |
|----------|-----------|---------------|----------|-----|
| 中 07 | 66.53 | 83.67 | 79.51 aA | 较强 |
| 中棉所 35 | 64.32 | 84.38 | 76.23 aA | 较强 |
| 新研 96-48 | 30.41 | 70.98 | 42.84 bB | 较弱 |
| 中棉所 12 | 25.21 | 80.44 | 31.34 cC | 较弱 |

注: 不同大、小写字母分别表示差异达极显著($\alpha=0.01$)、显著水平($\alpha=0.05$)。



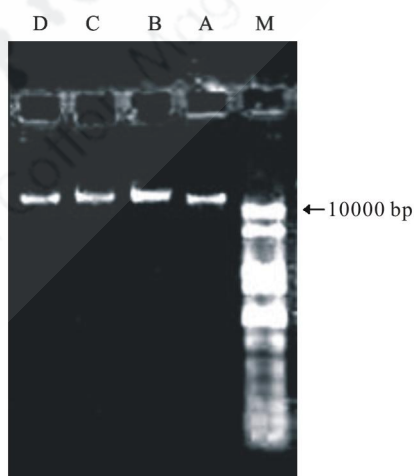
A: 中 07, B: 中棉所 35, C: 新研 96-48, D: 中棉所 12。

图 1 0.8% NaCl 胁迫下第 7 d 中 4 个供试材料的发芽情况

Fig.1 The germination results of Zhong 07, CCRI 35, Xinyan 96-48 and CCRI 12 stressed under 0.8% NaCl, 7th day

2.3 SSR 引物筛选

通过对 3528 对引物的筛选, 共有 274 对引物在 4 个材料间出现多态性, 占检测引物的 7.77%。其中有 10 对引物(Y01、Y02、Y03、Y04、Y05、Y06、Y07、Y08、Y09、Y10) 能将耐盐材料中 07、中棉所 35 与盐敏感材料新研 96-48、中棉所 12 区分开, 占检测引物的 0.28%。这说明所选材料的遗传背景比较相近, 用它们筛选与耐盐有关的标记更可靠。10 对多态性好的引物扩增图谱如图 3 所示。引物 Y01 在中 07 和中棉所 35 中扩出 2 条 400 bp 上下的片段, 而新研 96-48 和中棉所



A: 中 07, B: 中棉所 35, C: 新研 96-48, D: 中棉所 12, M 为 DNA mark(100bp ladder)。

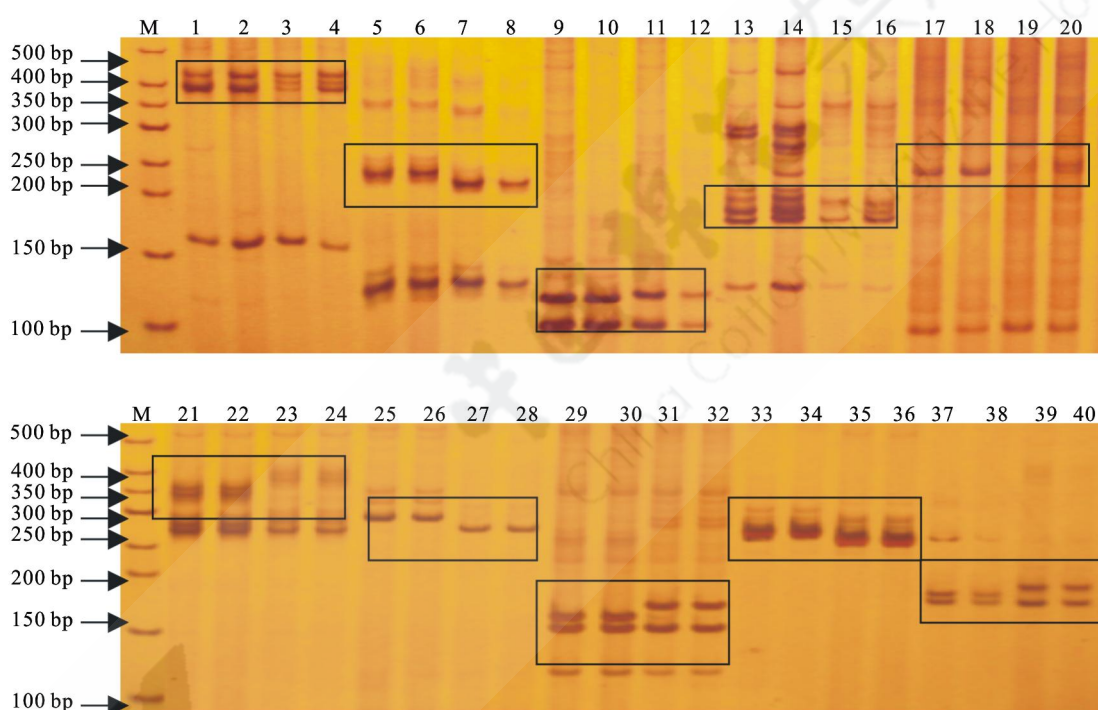
图 2 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量

Fig.2 DNA diagram of agarose gel electrophoresis.

12 则扩出 3 条 400 bp 左右的片段, 比中 07 和中棉所 35 多出中间 1 条带; 引物 Y02 在中 07 和中棉所 35 中扩出 1 条约 250 bp 的片段, 而在新研 96-48 和中棉所 12 中扩出的片段小些, 在 200~250 bp 之间; 引物 Y03 在 4 个材料中均扩出 2 条片段, 且扩增片段大小很相似, 差异细微, 只是新研 96-48 和中棉所 12 上面的那条片段稍大; 引物 Y04 在中 07 和中棉所 35 中扩出 3 条大小在 150~200 bp 之间的片段, 而新研 96-48 和中棉所 12 扩出 2 条约 200 bp 的片段; 引物 Y05 在中 07 和中棉所 35 中扩出 1 条近 250 bp 的片段, 而

在新研 96-48 和中棉所 12 中扩出 2 条约 250 bp 的片段;引物 Y06 在中 07 和中棉所 35 中扩出 2 条约 350 bp 大小的片段,而在新研 96-48 和中棉所 12 中扩出 2 条约 400 bp 的片段;引物 Y07 在中 07 和中棉所 35 中扩出 1 条约 300 bp 的片段,而在新研 96-48 和中棉所 12 中扩出的片段小于 300 bp,在 250~300 bp 之间;引物 Y08 在 4 个材料中均扩出 2 条 150~200 bp 之间片段,但在新研 96-48 和中棉所 12 中上面的片段比中 07 和中棉所 35 要大;引物 Y09 在中 07 和中棉所 35 中扩出的片段大小接近 300 bp,而在新研 96-48 和中

棉所 12 中扩出的片段约 250 bp;引物 Y10 在中 07 和中棉所 35 中扩出的 2 条片段均略小于 200 bp,且大小很接近,但在新研 96-48 和中棉所 12 中扩出的 2 条片段,一条略小于 200 bp,一条大于 200 bp,差异明显。从图 3 可以看出,这 10 对引物在耐盐材料中 07 和中棉所 35 中扩出的片段相同,在盐敏感材料新研 96-48 和中棉所 12 中扩出的片段相同,且两者有差异(差异条带在图 3 中已标出),可初步将耐盐材料与盐敏感材料区别开。



四个为一组,每组顺序为中 07、中棉所 35、新研 96-48、中棉所 12;引物分别为:1-4 为 Y01,5-8 为 Y02,9-12 为 Y03,13-16 为 Y04,17-20 为 Y05,21-24 为 Y06,25-28 为 Y07,29-32 为 Y08,33-36 为 Y09,37-40 为 Y10;M 为 DNA mark (100 bp ladder)。

图 3 10 对引物 Y01、Y02、Y03、Y04、Y05、Y06、Y07、Y08、Y09、Y10 对 4 个品种的扩增图谱

Fig.3 Every four lanes formed amphing from 10 pairs of prime a group

3 结论与讨论

棉花的耐盐性是一个复杂的数量性状遗传,涉及复杂的生化代谢途径和诸多基因调控。不但受到棉花本身遗传因素影响,还受外界环境及栽培措施的影响。而且各品种之间及同一品种不同生育期、不同组织器官之间耐盐性有很大差异,很可能存在多种不同耐盐机制,至今还没形成统一认识,很多领域尚存在争论^[14-15]。沈法富等^[16]根据 Hayman 的方法,对 6 个耐盐性不同的棉花品种(系)及其 15 个半双列杂交组合的 F_1 、 F_2 代的平均

盐害级别进行了双列杂交分析。结果表明,棉花耐盐育种以配制耐盐×盐敏感组合为最佳。棉花耐盐遗传参数估计说明,棉花的耐盐性存在着加性和显性效应,以加性效应为主,耐盐性呈不完全显性,受一对主效基因控制。陈翠霞等^[17]对棉花耐盐变异体山农 011 及其杂种后代进行抗盐遗传和基因效应分析,结果表明,变异体的耐盐性由核基因控制,其遗传以加性效应为主。SSR 位点贯穿整个植物基因组,因此用 SSR 分子标记鉴定棉花耐盐性是可行的。

棉花耐盐性的复杂为耐盐品种的鉴定和选育带来很大困难。若能筛选到几个显性标记,能够直接对棉花的耐盐性进行分子鉴定,将是棉花耐盐性鉴定方法的一大突破。郭蓓等利用 BSA 法对大豆耐盐品种和盐敏感品种以及“文丰 7(耐盐)×Union(盐敏感)”的 F₂ 群体进行研究,获得一个共显性 PCR 标记,并在其它组合的 F₂ 群体及耐盐性不同的品种中得到验证^[18-20]。本实验筛选到的 10 对 SSR 引物能初步将两对耐盐材料和盐敏感材料区分开。至于这些标记是否与耐盐基因连锁,能否用于棉花种质大批量的耐盐性鉴定,尚需进一步验证。同时需将分子鉴定与盐池鉴定结果相对比,通过二者的吻合性来验证该标记的应用价值,为棉花耐盐性分子鉴定方法提供参考。

参考文献:

- [1] MØLLER I S, Tester M. Salinity tolerance of *Arabidopsis*: a good model for cereals[J]. Trends in Plant Sci, 2007, 12(12): 534-540.
- [2] 王宏英. 小麦耐盐突变体突变位点的 SSR 标记定位及其线粒体 DNA 差异的研究[D]. 石家庄:河北师范大学,2002.
- WANG Hong-ying. Using SSR marker to map the mutant sites of the wheat salt-tolerant mutant and the study on the difference of its mtDNA[D]. Shijiazhuang: Hebei Normal University, 2002.
- [3] 刘旭,史娟,张学勇,等. 小麦耐盐种质的筛选鉴定和耐盐基因的标记[J]. 植物学报,2001,43(9): 948-954.
- LIU Xu, Shi Juan, Zhang Xue-Yong, et al. Screening salt tolerance germplasm and tagging the tolerance gene (s) using microsatellite(SSR) markers in wheat[J]. Acta Botanica Sinica, 2001, 43(9): 948-954.
- [4] 单雷,赵双宜,陈芳,等. 小麦体细胞杂种山融 3 号耐盐相关 SSR 标记的筛选和初步定位[J]. 中国农业科学, 2006, 39(2): 225-230.
- SHAN Lei, Zhao Shuang-yi, Chen Fang, et al. Screening and localization of SSR markers related to salt tolerance of somatic hybrid wheat Shanrong No.3[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39(2): 225-230.
- [5] 汪斌,兰涛,吴为人,等. 盐胁迫下水稻苗期 Na⁺ 含量的 QTL 定位[J]. 中国水稻科学, 2007, 21(6): 585-590.
- WANG Bin, Lan Tao, Wu Wei-ren, et al. Mapping of QTLs for Na⁺ content in rice seedlings under salt stress[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2007, 21(6): 585-590.
- [6] 张海燕,关荣霞,李英慧,等. 大豆耐盐性种质资源 SSR 遗传多样性及标记辅助鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(3): 251-255.
- ZHANG Hai-yan, Guan Rong-xia, Li Ying-hui, et al. Genetic diversity analysis and marker assisted identification of salt tolerant soybean by using SSR marker[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2005, 6(3): 251-255.
- [7] LEE G J, Boerma H R, Villagarcia M R, et al. A major QTL conditioning salt tolerance in S-100 soybean and descendant cultivars[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(8): 1610-1619.
- [8] 刘志鹏. 不同耐盐性状紫花苜蓿的 SSR 分子标记研究[D]. 西安:西北农林科技大学,2004.
- LIU Zhi-Peng. Application of SSR molecular markers to different salt-tolerant traits of alfalfa[D]. Xi'an: Northwest A & F University, 2004.
- [9] 刘志鹏,杨青川,呼天明,等. 用 SSR 标记研究不同耐盐特性四倍体紫花苜蓿的遗传多样性[J]. 作物学报,2006, 32(4): 630-632.
- LIU Zhi-peng, Yang Qing-chuan, Hu Tian-ming, et al. Genetic diversity of autotetraploid alfalfa with different salt-tolerant trait based on SSR marker analysis[J]. Acta Agronomica Sinica, 2006, 32(4): 630-632.
- [10] 叶武威,刘金定. 棉花种质资源耐盐性鉴定技术与应用[J]. 中国棉花, 1998, 25(9): 37-38.
- YE Wu-wei, Liu Jin-ding. Technique and application on Salt-tolerance appraisal of cotton germplasm resources[J]. China Cotton, 1998, 25(9): 37-38.
- [11] 王俊娟,叶武威,周大云,等. 盐胁迫下不同耐盐类型棉花的萌发特性[J]. 棉花学报, 2007, 19(4): 315-317.
- WANG Jun-juan, Ye Wu-wei, Zhou Da-yun, et al. Studies on germination characteristics of different salinity-resistant cotton under salt stress[J]. Cotton Science, 2007, 19(4): 315-317.
- [12] Paterson A H, Brubaker C L, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium spp.*) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis[J]. Plant Mol Biol Rep, 1993, 11(2): 122-127.
- [13] 宋国立,崔荣霞,王坤波,等. 改良 CTAB 法快速提取棉花 DNA[J]. 棉花学报, 1998, 10(5): 273-275.
- SONG Guo-li, Cui Rong-xia, Wang Kun-bo, et al. A rapid improved CTAB method for extraction of cotton genomic DNA [J]. Cotton Science, 1998, 10(5): 273-275.
- [14] 刘国强,鲁黎明,刘金定. 棉花品种资源耐盐性鉴定研究[J]. 中国种业, 1993(2): 21-22.
- LIU Guo-qiang, Lu Li-ming, Liu Jin-ding, et al. Salt-tolerance appraisal of cotton variety resources[J]. China Seeds, 1993(2): 21-22.
- [15] 蒋玉蓉,吕有军,祝水金. 棉花耐盐机理与盐害控制研究进展[J]. 棉花学报, 2006, 18(4): 248-254.
- JIANG Yu-rong, Lü You-jun, Zhu Shui-jin. Advance in studies

- of the mechanism of salt tolerance and controlling of salt damage in upland cotton[J]. *Cotton Science*, 2006, 18(4): 248- 254.
- [16] 沈法富, 于元杰, 毕建杰, 等. 棉花耐盐性的双列杂交分析[J]. *作物学报*, 2001, 27(1): 50-54.
- SHEN Fa-fu, Yu Yuan-jie, Bi Jian-jie, et al. A diallel analysis of salt tolerance in upland cotton [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2001, 27(1):50-54.
- [17] 陈翠霞, 于元杰, 刘凤珍, 等. 棉花耐盐变异体的遗传分析[J]. *西北植物学报*, 2000, 20(2): 234-237.
- CHEN Cui-xia, Yu Yuan-jie, Liu Feng-zhen, et al. Genetic analysis of salt-tolerance variant in cotton [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2000, 20(2): 234-237.
- [18] 郭 蓓, 邱丽娟, 邵桂花, 等. 大豆耐盐基因的 PCR 标记[J]. *中国农业科学*, 2003, 33(1) :10-16.
- GUO Bei, Qiu Li-juan, Shao Gui-hua, et al. Tagging salt tolerant gene using PCR markers in soybean[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 33(1):10-16.
- [19] 郭 蓓, 邱丽娟, 邵桂花, 等. 大豆耐盐性种质的分子标记辅助鉴定及其利用研究[J]. *大豆科学*, 2002, 21(1):56-61.
- GUO Bei, Qiu Li-juan, Shao Gui-hua, et al. Markers-assisted identification of the salt tolerant accessions in soybean [J]. *Soybean Science*, 2002, 21(1):56-61.
- [20] 郭宝生, 翁跃进. 大豆耐盐机理及相关基因分子标记[J]. *植物学通报*, 2004, 21(1):113-120.
- GUO Bao-sheng, Weng Yue-jin. Salt tolerance mechanism and molecular markers of genes associated with salt tolerance in soybean[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2004, 21(1):113-120.
-

中国棉花杂志
China Cotton Magazine

