

陈翠萍,肖 麓,赵志刚,等. 青海芥菜型油菜多室基因 *Bjln2* 的初步定位[J]. 江苏农业科学,2015,43(9):32-35.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.008

青海芥菜型油菜多室基因 *Bjln2* 的初步定位

陈翠萍,肖 麓,赵志刚,杜德志

(青海大学农林科学院春油菜研究所/青海省春油菜遗传改良重点实验室/青海省高原作物种质资源创新与利用重点实验室,青海西宁 810016)

摘要:多室油菜具有多室多粒的特征,是提高油菜产量的一个有效途径。利用青海芥菜型多室油菜的 BC₄ 分离群体对油菜多室基因 *Bjln2* 进行初步定位,对分离群体的性状分离比进行卡方检测,检测结果符合 1:1,表明多室性状遗传稳定。利用扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)与分群分析法(bulk segregate analysis, BSA)相结合的方法共筛选获得 3 个与目标基因紧密连锁的标记。连锁遗传分析的结果表明,3 个 AFLP 标记均位于基因 *Bjln2* 的同侧,其中 SA03MC16 距 *Bjln2* 基因最近,遗传距离约为 13.1 cM;SA14MC13 距 *Bjln2* 基因最远,遗传距离约为 23.5 cM;图谱总长 23.5 cM,标记间平均图距为 7.8 cM。研究结果为多室基因的精细定位及图位克隆奠定了基础。

关键词:青海省;芥菜型油菜;多室;基因定位;扩增片段长度多态性;分群分析法

中图分类号: Q785 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)09-0032-03

油菜是世界 4 大油料作物之一,在世界油料作物中占有重要地位。一般来说,油菜的成熟角果内有膜状隔膜(或称假隔膜),将每个角果分为 2 室,外被 2 片壳状果瓣;多室油菜的角果被假隔膜分为 3~4 室,外被 3~4 片壳状果瓣。油菜的多室性状在目前种植的 3 大类型油菜中均有发现:在芥菜型油菜中,有山西省的三筒油菜、贵州省的四轮油菜、青海省的多室油菜、四川省的四棱油菜;白菜型油菜中有印度沙逊油菜、西藏的桑日白油菜等;甘蓝型油菜中有三棱角油菜、人工创造的甘蓝型多室油菜^[1-3]。赵洪朝等发现,多室油菜的单株产量显著高于相同遗传背景下 2 室油菜的单株产量,主要原因是多室油菜角粒数多^[4-6]。

吕泽文等对芥菜型多室和 2 室角果、子房石蜡切片观察发现,多室角果由 4 心皮发育而来,4 个果瓣包围种子,2 个假隔膜平行,将角果分隔成 3 个腔室,中间的腔室大于两侧的腔室^[5]。有学者对白菜型多室油菜的雌蕊子房横切切片观察发现,多室油菜的子房有 12~16 个心皮维管束,子房在发育过程中心皮连成 1 个圆环,之后房室开始分化,胚珠、假隔膜同时发生。朱彦涛对甘蓝型多室研究发现,多室角果横切面呈 3 室,隔膜横截面呈“Y”形^[7]。

Varshney 对印度沙逊油菜进行研究发现,角果果室性状受 1 对基因控制,且 2 室对多室表现完全显性^[8]。何余堂等研究表明,白菜型油菜的多室性状受 1 对隐性基因控制^[9]。Choudhary 对印度芥菜型多室油菜研究发现,2 室为显性性状,4 室为隐性性状,多室性状受 2 对隐性基因控制^[10-11]。赵洪朝等对芥菜型多室性状的遗传规律进行研究发现,多室性状的遗传受 1 对主效基因控制,且被微效基因所修饰,无胞

质效应^[12]。吕泽文利用甘肃芥菜型多室油菜为材料,证实多室性状受 2 对独立遗传的隐性核基因控制,且多室性状无细胞质效应,遗传稳定,将这 2 对多室基因分别命名为 *mc1*、*mc2*^[13]。初步定位的结果表明,*mc1* 基因位于 A 基因组上。Xiao 等对青海芥菜型多室油菜遗传分析表明,多室性状受 2 个独立遗传的基因控制,且多室为隐性性状,无胞质效应,分别定义为 *Bjln1*、*Bjln2*^[14]。

获得与多室性状紧密连锁的分子标记为多室性状基因定位及克隆奠定基础,同时也有利于利用分子标记对多室性状进行快速而准确的跟踪,从而加速多室油菜的选育进程^[15-16]。Xu 等利用扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)、简单重复序列(simple sequence repeats, SSR)分子标记对 *Mcl* 进行精细定位,筛选到目标基因 *Mcl* 两侧最近的连锁标记 EC14MC14、SC20,分别距离 *Mcl* 1.1、1.6cM,将 *Mcl* 定位于 A 基因组第 7 染色体上,构建了 *Mcl* 的连锁图谱^[17]。Xiao 等通过 AFLP 和 SSR 分子标记,筛选到与 *Bjln1* 紧密连锁的 2 个 AFLP 标记和 7 个 SSR 标记,将多室基因 *Bjln1* 进行基因定位,将控制多室的 *Bjln1* 基因定位到 A7 连锁群的约 208 kb 左右的区域内^[14]。

Fan 等利用多室突变体 *ml4* 和二室野生型白菜型油菜为材料,通过对 *CLV3* 类似物的分离和功能特性的研究认为,单核苷酸替代(T-C)后的新型 *BrCLV3* 是控制顶端分生组织大小、腔室和角果粒数多少的主要原因^[18]。表达分析表明,反馈回路中涉及到 *CLV3*、*WUS* 的假定的负调控途径在 *ml4* 突变体中被中断。

番茄中也有多室性状的研究。Muños 等对番茄多室性状研究时发现,番茄的多室性状主要受 2 对 QTL 控制,分别为 *fas*、*lc* 2 对基因相互影响^[19]。*lc* QTL 包括 1 600 bp 碱基,距 *WUSCHEL* 3'末端 1 080 bp 碱基,通过编码蛋白质调控茎细胞。*lc* 的分子进化显示,2 个单核苷酸多态性的异常导致遗传多样性降低,2 个单碱基的突变导致了果室数目的增加。并认为果室数目的进化模型是 *fas* 突变出现在 *lc* 突变之后从

收稿日期:2015-03-19

基金项目:国家“863”计划(编号:2011AA10A104);青海省重点实验室发展专项(编号:2014-Z-Y11)。

作者简介:陈翠萍(1989—),女,陕西渭南人,硕士研究生,研究方向为春油菜分子生物学。E-mail:chencuiyang@126.com。

而导致极端多室的形成,使番茄产量提高数倍。

本研究所用材料为青海芥菜型多室油菜,除具有多室性状外,还具有黄籽、抗裂角等优良性状,是一种优异的种质资源^[4,20]。遗传分析结果表明,青海芥菜型油菜多室性状受 2 个独立遗传的基因位点控制,即 *Bjln1*、*Bjln2*,多室对 2 室为隐性,无胞质效应^[14]。本研究在前人研究的基础上,以青海芥菜型油菜多室回交分离群体 BC₄ 为材料,利用 AFLP 标记^[21]结合分群分析法(bulk segregate analysis,BSA)^[22],初步寻找与芥菜型油菜多室基因 *Bjln2* 紧密连锁的分子标记,建立芥菜型油菜角果多室基因 *Bjln2* 位点所在区域的遗传连锁图谱,为该基因的精细定位和克隆奠定基础。同时,紧密连锁的分子标记可将果室性状的鉴定提早到苗期进行,从而加快育种进程,提高育种效率^[23]。

1 材料与方法

1.1 材料与群体构建

本试验所用亲本为青海芥菜型多室油菜和新芥(2 室),青海芥菜型多室油菜是源于青藏高原的一种地方品种,有 3~4 个心皮。材料均由青海省农林科学院春油菜研究所提供,经过自交 7 代以上,多室性状可以稳定遗传。青海芥菜型多室油菜与新芥杂交,获得 F₁ 代,F₁ 代自交获得 F₂ 代,F₂ 代与亲本多室油菜连续回交 4 代,得到包含 1 754 株的 BC₄ 分离群体,并随机挑选 198 株单株作为试验用的作图分离群体。

1.2 DNA 的提取及样品池的构建

在油菜苗期,对田间单株进行编号。植株长至 4~5 张真叶时,每个单株取 2~3 cm² 的新鲜叶片,用 CTAB 小样法提取叶片总 DNA,具体方法参考 Doyle 等的方法^[24]并略作改动。DNA 浓度及质量用紫外分光光度计检测(Eppendorf Spectrophotometer, Biophotometer),再用 TE 缓冲液稀释至 50 ng/μL,于 -20 ℃ 保存备用。

在油菜角果成熟期,对田间单株进行性状调查。油菜 2 室与多室性状鉴定采用肉眼鉴定的方法。单株多室角果率 > 95% 记为多室株,没有多室角果的单株记为 2 室株。根据田间调查结果,在 BC₄ 群体中随机选择 12 个多室单株和 12 个 2 室单株,每 6 个单株的 DNA 等量混合,分别构建 2 个多室基因池和 2 个 2 室基因池,用于 BSA 分析。

1.3 AFLP 分析

AFLP 分析参考陆光远提到的 Vos 等的方法^[25]并略作改动。采用的酶切组合为 *Sac* I / *Mse* I,预扩增采用的引物组合为 SA/MC,预扩产物稀释 30 倍后作为选择性扩增的模板。将等体积的选择性扩增产物和 Loading Buffer (98% 甲酰胺,0.025% 二甲苯蓝,0.025% 溴酚蓝,10 mmol/L EDTA, pH 值 8.0) 混合,然后用 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测,硝酸银染色观察结果。

利用已构建好的多室基因池、2 室基因池进行引物筛选。有特异性的引物再在 BC₄ 群体中随机挑选 6 株 2 室株、6 株多室株进行验证。

1.4 连锁分析

利用得到的 AFLP 标记对 BC₄ 分离群体中随机挑选的 198 株单株进行检测,结合田间性状调查结果,筛选交换单株,计算重组率。利用 JoinMap 4.0 软件构建遗传图谱,先用

New project 创建 1 个新的文件夹,用 Load data 导入标记数据,再用 Kosambi 函数^[26]将重组率转换为遗传距离,最后用 Map Draw 构建连锁图谱。

2 结果与分析

2.1 BC₄ 分离群体果室性状表现

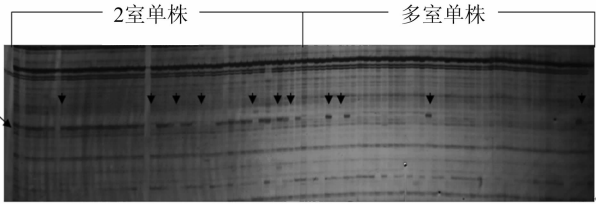
青海芥菜型多室油菜和新芥(2 室)连续回交 4 代获得的 BC₄ 分离群体有效单株共 1 754 株,其中多室单株 882 株,2 室单株 872 株。经卡方检测,结果符合 1 : 1 ($\chi^2 = 0.057$) (表 1)。

表 1 BC₄ 分离群体单株性状检测

群体	单株总数(株)	多室单株(株)	2 室单株(株)	预期比例	χ^2
青海芥菜型多室油菜 × 新芥	1 754	882	872	1 : 1	0.057

2.2 与 *Bjln2* 基因连锁的 AFLP 标记

利用已构建的多室基因池、2 室基因池进行 AFLP 标记的筛选,将筛选得到的标记在 BC₄ 分离群体的单株中进行验证,最终确定 3 个 AFLP 标记与 *Bjln2* 基因紧密连锁。3 个 AFLP 标记用于扫描 BC₄ 群体中的 198 个单株(图 1)。



斜箭头所指为特异条带,竖箭头所指为交换单株

图1 AFLP 引物组合 SA16MC15 在 BC₄ 部分群体的检测结果

2.3 遗传连锁图谱的构建

将 BC₄ 群体中 198 个单株的性状和 3 个与 *Bjln2* 基因紧密连锁的 AFLP 性标记数据导入 JoinMap 4.0 软件,分析 3 个标记与 *Bjln2* 基因的相对位置及距离。结果表明,这 3 个标记均位于 *Bjln2* 的同侧,其中 SA03MC16 距 *Bjln2* 基因最近,遗传距离约为 13.1 cM;SA14MC13 距 *Bjln2* 基因最远,遗传距离约为 23.5 cM;图谱总长 23.5 cM,标记间平均图距为 7.8 cM (图 2)。

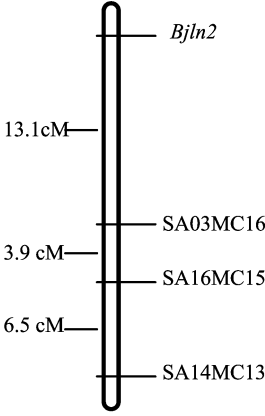


图2 *Bjln2* 遗传连锁图谱

3 结论与讨论

目前,多室性状在油菜 3 大栽培种(甘蓝型油菜、白菜型

油菜、芥菜型油菜)中均有发现。多项研究表明,多室油菜的单株产量显著高于其对应的二室油菜的单株产量,主要原因是多室油菜角粒数较多,因此油菜多室性状对油菜产量的提高具有重要意义^[4-6]。前人对青海芥菜型多室油菜的遗传规律和基因定位进行了探究,证实其多室性状是受 2 对独立遗传的基因控制,无胞质效应,并分别命名 2 对基因为 *Bjln1*、*Bjln2*。同时进一步对 *Bjln1* 进行基因定位,将 *Bjln1* 基因定位到 A7 连锁群的约 208 kb 左右的区域内^[14]。

本研究对因 *Bjln2* 基因进行初步定位。对 BC₄ 分离群体性状分离卡方检测后符合 1:1,证明多室性状遗传规律的稳定性,为多室基因 *Bjln2* 的定位奠定基础。利用 256 对 AFLP 引物进行引物筛选,共获得 3 个与目标基因连锁的 AFLP 标记,均位于 *Bjln2* 基因的同侧,其中 SA03MC16 距 *Bjln2* 基因最近,遗传距离约为 13.1 cM;SA14MC13 距 *Bjln2* 基因最远,遗传距离约为 23.5 cM;图谱总长 23.5 cM,标记间平均间距为 7.8 cM。Xu 等将 *Mc1* 定位到 A 基因组 7 号染色体上,两侧最近的标记距离分别为 1.1、1.6 cM,构建了 *Mc1* 的连锁图谱^[17]。黄籽沙逊既有 2 室又有 3 室材料,Yadava 等利用 F₂、F₆、F₇ 群体进行 QTL 定位,发现控制多室位点的基因位于 A4 连锁群,同时利用单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)将其定位到 Bra034340,与拟南芥中的 CLAVATA3 同源,并将此作为候选基因^[27]。这与 Fan 等的研究结果^[18]类似。由于本研究还未将 *Bjln2* 基因定位到染色体上,因此 *Bjln2* 基因是否与 Fan 等或 Xu 等报道的是同一个位点还不可知。

本研究所得的 4 个 AFLP 标记均位于 *Bjln2* 一侧,且分布较为分散,这可能与所选的酶切组合有关,且本研究所选酶切组合较少,缺少有关 *EcoR* I / *Mse* I、*Pst* I / *Mse* I 的酶切组合,所以没能筛选到足够多的 AFLP 标记,因此要尽量筛选出更多的与 *Bjln2* 紧密连锁的分子标记。随着与 *Bjln2* 连锁的分子标记的增加,遗传图谱的精度会不断提高,有利于多室基因的图位克隆。甘蓝型油菜是目前种植面积最大的栽培种,克隆获得的多室基因可通过转基因技术导入甘蓝型油菜,从而加快甘蓝型油菜的育种进程,提高油菜产量^[28-37]。

参考文献:

- [1] 刘后利. 油菜遗传育种学[M]. 北京:中国农业大学出版社,2000.
- [2] 代秉勋,李加纳,沈显生,等. 多心皮油菜的植物学特征及意义[J]. 作物研究,2004,18(1):45-47.
- [3] 朱彦涛,胡选萍,刘湛,等. 油菜角果多室性状及其研究进展[J]. 中国油料作物学报,2012,34(3):321-325.
- [4] 赵洪朝,杜德志,刘青元,等. 芥菜型多室油菜的主要性状表现[J]. 西北农业学报,2003,12(3):62-64.
- [5] 吕泽文,徐平,张向向,等. 芥菜型油菜多室角果的解剖特征及遗传分析[J]. 中国油料作物学报,2012,34(5):461-466.
- [6] 赵文路. 种间杂交创建的甘蓝型多室油菜的多室等位性研究及其不育材料 JN55A 不育类型的鉴别[D]. 西宁:青海大学,2007.
- [7] 朱彦涛. 甘蓝型三角油菜新材料的遗传与选育研究初探[J]. 西北农业学报,2005,14(1):23-26.
- [8] Varshney S K. Inheritance of silique characters in Indian colza I. Locule number and silique position[J]. Euphytica,1987,36(2):541-544.

- [9] 何余堂,涂金星,傅廷栋,等. 白菜型油菜黄籽与多室性状的遗传研究[C]//2003 年全国作物遗传育种学术研讨会论文集,2003:113-117.
- [10] Choudhary B R. Inheritance of silique locule in Indian mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern & Coss][C]. Proc 11th Intl Rape-seed Cong, Copenhagen, Denmark, July, 2003, 2:495.
- [11] Choudhary B R, Solanki Z S. Inheritance of silique locule number and seed coat colour in *Brassica juncea*[J]. Plant Breeding, 2007, 126(1):104-106.
- [12] 赵洪朝,杜德志,刘青元,等. 芥菜型油菜多室性状的遗传研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2003,31(6):90-92.
- [13] 吕泽文. 芥菜型油菜多室性状的遗传分析及其基因的分子标记[D]. 武汉:华中农业大学,2011.
- [14] Xiao L, Zhao H Y, Zhao Z, et al. Genetic and physical fine mapping of a multilocular gene *Bjln1* in *Brassica juncea* to a 208kb region[J]. Molecular Breeding, 2013, 32(2):373-383.
- [15] 张文龙,陈志伟,杨文鹏,等. 分子标记辅助选择技术及其在作物育种上的应用研究[J]. 种子,2008,27(4):39-43.
- [16] 胡春风. 分子标记在油菜育种中的应用[J]. 南方农业:园林花卉版,2012,6(2):85-88.
- [17] Xu P, Lv Z W, Zhang X X, et al. Identification of molecular markers linked to trilocular gene (*mc1*) in *Brassica juncea* L. [J]. Molecular Breeding, 2014, 33(2):425-434.
- [18] Fan C, Wu Y, Yang Q, et al. A novel single-nucleotide mutation in a *CLAVATA3* gene homolog controls a multilocular silique trait in *Brassica rapa* L. [J]. Molecular Plant, 2014, 7(12):1788-1792.
- [19] Muñoz S, Ranc N, Botton E, et al. Increase in tomato locule number is controlled by two single-nucleotide polymorphisms located near *WUSCHEL*[J]. Plant Physiology, 2011, 156(4):2244-2254.
- [20] 钱秀珍,胡琼,伍晓明. 中国芥菜型油菜的主要特性[J]. 作物品种资源,1991(2):14-15.
- [21] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting[J]. Nucleic Acids Research, 1995, 23(21):4407-4414.
- [22] Michelmore R W, Paran I, Kesseli R V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1991, 88(21):9828-9832.
- [23] 易斌. 甘蓝型油菜隐性核不育基因 *Bnms1* 的精细定位和克隆[D]. 武汉:华中农业大学,2007:38-39.
- [24] Doyle J, Doyle J. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochem Bull, 1987, 19:11-15.
- [25] 陆光远. 甘蓝型油菜显性核不育基因和抑制基因的图谱定位[D]. 武汉:华中农业大学,2003:38-39.
- [26] Kosambi D D. The estimation of map distances from recombination values[J]. Annals of Eugenics, 1943, 12(1):172-175.
- [27] Yadava S K, Paritosh K, Panjabi - Massand P, et al. Tetralocular ovary and high silique width in yellow sarson lines of *Brassica rapa* (subspecies *trilocularis*) are due to a mutation in *Bra034340* gene, a homologue of *CLAVATA3* in *Arabidopsis* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2014, 127(11):2359-2369.

韦运谢,蒲金基,张贺,等. 胶孢炭疽菌漆酶基因 *Lac2* 的序列特征与表达分析[J]. 江苏农业科学,2015,43(9):35-38.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.009

胶孢炭疽菌漆酶基因 *Lac2* 的序列特征与表达分析

韦运谢¹, 蒲金基², 张贺², 魏丽沙子¹, 刘娅楠¹, 邢梦玉³, 刘晓妹¹

(1. 海南大学环境与植物保护学院/海南大学热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室, 海南海口 570228;

2. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业部热带作物有害生物综合治理重点实验室, 海南海口 571101;

3. 海南大学应用科技学院, 海南海口 571101)

摘要:为了探明分离自芒果的胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)漆酶同工酶基因的序列特征,进一步研究该菌的分子致病机理。以该菌为材料,采用同源克隆和 RT-PCR 法获得胶孢炭疽菌漆酶基因 *Lac2*(KF924625)。结果表明,其编码区大小为 1 785 bp,编码 594 个氨基酸,分子量为 65.53 ku,等电点是 6.56,含 4 个铜离子结合保守结构域;聚类分析发现,其预测蛋白与西瓜炭疽病菌(*Colletotrichum orbiculare*)的漆酶 laccase-1 (ENH77191.1) 同源性最高,达到 79%;半定量 RT-PCR 分析表明,在分生孢子不同萌发时段,*Lac2* 的表达量有明显的升降趋势,接种后 6 h 表达量最低,9 h 最高。可见 *Lac2* 具备真菌漆酶基因家族的序列特征,初步推测它可能与 *C. gloeosporioides* 分生孢子萌发侵染寄主有关,也可能参与调控芒果胶孢炭疽菌的漆酶活性和抗氧化反应等。

关键词:胶孢炭疽菌;*Lac2* 基因;克隆;表达分析

中图分类号: Q785 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)09-0035-04

漆酶是含铜的多酚氧化酶,能够催化多种酚类化合物及其衍生物,使之生成相应的苯醌和水,且其催化底物具有广谱性,在环保、食品、医药、纺织等各个领域具有潜在的应用价值^[1]。最早在漆树上发现漆酶,随后发现其也广泛存在于昆虫、高等植物、细菌及真菌中^[2]。真菌漆酶与致病力、营养生长、增殖生长、孢子和黑色素的形成、氧化胁迫及渗透调节能力相关^[3-5]。真菌中存在多种漆酶同工酶,且在不同生长期表达,功能也存在差异^[6],如 *Colletotrichum orbiculare* 的 *Lac1* 与 *Lac2* 的功能截然不同,与野生型相比,*Lac2* 突变体失去了致病力、黑色素含量下降及分生孢子颜色变浅,而 *Lac1* 突变体的黑色素含量略微减少、漆酶酶活却有所上升^[7-8]。序列

分析表明,不同漆酶基因氨基酸序列相似性不高,但在铜原子结合区域的保守性相当高,因此可以根据这些保守区设计简并引物同源克隆漆酶基因。

芒果(*Mangifera indica* L.) 隶属漆树科芒果属,是世界五大著名热带水果之一。由胶孢炭疽菌(*C. gloeosporioides*)引起的芒果炭疽病是芒果最严重的病害之一,在整个生育期均可发病,且在贮运期危害最重,是限制芒果产业发展的主要因素之一。炭疽病菌的致病过程主要是通过病原菌分生孢子附着在寄主表面,萌发形成附着胞,附着胞内沉积一层黑色素,前端产生侵染钉侵入寄主并在寄主体内扩展,黑色素在病原菌穿透寄主组织中起着非常重要的作用,细胞壁降解酶起着软化细胞的辅助作用^[9-10],而漆酶又是形成 DHN 黑色素必不可少的氧化酶^[11],因此推测在芒果炭疽菌中漆酶可能通过干扰附着胞黑色素的合成而影响着该菌的致病力。目前,关于芒果胶孢炭疽菌的漆酶基因仅见笔者所在实验室报道的 *Lac1*^[12],为了系统研究各漆酶在芒果炭疽菌中的功能,本研究采用同源克隆策略,从芒果胶孢炭疽菌中又克隆获得了漆酶新基因 *Lac2*,这为进一步研究其功能打下了材料基础。

收稿日期:2014-09-11

基金项目:教育部博士点基金(编号:20134601120001);公益性行业(农业)科研专项(编号:201203092-2)。

作者简介:韦运谢(1989—),女,硕士研究生,主要从事热带果树病理学研究。E-mail:weiyunxie1989@126.com。

通信作者:刘晓妹,博士,副教授,主要从事热带作物病理学研究。E-mail:lxmpll@126.com。

[28] Zhao H C, An F Y, Du D Z. New idioplasmic resource *B. napus* L. with multi-loculus founded by interspecific hybridization[C]//Fu T D. Proceedings of the 12th International Rapeseed Congress, 2007:294-295.

[29] 史华清,龚瑞芳,庄丽莲,等. 芥菜型油菜(*Brassica juncea*)杂种优势利用的研究[J]. 作物学报,1991(1):32-41.

[30] 赵洪朝,杜德志,刘青元,等. 芥菜型多室油菜与甘蓝型油菜的种间远缘杂交[J]. 西北植物学报,2003,23(9):1587-1591.

[31] 刘显军,袁谋志,官春云,等. 芥菜型油菜黄籽性状的遗传、基因定位和起源探讨[J]. 作物学报,2009,35(5):839-847.

[32] 赵洪朝. 芥菜型油菜多室性状的遗传表现及其与甘蓝型油菜的种间远缘杂交[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2003.

[33] 刘忠松. 油菜远缘杂交遗传育种研究进展[J]. 作物研究,1995(增刊1):17-19,14.

[34] 方宣钧,吴为人,唐纪良. 作物 DNA 标记辅助育种[M]. 北京:科学出版社,2001.

[35] 孟金陵,吴江生,刘兴梁,等. 甘蓝型油菜种间可交配品系的选育[J]. 中国农学通报,1994,10(1):1-4.

[36] 孟金陵,甘莉,程必芳. 由种间杂交创建的两个新的甘蓝型油菜细胞质雄性不育系[J]. 华中农业大学学报,1995,14(1):21-25.

[37] 李媛媛,沈金雄,王同华,等. 利用 SRAP,SSR 和 AFLP 标记构建甘蓝型油菜遗传连锁图谱[J]. 中国农业科学,2007,40(6):1118-1126.