

新型甘蓝型油菜 CMS 选育及分子鉴定

姚祥坦¹, 张芳², 王润屹¹, 徐素琴^{1*}, 董衡², 黄鹂²

(1. 浙江省嘉兴市农业科学研究院, 嘉兴 314016; 2. 浙江大学蔬菜研究所, 杭州 310058)

摘要: 以榨菜胞质雄性不育系 (CMS) 为不育胞质来源, 甘蓝型油菜自交系为父本, 通过连续回交定向选育方法进行榨菜胞质甘蓝型油菜 CMS 的转育, 获得了原始不育系 '93-12A', 并通过父本载体的转换对其进行改良, 获得了一份综合性状较优良的不育系 '嘉油 58A'; 根据已报道的油菜 CMS 相关基因 *orf224*、*orf138* 和叶用芥菜 CMS 相关基因 *orf220* 设计特异引物, 对榨菜胞质甘蓝型油菜 CMS 及其保持系的基因组 DNA 进行 PCR 扩增, 结果显示, 仅 *orf220* 的特异引物能在原始不育系 '93-12A' 和改良不育系 '嘉油 58A' 中扩增出特异条带, 扩增产物序列与 *orf220* 具有 100% 的同源性, 从而从分子水平验证 '93-12A' 和 '嘉油 58A' 的不育胞质来源于榨菜。

关键词: 甘蓝型油菜; 榨菜; 胞质雄性不育; 回交; 分子鉴定

中图分类号: S565.4

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2014)03-0406-05

Breeding and molecular identification of new cytoplasmic male sterile (CMS) in *Brassica napus* L.

YAO Xiangtan¹, ZHANG Fang², WANG Runyi¹, XU Suqin¹, DONG Heng², HUANG Li²

(1. Jiaxing Academy of Agricultural Sciences, Jiaxing 314016; 2. Institute of Vegetable Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058)

Abstract: A new *Brassica napus* cytoplasmic male sterile (CMS) line, '93-12A' was developed through cross and continuous backcross between tuber mustard CMS line and the *Brassica napus* variety '92-58'. By backcrossing it to the inbred lines '022058', we finally got a stable CMS line named 'Jiayou58A' with improved comprehensive agronomic characters. To identify the origin of cytoplasmic male sterility of '93-12A' and 'Jiayou58A', the specific primers were amplified according to the reported fertility-related gene *orf224*, *orf138* of *B. napus* and *orf220* of *B. juncea* in its genome. The results showed that only the specific band of *orf220* was detected in the new CMS line '93-12A' and the improved CMS line 'Jiayou58A'. Sequencing of the bands confirmed that the male sterility cytoplasm of '93-12A' and 'Jiayou58A' is originated from the tuber mustard (*B. juncea*).

Key words: *Brassica napus*; tuber mustard; CMS; backcross; molecular identification

甘蓝型油菜 (*Brassica napus* L.) 杂种优势明显^[1], 杂种优势的利用是提高单产、增加经济收入的重要途径, 而利用优良的胞质雄性不育 (CMS) 系进行三系配套是生产油菜杂种一代的理想方式, 也是目前国内外油菜杂种优势利用的主要途径。我国在甘蓝型油菜 CMS 的应用及相关研究上处于国际领先水平, 迄今为止, 已报道的油菜 CMS 系统约有 20 个, 其中, 研究较多且应用面积大的甘蓝型油菜 CMS 系统主要有陕 2A CMS, *Pol* CMS 和 *Ogu*

CMS。但已有研究表明, 陕 2A 和 *Pol* 两大系统的育性易受环境因素的影响^[2], 而 *Ogu* CMS 早期由于恢复系的缺乏一直没有得到推广应用, 近年来, 欧洲通过细胞工程等手段获得了其稳定的恢复系, 并实现了三系配套^[3-4], 但因受专利保护而难以被我国育种者所用。虽然近年国内 *Ogu* 恢复系的选育工作也取得重要进展, 但目前仍未在生产上应用^[5]。因此, 目前我国生产上应用的 CMS 杂交种主要还是来源于陕 2A 和 *Pol* 两大系统, 由于这两个系统具

收稿日期: 2013-12-27

基金项目: 嘉兴市科技计划项目 (2010AZ2016, 2012AZ2020) 和浙江省科技厅项目 (2012C12902-1-4) 共同资助。

作者简介: 姚祥坦, 高级农艺师。E-mail: 84522669@qq.com

* 通信作者: 徐素琴, 高级农艺师。E-mail: yxt156@hotmail.com

有相同的恢保关系, 造成品种间同质性愈加明显, 不利于杂种优势的利用, 同时也给生产带来一定的风险。新型甘蓝型油菜雄性不育系的发现和开发利用是改变这一现状的根本途径, 也是油菜育种工作者一直以来的目标。

本研究以浙江大学引进的榨菜细胞质雄性不育系为不育胞质来源, 通过种间杂交和连续回交选育得到不育系‘93-12A’^[6], 并通过轮回亲本的转换, 选育得到一份育性表现稳定、农艺性状好、品质双低的新型甘蓝型油菜不育系‘嘉油 58A’, 并以已知甘蓝型油菜和芥菜的细胞质雄性不育相关基因 *orf138*、*orf224* 和 *orf220* 序列设计特异引物, 对原始不育系‘93-12A’以及改良不育系‘嘉油 58A’基因组 DNA 进行 PCR 扩增, 以期从分子水平鉴定‘93-12A’及‘嘉油 58A’的不育胞质类型, 为该不育胞质系统的利用和知识产权保护提供有效的理论依据和借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料

供体材料: 榨菜不育系由浙江大学(原浙江农业大学)园艺系陈竹君教授惠赠, 甘蓝型油菜“92-58系”、“022058系”及转育甘蓝型油菜不育系材料‘93-12A’、‘嘉油 58A’均为嘉兴市农科院自行保留, 并采用育苗移栽的方式单独栽培, 盛花期于 5 株典型植株主序各采 6 朵, 共计 30 朵正常开花进行不育系及保持系花器官特征测定, 数据采用 EXCEL 进行统计分析。

主要生化试剂 *Taq* 酶、dNTPs 购自上海生物工程技术有限公司, 引物合成和核酸序列测定由上海英骏生物科技有限公司完成, 其他试剂均为进口或国产分析纯。

表 1 甘蓝型油菜及芥菜 CMS 不育基因特异引物及序列
Table 1 The primer sequences of fertility-related gene *orf138*, *orf224* of *B. napus* and *orf220* of *B. Juncea*

引物名称 Name of primer	引物序列 Sequence
<i>orf138</i> P1	5'-GCAATGATTACCTTTTTTCGA-3'
<i>orf138</i> P2	5'-GCATTATTTTCTCGGTCAT-3'
<i>orf224</i> P1	5'-ATGCCCTCAACTGGATAAATTCAC 3'
<i>orf224</i> P2	5'-TCAGCGAAAGAG ATCAAGGATC-3'
<i>orf220</i> P1	5'-ATGCCCTCAACTGGATAAATTCACCTT 3'
<i>orf220</i> P2	5'-TCATCGAAATAGATCRAGKATYTC-3'

注: 其中 R 为 G、A; K 为 G、T; Y 为 C、T。

Note: of the sequences of primers, R is G or A, K is G or T, and Y is C and T.

1.2 基因组 DNA 的提取

以‘93-12A’、‘嘉油 58A’及其相应保持系鲜嫩叶片为材料, 采用改良的 CTAB 法进行 DNA 提取^[7]。DNA 样品经 A_{260} 和 A_{280} 测定及 1.0% 琼脂糖电泳检测后置于 -20°C 冰箱保存备用。

1.3 PCR 扩增

采用 Primer 分析软件, 对已知的 *orf138*^[8]、*orf224*^[9] 基因序列进行上下游特异引物设计, *orf220* 兼引物参照杨景华等的报道^[10]。引物序列如表 1。

扩增体系为 20 μL , 其中包含 100 ng 基因组 DNA, 2.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MgCl_2 , 0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTPs, 2 μL 10 \times PCR Buffer, 1U *Taq* 酶, 0.4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 引物和 ddH₂O。扩增程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 35 个循环, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 7 min。PCR 产物在 1.2% 的琼脂糖凝胶中电泳分离后, 切下含目的片段的胶块, 采用 DNA 凝胶回收试剂盒进行回收, 送上海英骏生物科技有限公司进行测序, 序列分析采用 DNASTar 和 Genetyx 软件。

2 结果与分析

2.1 榨菜胞质甘蓝型油菜 CMS 的选育

榨菜胞质雄性不育源材料的原始母本为榨菜和大白菜种间杂种 F_1 , 父本为榨菜品系‘T84-66’、‘T84-63’、‘T84-61’自交系, 通过杂交和连续回交育成^[11]。

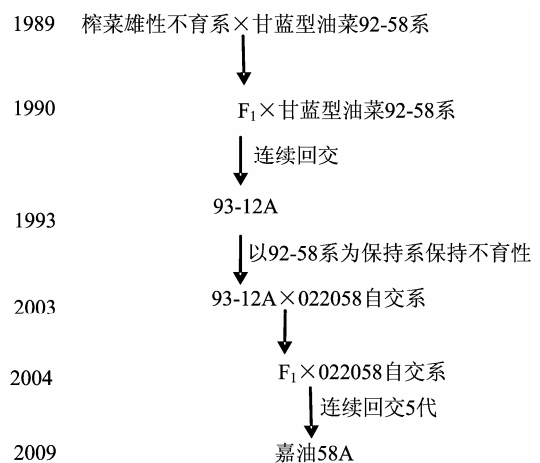


图 1 榨菜胞质甘蓝型油菜 CMS 的选育系谱

Figure 1 The breeding procedure of CMS with tuber mustard cytoplasm of *Brassica napus*

1989 年以榨菜胞质雄性不育源为母本与甘蓝型油菜‘92-58’自交系为父本杂交, 获得少量具有榨菜不育胞质的甘蓝型油菜 F_1 种子, 1990 年春田间表现为全不育, 以‘92-58’自交系为父本进行回交, 获得 BC_1 种子, 田间选择不育彻底、农艺性状

好的单株进行连续回交, 在 BC₃ 代材料中, 以 ‘93-12’ 株系表现最好, 不育株率和不育度均达到 100%, 且农艺性状表现较佳。初步将其定名为 ‘93-12A’, ‘92-58’ 自交系为其相应保持系, 并继续进行回交和不育系留种。

2003 年, 以 ‘93-12A’ 为不育源, 以自行选育的育种材料编号为 ‘022058’ 的自交系为回交亲本, 对 ‘93-12A’ 进行改良, 经过 5 年的连续回交选育, 于 2009 年选育成功不育率和不育度均为 100%、农艺性状优良的不育系材料, 并实现了三系配套, 定名为 ‘嘉油 58A’。具体选育系谱见图 1。

2.2 榨菜胞质甘蓝型油菜 CMS 花器官特征

对 ‘93-12A’、‘嘉油 58A’ 及其保持系的花器官进行比较 (图 2 和表 2)。结果显示, ‘嘉油 58A’ 花瓣长度、宽度介于转育亲本 ‘93-12A’ 和保持系 ‘022058’ 自交系之间, 与保持系相比, 花瓣明显变窄, 少见叠瓣现象。同时, ‘93-12A’ 表现出柱头外露, 部分花朵柱头微弯曲, 少量柱头贴萼片, 花药退化呈水渍状丝状以及花丝明显退化等现象,

而 ‘嘉油 58A’ 不育系表现为雄蕊短小, 长度为子房 1/2 左右, 花药退化, 无花粉, 柱头长、偶外露、微弯曲, 但功能正常, 蜜腺发育健全, 总体表现较 ‘93-12A’ 容易接受外来花粉, 易于授粉受精。

2.3 榨菜胞质甘蓝型油菜 CMS 基因组 DNA 提取及特异引物 PCR 扩增

从 ‘93-12A’、‘嘉油 58A’ 及其相应保持系中提取的 DNA 经紫外分光光度计检测发现, 它们的紫外吸收曲线具有典型的天然 DNA 标准吸收光谱特征, A_{260}/A_{280} 均在 1.8~1.9 之间, 取 2 μ L 进行琼脂糖凝胶电泳, 可见大于 2.5 kb 的清晰条带 (图 3), 说明提取的 DNA 纯度较高, 可以用来进行特异引物的 PCR 扩增。

PCR 扩增结果表明, *orf138*、*orf224* 引物在 ‘93-12A’、‘嘉油 58A’ 及其相应保持系中均没有扩增出相关条带; *orf220* 兼并引物在 ‘93-12A’ 和 ‘嘉油 58A’ 中均扩增出一条清晰的、大小在 600~700 bp 之间的特异性条带, 但在相应的保持系中则没有扩增出相关条带 (图 4)。

表 2 榨菜胞质甘蓝型油菜雄性不育系及保持系的花器特征

Table 2 Flower characters of CMS lines with tuber mustard cytoplasm and the corresponding maintainer line of *Brassica napus*

株系 Line	花瓣长/mm Petal length	花瓣宽/mm Petal width	柱头长/mm Pistil length	雄蕊长/mm Stamen length	花药长/mm Anther length	不育株率/% Male sterile plant rate
93-12A	9.10±0.36 ^{c*}	4.06±0.08 ^C	8.45±0.16 ^b	4.89±0.19 ^c	1.33±0.13 ^c	100
嘉油 58A ‘Jiayou58A’	11.25±0.45 ^b	5.26±0.39 ^b	8.98±0.29 ^a	5.63±0.36 ^b	1.84±0.12 ^b	100
022058	12.50±0.39 ^a	8.84±0.42 ^a	9.31±0.45 ^a	9.57±0.53 ^a	2.18±0.12 ^a	0

注: 同列数值后不同小写字母者表示差异显著性 ($P < 0.05$)。

Notes: Values followed by different small letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$).



A 为 ‘93-12A’, B 为 ‘嘉油 58A’, C 为 ‘022058’ 自交系 A, a flower of the CMS line ‘93-12A’; B, a flower of the CMS line ‘Jiayou58A’; C, a flower of the maintainer line ‘022058’

图 2 榨菜胞质甘蓝型油菜 CMS 及保持系花器官特征
Figure 2 The flower characters of CMS lines with tuber mustard cytoplasm and the corresponding maintainer line of *Brassica napus*

2.4 扩增产物的序列测定与分析

对上述 PCR 扩增产物进行回收, 送上海英俊生物科技有限公司进行双向测序, 并对所获得的序列进行分析, 结果显示, ‘93-12A’、‘嘉油 58A’ 扩增得到的基因序列与 *orf220* 基因具有 100% 同源性 (图 5)。

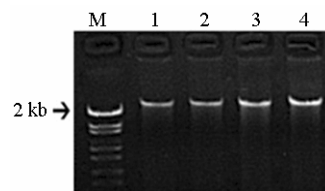


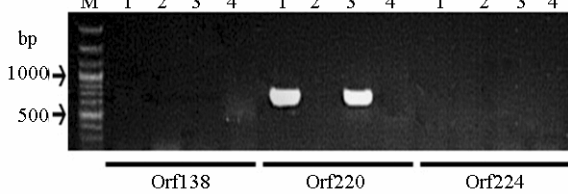
图 3 榨菜胞质甘蓝型油菜不育系及相应保持系 DNA 凝胶电泳

Figure 3 DNA electrophoresis of CMS lines with tuber mustard cytoplasm and the corresponding maintainer lines of *Brassica*

3 讨论

目前国内外有代表性的甘蓝型油菜细胞质雄性不育系有 *Nap* CMS、*Ogu* CMS、*Pol* CMS、陕 2A CMS 以及 *MI* CMS 等^[12], 其中 *Ogu* CMS、*Pol* CMS 和陕 2A CMS 在生产上应用较多, 而我国在油菜杂种优势利用方面居世界领先水平则主要体现在对

Pol CMS 和陕 2A CMS 这两个系统的应用及三系油菜杂交种的大面积推广^[13]。新型甘蓝型油菜雄性不育系的发现和开发利用是油菜育种工作者一直以来的目标。



M, DNA Marker; 1.93-12A; 2.92-58; 3.Jiayou58A; 4.022058

图 4 不育基因在榨菜胞质甘蓝型油菜不育系及相应保持系中的 PCR 扩增凝胶电泳

Figure 4 PCR amplification of the male sterility related genes in the CMS lines with tuber mustard cytoplasm and the corresponding maintainer line of *Brassica napus*

榨菜雄性不育系的原始不育源是芥菜型油菜 (AABB) × 结球白菜 (AA) 的种间杂交种, 并以榨菜自交系为回交父本转育而来^[11], 本研究组以榨菜雄性不育系为母本, 通过种间杂交和连续回交选育得到甘蓝型油菜雄性不育系 ‘93-12A’, 并通过轮回亲本的转换, 选育得到一份育性表现稳定、农艺性状好、品质双低的甘蓝型油菜雄性不育系 ‘嘉油 58A’。但目前研究表明, 榨菜胞质甘蓝型油菜 ‘93-12A’ 和 ‘嘉油 58A’ 恢复源较少^[14], *Pol* CMS 和陕 2A CMS 的恢复材料不能恢复其育性, 因此我们认为可能是一种新型的胞质不育类型, 明确其不育胞质类型可以为该不育胞质系统的利用和知识产权保护提供有效的依据。

93-12A	1	ATGCCTCAACTGGATAAAATTCACCTTATTTTTCACAATTCTCTGGTTATGCCTTTTCTTC
bjorf220	1	ATGCCTCAACTGGATAAAATTCACCTTATTTTTCACAATTCTCTGGTTATGCCTTTTCTTC

93-12A	61	TTTACTTTCTATATTTTCATATGCAATGATGGAGATGGAGTACTTGGGATCAGCAGAATT
bjorf220	61	TTTACTTTCTATATTTTCATATGCAATGATGGAGATGGAGTACTTGGGATCAGCAGAATT

93-12A	121	CTAAAACTACGAAAACCAACTGCTTTTCACACCGGGGGAAGACCATCCAGAGCAAGGTCAGA
bjorf220	121	CTAAAACTACGAAAACCAACTGCTTTTCACACCGGGGGAAGACCATCCAGAGCAAGGTCAGA

93-12A	181	AAAAATCGTAGTTCAGATTC AAGTCGGTTGGAGGTC TTGGCGTTCGCTATTAATTAATTTTC
bjorf220	181	AAAAATCGTAGTTCAGATTC AAGTCGGTTGGAGGTC TTGGCGTTCGCTATTAATTAATTTTC

93-12A	241	CTCTTTTTCGTGATTC AAGATTATGGCCATATATATATATTTGGATACGGTTTGA AATTT
bjorf220	241	CTCTTTTTCGTGATTC AAGATTATGGCCATATATATATATTTGGATACGGTTTGA AATTT

93-12A	301	TTGTTAGGGTTGAAATATGGAATATTCCAAAATGAAATCTTGACTTTAGGGGTCGGACCA
bjorf220	301	TTGTTAGGGTTGAAATATGGAATATTCCAAAATGAAATCTTGACTTTAGGGGTCGGACCA

93-12A	361	GATGGCGTCGCGCCCCCGGATATAAAACGAACGGCGCCGCTGCATCTTGTACGCGGAT
bjorf220	361	GATGGCGTCGCGCCCCCGGATATAAAACGAACGGCGCCGCTGCATCTTGTACGCGGAT

93-12A	421	GTTGAGAGTTCCGACTCTCAACAAGCTCGAAAATAATGCGATGCTAGGCGACCTTAATCGC
bjorf220	421	GTTGAGAGTTCCGACTCTCAACAAGCTCGAAAATAATGCGATGCTAGGCGACCTTAATCGC

93-12A	481	ATAGAATATATAACCCATGACCTAGAGGGTGAGCGTGATATCGTGCGGGGTC AAGCCTTA
bjorf220	481	ATAGAATATATAACCCATGACCTAGAGGGTGAGCGTGATATCGTGCGGGGTC AAGCCTTA

93-12A	541	ATCGATATCATGAAAGTGGAGATTGGAAGCCTACAGCAGCACTTTTCGGGTTTCGCGCAC
bjorf220	541	ATCGATATCATGAAAGTGGAGATTGGAAGCCTACAGCAGCACTTTTCGGGTTTCGCGCAC

93-12A	601	CTAGACCGTGTGCGAGATGCGCAGAGAGCCAGGATGAACGAGATCCTCGATCTATTTCGA
bjorf220	601	CTAGACCGTGTGCGAGATGCGCAGAGAGCCAGGATGAACGAGATCCTCGATCTATTTCGA

93-12A	661	TGA
bjorf220	661	TGA

图 5 ‘93-12A’ 扩增序列与芥菜 *orf220* 序列比对

Figure 5 Comparison of the *orf220* nucleotide sequences of *Brassica juncea* with ‘93-12A’ of *Brassica napus*

恢保关系鉴定虽然是目前 CMS 鉴定的主要方法之一, 但该方法需要利用测验种配制大量的杂交

组合, 在下一年度观察杂种一代的育性, 工作量大、费时耗力, 鉴定效率较低^[15], 同时对有些不育类型

的鉴定不准确,如陕2A和*pol*在恢保关系上一致,但它们属于两种不同类型的不育细胞质^[16]。利用已知不育基因的序列设计特异性引物进行PCR扩增,可以有效区分和鉴定各不育系的细胞质类型,这已经在甘蓝型油菜、甘蓝等十字花科蔬菜中广泛应用^[17-20]。已有的研究表明,*orf138*^[7]、*orf224*^[8]、*orf222*^[21]和*orf220*^[10]基因分别是*Ogu*、*Pol*、*Nap*和芥菜细胞质不育的主控基因,仅在各自不育系中存在并特异表达,因此,利用这些基因的特异引物进行PCR扩增常常能获得相应不育胞质特异的分子标记,从而可以在分子水平上准确地鉴定不育胞质的类型。本研究结果表明,利用*pol orf224*和*ogu orf138*不育相关基因设计的特异引物在榨菜胞质甘蓝型油菜不育系‘93-12A’和‘嘉油58A’中不能扩增出相应的特异条带,说明‘93-12A’和‘嘉油58A’的不育源与甘蓝型油菜*Pol*、*Ogu* CMS不同,这也很好的解释了为什么该系统与*Pol* CMS、陕2A CMS及*Ogu* CMS具有不同的恢保关系。同时,利用*orf220*引物可以扩增出相应特异条带,说明质甘蓝型油菜CMS‘93-12A’和‘嘉油58A’与杨景华等^[10]报道的叶用芥菜CMS的不育源相同,均来源于陈竹君等^[11]选育的榨菜细胞质雄性不育系,序列测定结果也进一步佐证了这一点。

本研究利用常规回交育种手段,在十字花科芸薹属不同亚种之间进行了细胞质雄性不育的转育。目前在十字花科中,将甘蓝型油菜(AACC)不育系的不育胞质转育到甘蓝类(CC)、白菜类(AA)蔬菜中的研究较多,已有研究表明,不育胞质从甘蓝型油菜(AACC)转移到白菜类蔬菜(AA)中,只需经过少数几代回交即可迅速获得后代性状相对稳定的不育系^[22],但不育胞质从甘蓝类、白菜类蔬菜转育到甘蓝型油菜中的研究报道还不多见,从芥菜类(AABB)类蔬菜中转育不育胞质的研究也少见报道,从本研究来看,芥菜类蔬菜(AABB)与甘蓝型油菜(AACC)完全可以通过连续回交的方式进行雄性不育细胞质之间转换,从而扩大两大类作物的雄性不育细胞质来源范围。

参考文献:

- [1] 傅廷栋. 杂交油菜的育种及利用[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1995: 1-5.
- [2] 徐一兰, 唐海明, 官春云. 油菜细胞质雄性不育的分子生物学及杂种优势利用研究进展[J]. 作物研究, 2006(5): 446-451.
- [3] Pellan-Delourme R, Renard M. Cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus* L.): female fertility of re-
- stored rapeseed with “Ogura” and cybrids cytoplasm[J]. Genome, 1988, 30:234-238.
- [4] Primard-Brisset C, Poupard J P, Horvais R, et al. A new recombined double low restorer line for the Ogu-INRA-CMS in rapeseed (*Brassica napus* L.)[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111 (4): 736-746.
- [5] 陈卫江, 李莓, 王同华, 等. 甘蓝型油菜萝卜细胞质雄性不育恢复材料的创制[J]. 中国农业科学, 2012, 45(8): 1465-1474.
- [6] 徐素琴, 杨承禹. 利用榨菜不育胞质转育甘蓝型油菜细胞质不育系“93-12A”初报[J]. 上海农业科技, 2002(5): 45-46.
- [7] 陈昆松, 李方, 徐昌杰, 等. 改良 CTAB 法用于多年生植物组织基因组 DNA 的大量提取[J]. 遗传, 2004, 26(4): 529-531.
- [8] Krishnasamy S, Makaroff C A. Organ-specific reduction in the abundance of a mitochondrial protein accompanies fertility restoration in cytoplasmic male-sterile radish[J]. Plant Molecular Biology, 1994, 26(3): 935-946.
- [9] Homme Y L, Brown G G. Organizational differences between cytoplasmic male sterile and mal fertile *Brassica* mitochondrial genomes are confined to a single transposed locus[J]. Nucleic Acids Research, 1993, 21(8): 1903-1909.
- [10] 杨景华, 张明方, 喻景权, 等. 叶用芥菜细胞质雄性不育相关基因 *orf220* 的分子特性[J]. 遗传学报, 2005, 32(6): 594-599.
- [11] 张明方, 陈竹君, 汪炳良, 等. 榨菜胞质雄性不育系选育初探[J]. 北京农业大学学报, 1993, 19(增刊): 129-133.
- [12] 刘燕, 董振生, 张改生, 等. 甘蓝型油菜细胞质雄性不育研究进展[J]. 西北农业学报, 2004, 13(1): 114-119.
- [13] 朱彦涛, 李殿荣, 郭嵩光, 等. 甘蓝型油菜细胞质雄性不育系 Polima A 和陕 2A 的研究进展[J]. 分子植物育种, 2009, 7(1): 5-15.
- [14] 姚祥坦, 王润屹, 徐素琴, 等. 利用小孢子培养选育榨菜胞质甘蓝型油菜 CMS 恢复系研究[J]. 种子, 2011, 30(9): 55-58.
- [15] 杨光圣, 傅廷栋, Brown G G. 甘蓝型油菜细胞质雄性不育的遗传分类研究[J]. 中国农业科学, 1998, 31(1): 27-31.
- [16] 王永飞, 马三梅, 王鸣, 等. 油菜 Polima 和陕 2A 细胞质雄性不育系相关基因的序列比较[J]. 科学通报, 2001, 46(18): 1559-1563.
- [17] 程计华, 李云昌, 胡琼, 等. 油菜野芥 NSa 细胞质雄性不育系的特异分子鉴定[J]. 作物学报, 2008, 34(11): 1946-1052.
- [18] 张德双, 张凤兰, 王永健, 等. 大白菜 CMS96 细胞质雄性不育分子特性研究[J]. 分子植物育种, 2006, 4(4): 245-552.
- [19] 张艳, 王小佳, 李成琼, 等. 甘蓝细胞质雄性不育材料分子鉴定及花器官形态对核背景响应[J]. 园艺学报, 2010, 37(6): 915-922.
- [20] 王一峰, 董振生, 董军刚, 等. 甘蓝型油菜细胞质雄性不育材料 1575A 的分子鉴定[J]. 西北植物学报, 2010, 30(9): 1760-1765.
- [21] Homme Y L, Stahl R J, Li X Q, et al. *Brassica napus* cytoplasmic male sterility is associated with expression of a mtDNA region containing a chimeric gene similar to the *pol* CMS-associated *orf224* gene[J]. Current Genetics, 1997, 31(4): 325-335.
- [22] 崔辉梅, 曹家树, 张明龙, 等. Ogura 雄性不育甘蓝型油菜 × 白菜、芜菁杂种 F1 及其回交后代染色体减数分裂行为分析[J]. 中国农业科学, 2004, 37(9): 1452-1357.