

远缘杂交油菜核不育系的创建及其细胞学和形态学研究

蔺兴武, 吴建国, 石春海

(浙江大学农业与生物技术学院农学系, 杭州 310029)

摘要:在甘蓝型油菜与诸葛菜以及芥菜型油菜与诸葛菜属间杂交后代中分别发现 1 个和 3 个不育材料, 经杂交和多代近交育成了相应的甘蓝型油菜不育系。通过对核不育系体细胞鉴定表明, 所有新发现的不育系染色体数为 38, 均已恢复到甘蓝型油菜。这些不育系绝大部分花粉母细胞(PMC)在中期 I、后期 I 和后期 II 3 个时期染色体行为表现正常, 但不同时期的 PMC 均会出现一定比例的异常现象, 主要表现为染色体落后或染色体桥等。这些不育系属于单核败育型, 不育株与可育株的花器形态差异明显, 不育系还存在不同程度的死蕾等特点。通过对花器生长过程的研究, 发现不育株雌蕊生长随雄蕊败育进程逐渐加快, 而可育株雌蕊生长则存在两个生长缓慢阶段。此外, 文章还讨论了这些不育系的应用前景。

关键词:甘蓝型油菜; 远缘杂交; 细胞核雄性不育; 细胞学; 形态学

中图分类号: S634.3; S336

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2005)03-0403-07

Establishment of Genic Male Sterile Lines of *Brassica napus* by Wide Cross and Their Cytology and Morphology

LIN Xing-Wu, WU Jian-Guo, SHI Chun-Hai

(Department of Agronomy, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: One and three male sterile plants were found in the progenies of the intergeneric hybrids by crossing *Brassica napus* and *Brassica juncea* to *Orychophragmus violaceus*, respectively. After interspecific cross and full-sib crosses, four genic male sterile lines were obtained. The results of cytological observations indicated that somatic chromosome number was 38 in all types of sterile lines, which were considered as the type of *B. napus*. Most of pollen mother cells (PMC) in all sterile plants were observed normally for chromosome behaviour. But abnormal phenomena of chromosome, which present for chromosome lagging and bridge, were still found at each stage of meiosis in these sterile lines. These lines belonged to complete sterile type. There were distinct differences between sterile plants and normal plants in the flower morphology. Bud death at different degrees was found on anthotaxies in sterile plants. Studies on the flower growth showed that the growths of the pistils in sterile plants were gradually accelerated along with pollen sterility. At the same time there were two slowly growth stages of the pistils growth in normal plants. The prospects of these sterile lines were discussed in this paper.

Key words: *Brassica napus*; wide cross; genic male sterility; cytology; morphology

收稿日期: 2004-05-06; 修回日期: 2004-06-21

基金项目: 浙江省教育厅项目和浙江省 151 人才计划资助 [Supported by Zhejiang Provincial Education Department and the 151 Program for the Talents of Zhejiang Province]

作者简介: 蔺兴武 (1978—), 男, 山东人, 硕士研究生, 专业方向: 作物遗传育种。E-mail: lxingwu@sohu.com

通讯作者: 石春海 (1956—), 男, 浙江人, 教授, 研究方向: 作物遗传育种。Tel: 0571-86971691; E-mail: chhshi@zju.edu.cn

在甘蓝型油菜杂种优势利用中,细胞核不育系与细胞质不育系相比具有不育性稳定、环境影响小,恢复面宽、易获得强优势组合, F_1 代不存在不育胞质效应等优点^[1]。因此,利用核不育系配置杂种是甘蓝型油菜杂种优势利用的重要途径之一。

利用属间或种间杂交是获得不育材料的重要途径之一^[1~3]。吴建国等(1997)和李再云等(1997, 1998)研究甘蓝型油菜(*Brassica napus*, AACC, $2n=38$)与诸葛菜(*Orychophragmus violaceus*, OO, $2n=24$)以及芥菜型油菜(*Brassica juncea*, AABB, $2n=36$)与诸葛菜属间杂种后代的细胞遗传学和形态学后,发现异源物种的基因组发生了大量的改变,使得这些属间杂种后代具有多样性、不稳定和复杂性等特点^[4~7]。一些学者对甘蓝型油菜核不育材料遗传学也进行了深入研究^[1,8~12],将油菜核不育类型分为多种核基因控制类型。我们在甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种后代中发现了1株不育株,在芥菜型油菜与诸葛菜属间杂种后代中也发现了3个不育株,经过多代近交后,获得了几个植株性状趋于稳定的不育系,这些通过远缘杂交获得的稳定不育系对于增加核不育系的遗传背景具有重要意义。本研究旨在对这些远缘杂交产生的不育材料的花粉母细胞(PMC)减数分裂进行深入研究,鉴定所获得的不育材料的稳定性、败育时期和败育方式;研究不育材料植株性状、花器形态和不育特性;明确在不育材料的花器生长过程中雌蕊和花药生长动态。

1 材料和方法

1.1 实验材料

在甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种 F_5 中发现1株不育株,不育株与可育株连续杂交和回交3代,获得G585稳定不育系。在芥菜型油菜与诸葛菜的属间杂种 F_3 中发现了3个不育类型,分别将其同甘蓝型油菜杂交。自杂种 F_2 起,选择具有甘蓝型油菜植株性状的不育株与可育株连续杂交和回交4代,得到了G587、G590和G591等3个稳定不育系。对照G20是在甘蓝型油菜9715品系自交后代中发现的不育材料。

1.2 实验方法

1.2.1 体细胞染色体数目的鉴定

开花期取幼小花蕾剥取幼小雌蕊,用0.002 mol/L 8-羟基喹啉预处理4 h, Carnoy氏固定液固定

24 h。雌蕊用1 mol/L HCl 60℃解离约10 min,用改良苯酚品红染色压片观察^[13]。

1.2.2 减数分裂观察

开花期取整个花序的花蕾, Carnoy氏固定液固定24 h,然后转入70%酒精中,保存于4℃冰箱内。取2 mm左右花蕾,挑出花药,用1 mol/L HCl 60℃解离3~5 min,用改良苯酚品红染色压片法观察花粉母细胞(PMC)减数分裂^[5]。

1.2.3 花器生长与败育过程观察

用游标卡尺测量不同大小的花蕾、花药和雌蕊长度,不育株花药压片统计显微镜下每视野花粉数量,可育株花药压片观察花粉发育时期。

1.2.3 植株性状、花器形态及不育特性

统计20株不育株与可育株分枝数,定期观察不育株的育性,记录一次分枝死蕾数量,比较当日开放的不育株和可育株花器形态。

2 结果与分析

2.1 细胞学

2.1.1 体细胞染色体数目

通过对上述不育材料近交后代的不育株和可育株进行体细胞染色体数目鉴定,发现所有不育系的体细胞染色体数目均为38条(图1,a),而且近交后代植株间植株性状基本一致,说明这几个不育系已基本稳定。

2.1.2 PMC 减数分裂

经减数分裂观察发现,不育株PMC减数分裂细线期、偶线期、粗线期和双线期染色体形态与不育系分离的可育株及对照相同,终变期同源染色体变得粗短,终变期和中期I适宜于统计同源染色体配对数目。所有的不育系PMC终变期同源染色体配对均为19 II(图1,b),未发现多价体和单价体现象存在,这说明染色体配对与甘蓝型油菜($2n=38=19 II$)相一致。

由表1可知,远缘杂交后代产生的不育系中期I正常PMC所占比例虽略低于对照材料,但仍占有绝对优势(81.7%~96.1%),可以完成正常的染色体分离。但有不同比例的PMC存在1对或2对染色体落后于其他染色体进入赤道板(图1,c),而散落在赤道板外。G20不育株与可育株、G587不育株和G590不育株PMC中期I染色体落后比例低于5%,而G590可育株染色体落后比例略高于不育

株。G585 与 G591 不育株 PMC 中期 I 染色体落后比例较高,分别达到了 13.5 和 18.3%。从表 1 中还可以看出,这些不育材料 PMC 中期 I 1 对染色体落后比例高于 2 对染色体落后比例。

表 1 中期 I 染色体落后

Table 1 Chromosome lagging in metaphase I

材料 Line	正常 Normal (%)	1 对染色体落后 One pair of lagging chromosomes(%)	2 对染色体落后 Two pairs of lagging chromosomes(%)	PMC 总数 Total of PMC
G585S	86.5	11.2	2.3	260
G587S	94.8	3.7	1.5	136
G590S	96.1	3.5	0.4	231
G591S	81.7	15.6	2.7	186
G590F	91.8	5.8	2.4	208
G20S	98.4	1.2	0.4	251
G20F	98.3	1.7	0	286

注:S:不育株;F:可育株。

Note: S: Sterile plant; F: Normal plant.

除对照 G20 不育系 PMC 后期 I 未出现染色体落后外,其他不育系 PMC 中均发现有较低比例的 1 对或 2 对染色体滞留在赤道板上(表 2),而不能与其他同源染色体同时分离拉向两极(图 1,d)。从表 2 可以发现,1 对染色体落后的 PMC 比例高于 2 对染色体落后比例,以 1 对染色体落后为主。G590 和 G591 不育株 PMC 后期 I 染色体落后比例较高,分别达到了 16.6% 和 14.6%,G590 可育株 PMC 后期 I 染色体落后比例(3.6%)低于不育株。G20 不育株 PMC 后期 I 发现 4.9% 染色体桥,其他不育材料 PMC 后期 I 也发现不同比例染色体桥(图 1,e),其中 G590 可育株染色体桥比例高于不育株。

表 2 后期 I 染色体落后与染色体桥

Table 2 Chromosome lagging and chromosome bridge in anaphase I

材料 Line	正常 Normal (%)	1 对染色体落后 One pair of lagging chromo- somes (%)	2 对染色体落后 Two pairs of lagging chromo- somes (%)	染色体桥 Bridge (%)	PMC 总数 Total of PMC
G585S	94.9	2.0	0.6	2.5	355
G587S	87.2	4.5	2.1	6.2	291
G590S	82.9	13.1	3.5	0.5	374
G591S	84.1	9.6	5.0	1.3	239
G590F	92.8	2.5	1.1	3.6	361
G20S	95.1	0	0	4.9	162
G20F	100.0	0	0	0	252

统计后期 I 两极染色体数可以发现(表 3),对照材料 G20F 和 G20S 后期 I 同源染色体均为 19 + 19 分离,其他不育系出现 19 + 19 和 20 + 18 两种分离类型(图 1,f, g),但 PMC 后期 I 同源染色体分离大部分以 19 + 19 正常分离(93.1% ~ 98.8%)。具有 20 + 18 分离的 PMC 大约是后期 I 染色体落后 PMC 比例的一半,说明落后同源染色体分离并进入两极与进入同一极的概率相等。由此可见,不育系 PMC 后期 I 同源染色体分离大部分是正常的。

表 3 后期 I 染色体分离情况

Table 3 Chromosomes departed in anaphase I

材料 Line	19 + 19 分离 19 + 19 departed		20 + 18 分离 20 + 18 departed		PMC 总数 Total of PMC
	PMC 数目 No. of PMC	比例 Proportion (%)	PMC 数目 No. of PMC	比例 Proportion (%)	
G585S	162	98.8	2	1.2	164
G587S	96	97.0	3	3.0	99
G590S	81	93.1	6	6.9	87
G591S	112	98.2	2	1.8	114
G590F	146	96.7	5	3.3	151
G20S	71	100.0	0	0	71
G20F	89	100.0	0	0	89

这些不育系 PMC 中期 II 出现不同比例的 1 个或两极各 1 个染色体落后,除 G590 不育株 PMC 染色体落后比例较高,达到了 15.6%,其他不育系与对照 G20 中期 II 染色体落后比例均低于 6%。同时还发现,这些不育系 PMC 中期 II 染色体落后比例均低于中期 I 染色体落后比例。

减数分裂后期 II 的观察表明(表 4),不育系正常的 PMC 仍占有绝对优势(90.5% ~ 98.8%),但仍存在少量的异常 PMC。其中 G591 不育株 PMC 后期 II 1 个和 2 个染色体落后比例达到了 9.5%,而 G587 未发现染色体落后,其他不育系染色体落后比例均较低。此外,在 G587 和 G590 不育株中还分别发现 1.2% 和 1.1% 后期 II 染色体桥,G585 不育株出现了 1.8% 染色体片段,可能是后期 II 染色体桥拉断后的片段。

G591 不育株四分体时期 1 或 2 个染色体落后未进入细胞核的四分体比例为 0.9%,这一比例远低于后期 II 染色体落后比例的 9.5%。G585、G590 和 G20 后期 II 有少量染色体落后,但没有发现四分体外染色体。由此可见,后期 II 落后染色体大部分仍可以进入四分体之后的小孢子细胞。

表 4 后期 II 染色体落后与染色体桥

Table 4 Chromosome lagging and chromosome bridge in anaphase II

材料 Line	正常 Normal (%)	1~2 个染色体落后 1~2 lagging chromosome (%)	染色体片段 Chromosome fragment (%)	染色体桥 Bridge (%)	PMC 总数 Total of PMC
G585S	94.7	3.5	1.8	0	114
G587S	98.8	0	0	1.2	165
G590S	96.0	2.9	0	1.1	176
G591S	90.5	9.5	0	0	116
G590F	97.6	2.4	0	0	287
G20S	99.4	0.6	0	0	178
G20F	99.2	0.8	0	0	124

2.1.3 单核败育过程

所有不育系不育株四分体解体后,释放出单核

花粉,细胞核充满异染色质,细胞核体积较大,花粉壁不加厚,细胞质染色较浅。随着花蕾的生长,单核花粉开始大量解体。当花蕾长到 4 mm 左右时,发现少量的单边期花粉,但花粉壁不加厚。在 G590 和 G591 不育株中可以看到一个染色体游离在核外的异常现象(图 1, h),这一个染色体可能是后期 II 落后染色体。当花蕾长至 5 mm 左右时,花药内单核花粉已经全部解体。因此,所有不育系属于单核败育类型。

可育株四分体解体后释放单核花粉,花粉壁开始加厚,可见 3 条萌发沟(图 1, i)。当花粉壁逐渐加厚和内含物逐渐充实时,轻轻压片将花粉壁破裂,可观察到二核期和三核期花粉。

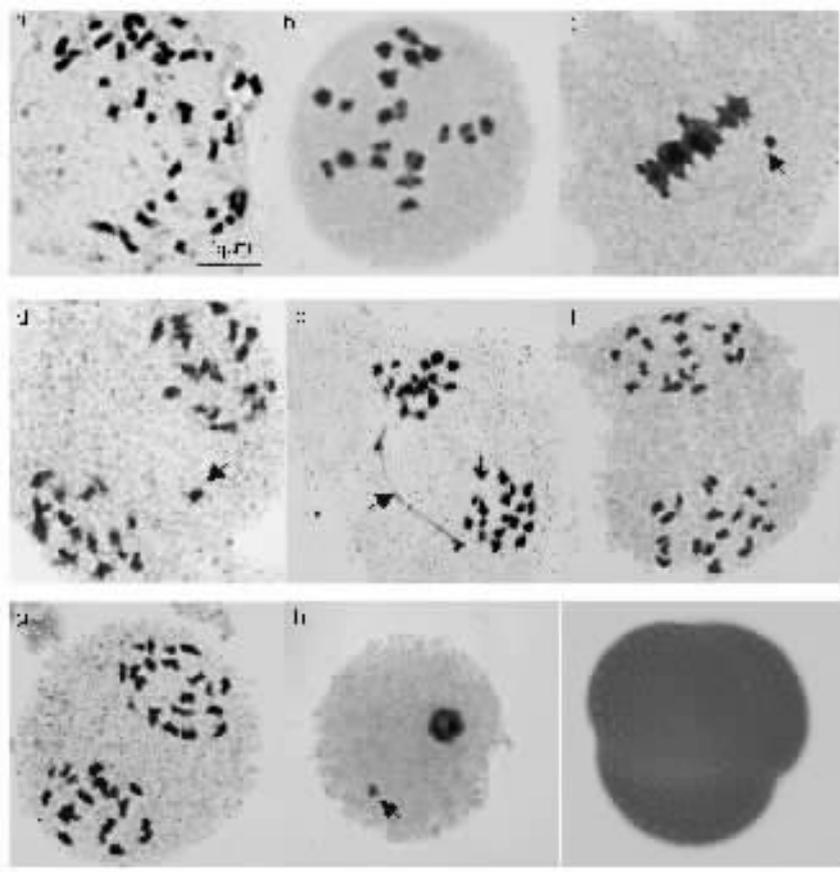


图 1 不育材料细胞学观察

a: G590S 体细胞染色体(38 条); b: G590S 终变期(19 II); c: G587S 中期 I 染色体落后(箭头); d: G591S 后期 I 染色体落后(箭头); e: G587S 后期 I 染色体桥(箭头); f: G591S 后期 I 19+19 分离; g: G591S 后期 I 20+18 分离; h: G590S 核外染色体(箭头); i: G590F 花粉。

Fig. 1 Cytology of sterile lines

a: Somatic cell chromosomes (38) in G590S; b: Diakinesis in G590S (19 II); c: Lagging chromosome (arrow) in metaphase I in G587S; d: Lagging chromosome (arrow) in G591S in anaphase I; e: Chromosome bridge (arrow) in G587S in anaphase I; f: 19+19 departed in G591S in anaphase I; g: 20+18 departed in G591S in anaphase I; h: Chromosome outside nucleus (arrow) in G590S; i: Pollen wall in G590F.

2.2 花器生长动态与花器形态

2.2.1 花器生长动态

G590 不育株花蕾长度 4 mm 时,花药长度达到最大值 3 mm。当花蕾 6 mm 时,花药已开始收缩。开花后花药萎缩瘦瘪,颜色变成灰褐色。四分体解体后,花药内单核花粉开始大量败育解体。花蕾 3~4 mm 和 4~5 mm,雌蕊分别生长了 0.8 mm 和 1.1 mm。花蕾 5~6 mm,花药内无花粉,花药开始收缩,雌蕊生长了 1.35 mm。由此可见,不育株雌蕊的生长速度随败育的进程逐渐加快。G585、G587 和 G591 不育系的

花药和雌蕊生长发育情况同 G590 相似。

G590 可育株花蕾 5 mm 时,花药达到最大长度 3.75 mm。花蕾 3~4 mm,花粉壁开始加厚,内含物增加,雌蕊生长了 0.45 mm;花蕾 4~5 mm 为单核后期后期,雌蕊生长了 0.7 mm;花蕾 5~6 mm,单核花粉开始核分裂,雌蕊生长量 0.7 mm;花蕾 6~7 mm 为单核花粉分裂的高峰期,雌蕊只生长了 0.4 mm;花蕾 7~8 mm,第一次分裂完成,进入双核期,雌蕊生长了 0.8 mm。由此可见,可育株在单核花粉充实期和单核分裂期雌蕊生长速度缓慢。

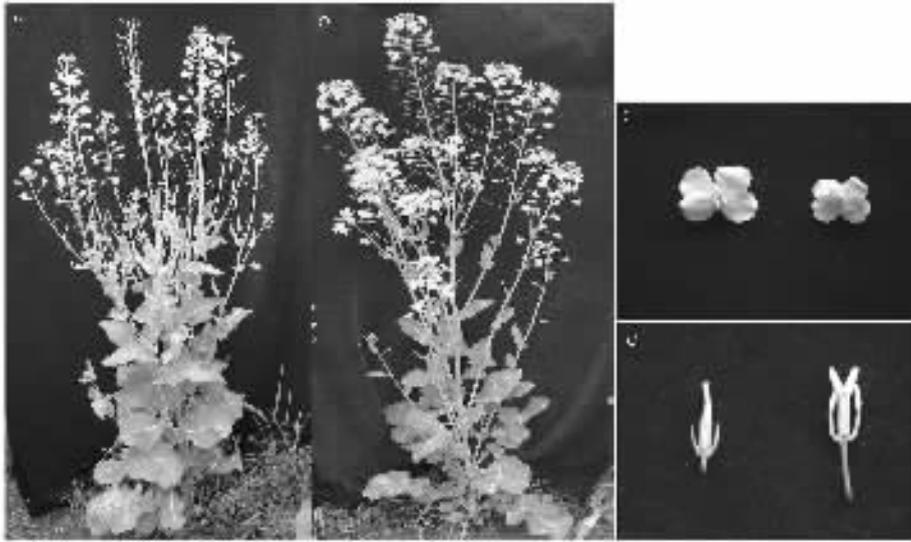


图 2 G590 植株及花器形态

a:不育株;b:可育株;c:左为可育株花瓣,右为不育株花瓣;d:左为不育株花药,右为可育株花药。

Fig.2 Morphology of plant and flower in G590 line

a: Sterile plant; b: Normal plant; c: Left: flower of normal plant, right: flower of sterile plant; d: Left: anthers of sterile plant, right: anthers of normal plant.

2.2.2 花器形态

这些不育系不育株花瓣均小于可育株、花瓣平整相互重叠呈覆瓦状(图 2)。不育株花药瘦瘪萎缩,颜色为灰褐色,花丝较短,柱头明显高出花药。可育株花药饱满,颜色为黄色,花丝较长,柱头与花药高度相同。因此,可从花器形态上区分可育株和不育株。

2.3 植株性状与不育特性

2.3.1 植株性状

从植株性状和花器形态来看,这些材料表现甘蓝型油菜特征(图 2)。G20 和 G585 不育株与可育株的一次和二次分枝数相同(表 5),而 G587、G590 和 G591 不育株的一次分枝数与可育株相同,

表 5 不育材料分枝与死蕾

Table 5 Branches and bud deaths in sterile lines

材料 Line	一次 分枝数 1st branch	二次 分枝数 2nd branch	三次 分枝数 3rd branch	早期 死蕾数 Early bud death	后期 死蕾 Later bud death
G585S	6.7	2.5	0	3.4	0
G585F	6.6	2.5	0	0	0
G587S	10.8	3.5	1.2	4.6	0
G587F	10.7	2.4	0	0	0
G590S	10.8	3.8	1.1	12.2	7.4
G590F	10.8	2.6	0	0	0
G591S	8.9	1.7	0	18.6	0
G591F	8.9	0.9	0	0	0
G20S	8.6	2.6	0	9.5	0
G20F	8.6	2.6	0	0	0

但不育株二次分枝数比可育株多。所有的不育系不育株早期都有不同程度的死蕾或脱蕾,其中 G585 和 G587 不育株死蕾程度较轻,G591 不育株死蕾较重,而 G590 不育株后期受低温影响也出现死蕾现象。

2.3.2 不育特性

在开花期定期调查不育株的育性,发现这些不育系的所有花朵均表现完全不育,不产生可育花朵或可育花药。因此这些不育系的不育性受环境影响小,属于不育性稳定的完全不育类型。

3 讨论

很多研究者对一些甘蓝型油菜雄性不育材料进行了细致的细胞学研究^[1,14~16]。余凤群(1990)根据花药败育的时期和方式,将甘蓝型油菜雄性不育系分为无花粉囊型、花粉母细胞败育型和单核败育型 3 类^[14]。通过细胞学观察,G20、G585、G587、G590 和 G591 不育材料均属于单核败育型。

甘蓝型油菜与诸葛菜及芥菜型油菜与诸葛菜属间杂交后代早期世代群体体细胞染色体有多种类型,单株体细胞为混倍体,存在减数分裂期中期 I 和后期 I 染色体落后,后期 I 染色体多种分离类型,有微核产生等异常现象^[4~7],说明这些远缘的杂种后代早期世代材料不稳定。经过不育株与可育株多代杂交和回交,不育材料植株性状表现为甘蓝型油菜特征,体细胞数目稳定(38 条),减数分裂无微核产生。不育材料 PMC 减数分裂仍存在中期 I、后期 I、中期 II 和后期 II 染色体落后,以及后期 I 和后期 II 染色体桥等现象。但不育材料后期 I 和后期 II 染色体正常分离比例很高,可见这些不育材料已经基本稳定,其不育性不是由减数分裂异常造成的,而是由不育基因控制的。

本研究还发现,染色体落后与染色体桥不成比例,所以染色体桥形成可能与染色体落后不相关。不育材料 PMC 减数分裂的第一次分裂异常率明显高于第二次分裂,这可能是由于减数分裂第一次分裂过程较复杂和影响因素较多。G585、G587、G590 和 G591 的 PMC 中期 I 和后期 I 以落后 1 对染色体为主,说明该对染色体与其他染色体不完全同步,仍表现远缘杂种后代少量染色体不同步的特点。但这些材料已趋于稳定,PMC 减数分裂染色体异常比例已经较低。这对染色体可能是异源染色体替换或

者与异源染色体交换重组产生的。

一些研究者对于不育材料花器形态学进行了系统的研究^[1,17]。本研究表明不育株雌蕊生长随着败育进程,生长速度逐渐加快,当花药开始萎缩时,雌蕊生长速度达到最高,而不育材料分离的可育株在单核花粉充实期和单核分裂期雌蕊生长速度明显低于其他时期。因此,雌蕊的生长与花药生长和花粉发育相关。

不育基因可能对不育材料的花器形态和死蕾有影响^[1,17],本研究还发现不育基因可能对 G587、G590 和 G591 不育材料二次分枝数有影响。从不育材料的来源、植株性状和细胞学来看,这些不育材料属于不同的类型。G585 来源于诸葛菜与甘蓝型油菜远缘杂交后代,植株为上分枝型,一次分枝数少,不育株死蕾少。G587、G590 与 G591 来自芥菜型油菜和诸葛菜远缘杂交后代中的不育株与甘蓝型油菜杂交后代。G587 不育株分枝数多,低温死蕾少;G590 不育株早期低温和后期低温中等死蕾,对早期和后期低温较敏感;G591 分枝少,不育株早期死蕾严重,对早期低温敏感。

亲本的遗传背景差异与杂种优势具有很高相关性^[18,19],目前自然突变、人工理化诱变和品种间杂交是获得油菜核不育材料的主要途径^[1],因此增加甘蓝型油菜不育系的遗传背景对于杂种优势的利用具有重要意义。本实验发现的这几个不育材料是由远缘杂交与种间杂交获得,不育株的遗传背景与甘蓝型油菜亲本相比发生了很大的变化,增加了甘蓝型油菜不育材料的遗传背景。而且 G585 具有死蕾少的特点,G587 具有分枝多和死蕾少的特点,因此这两个不育材料可能在杂种生产中具有较高的利用价值,有望组配出杂种优势较强的组合。

参考文献(References):

- [1] FU Ting-Dong. Breeding and utilization of rapeseed hybrid. Wuhan: Hubei Science and Technology Press, 1999, 85~89.
傅廷栋. 杂交油菜的育种与利用. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1999, 85~98.
- [2] LIU Gui-Hua, CAI Ming, SHENG Xiao-Yan, QIN Xuan-You. Breeding of Nca CMS (*B. napus* L.) and its restores, maintains among *B. napus* L. *Scientia Agricultura Sinica*, 1997, 30 (5): 61~65.
刘贵华,蔡明,盛晓燕,秦选佑. 甘蓝型油菜 Nca 雄性不育系的选育及其在甘蓝型油菜中恢保关系研究. 中国农业科学,

- 1997, 30(5):61~65.
- [3] HUANG Bang-Quan, LUO Peng, WU Shu-Hui. Studies on male sterile lines S90-8-7 derived from hybrids between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus*. *Journal of Hubei University (Natural Science Edition)*, 2000, 22(2): 182~184.
黄邦全, 罗鹏, 吴书惠. 甘蓝型油菜雄性不育材料 S90-8-7 的获得及细胞学研究. 湖北大学学报(自然科学版), 2000, 22(2): 182~184.
- [4] LI Zai-Yun, WU Jian-Guo, SHI Shu-Wen, LIU Hou-Li. Meiotic observations on intergeneric hybrids between *Brassica juncea* and *Orychophragmus violaceus*. *Acta Genetica Sinica*, 1997, 24(4): 373~379.
李再云, 吴建国, 石淑稳, 刘后利. 甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种的减数分裂观察. 遗传学报, 1997, 24(4): 373~379.
- [5] WU J G, LI Z, LIU Y, LIU H L, FU T D. Cytogenetics and morphology of the pentaploid hybrid between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus*. *Plant Breeding*, 1997, 116: 251~257.
- [6] LI Z Y, LIANG X M, WU J G, HENEEN W K. Morphology and cytogenetics of F₃ progenies from intergeneric hybrids between *Brassica juncea* and *Orychophragmus violaceus*. *Hereditas*, 1998, 129: 143~150.
- [7] LI Z, WU J G, LIU Y, LIU H L, HENEEN W K. Production and cytogenetics of the intergeneric hybrids *Brassica juncea* × *Orychophragmus violaceus* and *B. carinata* × *O. violaceus*. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 98: 251~265.
- [8] Mathias R. A new dominant gene for male sterility in rapeseed *Brassica napus* L. *Plant Breeding*, 1985, 94(2): 170~173.
- [9] LI Shu-Lin, ZHOU Xi-Rong, ZHOU Zhi-Jiang. Inheritance of genetic male sterility (GMS) and its utilization in rape (*Brassica napus* L.). *Crop Research*, 1990, 4(3): 27~32.
李树林, 周熙荣, 周志疆. 显性核不育油菜的遗传与利用. 作物研究, 1990, 4(3): 27~32.
- [10] Denis M, Delourme R, Gourret J P, Mariani C, Renard M. Expression of engineered nuclear male sterility in *Brassica napus*. Genetics, morphology, cytology and sensitivity to temperature. *Plant Physiology*, 1993, 101(4): 1295~1304.
- [11] Yang G S, Fu T D. Genetic investigation of three lines with recessive genic male sterility in *Brassica napus* L. *Plant Breeding*, 1997, 116(3): 296~298.
- [12] CHEN Feng-Xiang, HU Bao-Cheng, LI Cheng, LI Qiang-Sheng, CHEN Wei-Sheng, ZHANG Man-Lin. Genetic studies on GMS in *Brassica napus* L. I. Inheritance of recessive of GMS line 9012A. *Acta Agronomica Sinica*, 1998, 24(4): 431~438.
陈凤祥, 胡宝成, 李成, 李强生, 陈维生, 张曼琳. 甘蓝型油菜细胞核不育系遗传研究 I. 隐性核不育系 9012A 的遗传. 作物学报, 1998, 24(4): 431~438.
- [13] WU Jian-Guo, LI Zai-Yun, LIU Yan, SHI Chun-Hai, FU Ting-Dong. A cytological method of determining wide hybrids of rapeseed. *Hereditas* (Beijing), 1999, 21(5): 51~52.
吴建国, 李再云, 刘焰, 石春海, 傅廷栋. 一种鉴定油菜远缘杂种的细胞学方法. 遗传, 1999, 21(5): 51~52.
- [14] YU Feng-Qun, FU Ting-Dong. Cytomorphological research of anther development of several male sterile lines in *Brassica napus* L. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1990, 3(3): 209~215.
余凤群, 傅廷栋. 甘蓝型油菜几个雄性不育系花药发育的细胞形态学研究. 武汉植物学研究, 1990, 3(3): 209~215.
- [15] SHENG Xiao-Yan, LIU Gui-Hua, CAI Ming, QIN Xuan-You. Selection and breeding of a genetic male sterility type in *Brassica napus* L.. *Chinese Oil Crop*, 1997, 19(1): 6~7.
盛晓燕, 刘贵华, 蔡明, 秦选佑. 甘蓝型油菜雄性不育的遗传研究 IV. 甘蓝型油菜异核型雄性不育材料减数分裂过程观察. 中国油料, 1997, 19(1): 6~7.
- [16] YANG Guang-Sheng, QU Bo, FU Ting-Dong. Cytology studies on microsporegenesis of three recessive genic male sterile lines of *Brassica napus* L.. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 1999, 18(6): 520~523.
杨光圣, 瞿波, 傅廷栋. 三个甘蓝型油菜隐性细胞核不育系小孢子发生的细胞学研究. 华中农业大学学报, 1999, 18(6): 520~523.
- [17] YANG Guang-Sheng, QU Bo, LI Hai-Bo, FU Ting-Dong. Studies on the morphology of the flower and anatomy of the anther development of RGMS lines in *Brassica napus* L.. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2000, 19(6): 528~532.
杨光圣, 瞿波, 李海勃, 傅廷栋. 甘蓝型油菜 RGMS 雄性不育系的花器形态及花药发育的解剖学研究. 华中农业大学学报, 2000, 19(6): 528~532.
- [18] Lefort B M, Dattee Y, Guillot L B. Heterosis and genetic distance in rapeseed (*Brassica napus* L.): use of kinship coefficient. *Genome*, 1987, 29(1): 11~18.
- [19] Ali M, Copeland L O, Elias S G, Kelly J D. Relationship between genetic distance and heterosis for yield and morphological traits in winter canola (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 1995, 91(1): 118~121.