DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.01139

白芥和甘蓝型油菜属间杂种后代种子结构比较

韦存虚¹ 李爱民^{1,2} 张永泰² 周卫东³ 王幼平^{1,*}

¹ 扬州大学生物科学与技术学院, 江苏扬州 225009; ² 江苏里下河地区农业科学研究所, 江苏扬州 225007; ³ 扬州大学测试中心, 江苏扬州 225009

摘 要: 白芥具有很多优良的农艺性状, 从白芥和甘蓝型油菜属间体细胞杂种后代中筛选出多个具有黄籽或趋向黄籽性状的株系, 利用光学显微镜和电子显微镜技术观察它们种子的结构。回交后代种皮解剖结构与甘蓝型油菜相似, 而与白芥相差较远。种皮色素主要分布在栅栏层, 甘蓝型油菜和部分后代株系中有色素分布, 而白芥和部分黄籽后代株系中没有色素分布。栅栏层在甘蓝型油菜中最厚, 在白芥中最薄, 而后代介于两者之间。回交后代和甘蓝型油菜种皮表面纹饰为网-穴状, 白芥为沟槽状或水疱状。胚子叶细胞面积以白芥最小, 甘蓝型油菜最大, 后代介于两者之间; 而蛋白体面积指数以白芥最大, 甘蓝型油菜最小, 后代介于两者之间。超微结构观察表明, 亲本和后代蛋白体均为球状晶体蛋白体, 油体有大、小两种, 其大小在亲本和后代间有差异。上述结果表明, 回交后代株系种子解剖结构与甘蓝型油菜相近, 种皮颜色、色泽深浅和栅栏层厚度, 以及胚子叶细胞大小、油体和蛋白体等受亲本白芥的影响而发生变化。

关键词: 白芥; 甘蓝型油菜; 体细胞杂种后代; 种子结构; 黄籽

Comparison of Seed Structure of Progenies from Intergeneric Hybrids between *Sinapis alba* and *Brassica napus*

WEI Cun-Xu¹, LI Ai-Min^{1,2}, ZHANG Yong-Tai², ZHOU Wei-Dong³, and WANG You-Ping^{1,*}

¹ College of Bioscience and Biotechnology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; ² Jiangsu Institute of Agricultural Science in the Lixiahe District, Yangzhou 225007, China; ³ Analytical Centre, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China

Abstract: *Sinapis alba* L. possesses desirable agronomic characters. The backcross progenies of intergeneric hybrids between *S. alba* and *Brassica napus* L. obtained the valuable agronomic traits from *S. alba*. Seed structure of some yellow and yellow-like seed lines, which were selected from backcross progenies, was observed under light microscopy and electronic microscopy. The morphologically anatomical structure of seed coat of backcross progenies resembled that of *B. napus*, but was different from that of *S. alba*. Seed coat of *B. napus* was composed of flattened epidermis, crushed subepidermis, U-shaped-a palisade layer and aleurone layer, while seed coat of *S. alba* was composed of intestine-shaped epidermis, ellipse subepidermis, U-shaped-b palisade layer and aleurone layer. The pigments of seed coat were mainly distributed in the palisade layer. There were pigments in seed coats of *B. napus* and some backcross progenies, but no pigments in those of *S. alba* and other backcross progenies. The palisade layer was thicker in *B. napus*, thinner in *S. alba*, and intermediate in hybrid progenies. Seed coat microsculpturing was observed with scanning electronic microscope. The reticulate-foveate pattern was the characteristics of *B. napus* and hybrid progenies, while the blister pattern of H₂O-immersed seed and the sulcate pattern of dry seed were the characteristics of *S. alba*. The area of cotyledon cell was larger in *B. napus*, smaller in *S. alba*, and intermediate in hybrid progenies. The area index of protein body in cotyledon cell was higher in *S. alba*, lower in *B. napus*, and intermediate in progenies. The observations of ultrastructure showed that protein bodies were heterogeneous with crystal globoids in parents and progenies. Oilbodies included large and small oilbodies, and their sizes were different from each other between parents and progenies. The above results showed that the anatomy of the progeny seeds was similar to that of *B. napus*, but the seed color, the thickness of palisade layer, cotyledon cell size, protein body and oilbody were affected by *S. alba*.

Keywords: *Sinapis alba* L.; *Brassica napus* L.; Progeny of somatic hybrids; Seed structure; Yellow seed

本研究由国家自然科学基金项目(30571175, 30671166)和扬州市科技合作基金项目资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 王幼平, E-mail: wangyp@yzu.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: yzuwxc@yahoo.com.cn

Received(收稿日期): 2008-11-27; Accepted(接受日期): 2009-02-17.

甘蓝型油菜(*Brassica napus* L.)已成为我国油菜主要栽培品种,但其作为异源双二倍体种起源发生的历史较短,遗传背景也较狭窄;加之我国甘蓝型油菜是通过国外引进,其遗传基础较为单一^[1]。研究表明,在相同的遗传背景下,黄籽油菜的种子含油量普遍高于黑籽;且黄籽油菜具有种皮薄、色素少、多酚含量低、纤维素含量低、油清澈透明、蛋白质含量高优点,因此油菜育种学家把培育优质高产的黄籽油菜作为重要的育种目标^[2]。白菜型油菜(*B. rapa*)和芥菜型油菜(*B. juncea*)有天然的黄籽类型,而甘蓝型油菜中没有天然的黄籽类型,鉴于甘蓝型油菜在生产中的重要地位,如何利用现代生物技术将近缘种属中的优良性状(如黄籽)导入栽培油菜品种,从而拓宽甘蓝型油菜的遗传背景就显得非常重要。

白芥(*Sinapis alba* L.)属于十字花科白芥属,和油菜亲缘关系较近,具有很多优良的农艺性状(如黄籽、抗旱和抗裂荚等)^[3-4],而且对十字花科多种病虫害如病毒病、黑胫病、黑斑病和线虫病等有较高的抗性^[5-8]。前人的研究表明通过子房培养和原生质体融合等方法所获得的油菜和白芥属间杂种,可以提高杂种的抗病性^[7-9]。王幼平等^[4,10]利用电融合方法获得了白芥和甘蓝型油菜属间杂种,该杂种不断和甘蓝型油菜回交,令其大量附加不同数目的白芥染色体,通过回交后代减数分裂原位杂交(genomic in situ hybridization, GISH)分析也证明了甘蓝型油菜和白芥染色体出现交叉和互换以及基因组间的重组,这为进一步利用白芥的优良特性提供了可能。在这些回交后代中,获得了一大批具有育种价值的异附加系或易位系材料,具黄籽、抗茵核病、长角果和高含油量等性状。本研究对具有不同色泽的黄籽性状的回交后代和亲本的材料进行结构比较,以期为进一步利用这些材料培育优质、高产,具有黄籽的油菜新品种提供重要的参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

白芥(*Sinapis alba* L., SS)和甘蓝型油菜(*Brassica napus* L., 品种 Maplus, AACCC)属间杂种(AACCCSS)是通过体细胞电融合技术获得的^[4],属间杂种后代与甘蓝型油菜扬油6号经过连续回交和自交(2005—2008年),并对后代BCF₁、BCF₂、BCF₃和BCF₄进行种皮颜色筛选,所鉴定的材料为BCF₄回交后代株系。

1.2 种皮色素分布和栅栏层的厚度

将干燥种子的种皮剥离下来,为保证可比性和一致性,取近轴面种子中部的种皮,利用 Leica CM1100 冰冻切片机,在-15℃下冰冻切片,厚度15 μm。切片不经染色,直接制成水装片,于 Olympus CX 41 光学显微镜下观察,并用附带的成像系统拍照。利用 JD801 形态分析软件统计分析所拍摄的种皮栅栏层的厚度,每粒种子随机选5处种皮进行测量,每个株系和亲本选择3粒种子进行试验分析。

1.3 种皮表面形态结构

将干燥的种子用双面胶带直接粘在扫描电镜样品台上,或者将种子在 ddH₂O 中于室温浸泡1 d,然后按常规扫描电镜样品制备方法进行脱水、干燥和粘样,将近轴面种子中部的部分向上,以离子溅射仪镀金膜,Philips XL-30 ESEM 扫描电镜下观察并拍照。观察部位均为种子近轴面种子中部位置,每个株系和亲本各用3粒来扫描观察。

1.4 种子解剖结构和超微结构

将种子在 ddH₂O 中于室温浸泡1 d,取种子近轴面中部种皮和胚子叶为材料,采取常规透射电镜制样法,进行 Spurr's 树脂包埋。用玻璃刀在 Leica EM UC6 超薄切片机上切取1 μm厚的树脂半薄切片;然后用钻石刀切取70 nm厚的树脂超薄切片。半薄切片的染色参考胡适宜等^[11]细胞化学染色方法,切片经PAS 苏丹黑B 考马斯亮蓝R 重复染色后,置光学显微镜下观察和拍照。超薄切片经醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色后,用 Philips Tecnai 12 透射电镜观察与拍照。

分析染色的半薄切片,外表皮细胞下的第1层到第3层子叶细胞,每张切片选10个相邻的细胞,数出每个细胞中的蛋白体的数目,利用 JD801 形态分析软件分析每个蛋白体的切片面积、细胞的切片面积,计算出蛋白体的面积指数(10个细胞内蛋白体的面积/10个细胞的面积)。每个株系和亲本各统计5个切片的数据。

1.5 数据统计

采用 SPSS10.0 统计软件分析数据,计算平均值和标准差。

2 结果与分析

2.1 亲本和回交后代种皮颜色和形态结构比较

2.1.1 种皮颜色 白芥具有黄籽性状,籽粒颜色淡黄色(图1-A),回交亲本扬油6号籽粒颜色为褐色(图1-B)。

图1 亲本及回交后代种皮颜色

Fig. 1 Seed coat color of backcross progenies and their parents

A: *S. alba*; B: Yangyou 6; C: D244-18; D: D244-52; E: D244-6; F: D255-3; G: D246-5; H: D211.

在回交后代中筛选出多个具有不同色泽的黄籽或趋向黄籽性状的株系(图 1-C~H), 籽粒颜色从红偏黄到鲜黄各个梯度均有。

2.1.2 种皮解剖结构 根据种皮半薄切片观察, 采用 Buth 等^[12]的术语, 亲本和回交后代种子种皮由表皮层、亚表皮层、栅栏层以及附着在种皮内壁上的糊粉层构成(图 2)。白芥的表皮层为“肠形-m (intestine-shaped-m)”, 长管状, 细胞中有粘质, 厚度为 $17.28 \pm 1.58 \mu\text{m}$; 亚表皮为“圆状(circular)或椭圆状(ellipse)”, 厚度为 $31.36 \pm 2.42 \mu\text{m}$; 栅栏层为“U 形-b (U-shaped-b)”, 细胞呈 U 形, 细胞壁较薄, 不易被染料染色, 厚度为 $21.16 \pm 4.14 \mu\text{m}$; 糊粉层的厚度为 $19.15 \pm 1.24 \mu\text{m}$ (图 2-A)。扬油 6 号的表皮层为“扁平状(flattened)”, 亚表皮层为“挤压状(crushed)”, 与表皮层细胞挤压在一起, 不容易分辨出, 它们的厚度为 $6.99 \pm 2.33 \mu\text{m}$; 栅栏层为“U 形-a (U-shaped-a)”状, U 形的细胞壁强烈加厚, 易被染料染色而着色较深, 厚度为 $35.69 \pm 2.60 \mu\text{m}$; 糊粉层的厚度为 $16.37 \pm 0.70 \mu\text{m}$ (图 2-B)。回交后代的种皮结构接近亲本扬油 6 号的特征, 扁平的表皮层、挤压的亚表皮层和“U 形-a”的栅栏层, 与亲本不同的是, 栅栏层细胞被染料染色的着色程度不同, 有些不易染色, 与白芥相似(图 2-C), 有些染色较深, 与扬油 6 号相似, 各层的厚度以株系 D244-18 为例, 表皮层和亚表皮厚度为 $4.47 \pm 1.34 \mu\text{m}$, 栅栏层厚度为 $35.55 \pm 2.41 \mu\text{m}$, 糊粉层厚度为 $22.06 \pm 1.10 \mu\text{m}$ 。

2.1.3 种皮色素分布和栅栏层的厚度 不经染色, 直接在显微镜下观察冰冻切片表明, 种皮色素主要分布在栅栏层(图 3)。扬油 6 号种皮栅栏层色泽较深(图 3-B), 其次是回交后代 D246-5(图 3-G)、D211(图 3-H)、D255-3(图

3-F)和 D244-52(图 3-D), 而回交后代 D244-18(图 3-C)、D244-6(图 3-E)和亲本白芥(图 3-A)栅栏层基本没有色素积累。

统计分析表明, 扬油 6 号栅栏层最厚, 而白芥栅栏层最薄, 回交后代栅栏层的厚度在扬油 6 号和白芥之间(图 4)。

2.1.4 种皮表面纹饰形态 利用扫描电镜观察, 采用 Zeng 等^[13]和 Koul 等^[14]描述种皮表面雕纹的术语。白芥的干种子表面纹饰为“沟槽状(sulcate)”, 表现为深沟或槽状的 V 形凹陷(图 5-A); 种子在水中浸没 1 d, 表皮层细胞中的粘质分泌出来, 在种皮表面形成一黏质层, 种皮表面纹饰表现为“水疱状(blister)”, 表现为表皮层细胞膨胀外突, 外观常常呈 5 或 6 边形, 细胞之间的边界是直线或曲线形(图 5-A1)。扬油 6 号的干种皮表面纹饰为“网-穴状(reticulate-foveate)”, 低倍镜下种皮表现为狭窄、尖角的突起网络, 每一个区域构成一个网状组织, 网壁起伏不平; 高倍镜下网状组织内具小坑状凹陷(小穴)(图 5-B)。回交后代的干种子表面纹饰与扬油 6 号相一致, 为“网-穴状”, 区别只表现在各株系网状组织“小穴”的凹陷程度不同(图 5-C~H)。扬油 6 号和回交后代的干种子在水中浸没 1 d, 其种皮表面结构与干种子相一致, 没有发生变化(图略)。

2.2 亲本和回交后代胚子叶结构比较

2.2.1 子叶细胞形态和贮藏物质的分布 胚子叶半薄切片, 经 PAS-苏丹黑 B-考马斯亮蓝多重染色, 子叶细胞中的脂类被染成灰色, 贮藏蛋白质被染成蓝色, 细胞壁经 PAS 单染后呈红色, 但在其后的苏丹黑 B 和考马斯亮蓝复染后, 颜色变为深黑色(图 6)。亲本和回交后代的胚子叶的结构基本相似, 胚外子叶从种皮向内是一层外表皮细胞、多层叶肉细胞和一层内表皮细胞, 均被贮藏的脂类和

图 2 亲本及回交后代种皮解剖结构

Fig. 2 Seed coat anatomical structure of backcross progenies and their parents

A: 白芥; B: 扬油 6 号; C: D244-18; $\times 400$ 。a: 糊粉层; e: 表皮层; Pal: 栅栏层; s: 亚表皮层。

A: *S. alba*; B: Yangyou 6; C: D244-18. $\times 400$. a: aleurone layer; e: epidermis; Pal: palisade layer; s: subepidermis.

图 3 亲本及回交后代种皮色素分布

Fig. 3 Pigment distribution in seed coat of backcross progenies and their parents

A: *S. alba*; B: Yangyou 6; C: D244-18; D: D244-52; E: D244-6; F: D255-3; G: D246-5; H: D211. ($\times 200$)

图 4 亲本及回交后代种皮栅栏层的厚度

Fig. 4 The thickness of palisade layer of backcross progenies and their parents

A: *S. alba*; B: Yangyou 6; C: D244-18; D: D244-52; E: D244-6; F: D255-3; G: D246-5; H: D211.

蛋白质所充实。外表皮细胞和内表皮细胞形态相似, 为多面体, 体积较小, 排列紧密。叶肉细胞体积较大, 叶肉细胞靠近外表皮细胞的为多边形、球形或椭球形, 靠近内表皮细胞的为狭长形(图 6)。

子叶外表皮细胞下第 1 层到第 3 层的叶肉细胞(图 6, 方框区域), 切面面积以扬油 6 号最大, 白芥最小, 回交后代介于两亲本之间(图 7-A)。叶肉细胞切面内贮藏蛋白体的数目, 以甘蓝型油菜变幅较大, 平均值低于白芥, 回交后代有些株系比亲本高, 有些比亲本低(图 7-B)。单个蛋白体的切面面积, 白芥和甘蓝型油菜差异不大, 回交后代除 D255-3 株系外, 其他株系均低于亲本(图 7-C)。蛋白体的面积指数(蛋白体的面积/总面积)以白芥最高, 扬油 6 号最低, 回交后代介于两亲本之间(图 7-D)。

2.2.2 子叶贮藏蛋白体和油体的超微结构 白芥、甘蓝型油菜和回交后代子叶蛋白体的结构没有差异, 多为近球形, 位于细胞中间, 蛋白体内含有球状晶体(图 8), 因制切片时这些球状晶体崩出, 在蛋白体内留下电子透明的空洞, 有些蛋白体内还留下完整或部分的球状晶体颗粒(图 8-A 箭)。在蛋白体内, 球状晶体颗粒体积较小时容易在切片中保留下来, 而体积较大时容易崩出, 使切片

图 5 亲本及回交后代种皮表面纹饰形态

Fig. 5 Seed coat microsculpturing in backcross progenies and their parents

A: 沟槽状(白芥干种子); A1: 水疱状(白芥水浸种子); B: 扬油 6 号; C: D244-18; D: D244-52; E: D244-6; F: D255-3; G: D246-5; H: D211; B-H: 网-穴状(干种子)。(×250)

A: sulcate pattern (dry seed of *S. alba*); A1: blister pattern (ddH₂O immersed seed of *S. alba*); B: Yangyou 6; C: D244-18; D: D244-52; E: D244-6; F: D255-3; G: D246-5; H: D211; B-H: reticulate-foveate pattern (dry seed). (×250)

图 6 白芥子叶半薄切片

Fig. 6 The semithin section of cotyledon in *S. alba*

Ie: 内表皮细胞; L: 脂; Oe: 外表皮细胞; P: 蛋白质(×250)。

Ie: inner epidermical cell; L: lipid; Oe: outer epidermical cell; P: protein (×250).

图 7 亲本和回交后代子叶细胞面积和蛋白体

Fig. 7 Area and protein body in cotyledon cell of backcross progenies and their parents

a: 单个细胞切面面积; b: 单个细胞切面内蛋白体的数量; c: 单个蛋白体的切面面积; d: 蛋白体面积指数。

a: section area of cotyledon cell; b: the number of protein bodies in one cotyledon cell section; c: section area of protein body; d: area index of protein body. A: *S. alba*; B: Yangyou 6; C: D244-18; D: D244-52; E: D244-6; F: D255-3; G: D246-5; H: D211.

中留下空洞(图 8-D)。

子叶细胞内油体有椭圆形、多边形或不规则形等多种形态, 根据体积大小可分为大油体和小油体两种类型, 在蛋白体周围或沿细胞膜分布(图 8)。位于细胞膜周围的油体体积较大, 而蛋白体周围的油体体积相对较小(图 8-A1~A2)。白芥、甘蓝型油菜和回交后代的油体形态结构上没有明显的差异, 区别主要在于油体的大小。扬油 6 号油体体积较大(图 8-B), 白芥的油体较小(图 8-A)。在回交后代中, D244-6 油体大小差异最明显, 小油体的大小与白芥相似, 而大油体的大小与甘蓝型油菜相似(图 8-F), 其他回交后代的油体性状与扬油 6 号基本相似(图 8-B~E, G~H)。

3 讨论

3.1 种皮解剖结构与种皮颜色

种皮由表皮层、亚表皮层、栅栏层和糊粉层组成, 其中表皮层和亚表皮层起源于外珠被的外层细胞; 栅栏层是位于亚表皮细胞层以下, 起源于外珠被的内层细胞, 在大多数十字花科植物中, 其垂周壁及内切向壁发生次生加厚而形成成熟种皮中主要的保护性单元; 糊粉层是胚乳退化遗留下来的结构^[15]。黏质一般产生于发育的种子中, 并贮存于外表皮层细胞中, 是一种可溶的亲水多糖物质, 主要是半纤维素或纤维素; 干种子吸水后, 脱水的黏质迅速从种皮中释放, 形成植物凝胶状物质而把成熟种子包裹起来^[16]。白芥种子表皮层贮藏黏质, 为“肠形-m”, 亚表皮层为“椭圆形或圆形”, 栅栏层为“U 形-b”, 这一结果与 Bouman 的研究相一致^[17]。扬油 6 号种子表皮层为扁平形, 亚表皮层为挤压状, 栅栏层为 U 形-a, 这一结果与 Buth 等^[12]的研究相一致。回交后代的株系种皮解剖结构与扬油 6 号一致, 表明它们的亲缘关系较近。

种子表面纹饰可以用作物种鉴定指标, 为分析不同物种的进化及亲缘关系提供一种方法。Zeng 等^[13]观察到甘蓝型油菜干种子的种皮纹饰为“网-穴型”, Koul 等^[14]观察到白芥种子干种子的种皮纹饰为沟槽状, 本文对甘蓝型油菜和白芥干种子的种皮纹饰的观察结果与他们的研究相一致, 但白芥水浸种子的种皮纹饰表现为水疱状, 还未见报道。种皮纹饰由栅栏层高度不平衡或栅栏层外壁突出而引起^[18]。种皮发育经历复杂的变化, 如表皮粘质的产生, 淀粉粒的形成和降解等, 这些变化均会导致种皮表面纹饰明显的改变^[19]。本研究中回交后代种子的种皮纹饰显示出亲本甘蓝型油菜的特征, 表明回交后代种皮发育可能与甘蓝型油菜相似。白芥的表皮细胞含有粘质, 成熟干种子因失水, 导致种皮呈现沟槽状, 而浸水后, 种子吸水, 导致粘质释放, 表皮细胞也因吸胀而呈现水疱状。回交后代和甘蓝型油菜干种子和浸水种子的种皮纹饰没有发生变化, 表明表皮细胞没有粘质, 变形挤压, 这与半薄切片的结果相一致。

Marles 等^[20]的研究表明, 油菜种皮色素主要由原花色素聚合物组成。色素主要存在于栅栏细胞, 黑粒种皮的栅栏细胞层最宽, 积累色素多, 而黄籽种皮的栅栏细胞层窄, 色素积累少^[21]。本文结果表明, 甘蓝型油菜栅栏层有色素沉积, 白芥栅栏层没有色素沉积, 回交后代中有些株系栅栏层有色素沉积, 有些株系没有, 说明种皮栅栏层色素的沉积决定了种皮的颜色。

3.2 子叶蛋白体和油体的结构

Lott 等^[22]在对许多物种进行研究和分析的基础上, 认为蛋白体的结构类型存在物种多样性, 根据蛋白体内部结构的不同, 把蛋白体分成 3 种类型, 一种由均匀的蛋白质基质组成, 无内含物; 另一种含球状晶体; 第三种含球状晶体和拟晶体。蛋白体内的球状晶体是由植酸盐和其

图 8 亲本和回交后代子叶细胞超微结构

Fig. 8 Ultrastructure of cotyledon of backcross progenies and their parents

CW : 细胞壁; G : 球状晶体; O : 油体; Pb : 蛋白体。

A1 and A2: *S. alba*; B: Yangyou 6; C: D244-18; D: D244-52; E: D244-6; F: D255-3; G: D246-5; H: D211. (×5 000)

CW: cell wall; G: globoid; O: oilbody; Pb: protein body.

他无机盐类构成,质地脆弱,不易被固定剂和包埋剂渗透,在制超薄切片时,多数球状晶体被崩出,蛋白体内部留下电子透明的空洞^[22-23]。本研究结果表明,白芥、甘蓝型油菜和回交后代子叶细胞中蛋白体的结构没有差异,均为含有球状晶体的蛋白体,但其面积指数差异较大。

油体是植物种子的贮油细胞器,为直径 0.5~2.5 μm 的球体,其大小因植物种类的不同而不同^[24]。油质蛋白(oleosin)的含量决定油体的大小^[25]。Ting 等^[26]研究发现,与低含油量玉米品种的颖果相比,高含油量的玉米颖果中,油/油质蛋白的比值较高,油体的体积也较大。本文的结果表明,白芥子叶油体较小,这可能是白芥含油量不高的原因。甘蓝型油菜油体相对较大;回交后代 D255-3 油体大小差异较大,小油体与白芥相似,而大油体与甘蓝型油菜相似;其他回交后代油体的大小与甘蓝型油菜相似。

References

- [1] Liu H-L(刘后利). Origin and evolution of some Brassicas. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1984, 10(1): 9-18 (in Chinese with English abstract)
- [2] Yan M-L(严明理). Studies on the molecular mechanism of formation of yellow seeds in *Brassica juncea*. PhD Dissertation of Hunan Agricultural University (湖南农业大学), 2007. p 1 (in Chinese with English abstract)
- [3] Downey R K. Rapeseed and Mustard. In: Fehr W R ed. Principles of Cultivar Development. New York: Macmillan Publishing Company, 1987. pp 437-486
- [4] Wang Y P, Sonntag K, Rudloff E, Chen J M. Intergeneric somatic hybridization between *Brassica napus* and *Sinapis alba*. *Integr J Plant Biol*, 2005, 47: 84-91
- [5] Bodnaryk R P, Lamb R J. Mechanisms of resistance to the flea beetle, *Phyllotreta cruciferae* (Goeze), in yellow mustard seedlings, *Sinapis alba* L. *Can J Plant Sci*, 1991, 71: 13-20
- [6] Hansen L N, Earle E D. Somatic hybrids between *Brassica oleracea* L. and *Sinapis alba* L. with resistance to *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. *Theor Appl Genet*, 1997, 94: 1078-1085
- [7] Lelivelt C L C, Leunissen E H M, Frederiks H J, Helsper J P F C, Krens F A. Transfer of resistance to the beet cyst nematode (*Heterodera* sp.) from *Sinapis alba* to *Brassica napus* by somatic hybridization. *Plant Cell Rep*, 2005, 24: 101-108

- erodera schachtii* Schm.) from *Sinapis alba* L. (white mustard) to the *Brassica napus* L. gene pool by sexual and somatic hybridization. *Theor Appl Genet*, 1993, 85: 688–696
- [8] Brown J, Brown A P, Davis J B, Erickson D. Intergeneric hybridization between *Sinapis alba* and *Brassica napus*. *Euphytica*, 1997, 93: 163–168
- [9] Chevre A M, Eber F, Margale E, Kerlan M C, Primard C, Vedel F, Delseny M, Pelletier G. Comparison of somatic and sexual *Brassica napus*-*Sinapis alba* hybrids and their progeny by cytogenetic studies and molecular characterization. *Genome*, 1994, 37: 367–374
- [10] Wang Y P, Zhao X X, Sonntag K, Wehling P, Snowdon R J. Behaviour of *Sinapis alba* addition chromosomes in a *Brassica napus* background revealed by genomic in situ hybridisation. *Chrom Res*, 2005, 13: 819–826
- [11] Hu S-Y(胡适宜), Xu L-Y(徐丽云). A cytochemical technique for demonstration of lipids, polysaccharides and protein bodies in thick resin sections. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1990, 32(11): 841–846 (in Chinese with English abstract)
- [12] Buth G M, Ara R. Seed coat anatomy of some cultivated *Brassica*. *Phytomorphology*, 1981, 31: 69–78
- [13] Zeng C L, Wang J B, Liu A H, Wu X M. Seed coat microsculpturing changes during seed development in diploid and amphidiploid *Brassica* species. *Ann Bot*, 2004, 93: 555–566
- [14] Koul K K, Nagpal R, Raina S N. Seed coat microsculpturing in *Brassica* and allied genera (Subtribes Brassicinae Raphaninae, Moricandiinae). *Ann Bot*, 2000, 86: 385–397
- [15] Harris W M. Seed coat development in radish (*Raphanus sativus* L.). *Phytomorphology*, 1991, 41: 341–349
- [16] Windsor J B, Symonds V V, Mendenhall J, Lloyd A M. Arabidopsis seed coat development: Morphological differentiation of the outer integument. *Plant J*, 2000, 22: 483–493
- [17] Bouman F. Integument initiation and testa development in some Cruciferae. *Bot J Linn Soc*, 1975, 70: 213–299
- [18] Vaughan J G, Whitehouse J M. Seed structure and the taxonomy of the Cruciferae. *Bot J Linn Sci*, 1971, 64: 383–409
- [19] Wan L L, Xia Q, Qiu X, Selvaraj G. Early stages of seed development in *Brassica napus*: A seed coat-specific cysteine proteinase associated with programmed cell death of the inner integument. *Plant J*, 2002, 30: 1–10
- [20] Marles M A S, Gruber M Y. Histochemical characterization of unextractable seed coat pigments and quantification of extractable lignin in the Brassicaceae. *J Sci Food Agric*, 2004, 84: 251–262
- [21] Li C-H(李崇辉), Chen W-Y(陈文艺). An investigation on the distribution of rape yellow seeds and its variation in seed coat colour. *J Southwest Agric Uni* (西南农业大学学报), 1998, 20(3): 256–259 (in Chinese with English abstract)
- [22] Lott J N A. Protein bodies in seeds. *Nord J Bot*, 1981, 1: 421–423
- [23] Chen P, Lott J N A. Studies of *Capsicum annuum* L. seeds: Structure, storage reserves and mineral nutrients. *Can J Bot*, 1992, 70: 518–529
- [24] Tzen J T C, Cao Y Z, Laurent P, Ratnayake C, Huang A H C. Lipids, proteins and structure of seed oilbodies from diverse species. *Plant Physiol*, 1993, 101: 267–276
- [25] Rodrigo M P S, Findlay K, Lopez-Villalobos A, Yeung E C, Nykiforuk C L, Moloney M M. The accumulation of oleosins determines the size of seed oilbodies in Arabidopsis. *Plant Cell*, 2006, 18: 1961–1974
- [26] Ting J T L, Lee K Y, Ratnayake C, Platt K A, Balsamo R A, Huang A H C. Oleosin genes in maize kernels having diverse oil contents are constitutively expressed independent of oil contents: Size and shape of intracellular oilbodies are determined by the oleosins oils ratio. *Planta*, 1996, 199: 158–165