

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201309005

荆赞革, 裴徐梨, 唐征等. 青花菜 Ogu 不育胞质分子鉴定和序列分析[J]. 广西植物 2015, 35(2): 239–243

Jing ZG, Pei XL, Tang Z *et al.* Molecular identification of Ogu cytoplasmic male sterile and sequence analysis in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) [J]. *Guihaia* 2015, 35(2): 239–243

## 青花菜 Ogu 不育胞质分子鉴定和序列分析

荆赞革<sup>1</sup>, 裴徐梨<sup>2</sup>, 唐征<sup>1\*</sup>, 刘庆<sup>1</sup>, 张小玲<sup>1</sup>, 罗天宽<sup>1</sup>, 朱世杨<sup>1</sup>

(1. 浙南作物育种重点实验室, 温州科技职业学院, 浙江温州 325006; 2. 作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

**摘要:** 雄性不育是农作物利用杂种优势、进行轮回选择和群体改良的重要手段, 在农作物生产中具有巨大的利用价值。该研究为了鉴定青花菜细胞质雄性不育材料的不育胞质类型, 以期今后为青花菜种质资源的收集、利用及分子标记辅助育种提供新的不育标记。根据 GenBank 中 *orf138* 基因保守序列设计特异引物, 对 20 个青花菜种质资源基因组 DNA 进行 PCR 扩增。结果表明: 特异引物 P1/P2 在 12 个青花菜雄性不育基因型中均扩增出 392 bp 的片段, 在 8 个可育基因型中未扩增出条带, 与田间育性鉴定结果相符。获得青花菜 Ogu 胞质雄性不育的特异基因 *orf138* 序列, GenBank 中的登录号为 HQ149728; 用 Blastn 在 GenBank 中进行同源性比对分析, 发现 12 个不育材料的特异片段与已报道的萝卜 Ogu CMS 所具有的 Ogu *orf138* 基因 (Genbank 登录号: Z18896.1) 同源度高达 100%。序列同源比对发现 *orf138* 基因存在变异位点。研究结果可为青花菜雄性不育胞质的分子鉴定、进一步阐明胞质雄性不育败育机理, 以及指导青花菜新型不育系的创建和杂种优势高效利用提供理论依据。

关键词: 青花菜; 细胞质雄性不育; 分子鉴定; 序列分析

中图分类号: Q943.1; S65 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2015)02-0239-05

## Molecular identification of Ogu cytoplasmic male sterile and sequence analysis in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*)

JING Zan-Ge<sup>1</sup>, PEI Xu-Li<sup>2</sup>, TANG Zheng<sup>1\*</sup>, LIU Qing<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-Ling<sup>1</sup>, LUO Tian-Kuan<sup>1</sup>, ZHU Shi-Yang<sup>1</sup>

(1. Zhenan Key Laboratory of Crop Breeding, Wenzhou Vocational College of Science and Technology, Wenzhou 325006, China; 2. State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210059, China)

**Abstract:** Cytoplasmic male sterility (CMS) is an important tool for heterosis utilization, recurrent selection and population improvement in crops, and has great utility value in crop production. In order to identify the cytoplasmic male sterile (CMS) types and obtain the sterility-related sequences in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) to provide a new Ogu marker and reference for broccoli germplasm collection, utilization and molecular marker assisted selection, specific primers P1/P2 were designed to amplify twenty broccoli germplasm genomic DNA according to the conserved sequences of *orf138* gene. A 392 bp specific fragment was detected in twelve infertile broccoli genotypes by PCR amplification,

收稿日期: 2014-02-16 修回日期: 2014-05-09

基金项目: 浙江省自然科学基金(LY12C15009); 浙江省农业新品种选育重大科技专项(2012C12903-3-3); 浙江省重大科技项目(2010C12004); 温州科技局项目(N20090016)。

作者简介: 荆赞革(1983-)男, 河南人, 硕士, 助理研究员, 研究方向为蔬菜遗传育种与生物技术, (E-mail) jingzange@aliyun.com。

\*通讯作者: 唐征, 副教授, 主要从事蔬菜遗传育种与生物技术, (E-mail) tzeng05@163.com。

eight fertile genotypes with no band harmonized with morphology in field. The sequencing and comparison showed the sequence (Genbank accession code:HQ149728) as high as 100% homologous to the reported *orf138* (Genbank accession code:Z18896.1) in radish. Sequence homology comparison detected *orf138* gene contained some variation sites. In this study the molecular identification of broccoli CMS was helpful to further elucidate the mechanism of CMS abortion to guide creation new CMS lines and to provide a theoretical basis for heterosis efficient utilization.

**Key words:** broccoli; CMS; molecular identification; sequence analysis

十字花科有较强的杂种优势,生产上应用的品种大多是一代杂种。由于采用人工剥蕾杂交和利用自交不亲和性生产一代杂种种子,存在成本高、种子质量不稳定等缺点,为此国内外蔬菜育种工作者都在积极开展雄性不育材料的研究。我国自 70 年代就开始进行十字花科蔬菜雄性不育系的选育研究,主要是对大白菜(施展等 2012)、萝卜(陈黎明等, 2009)、甘蓝(陈烨丽等 2009)等不育系进行了深入研究,已配制出很多强优势组合在生产上进行大面积推广,很好地推动了蔬菜产业的发展。

植物细胞质雄性不育具有转育方便、不育性易于保持等优点,在杂种优势利用中应用广泛。目前已发现和培育出多种细胞质雄性不育类型(王巍敏等 2008)。传统的恢保关系基于不育表型性状为判定依据来判断是否为不育胞质,鉴定周期长,劳力且不育类型难以明确,具有一定的局限性,一定程度上限制了不育系的应用。利用分子标记技术进行不育胞质类型鉴定省时省力且快速准确,可以快速准确地鉴定不育类型(程计华 2007)。细胞质雄性不育的不育基因主要分布在线粒体基因组中,前人已开展了大量工作对细胞质雄性不育基因进行了鉴定,如在十字花科蔬菜作物大白菜(张德双等, 2007)、不结球白菜(陈龙正等, 2010)、菜薹(周国林 2011)和花椰菜(王春国等 2006)、甘蓝(李建斌等 2009)等已有利用各种分子标记技术研究细胞质雄性不育基因的报道,但在青花菜上的研究却相对较少(朱玉英等 2006)。本研究采用 Ogu 不育胞质特异引物对青花菜细胞质雄性不育材料进行分子鉴定,对于明确不育类型,阐明胞质雄性不育败育机理、指导青花菜新型不育系的创建和杂种优势高效利用提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料和育性鉴定

以本研究所保存的 20 份青花菜种质资源为材料,种植于温州科技职业学院试验田,常规田间管理。

每个材料选用 10 个盛花期单株,选择初开放的花进行育性鉴定。供试材料编号及相关信息见表 1。

表 1 供试所用青花菜种质资源  
Table 1 Broccoli *Brassica oleracea* var. *italica* accessions used in this study

| 编号<br>Code | 名称<br>Accession                            | 熟性 (d)<br>Maturity | 来源<br>Origin  | 育性<br>Fertility   |
|------------|--------------------------------------------|--------------------|---------------|-------------------|
| 1          | 哈木<br>Hamu                                 | 65 ~ 70            | 日本<br>Japan   | 可育<br>Fertility   |
| 2          | 绿玉<br>Lüyu                                 | 90                 | 中国<br>China   | 不育<br>Infertility |
| 3          | 美秀 F <sub>1</sub><br>Meixiu F <sub>1</sub> | 65                 | 台湾<br>Taiwan  | 不育<br>Infertility |
| 4          | 绿玉<br>Lüyu                                 | 80                 | 中国<br>China   | 可育<br>Fertility   |
| 5          | 皇冠<br>Huaguan                              | 80                 | 中国<br>China   | 可育<br>Fertility   |
| 6          | 蒙特绿<br>Mantuoli                            | 60                 | 荷兰<br>Holland | 可育<br>Fertility   |
| 7          | 珠绿<br>Zhulü                                | 60                 | 日本<br>Japan   | 可育<br>Fertility   |
| 8          | 玉冠<br>Yuguan                               | 65                 | 日本<br>Japan   | 可育<br>Fertility   |
| 9          | 蒙特瑞<br>Mengterui                           | 50                 | 荷兰<br>Holland | 可育<br>Fertility   |
| 10         | 优秀<br>Youxiu                               | 90 ~ 95            | 日本<br>Japan   | 不育<br>Infertility |
| 11         | 竞秀<br>Jingxiu                              | 90 ~ 95            | 韩国<br>Korea   | 不育<br>Infertility |
| 12         | 美好 F <sub>1</sub><br>Meihao F <sub>1</sub> | 65 ~ 70            | 台湾<br>Taiwan  | 不育<br>Infertility |
| 13         | 绿珍 F <sub>1</sub><br>Lüzhen F <sub>1</sub> | 80                 | 台湾<br>Taiwan  | 不育<br>Infertility |
| 14         | 绿贝<br>Lübei                                | 70                 | 墨西哥<br>Mexico | 不育<br>Infertility |
| 15         | 奇丽<br>Qili                                 | 85 ~ 90            | 中国<br>China   | 可育<br>Fertility   |
| 16         | 绿鑫<br>Lüxin                                | 70 ~ 75            | 日本<br>Japan   | 不育<br>Infertility |
| 17         | 高拱王<br>Gaogongwang                         | 85 ~ 90            | 日本<br>Japan   | 不育<br>Infertility |
| 18         | 蓝带<br>Landai                               | 60                 | 日本<br>Japan   | 不育<br>Infertility |
| 19         | 玉皇<br>Yuhuang                              | 68                 | 日本<br>Japan   | 可育<br>Fertility   |
| 20         | 蓝帝<br>Landi                                | 90 ~ 95            | 日本<br>Japan   | 不育<br>Infertility |

### 1.2 基因组 DNA 提取

以青花菜幼嫩叶片为材料,采用改良 CTAB 法

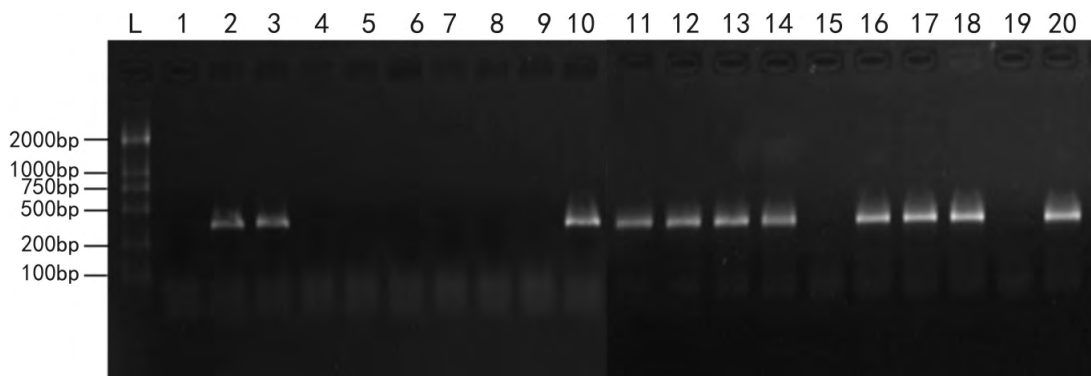


图 1 特异引物 P1/P2 扩增结果 1-20 同表 1; L. DL2000 分子标记。

Fig. 1 Electrophoresis profile of PCR products with P1/P2 primer combination  
1-20 correspond to the code in Table 1; L. DL2000 marker.

提取基因组 DNA(荆赞革等 2010), 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测提取质量后, 稀释成浓度为  $20 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  的工作液, 低温冰箱保存备用。

### 1.3 特异引物设计

根据萝卜 *Ogura* 细胞质雄性不育相关的 *orf138* 基因开放阅读框保守区序列, 使用 Primer 3.0 软件设计特异引物 P1 (5'-TTGTCCACTTTTGTTCATA-ATCTCA-3') 和 P2 (5'-TTTCTCGGT CCATTTTCCAC-3')。引物由上海华大基因有限公司合成。

### 1.4 特异引物 PCR 扩增和电泳检测

采用特异引物 P1/P2, 对所选材料进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为  $16 \mu\text{L}$ , 含样品基因组 DNA  $15 \sim 20 \text{ ng}$ , 引物各  $0.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , dNTPs  $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$   $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , Taq 聚合酶  $0.65 \text{ U}$ 。反应程序为  $94 \text{ }^\circ\text{C}$  预变性  $5 \text{ min}$ ,  $94 \text{ }^\circ\text{C}$   $40 \text{ s}$ ,  $56 \text{ }^\circ\text{C}$   $50 \text{ s}$ ,  $72 \text{ }^\circ\text{C}$   $60 \text{ s}$ , 35 个循环,  $72 \text{ }^\circ\text{C}$  延伸  $10 \text{ min}$ ,  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  保存。电泳检测: PCR 反应液混入 1/4 体积 2% 溴酚蓝, 进行琼脂糖凝胶电泳, EB 染色, 凝胶成像仪上进行观察并拍照分析。

### 1.5 特异条带回收并测序

目的片段回收按照宝生物工程(大连)有限公司的 Agarose Gel DNA Purification Kit Ver. 2.0 试剂盒的使用说明进行。回收产物纯化后, 进行 TA 克隆。DNA 测序由上海华大基因有限公司完成。

### 1.6 序列生物信息学分析

采用 DNASTAR 软件对特异 DNA 片段片段的测序结果进行分析。同源性比对使用 BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) 程序进行。使用 DNAMAN 对数据库中部分 *orf138* 基因序列进行

相似性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 特异引物 PCR 扩增

特异引物 P1/P2 对 20 份青花菜种质资源进行扩增(图 1)。从图 1 可以看出, *orf138* 特异引物 PCR 扩增产物在供试材料间存在差异。优秀、竞秀等 11 份不育种质中可扩增出  $392 \text{ bp}$  左右的条带, 且大小相同; 而其余 9 份可育材料中无扩增产物。分子检测结果于田间育性鉴定结果相符。

### 2.2 序列分析

使用 DNASTAR 软件对回收片段的测序结果进行分析, 结果显示特异片段的核苷酸序列长度均为  $392 \text{ bp}$ (图 2)。该序列中 A、T、C 和 G 的数目分别为 156 个、94 个、47 个和 95 个,  $A + T = 63.78\%$ ,  $G + C = 36.22\%$ 。该序列已提交 Genbank, 登录号为 HQ149728。

测序结果在 NCBI 中使用 Blastn 在线程序进行同源性比对, 结果表明与萝卜 *Ogu orf138* 基因同源性高达 100%, E 值为 0(图 2)。与青花菜 *Ogura* 细胞质雄性不育系线粒体基因同源性达到 99% (登录号: EU604643)。扩增结果与田间育性鉴定结果完全一致, 表明在本试验中 12 个青花菜不育材料均采用了 *Ogu* 胞质为不育源。

采用 DNAMAN 软件与 NCBI 数据库中登陆的部分萝卜 *orf138* 基因氨基酸序列进行相似比较, 发现所选序列间存在差异, 共检测到 5 个氨基酸突

```

Z18896.1 ATGATTACCTTTTCGAAAAATTGTCCACTTTTTGTCATAATCTCACTCCTACTGAATGTAAAGTTAGTG
HQ149728 .....TTGTCCACTTTTTGTCATAATCTCACTCCTACTGAATGTAAAGTTAGTG
CONSENSUS TTGTCCACTTTTTGTCATAATCTCACTCCTACTGAATGTAAAGTTAGTG
Z18896.1 TAATAAGTTTCTTTCTTTTAGCTTTTTACTAATGGCCCATATTTGGCTAAGCTGGTTTTCTAACAACCA
HQ149728 TAATAAGTTTCTTTCTTTTAGCTTTTTACTAATGGCCCATATTTGGCTAAGCTGGTTTTCTAACAACCA
CONSENSUS TAATAAGTTTCTTTCTTTTAGCTTTTTACTAATGGCCCATATTTGGCTAAGCTGGTTTTCTAACAACCA
Z18896.1 ACATTGTTTACGAACCATGAGACATCTAGAGAAGTAAAAATCCATATGAATTCAGTATGGGTGGCTA
HQ149728 ACATTGTTTACGAACCATGAGACATCTAGAGAAGTAAAAATCCATATGAATTCAGTATGGGTGGCTA
CONSENSUS ACATTGTTTACGAACCATGAGACATCTAGAGAAGTAAAAATCCATATGAATTCAGTATGGGTGGCTA
Z18896.1 GGTGTCAAAATTACAATAAAATCAAAATGTACCTAACGATGAAGTGACGAAAAAAGTCTCACCTATCATT
HQ149728 GGTGTCAAAATTACAATAAAATCAAAATGTACCTAACGATGAAGTGACGAAAAAAGTCTCACCTATCATT
CONSENSUS GGTGTCAAAATTACAATAAAATCAAAATGTACCTAACGATGAAGTGACGAAAAAAGTCTCACCTATCATT
Z18896.1 AAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAA
HQ149728 AAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAA
CONSENSUS AAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAA
Z18896.1 AGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGGTGGAAAAATGGACCGAGAAAATAA
HQ149728 AGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGGTGGAAAAATGGACCGAGAAA...
CONSENSUS AGAGGGGAAAGGGGAAATAGAGGGGAAAGAGGAAAAAAGAGGTGGAAAAATGGACCGAGAAA

```

图2 青花菜、萝卜 *orf138* 基因核苷酸序列同源性比较 (Genbank 登录号:Z18896.1)

Fig. 2 Homologous comparison on sequence of *orf138* gene nucleotide in broccoli and radish (Genbank accession code:Z18896.1)

变位点和 1 个 13 个氨基酸长度的缺失(图 3)。

### 3 讨论与结论

细胞质雄性不育广泛存在于高等植物中,由线粒体 DNA 的变异,如线粒体 DNA 重组而改变表达模式以及不充分的或偏离的 RNA 编辑等,引起不育。目前已鉴定和分离出一些与 CMS 相关的线粒体基因,如 Ogu CMS 的 *orf138* 基因、Pol CMS 的 *orf224* 基因、Nap CMS 的 *orf222* 基因以及芥菜 CMS 的 *orf220* 基因等。

Ogura 不育是由线粒体基因 *orf138* 引起的 (Krishnasamy *et al.*, 1993; Yamagishi *et al.*, 2001), 该基因编码一个约 16 kD 的线粒体膜蛋白。在核恢复基因存在时,恢复基因对其进行调控,恢复育性 (Grelon *et al.*, 1994)。十字花科线粒体基因变异水平较低 (Hiesel *et al.*, 1994), *orf138* 编码区在线粒体中是比较保守的区域,本试验测序结果表明 11 份 Ogura 胞质材料在基因编码区未存在差异。同 NCBI 数据库已登录的基因序列进行比对,发现编码区碱基存在突变,且这些变异没有改变雄性不育的表型性状。通过点突变,改变不育基因和蛋白序列,进一步研究其关键作用位点。

青花菜 CMS 主要是由原生质体融合 (Yarrow *et al.*, 1990) 或远缘杂交获得。将 Ogu 胞质转育到青花菜中,得到 Ogu 细胞质雄性不育系,且易于转育成不同熟性、不同品质的不育系,成为目前应用最为广泛的青花菜不育源,在优势育种上应用广泛。

本研究针对 *orf138* 基因设计特异引物,对青花菜不育类型进行鉴定,结果显示所选用的不育材料均选用了 Ogu 不育胞质。研究成果为鉴定青花菜 Ogu 不育胞质提供了简便、快速、可信的方法,利用分子标记辅助育种技术加速雄性不育系的选育,有助于我国青花菜杂交优势育种的发展。

#### 参考文献:

- Chen LM (陈黎明), Liu LW (柳李旺), Jin P (晋萍) *et al.* 2009. Cytological and molecular identification of cytoplasm in two male sterile lines in radish (两个萝卜雄性不育材料胞质的细胞学与分子鉴定) [J]. *Mol Plant Breed* (分子植物育种) 7(4):757-762
- Chen LZ (陈龙正), Xue F (薛峰), Shan QW (单奇伟) *et al.* 2010. Characterization of flower organ and molecular identification of cytoplasmic male sterility line 90-2 in *Brassica campestris* sp. *chinensis* (不结球白菜胞质雄性不育新材料 90-2 花器特点及分子鉴定) [J]. *Jiangsu J Agric Sci* (江苏农业学报) 26(4):882-884
- Chen YL (陈烨雨), Chen XH (陈学好), Chen JX (陈锦秀) *et al.* 2009. Molecular identification of cytoplasmic male sterile types in cabbage (甘蓝细胞质雄性不育类型的分子鉴定) [J]. *Acta Agric Shanghai* (上海农业学报) 25(3):19-22



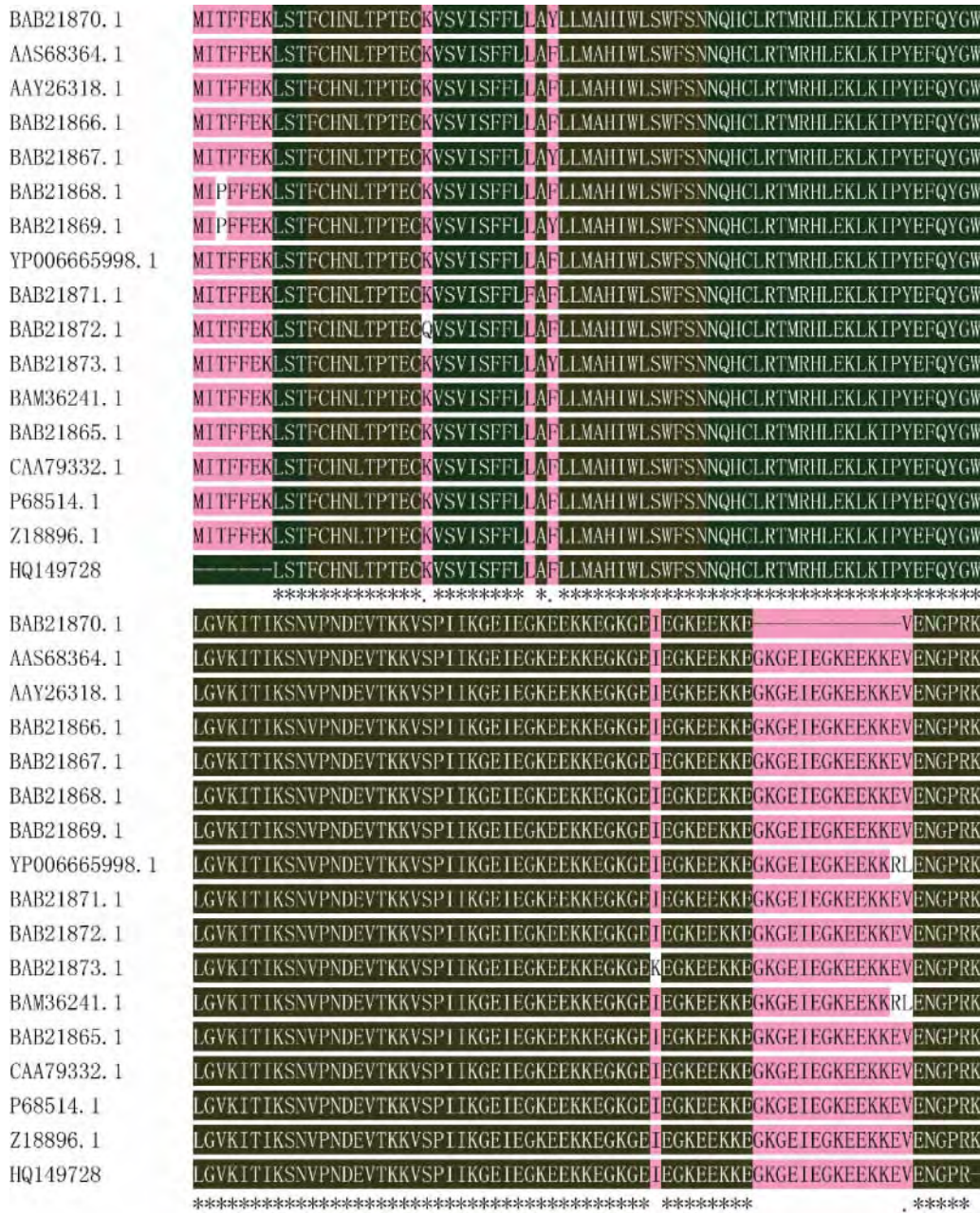


图 3 青花菜、萝卜 *orf138* 基因氨基酸序列同源性比较

Fig. 3 Homologous comparison on sequence of *orf138* gene amino acid among broccoli and radish

Grelon M ,Budar F ,Bonhomme S *et al.* 1994. Ogura cytoplasmic male-sterility (CMS)-associated *orf138* is translated into a mitochondrial membrane polypeptide in male-sterile *Brassica* hybrids [J]. *Mol Gen Genet* **243**(5):540 – 547

Hiesel R ,Haeseler AV ,Brennicke A. 1994. Plant mitochondrial nucleic acid sequences as a tool for phylogenetic analysis [J]. *Proc Natl Acad Sci* **91**(2):634 – 638

Jing ZG(荆赞革) ,Tang Z(唐征) ,Luo TK(罗天宽) *et al.* 2010. The transferability of SSR from cabbage to broccoli and its application(甘蓝 SSR 标记在近缘种青花菜的通用性及其应用) [J]. *Genom App Biol(基因组学与应用生物学)* **29**(4):685 – 690

Krishnasamy S ,Makaroff CA. 1993. Characterization of the radish

mitochondrial *orfB* locus possible relationship with male sterility in *Ogura radish* [J]. *Curr Genet* **24**(1 – 2):156 – 163

Li JB(李建斌) ,Zhang HJ(张海娟) ,Yu XL(余小林) *et al.* 2009. Molecular identification of the cytoplasmic male sterile (CMS) type in common head cabbage(结球甘蓝细胞质雄性不育(CMS)类型的分子鉴定) [J]. *Mol Plant Breed(分子植物育种)* **7**(6):149 – 153

Shi Z(施展) ,Fang ZJ(万正杰) ,Xu YJ(徐跃进) *et al.* 2012. Characterization of the Chinese cabbage hau cytoplasmic male-sterile Line and sequence analysis of the fertility-related gene(大白菜 hau 胞质雄性不育系的鉴定及不育相关基因结构分析) (下转第 294 页 Continue on page 294 )

- Kong F ,Deng Y ,Wang G *et al.* 2014a. LeCDJ1 a chloroplast DnaJ protein facilitates heat tolerance in transgenic tomatoes [J]. *J Integr Plant Biol* **56**(1):63-74
- Kong F ,Deng Y ,Zhou B *et al.* 2014b. A chloroplast-targeted DnaJ protein contributes to maintenance of photosystem II under chilling stress [J]. *J Exp Bot* **65**(1):143-158
- Koramutla M ,Kaur A ,Negi M ,*et al.* 2014. Elicitation of jasmonate-mediated host defense in *Brassica juncea* (L.) attenuates population growth of mustard aphid *Lipaphis erysimi* (kalt.) [J]. *Planta* **240**(1):177-194
- Lewis S ,Donkin ME ,Depledge MH. 2001. Hsp70 expression in *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) exposed to environmental stressors [J]. *Aquat Toxicol* **51**(3):277-291
- Lewis S ,Handy RD ,Cordi B *et al.* 1999. Stress proteins (HSPs): Methods of detection and their use as an environmental biomarker [J]. *Ecotoxicology* **8**(5):351-368
- Liang Y (梁英) ,Wang S (王帅) ,Feng LX (冯力霞) *et al.* 2008. Effects of heavy metal stress on the growth and chlorophyll fluorescence of *Chaetoceros gracilis* (重金属胁迫对纤角毛藻生长及叶绿素荧光特性的影响) [J]. *Period Ocean Univ Chin* (中国海洋大学学报) **38**(1):59-67
- Liu QQ (刘清泉) ,Chen YH (陈亚华) ,Shen ZG (沈振国) *et al.* 2014. Roles of cell wall in plant heavy metal tolerance (细胞壁在植物重金属耐受中的作用) [J]. *J Plant Physiol* (植物生理学报) **50**(5):605-611
- Ma JF ,Zheng SJ ,Matsumoto H *et al.* 1997. Detoxifying aluminium with buckwheat [J]. *Nature* **390**(6660):569-570
- Mishra A ,Choudhuri MA. 1999. Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice [J]. *Biol Plant* **42**(3):409-415
- Morimoto RI. 1993. Cell in stress: Transcription activation of heat shock proteins [J]. *Science* **259**:1409-1410
- Nilima K ,Arunabha C ,Pranab KB *et al.* 2014. Response of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) seedlings under moisture and heavy metal stress with special reference to antioxidant system [J]. *Afr J Biotechnol* **13**(3):434-440
- Rajan VBV ,D' Silva P. 2009. *Arabidopsis thaliana* J-class heat shock proteins: cellular stress sensors [J]. *Funct Inte Genomic* **9**(4):433-446
- Van Assche F ,Clijsters H. 1990. Effects of metals on enzyme activity in plants [J]. *Plant Cell Environ* **13**(3):195-206
- Venkatachalam P ,Srivastava AK ,Raghothama KG ,*et al.* 2009. Genes induced in response to mercury-ion-exposure in heavy metal hyperaccumulator *Sesbania drummondii* [J]. *Environ Sci Technol* **43**(3):843-850
- Wang G ,Cai G ,Kong F ,*et al.* 2014. Overexpression of tomato chloroplast-targeted DnaJ protein enhances tolerance to drought stress and resistance to *Pseudomonas solanacearum* in transgenic tobacco [J]. *Plant Physiol Biochem* **82**(0):95-104
- Wang X ,Jia N ,Zhao C *et al.* 2014. Knockout of AtDjB1 a J-domain protein from *Arabidopsis thaliana* alters plant responses to osmotic stress and abscisic acid [J]. *Physiol Plant* **152**(2):286-300
- Wei JL (韦江玲) ,Pan LH (潘良浩) ,Chen YS (陈元松) *et al.* 2014. Physiological and ecological characteristics of *Cyperus malaccensis* to Cr<sup>6+</sup> stress (重金属 Cr<sup>6+</sup> 胁迫对荻草生理生态特征的影响) [J]. *Guihaia* (广西植物) **34**(1):89-94
- Yang Y ,Qin Y ,Xie C *et al.* 2010. The *Arabidopsis* chaperone J3 regulates the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase through interaction with the PKS5 kinase [J]. *Plant Cell* **22**(4):1313-1332
- Yan Y (闫研) ,Li JP (李建平) ,Zhao ZG (赵志国) *et al.* 2008. Advances in the mechanisms of heavy metal tolerance and accumulation in hyperaccumulators (超富集植物对重金属耐受和富集机制的研究进展) [J]. *Guihaia* (广西植物) **28**(4):505-510
- Yang DH (杨丹慧). 1991. The effects of heavy metal on the structure and function of photosynthetic membrane in higher plants (重金属离子对高等植物光合膜结构与功能的影响) [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报) **8**(8):26-29
- Zhang FQ ,Wang YS ,Lou ZP ,*et al.* 2007. Effect of heavy metal stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of two mangrove plant seedlings (*Kandelia candel* and *Bruguiera gymnorrhiza*) [J]. *Chemosphere* **67**(1):44-50
- Zhen Y ,Qi JL ,Wang SS *et al.* 2007. Comparative proteome analysis of differentially expressed proteins induced by Al toxicity in soybean [J]. *Physiol Plant* **131**(4):542-554
- Zhu JK ,Shi J ,Bressan RA ,*et al.* 1993. Expression of an *Atriplex nummularia* gene encoding a protein homologous to the bacterial molecular chaperone DnaJ [J]. *Plant Cell* **5**(3):341-349

( 上接第 235 页 Continue from page 235 )

- [J]. *Acta Hortic Sin* (园艺学报) **39**(3):469-476
- Wang CG (王春国) ,Li H (李慧) ,Song WQ (宋文芹). 2006. Identification and analysis of the specific molecular marker associated with fertile maintenance of cytoplasmic male sterility cauliflower (细胞质雄性不育花椰菜保持系特异分子标记的鉴定及序列分析) [J]. *J Mol Cell Biol* (分子细胞生物学报) **39**(3):236-242
- Wang WM (王巍敏) ,Li YC (李云昌) ,Hu Q (胡琼) *et al.* 2008. Regulation mechanism studies of cytoplasmic male sterility in plants (植物细胞质雄性不育基因的鉴定及育性调控机理) [J]. *Mol Plant Breed* (分子植物育种) **6**(6):1139-1145
- Yamagishi H ,Terachi T. 2001. Intra- and inter-specific variations in the mitochondrial gene *orf138* of Ogura-type male-sterile cytoplasm from *Raphanus sativus* and *R. raphanistrum* [J]. *Theor Appl Genet* **103**(5):725-732
- Zhang DS (张德双) ,Zhang FL (张凤兰) ,Wang YJ (王永健) *et al.* 2007. Molecular identification and sequence analysis of cytoplasmic male-sterile types in Chinese cabbage (大白菜细胞质雄性不育的分子鉴定及序列分析) [J]. *Acta Hortic Boreal-Sin* (华北农学报) **22**(6):53-59
- Zhou GL (周国林) ,Lin CF (林处发) ,Hu ZH (胡侦华) ,*et al.* 2011. Molecular identification of cytoplasmic male sterile types non-heading Chinese cabbage and Chinese flowering cabbage (小白菜和菜薹细胞质雄性不育类型的分子鉴定) [J]. *J Changjiang Veget* (长江蔬菜) ,(4):21-24
- Zhu YY (朱玉英) ,Yang XF (杨晓锋) ,Hou RX (侯瑞贤) *et al.* 2006. Extraction and RAPD analysis of mitochondrial DNA of cytoplasmic male sterile (CMS) line in broccoli (青花菜细胞质雄性不育系线粒体 DNA 的提取与 RAPD 分析) [J]. *J Wuhan Bot Res* (武汉植物学研究) **24**(6):505-508