

洋葱大葱种间杂种鉴定方法建立与应用

田保华^{1,2}, 梁毅², 陈丽^{2,3}, 王永勤², 裴雁曦¹

(¹山西大学生命科学学院, 太原 030006; ²北京市农林科学院蔬菜研究中心, 北京 100097; ³华中农业大学园艺林学学院, 武汉 430070)

摘要:以洋葱、大葱及其杂种 F_1 为材料, 利用 PCR-RFLP 技术对其核糖体 DNA 内部转录间隔区 (ITS) 和细胞质线粒体 DNA 的 srRNA 基因 V7 进行分析, 试图建立洋葱大葱种间杂种的鉴定方法。结果显示: 大葱 ITS 序列没有 *Dde* I 酶切位点; 而洋葱被 *Dde* I 酶切成两个大小不同的片段; F_1 杂种具有两亲本的 ITS 序列酶切模式。细胞质线粒体 srRNA 基因的 V7 区域的扩增表明 F_1 杂种和亲本有大小一致的单一片段, 经 *Rsa* I 酶切后, 大葱有约 0.3kb 条带, 比洋葱的稍小, 两亲本都含有另外一条小条带 (约 0.1kb)。对 25 份杂种材料进行鉴定, 22 份的母本为大葱, 3 份为假杂种。本研究在分子水平上建立了洋葱大葱种间杂种的鉴定方法, 快速、准确地辨别杂种一代的真假性。

关键词: 洋葱; 大葱; 种间杂种; nrDNA ITS 序列; mtDNA

Establishment and Applications of Identification Interspecific Hybrids between Onion and Welsh Onion

TIAN Bao-hua^{1,2}, LIANG Yi², CHEN Li^{2,3}, WANG Yong-qin², PEI Yan-xi¹

(¹School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006;

²Beijing Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097;

³College of Horticulture Forestry & Sciences, Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070)

Abstract: Onion, Welsh Onion, and their F_1 progenies were applied to establish a method for interspecific hybrids identification by using PCR-RFLP. The results showed that rDNA internal transcription spacers (ITS) of Onion could be digested into two restriction fragments with endonuclease *Dde* I, while no *Dde* I restriction site was found in Welsh onion. Welsh onion hold a restriction fragment of approximately 0.3kb after the PCR products of V7 region of mitochondria srRNA was digested with *Rsa* I, which was slightly shorter than that of onion. Of the 25 F_1 hybrids analyzed in this paper, 22 were true F_1 , while the other three ones were false hybrids. The present research established a easy and accurate method for interspecific hybrids identification between Onion and Welsh onion.

Key words: Onion; Welsh Onion; Interspecific hybrid; nrDNA ITS; mtDNA

洋葱 (*Allium cepa* L.) 和大葱 (*Allium fistulosum* L.) 为具有经济价值的可食用葱属植物, 被广泛种植和消费^[1]。然而在洋葱、大葱生产中存在诸多问题, 如病虫害严重, 抗旱、抗涝、抗风、抗倒伏性、耐热等多抗品种及晚抽薹等不同生态类型品种均较少, 雄性不育资源单一, 这给洋葱、大葱安全生产带来较大的风险^[2]。因此, 进行种质资源的创新具有重要

意义。

远缘杂交是导入异源优良性状, 培育高产、优质、抗病虫和抗逆优良作物品种的有效途径之一。洋葱具有碳水化合物、钙、类黄酮含量高为优良特性^[3], 大葱可抗洋葱黑粉病、粉根病、蓟马、洋葱灰霉病、炭疽病、洋葱黄矮病毒和洋葱蝇^[4-7], 本研究通过对洋葱和大葱进行远缘杂交, 利用子房培养技

收稿日期: 2010-08-27 修回日期: 2011-04-21

基金项目: 国家自然科学基金 (31071794); 国家公益性行业科技 (20093018); 北京市常规育种财政专项 (2009-509); 农业部“948”项目 (2011-Z61)

作者简介: 田保华, 硕士研究生, 主要从事植物分子遗传学研究。E-mail: tbh_3893765@163.com

通讯作者: 王永勤, 博士, 副研究员, 主要从事蔬菜遗传育种研究。E-mail: wyqty@sohu.com

裴雁曦, 博士, 教授, 主要从事植物分子遗传学研究。E-mail: peiyanxi@sxu.edu.cn

术获得 F_1 植株,其表现出明显的杂种优势,且雄性不育^[3]。如何快速鉴定 F_1 植株是否为真正的杂种,对缩短育种周期、提高育种效率具有重要意义。

目前,鉴定种间杂种的方法一般有形态学鉴定、细胞学鉴定、生化学鉴定、分子鉴定等,其中,原位杂交技术在洋葱和大葱种间杂种^[8-9]、芸薹属杂种^[10]、烟草属杂种^[11]、海扇贝杂种^[12]等方面已有报道,但以上方法不能快速、简便地判定杂种 F_1 植株。而 PCR-RFLP 技术,由于其简单易行、周期短、成本低等优点,近些年在实际应用中被广泛采用。本研究在 DNA 水平上,由于 rDNA 内部转录间隔区 ITS(internal transcribed spacer)序列可同时提供父母本的遗传信息,进而可用来鉴定洋葱和大葱的杂种一代。Wang 等^[12]应用 PCR-RFLP 技术对海扇贝杂种的 ITS 序列分析来鉴定杂种与两亲本间关系;同时也用 PCR-RFLP 技术对杂种单株细胞质中线粒体(mtDNA)srRNA V7 区域进行分析。Yamashita 等^[13]成功构建了实蕻葱和分蘖洋葱之间的种间杂种,经 PCR-RFLP 分析得出杂交群体的线粒体 DNA 和实蕻葱一致。Yamashita 等^[14]利用实蕻葱和大葱远缘杂交, F_1 植株的形态特征和开花时间介于双亲之间,经 PCR-RFLP 检测线粒体 DNA 全部来自于实蕻葱。

本文拟从细胞核和细胞质两个方向快速、简便地鉴定出洋葱与大葱种间杂种,为今后杂种鉴定提供可行的检测方法。

1 材料与方 法

1.1 材料

供试材料为洋葱 335、大葱 0806 及其正反交的 F_1 杂种,2009 年 3 月种植于北京市农林科学院蔬菜研究中心试验地,出苗后采取新鲜嫩叶作为试材。

CTAB、Tris、饱和酚、氯仿、异戊醇、异丙醇、无水乙醇等均购自北京欣经科生物技术有限公司;Taq 酶、dNTPs 购自 TaKaRa 公司;限制性内切酶 *RsaI*、*DdeI* 购自 NEB 公司。

1.2 引物序列

用于扩增目的片段的引物序列见表 1,均由上海生工生物工程技术有限公司(Sangon)合成。

1.3 基因组 DNA 的提取

采用改良的 CTAB 法^[3]进行试材基因组 DNA 的提取,利用分光光度计及琼脂糖凝胶电泳法进行 DNA 浓度和纯度检测。

表 1 用于 PCR 扩增的目的片段特异性引物

Table 1 Primers of the fragment for PCR

引物名称 Primer name	引物序列 Primer Sequence	参考文献 Reference
Its4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'	[15]
Its5	5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'	[15]
mtV7p1	5'-TATGAACAACAAAACCTGTCTTTA- ACGGGATGC-3'	[16]
mtV7p2	5'-CGGGACTTGACGTCATCCCCACCT- TCCTCCAG-3'	[16]

1.4 洋葱、大葱及其杂种的 nrDNA ITS 分析

在两亲本核基因组之间,用细胞核 rDNA 的 ITS 区辨别其可变性;根据 White 等^[15]设计的 ITS 引物(表 1)进行 PCR 反应,反应体系为:模板 DNA 2 μ l、10 \times PCR buffer (mg^{2+} Plus) 2.5 μ l、2.5 mM dNTPs 2.25 μ l、0.1 mmol/L 引物 2 μ l、1.25 U Taq DNA 聚合酶,加 ddH₂O 补足 25 μ l。PCR 反应条件按照 Buiteveld 等^[16]的方法进行。

酶切反应体系:10 μ l 扩增产物、1.5 μ l 10 \times buffer 和 *DdeI* (10 U/ μ l) 0.3 μ l,用 ddH₂O 补足至 15 μ l。37 $^{\circ}$ C 水浴 4 h,用 1.5% 琼脂糖凝胶进行电泳检测,凝胶成像仪获取酶切结果。

1.5 洋葱、大葱及其杂种线粒体 DNA 的 srRNA V7 区域分析

在两亲本细胞质的线粒体基因组之间,用 PCR 扩增出线粒体小核糖体亚基 RNA(srRNA)基因的 V7 区域,并结合限制性内切酶消化来检测其多态性。从洋葱 335 与栽培品种大葱 0806 及其杂种 F_1 分离出总 DNA,纯化的 DNA 被稀释 10 倍作为 PCR 模板,根据 Buiteveld 等^[17]扩增 srRNA 的 V7 区域的引物(表 1)进行 PCR 反应,反应体系:模板 DNA 2 μ l、10 \times PCR buffer (mg^{2+} Plus) 2.5 μ l、2.5 mM dNTPs 2.25 μ l、0.1 mmol/L 引物 2 μ l、1.25 U Taq DNA 聚合酶,加 ddH₂O 补足 25 μ l。反应条件:94 $^{\circ}$ C 预变性 5min;94 $^{\circ}$ C 变性 1min,68 $^{\circ}$ C 退火 1min,72 $^{\circ}$ C 延伸 1min,30 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min。

酶切反应体系:10 μ l 扩增产物、1.5 μ l 10 \times buffer 和 *RsaI* (10 U/ μ l) 0.3 μ l,用 ddH₂O 补足至 15 μ l。37 $^{\circ}$ C 水浴 4 h,用 1.5% 琼脂糖凝胶进行电泳检测,凝胶成像仪获取酶切结果。

2 结果与分析

2.1 洋葱、大葱及其 F_1 的细胞核鉴定

首先,在 1.5% 的琼脂糖凝胶图上可以看出,两

亲本大葱和洋葱及其杂种 F_1 扩增的 ITS 保守序列,结果显示相同大小(约 0.8kb)的单一一条带(图 1-A)。对其 PCR 扩增产物用限制性内切酶 *DdeI* 酶切以后,大葱酶切产物大小与原来相同,而洋葱 ITS 保守区域被 *DdeI* 酶酶切成 2 条大小不同的单一一条带,一条约为 0.6kb,另一条约为 0.2 kb。大葱和洋葱的杂种植株的核糖体 ITS 区域 PCR 产物被 *DdeI*

酶切为 3 条带,其中 1 条带与大葱相同,另 2 条与洋葱相同(图 1-B)。由此根据两亲本 ITS 保守区域酶切的差异片段可以判定大葱和洋葱染色体是否遗传到杂种 F_1 。用此方法对 4 份杂种 F_1 植株 ITS 保守区域进行扩增,随后用 *DdeI* 酶切,结果表明洋葱与大葱种间杂种 F_1 其细胞核基因组都含有两亲本的基因组(图 1-B)。

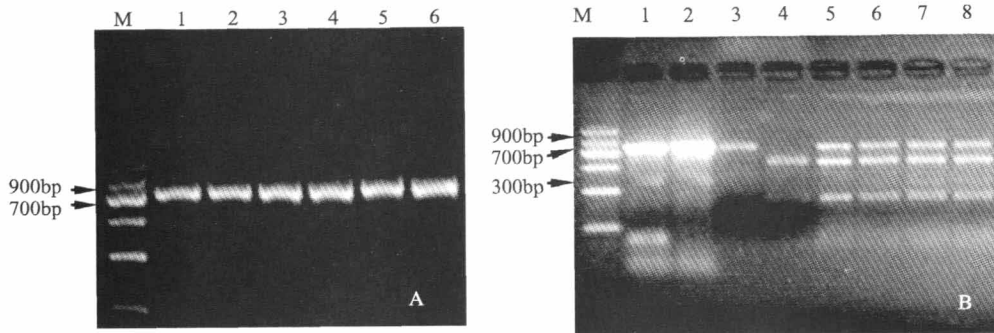


图 1 大葱、洋葱及其 F_1 的 ITS 鉴定

Fig.1 ITS identification of *A. fistulosum*, *A. cepa* and their F_1 hybrids

A 中 M:DNA Marker;1:大葱;2:洋葱;3-6:杂交品种 B 中 M:DNA Marker;1:大葱;2:洋葱;

3:大葱酶切产物;4:洋葱酶切产物;5-8:杂交品种酶切产物

A:M:DNA Marker;1:*A. fistulosum*;2:*A. cepa*;3-6:Hybrids B:M:DNA Marker;1:*A. fistulosum*;2:*A. cepa*;

3:Digestion products of *A. fistulosum*;4:Digestion products of *A. cepa*;

5-8:*DdeI* digestion results of Hybrids ITS PCR products

2.2 洋葱、大葱及其 F_1 的细胞质鉴定

首先,在 1.5% 的琼脂糖凝胶图上分析, F_1 杂种细胞质线粒体 srRNA 基因 V7 区域的扩增产生与两亲本质物种大小(约 0.5kb)相同的单一一条带(图 2-A)。PCR 产物用限制性内切酶 *RsaI* 酶切后,不同的酶切片模式可以用来区别大葱与洋葱之间的线粒体基因型,大葱亲本显示一条约 0.3kb 大小的条带,比洋葱的

条带稍小(0.32kb),且两物种都有另外一条小的片段,约 0.1kb(图 2-B)。根据两亲本质线粒体 srRNA 基因 V7 区域不同的酶切片模式结果,可以鉴定大葱和洋葱种间杂种的线粒体类型,从而判定其 F_1 杂种的母本。用这种方法对 4 份洋葱与大葱杂种 F_1 的线粒体 srRNA 基因 V7 区域的扩增,随后进行 *RsaI* 酶切,结果表明这 4 份杂种 F_1 的母本都是大葱(图 2-B)。

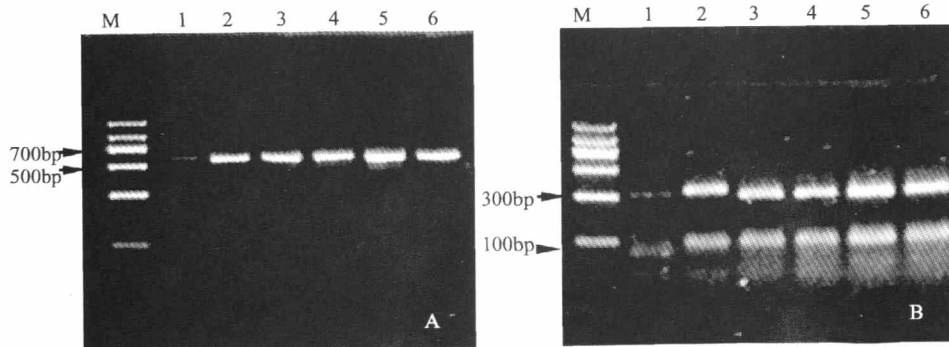


图 2 大葱、洋葱及其 F_1 的 mtDNA V7 鉴定

Fig.2 mtDNA V7 identification of *A. fistulosum*, *A. cepa* and their F_1 Hybrids

A 中 M:DNA Marker;1:大葱;2:洋葱;3-6:杂交品种 B 中 M:DNA Marker;

1:大葱酶切产物;2:洋葱酶切产物;3-6:杂交品种酶切产物

A:M:DNA Marker;1:*A. fistulosum*;2:*A. cepa*;3-6:Hybrids B:M:DNA Marker;

1:Digestion products of *A. fistulosum*;2:Digestion products of *A. cepa*;3-6:*RsaI* digestion results of Hybrids mtDNA V7 PCR products

2.3 洋葱与大葱种间杂种植株的检验

经过对两亲本与4份杂种F₁植株的细胞核与细胞质的鉴定,充分证明了此鉴定方法的可行性,从而得到准确的种间杂种遗传规律。因此,用上述方法对25份杂种F₁植株核糖体DNA的ITS保守区域进行扩增,随后用DdeI酶切,同时对细胞质线粒体DNA的V7区域进行扩增,而后用RsaI酶切的鉴定方法。结果表明3、6和10号的杂种F₁植株是假杂种,其余的杂种植株则融合了洋葱和大葱的核基因组(图3)。而另外15份杂种F₁植株的母本都是大葱(图4),为了鉴别它们是否存在假阳性,进而对15份杂种F₁植株的细胞核ITS保守区域进行鉴定,结果表明15份杂种都含有两亲本的核糖体

DNA,是真杂种(图5)。

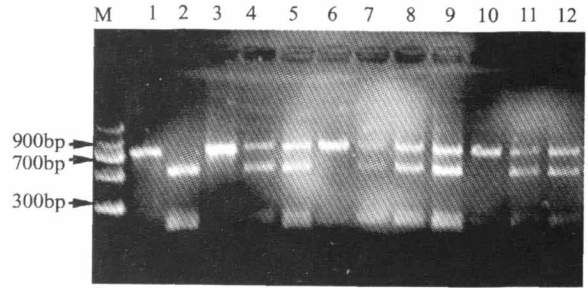


图3 ITS PCR产物DdeI酶切结果

Fig.3 DdeI digestion result of ITS PCR products

M: DNA Marker; 1:大葱; 2:洋葱; 3~12:杂交品种

M: DNA Marker; 1: *A. fistulosum*; 2: *A. cepa*; 3-12: Hybrids

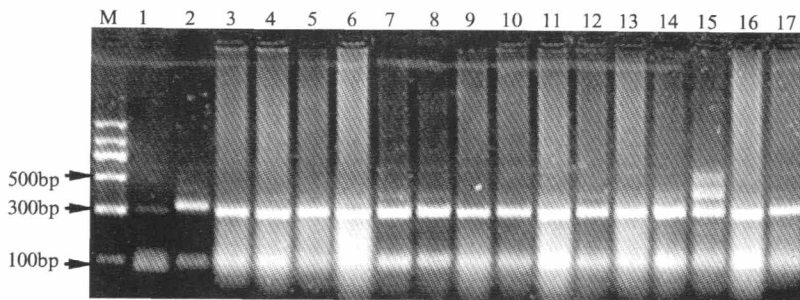


图4 mtDNA V7 PCR产物的RsaI酶切结果

Fig.4 RsaI digestion result of mtDNA V7 PCR products

M: DNA Marker; 1:大葱; 2:洋葱; 3~17:杂交品种

M: DNA Marker; 1: *A. fistulosum*; 2: *A. cepa*; 3-17: Hybrids

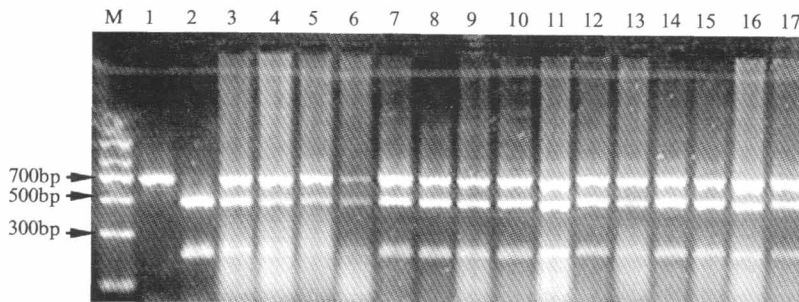


图5 ITS PCR产物DdeI酶切结果

Fig.5 DdeI digestion result of ITS PCR products

M: DNA Marker; 1:大葱; 2:洋葱; 3~17:杂交品种

M: DNA Marker; 1: *A. fistulosum*; 2: *A. cepa*; 3-17: Hybrids

3 结论与讨论

核糖体核酸(nrDNA)中的ITS序列,为18S~26S rDNA的组成部分,是中度保守的重复序列,具有高度变异性及稳定性等特点^[18]。有关应用PCR-RFLP技术对ITS序列的鉴定在大葱与细香葱^[19]、番茄与马铃薯^[20]杂交体中已有报道。本试验对洋

葱、大葱及其杂种F₁核糖体ITS序列进行扩增,并进行限制性内切酶DdeI酶切鉴定,洋葱与大葱两亲本扩增的目的片段酶切结果存在明显的差异,这是判定两亲本的核基因组是否遗传到杂种F₁植株的有力依据,可用来验证其种间杂种与亲本的关系。

杂种的细胞质遗传是依据母系遗传定律,对杂种细胞质中的线粒体或叶绿体DNA的特定序列进

行检测,来鉴别杂种 F_1 的父母本。Buiteveld 等^[17]对洋葱与非葱亲本以及杂种的线粒体 DNA 的 V7 区域分析表明,大多数杂种拥有重排的线粒体基因组,且 55 份杂交种中只有 3 份含有两亲本线粒体 DNA 酶切片段。Yamashita 等^[21-22]用上述方法区别葱属中洋葱的野生物种和栽培品种,并对洋葱和大葱之间体细胞杂交两系的细胞质分析,结果表明均为同一洋葱母本。对细胞质线粒体 DNA 的 V7 区域进行扩增,且洋葱与大葱两亲本扩增的目的片段酶切结果存在一定差异,可以鉴定杂种 F_1 的母本来源。对细胞核 ITS 序列和细胞质线粒体 DNA 的 V7 区域分析的两亲本结合,可作为大葱与洋葱的杂种 F_1 的鉴定方法。本研究成功分析了洋葱与大葱杂种的细胞核基因组构成和细胞质遗传情况。

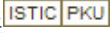
本研究通过对洋葱和大葱及其杂种 F_1 的细胞核和细胞质中特有序列的分析,采用 PCR 技术扩增所需目的片段,然后进行限制性内切酶酶切检测,在分子水平上建立了葱属种间杂种鉴定方法,明确地辨别出杂种 F_1 的真假性,缩短检测时间,为今后鉴定洋葱与大葱种间杂种提供有效的检测方法。

参考文献

- [1] Inden H, Asahira T. Japanese bunching onion (*Allium fistulosum* L.): Onions and allied crops [M]// Rabinowitch H D, Brewster J L. Onion, and Allied crops III; Biochemistry, Food Science, and Minor crops. Boca Raton, USA: CRC Press, 1990: 159-178
- [2] 王永勤, 梁毅, 关绚丽, 等. 葱蒜类蔬菜种质资源创新研究进展[J]. 中国蔬菜, 2009(20): 1-10
- [3] 王永勤, 田保华, 梁毅. 大葱和洋葱种间杂种的获得及其特性[J]. 中国农业科学, 2010, 43(10): 2115-2121
- [4] Peffley E B, Hou A. Bulb-type onion introgressants possessing *Allium fistulosum* L. genes recovered from interspecific hybrid backcrosses between *A. cepa* L. and *A. fistulosum* L. [J]. Theor Appl Genet, 2000, 100: 528-534
- [5] Khrustaleva L, Kik C. Cytogenetical studies in the bridge cross *Allium cepa* × (*A. fistulosum* × *A. roylei*) [J]. Theor Appl Genet, 1998, 96: 8-14
- [6] Van der Meer Q P, de Vries J N. An interspecific cross between *Allium roylei* Stearn and *Allium cepa* L., and its backcross to *A. cepa* [J]. Euphytica, 1990, 47: 29-31
- [7] Scholten O, van Heusden A, Khrustaleva L, et al. The long and winding road leading to the successful introgression of downy mildew resistance into onion [J]. Euphytica, 2007, 156: 345-353
- [8] Hou A, Peffley E B. Recombinant chromosomes of advanced backcross plants between *Allium cepa* L. and *A. fistulosum* L. revealed by in situ hybridization [J]. Theor Appl Genet, 2000, 100: 1190-1196
- [9] Stevenson M, Armstrong S J, Ford-Lloyd B V, et al. Comparative analysis of crossover exchanges and chiasmata in *Allium cepa* × *fistulosum* after genomic in situ hybridization (GISH) [J]. Chrom Res, 1998, 6: 567-574
- [10] 顾爱侠, 赵玉靖, 鄢丽娟, 等. 二倍体大白菜与四倍体结球甘蓝杂种的获得及其 SSR 鉴定与 GISH 分析[J]. 植物遗传资源学报, 2008, 9(2): 144-150
- [11] Parokony A S, Kenton A Y, Gleba Y Y, et al. Genomic reorganization in *Nicotiana* asymmetric somatic hybrids analyzed by in situ hybridization [J]. Plant J, 1992, 2: 863-874
- [12] Wang S, Zhang L, Hu J, et al. Molecular and cellular evidence for biased mitotic gene conversion in hybrid scallop [J]. BMC Evol Biol, 2010, 10: 6
- [13] Yamashita K, Tashiro Y. Possibility of developing a male sterile line of Shallot (*Allium cepa* L. Aggregatum group) with cytoplasm from *A. galanthum* Kar. et Kir [J]. J Jpn Soc Hortic Sci, 1999, 68(2): 256-262
- [14] Yamashita K, Takatori Y, Tashiro Y. Development of sequence characterized amplified region (SCAR) markers linked to the fertility restoring gene for cytoplasmic male sterile *Allium fistulosum* L. possessing the cytoplasm of *A. galanthum* Kar. et Kir [J]. J Jpn Soc Hortic Sci, 2002, 71: 777-779
- [15] White T J, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [C]// A guide to methods and applications. San Diego: Academic Press, 1990: 315-322
- [16] Buiteveld J, Suo Y, van Lookeren Campagne M M, et al. Production and characterization of somatic hybrid plants between leek (*Allium ampeloprasum* L.) and onion (*Allium cepa* L.) [J]. Theor Appl Genet, 1998, 96: 765-775
- [17] Buiteveld J, Kassies W, Geels R, et al. Biased chloroplast and mitochondrial transmission in somatic hybrids of *Allium ampeloprasum* L. and *Allium cepa* L. [J]. Plant Sci, 1998, 131: 219-228
- [18] Neefs J M, van de Peer Y, Hendriks L, et al. Compilation of small ribosomal subunit RNA sequences [J]. Nucleic Acids Res, 1990, 18(S): 2237-2240
- [19] Umehara M, Sueyoshi T, Shimomura K, et al. Interspecific hybrids between *Allium fistulosum* and *Allium schoenoprasum* reveal carotene-rich phenotype [J]. Euphytica, 2006, 148: 295-301
- [20] Wolters A M A, Schoenmakers H C H, Koornneef M. Chloroplast and mitochondrial DNA composition of triploid and tetraploid somatic hybrids between *Lycopersicon esculentum* and *Solanum tuberosum* [J]. Theor Appl Genet, 1995, 90: 285-293
- [21] Yamashita K, Noda R, Tashiro Y. Use of mitochondrial DNA polymorphisms to distinguish cytoplasm of cultivated and wild species in section *Cepa* of *Allium* [J]. J Jpn Soc Hortic Sci, 2000, 69: 396-402
- [22] Yamashita K, Hisatune Y, Sakamoto T, et al. Chromosome and cytoplasm analyses of somatic hybrids between onion (*Allium cepa* L.) and garlic (*A. sativum* L.) [J]. Euphytica, 2002, 125: 163-167

作者: [田保华](#), [梁毅](#), [陈丽](#), [王永勤](#), [裴雁曦](#), [TIAN Bao-hua](#), [LIANG Yi](#), [CHEN Li](#), [WANG Yong-qin](#), [PEI Yan-xi](#)

作者单位: [田保华, TIAN Bao-hua \(山西大学生命科学学院, 太原030006; 北京市农林科学院蔬菜研究中心, 北京100097\)](#), [梁毅, 王永勤, LIANG Yi, WANG Yong-qin \(北京市农林科学院蔬菜研究中心, 北京, 100097\)](#), [陈丽, CHEN Li \(北京市农林科学院蔬菜研究中心, 北京100097; 华中农业大学园艺林学学院, 武汉430070\)](#), [裴雁曦, PEI Yan-xi \(山西大学生命科学学院, 太原, 030006\)](#)

刊名: [植物遗传资源学报](#) 

英文刊名: [Journal of Plant Genetic Resources](#)

年, 卷(期): 2011, 12(4)

参考文献(22条)

- [1. Yamashita K; Noda R; Tashiro Y Use of mitochondrial DNA poly morphisms to distinguish cytoplasm of cultivated and wild species in section Cepa of Allium 2000](#)
- [2. Yamashita K; Hisatune Y; Sakamoto T Chromosome and cytoplasm analyses of somatic hybrids between onion \(Allium cepa L.\) and garlic \(A. sativum L.\) 2002](#)
- [3. Neefs J M; van de Peer Y; Hendriks L Compilation of small ribosomal subunit RNA sequences 1990\(S\)](#)
- [4. Buiteveld J; Kassies W; Geels R Biased chloroplast and mitochondrial transmission in somatic hybrids of Allium ampeloprasum L. and Allium cepa L 1998](#)
- [5. Buiteveld J; Suo Y; van Lookeren Campagne M M Production and characterization of somatic hybrid plants between leek \(Allium ampeloprasum L.\) and onion \(Allium cepa L.\) 1998](#)
- [6. White T J; Bruns T; Lee S Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics 1990](#)
- [7. Yamashita K; Takatori Y; Tashiro Y Development of sequence characterized amplified region \(SCAR\) markers linked to the fertility restoring gene for cytoplasmic male sterile Allium fistulosum L. possessing the cytoplasm of A. galanthum Kar. Et Kir 2002](#)
- [8. Wolters A M A; Schoenmakers H C H; Koornneef M Chloroplast and mitochondrial DNA composition of triploid and tetraploid somatic hybrids between Lycopersicon esculentum and Solanum tuberosum 1995](#)
- [9. Yamashita K; Tashiro Y Possibility of developing a male sterile line of Shallot \(Allium cepa L. Aggregatum group\) with cytoplasm from A. galanthum Kar. et Kir 1999\(02\)](#)
- [10. Wang S; Zhang L; Hu J Molecular and cellular evidence for biased mitotic gene conversion in hybrid scallop 2010](#)
- [11. Parokony A S; Kenton A Y; Gleba Y Y Genomic reorganization in Nicotiana asymmetric somatic hybrids analyzed by in situ hybridization 1992](#)
- [12. Umehara M; Sueyoshi T; Shimomura K Interspecific hybrids between Allium fistulosum and Allium schoenoprasum reveal carotene-rich phenotype 2006](#)
- [13. Stevenson M; Armstrong S J; Ford-Lloyd B V Comparative analysis of crossover exchanges and chiasmata in Allium cepa × fistulosum after genomic in situ hybridization \(GISH\) 1998](#)
- [14. Hou A; Peffley E B Recombinant chromosomes of advanced back cross plants between Allium cepa L. and A. fistulosum L. revealed by in situ hybridization 2000](#)
- [15. Schohen O; van Heusden A; Khrustaleva L The long and winding road leading to the successful introgression of downy mildew resistance into onion 2007](#)
- [16. 顾爱侠; 赵玉靖; 鄯丽娟 二倍体大白菜与四倍体结球甘蓝杂种的获得及其SSR鉴定与GISH分析 2008\(02\)](#)
- [17. 王永勤; 田保华; 梁毅 大葱和洋葱种间杂种的获得及其特性 2010\(10\)](#)
- [18. 王永勤; 梁毅; 关绚丽 葱蒜类蔬菜种质资源创新研究进展 2009\(20\)](#)
- [19. Inden H; Asahira T Japanese bunching onion \(Allium fistulosum L.\): Onions and allied crops 1990](#)
- [20. Van der Meer Q P; de Vries J N An interspecific cross between Allium roylei Stearn and Allium cepa L., and its](#)

backcross to A. cepa 1990

21. Khrustaleva L;Kik C Cytogenetical studies in the bridge cross *Allium cepa* × (*A. fistulosum* × *A. roylei*) 1998

22. Peffley E B;Hou A Bulb-type onion introgressants possessing *Allium fistulosum* L. genes recovered from interspecific hybrid back crosses between *A. cepa* L. and *A. fistulosum* L 2000

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201104029.aspx