

向日葵列当生物学特性及抗列当向日葵分子育种研究进展

庞俊峰^{1,2}, 马德宁³, 王德寿¹, 李联社¹, 吴燕民^{2*}

1. 北京三瑞农业科技有限公司, 北京 101100;

2. 中国农业科学院生物技术研究所, 北京 100081;

3. 美国北达科达州立大学植物科学学院, 法戈 58102

摘 要: 向日葵是世界各国重要的油料作物,也是供食用的重要经济作物。向日葵列当是危害向日葵生长极为严重的一类草害,在全球均有发生,且列当种子生活力极强,难以根除。向日葵列当研究和抗列当向日葵育种是农业科研人员研究的重点。本文综述了向日葵列当的生物学特性、寄生与传播特点、为害症状、预防和控制措施,以及近年来抗列当向日葵分子育种研究进展,并对抗列当向日葵育种研究发展前景作分析和展望。

关键词: 向日葵;列当;生物学特性;分子育种

DOI:10.3969/j.issn.2095-2341.2012.06.02

The Biological Characteristics of Sunflower Broomrape and Research Progress on Anti-broomrape Molecular Breeding

PANG Jun-feng^{1,2}, MA De-ning³, WANG De-shou¹, LI Lian-she¹, WU Yan-min^{2*}

1. Beijing Sunrise Agritech Co., LTD., Beijing 101100, China;

2. Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

3. Department of Plant Science, North Dakota State University, Fargo 58102, USA

Abstract: Sunflower is one of the important oil crops in the world, and also a significant economic crops for foods. Sunflower broomrape is a kind of weed seriously harmful to the growth of sunflower, and it happened all over the world. Broomrape seed has quite strong vigor and it is difficult to eradicate completely. The research of sunflower broomrape and anti-broomrape sunflower breeding become important for agricultural scientific researcher. This paper summarized the biological characteristics of sunflower broomrape, feature of parasitic, propagation and harm symptoms, the management measures of prevention and control, analyzed and prospected the research progress of anti-sunflower broomrape molecular breeding.

Key words: sunflower; broomrape; biological characteristics; molecular breeding

向日葵 (*Helianthus annuus* L.) 属于菊科向日葵属,原产于北美,目前在世界各地均有种植。其中美国、俄罗斯、阿根廷、中国、法国和西班牙等国家种植面积较大,现已成为世界第二大油料作物,在我国主要以食用型向日葵栽培为主。向日葵列当是列当科 (Orobanchaceae) 列当属 (OrobanchaeL.) 植物的总称,营养寄生在向日葵根部,被寄生的向日葵植株茎秆低矮细弱,产量和品质明显

降低,受害严重时导致整株死亡。有试验表明单株向日葵寄生列当 10 ~ 20 株就减产 70% 左右,寄生 30 株以上减产超过 80%,严重时可能造成绝产^[1]。我国新疆、甘肃、内蒙古、陕西、东三省均有分布,被列为我国进境植物检疫对象。因此,向日葵列当已成为农业科研人员研究的重点,现代作物分子育种也成为解决抗列当向日葵育种的关键技术之一。

收稿日期:2012-09-05; 接受日期:2012-10-08

基金项目:国家转基因生物新品种培育重大专项(2011ZX08005-004)资助。

作者简介:庞俊峰,农艺师,硕士,主要从事作物遗传育种与植物基因工程研究。E-mail: pangjunfeng@live.cn。* 通讯作者:吴燕民,研究员,主要从事植物生物反应器及植物基因工程研究。Tel:010-82106109; E-mail: wym56@163.com

1 向日葵列当生物特性及为害

1.1 向日葵列当形态特征和传播特点

向日葵列当 (*Orobanche cumana* Wallr) 是寄生性一年生草本植物, 又被称为兔子拐棍、无根草、毒根草等。颜色随着生长时间从浅黄色渐变到紫褐色, 鳞片状叶片呈螺旋状排列, 株高通常为 20 ~ 40 cm。花为两性且对称生长, 每株上有 20 ~ 40 朵花, 花色有米黄、粉红、紫蓝、褐色等, 列当植株果实为蒴果, 种子坚硬呈椭圆形^[2]。向日葵列当主要寄主有向日葵、西瓜、甜瓜、豌豆、烟草、亚麻和番茄等。种子可借助根茬、风力、水流、人畜等途径传播。列当种子生活力极强, 落入土中的种子能在土壤中越冬, 在 5 ~ 10 cm 深的土层中生活力可保持 5 ~ 10 年^[3]。列当发生期集中在每年 6 ~ 10 月份, 在向日葵 5 ~ 10 cm 处的侧根上寄生最多且危害最严重。山西省农业科学院植物保护研究所与内蒙古农业科学院植物保护研究所联合开展了不同生育期列当的寄生情况试验, 通过人工接种方法, 将山西省各地采集的列当种子进行了研究, 结果表明寄生的过程是不间断的, 在向日葵种植地区 7 ~ 10 月间每天都有列当出土^[4]。

1.2 寄生环境及为害症状

向日葵列当是典型的根寄生杂草, 一般从种子萌发、幼苗出土至新种子成熟约 30 ~ 40 d^[5]。由于向日葵列当没有叶绿素, 无法进行光合作用, 只能借助吸取向日葵根部的营养而生活, 落入土中的种子萌发后逐渐长成幼芽、幼苗和吸盘, 与向日葵的根部组织相互愈合产生寄生作用。向日葵列当种子的发芽需要一定的特殊条件, 主要是要完成后熟, 通过适宜的湿度和温度培养, 再经过萌发刺激物或者特殊化学信号作用才能发芽^[6]。通常情况下, 向日葵列当种子萌发需要温度 15 ~ 25℃, 土壤 pH > 7.0, 同时还需要寄主根部的分泌物刺激^[7]。一部分植物种子也能诱发向日葵列当萌发, 但诱发植物的根部不和萌发后的向日葵列当产生寄生关系, 这些不被向日葵列当寄生但能产生萌发刺激物的植物被称为“诱杀植物”^[8]。绿豆、辣椒和苜蓿对列当的诱杀作用明显, 诱杀率最高可达 88.9%^[8]。目前除了独脚金醇、高粱内酯、列当醇等一些天然萌发刺激物以

外, 还有 GR6、GR7、GR24 等人工合成的类似刺激物^[9]。

向日葵被列当寄生后, 植株茎秆低矮细弱, 产量和品质明显降低, 花盘受害严重的话导致凋萎干枯, 直至整株死亡。在生长期突出表现为生长缓慢、矮化黄化、萎蔫, 在成熟期突出表现为花盘瘦小、秕粒增多、对病害和虫害抵抗能力下降。任文义等^[10]研究发现向日葵列当寄生数量达到 50 株以上时产量难以保障, 基本颗粒无收。有研究统计单株向日葵寄生列当 5 株时, 株高比正常植株低 11.8%, 茎粗比正常植株细 15.2%; 寄生 40 株时株高和茎粗分别降低 40.9% 和 39.2%^[11]。向日葵自出苗到收获整个生育期内都能被列当寄生, 生育前期受害较重, 用每株向日葵根上寄生的列当数量来统计为害程度, 寄生越早或者寄生株数越多则表明为害越严重。

2 预防控制和管理措施

2.1 栽培耕作技术防治

列当可通过栽培耕作技术进行防治。一是利用人工拔除的方法。列当从出土到开花大约 10 ~ 15 d 的时间, 在结实前拔除向日葵列当植株, 有条件的情况下可以集中烧毁或者深埋。二是加强中耕管理。在列当出土盛期和结实前及时中耕锄草 2 ~ 3 次; 对重茬地实行轮作制度, 向日葵可与禾本科植物、甜菜、大豆等实行轮作, 以降低重茬危险^[8]。三是利用诱杀原理, 土壤中列当种子经过诱发植物刺激后萌发, 从而种子的密度得到降低, 减轻出土后对向日葵的影响。四是采用独特施肥技术达到防治效果, 有研究报道将土壤曝晒 6 周后与鸡粪一起混合施肥, 能够有效防止地下 10 cm 深度的列当种子萌发, 显著降低列当对地上作物的危害^[11]。

2.2 化学防治

除草剂防治是目前使用最多的方法。李淑娥等^[12]研究表明用都尔、草甘膦、水复配喷施防治列当, 施药 7 d 后列当的死亡率达 100%。段永辉等^[13]用 48% 仲丁灵乳油土壤处理方法防治向日葵列当, 结果表明 3 375 mL/hm² 的株防效达到 75.1%, 并且不会对向日葵产生危害。化学防治的研究很多, 通常可以用 0.2% 的 2,4-D 丁酯水溶液喷洒于列当植株和土壤表面, 两周后列当灭

除率可达 80% 左右^[14]。由于豆科作物易受药害影响,因此在向日葵和豆科间作地不能施药,如果要施药,则应当在向日葵花盘直径超过 10 cm 时期为宜,否则会导致向日葵叶片或茎秆畸形、花盘停止生长等药害现象产生。

2.3 生物防治

生物防治是利用生物物种间的相互关系,以一种或一类生物抑制另一种或另一类生物,它是降低杂草和害虫等有害生物种群密度的一种方法。生物防治列当的方法有很多,利用列当镰孢菌、枯萎镰刀菌、欧氏杆菌寄生列当,能从列当伤口侵入而使其感病。另外列当蝇幼虫能取食列当的花茎和果,间接的起到防治的效果。

金付平^[3]研究了我国 240 种常用中草药的蒸馏水和甲醇浸提物对小列当种子发芽的影响,结果表明列当发芽会受到某些中草药的抑制或者刺激,这些浸提物既有脂溶性的也有水溶性的。而利用能产生萌发刺激物的植物诱发种子也可达到“自杀性萌发”的目的。因此利用“诱杀植物”在列当出苗前就进行防治,是一种较好的生物防治措施^[10]。另有研究利用苗期棉花对向日葵列当种子萌发诱导作用,结果表明在棉花二叶一心期对受体向日葵列当化感诱发作用最强,早播种植棉花,待其幼苗生长到二叶一心期时整体翻耕到地下,列当种子受到棉花植株刺激而不能萌发,因此不能从已经死亡的棉花植株上及时获得营养而无法寄生,从而发挥棉花生物防治作用^[15]。

3 抗列当向日葵育种研究进展

3.1 通过杂交选育抗性品种

目前研究较多的是选育抗性品种。抗性品种可阻碍向日葵列当种子萌发后寄生在寄主植物根部,从而达到防治的作用,目前已通过杂交育种选育出部分抗列当品种。Joel 等^[16]把易感的向日葵品种嫁接到野生抗性品种上,杂交选育的后代可以产生抗性,这种方法能够缩短抗性品种的选育时间。杂交育种技术也被研究者普遍认为是解决向日葵列当防治的常规办法^[16]。

张治家等^[17]利用山西省不同地区的向日葵列当对内蒙古主栽的 9091、135、T423 等杂交品种进行了抗性试验,以上品种在山区不同地区均表现为免疫水平,证明在内蒙古的抗性品种可在山

西大面积推广。但是随着栽培时间以及外源新的列当种子材料的进入,许多新的向日葵列当生理小种会出现,因此抗性也会随之逐步减弱或者消失^[18]。因此利用常规杂交育种只能有限地选育出某些抗性品种,而且育种时间较长,持续时间有限,人力成本较大。

3.2 通过生理小种鉴定选育抗列当品种

目前,世界上已发现有编号为 A、B、C、D、E、F、G 的七个向日葵列当生理小种,针对不同生理小种,许多向日葵主产国也相继开展了有关抗列当方面的研究。我国 1979 年第一次在吉林省境内发现向日葵列当,到目前为止,我国北方向向日葵主栽区基本都受到了不同程度的危害^[19]。Vranceanu 等^[20]按照从罗马尼亚搜集的列当群体内的 5 个生理小种对向日葵鉴别寄主的平均侵染强度,从而建立了 5 个抗性类型,并且根据各基因对 5 种生理小种的反应命名了 5 个不同的显性基因,分别为 Or1、Or2、Or3、Or4 和 Or5。Ish 等^[21]报道在以色列只存在一个生理小种,对列当的抗性受单显性基因控制。在土耳其、西班牙、罗马尼亚和俄罗斯等地区存在向日葵列当生理小种 F,各国研究者都开展了抗性育种^[22~23]。Perez-Vich 等^[24]研究表明向日葵对生理小种 F 的抗性主要取决于抗源和用于杂交的感病亲本,不受等位基因控制,提出了在向日葵抗列当育种中要进行综合因素考虑的思路。西班牙研究人员 2000 年通过人工接种的方法来评价抗 F 生理小种的向日葵种质,实验结果表明只有 7.2% 的样本栽培种可以抵抗 F 生理小种^[25]。

我国目前开展抗列当向日葵育种研究的单位极少,一方面是研究起步较晚,另一方面是积累的科研成果较少。董百春等^[26]使用来自西班牙的 5 份向日葵列当国际鉴别寄主材料,对吉林省向日葵主产区的向日葵列当群体通过人工接种方法进行了生理小种鉴定,通过鉴定确定了吉林省向日葵主产区的向日葵列当群体均为 A 小种。今后随着新的抗列当向日葵品种的育成和推广,也会伴随新的向日葵列当生理小种产生。因此,育种家要根据未来的发展趋势,制定相应的抗性育种程序。黑龙江省农业科学院经济作物研究所通过人工接种试验,对抗列当向日葵资源进行了鉴定,试验结果显示油用杂交种的抗性明显强于食用杂交种,有国外亲缘关系杂交材料抗性优于本

地常规品种^[2]。目前国内大多采用盆栽结合大田试验的方法进行抗列当向日葵研究,该方法的弊端是耗时长且成本高。有研究探讨了新的方法,即通过测定不同向日葵品种产生列当种子发芽刺激物质的差异,来推断向日葵品种的抗性强弱,或者抗性材料的育种潜力,该方法直接利用根际土壤和向日葵幼苗就可以完成研究^[27]。

3.3 通过分子标记方法选育抗列当品种

随着生物技术和应用,栽培种向日葵分子育种、抗性育种、品质和产量都有了巨大提高。20世纪20年代俄罗斯首先开始了抗列当向日葵育种,野生种和杂交的育种群体都陆续携带有列当抗源^[28]。Pogorletsky等^[29]用野生种 *H. tuberosus* 和感病自交系杂交后,通过对 F_1 、 F_2 、 BC_1P_1 和 BC_1P_2 世代对 B 生理小种的抗性遗传分析表明,抗列当是受单显性基因控制。Burlov等^[30]也研究表明栽培种与野生种的杂交后代自交系携有抗列当的单显性基因并定名为 Or,这一基因不与抗霜霉病和育性基因连锁。SSR 以及其他的 DNA 标记可以快速和有效地检测和评价基因分型^[31]。新的病原体生理小种的不断出现会战胜新的抗性基因,美国俄勒冈州立大学 Tang等^[32]通过 PCR 分子标记,找到了与列当抗性基因 Or5 连锁的 SSR 分子标记,距离为 5.6 cM。在栽培向日葵中,不同密度和完整度的分子遗传图谱已经被建立起来,但是具有实际应用价值的图谱很少,Tang等^[33]利用 SSR 分子标记技术建立高密度的遗传图谱,每个基因座平均密度缩短至 3.1 cM。

3.4 通过转基因技术培育抗列当品种

植物基因工程是农业生物技术领域前沿和重要的研究方法,转基因技术也已成为现代农业应用最为迅速和广泛的生物技术。自首次获得经卡那霉素筛选的烟草和矮牵牛的植物转化细胞株系以来^[34],已在超过 120 种植物中进行了外源基因的转化和表达的研究^[35]。1987 年,Everett 等^[36]通过农杆菌转化方法,浸染向日葵的下胚轴获得第一例转基因向日葵,这为向日葵遗传转化开创了先河。常用的植物转化方法主要有基因枪法、聚乙二醇法和农杆菌介导法,这几种方法均使外源基因在受体植物中高效瞬间表达,但使外源基因在受体植物中有稳定表达的转化方法仅有农杆

菌介导法。因此,近年来向日葵遗传转化方法的研究主要集中在农杆菌介导的遗传转化系统的建立。2002 年,Rousselin 等^[37]将脂肪酸脱饱和酶基因导入向日葵获得第一例具有商业应用价值的转基因向日葵。2006 年,Mohamed 等^[38]以顶端分生组织为外植体,采用农杆菌介导和基因枪法相结合的方法将 *GUS* 基因转入到向日葵的基因组并得到可遗传转化植株。郝彦玲等^[39]以 *GUS* 基因作为标记基因,建立了向日葵遗传转化体系,同时利用农杆菌介导法将克隆得到的脂肪酸脱氢酶基因转化向日葵,获得高亚麻酸转基因向日葵。沙日娜等^[40]以向日葵茎尖为外植体,通过农杆菌介导法将草酸氧化酶基因导入向日葵,对头孢霉素和卡那霉素的浓度、农杆菌感染时间和浓度等因素进行了实验和探讨。

抗除草剂性状是商业化转基因作物的主要应用之一,Neskorodov 等^[41]将带有抗除草剂的基因转化成熟胚并再生植株,经 Southern 杂交和 ELISA 分析表明 *bar* 基因在转基因植株中稳定表达,移栽至温室的转基因植株可抗 3 000 mL/hm² Basta®除草剂。Brar 等^[42]将带 *CP4-EPSPS* 基因的 pWRG4750 转化向日葵子叶,转化率达 0.7%,通过体外再生获得转基因植株,用 2 250 ~ 4 500 mL/hm²草甘膦喷施田间种植的 6 ~ 10 叶期转基因植株,结果表明处理过的向日葵植株 56% ~ 79% 花盘发育正常。

目前在抗列当向日葵基因转化上还鲜有报道,对已有 7 个生理小种对应的 7 个不同的显性基因 Or1 ~ Or7 的基因序列也尚未公布,因此未来研究的突破点在于相关基因的克隆和测序,为抗列当向日葵材料基因转化体系的建立提供基因资源。

4 展望

向日葵列当是植物检疫性杂草,对向日葵产业整体危害严重。目前虽然有部分抗列当向日葵杂交品种,但是利用杂交选育的方法也有一定的不足,通常只能得到单一抗列当向日葵品种,而很难有针对性的培育出具体抗哪种生理小种的向日葵种质品种,因此在进行抗性品种选育之前最好先鉴定出列当的生理小种,再进行针对某一生理小种的抗性育种。但是列当生理小种鉴定需要搜

集和调研各地列当材料,得到全套的抗性寄主材料,设计科学合理的鉴定实验方案等,也是一项复杂的系统工程。

未来在抗列当向日葵分子育种上要着重加强以下工作,有望为农业生产获得较好的抗列当品种。一是加强向日葵列当生理小种鉴定,通过人工接种试验,搜集和整理全国向日葵列当材料,将国内向日葵主要栽培区域内的列当生理小种进行鉴定,从而有针对性的培育和推广抗性品种。二是利用基因工程原理和技术,不断优化向日葵再生和遗传转化体系,为向日葵的遗传改良与新品种的培育提供科学依据。三是向日葵野生资源丰富,其自身基因挖掘和利用潜力巨大,今后应不断鉴定、克隆和利用野生向日葵优良抗性基因。四是面对全球气候变化对整个农业生态系统的影响,应以常规育种为基础,结合分子标记辅助育种以及转基因技术,开展多基因聚合分子育种,培育出多抗的向日葵新品种。

参 考 文 献

- [1] 王文军. 黑龙江省向日葵资源抗列当鉴定及抗源筛选[J]. 黑龙江农业科学, 2010, 9: 39-41.
- [2] 王鹏冬, 杨新元, 张学武, 等. 山西省向日葵列当初报[J]. 山西农业科学, 2003, 31(2): 75-77.
- [3] 金付平. 利用中草药剔除小列当土壤种子库的研究[D]. 西北农林科技大学, 硕士学位论文, 2008.
- [4] 张治家, 白全江. 山西省向日葵列当的寄主与发生规律的研究[J]. 农业技术与装备, 2011, 11: 71-72.
- [5] Harborne J B. General procedures and measurement of total phenolics[A]. In: Methods in Plant Biochemistry[M]. London: Academic Press, 1989, 125-128.
- [6] 郭兰萍, 黄璐琦, 蒋有绪, 等. 苍术根茎及根际土水提物生物活性研究及化感物质的鉴定[J]. 生态学报, 2006, 26(2): 528-534.
- [7] 吴海荣, 强 胜. 检疫杂草列当[J]. 杂草科学, 2006, 2: 58-60.
- [8] 胡元森, 李翠香, 杜国营. 黄瓜根分泌物中化感物质的鉴定及其化感效应[J]. 生态环境, 2007, 16(3): 954-957.
- [9] 侯永侠, 周宝利, 吴晓玲. 辣椒根系分泌物化感作用的研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2007, 38(4): 504-507.
- [10] 任文义, 李 毅, 马洪锡, 等. 向日葵列当对向日葵主要经济性状的影响及防治方法研究[J]. 河北农业大学学报, 1992, 15(3): 63-66.
- [11] Haidar M A, Sidahmed M M. Soil solarization and chicken manure for the control of *Orobanche crenata* and other weeds in Lebanon[J]. Crop Protection, 2000, 19: 169-173.
- [12] 李淑娥, 巨瑞芹, 杨 渡. 草甘膦与都尔复配防除瓜列当[J]. 新疆农业科学, 1992, 3: 122-123.
- [13] 段永辉, 张新建, 陈卫民. 仲丁灵乳油防除向日葵列当效果研究[J]. 现代农业科技, 2010, 11: 154-155.
- [14] 王海旺, 李秀文, 高雨成, 等. 向日葵列当在天津地区的发生及防治[J]. 天津农业科技, 2008, 6(3): 25-26.
- [15] 郎 明, 马永清, 董淑琦, 等. 苗期棉花对向日葵列当种子萌发诱导作用初探[J]. 生态环境学报, 2011, 20(1): 79-83.
- [16] Joel D M. The long term approach to parasitic weeds control: manipulation of specific developmental mechanisms of the parasite[J]. Crop Protection, 2000, 19: 753-758.
- [17] 张治家, 白全江, 曹丽霞, 等. 优质向日葵种质资源抗山西不同区域向日葵列当研究[J]. 山西农业科学, 2012, 40(2): 153-155.
- [18] Joel D M, Hershenhorn J, Cohen E, et al. Grafted host plants for *Orobanche control*[J]. Weed Sci. Soc. Am., 2000, 40: 71-72.
- [19] 牛庆杰, 于学鹏, 李慧英, 等. 向日葵抗列当材料的实验室鉴定方法[J]. 吉林农业科学, 2010, 35(1): 21-22.
- [20] Vranceanu A V, Stoenescu F. Virulence group s of *Orobanche cumana* Wallr. differential hosts and resistance sources and genes in sunflower [A]. In: Symposium of 9th International Sunflower Conference[C]. 1980, 5: 74-82.
- [21] Ish Shalom Gordon N, Jacobsob R, Cohen Y. Inheritance of resistance to *Orobanche cumana* in sunflower [J]. Phytopathology, 1993, 83: 1250-1252.
- [22] Kaya Y, Evci G, Pekcan V, et al. Determining new broomrape-infested areas, resistant lines and hybrids in Trakya region of Turkey[J]. Helia, 2004, 27(40): 211-218.
- [23] Domingues J. R-41, a sunflower restorer inbred line, carrying two genes for resistance against a highly virulent Spanish population of *Orobanche cernua* [J]. Plant Breeding, 1996, 115(3): 203-204.
- [24] Perez-Vich B, Aktouch B, Mateos A, et al. Dominance relationships for genes conferring resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower[J]. Helia, 2004, 27(40): 183-192.
- [25] Fernandez-Martinez J, Melero-Vara J, Munoz-Ruz J J, et al. Selection of wild and cultivated sunflower for resistance to a new broomrape race that overcomes resistance of the *Or5* gene [J]. Crop Sci., 2000, 40: 550-555.
- [26] 董百春, 沙洪林, 刘雪静, 等. 吉林省向日葵列当生理小种鉴定[J]. 中国油料作物学报, 1996, 18(1): 54-56.
- [27] 任祥祥, 马永清, 郎 明, 等. 向日葵抗列当种质资源鉴定与筛选的新方法[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(1): 107-109.
- [28] Schneiter A A. Sunflower Technology and Production [M]. Madison, Wisconsin, USA: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 1997, 10-15.
- [29] Pogorletsky P K, Geshele E E. Sunflower immunity to broomrape downy mildew and rust[A]. In: Synposium of 7th International Sunflower Conference[C]. 1976, 238-243.
- [30] Burlov V V, Kostyuk S V. Inheritance of resistance to a local race of broomrape (*O. cumana* Wallr.) in the sunflower[J]. Genetika, 1976, 12: 151-155.
- [31] Tang S X, Kishore V K, Knapp S J. PCR-multiplexes for a genome-wide framework of simple sequence repeat marker loci

- in cultivated sunflower[J]. Theor. Appl. Genet., 2003, 107(1): 6 – 19.
- [32] Tang S X, Heesacker A, Kishore V K, *et al.*. Genetic mapping of the *Or5* gene for resistance to *Orobanche* race E in sunflower[J]. Crop Sci., 2003, 43: 1021 – 1028.
- [33] Tang S, Yu J K, Slabaugh M B, *et al.*. Simple sequence repeat map of the sunflower genome [J]. Theor. Appl. Genet., 2002, 105(8): 1124 – 1136.
- [34] Bevan M W, Flavell R B, Chilton M D. Achimeric antibiotic resistance gene as a selectable marker for plant cell transformation[J]. Nature, 1983, 304: 184 – 187.
- [35] Birch R G. Plant transformation: problems and strategies for practical application[J]. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 1997, 48: 297 – 326.
- [36] Everett N P, Robinson K E P, Mascarenhas D. Genetic engineering of sunflower (*Helianthus annuus* L.) [J]. Biotechnology, 1987, 12(11): 1201 – 1204.
- [37] Rousselin P, Molinier J, Himber C, *et al.*. Modification of sunflower oil quality by seed-specific expression of heterologous Δ^9 -stearoyl-(acyl carrier protein) desaturase gene[J]. Plant Breeding, 2002, 121: 108 – 116.
- [38] Mohamed S, Boehm R, Schnabl H. Particle bombardment as a strategy for the production of transgenic high oleic sunflower (*Helianthus annuus* L.) [J]. Appl. Bot. Food Qual., 2006, 80(2): 171 – 178.
- [39] 郝彦玲, 罗云波. 向日葵遗传转化研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2005, 25(1): 25 – 28.
- [40] 沙日娜, 景 岚, 张少英. 向日葵遗传转化影响因素研究[J]. 内蒙古农业大学学报, 2007, 28(4): 120 – 124.
- [41] Neskorođov Ya B, Rakitin A L, Kamionskaya A M, *et al.*. Developing phosphinothricin-resistant transgenic sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants[J]. Plant Cell Tiss. Organ Cult., 2010, 100(1): 65 – 71.
- [42] Brar G S, Roberts G A. Transformation and regeneration of sunflower cotyledons[P]. United States Patent 6998516, 2006 – 02 – 14.