

柑橘溃疡病抗性相关的 SSR 标记筛选

彭祝春¹, 龚桂芝¹, 陈善春¹, 张戈壁², 洪棋斌^{1,*}

(¹中国农业科学院柑桔研究所, 国家柑桔工程技术中心, 重庆 400712; ²广西柑桔研究所, 广西桂林 541004)

摘要: 以抗柑橘溃疡病的‘宜昌橙 2586’与易感病的‘岭南沙田柚’进行杂交, 随机选取 F₁ 代材料 80 株, 开展溃疡病抗性田间接种鉴定。鉴定结果表明, 溃疡病抗性在 F₁ 代分离明显, 若将免疫和高抗类型均视为抗病, 中抗、中感和感病类型均视为感病, 则抗感的分离比例接近 1:1。采用集合分离分析法 BSA (Bulked Segregant Analysis), 结合 SSR 分子标记技术, 筛选到 1 个与柑橘溃疡病抗性相关的分子标记 CCR-110。利用 F₁ 代分离个体和公认的抗感材料对标记进行验证分析, 发现该标记表现较好的抗性相关性。F₁ 群体相关分析表明, 该标记与柑橘溃疡病抗性的相关系数为 0.79; 采用最大似然法计算重组率为 9.38%±3.5%, 通过 Kosambi 函数将其转换成图距单位 (cM), 遗传距离为 9.11 cM; 感病的甜橙类、柚类、枳类没有此标记, 抗病的金柑类、宜昌橙类、香橙类、宽皮柑橘类的多数材料出现此标记。

关键词: 柑橘; 柑橘溃疡病; 抗性鉴定; 分子标记

中图分类号: S 666

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2010) 03-0383-07

Screening of Molecular Marker Putatively Related with Citrus Canker Resistance

PENG Zhu-chun¹, GONG Gui-zhi¹, CHEN Shan-chun¹, ZHANG Ge-bi², and HONG Qi-bin^{1,*}

(¹Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, National Citrus Engineering Research Center, Chongqing 400712, China; ²Guangxi Citrus Research Institute, Guilin, Guangxi 541004, China)

Abstract: Eighty plants from the F₁ population of Ichang Papeda 2586 (resistant genotype) × Lingnan Shatian Pummelo (susceptible genotype) were inoculated with citrus canker [*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Xac)] for resistance evaluation in field. The results revealed that resistance segregation in the F₁ progenies was significant, and the ratio of resistant and susceptible plants was close to 1:1. If immune and highly resistant types were regarded as disease resistance and moderate resistance, moderate susceptible and susceptible were regarded as susceptible types. A SSR molecular marker CCR-110 putatively related with resistance of citrus canker was obtained based on BSA (Bulked Segregant Analysis). Validation analysis of the marker was performed using F₁ segregation population tested and resistant and susceptible genotypes generally known. Marker CCR-110 was found to show good resistance relevancy. Co-segregation analysis showed that correlation coefficient between the marker and citrus canker resistance was 0.79. The recombination frequency was calculated with maximum likelihood method and transformed into centimorgans (cM) according to the Kosambi function. The recombination frequency

收稿日期: 2009-10-06; 修回日期: 2010-02-08

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2008BAD92B05); 国家‘863’计划项目 (2006AA100108); 重庆市‘十一五’柑桔选引种重大专项 (2007-2010)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: qibinhong@163.com)

is 9.38%±3.5% and genetic distance is 9.11 cM. The marker was not found in susceptible genotypes (sweet orange, pummelo and trifoliate orange), but it was observed in most resistant ones (Kumquat, Ichang Papeda, Yuzu, and mandarin).

Key words: *Citrus*; citrus canker; resistance test; molecular marker

柑橘溃疡病是一种细菌性病害,严重影响柑橘的产量和品质,迄今为止依然无法根治,被世界 30 多个国家或地区列为植物检疫性病害,在美国佛州、中国广东、广西等柑橘产区危害较为严重,并有向周边蔓延趋势。

对柑橘溃疡病抗性研究已有众多报道,但多侧重在品种抗性测试、转外源基因抗性育种等方面(陈力耕, 1993; Gottwald et al., 1993; 陈善春 等, 1997; 张戈壁 等, 2004), 分子标记相关的研究则报道较少,到目前为止,仅有 Xiang 等(2005)通过类受体激酶的候选抗病基因序列,发现与柑橘溃疡病抗性密切相关的‘19h16 / DdeI’标记位点。作者通过构建抗性分离群体,进行田间抗性测试,利用 BSA 法(Michelmore et al., 1991)和 SSR 分子标记技术,筛选并验证了与溃疡病抗性相关的分子标记。

1 材料与方法

1.1 试验材料

溃疡病抗性分离群体: 2005 年于中国农业科学院柑桔研究所采用抗溃疡病的宜昌橙 2586 (*Citrus ichangensis*) 和敏感的岭南沙田柚 (*C. grandis*) 配制杂交组合,获得杂交 F₁ 代。2006—2007 年将亲本和随机选择的 80 份 F₁ 代材料在广西进行溃疡病田间抗性测试。因嫁接死亡,有 2 份 F₁ 代材料丢失,仅获得 78 份 F₁ 代材料的鉴定结果。

分子标记测试材料: 溃疡病抗性材料有金柑类 (*Fortunella*) 6 份,宜昌橙类 (*C. ichangensis*) 9 份,香橙类 (*C. junos*) 8 份。溃疡病敏感材料有甜橙类 (*C. sinensis*) 18 份,柚类 (*C. grandis*) 8 份,枳属材料 (*Poncirus trifoliata*) 7 份。溃疡病抗性有分离的材料宽皮柑橘类 (*C. reticulata*) 15 份; 大翼橙材料红河大翼橙 (*C. hongheensis*) 和大种橙 (*C. macrosperma*) 各 1 份。

本研究选用的所有材料均来自中国农业科学院柑桔研究所国家柑桔种质资源圃。

1.2 溃疡病抗性田间测试

溃疡病抗性田间测试分析参照张戈壁等(2004)的方法进行。将新分离保存的溃疡病菌株在斜面培养基上培养 72 h 后,用清水洗下菌苔,配制成 4×10^8 cfu · mL⁻¹ 细菌悬浮液。试验材料统一嫁接到枳砧上,在春梢或夏梢长至 1~2 cm 时用细菌悬浮液喷雾接种。新梢老熟后,检查其上所有叶片,统计病斑数量和大小,计算病情指数。以病情指数为基础,用相对抗性指数划分抗感性为 5 个等级: 即免疫(I),相对抗性指数为 1; 高抗(HR),相对抗性指数为 0.80~0.99; 中抗(MR),相对抗性指数为 0.49~0.79; 中感(MS),相对抗性指数为 0.20~0.39; 高感(S),相对抗性指数小于 0.20。

相对抗性指数=1-相对病情指数; 相对病情指数=鉴定品种病情指数/对照品种病情指数。

1.3 DNA提取及抗感基因池的建立

参照龚桂芝等(2008)的提取方法,用 CTAB 法提取试验材料 DNA,提取的 DNA 用消毒双蒸水溶解,加 RNA 酶至终浓度 20 μg · mL⁻¹, 37 °C 恒温水浴 24 h 除去 RNA, Biorad 紫外分光光度计结合琼脂糖电泳检测 DNA 浓度和质量。选择相对抗性指数最高的 8 个个体组建抗病基因池,选择相

对抗性指数最低的 8 个个体组建感病基因池。等量混合各个体 DNA。

1.4 SSR分析

SSR 引物部分来源于已公开发表的文献 (Chen et al., 2006; Jiang et al., 2006; 张连峰 等, 2006), 部分根据 GenBank 中的 EST 序列自行设计, 设计方法见 Jiang 等 (2006) 的方法, 由上海英骏生物工程公司合成。

SSR 扩增采用 20 μL 反应体系, 各组分终浓度为: 25 ~ 50 ng 模板 DNA, $1\times\text{buffer}$, $1.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{MgCl}_2$, $0.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{dNTP}$, 上游引物和下游引物各 $0.2\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, *Taq* DNA 聚合酶 1 U。

PCR 扩增反应在 Biometra 公司 T1 Thermocycler PCR 仪上进行。采用 Touch-down PCR 扩增程序进行扩增: $94\text{ }^\circ\text{C}$ 预变性 4 min; $94\text{ }^\circ\text{C}$ 45 s, 起始退火温度 $60\sim 56\text{ }^\circ\text{C}$ 45 s, $72\text{ }^\circ\text{C}$ 45 s, 每循环降 $0.5\text{ }^\circ\text{C}$, 10 个循环; $94\text{ }^\circ\text{C}$ 45 s, $56\sim 52\text{ }^\circ\text{C}$ 45 s, $72\text{ }^\circ\text{C}$ 45 s, 24 个循环; $72\text{ }^\circ\text{C}$ 延伸 5 min; $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存。退火温度根据相关引物的 T_m 值进行调整。

扩增产物用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离。

1.5 抗性相关系数及遗传距离的计算

抗性相关分析采用 SPSS 分析软件的 CORREL 函数计算。

根据莫惠栋 (1984) 最大似然法计算重组率, 再按照 Kosambi (1944) 函数, 将重组率转化为遗传图距 cM (CentiMorgan)。卡方测验参照马育华 (1980) 的方法进行。

2 结果与分析

2.1 田间抗性鉴定

经田间抗性测试, 溃疡病抗性在 F_1 代明显分离。78 株后代个体中划分为免疫 (I) 5 株, 高抗 (HR) 37 株, 中抗 (MR) 31 株, 中感 (MS) 3 株和高感 (S) 2 株。

为了与分子标记的分离结果结合分析, 对抗感分类进行了简化。发现将免疫和高抗类型均视为抗病, 中抗、中感和感病类型均视为感病, 则 42 株为抗病, 36 株为感病, 抗感分离比例为 1.17 : 1.00, $\chi^2=0.16$, 远小于 $\chi^2_{0.05}=3.84$, 表明此条件下该性状符合 1 : 1 的分离比例, 可以按单基因控制的性状进行进一步分析。

2.2 SSR引物筛选及个体验证

经过 285 对 SSR 引物在抗病池和感病池中的筛选, 有 41 对引物表现出多态性, 多态性频率为 14.4%。

对筛选表现多态性的引物进行抗感池个体的进一步检测分析, 发现引物 CCR14 在抗感池个体上表现较一致的分布。在抗病池及宜昌橙母本中都有 110 bp 特异片段, 感病池及父本岭南沙田柚则没有此片段 (图 1); 在抗感池个体验证中, 抗病个体全部扩增出 110 bp 特异片段, 而感病池个体全部没有此片段 (图 2)。

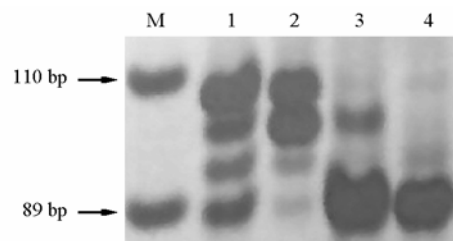


图 1 CCR14 在抗感基因池及亲本中的验证

M: 分子量标记; 1: 宜昌橙 2586; 2: 抗病基因池; 3: 岭南沙田柚; 4: 感病基因池。

Fig. 1 Marker verification of CCR14 using bulks and parents
M: DNA marker; 1: Ichang papeda2586; 2: Resistant pool; 3: Lingnan Shatian pummelo; 4: Susceptible pool.

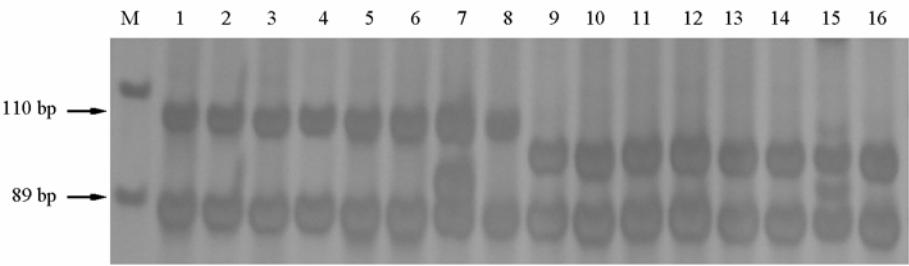


图 2 CCR14 在抗感基因池个体中的验证
M: 分子量标记; 1~8: 抗病基因池个体; 9~16: 感病基因池个体。
Fig.2. Marker verification of CCR14 using individuals of bulks
M: DNA marker; 1 - 8: Individuals of resistant pool; 9 - 16: Individuals of susceptible pool.

2.3 标记在F₁测试后代中的验证

对经过田间抗性鉴定的宜昌橙 2586×岭南沙田柚的 F₁ 代全部 78 个个体进行了扩增, 电泳结果见图 3。引物 CCR14 扩增产物中免疫 (I) 5 株都有 110 bp 片段, 高抗 (HR) 37 株有 34 株出现 110 bp 片段, 中抗 (MR) 31 株有 6 株出现 110 bp 片段, 中感 (MS) 3 株和高感 (S) 2 株都没有此片段。

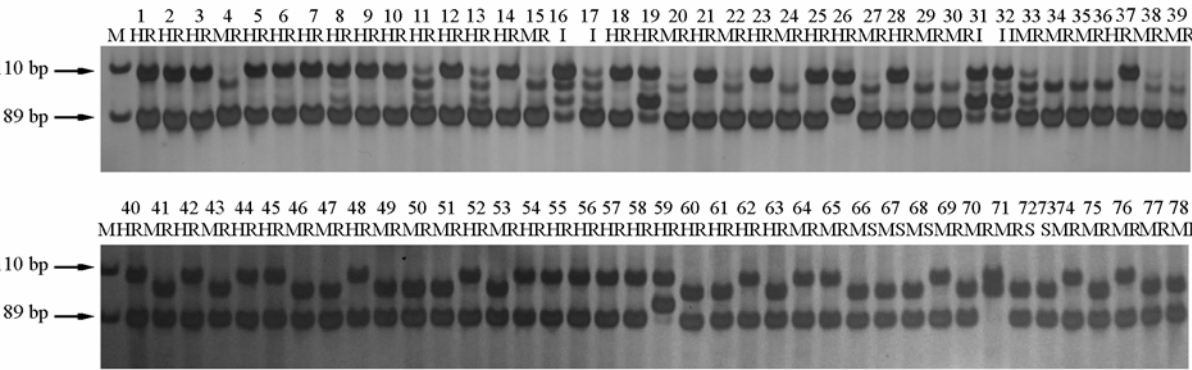


图 3 CCR14 在宜昌橙 2586× 岭南沙田柚的 F₁ 后代验证
M: 分子量标记; 1~78: F₁ 代; I: 免疫; HR: 高抗; MR: 中抗; MS: 中感; S: 高感。
Fig. 3 Marker verification of CCR14 with F₁ progenies of Ichang papeda and Shatian Pummelo
M: DNA marker; 1 - 78: F₁ progenies; I: Immune; HR: Highly resistant; MR: Moderately resistant;
MS: Moderately susceptible; S: Susceptible

2.4 抗感柑橘类型的检测验证

采用公认的抗感柑橘类型进行引物 CCR14 扩增检测, 检测结果见图 4。所有感病类型, 如甜橙类 (含血橙、脐橙、低酸甜橙和普通甜橙等不同栽培品种, 41~58 泳道), 柚类 (59~66 泳道, 依次为马叙葡萄柚、邓肯葡萄柚、东风早、强德勒柚、晚白柚、通贤柚、沙田柚、琯溪蜜柚) 以及枳属材料 (67~73 泳道, 依次为 C35 枳橙、日本枳、卡里佐枳橙、枣阳枳、东海枳、旺苍大叶枳), 都没有出现 110 bp 片段标记; 而抗病类型出现一定分化, 金柑类 (1~6 泳道, 依次为金豆、罗纹金柑、金弹金柑、罗浮金柑、四季橘、长寿金柑) 全部出现此标记, 宜昌橙类 (7~15 泳道, 依次为 2-3 宜昌橙、6-3 宜昌橙、4 号宜昌橙、怀化宜昌橙、贵州宜昌橙、三叶宜、宜昌橙 2586、金刀峡宜昌橙、公孙橘) 除 6-3 宜昌橙和三叶宜昌橙没有此标记, 其它都出现此标记; 香橙类 (18~25 泳道,

依次为雾河香橙、日本香橙、罗汉橙、江北香橙、椪桔、真橙、资阳香橙、5 号大翼香橙)除资阳香橙没有此标记外,其余出现此标记。宽皮柑橘类(26~40 泳道,依次为立花橘、印度野橘、莽山野橘、道县野橘、朱红橘、安江红橘、秤砣红橘、土橘、十月橘、太田椪柑、大浦温州蜜柑、本地早、南丰蜜橘、摩洛哥酸橘和克里迈丁)表现出很大差异,立花橘、道县野橘、朱红橘、安江红橘、十月橘、大浦温州、本地早、南丰蜜橘出现此标记,其它宽皮柑橘未出现该标记,但表现出与感病类型明显不同的带型分布,印度野橘出现了远大于 110 bp 的片段,土橘出现与感病的甜橙和柚类非常一致的带型,莽山野橘、秤砣红橘、太田椪柑、摩洛哥酸橘和克里迈丁则出现比 110 bp 略小的片段,但又与感病类型明显不同的带型。大翼橙材料中红河大翼橙(17 泳道)没有出现该标记,而大种橙(16 泳道)则出现该标记。

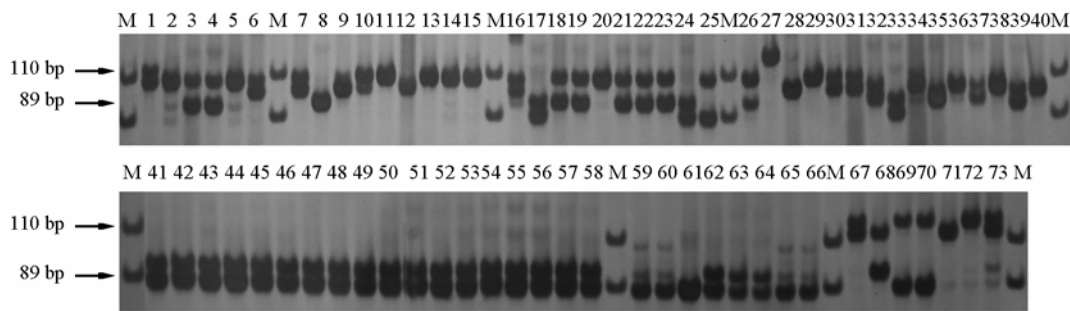


图 4 CCR14 在其它抗感品种中的验证

M: 分子量标记; 1~6: 金柑类; 7~15: 宜昌橙类; 16: 大种橙; 17: 红河大翼橙; 18~25: 香橙类; 26~40: 宽皮柑橘类; 41~58: 甜橙类; 59~66: 柚类; 67~73: 枳类。

Fig. 4 Marker verification of CCR14 with generally recognized resistant and susceptible varieties

M: DNA marker; 1~6: *Fortunella*; 7~15: *C. ichangensis*; 16: *C. macrosperma*; 17: *C. hongheensis*; 18~25: *C. junos*; 26~40: *C. reticulata*; 41~58: *C. sinensis*; 59~66: *C. grandis*; 67~73: *P. trifoliata*.

2.5 连锁及相关系数分析

对 F_1 代抗性测试和标记分析结果结合考察,将抗病类型用“1”标示,感病类型用“0”标示,分子标记中出现 110 bp 片段的用“1”标示,没有出现的用“0”标示;利用 CORREL 函数计算相关系数,相关系数为 0.7927,表明此标记可能跟柑橘溃疡病高度相关。

在经过田间抗性鉴定的 78 株 F_1 后代中,抗病类型中出现特异带的为 39 株,无特异带的有 3 株;感病类型中无特异带的为 30 株,出现特异带的为 6 株。若将抗病类型无特异带的 3 株和感病类型出现特异带的 6 株视为重组类型,根据莫惠栋(1984)最大似然法计算重组率为 $9.38\% \pm 3.5\%$,转换成遗传距离(Kosambi, 1944)为 9.11 cM。

3 讨论

3.1 关于柑橘溃疡病的抗性测试和测试结果的简化分析

无论是发病环境下的野生资源的广泛调查,还是生产栽培的长期观察,都表明柑橘存在对溃疡病抗感性的明显差异,但自然条件下的抗感性受到多方面因素的影响,如病原的浓度和存在时期,柑橘叶梢果等器官的发生发育状态和阶段,以及自然条件的温湿度变化和风雨存在等。据报道(Graham et al., 2004),2/3 展叶至完全展叶期最容易受到溃疡病菌的侵袭,成熟叶片则具有较强的

抗感染能力,而高温高湿会加速溃疡病的症状发展。为了在系统研究中准确判断对溃疡病的抗感性差异,已提出了多种鉴定方法,如田间喷雾接种(张戈壁等,2004)、针刺接种(Hiroshi et al., 2008)、刻伤接种(Gottwald et al., 1993)、压力吸附接种(Florencia et al., 2006)等。这些方法多数得到了与自然观察或生产实践比较一致的结果,但也存在操作标准不一致而影响抗性判断的问题,如刻伤接种时伤口过大过深,会导致最抗病的材料都表现严重感病的现象(Brunings & Gabriel, 2003)。本研究在高温高湿期间和新梢抽发阶段,采用较高浓度的菌液进行田间喷雾接种鉴定,相比于刻伤接种等鉴定方式,更侧重检测材料在自然条件下的抗病性,相应结果体现了柑橘的综合抗性,因而筛选得到的分子标记也是综合抗性相关的分子标记。

由于分子标记本身可以看作是一种质量性状,标记有无可以明确地判断,而自然条件下的抗性鉴定得到的测试结果通常并非整齐划一,而是接近连续分布的结果。如何将二者结合分析,是进行分子标记与性状关联分析时必须解决的难题。本研究中尝试将抗性结果进行简化,首先将测试结果按一般分析方法进行分级,再将分级结果简化为与质量性状一致的抗、感两级,统计分析表明此条件下该性状符合1:1的分离比例,可以视为单基因控制的性状,此结果与Matsumoto和Okudai(1990)提出的一个显性基因控制学说相符。单基因控制为进一步区分重组类型,估算重组率和遗传距离奠定了基础。当然简化分级可能影响部分单株的划分,加之分析群体较小等,可能对遗传距离以及相关分析等有一定影响。

3.2 分子标记与性状的关联分析

本试验中采用遗传距离计算、相关性分析和公认的抗感类型测试3种方式,进行了所筛选标记与抗性性状的关联分析。基于测试后的分离群体的遗传距离和相关性分析表明,在特定的遗传背景下,该标记与溃疡病抗性存在比较高的关联,遗传距离达到9.11 cM,相关系数为0.79。在公认的抗感类型测试中,材料类型的遗传背景差异较大,跨越柑橘的不同属种,既涉及广泛的栽培品种,也包括不少野生或原始类型,也表明该标记与溃疡病抗性存在相关性,同时还显示标记所在基因座位存在比较大的变化,即存在多个等位基因,与标记片段大小较接近的等位基因也表现一定的抗性。目前,我们已对部分差异较大的片段进行了克隆测序分析,初步分析表明,标记所在序列不仅存在SSR重复数量的差异,也存在部分碱基的变异,值得进一步研究。

References

- Brunings A M, Gabriel D W. 2003. *Xanthomonas citri*: Breaking the surface. Mol Plant Pathol, 4: 141 - 157.
- Chen C, Zhou P, Choi YA, Huang S, Gmitter F G J. 2006. Mining and characterizing microsatellites from Citrus ESTs. Theor Appl Genet, 112: 1248 - 1257.
- Chen Li-geng. 1993. Citrus canker resistance to genetic and breeding, China Citrus, 22(1): 19 - 20. (in Chinese)
- 陈力耕. 1993. 柑橘溃疡病的抗性遗传与育种. 中国柑橘, 22(1): 19 - 20.
- Chen Shan-chun, Zhang Jin-ren, Huang Zi-ran, Gao Feng, Chen Feng-zhen, Long You-qing. 1997. Studies on Agrobacterium-mediated antibacterial peptide *D* gene transfer in citrus. Scientia Agricultural Sinica, 30 (3): 7 - 13. (in Chinese)
- 陈善春, 张进仁, 黄自然, 高峰, 陈凤珍, 隆有庆. 1997. 根癌农杆菌介导柞蚕抗菌肽 *D* 基因转化柑橘的研究. 中国农业科学, 30 (3): 7 - 13.
- Florencia S, Pablo T, Lorena S, Carolina B, Paula F, Gabriel V, Jackie R, Atilio C, Adrian V, Maria R M. 2006. Analysis of the molecular basis of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* pathogenesis in *Citrus limon*. Electronic Journal of Biotechnology, 9(3): Doi: 10.2225/vol9 - issue3 - fulltext.
- Gottwald T R, Graham J H, Civerolo E L, Barrett H C, Hearn C J. 1993. Differential host range reaction of citrus and citrus relatives to citrus canker

- and citrus bacterial spot determined by leaf mesophyll susceptibility. *Plant Dis*, 77: 1004 - 1009.
- Gong Gui-zhi, Hong Qi-bin, Peng Zhu-chun, Jang Dong, Xiang Su-qiong. 2008. Genetic diversity of poncirus and Its phylogenetic relationships with relatives as revealed by nuclear and chloroplast SSR. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (12): 1742 - 1750. (in Chinese)
- 龚桂芝, 洪棋斌, 彭祝春, 江 东, 向素琼. 2008. 枳属种质遗传多样性及其与近缘属植物亲缘关系的 SSR 和 cpSSR 分析. *园艺学报*, 35 (12): 1742 - 1750.
- Graham J H, Gottwald T R, Cubero J, Achor D. 2004. *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*: factors affecting successful eradication of citrus canker. *Mol Plant Pathol*, 5(1) : 1 - 15.
- Hiroshi Shiotani, Terutaka Yoshioka, Masashi Yamamoto, Ryoji Matsumoto. 2008. Susceptibility to citrus canker caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* depends on the nuclear genome of the host plant. *J Gen Plant Pathol* , 74: 133 - 137.
- Jiang Dong, Zhong Guang-yan, Hong Qi-bin. 2006. Analysis of microsatellites in citrus unigenes. *Acta Genetica Sinica*, 33 (4) : 345 - 353.
- Kosambi D D. 1944. The estimation of map distance from recombination values. *Annals of Eugenics*, 12(2) : 172 - 175.
- Matsumoto R, Okudai N. 1990. Inheritance of resistance to bacterial canker disease in citrus. *J Jpn Soc Hortic Sci* , 59: 9 - 14. (in Japanese)
- Ma Yu-hua. 1980. Quantitative genetic theory used in crop breeding. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 19(2): 58 - 65. (in Chinese)
- 马育华. 1980. 数量遗传理论在作物育种上的应用. *江苏农业科学*, 19(2): 58 - 65.
- Michelmore R W, Paran I, Kesseli R V. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregation population. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88: 9828 - 9832.
- MO Hui-Dong. 1984. Maximum likelihood method and its application. *Journal of Genetics and Genomics*, 6(5): 42 - 48. (in Chinese)
- 莫惠栋. 1984. 最大似然法及其应用. *遗传*, 6(5): 42 - 48.
- Xiang Xu, Zheng Qi-fa, Huang Shu, Chen Chun-xian, Frederick G, Gmitter Jr., Deng Zhan-ao. 2005. Development of RLK-derived molecular markers associating with the resistance to citrus canker [*Xanthomonas axonopodis* pv. *Citri* (Xac)] Disease. *Molecular Plant Breeding*, 3(6) : 825 - 828.
- Zhang Ge-bi, Yang Ting-mi, LI Xi-qing, Chen Zhu-Sheng. 2004. The resistance of citrus varieties to citrus canker caused by *Xanthomonas citri*. *Acta Phytopylacica Sinica*, 31(2) : 221 - 222. (in Chinese)
- 张戈壁, 阳廷密, 李喜庆, 陈竹生. 2004. 不同柑橘品种对柑橘溃疡病抗病能力的测定. *植物保护学报*, 31(2) : 221 - 222.
- Zhang Lian-feng, He Jian, Feng Yan, Liu Li, Guo Qi-gao, Liang Guo-lu. 2006. Phylogenetic relationships among *Fortunella* and its relatives as revealed by SSR markers. *Journal of Fruit Science*, 23 (3): 335 - 338. (in Chinese)
- 张连峰, 何 建, 冯 焱, 刘 利, 郭启高, 梁国鲁. 2006. 金柑属及其近缘属植物亲缘关系的 SSR 分析. *果树学报*, 23 (3): 335 - 338.

工具书推荐

《新编拉汉英植物名称》 王宗训主编

本书收集具有经济价值和学术价值或通俗常见的种子植物、蕨类植物、苔藓植物、藻类植物、真菌、地衣名称 55 800 条。每种植物名称有拉、汉、英三种文字对照,按拉丁文字母顺序排列。书后附有英文俗名和汉名索引。

本书可供农、林、医药、环境保护等学科的管理机构、科研单位、大学中的科技人员以及生物工程、植物检疫、花卉园艺、新闻出版、旅游、外贸等专业的技术人员使用,也是各类图书馆典藏的重要工具书。定价:185 元(含邮费)。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部,邮编 100081。