

重要资源植物诸葛菜属的研究进展

胡欢, 王倩, 刘建全*

(四川大学生命科学学院, 生物资源和生态环境教育部重点实验室, 成都 610064)

摘要: 诸葛菜属是一种具有广泛应用价值的资源植物, 本文主要综述了该属植物的系统位置、属内种及变种的分类学地位、组织培养及属间杂交、抗逆性、营养价值和驯化栽培等多个方面的研究进展。基于诸葛菜属植物已有的研究基础及成果, 并针对该属中存在的关键科学问题, 如物种形成及其界定、适应性机理及优良基因资源的发掘、杂交育种与新种质创建等, 对可能采用的研究方法提出展望。其研究思路和研究方案为将诸葛菜作为研究植物进化、驯化以及如何高效利用野生资源植物的一个重要模式代表种提供了依据。

关键词: 诸葛菜; 分类; 属间杂交; 营养成分; 研究进展

中图分类号: Q949.748.3

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2014)02-0189-10

Recent Advances and Future Prospects of the Important Resource Plant *Orychophragmus*

HU Huan, WANG Qian, LIU Jian-Quan*

(Key Laboratory for Bio-resources and Eco-environment, College of Life Science, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: *Orychophragmus* is an important resource genus with diverse uses and high economic value. Here, we briefly reviewed past advances in the taxonomy, phylogenetic relationship, tissue culture, intergeneric hybrids, resistance, nutrient constituents and cultivation of this important resource genus. We also suggested a series of future study strategies for key issues in this genus, such as species delimitation, speciation history, adaptation mechanism, genetic resources mining, cross-breeding, and resource utilization. These studies will provide an important base for studying plant evolution, domestication and utilization of wild resources such as *Orychophragmus*.

Key words: *Orychophragmus*; Taxonomy; Intergeneric hybridization; Nutrient constituents; Research advances

诸葛菜又名二月兰, 乡间也称之为野油菜。关于诸葛菜的名字由来, 在古书《刘宾客嘉话录》中有记载“诸葛所止, 令军种蔓菁。……蜀人呼蔓菁为诸葛菜。”时至今日, “诸葛菜”这一名称通常指代两种植物, 一为芜菁(即蔓菁, *Brassica rapa*), 俗称大头菜, 即古书中记载的诸葛菜; 二是《中国高等植物图鉴》中记载^[1]的诸葛菜(即二月兰, *Orychophragmus violaceus*)。可能由于与芜菁部

分形态特征类似, 后者被误称为古书中所记载的诸葛菜。

诸葛菜属(*Orychophragmus* Bunge)植物为十字花科(Brassicaceae)一年生草本植物, 其花蓝紫色、淡红色或白色, 成疏松总状花序; 花萼合生, 内轮萼片基部囊状; 花瓣宽倒卵形, 侧蜜腺近三角形, 无中蜜腺; 花柱短, 柱头2裂; 长角果线形, 4棱或压扁, 熟时2瓣裂, 果瓣具锐脊, 顶端

收稿日期: 2013-07-22, 修回日期: 2013-10-20。

基金项目: 国家自然科学基金重大研究计划培育项目(91331102)。

作者简介: 胡欢(1990-), 女, 硕士研究生, 主要从事植物系统发育研究(E-mail: huhuancd@gmail.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence): 刘建全, 教授, 博士生导师, 主要从事资源植物群体遗传学和进化研究(E-mail: liujq@nwipb.ac.cn)。

有长喙。近 20 年来, 由于该属植物具有在花卉、油料、蔬菜和饲料等方面的潜在应用开发价值, 受到了人们的广泛关注, 并开展了比较全面、深入系统的研究, 如系统分类、杂交育种、细胞遗传学、组织培养及转基因体系的建立等。本文主要目的是综述这些研究成果, 并在此基础上提出针对该属、同时也是针对其它资源植物类群的一系列研究思路, 以为各种资源植物的深度发掘与利用提供参考与依据。

1 诸葛菜属植物的系统分类位置

1.1 诸葛菜属种及变种的分类地位

早期出版的《中国植物志》第 33 卷记载^[2], 我国产诸葛菜属 1 种及 3 变种, 即: 诸葛菜 *O. violaceus*, 以及变种湖北诸葛菜 *O. violaceus* var. *hupehensis*、缺刻叶诸葛菜 *O. violaceus* var. *intermedius* 和毛果诸葛菜 *O. violaceus* var. *lasiocarpus*。1998 年谭仲明等^[3]发表了太白诸葛菜 *O. taibaiensis* 和铺散诸葛菜 *O. diffusus* 两个新种, 并根据形态学特征将湖北诸葛菜由变种级上升至种级水平 *O. hupehensis*。其中, 太白诸葛菜主要分布在陕西省太白山, 与诸葛菜的主要区别在于其植株通常无毛, 上部叶不裂或大头羽状分裂, 具叶柄, 花序轴纤细, 花排列稀疏, 长角果细线形, 种子黄褐色或近褐色; 铺散诸葛菜主要分布在浙江余杭, 与湖北诸葛菜的主要区别特征为其茎铺散, 叶全部大头羽状分裂, 顶裂叶心形或肾形, 长角果较短。1999 年出版的《四川植物志》又增加了近全缘诸葛菜 *O. violaceus* var. *subintegrifolius* 和同型叶诸葛菜 *O. violaceus* var. *homaeophyllus* 两变种^[4]。但是, Al-Shebhaz 等^[5]在对诸葛菜属进行全面修订时, 把上述所有物种和变种都合并为诸葛菜 *O. violaceus* 一个种; 并将原来分别位于碎米荠属和葱芥属中的两个种心叶碎米荠 (*Cardamina limprichtiana*) 和大叶葱芥 (*Allaria grandifolia*) 合并为一个种, 重新组合为诸葛菜属心叶诸葛菜 *O. limprichtianus*, 故诸葛菜属仅包含两个种, 诸葛菜和心叶诸葛菜, 并且这一观点为 Flora of China 所采纳^[6]。吴金清和赵子恩^[7]随后根据长江三峡库区的标本, 建立了独立的新种秭归诸葛菜 *O.*

ziguiensis, 并给出了它与诸葛菜的区别特征: 柔弱草本, 多分枝, 茎生叶为间断羽状复叶或羽状复叶, 种子为圆柱状长圆形; Wang 等^[8]也在诸葛菜种下发表了两个分布于黑龙江省的新变种, *O. violaceus* var. *odontopetalus* (花瓣上部有 5 个及以上的钝齿, 茎和花柄被有微柔毛) 和 *O. violaceus* var. *variegatus* (花瓣具有白、紫彩斑, 上部叶通常无分裂, 叶缘具钝齿), 并且指出这两个变种和原变种诸葛菜的形态差异在田间试验八年之后仍能稳定存在。

根据形态学对诸葛菜属种及变种分类地位的确立存在较大争议, 同样, 基于其它生物学证据进行的属下分类也出现了不同的观点。如张鹏等利用 SEM 观察了诸葛菜属所有记录种 (8 种) 的花粉形态, 发现其花粉纹饰无显著区别, 支持将它们全部合并为一个种处理; 而心叶碎米荠和大叶葱芥的花粉显著小于诸葛菜属植物, 因此不支持将它们合并到诸葛菜属中, 并且作为该属一个种-心叶诸葛菜的分类观点^[9]。孙莉等^[10]通过对诸葛菜属植物幼苗形态特征的比较发现, 诸葛菜幼苗密被白色柔毛, 子叶存在四级和五级叶脉; 而湖北诸葛菜和太白诸葛菜幼苗被稀疏柔毛, 子叶少四级脉、无五级脉; 铺散诸葛菜幼苗无毛, 边缘具锯齿; 并且这 4 个种的下胚轴长度和直径也各不相同, 故支持将它们作为 4 个独立的种来处理。心叶碎米荠和大叶葱芥幼苗的形态性状与诸葛菜相似, 但与铺散诸葛菜、湖北诸葛菜和太白诸葛菜差异较大, 两者与诸葛菜属植物应有一定的亲缘关系, 但是否为诸葛菜属成员还有待进一步研究。Zhou 等^[11]对该属植物染色体数目的检测发现, 诸葛菜 $2n = 24$, 铺散诸葛菜 $2n = 20$, 湖北诸葛菜 $2n = 22$, 太白诸葛菜 $2n = 24$ 或 48 ; 根据染色体数目的不同将会导致直接的生殖隔离, 作者支持它们作为 4 个独立的种来处理。同时基于 ITS 序列和 *matK* 序列的碱基变异分析也发现, 湖北诸葛菜、太白诸葛菜和诸葛菜之间存在显著差异, 应作为独立的种来处理; 构建的诸葛菜属原有四个种 (不含心叶诸葛菜) 的系统发育树由两支组成, 一支为湖北诸葛菜和太白诸葛菜, 另一支为诸葛菜和铺散诸葛菜。吴林园等^[12]以采自南京的花颜色和果实被毛状况具有一定差异

的四个诸葛菜变异类型为材料,利用两个叶绿体DNA片段和ITS序列分析发现,虽在一个叶绿体DNA片段和ITS序列上各检测到一个碱基变异,但与花颜色和果实被毛状况不存在相关性,认为诸葛菜的白色花可能为特化现象,而果实具毛是个不稳定的性状,并支持将毛果诸葛菜变种(*O. violaceus* var. *lasiocarpus*)并入诸葛菜的分类观点。

1.2 诸葛菜属的系统分类位置

尽管诸葛菜属的属间界定仍然存在较大争议,如是否应把心叶碎米荠(碎米荠属)和大叶葱芥(葱芥属)合并到该属,并且这两个属与诸葛菜属的属间界限如何?以该属模式植物诸葛菜(*O. violaceus*)为代表种,已有很多研究对诸葛菜属的系统位置进行过探讨。基于十字花科50个属ITS、cpDNA、*trnL*、ITS/*trnL*序列变异分析构建的系统发育树支持诸葛菜属属于芸薹族(Trib. Brassiceae Hayek)^[13],这与早期的形态学分类结果相吻合^[2,5]。但也有一些研究结果不支持这一结论,German等^[14]利用ITS序列分析构建的十字花科121个属的系统发育树显示,诸葛菜属并不属于芸薹族,而是和山嵛菜族Eutremeae山嵛菜属(或盐芥属)的一个种(*Eutrema parvulum* = *Thellungiella parvulum*)聚成一小支。Khosravi等^[15]根据ITS序列构建的十字花科系统发育树中,诸葛菜属与线果芥属*Conringia*组成一独立分支,并与Isatideae族形成姊妹群。Zhao等^[16]基于核基因组*Chs*片段序列变异分析发现,诸葛菜和白芥子属*Sinapis*亲缘关系较近,聚成一小支后与Isatideae族、Sisymbrieae族、芸薹族共同组成十字花科的第二谱系支(linage II)。Couvreur等^[17]利用线粒体基因组*nad4* intron 1序列变异构建的系统发育树表明诸葛菜属是十字花科第二谱系支(linage II)的一孤立类群,与Isatideae族、Sisymbrieae族、Schizopetaleae族和芸薹族无直接的姊妹亲缘关系。Liu等^[18]基于叶绿体、线粒体和核基因等不同类型的DNA片段序列变异分别构建了十字花科的系统发育树,并讨论了诸葛菜属的系统分类位置。由叶绿体DNA *trnS-G*序列构建的系统发育树显示,诸葛菜属与线果芥属先聚成一独立分支,并与Sisymbrieae族构成姊妹群后,一起和Sisylsatide-

ae族、芸薹族共同组成十字花科的第二谱系;而以线粒体基因组*nad7*第二内含子序列构建的系统发育树上,诸葛菜属嵌入芸薹族中,并与Isatideae族、Sisymbrieae族、Iberideae族、拟南芥族Arabideae、Calepineae族、Thalspideae族、Alysseae族和山嵛菜族共同组成十字花科的第二谱系;根据核基因组*PI*基因第一内含子序列构建的系统发育树上,十字花科第二谱系支包括Isatideae族、Sisymbrieae族、芸薹族、山嵛菜族、Calepineae族和Thalspideae族,而诸葛菜属位于Isatideae族和Sisymbrieae族的基部,故作者建议将诸葛菜属与线果芥属作为独立的一个族来处理。

2 组织培养和属间杂交研究

2.1 组织培养和转基因体系的建立

与其它十字花科植物一样,诸葛菜的叶和叶柄具有较强的器官分化能力^[19]。此外,其花柄切段和花托部位在离体条件下也具有较强的花芽分化能力,可直接诱导出小花及花枝开花^[22,23]。对诸葛菜的花粉悬浮培养较易获得单倍体植株,经染色体组加倍处理后,可得到诸葛菜纯合二倍体植株^[24]。诸葛菜的直接体细胞胚发生途径为单细胞、内起源、合子胚发育方式^[20],即以诸葛菜无菌苗的下胚轴组织为材料分离原生质体,利用PEG介导转化诸葛菜原生质体成功获得转基因植株^[21]。与诸葛菜类似,湖北诸葛菜、铺散诸葛菜的组织培养也十分容易,它们的叶柄、叶片同样具有极强的器官分化能力,但器官发生方式不同。湖北诸葛菜的叶柄和叶片都是直接器官发生途径,而诸葛菜叶柄是通过体细胞胚、叶片是间接器官发生途径来获得再生植株的^[25-27]。

2.2 与芸薹属的属间杂交及其亲和性

诸葛菜(*Orychophragmus violaceus*, $2n = 24$, OO)最早与甘蓝型油菜(*Brassica napus*, $2n = 38$, AACC)进行属间杂交尝试,并从属间杂种($2n = 31$)自交后代中鉴定出一个新的杂种植株($2n = 25$,在表型上为亲本中间型,且雄性不育)^[28]。采用胚拯救技术,李旭峰等^[29]获得了油菜OguCMS(萝卜胞质雄性不育系)与诸葛菜的属

间杂种 ($2n = 31$), 且杂种获得率为 0.0072%。徐传运和李再云^[30]以诸葛菜和甘蓝型油菜品种属间杂交的 F_4 世代中出现的五倍体单株 (AACCO, $2n = 50$) 为材料, 经连续多代自交直至获得 F_{12} 群体; 细胞学观察表明 85.3% 的 F_{12} 单株具有与甘蓝型油菜相同的染色体数目, 未发现混倍体; F_{12} 群体单株中仅有少量来自诸葛菜的特异 DNA 片段, 并发现少量的缺失条带和新条带 (杂交双亲都不具有的条带), 发生了明显的遗传渗入现象。通过比较诸葛菜与甘蓝型油菜、芥菜型油菜 (*Brassica juncea*, $2n = 36$, AABB) 和白菜型油菜 (*Brassica campestris*, $2n = 20$, AA) 的属间杂交交配性发现, 以芥菜型油菜、甘蓝型油菜或白菜型油菜做母本均能获得杂交种, 而以诸葛菜为母本则不能获得杂交种; 芥菜型油菜和诸葛菜杂交后代中假杂种出现的频率较高, 且大多数 F_1 植株为偏母植株; 以甘蓝型油菜为母本的正交组合中获得了 18 株属间杂种; 诸葛菜和白菜型油菜杂交获得的杂种植株, 其形态上为双亲中间型, 花粉育性低, 具有预期的染色体数 ($2n = 22$), 为稳定的属间真杂种, 是油菜遗传改良的宝贵资源^[31-34]。

朱旺升等^[35]采用胚拯救方法还获得了埃塞俄比亚芥 (*Brassica carinata*, $2n = 34$, BBCC, 起源于甘蓝和黑芥) 与诸葛菜的属间杂种混倍体 ($2n = 14 \sim 34$); 发现 $2n = 34$ 细胞的频率最高; 基因组原位杂交分析结果表明, 所有体细胞和 PMCs 中均不含有整条的诸葛菜染色体, $2n = 34$ 的体细胞和 PMCs 中均包含了来自黑芥 (*B. nigra*, $2n = 16$) 的 16 条染色体, 诸葛菜探针信号大多与黑芥探针信号重叠。胡大有等^[36]以黑芥 (*Brassica nigra*, $2n = 16$, BB) 为母本、诸葛菜为父本进行了属间正向杂交 (杂交结籽率为 0.72%), 获得了 1 株真杂种, 而反交组合未能获得成功; 真杂种植株性状表现为中间型, 且雄性不育。黑芥与诸葛菜杂交后代中假杂种出现的频率较高, 可能是异源父本花粉诱导的孤雌生殖所致。

对诸葛菜属与芸薹属的属间杂交亲和性初步研究表明, 存在严重的生殖隔离障碍, 主要表现为受精前障碍。瞿波等^[37]利用扫描电镜观察了诸葛菜与甘蓝型油菜属间杂交过程中花粉粒与柱头间的识

别反应, 发现正反交的花粉与柱头间识别反应是完全不同的: 诸葛菜花粉与油菜柱头的不亲和性主要表现是, 在柱头表面上花粉管出现扭曲、膨胀、分枝等现象, 而诸葛菜柱头与油菜花粉之间的不亲和性主要是表现为, 柱头对花粉粒的粘附能力非常弱或花粉粒被抑制不能萌发。王幼平等^[38]发现以诸葛菜为父本分别与甘蓝型油菜、羽衣甘蓝、白菜型油菜杂交时, 受精前有一定的亲和性; 而和白菜型油菜、芥菜型油菜、埃塞俄比亚芥杂交时存在受精前障碍; 他认为通过蕾期授粉是克服属间杂交不亲和性的有效方法之一。王爱云等^[39]发现诸葛菜花粉很难在甘蓝型油菜、白菜型油菜和芥菜型油菜的柱头上黏附和萌发, 且与这三种类型油菜柱头的亲和力和存在显著差异, 其中诸葛菜和芥菜型油菜的属间杂交组合受精前亲和性最好, 这与王幼平等^[38]发现诸葛菜与甘蓝型油菜远缘杂交受精前亲和, 而和白菜型油菜和芥菜型油菜受精前不亲和的报道有一定区别。对于诸葛菜属其它物种与芸薹属的杂交试验也进行过尝试, 如吴俊等^[40]以甘蓝型油菜 Ad-2 为母本, 诸葛菜、湖北诸葛菜和铺散诸葛菜为父本进行属间杂交, 发现不同诸葛菜属物种 (或生态型) 作为母本进行属间杂交的亲和性基本一致, 其中湖北诸葛菜和铺散诸葛菜与甘蓝型油菜的亲性和弱于诸葛菜与甘蓝型油菜的亲性和, 且诸葛菜属植物与甘蓝型油菜杂交存在受精前生殖隔离障碍。

2.3 属间杂交种的细胞遗传学研究

兰永珍和周太炎^[41]首次报道了毛果诸葛菜 (*O. violaceus* var. *lasiocarpus*) 的染色体数为 $2n = 24$ 。李子先等观察到诸葛菜的染色体数目为 $2n = 24$, 种内变种染色体存在次缢痕位置多态性、臂比变异以及核型对称性和不对称系数的变异^[42]。李再云和刘后利^[43]通过观察诸葛菜的染色体减数分裂过程, 提出该物种可能为自然多倍体, 最低染色体基数为 $x = 3$ 。但后来的研究发现, 诸葛菜体细胞染色体数目及其频率存在较大的种内变化, 60.68% 的体细胞染色体数目为 $2n = 24$, 其它体细胞的染色体数目则呈 6 的倍数变化, 从而推测诸葛菜可能是四倍体^[44]。张莉俊等^[45]对不同居群的诸葛菜染色体数目进行了检测与分析, 发现体

细胞染色体组成以 $2n = 2x = 24$ 为主,并出现了较高频率的 B 染色体。对诸葛菜属其它物种的染色体数目也进行了观察,其中铺散诸葛菜 $2n = 20$,湖北诸葛菜 $2n = 22$,太白诸葛菜 $2n = 24$ 或 $48^{[11]}$ 。

对诸葛菜属与芸薹属的属间杂交种染色体的组成和变化研究较多。如对诸葛菜和芥蓝属间杂种的减数分裂观察发现,中期 I 的花粉母细胞中,染色体数目稳定(21),单价体的形成占绝对优势,二价体的形成较少(0 ~ 3 个);仅观察到极少数芥蓝和诸葛菜染色体配对,从而推测芥蓝与诸葛菜染色体组之间的同源性较低^[46]。并且,诸葛菜和芥蓝属间杂种的两个亲本染色深浅存在差异,可能是两组染色体在分裂过程中浓缩速度不同所致,从而导致两组染色体行为不同步^[47]。甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种细胞减数分裂中,存在两种染色体分离方式,一种是细胞内的 31 条染色体呈两组分离,同时产生具有 19 与 12 条染色体的两类配子;另一种是在后期 I 至末期 I,花粉母细胞内以 6 个二价体形式出现的 12 条染色体落后在赤道板附近,而被排斥在末期核之外,这些落后二价体很有可能来自于诸葛菜^[48,49]。对诸葛菜和甘蓝型油菜杂种高世代($F_8 \sim F_{10}$)材料的遗传变异分析发现,这些反复自交的杂种高世代材料细胞中已不含诸葛菜染色体,多数植株都为少于 38 条染色体的亚倍体;与白菜型油菜杂种的减数分裂配对结果显示,这些亚倍体后代细胞中丢失的可能正是来自 C 基因组的染色体;随着世代的增加,体细胞染色体数目都有向甘蓝型油菜 $2n = 38$ 升高和回归的趋势^[50]。

3 诸葛菜的抗逆性及其相关基因的克隆

3.1 诸葛菜的抗逆性研究

盐(NaCl)胁迫对诸葛菜种子萌发具有明显的抑制作用,且胁迫浓度越大抑制作用越明显,在高浓度盐(2.0%)胁迫下,GA₃对诸葛菜种子发芽率的影响不明显;当 NaCl 浓度为 50 ~ 200 mg/L 时,GA₃可显著缓解盐胁迫对其种子萌发的抑制作用^[51]。诸葛菜对水分胁迫具有一定的抵抗能力,增加可溶性糖含量可缓解水分胁迫,在轻度水分胁迫下,诸葛菜可溶性糖含量呈先降后升的趋势;在

中度和重度水分胁迫下,可溶性糖含量表现出显著升高的趋势^[52]。在土壤干旱胁迫过程中,随着胁迫时间的延长和胁迫程度的增加,诸葛菜叶片含水量、叶绿素质量分数均逐渐下降,MDA 质量摩尔浓度、游离脯氨酸和蛋白质质量分数均有不同程度增加;随着干旱胁迫程度增加,超氧化物歧化酶活性呈先上升再下降的趋势^[53]。在不同浓度及不同组合的复合胁迫中,轻度盐碱胁迫处理对诸葛菜叶片和根系细胞膜透性影响很小;500 mg/L Pb 单一胁迫处理对叶片光合色素的合成具有一定的促进作用,但 Pb + Cd 复合胁迫处理对叶片光合色素的合成具一定的破坏作用,其中类胡萝卜素对胁迫处理更敏感;盐碱胁迫及盐碱与 Pb、Cd 复合胁迫中,叶片和根系的 POD 活性、SOD 活性、可溶性糖和 Pro 含量均呈现逐渐上升趋势,且根系中 POD 活性和 SOD 活性均显著高于叶片^[54]。对诸葛菜试管苗进行低温(5 ~ 7℃)处理 7 d 后,培养基中添加适量的 GA₃(2 mg/L),并将培养基中 NH₄NO₃ 含量减半可加速现蕾和开花^[22]。用铜、铅和钴三种重金属处理油菜和诸葛菜叶片后,诸葛菜碳酸酐酶活性均受到抑制,但抑制常数不同,其中铜最小,铅次之,钴最大^[55]。

3.2 诸葛菜中抗逆相关基因的克隆

杜世章等^[56]从诸葛菜苗期的 cDNA 文库中筛选和克隆了一个新的过氧化物酶基因 *OvRCI*,盐诱导后其表达增加,说明该基因在诸葛菜中是一个诱导型表达基因。此外,从正在萌发的诸葛菜种子中,钱磊等^[57]获得了长度为 160 bp 的植物防御素 cDNA 片段,为诸葛菜植物防御素基因功能的研究奠定了基础。根据拟南芥 *Toc33* 基因的编码序列,廖问陶等^[58]设计同源引物,扩增出诸葛菜叶绿体外膜蛋白转运器构件蛋白基因 *Toc33*,得到的两个片段长度分别 1475 bp 和 1573 bp;通过同源性比较发现,这两个片段之间的同源性达到 88%,分别命名为 *OvToc33-1* 和 *OvToc33-2*;而与拟南芥 *Toc33* 基因编码区的同源性分别高达 91.8% 和 92.4%,且该基因表达的蛋白是高度保守的。倪雪莉等^[59]利用诸葛菜的花瓣基因组总 DNA 和 cDNA 对查尔酮合成酶基因(*OvCHS*)进行了克隆,并与拟南芥查尔酮合成酶基因 *AtCHS* 比较发现,两基

因的相似性为 88.64%；氨基酸序列中仅存在几个氨基酸残基的差异，相似性达 95.95%；进化分析显示，*OvCHS* 与同为十字花科植物的拟南芥和甘蓝型油菜聚为一组，但与甘蓝型油菜的亲缘关系较近。此外，宋小玲等^[60]以抗除草剂草甘膦和草丁膦转基因油菜为父本、诸葛菜为母本，在人工授粉条件下研究了抗性基因向诸葛菜的潜在基因漂移，结果表明，授以转基因油菜的花粉后诸葛菜不能结实，即抗除草剂转基因油菜抗性基因向诸葛菜漂移的可能性较小。

4 诸葛菜属的营养成分和驯化栽培研究

4.1 诸葛菜属植物的营养成分

诸葛菜种子千粒重约 3.76 g，每株植株的种子产量可达 23.8 g^[61,62]。诸葛菜种子的脂肪酸组成中，芥酸、亚麻酸含量低，棕榈酸、油酸和亚油酸的含量为总脂肪的 89.8%，即诸葛菜为高亚油酸低芥酸种质，其种子油是品质优良的食用油^[63-65]。诸葛菜的嫩枝产量高达 36400 kg/hm²，嫩枝富含蛋白质、铁、钙、胡萝卜素和维生素 B₁、C，并包含 7 种人体必需氨基酸^[61,62]。诸葛菜的茎叶水解提取物含有 3 种黄酮醇甙元(槲皮素、山柰酚和异鼠李素)，其总黄酮甙元含量较高^[66]，具有抗氧化活性、抗菌消炎、调节毛细血管的脆性与渗透性、防治心血管疾病等功效；使用微波辅助能快速、无污染地提取诸葛菜中的黄酮类物质^[67,68]。总之，诸葛菜营养价值高，且具有一定的药用功效，其种子的含油量高，为典型的高亚油酸低芥酸种质，是集蔬菜、饲料和油料作物兼用的一类新型经济植物。

4.2 诸葛菜属植物的驯化栽培

诸葛菜属产于中国，在东北、华东、华中以及西北均有分布。多样的生态环境和不同的分布生境导致了诸葛菜属植物对环境适应的多样性，对该属模式种的驯化栽培进行了较多的探索与研究。赵云等^[69]对诸葛菜属植物资源进行了收集与评价，以期筛选出具有较大利用价值的优异种质，为生产和育种服务；以四川大学原有诸葛菜(来自江苏南京)为对照，将诸葛菜属植物的生育期按产地或来源不同分为两类：生长在长江流域的诸葛菜生育期

较短，菌核病发病率较高，但病情指数低于对照，普遍适应成都的气候条件，可选出作为育种材料使用，有望在生产中应用。而生长在北方的诸葛菜生育期较长，病毒病发病率较高，难于直接利用，但株型较好，可作为育种材料使用。黄邦全等^[70,71]把诸葛菜作为油料作物在成都地区进行了驯化栽培，并分析了栽培措施对诸葛菜菌核病发生的影响，比较结果表明，播种期对诸葛菜菌核病的发生影响极为显著，播种越早，发病越严重；栽植密度、施氮量对诸葛菜菌核病发病率影响不显著，但播期、栽植密度和施氮量之间的交互作用显著；诸葛菜在成都地区以 10 月中旬播种、栽植密度以 1.8×10^5 株/hm² 为宜，这样既可以减轻菌核病的发生，又可获得较高的单株产量，即提高实际产量。此外，‘二月兰’作为一个重要的、成熟的花卉商用品种，已有多家公司出售其种子，在我国各公园、小区以及高速公路绿化建设中发挥着重要作用。

5 展望

综上所述，作为一种重要的具有潜在利用价值的种质资源，诸葛菜属植物已引起人们的广泛关注，并开展了资源收集与驯化栽培、杂交育种、组织培养、抗逆性及其相关基因的克隆等研究。为了深入发掘诸葛菜属植物作为药用功能或保健蔬菜、饲料及油料作物等方面的潜在利用优势，还需要对其进行更进一步的研究、验证与实践。基于诸葛菜属植物已有的研究基础及成果，我们对该属中还存在的关键科学问题和可能采用的研究方法提出展望，其研究思路和研究方案也适合于以中国为主要分布地区的其它具有重要经济开发价值的植物类群(科、属或组)；采用此策略对这些类群进行深入而系统的研究，可为中国资源植物的研究进入世界先进行列、全面高效利用中国本土的野生植物遗传资源做出原创性贡献。

5.1 诸葛菜属的系统位置、物种形成及其界定

确定诸葛菜属的系统位置对于开展远缘杂交育种具有关键意义，而属内分类和物种形成则能为收集野生资源并从中选育优异种质提供基础。以往在进行诸葛菜属系统位置及与十字花科其它属亲缘关

系的研究时,大多采用一些保守DNA片段来分析其与相关属的系统发育关系,采用不同的分类群及DNA分析片段所揭示的诸葛菜属系统位置却存在冲突^[13-18],这可能与其为多倍体起源有关系,同时此结果也表明诸葛菜属可能本身就是一个杂交起源的属。此外,在已报道的系统发育研究中,分类群中没有完全包括芸薹族、山嵛菜族等族中所有可能与诸葛菜属有亲缘关系的属,因此,若要对该属系统位置进行深入研究时,需尽可能多的采集族、以及每个族中的代表属作为分类群进行分析,确定该属可能的属间亲缘关系;应尝试利用多个核基因的单拷贝基因片段和叶绿体基因组的序列分析来构建系统发育树,这不仅能提高分支支持率,而且也可能阐明其可能的杂交起源;利用染色体原位杂交技术和属间杂交来确定或排除其可能的杂交起源假设。

根据诸葛菜属的形态学特征,如角果、植株和萼片是否被毛、叶片及裂片形状等发表了11个种及变种^[2-8],但该属究竟有多少个物种难以确定。对已有记载的诸葛菜属物种中,应该如何来确定它们的种间界限?是否由于自然授粉或人工杂交,导致各分类单元(taxonomic units)之间的形态变异?诸葛菜属与近缘属之间的属间界限如何?是否应把心叶碎米荠和大叶葱芥合并到诸葛菜属中?要解决该属物种及变种的分类学问题,应采用居群和物种生物学的原理、方法,特别是利用分子证据进行探索:(1)以居群为单位收集每个分类单元,采样范围尽量覆盖其分类区,统计检验其形态变异在居群内、居群间、分类群(种、变种)间的连续性和间断性;(2)采用DNA条形码(DNA Barcoding)和其它分子标记(SSR、AFLP和SRAP等)来研究分类群(种、变种)可能存在的遗传分化和遗传界限;(3)通过杂交确定这些分类群间或分类群内个体间的生殖隔离程度。在采用居群和物种生物学的方法在对诸葛菜属物种分类地位研究的基础上,再结合形态学特征、遗传数据可对该属的物种划分,特别是物种形成历史将有一个清晰的理解。此外,还要分析该属植物的一些重要资源经济性状(如高亚油酸、低芥酸等)在不同地理分布生态型中的分布、含量及其与生态因子之间的相关性,阐明其变化规

律,为该属野生资源的高效、合理利用提供坚实的基础。

5.2 适应性、抗逆性和优异基因资源的发掘

诸葛菜属在中国广为分布,从南到北、从东到西都有其种群散布,其地理分布范围涵盖了各种土壤类型及气候变异因子。为何诸葛菜属植物对生态因子具有较强的生长适应性?属内各种生态型或表型是否已形成适应本地生态因子的特有基因型?如何发掘与克隆这些适应性或抗逆基因?控制该属高亚油酸、低芥酸的关键基因有哪些,它们是如何起作用的?要解释以上问题,需借助比较功能基因组学研究手段进行深入剖析。诸葛菜属植物与模式植物拟南芥亲缘关系相对较近,在基因注释、同源基因克隆等方面具有一定优势。此外,该属植物生活周期短、容易栽培和结实,实验室管理相对粗放,是一个非常容易操作的“近模式植物”。但是,诸葛菜属植物可能是(异源或同源)多倍体,与拟南芥相比,应存在近期的基因组加倍事件,使多数同源基因发生了重复(多个不同的拷贝),从而导致直接克隆和比较基因功能存在一定的困难。发掘诸葛菜属植物的优异基因资源,需在以下几个方面加强工作:(1)通过‘common garden’和‘trans-plantation’比较不同生态型和表型的生态适应性,包括对土壤、温度等的适应差异性;(2)选择不同生态型研究各种胁迫处理下的转录组序列变异,并通过差异表达初步确定关键候选基因(candidate gene);(3)利用不同适应性差异的生态型植株构建杂交群体,通过QTL定位检测各个代表性基因位点对适应性或表型差异的贡献,或群体基因组方法对这些代表性基因可能的适应性选择信号进行检验;再经过克隆获得主效基因区间及其序列变异;(4)获得控制抗逆性和关键性状(如高亚油酸、低芥酸)的候选基因,分析序列变异及其关联的生理性状、油脂成分、功能化合物含量的变化等,并通过转基因进一步验证其功能;(5)将获得的抗逆性基因应用到诸葛菜属植物或其它作物的遗传改良中,推广利用这些重要的基因资源。

5.3 种质创新及驯化栽培

诸葛菜属植物的杂交育种研究主要集中在把诸葛菜属中优异种质资源通过远缘属间杂交引入到规

模化栽培的油菜等作物中,这无疑是将来的一个重要研究方向,这一技术是通过杂交把诸葛菜属的优异基因(如高亚油酸、低芥酸、抗逆性等关键基因)以染色体片段的形式转移到油料作物中的,需要在杂交后代中发展相关的详细检测方法,选育具有目标性状的优良单株。另外,还可通过获得控制这些优异性状的关键基因,对诸葛菜属植物及其它油料作物进行遗传改良和种质创制。

诸葛菜属植物本身也是尚未完全驯化的野生资源植物,故利用诸葛菜属的另一重要途径则是将其驯化为具有不同用途及种植目的的栽培种,如蔬菜、花卉和油料作物等。在驯化或野转家栽培过程中,还可采用野生资源系统选育、多倍化、转基因等方式,筛选适合不同用途且抗逆性强的新品种。实际上,诸葛菜属植物已经作为观赏花卉在中国大面积栽培。

参考文献:

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 1982.
- [2] 周太炎, 郭荣麟, 蓝永珍, 陆莲立, 关克俭, 安争夕. 中国植物志: 第33卷: 十字花科[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 98-101.
- [3] 谭仲明, 许介眉, 赵炳祥, 张小亮. 中国诸葛菜属(十字花科)新分类群[J]. 植物分类学报, 1998, 36(6): 544-548.
- [4] 谭仲明, 张兆清, 赵云, 周颂东. 十字花科[M]//李伯刚. 四川植物志. 成都: 四川民族出版社, 1999: 1-168.
- [5] Al-Shehbaz IA, Yang G. A revision of the Chinese endemic *Orychophragmus* (Brassicaceae) [J]. *Novon*, 2000, 10(4): 349-353.
- [6] Cheo TY, Lu LL, Yang G, Al-Shehbaz IA. Flora of China: Vol. 8 [M]. Beijing: Science Press; St. Louis: the Missouri Botanical Garden Press, 2001: 26-27.
- [7] 吴金清, 赵子恩. 长江三峡库区诸葛菜属(十字花科)一新种[J]. 武汉植物学研究, 2003, 21(6): 467-488.
- [8] Wang L, Ma XJ, Yang CP. Two new infraspecific taxa of *Orychophragmus violaceus* (Brassicaceae) in northeast China [J]. *Novon*, 2012, 22(1): 109-113.
- [9] 张鹏, 邱明, 金孝锋. 诸葛菜复合体(十字花科)的花粉形态及其分类学意义[J]. 杭州师范大学学报: 自然科学版, 2009, 8(3): 214-217.
- [10] 孙莉, 杨王伟, 张漪, 金孝锋. 诸葛菜属及近缘类群(十字花科)的幼苗形态及其分类学意[J]. 杭州师范大学学报: 2012, 11(4): 337-341.
- [11] Zhou LR, Yu Y, Song RX, He XJ, Jiang Y, Li XF, Yang Y. Phylogenetic relationships within the *Orychophragmus violaceus* complex (Brassicaceae) endemic to China [J]. *Acta Bot Yunnanica*, 2009, 31(2): 127-137.
- [12] 吴林园, 高兴, 彭斌, 郭建林, 王荣富, 杭悦宇. 基于3个DNA序列的不同确定形态类型诸葛菜的遗传关系分析及后代性状观察[J]. 植物资源与环境学报, 2010, 19(1): 75-79.
- [13] Warwick SI, Sauder CA. Phylogeny of tribe Brassiceae (Brassicaceae) based on chloroplast restriction site polymorphisms and nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast *trnL* intron sequences [J]. *Can J Bot*, 2005, 83(5): 467-483.
- [14] German DA, Friesen N, Neuffer B, Al-Shehbaz IA. Contribution to ITS phylogeny of the Brassicaceae, with special reference to some Asian taxa [J]. *Plant Syst Evol*, 2009, 283(1-2): 33-56.
- [15] Khosravi AR, Mohsenzadeh S, Mummenhoff K. Phylogenetic relationships of Old World Brassicaceae from Iran based on nuclear ribosomal DNA sequences [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2009, 37(2): 106-115.
- [16] Zhao B, Liu L, Tan DY, Wang JB. Analysis of phylogenetic relationships of Brassicaceae species based on *Chs* sequences [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2010, 38(4): 731-739.
- [17] Couvreur LP, Franzke A, Al-Shehbaz IA, Bakker FT, Koch MA, Mummenhoff K. Molecular phylogenetics, temporal diversification, and principles of evolution in the Mustard Family (Brassicaceae) [J]. *Mol Biol Evol*, 2010, 27(1): 55-71.
- [18] Liu L, Zhao B, Tan DY, Wang JB. Phylogenetic relationships of Brassicaceae in China: insights from a non-coding chloroplast, mitochondrial, and nuclear DNA data set [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2011, 39(4): 600-608.

- [19] 徐晓昕, 许智宏. 诸葛菜组织培养中的器官形成[J]. 实验生物学报, 1987, 20(4): 503-505.
- [20] 张雪梅, 罗鹏. 诸葛菜外植体直接体细胞胚胎发生的研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 1995, 32(5): 587-593.
- [21] 周冀明, 卫志明, 许智宏, 刘世贵, 罗鹏. PEG 法介导转化诸葛菜下胚轴原生质体获得转基因植株[J]. 遗传学报, 1996, 23(1): 69-76.
- [22] Luo P, Ye Q, Zhang XM, Lan LQ. Study on the flower development of test-tube plantlets of *Orychophragmus violaceus*[J]. *Dev Reprod Biol*, 1998, 7(1): 63-68.
- [23] 张雪梅, 李琳, 李旭峰, 罗鹏. 诸葛菜花柄切段和花托离体培养中直接长出小花[J]. 广西植物, 1999, 19(3): 243-245.
- [24] 贾勇炯, 唐琳, 林宏辉, 陈放, 王幼平. 诸葛菜离体花粉粒诱导形成花粉植株的研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 1999, 36(6): 1106-1110.
- [25] 吴俊, 李红梅, 李琳, 吴书惠, 高辉, 李旭峰. 铺散诸葛菜花药培养再生植株的研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2000, 37(Sup.): 1-5.
- [26] 吴俊, 罗勤, 游大慧, 祁星华, 刘志斌, 杨毅, 李旭峰. 湖北诸葛菜组织培养及植株再生[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2004, 41(5): 1088-1090.
- [27] 吴俊, 祁星华, 王轶, 罗勤, 王茂华, 杨毅, 李旭峰, 谭仲明. 铺散诸葛菜的组织培养及植株再生[J]. 园艺学报, 2004, 31(5): 679-681.
- [28] 李再云, 刘后利. 甘蓝型油菜与诸葛菜的属间新杂种[J]. 华中农业大学学报, 1995, 14(1): 33-37.
- [29] 李旭峰, 吴俊, 李琳, 吴书惠, 刘晓军. 油菜 Ogu CMS 与诸葛菜属间杂种的获得[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2000, 37(2): 257-260.
- [30] 徐传运, 李再云. 甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂交 F_{12} 群体的品质及遗传分析[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(1): 20-24.
- [31] 王爱云, 李枸, 胡大有. 白菜型油菜和诸葛菜远缘杂交的子房培养及杂种鉴定[J]. 中国油料作物学报, 2009, 31(2): 143-148.
- [32] 王爱云, 李枸, 胡大有. 芥菜型油菜与诸葛菜属间杂种的获得及鉴定[J]. 中国油料作物学报, 2008, 30(1): 35-39.
- [33] 王爱云, 李枸, 胡大有. 甘蓝型油菜和诸葛菜属间杂种的获得及其特性[J]. 西北农业学报, 2010, 19(3): 70-75.
- [34] 乔海云, 李菲, 张淑江, 章时蕃, 孙日飞. 大白菜与诸葛菜属间杂交及 GISH 鉴定[J]. 园艺学报, 2009, 36(10): 1473-1478.
- [35] 朱旺升, 徐晶, 华玉伟, 李再云. 埃塞俄比亚芥与诸葛菜属间杂种的基因组原位杂交分析[J]. 西北植物学报, 2005, 25(4): 662-667.
- [36] 胡大有, 王爱云, 吴金花. 黑芥与诸葛菜远缘杂交研究[J]. 种子, 2008, 27(5): 9-13.
- [37] 瞿波, 傅丽霞, 刘后利, 李再云. 甘蓝型油菜与诸葛菜杂交时花粉与柱头的识别反应[J]. 中国油料, 1996, 18(1): 1-3.
- [38] 王幼平, 罗鹏, 何兴金. 诸葛菜与芸苔属属间杂交时花粉-雄蕊相互作用的研究[J]. 广西植物, 1997, 17(4): 371-374.
- [39] 王爱云, 李枸, 胡大有. 诸葛菜与芸苔属间花粉与柱头相互作用的研究[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2006, 32(3): 232-236.
- [40] 吴俊, 李旭峰, 李琳, 吴书惠, 谭仲明, 秦金红. 油菜诸葛菜属植物杂交亲和性研究[J]. 西南农业大学学报, 1999, 21(5): 412-416.
- [41] 兰永珍, 周太炎. 中国芸苔族 (Brassicaceae) 2 种 3 变种染色体的观察[J]. 西北植物研究, 1981, 1(1): 62-64.
- [42] 李子先, 曹熙德, 刘东旭, 刘俊, 张作仕, 贾勇炯. 中国种诸葛菜变种群的核型研究[J]. 作物学报, 1994, 20(5): 595-600.
- [43] 李再云, 刘后利. 诸葛菜染色体的减数分裂配对研究[J]. 华中农业大学学报, 1995, 14(5): 435-439.
- [44] 吴沿友, 蒋九余, 帅世文, 姚良珍. 诸葛菜的细胞遗传学研究[J]. 西南农业学报, 1996, 9(3): 38-41.
- [45] 张莉俊, 段超, 戴思兰. 北京地区二月兰 4 个居群的核型分析[R]. 2006 年全国博士生学术论坛. 北京: 北京林业大学, 2006: 2504-2512.
- [46] 殷家明, 罗鹏, 蓝泽蓬. 芥蓝与诸葛菜属间杂种的减数分裂观察[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 1999, 1(1): 136-139.
- [47] 罗鹏, 殷家明, 吴沿友, 蓝泽蓬. 芸苔族植物两个属间杂种染色体行为的观察[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2000, 37(Sup.): 30-32.
- [48] 李再云, 吴建国, 石淑稳, 刘后利. 甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种的减数分裂观察[J]. 遗传学报, 1997, 24(4): 373-379.

- [49] 石淑稳, 李再云, 刘后利. 甘蓝型油菜与诸葛菜的杂种小孢子胚发生和小苗的形态[J]. 中国油料, 1994, 16(1): 63-64.
- [50] Zhao ZG, Du DZ, Li ZY. Morphological and cytogenetic analysis on the advanced generations of generic hybrids between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus* [J]. *Agric Sci Technol*, 2012, 13(7): 1410-1414.
- [51] 韩建秋. 外源 GA3 对 NaCl 胁迫下二月兰种子萌发的影响[J]. 上海农业学报, 2012, 28(2): 59-62.
- [52] 李龙梅, 王毅承, 严海鸥. 二月兰对水分胁迫生理生化的相应[J]. 内蒙古农业大学学报, 2012, 33(2): 34-36.
- [53] 刘晓东, 潘秀秀, 何森. 土壤干旱胁迫对二月兰幼苗生理特性的影响[J]. 东北林业大学学报, 2011, 39(7): 32-34.
- [54] Zhang XA, Wang ZH, Zhang XQ, Li MY, Zuo J. Effects of heavy metals and saline-alkali on growth, physiology and biochemistry of *Orychophragmus violaceus* [J]. *Agric Sci Technol*, 2012, 13(7): 1478-1483.
- [55] 吴沿友, 张红萍, 吴德勇, 李国祥, 刘建. 重金属对油菜和诸葛菜的碳酸酐酶抑制作用[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(24): 6430-6431.
- [56] 杜世章, 王劲, 李旭峰. 从诸葛菜 cDNA 文库中立筛选过氧化物酶基因[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2003, 40(6): 1187-1190.
- [57] 钱磊, 卢永波, 王洪斌, 刘施佳, 严碧云, 张亮, 李旭峰, 杨毅, 吴俊. 诸葛菜植物防御素基因克隆与原核表达研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2009, 49(3): 791-794.
- [58] 廖问陶, 赵志伟, 王茂林, 赵云. 诸葛菜(*Orychophragmus violaceus*)Toc33 基因编码区的克隆及序列分析[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2003, 40(1): 163-167.
- [59] 倪雪莉, 黄余磊, 梁刚良, 鲍笑笑, 蒋明. 诸葛菜(*Orychophragmus violaceus*)查尔酮合成酶基因 *OvCHS* 的克隆与序列分析[J]. 台州学院学报, 2010, 32(3): 42-48.
- [60] 宋小玲, 强胜. 抗除草剂转基因油菜向杂草诸葛菜的潜在基因漂移[J]. 安徽农业科学, 2003, 31(4): 526-529.
- [61] Luo P, Huang BQ, Yin JM, Chen ZL, Chen YH, Lan ZQ. A new forage genetic resource *Orychophragmus violaceus*(L.) O. E. Schulz[J]. *Genet Resour Crop Evol*, 1998, 45(6): 491-494.
- [62] 李新华, 贺善安, 任冰如, 盛宁. 诸葛菜的营养成分及作为新型蔬菜的评价[J]. 植物资源与环境, 1997, 6(3): 8-12.
- [63] 张兆清, 罗鹏, 李旭峰. 四川野生十字花科油料植物资源研究[J]. 西南农业学报, 1990, 3(3): 19-22.
- [64] 罗鹏, 蓝泽莲, 黄建, 李再云. 珍贵油料植物诸葛菜的研究[J]. 自然资源学报, 1991, 6(3): 206-210.
- [65] 孙小芹, 庞慧, 郭建林, 彭斌, 白明明, 杭悦宇. 十字花科 58 属 94 种野生植物种子脂肪酸组分分析[J]. 林产化学与工业, 2011, 31(6): 46-54.
- [66] 翁德宝, 汪海峰, 翁佳颖. 诸葛菜茎叶中黄酮类化合物的研究[J]. 中国野生植物资源, 2000, 19(5): 13-15.
- [67] 王欣, 李向, 王红庆. 诸葛菜中黄酮类化合物提取方法和抗氧化性研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(27): 8667-8669.
- [68] 王欣, 夏新奎, 徐固华. 微波辅助萃取诸葛菜中的总黄酮研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(22): 6705-6706.
- [69] 赵云, 王茂林, 王海燕, 张义正, 谭仲明. 成都冬播中国产诸葛菜属植物的形态特征和生育表现[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 1998, 35(6): 971-974.
- [70] 黄邦全, 罗鹏, 彭云强, 莫鉴国, 杨世尧, 方晓燕. 诸葛菜的驯化栽培研究 I. 栽培措施对诸葛菜菌核病发生的影响[J]. 西南农业学报, 2000, 13(2): 75-77.
- [71] 黄邦全, 罗鹏, 彭云强, 莫鉴国, 杨世尧, 方晓燕. 诸葛菜的驯化栽培研究 II. 栽培措施对诸葛菜籽粒产量的影响[J]. 西南农业学报, 2000, 13(3): 124-126.