

利用人工合成甘蓝型油菜建立 白菜-甘蓝附加系*

栗根义 高睦枪 杨建平

(河南省农业科学院园艺研究所, 郑州 450002)

摘 要 采用白菜子房培养和甘蓝胚培养方法得到了带有标记性状的白菜和甘蓝种间杂种, 并将这些人工合成甘蓝型油菜回交于白菜, 得到 31 个白菜-甘蓝单体附加系 ($2n=21$), 和 18 个双体附加系 ($2n=22$), 为进一步对附加染色体上的所载基因定位奠定了基础。此外, 还研究了附加甘蓝染色体对雄性和雌性育性的影响, 结果表明, 白菜中附加甘蓝染色体可明显降低育性, 特别是可显著降低附加系的自交和杂交结实率。

关键词 合成甘蓝型油菜 染色体附加系 育性

U.N. 根据芸薹属作物种间杂种的研究结果建立了芸薹作物进化的禹氏三角式^[1], 根据禹氏三角式现在栽培的甘蓝型油菜是由白菜和甘蓝天然杂交进化而来。Quiros^[5] 将白菜回交于栽培甘蓝型油菜得到了白菜-甘蓝附加系, 这为芸薹属物种及近缘种的遗传和进化研究开辟了一个新领域。目前, 附加系被广泛用于芸薹属及近缘种染色体组进化的研究^[2~5]。但由于芸薹属染色体组的复杂性, 基因定位研究甚少。本研究采用带有标记性状的白菜和甘蓝, 合成人工甘蓝型油菜, 并通过建立白菜-甘蓝附加系, 开展基因定位研究。

1 材料和方法

本试验共采用 4 个白菜品种和 2 个甘蓝品种, 白菜品种包括金黄油菜、镇源油菜 ($4n$)、黄籽沙逊和黄籽石特大大白菜, 均为黄籽, 镇源油菜为雄性不育系并且是同源四倍体。甘蓝品种为黄花芥蓝和白花芥蓝, 均为广东芥蓝。人工合成甘蓝型油菜及附加系建立采用两种方法 (图 1, 2)。方法之一是以甘蓝作母本, 用白菜授粉后采用胚培养得到种间杂种。将甘蓝人工去雄后授予白菜花粉, 授粉后 25 天取胚于 MS 培养基上进行无菌培养, 得到种间杂种苗, 移苗后用 0.5% 秋水仙素处理茎尖, 得到人工甘蓝型油菜, 进一步回交于白菜得到白菜-甘蓝附加系。方法之二是以雄性不育的四倍体白菜作母本, 直接用甘蓝授粉, 授粉后 4 天取子房于 B_5 培养基上进行无菌培养, 培养 30 天后将胚从子房中剥出进一步于 MS 培养基上培养得到杂种苗, 将杂种回交于白菜产生白菜-甘蓝附加系。

1992-10-10 收稿。

• IFS 国际科学基金资助项目, 国家自然科学基金资助项目。

采用花粉母细胞压片法进行染色体计数, 将花蕾于无水酒精: 丙酸(3: 1)固定液中固定24h, 然后用70%酒精冲洗和保存。将花药于1%醋酸洋红中压碎, 于Olympus BH2显微镜下进行染色体计数, 并进行显微摄影。

黄花芥蓝(或白花芥蓝) × 金黄油菜
($2n=18$) ($n=20$)

↓ 胚培养

异源双单倍体
($2n=19$)

↓ 染色体加倍(秋水仙碱处理)

人工甘蓝型油菜 × 黄籽沙逊
($2n=38$) ($2n=20$)

↓

倍半二倍体 × 石特大白菜
($2n=29$) ($2n=20$)

↓

附加系
($2n=20\sim29$)

图1 人工合成甘蓝型油菜及附加系建立方法之一

镇源油菜(ms) × 黄花芥蓝(或白花芥蓝)
($2n=40$) ($2n=18$)

↓ 子房培养

人工甘蓝型油菜 × 石特大白菜
(倍半二倍体, $2n=29$) ($2n=20$)

↓

附加系 × 石特大白菜
($2n=20\sim29$) ($2n=20$)

↓

附加系
($2n=20\sim?$)

图2 人工合成甘蓝型油菜及附加系建立方法之二

2 结果与分析

采用甘蓝种的广东芥蓝变种作母本, 授以黄籽白菜型油菜金黄油菜的花粉, 共得杂种130个, 所有杂种染色体数目均为19条(图3A), 这些杂种进行染色体加倍, 得到 $2n=38$ 条染色体的个体55个, 将这些人工合成的甘蓝型油菜回交于白菜型油菜印度黄籽沙逊得到倍半二倍体杂种, 染色体均为29条。由于金黄油菜和黄籽沙逊的抗病性很差, 采用抗病的黄籽石特大白菜进行回交得到回交一代(BC_1), 染色体计数结果表明(表1, 图3B、C、D), 回交一代中有 $2n=20$ 的个体4株(4.5%), $2n=21$ 个体17株(18.5%), $2n=22$ 条的个体13株(14.1%), $2n=23$ 条的个体15株。其余附加系随着染色体条数的增加, 其株数

逐渐减少。减数分裂中期 I 的观察表明, $2n=20$ 的个体花粉母细胞多呈正常的 10 个双价体 (10II), 染色体配对结果表明其染色体组已恢复到白菜的染色体组数 ($2n=20$); $2n>20$ 条的附加系, 染色体多呈单价体 (图 3E、F), 表明 $2n=21$ 的个体为单体附加系, $2n=22$ 的个体为双单体附加系等。

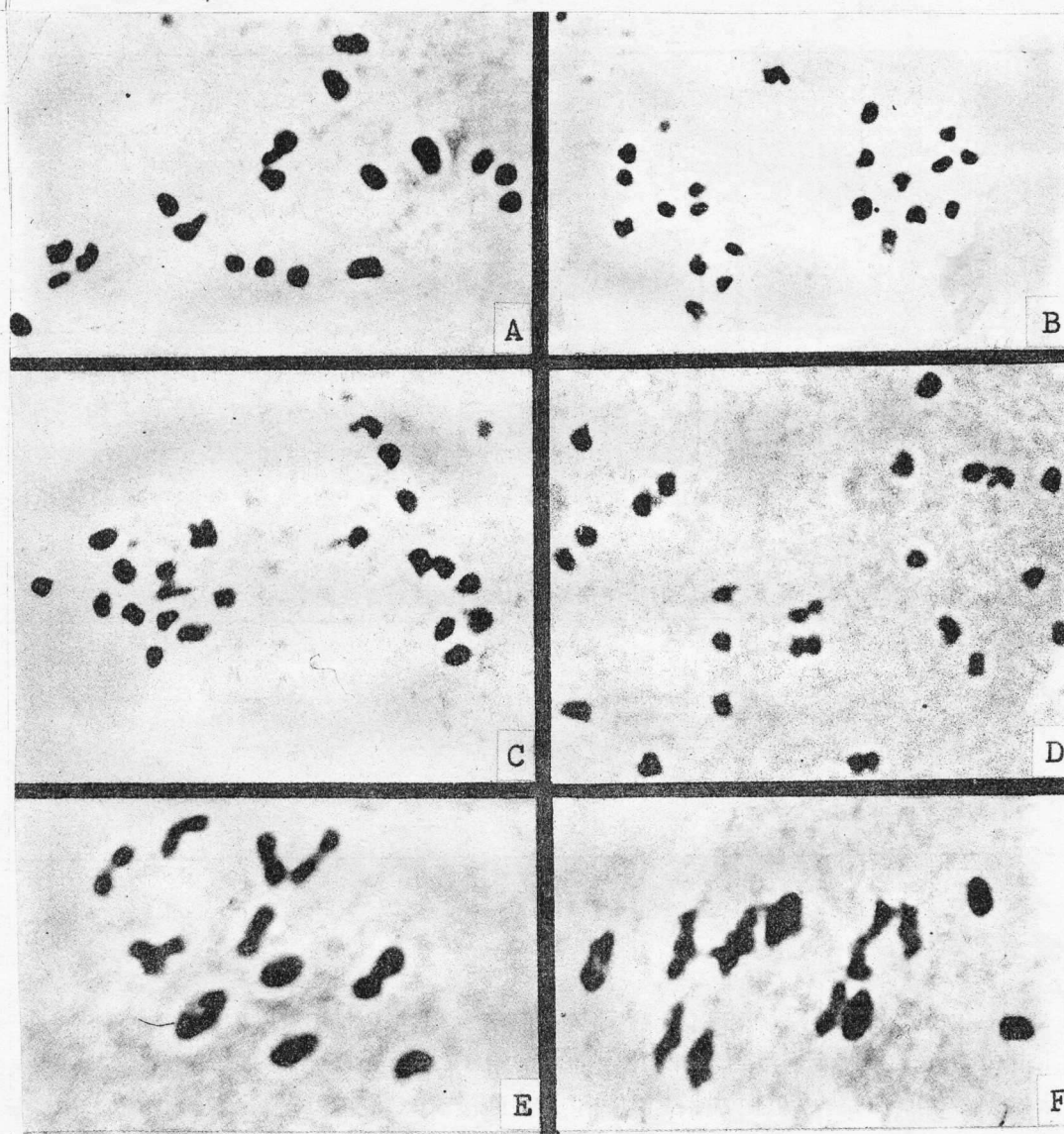


图 3 白菜—甘蓝染色体

A. 合成甘蓝型油菜单倍体 ($2n=19$) 中期 II ($\times 1500$); B. $2n=21$ 植株中期 II, 示 1 条落后染色体 ($\times 1200$); C. $2n=22$ 植株中期 II ($\times 1500$); D. $2n=23$ 植株中期 II, 示 3 条落后染色体 ($\times 1500$); E. $2n=21$ 植株中期 I, 示 1 条单体 ($10\text{II}+1$) ($\times 1200$); F. $2n=22$ 植株中期 I, 示 2 条单体 ($10\text{II}+2\text{I}$) ($\times 1200$);

采用四倍体白菜型油菜镇源油菜为母本, 授以广东芥蓝花粉, 进行子房培养得到 35 株杂种, 其染色体数目均为 29 条。将这些杂交种回交于黄籽石特大白菜得到 BC_1 和 BC_2 , 由

于这些杂种于加代室中进行,群体较小。对 BC_2 的染色体计数表明(表1),回交二代中多数植株为 $2n=20$ 和 $2n=21$ 的个体,部分为 $2n=22$ 的个体。 $2n=20$ 的个体染色体配对正常,已恢复到白菜种的染色体条数; $2n=21$ 为单体附加系; $2n=22$ 的多为双单体附加系,有一株表现为 $11II$ 的染色体配对,可能是双体附加系。

表1 人工合成甘蓝型油菜回交后代的染色体计数及植株分布

组 合	代数	染 色 体 数 目										
		20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	40
29×20	BC_1	4	17	13	15	6	10	8	3	4	2	
24×20	BC_2	3	4	4	1							1
23×20	BC_2	3	4	2								
22×20	BC_2	2	2									
21×20	BC_2	3	4									

对 $2n=21 \sim 23$ 条染色体的附加系及恢复到正常二倍体的白菜进行了育性考察,雄性的育性以洋红染色的花粉频率为依据,雌性以自交和杂交结实率为依据。结果表明(表2),在白菜中附加甘蓝的染色体均降低雄性和雌性的育性。雄性中可被洋红染色的花粉频率降低程度较小,而雌性中自交和杂交的结实率下降显著,在 $2n=21$ 到 23 个体中随着染色体增加育性降低接近1半。

表2 白菜-甘蓝附加系中附加染色体对育性的影响

染色体数目 ($2n$)	植株数 (株)	可染花粉 (%)	每角果结实粒数	
			自交	杂交*
20	7	99.0	19.6	21.6
21	23	92.5	10.7	13.0
22	12	91.7	8.5	9.4
23	8	87.6	5.6	6.8

* 父本为石特白菜

3 讨论

为了利用附加系进行基因定位,本研究用带有标记性状的白菜和甘蓝采取两种方法产生人工甘蓝型油菜,进而可得到带有标记性状的附加系。Quiros 等^[5]用栽培的甘蓝型油菜回交于白菜,得到白菜-甘蓝附加系,这些附加系因没有形态标记性状,只能用酶标记和分子标记进行鉴定,这给附加系的保存带来一定的复杂性,而且也难以对农艺性状进行基因定位。

本研究用胚培养和子房培养技术克服了白菜和甘蓝种间杂交的杂交障碍,具有较大灵活性,用甘蓝作母本时,胚退化时间晚,胚培养效果好;而以白菜作母本时,胚退化早,采用子房培养好。本研究采用了同源四倍体白菜作母本进行种间杂交,其杂种一代便是倍半二倍体的甘蓝型油菜,再回交于白菜便可得到白菜-甘蓝附加系,省去杂种秋水仙素加倍的过

程,而且得到附加系的时间也缩短1年,在今后的类似研究中值得利用。

参 考 文 献

- 1 刘后利主编.油菜的遗传和育种.上海:上海科学技术出版社,1985,43~45
- 2 Chevre AM, This P et al. Characterization of disomic addition lines *Brassica napus*–*Brassica nigra* by isozyme, fatty acid, and RFLP markers. Theor Appl Genet, 1990, 81:43~49
- 3 Hosaka K, Kianian SF et al. Development and chromosomal localization of genome-specific DNA markers of *Brassica* and the evolution of amphidiploids and $n=8$ diploid species. Genome, 1990, 33: 131~142
- 4 Jahier J, Chevre AM et al. Extraction of disomic addition lines of *Brassica napus*–*B. nigra*. Genome, 1989, 32: 408~413
- 5 Quiros CF, Ochoa O et al. Analysis of the *Brassica oleracea* genome by the generation of *B. campestris*–*oleracea* chromosome addition lines: characterization by isozymes and DNA genes. Theor Appl Genet, 1987, 74:758~766

Creation of *Brassica campestris*–*oleracea* Addition Lines from the Artificially Synthesized *B. napus* with Morphological Characters as Gene Markers

Li Genyi Gao Muqiang Yang Jianping

(Horticultural Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002)

Abstract Artificially synthesized rapeseeds (*Brassica napus*) have been produced from the hybridization of *B. campestris* and *B. oleracea* by ovary culture and embryo culture. All accessions of *B. campestris* and *B. oleracea* have special morphological characters in order to locate those genes controlling the characters concerned. After backcrossing the synthetic *B. napus* to *B. campestris*, 31 plants with $2n=21$ and 18 plants with $2n=22$ chromosome number were developed. Further studies will be concentrated on the genes located on the added chromosomes of *B. oleracea*. Additionally, observation was made on the effects of the added chromosome(s) on the fertility of addition Lines. The result indicated that the added chromosome would apparently reduce the seed-setting percentage of addition lines.

Key words: Synthetic rapeseed; Chromosome addition lines; Fertility