

甘蓝型油菜与红菜薹的杂种及其后代遗传变异分析

李亭亭, 徐跃进*, 万正杰, 张艳

(华中农业大学园艺林学学院蔬菜系, 国家蔬菜改良中心华中分中心, 园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070)

摘要: 本研究采用一种新型甘蓝型油菜细胞质雄性不育系(*Eru CMS*)(*Brassica napus* $2n=4x=38$)与红菜薹(*B. campestris* L. ssp. *chinensis* L. var. *utilis* Tsen et Lee. $2n=2x=20$)进行远缘杂交,并以红菜薹为轮回亲本连续回交,对甘蓝型油菜细胞质雄性不育系与红菜薹的杂种一代及其回交后代进行植物学性状及品质性状调查测定。结果表明,供体亲本和受体亲本在回交转育过程中发生明显的核置换,其杂交及回交后代的农艺性状及品质性状出现波动,并且随着回交次数的增多,世代越高的材料越相似于轮回亲本红菜薹,而世代越低材料遗传变异范围更大。

关键词: 甘蓝型油菜; 红菜薹; 远缘杂交; 回交; 遗传变异

中图分类号: S634.6; S603.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2011)02-0188-06

Genetic Variation Analyses on *Brassica napus* × Purple-Caitai Hybrids and Their Backcross Progenies

LI Ting-Ting, XU Yue-Jin*, WAN Zheng-Jie, ZHANG Yan

(National Center for Vegetable Improvement (Central China); Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education; College of Horticulture and Forestry, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Distant hybridization of a new kind of cytoplasmic male sterility of *Brassica napus* ($2n=4x=38$) and Purple-Caitai was carried out. Purple-Caitai was used as the recurrent parent to continue backcross. Agronomic and quality traits of the hybrids and backcross progenies of *Brassica napus* × Purple-Caitai were analyzed. The results showed that the donor parent and the recipient parent exhibited nucleus replacement, the values of agronomic traits and quality traits of hybridization and backcross progenies had a certain fluctuation and the higher the generation of material, the more similar to the recurrent parent, while the variation range of lower generation was wide.

Key words: *Brassica napus*; Purple-Caitai; Distant hybridization; Backcross; Genetic variation

红菜薹(*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* L. var. *utilis* Tsen et Lee. $2n=2x=20$)又名紫菜薹、红油菜薹、油菜薹、红菜,为十字花科芸薹属蔬菜的一个变种。红菜薹起源于我国长江流域中部,是我国特有的蔬菜,由于红菜薹口感甚佳,脆嫩爽口,营养丰富而深得广大人民的喜爱^[1]。影响红菜薹品质的主要因素有苦味物质和粗纤维含量等,其次为薹色和薹粗,但目前对红菜薹苦味物质等还没有简便有效的鉴定方法。现有的红菜薹品种由于一味强调早熟性,导致营养品质不高,优质育种是现代

化红菜薹育种的重点^[2]。

新的种质资源缺乏导致红菜薹品种的遗传基础越来越狭窄,通过远缘杂交与回交转育,将甘蓝型油菜(*B. napus* $2n=4x=38$)中的雄性不育基因转移到红菜薹中,可以拓宽红菜薹的遗传基础,加之杂种优势的利用,可改良红菜薹的品质性状,提高红菜薹产量,并为新品种的选育提供材料。而杂种及回交后代,其性状变异广泛,为选择育种提供了广泛的基础材料。目前,有关十字花科回交转育的研究较多^[3],但利用新型雄性不育源甘蓝型油菜 *Eru CMS*

收稿日期: 2010-06-09, 修回日期: 2010-09-16。

基金项目: 湖北省科技攻关项目(20066109); 国家948计划项目(2008-Z26)。

作者简介: 李亭亭(1986-),女,硕士,主要从事蔬菜遗传育种研究(E-mail: tzxhn0207@163.com)。

* 通讯作者: 徐跃进(1958-),男,教授,主要从事蔬菜遗传育种研究(通讯地址: 430070, 华中农业大学园林大楼509室; E-mail: xyjho@mail.hzau.edu.cn)。

转育甚少,对其转育过程中的后代研究尚未见报道。甘蓝型油菜 *Eru CMS* 是一种新型细胞质雄性不育甘蓝型油菜(*Eru CMS*),苗期遇低温叶片不黄化,不育性稳定,蜜腺正常,不育度和不育株率均为100%。

本研究利用主要品质性状遗传变化趋势分析,以及农艺性状调查等手段对红菜薹与甘蓝型油菜雄性不育系的远缘杂交及回交后代进行分析,从而了解红菜薹与甘蓝型油菜雄性不育的杂交后代经济性状随世代变化的情况,并从中鉴定选择对红菜薹优质育种有意义的遗传及育种材料。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为红菜薹多代自交系、甘蓝型油菜胞质雄性不育系(*Eru CMS*)以及其杂种和回交后代($BC_1 \sim BC_4$);在回交过程中,对各世代经过定向选择。红菜薹、杂种后代由华中农业大学蔬菜系提供,红菜薹品种分别为9418(5号)和俞优(3号);甘蓝型油菜胞质雄性不育系(Y)由华中农业大学油菜遗传育种课题组提供。

1.2 方法

将红菜薹和甘蓝型油菜及其杂种各世代于2009年8月下旬播种,9月下旬按照随机区组设计,3次重复,定植于华中农业大学实验基地,进行正常的田间肥水管理。在2009年10-12月分别进行田间性状调查及品质测定。具体调查的农艺性状有:株高、株幅、分枝高度、最大叶片长宽、最大叶柄长宽、叶色、茎秆色等;品质测定项目为:叶绿素、可溶性糖、可溶性蛋白。具体调查测定方法为,每组合每世代各随机选取30株植株进行调查测定。叶绿素含量采用分光光度计测定;可溶性糖含量采用蒽酮法测定;可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定。

1.3 数据处理

杂种优势计算采用如下公式:

中亲优势(MP)% = $(F_1 - \text{双亲平均值}) / \text{双亲平均值} \times 100$

超亲优势(HP)% = $(F_1 - \text{高亲值}) / \text{高亲值} \times 100$

方差分析用SPSS软件进行,统计分析及图表在excel上完成。

2 结果与分析

2.1 杂种一代(F_1)性状分析

2.1.1 植物形态

母本甘蓝型油菜雄性不育系(图1:A),植株高大,根系发达,茎叶椭圆,不具琴状缺刻,伸长茎叶有明显缺刻,薹茎叶半抱茎着生,叶色呈蓝绿色,有蜡粉。父本红菜薹9418(5号)(图1:B),早熟,植株瘦小,叶片卵形,地上分枝。红菜薹俞优(3号)(图1:C),中晚熟,植株健壮,叶片卵圆,基生莲座叶6~8片。杂交后代经鉴定,均为真杂种^[4,5]。杂种一代总体形态整齐,特征偏向于母本,与甘蓝型油菜相似,但在分枝特点、茎干颜色、叶片大小等方面存在明显差异(图1:D,E): F_1 代植株分枝低,分枝角度大,分枝数多;在植株基部和叶腋处呈紫红色;叶片大而皱,伸长茎叶缺刻加深,呈叶裂,翼叶多;花期略早于母本,介于父母本之间。植株苗期不黄化,不育性稳定,蜜腺正常,能正常结籽,均不育(图1:I,J)。

2.1.2 杂种优势分析

由表1、表2可以看出,杂种一代6个农艺性状表现出明显的杂种优势。其中, $Y \times 5$ (表1)中亲优势平均值为68.69%~100.87%,超亲优势平均值为27.97%~69.34%。在另一组合 $Y \times 3$ 中(表2),中亲优势平均值为21.62%~67.53%,超亲优势平均值为18.60%~52.59%,同样也表现出明显的杂种优势。但 $Y \times 5$ 的杂种优势明显高于 $Y \times 3$,可见不同组合后代优势不同,究其原因可能是父本农艺性状的差异遗传所致。品质性状也存在一定的杂种优势,但明显低于农艺性状。其中,两组合杂种后代可溶性糖含量有明显的杂种优势,中亲优势分别为47.49%和46.31%,超亲优势分别为27.76%和21.76%。但它们的叶绿素含量和可溶性蛋白含量的优势不明显,甚至 $Y \times 3$ 组合后代的叶绿素含量呈杂种劣势,为-4.30%。

2.2 回交四代(BC_4)性状比较分析

用父本红菜薹做轮回亲本,经过4代回交,植株田间表型与轮回亲本红菜薹基本一致,代表性状茎叶色均为紫色,苗期不黄化,不育度100%,蜜腺正常,基本育成新的红菜薹不育系。由表3可以看出,在 $Y \times 5$ 的 BC_4 农艺性状中,株高、株幅、叶长、叶宽及叶柄长与轮回亲本相比都有极显著差异,叶柄宽没有显著差异;在品质性状中,叶绿素与可溶性糖



图 1 父母本、F₁ 的植株形态及花器官
Fig. 1 Plant morphology and floral organ of Parents and F₁

表 1 Y × 5 组合 F₁ 性状的杂种优势
Table 1 Heterosis of Y × 5

性状类型 Trait type		平均优势 Average heterosis		变幅 Range	
		MP (%)	HP (%)	MP (%)	HP (%)
农艺性状 Agronomic traits	株高 Plant height	83.04	52.45	15.87 ~ 166.16	-3.50 ~ 121.68
	株幅 Angular divergence	68.69	27.97	-12.63 ~ 124.07	-33.72 ~ 69.99
	叶长 Leaf length	93.56	40.16	2.33 ~ 190.88	-25.91 ~ 110.62
	叶宽 Leaf width	78.67	28.23	2.67 ~ 166.00	-26.32 ~ 90.91
	叶柄长 Petiole length	100.87	69.34	-39.39 ~ 260.17	-48.91 ~ 203.65
	叶柄宽 Petiole width	76.00	46.67	-48.91 ~ 203.65	-26.67 ~ 166.67
品质性状 Quality traits	叶绿素 Chlorophyll content	14.66	4.78	-6.01 ~ 27.32	-14.10 ~ 16.36
	可溶性糖 Soluble sugar content	47.49	27.76	-51.17 ~ 200.56	-57.71 ~ 160.35
	可溶性蛋白 Soluble protein content	9.29	6.31	-26.31 ~ 66.62	-28.31 ~ 62.09

注：MP 和 HP 分别表示中亲优势和超亲优势。下同。
Note: MP and HP mean that mid-parent heterosis or transgressive heterosis respectively. The same below.

表2 Y×3组合F₁性状的杂种优势
Table 2 Heterosis of Y×3

性状类型 Trait type		平均优势 Average heterosis		变幅 Range	
		MP (%)	HP (%)	MP (%)	HP (%)
农艺性状 Agronomic traits	株高 Plant height	30.26	18.60	-19.82 ~72.66	-26.99 ~57.20
	株幅 Angular divergence	41.36	29.81	0.99 ~80.80	-7.27 ~66.03
	叶长 Leaf length	61.59	52.59	5.90 ~101.37	0 ~90.16
	叶宽 Leaf width	21.62	20.76	-14.49 ~47.74	-15.09 ~46.70
	叶柄长 Petiole length	67.53	29.48	-24.74 ~161.86	-41.83 ~102.39
	叶柄宽 Petiole width	39.39	27.78	-15.15 ~118.18	-22.22 ~100.00
品质性状 Quality traits	叶绿素 Chlorophyll content	-4.30	-14.83	-22.65 ~30.16	-31.16 ~15.83
	可溶性糖 Soluble sugar content	46.31	21.76	-16.40 ~73.55	-30.43 ~44.43
	可溶性蛋白 Soluble protein content	19.95	10.41	-14.65 ~62.23	-21.45 ~49.31

表3 回交四代性状的平均遗传表现
Table 3 Average genetic performance of BC₄

性状 Traits	父本5号 Male parent 5	BC ₄ (5号) BC ₄ of 5	父本3号 Male parent 3	BC ₄ (3号) BC ₄ of 3
株高 Plant height (cm)	47.59	97.65 ±5.05 **	58.73	59.61 ±4.51
株幅 Angular divergence (cm)	40.49	61.23 ±5.09 **	89.66	79.29 ±4.01 *
叶长 Leaf length (cm)	17.30	29.75 ±3.12 **	32.58	36.66 ±2.16
叶宽 Leaf width (cm)	9.10	15.20 ±1.43 **	20.98	22.16 ±1.45
叶柄长 Petiole length (cm)	9.39	15.24 ±1.64 **	24.45	20.50 ±1.57 *
叶柄宽 Petiole width (cm)	0.99	1.02 ±0.13	1.80	1.73 ±0.15
叶绿素 Chlorophyll content (mg/g)	1.72	1.86 ±0.06 *	1.62	1.85 ±0.04 **
可溶性糖 Soluble sugar content (mg/g)	14.66	18.46 ±1.80 *	30.15	30.19 ±1.07
可溶性蛋白 Soluble protein content(mg/g)	15.27	16.96 ±0.89	19.22	20.12 ±0.65

注：**和*分别表示轮回亲本与BC₄差异性达极显著($p<0.01$)和显著($p<0.05$)水平。
Note: ** and * mean extremely significant($p<0.01$) or significant($p<0.05$) between recurrent parent and BC₄ respectively.

含量有显著性差异,但可溶性蛋白含量没有显著性差异。在Y×3的BC₄农艺性状中,除株幅、叶柄长有显著性差异,叶绿素有极显著差异外,其他性状均无显著差异。

2.3 各世代性状变化趋势分析

2.3.1 农艺性状变化趋势分析

由图2可以看出,各性状F₁杂种优势显著,BC₁各性状值迅速下降。从表现型看来,植株高矮不均,株型变小,叶片变小变厚,叶缘呈波浪状缺刻,叶柄呈淡紫色,分为偏母本型,偏父本型和中间型,可见BC₁分离严重是造成性状值迅速下降的原因。在Y×5组合中,BC₂、BC₃、BC₄3个世代的株高变化不大但都远高于轮回亲本值;株幅在这3个世代逐步靠近轮回亲本值;叶长、叶宽则在父母本之间偏向父本值小幅波动;叶柄长变幅较大,但随着世代的增加,变幅有递减的趋势;而叶柄宽在回交三代出现低点后趋向轮回亲本值。在Y×3组合中,回交各世代间整体变化平稳,没有显著低点的世代。在

BC₂、BC₃、BC₄3个回交世代中,株高在父母本值之间小幅振动至趋于轮回亲本且各世代值均在轮回亲本值之上;株幅则是逐渐趋近轮回亲本值附近;叶长则逐步降低接近轮回亲本值;叶柄长也呈逐步降低趋势;叶宽和叶柄宽在父母本均值间波动。总体看来,各世代植株均苗期不黄化,不育性稳定,不育株率和不育度均为100%,蜜腺正常,回交的4个世代性状呈现以较小的波动形式,缓慢靠近轮回亲本值的趋势。两组合之间的变幅差异可能由两轮回亲本间的差异造成。

2.3.2 品质性状变化趋势分析

在品质性状中,两组合各世代含量在波动中逐渐接近父本,且波动范围逐渐缩小(图3)。其中Y×5后代特点为,F₁含量略高于亲本平均值,BC₁含量明显降低,尤其可溶性蛋白含量,平均值已低于低亲值,表明BC₁代性状分离严重且内含物迅速降低,之后回交世代各值趋势向父本值靠近。而Y×3后代变化趋势平缓,不存在F₁和BC₁的明显差异,

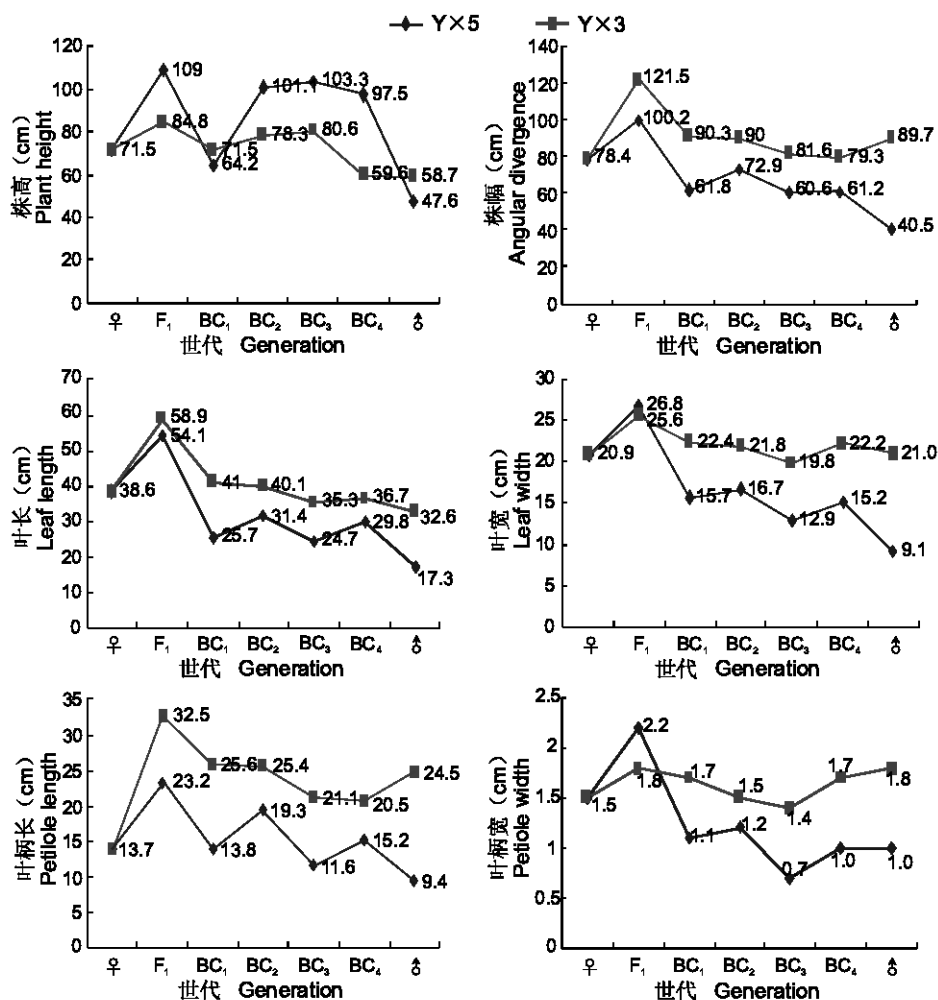


图2 各世代农艺性状变化趋势
Fig.2 The trend of agronomic traits

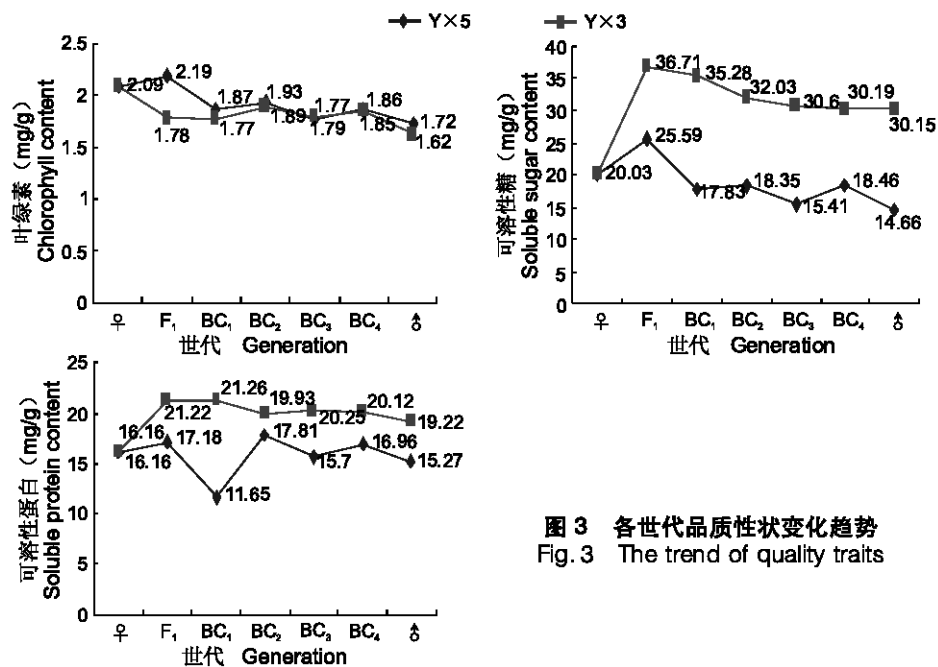


图3 各世代品质性状变化趋势
Fig.3 The trend of quality traits

可溶性糖含量在 F_1 略微升高,而在随后的回交4个世代里逐渐降低,趋于轮回亲本,可溶性蛋白含量在 F_1 升高后,至 BC_4 一直高于双亲均值,叶绿素含量则没有显著变化,一直在双亲均值附近波动。

3 讨论

甘蓝型油菜与红菜薹属远缘杂交,其亲和性良好,人工授粉后不需经过特殊处理即可在田间得到种子,且 F_1 杂种优势明显。究其原因,可能是红菜薹($AA=20$)与甘蓝型油菜($AACC=38$)有一组相同的染色体组,即 AA 。这与前人研究的芥菜型油菜($AABB$)、甘蓝型油菜($AACC$)和白菜(AA)杂交容易得到杂种的结论是一致的^[6,7]。

根据回交的遗传效应理论,通过连续回交,其后代细胞核内的基因将逐渐被轮回亲本的核内基因所取代,后代性状的表现将趋同于轮回亲本^[5]。理论上,回交四代植株中,轮回亲本遗传物质所占比例为96.88%,实际测定也达到70.37%^[8,9],但某些性状却与轮回亲本不尽相同或相似。如植株比轮回亲本更高大、高产,内含物显著增加等。根据马宽^[10]对甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种进行连续多代的自交,在 F_{12} 的株系中发现油酸含量高达70%,亚油酸含量高达28%的材料分析推测,这是甘蓝型油菜小片段的渗入引起了后代基因组的变化,从而导致后代出现高糖、高蛋白的植株。

本试验研究表明,通过回交转育法,将甘蓝型油菜的不育基因转移到红菜薹时,其杂交及回交后代的农艺性状及品质性状值出现波动,并且随着回交次数的增多,愈高世代材料愈相似于轮回亲本红菜薹,而愈低世代材料变异范围愈加广泛。一方面说明,不同世代携带甘蓝型油菜的染色质(体)数量不同,染色体组型不同(AAC 、 AA 、 ACC),使得其在农艺性状表现上有很大差异,且不同世代分离比不同,仅通过表现型来作为筛选的标准,不能保证后代表型一致,但植株总体趋势向轮回亲本靠近;另一方面说明,在不育性稳定的同时,甘蓝型油菜的一些优异性状能够在红菜薹的核背景下表达,使得转育得

到的红菜薹不育系在可溶性糖含量等品质性状上优于亲本红菜薹,特别是某些性状,如 $Y \times 5$ 组合回交四代中的植株叶柄长, $Y \times 3$ 组合回交四代的植株叶宽、可溶性糖含量及两组合的可溶性蛋白含量都超过高亲值。这对同时改良品质起着至关重要的作用。

综上所述,本研究为杂种优势育种理论提供了参考,利用各世代获得的新种质资源,并且结合红菜薹高品质亲本选择,选育高产、优质新品种有重要的应用价值。

参考文献:

- [1] 吴朝林,陈文超.中国紫菜薹地方品种初步研究[J].作物品种资源,1997(3):7-9.
- [2] 聂启军,邓晓辉,邱正明,朱凤娟.红菜薹育种研究进展探讨[C]//中国园艺学会十字花科蔬菜分会第六届学术研讨会暨新品种展示会论文集.北京:中国农业科学技术出版社,2008.
- [3] 李桂花,张衍荣,曹健,黎国喜.雄性不育在十字花科蔬菜中的研究进展[J].江西农业大学学报,2003,25(2):182-186.
- [4] 何丹,徐跃进,谭远宝,万正杰.红菜薹和甘蓝型油菜种间杂种的获得及其特性研究[C]//中国园艺学会十字花科蔬菜分会第六届学术研讨会暨新品种展示会论文集.北京:中国农业科学技术出版社,2008.
- [5] 杨业华.普通遗传学[M].北京:高等教育出版社,2000:337-338.
- [6] 刘忠松.油菜远缘杂交的遗传育种研究Ⅱ.甘蓝型油菜与芥菜型油菜杂交的亲亲和性及其杂种一代[J].中国油料,1994,16(3):1-5.
- [7] 徐书法,轩正英,冯辉.芸薹属农作物种间杂交的亲亲和性[J].中国蔬菜,2004(3):28-29.
- [8] 谭远宝.红菜薹与甘蓝型油菜的杂种及回交后代的遗传学研究[D].武汉:华中农业大学,2010.
- [9] Arumuganathan K, Earle E D. Estimation of nuclear DNA content of plants by flow cytometry[J]. Plant Mol Biol Report, 1991, 9: 229-241.
- [10] 马宽.高油酸的甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂交新材料的细胞学和遗传学研究[D].武汉:华中农业大学,2006.