

利用十字花科种间杂交创造甘蓝型油菜 种质资源的研究

文雁成¹, 鲁丽萍², 张书芬¹, 王建平¹, 朱家成¹, 何俊平¹, 赵磊¹, 曹金华¹

(1. 河南省农业科学院 经济作物研究所/农业部黄淮海油料作物重点实验室/河南省油料作物重点实验室,
河南 郑州 450002; 2. 河南财政税务高等专科学校 信息工程系, 河南 郑州 451464)

摘要: 为了拓宽甘蓝型油菜种质资源的遗传基础, 以甘蓝型油菜、白菜型油菜和芥菜型油菜为材料研究了十字花科种间杂交的可行性。结果表明, 不同物种间油菜杂交结角率和亲和指数存在差异。在芥菜型油菜与甘蓝型油菜、白菜型油菜种间杂交中, 芥菜型油菜作母本的杂交结角率(分别为95.0%、92.5%)和亲和指数(分别为6.51、12.40)高于其反交(17.5%、20.0%, 0.56、1.12)。在甘蓝型油菜与白菜型油菜的种间杂交中, 以甘蓝型油菜为母本的杂交结角率和亲和指数(分别为97.5%和14.66)高于以白菜型油菜作母本(分别为30.0%和2.41)。将芥菜型油菜的琴形叶性状转移到甘蓝型油菜中, 发现该性状由1对隐性基因控制。育成了油酸含量高于80%的特高油酸含量新品系和亚麻酸含量低于3%(2.14%)的甘蓝型油菜品系, 这些优异脂肪酸种质资源材料均是低芥酸、低硫甾品系, 可以直接应用于生产。

关键词: 十字花科; 油菜; 种间杂交; 亲和指数; 琴形叶; 高油酸; 低亚麻酸

中图分类号: S565.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2014)06-0030-05

Novel Germplasm Creation in *Brassica napus* by Cruciferous Interspecific Hybridization

WEN Yan-cheng¹, LU Li-ping², ZHANG Shu-fen¹, WANG Jian-ping¹, ZHU Jia-cheng¹,
HE Jun-ping¹, ZHAO Lei¹, CAO Jin-hua¹

(1. Institute of Industrial Crops, Henan Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Oilseed Crops in
Huanghuaihai Plain, Ministry of Agriculture/Henan Key Laboratory of Oilseed Crops, Zhengzhou 450002, China;
2. Information Engineering Department, Henan College of Finance and Taxation, Zhengzhou 451464, China)

Abstract: In order to broaden the genetic basis of germplasm in *Brassica napus*, the feasibility of creating novel germplasm by cruciferous interspecific hybridization was investigated in this article. Results implied that podding ratio and crossing compatibility index differed among different cruciferous species. In both interspecific hybridizations of *Brassica napus* and *Brassica juncea*, *Brassica rapa* and *Brassica juncea*, the podding ratios(95.0% and 92.5%) and crossing compatibility indexes(6.51 and 12.40) were much higher when *Brassica juncea* was used as maternal parent than those in reciprocal crosses, which were 17.5% and 20.0%, 0.56 and 1.12. In the interspecific hybridization of *Brassica napus* and *Brassica rapa*, the podding ratio(97.5%) and crossing compatibility index(14.66) when *Brassica napus* was used as maternal parent were much higher than those of its reciprocal cross, which were 30.0% and 2.41,

收稿日期: 2013-12-10

基金项目: 国家“863”油菜杂种优势利用项目(2011AA10A104); 河南省国际合作项目(134300510064); 河南省科技创新杰出人才项目(134200510027)

作者简介: 文雁成(1965-), 男, 河南光山人, 副研究员, 博士, 主要从事油菜遗传育种研究。E-mail: ychwen65@163.com

respectively. By interspecific hybridization between *Brassica juncea* and *Brassica napus*, the character of fiddle-shaped leaf in *Brassica juncea* was transferred to *Brassica napus*, which was controlled by one pair of recessive gene. In this study, *Brassica napus* lines with high olein acid content (83.44%) and low linolenic acid content (2.14%) were obtained. These novel germplasms also had low erucic acid and glucosinolate content, and could be directly used in production.

Key words: Cruciferae; rape; interspecific hybridization; compatibility index; fiddle-shaped leaf; high olein acid content; low linolenic acid content

创造具有广泛遗传基础的种质资源材料是作物育种的前提和基础,通常创造优异种质资源的有效方法包括种间杂交、物理诱变、化学诱变、基因转化等,其中种间杂交是最传统有效的创造变异的方法^[1]。目前,生产上普遍应用的油菜有甘蓝型、芥菜型和白菜型 3 种类型,它们在遗传关系上是既相互关联又明显不同的 3 种油菜类型^[2]。作为外来物种的甘蓝型油菜,其长势强、产量高,成为生产上普遍应用的油菜类型。目前,我国生产上利用的油菜品种主要为低芥酸、低硫甙优质甘蓝型油菜品种,该类型油菜的不足之处是抗寒、抗旱等抗逆性能较差。我国是芥菜型油菜和白菜型油菜的起源地之一,拥有丰富的芥菜型油菜和白菜型油菜种质资源。这 2 种类型油菜虽然长势和产量不及甘蓝型油菜,但是其抗旱、抗寒、抗病、耐瘠薄、耐晚播等能力较强。通过种间杂交,可以使甘蓝型、芥菜型和白菜型油菜的优良特性聚合,克服其缺点,创造更加优异的油菜品系,选育出高产、优质和抗逆能力强的油菜新品种,满足生产需求。

前人所做的十字花科油菜种间杂交研究主要是甘蓝型油菜与芥菜型油菜间的杂交^[3-5],将芥菜型油菜的有益性状如黑胙病抗性^[6]、裂角抗性^[7]和黄色种皮^[8]等转移到甘蓝型油菜中。而关于甘蓝型油菜与白菜型油菜、芥菜型油菜与白菜型油菜间杂交的研究较少^[9],芥菜型油菜、白菜型油菜和甘蓝型油菜间三交的研究未见报道。本研究试图通过种间杂交,探讨将我国具有丰富种质资源的芥菜型和白菜型油菜种质资源中的有益基因转移到甘蓝型油菜中的可能性,并对这些种间杂交方法和效率进行比较,以期为该技术在油菜育种上的应用提供科学依据和理论指导。

1 材料和方法

1.1 材料

供试的甘蓝型油菜(*B. napus*)为豫油 2 号、双油 9 号、4 号恢复系、人工合成的甘蓝型油菜(B5×

76)^[10-11],芥菜型油菜(*B. juncea*)为固始冬芥菜,白菜型油菜(*B. rapa*)为固始白菜型油菜,均由河南省农业科学院经济作物研究所提供。

1.2 方法

试验材料种植于河南省农业科学院试验田,行距 0.4 m、株距 0.133 m,常规栽培管理。在油菜花期,利用上述 3 种类型油菜进行正反交和复合杂交。在成熟期,调查结角数和每角粒数,计算每个杂交组合的结角率和亲和指数,结角率=有籽粒的角果数/授粉花朵数×100%,亲和指数=籽粒数/杂交花朵数。

将其 F₁ 代进行自交和回交。自交和回交后代再连续自交稳定纯合,从中筛选具有特异农艺性状和品质性状的后代材料。利用普通叶形的双油 9 号与琴形叶品系杂交, F₁ 代自交、回交,研究琴形叶性状的遗传规律。自交后代材料的农艺性状、抗寒性、抗病性和抗倒伏能力在田间进行检测,种子的芥酸含量、硫甙含量、含油量、油酸含量和亚麻酸含量采用 FOSS 近红外谷物品质分析仪进行检测。数据处理利用 Excel 软件进行,利用 χ^2 测验进行适合性显著性测验。

2 结果与分析

2.1 甘蓝型、芥菜型、白菜型油菜种间杂交的亲指数分析

由表 1 可以看出,固始白菜型油菜、固始芥菜型油菜与甘蓝型油菜豫油 2 号的种间正交与反交的结角率和亲和指数存在明显差异。其中,固始芥菜×豫油 2 号的结角率和亲和指数(95.0%和 6.51)明显高于其反交(17.5%和 0.56),说明固始芥菜与甘蓝型油菜豫油 2 号种间杂交,以固始芥菜作母本获得成功的可能性更高。固始芥菜×固始白菜的结角率和亲和指数(92.5%和 12.40)明显高于其反交(20.0%和 1.12),说明在固始芥菜与固始白菜的种间杂交中,以固始芥菜作母本更容易获得杂交后代。即在芥菜型油菜与甘蓝型油菜、白菜型油菜种间杂

交中,均是以芥菜型油菜为母本的结角率和亲和指数最高。豫油2号×固始白菜的结角率和亲和指数(97.5%和14.66)明显高于其反交(30.0%和2.41),说明在固始白菜与甘蓝型油菜豫油2号的种间杂交中,以甘蓝型油菜做母本更容易获得杂交后代。上述结果与前人的研究结果一致^[1-4,9]。

为了将芥菜型油菜和白菜型油菜中的优良基因

聚合到甘蓝型油菜中去,进行了这3个类型油菜间的三交研究。结果表明,以固始芥菜×固始白菜的 F_1 为母本与甘蓝型油菜豫油2号进行杂交,结角率很高(97.5%),亲和指数达到5.66。因此,这3种油菜类型间进行三交是可以实现的,可以将芥菜型油菜和白菜型油菜的优良基因通过三交的方式聚合到甘蓝型油菜中去。

表1 白菜型油菜、芥菜型油菜、甘蓝型油菜种间杂交可交配性调查结果

杂交组合	种属类型	杂交花数/朵	结角数/个	结角率/%	每角粒数	亲和指数
固始芥菜×豫油2号	<i>B. juncea</i> × <i>B. napus</i>	40	38	95.0	6.85±0.14	6.51±0.13
豫油2号×固始芥菜	<i>B. napus</i> × <i>B. juncea</i>	40	7	17.5	3.20±0.01	0.56±0.00
豫油2号×固始白菜	<i>B. napus</i> × <i>B. campestris</i>	40	39	97.5	15.04±0.21	14.66±0.20
固始白菜×豫油2号	<i>B. campestris</i> × <i>B. napus</i>	40	12	30.0	8.03±0.19	2.41±0.06
固始芥菜×固始白菜	<i>B. juncea</i> × <i>B. campestris</i>	40	37	92.5	13.40±0.37	12.40±0.34
固始白菜×固始芥菜	<i>B. campestris</i> × <i>B. juncea</i>	40	8	20.0	5.61±0.34	1.12±0.07
固始芥菜×固始白菜×豫油2号	<i>B. juncea</i> × <i>B. campestris</i> × <i>B. napus</i>	40	39	97.5	5.8±0.29	5.66±0.28

2.2 甘蓝型、芥菜型、白菜型油菜种间杂交后代的表现

本研究中的杂交后代 F_1 均表现出强大的营养生长优势:从苗期开始就表现为长势强、叶片大,植株高大、分枝多。由于固始芥菜开花晚、成熟晚,有固始芥菜参与的种间杂交后代均表现晚熟。固始白菜型油菜花期较早,其 F_1 代熟期较早。种间杂交后代的成熟期表现为中亲值。 F_1 代花粉较少,自交结实差。

自交后代 F_2 代和回交后代出现剧烈分离,表型变异十分丰富,叶形上表现有花叶和圆叶,叶色有深绿和淡绿,熟期有早有晚,株高有高有矮,抗寒、抗倒伏、长角果等。这些后代经过多代自交,到第7~8代,性状才逐渐稳定,从中筛选出成熟期、农艺性状和品质性状独特的材料,如从固始冬芥菜×豫油2号×豫油2号杂交后代育成了长角果材料G2010222,角果长度达到7.5 cm,比对照双油9号角果(5.4 cm)增加38.9%;从豫油2号×固始白菜型油菜选育出早熟抗寒材料G2010901;从固始冬芥菜×固始白菜型油菜杂交后代中选育出叶色淡绿、与其父本相似的甘蓝型油菜品系G2010905;从固始冬芥菜×豫油2号种间杂交后代中选育出像芥菜型油菜叶形的花叶甘蓝型油菜G2013917(图1)。在这些种间杂交后代中,也出现了一些油菜籽品质性状的变异材料,如从人工合成的甘蓝型油菜(B5×76)与4号恢复系杂交后代中选育出了油酸含量达80%的高油酸含量油菜品系G2012151;从固始冬芥菜×固始白菜型油菜×豫油2号种间杂交后代中选育出了低亚麻酸含量(<3%)的油菜品系。



图1 普通叶甘蓝型油菜双油9号(左)与琴形叶甘蓝型油菜G2013917(右)

2.3 新型甘蓝型油菜花叶材料的选育

在固始冬芥菜×豫油2号的种间杂交后代中,经过8代自交和定向选择,育成了具有固始芥菜型油菜琴形叶的甘蓝型油菜品系G2013917,这种叶形在甘蓝型油菜中为首次出现(图1),该性状可以作为标记性状用于油菜品种选育工作。通过琴形叶品系G2013917与传统叶形的双油9号杂交进行遗传分析发现,琴形叶材料与传统叶形材料杂交一代100%为传统叶形, F_1 代自交产生的 F_2 代表现出传统叶形与琴形叶分离,其比例经过 χ^2 测验,传统叶形与琴形叶单株比例符合3:1的分离比例;其 F_1 与传统叶形的油菜品种双油9号和琴形叶分别杂交,经过 χ^2 测验结果,其回交后代的琴形叶与传统叶型分离比例均符合1:1的分离比例(表2),表明该性状由1对隐性基因控制。

琴形叶品系G2013917为双低优质品系(芥酸含

量 0.81%, 硫甙含量 16.46 mol/g), 含油量适中 (41.77%), 具有高油酸含量 (76.91%), 亚油酸含量为 18.82%, 亚麻酸含量 (5.34%) 比常规品系双油 9 号 (11.50%) 低 50% 左右, 蛋白质含量为 25.80%。该品系抗寒、抗旱、抗倒伏、叶色深绿, 叶形边缘深缺刻, 分枝数适中。

表 2 琴形叶与传统叶形油菜杂交、回交及其自交 F₂ 代叶形调查结果

世代	传统叶株数	琴形叶株数	$\chi^2(\chi^2_{0.05}=3.84)$	
			1:1	3:1
F ₁	153	0		
F ₂	139	47		0.028 7
BC ₁	73	75	0.026 9	
BC ₂	86	83	0.094 6	

2.4 高油酸和低亚麻酸含量油菜品系的选育

在甘蓝与大白菜人工合成得到的甘蓝型油菜 (B5×76) 与甘蓝型油菜 4 号恢复系的杂交后代中, 经过多年连续自交育成了油酸含量高达 83.44% 的高油酸品系 G2012151, 比传统双低优质油菜双油 9 号的油酸含量高 57.34%。且该品系的亚麻酸含量也较低 (6.32%), 比双油 9 号低 45.05%, 是一个将高油酸、低亚麻酸、低芥酸、低硫甙 4 个优异品质性状结合在一起的油菜品系。在固始冬芥菜×固始白菜型油菜×豫油 2 号种间杂交后代中, 经过多年自交, 获得了低亚麻酸甘蓝型油菜品系 G2013933, 其亚麻酸含量只有 2.14%, 符合目前国内低亚麻酸含量要<3% 的目标要求。比传统油菜双油 9 号低 81.40%, 这为选育低亚麻酸油菜品种创造了难得的种质资源材料 (表 3)。

表 3 通过种间杂交育成的琴形花叶、高油酸品系和低亚麻酸品系的品质性状

品系	芥酸含量/%	硫甙含量/(mol/g)	含油量/%	油酸含量/%	亚油酸含量/%	亚麻酸含量/%	蛋白质含量/%
G2012151	5.63	19.84	44.70	83.44	19.41	6.32	24.76
G2013933	16.07	34.03	42.01	68.15	18.54	2.14	27.50
双油 9 号	1.53	4.08	38.20	53.03	18.35	11.50	28.27

3 结论与讨论

油菜杂种优势利用是提高油菜单位面积产量的有效手段之一, 而要获得强优势杂交组合的前提条件就是要有优异的、高配合力的油菜亲本材料。要获得符合生产要求的优异油菜亲本材料, 途径一是常规育种手段, 将优异基因聚合到目标品种中去; 途径二是转基因手段, 将目标基因通过基因工程手段转化到目标品种中去。目前情况下, 大多数国内育种单位缺乏基因工程的技术手段和试验平台, 而且转基因油菜品种的生产应用还存在种种限制。因此, 多数单位采用的仍然是传统育种技术和手段。

在常规育种手段中, 创造特异种质资源最切实可行的方法是通过有性杂交手段将相近物种的有益性状聚合到目标物种的品系中。在现有的油菜种质资源材料中, 可以利用的优异性状已被广泛利用。为了拓展油菜种质资源的遗传基础, 育种家普遍利用远缘杂交将芸薹属十字花科其他物种中的优异性状聚合到现有的油菜品种中去^[3-10]。李石开等^[4]通过甘蓝型油菜与芥菜型油菜种间杂交, 成功地将芥菜型油菜的温敏核不育性状转移

到甘蓝型油菜中去。符明联等^[5]从甘蓝型油菜与芥菜型油菜种间杂交育成的甘蓝型油菜后代中筛选出 3 个抗旱品系。张晓伟等^[11]利用大白菜与甘蓝进行种间杂交, 合成了甘蓝型油菜。文雁成等^[10]对大白菜与甘蓝人工合成的甘蓝型油菜进行了研究, 发现这些人工合成的品系大部分营养生长优势强、成熟晚、千粒重高、含油量高, 部分材料抗寒、耐热、抗霜霉病、避病毒病, 多数材料自交不亲和。Roy 等^[6]通过甘蓝型油菜与芥菜型油菜种间杂交, 将芥菜型油菜的抗黑胫病基因转移到甘蓝型油菜中。Prakash 等^[7]通过甘蓝型油菜与芥菜型油菜种间杂交, 将芥菜型油菜的抗裂角基因转移到甘蓝型油菜中。Rahman 等^[8]通过种间杂交合成了黄籽甘蓝型油菜。

本研究对十字花科作物种间杂交的研究发现, 不需要胚拯救培养, 直接通过种间杂交和回交的方式就可以获得种间杂种, 不同的杂交方式获得成功的机率存在差异。通过十字花科种间杂交创造油菜种质资源的可行性探索发现, 不同物种间亲和指数存在差异。在芥菜型油菜与甘蓝型油菜、芥菜型油菜与白菜型油菜种间杂交中, 以芥菜型油菜作母本的杂交结实率和亲和指数均明显高

过其反交组合。在甘蓝型油菜与白菜型油菜的种间杂交中,以甘蓝型油菜为母本的杂交结角率和亲和指数明显高于其反交组合。这与前人的研究结果一致^[1-4,9]。本研究发现,可以将芥菜型油菜和白菜型油菜的优良基因通过三交的方式聚合到甘蓝型油菜中去。

通过种间杂交,可以将十字花科不同作物的性状转移到甘蓝型油菜中去。本研究将芥菜型油菜的琴形叶性状转移到甘蓝型油菜中,创造出了以往在甘蓝型油菜中没有的深缺刻花叶新品系,并发现该性状由 1 对隐性基因控制,该性状可以作为标记性状用于甘蓝型油菜育种。刘静^[12]发现的白菜中的叶缘裂刻和涂玉琴等^[13]发现的甘蓝型油菜叶缘裂刻性状均受 1 对显性基因控制。对比前人的研究,本研究育成的甘蓝型油菜琴形叶与前人研究的油菜缺刻性状的遗传规律完全不同。

油酸是对人体健康十分有益的一种脂肪酸,油菜优质育种需要提高油酸含量。普通高芥酸高硫甾油菜品种中油酸含量一般只有 20%~30%,普通双低优质油菜的油酸含量可以提高到 60%左右,进一步提高油酸含量成为油菜优质育种的目标之一。另外,菜籽油中的亚麻酸含有 3 个不饱和键,易于氧化变质,不利于菜籽油的保存,将常规菜籽油中 10%左右的亚麻酸含量降低到 3%以下,也是目前油菜优质品种选育的重要目标之一。通过种间杂交还可以获得常规杂交育种难以获得的特异脂肪酸组成的新型油菜品种,本研究育成了油酸含量高于 80%的特高油酸含量新品系,为高油酸品种选育创造了难得的优异种质资源;此外,还获得了亚麻酸含量低于 3%(2.14%)的甘蓝型油菜品种,这也是低亚麻酸品种选育的难得种质资源材料。更为难能可贵的是,这些优异脂肪酸种质资源材料都是低芥酸、低硫甾品种,满足我国双低(低芥酸、低硫甾)优质油菜标准,可以直接在生产上推广应用。

参考文献:

- [1] 西北农学院. 作物育种学[M]. 北京: 农业出版社, 1981:128-131.
- [2] 刘后利. 油菜的遗传和育种[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985:9-21.
- [3] 刘忠松,官春云,李桐,等. 甘蓝型油菜与芥菜型油菜种间杂交研究[J]. 中国油料作物学报, 2001, 23(2): 82-86.
- [4] 李石开,和江明,刘旭云,等. 芥菜型油菜温敏核不育向甘蓝型油菜转育的种间杂交研究. I. 甘蓝型油菜可交配品系的筛选[J]. 西南农业学报, 2006, 19(增刊): 63-66.
- [5] 符明联,李根泽,杨清辉,等. 隶属函数法鉴定油菜甘芥种间杂交后代的抗旱性[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(4): 368-373.
- [6] Roy N N. Inter-specific transfer of *Brassica juncea*-type high blackleg resistance to *Brassica napus*[J]. *Euphytica*, 1984, 33: 295-303.
- [7] Prakash S, Chopra V L. Introgression of resistance to shattering in *Brassica napus* from *Brassica juncea* through non-homologous recombination [J]. *Plant Breeding*, 1988, 101: 167-168.
- [8] Rahman M H. Production of yellow-seeded *Brassica napus* through interspecific crosses[J]. *Plant Breeding*, 2001, 120: 463-472.
- [9] 牛研,赵志刚,余青兰. 芥菜型油菜和白菜型油菜杂交后代自交亲和性研究[J]. 河南农业科学, 2013, 42(9): 36-42.
- [10] 文雁成,张书芬,王建平,等. 对甘蓝与大白菜种间杂交合成的甘蓝型油菜的研究[J]. 中国油料作物学报, 1999, 21(4): 8-11.
- [11] 张晓伟,高睦枪,原玉香,等. 人工合成甘蓝型油菜研究[J]. 河南农业科学, 2001(2): 7-10.
- [12] 刘静. 萝卜败蕾的细胞形态学和小白菜裂叶性状分子标记研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2008.
- [13] 涂玉琴,孙建,戴兴临,等. 甘蓝型油菜叶缘裂刻性状特征及其遗传分析[J]. 中国油料作物学报, 2013, 35(10): 93-96.