

芥菜型油菜和白菜型油菜杂种后代 自交亲和性研究

牛 妍, 赵志刚*, 余青兰

(青海大学 农林科学院 青海省高原作物种质资源创新与利用重点实验室培育基地/
国家油菜改良中心青海分中心, 青海 西宁 810016)

摘要: 为获得自交亲和的白菜型油菜材料, 利用芥菜型油菜和白菜型油菜种间杂交, 将芥菜型油菜的自交亲和性状导入白菜型油菜, 并揭示杂种后代自交亲和性状的渗入过程和状态。芥白杂种后代 BC_1F_1 群体的自交亲和指数介于 0.05~0.88, 群体自交不亲和, 而 BC_1F_2 和 BC_2F_1 群体自交亲和指数最高达到 14.33, 自交亲和的植株分别占 35.5% 和 22.2%。对 BC_1F_2 和 BC_2F_1 植株自交亲和性状分离进行统计和测验分析, 表明白菜型油菜的自交亲和性状可能是单基因控制的显性遗传。 BC_1F_3 和 BC_2F_2 群体中自交亲和植株显著增多, 分别占 75.3% 和 87.5%。对 BC_1F_2 代和 BC_1F_3 代植株花粉管萌发观察和自交亲和指数比较均表明, 芥白杂种后代植株获得的自交亲和性状是可遗传的。

关键词: 芥菜型油菜; 白菜型油菜; 种间杂交; 自交亲和; 花粉管萌发

中图分类号: S565.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)09-0036-07

Study on Self-compatibility of Interspecific Hybrid Progeny between *Brassica juncea* and *Brassica rapa*

NIU Yan, ZHAO Zhi-gang*, YU Qing-lan

(Qinghai Provincial Key Laboratory Breeding Base for Innovation and Utilization of Plateau Crop
Germplasm/Qinghai Sub-center of National Rapeseed Improvement Center, Academy of Agriculture
and Forestry, Qinghai University, Xining 810016, China)

Abstract: In this study, the self-compatibility trait of *B. juncea* was transferred into *B. rapa* through interspecific hybridization between *B. juncea* and *B. rapa* and the introgression process and state of self-compatibility trait in hybrid progenies were revealed. The BC_1F_1 progeny was self-incompatible, of which self-compatible index varied from 0.05 to 0.88. However, in BC_1F_2 and BC_2F_1 progenies, the highest index reached 14.33 and the percentage of self-compatible plants accounted for 35.5% and 22.2%, respectively. Analyzing self-compatible data of BC_1F_2 and BC_2F_1 progenies statistically, the results showed that the self-compatibility of *B. rapa* was probably controlled by a couple of genes which managed dominant genetics. In BC_1F_3 and BC_2F_2 progenies, self-compatible plants significantly increased and accounted for 75.3% and 87.5%, respectively. By means of observing pollen tube germination and comparing self-compatibility indexes of plants in the BC_1F_2 progeny and BC_1F_3 progeny, the results both show that the self-compatibility trait of hybrid progenies is inheritable.

Key words: *B. juncea*; *B. rapa*; interspecific hybridization; self-compatibility; pollen tube germination

收稿日期: 2013-04-27

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)前期研究项目(2011CB111508); “十二五”国家科技支撑计划项目(2011BAD35B04); 青海省应用基础研究项目(2011-Z-701)

作者简介: 牛 妍(1988-), 女, 河南驻马店人, 在读硕士研究生, 研究方向: 油菜分子细胞遗传学。E-mail: niuyan88@126.com

* 通讯作者: 赵志刚(1978-), 男, 内蒙古锡林格勒人, 副研究员, 博士, 主要从事油菜分子细胞学研究。

E-mail: 13897474887@126.com

远缘杂交是进行品种改良的重要途径。通过有性杂交将野生种的有利基因转移到栽培种,不仅可以培育作物新品种、改良作物品质,而且拓宽了栽培作物的遗传基础^[1]。作为遗传物质转移的一种方法,远缘杂交已经广泛用于栽培作物的品质改良,弥补了常规育种遗传资源不足的缺点。通过远缘杂交将野生水稻的很多优良基因转移到栽培水稻中已经取得了巨大成就^[2-3]。袁汉民等^[4]把小麦近缘属植物的有益基因转移到小麦中,创造了新的小麦种质资源。芸薹属植物是一个遗传类型极其丰富、变异极其广泛的基因库,这为芸薹属植物的种间杂交或与近缘属的属间杂交提供了丰富的物质基础及遗传背景。Liu等^[5]通过种间杂交将芥菜型油菜的黄籽和高含油量性状导入甘蓝型油菜,提高了甘蓝型油菜的品质。Guan等^[6]和张丽君等^[7]通过芸薹属和播娘蒿属杂交,将播娘蒿属的优良性状基因导入油菜中,提高了油菜的品质、产量和抗逆性。

自交不亲和性普遍存在于显花植物中,是防止植物近亲繁殖、保持遗传变异的一种重要的遗传机制,自然界中大约有一半以上的显花植物都具有自交不亲和性^[8]。自交不亲和主要表现在花粉粒落到柱头上不能正常萌发,并且花粉和柱头乳突细胞之间的胼胝质(callose)反应强烈^[9]。白菜型油菜(*Brassica rapa* L., $2n=20$)是芸薹属作物二倍体基本种之一,早熟、耐寒而且类型丰富,是世界上重要的油料作物。白菜型油菜中,除印度的黄籽沙逊和青海大黄油菜为自交亲和和类型外,其他多属自交不亲和和类型^[10-11]。自交不亲和植物自交不能结实,国内外许多研究者对其繁殖方法进行了多方面探索,提出了一些理化和机械方法,如高温处理、喷施盐水、CO₂处理等,但效果均不理想。剥蕾授粉是芸薹属自交不亲和作物繁殖最传统也是最有效的一种方法,但是费工费时、成本较高,且技术要求比较严格。白菜型油菜自交不亲和特性使植株自交繁育有很大困难,严重阻碍了白菜型油菜育种的进程。

自交亲和性与自交不亲和性是一对相互对应的性状,是植物生殖生物学和分子生物学研究的重要内容。关于植物自交亲和性的研究早已引起了人们的关注,国内外学者对自交亲和性的遗传机制及规律已经做了大量研究^[12-15],而通过种间有性杂交转移自交亲和性状的研究较少。芥菜型油菜多属自交亲和植物,本研究拟利用芥菜型油菜和白菜型油菜种间杂交,把芥菜型油菜的自交亲和性状转移到白菜型油菜中,选育自交亲和的白菜型油菜新资源,以为白菜型油菜的遗传多样性提供材料,同时揭示

芸薹属自交亲和性由异源四倍体向二倍体转移的变化规律。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试芥菜型油菜品种为云南炉霍本地小油菜,早熟、自交亲和;供试白菜型油菜品种为青海门源小油菜,早熟、自交不亲和。2种材料都属于高自交后代,遗传上较为稳定,均由青海省农林科学院提供。于2010年3月种植于青海大学农林科学院试验田,常规栽培管理。

1.2 方法

1.2.1 杂交方法 以炉霍本地小油菜为母本、门源小油菜为父本,选择无明显病虫害、生长健壮的植株严格隔离去雄进行杂交,获得F₁种子。以F₁植株为母本,用门源小油菜回交,采用重复多次授粉,得到BC₁F₁种子。将BC₁F₁种子播种后,采用逐代自交,直至获得遗传稳定的新型白菜型油菜。

1.2.2 自交亲和指数测定 从BC₁F₁代开始,每个群体中各随机选择若干株,进行套袋处理,套袋前去除幼蕾和已开的花,留下即将开放的蕾,待开花后进行人工辅助授粉。记录授粉花数,成熟时统计结角数和籽粒数,计算自交亲和指数。自交亲和指数=自交结实籽粒数/授粉花朵数。

以自交亲和指数来衡量自交亲和性,参照孙万仓等^[11]和范惠玲等^[16]的方法,将亲和性类型划分为自交不亲和类型(自交亲和指数0~1.00)、自交亲和类型(自交亲和指数1.00~4.00)和高自交亲和类型(自交亲和指数>4.00)。

1.2.3 花粉管萌发观察 取开花前2~5d幼蕾进行套袋自交,授粉和套袋等操作方法与常规杂交育种相同。分别取授粉后2、4、6、8、16、24、48、72h的雌蕊(每次处理各取5~7枚)。用FAA固定液固定并低温保存。观察前雌蕊用6mol/L NaOH处理12h,水洗后用含0.1mol/L K₂HPO₄的0.1%水溶性苯胺蓝溶液避光浸泡24h,然后在荧光显微镜下观察花粉的萌发、柱头乳突细胞的胼胝质反应和花粉管生长情况。

2 结果与分析

2.1 BC₁F₁植株自交亲和性分析

芥白杂种F₁代,花粉败育,以白菜型油菜回交,授粉花数约2000朵,共获得28株BC₁F₁植株,编号为A₁-A₂₈。为了检测BC₁F₁群体的自交亲和能力,随机选择7株进行套袋处理,待花开后进行辅助

授粉,记录所授粉花数,成熟时统计结角数和籽粒数,计算自交亲和指数(表 1)。由表 1 可知,所调查的 BC_1F_1 植株自交亲和指数变化不大,且均较低,植株 A_{17} 的自交亲和指数最高(0.88),但仍小于 1,说明 BC_1F_1 群体自交不亲和。

表 1 BC_1F_1 植株自交亲和指数

项目	植株编号						
	A_2	A_3	A_5	A_6	A_7	A_{14}	A_{17}
授粉花数/朵	12	17	10	10	20	15	24
籽粒数/粒	3	2	8	2	1	2	21
亲和指数	0.25	0.12	0.80	0.20	0.05	0.13	0.88

2.2 BC_1F_2 和 BC_2F_1 群体自交亲和性分析

2.2.1 自交亲和指数 根据自交亲和指数公式计算所得,门源小油菜自交亲和指数为 0,属自交不亲和;炉霍本地小油菜平均自交亲和指数为 18.33,属高自交亲和类型。 BC_1F_1 群体可育植株自交得到 BC_1F_2 群体共 119 株,不育植株与青海门源小油菜继续回交得到 BC_2F_1 群体 67 株。在 BC_1F_2 和 BC_2F_1 世代中,随机选择了 49 株植株进行自交亲和性调查,结果见表 2。由表 2 可知, BC_1F_2 和 BC_2F_1 群体植株间自交亲和性差异较大,亲和指数在 0~14.33。 BC_1F_2 群体中大部分植株为自交不亲和类型,约占 64.5%,自交亲和类型与高自交亲和类型植株分别占 16.1% 和 19.4%; BC_2F_1 群体中约 77.8% 的植株为自交不亲和类型,自交亲和类型和高自交亲和类型植株所占比例均为 11.1%。 BC_1F_1 群体植株自交亲和指数介于 0.05~0.88,群体自交不亲和,而 BC_1F_2 和 BC_2F_1 群体开始出现自交亲和及高自交亲和类型植株,自交亲和指数最高达到 14.33,可见,芥白杂种后代在 BC_1F_2 和 BC_2F_1 群体开始获得自交亲和的白菜型油菜。

表 2 BC_1F_2 和 BC_2F_1 代植株自交亲和指数

亲和性 类型	自交亲和 指数	BC_1F_2 群体		BC_2F_1 群体	
		植株数 目/株	所占比 例/%	植株数 目/株	所占比 例/%
自交不亲和	0.00~1.00	20	64.5	14	77.8
自交亲和	1.00~4.00	5	16.1	2	11.1
高自交亲和	4.00~14.33	6	19.4	2	11.1

按照孟德尔关于 1 对基因的遗传理论, F_1 代与隐性亲本回交, BC_1F_1 代显性与隐性比例应该为 1:1; BC_1F_1 代自交, BC_1F_2 代显性与隐性比例应该为 3:5,而 BC_1F_1 代继续与隐性亲本回交, BC_2F_1 代中显性与隐性比例应该为 1:3。本研究中,芥白种间杂种由于减数分裂紊乱导致 F_1 代完全不育, BC_1F_1 群体虽然育性有一定的恢复,但仍较低,到

BC_1F_2 和 BC_2F_1 代花粉育性才基本恢复。 BC_1F_2 群体自交亲和和性状出现分离,出现自交亲和与自交不亲和 2 种类型,共调查 31 株,其中自交亲和植株 11 株,自交不亲和植株 20 株,自交亲和与自交不亲和植株的比例接近于 3:5(表 3)。 BC_2F_1 群体共调查自交亲和和性状 18 株,其中自交亲和植株 4 株,自交不亲和植株 14 株,自交亲和与自交不亲和植株的比例接近于 1:3。通过卡方适合性检验,计算出 2 个群体的 χ^2_C 均小于 $\chi^2_{0.05}$ ($\chi^2_{0.05}=3.841,df=1$),但由于群体过小,仅推测白菜型油菜的自交亲和和性状是单基因控制的显性遗传。

表 3 BC_1F_2 和 BC_2F_1 群体植株自交亲和表现

项目	自交亲和植株/株		自交不亲和植株/株		χ^2_C	$\chi^2_{0.05}$
	观测值	理论值	观测值	理论值		
BC_1F_2	20	11.60	11	19.40	0.001	3.841
BC_2F_1	4	6.75	14	11.25	1.200	3.841

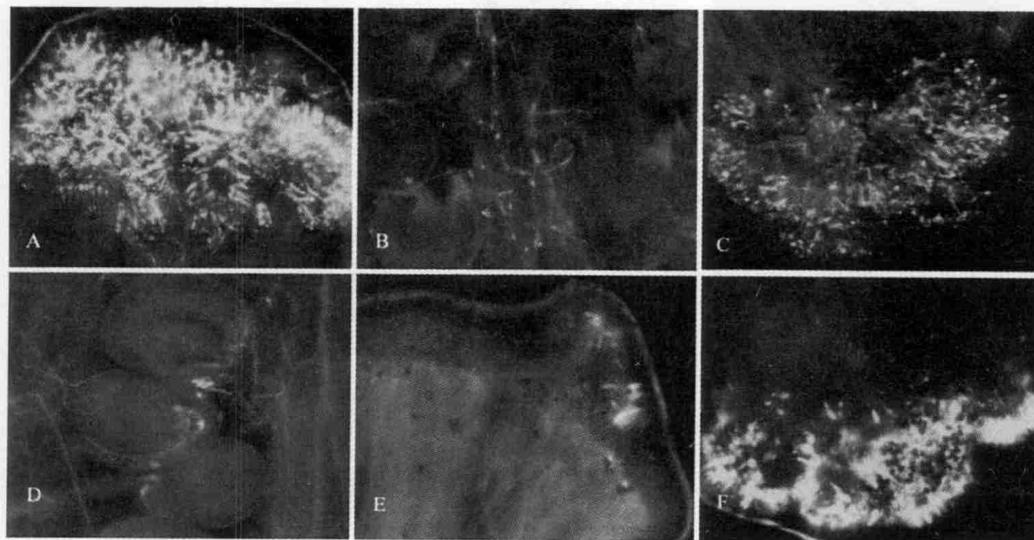
2.2.2 花粉管萌发观察 芥白杂种后代植株间形态学上存在明显的差异,根据叶型、株高、花期等可以大致分为 3 种类型:偏白菜型、中间型和偏芥菜型。为研究芥白杂交后代自交亲和性的变化情况,在 BC_1F_2 和 BC_2F_1 群体中,随机选择偏芥菜型、偏白菜型、中间型植株各 1 株,编号分别为 2-1、19-1、5-3,以青海大黄油菜(自交亲和)和青海门源小油菜(自交不亲和)作对照,进行花粉管萌发观察。

大黄油菜在自交授粉 2 h 后,即有少量花粉(约 13%)附着在柱头表面并开始萌发,花粉管正常伸长,柱头乳突细胞内无胼胝质反应;6 h 后约 50% 的花粉粒萌发;8 h 后花粉大量萌发(约 85%);10 h 后大量花粉萌发,花粉管开始伸长,但未进入到胚珠中;24 h 后,花粉管开始伸长,并顺利进入胚珠中受精;48 h 后进入萌发高峰期,大量花粉管伸长进入胚珠中,完成受精作用,表现明显自交亲和。青海门源小油菜自交授粉 2 h 后有少量花粉粘附在柱头上,但尚未萌发,开始出现少量胼胝质,16 h 后开始有少量花粉开始在柱头上萌发,但未进入胚珠;72 h 后,仍未有花粉进入到胚珠中,同时乳突细胞有较强的胼胝质反应,胼胝质在荧光显微镜下发出黄绿色荧光,表现自交不亲和。

中间型植株 5-3 自交授粉 8 h 后有少量花粉粘附在柱头上开始萌发,同时开始出现少量胼胝质,48 h 后,大量的花粉粒萌发,伸长,进入胚珠中受精(图 1A、B)。5-3 植株花粉粒萌发时间虽然较对照大黄油菜晚些,但足以说明芥菜型控制自交亲和基因已经渗入到白菜型油菜中,5-3 已经明显表现自交亲和;偏芥菜型植株 2-1 自交授粉 2 h 后,即少量花粉

粒在柱头上开始萌发,未出现胼胝质,8 h 时萌发的花粉粒数明显增多,达到 90%左右;24 h 后,花粉管开始伸长,顺利进入到胚珠中完成受精;48 h,大量的花粉管萌发,进入到胚珠中;72 h 时,花粉管仍在大量萌发伸长,进入到胚珠中(图 1C、D),可见,偏芥菜植株遗传具有亲本芥菜型油菜自交亲和的特征;偏白菜型油菜 19-1 自交授粉 6 h 后,少量花粉

粒粘附在柱头上,但尚未萌发,已经开始出现弱的胼胝质反应(图 1E);8 h 时,大量花粉粒进入到柱头上,仍未萌发,此时出现大量的胼胝质;72 h 时,柱头上的花粉粒已明显减少,仍未萌发,胼胝质仍在逐渐增强(图 1F),不能正常完成受精作用,说明偏白菜型油菜植株仍自交不亲和。结果表明,BC₁F₂ 和 BC₂F₁ 群体中已经出现自交亲和植株。



A、B 分别为在 5-3 植株自交授粉 48 h,大量花粉的萌发及花粉管伸长进入胚珠; C、D 分别为 2-1 植株自交授粉 72 h 时,大量花粉仍在萌发和伸长顺利进入胚珠; E 为自交授粉 6 h 后, 19-1 出现弱的胼胝质反应; F 为授粉后 72 h 后,19-1 花粉仍未萌发并出现强烈的胼胝质反应。

图 1 BC₁F₂ 和 BC₂F₁ 群体植株花粉管的萌发情况

2.3 BC₁F₃和 BC₂F₂ 群体自交亲和性分析

2.3.1 自交亲和指数 BC₁F₃ 和 BC₂F₂ 群体中,随机对 93 株植株进行了自交亲和性调查,如表 4 所示,BC₁F₃ 群体中共调查植株自交亲和性 77 株,其中自交亲和类型和高自交亲和类型植株分别占 20.8%和 54.5%,而自交不亲和植株仅占 24.7%; BC₂F₂ 群体中自交亲和类型和高自交亲和类型植株分别占 12.5%和 75.0%,而自交不亲和植株仅占 12.5%。BC₁F₃ 和 BC₂F₂ 群体中自交亲和类型与高自交亲和类型植株比例都远远大于自交不亲和类型植株,而 BC₁F₂ 和 BC₂F₁ 群体以自交不亲和植株为主,可见,随着自交世代的增加,自交亲和植株所占的比例逐渐升高。

表 4 BC₁F₃ 和 BC₂F₂ 代植株自交亲和指数

亲和性 类型	自交亲和 指数	BC ₁ F ₃ 群体		BC ₂ F ₂ 群体	
		植株数 目/株	所占比 例/%	植株数 目/株	所占比 例/%
自交不亲和	0.00~1.00	19	24.7	2	12.5
自交亲和	1.00~4.00	16	20.8	2	12.5
高自交亲和	4.00~33.00	42	54.5	12	75.0

2.3.2 花粉管萌发观察 为研究自交亲和性状的遗传稳定性,在 BC₁F₃ 群体中共调查 3 行,每行随机选取 4 株,共 12 株,编号分别为 814-1、814-8、814-10、814-11; 834-1、834-3、834-5、834-7; 891-1、891-3、891-7、891-8。且每行均来自同一亲本,在 BC₁F₂ 代均表现自交亲和,编号分别对应为 5-3、9-7 和 20-8。

814-1、814-8、814-10 和 814-11 都为 5-3 后代,4 株均一致表现为自交亲和,授粉 6~8 h 后,花粉开始萌发伸长,8~16 h 后花粉管伸长进入胚珠(图 2A),24~40 h 萌发程度达到最大(图 2B),72 h 花粉仍在持续大量萌发。

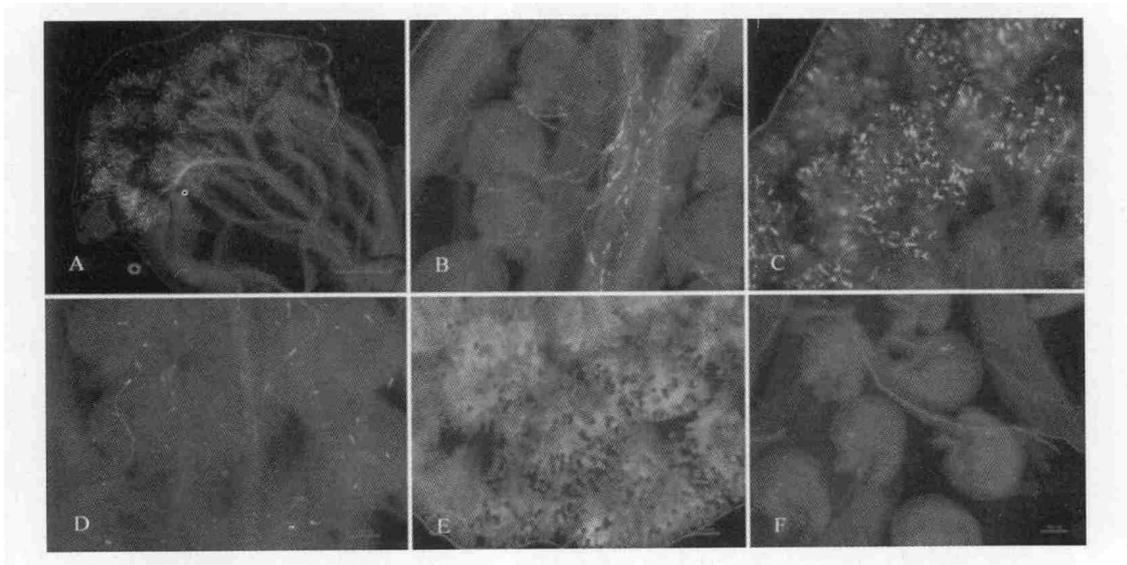
834-1、834-3、834-5 和 834-7 的亲本为 9-7,4 株均表现为自交亲和,授粉 2~8 h 后花粉开始萌发伸长,16~24 h 后花粉大量萌发伸长,进入胚珠(图 2C),24~40 h 萌发程度达到最大(图 2D),76 h 花粉仍在大量萌发。

891-1、891-3、891-7 和 891-8 均来自亲本 20-8,自交亲和和性状出现分离;891-3 和 891-8 表现自交不亲和,891-1 和 891-7 表现自交亲和。891-1 在授粉

2 h 后,粘附少量花粉,未萌发,直到 72 h 花粉才开始萌发伸长;891-8 在授粉 2 h 后,粘附大量花粉,未萌发(图 2E),6 h 出现大量的胼胝体,直到 72 h 仍未有花粉萌发伸长(图 2F)。891-3 在授粉 2 h 后,粘附少量花粉,未萌发,8 h 后仅有少量花粉开始萌发,未伸长,24 h 仅有少量花粉进入胚珠,直到 72 h,仍有大量花粉(95%)未萌发;891-7 在授粉 2 h 后,粘附大量花粉,花粉(10%)开始萌发,未伸长,8

h 后大量花粉管开始伸长,24 h 花粉管伸长进入胚珠,40 h 花粉(60%)大量萌发伸长,进入胚珠,直到 72 h,仍有大量花粉萌发。

亲本为自交亲和植株的 12 株植株中,有 10 株仍表现自交亲和,占 83.3%,仅有 2 株表现自交不亲和。说明芥白杂种后代获得的自交亲和性状是可遗传的,但仍处于不稳定状态,不能准确地遗传给后代。



A、B 分别为植株 814-10 授粉后 16 h 花粉大量萌发伸长和授粉 40 h 后花粉管大量伸长进入胚珠;
C、D 分别为植株 834-3 授粉后 24 h 花粉大量萌发和植株 834-7 授粉 40 h 后花粉管大量伸长进入胚珠;
E、F 分别为植株 891-8 授粉 2 h 出现强烈胼胝质反应和授粉 72 h 后未有花粉管伸长进入胚珠

图 2 BC₁F₃ 植株花粉管的萌发情况

2.4 BC₁F₂ 群体和 BC₁F₃ 群体间自交亲和性的遗传规律

为调查 BC₁F₂ 代和 BC₁F₃ 两世代间自交亲和性变化规律,在 BC₁F₂ 群体中随机选择 15 株植株

进行自交亲和指数测定,收获后第 2 年播种,每个材料播种 1 行,每行随机选择 3 株测定自交亲和指数,2 代自交亲和指数之间进行 *t* 测验,如表 5 所示。

表 5 BC₁F₂ 和 BC₁F₃ 之间自交亲和性变化

亲和性类型	自交亲和指数范围	BC ₁ F ₂ 代		BC ₁ F ₃ 代		<i>P</i>
		材料编号	自交亲和指数	材料编号	自交亲和指数	
自交不亲和	0.00~1.00	5-2	0±0.00	813	0.12±0.07	0.42
		5-8	0±0.00	819	6.33±5.84	0.20
		9-9	0±0.00	836	15.39±15.26	0.22
		11-9	0±0.00	845	2.73±2.60	0.08
		19-1	0.33±0.01	881	12.64±4.40**	0.00
		19-5	0.30±0.01	883	7.72±5.01	0.12
自交亲和	1.00~4.00	17-4	1.92±0.50	870	7.22±6.29**	0.01
		5-3	3.00±0.97	814	6.99±5.41	0.17
		12-3	3.40±0.16	849	4.36±2.59	0.59
高自交亲和	4.00~14.33	13-4	4.60±0.64	856	8.05±2.43	0.13
		19-8	6.57±2.08	888	6.68±5.39	0.98
		20-8	6.70±3.75	891	0.93±0.79**	0.00
		5-9	9.00±2.10	821	6.51±5.88	0.40
		11-3	9.30±2.73	840	2.10±1.82*	0.02
		9-7	14.33±4.32	834	14.64±5.89	0.92

注:*表示在 0.05 水平上差异显著,**表示在 0.01 水平上差异极显著。

根据自交亲和指数的高低,将 BC_1F_2 植株划分为自交不亲和类型、自交亲和类型和高自交亲和类型3种类型。 BC_1F_3 植株自交亲和性变化范围广泛,参与调查的15株 BC_1F_2 植株中,仅4株与其对应的 BC_1F_3 后代植株存在显著差异,其中有3株存在极显著差异。6株自交不亲和的 BC_1F_2 植株中,有5株后代(BC_1F_3)为自交亲和类型和高自交亲和类型,仅19-1植株与其子代植株间差异极显著,其余植株2代间无差异。3株自交亲和的 BC_1F_2 植株,后代植株均表现高自交亲和类型,其中17-4植株自交亲和指数与其后代植株存在极显著差异。6株高自交亲和的 BC_1F_2 植株后代发生分离,同时出现3种自交亲和类型的植株,其中4株后代仍表现高自交亲和类型,20-8后代表现为自交不亲和类型,11-3后代表现为自交亲和类型;植株20-8和11-3与其后代植株差异均达显著水平($P < 0.05$),其中植株20-8与其后代植株差异极显著($P < 0.01$)。6株自交不亲和的 BC_1F_2 植株中,其对应子代为自交亲和类型的植株有5株,约83.3%;9株自交亲和的 BC_1F_2 植株中,其对应子代仍为自交亲和类型的植株有8株,约占88.9%。结果表明,芥白杂种后代植株获得的自交亲和性状是可以遗传的,但由于非同源染色体的重组配对,未达到完全稳定状态。

3 结论与讨论

利用自交不亲和系制种是油菜杂种优势利用的重要途径,具有不受特定胞质限制、恢复系广泛、制种产量高等优点。芸薹属利用自交不亲和系的研究主要集中于甘蓝型油菜的育种^[17-19],已成为当前油菜杂种优势利用研究的热点。白菜型油菜多属自交不亲和类型,与品种间杂种优势效应相比,其自交系杂种优势明显^[20]。Yamane等^[21]研究表明,利用自交亲和特性可在一定程度上缩短育种时间。因此,通过芥菜型油菜与白菜型油菜种间杂交,将芥菜型油菜的自交亲和性状导入白菜型油菜,选育白菜型油菜自交亲和系,对白菜型油菜的遗传改良育种有重大意义。

由于自交亲和指数中的结籽情况常受到植株的隔离条件、授粉技术和营养条件等环境以及花粉育性的影响,进而影响到其准确性,因此采用自交亲和指数表示芥白杂种后代群体的自交亲和能力有一定误差。白菜型油菜在不亲和植株授粉时发生明显的胼胝质反应,而在亲和植株授粉时是没有的,柱头乳突细胞的胼胝质反应可作为检测自交不亲和性的一种标志,而且荧光检测准确、可靠、快速^[22-23]。因此,

从 BC_1F_2 和 BC_2F_1 代开始,逐代用亲和指数法和荧光检测2种方法测定芥白杂交后代自交亲和性变化。研究发现,2种方法结果一致,均表明,随着自交世代的增加,芥白杂交后代中自交亲和植株所占的比例显著提高。比较 BC_1F_2 代和 BC_1F_3 代2代自交亲和指数发现,无论 BC_1F_2 代植株为自交亲和或自交不亲和类型,其后代 BC_1F_3 群体植株均以自交亲和类型为主。对亲本为自交亲和的12株 BC_1F_3 植株花粉管萌发观察,结果与自交亲和指数测验一致,发现有10株仍表现自交亲和,占83.3%,仅有2株表现自交不亲和。可见,芥白杂种后代的自交亲和性状是可遗传的。

关于植物自交亲和性的遗传,Nasrallah等^[24]和 Dicenta等^[25]研究认为, S_f 基因导致自交亲和,并且自交亲和对自交不亲和为显性,而 Hiranata等^[26]对白菜型油菜托里亚杂交后代的研究指出,自交亲和性表现为隐性遗传性状。本研究中,芥白杂交 F_1 和 BC_1F_1 代花粉育性很低,不能真实反映植株自交亲和能力,随着杂种后代育性的恢复,从 BC_1F_2 和 BC_2F_1 代开始出现自交亲和类型,依据卡方适合性检验结果推测,白菜型油菜的自交亲和性状是单基因控制的显性遗传。芥白杂种 F_1 和 BC_1F_1 由于受减数分裂染色体的不规则配对的影响^[27-28],育性和结籽率较差,均未表现自交亲和类型。Phumichai等^[29]研究发现,马铃薯的自交亲和与 S 位点抑制基因(Sli)密切相关, Sli 基因是一个显性基因,其表达可抑制花粉 S 等位基因的功能,同时将自交不亲和植株转变为自交亲和植株。芸薹属植株自交亲和性状由 S 和 sp 位点控制^[30],白菜型油菜表现自交不亲和是因为 S 位点不受 sp 位点的抑制。芥菜型油菜表现自交亲和是因为同时存在 S 和 sp 位点, S 位点受 sp 位点的抑制。芥白杂交后代出现自交亲和植株可能是由于芥菜型油菜的 sp 位点渗入到白菜型油菜中,抑制了 S 位点的表达,进而使植株表现自交亲和。

本研究通过芥白种间杂交,首次将芥菜型油菜的自交亲和性状转移到白菜型油菜中,获得了自交亲和的白菜型油菜,增加了白菜型油菜的遗传多样性,为白菜型油菜的杂种优势利用提供材料。

参考文献:

- [1] 张国庆,周伟军,姚先伶,等.芸薹属植物远缘杂交研究现状[J].山西农业科学,2001,29(4):25-30.
- [2] Amante-Bordeos A,Stitch L A,Nelson R,et al. Transfer of bacterial blight and blast resistance from the

- tetraploid wild rice *Oryza minuta* to cultivated rice, *Oryza sativa* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1992, 84(3/4):345-354.
- [3] Fu X L, Lu Y G, Liu X D, *et al.* Progress on transferring elite genes from non-AA genome wild rice into *Oryza sativa* through interspecific hybridization [J]. Rice Science, 2008, 15(2):79-87.
- [4] 袁汉民, 欣明, 张富国, 等. 利用普通小麦与近缘属间的复合杂交创造小麦新种质 [J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(4):320-323.
- [5] Liu Z S, Guan C Y, Chen S Y, *et al.* Transfer of superior traits from *Brassica juncea* into *Brassica napus* [J]. Agricultural Science & Technology, 2010, 11(6):49-52.
- [6] Guan R, Jiang S, Xin R, *et al.* Studies on rapeseed germplasm enhancement by use of cruciferous weed *Descurainia sophia* [C]. Proc GCIRC 12th Int Rape-seed Congr, 2007:261-265.
- [7] 张丽君, 姜淑慧, 忻如颖, 等. 通过油菜与播娘蒿远缘杂交获得黄籽油菜种质 [J]. 中国油料作物学报, 2009, 31(4):434-439.
- [8] Takayama S, Isogai A. Self-incompatibility in plants [J]. Annual Review of Plant Biology, 2005(7), 56:467-489.
- [9] Hood L, Campbell J H, Elgin S C. The organization, expression and evolution of antibody genes and other multigene families [J]. Annual Review of Genetics, 1975, 9(1):305-353.
- [10] 何余堂, 马朝芝. PCR 步行法克隆油菜自交不亲和基因 [J]. 中国油料作物学报, 2004, 26(4):1-5.
- [11] 孙万仓, 范惠玲, 叶剑, 等. 白菜型油菜自交亲和性变异分析 [J]. 西北植物学报, 2006, 26(4):688-695.
- [12] Udagawa H, Ishimaru Y, Li F, *et al.* Genetic analysis of interspecific incompatibility in *Brassica rapa* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2010, 121(4):689-696.
- [13] Silva N F, Goring D R. Mechanisms of self-incompatibility in flowering plants [J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2001, 58(14):1988-2007.
- [14] Ortega E, Dicenta F. Inheritance of self-compatibility in almond; Breeding strategies to assure self-compatibility in the progeny [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 106(5):904-911.
- [15] Shiba H, Iwano M, Entani T, *et al.* The dominance of alleles controlling self-incompatibility in *Brassica pollen* is regulated at the RNA level [J]. The Plant Cell, 2002, 14(2):491-504.
- [16] 范惠玲, 孙万仓, 武军艳, 等. 白芥自交亲和性分析 [J]. 西北植物学报, 2007, 27(5):859-863.
- [17] Tochigi T, Udagawa H, Kitashiba H, *et al.* The self-compatibility mechanism in *Brassica napus* L. is applicable to F₁ hybrid breeding [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 123(3):475-482.
- [18] Goring D R, Banks P, Baszczynski C L, *et al.* Use of the polymerase chain reaction to isolate all S-locus glycoprotein cDNA introgressed from *B. campestris* into *B. napus* ssp. *oleifera* [J]. Mol Gen Genet, 1992, 234(2):185-192.
- [19] Ripley V L, Beversdorf W D. Development of self-incompatible *Brassica napus*; (I) Introgression of S-alleles from *Brassica oleracea* through interspecific hybridization [J]. Plant Breeding, 2003, 122(1):1-5.
- [20] 戚存扣, 高冠军, 张浩夫, 等. 白菜型油菜品种间和自交系间杂种优势效应分析 [J]. 江苏农业科学, 2000(3):30-32.
- [21] Yamane H, Ushijima K, Sassa H, *et al.* The use of the S haplotype-specific F-box protein gene, *SFB*, as a molecular marker for S-haplotypes and self-compatibility in Japanese apricot (*Prunus mume*) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 107(8):1357-1361.
- [22] 张桂玲, 王超, 温四民. 甘蓝自交不亲和性的快速测定 [J]. 东北农业大学学报, 2003, 34(2):142-147.
- [23] 赵天荣, 龚义勤, 柳李旺, 等. 萝卜自交不亲和特性的荧光快速鉴定 [J]. 南京农业大学学报, 2007, 30(4):30-34.
- [24] Nasrallah J B, Rundle S J, Nasrallah M E. Genetic evidence for the requirement of the *Brassica* S-locus receptor kinase gene in the self-incompatibility response [J]. The Plant Journal, 1994, 5(3):373-384.
- [25] Dicenta F, Garcia J E. Inheritance of self-compatibility in almond [J]. Heredity, 1993, 70(3):313-317.
- [26] Hiranata K, Nishio T. S allele specificity of stigma proteins in *Brassica oleracea* and *Brassica campestris* [J]. Heredity, 1978, 41(1):93-100.
- [27] Kakeda K, Tsukada H, Kowyama Y. A self-compatibility mutant S allele conferring adominant negative effect on the functional S allele in *Ipomoea trifida* [J]. Sex Plant Report, 2000, 13(3):119-125.
- [28] Yamada T. Introduction of a self-compatible gene of *Lolium temulentum* L. to perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) for the purpose of the production of inbred lines of perennial ryegrass [J]. Euphytica, 2001, 122(2):213-217.
- [29] Phumichai C, Ikeguchi-Samitsu Y, Fujimatsu M, *et al.* Expression of S-locus inhibitor gene (*Sli*) in various diploid potatoes [J]. Euphytica, 2006, 148(3):227-234.
- [30] Yang G S, Chen C B, Zhou G L, *et al.* Genetic analysis of four self-incompatible lines in *Brassica napus* [J]. Plant Breeding, 2001, 120(1):57-61.