

甘蓝型油菜 *Ogura* 雄性不育 × 白菜的回交杂种后代与亲本之间蕾期基因表达差异比较研究

崔辉梅^{1,3}, 曹家树¹, 张明龙², 姚祥坦¹, 向 珣¹

(1. 浙江大学蔬菜研究所, 杭州 310029; 2. 浙江大学核农业科学研究所, 杭州 310029;

3. 石河子大学园艺系, 石河子 832003)

摘要:以甘蓝型油菜 (*Brassica napus* L. AACC, $2n=38$) *Ogura* 细胞质雄性不育材料为母本, 以不同白菜 (*B. campestris* ssp. *chinensis* Makino, AA, $2n=20$) ‘新选 1 号’和‘矮脚黄’的自交系为父本进行杂交, 获得了杂种 F_1 、 BC_1 、 BC_2 代。利用 cDNA-AFLP 技术对两种材料的不同回交世代 BC_1 、 BC_2 代与其亲本在蕾期的基因表达进行分析。结果表明, 两种白菜回交世代与其亲本的基因表达有明显差异, 在质和量上都存在差异。基因表达模式有 5 类共 7 种: (1) 单亲沉默型 (2 种), (2) 单亲一致型 (2 种), (3) 双亲共沉默型, (4) 杂种特异型, (5) 表达一致型。随着回交世代的增加, 回交杂种和亲本的基因表达在单亲沉默型、双亲共沉默型呈增加趋势。而在母本一致型、父本一致型、杂交种特异型、表达一致型呈下降的趋势。两种白菜在 F_1 、 BC_1 、 BC_2 3 个世代与回交亲本花蕾间的基因差异表达有 15 种类型, 其中以在轮回亲本、 F_1 、 BC_1 、 BC_2 中共同出现表达的带的比例最高。

关键词: *Ogura* 雄性不育; 白菜; 蕾期; 基因表达; cDNA-AFLP; 远缘杂交; 回交

中图分类号: Q942

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2005)02-0255-07

Differences in Gene Expression at Bud Stage of Backcross Hybrid Between *Ogura*-type Male-Sterile *Brassica napus* L. and *B. campestris* L. versus Parents

CUI Hui-Mei^{1,3}, CAO Jia-Shu¹, ZHANG Ming-Long², YAO Xiang-Tan¹, XIANG Xun¹

(1. Institute of Vegetable Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. Institute of Nuclear Agricultural Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 3. Department of Horticulture, Shihezi University, Xiangjiang 832003, China)

Abstract: Crosses between female parent of *Ogura* male sterility *Brassica napus* L. and male parents of *B. campestris* ssp. *chinensis* Makino were made and F_1 , BC_1 and BC_2 generations produced. Gene expression of two Chinese cabbage backcross hybrid BC_1 , BC_2 and their parents at bud stage was analyzed by means of cDNA-AFLP technique. The results indicated that the patterns of gene expression differ significantly between BC_1 and BC_2 generations and their parents. There were many patterns of gene expression, including gene overexpression and gene silencing. Five patterns (seven kinds) of gene expression were observed, which include: (1) bands occurring only in one parent (two kinds); (2) bands observed in hybrids and one parent (two kinds); (3) bands occurring only in parents (one kind); (4) bands visualized only in hybrids (one kind); (5) bands observed both in parents and hybrids (one kind). In accompany with the addition of backcross, the increase trend in backcross hybrids and their parents were described in

收稿日期: 2004-02-17; 修回日期: 2004-04-12

基金项目: 浙江省重大科技项目 (编号: 021102536) [The Project was Supported by Fund of Science and Technology in Zhejiang Province (No. 021102536)]

作者简介: 崔辉梅 (1971—), 女, 河南辉县人, 副教授, 研究方向: 蔬菜种质资源与遗传育种。E-mail: cuihuimei101@sohu.com

通讯作者: 曹家树 (1958—), 男, 湖南芷江人, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 植物生长发育与分子调控。Tel: 0571-86971188; E-mail: jshcao@zju.edu.cn

the aspects of differential gene expression, bands expressed only in one parent and bands expressed only in both parents. The declined trend in backcross hybrids and their parents were observed in the aspects of bands expressed in both hybrids and one parent (two kinds), bands visualized only in hybrids and bands observed both in parents and hybrid. Fifteen patterns of gene expression were observed in F_1 , BC_1 , BC_2 and backcross parents. The percent of bands expressed in F_1 , BC_1 , BC_2 and backcross was highest.

Key words: *Ogura* male sterility; Chinese cabbage; bud stage; gene expressed; cDNA-AFLP; wide cross; backcross

白菜 (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* Makino, syn. *Brassica rapa* L.) 是典型的异花授粉作物, 杂种优势明显。胞质雄性不育系是目前国际上公认的应用最多和最具实用价值的制种系统之一, 因此, 白菜胞质雄性不育系选育成为目前国内外白菜育种的主攻方向之一。

在十字花科植物中发现的胞质雄性不育源中 *Ogura* CMS (cytoplasmic male sterility) 是迄今发现不育源中不育性最稳定的类型, 芸薹属的所有植物都是它的保持系。近年来, 国内外研究者在 *Ogura* 甘蓝型油菜、结球甘蓝、花椰菜等作物的黄化改良方面取得了一定进展^[1~3]。*Ogura* CMS 属于细胞质雄性不育, 虽然细胞质遗传独立于核基因组, 但细胞核和细胞质之间存在着不可分割的依存关系, 其间的相互作用对生物的生长和发育起着重要的作用。Cooper^[4]等发现玉米中一个核基因影响到线粒体 *cox2* 基因转录产物的大小和拷贝数。Escote-Carlson^[5]等则发现玉米 S 型细胞质雄性不育株的线粒体基因组组成受核基因型的影响, 这些都是核基因对细胞质基因产生影响的实例。

前人对杂交种与亲本差异基因表达的研究已有报道^[6~10], 但对不同回交世代与杂种与亲本间的基因表达差异研究目前尚未见报道。本研究采用甘蓝型油菜 (*B. napus* L., AACC 染色体组) *Ogura* 细胞质雄性不育源为母本, ‘新选 1 号’、‘矮脚黄’两个白菜 (*B. campestris* L. ssp. *chinensis* Makino var. *communis* Tsen et Lee, AA 染色体组) 自交系为父本进行杂交, 以获得雄性不育性, 然后杂种 F_1 再与白菜进行连续回交, 筛选应用于生产高产优质 F_1 杂种的雄性不育系亲本。通过研究转育过程中不同回交世代杂种花蕾与亲本间花蕾基因表达的差异, 了解不同世代形成的有关基因或基因群, 探讨在获得 *Ogura* 细胞质雄性不育白菜的不同回交世代中基因差异表达的比例和类型, 进而从分子水平上探索在回交转育过程中基因间的表达调控和相互作用, 旨

在加速不育系的选育进程。

1 材料和方法

1.1 材料

以浙江大学核农业科学研究所的张明龙先生转育而成的甘蓝型油菜 *Ogura* 雄性不育材料为母本, 父本材料为两个白菜自交系 ‘新选 1 号’ 和 ‘矮脚黄’。

2000 年春季开花时以甘蓝型油菜 *Ogura* 雄性不育为母本, 以不同的白菜自交系为父本进行人工杂交, 得到了种间杂种 F_1 , 同时父本自交系蕾期自交。2000 年秋, 将各 F_1 代和父本的白菜自交系一起种植于浙江大学蔬菜研究所试验田, 进行植株植物学性状观察。2001 年春, 用上述父本自交系与优良的 F_1 代单株回交, 得到回交一代 (BC_1)。2002 年春继续将各回交后代与轮回亲本进行回交, 得到回交 2 代 (BC_2)。2002 年秋, 将获得的 F_1 、 BC_1 、 BC_2 和回交亲本同时种植于试验田中, 田间管理按常规进行。2003 年的春季花期取亲本和不同回交世代的花蕾备用。

Trizol[®] 购自 Life Technologies 公司。Taq DNA 聚合酶购自上海 Promega 公司。cDNA 合成试剂盒 SMART[™] PCR cDNA Synthesis Kit 购自 Clontech 公司。EDTA、DEPC、Acrylamide、Bis-acrylamide、尿素、过硫酸铵、TEMED 等购自上海生工生物工程技术服务有限公司。cDNA-AFLP 所用接头和引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成, 其序列如下:

Taq I 接头: 5'-GACGATGAGTCCTGAC-3'; 5'-CGGTCAGGACTCAT-3';

Taq I 预扩增引物: 5'-GACGATGAGTCCTGAC-CGA-3';

Taq I 选择性扩增引物: 5'-GATGAGTC-CAGACCGANN-3' (N 代表 ATCG 中任意一种, $T_4 \sim T_{19}$ 共 16 条引物);

Ase I 接头: 5'-GCGTAGACTGCGTACC-3'; 5'-

TAGGTACGCAGTC-3';

Ase I 预扩增引物:5'-CTCGTAGACTGCGTAC-CTAAT-3';

Ase I 选择性扩增引物:5'-GACTGCGTACCTA-ATNN-3'(A₄~A₁₉共16条引物)。

1.2 总 RNA 的提取与 cDNA 的合成

分别取亲本和杂交种花蕾为材料,用 Trizol 抽提总 RNA,具体操作方法参照 Trizol[®] 产品手册。cDNA 第一链和第二链的合成参照 SMART[™] PCR cDNA Synthesis Kit User Manual 方法进行。

1.3 cDNA-AFLP 方法

参照 <http://www.dpw.wau.nl/pv/index.htm> 上的 cDNA-AFLP Protocol 进行。电泳采用 6% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳,1×TBE 电泳缓冲液,1700 V 电压电泳至二甲苯青距下部边沿 10 cm 处停止电泳。用硝酸银染色,制成干胶后统计结果。

1.4 统计分析

为减少假阳性对实验结果的干扰,本实验对每对引物组合均 PCR 扩增 2 次,仅统计稳定扩增的条带。根据同一 cDNA 片段在两个亲本和回交世代中出现与否分成 5 种类型,进一步统计不同差异表达类型在不同品种和回交世代中的数量。扩增条带存在时记录为 1,否则为 0。

2 结果与分析

2.1 F₁、BC₁、BC₂ 代的植物学性状分析

本实验中采用的甘蓝型油菜 *Ogura* CMS 是一个很好的不育系,它的不育率达 100%,不育系幼苗在低温下子叶及真叶均不缺绿,蜜腺正常。通过甘蓝型油菜 *Ogura* 雄性不育株与白菜杂交获得的 F₁、BC₁、BC₂ 在不育率 and 不育度均为 100%,且不同回交世代亦未出现不育株的分离现象,所有的植株幼苗在低温下子叶及真叶均不缺绿,蜜腺正常。通过田间的植物学性状观察,发现 F₁ 有明显的杂种优势现象,形态偏向于甘蓝型油菜,生长势强。BC₁ 代植株形态开始出现分离,主要分为偏向甘蓝型油菜型和偏向白菜型两种类型。到 BC₂ 大部分植株已表现出轮回亲本白菜的形态,个别单株表现出中间类型。

2.2 BC₁ 和 BC₂ 与其亲本的基因表达比较

本实验选用了 256 对引物对获得的 BC₁ 和 BC₂ 与其相应的亲本花蕾进行了 cDNA-AFLP 分析。结果表明在各回交世代和双亲花蕾期的基因表达表现

出一定的差异。不仅有量的差异,同时也有质的差异。不同引物组合扩增结果不同,基因表达有许多类型,但一对引物组合不能扩增出所有类型(图 1-I),主要有以下 5 类。

(1)单亲沉默型(图 1-II A, B):条带仅出现在亲本之一,而在另一亲本和杂种中都没有出现,包括 t100 和 t001 两种,其中 t 后 3 个数字分别代表母本、回交杂种和父本,1 表示有带,0 表示无带,以下同。

(2)单亲一致型(图 1-II C, D):即在一个亲本及杂种中共同出现,而另一亲本不出现该带,两种类型为母本一致型(t110)和与父本一致型(t011)。

(3)双亲共沉默型(图 1-II E):即该带在双亲中共同出现,而在杂种中不出现为 t101。

(4)表达一致型(图 1-II F):即该带在双亲和杂种中共同出现为 t111。

(5)杂交种特异型(图 1-II G):即该带仅在杂种中出现,而在其两个亲本中不出现为 t010。

从 256 对引物组合可知,在花蕾期,虽然是来源于同一个 *Ogura* 不育源的细胞质,但由于不同核背景,使不同白菜的 BC₁ 和 BC₂ 代与其亲本之间基因差异表达的数目和比例有所不同(表 1)。如同为 BC₁ 代,‘矮脚黄’BC₁ 代中单亲沉默型(t001)、母本一致(t110)、双亲沉默(t101)表达的基因数目多于新选一号 BC₁ 代;在‘矮脚黄’BC₂ 代中单亲沉默(t100)、(t001)、母本一致(t110)、杂种特异型(t010)中表达的基因数均多于‘新选 1 号’BC₂。

比较 5 种基因表达模式及其比例,结果(表 1)发现在‘矮脚黄’BC₁ 代和‘新选 1 号’BC₁ 中表达一致型(t111)的比例分别为 39.66% 和 43.22%,差异表达类型的比例分别达 60.34% 和 56.78%。回交杂种和亲本之间存在着明显的基因表达差异。到了‘矮脚黄’BC₂ 和新选一号的 BC₂ 代中基因差异表达类型比例分别为 67.94% 和 62.23%。这些表明随着回交世代的增加,回交杂种和亲本在基因的差异表达、单亲沉默(t100)、双亲共沉默(t101)呈增加的趋势。而在母本一致型(t110)、父本一致型(t011)、杂交种特异型(t010)、表达一致型(t111)呈下降的趋势。两者回交后代惟一不同的地方是在单亲沉默型(t001)中‘矮脚黄’回交杂种随着回交世代的增加,呈上升的趋势,而‘新选 1 号’回交杂种呈下降的趋势。虽然不同材料在基因表达比例中上升或下降的幅度不同,但在同一 *Ogura* 细胞质雄性不育

的转育中两种不同核背景白菜基因表达的变化趋势是一致的,说明 *Ogura* 的遗传机制比较稳定,受核

的影响不是很大,同样也可以看出不同核之间,各种基因变化的快慢有一种数量上的差异。

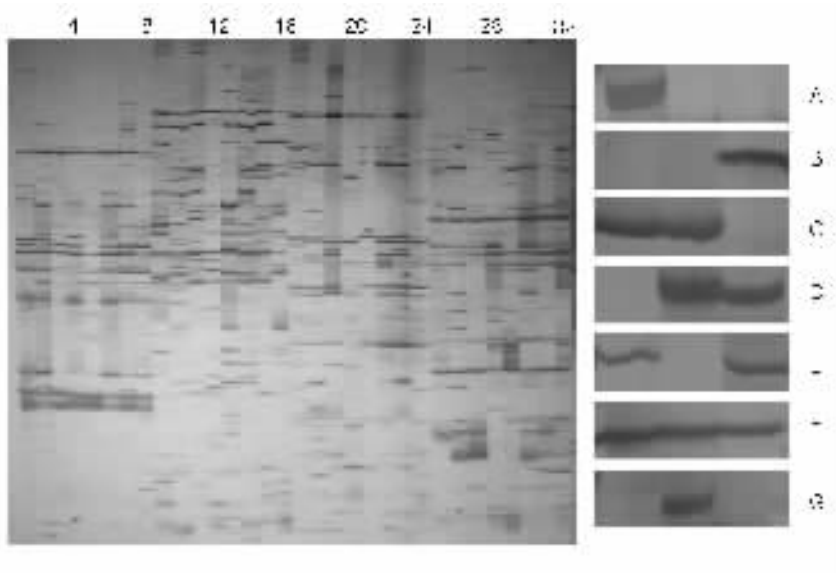


图 1 白菜 *Ogura* 雄性不育系转育过程中的蕾期 2 个白菜亲本和其不同回交后代的 cDNA-AFLP (I)和回交杂种 BC₁ 和 BC₂ 与其亲本间基因表达类型 (II)

I. 泳道 1~8 示‘矮脚黄’、‘矮脚黄’F₁、‘矮脚黄’BC₁、‘矮脚黄’BC₂、‘新选 1 号’、‘新选 1 号’F₁、‘新选 1 号’BC₁、‘新选 1 号’BC₂、引物为 A₆T₁₆；9~16 顺序同上,引物为 A₆T₁₇,17~24 顺序同上,引物为 A₆T₁₈,25~32 顺序同上,引物为 A₆T₁₉。 II : A: 单亲沉默型(t100)；B: 单亲沉默型(t001)；C: 单亲一致型(t110)；D: 单亲一致型(t011)；E: 双亲沉默型(t101)；F: 表达一致型(t111)；G: 杂交种特异型(t010)。

Fig.1 cDNA-AFLP results of two Chinese cabbage parents and their backcross generation in bud stage(I) and the patterns of gene expression between hybrids and their parents

I: 1~8: ‘Aijiaohuang’, ‘Aijiaohuang’ F₁, ‘Aijiaohuang’ BC₁, ‘Aijiaohuang’ BC₂, ‘Xinxuanyihao’, ‘Xinxuanyihao’ F₁, ‘Xinxuanyihao’ BC₁, ‘Xinxuanyihao’ BC₂, Primes are A₆T₁₆; 9~16, 17~24, 25~32; indicate same materials, primers are A₆T₁₇, A₆T₁₈, A₆T₁₉, respectively. II : A. bands occurring in only female parent (t100); B. bands occurring in only male parent (t001); C. Bands observed in hybrids and female parent (t110); D Bands observed in hybrids and male parent (t011); E. bands occurring in only parents (t101); F: bands observed in parents and both hybrids(t111); G: bands visualized in only hybrids(t010) .

表 1 白菜 *Ogura* BC₁、BC₂ 及其亲本花蕾的基因表达模式及其比例

Table 1 Percentage of differential gene expression patterns observed in Chinese cabbage (*B. campestris* L. ssp. *chinensis* Makino) BC₁, BC₂ hybrids and their parents during bud stage

基因表 达类型*	‘矮脚黄’ BC ₁ 条带 数	‘矮脚黄’ BC ₁ 条带 百分比	‘矮脚黄’ BC ₂ 条带 数	‘矮脚黄’ BC ₂ 条带 百分比	‘矮脚黄’ 到 BC ₂ 代条 带变化趋势	‘新选 1 号’ BC ₁ 条带 数	‘新选 1 号’ BC ₁ 条带 百分比	‘新选 1 号’ BC ₂ 条带 数	‘新选 1 号’ BC ₂ 条带 百分比	‘新选 1 号’ BC ₂ 到 BC ₁ 代变化趋势
Gene expression patterns	‘Aijiao huang’ BC ₁ total bands	Percentage of ‘Aijiao huang’ BC ₁ bands (%)	‘Aijiao huang’ BC ₂ total bands	Percentage of ‘Aijiao huang’ BC ₂ bands (%)	‘Aijiao huang’ BC ₂ bands	‘Xinxuan yihao’ BC ₁ total bands	Percentage of ‘Xinxuan yihao’ BC ₁ bands (%)	‘Xinxuan yihao’ BC ₂ total bands	Percentage of ‘Xinxuan yihao’ BC ₂ bands (%)	Trend of ‘Xinxuan yihao’ BC ₂ bands
t100	1151	8.45	1806	13.34	升 rise	1297	9.44	1788	13.29	升 rise
t001	1287	9.45	1433	10.59	升 rise	1170	8.51	1042	7.75	降 fall
t110	2185	16.05	1520	11.23	降 fall	1314	9.56	1153	8.57	降 fall
t011	1161	8.53	1144	8.45	降 fall	1401	10.20	1122	8.34	降 fall
t101	1290	9.47	2222	16.41	升 rise	994	7.23	2260	16.80	升 rise
t010	1141	8.38	1072	7.92	降 fall	1627	11.84	1008	7.49	降 fall
t111	5400	39.66	4339	32.06	降 fall	5940	43.22	5081	37.77	降 fall

* : t 后的 3 个数字分别代表母本、杂交种和父本,1 表示有带,0 表示无带。

* : Differential gene expression patterns, three numbers represent female parent, hybrid and male parent, respectively, 1 bands observed; O: bands not observed.

2.3 F₁、BC₁ 和 BC₂ 与轮回亲本间基因差异表达比较

通过甘蓝型油菜 *Ogura* 雄性不育株与白菜杂交获得的 F₁、BC₁ 和 BC₂ 在不育率和不育度均为 100%，随着世代数的增加，回交后代植物学性状逐渐趋于轮回亲本白菜的性状，同时在不同回交世代亦未出现不育株的分离现象。为了解回交过程的各回交世代外在形态变化与分子水平上基因差异表达的内在联系，我们对轮回亲本、F₁、BC₁ 和 BC₂ 的花蕾间基因差异表达进行纵向比较，发现基因表达有许多类型，主要有以下 15 类(表 2)。

表 2 白菜 *Ogura* 雄性不育系转育过程中 F₁、BC₁、BC₂ 和轮回亲本花蕾的基因表达模式及其比例

Table 2 Patterns and percentage of differential gene expression patterns observed in two Chinese cabbage (*B. campestris* L. ssp. *chinensis* Makino) F₁, BC₁, BC₂ hybrids and their backcross parents during at bud stage

基因表达类型* Gene expression patterns	‘矮脚黄’和回交后代的扩增带数 ‘Aijiao huang’ and backcross generation total bands	‘矮脚黄’和回交后代扩增带百分比 Percentage of ‘Aijiao huang’ and backcross generation bands (%)	‘新选 1 号’和回交后代扩增带数 ‘Xinxuan yihao’ and backcross generation total bands	‘新选 1 号’和回交后代扩增带百分比 Percentage of ‘Xinxuan yihao’ and backcross generation bands (%)
	T1111	3833	27	4197
T1100	723	5.09	480	3.37
T1010	655	4.61	517	3.63
T1001	577	4.06	608	4.27
T1110	1567	11.00	1743	12.3
T1101	567	3.99	514	3.61
T1011	506	3.56	884	6.21
T1000	710	5.00	562	3.95
T0100	672	4.73	772	5.43
T0010	626	4.41	749	5.27
T0001	593	4.17	483	3.40
T0110	1180	8.31	1039	7.30
T0101	479	3.37	525	3.69
T0011	515	3.62	878	6.17
T0111	1005	7.07	275	1.93

*: T 后的 4 个数字分别代表轮回亲本、F₁、BC₁、BC₂, 1 表示有带, 0 表示无带。

*: Differential gene expression patterns. The numbers after letter represent backcross parent, F₁, BC₁ and BC₂, respectively, 1: bands observed; 0: bands not observed.

(1) 轮回亲本、F₁、BC₁ 和 BC₂ 共同出现的带 (T1111, 其中 T 后 4 个数字分别代表轮回亲本、F₁、BC₁、BC₂, 1 表示有带, 0 表示无带, 以下同)。

(2) 轮回亲本与 F₁ 共同出现的带, 在 BC₁ 和 BC₂ 中没有出现 (T1100)。

(3) 轮回亲本与 BC₁ 共同出现的带, 在 F₁ 和 BC₂ 中没有出现 (T1010)。

(4) 轮回亲本与 BC₂ 共同出现的带, 在 F₁ 和 BC₁ 中没有出现 (T1001)。

(5) 轮回亲本、F₁、BC₁ 共同出现的带, BC₂ 中没有出现 (T1110)。

(6) 轮回亲本、F₁、BC₂ 共同出现的带, BC₁ 中没有出现 (T1101)。

(7) 轮回亲本、BC₁、BC₂ 共同出现的带, F₁ 中没有出现 (T1011)。

(8) 轮回亲本所特有的, 在 F₁、BC₁、BC₂ 中没有出现 (T1000)。

(9) F₁ 中特有的, 在轮回亲本、BC₁、BC₂ 中没有出现 (T0100)。

(10) BC₁ 中特有的, 在轮回亲本、F₁、BC₂ 中没有出现 (T0010)。

(11) BC₂ 中特有的, 在轮回亲本、F₁、BC₁ 中没有出现 (T0001)。

(12) F₁、BC₁ 中特有的, 在轮回亲本、BC₂ 中没有出现 (T0110)。

(13) F₁、BC₂ 中特有的, 在轮回亲本、BC₁ 中没有出现 (T0101)。

(14) BC₁、BC₂ 中特有的, 在轮回亲本、F₁ 中没有出现 (T0011)。

(15) F₁、BC₁、BC₂ 中特有的, 在轮回亲本中没有出现 (T0111)。

结果表明, 在这么多的基因差异表达类型中, 两种白菜都表现出 T1111 型的比例最高, 其次是 T1110 型和 T0110 型。随着回交代数的增加, 回交亲本对回交后代的性状影响是很大的, 使回交后代的性状逐渐趋于轮回亲本, 两者之间的共性越来越多, 各回交后代与亲本之间的共有的带在所有的带型中占有绝对优势。T1110 型比例比较多, 说明与轮回亲本共同出现的带在 F₁ 和 BC₁ 中得到了表达, 但在 BC₂ 中却得到抑制或丢失而未表达, 这种条带在‘矮脚黄’和‘新选 1 号’两种白菜回交后代中都表现出这种规律, 说明基因差异表达和基因间相互作用

用比较复杂。F₁ 和 BC₁ 在形态上有着更多偏向甘蓝型油菜的一些性状,使得 T0110 型比例较多,而 T0011 型的比例较少。

3 讨论

雄性不育在高等植物中是一种普遍的遗传现象。它的自发产生是由于细胞核基因或细胞质基因或它们两者的突变。雄性不育性作为一个性状而言,它的实现是极其复杂的,涉及育性基因在一定时、空上的表达以及体内、体外因子对这种表达的影响和调控等因素。核质育性基因在其表达过程中也必然会引起各种水平上的广泛的变异,对核质各种基因表达过程中各种水平上的变异谱的观察,研究和分析是深入认识和理解雄性不育机制的必不可少的工作。植物雄性不育是花粉发育过程中基因表达调控的结果,利用分子生物学与遗传学相结合,研究不育、可育花药在花蕾期基因表达特征,明确基因间的关系及相互作用,进而分离和克隆与雄性不育有关基因,研究基因的结构与功能,阐明雄性不育的发生机理具有重要的意义。

cDNA-AFLP 技术是以 AFLP 为基础发展的一种新的 RNA 指纹技术。Bachem^[11] 等人首先用该方法成功鉴定一些在马铃薯块茎发育中特异表达的基因。本研究利用 cDNA-AFLP 研究 *Ogura* 胞质雄性不育转育过程中不同回交世代与双亲的基因表达,结果表明在回交后代与亲本间同时存在着多种模式,可得共 5 大类共 7 种基因表达类型,不仅有双亲、单亲增强或减弱,表现量的差异,而且有单亲沉默、双亲沉默表现质的差异。在花蕾发育过程必然与特定基因的差异表达有关,表明在不同回交过程中基因相互作用的复杂性,即有些基因间抑制,有些基因间促进,不同回交组合其双亲来源不同、亲缘关系不同、基因间的抑制和促进的水平也就不同,使得两份材料在各回交世代中各种基因变化的快慢有一种数量上的差异。因此进一步的研究工作是针对多份材料、多个时期、多个器官基因的表达模式进行分析,系统的研究回交杂交种与亲本间的杂种特异表达及抑制的基因是如何被激活或被抑制以及如何调控其他基因或被调控,从而为回交育种提供分子水平指导依据。

在不同回交世代中均有基因沉默现象,例如随着回交世代的增加,父本一致型(t011)类型呈下降

趋势,还有在轮回亲本、F₁ 和 BC₁ 共同出现的带,但在 BC₂ 中却得到抑制,未表达。如 T1110 的类型按照以往的遗传学理论随着回交代数的增加,其后代应越来越趋于轮回亲本,这样推论下去, T1001 > T1010 > T1100,但这种结论在‘新选 1 号’和各回交世代中得印证,但在‘矮脚黄’及回交后代中并未表现出这种规律,却恰恰相反。以前对转基因植物的研究发现基因间存在抑制现象^[12],其主要原因是多拷贝的基因连在一起,发生甲基化而失活,或者是外源基因与内源基因相互作用产生共抑制,或者是 RNA-RNA 作用造成 mRNA 降解而失活,产生同源基因共抑制的原因还不清楚,它可能与植物细胞中动态的调控和网络作用相关^[13]。基因间的抑制如何影响育性转育值得进一步探讨。

参考文献(References):

- [1] Pelletier G, Primard C, Vedel F, Chetrit P, Remy R, Rousselle P, Renard M. Intergeneric cytoplasmic hybridization in Cruciferae by protoplast fusion. *Mol Gen Genet*, 1983, 191: 244 ~ 250.
- [2] ZHU Yu-Ying, YAO Wen-Yue, ZHANG Su-Qin, LING Chao, SHEN Feng-Ying, GONG Jing, WU Xiao-Guang, JIN Hai-Jun. Breeding and utilization of male sterile lines with *Ogura* cytoplasm in cabbage. *Acta Agriculturae Shanghai*, 1998, 14(2): 19 ~ 24.
朱玉英,姚文岳,张素琴,凌超,沈凤英,龚静,吴晓光,金海军. *Ogura* 胞质甘蓝雄性不育系及其利用. *上海农业学报*, 1998, 14(2): 19 ~ 24.
- [3] HE Cheng-Kun, GUO Su-Zhi, ZHANG Zhi-Chai, LI Wei-Ming, QI Jian-Ming. Preliminary studies on the alloplasmic male sterile materials in cauliflower. *Acta Horticulturae Sinica*, 1999, 26(2): 125 ~ 127.
何承坤,郭素枝,张智钊,李维明,祁建明. 花椰菜异源胞质雄性不育材料的初步研究. *园艺学报*, 1999, 26(2): 125 ~ 127.
- [4] Cooper P, Newton K J. Identification of a maize nuclear gene which influences the size and number of cox2 transcripts in mitochondrial of Ferennial Teosintes. *Genetics*, 1990, 126(2): 461 ~ 467.
- [5] Esxote-Carlson L J, Gabay-Langhnan S, Laughnan J R. Nuclear genotype affects mitochondrial genome organization of CMS-S maize. *Mol Gen Genet*, 1990, 223(3): 457 ~ 464.
- [6] WU Min-Sheng, DAI Jing-Rui. Use of AFLP marker to predict the hybrid yield and yield heterosis in maize. *Acta Botanica Sinica*, 2000, 42(6): 600 ~ 604.
吴敏生,戴景瑞. AFLP 标记与玉米杂种产量、产量杂种优势的

- 预测. 植物学报, 2000, 42 (6): 600~604.
- [7] NI Zhong-Fu, SUN Qi-Xin, WU Li-Min. Differential gene expression between wheat hybrids and their parental inbreds in seedling leaves of early and vigorous tillering stages. *Journal of China Agricultural University*, 2000, 5 (1): 1~8.
倪中福, 孙其信, 吴利民. 普通小麦不同优势杂交种及其亲本之间基因表达差异比较研究. 中国农业大学学报, 2000, 5 (1): 1~8.
- [8] WU Min-Sheng, GAO Zhi-Huan, DAI Jing-Rui. Studies on differential gene expression of maize (*Zea mays* L.) by means of cDNA-AFLP technique. *Acta Agronomica Sinica*, 2001, 27(3): 339~342.
吴敏生, 高志环, 戴景瑞. 利用 cDNA-AFLP 技术研究玉米基因的差异表达. 作物学报, 2001, 27(3): 339~342.
- [9] TIAN Zeng-Yuan, DAI Jing-Rui. Relationship between differential gene expression patterns in functional leaves of maize inbreds & hybrids at spikelet differentiation stage and heterosis. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30 (2): 154~162.
田曾元, 戴景瑞. 玉米杂种与亲本穗分化期功能叶基因差异表达与杂种优势. 遗传学报, 2003, 30 (2): 154~162.
- [10] XIE Xiao-Dong, NI ZHONG-Fu, MENG Fan-rong, WU Li-Min, WANG Zhang-Kui, SUN Qi-Xin. Relationship between differences of gene expression in early developing seeds of hybrid versus parents and heterosis in wheat. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30 (3): 260~266.
谢晓东, 倪中福, 孟凡荣, 吴利民, 王章奎, 孙其信. 小麦杂交种与亲本发育早期种子的基因表达差异及其杂种优势关系的初步研究. 遗传学报, 2003, 30 (3): 260~266.
- [11] Bachem C W B, Hoeven R S van de, Bruijn S M de. Visualization of differential gene expression using a novel method of RNA fingerprinting based on AFLP: analysis of gene expression during potato tuber development. *The Plant Journal*, 1996, 9(5): 745~753.
- [12] HUA Zhi-Hua, HUANG Da-Nian. Genetic mode of exogenes in transgenic plants. *Acta Botanica Sinica*, 1999, 41(1): 1~5.
华志华, 黄大年. 转基因植物中外源基因的遗传学行为. 植物学报, 1999, 41(1): 1~5.
- [13] Jorgensen R, Cosuppression. Flower color patterns and metastable gene expression states. *Science*, 1995, 268: 686~691.

植物细胞与染色体工程国家重点实验室召开学术会议

中国科学院遗传发育所植物细胞与染色体工程国家重点实验室第三届学术委员会第三次会议于 2005 年 3 月 18—19 日在北京召开。会议由实验室学术委员会主任李振声院士和实验室主任王道文研究员组织。郝水院士、李家洋院士、胡含研究员等 13 位学术委员会委员出席了年会。参加会议的还有本室的学术带头人、学术骨干、部分博士后研究人员、研究生和特邀室外代表共 60 余人。

实验室主任王道文作了工作报告。2004 年, 实验室共有在研的“973”、“863”、国家转基因植物研究与产业化研究专项、国家自然科学基金项目、中国科学院知识创新工程重要方向项目等在研科研项目 26 项。在主要研究领域, 如植物营养遗传学、小麦品质性状的遗传基础及相关基因的克隆及功能研究、分子育种等方面取得了显著进展。取得了一批新的研究成果, 在 *Plant Physiology*、*JBC* 等著名杂志上发表了一批高水平的学术论文, 审定了 2 个小麦新品种。另外, 本实验室在 2004 年还开展了植物光合作用、抗旱、分子组装育种等新的研究领域, 并取得了可喜进展。在队伍建设和人才培养方面, 2004 年引进百人计划 1 名; 本实验室共有在站博士后 5 名, 出站 1 名; 在读博士 62 名, 毕业 7 名; 在读硕士研究生 4 名, 毕业 1 名。

本次会议共安排 24 个学术报告, 分为“小麦光合作用与籽粒加工品质研究”、“植物养分高效利用的遗传学与分子机制”、“植物激素分子生物学”、“小麦抗逆、抗病遗传学与分子机制”、“小麦细胞与染色体工程”和“小麦分子育种”等 6 个主题。委员们仔细听取了上述报告, 就有关问题进行了充分研讨, 并提出进一步深入研究的意见和建议。

学术报告会后, 王道文主任向学术委员会汇报了实验室的未来发展构想, 大家就实验室的工作现状和未来发展进行了充分讨论。学术委员们对 2004 年实验室的研究进展给予充分肯定, 对实验室的发展设想表示认可。同时提出了许多中肯的意见和建议。