

# 甘蓝型油菜-埃塞俄比亚芥二体 附加系植株形态及细胞学鉴定\*

戚存扣 浦惠明 傅寿仲

(江苏省农业科学院经济作物研究所, 江苏南京, 210014)

仲裕泉

(江苏省农业科学院遗传生理研究所, 江苏南京, 210014)

**提 要** 从甘蓝型油菜品种“3-63-4-5-1”与埃塞俄比亚芥品种“Dodolla”杂种 F<sub>1</sub> 植株开放受粉获得的 F<sub>2</sub> 群体中筛选出一株半不育、矮秆、甘蓝型油菜类型植株, 经连续 4 个世代自交、分离鉴定出一个二体附加系“92I1096”。细胞学观察结果, 其根尖细胞染色体数  $2n=40$ , 比其母本甘蓝型油菜 ( $2n=38$ ) 多两条额外染色体。花粉母细胞 (PMCs) 减数分裂中期 (MI) 染色体构型平均为  $0.47I+19.77II$ , 未发现多价体存在。减数分裂末期, 往往出现两个落后染色体, 最终产生染色体数为  $20+20$  的二分体。该二体附加系可能为在甘蓝型油菜整组染色体的基础上添加了二条埃塞俄比亚芥外源染色体, 这两个外源染色体可能来自埃塞俄比亚芥的 B 染色体组。二体附加系“92I1096”的植株形态为甘蓝型油菜类型, 花粉育性平均为 92.55%。但结实性欠佳。二体附加系“92I1096”植株较矮, 平均株高为 100.2 cm, 极易从形态上加以识别。文中还讨论了矮秆基因作为该二体附加系的标记性状的可能性。

**关键词** 甘蓝型油菜; 埃塞俄比亚芥; 二体附加系

将一个种的单一染色体附加到另一个种的染色体组中, 构建某一特定染色体组的成套染色体附加系, 用以研究各个联会群基因行为, 进行基因制图, 同时有目的地进行种间性状转移, 已在麦类作物及其它一些二倍体作物中获得成功<sup>[1,17]</sup>。在芸苔属 (*Brassica*) 作物中, 也有人开展了利用染色体附加系研究、比较种间染色体组的结构, 分析相关种染色体组间的关系<sup>[5,8,11,16]</sup>, 利用外源染色体的转移向栽培作物导入目的基因培育理想农艺性状新类型已有不少成功的例子<sup>[10,12]</sup>。到目前为止, 已经获得的染色体附加系主要有: 带白花性状的甘蓝型油菜-萝卜单体附加系<sup>[13]</sup>, 携雄性不育基因的甘蓝型油菜-墙生二行芥单体附加系<sup>[4]</sup>, 以及携有高芥酸含量, 白花和亮氨酸多肽酶 (LAP) 基因的白菜型油菜-甘蓝单体附加系<sup>[3]</sup>。许多研究者还试图将外源染色体组的单个染色体分别附加到一个共同染色体组中, 以建成某一染色体组的全套染色体附加系<sup>[6,7,11,15,16]</sup>。甘蓝型油菜-黑芥二体附加系<sup>[6]</sup>, 和甘蓝型油菜-B 组染色体单体、二体附加系<sup>[15]</sup>以及白菜型油菜-C 组染色体附加系<sup>[7,10]</sup>的获得表明, 在芸苔属作物中培育成套外源染色体附加系是可能的。有人已成功地将 C 染色体组 9 条染色体中的 7 条分别附加到白菜型油菜染色体组 (AA) 中, 获得了 25 个白菜型油菜-C 组染色体附加系, 其中一个可从形态上鉴别出来<sup>[7]</sup>。

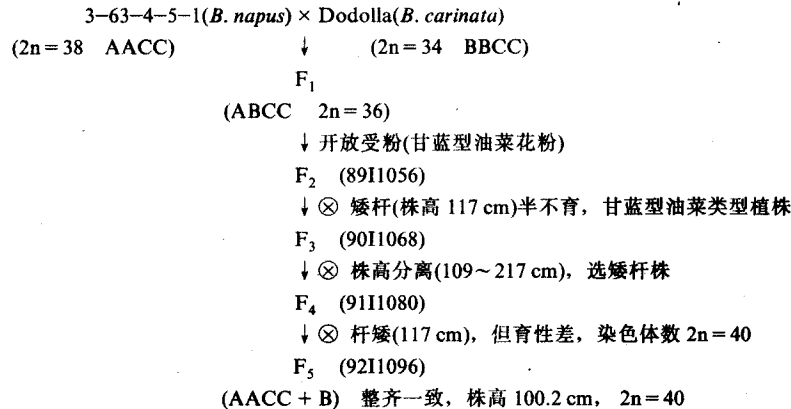
\* 国家自然科学基金资助项目

收稿日期: 1993-08-11, 终审完毕日期: 1994-08-20

本文主要报道甘蓝型油菜-埃塞俄比亚芥染色体二体附加系的选育、鉴定及主要农艺性状分析结果。

## 1 材料与方法

### 1.1 甘蓝型油菜-埃塞俄比亚芥二体附加系选育程序(图 1):



**1.2 根尖细胞染色体数观察:** 根尖(长约 0.5—1.0 cm)先用 0.29% 的 8-羟基喹啉液处理 3 小时, 然后移入纯乙醇-氯仿-冰醋酸(30:6:1)的固定液固定 48 小时左右, 转入乙醇-冰醋酸(3:1)固定液中。然后用 1N 的盐酸溶液处理(60℃)5—8 分钟, 铁矾-苏木精染色, 45% 醋酸压片镜检。

**1.3 花粉母细胞(PMCs)减数分裂行为观察:** 幼蕾经预处理(0.29% 的 8-羟基喹啉液中 3 小时左右), 然后转入乙醇、氯仿、冰醋酸(30:6:1)固定液中固定, 24 小时后转入 70% 的乙醇液中, 醋酸洋红压片镜检。

**1.4 花粉育性观察:** 用 I-IK 法染色, 凡染色差、发育不完全的花粉粒视为不育花粉。每株检查花粉粒数不少于 400 个。花粉育性(%) = 可育花粉数 ÷ 检查花粉总数 × 100。

## 2 结果与分析

### 2.1 二体附加系的选育

因甘蓝型油菜 (*B.napus* L., AACC,  $2n=38$ ) 与埃塞俄比亚芥 (*B.carinata* Br., BBCC,  $2n=34$ ) 的种间杂种  $F_1$  四染色体组杂种植株严重不育, 用甘蓝型油菜回交也只能获少量种子。但在甘蓝型油菜包围条件下使  $F_1$  杂种植株开放受粉, 获大量  $F_2$  种子。由此衍生的  $F_2$  大群体中(485 株)分离出一株矮秆、半不育甘蓝型油菜类型植株, 其株高为 117 cm。虽然以后各代未能进行详细的细胞学跟踪观察研究, 但加强了矮秆性状的选择。经连续 4 个世代分离筛选后鉴定出染色体二体附加系“92I1096”(图 1)。显然, 矮秆是该二体附加系的标记性状, 矮秆性状的选择使附加染色体没有随世代的衍生而被排斥丢失。

### 2.2 二体附加系的细胞学及花粉育性

#### 2.2.1 根尖细胞染色体数

根尖细胞染色体数观察结果, 二体附加系 92I1096 的体细胞染色体数  $2n=40$ (图 2), 比

母本甘蓝型油菜( $2n=38$ )多两条额外染色体。

2.2.2 花粉母细胞(PMCs)减数分裂行为及花粉育性: 花粉母细胞减数分裂中期(MI)染色体配对行为观察结果, 92I1096的40条染色体在MI配对成20个二价体(图3a), 对40个MI的花粉母细胞统计结果, 平均染色体构型为 $0.47\text{I}+19.77\text{II}$ , 未发现多价体的存在。40条染色体的完全配对, 表明该二体附加系是由基础染色体组为AACC( $n=19$ , 减数分裂MI形成 $19\text{II}$ ), 并附加了另外两条外源染色体组成的。在减数分裂后期I, 这两个附加染色体表现为落后染色体(图3b), 但末期I产生了染色体数相等( $20+20$ )的二分体(图3c)。由于在MI未发现多价体存在, 因而有理由认为这两个

附加染色体无论与A组染色体, 还是与C组染色体间均不存在同源或部份同源关系。同时这两条附加染色体落后, 标明了它们与基础染色体组的染色体分裂不同步。因此可以推测其为埃塞俄比亚芥BBCC染色体组中的B组染色体。可见, 二体附加系92I1096的染色体组组成为AACC+II B。二体附加系92I1096花粉粒发育正常(图3d), 平均育性为92.55%(表1), 与双亲的花粉育性相近。这表明两个附加染色体对92I1096的花粉育性不产生任何负向影响。

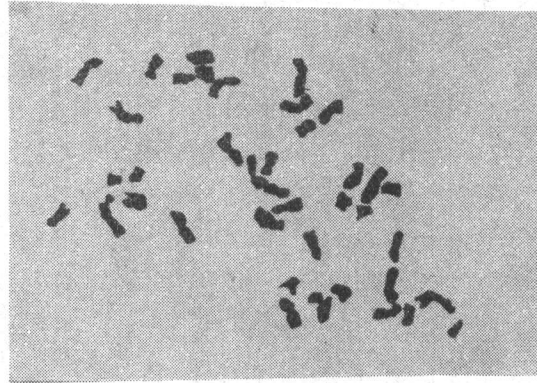


图2 二体附加系“92I1096”根尖细胞染色体数  $2n=40$   
Fig.2 Chromosome number in somatic cells of disomic addition line—92I1096,  $2n=40$

表1 二体附加系“92I1096”主要农艺性状

Table 1 Performance of agronomic traits of the disomic addition line

品种(系) Variety	株高 Plant height (cm)	分枝点高 Height of branching point (cm)	分枝数		单株角数 Pods per plant	粒/角 Seeds per pod	千粒重 Wt.of 1000 seeds (g)	花粉育性 Pollen fertility (%)
			一次 No.of primary branches	二次 No. of secondary branches				
92I1096	100.2 <sup>A</sup>	29.0 <sup>A</sup>	10.0 <sup>a</sup>	2.8 <sup>a</sup>	287.2 <sup>a</sup>	14.20 <sup>a</sup>	3.38 <sup>a</sup>	92.55 <sup>a</sup>
3-3-4-5-1	174.6 <sup>B</sup>	51.0 <sup>B</sup>	7.6 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	279.2 <sup>a</sup>	21.60 <sup>B</sup>	3.94 <sup>b</sup>	95.12 <sup>a</sup>
Dodolla	176.5 <sup>B</sup>	20.5 <sup>A</sup>	18.0 <sup>B</sup>	34.0 <sup>B</sup>	391.9 <sup>b</sup>	13.17 <sup>a</sup>	3.67 <sup>a</sup>	93.38 <sup>a</sup>

注: 小写字母为5%显著, 大写字母为1%显著。

Note: Different letters indicate significance at 1% level (capital letter) and at 5% level (small letter)

### 3 农艺性状

二体附加系92I1096苗期生长迟缓, 植株较矮, 盛花期株高仅75 cm左右。植株为甘蓝型油菜类型, 虽然花形较小, 但雌、雄蕊发育正常, 植株育性较好。成熟期考种结果(表1), 平均植株高度为100.2 cm(图4), 比亲本甘蓝型油菜植株矮74.4 cm( $P \leq 0.01$ ), 比埃塞俄比亚芥亲本矮76.3 cm( $P \leq 0.01$ )。分枝点高度为29.0 cm, 单株角果数287.2个, 略多于甘蓝

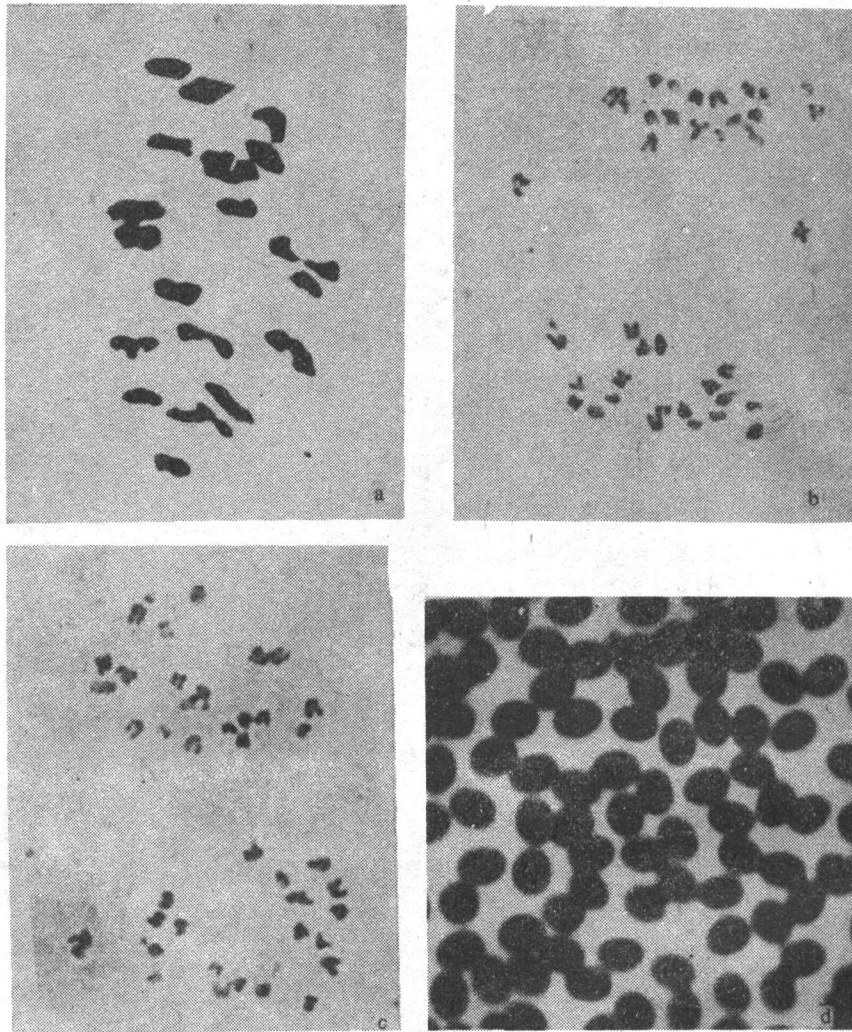


图3 二体附加系“92I1096”PMCs减数分裂染色体配对行为

a) MI, 20对二价体 b) 两个落后染色体 c) 减数分裂后期I, 二分体(20+20) d) “92I1096”花粉粒。

Fig. 3 Meiotic chromosome pairing behaviour in PMCs of disomic addition line “92I1096”.

a) Showing 20 II at MI. b) Showing two lagging chromosomes at AI. c) Dyad with equal chromosome number of 20+20 formed at AI. d) Showing normal pollen grains produced from 92I1096

型油菜亲本, 但每角粒数只 14.2 粒, 比甘蓝型油菜亲本少 8.4 粒( $P \leq 0.05$ )。千粒重为 3.38 g 左右。每角粒数少的原因可能与附加染色体的影响有关。因为埃塞俄比亚芥品种 *dodolla* 每角粒数只 13.17 粒。

#### 4 讨论

从甘蓝型油菜与埃塞俄比亚芥种间杂种(AACC×BBCC) $F_1$  植株开放受粉衍生的  $F_2$  群体经连续自交, 定向筛选获得甘蓝型油菜-埃塞俄比亚芥染色体二体附加系 92I1096。由于

杂种植株表现严重不育, 自交不能产生种子。因此, 通过采取种植杂种植株在甘蓝型油菜亲本群体之中使其开放受粉的方法获得了大量种子。可见, 实际上该二体附加系是选自(甘蓝型油菜×埃塞俄比亚芥) $F_1$ ×甘蓝型油菜组合, 其染色体组组成为(AACC×BBCC) $F_1$ ×AACC。由于该二体附加系根尖细胞染色体数 $2n=40$ 条, 其花粉母细胞减数分裂基本形成20个二价体, 同时未观察到多价体的存在, 还往往出现两条落后染色体, 从而表明, 两个附加染色体与其余38条染色体间可能不存在同源性。可以推知, 两条附加染色体来自埃塞俄比亚芥的B染色体组, 因为B组染色体与A或C组染色体间亲缘关系较远<sup>[9,14]</sup>, 而且B组染色体上载有抑制部份同源配对的因子<sup>[2]</sup>。虽然本研究未对每一个世代进行细胞学研究, 但由于加强了特异性状的表型选择, 有可能从一开始就保证了少数几条B组染色体在矮秆材料中的存在, 使其不致于因与A和C组染色体间亲缘关系远而在世代衍生过程中丢失。

二体附加系92I1096的花粉母细胞减数分裂后期I, 虽然两个附加染色体形成落后染色体, 但最终还是分别分向两极, 产生染色体数目相等(20+20)的二分体。这表明两个附加染色体可能为同源染色体, 它们可能来自单体附加系的自交后代。附加染色体单体主要通过雌体传递, 由单体附加系自交产生的二体附加系频率很低, 仅为1—3%<sup>[5,6,15]</sup>。通过用甘蓝型油菜与含B组染色体的黑芥(*B. nigra*, BB  $2n=16$ ), 埃塞俄比亚芥(*B. carinata*, BBCC  $2n=34$ )和芥菜型油菜(*B. juncea*, AABB  $2n=36$ )杂交, 从甘蓝型油菜回交后代中分离获得甘蓝型油菜-B染色体组单体附加系, 然后进一步自交获得甘蓝型油菜-B染色体组二体附加系<sup>[15]</sup>。

甘蓝型油菜-B染色体组二体附加系92I1096株高显著低于甘蓝型油菜和埃塞俄比亚芥。表明该二体附加系中存在着控制矮秆性状的基因。如果矮秆基因存在于附加染色体上, 那么它可能作为该二体附加系的标记性状以区别于其它AACC-B染色体组附加系, 用以比较分析B组染色体的遗传特点, 从而将有关农艺性状与特定染色体联系起来, 以便进行种间性状转移。目前能从形态上识别出来的附加系不多。在获得的25个白菜-C组附加系中, 经生物化学鉴定, 它们代表着C组9个染色体中的7个, 但是其中只有一个能从形态上识别出来。因此存在于二体附加系92I1096中的矮秆性状是一个难得的附加系标记性状。有关该二体附加系的遗传以及附加染色体在后代中的传递, 有待进一步研究。

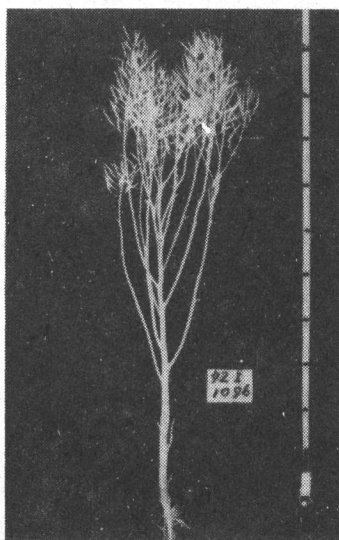


图4 二体附加系“92I1096”植株形态

Fig.4 Plant morphology of disomic addition line—92I1096

### 参 考 文 献

- 1 王苏玲、陈佩度、邱伯行等, 1989, 南京农业大学学报, 12(1), 9—14.
- 2 Attia, T. and G. Robbelen, 1986, Canadian J. Genet. Cytol., (28), 323—329.
- 3 Chen, B. Y., V. Simonsen, and C. Lanner-Herera et al., 1992, Theor. Appl. Genet., (84), 592—599.



- 4 Fan, Z., W. Tai and B.R. Stefansson, 1985, *Can. J. Cytol.* (27), 467—471.
- 5 Fantes, J. A. and R. Mackay, 1979, *Eucarpia Cruciferae Newsletter.* (4), 36—37.
- 6 Jahier, J., M. Chevre, and H. M. Tanguy et al, 1979, *Genome*, (32), 408—413.
- 7 McGrath, J. M. and C. F. Quiros, 1990, *Genome* (33), 374—383.
- 8 McGrath, J.M., C. F. Quiros and J. J. Harada et al, 1990, *Mol. Gen. Genet.* (223), 198—204.
- 9 Mizushima, U., 1980, In S. Tsunoda, K. Hinata and C. Goumez—Campo(eds). *Brassica Crops and Wild Allies.* pp 89—106. Jap. Sci. Soc. Press, Tokyo.
- 10 Paulmann, W. and G. Robbelen, 1988, *Plant Breeding*, (100), 299—309.
- 11 Quiros, C. F., O. Ochoa, and S. F. Kianian et al, 1987, *Theor. Appl. Genet.* (74), 758—766.
- 12 Roy, N. N., 1984, *Euphytica*, (33), 295—303.
- 13 Song, K. M., T. C. Osborn, and P.H. Williams, 1988, *Theor. Appl. Genet.* (75), 784—794.
- 14 Struss, D., U. B. Bellin and G. Robbelen, 1991, *Plant Breeding*, (106), 209—214.
- 15 This, P., O. Ochoa, and C. F. Quiros, 1990, *Plant Breeding*, (105), 211—220.
- 16 Sernyk, J. L. and B. R. Stefansson, 1982, *Can. J. Genet. Cytol.* (24), 729—734.
- 17 Xu, J. and K. J. Kasha 1992, *Theor. Appl. Genet.*, 84(7), 771—777.

## Cytological and Morphological Identification of *Brassica napus-carinata*, a Disomic Addition Line\*

Qi Cunkou    Pu Huiming    Fu Shouzhong

(Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agriculture Sciences, Nanjing, 210014 China)

Zhong Yuquan

(Institute of Plant Genetic and Physiology, Jiangsu Academy of Agric. Sci., Nanjing, 210014 China)

**Abstract** A disomic addition line “92I1096” was developed, after 4 generations of successive selfing and selection, from an individual with short plant height, semi-sterility and *B. napus* type in an F<sub>2</sub> population of *B. napus* × *B. carinata* which was raised under open pollination with surrounding *B. napus* beginning from F<sub>1</sub>. Cytological observation showed that somatic chromosome number of the disomic addition line was 2n=40. It carried two extra chromosomes as compared with its female parental form of *B. napus*. Meiotic analysis of the disomic addition line revealed a general mean chromosome configuration of 0.47 I+19.77II. No multivalents were found at Metaphase I. Two lagging chromosomes were often found at Anaphase I and a dyad with equal chromosome number of 20+20 were formed at Anaphase I. This indicated that the two extra chromosomes were added from *B. carinata* to the chromosome complement of *B. napus*. And it is very likely that they originated from the B genome of *B. carinata*. Morphologically, the disomic addition line more resembled *B. napus* in plant type except that it was only 100.20 cm in stature which was much shorter than *B. napus*. So it could be readily identified by plant height. Its pollen viability was high and reached 92.55%. It produced a reasonable seed set. Most probably gene(s) governing the short plant height could be used as a marker for identifying the disomic addition line.

**Key words** *Brassica napus*; *B. carinata*; Disomic addition line

\* Supported by National Natural Sciences Foundation of China