

## 工业专用型高芥酸油菜新品种选育

傅寿仲 张洁夫 戚存扣 浦惠明 高建芹 陈新军\*

(江苏省农业科学院经济作物研究所, 江苏南京 210014)

**摘要** 高芥酸油菜品种是在工业上具有广泛用途的专用型品种。本研究通过两个常规芥酸品种杂交, 采用以单株和单粒筛选相结合对芥酸含量正向选择为核心的技术, 育成了芥酸含量达 60% 的甘蓝型高芥酸油菜新品种高芥 1 号。同时阐明了在高芥酸含量背景下各种脂肪酸间的相关性, 为相关育种提供了一些理论依据。

**关键词** 高芥酸; 油菜; 品种; 选育

中图分类号: S565

## Breeding of High Erucic Acid Rapeseed (*B. napus*) for Industrial Use

FU Shou-Zhong, ZHANG Jie-Fu, QI Cun-Kou, PU Hui-Ming, GAO Jian-Qin, CHEN Xin-Jun

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

**Abstract** High erucic acid rapeseed is used widely for special purpose in industry. Two cultivars with normal erucic acid content was crossed, high erucic acid content plants and seeds were selected in its offsprings, and one high erucic acid rapeseed (HEAR) cultivar HEAR No. 1 was bred, which erucic acid content reached to 60%. The co-relationship between fatty acids in the background of high erucic acid content was studied, providing a theory basis in high erucic acid rapeseed breeding.

**Key words** High erucic acid; Rapeseed; Cultivar; Breeding

芥酸(erucic acid)是 22 碳链并具有 1 个双键的单烯不饱和脂肪酸, 是十字花科植物的特征脂肪酸之一。芥酸的碳链长, 在人体内不易被分解与吸收, 营养价值低, 食用菜油的脂肪酸必须去除芥酸。WHO 规定作为食用菜油的芥酸含量必须低于 5%, 这种低芥酸菜油在西方受到消费者青睐。然而, 芥酸作为工业用途的脂肪酸前景十分广阔, 芥酸及其衍生物已在铸钢、润滑、塑料、油漆、油墨、化妆品和食品等工业领域广泛应用。

提高油菜芥酸含量的遗传改良, 一是采用常规杂交方法获得芥酸含量明显上升的材料, 通过正向选择将芥酸稳定在较高的水平, 如加拿大 Manitoba 大学育成的 Hero、Mercury、Neptune、Venus 和 Castor 等<sup>[1~4]</sup>品种, 其芥酸含量达 53.0% ~ 54.1%, 并在特定区域种植, 成为工业专用型品种。二是采用生物技术将池花科(*Limnathes douglasii* R. Br)植物的溶磷酸乙酰转移酶(LPAA)基因转移到油菜中, 该酶能

将芥酸分子转移安装到甘油的 sn-2 碳位上, 达到大幅度增加芥酸含量的目的<sup>[5,6]</sup>。

上世纪 80 年代以来, 我国油菜品质改良目标集中于低芥酸和低硫苷, 大批单、双低品种和杂交种的育成与推广有力地推动了油菜优质化和产业化进程<sup>[7]</sup>。选育工业用途的品种是油菜产业发展的重要组成部分, 本研究采用常规杂交技术, 利用半粒法筛选与连续正向选择相结合的方法<sup>[8]</sup>, 使芥酸含量稳定在 60% 左右, 旨在为今后这一领域的深入研究提供科学依据和有价值的遗传资源以及提供生产应用的品种。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 供试材料

以普通油菜品种中芥酸含量较高的为亲本。本研究的母本为 NY007, 父本为 HY500, 并从亲本品种群体中系选芥酸含量偏高的株系为实际杂交亲本。

\*基金项目: 江苏省高新技术项目(BG2002303)和农业部 948 项目(2003Q04)资助。

作者简介: 傅寿仲(1939 - ), 男, 福建漳州人, 研究员, 博士生导师, 长期从事油菜遗传育种研究。

Received(收稿日期): 2003-05-13, Accepted(接受日期): 2003-11-20.

## 1.2 试验方法

采用单株选择与单粒筛选相结合,对后代进行芥酸含量的正向选择,逐代监测芥酸含量的变化,评价其稳定性。菜油脂肪酸组分采用农业行业标准 NY/T91-1988 规定的气相色谱法及日本岛津 GC-9A 气相色谱仪进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 高芥酸新品种的选育经过

高芥 1 号选育过程见图 1。从图 1 看出,由于常规芥酸品种芥酸含量基数较高,通过对品种群体不同单株的测定可从中筛选芥酸偏高的株系,然后杂交重组、互交聚合,促使后代群体芥酸含量的进一步上升。经过逐代对芥酸含量施加正向选择压,芥酸含量持续提高并构筑起一个新的高芥酸含量的平台。本研究的母本 NY007 高芥酸选系芥酸含量为 51.58%,父本 HY500 高芥酸选系芥酸含量为 52.67%,杂种一代芥酸含量出现超亲优势,芥酸含量为 53.76%,杂种二代 30 株的芥酸含量变幅为 49.07%~59.03%,通过对  $F_2$  种子 ( $F_3$ ) 高芥酸含量

株系种子进行半粒法筛选,高中选高,自交与互交相结合,至  $F_5 \sim F_6$  代芥酸含量基本稳定在 60%左右,高芥酸新品种“高芥 1 号”及一批有利用价值的遗传原种即告育成。经连续多年检测,高芥 1 号群体芥酸含量稳定在 60%左右(表 1)。

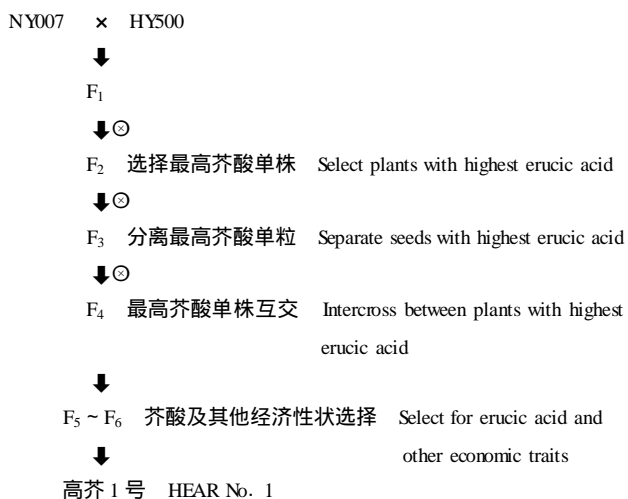


图 1 高芥 1 号选育过程

Fig. 1 Breeding for HEAR No. 1

表 1 高芥 1 号在不同年份的脂肪酸组成

Table 1 The fatty acid composition of HEAR No. 1 in different years

年份 Year	棕榈酸 Palmitic acid	油酸 Oleic acid	亚油酸 Linoleic acid	亚麻酸 Linolenic acid	花生烯酸 Eicosanoic acid	芥酸 Erucic acid
1998	2.17	6.82	13.94	12.89	4.47	59.71
1999	2.60	6.43	13.82	12.62	4.00	60.46
2000	2.14	7.02	13.11	12.71	5.23	59.84
2001	2.25	6.39	13.10	13.24	4.44	60.58
平均 Mean	2.29	6.67	13.49	12.87	4.54	60.15

### 2.2 经济性状的选择

由于高芥 1 号的双亲均为高产品种,后代经济性状选择重点是保持双亲的高粒重,兼顾提高单株角果数,以达到较高的产量水平为目的,这一技术路线贯穿于后代选择的全过程。高芥 1 号产量结构诸因素发展平衡,在中上等肥力条件下,密度 150 000 株/hm<sup>2</sup>,其群体结构为:总茎枝数 125 万/hm<sup>2</sup>,总角

果数为 3 750 万/hm<sup>2</sup>,千粒重 3.75 g,每角粒数 18.6 粒,一般产量可达 2625 kg/hm<sup>2</sup>。含油量指标在高芥酸性状选择的同时不会出现下降现象,因为碳链的延长与油分的积累是一致的。选择结果符合这一规律,高芥酸油菜品系含油率均达到 42%以上,部分品系含油率超过 45%。高芥 1 号主要农艺、经济性状见表 2,因此,该品种具有生产利用价值。

表 2 高芥 1 号及其亲本的主要农艺、经济性状

Table 2 The agronomic and economic traits of HEAR No. 1 and its parents

品种/品系 Variety/Line	株高 Plant height (cm)	单株角果数 Pods per plant	每角粒数 Seeds per pod	千粒重 1 000-seed weight (g)	含油率 Oil content (%)
NY007	163.4	334.0	20.3	3.93	44.01
HY500	157.7	353.2	15.2	3.70	41.78
HEAR No. 1	160.2	360.5	18.5	3.75	42.60

### 2.3 半粒法筛选技术的应用

半粒法是油菜低芥酸育种的重要方法之一,该方法以单粒种子为单位,切去部分子叶用于脂肪酸测定,余下带胚子叶用于播种成苗,繁殖后代。将此法用于高芥酸油菜品种的选育同样有效。在分离世代采用半粒法技术选择高芥酸单粒,后代单株种子芥酸含量仍然较高,呈极显著正相关( $r = 0.6723$ )。本研究中芥酸含量  $> 56\%$  的 7 个单株 450 单粒的芥酸含量变幅为  $50.54\% \sim 66.68\%$ 。其中芥酸含量  $< 56\%$  的单粒为 59 粒,占  $13.1\%$ ,芥酸含量在  $56.01\% \sim 60.00\%$  的单粒 339 粒,占  $75.3\%$ ,另外,还出现了芥酸含量  $> 60\%$  的单粒 52 粒,占  $11.6\%$ (表 3)。

表 3 7 个高芥酸单株的单粒芥酸含量分布  
Table 3 Distribution of erucic acid content of single seeds in 7 HEAR plants

芥酸含量 Erucic acid content (%)	粒数 No. of seeds	频率 Frequency (%)
$< 56.00$	59	13.1
$56.01 \sim 58.00$	154	34.2
$58.01 \sim 60.00$	185	41.1
$60.01 \sim 62.00$	47	10.5
$> 62.00$	5	1.1
合计 Total	450	100

半粒法还应用于高芥酸品种原原种群体的构建,通过单粒筛选剔除芥酸含量偏低的单粒,尽量排除生物学混杂和机械混杂对种子纯度的干扰,保证群体的芥酸含量水平和纯合程度。例如对 3 个高芥酸品系的 300 个单粒分析结果,芥酸含量变幅为  $46.14\% \sim 65.31\%$ 。从中剔除芥酸含量低于  $58\%$  的

单粒 27 个,保持和提升了该 3 个品系的芥酸含量(表 4),并且采用隔离网室播种合格的单粒繁殖源原种。

表 4 3 个高芥品系单粒种子芥酸含量的分布  
Table 4 Distribution of erucic acid content of single seed in 3 HEAR lines

芥酸含量 (%) Erucic acid content	芥酸含量分布 Distribution of erucic acid content (种子粒数 No. of seeds)		
	91-5837	91-5715	91-5612
$< 58.00$	9	0	18
$58.01 \sim 60.00$	19	16	54
$60.01 \sim 62.00$	51	54	26
$> 62.00$	21	30	2

### 2.4 高芥酸品系主要脂肪酸间的相关关系

在油菜脂肪酸的生物合成中,由于对芥酸含量施加了正向选择压,必然导致芥酸趋向合成方向。本研究统计分析了 NY007/HY500 组合后代遗传背景下不同芥酸含量品系主要脂肪酸含量变化的相关性(表 5),在芥酸含量  $54.06\% \sim 65.31\%$  的分析系统中,各种脂肪酸间的相关关系表现为:芥酸含量与油酸、亚油酸和花生烯酸含量均呈极显著负相关,相关系数( $r$ )分别为  $-0.9399$ 、 $-0.8897$  和  $-0.9223$ ,与棕榈酸和亚麻酸含量相关不显著,由此可看出,增加芥酸含量主要导致油酸和亚油酸含量的下降,而对亚麻酸的含量没有明显的影响。另外,油酸与亚油酸及花生烯酸含量间呈极显著正相关,亚油酸与花生烯酸含量间也呈极显著正相关,而其他脂肪酸含量间相关性不显著。

表 5 高芥酸品系主要脂肪酸含量间的相关系数

Table 5 Correlation coefficient between the main fatty acid contents in HEAR lines

脂肪酸 Fatty acid	棕榈酸 Palmitic acid	油酸 Oleic acid	亚油酸 Linoleic acid	亚麻酸 Linolenic acid	芥酸 Erucic acid
油酸 Oleic acid	0.1700				
亚油酸 Linoleic acid	0.3994	0.8797 **			
亚麻酸 Linolenic acid	-0.1218	-0.0908	-0.2825		
芥酸 Erucic acid	-0.1650	-0.9399 **	-0.8897 **	0.0782	
花生烯酸 Eicosenic acid	-0.1173	0.8005 **	0.7277 **	-0.2025	-0.9223 **

## 3 讨论

### 3.1 获得高芥酸性状的途径

本研究通过两个常规含芥酸较高的油菜品种杂交,育成高芥酸新品种高芥 1 号,其芥酸含量一般在  $60\%$  左右,最高单株芥酸含量达  $66\%$ ,达到了预期目标。其高芥酸性状如何获得? 已有研究证实,白

菜型(*B. campestris* L.)和甘蓝型(*B. napus* L.)油菜的芥酸等位基因至少有 5 个,即  $e$ 、 $E^a$ 、 $E^b$ 、 $E^c$  和  $E^d$ ,它们分别控制  $0\%$ 、 $10\%$ 、 $15\%$ 、 $30\%$  和  $3.5\%$  的芥酸含量<sup>[9,10]</sup>,在芸薹属不同种中均发现高芥酸的突变材料,1 个  $E$  基因的芥酸含量  $> 16\%$ <sup>[11]</sup>。戚存扣等对芥酸含量的数量遗传研究认为,甘蓝型油菜芥酸含量的遗传由两对主基因以及多基因共同控制,其

中主基因决定了芥酸含量变异的 51.33%,多基因决定了 47.81%<sup>[12]</sup>。Jourden 等对芥酸含量的分子遗传学研究也指出,甘蓝型油菜中  $E_1$  和  $E_2$  两个基因位点分别决定了芥酸含量总变异的 56.4%和 28.6%<sup>[13]</sup>,但仍有 15%的效应尚未检测出,因而可能存在多基因效应。由此可见,通过两个常规芥酸油菜品种杂交,使主基因纯合、多基因聚合与累加,完全有可能选育出芥酸含量超过 60%的甘蓝型油菜新品种。从本研究亲本的遗传背景看,由于双亲均来源于甘、白种间杂交育成品种,具有较高的芥酸含量的遗传差异,通过正向选择,促进了向更高芥酸含量方向的聚合,育成了超亲芥酸含量的品种。关于高芥酸含量新性状的遗传规律尚在深入研究之中。

### 3.2 高芥酸油菜新品种的育种策略

本研究的实践表明,采用常规芥酸含量油菜品种间杂交,通过对芥酸含量的正向选择,使微效多基因得到累加,可能在后代中筛选出高芥酸品系,从而将芥酸含量提高近 10 个百分点。其关键在于亲本选配及其选育技术。采用芥酸含量高于 50%的品种,特别是甘、白种间杂交育成的品种,本研究的双亲均具有南方油白菜 (*B. chinensis* L.) 的基因型,有较高芥酸含量的遗传基础。对我国油菜品种资源脂肪酸分析结果表明,起源中国的白菜型油菜有两种芥酸含量基因型,一种是芥酸含量为 30%的北方小油菜 (*B. campestris* L.), 基因型为  $E^b E^b$ ; 另一种是芥酸含量超过 50%的南方油白菜,基因型为  $E^c E^c$ <sup>[14]</sup>。从选育高芥酸油菜品种需要出发,充分利用我国南方白菜型油菜丰富的地方资源是非常重要的。要利用低芥酸油菜育种所建立的技术优势,将半粒法筛选技术应用于高芥品种杂交分离世代的筛选和原原种的生产也是正向选择的最有效手段之一。

### 3.3 提高芥酸含量对油菜脂肪酸合成方向的影响

脂肪酸的生物合成途径决定了不同脂肪酸间存在一定的相关性。在以食用为目的的低芥酸油菜育种中,由于对芥酸含量施加负向选择压力,油菜脂肪酸的生物合成大量积累 18 碳链脂肪酸中的油酸和亚油酸。有报道指出,芥酸含量每降低 1%,则油酸含量相应增加 1.01%<sup>[15]</sup>。在这个以降低芥酸为主的油菜脂肪酸生物合成系统中,芥酸含量与油酸、亚油酸和花生烯酸均呈极显著的负相关。相反地,本研究是以提高芥酸含量为目的的工业专用型油菜育种,油菜脂肪酸的生物合成朝向了延长碳链的方向,

最终大量积累 22 碳链的芥酸,在这个提高芥酸含量的合成系统中,芥酸含量同样与油酸、亚油酸及花生烯酸呈极显著的负相关。芥酸与亚麻酸是油菜脂肪酸生物合成的两个终端产物,大量的育种实践表明降低或增加芥酸含量对亚麻酸含量影响很小,因此对减饱和方向终端产物的亚麻酸含量的改良,必须采取转基因等育种途径,以增加油酸、亚油酸含量,并降低亚麻酸含量<sup>[16]</sup>,本研究也证明了这一点。

### References

- [1] Scarth R, McVetty P B E, Rimmer S R, Stefansson B R. Hero summer rape. *Can J Plant Sci*, 1991, **71**: 865 - 866
- [2] Scarth R, McVetty P B E, Rimmer S R. Mercury high erucic low glucosinolate summer rape. *Can J Plant Sci*, 1994, **75**: 205 - 207
- [3] McVetty P B E, Rimmer S R, Scarth R, Berg C G J. Neptune high erucic low glucosinolate summer rape. *Can J Plant Sci*, 1996, **76**: 343 - 344
- [4] McVetty P B E, Rimmer S R, Scarth R. Castor high erucic low glucosinolate summer rape. *Can J Plant Sci*, 1998, **78**: 305 - 306
- [5] Friedt W, Luhs W. Development in the breeding of rapeseed oil industrial purpose. Proceedings of 9th International Rapeseed Congress, 1995, **2**: 437 - 448
- [6] Friedt W, Luhs W. Breeding of rapeseed (*Brassica napus*) for modified seed quality synergy of conventional and modern application. Proceedings of 10th International Rapeseed Congress, 1999
- [7] Fu S-Z (傅寿仲). Progress of rapeseed quality breeding in China. *Jiangsu J Agricultural Sciences* (江苏农业学报), 1999, **15**(4): 241 - 246
- [8] Ye C-L (叶长龄), Jiang Y-Q (蒋玉琴), Zhang J-Y (张建益). Determination of fatty acid content in fats and oils by gas chromatography Half-seed technique and rapid analysis for the determination of fatty acid content in rape seeds. *Jiangsu Agricultural Science* (江苏农业科学), 1983, **7**: 18 - 20
- [9] Kzymanski J, Downey R K. Inheritance of fatty acid composition in winter forms of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Can J Plant Sci*, 1969, **49**: 313 - 319
- [10] Anand I J, Downey R K. A study of erucic acid alleles in digenic rapeseed (*Brassica napus* L.). *Can J Plant Sci*, 1981, **61**: 199 - 203
- [11] Downey R K, Harvey B L. Methods breeding for oil quality in rape. *Can J Plant Sci*, 1963, **43**: 271 - 275
- [12] Qi C-K (戚存扣), Cai J-Y (盖钧镛), Fu S-Z (傅寿仲), Zhang Y-M (章元明). Major gene plus poly-gene inheritance of erucic acid content in *Brassica napus* L. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), 2001, **28**(2): 182 - 187
- [13] Jourden C, Brette P, Hovvais R, Foisset N, Delourme R, Renard M. Identification of RAPD markers linked to the loci controlling erucic acid level in rapeseed. *Mol Breed*, 1996, **2**: 61 - 71
- [14] Qi C-K (戚存扣). A preliminary study on the geographic distribution of rape varieties in China and the variation of their erucic acid content. *Oil Crops of China* (中国油料), 1985, **2**: 6 - 10
- [15] Qi C-K (戚存扣), Pu H-M (浦惠明), Fu S-Z (傅寿仲). Analysis of correlation and regression among major fatty acid content in an  $F_2$  population of *Brassica napus*. *Jiangsu J Agricultural Science* (江苏农业学报), 1993, **9**(4): 11 - 15
- [16] Scarth P, McVetty P B E, Fernando W G D, Tang J. Modification of *Brassica* oil quality. Proceedings of International Symposium on Rapeseed Science. Science Press New York, 2001. 6 - 10