

芥菜型油菜 × 羽衣甘蓝种间杂种的获得及其性状表现

周清元 李加纳* 崔翠 殷家明 谌利 唐章林

(西南农业大学农学与生命科学学院, 重庆 400716)

摘要: 芸薹属内遗传和变异类型极其丰富, 这为芸薹属植物种间杂交提供了条件。通过甘蓝 (*B. oleracea*, $2n = CC = 18$) 和芥菜型油菜 ($2n = AABB = 36$) 的种间杂交可以获得六倍体新物种, 为油菜育种创造新的种质资源。本文选用芥菜型油菜和黄籽羽衣甘蓝 (*B. oleracea* var. *acephala*, $2n = CC = 18$) 进行种间杂交, 在 10 个杂交组合中, 共授粉 559 朵花, 剥离种子 35 粒, 对所得种子进行组织培养, 建立了 9 个无性系。对该无性系进行染色体加倍处理和形态学、生物化学、细胞学、育性综合鉴定, 发现其中 2 个无性系为黄籽芥菜型油菜 × 黄籽羽衣甘蓝组合 (03K169 × 03K05) 的未加倍真杂种 ($2n = ABC = 27$), 其籽粒为红色。杂种植株在各生长阶段, 形态均趋近于甘蓝型油菜; 在减数分裂后期 I、后期 II, 杂种都有不同程度的染色体丢失现象。杂种的酯酶同工酶具有两个亲本互补酶带。杂种植株生长势较强, 和双亲相比具有较强的杂种优势。杂种植株高度自交不亲和。

关键词: 种间杂交; 芥菜型油菜; 羽衣甘蓝

中图分类号: S565

Obtaining and Character of the Interspecific Hybrids between *B. juncea* and *B. oleracea* var. *acephala*

ZHOU Qing-Yuan, LI Jia-Na*, CUI Cui, YIN Jia-Ming, CHEN Li, TANG Zhang-Lin

(College of Agronomy and Life Science, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China)

Abstract: There are abundant genetic types available for making interspecific hybrids in *Brassica*. New sextuploid species ($2n = AABCC = 54$) can be obtained through interspecific hybridization between *Brassica juncea* ($2n = AABB = 36$) and *Brassica oleracea* ($2n = CC = 18$). 10 crosses between *B. juncea* and *B. oleracea* var. *acephala* ($2n = CC = 18$) were selected, and 559 flowers were pollinated artificially and 35 seeds were obtained, and 9 clones were gained through tissue culture (Table 1). These clones were treated for chromosome doubling and distinguished by the methods in morphology (Plate I -1, Plate I -2, Plate I -3), cytology (Plate I -4), biochemistry (Fig.1) and sterility. The results showed that two clones are true hybrids with red seedcoat, which derived from the same interspecific cross between *B. oleracea* var. *acephala* and *B. juncea* (03K169 × 03K05), however, they failed to be doubled in chromosome number. The hybrid plants were similar to *B. napus* in morphology in every growing period (Plate I -1, Plate I -2, Plate I -3). Some chromosomes lost in different degrees in meiosis anaphase I and meiosis anaphase II (Plate I -4). The hybrids had complementary esterase isozyme bands compared with its parents in the zymograms (Fig.1). The hybrids had stronger growth vigor and higher heterosis than their parents (Table 2). Most of them are self-incompatibility highly.

Key words: Interspecific hybrid; *B. juncea*; *B. oleracea* var. *acephala*

芸薹属植物由白菜 (*B. campestris* L., $2n = AA = 20$)、甘蓝 (*B. oleracea* L., $2n = CC = 18$)、黑芥 (*B. nigra* L., $2n = BB = 16$) 3 个基本种和甘蓝型油菜 (*B. napus* L., $2n = AACC = 38$)、埃塞俄比亚芥 (*B.*

carinata Braun L., $2n = BBCC = 34$)、芥菜 (*B. juncea* Czern & Coss L., $2n = AABB = 36$) 3 个复合种组成, 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

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目(30330400)和国家“863”资助项目(2002AA24207009, 2003AA207131)。

作者简介: 周清元(1971-), 男, 四川仁寿县人, 讲师, 主要从事于植物遗传育种研究。E-mail: qingyuan@swau.edu.cn

* 通讯作者: 李加纳, 教授, 博士生导师, 主要从事于油菜遗传育种研究。Tel: 023-68251264; E-mail: ljn@swau.edu.cn

Received(收稿日期): 2004-09-24, Accepted(接受日期): 2005-02-12.

交,培育或创造作物新品种、新类型提供了丰富的物质基础及遗传背景。近年来,人们对属内各个种进行了广泛的遗传、育种、栽培等方面的研究,为各个种的综合利用奠定了坚实的基础。同时,进行大量的种间杂交、属间杂交,探讨了种属间关系,创造出大量的遗传育种新材料,推动了遗传育种的研究。李再云、徐利远等研究了甘蓝型油菜与诸葛菜、蓝花子间的远缘杂交,以及诸葛菜、蓝花子与芸薹属的亲缘关系和杂种后代的细胞学行为^[1-3]。Nagahara、Olsson、文雁成、殷家明、张国庆、周清元等利用甘蓝与白菜杂交,进行了人工合成甘蓝型油菜的研究^[4-9],验证了甘蓝型油菜是甘蓝和白菜天然杂交复合种。Chen等利用甘蓝型品种和白菜型品种^[10], Poulsen等利用埃塞俄比亚芥和甘蓝^[11],孟金陵等用白菜和埃塞俄比亚芥进行种间远缘杂交^[12,13],将不同优良性状导入到甘蓝型油菜中,创造了大量遗传育种的中间材料。

羽衣甘蓝(*B. oleracea* var. *acephala*)是十字花科芸薹属甘蓝种的变种,长期作为观赏植物,近年来开始作为特色蔬菜进行种植。1994年,西南农业大学重庆油菜研究工程中心在其天然群体中发现了3个黄籽单株,经过多年人工选择,选育出几个黄籽、低硫、性状表现较好的羽衣甘蓝黄籽品系,它们是芸薹属C染色体组上黄籽基因和低硫基因的宝贵资源。利用黄籽羽衣甘蓝($2n = CC = 18$)和芥菜型油菜($2n = AABB = 36$)杂交,可以人工合成包含染色体组A、B、C的新物种,丰富遗传育种种质资源,同时为将C染色体组黄籽基因导入甘蓝型油菜提供中间材料,具有重要的理论和实践意义。

1 材料与方 法

1.1 材 料

芥菜型油菜 03K26(黄籽)、03K36(黄籽)、03K169(黄籽)、03K183(黑籽)、03K174(黑籽)、03K198(黑籽);黄籽羽衣甘蓝 03K05、03K11、03K13、03K14、03K22、03K24;甘蓝型油菜 96V44、中油 821;白菜型油菜 03K32 等多年自交材料或栽培品种,均由西南农业大学重庆油菜研究工程中心提供。KH02、KH03 为 03K169 和 03K05 的杂交真杂种。

1.2 方 法

1.2.1 种间有性杂交 2002年10月中旬,将羽衣甘蓝和芥菜型油菜按常规方法播种,同年11月初移栽于西南农业大学校本部农场。2003年3月选

取生长健壮的芥菜型油菜 03K26、03K36、03K169、03K174 和 03K198 的单株为母本,摘除已开花的花蕾和过小的花蕾,对尚需 2~3 d 后才能开花的花蕾进行剥蕾,并以 10% NaCl 溶液涂抹柱头,授以羽衣甘蓝的新鲜花粉。第 2 天重复授粉。每次授粉完成后立即套袋。授粉 30~40 d 后剥取种子,调查其结籽率。

1.2.2 杂种后代的离体快繁和染色体加倍 取收获的种子,用 75% 的酒精表面消毒 30~60 s 后,再用 0.1% HgCl₂ 消毒 15~20 min,在无菌条件下用无菌水冲洗 3~4 遍后接种于 MS 基本培养基上,待种子萌发后转接在 MS + 3.0 mg/L BA + 0.2 mg/L NAA + 3% 蔗糖 + 0.75% 琼脂快繁培养基上快繁,形成无性系。

对于建成的无性系取 20~30 苗接种在 MS + 3.0 mg/L BA + 0.2 mg/L NAA + 100 mg/L 秋水仙素 + 3% 蔗糖 + 0.75% 琼脂的培养基上进行染色体加倍处理,培养 5~6 d 后转接在 MS + 3.0 mg/L BA + 0.2 mg/L NAA + 3% 蔗糖 + 0.75% 琼脂培养基上。

1.2.3 生长特性观察和性状分析 2003年10月初,将快繁培养的无性系接种在 MS 基本培养基上生根培养,15 d 左右进行 1~2 d 炼苗,于 10 月中旬将无性系假植于苗床。11 月初再将假植后的无性系移栽大田。对组培、苗床、和大田各个时期的无性系进行生长特性的观察和性状比较。

1.2.4 同工酶比较分析 2003年12月,在移栽后 40 d 左右取无性系和亲本材料的新鲜幼嫩叶片,蒸馏水洗净后在 0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液(含 10% 甘油, pH 8.0)中按样品:提取液 = 1:2 和冰浴条件下研磨,10 000 × g 离心 20 min,取上清液供电泳分析用。

分析方法为聚丙烯酰胺凝胶电泳。电泳分离胶浓度为 7.5%,用 pH 8.9 的 Tris-HCl 缓冲液配胶;浓缩胶浓度为 4%,用 pH 6.7 Tris-HCl 缓冲液配胶。电极缓冲液为 pH 8.8 的 Tris-Gly 缓冲液。电泳时,点样 60 μL,浓缩胶电压 100 V,分离胶 150 V。酯酶染色液参照白宝璋《植物生理学实验指导》^[1]方法配制,当电泳指示剂溴酚蓝到达电泳槽底部时,取下胶板,快速放入染色液,20℃保温 30~60 min,待酶带呈棕红色时,用清水漂洗干净。

1.2.5 细胞学特性观察 2004年2月取田间各无性系幼嫩花蕾,用卡诺氏固定液固定 24 h,进行花粉细胞涂片制片。花蕾先以蒸馏水浸泡数小时,再取

1~2枚花药,滴1滴45%的HAc溶液,挤出花粉母细胞,盖上盖玻片,烤片,压片,以改良的卡宝品红染色。在显微镜下观察,找到较好分裂相进行拍照。

1.2.6 育性观察 对研究所得的无性系群体,各套袋3~5株进行自交亲和性调查。同时,用不同的近缘材料和KH02杂交,观察其结实率。

2 结果与分析

2.1 远缘杂种的获得

以芥菜型油菜为母本,羽衣甘蓝为父本进行杂交授粉,30~40 d后取回荚果,剥离种子,发现大多数胚在发育过程中夭亡,荚果内只剩种皮。在10个杂交组合中(表1),共授粉559朵花;只有6个组合获得种子,组合间结籽差异非常明显,共获得种子数35粒,平均结籽率(结籽数/授粉花蕾数)为6.26%,其中组合03K169 × 03K05结籽率最多,达30.43%。将35粒种子接种在MS基本培养基上,共萌发9粒,建立了9个无性系,其中来自于同一个杂交组合03K169 × 03K05的2个无性系(KH02、KH03)最后通过鉴定为真杂种,真杂种率极低。种间受精后出现的杂交结实率低,一般认为是由于染色体组之间的不协调或者染色体数的不平衡,近来的研究认为胚胎败育障碍也是由基因控制的^[12]。在本研究中也就可以看到种间杂交成功率与组合有重要的关系。从1935年Nagahara U首次人工合成甘蓝型油菜以来,人们对芸薹属种间杂交方法进行了大量的研究,结果显示远缘杂种在幼胚阶段发育不正常,极易死亡,因此采用常规方法获得杂种的成功率极低,与本研究结果相同^[4,5]。为了获得更多的羽衣甘蓝和芥菜型油菜的种间杂种,进行适当的幼胚抢救方法就具有非常重要的意义。

表1 芥菜型油菜 × 羽衣甘蓝的种间杂交

Table 1 Hybridization between

B. juncea and *B. oleracea* var. *acephala*

03杂交组合 Cross	授粉花蕾数 No. of florets pollinated	结籽数 No. of seeds obtained	萌发数 No. of bourgeon	真杂种数 No. of true hybrid
03K026 × 03K11	95	0	0	0
03K183 × 03K22	58	0	0	0
03K36 × 03K11	40	12	3	0
03K169 × 03K24	57	2	1	0
03K174 × 03K11	62	2	0	0
03K198 × 03K14	51	0	0	0
03K036 × 03K22	43	2	0	0
03K169 × 03K05	46	14	3	2
03K174 × 03K13	54	0	0	0
03K198 × 03K13	53	3	2	0

2.2 合成杂种各时期形态特性观察与性状分析

在快繁过程中,对几个无性系的快繁系数(再生芽数/接种芽数)和形态进行了比较,结果显示,9个无性系的快繁系数差异较大,真杂种(KH02、KH03)的快繁系数介于4.2~5.3之间,假杂种介于1.5~3.0之间。形态上,真杂种叶形卵圆,叶缘和叶面少刺、光滑,而假杂种叶片狭长,叶面多刺。由于光照强度不足、生长条件限制,使真假杂种在叶色方面差异不明显。组培苗快繁系数与基因型、培养基、培养方式等有关,这些都增加了组培期间的形态学鉴定难度,但是本研究认为,在同样的条件下,快繁系数、外部形态特征仍然可以作为初步鉴定杂种真实性的有效指标。

将无性系生根后,移栽到假植田7~10 d,就可以清晰地看到真假杂种在叶形和叶色上的差异,移栽后20 d差异更加明显,这也是进行真假杂种早期鉴定的有效方法之一。如图版I-1所示,真杂种(KH02、KH03)叶片浓绿、表面光滑、少刺、长柄、卵圆形。假杂种叶色相对较浅,叶形长圆,叶面多毛刺。真杂种苗期外部形态介于芥菜型油菜和甘蓝型油菜之间,更接近于甘蓝型油菜。

在生长过程中,真杂种(KH02、KH03)生长迅速,茎秆和叶面多蜡粉,具有甘蓝型油菜的外部特征,而假杂种外部形态表现为芥菜型油菜的特征。在本研究中,曾在2003年10月4日将9个无性系和它们的亲本从组培室移栽到大田,由于气温较高,蚜虫危害,都感染病毒病,结果如图版I-2所示,假杂种和芥菜型亲本茎秆不能有效伸长,茎秆和叶片萎缩,叶面多斑点,而真杂种虽然感病,但表现较好的耐病性,茎秆能够有效伸长,叶片宽大,叶面有少数斑点。生长期后期,感病的假杂种和芥菜型亲本都不能开花或者开花后植株死亡;真杂种(KH02、KH03)开花较早,2月上旬开始开花,植株长势较好。同时移栽的羽衣甘蓝都没有感染病毒病,生长状况良好。这说明真杂种具有抗(耐)病毒病的能力,其抗病性可能来源于羽衣甘蓝。在油菜大田生产中,病毒病是较主要的病害之一,目前尚无有效的防治手段,选育抗病性品种是防治病害的主要手段。远缘杂交是目前抗病性的种间转移的主要途径。本研究中获得2个耐病性好的材料将是油菜抗病育种重要的种质资源。

2004年4月初对无性系和其亲本进行花器官的调查,结果显示,9个无性系中有7个花蕾大小、

柱头长短、花瓣颜色和亲本芥菜型油菜相同,另有2个(KH02、KH03)的花蕾大小、柱头长短介于芥菜型油菜和羽衣甘蓝之间,花色接近于芥菜型油菜、比羽衣甘蓝色黄,花瓣形态和甘蓝型油菜相似。

在收获期间,对前期鉴定为真杂种(KH02、KH03)的无性系和亲本材料各取10个单株进行植

株高度、茎基部周长、一次分枝数、分枝部位、主花序长度等农艺性状的调查,调查结果取其平均数。如表2、图版I-3所示,真杂种KH02、KH03的茎基部周长、节间距大小和母本03K169相当,一次分枝数少,叶形卵圆。真杂种植株高大,生长势旺盛,具有较强的营养体杂种优势。

表2 芥菜型×羽衣甘蓝真杂种的农艺性状

Table 2 Agronomic traits of the hybrid between *B. juncea* and *B. oleracea* var. *acephala*

品系 Line	类型 Type	籽粒色 Seed color	植株高度 Height (cm)	茎基部周长 Girth of caudex(cm)	一次分枝数 No. of branches (个)	分枝部位 Position of branch(cm)	节间距 Space between nodes(cm)	最大叶片长 Leaf length (cm)	最大叶片宽 Leaf width (cm)	主花序长 Length of anthotaxy(cm)
KH02	杂种 Hybrid	红 Red	218.7	10.3	5.8	115.9	7.3	22.4	20.5	60.7
KH03	杂种 Hybrid	红 Red	200.8	8.8	9.1	59.4	11.7	23.7	21.7	35.1
03K169	芥菜型 <i>B. juncea</i> 羽衣甘蓝	黄 Yellow	168.8	10.6	10.8	35.0	9.9	33.6	18.5	27.0
03K05	<i>B. oleracea</i> var. <i>acephala</i>	黄 Yellow	99.0	11.5	13.8	25.4	3.9			19.1

2.3 合成杂种后代的细胞学特性观察

对无性系减数分裂过程的观察表明,假杂种减数分裂过程都正常,而真杂种如图版I-4所示,在后期I染色体出现部分落后现象,在后期II染色体数目变化于17~27之间,在后期II仍然可以看到部分染色体滞后现象。细胞学观察和核型分析对杂种鉴定很有说服力,也是杂种鉴定中常用的方法,但是十字花科植物染色体小,不利于制片和染色体计数,鉴定难度较大。本研究利用真假杂种的幼嫩花蕾进行减数分裂过程观察,取材方便,制片简单易行,研究结果和形态学,同工酶鉴定结果一致,说明该方法是可行的。

2.4 合成杂种与亲本的同工酶比较分析

同工酶分析是鉴定杂种使用较多的生物化学方法,本研究对杂种与其亲本的酯酶同工酶分析,如图1所示,杂种(KH02、KH03)酶带大多数为双亲的互补酶带,其中 R_f 值为0.44、0.52的带与父本羽衣甘蓝相同, R_f 值为0.74、0.78的带与母本芥菜型油菜相同。表明KH02、KH03为芥菜型油菜与羽衣甘蓝的真杂种。

2.5 染色体加倍效果

将真假杂种的无性系部分转入含100 mg/L秋水仙碱的快繁培养基,培养5~6 d后转接在快繁培养基上,结果显示秋水仙碱有明显的毒害作用,植株茎尖缩短,部分无性系基部溃烂、死亡,部分无性系基部膨大;即使转接后仍然不能解除秋水仙碱的毒害作用,茎尖不能伸长,叶片皱缩。当转接2~3次后,部分植株开始生长正常。最后移栽大田的无性

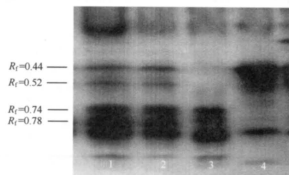


图1 杂种及其亲本的酯酶同工酶电泳图谱

Fig. 1 Zymograms of esterase isozyme in hybrid and its parents

- 1: 杂种 KH02; 2: 杂种 KH03;
3: 芥菜型油菜(03K169); 4: 羽衣甘蓝(03K05).
1: Hybrid(KH02); 2: Hybrid(KH03); 3: *B. juncea*(03K169);
4: *B. oleracea* var. *acephala*(03K05).

系仅5个(包括KH02和KH03),每个无性系植株数10~20个不等,从形态、育性和花器官上看,都没有获得染色体加倍的植株。在没有进行处理的无性系群体中也未发现自然加倍植株。染色体加倍对远缘杂种的保存和利用具有较重要的意义,在本研究中通过秋水仙碱处理并未获得加倍的双二倍体植株,可能是处理过程中形成了加倍和未加倍的植株嵌合体,在后来的快繁中未加倍细胞表现较强的生长势所致,具体原因和染色体加倍方法的改进有待进一步研究。

2.6 合成杂种的自交亲和性及其与部分近缘种的杂交亲和性

对几个无性系套袋自交,假杂种均自交结实,真杂种自交高度不结实,即使是在天然情况下,其结实

率也极低,且种子大多干瘪皱缩,不饱满。

羽衣甘蓝具有许多优良的农艺性状,如果能够将其导入油菜,就可能培育出优良的品种。我们以KH02为母本,分别用甘蓝型油菜96v44、中油821,芥菜型油菜03K169,白菜型油菜03K32,羽衣甘蓝03K11为父本进行授粉。在授粉后20d以03K11、03K32为父本的杂交组合子房全部脱落;其余组合子房残留也在3~5个之间。从表3可以看出,杂种和几个近缘种杂交亲和性较差。由于杂交花朵数目较少,获得的杂交后代较少,但是它们仍然是我们进一步研究的重要中间材料。

表3 杂种与近缘种的杂交亲和性
Table 3 Hybridizable compatibility between hybrid and its close relative species

杂交组合 Cross	父本类型 Male	杂交花朵数 No. of flowers	结籽数 No. of seeds
KH02 × 96v44	甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i>	32	1
	甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i>	34	2
KH02 × 中油821	白菜型油菜 <i>B. campestris</i>	32	0
	芥菜型油菜 <i>B. juncea</i>	41	5
KH02 × 03K169	羽衣甘蓝	50	0
	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i>		

3 讨论

异源多倍体是物种演化的一个重要过程,在自然界中,尤其在植物界中广泛存在。人们通过远缘杂交,人工诱导多倍体,可以证明异源多倍体的自然发生过程和人工创造新种质资源的可能性,也是现代育种工作中的一个重要手段。也有部分科学工作者希望通过亲缘关系较远的物种间杂交,人工合成新的物种,如1927年Karpechenko通过萝卜和甘蓝的属间杂交,获得了一个异源四倍体新物种萝卜甘蓝,但是没有获得预期的经济效益;比较成功的例子是鲍文奎教授通过普通小麦和黑麦杂交创造的新物种小黑麦,既保持了小麦的丰产性和种子的优良品质,又保持了黑麦的抗逆性和蛋白质高的特点,并在一定地方推广。油菜是世界上重要的油料作物之一,其中甘蓝型油菜在我国现阶段种植面积最大,笔者对其近缘种研究和利用仅限于人工合成甘蓝型油菜或者将某一优良性状导入甘蓝型油菜^[1-13],而极少看到芸薹属内的多倍体育种,即将A、B、C染色体

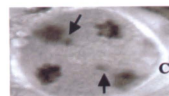
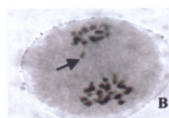
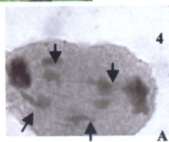
组集中在一起形成六倍体。羽衣甘蓝作为甘蓝的一个变种,主要作观赏用和食用。西南农业大学重庆油菜研究工程技术中心从1990年开始从油菜育种材料的角度引进和选育羽衣甘蓝,1994年发现了黄籽羽衣甘蓝。与甘蓝型油菜相比,黄籽羽衣甘蓝植株较矮、分枝部位低,一次有效分枝数目多,分枝间距小,抗倒伏,在大田生长期病虫害极轻,几乎没有发现蚜虫和菜青虫,没有感病毒病、菌核病,是理想的甘蓝型油菜遗传育种研究近缘材料。本研究利用芥菜型油菜和黄籽羽衣甘蓝杂交,希望通过自然和人工加倍获得六倍体植株,从研究结果看,形成了具有A、B、C三套染色体组的新物种,但其表现为三倍体,没有加倍。该新物种自交不亲和,植株高大,结实率低,和理想差距较大,不能用于油菜生产。但是,如果人为进行加倍,形成六倍体,其自交结实率是否能提高?植株形态如何?均有待后续研究。

黄籽甘蓝型油菜育种是现在油菜育种主攻目标之一,但是在自然界很难发现甘蓝型黄籽油菜,即使是现在的黄籽品种种皮上仍有黑色斑点、斑块或褐色的环带,种皮色泽为土黄、姜黄,没有纯黄。许多学者利用芸薹属种间杂交人工成功合成甘蓝型黄籽油菜,但黄籽基因的主要来源为黄籽白菜型油菜。本研究利用黄籽羽衣甘蓝和芥菜型油菜进行种间杂交,希望将羽衣甘蓝黄籽基因导入杂种,但得到的杂种籽粒为浅红色,与两个亲本的颜色相比,颜色较深,未得到理想的黄籽油菜后代。为什么黄籽芥菜型油菜 × 黄籽羽衣甘蓝的杂种籽粒颜色为红色?从籽粒颜色色素合成途径上来看,油菜种子发育过程中黑籽与黄籽种皮色泽差异与花色素、木质素、多酚化合物、黑色素有关^[16,17],黄籽油菜种皮色泽形成受到苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)的重要影响^[18,19];从遗传上,刘后利、李云昌、李加纳等认为甘蓝型油菜受到多对基因控制,且等位基因间,非等位基因间互作关系非常复杂^[20-22]。芸薹属作物3个基因组是在染色体数 $x=6$ 或 $x=5$ 的一个共同祖先种的基础上经次级多倍化后,再经过杂交修饰和染色体重排而产生的具有不同染色体数的栽培种类型,它们各自携带控制种皮色素合成的整套系统,且三套染色体组内基因的对数,基因内、基因间的相互作用有一定的差异。因此,笔者认为,单个染色体组中控制粒色的基因位点由于突变不能完成色素正常合成时,种皮表现为无色、种子表现为黄色;而在本研究中,由于A、B染色

体组相同的基因突变可能导致芥菜型油菜表现为黄籽,但是当它和黄籽羽衣甘蓝杂交时,由于基因突变位点不同,形成互补,使得种皮色素合成成为可能,导致籽粒为浅红色。虽然合成杂种的籽粒颜色并非预期的黄色,但是可能已经将羽衣甘蓝C染色体组的黄籽基因和芥菜型油菜的A、B染色体组结合在一起,如果将杂种同黄籽甘蓝型油菜杂交和连续回交,极可能将A、C染色体组的黄籽基因集中,在其后代中选出纯度较高的黄籽甘蓝型油菜。

References

- Li Z-Y(李再云), Liu H-L(刘后利). New hybrid and its backcross generation derived from intergeneric hybrid between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus*. *Journal of Huazhong Agricultural University*(华中农业大学学报), 1995, 14(1):33-37(in Chinese with English abstract)
- Li Z-Y(李再云), Wu J-G(吴建国), Shi S-W(石淑稳), Liu H-L(刘后利). Meiotic observations on intergeneric hybrids between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus*. *Acta Genetica Sinica*(遗传学报), 1997, 24(4):373-379(in Chinese with English abstract)
- Xu L-Y(徐利远), Yang J-X(杨吉秀), Xuan P(宣朴). A study on distant hybridization between *Brassica napus* and *Raphanus sativus* var. *oleifera*. *Journal of Southwest Agricultural University*(西南农业大学学报), 1995, 17(2):102-106(in Chinese with English abstract).
- Olsson G. Species crossing with in the genus *Brassica*. I. Artificial *Brassica napus*. *Hereditas*, 1960, 46: 351-366
- Nagahara U. Genome analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Japanese Jour Bot*, 1935, 7:389-452
- Wen Y-C(文雁成), Zhang S-F(张书芬), Wang J-P(王建平), Li G-Y(栗根义), Zhang X-W(张晓伟). Studies on synthetic *Brassica napus* by interspecific hybridization between *B. oleracea* and *B. campestris*. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*(中国油料作物学报), 1999, 21(4):8-11(in Chinese with English abstract)
- Yin J-M(殷家明), Chen S-Z(陈树忠), Tang Z-L(唐章林), Chen L(谏利), Li J-N(李加纳). Resynthesis of *Brassica napus* through interspecific hybridization between yellow-seeded *B. oleracea* var. *acephala* and *B. campestris*. *Southeast China Journal of Agricultural Sciences*(西南农业大学学报), 2004, 17(2):149-151(in Chinese with English abstract)
- Zhang G-Q(张国庆), Tang G-X(唐桂香), Zhou W-J(周伟军). A preliminary study on the interspecific hybridization of *B. campestris* × *B. oleracea* through ovary culture. *Scientia Agricultura Sinica*(中国农业科学), 2003, 36(11):1409-1413(in Chinese with English abstract)
- Zhou Q-Y(周清元), Li J-N(李加纳), Yin J-M(殷家明), Tang Z-L(唐章林), Chen L(谏利), Tao L(陶澜). Preliminary studies on interspecific hybridization between *B. campestris* and *B. oleracea* var. *acephala*. I. The effect of time of ovary taking on seed forming *in vitro* culture. *Journal of Southwest Agricultural University*(Natural Science) (西南农业大学学报·自然科学版), 2003, 25(6):495-497, 509(in Chinese with English abstract)
- Chen B Y, Heneen W K, Josson R. Resynthesis of *Brassica napus* L. through interspecific hybridization between *B. alboglabra* bailey and *B. campestris* with special emphasis on seed colour. *Plant Breeding*, 1988, 101(1):52-59
- Poulsen M H, Rahman M H, Stolen Sorenson H. Interspecific crossing of *Brassica carinata* and *B. oleracea* for breeding yellow-seeded *B. oleracea*/*B. napus*. In: Proceedings of 8th Rapeseed Congress, 1991. 197-202
- Meng J L, Gan L, Shi S W. Doubled transfer of yellow-seeded genes from *Brassica campestris* and *B. carinata* to *B. napus*. In: Abstracts Collection of 94th Sino-British Workshop on *Brassica* Genetics and Breeding, 1994. 8
- Meng Jinling, Shi Sawen, Gan Li, Li Zaiyung, Qu Xinsun. The production of yellow seeded *Brassica napus* (AACC) through crossing interspecific hybrids of *B. campestris* (AA) and *B. carinata* (BBCC) with *B. napus*. *Euphytica*, 1998, 103(3):329-333
- Bai B-Z(白宝璋). A Guide to Experiments in Plant Physiology(植物生理学实验指导). Jilin: Jilin Agricultural Press, 1993.137-139(in Chinese)
- Meng J-L(孟金陵). The latest development on interspecific hybridization in *Brassica*. *Foreign Agronomy—Oldcrop*(国外农业—油料作物), 1993, (1):1-7(in Chinese)
- Ye X-L(叶小利), Li X-G(李学刚), Li J-N(李加纳). Mechanism of melanin synthesis in seed coat of *Brassica napus* L. *Acta Agronomica Sinica*(作物学报), 2002, 28(5):638-643(in Chinese with English abstract)
- Wang H-Z(王汉中), Liu H-L(刘后利). Quantitative variation of anthocyanidins, polyphenols, trans-cinnamic acid and PAL activity in seed hulls of black- and yellow-seeded *B. napus*. *Journal of Huazhong Agricultural University*(华中农业大学学报), 1996, 15(6):509-513(in Chinese with English abstract)
- Liang Y-L(梁艳丽), Liang Y(梁颖), Li J-N(李加纳). Difference between yellow and black seedcoat in *B. napus*. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*(中国油料作物学报), 2002, 24(4):14-18(in Chinese with English abstract)
- Liang Y(梁颖), Li J-N(李加纳). Relationship of the color formation and related enzymes and protein content of the spermodermis in *Brassica napus*. *Scientia Agricultura Sinica*(中国农业科学), 2004, 37(4):522-527(in Chinese with English abstract)
- Liu H-L(刘后利). Studies on the inheritance of yellow-seeded *Brassica napus* L. *Acta Agronomica Sinica*(作物学报), 1992, 18(14):241-249(in Chinese with English abstract)
- Liu H-L(刘后利). Preliminary studies on finding and genetic behavior of yellow-seeded *Brassica napus* L. *Acta Genetica Sinica*(遗传学报), 1979, 6(1):54(in Chinese)
- Li J-N(李加纳), Zhang X-K(张学昆), Chen L(谏利), Wang R(王瑞), Cui C(崔翠). Initial study on the genetics of seed of the yellow-seeded lines (*Brassica napus* L.) from different genetic sources. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*(中国油料作物学报), 1998, 20(4):16-19, 42(in Chinese with English abstract)



图版 I 说明： 图 1：杂种与亲本的苗期植株和叶形态。A, C-b: 杂种 (KH02); B, C-a: 芥菜型油菜 (03K169); C-c: 羽衣甘蓝 (03K05)。 图 2：真假杂种在感染病毒病后的植株形态。A: 假杂种; B: 真杂种 KH02。 图 3：芥菜型 × 羽衣甘蓝杂种与亲本的植株形态。A: 芥菜型油菜 (03Y169); B: 杂种 (KH02); C: 羽衣甘蓝 (03K05)。 图 4：合成杂种减数分裂后期细胞。A, B: 后期 I; C: 后期 II; 箭头标示为落后染色体。

Explanation of Plate I : Fig.1: The seedlings and leaves of hybrid and parents. A, C-b: Hybrid (KH02); B, C-a: *Brassica juncea* (03K169); C-c: *B. oleracea* var. *acephala* (03K05). Fig.2: Hybrid (KH02); B, C-a: *Brassica juncea* (03K169); C-c: *B. oleracea* var. *acephala* (03K05). Fig.3: The hybrid plant and its parents. A: *B. juncea* (03Y169); B: Hybrid (KH02); C: *B. oleracea* var. *acephala* (03K05). Fig.4: The cell of anaphase of hybrid. A, B: Anaphase I; C: Anaphase II; Lag chromosomes shown by arrows.