

甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂交后代形态学与细胞学研究

朱程, 黄桃翠, 刘希忠, 唐世义 (重庆市农业科学院, 重庆 400000)

摘要 [目的] 培育稳定的粉红色观光类油菜新品种。[方法] 对甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂交 F_0 代进行形态学观察、体细胞观察、花粉母细胞观察。[结果] 甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂交 F_0 代的 20 个株系中, 存在 15 个粉红色株系, 3 个淡粉色株系和 2 个橘红色株系, 其花瓣直径均大于亲本油菜。在株高、分支起点、一次分枝数、主花序长度、主花序角果数等性状上, 属间杂种平均比亲本油菜减少 18.5%~81.2%。杂种细胞染色体数目变化于 40~48 条间, 42 条最多。终变期花粉母细胞减数分裂配对构型主要为 21 个二价体, 后期 I 大多数表现出 19:23, 19:25 和 22:25 的分离方式, 并观察到染色体落后等异常现象。[结论] 该研究为选育经济性状优异且保留粉红色特征的油菜资源材料奠定了基础。

关键词 甘蓝型油菜; 诸葛菜; 远缘杂交; 形态学; 细胞学

中图分类号 S334 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2019)05-0053-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.05.014



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Morphological and Cytological Studies on Intergeneric Hybrid Progenies of *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus*

ZHU Cheng, HUANG Tao-cui, LIU Xi-zhong et al (Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400000)

Abstract [Objective] Breeding stable new pink sightseeing rapeseed varieties. [Method] Morphological observation, somatic cell observation and pollen mother cell observation were carried out on F_0 generation of intergeneric hybridization between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus*. [Result] Among the 20 lines of hybrid F_0 generation between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus*, there were 15 lines of pink color, 3 lines of light pink color and 2 lines of orange color. On the characters of plant height, branch starting point, primary branch number, main inflorescence length and main inflorescence pods, the intergeneric hybrids reduced by 18.5%~81.2% compared with the parent rapeseed. The number of chromosomes in hybrid cells varied from 40 to 48, with 42 being the most. The mating configuration of meiosis of pollen mother cells in the final stage was mainly 21 bivalent bodies, and most of the later stage I showed the separation patterns of 19:23, 19:25 and 22:25, and abnormal phenomena such as chromosome lag were observed. [Conclusion] This study laid a foundation for breeding rapeseed resource materials with excellent economic traits and retaining pink characteristics.

Key words *Brassica napus*; *Orychophragmus violaceus*; Intergeneric hybridization; Morphology; Cytology

诸葛菜(又名二月兰), 属十字花科芸薹族诸葛菜种, 常异花授粉植物。诸葛菜作为一种野生油料植物资源, 具有油分品质优良和农艺性状较好的特点, 种子含油量高达 50% 以上, 特别是其亚油酸比例较高, 有益于人体健康, 是很好的油料植物。在农艺性状方面, 诸葛菜的有效分枝、有效角果、每角粒数多, 种子千粒重大、单株产量高, 具有丰产潜力, 故诸葛菜可以作为油菜的近缘种质资源加以利用。近年来, 随着国家乡村振兴战略的实施, 各地陆续开展形式多样的油菜花节以促进旅游观光业的发展。诸葛菜花瓣颜色为紫红色, 其与油菜远缘杂交后代部分花色呈粉红色, 丰富了油菜花色, 但远缘杂种后代细胞多混倍体, 花色性状不能稳定遗传。前人采用不同方法, 相继开展了诸葛菜与甘蓝型油菜物种间的远缘杂交, 获得了诸葛菜和甘蓝型油菜的有性杂种和体细胞杂种, 并对杂种后代进行了形态学和细胞学等方面的研究。重庆市农业科学院油菜研究室通过胚挽救技术成功获得了花瓣颜色为粉红色的杂种后代。为培育稳定的粉红色观光类油菜新品种, 笔者对该杂种后代 F_0 代进行形态学和细胞学的分析和鉴定。

1 材料与方

1.1 材料 甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种 F_1 经连续 3 代实验室胚挽救和大田自交 3 代, 每代只保留具有粉红色花性的种子, 得到较稳定的粉红色 F_0 代材料。

1.2 方法

1.2.1 形态学观察。 选取 20 个 F_0 代株系, 以油菜亲本为对照, 用游标卡尺测量开花期花瓣直径, 观察花瓣形态和颜色, 考察成熟期株高、分支起点、一次分枝数、主花序长度、主花序角果数等农艺性状。

1.2.2 体细胞观察。 取组织培养幼苗的根尖, 在 0.002 mol/L 8-羟基喹啉中预处理 4 h, 用卡诺氏固定液 II(乙醇:乙酸:氯仿=6:1:3)固定 24 h, 转入 70% 乙醇中保存。采用压片法制片, 压片前, 用 1 mol/L HCl 在 60 °C 水里解离处理 15 min, 改良苯酚品红染色, 并在 Olympus GX41 显微镜下镜检, 观察摄影。

1.2.3 花粉母细胞观察。 开花期取整个花序的花蕾, Carnoy 氏固定液固定 24 h, 然后转入 70% 乙醇中, 保存于 4 °C 冰箱内。取 2 mm 左右花蕾, 挑出花药, 用 1 mol/L HCl 在 60 °C 水里解离 3~5 min, 用改良苯酚品红染色压片法观察花粉母细胞(PMC)减数分裂。

2 结果与分析

2.1 植株性状和花瓣形态 甘蓝型油菜与诸葛菜远缘杂交 F_0 代的 20 个株系中, 有 15 个粉红色株系(表 1), 3 个淡粉色株系, 另还有 2 个株系花色为橘红色(图 1); 对照组亲本油菜的花瓣平均直径为 2.8 cm, 粉红和淡粉色株系花瓣的平均直径分别为 3.6 和 3.9 cm, 显著大于对照组; 而橘红色株系花瓣平均直径为 3.1 cm, 与对照组相近。 F_0 代株系植株株高的变化范围为 161.4~179.1 cm, 平均株高为 170.4 cm, 各株系间变异幅度很小, 对照组平均株高为 196.5 cm, F_0 代

植株株高显著低于对照组,受株高影响, F_6 代植株平均分支起点高度只有37.8 cm,比对照组分支起点低81.2%,一次分支数平均为6.3个,显著低于对照组的9.5个。 F_6 代株系植株的主花序长度变异范围为47.3~60.3 cm,变异幅度较小,平均长度为54.2 cm,对照组植株的主花序长度平均为66.5 cm;

在主花序角果数性状上, F_6 代株系植株的最大值为78.2,最小值为52.1,平均为66个,对照组主花序角果数平均为88.8个,两者相差了20余个角果数。综上所述,油菜与诸葛菜远缘杂交 F_6 代的植株虽然在花瓣颜色上存在较大的变异,丰富了油菜的花色,但其在各经济性状指标上均显著低于亲本油菜。

表1 属间杂种与亲本油菜植株性状和花瓣表现

Table 1 The plant traits and petals performance of intergeneric hybrids and parents in *Brassica napus*

编号 Number	花色 Color	花瓣直径 Petals diameter cm	株高 Plant height cm	分支起点 Branch start cm	一次分支数 Primary branch number//个	主花序长度 Length of main inflorescence//cm	主花序角果数 Pod number of main infloresce//个
T ₁	粉红	3.5	167.1	43.2	6.4	55.3	69.2
T ₂	粉红	3.0	173.8	32.0	5.2	52.1	73.6
T ₃	粉红	4.2	177.9	38.5	5.1	56.4	77.4
T ₄	淡粉红	3.9	162.3	41.4	4.3	48.2	71.9
T ₅	粉红	3.7	165.3	29.1	6.8	50.4	62.5
T ₆	粉红	3.6	179.1	44.5	5.9	52.3	73.3
T ₇	粉红	3.0	178.2	42.3	7.1	60.3	78.2
T ₈	橘红	3.2	168.4	35.0	7.7	56.3	68.5
T ₉	粉红	3.4	167.8	37.8	6.6	57.8	69.4
T ₁₀	橘红	3.0	162.1	32.1	7.0	54.0	63.2
T ₁₁	粉红	3.0	167.2	36.5	5.4	59.2	60.5
T ₁₂	粉红	4.0	169.3	35.2	5.9	56.4	63.5
T ₁₃	粉红	4.0	169.8	38.1	6.4	53.6	66.4
T ₁₄	淡粉红	4.2	171.2	48.7	6.6	57.6	64.1
T ₁₅	粉红	3.8	178.4	41.3	7.2	49.8	62.2
T ₁₆	粉红	3.8	161.4	32.6	5.6	52.2	58.1
T ₁₇	淡粉红	3.7	168.2	35.1	5.4	56.9	52.1
T ₁₈	粉红	3.7	168.3	32.3	6.3	57.6	56.2
T ₁₉	粉红	4.1	175.3	41.0	6.8	47.3	53.5
T ₂₀	粉红	3.8	177.2	38.9	7.3	50.5	76.1
CK ₁	黄	2.8	201.7	71.7	9.3	66.3	83.3
CK ₂	黄	2.7	191.3	59.3	9.7	66.7	94.3



注:从上往下依次为粉红、淡粉红和橘红色花瓣

Note: Pink, light pink and orange petals from top to bottom

图1 属间杂种株系花瓣形态

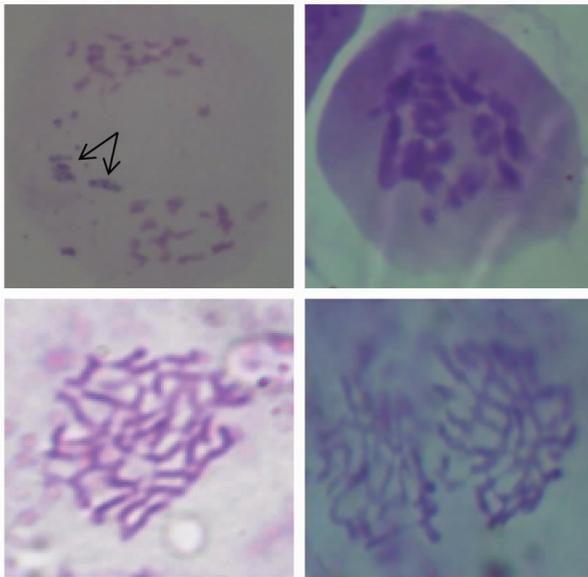
Fig. 1 Petal morphology of intergeneric hybrid lines

2.2 F_6 代株系细胞学特征 20个 F_6 代株系植株的根尖和子房细胞具有40、42、44、47和48条染色体,其中 $2n=42$ 的

植株出现频率最高,染色体数为44的植株出现频率也较高,且植株多为混倍体,其有丝分裂和减数分裂特征类似于五倍体植株。终变期花粉母细胞(PMCs)减数分裂配对构型主要为21个二价体(n),同时也观察到三价体和四价体的存在,后期I(AI)大多数表现出19:23、19:25和22:25的分离方式,其他分离方式同时存在,在3~5个落后染色体以较低频率出现在某些株系的细胞内,特别是在后期和末期I(后期和末期有时可以观察到3~5条染色体被落后),落后染色体和染色体桥与其他染色体同步分裂至细胞的两极(图2)。

2.3 形态学和细胞学分析 橘红花色植株体细胞 $2n=40$ 的植株出现频率最高,而粉红花色植株体细胞染色体数目主要集中在42和44条,在减数分裂后期均发现落后染色体的存在,由于诸葛菜染色体的存在, F_6 代株系在农艺性状上与亲本油菜存在较大的差异,具有明显的诸葛菜特征。橘红花色株系比粉红花色株系的细胞染色体数目更接近亲本甘蓝型油菜,体细胞内部来源于诸葛菜的染色体较少,因此其花色更接近黄色,花瓣大小也与亲本油菜相近。在粉红花色油菜株系中还发现了少量的淡粉红色油菜,对比形态和细胞学的

关系,发现其中淡粉红色植株往往比粉红色植株更具有细胞学不稳定性,这些植株多为混倍体,在后期 I 多发现染色体桥或落后染色体,在四分体之后往往形成多分孢子。



注:图片依次为花粉母细胞减数分裂后期 I、染色体数目为 42 的体细胞、减数分裂粗线期、细线期花粉母细胞;箭头指向落后染色体

Note: The pictures are pollen mother cells at anaphase I of meiosis, somatic cells with 42 chromosomes, pollen mother cells at pachytene and leptotene stages of meiosis; arrows point to lagging chromosomes

图 2 属间杂种植株的染色体数目和减数分裂

Fig. 2 Chromosome number and meiosis of intergeneric hybrid plants

3 讨论

甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种的染色体数目理论上应为 62 条,但经过多代无性繁殖后 F_6 代株系植株细胞染色体数目减少到 40~48 条,远远低于理论值,这说明甘蓝型油菜与诸葛菜杂种体细胞染色体发生了大量的丢失,这种现象在甘蓝型油菜与海甘蓝和蓝花子的杂种中也被观察到^[1-3]。这种现象可以用减数分裂驱动解释。减数分裂驱动是指在减数分裂中由同源染色体的不等分离所引起群体遗传结构发生变化的综合机制,它对个体适应值无利害关系,可使减数分裂中分离染色体多的一方增加连锁群的频率^[4-5]。这种机制偏离了孟德尔定律,在新形成的异源多倍体中通过异染色质、染色体断裂或落后染色体、染色体桥的形成产生作用。

李再云^[6]认为在甘蓝型油菜与诸葛菜杂种植株的生长

发育过程中及杂种苗的组织培养快速繁殖中均发现细胞消除现象,即有诸葛菜染色体的核质杂种细胞逐渐被消除,产生的性细胞数目减少,从而造成 2 个种的染色体组在后代的差异传递率。在多代自交过程中,来源于诸葛菜的染色体在减数分裂后期通过形成落后染色体或染色体桥的形式逐步消除核质杂种细胞,最终在杂种高世代基本剔除掉来源于诸葛菜的染色体。因此,该研究所获得的属间杂种体细胞中,染色体细胞数目不同程度的下降,很可能是甘蓝型油菜的染色体组得到保留,而诸葛菜的染色体大量丢失的原因。

该研究发现,甘蓝型油菜和诸葛菜属间杂种 F_6 代体细胞染色体数目为 40、42、44、47 和 48 条,其中 $2n=42$ 的植株出现频率最高;终变期花粉母细胞 (PMCs) 减数分裂配对构型主要为 21 个二价体 (n),同时也观察到三价体和四价体的存在,后期 I (AI) 大多表现出 19:23、19:25 和 22:25 的分离方式,有较多的落后染色体或染色体桥存在,这与前人在甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种后代的细胞学研究结论相近^[7-10]。该研究的目的是以远缘杂交后代表型偏粉红花色的油菜变异群体进行形态学和细胞学方面的研究,培育稳定的粉红观光类油菜新品种,结果发现,在经济性状方面,杂种后代表型带有明显的诸葛菜特征,不利于油菜的高产。今后,会提高属间杂种自交代数,以期在高世代中找到经济性状优异且保留粉红花色特征的油菜资源材料。

参考文献

- [1] WAN Y P, SNOWDON R J, RUDLOFF E, et al. Cytogenetic characterization and fae1 gene variation in progenies from asymmetric somatic hybrids between *Brassica napus* and *Crambe abyssinica* [J]. *Genome*, 2004, 47(4): 724-731.
- [2] WAN Y P, SONNTAG K, RUDLOFF E. Development of rapeseed with high erucic acid content by asymmetric somatic hybridization between *Brassica napus* and *Crambe abyssinica* [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 106(7): 1147-1155.
- [3] XU L Y, LUO P, LAN Z Q. A study on distant hybridization between *Brassica napus* and *Raphanus sativus* var. *oleifera* and the formation of amphidiploids [J]. *Acta genetica sinica*, 1996, 23(2): 124-130.
- [4] SANDLER L, NOVITSKI E. Meiotic drive as an evolutionary force [J]. *The American naturalist*, 1957, 91(857): 105-110.
- [5] GANETZKY B. Yuichiro hiraizumi and forty years of segregation distortion [J]. *Genetics*, 1999, 152(1): 1-4.
- [6] 李再云. 甘蓝型油菜与诸葛菜远缘杂交研究和诸葛菜的应用研究 [D]. 成都: 四川大学, 1992.
- [7] 简兴武, 吴建国, 石春海. 远缘杂交油菜核不育系的创建及其细胞学和形态学研究 [J]. *遗传*, 2005, 27(3): 403-409.
- [8] 王爱凡, 康雷, 李鹏飞, 等. 我国甘蓝型油菜远缘杂交和种质创新研究进展 [J]. *中国油料作物学报*, 2016, 38(5): 691-698.
- [9] 马竟. 高油酸的甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂交新材料的细胞学和遗传学研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
- [10] 徐传远. 三大类型油菜与诸葛菜远缘杂交后代的选育及遗传分析 [J]. 武汉: 华中农业大学, 2007.