

引用格式:

杨淑婕, 郭诗芬, 彭雅雯, 刘忠松. 油菜芥甘种间杂交后代 F₂ 及 BC₁F₁ 群体的遗传分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(6): 631–639.

YANG S J, GUO S F, PENG Y W, LIU Z S. Genetic analysis of F₂ and BC₁F₁ progenies from the interspecific cross between *Brassica juncea* and *Brassica napus*[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2023, 49(6): 631–639.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



油菜芥甘种间杂交后代 F₂ 及 BC₁F₁ 群体的遗传分析

杨淑婕, 郭诗芬, 彭雅雯, 刘忠松*

(湖南农业大学农学院, 湖南 长沙 410128)

摘要: 根据芥菜型油菜和甘蓝型油菜染色体特异基因的序列设计引物, 对芥菜型油菜‘四川黄籽’与甘蓝型油菜‘中双 11’杂交后代 F₂ 和 BC₁F₁ 群体进行基因型分析, 研究芥甘杂种后代中染色体的遗传规律。结果表明: 甘蓝型油菜来源的 Aⁿ03、Aⁿ08、Aⁿ09、Aⁿ10、Cⁿ03、Cⁿ09 等 6 条染色体和芥菜型油菜来源的 Aⁱ03、Aⁱ10 染色体在 BC₁F₁ 群体中未见丢失, 但 Bⁱ07 染色体丢失频率最高, 达 62.83%; F₂ 群体中, 芥菜型油菜来源的 Aⁱ、Bⁱ 基因组染色体比甘蓝型油菜来源的 Aⁿ、Cⁿ 基因组染色体丢失多, 甘蓝型油菜来源的 Aⁿ08、Cⁿ03 染色体和芥菜型油菜来源的 Bⁱ08 染色体丢失少, 分别为 1.36%、1.36% 和 0.90%, 而 Bⁱ07 染色体丢失多, 达 56.56%; BC₁F₁ 群体套袋自交平均结实率仅 0.60, 最高达 5.31, 自由授粉平均结实率为 1.95, 最高达 12.85; F₂ 群体套袋自交平均结实率仅 0.66, 最高达 17.70, 自由授粉平均结实率为 2.18, 最高达 23.05。综上, 芥甘杂交后代中芥菜型油菜遗传物质比甘蓝型油菜亲本的遗传物质更容易丢失, 要将芥菜型油菜优良的基因导入甘蓝型油菜创制优质种质, 需在油菜芥甘杂交育种的早期世代促进其染色体重组配对。

关键词: 油菜; 芥甘杂交; 基因标记; 染色体; 花粉可染率; 结实率

中图分类号: S565.403.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2023)06-0631-09

Genetic analysis of F₂ and BC₁F₁ progenies from the interspecific cross between *Brassica juncea* and *Brassica napus*

YANG Shujie, GUO Shifen, PENG Yawen, LIU Zhongsong*

(College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

Abstract: The primers were designed by use of the sequences of chromosome-specific genes in *Brassica juncea* and *B. napus* as template and genotyping was performed to trace the transmission of chromosomes in the F₂ and BC₁F₁ populations of *B. juncea* × *B. napus* hybrids. The results showed that the chromosomes Aⁿ03, Aⁿ08, Aⁿ09, Aⁿ10, Cⁿ03 and Cⁿ09 from *B. napus* and Aⁱ03 and Aⁱ10 from *B. juncea* were not lost in the BC₁F₁ population, while loss frequency of the chromosome Bⁱ07 was the highest, 62.83%. In the F₂ population, the Aⁱ- and Bⁱ-genome chromosomes from *B. juncea* were lost more frequently than the Aⁿ- and Cⁿ- genome from *B. napus*, and the chromosomes Aⁿ08 and Cⁿ03 from *B. napus* and Bⁱ08 from *B. juncea* were lost at frequency of 1.36%, 1.36% and 0.90%, respectively. However, the chromosome Bⁱ07 was lost at 56.56%. For the BC₁F₁ progeny, with the mean seed setting of 0.60, up to 5.31 under self-pollination, and 1.95, up to 12.85 under open pollination. For the F₂ progeny the mean seed setting of 0.66, up to 17.70 under self-pollination, and 2.18, up to 23.05 under open pollination. These results provided a theoretical basis for breeding by interspecific cross of *B. juncea* and *B. napus*, which would help enhance germplasm of *B. napus* by introducing elite genes of *B. juncea*.

Keywords: rape; interspecific cross between *Brassica juncea* and *B. napus*; gene marker; chromosome; pollen stainability;

收稿日期: 2023-04-17

修回日期: 2023-11-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(U20A2029、31571712)

作者简介: 杨淑婕(1998—), 女, 湖南湘潭人, 硕士研究生, 主要从事油菜分子育种研究, 674048919@qq.com; *通信作者, 刘忠松, 博士, 教授, 主要从事油菜分子育种研究, zslu48@sohu.com

seed setting

芥菜型油菜(*Brassica juncea*)是异源四倍体^[1],其基因组组成为 $A^iA^jBB(2n=4x=36)$; 甘蓝型油菜(*Brassica napus*)也是异源四倍体^[2],其基因组组成为 $A^nA^nCC(2n=4x=38)$ 。芥菜型油菜具有耐贫瘠、耐旱、抗病、抗裂角、角果多、黄籽品种多、亚油酸和亚麻酸含量高等特点^[3]。甘蓝型油菜具有角果大、籽粒多、油酸含量高、抗病毒病和霜霉病等特点^[4]。芥甘杂交能将两者优良性状重组,是种质创新的有效途径,已在育种实践上广泛利用^[5-7],如用于抗病^[8-9]、抗裂角^[10]、抗旱^[11]、产量^[12]、抗虫^[13]、黄籽^[14-15]、开花时间^[16]、早熟性^[17]等性状的改良。

在芸薹属植物中, A、B、C 3 个基因组之间具有亲缘关系,它们之间存在同源区段。芥菜型油菜与甘蓝型油菜的 A 基因组(A^j 、 A^n)染色体也存在结构差异,通过杂交产生基因重组,能产生新的种质资源,丰富遗传多样性,提高杂种优势^[18]。利用简单重复序列(SSR)标记,得到的杂种 F_1 代和 BC_1 植株能稳定检测到 C 基因组特异性标记,而 BC_2 至 BC_5 世代中很少检测到^[18]。MASONA 等^[19]采用荧光原位杂交(FISH)与基因组原位杂交(GISH),发现芥甘杂种植株在减数分裂时期会形成 6~17 个单价体, 3~11 个二价体, 1~7 个三价体, B 组染色体很少和 C 组染色体联会,异源联会频率受父本甘蓝型油菜基因型的影响。MASONA 等^[20]通过高分辨的分子标记技术分析,发现芥甘杂种中因存在单价染色体, A 基因组重组显著增加,除 A^j7 外,其他染色体高度同源配对,平均每条染色单体发生 2.4 次断裂,而 A^3 、 A^9 多达 8 次。 A^j7 染色体与 C^n6 染色体配对,说明 A^j7 染色体携带的基因可能会转移到 C^n6 染色体。用 B 基因组特异重复序列 pBNBH35 扩增产物作探针进行 FISH 分析,发现芥菜型油菜 B 基因组整条染色体导入得少,而小片段导入的频率高^[21]。NAVABIZ 等^[22-23]用基因组特异、染色体特异 SSR 标记分析甘蓝型油菜与埃塞俄比亚芥($2n=4x=34$)的杂交种($A^nB^cC^nC^c$)与甘蓝型油菜的回交后代,发现 B^c3 、 B^c7 染色体的部分片段可导入到 A^n 、 C^n 基因组染色体。刘忠松等^[24]通过 RAPD 分子标记发现芥甘杂交后代中芥菜型油菜遗传物质

比甘蓝型油菜亲本遗传物质丢失更快。谢晋^[25]采用 SSR 引物对 B 基因组进行扩增,由于 B 组染色体不能正常配对,导致 B 基因组遗传物质很容易丢失,并且 B04、B05、B07、B08 染色体上的遗传物质丢失最快。

为更好地研究芥甘杂交(后代)的遗传特性,以创制具有芥菜型油菜优良特性的甘蓝型油菜材料,本研究以芥菜型油菜‘四川黄籽’为母本、甘蓝型油菜‘中双 11’为父本进行杂交,杂种 F_1 植株自交得到 F_2 代植株 221 株,与‘中双 11 号’回交得到 BC_1F_1 植株 113 株。对这些后代进行基因标记,统计群体自由授粉结实率与自交结实率,以分析芥甘杂交群体的各染色体的遗传丢失规律,为将芥菜型油菜优良的基因导入甘蓝型油菜,创制优质种质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以芥菜型油菜‘四川黄籽’(SY)为母本、甘蓝型油菜‘中双 11’(ZS11)为父本进行杂交,将杂种 F_1 与 ZS11 回交得到 BC_1F_1 群体(H 群体)113 株,编号 H1 至 H113; 杂种 F_1 自交得到 F_2 群体(Z 群体)221 株,编号 Z1 至 Z221。

1.2 基因组 DNA 提取

取油菜幼嫩叶片,采用 CTAB 法提取 gDNA。采用 NanoDrop 微量分光光度计(Thermo Fisher Scientific)测定叶片 DNA 浓度;取部分原液稀释至 50 ng/ μ L,其余母液置于 -20°C 冰箱保存。

1.3 引物设计

在网站 <http://10.100.128.132/login.php> 与 BnPIR 网站(<http://cbi.hzau.edu.cn/bnapus/index.php>)查找油菜各染色体上具有代表性的特异基因,并找到其在 ZS11 与 SY 的拷贝(表 1)及其基因序列。运用 DNAMAN 软件进行序列比对,找出差异序列并通过 NCBI-Primer BLAST 设计特异性引物(表 2),交由生工生物工程(上海)有限公司合成。

表 1 油菜各亚基因组上的特异基因

Table 1 Specific genes in each subgenome of *Brassica juncea* and *B. napus*

基因	所在染色体	A 亚基因组	所在染色体	B 亚基因组	所在染色体	C 亚基因组
<i>TT8</i>	A09	BnaA09G0260600ZS BjuA09g45700S	B08	BjuB08g18790S	C09	BnaC09G0307700ZS
<i>FAD2</i>	A01	BnaA01G0369500ZS BjuA01g05200S	B07	BjuB07g47080S	C01	BnaC01G0461200ZS
<i>FAD2</i>	A05	BnaA05G0427800ZS BjuA05g32120S	B01	BjuB01g06950S	C05	BnaC05G0480500ZS
<i>MYB28</i>	A02	BnaA02G0394700ZS BjuA02g02620S	B04	BjuB04g51840S	C02	BnaC02G0527500ZS
<i>FAE1</i>	A08	BnaA08G0134700ZS BjuA08g14230S	B03	BjuB03g42000S	C03	BnaC03G0494000ZS
<i>FAD3</i>	A04	BnaA04G0191900ZS BjuA04g18940S			C04	BnaC04G0180200ZS
<i>FT</i>	A07	BnaA07G0282700ZS BjuA07g27930S			C06	BnaC06G0323800ZS
<i>CO</i>	A10	BnaA10G0206200ZS BjuA10g20160S	B02	BjuB02g66260S		
<i>LAA7</i>	A03	BnaA03g36950D BjuA03g21570S				
<i>DS-1</i>	A06	BnaA06g34810D BnaA06g04280S				
<i>CCD4</i>			B05	BjuB05g48290S		
<i>AGL1</i>			B06	BjuB06g04840S		
<i>DS-3</i>					C07	BnaC07g20900D
<i>CDE1</i>					C08	BnaC08g34850D

表 2 本研究所用引物

Table 2 The primers used in this study

引物	引物序列(5'-3')	A ⁿ 目标片段 长度/bp	A ^l 目标片段 长度/bp	B ^l 目标片段 长度/bp	C ⁿ 目标片段 长度/bp
<i>TT8-A09-F</i>	CGTATTCAATGGTGTCTCCAAGG	855	2130		
<i>TT8-A09-R</i>	TGCATAAGCGGGAGAACCAGG				
<i>TT8-B08-F</i>	GAGTAAAAAGAAGAATGGGAATGGC			210	
<i>TT8-B08-R</i>	AATCCAAGTTGCACCCAGCAC				
<i>TT8-C09-F</i>	ACGTCATCGTCATCAGGAGAA				583
<i>TT8-C09-R</i>	TTACATGTTGACAAAAAGAAGAAG				
<i>FAD2-Aⁿ01-F</i>	TGCTATTATTGACAATTGCCCGTT	600			
<i>FAD2-Aⁿ01-R</i>	AATTCGGGTCACCGTTTTAC				
<i>FAD2-A^l01-F</i>	TGCTGTCGGAGATTGAAGGT		604		
<i>FAD2-A^l01-R</i>	GTTAATTTAGGTCACCGTTTTACC				
<i>FAD2-B07-F</i>	ATCAGCAACCCCTCTCGCAC			290	
<i>FAD2-B07-R</i>	ACAAGACACCCGTTGACGAT				
<i>FAD2-C01-F</i>	TAGGTTGGTGAAATAGAAAAGGTCA				337
<i>FAD2-C01-R</i>	TCCCAAACCTAGCACTCAAGGT				
<i>FAD2-A05-F</i>	ACCAGTAACAATTCGAACACTCTT	4834	3552		
<i>FAD2-A05-R</i>	TTCAACCGACGTTGAGAAATGT				
<i>FAD2-B01-F</i>	TTCTCCACCTGCACCCATT			211	

表 2(续)

引物	引物序列(5'-3')	A ⁿ 目标片段 长度/bp	A ⁱ 目标片段 长度/bp	B ^j 目标片段 长度/bp	C ⁿ 目标片段 长度/bp
FAD2-B01-R	ACACGTAGTATCCATTTTGTGG				
FAD2-C05-F	TGATGATGGTGAAAGAACAAGAAG				266
FAD2-C05-R	ACTTTCATTAATGCCACATTGAGGT				
MYB28-A ⁰² -F	ACAAAGTCCATATTCAAAACACACA	353			
MYB28-A ⁰² -R	AGAGATAAGATGGAAGACCACAGT				
MYB28-A ⁰² -F	AGAAACTTGTGTGTGTACGTTT		305		
MYB28-A ⁰² -R	GGGTTGGTTGTCTAATTTTCACT				
MYB28-B04-F	GTGTATGGATCCTCCAGCGA			235	
MYB28-B04-R	TACATGGAAATGAAATCATGGAAGT				
MYB28-C02-F	TCCTCCGTAATCATCATCTAGT				262
MYB28-C02-R	ACCAAACACATATTTTGCATCAGA				
FAE1-A ⁰⁸ -F	CTTGGCATTTGCCATGGGTC	290			
FAE1-A ⁰⁸ -R	TGGAAAGGGATTCCACTAACAGA				
FAE1-A ⁰⁸ -F	CGTGGAAGAATGTGGCATCA		545		
FAE1-A ⁰⁸ -R	ATTATGTTGCAACGGGCTGA				
FAE1-B03-F	AATGGGCTTACTCTAGGCCA			300	
FAE1-B03-R	CCTCCCCAGCTTGTGTGATCTT				
FAE1-C03-F	ACGGTTCATTCACGAAGCATT				423
FAE1-C03-R	CGTCGTTGGAAGAGATTTTCAGG				
FAD3-A04-F	TTCATGCCTTTTGTGGCAT	740	478		
FAD3-A04-R	TCTCTACGGATTGCTACTATAGCTC				
FAD3-C04-F	AACGATGGACCACTTAGAGCA				306
FAD3-C04-R	ATCATTTTACGCTAAGGACTCGAA				
FT-A ⁰⁷ -F	AGGGTTTGTGGTGATCAAGGA	367			
FT-A ⁰⁷ -R	GTCACGAGATGGTGTCTGTTACT				
FT-A ⁰⁷ -F	TGTCGCGTAACTGCACAGAA		531		
FT-A ⁰⁷ -R	TTTCCCCTTCGTGTCTCCG				
FT-C06-F	TCTCCCATGTAGACATCATTACAAA				283
FT-C06-R	ACCGAGCATATTTCCGGTTGT				
CO-A10-F	TCGGTTTATTTGCGCAGCC	736	354		
CO-A10-R	ATTGGCAGGATTGGAACACG				
CO-B02-F	CTTCCACATCAACTCGTGCC				259
CO-B02-R	GCTAACCAATAACATGGATATGCT				
LAA7-A03-F	AAGTCTGAGCCATCCCATCA	526	818		
LAA7-A03-R	CTGGTCAACTGTTTCATCGCA				
DS-1-A06-F	GTGGGGTTGTGACAAAAGAAGA	1005	764		
DS-1-A06-R	TCGAATCACACTCTGTACCTGAA				
CCD4-F	ACACCTGGAACAACACCATCA			603	
CCD4-R	AAAGCAATTCCTCCCGCA				
AGL1-F	GGGAGTAGTCACGACGCAG			729	
AGL1-R	AAGCTGAAGAGGAGGTTGGT				
DS-3-C07-F	TAACCAAGTGGTTTTGGTCCG				350
DS-3-C07-R	GCGGCCGTTTTGCTTAAA				
CDE1-C08-F	GGATAATTCGGGTTGGTTCGTTT				276
CDE1-C08-R	ACGGATCGAATATCTCTAGAACCA				

1.4 PCR 扩增

以 gDNA 为模板, PCR 扩增体系 10 μ L: 5 μ L 2 \times Phanta Max Buffer, 0.2 μ L 10 mmol/L dNTP Mix, 上、下游引物(10 μ mol/L)各 0.4 μ L, 1 μ L 50 ng/ μ L 基因组 DNA 模板, ddH₂O 加至 10 μ L。反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 57~60 $^{\circ}$ C(根据引物设定温度)退火 15 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30~60 s/kb, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。

1.5 凝胶电泳

按照扩增片段预期长度进行凝胶电泳。片段长度 200~500 bp, 使用 2% 琼脂糖凝胶; 片段长度 500~1000 bp, 使用 1.5% 琼脂糖凝胶; 片段长度大于 1000 bp, 使用 1% 琼脂糖凝胶。每个样品上样 5 μ L, 采用 5 V/cm 电泳分离(电泳缓冲液为 1 \times TAE) 0.5~1.0 h, 采用凝胶成像系统观察、拍摄。

1.6 花粉染色观察和结实率统计

取当天开花的花朵, 从花药中挤出花粉于载玻片上, 加 1~2 滴 1% 醋酸洋红溶液, 染色, 制片。呈深红色的花粉粒有生活力, 呈淡红色的花粉失去了部分生活力, 无色空瘪、畸形的为无生活力或不育的花粉粒。每个单株取 3 朵花, 每朵花观察 3 个视野, 计算花粉活力的平均值。

统计自交套袋获得的总角果数、总粒数和自由

授粉的总角果数、总粒数, 计算结实率。

2 结果与分析

2.1 油菜芥甘杂交后代群体基因标记分析

2.1.1 BC₁F₁ 群体基因标记分析

在芥菜型油菜 A^j(A^j01 至 A^j10)、B^j(B^j01 至 B^j08) 和甘蓝型油菜 Aⁿ(Aⁿ01 至 Aⁿ10)、Cⁿ(Cⁿ01 至 Cⁿ09) 的每条染色体上都设计 1 个基因标记, 以分析 113 株 BC₁F₁ 植株的染色体组成。结果(表 3)表明, 回交群体中来源于甘蓝型油菜的 Aⁿ03、Aⁿ08、Aⁿ09、Aⁿ10、Cⁿ03、Cⁿ09 共 6 条染色体没有出现丢失, 丢失频率为 0, 它们能在芥甘杂交中稳定遗传。Aⁿ06 染色体丢失频率最高, 达 7.96%(9/113); 其次是 Aⁿ01 染色体, 丢失频率为 5.31%(6/113)。BC₁F₁ 群体中有 20 株植株 Aⁿ 染色体丢失, 其中 H80 丢失最多, 丢失了 4 条染色体, 分别为 Aⁿ01、Aⁿ04、Aⁿ06、Aⁿ07。在 C 基因组中, Cⁿ02 染色体丢失频率最高, 达 12.39%(14/113); 其次是 Cⁿ01、Cⁿ05, 丢失频率为 3.54%(4/113)。群体中有 22 株材料 C 染色体丢失, 包括 Cⁿ01、Cⁿ05、Cⁿ06、Cⁿ07, 其中 H50 丢失染色体数最多。回交后代中 Aⁿ、Cⁿ 染色体丢失, 可能是试验操作错误所致; 也可能是由于 1 条染色体只采用了 1 个基因标记, 在扩增时等位基因竞争引物所致, 其原因需进一步验证。

表 3 油菜芥甘杂种回交群体中染色体的缺失情况

Table 3 Statistics of chromosomes missing in the population from back crossing the hybrid between *Brassica juncea* \times *B. napus*

染色体	缺失染色体的植株数	染色体	缺失染色体的植株数	染色体	缺失染色体的植株数	染色体	缺失染色体的植株数
A ⁿ 01	6	A ^j 01	40	B ^j 01	57	C ⁿ 01	4
A ⁿ 02	1	A ^j 02	28	B ^j 02	22	C ⁿ 02	14
A ⁿ 03	0	A ^j 03	0	B ^j 03	36	C ⁿ 03	0
A ⁿ 04	2	A ^j 04	59	B ^j 04	32	C ⁿ 04	1
A ⁿ 05	3	A ^j 05	56	B ^j 05	37	C ⁿ 05	4
A ⁿ 06	9	A ^j 06	28	B ^j 06	6	C ⁿ 06	1
A ⁿ 07	4	A ^j 07	34	B ^j 07	71	C ⁿ 07	2
A ⁿ 08	0	A ^j 08	29	B ^j 08	58	C ⁿ 08	1
A ⁿ 09	0	A ^j 09	49			C ⁿ 09	0
A ⁿ 10	0	A ^j 10	0				

来源于芥菜型油菜的 A^j03、A^j10 染色体没有出现丢失, 它们在芥甘杂交后代中能稳定传递。A^j04 染色体丢失频率最高, 达 52.21%(59/113); 其次是 A^j05 染色体, 丢失频率 49.56%(56/113)。BC₁F₁ 群体中只有 3 株植株(H11、H13、H98)没有丢失 A^j

染色体。H73 植株丢失 A^j 染色体最多, 包括 A^j01、A^j02、A^j04、A^j05、A^j06、A^j08、A^j09 共 7 条染色体。在 B^j 亚基因组中, B^j06 染色体丢失频率最低, 为 5.31%(6/113); B^j07 染色体丢失频率最高, 达 62.83%(71/113), B^j08 染色体丢失频率为 51.33%

(58/113), B^j01 丢失频率为 50.44%(57/113)。BC₁F₁ 群体中有 8 株植株 B 染色体没有出现丢失, 丢失最多的可丢失 5 条染色体。

2.1.2 F₂ 群体基因标记分析

利用每条染色体上的基因标记分析 221 株 F₂ 群体植株的染色体组成。结果(表 4)表明: 来源于甘蓝型油菜的 Aⁿ08 染色体丢失率最低, 为 1.36%(3/221), 其次为 Aⁿ09, 丢失频率为 2.26%(5/221), 它们在芥甘杂交后代中能较稳定地传递; Aⁿ07 染色体的丢失频率最高, 达 24.89%(55/221), 其次是 Aⁿ04 染色体, 丢失率达 23.53%(52/221); 128 株 F₂ 植株丢失了 Aⁿ 染色体, 其中 Z1、Z135、Z149 丢失染色体最多, 达 5 条; 在 Cⁿ 亚基因组中, Cⁿ03 染色体的丢失频率最低, 仅 1.36%(3/221), 其次是 Cⁿ05 染色体, 丢失率为 4.07%(9/221), Cⁿ04 染色体丢失频率最高, 达 24.89%(55/221), Cⁿ02 染色体丢失频率

为 13.12%(29/221); 108 株 F₂ 植株丢失了 Cⁿ 染色体, 其中 Z112 丢失的 Cⁿ 染色体最多, 达 8 条。

F₂ 群体来源于芥菜型油菜的 A^j10 染色体丢失频率最低, 仅 5.43%(12/221), 其次为 A^j06 染色体, 丢失频率为 6.33%(14/221); A^j09 染色体的丢失频率最高, 达 48.42%(107/221), 其次是 A^j05 染色体, 丢失频率达 44.80%(99/221); 仅 8 株 F₂ 植株没有丢失 A^j 染色体, Z149 丢失 A^j 染色体最多, 达 7 条。在 B^j 基因组中, 丢失频率最低的染色体是 B^j08, 仅 0.90%(2/221), B^j07 染色体的丢失频率最高, 达 56.56%(125/221), B^j01 染色体的丢失频率为 45.70%(101/221); 仅 27 株 F₂ 植株没有丢失 B 染色体, 丢失最多的丢失了 6 条染色体。

综上所述, 油菜芥甘杂交 F₂ 群体芥菜型油菜来源的染色体比甘蓝型油菜来源的染色体更易丢失。

表 4 油菜芥甘杂种自交后代中染色体缺失情况统计

Table 4 Statistics of chromosome missing in the population from selfing the hybrid between *Brassica juncea* × *B. napus*

染色体	缺失染色体的植株数	染色体	缺失染色体的植株数	染色体	缺失染色体的植株数	染色体	缺失染色体的植株数
A ⁿ 01	10	A ^j 01	88	B ^j 01	101	C ⁿ 01	19
A ⁿ 02	6	A ^j 02	40	B ^j 02	56	C ⁿ 02	29
A ⁿ 03	22	A ^j 03	21	B ^j 03	74	C ⁿ 03	3
A ⁿ 04	52	A ^j 04	45	B ^j 04	10	C ⁿ 04	55
A ⁿ 05	6	A ^j 05	99	B ^j 05	71	C ⁿ 05	9
A ⁿ 06	9	A ^j 06	14	B ^j 06	10	C ⁿ 06	22
A ⁿ 07	55	A ^j 07	45	B ^j 07	125	C ⁿ 07	11
A ⁿ 08	3	A ^j 08	21	B ^j 08	2	C ⁿ 08	15
A ⁿ 09	5	A ^j 09	107			C ⁿ 09	15
A ⁿ 10	17	A ^j 10	12				

2.1.3 回交和自交后代的基因标记比较分析

对比分析 BC₁F₁ 代和 F₂ 代染色体的缺失情况(表 3、表 4), 发现甘蓝型油菜来源的 Aⁿ 基因组中, Aⁿ08、Aⁿ09 染色体在 2 个群体都能稳定地遗传, 几乎没有丢失, 而 Aⁿ07 染色体容易丢失, Aⁿ03、Aⁿ10 染色体在不同群体的丢失差异较大, 在回交群体中没有丢失, 而在自交群体中丢失率约 10%; 芥菜型油菜来源的 A^j 基因组中, A^j10 染色体在 2 个群体几乎没有丢失, A^j05、A^j09 染色体在 2 个群体都容易丢失, A^j04 条染色体在回交后代中丢失率超过 50%, 在自交后代中仅约 20% 的植株丢失; 芥菜型油菜来源的 B^j 基因组中, B^j06 染色体几乎没有丢

失, 而 B^j07 与 B^j01 染色体容易丢失, B^j08 染色体在回交后代中丢失率超过 50%, 在自交后代中几乎不丢失; 甘蓝型油菜来源的 Cⁿ 基因组中, Cⁿ03 染色体在 2 个群体都能较稳定地遗传, 几乎没有丢失, Cⁿ02 染色体容易丢失, Cⁿ04、Cⁿ06 染色体在回交群体中几乎没有丢失, 在自交群体中丢失率接近 25%。这些结果说明, 自交和回交对 A^j04、B^j08 等部分染色体遗传有不同的效果。

2.2 油菜芥甘杂种后代的结实率

BC₁F₁ 群体套袋自交平均结实率为 0.60, 变幅为 0~5.31, 只有 13.51%(15/111) 的 BC₁F₁ 植株结实率超过 1; 自由授粉平均结实率为 1.95, 变幅为

0~12.85, 只有 36.04%(40/111)的植株结实率低于 1, 有 11.71%的植株(13/111)结实率大于 4。

F₂ 群体套袋自交平均结实率为 0.66, 变幅为 0~17.70。84.31%(172/204)的 F₂ 植株结实率低于 1, 仅 6.37%(13/204)的 F₂ 植株结实率超过 2。F₂ 群体自由授粉平均结实率为 2.18, 变幅为 0~23.05, 只有 38.73%(79/204)的 F₂ 植株结实率低于 1, 而有 15.20%(31/204)的 F₂ 植株结实率高于 4。

综上所述, 无论是 BC₁F₁ 群体还是 F₂ 群体, 自由授粉都有利于结实, 平均结实率为套袋自交的 3 倍; BC₁F₁ 群体和 F₂ 群体中有 10%左右的植株已恢复到正常结实水平, 可选择这些植株进行后续育种工作。

2.3 基因标记与育性的相关性

2.3.1 回交群体花粉可染率与回交群体结实率的相关性

将 BC₁F₁ 群体花粉可染率与自花授粉结实率、花粉可染率与自由授粉结实率进行两两正态性检验, 发现 *P* 值都小于 0.05, 不符合正态分布。于是采用 Spearman 相关分析, 发现 BC₁F₁ 群体花粉可染率与自花授粉结实率、自由授粉结实率的 *P* 值分别为 0.317、0.375, 均大于 0.05, 从而认为 BC₁F₁ 群体花粉可染率与结实率没有相关性。

2.3.2 油菜芥甘杂种后代中高育性植株的标记基因型分析

利用芥菜型油菜 A^j、B^j 基因组和甘蓝型油菜 Aⁿ、Cⁿ 基因组都有的 *TT8*、*FAD2*、*FAE1*、*MYB28* 基因, 分析高育性植株的基因型。结果(表 5)表明, *TT8* 基因标记在 6 株 BC₁F₁ 植株中有 3 种基因型(A^jAⁿB^jCⁿ、A^jAⁿCⁿCⁿ和 AⁿAⁿCⁿCⁿ), 比例为 2 : 1 : 3; *FAD2* 基因标记有 3 种基因型(A^jAⁿB^jCⁿ、A^jAⁿCⁿCⁿ和 AⁿAⁿCⁿCⁿ), 比例为 1 : 1 : 4; *FAE1* 基因标记有 4 种基因型(A^jAⁿB^jCⁿ、A^jAⁿCⁿCⁿ、AⁿAⁿCⁿCⁿ和 AⁿAⁿB^jCⁿ), 比例为 2 : 2 : 1 : 1; *MYB28* 基因标记有 3 种基因型(A^jAⁿB^jCⁿ、A^jAⁿCⁿCⁿ和 AⁿAⁿB^jCⁿ), 比例为 4 : 1 : 1。在 F₂ 群体中, *TT8* 基因标记有 4 种基因型(A^jAⁿB^jCⁿ、A^jAⁿB^jB^j、A^jAⁿCⁿCⁿ和 AⁿAⁿB^jCⁿ), 比例为 3 : 1 : 1 : 1; *FAD2* 基因标记有 3 种基因型(A^jAⁿB^jCⁿ、A^jAⁿCⁿCⁿ和 AⁿAⁿB^jCⁿ), 比例为 1 : 2 : 3; *FAE1* 基因标记有 3 种基因型(A^jAⁿB^jCⁿ、A^jAⁿCⁿCⁿ和 AⁿAⁿCⁿCⁿ), 比例为 3 : 2 : 1; *MYB28* 基因标记有 3 种基因型(A^jAⁿB^jCⁿ、A^jAⁿB^jB^j、A^jAⁿCⁿCⁿ), 比例为 3 : 1 : 2。分析发现在芥甘杂交群体后代中, 育性高的植株的 *TT8*、*FAD2*、*FAE1*、*MYB28* 的基因型大都为 A^jAⁿB^jCⁿ, 而含油量、油酸含量和芥酸含量可作为选育高品质油菜的初步判断标准^[26], 故 A^jAⁿB^jCⁿ 基因型可作为进一步筛选高品质的油菜植株的指标。

表 5 油菜芥甘杂种后代高育性植株的基因型

Table 5 Genotyping of plants with high fertility in the progeny populations from the interspecific cross between *Brassica juncea* and *B. napus*

材料	套袋自交结实率/%	自由授粉结实率/%	基因型			
			<i>TT8</i>	<i>FAD2</i>	<i>FAE1</i>	<i>MYB28</i>
H29	1.74	6.50	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ	A ⁿ A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ⁿ A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ
H31	2.97	12.85	A ⁿ A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ^j A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ
H41	4.81	6.15	A ⁿ A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ⁿ A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ^j A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ
H59	5.31	5.90	A ^j A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ⁿ A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ^j A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ^j A ⁿ C ⁿ C ⁿ
H73	4.95	1.90	A ⁿ A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ⁿ A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ⁿ A ⁿ B ^j C ⁿ	A ⁿ A ⁿ B ^j C ⁿ
H80	2.50	3.00	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ
Z14	3.83	8.15	A ^j A ⁿ B ^j B ^j	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ	A ⁿ A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ
Z33	17.71	23.05	A ^j A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ^j A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ^j A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ^j A ⁿ C ⁿ C ⁿ
Z37	4.14	9.85	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ	A ^j A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ
Z80	7.71	7.85	A ⁿ A ⁿ B ^j C ⁿ	A ⁿ A ⁿ B ^j C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ	A ^j A ⁿ C ⁿ C ⁿ
Z83	6.76	10.05	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ	A ⁿ A ⁿ B ^j C ⁿ	A ^j A ⁿ C ⁿ C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j B ^j
Z199	5.45	16.30	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ	A ⁿ A ⁿ B ^j C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ	A ^j A ⁿ B ^j C ⁿ

3 结论与讨论

本研究中, 以芥菜型油菜‘四川黄籽’与甘蓝型

油菜‘中双 11’的杂交后代 F₂ 和 BC₁F₁ 群体为试验材料, 在油菜各亚基因组(Aⁿ、A^j、B^j、Cⁿ)共 37 条染

染色体上的特异基因设计标记,以此研究芥甘杂交后代染色体的遗传规律。结果发现油菜芥甘杂种 F₂ 群体芥菜型油菜来源的 A^j、B^j 染色体比甘蓝型油菜 Aⁿ、Cⁿ 染色体更容易丢失,这与刘忠松等^[24]通过 RAPD 分子标记发现芥甘杂交后代中芥菜型油菜遗传物质比甘蓝型油菜亲本遗传物质丢失更快的结果基本一致。

油菜芥甘杂种无论是 BC₁F₁ 群体还是 F₂ 群体, A^j05、A^j09、B^j01、B^j07 等染色体高频率丢失(近 50% 或超过 50%),说明这些染色体在芥甘杂种后代中容易消除。谢晋^[25]认为由于 B 组染色体不能正常配对,导致 B 基因组遗传物质很容易丢失,且 B^j04、B^j05、B^j07 染色体上的遗传物质丢失较快。说明如要利用易丢失染色体携带的基因,需在油菜芥甘杂交育种的早期世代促进其染色体重组配对,再加以利用。

油菜芥甘 BC₁F₁ 群体、F₂ 群体 Aⁿ08、Cⁿ03、Aⁿ09、A^j10、B^j06 等 5 条染色体和 BC₁F₁ 群体 A^j03、A^j10 染色体以及 F₂ 群体 Aⁿ08、Cⁿ03、B^j08 等染色体几乎不丢失,说明这些染色体在芥甘杂种后代中能稳定遗传,它们携带的基因在油菜芥甘杂交育种上可通过易位而加以利用。导入油菜优良基因,构建优良稳定的试验材料,Aⁿ08、Cⁿ03、Aⁿ09、A^j10、B^j06 等 5 条染色体可以作为首选。来自甘蓝型的 Aⁿ08、Cⁿ03、Aⁿ09 等 3 条染色体和来自芥菜型的 A^j10、B^j06 染色体能够在后代稳定遗传,在选育优良杂交后代时,可以选择具有低芥酸、黄籽等优良性状的甘蓝型油菜和具有开花期短等优良性状的芥菜型油菜作为杂交亲本,从而获得优质的油菜种植资源。

无论是 BC₁F₁ 群体还是 F₂ 群体,油菜芥甘杂交后代中有 10% 左右的植株恢复了结实,说明芥甘杂种 F₁ 植株产生的雌配子中有 10% 具有甘蓝型油菜的全部或绝大部分染色体。推测可能在 F₁ 植株中来自同一染色体组的染色体在减数分裂时共同分向一极,或者是材料中 B 和 C 染色体组的染色体具有很高的同源性^[27]。在调查 F₂ 群体中发现 1 株黄籽材料(Z187),育性较好(自交结实率为 2.59,天然结实率为 8.30),可以作进一步研究。

本研究针对每条染色体只利用了 1 个基因序列开发了基因标记,仅能跟踪染色体在杂种后代的传

递,不能观察染色体的交换重组,下一步应为每条染色体设计多个基因的标记,以便更全面地研究群体染色体遗传规律。另外,本研究采用的轮回亲本跟杂交亲本是同一甘蓝型油菜品种(‘中双11’),不易区分回交后代中甘蓝型油菜基因的具体来源,今后可用不同的甘蓝型油菜材料作杂交亲本和轮回亲本。

参考文献:

- [1] NAGAHARU U. Genome analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization[J]. Japanese Journal of Botany, 1935, 7: 389-452.
- [2] 刘后利. 几种芸薹属油菜的起源和进化[J]. 作物学报, 1984, 10(1): 9-18.
- [3] 刘忠松, 官春云, 陈社员. 油菜芥甘种间杂交育种程序研究和种质创新[J]. 华中农业大学学报, 2004, 34(增刊): 89-94.
- [4] 宋丰萍, 程嘉庆, 刘振兴, 等. 芥甘杂交创制新型甘蓝型油菜的表型多样性分析[J]. 中国油料作物学报, 2021, 43(6): 971-981.
- [5] 刘忠松, 官春云, 李梅, 等. 甘蓝型油菜与芥菜型油菜种间杂交研究[J]. 中国油料作物学报, 2001, 23(2): 82-86.
- [6] LIU Z S, GUAN C Y, CHEN S Y, et al. Transfer of superior traits from *Brassica juncea* into *Brassica napus*[J]. Agricultural Science & Technology, 2010, 11(6): 49-52.
- [7] RIESEBERG H, ELLSTRAND N C, ARNOLD M. What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization?[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 1993, 12(3): 213-241.
- [8] DING Y J, MEI J Q, WUQ N, et al. Synchronous improvement of subgenomes in allopolyploid: a case of *Sclerotinia* resistance improvement in *Brassica napus*[J]. Molecular Breeding, 2019, 39(1): 10.
- [9] ROY N N. Interspecific transfer of *Brassica juncea*-type high blackleg resistance to *Brassica napus*[J]. Euphytica, 1984, 33(2): 295-303.
- [10] PRAKASH S, CHOPRAV L. Reconstruction of allopolyploid Brassicas through non-homologous recombination: introgression of resistance to pod shatter in *Brassica napus*[J]. Genetical Research, 1990, 56(1): 1-2.
- [11] JIANG J J, YUAN Y, ZHU S, et al. Comparison of physiological and methylational changes in resynthesized *Brassica napus* and diploid progenitors under drought stress[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2019, 41(4): 45.

- [12] SZALA L, KACZMAREK Z, POPLAWSKA W, et al. Estimation of seed yield in oilseed rape to identify the potential of semi-resynthesized parents for the development of new hybrid cultivars[J]. *PLoS One*, 2019, 14(4): e0215661.
- [13] SCHAEFER-KOESTERKE H L, BRANDES H, ULBER B, et al. The potential of resynthesized lines to provide resistance traits against rape stem weevil in oilseed rape[J]. *Journal of Pest Science*, 2017, 90(1): 87–101.
- [14] ZHANG Y, LI X, CHEN W, et al. Identification of two major QTL for yellow seed color in two crosses of resynthesized *Brassica napus* line No. 2127–17[J]. *Molecular Breeding*, 2011, 28(3): 335–342.
- [15] 张永泰, 李爱民, 蒋金金, 等. 新型黄籽甘蓝型油菜的获得及其遗传规律分析[J]. *中国油料作物学报*, 2011, 33(3): 302–305.
- [16] SCHRANZ M E, OSBORN T C. Novel flowering time variation in the resynthesized polyploid *Brassica napus*[J]. *Journal of Heredity*, 2000, 91(3): 242–246.
- [17] SCHELFHOUTC J, WROTHJ M, YAN G, et al. Enhancement of genetic diversity in canola-quality *Brassica napus* and *B. juncea* by interspecific hybridisation[J]. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2008, 59(10): 918.
- [18] SONG K, LU P, TANG K, et al. Rapid genome change in synthetic polyploids of *Brassica* and its implications for polyploid evolution[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92(17): 7719–7723.
- [19] MASONA S, HUTEAU V, EBER F, et al. Genome structure affects the rate of autosynthesis and allosynthesis in AABC, BBAC and CCAB *Brassica* interspecific hybrids[J]. *Chromosome Research*, 2010, 18(6): 655–666.
- [20] MASONA S, BATLEY J, BAYERP E, et al. High-resolution molecular karyotyping uncovers pairing between ancestrally related *Brassica* chromosomes[J]. *The New Phytologist*, 2014, 202(3): 964–974.
- [21] SCHELFHOUTC J, SNOWDON R, COWLINGW A, et al. Tracing B-genome chromatin in *Brassica napus*×*B. juncea* interspecific progeny[J]. *Genome*, 2006, 49(11): 1490–1497.
- [22] NAVABIZ K, PARKINI A P, PIRESJ C, et al. Introgression of B-genome chromosomes in a doubled haploid population of *Brassica napus*×*B. carinata*[J]. *Genome*, 2010, 53(8): 619–629.
- [23] NAVABIZ K, STEADK E, PIRESJ C, et al. Analysis of B-genome chromosome introgression in interspecific hybrids of *Brassica napus*×*B. carinata*[J]. *Genetics*, 2011, 187(3): 659–673.
- [24] 刘忠松, 官春云, 陈社员, 等. 芥菜型油菜与甘蓝型油菜种间杂种后代的 RAPD 分析[J]. *中国农业科学*, 2002, 35(8): 1010–1015.
- [25] 谢晋. 通过芥甘杂交创建新型甘蓝型油菜的研究[D]. 西宁: 青海大学, 2019.
- [26] 常涛, 官梅, 官春云. 甘蓝型油菜的品质性状综合评价[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2022, 48(6): 638–642.
- [27] 刘忠松, 官春云, 陈社员, 等. 芥菜型油菜与甘蓝型油菜种间杂种二代分离观察[J]. *中国油料作物学报*, 1998, 20(4): 6–10.

责任编辑: 毛友纯

英文编辑: 柳正