

人工合成甘蓝型油菜花色变异后代的遗传研究

邓昌蓉, 赵志刚, 余青兰

(青海大学 农林科学院, 青海省高原作物种质资源创新与利用重点实验室, 青海 西宁 810016)

摘要:以人工合成甘蓝型油菜 S_0 代花色嵌合体自交后代的白花及突变的黄花株系为材料, 构建 BC_1 和 F_2 分离群体, 通过目测及卡方测验的方法对其花色遗传规律进行了分析。结果表明: 该花色突变体是由 1 对不完全显性基因控制的质量性状遗传, 白花(WW)对黄花(ww)表现为不完全显性, 并通过与前人对甘蓝型油菜花色变异研究的结果进行比较, 分析了花色变异的来源和可能的原因。

关键词:人工合成; 甘蓝型油菜; 花色变异; 遗传

中图分类号:S 565.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)18-0014-04

油菜是世界四大主要油料作物之一, 面积和产量仅次于大豆和油棕, 居第 3 位。我国是世界油菜栽培面积最大的国家, 播种总面积和总产量均居世界首位^[1-2]。油菜属十字花科芸薹属, 芸薹属包含 3 个基本种: 白菜(*Brassica campestris*, AA, $2n=20$)、甘蓝(*B. oleracea*, CC, $2n=18$)、黑芥(*B. nigra*, BB, $2n=16$)和 3 个复合种: 甘蓝型油菜(*B. napus*, AACC, $2n=38$)、芥菜型油菜(*B. juncea*, AABB, $2n=36$)和埃塞俄比亚芥(*B. carinata*, BBCC, $2n=34$)^[3-7]。甘蓝型油菜是世界上栽培面积最大的油菜类型, 具有产量高, 抗病、抗逆性强, 适应性广等优点, 也是我国栽培面积最大的油菜类型, 在生产上占有十分重要的地位。甘蓝型油菜存在较广泛的变异, 其中发现了诸如紫叶、黄苗、紫茎、无蜡粉、白花等变异性状^[8], 这些突变材料极大地丰富了油菜的种质资源, 不仅为芸薹属功能基因组研究中相关基因的分析定位提供了材料, 而且可以作为形态标记性状在油菜繁殖过程中起到保纯去杂作用^[9]。

油菜花瓣的颜色一般为黄色, 此外还有金黄、桔红、乳白、纯白等不同颜色^[10-13], 花色作为指示性状, 可用于纯度鉴定或作为遗传标记等育种相关选择^[16]。油菜白花基因的来源较多, 有的是自然突变产生, 有的是通过种(属)之间的杂交, 把属间如萝卜或白花芥蓝等的白花基因转到油菜中^[16]。近年来随着人工合成甘蓝型油菜

的研究发展, 很多学者利用白花芥蓝作为亲本通过种间杂交获得了白花甘蓝型油菜^[14-20]。刘后利^[8] 1965 年通过甘蓝(*B. oleracea*)和白菜型油菜(*B. rapa*)种间杂交在我国第一个获得了白花甘蓝型油菜。随后国内外许多学者都展开对人工合成甘蓝型油菜花色的研究。Sernyk 等^[18]报道的白花甘蓝型油菜(*B. napus*)品系是通过甘蓝型油菜(*B. napus*)与萝卜(*Raphanus sativa*)种间杂交得到的; Chen 等^[19]以白花芥蓝(*B. alboglabra*)和白菜(*Brassica campestris*)为亲本杂交获得甘蓝型油菜(*B. napus*)白花品系“N07076”, 研究结果表明, 控制此白花性状的基因来自 C 染色体组; 戚存扣^[13]根据杂交试验推断 1 个来自加拿大的白花材料, 表明控制其白花性状的基因存在于 C 染色体组。

许多研究者认为, 甘蓝型油菜的白花性状受 1 对不完全显性基因控制^[12, 19, 21]。Chen 等^[19]、戚存扣等^[21]认为白花对正常黄花是 1 对不完全显性基因作用的结果, 其中控制白花性状的基因具有上位性作用, 只需 1 个白花基因存在, 即可抑制黄花基因表达。还有研究认为, 人工合成的甘蓝型白花油菜, 其白花性状是由 1 对基因控制的显性遗传, 白花性状基因与芥酸基因紧密连锁, 同时位于第 4 染色体上^[8, 14, 19, 22-24], 但 Chen 等^[25]在对白花与芥酸的关系研究中, 认为白花基因与芥酸基因都位于 C 基因组, 但二者呈独立遗传。于澄宇等^[26]在甘蓝型油菜杂交种 C022 不育株开放受粉的后代中, 发现了 991S 突变体, 其花瓣颜色具有黄白花色嵌合现象, 通过对其材料来源及后代花色表型分析, 初步研究结果表明, 黄白嵌合性状由 1 个隐性白化基因控制, 这种性状是可局部表达的。但也有学者研究发现, 花色受 2~3 对基因控制。Sylvén^[27]认为甘蓝型油菜花色之所以出现差异是由 2 对基因互作的原因, 而 Morice^[28]认为是 3

第一作者简介:邓昌蓉(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为油菜分子细胞学。E-mail: dengchang_rong@126.com.

责任作者:赵志刚(1978-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为油菜分子细胞学。E-mail: 13897474887@126.com.

基金项目:国家科技支撑计划资助项目(2011BAD35B04); 青海省 135 高层次人才培训计划资助项目(创新教学科研骨干)。

收稿日期:2014-04-22

对基因互作的结果。另外,Zhang 等^[29]研究发现,油菜的花色不只是由核基因控制的,同时也受细胞质因素的影响,且核基因的作用存在显性的上位效应。田露申等^[16]利用主基因+多基因混合遗传模型对甘蓝型油菜的白花性状进行了多世代联合分析,研究发现该白花性状由 2 对主效基因控制。从以上研究结果中可以发现,甘蓝型油菜花色性状的遗传规律十分复杂,由于各研究者所用材料的来源不同,所得的结论也不尽一致。

该研究以人工合成甘蓝型油菜 S_0 代花色嵌合体后代的白花及突变的黄花株系为材料,构建 BC_1 和 F_2 分离群体,通过目测及卡方测验的方法对其花色遗传规律进行分析。旨在分析人工合成甘蓝型油菜花色基因的遗传规律与前人在普通甘蓝型油菜中得出的结果是否一致,另外也可以揭示 A、C 基因组异源多倍化后在花色调控方面的互作方式。

1 材料与方法

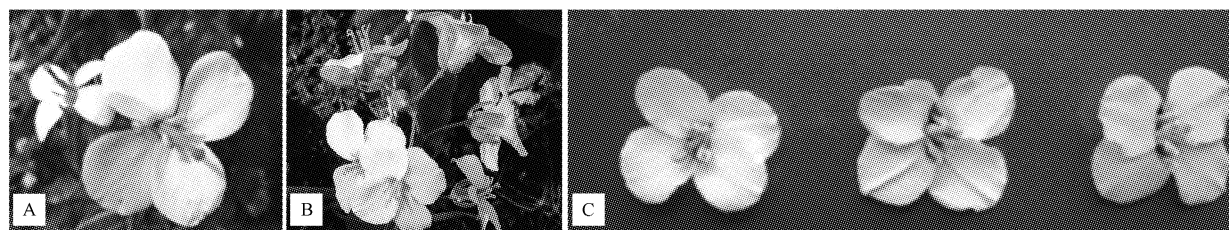
1.1 试验材料

青海省农林科学院以“大黄油菜”(Brassica rapa, $2n=20$, AA) 为母本,“中迟芥蓝”(Brassica oleracea, $2n=18$, CC) 为父本,通过有性杂交共获得 10 个 S_0 单株,编

号依次为 B1~B10。“大黄油菜”开黄花,“中迟芥蓝”开白花,人工合成甘蓝型油菜大部分开白花,而 B9 为花色嵌合体,表现为同一植株的不同花或同一朵花上出现黄白 2 种颜色(图 1 A、B)^[30], S_0 代 B9 单株自交得到 S_1 代,其性状发生了分离,产生白、乳白和黄 3 种花色的植株(图 1 C),从中选取纯黄花单株 F19-2 和纯白花单株 F19-8,让其分别自交至 S_4 代,确定该黄花突变稳定遗传后,在 S_4 代中选取 F19-2 的后代 F12W32-1(纯黄花)作为母本,选取 F19-8 的后代 F12W33-2 和 F12W33-3(纯白花)作为父本,进行杂交,得到 F_1 代(乳白花), F_1 代自交得到 F_2 代, F_1 代与纯黄花亲本 F12W32-1 回交得到 BC_1 代,从而构建 BC_1 、 F_2 分离群体。

1.2 试验方法

1.2.1 田间设计 BC_1 群体共种植 58 行,每行 11 株, BC_1 群体共得到 371 株; F_2 群体共种植 60 行,每行 13 株, F_2 群体共得到 406 株。该试验于 2013 年 6 月种植 BC_1 和 F_2 代,所用材料均种植于青海大学农林科学院油菜所试验田,试验地肥力均匀一致,施肥水平参照当地大田生产栽培水平,以常规方法进行田间管理。



注:A、B 为 S_0 代植株出现的花色嵌合现象,C 为 S_0 代单株自交产生的白、乳白和黄 3 种花色植株的花朵。

Note: A, B; mosaics flower color in S_0 generation; C: flowers of plants with white, milky-white and yellow flowers, which derived from selfing cross of S_0 generation, respectively.

图 1 S_0 代出现的花色嵌合现象

Fig. 1 Mosaics flower color in S_0 generation

1.2.2 花色调查 在油菜盛花期,针对所调查植株,在田间目测每个单株的花瓣颜色,并逐一记录,隔天重复观察 1 次,与前次相同则记录确定为该株油菜花瓣颜色,如果不一致,再次观察,直到与前次观察结果相同为止,以减少人为误差。

1.3 项目测定

根据试验结果将白花、乳白花合并计为白花,统计数据,分析 F_2 、 BC_1 群体黄花与白花性状分离比例,并参照盖钧镒^[31]的方法对其理论比例进行卡方测验,最终确定花色性状的遗传机制。

2 结果与分析

2.1 F_1 调查结果

F_1 代经正反交后结果均表现一致,其原因是该人

工合成甘蓝型油菜的母本均是“大黄油菜”,其后代的细胞质均来自于“大黄油菜”,因此,该人工合成甘蓝型油菜后代花色突变的遗传是不受细胞质影响的核遗传。

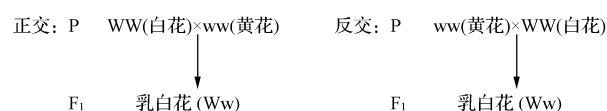


图 2 白花与黄花正反交情况

Fig. 2 The result of the white flower and yellow flower reciprocal cross

2.2 BC_1 调查结果

由表 1 花色调查及数据结果表明, BC_1 群体共 371 个单株,其中黄花单株 174 个,白花单株 197 个;经卡方测验后得出, BC_1 群体符合 1:1 的分离比。

表 1 花色性状分离比 χ^2 测验Table 1 The χ^2 test of flower color traits' separation ratio

世代	黄花单株	白花单株	χ^2 ($\alpha=0.05$)	遗传比例
Generation	Yellow flower plant	White flower plant		Genetic proportion
BC ₁	174	197	1.304 < $\chi^2_{3,84}$	符合 1 : 1
F ₂	100	306	0.013 < $\chi^2_{3,84}$	符合 3 : 1

2.3 F₂ 调查结果

由表 1 还可看出, F₂ 群体共 406 个单株, 其中黄花单株 100 个, 白花单株 306 个(在统计过程中人为将白花、乳白花合并计为白花)。经卡方测验后得出, F₂ 群体符合 3 : 1 的分离比。

综上, BC₁ 和 F₂ 代花色分离统计说明, 该白花突变体是由 1 对不完全显性基因控制的质量性状遗传, 白花对黄花为不完全显性。其花色遗传模式见图 3。

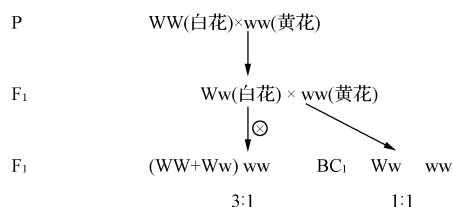


图 3 白花与黄花杂交后代遗传模式图

Fig. 3 The genetic pattern map of white flower and yellow flower hybrid offspring

3 讨论

花色性状的遗传一直是甘蓝型油菜性状的研究热点, 该研究在人工合成甘蓝型油菜的 S₀ 世代发现黄白花色嵌合体^[30], 套袋自交, S₁ 代出现了黄白花色性状分离, 突变的黄花植株连续自交到 S₄ 代, 发现其黄花性状能稳定遗传, 为了分析该花色突变的遗传规律, 该研究利用经典遗传学的分析方法, 对黄白花植株杂交得到的 F₂ 群体和 BC₁ 群体进行了花色调查、数据统计及卡方测验, 从而确定了该花色性状是由 1 对不完全显性基因控制的质量遗传, 白花对黄花表现为不完全显性。前人对甘蓝型油菜花色突变体研究发现了类似的遗传规律, 张洁夫等^[11]报道了甘蓝型油菜白花突变体 J328 和金黄色花性状突变体 97088 杂交组合试验, 分析了其遗传规律, 研究发现白花受 1 对不完全显性基因控制, WW 为白花, Ww 为乳白花, ww 为黄花, F₂ 代分离比为 1(Ww) : 2(Ww) : 1(Ww)。彭家成^[22]对乳白花突变体的研究认为, 白花对黄花为 1 对不完全显性基因控制, 与张洁夫等^[11]的结果一致。在统计 F₂ 群体的分离比时, 张洁夫等^[11]、戚存扣等^[21]、Chen 等^[19]都认为在白花基因对黄花基因不完全显性的情况下, 可以人为将白花、乳白花合并计为白花, F₂ 代分离比均为 3 : 1, 因此说明白花性状是受 1 对不完全显性基因控制的。该研究在统计 BC₁

和 F₂ 群体的分离比时和其研究的方法相同, 研究结果也与其一致。

目前认为甘蓝型油菜白花来源于 2 个物种: 一是来自萝卜 (*Raphanus sativa*), 如 Kato 等^[32]通过白菜型油菜 (*B. rapa*) 与萝卜 (*R. sativa*) 进行种间杂交获得了白色花瓣的油菜萝卜 (*Brassica raphanus*); Sernky 等^[33]也通过甘蓝型油菜 (*B. napus*) 和萝卜 (*R. sativa*) 杂交得到甘蓝型油菜白花品系; 二是来源于甘蓝 (*B. oleracea*), 如 Chen 等^[19]报道的甘蓝型油菜 “No7076” 开白花, 其来源于白花芥蓝 (*B. alboglabra*); 该研究的花色突变材料来源于人工合成甘蓝型油菜后代的一个突变体, 其与多数已报道的花色突变材料具有不同的遗传来源, 形成了自身的遗传特点。因此, 可以推断, 甘蓝型油菜花色性状的遗传可能与遗传来源有关。前人的研究结果表明, 人工合成异源多倍体在诸多表型性状, 如花期、育性、植株高度、主茎叶数、花瓣大小等往往会出现可遗传的变异^[34-36], 但这种花色突变现象报道较少。花色嵌合发生于 S₀ 代, 说明这种变异不是因为异源多倍体减数分裂过程中部分同源染色体重组导致的, 研究发现, 在白花后代的植株中还会出现花色嵌合现象, 说明这种白花基因具有易变倾向^[30]。用于该研究的新型甘蓝型油菜是利用大黄油菜 (AA) 和中迟芥蓝 (CC) 杂交获得的, 大黄油菜开黄花, 芥兰开白花, 新合成的甘蓝型油菜除 B9 出现黄白花色嵌合现象外, 其余花色均为纯白色。赵志刚等^[30]利用 AFLP 技术对发生花色嵌合的人工合成甘蓝型油菜 S₀ 和 S₁ 植株检测发现, 仅在 C 基因组上发生了变异, 这在一定程度上说明 C 基因组比 A 基因组更易发生变异, 位于 A 基因组上的黄花基因能够表达, 可能和 C 基因组上的某些变异发生于白花基因附近, 从而导致其失去转录活性具有相关性。这种出现花色突变的原因可能是不同单株之间 C 基因组上与花色相关的基因变异出现不同步导致的。

参考文献

- [1] 傅廷栋. 中国油菜生产与品种改良[J]. 华中农业大学学报, 1999, 18(6): 501-503.
- [2] 张冬晓. 我国油菜生产的发展与展望[J]. 中国油料作物学报, 2001, 23(4): 79-81.
- [3] Morinaga T. Interspecific hybridization in *Brassica*. I. The cytology of F₁ hybrids of *B. napella* and various other species with 10 chromosomes[J]. Cytologia, 1929a(1): 16-27.
- [4] Morinaga T. Interspecific hybridization in *Brassica*. II. The cytology of F₁ hybrids of *B. cernua* and various other species with 10 chromosomes[J]. Japan J Bot, 1929b(4): 277-289.
- [5] Morinaga T. Interspecific hybridization in *Brassica*. VI. The cytology of F₁ hybrids of *B. juncea* and *B. nigra*[J]. Cytologia, 1934a(6): 62-67.
- [6] Morinaga T. On the chromosome number of *Brassica juncea* and *B. napus*, on the hybrid between the two and on offspring line of the hybrid[J]. Japan J Genet, 1934b(9): 161-163.

- [7] 文静. 芸苔属种间杂交合成甘蓝型黄籽油菜及杂交代的研究[D]. 武汉:华中农业大学植物科学与技术学院, 2008.
- [8] 刘后利. 油菜遗传育种学[M]. 1版. 北京:中国农业大学出版社, 2000.
- [9] 吴新杰,陈凤祥,胡宝成,等. 甘蓝型油菜形态标记性状研究进展[J]. 园艺科学, 2005, 12(21): 128-131.
- [10] 李莓,陈卫将,易冬莲. 甘蓝型油菜 CMS 桔红花色恢复系 R18 遗传研究[J]. 中国农业科学, 1999, 32(S1): 27-30.
- [11] 张洁夫,浦惠明,戚存扣,等. 甘蓝型油菜花色性状的遗传研究[J]. 中国油料作物学报, 2000(23): 1-4.
- [12] 王翊,景尚友,吴刚,等. 甘蓝型油菜白花性状在杂交油菜育种中的应用[J]. 黑龙江农业科学, 2003(6): 13-14.
- [13] 戚存扣,傅寿仲. 甘蓝型油菜白花性状的遗传[J]. 中国油料, 1992(3): 58-60.
- [14] 刘雪平,涂金星,陈宝元,等. 人工合成甘蓝型油菜中花色与芥酸含量的遗传连锁分析[J]. 遗传学报, 2004, 3(14): 357-362.
- [15] 牛应泽,汪良中,刘玉贞,等. 利用人工合成甘蓝型油菜创建油菜新种质[J]. 中国油料作物学报, 2003, 54(2): 11-15.
- [16] 田露申,牛应泽,余青青,等. 甘蓝型油菜白花性状的主基因+多基因遗传分析[J]. 中国农业科学, 2009, 42(11): 3987-3995.
- [17] 黄邦全,刘幼琪,吴文华,等. Ogura CMS 紫紫苔×萝卜×甘蓝型油菜杂种的获得及细胞遗传学研究[J]. 遗传学报, 2002, 29(5): 467-470.
- [18] Sernyk J L, Stefansson B R. White flower color in rape (*B. napus* L.) associated with a radish (*Raphanus sativus* L.) Chromosome[J]. Can J genet Cytol, 1982, 24: 729-734.
- [19] Chen B Y, Jonsson R. Monogenic dominant white flower (petal) in resynthesized *Brassica napus* [J]. Cruciferae Newsletter, 1987, 12: 25.
- [20] Quzai M H. Interspecific hybrids between *Brassica napus* L. and *Brassica oleracea* L. developed by embryo culture [C]//Chu Q R, Fang G H. Proceedings of the Symposium of China International Rapeseed Sciences, Shanghai; Shanghai scientific and technical publishers, 1990: 106.
- [21] 戚存扣. 甘蓝型油菜白花新资源 9111110 [J]. 作物品种资源, 1994(4): 51.
- [22] 彭家成. 油菜乳白花突变体的获得及后代遗传表现[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(5): 1788-1799.
- [23] Rahman M H. Inheritance of petal color and its independent segregation from seed color in *Brassica rapa* [J]. Plant Breeding, 2001, 120(3): 179-200.
- [24] Woods D L, Seguin S G. An investigation on linkage between white flower colour and erucic acid in summer rape [J]. Canadian Journal of Plant Science, 1998, 78(1): 109-111.
- [25] Chen B Y, Heneen W K, Jonsson R. Independent inheritance of erucic acid content and flower colour in the C-genome of *Brassica napus* L. [J]. Plant Breeding, 1988, 100: 147-149.
- [26] 于澄宇,胡胜武,张春红,等. 一种花色突变雄性不育油菜的发现[J]. 遗传, 2004, 26(3): 330-332.
- [27] Sylvén N. Kreuzungsstudien Beim Raps (*Brassica napus* Oleifera) [J]. Hereditas, 1927, 9(1-3): 380-390.
- [28] Morice J. Héredite de la couleur des fleurs chez l'ecolza. Ann. Amélior. [J]. Plantes, 1960(2): 155-168.
- [29] Zhang B, Lu C M. 基因组构成和胞质对油菜和甘蓝杂交衍生的再合成双二倍体和倍半二倍体花瓣颜色的影响[J]. Plant Breeding, 2002, 121(4): 297-300.
- [30] 赵志刚,富贵,邓昌蓉,等. 人工合成甘蓝型油菜早期世代基因组变异的 AFLP 和 MSAP 标记研究[J]. 作物学报, 2013, 39(7): 1-9.
- [31] 盖钧镒. 试验统计方法[M]. 北京:中国农业出版社, 1999.
- [32] Kato M S, Tokumasu. The mechanism of increased seed fertility accompanied with the change of flower colour in *Brassica rapanus* [J]. Euphytica, 1976, 25: 761-767.
- [33] Sernyk J L, Stefansson B R. Heterosis in summer rape (*Brassica napus* L.) [J]. Can J Plant Sci, 1983, 67: 147-151.
- [34] Comai L. Genetic and epigenetic interactions in allopolyploid plants [J]. Plant Molec Biol, 2000, 43: 387-399.
- [35] Pires J C, Zhao J, Schranz M E, et al. Flowering time divergence and genomic rearrangements in resynthesized *Brassica* polyploid (*Brassicaceae*) [J]. Biol J Linnean Soc, 2004, 82: 675-688.
- [36] Schranz M E, Osborn T C. De novo variation in life-history traits and responses to growth conditions of resynthesized polyploid *Brassica napus* (*Brassicaceae*) [J]. Am J Bot, 2004, 91: 174-183.

The Genetic Studies of the Flower Color Variation's Offsprings in Artificial Synthesis of *Brassica napus*

DENG Chang-rong, ZHAO Zhi-gang, YU Qing-lan

(Academy of Agriculture and Forestry, Qinghai University, Key Laboratory for Innovation and Utilization of Plateau Crop Germplasm of Qinghai Province, Xining, Qinghai 810016)

Abstract: The white flower and yellow flower mutant materials, which derived from the selfing offspring of the artificial synthesized *Brassica napus*'s S_0 generation were used as the parents to build the BC_1 and F_2 segregating populations. By the methods of χ^2 test and visual inspection, genetic rule of flower color was analyzed and drew the conclusion that the flower color mutants were qualitative trait inheritance, which was controlled by a pair of incomplete dominant genes, with white flower versus yellow flower showing incomplete dominant. Besides, by comparing the results of the previous studied on the *Brassica napus* flower color heredity, possible cause of the flower color variation were analyzed.

Keywords: artificial synthesis; *Brassica napus*; flower color variation; inheritance