

# 菜薹随体—染色体初级三体的筛选与遗传分析

申二巧, 张成合\*, 李晓锋, 轩淑欣, 申书兴

(河北农业大学园艺学院, 河北保定 071001)

**摘要:** 以菜薹品种‘青露菜心’为材料, 采用核型分析和形态学鉴定的方法, 从三倍体与二倍体的回交子代中筛选 SAT - 染色体初级三体。共鉴定了 374 个回交子代, 获得了 1 株 SAT - 染色体初级三体。SAT - 染色体初级三体生长发育基本正常, 但柱头高出雄蕊, ( $n+1$ ) 雌、雄配子的传递率分别为 6.04% 和 3.20%。

**关键词:** 菜薹; 随体; 染色体; 初级三体; 核型分析

**中图分类号:** S 634.5

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2011) 08-1553-04

## Selection and Identification of the SAT-chromosome Primary Trisomic of Flowering Chinese Cabbage

SHEN Er-qiao, ZHANG Cheng-he\*, LI Xiao-feng, XUAN Shu-xin, and SHEN Shu-xing

(College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China)

**Abstract:** The flowering Chinese cabbage cultivar ‘Qinglu Caixin’ was used for the satellite-chromosome trisomic (SAT-trisomic) selection by karyotype analysis and morphological identification from the backcross progeny of triploid ( $2n = 3x = 30$ )  $\times$  diploid parent ( $2n = 2x = 20$ ). The results showed that one SAT-trisomic was obtained from the 374 progeny identified by chromosome examination and karyotype analysis. Development of the SAT-trisomic was almost normal, but its stigma was above the stamen. Transmission rate of the extra SAT-chromosome was 6.04% by female gametes and 3.20% by male gametes.

**Key words:** flowering Chinese cabbage; SAT; chromosome; primary trisomics; karyotype analysis

芸薹属植物有 A、B、C 3 个基本基因组。菜薹 (*Brassica campestris* L. var. *utilis* Tsen et Lee) 属于 A 基因组,  $2n = 2x = 20$ 。菜薹的 10 对染色体中有一对是带随体的染色体 (SAT - 染色体), 随体较小, 位于染色体的短臂 (袁文焕 等, 2008)。关于菜薹初级三体的选育作者已作过报道 (张成合 等, 2003), 但未能获得 SAT - 初级三体。本研究中仍以菜薹品种‘青露菜心’三倍体与二倍体的回交子代为基础材料, 通过细胞学鉴定从中筛选出 SAT - 初级三体, 为研究 SAT - 染色体的附加效应及其基因定位提供关键材料。

## 1 材料与方法

供试材料为菜薹品种‘青露菜心’ ( $2n = 2x = 20$ ) 及其同源三倍体 ( $2n = 3x = 30$ ), 后者由同源四倍体 ( $2n = 4x = 40$ ) 与二倍体杂交获得。

收稿日期: 2011 - 05 - 06; 修回日期: 2011 - 07 - 11

基金项目: 河北省自然科学基金项目 (C209900543)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zhangchenghe06@126.com)

以三倍体为母本（♀），于初花期至盛花期选择约 2 d 后开花的花蕾人工去雄，取二倍体亲本当天开花的新鲜花粉进行人工授粉，套袋隔离，成熟后采集回交种子。每次取 30 粒左右的回交种子置于铺双层湿滤纸的培养皿中，于恒温（23 ℃）培养箱培养。待种子根长 1.0 ~ 1.5 cm 时，以单粒萌发种子为单位，切下根尖（长约 0.5 cm）后再种植在装有蛭石的小穴盘中继续培养，并与根尖对应编号；根尖置 0.002 mol · L<sup>-1</sup> 的 8 - 羟基喹啉水溶液中 20 ℃ 预处理 2 h，然后用 Canoy 液（3 份 95% 乙醇 + 1 份冰醋酸）固定。常规压片法制片，PIHCH（丙酸—铁—水合三氯乙醛—苏木精）染色液染色，Olympus BH-2 光学显微镜观察，若鉴定的根尖细胞中含有 3 条 SAT - 染色体，其对应的籽苗便保留下来并定植在日光温室中。

挑选染色体分散良好、结构完整和形态清晰的中期分裂细胞，参照李懋学和张赞平（1996）的方法，对 SAT - 染色体三体植株进行核型分析。

在栽培管理条件一致的情况下，以正常二倍体为对照，对 SAT - 初级三体植株的性状进行观测和比较，找出其标记性特征。

于开花初期，取大小适宜的花蕾于 Carnoy 液固定，常规压片法制片，观察 SAT - 初级三体的减数分裂行为，统计后期 I 染色体数为 10/11 分离的细胞频率。

花粉量测定采用血球计数板计数法；花粉生活力测定采用 TTC（Triphenyltetrazolium chloride）染色法。

分别以该初级三体（2n + 1）作母本和父本，与二倍体亲本（2n）杂交，然后对杂交子代逐一进行染色体数鉴定，用（2n + 1）植株占鉴定植株总数的百分率估算额外 SAT - 染色体通过雌、雄配子的传递率。

2 结果与分析

2.1 SAT - 初级三体的获得

共鉴定了 374 个回交（3x × 2x）种子的染色体数。结果显示回交子代的染色体数主要分布在 2n = 20 ~ 23，其中三体植株（2n + 1 = 21）共 97 株，约占 25.94%，但仅 1 株为 SAT - 染色体的初级三体，约占三体植株的 1.03%。核型分析显示，SAT - 染色体的相对长度（%）= 11.11%，臂比（L/S）= 5.28，为近端部着丝点染色体（图版，a）。

2.2 SAT - 初级三体的形态特征

SAT - 初级三体在株高，花冠大小，荚长，荚宽等性状上与其二倍体亲本差异不大（表 1），但其柱头外露，高于雄蕊（图版，b），而二倍体亲本的柱头低于雄蕊（图版，c）。

表 1 菜薹 ‘青露菜心’ SAT - 初级三体的形态学特征  
Table 1 Morphological characters of SAT-chromosome trisomic in flowering Chinese cabbage

材料 Material	株高/cm Height of plant	花冠/cm Coronal diameter	花瓣长宽比 Ratio of petal length to width	成熟荚长/cm Length of pod	荚宽/cm Width of pod
SAT - 三体（2n + 1） SAT-trisomic	113	1.92	1.73	9.65	0.63
二倍体（2n）Diploid	121	2.01	1.82	10.25	0.68

2.3 SAT - 初级三体的减数分裂及花粉特性

SAT - 初级三体的减数分裂基本正常。终变期，3 个 SAT - 染色体多形成 1 个三价体（图版，d）；中期 I，额外的 SAT - 染色体多于单价体形式存在（图版，e）；后期 I，主要呈 10/11 分离（图版，

f), 出现落后染色体 (图版, g) 的仅占少数, 表明额外的 SAT - 染色体大多能进入细胞的一极, 进而形成 (n + 1) 配子。SAT - 初级三体的花粉量为 6 500 粒/花药, 花粉生活力为 67.91%, 虽较其二倍体亲本的低 (表 2), 但完全可以满足其授粉受精的需要。

表 2 菜薹 ‘青露菜心’ SAT - 初级三体的减数分裂及花粉特性  
Table 2 Meiosis and pollen characters of SAT-chromosome trisomic in flowering Chinese cabbage

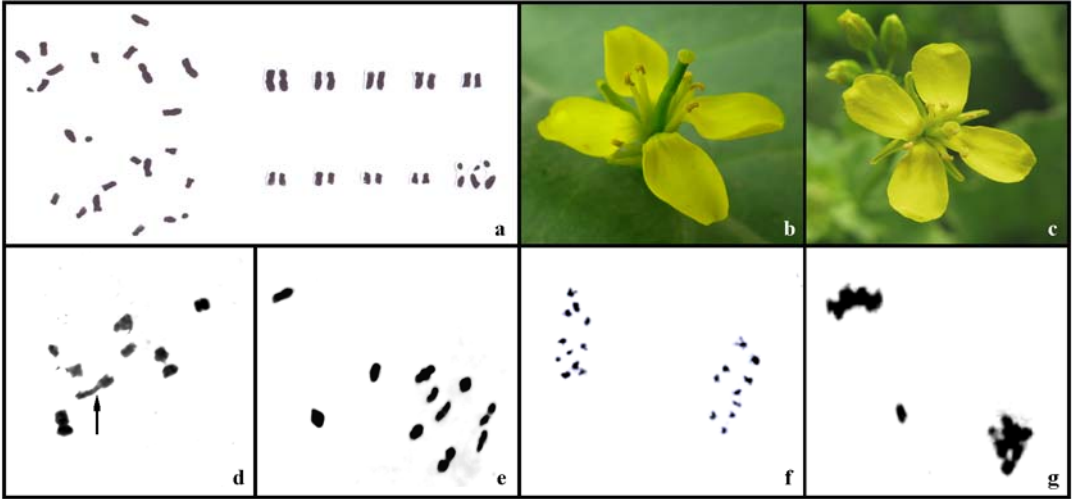
材料 Material	后期 I 10/11 分离的细胞数 Number of cells with 10/11 distribution at anaphase I	后期 I 10/10 分离的细胞数 Number of cells with 10/11 distribution at anaphase I	花粉粒/花药 Pollen grains per anther	花粉生活力/% Viability
SAT - 三体 (2n + 1) SAT-trisomic	103 (85.83%)	17 (14.17%)	6 500	67.91
二倍体 (2n) Diploid	-	-	8 583	95.23

2.4 SAT - 初级三体 (n + 1) 配子的传递率

由表 3 可见, SAT - 初级三体的额外染色体通过雌、雄配子均能传递, 但传递率均较低, 前者为 6.04%, 后者仅为 3.20%。

表 3 菜薹 ‘青露菜心’ SAT - 初级三体 (n + 1) 配子的传递率  
Table 3 Transmission of (n + 1) gametes of SAT-chromosome trisomic in flowering Chinese cabbage

组合 Combinations	鉴定株数 Total plants identified	2n 株数 Number of 2n plants	(2n + 1) 株数 Number of (2n + 1) plants	(n + 1) 雄配子传递率/% Transmission rate of (n + 1) male gametes	(n + 1) 雌配子传递率/% Transmission rate of (n + 1) female gametes
♀ SAT - 初级三体 × 2n ♂ ♀ SAT-primary trisomic × 2n ♂	116	105	7	-	6.04
♀ 2n × SAT - 初级三体 ♂ ♀ 2n × SAT-primary trisomic ♂	131	125	4	3.20	-



图版说明: a. SAT - 初级三体的核型; b. SAT - 初级三体的花; c. 二倍体亲本的花; d. SAT - 初级三体减数分裂终变期, 箭头指三价体; e. SAT - 初级三体减数分裂中期 I, 10 II + 1 I; f. SAT - 初级三体减数分裂后期 I, 10/11 分离; g. SAT - 初级三体减数分裂后期 I, 落后染色体。  
Explanation of plates: a. Karyotype of SAT-trisomic; b. Flower of SAT-trisomic, stigma above the stamen; c. Flower of the parent, stigma below the stamen; d. Diakinesis, showing trivalent; e. Metaphase I, showing 10 bivalents and an univalent; f. Anaphase I, showing segregation of 10/11 chromosome; g. Anaphase I, showing lagged chromosome.

3 讨论

迄今, 在水稻 (Khush & Singh, 1984; 刘宗贤和秦瑞珍, 1995; 程祝宽 等, 1996)、大麦 (Tsuchiga,

1960)、棉花(胡保民 等, 1996)、谷子(王润奇 等, 1994)、大白菜(申书兴 等, 2006)、结球甘蓝(张成合 等, 2006)等主要作物中都创造出了整套或部分初级三体。近年来作者以‘青露菜心’为材料, 采用三倍体与二倍体回交途径进行了初级三体的选育, 获得了部分初级三体, 但未能得到 SAT - 初级三体, 分析其原因一方面可能是鉴定的植株数较少, 另一方面可能是 SAT - 初级三体的传递率较低。本研究仅获得 1 株带随体染色体的初级三体(SAT - 初级三体)。其( $n+1$ )雌、雄配子的传递率仅分别为 6.04%和 3.20%。可见其额外 SAT - 染色体的传递率确实较低。

植物初级三体的鉴定主要依靠核型分析等方法。菜薹的染色体虽然相对较小, 但染色体间的差异比较明显, 把染色体长度与臂比结合起来, 可较容易地区分不同染色体, 特别是其染色体组中仅 1 条是带随体的染色体, 而随体是染色体上最为明显的遗传标记, 因此 SAT - 初级三体的鉴别最为便捷和可靠。

三体植株常常表现出一些明显特征, 可作为识别不同三体的重要标志, 也为遗传分析提供了便利条件。‘青露菜心’菜薹 SAT - 初级三体的突出特征是柱头高于雄蕊, 与其二倍体亲本柱头低于雄蕊形成鲜明的对比。分析引起三体特征效应的主要原因有两点: 一是基因增加了一个拷贝而产生的基因剂量效应; 二是增加了一条同源染色体而产生的染色体附加效应。由于二倍体和三倍体‘青露菜心’的柱头均表现正常, 推测其 SAT - 初级三体的柱头外露可能是 SAT - 染色体附加的效应。

## References

- Cheng Zhu-kuan, Li Xin, Yu Heng-xiu. 1996. A new set of primary trisomic in indica rice, its breeding and cytological investigation. *Acta Genetica Sinica*, 23 (5): 363 - 371. (in Chinese)
- 程祝宽, 李 欣, 于恒秀. 1996. 一套新的籼稻初级三体的选育和细胞学鉴定. *遗传学报*, 23 (5): 363 - 371.
- Hu Bao-min, Zhang Tian-zhen, Pan Jia-ju. 1996. Studies of trisomic plants in upland cotton. *Acta Agronomica Sinica*, 22 (2): 147 - 151. (in Chinese)
- 胡保民, 张天真, 潘家驹. 1996. 陆地棉三体的诱发、鉴定和利用. *作物学报*, 22 (2): 147 - 151.
- Khush C S, Singh R J. 1984. Primary trisomics of rice: Origin, morphology, cytology and use in linkage mapping. *Genetics*, 107: 141 - 163.
- Li Mao-xue, Zhang Zan-ping. 1996. Crop chromosome and manipulation technique. Beijing: China Agriculture Press: 220 - 221. (in Chinese)
- 李懋学, 张赞平. 1996. 作物染色体及其研究技术. 北京: 中国农业出版社: 220 - 221.
- Liu Zong-xian, Qin Rui-zhen. 1995. Selection of primary trisomics from anther culture of auto-tetraploid rice. *Acta Botanica Sinica*, 37 (2): 125 - 133. (in Chinese)
- 刘宗贤, 秦瑞珍. 1995. 四倍体水稻花药培养筛选初级三体的研究. *植物学报*, 37 (2): 125 - 133.
- Shen Shu-xing, Hou Xi-lin, Zhang Cheng-he. 2006. A Study on obtaining primary trisomics by the isolated microspore culture of autotetraploid Chinese cabbage. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (6): 1209 - 1214. (in Chinese)
- 申书兴, 侯喜林, 张成合. 2006. 利用小孢子培养创建大白菜初级三体的研究. *园艺学报*, 33 (6): 1209 - 1214.
- Tsuchiga T. 1960. Cytogenetic studies of trisomics in barley. *Japn J Bot*, 17: 177 - 213.
- Wang Run-qi, Gao Jun-hua, Wang Zhi-xing, Wang Zhi-min. 1994. Establishment of trisomic series of millet. *Acta Botanica Sinica*, 36: 690 - 695. (in Chinese)
- 王润奇, 高俊华, 王志兴, 王志民. 1994. 谷子三体系的建立. *植物学报*, 36: 690 - 695.
- Yuan Wen-huan, Wang Xin-e, Liu Jian-min, Zhang Cheng-he, Shen Shu-xing. 2008. Karyotype analysis and comparison of *Brassica* vegetables. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 31 (2): 27 - 30. (in Chinese)
- 袁文焕, 王新娥, 刘建敏, 张成合, 申书兴. 2008. 几种芸薹属蔬菜的核型分析与比较. *河北农业大学学报*, 31 (2): 27 - 30.
- Zhang Cheng-he, Wang Dong-ping, Shen Shu-xing, Chen Xue-ping, Xuan Shu-xin. 2003. Production and cytological identification of some primary trisomics of flowering Chinese cabbage. *Scientia Agricultura Sinica*, 36 (6): 681 - 684. (in Chinese)
- 张成合, 王东平, 申书兴, 陈雪平, 轩淑欣. 2003. 菜薹部分初级三体的选育与细胞学鉴定. *中国农业科学*, 36 (6): 681 - 684.
- Zhang Cheng-he, Zhu Hai-yan, Shen Shu-xing, Chen Xue-ping, Wang Hui-ying, Man Hong. 2006. Breeding and cytological identification of a set of primary trisomics in cabbage. *Scientia Agricultura Sinica*, 39 (7): 681 - 684. (in Chinese)
- 张成合, 祝海燕, 申书兴, 陈雪平, 王会英, 满 红. 2006. 结球甘蓝一套初级三体的选育及细胞学鉴定. *中国农业科学*, 39 (7): 681 - 684.