

# 同源四倍体白菜与同源四倍体萝卜远缘杂交研究

孙成振, 李 英, 张蜀宁\*, 郑金双, 侯喜林

(南京农业大学园艺学院, 作物遗传与种质创新国家重点实验室, 农业部南方蔬菜遗传改良重点开放实验室, 南京 210095)

同源四倍体间杂交是直接获得异源多倍体的有效方法之一, 可以避免常规方法中染色体加倍导致的不稳定变异, 但此类研究仅在拟南芥中有报道, 其可行性仍待研究。本研究中试图通过同源四倍体白菜与同源四倍体萝卜的属间杂交, 直接获得白菜与萝卜的异源四倍体属间杂种, 创建新种质, 以揭示此方法的可行性, 并为白菜与萝卜的遗传育种研究和异源多倍体研究提供新材料。

以同源四倍体白菜雄性不育系 09-P12 为母本, 同源四倍体萝卜 09-R82 为父本, 花期人工授粉。取授粉后 5 ~ 10 d 的角果消毒后转入  $MS + 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  水解酪氨酸的培养基中进行子房培养。取培养 15 d 后的子房, 剥离胚珠并转入  $MS + 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  水解酪氨酸 + 5% 椰汁的培养基中进行离体胚挽救。因胚珠不能长成完整植株, 待幼苗长到 1 cm 时, 切取子叶转入分化培养基  $MS + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA + 5% (体积比) 椰汁中诱导不定芽分化。切取单芽分别转入生根培养基 I ( $MS + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA)、II ( $1/2 MS + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA)、III ( $MS + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA) 和 IV ( $1/2 MS + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA) 中诱导生根。30 d 后将生根的幼苗进行驯化、移栽, 并采用形态学、染色体计数、流式细胞术、SSR 分子标记等技术对所得杂种  $F_1$  进行鉴定。对杂种  $F_1$  进行自交、回交, 以研究杂种  $F_1$  育性。

子房培养 15 d 后, 获得 11 个胚珠, 得率为 0.11 个/子房。离体胚挽救后, 4 个胚珠萌发, 幼苗长到 1 cm 长时生长停滞。切取子叶转入分化培养基诱导不定芽分化, 后切取单芽转入生根培养基中诱导生根。I、II、III、IV 生根培养基中生根率分别为 2.5%、40%、27%、60%。所得杂种  $F_1$  长势整齐, 生长习性、开花期、叶柄颜色、花形等和白菜相似; 角果形状、花色、叶柄形状等和萝卜相似; 叶形、株形等介于两个亲本之间。 $F_1$  染色体数为  $2n = 4x = 38$ , DNA 相对含量约为其二倍体亲本的 2 倍。从 30 对 SSR 引物中筛选出 8 对在双亲中表现多态性的引物, 并用所得引物对杂种  $F_1$  进行 SSR 分子标记鉴定。结果发现, 杂种  $F_1$  同时具有双亲特征带, 表现出共显性, 表明所得  $F_1$  为真杂种。自交、回交结果表明,  $F_1$  雄性器官表现不育, 雌性器官正常。推测  $F_1$  雄性不育可能是由于母本为 *Pol CMS*, 遵循细胞质遗传将不育基因转入杂种  $F_1$  中所致, 具体原因还在进一步研究中。

**关键词:** 白菜; 萝卜; 异源多倍体; 胚挽救; 同源四倍体

**中图分类号:** S 634.3; S 631.1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2011) S-2535-01

**收稿日期:** 2011-07-28

**基金项目:** 江苏省科技支撑计划项目 (BE201130172)

\* 通信作者 (E-mail: snzhang@njau.edu.cn; Tel: 025-84395756)