

不同类型甘蓝的可交配性研究

丁一娟, 魏大勇, 刘瑶, 梅家琴, 钱伟

(西南大学农学与生物科技学院, 重庆 400716)

摘要:野生甘蓝是改良栽培甘蓝的重要资源,在漫长进化中,部分野生甘蓝类型间,以及与栽培甘蓝间杂交存在一定的生殖障碍。本研究选用8个栽培变种和7个野生类型品种,共35份甘蓝材料进行随机杂交,不同类型甘蓝的可交配性存在显著差异,甘蓝间的遗传差异、杂交方向以及生活习性等因素对甘蓝类植物可交配性存在显著影响。研究数据表明,以野生甘蓝为母本可以显著提高与栽培甘蓝杂交的效率。

关键词:甘蓝;可交配性;野生型;栽培型

Crossability among Variant Types of *Brassica oleracea*

DING Yi-juan, WEI Da-yong, LIU Yao, MEI Jia-qin, QIAN Wei

(College of Agronomy and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716)

Abstract: *Brassica oleracea* includes variant wild type, which is important resources for improving cultivated types of *B. oleracea*. During the long evolution, reproductive isolations were formed among variant type of *B. oleracea* at certain degree. In the present study, 35 lines from seven wild and eight cultivated types were randomly crossed with others in order to investigate the crossability in *B. oleracea*. Significant differences for crossability were detected among crosses, and biological type, cross direction, and genetic difference which were found to affect the crossability significance. The results suggested that the crossability of combinations with wild type as female was higher than those with wild type as male in the crosses between wild and cultivated types of *B. oleracea*.

Key words: *Brassica oleracea*; crossability; wild type; cultivated type

甘蓝 (*Brassica oleracea* L., CC, n = 9) 是一种重要的十字花科芸苔属植物,其栽培类型如结球甘蓝、球茎甘蓝、抱子甘蓝、芥蓝、花椰菜、苜蓝、皱叶甘蓝和羽衣甘蓝等是世界上重要的蔬菜作物。甘蓝起源于地中海沿岸区域^[1],在自然界存在10种野生类型^[2],包括 *B. oleracea* L. ssp. *oleracea*、*B. insularis* Moris.、*B. rupestris* Rafin.、*B. incana* Ten.、*B. macrocarpa* Guss.、*B. villosa* Biv.、*B. montana* Pourret、*B. cretica* Lam、*B. hilarionis* Post 以及 *B. bourgeauii* (Webb) O. Kuntze。野生资源不仅存在丰富的遗传变异^[2-8],而且具有优良的抗逆性,如抗黑胫病 (*Leptosphaeria maculans*)^[9-10]、抗菌核病^[11]、抗菜粉蝶 (*Aleyrodes proletella*)^[12] 以及

抗甘蓝根蝇 (*Delia radicum*)^[13] 等。因此,野生甘蓝对现有栽培甘蓝的改良具有较大的应用潜力。

尽管栽培甘蓝和野生甘蓝具有相同的基因组 (CC, 2n = 18),但在漫长的进化过程中,野生类型之间、野生类型与栽培种之间形成了较大的遗传差异^[2-8]。本研究小组采用 SSR 及 AFLP 标记对甘蓝的所有野生类型及部分栽培变种的遗传多样性进行了评价,根据遗传距离将甘蓝资源划分为2个主要遗传类群,类群 I 包括野生类型 *B. oleracea* L. ssp. *oleracea*、*B. incana*、*B. bourgeauii*、*B. montana*、*B. cretica* 和 *B. hilarionis* 及所有栽培类型;类群 II 包括 *B. insularis*、*B. macrocarpa*、*B. rupestris* 和 *B. villosa*^[8]。

收稿日期:2012-06-02 修回日期:2012-08-02 网络出版日期:2013-01-30

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130130.1620.018.html>

基金项目:国家自然科学基金项目(31171585)

作者简介:丁一娟,硕士,主要从事作物遗传育种研究。E-mail: dding1989@163.com

通信作者:梅家琴,博士,主要从事分子育种研究。E-mail: jiaqinmay@163.com

此外,有研究报道甘蓝野生类型间杂交、野生类型与栽培类型间杂交均存在一定程度的生殖障碍^[3,14-15]。本研究选用7个野生类型甘蓝和8个栽培类型甘蓝进行配组杂交,研究不同遗传类群内和类群间的可交配性,同时考察甘蓝的生物学分类、生长习性、父母本等对可交配性的影响。本研究为利用野生甘蓝资源改良现有栽培甘蓝提供了依据。

1 材料与方 法

所用材料包括19份栽培甘蓝(涉及8个栽培变种),以及16份野生甘蓝材料(涉及7个野生类型)。

35份材料中有30份源于遗传类群I,5份源于遗传类群II^[8]。试验材料所属甘蓝类型、遗传类群

等信息详见表1。

所有材料按随机组合的方式种植于西南大学试验农场,每个材料3行,30株,行距0.4 m,株距0.15 m。于花期进行人工去雄授粉:在主花序上选取开花前2~3 d的花蕾,剥蕾去雄,授以父本的混合花粉,并立即套袋。7 d后摘除纸袋,角果在自然条件下生长至成熟。收获后各取10~30个角果统计其饱满子粒数,计算每角果粒数。鉴于不同类型甘蓝之间存在较大的生物学和形态学差异^[2-3],其结实能力可能存在差异,因而本研究采用相对结实率来反映组合的可交配性:相对结实率=杂交组合的每角果粒数/母本主花序自由授粉角果的每角粒数。

方差分析采用SAS软件^[16]进行。

表1 供试甘蓝作母本时与不同甘蓝杂交的结实情况

Table 1 Seed set of the *B. oleracea* as female crossing with other varieties

编号 Code	甘蓝类型 Taxon	母本 Female		父本(杂交组合结实性) Male(Cross-fertilize fruitfulness)	平均相对结实率(%) Mean of relative fructification rate
		征集代号 Accession	自由授粉结实性 Free pollination fruitfulness		
1 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>acephala</i> (羽衣甘蓝)	SAU-1	8.1	15 ^a (22.3)	2.80
2 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>acephala</i> (羽衣甘蓝)	K154-2-1			
3 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>acephala</i> (羽衣甘蓝)	2921			
4 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>acephala</i> (羽衣甘蓝)	K165-2			
5 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>germmifera</i> (抱子甘蓝)	SAU-4	9.8	15 ^a (17.1)	1.70
6 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>germmifera</i> (抱子甘蓝)	SAU-8			
7 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>gongylodes</i> (球茎甘蓝)	K168	10.5	15 ^a (12.7)	1.20
8 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>botrytis</i> (花椰菜)	K1112	2.8	15 ^a (1.8)	0.60
9 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>alboglabra</i> (芥蓝)	BRA1143	15.6	20 ^b (12.4)、35 ^b (0.6)、24 ^c (5.7)、 26 ^c (9.0)、2 ^a (12.2)	0.58
10 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>alboglabra</i> (芥蓝)	CGN14044	13.7	26 ^c (2.3、0.9、6.1、6.9)	
11 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>alboglabra</i> (芥蓝)	CGN17275	17.1	20 ^b (8.9)、29 ^b (7.3、12.1)、35 ^b (3.2、4.5、9.1)、31 ^b (0.1)、24 ^c (19.7)、25 ^c (11.1、11.9、13.2)、 26 ^c (5.2、3.9)、27 ^c (18.5)、2 ^a (12.9)	
12 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>alboglabra</i> (芥蓝)	BRA1143	15.0	21 ^b (9.3)	
13 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>alboglabra</i> (芥蓝)	CGN17275	10.2	21 ^b (13.6、12.1、9.2)、24 ^c (4.2、 2.8、2.8、1.0、1.0、8.2)	
14 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>alboglabra</i> (芥蓝)	SAU-5	10.1	15 ^a (18.4、6.3)	
15 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>cabbage</i> (结球甘蓝)	SAU-6	16.6	21 ^b (7.8)	0.50
16 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>gongylodes</i> (茎蓝)	CGN17244	16.1	22 ^b (10.1)、21 ^b (5.8)、28 ^b (2.7)、35 ^b (6.6)、33 ^b (5.1、 9.7)、25 ^c (2.5)、15 ^a (10.6)	0.43

表 1 (续)

编号 Code	甘蓝类型 Taxon	母本 Female		父本(杂交组合结实性) Male(Cross-fertilize fruitfulness)	平均相对结实率(%) Mean of relative fructification rate
		征集代号 Accession	自由授粉结实性 Free pollination fruitfulness		
17 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>bullata</i> (皱叶甘蓝)	548066			
18 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>bullata</i> (皱叶甘蓝)	129-1284-67	21.6	35 ^b (2.6)、24 ^c (1.0)	0.13
19 ^a	<i>B. oleracea</i> L. var. <i>bullata</i> (皱叶甘蓝)	SAU-7	21.6	15 ^a (6.9)	
20 ^b	<i>B. incana</i> Ten.	640-6570-84	10.4	13 ^a (2.4)、9 ^a (20.3)、2 ^a (9.6)、 29 ^b (15.6)	1.20
21 ^b	<i>B. incana</i> Ten.	BRA1166	8.7	13 ^a (4.0)、15 ^a (17.2)	
22 ^b	<i>B. incana</i> Ten.	BRA1262	10.6	24 ^c (16.0)、35 ^b (10.0)	
23 ^c	<i>B. villosa</i> Biv.	BRA2853	3.0	13 ^a (5.1)、9 ^a (9.8)、3 ^a (4.8)、 25 ^c (9.0)、27 ^c (11.3)	1.01
24 ^c	<i>B. villosa</i> Biv.	K10263	14.6	2 ^a (9.7)、28 ^b (11.6)、35 ^b (10.8)	
25 ^c	<i>B. insularis</i> Moris.	K8934	9.8	11 ^a (11.0、5.3、8.9)、4 ^a (7.9)、 22 ^b (11.7、8.1)	0.82
26 ^c	<i>B. insularis</i> Moris.	K9338	10.6	35 ^b (7.4、9.3)、23 ^c (5.6)、27 ^c (2.2)	
27 ^c	<i>B. rupestris</i> Raf.	BRA2851	10.2	9 ^a (5.0)、2 ^a (9.0)、20 ^b (5.0)、 35 ^b (4.3)	0.58
28 ^b	<i>B. cretica</i> Lam.	BRA6631	14.4	17 ^a (7.3)、3 ^a (9.5)	0.48
29 ^b	<i>B. cretica</i> Lam.	627-5971-81	14.0	5 ^a (6.1)	
30 ^b	<i>B. cretica</i> Lam.	BRA6628	14.2	15 ^a (3.9)	
31 ^b	<i>B. bourgenaii</i> (Webb)O. Kuntze	8856	17.6	27 ^c (6.0)	0.45
32 ^b	<i>B. bourgenaii</i> (Webb)O. Kuntze	BRA2848	15.2	16 ^a (6.8)、3 ^a (5.5)、17 ^a (9.1)、 6 ^a (2.8)、22 ^b (4.5)、35 ^b (15.5)	
33 ^b	<i>B. bourgenaii</i> (Webb)O. Kuntze	K9852	16.0	35 ^b (2.1)、24 ^c (10.5)	
34 ^b	<i>B. bourgenaii</i> (Webb)O. Kuntze	8842	17.6	15 ^a (11.9)	
35 ^b	<i>B. montana</i> Pourr.	653-6835-85	7.9	13 ^a (2.0)、9 ^a (0.3)、2 ^a (3.8)、 20 ^b (2.7)、31 ^b (0.7)、24 ^c (1.4)、26 ^c (3.3)、27 ^c (0.7)、 15 ^a (9.3)	0.34

a:栽培甘蓝,所属遗传类群 I ;b:与栽培甘蓝遗传距离近的野生甘蓝,所属遗传类群 I ;c:与栽培甘蓝遗传距离远的野生甘蓝,所属遗传类群 II
a: Cultivated type of *B. oleracea*, belong to genetic group I , b: Wild type of *B. oleracea* with close distance to cultivated type, belong to genetic group I ,
c: Wild type of *B. oleracea* with far distance to cultivated type, belong to genetic group II

2 结果与分析

采用涉及 2 个遗传类群、15 种变异类型的 35 份甘蓝进行配组杂交,共配组了 105 个杂交组合,累计授粉 2768 朵,共收获角果 1578 个,获得饱满子粒 12308 粒,平均每角粒数为 7.8 粒,介于 0.1 ~ 22.3 粒/角。

2.1 不同类型甘蓝的结实能力

根据表 1,不同栽培甘蓝的自由授粉结实性存在明显差异。将所有甘蓝按照不同类型分,皱叶甘

蓝的平均自由授粉结实性在所有甘蓝类型中最高(21.6 粒/角),其次为结球甘蓝(16.6 粒/角),花椰菜最低(2.8 粒/角),野生甘蓝自由授粉结实性在 3.0 ~ 16.6 粒/角之间。该结果表明不同类型甘蓝的结实能力本身存在很大差异,因而本研究采用相对结实率来反映杂交组合的可交配性。105 个组合相对母本的结实率平均为 0.67,羽衣甘蓝作母本的杂交组合相对结实率最高(约为 2.80),其次是抱子甘蓝(1.70)和球茎甘蓝(1.20),皱叶甘蓝最低(约为 0.13),其杂交结实性仅为该类型甘蓝自由授粉

结实性的 13% 左右。根据母本和父本的生物学分类,对所有组合的每角粒数和相对结实率进行方差分析(表 2),结果显示母本间差异均达到显著,而父本间差异均不显著,父母本的互作效应亦不显著,这表明不同类型甘蓝间杂交结实性受母本的影响大。

表 2 对杂交组合亲本类型的方差分析

Table 2 AVONA of parental types among cross combinations

变异来源	自由度	均方	<i>F</i>	<i>P</i>
Variance source	<i>df</i>	Mean square		
每荚粒数				
母本	13	61.4807686	2.76	0.0075
父本	11	23.8825092	1.07	0.4086
母本 × 父本	37	13.2220443	0.59	0.9425
相对结实率				
母本	13	0.85964628	5.70	<0.0001
父本	11	0.18187515	1.21	0.3159
母本 × 父本	37	0.08745680	0.58	0.9497

F 表示检验统计量的观测值; *P* 表示显著水平, 显著差异 ($P < 0.05$), 极显著差异 ($P < 0.01$)

F means observed value of the test statistic; *P* means the significant difference level, $P < 0.05$ and $P < 0.01$ mean significant and high significant difference respectively

2.2 杂交成功率比较

根据甘蓝的生长习性(栽培/野生),将所配组合划分为 4 类,即 C × C、C × W、W × C 和 W × W(其中 C 代表栽培甘蓝, W 为野生甘蓝)。方差分析检测到 4 类组合间每角粒数存在显著差异 ($P = 0.05$), 相对结实率存在极显著差异 ($P < 0.01$), 多重比较(表 3)发现, C × C 类组合的相对结实率(1.91)和平均每角粒数(12.2 粒/角)均最高, 而以 C × W 类组合相对结实率最低(0.50), 平均每角粒数最少(6.4 粒/角), 但若以野生甘蓝为母本授以栽培甘蓝的花粉(W × C 类组合), 则相对结实率(0.86)和平均每角粒数(7.5 粒/角)均得以提高。以上结果表明, 栽培甘蓝相互间的可交配性较强, 而栽培甘蓝与野生甘蓝的可交配性相对较弱, 且受杂交方向(正反交)的影响, 其中以野生甘蓝为母本的杂交成功率更高。

根据 J. Mei 等^[8]划分的 2 个遗传类群, 将所配组合分为 4 种类型, 即 I × I 类、I × II 类、II × I 类以及 II × II 类。方差分析检测到 4 种组合类型间的每角粒数没有显著差异 ($P = 0.54$), 但相对结实率存在显著差异 ($P < 0.05$)。根据多重比较结果(表 3), I × II 类的相对结实率最低(0.50), 其平均每角粒数亦最少(6.7 粒/角), 而 II × II 类杂交组

合的相对结实率(0.97)和平均每角粒数(8.6 粒/角)均最高, II × I 类和 I × I 类的相对结实率(分别为 0.83 和 0.66)和平均每角粒数(分别为 7.9 和 8.0)介于前述 2 类组合之间。进一步比较可知, II × I 类组合的相对结实率(0.83)显著高于 I × II 类组合(0.50)。以上结果表明, 遗传类群 II 内的甘蓝相互间杂交的可交配性较强, 而遗传类群 I 与遗传类群 II 间甘蓝的可交配性相对较弱, 且受杂交方向(正反交)的影响, 其中以遗传类群 II 的甘蓝作母本杂交成功率相对更高。

表 3 甘蓝各杂交组合结实情况

Table 3 Information of cross combinations within *B. oleracea* L.

组合类型	组合数	每角粒数	相对结实率(%)
Pattern of combination	No. of combinations	Seeds/pod	Relative fructification rate
习性			
C × C	9	12.2 ± 6.19a	1.91 ± 0.96a
C × W	44	6.4 ± 4.49b	0.50 ± 0.42b
W × C	28	7.5 ± 3.43bc	0.86 ± 0.65bc
W × W	24	7.4 ± 4.51bc	0.72 ± 0.48bc
遗传类型			
I × I	55	8.0 ± 5.22	0.66 ± 0.54a
I × II	29	6.7 ± 5.54	0.50 ± 0.43ab
II × I	18	7.9 ± 2.56	0.83 ± 0.28c
II × II	3	8.6 ± 2.87	0.97 ± 0.35cd

小写字母代表多重比较结果, 相同字母表示在 $P = 0.05$ 水平无显著差异

The results of multiple comparison are indicated by lowercase. The same lowercase represent no significant difference at $P = 0.05$ level

3 讨论

J. Mei 等^[8]基于全基因组水平的分子标记将甘蓝资源划分为 2 个主要类群, 类群 I 包括所有栽培类型和 6 个野生类型, 类群 II 包括 4 个野生类型。本研究结果表明, 来源于 2 个遗传类群的甘蓝所组成的 4 种杂交组合类型之间相对结实率存在显著差异, 一定程度上支撑了 J. Mei 等^[8]的研究结果。但是 4 种杂交组合类型中, I × I 类组合的相对结实率显著低于 II × II 类组合, 其原因可能与材料的地理分布有关。类群 I 中的野生甘蓝广泛分布于地中海沿岸区域, 其栽培类型分布于世界各地, 而类群 II 的甘蓝则集中分布于西西里群岛^[1-2], 地理分布的分散与集中很可能影响相互之间的基因渗透频率^[14-15, 17], 因此类群 II 的甘蓝可能发生过相对频繁的基因渗透事件, 从而减小了相互之间的遗传差异,

