

芸薹属作物的渗入杂交与种质资源创新

李再云

(华中农业大学植物科学技术学院 / 作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070)

摘要: 通过人工合成的种间杂种或异源多倍体与栽培种连续回交与选择, 可使近缘种或野生种的目标性状与基因渗入作物。本文总结了本课题组 30 年间所开展的芸薹属栽培种与几个亲缘关系较远的物种间的族间杂交、特异的细胞遗传学行为及种质资源创建。由于这些族间杂交中发生父本染色体的部分消除, 产生的杂种具有母本栽培种的全部或大部分染色体、附加少数的外源染色体或染色体片段, 经回交与自交后获得的渗入系表现父本的一些特征、遗传与表观遗传发生变化、但恢复母本的染色体数。讨论了此类亲缘关系较远的杂交在创建新种质资源方面的应用前景。

关键词: 芸薹属作物; 渗入杂交; 种质资源; 染色体消除; 细胞遗传学

Introgressive Hybridization and Germplasm Innovation in *Brassica* Crops

LI Zai-yun

(College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University/
National Key Lab of Crop Genetic Improvement, Wuhan 430070)

Abstract: By successive backcrossing and subsequent selection of the synthetic interspecific hybrids and allopolyploids with the cultivated species, the introgression of targeted chromosomal segments from the relatives becomes feasible. In this review, the intertribal hybridizations between the cultivated *Brassica* L. species and several distant relatives, cytogenetic behaviors and generation of new germplasm resource in our group are summarized. Due to the partial elimination of the chromosomes from pollen parents, the hybrids are able to maintain the whole or majority of the chromosomes from the female brassicas with the addition of few alien ones, and could produce the introgression lines with some male-derived characters, exhibiting the genetic and epigenetic alterations but keeping the same chromosome number as the female. The perspectives for crosses with distant relatives aiming at the new germplasm innovation are discussed.

Key words: *Brassica* L. crops; introgressive hybridization; germplasm; chromosome elimination; cytogenetics

渗入杂交或渐渗杂交 (introgressive hybridization) 指两物种的杂交后代与亲本之一或双亲反复回交, 把某一亲本 (供体) 的性状导入另一亲本 (受体), 形成具有双亲特征的第 3 个新物种^[1]; 该新物种可能只包含了供体物种的部分染色体或染色体区段, 而保留了受体物种的主要遗传组成。渗入杂交不但是自然界中物种形成的重要方

式^[2], 也是作物育种中从其他物种引入目标性状和基因以创建新种质资源及培育新品种的有效途径, 如小麦与偃麦草的远缘杂交育成“小偃”系列品种。渗入杂交相对于通过种间杂交人工合成异源多倍体的途径, 更容易产生在生产上应用的新材料及新品种, 因新合成的异源多倍体在育性及农艺方面表现较差、难与现有作物竞争, 故得以实际应用的

收稿日期: 2019-10-24 修回日期: 2019-11-15 网络出版日期: 2019-11-07

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20191024002>

第一作者研究方向为油菜远缘杂交与种质资源创建, E-mail: lizaiyun@mail.hzau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金 (39300081, 39770467, 30070413, 30571033, 30771207); 国家重点研发项目 (2016YFD0100202)

Foundation projects: National Natural Science Foundation (39300081, 39770467, 30070413, 30571033, 30771207), National Key R&D Program of China (2016YFD0100202)

极少。

在种间、属间或亲缘关系更远的物种间的远缘杂交中,有时产生的不是具有双亲染色体之和的预期或经典杂种(classical hybrids),而是包含了一个亲本(通常为雌性亲本)的全部或大部分染色体及另一个亲本(雄性亲本)的很少染色体与染色体片段的非经典杂种(nonclassical hybrids)^[3-4];其因为在杂交后的胚胎及杂种植株发育过程中来自雄性亲本的染色体被全部或部分消除,来自雌性亲本的染色体被保留或少量丢失^[3-5]。在极端情况下形成部分杂种(partial hybrids),其形态及染色体数与母本相似,但具有一些父本特异的 DNA 序列、或双亲均无的新 DNA 序列^[6-7]。

本课题组在过去 30 年间进行了芸薹属栽培种与十字花科(现也称芸苔科, Brassicaceae)几个族内物种的族间杂交(intertribal hybridizations),所获杂种均为非经典杂种,对这些杂种及后代进行了较为系统的细胞遗传学研究及选育,发现了非经典杂种形成的新遗传学机制、并为油菜遗传育种创建新材料。

1 白菜 × 诸葛菜的族间杂交

十字花科植物诸葛菜(*Orychophragmus violaceus* (L.) O.E.Schulz, 2n=24, OO)原产于中国和朝鲜,园艺学名为二月兰(*Moricandia sonchifolia* (Bunge) Hook.f.),因产生大而紫色的花而广泛栽培用于观赏。早先的研究显示其种子油中芥酸含量低(1%),而亚油酸(50%)及油酸(20%)的含量高,另外它的角果长、每角果种子数多、种子大,故可为油菜遗传改良提供低芥酸及优良农艺性状的基因资源^[8]。特别指出的是,最近在诸葛菜的种子油中还发现存在两种长链双羟基脂肪酸,占有脂肪酸总量的一半,系植物中首次发现,其高温润滑性能优于蓖麻油,为十分有价值的新型工业原料^[9]。

以小白菜(*Brassica rapa* L.subsp.*chinensis* (L.) P.Hanelt, 2n=20, AA)品种矮脚黄和几个白菜型油菜(*B.rapa* L., 2n=20, AA)品种为母本分别与诸葛菜杂交,从培养的幼胚和收获的种子均获得杂种植株^[10]。所有 F₁ 植株在形态上与母本很相似,少部分表现出诸葛菜的基部分枝和紫红茎秆性状,有的出现多花瓣和小花瓣等花瓣变异,有的从子房或角果中长出花序等子房发育异常。F₂ 植株形态上与母本相似,结实正常,部分植株自交种子出现黄色种皮。根据体细胞染色体数目和花粉母细胞(PMCs,

pollen mother cells)减数分裂行为将其分为 5 类:第 1 类 2n=19~43、第 2 类 2n=19~22、第 3 类 2n=20、第 4 类 2n=18~20 和第 5 类 2n=19~20,除第 3 类外其他植株的体细胞都含有不同染色体数目,但均以 2n=20 为主。终变期 PMCs 内染色体主要配成 10 个二价体,后期 I 主要以 10 : 10 分离,而在第 3 类中有 1 株的 PMCs 内有 10 个二价体和一个染色体片段,在第 5 类中少数 PMCs 的染色体数大于 40,并有 2~7 个四价体和少量八价体。在后 4 类植株后期 I 的 PMCs 中观察到大量的落后染色体和染色体桥。经基因组原位杂交(GISH)分析表明,除在部分植株的 PMCs 内检测到 1~2 条诸葛菜染色体、1~3 个易位染色体外,其余所有细胞均只含有小白菜染色体。通过 AFLP 分析 F₁ 植株及亲本,检测出诸葛菜特异带、新增带和缺失带,很多缺失带在大部分 F₁ 植株中都能检测到,因此母本 DNA 位点的改变是有选择性的。对 AFLP 结果进行聚类,显示 F₁ 植株与母本的相似系数均小于 0.90,说明诸葛菜遗传物质的进入使小白菜发生了一定的遗传变异。

2 白菜 × 菘蓝的族间杂交

菘蓝(*Isatis indigotica* Fortune., 2n=14)属于十字花科菘蓝族(Isatideae)菘蓝属植物,其根称板蓝根,叶称大青叶,为我国广泛栽培与大量使用的传统中草药;其基因组大小约为 300 Mb,只有芸薹属二倍体种的一半,染色体也明显较小。用菘蓝的花粉给小白菜矮脚黄大量授粉后^[11],小白菜自然结实产生了一些种子,它们大部分发芽,长成的一些植株在苗期即与小白菜显现出差异、表现出父本菘蓝的某些形态特征及化学组成;但大部分植株在开花之前死亡,只有少部分杂种植株发育至开花、与小白菜回交后产生后代。细胞学研究表明,开花的杂种植株具有不同的染色体数目:第 1 株, 2n=10,即小白菜单倍体的染色体数,完全不育,可能是孤雌生殖或受精后菘蓝染色体全部消除的结果。第 2 株, 2n=20,即与小白菜相同的数目,其所有观察的体细胞及花粉母细胞均保持该数目,绝大部分 PMCs 表现正常的染色体配对与分离行为,但少部分细胞内在减数分裂后期 I 出现一条落后染色体;GISH 分析没有检测到整条的外源染色体。落后染色体的出现可能是由于一对染色体发生了结构变异而影响配对与分离。该杂种自交不结实,其与小白菜的所有回交后代保持相同的 2n=20,少数植株仍在减数分裂后期

I 有一条落后染色体。第 3 株, $2n=22$, 包含 20 条小白菜染色体及 2 条菘蓝染色体; 在减数分裂中染色体配对正常, 形成 11 个二价体, 但在后期 I 除均等分离外, 也有不等分离及落后染色体出现; 自交不结实, 与白菜回交后产生 $2n=20$ 、21、22 的后代, 多数为 $2n=20$ 。在 $2n=20$ 、22 的杂种及后代中检测到菘蓝特异性的 AFLP 带、双亲没有的新带、小白菜的缺失带。

从二倍体种白菜/白菜型油菜(母本)与亲缘关系较远的两个物种的族间杂交中, 所获得的杂种均为在形态上偏向母本、表现父本的部分特征; 染色体数目与母本相同或相近、包含少数的父本染色体及片段; DNA 组成上与母本相似但有丢失、少量父本成分、双亲没有的新片段。该类杂种形成的细胞学过程涉及杂种胚胎及植株发育过程中的染色体加倍、父本染色体消除、染色体片段的重组与渗入^[10-11], 还可能伴随表观遗传变化。由于父本染色体的消除, 可较快从杂种后代中获得表型及遗传组成与母本有一定差异的新材料。

3 (白菜 × 诸葛菜) × 甘蓝型油菜的杂交

从小白菜品种矮脚黄与诸葛菜的杂交中获得一株形态为双亲中间型、部分可育的杂种, 但诸葛菜的紫色花性状没有表达, 仍为小白菜的黄色花; 它为混倍体 ($2n=23\sim 42$), 细胞中的染色体数有较大变异, 在体细胞及 PMCs 中很容易区分出一些体积明显较大、染色较深的染色体, 它们应来自诸葛菜, 故杂种细胞 ($2n=22$, AO) 可能经历了染色体加倍及随后的诸葛菜染色体部分消除^[12]。该杂种的自交后代在形态上出现较大范围的分离, 诸葛菜的紫色素不同程度的出现在大多数植株的叶片、茎秆和角果上, 有的植株全株深紫色。可能是在田间后代植株被甘蓝型油菜 (*B.napus* L., $2n=38$, AACCC) 串粉, 经过几代的选择后获得系列的甘蓝型油菜类型株系, 在植株形态、种子品质特性等方面均有较大的差异, 诸葛菜的一些特性得以表现, 仍有全株深紫色的株系^[13]; 它们没有整条的诸葛菜染色体, 多数具有 $2n=38$, 包括甘蓝型油菜类型的染色体组成 (20 条 A 组染色体, 18 条 C 组染色体)、缺体-四体 (22 条 A 组染色体, 16 条 C 组染色体); 少数具有 $2n=37\sim 39$, 包含变化的 A、C 组染色体。它们的 DNA 组成与小白菜有较大差异, 含有少量的诸葛菜成分及基因序列^[14]。

4 甘蓝型油菜 × 诸葛菜的族间杂交

以甘蓝型油菜品种奥罗 (Oro) 为母本、诸葛菜为父本, 进行人工去雄授粉后, 可较易产生杂交种子, 从收获的种子与培养的幼胚均可产生杂种植株; 杂种在形态上主要偏向奥罗, 表现诸葛菜的锯齿叶、基部多分枝等特性, 雌雄育性较好, 自交结实较高, 可收获较多种子^[15]。细胞学观察表明, 在有丝分裂过程中, 具有预期染色体数的杂种细胞 ($2n=12+19=31$, 染色体组为 OAC) 内, 来自诸葛菜的 12 条体积较大的染色体与来自甘蓝型油菜的 19 条较小染色体在细胞内占据不同的位置, 即亲本染色体组在空间上分开排列 (spatial separation of parental genomes), 随后被包含在两个细胞内, 形成分别具有诸葛菜 24 条染色体与甘蓝型油菜 38 条染色体的两个子细胞, 因为每条染色体有两条姐妹单体; 这样, 杂种内具有杂种细胞 ($2n=31$)、甘蓝型油菜细胞 ($2n=38$)、诸葛菜细胞 ($2n=24$), 它们的细胞质均来自母本甘蓝型油菜; 在杂种内还出现其他染色体数的细胞, 如 $2n=19$ 、12, 故还可能发生了染色体消除。相应的, 杂种也产生了较多的具有 19 个二价体的 PMCs、较少的具有 12 个二价体的 PMCs, 而可能为杂种细胞来源的 PMCs 内的配对难以准确观察。由此, 杂种自交后主要产生两种类型后代: 绝大多数为 $2n=38$ 的甘蓝型油菜, 表现很好的结实性; 少数为杂种类型, 仍为混倍体, 细胞中的染色体数与杂种相似; 这也证明杂种产生了 $n=12$ 与 19 的两种可育配子, 而具有全部诸葛菜染色体的 $2n=24$ (OO) 后代没有发现, 可能是由于 $n=12$ 的雄配子少与活力低、群体小等原因。F₂ 至 F₄ 群体中的杂种类型后代表现相同的细胞学行为^[15-16]。特别的是, 在 F₄ 群体中鉴定出一株 $2n=50$ (AACCO) 的五倍体后代, 可能由杂种细胞形成的不减数配子 ($n=31$) 与甘蓝型油菜配子 ($n=19$) 融合而来, 为杂种的真实性及发生的特异细胞学行为提供了直接证据^[17]。

甘蓝型油菜与诸葛菜杂种后代中出现的甘蓝型油菜类型植株, 其染色体经历了与诸葛菜的分与合, 随着世代的增加, 分与合的次数也相应增多; 在分与合的过程中, 诸葛菜遗传物质有可能整合至甘蓝型油菜、不同基因组的结合也诱导遗传变异, 故对后代中的甘蓝型油菜进行鉴定与选择, 可获得新材料。对杂种后代连续选择至 F₂₀, 产生在表型 (叶形、分枝特性、花色)、脂肪酸组成、硫苷含

量与成分方面变异的株系;在基因组组成、反转录转座子活性、胞嘧啶甲基化等也有较大程度的改变^[18-20]。

后来又重复进行了奥罗与诸葛菜的杂交、获得的仍是混倍体杂种,GISH分析在细胞内检测出少数的诸葛菜染色体及片段,多数细胞的染色体数及组成与母本甘蓝型油菜相同,也主要产生甘蓝型油菜类型后代,脂肪酸成分在一些植株中有相当变化,油酸与亚油酸含量有较大提高^[21]。

5 芥菜型油菜 × 诸葛菜的族间杂交

以芥菜型油菜(*B. juncea* (L.) Czern., $2n=36$, AABB)为母本、诸葛菜为父本,人工去雄授粉后较易获得杂交种子,产生的杂种植株生长健壮,在形态上可分为两类:第一类表现部分诸葛菜性状的中间类型,部分可育,自交后代也表现较大范围的形态变异;普通细胞学观察表明,这些植株的细胞具有变化较大的染色体数($2n=12\sim 44$),以具有预期染色体数($2n=30$)的杂种细胞及染色体数高于芥菜型油菜的细胞为主;从染色体数及形态判断在杂种细胞内双亲染色体仍表现空间上的分开排列现象,可能是双亲染色体在有丝分裂中主要发生不完全分开,使一些诸葛菜染色体与芥菜型油菜一起被包含在一个子细胞内,经染色体复制后产生附加多条诸葛菜染色体的细胞^[22-23]。这些附加多条诸葛菜染色体的杂种植株的产生,也有可能是杂种细胞的染色体先加倍然后丢失部分诸葛菜染色体。第二类为母本类型,表现极少的或没有父本特性,育性基本正常,自交后也产生母本类型后代;这些植株的细胞大多数或全部具有与芥菜型油菜相同的染色体数、减数分裂行为正常;它们的产生可能是由于杂交后发生了诸葛菜染色体的全部消除。通过与诸葛菜的杂交,获得了芥菜型油菜的异源附加系、亚倍体、渗入系^[22-24]。

芥菜型油菜与诸葛菜杂种及后代最显著的细胞学特征是,经过常规的染色后可在PMCs内观察到染色明显较深、体积较大的一些染色体,特别是在减数分裂终变期以后的PMCs内,它们应该是来自诸葛菜;PMCs内染色体染色深浅的差异比体细胞明显^[22,24]。这种细胞学现象在白菜与诸葛菜杂种及后代中也观察到。这种差异的产生一方面反映了两个种染色体组成的差异,另一方面反映了在细胞周期时间上的差异,由此引起双亲染色体在细胞分裂中的分开、诸葛菜染色体的消除。

6 甘蓝型油菜 × 芥菜的族间杂交

芥菜(*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik, $2n=4x=32$)为十字花科亚麻芥族(Camelinae)芥属植物,其茎秆木质化程度较高而具有较强的抗菌核病性,有的还是天然的低芥酸、低硫甙的“双低”种质资源。以我国优异的甘蓝型油菜“双高”(高芥酸、高硫甙)品种中油821为母本与芥菜杂交后,直接收获的种子长成的杂种植株中有的表现芥菜的深裂叶、茎秆高度木质化等形态特征; $2n=25\sim 29$,以 $2n=29$ 的细胞占多数,只有少量的芥菜染色体片段及DNA序列^[25];与中油821连续回交与自交后,选择到具有“双低”品质、株型紧凑(分枝角度变小)、硬秆的甘蓝型油菜新材料,在DNA组成、反转录转座子活性、胞嘧啶甲基化等方面与中油821有一定程度的差异^[20]。通过构建DH群体和高密度的SNP遗传连锁图以定位分枝角度的QTL,发现3个新的主效QTL位点,其中位于A03上的QTL(qBA.A03-2)能解释10.21%~13.21%的表型变异;位于C03染色体上的两个相邻的QTL(qBA.C03-3和qBA.C03-4)分别解释10.55%~21.73%和14.02%~17.21%的表型变异;候选基因预测生长素早期响应基因SAUR30(*BnaC03g14890D*)和SAUR55(*BnaC03g16420D*)可能影响油菜分枝角度调控^[26]。

从该杂种的染色体配对方式推测,这些细胞包含全部来自A基因组的染色体、丢失C基因组的部分染色体,即在杂种细胞的有丝分裂过程中,芥菜的染色体基本上全部丢失、来自C基因组的一些染色体也同时被消除。这种甘蓝型油菜中C基因组比A基因组更易丢失的现象,在与菘蓝^[27]、美国沙芥(*Lesquerella fendleri* (A. Gray) S. Watson.)^[28]、诸葛菜^[21,29]、海甘蓝(*Crambe abyssinica* Hochst. ex R. E. Fr.)^[30]等的几个族间杂交中都观察到,显示在外源染色体消除的诱导下A基因组的更高稳定性。继续用外源花粉给这些具有部分甘蓝型油菜染色体组成的杂种授粉1次或2次后,可使C基因组染色体进一步丢失、最后全部丢失,直至获得只包含A基因组染色体的植株——即从甘蓝型油菜中分离出来的白菜型油菜祖先种,为研究甘蓝型油菜形成与进化中两个祖先种的遗传和互作的特异材料^[27,30]。

7 展望

在植物育种中实现遗传渗入的常规杂交策略

为:合成种间杂种、染色体加倍产生异源多倍体、与受体种连续回交、定向选择具有目标性状的后代、自交纯化与稳定新材料。目标性状与基因导入的途径包括两个物种染色体间的部分同源重组、自然发生的染色体片段渗入、人工物理与化学处理产生的染色体重排。常常需要多年与大量精力才能获得目标材料。

本课题组所进行的几个芸薹属作物的族间杂交均产生的是非预期杂种,保留母本芸薹属的全部或大多数染色体、少数的父本近缘种的染色体与片段,也表现父本的一些性状,故这些杂种自交与回交后可较快获得渗入系。但是只能获得有限的渗入系类型,因大多数染色体被消除、染色体的丢失是随机的。丢失白菜二倍体种染色体的杂种出现频率极低,可能是由于二倍体不能忍耐染色体的缺失。而异源四倍体甘蓝型油菜的杂种可特异性的丢失多条来自C基因组的染色体,经与甘蓝型油菜亲本回交后恢复甘蓝型油菜的染色体数,但遗传结构发生了一定程度的改变。这些经过远缘杂交及染色体消除后产生的渗入系的基因组变化,除了DNA序列水平外(外源序列的结合、亲本序列的缺失、新序列的产生),还有表观遗传的改变,最后导致基因表达及表型的变化。过去在育种上重点关注了目标基因及性状的表现,现在及将来可应用多组学的技术深入探究遗传渗入对受体物种遗传结构与行为的影响,进一步理解渗入杂交的机制与应用。

参考文献

- [1] Anderson E. Introgressive hybridization. New York: John Wiley & Sons, 1949
- [2] Rieseberg L H, van Fossen C, Desrochers A M. Hybrid speciation accompanied by genomic reorganization in wild sunflowers. *Nature*, 1995, 375: 313-316
- [3] James J. New maize \times *Tripsacum* hybrids for maize improvement. *Euphytica*, 1979, 28(2): 239-247
- [4] Riera-Lizarazu O, Rines H W, Phillips R L. Cytological and molecular characterization of oat \times maize partial hybrids. *Theoretical and Applied Genetetics*, 1996, 93(1): 123-135
- [5] Kasha K J, Kao K N. High frequency haploid production in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Nature*, 1970, 225(5235): 874-876
- [6] Lashermes P, Andrzejewski S, Bertrand B, Combes M C, Dussert S, Graziosi G, Trouslot P, Anthony F. Molecular analysis of introgressive breeding in coffee (*Coffea arabica* L.). *Theoretical and Applied Genetetics*, 2000, 100(1): 139-146
- [7] Faure N, Serieys H, Berville A, Cazaux Z, Kaan F. Occurrence of partial hybrids in wide crosses between sunflower (*Helianthus annuus*) and perennial species *H. mollis* and *H. orgyalis*. *Theoretical and Applied Genetetics*, 2002, 104(4): 652-660
- [8] Luo P, Lan Z Q, Li Z Y. *Orychophragmus violaceus*, a potential edible-oil crop. *Plant Breeding*, 1994, 113(1): 83-85
- [9] Li X J, Teitgen A M, Shirani A, Ling J, Busta L, Cahoon R E, Zhang W, Li Z Y, Chapman K D, Berman D, Zhang C Y, Minto R E, Cahoon E B. Discontinuous fatty acid elongation yields hydroxylated seed oil with improved function. *Nature Plants*, 2018, 4(9): 711-720
- [10] Liu M, Li Z Y. Genome doubling and chromosome elimination with fragment recombination leading to the formation of *Brassica rapa*-type plants with genomic alterations in crosses with *Orychophragmus violaceus*. *Genome*, 2007, 50(5): 985-993
- [11] Tu Y, Sun J, Ge X, Li Z Y. Chromosome elimination, addition and introgression in intertribal partial hybrids between *Brassica rapa* and *Isatis indigotica*. *Annals of Botany*, 2009, 103(7): 1039-1048
- [12] Li Z Y, Heneen W K. Production and cytogenetics of intergeneric hybrids between the three cultivated *Brassica* diploids and *Orychophragmus violaceus*. *Theoretical and Applied Genetetics*, 1999, 99(3-4): 694-704
- [13] Xu C Y, Li Z Y. Origin of new *Brassica* types from single intergeneric hybrid between *B. rapa* and *Orychophragmus violaceus* by rapid chromosome evolution and introgression. *Journal of Genetics*, 2007, 86(3): 249-257
- [14] Xu C Y, Huang Q, Ge X H, Li Z Y. Phenotypic, cytogenetic, and molecular marker analysis of *Brassica napus* introgressants derived from an intergeneric hybridization with *Orychophragmus*. *PLoS One*, 2019, 14(1): e0210518
- [15] Li Z Y, Liu H L, Luo P. Production and cytogenetics of intergeneric hybrids between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus*. *Theoretical and Applied Genetetics*, 1995, 91(1): 131-136
- [16] Li Z Y, Ge X G. Unique chromosome behavior and genetic control in *Brassica \times *Orychophragmus* wide hybrids: a review. *Plant Cell Reports*, 2007, 26(6): 701-710*
- [17] Wu J G, Li Z, Liu Y, Liu H L, Fu T D. Morphology and cytogenetics of intergeneric pentaploid hybrid between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus* and its progeny. *Plant Breeding*, 1997, 116(3): 251-257
- [18] Ma N, Li Z Y, Cartagena J A, Fukui K. GISH and AFLP analyses of novel *Brassica napus* lines derived from one hybrid between *B. napus* and *Orychophragmus violaceus*. *Plant Cell Reports*, 2006, 25(10): 1089-1093
- [19] Ma N, Li Z Y. Development of Novel *Brassica napus* lines with canola quality and higher levels of oleic and linoleic acids derived from intergeneric hybrids between *B. napus* and *Orychophragmus violaceus*. *Euphytica*, 2007, 157(1-2): 231-238
- [20] Zhang X, Ge X, Shao Y, Sun G, Li Z Y. Genomic change, retrotransposon mobilization and extensive cytosine methylation alteration in *Brassica napus* introgressions from two intertribal hybridizations. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56346
- [21] Hua Y W, Li Z Y. Genomic *in situ* hybridization analysis of intergeneric hybrids between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus* and production of *B. napus* aneuploids. *Plant Breeding*, 2006, 125(2): 144-149

- [22] Li Z Y, Wu J G, Liu Y, Liu H L, Heneen W K. Production and cytogenetics of intergeneric hybrids between *Brassica juncea* × *Orychophragmus violaceus* and *B. carinata* × *O. violaceus*. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 96(2): 251-265
- [23] 李再云, Ceccarelli M, Minelli S, Contento A, Liu Y, Cionini P G. 高频率产生芸苔属非整倍体和纯合植株及基因组原位杂交分析. *中国科学: C 辑*, 2002, 32(3): 218-224
Li Z Y, Ceccarelli M, Minelli S, Contento A, Liu Y, Cionini P G. High frequency production and genomic *in situ* hybridization analysis of *Brassica* aneuploids and homozygous plants. *Science in China: Series C*, 2002, 32(3): 218-224
- [24] Xu C Y, Zeng X Y, Li Z Y. Establishment and characterization of *Brassica juncea*-*Orychophragmus violaceus* additions, substitutions and introgressions. *Euphytica*, 2007, 156(1-2): 203-211
- [25] Chen H F, Wang H, Li Z Y. Production and genetic analysis of partial hybrids in intertribal crosses between *Brassica* species (*B. rapa*, *B. napus*) and *Capsella bursa-pastoris*. *Plant Cell Reports*, 2007, 26(10): 1791-1800
- [26] Shen Y S, Yang Y, Xu E S, Ge X H, Xiang Y, Li Z Y. Novel and major QTL for branch angle detected by using DH population from an exotic introgression in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2018, 131(1): 67-78
- [27] Tu Y Q, Sun J, Liu Y, Ge X H, Zhao Z G, Yao X C, Li Z Y. Production and genetic analysis of partial hybrids from intertribal sexual crosses between *Brassica napus* and *Isatis indigotica* and progenies. *Genome*, 2010, 53(1): 146-156
- [28] Du X Z, Ge X H, Zhao Z G, Li Z Y. Chromosome elimination and fragment introgression and recombination producing intertribal partial hybrids from *Brassica napus* × *Lesquerella fendleri* crosses. *Plant Cell Reports*, 2008, 27(2): 261-271
- [29] Cheng B F, Seguin-Swartz G, Somers D J. Cytogenetic and molecular characterization of intergeneric hybrids between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus*. *Genome*, 2002, 45(1): 110-115
- [30] Zhu B, Tu Y Q, Zeng P, Ge X H, Li Z Y. Extraction of the constituent subgenomes of the natural allopolyploid rapeseed (*Brassica napus* L.). *Genetics*, 2016, 204(11): 1015-1027