

赵玉靖,滑帆,赵建军,等.耐抽薹大白菜-结球甘蓝单体异附加系后代的获得[J].江苏农业科学,2016,44(7):196-198.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.07.054

# 耐抽薹大白菜-结球甘蓝单体异附加系后代的获得

赵玉靖,滑帆,赵建军,王彦华,顾爱侠,申书兴

(河北农业大学园艺学院/河北省蔬菜种质资源创新与利用重点实验室,河北保定 071001)

**摘要:**利用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐射结合自交及游离小孢子培养,培育耐抽薹大白菜-结球甘蓝单体异附加系的后代群体。结果表明,随着辐射剂量的增加,自交结角率变化无显著规律,而结籽率则呈下降趋势;随着辐射剂量的增加,游离小孢子培养的胚状体诱导率和植株再生率显著下降,辐射剂量高于 60 Gy 时,胚状体诱导率为 0。

**关键词:**大白菜;结球甘蓝;单体异附加系;耐抽薹;辐射诱变;游离小孢子;培养

**中图分类号:** S634.032 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)07-0196-02

大白菜(*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*)是我国种植面积最大的蔬菜作物之一<sup>[1]</sup>。先期抽薹给大白菜的春季栽培带来很大困扰,影响了大白菜的周年均衡供应,而最好的解决方式是培育耐抽薹的品种<sup>[2]</sup>。结球甘蓝与大白菜同科同属,较大白菜具有耐寒、耐热性强、耐抽薹、富含硫代葡萄糖苷(简称硫苷,glucosinolate)等优良特性。笔者所在课题组已获得了耐抽薹大白菜-结球甘蓝单体异附加系,但单体异附加系遗传不稳定,且携有的非目的基因较多。

近年来,辐射诱变以其能提高植物基因水平上的突变频率,有利于打破性状连锁和促进基因重组<sup>[3]</sup>,而被广泛应用于新品种选育和种质资源创新工作中,成为常规育种的重要补充手段之一。辐射诱变最常用的是 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线<sup>[4]</sup>。 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线能显著影响组织或细胞的生长发育及生理生化过程,一定剂量的射线能造成染色体的断裂,伤害程度与辐射剂量呈显著正相关<sup>[5]</sup>。辐射剂量的选择是影响诱变效果的关键因素,过大或过小均可造成辐射无效或致死率太高<sup>[6]</sup>。辐射诱变在麦类<sup>[5]</sup>、棉花<sup>[7]</sup>等作物上研究较多,但在大白菜遗传育种上鲜有报道。本研究以耐抽薹大白菜-结球甘蓝单体异附加系为材料,利用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐射结合自交及游离小孢子培养途径,创制该单体异附加系的后代群体,为获得遗传稳定的易位系提供必要的材料与方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

收稿日期:2016-01-13

基金项目:国家自然科学基金(编号:31101552、31171964、31171976);“十二五”农村领域国家科技计划课题(编号:2012AA100202-5);农业部农业科研杰出人才培养计划;高等学校博士学科点专项科研基金(编号:20101302120006);河北省自然科学基金(编号:C2014204093);河北省高等学校科学技术研究项目(编号:Z2010149)。

作者简介:赵玉靖(1980—),女,河北滦南人,博士研究生,实验师,主要研究方向为蔬菜遗传育种。E-mail:yyzyj@hebau.edu.cn。

通信作者:申书兴,教授,博士生导师,主要从事蔬菜遗传育种方面的研究。滑帆,硕士研究生,河北保定人。

供试材料为耐抽薹大白菜-结球甘蓝单体异附加系 AC<sub>4</sub>。由河北农业大学蔬菜分子染色体工程与新品种选育团队提供。AC<sub>4</sub>为组培苗,诱导生根后于 2012 年 1 月移栽到温室营养钵中,冬季自然低温春化,3 月 22 日定植到大棚,常规管理。

### 1.2 试验方法

1.2.1 辐射诱变后自交 雌配子未经辐射处理而雄配子经辐射处理后自交:取 AC<sub>4</sub> 的健壮花枝,水培于三角瓶中,进行 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐射处理。辐射剂量率 1 Gy/min,设 0(对照)、30、45、60、75 Gy 5 个剂量梯度。辐射后去除该花枝上已开花朵,套袋隔离,用以提供花粉。选取未辐射处理的 AC<sub>4</sub> 植株上适宜授粉的花蕾,去除雄蕊,分别授以经 0、30、45、60、75 Gy 辐射的新鲜花粉,套袋隔离,成熟后收获种子 M<sub>1</sub>。

雌雄配子辐射处理后自交:取 AC<sub>4</sub> 初花期整棵植株进行 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐射处理,辐射剂量率 1 Gy/min,辐射剂量分别为 30、45 Gy。对辐射剂量为 30 Gy 的植株上适宜授粉的花蕾去雄,授以经 30 Gy 辐射的花粉,套袋隔离;对辐射剂量为 45 Gy 的植株上适宜授粉的花蕾去雄,分别授以经 30、45、60、75 Gy 辐射的新鲜花粉,套袋隔离,成熟后收获种子 M<sub>1</sub>。

1.2.2 辐射诱变后游离小孢子培养 晴朗的上午,温度 18~20℃,取 AC<sub>4</sub> 主枝、一级侧枝上适宜花蕾进行游离小孢子培养。以未经辐射诱变花蕾小孢子培养为对照,待辐射处理 24 h 后,分别取辐射剂量为 30、45、60、75 Gy 花枝上适宜的花蕾,进行游离小孢子培养。培养方法及胚状体植株再生方法参照申书兴等的方法<sup>[13-14]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 AC<sub>4</sub> 辐射诱变后的结角率和结籽率

随着辐射剂量的增加,结角率没有明显的变化规律,而结籽率明显变化(表 1)。对于父本接受辐射、母本未辐射的杂交组合,除授粉组合 II(父本辐射剂量为 30 Gy,母本未辐射)的结籽率为 46%,稍高于授粉组合 I(父本母本均未接受辐射)的结籽率外,其他组合的结籽率均呈现随辐射剂量的增加而下降的趋势;父本母本均接受辐射的组合,除组合 VIII(父、母本辐射剂量均为 45 Gy)外,母本辐射剂量相同时,结籽率随父本接受剂量的增加而下降。父本辐射剂量相同时,母本接

受的辐射剂量越大,结籽率也越低。即父、母本接受的辐射剂量均影响结籽率。以上辐照处理,共计获得耐抽薹大白菜-结球甘蓝单体异附加系 AC<sub>4</sub> 自交种子 2 962 粒。

表 1 不同辐射剂量对结角率和结籽率的影响

授粉组合	母本辐射剂量(Gy)	父本辐射剂量(Gy)	结角率(%)	结籽数(粒)	结籽率(%)
I (CK)	0	0	81a	252	45a
II	0	30	81a	386	46a
III	0	45	82a	673	45a
IV	0	60	83a	580	42a
V	0	75	76a	509	40a
VI	30	30	78a	271	42a
VII	45	30	79a	21	19b
VIII	45	45	83a	263	39a
IX	45	60	80a	7	13b
X	45	75	75a	14	13b

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

2.2 AC<sub>4</sub> 花蕾辐射诱变后游离小孢子培养的胚状体诱导率及植株再生率

AC<sub>4</sub> 不经辐射的适宜新鲜花蕾进行游离小孢子培养(图 1-A),其胚状体诱导率为 7.2 个/蕾、植株再生率为 48.8%(表 2),共 208 个胚状体发育成植株。辐射诱变后的游离小孢子培养,随着辐射剂量的增加,胚状体诱导率和植株再生率

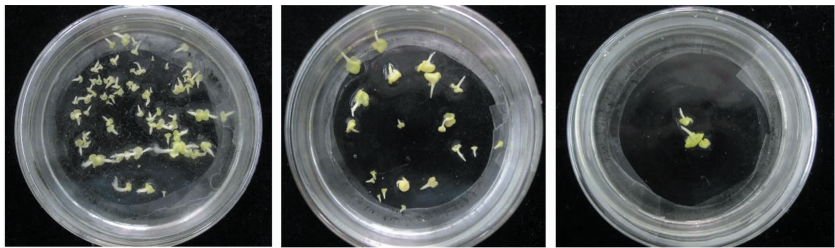
显著下降。辐射剂量为 30 Gy 时(图 1-B),胚状体诱导率、植株再生率分别为 2.71 个/蕾和 36.4%,16 个胚状体发育成植株;辐射剂量达到 45 Gy 时(图 1-C),胚状体诱导率、植株再生率分别降低至 0.11 个/蕾和 27.7%,2 个胚状体发育成植株;辐射剂量增至 60 Gy 时,胚状体诱导率降低至 0。结果表明,花蕾辐射剂量显著影响游离小孢子培养的胚状体诱导率和植株再生率。

辐射剂量为 30、45 Gy 的花蕾进行游离小孢子培养,33 ℃ 高温预处理 24 h 后,25 ℃ 暗培养 7~11 d 形成肉眼可见的球形胚,18~21 d 形成成熟的子叶形胚(图 1),转入 MS 培养基(图 2-A),2~3 d 后胚状体转绿(图 2-B)。在胚状体植株再生(图 2-C)过程中,存在胚状体褐化死亡的现象(图 2-D)。

表 2 不同辐射剂量下游离小孢子培养胚状体诱导率和植株再生率

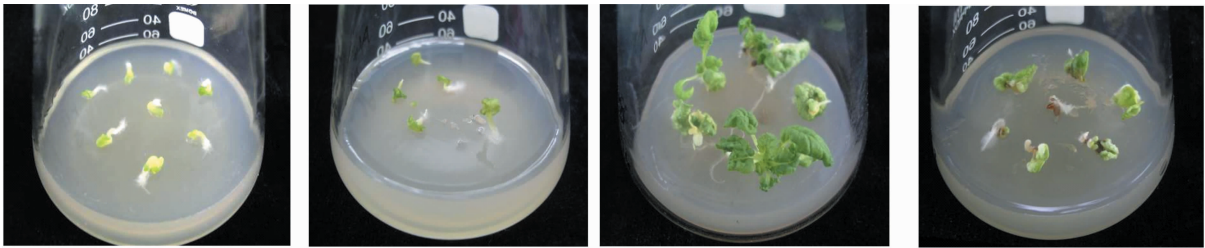
辐射剂量(Gy)	胚状体诱导率(个/蕾)	成苗数(株)	成苗率(%)
0	7.20 ± 3.91A	208	48.8 ± 0.10A
30	2.71 ± 0.80B	16	36.4 ± 0.18B
45	0.11 ± 0.06C	2	27.7 ± 0.25C
60	0	0	0
75	0	0	0

注:表中胚状体诱导率数据为 90 个花蕾的平均值。



A. 辐射剂量 0 Gy B. 辐射剂量 30 Gy C. 辐射剂量 45 Gy

图 1 不同剂量辐射花蕾后游离小孢子培养诱导的胚状体



A. 转入 MS 培养基 B. 胚状体转绿 C. 植株再生 D. 褐化

图 2 游离小孢子培养胚状体的植株再生

3 讨论

任正隆等采用常规杂交选育方法,以单体异附加系为试材,获得了小麦-黑麦小片段染色体易位系<sup>[8]</sup>。李瑞芬等以单体异附加系花药培养诱导染色体易位<sup>[9]</sup>。本研究以耐抽薹大白菜-结球甘蓝单体异附加系为材料,利用<sup>60</sup>Co- $\gamma$  辐射结合自交及游离小孢子培养途径,获得了 3 188 个该单体异附加系的后代,为进一步筛选易位系提供了必要材料。辐射可使染色体断裂,从而实现外源染色体片段向受体亲本基因组的转移<sup>[10]</sup>,以提高易位系的合成频率。同时以游离小孢子培养替代花药培养,排除了培养过程中花药壁等体细胞的

干扰<sup>[11]</sup>和易出现嵌合体的现象。

本研究中随着辐射剂量的增加,结籽率呈下降趋势,游离小孢子培养的胚状体诱导率和植株再生率呈显著下降趋势,表明<sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线辐射降低了花粉、游离小孢子的活力,且降低程度与辐射剂量呈正相关。在棉花上也报道了<sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线破坏花粉活力,降低结籽率<sup>[12]</sup>。成熟的雌雄配子体对<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 具有较强的耐受性;而游离小孢子的活力下降与辐射剂量呈显著正相关,推测是在雄配子形成早期的小孢子阶段对辐射诱变的耐受性较差引起的。在本研究中自交结籽率下降幅度小,这可能是由于白菜中含有丰富的抗辐射物质硫代葡萄糖苷<sup>[13]</sup>。

袁星星,陈新,崔晓艳,等. 豌豆新品种苏豌8号及光温处理促进豌豆早熟技术[J]. 江苏农业科学,2016,44(7):198-200.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.07.055

# 豌豆新品种苏豌8号及光温处理促进豌豆早熟技术

袁星星,陈新,崔晓艳,陈华涛,张红梅,刘晓庆,顾和平

(江苏省农业科学院蔬菜研究所,江苏南京 210014)

**摘要:**苏豌8号豌豆是江苏省农业科学院蔬菜研究所利用早熟的矮生直立豌豆品种中豌6号为母本,矮生早熟大粒甜豌豆品种S4008为父本,经过杂交和系统选育而成。具有早熟、高产、抗病等优点,2014年苏豌8号及光温处理促进豌豆提早成熟技术通过江苏省农业委员会组织的科技成果鉴定。该品种早熟,荚长6.63 cm、宽1.90 cm,百荚鲜质量1 011.1 g,鲜籽百粒质量52.0 g,鲜籽粒浅绿色,口感柔糯;抗寒性较好,中抗白粉病;一般单产鲜荚约800 kg/667 m<sup>2</sup>,适合江苏省及相邻省份作保护地或露地栽培种植。

**关键词:**豌豆;新品种;提早成熟;光温处理

**中图分类号:** S643.304 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)07-0198-03

中国南方地区豌豆中有70%以上为速冻加工用,可用于出口等,但由于常规栽培导致上市时间集中和偏迟,遇上早春寒冷某些品种冻害严重,因而产量低,导致效益较低<sup>[1-2]</sup>。在此背景下,江苏省农业科学院蔬菜研究所自2005年开展了早熟、优质豌豆新品种及配套栽培技术的研究。

苏豌8号豌豆是江苏省农业科学院蔬菜研究所利用早熟

的矮生直立豌豆品种中豌6号为母本,矮生早熟大粒甜豌豆品种S4008为父本,经过杂交和系统选育而成。2014年12月,苏豌8号及光温处理促进豌豆提早成熟技术通过江苏省农委组织的科技成果鉴定。

苏豌8号是针对中国南方地区豌豆不耐冻害、生育期长、上市偏晚等问题培育的荚粒兼用型早熟豌豆新品种,同时依据春化作用原理<sup>[3-6]</sup>,运用LED光源及温度联合处理豌豆种子,并利用大棚设施条件,避免低温冻害的影响,缩短其生育期,鲜荚鲜粒提早上市,产量增加,提高产值。同时有效避开高温导致的病虫害对豌豆生长后期的影响,减少了各类除草剂、杀虫杀菌剂等农药使用量,提高产品质量和安全性,满足出口创汇的要求。此外,还可安排适宜的后茬作物,提高农民经济效益。具有较强的市场竞争力和广阔的产业化前景,适宜江苏省及相邻生态区示范推广。

收稿日期:2015-05-20

基金项目:国家食用豆产业技术体系专项(编号:CARS-09);江苏省科技支撑计划(编号:BE2013379);江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(14)2140]。

作者简介:袁星星(1984—),女,江苏东台人,助理研究员,主要从事豆类作物遗传育种研究。E-mail:yxx@jass.ac.cn。

通信作者:陈新,研究员,主要从事豆类作物遗传育种研究。Tel:(025)84391362;E-mail:cx@jass.ac.cn。

李桂英等在研究辐射花粉对小麦×黑麦杂种结实率的影响时发现,低剂量射线辐射黑麦花粉时,结实率比对照略有提高<sup>[14]</sup>,表现出低剂量辐射的刺激效应。本试验中辐射剂量为30 Gy的花粉做父本时,授粉的结籽率稍高于对照,也表现出了低剂量的刺激效应。

## 参考文献:

- [1] 张淑江,李菲,章时蕃,等. “十一五”我国大白菜遗传育种研究进展[J]. 中国蔬菜,2011(6):1-8.
- [2] 余阳俊,张凤兰,赵岫云,等. 大白菜晚抽薹性快速评价方法[J]. 中国蔬菜,2004(6):16-18.
- [3] 刘丽强,刘军丽,张杰,等. <sup>60</sup>Co-γ辐射对观赏海棠组培苗的诱变效应[J]. 中国农业科学,2010,43(20):4255-4264.
- [4] 陈秋芳,王敏,何美美,等. 果树辐射诱变育种研究进展[J]. 中国农学通报,2007,23(1):240-243.
- [5] 李明杰,张建伟,泰国琴,等. <sup>60</sup>Co-γ射线对黑麦的诱变效应研究[J]. 河南农业大学学报,2010,44(4):370-374.
- [6] 叶力勤,杨世宏. γ射线辐射诱变中应注意的几个问题[J]. 宁夏农林科技,2002(5):49-50.
- [7] 胡保民,张天真. 陆地棉单体的诱发及鉴定[J]. 棉花学报,

1996,8(1):14-17.

- [8] Ren Z L, Zhang H Q. Induction of small-segment-translocation between wheat and rye chromosomes[J]. Science in China (Series C Sciences), 1997,40(3):323-331.
- [9] 李瑞芬,赵茂林,张敬原,等. 单体异附加系花药培养创制小麦-中间偃麦草纯合易位系[J]. 西北植物学报,2006,26(1):28-32.
- [10] Hasterok R, Wolny E, Kulak S, et al. Molecular cytogenetic analysis of *Brassica rapa* - *Brassica oleracea* var. *alboglabra* monosomic addition lines[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111(2): 196-205.
- [11] 徐艳辉,张凯. 大白菜游离小孢子培养研究的回顾与展望[J]. 辽宁农业科学,2000(6):30-34.
- [12] Yue J Y, Tang C M. Effects on agronomic traits of M1 by pollen of upland cotton irradiated by <sup>60</sup>Co-γ ray[J]. Agricultural Science & Technology, 2012, 13(3):525-528.
- [13] 廖永翠,宋明,王辉,等. 大白菜中硫代葡萄糖苷的鉴定及含量分析[J]. 园艺学报,2011,38(5):963-969.
- [14] 李桂英,王琳清,施巾帼. 辐照花粉对小麦×黑麦杂交结实率及杂种胚胎发育的影响[J]. 麦类作物学报,2005,25(6):15-19.