

芸芥自交不亲和等位基因及其表达初步研究

范惠玲,王文倩,李彦龙,白生文

(河西学院农业与生物技术学院,甘肃 张掖 734000)

摘要:在利用芸芥自交不亲和系途径开展育种研究的过程中,为了避免在人工试配组合时,双亲蕾期杂交结籽率较好,但在自然隔离条件下配制杂交种时出现双亲花期交配不亲和的现象,本试验对 10 份芸芥进行了系内株间和系间的完全双列杂交,同时对自交不亲和基因的表达器官进行了 DDRT-PCR 扩增研究。结果表明,芸芥 1、芸芥 3、芸芥 5、芸芥 6、芸芥 8、芸芥 9 和芸芥 13 这 7 份材料系内株间异交和套袋自交的亲和指数均小于 1,即表现为不亲和性,说明这些材料属于 S 等位基因纯合的不亲和系;而芸芥 2、芸芥 4 和芸芥 10 这三份材料系内株间异交和套袋自交时,呈现出亲和性不稳定的现象,即一部分杂交表现为亲和,另一部分杂交表现为不亲和,说明这 3 份材料的自交不亲和性尚未稳定。DDRT-PCR 扩增结果表明,芸芥自交不亲和 S 基因只在柱头组织中表达,其属于组织特异性表达。因此,在利用自交不亲和系途径培育一代杂种时,在农艺学性状和自交不亲和性基本稳定时,有必要进一步测定自交不亲和系 S 等位基因的纯合性和基因型,这一工作可以有效地指导育种实践。

关键词:芸芥;自交不亲和系;S 等位基因;基因表达;DDRT-PCR

中图分类号: S565 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7601(2013)05-0110-07

Study on S alleles and their expression in self-incompatible lines of *Eruca Sativa* Mill.

FAN Hui-ling, WANG Wen-qian, LI Yan-long, BAI Sheng-wen

(College of Agriculture and Biotechnology, Hexi University, Zhangye, Gansu 734000, China)

Abstract: In the process of breeding research by ways of self-incompatible lines in *E. Sativa* Mill., there is often a phenomenon that the seed setting percentage from the cross of two parents is high in bud stage, but the number of seeds is low in late stage owing to the natural segregation. By using the method of complete diallel crossing, the purity of S alleles in 10 self-incompatible lines of *E. Sativa* Mill. was studied, and the expression tissue of self-incompatible genes was analyzed with DDRT-PCR technique. The results showed that the self-compatible index of Yunjie 1, Yunjie 3, Yunjie 5, Yunjie 6, Yunjie 8, Yunjie 9 and Yunjie 13 was below 1 after selfing or outcrossing among these 7 self-incompatible lines, that is to say, their self-incompatibility was stable. However, the self-incompatibility of Yunjie 2, Yunjie 4 and Yunjie 10 was not stable. DDRT-PCR analysis showed that the self-incompatible genes of *E. Sativa* Mill. didn't belong to constitutive expression, but to specific tissue expression. Therefore, when creating F1 hybrids by ways of self-incompatible lines, it is necessary for us to determinate the purity of S alleles and their genotypes besides agronomic traits and self-incompatible stability.

Keywords: *Eruca sativa* Mill.; self-incompatible lines; S alleles; gene expression; DDRT-PCR

自交不亲和性是植物(特别是被子植物)为了实现异花受精和遗传重组而形成的一种精密繁殖体系。植物在长期进化过程中,形成了各种有利于异花授粉的机制,自交不亲和性就是其中最为有效的一种,并且被认为是被子植物进化迅速的主要原因之一^[1]。自交不亲和性除在被子植物繁殖生物学上的意义外,在植物杂种优势利用等方面还有重要的利用价值,它可以用来大规模地生产杂交种。

芸芥(2n=22)属十字花科芝麻菜属植物,具有抗旱、耐瘠薄、抗白粉病、耐盐碱、耐冻害等优良特性,是干旱地区重要的油料作物和节水作物。芸芥与芸薹属植物具有亲缘关系,也是芸薹属植物的重

收稿日期:2012-10-05
基金项目:河西学院大学生科技创新项目(2011-101);河西学院青年教师科研基金项目(QN2011-17)
作者简介:范惠玲(1980—),女,硕士,甘肃陇西人,讲师,主要从事油料作物的遗传和育种科研工作。E-mail:qianjing05@163.com。
通信作者:白生文(1977—),男,甘肃民勤人,主要从事油料作物遗传科研工作。

要育种资源。自交不亲和性是植物界的一种普遍现象,其中十字花科植物中的自交不亲和性最为普遍。Ockenden^[2],Richrads^[3],Sampson^[4]曾分别对 *Brussels sprouts*、*Brassica campestris ssp. oleifera* 和 *raphanus raphanistrum* 的 S 等位基因的分布和遗传作过深入的研究。芸芥自交不亲和性属于孢子体自交不亲和系统,不亲和性受 S 复等位基因控制。然而,对芸芥自交不亲和系 S 等位基因型和表达器官的研究还未见报道。笔者在利用自交不亲和系途径开展芸芥育种研究的过程中,在人工试配组合时,遇到双亲蕾期杂交结实率较好,但在自然隔离条件下配制杂交种时出现双亲花期交配不亲和的现象。因此,为了克服这一障碍,本试验对 10 份芸芥的 S 等位基因型及其表达器官进行了分析,以期为克服育种过程中试配杂交种的盲目性,提高育种效率,加速育种工作的进程,和克隆自交不亲和基因提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2011 年参试材料共 10 份,分别为芸芥 1(7511)、芸芥 2(87-86)、芸芥 3(06 武芸)、芸芥 4(9503)、芸芥 5(7512)、芸芥 6(7513)、芸芥 8(和田芸芥)、芸芥 9(9421)、芸芥 10(87-85)和芸芥 13(定西芸芥)。2012 年参试材料共 7 份,分别为芸芥 1、芸芥 3、芸芥 5、芸芥 6、芸芥 8、芸芥 9 和芸芥 13。所有参试材料均经过多代自交,农艺性状和自交不亲和性基本稳定。研究芸芥自交不亲和基因表达所用材料:芸芥

自交不亲和系(SI)及自交亲和系(SC),均由河西学院农业与生物技术学院农学教研室育成,它们属于高代纯系;SI 自交不亲和性稳定,经过连续 5~6 代的自交,自交亲和指数均小于 1,属高度自交不亲和系;SC 是从自交不亲和群体中分离出的亲和突变体,该突变体经连续自交 5 代,自交亲和指数稳定在 14 左右,相对自交亲和指数稳定在 95%左右,属高度自交亲和系。

1.2 试验设计与方法

试验按顺序排列,每份材料各种 1 行,行长 2 m,行距 50 cm,每行 8 株,株距 40 cm。

1.2.1 自交不亲和系系间 S 等位基因测定 将所有参试材料进行系间完全双列杂交,每份材料选择生长健壮的 3~5 个单株,进行株系内系间、株间完全双列杂交。首先摘除花枝基部已开放花朵,蕾期去雄,套袋后隔日进行花期授粉,杂交选用一级侧枝,每个杂交作 2 个枝条,每枝条授粉 2~3 次约 10 个花朵,待种子成熟后分别考种,并计算自交亲和指数。自交亲和指数=结籽数/授粉花朵数,以亲和指数小于 1 作为自交不亲和的标准^[5]。

1.2.2 自交不亲和性纯合性的鉴定 每份材料选择生长健壮的 3~5 个单株,进行株间完全双列杂交。其授粉、考种和计算方法同 1.2.1 中所述。

1.3 引物序列

根据 DDRT-PCR 扩增所用引物的特点,参考前人的研究报告,共设计合成 3 条 3'端锚定引物 H-T₁₁M 和 10 条 10-nt 随机引物(详见表 1)。

表 1 锚定引物和随机引物的序列
Table 1 Sequence of anchoring primers and random primers

锚定引物 Anchoring primers	引物序列 Sequence of primers	随机引物 Random primers	引物序列 Sequence of primers	随机引物 Random primers	引物序列 Sequence of primers
H-T ₁₁ A	5' AAGCTTTTTTTTTTTA3'	①	5' GGAAGTCGCC3'	⑥	5' GGTGACTGTG3'
H-T ₁₁ G	5' AAGCTTTTTTTTTTTG3'	②	5' ACCAGGTTGG3'	⑦	5' TGTTCACGG3'
H-T ₁₁ C	5' AAGCTTTTTTTTTTTC3'	③	5' GGGAATTCGG3'	⑧	5' TGACGGCGGT3'
		④	5' AACCCGGGAA3'	⑨	5' CAGAGGTCCC3'
		⑤	5' TCACCACGGT3'	⑩	5' GTCGTCCTG3'

1.4 RNA 提取、检测和 cDNA 第一链合成

RNA 提取参照王美林^[6]等人报告,所得 RNA 用 1.2% 变性琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性。PCR 管中依次加入 2.27 μ L H-T₁₁M, 2 μ L RNA, 9.13 μ L DEPC-H₂O; 70℃ 保温 5 min, 冰上冷却 2 min; 离心数秒后加入 5 μ L 5× Reaction Buffer, 5 μ L dNTPs, 0.6 μ L Ribonuclease Inhibitor, 1 μ L M-MLV; 42℃ 保温 60 min 后于 95℃ 灭活残余 M-MLV。

1.5 DDRT-PCR 扩增及电泳检测

分别以 SC 和 SI 中的根、叶、花瓣和柱头为材料,进行 DDRT-PCR 扩增。PCR 反应体系: 17 μ L DEPC-ddH₂O, 1.5 μ L 10× PCR Buffer, 2 μ L dNTPs, 1 μ L 锚定引物, 1 μ L 随机引物; 1.5 μ L cDNA, 1 μ L Taq DNA Polymerase。PCR 反应程序: (1) 94℃ 4 min; (2) 30℃ 1 min; (3) 72℃ 1 min; (4) 94℃ 30 s; (5) 42℃ 1 min 30 s; (6) 72℃ 1 min, 从(4)到(6)共 35 个循环;

(7) 72℃ 10 min。最后将 1 μ L 溴酚蓝和 5 μ L DDRT-PCR 扩增产物混匀,用 3% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物。

2 结果与分析

2.1 芸芥自交不亲和系 S 基因纯合性的测定

通过自交不亲和系内花期株间异交和套袋自交的亲和性表现,可判断出各参试材料 S 基因的纯合性与否。系内株间所有交配,包括正、反交和自交均表现不亲和者为 S 基因纯合、稳定的自交不亲和系,系内株间异交表现部分亲和者为 S 基因尚不纯合、自交不亲和性尚不稳定的株系。笔者于 2008—2010 年,在田间试验中发现芸芥 1、芸芥 2 和芸芥 3 等 10 份材料表现出不同程度的自交不亲和性。根据 2011 年的田间试验结果,芸芥 1、芸芥 3、芸芥 5、芸芥 6、芸芥 8、芸芥 9 和芸芥 13 这 7 份材料系内株间异交和套袋自交的亲和指数均小于 1,表现为不亲和性,说明这些材料属于 S 等位基因纯合的不亲和系;而芸芥 2、芸芥 4 和芸芥 10 这 3 份材料系内株间异交和套袋自交时,呈现出不亲和性不稳定的现象,即一部分杂交表现为亲和,另一部分杂交表现为不亲和,由此说明这 3 份材料的自交不亲和性尚未完全稳定。

2.2 不同芸芥自交不亲和系间 S 基因的等位关系

2012 年对以上所得 7 个 S 等位基因纯合的不亲和系进行完全双列杂交,以期验证这些材料之间 S 基因的等位关系。结果(表 2)表明,芸芥 1 和芸芥 3、芸芥 6 和芸芥 13、芸芥 5 和芸芥 8 系间正反交均表现为不亲和,因此认为芸芥自交不亲和系 1 和 3 的 S 基因型相同,定为 S1S1;芸芥 6 和芸芥 13 的 S 基因型相同,定为 S2S2;芸芥 5 和芸芥 8 的 S 基因型相同,定为 S3S3。同时,还发现自交不亲和系芸芥 9 与其他自交不亲和系系间正反交均表现为亲和,说明该系的 S 基因型与其他 6 个系不同,将其定为 S4S4(见表 3)。

2.3 芸芥自交不亲和系亲缘关系、农艺性状和 S 基因型之间的相关性

从选择的不同参试材料和自交不亲和系 S 等位基因型确定的结果来看,同一起来源经自交分离出的材料如芸芥 1、芸芥 5 和芸芥 6,不仅苗期、蕾期和花期植株形态相似,叶片颜色和形态,花蕾形态,初花期、花期长短和成熟期均较一致,但 S 基因型并不相同(图 1)。来源不同,亲缘关系较远且农艺性状,如植株形态、花期、生育期不同的材料,如芸芥 5 和芸

芥 8、芸芥 6 和芸芥 13 之间 S 基因型却相同(图 2),初步说明芸芥自交不亲和性等位基因与其亲缘关系之间不存在相关性。

2.4 芸芥自交不亲和 S 基因表达 DDRT-PCR 分析结果

2.4.1 芸芥不同生育期根 DDRT-PCR 扩增结果 采用 H-T₁₁G 与⑥引物组合,H-T₁₁G 与⑩引物组合,分别对芸芥苗期根和花期根中 RNA 进行 DDRT-PCR 扩增。如图 3 所示,处于同一发育时期的芸芥根,在 SI 与 SC 中未出现差异带,说明芸芥自交不亲和基因不在根中表达。

2.4.2 芸芥不同生育期叶片和花瓣 DDRT-PCR 扩增结果 用 H-T₁₁A 和②引物组合,分别对芸芥苗期叶片、开花前叶片和花期叶片中 RNA 进行 DDRT-PCR 扩增。如图 4 所示,处于同一发育时期的芸芥叶片,在 SI 与 SC 中未出现差异带,说明芸芥自交不亲和基因不在叶片中表达。

用 H-T₁₁C 和③引物组合,分别对芸芥初花期花瓣中 RNA 进行 DDRT-PCR 扩增。如图 5 所示,处于同一发育时期的芸芥花瓣,在 SI 与 SC 中未出现差异带,说明芸芥自交不亲和基因不在花瓣中表达。

2.4.3 芸芥不同生育期柱头 DDRT-PCR 扩增结果

用 H-T₁₁A 与①、H-T₁₁G 与②、H-T₁₁C 与③引物组合,分别对芸芥开花前柱头、开花当天柱头和开花后(花瓣开始凋谢)柱头中 RNA 进行 DDRT-PCR 扩增。如图 6 所示,处于同一发育时期的芸芥柱头,在 SI 与 SC 中扩增出差异 cDNA 片段,初步证明芸芥自交不亲和基因可能只在柱头组织中表达。

3 讨论

1) 本研究发现,芸芥 1 和芸芥 3 的自交不亲和 S 等位基因型相同,芸芥 6 和芸芥 13 的 S 基因型相同,芸芥 5 和芸芥 8 的 S 基因型相同,因而在蕾期试配亲本组合中,为了减少杂交育种工作的盲目性,应避免在芸芥 1 和芸芥 3、芸芥 6 和芸芥 13 以及芸芥 5 和芸芥 8 之间进行组配。

2) 自交不亲和性是可遗传的,在自交早代,自交不亲和性往往要发生分离,有些自交不亲和株的后代中,能分离出少数自交亲和植株^[7-8]。通过自交分离和定向选择,自交不亲和性能被逐渐稳定并提高。本试验中,芸芥 2 由于自交代数较短(自交 3 代),所以系内自交和异交时亲和性表现很不稳定,且差异较大,被判断为自交不亲和性尚不稳定的材料。

表 2 10 个芸芥自交不亲和系内株间杂交和套袋自交结实性

Table 2 Seed-setting of crossing between plants and selfing in ten self-incompatible lines in *Eruca sativ* Mill.

组合 Combination	总粒数 Total seeds	花数 Flowers	总粒数/花数 Seeds /flowers	亲和性 Compatibility	组合 Combination	总粒数 Total seeds	花数 Flowers	总粒数/花数 Seeds /flowers	亲和性 Compatibility
1-1 套袋⊗ 1-1 bagging	0	8	0	SI	5-1 套袋⊗ 5-1 bagging	0	10	0	SI
1-1×1-2	0	9	0	SI	5-1×5-2	0	8	0	SI
1-1×1-3	0	8	0	SI	5-1×5-3	4	7	0.57	SI
1-1×1-7	0	9	0	SI	5-1×5-4	0	7	0	SI
1-2 套袋⊗ 1-2 bagging	13	17	0.76	SI	5-2 套袋⊗ 5-2 bagging	0	15	0	SI
1-2×1-1	0	6	0	SI	5-2×5-1	0	8	0	SI
1-2×1-3	0	5	0	SI	5-2×5-3	0	8	0	SI
1-2×1-7	1	7	0.14	SI	5-2×5-4	0	6	0	SI
1-3 套袋⊗ 1-3 bagging	0	15	0	SI	5-3 套袋⊗ 5-3 bagging	7	11	0.64	SI
1-3×1-1	0	7	0	SI	5-3×5-1	7	11	0.64	SI
1-3×1-2	2	7	0.28	SI	5-3×5-2	0	8	0	SI
1-3×1-7	0	10	0	SI	5-3×5-4	7	18	0.39	SI
1-7 套袋⊗ 1-7 bagging	13	16	0.8	SI	5-4 套袋⊗ 5-4 bagging	0	10	0	SI
1-7×1-1	0	8	0	SI	5-4×5-1	0	8	0	SI
1-7×1-2	0	8	0	SI	5-4×5-2	0	6	0	SI
1-7×1-3	0	7	0	SI	5-4×5-3	0	5	0	SI
2-1 套袋⊗ 2-1 bagging	15	22	0.68	SI	2-4×2-5	0	10	0	SI
2-1×2-2	24	9	2.7	SC	2-4×2-6	17	10	1.7	SC
2-1×2-4	24	9	2.7	SC	2-5 套袋⊗ 2-5 bagging	20	7	2.85	SC
2-1×2-5	0	8	0	SI	2-5×2-1	0	8	0	SI
2-1×2-6	0	7	0	SI	2-5×2-2	0	8	0	SI
2-2 套袋⊗ 2-2 bagging	77	13	5.84	SC	2-5×2-4	10	8	1.25	SC
2-2×2-1	37	10	3.7	SC	2-5×2-6	0	10	0	SI
2-2×2-4	—	—	—	—	2-6 套袋⊗ 2-6 bagging	61	25	2.44	SC
2-2×2-5	0	10	0	SI	2-6×2-1	0	8	0	SI
2-2×2-6	0	8	0	SI	2-6×2-2	0	8	0	SI
2-4 套袋⊗ 2-4 bagging	67	14	4.79	SC	2-6×2-4	11	12	0.92	SI
2-4×2-1	0	8	0	SI	2-6×2-5	24	10	2.4	SC
2-4×2-2	—	—	—	—					
9-2 套袋⊗ 9-2 bagging	23	28	0.82	SI	10-5 套袋⊗ 10-5 bagging	22	24	0.92	SI
9-2×9-3	7	13	0.54	SI	10-5×10-6	19	12	1.58	SC
9-2×9-5	0	5	0	SI	10-5×10-7	34	8	4.25	SC
9-3 套袋⊗ 9-3 bagging	0	15	0	SI	10-6 套袋⊗ 10-6 bagging	14	25	0.56	SI
9-3×9-2	3	9	0.33	SI	10-6×10-5	23	10	2.3	SC
9-3×9-5	10	13	0.77	SI	10-6×10-7	1	9	0.11	SI
9-5 套袋⊗ 9-5 bagging	19	31	0.61	SI	10-7 套袋⊗ 10-7 bagging	29	12	2.64	SC
9-5×9-2	9	17	0.53	SI	10-7×10-5	9	7	1.29	SC

表 2 续

组合 Combination	总粒数 Total seeds	花数 Flowers	总粒数/花数 Seeds /flowers	亲和性 Compatibility	组合 Combination	总粒数 Total seeds	花数 Flowers	总粒数/花数 Seeds /flowers	亲和性 Compatibility
9-5×9-3	0	12	0	SI	10-7×10-6	3	8	0.38	SI
3-3 套袋⊗ 3-3 bagging	4	17	0.24	SI	4-1 套袋⊗ 4-1 bagging	14	3	4.67	SC
3-3×3-4	6	10	0.6	SI	4-1×4-3	80	10	8	SC
3-3×3-5	1	9	0.11	SI	4-1×4-4	100	9	11.1	SC
3-3×3-6	0	12	0	SI	4-1×4-6	5	12	0.4	SI
3-4 套袋⊗ 3-4 bagging	14	17	0.82	SI	4-3 套袋⊗ 4-3 bagging	28	6	4.66	SC
3-4×3-3	6	10	0.6	SI	4-3×4-1	118	13	9.1	SC
3-4×3-5	0	8	0	SI	4-3×4-4	7	10	0.7	SI
3-4×3-6	0	6	0	SI	4-3×4-6	5	12	0.4	SI
3-5 套袋⊗ 3-5 bagging	0	15	0	SI	4-4 套袋⊗ 4-4 bagging	8	5	1.6	SC
3-5×3-3	1	10	0.1	SI	4-4×4-1	67	6	11.2	SC
3-5×3-4	0	8	0	SI	4-4×4-3	28	12	2.3	SC
3-5×3-6	0	12	0	SI	4-4×4-6	50	7	7.14	SC
3-6 套袋⊗ 3-6 bagging	13	22	0.59	SI	4-6 套袋⊗ 4-6 bagging	16	4	4	SC
3-6×3-3	21	8	2.63	SI	4-6×4-1	6	9	0.67	SI
3-6×3-4	0	10	0	SI	4-6×4-3	23	12	1.9	SC
3-6×3-5	5	11	0.45	SI	4-6×4-4	55	12	4.6	SC
6-1 套袋⊗ 6-1 bagging	10	21	0.48	SI	8-1×8-7	3	5	0.6	SI
6-1×6-4	7	16	0.44	SI	8-3 套袋⊗ 8-3 bagging	0	12	0	SI
6-1×6-5	10	19	0.53	SI	8-3×8-1	8	10	0.8	SI
6-4 套袋⊗ 6-4 bagging	0	14	0	SI	8-3×8-4	0	11	0	SI
6-4×6-1	0	11	0	SI	8-3×8-7	0	15	0	SI
6-4×6-5	0	8	0	SI	8-4 套袋⊗ 8-4 bagging	6	8	0.75	SI
6-5 套袋⊗ 6-5 bagging	0	10	0	SI	8-4×8-1	6	12	0.5	SI
6-5×6-1	0	10	0	SI	8-4×8-3	0	12	0	SI
6-5×6-4	0	16	0	SI	8-4×8-7	1	6	0.17	SI
8-1 套袋⊗ 8-1 bagging	8	11	0.73	SI	8-7×8-1	6	7	0.86	SI
8-1×8-3	0	5	0	SI	8-7×8-3	0	10	0	SI
8-1×8-4	5	12	0.42	SI	8-7×8-4	0	5	0	SI
13-2 套袋⊗ 13-2 bagging	8	12	0.67	SI	13-5 套袋⊗ 13-5 bagging	0	8	0	SI
13-2×13-3	9	13	0.69	SI	13-5×13-2	0	15	0	SI
13-2×13-5	0	12	0.69	SI	13-5×13-3	0	7	0	SI
13-2×13-8	0	8	0	SI	13-5×13-8	8	13	0.62	SI
13-3 套袋⊗ 13-3 bagging	0	20	0	SI	13-8 套袋⊗ 13-8 bagging	30	35	0.85	SI
13-3×13-2	10	24	0.42	SI	13-8×13-2	0	12	0	SI
13-3×13-5	10	33	0.30	SI	13-8×13-3	7	11	0.64	SI
13-3×13-8	9	23	0.39	SI	13-8×13-5	0	20	0	SI

注:SC 表示套袋自交或系内株间杂交亲和性,SI 表示套袋自交或系内株间杂交不亲和性,- 表示数据缺失。

Note: SC: self-compatibility; SI: self-incompatibility; - : missing data.

表 3 7 个自交不亲和系系间完全双列杂交亲和性表现

Table 3 Compatibility of complete diallel crossing among 7 self-incompatible lines of *Eruca sativ* Mill.

♀	♂						
	芸芥 1 Yunjie 1	芸芥 3 Yunjie 3	芸芥 5 Yunjie 5	芸芥 6 Yunjie 6	芸芥 8 Yunjie 8	芸芥 9 Yunjie 9	芸芥 13 Yunjie 13
芸芥 1 Yunjie 1	SI(0.39)	SI(0)	SC(1.78)	SC(1.67)	SC(1.2)	SC(2.33)	SI(0)
芸芥 3 Yunjie 3	SI(0)	SI(0.41)	SI(0.83)	SC(2.46)	SC(3.45)	SC(4.14)	SC(1.71)
芸芥 5 Yunjie 5	SC(1.18)	SC(1.77)	SI(0.16)	SC(1.25)	SI(0.56)	SC(1)	SI(0.27)
芸芥 6 Yunjie 6	SI(0)	SC(4.4)	SI(0)	SI(0.16)	SI(0.34)	SC(1.55)	SI(0.79)
芸芥 8 Yunjie 8	SI(0)	SI(0.71)	SI(0.22)	SC(1)	SI(0.39)	SC(3.96)	SC(2.13)
芸芥 9 Yunjie 9	SC(1)	SC(1.13)	SC(4.2)	SC(1.57)	SC(5.2)	SI(0.48)	SC(4.49)
芸芥 13 Yunjie 13	SI(0.11)	SI(0.0.72)	SC(1.89)	SI(0.1)	SC(2.17)	SC(1.17)	SI(0.38)



图 1 芸芥 1、芸芥 5 和芸芥 6 的蕾期植株形态

Fig.1 Plant morphology in bud stage of Yunjie 1, Yunjie 5 and Yunjie 6



图 2 芸芥 5、芸芥 8 和芸芥 6、芸芥 13 的初花期植株形态

Fig.2 Plant morphology in flowering stage of Yunjie 5, Yunjie 8, Yunjie 6 and Yunjie 13

3) 自交不亲和性稳定的快慢在株系之间存在着明显的差异,不少株系不亲和性在自交 3 代就能基本稳定,有些株系需 5~6 代或更长时间。徐家炳等^[9]在分析大白菜自交不亲和系 S 等位基因时发现,72103-1(浅)和 8161 这两个材料连续自交已达十多代,但系内自交或异交大部分表现为不亲和,仍有个别植株异交表现亲和。本试验中,作者研究发现对于芸芥而言,通过自交分离和定向选择技术选育出一个稳定的自交不亲和系至少要自交 5 代以上。

4) 本研究中,笔者采用 DDRT-PCR 技术,分析了处于不同发育时期的同一种器官(营养器官或生

殖器官)中 RNA 的扩增条带,结果发现,处于不同发育时期的根、叶和花瓣,在芸芥 SI 和 SC 的 RNA 显示谱带中没有出现差异条带;而处于不同发育时期的柱头,在芸芥 SI 和 SC 的 RNA 显示谱带中出现了差异条带。

有研究者经过免疫化学和原位杂交表明,SLG 既不存在于芸苔属植物的叶、根和苗等营养组织中,也不存在于子房和花柱中,而是在成熟柱头乳突细胞的细胞壁上大量积累^[10]。SLG 的表达时间和植物自交不亲和性的表达时间相关,当表现自交不亲和性时,柱头中 SLG 的含量可高达柱头总蛋白量的 5%。由于本研究中采用的芸芥 SC 是从自交不亲和

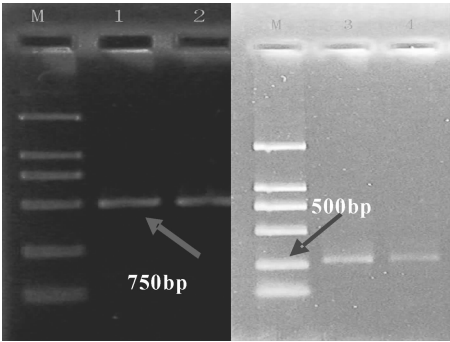


图 3 芸芥不同生育期根 DDRT-PCR 图谱

Fig.3 DDRT-PCR map from roots of SC and SI lines

- 1.SC(苗期,H-T₁₁G与⑥) 2.SI(苗期,H-T₁₁G与⑥)
- 3.SC(花期,H-T₁₁G与⑩) 4.SI(花期,H-T₁₁G与⑩)
- 1.SC (seedling stage, H-T₁₁G and ⑥)
- 2.SI (seedling stage, H-T₁₁G and ⑥)
- 3.SC (flowering stage, H-T₁₁G and ⑩)
- 4.SI (flowering stage, H-T₁₁G and ⑩)

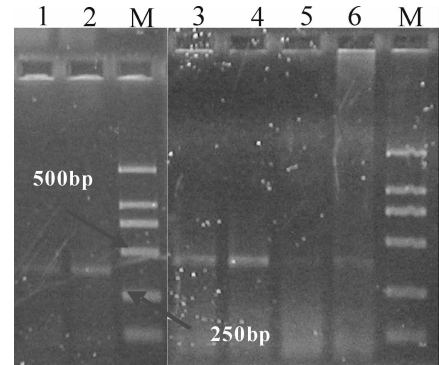


图 4 芸芥不同生育期叶片 DDRT-PCR 图谱

Fig.4 DDRT-PCR map from leaves of SC and SI lines

- 1.SC(苗期) 2.SI(苗期) 3.SC(开花前)
- 4.SI(开花前) 5.SC(花期) 6.SI(花期)
- 1.SC (seedling stage) 2.SI (seedling stage)
- 3.SC (before flowering) 4.SI (before flowering)
- 5.SC (flowering stage) 6.SI (flowering stage)

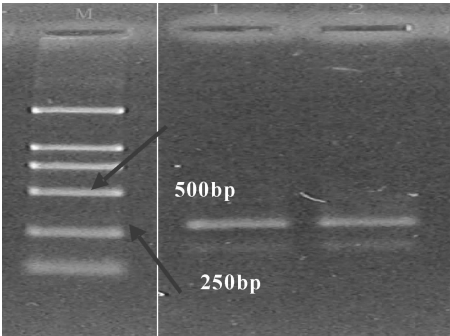


图 5 芸芥花瓣 DDRT-PCR 图谱

Fig.5 DDRT-PCR map from petals of SC and SI lines

- 1.SC(初花期) 2.SI(初花期)
- 1.SC (initial flowering stage) 2.SI (initial flowering stage)

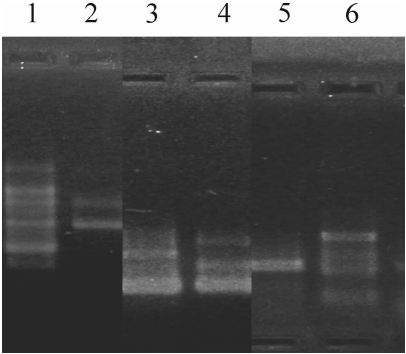


图 6 芸芥不同生育时期柱头 DDRT-PCR 图谱

Fig.6 DDRT-PCR map from stigmas of SC and SI lines

- 1.SC(开花前,H-T₁₁A与①) 2.SI(开花前,H-T₁₁A与①)
- 3.SI(开花当天,H-T₁₁G与②) 4.SC(开花当天,H-T₁₁G与②)
- 5.SI(开花后,H-T₁₁C与③) 6.SC(开花后,H-T₁₁C与③)
- 1.SC (before flowering, H-T₁₁A and ①) 2.SI (before flowering, H-T₁₁A and ①)
- 3.SI (on the day of flowering, H-T₁₁G and ②) 4.SC (on the day of flowering, H-T₁₁G and ②)
- 5.SI (after flowering, H-T₁₁C and ③) 6.SC (after flowering, H-T₁₁C and ③)

群体中选育出来的,该 SC 与 SI 是近等基因系,而且芸芥自交亲和性与自交不亲和性是一对相互对应的性状,这些研究事实都证明,芸芥自交不亲和基因的表达仅限于柱头组织中,体现出了组织特异性表达的特性。该结果为今后分离、克隆芸芥及其近缘植物自交不亲和基因提供了实验依据。

4 结 论

综上所述,在利用自交不亲和系途径培育杂种一代时,在农艺学性状和自交不亲和性基本稳定时,有必要进一步测定自交不亲和系 S 等位基因的纯合性和基因型,这一工作可以有效地指导育种实践。

芸芥自交不亲和基因不在根、叶和花等营养器官中表达,而只在柱头组织中表达,这一结果进一步证明芸芥自交不亲和 S 等位基因与植株形态特征没有相关性。因此在选育自交不亲和系时不要被农艺学性状所迷惑,因自交不亲和性和农艺性状等是受不同基因控制的,在选育过程中其进展并不完全同步,这常常决定于所采用材料的遗传背景。

参 考 文 献:

[1] 孟金陵.植物生殖遗传学[M].北京:科学出版社,1995:217-218.

[2] Ockenden. Distribution of self-incompatibility alleles and breeding structure of open pollinated cultivars of Brussels sprouts[J]. Heredity, 1974,33(2):159-171.

[3] Richards R A, Thurling N. The genetics of self-incompatibility in *Brassica campestris* L. ssp. *Oleifera* Metzg. II. Genotypic and environmental modification of S locus control[J]. Genetica, 1973,44(3): 439-453.

参 考 文 献:

[1] Lal R. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security[J]. Science, 2004, 304: 1623-1627.

[2] Dixon R K, Solomon A M, Brown S. Carbon pools and flux of global forest ecosystems[J]. Science, 1994, 263: 185-190.

[3] Corre M D, Schnabel R R, Shaffer J A. Evaluation of soil organic carbon under forests, cool-season grasses and warm-season grasses in the northeastern US[J]. Soil biology and Biochemistry, 2000, 31 (11): 1531-1539.

[4] 王建林, 欧阳华, 王忠红, 等. 贡嘎南山-拉轨岗日山南坡高寒草原生态系统表层土壤有机碳分布特征及其影响因素[J]. 土壤通报, 2010, 41(2): 346-349.

[5] 阚泽忠, 金立新, 李忠惠, 等. 成都经济区不同地貌景观区土壤有机碳分布特征及储量估算[J]. 地球科学进展, 2012, 27(10): 1126-1132.

[6] 黎艳明, 周毅, 陈会智. 粤北次生常绿阔叶林土壤有机碳分布特征研究[J]. 广东林业科技, 2011, 27(4): 6-11.

[7] 王建林, 欧阳华, 王忠红, 等. 念青唐古拉山东南坡高寒草原生态系统表层土壤有机碳分布特征及影响因素[J]. 地理科学, 2009, 29(3): 385-390.

[8] 高俊琴, 雷光春, 李丽, 等. 若尔盖高原三种湿地土壤有机碳分布特征[J]. 湿地科学, 2010, 8(4): 327-330.

[9] 刘伟, 程积民, 陈芙蓉, 等. 黄土高原中部草地土壤有机碳密度特征及碳储量[J]. 草地学报, 2011, 19(3): 425-431.

[10] 蔡体久, 辛国辉, 张阳武, 等. 小兴安岭泥炭藓湿地土壤有机碳分布特征[J]. 中国水土保持科学, 2010, 8(5): 109-112.

[11] 孙文义, 邵全琴, 刘纪远, 等. 三江源典型高寒草地坡面土壤有机碳变化特征及其影响因素[J]. 自然资源学报, 2011, 26(12): 2072-2083.

[12] 甘卓亭, 张掌权, 陈静, 等. 黄土塬区苹果园土壤有机碳分布特征[J]. 生态学报, 2010, 30(8): 2135-2140.

[13] 丁访军, 潘忠松, 周凤娇, 等. 黔中喀斯特地区 3 种林型土壤有机碳含量及垂直分布特征[J]. 水土保持学报, 2012, 26(1): 161.

[14] 孙维侠, 史学正, 于东升, 等. 我国东北地区土壤有机碳密度和储量的估算研究[J]. 土壤学报, 2004, 41(2): 298-330.

[15] 秦嘉海, 吕彪. 河西土壤[M]. 兰州: 兰州大学出版社, 2001: 29-32.

[16] 张万儒. 森林土壤分析方法[M]. 北京: 中国标准出版社, 1999: 56-68.

[17] 罗海波, 刘方, 刘元生, 等. 喀斯特石漠化地区不同植被群落的土壤有机碳变化[J]. 林业科学, 2009, 45(9): 24-28.

[18] 周莉, 李保国, 周广胜. 土壤有机碳的主导影响因子及其研究进展[J]. 地球科学进展, 2005, 20(1): 99-105.

[19] Lee C S, You Y H, Robinson G R. Secondary succession and natural habitat restoration in abandoned fields of central Korea[J]. Restoration Ecology, 2002, 10(2): 306-314.

[20] Anderson H. Microbial eco-physiological indicator to assess soil quality[J]. Agriculture, Ecosystem and Environment, 2003, 98(1/3): 285-293.

[21] 黄从德, 张健, 杨万勤, 等. 四川森林土壤有机碳储量的空间分布特征[J]. 生态学报, 2009, 29(3): 1217-1225.

[22] 王淑芳, 王效科, 张千千, 等. 密云水库上游流域不同林分土壤有机碳分布特征[J]. 生态环境学报, 2010, 19(11): 2558-2562.

[23] 曹丽花, 刘合满, 赵世伟. 退化高寒草甸土壤有机碳分布特征及与土壤理化性质的关系[J]. 草业科学, 2011, 28(8): 1411-1415.

[24] 孙慧兰, 李卫红, 杨余辉, 等. 伊犁山地不同海拔土壤有机碳的分布[J]. 地理科学, 2012, 32(5): 603-607.

[25] 黄昌勇. 土壤学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 80-85.

[26] 张鹏, 陈年来, 张涛. 黑河上游山地青海云杉林土壤有机碳特征及其影响因素[J]. 中国沙漠, 2009, 29(3): 445-450.

[27] 王阴槐. 土壤肥料学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1992: 33-34.

[28] 刘伟, 陈积民, 高阳, 等. 黄土高原草地土壤有机碳分布及其影响因素[J]. 土壤学报, 2012, 49(1): 68-76.

[29] 解宪丽, 孙波, 周慧珍, 等. 不同植被下中国土壤有机碳的储量与影响因子[J]. 土壤学报, 2004, 41(5): 687-699.

[30] Hutsch B W, Augustin J, Merbach W. Plant rhizodeposition an important source for carbon turnover in soils[J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2002, 165: 397-407.

[31] 蔡晓布, 周进. 退化高寒草原土壤有机碳时空变化及其与土壤物理性质的关系[J]. 应用生态学报, 2009, 20(11): 2639-2645.

[32] 冯瑞章, 周万海, 龙瑞军, 等. 江河源区不同退化程度高寒草地土壤物理、化学及生物学特征研究[J]. 土壤通报, 2010, 41(2): 263-269.

[33] 高旭升, 田种存, 郝学宁, 等. 三江源区高寒草原草地不同退化程度土壤养分变化[J]. 青海大学学报(自然科学版), 2006, 24(5): 37-40.

[34] 孙飞达, 龙瑞军, 蒋文兰, 等. 三江源区不同鼠洞密度下高寒草甸植物群落生物量和土壤容重特性研究[J]. 草业学报, 2008, 17(5): 111-116.

[35] 张法伟, 李英年, 汪诗平, 等. 青藏高原高寒草甸土壤有机质、全氮和全磷含量对不同土地利用格局的响应[J]. 中国农业气象, 2009, 30(3): 323-326.

[36] 颜淑云, 周志宇, 秦戩, 等. 玛曲高寒草地不同利用方式下土壤氮素含量特征[J]. 草业学报, 2010, 19(2): 153-159.

(上接第 116 页)

[4] Sampson. Frequency and distribution of self-incompatibility alleles in *raphanus raphanistrum*[J]. Genetica, 1967, 56(2): 241-251.

[5] 刘后利. 油菜的遗传和育种[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 203-230.

[6] 王关林. 植物基因工程原理[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 747-749.

[7] 孙万仓, 范惠玲, 孟亚雄, 等. 白菜型油菜自交亲和性变异分析[J]. 西北植物学报, 2006, 26(2): 107-109.

[8] FAN Huiling, SUN Wancang. Analysis of self-compatibility in *Sinapis Alba Boiss* [C]//Proceedings of the 12th International Rapeseed Congress. Wuhan, China: Science Press, 2007: 368-370.

[9] 徐家炳. 大白菜自交不亲和系 S 等位基因分析[J]. 中国蔬菜, 1995, (3): 1-4.

[10] 朱利泉, 王晓佳. 自交不亲和植物 S-位点特异糖蛋白[J]. 生命的化学, 1998, 18(3): 13-15.