

基于小孢子培养创制的青梗菜四倍体鉴定与利用

周年英, 章 云, 牛瑞青, 陈 颖, 范洪华, 刘 畅, 冯 辉*

(沈阳农业大学 园艺学院, 沈阳 110866)

摘 要:以通过小孢子培养获得的青梗菜小孢子植株自交后代群体为试材, 利用形态学鉴定、流式细胞仪鉴定和根尖染色体计数法筛选四倍体, 选择优良的四倍体株系配制杂交组合, 通过品种比较试验、营养品质和耐抽薹性分析筛选优良杂交组合。结果表明: (1) 从 232 株青梗菜小孢子植株自交后代群体中共鉴定出 76 个四倍体纯系, 四倍体比率达到 32.76%, 并以“自交系间杂种”的四倍体频率最高; 这些四倍体品系表现出生长健壮、主茎变粗、花器官变大、自交结实率降低等特征。 (2) 利用 11 个自交结实率较高、园艺学性状优良的四倍体株系配制 15 个杂交组合, 大部分杂交组合具有显著的杂种优势。 (3) 四倍体青梗菜植株的可溶性糖、可溶性蛋白含量均比二倍体显著增加, 而有机酸、粗纤维含量则明显降低, 且大部分有较强的耐抽薹性。 (4) 四倍体杂交组合‘T11×T10’园艺学性状优良、杂种优势强、营养成分含量高、耐抽薹, 产量分别显著高于二倍体对照‘青梗菜 5 号’和‘青梗菜 9 号’ 40.93% 和 32.37%, 是一个商品性状优异的四倍体青梗菜杂交组合。

关键词: 青梗菜; 四倍体; 杂种优势; 营养品质; 耐抽薹性

中图分类号: Q943.1

文献标志码: A

Identification and Utilization of Tetraploid Pakchoi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis* L.) Based on Microspore Culture

ZHOU Nianying, ZHANG Yun, NIU Ruiqing, CHEN Ying,

FAN Honghua, LIU Chang, FENG Hui*

(College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: Morphological characteristics, flow cytometry and chromosome number were used to screen and identify tetraploidy plants from experimental materials through micropore culture, and excellent tetraploid lines were selected as parents to mate combinations randomly. And using various comparison tests, analysis of nutritional content and bolting tolerance to choose excellent combinations. It provides certain theoretical fundamental and practice methods of polyploid breeding in pakchoi. These results shows that: (1) 76 tetraploid lines were identified from 232 DH (doubled haploid) group in pakchoi, and average of tetraploid ratio reached 32.76%, the highest one was ‘Inbred lines hybrid’. These tetraploid plants showed robust growth, dilatation of the main stem, flower organ huge, low selfing seeds setting rate and other characteristics. (2) 11 tetraploid lines with high selfing seeds setting rate and excellent horticultural traits were selected as parents to mate 15 combinations randomly. And most hybrids were proved to have significant heterosis and higher yield compared with two diploid controls. (3) Contents of soluble sugar and soluble protein of tetraploid plants increased significantly than that of diploids. However, contents of organic acid and cellulose were obviously reduced. Moreover, most tetraploids had strong bolting resistance. So, it provides parent materials to create tetraploid hybrids which are high nutritional quality and bolting-tolerant. (4) Tetraploid hybrid combination ‘T11×T10’ has superior horticultural traits, strong heterosis, high nutritional quality and bolting resistance, also its yield was significantly higher than that of diploid controls ‘No. 5’

收稿日期: 2014-05-26; 修改稿收到日期: 2014-08-03

基金项目: “十二五”国家 863 计划 (2012AA100202-4); 农业部国家大宗蔬菜现代产业体系细胞育种岗位专项 (CARS-25-A-03)

作者简介: 周年英 (1990—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事蔬菜遗传育种研究。E-mail: zny1224@126.com

* 通信作者: 冯 辉, 教授, 博士生导师, 主要从事蔬菜遗传育种研究。E-mail: fenghuiaaa@263.net

and ‘No. 9’ with 40.93% and 32.37%, respectively. So, it is a wonderful tetraploid hybrid in pakchoi with excellent commodity properties.

Key words: pakchoi; tetraploid; heterosis breeding; nutritional quality; bolting tolerance

多倍化不仅能增强植物基因活性及酶的差异性,而且还能提高植株的产量、营养品质和抗逆性等。蔬菜多倍体育种具有重要的研究和应用价值,是培育优质高产蔬菜品种的重要途径之一。目前蔬菜多倍体育种取得了巨大成就,已在蔬菜作物上获得了 20 多个种的多倍体,成功培育出西瓜^[1]、甜瓜^[2]、不结球白菜^[3]、红菜薹^[4]、青花菜^[5]、大白菜、生姜、黄瓜、菠菜、茄子、茼蒿等蔬菜多倍体。青梗菜是小白菜中一类叶片亮绿、束腰、品质优良的品种,在中国各地广泛栽培,也是韩国和日本的主栽小白菜品种类型,目前利用的青梗菜品种主要是二倍体品种。中国自 20 世纪 80 年代初开始小白菜多倍体育种研究,刘惠吉等^[3]选育出第一个同源四倍体白菜品种“南农矮脚黄”,它比相应二倍体的 Vc、氨基酸、还原糖含量及产量都显著增加,抗逆性也明显增强,粗纤维却大幅度减少。

小孢子培养方法获得的是单倍体、双单倍体和多倍体的混合群体^[6],目前关于小孢子培养获得的青梗菜四倍体的杂种优势、营养成分、耐抽薹性等方面的研究尚未见报道。本研究以经小孢子培养获得小孢子植株后代群体为材料,通过形态学鉴定法、流式细胞仪鉴定法和根尖染色体压片法鉴定倍性,筛选出 76 个四倍体株系。然后通过品种比较试验、营养品质和耐抽薹性分析筛选出了 1 个园艺学性状优良、产量高、杂种优势强、营养成分含量高和耐抽薹的四倍体杂交组合‘T11×T10’,从而证明可以利用小孢子培养方法选育新的四倍体青梗菜品种。

1 材料和方法

1.1 材料培养

试验在辽宁省十字花科蔬菜遗传育种重点实验室进行。供试材料是小孢子植株自交授粉后获得的 232 份青梗菜材料,分别来自‘华王’、‘华冠’、‘JA001’、‘早生华京’、‘DH 系杂交种’(由本课题组之前获得的 DH 系‘华王’×‘夏帝’杂交而得)、“自交系间杂交种”[利用本课题组之前获得的高代自交系 705-1(‘华冠’)×705-2(‘华冠’)杂交而得]、‘维多利亚’等。2012 年 8 月 1 日种子催芽春化,20 d 后芽播于 50 孔穴盘中,9 月 9 日移栽花盆,10 月中旬开花,生育期内正常水肥管理。

1.2 青梗菜四倍体的筛选鉴定

1.2.1 植株形态学鉴定 2012 年 9 月 28 日进行植株苗期形态指标调查,形态指标有叶形、叶片大小、叶色、生长势、叶厚等;自 10 月 20 日起盛花期及种子成熟期进行花期形态指标调查,花期考察的形态指标有花蕾大小、花瓣大小及颜色、花药发育状况、角果大小、种子大小、自交结籽情况等。

1.2.2 流式细胞仪鉴定 植株幼苗时期,利用流式细胞仪(美国 Beckman 公司)测定青梗菜植株单细胞的 DNA 含量。取面积约为 1 cm² 的新鲜嫩叶,放在洁净的培养皿中,加入 1.5 mL Chopping Buffer 缓冲液(Na₂EDTA 2 mol/L, Tris 15 mol/L, NaCl 20 mol/L, KCl 80 mol/L, Triton X-100 0.1%, 2-巯基乙醇 15 mol/L, 精胺 0.5 mol/L),用镊子剪碎叶片,300 目筛网过滤,1 000 r/min 下离心 10 min,弃上清液,加入 1 mL PI(碘化丙锭)染色剂后避光放置 15 min,500 目筛网进行过滤,滤液收集在流式试管中,即可上机检测。以标准二倍体为对照,根据分离峰的位置来确定样品倍性。

1.2.3 根尖染色体鉴定 将种子接种至培养基(MS 培养基+30 g·L⁻¹蔗糖+7.50 g·L⁻¹琼脂)中,pH 5.8,约 1 d 后种子生根,待根尖长到 0.5~1.0 cm,取根尖,先后经 4℃饱和的对二氯苯预处理 2 h 和卡诺固定液(冰醋酸:无水乙醇=1:3)固定 24 h,然后用 1 mmol·L⁻¹ HCl 在 60℃水浴条件下解离 15 min,最后采用卡宝品红染色制作压片,于 100 倍显微镜(NIKON80i)下进行染色体计数并拍照,确定植株的倍性。

1.3 四倍体株系的评价

1.3.1 四倍体株系杂交组合的杂种优势测定 从 76 株四倍体株系中筛选出 11 个结籽数接近二倍体、综合性状优良的四倍体株系为亲本,随机配制杂交组合。2013 年 8 月下旬,将收获的自己交种及杂交种同时播种于穴盘,9 月中旬定植,10 月末测产。品种比较试验采用随机区组设计,3 次重复,小区面积 1.26 m²,每小区种植 30 株,株距 15 cm,以二倍体商业品种‘青梗菜 5 号’和‘青梗菜 9 号’为对照。每小区随机取样 10 株,测量株高、株幅、单株质量、叶柄长、叶柄宽、叶片长、叶片宽、叶色、叶型和小区产量。根据各杂交组合及其亲本的小区产量计算杂种

优势强度,计算公式为:

$$H=(F_1-Mp)/1/2(P_1-P_2)$$

$$Mp=1/2(P_1+P_2)$$

式中, H 为杂种优势, P_1 为平均值较大的亲本, P_2 为平均值较小的亲本。

1.3.2 营养品质测定 植株采收期,随机选取 3 株测定营养品质含量,包括可溶性糖、可溶性蛋白、有机酸和粗纤维含量。其中,可溶性糖含量采用蒽酮比色法^[7]测定;可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[7];有机酸含量测定采用酸碱中和滴定法^[7];粗纤维含量测定采用酸碱洗涤法^[8]。

1.3.3 耐抽薹性调查 将收获的种子及杂交种子于 2013 年 4 月中旬播种于穴盘中,5 月中旬定植于田间,3 次重复,小区面积 1.14 m²,每小区种植 20 株,株距 20 cm,以二倍体品种‘青梗菜 5 号’和‘青梗菜 9 号’为对照,调查耐抽薹性。

抽薹指数参照苏小俊等^[9]分级方法,略有改动。其中,3 级改为有薹,短缩茎长 2~5 cm;5 级改为抽薹,薹长 5~10 cm;7 级改为抽薹,薹长 >10 cm;9 级改为开花,薹长 >10 cm;其他条件不变。开花时间是指植株从播种到主薹第一朵花完全开放时的天数;薹长是指子叶着生点至生长顶点的距离。耐抽薹指数公式为:

$$\text{耐抽薹指数}(\%) = \frac{\sum \text{级数} \times \text{各级株数}}{9 \times \text{调查株数}} \times 100\%$$

1.4 数据分析

用 SPSS 16.0 软件进行数据邓肯氏新复极差显著性分析。

2 结果与分析

2.1 青梗菜四倍体植株的筛选鉴定结果

2.1.1 植株形态学鉴定 不同倍性的青梗菜植株在形态上表现出一定的差异(图版 I,1~4)。与双

单倍体植株相比,四倍体植株高大,主茎变粗;花器官也表现出巨大性,花蕾长、宽显著增加;但是大部分自交结实率较双单倍体降低(表 1)。

2.1.2 流式细胞仪鉴定 图 1 中纵坐标代表测定细胞数的相对值,横坐标代表荧光通道值,分离峰的位置表示的是植株倍性,已知二倍体对照的峰值在 200 附近。因此,测定植株峰值在 200 附近的是双单倍体(图 1,A);测定植株峰值在 400 附近的是四倍体(图 1,B)。

用流式细胞仪对 232 株青梗菜群体进行单细胞 DNA 含量分析,并采用 ModFIT 软件分析数据,结果表明(表 2),流式细胞仪检测的 232 株青梗菜植株中,76 个是四倍体株系,比率为 32.76%;不同基因型材料植株的四倍体发生率有明显差别,其中“自交系杂交种”的四倍体百分比最高(45.57%),其次为‘华王’和‘JA001’(33.33%),最低为‘维多利亚’和‘华冠’,均没有发现四倍体。

2.1.3 根尖染色体压片鉴定 通过根尖染色体数目观察发现,青梗菜双单倍体植株的根尖细胞染色体数为 20 条($2n=2x=20$)(图版 I,5),而四倍体植株的根尖细胞染色体数为 40 条($4n=4x=40$)(图版 I,6)。进一步比较流式细胞仪鉴定法和染色体计数法鉴定青梗菜植株染色体倍性的结果发现,流式细胞仪鉴定结果和染色体制片鉴定结果一致,而且流式细胞仪可以更加快速、准确地鉴定植株染色体倍性。

2.2 青梗菜四倍体株系杂交组合的杂种优势

根据获得的 76 个青梗菜四倍体株系自交结实情况和园艺学性状的综合表现,从中选取 11 个优异株系。其中,T06、T11 源自‘早生华京’;T02 源自‘华王’;T10 源自‘JA001’;T16、T28、T29、T35 源自‘DH 系杂交种’;T58、T61、T62 源自‘自交系间杂交种’。

表 1 青梗菜不同倍性植株形态特征比较

Table 1 Comparison of morphological characteristics among different ploidy plants in pakchoi

倍性 Ploidy	编号 Code	株高 Plant height /cm	主茎粗 Stem diameter /cm	花冠大小 Corolla size /cm	花蕾长 Bud length /cm	花蕾宽 Bud diameter /cm	平均每荚结实数 No. seeds of each capsule
四倍体 Tetraploid	ZT28	69.33±2.328 a	1.912±0.073 a	1.855±0.121 a	0.693±0.033 a	0.381±0.030 a	2.29
	ZT38	65.27±2.937 ab	1.946±0.115 a	1.842±0.043 a	0.678±0.044 ab	0.423±0.034 a	0.92
	ZT51	62.96±4.089 b	1.857±0.121 a	1.791±0.114 a	0.690±0.055 a	0.389±0.027 a	1.11
	ZT62	57.90±4.309 c	1.919±0.803 a	1.854±0.076 a	0.650±0.020 b	0.389±0.111 a	2.44
双单倍体 Doubled haploid	ZD26	46.78±2.381 d	1.413±0.082 b	1.359±0.168 b	0.600±0.033 c	0.306±0.011 b	4.65
	ZD44	47.44±1.031 d	1.254±0.056 c	1.435±0.068 b	0.598±0.021 c	0.302±0.015 b	5.22

注:差异显著性比较采用邓肯氏新复极差测验,同列不同小写字母表示材料间在 0.05 水平存在显著性差异;下同。

Note: In Duncan's test, the different small letters in the same column indicated significance among materials at 0.05 level; The same as below.

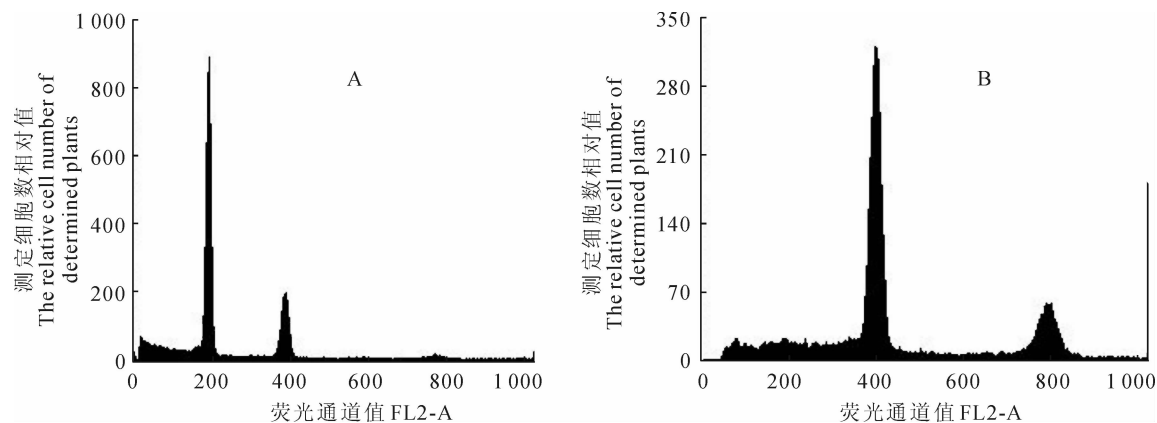


图 1 青梗菜植株叶片单细胞 DNA 相对含量曲线

A. 双单倍体;B. 四倍体

Fig. 1 DNA content distribution in leaves of plant in pakchoi

A. Doubled haploid;B. Tetraploid

表 2 青梗菜小孢子植株自交授粉后代中四倍体的发生比率

Table 2 Rate of tetraploid plants from self-autopolyploid plants in pakchoi

品种 Variety	鉴定植株数 No. of identification	四倍体 Tetraploid		双单倍体 Doubled haploid	
		株数 Number	百分比 Percentage/%	株数 Number	百分比 Percentage/%
华王 Huawang	6	2	33.33	4	66.67
JA001	12	4	33.33	8	66.67
维多利亚 Victoria	4	0	0.00	4	100.00
早生华京 Early Huajing	21	5	23.81	16	76.19
华冠 Huaguan	2	0	0.00	2	100.00
自交系间杂交种 Inbred lines hybrid	79	36	45.57	43	54.43
DH 系杂交种 DH hybrid	108	29	26.85	79	73.15
总计 Total	232	76	32.76	156	67.24

以上述 11 个四倍体株系为亲本配制 15 个杂交组合,进行品种比较试验,调查各杂交组合及其亲本的小区产量。从表 3 可看出,15 个杂交组合大部分都具有明显的杂种优势,其中‘T11×T10’的杂种优势高达 26.28%,‘T61×T11’次之,为 23.38%;大部分杂交组合的小区产量大于两个对照品种,其中‘T11×T10’的小区平均产量最高(12.43 kg)且高于其它四倍体杂交组合,分别高于对照‘青梗菜 5 号’和‘青梗菜 9 号’40.93%和32.37%。

2.3 青梗菜四倍体植株的营养品质

由表 4 可知,与二倍体植株相比,四倍体青梗菜植株的可溶性糖、可溶性蛋白含量均显著增加,而有机酸、粗纤维含量则明显降低。其中,4 个杂交组合植株的可溶性糖、可溶性蛋白含量均显著高于相应的亲本及对照,而其有机酸和粗纤维含量均明显低于亲本及对照品种,并以杂交组合‘T11×T10’的植株的可溶性糖、可溶性蛋白含量最高(分别为2.16%和 16.37 mg·g⁻¹),而粗纤维含量、有机酸含量较

低。因此,所有四倍体青梗菜杂交组合中‘T11×T10’的营养品质综合表现较优。

2.4 四倍体青梗菜杂交组合耐抽薹性

从四倍体青梗菜杂交组合的耐抽薹性调查结果(表5)可知,大部分四倍体植株具有良好的耐抽薹性,其中极耐抽薹、耐抽薹、中等耐抽薹和不耐抽薹分别占 13.33%、40.00%、40.00%和 6.67%,亲本植株分别占 18.18%、9.10%、36.36%和 36.36%;杂交组合中‘T11×T10’和‘T16×T10’的耐抽薹指数分别为 2.22%和 5.56%,都是极耐抽薹类型,亲本中‘T10’和‘T29’的耐抽薹指数分别为 3.33%和 5.56%,也都是极耐抽薹类型。

综合上述,四倍体杂交组合‘T11×T10’不仅产量显著高于亲本以及两个二倍体对照品种‘青梗菜 5 号’和‘青梗菜 9 号’,以及其他四倍体杂交组合,而且具有良好的营养品质和耐抽薹特性,同时叶片亮绿、束腰性好、园艺学性状优良(图版 I,7~9),是一个商品性状十分优异的四倍体青梗菜杂交组合。

表 3 四倍体青梗菜杂交组合的小区产量及其杂种优势强度

Table 3 Average yield and its heterosis magnitude of the tetraploid combinations in pakchoi

杂交组合及其亲本 Combination and their parents	小区产量 Plot yield/kg				杂种优势强度 Heterosis magnitude/%
	重复 I Replication I	重复 II Replication II	重复 III Replication III	平均 Average	
T06×T28	6.68	6.36	7.03	6.69 klm	0.10
T06×T62	8.39	8.82	10.79	9.33 de	15.69
T11×T62	9.77	12.60	10.34	10.90 bc	14.13
T11×T10	12.17	12.59	12.54	12.43 a	26.28
T02×T28	8.90	7.78	8.42	8.37 defghi	11.86
T02×T62	13.35	10.20	10.47	11.34 ab	9.25
T16×T10	8.55	9.57	9.56	9.23 def	5.96
T16×T11	8.04	10.74	9.35	9.38 de	3.86
T16×T62	6.96	7.95	8.55	7.82 fghijk	2.36
T29×T62	8.10	8.90	9.81	8.94 defg	1.58
T35×T62	9.02	7.88	9.48	8.79 defgh	3.23
T58×T11	9.53	10.65	9.02	9.73 cd	12.21
T58×T35	7.56	9.60	9.87	9.01 def	1.86
T61×T02	8.94	8.33	9.51	8.93 defg	3.50
T61×T11	11.42	11.36	11.60	11.46 ab	23.38
T06	7.05	7.16	7.26	7.16 ijklm	
T11	7.79	7.97	7.88	7.88 fghijk	
T02	6.15	6.92	6.35	6.47 klm	
T10	7.52	7.43	7.62	7.52 ghijkl	
T16	6.75	6.68	7.05	6.83 jklm	
T28	5.88	6.02	6.47	6.12 m	
T29	8.55	8.60	8.66	8.60 defgh	
T35	6.11	6.08	6.38	6.19 lm	
T58	8.15	8.15	8.19	8.16 efghi	
T61	7.55	7.34	7.79	7.56 ghijkl	
T62	7.65	7.04	7.58	7.42 hijklm	
青梗菜 5 号 No. 5(CK ₁)	9.06	8.21	9.18	8.82 defgh	
青梗菜 9 号 No. 9(CK ₂)	9.05	9.38	9.75	9.39 de	

表 4 不同倍性青梗菜的营养品质分析结果

Table 4 Analysis of nutritional contents of diploid and tetraploid plants in pakchoi

倍性 Ploidy	编号 Code	来源 Source	可溶性糖含量 Soluble sugar content/%	有机酸含量 Organic acid /%	可溶性蛋白含量 Soluble protein content/(mg·g ⁻¹)	粗纤维含量 Cellulose content /(mg·g ⁻¹)
二倍体 Diploid	D45	自交系间杂交种 Inbred lines hybrid	1.39 d	0.23 a	11.22 f	16.74 a
	D46	自交系间杂交种 Inbred lines hybrid	1.39 d	0.24 a	11.34 f	17.03 a
	CK ₁	青梗菜 5 号 No. 5	1.45 d	0.21 a	11.66 f	16.66 a
	CK ₂	青梗菜 9 号 No. 9	1.34 d	0.21 a	10.94 f	16.51 a
四倍体 Tetraploid	T02	早生华京 Early Huajing	1.78 bc	0.15 b	13.74 cd	11.58 b
	T11	华王 Huawang	1.82 bc	0.12 bcd	13.89 c	10.18 b
	T35	DH 系杂交种 DH hybrid	1.68 c	0.13 bc	14.03 c	6.89 cd
	T58	自交系间杂交种 Inbred lines hybrid	1.68 c	0.12b bc	12.61 e	7.60 cd
	T61	自交系间杂交种 Inbred lines hybrid	1.75 c	0.15 b	13.00 de	6.53 d
	T11×T10		2.16 a	0.10 de	16.37 a	7.10 cd
	T58×T35		2.08 a	0.09 de	14.99 b	9.37 bc
	T61×T02		2.03 a	0.09 de	15.20 b	9.31 bc
	T61×T11		1.90 ab	0.08 e	15.02 b	9.20 bc

表 5 四倍体青梗菜杂交组合及其亲本的耐抽薹指数
Table 5 Bolting tolerance index and evaluation of the tetraploid combinations and their parents in pakchoi

材料 Material		耐抽薹指数 Bolting tolerance index/%	耐抽薹性 Bolting tolerance
杂交组合 Combination	T06×T28	32.22	++
	T06×T62	40.00	+
	T11×T62	44.44	+
	T11×T10	2.22	+++
	T02×T28	35.56	+
	T02×T62	30.00	++
	T16×T10	5.56	+++
	T16×T11	31.11	++
	T16×T62	37.78	+
	T29×T62	51.11	+
	T35×T62	33.33	++
	T58×T11	60.00	—
	T58×T35	48.89	+
	T61×T02	33.33	++
	T61×T11	25.56	++
亲本 Parent	T02	65.56	—
	T06	84.44	—
	T10	3.33	+++
	T11	46.67	+
	T16	50.00	+
	T28	67.78	—
	T29	5.56	+++
	T35	35.56	+
	T58	63.33	—
	T61	18.89	++
	T62	51.11	+

注: +, 中等耐抽薹; ++, 耐抽薹; +++, 极耐抽薹; —, 不耐抽薹; — —, 极不耐抽薹。
Note: +, Middle bolting tolerance; ++, Bolting tolerance; +++, Extremely bolting tolerance; —, Non-bolting tolerance; — —, Extremely non-bolting tolerance.

3 讨 论

多倍体的“一般巨大性”、营养成分含量高及抗性增强等特性,对于以叶片为食用部位的青梗菜具有重要的利用价值。秋水仙素人工诱导是获得多

倍体蔬菜常用的方法,目前培育四倍体的一条新途径是利用能产生 2n 配子的亲本与四倍体杂交^[10],但是 2n 配子发生频率较低。本研究利用小孢子培养获得 232 株青梗菜株系,其中 76 株是同源四倍体,同时本试验获得的青梗菜四倍体株系整齐一致,性状没有发生分离,说明其属于纯系,可作为选育青梗菜四倍体杂交种的理想亲本材料,这也表明小孢子培养方法为创制青梗菜四倍体品种提供了一条新的途径。

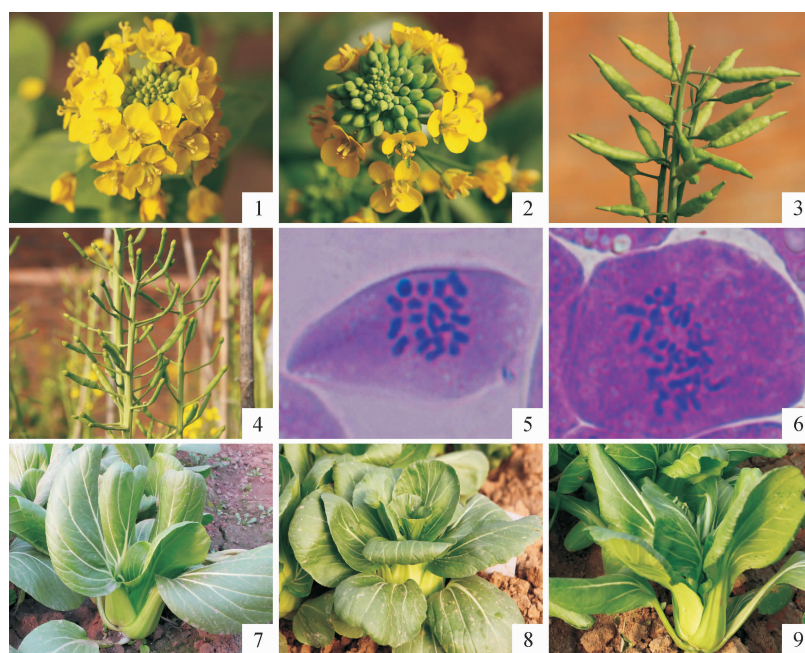
近年来,利用流式细胞仪鉴定植物染色体倍性成为一种快速、可靠的倍性鉴定方法,其最突出的特点是测量速度快、操作简单而且不受植物取材部位和细胞所处时期的限制^[11-12],已成功应用于十字花科蔬菜的倍性鉴定^[13-17]。参考前人的研究以及结合本实验结果,笔者认为流式细胞仪鉴定法快速、可靠,可用于青梗菜多倍体植株的倍性鉴定;形态学鉴定法可初步鉴定植株的倍性;根尖染色体数目观察法虽是最准确的倍性鉴定方法,但是制片操作比较繁琐以及对细胞学操作技术的要求较高,费工费时,难以在生产实践中广泛推广。

多倍体蔬菜的营养成分含量可明显提高,而提高青梗菜品种的可溶性糖、可溶性蛋白质含量和适当降低有机酸、粗纤维含量,是其品质育种的主要目标。刘惠吉等^[18]对四倍体不结球白菜的营养品质进行研究发现,四倍体白菜的 Vc、氨基酸、还原糖及粗蛋白含量均比二倍体明显增加。本试验同样发现,四倍体青梗菜的可溶性糖、可溶性蛋白含量均显著高于二倍体,粗纤维、有机酸含量则明显降低,说明四倍体青梗菜的营养品质要优于二倍体。同时,本实验利用结实率接近正常的四倍体纯系配制了 15 个杂交种,结果发现大部分四倍体青梗菜有显著的杂种优势。在生产栽培中,先期抽薹问题一直困扰着中国白菜类生产,解决办法之一就是培育耐抽薹新品种。本试验结果表明,四倍体植株具有良好的耐抽薹性,这就为解决白菜类先期抽薹问题和培育耐抽薹性四倍体青梗菜品种提供了亲本材料。

参考文献:

[1] SHI X F(施先锋),PENG J G(彭金光),LI Y H(李煜华),*et al.* Identification methods of watermelon polyploid[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*(浙江农业科学),2010,(2):273—275(in Chinese).
[2] MA G B(马国斌),WANG M(王 鸣),ZHENG X Q(郑学勤). Generating tetraploid plants from tissue culture of melon[J]. *Acta Horticulture Sinica*(园艺学报),1999,**26**(2):128—130(in Chinese).
[3] LIU H J(刘惠吉),CAO SH CH(曹寿椿),WANG H(王 华),*et al.* Breeding of ‘Nannong Aijiaohuang’ of non-heading tetraploid Chinese cabbage[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*(南京农业大学学报),1990,**13**(2):33—40(in Chinese).
[4] 张秀武. 红菜薹游离小孢子培养和植株再生技术研究[D]. 武汉:华中农业大学,2006.

- [5] 张 杰. 同源四倍体青花菜的创制及其生物学特性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2006.
- [6] FENG H(冯 辉), YANG SH(杨 硕), WANG CH N(王超楠), *et al.* Obtaining and utilization of DH lines in pakchoi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis* L.) [J]. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2009, **42**(9): 3 195—3 202 (in Chinese).
- [7] 李合生, 孙 群, 赵世杰, 等. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [8] 赵世杰, 史国安, 董新纯. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2002: 41—71.
- [9] 苏小俊, 袁希汉, 李 彬, 等. 一种春小白菜耐抽薹性鉴定方法[P]. 中国, 200510038275. 5. 2005-08-24.
- [10] LIU X M(刘学岷), LI G X(李贵夕), SUN R F(孙日飞), *et al.* Utilization of 2n gametes in breeding of Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis*) [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica* (华北农学报), 1998, **13**(2): 102—105 (in Chinese).
- [11] WU Y Q(吴雅琴), CHANG R F(常瑞丰), CHENG H H(程和禾). The principle and method of ploidy analysis by flow cytometry [J]. *Journal of Yunnan Agricultural University* (云南农业大学学报), 2006, **21**(4): 407—409 (in Chinese).
- [12] CHENG Y(成 妍), MA R L(马蓉丽), JIAO Y SH(焦彦生), *et al.* Application of the flow cytometry in vegetable ploidy identification [J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences* (山西农业科学), 2011, **39**(8): 911—913, 921 (in Chinese).
- [13] FARNHAM M W, CANIGLIA E J, THOMAS C E. Efficient ploidy determination of anther derived broccoli [J]. *Hort Science*, 1998, **32**(2): 323—327.
- [14] WANG M, FARNHAM M W, NANNES J S P. Ploidy of broccoli regenerated from microspore culture versus anther culture [J]. *Plant Breeding*, 1999, 118: 249—252.
- [15] HAN Y(韩 阳), YE X L(叶雪凌), FENG H(冯 辉). Study on ploidy variation and ploidy identification of microspore-derived plants in Chinese cabbage [J]. *China Vegetables* (中国蔬菜), 2006, (11): 9—11 (in Chinese).
- [16] ZHANG ZH CH(张振超), ZHANG SH N(张蜀宁), *et al.* Induction of tetraploidy of non-heading Chinese cabbage with late-bolting and identification of chromosome configuration [J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2007, **27**(1): 28—32 (in Chinese).
- [17] ZHANG L L(张丽丽), ZHANG SH N(张蜀宁), ZHANG H M(张红梅), *et al.* Regeneration of autotetraploid Broccoli *in vitro* culture and identification of the ploidy [J]. *Acta Horticulture Sinica* (园艺学报), 2008, **35**(10): 1 517—1 520 (in Chinese).
- [18] LIU H J(刘惠吉), WANG H(王 华), LÜ X Q(吕兴泉). Breeding of Hanyou NO. 1 of non-heading autotetraploid Chinese cabbage [J]. *Acta Horticulture Sinica* (园艺学报), 1995, **22**(2): 193—194 (in Chinese).



图版 I 1~4. 青梗菜不同倍性植株花序和结籽情况比较: 1. 双单倍体花序; 2. 四倍体花序; 3. 二倍体植株蕾期自交结籽良好; 4. 四倍体植株蕾期自交结籽少; 5、6. 青梗菜双单倍体和四倍体植株根尖染色体数比较: 5. 双单倍体根尖染色体, $2n=20$; 6. 四倍体根尖染色体, $2n=40$; 7~9. 四倍体青梗菜优异杂交组合及其亲本: 7. 四倍体青梗菜‘T11’; 8. 四倍体青梗菜杂交组合‘T11×T10’; 9. 四倍体青梗菜‘T10’。

Plate I Fig. 1—4. Comparison of morphological characteristics of inflorescence and seed-setting between different ploidy plants in pakchoi; Fig. 1. Double haploid inflorescence; Fig. 2. Tetraploid inflorescence; Fig. 3. Good seed-setting from bud stage of double haploid plant; Fig. 4. Less seed-setting from bud stage of tetraploid plant; Fig. 5, 6. Chromosome of the doubled haploid and tetraploid plant in pakchoi; Fig. 5. Chromosome of the doubled haploid plant, $2n=20$; Fig. 6. Chromosome of the tetraploid plant, $2n=40$; Fig. 7—9. Excellent tetraploid hybrid combination and two parents; Fig. 7. Tetraploid inbred lines ‘T11’ in pakchoi; Fig. 8. Excellent tetraploid hybrid combination ‘T11×T10’ in pakchoi; Fig. 9. Tetraploid inbred lines ‘T10’ in pakchoi.