

甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂交新材料的染色体行为及其进化意义*

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, 国家油菜改良武汉分中心, 武汉 430070

摘要 过去获得的甘蓝型油菜 (*Brassica napus* L.) 与诸葛菜 (*Orychophragmus violaceus* (L.) O. E. Schulz) 属间杂种的特征, 为未经染色体加倍处理便可部分恢复育性与产生甘蓝型油菜和杂种两类植株。但在第5代 (F5) 群体中出现一株淡黄色花的杂种植株, 且表现出与较早世代中的杂种植株有所不同的染色体行为, 从而产生了具有多种表型和染色体组成的后代 (F6~F9), 特别是选择到一些具有部分甘蓝型油菜染色体组成和附加诸葛菜染色体、具有优异脂肪酸组成的材料。基因组原位杂交观察表明, 诸葛菜染色体在减数分裂过程中正常配对与分离, 且与油菜染色体的行为基本一致。这显示两亲本染色体在经过较多世代后在细胞分裂中变得较为同步化, 这也是杂种后代材料逐渐趋向稳定的细胞学基础。

关键词 甘蓝型油菜 诸葛菜 属间杂种 染色体 基因组原位杂交

在自然界广泛存在的植物异源多倍体 (allopolyploids) 包含有来自两个或两个以上二倍体 (diploids) 亲本种的染色体组^[1]。人们为了研究植物的亲缘与进化关系和进行遗传育种研究, 也通过远缘杂交来人工合成异源多倍体材料。野生和栽培的异源多倍体植物适应性好且遗传稳定, 而人工合成的异源多倍体则不稳定而难于用于生产^[2]。不稳定性包括表型和基因组结构方面的非预测改变, 人们推测这些不稳定性被进化的适应过程所消除, 从而产生稳定物种。但这些适应步骤的分子机制尚不清楚。在植物远缘杂交中时常出现的染色体消除现象^[3]的可能原因是两亲本种有丝分裂周期持续时间的差异^[4]以及多极纺锤体的形成和不平衡细胞的消除^[4,5]。我们在十字花科的芸苔属 (*Brassica*) 栽培种与诸葛菜 (*Orychophragmus violaceus* (L.) O. E. Schulz, $2n = 24$) 的属间杂交中, 观察到亲本种染色体组在杂种细胞有丝和减数分裂中分开的现象及其可能的遗传控制机制^[6~10]。甘蓝型油菜 (*B. napus* L., $2n = 38$, AACCC) 与诸葛菜属间杂种主要产生母本甘蓝型油菜和杂种两类植株, 其可能机制为在部分杂种的

有丝和减数分裂中发生完全染色体组分开^[6,7]。在后代群体中选择杂种类型植株连续自交, 在第5代 (F5) 群体中出现一株具有浅黄色花的植株, 而较早世代中所有植株均为与母本甘蓝型油菜植株相同的黄花。我们对此 F5 植株及其几个后续世代群体进行连续观察, 一方面获得了有一定研究和利用价值的油菜新材料, 另一方面为研究植物远缘杂种中基因组的变化的变化提供了有参考价值的信息。

1 材料与方法

1.1 植物材料

于1996年春季在武汉华中农业大学试验田中, 将甘蓝型油菜 (Oro) 与诸葛菜属间杂种 F5 群体中的淡黄色花植株套袋自交, 于1997年4月将收获种子播种于瑞典农业大学植物育种研究系的温室内, 形成 F6 后代, 并将它们套袋自交。收获自交种子分别于1999年10月播种于意大利 Perugia 大学不加温温室内、2000年10月播种于武汉校内试验田, 获得 F7 后代。从 Perugia F7 植株上收获的自交种

2003-02-20 收稿, 2003-04-03 收修稿

* 国家留学基金、国家自然科学基金 (批准号: 30070413) 和教育部跨世纪优秀人才基金资助项目

E-mail: zaiyunli@yahoo.com.cn

子于2000年10月也播种于武汉校内试验田,产生F8后代。F8植株的自交种子于2001年9月在武汉校内试验田播种,形成F9后代。

1.2 细胞学及原位杂交

基本上按照我们以前的程序进行^[11]。观察有丝分裂时,取根尖和幼小花蕾中的幼嫩子房,经2 mmol/L的8-羟基喹啉预处理后,用乙醇-冰醋酸(3:1)固定液固定。观察减数分裂时,直接固定幼小花蕾,解剖出花药,然后在改良卡宝品红中染色压片。在准备原位杂交制片时^[12],先用酶液(含适当浓度的纤维素酶和果胶酶)处理根尖和子房,镜检挑选出处于适合分裂时期的花药,再于一滴45%的醋酸中压片,经相差显微镜镜检后在-80℃冷冻几分钟后除去盖片。空气中凉干后,在37℃烘箱中干燥过夜。

基因组原位杂交(GISH)时,以甘蓝型油菜品种Oro的叶片DNA作封阻DNA。用缺刻平移法将诸葛菜叶片DNA进行digoxigenin-11-dUTP(Roche)标记后用作探针。染色体原位杂交按Leitch等^[13]的程序进行。染色体制片经Pepsin和Rnase A液处理、多聚甲醛固定及乙醇脱水后,将经预变性的30 μL杂交混合液加至每一张制片上,然后在原位PCR仪上于80℃共变性5 min,最后把制片置于杂交盒内于37℃的培养箱中杂交过夜。杂交混合液含3 μg/mL的诸葛菜探针DNA和20 μg/mL的芸苔属封阻DNA。制片在42℃经20%甲酰胺洗脱后,用荧光素结合的抗体(Roche)检测杂交信号,再进行荧光信号扩增。制片用0.2%的DAPI液染色,抗淬灭剂中封片,在Leitz DMRB落射荧光显微镜下观察和摄影。

1.3 脂肪酸组成分析

在高效气相色谱仪HP6890上分析F7~F9部

分单株的自交或自由授粉种子。

2 结果

2.1 F5 淡黄花植株及其后代的形态和细胞遗传学

该F5淡黄花植株除花色外,其他形态与较早世代中的杂种植株相似。其花粉母细胞(PMCs)具有31条染色体,在减数分裂后期I(AI)呈15:16与12:19两种分离,第一种分离的频率远比第二种的高。套袋自交后部分结实,获得18株(F6)后代。F6植株的花色出现分离,有白、淡黄、黄和深黄4种(表1)。在植株形态上也出现较大差异,特别是表1中第1~3株与某种白菜型油菜(*B. campestris* L., $2n = 20$)的株型相似,叶色比其余株更绿和蜡粉较少,但第3株的叶片卷曲和皱缩。其余15株在表型上主要偏向F5淡黄花植株,但第6,7和16株的基部叶片较厚,且为长椭圆形,角果较粗;第17株的基部叶片为长椭圆形且深裂,第18株则为卵圆形且深裂。在第9,10,13,14和16株的叶片、叶柄和茎秆上,不同程度地表现诸葛菜的紫色性状。第1和第3株完全不育,而第13和第16株则育性正常,其余14株部分可育。观察到的有限的子房细胞显示,第1株的染色体数为25,其余各株的染色体数在30~38之间,有的植株表现染色体数的变异。败育的第3株($2n = 32$)的PMCs内,染色体在后期I主要呈32:32分离,这可能是由于染色体的提前分裂。在第10株($2n = 31$)的AI PMCs内,染色体又主要表现为15:16分离。在其他植株的PMCs内,出现较多的染色体配对和分离方式,且多数为不等的AI分离,每极具有12~19条染色体。在第11和16株内出现19:19分离(表1)。在第一次和第二次减数分裂中一些PMCs内出现落后染色体。

表1 甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种F6植株的形态及染色体数^{a)}

植株号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
植株类型	R	R	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
植株颜色	DG	DG	DG	G	G	G	G	G	P	P	G	G	P	P	G	P	G	G	
育性	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	++	+	+	+	
花色	DY	Y	W	LY	LY	LY	LY	LY	LY	LY	LY	LY	LY	LY	LY	LY	Y	Y	
子房细胞染色体数	25	32	32	34	34	32	34	35	35	31	35	34		35	34	30	32	32	
				35												38			
AI PMC 每极染色体数	16~18		32		15~19			17~18		16~19		15~16		17~19		12~19		16~19	

a) R和N各代表白菜型和甘蓝型油菜表型; DG, G和P分别代表深绿, 绿和紫色; -, +, ++各代表不育、部分可育和正常育性; DY, Y, LY, W各代表深黄、黄、浅黄和白色

在武汉和 Perugia 观察的 F7 群体主要表现各自 F6 植株的形态, 但也在植株大小和颜色、花色、叶形和育性上有一定变异. 由第 10 株 F6 植株产生的后代在株型上表现出最大变异, 又出现与白菜型油菜相似的植株(图版 I(a), (b)). 除由第 14 和 15 株 F6 植株产生的 F7 群体均具有淡黄色花外, 其余 14 个 F7 群体内花色均出现分离, 具有两或 3 种花色.

在所有 53 株 F7 植株的子房细胞内均观察到在一定范围内变化的染色体数($2n = 28 \sim 38$) (表 2). 大多数植株的细胞内出现 2~4 个不同的染色体数, 且偶数的频率更高; 一些植株的染色体数的变化范围较大. 在由第 6, 10 和 14 株 F6 植株产生的 F7 群体内, 染色体数的变化范围最大. 在 80% 的 F7 植株内, 细胞的最高染色体数低于 38.

表 2 甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种 F7 和 F8 植株子房细胞中的染色体数

世代	来源	细胞染色体数												总数	株数		
		26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37			38	
F7	F6-2					4		5	7	10	35					61	4
	F6-4							8	13	15	13	22				71	4
	F6-5						12	13	16	20	21	22				104	5
	F6-6					8	2	14	12	14	6	12	5	16		89	5 ^{a)}
	F6-7							6	2	4	2	4	6	2		26	1
	F6-8					5	3	5	8	12	18	18	10	11		90	5
	F6-9				5	2	3	4	10	1	6		6	3	3	43	4
	F6-10				5	3	3	3	10	2	5		9	3		43	4 ^{a)}
	F6-11								1	2	3		4	1	1	12	1
	F6-12								1	12	4	12				29	2
	F6-13				1	1	8	3	8	3	8	3	16	4	2	57	5
	F6-14					2	9	1	18	3	9	3	14	2	5	66	6 ^{a)}
	F6-15				1		2		2		3		2		1	11	2
	F6-16								5	1	6		8		2	22	4
	F6-17												2		1	3	1
	总数			12	8	42	29	117	74	127	101	139	34	44	727	53	
F8	F7-F6-2	3	1	9		31	5	53	26	35	14	28		8	213	31	
	F7-F6-8					6		27	6	49	6	78	5	30	207	27	
	F7-F6-9					10		14		24	4	35	16	7	110	17	
	F7-F6-10	5	1	12		77	2	99	11	99	3	49	8	5	371	43	
	总数	8	2	21		124	7	193	43	207	27	190	29	50	901	118	

a) 株间的染色体数有较大差异. 未能决定由第 18 株 F6 植株产生的 F7 植株中的染色体数

进行染色体数鉴定的 F8 群体, 来自于用 GISH 观察过的 4 个 F7 群体, 分别由第 2, 8, 9 和 10 株 F6 植株产生. 在每个 F8 群体间植株的形态变异有一定差异, 有的群体内的植株形态较为一致, 有的则出现一定程度的变异. 大多数群体仍表现出花色的分离. 由第 2 株 F6 植株演生的 F8 植株现蕾和开花较早, 有的在武汉秋播条件下于 12 月便开花. 大多数植株自交后能结实, 有的结实基本正常.

由 37 株 F7 植株产生的 F8 植株内, 细胞的染色体数也在一定范围内变化($2n = 26 \sim 38$), 植株内的最高染色体数在 30~38 间(表 3). 大多数植株内呈现 2~4 个不同的染色体数, 最高染色体数在约

90% 的植株内低于 38(表 4). 植株自交后育性有差异, 有些植株, 特别是 $2n \leq 32$ 的植株表现较高育性.

表 3 表 2 中 F7 和 F8 植株细胞中最高染色体数的分布

世代	最高染色体数								总数
	30	32	33	34	35	36	37	38	
F7		3	2	8	6	20	4	10	53
F8	4	16	2	35	3	39	6	13	118

2.2 F7 植株的基因组原位杂交分析

用诸葛菜基因组 DNA 制备的探针与诸葛菜根尖细胞中的染色体杂交后, 杂交信号基本上均匀分布在所有染色体的整条染色体上, 只有个别染色体

的末端和着丝粒部位的信号较强(图版 I(c), (d)). 而芸苔属种的染色体上 GISH 信号主要集中在着丝粒区域, 而染色体臂上的信号很弱^[14,15]. 故以诸葛菜 DNA 为探针, 甘蓝型油菜 DNA 为封阻 DNA, 可更容易鉴定出诸葛菜染色体和染色质.

用 GISH 方法观察了来自 4 个 F7 群体内 19 株 PMC_s 中的染色体配对和分离(表 4, 图版 I(i)~(l)). 在不同植株的终变期和中期 I (MI) PMC_s 内

检测到 0~6 对强烈标记的诸葛菜染色体, 只在个别 PMC_s 内有诸葛菜单价体. 在 MI PMC_s 内, 诸葛菜的二价体与甘蓝型油菜二价体一起排列在细胞中部(图版 I). 在 AI PMC_s 内标记的诸葛菜染色体均进入两极, 极少有落后的; 在每极内观察到 0~6 条诸葛菜染色体. 在第二次减数分裂中, 诸葛菜染色体也正常分裂并进入子细胞.

表 4 由 4 个 F6 植株产生的 F7 后代的形态及细胞学^{a)}

株号	株型	株色	花色	育性	PMC _s 中染色体配对 ^{b)}	标记的二价/单价体数	AI PMC 中每极的染色体数 ^{a)}	每极中标记的染色体数
2-1	R	P	LY	++	15~17II+0~4I	3~6II		
2-2	R	G	LY	+		5~7II+0~2I		
8-1	N	G	LY	+	17~18II+0~2I	0~5II+0~2I		
9-1	N	G	W	++	16~18II+0~2I	2~6II+1I		
9-2	N	G	Y	++		0~4II+0~1I		
9-3	N	G	W	++	17~19II	1~6II		
10-1	N	G	W	+	16~18II+0~3I	3~5II		
10-2	N	P	W	+		3~6II		
10-3	N	G	W	+	14~16II+3~6I	3~5II	16~18	
10-4	N	G	W	+	10~17II+1~8I	3II		
10-5	N	G	W	+	12~19II+0~7I	1~3II	18~19	
10-6	N	G	W	+			13~19	0~3
10-7	N	G	LY	+		0~3II	10~17	
10-8	N	P	LY	+		1~4II	12~19	
10-9	R	G	LY	-				
10-10	N	P	W	+		0~5II	12~19	
10-11	N	G	W	+		0~4II		
10-12	N	P	LY	+	16~19II+0~4I	2~6II+0~1I	15~19	0~6
10-13	N	G	Y	+		0~3II	16, 19	6

a) 见表 1 脚注中有关形态特性的说明; b) 压片法与 GISH 法的总观察结果

在由第 2 株 F6 植株产生的两株 F7 植株的 PMC_s 内, 观察到 3~6 个标记的二价体和 0~2 个标记的单价体. 在第 2-1 株(表 4)的自交种子的根尖细胞内, 出现 1~12 条强烈标记的染色体, 并可能有染色体易位发生(图版 I(e)~(h)). 在由第 8 株 F6 植株产生的一株 F7 植株的 PMC_s 内, 出现 0~5 个标记二价体和少数单价体, 在由第 9 株 F6 植株产生的 3 株育性正常的 F7 植株中, 其 PMC_s 内染色体基本配对成二价体并包含有 0~6 个标记的二价体. 在 9-3 株的 19 个二价体中具有少数标记二价体. 来自第 10 株 F6 植株的 12 株 F7 植株内, 观察到多种染色体配对和分离(图版 I(i)~(l)). 在后期 I 两极内出现 10~19 条染色体, 但大多数情况下无落后

染色体, 在具有 19 个二价体或 19:19 分离的 PMC_s 内, 部分有而部分无标记染色体. 在与白菜型油菜相似植株(图版 I(a), (b))的子房细胞内($2n = 23 \sim 34$), 观察到 4~9 条标记染色体.

2.3 脂肪酸组成

F7~F9 3 个群体中的植株在油酸、芥酸和二十碳含量上有较大差异(表 5). 虽然奥罗与诸葛菜的油分中芥酸含量均很低, 但有的植株却有较高含量的芥酸(40.31%); 另一突出点是部分植株的油酸含量比奥罗有所增加, 在 F8 与 F9 群体中均出现油酸含量高达 71% 的植株. 相反地, 亚油酸含量的增幅不大, 最多只比奥罗增加约 7%. 但在 F9 群体中出现几个亚麻酸达 20% 以上的植株.

表5 甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种后代的脂肪酸组成^{a)}

世代	株数	棕榈酸 C16:0	硬脂酸 C18:0	油酸 C18:1	亚油酸 C18:2	亚麻酸 C18:3	廿碳酸 C20:1	芥酸 C22:1
F7	14	3.88±0.57 (3.09~4.97)	1.80±0.36 (1.22~2.37)	44.31±11.54 (25.72~64.35)	16.47±2.63 (12.47~21.32)	7.31±1.49 (4.58~10.23)	11.28±4.57 (1.38~18.95)	14.95±9.17 (0.27~31.63)
	50	3.49±0.31 (2.80~4.42)	1.61±0.35 (1.18~2.63)	43.93±10.42 (27.50~71.19)	15.53±2.70 (7.87~23.07)	7.93±1.28 (4.37~11.93)	12.21±4.12 (1.29~17.57)	15.30±7.78 (0.07~27.25)
	HO ^{b)}	3.30	1.40	71.19	15.92	7.10	2.06	0.41
F8	280	3.64±0.45 (2.90~5.94)	1.66±0.34 (0.92~2.50)	43.10±14.46 (19.85~71.02)	16.37±2.35 (11.23~25.74)	9.56±1.72 (4.70~21.39)	9.99±5.15 (0.78~16.18)	15.60±10.84 (0~40.31)
	HO ^{b)}	3.13	2.01	71.02	12.12	8.42	2.78	0.52
奥罗		4.15	2.29	60.51	18.56	5.67	4.84	3.96
诸葛菜		12.35	6.61	19.68	51.42	5.97	3.92	0.04

a) 列出了各世代群体中单株每种脂肪酸的平均含量和标准差, 括号中数据为变异范围. 表中分析的 F7 植株非 F8 的直接亲本. F8 群体中由第 2, 8, 9, 10 F6 植株衍生的株数各为 7, 9, 6 和 28, 而 F9 群体中各为 11, 39, 85 和 145. 奥罗种子为自交种子, 诸葛菜的为群体混收种子; b) HO 为群体中油酸含量最高株的脂肪酸组成

3 讨论

由于在甘蓝型油菜与诸葛菜的属间杂种中, 亲本种染色体组可能在有丝和减数分裂中完全分开^[6,7], 故在其后代中出现母本甘蓝型油菜植株和杂种植株. 从 F5 淡黄花植株及其后代的形态和细胞遗传学观察显示, 它极有可能具有杂种染色体组成($2n = 31$, ACO), 且 PMCs 均具有 31 条染色体; 遗憾的是未能观察其体细胞的染色体数. 从其后代中鉴定出多达 12 条诸葛菜染色体, 为该 F5 植株中诸葛菜染色体的存在和传递至后代提供了确切证据. 此 F5 植株的 PMCs 中所表现出的两种染色体分离方式(15:16 与 12:19)可解释 F6 植株中的染色体数 ($2n = 30, 31, 32, 34, 35, 38$), 而难于推测出 $2n = 25$ 的植株的来源; 同时也表明 $n = 12$ 的配子未能参与受精. 在该 F5 植株及 F6 植株($2n = 31$)的 PMCs 中均出现的 15:16 染色体分离, 可能演生于较早世代的杂种植株中表现的一种分离方式, 即可能来自诸葛菜的 6 个落后二价体正常分离, 其染色体进入分别具有 9 与 10 条染色体的两极子核^[7]. 有关的是, 此 15:16 分离可能与甘蓝型油菜中包含的两个染色体组的分离相联系. 与白菜型油菜相似后代的出现和其染色体组成(图版 I(e), (f))为此假设提供了部分证据, 因现在普遍认为天然的甘蓝型油菜是由白菜型油菜与甘蓝(*B. oleracea* L., $2n = 18$)之间的杂交进化而来^[16]. 而其他表型上似甘蓝型油菜且染色体数在 32 左右的植株是否具有甘蓝染色体组和附加诸葛菜染色体(表 1~3), 有待进一步研究, 因甘蓝型油菜在表型上主要偏向甘蓝. 对这些具有特异染色体组成的材料作更进一步的研究,

将为芸苔属染色体组结构与进化提供新的信息. 因为现在栽培的甘蓝型油菜的直接亲本已无从查找, 而推测的祖先种白菜型油菜和甘蓝与所形成的甘蓝型油菜均经历了平行的进化过程, 其染色体组结构发生了一定程度的改变. 大量的研究均显示, 在异源多倍体形成后, 有多种遗传和后天遗传机制引起祖先种的基因和基因组发生改变^[17~19].

甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种中的染色体行为, 不同于在其他植物的远缘杂交中发生的染色体消除现象, 因在杂种的体细胞与 PMCs 中均还有一定比例的杂种细胞. 从两亲本染色体的稳定程度上看, 介于完全染色体消除与正常杂种之间. F5 淡黄色植株 PMCs 中的染色体数($2n = 31$)比早期世代中杂种植株的数目已大为减少^[6], 且 F6 群体中 $2n = 31$ 植株的体细胞和 PMCs 中绝大多数细胞也只是具有 31 条染色体, 表明经较多世代后染色体组分开已较少发生. GISH 观察也表明, 在减数分裂中诸葛菜染色体与油菜染色体已同步化(图版 I(i)~(l)), 较少出现落后染色体, 从而保证诸葛菜染色体传递至后代. 这也显示在经过连续世代后, 双亲染色体的行为在细胞分裂中趋向一致, 这为自然界中异源多倍体的形成及其稳定机制提供了一个示例, 尽管十余年的时间与物种进化的漫长历史相比是非常短暂的.

F7 和 F8 群体内各植株具有的不同染色体数(表 2, 3), 一方面是由其不同染色体组成引起, 另一方面可能是部分诸葛菜染色体的丢失所致. 如表型上似白菜型和甘蓝型油菜的植株必然具有不同的染色体组成. 虽然这些后代的染色体行为还不完全稳定, 但具有不同程度的育性, 能产生相当数量的

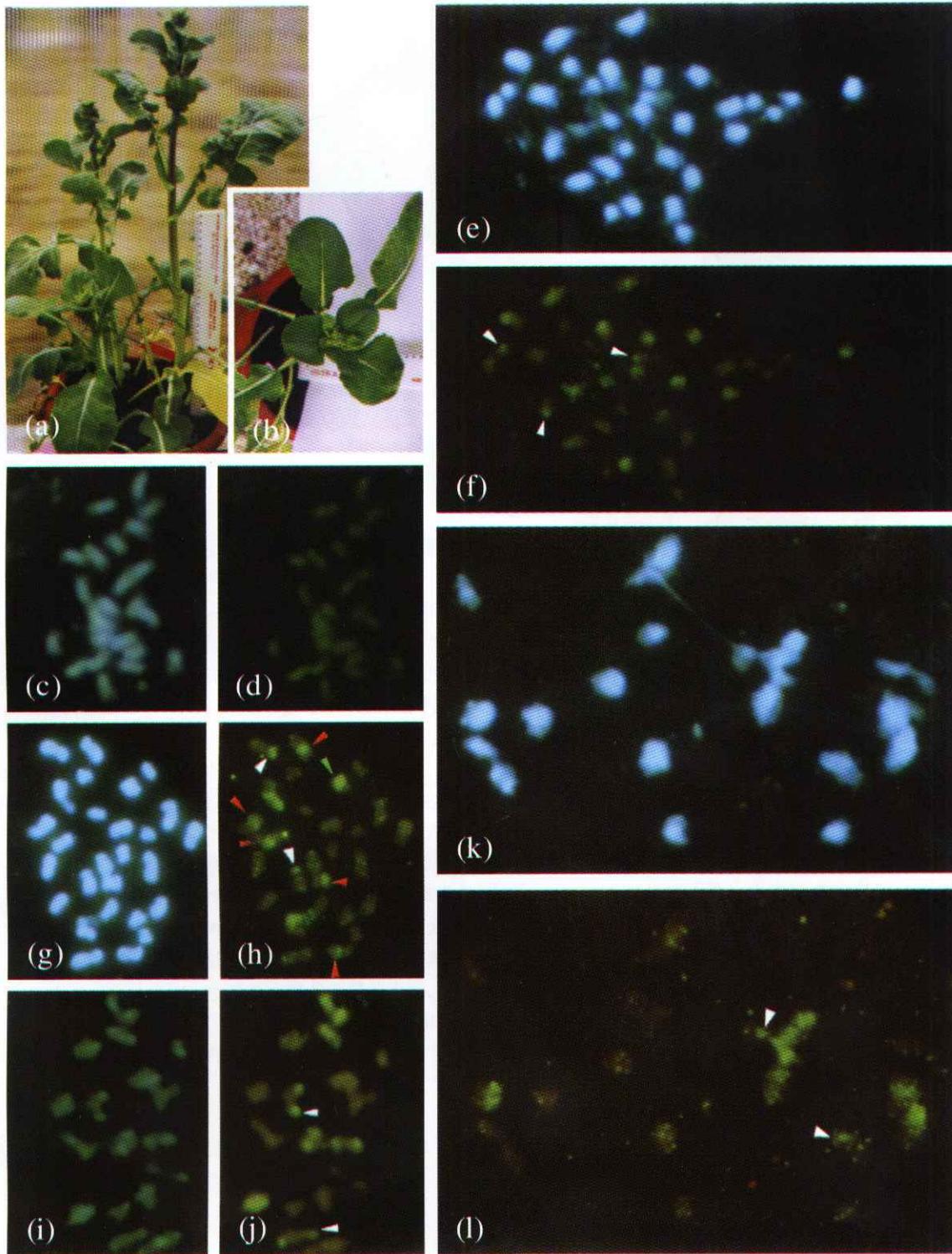
后代. 大多数 F9 群体内的植株形态趋于一致且育性较高, 有的已完全可育. 经过继续自交和稳定, 从而会形成系列的新材料甚至新物种, 并可获得具有新染色体组成和优异脂肪酸成分的芸苔属新材料供油菜遗传育种研究和生产利用. 这也提示我们, 同一杂交组合会衍生出具有不完全相同的但同源性较高的染色体组成的系列物种, 正如在芸苔属二倍体种及近缘属中观察到的.

此 F5 植株具有与较早世代中的杂种植株不同的花色, 可能与它们不同的染色体组成有关. F1 植株体内可能具有诸葛菜染色体的细胞 ($2n = 12, 24$) 的比例远比具有甘蓝型油菜染色体 ($2n = 19, 38$) 的细胞的比例低, 故杂种植株主要偏向母本甘蓝型油菜^[6]. 而诸葛菜的紫花性状只在经典的和具有预期染色体数的甘蓝与诸葛菜的杂种中部分表达, 花冠为淡紫色; 而非经典的白菜型油菜与诸葛菜杂种也表现出白菜型油菜的黄色花冠^[9]. F5 植株后代群体中花色的分离可能由不同的染色体组成引起, 特别是诸葛菜染色体数目的差异. 控制诸葛菜紫花性状的基因数目及其染色体定位, 有待今后研究.

致谢 感谢瑞典农业大学的 Heneen WK 教授和意大利 Perugia 大学的 Cionini PG 教授给作者在他们实验室工作期间所提供的资助.

参 考 文 献

- Soltis P S, et al. The role of genetics and genomic attributes in the success of polyploids. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 7051
- Comai L. Genetic and epigenetic interactions in allopolyploid plants. *Plant Molecular Biology*, 2000, 43: 387
- Kasha K J, et al. High frequency haploid production in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Nature*, 1970, 225: 874
- Lange W. Crosses between *Hordeum vulgare* L. and *H. bulbosum*. II. Elimination of chromosomes in hybrid tissues. *Euphytica*, 1977, 20: 181
- Schulz -Schaeffer. *Cytogenetics—Plants, Animals, Humans*. New York, Heidelberg, Berlin: Springer-Verlag, 1980. 267~271
- Li Z, et al. Production and cytogenetics of intergeneric hybrids between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus*. *Theor Appl Genet*, 1995, 91: 131
- Li Z, et al. Meiotic behaviour in intergeneric hybrids between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus*. *Hereditas*, 1996, 125: 69
- Li Z, et al. Production and cytogenetics of intergeneric hybrids *Brassica juncea* × *Orychophragmus violaceus* and *B. carinata* × *O. violaceus*. *Theor Appl Genet*, 1998, 96: 251
- Li Z, et al. Production and cytogenetics of intergeneric hybrids between the three cultivated *Brassica* diploids and *Orychophragmus violaceus*. *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 694
- 李再云, 等. 芸苔属与诸葛菜属间杂种的细胞遗传学. *自然科学进展*, 2002, 12: 8
- 李再云, 等. 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
- Zhong X B, et al. Preparation of tomato meiotic pachytene and mitotic metaphase chromosomes suitable for fluorescence *in situ* hybridization (FISH). *Chromosome Research*, 1996, 4: 24
- Leitch A R, et al. *In situ* Hybridization: A Practical Guide. Oxford: Bios Scientific Publishers Limited UK, 1994. 1~57
- Snowdon R J, et al. Genomic *in situ* hybridization in *Brassica* amphidiploids and intergeneric hybrids. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 1320
- Skarzhinskaya M, et al. Genome organization of *Brassica napus* and *Lesquerella fendleri* and analysis of their somatic hybrids using genomic *in situ* hybridization. *Genome*, 1998, 41: 691
- U N. Genome analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Jpn J Bot*, 1935, 7: 389
- Wendel G F. Genome evolution in polyploids. *Plant Molecular Biology*, 2000, 42: 225
- Eckardt N A. A sense of self, the role of DNA sequence elimination in allopolyploidization. *The Plant Cell*, 2001, 13: 1699
- Song K M, et al. Rapid genome change in synthetic polyploids of *Brassica* and its implications for polyploids evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 7719



甘蓝型油菜与诸葛菜属间杂种后代的形态与细胞遗传学

(a)由第10株F6植株产生的3个F7植株,两较高植株的上部为紫色,(b)图(a)中最矮植株的顶面观,该植株与白菜型油菜相似.以下细胞中蓝色荧光为DNA的DAPI负染,(c)~(d)诸葛菜中期染色体($2n=24$)被自身的基因组DNA探针均匀杂交;(e)~(f)由第2株F6植株产生的F7植株(2-1)的自交种子根尖细胞($2n=31$)含有12条标记的染色体.箭头示末端的微弱信号;(g)~(h)与(e)~(f)相同来源的根尖细胞($2n=27$),有一条染色体(绿箭头)、5条染色体长臂(红箭头)、两条染色体的随体和两条短臂(白箭头)的末端被标记;(i)~(j)示由第10株F6植株产生的F7植株(10-1)的1个MI-PMC,配对构型为 $16\text{II}+1\text{I}$,其中5个二价体显示强烈的杂交信号,另两个二价体的信号在末端(箭头);(k)~(l)仍由第10株F6植株产生的另一F7植株(10-12)的一个终变期PMC($17\text{II}+4\text{I}$),有5个二价体和1个单价体呈强荧光信号,箭头示具有较弱信号的两个二价体.除(d)外,(f),(h),(j)中的杂交信号均经过扩增.标尺示 $5\mu\text{m}$.