

# 萝卜芥蓝异源四倍体 与埃塞俄比亚芥属间杂交

陈洪高, 吴江生\*, 刘克德, 程雨贵, 刘 超

(华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 国家油菜改良武汉分中心, 湖北 武汉 430070)

**摘要:**萝卜芥蓝异源四倍体 (*Raphanobrassica*, RRCC,  $2n = 36$ )与埃塞俄比亚芥 (*B. russica carinata*, BBCC,  $2n = 34$ )正反交, 结果表明:萝卜芥蓝异源四倍体 ×埃塞俄比亚芥可交配率为 7.3%, 反交为 64.6%。正反交  $F_1$  植株均呈双亲中间形态, 体细胞染色体数目为 35, 花粉母细胞减数分裂染色体主要配构型为  $10 + 15$ 。62个  $F_2$  植株和 22个与埃塞俄比亚芥的回交植株的形态为中间类型、偏萝卜芥蓝异源四倍体或偏萝卜。AFLP检测到  $F_2$  和  $BC_1$  植株均含有大量双亲特异片段, 聚类分析表明, 这些植株独立于亲本种聚成一组。

**关键词:** 萝卜芥蓝; 埃塞俄比亚芥; 属间杂交; 形态学; 细胞学; AFLP

**中图分类号:** Q949.748.3; S565.403 **文献标志码:** A **文章编号:** 1007—9084(2006)04—0381—07

油菜的 3 个异源四倍体种甘蓝型油菜 (*B. rassica napus*, AACC,  $2n = 38$ )、芥菜型油菜 (*B. rassica juncea*, AABB,  $2n = 36$ )和埃塞俄比亚芥 (简称埃芥, *B. rassica carinata*, BBCC,  $2n = 34$ ), 是由 3 个二倍体种白菜型油菜 (*B. rassica campestris*, AA,  $2n = 20$ )、甘蓝 (*B. rassica oleracea*, CC,  $2n = 18$ )和黑芥 (*B. rassica nigra*, BB,  $2n = 16$ )<sup>[1]</sup>分别杂交形成的, 而 3 个二倍体种可能起源于染色体数为  $n = 6$  的未知古基因组物种<sup>[2]</sup>。狭窄的遗传变异限制了油菜产量的进一步提高, 开拓新的育种材料对于油菜育种具有重要意义<sup>[3]</sup>。细胞学和分子生物学研究表明, 萝卜 (*Raphanus sativus*, RR,  $2n = 18$ )同芸薹属 3 个二倍体种起源于相同的古基因组物种<sup>[4,5]</sup>, 含有对油菜育种有用的基因。由萝卜与白菜<sup>[6]</sup>、甘蓝<sup>[7]</sup>和甘蓝型油菜<sup>[8]</sup>杂交, 人工合成的异源多倍体含萝卜染色体的异附加系和异代换系, 已经成为萝卜基因向油菜渗入的重要桥梁<sup>[9,10]</sup>, 其中典型的例子是将萝卜抗根结线虫基因<sup>[10]</sup>、细胞质雄性不育基因<sup>[11]</sup>及其恢复基因<sup>[12]</sup>转育到了甘蓝型油菜之中。然而关于萝卜与埃芥之间杂交的报道极少。本试验以萝卜芥蓝异源四倍体 (简称萝卜芥蓝, *Raphanobrassica*, RRCC,  $2n = 36$ )为桥梁与埃芥杂交, 探索实现萝卜的 R 基因组与埃芥的 BC 基因组重组的途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

萝卜芥蓝、埃芥、何庆萝卜 (*R. sativus* cv Heqing)、白花芥蓝 (*B. rassica alboglabra* Bailey, CC,  $2n = 18$ )和黑芥。萝卜芥蓝是本实验室通过何庆萝卜与白花芥蓝杂交,  $F_1$  植株经秋水仙碱加倍育成稳定的异源四倍体, 为白色花冠。埃芥在杂交前经过连续自交纯化, 为淡黄色花冠。试验材料由本研究室提供。

### 1.2 方法

**1.2.1 杂交及可交配性调查** 杂交于 2003 年春季在华中农业大学油菜试验田进行。对萝卜芥蓝和埃芥采用常规去雄进行正反交, 授粉后套袋挂牌, 成熟时按母本单株分组合收获, 分别考察收获的角度数和种子数, 计算可交配率 ( $= \text{收获种子数} / \text{授粉花数} \times 100\%$ )。 $F_1$  种子直接播种田间,  $F_1$  植株自由授粉或与双亲回交。 $F_2$  和  $BC_1$  分区隔离, 自由授粉结实, 分单株考察角度数和种子数。

**1.2.2 细胞学观察** 从  $F_1$  单株采回幼小花蕾剥取子房, 用  $2\text{mmol/L}$  8-羟基喹啉预处理 4h 后,  $10\text{mL}$  卡诺液 (乙醇/冰醋酸 = 3/1, v/v) 固定 8~24h, 转入 70%乙醇 4 保存, 供染色体计数。观察减数分

收稿日期: 2006—01—21

基金项目: 湖北省“十五”科技攻关重大项目 (2004AA204A-2)

作者简介: 陈洪高 (1973—), 男, 苗族, 华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室博士研究生, 主要从事油菜种质资源创新研究。

E-mail: honggao\_chen@webmail.hzau.edu.cn

\*通讯作者: 吴江生 (1950—), 男, 教授, 博士生导师。

裂时直接固定花蕾。制片前以 1mol/LHCl于 60 处理子房 8min (花药处理 2min),卡宝品红压片观察。用 1%醋酸洋红染色花粉粒,在 20 ×显微镜下观察可染花粉百分率。

1.2.3 AFLP分析 从田间生长的 F<sub>2</sub>、BC<sub>1</sub>、萝卜芥蓝、埃芥、何庆萝卜、白花芥蓝和黑芥的植株上取幼嫩叶片,CTAB 法<sup>[13]</sup>提取 DNA。AFLP (amplified fragment length polymorphism) 分析程序参照 Vos 等<sup>[14]</sup>的方法进行,6%聚丙烯酰胺凝胶电泳,硝酸银染色检测。读取清晰的 AFLP带,有带记作 1,无带记作 0,构成分子数据矩阵,利用 NTSYS - pc 2.0 生成聚类图。

2 结果与分析

2.1 可交配性、形态特征和育性

2.1.1 萝卜芥蓝 ×埃芥 F<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 以萝卜芥蓝为母本同埃芥杂交,授粉 490 朵花,获得 36 粒种子,可交配率为 7.3%,13.9%的种子能够成苗,产生 5 个植

株。F<sub>1</sub> 植株形态呈双亲中间类型,略偏萝卜芥蓝 (图 1C),叶面有蜡质,叶柄和中脉略呈紫色。分枝似埃芥,茎秆略呈紫色。花白色,有花粉,平均花粉活力 9% (图 1E),最高 15%,单株结实 7~25 粒。

产生 38 个 F<sub>2</sub> 植株,绝大多数 F<sub>2</sub> 植株形态偏萝卜芥蓝,白花,植株高大,单株自由授粉结角 107~182 个 (表 1),角果似萝卜芥蓝,分上下两节,均含有种子,果面紫色 (图 1K - b),成熟后枝条不下垂 (萝卜芥蓝角果成熟后枝条变软)。另外 1 个 F<sub>2</sub> 植株 178 - 1 出苗迟,植株细弱,叶似萝卜 (图 1I - c),叶柄基部紫色,花浅紫色,高度不育,未收获到 F<sub>3</sub> 种子。

2.1.2 埃芥 ×萝卜芥蓝 F<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 以埃芥为母本同萝卜芥蓝杂交,授粉 565 朵花,收获 362 粒种子,可交配率达到 64.1%。但 F<sub>1</sub> 成苗率较低 (2.5%),只形成了 9 个杂种,植株形态为双亲中间类型,略偏埃芥 (图 1B),叶较埃芥薄而光滑,花白色,花粉极少,单株结实 4~17 粒。

表 1 F<sub>2</sub> 和 BC<sub>1</sub> 植株的育性及 AFLP 指纹特征  
Table 1 Fertility and AFLP fingerprints of F<sub>2</sub> and BC<sub>1</sub> plants

杂交组合 Combination	株号 Plant No	株型 Morphology	角果数 No of siliques	种子数 No of seeds	总带 Total bands	检测到的亲本特异带 Parental specific bands detected	
						<i>Raphanobrassica</i>	<i>B. carinata</i>
F <sub>2</sub> (萝卜芥蓝 ×埃芥) F <sub>2</sub> ( <i>Raphanobrassica</i> × <i>B. carinata</i> )	176 - 2	偏萝卜芥蓝 Like <i>Raphanobrassica</i>	119	607	400	113	114
	176 - 6	偏萝卜芥蓝 Like <i>Raphanobrassica</i>	156	842	402	115	113
	177 - 5	偏萝卜芥蓝 Like <i>Raphanobrassica</i>	160	928	396	113	112
	177 - 8	偏萝卜芥蓝 Like <i>Raphanobrassica</i>	131	720	408	117	114
	178 - 1	偏萝卜 Like <i>Raphano</i>	0	0	469	130	133
	179 - 2	偏萝卜芥蓝 Like <i>Raphanobrassica</i>	159	898	400	113	113
	179 - 6	偏萝卜芥蓝 Like <i>Raphanobrassica</i>	137	699	382	106	111
	180 - 2	偏萝卜芥蓝 Like <i>Raphanobrassica</i>	107	439	393	110	113
	180 - 4	偏萝卜芥蓝 Like <i>Raphanobrassica</i>	121	533	397	111	114
F <sub>2</sub> (埃芥 ×萝卜芥蓝) F <sub>2</sub> ( <i>B. carinata</i> × <i>Raphanobrassica</i> )	184 - 4	中间类型 Intermediate	38	106	418	112	125
	184 - 6	中间类型 Intermediate	62	115	408	116	119
	184 - 10	偏萝卜芥蓝 Like <i>Raphanobrassica</i>	124	283	398	112	116
	185 - 1	中间类型 Intermediate	77	193	419	118	120
	185 - 3	中间类型 Intermediate	79	205	409	111	120
BC <sub>1</sub> (埃芥 ×萝卜芥蓝) ×埃芥 BC <sub>1</sub> ( <i>B. carinata</i> × <i>Raphanobrassica</i> ) × <i>B. carinata</i>	171 - 1	偏萝卜芥蓝 Like <i>Raphanobrassica</i>	146	303	399	110	119
	171 - 6	偏萝卜芥蓝 Like <i>Raphanobrassica</i>	123	252	398	107	122
	173 - 1	中间类型 Intermediate	50	101	407	106	121
	173 - 2	中间类型 Intermediate	73	164	439	117	125
	175 - 1	中间类型 Intermediate	35	74	437	119	120

产生的 24 个 F<sub>2</sub> 植株,绝大多数形态呈双亲中间类型,白花,单株结角 18~124 个 (表 1),角果形状似萝卜芥蓝。

2.1.3 与埃芥回交后代 埃芥 ×萝卜芥蓝 F<sub>1</sub> 植株与埃芥回交,授粉 81 朵花获得 31 粒种子,形成 22

个 BC<sub>1</sub> 植株,其中 13 个植株形态略偏萝卜芥蓝,育性恢复较好,单株结角 109~157 个,其余 9 个植株呈萝卜芥蓝与埃芥中间形态,叶偏埃芥,植株较弱,单株结角 32~75 个 (表 2),角果较短,喙部含 1~2 粒种子或不含种子 (图 1K - d)。

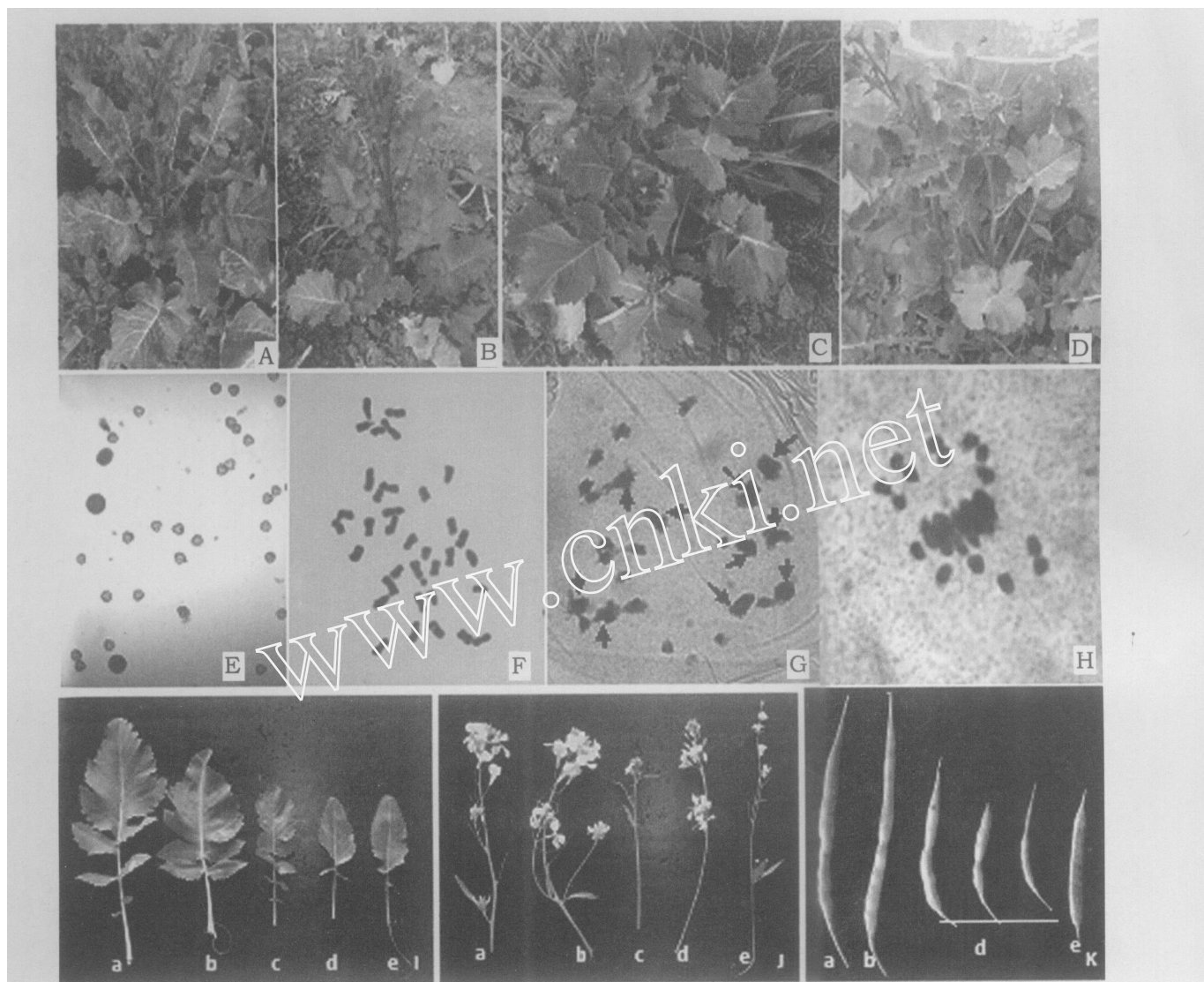


图 1 形态学与细胞学特征  
A. 埃芥, B. 埃芥  $\times$  萝卜芥蓝  $F_1$  杂种, C. 萝卜芥蓝  $\times$  埃芥  $F_1$  杂种, D. 萝卜芥蓝, E.  $F_1$  花粉活力, F. 体细胞内的 35 条染色体, G. 中期 I 的 10 + 15, H. 中期 II 的 15 个未配对染色体, I~K.  $F_2$  及  $BC_1$  与亲本的叶 (D)、花序 (J) 及角果 (K) 比较: 萝卜芥蓝 (a), 偏萝卜芥蓝后代 (b), 偏埃芥后代 (c), 中间类型后代 (d), 埃芥 (e)

A. *B. carinata*; B. *B. carinata*  $\times$  *Raphanobrassica*  $F_1$  hybrid; C. *Raphanobrassica*  $\times$  *B. carinata*  $F_1$  hybrid; D. *Raphanobrassica*; E. pollen viability of  $F_1$  hybrid; F.  $2n=35$  in  $F_1$  ovary cell; G. One metaphase - PMC with 10 + 15; H. One metaphase - PMC with 15 unpaired chromosomes; I~K. Leaves (I), inflorescence (J) and siliques (K) of *Raphanobrassica* (a), *B. carinata* (e), *Raphanobrassica* - like plant (b), *R. sativus* - like plant (c) and intermediate plant (d)

图 1 形态学与细胞学特征  
Fig 1 Morphological and cytological character

## 2.2 $F_1$ 植株的细胞学分析

正反交  $F_1$  植株子房体细胞染色体数目均为 35 (图 1F), 花粉母细胞减数分裂配对构型为 13 ~ 17 + 8 ~ 10 + 2 (表 2)。观察了 394 个萝卜芥蓝  $\times$  埃芥  $F_1$  花粉母细胞 (PMC), 76.6% 细胞配对成 10 + 15 (图 1G), 15% 配对成 9 + 17, 4.1% 配对成 8 + 2 + 13, 其他配对构型占 4.3%。观察了 520 个埃芥  $\times$  萝卜芥蓝  $F_1$  PMCs, 71% 配对成

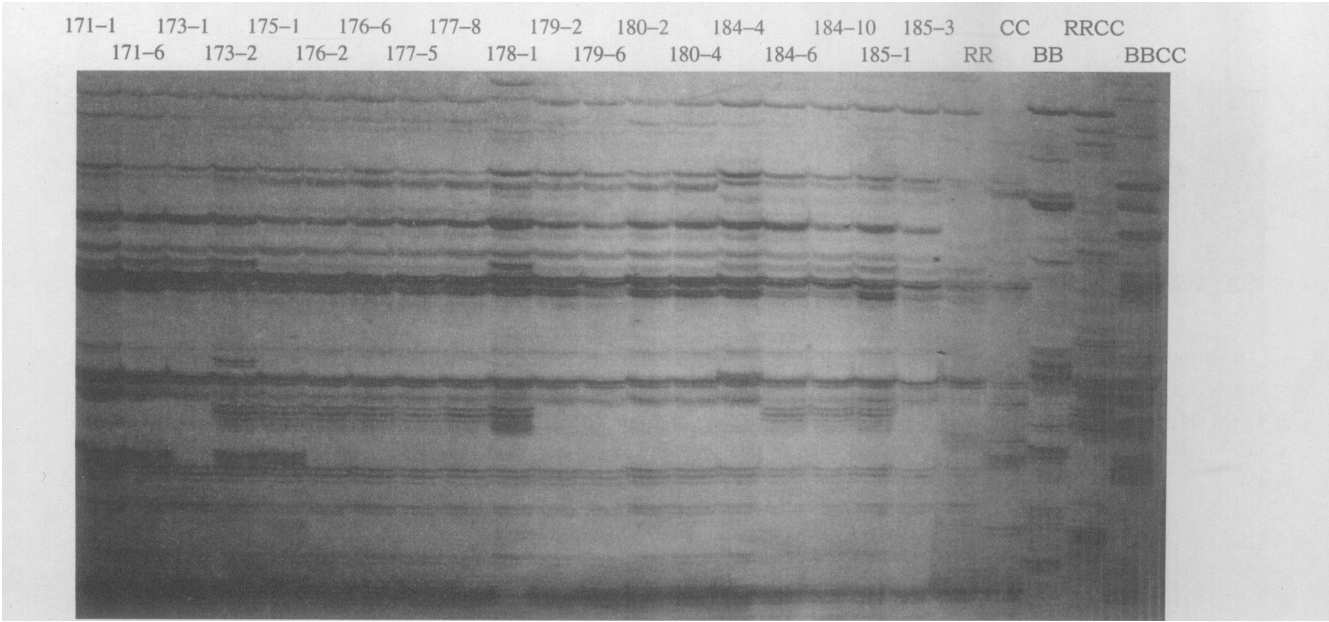
10 + 15, 14.6% 配对成 9 + 17, 6.9% 配对成 8 + 2 + 13, 其他配对构型占 7.5%。未配对染色体不能集中到赤道板上 (图 1H), 后期落后于两极间, 染色体桥和落后染色体普遍存在。

## 2.3 $F_2$ 及 $BC_1$ 植株的 AFLP 分析

10 对 AFLP 引物组合在埃芥中扩增出 406 条带, 萝卜芥蓝中扩增出 386 条带, 其中萝卜芥蓝特异

表 2 F<sub>1</sub> 植株减数分裂染色体配对模式  
Table 2 Chromosome pairing patterns at diakinesis/metaphase of F<sub>1</sub> plants

株号 Plant No	花粉母细胞数 No. of PMCs	配对构型 Chromosome pairing patterns							
		9	+ 17	10	+ 15	8	+ 2	+ 13	Others
萝卜芥蓝 ×埃芥 <i>Raphanobrassica</i> × <i>B. carinata</i>									
RB1	67		12		42		7		6
RB2	85		19		55		6		5
RB3	105		19		84		1		1
RB4	84		3		77		0		4
RB5	53		6		44		2		1
Total	394		59		302		16		17
Percent/%			15. 0		76. 6		4. 1		4. 3
埃芥 ×萝卜芥蓝 <i>B. carinata</i> × <i>Raphanobrassica</i>									
BR1	89		8		74		5		2
BR2	27		9		15		1		2
BR3	93		14		71		4		4
BR4	63		12		40		6		5
BR5	79		7		59		5		8
BR6	61		8		42		7		4
BR7	41		5		29		2		5
BR8	32		4		22		3		3
BR9	35		9		17		3		6
Total	520		76		369		36		39
Percent/%			14. 6		71. 0		6. 9		7. 5



RR - 何庆萝卜, CC - 白花芥兰, BB - 黑芥, RRCC - 萝卜芥蓝, BBCC - 埃芥  
RR - *R. sativus* cv Heqing, CC - *B. alboglabra* Bailey, BB - *B. nigra*, RRCC - *Raphanobrassica*, BBCC - *B. carinata*

图 2 引物 E - ACTM - CTC 扩增出的 AFLP 带型

Fig 2 AFLP patterns amplified by primer combination E - ACTM - CTC

带 165 条,埃芥特异带 160 条。同样的引物在 F<sub>2</sub> 及 BC<sub>1</sub> 单株中扩增出 382 ~ 469 条带,所有单株均检测到数目不等的亲本特异带 (表 1),证实它们含有双亲的遗传物质。在 178 - 1 中扩增出的总带和亲本

特异带都较其他 F<sub>2</sub> 或 BC<sub>1</sub> 植株多 (图 2),表明具有较高的亲本基因组杂合性。含埃芥胞质的 F<sub>2</sub> 及 BC<sub>1</sub> 所扩增出的埃芥亲本特异带略多于含萝卜胞质的 F<sub>2</sub> 植株,但是它们的萝卜芥蓝特异带数量没有明

显差异。

#### 2.4 聚类分析

10对引物在所有参试材料中共扩增出 619 条带,全部用于聚类分析。参试材料在相似系数 0.63 处聚为 6 组,  $F_2$  和  $BC_1$  独立于亲本及 3 个二倍体种聚为一组,并在相似系数 0.906 处再聚成 4 个亚组:来自于萝卜芥蓝 × 埃芥组合的  $F_2$  植株 178-1 明显不同于其他植株,单独聚为 1 个亚组;埃芥 × 萝卜芥

蓝的  $F_2$  植株聚为 1 个亚组;萝卜芥蓝 × 埃芥的  $F_2$  植株与  $BC_1$  偏萝卜芥蓝植株聚成 1 个亚组; $BC_1$  其余植株聚为 1 个亚组(图 3)。以上结果表明,  $F_2$  和  $BC_1$  群体具有丰富的遗传多样性,由于没有出现与双亲或与 3 个二倍体种(何庆萝卜、白花芥蓝和黑芥)聚为一组的杂种植株,进一步表明这些  $F_2$  和  $BC_1$  植株还具有高度基因组杂合性,是进一步进行渗入育种的良好材料。

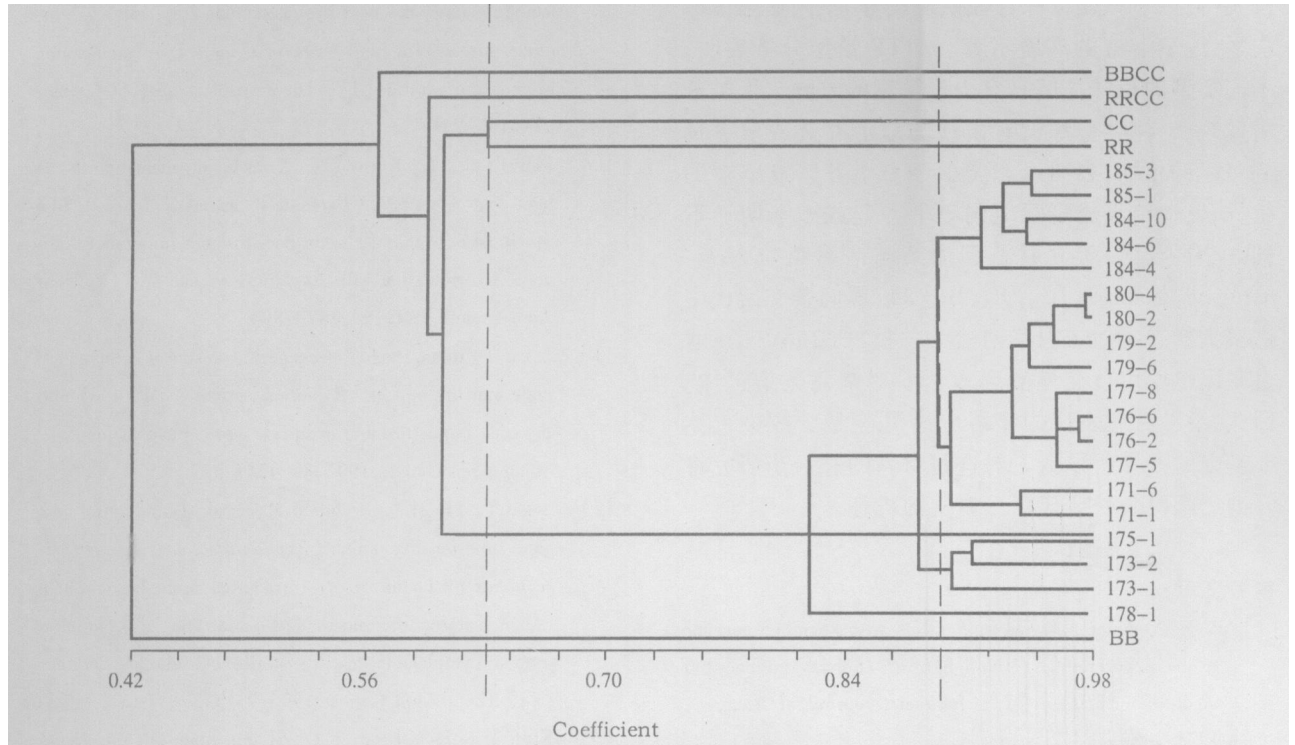


图 3 根据 AFLP 数据计算的 Jaccard's 相似系数生成的  $F_2$ 、 $BC_1$ 、亲本及 3 个二倍体种的聚类图

Fig 3 Dendrogram of genetic relationships of  $F_2$  and  $BC_1$  plants and their original parents as well as 3 diploid species based on AFLP data using Jaccard's coefficient of similarity (specie codes as Fig 2)

### 3 讨论

桥梁杂交法可以使不能直接杂交的两个种的基因组最终组合到一起,被广泛应用于存在着严重不可交配性的属间或种间基因交流。为了将萝卜的细胞质雄性不育基因或抗根结线虫基因转移到油菜,先合成萝卜与甘蓝之间的异源四倍体(RRCC,  $2n=36$ )或萝卜与白菜之间的异源四倍体(RRAA,  $2n=38$ ),以它们为桥梁与甘蓝型油菜杂交,成功地将目标基因渗入到油菜之中<sup>[15,16]</sup>。为了实现萝卜与埃芥之间的基因组重组,本课题组早期进行了大量的杂交实验,正反交累计授粉 6 887 朵花,均没有获得杂种。以萝卜芥蓝异源四倍体为桥梁亲本同埃芥杂交,正反交每授粉 100 朵花能获得 1~2 个杂种,明显较萝卜与埃芥杂交的可交配性高。通过自由授粉

或与埃芥回交,能够获得  $F_2$  及  $BC_1$  植株,而且部分植株育性恢复较好,AFLP 检测到这些植株保留着双亲的大量遗传物质,为进一步的研究利用提供了材料。萝卜芥蓝与埃芥杂交仍然存在着一些亲和性障碍,如以埃芥作母本时虽然杂种容易获得,但杂种成苗率不高,以萝卜芥蓝作母本时的杂种成苗率较高,但较难获得杂交种子。导致这些现象的原因有待进一步研究。

Harberd 的研究表明,埃芥 × 萝卜  $F_1$  (RBC,  $2n=26$ ) 减数分裂可以形成  $2+22$  至  $9+8$ , R 与 BC 基因组之间具有很高的同源性<sup>[17]</sup>。本实验中埃芥与萝卜芥蓝杂交的  $F_1$  植株具有预期的染色体数目(CCB,  $2n=35$ ),花粉母细胞减数分裂过程中染色体主要配对构型为  $10+15$ ,而不是预期的  $9+17$ ,其中 C 基因组的 18 条染色体可形成

9个二价体,推测 R(或 B)基因组内部或 R 与 B 基因组之间可能有 1 对染色体高度同源,并能够稳定配对。同时还观察到三价体和其他多价体存在,这些多价体有可能也是部分同源配对的产物,它们的存在是遗传物质渗入的基础。

$F_2$  和  $BC_1$  群体形态分离出偏萝卜芥蓝、偏萝卜和双亲中间形态 3 种类型,不同类型之间育性差别较大:偏萝卜芥蓝植株育性恢复较好,中间形态植株次之,偏萝卜植株高度不育。AFLP 带型分析表明,不同类型的植株之间只有少量带型的差异。聚类分析发现,3 种类型都没有出现与萝卜芥蓝或萝卜聚到一组的植株,表明形态类似于萝卜芥蓝或萝卜的植株,其遗传组成实际上同萝卜芥蓝或萝卜明显不同。李再云<sup>[18]</sup>等在甘蓝型油菜与诸葛菜 (*Orychophragmus violaceus* L.,  $2n=24$ ) 属间杂交后代中观察到形态类似于白菜型油菜的植株 ( $2n=31$ ),通过基因组原位杂交检测到多达 6 对诸葛菜染色体。因此,杂种后代表型的显著分离可能是少数染色体或基因的差异所导致。对这些材料的进一步研究将有助于阐明杂种后代育性恢复的机理。

## 参考文献:

- [1] U N. Genome analysis in *B. brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization [J]. Japanese Journal of Botany, 1935, 7: 389—452.
- [2] Attia T, Röbbelen G. Cytogenetic relationship within cultivated *B. brassica* analyzed in amphidiploids from the three diploid ancestors [J]. Can J Genet Cytol, 1986, 28: 323—329.
- [3] Inomata N. Hybrid progenies of the cross, *B. brassica campestris*  $\times$  *B. oleracea*. Crossability of  $F_2$ ,  $B_1$  and hybrid plants, and their progenies [J]. Jpn J Genet, 1991, 66: 449—460.
- [4] Richharia R H. Cytological investigation of *Raphanus sativus*, *B. brassica oleracea*, and their  $F_1$  and  $F_2$  hybrids [J]. Jpn J Genet, 1937, 34: 19—44.
- [5] Song KM, Osborn TC, Williams PH. *B. brassica* taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) I. Genome evolution of diploid and amphidiploid species [J]. Theor Appl Genet, 1998, 75: 784—794.
- [6] Lang W, Toiopeus H, Lubberts J H, et al. The development of *Raparadish* ( $\times B. brassica \times raphanus$ ,  $2n=38$ ), a new crop in agriculture [J]. Euphytica, 1989, 40: 1—14.
- [7] Kapechenko G D. Polyploid hybrids of *Raphanus sativus* L.  $\times$  *B. brassica oleracea* L. Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre [J], 1928, 48: 1—85.
- [8] Metz P L J, Nap J P, Stiekema W J. Hybridization of radish (*Raphanus sativus* L.) and oilseed rape (*B. brassica napus* L.) through a flower-culture method [J]. Euphytica, 1995, 80: 159—168.
- [9] Peterka H, Budahn H, Schrader O, et al. Transfer of resistance against the beet cyst nematode from radish (*Raphanus sativus*) to rape (*B. brassica napus*) by monosomic chromosome addition [J]. Theor Appl Genet, 2004, 109: 30—41.
- [10] Lelivelt C L C, Krens F A. Transfer of resistance to the beet cyst nematode (*Heterodera schachtii* Schm.) into the *B. brassica napus* L. gene pool through intergeneric somatic hybridization with *Raphanus sativus* L [J]. Theor Appl Genet, 1992, 83: 887—894.
- [11] Sakai T, Imamura J. Intergeneric transfer of cytoplasmic male sterility between *Raphanus sativus* (CMS line) and *B. brassica napus* through cytoplasmic protoplast fusion [J]. Theor Appl Genet, 1990, 80: 421—427.
- [12] Sakai T, Liu H J, Iwabuchi M, et al. Introduction of a gene from fertility radish (*Raphanus sativus*) into *B. brassica napus* by fusion of  $\times$ -irradiated protoplasts from a radish restorer line and iodacetamide treated protoplasts from a cytoplasmic male-sterile cybrid of *B. napus* [J]. Theor Appl Genet, 1996, 93: 373—379.
- [13] Kidwell K K, Osborn T C. Simple plant DNA isolation procedures. In Beckman J and Osborn T C (eds). Plant Genomes: Methods for Genetic and Physical Mapping [M]. Kluwer Academic Publishers Group. Dordrecht AH, The Netherlands, 1992. 1—13.
- [14] Vos P, Hogers R, Bleeker K, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. Nucl Acids Res, 1995, 23: 4407—4414.
- [15] Pauermann W, Röbbelen G. Effective Transfer of Cytoplasmic Male Sterility from Radish (*Raphanus sativus* L.) to Rape (*B. brassica napus* L.) [J]. Plant breeding, 1988, 100: 299—309.
- [16] Sharma T R, Singh B M. Transfer of resistance to *Alternaria brassicae* in *B. brassica juncea* through interspecific hybridization among *B. brassica* [J]. J Genet Breed, 1992, 46: 373—378.
- [17] Harberd D J, McArthur E D. Meiotic analysis of some species and genus hybrids in the Brassicaceae. In: Tsunoda S, Hinata K, Gómez-Campo C (eds), *B. brassica* crops and wild allies [M]. Japan Sci Soc Press, Tokyo, 1980. 65—87.

[18] 李再云,刘 焰. 芸薹属与诸葛菜属间杂种的细胞遗

传学 [J]. 自然科学进展, 2002, 12: 8—12

**Intergeneric hybridization between amphidiploid *Raphanobrassica* and *Brassica carinata***

CHEN Hong - Gao, WU Jiang - Sheng, LIU Ke - De, CHENG Yu - Gui, LIU Chao

(National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Sub - Center of National Rapeseed Improvement,

Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** Reciprocal crosses were made between artificially synthesized amphidiploid *Raphanobrassica* (RRCC,  $2n=36$ ) and *B. carinata*. Crossability percentage of *Brassica carinata*  $\times$  *Raphanobrassica* was 64.1% but only 7.3% for the reciprocal cross. All  $F_1$  plants were morphologically intermediate to their parents and had  $2n=35$  as expected. The chromosomes mainly paired as  $10+15$  in pollen mother cells. Among 62  $F_2$  plants and 22  $BC_1$  plants after backcrossing to *B. carinata*, some were intermediate to the original parents, others were more like *Raphanobrassica*. The parental genome specific AFLP bands were detected in all  $F_2$  and  $BC_1$  plants studied. Cluster analysis suggested that these  $F_2$  and  $BC_1$  plants were separated from their parental group, and had a similar genetic background.

**Key words:** *Raphanobrassica*; *Brassica carinata*; Intergeneric hybrid; Morphology; Cytology; AFLP