

红菜薹茎基部分枝性状的遗传及内源激素影响因素研究

余晨¹, 别里扎特·努勒沙合提², 沙爱华^{1*}, 万正杰²

(1. 长江大学农学院, 湖北 荆州 434000; 2. 华中农业大学园艺林学学院/园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070)

摘要:红菜薹茎基部分枝性状是薹用白菜的一种重要产量性状, 内源激素对植物分枝过程有很重要的影响, 为了探究与分枝相关的三种激素(生长素、细胞分裂素、独脚金内酯)对菜薹茎基部分枝性状的影响, 本实验以红菜薹和菜心自交系为研究材料, 构建六世代的遗传群体进行茎基部分枝性状的遗传分析, 并且利用酶联免疫法(ELISA)测定三种激素含量, 结果表明: 红菜薹的茎基部分枝性状对无分枝性状为显性, F₂分离群体的茎基部分枝性状表现连续分布, 为数量性状, 不符合典型的孟德尔遗传定律; 两个亲本间生长素和细胞分裂素无显著差异, 独脚金内酯含量差异较明显, 结合两个亲本之间的表型差异分析, 独脚金内酯可能是影响红菜薹茎基部分枝的直接因素, 上述结果为红菜薹茎基部分枝的遗传克隆和形成机理研究奠定基础。

关键词:红菜薹; 遗传分析; 茎基部分枝; 内源激素

中图分类号: S634.9

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2022)01-0127-05

Study on the Heredity of Stem Basal Branching and the Influence Factors of Endogenous Hormones in Purple Flowering Stalks

YU Chen¹, BELIZAT Nureshahti², SHA Aihua^{1*}, WAN Zhengjie²

(1. College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434000; 2. College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University/Key Laboratory of Horticultural Plant Biology(HZAU), MOE, Wuhan 430070, China)

Abstract: The branching at the base of stem of purple flowering stalks is an essential yield trait of *Brassica campestris* L. The endogenous hormones have important effects on the branching process. In order to investigate the effects of three hormones (auxin, cytokinin and Strigolactone) related to branching on stem base of flowering stalks, the six generations of genetic groups were constructed to analyze the inheritance of some branch characters of stem base by using the enzyme linked immunosorbent (ELISA). The results showed that the characters of stem base branch were dominant to the characters without branch, and the characters of stem base branch of F₂ segregation population were continuously distributed, which were quantitative characters and did not conform to the typical Mendelian inheritance law. There was no significant difference in auxin and cytokinin between the two parents, but there was a significant difference in the content of Strigolactone. Combined with the phenotypic difference analysis between the two parents, it was suggested that the Strigolactone might be the direct factor affecting the basal stem branching of purple flowering stalks. These results lay a foundation for genetic cloning and formation mechanism of stem basal branches of purple flowering stalks.

Key words: Purple flowering stalks; Genetic analysis; Stem basal branches; Endogenous hormones

红菜薹(*Brassica campestris* L. ssp. *Chinensis* var.

purpurea Hort)又名紫菜薹, 为十字花科芸薹属亚种变种之一, 起源于长江流域中部^[1], 在武汉地区有悠久的栽培历史, 以其肥嫩多汁、色泽鲜亮的花茎为主要食用器官, 深受大众的喜爱。红菜薹侧薹较多, 且质量佳, 一般每株可收获7~8根, 多者可达20~30根。不同于玉米分蘖对玉米的产量无显著影

收稿日期: 2020-01-18

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0101803)

作者简介: 余晨(1994-), 女, 在读硕士, 主要从事作物遗传育种研究。

通讯作者: 沙爱华, 男, 博士, 教授, E-mail: aihuasha@163.com

响^[2],红菜薹的茎基部分枝是该品种产量的第一要素。侧薹数、侧薹重和孙薹数三个性状对单株产量的直接效应为正作用,侧薹数可作为红菜薹丰产育种选择的副性状^[3]。由于红菜薹茎基部分枝性状(分蘖)是蔬菜特异性状,茎基部分枝性状的基因分离以及形成机理目前国内外尚未见报道。

植物分枝的产生生长受多种因素的影响,不仅栽培模式影响植物的分枝,植物激素对分枝发生和生长也产生重要的影响^[4]。控制植物分枝过程,并不是某个植物激素独立完成的,是众多激素共同发挥作用,相互影响来实现的,其中最主要的是生长素、细胞分裂素、独脚金内酯的运输、信号传导以及反馈调节机制^[5]。生长素是植物生长全过程所必需的植物激素之一,在幼苗期拟南芥植株各组织的生长发育旺盛,需要更多的生长素,并且除了嫩叶外,子叶、根组织等都能合成生长素^[6]。在分枝性状的相关研究中生长素也是第一个被认定为调控分枝的激素。随后生长素成为分枝性状研究的重要内容之一。Stimberg等^[7]发现拟南芥突变体 *axr1* 和 *iaa28* 生长素信号被抑制,并表现多分枝,从遗传角度证明了生长素在制约植物分枝过程中起重要作用。生长素间接地影响侧芽,达到一定浓度时抑制侧芽生长。Ongaro等^[8]发现外施经过标记的生长素其运输方式呈现极限运输并不进入侧芽,而正萌发的侧芽中的生长素浓度更高,因此生长素并不是直接调控植物分枝。植物分蘖性状还受到细胞分裂素的影响。Emery等^[9]将外源CK施加在腋芽处能使其增长速度加快,从而得出细胞分裂素能够直接影响腋芽组织,加快其生长。细胞分裂素受到生长素对其形成、运输及代谢过程控制,共同调控腋芽发生和生长^[10]。细胞分裂素和生长素的绝对含量不能直接影响植物分蘖芽的生长发育,分蘖发生是由两者共同调控的,CK/IAA值高,有利于分蘖发生;CK/IAA低于一定的水平,则使分蘖芽处于休眠状态。独脚金内酯是萜类内酯物,最初被发现是存在于独脚金属和列当属等根寄生植物种子中促进萌发的化合物^[11-12]。Matusova R等^[13]用类胡萝卜素生物合成抑制剂对玉米类胡萝卜素缺乏突变体进行处理,最后得出独脚金内酯是由类胡萝卜素合成。在豌豆多枝突变体中发现除了生长素和细胞分裂素外的另一种新型植物激素,该激素是胡萝卜素衍生物独脚金内酯(strigolactones, SLs),能抑制植物分枝^[14-15]。独脚金内酯主要形成于根,并以极性运输的方式转运。目前人们认

为,SLs抑制植物分枝是通过调控生长素的运输来实现的。独脚金内酯的生物活性受到植物品种及栽培条件的影响^[16]。Borghi L等^[17]提出SLs不仅通过木质部运输还可以在细胞间进行传递。除此之外,还有报道认为赤霉素和脱落酸也与腋芽的萌发有关。例如水稻再生芽中较高的脱落酸含量将抑制其生长^[18],赤霉素能够通过诱发生长素的合成或抑制其分解而间接影响顶端优势^[19]。但激素之间的协助网络错综复杂,关于激素与植物分枝之间的互作效应仍需进一步研究。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

本研究以茎基部多分枝的红菜薹自交系“L-100”(P₁)和无分枝的菜心自交“L-101”(P₂)为亲本,正反杂交得到F₁代及F₂、BC₁(P₁)、BC₁(P₂)。所用的材料种子均来自华中农业大学园艺林学学院十字花科蔬菜遗传育种课题组。

2014年9月至2015年3月在华中农业大学国家蔬菜改良中心华中分中心大田完成杂交授粉,获得正反交F₁代种子,2015年4月底至2015年7月将P₁、P₂、F₁代种子带到甘肃省临夏回族自治州华中农业大学西北育种基地进行加代繁殖,获得BC₁(P₁)、BC₁(P₂)、正反交F₂代种子。2015年9月在华中农业大学国家蔬菜改良中心华中分中心大田种植P₁、P₂、F₁、BC₁(P₁)、BC₁(P₂)、正反交F₂代种子并进行性状调查。

1.2 红菜薹茎基部分枝数(分蘖)统计标准和遗传规律分析

田间观察统计P₁、P₂、F₁、F₂及BC₁植株茎基部分枝,通过观察F₁的表型确定基部多分枝与无分枝的显隐性关系;通过观察和统计F₂、BC₁群体基部分枝数确定是否为数量性状以及是否符合孟德尔遗传定律。调查标准为茎基部6 cm以内的分枝数算是茎基部分枝。

1.3 激素测定样品收集、处理及保存方法

1.3.1 在苗期、现蕾期、盛花期随机选红菜薹、菜心各三株,分别取根、腋芽、叶各1.5 g,每组织三次重复,放入-20℃冰箱备用。

1.3.2 取各样品0.5 g,加2 mL样品提取液,在冰浴下研磨成匀浆,转入10 mL试管,再用2 mL提取液分次将研钵冲洗干净,一并转入试管中,摇匀后放置在4℃冰箱中提取4 h,4 000 r/min离心15 min取上清液。沉淀中加1 mL提取液,搅匀,置4℃下再提取1 h,离心,合并上清液并记录体

积,残渣弃去。

1.3.3 保存:样本收集后按一次用量分装,冻存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$,避免反复冻融,在室温下解冻并确保样品均匀地充分解冻。

1.4 激素含量测定

本试验采用酶联免疫法(ELISA)测定相关激素含量,所用的试剂盒由北京冬歌伟业生物科技有限公司提供。操作步骤为:(1)从室温平衡 20 min 后的铝箔袋中取出所需板条,剩余板条用自封袋密封放回 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。(2)设置标准品孔和样本孔,标准品孔各加不同浓度的标准品 $50\text{ }\mu\text{L}$ 。(3)样本孔先加待测样本 $10\text{ }\mu\text{L}$,再加样本稀释液 $40\text{ }\mu\text{L}$;空白孔不加。(4)除空白孔外,标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的检测抗体 $100\text{ }\mu\text{L}$,用封板膜封住反应孔, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴锅温育 60 min 。(5)弃去液体,吸水纸上拍干,每孔加满洗涤液,静置 1 min ,甩去洗涤液,吸水纸上拍干,如此重复洗板5次。(6)每孔加入底物A、B各 $50\text{ }\mu\text{L}$, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴锅避光温育 15 min 。(7)每孔加入终止液 $50\text{ }\mu\text{L}$, 15 min 内在 450 nm 波长处测定各孔的OD值。

2 结果与分析

2.1 红菜薹茎基部分枝数(分蘖)的遗传规律研究

2.1.1 亲本性状调查

亲本 P_1 红菜薹自交系“L-100”为中晚熟品种,成熟时表现基部多分枝,平均茎基部分枝数为11。亲本 P_2 无分枝的菜心自交系“L-101”为早熟品种,成熟时表现茎基部无分枝。

2.1.2 六世代遗传群体的性状调查及遗传分析

红菜薹自交系“L-100”(P_1)和无分枝的菜心自交系“L-101”(P_2)杂交 F_1 代正交和反交茎基部多分枝,并且 F_1 基部分枝数比 P_1 少, BC_1 群体表现茎基部多分枝,说明红菜薹茎基部多分枝性状对于无分枝是不完全显性的,主要由核基因控制。 F_2 群体茎基部分枝数表现出连续分布,为数量性状,但并不符合典型的孟德尔遗传定律(图1)。

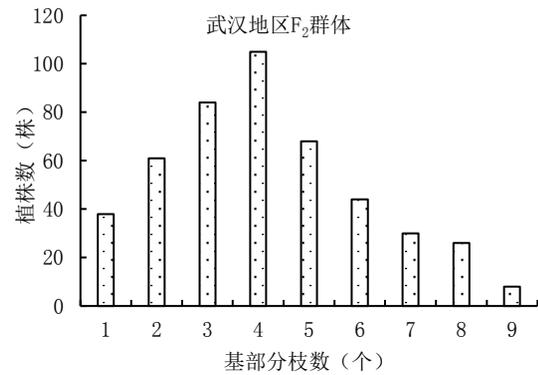


图1 F_2 群体茎基部分枝数分离的柱状分布图

2.2 红菜薹两亲本间不同组织部位激素含量比较

如表1所示,变异系数CV值大于0.05的表现差异显著,在苗期 P_2 根部生长素量显著高于 P_1 ,其他时期亲本间差异不显著;细胞分裂素在不同时期、不同部位含量无显著差异;独脚金内酯含量苗期在根部和叶无显著差异,腋芽处 P_1 中的含量低于 P_2 且差异显著;现蕾期各部位无显著差异;盛花期根部腋芽处独脚金内酯含量 P_2 显著高于 P_1 。两个亲本间主要是独脚金内酯含量差异较明显,结合两个亲本的形态差异分析,红菜薹的茎基部分枝

表1 不同时期不同部位亲本间激素含量差异表

	生长时期	组织部位	P_1	P_2	平均值	标准偏差	CV
生长素($\mu\text{mol/L}$)	苗期	根	14.06	15.94	15.00	1.329 4	0.088 6
		芽	15.63	16.56	16.10	0.657 6	0.040 9
		叶	13.44	12.81	13.13	0.445 5	0.033 9
	现蕾期	根	17.19	16.55	16.87	0.452 5	0.026 8
		芽	19.43	19.96	19.70	0.374 8	0.019 0
		叶	15.31	15.62	15.47	0.219 2	0.014 2
	盛花期	根	13.75	13.43	13.59	0.226 3	0.016 7
		芽	16.25	15.95	16.10	0.212 1	0.013 2
		叶	12.19	12.19	12.19	0.000 0	0.000 0
细胞分裂素(ng/mL)	苗期	根	37.69	39.23	38.46	1.088 9	0.028 3
		芽	44.62	45.38	45.00	0.537 4	0.011 9
		叶	35.38	34.62	35.00	0.537 4	0.015 4
	现蕾期	根	42.31	41.54	41.93	0.544 5	0.013 0
		芽	52.38	53.08	52.73	0.495 0	0.009 4
		叶	40.03	41.55	40.79	1.074 8	0.026 3

续表 1

	生长时期	组织部位	P ₁	P ₂	平均值	标准偏差	CV
独脚金内酯(ng/mL)	盛花期	根	38.61	39.62	39.12	0.714 2	0.018 3
		芽	40.02	39.22	39.62	0.565 7	0.014 3
		叶	33.08	31.53	32.31	1.096 0	0.033 9
	苗期	根	39.95	40.05	40.00	0.070 7	0.001 8
		芽	45.45	49.09	47.27	2.573 9	0.054 5
		叶	31.82	32.73	32.28	0.643 5	0.019 9
	现蕾期	根	34.55	36.36	35.46	1.279 9	0.036 1
		芽	39.97	39.98	39.98	0.007 1	0.000 2
		叶	33.64	32.72	33.18	0.650 5	0.019 6
		根	26.36	31.81	29.09	3.853 7	0.132 5
		芽	30.01	37.74	33.88	5.465 9	0.161 4
		叶	29.96	30.91	30.44	0.671 8	0.022 1

很可能与独脚金内酯含量有直接关系。

2.3 不同生长时期激素含量的变化

生长素、细胞分裂素含量随植物生长表现为先增后减,现蕾期为峰值点。这可能与植物开始生长,细胞分裂旺盛,物质合成、运输、利用过程较快,到成熟期植物生长缓慢,合成物质能力减弱有关。P₁独脚金内酯含量随植物生长直线下降,P₂独脚金内酯含量先增后减。植物不同生长时期激素含量及变化有一定的差异,P₁在苗期合成独脚金内酯较多,随植物生长独脚金内酯含量逐渐减少;根据前人研究独脚金内酯是抑制腋芽萌发,其含量的减少有利于腋芽萌发,使红菜薹最终表现茎基部多分枝,现蕾期作用最明显(图2)。

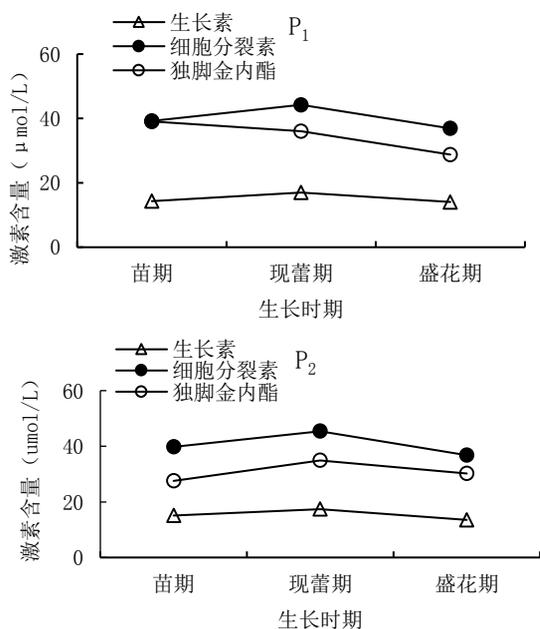


图2 不同时期两亲本激素含量的变化

3 讨论

红菜薹茎基部分枝是蔬菜中一种特异的生物学性状,也是薹用白菜的一种重要产量性状,影响红菜薹的株型、抽薹开花以及花茎色泽等性状,因此研究红菜薹茎基部分枝形成的分子机理对提高红菜薹产量等具有重要的意义。

遗传分析研究表明红菜薹的茎基部多分枝性状对于无分枝是不完全显性的,主要由核基因控制,该结果为红菜薹分蘖性状的基因定位以及分子育种奠定了基础。

植物的内源激素(生长素、细胞分裂素、独脚金内酯)对植物的分枝和生长具有重要影响。前人在水稻、小麦以及拟南芥等植物分蘖性状的基因克隆和相关分子机理方面做了大量工作^[6-15],但在特色蔬菜红菜薹中尚未有相关的报道。本实验以茎基部多分枝的红菜薹与少分枝的菜心为亲本,探究两亲本间三种内源激素在亲本的不同生长时期不同部位的相对含量,研究表明两个亲本间主要是独脚金内酯含量差异较明显,结合两个亲本的形态差异分析,独脚金内酯在亲本菜心中含量先增后减,在红菜薹中持续减少,使得红菜薹最终表现多分枝,这与前人研究的独脚金内酯是抑制腋芽萌发的结论相符^[14-15],红菜薹的茎基部分枝很可能与独脚金内酯含量有直接关系。以后可以进一步探究与独脚金内酯相关的基因在菜薹中表达机制,进而探究其对菜薹茎基部分枝性状的影响,为提高红菜薹的产量提供帮助。

参考文献:

[1] 张艳,徐跃进,万正杰.红菜薹矿物质元素测定与营养评

- 价[J]. 食品科学, 2012, 33(10): 169-172.
- [2] 方向前, 闫伟平, 吕端春, 等. 吉林省湿润冷凉区玉米分蘖对产量及产量构成的影响[J]. 吉林农业科学, 2015, 40(1): 1-4.
- [3] 刘乐承, 晏儒来. 红菜薹产量构成因素的研究[J]. 湖北农业学院学报, 1998(1): 26-29.
- [4] 凌凤楼, 马景勇. 影响水稻分蘖有关栽培因素的研究[J]. 吉林农业科学, 1999, 24(3): 5-7.
- [5] Dun E A, Brewer P B, Beveridge C A. Strigolactones: discovery of the elusive shoot branching hormone[J]. Trends in Plant Science, 2009, 14(7): 364-372.
- [6] Ljung K, Bhalerao R P, Sandberg G. Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Aridopsis* during vegetative growth[J]. Plant Journal for Cell&Molecular Biology, 2001, 28(4): 465-474.
- [7] Stirnberg P, Van D S K, Leyser H M. MAX1 and MAX2 control shoot lateral branching in *Arabidopsis*[J]. Development, 2002, 129(5): 1131-1141.
- [8] Ongaro V, Leyser O. Hormonal control of shoot branching[J]. Journal of experimental botany, 2008, 59(78): 67-74.
- [9] Emery R J N, Longnecker N E, Atkins C A. Branch development in *Lupinus angustifolius* L. II. Relationship with endogenous ABA, IAA and cytokinins in axillary and main stem buds [J]. Journal of Experimental Botany, 1998, 49(320): 555-562.
- [10] 王镜淞, 杨文鹏, 柴友荣. 禾本科植物腋生分枝发生的分子与激素调控[J]. 天津农业科学, 2012, 18(3): 15-21.
- [11] Cook C E, Whichard L P, Turner B, et al. Germination of witchweed (*Striga lutea* Lour.): isolation and properties of a potent stimulant[J]. Science, 1967, 154(3753): 1189-1190.
- [12] Yokota T, Sakai H, Okuno K, et al. Alectrol and orobanchol, germination stimulants for *Orobanche minor*, from its host red clover[J]. Phytochemistry, 1998, 49: 1967-1973.
- [13] Matusova R, Rani K, Verstappen F W, et al. The strigolactone germination stimulants of the plant-parasitic striga and orobanche spp. are derived from the carotenoid pathway[J]. Plant Physiology, 2005, 139(2): 920-934.
- [14] Gomezoldan V, Fermas S, Brewer P B, et al. Strigolactone inhibition of shoot branching[J]. Nature, 2008, 455(7210): 189-194.
- [15] Umehara M, Hanada A, Yoshida S, et al. Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones[J]. Nature, 2008, 455(7210): 195-200.
- [16] Umehara M, Cao M, Akiyama K, et al. Structural Requirements of Strigolactones for Shoot Branching Inhibition in Rice and *Arabidopsis*[J]. Plant & Cell Physiology, 2015, 56(6): 1059-1072.
- [17] Borghi L, Liu G W, Emonet A, et al. The importance of strigolactone transport regulation for symbiotic signaling and shoot branching[J]. Planta, 2016, 243(6): 1351-1360.
- [18] 王光明, 刘保国, 陈 静. 内源激素 ABA 对水稻再生芽萌发的影响[J]. 西南大学学报(自然科学版), 1997(4): 338-342.
- [19] O' Neill D P, Ross J J. Auxin regulation of the gibberellin pathway in pea[J]. Plant Physiology, 2002, 130(4): 1974-1982.

(责任编辑: 刘洪霞)

(上接第 43 页)

- [4] 卢肖平. 马铃薯主粮化战略的意义、瓶颈与政策建议[J]. 华中农业大学学报(社会科学版), 2015(3): 1-7.
- [5] 韩忠才, 张胜利, 徐 飞, 等. 雾培马铃薯产量性状相关性分析[J]. 东北农业科学, 2018, 43(6): 36-39.
- [6] 屈冬玉, 谢开云, 金黎平, 等. 中国马铃薯产业发展与食品安全[J]. 中国农业科学, 2005, 38(2): 358-362.
- [7] Wustman R. Qualitative analysis of starch potato production on farms in Northeast Netherlands[J]. Potato Research, 2005, 48(3): 117-129.
- [8] Keijbets M J H. Potato processing for the consumer: developments and future challenges[J]. Potato Research, 2008, 51(3): 271-281.
- [9] 张明飞, 于 卓, 于肖夏, 等. 7 个马铃薯新品系的主要农艺性状与营养品质及其细胞学和 SSR 分析[J]. 西北植物学报, 2018, 38(4): 644-653.
- [10] 于 卓, 李景伟, 于肖夏, 等. 5 个马铃薯新品系染色体构型及遗传差异的 SSR 分析[J]. 种子, 2018, 37(9): 18-21, 27.
- [11] 张自强, 于肖夏, 鞠天华, 等. 3 个马铃薯杂种优良株系的核型及 SSR 分析[J]. 西北植物学报, 2014, 34(7): 1318-1324.
- [12] Zickler D, Kleckner N. The leptotene-zygotene transition of meiosis[J]. Annual Review of Genetics, 1998(32): 619-697.
- [13] 王士泉. 芍药属两物种染色体结构变异杂合性研究[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2006.
- [14] 甘 霖, 于肖夏, 鞠天华, 等. 马铃薯杂种 F₁ 无性株系的 ISSR 鉴定[J]. 植物研究, 2013, 33(2): 243-247.
- [15] 王 丹. 专用型马铃薯优良新品系研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016.
- [16] 房永雨, 于肖夏, 于 卓, 等. 低氢含量高丹草新品系主要农艺性状及染色体构型分析[J]. 草业学报, 2012, 21(2): 162-170.
- [17] 于 卓, 刘永伟, 赵晓杰, 等. 高粱 11A 与 3 种苏丹草杂种 F₁ 代的农艺性状及细胞遗传学研究[J]. 草业学报, 2006, 15(1): 90-96.
- [18] 王亚云. 牡丹杂交后代的形态学和 SSR 分子标记鉴定[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2012.
- [19] 薛文君, 宋 丽, 王爱东, 等. 水稻品种选育中常用的分子标记概述[J]. 东北农业科学, 2017, 42(2): 22-26.
- [20] 何金华, 程杏安, 陈志雄, 等. 同源四倍体水稻花粉母细胞减数分裂期间微管骨架组织和结构变化[J]. 作物学报, 2010, 36(10): 1777-1785.

(责任编辑: 王 昱)