

芸薹属作物异附加系的研究进展

董辉*, 轩淑欣*, 赵建军, 王彦华, 顾爱侠, 申书兴**

(河北农业大学园艺学院, 河北保定 071000)

摘要: 综述了芸薹属作物异附加系的培育概况、鉴定方法及应用前景, 分析讨论了存在的问题及今后的发展方向。

关键词: 芸薹属作物; 异附加系; 易位系; 染色体; 基因组

中图分类号: S 63

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2013) 09-1719-12

Research Progress of Alien Addition Lines in *Brassica* Crops

DONG Hui*, XUAN Shu-xin*, ZHAO Jian-jun, WANG Yan-hua, GU Ai-xia, and SHEN Shu-xing**

(College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000, China)

Abstract: The creation, identification and application prospect of alien addition lines in *Brassica* crops were reviewed in this paper. The problems existed at present and the perspectives applicated in future for alien addition lines were analyzed and discussed.

Key words: *Brassica* crops; alien addition lines; translocation lines; chromosome; genome

异附加系 (alien addition lines) 是指通过人工远缘杂交, 然后自交或回交, 使作物的染色体组附加了异种或异属的 1 条或几条染色体而形成的植物新系统。根据附加到宿主基因组的染色体不同可分为单体异附加系、双体异附加系、多重异附加系或端体附加系。种间或属间的异附加系是研究遗传和实现种间染色体片段转移的重要材料。目前已经创建了多种作物 (如小麦、燕麦、水稻、葱、马铃薯、黄瓜、甜菜等) 的附加系, 并被广泛用于转移有价值的基因、外源染色体或染色体臂的基因作图、外源染色体和背景染色体部分同源性以及外源染色体对表型贡献的分析等 (Barthes & Ricroch, 2001; Gao et al., 2001; Ji & Chetelat, 2003; Chen et al., 2004; Dong et al., 2005; Bilgic et al., 2007; Rines et al., 2009; Khush, 2010; Szakács & Molnár-Láng, 2010)。

芸薹属 (*Brassica*) 是十字花科最具有经济价值的属之一, 包含甘蓝 (*Brassica oleracea*, $2n = 2x = 18$, CC)、芸薹 (*Brassica campestris*, syn. *Brassica rapa*, $2n = 2x = 20$, AA)、黑芥 (*Brassica nigra*, $2n = 2x = 16$, BB) 3 个基本二倍体种和甘蓝型油菜 (*Brassica napus*, $2n = 4x = 38$, AACC)、埃塞俄比亚芥 (*Brassica carinata*, $2n = 4x = 32$, BBCC)、芥菜 (*Brassica juncea*, $2n = 4x = 36$, AABB) 3 个复合二倍体种。芸薹属作物遗传类型极其丰富、变异极其广泛, 具有丰富的基因资源, 为芸薹属植物的种间杂交或与近缘属间杂交, 培育创造作物新品种、新类型提供了丰富的物质基础和遗传

收稿日期: 2013-07-12; 修回日期: 2013-08-26

基金项目: 国家“863”计划项目 (2012AA100202); 国家自然科学基金项目 (31171964, 31171976); 国家教育部高校博士点基金项目 (20101302110001; 20121302110006); 河北省自然科学基金项目 (C2013204118)

* 对文章同等贡献者

** 通信作者 Author for correspondence (E-mail: shensx@hebau.edu.cn)

背景。近 30 年来,关于芸薹属物种异附加系的创建开展了大量工作,获得了一系列的单、双体异附加系。本文综述了芸薹属异附加系的培育、鉴定及应用方面所取得的进展,指出了该领域研究存在的问题和方向。

1 芸薹属异附加系的培育概况

在芸薹属物种异附加系选育方面, Frantes 和 Mackay (1979) 最早报道了白菜与甘蓝型油菜种间二体异附加系的产生。Sernyk 和 Stefansson (1982) 利用甘蓝型油菜与萝卜远缘杂交,并用甘蓝型油菜与杂种回交,在回交后代中获得了附加 1 条萝卜染色体的甘蓝型油菜单体异附加系,将控制白花的基因定位于附加的萝卜染色体上。Quiros 等 (1987) 以异附加系为材料研究了芸薹属植物的染色体组结构,为芸薹属异附加系的研究开辟了新的领域。此后,关于芸薹属异附加系的报道陆续出现。

表 1 列出了近 30 年来在芸薹属作物创建的主要异附加系及其亲本材料、选择标记和细胞遗传分析等。从中可以看出:

(1) 已构建 9 套完整的单体异附加系,其中 3 套芸薹 (AA) 附加甘蓝 (CC) 染色体、2 套甘蓝型油菜 (AACC) 附加黑芥 (BB) 染色体、2 套甘蓝型油菜 (AACC) 附加萝卜 (RR) 染色体、1 套芥蓝 (CC) 附加菜薹 (AA) 染色体、1 套萝卜 (RR) 附加甘蓝 (CC) 染色体。

(2) 创建的异附加系主要集中在 A、C 基因组 (芸薹、甘蓝、甘蓝型油菜), B 基因组 (黑芥、芥菜、埃塞俄比亚芥) 相对较少。表型性状作为简单直观的选择标记,应用于所有的异附加系研究,基因组原位杂交 (genome *in situ* hybridization, GISH) 技术主要用于属间异附加系的鉴定和染色体行为研究。

(3) 多数异附加系是以芸薹 (AA) 和甘蓝型油菜 (AACC) 为受体背景,其中以芸薹为受体背景的异附加系主要限于种间,而以甘蓝型油菜为受体背景的属间和种间均较多;甘蓝 (CC) 主要是作为染色体供体创建异附加系。

(4) 异附加系的研究集中在少数课题组,但供试材料各有侧重。其中瑞典农业科学大学植物育种研究所 (Chen et al., 1992; Jørgensen et al., 1996; Hasterok et al., 2005; Heneen et al., 2012) 创建的白菜—芥蓝异附加系研究历史最长,内容广泛,先后有丹麦、挪威、芬兰以及美国等多家单位人员参与。中国关于芸薹属异附加系的研究比较系统的为河北农业大学园艺学院蔬菜遗传育种系 (郑宝智 等, 2008; 顾爱侠 等, 2009a, 2009b; 陈雪平等, 2010; 任艳蕊 等, 2010; 吕文欣 等, 2011; Li et al., 2013), 先后培育出了整套大白菜—结球甘蓝单体异附加系、菜薹—芥蓝单体异附加系以及芥蓝—菜薹单体异附加系。

表 1 芸薹属异附加系创建概况

Table 1 The creation of alien addition lines in *Brassica* crops

受体种 Recipient species	供体种 Donor species	异附加系数* Number of alien addition lines	选择标记 Marker selection	细胞遗传学 Cytogenetics	代表性文献 Represent references
印度油用白菜 <i>Brassica campestris</i> L. var. <i>yellow sarson</i> Prain	芥蓝 <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>alboglabra</i> Bailey	9	表型 Phenotype, 同功酶 Isozymes, RAPD, RFLP, SSR	核型分析 Karyotype analysis, FISH, GISH	Chen et al., 1992; Jørgensen et al., 1996; Hasterok et al., 2005; Heneen et al., 2012
大白菜 <i>Brassica campestris</i> L. ssp. <i>pekinensis</i> (Lour) Olsson	结球甘蓝 <i>Brassica oleracea</i> L.var. <i>capitata</i>	9 (7)	表型 Phenotype, SSR, InDel	核型分析 Karyotype analysis, FISH	郑宝智 等, 2008; 顾爱侠 等, 2009a, 2009b; 吕文欣 等, 2011

续表1

受体种 Recipient species	供体种 Donor species	异附加系数* Number of alien addition lines	选择标记 Marker selection	细胞遗传学 Cytogenetics	代表性文献 Represent references
菜薹 <i>Brassica campestris</i> L. var. <i>utilis</i> Tsen et Lee	芥蓝 <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>alboglabra</i> Bailey	9 (4)	表型 Phenotype, SSR	核型分析 Karyotype analysis, 减数分裂 Meiosis	王新娥, 2008; 陈雪平等, 2010
菜薹 <i>Brassica campestris</i> L. ssp. <i>parachinensis</i>	甘蓝 <i>Brassica oleracea</i> L.	7~8	表型 Phenotype, 同工酶 Isozymes, rDNA, RFLP	减数分裂 Meiosis	Quiros et al., 1987; McGrath et al., 1990; Hu & Quiros, 1991
芥蓝 <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>alboglabra</i> Bailey	菜薹 <i>Brassica campestris</i> L. var. <i>utilis</i> Tsen et Lee	10 (5)	表型 Phenotype, SSR	核型分析 Karyotype analysis, 减数分裂 Meiosis	任艳蕊等, 2010; Li et al., 2013; Zhang et al., 2013
萝卜 <i>Raphanus sativus</i> L.	羽衣甘蓝 <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>acephala</i>	9	表型 Phenotype, 早抽薹性 Early-bolting trait, RAPD	减数分裂 Meiosis	Kaneko et al., 1987, 2000
	白菜 <i>Brassica campestris</i> ssp. <i>chinensis</i> (L.) Makino	8			Kaneko et al., 2001, 2003
甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i> L. strain 'N350'	萝卜 <i>Raphanus sativus</i> L. 'Shogoin'	9 (9)	表型 Phenotype, RAPD	GISH	Akaba et al., 2009a, 2009b
甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i> L.	萝卜 <i>Raphanus sativus</i> L.	9	RAPD	FISH	Peterka et al., 2004; Budahn et al., 2008
甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i> L.	黑芥 <i>Brassica nigra</i> 埃塞俄比亚芥 <i>Brassica carinata</i> L.	8 (6) 8	表型 Phenotype, 同工酶 Isozymes, RAPD, RFLP	核型分析 Karyotype analysis, 减数分裂 Meiosis	Jahier et al., 1989 Zhu et al., 1993
	芥菜 <i>Brassica juncea</i> L.	7			Struss et al., 1991, 1996; Chèvre et al., 1997
甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i> L.	白芥 <i>Sinapsis alba</i> L.	-	黑胫病抗性 Resistance to <i>Lepto-sphaeria maculans</i>	GISH	Wang et al., 2005a, 2005b
甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i> L.	海甘蓝 <i>Crambe abyssinica</i> Hochst. ex RE Fr.	2 (2)	表型 Phenotype	GISH	Wang et al., 2006
芥蓝 <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>alboglabra</i> Bailey	白芥 <i>Sinapsis alba</i> L.	1	表型 Phenotype	GISH, FISH	Wei et al., 2006
甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i> L.	野芥 <i>Sinapsis arvensis</i> L.	(1)	育性 Fertility, 抗性 Resistance		Wei et al., 2008
甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i> L.	诸葛菜 <i>Orychophragmus violaceus</i> (L.) O. E. Schulz	-	表型 Phenotype, 育性 Fertility	GISH	Zhao et al., 2008
白菜 <i>Brassica rapa</i> L.	板蓝根 <i>Isatis indigotica</i> L.	-	表型 Phenotype, 脂肪酸组成 Fatty acid composition, AFLP	GISH	Tu et al., 2009

* 括号外的数字表示单体异附加系数数量, 括号内的数字表示二体异附加系数数量, “-”表示信息不详。

* Figures outside the parentheses show the number of monosomic alien addition lines, figures inside the parentheses show the number of disomic addition lines “-” show that the information is unclear.

2 芸薹属异附加系的创建

2.1 常规法

芸薹属异附加系的创建, 大部分采用常规杂交法。如白菜—芥蓝异附加系 (Chen et al., 1992, 1997; Heneen & Jørgensen, 2001) 和菜薹—甘蓝异附加系 (Quiros et al., 1987; McGrath & Quiros, 1990) 的选育, 首先人工杂交获得双二倍体甘蓝型油菜 (AACC), 然后再与受体亲本 (CC) 回交多次, 从回交后代中鉴定出部分单体、双单体或多重异附加系。在大白菜—结球甘蓝异附加系 (刘

炜等, 2008; 郑宝智等, 2008; 孟雅宁等, 2010)、菜薹—芥蓝异附加系(王新娥, 2008; 陈雪平等, 2010)和芥蓝—菜薹异附加系(任艳蕊等, 2010; Zhang et al., 2013)的选育中, 则是先将二倍体受体亲本加倍成同源四倍体, 然后与供体亲本杂交并结合幼胚挽救技术产生倍半二倍体(AAC或CCA), 省去了双二倍体合成步骤, 倍半二倍体再与受体亲本回交多次, 从回交后代中鉴定出异附加系。Jahier等(1989)通过甘蓝型油菜和黑芥杂交获得了甘蓝型油菜—黑芥二体异附加系。Hua和Li(2006)用甘蓝型油菜与诸葛菜杂交再回交, 获得了附加几条诸葛菜染色体的甘蓝型油菜异附加系材料。

2.2 桥梁亲本法

桥梁亲本法是在供体与受体杂交亲和性差, 不能获得杂交种时, 选用与受体近缘植物易杂交成功的材料作为桥梁亲本与供体杂交, 得到杂种 F_1 , 用秋水仙碱加倍处理, 然后再与受体亲本回交多次, 在回交后代中选择单体异附加系。Akaba等(2009a, 2009b)先利用白菜和甘蓝作为桥梁亲本分别与萝卜杂交合成萝卜—白菜和萝卜—甘蓝异源四倍体(RRAA和RRCC), 然后分别与甘蓝型油菜(AACC)杂交并加倍获得2个异源八倍体 F_1 (RRAAAACC和AACCRRC), 再与甘蓝型油菜回交, 在 BC_2 、 BC_3 和 BC_4 代中获得了不同细胞质类型的甘蓝型油菜—萝卜异附加系。

2.3 双重单体或多重单体附加法

在常规法创建芸薹属异附加系过程中, 常常结合了双重单体或多重单体附加法。即利用附加双单体或多重单体自交产生二体异附加系, 克服附加单体异附加系自交产生二体频率低的弊端(Lukaszewski, 1988)。吕文欣等(2011)从大白菜附加结球甘蓝1号和6号染色体的双单体异附加系中鉴定出大白菜—结球甘蓝1号双体异附加系。

2.4 单倍体法

利用杂种 F_1 或倍半二倍体通过花药培养或子房培养获得 $n+1$ 单倍体, 经加倍可以快速获得二体异附加系, 这也是克服单体异附加系自交结实性低, 获得二体异附加系难的有效方法。张永泰等(2006)和Wang等(2006)分别通过对甘蓝型油菜和白芥(*Sinapsis alba*)以及海甘蓝(*Crambe abyssinica*)属间的杂种后代进行小孢子培养, 结合秋水仙素加倍处理, 获得了甘蓝型油菜—白芥和甘蓝型油菜—海甘蓝双体异附加系。

2.5 原生质体融合法

植物原生质体技术的发展, 为不能直接进行有性杂交的2个种实现体细胞杂交提供了可能。Sakai和Imamura(2003)利用非对称性原生质体融合将萝卜*Kasenacms*基因转移进了甘蓝型油菜。Wang等(2005a)在甘蓝型油菜和海甘蓝的非对称体细胞杂种的 BC_2 代获得了甘蓝型油菜—海甘蓝单体附加系。王桂香等(2011)通过对花椰菜(*Brassica oleracea* var. *botrytis*)和黑芥的非对称体细胞杂种进行连续的自交、回交, 结合对黑腐病抗性选择, 获得了3个形态偏花椰菜且高抗黑腐病的花椰菜—黑芥多体异附加系材料。

3 芸薹属异附加系的鉴定

3.1 形态学鉴定

外源基因的表达能够使异附加系表现出区别于整倍体的外部形态特征。Kaneko等(1987, 2000,

2003) 在选育萝卜—芥蓝和萝卜—白菜单体异附加系时先通过小粒种子初步确定 $2n+1$ 植株, 然后再根据具体的表型确定附加的染色体, 如附加芥蓝 e 染色体的子叶下胚轴均为紫色等。任艳蕊等 (2010) 在选育芥蓝 (CC) 附加菜薹 (AA) 染色体的异附加系时也发现 $2n+1$ 植株的花瓣具有特殊的表型。Heneen 等 (2012) 对白菜—芥蓝单体异附加系及其亲本的籽粒颜色、子叶数和子叶大小、茎色、花色、角果大小等表型进行了记录, 鉴定了不同单体异附加系的形态识别特征。如 1 号单体异附加系有 3 片子叶, 籽粒黑棕色; 5 号单体叶片褶皱等。

3.2 细胞学鉴定

在芸薹属附加系选育中, 核型被较多地用于外源染色体的识别和鉴定。如大白菜—结球甘蓝、菜薹—芥蓝以及芥蓝—菜薹整套异附加系的鉴定主要是根据附加染色体的相对长度、随体有无、着丝粒位置等定义了不同的染色体 (刘炜 等, 2008; 孟雅宁 等, 2010; 陈雪平等, 2010; 任艳蕊 等, 2010; Li et al., 2013)。一般情况下, 对于染色体小、形态相近的染色体往往要借助于分带技术进行鉴定。Olin-Fatih (1994) 采用中期的染色体分带技术鉴定 A、C 基因组, 发现异染色质几乎布满了染色体两侧区域, 得到的染色体标记极少, 不能完全区分 A、C 基因组染色体。但 Heneen 等 (1995) 根据 A、C 基因组异染色质在基因组分布不同从而表现出不同浓缩模式的特点, 在一定程度上可以进行 A、C 基因组染色体的识别。Heneen 和 Jørgensen (2001) 根据白菜和甘蓝有丝分裂中期染色体异染色质的浓缩模式以及减数分裂终变期同源染色体配对模式, 对白菜—芥蓝非整倍体植株进行了鉴定, 获得了白菜附加芥蓝不同染色体的单体异附加系。

3.3 同工酶鉴定

在早期异附加系的鉴定中, 同工酶标记被广泛采用。Quiros 等 (1987) 和 McGrath 等 (1990) 利用基因组特异性的同工酶对白菜—甘蓝单体异附加系进行分析, 获得了部分单体异附加系的特异标记。Hu 和 Quiros (1991) 利用同工酶标记和 DNA 标记等追踪了白菜—甘蓝单体异附加系子代中外源染色体的缺失情况。Heneen 等 (1995) 鉴定出了芥蓝相对于白菜基因组特异性的同工酶谱, 用于鉴定白菜—芥蓝异附加系。

3.4 原位杂交鉴定

Hasterok 等 (2005) 采用荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 技术, 以 5S rDNA、25S rDNA 为探针, 鉴定出了 5、8、9 号白菜—芥蓝单体异附加系。但对于没有杂交位点的染色体, 难以判断异附加系中外源染色体的真正“身份”。Wei 等 (2006) 利用 GISH 技术鉴定出甘蓝—白芥单体异附加系中的 18 条染色体来自于甘蓝, 附加的 1 条来自白芥。Wang 等 (2006) 利用 GISH 技术分析了甘蓝型油菜—海甘蓝单体和双体异附加系中的外源染色体。由于芸薹属 A、C 基因组间具有较近的亲缘关系, 染色体具有部分同源性, GISH 在供体和受体的染色体上都会产生杂交信号, 不能完全区分双亲染色体, 此外 GISH 也不能判断导入的是哪条染色体或片段, 因此其应用也具有一定的局限性。

3.5 分子鉴定

在芸薹属 A、C 异附加系鉴定中, RFLP (restriction fragment length polymorphism) 和 RAPD (random amplified polymorphism DNA) 标记较早地被采用。McGrath 等 (1990) 使用一系列的 RFLP 标记分析了白菜—甘蓝异附加系的 C 染色体。Hu 和 Quiros (1991) 利用 RFLP 标记追踪了两个异附加系的外源染色体在子代中的传递情况。Chen 等 (1997) 使用 RAPD 标记结合减数分裂染色体形态鉴定了 4 个白菜—芥蓝染色体异附加系。

近年来, SSR (simple sequence repeat) 标记被较多的用于异附加系鉴定。如 Sanl 等 (2001) 使用 SSR 标记鉴定了芸薹属 A、C 基因组的杂交种、非整倍体、易位系和代换系。李倩等 (2008) 利用筛选的 SSR 标记, 对甘蓝型油菜—萝卜 d 染色体附加系进行了成功鉴定。顾爱侠等 (2009a, 2009b) 利用大白菜和结球甘蓝间的多态性 SSR 标记鉴定了大白菜—结球甘蓝的部分单体和双体异附加系。Geleta 等 (2012) 使用白菜—芥蓝异附加系将 64 个 SSR 标记排列到 C 基因组的 9 个连锁群上, 建立了连锁群与染色体的对应关系。但是由于芸薹属 A 基因组和 C 基因组亲缘关系极近, 使得 SSR 标记在 A、C 基因组间的多态性较低, 仅有 30.0% 左右 (顾爱侠, 2008)。

最近大白菜全基因组序列的公布 (Wang et al., 2011) 和甘蓝基因组序列的完成 (<http://brassicadb.org/brad/>) 为大量开发 A、C 基因组特异的 InDel (insertion-deletion) 标记提供了可能, 将在其异附加系及衍生后代的鉴定中发挥作用。

4 芸薹属异附加系的细胞学特征

减数分裂过程中同源染色体间发生配对、交换、遗传重组, 使配子的遗传多样化, 增加了后代的适应性。因此异附加系用于植物遗传改良的潜在在很大程度上依赖于亲本种间的遗传距离, 并且取决于外源染色体和受体部分同源染色体的配对与重组能力。

远缘亲本种间杂交形成的异源单体异附加系在减数分裂前期 I, 外源染色体通常不能联会, 后期容易落后丢失, 也可能导致着丝粒断裂, 在后代中产生单端体和双端体附加系 (Yasui & Iwata, 1998); 或发生断裂和错接, 造成附加外源染色体的 2 个臂分别是来自供体种和受体种 (Tan et al., 2005)。由于芸薹属种间有性杂交中父母本亲缘关系较近, 它们之间经常发生部分同源染色体间的配对和重组, 甚至在首轮回交后代中就会有重组的染色体出现 (Struss et al., 1996)。在减数分裂中, 外源染色体与受体种染色体联合构成部分三价体或二价体, 但部分三价体构成比例较部分二价体高得多 (Chen et al., 1997; 刘炜 等, 2008)。

不同异附加系的研究表明, 外源染色体通过雌、雄配子的传递率是不同的, 通常外源染色体通过雌配子的传递率比通过雄配子的传递率高得多。如任艳蕊等 (2010) 在选育芥蓝—菜薹 (CC + A) 异附加系时发现, 单体异附加系 CC + A₉ 的 n + 1 雌、雄配传递率分别为 18.75% 和 9.82%。Budahn 等 (2008) 在创建甘蓝型油菜—萝卜二体异附加系时也发现萝卜不同染色体通过雌配子的平均传递率要高于通过雄配子的传递率, 分别为 37.0% 和 27.0%。此外, 在相同遗传背景下每个不同异附加系的传递率也不同。刘炜等 (2008) 发现在大白菜—结球甘蓝单体异附加系中 7 号染色体的传递率是 35.3%, 而 9 号染色体的传递率为 20.0%。

普遍认为, 附加 1 对外源染色体的二体附加系相对更稳定一些。Littlejohn 和 Pienaar (1995) 研究证明, 小麦—二列类麦 ($2n = 4x = 28$) 个别二体异附加系的稳定性可达到 100%。吕文欣等 (2011) 对大白菜—结球甘蓝 1 号染色体二体异附加系研究表明, 中期 I 有 90.1% 的细胞以 11 个二价体的联会形式存在, 且后期 II 有 83.5% 的细胞染色体能以 11-11-11-11 的方式分离, 但结籽率较低, 仅为 15.89%。

5 芸薹属异附加系的应用

5.1 诱导外源基因转移、拓宽遗传背景

目前在芸薹属主要是以甘蓝型油菜为受体材料通过异附加系的培育转移进了大量有价值的外

源基因。Voss 等 (2000) 和 Peterka 等 (2004) 利用萝卜与甘蓝型油菜进行杂交, 合成了甘蓝型油菜—萝卜单体附加系, 将萝卜的抗线虫基因转移进甘蓝型油菜。Akaba 等 (2009a) 通过创建甘蓝型油菜—萝卜异附加系将萝卜的抗根肿病基因转移进甘蓝型油菜。Snowdon 等 (2000) 和 Chèvre 等 (1997) 分别培育了甘蓝型油菜—白芥和甘蓝型油菜—黑芥异附加系, 将白芥和黑芥的抗黑胫病基因分别转移进不同的甘蓝型油菜中。最近, 河北农业大学蔬菜遗传育种课题组鉴定出一个附加结球甘蓝 4 号染色体的耐抽薹性极强的大白菜—结球甘蓝异附加系, 围绕该附加系的一系列研究正在开展中。

5.2 创建异代换系或易位系

由于异附加系不稳定, 在生产上很难被利用。但在具有部分同源关系的染色体之间, 经常发生染色体异代换, 形成在细胞学和遗传学上都比相应异附加系稳定的异代换系。Banga (1988) 通过来自甘蓝型油菜的 C 基因组的部分同源性在芥菜中成功代换了一个 B 基因组染色体, 使芥菜的棕榈酸含量和抽薹性发生重大变异。此外, 异附加系中外源染色体的存在容易诱导染色体重排, 产生不同程度的染色体片段易位 (Shi & Endo, 2000), 通过人为干预, 如组织培养、化学诱变、辐射诱变等可获得更加丰富且稳定的异源种间易位系。商少川等 (2012) 以大白菜—结球甘蓝 1 号单体异附加系为材料, 采用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 对其进行花粉辐射, 在其回交后代中鉴定出携带有甘蓝优良性状的异源易位系。

5.3 定位重要性状基因

异附加系中的外源染色体所携带的基因会引起受体亲本农艺性状的改变, 因此异附加系是进行基因染色体定位研究的有效材料。Chèvre 等 (1997) 利用甘蓝型油菜—黑芥异附加系将来自黑芥的抗黑胫病基因定位于染色体 B₄ 上。Chen 等 (1992, 1997)、Cheng 等 (1994, 1995)、Heneen 等 (2012) 均通过分析白菜—芥蓝单体异附加系, 将控制芥酸生物合成、白花花色和亮氨酸氨肽酶相关基因 3 个位点定位于甘蓝 C₄ 染色体上, 将控制种皮颜色的 2 个主效基因分别定位于 C₁ 和 C₄ 染色体上。Hosaka 等 (1990) 利用白菜—甘蓝异附加系, 将来自甘蓝型油菜和甘蓝基因组 DNA 文库的 10 个基因组特异探针定位于甘蓝的 6 条染色体上。利用甘蓝型油菜—萝卜单体异附加系, Peterka 等 (2004) 将甜菜抗孢囊线虫基因定位于萝卜 d 染色体上, Akaba 等 (2009a) 推测一个主要的抗根肿病基因可能位于萝卜 C 染色体上。

5.4 构建分子遗传图谱

利用异附加系进行遗传图谱构建是阐明物种间染色体结构的一种有效方法, 而且不需要分离群体和传统的连锁分析 (Okagaki et al., 2001; Geleta et al., 2012)。如 Moussa (2004) 利用甘蓝型油菜—萝卜附加系 F₂ 代群体构建了 9 个连锁群的萝卜分子遗传图谱。尽管获得缺失、重复等结构异常外源染色体的附加系是很少的, 但可以利用这些附加系把 DNA 标记定位在外源染色体的长臂、短臂或者嵌合染色体亚臂端的区域 (Chen et al., 2002)。Geleta 等 (2012) 使用 SSR 标记鉴定出一个携带短臂小片段缺失的 C 基因组染色体的白菜—芥蓝单体异附加系, 分析表明控制芥蓝白花的基因定位在该缺失区段。

5.5 研究外源染色体的配对、重组

在植物杂种中, 人们对外源染色体与受体亲本染色体的配对机制、细胞分裂时的染色体走向、染色体结构等了解还有明显不足, 而异附加系为这方面的研究提供了宝贵材料。Attia 和 Robbelen (1986) 在研究不同双单倍体杂种染色体配对和交叉频率中发现, A/C 基因组染色体之间配对情况

远高于 A/B 和 B/C 染色体之间的配对,证明 A 和 C 基因组之间具有一定的亲源关系。基于白菜和芥蓝的染色质浓缩模式,能够精确识别白菜—芥蓝异附加系终变期的单价体是外源染色体还是背景染色体,检测二价体或多价体的部分同源配对。Cheng 等(1995)研究表明,白菜—芥蓝单体异附加系中附加的芥蓝染色体的配对构型以形成单价体为主,但在二体异附加系中外源染色体通常形成二价体或与白菜染色体形成四价体以及较少比率的三价体。此外,芥蓝 4 号染色体通常以短臂或长臂与白菜随体染色体配对,而在白菜—芥蓝单体异附加系减数分裂中,外源芥蓝染色体干扰了白菜同源染色体的正常配对,出现了未配对的白菜染色体,同时以单价体形式存在的外源染色体在减数分裂后期出现提前分裂、断裂和落后等不规则现象,这为白菜和芥蓝染色体间产生易位提供了条件(Heneen & Jørgensen, 2001)。

6 问题与展望

尽管目前在芸薹属异附加系的培育方面做了大量报道,但得到全套异附加系的受体物种主要是甘蓝型油菜和白菜,异源物种主要是甘蓝和黑芥栽培种。白菜与其他异源物种的异附加系和以甘蓝或黑芥为受体背景的异附加系培育鲜有报道,其主要原因可能是种间存在生殖障碍。甘蓝型油菜与其他属物种的异附加系报道较多但均未成套,多数为只注重选取某一目标性状的异附加系,或只在杂种后代中随机筛选异附加系,而大多数异源物种并未开展以选育成套异附加系为目标的工作。以上问题对芸薹属近缘物种有益基因库的利用以及种质遗传背景的扩展极为不利。

随着生物技术的发展,异附加系的分离和鉴定已不是选育异附加系的主要障碍,如何克服种间生殖障碍,培育白菜与其他异源物种的异附加系以及以甘蓝和黑芥为受体背景的异附加系,将是遗传育种工作者仍需长期努力的方向;其次,遗传育种工作者应在进行芸薹属物种和某个异源物种远缘杂交工作初期就确立选育成套异附加系的目标。

总体看来,基于芸薹属异附加系目前的培育现状,其未来研究可能主要集中在以下几个方面:利用异附加系导入近缘或野生种的抗病(如抗黑胫病、抗根肿病等)、抗逆(如耐低温或高温、耐弱光等)、营养品质(如高油含量、高硫代葡萄糖苷含量等)等基因资源,创建新型种质材料;利用异附加系创建易位系,为育种实践服务;在创建易位系的基础上,研究受体—供体基因组间的互作及外源染色体片段的功能,提升理论研究水平;利用创建的异附加系或易位系,发掘外源优异基因,在受体基因型背景下研究外源优异基因的表达模式。

References

- Akaba M, Kaneko Y, Hatakeyama K, Ishida M, Bang S W, Matsuzawa Y. 2009a. Identification and evaluation of clubroot resistance of radish chromosome using a *Brassica napus*–*Raphanus sativus* monosomic addition line. *Breeding Science*, 59: 203 – 206.
- Akaba M, Kaneko Y, Ito Y, Nakata Y, Bang S W, Matsuzawa Y. 2009b. Production and characterization of *Brassica napus*–*Raphanus sativus* monosomic addition lines mediated by the synthetic amphidiploid “*Raphanobrassica*”. *Breeding Science*, 59: 109 – 118.
- Attia T, Robbelen G. 1986. Cytogenetic relationship within cultivated *Brassica* analyse in amphidiploids from the three diploid ancestors. *Can J Genet Cytol*, 28: 323 – 329.
- Banga S S. 1988. C-genome chromosome substitution lines in *Brassica juncea* (L.) . *Coss. Genetica*, 77: 81 – 84.
- Barthes L, Ricroch A. 2001. Interspecific chromosomal arrangements in monosomic addition lines of *Allium*. *Genome*, 44: 929 – 935.
- Bilgic H, Cho S, Garvin D F, Muehlbauer G J. 2007. Mapping barley genes to chromosome arms by transcript profiling of wheat–barley ditelosomic chromosome addition lines. *Genome*, 50: 898 – 906.
- Budahn H, Schrader O, Peterka H. 2008. Development of a complete set of disomic rape radish chromosome addition lines. *Euphytica*, 162: 117 – 128.

- Chen B Y, Cheng B F, Jørgensen R B, Heneen W K. 1997. Production and cytogenetics of *Brassica campestris*-*alboglabra* chromosome addition lines. *Theor Appl Genet*, 94: 633 - 640.
- Chen B Y, Simonsson V, Lannér-Harrera C, Heneen W K. 1992. A *Brassica campestris*-*alboglabra* addition line and its use for gene mapping, intergenomic gene transfer and generation of trisomics. *Theor Appl Genet*, 84: 592 - 599.
- Chen C C, Chen S K, Liu M C, Kao Y Y. 2002. Mapping of DNA markers to arms and subarm regions of *Nicotiana sylvestris* chromosomes using aberrant alien addition lines. *Theor Appl Genet*, 105: 8 - 15.
- Chen J F, Luo X D, Qian C T, Molly M J, Staub J E, Zhuang F Y, Lou Q F, Ren G. 2004. *Cucumis* monosomic alien addition lines: morphological, cytological, and genotypic analyses. *Theor Appl Genet*, 108: 1343 - 1348.
- Chen Xue-ping, Shen Er-qiao, Zhang Cheng-he, Li Xiao-feng, Xuan Shu-xin, Shen Shu-xing. 2010. Transmission of n+1 gametes and obtaining of two bisomic addition lines of flowering Chinese cabbage-Chinese kale. *Scientia Agricultura Sinica*, 43 (23): 4871 - 4876. (in Chinese)
陈雪平, 申二巧, 张成合, 李晓峰, 轩淑欣, 申书兴. 2010. 菜薹-芥蓝单体异附加系n+1 配子传递及两个二体异附加系的获得. *中国农业科学*, 43 (23): 4871 - 4876.
- Cheng B F, Heneen W K, Chen B Y. 1994. Meiotic studies on a *Brassica campestris*-*alboglabra* monosomic addition line and derived *B. campestris* primary trisomics. *Genome*, 37: 584 - 589.
- Cheng B F, Heneen W K, Chen B Y. 1995. Mitotic karyotypes of *Brassica campestris* and *Brassica alboglabra* and identification of the *B. alboglabra* chromosome in an addition line. *Genome*, 38: 313 - 319.
- Chèvre A M, Barret P, Eber F, Dupuy P, Brun H, Tanguy X, Renard. 1997. Selection of stable *Brassica napus*-*B. juncea* recombinant lines resistant to blackleg (*Leptosphaeria maculans*). I. Identification of molecular markers, chromosomal and genomic origin of the introgression. *Theor Appl Genet*, 95: 1104 - 1111.
- Dong F, Tek A L, Frasca A B, McGrath J M, Wielgus S M, Helgeson J P, Jiang J. 2005. Development and characterization of potato-*Solanum brevidens* chromosomal addition/substitution lines. *Cytogenet Genome Res*, 109: 368 - 372.
- Frantes J A, Mackay G R. 1979. The production of disomic addition lines of *Brassica campestris*. *Crucifer News*, 14: 36 - 37.
- Gao D, Guo D, Jung C. 2001. Monosomic addition lines of *Beta corolliflora* Zoss in sugar beet: Cytological and molecular-marker analysis. *Theor Appl Genet*, 103: 240 - 247.
- Geleta M, Heneen W K, Stoute A I, Muttucumaru N, Scott R J, King G J, Kurup S, Bryngelsson T. 2012. Assigning *Brassica* microsatellite markers to the nine C-genome chromosomes using *Brassica rapa* var. *trilocularis*-*B. oleracea* var. *alboglabra* monosomic alien addition lines. *Theor Appl Genet*, 125: 455 - 466.
- Gu Ai-xia. 2008. Creation and identification of Chinese cabbage-cabbage alien addition lines [Ph. D. Dissertation]. Baoding: Agricultural University of Hebei. (in Chinese)
顾爱侠. 2008. 大白菜-结球甘蓝异附加系的获得与鉴定 [博士论文]. 保定: 河北农业大学.
- Gu Ai-xia, Wang Juan, Chen Xue-ping, Luo Shuang-xia, Wang Yan-hua, Shen Shu-xing. 2009a. Identification of Chinese cabbage-cabbage double alien monosomic addition line by SSR and studies on its characters. *Scientia Agricultura Sinica*, 42 (5): 1698 - 1704. (in Chinese)
顾爱侠, 王娟, 陈雪平, 罗双霞, 王彦华, 申书兴. 2009a. 大白菜-结球甘蓝双单体异源附加系的SSR鉴定及其特性. *中国农业科学*, 2009, 42 (5): 1698 - 1704.
- Gu Ai-xia, Zheng Bao-zhi, Wang Yan-hua, Xuan Shu-xin, Luo Shuang-xia, Shen Shu-xing. 2009b. Obtaining and studies of Chinese cabbage monosomic alien addition line with chromosome 3 of cabbage. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (1): 39 - 44. (in Chinese)
顾爱侠, 郑宝智, 王彦华, 轩淑欣, 罗双霞, 申书兴. 2009b. 附加甘蓝3号染色体的大白菜单体异附加系的获得与研究. *园艺学报*, 36 (1): 39 - 44.
- Hasterok R, Wolny E, Kulak S, Zdziechiewicz A, Maluszynska J, Heneen W K. 2005. Molecular cytogenetic analysis of *Brassica rapa*-*Brassica oleracea* var. *alboglabra* monosomic addition lines. *Theor Appl Genet*, 111: 196 - 205.
- Heneen W K, Chen B Y, Cheng B F, Jonsson A, Simonsen V, Jørgensen R B, Davik J. 1995. Characterization of the A and C genomes of *Brassica campestris* and *B. alboglabra*. *Hereditas*, 123: 251 - 267.
- Heneen W K, Geleta M, Brismar K, Xiong Z Y, Pires C, Hasterok R, Stoute A I, Scott R J, King G J, Kurup S. 2012. Seed colour loci, homoeology and linkage groups of the C genome chromosomes revealed in *Brassica rapa*-*B. oleracea* monosomic alien addition lines. *Annals of Botany*,

- 109: 1227 - 1242.
- Heneen W K, Jørgensen R B. 2001. Cytology, RAPD, and seed colour of progeny plants from *Brassica rapa*-*alboglabra* aneuploids and development of monosomic addition lines. *Genome*, 44: 1007 - 1021.
- Hosaka K, Kianian S F, Mcgrath J M, Quiros F. 1990. Development and chromosomal localization of genome-specific DNA markers of *Brassica* and evolution of amphidiploids and $n=9$ diploid species. *Genome*, 33: 131 - 143.
- Hua Y W, Li Z Y. 2006. Genomic *in situ* hybridization analysis of *Brassica napus* × *Orychophragmus violaceus* hybrids and production of *B. napus* aneuploids. *Plant Breed*, 125: 144 - 149.
- Hu J, Quiros C F. 1991. Molecular and cytological evidence of deletions in alien chromosomes for two monosomic addition lines of *Brassica campestris*-*oleracea*. *Theor Appl Genet*, 81: 221 - 226.
- Jahier J, Chèvre A M, Tanguy A M, Eber F. 1989. Extraction of disomic addition lines of *Brassica napus*-*B. nigra*. *Genome*, 32 (3): 408 - 413.
- Ji Y, Chetelat R T. 2003. Homoeologous pairing and recombination in *Solanum lycopersicoides* monosomic addition and substitution lines in tomato. *Theor Appl Genet*, 106: 979 - 989.
- Jørgensen R B, Chen B Y, Cheng B F, Heneen W K, Simonsen V. 1996. Random amplified polymorphic DNA markers of the *Brassica alboglabra* chromosome of a *B. campestris*-*alboglabra* addition line. *Chromosome Research*, 4: 111 - 114.
- Kaneko Y, Bang S W, Matsuzawa Y. 2000. Early-bolting trait and RAPD markers in the specific monosomic addition line of radish carrying the e-chromosome of *Brassica oleracea*. *Plant breed*, 119: 137 - 140.
- Kaneko Y, Matsuzawa Y, Sarashima M. 1987. Breeding of the chromosome addition lines of radish with single kale chromosome. *Jpn J Breed*, 37: 438 - 452.
- Kaneko Y, Yano H, Bang S W, Matsuzawa Y. 2001. Production and characterization of *Raphanus sativus*-*Brassica rapa* monosomic chromosome addition lines. *Plant Breed*, 120: 163 - 168.
- Kaneko Y, Yano H, Bang S W, Matsuzawa Y. 2003. Genetic stability and maintenance of *Raphanus sativus* lines with an added *Brassica rapa* chromosome. *Plant Breed*, 122: 239 - 243.
- Khush G S. 2010. Trisomics and alien addition lines in rice. *Breeding Science*, 60: 469 - 474.
- Li Qian, Ding Yun-hua, Li Cheng-qiong, Jian Yuan-cai, Li Li. 2008. Production and identification of F_1 s between *rape*-*radish* with chromosome-D addition lines and *Brassica oleracea*. *Journal of Southwest University: Natural Science*, 30 (8): 29 - 30. (in Chinese)
- 李 倩, 丁云花, 李成琼, 简元才, 李 丽. 2008. 甘蓝与甘蓝型油菜—萝卜 d 染色体附加系杂交 F_1 代的获得与鉴定. *西南大学学报: 自然科学版*, 30 (8): 29 - 30.
- Li X F, Xuan S X, Wang J L, Zhang S L, Wang Y H, Zhang C H, Shen S X, Shen E Q. 2013. Generation and identification of *Brassica alboglabra*-*B. campestris* monosomic alien addition lines. *Genome*, 56 (3): 171 - 177.
- Littlejohn G M, Pienaar R de V. 1995. *Thinopyrum distichum* addition lines: production, morphological and cytological characterization of disomic addition lines and stable addition substitution line. *Theor Appl Genet*, 90: 33 - 42.
- Liu Wei, Shen Shu-xing, Wang Yan-hua, Zhang Cheng-he, Xuan Shu-xin, Chen Xue-ping, Li Xiao-feng, Luo Shuang-xia. 2008. A Study on obtainment and identification of Chinese cabbage-cabbage addition lines. *Acta Horticulturae Sinica*, 35(2): 207 - 212. (in Chinese)
- 刘 炜, 申书兴, 王彦华, 张成合, 轩淑欣, 陈雪平, 李晓峰, 罗双霞. 2008. 大白菜—甘蓝异附加系的获得与鉴定. *园艺学报*, 35 (2): 207 - 212.
- Lukaszewski A J. 1988. A comparison of several approaches in the development of disomic alien addition lines of wheat. *Proceedings of the 7th International Wheat Genetics Symposium*, 363 - 368.
- Lü Wen-xin, Wang Yan-hua, Zhao Jian-jun, Gu Ai-xia, Li Yan-xia, Guan Zhi-kun, Wen Xiao-ying, Shen Shu-xing. 2011. Generation and identification of Chinese cabbage-cabbage disomic alien addition line. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (7): 1275 - 1282. (in Chinese)
- 吕文欣, 王彦华, 赵建军, 顾爱侠, 李艳霞, 管志坤, 闻晓英, 申书兴. 2011. 大白菜—结球甘蓝 1 号染色体二体异附加系的获得与鉴定. *园艺学报*, 38 (7): 1275 - 1282.
- McGrath J M, Quiros C F. 1990. Generation of alien chromosome addition lines from synthetic *Brassica napus*, morphology, cytology fertility, and chromosome transmission. *Genome*, 33: 374 - 383.
- McGrath J M, Quiros C F, Harada J J, Landry B S. 1990. Identification of *Brassica oleracea* monosomic alien chromosome addition lines with molecular markers reveals extensive gene duplication. *Mol Gen Genet*, 223: 198 - 204.
- Meng Ya-ning, Wang Yan-hua, Gu Ai-xia, Li Xiao-feng, Shen Shu-xing. 2010. Generation and identification of 5th Chinese cabbage-cabbage

- disomic alien addition lines. *Scientia Agricultura Sinica*, 43 (14): 2937 - 2943. (in Chinese)
- 孟雅宁, 王彦华, 顾爱侠, 李晓峰, 申书兴. 2010. 大白菜—结球甘蓝 5 号二体异附加系的选育及鉴定. *中国农业科学*, 43 (14): 2937 - 2943.
- Moussa M A A. 2004. Polymerase chain reaction (PCR) -based marker analyses for the genomic and nematode resistance QTL in *Raphanus sativus* [Ph. D. Dissertation]. Assiut: Egypt Assiut University.
- Okagaki R J, Kynast R G, Livingston S M, Russell C D, Rines H W, Phillips R L. 2001. Mapping maize sequences to chromosomes using oat-maize chromosome addition materials. *Plant Physiol*, 125: 1228 - 1235.
- Olin-Fatih M. 1994. A new method for differential staining of *Brassica* metaphase chromosomes, and karyotypes of *B. campestris*, *B. oleracea*, and *B. napus*. *Hereditas*, 120: 253 - 259.
- Peterka H, Budahn H, Schrader O, Ahne R, Schütze W. 2004. Transfer of resistance against the beet cyst nematode from radish (*Raphanus sativus*) to rape (*Brassica napus*) by monosomic chromosome addition. *Theor Appl Genet*, 109: 30 - 41.
- Quiros C F, Ochoa O, Kianian S F, Douches D. 1987. Analysis of the *Brassica oleracea* genome by generation of *B. campestris-oleracea* chromosome addition lines: Characterization by isozymes and rDNA genes. *Theor Appl Genet*, 74: 758 - 766.
- Ren Yan-ru, Zhang Cheng-he, Shen Er-qiao, Xuan Shu-xin, Shen Shu-xing. 2010. Chromosome number identification and generation of monosomic alien addition line in the triploid interspecies hybrid of flowering Chinese cabbage-Chinese kale. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (2): 213 - 220. (in Chinese)
- 任艳蕊, 张成合, 申二巧, 轩淑欣, 申书兴. 2010. 芥蓝—菜薹种间三倍体回交子代染色体数鉴定及单体异附加系的选育. *园艺学报*, 37 (2): 213 - 220.
- Rines H W, Phillips R L, Kynast R G, Okagaki R J, Galatowitsch M W, Huettl P A, Stec A O, Jacobs M S, Suresh J, Porter H L, Walch M D, Cabral C B. 2009. Addition of individual chromosomes of maize inbreds B73 and Mo17 to oat cultivars Starter and Sun II: Maize chromosome retention, transmission, and plant phenotype. *Theor Appl Genet*, 119: 1255 - 1264.
- Sakai T, Imamura J. 2003. Development and utilization of hybrid-seed production system in rapeseeds (*Brassica napus* L.). *Breed Research*, 5: 93 - 102.
- Sanl B, Plieske J, Hu J. 2001. Microsatellite markers for genome analysis in *Brassica* II. Assignment of rapeseed microsatellites to the A and C genomes and genetic mapping in *Brassica oleracea* L. *Theor Appl Genet*, 102: 695 - 699.
- Sernyk J L, Stefansson B R. 1982. White flower color in rape (*Brassica napus* L.) associated with a radish (*Raphanus sativus* L.) chromosome. *Can. J. Genetics and Cytology*, 24: 729 - 734.
- Shang Shao-chuan, Wang Yan-hua, Li Xiao-feng, Shen Shu-xing. 2012. Obtaining and studies of translocation lines from Chinese cabbage-cabbage monosomic addition lines 1[#] by irradiation. *Sciencepaper Online*. (in Chinese)
- 商少川, 王彦华, 李晓峰, 申书兴. 2012. 辐射诱变大白菜—结球甘蓝 1 号单体异附加系获得易位系研究. *中国论文科技在线*.
- Shi F, Endo T R. 2000. Genetic induction of chromosomal rearrangements in barley chromosome 7H added to common wheat. *Chromosoma*, 109 (5): 358 - 363.
- Snowdon R J, Winter H, Diestel A, Sacristán M D. 2000. Development and characterisation of *Brassica napus-Sinapis arvensis* addition lines exhibiting resistance to *Leptosphaeria maculans*. *Theor Appl Genet*, 101: 1008 - 1014.
- Struss D, Bellin U, Röbbelen G. 1991. Development of B-genome chromosome addition lines of *B. napus* using different interspecific *Brassica* hybrids. *Plant Breed*, 106: 209 - 214.
- Struss D, Quiros C F, Plieske J, Röbbelen G. 1996. Construction of *Brassica* B genome synteny groups based on chromosomes extracted from three different sources by phenotypic, isozyme and molecular markers. *Theor Appl Genet*, 93: 1026 - 1032.
- Szakács É, Molnár-Láng M. 2010. Identification of new winter wheat-barley addition lines (6HS and 7H) using fluorescence *in situ* hybridization and the stability of the whole 'Martonvásári 9 kr1' - 'Igri' addition set. *Genome*, 53: 35 - 44.
- Tan G X, Jin H J, Li G, He R F, Zhu L L, He G C. 2005. Production and characterization of a complete set of individual chromosome additions from *Oryza officinalis* to *Oryza sativa* using RFLP and GISH analyses. *Theor Appl Genet*, 111: 1585 - 1595.
- Tu Y Q, Sun J, Ge X H, Li Z Y. 2009. Chromosome elimination, addition and introgression in intertribal partial hybrids between *Brassica rapa* and *Isatis indigotica*. *Annals of Botany*, 103: 1039 - 1048.
- Voss A, Snowdon R J, Lühs W, Friedt W. 2000. Intergeneric transfer of nematode resistance from *Raphanus sativus* into the *Brassica napus* genome. *Acta Hort*, 539: 129 - 134.

- Wang Gui-xiang, Yan Hong, Zeng Xing-ying, Sheng Xiao-guang, Tang Yu, Han Shuo, Zong Mei, Lu Kun, Liu Fan. 2011. New alien addition lines resistance to black rot generated by somatic hybridization between cauliflower and black mustard. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (10): 1901 - 1910. (in Chinese)
- 王桂香, 严红, 曾兴莹, 盛小光, 唐宇, 韩硕, 宗梅, 陆坤, 刘凡. 2011. 花椰菜—黑芥体细胞杂交获得抗黑腐病异附加系新材料. *园艺学报*, 38 (10): 1901 - 1910.
- Wang X, Wang H, Wang J, Sun R, Wu J, Liu S, Bai Y, Mun J H, Bancroft I, Cheng F, Huang S, Li X, Hua W, Freeling M, Pires J C, Paterson A H, Chalhoub B, Wang B, Hayward A, Sharpe A G, Park B S, Weisshaar B, Liu B, Li B, Tong C, Song C, Duran C, Peng C, Geng C, Koh C, Lin C, Edwards D, Mu D, Shen D, Soumpourou E, Li F, Fraser F, Conant G, Lassalle G, King G J, Bonnema G, Tang H, Belcram H, Zhou H, Hirakawa H, Abe H, Guo H, Jin H, Parkin I A, Batley J, Kim J S, Just J, Li J, Xu J, Deng J, Kim J A, Yu J, Meng J, Min J, Poulain J, Hatakeyama K, Wu K, Wang L, Fang L, Trick M, Links M G, Zhao M, Jin M, Ramchiary N, Drou N, Berkman P J, Cai Q, Huang Q, Li R, Tabata S, Cheng S, Zhang S, Sato S, Sun S, Kwon S J, Choi S R, Lee T H, Fan W, Zhao X, Tan X, Xu X, Wang Y, Qiu Y, Yin Y, Li Y, Du Y, Liao Y, Lim Y, Narusaka Y, Wang Z, Li Z, Xiong Z, Zhang Z. 2011. The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*. *Nat Genet*, 43: 1035 - 1039.
- Wang Xin-e. 2008. Selection and identification of flowering Chinese cabbage—Chinese kale addition lines [M. D. Dissertation]. Baoding: Agricultural University of Hebei. (in Chinese)
- 王新娥. 2008. 菜薹—芥蓝异附加系的创建与鉴定研究 [硕士论文]. 保定: 河北农业大学.
- Wang Y P, Sonntag K, Rudloff E, Chen J. 2005a. Intergeneric somatic hybridization between *Brassica napus* and *Sinapis alba*. *J Integrative Plant Biol*, 47: 84 - 91.
- Wang Y P, Sonntag K, Rudloff E, Wehling P, Snowdon R J. 2006. GISH analysis of disomic *Brassica napus*—*Crambe abyssinica* chromosome addition lines produced by microspore culture from monosomic addition lines. *Plant Cell Rep*, 25 (1): 35 - 40.
- Wang Y P, Zhao X X, Sonntag K, Wehling P, Snowdon R J. 2005b. Behaviour of *Sinapis alba* addition chromosomes in a *Brassica napus* background revealed by genomic *in situ* hybridisation. *Chromosome Res*, 13: 819 - 826.
- Wei W H, L Y C, Wang L J, Liu S Y, Yan X H, Mei D S, Li Y D, Xu Y S, Peng P F, Hu Q. 2008. Development of a novel *Sinapis arvensis* disomic addition line in *Brassica napus* containing the restorer gene for Nsa CMS and improved resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and pod shattering. *Theor Appl Genet*, 120 (6): 1089 - 1097.
- Wei W H, Zhang S F, Li J, Wang L J, Chen B, Fang X P, Wang Z, Luo L X. 2006. Analysis of F₁ hybrid and BC₁ monosomic alien addition line plants from *Brassica oleracea* × *Sinapis alba* by GISH. *Chinese Science Bulletin*, 51 (23): 2872 - 2877.
- Yasui H, Iwata N. 1998. Development of monotelosomic and monoacrosomic alien addition lines in rice (*Oryza sativa* L.) carrying a single chromosome of *O. punctata* Kotschy. *Breed Sci*, 48: 181 - 186.
- Zhang S L, Shen E Q, Liu J F, Dong L J, Zhang C H, Shen S X, Ren Y R. 2013. Identification of disomic alien chromosome addition lines and a substitution line from monosomic alien addition lines of Chinese kale—flowering Chinese cabbage. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 88 (2): 201 - 207.
- Zhang Yong-tai, Li Ai-min, Lu Li, Chen Liu, Hui Fei-hu, Wang You-ping. 2006. Disomic alien addition lines generated through microspore culture from progeny of intergeneric hybrids between *Brassica napus* and *Sinapis alba*. *Acta Agronomica Sinica*, 32 (11): 1764 - 1766. (in Chinese)
- 张永泰, 李爱民, 陆莉, 陈柳, 惠飞虎, 王幼平. 2006. 通过甘蓝型油菜和白芥属间杂种后代的小孢子培养获得二体异附加系. *作物学报*, 32 (11): 1764 - 1766.
- Zhao Z G, Hu T T, Ge X H, Du X Z, Ding L, Li Z Y. 2008. Production and characterization of intergeneric somatic hybrids between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus* and their backcrossing progenies. *Plant Cell Rep*, 27 (10): 1611 - 1621.
- Zheng Bao-zhi, Shen Shu-xing, Wang Yan-hua, Chen Xue-ping, Zhang Cheng-he, Xuan Shu-xin, Luo Shuang-xia, Li Xiao-feng. 2008. Production and identification of head cabbage monosomic alien addition lines CO-9-1 in Chinese cabbage. *Journal of Plant Genetic Resources*, 9 (2): 239 - 242. (in Chinese)
- 郑宝智, 申书兴, 王彦华, 陈雪平, 张成合, 轩淑欣, 罗双霞, 李晓峰. 2008. 大白菜—甘蓝单体异附加系CO-9-1的选育与鉴定. *植物遗传资源学报*, 9 (2): 239 - 242.
- Zhu J, Struss D, Röbbelen G. 1993. Studies on Resistance to *Phoma lingam* in *Brassica napus*—*Brassica nigra* addition lines. *Plant Breeding*, 111: 192 - 197.