

青花菜花球质量与 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的配合力分析及相关性研究

史明会^{1,2} 姚雪琴¹ 谢祝捷¹ 李光庆¹ 高红明³ 万正杰² 徐跃进²

1. 上海市农业科学院园艺研究所/国家蔬菜改良上海分中心/上海市设施园艺技术重点实验室, 上海 201106;
2. 华中农业大学园艺林学学院, 武汉 430070;
3. 扬州大学生物科学与技术学院, 扬州 225009

摘要 按照 Griffing(II) 不完全双列杂交设计, 对 6 个青花菜自交系育种材料的花球质量和花球中 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量进行配合力和遗传相关分析。结果表明: 青花菜的花球质量和 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量同时受加性和非加性效应控制, 其中花球质量的特殊配合力大于一般配合力, 主要受基因非加性效应控制, 而 4-甲基亚磺酰丁基硫苷的特殊配合力小于一般配合力, 主要受基因加性效应控制。青花菜 4-甲基亚磺酰丁基硫苷的狭义遗传力大于花球质量, 花球质量与 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量间无显著相关关系, 说明这 2 个性状的选择可独立进行, 从而实现同一组合或品种兼备这 2 个优质性状。在 6 个自交系中, P_3 和 P_2 是高产育种的理想亲本; 而 P_1 和 P_4 是提高后代 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的理想亲本。 $P_4 \times P_6$ 和 $P_2 \times P_4$ 是综合性状较好的杂交组合, 其中 $P_2 \times P_4$ 也是配制高含量 4-甲基亚磺酰丁基硫苷的优良组合。

关键词 青花菜; 花球质量; 4-甲基亚磺酰丁基硫苷; 配合力; 相关性分析

中图分类号 S 635.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2014)01-0024-05

青花菜(*Brassica oleracea* var. *italica*, $n=9$) 是十字花科芸薹属甘蓝种中以绿花球为产品的一个变种, 其营养丰富且风味独特, 近年来我国种植面积迅速扩大, 具有重要的市场价值。青花菜收获花球的产量直接关系到生产者的经济收入, 培育经济性状优良尤其是花球质量较高的青花菜品种一直是育种工作者的目标之一。同时, 青花菜中含有的 4-甲基亚磺酰丁基硫苷(glucoraphanin, 简称 RAA) 是形成青花菜独特风味的主要来源^[1], 其含量约占青花菜脂肪族硫苷含量的 80%^[2], 其水解产物异硫氰酸盐——萝卜硫素是迄今发现的抗癌功能最强的天然植物活性物质, 受到消费者青睐^[3-4], 并逐渐得到育种家重视。但青花菜起源于欧洲地中海东部沿海, 国内的种质资源较少, 有必要对现有种质资源的产量性状和营养品质性状同时进行遗传分析。配合力是杂种优势利用和亲本选配的重要参考指标, 李素文等^[5] 采用完全双列杂交法对花椰菜经济性状的遗传特点做出了初步鉴定。近年来, 研究者还开展了青花菜花球产量与主要农艺性状的相关性研究^[6-7],

但对决定青花菜产量重要因素之一的花球质量与决定营养品质重要因素的 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量相结合的遗传分析研究尚未见报道。

本研究选用 6 份花球质量和花球中 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量差异显著的青花菜高代自交系作为材料, 配制不完全双列杂交组合, 采用 Griffing 双列杂交分析方法(II) 对青花菜花球质量和 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量进行配合力和相关性分析, 以期青花菜的高产优质育种工作提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

6 个青花菜材料分别为 LBS、MTL、16-7-2、97-10、SJL 和 LI(文中依次用 P_1 - P_6 表示), 均为上海市农业科学院园艺研究所经过多年自交纯化且园艺学性状稳定的育种材料。2009 年春在上海市农业科学院国家蔬菜改良上海分中心种植场按 Griffing(II) 不完全双列杂交法配制杂交组合并收获连同亲本种子共 21 份材料, 同年 8 月 1 日全部在上海市农

收稿日期: 2013-06-07

基金项目: 上海市科学技术委员会专项(12dz1909102)

史明会, 硕士研究生, 研究方向: 蔬菜遗传育种。E-mail: minghuishi0213@163.com

通信作者: 谢祝捷, 研究员, 研究方向: 蔬菜遗传育种。E-mail: xiezj8@163.com

业科学院同一种植场播种,待幼苗具4~5片真叶时定植。种植每份材料的小区面积为18 m²,每小区种植60株,株行距为40 cm×45 cm,3次重复。于商品花球采收期,每小区随机取5株正常植株,对商品花球进行三点法混合取样(即球顶和边缘共3点),取好的样品称鲜质量并及时进行真空冷冻干燥处理,冻干后再次称干质量,经磨样机粉碎均匀,用自封袋密封并编号,于-18℃冰箱保存。

1.2 测定方法

1)花球质量。在收获期,沿花球下缘2~3 cm处割下的花球称鲜质量即花球质量^[8]。

2)花球中4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的测定。硫苷的提取、脱硫以及HPLC分析参考Magrath等^[9]的方法,按邱海荣等^[10]的方法采用反相高效液相色谱法测定4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量并略有改进;总4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量=4-甲基亚磺酰丁基硫苷检测值×取样样品质量×花球质量/冻干后样品质量。

在用70%甲醇定容提取液至5 mL时,平行重复中加入100 μL 5 mmol/L 2-丙基硫苷(Sinigrin,美国Sigma-Aldrich公司)作为内标,其他步骤及脱硫反应与邱海荣等^[10]的方法一致。

收集的洗脱液用0.45 μm的微孔滤膜过滤,取10 μL洗脱液进行高效液相色谱分析。

HPLC分析系统(Agilent 2600)流动相A为:5 mmol四丁基磷酸铵+10 mmol磷酸二氢铵,B为乙腈,流速1.5 mL/min;检测波长227 nm;柱温30℃。梯度洗脱:即起始时,流动相A/B按90/10的比例过柱,20 min时,流动相A/B的比例调为70/30进行过柱。

1.3 统计分析方法

数据统计在Excel 2003中完成,采用DPS 7.05统计软件进行Griffing双列杂交分析。

2 结果与分析

2.1 青花菜花球质量和4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的变异及方差分析

21份青花菜材料的花球质量平均值为422.1±104.2 g,变异幅度为169.0~667.0 g,极差值为498.0,变异系数为24.68%,属于中等变异;4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量平均值为3.0±3.1 μmol/g,变异幅度为0.1~13.2 μmol/g,极差值为13.1,变异系数为106.52%,变异较大。变异系数大的性状在后代选择时有较大的价值,变异幅度大,表明供试材料有较好的代表性。

对青花菜的花球质量和4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量进行方差分析,结果显示花球质量和4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量在组合间表现出极显著差异($P<0.01$),而区组间没有明显的统计学差异($P>0.05$),说明这2个性状在杂交组合间均存在着真实的遗传差异。因此,可针对这个性状进行父本、母本的一般配合力(GCA)及组合间的特殊配合力(SCA)分析。

2.2 青花菜花球质量和4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量配合力方差分析

对21份青花菜材料花球质量和4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量进行配合力方差分析(表1),结果表明:在固定模型中,6个亲本的一般配合力及15个杂交组合的特殊配合力均达极显著性差异,说明这2个性状同时受加性基因效应和非加性基因效应控制。一般配合力与特殊配合力的均方比(MS_{GCA}/MS_{SCA})是衡量一般配合力和特殊配合力相对重要性的指标。4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的 MS_{GCA}/MS_{SCA} 大于2(2.22),说明青花菜花球的4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量主要是由基因加性效应决定的;单球鲜质量的 MS_{GCA}/MS_{SCA} 小于1(0.74),说明该性

表1 配合力方差分析¹⁾

Table 1 Variance of combing ability of different characters

变异来源 Source of variation		4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量 RAA		花球质量 Head weight	
		均方 Mean squares	F 值 F value	均方 Mean squares	F 值 F value
固定模型 Fixed model	GCA	12.71	9.25**	77 347.04	15 469.41**
	SCA	5.72	4.16**	104 440.90	6 962.72**
	MS_{GCA}/MS_{SCA}	2.22		0.74	
随机模型 Stochastic model	GCA		2.22		2.22
	SCA		4.16**		19.80**

1) **表示差异极显著 ** Shows significant difference at 0.01 level.

状主要由基因非加性效应决定。在随机模型中,群体水平上,2个性状的一般配合力方差均无显著性差异。因此,可以认为单球鲜质量和 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的效应间存在着真实的差异,从而可以进一步估算各个亲本的配合力效应。

2.3 配合力效应估算

1) 亲本一般配合力效应。从表 2 看出,2个性状的一般配合力在 6 个亲本间均存在明显差异,其中花球质量在亲本间的一般配合力相对效应值变化范围较大,自交系 P_2 、 P_3 和 P_5 的一般配合力效应值均为正值,对花球质量产生正向促进效应,其中 P_3 的促进作用最大,在青花菜的高产育种中有较大的利用价值。而自交系 P_1 、 P_2 和 P_4 的 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的一般配合力均为正值,其中 P_1 的一般配合力效应值最大,说明该自交系在青花菜品质育种中有较大的利用价值。但相对于花球质量,自交系 P_1 是负向效应,表明其不宜作为青花菜高产育种亲本。自交系 P_3 的 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量一般配合力是负向效应,花球质量却表现出明显的正向效应,说明此自交系在青花菜优质育种中利用价值可能不大。

表 2 亲本各性状一般配合力相对效应值

Table 2 The relative GCA effect value of parental character

亲本 Parents	4-甲基亚磺酰丁基硫苷 RAA	花球质量 Head weight
P_1	1.33	-61.094
P_2	0.59	37.864
P_3	-0.63	58.664
P_4	1.30	-12.178
P_5	-0.82	6.289
P_6	-1.75	-29.544

2) 杂交组合的特殊配合力效应。15 个杂交组合的特殊配合力效应值见表 3。同一性状中不同组合的特殊配合力效应值差异很大,同一组合的 2 个性状特殊配合力也存在正负差异。其中花球质量特殊配合力表现最好的是组合 $P_3 \times P_4$, 为 103.416。4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的特殊配合力表现最好的是 $P_2 \times P_4$, 为 5.507。同时,通过与自交系一般配合力相对效应值的比较可看出,一般配合力相对效应值最高的亲本所配的杂交组合特殊配合力相对效应值并非最高,表明青花菜自交系的一般配合力与杂交组合的特殊配合力间没有明显的对应关系,如亲本 P_1 和 P_2 的 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量一般配合力有显著的正效应,但 $P_1 \times P_2$ 组合中 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的特殊配合力效应却为负向效应。综合 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量和花球质量特殊

表 3 特殊配合力相对效应值

Table 3 The relative SCA effect value of F_1 combination's character

组合 Combinations	4-甲基亚磺酰丁基硫苷 RAA	花球质量 Head weight
$P_1 \times P_2$	-0.725	33.132
$P_1 \times P_3$	1.671	-16.334
$P_1 \times P_4$	0.099	99.774
$P_1 \times P_5$	-1.820	71.707
$P_1 \times P_6$	-1.854	25.541
$P_2 \times P_3$	-0.801	60.374
$P_2 \times P_4$	5.507	33.482
$P_2 \times P_5$	-1.263	6.082
$P_2 \times P_6$	-0.626	7.916
$P_3 \times P_4$	0.246	103.416
$P_3 \times P_5$	0.477	8.282
$P_3 \times P_6$	0.217	5.116
$P_4 \times P_5$	-0.080	56.124
$P_4 \times P_6$	3.704	52.957
$P_5 \times P_6$	0.691	34.491

配合力表现较好的组合是 $P_2 \times P_4$ 和 $P_4 \times P_6$ 。

3) 遗传参数估计。将花球质量和 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量性状的遗传参数估计计算结果列于表 4。4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的一般配合力方差占主要部分,说明本试验参试自交系中 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的遗传变异主要是由基因加性效应引起的,在上下代之间稳定遗传的成分较大,因此通过亲本的选择改良,可以有效地改良其相关性状。4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的狭义遗传力较高,为 79.85%,说明该性状在早代进行选择的可靠性高。它的狭义遗传力在广义遗传力中所占比例较高,表明其主要以加性效应为主,与 MS_{GCA}/MS_{SCA} 值大于 2 的结果相符。而花球质量的狭义遗传力较低,说明其在很大程度上受环境影响,不宜进行早代选择。

表 4 各性状遗传参数的估计值

Table 4 Estimates of genetic parameters

遗传参数 Genetic parameters	4-甲基亚磺酰丁基硫苷 RAA	花球质量 Head weight
加性方差 Additive variance	11.810	2 126.671
非加性方差 Nonadditive variance	5.961	20 624.797
表型方差 Phenotypic variance	7.465	12 950.483
广义遗传力/% Broad heritability	81.600	51.050
狭义遗传力/% Narrow heritability	79.850	16.420

2.4 青花菜花球质量和总 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的相关关系分析

从图 1 可以得出,青花菜总 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量与花球质量没有明显的相关关系。花球质

量最大时,其总4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量并不是最大。与通过统计软件计算的两性状表型相关系数为0.0306、遗传相关系数为0.0569且均不显著的结果一致,说明2个性状的选择可以独立进行,彼此间不会影响。

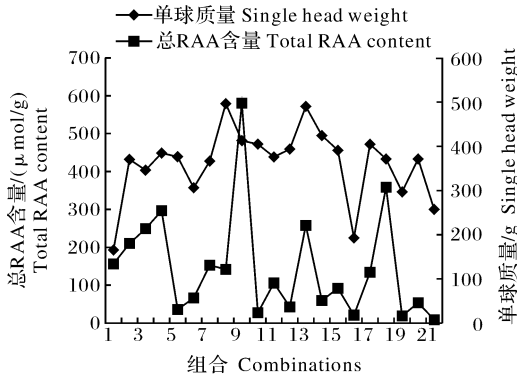


图1 花球质量与总4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的变化规律
Fig.1 Change of head weight and total RAA concentration

3 讨论

青花菜的花球质量直接影响产量,关系到生产者的经济效益,其遗传规律一直为研究者所关注^[10]。本研究中,花球质量的一般配合力效应值的变化范围为-61.094~58.664,变化幅度较大,是Abercrombie等^[11]研究中对对应性状的2.38倍,为进一步研究花球质量的遗传规律提供了材料,同时本试验中花球质量在组合间的特殊配合力差异显著,而文献^[11]中差异不显著,可能与双列杂交中参试亲本的基因型及栽培环境有关。亲本间花球质量的一般配合力差异极显著,且 MS_{GCA}/MS_{SCA} 小于1,说明其同时受到基因的加性效应和非加性效应控制,但以非加性效应为主,证实花球质量与栽培环境及植株的农艺性状如有效光合面积等密切相关^[6]。

本研究中一般配合力与特殊配合力之间没有必然的相关关系,试验中多个青花菜组合亲本的一般配合力均较高,但杂交后代的特殊配合力却表现出明显的负效应,这与李素文等^[5]对花椰菜10个经济性状的配合力分析得到的结论一致。因此,在青花菜高产育种中,应综合考虑亲本的一般配合力和特殊配合力,在一般配合力高的基础上选择特殊配合力高的组合是杂种优势育种中的有效途径。

4-甲基亚磺酰丁基硫苷是植物中最具天然抗癌特性的萝卜硫素的前体,在青花菜中含量较高。有研究发现4-甲基亚磺酰丁基硫苷本身同样具有调节抗癌物代谢相关酶活性的作用^[12],基因型和环境

效应对青花菜4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的影响也有报道^[13-16],而关于4-甲基亚磺酰丁基硫苷遗传规律方面的研究鲜见报道。本研究中,亲本间4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的一般配合力差异极显著,且 MS_{GCA}/MS_{SCA} 大于2,说明其同时受到基因的加性效应和非加性效应控制,但以加性效应为主,这一结论与李占省等^[17]报道的青花菜DH群体花球中菜蕈硫烷含量主要受加性-上位性+多基因控制且主基因遗传率为89.28%的结果一致。同时与谢祝捷等^[15]报道的青花菜基因型和环境互作效应对花球4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量有显著影响、变异来源占总变异的67.3%的结果一致。表明4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量这一性状主要由基因型决定。4-甲基亚磺酰丁基硫苷的广义遗传力和狭义遗传力分别为81.65%和79.85%,属高度遗传力性状^[18],受环境影响较小。因此,应重视从早期世代起对高含量4-甲基亚磺酰丁基硫苷这一性状加以筛选,4-甲基亚磺酰丁基硫苷一般配合力高的青花菜品系可直接应用于高含量4-甲基亚磺酰丁基硫苷育种,从而加快青花菜的优质育种进程,同时要注重亲本的性状互补。

青花菜育种的性状改良需要考虑各个性状间的相关关系。本研究结果表明青花菜花球质量与4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量间有一定的关联性,其表型相关系数和遗传相关系数分别为0.031和0.057,但未达显著水平,说明2个性状的选择可以独立进行。这为培育高产且4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量高的青花菜品种提供了理论依据。

参 考 文 献

- [1] FENWIEK G R, HEANEY R K, MULLIN W J. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 1983, 18: 123-201.
- [2] BROWN A F, YOUSEF G G, JEFFERY E H, et al. Glucosinolate profiles in broccoli; variation in levels and implication in breeding for cancer chemoprotection [J]. Journal of American Society Horticultural Science, 2002, 127: 807-813.
- [3] JUGE N, MITHEN R F, TRAKA M. Molecular basis for chemoprevention by sulforaphane: a comprehensive review [J]. Cell Mol Life Sci, 2007, 64: 1105-1127.
- [4] IRIS L, MARY C B, MICHAEL C B. Quantitative determination of glucoraphani in Brassica vegetables by micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 663: 105-108.
- [5] 李素文, 孙德岭, 张宝珍, 等. 花椰菜主要经济性状的配合力分析 [J]. 华北农学报, 1996, 11(4): 104-108.

- [6] 崔丽红. 青花菜花球质量与植株主要农艺性状的相关性研究[J]. 湖南农业科学, 2011(21):19-20, 23.
- [7] 陆信娟, 杨峰, 樊继德. 青花菜主要农艺性状的相关性分析[J]. 江西农业学报, 2011, 23(1):49-51.
- [8] 李锡香, 方智远. 花椰菜和青花菜种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008.
- [9] MAGRATH R, BANO F, MORGNER M, et al. Genetics of aliphatic glucosinolates. 1. Side-chain elongation in *Brassica napus* and *Arabidopsis thaliana*[J]. Heredity, 1994, 72:290-299.
- [10] 邱海荣, 姚雪琴, 谢祝捷, 等. 反相高效液相色谱法检测青花菜和花椰菜中 4-甲基亚磺酰丁基硫苷[J]. 上海农业学报, 2008, 24(4):72-74.
- [11] ABERCROMBIE J M, MARKW F, JAMES W R. Genetic combining ability of glucoraphanin level and other horticultural traits of broccoli[J]. Euphytica, 2005, 143:145-151.
- [12] AHAMAD A R, MANUELA B, GINA D N, et al. Intact glucosinolates modulate hepatic cytochrome P450 and phase II conjugation activities and may contribute directly to the chemopreventive activity of curciferous vegetables[J]. Toxicology, 2010, 277:74-85.
- [13] VALLEJO F, TOMAS B F, BENAVENTE G A, et al. Total and individual glucosinolate contents in inflorescences of eight broccoli cultivars grown under various climatic and fertilization condition[J]. J Sci Food Agric, 2003, 83(4):307-313.
- [14] FARNHAM M W, WILSON P E, STEPHENSON K K. Genetic and environmental effects on glucosinolate content and chemoprotective potency of broccoli[J]. Plant Breeding, 2004, 123:60-65.
- [15] 谢祝捷, 李媛, 姚雪琴, 等. 青花菜基因型和环境互助对花球 4-甲基亚磺酰丁基硫苷含量的影响[J]. 园艺学报, 2010, 37(4):625-630.
- [16] 姚雪琴, 谢祝捷, 李光庆, 等. 青花菜不同器官中 4-甲基亚磺酰丁基硫苷及萝卜硫素含量分析[J]. 中国农业科学, 2011, 44(4):851-858.
- [17] 李占省, 刘玉梅, 方智远, 等. 青花菜 DH 群体花球中菜菔硫烷含量的遗传效应分析[J]. 园艺学报, 2012, 39(1):101-108.
- [18] 张飞, 房伟民, 陈发棣, 等. 菊花观赏性状的配合力分析[J]. 园艺学报, 2010, 37(4):589-596.

Combining ability and correlation coefficient of head weight and RAA level of broccoli

SHI Ming-hui^{1,2} YAO Xue-qin¹ XIE Zhu-jie¹ LI Guang-qing¹
GAO Hong-ming³ WAN Zheng-jie² XU Yue-jin²

1. Horticultural Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences/Center for Vegetable Improvement (Central China)/Shanghai Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Shanghai 201106, China;
2. College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
3. College of Bioscience and Biotechnology, Yangzhou Agricultural University, Yangzhou 225009, China

Abstract Using 6 inbred line of broccoli as parents, combining ability and correlation of primary characters about head weight and the glucoraphanin (RAA) concentration were studied by applying Griffing II. The results showed that both characters were affected by additive and non additive effects. The head weight was mainly inherited by special combining ability (SCA), were controlled by non-additive genes in a great scale; the glucoraphanin concentration was affected by additive gene greatly were mainly inherited by general combining ability (GCA), it was match the genetic parameters. Narrow heritability of glucoraphanin concentration was bigger than head weight. There were no significant correlations between head weight and RAA content, so both characters would be combined in the same cultivar. In 6 inbred lines, P_3 and P_2 were ideal parental lines for high yield, and P_1 and P_4 were ideal parental line for glucoraphanin concentration. Cominations of $P_4 \times P_6$ and $P_2 \times P_4$ had better special combining ability of head weight and RAA concentration, while $P_2 \times P_4$ was the best combination for RAA concentration.

Key words broccoli; head weight; glucoraphanin; combining abilities; correlation coefficient analysis

(责任编辑: 张志钰)