

甘蓝型油菜种子次生休眠遗传多样性

油清波^{①②}, 刘燕^④, 曾新华^②, 赵祥祥^{②③*}, 卢长明^{②*}

① 中南民族大学生命科学院, 武汉 430074;

② 中国农业科学院油料作物研究所, 农业部油料作物生物学重点开放实验室, 武汉 430062;

③ 淮阴师范学院, 江苏省环洪泽湖生态农业生物技术重点实验室, 淮安 223300;

④ 环境保护部南京环境科学研究所, 南京 210042

* 联系人, E-mail: cmlu@oilcrops.cn; xxzhao2013@163.com

2013-01-05 收稿, 2013-02-21 接受

国家自然科学基金(30900217)和环保公益性行业科研专项(201109028)资助

摘要 次生休眠是指原来无休眠的种子由于不适宜环境条件的影响而诱发的休眠, 是导致油菜产区地下种子库长期存在和油菜自生苗繁衍并造成危害的根本原因. 本研究用 4 种埋藏法和 PEG 处理评价油菜 49 个品种种子次生休眠特性的遗传多样性. 结果表明, 不同品种甘蓝型油菜种子的休眠存在显著性差异, 4 种埋藏检测方法检测油菜次生休眠特性的变异范围为 0~44%, 广义遗传率为 40%~53%. 49 个品种中次生休眠率低于 2% 的品种占 45%, 次生休眠率 2%~20% 的品种占 38.8%, 次生休眠率 20%~40% 的品种占 16.3% (如早丰 4 号、中双 9 号、红油 2 号、中双 5 号和 Tower 等). PEG 法检测的次生休眠性广义遗传率达到 82.1%. 相关性分析表明, 甘蓝型油菜种子在不同埋藏时间和深度得到的休眠性呈极显著相关, 而 PEG 诱导甘蓝型油菜种子数据只与部分条件下的埋藏处理之间存在相关性. 埋藏实验显示, 部分品种的种子可进入深层次的休眠, 需要破眠处理才能发芽, 这些品种的种子可能会在土壤中存活更长时间.

关键词

甘蓝型油菜
次生休眠
埋藏测试法
PEG 诱导测试法

油菜是我国重要的食用油料作物, 甘蓝型油菜是我国主要的油菜栽培类型. 在油菜生产中, 油菜的自生苗问题一直困扰着油菜生产者. 油菜自生苗不但与作物竞争资源, 加大了控制杂草的工作量, 还会污染纯系的种子和降低种子品质^[1~3]. Schlink^[4]的研究显示, 油菜种子可在地下存活 5 年, 在不翻耕的土壤中可以存活长达 10 年. 地下存活的油菜种子在随后的年份中会产生大量的自生苗. 油菜种子的落粒性是导致油菜自生苗问题的源头. 有研究显示油菜落粒量为 10~1600 kg hm⁻², 平均值为 300~500 kg hm⁻², 相当于约 10000 粒 m⁻²^[5~9]. 油菜收获时落粒量可达播种量的 7~56 倍, 为地下种子库输入大量种子, 这些种子在未来多年内成为潜在的自生苗来源^[10,11].

研究显示, 油菜种子的次生休眠特性是导致油

菜自生苗泛滥的主要原因. 落粒的种子在不适合条件下诱发产生次生休眠, 保持不发芽的存活状态. 一旦条件适宜, 休眠的种子又可以恢复发芽. 由于油菜种子的次生休眠特性, 油菜种子可以在地下存活很多年. 研究认为, 油菜种子的次生休眠受很多因素影响, 主要与种子收获后土壤的渗透压有关^[12,13], 同时也有研究认为与光照^[14]、土壤中氧气含量^[12,13]、温度^[15]等因素都有关. 而且, 耕作方式的不同也会对种子休眠的诱导和自生苗的出现产生较大影响^[16~19]. 揭示油菜种子次生休眠特性的影响因素, 对治理油菜自生苗的发生、保障油菜生产的安全高效具有重要意义.

本研究采取田间埋藏处理和实验室诱导相结合的方法, 对 49 份甘蓝型油菜品种的种子次生休眠特

引用格式: 油清波, 刘燕, 曾新华, 等. 甘蓝型油菜种子次生休眠遗传多样性. 科学通报, 2013, 58: 2795–2802

You Q B, Liu Y, Zeng X H, et al. Genetic diversity of secondary dormancy in rapeseed accessions (*Brassica napus*). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2013, 58: 2795–2802, doi: 10.1360/972013-12

性进行了评价,同时对2种次生休眠评价方法进行了比较分析.本研究的目的是要探究在我国油菜生产条件下我国甘蓝型油菜品种的次生休眠特性的遗传多样性;发掘次生休眠能力特别弱和特别强的遗传种质;探讨油菜次生休眠特性检测方法及其规律,为我国油菜育种和生产管理提供科学依据.

1 材料与方法

(i) 材料. 供试甘蓝型油菜品种(系)的种子均由本实验室收集和保存(表1). 实验材料包括甘蓝型油菜常规品种38份,转基因甘蓝型油菜品种5份,人工合成甘蓝型油菜品系6份,共49份. 所有供试材料于2010年10月播种,并于2011年5月收获并用作实验.

(ii) 埋藏处理. 实验采取随机区组设计,49个

品种,重复4次. 每个受试品种取100粒种子封装于200目尼龙网袋中,埋入土壤. 设置2种埋藏时间(6和9个月)和2种埋藏深度(3和20 cm). 种子于2011年9月埋入土壤,分别于2012年3月和9月取出,检测发芽率. 具体方法参照 Pekrun 等人^[1]. 埋藏实验在中国农业科学院油料作物研究所实验基地进行,属于油菜主产区,实验地点年平均气温约为16℃,年降雨量约为1200 mm,土质为壤土.

(iii) PEG 诱导种子休眠处理. 种子次生休眠特性的诱导按照 Pekrun 等人^[1]的方法进行: 在9 cm 直径的培养皿上垫上2层滤纸,放100粒种子,每个品种设置4次重复. 在温度为20℃的黑暗条件下,用初始渗透势为-1.5 kPa 的 PEG 6000 (8 mL 345.37 g L⁻¹ 的 PEG 6000 溶液)处理种子2周,诱导次生休眠. 种子取出后洗净PEG,放入新的培养皿,垫上2层滤纸,加入8 mL 蒸馏水,在温度为20℃下发芽1周,统计发芽数. 破眠处理: 埋藏后未发芽的种子在适宜条件下发芽1周后,如果仍未发芽,将其放入有双层滤纸的培养皿中,加入浓度为200 mg L⁻¹ 的赤霉素8 mL,用30℃、光照12 h和3℃、黑暗12 h交替变化的条件处理,打破种子的休眠,统计发芽数.

(iv) 统计分析. 各小区的数据取平均数后进行统计分析. 采用 SAS 9.1.3 对实验数据计算平均数和标准差并按照随机区组设计(49个品种,重复4次)的分析方法进行方差分析,方差分析后根据随机模型期望均方模型计算遗传方差(σ_g^2)、表型方差(σ_p^2)和遗传力(h_b^2). 其中遗传力= σ_g^2/σ_p^2 (%). 不同性状的相关性分析采用 SPSS 9.0 软件进行. 不同埋藏深度和不同埋藏时间休眠性的差异显著性采用成对 *t* 测验进行分析. 转基因品系与受体的比较及人工合成油菜与常规油菜品种的比较采取成组 *t* 检验进行分析.

2 结果分析

2.1 种子埋藏实验

无论是埋藏3 cm 还是20 cm 深,经过6和9个月,埋藏的种子大部分已发芽并腐烂,未腐烂的完整种子被认为是休眠或死亡的种子. 未腐烂的种子给予适宜条件或经过破眠处理后进行发芽,如果能够发芽判为休眠种子,参与休眠率的计算(否则为死种子). 结果表明,种子休眠率因品种而异,变异范围为0~44%. 表2给出了49个品种不同埋藏时间和

表1 实验材料一览表^{a)}

编号	来源或品种名	编号	来源或品种名
1	安农(选)	20	湘油10号
2	陕油8号	21	红油2号
3	沪油16	22	Tower
4	秦油3号	23	黔油8号
5	浙双3号	24	陇油1号
6	中双6号	25	黔油14号
7	中双7号	26	宁油10号
8	中双8号	27	川油22
9	中双10号	28	中油821
10	湘油17号	29	中双9号
11	豫油2号	30	中10(选)
12	宁油12号	31	沪15号
13	沪油9号	32	湘油15号
14	早丰4号	33	中双4号
15	陕油3号	34	甘油5号
16	华黄1号	35	绵油12号
17	赣油1号	36	荆油005
18	中油低芥1号	37	中双5号
19	Parter	38	中双11号
39	R2(OCRI-CAAS)	42	R8(OCRI-CAAS)
40	R5(OCRI-CAAS)	43	R9(OCRI-CAAS)
41	R6(OCRI-CAAS)	44	R13(OCRI-CAAS)
45	ZS9-90215	48	ZS7B22
46	ZS7B16	49	ZS7B25
47	ZS7B10		

a) 1~38号属于常规油菜品种; 39~44号属于人工合成甘蓝型油菜品系; 45~49号属于转基因油菜品系

表 2 不同埋藏时间和深度及 PEG 诱导处理的种子休眠率(%)

休眠性强弱分类	品种	6 个月		9 个月		平均数	标准差	PEG 诱导 休眠率
		3 cm	20 cm	3 cm	20 cm			
休眠性强(休眠率大于 20%)	早丰 4 号	43.75	32.50	42.25	42.25	40.19	5.20	19.00
	R2(OCRI-CAAS)	31.50	34.75	26.75	25.75	29.69	4.20	0.50
	R8(OCRI-CAAS)	16.75	44.00	11.50	23.75	24.00	14.20	1.00
	Tower	34.00	19.00	19.75	21.75	23.63	7.00	0.50
	中双 9 号	23.00	34.75	19.75	17.00	23.63	7.80	9.89
	红油 2 号	16.25	21.75	33.00	19.50	22.63	7.30	0.00
	中双 5 号	20.50	37.00	4.50	26.75	22.19	13.60	0.00
	R6(OCRI-CAAS)	37.75	17.75	27.50	3.75	21.69	14.50	0.00
休眠性中等(休眠率 5%~15%)	R5(OCRI-CAAS)	18.75	22.25	1.00	15.25	14.31	9.30	17.67
	豫油 2 号	9.50	40.00	1.75	4.00	13.81	17.80	3.00
	宁油 10 号	13.25	21.00	12.25	5.25	12.94	6.40	8.75
	川油 22	2.25	21.00	14.25	7.50	11.25	8.10	0.00
	ZS7B22	10.00	15.00	3.00	16.75	11.19	6.20	0.00
	821	3.00	29.50	12.25	0.00	11.19	13.30	12.25
	黔油 8 号	7.00	27.75	6.50	0.75	10.50	11.80	0.25
	湘油 10 号	6.50	1.50	33.25	0.00	10.31	15.50	0.00
	赣油 1 号	12.25	11.75	2.50	5.00	7.88	4.90	0.00
	秦油 3 号	2.25	9.25	5.00	14.00	7.63	5.10	0.00
	陕油 3 号	16.00	10.75	0.00	3.25	7.50	7.20	2.25
	浙双 3 号	0.25	12.25	7.50	8.25	7.06	5.00	0.50
	ZS7B10	5.75	14.50	6.50	0.00	6.69	6.00	0.25
	中双 10 号	9.50	12.50	0.00	0.00	5.50	6.50	33.75
	R13(OCRI-CAAS)	0.00	0.00	6.50	10.50	4.25	5.20	4.54
	R9(OCRI-CAAS)	3.25	1.50	12.00	0.00	4.19	5.40	0.50
	安农(选)	5.25	10.00	0.00	0.00	3.81	4.80	0.00
	Parter	1.75	7.25	0.75	3.25	3.25	2.90	0.50
	陕油 8 号	2.75	7.00	1.75	1.00	3.13	2.70	0.00
	中双 7 号	0.00	7.25	0.00	0.00	1.81	3.60	0.75
无休眠(休眠率低于 1%)	中双 6 号	2.50	2.25	0.00	0.75	1.38	1.20	6.50
	沪油 16	3.75	1.25	0.00	0.00	1.25	1.80	0.00
	湘油 17 号	1.75	3.00	0.00	0.00	1.19	1.50	0.00
	ZS9-90215	3.25	1.25	0.00	0.00	1.13	1.50	1.01
	ZS7B25	0.00	1.75	2.50	0.00	1.06	1.30	0.25
	甘油 5 号	0.00	4.25	0.00	0.00	1.06	2.10	0.00
	陇油 1 号	0.00	4.00	0.00	0.00	1.00	2.00	0.00
	黔油 14 号	2.75	0.00	0.00	0.00	0.69	1.40	0.25
	ZS7B16	0.50	2.00	0.00	0.00	0.63	0.90	0.00
	宁油 12 号	0.00	2.00	0.00	0.00	0.50	1.00	0.00
	中双 11 号	0.00	1.75	0.00	0.00	0.44	0.90	0.25
	中双 10 号(选)	0.50	0.00	0.00	1.25	0.44	0.60	0.00
	中油低芥 1 号	0.00	1.50	0.00	0.00	0.38	0.80	4.81
	湘油 15 号	0.75	0.00	0.00	0.25	0.25	0.40	0.00
	中双 8 号	0.00	0.50	0.00	0.00	0.13	0.30	0.25
	沪油 9 号	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25
	华黄 1 号	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	沪油 15 号	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	中双 4 号	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	绵油 12 号	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	荆油 005	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.75
平均值		7.52	11.20	6.41	5.66	7.70	4.88	2.66
标准差		10.86	12.75	10.46	9.52	9.47	4.75	6.28

深度下 4 次重复的种子休眠率平均数和标准差数据.

数据表明, 49 个品种的平均休眠率为 0~40%. 休眠率较高的品种(平均休眠率 20%以上)有早丰 4 号(40.19%±5.2%)、R2(OCRI-CAAS) (29.69%±4.21%)、R8(OCRI-CAAS) (24.00%±14.25%)、Tower(23.63%±7.81%)、中双 9 号(23.63%±7.01%)、红油 2 号(22.63%±7.28%)、中双 5 号(22.19%±13.61%)和 R6(OCRI-CAAS) (21.69%±14.48%).

品种休眠率为 5%~15% 的品种有 R5(OCRI-CAAS)、豫油 2 号、宁油 10 号、川油 22、ZS7B22、黔油 8 号、821、湘油 10 号、赣油 1 号、秦油 3 号、陕油 3 号、浙双 3 号、ZS7B10、中双 10 号.

休眠性较弱(1%~5%) 的品种有 R13(OCRI-CAAS)、R9(OCRI-CAAS)、安农(选)、Parter、陕油 8 号、中双 7 号、中双 6 号、沪油 16、湘油 17 号、甘油 5 号、ZS9-90215、陇油 1 号、ZS7B25.

基本无休眠的品种有(休眠率低于 1%)黔油 14 号、ZS7B16、宁油 12 号、中双 11 号、中双 10 号(选)、中油低芥 1 号、湘油 15 号、中双 8 号、沪油 9 号、华黄 1 号、沪油 15 号、中双 4 号、绵油 12 号、荆油 005.

6 个人工合成甘蓝型油菜的休眠率为 4.19%~24.00%, 平均为 16.35%. 5 个转基因品系的平均休眠率为 0.63%~11.19%, 平均为 4.13%.

2.2 PEG 处理法检测结果

49 个品种 PEG 诱导休眠结果显示, 绝大多数品

种未检测到休眠, 36 个品种休眠率低于 1%. 休眠率大于 5%的品种只有中双 10 号(33.75%)、早丰 4 号(19.00%)、R5(OCRI-CAAS) (17.67%)、821 (12.25%)、中双 9 号(9.89%)、宁油 10 号(8.75%)和中双 6 号(6.50%). PEG 诱导的平均休眠率为 2.66%. 6 个人工油菜品系 PEG 诱导休眠率为 0~17.7%, 平均值为 4.03%. 5 个转基因品种 PEG 诱导休眠的比例为 0~1.01%, 平均值为 0.30%.

2.3 相关分析

不同埋藏深度和不同埋藏时间以及 PEG 处理得到的休眠率相关系数见表 3.

由表 3 可见, 4 种埋藏方法得到休眠率结果是一致的, 4 种方法间的相关性均达到极显著水准. 与 PEG 测试方法相比, 只有 6 个月的休眠性达到显著相关, 9 个月的结果未达到显著相关水平.

成对 *t* 检验表明, 埋藏 9 个月 3 和 20 cm 深度

表 3 不同处理诱导种子休眠数据的相关性分析^{a)}

	6 个月 20 cm	9 个月 3 cm	9 个月 20 cm	PEG
6 个月 3 cm	0.686**	0.736**	0.778**	0.316*
6 个月 20 cm		0.517**	0.701**	0.294*
9 个月 3 cm			0.641**	0.165
9 个月 20 cm				0.235

a) *表示成对性状在 $P<0.05$ 水平显著相关; **表示成对性状在 $P<0.01$ 水平显著相关($n-2=45$ 时, $r_{0.05}=0.288$, $r_{0.01}=0.372$)

表 4 种子休眠数据方差分析

处理	变异来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i>	$\sigma^2_{\text{g}}(\%)$	$\sigma^2_{\text{p}}(\%)$	$h^2_{\text{b}}(\%)$
PEG	品种间	0.782	48	0.016	18.291	0.40	0.50	82.10
	组内	0.131	147	0.001				
	总变异	0.912						
6 个月 3 cm	品种间	2.542	48	0.053	4.434	1.30	2.50	52.60
	组内	1.755	147	0.012				
	总变异	4.297						
6 个月 20 cm	品种间	3.552	48	0.074	2.669	1.80	4.60	40.00
	组内	4.076	147	0.028				
	总变异	7.627						
9 个月 3 cm	品种间	2.319	48	0.048	3.035	1.20	2.80	43.10
	组内	2.340	147	0.016				
	总变异	4.659						
9 个月 20 cm	品种间	1.861	48	0.039	5.232	1.00	1.70	56.70
	组内	1.089	147	0.007				
	总变异	2.950						

的次生休眠率检测结果无显著差异($P=0.5400$),但是,埋藏6个月时3与20 cm深度的次生休眠率检测结果差异极显著($P=0.0076$). 同样是埋藏3 cm,6和9个月的结果差异不显著($P=0.3724$),而埋藏20 cm时,6和9个月的结果差异极显著($P=9.5\times 10^{-5}$). 可见,环境条件的变化对测试结果有显著影响.

2.4 方差分析

表4中方差分析显示,4种埋藏方法检测到的休眠性均显示品种间差异达到显著和极显著水平(F 值分别为2.669~5.232),说明次生休眠性受基因型控制.9个月20 cm检测结果的 F 值最大,达到极显著.4种埋藏检测方法的广义遗传率为40%~53%,环境条件对次生休眠的影响与基因型的影响相当.

PEG法检测的休眠性显示出极显著基因型差异,

F 值高达18.29,广义遗传率达到82.1%($df_1=40$, $df_2=40$ 时, $F_{0.05}=1.88$, $F_{0.01}=2.11$). 这些数据说明PEG检测法受环境影响小,主要反映基因型差异.

2.5 埋藏处理中表现出深度休眠的品种

在埋藏研究中有些品种的部分种子从土壤中取出后给予适宜条件仍不发芽,这些种子经破眠处理后发芽.6个月埋藏处理实验得到的数据显示有需要破眠处理的品种见图1(a),9个月埋藏处理得到的品种见图1(b).

2.6 转基因品种的休眠性研究结果

本研究选用的5个转基因品系中,ZS9-90215的受体为中双9号,转入的是 $EPSPS$ 基因,由图2(a)可看到在各种处理条件下转基因品系在休眠性上都低

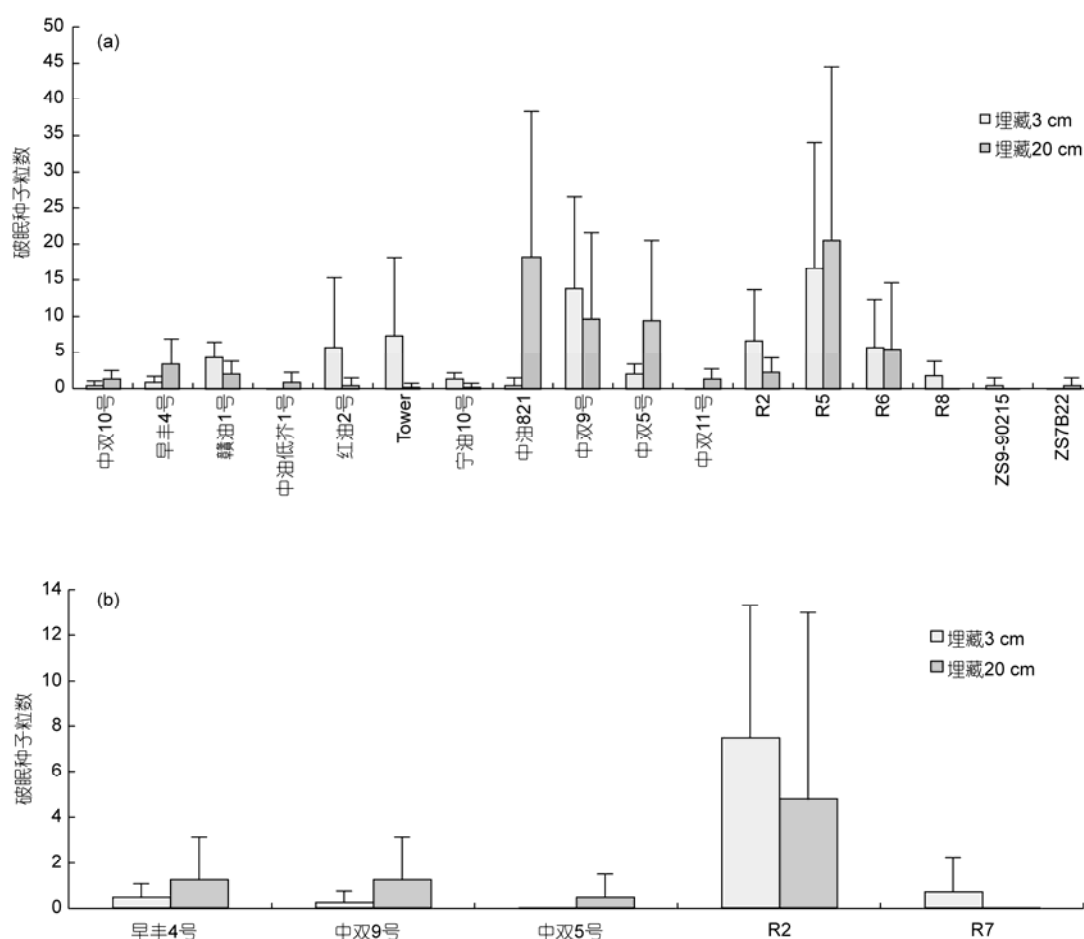


图1 埋藏处理中表现深度休眠的品种

(a) 6个月埋藏处理表现出深度休眠的品种; (b) 9个月埋藏处理显现出深度休眠的品种

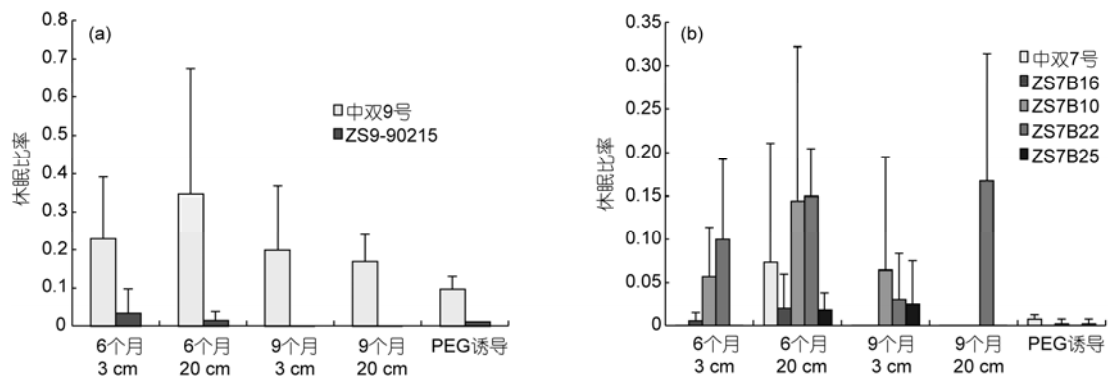


图2 转基因品种与其受体品种休眠性的对比

(a) 中双9号转基因受体与转基因品种休眠性比较; (b) 中双7号转基因受体与转基因品种休眠性比较

于受体品种, t 检验显示受体与转基因品系之间的休眠性存在极显著差异. 另外, 4 个转基因品系受体是中双7号, 转入的是同一基因(*Bar*), t 检验显示这些转基因品种与受体间并没有表现出显著差异(图 2(b)).

3 讨论

油菜种子次生休眠特性的检测国内外主要采取 2 类方法: 实验室诱导法和田间埋藏处理法. 实验室诱导法由 Pekrun 和 Lutman^[12]建立, 是用 PEG 作为诱导剂处理种子后, 调查种子的发芽情况, 作为休眠性指标. 田间埋藏处理法是将种子埋入土中模拟落粒种子的自然生存状况, 分析不发芽的活种子所占比率. 有关油菜次生休眠特性的研究, 在欧洲已有一些报道^[12], 但是我国目前为止还很少开展相关研究. 在国外油菜种子休眠的研究常采用 Pekrun 等人^[1]建立的 PEG 诱导法进行. Gruber 等人^[20]对常规品种和转基因品种进行了埋藏法和 PEG 诱导法的相关性分析, 结果发现这 2 种方法得到的结果极显著相关. 然而, 在本研究中, PEG 诱导法只与 6 个月埋藏处理法有显著正相关, 与 9 个月埋藏处理的相关性不显著, 表明用 PEG 诱导法评估油菜种子的休眠需要开展更加深入的研究, 对其结果的解释也需要谨慎. 埋藏实验受环境条件(如温度、光照、氧气供应、土壤物理化学特性等)影响较大, 但是可以较好地反映真实自然条件. PEG 诱导法只能从一个角度(如缺水)出发研究对种子次生休眠的影响. 因此, 2 种方法要根据实验目的的不同进行评估.

本研究显示, 在我国广泛种植的甘蓝型油菜品种种子次生休眠性有很大的遗传多样性, 4 种埋藏方

法检测到的次生休眠性的广义遗传率为 40%~53%, PEG 法检测的休眠性广义遗传率高达 82.1%, 说明油菜次生休眠特性是一种遗传特性, 可以通过育种进行改良. 张锦芳等人^[21]对四川甘蓝型油菜地方种进行的研究也显示, 四川甘蓝型油菜地方种之间休眠特性差异显著. 本研究选择的大部分甘蓝型油菜品种只表现出较低的休眠性, 且有一些品种并没有表现出休眠性, 这与毕辛华和戴心维^[22]的研究相吻合. 研究筛选出的品种沪油 9 号、华黄 1 号、沪油 15、中双 4 号这 4 个品种无论是在 PEG 诱导还是在埋藏研究中都几乎没有表现出休眠性, 常规品种中早丰 4 号、中双 9 号、Tower、红油 2 号在各种处理条件下都表现出强休眠性. 育种工作者在育种时可以有目的地选择休眠性较低的品种, 这样可以降低自生苗和基因扩散的风险^[23], 也有利于提高油菜产量和品质, 并减少自生苗管理成本.

转基因油菜基因扩散问题引起社会普遍关注. 我国有人对油菜花粉介导的基因飘逸问题开展研究^[24~26], 但国内很少有关于种子介导基因扩散研究的报道. 本研究比较了转基因品种和受体次生休眠特性的变化. 结果显示, 以中双 9 号品种为受体的转基因品系次生休眠性显著低于受体品种中双 9 号, 而以中双 7 号为受体的不同转基因品系间次生休眠性变异较大, 但差异都未达到显著水平. 转基因油菜的休眠性是环境安全评价的一个重要指标, 休眠性强的转基因种子容易造成外源基因扩散, 增加环境安全的风险. 由本文的结果可以看出, 在受体相同的情况下, 不同的转化事件休眠性变化较大, 很难仅从受体或转入的基因来判断转基因品种的休眠性. Gruber

等人^[27]的研究也显示转基因品种的休眠性可能与受体品种差异较大。转基因品种的休眠性要采取个案分析原则,以实地埋藏研究得到的数据为准。

人工合成的甘蓝型油菜种子休眠性变异较大,成组测验结果显示,人工油菜的次生休眠性显著高于天然油菜品种($P=0.039$)。本次实验检测的 6 个人工合成甘蓝型油菜品系中有 4 个表现出较强的次生休眠性。研究显示,人工合成的甘蓝型油菜基因组通过二倍体化过程发生显著变化,可影响到基因转录和性状的表现,因此,次生休眠表现出较大的变异性也是可以理解的。经过自然选择和人工选择过程,可以对次生休眠特性进行定向选择。所以,人工合成的

甘蓝型油菜可能是研究油菜种子休眠相关基因很好的材料。

在本实验中,有些品种在经过埋藏处理后即使给予了适当发芽条件仍不萌发,这一类的油菜种子被认为休眠程度较深。本实验对这些种子采取浓度为 200 mg L^{-1} 的赤霉素,外加 30°C 、光照 12 h 和 3°C 、黑暗 12 h 交替变化进行破眠处理,经过破眠处理后不发芽的种子全部发芽,表明油菜的次生休眠可能与内源激素或温度和光照有关。次生休眠很强的种子可以在土壤中存活很长时间,有的甚至可以存活 10 年以上,这类种子更容易导致基因扩散,并给育种和生产带来更大的环境风险。

参考文献

- 1 Pekrun C, Lutman P J W, Baeumer K. Germination behaviour of dormant oilseed rape seeds in relation to temperature. *Weed Res*, 1997, 37: 419–431
- 2 Chadoeuf R, Darmency H, Maillet J. Survival of buried seeds of interspecific hybrids between oilseed rape, hoary mustard and wild radish. *Field Crop Res*, 1998, 58: 197–204
- 3 Lutman P J, Pekrun C, Albertini A. Dormancy and Persistence of Volunteer Oilseed Rape. Research and Development Project Report OS32, Home-Grown Cereals Authority, London, 1998
- 4 Schlink S. 10 years survival of rape seed (*Brassica napus* L.) in soil. *Z Pflanzenk Pflanzen*, 1998, Special Issue XVI: 169–172
- 5 Bowerman P. Comparison of harvesting methods of oilseed rape. *Asp Appl Biol*, 1984, 6: 157–165
- 6 Vera C L, McGregor D I. Detrimental effects of volunteer *Brassica* on production of certain cereal and oilseed crops. *Can J Plant Sci*, 1987, 67: 983–995
- 7 Lutman P J W. The occurrence and persistence of volunteer oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Asp Appl Biol*, 1993, 35: 29–36
- 8 Brown J, Erickson D A. Effects of swathing on yield and quality of spring canola (*Brassica napus* L.) in the Pacific Northwest. In: *Proceedings of the 9th International Rapeseed Congress*. GCIRC, Cambridge, 1995. 1: 339–341
- 9 Price J S, Hobson R N, Neale M A, et al. Seed losses in commercial harvesting of oilseed rape. *J Agric Eng Res*, 1996, 65: 183–191
- 10 Zhu Y M, Li Y D, Colbach N, et al. Seed losses at harvest and seed persistence oilseed rape (*Brassica napus*) in different conditions in Chinese farming systems. *Weed Res*, 2012, 52: 317–326
- 11 Guden R H, Shirliffe S J. Harvest losses of canola (*Brassica napus* L.) cause large seedbank input. *Weed Sci*, 2003, 51: 83–86
- 12 Pekrun C, Lutman P J W. Induction of secondary dormancy in rape seeds (*Brassica napus* L.) by prolonged imbibition under conditions of water stress or oxygen deficiency in darkness. *Eur J Agron*, 1997, 6: 245–255
- 13 Momoh E J J, Zhou W J. Variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape genotypes under conditions of stress. *Weed Res*, 2002, 42: 446–455
- 14 Bewley J D, Black M. Dormancy and the control of germination. In: Bewley J D, Black M, eds. *Seeds: Physiology of Development and Germination*. New York: Plenum Press, 1994. 199–267
- 15 Squire R G. Temperature and heterogeneity of emergence time in oilseed rape. *Ann Appl Biol*, 1999, 135: 439–447
- 16 Mohler C L, Calloway M B. Effects of tillage and mulch on the emergence and survival of weeds in sweet corn. *J Appl Ecol*, 1992, 29: 21–34
- 17 Bowerman P. Effects of cultivation upon volunteer oilseed rape. *Asp Appl Biol*, 1993, 35: 163–166
- 18 Dyer W E. Exploiting weed seed dormancy and germination requirements through agronomic practices. *Weed Sci*, 1995, 43: 498–503
- 19 Pekrun C, Hewitt J D J. Cultural control of volunteer oilseed rape (*Brassica napus* L.). *J Agr Sci*, 1998, 130: 155–163
- 20 Gruber S, Pekrun C, Claupein W, et al. Population dynamics of volunteer oilseed rape (*Brassica napus* L.) affected by tillage. *Eur J Agron*, 2004, 20: 351–361
- 21 张锦芳, 蒲晓斌, 李浩杰, 等. 四川甘蓝型油菜地方种和推广品种休眠特性的比较研究. *中国农学通报*, 2005, 21: 135–137

- 22 毕辛华, 戴心维. 油菜种子休眠特性的研究. 种子世界, 1987, (7): 12–16
- 23 Edwin J J M. 次生休眠——甘蓝型自生油菜的发生及对作物生产的影响. 博士学位论文. 杭州: 浙江大学, 2002
- 24 蔡丽, 周必文, 郭学兰, 等. 在中国环境条件下油菜花粉介导的除草剂抗性基因飘逸. 科学通报, 2008, 53: 1544–1551
- 25 赵祥祥, 陆卫平, 戚存扣, 等. 通过杂交亲和性评估外源抗除草剂基因在十字花科植物间的流动. 科学通报, 2005, 50: 1731–1737
- 26 Zhao X X, Tang T, Chen G M, et al. Rationalizing the isolation distance needed for field trials involving genetically modified rapeseed (*Brassica napus* L.) in China. Chin Sci Bull, 2013, doi: 10.1007/s11434-012-5595-z
- 27 Gruber S, Pekrun C, Claude W. Seed persistence of oilseed rape (*Brassica napus*): Variation in transgenic and conventionally bred cultivars. J Agr Sci, 2004, 142: 29–40

Genetic diversity of secondary dormancy of in rapeseed accessions (*Brassica napus*)

YOU QingBo^{1,2}, LIU Yan⁴, ZENG XinHua², ZHAO XiangXiang^{2,3} & LU ChangMing²

¹ College of Life Sciences, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China;

² Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture, Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China;

³ Jiangsu Key Laboratory for Eco-Agriculture and Biotechnology around Hongze Lake, Huaiyin Normal College, Huai'an 223300, China;

⁴ Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Nanjing 210042, China

Secondary dormancy refers to dormancy induced in originally non-dormant seeds because of unsuitable environmental conditions. It is responsible for the long-term existence of underground seed banks in rapeseed-producing areas and oilseed rape volunteers. In this study, genetic diversity of secondary dormancy was evaluated in 49 *Brassica napus* accessions using four seed burial methods and one PEG treatment. Significant differences in secondary dormancy were observed among different accessions of *B. napus*. Secondary dormancy varied from 0 to 44% based on values obtained using the four burial methods, with broad sense heritability ranging from 40% to 53%. Accessions exhibiting less than 2% secondary dormancy accounted for 45% of the 49 varieties, with 38.8% of the accessions having secondary dormancy rates of 2%–20% and 16.3%, including Zaofeng 4, Tower, ZS 9, Hongyou 2, and ZS 5, with secondary dormancy rates of 20%–40%. Broad sense heritability obtained under PEG treatment was 82.1%. Using correlation analysis, we found a significant positive correlation between different periods and depths in seeds subjected to burial treatment. For the PEG-induced seed secondary dormancy data, a significant correlation was found only with some of the burial treatments. Burial experiments revealed that seeds of some accessions can enter into deeper dormancy, and that these accessions may survive longer in soil.

***Brassica napus*, secondary dormancy, burial method, PEG-induced method**

doi: 10.1360/972013-12