

奶白菜核基因雄性不育系的选育与利用

徐 巍¹ 冯 辉²

(1. 石河子大学 农学院, 新疆 石河子 832003; 2. 沈阳农业大学 园艺学院, 辽宁 沈阳 110161)

摘要: 为解决奶白菜杂交种生产中的杂交制种手段问题, 配制优良杂交种。以核不育“复等位基因遗传”假说为指导, 以青梗白菜核基因雄性不育系 00S107 作不育源, 采用连续回交转育同时测交鉴定基因型的方法, 定向转育奶白菜核基因雄性不育系。并利用转育成的不育系与奶白菜优良自交系配制杂交组合, 进行了杂种优势分析。选育出园艺学性状与目标品系相似, 具有 100% 不育株率和不育度的奶白菜核基因雄性不育系 GMS_3 , 筛选出 2 个产量高、整齐度高的优异杂交组合 $GMS_3 \times B_1$ 、 $GMS_3 \times B_2$ 。定向转育模式兼顾了不育基因和园艺学性状的转育, 解决了奶白菜核不育系转育和利用的难题。

关键词: 奶白菜; 定向转育; 核基因雄性不育系; 杂交组合

中图分类号: S634.01 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2013)01-0048-05

Breeding and Utilization of the Genetic Male Sterile Line in Milk Chinese Cabbage

XU Wei¹ FENG Hui²

(1. College of Agronomy, Shihezi University, Shihezi 832003, China; 2. College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: In order to resolve the problem that cross breeding and production of hybrid in milk Chinese cabbage. According to the hypothesis of multiple allele inherited genetic male sterile, A genetic male sterile line of Chinese cabbage with green stipe 00S107 was used as a source of male sterility and methods of continuous backcrossing and identifying of the genotypes were applied to transfer the male sterile line of milk Chinese cabbage. Hybridized combinations were obtained by the male sterile line as female parent cross with excellent self-line and we analysed the hybrid vigor. A new genetic male sterile line GMS_3 with 100% male sterile plants and 100% male sterility was obtained. Two excellent hybridized combinations $GMS_3 \times B_1$, $GMS_3 \times B_2$ were selected, which is uniform and superior to CK in yield. Directional transfer model which transfer sterile gene and horticultural characters at the same time resolved the puzzle that breeding and utilization of the genetic male sterile line in milk Chinese cabbage.

Key words: Milk Chinese cabbage; Directional transferring; Genetic male sterile line; Combinations

奶白菜是十字花科芸薹属芸薹种白菜亚种中的一类白帮绿叶、株型矮肥、叶柄宽厚、优质耐热的品种, 栽培地区从南方逐渐扩展到北方, 近年来也成为设施栽培的高档叶菜品种之一。但目前生产上使用的只有普通奶白菜和矮脚奶白菜、港种奶白菜等少数常规品种, 存在着单位面积产量低、整齐度差、易抽薹等问题。奶白菜为两性花异花授粉, 杂种优势十分显著, 因此优势杂交育种可能解决这些问题, 而

雄性不育系的利用是杂交制种经济有效的途径。

冯辉等^[1-2]首先发现了大白菜核基因雄性不育“复等位基因遗传”现象, 根据“复等位基因遗传”假说, 许多学者开展了不育系转育研究^[3-11]。冯辉等^[12]将大白菜核不育复等位基因转入青帮小白菜“苏州青”, 育成了具有 100% 不育株率和不育度的青梗白菜核基因雄性不育系 00S107。本试验利用上述不育系为不育源, 设计定向转育方案, 采用连续

收稿日期: 2012-11-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(30671414); 国家“863”项目(20060110Z1072)

作者简介: 徐 巍(1982-), 女, 辽宁抚顺人, 讲师, 硕士, 主要从事蔬菜遗传育种研究。

通讯作者: 冯 辉(1961-), 男, 辽宁法库人, 教授, 博士, 主要从事蔬菜遗传育种研究。

回交转育同时测交鉴定基因型的方法,实现了核不育基因与园艺学性状的同时转育,获得了与目标品系性状相似,具有 100% 不育株率和不育度的奶白菜核基因雄性不育系 GMS_3 。利用该核不育系与奶白菜优良自交系配制杂交组合,并进行品种比较试验,筛选出 2 个整齐度高、产量显著高于对照品种的优异杂交组合 $GMS_3 \times B_1$ 、 $GMS_3 \times B_2$ 。

1 材料和方法

1.1 试验材料

不育源材料: 青梗白菜核不育系 00S107; 自交系材料: 奶白菜自交系 B_1 ; 特矮奶白菜自交系 B_2 。

1.2 试验方法

根据白菜核不育“复等位基因遗传”特性,以已知基因型不育系 00S107 作母本,奶白菜自交系 B_1 作父本进行测交,鉴定基因型。根据转育目标品系基因型,设计转育方案,采用常规的杂交、回交和自交方法转育核不育基因和园艺学性状。采用萌动种子春化处理 and 长日照诱导方法,每年完成 2~3 个世代的有性繁殖。将转育成的不育系与奶白菜自交系 B_1 、 B_2 配制杂交组合,以矮脚奶白菜 S1、港种奶白菜

S2、亚里山矮脚奶白菜 S3 作对照进行品种比较试验。随机区组设计,3 次重复,每小区种植 30 株,行株距 20 cm × 15 cm。

样本容量按公式 $n \geq \lg(0.01) / \lg(1-p)$ 计算; 适合性测验按公式 $\chi^2 = [A - ra] - (r+1)/2$; 变异系数 $CV = S/X \times 100$ 。

2 结果与分析

2.1 奶白菜转育目标品系基因型鉴定

按照白菜核不育“复等位基因遗传”特性^[1-2],普通可育品系的基因型可以通过与不育系(基因型 $Msms$) 杂交后代的育性分离比率进行鉴定。以青梗白菜核不育系为母本,与奶白菜转育目标品系杂交, F_1 育性鉴定结果全部为可育株,因此推断该奶白菜目标品系在不育位点上的基因型为 $Ms^f Ms^f$ 。

2.2 奶白菜核基因雄性不育系的转育

以青梗白菜核不育系 00S107(基因型 $Msms$) 与奶白菜自交系 B_1 杂交, F_1 表现为全可育,植株基因型有 $Ms^f Ms^f$ 和 $Ms^f ms$ 2 种。随机取 6 株自交,通过自交后代育性分离比率鉴定 F_1 各植株基因型,结果见表 1。

表 1 核不育系 00S107 与奶白菜 AI023 杂交 F_2 代育性分离比率

Tab. 1 Fertility expression of progenies from F_2 of 00S107 × AI023

组合 Combinations	可育株: 不育株 Fertile plants: Sterile plants	理论比例 Theoretical ratio ($\chi^2_{0.05,1} = 3.841$)	F_1 基因型 F_1 genotype
(00S107 × AI023) -1 ⊗	38: 10	3: 1 (0.250)	$Ms^f Ms$
(00S107 × AI023) -2 ⊗	34: 11	3: 1 (0.007)	$Ms^f Ms$
(00S107 × AI023) -3 ⊗	50: 7	3: 1 (4.263)	$Ms^f Ms$
(00S107 × AI023) -4 ⊗	44: 11	3: 1 (0.491)	$Ms^f Ms$
(00S107 × AI023) -5 ⊗	48: 0	全可育	$Ms^f ms$
(00S107 × AI023) -6 ⊗	46: 0	全可育	$Ms^f ms$

从表 1 可知, F_1 -4 基因型为 $Ms^f Ms$, F_1 -5 基因型为 $Ms^f ms$ 。它们分别与转育目标品系 B_1 ($Ms^f Ms^f$) 连续回交。同时,再分别与核不育系 00S107 ($Msms$) 测交鉴定基因型。选择基因型为 $Ms^f Ms$ 和 $Ms^f ms$ 的回交后代,淘汰基因型为 $Ms^f Ms^f$ 的回交后代,在其自交后代中分别可选育出甲型两用系 ($MsMs$ 、 $Ms^f Ms$) 和临时保持系 ($msms$)。

各回交后代测交基因型鉴定的遗传模式如下:

$$\begin{aligned}
 Msms \times \begin{cases} Ms^f Ms \longrightarrow Ms^f Ms, Ms^f ms, MsMs, Msms \\ \hspace{10em} 1:1 \text{ (可育: 不育)} \\ Ms^f Ms \longrightarrow Ms^f Ms, Ms^f ms \\ \hspace{10em} \text{全可育} \end{cases} \\
 Msms \times \begin{cases} Ms^f Ms^f \longrightarrow Ms^f Ms, Ms^f ms \\ \hspace{10em} \text{全可育} \\ Ms^f ms \longrightarrow Ms^f Ms, Ms^f ms, Msms, msms \\ \hspace{10em} 3:1 \text{ (可育: 不育)} \end{cases}
 \end{aligned}$$

回交后代基因型鉴定结果见表 2。表 2 中测交育性为 1:1 的,被测植株基因型为 $Ms^f Ms$,测交育性为 3:1 的,被测植株基因型为 $Ms^f ms$ 。

从回交 3 代材料的自交后代中选育甲型两用系及临时保持系。实际自交后代鉴定结果见表 3。基因型 $Ms^f Ms$ 植株,其自交后代基因型为 $Ms^f Ms^f$ 、 $Ms^f Ms$ 、 $MsMs$,其中 $Ms^f Ms$ 和 $MsMs$ 为甲型两用系基因型。选 6 株可育株 ($Ms^f Ms^f$ 和 $Ms^f Ms$) 与不育株 ($MsMs$) 兄妹交,育性分离比率见表 4。由表 4 可知, A-2 × A-4、A-3 × A-13、A-6 × A-14、A-9 × A-18 这 4 个兄妹交组合出现 1:1 分离,即为奶白菜甲型两用系。

基因型为 $Ms^f ms$ 植株,其自交后代基因型为 $Ms^f Ms^f$ 、 $Ms^f ms$ 、 $msms$ 。选 16 株形似轮回亲本的植株与甲型两用系中不育株 ($MsMs$) 杂交,育性测验结果

见表 5。表 5 中 组合 A-3 × B-9、A-6 × B-12、A-10 ×

B-15 全不育 其亲本的自交后代即为奶白菜临时保

表 2 奶白菜核不育系转育各回交世代 Ms^fMs 与 Ms^fms 基因型鉴定结果

Tab. 2 Results of testing genotype of Ms^fMs and Ms^fms for transfer male sterile lines of milk Chinese cabbage in BC_1 , BC_2 , BC_3

转育方向 Transfer direction	代号 Code	组合 Combinations	可育株: 不育株 Fertile plants: Sterile plants	理论比例 Theoretical ratio ($\chi^2_{0.05,1} = 3.841$)
两用系转育方向 AB line direction	BC_1	$00S107 \times ((00S107 \times B1) -1 \times B1) -4$	17: 19	1: 1 (0.028)
	BC_2	$00S107 \times ((00S107 \times B1) -1 \times B1) -4 \times B1) -4$	16: 13	1: 1 (0.138)
	BC_3	$00S107 \times (((00S107 \times B1) -1 \times B1) -4 \times B1) -4 \times B1) -5$	29: 25	1: 1 (0.025)
保持系转育方向 Maintainer line direction	BC_1	$00S107 \times ((00S107 \times B1) -5 \times B1) -6$	37: 8	3: 1 (0.896)
	BC_2	$00S107 \times (((00S107 \times B1) -5 \times B1) -6 \times B1) -3$	38: 11	3: 1 (0.061)
	BC_3	$00S107 \times (((00S107 \times B1) -5 \times B1) -6 \times B1) -3 \times B1) -7$	38: 12	3: 1 (0.000)

表 3 奶白菜核不育系转育回交 3 代基因型 Ms^fMs 和 Ms^fms 植株自交后代育性分离比率

Tab. 3 Fertility expression of progenies from the plants of Ms^fMs and Ms^fms BC_3 selfing for transfer male sterile lines of milk Chinese cabbage

代号 Code	组合 Combinations	可育株: 不育株 Fertile plants: Sterile plants	理论比例 Theoretical ratio ($\chi^2_{0.05,1} = 3.841$)
两用系转育方向 AB line direction	$((((00S107 \times B1) -1 \times B1) -4 \times B1) -4 \times B1) -5 \otimes$	39: 14	3: 1 (0.006)
保持系转育方向 Maintainer line direction	$((((00S107 \times B1) -5 \times B1) -6 \times B1) -3 \times B1) -7 \otimes$	53: 0	全可育 Fertile

表 4 奶白菜核不育系转育回交 3 代甲型两用系测配结果

Tab. 4 Results of the test crosses for breeding AB line type I from self-cross progenies of BC_3 for transfer male sterile lines of milk Chinese cabbage

组合 Combinations	可育株: 不育株 Fertile plants: Sterile plants	理论比例 Theoretical ratio ($\chi^2_{0.05,1} = 3.841$)	基因型 Genotype
A-2 × A-4	18: 13	1: 1 (0.516)	Ms^fMs , $MsMs$
A-3 × A-13	22: 13	1: 1 (1.829)	Ms^fMs , $MsMs$
A-5 × A-15	38: 0	全可育	Ms^fMs
A-5 × A-8	41: 0	全可育	Ms^fMs
A-6 × A-14	25: 19	1: 1 (0.568)	Ms^fMs , $MsMs$
A-9 × A-18	19: 10	1: 1 (2.207)	Ms^fMs , $MsMs$

表 5 奶白菜核不育系转育回交 3 代临时保持系测配结果

Tab. 5 Results of testing genotype of temporary maintainer lines in selfing progenies of BC_3 for transfer male sterile lines of milk Chinese cabbage

组合 Combinations	可育株: 不育株 Fertile plants: Sterile plants	理论比例 Theoretical ratio ($\chi^2_{0.05,1} = 3.841$)	基因型 Genotype
A-2 × B-1	36: 27	1: 1 (1.016)	Ms^fMs , $Msms$
A-3 × B-2	25: 26	1: 1 (0.000)	Ms^fMs , $Msms$
A-5 × B-3	45: 0	全可育	Ms^fMs
A-6 × B-4	12: 10	1: 1 (0.045)	Ms^fMs , $Msms$
A-9 × B-5	24: 17	1: 1 (0.878)	Ms^fMs , $Msms$
A-10 × B-6	33: 0	全可育	Ms^fMs
A-2 × B-7	48: 0	全可育	Ms^fMs
A-3 × B-8	17: 18	1: 1 (0.000)	Ms^fMs , $Msms$
A-3 × B-9	0: 52	全不育	$Msms$
A-5 × B-10	23: 20	1: 1 (0.093)	Ms^fMs , $Msms$
A-6 × B-11	28: 25	1: 1 (0.075)	Ms^fMs , $Msms$
A-6 × B-12	0: 23	全不育	$Msms$
A-9 × B-13	60: 0	全可育	Ms^fMs
A-10 × B-14	31: 28	1: 1 (0.068)	Ms^fMs , $Msms$
A-10 × B-15	0: 15	全不育	$Msms$
A-7 × B-16	32: 0	全可育	Ms^fMs

选取甲型两用系 A-2 × A-4 中的不育株作母本, 与临时保持系 B-12 后代杂交配制不育系。调查杂交后代植株群体的育性, 鉴定结果表明, 所获得的杂交后代植株群体不育度和不育株率均达到了 100%, 即成功转育了不育基因, 获得了奶白菜核基因雄性不育系 GMS₃。

2.3 奶白菜核不育系园艺学性状转育效果分析

核不育系在实际应用中一个最关键的问题就是

利用其配制的杂交种容易发生性状分离, 整齐度差, 难以在生产上应用。为解决该问题, 本研究采用多代回交, 定向转育的方法转育核不育系, 转育出的核不育系与奶白菜自交系性状比较结果见表 6。从表 6 可以看出, 回交 3 代后选育出的雄性不育系 GMS₃ 在株高、叶长、叶宽、叶柄长这些性状上与奶白菜自交系 B₁ 已十分接近, 说明该转育方案实现了园艺学性状与不育基因的同时转育。

表 6 奶白菜核不育系与目标品系的园艺学性状调查结果

Tab. 6 Horticultural characters of the male sterile line and target line of milk Chinese cabbage

试材 Materials	株高/cm Plant height	株幅/cm Angular divergence	叶长/cm Leaf length	叶宽/cm Leaf width	叶柄长/cm Petiole length	叶柄宽/cm Petiole width	单株质量/kg Plant weight
GMS ₃	12.410	23.756	10.385	10.925	7.671	2.185	0.074
B ₁	12.406	20.669	9.841	10.522	6.750	1.985	0.058

2.4 利用奶白菜核不育系试配杂交组合鉴定分析

以转育出的回交 3 代奶白菜核不育系做母本, 2 个奶白菜自交系 B₁、B₂ 做父本配制杂交组合, 以 3 个奶白菜常规品种 S1、S2、S3 做对照进行品种比较试验, 产量测定结果见表 7, 从表 7 可以看出组合 GMS₃ × B₁ 产量最高, 其次是 GMS₃ × B₂, 这 2 个杂交组合的产量显著高于其他 3 个常规品种 S1、S2、S3, 因

此说明这 2 个杂交组合杂种优势显著。另外, 植株群体变异度调查结果见图 1、2。从图 1、2 可以看出杂交组合 GMS₃ × B₁、GMS₃ × B₂ 各园艺学性状的变异系数均小于奶白菜常规品种 S1、S2、S3, 说明以回交 3 代不育系做母本配制的杂交组合整齐度明显高于奶白菜常规品种。从以上调查结果可以得出 GMS₃ × B₁、GMS₃ × B₂ 是 2 个优异的奶白菜杂交组合。

表 7 奶白菜杂交组合品种比较试验小区产量调查

Tab. 7 Plot yield of combinations in milk Chinese cabbage

组合 Combinations	重复 Replication			平均值 Average value
	I	II	III	
GMS ₃ × B ₁	2.220	2.314	2.208	2.247a
GMS ₃ × B ₂	2.168	2.207	2.326	2.234a
S1	2.040	1.978	2.007	2.008b
S2	1.769	1.635	1.548	1.651c
S3	1.847	1.659	1.824	1.777c

注: 数据后的不同小写字母表示 $P < 0.05$ 水平差异显著。
Note: The small letters represent significant at 0.05 level.

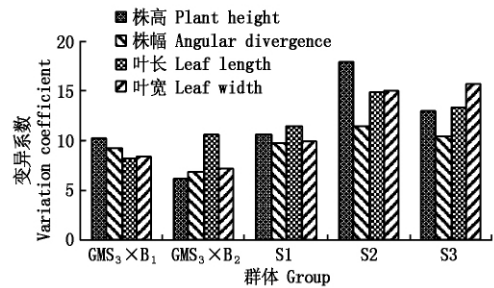


图 1 不同群体株高、株幅、叶长、叶宽变异度
Fig. 1 Variation degree in plant height, angular divergence, leaf length and leaf width of different groups

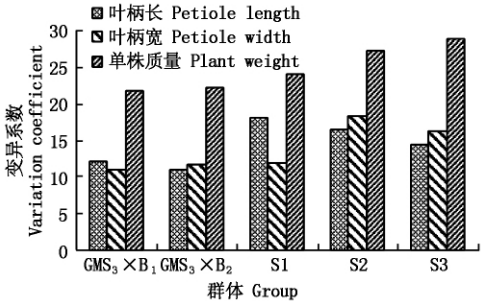


图 2 不同群体叶柄长、叶柄宽、单株质量变异度
Fig. 2 Variation degree in petiole length, petiole width and plant weight of different groups

3 讨论

对于十字花科芸薹属芸薹种内的蔬菜作物来说, 利用核基因雄性不育系配制商业杂交种, 主要存在着杂交种整齐度差的问题, 主要原因是不育系与

自交系之间性状差异大^[13-14]。本研究采用杂交一代与轮回亲本多代回交, 同时测交筛选基因型的方法, 实现了植物学性状与经济性状的转育, 待回交后代的园艺学性状与奶白菜自交系相似, 再进行甲型两用系基因型与临时保持系基因型的转育, 从而获

得了园艺学性状与奶白菜自交系相似,不育度与不育株率均达到 100% 的核基因雄性不育系。利用该不育系与奶白菜优良自交系配制杂交组合,杂种优势显著,整齐度高,筛选出了 2 个优异杂交组合 $GMS_3 \times B_1$ 、 $GMS_3 \times B_2$ 。本研究为奶白菜杂种优势的利用开辟了新的途径,同时该转育方法也可以应用于白菜亚种内其它变种或类型核不育系的转育。

参考文献:

- [1] 冯 辉,魏毓棠,许 明. 大白菜核基因雄性不育的复等位基因假说[C]. 辽宁省第二届青年学术年会论文集. 大连: 大连理工大学出版社, 1995: 149 - 153.
- [2] Feng H, Wei Y T, Xu M. Multiple allele model for genetic male sterility in Chinese cabbage[J]. Acta Horticulturae, 1996, 467: 133 - 142.
- [3] 闻凤英,宋连玖,王玉龙,等. 青麻叶结球白菜雄性不育系的转育[J]. 园艺学报, 2001, 28(2): 133 - 138.
- [4] 吕艳玲,陶承光,王 鑫. 利用杂交种转育大白菜核基因雄性不育系的研究[J]. 华北农学报, 2008, 23(3): 31 - 33.
- [5] 逯保德,赵美华,兰创业. 大白菜细胞质雄性不育系选育研究[J]. 山西农业科学, 2009, 37(5): 24 - 27.
- [6] 张德双,张凤兰,王永健,等. 大白菜细胞质雄性不育的分子鉴定及序列分析[J]. 华北农学报, 2007, 22(6): 53 - 59.
- [7] 杨皓宁,冯 辉,李 承. 大白菜核不育复等位基因的鉴定与分布[J]. 河南农业科学, 2008(4): 87 - 90.
- [8] 许 明,魏毓棠,白明义,等. 大白菜显性核基因雄性不育性向紫菜薹的转育初报[J]. 园艺学报, 2003, 30(1): 98 - 100.
- [9] 许 明,白明义,魏毓棠. 大白菜细胞核雄性不育基因向自交系 97A407 的转育[J]. 中国蔬菜, 2003(2): 8 - 10.
- [10] 岳艳玲,冯 辉. 核基因雄性不育在不同生态型大白菜间的转育[J]. 中国蔬菜, 2005(7): 22 - 23.
- [11] 岳艳玲,冯 辉. 核雄性不育基因向卵圆生态型大白菜中的成功转育[J]. 沈阳农业大学学报, 2005, 36(5): 603 - 605.
- [12] 冯 辉,王玉刚,林桂荣,等. 大白菜细胞核雄性不育基因向小白菜中转育的研究[J]. 河北科技师范学院学报, 2004(6): 10 - 13.
- [13] 张 庶,周新成,李利斌,等. 利用 EST-SSR 标记鉴定大白菜杂交种纯度的研究[J]. 天津农业科学, 2010, 16(6): 1 - 4.
- [14] 闫世江,赵 俊. 大白菜杂种优势预测研究[J]. 山西农业科学, 2007, 35(1): 33 - 35.