

小松菜核基因雄性不育系的选育

杨 宁,王 昊,尉利花,冯 辉

(沈阳农业大学 园艺学院 辽宁 沈阳 110866)

摘要:以复等位基因遗传的白菜核基因雄性不育系 06sx110 为试材,设计定向转育方案,采用连续回交转育性状的同时,测交筛选基因型的方法,向小松菜自交系 Y05 中转育雄性不育基因,育成了不育株率和不育度均为 100%、园艺学性状与自交系 Y05 相近的小松菜核基因雄性不育系 GMS₃。

关键词:小松菜;核基因雄性不育;选育

中图分类号:S634.3

文献标识码:A

文章编号:1000-7091(2011)04-0218-04

Studies on Breeding for the Genetic Male Sterile Line in Greens Komatsuna

YANG Ning, WANG Hao, YU Li-hua, FENG Hui

(Department of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: A directional transfer program was designed by using multiple allele inherited genetic male sterile line 06sx110 as the source of male sterility, and recurrent backcrossing was employed to transfer botanical traits, while the genotype was identified through test cross. Following this procedure, the male sterile gene was transferred to the target parent Y05 successfully. A new male sterile line GMS₃, which is similar to Y05 on botanical traits with 100% male sterility and 100% male sterile plants, was bred.

Key words: Greens Komatsuna; Genetic male sterility; Breeding

小松菜是不结球白菜 [*Brassica campestris* ssp. *Chinensis* (L.) Makino] 的一个变种。原产于中国,日本引进后改良形成了具有独特风味和营养的保健蔬菜。作为两性花异花授粉作物,小松菜具有显著的杂种优势。由于其花器官小,单花结籽少,而单位面积播种量又较大,要想利用杂种优势,必须首先解决杂交制种手段问题。雄性不育系的利用,是解决这一问题的理想途径。然而,迄今未见具有 100% 不育株率的小松菜核基因雄性不育系选育成功的报道。冯辉等^[1,2]首先发现了大白菜核不育复等位基因遗传现象,提出了“核基因雄性不育复等位基因遗传假说”,并育成了具有 100% 不育株率的大白菜核基因雄性不育系。为了扩大该类不育材料的应用范围,冯辉等^[3]设计了核基因雄性不育系定向转育方案,将在直筒型大白菜中发现的核不育基因转入到多种生态型的大白菜,以及奶白菜、青梗菜、菜心、菜薹等^[4-10]中,育成了多个新的雄性不育系。

本试验报道了小松菜核基因雄性不育系选育研究结果。

1 材料和方法

1.1 材料

核不育源材料:白菜核不育系 06sx110;转育目标品系:小松菜 Y05。

1.2 方法

试验于 2006-2010 年在辽宁省十字花科蔬菜遗传育种重点实验室进行,每年完成 2 个世代的有性繁殖。春季 2 月中旬播种,穴盘育苗,经 60 d 低温长日照诱导,定植于花盆。冬季加代种子于 8 月初进行春化处理,8 月下旬穴盘育苗,在温室中进行加代。

根据不育性的遗传特征,首先鉴定待转育目标的基因型,然后设计定向转育方案,采用常规有性杂交、回交、自交、兄妹交和测交方法实施转育,最后对新育成的核不育系进行田间性状调查。

收稿日期:2011-03-01

基金项目:国家自然科学基金项目(31071798)

作者简介:杨 宁(1983-),女,辽宁人,在读博士,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。

样本容量按公式 $n \geq \lg(0.01) / \lg(1 - p)$ 计算; 适合性测验取公式 $\chi^2_C = [|A - ra| - (r + 1) / 2]^2 / r \cdot n$ 。

2 结果与分析

2.1 大白菜核不育复等位基因遗传假说

根据“核不育复等位基因遗传假说”, 大白菜的不育性受同一位点 3 个基因控制: M_s 为显性不育基因; m_s 为 M_s 的等位隐性可育基因; M_s^f 为 M_s 的等位显性恢复基因。三者之间的显隐关系为 $M_s^f > M_s > m_s$ 。甲型“两用系”不育株基因型为 $M_s M_s$, 可育株为 $M_s^f M_s$, 其不育性可通过株系内不育株与可育株兄妹交保持; “临时保持系”基因型为 $m_s m_s$; 用甲型“两用系”不育株 ($M_s M_s$) 与“临时保持系” ($m_s m_s$) 杂交, 即可获得具有 100% 不育株率的雄性不育系。遗传模式如图 1。

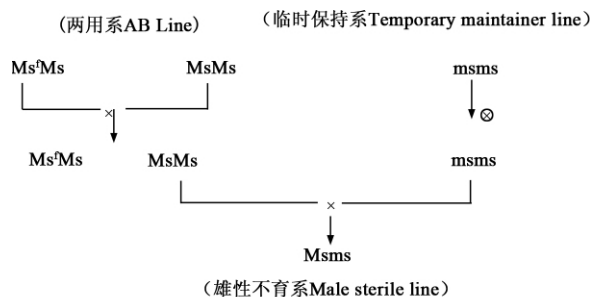


图 1 大白菜复等位基因遗传假说

Fig. 1 Multiple allele hypothesis in Chinese cabbage

2.2 小松菜可育品系基因型的鉴定

根据“核不育复等位基因遗传假说”, 普通可育品系在不育位点上的基因型有 3 种: $M_s^f M_s^f$, $M_s^f m_s$ 及 $m_s m_s$ 。通过核不育系 ($M_s m_s$) 与可育品系杂交后代的育性分离比率可鉴定出可育品系的基因型, 遗传模式如下:

$$M_s m_s \times \begin{cases} M_s^f M_s^f \longrightarrow M_s^f m_s, M_s^f M_s & \text{全可育} \\ M_s^f m_s \longrightarrow m_s m_s, M_s^f M_s, M_s^f m_s, M_s m_s & 3:1 \text{ (可育: 不育)} \\ m_s m_s \longrightarrow m_s m_s, M_s m_s & 1:1 \text{ (可育: 不育)} \end{cases}$$

以白菜核不育系 06sx110 ($M_s m_s$) 为母本, 与小松菜可育品系 Y05 杂交, F_1 育性鉴定全部为可育株 (可育株: 不育株 = 86:0), 说明小松菜 Y05 的基因型为 $M_s^f M_s^f$ 。

2.3 小松菜核基因雄性不育系的选育

2.3.1 转育遗传模式 经鉴定, 小松菜可育品系的基因型为 $M_s^f M_s^f$ 。采用白菜核不育系 06sx110 ($M_s m_s$) 为不育源进行转育, 遗传模式如图 2。

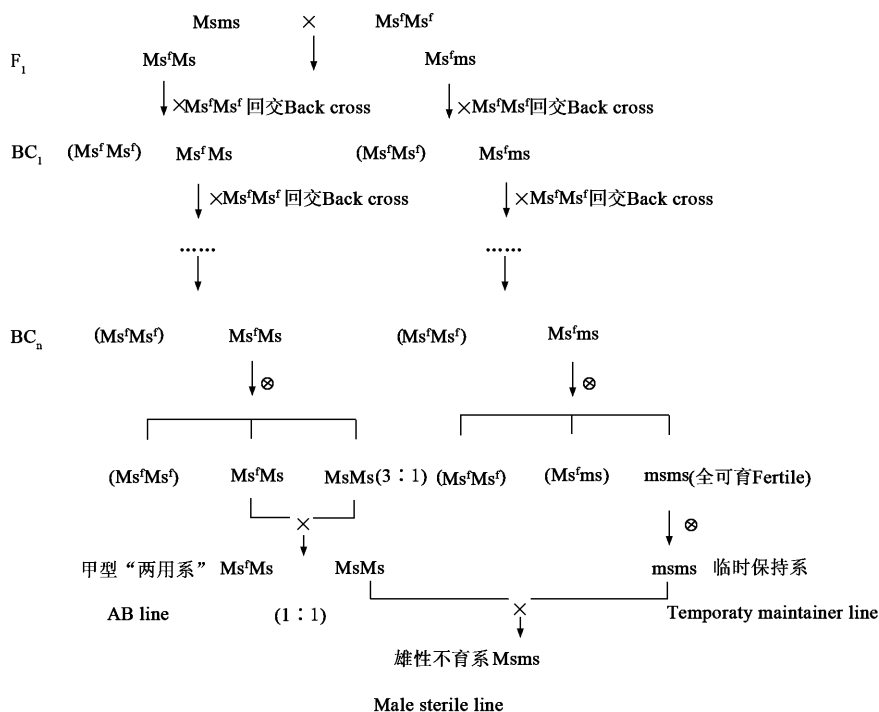


图 2 白菜核不育复等位基因定向转育模式

Fig. 2 Directional model for transferring multiple allele male sterility in Chinese cabbage

2.3.2 转育结果 按照图 2 转育模式, F_1 植株基因型有 2 种: $Ms^f Ms$ 和 $Ms^f ms$, 表现型都为可育。这两种基因型可通过 F_1 自交后代 F_2 的育性分离比率来判别:

$$Ms^f Ms \otimes \rightarrow Ms^f Ms^f, 2Ms^f Ms, MsMs \quad 3:1 \text{ (可育: 不育)}$$

表 1 白菜核不育系 06sx110 与小菘菜 Y05 杂交 F_1 自交结果

Tab. 1 Results of the genotype check of 06sx110 \times Y05 F_1

自交 Selfing	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
$F_1-1 \otimes$	47:0	全可育	$Ms^f ms$
$F_1-2 \otimes$	35:0	全可育	$Ms^f ms$
$F_1-3 \otimes$	21:8	3:1 (0.011)	$Ms^f Ms$
$F_1-4 \otimes$	43:0	全可育	$Ms^f ms$
$F_1-5 \otimes$	31:14	3:1 (0.600)	$Ms^f Ms$
$F_1-6 \otimes$	39:0	全可育	$Ms^f ms$
$F_1-7 \otimes$	29:13	3:1 (0.508)	$Ms^f Ms$

根据 F_1 自交分离比例, 可以确定所选 7 株 F_1 植株基因型。选取 F_1-2 ($Ms^f ms$) 和 F_1-3 ($Ms^f Ms$) 分别与转育目标品系 Y05 ($Ms^f Ms^f$) 连续回交, 并同时与核不育系 06sx110 ($Msms$) 测交鉴定基因型。选取基因型为 $Ms^f ms$ 和 $Ms^f Ms$ 的回交后代, 淘汰基因型为 $Ms^f Ms^f$ 的植株, 回交至三代后自交, 最终选育出甲型“两用系” ($Ms^f Ms$, $MsMs$) 和临时保持系 ($msms$)。

育: 不育)

$$Ms^f ms \otimes \rightarrow Ms^f Ms^f, 2Ms^f ms, msms \quad \text{全可育}$$

随机取 7 株 F_1 植株自交, 鉴定各植株基因型, 结果见表 1。

各回交后代测交基因型鉴定的遗传模式如下:

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

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

表 2 小菘菜 Y05 核不育系转育各回交世代基因型鉴定结果

Tab. 2 Results of the genotype check for transfer male sterile lines of Y05 in back cross generations

代号 Code	组合 Combination	可育株: 不育株 Fertile plants: Sterile plants	理论分离比例 Theoretical ratio ($\chi^2_{0.05, 1} = 3.841$)
BC ₁	06sx110 \times ((06sx110 \times Y05)-2 \times Y05)-2	27:11	3:1 (0.140)
BC ₂	06sx110 \times (((06sx110 \times Y05)-2 \times Y05)-2 \times Y05)-5	30:13	3:1 (0.379)
BC ₃	06sx110 \times (((((06sx110 \times Y05)-2 \times Y05)-2 \times Y05)-5 \times Y05)-3	29:12	3:1 (0.202)
BC ₁	06sx110 \times ((06sx110 \times Y05)-3 \times Y05)-7	19:16	1:1 (0.114)
BC ₂	06sx110 \times (((06sx110 \times Y05)-3 \times Y05)-7 \times Y05)-2	22:26	1:1 (0.188)
BC ₃	06sx110 \times (((((06sx110 \times Y05)-3 \times Y05)-7 \times Y05)-2 \times Y05)-1	20:24	1:1 (0.205)

BC₃ 基因型为 $Ms^f ms$ 和 $Ms^f Ms$ 植株自交后代的系”测配结果见表 4。
育性分离比例见表 3; 甲型“两用系”和“临时保持

表 3 BC₃ 基因型为 $Ms^f ms$ 和 $Ms^f Ms$ 植株自交后代育性分离比例

Tab. 3 Fertility expression of progenies from the plants of $Ms^f ms$ and $Ms^f Ms$ selfing of BC₃

代号 Code	组合 Combination	可育株: 不育株 Fertile plants: Sterile plants	理论分离比例 Theoretical ratio ($\chi^2_{0.05, 1} = 3.841$)
BC ₃	06sx110 \times (((((06sx110 \times Y05)-2 \times Y05)-2 \times Y05)-5 \times Y05)-3 \otimes)	41:0	全可育
BC ₃	06sx110 \times (((((06sx110 \times Y05)-3 \times Y05)-7 \times Y05)-2 \times Y05)-1 \otimes)	32:11	3:1 (0.008)

表 4 BC₃ 甲型“两用系”和临时保持系测配结果

Tab. 4 Results of test cross for breeding the AB line and temporary maintainer line in selfing progenies of BC₃

代号 Code	组合 Combination	可育株: 不育株 Fertile plants: Sterile plants	理论分离比例 Theoretical ratio ($\chi^2_{0.05, 1} = 3.841$)
BC ₃ (甲型“两用系”方向)	A3-2 \times A3-7	27:33	1:1 (0.417)
BC ₃ (“临时保持系”方向)	A3-4 \times B3-5	0:51	全不育

按照定向转育模式,经过 7 个有性世代的转育,获得了小菘菜回交 3 代核不育系 GMS_3 。育性调查结果表明,所获得的新核不育系的不育度和不育株率均为 100%。

2.4 不育系转育效果分析

对新不育系 GMS_3 进行植物学鉴定,经过 3 代连续回交所获得的核不育系的株高、株幅、叶长、叶宽、叶柄长、叶柄宽和单株质量已趋近于亲本品系 Y05,说明达到了定向转育的效果,结果见表 5。

表 5 小菘菜不育系 GMS_3 及其亲本植物学性状调查结果

Tab. 5 Observation on botanical traits of the male sterile line and the target line

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	单株重/kg Plant mass
GMS_3	12.150	31.456	22.050	12.536	10.250	1.016	0.160
Y05	11.520	34.500	21.525	12.300	10.750	1.100	0.155

注:以上数据为 10 株的平均值。
Note: Data in the table is the average value of 10 plants.

3 讨论

小菘菜异源胞质雄性不育系的选育研究已见报道^[11]。与胞质雄性不育材料相比,核基因雄性不育材料具有雄蕊退化彻底、不育性稳定、没有胞质负效应等特点,是比较理想的雄性不育类型^[12-14]。

按照本研究设计的定向转育方案,经过 3 次回交育成的小菘菜核基因雄性不育系,不育株率和不育度均达到了 100%,且在植物学性状上与目标品系相接近,性状稳定,群体整齐度高,达到了定向转育的效果,从根本上解决了该作物杂交制种手段问题。此方法可应用于白菜亚种其他变种或类型间核不育系的转育,进一步扩大该类不育材料的应用范围。

参考文献:

[1] Feng H, Wei Y T, Ji S J. Multiple allele model for genetic male sterility in Chinese cabbage [J]. Acta Horticulturae, 1998, 467:133 - 142.

[2] 冯 辉. 大白菜核基因雄性不育系遗传假说及其验证 [C]//韩振海,黄卫东,许雪峰. 中国科研第二届青年学术年会园艺学论文集. 北京:北京农业大学出版社, 1995: 458 - 466.

[3] 冯 辉. 大白菜核基因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, 18 (2): 10 - 13.

[4] 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.

[5] 李骋宇,冯 辉. 大白菜细胞核复等位基因型雄性不育系转育研究 [J]. 中国农学通报, 2006, 22 (7): 377 - 379.

[6] 王玉刚,冯 辉,林桂荣,等. 白菜核基因雄性不育系转育研究 [J]. 园艺学报, 2005, 32 (4): 628 - 631.

[7] 冯 辉,徐 巍,王玉刚. 奶白菜核基因雄性不育系定向转育研究 [J]. 园艺学报, 2007, 34 (3): 659 - 664.

[8] 冯 辉,姜 楠,李承彧. 橘红心大白菜核基因雄性不育系转育方法研究 [J]. 中国蔬菜, 2009 (12): 48 - 52.

[9] 辛 彬,冯 辉,杨晓飞,等. 青梗菜核基因雄性不育系转育研究 [J]. 中国蔬菜, 2009 (14): 38 - 42.

[10] 周 鹏,冯 辉,王 慧,等. 圆叶型菜心核基因雄性不育系转育研究 [J]. 西北农林科技大学学报, 2010, 38 (9): 87 - 94.

[11] 邵贵荣,陈文辉,方淑桂,等. 小菘菜异源胞质雄性不育系 CMS086 的选育 [J]. 福建农业学报, 2009, 24 (2): 113 - 116.

[12] 高国训,靳力争,任志雨,等. 芹菜隐性核基因雄性不育系转育研究 [J]. 华北农学报, 2009, 24 (3): 166 - 168.

[13] 王玉刚,岳艳玲,冯 辉,等. 菜心核基因雄性不育系转育研究 [J]. 华北农学报, 2006, 21 (6): 23 - 25.

[14] 徐 巍,冯 辉,辛建华,等. 乌塌菜和京水菜核基因雄性不育位点的基因型鉴定 [J]. 安徽农业科学, 2010 (22): 57 - 58.