

乌塌菜核基因雄性不育系的选育及利用

徐 巍^{1,2},冯 辉³

(1. 石河子大学 农学院,新疆 石河子 832003;2. 特色果蔬栽培生理与种质资源利用兵团重点实验室,
新疆 石河子 832003;3. 沈阳农业大学 园艺学院,辽宁 沈阳 110161)

摘要:为解决乌塌菜杂种优势利用中的杂交制种手段问题。以复等位基因遗传的小白菜核基因雄性不育系作不育源,采用杂交一代连续与乌塌菜轮回亲本回交,同时测交筛选基因型的方法,选育乌塌菜核基因雄性不育系。育成了具有 100% 不育株率和 100% 不育度,园艺学性状与目标品系相似的乌塌菜核基因雄性不育系 GMS_w ,利用该不育系配制并筛选出 2 个产量高于对照品种的优异杂交组合 $GMS_w \times A2$ 、 $GMS_w \times A1$ 。解决了乌塌菜雄性不育系转育和利用的难题。

关键词:乌塌菜;转育;核基因雄性不育系;杂交组合

中图分类号:S634.03 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2015)03-0058-05

doi:10.7668/hbxb.2015.03.011

Breeding and Utilization of the Genetic Male Sterile Line in Savoy

XU Wei^{1,2}, FENG Hui³

(1. College of Agriculture, Shihezi University, Shihezi 832003, China; 2. Xinjiang Production & Construction Corps Key Laboratory of Special Vegetables and Fruits Cultivation Physiology and Germplasm Resources Utilization, Shihezi 832003, China; 3. College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: In order to resolve the crosses breeding problem in utilizing hybrid vigor of savoy. A multiple allele inherited genetic male sterile line of Chinese cabbage 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 savoy. A new genetic male sterile line GMS_w with 100% male sterile plants and 100% male sterility was obtained, which was similar to the target line in horticultural characters. Two excellent hybridized combinations $GMS_w \times A2$, $GMS_w \times A1$ were selected, which was superior to CK in yield. Resolved the puzzle that breeding and utilization of the genetic male sterile line in savoy.

Key words: Savoy; Transferring; Genetic male sterile line; Combinations

乌塌菜 (*Brassica campestris* L. ssp. *chinesis* L. var. *rosularis* Tsen et Lee) 别名塌菜、塌棵菜、黑菜等,属于十字花科芸薹属芸薹种白菜亚种。乌塌菜株型美观,塌地生长,叶色墨绿,耐寒性强,能耐 -4℃ 低温,富含 Vc、胡萝卜素及矿物质等,为小白菜中的上品^[1-2]。近年来从长江流域扩展到南北方广泛栽培,另外也作为高档叶菜在大型温室内进行无土栽培。乌塌菜杂种优势显著,但目前生产上应用的几乎都是常规品种,由于缺少适宜的杂交制种手段,其杂种优势迄今未能得到很好的利用。多数

学者研究认为,利用雄性不育系是芸薹属作物杂交制种的有效途径。

冯辉等^[3-4]首先提出了“复等位基因遗传”假说,并将大白菜核基因雄性不育系中的不育基因转育到小白菜中,育成了不育株率和不育度均为 100% 的白菜核基因雄性不育系^[5]。为了扩大不育基因的应用范围,近年来以该不育系作不育源,向芸薹属芸薹种白菜亚种中的菜心、紫菜薹、奶白菜、小松菜中转育不育基因,创制新的不育系获得了成功^[6-9],但目前有关乌塌菜雄性不育系选育的相关

收稿日期:2015-01-30

基金项目:石河子大学动植物育种专项(gxjs2010-YZ04);国家自然科学基金项目(31071792)

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

研究,仍存在雄性不育系植物学性状衰退,花蕾败育等问题^[10-11],未能在生产上得到利用。本试验利用上述小白菜核基因雄性不育系作不育源,与乌塌菜可育品系杂交,再将杂交一代与乌塌菜轮回亲本多代回交,同时测交筛选基因型,以期选育出不育性表现稳定、园艺学性状与自交系相似的乌塌菜核基因雄性不育系。

1 材料和方法

1.1 试验材料

以沈阳农业大学园艺学院育成的小白菜核不育系 08S02 为不育源;乌塌菜可育品系 W3 为目标品系;3 个乌塌菜自交系材料 A1、A2、A3。

1.2 试验方法

本试验于 2010 - 2014 年在石河子大学农学院试验站进行。将不育源材料与乌塌菜可育品系杂交,根据杂交后代的育性推断乌塌菜目标品系基因型。根据基因型设计转育方案,采用杂交、回交、测交、自交方法进行转育。春季采用萌动种子在 3 ℃ 下春化 10 d,3 月初温室内穴盘育苗,4 月下旬定植于露地,5 月中旬陆续抽薹开花后人工授粉;秋季萌动种子在 3 ℃ 下春化 20 ~ 25 d,8 月下旬露地穴盘育苗,10 月初定植于温室内,并开始整夜补光,

11 月中旬开始人工授粉,每年完成 2 个世代的有性繁殖。以转育成的乌塌菜核基因雄性不育系作母本,与自交系 A1、A2、A3 配制杂交组合,常规品种中八叶 K1、精选乌塌菜 K2 作对照进行品种比较试验。每小区种植 24 株,行株距为 25 cm × 20 cm,随机区组设计,3 次重复。

样本容量按公式 $n \geq \lg(0.01)/\lg(1 - p)$ 计算^[12];适合性测验按公式 $\chi^2_c = [|A - ra| - (r + 1) / 2]^2 / rn$ 计算^[13-14]。

2 结果与分析

2.1 乌塌菜目标品系基因型的鉴定

根据复等位基因遗传规律,通过不育源与目标品系杂交,根据杂交后代的育性分离比例进行鉴定。用小白菜核不育系 08S02 与乌塌菜可育品系 W3 杂交,F₁ 50 株育性鉴定结果全部为可育株,说明乌塌菜目标品系 W3 的基因型为 Ms^fMs^f。

2.2 乌塌菜核基因雄性不育系的定向转育

以小白菜核不育系 08S02 (Msms) 与乌塌菜可育品系 (Ms^fMs^f) 杂交,F₁ 全部表现为可育株,但植株基因型有 2 种,为了区别这 2 种基因型,随机取 6 株自交,鉴定自交后代育性表现来推断 F₁ 各植株基因型,鉴定结果见表 1。

表 1 小白菜核不育系 08S02 与乌塌菜 W3 杂交 F₂ 的育性表现

Tab.1 Fertility expression of progenies from F₂ of 08S02 × W3

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
(08S02 × W3) -1 ⊗	42:0	全可育	Ms ^f ms
(08S02 × W3) -2 ⊗	45:0	全可育	Ms ^f ms
(08S02 × W3) -3 ⊗	38:0	全可育	Ms ^f ms
(08S02 × W3) -4 ⊗	34:9	3:1 (0.194)	Ms ^f Ms
(08S02 × W3) -5 ⊗	46:0	全可育	Ms ^f ms
(08S02 × W3) -6 ⊗	30:7	3:1 (0.441)	Ms ^f Ms

表 2 各回交世代鉴定基因型 Ms^fMs 与 Ms^fms 的育性分离比率

Tab.2 Fertility expression of progenies from BC₁, BC₂, BC₃ for testing genotype of Ms^fMs and Ms^fms

转育方向 Transfer direction	代号 Code	组合 Combinations	可育株: 不育株 Fertile plants: Sterile plants	理论分离比例 Theoretical ratio ($\chi^2_{0.05,1} = 3.841$)
两用系转育方向 AB line direction	BC ₁	08S02 × ((08S02 × W3) -4 × W3) -2	19:21	1:1 (0.025)
	BC ₂	08S02 × (((08S02 × W3) -4 × W3) -2 × W3) -6	13:15	1:1 (0.036)
	BC ₃	08S02 × ((((08S02 × W3) -4 × W3) -2 × W3) -6 × W3) -1	20:17	1:1 (0.108)
保持系转育方向 Maintainer	BC ₁	08S02 × ((08S02 × W3) -5 × W3) -1	36:11	3:1 (0.021)
	BC ₂	08S02 × (((08S02 × W3) -5 × W3) -1 × W3) -2	23:7	3:1 (0.000)
line direction	BC ₃	08S02 × ((((08S02 × W3) -5 × W3) -1 × W3) -2 × W3) -4	29:10	3:1 (0.009)

从表 1 可知,(08S02 × W3) -4 基因型为 Ms^fMs,(08S02 × W3) -5 基因型为 Ms^fms。它们再分别与轮回亲本 W3 (Ms^fMs^f) 进行多代连续回交,直至回交后代的园艺学性状与轮回亲本相似为止。同时与核

不育系 08S02 (Msms) 测交鉴定基因型。基因型为 Ms^fMs 的植株,其自交后代可选育出甲型两用系 (MsMs、Ms^fMs),基因型为 Ms^fms 的植株,在其自交后代可选育出临时保持系 (msms)。本研究回交工

作进行了 3 代,各回交后代育性鉴定结果列于表 2。

表 2 中测交后代育性鉴定结果为 1:1 的被测植株基因型为 Ms^fMs,测交后代育性鉴定结果为 3:1 的被测植株基因型为 Ms^fms。测交后代全部为可育株

表 3 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 ^f Ms and Ms ^f ms BC ₃ selfing of savoy			
转育方向 Transfer direction	组合 Combinations	可育株: 不育株 Fertile plants: Sterile plants	理论分离比例 Theoretical ratio ($\chi^2_{0.05,1} = 3.841$)
两用系转育方向 AB line direction	((((08S02 × W3) -4 × W3) -2 × W3) -6 × W3) -1 ⊗	38:12	3:1(0.000)
保持系转育方向 Maintainer line direction	((((08S02 × W3) -5 × W3) -1 × W3) -2 × W3) -4 ⊗	42:0	全可育

表 3 中,自交后代为 3:1 分离的,其基因型为 Ms^fMs^f、Ms^fMs、MsMs。从该株系内选 6 株形似轮回亲本的可育株 (Ms^fMs^f 和 Ms^fMs) 与系内不育株 (MsMs) 兄妹交,后代育性鉴定结果列于表 4。自交

的,被测植株基因型为 Ms^fMs^f,全部淘汰。将回交 3 代材料 BC₃-1、BC₃-4 分别自交,自交后代育性鉴定结果列于表 3。

后代经鉴定全部为可育株的,其基因型为 Ms^fMs^f、Ms^fms、msms。选 16 株形似轮回亲本的植株与 3:1 分离株系中不育株 (MsMs) 杂交,育性测验结果列于表 5。

表 4 回交 3 代乌塌菜甲型“两用系”测配结果

Tab.4 Results of the test crosses of the AB lines in BC ₃ of savoy			
组合 Combinations	可育株: 不育株 Fertile plants: Sterile plants	理论分离比例 Theoretical ratio($\chi^2_{0.05,1} = 3.841$)	基因型 Genotype
A-1 × A-11	19:14	1:1(0.485)	Ms ^f Ms、MsMs
A-2 × A-13	16:13	1:1(0.138)	Ms ^f Ms、MsMs
A-3 × A-14	36:0	全可育	Ms ^f Ms
A-4 × A-16	32:0	全可育	Ms ^f Ms
A-6 × A-17	26:21	1:1(0.340)	Ms ^f Ms、MsMs
A-7 × A-18	20:27	1:1(0.765)	Ms ^f Ms、MsMs

注:A-1 ~ A-7 为不育株;A-11 ~ A-18 为可育株。
Note:A-1 – A-7 were sterile plants;A-11 – A-18 were fertile plants.

由表 4 可知,A-1 × A-11、A-2 × A-13、A-6 × A-17、A-7 × A-18 这 4 个兄妹交组合育性出现 1:1 分离,即

为回交 3 代的乌塌菜甲型两用系。

表 5 回交 3 代乌塌菜临时保持系测配结果

Tab.5 Results of the test crosses of the temporary maintainer lines in BC ₃ of savoy			
组合 Combinations	可育株: 不育株 Fertile plants: Sterile plants	理论分离比例 Theoretical ratio($\chi^2_{0.05,1} = 3.841$)	基因型 Genotype
A-1 × B-1	42:0	全可育	Ms ^f Ms
A-2 × B-2	13:20	1:1 (1.090)	Ms ^f Ms、MsMs
A-3 × B-3	19:10	1:1(2.207)	Ms ^f Ms、MsMs
A-4 × B-4	0:46	全不育	MsMs
A-5 × B-5	21:24	1:1 (0.089)	Ms ^f Ms、MsMs
A-5 × B-6	0:44	全不育	MsMs
A-6 × B-7	18:15	1:1(0.121)	Ms ^f Ms、MsMs
A-6 × B-8	0:51	全不育	MsMs
A-7 × B-9	40:0	全可育	Ms ^f Ms
A-8 × B-10	37:0	全可育	Ms ^f Ms
A-8 × B-11	0:36	全不育	MsMs
A-8 × B-12	19:23	1:1(0.214)	Ms ^f Ms、MsMs
A-9 × B-13	19:12	1:1(1.161)	Ms ^f Ms、MsMs
A-9 × B-14	26:18	1:1(1.114)	Ms ^f Ms、MsMs
A-10 × B-15	27:20	1:1(0.766)	Ms ^f Ms、MsMs
A-10 × B-16	43:0	全可育	Ms ^f Ms

注:A-1 ~ A-10 为不育株;B-1 ~ B-16 为可育株。
Note:A-1 – A-10 were sterile plants;B-1 – B-16 were fertile plants.

表 5 中,组合 A-4 × B-4、A-5 × B-6、A-6 × B-8、A-8 × B-11 全部为不育株,其父本的自交后代即为回交 3 代的乌塌菜临时保持系。选甲型两用系 A-6 × A-17 中的不育株与临时保持系 B-8⊗杂交配制回交 3 代乌塌菜核基因雄性不育系。调查杂交后代植

表 6 回交 3 代乌塌菜核基因雄性不育系育性调查结果

Tab. 6 Sterility survey results of the genetic male sterile line of savoy in BC ₃						
试材	调查总株数	不育株数	不育株率/%	调查花数	完全败育花数	不育度/%
Materials	Total plants	Sterile plants	Rate of sterile plants	Total flowers	Sterile flowers	Rate of sterile flowers
GMS _w	52	52	100	520	520	100

2.3 乌塌菜核基因雄性不育系园艺学性状转育效果分析

为鉴定乌塌菜核不育系园艺学性状的转育效果,对回交 3 代乌塌菜核基因雄性不育系与乌塌菜目标品系的园艺学性状进行调查比较,结果见表 7。调查结果表明,回交 3 代乌塌菜核基因雄性不育系

表 7 回交 3 代乌塌菜核不育系与目标品系 W3 的园艺学性状调查结果

Tab. 7 Horticultural characters of the male sterile line and target line of savoy in BC ₃								
试材	株高/cm	株幅/cm	叶长/cm	叶宽/cm	叶柄长/cm	叶柄宽/cm	叶片数	单株质量/kg
Materials	Plant height	Angular divergence	Leaf length	Leaf width	Petiole length	Petiole width	Number of leaf	Plant weight
GMS _w	16.26	25.46	8.33	7.47	10.73	2.08	31.37	0.25
W3	16.45	24.62	8.02	7.76	10.11	2.14	29.65	0.21

表 8 乌塌菜杂交组合品种比较试验小区产量调查

Tab. 8 Plot yield of combinations in savoy				
组合 Combinations	重复 Replication			平均值/kg Average
	I	II	III	value
GMS _w × A2	6.82	7.08	7.14	7.01aA
GMS _w × A1	6.34	6.27	6.38	6.33bB
GMS _w × A3	5.69	5.51	5.32	5.51cC
K1	5.24	5.39	5.33	5.32cC
K2	5.27	5.32	5.27	5.29cC

注:数据后大写字母表示差异极显著($P < 0.01$);小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。
Note: Capital letters after data means extremely significant difference ($P < 0.01$); Small letter means significant difference ($P < 0.05$).

2.4 乌塌菜核基因雄性不育系试配杂交组合产量测定

以回交 3 代乌塌菜核基因雄性不育系做母本,与 3 个乌塌菜自交系 A1、A2、A3 杂交配制杂交组合,以 2 个乌塌菜常规品种 K1、K2 作对照进行品种比较试验,主要对小区产量进行了测定(表 8)。产量测定结果表明,杂交组合 $GMS_w \times A2$ 小区平均产量最高,达 7.01 kg,其次是杂交组合 $GMS_w \times A1$,小区产量达 6.33 kg,并且这 2 个杂交组合的产量极显著高于组合 $GMS_3 \times A3$ 及 2 个常规品种 K1、K2,因此,说明以回交 3 代乌塌菜核基因雄性不育系作母本与自交系 A2、A1 配制的杂交组合杂种优势显著,

株群体的育性,鉴定结果见表 6。表 6 中调查结果表明,植株群体的不育株率为 100%,不育度也为 100%,不育性表现稳定、彻底,说明不育基因转育成功,获得了乌塌菜核基因雄性不育系。

GMS_w 的株高、叶长、叶柄长、叶片数、单株质量这些园艺学性状与乌塌菜目标品系 W3 已十分接近,说明实现了园艺学性状与不育基因的同时转育,基本达到了饱和回交,说明回交 3 代定向转育乌塌菜核基因雄性不育系较为适宜。

通过品种比较试验筛选出了 2 个产量高于常规品种的优势组合 $GMS_w \times A2$ 、 $GMS_w \times A1$ 。

3 讨论

本研究的前期工作已从乌塌菜可育品系与不育源的杂交一代中选育出全不育株率为 100% 的乌塌菜雄性不育系^[15],但该不育系的植物学性状和经济性状介于乌塌菜与不育源之间,因此,利用其与乌塌菜自交系配制杂交种,杂交后代必然会出现性状分离,整齐度难以保证。因此,本研究采用不育源与乌塌菜可育品系杂交 F_1 与乌塌菜轮回亲本连续多代回交,同时测交筛选基因型,兼顾了不育基因与园艺学性状的同时转育。回交 3 代材料经鉴定其植物学性状和经济性状与乌塌菜目标品系相似,再从中筛选甲型两用系与临时保持系基因型,经过 8 个世代的有性杂交转育,最终育成了乌塌菜核基因雄性不育系,其不育性表现稳定,不育株率和不育度达 100%,植物学性状、经济性状与乌塌菜自交系相似。利用该不育系与几个乌塌菜自交系试配杂交组合,初步筛选出 2 个生长势强,产量显著高于对照品种的优势组合 $GMS_w \times A2$ 、 $GMS_w \times A1$,下一步可利用其进行更大面积的比较试验。本研究为乌塌菜的杂种优势利用开辟了新的途径,解决了乌塌菜雄性不

育系转育和利用的难题。

参考文献:

- [1] 耿 伟. 乌塌菜栽培技术[J]. 青海农技推广, 2007 (4): 24.
- [2] 舒英杰, 周玉丽. 我国的乌塌菜研究[J]. 安徽技术师范学院学报, 2005, 19(1): 15 - 18.
- [3] 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.
- [4] Feng Hui, Wei Yu-tang, Xu Ming. Multiple allele model for genetic male sterility in Chinese cabbage[J]. Acta Horticulturae, 1996, 467: 133 - 142.
- [5] 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, 18(2): 10 - 13.
- [6] 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: 自然科学版, 2010, 38(9): 87 - 94.
- [7] 冯 辉, 姜广学. 紫菜薹核基因雄性不育系的创制与利用[J]. 园艺学报, 2011, 38(6): 1097 - 1103.
- [8] 徐 巍, 冯 辉. 奶白菜核基因雄性不育系的选育与利用[J]. 华北农学报, 2013, 28(1): 44 - 48.
- [9] 尉利花, 杨 宁, 冯 辉. 小苣菜核基因雄性不育系的创制[J]. 沈阳农业大学学报, 2013, 44(6): 743 - 747.
- [10] 许 明, 魏毓棠, 张 森. 萝卜细胞质不结球白菜雄性不育系向乌塌菜品种转育[J]. 辽宁农业科学, 2007(2): 1 - 4.
- [11] 王秋实, 刘志勇, 冯 辉. 乌塌菜核雄性不育系花蕾败育相关基因的 cDNA-AFLP 差异表达分析[J]. 分子植物育种, 2014, 12(1): 118 - 126.
- [12] 景士西. 园艺植物育种学总论[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 138.
- [13] 杨业华. 普通遗传学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 62 - 63.
- [14] 崔凤娟, 田笑明, 韩新年, 等. 小麦 AL 型胞质不育系育性恢复基因的遗传分析[J]. 石河子大学学报: 自然科学版, 2009, 27(2): 190 - 193.
- [15] 徐 巍, 冯 辉, 刘慧英. 青梗白菜细胞核雄性不育基因向乌塌菜中的转育[J]. 西北农业学报, 2011, 20(4): 116 - 119.