

甘蓝型油菜单基因隐性核不育株系 72A 的研究

祁宝英^a, 阮颖^a, 官春云^b, 刘春林^{b*}

(湖南农业大学 a.生物科学技术学院; b.农学院, 湖南 长沙 410128)

摘 要 2011 年 3 月, 于湖南农业大学试验田甘蓝型双低油菜 GX-49 品系中发现了 1 株雄性不育株, 命名为 72A。利用石蜡切片技术对其败育时期花药发育进行观察, 通过与双低甘蓝型早熟油菜品系 GZ-4 和 GZ-20-2 杂交, 对其遗传动态进行分析。结果表明, 72A 为典型的无花粉囊败育型, 且为单基因控制的隐性细胞核雄性不育。

关 键 词 甘蓝型油菜; 雄性不育株; 花药发育; 隐性基因

中图分类号: S565.4

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2013)04-0338-05

Research of *Brassica napus* recessive genic male sterile line 72A controlled by a single gene

QI Bao-ying^a, RUAN Ying^a, GUAN Chun-yun^b, LIU Chun-lin^{b*}

(a.College of Bioscience and Biotechnology; b.College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: We found a male-sterile plant, named “72A”, in the GX-49 strains (*Brassica napus* L.) in Hunan Agricultural University experimental field in March, 2011 (Changsha, Hunan, China). During its abortion stage we observed its anther development carefully by using the technology of paraffin sections. Through the dynamic analysis of its genetic characteristics after it was hybridized with double-low, early maturity *Brassica napus* GZ-4 and GZ-20-2, we found that 72A belonged to no pollen sac abortion type and its recessive genic male-sterile character was controlled by a single gene.

Key words: *Brassica napus*; male sterile plant; anther development; recessive gene

甘蓝型油菜是由芸薹(AA, $n=10$)与甘蓝(CC, $n=9$)通过种间杂交加倍而来的异源四倍体。按照油菜的遗传学特点, 油菜雄性不育分成细胞核雄性不育(GMS) 和细胞质雄性不育(CMS)^[1]。GMS 遗传相对比较简单, 受 1 对或几对核基因控制, 不育特性稳定, 无正、反交遗传效应, 不受细胞质和环境因素的影响, 恢复系分布广泛, 较易于实现杂交组合的组配, 推广风险小^[2-6]。根据不育基因的显隐性关系又可分为显性核不育和隐性核不育。

显性细胞核雄性不育分为单基因的显性核不育和双基因的核不育。目前已报道并应用比较广的的显性核不育主要有双低核杂 7 号^[7]、3A^[8]、Shaan2GMS^[8]和 Rs1046AB^[9]等。

隐性细胞核雄性不育分为单基因隐性核不育、双基因隐性核不育和互作型的隐性核不育, 其不育性稳定, 生产应用中只需“二系”配套, 缩短了育种周期。几乎所有品系都可能成为它的恢复系, 不存在恢保关系的限制和细胞质效应的影响, 所以更易获得强优势组合^[9], 但隐性核不育很难获得全不育群体, 繁殖和制种时都必须拔除不育系中约 50% 的可育株, 使制种成本增加^[7]。陈大伦等^[10]在黄籽双低常规品种 5862R 中发现了 1 株核不育株, 经过 4 年 6 代育成了甘蓝型油菜隐性核不育纯合两型系 118AB、临保持系 118C、全不育系 118CA。该品种的成功选育使核不育杂交油菜的制种简便易行, 也降低了种子的生产成本。

收稿日期: 2013-03-01

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2011AA10A104)

作者简介: 祁宝英(1988—), 女, 青海乐都人, 硕士研究生, 主要从事作物遗传育种研究, zhk546345@163.com; *通信作者, liucl100@126.com

2011 年春,笔者在湖南农业大学甘蓝型双低油菜 GX-49 品系中发现了 1 株天然不育株,命名为 72A。借助石蜡切片技术观察花药发育状况,结果表明,该不育类型发生在孢原细胞时期,在造孢细胞时期无法形成正常的药室,为无花粉囊败育类型。对其育性进行遗传分析,鉴定该不育类型为受 1 对基因控制的隐性核不育,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

2011 年 3 月油菜初花期,在湖南农业大学试验田,从甘蓝型双低油菜 GX-49 品系中发现了 1 株雄性不育株,命名为“72A”。

1.2 方法

1.2.1 72A 的花器形态和结实性观察

在油菜初花期,选择完全开放的花朵,观测对比可育株与不育株花器官的形态差异,并通过观察套袋后的结实率,分析不育株的自交可育性。通过与 GZ-4 杂交和套袋,根据结实情况来判断不育株的异交结实性。

1.2.2 72A 花药发育的解剖观察

油菜始花期,选择晴朗天气 10:00 至 14:00 从 72A 上取 5 个不同发育时期的花蕾,石蜡切片,显

微镜观察并照相。

1.2.3 72A 育性的遗传分析

72A 与早熟双低甘蓝型油菜品系 GZ-4 和 GZ-20-2 杂交,判断 72A 育性的显隐性关系;进一步分析 72A 与 GZ-4 和 GZ-20-2 杂交 F_2 代的分离情况。

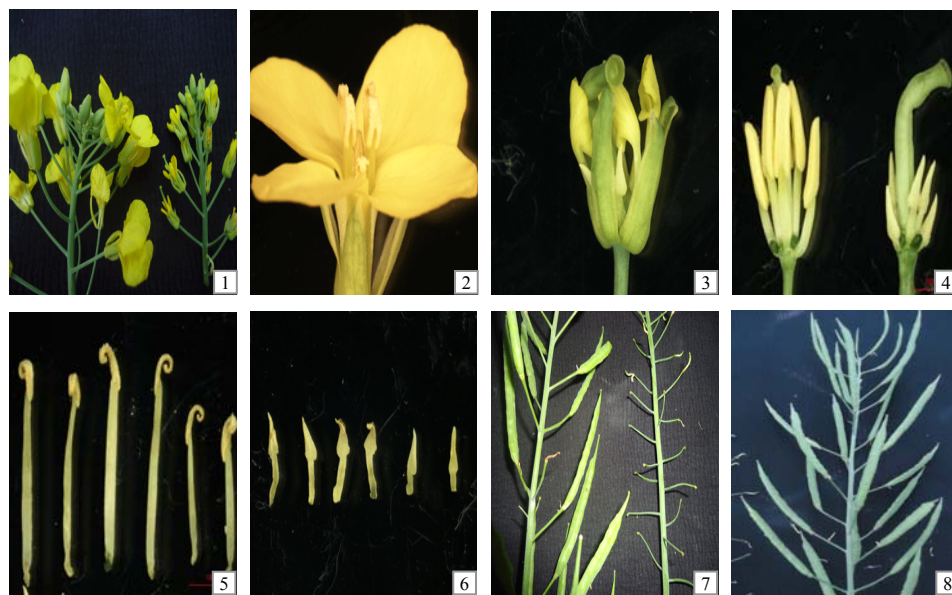
1.2.4 杂交种的主要经济性状分析

采用随机取样法对 72A×GZ-20-2 和 72A×GZ-4 杂交 F_1 的有效分枝数、单株有效角数、角粒数、千粒重、单株产量、成熟时期等经济性状进行分析,每个性状取 15 株,取平均值。采用 Foss NIRSystem 5000 近红外光谱分析仪对 F_1 种子的含油量、芥酸、硫苷、蛋白质含量等进行分析。

2 结果与分析

2.1 72A 花器官的特征

72A 主花序比可育株弱,花瓣比可育株小,最显著的特征是四强雄蕊退化严重,与两弱雄蕊的长度无明显差异,其长度不及可育株的两弱雄蕊长度;花药黄色发白,小而干瘪,无粉;花丝短小,大部分柱头外露并弯曲。自交套袋后的结实率分析结果表明,该株确实为不育株。通过与双低甘蓝型油菜 GZ-4 杂交和套袋,不育株的异交结实性好,柱头外露弯曲并不影响该不育株正常的结实(图 1)。



2、5 为正常可育株;3、6 为 72A 不育株;7 为可育株和不育株套袋自交结实情况;8 为 72A 与 GZ-4 杂交结实情况。

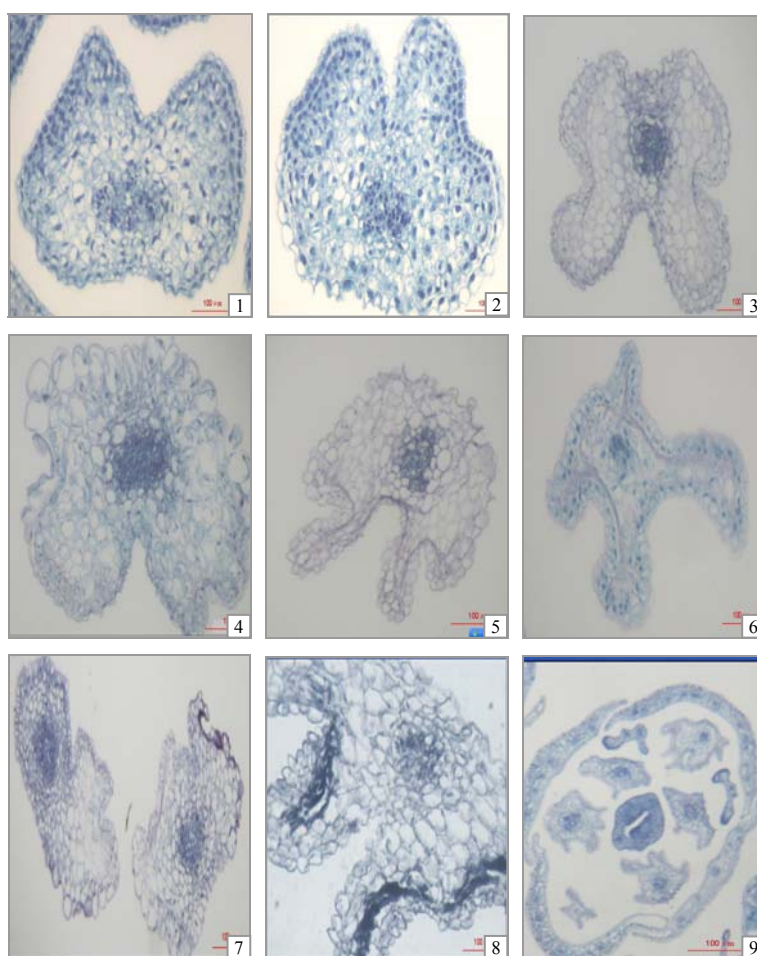
图 1 可育株和不育株花器形态

Fig.1 Comparison of floral organs between sterile and fertile plants

2.2 72A 花药发育的解剖学特点

72A 花蕾石蜡切片显微观察结果表明,早期花药为四棱形,由形态一致的细胞组成。维管束已经形成,染色比花药其他部位深(图 2-1)。在花药 4 个角隅处表皮下不形成细胞质浓,体积大的孢原细胞、表皮内的细胞始终保持薄壁状态(图 2-2)。之后花药的 4 个角隅处的细胞分裂速度出现了明显的差异。有的花药只在 1 个角隅处的细胞分裂快,有的 2 个角隅处的细胞分裂速度快,通过横切面能够明显看出 4 个角隅发育进程不尽相同,出现了大小和形态不一的蝴蝶形,都保持薄壁细胞状态;无造孢

细胞的分化,此时维管束细胞发育正常,花药 4 个角隅处细胞分裂速度差异极大(图 2-3、4)。随着花药的发育,表皮细胞的细胞壁加厚,表皮内的细胞体积逐渐增大,细胞质变得稀薄。4 个角隅处表皮下的细胞逐渐解体,花药体积逐渐缩小,形成各种形态的花药。最后,在花药的 4 个角隅处表皮下的细胞不形成孢原细胞、造孢细胞和花粉母细胞,成熟的花药没有花粉囊的形成,更没有花粉的产生(图 2-5~9)。花药发育过程表明,72A 的败育发生在孢原细胞时期,为典型的无花粉囊的败育。



1 早期花药原基横切面为四棱形;2 发育中期花药横切面;3、4 花药始终处于薄壁细胞状态,无孢原细胞的分化;5~7 花药 4 个角隅处细胞的分裂,出现了各种形态的花药;8 成熟花蕾横切面;9 单个花药的放大,4 个角隅处的薄壁细胞解体花药体积缩小变形。

图 2 甘蓝型油菜 72A 花药发育的显微结构

Fig. 2 Anther development of *Brassica napus* 72A

2.3 72A 育性的遗传特性

以 72A 不育株为母本, GZ-20-2 为父本进行杂交,翌年共种植 F_1 植株 32 株,田间表现为全可育。

同样,以 72A 不育株为母本, GZ-4 为父本进行杂交,翌年共种植 F_1 植株 37 株,田间也表现全可育(表 1),说明 72A 属于隐性细胞核雄性不育类型。

对 72A×GZ-20-2 和 72×GZ-4 杂交组合的植株分别全部套袋自交，种植 72A×GZ-20-2 的 F₂ 植株 186 株，其中可育株 142 株，不育株 44 株；种植 72×GZ-4 的 F₂ 植株 167 株，其中可育株 126 株，不育株 41 株。无论是以 GZ-20-2 为父本还是以 GZ-4 为父本，F₂ 代可育株和不育株的分离比都符合 3∶1 的比例(表 1)，说明 72A 是受 1 对基因控制的核不育。

表 1 杂交组合 72A×GZ-20-2 和 72×GZ-4 的 F₁ 和 F₂ 代育性表现

Table 1 The fertility performance of F ₁ , F ₂ generation of 72A × GZ-20-2 and 72 × GZ-4						
组 合	代数	总株数/株	可育株数/株	不可育株数/株	$\chi^2(3-1)$	P 值
72A×GZ-20-2	F ₁	32	32	0		
72A×GZ-4	F ₁	37	37	0		
72A×GZ-20-2	F ₂	186	142	44	0.114 7	0.05
72A×GZ-4	F ₂	167	126	41	0.037 9	0.05

对 72A 不育株进行兄妹交，得 F₁ 植株为 32 株，其中可育株 14 株，不育株 18 株，经卡平方测验，不育系内的兄妹交的育性分离比的统计进一步验证了 72A 受 1 对隐性基因的控制。

表 2 不育株兄妹交的育性表现

Table 2 Siblings sterile plants cross-fertility performance						
组 合	代数	总株数/株	可育株数/株	不可育株数/株	$\chi^2(1-1)$	P 值
72A×GX-49	F ₁	32	14	18	0.531 3	>0.05
72A×GX-49	F ₂	67	34	33	0.029 9	>0.05

2.4 72A 的农艺性状

72A×GZ-20-2 和 72A×GZ-4 的 F₁ 代有效分枝数、角粒数、单株产量都呈显著上升的趋势；配合力较强，且趋向于父本的农艺性状。通过统计每个品系的成熟时期，发现 72A×GZ-20-2 和 72A×GZ-4F₁ 代的成熟时期与父本接近(表 3)。

表 3 72A×GZ-20-2 和 72A×GZ-4 的 F₁ 代主要经济性状

Table 3 The main economic traits of 72A × GZ-20-2, 72A × GZ-4							
材 料	株高/cm	有效分枝数/个	单株有效角果数/个	角粒数/粒	千粒重/ g	单株产量/ g	成熟时期(月-日)
GX-49	184.6	7.2	397	12	3.8	24.7	05-18
GZ-20-2	177.4	8.4	418	12	3.9	25.4	04-26
GZ-4	176.7	9.0	446	13	4.1	26.8	04-23
72A×GZ-20-2(F ₁)	178.3	8.6	429	14	4.0	26.5	04-24
72A×GZ-4(F ₁)	177.9	9.4	468	17	4.0	27.9	04-20

2.5 杂交种 F₁ 的主要品质

FOSS NIRsystem 5000 近红外光谱分析表明，72A 与 GZ-4 杂交得到的 F₁ 种子的含油量从亲本不育系的 36.750%上升到 41.224%；芥酸的含量由亲本的 0.191%下降到 F₁ 种子 0.097%；硫苷的含量由亲本不育系的 20.618%下降到 F₁ 种子 18.665%；F₁ 种子蛋白质的含量 26.598%，与亲本不育系的含量接近，72A 与 GZ-20-2 杂交得到的 F₁ 种子的含油量、芥酸、硫苷、蛋白质含量的变化趋势与 72A 与 GZ-4 杂交的 F₁ 种子一致。从表 4 可以看出，该杂交材料含油量、芥酸、硫苷和蛋白质含量都显著优于母本，其种子的品质性状与父本 GZ-4 和 GZ-20-2 的品质性状相近，说明该杂交材料符合双低一高的标准，具有生产实用价值。

表 4 72A×GZ-20-2 和 72A×GZ-4 的主要品质

Table 4 The main quality of 72A × GZ-20-2 and 72A × GZ-4

材 料	含油量/%	芥酸/%	硫苷/(μmol·g ⁻¹)	蛋白质/%
GX-49	36.750	0.191	20.618	26.668
GZ-4	43.186	0.072	27.036	25.548
GZ-20-2	36.293	1.448	22.032	26.658
72A×GZ-4(F ₁)	41.224	0.097	18.665	26.598
72A×GZ-20-2(F ₁)	36.887	1.114	20.641	25.217

参考文献:

- [1] 杨光圣,瞿波,傅廷栋.甘蓝型油菜显性细胞核雄性不育系3A花药发育的解剖学研究[J].华中农业大学学报,1999,18(5):405-408.

[2] HU J, RUTGER J N. Pollen characteristics and genetics of induced and spontaneous genetic male sterile mutants in rice [J]. Plant Breed, 1992, 109: 97-107.

[3] 傅廷栋.杂交油菜的育种与利用[M].武汉:湖北科学技术出版社,1995:422-425.

[4] 李树林,钱玉秀,吴志华.甘蓝型油菜细胞核不育的遗传规律探讨应用[J].上海农业学报,1985,1(2):1-12.

[5] Yuan Y X, Wu J, Sun R F, et al. A naturally occurring plicing site mutation in the *Brassica napus* FLC1 gene is associated with variation in flowering time[J]. Exp Bot, 2009, 60: 298-308.

[6] 邬贤梦,席代汶,宁祖良,等.甘蓝型油菜温敏核不育系湘油402S 的选育[J].中国油料,2005,27(3):74-76.

[7] 周熙荣.甘蓝型油菜显性核不育三系杂交种“核杂7号”的选育[J].作物育种栽培,2007,17(4):24-26.

[8] 胡胜武.甘蓝型油菜(*Brassica napus*)新型核不育材料Shaan-GMS的遗传及核不育的分子机制研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2003.
- [9] 胡胜武,于澄宇,赵惠贤,等.甘蓝型油菜核不育材料Shaan-GMS恢复基因的筛选及其遗传分析[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2004,32(4):9-12.

[10] 陈大伦,张瑞茂.甘蓝型油菜隐性细胞核雄性不育系118A 的发现与选育[J].贵州农业科学,2006,34(6):5-7.

[11] 余风群,傅廷栋.甘蓝型油菜几个品种花药发育的细胞学观察[J].中国油料,1988(4):23-25.

[12] 邬贤梦,官春云,陈询,等.甘蓝型油菜无微量花粉细胞质雄性不育系湘油66A的选育[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2006,32(3):5-8.

[13] 侯国佐,王华,张瑞茂.甘蓝型油菜细胞核雄性不育材料117A的遗传研究[J].中国油料,1990(2):7-10.

[14] 孙超才,赵华,王伟荣,等.隐性核不育油菜两型系20118AB的遗传与利用[J].上海农业学报,2004,20(1):30-32.

[15] 潘涛,曾凡亚,吴书慧,等.甘蓝型低芥酸油菜雄性不育两用系的选育与利用研究[J].中国油料,1988(3):5-8.

责任编辑: 罗慧敏
英文编辑: 张 健