

甘蓝型油菜核不育材料 Shaan-GM S 恢复基因的筛选及其遗传分析^{*}

胡胜武¹, 于澄宇¹, 赵惠贤², 路明¹, 张春红¹, 俞延军¹

(1 西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨凌 712100; 2 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 从国内外 77 份甘蓝型油菜材料中筛选出 1 份 Shaan-GM S 的恢复材料“96-803”, 对其的遗传研究结果表明, Shaan-GM S 育性恢复遗传机制符合 2 对核基因互作控制假说, 假设不育基因为 M_s , 其对应的隐性可育等位基因为 m_s , R_f 为 M_s 的显性抑制基因, r_f 为 R_f 的隐性等位基因, 基因型 $M_s-r_f r_f$ 表现为雄性不育, 其他 7 种基因型都表现为雄性可育, 则 Shaan-GM S 的基因型为 $M_s m_s r_f r_f$, “96-803”的基因型为 $m_s m_s R_f R_f$, 隐性测交系“84004”的基因型为 $m_s m_s r_f r_f$ 。“96-803”和其他 8 份材料的测交结果表明, Shaan-GM S 同 6CA 恢保关系相同。

[关键词] 甘蓝型油菜; 显性核不育; Shaan-GM S; 恢复机制

[中图分类号] S565 403

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)04-0009-04

显性核不育现象已在几种植物中有过报道^[1,2], 当用种内其他品种给这种核不育材料授粉时, 下一代通常分离出一半不育株。进一步研究发现, 不育株同种内少数品种杂交所产生的 F_1 全部可育, 这种现象在油菜^[3]、大白菜^[4]、白菜型油菜^[5]、水稻^[6]和谷子^[7,8]等几种重要作物中已有报道。目前, 国内外已有 5 例甘蓝型油菜显性核不育的报道^[3,9~12], 其中李树林等^[3]的 6CA 系列材料遗传机制已研究清楚并应用于生产^[3,9]。Shaan-GM S 是胡胜武等 1994 年在 1 个甘蓝型油菜材料中发现的天然雄性不育材料, 其不育性彻底且稳定; 初步研究结果表明^[12~14], 该不育性状受 1 对核基因控制, 不育对可育为显性。本试验通过对国内外 77 份甘蓝型油菜材料的测配, 从中筛选到 1 份恢复材料。并用刘定富^[2]的遗传设计, 研究了 Shaan-GM S 恢复性的遗传机制, 同时确定了不育株和恢复材料的基因型, 以期 Shaan-GM S 在油菜遗传育种中的利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

不育材料 Shaan-GM S 为作者发现的天然雄

性不育材料, 测交父本为 77 个品种(系)的 220 个高代自交系, 其中中国 27 份(陕西 12 份, 河南 5 份, 湖北 3 份, 四川 2 份, 云南 2 份, 江苏 1 份, 安徽 1 份, 浙江 1 份), 捷克 40 份, 德国 3 份, 加拿大 2 份, 英国 2 份, 瑞典 1 份, 法国 1 份, 日本 1 份。

Shaan-GM S 恢复机制研究所用材料为 Shaan-GM S (P_1), 96-803 (P_2), 84004 (P_3) (P_2 、 P_3 为高代自交纯合系)。

Shaan-GM S 同全不育系 6CA (上海农业科学院李树林先生惠赠, 基因型为 $M_s m_s r_f r_f$) 的恢保关系测定, 所用材料为 680, 161, 84004, 220, Oro, 96-803, Sv-Fupiks, D89 和秦油 3 号, 均为高代自交系。

1.2 方法

测交。用不同品种(系)的自交系与不育材料杂交。

以 P_1 , P_2 , P_3 为亲本, 按刘定富^[2]的 3 种遗传试验对 Shaan-GM S 的育性恢复机制进行研究。试验 A: ($P_1 \times P_2$) F_2 ; 试验 B: F_2 不育株(即 $F_2(P_1 \times P_2)$ 代分离出来的不育株) $\times P_3$; 试验 C: ($P_3 \times P_2$) F_2 代。3 种遗传试验结果将根据表 1 进行分析。

^{*} [收稿日期] 2003-03-31

[基金项目] 陕西省自然科学基金项目(2000SM12); 西北农林科技大学科研专项(2000-48)

[作者简介] 胡胜武(1966-), 男, 陕西柞水人, 副研究员, 博士, 主要从事油菜遗传育种研究。E-mail: hushengwu@hotmail.com

表 1 区分显性核不育恢复机制的遗传试验和遗传后果^[2]

Table 2 Matings and their genetic consequence in experiment of distinguishing mechanisms of restoration for dominant genic male sterility

不育株/恢复系 Sterile plant/ restoring line	试验 A Test A		试验 B Test B		试验 C Test C	
	全可育家系 All-fertile families	分离家系 Segregation families	全可育家系 All-fertile families	1 1 分离家系 Families of 1 1 segregation	全可育家系 All-fertile families	13 1 分离家系 Families of 13 1 segregation
M sM s/M f f	0	1	1	0	1	0
M sm s/M f f	1/2	1/2	1	0	1	0
M sm srfrf/m sm sR frf	1/2	1/2	1/3	2/3	1	0
M sm srfrf/M sm sR frf	1/4	3/4	1/2	1/2	1/2	1/2
M sm srfrf/M sM sR frf	0	1	1/2	1/2	0	1
M sM srfrf/m sm sR frf	0	1	1/3	2/3	1	0
M sM srfrf/M sm sR frf	0	1	1/2	1/2	1/2	1/2
M sM srfrf/M sM sR frf	0	1	1	0	0	1

上述试验获得的后代,凡有育性分离,均进行 χ^2 测验,考察其适合性。本试验于 1999~ 2003 年在陕西杨凌西北农林科技大学试验农场进行。

2 结果与分析

2.1 测交 1 代的育性表现

用 77 个品种(系)的 220 个高代自交系与 Shaan-GM S 进行测交,只有 1 份材料 96-803(瑞典)的测交 F₁ 代,11 个株系共计 248 株,育性全部恢复,其他 76 个品种(系)的测交后代育性都发生分离,且各测交组合不育株与可育株的分离比例符合 1:1^[12]。

2.2 群体 A 的育性表现

用 Shaan-GM S(P₁)与恢复材料 96-803(P₂)进行杂交,F₁ 代随机选株自交,F₂ 代播种 69 个家系。对其花期育性的调查结果显示,有 34 个家系全部可

育,35 个家系育性发生分离,育性不分离家系与育性分离家系之比符合 1:1($\chi^2=0.015$, $\chi^2_{0.05}(1)=3.84$)。该结果符合表 1^[2]中的 或 两种情况,推测 P₁ 的基因型为 M sm s 或 M sm srfrf,即为杂合型,P₂ 的基因型为 M f f 或 m sm sR frf。

2.3 群体 B 的育性表现

用 Shaan-GM S(P₁)×96-803(P₂)的 F₂ 中分离出来的不育株与 84004(P₃)进行测交,结果(表 2)表明,在得到的 70 个测交株系中,有 30 个株系全不育,有 40 个株系育性发生分离(除 5 个株系中可育株与不育株的分离比例不符合 1:1 外,其他 35 个株系中可育株与不育株的分离比例均符合 1:1),二者之比符合(1/3):(2/3)($\chi^2=2.44$)。群体 A 的结果符合表 1 中 或 两种情况,该试验结果排除了 的可能性,说明 P₁ 的基因型为 M sm srfrf,即为杂合型,P₂ 的基因型为 m sm sR frf。

表 2 F₂(P₁×P₂)不育株与 P₃ 测交的 F₁ 育性表现

Table 2 Fertility expression of test-F₁ lines produced from F₂(P₁×P₂)-derived sterile plants and P₃

组合代号 No. of crosses	可育株 Fertile plants	不育株 Sterile plants	χ^2 (1 1) $\chi^2_{0.05(1)}=3.84$	组合代号 No. of crosses	可育株 Fertile plants	不育株 Sterile plants	χ^2 (1 1) $\chi^2_{0.05(1)}=3.84$
01-424	0	20		03-148	11	11	0.05
01-425	11	12	0.04	03-166	0	15	
01-426	1	4	1.80	03-168	9	4	1.23
01-427	0	7		03-179	0	10	
02-142	0	24		03-180	0	20	
02-143	0	16		03-181	2	23	17.64*
02-144	0	24		03-182	0	28	
02-146	3	8	2.27	03-191	9	32	11.80*
02-147	0	23		03-192	15	14	0
02-148	2	4	0.67	03-193	0	29	
02-149	18	24	0.86	03-194	18	17	0
02-150	0	26		03-236	3	7	0.9
02-151	0	6		03-237	0	5	
02-152	0	13		03-238	0	23	

续表 2 Continued table 2							
03-86	16	22	0.66	03-251	6	5	0
03-88	0	24		03-253	1	1	0.5
03-90	19	19	0.03	03-295	0	5	
03-92	0	22		03-296	0	7	
03-94	0	23		03-297	2	4	0.17
03-95	0	24		03-298	0	11	
03-110	19	13	0.78	03-299	1	16	11.53*
03-111	16	13	0.14	03-300	0	12	
03-112	14	15	0	03-313	1	2	0
03-113	14	13	0	03-314	0	4	
03-114	11	14	0.16	03-315	1	4	0.8
03-115	19	12	1.16	03-317	0	12	
03-116	9	19	2.89	03-326	1	3	0.25
03-131	13	17	0.3	03-327	5	4	0
03-132	15	10	0.64	03-328	4	4	0.13
03-133	15	10	0.64	03-330	0	26	
03-134	15	13	0.04	03-341	14	16	0.03
03-135	17	9	1.88	03-385	2	1	0
03-136	13	11	0.04	03-396	3	13	5.06*
03-146	0	36		03-397	2	12	5.79*
03-147	0	14		03-398	0	25	

注: “*” 示 5% 水平的差异显著性。
Note: Figures with “*” are significant at 5% level

2.4 群体 C 的育性表现

用隐性可育株系 84004 (P₃) 与恢复系 96-803 (P₂) 进行杂交, 从 F₁ 代中随机选株自交, 得到 10 个 F₂ 家系, F₂ 代每家系种植 52 株, 结果 10 个家系全部可育, 未出现育性分离家系。该结果再次证明 P₂ 的基因型为 m sm sr fr f。

根据上述试验结果综合分析, Shaan-GM S (P₁) 的基因型为 M sm sr fr f, 恢复系 (P₂) 的基因型为 m sm sr fr f, 测交系 84004 的基因型为 m sm sr fr f, 说

明 Shaan-GM S 育性恢复遗传机制符合 2 对核基因互作控制假说。

2.5 Shaan-GM S 与 6CA 的恢保关系测定

1999~ 2001 年, 用 9 个稳定品种的高代自交系作为测验种, 对 Shaan-GM S 与 6CA 的恢保关系进行测定。结果(表 3)表明, Shaan-GM S 与 6CA 的恢保关系相同, 96-803 是 Shaan-GM S 的恢复系, 也可以恢复 6CA, 其他 8 个品种(系)同 Shaan-GM S, 6CA 的测交 F₁ 育性都发生 1:1 分离。

表 3 不同测验种与 Shaan-GM S 和 6CA 测交的 F₁ 代育性表现

测交品种 Testers	Shaan-GM S			6CA		
	可育 Fertile	不育 Sterile	χ^2 (1, 1)	可育 Fertile	不育 Sterile	χ^2 (1, 1)
680	28	25	0.075	27	29	0.018
161	12	17	0.552	15	19	0.265
84004	16	9	1.44	4	7	0.364
220	16	17	0	22	31	1.208
O ro	21	21	0.024	17	11	0.893
96-803	1920	0		105	0	
Sv-Fup iks	14	11	0.16	16	12	0.321
D 89	12	19	1.161	26	30	0.161
秦油 3 号 Q inyou 3	32	23	1.164	30	21	1.255

3 讨 论

Shaan-GM S 是作者 1994 年发现的甘蓝型油菜核不育材料, 对其测交、兄妹交、自交、回交等的研究

表明^[12~ 14], 其育性受 1 对核基因控制, 不育对可育为显性。本试验从国内外 77 个甘蓝型油菜品种(系)中筛选到 Shaan-GM S 的 1 份恢复材料“96-803”, 这种现象已不能再用 1 对显性核不育基因解

释,上述初步结论尚需进一步完善。目前,关于显性核不育恢复性的遗传机制有两种假说,一为复等位基因假说,另一为两对基因互作假说^[2]。刘定富^[2]提出了区别这两种机制的遗传设计,并在油菜^[15]和水稻^[16]上得到验证。本研究从两种假说均可能的角度出发,按照可以区分两种假说的 3 种遗传设计^[2],对 Shaan-GM S 恢复性遗传机制的研究结果表明,Shaan-GM S 的育性受 2 对核基因互作控制,假设不育基因为 M s,其对应的隐性可育等位基因为 m s Rf 为 M s 的显性抑制基因,rf 为 Rf 的隐性等位基因,基因型 M s - rfrf 表现为雄性不育,其他 7 种基因型都表现为雄性可育,则 Shaan-GM S 的基因型

为 M sm srfrf,恢复材料“96-803”的基因型为 m sm - srfrf,测交系 84004 的基因型为 m sm srfrf。

目前,世界上已有 5 例甘蓝型油菜显性核不育的报道^[3,9-12],其中李树林等的 6CA 系列材料遗传机制已研究清楚^[3,15]并开始进行实际应用^[3]。黔油 2AB 与 6CA 系列材料的恢保关系不同^[17]。Shaan-GM S 与 6CA 的恢保关系相同,但在同工酶和 DNA 分子水平上存在一定差异^[18,19]。Shaan-GM S 的发现,拓宽了油菜遗传育种可利用的不育源,其在油菜亲本改良及杂种优势利用等方面具有广阔的应用前景。

[参考文献]

- [1] Kaul M L H. Male sterility in higher plants[M]. Berlin and Heidelberg: Springer Verlag, 1988
- [2] 刘定富. 植物显性核不育恢复性遗传的理论探讨[J]. 遗传, 1992, 14(6): 31- 36
- [3] 李树林, 钱玉秀, 吴志华. 甘蓝型油菜细胞核雄性不育性的遗传规律探讨及其应用[J]. 上海农业学报, 1985, 1(2): 1- 12
- [4] 张书芳, 宋兆华, 赵雪云. 大白菜核基因互作雄性不育系选育及应用模式[J]. 园艺学报, 1990, 17(2): 117- 125
- [5] 王武萍, 庄顺琪, 董振生. 白菜型油菜细胞核雄性不育三系选育研究[J]. 西北农业学报, 1992, 1(1): 37- 40
- [6] 颜龙安, 张俊才, 朱成, 等. 水稻显性雄性不育基因鉴定初报[J]. 作物学报, 1989, 15: 174- 181
- [7] 胡洪凯, 马尚耀, 石艳华. 谷子(*Setaria italica*)显性雄性不育基因的发现[J]. 作物学报, 1986, 12(2): 73- 78
- [8] 马尚耀, 董其福, 成慧娟, 等. 谷子雄性不育复等位基因的发现初报[J]. 遗传, 1990, 12(1): 9- 11
- [9] Mathias Regine A. new dominant gene for male sterility in rapeseed *B. brassica napus* L. [J]. Z Pflanzeng üchtg, 1985, 94(2): 170- 173
- [10] 董云麟, 杜禾. 一个甘蓝型油菜显性核不育材料的选育及利用研究[J]. 西南农业学报, 1993, 6(4): 6- 10
- [11] 王通强, 田筑萍, 黄泽素, 等. 甘蓝型双低油菜细胞核显性雄性不育系黔油 2AB 的选育[J]. 贵州农业科学, 1999, 27(5): 14- 18
- [12] 胡胜武, 于澄宇, 赵会贤, 等. 甘蓝型油菜新型不育材料 Shaan-GM S 的遗传研究[J]. 西北植物学报, 1999, 19(6): 63- 67
- [13] HU Sheng-wu, YU Cheng-yu, ZHAO Hui-xian. The discovery of a new kind of male sterility accession in *B. brassica napus* L. and a primary genetic study[J]. 西北农业学报, 2000, 9(3): 90- 94
- [14] HU Sheng-wu, YU Cheng-yu, ZHAO Hui-xian, et al. The discovery of a new kind of male sterility accession “Shaan-GM S” in *B. brassica napus* L. and genetic study[A]. L IU Hou-li, FU Ting-dong. Proceedings of international symposium on rapeseed science[C]. New York: Science Press, 2001. 111- 116
- [15] Zhou Y M, Bai H H. Identification and genetic studies of the inhibition of dominant male sterility in *B. brassica napus*[J]. Plant Breeding, 1994, 113: 222- 226
- [16] 贺浩华, 刘宜柏, 蔡跃辉, 等. 水稻显性核不育及其恢复性的遗传规律研究[J]. 中国水稻科学, 1999, 13(3): 143- 146
- [17] WANG Tong-qiang, HUANG Ze-su, TIAN Zhu-ping, et al. Genetic analysis of sterility of *B. brassica napus* cv. Qianyou 2AB [A]. L IU Hou-li, FU Ting-dong. Proceedings of international symposium on rapeseed science[C]. New York: Science Press, 2001. 117- 121
- [18] 胡胜武, 刘胜毅, 于澄宇, 等. 甘蓝型油菜核不育材料 Shaan-GM S 不育基因的 RAPD 标记[J]. 中国油料作物学报, 2003, 25(3): 5- 7
- [19] 于澄宇, 胡胜武, 郭蔼光, 等. 甘蓝型油菜显性核不育系同工酶和蛋白质分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2003, 31(6): 71- 74

(下转第 18 页)

[43] NY414-2000 低芥酸低硫苷油菜种子行业标准[S].

[44] 王汉中. 入世的中国油菜产业[J]. 中国油料科技产业信息, 2002, (1): 2- 6

Analysis of the present situation of rape production in Shaanxi

JING Jun-sheng¹, DONG Zhen-sheng¹, FAN Ya-qin²

(1 College of Agronomy, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Yangling Vocational and Technical College, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Looking back the history of rape production in Shaanxi Province, the existing problems are as follows: high production cost, weak competition; low unit yield and poor management; unbalance of the production in different areas and years; loose industrialization chains and lower industrialization level; low processing level and poor utilization of by-products. Meanwhile, advantages of rape production in Shaanxi are analyzed such as the good breeding force, the complete system for checking the quality of seeds, the perfect extension system, the matured cultivation skills etc. The prospects of the rape production in the future are also forecasted, and finally, the countermeasures for the rape production in Shaanxi Province are proposed.

Key words: rape production; cash crop; Shaanxi Province

(上接第 12 页)

Identification and genetic analysis of the fertility restoring gene for dominant male sterility accession "Shaan-GMS" in *B. napus* L.

HU Sheng-wu¹, YU Cheng-yu¹, ZHAO Hui-xian², LUMing¹, Zhang Chun-hong¹, YU Yan-jun¹

(1 College of Agronomy, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 College of Life Sciences, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Shaan-GMS was a newly discovered dominant male sterility accession in *B. napus* L. 77 *B. napus* accessions from China and abroad were tested for their maintaining or restoring ability for Shaan-GMS, one accession named 96-803 from Sweden was screened out which could restore the male sterility of Shaan-GMS. The genetic pattern of fertility restoration of male sterility of Shaan-GMS was investigated by the genetic experiments designed by Liu. The results showed that male fertility of Shaan-GMS was controlled by two pair of nuclear genes. If male sterile gene was designated as *M*s, its allele recessive gene as *m*s, dominant inhibition gene as *R*f, which can inhibit the expression of the *M*s, resulting in the restoration of *F*₁, its allele recessive gene as *r*f, the phenotype of *M*s-*r*r*f**f* was male sterile, and that of other seven genotypes was male fertile. So the genotype of Shaan-GMS, 96-803 and 84004 was *M**sm* *sr**r**f*, *m* *sm* *R*-*r**f* and *m* *sm* *sr**r**f* respectively. The cross test results also showed that Shaan-GMS has similar maintaining and restoring relationship with 6CA.

Key words: *B. napus* L.; dominant male sterility; Shaan-GMS; restoration pattern