

DOI:CNKI:61-1390/S.20110809.1712.001

网络出版时间:2011-08-09 17:12:00

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20110809.1712.001.html>

甘蓝型油菜授粉控制系统研究现状与前景

于澄宇

(西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 对国内外传统和新型授粉控制系统的特点及发展潜力进行全面评述,为油菜杂种优势利用提供参考。中国杂交油菜生产的授粉控制系统具有多元化的特色,包括自交不亲和、细胞质雄性不育、细胞核雄性不育、化学杀雄和双重雄性不育等途径。由于目前油菜生产水平提高,许多遗传改良的新种质要尽快投入应用,加之国外改良 Ogu CMS 和基因工程雄性不育研究的快速发展,虽然通过组合我国现有的不同授粉控制系统可以增强稳定性,对于促进杂交种生产具有一定潜力,但开发我国具有自主知识产权的新型高效授粉控制系统,是目前亟待解决的首要问题。

[关键词] 甘蓝型油菜;杂种优势;雄性不育;化学杀雄;自交不亲和

[中图分类号] S565.403.52

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2011)09-0093-08

Progress and perspective of different pollination control systems in rapeseed (*Brassica napus*)

YU Cheng-yu

(College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: In order to provide a comprehensive reference for hybrid rapeseed production in China, the characterizations and the potentials of different traditional and new pollination-control systems are summarized in this paper. Diversifying pollination-control systems are used in commercial hybrid production in China, including self-incompatibility, cytoplasmic male sterility, genic male sterility, and chemical gametocide etc. Owing to the fast increase of rapeseed production, more and more genetic-improved germplasms need to be put into hybrid production. Ogura CMS and genetic-engineering male sterility have made great success in Europe and North America. Under this circumstance, rapeseed industry in China needs some more effective pollination-control systems for higher level hybrid production. Constructing of some combining systems with different pollination-control systems can enhance the stability and promote hybrid production.

Key words: rapeseed; heterosis; self-incompatibility; male sterility; gametocide

中国甘蓝型油菜杂种优势利用一度处于国际领先水平^[1],是世界上杂交油菜应用成功最早、利用方式最多、应用比例最高、种植面积最大的国家。中国油菜授粉控制系统(杂种优势利用方式)类型很多,具有多元化的特征。这首先与中国地域广阔、生态

类型差异大、油菜种质交流频繁,因而容易发现并利用不同授粉控制系统有关;此外还有一些特殊国情原因:我国油菜主要是农户分散种植,杂交种与常规种子差价带来的成本变化远比欧洲、北美小,因而农户乐于接受杂交种;油菜生产水平不高,对杂交种

* [收稿日期] 2011-03-22

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31071454);中央高校基本科研业务费专项(QN2009008);西北农林科技大学唐仲英育种基金项目(2009-51)

[作者简介] 于澄宇(1973—),男,陕西岐山人,副研究员,博士,主要从事油菜遗传育种研究。E-mail: yu1009@nwsuaf.edu.cn

纯度要求不是很严格;劳动力成本低廉,制种过程可借助人工除杂等。

关于 20 世纪油菜杂种优势利用的各种途径,已有较为全面详细的总结^[1]。但是由于目前油菜生产水平大幅度提高,许多遗传改良的新种质需要尽快投入应用,以及要选育具有高含油量、高油酸、低亚麻酸、抗裂荚等特性的杂交种,就要求双亲都要有好的表型。因此,对油菜授粉控制系统的稳定性、简便性提出了更高的要求,原有的一些授粉控制方式已逐渐不适应新形势的要求。近年来,国外 Ogura CMS、基因工程雄性不育等均取得显著进展,中国油菜杂种优势利用也面临国际形势的严峻挑战。因此,改良原有的油菜授粉控制系统、开发新的油菜授粉控制系统势在必行。本文主要从国内外遗传学理论和育种学实践的角度,对各类传统及新型油菜授粉控制系统的特点进行归纳总结,并对其研究进展、发展潜力进行评述,以期国内油菜杂种优势利用研究提供一些参考。

1 自交不亲和(SI)

油菜中雄性不育比较丰富,所以自交不亲和的应用目前不太受重视。国内利用自交不亲和系统选育的杂交种仅有“油研 3 号”(1991 年)和“华豫油 640”(2009 年)通过审定,但自交不亲和仍然是重要的应用基础研究内容^[2]。自交不亲和有 4 大缺陷:1)自交不亲和系选育、扩繁比较麻烦,需要大量人工剥蕾授粉,即使反复使用食盐水方法,结实率也很低,难以提供足够大面积制种的高纯度亲本;2)连续自交可能导致生活力衰退;3)缺乏形态指示性状,难以识别去杂;4)对高温等环境因素敏感,制种有风险,所以在种子行业竞争日趋激烈的情况下,很难有大的发展。如果将自交不亲和与除草剂抗性、光温敏核不育^[3]、化学杀雄^[4]、细胞质不育^[5]结合起来,构建双重油菜授粉控制系统,可能有更多的应用。

2 细胞质雄性不育(CMS)

CMS 是目前我国油菜杂种优势利用的主要方式。早期把甘蓝型油菜细胞质划分为不育胞质 Polima、Nap、Ogura 和白菜型可育胞质 Cam 等 4 类,随着远缘杂交、细胞工程的大量应用,现代遗传育种材料中的细胞质类型更加丰富,但目前农业生产上还是以应用 Polima CMS 和 Ogura CMS 为主。

2.1 Polima 和陕 2A CMS

国内在生产上应用的 CMS 主要有 Polima、陕

2A 等。Polima CMS 与陕 2A CMS 等的恢保关系相同^[1],可归为同一大类。Polima CMS 系统在国内外广为应用,选育的杂交种已有近 30 个。利用陕 2A CMS 选育成的杂交种约有 15 个,其中包括“秦油 2 号”、“秦优 7 号”、“中油杂 2 号”等推广面积较大的骨干油菜品种。

该不育类型的优点是保持系、恢复系的分布比较广泛,易配制高产组合;主要缺点是大多数不育系稳定性较差,可产生微量花粉,甚至在低温、高湿的环境下变成半不育。目前,主要通过育种和栽培途径来减少 CMS 的花粉:在育种中主要通过严格筛选保持系来育成比较稳定的不育系,但这必须以少数几个保持能力好的品种为育性基因的核心供体,因此限制了许多优良种质的直接利用,造成迅速改良品种、大幅度提高含油量等性状的难度加大。据笔者观察,稳定的不育系往往具有低温不开花或死蕾现象,而在温度较高时才正常开放,通过低温死蕾可以避开不利天气产生微粉的阶段。栽培方面最有效的是“北繁南种”,利用陕西、甘肃、青海春夏季高温干燥气候制种,如 Polima CMS^[6]、温敏不育系 501-8S^[7],采用这种制种模式可取得良好效果。

2.2 萝卜细胞质雄性不育型

转入油菜的萝卜细胞质不育有 Ogura CMS 和 Koseana CMS,二者恢保关系相同。但在 Koseana CMS 中,与 Ogura CMS 的线粒体 *orf138* 基因位点对应的是 *orf125*,通过细胞质融合得到的油菜 Koseana CMS 线粒体中发生了萝卜 *orf125/orfB* 和油菜 *nad1C/ccmFN1* 区段的重组^[8],其恢复基因 *Rfo* 或 *orf687* 已被克隆^[9-10]。但 *orf687* 在萝卜的恢复材料中分布较少,并非主要恢复基因,另有其他恢复基因^[11],其中一个与 *Rfo* 连锁^[12]。从萝卜回交转育而来的原始 Ogura CMS 具有低温黄化等缺陷,而目前国内外所用的非黄化 Ogura CMS 大都是从法国 INRA 或美国康奈尔大学通过原生质融合得到的改良型不育系衍生而来。油菜 Ogura CMS 的恢复材料并不能恢复黄化型 Ogura CMS 的育性^[13],而改良型 Ogura CMS 兼有 Ogura CMS 的线粒体 *orf138* 及 Nap CMS 的 *orf222* 条带^[13-14]。还有研究报道,在某些正常萝卜中也可以扩增出 *orf138*^[15]。所以对 Ogura CMS 的叶绿体、线粒体其他位点的差异比较及恢复基因的研究,具有重要的科学研究价值。

Ogura CMS 育性稳定(部分不育系花丝很长,但花药白色败育),但缺点是双低恢复系受发明专利

保护(ZL200480019056.6)。法国 INRA^[16]、先正达公司、先锋公司^[17]等通过反复回交、射线诱变、分子标记辅助选择等方法,已经培育出不同的双低恢复系。INRA 的双低恢复系硫甙含量略高于 30 $\mu\text{mol/g}$ 。先锋公司选育了硫甙更低的恢复系 97SN-1650 等,其杂交种在北美得到快速发展^[17]。国内部分单位也开展 Ogura CMS 及其恢复材料选育,如云南省利用从加拿大引进的三系杂交种“01751”的后代恢复材料,选育、审定了萝卜细胞质杂交种“云油杂 5 号”。

2.3 Nap CMS

Nap CMS 对高温环境敏感,生产上难以应用。很多正常油菜品种都具有 Nap 细胞质,所以其恢复系很多。Li 等^[18]曾认为,Nap CMS 和 Polima CMS 的恢复基因 *Rfn* 和 *Rfp* 位于同一基因座 Mmt 并且是等位基因,二者互斥。但笔者在育种实践中发现,具有 Nap 胞质的材料(Nap 的恢复系)有些可以保持,有些则可以恢复 Polima CMS 的育性(未发表),表明 2 种恢复基因并非互斥,最多是有连锁关系,具有 4 种功能组合形式:*Rfp/Rfn*、*rfp/Rfn*、*Rfp/rfn* 和 *rfp/rfn*,而不是 Li 等假设的仅后 3 种。西北农林科技大学选育的生态型细胞质不育系 533S、417S 也具有高温敏感特性,但其线粒体结构与 Nap CMS 有差别^[19]。

2.4 其他细胞质不育

通过品种间杂交、种间杂交和细胞融合等方法已育成一大批新型细胞质不育材料。国内有芥菜型油菜欧新 A^[20]、新疆野芥胞质 NSa CMS^[21]、芥菜型油菜胞质 Hau CMS^[22];国外选育了具有 *Diplotaxis muralis* 胞质的白菜型油菜 mur CMS^[23],在芥菜型油菜中选育了具有 *D. sifolia*^[24]、*Trachystoma ballii*^[24]、*Brassica oxyrrhina*^[24]、*Moricandia arvensis*^[24]、*B. tournefortii*^[25]、*D. catholica*^[26]、*Enarthrocarpus lyratus*^[27]、*Erucastrum canariense*^[28] 等细胞质的不育系。这些材料有的育性不稳定,有的没有找到高度恢复系,或者农艺性状差、副效应大,因此在油菜育种中利用潜力有限。目前已转育成甘蓝型油菜三系的有 NSa CMS^[21]、mur CMS^[23]、Tournefortii CMS^[25] 和 Tournefortii-Stiewe^[29] 等。NSa CMS 不育性对温度敏感性低,其恢复基因位于 1 对附加的异源染色体上^[21]。在加拿大,mur CMS 比 Polima CMS 育性稳定^[23]。Tournefortii CMS (tour CMS)在甘蓝型油菜中恢复基因有 2 对^[25],恢复性受光周期影响,据国内试验,其在育性稳定性、

恢复度等方面有缺陷,所以未能应用(杨光圣,私人通讯)。国内还有 Nca CMS,来自以品种“中油 821”(Nap 细胞质)为母本与埃塞俄比亚芥杂交的后代,但与 Nap CMS 有所不同,其恢复系很多^[30],如果不育系育性稳定,容易利用杂种优势。另外,国内还有 NEA CMS 实现了商业化应用,关于其与 Ogura CMS 的关系有待研究^[31]。

由于十字花科植物种属间的天然杂交、人工杂交、选择、种质资源交流等因素,现代甘蓝型油菜育种材料的细胞质类型更为丰富,除白菜^[32]外还有芥菜、甘蓝、萝卜等近缘种属细胞质,这对油菜生产是有利的,但给细胞质分类造成困难。目前可以利用分子生物学技术检测叶绿体、线粒体序列的多态性来揭示细胞质的多样性以及进化起源^[32]。由于单个细胞中线粒体数量较多,最新研究发现,Polima CMS、Nap CMS 之间还共享少量的 *orf224*、*orf222* 基因;通过定量 PCR 检测发现,不同品种的 *orf224*、*orf222* 拷贝数比例(化学计量 substoichiometric)存在很大差异^[33]。类似的现象如改良型 Ogura CMS 中兼有 *orf222* 条带^[13-14],正常萝卜具有 *orf138* 条带^[15],均从这一角度可以得到解释。

目前的不育细胞质分类方法还不够完善。细胞质分类应当明确区分线粒体不育基因、线粒体型(mitotype)、叶绿体型(Chlorotype)和细胞质类型 4 种不同层次的概念。有些研究对恢复关系相同的陕 2A、Polima CMS 等的线粒体 *orf224* 基因进行了 PCR 扩增测序,结果各不相同^[34-36],其原因可能来自于取材不同、PCR 引入突变、溴化乙啶插入 DNA、克隆子筛选差异、测序仪错误等。因此,有必要分析更多的位点作为参考。另外,目前的线粒体 *orf224*、*orf222*、*orf138* 等序列是否为相应的不育基因,是否都具有高度特异性,这些问题均尚未得到 100% 验证。同一不育细胞质在经过改良之后,有可能出现细胞器基因组变异,特别是人工诱变、细胞融合技术很容易改变细胞器基因组。如油菜黄化型 Ogura CMS 和原生质体融合所得 Ogura CMS 都有线粒体 *orf138* 片段,但恢复关系、形态、线粒体结构不同^[13-14],通过原生质体融合得到的油菜 Kosena CMS^[8]、Tournefortii-Stiewe CMS^[29] 的线粒体结构也不同于原始的萝卜 Kosena CMS 和芥菜 Tournefortii CMS。所以在比较细胞质不育基因位点的同时,还有必要分析线粒体、叶绿体其他基因位点的异同,这是由于这些与不育基因共存的信息可以从侧面说明不育细胞质的起源和进化歧变,而且不育基

因之外的差异有可能影响不育基因的表达以及抗冻性、抗病性等其他农艺性状,而这些对于评价一个不育系统的实用性具有不可忽视的影响。

3 细胞核雄性不育杂交种(GMS)

目前生产上利用的油菜核不育主要有显性复等位基因控制的细胞核雄性不育(DGMS)、2对重叠隐性基因控制的细胞核雄性不育(RNMS)、双位点互作隐性细胞核雄性不育、环境敏感细胞核不育系(EGMS)等4大类型。

3.1 显性复等位基因控制(或2对显性基因互作)的细胞核雄性不育

油菜显性核不育必须有恢复系才能用于生产杂交种,甘蓝型油菜中选育的“宜3A”、“黔油2AB”、“Shaan-GMS”、“609AB”等显性核不育都先后找到了恢复系。为了解释油菜显性核不育的遗传规律,李树林等^[37]提出了2对显性核不育基因上位互作遗传模式,这是细胞核不育遗传育种学方面的一大突破。但后来利用经典遗传和分子标记技术,从609AB中找到了支持复等位基因遗传模式的新证据^[38]。复等位基因和2对显性基因互作模式都可以用来解释油菜的显性核不育的遗传,这种情形与白菜型油菜、大白菜中的显性核不育也具有2种遗传模式的情况非常相似。由于白菜是甘蓝型油菜的进化先祖,甘蓝型油菜的这一套不育基因是否是从白菜或白菜型油菜中衍生而来?这一猜想值得进一步研究验证。

在显性复等位基因模式和2对显性基因互作模式下,均可通过纯合不育株与隐性临保系杂交获得杂合型全不育群体,再与恢复系杂交配制杂交种,相对而言,在显性复等位基因模式下不育系的选育方法更为简单。但这种制种体系的缺点是:1)全不育系是杂合型,对制种田早期识别去杂有影响;2)所产杂交种属于三交种,如不解决整齐一致性较差的问题,杂种优势潜力可能不如单交种,所以为保证全不育系整齐一致,临保系也最好从选育纯合两型系的同一群体中筛选;3)天然恢复材料较少,在制种过程中与外界串粉后会产生不育株,影响杂交种产量,与隐性核不育相比缺乏优势。

3.2 2对重叠隐性基因 $ms1$ 、 $ms2$ 控制的细胞核雄性不育

源于S45A、117A的不育系育性由2对重叠隐性基因 $ms1$ 、 $ms2$ 控制,简称双隐性核不育,同类还有22118AB、90-2441A和绵9AB-1等,该系统衍生

的不育系大部分育性稳定。核不育基因 $ms1$ 和 $ms2$ 已经得到克隆,二者是同源基因,主要控制花粉壁的形成和绒毡层发育^[39]。目前在西南诸省气候多变,Polima、陕2A CMS不太适宜的区域,双隐性核不育得到了广泛应用。这类核不育系的优点是对杂交种含油量和农艺性状的副效应小,绝大多数油菜品种都是它的恢复系。其缺点是不能获得100%的不育株群体,制种时需要人工拔除母本中约50%的可育株,随着劳动力成本的不断提高,该方式会逐渐难以实施,所以有必要探索实现其全不育的新方法。

3.3 双位点互作隐性细胞核雄性不育

该类型是目前油菜核不育遗传研究中争议较大、但应用进展最快的一种。陈凤祥等^[40]对不育系“9012A”的遗传提出隐性核不育基因 $ms_3ms_3ms_4ms_4$ 和上位基因 $rfrf$ 互作模式,可以通过两用系中的纯合不育株与“三隐性临保系”杂交繁殖不育系,获得100%的不育群体。但是同双显性核不育一样,隐性上位互作模式也受到双位点遗传模式^[41-43]的挑战。

俎峰等^[41]利用分子标记技术将不育系“7-7365AB”的 Ms_4 与 Rf 基因定位在N7连锁群的同一个区段,判断二者可能属于等位基因。即“7-7365AB”的育性只受2个基因位点 Ms_3 和 Rf 控制, Rf 位点有3个复等位基因:可育恢复基因 Ms 、不育基因 ms 和隐性上位基因 rf 。不育株基因型为 ms_3ms_3msms ,临保系的 ms 位点具有无功能的 rf 基因,基因型为 ms_3ms_3rfrf ,恢复系基因型可以为 Ms_3Ms_3rfrf 、 Ms_3Ms_3msms 、 Ms_3Ms_3MSMS 或 ms_3ms_3MSMS ^[41]。董发明等^[42]通过对“9012AB”与常规品种杂交、测交后代的遗传分析,提出相似的遗传模式, Rf 位点的3个复等位基因分别以 Rf^a 、 Rf^b 、 Rf^c 表示。

“MSL-Lembke”是1982年在德国发现的雄性不育材料,用此系统已育成“Artus”、“Baldur”、“Banjo”、“Kashmir”、“Panther”、“Pronto”、“Titan”和“Dubai”等杂交种。因为能实现全不育,曾被视为细胞质不育^[1],但后来发现,“MSL-Lembke”是一种多基因隐性细胞核不育。Stiewe等^[43]从“MSL-Lembke”杂交种“Panther”中分离出不育系,具有低于30℃不育、35℃以上处理可育的特征,并利用李树林等^[37]的双显性互作来解释其遗传模式:不育系基因型为 $MsMsrfrf$,恢复系(绝大多数材料)为 $MsMsRfRf$,临保系(很稀少)为 $msmsrfrf$ 。但如果将该模式的恢复基因和抑制基因调换,就与俎峰

等^[41]的复等位模式很相似,惟一的差别在于该模式 M_s 座位不需要复等位基因。与复等位模式相比,该模式无法解释不育系与正常材料杂交后代中 15:1 的比例,以及某些不同杂合两型系交叉杂交不能保持不育/可育为 1:1 的情况。如果能证明恢复系有 $msmsRfRf$ 基因型,则以上问题可以得到解释。

3.4 环境敏感细胞核不育系

环境敏感细胞核不育包括温敏核不育、光敏核不育、光温敏核不育等,统称光(及/或)温敏核不育,有些文献以生态核不育表示。甘蓝型油菜中先后发现的有“湘 91S”^[44]、“H90S”^[45]、“N196S”^[46]、“373S”^[47]、“104S”^[48]等,其育性均受隐性核不育基因控制,其中“湘 91S”、“104S”分别含有 2 对、1 对表现稳定不育的隐性核不育基因,以及若干具有上位性的温敏核基因^[44,48],但在其他类型材料中没有报道有这种稳定、敏感不育株分离的现象。

这些不育系的优势是,可将不育基因转入到任何一个目标品种或自交系中以选育新不育系,且恢复源广,容易获得较高产量潜力的杂交组合。其缺点是对气候条件的要求比 Polima CMS 更为严格,可供选择的制种区不多,一般在青海、甘肃或者高海拔山区春播进行制种。但油菜属于大株作物,对群体整齐度要求较低,而且核不育株开放结实性好,如果杂交种中不育株率小于 15%,一般不会引起明显减产。目前已有温敏核不育两系杂交油菜“湘杂油 5 号”通过了湖南省的审定。

4 转基因雄性不育

基于除草剂草胺磷抗性 Bar 基因标记的 Bar-nase/Barstar 系统^[49],在油菜中包括 Ms8Rf3、Ms1Rf1、Ms1Rf2 及其衍生组合,因为具有育性稳定、制种方便、可以化学除草等优势,在加拿大、美国、澳大利亚等国应用较多。基因工程不育系统如果能以响应乙醇、 NaCl_2 等诱导物的化学诱导性启动子来创造条件性雄性不育,则无需构建恢复系,即可实现人工可控的两系法制种,会有更好的应用潜力。但基因工程雄性不育目前在欧洲、亚洲国家被禁止使用。

5 双重雄性不育

由多种授粉控制方式结合构成的系统称为复合型或双重授粉控制系统,其中 2 种不育系统的组合称为双重雄性不育。对于不稳定的不育系,可以结合化学杀雄或者选育双重不育系来解决。早期的双

重不育系是“GMS+CMS”,只能解决 50% 的 CMS 微粉株,而且选育、制种程序比较复杂。湖南省农科院用温敏不育系保持 Polima CMS,育成了没有微粉的“湘油 66A”^[50]。笔者也发现,用“EGMS+CMS”双重不育来解决陕 2A CMS 的微粉问题成效显著,基本制种程序同三系法,可利用原有 CMS 恢复系,在实践上是可行而有效的(未发表),惟一的缺点是繁殖保持系(环境敏感细胞核不育系 EGMS)、不育系需在低温、短日照气候条件下进行,否则会因保持系花粉少而种子产量较低。另外,用苯磺隆、酰嘧磺隆等化学杀雄剂处理可显著减少环境敏感核不育、陕 2A CMS 的微粉^[51-53]。这些双重雄性不育系统,使得很多不稳定的不育系也可以用于制种,配制杂交组合的范围扩大了数十倍,也可以不用再到北方或春油菜区制种,很好地解决了不育系的制种难点,这就可以继续保持 Polima、陕 2A 等细胞质雄性不育系在我国油菜杂种优势利用中的主导地位。

6 化学杀雄剂(CHA)

CHA 能诱导植物产生生理性雄性不育,所以育种方法简单、可选择组合多,品种升级换代快。但 CHA 的缺点也很明显:其杀雄效果受到基因型、施药方式、喷药时期、药液浓度、植株个体差异以及环境因素的影响。目前油菜化学杀雄技术仍然具有很好的应用前景:1)化学杀雄虽然很难成为主流育种技术,但对杂种优势利用技术是必要、有益的补充;2)CHA 在提高杂交种纯度方面有重要作用,可用于去除 CMS、EGMS 微粉。目前,化学杀雄已经作为一项重要的制种保障技术,在陕西等油菜制种区得到广泛应用。

生产上对高效 CHA 的要求比较迫切,国内利用化学杀雄技术育成了“湘杂油 6 号”、“渝黄 1 号”、“渝黄 2 号”、“秦优 33”、“秦杂油 4 号”等 10 多个杂交种。近年来报道,油菜杀雄剂活性成分主要为磺酰脲类超高效除草剂,如苯磺隆、酰嘧磺隆等^[51-54],具备所谓“理想”化学杂交剂的基本特征:完全抑制花粉形成,成本非常低廉,剂量仅为同类除草剂的 1/50~1/1 000 (一般 $< 1 \text{ g/hm}^2$),符合环保要求^[51-54]。这些磺酰脲类化合物的作用靶标是乙酰乳酸合成酶,广泛存在于各种作物内,这一发现为研究 CHA 的作用特征和机理提供了契机。

7 中国油菜授粉控制系统的利用前景

一个成功的授粉控制系统首先要求能够配制出

优势组合,其次要稳定可靠,还要简单、可持续发展。Ogura CMS 已经成为目前最稳定的实用化 CMS 系统,如果能解决其恢复系的知识产权问题,并进一步减少异源基因带来的副效应,将会在国内迅速得到大面积利用。Liberty-link 杂交油菜有优于其他方式的优势,而我国还没有实用化的基因工程不育体系,一旦政府迫于压力开放转基因油菜市场,传统杂种优势利用方式将受到严重影响。所以中国在油菜杂种优势利用方面的优势地位受到了国外的严峻挑战,开发具有自主知识产权的授粉控制系统势在必行。

目前在油菜品种升级换代,含油量、抗病性快速提高的大背景下,在不同杂种优势利用方式当中,理论上最容易实现育种目标的首推化学杀雄,其可以直接利用最新的优良品种和自交系配制杂交组合,例如黄籽或高含油量杂交种“渝黄 2 号”、“秦优 33”等的选育。但种子纯度问题是大面积制种的限制因素,严重制约了化学杀雄两系杂交种的优势发挥。

隐性光、温敏核不育的改良也需要 5~10 代的育种周期,但可以直接利用优良常规品种作为恢复系,育种程序简单,具有较好的应用前景。双位点隐性核不育是最有发展潜力的核不育系统,但其瓶颈是不育系和临保系改良周期很长,要注意在具有优异性状的组合中同时筛选两型系及与之同源的临保系,必要时采用回交的策略,使它们的农艺、品质性状接近,以保证全不育系整齐一致,具有与两系、三系杂交种相当的杂种优势潜力。

鉴于我国油菜各种自有知识产权的系统各有优缺点,笔者认为目前比较可行的思路是改良现有系统。首先应该下大力气改进新型不育源如 Nsa CMS、Hau CMS 等,使其尽早投入生产应用。同时可以将现有的不同授粉控制方式有机组合,构建复合型授粉控制系统,例如 EGMS+CMS、SI+CMS、SI+EGMS、CHA+CMS、CHA+EGMS 等,利用不同系统的互补来增强授粉控制系统的稳定性,特别是 Polima、陕 2A 等 CMS 类型,要想继续保持在国内的主导地位,很有必要与化学杀雄、光温敏核不育、自交不亲和结合起来,开发复合型授粉控制系统,以扩大保持系以及杂种优势的利用范围。

[参考文献]

[1] 傅廷栋. 杂交油菜的育种和利用 [M]. 2 版. 武汉:湖北科学技术出版社,2000;2-84.
Fu T D. Breeding and utilization of hybrid rapeseed [M]. 2nd

edt. Wuhan:Hubei Sci. & Tech Press,2000;2-84. (in Chinese)
[2] Zhang X, Ma C, Tang J, et al. Distribution of S haplotypes and its relationship with restorer-maintainers of self-incompatibility in cultivated *Brassica napus* [J]. Theor Appl Genet, 2008, 117: 171-179.
[3] 于澄宇, 胡胜武. 带有自交不亲和特性的油菜环境敏感核不育系的选育及应用: 中国, 200910023163. 0 [P]. 2009-07-02.
Yu C Y, Hu S W. Method to development and application of environment sensitive genic male sterile line with self-incompatibility: China, ZL200910023163. 0 [P]. 2009-07-02. (in Chinese)
[4] 于澄宇, 胡胜武. 一种双重授粉控制系统生产高纯度油菜杂交种的制种方法: 中国, 201010128897. 8 [P]. 2010-03-19.
Yu C Y, Hu S W. Method to production of hybrid rapeseed of high hybridity using a double pollination-control system: China, 201010128897. 8 [P]. 2010-03-19. (in Chinese)
[5] Shen J X, Wang H Z, Fu T D, et al. Cytoplasmic male sterility with self-incompatibility, a novel approach to utilizing heterosis in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Euphytica, 2008, 162(1): 109-115.
[6] 袁 美, 杨光圣, 傅廷栋, 等. 甘蓝型油菜生态型细胞质雄性不育两用系的研究. Ⅲ: 8-8112AB 的温度敏感性及其遗传 [J]. 作物学报, 2003, 29(3): 330-335.
Yuan M, Yang G S, Fu T D, et al. Studies on the ecotypical male sterile-fertile line of *Brassica napus* L. Ⅲ: Sensitivity to temperature of 8-8112AB and its inheritance [J]. Acta Agron Sin, 2003, 29(3): 330-335. (in Chinese)
[7] 徐 亮, 彭小松, 贺浩华, 等. 甘蓝型油菜生态型细胞质雄性不育系育性的初步研究 [J]. 西北农业学报, 2006, 15(1): 20-23.
Xu L, Peng X S, He H H, et al. Preliminary study on the fertility of the ecotypical CMS for *Brassica napus* L [J]. Acta Agric Boreali-Occident Sin, 2006, 15(1): 20-23. (in Chinese)
[8] Oshima M, Kikuchi R, Imamura J, et al. Origin of the CMS gene locus in rapeseed cybrid mitochondria: Active and inactive recombination produces the complex CMS gene region in the mitochondrial genomes of Brassicaceae [J]. Genes Genet Syst, 2010, 85(5): 311-318.
[9] Brown G G, Formanova N, Jin H, et al. The radish *Rfo* restorer gene of Ogura cytoplasmic male sterility encodes a protein with multiple pentatricopeptide repeats [J]. Plant Journal, 2003, 35(2): 262-272.
[10] Koizuka N, Imai R, Fujimoto H, et al. Genetic characterization of a pentatricopeptide repeat protein gene, *orf687*, that restores fertility in the cytoplasmic male-sterile Kosenia radish [J]. Plant Journal, 2003, 34(4): 407-415.
[11] Yasumoto K, Terachi T, Yamagishi H. A novel *Rf* gene controlling fertility restoration of Ogura male sterility by RNA processing of *orf138* found in Japanese wild radish and its STS markers [J]. Genome, 2009, 52(6): 495-504.
[12] Wang Z W, Zhang Y J, Xiang C P, et al. A new fertility restorer locus linked closely to the *Rfo* locus for cytoplasmic male sterility in radish [J]. Theor Appl Genet, 2008, 117: 313-320.

- [13] 常建军,胡胜武,赵惠贤,等.改良型 Ogu-NWSUAF CMS 油菜的生物学特征 [J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2010,38(4):71-78.
Chang J J, Hu S W, Zhao H X, et al. Characteristics of an improved Ogu-NWSUAF CMS in *Brassica napus* L [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed, 2010, 38(4): 71-78. (in Chinese)
- [14] 王一峰,董振生,董军刚,等.甘蓝型油菜细胞质雄性不育材料 1575A 的分子鉴定 [J].西北植物学报,2010,30(9):1760-1765.
Wang Y F, Dong Z S, Dong J G, et al. Molecular identification of cytoplasmic male sterility line 1575A of *Brassica napus* [J]. Acta Bot Boreali-Occident Sin, 2010, 30(9): 1760-1765. (in Chinese)
- [15] Kim S, Lim H, Park S, et al. Identification of a novel mitochondrial genome type and development of molecular markers for cytoplasm classification in radish (*Raphanus sativus* L) [J]. Theor Appl Genet, 2007, 115: 1137-1145.
- [16] Primard-Brisset C, Poupard J P, Horvais R, et al. A new recombined double low restorer line for the Ogu-INRA cms in rapeseed (*Brassica napus* L) [J]. Theor Appl Genet, 2005, 111(4): 736-746.
- [17] Charne D G, Grant I, Kraling K, et al. Oilseed *Brassica* containing an improved fertility restorer gene for Ogura cytoplasmic male sterility; Canada CA 2193938 [P]. 1996-12-24.
- [18] Li X Q, Jean M, Landry B S, et al. Restorer genes for different forms of *Brassica* cytoplasmic male sterility map to a single nuclear locus that modifies transcripts of several mitochondrial genes [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 10032-10037.
- [19] 董军刚.甘蓝型油菜温敏细胞质雄性不育系 417S 选育与鉴定 [D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2010.
Dong J G. Selection and identification of thermo-sensitive male sterile line 417S in *Brassica napus* L [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2010. (in Chinese).
- [20] 董云松,邱怀珊,赵庭周,等.芥菜型油菜欧新 A 不育细胞质的遗传效应 [J].西南农业学报,1999,12(4): 53-57.
Dong Y S, Qiu H S, Zhao T Z, et al. Genetic effects of male sterile cytoplasm in hybrid rapeseed (*Brassica juncea* L) [J]. Southwest China J Agri Sci, 1999, 12(4): 53-57. (in Chinese)
- [21] 程计华,李云昌,胡琼,等.油菜野芥 NSa 细胞质雄性不育系的特异性分子鉴定 [J].作物学报,2008,34(11):1946-1952.
Cheng J H, Li Y C, Hu Q, et al. Molecular identification and distinctness of NSa male sterile cytoplasm in *Brassica napus* [J]. Acta Agron Sin, 2008, 34(11): 1946-1952. (in Chinese)
- [22] Wan Z, Jing B, Tu J, et al. Genetic characterization of a new cytoplasmic male sterility system (Hau) in *Brassica juncea* and its transfer to *B. napus* [J]. Theor Appl Genet, 2008, 116(3): 355-362.
- [23] Riungu T C, McVetty P B E. Development and evaluation of *Diplotaxis muralis* (*mur*) cytoplasmic male sterility system in summer rape [J]. Can J Plant Sci, 2003, 83: 261-269.
- [24] Singh K H, Srivastava K K. Characterization of different cytoplasmic male sterility systems in Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern & Coss) [J]. Plant Breeding, 2006, 125(1): 72-76.
- [25] Pahwa R S, Banga S K, Gogna K P S, et al. Tournfortii male sterility system in *Brassica napus*. Identification, expression and genetic characterization of male fertility restorers [J]. Plant Breeding, 2004, 123(5): 444-448.
- [26] Pathania A, Kumar R, Kumar V D, et al. A duplicated coxI gene is associated with cytoplasmic male sterility in an alloplasmic *Brassica juncea* line derived from somatic hybridization with *Diplotaxis catholica* [J]. J Genet, 2007, 86(2): 93-101.
- [27] Janeja H S, Banga S K, Bhaskar P B, et al. Alloplasmic male sterile *Brassica napus* with *Enarthrocarpus lyratus* cytoplasm; introgression and molecular mapping of an *E. lyratus* chromosome segment carrying a fertility restoring gene [J]. Genome, 2003, 46(5): 792-797.
- [28] Prakash S, Ahuja I, Upreti H C, et al. Expression of male sterility in alloplasmic *Brassica juncea* with *Erucastrum canariense* cytoplasm and the development of a fertility restoration system [J]. Plant Breeding, 2001, 120(6): 479-482.
- [29] Dieterich J H, Braun H P, Schmitz U K. Alloplasmic male sterility in *Brassica napus* (CMS 'Tournfortii-Stiewe') is associated with a special gene arrangement around a novel *atp9* gene [J]. Mol Genet Genom, 2003, 269(6): 723-731.
- [30] Wei W L, Wang H Z, Liu G H. Cytological and molecular characterization of a new cytoplasmic male sterility in rapeseed [J]. Plant Breeding, 2009, 128(4): 426-428.
- [31] 蒋梁材,蒲晓斌,张启行,等.甘蓝型油菜细胞质雄性不育材料 NEA 的发现与遗传研究 [J].中国农业科学,2002,35(1):72-78.
Jiang L C, Pu X B, Zhang Q X, et al. Identification of a cytoplasmic male sterile line NEA in *Brassica napus* L and its genetic studies [J]. Sci Agric Sin, 2002, 35(1): 72-78. (in Chinese).
- [32] Allender C J, King G J. Origins of the amphiploid species *Brassica napus* L investigated by chloroplast and nuclear molecular markers [J]. BMC Plant Biology, 2010, 10: 54.
- [33] Chen J M, Guan R Z, Chang S X, et al. Substoichiometrically different mitotypes coexist in mitochondrial genomes of *Brassica napus* L [J]. PLoS ONE, 2011, 6(3): e17662.
- [34] Wang Y, Ma S, Wang M, et al. Sequence analysis of the gene correlated with cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus*) Polima and Shaan 2A [J]. Chinese Sci Bull, 2002, 47(2): 122-126.
- [35] 林宝刚,黄海,张龙,等.甘蓝型油菜 Polima 和 Shaan 2A CMS 的 *orf224* 基因的序列分析 [J].中国农业科学,2006,39(6):1282-1286.
Lin B G, Huang H, Zhang L, et al. Sequence comparison on gene *orf224* of Polima CMS and Shaan 2A CMS in *Brassica*

napus L [J]. *Sci Agric Sin*, 2006, 39(6): 1282-1286. (in Chinese)

[36] Liu J, Li M, Wang H, et al. Sequence analysis and expression of *orf224* gene associated with two types of cytoplasmic male sterility in *Brassica napus* L [J]. *Z Naturforsch*, 2010, 65c: 395-402.

[37] 李树林, 周熙荣, 周志疆, 等. 显性核不育油菜的遗传与利用 [J]. *作物研究*, 1990, 4(3): 27-32.

Li S L, Zhou X R, Zhou Z J, et al. Inheritance of genetic male sterility (GMS) and its utilization in rape (*Brassica napus* L) [J]. *Crop Research*, 1990, 4(3): 27-32. (in Chinese).

[38] Song L Q, Fu T D, Tu J X, et al. Molecular validation of multiple allele inheritance for dominant genic male sterility gene in *Brassica napus* L [J]. *Theor Appl Genet*, 2006, 113: 55-62.

[39] Yi B, Zeng F, Lei S, et al. Two duplicate CYP704B1-homologous genes *BnMs1* and *BnMs2* are required for pollen exine formation and tapetal development in *Brassica napus* [J]. *Plant Journal*, 2010, 63(6): 925-938.

[40] 陈凤祥, 胡宝成, 李 成, 等. 甘蓝型油菜细胞核雄性不育性的遗传研究. I: 隐性核不育系 9012A 的遗传 [J]. *作物学报*, 1998, 24(4): 431-438.

Chen F X, Hu B C, Li C, et al. Genetic studies on GMS in *Brassica napus* L I: Inheritance of recessive GMS line 9012A [J]. *Acta Agron Sin*, 1998, 24(4): 431-438. (in Chinese)

[41] 俎 峰, 夏胜前, 顿小玲, 等. 基于分子标记的油菜隐性核不育 7-7365AB 遗传模式探究 [J]. *中国农业科学*, 2010, 43(15): 3067-3075.

Zu F, Xia S Q, Dun X L, et al. Analysis of genetic model for a recessive genic male sterile line 7-7365AB in *Brassica napus* L based on molecular markers [J]. *Sci Agric Sin*, 2010, 43(15): 3067-3075. (in Chinese)

[42] 董发明, 洪登峰, 刘平武, 等. 甘蓝型油菜隐性细胞核雄性不育系 9012AB 遗传模式新释 [J]. *华中农业大学学报*, 2010, 29(3): 262-267.

Dong F M, Hong D F, Liu P W, et al. A novel genetic model for recessive genic male sterility line 9012AB in rapeseed (*Brassica napus* L) [J]. *J Huazhong Agri Uni*, 2010, 29(3): 262-267. (in Chinese)

[43] Stiewe G, Stephan P, Marie C, et al. New hybrid system for *Brassica napus*; European Patent Office (EPO), EP2016821 [P]. 2009-01-21.

[44] 席代汶, 陈卫江, 宁祖良. 甘蓝型油菜温敏核不育系“湘 91S”的选育 [J]. *湖南农业科学*, 1994 (4): 17-18.

Xi D W, Chen W J, Ning Z L. Breeding of a thermo-sensitive genic male sterile line “Xiang91S” in *Brassica napus* L [J]. *Hunan Agric Sci*, 1994(4): 17-18. (in Chinese)

[45] 王 华, 汤晓华, 赵继献. 甘蓝型细胞核雄性不育材料 H90S 的遗传研究 [J]. *中国油料作物学报*, 2001, 23(4): 11-15.

Wang H, Tang X H, Zhao J X. Genetic study on ecotype genetic male sterile of H90S in *Brassica napus* L [J]. *Chinese J Oil Crop Sci*, 2001, 23(4): 11-15. (in Chinese)

[46] 刘尊文, 吴 平, 袁卫红, 等. 甘蓝型油菜光温敏核不育两用系 N196S 的选育 [J]. *江西农业大学学报*, 2006, 28(5): 654-658.

Liu Z W, Wu P, Yuan W H, et al. Breeding of photo-and-temperature sensitive genic male-sterile dual-use line N196S in *Brassica napus* [J]. *J Jiangxi Agric Uni*, 2006, 28(5): 654-658. (in Chinese)

[47] Yu C Y, Wang J W, Chang J J, et al. Breeding of an environment sensitive male sterile line 373S in *Brassica napus* L [C]//Fu T D, Guan C Y. *Proc GCIRC 12th Int Rapeseed Cong*. Monmouth Junction; Science Press USA Inc, 2007, 1: 133-135.

[48] 郭贤梦, 肖 钢, 官春云. 甘蓝型油菜温敏核不育材料 104S 的发现及遗传特性分析 [J]. *湖南农业大学学报*, 2009, 35(6): 597-601.

Wu X M, Xiao G, Guan C Y. Discovery and genetic analysis of a thermo-sensitive genic ms material 104S in *Brassica napus* [J]. *J Hunan Agric Uni*, 2009, 35(6): 597-601. (in Chinese)

[49] Mariani C, Gossele V, Beuckeleer M D, et al. A chimaeric ribonuclease inhibitor gene restores fertility to male sterile plants [J]. *Nature*, 1992, 357: 384-387.

[50] 郭贤梦, 席代汶, 宁祖良, 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*, 2006, 32(4): 347-351.

Wu X M, Xi D W, Ning Z L, et al. Breeding of Xiangyou 66A in *Brassica napus* CMS line without trace-pollen [J]. *J Hunan Agric Uni*, 2006, 32(4): 347-351. (in Chinese)

[51] Yu C, Hu S, He P, et al. Inducing male sterility in *Brassica napus* L by a sulphonylurea herbicide, tribenuron-methyl [J]. *Plant Breeding*, 2006, 125(1): 61-64.

[52] Yu C Y, Dong J G, Hu S W, et al. Efficiency of a novel gametocide amidosulfuron on rapeseed (*Brassica napus*) [J]. *Plant Breeding*, 2009, 128(5): 538-540.

[53] 张耀文, 尚 毅, 李永红, 等. 新型化学杂交剂 SX-1 对甘蓝型油菜 CMS 的作用效果研究 [J]. *西北农业学报*, 2003, 12(3): 57-61.

Zhang Y W, Shang Y, Li Y H, et al. Study on the effect of a new chemical hybridizing agents SX-1 to the CMS in *Brassica napus* L [J]. *Acta Agric Boreali-Occident Sin*, 2003, 12(3): 57-61. (in Chinese)

[54] 于澄宇, 胡胜武, 何蓓如, 等. 化学杀雄剂 EXP 对油菜的杀雄效果 [J]. *作物学报*, 2005, 31(11): 1455-1459.

Yu C Y, Hu S W, He P R, et al. The effect of chemical hybridizing agent EXP on oilseed rape [J]. *Acta Agron Sin*, 2005, 31(11): 1455-1459. (in Chinese)