

甘蓝自交系 S 单元型的快速分类鉴定

田 磊, 庄 木*, 苗雯雯, 方智远, 刘玉梅, 杨丽梅, 张扬勇

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

在甘蓝杂种优势利用中, 自交不亲和系和雄性不育系是配制杂种一代的两条主要途径。近年来甘蓝雄性不育系在杂种优势利用中的地位越来越重要, 而利用自交亲和系作为保持系和杂交种的父本, 由于它们的繁殖不需人工授粉, 因而可大幅降低种子生产成本。甘蓝属于孢子体自交不亲和体系, 在遗传上由一个高度多态性的 S 位点控制, 其中 *SRK* (S-locus receptor kinase, *SRK*) 基因是雌蕊柱头中表达的自交不亲和识别反应的决定因子。根据序列的相似性以及 S 单元型之间的显隐性关系, 芸薹属自交不亲和性分为两大类: Class I 型和 Class II 型。其中 Class I 为花粉显性, 表现强自交不亲和; Class II 为花粉隐性, 表现弱自交不亲和。快速、准确鉴定甘蓝材料的自交不亲和性以及携带的 S 单元型, 可以指导杂交组合的配置, 避免杂交不结实的发生, 加速新品种的选育。本研究中通过 PCR 扩增 *SRK* 基因序列, 初步分析供试甘蓝材料 S 单元型的类型, 可为杂交组合选配提供参考依据。

以来源于不同国家或地区、不同球形(尖球、圆球、扁圆形)、选育的不同世代(F_3 、 F_4 、高代自交系等)、适应不同栽培季节(春甘蓝、秋甘蓝、越冬甘蓝)的 107 个甘蓝种质资源的 154 个株系为试验材料。利用改良的 CTAB 法提取材料叶片的基因组 DNA。根据国内外相关报道搜集了 2 对 *SRK* 基因引物(Class I 型: PK1/PK4; Class II 型: KD4/KD7), 并根据公开报道的 *SRK* 基因序列保守区设计通用性引物 DF/DR。

Class I 型 *SRK* 基因引物 PK1/PK4 在供试甘蓝材料中扩增得到大约 950 bp 的条带; Class II 型 *SRK* 基因引物 KD4/KD7 扩增得到约 1 100 bp 的条带。结果表明: 在 154 个甘蓝株系材料中, 除 14 个株系没有扩增产物外, 有 49 个株系得到了约 950 bp 的扩增条带, 推测它们属于 Class I 型; 81 个株系材料得到了约 1 100 bp 的扩增条带, 推测它们属于 Class II 型; 此外, 有 10 个株系同时含有 I 型和 II 型两种 *SRK* 基因扩增条带, 初步推测这些材料在 S 位点上可能是杂合的, 属于杂合体。引物对 DF/DR 在所有甘蓝材料中均扩增出约 750 bp 的条带, 这有助于引物 PK1/PK4 和 KD4/KD7 无扩增产物的 14 个株系的序列克隆分析及 S 单元型的鉴定。对扩增得到的目标片段利用试剂盒法进行回收, 并分别连接到 pMD18-T 载体上, 转化感受态大肠杆菌 Top10, 进行蓝白斑筛选, 然后挑取阳性克隆进行测序, 进而确定试验材料具体的 S 单元型等后续工作正在进行中。

关键词: 甘蓝; 自交不亲和性; S 单元型; *SRK* 基因

中图分类号: S 635.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2545-01

收稿日期: 2011-08-01

基金项目: 农业部大宗蔬菜产业技术体系项目(CARS-25); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(201109); 农业部园艺作物遗传改良重点开放实验室项目

* 通信作者(E-mail: zhuangmu@mail.caas.net.cn; Tel: 010-82108756)