

# ‘奶白菜 A 1023’ 品系核基因雄性不育系的定向转育

冯 辉\*, 徐 巍, 王玉刚

(沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110161)

**摘 要:** 以复等位基因遗传的青帮白菜核基因雄性不育系 00S107 为不育源, 采用杂交、回交和自交方法, 向奶白菜可育品系 A 1023 中转育核不育基因, 育成了具有 100% 不育株率和 100% 不育度的奶白菜核基因雄性不育系 GMS<sub>3</sub>。

**关键词:** 白菜; 核基因雄性不育; 选育

**中图分类号:** S 634.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 03-0659-06

## Directive Transfer of the Genetic Male Sterile Line of Milk Chinese Cabbage A 1023

FENG Hui\*, XU Wei, and WANG Yu-gang

(College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

**Abstract:** A multiple allele inherited genetic male sterile line of Chinese cabbage with green stipe, 00S107, was used as a source of male sterility, and methods of crossing, backcrossing and selfing were applied to transfer the male sterility to male fertile line of milk Chinese cabbage, A 1023. A new genetic male sterile line of milk Chinese cabbage with 100% of male sterile plants and 100% of male sterility was obtained.

**Key words:** Chinese cabbage; Genetic male sterility; Breeding

所谓“奶白菜”, 是白菜亚种 (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* L.) 中一类白帮绿叶、株型矮肥、叶柄宽厚、优质耐热的品种, 深受广大消费者的欢迎。奶白菜两性花异花传粉, 杂种优势十分显著。由于迄今未能找到适宜的杂交制种手段, 其杂种优势未能得到很好的利用。

冯辉等 (1995, 1996) 首先发现了大白菜核基因雄性不育复等位基因遗传现象, 提出了“复等位基因遗传”假说, 并采用有性杂交方法将在大白菜中发现的核不育复等位基因转入青帮白菜‘苏州青’中, 育成了具有 100% 不育株率和 100% 不育度的白菜核基因雄性不育系 00S107 (冯辉等, 1998, 2004)。

本试验利用上述不育系为不育源, 设计新的定向转育方案, 用稳定遗传的可育‘奶白菜 A 1023’品系与该不育系杂交, 然后用该奶白菜作轮回亲本连续回交, 再从回交后代中选育新的不育系, 实现了核不育基因、植物学性状与经济性状的同时转育, 首次获得了具有 100% 不育株率和 100% 不育度的奶白菜核基因雄性不育系 GMS<sub>3</sub>。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**核不育源材料:** 青帮白菜不育系 00S107, 两用系 00S108。转育目标品系: 奶白菜 A 1023。

收稿日期: 2007 - 01 - 04; 修回日期: 2007 - 04 - 20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30671414); 国家‘863’项目 (20060110Z1072)

\* E-mail: fenghuiaaa@263.net, Tel: 024-88487143

## 1.2 方法

试验于 2003~2006年在沈阳农业大学蔬菜遗传育种试验基地进行。采用萌动种子春化、长日照诱导方法, 每年完成 2~3个世代的有性繁殖。根据不育性的遗传特性, 首先用已知基因型的白菜核不育材料与转育目标品系测交, 鉴定其基因型。根据待转育品系的基因型, 设计定向转育方案, 采用常规的杂交、回交和自交方法转育核不育基因和植物学性状。转育后代植物学性状鉴定采用随机区组设计, 3次重复, 每小区种植 30株, 行株距 20 cm ×15 cm。

样本容量按公式  $n = \lg(0.01) / \lg(1-p)$  计算; 适合性测验按公式  $\chi^2 = [ \sum (A - E)^2 / E ] - (r + 1) / 2$ ; 变异系数按公式  $CV(\%) = S/\bar{x} \times 100$  计算。

## 2 结果与分析

### 2.1 白菜核不育复等位基因的遗传特性

试验所用不育源材料的不育性为复等位基因遗传 (冯辉等, 1995; Feng et al, 1996)。不育性受同一位点 3个基因控制:  $M_s$  为显性不育基因;  $m_s$  为  $M_s$  的等位隐性可育基因;  $M_s^f$  为  $M_s$  的等位显性恢复基因。三者之间的显隐关系为  $M_s^f > M_s > m_s$ 。甲型“两用系”不育株基因型为  $M_s M_s$ , 可育株为  $M_s^f M_s$ , 其不育性通过“两用系”内不育株与可育株兄妹交保持 ( $M_s M_s \times M_s^f M_s \rightarrow 1/2 M_s M_s, 1/2 M_s^f M_s$ ), 群体不育株率为 50%左右; “临时保持系”基因型为  $m_s m_s$ , 用甲型“两用系”不育株 ( $M_s M_s$ ) 与“临时保持系” ( $m_s m_s$ ) 交配, 便可获得具有 100%不育株率的雄性不育系 ( $M_s M_s \times m_s m_s \rightarrow M_s m_s$ )。

### 2.2 奶白菜可育品系的基因型

按照“核不育复等位基因遗传假说” (冯辉等, 1995; Feng et al, 1996), 普通可育品系在不育位点上的基因型有 3种:  $M_s^f M_s^f$ ,  $m_s m_s$  和  $M_s^f M_s$ 。这 3种基因型可以通过它们与不育系 ( $M_s M_s$ ) 杂交后代的育性分离比率加以鉴定:

$$\begin{array}{lcl}
 M_s m_s \times \left\{ \begin{array}{l} M_s^f M_s^f \longrightarrow M_s^f m_s, M_s^f M_s \\ M_s^f m_s \longrightarrow m_s m_s, M_s^f M_s, M_s^f m_s, M_s m_s \\ m_s m_s \longrightarrow m_s m_s, M_s m_s \end{array} \right. & & \begin{array}{l} \text{全可育 Fertile} \\ 3:1 (\text{可育 Fertile} : \text{不育 Sterile}) \\ 1:1 (\text{可育 Fertile} : \text{不育 Sterile}) \end{array}
 \end{array}$$

以白菜核不育系 00S107 ( $M_s m_s$ ) 为母本, 与奶白菜可育品系 A 1023 杂交,  $F_1$  育性鉴定全部为可育株 (可育株:不育株=100:0), 说明 A 1023 的基因型为  $M_s^f M_s^f$ 。

### 2.3 奶白菜核不育系的转育

2.3.1 转育遗传模式 基因型为  $M_s^f M_s^f$  的奶白菜可育品系 A 1023, 宜采用核不育系 00S107 ( $M_s m_s$ ) 为不育源进行转育, 遗传模式如图 1。

2.3.2 转育结果 按照图 1 模式,  $F_1$  植株基因型有  $M_s^f M_s^f$  和  $M_s^f m_s$  两种, 表现型均为可育。随机取 7 株  $F_1$  与核不育系 00S107 ( $M_s m_s$ ) 测交, 鉴定各  $F_1$  植株基因型, 结果列于表 1。

根据测交后代分离比率, 可以确定  $F_1$ -1 基因型为  $M_s^f M_s$ ,  $F_1$ -5 基因型为  $M_s^f m_s$ 。它们分别与转育目标品系 A 1023 ( $M_s^f M_s^f$ ) 连续回交。同时, 再分别与核不育系 00S107 ( $M_s m_s$ ) 测交鉴定基因型。选择基因型为“ $M_s^f M_s$ ”和“ $M_s^f m_s$ ”的回交后代, 淘汰基因型为“ $M_s^f M_s^f$ ”的回交后代, 在其自交后代中分别可选育出甲型“两用系” ( $M_s M_s, m_s^f m_s$ ) 和临时保持系 ( $M_s M_s$ )。

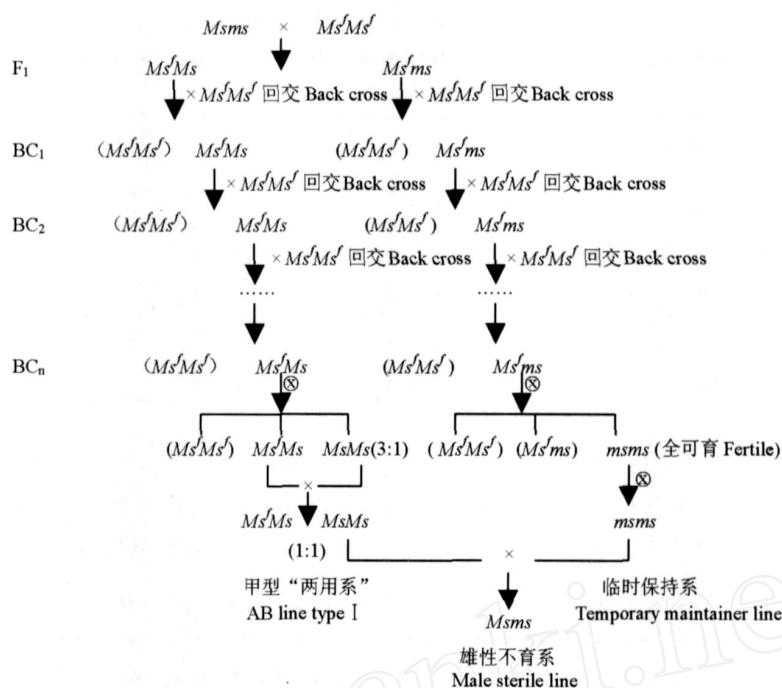


图 1 奶白菜核基因雄性不育系定向转育遗传模式

Fig 1 Directional transfer breeding model for genetic male sterile line of milk Chinese cabbage

表 1 青帮白菜核不育系 00S107与奶白菜 A D23杂交 F<sub>1</sub> 的测交结果Table 1 Results of the genotype check of 00S107 × A D23 F<sub>1</sub>

| 组合<br>Combination          | 可育株 不育株<br>Fertile plants sterile plants | 理论比例<br>Theoretical ratio ( $\chi^2_{0.05, 1} = 3.841$ ) | F <sub>1</sub> 基因型<br>F <sub>1</sub> genotype |
|----------------------------|--|--|---|
| 00S107 × F <sub>1</sub> -1 | 19 16                                    | 1 1 (0.121)  | $M^fMs$                                       |
| 00S107 × F <sub>1</sub> -2 | 30 9                                     | 3 1 (0.009)  | $M^fms$                                       |
| 00S107 × F <sub>1</sub> -3 | 25 3                                     | 3 1 (2.333)  | $M^fms$                                       |
| 00S107 × F <sub>1</sub> -4 | 28 17                                    | 1 1 (2.222)  | $M^fMs$                                       |
| 00S107 × F <sub>1</sub> -5 | 20 8                                     | 3 1 (0.048)  | $M^fms$                                       |
| 00S107 × F <sub>1</sub> -6 | 17 22                                    | 1 1 (0.410)  | $M^fMs$                                       |
| 00S107 × F <sub>1</sub> -7 | 29 4                                     | 3 1 (2.273)  | $M^fms$                                       |

各回交后代测交基因型鉴定的遗传模式如下：

$$\begin{aligned}
 Msms \times \begin{cases} MsMs \longrightarrow MsMs, Ms^fms, MsMs, Msms & 1:1 \text{ (可育 Fertile : 不育 Sterile)} \\ MsMs^f \longrightarrow Ms^fMs, Ms^fms & \text{全可育 Fertile} \end{cases} \\
 Msms \times \begin{cases} MsMs^f \longrightarrow Ms^fMs, Ms^fms & \text{全可育 Fertile} \\ Ms^fms \longrightarrow Ms^fMs, Ms^fms, Msms, msms & 3:1 \text{ (可育 Fertile : 不育 Sterile)} \end{cases}
 \end{aligned}$$

回交后代基因型鉴定结果见表 2。表 2 中，测交育性为 1:1 的，被测植株基因型为  $M^fMs$ ，其自交后代基因型应为  $M^fMs$ ， $M^fMs$ ， $MsMs$ ，表现型 3:1 分离，其中  $M^fMs$  和  $MsMs$  为甲型“两用系”基因型。由于  $M^fMs$  和  $M^fMs$  在表现型上均为可育，可通过与不育株 ( $MsMs$ ) 兄妹交，根据后代育性分离比率加以区分，同时可以获得新的甲型“两用系”；测交育性为 3:1 的，被测植株基因型为  $M^fms$ ，其自交后代基因型为  $M^fMs$ ， $M^fms$ ， $msms$ ，表现为全可育。

表 2 奶白菜核不育系转育各回交世代基因型鉴定结果

Table 2 Results of the genotype check for transfer male sterile lines of milk Chinese cabbage in back cross generations

| 代号<br>Code      | 组合<br>Combination  | 可育株 不育株<br>Fertile plants<br>sterile plants | 理论分离比例<br>Theoretical ratio<br>( $\chi^2_{0.05, 1} = 3.841$ ) |
|-----------------|--|---|---|
| BC <sub>1</sub> | 00S107 $\times$ [(00S107 $\times$ A D23) -1 $\times$ A D23] -4                                       | 17 19                                       | 1 1 (0.028)   |
| BC <sub>2</sub> | 00S107 $\times$ [(00S107 $\times$ A D23) -1 $\times$ A D23] -4 $\times$ A D23] -4                    | 16 13                                       | 1 1 (0.138)   |
| BC <sub>3</sub> | 00S107 $\times$ [(00S107 $\times$ A D23) -1 $\times$ A D23] -4 $\times$ A D23] -4 $\times$ A D23] -5 | 29 25                                       | 1 1 (0.025)   |
| BC <sub>1</sub> | 00S107 $\times$ [(00S107 $\times$ A D23) -5 $\times$ A D23] -6                                       | 37 8  | 3 1 (0.896)   |
| BC <sub>2</sub> | 00S107 $\times$ [(00S107 $\times$ A D23) -5 $\times$ A D23] -6 $\times$ A D23] -3                    | 38 11                                       | 3 1 (0.061)   |
| BC <sub>3</sub> | 00S107 $\times$ [(00S107 $\times$ A D23) -5 $\times$ A D23] -6 $\times$ A D23] -3 $\times$ A D23] -7 | 38 12                                       | 3 1 (0.000)   |

选 16 株形似轮回亲本的植株与甲型“两用系”中不育株 ( $M^fMs$ ) 杂交, 测验基因型, 后代为全不育的, 则其亲本的自交后代即为新的“临时保持系”。各回交世代基因型为  $M^fMs$  和  $M^fms$  植株自交后代的育性分离情况见表 3。甲型“两用系”和“临时保持系”测配结果分别见表 4 和表 5。

表 3 奶白菜核不育系转育各回交世代基因型为  $M^fMs$  和  $M^fms$  植株自交后代育性分离比率Table 3 Fertility expression of progenies from the plants of  $M^fMs$  and  $M^fms$  selfing of BC<sub>1</sub>, BC<sub>2</sub>, BC<sub>3</sub> for transfer male sterile lines of milk Chinese cabbage

| 代号<br>Code      | 组合<br>Combination   | 可育株 不育株<br>Fertile plants<br>sterile plants | 理论分离比例<br>Theoretical ratio<br>( $\chi^2_{0.05, 1} = 3.841$ ) |
|-----------------|---|---|---|
| BC <sub>1</sub> | [(00S107 $\times$ A D23) -1 $\times$ A D23] -4 $\odot$  | 31 10                                       | 3 1 (0.008)   |
| BC <sub>2</sub> | { [(00S107 $\times$ A D23) -1 $\times$ A D23] -4] $\times$ A D23] -4 $\odot$                      | 35 12                                       | 3 1 (0.007)   |
| BC <sub>3</sub> | { { [(00S107 $\times$ A D23) -1 $\times$ A D23] -4] $\times$ A D23] -4 $\times$ A D23] -5 $\odot$ | 39 14                                       | 3 1 (0.006)   |
| BC <sub>1</sub> | [(00S107 $\times$ A D23) -5 $\times$ A D23] -6 $\odot$  | 36 0  | 全可育 Fertile   |
| BC <sub>2</sub> | { [(00S107 $\times$ A D23) -5 $\times$ A D23] -6 $\times$ A D23] -3 $\odot$                       | 42 0  | 全可育 Fertile   |
| BC <sub>3</sub> | { { [(00S107 $\times$ A D23) -5 $\times$ A D23] -6 $\times$ A D23] -3 $\times$ A D23] -7 $\odot$  | 53 0  | 全可育 Fertile   |

表 4 奶白菜核不育系转育各回交世代甲型“两用系”的测配结果

Table 4 Results of the test crosses for breeding AB line type from self-cross progenies of BC<sub>1</sub>, BC<sub>2</sub>, BC<sub>3</sub> for transfer male sterile lines of milk Chinese cabbage

| 代号<br>Code      | 组合<br>Combination  | 可育株 不育株<br>Fertile plants sterile plants | 理论分离比例<br>Theoretical ratio ( $\chi^2_{0.05, 1} = 3.841$ ) |
|-----------------|--------------------|--|--|
| BC <sub>1</sub> | A1-6 $\times$ A1-2 | 17 16                                    | 1 1 (0.000)  |
| BC <sub>2</sub> | A2-4 $\times$ A2-7 | 19 14                                    | 1 1 (0.485)  |
| BC <sub>3</sub> | A3-4 $\times$ A3-9 | 18 13                                    | 1 1 (0.516)  |

表 5 奶白菜核不育系转育各回交世代临时保持系的测配结果

Table 5 Results of testing genotype of temporary maintainer lines in selfing progenies of BC<sub>1</sub>, BC<sub>2</sub>, BC<sub>3</sub> for transfer male sterile lines of milk Chinese cabbage

| 代号<br>Code      | 组合<br>Combination   | 可育株 不育株<br>Fertile plants sterile plants | 理论分离比例<br>Theoretical ratio ( $\chi^2_{0.05, 1} = 3.841$ ) |
|-----------------|---------------------|--|--|
| BC <sub>1</sub> | A1-6 $\times$ B1-8  | 0 41                                     | 全不育 Sterile  |
| BC <sub>2</sub> | A2-3 $\times$ B2-14 | 0 47                                     | 全不育 Sterile  |
| BC <sub>3</sub> | A3-5 $\times$ B3-11 | 0 38                                     | 全不育 Sterile  |

经过 3 年 7 个有性世代的转育, 按定向转育遗传模式分别获得了奶白菜回交 1 代不育系  $GMS_1$ 、回交 2 代不育系  $GMS_2$  和回交 3 代不育  $GMS_3$ 。育性调查结果表明, 所获得的不育系不育度和不育株率

均为 100%。

## 2.4 定向转育效果分析

对用奶白菜 A 1023 与不育源回交选育出的不育系进行植物学性状鉴定, 结果列于表 6。随着回交代数的增加, 所获得的核不育系的株高、株幅、叶长、叶宽、叶柄长、单株质量逐渐趋近于转育亲本品系 A 1023。回交 3 代配成的核不育系已与亲本品系十分相近 (图版)。各不育系植物学性状变异系数见图 2 和图 3。随着回交代数的增加, 不育系的植物学性状变异系数逐渐减小, 说明群体的整齐度逐代提高。

表 6 奶白菜核不育系及其亲本植物学性状调查结果

Table 6 Botanical characters of the male sterile lines and their parents of milk Chinese cabbage

| 试材<br>Materials  | 株高<br>Plant height (cm) | 株幅<br>Angular divergence (cm) | 叶长<br>Leaf length (cm) | 叶宽<br>Leaf width (cm) | 叶柄长<br>Petiole length (cm) | 单株质量<br>Plant mass (kg) |
|------------------|-------------------------|-------------------------------|------------------------|-----------------------|----------------------------|-------------------------|
| GMS <sub>1</sub> | 16.181                  | 22.748                        | 11.880                 | 11.196                | 9.489                      | 0.088                   |
| GMS <sub>2</sub> | 13.996                  | 25.307                        | 11.317                 | 11.485                | 8.487                      | 0.087                   |
| GMS <sub>3</sub> | 12.410                  | 23.756                        | 10.385                 | 10.925                | 7.671                      | 0.074                   |
| A 1023           | 12.406                  | 20.669                        | 9.841                  | 10.522                | 6.750                      | 0.058                   |

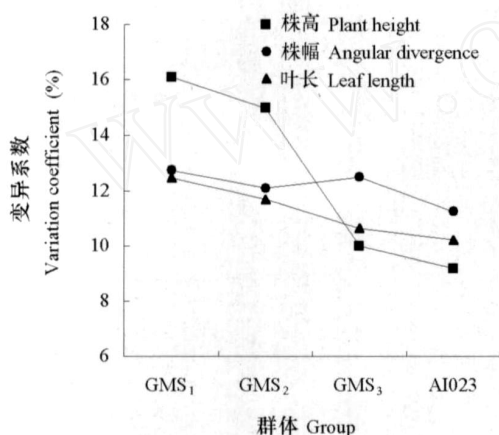


图 2 不同群体株高、株幅、叶长变异度

Fig. 2 Variation degree in plant height, angular divergence and leaf length of different groups

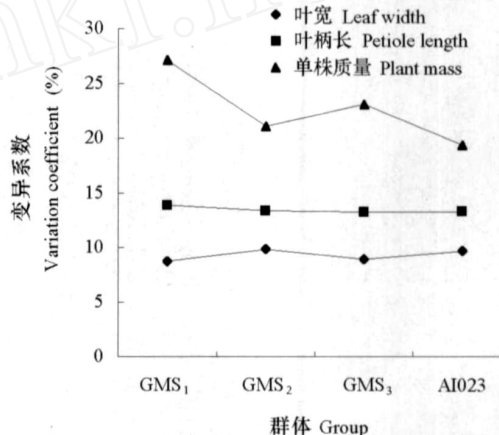


图 3 不同群体叶宽、叶柄长、单株质量变异度

Fig. 3 Variation degree in leaf width, petiole length and plant mass of different groups

## 3 讨论

采用本项研究设计的定向转育方法, 既可进行核不育基因的转育, 又可以实现植物学性状和经济性状的转育, 使育成的核不育系在植物学性状上与转育品系接近, 群体的整齐度高, 遗传稳定性增强, 从根本上解决了用该类不育系配制的杂交种因整齐性差而难以利用的问题。

本试验通过定向转育, 成功地将青帮白菜核不育系的不育基因转入到白帮奶白菜中, 育成了不育株率和不育度均为 100% 的奶白菜核不育系。

该方法可以应用于白菜亚种其它变种或类型间核不育系的转育, 从而, 可以进一步扩大该类不育材料的应用范围。

## References

- Feng Hui, Wang Yu-gang, Lin Gui-rong, Xu Shu-fa 2004. Study on the transfer of genetic male sterile genes from *B. nussica pekinensis* to *B.*

*chinensis* Journal of Hebei Normal University of Science, 6: 10 - 13. (in Chinese)

冯 辉, 王玉刚, 林桂荣, 徐书法. 2004. 大白菜细胞核雄性不育基因向小白菜中转育的研究. 河北科技师范学院学报, 6: 10 - 13.

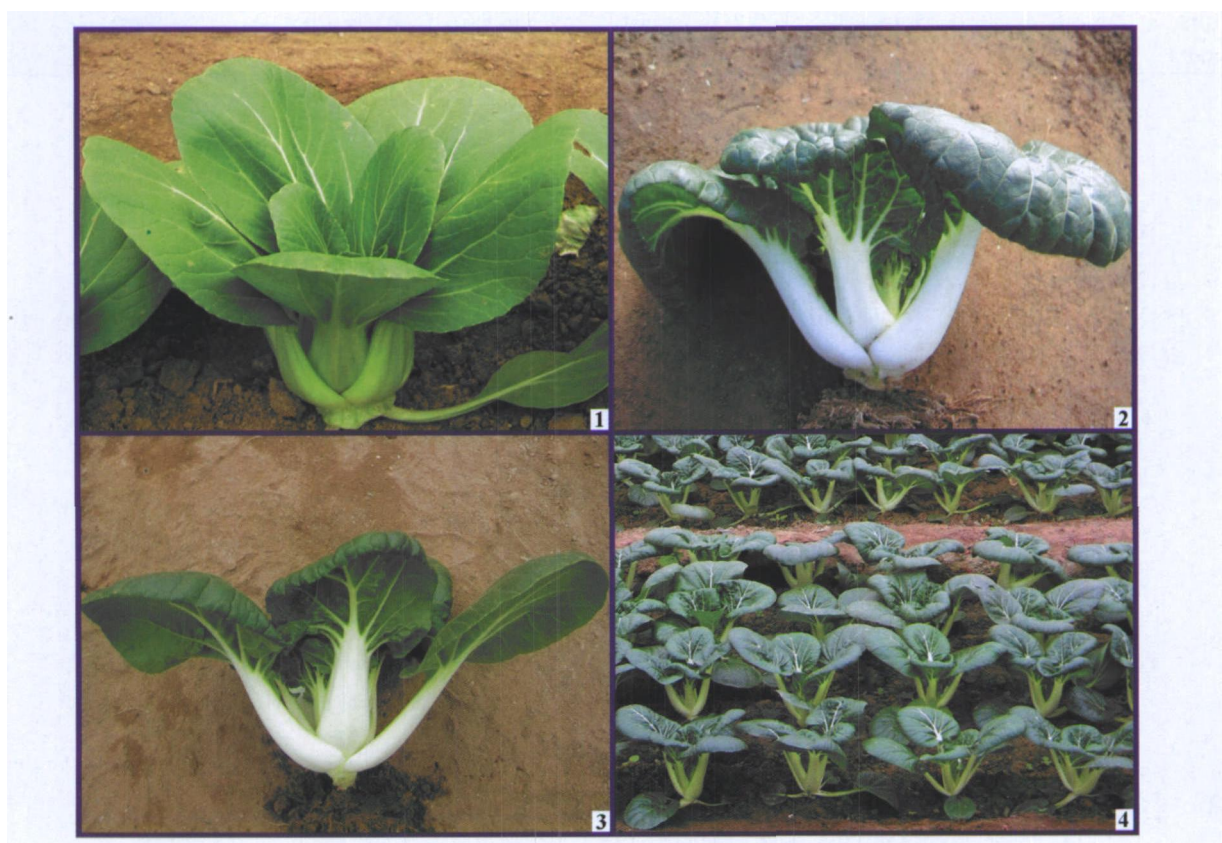
Feng Hui, Wei Yu-tang, Xu Ming. 1995. Multiple allele hypothesis of genetic male sterility in Chinese cabbage. In: Proceedings of Liaoning Province Second Youth Academic Congress. Dalian: Dalian University of Technology Press: 149 - 153. (in Chinese)

冯 辉, 魏毓棠, 许 明. 1995. 大白菜核基因雄性不育的复等位基因假说. 见: 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: 149 - 153.

Feng Hui, Wei Yu-tang, Xu Ming. 1996. Multiple allele model for genetic male sterility in Chinese cabbage. Acta Horticulturae, 467: 133 - 142.

Feng Hui, Wei Yu-tang, Xu Ming, Sun Xiao-rong. 1998. The transfer of multiple allele for genetic male sterility in subspecies of Chinese cabbage. In: Proceedings of Liaoning Province Third Youth Academic Congress. Shenyang: Liaoning University Press: 149 - 153. (in Chinese)

冯 辉, 魏毓棠, 许 明, 孙晓荣. 1998. 白菜核不育复等位基因在亚种间转育的研究. 见: 辽宁省第三届青年学术年会论文集. 沈阳: 辽宁大学出版社: 149 - 153.



图版说明: 1. 核不育系 00S107; 2. 奶白菜 A1023; 3. 新核不育系 GMS<sub>3</sub> 单株; 4. 新核不育系 GMS<sub>3</sub> 群体。

**Explanation of plates:** 1. Genetic male sterile line 00S107; 2. Milk Chinese cabbage A1023; 3. Single plant of the new genetic male sterile line GMS<sub>3</sub>; 4. Strain of the new genetic male sterile line GMS<sub>3</sub>.