

细胞质雄性不育海岛棉恢复系恢复基因的遗传分析

张小全, 王学德, 蒋培东, 朱 伟

(浙江大学农业与生物技术学院农学系, 杭州 310029)

摘要: 【目的】在陆地棉细胞质雄性不育系与海岛棉种质材料进行测恢筛选时, 选得一个对不育有恢复力的海岛棉材料“海 R”, 本研究的目的是了解其育性恢复的遗传方式。【方法】构建 23 种不同的 F₂ 群体和回交群体, 分析和明确恢复基因的遗传。【结果】“海 R”恢复基因属孢子体遗传, 由一个主效显性基因 (Rf_B) 控制。在恢复基因呈隐性时不育胞质不但对雄配子的传递有影响, 而且对雌配子的传递也有影响。【结论】推测此海岛棉恢复系的育性恢复基因来源于哈克尼西棉基因组, 在陆地棉与海岛棉的种间杂种优势利用中具有应用价值。

关键词: 海岛棉; 细胞质雄性不育; 恢复基因

Inheritance of Fertility Restoration for Cytoplasmic Male Sterility in a New *Gossypium barbadense* Restorer

ZHANG Xiao-quan, WANG Xue-de, JIANG Pei-dong, ZHU Wei

(Agronomy Department, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029)

Abstract: 【Objective】 In order to clarify inheritance mechanism of fertility restoration for cytoplasmic male sterility (CMS) in a new *Gossypium barbadense* restorer line ‘Hai R’ which was found in the fertility test crossing of *G. hirsutum* CMS lines with *G. barbadense* germplasms. 【Method】 Twenty three fertility segregation populations of F₂ and backcrossing were used to analyze the inheritance of fertility restoring gene(s) of ‘Hai R’. 【Result】 The result showed that ‘Hai R’ had one major dominant gene (Rf_B) to control the CMS fertility restoration and this fertility restoration gene functioned at the sporophytic level. The sterile cytoplasm background might not only influence the transmission rate of male gamete but also that of female gamete when the restorer gene was recessive. 【Conclusion】 It could be deduced that this fertility restoration gene might come from *G. harknessii* cotton, ‘Hai R’ is of value in the application of cotton interspecific hybrid breeding.

Key words: *Gossypium barbadense*; cytoplasmic male sterility; fertility restoring gene

0 引言

【研究意义】1965 年以来, 先后成功选育出亚洲棉 (*Gossypium arboreum*)、异常棉 (*G. anomalum*)、哈克尼西棉 (*G. harknessii*)、三裂棉 (*G. trilobum*) 和陆地棉 (*G. hirsutum*) 等棉花种质的细胞质雄性不育系, 其中哈克尼西棉和三裂棉细胞质不育系均为完全不育类型, 且已“三系”配套^[1]。利用棉花细胞质雄性不育进行杂种优势利用, 关键在于恢复系恢复能力的强弱, 因而, 恢复系的选育至关重要。而对恢复基因遗传规律的研究, 对于恢复系的选育与利用无疑

具有重要的指导意义。【前人研究进展】1975 年 Meyer 最早报道哈克尼西棉细胞质雄性不育系的育性恢复基因受两对独立遗传的基因控制, 其中一对是显性基因, 一对是隐性基因^[2]。随后 Weaver 等则认为哈克尼西棉细胞质雄性不育系的育性恢复基因由一个部分显性基因 Rf 控制, 并受一个显性基因 E 加强^[3]。而 20 世纪 90 年代王学德等则认为哈克尼西棉细胞质雄性不育系的育性恢复基因受两对独立遗传的显性基因控制, 其中一个为完全显性, 另一个为部分显性^[4-5]。21 世纪初 Zhang 等对来源于哈克尼西棉 (D_{2-2}) 和三裂棉 (D_8) 的育性恢复基因进行研究, 认为两者均受一个

收稿日期: 2008-07-31; 接受日期: 2008-11-01

基金项目: 国家“973”项目 (2004CB11730502 (1))、浙江省重点科技项目 (2008C22087)、自然科学基金项目 (Y306093)

作者简介: 张小全 (1980—), 男, 河南博爱人, 博士, 研究方向为作物遗传育种。E-mail: zxq013415@sina.com。通信作者王学德 (1957—), 男, 浙江上虞人, 教授, 研究方向为棉花遗传育种。Tel: 0571-86971683; Fax: 0571-86971683; E-mail: xdwang@zju.edu.cn

恢复基因控制, 来源于 D_{2-2} 的 Rf_1 能同时恢复哈克尼西棉和三裂棉胞质不育, 而来源于 D_8 的 Rf_2 则只能恢复三裂棉胞质不育^[6-7]。【本研究切入点】笔者在用收集到的种质跟不育系杂交改良不育系的过程中, 发现一份来自新疆的长果枝类型的海岛棉种资 (2H320) 对雄性不育具有恢复能力, 再经两年 (2001—2002) 纯合选择, 用它配制的杂种花粉育性好且结铃率高, 可以用作恢复系 (暂名“海 R”) 与陆地棉不育系杂交, 生产种间杂种。【拟解决的关键问题】进而, 笔者构建了 23 个不同的分离群体, 研究海岛棉恢复系育性恢复基因的遗传并鉴别其恢复基因的来源, 以期为海岛棉类型的恢复系的转育和利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2003—2005 年选用具有哈克尼西棉细胞质的陆地棉不育系“IA”、“陆 A”、“抗 A”、“鸡 A”、海岛棉不育系“海 A”, 相应的保持系“陆 B”、“抗 B”、“鸡 B”和“海 B”, 以及海岛棉恢复系“海 R”为杂交亲本, 构建 23 种不同的 F_2 群体和回交群体 (表 2、3、4 和 5), 研究海岛棉恢复系“海 R”育性恢复基因的遗传。

1.2 方法

2004—2006 年在浙江大学华家池试验农场, 将各类群体种子, 在 4 月中旬播种, 塑料棚内营养钵育苗, 5 月上旬移栽, 双行区, 行距 0.6 m, 株距 0.5 m, 常规田间管理。

每年 7 月中旬开始, 将每个单株挂牌, 观察记载育性的表现。参照王学德等^[4-5]以及 Zhang 等^[7]的方法, 在棉花整个生长期将花蕾较小、花药用手指捻碎无

花粉粒的植株判定为不育株, 将其他可见到花粉粒的植株, 不论花药内花粉粒含量多寡, 均判定为可育株。在整个开花时期每个植株至少观察 3 次, 每个植株至少观察 3 朵花。统计分析采用 χ^2 测验方法。

2 结果与分析

2.1 海岛棉细胞质雄性不育“三系”的花器特征

如图所示, 与陆地棉保持系“抗 B”比较, 海岛棉不育系“海 A”、保持系“海 B”和恢复系“海 R”, 在花器表型上均显示出海岛棉特征, 花朵大, 花瓣乳黄色, 且基部有红斑。不育系“海 A”雄蕊高度退化, 花丝短、花药小而干瘪, 与保持系或恢复系的可育雄蕊形成明显对照, 很容易区别。进一步考察 (表 1) 可看出, “海 A”的不育花药鲜重不及“海 B”和“海 R”的 1/2, 受精前胚珠鲜重分别为“海 B”和“海 R”的 75.5%和 70.6%, 柱头长度为“海 B”和“海 R”的 128.3%和 163.9%。



图 海岛棉不育系 (海 A)、保持系 (海 B)、恢复系 (海 R) 和陆地棉保持系 (抗 B) 的花器

Fig. Floral organs of CMS (Hai A), maintainer (Hai B) and restorer (Hai R) in *G. barbadense*, and maintainer (Kang B) in *G. hirsutum*

表 1 海岛棉细胞质雄性不育系、保持系和恢复系花器性状比较

Table 1 Comparison of floral traits among CMS line, maintainer and restorer in *G. barbadense*

材料 Material	花药鲜重 Fresh weight of anther (mg/100 anthers)	受精前胚珠鲜重 Fresh weight of ovule before fertilization (mg/100 ovules)	柱头长度 Length of stigma (mm)	可育花粉率 Viable pollen (%)
海 A Hai A	29.10±8.41	74.60±2.21	12.83±2.04	-
海 B Hai B	63.73±3.26	98.35±9.97	10.00±1.79	91.15±2.09
海 R Hai R	72.98±11.13	105.70±8.06	7.83±1.47	92.07±2.49

2.2 F_2 群体的遗传分析

用不育系和恢复系所配置的杂种 F_1 正常可育, 没有发现不育株, 说明“海 R”所携带的恢复基因是纯

合的显性基因。通过对 F_2 分离群体的观察发现 (表 2), 大部分组合的分离比例都符合一对基因的遗传模式, 只有“鸡 A×海 R” F_2 分离群体的育性分离比例不符

合一对基因的遗传模式 ($P < 0.05$), 不育株明显偏多, 其原因可能是该杂交组合中含有对恢复基因有抑制作用的一些微效基因存在, 也不排除 F_1 在自交、收获、种子脱绒和播种等过程中的生物学和机械混杂的可能。

2.3 $A \times (B \times R)$ 群体的遗传分析

$A \times (B \times R)$ 群体的育性分离见表 3。 $A \times (B \times$

$R)$ 组合的父本为保持系与恢复系间的杂种 F_1 , 提供的雄配子类型不受不育细胞质的影响, $A \times (B \times R)$ 的育性分离情况可以反映出恢复系对不育系育性恢复基因对数。 $A \times (B \times R)$ 组合的 4 个分离群体的可育株与不育株数经卡方检验均符合 1 : 1 的分离比例, 说明海岛棉恢复系具有一个显性主效恢复基因, 暂用“ R_{fB} ”表示。

表 2 F_2 分离群体的遗传分析

Table 2 Segregation of fertile and sterile plants in F_2 populations

群体 Population	年份 Year	总株数 Sum	可育株数 Fertile individuals	不育株数 Sterile individuals	理论比例 Theoretical ratio	χ^2 值 χ^2 test	P 值 P value
鸡 A×海 R Ji A×Hai R	2004	135	71	64	3 : 1	34.965	0.000
IA×海 R IA×Hai R	2004	183	128	55	3 : 1	2.231	0.135
抗 A×海 R Kang A×Hai R	2004	267	198	69	3 : 1	0.061	0.805
陆 A×海 R Lu A×Hai R	2005	34	23	11	3 : 1	0.627	0.428
海 R×海 B Hai R×Hai B	2005	107	77	30	3 : 1	0.377	0.539
海 A×海 R Hai A×Hai R	2006	82	44	28	3 : 1	3.187	0.074
合计 Total		808	551	257	3 : 1	19.606	0.000

海 R×海 B 组合中的海 R 是含不育细胞质的恢复系。

‘Hai R’ is a restorer with the sterile cytoplasm in the Hai R×Hai B combination

表 3 $A \times (B \times R)$ 分离群体的遗传分析

Table 3 Segregation of fertile and sterile plants in $A \times (B \times R)$ populations

群体 Population	年份 Year	总株数 Sum	可育株数 Fertile individuals	不育株数 Sterile individuals	理论比例 Theoretical ratio	χ^2 值 χ^2 test	P 值 P value
鸡 A×(陆 B×海 R) Ji A×(Lu B×Hai R)	2005	99	54	45	1 : 1	0.646	0.421
鸡 A×(陆 B×海 R) Ji A×(Lu B×Hai R)	2006	120	64	56	1 : 1	0.408	0.523
陆 A×(陆 B×海 R) Lu A×(Lu B×Hai R)	2005	71	34	37	1 : 1	0.056	0.812
陆 A×(陆 B×海 R) Lu A×(Lu B×Hai R)	2006	109	58	51	1 : 1	0.330	0.565
合计 Total		399	210	189	1 : 1	1.003	0.317

2.4 $A \times (A \times R)$ 群体的遗传分析

$A \times (A \times R)$ 群体的育性分离情况见表 4。 $A \times (A \times R)$ 组合的 4 个分离群体的可育株与不育株数经

卡方检验均符合 1 : 1 的分离比例。又因 F_2 群体有育性分离 (表 1), 因而海岛棉恢复基因的遗传是孢子体遗传。 $A \times (A \times R)$ 分离群体的雄配子是由杂种

表 4 $A \times (A \times R)$ 分离群体的遗传分析

Table 4 Segregation of fertile and sterile plants in $A \times (A \times R)$ populations

群体 Population	年份 Year	总株数 Sum	可育株数 Fertile individuals	不育株数 Sterile individuals	理论比例 Theoretical ratio	χ^2 值 χ^2 test	P 值 P value
陆 A×(IA×海 R) Lu A×(IA×Hai R)	2004	31	16	15	1 : 1	0.000	1.000
陆 A×(陆 A×海 R) Lu A×(Lu A×Hai R)	2004	64	38	26	1 : 1	1.891	0.169
陆 A×(陆 A×海 R) Lu A×(Lu A×Hai R)	2005	66	35	31	1 : 1	0.136	0.712
鸡 A×(海 A×海 R) Ji A×(Hai A×Hai R)	2006	153	83	70	1 : 1	0.941	0.332
合计 Total		314	172	142	1 : 1	2.678	0.102

(A×R) F₁ 提供的, 细胞质为不育类型 (记: S 型); A×(B×R) 分离群体 (表 3) 的雄配子由杂种 (B×R) F₁ 提供, 但细胞质为正常可育类型 (记: N 型), 两类分离群体的育性分离情况变化可反映出 F₁ 雄配子的不育细胞质效应及其对配子传递的影响。在本研究中, A×(A×R) 群体中可育株与不育株分别为 172 (54.8%) 和 142 (45.2%), 而 A×(B×R) 则分别为 210 (52.6%) 和 189 (47.4%), 即: A×(A×R) 群体出现的不育株频率比 A×(B×R) 群体要低, 说明不育细胞质对雄配子的传递有一定的影响。其原因可能是在 (A×R) F₁ 产生的两种雄配子中 S (Rf_B) 配

子传递率高于 S (rf_B) 配子, 而 (B×R) F₁ 产生 N (Rf_B) 和 N (rf_B) 两种雄配子传递率是相等的。

2.5 (A×R) × B 群体的遗传分析

(A×R) × B 群体的育性分离情况见表 5。(A×R) × B 分离群体的雌配子是由含不育细胞质的杂种 F₁ 提供的, 其育性分离的情况能反映出不育细胞质对杂种 F₁ 雌配子的传递的影响。(A×R) × B 组合几个分离群体的可育株与不育株数经卡方检验均符合 1 : 1 的分离比例, 而各群体中不育株的观察株数都小于其理论株数, 说明不育细胞质对雌配子的传递也有一定的影响。

表 5 (A×R) × B 分离群体的遗传分析

Table 5 Segregation of fertile and sterile plants in (A×R) × B populations

群体 Population	年份 Year	总株数 Sum	可育株数 Fertile individuals	不育株数 Sterile individuals	理论比例 Theoretical ratio	χ ² 值 χ ² test	P 值 P value
(IA×海 R)×鸡 B (IA×Hai R)×Ji B	2004	13	7	6	1 : 1	0.000	1.000
(IA×海 R)×抗 B (IA×Hai R)×Kang B	2004	11	6	5	1 : 1	0.000	1.000
(IA×海 R)×陆 B (IA×Hai R)×Lu B	2004	57	29	28	1 : 1	0.000	1.000
(抗 A×海 R)×鸡 B (Kang A×Hai R)×Ji B	2004	14	8	6	1 : 1	0.071	0.789
(抗 A×海 R)×抗 B (Kang A×Hai R)×Ji B	2004	10	6	4	1 : 1	0.100	0.752
(抗 A×海 R)×抗 B (Kang A×Hai R)×Kang B	2004	5	3	2	1 : 1	0.000	1.000
(抗 A×海 R)×陆 B (Kang A×Hai R)×Lu B	2004	79	46	33	1 : 1	1.823	0.177
(鸡 A×海 R)×陆 B (Kang A×Hai R)×Lu B	2004	58	33	25	1 : 1	0.845	0.358
(海 A×海 R)×海 B (Hai A×Hai R)×Hai B	2006	26	15	11	1 : 1	0.346	0.556
合计 Total		273	153	120	1 : 1	3.751	0.053

3 讨论

本实验中的海岛棉恢复系能够恢复哈克尼西棉细胞质不育系的育性, 用其配置的海陆杂种完全可育, 而且育性稳定, 但其恢复基因的来源还不清楚。棉花上虽然有“湘远 A”、“104-7A”、“NM-1A”、“NM-2A”、“NM-3A”、“中 12A”和“晋 A”等胞质不育类型^[4,8-9], 对于其细胞质来源仍没有明确的遗传学证据, 而且这些胞质雄性不育类型都能被来源于哈克尼西棉基因组的恢复基因所恢复。Zhang 等认为哈克尼西棉 (D_{2.2}) 和三裂棉 (D₈) 均受一个恢复基因的控制, 来源于 D_{2.2} 的 Rf₁ 能同时恢复哈克尼西棉和三裂棉胞质不育, 而来源于 D₈ 的 Rf₂ 则只能恢复三裂棉胞质不育^[6-7]。因而笔者推测海岛棉恢复系的育性基因很可能是来源于哈克尼西棉基因组, 海岛棉恢复系的不育胞质为哈克尼西棉胞质。

在本研究的 F₂ 各分离群体中不育株的观察株数都大于其理论株数, 与陆地棉恢复系的情况不一致^[9], 可能与海陆杂种 F₂ 分离群体营养生长过旺, 部分植株生殖生长弱引起开花很少, 有的甚至不现蕾和开花等因素有关。另外, 在杭州的夏天天气温很高, 而且昼夜温差并不大, 对花药的发育有一定的影响, 一些含有恢复基因的植株, 由于对环境的敏感性强, 表现出“假不育” (花药没有花粉) 的特征。而用陆地棉做轮回亲本的回交群体的营养生长和开花就比较正常, 与上述现象成明显对比。

雄性不育细胞质不但对棉花植株的农艺性状有影响^[10], 而且对生殖发育也有一定的影响。王学德等研究发现哈克尼西棉细胞质与陆地棉核互作不但引起花粉母细胞的死亡, 而且也影响胚囊育性^[11]。Liu 等研究结果认为, 不育胞质植株产生的恢复基因呈隐性的雄配子与雌配子结合的能力小于恢复基因呈显性的雄

配子^[9]。本研究通过 A×(A×R)、A×(B×R)和 (A×R)×B 三类分离群体的分析证实,在恢复基因呈隐性时,不育胞质不但对雄配子的传递有影响而且对雌配子的传递也有影响。

棉花细胞质雄性不育的“三系”中,不育系因它的保持系来源广泛(陆地棉和海岛棉品种均可作保持系)选育相对较易,而恢复系由于存在恢复基因的专效性在选育时难度较大。因此,对恢复基因的遗传规律的研究,对于恢复系的选育无疑将有很大的帮助。本文研究表明海岛棉恢复系恢复基因由一对主效基因控制,而且是孢子体遗传。这为利用其它海岛棉种质选育和改良海岛棉类型的恢复系提供了一定的理论依据。

笔者在观察分离群体的育性时发现,可育株的可育性程度不一致,呈连续分布,说明育性恢复能力还可能受其它因素的影响,可能存在一些微效修饰基因^[5]。在海岛棉背景下恢复基因的遗传方式与在陆地棉背景下遗传方式有什么样的差异等一些问题还不明确,有待于进一步深入的研究。

4 结 论

对新筛选到的一个海岛棉恢复系“海 R”恢复基因的遗传进行分析,发现该材料的育性由一个主效显性基因控制,而且是孢子体遗传的。在恢复基因呈隐性时不育胞质不但对雄配子的传递有影响,而且对雌配子的传递也有影响。推测此海岛棉恢复系的育性恢复基因来源于哈克尼西棉基因组,在棉花种间杂种优势利用中具有应用价值。

References

- [1] Yin J M, Guo W Z, Yang L M, Liu L W, Zhang T Z. Physical mapping of the *Rf₁* fertility-restoring gene to a 100 kb region in cotton. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 112: 1318-1325.
- [2] Meyer V G. Male sterility from *G. harknessii*. *Journal of Heredity*, 1975, 66: 23-27.
- [3] Weaver D B, Weaver J B Jr. Inheritance of pollen fertility restoration in cytoplasmic male-sterile upland cotton. *Crop Sciences*, 1977, 17: 497-499.
- [4] 王学德, 张天真, 潘家驹. 我国棉花细胞质雄性不育系育性恢复的遗传基础: I. 恢复基因及其遗传. *中国农业科学*, 1996, 29(5): 32-40.
- [5] Wang X D, Zhang T Z, Pan J J. Genetic basis of restoration to cytoplasmic male-sterile lines available in upland cotton. I. Restorer genes and their effects. *Scientia Agricultura Sinica*, 1996, 29(5): 32-40. (in Chinese)
- [6] 王学德, 潘家驹. 我国棉花细胞质雄性不育系育性恢复的遗传基础: II. 恢复基因与育性增强基因. *遗传学报*, 1997, 24(3): 271-277.
- [7] Wang X D, Pan J J. Genetic basis of restoration to cytoplasmic male-sterile lines available in upland cotton. II. Interactive effects between restorer genes and the fertility enhancer gene. *Acta Genetica Sinica*, 1997, 24(3): 271-277. (in Chinese)
- [8] Zhang J F, Stewart J McD. CMS-D8 restoration in cotton is conditioned by one dominant gene. *Crop Science*, 2001, 41: 283-288.
- [9] Zhang J F, Stewart J McD. Inheritance and genetic relationships of the *D₈* and *D₂₋₂* restorer genes for cotton cytoplasmic male sterility. *Crop Science*, 2001, 41: 289-294.
- [10] 袁 钧, 张 铎, 刘巷禄, 郝秀忍, 王惠芳. “晋 A”棉花质核不育材料的发现与观察. *中国棉花*, 1996, 23(4): 6-7.
- [11] Yuan J, Zhang D, Liu X L, Hao X R, Wang H F. Observation of a new CMS line ‘Jin A’ of cotton. *China Cotton*, 1996, 23(4): 6-7. (in Chinese)
- [12] Liu L W, Guo W Z, Zhu X F, Zhang T Z. Inheritance and fine mapping of fertility restoration for cytoplasmic male sterility in *Gossypium hirsutum* L.. *Theoretical and Applied Genetics*, 2003, 106: 461-469.
- [13] 刘耀斌, 景忆莲, 范万法, 校百才. 哈克尼西棉细胞质对陆地棉主要经济性状的影响. *西北农业学报*, 1996, 5(3): 49-53.
- [14] Liu Y B, Jing Y L, Fan W F, Xiao B C. Effects of *Gossypium harknessii* cytoplasm on main economic characters of upland cotton. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 1996, 5(3): 49-53. (in Chinese)
- [15] 王学德, 张天真, 潘家驹. 细胞质雄性不育陆地棉的细胞质效应. *作物学报*, 1997, 23(4): 393-399.
- [16] Wang X D, Zhang T Z, Pan J J. Cytoplasmic effects of cytoplasmic male-sterile upland cotton. *Acta Agronomica Sinica*, 1997, 23(4): 393-399. (in Chinese)

(责任编辑 于 竞)