

文章编号:1000-8551(2012)03-0450-04

# 花椰菜雄性不育突变株的发现及利用

张小玲 唐 征 刘 庆 罗天宽 朱世杨 荆赞革

(温州市农业科学研究院/浙南作物育种重点实验室, 浙江 温州 325006)

**摘要:**从花椰菜亲本资源中发现1株雄性不育突变株,通过对姊妹交和杂交后代育性表现及相关生物学特性的观察,发现该材料的不育性由1对细胞核隐性基因控制。选取姊妹交后代自交分离的完全不育株,利用组织培养技术繁殖及保持不育性。经过不同年份的育性观察,从中选育出不育株率100%、不育度达到或接近100%的不育系,定名为9901A。应用9901A与自交系9908配制的杂交组合表现优良,通过浙江省审定,定名为瓯雪60天[浙(非)审蔬20090016]。瓯雪60天制种中利用熊蜂授粉效果好、制种产量高,不育系异交结实率高,杂种优势利用前景广阔。

**关键词:**花椰菜;突变株;雄性不育系;杂种优势

## DISCOVERY AND UTILIZATION OF MALE STERILE MUTANT IN CAULIFLOWER

ZHANG Xiao-Ling TANG Zheng LIU Qing LUO Tian-kuan ZHU Shi-yang JING Zan-ge

(Key Laboratory of Crop Breeding in South Zhejiang, Wenzhou Academy of Agricultural Science, Zhejiang, Wenzhou 325006)

**Abstract:** A male sterile mutant material of cauliflower was discovered, and the fertility and some related traits of its cross and sib-cross progenies were studied. All the results proved that the male sterility of this material was controlled by a pair of recessive genic male sterile genes. To keep the sterility, the complete sterile plants were selected from the sib-cross progenies, and propagated by tissue culture for several years. Then a male sterile line named 9901 A, which sterile plant rate 100%, and the sterile degree nearly 100%, was developed. The hybrid combination between 9901 A and inbred line 9908 was approved by Zhejiang Crop Variety Approval Committee because of its excellent characters, and was named as Ouxue 60d (20090016). With high out-crossing rate and yield, the hybrid seed of Ouxue 60d was produced by use of bumblebee pollination, which showed that the heterosis has a bright utilization prospect.

**Key words:** cauliflower; mutant; male sterile line; heterosis

花椰菜(*Brassica oleracea* L. Var. *botrytis* L.)是芸薹属甘蓝种的一个变种,近年来已成为我国重要的周年供应蔬菜,栽培面积迅速扩大。据报道,我国花椰菜栽培面积已居世界第一位<sup>[1]</sup>。花椰菜具有明显的杂种优势,杂种一代已在生产中广泛应用。但目前我国推广应用的花椰菜一代杂交种子主要是采用人工剥蕾去雄授粉和利用自交不亲和系生产,这两种方法费时,制种成本高,且杂交率低,种子纯度难以保证。利用雄性不育系生产杂交种子,可以简化制种程序,保证种子纯度,降低制种成本,是花椰菜杂种优势利用的

重要途径之一<sup>[2-4]</sup>。雄性不育可以自然突变产生,也可通过理化诱变培育<sup>[5-9]</sup>。宇宙射线或其他因子的诱变作用在自然群体中时常发生一定数量的雄性不育基因突变。本课题组1999年发现了1个雄性不育突变株,通过姊妹交、自交、杂交后代的育性表现,对该不育株的育性和相关生物学特性进行了观察。利用该不育材料开展了花椰菜细胞核雄性不育系的选育研究,育成了花椰菜隐性细胞核雄性不育系,配制出优良杂交组合在生产上推广应用,并通过了浙江省审定。利用组织培养技术保持和繁殖不育系,建立了利用细胞核隐性雄性不育系生产花椰菜杂交种的新方法。关于细

收稿日期:2011-09-26 接受日期:2011-12-16

基金项目:浙江省科技计划(2008C22094),温州市重点科技计划(N20080025)

作者简介:张小玲(1961-),女,浙江温州人,副教授,研究方向为蔬菜育种。E-mail: nkyzxl@163.com

胞核雄性不育系研究方面,在甘蓝、油菜、大白菜等十字花科作物上研究较多<sup>[10-14]</sup>,如甘蓝显性雄性不育系、油菜细胞核隐性雄性不育系配置的杂交组合已在生产上大面积应用,并产生了很好的经济效益。目前利用花椰菜细胞核隐性雄性不育系配制出杂种一代在生产上利用还未见报道。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试花椰菜为雄性不育突变材料 9901 姊妹交衍生的后代,及姊妹交后代不育株与优良自交系产生的杂交后代。

### 1.2 试验方法

用雄性不育突变材料 9901 为母本与其可育姊妹株进行姊妹交,后代自交分离,从中选育不育度达到或接近 100% 的不育株。利用植物组织培养技术对不育株的花托、花序轴进行器官培养,保持和繁殖细胞核雄性不育株,获得全不育系。在 2001-2005、2007-2008、2010-2011 年观察了不育系的不育株率、不育度及其稳定性,开花期重点观察花朵开放情况,雄蕊是否正常,花丝长短,花药形状、颜色、花药有无花粉以及柱头和蜜腺情况,并拍照记录。不育株率 = (不育株/调查总株数) × 100%; 不育度 = (不育花数/调查总花数) × 100%。

以育成的雄性不育系为母本,以高代自交系为父

本进行大量的测交配组筛选优良杂交组合,并进行多年多点试种。新组合制种利用熊蜂授粉和人工辅助授粉相结合。

## 2 结果与分析

### 2.1 隐性细胞核雄性不育突变株的发现与选育

1999 年,课题组从“温州 50 天”花椰菜亲本资源中发现 1 株雄性不育突变株 9901,表现为花朵开放正常,雄蕊干瘪退化,即用其姊妹株的花粉为其授粉,获得了姊妹交种子。第 2 年种植姊妹交后代,发现全部可育,表现为植株雄蕊发育正常,花药饱满,花粉多,完全可育。姊妹交后代套袋自交,后代发生育性分离,出现可育株、完全不育株和极少花朵出现微量花粉的部分不育株。具有微量花粉的部分不育株再进行自交,也会分离出完全不育株。根据目标性状选择完全不育株进行组培繁殖保持其不育性,经过多年观察和筛选,从中选育出 1 个不育度达到或接近 100% 的不育系,定名为 9901A。

### 2.2 9901A 的育性表现

为进一步确定 9901A 的育性,本研究在不同年份对 9901A 不育株率和不育度进行了观察,同时还进行了套袋自交。结果表明,该不育系不育株率达到 100%,不育度达到或接近 100% (表 1)。

表 1 9901A 在不同年份的育性表现

Table 1 Fertility performance of 9901A in different year

年份 year	总株数 No. of total plants	可育株数 No. of fertile plants	雄性不育株数 No. of sterile plants	不育株率 sterile plant rate(%)	不育度 abortive degree(%)
2001-2002	155	0	155	100	98.2
2003-2004	105	0	105	100	100
2004-2005	250	0	250	100	100
2007-2008	300	0	300	100	100
2010-2011	500	0	500	100	100

9901A 与不同花椰菜自交系杂交获得的 F<sub>1</sub> 全部可育,可以推断该不育材料的不育性由隐性基因控制,可育对不育为显性。F<sub>2</sub> 代育性发生分离,可育株数与

不育株数呈 3:1 分离(表 2),推断其不育性可能是由 1 对隐性基因所控制,是否还有其他微效基因修饰,还需进一步的研究确定。

表 2 9901A 与花椰菜自交系杂交后代 F<sub>2</sub> 的育性分离

Table 2 The segregation of F<sub>2</sub> from 9901A with cauliflower inbred lines

组合 combination	植株总数 No. of total plant plant	可育株数 No. of total fertile plant	不育株数 No. of sterile	理论分离比 segregation	2 值 2 value ratio
9901A × 01P-10	36	25	11	3:1	0.3333
9901A × 01A-5	29	23	6	3:1	0.1035
9901A × 01P-14	42	29	13	3:1	0.5080
9901A × 01A-7	41	32	9	3:1	0.0732
9901A × 01P-22	11	9	2	3:1	0.0303
9901A × 9908	45	34	11	3:1	0.0075

Note: df = 1, P = 0.05,  $\chi^2 = 3.84$

### 2.3 9901A 的生物学特性

9901A 株型紧凑,叶色灰绿,蜡粉中等,从定植到采收 50d 左右,花球半球形、致密、洁白,内叶扣包花球。花朵开放正常,花冠淡黄色,雄蕊 6 个,花丝短,开花时看不到雄蕊,雄蕊萎缩在基部,长度不到雌蕊的 1/2,花药戟形;柱头大,开花时柱头明显外露,乳突明显,发育正常(图 1 和图 2),蜜腺发达,能正常吸引蜜蜂授粉,熊蜂授粉结实能力强。



图 1 不育花与可育花的比较

Fig. 1 Comparison of fertile flower and sterile flower

左:不育花;右:可育花

Left: fertile flower; Right: sterile flower



图 2 雄性不育系 9901A 开花  
与蜜蜂授粉情况

Fig. 2 Conditions of flowering and  
bumblebee pollinating of 9901A

### 2.4 雄性不育系的保存与扩繁

9901A 为隐性核基因控制的不育系,没有保持系,无法自身繁殖。用组织培养的方法进行保存、扩繁,在短期内可以获得大量的不育系种苗,满足生产上制种的需要。一般每年 3~4 月份取不育株花序轴和花托进行组织培养扩繁,8~9 月生根移栽。外植体在诱导培养基 MS + BA 2mg/L + 2, 4 - D 0.01mg/L 诱导培

养 20d 获得不定丛生芽;在增殖培养基 MS + BA 0.1 ~ 0.2mg/L + KT 0.1 ~ 0.2mg/L + NAA 0.001 ~ 0.003mg/L 上增殖培养 4~5 代,继代周期 25~30d;不定芽在生根培养基 1/2MS + NAA 0.1~0.3mg/L 上培养 15d 左右,生根率可达 98% 以上。生根后的试管苗开瓶炼苗 2~3d,移栽到珍珠岩基质或干净的河砂中,在全光照自动喷雾设施中过渡培养 1 至 2 周后移植到大田。据近几年观察,组培苗在大田表现与母株性状一致,尚未发生变异。

### 2.5 优良杂交组合瓯雪 60 天的选育

以 9901A 为母本与项目组育成的高代自交系进行了大量的杂交配组筛选,筛选出 3 个优势明显、综合性状好的组合。其中 9901A × 9908 经多年多点试种推广表现为抗病性强,综合性状优良,丰产性好,稳定,株型紧凑,从定植到采收为 61~71d,株高 56cm,株幅 74.4 × 73.5cm、叶色绿、内叶护球,花球呈半球型、乳白色、紧实、蕾粒细嫩,比对照东海明珠 60 天显著增产,是较为理想的秋花菜新品种。该组合于 2009 年通过浙江省审定,定名为瓯雪 60 天 [浙(非)审蔬 20090016]。

### 2.6 瓯雪 60 天制种技术

2007-2011 年,课题组在防虫网纱隔离的大棚中进行了瓯雪 60 天批量制种生产。母本 9901A 组培苗于 9 月 1~7 日移植到田间,10 月 8 日左右定植,父本 9908 提前 1 周定植,父母本比例为 1:3。次年 2 月 20 日左右始花,4 月 25 日左右终花,花期观察不育系的育性表现,均未见可育花。2010-2011 年在每个 8m × 32m 的大棚里放置一小箱熊蜂进行授粉。种子成熟后调查每株种子重,结果平均每株种子重 13g,折合 401kg/hm<sup>2</sup>。表明利用细胞核隐性雄性不育系 9901A 杂交制种异交结实正常,熊蜂授粉效果良好。

## 3 讨论

十字花科雄性不育有细胞质雄性不育和细胞核雄性不育,目前花椰菜上研究较多的是细胞质雄性不育系<sup>[2-4]</sup>,其不育性主要由 Ogura 不育源导入,胞质单一,血缘关系较近,可能导致配置的杂交种遗传基础狭窄,导致对环境的抵抗力下降。隐性细胞核雄性不育系 9901A 的育成,为花椰菜杂种优势利用提供了新的不育源,丰富了花椰菜雄性不育源的类型,可以避免不育类型过于单一造成不利影响。同时,它没有胞质负效应,蜜腺发达,能正常吸引昆虫授粉,制种产量高,在生产上有很好的推广利用价值。

不育系 9901A 为隐性基因控制的不育系,没有保持系,无法自身繁殖。如果利用杂合体(Msms)为不育系授粉进行繁殖,只能获得不育株率 50% 的不育系,大田制种时需拔掉 50% 的可育株,该方法虽能解决种子的留存问题,但会造成土地和人力物力的浪费。利用组织培养技术繁殖十字花科蔬菜雄性不育系或自交不亲和系已有不少文献报道<sup>[2,15~18]</sup>。利用组织培养技术可以生产全不育系,不仅可以解决核不育材料难以保持的难题,还省去了不育系和保持系田间隔离繁殖的各种工作,使得不育系的繁殖不受气候、季节、土地、隔离条件的影响。利用组织培养技术育苗,成本虽然较种子育苗稍高,但作为雄性不育系可明显降低花椰菜杂交制种中人工剥蕾去雄授粉的成本,在实际制种生产上具有现实意义。

### 参考文献:

- [1] 李素文,赵前程,孙德岭,耿欣. 国内外花椰菜种植面积及产量变化趋势[J]. 中国蔬菜, 2005, (3): 36-37
- [2] 陈文辉,李淑桂,朱朝辉. 花椰菜雄性不育系的选育与利用[J]. 福建农业学报, 2010, 25(5): 589-583
- [3] 姜平,朱朝辉,郑益嫩,陈继兵,陈文辉. 花椰菜雄性不育系 C50-2 选育研究[J]. 福建农业学报, 2001, 16(3): 39-41
- [4] 李素文. 花椰菜雄性不育系研究进展[J]. 天津农业科学, 2005, 11(1): 16-18
- [5] 林宝刚,张明龙,王桂荣. 辐照诱导的新雄性不育系过氧化物酶和脂酶同工酶分析[J]. 核农学报, 2005, 19(4): 304-306
- [6] 舒庆尧,吴殿星,夏英武,高明尉. <sup>60</sup>Co  $\gamma$  射线辐照诱发创造水稻显性雄性核不育系[J]. 核农学报, 2000, 14(2): 274-278
- [7] 舒庆尧,夏英武,作物雄性不育的诱发与利用[J]. 核农学通报, 1992, 13(3): 145-146
- [8] 黄善武,葛红,辐照诱发瓜叶菊雄性不育系及其利用研究[J]. 核农学报 1994, 8(3): 180-184
- [9] 王桂荣,林宝刚,邵奇,张龙,李小白,张明龙. 油菜新雄性不育系 Xin1 的不育性与恢复性[J]. 核农学报, 2006, 20(03): 177-180
- [10] 刘玉梅,方智远,孙培田,杨丽梅,庄木,王晓武. 十字花科作物雄性不育系获得的主要途径及其利用[J]. 中国蔬菜, 2002, (2): 52-55
- [11] 方智远,刘玉梅,杨丽梅,王晓武,张扬勇,孙培田. 甘蓝显性核基因雄性不育与胞质雄性不育系的选育及制种[J]. 中国农业科学, 2004, 37(5): 717-723
- [12] 严慧玲,方智远,刘玉梅,王永健,杨丽梅,庄木,张扬勇,孙培田. 甘蓝显性雄性不育材料 DGMS79039903 不育性的遗传效应分析[J]. 园艺学报, 2007, 34(1): 93-98
- [13] 王谋强,高杰. 大白菜细胞核雄性不育两用系的利用途径探讨[J]. 种子, 1997, 4: 23-26
- [14] 陈大伦,张瑞茂. 甘蓝型油菜隐性细胞核雄性不育系 118A 的发现与选育[J]. 贵州农业科学, 2006, 34(6): 5-7
- [15] 许端祥,方淑桂,陈文辉. 花椰菜自交不亲和系组培快繁技术研究[J]. 福建农业科技, 2006, 5: 32-34
- [16] 张小玲,张纯胄,唐征,徐婉莉,胡彩英. 花椰菜未受精子房、花托、花序轴离体培养诱导成苗研究[J]. 长江蔬菜, 2000, 1: 28-30
- [17] 方智远,孙培田,刘玉梅,杨丽梅,王晓武. 甘蓝显性核基因雄性不育系的选育及其利用[J]. 园艺学报, 1997, 24(3): 249-254
- [18] 吴丽芳,蒋亚莲,张艺萍,崔光芬. 花椰菜雄性不育系组培快繁及无糖培养技术[J]. 北方园艺, 2009, 6: 57-58

(责任编辑 王媛媛)