韩国白萝卜雄性不育系的转育与利用

韩太利　徐立功　杨晓东

摘　要　以引进的韩国白萝卜改良型雄性不育系 VMS01、VMS02、VMS03、VMS04为材料,研究其生长、开花、结实等习性,并转育出了早熟类型白萝卜不育系 VMS01 - 98 - 16和耐抽薹大型白萝卜不育系 VMS03 - 96 - 07、VMS03 - 01 - 36、VMS04 - 01 - 36及相应的保持系。这些雄性不育系不育株率均达 100 %,不育株花开放正常,雌蕊和结实情况也基本正常;配制的杂交组合表现出不同的杂种优势,生长势和抗病性明显提高。试验还发现, VMS03和 VMS04在温室温度 (21 ±1) ℃,湿度 60 %～70 %、晴天光照条件下出现少量正常花粉,有自交结实现象,证明该批不育系的不育度受光照、温度和湿度的影响,是否属于光、温敏感型胞质不育类型需进一步研究。

关键词　韩国白萝卜　雄性不育系　改良　转育

我国萝卜 (*Raphanus sativus* L.)品种资源极为丰富,拥有不同类型的众多品种。由于萝卜有较强的杂种优势,国内外利用自交不亲和系、雄性不育系等进行杂种优势育种研究已取得了显著进展 [1-2]。山东省潍坊市农业科学院蔬菜研究所在研究利用自交不亲和系配制萝卜一代杂种的同时,自 90年代起就开展了萝卜雄性不育系的选育和利用研究, 2000年引进了 4份韩国白萝卜雄性不育系材料,经过转育获得了多份不育株率达 100 %的雄性不育系,配制了多个优良杂交组合,并进行了试种和示范。

1　材料与方法

1.1　改良型雄性不育系材料

2000年由韩国农友公司引进 4份白萝卜雄性不育系材料,表现花冠正常,不存在花变小或花瓣展不开的现象,并且雌蕊正常,花柱长短与可育株也基本相似,只是雄蕊退化或无花粉。国内在萝卜雄性不育系研究方面,明确了中国萝卜的雄性不育系为核 - 质互作不育型类型 [1,3-4]。但该批韩国白萝卜雄性不育系的特点与国内萝卜雄性不育系有明显的区别,在没有明确其遗传机制之前,笔者把这 4份材料暂定为改良型雄性不育系,分别编号为 VMS01、VMS02、VMS03、VMS04。其中 VMS01是早熟小型白萝卜材料, VMS02是耐热板叶型白萝卜材料, VMS03、VMS04是耐抽薹适宜春种的大型白萝卜材料。

1.2　转育用的父本材料

以本所多年提纯复壮的象牙白类型 VL - 98 - 16、VL - 98 - 23、VL - 98 - 35和南畔州类型 VL - 96 - 07、VL - 96 - 13、VL - 96 - 04等,以及从韩国引进的 VL01 - 36、VL01 - 37、VL01 - 40、VL01 - 42、VL01 - 46、VL01 - 57和从日本引进的 VL - 99 - 17、VL - 99 - 15等 20多份不同类型的萝卜优良自交系为测交、回交转育的父本。

2　结果与分析

2.1　改良型雄性不育系材料的转育

改良型雄性不育系材料的特点:植株生长接近正常,花冠正常,花大小、花瓣和柱头都接近正常,只有雄蕊败育或雄蕊接近正常但不产生花粉或花粉无生活力。转育过程中除 VMS02暂没有保持系外,其他 3份材料都已得到理想的保持系。

2.2　VMS01雄性不育系的转育过程

VMS01雄性不育系是早熟小型白萝卜材料,抽薹不整齐,但不育性稳定,用象牙白类型 VL - 98 - 16、VL - 98 - 23、VL - 98 - 35和韩国 VL01 - 40、VL01 - 46、VL01 - 57等作父本测交进行保持系选择。调查发现杂交一代基本全是不育株,但常温下

韩太利,男,副研究员,山东省潍坊市农业科学院蔬菜研究所,潍坊市奎文区东风东街 239号, 261041,电话: 0536 - 8230087, E-mail: wnsc2004@126.com

徐立功,杨晓东,山东省潍坊市农业科学院蔬菜研究所

收稿日期: 2007 - 05 - 01;修回日期: 2007 - 06 - 08

基金项目:山东省农业良种产业化资助项目 (WKNS200101)

大部分植株叶色失绿,多数花呈半开放状,雌蕊基本正常,柱头较长,约一半暴露于花冠外,蜜腺也不正常,相当一部分种荚不结实、黄化败落。只有 VL - 98 - 16作父本时的杂交一代不育株花开放程度基本正常,雌蕊也正常,结实状况良好,经过连续两代回交,结果基本一致。为此, VL - 98 - 16即为 VMS01较为理想的保持系,转育的不育系代号定为 VMS01 - 98 - 16(表 1)。

表 1　VMS01不育系与多父本杂交转育后代开花结实性状调查结果　　朵

不育系组合	调查花数	花开放程度			蜜腺	雌蕊		结实情况
		正常	较正常	畸形		正常	畸形	
VMS01 ×VL - 98 - 16	117	107	10	10	大或中	117	10	正常
VMS01 ×VL - 98 - 23	101	68	24	9	中	94	7	较正常
VMS01 ×VL - 98 - 35	113	56	33	24	中或小	69	44	种荚 50 %畸形
VMS01 ×VL01 - 40	108	89	8	11	中	102	6	较正常
VMS01 ×VL01 - 46	105	71	25	9	中或小	101	4	较正常
VMS01 ×VL01 - 57	110	64	32	14	小	71	39	种荚 40 %畸形

2.3　VMS03和 VMS04雄性不育系的转育过程

VMS03和 VMS04雄性不育系是耐抽薹大型白萝卜材料,用南畔州类型 VL - 96 - 07、VL - 96 - 13、VL - 96 - 04和韩国 VL01 - 36、VL01 - 37、VL01 - 42等作父本测交进行保持系选择。这两份材料在转育过程中不育性也非常稳定,调查结果杂交一代均为 100 %的不育株。其中,两个测交组合后代不育性状良好,植株叶色正常,抽薹良好,除刚开的少量花黄化脱落外,多数花开放正常,花瓣鲜艳,雄蕊退化或无花粉,雌蕊正常,蜜腺发达,盛花期后能正常结实。用上述父本进行连续回交,并在回交后代中针对不育系存在的不良性状进行筛选,结果发现,多个父本的回交后代中,花开放程度、蜜腺大小、花柱长短及授粉后的结实情况均有不同程度的差异。其中, VL - 96 - 07、VL01 - 36作父本对 VMS03,以及 VL01 - 36作父本对 VMS04的转育效果最好,不良性状有一定的改进 (表 2)。经过连续两代回交,结果基本一致。为此, VL - 96 - 07和 VL01 - 36为 VMS03比较理想的保持系,转育的不育系代号分别为 VMS03 - 96 - 07、VMS03 - 01 - 36; VL01 - 36为 VMS04比较理想的保持系,转育的不育系代号为 VMS04 - 01 - 36。

表 2　VMS03和 VMS04不育系与多父本杂交转育后代开花结实性状调查结果　　朵

不育系组合	调查花数	花开放程度			蜜腺	雌蕊		结实情况
		正常	较正常	畸形		正常	畸形	
VMS03 ×VL - 96 - 07	108	196	10	12	大或中	106	12	正常
VMS03 ×VL - 96 - 13	116	69	24	23	中或小	71	45	种荚 30 %畸形
VMS03 ×VL - 96 - 04	146	72	30	44	小	82	64	种荚 40 %畸形
VMS03 ×VL01 - 36	135	108	23	4	大或中	127	8	正常
VMS03 ×VL01 - 37	89	51	6	32	小	53	36	种荚 40 %畸形
VMS03 ×VL01 - 42	106	67	23	16	中或小	68	38	种荚 30 %畸形
VMS04 ×VL - 96 - 07	111	90	9	12	大或中	96	15	较正常
VMS04 ×VL - 96 - 13	116	96	12	8	大或中	98	18	较正常
VMS04 ×VL - 96 - 04	105	71	7	27	中或小	73	32	种荚 40 %畸形
VMS04 ×VL01 - 36	95	82	11	2	大或中	91	4	正常
VMS04 ×VL01 - 37	121	96	16	9	大或中	97	24	较正常
VMS04 ×VL01 - 42	119	80	23	16	大或中	97	22	较正常

2.4　转育不育系材料的经济性状比较

近年来,对不育系 VMS01 - 98 - 16、VMS03 - 96 - 07、VMS03 - 01 - 36、VMS04 - 01 - 36的主要经济性状和配合力作了进一步研究,发现在连续回交 4～5代后,植株的生长势、抗病性和肉质根质量出现了一定的差异。用该不育系作母本试配出的杂交组合表现出不同程度的杂种优势,生长势、抗病性有明显提高;但早熟性和肉质根的大小、形状,以及回交父本本身配制的杂交组合没有明显的杂种优势 (表 3)。

表 3 不同类型转育不育系杂交后代经济性状比较

组合	植株形状	肉质根形状	肉质根皮色	单株肉质根质量 /kg	抗病性
VMS01 ×VL - 98 - 16	板叶	高圆小细根	纯白	0.76	中
VMS03 ×VL - 96 - 07	裂叶整齐	长圆柱	纯白带黄头	1.86	中
VMS03 ×VL01 - 36	裂叶整齐	长圆柱	纯白	1.52	强
VMS04 ×VL01 - 36	裂叶整齐	细长根	纯白	1.56	强
VMS01 - 98 - 16 ×VL - 02 - 5	板叶	短圆柱	纯白带黄头	0.98	强
VMS03 - 96 - 07 ×VL - 01 - 9	裂叶较大	长圆柱	纯白带黄头	2.12	强
VMS03 - 01 - 36 ×VL - 01 - 26	裂叶	长圆柱	纯白	1.98	强
VMS04 - 01 - 36 ×VL - 02 - 12	裂叶整齐	细长根	纯白	2.18	强

2.5 改良型雄性不育系材料的自交结实率

试验中发现,VMS03和VMS04在温室内连续几年初花期都是100%的不育株,到盛花后期有雄蕊出现少量花粉,并能正常授粉结实。2002年在出现花粉时进行人工自交授粉,自交结实率达10%以上,2003年对采收的种子进行种植观察,花期不育株率仍达100%,随后在温室内进行了光照、温度和湿度临界值的分析。经过两年试验得出结果:温室内相对湿度60%～70%、温度(21±1)℃的晴天,13:00左右不育株即可出现正常花粉,然后人工授粉保持该不育系材料非常成功(表4)。试验证明,该批不育系材料的不育株率达100%,但不育度受光照、温度和湿度的影响较大,这种遗传现象便于雄性不育系的自我保持,为不育系在转育过程中找到理想保持系提供了方便[4]。

表 4 VMS03和VMS04在不同温度下的育性分离比例

(2003～2004年)

温度	总株数/株	不育株数/株	可育株数/株	花粉情况	自交结实率/%
18～21 ℃	60	44	16	极少	16.5
21～24 ℃	57	33	24	少量	11.0
24～27 ℃	48	42	6	微量	1.2
27 ℃以上	58	57	1	极微量	0

注:温室正常光照条件下,湿度保持在60%～70%。

由于不育系是在温室内特定的温、湿度条件下,人工授粉自交结实率达10%以上,大田制种时,春季气候条件干燥,光照、温度、湿度都不易完全符合该不育系育性恢复的特定条件。通过近两年的试验调查发现,只要掌握好父、母本花期相遇,保证授粉时有充足的父本花粉,杂交率可近100%。

2.6 转育不育系的配合力比较

经过近几年的反复试验,现已选出了VMS01-98-16、VMS03-96-07、VMS03-01-36、VMS04-01-36等优良改良型雄性不育系,其共同特点是不育性稳定,不育株率达100%,经济性状比较整齐。通过配合力测定,证明配合力高,杂种优势明显,用它们配制的杂交组合明显优于原自交系配制的同类组合。现已育成了潍春白玉、VL-303、白玉冠军等优良白萝卜 F_1 新品种,该批白萝卜新品种将逐步取代以韩国白玉春为代表的白萝卜品种。

3 小结与讨论

韩国白萝卜改良型雄性不育系在回交转育过程中,通过4～5代的回交转育,易于获得不育株率达100%,并且开花、结实、雌蕊等基本表现正常的雄性不育系。试验证明,一个优良的雄性不育系的不育性和经济性状的遗传稳定性主要取决于保持系的经济性状和保持能力的遗传稳定性[5-6]。所以,保持系的保纯及不断进行经济性状和保持能力的择优去杂非常重要。本试验中利用的保持系是优良自交系,经过连续回交及核置换,其相应雄性不育系的主要经济性状与保持系可基本达到一致。

白萝卜改良型雄性不育系在实际应用中杂种优势明显,在以它们作母本配制的杂交组合中,有的组合表现生长旺盛、抗病,但在回交转育过程中,春季抽薹的早晚差别较大,说明这些材料尚需改进。而且,这批雄性不育系材料是否属于光、温敏感型胞质不育类型则值得深入探讨。

参考文献

[1] 汪隆植,何启伟. 中国萝卜[M]. 北京:科学技术文献出版社,2005: 292-341.

[2] 何启伟,赵双宜,石惠莲,安振琴,郎丰庆,王淑芬. 中国萝卜皮色遗传的初步研究[J]. 山东农业科学,1997(2): 4-9.

[3] 方智远,孙培田,刘玉梅,杨丽梅,王晓武. 甘蓝显性雄性不育系的选育及其利用[J]. 园艺学报,1997,24(3): 249-254.

[4] 卢兴桂. 中国光、温敏雄性不育水稻育性生态[M]. 北京:科学出版社,2003: 23-55.

[5] 方智远. 蔬菜学[M]. 南京:江苏科学技术出版社,2004: 100-113.

[6] 张丽. 萝卜几个植物学性状的遗传[J]. 中国蔬菜,2006(11): 10-12.

籽用西瓜种质资源抗枯萎病离体筛选技术的研究

柳唐镜　郑秀国　汪李平

摘　要　以籽用西瓜中信 1号红籽瓜不定芽为筛选材料,利用镰刀菌酸(Fusarium acid, FA)为胁迫剂,进行红籽瓜抗枯萎病无性系变异体离体筛选技术和红籽瓜种质资源抗病性鉴定的研究。结果表明,红籽瓜体细胞无性系抗性变异体离体筛选的 FA适宜浓度为 15 mg·L^{-1}。初步建立了红籽瓜抗性变异体离体筛选体系,获得了抗 FA变异体的再生植株。筛选出红籽瓜种质资源高抗材料 2份,中抗材料 6份,轻抗材料 11份,高感材料 17份。

关键词　籽用西瓜　中信 1号红籽瓜　种质资源　枯萎病　体细胞无性系变异　抗性　离体筛选　离体鉴定

籽用西瓜(*Citrullus lanatus* ssp. *vulgaris* var. *megalaspermus* Lin et Chao)俗称打瓜、洗籽瓜、瓜籽瓜,属葫芦科普通西瓜亚种中的籽瓜变种,分红籽瓜和黑籽瓜两个不同种皮颜色的品系。红籽瓜主要有广西信都红籽瓜、宁夏(平罗)红籽瓜、江西信丰红籽瓜等品种(系)[1-2]。红籽瓜枯萎病由真菌半知菌亚门镰孢霉属尖镰孢菌西瓜专化型〔*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (E. F. Smith) Snyder et Hansen〕(FON)侵染所致,是红籽瓜的主要病害之一。选育抗枯萎病品种是解决红籽瓜枯萎病为害的根本途径,但红籽瓜遗传资源比较狭窄,抗枯萎病资源材料缺乏已成为红籽瓜抗枯萎病育种工作进展的瓶颈。

植物体细胞组织培养后常产生抗性、株高、育性等多种类型的变异。体细胞离体诱变已成为一种稳定、高效的品种改良方法。利用体细胞无性系变异筛选突变体已在马铃薯[3]、茄子[4]、草莓[5]、枸杞[6]和西瓜[7]等作物上广泛开展研究。离体筛选技术是建立在植物组织培养技术上的一种抗性材料创新技术,利用这种方法已获得了抗枯萎病西瓜[8]、甜瓜[9]、节瓜[10]等一系列抗性无性系。镰刀菌酸

柳唐镜,男,华中农业大学生命科学技术学院,国家生命科学与技术人才培养基地,华中农业大学西甜瓜实验室,武汉 430070
郑秀国,华中农业大学园艺林学学院,华中农业大学西甜瓜实验室
汪李平(通讯作者),华中农业大学园艺林学学院,国家蔬菜改良中心华中分中心,园艺植物生物学教育部重点实验室,武汉 430070,电话:027-87286959, E-mail: wanglp@mail.hzau.edu.cn
收稿日期:2007-04-09;修回日期:2007-08-13
基金项目:华中农业大学人才基金项目(52204-05020),国家航天育种工程项目(2006HT100113)
致谢:本试验承蒙广西贺州市信都红籽瓜研究发展中心吴素萍老师给予指导和帮助,特此感谢

Study and Utilization on Male-sterile Line of Korean White Radish by Transformation and Breeding

Han Taili, Xu Ligong, Yang Xiaodong (Institute of Vegetables, Weifang Academy of Agricultural Sciences, Shandong 261041)

Abstract　Taking the improved male-sterile line of Korean white radish as the experimental material, the characteristics of growth, blossom and fruiting and the progress of backcross breeding about the VMS01, VMS02, VMS03 and VMS04 were studied. Moreover, we had bred the male-sterile line VMS01-98-16 with early-maturity, VMS03-96-07, VMS03-01-36 and VMS04-01-36 with bolting-resistance and corresponding maintaining lines VL-98-16, VL-96-07, VL01-36. The rates of male-sterile plants all could come to 100%, flowers unfolded normally, also gynoecia and fruit could normally developed. Hybrid combination showed different hybrid vigor, the growth and disease resistance increased. The VMS03 and VMS04 could normally disperse pollen and bear fruit on the condition of special temperature (21±1) ℃, humidity (60%-70%) and illumination.

Key words　Korean white radish, Male-sterile line, Improvement, Transformation and breeding