

胡萝卜 雄性不育性的研究及利用

于春霞^{1,2}, 梁毅², 李景富¹

(1. 东北农业大学园艺学院, 哈尔滨 150030; 2. 北京市农林科学院蔬菜研究中心, 100089)

中图分类号: S631.103.6 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2006)04-0058-03

胡萝卜是近交严重衰退的高度异花授粉作物, 很难通过系内授粉培育出综合性状优良的胡萝卜品种。一代杂种在产量、品质、商品性状、抗病性、抗逆性等方面均优于一般常规品种, 高代自交系间的杂种优势更加显著。但胡萝卜花器小, 人工授粉困难, 利用雄性不育系生产胡萝卜一代杂种可免去人工去雄, 提高杂种种子的纯度, 降低生产成本, 减少种植风险, 对调整我国种植业结构具有重要意义。

1 胡萝卜雄性不育株花器的形态特征

胡萝卜花为上位花, 通常一朵正常可育的胡萝卜小花具有 5 个小萼片、5 个花瓣、5 个雄蕊和 2 个心皮。雄蕊先熟, 花瓣离瓣。虽然一朵花的花药不会同时破裂, 但开花期花丝开始伸直就释放出花药, 雄蕊很快脱落, 然后花瓣完全开放, 花柱伸长。胡萝卜雄性不育材料花药要么变态成为花瓣状结构, 要么畸形、变为褐色。瓣花型雄性不育雄蕊被 5 个花瓣代替, 表现出雄蕊的形态学结构变化, 有的花柱扭曲, 有的雄蕊分为 3~4 瓣, 花瓣状结构不同程度地包裹着花柱及柱头。Eisa 将瓣化型分为四类: 雄蕊变为丝状; 雄蕊变为匙状; 雄蕊变为不完全花瓣状; 雄蕊完全花瓣状。有的一朵花内四种情况都有, 花瓣的颜色也从绿色到白色不等^[1]。褐药型雄性不育花药在开花前皱缩、花丝基本退化。由于绒毡层细胞和小孢子发生异常, 提早衰退, 减数分裂过程不能发生; 或者虽然减数分裂正常, 但由于绒毡层细胞四分体时期膨大, 随后破裂, 形成原质体, 花药不能产生功能花粉^{2,3}。根据雄蕊变形的程度可分为“勺状”、“蛇形”、“心皮形”等不同的类型^[4]。

2 胡萝卜细胞质雄性不育的遗传机制研究

2.1 胡萝卜雄性不育性的遗传类型

细胞质雄性不育系母系遗传, 根据胡萝卜雄性不育性后代的表现可分为有两种遗传模式: ① 细胞质雄性不育类型, 不育性只受细胞质基因控制, 与核基因无关, 多为突变或诱导所致。② 核质互作不育类型, 不育性的表现不但需要有雄性不育细胞质基因, 同时还需要有细胞核内雄性不育基因。只有这两种基因同时存在发生互作, 才能表现雄性不育性。

2.2 胡萝卜雄性不育性的遗传机制

由于“褐药型”雄性不育来源不同, 其遗传机制的研究也得到若干不同的结论。根据 Banga 等^[5]的研究, “褐药型”不育是由褐药型不育细胞质 Sa 和两对独立遗传的核基因互作控制的; 两对显性互补核基因(E 和 D)控制育性的恢复。Frese, Mehring-Lemper 等报道了和 Banga 的假设基本一致的研究结果; 但 Timin 和 Park-Y. 等报道的遗传机制则与其不同^[6,7]。Trimn 研究认为, “褐药型”雄性不育是由两对隐性核基因(ms1ms1, ms2ms2)和细胞质因子共同控制的, 两对显性互补核基因控制育性恢复; Park-Y 的研究认为“褐药型”雄性不育是由两对显性基因和细胞质共同控制的, 两对显性互补基因控制育性恢复。另外, Park-Y 在研究中发现, 还存在另外两种: “褐药型”不育, 其遗传方式尚不清楚^[8]。这些研究结果反映了“褐药型”雄性不育材料遗传的多样性。

1961 年 Thompson 首次在野生胡萝卜中发现了“瓣化型”雄性不育株, 该类型不育雄蕊特化成花瓣状结构, 无小孢子发生组织^[9,10,11]。H. M. Munger 认为在康奈尔野生胡萝卜的细胞质里, 至少有两个也可能有三个重叠的显性保持基因和一个上位恢复基因, 因此有用的保持系必将是无恢复性的, Ms 位点之一是显性纯合的。Moreiock^[12]、Frese^[13] 研究认为, “瓣化型”雄性不育是两对相互独立的显性核基因(M1, M2)和不育细胞质因子(Sp)互作的结果, 由于不育基因(M)处于显性状态, 在 F1 中不能发现和找到这种不育类型的保持系, 必须用(Sp)m1m1, m2m2(M)这种可育类型作为测验者进行回交, 方能发现显性基因位点。Park-Y 等^[8]的研究结果与 Moreiock、Frese 基本一致, 并发现另有两对显性互补核基因控制育性的恢复。然而 Mehring-Lemper 根据自己的研究结果却作出不同的遗传假设: “瓣化型”雄性不育, 是不育细胞质因子(Sp)和三对独立遗传的核基因, 即一对显性基因(M), 和两对隐性基因(11 tt)互作的结果。Trimn^[6]的研究结果则与上述所有结果不同, 认为“瓣化型”雄性不育是有细胞质因子(Sp)和三对隐性核基因(ms3ms3 ms4ms4 ms5ms5)互作控制, 两对附加的显性互补基因控制育性的恢复。综上所述“瓣化型”不育系统是一个遗传多样性的系统。

3 胡萝卜雄性不育细胞学及其生理生化特性

* 基金项目: 农业部 948 项目“甘蓝类蔬菜、胡萝卜雄性不育材料和体细胞杂交技术。项目编号 2001-223

收稿日期: 2006-02-11

植物雄性不育表现为雄蕊缺失、畸形、雄性器官雌性化、花药不能正常开裂、小孢子发生异常、形成无活力的花粉或不能形成花粉等多种形式。在细胞学上主要表现为花粉败育过程中的细胞学特征和雄蕊组织结构的变化。安岩等生理生化分析表明:胡萝卜雄性不育系及其保持系相比较,花蕾中蔗糖和果糖的变化趋势相同,在花蕾中达到最高值;两系的淀粉酶活性、蛋白质含量在花蕾发育过程中均呈下降趋势;雄性不育花蕾中游离脯氨酸亏缺,叶片中游离脯氨酸绝对含量很低,说明花蕾和叶片中游离脯氨酸亏缺与胡萝卜雄性不育关系密切;花蕾和生殖生长期叶片中 POD 和 CAT 活性以及 IAA 和 ABA 含量不育系高于保持系;而生殖生长期叶片中叶绿素含量不育系显著低于保持系,说明碳代谢和氮代谢的异常也与胡萝卜雄性不育有关。

4 胡萝卜雄性不育的分子生物学研究

4.1 线粒体基因组与胡萝卜细胞质雄性不育

大量遗传学、细胞学和生物化学的研究表明,线粒体 DNA(mtDNA)的某些改变与胡萝卜细胞质雄性不育存在一定联系。细胞质雄性不育的保持和恢复是线粒体基因组与核基因组相互作用的结果,胞质雄性不育植物的线粒体功能紊乱由核基因保持或抑制,后者恢复雄性不育性^[4]。

Scheike 等对“褐药型”和“瓣化型”细胞质雄性不育系的线粒体 DNA(mtDNA)和叶绿体 DNA(cpDNA)的限制性片断的分析表明:不育胞质与正常可育胞质间存在差异,所有线粒体 DNA 都有自己特异的限制性片段;通过导入核育性恢复基因的恢复育性的方式对全部线粒体结构没有影响;有几个线粒体基因的基因组环境和转录方式在不育和可育胞质间存在差异;通过对细胞器中合成的蛋白质分析显示:大量的线粒体基因翻译产物—多肽在各胞质中完全不同,最为突出的是一种 17-KD 的多肽,它存在于“褐药型”胞质雄性不育系中,而在可育线粒体中则没有,这种蛋白质的合成不受育性恢复基因的明显影响。因此,不同的胡萝卜胞质不育表现型与线粒体特异的碱基顺序的重排、转录以及翻译模式的变化密切相关。Chahal, A. 1998 年^[17]对胡萝卜雄性不育、保持系的线粒体 DNA 进行酶切和 Southern 杂交,也发现可育胞质和不育胞质存在明显差异。

Euphytica 利用一系列线粒体专一的 PCR 标记来区分引起瓣化型雄性不育和可育的胞质。这些标记来自胡萝卜瓣化型雄性不育和可育样品的线粒体基因组 atp1、atp6、atp9、orfB、atp8、nad6 和 cob 位点为靶,其扩增产物在靶基因编码区域附近或编码区域内覆盖了插入、缺失或重组位置。Scheike 等^[16]研究认为胡萝卜 cox III、nad2、nad3、atpA 和 atp6 基因区域结构和转录不育和可育胞质均有差异,估计它们可能与各自的不育性有关。Nakajima, Y 在研究胡萝卜线粒体基因组时发现与 orfB 基因相关的基因 orfB-F₁、orfB-F₂、orfB-CMS。orfB-F₁ 的结构与已报道的葵花 orfB 基因相似。orfB-F₂ 和 orfB-CMS 具有特殊的结构,它

们的结构是在 orfB 基因 3' 端分别增加了 200bp 和 170bp 的未知序列,15 个具有瓣化型的雄性不育系经检测证实他们都存在 orfB-CMS 基因,这些结构可以说明 orfB-CMS 基因与瓣化型胡萝卜雄性不育密切相关,本实验室的研究结果也证实了这一结论。在研究中发现与向日葵不育系线粒体膜蛋白 YM F19 保守结构域高度同源的基因片段,该基因片段在烟草 orfB 基因、油菜 atp6 位点区域嵌合基因 orf224、pol-urf 以及萝卜 orf158 和甘蓝型油菜 orf474 的基因位点也存在差异,他们可能都于胡萝卜不育性相关。

4.2 叶绿体基因组与胡萝卜细胞质雄性不育

叶绿体同线粒体一样都是半自主性细胞器,人们对不少作物叶绿体 DNA 与雄性不育的关系作了研究,但与线粒体 DNA 相比,国内外有关叶绿体基因组(cpDNA)与细胞质雄性不育的关系的研究还不完全,结论也存在较大的分歧。李继耕在烟草、玉米、小麦、高粱、水稻、油菜等各种作物中,利用 DNA 双相电泳技术研究发现 CMS 与 cpDNA 存在某些联系,而对细香葱及一些杂交种的研究认为 cpDNA 与 CMS 没有关系。Scheike 等研究认为胡萝卜细胞质雄性不育与叶绿体基因无关。cpDNA 与 CMS 之间关系的研究有待于进一步深入。

4.3 核基因组与胡萝卜细胞质雄性不育

植物 CMS 的发生并不是孤立的,而是具有复杂的遗传背景。胡萝卜细胞质雄性不育系是核质互作的产物,理论上不育系与保持系在遗传背景上高度同源,仅在细胞质间存在基因表达的差异,但实际上,核基因组无时无刻不对 CMS 起着重要作用。线粒体基因组仅编码提供自身生物发生和各项生命功能所需的部分遗传信息,绝大多数则来源于核基因组,目前研究人员已在许多植物核染色体中找到控制线粒体基因组结构和基因表达方式的基因。

总之,线粒体基因组、叶绿体基因组和核基因组相互联系、相互影响、相互渗透,三者之间存在序列同源性,因此仅从某一个遗传系统研究雄性不育 CMS 分子机理是远不够的。

5 胡萝卜雄性不育系的选育和利用

5.1 胡萝卜雄性不育的选育

随着胡萝卜雄性不育遗传、生物学特性等研究的深入,胡萝卜雄性不育系的选育和利用取得了相当的进展。在 20 世纪 60~70 年代许多国家培育出一大批的杂交种,美国于 1960 年育成了第一个雄性不育杂交种,目前已全部实现杂种一代化。Gauchene, O. Yu 用 Garduoles, Shatriya 和 Nantskaya 等优良亲本材料转育获得了一系列新的雄性不育系,并先后选育出 6 个胡萝卜一代杂种。Zhidkova-N. I. 等从 1979 年到 1989 年的 10 年间,利用两种类型的不育系和苏联、德国的优良亲本材料如 Nantskaya14、Vitaminsaya6、Rongela Merveille 等配制了 10 多个高产、优质、抗病的一代杂种。我国在 20 世纪 80~90 年代开始了雄性不育的选育

工作, 并利用胡萝卜雄性不育系育成了多个胡萝卜一代杂种。北京蔬菜研究中心与美国农业部合作, 引进各种类型的雄性不育材料 30 多个, 培育出的“红芯”系列一代杂种在生产上大面积推广。

近年来, 许多国家对胡萝卜体细胞杂交技术、遗传转化和再生技术等进行了深入研究。美国农业部教授对胡萝卜种属亲缘关系及重要品质性状进行了分子遗传学研究。Tanno Suenaga 等进行了胡萝卜种内原生质体非对称融合研究, 获得了种内胞质杂种, 成功利用非对称融合方式实现了“褐药型”和“瓣化型”不育性的转育。我国科研工作者在组织培养和原生质体融合方面也取得了一定的进展, 司家钢等通过利用胡萝卜原生质体非对称融合转移胡萝卜瓣化型雄性不育性的研究, 已基本建立了胡萝卜原生质体非对称融合体系, 并成功实现了胡萝卜瓣化型雄性不育性的转育, 这比回交转育胡萝卜雄性不育性, 大大缩短了时间, 对胡萝卜资源改良和创新有非常重要的意义。

5.2 胡萝卜雄性不育性的利用前景

在杂种种子生产中, 无论是“褐药型”还是“瓣化型”雄性不育株, 其单株的种子产量都低于相应的正常可育株; 而两种类型的不育株差异不显著, 但由于“瓣化型”不育性的识别和鉴定简单, 因此其在杂种品种生产中的应用前景更好。

应用胞质杂种转移细胞质雄性不育到可育的近交系上, 在不久的将来无疑会受到重视。利用胡萝卜原生质体非对称融合, 转育胡萝卜胞质不育性, 有望减少不育性常规转育过程中杂交、回交、自交及筛选所需的时间和人力、物力, 大大加快育种进程。

胡萝卜的育种很可能连续地集中在根产量、外观、消费品质、抗病与抗虫及种子产量这些性状上, 随着减少杀虫剂的应用, 抗虫育种很可能增加细胞质雄性不育已被成功地应用于多数胡萝卜产区的杂种生产, 然而对种子亲本的稳定性需求, 及对种子产量的提高, 将会引起更广泛的注意。

参考文献:

[1] Hrasko L., Bujdosó G. Observations on flowering habit and seed yield of petaloid type male sterile carrots[J]. Zoldsegetermeszeti Kutató Intézet Bulletinje. 1989, 22: 51—57.

[2] Zenkteler. Microsporogenesis and tapetal development in normal and male—sterile carrots (*Daucus carota*)[J]. Amer. J. Bot., 1962, 49(4): 341—348.

[3] Struckmeyer E. Simon P. Anatomy of fertile and male—sterile carrot flowers from different genetic sources[J]. Amer. Soc. Hort. Sci., 1986, 111: 965—968.

[4] Stein M., Nothnagel T. Some remarks on carrot breeding (*Daucus carota sativus* Hoffm.)[J]. Plant breeding, 1995, 114: 1—11.

[5] Banga, O., Petiet, J., and van Bennekom. J. L. Genetical analysis of male sterility in carrots[J]. Euphytica, 1964, 13: 75—93.

[6] Timin N. I. Features of the segregation of hybrid progenies of carrot for cytoplasmic male sterility (CMS)[J]. Doklady TSKHA, 1980, 266: 93—98.

[7] Park, Y. and Pyo, H. K. Genetical study of male sterility in carrots, *Daucus carota* L. I. Inheritance of male sterility[J]. Journal of the Korean Society for Horticultural Science. 1998, 29(3): 178—790.

[8] Park Y. Breeding of brown anther type male sterile lines with high phenotypic stability in carrots[J]. Journal of the Korean Society for Horticultural science 1995, 36 (1): 1—9.

[9] Eisa, H M. and D H. Wallace. Morphological and anatomical of petaloidy in the carrot (*Daucus carota* L.)[J]. Amer. Soc. Hort. Sci. 1969, 94: 545—548.

[10] McCollum, G. D. Occurrence of petaloid stamens in wild carrot (*Daucus carota*) from Sweden Econ[J]. Bot. 1996, 20: 361—367.

[11] Morelock T. E. ect. Wisconsin Wild; another petaloid male—sterility cytoplasm for carrot[J]. HortScience. 1996, 31: 887—888.

[12] Morelock T. S. Influence of cytoplasmic source on expression of male sterility in carrot (*Daucus carota* L.)[J]. Thesis, Univ. Arkansas, USA, 1974.

[13] Ferse, L. Investigation on the inheritance of the petaloid type of male sterility in carrots[J]. XXIst internat. Hort. Congr., The Hague, Netherlands 1982, 1: 1513.

[14] Linka B., T. Nothnagel, T. B?rner (1999) Morphological characterization of modified flower morphology of three novel atoplasmic male sterile carrot sources[J]. Plant Breeding 118: 543—548.

[15] 司家钢, 朱德蔚, 杜永臣. 原生质体非对称融合获得胡萝卜 (*Daucus carota* L.) 种内胞质杂种[J]. 园艺学报, 2002, 29(2): 128—132.

欢迎订阅投稿

欢迎刊登广告