

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2013.00118

以半冬性甘蓝型油菜为亲本增强春性甘蓝型油菜杂种优势

姚艳梅 柳海东 徐 亮 杜德志*

青海省农林科学院春油菜研究所 / 国家油菜改良青海分中心 / 青海省高原作物种质资源创新与利用重点实验室培育基地, 青海西宁 810016

摘 要: 以春性恢复系与半冬性品种(系)杂交后选育的 16 份新春性恢复系及其 4 个亲本系[2 个半冬性甘蓝型油菜品种(系)和 2 个春性甘蓝型恢复系]、2 个春性甘蓝型不育系为材料, 利用 SSR、SRAP 和 AFLP 分子标记技术分析材料间的遗传差异, 同时利用以上 2 个春性不育系分别与 12 个新春性恢复系和 1 个春性亲本恢复系 Ag-5 进行 NCII 双列杂交, 测定其杂种优势及杂种表现。16 份新恢复系中除 931 和帐 23 外, 其余的 14 份新恢复系与 2 个不育系的遗传距离均大于其春性亲本恢复系与相应不育系的遗传距离, 说明导入半冬性品种遗传成分能扩大春性恢复系与不育系间的遗传差异; 配制的 26 个杂交组合中, 其双亲中不育系所对应保持系单株产量为高亲值的组合有 15 个, 其中 13 个组合单株产量超亲优势都强于所对应不育系与亲本恢复系 Ag-5 所配杂交组合, 说明导入半冬性品种遗传成分可增强甘蓝型春油菜杂种优势; 12 个新恢复系分别与 2 个不育系所配 24 个组合中 18 个组合的单株产量都分别超过所对应不育系与亲本恢复系 Ag-5 所配杂交组合, 说明导入半冬性品种遗传成分能提高甘蓝型春油菜杂种的产量; 新恢复系与 2 个不育系杂交后代的抗病性均强于其亲本恢复系与相应不育系杂交后代的抗病性, 说明导入半冬性品种遗传成分能提高春性甘蓝型油菜杂交种抗菌核病的能力。研究结果表明, 半冬性甘蓝型油菜品种可为春油菜杂交育种提供有价值的遗传资源。

关键词: 春性油菜; 不育系; 恢复系; 分子标记; 杂种优势; 菌核病

Enhancing the Heterosis of Spring Rapeseed Varieties (*Brassica napus* L.) by Using Semi-Winter Rapeseed Varieties as Parents

YAO Yan-Mei, LIU Hai-Dong, XU Liang, and DU De-Zhi*

Spring Rapeseed Research Institute, Qinghai Academy of Agriculture and Forestry / Qinghai Sub-center of National Rapeseed Improvement, Qinghai Provincial Key Laboratory Breeding Base for Innovation and Utilization of Plateau Crop Germplasm, Xining 810016, China

Abstract: Several *B. napus* varieties (lines) including two semi-winter rapeseed varieties, two spring restorer lines, two spring male-sterile lines and 16 spring restorer lines (derived from the spring restorer lines and semi-winter rapeseed varieties) were analyzed using SSR, SRAP, and AFLP. Twenty-six combinations were produced according to the North Carolina mating design (NCII) by hand-pollinating 12 new restorer lines and one parental restorer line (Ag-5) with two spring male-sterile lines. The hybrid performance values were also determined. Among the 16 restorer lines, except for 931 and Zhang 23, the genetic distances were greater between the new restorer lines and two male-sterile lines than between the corresponding parental restorer line (Ag-5) and the two male-sterile lines, showing that introgressing semi-winter varieties into spring restorer lines could increase the genetic distance between spring restorer lines and spring male-sterile lines. The yield per plant for the maintainer lines of 15 combinations, which corresponded to the sterile lines showed high-parent values in 26 combinations, and 13 combinations showed stronger high-parent heterosis of yield per plant compared to combinations produced by the corresponding male-sterile and parental restorer lines (CMSL×Ag-5), suggesting that introgressing semi-winter varieties into spring restorer lines could enhance the heterosis of spring *B. napus* varieties. Eighteen hybrids among the 24 combinations showed higher yield per plant compared to the combinations of CMSL×Ag-5, indicating introgressing semi-winter varieties into spring restorer lines might improve the spring *B. napus* hybrids yield. The results also showed that introgressing semi-winter varieties into spring restorer lines could improve the resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* of spring *B. napus* hybrids. This study indicates that semi-winter *B. napus* rapeseed may be a

本研究由国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-13), 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2011AA10A10404)和国家科技支撑计划项目(2011BAD35B04)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 杜德志, E-mail: qhurape@126.com, 273545641@qq.com, Tel: 0971-5366520

Received(收稿日期): 2012-04-27; Accepted(接受日期): 2012-10-09; Published online(网络出版日期): 2012-11-14.

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20121114.1642.006.html>

valuable source of germplasm for spring hybrid breeding.
Keywords: Spring rapeseed; CMS lines; Restorer lines; Molecular markers; Heterosis; *Sclerotinia sclerotiorum*

我国油菜分为冬油菜和春油菜两种栽培类型，冬油菜主要分布在长江流域，而春油菜主要在青海、甘肃、内蒙古、新疆和西藏等高纬度高海拔地区种植。国内外学者对春性和冬性油菜的遗传差异进行了许多研究，马朝芝等^[1]利用 ISSR(inter simple sequence repeats)技术比较了 24 份中国半冬性、瑞典冬性和瑞典春性油菜的遗传多样性，结果表明中国半冬性、瑞典冬性和瑞典春性 3 类材料彼此间区分明显，中国半冬性油菜与瑞典冬性油菜的遗传关系比与瑞典春性油菜近。Charters 等^[2]将 5'端锚定 SSR 引物用于 20 个栽培种遗传多样性研究，可将春油菜和冬油菜区分开。Qian 等^[3]用 AFLP 将中国半冬性与欧洲和北美的春性和冬性甘蓝型油菜明显分为 3 组且发现中国半冬性材料的遗传多样性丰富。杜德志等^[4]利用 SSR 技术比较了 35 份半冬性和春性材料的遗传多样性，结果表明半冬性和春性材料间的遗传差异大于两类材料内的遗传差异，且半冬性油菜遗传多样性比春性油菜遗传多样性丰富。姚艳梅等^[5]对不同生态类型甘蓝型油菜的菌核病抗性比较研究表明，半冬性甘蓝型油菜品种的抗菌核病性明显强于春性甘蓝型油菜品种。青海属春油菜区，为了拓宽甘蓝型春油菜细胞质雄性不育三系亲本间的遗传差异，提高杂交种的产量和抗菌核病性，青海省农林科学院通过甘蓝型春油菜恢复系与半冬性油菜品种间杂交，选育出了一批新型春性甘蓝型油菜恢复品系。本研究利用 SSR、SRAP 和 AFLP 分子标记技术对这些新型恢复系及其亲本恢复系与 2 个优良不

育系间的亲缘关系及其遗传差异进行分析，以期明确半冬性品种能否扩大春性恢复系与不育系间遗传差异；并通过测定所配杂交组合的杂种优势及杂种表现，以探明向春性恢复系中导入半冬性品种遗传成分是否能增强甘蓝型春油菜杂种优势；通过菌核病抗性分析，以探讨向春性甘蓝型油菜中导入半冬性品种遗传成分是否能有效提高甘蓝型春油菜抗菌核病的能力。

1 材料与方法

1.1 试验材料

甘蓝型油菜品种(系)共 22 份包括利用春性恢复系(pol CMS 恢复系)和半冬性品种(系)杂交选育出来的新型春性恢复品系 16 个、4 个亲本(2 个春性恢复系 Ag-5 和 Qu, 2 个半冬性品种 LB 和 305)、2 个春性不育系(SI、SII)。其中 16 个新型春性恢复品系的生育期与青海省主栽品种青杂 5 号及青油 14 相当，且配制杂交组合的 12 个新型春性恢复品系单株产量在 14.11~19.02 g 之间，均超过其春性亲本恢复系 Ag-5 的单株产量(13.10 g)；2 个半冬性亲本(LB 和 305)是从湖北省引进的抗菌核病较强、在冬油菜区生育期偏早(其生育期只比春油菜主栽品种青杂 5 号晚 3~5 d)，且已经在冬油菜区大面积推广的品种；2 个春性不育系已经在目前育种和生产上大面积利用，其中 331A (SI)为春性杂交品种青杂 1 号的不育系，105A (SII)为青杂 2 号、青杂 5 号和青杂 6 号的不育系。以上材料均由青海农林科学院提供(表 1)。

表 1 品种(系)名称、来源及类型
Table 1 Varieties (lines) name, origin, and type

名称 Name	来源 Origin	类型 Type	名称 Name	来源 Origin	类型 Type
Ag-5	加拿大 Canada	春性亲本恢复系 SPRL	466	305×Qu	新春性恢复系 NSRL
Qu	美国 America	春性亲本恢复系 SPRL	469	305×Qu	新春性恢复系 NSRL
LB	中国湖北 Hubei, China	半冬性亲本 SWP	472	305×Qu	新春性恢复系 NSRL
305	中国湖北 Hubei, China	半冬性亲本 SWP	478	305×Qu	新春性恢复系 NSRL
帐 23 Zhang 23	Ag-5×LB	新春性恢复系 NSRL	4	Ag-5×305	新春性恢复系 NSRL
补 1 AD1	Ag-5×LB	新春性恢复系 NSRL	7	Ag-5×305	新春性恢复系 NSRL
补 7 AD7	Ag-5×LB	新春性恢复系 NSRL	91	Ag-5×305	新春性恢复系 NSRL
补 4 AD4	Ag-5×LB	新春性恢复系 NSRL	94	Ag-5×305	新春性恢复系 NSRL
补 10 AD10	Ag-5×LB	新春性恢复系 NSRL	97	Ag-5×305	新春性恢复系 NSRL
1621	Ag-5×LB	新春性恢复系 NSRL	331A	中国青海 Qinghai, China	春性不育系 I (SI)
931	Ag-5×LB	新春性恢复系 NSRL	105A	中国青海 Qinghai, China	春性不育系 II (SII)

SPRL: spring parental restorer line; SWP: semi-winter parent; NSRL: new restorer line.

1.2 田间试验

2009年3月于青海省农林科学院试验地种植22份试验材料,同年6月,将2个春性不育系品种作为母本分别与13个恢复品系[12个由春性恢复系Ag-5与2个半冬性品种(305和LB)杂交选育的新春性甘蓝型恢复系及Ag-5]组配NCII双列杂交组合26个。其中春性亲本恢复系Ag-5分别与2个不育系SI、SII配制的组合为对照组合。成熟后收获F₁杂交种。2010年3月于青海省农林科学院试验地种植26个组合的F₁杂交种及其15个亲本(其中13个恢复系和2个不育系的同型保持系),按照随机区组设计,4行区,3次重复,行长2 m,行距0.3 m,按常规进行田间管理。

1.3 分子标记实验

在苗期分别取各品系新鲜嫩叶5片等量混合按照Doyle等^[6]的CTAB法提取DNA。按照Tautz等^[7]的方法进行SSR分析,按照Li等^[8]的方法进行SRAP分析,参照Vos等^[9]设计AFLP接头和扩增引物,参考Zhao等^[10]的方法扩增,引物都由生工生物工程(上海)有限公司合成。扩增产物经6%变性PAGE凝胶电泳分离,银染显影。

1.4 菌核病抗性鉴定

用16份新恢复系中挑选的有代表性的3个新春性恢复系材料(466、97和补10)及其分别与两不育系杂交的F₁(标记为99-I、99-II、468-I、468-II、12-I和12-II)和2个春性亲本恢复系分别与2不育系杂交的F₁(标记为AII、AI、QI和QII),以及对照品种青杂5号进行抗病性鉴定。

1.4.1 田间自然抗病性鉴定 油菜成熟期分3次调查每个材料菌核病的自然发病情况,发病程度分为4个等级,0级为全株茎、枝、果轴无症状;1级为全株1/3以下分枝(含果轴,下同)发病或主茎有小型病斑,全株受害角果数(含病害引起的非生理性早熟或不结实,下同)在1/4以上;2级为1/3~2/3分枝数发病,或分枝发病在1/3以下而主茎中上部有大型病斑,全株受害角果数达1/4~2/4;3级为全株2/3以上分枝数发病,或分枝发病数在1/3~2/3而主茎中下部有大型病斑,全株受害角果数达2/4~3/4;4级为全株发病^[11]。

1.4.2 实验室鉴定 采用苗期离体叶片菌丝接种法^[12]。当供试油菜品种(系)6~7叶期时,选每个材料大小相同的植株上大小和叶位相同的叶片备用。每个材料每个重复分别5片叶,每张叶片2个接种点,

重复2次。把备用的叶片放于盛有浸水滤纸的培养皿中,用打孔器取等量的菌丝块接种到油菜叶片上,2个接种点在叶片中部沿叶脉呈轴对称。盖上盖子,在20℃条件下培养60 h后测定病斑长度(直径)。

1.5 数据采集及处理

1.5.1 分子标记数据处理 SSR、SRAP和AFLP标记每条带记录为1个位点,有带记为“1”,无带记为“0”,缺失记为“-”。遗传相似系数(genetic similarity, GS)按公式 $GS=2N_{ab}/(N_a+N_b)$ 计算,遗传距离按公式 $GD=-\ln(GS)$ 计算, N_{ab} 表示在材料a、b间扩增的共有条带数目, N_a 、 N_b 表示在材料a和材料b中扩增的条带数目^[13]。聚类分析按非加权类平均法(unweighted pair group method arithmetic averages, UPGMA)进行^[14]。采用NTSYS-PC软件进行遗传相似系数、遗传距离和聚类分析^[15]。

1.5.2 田间数据采集及处理 材料成熟期,在每小区中间2行随机连续取样10株考种,计单株产量。杂种的超亲优势(Hph)=(F₁值-高亲值)/高亲值×100%^[16]。其中F₁值指的是杂交种F₁的产量或某一数量性状平均值,高亲值指的是高值亲本同一性状平均值。采用DPS软件进行方差分析与多重比较^[17]。

2 结果与分析

2.1 参试材料的遗传聚类及遗传差异分析

利用UPGMA对3种分子标记共检测出的234条多态性位点数据进行综合聚类结果显示(图1):在相似系数为0.58处将22份材料分成4类,春性亲本恢复系Ag-5和Qu、春性不育系331A和105A聚在第I类;8份新春性恢复系材料聚在第II类(其中帐23、补7、补10、931来自组合Ag-5×LB;466、469来自组合305×Qu;4和91来自组合Ag-5×305);半冬性亲本LB和其他5份新春性恢复系材料聚在第III类(其中补1、补4、1621来自Ag-5×LB;472、478来自组合305×Qu);半冬性亲本305和3份新春性恢复品系(7、94和97都来自组合Ag-5×305)聚在第IV类。两份春性亲本恢复系和两份春性不育系聚在一类,这符合其生态类型和遗传背景。而新恢复系分别聚在II、III、IV类中,来自同一组合的杂交品系没有完全聚在一起,说明来自同一组合和不同组合的新春性恢复系间都存在较大遗传差异。

不育系SI和20份材料间的遗传距离在0.387~0.525之间(表2)。不育系SI和新恢复系4遗传距离最大(0.525),与新恢复系帐23遗传距离最小(0.387);

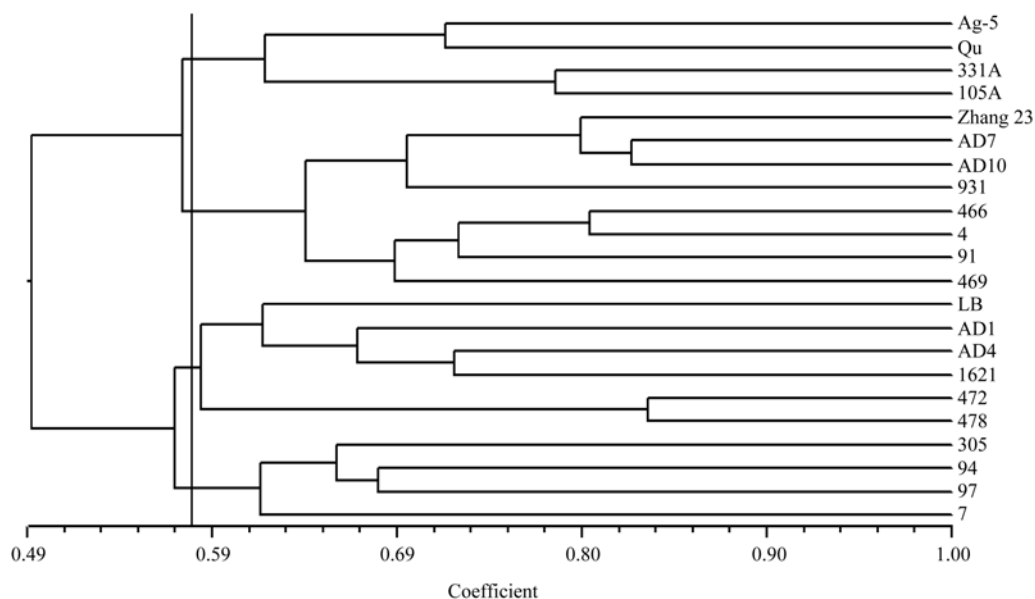


图 1 基于 SSR、SRAP 和 AFLP 标记的聚类图
Fig. 1 Dendrogram based on SSR, SRAP, and AFLP

不育系 SII 和 20 份材料间的遗传距离在 0.381~0.545 之间, 不育系 SII 和新恢复系 4~6 遗传距离最大 (0.545), 与新恢复系 931-935 遗传距离最小 (0.381)。16 份新恢复品系中除 931 与 2 个不育系的遗传距离均小于其相应亲本恢复系 Ag-5 与 2 个不育系的遗传距离, 帐 23 与不育系 SI 的遗传距离小于其亲本恢复系 Ag-5 与不育系 SI 的遗传距离外, 其余 14 份新恢复品系与 2 个不育系的遗传距离均大于其相应春性亲本恢复系与两不育系的遗传距离。

新春性恢复系中半冬性亲本带所占比率与春性不育系 SI、SII 和新春性恢复系间遗传距离相关性均达显著水平, 相关系数分别为 0.55 和 0.73 (表 2)。表明向新春性恢复品系中导入的半冬性遗传成分越多, 其与春性不育系的遗传距离越大。

综上所述, 遗传聚类、遗传距离及半冬性亲本带所占比率与遗传距离相关分析均表明半冬性遗传成分的导入能有效扩大春性恢复系与春性不育系间的遗传差异。

2.2 亲本产量、杂种产量及杂种优势分析

对 26 个组合的单株产量超亲优势及杂种表现进行分析 (表 3), 12 个新恢复系分别与不育系 SI、SII 组配的 24 个组合中, SI、SII 所对应保持系单株产量为高亲值的组合分别有 8 个和 6 个, 分别有 7 个和 4 个组合的超亲优势均超过其对照组合 (SI×Ag-5 和 SII×Ag-5), 分别占 88% 和 67%; 分别有 11 个和 7 个组合的单株产量均超过其对照组合, 分别占 92% 和

59%。因而大部分新恢复系与 2 个不育系 (SI 和 SII) 所配组合的单株产量超亲优势及杂种表现均强于所对应不育系与其亲本恢复系 Ag-5 所配组合, 说明向春性亲本恢复系中导入半冬性遗传成分, 能有效提高甘蓝型春油菜杂种优势及杂种产量。另外, 有 12 个杂交组合的单株产量超过对照青杂 5 号, 增幅在 2%~36% 之间, 其中有 3 个组合 (SI×补 7、SII×补 4 和 SII×4) 增幅达 10% 以上, 这 3 个组合可以参加品比试验和生产试验选育新的春性甘蓝型油菜杂交种 (青杂 5 号目前是春油菜区区域试验的对照品种)。

对 26 个组合的单株产量分别与其单株产量中亲值和高亲值进行相关分析可知, 杂种单株产量与其高亲值和中亲值的相关性均未达显著水平。但是, 当亲本遗传距离 $D \geq 0.400$ 时 (此时包括 22 个组合), 杂种单株产量与其中亲值的相关系数为 0.44*, 达到显著水平。说明当亲本间的遗传距离较大时, 两亲本单株产量均较高, 则杂种也会表现出较高的单株产量。

2.3 菌核病抗性鉴定

利用田间自然鉴定和离体叶片接种法对 12 份供试材料菌核病抗性鉴定表明 (表 4), 发病率在 11.39%~62.84% 之间, 病情指数在 7.19%~48.81% 之间, 平均病斑长度在 2.69~4.19 cm 之间。两种鉴定方法均表明, 最感病的品种是 Ag-5, 且新恢复系与 2 个不育系杂交后代的抗病性均强于其相应亲本恢复系与 2 个不育系杂交后代的抗病性, 另外新恢复

表 2 遗传距离及其与新恢复系中半冬性亲本带所占比率的相关关系
Table 2 Genetic distance and the correlation between PASL and genetic distance

名称 Name	新恢复系来源 New restorer lines origin	新恢复系中半冬性亲本 带所占比率 PASL	与 SI 遗传距离 Genetic distance with SI	与 SII 遗传距离 Genetic distance with SII
Ag-5			0.391	0.382
帐 23 Zhang 23	Ag-5×LB	27.36	0.387	0.396
补 1 AD1	Ag-5×LB	15.32	0.416	0.405
补 7 AD7	Ag-5×LB	26.60	0.397	0.405
补 4 AD4	Ag-5×LB	34.48	0.502	0.494
补 10 AD10	Ag-5×LB	29.12	0.469	0.466
1621	Ag-5×LB	26.35	0.482	0.482
931	Ag-5×LB	36.15	0.390	0.381
4	Ag-5×305	28.72	0.525	0.545
7	Ag-5×305	28.96	0.478	0.513
91	Ag-5×305	19.26	0.488	0.531
94	Ag-5×305	36.15	0.417	0.442
97	Ag-5×305	23.36	0.521	0.531
Qu			0.419	0.377
466	Qu×305	26.32	0.432	0.411
469	Qu×305	27.91	0.425	0.402
472	Qu×305	29.35	0.492	0.413
478	Qu×305	28.25	0.523	0.475
LB			0.515	0.542
305			0.524	0.518
Correlation coefficient			0.55*	0.73**

*表示差异达显著水平($P=0.05$); **表示差异达极显著水平($P=0.01$)。

* Significant difference at 0.05 probability level. ** Significant difference at 0.01 probability level. PASL: proportion of alleles from the genomes of the semi-winter parental lines.

表 3 单株产量超亲优势及杂种表现
Table 3 High-parent heterosis and hybrid performance of yield per plant

组合 Combination	超亲优势 Over-parent heterosis (%)	单株产量 Yield per plant (g)	组合 Combination	超亲优势 Over-parent heterosis (%)	单株产量 Yield per plant (g)
SI×补 1 ^a SI×AD1 ^a	7.53	19.70±2.81	SII×补 1 ^a SII×AD1 ^a	30.08	23.83±0.68
SI×补 4 ^a SI×AD4 ^a	22.83	22.97±1.87	SII×补 4 ^a SII×AD4 ^a	34.86	25.01±0.77
SI×补 7 ^a SI×AD7 ^a	46.25	26.79±1.88	SII×补 7 ^a SII×AD7 ^a	-10.41	16.41±0.95
SI×补 10 ^a SI×AD10 ^a	2.29	18.74±4.72	SII×补 10 SII×AD10	4.31	19.11±0.89
SI×91 ^a	22.89	22.51±1.52	SII×91 ^a	25.56	23.00±1.37
SI×94 ^a	15.87	21.23±2.08	SII×94 ^a	22.78	22.49±1.52
SI×97 ^a	-1.78	17.99±2.39	SII×97	13.76	20.84±2.06
SI×4	-5.15	17.38±2.88	SII×4 ^a	63.63	29.98±1.97
SI×7	4.59	19.16±0.46	SII×7	24.05	22.73±2.81
SI×帐 23 ^a SI×Zhang 23 ^a	-6.20	17.18±2.49	SII×帐 23 SI×Zhang 23	-4.30	15.00±0.75
SI×931	21.87	23.18±1.26	SII×931	-13.56	16.34±2.30
SI×1621	13.22	22.53±3.84	SII×1621	17.23	23.33±2.43
SI×Ag-5 ^b	-5.95	17.23±3.85	SII×Ag-5 ^b	24.09	20.92±0.81
青杂 5 号 Qingza 5 (Control)		22.09±0.48			

^a表示不育系所对应保持系单株产量为高亲值的组合; ^b表示对照组合。

^a Cross combinations whose maintainer lines show high-parent values; ^b control combination.

表 4 抗病性鉴定结果
Table 4 Identification results of resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*

品系 Cultivar (line)	来源 Origin	发病率 Morbidity (%)	病情指数 Disease index (%)	病斑长度 Average lesion length (cm)
Ag-5		62.84 aA	48.81 aA	4.19 aA
AII	SII×Ag-5	45.87 bB	27.53 aB	3.57 bB
QII	SII×Qu	33.56 bcC	23.19 bcB	3.51 bB
AI	SI×Ag-5	31.93 bcCD	21.43 cBC	3.53 bB
QI	SI×Qu	28.26 bcCDE	21.15 cBC	3.46 bB
青杂 5 号 Qingza 5		26.16 defgCDEF	14.96 dCDE	3.30 deD
12-II	SII×补 10 SII×AD10	21.10 fghEFG	13.14 dDE	3.23 dD
99-II	SII×97	20.58 fghEFG	12.64 deDE	3.26 cdD
468-I	SI×466	19.90 ghEFGH	11.07 deDE	2.88 eE
99-I	SI×97	19.04 hFGH	10.86 deDE	2.69 fF
12-I	SI×补 10 SI×AD10	13.23 iGH	10.07 deDE	3.24 cdD
468-II	SII×466	11.39 iH	7.19 eE	2.96 eE

表中数值后不同的字母表示在 0.05 和 0.01 的水平上达显著或极显著差异。
Values followed by different letters are significantly different at the 0.05 (small letter) or 0.01 (capital letter) probability levels.

系与不育系的杂交后代 468-II 和 99-I 的抗病性均显著高于对照品种青杂 5 号,说明向春性亲本恢复系中导入半冬性遗传成分能有效提高春性甘蓝型油菜杂交种抗菌核病的能力。

3 讨论

对材料间的遗传距离分析表明,大部分新恢复系与 2 个不育系的遗传距离均大于其相应春性亲本恢复系与 2 个不育系的遗传距离,说明向春性恢复系中导入半冬性品种遗传成分能扩大恢复系与不育系间的遗传差异,这是半冬性和春性油菜品种(系)间的遗传差异大于两类材料内的遗传差异所致^[4]。出现此结果的原因是:(1)欧洲甘蓝型油菜中的“A”基因组来自欧洲白菜型油菜,因为欧洲甘蓝型油菜起源于欧洲白菜型油菜和甘蓝的自发杂交种^[18];(2)中国白菜型油菜不同于欧洲白菜型油菜,它们分别来自东亚起源中心和欧洲起源中心,来自这两个起源中心的品系资源在形态、同功酶及 DNA 水平上都有明显的遗传差异^[19-25];(3)中国半冬性甘蓝型油菜是通过亚洲白菜型油菜和从欧洲引进的欧洲甘蓝型油菜种间杂交而来^[19],这样亚洲白菜型油菜“A”基因组的遗传成分就会渗入到中国半冬性甘蓝型油菜中,因此中国半冬性油菜与欧洲甘蓝型油菜之间有较大的遗传差异;(4)我国春油菜区的春性甘蓝型油菜主要来自加拿大,而加拿大甘蓝型春油菜是由南美阿根廷引进的甘蓝型春油菜“Argentine type”,南美的甘蓝型油菜又是由欧洲引进的欧洲甘蓝型油菜^[19]。因

此中国半冬性油菜与来自加拿大的春性甘蓝型油菜基因组间存在较大的遗传差异。

本研究表明向春性亲本恢复系中导入半冬性遗传成分,能提高甘蓝型春油菜杂种产量和杂种优势。可能是由于:(1)向春性恢复系中导入半冬性品种遗传成分扩大了恢复系与不育系间的遗传差异;(2)向春性恢复系中导入的半冬性遗传成分包含有利于提高杂交种单株产量和杂种优势的有利基因。有关通过导入不同生态类型油菜的遗传成分来提高油菜杂种优势和杂种表现也有一些报道,Udall 等^[26]发现导入中国油菜的有利遗传成分可以提高欧洲春性油菜的种子产量。Quijada 等^[27]研究表明,导入冬性油菜资源的遗传成分能够提高春性油菜的种子产量。Butruillea 等^[28]发现导入冬性油菜资源的遗传成分能够提高春性油菜杂交种的种子产量。另外,通过本研究选到单株产量超过对照青杂 5 号且增幅达 10% 以上的 3 个组合(SI×补 7、SII×补 4 和 SII×4),可以参加品比试验和生产试验选育新的春性甘蓝型油菜杂交品种。近几年青海省农林科学院利用春性不育系×新春性恢复系(导入了半冬性遗传成分的春性恢复系),选育出了强优势春油菜杂交种 2 个(青杂 2 号和青杂 6 号),都比对照增产 10% 左右,且先后都通过国家审定,其中青杂 2 号曾是整个春油菜区的主推品种和区域试验的对照品种,在整个春油菜区累计推广 100 多万公顷,产生了巨大的经济效益和社会效益。

单株产量与其中亲值和高亲值相关分析表明当

亲本间的遗传距离较大时,两亲本单株产量均较高,则杂种也会表现出较高的单株产量。说明在培育高产杂交种时,应选择两个遗传差异较大且产量性状优良的资源作亲本,这与杜德志等^[4]的研究结果相一致。

由于半冬性甘蓝型油菜品种的抗耐菌核病性明显强于春性甘蓝型油菜品种^[5,29],且油菜的抗(耐)菌核病性在遗传上表现为部分显性^[30],因此向春性亲本恢复系中导入的半冬性油菜遗传成分可能含有菌核病抗性相关基因,从而提高新恢复系的菌核病抗性,新恢复系抗病性的增强使其所配杂交种的抗耐菌核病的能力得到一定提高。

4 结论

导入半冬性品种遗传成分能扩大春性恢复系与不育系间的遗传差异、增强甘蓝型春油菜杂种优势、提高春性甘蓝型油菜杂交种的产量及其抗耐菌核病的能力。因此,可在以后的育种过程中利用春性不育系×新春性恢复系(导入了半冬性遗传成分的春性恢复系),选育强优势春油菜杂交种。另外,选到单株产量超过对照青杂 5 号且增幅达 10% 以上的 3 个组合(SI×补 7、SII×补 4 和 SII×4),可以参加品比试验和生产试验选育新的春性甘蓝型油菜杂交品种。

References

- [1] Ma C-Z(马朝芝), Fu T-D(傅廷栋), Tuevesson S, Gertsson B. Genetic diversity of chinese and Swedish rapeseed (*Brassica napus* L.) analysed by inter-simple sequence repeats (ISSRs). *Sci Agri Sin* (中国农业科学), 2003, 36(11): 1403–1408 (in Chinese with English abstract)
- [2] Charter Y M, Robertson A, Wilkinson M J, Ramsay G. PCR analysis of oilseed rape cultivars (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera*) using 5'-anchored simple sequence repeat (SSR) primers. *Theor Appl Genet*, 1995, 92: 442–447
- [3] Qian W, Meng J, Li M, Frauen M, Sass O, Noack J, Jung C. Introgression of genomic components from Chinese *Brassica rapa* contributes to widening the genetic diversity in rapeseed (*B. napus* L.) with emphasis on the evolution of Chinese rapeseed. *Theor Appl Genet*, 2006, 113: 49–54
- [4] Du D-Z(杜德志), Nie P(聂平), Xu L(徐亮), Luo Y-X(罗玉秀), Yao Y-M(姚艳梅), Zhou H-W(周红伟), Zhang X-M(张晓梅). Rapeseed heterosis of different ecotypes in Qinghai Province. *Chin J Oil Crop Sci* (中国油料作物学报), 2010, 32(2): 180–186 (in Chinese with English abstract)
- [5] Yao Y-M(姚艳梅). Comparative of several different traits in different ecotypes of *Brassica napus* L. *J Qinghai Univ* (Nat Sci) (青海大学学报·自然科学版), 2011, 29(6): 2–4 (in Chinese with English abstract)
- [6] Doyle J J, Doyle J L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Theor Appl Genet*, 1990, 12: 13–15
- [7] Tautz D. Hypervariability of simple sequence as general source for polymorphic DNA markers. *Nucl Acids Res*, 1989, 12: 6463–6467
- [8] Li G, Quiros C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and genetagging in *Brassica*. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 455–461
- [9] Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van de Lee T, Hornes M, Freijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl Acids Res*, 1995, 23: 4407–4414
- [10] Zhao J W, Meng J L. Genetic analysis of loci associated with partial resistance to sclerotinia sclerotiorum in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 759–764
- [11] Luo K(罗宽), Zhou B-W(周必文). Disease and Prevention of Rapeseed (油菜病害及其治理). Beijing: China Business Press, 1994 (in Chinese)
- [12] Ran Y(冉毅), Wen C-J(文成敬), Niu Y-Z(牛应泽). Comparison of methods for identification of resistance to *Sclerotia sclerotiorum* and screening of resistant materials in rapeseed. *J Plant Prot* (植物保护学报), 2007, 34(6): 601–606 (in Chinese with English abstract)
- [13] Nei M, Li W. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76: 5256–5273
- [14] Sneath P H A, Sokal R R. Numerical Taxonomy. San Francisco: WH Freeman, 1973
- [15] Rohlf F J. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, version 1.80. New York: Exeter Publication, 1990.
- [16] Zhang T-Z(张天真). Pandect of Crop Breeding (作物育种学总论). Beijing: China Agriculture Press, 2003. pp 146–149 (in Chinese)
- [17] Tang Q-Y(唐启义), Feng M-G(冯明光). Utility Statistics Analysis and Data Processing System (实用统计分析及其 DPS 数据处理系统). Beijing: Science Press, 2002. pp 333–339, 367–373 (in Chinese)
- [18] Nagaharu U. Genomic analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Jpn J Bot*, 1935, 7: 389–452
- [19] Liu H. Genetics and Breeding in Rapeseed. Beijing: China Agricultural University Press, 2000. pp 20–23, 26–45
- [20] Sun V G. The evaluation of taxonomic characters of cultivated *Brassica* with a key to species and variances: 1. The characters. *Bull Torrey Bot*, 1946, 73: 244–281
- [21] Denford K E, Vaughan J G. A comparative study of certain seed isoenzymes in the ten chromosome complex of *Brassica campestris* and its allies. *Ann Bot*, 1977, 41: 411–418
- [22] Qian W, Liu R, Meng J. Genetic effects on biomass yield in interspecific hybrids between *Brassica napus* and *Brassica rapa*. *Euphytica*, 2003, 134: 9–15

- [23] Song K M, Osborn T C, Williams P H. Brassica taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphism (RFLP): 2. Preliminary analysis of subspecies within *B. rapa*. *Theor Appl Genet*, 1988, 76: 593–600
- [24] Zhao J-Y(赵坚义), Becker H C. Genetic variation in Chinese and European oilseed rape (*B. napus*) and turnip rape (*B. campestris*) analysis with isozymes. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1998, 24(2): 213–220 (in Chinese with English abstract)
- [25] Zhao J, Wang X, Deng B, Lou P, Wu J, Sun R, Xu Z, Vromans J, Koornneef M, Bonnema G. Genetic relationship within *Brassica rapa* as inferred from AFLP fingerprints. *Theor Appl Genet*, 2005, 110: 1301–1314
- [26] Udall J A, Quijada P A, Polewicz H, Vogelzang R D, Osborn T C. Phenotypic effects of introducing unadapted germplasm into a spring canola hybrid. *Crop Sci*, 2004, 44: 1990–1996
- [27] Quijada P A, Udall J A, Polewicz H, Vogelzang R D, Osborn T C. Phenotypic effects of introgressing French winter germplasm into hybrid spring canola (*Brassica napus* L.). *Crop Sci*, 2004, 44: 1982–1989
- [28] Butruille D V, Guries R P, Osborn T C. Increasing yield of spring oilseed rape hybrids (*Brassica napus* L.) through introgression of winter germplasm. *Crop Sci*, 1999, 39: 1491–1496
- [29] Fei W-X(费维新), Li Q-S(李强生), Chen F-X(陈凤祥), Zhang Y(张跃), Wu X-J(吴新杰), Hou S-M(侯树敏), Jiang Y-F(江莹芬), Hu B-C(胡宝成). Preliminary report on the resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* of 14 varieties of *Brassica napus* L. *Chin Sci Agric Bull* (中国农学通报), 2007, 23(1): 254–257 (in Chinese with English abstract)
- [30] Liu C-Q(刘澄清), Du D-Z(杜德志), Huang Y-J(黄有菊), Wang C-H(王春华). Study on the resistant to disease and genetic effects of varieties of *Brassica napus* L. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 1991, 24(3): 43–49 (in Chinese with English abstract)