

基于3个甘蓝型春油菜Pol CMS的优良恢复系选育

赵绪涛[§], 柳海东[§], 李开祥, 徐亮, 杜德志^{*}

(青海大学农林科学院春油菜遗传改良重点实验室, 国家油菜改良中心青海分中心, 农业农村部春油菜科学观测实验站, 青海省春油菜研究开发中心, 青海 西宁, 810016)

摘要: 为选育出优良的恢复系父本, 能够与春油菜区优良的春性甘蓝型油菜波里马细胞质雄性不育系(Pol CMS)配制出强优势杂交组合, 先利用简化基因组测序技术(SLAF-seq)开发3个不育系和118个恢复系的SNP标记, 对材料进行聚类分析, 根据父母本花期相遇原则, 从每一类选取数量不等的恢复系, 共40个恢复系, 分别与3个不育系采用NC II设计配制120个杂交组合, 分别进行配合力效应、杂种优势及双亲遗传距离与杂种表现的相关性分析。结果表明: 遗传聚类将121份甘蓝型油菜资源分为5大类, 大多数相同类型的品系被聚在了同一类, 3份不育系均被聚在了第V类; 43份亲本的一般配合力(general combining ability, GCA)的变化范围为-20.78~30.42, 恢复系R83、R107和R13的GCA较大, 不育系GCA较大的为S3(105A), 特殊配合力较大的组合有S3×R13、S1×R48、S3×R11、S2×R89; 组合S3×R13的产量超标优势和超亲优势最大, 分别为37.12%和42.52%。遗传距离与单株产量呈极显著正相关, 相关系数为0.390。与3个不育系组配的杂交组合中, 产量排名前20位的亲本恢复系大部分来自和不育系遗传距离较大的I类, 并且在春油菜区大面积推广的品种, 如青杂2号、青杂7号、青杂9号、青杂12号, 均为被聚在I类的恢复系与不育系S3(105A)组配的杂交种。因此认为, (S×I类恢复系)组配模式可以获得强优势甘蓝型春油菜杂交组合。该研究不仅为后续甘蓝型油菜杂交种选育提供了亲本选择的分子依据, 也将促进春油菜区的杂交育种进程。

关键词: 甘蓝型油菜; 波里马细胞质雄性不育系; 恢复系; 配合力; 杂种优势; 杂优模式

中图分类号: S565.4 文献标识码: A 文章编号: 1007-9084(2021)06-0961-10



OSID

Breeding of elite restorer lines based on 3 Pol CMS lines in spring *Brassica napus* L.

ZHAO Xu-tao, LIU Hai-dong[§], LI Kai-xiang, XU Liang, DU De-zhi^{*}

(Academy of Agricultural and Forestry Sciences of Qinghai University, Key Laboratory of Spring Rapeseed Genetic Improvement, Qinghai Research Branch of the National Rapeseed Genetic Improvement Center, Spring Rape Scientific Observation Experimental Station of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Qinghai Research and Development Center for Spring Rapeseed, Xining 810016, China)

Abstract: To find out elite restorer lines during high yield hybrid breeding, 3 Polima cytoplasmic male sterile (Pol CMS) lines of spring *Brassica napus* L. were used to formulate stronger hybrid combination in spring rapeseed area. SLAF-seq was used to develop SNP markers for the 3 sterile lines and also 118 restorer lines. All 121 materials were clustered based on SNP markers. According to clustering results and their flowering times, 40 restorer lines were selected from each categories to the 3 sterile lines respectively. Under the adopted NC II design, 120 hybrid combinations were prepared and analysed on their combining ability, heterosis and correlation of parental genetic distance, combined cluster and high-yield combinations. Results showed that genetic clustering divided 121 *B. napus* resources into 5 categories. The 3 sterile lines were grouped into category V. General combining ability (GCA) of the 43 parents varied from -20.78 to 30.42. Three restorer lines (R83, R107 and R13) and one sterile line S3

收稿日期: 2020-09-14

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0101302); 国家现代农业产业技术体系(CARS-12); 青海省科技成果转化(2020-NK-116); 青海省春油菜遗传改良重点实验室(2020-ZJ-Y10, 2017-ZJ-Y09)

作者简介: 赵绪涛, 博士研究生, E-mail: zxtsxbj@163.com; [§] 共同第一作者: 柳海东, 副研究员, 研究方向为春油菜分子育种, E-mail: dahaima@163.com

^{*} 通讯作者: 杜德志, 博士生导师, 研究方向为春油菜遗传育种与杂种优势利用, E-mail: qhurapa@126.com

(105A) had larger GCA. In the combinations, S3×R13, S1×R48, S3×R11, and S2×R89 had higher special combining abilities. The combination S3×R13 had the largest yield over-standard heterosis and over-parent heterosis (37.12% and 42.52% respectively). Genetic distance and individual yield were extremely positively correlated, with correlation coefficient of 0.390. Among the hybrid combinations, most of the restorers with top 20 yields were from Type I group, which had large genetic distance with the sterile lines. Meanwhile, some varieties popularized in spring rape areas, including restorer lines of Qingza 2, Qingza 7, Qingza 9 and Qingza 12 were all derived from hybrids of Type I and sterile line S3 (105A). Therefore, it was considered that sterile lines crossed Type I restoring lines could be strong hybrid combination in spring *B. napus*.

Key words: *Brassica napus* L.; Polima CMS (cytoplasmic male sterile); restore lines; combining ability; heterosis; heterosis model

油菜在世界上分布广泛,种植历史悠久,具有品种多,适应性广的特点,在油料作物生产上发挥主导作用。目前,在我国油菜是继水稻、小麦、玉米三大作物之后的主要作物,也是我国的优势油料作物^[1]。随着我国城镇化和工业化的推进,加之油菜种植效益不高,油菜种植面积减少,致使油菜总产量下降,食用油供给受到影响,因此,提高油菜单位面积的产量是油菜育种的主要目标^[2]。

杂种优势是指两个不同的双亲进行杂交,产生的杂种 F_1 产量等方面优于双亲的现象^[3]。杂种优势利用是提高作物单位面积产量的有效手段,油菜杂种利用是我国继水稻杂种优势利用之后在农作物杂种优势利用方面取得的第二大成就,同时也带来了巨大的经济效应^[4]。20世纪70年代,油菜波里马细胞质雄性不育资源的发现,实现了油菜“三系(不育系、恢复系、保持系)”配套育种,使得油菜杂种大面积推广成为现实^[5]。目前,细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)利用是春油菜区甘蓝型油菜(*Brassica napus*)杂种优势利用的主要途径,结合细胞质和细胞核都败育的不育系,和相应的保持系、恢复系进行“二区三系法”杂交选育,节省了人力、财力,大大提高了杂交种的制种纯度。因此,选育出能与优良的不育系配制出强优势杂交组合的优良恢复系父本,是高产油菜品种选育的基础条件。传统的强优势杂交种的获得,需要大量的恢复系与不育系配制杂交组合,进行大田品比试验进行筛选,这种选育方式耗时费力,也给杂种优势利用带来了盲目性。

现代分子生物学和统计学的发展,为预测作物杂种优势提供了可能,目前,预测杂种优势的方法主要有遗传差异预测和配合力预测。遗传距离预测杂种优势表明:在一定范围内,遗传差异越大,杂种优势越强^[6]。在杂交组合的配制过程中,充分了

解亲本间遗传距离及遗传差异是配制强杂交优势组合的必要前提。田洪云^[7]在半冬性甘蓝型油菜杂种优势、配合力及遗传距离三者关系的研究中发现,增效基因遗传距离与每角粒数、千粒重、小区产量和单株产量的超标优势及一般配合力呈显著正相关。谭祖猛等^[8]利用SRAP标记分析49份甘蓝型油菜和诸葛菜、新疆野生油菜之间的遗传距离,发现随着遗传距离增加,产量杂种优势也增加。配合力预测杂种优势表明:一般配合力高的材料与许多自交系都可以配制出产量较高的杂种,特殊配合力高的亲本只能与固定的自交系配制出高产杂交种。然而,关于配合力与杂种优势的关系,不同的研究者持有不同的看法。邢以华等^[9]在棉花等杂种优势预测中发现,一般配合力与特殊配合力不相关,在只考虑杂种一代的情况下,无需考虑一般配合力,只要两亲本的特殊配合力高,其杂种优势就强,这说明根据特殊配合力的高低可以判断杂种优势强弱,两者成正相关;田保明等^[10]在研究双低甘蓝型油菜杂优与亲本配合力相关关系时,发现子代杂种优势强弱跟亲本配合力的总效应值大小有关,且一般配合力与特殊配合力对杂种优势的贡献均呈显著正相关,进一步说明,当亲本一般配合力和特殊配合力均高时,杂种优势更强。从这些相关报道可以看出,配合力与杂种优势的关系目前仍不明确,但可以借鉴前人研究结果,用配合力预测杂种优势,为强优势杂交组合的组配提供理论指导。

本研究通过对121份甘蓝型油菜资源进行遗传差异分析,选取部分优良恢复系分别与Pol CMS进行不完全双列杂交,分析杂种优势,亲本配合力效应值,并探明遗传差异、配合力指标与杂种优势的关系,选出能与不育系配制出强优势杂交组合的恢复系,建立杂优模式,为春性甘蓝型油菜杂种选育和高效利用提供基础资源及理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料

3份甘蓝型油菜春性波里马细胞质雄性不育系 S1、S2、S3。其中 S3 为春油菜区主栽品种的不育系亲本 105A。S1、S2 为经过多年选育出的稳定的纯合品系。从 118 份甘蓝型油菜优良恢复系^[11]中,选出 40 份与 3 个不育系花期相遇的恢复系材料,编号分别为 R1、R2、R3、R11、R13、R14、R15、R16、R18、R21、R23、R27、R31、R32、R36、R39、R43、R44、R45、R48、R53、R55、R59、R60、R63、R65、R71、R75、R76、R83、R89、R90、R93、R95、R98、R101、R107、R114、R116、R118。参试材料还包括春油菜区主推品种青杂 5 号、青杂 7 号、青杂 9 号、青杂 12 号、青杂 2 号五个品种的恢复系亲本,依次编号为 D1R-1、D2R-1、D3R-1、D4R-1、D5R-1。对照品种“青杂 5 号”。以上材料均由青海大学农林科学院春油菜研究所提供。

1.2 基因组 DNA 提取

在材料五叶期,采取 1~2 cm² 幼嫩的心叶于已编好号的离心管中,低温保存备用,采用天根试剂盒提取(DP305),全程严格按照说明书的步骤操作。

1.3 遗传距离计算与系统进化树构建

对 3 份不育系进行 SLAF 测序,利用与 2017 年 118 份油菜资源相同的测序和数据分析方法,开发 SNP 标记。对 5 个主推品种的恢复系父本采用简化基因组测序方法进行测序,测序完成后,合并数据。结合开发完成的 SNP 标记,利用同义突变 SNP 标记,使用 MEGA5^[12] 软件,基于 neighbor-joining 算法(Kimura 2-parameter 模型,1000 次 bootstrap)及 admixture^[13] 软件,计算 126 份种质资源之间的遗传距离,并分别构建 121 份甘蓝型油菜资源的系统发生树和 126 份甘蓝型油菜资源的系统发生树。

1.4 配合力及杂种优势分析方法

2017 年 4 月,将 121 份油菜资源种植在西宁试验田,每个恢复系分别种植两行,每个不育系分别种 15 行,行长 1.5 m,行距 0.3 m,株距 0.1 m,同年 6 月,待父本初花后进行套袋,每行选套两个单株的主花序,待母本开花后,基于对 121 份甘蓝型油菜遗传聚类结果,以及恢复系与不育系花期相遇原则,选出 40 份甘蓝型油菜恢复系分别与 3 个不育系按照 NC II 设计配制杂交组合,收获 F₁ 种子,脱粒、干燥保存备用。

2018 年 4 月将收获的 120 个 F₁、三个不育系的保持系、40 个恢复系及对照品种青杂 5 号采取随机

区组设计在西宁试验地种植,每个材料三个重复,每重复 3 行,行长 1.8 m,行距 0.3 m,株距 0.15 m,田间常规管理。

待 F₁ 成熟后,分别从每个小区中随机选取单株 6 株(避免边行效应),选取的植株可以代表该小区的生育情况。其余单株按小区混合收割,标记好区号并进行脱粒,分区保存。待每区的考种任务完成后,考种单株的产量与之合并,即为小区产量(g)。产量相关性状的方差分析,相关性分析和多重比较数据统计采用唐启义^[14] DPS 统计软件。

杂种优势计算公式:

超亲优势(OPH)%=(F₁值-高亲值)/高亲值×100。

超标优势(OSH)%=(F₁-对照值)/对照值×100。

中亲优势(MPH)%=(F₁-中亲值)/中亲值×100。

一般配合力(GCA):

$$\hat{g}_i = \sum_{j=1}^{n_1} (x_{ij} - \bar{x}); \hat{g}_j = \sum_{i=1}^{n_2} (x_{ij} - \bar{x})$$

特殊配合力(SCA):

$$\hat{S}_{ij} = x_{ij} - \bar{x} - \hat{g}_i - \hat{g}_j$$

其中 $\hat{g}_i$ 表示父本中第 i 个父本的一般配合力效应值; $\hat{g}_j$ 表示其中母本中第 j 个母本的一般配合力效应值; n_1 表示父本个数; n_2 表示母本个数, $\bar{x}$ 表示试验中所有组合的平均产量; x_{ij} 表示父本 i 和母本 j 组合的实际产量; $\hat{S}_{ij}$ 表示父本 i 和母本 j 组合的特殊配合力效应值。

通过分析小区产量排位前 20 的杂交组合组配方式及与三个不育系配制组合产量排前十的组配方式,并结合聚类分析结果,探明杂优模式。

2 结果与分析

2.1 遗传距离计算及系统进化树构建

基于 neighbor-joining 算法,计算 121 份甘蓝型油菜群体之间的遗传距离。118 份恢复系中分别与 3 个不育系之间遗传距离排前十的材料见表 1。根据 Nei's 遗传距离,发现 S1 与 R97 的遗传距离最大,S2 与 R11 的遗传距离最大,S3 与 R77 的遗传距离最大,且各不育系都与 R85 的遗传距离最小,说明 R85 与 3 份不育系的亲缘关系较近。

根据开发的 SNP 信息构建 121 份甘蓝型油菜材料的进化树(图 1),结果将 121 份材料分为五个类群,大多数来源相同的材料被分为同一类,30 份半冬性材料、5 份(半冬性×春性)×半冬性材料后代以及 2 份半冬性×春性材料后代被分为 I 类;2 份半冬

表1 与三个不育系遗传距离排位前十的甘蓝型油菜恢复系

Table 1 The top 10 restorer lines of *Brassica napus* in genetic distance with three sterile lines

排序 Order	材料编号 Sample ID	S1	材料编号 Sample ID	S2	材料编号 Sample ID	S3
		与S1 遗传距离 Genetic distance with S1		与S2 遗传距离 Genetic distance with S2		与S3 遗传距离 Genetic distance with S3
1	R97	0.50	R11	0.42	R77	0.49
2	R107	0.50	R4	0.41	R84	0.48
3	R80	0.48	R19	0.41	R107	0.48
4	R84	0.48	R12	0.40	R27	0.48
5	R4	0.48	R64	0.40	R97	0.47
6	R98	0.47	R73	0.40	R83	0.46
7	R92	0.47	R106	0.40	R80	0.46
8	R83	0.46	R57	0.40	R92	0.46
9	R53	0.45	R79	0.40	R4	0.45
10	R113	0.45	R78	0.38	R98	0.45

性资源和2份(半冬性×春性)×半冬性后代被聚成Ⅱ类;4份半冬性材料,17份半冬性×春性材料后代,3份(半冬性×春性)×半冬性后代以及5份(半冬性×春性)×白菜型后代聚在一起成Ⅲ类;1份半冬性资源,1份半冬性×春性后代,6份(半冬性×春性)×半冬性后代材料被聚成Ⅳ类;4份春性材料,4份半冬性,21份半冬性×春性后代,8份(半冬性×春性)×半冬性后代,2份(半冬性×春性)×白菜型后代,1份(半冬性×春性)×春性材料后代被聚成Ⅴ类,同时,3个不育系也被聚在了Ⅴ类。从聚类结果来看,121份资源中,大多数半冬性及含有半冬性遗传成份的材料被聚

集在一起,因此它们之间具有较近的亲缘关系。半冬性×春性材料主要被分成两类,主要原因是这些材料具有不同的春性亲本,且分析两亲本的遗传差异,再结合配合力计算是预测杂种优势的常用手段。

2.2 产量相关性状方差和配合力分析

对3个不育系及所选择的与其花期相遇的40个优良恢复系产量性状进行分析,结果见表2(及附表1,见首页OSID码),可知小区产量、株果数、果粒数、千粒重的组合及两亲本间的P值全部小于0.01,表明两个亲本间的产量有极显著差异。

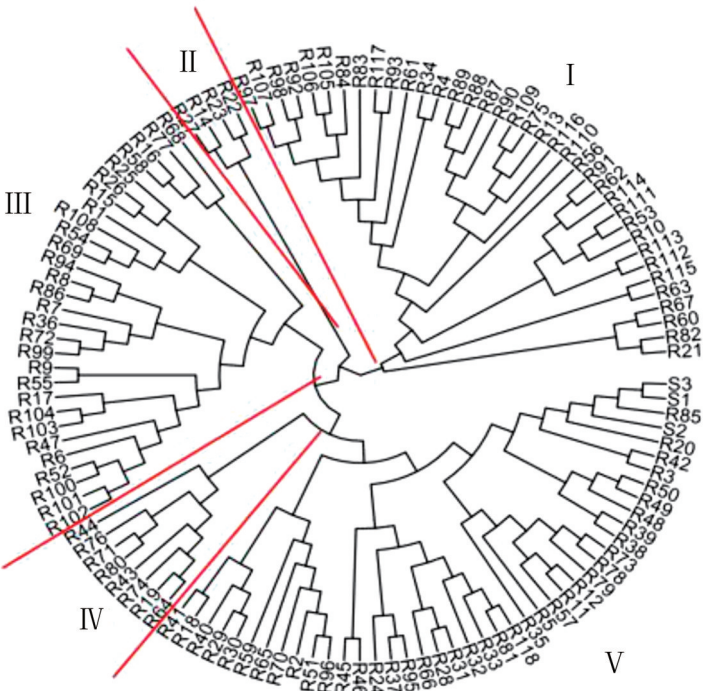


图1 基于SLAF-seq技术的甘蓝型春油菜品系NJ进化树
Fig. 1 NJ phylogenetic tree of *Brassica napus* line based on SLAF-seq

表2 120个杂交组合产量相关性状的方差分析

Table 2 Analysis of variance of yield-related traits of 120 hybrid combinations

变异来源 Source of variation	自由度 df	小区产量 Block Yield			株果数 Efficient siliques/plant			果粒数 Seeds per silique			千粒重 Thousand-seed weight		
		Block Yield			Efficient siliques/plant			Seeds per silique			Thousand-seed weight		
		均方 MS	F	P	均方 MS	F	P	均方 MS	F	P	均方 MS	F	P
区组 Block	2.00	0.08	9.41	0.00	9382.79	4.78	0.01	10.28	3.28	0.04	0.08	0.80	0.45
组合 Combinations	119.00	0.03	3.67	0.00	3181.09	1.62	0.00	16.60	5.30	0.00	0.28	2.77	0.00
不育系(S) Sterile lines	2.00	0.06	5.61	0.00	5925.49	3.59	0.81	34.79	7.19	0.00	0.51	4.20	0.17
恢复系(R) Restoration lines	39.00	0.29	29.25	0.12	9365.03	5.67	0.01	120.48	24.90	0.00	2.20	18.25	0.00
不育系×恢复系 (S×R)	78.00	0.01	1.23	0.00	1650.32	0.84	0.00	4.84	1.55	0.00	0.12	1.18	0.00
误差	238.00	0.01			1962.11			3.13			0.10		

进一步分析了43个亲本的一般配合力和各个组合的特殊配合力效应值(表3)。结果表明,恢复系的一般配合力相对效应值分布在-20.78~30.42,不育系一般配合力相对效应值分布在-4.90~8.66。亲本一般配合力表现正效应的有20个,其中,排前三位的分别是R83(30.42)、R107(22.08)和R13(20.68)。育种实践表明,一般配合力高的材料,有利基因的频率高,可以将其用作育种基础材料,进而配制出强优势杂交组合。特殊配合力相对效应值为正值的组合有60个,其中效应值较高的组合分别为S3×R13、S1×R48、S3×R11、S2×R89、S1×R27、S1×R116、S1×R32、S2×R63。43个亲本中R83、R107、R13、S3的一般配合力效应值较高,结合特殊配合力效应值发现恢复系R13(29-30)、R83(4750R)、R107(1273-1274),不育系S3属于较优良的亲本,从材料来源看,不育系为春性亲本,恢复系为半冬性亲本,两亲本间具有一定的遗传差异,因此,配出高产组合的可能性较大。

2.3 杂种优势分析

120个杂交组合F₁产量及产量相关性状杂种优势分析结果见附表1,不同组合间的杂种优势存在差异,对产量及相关性状杂种优势进一步统计分析得知(表4),120个杂交组合产量中亲优势的变幅为-36.12%~54.48%,平均值为7.92%,正向优势组合为78个,占比为65%,每角果粒数、千粒重和单株角果数中亲优势的平均值分别为8.89%、1.56%、6.77%,变幅分别为-21.89%~44.59%、-17.85%~25.48%和-35.08%~36.83%,三个性状正向优势组合占比分别为48.33%、58.33%和25%;产量中亲

优势排前十的组合有S2×R75、S3×R55、S3×R27、S3×R14、S2×R55、S3×R13、S2×R59、S3×R101、S3×R89、S3×R107;产量超亲优势平均值为-6.09%,变幅为-45.51%~42.52%,正向优势组合占比37.5%,每角果粒数、千粒重、单株角果数超亲优势分别为46.67%、35.83%、17.5%,产量超亲优势较突出的组合有S3×R13、S3×R27、S3×R14、S2×R75、S2×R43、S3×R107、S2×R36、S2×R107、S3×R36、S3×R98;产量超标优势正向优势的组合有24个,占比20%,优势大于20%的组合有S3×R13、S3×R83、S1×R83、S3×R11、S3×R107,其中组合S3×R13的产量超标优势最大,为37.12%,组合S3×R83的产量超标优势较大,为22.75%,并且组合S3×R13的产量超亲优势在全部组合中也最大,为42.52%,因此,组合S3×R13的杂种优势最强。

2.4 杂优模式分析与验证

2.4.1 杂优模式分析 对120个杂交组合的小区产量进行方差分析,发现它们区组间及组合间的P值均小于0.01,表明不同组合间产量存在差异。考察分别与3个不育系配制出的杂交组合小区产量(表5),发现产量排名前20位的杂交组配方式主要以(S×Ⅰ类恢复系)为主,有13个组合,占比65%,(S×Ⅲ类恢复系)模式有2个,占比10%,(S×Ⅳ类恢复系)模式有1个,占比5%,(S×Ⅴ类恢复系)模式有4个,占比20%。分析产量排名前五位的亲本来源,排名第一位的组合S3×R13,春性不育系S3位于第Ⅴ类,半冬性恢复系R13位于第Ⅰ类;第二位组合S3×R83,其中半冬性恢复系R83在第Ⅰ类;第三位组合S1×R83,春性不育系S1来源于第Ⅴ类;第四位

表3 参试亲本的产量一般配合力和其杂交组合的特殊配合力效应值

Table 3 Effect of GCA and SCA of 120 combination' yield

恢复系及其 GCA		SCA		恢复系及其 GCA		SCA	
Restorer line and its GCA	S1 (-3.76)	S2 (-4.90)	S3 (8.66)	Restorer line and its GCA	S1 (-3.76)	S2 (-4.90)	S3 (8.66)
R36 (18.72)	0.985	-6.713	5.728	R93(10.70)	3.451	-0.845	-2.6066
R39 (-20.78)	7.095	5.838	-12.933	R114(9.21)	-3.429	-3.390	6.8189
R43 (10.41)	-0.323	0.640	-0.317	R95(-10.85)	-3.026	2.126	0.901
R1 (-14.09)	2.047	4.768	-6.815	R98(4.06)	-8.590	3.194	5.396
R44 (2.04)	-2.100	3.569	-1.469	R16(-10.28)	-1.499	2.156	-0.657
R45 (-11.08)	9.350	-9.714	0.363	R116(-6.33)	11.947	-0.888	-11.059
R107 (22.08)	-5.100	2.729	2.371	R3(-6.41)	9.073	-5.256	-3.817
R48 (15.87)	17.341	-14.242	-3.099	R18(-12.84)	-9.555	7.066	2.489
R53 (-9.2)	-11.703	6.039	5.665	R21(13.42)	5.107	-4.335	-0.771
R55 (-6.22)	-1.674	7.348	-5.674	R23(-7.09)	-8.412	7.823	0.589
R59 (-4.40)	-3.807	1.473	2.334	R27(0.22)	13.153	-8.382	-4.771
R60 (1.55)	2.497	-9.374	6.877	R83(30.42)	7.197	-4.731	-2.466
R11 (10.11)	-6.790	-8.259	15.049	R63(-19.16)	8.057	9.407	-17.463
R13 (20.68)	-9.104	-14.158	23.262	R31(8.14)	0.032	5.109	-5.141
R14 (-0.88)	-7.799	5.521	2.278	R32(4.31)	10.502	-10.987	0.485
R2 (1.59)	6.513	-3.933	-2.581	R65(-5.85)	2.871	-1.613	-1.258
R101 (-13.18)	-5.421	7.7463	-2.3249	R71(-1.51)	-9.4922	3.713	5.780
R15 (-3.63)	6.645	2.3061	-8.9519	R75(6.15)	0.6807	-4.942	4.261
R90 (-20.56)	-6.261	2.7664	3.4942	R76(-2.73)	-0.0251	5.667	-5.642
R89 (-5.18)	-16.277	15.0285	1.2485	R118(2.59)	-4.1556	-0.269	4.425

注: GCA: 一般配合力; SCA: 特殊配合力; 括号中种的数值为亲本的一般配合力效应值

Note: GCA: General combination ability; SCA: Special combination ability; The value in brackets is the relative effect value of the parent's GCA

表4 120个杂交组合杂种优势分布情况

Table 4 Heterosis of 120 hybrid combinations

性状 Traits	MPH/%				OPH/%				OSH/%			
	正向优势		占比 Proportion /%		正向优势		占比 Proportion /%		正向优势		占比 Proportion /%	
	平均值 Mean	变幅 Variation			平均值 Mean	变幅 Variation			平均值 Mean	变幅 Variation		
产量 Yield	7.92	-36.12~ 54.48	78	65.00	-6.09	-45.51~ 42.52	45	37.50	-10.21	-37.63~ 37.12	24	20.00
每角果粒数 SS	8.89	-21.89~ 44.59	58	48.33	-0.11	-27.26~ 27.63	56	46.67	-4.20	-27.76~ 15.52	39	32.50
千粒重 TSW	1.56	-17.85~ 25.48	70	58.33	-4.36	-23.37~ 20.99	43	35.83	-7.98	-28.30~ 14.92	20	16.67
单株有效角果数 ES	6.77	-35.08~ 36.83	30	25.00	-14.18	-43.13~ 30.03	21	17.50	1.11	-20.33~ 47.85	60	50.00

注: MPH: 中亲优势; OPH: 超亲优势; OSH: 超标优势

Note: MPH: mid-parent heterosis; OPH: over-parent heterosis; OSH: over-standard heterosis; SS: Seeds per silique; TSW: Thousand-seed weight; ES: Efficient siliques of individual plant

组合为 S3×R11, 中间型(半冬性×春性)恢复系 R11 位于第 V 类; 第五位组合是 S3×R107, 半冬性恢复系 R107 位于第 I 类。以上结果表明, (S×I 类恢复系) 模式下配制出强优势杂交种的潜力较大, 同时发现春性不育系亲本 S3 在产量排名前 20 位中出现的比

例较大。

进一步分析了分别与 3 个不育系配制的杂交组合小区产量排名情况(表 6), 发现与不育系 S1 配制组合小区产量排前十的组合中, (S×I 类恢复系) 的模式有 5 个, 占 50%, (S×V 类恢复系) 的组合有 2

表 5 小区产量排名前 20 组合及其组配方式
Table 5 Combining pattern of 20 crosses with higher plant block yield

序号 Order	组合 Combination	小区产 /kg Block yield	对照优势 /% Comparative advantage	组合模式 Combination model
1	S3×R13	0.99	37.12	S× I
2	S3×R83	0.89	22.75	S× I
3	S1×R83	0.87	20.27	S× I
4	S3×R11	0.87	20.24	S× V
5	S3×R107	0.87	19.61	S× I
6	S3×R36	0.87	19.60	S×Ⅲ
7	S1×R48	0.83	14.93	S× V
8	S3×R114	0.81	12.04	S× I
9	S3×R48	0.79	9.11	S× V
10	S3×R21	0.79	9.00	S× I
11	S2×R83	0.79	8.53	S× I
12	S2×R107	0.78	7.74	S× I
13	S3×R75	0.78	6.99	S× I
14	S3×R43	0.77	6.70	S×Ⅳ
15	S3×R98	0.77	6.13	S× I
16	S3×R60	0.76	5.21	S× I
17	S3×R93	0.76	4.91	S× I
18	S1×R36	0.75	4.17	S×Ⅲ
19	S3×R118	0.75	3.94	S× V
20	S1×R21	0.75	3.12	S× I
对照品种 CK	青杂 5 号 Qingza 5	0.72		

注：I，Ⅲ，Ⅳ，V：指图 1 聚类分析中的分类；S：不育系
Note: I，Ⅲ，Ⅳ，V：Classification in cluster analysis (Fig. 1)；S：Sterile lines

个，(S×Ⅱ类)、(S×Ⅲ类)、(S×Ⅳ类)模式均为 1 个，与不育系 S2 配制组合小区产量排前十的组合中，(S×Ⅰ类恢复系)的模式有 7 个，占 70%，与不育系 S3 配制组合小区产量排前十的组合中，(S×Ⅰ类恢复系)模式有 6 个，占 60%，可见，(S×Ⅰ类恢复系)的模式在 3 个不育系小区产量排前十中占比均大于等于 50%，并且Ⅰ类中的恢复系和不育系的遗传距离相对较大，分布范围为 0.27 ~ 0.50，进一步说明(S×Ⅰ类恢复系)的模式配制出强优势杂交组合的潜力较大。

表 6 3 个不育系小区产量前十组合的组配方式
Table 6 Combining pattern of 10 crosses with higher plant block yield in 3 sterile lines

序号 Code	组合 Combination	组配模式 Combination model	组合 Combination	组配模式 Combination model	组合 Combination	组配模式 Combination model
1	S1×R83	S× I	S2×R83	S× I	S3×R13	S× I
2	S1×R48	S× V	S2×R107	S× I	S3×R83	S× I
3	S1×R36	S×Ⅲ	S2×R31	S× V	S3×R11	S× V
4	S1×R21	S× I	S2×R36	S×Ⅲ	S3×R107	S× I
5	S1×R107	S× I	S2×R43	S×Ⅳ	S3×R36	S×Ⅲ
6	S1×R32	S× V	S2×R93	S× I	S3×R114	S× I
7	S1×R93	S× I	S2×R21	S× I	S3×R48	S× V
8	S1×R27	S×Ⅱ	S2×R98	S× I	S3×R21	S× I
9	S1×R13	S× I	S2×R13	S× I	S3×R75	S× I
10	S1×R43	S×Ⅳ	S2×R114	S× I	S3×R43	S×Ⅳ

注/Note: S指不育系 S: sterile lines

2.4.2 杂优模式验证 基于有效SNP标记,对126份油菜资源(3份不育系,118份恢复系,5份春油菜区主推品种恢复系亲本)进行系统进化树构建发现(图2),恢复系D2R-1、D3R-1、D4R-1、D5R-1与图1中被聚在I类的大部分恢复系聚在了I类,因此,(S×I类恢复系)模式配制出强优势杂交组合的潜力较大。

2.5 遗传距离与杂种优势的关系

小区产量排名在前20的杂交组合120个杂交组合中亲本遗传距离分布在0.32~0.48之间,且所

有亲本间的遗传距离均大于整个群体的平均遗传距离0.319,其中,组合S3×R107亲本间的遗传距离最大,产量排名第5,组合S3×R118间的遗传距离最小,产量排名第19,组合S3×R13产量最高,其遗传距离为0.41(表7)。

进一步分析120个F₁的单株产量、株果数、果粒数和千粒重等性状相关性(表8),发现遗传距离与单株产量呈极显著正相关,相关系数为0.390,遗传距离与株果数及株果数的中亲优势均呈极显著正相关,相关系数分别为0.271、0.243,遗传距离与株

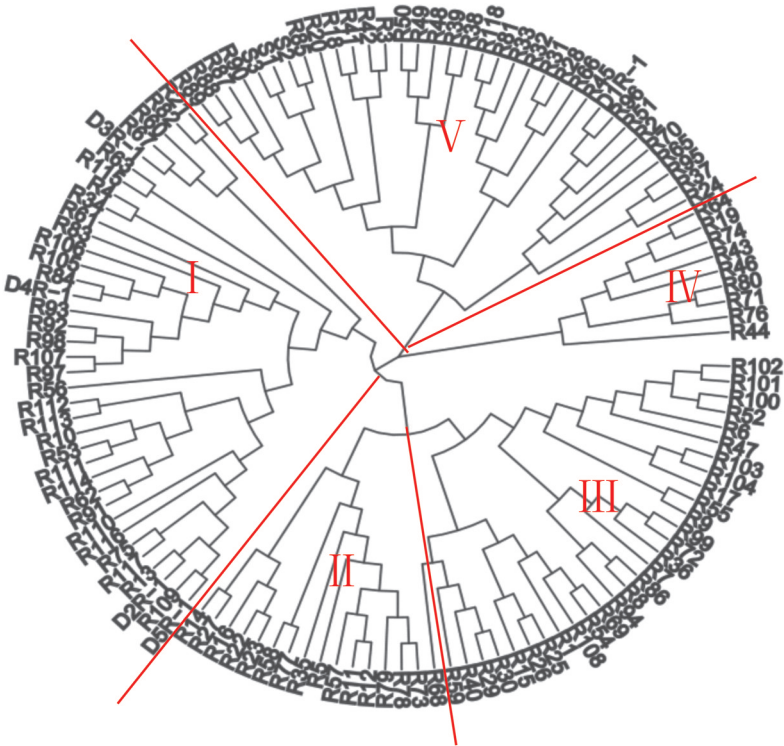


图2 126份甘蓝型油菜品系NJ进化树

Fig. 2 126 NJ phylogenetic tree of *Brassica napus*

表7 小区产量排名前二十的杂交组合亲本间遗传距离

Table 7 Genetic distance between parents of the top twenty crosses for block yield

序号 Order	组合 Combination	产量 Yield	遗传距离 Genetic distance	序号 Order	组合 Combination	产量 Yield	遗传距离 Genetic distance
1	S3×R13	0.99	0.412	11	S2×R83	0.79	0.371
2	S3×R83	0.89	0.464	12	S2×R107	0.78	0.369
3	S1×R83	0.87	0.462	13	S3×R75	0.77	0.424
4	S3×R11	0.87	0.351	14	S3×R43	0.77	0.355
5	S3×R107	0.87	0.478	15	S3×R98	0.77	0.452
6	S3×R36	0.87	0.382	16	S3×R60	0.76	0.413
7	S1×R48	0.83	0.356	17	S3×R93	0.76	0.395
8	S3×R114	0.81	0.387	18	S1×R36	0.75	0.392
9	S3×R48	0.79	0.344	19	S3×R118	0.75	0.324
10	S3×R21	0.79	0.341	20	S1×R21	0.75	0.360

果数的超亲优势显著相关,相关系数为0.219,遗传距离与果粒数及果粒数的中亲优势、超亲优势均呈极显著负相关。因此,在后续杂交种选育中,遗传距离可以作为亲本选配的参考依据。

表8 遗传距离与杂种优势的相关性

Table 8 Correlation between genetic distance and heterosis

性状 Traits	单株产量 YP	株果数 ES	果粒数 SS	千粒重 TSW
产量及产量三因素 Yield and 3 components	0.390**	0.271**	-0.236**	0.088
中亲优势 Mid-parent heterosis	-0.036	0.243**	-0.335**	-0.037
超亲优势 Over-parent heterosis	0.034	0.219*	-0.296**	0.034

注/Note: *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$

2.6 配合力效应与单株产量及超亲优势的关系

将单株产量及超亲优势与配合力效应进行相关分析(表9),一般配合力均值和特殊配合力与单株产量及单株产量超亲优势都呈极显著正相关,相关系数分别为0.67,0.42,0.30和0.25,表明一般配合力均值或者特殊配合力高的亲本可以配制出杂种优势强的杂交种。

3 讨论

一直以来,油菜杂种优势利用和杂交组配模式的建立是油菜育种的重要任务。目前,为了获得强优势杂交组合,单纯的通过两亲本的遗传差异来估测后代的杂种优势,这种方法盲目性比较大,并且选育效率较低,而通过配制一定数量的杂交组合,统计杂种一代的农艺性状表现,分析其杂种优势和配合力来选出强优势杂交组合,这种方法比较可靠,但工作量大。本研究是结合两种方法开展研究,首先明确亲本的遗传背景和亲缘关系远近,以遗传差异分析结果为亲本选配的理論支撑,选取了部分恢复系分别与3个不育系进行不完全双列杂交,研究120个杂交组合 F_1 的杂种优势和配合力、分析遗传距离、配合力和杂种优势间的关系,进一步选出强优势杂交组合,获得3个优良恢复系亲本,分

别为恢复系R83、R107、R13,其材料R83为青海大学农林科学院春油菜研究所新审定登记的青杂15号恢复系“4750R”,恢复系R107为优良自交系1273-1274,恢复系R13为优良自交系29-30。经过相关性分析得知分子遗传距离可以预测杂种的产量优势,这和吴倩^[15]在大豆亲本间遗传距离与杂种优势关系研究中得出的遗传距离与单株粒数杂种优势呈显著相关的结果一致。通过对120个杂交组合的杂种优势和配合力研究表明:在油菜产量三因素中(果粒数、千粒重、株果数),三种性状的杂种优势存在相互制约的关系,如强优势杂交组合S3×R13的果粒数和株果数超亲优势均为正向优势,千粒重超亲优势却为负向优势;一般配合力高且特殊配合力也高的亲本可以配制出强优势杂交组合,这与Kebede^[16]和Magorokosho^[17]两人的研究结果一致,前者在甜玉米配合力与杂种优势相关性分析中得出,一般配合力对甜玉米的杂种优势预测有效,后者得出特殊配合力对玉米杂种优势的预测起重要作用。因此,利用遗传距离和配合力预测甘蓝型油菜的杂种优势具有可行性,通过亲缘关系的远近选出的特定的亲本,配制组合可以获得强优势杂交组合。

在杂优模式分析中,小区产量排前20位的杂交组合组配模式大多数为不育系×Ⅰ类恢复系模式,分析本次试验中所有组合产量平均值的顺序为不育系×Ⅰ类恢复系>不育系×Ⅳ类恢复系>不育系×Ⅱ类恢复系>不育系×Ⅴ类恢复系>不育系×Ⅲ类恢复系。本研究在分析遗传距离与杂种优势的关系得出,遗传距离与杂种表现呈极显著正相关,经过分析3个不育系分别与聚在Ⅰ类的14个恢复系(R13、R21、R53、R60、R63、R75、R83、R89、R90、R93、R98、R107、R114、R116)遗传距离发现,其遗传距离变化范围为0.371~0.404,表7中产量排名前20的杂交组合亲本间的遗传距离变化范围为0.324~0.478,前者包含于后者,因此,S×Ⅰ类恢复系模式可以配制出强优势组合。这为后续春油菜区甘蓝型油菜杂种优势利用提供了理论参考,同时也为后续甘蓝型油菜强优势杂交种的选育提供理

表9 配合力和单株产量与单株产量超亲优势的相关性

Table 9 Correlation between combination ability and yield and its over-parent heterosis (OPH)

	亲本 GCA 均值 Average of GCA	特殊配合力 SCA
单株产量 YP Plant yield	0.67**	0.30**
单株产量超亲优势 OPH of Plant yield	0.42**	0.25**

注/Note: *: $P < 0.05$ **: $P < 0.01$

论指导。

春油菜区以不育系 105A 为母本,选育出一系列农艺性状优良且高产的杂交种,如青杂 2 号,青杂 5 号,青杂 7 号,青杂 9 号。近两年,又基于 105A 选育出比青杂 5 号更高产的品种青杂 12 号,青杂 15 号。本研究基于不育系 105A,选育优良恢复系,经过配合力及杂种优势分析,获得两个能够与不育系 105A 配制出强优势杂交组合的恢复系父本,分别为 R13, R83,经过分析两个恢复系与 105A 的遗传距离均达到了 0.41 以上,另外青杂系列品种 2 号、5 号、7 号、9 号的恢复系与 105A 的遗传距离变化范围在 0.13 ~ 0.30 之间,青杂 12 号、青杂 15 号的恢复系与 105A 的遗传距离分别为 0.30、0.46,明显大于之前选育出的杂交种恢复系与 105A 的遗传距离,这也印证了本研究中遗传距离与杂种表现呈极显著正相关的观点,为后续春油菜区的杂交种选育提供了亲本选择的依据,可以在一定遗传距离范围内,创造一些遗传距离比 105A 较远的亲本资源,再将其转育成稳定的恢复系,为春油菜区的强优势杂交组合的获得提供种质资源。

参考文献:

- [1] 沈金雄,傅廷栋,涂金星,等.中国油菜生产及遗传改良潜力与油菜生物柴油发展前景[J].华中农业大学学报,2007,26(6):894-899. DOI:10.3321/j.issn:1000-2421.2007.06.031.
- [2] 关周博,田建华,董育红.我国油菜发展的现状、面临的问题以及应对策略[J].陕西农业科学,2016,62(3):99-101. DOI:10.3969/j.issn.0488-5368.2016.03.030.
- [3] 傅廷栋.杂交油菜的育种与利用[M].2版.武汉:湖北科学技术出版社,2000.
- [4] 石子,宋伟,赵久然.雄性不育在作物杂种优势中的应用途径分析[J].中国生物工程杂志,2018,38(1):126-134. DOI:10.13523/j.cb.20180115.
- [5] 傅廷栋,杨光圣,杨小牛.甘蓝型油菜波里马细胞质雄性不育的研究与利用[J].作物研究,1990,4(3):9-12. DOI:10.16848/j.cnki.issn.1001-5280.1990.03.003.
- [6] Brandle J E, McVetty P B E. Geographical diversity, parental selection and heterosis in oilseed rape [J]. Can J Plant Sci, 1990, 70 (4) : 935-940. DOI: 10.4141/cjps90-115.
- [7] 田洪云.半冬性甘蓝型油菜杂种优势、配合力及杂种优势群分析[D].杨凌:西北农林科技大学,2016.
- [8] 谭祖猛.甘蓝型油菜遗传多样性分析及杂种优势预测研究[D].北京:中国农业科学院,2007.
- [9] 邢以华,靖深蓉,邱竞,等.棉花杂种优势预测初步研究[J].中国棉花,1984,11:11-13.
- [10] 田保明,张书芬,王建平,等.甘蓝型双低油菜的杂种优势与亲本配合力的相关性分析[J].河南农业科学,2000,29(2):15-18. DOI:10.15933/j.cnki.1004-3268.2000.02.007.
- [11] 赵绪涛,柳海东,李开祥,等.基于SLAF-seq技术构建甘蓝型油菜 Polima CMS 恢复系核心种质[J].中国油料作物学报,2019,41(4):497-506. DOI:10.7505/j.issn.1007-9084.2019.04.003.
- [12] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Mol Biol Evol, 2011, 28 (10) : 2731-2739.
- [13] Alexander D H, Novembre J, Lange K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals [J]. Genome Res, 2009, 19(9):1655-1664. DOI:10.1101/gr.094052.109.
- [14] 唐启义. DPS 统计软件简介 [J]. 中国医院统计, 2009, 16(2): 99.
- [15] 吴倩,李智,于伟,等.大豆亲本间遗传距离与杂种优势的相关性研究[J].中国农学通报,2020,36:43-48.
- [16] Solomon K F, Zeppa A, Mulugeta S D. Combining ability, genetic diversity and heterosis in relation to F1 performance of tropically adapted shrunken (sh2) sweet corn lines [J]. Plant Breed, 2012, 131 (3) : 430-436. DOI:10.1111/j.1439-0523.2012.01965.x.
- [17] Ndhlela T, Herselman L, Semagn K, et al. Relationships between heterosis, genetic distances and specific combining ability among CIMMYT and Zimbabwe developed maize inbred lines under stress and optimal conditions [J]. Euphytica, 2015, 204 (3) : 635-647. DOI: 10.1007/s10681-015-1353-z.

(责任编辑:郭学兰)