

刘志新,徐玉颖,姚培杰,等.芥菜胞质雄性不育系结荚性状的筛选和细胞学鉴定[J].华中农业大学学报,2021,40(3):133-140.

DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2021.03.015

芥菜胞质雄性不育系结荚性状的筛选和细胞学鉴定

刘志新,徐玉颖,姚培杰,许可净,韩一鸣,傅强,万正杰

华中农业大学园艺林学学院/园艺植物生物学教育部重点实验室,武汉 430070

摘要 对59份不同变种芥菜材料(30份细胞质雄性不育系和29份保持系)的结荚性状进行田间调查,统计结荚畸形情况;同时,利用分子标记对30份芥菜雄性不育系材料进行了鉴定。结果显示:有23份是芥菜 *hau* 细胞质雄性不育系,7份是芥菜 *ogu* 细胞质雄性不育系。29份芥菜保持系材料、7份芥菜 *ogu* 细胞质雄性不育系和5份芥菜 *hau* 细胞质雄性不育系的荚表现均为饱满、直立,其他芥菜 *hau* 细胞质雄性不育系荚则表现出不同程度的畸形。以结荚正常的保持系材料为对照(CK),对芥菜 *ogu* 细胞质雄性不育系和芥菜 *hau* 细胞质雄性不育系的花药败育和花器官发育进行细胞学观察,发现芥菜 *ogu* 细胞质雄性不育系和芥菜 *hau* 细胞质雄性不育系(荚正常)花药败育特征为绒毡层提前降解,芥菜 *hau* 细胞质雄性不育系(荚畸形)的败育特征为形成雄蕊—雌蕊嵌合体,初步揭示了芥菜雄性不育系结荚畸形性状的细胞学形成机制。

关键词 芥菜;雄性不育系;细胞学观察;败育;结荚性状

中图分类号 S 637 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2021)03-0133-08

芥菜(*Brassica juncea*)是一种原产于我国的十字花科芸薹属蔬菜^[1]。研究表明,西北地区为我国芥菜的初生起源地,四川盆地为我国芥菜的次生起源地^[2]。目前,芥菜在全国各地均有栽培,其中,长江中下游地区和西南地区是主产区^[3-5]。由于芥菜具有营养物质丰富、栽培容易、多样化的加工与食用方式等特点,深受消费者欢迎^[6]。芥菜作为一种常异花授粉植物,新品种主要来自于系统育种和优势杂交育种^[7],芥菜杂交种的营养体在生长势、抗逆性、丰产性等方面较常规种具有明显优势^[8],杂交种生产过程中,人工授粉存在种子生产成本过高、生产效率低下的问题,因此,细胞质雄性不育系在芥菜杂交种选育和制种中得到了大规模的应用^[9]。

长期以来,雄性不育作为植物杂种优势利用和生殖发育研究的热点内容之一,已取得大量研究成果^[10]。余凤群等^[11]在对甘蓝型油菜花药败育的研究中发现,花药败育主要分为小孢子发育异常、花粉母细胞发育异常、花粉囊发育异常3类。在微观水平上,胡永敏等^[12]进行了5种甘蓝型油菜细胞质雄性不育系的细胞学观察实验,发现 *Pol* CMS 材料的败育大多发生在孢原细胞时期;许代香等^[13]通过对

甘蓝型油菜显性核不育系 D3A 的花药败育研究发现,不育系的花药败育主要是花粉囊的异常发育所导致。而 *ogu* 细胞质不育系材料则存在多种败育方式,黄邦全等^[14]通过种间杂交方式,将 *ogu* 萝卜雄性不育胞质转入紫菜薹中,经过多代回交,获得了发育正常的紫菜薹 *ogu* 胞质不育系,其花药败育发生在孢原细胞分化期;田福发^[15]通过种间杂交获得了 *Pol* 红菜薹不育系、*ogu* 红菜薹不育系材料,并且进行细胞学切片观察,发现 *ogu* 红菜薹不育系花药在四分体时期,绒毡层细胞发育异常,挤压四分体,最终导致绒毡层和四分体同时解体,引起花药败育。我们在实践过程中发现,芥菜杂交育种过程中,以雄性不育系材料为母本创制杂交种,部分不育系材料会表现出不同程度的结荚畸形现象。为了揭示芥菜雄性不育系结荚畸形性状的形成机制,笔者对59份芥菜材料进行了结荚情况的鉴定以及细胞学研究,以期对芥菜胞质雄性不育系的品种改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为华中农业大学十字花科蔬菜遗传育

收稿日期:2020-11-05

基金项目:国家特色蔬菜产业技术体系项目(CARS-24-A-06)

刘志新,E-mail:986352202@qq.com

通信作者:万正杰,E-mail:wanzj@mail.hzau.edu.cn

种课题组所收集来自全国各地的 59 份芥菜材料,经 30 份芥菜细胞质雄性不育系、*hau* CMS 原始材料多年提纯复壮,如表 1 所示,包括 29 份芥菜保持系、(FanY-9A)及其保持系(FanY-9B)。

表 1 供试材料

Table 1 The list of experimental materials

材料编号 Material code	类型 Type	自交系 Lines	拉丁学名 Latin literature name
17W01	结球芥 Heading mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort
17W02	结球芥 Heading mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort
17W03	结球芥 Heading mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort
17W04	结球芥 Heading mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort
17W05	结球芥 Heading mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort
17W06	结球芥 Heading mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort
17W07	结球芥 Heading mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort
17W08	结球芥 Heading mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort
17W09	结球芥 Heading mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort
17W10	结球芥 Heading mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort
17W69	茎瘤芥 Tuber mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>tumida</i> Tesn et Lee
17W101	大头菜 Root mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> Coss. var. <i>megarrhiza</i> Tesn et Lee
17W102	大头菜 Root mustard	保持系 Maintainer Line	<i>Brassica juncea</i> Coss. var. <i>megarrhiza</i> Tesn et lee
17W103	大头菜 Root mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> Coss. var. <i>megarrhiza</i> Tesn et Lee
17W104	大头菜 Root mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> Coss. var. <i>megarrhiza</i> Tesn et Lee
17W105	大头菜 Root mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> Coss. var. <i>megarrhiza</i> Tesn et Lee
17W106	大头菜 Root mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> Coss. var. <i>megarrhiza</i> Tesn et Lee
17W151	大叶芥 Root mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W152	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W153	大叶芥 Leaf mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W154	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W155	大叶芥 Leaf mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W156	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W157	宽柄芥 Petiole mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>latipa</i> Li
17W158	宽柄芥 Petiole mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>latipa</i> Li
17W159	宽柄芥 Petiole mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>latipa</i> Li
17W160	宽柄芥 Petiole mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>latipa</i> Li
17W161	大叶芥 Leaf mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W162	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W163	大叶芥 Leaf mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W164	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W165	大叶芥 Leaf mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W166	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W167	大叶芥 Leaf mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W168	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W169	大叶芥 Leaf mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W170	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W171	大叶芥 Leaf mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W172	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W173	大叶芥 Leaf mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W174	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W175	大叶芥 Leaf mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W176	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W177	大叶芥 Leaf mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W178	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W179	大叶芥 Leaf mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W180	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W181	大叶芥 Leaf mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17W182	大叶芥 Leaf mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey

续表 1 Continued Table 1

材料编号 Material code	类型 Type	自交系 Lines	拉丁学名 Latin literature name
17W501	笋子芥 Tuber mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>crassicaulis</i> Chen et Yang
17W502	笋子芥 Tuber mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>crassicaulis</i> Chen et Yang
17W503	笋子芥 Tuber mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>crassicaulis</i> Chen et Yang
17W504	笋子芥 Tuber mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>crassicaulis</i> Chen et Yang
17W505	笋子芥 Tuber mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>crassicaulis</i> Chen et Yang
17W506	笋子芥 Tuber mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>crassicaulis</i> Chen et Yang
17W507	分蘖芥 Branch mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tesn et Lee
17W508	分蘖芥 Branch mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tesn et Lee
17W509	分蘖芥 Branch mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tesn et Lee
17W510	分蘖芥 Branch mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tesn et Lee
FanY-9A	分蘖芥 Branch mustard	不育系 CMS	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tesn et Lee
FanY-9B	分蘖芥 Branch mustard	保持系 Maintainer line	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tesn et Lee

1.2 芥菜胞质雄性不育系材料不育类型鉴定

利用 CTAB 法提取 30 份芥菜胞质雄性不育基因组总 DNA,获得基因 *orf288* 和 *orf138* 的保守序列^[16],利用 NCBI 在线网页设计引物,*orf138* 正向引物:GAAACGGGAAGTGACAATAC,反向引物:GCATTATTTTCTCGGTCCAT;*orf288* 正向引物 CAATGGCTATTACCCCTGCT;反向引物:ATGCCGGGCATTTACCTGATGG。

1.3 芥菜材料的结荚情况调查

将 59 份材料于 2017 年 9 月同期播种育苗,之后统一水肥管理,杂交授粉完成后,待种荚成熟时,取典型角果,拍照记录。

1.4 花蕾的半薄切片技术

材料盛花期,选取生长良好的花序参照文献^[17]制样,于显微镜下观察。

2 结果与分析

2.1 芥菜不育系材料不育胞质类型鉴定

利用 CTAB 法提取 30 份芥菜胞质雄性不育系材料,利用设计的 2 对引物进行 PCR 扩增、琼脂糖凝胶电泳检测,结果(图 1)显示:以 17W05、17W155、17W179 为代表的 23 份材料属于 *hau* 不育胞质类型,以 17W501 和 17W173 为代表的 7 份材料属于 *ogu* 不育胞质类型。

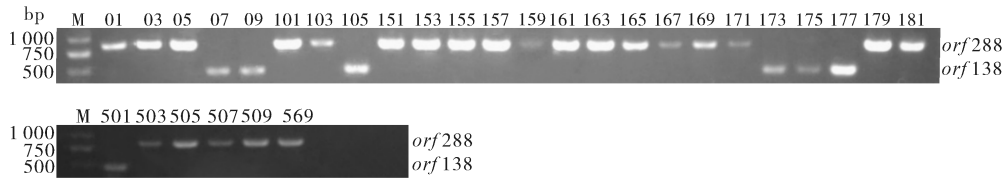


图 1 芥菜雄性不育系材料不育类型鉴定
Fig.1 Identification of CMS types of *Brassica juncea*

2.2 芥菜胞质雄性不育系的结荚形态

对 59 份芥菜材料结荚形态的调查结果(图 2)显示,7 份芥菜 *ogu* 雄性不育系没有畸形情况发生,荚果饱满直立,形态具有一致性(图 2A);芥菜 *hau* 雄性不育系材料在畸形方面表现较大的差异(图 2B),其中,17W165、17W171、17W505、17W509 和 17W69 表现出良好的结荚特性,果荚直立饱满,其他材料则表现出不同程度的畸形;所有的芥菜保持系材料荚果均呈现饱满、直立的状态

(图 2C)。

2.3 芥菜胞质不育系花药败育及花器官发育的细胞学研究

1)芥菜 *ogu* CMS 材料花药败育及花器官发育观察。对芥菜 *ogu* 胞质雄性不育系 17W173 及其对应保持系材料 17W174 进行半薄切片的细胞学观察(图 3),可以发现,从花器官的整体发育来看,不育系绒毡层出现降解,小孢子集结成团不能分散,保持系则较为正常。进一步观察其花药的败育情况

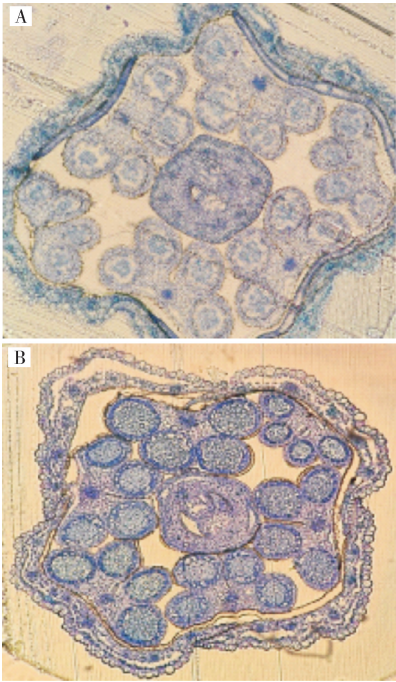
(图 4), 可以发现, 四分体时期, 绒毡层细胞发育异常, 细胞出现空泡化现象; 单核靠边期, 绒毡层发生降解, 药室中央的小孢子聚集成团; 双核期, 绒毡层已经基本降解; 三核期时, 小孢子出现空泡化迹象, 花药败育。



A. *ogu* 细胞质雄性不育系; B. *hau* 细胞质雄性不育系; C. 保持系。
A. *ogu* CMS; B. *hau* CMS; C. Maintainer lines.

图 2 部分芥菜材料的结荚形态

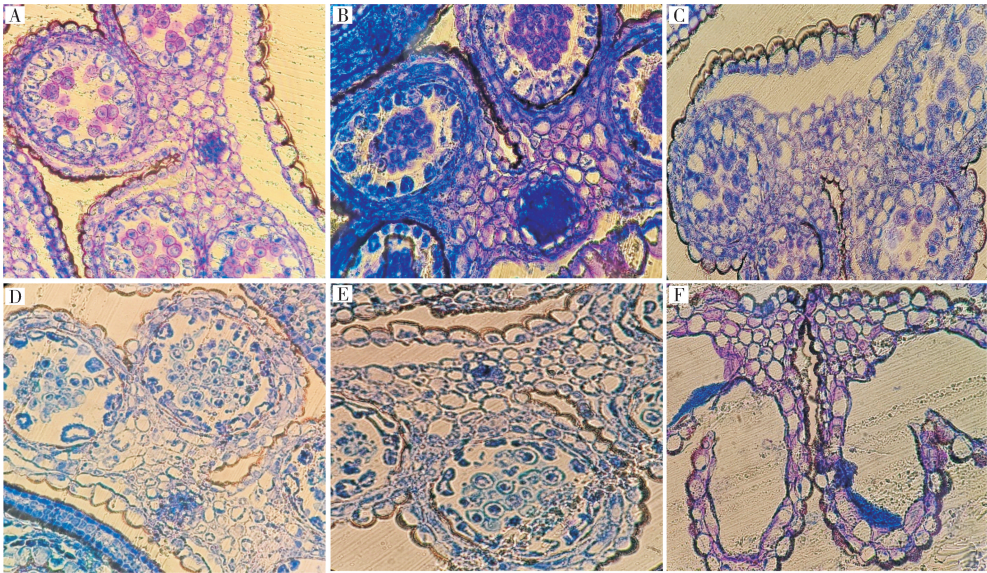
Fig.2 Pod morphology of some *Brassica juncea* materials



A. *ogu* 细胞质雄性不育系; B. 保持系。A. *ogu* CMS; B. Maintainer line.

图 3 芥菜 *ogu* 细胞质雄性不育系及其保持系花器官发育对比 (100×)

Fig.3 *ogu* CMS and maintainer line's flower development of *Brassica juncea* (100×)



A. 四分体时期; B. 单核期; C. 单核靠边期; D. 双核期; E. 三核期; F. 释放花粉。A. Tetrad; B. Mononuclear; C. Mononuclear marginal; D. Dikaryotic; E. Trinuclear; F. Pollen release.

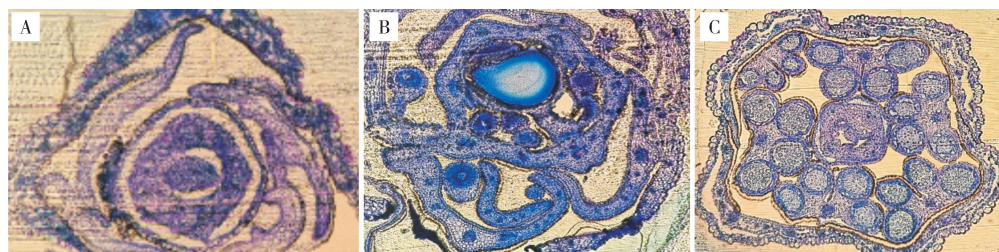
图 4 芥菜 *ogu* 细胞质雄性不育系的花药败育观察 (400×)

Fig.4 *ogu* CMS' abortion of *Brassica juncea* (400×)

2) 芥菜 *hau* 细胞质雄性不育系材料花器官发育及花药败育观察。将果荚正常和果荚畸形的芥菜 *hau* 细胞质雄性不育系和保持系的花器官进行对比 (图 5), 可以发现, 2 类材料的雄蕊败育基本都由绒

毡层的异常发育所引起;而结荚畸形材料,则直接形成了雌蕊-雄蕊嵌合体,嵌合体内生长着多于正常数量的胚珠。对结荚正常材料雄蕊进行败育观察(图6),可以看到,孢原细胞时期,产生心皮组织;花粉母细胞时期,绒毡层细胞异常膨大;在四分体时期,绒毡层发育异常,小孢子因养分不足随之降解,花药败

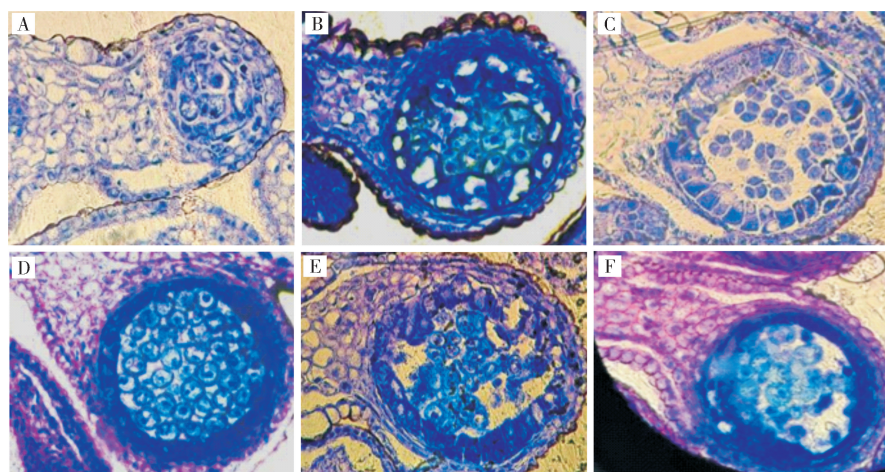
育。对结荚畸形材料的败育过程进一步观察(图7),可以看到,雌蕊-雄蕊嵌合体在花药发育初期就开始形成,此时产生心皮组织而非正常的雄蕊原基,之后,心皮组织不断生长发育,形态各异,整个过程几乎观察不到正常的花器官。



A.正常荚果不育系; B.畸形荚果不育系; C.保持系。A.Normal pods with *hau* CMS; B.Abnormal pods with *hau* CMS; C.Maintainer line.

图5 芥菜 *hau* 细胞质雄性不育系及其保持系花器官发育对比(100×)

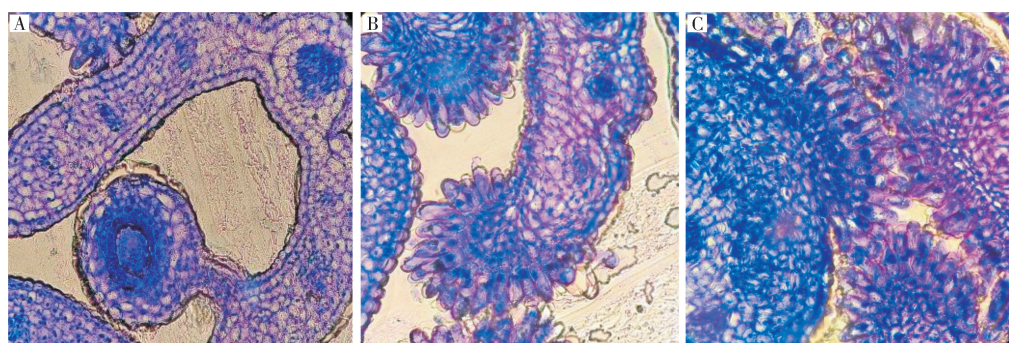
Fig.5 *hau* CMS and maintainer line's flower development of *Brassica juncea* (100×)



A.孢原细胞时期; B.花粉母细胞时期; C.四分体时期; D-F.配子体发育时期。A.Sporogenous cell stage; B.Pollen mother cell stage; C.Tetrad stage; D-F.Gametophyte development stage.

图6 芥菜 *hau* CMS 花药的形态发育(果荚正常)(400×)

Fig.6 *hau* CMS anther morphology development of *Brassica juncea* (normal pods) (400×)



A.发育前期; B.发育中期; C.发育后期。A.Predevelopment; B.Mid development; C.Late development.

图7 芥菜 *hau* CMS 雌蕊-雄蕊嵌合体的发育(果荚畸形)(400×)

Fig.7 *hau* CMS pistil-stamen chimera development of *Brassica juncea* (abnormal pods) (400×)

3 讨论

在植物新品种的选育过程中,为避免长期使用单一不育胞质所带来的潜在危害,需要引进不同类型的胞质并且对其快速鉴定,而分子标记则具有准确、省时、高效的特点^[18];本研究利用2对特异性引物(*orf138*和*orf288*)对芥菜CMS材料的不育胞质类型进行快速鉴定,发现*orf138*标记可鉴定芥菜*ogu* CMS,而*orf288*标记则可将芥菜*hau* CMS鉴定出来,相较于观察花器官的方式简单且快速。从59份材料结荚性状的田间统计结果中可以发现,所有的保持系和*ogu* CMS结荚表现均非常优异,无畸形情况发生,这与邹瑞昌^[19]的研究结果相似。芥菜*hau* CMS是华中农业大学1999年所发现的天然芥菜型油菜雄性不育系,具有不育度和不育株率100%的特点,长期以来,在十字花科植物杂种优势利用中得到了大量的应用^[3]。施展等^[20]对芥菜*hau* CMS进行了综合遗传分类后,将芥菜*hau* CMS的不育细胞质转育到大白菜中,创制了大白菜*hau* CMS种质资源6w-9605A。张艳等^[21]以甘蓝型油菜*hau* CMS为母本,菜心为父本,进行种间杂交和连续回交,创制了新型菜心*hau* CMS不育材料。随着对芥菜*hau* CMS不育资源利用和研究的不断深入,笔者课题组也发现其不足之处,将芥菜*hau* CMS不育源转入芥菜后,部分材料存在果荚畸形的情况,实际种子生产中,果荚畸形会严重影响种子品质甚至制种产量,部分芥菜*hau* CMS材料结荚畸形可能会影响其后续在十字花科作物中的推广利用,因此,对芥菜*hau* CMS不育胞质进行遗传改良显得尤为重要。

本研究进一步对芥菜*hau* CMS和*ogu* CMS材料进行花药败育的细胞学观察,可以发现,芥菜*ogu* CMS和果荚正常的*hau* CMS材料,雄蕊的败育均由绒毡层的异常发育所引起,其雌蕊进行正常的授粉受精后,果荚仍能正常发育,这与单奇伟等^[22]的研究结果类似;果荚畸形的芥菜*hau* CMS材料在其花器官发育过程中,除绒毡层发育异常外,还伴随着雌蕊-雄蕊嵌合体的发生,最终导致果荚畸形,可见,雌蕊-雄蕊嵌合体的形成是造成果荚畸形的原因,这与文献^[23]的研究结果不一致,极有可能是核质互作效应引起的^[24]。本研究通过细胞学水

平的研究证实结荚畸形由雌蕊-雄蕊嵌合体的生成引起,但更深层次的机制尚待探究,根据花发育模型假说,B基因组是调控雄蕊发育、引起雄蕊心皮化形成嵌合体的关键^[25],因此,后续可以从B基因组着手,对芥菜*hau* CMS进行深入研究,探究其败育的分子机制。

参考文献 References

- [1] YANG J, LIU D, WANG X, et al. The genome sequence of allopolyploid *Brassica juncea* and analysis of differential homeolog gene expression influencing selection [J]. *Nat Genet*, 2016, 48: 1225-1232.
- [2] 刘佩英. 中国芥菜[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 15-23, 45-49, 52-55. LIU P Y. Chinese mustard [M]. Beijing: China Agriculture Press 1996: 15-23, 45-49, 52-55 (in Chinese).
- [3] 万正杰, 李海渤, 姚培杰, 等. 芥菜类蔬菜杂种优势利用的研究进展与展望[J]. 华中农业大学学报, 2018, 37(1): 115-120. WAN Z J, LI H B, YAO P J, et al. Progress and prospect of heterosis utilization in mustard (*Brassica juncea* L.) vegetables [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2018, 37(1): 115-120 (in Chinese with English abstract).
- [4] 赖彪, 陈春帆, 刘春渝, 等. 茎瘤芥 *BXL* 基因家族的全基因组鉴定和在瘤状茎膨大过程中的表达分析[J]. 华中农业大学学报, 2020, 39(6): 155-163. LAI B, CHEN C F, LIU C Y, et al. Genome-wide identification of *BXL* family genes in *Brassica juncea* var. *tumida* and their expression during the swelling of stem [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2020, 39(6): 155-163 (in Chinese with English abstract).
- [5] 范永红, 沈进娟, 董代文. 芥菜类蔬菜产业发展现状及研究前景思考[J]. 农学学报, 2016, 6(2): 65-71. FAN Y H, SHEN J J, DONG D W. Development status and research prospect of mustard vegetables industry [J]. *Agricultural science & technology*, 2016, 6(2): 65-71 (in Chinese with English abstract).
- [6] 杨媛, 蔡丽, 刘淑晶, 等. 芥菜抗芜菁花叶病毒种质资源的鉴定与评价[J]. 华中农业大学学报, 2019, 38(2): 65-72. YANG Y, CAI L, LIU S J, et al. Identification and evaluation of resistance to *Turnip mosaic virus* in germplasm resources of mustard (*Brassica juncea*) [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2019, 38(2): 65-72 (in Chinese with English abstract).
- [7] MAWLONG I, SINGH V V, RAM B, et al. Screening of advanced breeding lines for high temperature tolerance using biochemical parameters in Indian mustard (*Brassica juncea*) [J]. *Indian J Agr Sci*, 2020, 90(8): 1503-1513.
- [8] 王瑞霞, 李小明, 施毅, 等. 芥菜型春油菜新品系晋油13号的选育[J]. 农业技术与装备, 2020, 370(10): 11-12, 14. WANG R X, LI X Y, SHI Y, et al. Breeding of new *Brassica juncea*

- spring rape line Jinyou No.13[J].Agricultural technology & equipment,2020,370(10):11-12,14(in Chinese with English abstract).
- [9] 姚培杰,刘志新,许可净.叶用芥菜胞质雄性不育系杂交制种技术[J].长江蔬菜,2020(1):33-35. YAO P J, LIU Z X, XU K J. Hybrid technology for seed production of leaf mustard cytoplasmic male sterile lines [J]. Journal of Changjiang vegetables,2020(1):33-35(in Chinese).
- [10] ZHANG X J, CHEN H Y, ZHANG Q, et al. Cytological and genetic characterisation of dominant GMS line Shaan-GMS in *Brassica napus* L.[J]. J Appl Genet,2020,61(4):477-488.
- [11] 余凤群,傅廷栋.甘蓝型油菜几个雄性不育系花药发育的细胞形态学研究[J].武汉植物研究,1990(3):209-216,301-302. YU F Q, FU T D. Cell morphology of anther development in several male sterile lines of *Brassica napus* L.[J]. Journal of Wuhan botanical research,1990(3):209-216,301-302(in Chinese).
- [12] 胡永敏,董军刚,孟倩,等.5种甘蓝型油菜胞质雄性不育系的细胞学观察[J].西北农业学报,2012,21(7):95-99,106. HU Y M, DONG J G, MENG Q, et al. Cytological observation on anther development of five CMS lines in *Brassica napus* [J]. Acta agriculturae boreali-occidentalis sinica,2012,21(7):95-99,106(in Chinese with English abstract).
- [13] 许代香,贾乐东,王瑞,等.甘蓝型油菜显性核不育系 D3A 的细胞学研究[J].西南大学学报,2020,42(1):16-21. XU D X, JIA L D, WANG R, et al. Cytological studies of dominant CMS sterile line D3A in *Brassica napus* L. [J]. Journal of Southwest University,2020,42(1):16-21(in Chinese with English abstract).
- [14] 黄邦全,李薇,居超民,等. *Ogura* 雄性不育细胞质导入紫菜薹及杂种优势利用初报[J].种子,1999(3):57. HUANG B Q, LI W, JU C M, et al. Introduction of *Ogura* male sterile cytoplasm into *Brassica rapa* and its heterosis utilization[J]. Seed, 1999(3):57(in Chinese).
- [15] 田福发.两种红菜薹雄性不育系的比较研究[D].武汉:华中农业大学,2003. TIAN F F. Comparative study on two male-sterile lines in Hong Cai-tai[D]. Wuhan:Huazhong Agricultural University,2003(in Chinese with English abstract).
- [16] HENG S P, LIU S S, XIA C X, et al. Morphological and genetic characterization of a new cytoplasmic male sterility system (oxa CMS) in stem mustard (*Brassica juncea*) [J]. Theor Appl Genet,2018,131(1):59-66.
- [17] 王庆亚.生物显微技术[M].北京:中国农业出版社,2010. WANG Q Y, Biomicroscopy[M]. Beijing: China Agriculture Press,2010(in Chinese).
- [18] PRAVEEN A, PANDEY C, KHAN E, et al. Silicon-mediated genotoxic alterations in *Brassica juncea* under arsenic stress: a comparative study of biochemical and molecular markers[J]. Pedosphere,2020,30(4):517-527.
- [19] 邹瑞昌.叶用芥菜胞质雄性不育系 0912A 的评价及杂种优势利用[D].武汉:华中农业大学,2012. ZOU R C. Evaluation and exploitation of heterosis in cytoplasmic male sterile line of leaf mustard 0912A[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University,2012(in Chinese with English abstract).
- [20] 施展,万正杰,徐跃进,等.大白菜 *hau* 胞质雄性不育系的鉴定及不育相关基因结构分析[J].园艺学报,2012,39(3):469-476. SHI Z, WAN Z J, XU Y J, et al. Characterization of the Chinese cabbage *hau* cytoplasmic male-sterile line and sequence analysis of the fertility-gene[J]. Acta horticulturae sinica,2012,39(3):469-476(in Chinese with English abstract).
- [21] 张艳,陈汉才,李桂花.菜心 *hau* CMS 雄性不育系的转育研究[J].广东农业科学,2020(1):30-33,193. ZHANG Y, CHEN H C, LI G H. Trans-breeding *hau* cytoplasmic male sterile line in Chinese flowering cabbage[J]. Journal of Guangdong agricultural sciences,2020(1):30-33,193(in Chinese with English abstract).
- [22] 单奇伟,陈龙正,徐海,等.不结球白菜 *Ogura* 雄性不育花器官形态及败育细胞学的研究[J].华北农学报,2009,24(S2):25-29. SHAN Q W, CHEN L Z, XU H, et al. Morphological studies on flower organ of *ogura* cytoplasmic sterile and its cytological characterization of abortion in *Brassica rapa* Chinese [J]. Acta agriculturae boreali-sinica, 2009, 24 (S2): 25-29 (in Chinese with English abstract).
- [23] 万正杰,王显军,傅廷栋,等.芥菜型油菜胞质雄性不育系 6-102A 的细胞学观察[J].中国油料作物学报,2006,28(3):268-271. WAN Z J, WANG X J, FU T D, et al. Cytology study on the cytoplasmic male sterile line 6-102A in *B. juncea* [J]. Chinese journal of oil crop sciences,2006,28(3):268-271(in Chinese with English abstract).
- [24] 王涛涛,蔡晓峰,张俊红,等.芥菜型油菜雄性不育系与甘蓝远缘杂交胚培养及早代育性鉴定[J].园艺学报,2010,37(10):1661-1666. WANG T T, CAI X F, ZHANG J H, et al. The culture and early male sterile identification of distant hybrid embryos derived from *Brassica oleracea* var. *capitata* L. and male sterile line in *B. juncea* [J]. Acta horticulturae sinica,2010,37(10):1661-1666(in Chinese with English abstract).
- [25] GOTO K, MEYEROWITZ E M. Function and regulation of the *Arabidopsis* floral homeotic gene PISTILLATA[J]. Genes & development,1994,8(13):1548-1560.

Screening and cytological identification of pod-setting traits in cytoplasmic male sterile lines of mustard (*Brassica juncea*)

LIU Zhixin, XU Yuying, YAO Peijie, XU Kejing, HAN Yiming, FU Qiang, WAN Zhengjie

*College of Horticulture and Forestry/Ministry of Education Key Laboratory Plant Biology,
Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China*

Abstract The pod-setting traits of 59 mustard (*Brassica juncea*) varieties including 30 cytoplasmic male sterile lines and 29 maintenance lines were studied with field investigation, molecular markers and cytological observation. The results of molecular markers analysis showed that 23 lines were *hau* cytoplasmic male sterile lines and 7 lines were *ogu* cytoplasmic male sterile lines. The results of cytological observation showed that siliques of the 29 maintainers, 7 *ogu* cytoplasmic male sterile lines and 5 *hau* cytoplasmic male sterile lines were plump and vertical, while siliques of the 18 *hau* cytoplasmic male sterile lines were abnormal to different degree. Using the maintainer material with normal pod setting as the control (CK), the anther abortion and floral organ development of the mustard *ogu* cytoplasmic male sterile lines and the mustard *hau* cytoplasmic male sterile lines were cytologically observed. The results showed that the flower abortion of *ogu* cytoplasmic male sterile lines and *hau* cytoplasmic male sterile lines (normal pods) was the tapetum degraded in advance, while that of *hau* cytoplasmic male sterile lines (abnormal pods) was the formation of stamen-pistil chimera. It is indicated that the cytological formation mechanism of the pod-setting traits in cytoplasmic male sterile lines of mustard is preliminarily explored.

Keywords mustard (*Brassica juncea*); cytoplasmic male sterile line; cytological observation; abortion; pod-setting traits

(责任编辑:张志钰)