



草业科学研究系列专著

苜蓿雄性不育性的研究与利用

石凤翎 高翠萍 李红 等 著



科学出版社

草业科学研究系列专著

苜蓿雄性不育性的研究与利用

石凤翎 高翠萍 李 红 等 著

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书总结了三十多年来我国在苜蓿雄性不育系的选育及利用方面积累的研究成果, 主要包括苜蓿雄性不育系育种相关基础, 雄性不育系生物学、农艺学及其遗传改良, 不育系杂种优势利用及形成机理等内容, 同时还介绍了国内外牧草雄性不育化育种的研究进展, 提出今后苜蓿雄性不育化育种的研究方向。为便于对该领域有兴趣的读者进一步研究和考证, 在书末附录中补充了“研究材料与方法”。

本书对牧草雄性不育系育种及杂种优势利用研究具有重要参考价值, 可作为草学专业的研究生教材, 还可供与农业和草业相关的教学、科研等研究者参考。

图书在版编目(CIP)数据

苜蓿雄性不育性的研究与利用/石凤翎等著. —北京: 科学出版社, 2012
(草业科学研究系列专著)

ISBN 978-7-03-033413-8

I. ①苜… II. ①石… ②高… ③李… III. ①紫花苜蓿—遗传育种—研究 IV. ①S551.032

中国版本图书馆CIP数据核字(2012)第013696号

责任编辑: 韩学哲 景艳霞/责任校对: 包志虹

责任印制: 钱玉芬/封面设计: 耕者设计工作室

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

新科印刷有限公司印刷

科学出版社编务公司排版制作

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2012年2月第 一 版 开本: B5 (720 × 1000)

2012年2月第一次印刷 印张: 15 3/4 插页: 12

字数: 296 000

定价: 78.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

《草业科学研究系列专著》编辑委员会

主编 云锦凤 韩国栋 王明玖

编委 (以姓氏笔画排序)

于 卓 卫智军 王明玖 王忠武 王俊杰

王桂花 云锦凤 石凤翎 付和平 乔光华

米福贵 红 梅 李 红 李造哲 李德新

张 众 武晓东 杨泽龙 金 洪 郑淑华

珊 丹 赵 钢 赵萌莉 侯建华 格根图

贾玉山 高润宏 高翠萍 韩 冰 韩国栋

秘书 高翠萍 李治国

本系列专著是内蒙古农业大学草业科学国家重点学科、草地资源教育部重点实验室、草地资源可持续利用科技创新团队、内蒙古草业研究院和内蒙古自治区草品种育繁工程技术研究中心建设项目的成果，并由其资助出版。

本书得到国家自然科学基金“改良苜蓿雄性不育系提高杂交制种产量的研究”(30160057)、“苜蓿雄性不育系杂交组合优势形成的相关基础研究”(31060321), 内蒙古自然科学基金“苜蓿雄性不育系的回交转育研究”(200607010402)、“苜蓿雄性不育系杂交种组配研究”(2010ZD09)及内蒙古科技厅社会发展领域科技计划项目(20082002)的资助。

谨以此书献给敬爱的导师吴永敷教授!

序 言

《草业科学研究系列专著》是内蒙古农业大学草业科学国家重点学科和草地资源教育部重点实验室等建设项目的重要成果之一。该重点学科和实验室源远流长，底蕴深厚。从 1958 年建立我国第一个草原专业开始，半个世纪以来，他们立足于内蒙古丰富的草地资源，经过几代人筚路蓝缕，开拓前进。《草业科学研究系列专著》就是他们在草业科学教学和研究的漫长道路上，铢积寸累的厚重成果。

这一系列专著涉及了牧草种质资源与牧草育种，牧草栽培与利用，草产品加工，草地生态系统，草地资源监测、评价和合理利用，草原啮齿类动物防治等众多领域。尤其在牧草远缘杂交、雄性不育、冰草转基因以及草地健康和服务等方面，取得了很大成就，赢得了国内外学界认可。

我国是草地资源大国，草原面积占国土面积的 41.7%，居世界第二位。草原与森林共同构成了我国生态屏障的主体。草业“事关国家生态安全和食物安全，事关资源节约和环境友好型社会建设，事关经济社会全面协调可持续发展”（杜青林，2006，《中国草业可持续发展战略》序言）。这也正是我国新兴的草业科学面临的重大历史任务。

我们欣慰地看到，《草业科学研究系列专著》由科学出版社组织出版，对这一重大历史任务作出了正面响应。这一系列专著不仅是内蒙古农业大学草业科学国家重点学科和草地资源教育部重点实验室的宝贵成果，也是我国草业学界对祖国崛起的精诚贡献。

我祝贺《草业科学研究系列专著》的出版。衷心祝愿这一系列专著与它所代表的学术集体相偕发展，不断壮大。

中国工程院院士

任继周

序于 2009 年建国 60 周年端午节

前 言

“十一五”期间，我国在农林动植物育种工程上取得了丰硕成果。农作物育种由传统选择育种向杂交育种、细胞工程育种、航天育种和基因工程育种发展，大大提高了良种培育和品种更新换代速度。通过杂种优势理论的研究与运用，培育出一大批高产、优质、多抗杂交新品种。其中杂交稻、杂交玉米和杂交大豆等的成功培育，给农业生产带来了巨大的经济效益，受到世界各国农业工作者的普遍重视。我国在作物生产中越来越多地应用杂交种 F_1 ，实现了良种良法配套，提高了良种覆盖率和单位面积产量水平。在日本 70% 以上的旱田种植着杂交种 F_1 。杂种优势利用与其他育种方法相比，具有目标性状综合改良快、增产潜力大和技术成熟的显著特点。

杂种优势利用也是牧草育种研究的主要方向，是提高牧草单产最有效的育种手段。在我国，随着养殖业的迅猛发展，优质饲草需求日益增加。因此，培育高产优质的饲草品种是牧草育种工作者一项艰巨的任务。在现代生物技术和杂种优势理论的快速发展过程中，以强优势杂交种创制为核心，有机结合现代生物技术手段，借鉴我国作物杂种优势研究与利用的方法和经验，加快培育一批突破性优良牧草新品种，对提高牧草产量、保障优质高效人工草地的建设和促进畜牧业安全发展具有重要意义。

杂种优势仅利用杂交种一代，自交则会使优势逐步衰退。生产 F_1 杂交种需要一定的条件和技术。双亲应尽可能遗传稳定、均一，对于异花授粉植物仍可能产生同株异花或异株间以及与异种(品种)杂交的种子。因此，首先要防止外源异种(品种)的花粉，双亲均不能自花受精，而是双亲交配才可完成受精；其次要求采种量大，方便经济。为实现双亲的杂交，必须预先将其中一方的小花去雄。但在实际操作中无论采用何法去雄，也不可能产生大量有效的杂交种子。因此，在一些单性花的植物或去雄容易的茄科植物中才可实现杂交 F_1 的生产。针对去雄困难、杂交采种量少等问题，则需寻找高效的杂交制种方法。

在杂种优势利用中以利用作物雄性不育性生产杂交种最为经济、有效。雄性不育性(或自交不亲和性)的利用，是目前商业化生产杂交种的主要方法。利用“三系”法生产杂交种，土地利用率低，成本高，因此利用各种形式的“两系”生产杂交种，也是值得积极探索的。杂种优势的表现程度因双亲组合品种或系统的不同而异。这种产生优势的品种或系统的能力是其各自所固有的，称为配合力。因

此,在杂种优势育种中,高配合力雄性不育系的选育是必不可少的。

雄性不育系的利用,对以籽实为利用对象的作物,还会涉及后代育性恢复等问题,但对以营养体为利用对象的苜蓿则简单得多。虽然利用温汤等物理处理或化学药剂处理可以使植物产生生理性的雄性不育,但经济有效的制种方法还是利用可遗传的雄性不育系较好。以不育系作母本,具有育性恢复基因的可育系作父本进行 F_1 的制种,可有效地获得大量杂交种 F_1 ,保证杂交种 F_1 的真实性,生产出高产、优质和高纯度杂交种 F_1 牧草,还可自动地保护品种育成者的知识产权。

苜蓿雄性不育系是杂种优势利用的基础和重要途径,杂交种开发的关键是找到细胞质雄性不育系和高异交率基因型。利用雄性不育系培育苜蓿杂交种是当今世界苜蓿育种的主攻方向。美国 L. Teweles 种子子公司 1968 年就开始利用细胞质雄性不育系生产苜蓿杂交种,后来 Dairyland 种子子公司育成 2 个苜蓿杂交种 ‘HybriForce-400’ 和 ‘HybriForce-620’,该杂交种比常规品种干草增产 8%~15%,同时其生活力强,较常规种提早收获,刈割后再生快。但直至 2001 年苜蓿杂交种才真正实现商品化。Dairyland 种子子公司苜蓿杂交种销售量已占苜蓿种子销售总量的 50% 以上,并有逐年提高的发展趋势。

我国对苜蓿雄性不育的研究落后于国外近二十年。为了加快苜蓿雄性不育系的选育与利用,充分发挥苜蓿杂交种的生产潜力,推进杂交苜蓿的商品化进程,作者总结了我国在该领域三十多年来的研究成果,并参考其他作物和牧草在雄性不育杂种优势利用中的理论与实践,撰写了《苜蓿雄性不育性的研究与利用》,旨在给相关领域的研究者一些启发和参考,并希望能在牧草育种实践中得到应用和发展。

全书共分八章,第一章由石凤翎、高翠萍编写;第二章由王勇、高翠萍、蔡丽艳编写;第三章由高翠萍、李红编写;第四章由石凤翎、李红编写;第五章由石凤翎、陈海玲编写;第六章由蔡丽艳、陈海玲、高翠萍编写;第七章由蔡丽艳、陈海玲编写;第八章由石凤翎编写;书末附录“研究材料与方法”由高翠萍、蔡丽艳编写。

在编写过程中,得到了内蒙古农业大学及生态环境学院有关领导的大力支持,作者的研究生们在资料整理、书稿校对、格式修改等方面给予了很多帮助,在此一并表示衷心的感谢。

由于作者水平有限,同时由于时间及试验条件的限制,一些试验研究不够深入,还需今后进一步研究验证,书中不足和疏漏之处在所难免,恳请读者批评指正。

作 者

2011 年 4 月于呼和浩特市

目 录

序言

前言

第一章 植物雄性不育概述	1
第一节 雄性不育生物学	1
一、雄性不育及其鉴定方法	1
二、植物雄性不育的遗传机制	6
三、雄性不育花粉败育的细胞学	9
四、雄性不育的生物化学	12
第二节 雄性不育系的选育与利用	16
一、不育系原始材料的获得方法与利用特点	16
二、不同遗传类型雄性不育系的选育	17
三、牧草雄性不育系的选育与利用概况	22
第二章 苜蓿雄性不育系育种相关基础	28
第一节 苜蓿花器发育与构造	28
一、花芽分化	28
二、花器官的构成	29
三、雌雄配子体的形成	30
第二节 开花机制和传粉受精	30
一、开花习性	30
二、小花开放机制	32
三、传粉与受精	32
第三节 传粉媒介的利用	35
一、传粉昆虫的种类与传粉行为	35
二、传粉昆虫的授粉效果	40
第四节 杂种优势利用	43
一、杂种优势及其应用	43
二、杂种优势的表现	45
三、杂种优势的遗传学基础	50
四、杂种优势预测	56
第三章 苜蓿雄性不育系的选育与繁殖	61
第一节 雄性不育系的选育	61

一、国外苜蓿雄性不育材料的选育	62
二、我国苜蓿雄性不育系选育	63
三、雄性不育株系 Ms-4 回交改良	64
第二节 苜蓿雄性不育株系回交改良后代育性鉴定	72
一、花粉染色法	72
二、活体测定法	73
三、细胞形态学鉴定方法	73
四、同工酶法	73
五、分子标记法	83
第三节 苜蓿雄性不育株的繁殖	87
一、苜蓿雄性不育系的保存方法	87
二、组织培养繁殖	87
三、大田扦插繁殖	89
第四章 苜蓿雄性不育生长发育的细胞学	91
第一节 雄蕊发育的细胞形态变化	91
一、花丝发育的细胞形态	91
二、花药发育的细胞形态	92
第二节 雌蕊发育的细胞形态变化	95
一、花柱的形态特征	95
二、柱头的细胞形态特征	96
三、胚珠和种子的生长发育过程	97
第三节 蜜腺的细胞形态结构	99
一、蜜腺的来源及其细胞形态结构	99
二、花蜜腺组织发育及其细胞内淀粉含量的变化	100
第四节 茎尖体细胞染色体数目与核型	101
一、苜蓿雄性不育株系染色体数	101
二、苜蓿雄性不育株系染色体形态与核型	101
第五章 苜蓿雄性不育株系生长发育特性与农艺性状	102
第一节 苜蓿雄性不育株系生长发育特性	102
一、形态特征	102
二、生长发育特性	102
第二节 苜蓿雄性不育株系杂交制种特性	105
一、制种产量及其影响因素	105
二、不同苜蓿雄性不育株系的制种产量	107
第三节 苜蓿雄性不育株系及其杂交组合牧草产量与品质	115
一、牧草产量性状表现	115
二、牧草产量相关性状的配合力	117

三、苜蓿雄性不育株系及其杂交组合营养品质性状与养分含量	125
第六章 苜蓿雄性不育株系及其杂交组合生理特性	128
第一节 苜蓿雄性不育株系及其杂交组合光合日变化	128
一、主要环境因子的日变化	128
二、主要光合因子的日变化	128
三、光合午休现象及其影响因素	136
四、光合速率和蒸腾速率与其生理生态因子的关系	137
第二节 苜蓿雄性不育株系及其杂交组合光合生理优势	138
一、光合特性表现	138
二、光合生理特性杂种优势	142
三、光合生理特性与牧草产量优势形成的关系	144
四、光合生理特性及其杂种优势对牧草产量优势的影响	145
第三节 苜蓿雄性不育株系及其杂交组合同工酶	146
一、过氧化物同工酶	146
二、酯酶同工酶	148
三、应用同工酶谱差异预测杂种优势	149
第七章 苜蓿雄性不育及其杂交组合基因差异表达与优势形成机理	150
第一节 苜蓿雄性不育株系及其杂交组合牧草产量优势	150
一、牧草产量优势表现	150
二、不同组合类型产量性状表现	152
三、主要产量性状的杂种优势效应及其相关性	153
第二节 基因差异表达模式与杂种优势	155
一、不同优势组合的基因差异表达模式	155
二、杂交组合与亲本在不同物候期的基因差异表达	156
三、牧草产量优势形成与基因差异表达的关系	171
第三节 差异表达基因片段的功能与优势形成	172
一、差异表达基因片段的回收与测序	172
二、差异表达基因片段的功能预测	174
三、牧草产量优势形成的分子机制	178
第八章 研究展望	180
第一节 苜蓿雄性不育株系的纯合	181
第二节 深入研究雄性不育机理, 构建人工雄性不育系	182
第三节 杂种优势群、强优势杂交组合选配与杂种优势预测	183
第四节 杂种优势固定	185
第五节 提高杂交制种产量, 降低制种成本	186
参考文献	187

附录 研究材料与方法	209
一、试验地自然概况	209
二、试验材料及小区设计	209
三、农艺性状测定方法	210
四、组织培养方法	211
五、生殖器官细胞学研究方法	212
六、遗传参数的计算方法	214
七、光合指标测定方法	215
八、同工酶测定方法	216
九、RAPD 分子标记方法	217
十、基因差异表达研究方法	220

图版

- 一、苜蓿雄性不育系选育与繁殖图版
- 二、苜蓿雄性不育系及其可育系形态学、生殖器官细胞学图版
- 三、核苷酸序列同 GenBank 中的核酸数据库比对结果

第一章 植物雄性不育概述

雄性不育现象在被子植物中普遍存在。早在 1763 年 Kolreuter 就观察到该现象，1786 年 Coleman 首次引入并且使用了雄性不育(male sterile)的概念。据 Kaul (1988)报道，在 43 科 162 属 320 种的 617 个品种或种间杂交种中发现雄性不育植株，其中包括水稻、小麦、玉米、油菜、苜蓿等重要农作物及牧草。在植物杂种优势育种中已广泛应用雄性不育系，并产生了较大的影响。

第一节 雄性不育生物学

在植物生活史中，对环境条件最为敏感的时期是花粉母细胞减数分裂时期。由于外界条件和内在因素的影响，花粉正常发育受到干扰，可能会形成无生殖能力的花粉。温度过高或过低、水分亏缺、光照不足、施肥不当、环境污染、药剂处理等均可引起植物生理失调，导致花粉败育。约有 70%的植物雄性不育材料对环境敏感，其中，有 50%是对温度敏感，有 13%受光周期影响。在花粉母细胞进行减数分裂时期，若遭遇 15℃ 以下低温，一些植物的减数分裂异常，常形成大量败育花粉；减数分裂时若干旱缺水，细胞质黏度增高，则不利于减数分裂正常进行，易产生败育花粉，引起小花退化，影响结实。

一、雄性不育及其鉴定方法

(一) 雄性不育性

植物雄性不育是指在两性花植物中，雄性器官退化、畸形或功能丧失的现象，即不能产生正常的花药、花粉或雄配子时就称为雄性不育性(male sterility)。雄性不育性可能是遗传的，也可能是非遗传的；可能是自发产生的，也可能是诱导产生的。

植物雄性不育现象的成因非常复杂，逆境、突变、疾病都可能导致雄性不育现象的发生。其表现形式有多种：雄蕊退化或变形，如雄蕊变成花瓣、花丝短缩、花药弯曲畸形等；花药异常，如花药瘦小、干缩；花药不开裂，花药内无花粉或花粉败育。雌雄同株异花，只产生雌花，雄花退化或早期脱落；雌雄花异株，只长雌花不长雄花或具高度缺陷的雄花。

(二) 雄性不育系、保持系和恢复系

1. 不育系

对于可遗传的雄性不育经过选育, 培育成不育性稳定的系统, 即雄性不育系, 简称不育系或 A 系。雄性不育系是配制杂交种 F_1 的母本, 一般要求经济性状优良, 配合力高, 雌性器官发育正常。

2. 保持系

使雄性不育系授粉后代继续保持雄性不育特性的纯合自交系为保持系, 也称为 B 系, 基因型为 $F(msms)$ 。雄性不育系是在与保持系的连续回交中产生的, 又是在与保持系的连续回交中保存的。所以, 保持系与不育系除育性不同外, 其他经济性状完全相同。这种保持系也称为“同型保持系”。只有同型保持系的性状稳定、纯合, 不育系的性状才能稳定遗传, 才能使杂交种 F_1 具有稳定的优势。

3. 恢复系

给雄性不育系授粉, 使杂交种 F_1 恢复雄性育性的纯合自交系为恢复系, 也称为 R 系。基因型为 $F(MsMs)$ 和 $S(MsMs)$ 。恢复系是杂交种 F_1 的父本, 应具有良好的综合性状和高配合力。若杂交种 F_1 以种子为产品, 则要求父本育性恢复度高而稳定。

(三) 雄性不育的类型

导致雄性不育的因素多种多样, 因此, 在分类上也因标准不同出现不同的分类系统和分类结果。根据雄性不育材料基因型的差异, 将雄性不育划分为 3 类, 即细胞质不育型、细胞核不育型和质核互作不育型, 即“三型学说”; 后来又将“三型学说”修改为“二型学说”, 即核不育型和核质互作不育型 2 类; 根据花粉、雄蕊的形态将雄性不育划分为花粉型、雄蕊型和功能型 3 类; 按世代交替把雄性不育划分为孢子体不育和配子体不育 2 种类型。

Kaul 在总结前人研究的基础上将植物雄性不育归纳为非遗传型和可遗传型 2 类。非遗传型根据不育性诱发原因被分为化学诱导、生理诱导和生态诱导 3 个类型; 可遗传型又分为表现型雄性不育和基因型雄性不育 2 类。前者是以不育性表现为基础, 后者是以不育性的遗传本质为基础(孟金陵, 1997)。

1. 根据花药发育途径和功能异常的表现不同划分

1) 结构型

结构型是指雄性器官结构异常, 如没有花药、花药畸形或雄蕊群发育和分化异常, 导致小孢子组织不能发育或小孢子发生不能正常进行。雄性不育基因的作用时间是在小孢子发生开始前的花药发育和分化过程中。环境因素对雄性不育基

因作用的影响深远，而其他基因对雄性不育基因作用的影响也较显著，此类雄性不育型占整个雄性不育的 25%。

2) 孢子发生型

雄蕊正常发育，但小孢子发生或雄配子发生出现缺陷，从而导致花粉不能产生或者产生异常、畸形，在花粉完全成熟前败育，因此导致花粉完全缺失或不具正常功能。此类型包括了减数分裂前后及整个减数分裂过程的雄性不育突变体，占整个雄性不育的 67%。

3) 功能型

能形成正常花粉，但由于某种障碍使花粉不能到达自己或外源花朵的柱头上，从而不能受精。主要原因是：花药不开裂，花粉外壁发育不完全或不具有外壁，花粉不能转移至柱头以及花粉到达柱头后不能正常受精等，此类型雄性不育较少，仅为 8%。

2. 依据雄性不育基因型划分

以基因型的差异将植物雄性不育分为 3 种类型，即细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)、细胞核雄性不育(genic male sterility, GMS)、核质互作型雄性不育(gene-cytoplasmic male sterility, GCMS)。

1) 细胞质不育型

不育性由胞质基因控制，与细胞核无关。其特点是用所有可育系给不育系授粉，均能保持不育株的不育性，即找不到相应的能使其育性恢复的恢复源。这种不育类型的雄性不育性是由一种特定的雄性不育细胞质(S)所控制。因此，在一种具有细胞质雄性不育性的植物中至少有正常可育细胞质(N)和不育细胞质(S)两种类型。无论核基因育性如何，具有 S 细胞质的植株都表现雄性不育，具有 N 细胞质的植株都表现雄性可育，即核基因型对 S 细胞质的影响可以忽略，雄性不育性是母性遗传的。

随着与细胞质不育基因特异作用的核基因的发现，证实了细胞质雄性不育仅仅是核质互作雄性不育的一个短暂的过程。因此，从不育性的基因型组成角度上划分，植物雄性不育有核质互作雄性不育和细胞核雄性不育两种类型。

2) 细胞核不育型

不育性由核基因控制，其作用不受细胞质类型的影响，遗传和表达完全遵循孟德尔遗传规律。这种雄性不育性很少有正反交效应。根据不育基因与对应的可育基因之间的显隐性关系，又有隐性核不育和显性核不育。其中隐性核不育对环境敏感，显性核不育对环境不敏感。GMS 的遗传较简单，一般受 1 对或几对核基因控制，与细胞质基因无关。但多数情况下，核不育性由 1 对隐性基因(*msms*)控制。也有少数为显性基因控制，如番茄花粉败育基因 *Ge*、大白菜的雄性不育基因

Sp 等。有时核雄性不育也受 2 对基因互作或复等位基因控制。各国学者采用经典遗传学和分子标记的方法, 已研究了水稻、玉米、小麦等作物的核不育基因的位置、数目和效应, 并克隆了核不育基因。

对于 1 对隐性基因控制的不育性, 不育基因 *ms*, 不育株基因型 *msms*; 可育基因 *Ms*, 可育株基因型 *MsMs*(纯合)、*Msms*(杂合), 均符合孟德尔遗传规律。*msms*×*MsMs*→*Msms*(可育); *MsMs*×*Msms*→*MsMs*+*Msms*(全可育); 而 *msms*×*Msms*→*Msms*(可育)+*msms*(不育), 该群体不育株与可育株各占 50%, 称为“两用系”。杂交种 F_1 制种时, 需拔除 50% 的可育株。

对于 1 对显性基因控制的不育性, 不育基因 *Ms*, 杂合不育株基因型 *Msms*, 纯合不育株基因型 *MsMs*, 其在实践中无法获得。用不育株与可育株(*msms*)测交, 同样可以获得 50% 的雄性不育株和 50% 的可育株, 而育成两用系。*Msms*(不育)×*msms*(可育)→*Msms*(不育)+*msms*(可育), 该系统不育株与可育株各占 50%, 也为“两用系”。

多个核基因控制的不育性, 有两种假说, 即核基因互作假说和复等位基因假说。核基因互作假说(张书芳等, 1990)认为, 不育性由 2 对核基因控制, 显性核不育基因 *Ms* 对隐性可育基因 *ms* 为完全显性, 显性抑制基因 *I* 对非抑制基因 *i* 为完全显性, 不育株有 *MsMsii* 和 *Msmsii* 两种基因型, 可育株有 *MsMsII*、*MsMsIi*、*MsmsII*、*MsmsIi*、*msmsII*、*msmsIi*、*msmsii* 7 种基因型。复等位基因假说认为, 在控制育性的位点上有 *Msf*, *Ms* 和 *ms* 3 个复等位基因, *Msf* 为显性恢复基因, *Ms* 为显性不育基因, *ms* 为隐性可育基因, 三者之间的显隐性关系为 *Msf*>*Ms*>*ms*。不育株有 *MsMs* 和 *Msms* 两种基因型, 可育株有 *MsfMsf*, *MsfMs*, *Msfms* 和 *msms* 4 种基因型。利用多个核基因控制的雄性不育性中的一些育性组合可育成全不育系。例如, 用结球白菜甲型两用系的不育株作母本和乙型两用系的可育株杂交, 其中某些组合可获得 100% 的不育株率。

3) 核质互作不育型

不育性由核基因(*ms*)和细胞质基因(*S*)共同控制。核、质基因具有较严格的互作专效性。细胞质基因组的研究表明, CMS 是由于线粒体基因组的重排导致的, 不育基因主要存在于线粒体上, 并克隆了 *T-urf13* 和 *pc* 不育基因。*S* 为细胞质中的不育因子, *F* 为细胞质中正常的可育因子。已发现或人工转育的核质型雄性不育植物有洋葱、萝卜、胡萝卜、辣(甜)椒、大白菜和菜薹等。不育基因型 *S(msms)*, 可育基因型 *F(MsMs)*、*F(Msms)*、*F(msms)*、*S(MsMs)*、*S(Msms)*, 那么 *S(msms)*×*F(msms)*→*S(msms)*即 *F(msms)*为雄性不育保持系; *S(msms)*×*F(MsMs)*或 *S(MsMs)*→*S(Msms)*即 *F(MsMs)*、*S(MsMs)*为雄性不育恢复系。

(四) 雄性不育性的鉴定方法

雄性不育性的鉴定是雄性不育系利用过程中的重要环节。通常有 5 种方法,即田间观测法、花粉染色法、花粉离体培养法、活体测定法和细胞学鉴定法。

1. 田间观测法

雄性不育植株与雄性可育植株之间形态差异便于观察,因此,为田间鉴别和选择提供了一种简便、实用的方法,在油菜、棉花等许多作物的育性鉴定工作中应用。苜蓿雄性不育性的鉴定主要根据不育性相关的形态特征,如花瓣颜色、大小,花粉数量,植株形态等来判断雄性不育性。但是,田间观测法是一种经验方法,比较粗放,应根据每一种植物或每一种不育类型,确定与雄性不育性相关的性状。

2. 花粉染色法

根据染色剂与一定物质发生化学或生物化学反应使可育花粉与不育花粉之间形成差别来鉴别雄性育性。依据染色原理不同,染色有许多具体方法。

I_2 -KI 染色法,适用于禾谷类作物等富含淀粉一类的花粉育性鉴别。依据碘遇淀粉变蓝这一原理,因不育花粉不积累或少量积累淀粉,用 I_2 -KI 染色不着色或着色较浅。

氯化三苯基四氮唑(TTC)法,无色的 TTC 在生物体脱氢酶催化下变成红色的 TTCH,将有活力的花粉染成红色,无活力的花粉不染色。

取有代表性的视野统计不育花粉与可育花粉的数目,计算花粉可育率或花粉败育率。染色是化学或生物化学反应的结果,因此应特别注意满足反应所需的条件,如是否有底物(取决于取材时间和活性)、染色需要的时间、染色剂浓度、反应温度等。染色法可定量估测花粉育性(以可染花粉粒百分率反映),但可能与花粉真正活力有偏差。

3. 花粉离体培养法

将花粉撒在培养基上培养一段时间,如将花粉置于含 1% (m/V) 琼脂、20% (m/V) 蔗糖和 20mg/L 硼酸的培养基上,在 20℃ 下培养 30~40min,然后用显微镜统计萌发的花粉率,测定花粉活力。选择适宜的培养基是应用这类方法准确测定花粉活力的关键(盖钧镒等,1980)。

4. 活体测定法

直接在植株上进行试验,包括自交、用不育系(株)花粉给雄性可育株(去雄或不去雄)授粉和自然结实 3 种方法。活体测定法是最有实际生产意义的方法。自交结实率是指植株套袋后的结实率,可用于指导不育系的繁殖和利用;自然结实率是指植株在田间自然条件下的结实性;而用不育系(株)花粉给可育株授粉,可研