

四个带有标记性状的棉花 CMS 恢复系的主要农艺与光合生理特性

刘英新¹, 王学德^{1*}, 倪密¹, 文国吉¹, 赵亦静¹, 华水金², 袁淑娜¹, 邵明彦¹

(1. 浙江大学农业与生物技术学院农学系, 浙江 杭州 310029; 2. 浙江省农业科学院作核所, 浙江 杭州 310021)

摘要: 为了克服细胞质雄性不育恢复系恢复基因鉴定难和保纯难的问题, 选育了丛生铃恢复系、鸡脚叶恢复系、海岛棉恢复系和无腺体恢复系。对这 4 个标记恢复系进行了产量、品质和光合生理特性的比较。结果表明, 丛生铃恢复系的产量、品质和光合生理特性总体表现最优; 鸡脚叶恢复系具有早熟、通透好、烂铃少和纤维品质较好的特点; 海岛棉恢复系的纤维品质最优, 铃数最多; 无腺体恢复系除了棉副产品综合利用的优势外, 在光合生理特性、产量和品质性状上表现仅次于丛生铃恢复系。4 个恢复系的标记性状明显, 在三系杂交棉育种、制种和繁种中具有良好的利用价值。

关键词: 棉花; 标记性状; 恢复系; 杂交棉制种

中图分类号: S562.01 **文献标识码:** A

文章编号: 1002-7807(2010)05-0448-06

Evaluation of Cotton CMS Restorers with Different Indicator Traits for Yield, Quality and Photosynthetic Physiological Characteristics

LIU Ying-xin¹, WANG Xue-de^{1*}, NI Mi¹, WEN Guo-ji¹, ZHAO Yi-jing¹, HUA Shui-jin², YUAN Shu-na¹, SHAO Ming-yan¹

(1. Agronomy Department, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. Institute for Crop and Use of Nuclear Technologies, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: Four cotton CMS (cytoplasmic male sterility) restorers with three indicator traits, okra leaf, glandless, and clustered boll, were developed to overcome the difficulties in determination of restorer gene and preservation of pure state in hybrid seed production. Three upland cotton restorers and one sea island cotton restorer were used in this research. Their yield, quality and photosynthetic physiological characteristics were measured and evaluated in cotton hybrid production at seedling, squaring, early flowering, middle flowering, boll opening, and boll harvesting stage. Compared to the three upland cotton restorers, there were the best fiber quality and the highest boll numbers per plant in the sea island cotton restorer with okra leaf indicator. Among the three upland cotton restorers, the restorer with clustered boll indicator had the highest boll weight and lint yield up to 790.32 kg·hm⁻², which were related to higher net photosynthetic rate and carbohydrate contents. And, prematurity and light permeation, which resulted in better lint quality, appeared well in the restorer with okra leaf indicator. For the restorer with glandless indicator, its appearance in yield and quality was second; moreover, its seeds were free of gossypol and suitable for human consumption. The indicator traits of the four restorers were very obvious, and had a favorable use value in preservation of pure state in hybrid seed production and parent seed reproduction. Taking example for the restorer with okra leaf indicator, we were able to distinguish the hybrid plants from selfed plants according to okra leaf indicator in the hybrid seed production.

Key words: cotton, indicator, CMS restorer, hybrid seed production

棉花具有明显的杂种优势, 利用杂种优势可以显著提高棉花的产量和品质。利用棉花细胞质

雄性不育系、保持系和恢复系的“三系”配套系统, 通过蜜蜂等媒介传粉进行棉花杂交种子的生

收稿日期: 2010-02-20

作者简介: 刘英新(1983-), 女, 在读硕士研究生, liuyx5@163.com; * 通讯作者, xdwang@zju.edu.cn

基金项目: 农业部转基因生物新品种培育重大专项 (2008ZX08005-005-2, 2009ZX08009-061B), 浙江省重点科技项目 (2008C22087)

产,可省去人工“去雄”和“授粉”,从而推动棉花杂种优势的利用。与棉花核不育的特性不同,棉花细胞质雄性不育具有易保持、难恢复的特点。这一特点使棉花细胞质雄性不育的保持系容易找到(一般的陆地棉和海岛棉品种(系)均可作保持系),而它的恢复系则较难从现有的棉花中找到。因此,三系杂交棉育种的成败在很大程度上取决于优良恢复系的选育。现有的棉花细胞质雄性不育系、保持系和恢复系,除了花药性状有明显变异外,其它表型性状均无明显差异。由于恢复基因只有通过不育系与恢复系杂交在杂种 F₁的花药表型上才能感知到它的存在,因此,判断恢复基因是否存在于恢复系中,是否处纯合态,是三系杂交棉育种、亲本繁殖和杂种制种时需要面对和解决的问题。为此,我们选用了无腺体、鸡脚叶、丛生铃等 3 种形态性状来标记恢复系,育成了 4 个具标记的恢复系(无腺体恢复系、鸡脚叶恢复系、丛生铃恢复系和海岛棉恢复系)。一方面,在恢复系繁殖时可根据标记性状去杂保纯,乃至省略自交过程;另一方面,在杂交棉生产过程中根据标记性状的有无,可以区分真假杂种。因三系杂交棉的杂种优势与恢复系密切相关,本文还对不同标记的恢复系进行了产量和品质的比较分析,并就它们的光合生理特性及其对产量和品质的影响进行了研究,旨在为棉花细胞质雄性不育恢复系的选育及杂种优势的利用提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验以无腺体恢复系、鸡脚叶恢复系、海岛棉恢复系(叶型为鸡脚叶)、丛生铃恢复系和浙大强恢(对照)为材料,进行 3 次重复的随机区组试验。于苗期(移栽 20 d)、蕾期(移栽 40 d)、初花期(移栽后 55 d)、花铃期(移栽 75 d)、吐絮期(移栽 95 d)和收获期(移栽后 110 d)进行取样。

1.2 测定项目和方法

1.2.1 纤维产量和品质测定。在棉花生育后期调查单株铃数,每个小区收取 50 铃,考察铃重。子棉分 3 次收获,其产量为 3 次收获的总和。纤维品质由农业部棉花品质监督检验测试中心测定。

1.2.2 叶片净光合速率的测定。使用 Li-6400 便携式光合测定仪进行测定。光照度 1300 lx,每小区随机抽取 3 株,选择完全展开的功能叶片测净光合速率,然后求得 3 株测定值的平均数。

1.2.3 叶片叶绿素含量的测定。参照文献[1]的方法,取倒 4 叶,剪碎,取 0.1~0.2 g,用丙酮、无水乙醇、水以体积比为 4.5:4.5:1 的混合液提取叶绿素,用紫外-可见分光光度计在 620 nm 下测定。

1.2.4 叶片碳水化合物含量测定。称取 0.2~0.3 g 棉叶样品,在液氮中磨碎后,加入 80% 的乙醇 3 mL,在 80℃水浴中提取 30 min,离心收集上清液,此过程重复 2 次。用少量的活性炭在 70℃脱色,过滤,定容到 10 mL。提取液中淀粉、蔗糖和葡萄糖的测定参照文献[2]的方法。

1.3 数据处理

本文数据用 Excel 和 SAS 分析软件处理。

2 结果与分析

2.1 标记恢复系的产量和品质表现

2.1.1 产量性状的表现。4 个标记恢复系在产量性状上的表现如表 1。在铃重上,对照恢复系(浙大强恢)最大,鸡脚叶恢复系和丛生铃恢复系次之,无腺体恢复系较小,海岛棉恢复系最小。鸡脚叶恢复系的单株铃数最少,虽然鸡脚叶的叶片性状使植株的透光性较好,减少了烂铃,但是可能因为叶面积的减少和光能利用率相对减弱,或受成熟早的影响,最终造成单株铃数的减少。丛生铃恢复系和无腺体恢复系的衣分比对照高,但差异不显著;鸡脚叶恢复系和海岛棉恢复系的衣分比对照低,且差异显著,其中,海岛棉恢复系的衣分最低。子棉产量,从总体上看,4 个标记恢复系都比对照低,但无腺体恢复系和丛生铃恢复系与对照差异不显著。无腺体恢复系和丛生铃恢复系的皮棉产量虽比对照低,但差异不显著。该结果表明,无腺体恢复系和丛生铃恢复系的产量性状相对较好。

2.1.2 品质性状的表现。在品质性状方面,4 个标记恢复系与对照差异显著(表 2)。4 个标记恢复系的平均纤维长度都比对照要长,其中海岛棉恢复系纤维最长,其次是丛生铃恢复系和鸡脚叶

表 1 不同标记恢复系的产量性状比较

Table 1 Comparison of yield and yield components among restorers with different indicator traits

标记恢复系	铃重/g	单株铃数/个	衣分/%	子棉产量/(kg·hm ²)	皮棉产量/(kg·hm ²)
鸡脚叶恢复系	4.8±0.03 b	10.97±0.47 c	34.98±1.38 b	1571.68±57.72 b	549.97±17.08 bc
无腺体恢复系	4.25±0.02 c	15.13±0.96 abc	40.25±0.79 a	1928.69±75.86 ab	776.15±11.89 ab
海岛棉恢复系	2.74±0.08 d	19.27±0.88 a	31.74±1.27 c	1582.41±16.53 b	500.05±15.28 c
丛生铃恢复系	4.99±0.09 b	13.03±0.97 bc	40.44±0.66 a	1955.05±87.18 ab	790.32±7.29 ab
浙大强恢(CK)	5.24±0.11 a	16.03±0.96 ab	39.82±1.38 a	2511.89±61.85 a	1005.52±29.18 a

注:同一列数字后面不同字母表示差异显著性达 5% 水平。

恢复系,并与对照的差异达显著水平。就纤维整齐度而言,海岛棉恢复系和鸡脚叶恢复系比对照整齐,无腺体恢复系和丛生铃恢复系与对照相比较差,但差异不显著。麦克隆值为棉花纤维细度和成熟度的综合指标,在 3.7~4.2 之间为最优级。试验结果表明,4 个标记恢复系的纤维细度和成

熟度都比对照好,其中海岛棉恢复系和丛生铃恢复系达最优级别。4 个标记恢复系的比强度都比对照高,海岛棉恢复系和丛生铃恢复系与对照的差异达显著水平。综上所述,4 个标记恢复系具有优良的纤维品质,从而增大了它们产生杂种优势的可能性。

表 2 不同标记恢复系的品质性状比较

Table 2 Comparison of quality properties among restorers with different indicator traits

标记恢复系	纤维长度/mm	整齐度指数/%	麦克隆值	伸长率/%	断裂比强度/(cN·tex ⁻¹)
鸡脚叶恢复系	29.21±0.26 bc	85.8±0.85 ab	4.41±0.17 ab	6.27±0.06 b	28.43±0.95 bc
无腺体恢复系	28.88±0.74 cd	84.1±0.53 c	4.21±0.08 b	6.17±0.06 c	28.1±1.47 bc
海岛棉恢复系	34.01±0.93 a	86.53±0.35 a	4.18±0.25 bc	6.5±0.00 a	38.17±0.50 a
丛生铃恢复系	30.44±1.06 b	84.23±0.57 c	3.88±0.11 c	6.27±0.06 b	30.4±1.83 b
浙大强恢(CK)	27.43±0.14 d	85±0.95 bc	4.69±0.11 a	6.23±0.06 bc	27.3±0.66 c

注:同一列数字后面不同小写字母表示差异显著性达 5% 水平。

2.2 叶片净光合速率的表现

农作物产量的形成依赖于叶片的光合作用。图 1 表明,各材料的净光合速率(P_n, net photosynthetic rate)随着植株的生长逐渐增加,到花铃期达最高值,收获期降到最低值。从苗期到花铃期,4 个标记恢复系中,丛生铃恢复系的净光合速率最高,但比对照低。从花铃期到吐絮期,鸡脚叶恢复系净光合速率最低,丛生铃恢复系的下降最为缓慢。在收获期,4 个标记恢复系的净光合速率都比对照高;其中海岛棉恢复系此时期净光合速率最高,这和它有较长的生育期相吻合。而丛生铃恢复系的净光合速率也比较高,这可能是它形成较高的纤维产量和较好的纤维品质的原因。经相关分析,4 个标记恢复系的净光合速率与皮棉产量间存在显著的正相关(0.5997*),与麦克隆值间存在显著的负相关(-0.6660*),也佐证了上述结果。

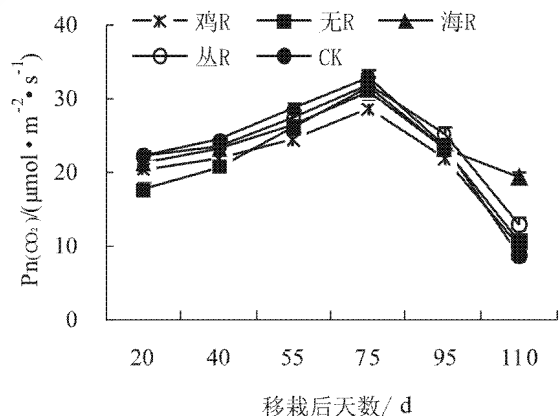
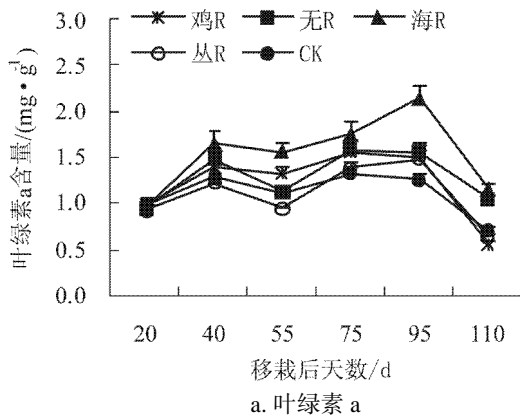


图 1 不同标记恢复系不同生育时期叶片 P_n 的变化
Fig. 1 Dynamics of P_n in leaves at different developmental stages among restorers with different indicator traits

2.3 叶片叶绿素含量的表现

叶绿素是绿色植物叶绿体内的主要光合色素。绝大部分的叶绿素 a 和全部的叶绿素 b 分子具有吸收和传递光能的作用。图 2a 表明,4 个标

记恢复系叶绿素 a 含量的变化相似,含量从苗期开始缓慢增加,到了蕾期有所减少,初花期开始上升,花铃期达最大值,吐絮期后又快速降低。海岛棉恢复系在整个生育期中叶绿素 a 的含量最高,而且最高值出现在吐絮期,这与它的最长生



育期一致。叶绿素 b 的含量变化(图 2b)与叶绿素 a 变化相似。值得关注的是,叶绿素含量与单株铃数(0.65^{*})、纤维比强度(0.5889^{*})、整齐度(0.7103^{**})存在显著正相关,但与皮棉产量(-0.6720^{*})呈显著负相关,这在海岛棉恢复系中表现最为明显。

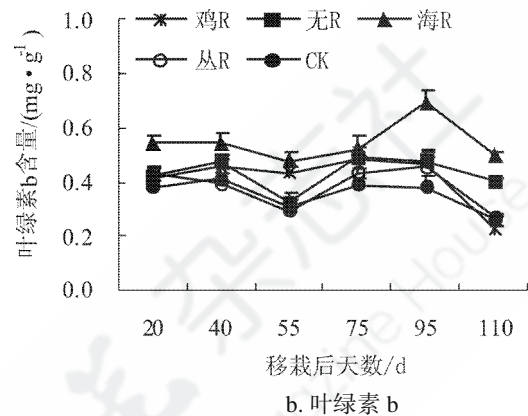


图 2 不同标记恢复系不同生育时期叶片叶绿素 a 和叶绿素 b 含量的变化

Fig. 2 Dynamics of leaf chlorophyll a and chlorophyll b content at different developmental stages among restorers with different indicator traits

2.4 叶片碳水化合物含量的表现

2.4.1 淀粉。淀粉是光合产物的重要贮藏物。图 3a 表明,在植株的整个发育时期,不同材料淀粉含量的最低值都出现在蕾期,这时棉花光合产物大多用于营养生长和生殖生长,致使细胞内淀粉积累不多。花铃期淀粉的含量仍相对较低,可能是因为不断增多增大的库加速了同化物的转运。总体上,4 个标记恢复系在各个生育时期的淀粉含量都要比对照高,尤其是蕾期、吐絮期和收获期,这可能是因为 4 个标记恢复系的生育期较对照长,后期叶片衰老较慢而导致的。相关分析还表明,叶片淀粉含量的提高对纤维品质改良有促进作用,尤其与纤维长度、比强度、整齐度存在极显著的正相关,相关系数分别为 0.7746^{**}、0.7685^{**}和 0.7863^{**}。

2.4.2 蔗糖和葡萄糖。蔗糖是光合同化物运输的主要形式。蔗糖含量的变化趋势如图 3b 所示,从苗期到蕾期迅速下降,之后升高;到花铃期随着植株的衰老,叶片的蔗糖又逐渐下降。蔗糖含量在苗期时最高。苗期和初花期,4 个标记恢复系的蔗糖含量低于对照;而蕾期和花铃期,4 个标记恢复系的蔗糖含量均高于对照,且海岛棉恢复系的蔗糖含量最高。

4 个标记恢复系的葡萄糖含量的变化趋势与

对照相似(图 3c)。整个生育期,海岛棉恢复系和丛生铃恢复系的葡萄糖的含量都比较高。蕾期 4 个标记恢复系的葡萄糖含量都比对照高,为以后旺盛的生殖生长提供了更多的能量准备。在初花期和花铃期,4 个标记恢复系都保持了较低值,这和蕾期的高含量葡萄糖相对应。到吐絮期,葡萄糖含量又上升到一个高值,这可能是由于该阶段叶片自身所需能量较少所致。收获期时,光合产物转化为葡萄糖的分量减少,最终导致了葡萄糖含量的降低。经相关分析,类似于叶片淀粉,叶片蔗糖和葡萄糖含量的提高对纤维长度、强度和整齐度有明显的促进作用。

2.5 恢复系的标记性状在杂交棉制种中的应用

4 个恢复系的标记性状明显(图 4),在三系杂交棉育种、制种和繁种中具有良好的利用价值。鸡脚叶为部分显性性状,无腺体和丛生铃为隐性性状,具有这些标记性状的恢复系一旦被其它棉花花粉侵入(生物学混杂)就很容易识别出杂株。鸡脚叶和无腺体可以在苗期识别,丛生铃可以在花铃期识别。例如:在鸡脚叶恢复系繁殖田中若出现中鸡脚叶植株,即表明它已被其它花粉侵入,这时只要拔除中鸡脚叶植株(杂株)就保持了恢复系的纯度,也省去了恢复系常需人工自交的麻烦。又如:在制种田,正常叶不育系种子与

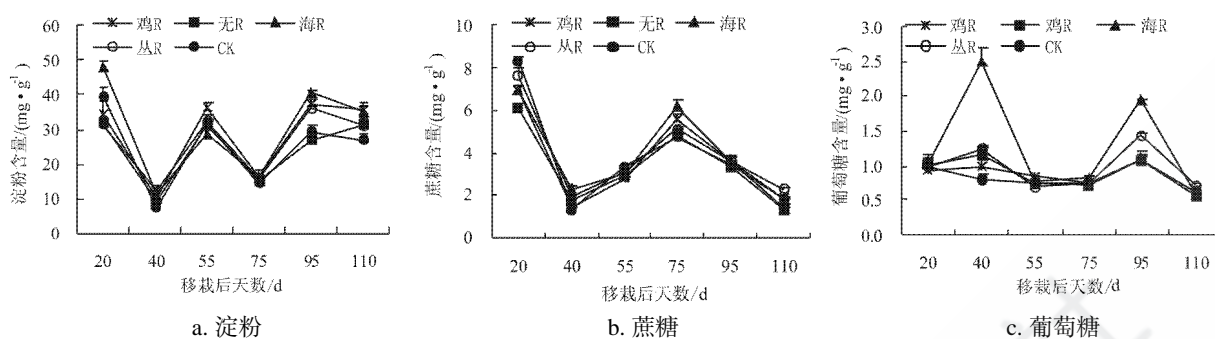


图3 不同标记恢复系不同生育时期叶片碳水化合物含量的变化

Fig. 3 Dynamics of leaf carbohydrate concentrations at different developmental stages among restorers with different indicator traits

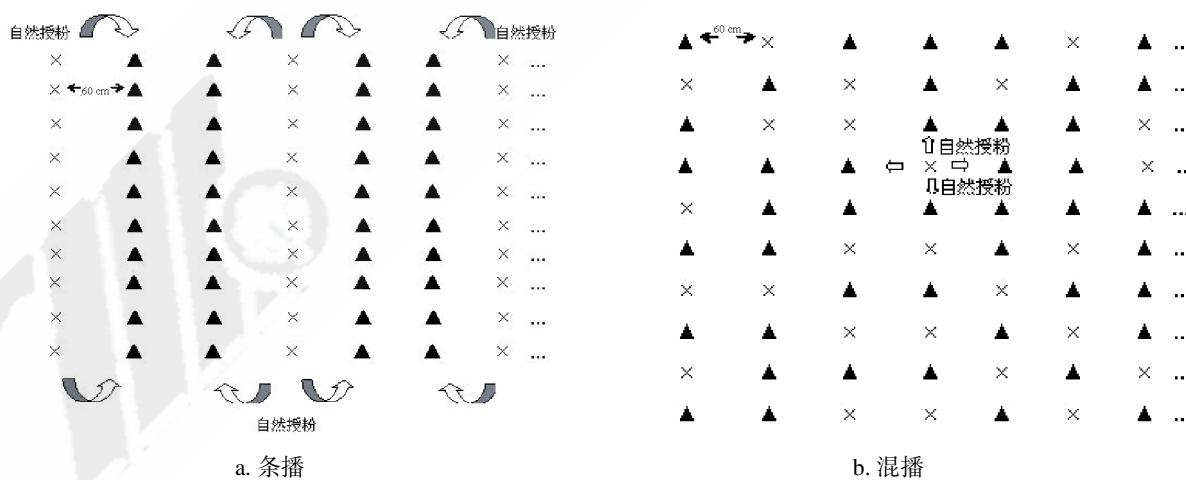


图4 具有鸡脚叶(a)、无腺体(b)和丛生铃(c)标记性状的恢复系

Fig. 4 Restorers with indicator traits of okra leaf, glandless, and cluster boll

鸡脚叶恢复系种子按适当比例 (如 2 : 1 至 5 : 1) 条播(图 5 a)或混播(图 5 b),借助自然媒介(如蜜蜂)传粉,可省略人工去雄和人工授粉。收获时,可利用标记性状区分不育系上的杂种种子和

恢复系上的自交种子,或在结束授粉后根据标记性状拔除恢复系植株,使不育系植株生长发育有更大的空间。



注: ▲为不育系, x为标记恢复系;空心箭头为传粉方向;行间距为 60 cm;不育系和恢复系按 2 : 1 播种(根据环境传粉媒介的多寡,可以在 2 : 1 到 5 : 1 之间调整)。

图5 条播(a)和混播(b)种植的制种田间示意图

Fig. 5 Row sowing and mixed sowing fashions for hybrid seed production

3 讨论

光合作用是棉花生长发育和产量品质形成的基础^[3],光合效率的高低影响着棉花产量的高

低和品质的好坏^[4]。本试验也得出,不同的光合生理指标与产量和品质在不同的水平上存在显著的相关。如在 4 个标记恢复系中,丛生铃恢复系

表现出较高的净光合速率、最好的产量性状(子棉、皮棉和衣分)和较好的品质性状(麦克隆值)。

棉花鸡脚叶性状有多效性,主要表现为早熟、棉田通风透光好、烂铃少、叶面积指数低、冠层叶 CO₂ 吸收率高和农药喷施穿透性好等特点^[5]。许多研究者认为,较高的叶绿素含量有时可以导致较高的光合效率^[6]。与正常叶相比,鸡脚叶有较高的叶绿素含量^[7]。鸡脚叶恢复系的叶绿素含量较高,但净光合速率与正常叶相比却较低。此结果和朱伟^[8]研究结果相符,但和上面较高的叶绿素就会有较高的光合速率结果不符,可能是鸡脚叶自身特性决定的。

在 4 个标记性状恢复系中,无腺体恢复系具有较好的产量性状,如较多的铃,较高的衣分、子棉产量和皮棉产量。但无腺体恢复系的品质性状除麦克隆值和断裂强度表现较好外,其它表现不是很好。海岛棉恢复系的生育期长,叶绿素含量最高,纤维品质为最优,但净光合速率却不是最高。Bauer 等^[9]研究表明,较长的生育期常伴随落叶时间的推迟,碳的有效利用可以促进棉铃的成熟,从而改善纤维品质。但 Bynum 认为叶片延迟脱落对品质因子影响很小^[10]。因此,对于叶片的延迟脱落能否改善纤维品质还有待进一步的研究。

本试验光合生理特性与产量品质的相关分析得出,叶片叶绿素含量和碳水化合物的含量与纤维品质达显著或极显著的正相关,说明叶片的光合产物极大地影响着纤维品质的形成。叶片碳水化合物含量是旺盛的碳代谢的基础,它反映了碳水化合物合成、代谢和运输三者之间的平衡^[11]。在棉花植株中,叶片中光合作用产生的碳水化合物以蔗糖的形式运输到棉铃,最终到达种子和纤维细胞^[10]。无腺体恢复系的蔗糖含量比较低,可能是导致其纤维品质较差的原因之一;鸡脚叶恢复系虽然净光合速率不是很高,但却具有较多的光合产物(淀粉和蔗糖),说明它有增加产量和形成高品质的物质基础;鸡脚叶恢复系在花铃期葡萄糖含量较低,从而导致后期的营养生长较弱,棉铃脱落严重,最终影响子棉产量。

总之,4 个标记性状恢复系各有优缺点,综合

考虑各个相关因素,找出每个品系或品种产量和品质好坏的关键因素,从而采取相应措施,即可获得高产优质的标记恢复系。这样既能解决恢复系基因鉴定难和保纯难的问题,又能推动细胞质雄性不育三系杂交棉在生产上的应用。

参考文献:

- [1] LICHTENTHALER H K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes[J]. *Methods in Enzymology*, 1987, 148: 350-382.
- [2] HENDRIX D L. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues[J]. *Crop Science*, 1993, 33: 1306-1311.
- [3] CORNISH K, Radin J W, Turcotte E L, et al. Enhanced photosynthesis and stomatal conductance of pima cotton (*Gossypium barbadense* L.) bred for increased yield[J]. *Plant Physiology*, 1991, 97:484-489.
- [4] REDDY K R, Zhao Du-li. Interactive effects of elevated CO₂ and potassium deficiency on photosynthesis, growth, and biomass partitioning of cotton[J]. *Field Crops Research*, 2005, 94: 201-213.
- [5] HEITHOLT J J, Meredith W R Jr. Yield, flowering and leaf area index of okra-leaf and normal-leaf cotton isolines[J]. *Crop Science*, 1998, 38: 643-648.
- [6] MSRIKO K H, Satoh K, Katoh S. Relationship between photosynthesis and chlorophyll content during leaf senescence of rice seedlings[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1987, 28: 1321-1329.
- [7] PETTIGREW W T, Heitholt J J, Vaughn K C. Gas exchange differences and comparative anatomy among cotton leaf-type isolines [J]. *Crop Science*, 1993,33:1295-1299.
- [8] 朱 伟. 鸡脚叶标记的三系杂交棉杂种优势机理的研究[D]. 杭州:浙江大学,2006.
ZHU Wei. Studies on heterosis mechanism of CMS-based hybrid cotton (*Gossypium hirsutum* L.) with okra leaf indicator [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006.
- [9] BAUER P J, Frederick J R, Bradow J M, et al. Canopy photosynthesis and fiber properties of normal- and late-planted cotton[J]. *Agronomy Journal*, 2000, 92: 518-523.
- [10] BYNUM J B, Cothren J T. Indicators of last effective boll population and harvest aid timing in cotton[J]. *Agronomy Journal*, 2008, 100: 1106-1111.
- [11] HUA Shui-jin, Yuan Shu-na, Shamsi I H, et al. A comparison of three isolines of cotton differing in fiber color for yield, quality, and photosynthesis[J]. *Crop Science*, 2009, 49: 983-989. ●