

甜菜细胞质雄性不育相关研究 进展

韩平安^{1,2}, 修志君^{1,2}, 唐宽刚^{1,2}, 常悦^{1,2}, 石海波^{1,2}, 梁亚晖^{1,2}, 刘华君³,
孙瑞芬^{1,2*}, 李晓东^{1,2*}

¹内蒙古自治区农牧业科学院, 内蒙古 呼和浩特

²内蒙古自治区甜菜品种遗传改良与种质创制重点实验室, 内蒙古 呼和浩特

³新疆农业科学院经济作物研究所, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2024年12月3日; 录用日期: 2025年1月7日; 发布日期: 2025年1月17日

摘要

甜菜是世界上重要的经济作物之一, 也是世界两大糖料作物之一。自1939年糖甜菜雄性不育现象发现及1942年和1945年有关甜菜细胞质雄性不育先后报道以来, 利用雄性不育系制种成为甜菜育种家极其关注的问题。为此, 各国陆续开展了甜菜细胞质雄性不育机理、不育系选育及利用等方面的研究并取得了一定的成果。针对甜菜细胞质雄性不育类型、表型性状、遗传学机制、生理生化特性及甜菜细胞质雄性不育利用几方面的研究进展进行综述, 对于更好地选育甜菜细胞质雄性不育系并利用其配制优质高产杂交组合、科学合理利用甜菜种质资源具有深远影响。

关键词

甜菜, 细胞质雄性不育, 研究进展

Research Progress on Cytoplasmic Male Sterility in Sugar Beet

Ping'an Han^{1,2}, Zhijun Xiu^{1,2}, Kuangang Tang^{1,2}, Yue Chang^{1,2}, Haibo Shi^{1,2}, Yahui Liang^{1,2},
Huajun Liu³, Ruifen Sun^{1,2*}, Xiaodong Li^{1,2*}

¹Inner Mongolia Academy of Agriculture and Animal Husbandry Sciences, Huhhot Inner Mongolia

²Inner Mongolia Key Laboratory of Sugar Beet Genetics and Germplasm Enhancement, Huhhot Inner Mongolia

³Institute of Economic Crops, Xinjiang Academy of Agricultural Science, Urumqi Xinjiang

Received: Dec. 3rd, 2024; accepted: Jan. 7th, 2025; published: Jan. 17th, 2025

*通讯作者。

文章引用: 韩平安, 修志君, 唐宽刚, 常悦, 石海波, 梁亚晖, 刘华君, 孙瑞芬, 李晓东. 甜菜细胞质雄性不育相关研究进展[J]. 植物学研究, 2025, 14(1): 10-20. DOI: 10.12677/br.2025.141002

Abstract

Sugar beet is one of the world's important cash crops and one of the world's two major sugar crops. Since the discovery of male sterility in sugar beet in 1939 and the reports of cytoplasmic male sterility in sugar beet in 1942 and 1945, the use of male sterility lines to produce seeds has become a problem of great concern to sugar beet breeders. Because of the above content, many countries have carried out research on the mechanism of cytoplasmic male sterility in sugar beet, as well as the selection and utilization of sterility lines, and have achieved certain results. The research progress in the types, phenotypic characters, genetic mechanism, physiological and biochemical characteristics and utilization of cytoplasmic male sterility in beet was reviewed. It is of great significance for better breeding of cytoplasmic male sterility lines in beet, preparation of high quality and high yield hybrid combinations and scientific and rational utilization of beet germplasm resources.

Keywords

Sugar Beets, Cytoplasmic Male Sterility, Research Progress

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

甜菜(*Beta vulgaris* L.)属于苋科(Amaranthaceae),它不仅是重要的经济作物,还是主要的糖源植物之一,其生产的糖量占据了全球糖产量的大约三分之一[1]。在中国,甜菜的地位仅次于棉花和食用油料作物,在经济作物中占有重要位置,主要分布于华北、西北及东北等适宜生长的生态区[2]。此外,甜菜制糖过程中产生的副产品也展现出较高的再利用价值[3]-[5]。除了作为提取糖分的主要原料外,甜菜还可以应用于食品加工与酿造行业,直接转化为动物饲料,甚至被用作能源材料来生产氢气和乙醇[6][7],显示出了多方面的实用价值。

甜菜是一种二年生的草本植物,其根部呈现圆锥形或纺锤形,并富含汁液。该植物的基生叶片具有较长的叶柄,叶片呈矩圆形,表面凹凸不平并略带光泽。作为一种关键性的经济作物,在中国,甜菜也是主要糖料来源之一。根据用途不同,甜菜可以被分类为四类:用于制糖的甜菜(Sugar beet)、食用根茎的甜菜(Root beet)、作为蔬菜使用的甜菜(Leaf beet)以及用作饲料的甜菜(fodder beet)[8]。随着我国对甜菜种植投入的逐渐增加[9],近年来,如何提升甜菜产量及其含糖量成为了研究的重点领域。相关探索涵盖了改良灌溉技术[10]、识别特定甜菜品种的最佳施肥策略[11]、培育高产糖型甜菜新品种[12],以及通过多种手段寻找最适合甜菜生长的环境条件等方面。早期甜菜育种工作主要依赖于系统选育方法;随后,系谱法、群体选择法及诱变育种等技术相继出现[13],这些进步极大地促进了甜菜育种事业的发展。

近年来,在甜菜育种领域,雄性不育及其杂种优势的应用成为了研究的重点方向。随着育种技术的不断进步和作物管理方法的优化,甜菜在产量与品质上均实现了显著提升。因此,深入探索甜菜雄性不育现象背后的分子机制,并通过基因工程技术开发新的不育品系,对于培育新型品种具有至关重要的作用。考虑到甜菜是一种具有无限花序特征的植物,人工去除雄蕊的操作难以大规模实施,这给杂交种子的生产带来了挑战。因此,在实际操作中选择合适的不育系与授粉系变得尤为重要。目前,科学家们已经从直观的表型观察,到深入的细胞学分析,乃至更为精细的基因组层面对甜菜雄性不育开展了广泛的

研究工作，这些系统性的研究努力一方面能够助力快速判别种质资源的育性状况，另一方面可以切实提升不育系与对应的授粉系的筛选效率，为最终构建出高质量且高产量的杂交组合奠定坚实基础。

2. 甜菜雄性不育的发现及其类型

2.1. 甜菜雄性不育的发现

植物雄性不育(Plant male sterility)指的是在有性繁殖过程中，由于生理或遗传因素导致植物的雌蕊正常发育而雄蕊出现异常，从而无法完成正常的授粉过程。这一概念最早由 Coleman 于 1876 年正式提出[14]。至今为止，在超过 617 个不同的植物种类中已经观察到了雄性不育的现象[15]。1945 年，美国甜菜育种专家 F.Owen 首次报道了通过杂种优势探索出一种简单有效的途径来识别甜菜中的雄性不育特性，这为利用甜菜杂交优势开辟了新的道路；随后，在 1950 年，世界首个单粒型甜菜品系在甜菜遗传研究领域具有卓越贡献的专家 V.F.Savitsky 手中成功培育；至 1958 年，安莫高特制糖公司则开发出了世界上第一个基于单粒质核互作原理实现雄性不育特性的杂交品种，并将其投入实际生产之中，开创了利用甜菜雄性不育系统制备杂交品种的历史先河[16]-[18]。中国也在 1961 年的采种田发现了具有雄性不育特征的甜菜植株。进入 20 世纪 70 年代初，我国开始针对甜菜雄性不育品系的选择与应用开展研究工作，采用自然发现或者从国外引进的雄性不育材料作为基础进行遗传学方面的深入探讨。最终建立了包括多胚雄性不育系、单胚雄性不育系以及 O 型不育系在内的多个体系。

2.2. 甜菜雄性不育的类型

在 1943 年至 1947 年间，Sears 依据基因型的不同特征，将雄性不育现象划分为三类：细胞核雄性不育(genic male sterile, GMS)、细胞质雄性不育(cytoplasm male sterility, CMS)以及由两者相互作用导致的雄性不育[19]。随后，在 1956 年，Edwarson 提出了一种新的分类方法，即将细胞质雄性不育与质核互作引起的雄性不育统称为 CMS，并提出了所谓的“二型学说”，用以描述核不育和质核互作不育两种情况[20]。在甜菜作物中，雄性不育可以由不同的遗传因素引起。如果雄性不育仅仅是由核基因的变异导致的，那么这种情况被称作核雄性不育(GMS)。相反，如果雄性不育是由线粒体基因与核内遗传物质的相互作用共同引起的，那么这种情况通常被称为核质互作型雄性不育，或者简称为细胞质雄性不育(CMS)。这两种类型的雄性不育在甜菜的遗传研究和育种中具有重要的意义。

采用传统育种技术培育出一套不育系通常需要 8 年乃至更长时间。为了提高杂交效率，可以采取人工去雄、化学方法去雄或是利用雄性不育系等方式。然而，鉴于甜菜具有复杂的遗传特性，属于典型的异花授粉植物，并且其开花期长短不一，花朵细小且为无限花序的特点，使得大规模实施人工或化学手段去除雄蕊变得异常艰难。再加上甜菜是两年生作物这一事实，进一步延长了获取不育系所需的时间。鉴于甜菜表现出显著的杂种优势特征，运用雄性不育技术成为开发这种优势的主要途径之一。当前，在甜菜种植业中广泛使用的品种多为单粒雄性不育杂交类型，因此筛选出高质量的单粒雄性不育系对于构建高效杂交组合至关重要。多项研究指出，造成植物雄性不育现象的原因可能涉及与花粉形成过程相关的基因[21]-[23]以及存在于线粒体 DNA (mtDNA)上负责细胞质雄性不育性的基因等[24]。深入探究甜菜雄性不育机制及其相关系的选择培育，对于有效利用甜菜杂种优势推进甜菜育种工作具有重要意义。

3. 甜菜细胞质雄性不育的研究

3.1. 甜菜细胞质雄性不育的表型性状

研究指出，甜菜细胞质雄性不育株与常规可育株之间在花结构上存在显著差异。具体来说，在开花

前 3 至 5 天内, 雄性不育株的花蕾横截面呈现出淡绿色凹陷特征, 其花药发育不良; 施压于这些花蕾时会出现褶皱现象, 剖面形态不规则且花粉不易脱落。当这些植株进入开花期后, 它们的花药表面平滑无褶皱, 并能在花朵上维持 3 至 5 天之久; 相比之下, 正常植株的花药则会在开放后迅速产生皱纹, 并于 24 小时内凋落[25]。王华忠[26]进一步观察到, 单胚型雄性不育系相较于保持系而言, 前者展现出异常增加的花萼数量、雄蕊数目以及雌蕊柱头裂片数, 同时开花时间提前, 花蕾质地较为柔软, 花开之后可见白色或浅绿色的花药而无花粉颗粒。此外, 桂明珠等人[27]运用光学显微镜技术对甜菜雄性不育系及保持系的雄性生殖器官进行了详细考察, 结果显示: 保持系的花药室饱满且发育良好; 然而, 在不育系中仅极少数花药能够开裂, 形状多样且排列杂乱, 花药室内数量亦不稳定, 尤其是绒毡层的变化尤为突出。

3.2. 甜菜细胞质雄性不育的细胞遗传学机制

花粉的成熟过程包含了多个步骤, 其中基因表达调控复杂且精确, 涉及到了生理、生化以及形态变化等多个方面。雄性不育通常由花粉败育引起, 反过来讲, 花粉败育也是导致雄性不育的一个直接表现, 两者之间存在着紧密联系。1991 年, Hallden [28]运用光学显微镜与透射电子显微镜对甜菜中可育植株及胞质雄性不育植株的花药进行了观察, 研究了小孢子发育情况以及绒毡层细胞的变化, 结果表明, 在胞质雄性不育条件下, 花药表现出更高的变异程度。在这些植株中, 绒毡层细胞在减数分裂初期即开始出现降解或异常增殖现象。此外, 还观察到了母细胞内大量小型囊泡的存在以及染色体聚集紊乱的情况。Majewska-Sawka [29]利用电子显微镜技术对比分析了甜菜胞质雄性不育系和正常系花药内部结构, 发现在四分体阶段时, 雄性不育植物的绒毡层细胞就已经开始显示出不规则特征, 表现为线粒体尺寸较小且内质网呈现同心圆状排列。在小孢子的连续发育过程中, 可以观察到线粒体的体积显著减小, 核糖体的数量也呈现下降趋势。此外, 绒毡层在形成乌氏体方面遭遇了障碍。这些变化进一步影响了小孢子外壁的完全发育。Jossem B [30]通过扫描电镜检查了甜菜雄性可育与不可育个体的花药差异, 在四分体期前, 发现雄性不育品系的小孢子形成过程正常; 然而, 在从胼胝质壁释放后, 其后续发育受阻, 表面出现纤维物质沉积, 但未能观察到典型的小孢子壁结构及其萌发孔。桂明珠等人[27]也报道指出, 维持系花粉为三细胞型, 而在雄性不育情况下, 花粉会在经历减数分裂后的四分体或单核小孢子阶段停滞不前。在这种情况下, 在甜菜雄性不育的情况下, 小孢子在发育过程中出现异常。此外, 在雄性不育的甜菜植物中, 细丝维管束组织的木质部和韧皮部的分化程度较低, 这进一步表明了不育系在细胞和组织层面的异常, 有时细胞界限模糊, 这种现象在药隔维管束中也有所体现。

1945 年, F·Owen 指出甜菜具有两种不同类型的细胞质, 即 N 型与 S 型[31]。其中, N 型细胞质能够支持正常的繁殖能力, 使得植物可以产生包含健康雄蕊和花粉的双性花朵; 而 S 型细胞质则关联着不育特性, 在这类细胞质中, 存在两对影响甜菜花粉生成的关键基因 X 和 Z。当 S 型细胞质与纯合隐性的核遗传因子(xxzz)共同作用时, 植株会表现出完全不育特征, 并且花药呈现白色; 若 S 型细胞质搭配的是单显异质组合(Xxzz 或 xxZz), 则植物表现为部分不育状态, 此时花药颜色较淡黄, 内含小而活跃的花粉颗粒; 对于携带 S 型细胞质及双显异质配置(XxZz)的个体而言, 它们处于另一种半不育形式, 其花药色泽介于橙黄至黄色之间且不透明, 大部分花粉缺乏活力, 仅有少量较大者具备活性; 除此之外的所有其他遗传模式均被视为可育类型。值得注意的是, 特定情况下如 N(xxzz)这样的基因构成能够作为 S (xxzz)这种不育形态的维持系统, 并被命名为 O 型系。关于甜菜雄性不育现象的恢复机制主要由 X 显性基因决定, 而半不育情况则是受 X 基因下的另一个等位基因 Z 调控的结果。在 N 型细胞质环境中, 这两个基因均能保证雄性器官的全面发育。随后, 在 1952 年, F·Owen 对其早先提出的理论进行了修订, 引入了第二对核基因的概念。之后, Bliss 等通过一系列严谨的遗传学实验验证了其观点。Bliss 及其同事所提出的甜菜雄性不育遗传规律假说, 已经在全世界范围内获得了甜菜育种专家和遗传学家的广泛认可[32]。

3.3. 甜菜细胞质雄性不育的分子遗传学机制

细胞质雄性不育(CMS)表现出的母系遗传特征表明,这一现象可能与线粒体或叶绿体基因组存在密切联系[33]。最初,科学界普遍认为这种类型的雄性不育是由线粒体和叶绿体共同作用的结果;然而,后续研究表明,线粒体在细胞质雄性不育中扮演了更为重要的角色。1980年,Yppoko [34]观察到,在不育株的小孢子发育阶段,其线粒体内部结构发生了变化,表现为嵴结构的改变以及线粒体数量减少、体积缩小的现象。关于甜菜植物中的线粒体研究起步相对较晚,直到 Powling [35]首度发表了针对甜菜线粒体DNA (简称 mtDNA)的研究报告。该研究通过凝胶电泳技术证明了甜菜线粒体内同时存在高分子量 DNA (HMWDNA)和低分子量 DNA (LMWDNA)两种形式。其中,高分子量 DNA 呈现为环状结构,大小范围约为 1~51 μm ; 而低分子量 DNA 则由一系列直径介于 0.1~0.5 μm 之间的环形分子组成。

有关甜菜线粒体基因组遗传特性的研究指出,利用 Bam HI 限制性内切酶处理后,能够识别出特定的酶切片段[36]。对于 CMS 类型的线粒体基因组而言,已确认 *atpA*、*atp6* 位点、*COXII* 位点以及 *orf129*、*orf187*、*orf324* 等基因与雄性不育现象相关联,其中 *atpA*、*atp6* 位点和 *COXII* 位点在转基因实验中显示出转录能力。部分研究还表明,多种导致不育的因素 S 位于编码这些因子特定肽链的线粒体基因组区域。甜菜细胞质雄性不育(CMS)现象的出现,是依赖于一个由核基因编码、并能与 S 因子相互作用的产物所触发的。

假设这两部分可以被裂解成两个独立的肽段,其中一个成为成熟的 ATP6 蛋白,另一个则在线粒体膜上形成大约 200 kDa 大小的寡聚体结构,然而,在随后的恢复过程中 preS_{ATP6} 的数量没有发生变化,这一观察结果提示我们甜菜中的 Rf 因子可能不属于 PPR 类型[37]。一些学者将 F·Owen 提出的质核互作雄性不育模型中提到的 X、Z 位点分别定位到了第 3 号和第 4 号染色体,并且将之前分离出来并通过单一等位基因控制花粉育性的甜菜父本命名为 Rf1,同时将影响育性的基因定位于第 3 号染色体的末端,认为这是 X 基因座的一个等位形式[38] [39]。随着分子生物学技术的发展,Nishizawa 等人[40]在甜菜线粒体基因组中发现了数量变化不定的串联重复序列(VNTR),具有高度多态性,并且存在四个不同的串联重复序列位点(TR1、TR2、TR3 及 TR4),其中 TR1 位点表现出最高的多态性,其串联重复单元数目从 2 到 13 个不等。这些 VNTR 位点的分析为鉴定甜菜细胞质的育性状态提供了一种有效的工具。Cheng 等人[41]对中国甜菜种质资源进行了调查,结果显示不同细胞质育性类型间小卫星序列拷贝数存在差异,比如 F·Owen 不育型细胞质中的 TR1 片段含有 4 个拷贝,而保持系型则有 13 个拷贝。王有昭[42]同样采用这种方法检测了主要甜菜品系中的 VNTR 分子,并首次在叶甜菜中鉴定出一种特殊的细胞质类型,其 TR1 片段包含 10 个拷贝。

3.4. 甜菜细胞质雄性不育生理生化特性

近年来,众多研究者深入探讨了甜菜细胞质雄性不育的生理生化特性,并取得了一系列成果。这些发现不仅为该领域的理论研究奠定了基础,还提高了筛选不育系过程中的准确性,从而显著缩短了培育周期。例如,在探究甜菜保护酶系统特性的过程中,白薇等人[43]观察到,在营养生长阶段,保持系植物的过氧化物酶(POD)活性高于对应的不育系。然而,在根部分化形成期间,不育系叶片中的过氧化氢酶(CAT)活性超过了保持系;而在糖分积累期,则是保持系的 CAT 活性更高。贺学勤[44]指出,在营养生长期,两系间 6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PD)活性没有一致性的差异,但此时不育系的 CAT 活性相对较高。王华忠[22]的研究揭示,在生殖生长期,与保持系相比,不育系花蕾和叶片中 POD 活性明显降低,而两者之间的 CAT 活性则无显著区别,这一发现得到了吴则东等[45]的支持。另一方面,贺学勤[39]提到,不育系叶片及花蕾内 POD 和 CAT 活性均超出其保持系,与此同时,细胞色素氧化酶(COX)以及 ATP 酶活性却低于保持系。此外,牟英男及其同事[46]注意到,在繁殖季节里,不育系内的 CAT 表达量显著减少。

根据 Debowski [47]和孙立险[48]的报告, 通过可育系与不育系杂交得到的 O 型系显示出较高的 POD 活性; 并且, 在减数分裂完成后, 保持系相较于不育系展现出更强的 POD 活性, 与此同时相关研究发现, 不育系叶片中的 Pro 浓度低于保持系。值得注意的是, 虽然不育系缺乏足够的脯氨酸组成, 但是它们的丙氨酸含量却比保持系要高[49]。

张必周等人[50]运用转录组测序技术, 从甜菜不育系与保持系中筛选出 257 个差异表达基因。研究发现, 这些差异基因主要集中在新陈代谢途径、戊糖和葡萄糖醛酸转化以及淀粉和蔗糖代谢过程。值得注意的是, 在不育系中 GDSL 酯酶、果胶裂解酶(Pectin lyase)及多聚半乳糖醛酸酶(Polygalacturonase)的表达水平显著低于保持系。此外, 牟英男[51]的研究指出, 甜菜保持系中 ECR1 基因的表达量至少是不育系的 15 倍; 同时, III型聚酮合酶 A (Type III polyketide synthase A)和III型聚酮合酶 B (Type III polyketide synthase B)在保持系中的含量也相对较高, 而在不育系中则较低; 特别地, 四肽 α -吡喃酮还原酶(Tetrapeptide α -pyranone reductase)在不育系材料中表现出极低水平的表达, 而丙酮酸激酶(pyruvate kinase)和三磷酸甘油醛脱氢酶(Glyceraldehyde triphosphate dehydrogenase)则呈现出下调趋势。

白薇等[52]对甜菜营养生长阶段叶片内的激素水平进行了探讨, 发现不育系中的玉米素浓度高于其对应的保持系, 而保持系中生长素 IAA 的浓度则超过了不育系。贺学勤[44]的研究成果显示, 在生殖生长期间, 不育系花蕾里赤霉素(Gibberellin, GA3)的量少于保持系, 这一结论与牟英男的研究结果相符。王华忠[26]指出, 甜菜细胞质雄性不育现象与内源性激素——脱落酸(Abscisic, ABA)、吲哚乙酸(Indole-3-acetic acid, IAA)及 GA3 含量下降及其相互间比例失衡有关, 说明无论是在营养生长还是生殖生长过程中, 激素水平的变化都与细胞质雄性不育存在关联。吴则东[53]观察到, 在甜菜抽薹期, 保持系叶片和花蕾中脱落酸、赤霉素以及二氢玉米素腺苷(Dihydrozeatinriboside, DHZR)的浓度均高于不育系; 对于异戊烯基腺苷(Iso-propyl alcohol, IPA), 在抽薹前两者之间没有明显规律可循, 但在花蕾中保持系的 IPA 浓度更高; 此外, 保持系叶片中玉米素腺苷(Zeatin riboside, ZR)浓度也较不育系为高, 然而, 在花蕾中该趋势反转, 表现为不育系 ZR 浓度高于保持系。

4. 甜菜细胞质雄性不育的利用

许多作物杂交制种依赖于细胞质雄性不育(CMS), 甜菜的杂交育种也不例外[54], 育种工作者面临的首要任务是不断的选择性状优良的植株[55]。随着生物技术的发展, 分子标记辅助育种(MAS)已成为一种实用且有效的手段用于鉴定甜菜细胞质基因的不同育型(N/S)。

4.1. 分子标记技术

分子标记技术, 包括扩增片段长度多态性(AFLP)、限制性片段长度多态性(RFLP)和随机扩增片段长度多态性 DNA (RAPD), 不仅有助于识别和区分甜菜品种间的遗传差异, 实现种质的群体划分, 还能够在遗传研究中发挥作用。Shen 等[56]利用 14 个引物对 26 个野生甜菜品种进行了 RAPD 分析, 其结果与假设完全相符, 证实了 RAPD 能迅速有效地鉴定 Beta 属亲缘关系相近的材料, 从而避免了田间观察和收集品种表现型的伸缩性而产生的错误分类。张福顺[57]利用 12 个随机引物对近 30 份叶用甜菜进行了遗传多样性分析, 共检测到 110 个扩增位点, 并将这些资源分成两大类及 8 个小类。Barzen 等[58]构建了含有 RAPD 位点的全新糖甜菜扩展图谱, 该图谱包括了 248 个 RFLP 和 50 个 RAPD 位点。田自华[59]等利用 RAPD 扩增图谱揭示了甜菜线粒体基因组之间的保守性(同一个引物扩增不同的材料的 mtDNA 得到的产物带型大部分是相同的)和丰富的多态性, 在扩增产物清晰的 30 个引物中, 有些引物的扩增图谱完全相同和基本相同, 而不育系和保持系之间的带型在有的引物中差异很大。赵雅儒等[60]人利用 35 对简单重复序列(Simple Sequence Repeats, SSR)引物分析 40 对不同的甜菜单胚细胞质雄性不育系与保持系的

遗传多样性, 14 对中遗传距离较大的不育系和其异型保持系配制二元不育系, 用于后续杂交种中的母本。夏雨晴[61]等人利用已开发的作用于甜菜线粒体 VNTR 位点的特异性 TR1 引物, 将 1 对自主培育的甜菜 F·OWen 型不育系和保持系作为对照组, 对现有的 109 个甜菜登记品种进行细胞质育性鉴定分析, 其中 106 个为 S 型细胞质(不育型细胞质), 3 个为既有 N 型(可育型细胞质)又有 S 型细胞质(不育型细胞质), 而这 3 个品种都是我国自主培育的多胚种子。王华忠[26]采用相关序列扩增多态性(Sequence-Related Amplified Polymorphism, SRAP)和 SSR 两种分子标记方法相结合, 对甜菜单胚不育系及保持系等份材料进行遗传多样性分析, 将 49 个甜菜材料划分为 4 个类群。孟祥雯[62]以 F·OWen 型细胞质雄性不育系及其保持系叶片及花蕾为试材, 使用 AFLP 和 cDNA-AFLP 分子标记技术, 得出结论, 甜菜 F·OWen 型不育系与保持系基因组水平差异较小, 而在花蕾转录水平的研究中得到了更多有效的差异信息, 这些差异信息探究甜菜雄性不育的分子机制以及甜菜育种具有重要意义。王茂芊[63]采用 SRAP 分子标记方法对东北地区的 100 份甜菜材料进行了遗传多样性分析, 利用 4 个表型差异显著的甜菜品系对 SRAP 的 88 对引物组合进行扩增, 筛选出有效引物组合 33 对, 将参试材料分为四大类群, 分别为高产低糖低抗型、中产高糖高抗型、高产高糖高抗型、高产低糖抗丛根病型。通过运用最新的前沿技术, 对甜菜种质资源开展全面而深入的分析工作, 并进行科学的分类整理。同时, 结合形态标记、细胞学标记等遗传标记, 对于构建连锁图谱, 基因位点确定和对影响重要性状的基因进行克隆, 以及实施 MAS 至关重要。这种综合策略不仅为甜菜育性的快速、准确鉴定提供了理论基础, 也为甜菜雄性不育系的利用和育种实践奠定了坚实的科学基础。

4.2. 杂交育种技术

采用雄性不育系与授粉系进行杂交, 以培育出地上部分生长潜力强、块根形态规整且产量高、含糖量丰富及抗病性能优异的新品种甜菜, 已成为该领域育种的主要趋势。李玉萍等[64]开发了新的饲用甜菜杂交种“甜饲 2 号”, 其母本为甜菜雄性不育系 G04A, 父本则是饲用甜菜自交系 LC-1-1。多点测试表明, “甜饲 2 号”的块根产量比对照组增加了 2.3%, 而含糖率则高出 5.0 度。赵尚敏等[65]利用二倍体多胚品系 RZ-1 (作为父本)与单胚雄性不育系 N9849-CMS (作为母本), 按照 1:5 的比例配对成功培育了名为“内 2499”的甜菜二倍体单胚型雄性不育杂交种, 在内蒙古自治区的甜菜品种区域试验中, 它显示出平均块根产量相比对照提高了 31.79%, 平均含糖率为 15.80%。张素珍等人[66]选取 MS9602A 作为母本, SN9807 作为父本, 自行培育出了抗丛根病的二倍体雄性不育多粒型杂交种“新甜 18 号”, 相较于对照样本, 其平均块根产量增长了 3.99%, 产糖量提升了 4.3%, 并且具备了一定程度上的丛根病抵抗力。付增娟等[67]研发的杂交新品系“内 28128”对于包括甜菜丛根病在内的多种疾病表现出不同程度的抵抗能力, 同时, 其块根平均产量相对于对照组甜研 309 增加了 15.6%, 平均含糖率也提高了 0.13 度。在比较实验中发现, 二倍体多粒型甜菜雄性不育杂交品种“中甜 - 吉甜 208”感染褐斑病的程度低于对照组 1.8 级, 并且根腐病的发生概率减少了 7.5%, 无论是在根产量还是产糖量以及含糖率方面都优于当地主要推广品种[68]。此外, 还有诸如“HDTY04”[69]、“XJT9907”[70]和“NT39106”[71]等多个通过雄性不育系与二倍体授粉系结合产生的新型号, 在块根产量、含糖率及产糖量上均超越了各自的对照组, 其中“HDTY04”与“XJT9907”更是展现出了针对褐斑病、根腐病及丛根病的良好抵御力。一种名为“吉甜 303”的甜菜多粒丰产型雄性不育多倍体杂交种, 则是通过将多粒雄性不育系(母本)与四倍体品系(父本)相结合而获得的产物, 数据显示, 它的平均块根产量比对照品种吉甜 301 提升了 19.9%, 尽管平均含糖率略低 0.35 度, 但平均产糖量却提高了 17.5% [72]。其他通过类似方法得到的杂交品种还包括“吉甜 304”[73]、“ST9818”[74]、“甜单 302”[75]及“双丰单粒 2 号”[76]。多年来的研究结果证实, 这些杂交种不仅产量高、品质优, 而且能够有效抵抗褐斑病, 适应性强, 产糖效率高。然而, 当前我国仍面临

甜菜种质资源短缺的问题,大部分种子需要从国外进口,因此加强本土种质资源的搜集与创新显得尤为重要。在引进外来种质的同时,建立一个涵盖甜菜表现型和基因型的核心种质库,有助于未来雄性不育系的选择以及高产、高糖分含量、耐逆境、抗病性强且适合机械化操作的新品种开发,这对于推动我国甜菜产业持续健康发展具有深远意义。

5. 结论

国外早在 20 世纪 50 年代起就开展利用甜菜单胚雄性不育性进行单胚杂交种的研究。20 世纪 60 年代甜菜优势杂交种开始逐渐有应用。他们以单胚雄性不育系为母本,二倍体或四倍体多胚种为授粉系,生产上应用 F1 代 100% 单胚杂交种,因而具有较强的杂种优势。我国目前推广的自育甜菜品种中仍以不完全杂交种为主。该类型品种中由于既有亲本自交成分又有杂交成分所以 F1 代稳定性差,生长不整齐,杂种优势低。我国之所以选育的甜菜品种仍以该类型品种为主,主要是甜菜不育系选育技术落后。近年来我国在利用当年抽薹基因型甜菜快速选育甜菜保持系的技术研究方面也取得了突破性进展。

6. 展望

我国甜菜产业面临种质资源有限、创新性遗传材料缺乏以及基础研究较为薄弱等问题,特别是在解析关键性状形成机制方面进展不足。现阶段,研究人员正通过细胞学、遗传学、生理生化分析、分子标记技术及系统选育等多种途径探索甜菜细胞质雄性不育现象背后的科学原理,为引入新的遗传资源、优化亲本组合以及利用分子标记辅助选择育种提供了坚实的理论和技術支撑。未来的研究应当着眼于优质种质的筛选与鉴定、特异性基因的发现、先进育种方法的研发以及新型种质资源的创建等领域,以期实现包括转基因技术和基因组编辑在内的现代生物工程技术同传统甜菜育种实践的有效融合,推动由经验型向精准型育种模式的转型。这一转变对于加速新品种开发、克服当前甜菜育种领域所遭遇的挑战具有重要意义,并将有助于促进我国甜菜产业健康稳定地持续发展,增强种子行业的国际竞争力,确保国内食糖供应的安全与充足。

基金项目

内蒙古自治区自然科学基金(2021LHS03006)、内蒙古农牧业创新基金(2022CXJN09)资助、国家糖料产业技术体系项目(CARS-17)。

参考文献

- [1] Liu, H., Wang, Q., Yu, M., Zhang, Y., Wu, Y. and Zhang, H. (2008) Transgenic Salt-Tolerant Sugar Beet (*Beta Vulgaris* L.) Constitutively Expressing an Arabidopsis Thaliana Vacuolar Na^+/H^+ Antiporter Gene, AtNHX3, Accumulates More Soluble Sugar but Less Salt in Storage Roots. *Plant, Cell & Environment*, **31**, 1325-1334. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01838.x>
- [2] 周建朝, 王孝纯, 胡伟, 等. 中国甜菜产质量主要养分限制因子研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(1): 76-82.
- [3] Dohm, J.C., Minoche, A.E., Holtgräwe, D., Capella-Gutiérrez, S., Zakrzewski, F., Tafer, H., *et al.* (2013) The Genome of the Recently Domesticated Crop Plant Sugar Beet (*Beta vulgaris*). *Nature*, **505**, 546-549. <https://doi.org/10.1038/nature12817>
- [4] Romeiras, M.M., Vieira, A., Silva, D.N., Moura, M., Santos-Guerra, A., Batista, D., *et al.* (2016) Evolutionary and Biogeographic Insights on the Macaronesian Beta-Patellifolia Species (Amaranthaceae) from a Time-Scaled Molecular Phylogeny. *PLOS ONE*, **11**, e0152456. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152456>
- [5] Taguchi, K., Kuroda, Y., Okazaki, K. and Yamasaki, M. (2019) Genetic and Phenotypic Assessment of Sugar Beet (*Beta vulgaris* L. Subsp. *Vulgaris*) Elite Inbred Lines Selected in Japan during the Past 50 Years. *Breeding Science*, **69**, 255-265. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.18121>
- [6] Dhar, B.R., Elbeshbishy, E., Hafez, H. and Lee, H. (2015) Hydrogen Production from Sugar Beet Juice Using an Integrated Biohydrogen Process of Dark Fermentation and Microbial Electrolysis Cell. *Bioresource Technology*, **198**, 223-

230. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.048>
- [7] 刘洋. 不同甜菜品种对盐碱胁迫的生理生化响应[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [8] 韩向阳, 孙京涛, 何洪巨, 等. 叶用甜菜新品种金甜1号[J]. 中国蔬菜, 2017, 1(6): 101-102.
- [9] 崔汝菲, 路正禹, 耿贵, 等. 连作种植下不同抗重茬药剂处理对甜菜苗期生长的影响[J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2021, 38(1): 77-85.
- [10] 胡晓航, 马亚怀, 杨洪泽. 优化滴灌制度下不同品种糖用甜菜产质量及光合特性响应研究[J]. 中国农学通报, 2020, 36(23): 6-18.
- [11] 杨芳芳, 李彩凤, 刘丹, 等. 有机肥对混合盐碱胁迫甜菜光合特性及产量的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2019, 47(4): 74-82.
- [12] 马龙彪, 吴则东, 王茂芊, 等. 甜菜育种的研究进展及未来发展展望[J]. 中国糖料, 2018, 40(6): 62-65.
- [13] 李士龙. 甜菜细胞质雄性不育性的分子特性及育种应用研究[D]: [博士学位论文]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2015.
- [14] 何启伟. 十字花科蔬菜优势育种[M]. 北京: 农业出版社, 1993: 52-90.
- [15] Kaul, M.L.H. (1988) Genic Male Sterility. In: *Monographs on Theoretical and Applied Genetics*, Springer, 15-96. https://doi.org/10.1007/978-3-642-83139-3_2
- [16] 曲文章. 中国甜菜学[M]. 哈尔滨: 黑龙江人民出版社, 2003.
- [17] 程大友, 徐德昌. 我国糖甜菜育种现状[J]. 中国农业科技导报, 2004(6): 63-64.
- [18] 程大友, 徐德昌. 利用当年抽薹基因型甜菜缩短育种年限的研究[J]. 中国农业科学, 2003(2): 233-236.
- [19] 王继华, 刘明, 王同昌. 植物雄性不育与育性恢复[J]. 哈尔滨师范大学: 自然科学学报, 2005, 21(1): 86-89.
- [20] Edwardson, J.R. (1956) Cytoplasmic Male-Sterility. *The Botanical Review*, **22**, 696-738. <https://doi.org/10.1007/bf02872458>
- [21] 段盼盼. 辣椒花粉育性相关基因 *CaPIP5K4-1* 的表达分析及功能鉴定[D]: [硕士学位论文]. 兰州: 甘肃农业大学, 2023.
- [22] 崔海芳. 大白菜核不育小孢子发育胼胝质沉积相关基因的表达分析[D]: [硕士学位论文]. 昆明: 云南农业大学, 2017.
- [23] 崔海芳, 张凡, 尹俊龙, 等. 胼胝质沉积与花粉发育[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2017, 32(3): 551-557.
- [24] 王宝山. 生物自由基与植物膜伤害[J]. 植物生理学通讯, 1988(2): 12-16.
- [25] 王华忠, 吴则东, 韩英, 等. 植物雄性不育在甜菜作物上的利用及研究[J]. 中国甜菜糖业, 2006(1): 34-39.
- [26] 王华忠. 单胚甜菜细胞质雄性不育遗传机制及其利用研究[D]: [博士学位论文]. 北京: 中国农业科学院, 2007.
- [27] 桂明株, 王慧生, 王馥兰, 等. 甜菜雄不育系与保持系雄性器官的形态学观察[J]. 中国甜菜, 1985(3): 10-14.
- [28] Hallden, C., Karlsson, G., Lind, C., Moller, I.M. and Heneen, W.K. (1991) Microsporogenesis and Tapetal Development in Fertile and Cytoplasmic Male-Sterile Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.). *Sexual Plant Reproduction*, **4**, 215-225. <https://doi.org/10.1007/bf00190008>
- [29] Majewska-Sawka, A., Rodriguez-Garcia, M.I., Nakashima, H. and Jassen, B. (1993) Ultrastructural Expression of Cytoplasmic Male Sterility in Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.). *Sexual Plant Reproduction*, **6**, 22-32. <https://doi.org/10.1007/bf00227579>
- [30] Jossem, B. (1989) Anther Fertile and Cytoplasmic Male Sterile Line in Sugar Beet by Scanning Electron Microscope. *Genetica Polonica*, **30**, 139-144.
- [31] Owen, F.V. (1945) Cytoplasmically Inherited Male-Sterility in Sugar Beets. *Journal of Agricultural Research*, **71**, Article 423.
- [32] Bliss, F.V. (1954) Sugar Beet Technology. *Proceedings of the American Mathematical Society*, **8**, Article No. 64.
- [33] 杨国. 浅谈甜菜多粒雄不育系的选育及在育种中的应用[J]. 甜菜糖业通报, 1994(4): 24-27.
- [34] Yppoko. 植物核质互作雄性不育的遗传学原理[M]. 北京: 农业出版社, 1980: 86-142.
- [35] Powling, A. (1982) Restriction Endonuclease Analysis of Mitochondrial DNA from Sugarbeet with Normal and Male-Sterile Cytoplasms. *Heredity*, **49**, 117-120. <https://doi.org/10.1038/hdy.1982.70>
- [36] Powling, A. and Ellis, T.H.N. (1983) Studies on the Organelle Genomes of Sugarbeet with Male-Fertile and Male-Sterile Cytoplasms. *Theoretical and Applied Genetics*, **65**, 323-328. <https://doi.org/10.1007/bf00276572>
- [37] Yamamoto, M.P., Kubo, T. and Mikami, T. (2005) The 5'-Leader Sequence of Sugar Beet Mitochondrial Atp6 Encodes

- a Novel Polypeptide That Is Characteristic of Owen Cytoplasmic Male Sterility. *Molecular Genetics and Genomics*, **273**, 342-349. <https://doi.org/10.1007/s00438-005-1140-y>
- [38] Hiroaki, M., Hiroyo, K., Masayuki, K., Kitazaki, K., *et al.* (2012) Unusual and Typical Features of a Novel Restorer of Fertility Gene of Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.). *Genetics*, **192**, 1347-1358. <https://doi.org/10.1534/genetics.112.145409>
- [39] Hagihara, E., Itchoda, N., Habu, Y., Iida, S., Mikami, T. and Kubo, T. (2005) Molecular Mapping of a Fertility Restorer Gene for Owen Cytoplasmic Male Sterility in Sugar Beet. *Theoretical and Applied Genetics*, **111**, 250-255. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-2010-z>
- [40] Nishizawa, S., Kubo, T. and Mikami, T. (2000) Variable Number of Tandem Repeat Loci in the Mitochondrial Genomes of Beets. *Current Genetics*, **37**, 34-38. <https://doi.org/10.1007/s002940050005>
- [41] Cheng, D., Kitazaki, K., Xu, D., Mikami, T. and Kubo, T. (2008) The Distribution of Normal and Male-Sterile Cytoplasm in Chinese Sugar-Beet Germplasm. *Euphytica*, **165**, 345-351. <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9796-0>
- [42] 王有昭. 中国甜菜主要品系细胞质育性相关片段的分子差异[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2009.
- [43] 白薇, 田自华, 盖连玉, 等. 甜菜胞质雄性不育系与其保持系某些酶活性的差异[J]. 华北农学报, 2004(4): 70-73.
- [44] 贺学勤. 甜菜胞质雄性不育系及其保持系的某些生理特性差异[D]: [硕士学位论文]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2002.
- [45] 吴则东, 王华忠, 韩英. 甜菜细胞质雄性不育系和保持系花期几种酶活性的比较[J]. 中国糖料, 2009(1): 27-28+31.
- [46] 牟英男, 白晨, 李晓东, 等. 基于 Label-free 方法分析甜菜雄性不育分子机理[J]. 分子植物育种, 2018, 16(23): 7718-7730.
- [47] Debowski, W. 不同育性野生型甜菜、栽培甜菜种幼苗子叶某些酶的活性及同工酶组成[J]. 甜菜科技信息, 1994(1): 15.
- [48] 孙立险. 甜菜雄性不育系及保持系的过氧化物酶同工酶初步分析[J]. 中国甜菜, 1986(4): 21-25.
- [49] 白薇, 田自华, 盖连玉, 等. 甜菜细胞质雄性不育系与其保持系游离脯氨酸含量的差异[J]. 中国糖料, 2004(4): 23-24+27.
- [50] 张必周, 白晨, 吴新荣, 等. 甜菜雄性不育系及保持系花蕾差异基因转录组测序分析[J]. 分子植物育种, 2024, 22(1): 34-41.
- [51] 牟英男. 甜菜质核互作雄性不育性发育相关蛋白研究[D]: [硕士学位论文]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2018.
- [52] 白薇, 田自华, 盖连玉, 等. 甜菜胞质雄性不育系与其保持系激素含量的差异[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2004(3): 48-51.
- [53] 吴则东. 甜菜单胚细胞质雄性不育生理化特性的研究[D]: [博士学位论文]. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2006.
- [54] Moritani, M., Taguchi, K., Kitazaki, K., Matsuhira, H., Katsuyama, T., Mikami, T., *et al.* (2013) Identification of the Predominant Nonrestoring Allele for Owen-Type Cytoplasmic Male Sterility in Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.): Development of Molecular Markers for the Maintainer Genotype. *Molecular Breeding*, **32**, 91-100. <https://doi.org/10.1007/s11032-013-9854-8>
- [55] Richardson, K. (2010) Traditional Breeding in Sugar Beet. *Sugar Tech*, **12**, 181-186. <https://doi.org/10.1007/s12355-010-0050-4>
- [56] Shen, Y., Newbury, H.J. and Ford-Lloyd, B.V. (1996) The Taxonomic Characterisation of Annual Beta Germplasm in a Genetic Resources Collection Using RAPD Markers. *Euphytica*, **91**, 205-212. <https://doi.org/10.1007/bf00021071>
- [57] 张福顺. 叶用甜菜随机扩增多态 DNA(RAPD)分析[J]. 中国糖料, 2000(3): 22-26.
- [58] Barzen, E., Mechelke, W., Ritter, E., Schulte-Kappert, E. and Salamini, F. (1995) An Extended Map of the Sugar Beet Genome Containing RFLP and RAPD Loci. *Theoretical and Applied Genetics*, **90**, 189-193. <https://doi.org/10.1007/bf00222201>
- [59] 田自华, 张子义, 张剑峰, 等. 甜菜细胞质雄性不育系与其保持系线粒体 DNA 的 RAPD 分析[J]. 分子植物育种, 2004(6): 817-822.
- [60] 赵雅儒, 邳植, 刘蕊, 等. 不同甜菜单胚细胞质雄性不育系与保持系的遗传多样性分析[J]. 中国农学通报, 2022, 38(30): 35-40.
- [61] 夏雨晴, 张于, 吴则东, 等. 利用分子标记技术研究甜菜品种细胞质的育性基因型[J]. 中国糖料, 2022, 44(4): 8-13.
- [62] 孟祥雯. 甜菜 Owen 型质核互作雄性不育系及保持系花蕾 AFLP 多态性分析[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 哈尔

滨工业大学, 2015.

- [63] 王茂芊, 吴则东, 陈丽, 等. 利用 SRAP 分析东北地区甜菜品系遗传多样性[J]. 中国糖料, 2010(2): 4-8+11.
- [64] 李玉萍, 漆燕玲, 骆爱基, 等. 饲用甜菜新品种“甜饲 2 号”的选育[J]. 中国糖料, 2009(3): 16-18.
- [65] 赵尚敏, 白晨, 张惠忠, 等. 甜菜单胚雄性不育杂交种“内 2499”的选育[J]. 北方农业学报, 2014(1): 100-102.
- [66] 张素珍, 赵图强, 王维成, 等. 甜菜新品种新甜 18 号的选育[J]. 中国糖料, 2009(1): 15-17.
- [67] 付增娟, 白晨, 张惠忠, 等. 甜菜单粒雄性不育杂交新品种内 28128 的选育[J]. 北方农业学报, 2014(1): 98-99+104.
- [68] 凤桐, 孙晖, 周玉萍, 等. 甜菜新品种中甜-吉甜 208 的选育[J]. 中国甜菜糖业, 2001(2): 9-11.
- [69] 赵春雷, 陈丽, 王希, 等. 单胚高糖偏丰产型甜菜新品种 HDTY04 的选育[J]. 中国糖料, 2021, 43(4): 38-41.
- [70] 高卫时, 张立明, 王燕飞, 等. 甜菜单胚雄不育杂交种 XJT9907 的选育[J]. 中国糖料, 2018, 40(4): 1-2+5.
- [71] 付增娟, 白晨, 张辉, 等. 甜菜单胚雄性不育杂交种 NT39106 的选育及应用[J]. 农业科技通讯, 2022(8): 223-227.
- [72] 卞桂杰, 王清发, 张景楼, 等. 甜菜新品种吉甜 303 的选育[J]. 中国甜菜糖业, 2005(3): 9-12.
- [73] 卞桂杰, 张景楼, 郑毅, 等. 甜菜多倍体新品种吉甜 304 的选育[J]. 中国糖料, 2007(3): 17-19.
- [74] 王维成, 赵图强, 陈惠瑜, 等. 甜菜雄性不育多倍体新品种 ST9818 的选育[J]. 中国糖料, 2004(4): 7-9.
- [75] 王华忠, 张文彬, 倪洪涛, 等. 单胚雄性不育多倍体甜菜新品种甜单 302 的选育[J]. 中国糖料, 2002(3): 5-8.
- [76] 张庆霞, 刘宝辉, 刘桂华, 等. 甜菜雄性不育杂交种——双丰单粒 2 号的选育[J]. 中国甜菜糖业, 2001(4): 6-7.