

# 大豆叶与花形态异常、雌性不育突变体 NJS - 10H 的发现<sup>\*</sup>

赵团结 盖钧镒<sup>\*\*</sup>

(南京农业大学大豆研究所, 国家大豆改良中心, 作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京 210095)

**摘要** 在 NJCMS1A 天然杂交后代中发现突变体 NJS - 10H。该突变体小叶变窄, 叶形态异常, 萼片、花瓣数增加, 雄蕊减少, 雌性不育。雌性不育与叶和花形态异常性状同时出现, 受 1 对隐性基因控制, 是一类新的育性异常材料。

**关键词** 大豆; 雌性不育; 花器异常; 遗传

中图分类号 S 565.1 文献标识码 A 文章编号 1000 - 9841(2005)01 - 0001 - 04

植物雌雄性不育突变体是研究生殖生物学和发育生物学的理想材料之一<sup>[1,2]</sup>。目前已发掘雄性不育 - 雌性可育、雌性不育 - 雄性可育、雄性雌性均不育、部分雄性不育、结构不育等不同类型的大豆核雄性不育材料 30 多个<sup>[3]</sup>。国内也报道一些雄性不育的不育材料, 但尚未见对雌性育性异常材料的报道。本文报导对南京农业大学大豆研究所新发现的叶和花器官异常不育种质 NJS - 10H 的形态与遗传分析结果。

## 1 材料与方法

2001 年在 NJCMS1A 天然杂交衍生后代的一个株行中出现叶片皱缩的特殊不育株, 2002 - 2003 年种植其衍世代表明该特性是可遗传的。由于这些不育株不能正常结荚, 只能通过杂合体形式保存, 材料编号为 NJS - 10H。为便于叙述, 将其中不育株命名为 NJS - 10Hfs(female sterile), 正常同胞株(家系)为 NJS - 10Hff。每年按系谱种植上年育性分离株行的可育单株用于调查, 常规田间管理。

从苗期开始观察植株叶形态。在开花期调查花形态和花粉育性, 采用悬滴培养法调查花粉萌发率, 培养液为 20%蔗糖溶液 + 1.94mmol/L 硼酸。同时用 FAA 固定花朵, 通过压片观察花粉育性, 染色液为醋酸洋红。雌性育性以人工杂交成荚率来推断。

收获期按株行调查育性分离情况, 根据  $\chi^2$  适合性测验结果推断遗传规律。

## 2 结果与讨论

### 2.1 NJS - 10Hfs 植株的叶形态特点

NJS - 10Hfs 植株从对生真叶开始叶片皱缩, 叶表面茸毛稀少, 光滑但质地较硬, 叶缘和叶脉分布不规则。从表 1 可见, NJS - 10Hfs 异常株顶端三节位复叶的中间小叶长度与 NJS - 10Hff 正常植株无显著差异, 但小叶宽度远小于同胞正常可育株, 使其叶形近柳叶状, 叶形指数最高达 9.1(叶形指数 = 中间小叶长/中间小叶宽)。而正常可育株为椭圆形叶, 叶形指数均小于 2.5, 与不育株叶形态差异很大。从苗期开始 NJS - 10Hfs 异常株的叶色较深, 但结荚期调查发现叶异常植株与正常株的叶绿素总量无显著差异。

### 2.2 NJS - 10Hfs 植株的花器官及雄性育性表现

观察发现 NJS - 10Hfs 植株的初花日期平均比同胞正常植株晚 4.5 天, 叶异常植株的花器官也表现异常。表 2 列出 2003 和 2004 年对 NJS - 10Hfs 60 个植株每株随机调查 2 - 5 朵共 186 朵花的花器官表现。NJS - 10Hfs 单花萼片、旗瓣和龙骨瓣平均数均高于 NJS - 10Hff 的正常花朵, 花瓣数量增多, 特别是一些植株花朵中原着生花丝的位置却变

<sup>\*</sup> 收稿日期: 2004 - 08 - 26

作者简介: 赵团结(1969 - ), 男, 副教授, 主要从事大豆遗传育种工作。

<sup>\*\*</sup> 联系作者: sni@njau.edu.cn

成类似龙骨瓣的小花瓣,龙骨瓣数量的异常比例最高,2003年和2004年分别达到74.07%和60.00%。花瓣和萼片的排列也异于正常花,整个花形态不呈典型两侧对称(图1)。在调查的186朵NJS-

10Hfs花中,只有14朵花(8.1%)的萼片、旗瓣、翼瓣、龙骨瓣及花药和柱头数量与NJS-10Hff正常花朵相同,2003-2004年调查发现叶异常植株均出现许多结构异常的花朵。

表1 NJS-10Hfs与正常可育株NJS-10Hff顶端3节中间小叶叶长宽比较

Table 1 Comparison of leaf length and leaf width of NJS-10Hfs abnormal plants with NJS-10Hff plants

类型 Type	顶叶长 Top leaf length	顶叶宽 Top leaf width	倒1叶长 Top 2 <sup>nd</sup> leaf length	倒1叶宽 Top 2 <sup>nd</sup> leaf width	倒2叶长 Top 3 <sup>rd</sup> leaf length	倒2叶宽 Top 3 <sup>rd</sup> leaf width
NJS-10Hff normal plant	10.3	4.9	9.5	5.5	8.4	5.0
NJS-10Hfs abnormal plant	9.3	1.6	8.5	1.5	8.1	1.4
平均数差数( $\bar{X}_1 - \bar{X}_2$ )	1.0	3.4 **	1.0	4.0 **	0.4	3.6 **
LSD <sub>0.01</sub>	1.5	0.70	1.20	0.70	1.4	0.5



图1 NJS-10Hfs的叶与花形态 a NJS-10Hfs植株(左)与NJS-10Hff正常株(右)

b NJS-10Hfs复叶(左)与NJS-10Hff正常复叶(右); c NJS-10Hfs花形态; d NJS-10Hff正常花形态

Fig. 1 Leaved and flowers of NJS-10Hfs; a. NS-10fs plant(left)and NJS-10Hff normal plant(right); b. Trifoliate leaves of NJS-10Hfs( left) and NJS-10Hff normal plant(right); c. NJS-10Hfs flower; d. NJS-10Hff normal flower

NJS-10Hfs大部分花朵的雄蕊均不表现豆科典型的"9+1"雄蕊。花瓣异常花朵的花药数量减少甚至无花药,花药中无花粉或花粉量很少,花粉败育;但一些花形态基本正常的如只有萼片变异的花

以及表现正常的花的花药中花粉较多,可被醋酸洋红染色,花粉萌发率可达80%以上,但所有不育株均未结豆荚。

表2 NJS-10Hfs花器官的表现

Table 2 Performance of flower characters of NJS-10Hfs plants

项目 Item	平均数( $\bar{X}$ )		变幅 Range		异常花百分数 Rate of abnormal flower	
	2003年	2004年	2003年	2004年	2003年	2004年
单花萼片数 No. sepal	5.6	5.4	4-8	2-7	39.51%	37.65%
单花旗瓣数 No. vexilla	1.2	1.2	1-3	1-4	17.28%	15.29%
单花翼瓣数 No. wing petal	2.4	1.8	2-4	0-3	37.04%	25.88%
单花龙骨瓣数 No. keel petal	3.7	3.2	2-7	2-9	74.07%	60.00%
单花花药数 No. anther	8.6	6.7	0-12	0-16	74.07%	64.71%
单花雌蕊数 No. pistil	1.0	1.0	0-2	0-2	9.88%	9.41%

2.3 NJS - 10Hfs 植株的雌性育性测验

表 3 的结果表明, NJS - 10Hfs 不育株与父本 N2899 和 TZD 人工杂交共 400 朵花未结荚, 而 its 同胞可育株平均结荚达 10%。且 2001 - 2003 年 NJS - 10H 中出现的所有不育株均未结荚, 而其它雄性核不育材料如 ms1、ms2、ms6 等在南京田间自然条件下均能结少量荚, 表明 NJS - 10Hfs 的雌性育性异常。

收获期观察发现 NJS - 10Hfs 株高比正常株略低, 所结肉荚与 ms1、ms2 等核不育材料不同, 往往在一个肉荚基部萼片处又生长出类似小肉荚的突起, 一般有 2 - 3 个, 有时四周都生长, 使一个肉荚变成象多个肉荚聚在一起的聚合物。有些肉荚中原着生子房的位置也出现小肉荚状突起, 这些突起都很坚硬, 其成因有待进一步研究。

表 3 雌性育性测验  
Table 3 Tests for female fertility

年份 Year	杂交组合 Cross	杂交花朵数 No. crossed flowers	结荚数 No. pods	杂交成功率 Success rate( %)
2002	NJS - 10Hfs 不育株( Sterile plants)× N2899	60	0	0
	NJS - 10Hff 同胞可育株( Fertile plants)× N2899	100	12	12. 0
2003	NJS - 10Hfs 不育株( Sterile plants)× N2899	240	0	0
	NJS - 10Hff 同胞可育株( Fertile plants)× N2899	150	13	8. 7
	NJS - 10Hfs 不育株( Sterile plants)× TZD	100	0	0
	NJS - 10Hff 同胞可育株( Fertile plants)× TZD	100	15	15. 0

2.4 NJS - 10Hfs 植株叶与花形态异常和不育性的遗传分析

2002 - 2003 年观察发现 NJS - 10H 所有分离株行中 338 株异常叶和花形态植株均表现不育, 说明该叶与花形态异常特性和不育性可能受相同基因或受紧密连锁基因控制。

表 4 列出对 NJS - 10H 分离株行中正常植株与异常叶和花形态的不育株分离比例的适合性测验结果。2001 - 2003 年分离株行的分离比例均符合 3: 1 的表型分离比例。2002 年种植的上年分离株行正常植株衍生的 9 个株行, 其中有 4 个出现分离, 共 189 株, 有 42 株表现叶和花形态异常和不育特性, 分离符合 3: 1 的表型分离比例( $X^2=0.64$ ,  $P=0.42$ )。

2003 年种植上年出现育性分离的 2 个株行共 61 个单株, 结果由上年一个分离株行 45 个正常单株衍生的后代株行中, 有 17 个未出现叶、花形态异常不育株( 纯合株行), 28 个株行出现正常植株及异常叶、花形态不育株两种类型的分离, 另一个株行 16 个正常单株衍生的后代中, 有 5 个未出现异常叶和花形态的不育株, 11 个出现分离, 结果均符合 1( 不发生分离的株行总数): 2( 出现异常叶和花形态的不育株的分离株行数) 的基因型分离比例。

2003 年种植育性分离株行中可育株× N2899 的 F<sub>1</sub> 共 17 株均可育, 2004 年种植发现有 2 个 F<sub>1</sub> 单株衍生的 F<sub>2</sub> 群体出现叶和花形态异常植株, 正常植株与叶和花形态异常植株的比例为 104: 33, 符合 3: 1

表 4 NJS - 10H 分离株行的适合性测验  
Table 4 The fitness test of NJS - 10H segregating lines

材料来源 Source	总株数 n	正常可育株数 No. normal plant	形态异常不育株数 No. abnormal plant	X <sup>2</sup>	p
株行 1( Line1, 2001)	28	22	6	0. 05( 3 : 1)	0. 83
分离株行合计( Sum of segregating lines, 2002)	189	147	42	0. 64( 3 : 1)	0. 42
分离株行合计( Sum of segregating lines, 2003)	1221	925	296	0. 33( 3 : 1)	0. 56
	株行数 Number of lines	纯合株行数 Number of non - segregating lines	分离株行数 Number of segregating lines	X <sup>2</sup>	p
株系群 1 合计( Sum of line group 1, 2003)	45	17	28	0. 23( 1 : 2)	0. 64
株系群 2 合计( Sum of line group 2, 2003)	16	5	11	0. 01( 1 : 2)	0. 93

的表型分离比例( $X^2=0.02$ ,  $P=0.88$ ), 表明该叶和花形态异常性状受单隐性基因控制。综合推断 NJS-10Hfs 具异常叶和花形态的不育性状受一对隐性基因控制。

已报道的雌性不育突变体一般表现为花粉发育减数分裂时染色体联会消失, 为雌雄均不育。NJS-10Hfs 雌性完全不育, 同时具有叶和花形态异常的表现, 但少数形态正常花朵的花粉仍有活力, 所以很可能是一个新的大豆突变体类型。

3 讨论

利用突变体研究基因功能是功能基因组学的重要方法。罗琼等(2001)报道水稻一个新发现的叶片无中脉和雌蕊发育异常的突变体 dl(t) 受单隐性基因控制, 认为这类既影响叶脉发育又影响雌蕊发育的多效同源基因可能与拟南芥花器官发育的调控基因 SUPERMAN(SUP)作用类似<sup>[4]</sup>。SUP 基因能抑制花器官发育基因 B 功能基因在雌蕊中的表达, 是拟南芥第三轮花器(雄蕊)和第四轮花器(雌蕊)的定域基因, 合成 C2H2 型具锌指结构的蛋白质, 与

DNA 分子胞嘧啶甲基化有关<sup>[5-9]</sup>。sup 突变体主要表现为雄蕊和雌蕊异常, 而 NJS-10H 突变株叶和花器官均出现异常, 且雌性不育, 不同于 sup 突变体, 与水稻 dl(t) 突变体有些相同, 深入研究这些突变体的遗传基础将有利于揭示植物叶和花发育规律。

参 考 文 献

1 刘秉华, 王山荭, 杨丽. 小麦雌雄不育性的发现及遗传分析[J]. 作物学报, 1996, 22(2): 238-240  
2 钟蓉, 肖郁明, 高方远, 等. 植物雌性不育的研究进展[J]. 大自然探索, 1998, 17(1): 75-79  
3. Palmer RG, J Gai, H Sun et al. Production and evaluation of hybrid soybean[J]. Plant Breeding Reviews 2001, 21: 263-307.  
4 罗琼, 周开达, 王文明, 等. 一个新的水稻叶片和雌蕊发育异常突变体的遗传分析及其基因的分子标记定位[J]. 科学通报, 2001, 46(15): 1277-1280  
5 Sakai H, L J Medrano, EM Meyerowitz. Role of SUPERMAN in maintaining Arabidopsis floral whorl boundaries [J]. Nature, 1995, 378(6553): 199-203  
6 Steven E J, E M Meyerowitz. Hypermethylated SUPERMAN epigenetic alleles in Arabidopsis[J]. Science, 1997, 277: 1100-1103.

A NEW SOYBEAN FEMALE STERILE MUTANT WITH ABNORMAL LEAVES AND FLOWERS

Zhao Tuanjie Gai Junyi

(Soybean Research Institute of Nanjing Agriculture University, National Center for Soybean Improvement, National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing, 210095)

**Abstract** The mutation NJS-10H was identified and isolated from a natural out-crossing derivative of NJCMS1A. The mutant plants of NJS-10H designated as NJS-10Hfs and characterized with abnormal leaf shape and flower structure and full female sterility in comparison with those of normal sibs designated as NJS-10Hff. The genetic analysis showed that the female sterility and abnormal leaf and flower traits might be pleiotropic of a pair of recessive gene.

**Key words** Soybean; Female sterility; Abnormal flower structure; Inheritance