

大豆柱头外露突变体及其遗传规律^{*}

梁慧珍 李卫东

(河南省农业科学院棉油作物研究所, 郑州 450002)

摘要 首次发现大豆突变体 HNL002 具有双花柱、柱头外露、花药退化、花药距柱头的距离远和不育五种突变聚集在一起的特征。细胞学鉴定结果: 花丝短, 柱头、花柱和果柄长, 双花柱外露时花的顶部有一小孔, 呈开放状。花药少且开裂性差。开花时花药较明显地低于柱头而围绕于子房的四周, 自花授粉难, 植株表现出一定程度的不育。基因遗传结果: 不育由细胞核隐性基因控制, 柱头外露和不育表达是一主效隐性基因和多个微效(修饰)基因共同作用的结果; 高温可使花丝扭曲变异, 拉长柱头与花药的距离, 降低结荚率; 柱头外露的果柄越长其柱头外露的长度也愈长; 柱头外露的基因型明显的表现为长柱头、长花柱和长粒型。该研究为大豆“三系”和“两系”的直接利用提供育种资源, 促使杂交大豆走向大规模商业化。

关键词 大豆; 突变体; 双花柱; 柱头外露; 雄性不育

中图分类号 S 565. 101 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2005)04-0256-04

大豆雄性不育最早在 20 世纪 20 年代发现^[1]。迄今报道的有: 结构不育(*ft*, *fs1f2*)^[2], 部分雄性不育(*msp*)^[3], 联会突变导致雄性雌性均不育(*st1*, *st2*, *st3*, *st4*, *st5* *st6*, *st7*, *st8*)^[4-7], 雄性不育雌性可育(*ms1*, *ms2*, *ms3*, *ms4*, *ms5*, *ms6*, *ms7*, *ms8*, *ms9*)等^[8-12]; 质核互作雄性不育^[13-16]; 光(温)敏雄性不育^[17]; 对播种期反应敏感不育^[18]等。直到目前还没有报道过双花柱、柱头外露、花药退化、花药距柱头的距离远和不育五种突变聚集在一起的特殊突变体。由于 HNL002 双花柱柱头外露大豆突变体的花药少并且开裂性差以及花药距柱头的位置退后, 而雌蕊发育正常, 暂且把 HNL002 突变体定义为一种新型的大豆雄性不育。这种不育可能与内部复杂的结构有关。杂种优势的利用是作物产量突破的有效途径之一。杂交种的增产效应已为国内外的生产实践所证实。中国是栽培大豆的起源国家, 地域辽阔、气候条件复杂、大豆品种类型多样、分布规律性强, 为研究各种特性的大豆品种创造了良好的条件。到目前为止, 我国已选育出十几个不同的育性稳定的大豆质核互作雄性不育系并实现了三系配套。但不育系的繁殖与杂交的配制存在很大的困难。大豆雄性不育系自然异交率的高低主要取决于

花器性状、开花习性及环境条件的变化。由于大豆花器小, 花多, 花粉粘重, 花朵开放时翼瓣和龙骨瓣紧紧包住雄蕊和柱头, 花药和柱头不外露, 异花间的昆虫传粉及风媒传粉难以进行, 开花授粉问题成为大豆杂种优势利用的关键, 也是大豆的杂种优势能否走向大规模商业化制种的关键。本研究的目的在于通过对双花柱柱头外露大豆突变体的遗传分析, 探明其遗传行为, 以丰富不育遗传研究的内容, 为大豆杂种优势利用尤其是“两系”的直接利用开辟一条新途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

突变体试验材料来自一个新发现的柱头外露 HNL002 大豆不育系。该品系多年来一直表现为不育, 有的年份不育率高, 有的年份不育率低, 出现不育率低时伴随有植株显著变矮。2002 年发现: HNL002 自然突变不育株与其它不育株的花不一样, 表现为两个肉荚公用一个花托, 双柱头中的一个长柱头发生柱头外露(图 1 右边), 开花时, 有的花顶

* 收稿日期: 2005-07-22

基金项目: 河南省自然科学基金项目, 编号为: 0511030500

作者简介: 梁慧珍(1968-), 女, 副研究员, 博士生, 从事大豆遗传育种及功能基因组研究。E-mail: lhzh66666@163.com

部有一小孔, 呈开放状(图 2 右边)。经过对不育率高且双花柱柱头外露的植株三个季节的跟踪观察与选择, 既得到该突变体。作对照的正常材料是本地推广品种国审郑 92116。

1.2 繁殖及孟德尔遗传分析方法

用孟德尔遗传实验的基因分离规律、独立分配规律及验证方法的杂交法、侧交法、自交法。对每一代的植株开花的花粉育性检验和鉴定。柱头外露等性状杂交实验采用上述突变体大豆 HNL002 和正常大豆郑 92116 为亲本材料, 正反交配制杂交组合, 其 F_1 自交获得 F_2 代, 柱头外露突变的分离规律进行 χ^2 验证。

1.3 育性鉴定

用 KI-I₂ 染色进行花粉育性镜检和通过花粉粒形态观察区别花粉育性。

1.4 各性状的细胞学观察及测量

于每天 6:00-8:00 和 16:30-18:30 根据似露非露花瓣(花蕾未开放)为取材标准, 分别取不同发育时期的不同节位的花蕾。分装于盛有卡诺固定液(3 乙醇: 1 冰醋酸)的玻璃瓶中, 4℃冰箱中固定, 于 0-4℃下保存备用。在光学显微镜下操作进行柱头外露和双花柱等性状观察、统计和拍照。籽粒性状的测定方法: 用数显游标卡尺 III 型 ST187B 测定; 取样及其测定重复 2 次。

1.5 形态鉴定方法

采用国家大豆品种区域试验的记载和考种标准对该突变体进行表型形态鉴定。

2 研究结果

2.1 HNL002 大豆突变体的植物学表型鉴定结果

植株呈塔型, 有限结荚习性, 植株直立, 株高略矮(65cm 左右), 主茎 11 节, 分枝 2.1 个, 株型收敛。叶色浓绿, 叶形椭圆, 叶片偏小(叶片大约长 7cm, 宽 5cm), 叶柄和果柄长, 花托大, 叶色浓绿, 白花, 荚熟时颜色浅褐, 茸毛灰色。单株结的肉荚很多, 大约 90 个左右, 但能够结实的仅有 2.6 个左右, 有的甚至全株不育, 有效荚的每荚粒数 2.1 粒。该突变体底荚高 6cm 左右。粒形介于椭圆和长之间, 种皮黄色, 有微光泽, 脐色浅褐, 百粒重 15.5g 左右。蛋白质含量 44.8%, 脂肪含量 20.1%。

2.2 主要花器形态特点和发育过程的细胞学观察

显微镜观察花器结构的异常表现为: 雌蕊、花柱和柱头都细长, 每株大约有 21% 的花朵出现双花

柱, 柱头随着花冠伸长而伸长, 一般是两个柱头中的一个长柱头发生柱头外露, 双柱头中大约有 11% 发生柱头外露, 柱头外露长度 0.9mm 左右(图 2 右边)。两个花柱公用一套旗瓣、翼瓣、龙骨瓣和花萼, 花柱从花托基部开裂分叉形成两个花柱(图 1 右边), 双花柱的子房扁平, 有的双花柱的一个柱头结成了有效荚, 另外一个变成了肉荚, 停止发育; 有的双花柱的两个花朵都变成了肉荚, 停止发育; 还有的双花柱同时都结成了有效荚。HNL002 大豆突变体非双花柱的花朵一般不开放, 萼片和花瓣紧紧裹住花柱; 花药小, 花药的开裂性差。据镜检: HNL002 大豆突变体的花粉较正常发育花粉少(图 3); 开花时, 花药明显低于柱头而围绕于子房的四周, 柱头远高于雄蕊群, 花粉囊破裂时花粉不易散落在柱头上, 自花授粉很难, 出现不育。这种不育突变体与以往国内外报道的不育突变体不同。

2.3 遗传研究结果

研究表明: F_1 正反交组合的结实率不受细胞质影响, HNL002 系的柱头外露和育性遗传为核基因控制。 F_2 代的变化是一个连续的过程, 以结实率 70% 为界划分可育与不育及半不育时, 出现 3: 1 的分离比, 符合可育: 不育为 3: 1 的适合性测验。因此, HNL002 系的柱头外露和不育表达是主效隐性基因和多个微效(修饰)基因共同作用的结果。进一步研究花器性状的遗传力, 可为杂交大豆亲本花器性状的遗传改良提供丰富的基因资源。

2.4 基因相关性结果

双花柱大豆突变体 HNL002 的柱头外露的基因型表现为: 长柱头、长花柱和长粒型。特别是柱头外露的果柄越长, 其柱头外露的长度也愈长。柱头外露与突变体的花柱长、花瓣(旗瓣、翼瓣、龙骨瓣)和花萼短、双花柱的出现有关。双花柱大豆突变体 HNL002 的两个花柱, 公用一套与单个花柱形态和大小同样的旗瓣、翼瓣、龙骨瓣和花萼, 使得双花柱的旗瓣、翼瓣、龙骨瓣和花萼很容易从上至下裂开一条缝, 柱头暴露出来, 表现出柱头外露。突变体 HNL002 的柱头外露率与双花柱、花柱长、柱头长、花药位置退后等性状之间的相关关系及相关程度, 以及柱头外露率与双花柱、花柱长、柱头长、花药位置退后等性状是否与表型性状基因连锁, 如萼片的形状、花色、花瓣(旗瓣、翼瓣、龙骨瓣)的形状大小、果柄的长短、叶柄的长短和种子籽粒的形状大小等正在研究中。

2.5 温度影响研究结果

一般能满足大豆生长的温度下高温或干旱都能使 HNL002 突变体降低结荚率。高温或干旱使得花丝扭曲变异,在空间上把 HNL002 突变体柱头与花药的距离拉得更长,影响受精。这也许是降低结荚率的原因。还需要进一步研究光(温)敏等生态因子对柱头外露率的影响及对 HNL002 突变体出现 100%不育的极限指标,从而改良大豆柱头外露状况。

2.6 不育性研究结果

不育的原因有两种:柱头外露的植株,授不到外界的花粉产生不育;柱头不外露的植株,由于柱头与花药的距离较远,花药的开裂性差产生不育。

2.7 成活率高的双花柱选择结果

选择双花柱有效荚多的植株(图 4),下一代的柱头有效荚数量比上一代有所增加,但每次增加的百分数不等,进一步选择双花柱有效荚率高的植株,直至纯合到整株全部都是双花柱有效荚。增加单株结荚数可以达到增产目的。

3 讨论

HNL002 是河南省地方大豆半不育系突变体,由于花丝短、柱头和花柱长导致花药位置退后,在开花过程中柱头始终高于花药的位置,花药和柱头在空间上形成较大差距(图 1 右边),花粉囊破裂时花粉不易散落在柱头上,自花授粉困难且发生柱头外露,表现出不同程度的不育,这可能是作物从自花向异花授粉的一种自然突变转化。双花柱的出现,又预示着单株结荚数的提高潜力。双花柱中的一个花柱的柱头发生外露(图 1 右边),也是作物通过异花授粉实现杂种优势自然进化的又一个预兆,在品种的“两系”杂种优势直接利用、“三系”回交转育及群体改良具有重要的应用价值。

遗传结果表明,不同播期内 F₂ 代柱头外露和育性表现为连续变化,当人为地以育性 70%为界划分可育与不育时,出现 3 : 1 的分离比,可以认为 HNL002 系的不育性是由 1 对主效基因加上多个微效(修饰)基因控制表达的。不同播期育性分离的频率分布主要在 0 - 70%区段内发生改变,70.1% ~ 100%分布频率在每一播期基本达到 3/4 的比例。而在 0 - 70%变化,是由不同的柱头外露和育性敏感微效(修饰)基因在对外界条件的不同反应基础上变化,当温度条件达到一定的程度或某一范围,所有柱头外露和不育突变微效(修饰)基因均表达时,频

率分布在 0 - 70%自交结实率区间将完全达到 1/4 的比例。因为外难以同时满足多个微效(修饰)柱头外露和不育基因表达所需的环境条件,在后代的播期才出现了柱头外露和育性连续分布,即在每一特定阶段,总有部分微效突变基因表达或不表达,表现为突变性状低于 70%的范围内频率分布连续变化,而大于 70%的范围内比例占总体的 3/4 左右。因此,可以认为 HNL002 系柱头外露和不育性属 1 对主效基因加上多个微效(修饰)核不育基因控制,其总体水平可育与不育分离比符合 3 : 1 规律。由于 HNL002 目前只表现一部分柱头外露和半不育性,对温度条件反应的最敏感时期暂时还未找到,因此该材料有待于更深入的研究。同时,本试验在该材料 F₂ 代育性调查中发现,不育或半不育株大多为矮秆植株,高秆的植株极少,柱头外露和不育性与矮秆是由于“一因多效”还是两个基因紧密连锁,有待进一步研究。

参 考 文 献

- Owen F V. A sterile character in soybeans[J]. *Plant Physiology*, 1928, 3: 223 - 226
- Brim C A, Stuber C W. Application of genetic male sterility to recurrent selection schemes in soybeans[J]. *Crop Science*, 1973, (13): 528 - 530
- Stelly D M, Palmer R G. Variable development in anthers of partially male - sterile soybeans[J]. *The Journal of Heredity*, 1982, 73: 101 - 108.
- Hadley H H, Starnes W J. Sterility in soybeans caused by asynapsis[J]. *Crop Science*, 1964, 4: 421 - 424
- Palmer R G. A desynaptic mutant in the soybean[J]. *The Journal of Heredity*, 1974, 65: 280 - 286.
- Palmer R G, Kaul M L H. Genetics, cytology, and linkage studies of a desynaptic soybean mutant[J]. *The journal of Heredity*, 1983, 74: 260 - 264
- Palmer R G, Homer H T. Genetics and cytology of a genic male - sterile female - sterile mutant from a transposon - containing soybean population[J]. *J Hered*, 2000, 91: 378 - 383.
- Albertsen M C, Palmer R G. A comparative light - and electron - microscopic study of microsporogenesis in male sterile (ms) and male fertile soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.)[J]. *American Journal of Botany*, 1979, 66(3): 253 - 265
- Buss G R. Inheritance of a male - sterile mutant from irradiated Essex soybeans[J]. *Soybean Genetics Newsletter*, 1983, 10: 104 - 108.
- Delannay X, Palmer R G. Genetics and cytology of the ms 4 male - sterile soybean[J]. *The Journal of Heredity*, 1982, 73: 219 - 223
- Graybosch R A, Bernard R L. Genetic and cytological studies of a

male - sterile, female - fertile soybean mutant[J] . The Journal of Heredity, 1984, 75: 383 - 388

12 Palmer R G. Genetics of Four Male - Sterile, Female - Fertile Soybean Mutants[J] . Crop Science, 2000, 40: 78 - 83

13 孙襄, 赵丽梅, 黄梅. 大豆质 - 核互作不育系研究[J] . 科学通报, 1993, 38(6): 1535 - 1536

14 盖钧镒, 丁德荣, 崔章林, 等. 大豆质核互作雄性不育系 NJG MS1A 的选育及其特性[J] . 中国农业科学, 1999, 32(5): 23 - 27.

15 许占友, 李磊, 邱丽娟, 等. 大豆三系的选育及恢复基因的 SSR 初步定位研究[J] . 中国农业科学 1999, 32(2): 112

16 张磊, 戴瓯和, 黄志平, 等. 大豆质核互作 M 型雄性不育系的选育及其育性表现[J] . 中国农业科学 1999, 32(4): 34 - 38

17 卫保国. 大豆光(温) 敏雄性不育系的发现初报[J] . 作物品种资源, 1991, (3): 12.

18 彭玉华, 杨国保, 袁建中, 等. 一个对播种期反应敏感的不育大豆特征分析[J] . 作物学报, 1998, 24(6): 1010 - 1013.

EXSERTED STIGMA OF TWIN STYLUS AND IT' S GENETIC BASIS OF
HETEROGENEITY IN SOYBEAN

Liang Huizhen Li Weidong

(Cotton & Oil Crops Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences,
Zhengzhou 450002, China)

Abstract Here we report a soybean semi - sterile line (HNL002). HNL002 possesses five mutations, which are exsersed stigma, twin stylus, anther degeneration, male - sterile and long distance between anther and stigma entirely. Through cytological observation, this semi - sterile line gets together shorter filament, and longer stigma, longer stylus and longer carpophore. The flowers present a opening pore on the top of twin stylus, while stigma exserting. Anther is few, and anther dehiscence is difficult. Anther surrounding ovary is obviously lower than stigma, when blooming. Self - pollination is difficult, therefore the mutation has some of sterile. Sterile is controlled by nucleus recessive gene, the ratio of fertile to exsersed stigma sterile would be 3: 1. High temperature could make filament twist, which increased the distance between stigma and anther. Those maybe result in lower podding rate. The degree of stylus exsertion is along with carpophore length increasing. The genotype of exsersed stigma represents long stigma, long stylus and long chondrio evidently. That finding will directly provide breeding resource for application of "three - line hybrid" and "two - line hybrid" in soybean, which will make hybrid soybean come in market cosmically.

Key words Male - sterile; Mutant; Soybean; Exsersed stigma; Twin style

