

大豆 2 个雌雄不育突变体的发现与鉴定^{*}

赵团结 盖钧铭

(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 从(南农 73-935×Beeson)F₃ 株行和 Co⁶⁰γ 射线辐照处理南农 87C-38 的 M₅ 株行分别发现 2 个育性异常材料 NJS-18H、NJS-19H。后裔试验育性鉴定表明 NJS-18H、NJS-19H 不育株的雌性与雄性育性均不正常, 不能正常结荚, 可能为联合异常突变体, 其不育性均受 1 对隐性基因控制。该 2 个突变体可能用作大豆雌雄配子发育及其相互遗传关系研究的材料。

关键词 大豆; 突变体; 雌雄不育性; 遗传分析

中图分类号 S 565.1 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2006)02-0109-04

雌雄不育突变体作为一类特殊的遗传材料可用于深入研究作物雌雄配子发育及其相互遗传关系^[1~3]。目前美国和巴西共报道 10 个大豆雌雄性均不育突变体, 其表现为染色体联合异常, 绒毡层一般也发育异常。已鉴定出 *st1-st8* 共 8 个位点, 除源于品种 Calland 的雌雄不育性受双隐性重叠基因 *st6st6st7st7* 控制, 其它均为单隐性基因遗传, *st5*、*st8* 分别被定位在分子连锁群 F 和 J 上^[3~6]。本文报导新发现的 2 个雌雄育性异常材料的形态表现与育性遗传分析结果。

1 材料与方法

1.1 试验材料 NJS-18H、NJS-19H 的发现

2001 年在组合(南农 73-935×Beeson)F₃ 一个株行中出现育性分离, 共 15 株, 有 3 株不育且均未结荚。该株行可育株衍生后代仍能分离出不育株, 表明该不育性状可遗传, 将该不育种质命名为 NJS-18H, 为便于叙述, 将其中不育株命名为 NJS-18H(s), 而正常同胞株(家系)为 NJS-18H(f)。NJS-18H 为圆叶、白花、灰毛、有限结荚习性, 株高 60~70cm, 生育期 115~120 天, 属熟期组 V。

2002 年收获期从 Co⁶⁰ 辐照处理的南农 87C-

38 衍生的一个 M₅ 株行出现育性分离, 共 56 株, 其中 40 株结荚正常, 16 株表现完全不育。因不育株不能结荚, 只能通过杂合体保存, 将该不育种质命名为 NJS-19H, 并将其中不育株命名为 NJS-19H(s), 而正常同胞株(家系)为 NJS-19H(f)。NJS-19H 与原亲本南农 87C-38 形态上很相似, 灰毛、褐色荚、无限结荚习性、绿皮绿子叶, 株高约 95cm, 生育期 125~130 天, 属熟期组 VI。但所出现的不育株在成熟时叶片仍为绿色, 不能正常结荚。该不育性可能由基因突变所致。

1.2 鉴定方法

雄性育性根据开花期花药散粉性能并结合花粉萌发率确定。即在上午育性正常大豆品种花药散粉后(正常情况下 7:30 A.M 以后)对花药进行散粉调查, 花药表现完整、目测不散粉植株初步划为不育株, 目测可见散粉的为可育。同时采用悬滴培养法鉴定花粉萌发率, 培养液为 20%蔗糖溶液+1.94 mmol/L 硼酸。开花期采集不同发育时期的花芽, 常规压片观察小孢子和花粉形态。成熟期进一步调查植株育性表现, 将未正常结荚但有小秕荚(子房未发育)、叶片仍为绿色不脱落的植株归为不育株, 而育性正常的植株叶片枯落, 结荚正常。由于花粉萌发率为 0 的植株成熟期均表现不育形态, 二者能相

^{*} 收稿日期: 2005-08-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30490250)、国家重点基础研究发展规划项目(2004CB7206)、教育部科技基础条件平台重点项目(505005)

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

通讯作者: 盖钧铭, 院士, 教授, 博导, Tel: 025-84395405; E-mail: sri@njau.edu.cn

互对应,故在遗传分析中根据成熟期植株形态来划分可育株和不育株。

雌性育性采用人工平行杂交方法间接鉴定。以 NJS-18H(s)、NJS-19H(s)和 NJS-18H(f)、NJS-19H(f)为母本,以 TZD 及 N2899、南农 87C-38 为父本在相对一致条件下(同一人、同一时间)进行平行杂交试验,以杂交成功率间接判断雌性器官育性。

育性遗传采用后裔鉴定分析,即从育性分离株行选择可育株下代种植,根据衍生后代(株系和株系群)来推断育性遗传规律。按常规田间管理措施,每株系 1~3 行,行长 4m,行距 0.5m,株距 0.1m,调查每个株行的育性分离比例,分离比例采用 χ^2 适合性测验分析。

2 结果与分析

2.1 NJS-18H(s)、NJS-19H(s)的雄性育性特点

与核不育 ms2、ms6 及质核互作雄性不育系 NJCMS1A 等不育株相比,NJS-18H(s)、NJS-19H(s)的花药不散粉,开花后花药发黑,与可育株差别大,易区分。成熟花药中花粉粒大小不一致,形状也不规则,花粉内含物消失或很少,用洋红染色液

处理不能被染色,其花粉萌发率为 0。NJS-18H(s)、NJS-19H(s)小孢子减数分裂染色体配对异常,出现二分体、三分体、五分体等异常形态,表明其可能为联会异常突变体。

2.2 NJS-18H(s)、NJS-19H(s)的雌性育性特点

2002 年对 NJS-18H(s)人工去雄 100 朵花授以 N2899 的花粉,结果未得到杂交种子。2004 年进一步对不育株人工去雄 200 朵花授以正常品种 TZD 花粉,结果仍未获得杂交种子,而用 NJS-18H(f)为母本,杂交成功率可达 6.7%(表 1)。2001-2004 年观察所有不育株均未结荚,表明 NJS-18H(s)的雌性可能不育。

2003 年对 NJS-19H(s)人工去雄 150 朵花授以南农 87C-38 可育株花粉,未得到杂交种子;2004 年以分离株行中 NJS-19H(s)和 NJS-19H(f)为母本分别与 TZD 人工平行杂交,NJS-19H(s)×TZD 组合未结荚,而 NJS-19H(f)×TZD 杂交成功率为 6.5%(表 1)。该突变材料不同株行分离出的所有不育株均未结荚,表明 NJS-19H(s)雌性也不正常。即 NJS-18H(s)、NJS-19H(s)为雌雄不育类型。

表 1 NJS-18H(s)、NJS-19H(s)的雌性育性测验

Table 1 Tests for female fertility of NJS-18H(s) and NJS-19H(s)

杂交组合(年份) Cross(Year)	杂交花朵数 No. crossed flowers	结荚数 No. pods	杂交成功率 Success rate (%)	杂交组合(年份) Cross(Year)	杂交花朵数 No. crossed flowers	结荚数 No. pods	杂交成功率 Success rate (%)
NJS-18H(s)×N2899 (2002)	100	0	0	NJS-19H(s)×NN87C-38 (2003)	150	0	0
NJS-18H(s)×TZD (2004)	200	0	0	NJS-19H(s)×TZD (2004)	200	0	0
NJS-18H(f)×TZD (2004)	150	10	6.7	NJS-19H(f)×TZD (2004)	200	13	6.5

2.3 NJS-18H、NJS-19H 不育性的遗传分析

2.3.1 NJS-18H 不育性的遗传分析

2002 年种植 NJS-18H 上年 F₃ 分离株行中可育株衍生的 7 个 F_{3,4} 株行,其中有 3 个出现育性分离,共有 103 株,可育株与不育株比例为 80:23,符合 3:1 的表型分离比例($\chi^2=0.26$, $P=0.61$)。

2003 年种植 NJS-18H 上年 3 个 F_{3,4} 分离株行共计 50 个可育单株衍生的 F_{4,5} 株行,从表 2 可见共有 19 个株行未出现育性分离,31 个株行出现育性分离,符合 1(不发生育性分离的株行总数):2(出现育性分离株行数)的基因型分离比例($\chi^2=0.49$, $P=0.48$)。31 个育性分离株行的可育株与不育株比例为 675:203,符合 3:1 的表型分离比例($\chi^2=1.56$, $P=0.21$),表明该性状受 1 对隐性基

因控制。美国从品种 Beeson 后代分别发现了与 st5、ms1 等位的 2 个不育突变体及另一个雄性不育-雌性可育突变体^[7],NJS-18H 的产生是否与原亲本 Beeson 有关以及 NJS-18H 的不育基因与 st5 是否等位尚待进一步研究。

2.3.2 NJS-19H 不育性的遗传分析

表 3 列出 NJS-19H M_{5,6}和 M_{6,7}株行育性分离表现。2003 年种植由出现育性分离的 M5 株行 35 个可育株衍生的 M_{5,6} 家系群,结果有 10 个 M_{5,6} 株行未出现育性分离,25 个株行发生分离,符合 1:2 的理论比例($\chi^2=0.18$, $P=0.68$);25 个育性分离的 M_{5,6} 株行共计 935 株,可育株:不育株的比例为 709:226,符合 3:1 的表型分离比例($\chi^2=0.3$, $P=0.58$),且每个分离株行均符合 3 可育株:1 不育

株的表型分离比例, 同质性测验无显著差异, 表明该不育性状可能受一对隐性基因控制, 有待后裔试验证实。

表 2 NJS—18H F_{4,5} 家系群育性分离的适合性测验

Table 2 Fitness tests for fertility segregation of NJS—18H F_{4,5} families

家系群来源 Line group	株行数 No. lines/ group	分离株行数 No. segregating lines	纯合株行数 No. non-segregating lines	$X^2(2; 1)$	p
F _{4,5} —1 家系群 F _{4,5} line group 1	19	12	7	0.01	0.94
F _{4,5} —2 家系群 F _{4,5} line group 2	11	7	4	0.01	0.92
F _{4,5} —3 家系群 F _{4,5} line group 3	20	12	8	0.16	0.69
F _{4,5} 家系群合计 Sum	50	31	19	0.30	0.58

育性分离株行来源 Source of line in fertility segregation	总株数 No. plants	可育株数 No. fertile plants	不育株数 No. sterile plants	$X^2(3; 1)$	p
F _{4,5} —1 家系群 F _{4,5} line group 1	270	205	65	0.08	0.78
F _{4,5} —2 家系群 F _{4,5} line group 2	240	184	56	0.27	0.60
F _{4,5} —3 家系群 F _{4,5} line group 3	368	286	82	1.31	0.25
F _{4,5} 家系群合计 Sum	878	675	203	1.56	0.21

2004 年进一步对 2 个出现育性分离 M_{5,6} 株行的可育株所衍生的 M_{6,7} 家系群进行调查, 结果 2 个家系群共 43 个株行中表现全可育的株行数与发生育性分离的 M_{6,7} 株行数比例为 16 : 27, 符合 1 : 2 的理论比例 ($X^2=0.14$, $P=0.71$)。27 个育性分离株行共计 596 株, 可育株: 不育株的比例为 466 : 130, 符合 3 : 1 的表型分离比例 ($X^2=3.06$, $P=0.08$)。综上推断该雌雄不育性状受一对隐性基因控制。

3 讨论

植物雌雄性不育突变体可用于花发育特别是雌性育性及雌雄育性相互关系等方面的基础研究, 也

可能用于探索杂交种制种途径^[8]。雌性或雄性不育导致植物不能正常结实, 无法通过纯合不育基因型保持, 故首先要能保持不育性。水稻、油菜等作物发现的雌性不育突变体在一些生长条件下能恢复部分或全部育性从而可以保持不育性^[9, 10]。NJS—18H、NJS—19H 在南京多年夏播条件下均稳定地表现雌雄完全不育, 是否存在特殊生长环境可使之恢复雌雄育性尚不能确定。目前只能通过杂合体形式保持该不育性, 即从育性分离群体选择可育单株, 每群体 10—30 株, 下年分别种植成株行; 每年在育性分离行中再选择可育株下年种植。结合自交到高代(如 F₈ 代), 理论上同一 F₈ 代育性分离株行的可育与不育单株间平均遗传背景相似性(即纯合基因的比率)可

表 3 NJS—19H 育性分离的适合性测验

Table 3 Fitness tests of NJS—19H segregating lines

家系群来源 Source of line group	株行数 No. lines/ group	分离株行数 No. segregating lines	纯合株行数 No. non-segregating lines	X^2 (2; 1)	P
M _{5,6} 家系群 M _{5,6} line group	35	25	10	0.18	0.68
M _{6,7} —1 家系群 M _{6,7} line group1	30	18	12	0.34	0.56
M _{6,7} —2 家系群 M _{6,7} line group2	13	9	4	0.01	0.92
M _{6,7} 家系群合计 Sum of M _{6,7} line	43	27	16	0.14	0.71

育性分离株行来源 Source of lines in fertility segregation	总株数 No. plants	可育株数 No. fertile plants	不育株数 No. sterile plants	$X^2(3; 1)$	p
M _{5,6} 家系群 M _{5,6} line group	935	709	226	0.30	0.58
M _{6,7} —1 家系群 M _{6,7} line group1	380	293	87	0.79	0.37
M _{6,7} —2 家系群 M _{6,7} line group2	216	173	43	2.72	0.10
M _{6,7} 家系群合计 Sum of M _{6,7} line	596	466	130	3.06	0.08

达 99.2%, 可视为近等基因系用于进一步研究与利用。

杨守萍等(1999)^[11]发现雄性不育突变体 NJ89-1 细胞学特征与 *st* 不育系统有相似的雄性联会不育机制, 但雌性可育。Bione 等(2002)^[12]也发现雄性不育-雌性正常突变体 BR97-12986H 表现出联会异常特点, 这表明雌雄不育或雄性不育-雌性正常突变体均可能表现染色体不联会或联会消失。一些研究还发现雄性不育也可能使雌性育性降低, 说明雌雄不育性并不能简单的按一个性状对待, 但因雌性育性难以快速鉴定, 迄今对 *st* 系列及本研究对 NJS-18H、NJS-19H 不育性遗传研究仍按雄性育性及植株成熟期形态区分可育和不育类型。虽然 NJS-18H、NJS-19H 及 *st* 突变体不育性的遗传较简单, 但鉴于雌性和雄性育性应作为两个不同性状, 其雌性不育和雄性不育是否受同一套基因控制仍待确定, 即从遗传学推论, 这些突变体的雌性和雄性不育性可能为一因多效, 也可能为紧密连锁基因或复杂的基因互作等情况所致, 这需要进一步的遗传试验去证实。此外由杂交后代发现的 NJS-18H 与辐射诱变产生的 NJS-19H 不育基因是否等位也有待进一步研究。

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 Drews G N, R Yadegari. Development and function of the angiosperm female gametophyte[J]. Annual Reviews of Genetics, 2002, 36: 99-124
- 3 Palmer R G, H T Horner. Genetics and cytology of a genic male-sterile, female-sterile mutant from a transposon-containing soybean population[J]. Journal of Heredity, 2000, 91(5): 378-383
- 4 Bione N C P, M S Pagliarini, L A de Almeida, et al. An asynaptic mutation in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) associated with total absence of sister chromatid cohesiveness[J]. Cytologia, 2002, 67(2): 177-183
- 5 Mahama A A, K S Lewers, R G Palmer. Genetic linkage in soybean: classical genetic linkage groups 6 and 8[J]. Crop Science, 2002, 42(5): 1459-1464
- 6 Kato K K, R G Palmer. Molecular mapping of the male-sterile, female-sterile mutant gene (*st8*) in soybean[J]. Journal of Heredity, 2003, 94(5): 425-428
- 7 Skorupska H T, R G Palmer. The third mutation derived from the cultivar Beeson[J]. Soybean Genetics Newsletter, 1989, 16: 105-108
- 8 钟蓉, 肖加明, 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
- 9 陈新军, 戚存扣, 张洁夫, 等. 油菜雌性不育突变体 FS-M₁ 的生物学特性研究[J]. 中国油料作物学报, 2003, 25(3): 12-15
- 10 龚秉德, 张新玲, 马林等. 普通小麦中一种雌性不育现象的观察[J]. 作物学报, 2001, 27(6): 1013-1016
- 11 杨守萍, 盖钧镒, 徐汉卿. 大豆雄性不育突变体 NJ89-1 的细胞学研究[J]. 作物学报, 1999, 25(6): 663-666
- 12 Bione N C P, M S Pagliarini, L A de Almeida, et al. A new and distinctive male-sterile, female-fertile desynaptic mutant in soybean (*Glycine max*) [J]. Hereditas, 2002, 136(2): 97-103

DISCOVERY AND INHERITANCE OF TWO SOYBEAN MUTANTS WITH COMPLETELY FEMALE AND MALE STERILITY

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 Two mutants, NJS-18H and NJS-19H, were discovered from a (NN73-935×Beeson)F₃ family and a NN87C-38 M₅ family induced by Co⁶⁰γ ray, respectively. It showed that the sterile plants of NJS-18H and NJS-19H performed completely female and male sterile probably due to desynapsis, and the sterility of two mutants was controlled by one pair of recessive gene. The two mutants could be used in study of formation and development of male and female gamete and their genetic relationship.

Key words Soybean; Mutant; Female and male sterility; Inheritance