

大豆花粉育性分类标准的研究^{*}

孙 寰 赵丽梅 王曙明 王跃强 彭 宝 程延喜 张井勇

(吉林省农业科学院, 公主岭 136100)

摘要 以完全不育的大豆细胞质雄性不育系和完全可育的保持系、恢复系为对照, 以 5 个分离群体为主要试材, 将花粉败育率分为 11 个等级, 观察、分析了花粉败育率的分布情况。不育对照花粉败育率均在 95.1% 以上, 实际观察值为 99% 以上。可育对照败育率均在 10% 以内, 实际观察值在 5% 以内。分离群体花粉败育率有三个高峰, 第一个峰值出现在败育率 0~10%, 植株高度可育, 其中 95% 植株集中在 0~5% 之间。第二个峰值出现在败育率为 95.1%~100%, 实际观察值均高于 98%, 植株高度不育。另一个峰值出现在败育率 40.1%~60% 之间, 是典型的半不育。以此为方向向可育和不育两个方向递减。花粉败育率 10% 和 95% 是两个明显的分界点。依据分离群体和对照的花粉败育率的分布情况, 将大豆花粉育性分为 4 类。1、可育: 花粉败育率 0~5%。2、不育: 花粉败育率 95.1%~100%。3、半不育: 花粉败育率 10.1%~95%。4、典型半不育: 花粉败育率 40.1%~60%。

关键词 大豆; 花粉败育; 分类标准

中图分类号 S 565.1 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2006)04-0339-05

准确判断可育与不育, 是作物雄性不育研究的前提条件。特别是进行育性遗传研究, 要对分离群体中的大量单株进行育性鉴定, 鉴定的准确性直接影响研究结果。往往由于育性鉴定方法不同, 或由于判断可育与不育的标准不同, 会得出不同甚至完全相反的结论。目前已发现多种类型的大豆雄性不育现象^[1]。在大豆雄性不育研究中, 常用三种方法判断不育与可育。一是依据成熟时的形态特征^[2]。不育植株成熟时不落叶, 叶色浓绿, 着生大量未受精的不实小荚。二是依据花粉染色^[3]。正常成熟花粉可被 I₂-IK 染成深褐或黑色, 不育花粉染色浅, 呈淡褐色, 花粉常常小而形状不规则。三是依据花粉发芽^[4]。在一定条件下, 成熟花粉在一定浓度的蔗糖和硼酸溶液中, 花粉管发芽并迅速伸长。不育花粉不发芽或花粉管刚一伸出即停止生长。三种方法在大豆雄性不育研究中都有应用。鉴于花粉染色与否, 可直观反应雄配子的发育情况, 比形态性状表现较早, 又能从不育或可育花粉的数量上区别不育和可育的程度, 实验操作比观察花粉发芽简单迅速, 不仅可在开花期快速、大量地鉴定植株, 而且由于花蕾

在一定温度下能在固定液中长期保存, 也可在开花后或非生育期鉴定试验材料, 因此, 应用较为普遍。但到目前为止, 还没有以败育或可育花粉百分数为指标, 对大量分离群体的单株进行系统研究和分析, 确定花粉育性的标准。本文的目的, 是以大豆细胞质雄性不育各种分离群体的花粉败育百分数为基础, 建立大豆花粉育性的分类标准。

1 材料和方法

1.1 遗传材料

本项研究所使用的遗传材料分为两部分。一部分是具有 RN 胞质的大豆细胞质雄性不育系 OA、YA, 保持系 OB、YB, 不育细胞质供体 167, 恢复系 Y12R。这些材料为对照, 本身花粉完全不育或完全可育。另一部分是以 YA、YB、167 和 Y12R 为亲本, 构建分离群体 (167×YB)F₂; (YA×167)F₂; (YA×Y12R)F₂; [YA×(167×YB)]F₁; [YA×

* 收稿日期: 2006-08-29

基金项目: 国家自然科学基金 39370446, 吉林省重大科技项目 20010211

作者简介: 孙寰(1939-), 男, 研究员, 从事大豆遗传育种, 主攻大豆杂种优势利用。

(YB×167)] F₁。用以观察和确定不同不育率在分离群体中的分布情况,作为花粉育性分类的依据。

试验于河南郑州进行,夏播。对照分别于1996、1999和2000年种植。除(YA×167) F₂于1996、1999和2000年种植三年,(YA×Y12R) F₂于1999和2000年种植外,其它群体均于1996和1999年种植。

1.2 花粉育性鉴定

开花期,于生育正常的植株上选取花蕾,固定于70%酒精溶液,贮存于4℃冰箱中待查。所选花蕾的大小应为次日可以开花,或当日适于作杂交母本的花蕾。发育正常的花粉此时已积累大量淀粉,能被I₂-IK染色。在同一植株上分次取样,至少取5个以上花蕾。分离群体所有单株均取样。每个对照材料随机取100株。

取已固定的花蕾,拨出花药,在1%I₂-IK溶液中捣碎、染色。在光学显微镜下观察花粉育性。可育花粉染色深,呈深褐或黑色。不育花粉不染色或染成浅褐色,常伴有形态异常,花粉小,性状不规则,有时出现超大花粉。每个花蕾至少观察500粒花粉,计算不育花粉百分数。每个材料检查3个花蕾,计算平均败育率。如果3个花蕾花粉败育率差异较

大时,观察第4个或更多个花蕾,取3个败育率最相近的求平均数。

1.3 统计与分析

按花粉败育率自低向高分为11级,即:0~10%,10.1%~20%,20.1%~30%,30.1%~40%,40.1%~50%,50.1%~60%,60.1%~70%,70.1%~80%,80.1%~90%,90.1%~95%,95.1%~100%。由于大豆花粉利用率很高,有少量花粉即可结实,准确界定不育株十分重要,因此,将败育率90.1%~100%再分成两级。统计对照和各分离群体不同败育率的株数,找出分布规律。由于本试验不对个别群体的分离特点作研究,只考察不同败育率的分布特点,某一败育率所包含植株绝对数在本文中并不重要,探讨的重点是不同败育率之间的相对关系和分布情况。因此,在统计败育率的分布时,把所有群体中败育率相同的植株归为一类,只列出不同年份的试验结果。

2 结果与分析

2.1 不育和可育对照败育率分布

按11级分类法,将不育和可育对照的花粉育性列于表1。

表1 不育和可育对照花粉败育率分布
Table 1 Distribution of percent sterile pollen grains in male sterile and male fertile CK

花粉败育率% Percent sterile pollens	不育对照 Male - sterile CK				可育对照 Male fertile CK			
				合计 Total				合计 Total
	1996	1999	2000		1996	1999	2000	
0~10	0	0	0	0	400	400	400	1200
10.1~20	0	0	0	0	0	0	0	0
20.1~30	0	0	0	0	0	0	0	0
30.1~40	0	0	0	0	0	0	0	0
40.1~50	0	0	0	0	0	0	0	0
50.1~60	0	0	0	0	0	0	0	0
60.1~70	0	0	0	0	0	0	0	0
70.1~80	0	0	0	0	0	0	0	0
80.1~90	0	0	0	0	0	0	0	0
90.1~95	0	0	0	0	0	0	0	0
95.1~100	200	200	200	600	0	0	0	0

表1结果显示,OA和YA不育系,三年累计观察600株,花粉败育率均在95.1%以上。实际观察记载的败育率,为99%~100%。在郑州条件下,不育株成熟时叶色浓绿,结荚很少,并结有大量不实小

荚。不同年份之间,花粉败育率差异不大。而可育株对照,累计观察1600株,花粉败育率在0~10%之间。实际观察的败育率均小于5%。年度之间差异也不大。

2. 2 分离群体败育率分布

5 个分离群体在 1996、1999、2000 年的分离情况归纳为表 2。

表 2 分离群体花粉败育率分布

Table 2 Distribution of percent sterile pollen grains in segregating population

花粉败育%				合计
Percent sterile pollens	1996	1999	2000	T total
0~10	226	387	313	926
10.1~20	5	23	9	37
20.1~30	13	22	17	52
30.1~40	30	44	14	88
40.1~50	78	249	69	396
50.1~60	103	93	159	355
60.1~70	11	19	18	48
70.1~80	2	8	7	17
80.1~90	0	3	0	3
91.1~95	0	0	0	0
95.1~100	30	51	1	82
合计 T total	498	899	607	2004

表 1 中, 5 个分离群体的花粉败育率分布不均衡, 主要分布在 3 个区间。第一个区间败育率为 0~10%, 共 926 株, 占总株数的 46.2%, 表明高度可育的植株都集中在这一区间。表面上看来, 败育率为 0~10%和败育率为 10.1%~20%之间似乎界限不清。如果把高度可育区(败育率 0~10%)的实际观察资料细化后再加以分析, 发现 95%的植株分布在败育率 0~5%之间。败育率在 10.1%~20%之间的 37 株中, 只有 4 株败育率接近 10.1% (10.3%, 10.6%, 10.6%, 10.9%)。表明败育率 10%左右是恰当的分界限。第二个区间败育率为 95.1%~100%。这一区间有 82 株, 占 4.1%, 植株高度不育。实际观察记录显示, 花粉败育率都在 98%以上。成熟时的形态特征与对照中的不育株完全相同。第三个区间败育率为 40.1%~60%, 共 751 株, 占总株数的 37.5%, 占败育率 10.1%~95%之间株数的 75.4%。其特点是, 这些植株的花粉败育率均接近 50%, 在其上下各 10 个百分点间波动, 是典型的半不育。同时, 有少数植株, 败育率以这一区间为中心向高度可育和高度不育两个方向扩散, 两个方向的株数呈递减趋势。在这 3 个集中分布区之间, 有两个明显的间隙。一是败育率为 80.1%~95%, 只有 3 株, 而且这 3 株只出现在 1999 年种植的 5 个群体中的一个群体。其中败育

率为 90.1%~95%一段是空白, 不育株为零。另一个间隙出现在败育率 10.1%~30%之间。虽然这一段有 89 株, 但与高度可育的 926 株和典型半不育的 751 株相比, 仍然是少数。

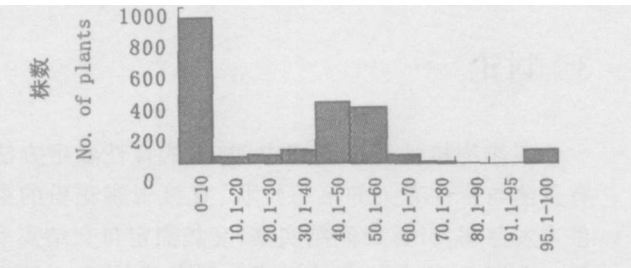


图 1 分离群体花粉败育率分布图

Fig. 1 Distribution of percent sterile pollen grains in segregating population

这两个间隙, 在图 1 中反映得更为鲜明。图 1 的起始段为高度可育株, 末端为高度不育株, 两者与中间段之间有明显的界限, 表明高度可育与高度不育和其他部分有质的区别。而中间段的变化呈现出一定的连续性。

不同年份间, 分离情况有些微差异。主要表现在败育率 40.1%~60%区段。1996 年和 2000 年, 分布于 50.1~60%间的株数, 明显高于分布于 40.1%~50%间的株数。而 1999 年恰好相反, 分布于 40.1%~50%的株数显著高于分布于 50.1%~60%的株数, 可能这一年的气象条件, 更有利于恢复性的表达。

2. 3 花粉育性分类

依据上述数据和分析, 将大豆花粉败育率分为不育、可育、半不育和典型半不育 4 类。

- (1) 不育: 花粉败育率 95.1%以上。
- (2) 可育: 花粉败育率 0~10%。
- (3) 半不育: 花粉败育率 10.1%~95%。
- (4) 典型半不育: 花粉败育率 40.1%~60%。

这一分类标准主要适合明显存在典型半不育的群体。半不育在这里指的是理论上的半不育, 即介于不育和可育之间的均为半不育。从总体上对一个分离群体的各个组成部分进行研究时, 如遗传研究, 这样分类较为简洁实用。没有必要对一个有连续性的组成部分再分割。如果确实需要再分割, 也应以典型半不育为参照。典型半不育是半不育的一部分。此概念主要是从实际应用的角度考虑提出的。在杂交种选育过程中, 有时恢复系不能完全恢复不育系(如配子体不育), F₁ 常出现半不育现象。赵丽梅等^[5]发现, 只要花粉败育率小于 70%, 不同败育率之间结实率无差异。败育率高于 70%, 结实率明

显下降。在实际应用中,以败育率 70%为界限,显然风险很大。如果 F_1 花粉败育率可达到 40.1%~60%,也就是本文提出的典型半不育,这样的恢复程度是可以接受的。

3 讨论

在作物雄性育性研究中,常用的育性鉴定方法有目测与育性有关的形态性状;直接观察花粉的染色或发芽率;计算田间结实率;套袋测定自交结实率等。上述几种方法都有应用,各有优缺点。刘忠松^[6]等在论述水稻育性鉴定法时指出,结实率受到授粉、受精以及受精后一系列因素的影响,育性指标以花粉可染率较为直接、可靠。朱英国^[7]认为,选用何种育性指标,应根据试验目的、试验材料特性、不同世代育性分离特点、群体大小、气候条件等不同而异。花粉育性比结实率较早表现出来,受环境条件影响应较小;从遗传上讲,花粉直接反映了雄配子的育性发育情况,花粉育性是衡量植株育性最根本、最直接的指标。至于如何以花粉育性界定不育、可育和部分不育等,则标准不一。贺和初^[8]以花粉可育率为标准,对水稻的花粉育性划分如下:不育株:花粉可育率 0~4.9%,低育株:5.0%~34.9%,半不育株:35.0%~74.9%,可育株:75%~100%。Raj 和 Virmani^[9]也以花粉可育率计算育性,把水稻花粉育性分为四类:花粉可育率为 0 是完全不育,1%~30%为部分不育,30%~60%为部分可育,60%~100%为可育。上述分类的特点是严格掌握不育株的标准,花粉可育率不超过 5%,在 0~5%之间。这与本研究有相似之处。大豆和水稻都是严格的自交作物,有少量花粉即可自交结实。把不育株的花粉可育率定为 5%以下,或者说花粉败育率在 95%以上,是科学的。而对可育、半不育、部分不育的划分则与本研究差别很大,主要原因是它们的育性分类都参考了穗部的结实情况。这在禾本科是容易做到的,禾本科作物的颖壳始终着生在穗上,很少脱落,因此容易计算结实率,以结实情况判断部分不育,半不育等。而在大豆上很难或基本不可能。大豆不仅落花落荚,而且套袋也很困难。大豆花粉败育率从 0 到 70%,不同败育率的植株形态基本没差别。上述作者把可育株的标准则定得相对较宽,花粉可育率在 60%~100%(不育率 0~40%)或 75%~100%(不育率 0~25%)之间。和水稻不同的是,本研究把可育株的花粉败育率严格限定在 0~

10%,而把半不育的范围放得很宽。本实验的对照和分离群体的可育株的败育率都在 10%以内,实际上绝大部分在 5%以内,而半不育却较为分散。可育和半不育的这种差别是由遗传因素决定的,是基因作用的结果。如果把可育花粉败育率的范围定得太宽,将掩盖某些由基因作用而产生的花粉育性的变化。Palmer 等在研究大豆染色体易位和倒位时,确定可育株的花粉败育率应在 5%以内,败育率 10%~30%可能是倒位,50%可能是易位^[10,11]。虽然这些研究不是探讨雄性不育本身,但说明正常可育大豆,花粉败育率在 10%以内,超过 10%即属不正常,有其内在的遗传原因。这与本文将可育和半不育的分界点确定为 10%不谋而合。在本文中,育性的分类更多的强调了花粉的表现型,特别是关于可育株的界定,其结果是和植株的表现型有较大的差距,一般情况下,花粉败育率高达 50%~60%植株的表现型还是正常可育的。上述作者关于水稻的花粉育性分类,更多的强调了植株的表现型,结果也是与花粉败育率有很大差距,植株完全可育时,花粉败育率却有可能高达 40%以上,这也掩盖了花粉败育的遗传原因。

本试验所用的这 5 个分离群体育性分离的特点,不可能完全代表所有大豆雄性不育类型的分离情况,更多的反应了试验所用试材的遗传特点,可能有局限性。但这五个分离群体涉及了可育、不育和半不育三个最主要方面,比目前研究最多的隐性单基因核不育(ms 系列)代表性大得多。后者的花粉育性只分离成可育($MsmS$ 、 $Msms$)和不育($msms$)两种类型。如果有更理想的分离群体,各种不同败育率的株数较为均衡,特别是花粉败育率在 70%~95%之间的株数较多,可在严格控制昆虫传粉的情况下统计不同败育率的结实情况,对进一步研究育性分类将有很大帮助,也有可能建立另一个不同的分类标准。在大量测交过程中发现,有的组合 F_1 花粉败育率在 70%~80%之间,不恢复也不保持,是一种过渡类型。参照水稻等自交作物的育性分类和植株的育性表现型,可考虑以花粉败育率为准作如下分类:

可育:0~40%,半不育:40.1%~60%,低不育:60.1%~95%,不育:95.1~100%。

个别年份,环境条件对分离群体的花粉育性变化趋势有一些影响。这种影响在对照中没有反映出来,似乎表明环境条件并非直接影响花粉的发育,很可能是通过影响恢复基因的作用,间接影响花粉的

育性。细胞质雄性不育系和杂种一代育性受环境影响已有大量报道,因此,以花粉染色判断育性,和其他方法一样,在一定条件下,也是有局限性的。根据研究的目的不同,采用不同的方法,或多种方法相互配合更为可靠。

参 考 文 献

- 1 孙寰,赵丽梅.大豆杂种优势利用.吉林大豆[M].长春:吉林科学技术出版社,2005
- 2 Brim C. A., M. F. Young. Inheritance of a male sterile character in soybeans[J]. Crop Science, 1971, 11(4): 564 - 566
- 3 Palmer R. G., C. L. Winger, M. C. Albertsen. Four independent mutations at the *ms1* locus in soybeans[J]. Crop Science, 1978, 18: 727 - 729
- 4 盖钧镒,丁德荣,崔章林,等.大豆质核互作雄性不育系 NJC MS1A 的选育及其特性[J].中国农业科学,1999, 32(5): 23 - 27
- 5 赵丽梅,孙寰,黄梅,等.大豆结实率与花粉败育率之间的关系[J].大豆科学,2004, 23(4): 249 - 252
- 6 刘忠松,官春云,陈社员.植物雄性不育机理的研究及应用[M].北京:中国农业出版社,2001
- 7 朱英国.水稻雄性不育生物学[M].武汉:武汉大学出版社,2000
- 8 贺和初.滇一型和 BT 型杂交稻育性遗传和不育机理研究[J].云南农业大学学报,1988, 3(1): 54 - 68
- 9 Raj K. G., S. S. Virmani. Genetics of fertility restoration of 'WA' type cytoplasmic male sterility in rice[J]. Crop Science, 1988, 28(5): 787 - 792
- 10 Palmer R. G., K. E. Newhouse, R. A. Graybosch et al. Chromosome structure of the wild soybean[J]. The Journal of Heredity, 1987, 78: 243 - 247
- 11 Palmer R. G. Soybean cytogenetics[C]. Proceedings of World Soybean Research Conference III edited by Richard Shibles, Published in USA by Westview Press, Inc 1985, p. 337 - 344.

CRITERION ON CLASSIFICATION OF POLLEN FERTILITY IN SOYBEAN

Sun Huan Zhao Limei Wang Shuming Wang Yueqiang Peng Bao Zhang Jingyong

(Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling, 136100)

Abstract Complete male sterile CMS A line, male fertile B line, R line and 5 segregating populations were used as genetic stocks in this experiment. 11 classes of percent sterile pollen rate was adopted to analyzed the distribution of pollen sterility. The percentage of sterile pollen grains of male sterile CMS A lines was all above 95.1%. The actual observed value was over 99%. The percentage of sterile pollen grains of male fertile lines was within 10% and the actual observed value was within 5%. There were three peaks of percentage of sterile pollens in segregating populations. The first peak appeared at sterile pollen rate of 0 ~ 10%. All plants at this class showed highly fertile and 95% of those plants had 0 ~ 5% sterile pollens. The second peak appeared at sterile pollen rate of 95.1% ~ 100% and actual observed percentage was above 98%. The plant at this class were highly sterile. A nother peak located between 40.1% to 60%. It is typical semi sterility. Centered at this peak the number of the plants decrease progressively toward both of more sterile and more fertile directions. 10% and 95% were two cutting points. Based on the distribution of percent sterile pollen rates four classes of pollen fertility in soybean were suggested. Fertile: 0 ~ 5%, Sterile: 95.1% ~ 100%, Semi sterile: 10.1% ~ 95%, Typical semi sterile: 40.1% ~ 60%.

Key words Soybean; Pollen sterility; Criterion of classification