

大豆突变体 NJS-1H 核雄性不育性的细胞学与遗传学分析

李曙光,赵团结,盖钧镒

(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,江苏 南京 210095)

摘 要:利用化学诱变剂叠氮化钠(NaN_3)处理大豆品种南农 86-4,获得雄性不育突变体 NJS-1H。细胞学观察发现,该突变体不育株 NJS-1H(s)的小孢子在减数分裂前期 I 染色体联会异常,出现单价体;减数分裂过程中出现染色体落后、不对称或不同步分裂等现象;在四分体阶段,出现各种畸形多分体及大量微核;所形成单核小孢子细胞核消失,细胞质变稀薄,最后成熟花粉粒无内容物,完全不育。从减数分裂到花粉粒发育成熟都有败育发生,但大量败育主要发生在减数分裂阶段。人工平行杂交试验表明其雌性育性不正常。对突变体后代育性分离株系及株系群的遗传分析,发现 NJS-1H 的雄性不育性受 1 对隐性核基因控制。

关键词:大豆;核雄性不育;联会异常;遗传

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2010)02-0181-05

Cytological and Genetical Characterization of A Nuclear Male-sterile Soybean Mutant NJS-1H

LI Shu-guang, ZHAO Tuan-Jie, GAI Jun-Yi

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

Abstract: A soybean nuclear male-sterile mutant NJS-1H was obtained from NN86-4 induced with NaN_3 . A series of irregular phenomena were observed during its microsporogenesis based on normal squash and acetocarmine dyeing. The meiosis of pollen mother cells of its male sterile plants was highly abnormal in chromosome synapsis at prophase I, followed with appearing univalent, chromosome lagging, unequal and asynchrony distribution, etc. during the meiotic process. At tetrad stage, various malformed polyad and a large number of micronuclei appeared. Afterwards at uninuclear microspore stage, the nuclei degenerated with cytoplasm becoming washy and microspores shrunk and then the mature pollens appeared empty without cell inclusion and therefore were sterile. The abnormal phenomena occurred almost at all stages from initial of meiosis to pollen maturity with its major period during meiosis since the disorder of chromosome synapsis causing pollen degeneration. The results from parallel cross tests indicated that the NJS-1H male-sterile plant is also partially female-sterile. From the male fertility segregation analyses of progenies derived from male-fertile individuals obtained in fertility-segregation families, it was found that the male sterility of NJS-1H was controlled by a pair of recessive nuclear genes.

Key words: Soybean; Nuclear male sterility; Abnormal synapsis; Inheritance

雄性不育是高等植物中普遍存在的遗传现象,指在有性生育过程中,不能产生有活力花粉粒的现象,表现为雄蕊缺失、畸形,雄性器官雌性化,花药不能正常开裂,小孢子发生异常、形成无活力的花粉或者不能形成花粉等多种形式^[1-2]。根据遗传特点,植物雄性不育可分为两大类:即由细胞质遗传因素控制的或核质互作共同控制的雄性不育,通称为细胞质不育(cytoplasmic male sterility, CMS)和由核基因控制的核雄性不育(nuclear male sterility, NMS)。

雄性不育是植物生殖机制和基因组学研究的重要材料,也是农作物利用杂种优势、通过轮回选择进行群体改良的重要工具。国外从 1928 年 Owen 首次报告大豆雄性不育^[2]以来,已报道大量的核雄性不育类型,包括联会突变导致雄性雌性均不育(*st1* ~ *st8*),花器结构或功能异常引起的结构不育(*ft*, *fs1fs2*),雄性部分不育雌性可育(*msp*),雄性不育雌性可育(*ms1* ~ *ms9*)等^[4]。国内 1985 年余建章等^[5]首先报道 1 个与 *ms1* 等位的隐性核不育系 L-78-387 后,马国荣等^[6]发现 1 个雄性不育突变体

收稿日期:2010-01-17

基金项目:国家高技术研究发展计划资助项目(2009AA101106,2006AA100104);国家重点基础研究发展规划资助项目(2009CB118404,2006CB101708);国家科技支撑计划资助项目(2008BAD97B04);国家自然科学基金资助项目(30671314);高等学校创新引智计划资助项目(B08025)。

第一作者简介:李曙光(1982-),男,硕士,研究方向为大豆遗传育种。

通讯作者:盖钧镒,教授,中国工程院院士。E-mail: sri@njau.edu.cn;赵团结,博士。E-mail: tjzhao@njau.edu.cn。

NJ89-1,该雄性不育基因与 *ms1* ~ *ms6* 均不等位,细胞形态学研究发现与 *ms1* ~ *ms9* 突变体均表现不同,存在明显差异^[7-8],定名为 *ms0*。卫保国等^[9]选育出光温敏雄性不育系 88-428BY-3 并用于大豆杂种优势利用。赵团结等^[10-14]通过自然变异选择和理化诱变获得了 30 多个由核基因控制的不育新种质,根据雄性育性(完全不育、部分不育)和雌性育性(完全不育、部分不育、可育)可分为 6 类,发出单显性基因遗传的雄性不育、雌性可育、花和叶形均异常的雄性部分不育、雌性不育等新种质。

已报道的大豆染色体联会异常突变体(*st1* ~ *st8*)一般表现为花粉绒毡层发育异常,最终导致雌性和雄性不育^[4]。杨守萍等^[7]发现大豆雄性不育、雌性可育突变体 NJ89-1 小孢子母细胞减数分裂联会异常,出现单价体、染色体落后、染色体桥、染色体不均等分离现象,之后产生大小不等的二分体、三分体、四分体及多分体;Bione 等^[15]对突变体 BR97-12986H 的细胞学研究也发现类似结果,表明这 2 个突变体的小孢子联会异常对雌性育性无影响。该文对 1 个新获得的大豆联会异常、雄性不育突变体 NJS-1H 进行雌雄育性表现和遗传研究,为进一步探究其败育机制、发掘育性基因奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

雄性不育突变体 NJS-1H 是应用化学诱变剂叠氮化钠(NaN_3)处理^[16]大豆品种南农 86-4 后从后代中获得的。以该突变体衍生株行的雄性不育株 NJS-1H(s)及育性正常同胞株 NJS-1H(f)为材料。

1.2 NJS-1H 不育性的遗传分析

参照白羊年等^[17]的育性鉴定方法,在盛花期花粉育性调查各家系单株的花药形态和散粉性(不育株花药瘦小、不散粉;可育株花药鲜黄色、饱满、大量散粉),并采用盖钧铭等^[18]悬滴培养法鉴定花粉萌发力,成熟期根据肉荚有无、叶片衰老程度、结荚情况鉴定不育株和可育株。育性遗传分析采用后裔鉴定方法,即对育性分离群体(以株行为单位)选择可育株下代种植,调查衍生后代(株系和株系群)育性分离情况,采用 χ^2 适合性测验检验其分离比例,推断育性遗传规律。

1.3 NJS-1H 细胞形态学研究

盛花期早晨 6:00 ~ 8:00,分别采集不同发育时期不育和可育株的花蕾,固定于新配置的卡诺氏固定液(3 乙醇:1 冰醋酸)中,放置 24 h 后,用 70% 的乙醇清洗 2 次,然后在 70% 乙醇中低温(0 ~ 4℃)保存大豆花蕾。

对大豆花蕾进行常规压片法制片,选择适当的

花蕾,用 1% 铁-醋酸洋红染色液(1 g 洋红 + 45 mL 冰醋酸 + 55 mL 蒸馏水)染色,在 Leica DMLB 生物显微镜下,以可育株为对照,观察不育株小孢子母细胞减数分裂及小孢子发育过程,揭示 NJS-1H 雄性不育性的细胞形态学特征。

2 结果与分析

2.1 NJS-1H 的来源与形态特点

1998 年用化学诱变剂 NaN_3 ($1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理栽培大豆南农 86-4 种子 600 粒,浸种 4 h、流水冲洗 1 h,风干后当天播种。 M_1 代混收,从 M_2 诱变群体中选择 100 单株种成株行。2000 年收获期发现 1 个 M_3 株行出现育性分离,共 30 株,其中 21 株结荚正常,9 株为不育株,在成熟时叶片浓绿肥厚不脱落、有肉荚、但均未结实,其中一些可育株后代仍可分离出不育株。将该不育种质定名为 NJS-1H,并将其中不育株称为 NJS-1H(s),正常同胞株称为 NJS-1H(f)。分离株行的不育株,除育性外其它农艺性状与原亲本南农 86-4 相似,表现为白花,棕毛,叶椭圆、中等大小,株型收敛,分枝 2 ~ 3 个;成熟期不育株叶片浓绿不脱落,贪青晚熟,着生大量肉荚,表明 NJS-1H 不育性可能由基因突变所致。

2.2 NJS-1H 不育株小孢子母细胞减数分裂及小孢子发育特征

与核不育 *ms2*、*ms6* 及质核互作雄性不育系 NJCMS1A 等不育株相比,NJS-1H(s)的肉荚较少。采用悬滴培养法鉴定花粉生活力,发现不育株的成熟花粉用醋酸洋红处理不能染色,萌发率为 0,表明 NJS-1H(s)雄性败育彻底。而 NJS-1H(f)可育株小孢子母细胞减数分裂和花粉育性正常。

醋酸洋红染色液常规压片观察 NJS-1H(s)不育株减数分裂时期的小孢子母细胞,在减数分裂前期 I 的细线期,染色体呈细丝状盘绕在细胞质中,到终变时期时,同源染色体联会配对异常,出现未配对的单价体(图 1, A-B)。

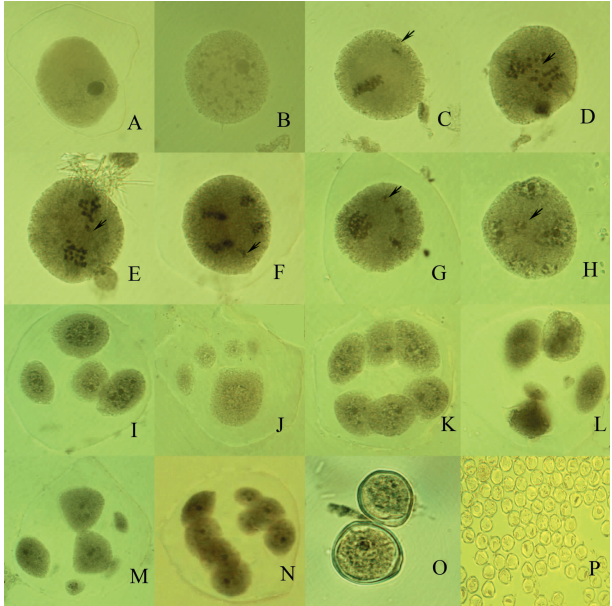
中期 I 时大部分染色体排列在赤道板上,但是还有少数非定向染色体散落于赤道板之外(图 1, C)。后期 I,在纺锤丝的牵引下,染色体向两极移动不同步,出现落后染色体,造成染色体不均等分离(图 1, D)。

中期 II,小孢子母细胞的染色体数目不一,纺锤体定向异常(图 1, E)。后期 II,染色体多极分离,造成染色体不均等分离、数目不等(图 1, F)。

末期 II,此时小孢子母细胞仍包围在胼胝质中,一部分小孢子母细胞细胞质均等分裂形成四分体,大部分小孢子母细胞呈胞质分裂异常,胞质分裂把主核和微核分开,形成多分孢子一大小不等的

小孢子和小细胞,如包含 1 个小孢子与 4 个小细胞的五分体,有的表现为六分体:或大小近等的 6 个小孢子,或 4 个小孢子与 2 个小细胞,或 3 个小孢子与 3 个小细胞,极少数分裂为八分体(图 1,G-N)。

单核小孢子时期,胼胝质解体之后小孢子释放出来,细胞核消失,细胞质变稀薄,逐渐收缩、解体,最后只剩下空瘪的花粉粒壁(图 1,O-P)。



A. 细线期,1000 ×; B. 终变期,单价体散落在细胞质中,1000 ×; C. 中期其 I,1000 ×; D. 后期 I,1000 ×; E. 中期 II,1000 ×; F. 后期 II,1000 ×; G-N. 末期 II (其中 G 与 H 染色体不均等分离,形成 ≥ 4 个基因组碎粒; I. 大小近等的四分体; J. 大小悬殊的五分体; K-M. 大小近等或悬殊的六分体; N. 大小近等的八分体),1000 ×; O. 刚释放小孢子,1000 ×; P. 败育花粉粒,400 ×.

A. Leptotene, 1000 ×; B. Diakinesis, univalent appeared, 1000 ×; C. Metaphase I, 1000 ×; D. Anaphase I, 1000 ×; E. Metaphase II, 1000 ×; F. Anaphase II, 1000 ×; G-N. Telephase II (G-H. unequal separation of chromosomes, ≥ four genome fractionation; I. tetrads with the same size; J. pentads with various size; K-M. hexads with the same or various size. N. octants with the same size), 1000 ×; O. releasing microspore, 1000 ×; P. abortive pollen grains, 400 ×.

图 1 NJS-1H 不育株小孢子母细胞减数分裂和小孢子发育过程

Fig.1 Abnormalities appeared during meiosis of microspore mother cell of NJS-1H(s) sterile plant

结果表明,NJS-1H(s)在减数分裂前期 I 同源染色体联会配对异常,不能形成 20 个二价体,出现单价体;中期 I 染色体没有完全聚集在赤道板上,部分染色体散落在赤道板之外;最终在后期 II 染色体多极分离,在胼胝质降解前,产生异常的五分体、六分体以及八分体,最终小孢子发育受阻,细胞质皱缩,花粉败育。

2.3 NJS-1H 不育株的雌性育性

2001 年对 NJS-1H(s)人工去雄 40 朵花授 NJS-1H(f)同胞株花粉,未得到杂交种子,而用 NJS-1H(f)作为母本人工去雄 40 朵花授南农 86-4 花粉共得到 6 荚 9 粒种子。2002 年对 NJS-1H(s)人工去雄 60 朵花授以原始亲本南农 86-4 的花粉,结果仍未得到杂交种子。2003 年和 2004 年对不育株人工去雄 200 朵和 100 朵花授以南农菜豆 5 号的花粉,结果仍未获得杂交种子,而用 NJS-1H(f)为母本人工杂交结荚率可达 6%(表 1)。表明 NJS-1H(s)的雌性育性劣于 NJS-1H(f)。但 2000 ~ 2003 年 NJS-1H 不同株行分离出的 600 多个不育株中有少数植株结少量 1 粒荚。由此推断 NJS-1H 为雄性不育-雌性部分不育类型。

2.4 NJS-1H 不育性的遗传分析

2001 年由育性分离的 M₃ 株行可育株衍生的 8 个 M_{3:4} 株行中有 4 个株行发生分离,每个株行的分离均符合 3:1 的表型分离比例,育性分离株行可育与不育株的合计为 141:49,符合 3:1 的分离比例(表 2),并从 M_{3:4} 可育株行和育性分离株行中分别选取单株以衍生株行。

2002 年,从上年未出现育性分离的 4 个 M_{3:4} 可育株行中选择的 7 个单株衍生的株行均表现可育,而从上年 4 个育性分离株行单株衍生的 35 个 M_{4:5} 株行有 19 个未发生育性分离,16 个发生育性分离,符合 2:1 的理论分离比例($\chi^2_c = 1.889, P = 0.169$),所有育性分离株行可育与不育株的比例为 351:130,符合 3:1 的比例($\chi^2_c = 1.00, P = 0.317$)。

表 1 NJS-1H 不育株和可育株平行杂交成功率

Table 1 Test for female fertility of NJS-1H sterile plants with different male parents

| 年份 | 母本 | 父本 | 杂交花朵数 | 结荚数 | 杂交成功率 |
|------|-----------|----------------|--------------------|----------|-------------------|
| Year | Female | Male | No. crossed flower | No. pods | Rate of success/% |
| 2001 | NJS-1H(s) | NJS-1H(f) | 40 | 0 | 0 |
| | NJS-1H(f) | 南农 86-4 NN86-4 | 50 | 6 | 12 |
| 2002 | NJS-1H(s) | 南农 86-4 NN86-4 | 60 | 0 | 0 |
| 2003 | NJS-1H(s) | 南农菜豆 5 号 NNC-5 | 200 | 0 | 0 |
| | NJS-1H(f) | 南农菜豆 5 号 NNC-5 | 200 | 12 | 6 |
| 2004 | NJS-1H(s) | 南农菜豆 5 号 NNC-5 | 100 | 0 | 0 |
| | NJS-1H(f) | 南农菜豆 5 号 NNC-5 | 100 | 6 | 6 |

表 2 NJS-1H 不同世代育性分离株行的适合性测验

Table 2 Goodness-of-fit tests for fertility segregating ratio of lines from different generations of NJS-1H

| 年份 Year | 材料来源 Generation | 总株数 Total plants | 可育株数 No. of fertile plant | 不育株数 No. of sterile plant | $\chi^2(3:1)$ | p |
|------------|--------------------|---------------------|------------------------------|------------------------------|---------------|-------|
| 2001 | M _{3:4} | 190 | 141 | 49 | 0.028 | 0.867 |
| 2002 | M _{4:5} | 481 | 351 | 130 | 1.003 | 0.317 |
| 2003 | M _{5:6} | 1669 | 1237 | 432 | 0.649 | 0.421 |
| 2006 | M _{8:9} | 217 | 162 | 55 | 0.002 | 0.962 |
| 2007 | M _{9:10} | 95 | 74 | 21 | 0.426 | 0.514 |

2003 年进一步对 3 个 M_{5:6} 株系群进行调查, 结果表明发生育性分离的可育株行数与未发生育性分离的株行数的比例均符合 2:1 的理论比例, 在全部 77 个株行中, 51 个育性分离株行的可育株与不育株比例为 1237:432, 符合 3:1 的表型分离比例(表 3), 同质性测验表明株行间育性分离表现一致

表 3 由 NJS-1H 分离株行可育株衍生的 3 个 M_{5:6} 株系群育性分离比例的适合性测验

Table 3 Goodness-of-fit tests for fertility segregation ratio of three M_{5:6} line groups of NJS-1H

| 株系群 Line group | 株行数 Line number | | | $\chi^2(2:1)$ | p | 株行数 Line number | | | $\chi^2(3:1)$ | p |
|-------------------|-----------------|---------|--------------|---------------|-------|-----------------|--------------|---------|---------------|-------|
| | 总数 Total | 分离 Seg. | 不分离 Non-seg. | | | 总数 Total | 不分离 Non-seg. | 分离 Seg. | | |
| 1 | 34 | 22 | 12 | 0.004 | 0.952 | 670 | 499 | 171 | 0.072 | 0.789 |
| 2 | 24 | 17 | 7 | 0.047 | 0.829 | 488 | 358 | 130 | 0.615 | 0.433 |
| 3 | 19 | 12 | 7 | 0.007 | 0.935 | 511 | 380 | 131 | 0.079 | 0.779 |
| 合计 Total | 77 | 51 | 26 | 0.002 | 0.968 | 1669 | 1237 | 432 | 0.649 | 0.421 |

2006 年, 上年育性分离株行的可育单株衍生的 17 个 M_{8:9} 株行中, 11 个株行育性分离, 可育与不育株的分离均符合 3:1 的表型分离比例, 所有育性分离株行可育株与不育株的比例为 162:55, 同样符合 3:1 的比例($\chi^2 = 0.002, P = 0.962$)。

2007 年发现 M_{8:9} 可育株行中 6 个单株衍生的 M_{9:10} 株行均表现可育, 而育性分离株行的单株衍生的 7 个 M_{9:10} 株行有 5 个发生育性分离, 均符合 3:1 的表型分离比例, 所有育性分离株行可育与不育株的比例为 74:21, 符合 3:1 的比例($\chi^2 = 0.426, P = 0.514$)。

2008 年, 上年育性分离株行衍生的 12 个 M_{10:11} 株行, 有 8 个株行育性发生分离, 另 4 个株行全部可育, 则育性分离与不分离株行符合 2:1 分离比例($\chi^2 = 0.094, P = 0.759$)。

综合上述表型和基因型分离结果可推断 NJS-1H(s) 不育性状受 1 对隐性基因控制, 其中不育植株的基因型为纯合隐性, 而同胞可育植株的基因型为纯合显性或杂合型。

3 讨论

叠氮化物是应用于诱变育种的高效化学诱变剂, 可以引起基因突变, 只作用于复制中的 DNA, 与 DNA 作用的方式是碱基替换, 染色体畸变的概率非

性($\chi^2 = 33.437, P = 0.965$)。

2002 年种植上年不育株上所结种子衍生的 1 个 S₁ (自交一代) 植株正常可育, 2003 年其 S₂ 群体共 143 株, 不育株有 30 株, 符合 3:1 的表型分离比例($\chi^2 = 1.028, P = 0.311$)。

常低^[19], 易于获得稳定遗传的材料和进行后续生物学研究。因此, 利用叠氮化钠对大豆品种南农 86-4 诱变处理, 获得雄性不育突变体 NJS-1H, 该突变体衍生的雄性不育株除育性以外, 其它农艺性状与原亲本南农 86-4 相似, 表明 NJS-1H 不育性可能由基因突变所致。

减数分裂是一个复杂的生物学过程, 包含染色体配对、联会复合体形成、重组染色体分离以及形成单倍体的配子体等, 减数分裂是在特定的育性基因控制下发生的^[20]。大多数真核生物减数第一次分裂时, 前期 I 偶线期同源染色体正常联会, 对于粗线期交换发生和交叉形成非常必要, 同时确保形成单倍体配子体^[21]。控制同源染色体联会配对的基因发生突变或功能失常, 会破坏或阻止配对过程, 缺少联会或不发生联会称为不联会(as), 而联会染色体在粗线期后立即分离定义为联会消失(ds)^[22-23], Palmer 等^[24]发现大豆雌雄不育突变体 st8 小孢子母细胞减数分裂时, 同源染色体不能发生配对, 为不联会类型。NJS-1H 不育株在减数分裂 I 染色体联会异常, 出现单价体, 属不联会或联会消失突变体, 其在分裂过程中染色体配对异常, 末期 II 不能形成正常的四分体, 而是产生畸形的五分体、六分体或八分体, 这与杨守萍等^[7]、Bione 等^[15]发现的雄性不育突变体减数分裂末期 II 产生的畸

形多分体相似。由于 NJS-1H 不育株的雌性具有一定的育性,因此该突变体是介于上述二者的中间类型。

减数分裂使染色体发生交叉重组,获得新的重组型,对此过程的遗传操作是提高育种效率的有效途径^[25]。大豆是严格的自花授粉作物,天然条件下不育材料异交结实性较差,繁殖制种仍难达到实用程度,改良异交结实性是大豆杂种优势利用的基本条件之一。研究表明大豆不育株的异交结实性与雌性育性有关^[13],可利用 NJS-1H 雌性部分不育突变体研究大豆减数分裂和雌雄育性的遗传基础,为大豆杂交种生产提供参考。

参考文献

- [1] Goldberg R B, Beals T P, Sanders P M. Anther development: basic principles and practical applications [J]. *Plant Cell*, 1993, 5(10): 1217-1229.
- [2] Zhao D Z, Hong M. Male fertility: A case of enzyme identity [J]. *Current Biology*, 2000, 10(24): R904-R907.
- [3] Owen F V. A sterile character in soybeans [J]. *Plant Physiology*, 1928, 3(2): 223-226.
- [4] Palmer R G, Pfeiffer T W, Buss G R, et al. Qualitative genetics [M]//Boerma H R, Specht J E. *Soybeans: Improvement, Production, and Uses* (3rd ed.). USA: American Society of Agronomy, Inc., 2004:171-174.
- [5] 余建章, 荐立. 沈农雄性核不育大豆 L-78-387 等位系测验研究 [J]. 沈阳农业大学学报, 1985, 3(1): 352-381. (Yu J Z, Jian L. Allelism tests of Shennong male sterile soybean L-78-387 [J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 1985, 3(1): 352-381.)
- [6] 马国荣, 刘佑斌, 盖钧镱. 大豆雄性不育突变体 NJ89-1 的发现与表现 [J]. 大豆科学, 1993, 12(2): 172-174. (Ma G R, Liu Y B, Gai J Y. NJ89-1, a new male sterile mutant of soybean [J]. *Soybean Science*, 1993, 12(2): 172-174.)
- [7] 杨守萍, 盖钧镱, 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): 663-668. (Yang S P, Gai J Y, Xu H Q. A cytological study of the male sterile mutant NJ89-1 of the soybean [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1999, 25(6): 663-668.)
- [8] 杨守萍, 盖钧镱, 邱家驹. 大豆雄性不育突变体 NJ89-1 核雄性不育基因的等位性测验 [J]. 作物学报, 2003, 9(3): 372-378. (Yang S P, Gai J Y, Qiu J X. Allelism tests of the male sterile gene of the mutant NJ89-1 in soybeans [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2003, 9(3): 372-378.)
- [9] 卫保国. 大豆光温敏感型雄性不育系发现初报 [J]. 作物品种资源, 1991(3): 12. (Wei B G. Preliminary study of photo-sensitive and temperature-sensitive male sterile line in soybean [J]. *Crop Germplasm Resources*, 1991(3): 12.)
- [10] 赵团结, 盖钧镱. 大豆叶与花形态异常、雌性不育突变体 NJS-10H 的发现 [J]. 大豆科学, 2005, 24(1): 1-4. (Zhao T J, Gai J Y. A new soybean female sterile mutant with abnormal leaves and flowers [J]. *Soybean Science*, 2005, 24(1): 1-4.)
- [11] 赵团结, 杨守萍, 盖钧镱. 大豆显性核雄性不育突变体 N7241S 的发现与遗传分析 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(1): 22-26. (Zhao T J, Yang S P, Gai J Y. Discovery of a dominant nuclear male sterile mutant N7241S in soybean and analysis of its inheritance [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(1): 22-26.)
- [12] 赵团结, 杨守萍, 盖钧镱. 大豆育性突变体 CT-2s 的发现与遗传分析 [J]. 中国油料作物学报, 2005, 27(2): 5-9. (Zhao T J, Yang S P, Gai J Y. Identification and inheritance of a spontaneous sterile mutant CT-2s in soybean [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2005, 27(2): 5-9.)
- [13] 赵团结, 盖钧镱. 大豆不育性自然变异的发现与鉴定 [J]. 中国农业科学, 2006, 39(9): 1756-1764. (Zhao T J, Gai J Y. Detection and identification of soybean natural variation of sterility [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(9): 1756-1764.)
- [14] 赵团结, 盖钧镱. 大豆 2 个雌雄不育突变体的发现与鉴定 [J]. 大豆科学, 2006, 25(2): 109-112. (Zhao T J, Gai J Y. Discovery and inheritance of two soybean mutants with completely female and male sterility [J]. *Soybean Science*, 2006, 25(2): 109-112.)
- [15] Bione N C P, Pagliarini M S, Almeida L A D. A new and distinctive male-sterile, female-fertile desynaptic mutant in soybean (*Glycine max*) [J]. *Hereditas*, 2002, 136(2): 97-103.
- [16] 柳学余. 叠氮化物诱变处理的方法、效果与应用前景 [J]. 核农学通报, 1987(4): 1-5. (Liu X Y. Methods, effects and potential applications of Mutagenic treatment with azide [J]. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 1987(4): 1-5.)
- [17] 白羊年, 盖钧镱. 大豆三系选育及杂交制种中存在的问题及对策 [J]. 作物杂志, 2002(1): 4-6. (Bai Y N, Gai J Y. Development of three lines as well as problems and countermeasures of hybrid seed production [J]. *Crops*, 2002(1): 4-6.)
- [18] 盖钧镱, 胡蕴珠, 陈建民, 等. 保存大豆花粉生活力的试验 [J]. 作物学报, 1980, 6(1): 11-16. (Gai J Y, Hu Y Z, Chen J M. Experiments on the retaining of pollen viability of soybeans [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1980, 6(1): 11-16.)
- [19] Olsen O, Wang X Z, Wettstein D V. Sodium azide mutagenesis: Preferential generation of A · T -> G · C transitions in the barley *Antl8* gene [J]. *Proceedings of the National Academy Science (USA)*, 1993, 90(17): 8043-8047.
- [20] Gottschalk W, Kaul M L H. The genetic control of microsporogenesis in higher plants [J]. *Nucleus*, 1974, 17(3): 133-166.
- [21] Golubovskaya I N, Grebennikova Z K, Auger D L, et al. The maize desynaptic 1 mutation disrupts meiotic chromosome synapsis [J]. *Developmental Genetics*, 1997, 21(2): 146-159.
- [22] Gottschalk W, Kaul M L H. Asynapsis and desynapsis in flowering plants I. Asynapsis [J]. *Nucleus*, 1980, 23: 1-15.
- [23] Gottschalk W, Kaul M L H. Asynapsis and desynapsis in flowering plants II. Desynapsis [J]. *Nucleus*, 1980, 23: 97-120.
- [24] Palmer R G, Horner H T. 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.
- [25] Wijnker E, Jong H de. Managing meiotic recombination in plant breeding [J]. *Trends in Plant Science*, 2008, 13(12): 640-646.