

一个新的大豆细胞质黄化 突变体的初步研究*

于海莉 孙志强

(吉林省农业科学院大豆研究所)

摘 要

用一个大豆叶片黄化突变体与6个带有不同标记基因的基因型杂交配制了8个杂交组合(包括两组正反交组合)。根据杂交后代的表现对该突变体进行了遗传分析并测定了亲本和 F_1 植株的叶绿素含量。结果表明该突变体的叶绿素缺失性状呈母体遗传。当以黄化突变体为母本时,杂交 F_1 和 F_2 单株都表现为黄化,当用正常的非黄化基因型作为母本时,所有的 F_1 和 F_2 植株都不黄化。在自然光照条件下,突变体的叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量约是正常基因型的47.4、40.4和43.7%。突变体新生叶片的叶绿素含量很低,随着叶片的发育成熟,叶绿素含量逐渐接近正常基因型。根据大豆遗传委员会的有关规定和惯例,建议将该突变体定名为Cyt-Y₄。

关键词 细胞质突变;黄化;母体遗传;叶绿素含量

许多经典遗传学的资料都是通过突变获得的。细胞质和细胞核中的遗传物质都经常会发生变异。核基因发生的突变较容易发现,但细胞质基因发生的突变却较难察觉。这是由于细胞质中的遗传物质存在于质体、线粒体等细胞器中,每个细胞中都有许多这样的细胞器,每个细胞器都带有一份遗传物质拷贝,即细胞质基因组具有多倍性,而突变通常只发生在其中的一个基因组。细胞质突变难以发现的另一原因是发生突变的细胞器往往竞争不过正常的细胞器。细胞质突变往往发生在营养体,对于需要通过种子繁殖的植物,只有位于突变扇形区的生殖器官才能形成突变类型的后代。获得和研究细胞质突变有可能为研究细胞质基因组的功能及核-质基因互作提供有价值的遗传材料。

* 本文于1991年10月18日收到。This paper was received on Oct. 18 1991.

在大豆方面,迄今已经报道了近 200 个质量遗传核基因^[7],仅叶绿素缺失突变就有 20 多个^[7]。但是,细胞质突变却只有 3 份^[3,4,6]。Terao^[6]报道的一种绿子叶性状是由 Cyt-G₁ 细胞质控制的,正常的黄子叶细胞质是 Cyt-Y₁。Palmer 和 Mascia^[3]首次发现了细胞质控制的叶绿素缺失突变体,这种突变体在温室内和田间叶绿素含量均较低,质体的超微结构正常,小叶在植株发育过程中逐渐转变为绿色。他们把控制叶绿素缺失的细胞质定名为 Cyt-Y₂。另一个叶绿素缺失细胞质黄化突变体 Cyt-Y₃ 是由 Shoemaker^[4]等人发现并命名的。在低光照强度条件下,该突变体的叶绿体超微结构及类胡萝卜素含量正常,叶绿素含量是正常植株的三分之一左右。在中等和强光照条件下,叶绿体缺乏正常的片层结构,叶绿素含量分别是正常植株的 28%和 1%,类胡萝卜素含量也降低为正常植株的 33%和 2%左右。Cyt-Y₃ 在强光照下是致死的^[4,5]。

我们对新发现的一个细胞质叶绿素缺失突变体进行了研究,本文报道了该突变体的表现型遗传规律和叶绿素含量。

材 料 和 方 法

材料来源和初步观察

1988 年在吉林省农业科学院大豆研究所育种试验圃 8703 组合(公交 8106-10×公交 8301-3-4-3)选种圃中发现了一个黄化株行,28 个单株中有 17 株为黄化植株。黄化植株出苗后叶片呈黄色,长势较弱,以后逐渐转为绿色。黄化植株在田间能够正常存活结实,单株产量约是正常植株的 1/4-1/3。

遗传研究

为了研究突变体的遗传规律及与其它性状的关系,1989 年夏天用人工杂交的方法配制了 8 个杂交组合(表 1)。其中,C₁ 和 C₂ 互为正反交,C₃ 和 C₄ 互为正反交,其它 4 个组合

表 1 杂交组合及其亲本

Table 1 Crosses and their parents

| 组 合 Crosses | 母 本 Female | 父 本 Male |
|----------------|------------------------|------------------------|
| C ₃ | 公交 8703-1 Gong 8703-1 | 通交 83-93 Tong 83-932 |
| C ₄ | 通交 83-932 Tong83-932 | 公交 8703-1 Gong 8703-1 |
| C ₁ | 公交 8703-1 Gong 8703-1 | 长交 8210-1 Chang 8210-1 |
| C ₂ | 长交 8210-1 Chang 8210-1 | 公交 8703-1 Gong 8703-1 |
| C ₅ | 公交 8703-1 Gong 8703-1 | 猫眼豆 Maoyandou |
| C ₆ | 公交 8703-1 Gong 8703-1 | 里外青 Liwaiqing |
| C ₇ | 公交 8703-1 Gong 8703-1 | 国育 100-4 Guoyu 100-4 |
| C ₈ | 公交 8703-1 Gong 8703-1 | L 71-46 L71-46 |

都是以黄化突变体为母本,与带有标记性状的材料杂交(表 2),以研究突变基因与标记基因的连锁关系。1990 年在内布拉斯加大学温室内播种部分杂交种子以获得 F₂ 种子,根据

标记性状去掉伪杂种。1990 年夏天在田间种植 F₁ 和 F₂, 出苗后根据下胚轴色和茸毛色去掉 F₁ 中的伪杂种株, 调查 F₂ 的分离情况。

表 2 亲本所携带的标记基因
Table 2 Markers carried on the parents

| 亲 本 Parents | 结荚习性 Terminations | 花 色 Color of flower | 茸 毛 色 Color of pubescence | 叶 形 Shape of leaflets | 荚 熟 色 Color of pods | 茸毛密度 Density of pubescence | 子 叶 色 Color of embryo |
|---------------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| 公交 8703-1 Gong 8703-1 | Dt ₁ | W ₁ | t | ln | l ₁ L ₂ | p ₁ pd | — |
| 通交 83-932 Tong83-932 | dt ₁ | w ₁ | t | Ln | l ₁ L ₂ | p ₁ pd | — |
| 长交 8210-1 Chang 8210-1 | Dt ₂ | w ₁ | t | Ln | l ₁ L ₂ | p ₁ pd | — |
| 猫 眼 豆 Maoyandou | Dt ₁ | w ₁ | T | Ln | l ₁ L ₂ | p ₁ pd | — |
| 里 外 青 Liwaiqing | dt ₁ | w ₁ | t | Ln | l ₁ L ₂ | p ₁ pd | d1d2 |
| 国 育 100-4 Guoyu 100-4 | Dt ₁ | W ₁ | — | Ln | l ₁ L ₂ | P ₁ pd | — |
| L 71-46 L71-46 | Dt ₁ | W ₁ | t | Ln | l ₁ L ₂ | p ₁ Pd | — |

叶绿素含量的测定

1991 年夏天在公主岭种植亲本和 F₁, 于开花盛期分别测定了 P₁、P₂ 和 F₁ 的叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量。试验 1 测定了所有组合 P₁、P₂ 和 F₁ 植株顶部第三片完全展开叶的色素含量; 试验 2 测定了组合 C₃ 和 C₄ 的亲本和 F₁ 植株顶部第一到第五片完全展开叶的叶绿素含量。每个基因型测定 5 株。叶绿素测定采用二甲基亚砷比色法。于早晨将叶片取下放入不透光的纸袋中, 从每个样本中取 0.3 克新鲜叶片, 剪碎并放入 25ml 试管中, 加入二甲基亚砷 10ml, 放入 60℃ 恒温箱中浸提 4 小时, 然后用 721 型分光光度计测定在 645 和 663nm 波长的消光度, 并按下列公式计算叶绿素的浓度^[1,2]:

$$C_a = \frac{(12.7D_{663} - 2.69D_{645}) \times V}{1000 \times W} \dots\dots\dots (1)$$
$$C_b = \frac{(22.9D_{645} - 4.68D_{663}) \times V}{1000 \times W} \dots\dots\dots (2)$$
$$C_t = \frac{(20.2D_{645} + 8.02D_{663}) \times V}{1000 \times W} \dots\dots\dots (3)$$

C_a、C_b 和 C_t 分别为叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量, 单位为毫克鲜重; D₆₄₅ 和 D₆₆₃ 是在 645 和 663nm 波长的消光度; V 是浸提液定容体积, 单位为毫升; W 是每个样品的鲜重, 单位为克。

结果和讨论

一、遗传规律

以花色作为组合 C₁—C₈ 的标记性状,以无茸毛性状作为组合 C₇ 的标记性状,以密茸毛性状作为组合 C₈ 的标记性状,调查 F₂ 标记性状的分离。所有组合标记性状的分离均符合期望的理论比例。当以公交 8703—1 为母本时,F₁ 和 F₂ 所有单株都表现为黄化;而用该黄化突变体为父本时,F₁ 和 F₂ 的所有植株均不表现黄化(表 3)。在 F₁ 和 F₂ 群体中都没有镶嵌植株出现。上述结果说明公交 8703—1 的黄化性状呈稳定的母体遗传。因为公交 8703—1 的两个亲本都不黄化,这种黄化性状一定是由于细胞质突变引起的。从表现型上来看,公交 8703—1 的细胞质突变不同于 T278M(Cyt—Y₃),公交 8703—1 在自然光照条件下可以存活并结实,而后者不能在田间正常成活。公交 8703—1 的表现与 T275(Cyt—Y₂)有些相象,属于一种较温和类型的有害突变。由于目前尚缺乏测定细胞质基因等位性的有效手段,无法确定公交 8703—1 的细胞质突变和已报道的 2 个细胞质叶绿素缺失突变^[3,4]是否是发生在相同位点但在叶绿素含量上有些差别。因此,将该突变体命名为 Cyt—Y₄,正常细胞质为 Cyt—G₄。

表 3 亲本、F₁ 和 F₂ 代的田间表现

Table 3 The performances of parents、F₁ and F₂ generations in the field

| 组 合 Crosses | 母 本 Female | 父 本 Male | F ₁ | | F ₂ | |
|----------------|---------------|-------------|-------------------|----------------|-------------------|----------------|
| | | | 黄化株数 Chlorosis | 正常株数 Normal | 黄化株数 Chlorosis | 正常株数 Normal |
| C ₁ | 8703—1 | 长 8210—1 | 16 | 0 | 85 | 0 |
| C ₂ | 长 8210—1 | 8703—1 | 0 | 22 | 0 | 93 |
| C ₃ | 8703—1 | 通 83—932 | 21 | 0 | 67 | 0 |
| C ₄ | 通 83—932 | 8703—1 | 0 | 25 | 0 | 112 |
| C ₅ | 8703—1 | 猫 眼 豆 | 17 | 0 | 87 | 0 |
| C ₆ | 8703—1 | 里 外 青 | 22 | 0 | 55 | 0 |
| C ₇ | 8703—1 | 国育 100—4 | 15 | 0 | 96 | 0 |
| C ₈ | 8703—1 | L 71—46 | 20 | 0 | 42 | 0 |

二、叶绿素含量

表 4 是所有亲本和 F₁ 代及 Cyt—Y₂ 顶部第三片完全展开叶片的叶绿素含量结果。公交 8703—1 的每克新鲜叶片分别含 0.189 毫克叶绿素 a,0.182 毫克叶绿素 b。6 个非黄化亲本平均每克新鲜叶片含叶绿素 a 0.399 毫克,叶绿素 b 0.450 毫克。公交 8703—1 的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量分别是正常基因型的 47.4、40.4%和 43.7%。为了便于比较,我们还测定了 T275(Cyt—Y₂)的叶绿素含量(表 4)。T275 每克新鲜叶片含叶绿素 a 0.169 毫克,叶绿素 b 0.157 毫克。根据我们和 Palmer 等人^[3]的研究结果,公交 8703—1 (Cyt—Y₄)的叶绿素含量略高于 T275(Cyt—Y₂)。许多研究表明,叶绿素含量是由核基因和

细胞质基因共同控制的^[7],不同研究结果间的差异也有可能是由于试验材料的遗传背景不同所造成的。测定方法也会影响叶绿素的测定值,由于在我们的实验中同时测定了T275和公交8703-1的叶绿素含量,可以在一定程度上排除测定方法引起的差异。

表4 亲本和F₁代顶部第三片完全展开叶的叶绿素含量(mg/g)

Table 4 Chlorophyll contents in the third fully expanded trifoliate from top of parents and F₁ generations(mg/g)

| 材 料 Materials | 叶 绿 素 a Chlorophyll a | | 叶 绿 素 b Chlorophyll b | | 叶 绿 素 a+b Chlorophyll a+b | |
|--------------------------------|--------------------------|--------------|--------------------------|--------------|------------------------------|--------------|
| | 含 量 Contents | 标 准 差 STD | 含 量 Contents | 标 准 差 STD | 含 量 Contents | 标 准 差 STD |
| | | | | | | |
| 8703-1 (♀) | 0.189 | 0.051 | 0.182 | 0.060 | 0.371 | 0.082 |
| 长82101-1 (♂) | 0.389 | 0.024 | 0.436 | 0.033 | 0.0824 | 0.056 |
| C ₁ -F ₁ | 0.183 | 0.045 | 0.175 | 0.053 | 0.358 | 0.098 |
| C ₂ -F ₁ | 0.401 | 0.029 | 0.444 | 0.026 | 0.845 | 0.078 |
| 8703-1 (♀) | 0.189 | 0.051 | 0.182 | 0.060 | 0.371 | 0.082 |
| 通83-932 (♂) | 0.452 | 0.022 | 0.524 | 0.031 | 0.976 | 0.054 |
| C ₃ -F ₁ | 0.233 | 0.029 | 0.234 | 0.036 | 0.467 | 0.065 |
| C ₄ -F ₁ | 0.409 | 0.040 | 0.464 | 0.055 | 0.872 | 0.095 |
| 8703-1 (♀) | 0.189 | 0.051 | 0.182 | 0.060 | 0.371 | 0.082 |
| 猫眼豆 (♂) | 0.382 | 0.026 | 0.426 | 0.036 | 0.807 | 0.062 |
| C ₅ -F ₁ | 0.222 | 0.038 | 0.220 | 0.046 | 0.442 | 0.084 |
| 8703-1 (♀) | 0.189 | 0.051 | 0.182 | 0.060 | 0.371 | 0.082 |
| 里外青 (♂) | 0.437 | 0.018 | 0.503 | 0.025 | 0.939 | 0.043 |
| C ₆ -F ₁ | 0.203 | 0.045 | 0.198 | 0.053 | 0.400 | 0.097 |
| 8703-1 (♀) | 0.189 | 0.051 | 0.182 | 0.060 | 0.371 | 0.082 |
| 国育100-4 (♂) | 0.349 | 0.021 | 0.382 | 0.029 | 0.731 | 0.050 |
| C ₇ -F ₁ | 0.184 | 0.029 | 0.175 | 0.034 | 0.358 | 0.063 |
| 8703-1 (♀) | 0.189 | 0.051 | 0.182 | 0.060 | 0.371 | 0.082 |
| L71-46 (♂) | 0.386 | 0.040 | 0.433 | 0.054 | 0.819 | 0.094 |
| C ₈ -F ₁ | 0.216 | 0.035 | 0.213 | 0.042 | 0.428 | 0.077 |
| T275(Cyt-Y ₂) | 0.169 | 0.013 | 0.157 | 0.015 | 0.326 | 0.028 |

当以公交8703-1为母本时(C₁、C₃、C₅-C₉),杂交F₁植株的叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量都与公交8703-1(母本)无显著差异(表4),而显著低于父本的叶绿素含量。用长交8210-1和通交83-932为母本与公交8703-1杂交(C₂,C₄),杂交F₁代植株的叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量均与母本无显著差异,而显著高于父本(表4)。上述试验结果也说明,F₁代的叶绿素含量是由母本决定的,父本的影响很小。

表5是一组正反交组合亲本和F₁代顶部第1~5片完全展开三出复叶的叶绿素含

量。亲本和 F₁ 代植株的叶绿素含量都随着叶片的发育成熟而提高(表 5),这与生长期间

表 5 亲本和正交及反交 F₁ 代顶部不同叶位的叶绿素含量

Table 5 Chlorophyll contents in different leaves from parents and F₁ plants of set of reciprocal crosses (mg/g)

| 材 料 Materials | 叶 位* Leaflet | 叶 绿 素 a Chlorophyll a | | 叶 绿 素 b Chlorophyll b | | 叶 绿 素 a+b Chlorophyll a+b | |
|----------------------------------|-----------------|--------------------------|--------------|--------------------------|--------------|------------------------------|--------------|
| | | 含 量 Contents | 标 准 差 STD | 含 量 Contents | 标 准 差 STD | 含 量 Contents | 标 准 差 STD |
| | | | | | | | |
| 通交 83-932 Tong 83-932 | 1 | 0.226 | 0.053 | 0.201 | 0.050 | 0.427 | 0.102 |
| | 2 | 0.434 | 0.013 | 0.479 | 0.010 | 0.913 | 0.004 |
| | 3 | 0.461 | 0.018 | 0.523 | 0.068 | 0.983 | 0.079 |
| | 4 | 0.480 | 0.028 | 0.614 | 0.040 | 1.094 | 0.058 |
| | 5 | 0.501 | 0.026 | 0.704 | 0.022 | 1.204 | 0.044 |
| | 平均 Mean | 0.420 | 0.028 | 0.504 | 0.038 | 0.924 | 0.057 |
| 公交 8703 Cong 8703 | 1 | 0.072 | 0.009 | 0.057 | 0.003 | 0.129 | 0.012 |
| | 2 | 0.124 | 0.033 | 0.101 | 0.030 | 0.225 | 0.062 |
| | 3 | 0.270 | 0.060 | 0.260 | 0.070 | 0.530 | 0.128 |
| | 4 | 0.357 | 0.002 | 0.362 | 0.012 | 0.719 | 0.014 |
| | 5 | 0.420 | 0.010 | 0.455 | 0.024 | 0.875 | 0.032 |
| | 平均 Mean | 0.249 | 0.023 | 0.247 | 0.028 | 0.496 | 0.049 |
| C ₄ F ₁ | 1 | 0.077 | 0.008 | 0.070 | 0.002 | 0.147 | 0.006 |
| | 2 | 0.089 | 0.004 | 0.074 | 0.003 | 0.163 | 0.005 |
| | 3 | 0.352 | 0.024 | 0.380 | 0.039 | 0.732 | 0.063 |
| | 4 | 0.411 | 0.006 | 0.445 | 0.021 | 0.855 | 0.026 |
| | 5 | 0.429 | 0.007 | 0.471 | 0.009 | 0.900 | 0.017 |
| | 平均 Mean | 0.272 | 0.010 | 0.288 | 0.015 | 0.559 | 0.023 |
| C ₁ F ₁ | 1 | 0.283 | 0.035 | 0.272 | 0.036 | 0.554 | 0.071 |
| | 2 | 0.411 | 0.003 | 0.452 | 0.028 | 0.863 | 0.026 |
| | 3 | 0.428 | 0.009 | 0.470 | 0.013 | 0.898 | 0.021 |
| | 4 | 0.435 | 0.009 | 0.536 | 0.060 | 0.971 | 0.060 |
| | 5 | 0.442 | 0.002 | 0.592 | 0.076 | 1.034 | 0.078 |
| | 平均 Mean | 0.400 | 0.005 | 0.464 | 0.026 | 0.864 | 0.021 |

* :从顶部第一片完全展开叶片算起。
* :From the first fully expanded tri folliate on the top of the plant.

观察到的植株在发育过程中逐渐转绿相吻合。突变体新生叶片的叶绿素含量很低,与正常基因型间的差异较大。随着叶片的发育,两者之间的差异逐渐缩小,例如,公交 8703-1 顶部第 1~5 片完全展开叶片的叶绿素含量分别是通交 83-932 的 30.2、24.6、53.9、65.7 和 72.7%。F₁ 植株各叶位的叶绿素含量的变化趋势与亲本相同,但是,其绝对含量取决于

母本,当母本为突变类型时,各叶位的叶绿素含量均较低,反之亦然。

根据上述研究结果公交 8703-1 的表现型与 T275 相似。Palmer 等^[3]对 T275 的质体超微结构进行了研究,没有发现异常。他们认为 T275 的黄化性状是由于在质体发育过程中细胞核和细胞质基因产物的合成不同步造成的,这些基因产物很可能是质体代谢所必需的。公交 8703-1 的黄化很可能是由于类似的原因引起的。由于条件所限,我们没有研究公交 8703-1 的质体超微结构及其它光合色素的含量,尚无法对其黄化机制作出肯定的结论,这个问题有待于进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] 华东师范大学生物系植物生理教研组,1985年,植物生理学实验指导,高等教育出版社
- [2] Arnon, D. I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.*, 24: 1~15
- [3] Palmer, R. G., and P. N. Mascia, 1980. Genetic and ultrastructure of a cytoplasmically inherited yellow mutant in soybeans. *Genetics* 95:985~1000
- [4] Shoemaker, R. C., A. M. Cody and R. G. Palmer. 1985. Characterization of a cytoplasmically inherited yellow foliar mutant (cyt-Y3) in soybean. *Theor. Appl. Genet.* 69: 279~284
- [5] Shoemaker, R. C. and R. G. Palmer. 1984. A possible interaction between cyt-Y3 and y20-k2. *Soybean Genet. Newsletter* 111~113
- [6] Terao, H. 1918. Maternal inheritance in the soybean. *Am. Nat.* 52: 51~56
- [7] Wilcox, J. R. 1987. *Soybeans; Improvement, Production, and Uses*. Second edition. Madison, Wisconsin, USA

A PRELIMINARY STUDY ON A CYTOPLASMICALLY INHERITED YELLOW FOLIAR MUTANT IN SOYBEANS

Yu Haili Sun Zhiqiang

(*Soybean Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences*)

Abstract

Eight crosses were made with a yellow foliar mutant and 6 normal pigment genotypes including 2 set of reciprocal crosses. Genetic analysis were made based on the performance of F_1 and F_2 populations. The contents of chlorophyll of parents and F_1 plants were determined. The results indicated that the chlorosis character of the mutant was maternally inherited. When the yellow foliar mutant was used as the female parents, all the plants in all F_1 and F_2 populations were chlorosis. While if the pigment normal genotypes were used as the female parents, all the plants in F_1 and F_2 populations were normal. The contents of chlorophyll a, b and a+b were about 47.4, 40.4 and 43.7% of that from the normal genotypes under natural photosynthetic photon flux densities (PPFD). The content of chlorophyll of the young leaves from the mutant plants were extremely low. It gradually become normal with the development of the leaves. According to the rules and regulations established by the Soybean Genetic Committee, the mutant genotype was designated as cyt-Y4.

Key Words Cytoplasmic mutant; Chlorosis; Maternal inheritance; Content of chlorophyll