

大豆不育系的研究和利用*

王继升 杨庆凯

(东北农业大学)

STUDIES AND USES OF MALE STERILITY IN SOYBEAN

Wang Jian Yang Qingkai

(Northeast Agricultural University)

一、现有大豆不育系的发生

大豆中,现已发现多种类型的不育系。美国开展这一领域的研究较早。Owen(1928)报道了第一个大豆不育系,后来证实是由染色体联会不正常引起的雄性和雌性不育系(Ms-Fs)。基因符号定为 St1。之后,Hadley 等(1964),Palmer 等(1974,1983)相继又发现了这类新的不育系,定名为 St2、St3、St4 和 St5。1978 年,Singh 等报道了一个结构性不育系,其特点是花粉正常,但花药不开裂。Johns 等(1982)发现另一类结构不育系,其特点是花丝不能正常伸长而达柱头,基因符号定为 fs1fs2。Stewart 等(1926)和 Cavines 等(1970)报道的不育系(p2)和 Stelly 发现的不育系(msp)属于部分不育,其育性随环境条件的改变而变化。

研究最多可利用性最大的是隐性单基因控制的雄性不育、雌性可育(Ms-FF)的 ms 系列核不育系。这个系列已从 ms1 发展到 ms6,目前仍有大量自然产生的或通过诱变、组培、DNA 导入等手段诱导产生的 ms,正在进行等位测验之中,基因符号尚未给出(Graybosch, Edge 和 Delamnay, 1987a; 李莹, 1988; 卫保国, 1990; 马国荣, 1993; 孙寰, 1993),很可能发现新的 ms 位点。ms1 位点上已有 7 个独立突变(Palmer Winger 和 Palmer, 1987; 余建章, 1986)。ms3 位点上有 3 个独立突变(Graybosch 和 Palmer, 1987)。为取得一致,在雄性不育系位点上的独立突变沿用产生地名来命名(表 1)。

美国的 Davis(1985)报道了第一个大豆细胞质核互作不育系(Cytsr₁r₁r₂r₂)。他用栽培

* 本文于 1994 年 1 月 7 日收到。

This paper was received on Jan. 7, 1994.

种 $\text{Elf}(\text{CytsR}_1\text{R}_1\text{R}_2\text{R}_2)$ 的细胞质与双隐性雄性不育 $(r_1r_1r_2r_2)$ 组合产生了 CMS。 r_1r_1 来源于栽培种 Bedford, r_2r_2 来源于栽培种 Braxton。只要恢复基因 R_1R_1 或 R_2R_2 存在即可恢复可育。但专利申请后未见进一步的研究和利用方面的报道。有人重复了他的试验,但未获得成功。1993 年孙寰报道了新的质核互作不育系。他用黄河流域的地方栽培种 167 与野生豆 035 杂交(167 和 035 为试验编号)。现已通过回交转育的方法育成 167 不育系和 035 同型保持系。恢复系的寻找和转育工作尚在进行之中。该组合的不育性工作可以重复进行(孙寰,1993.11,鉴定报告)。

表 1 大豆雄性不育雌性可育(MS-FF)突变起源

Table 1 Oringin of made-sterile famale-fertile mutations of soybean

突 变 Mutation	遗传类型收集号 Genetic type collection number	参 考 文 献 Reference
ms_1 (North Carolina)	T 260H	Brim 和 Young, 1971
ms_1 (Urbana)	T 266H	Boerma 和 Cooper, 1978
ms_1 (Tonica)	T 267H	Palmer 等 1978a
ms_1 (Ames 1)	T 266H	Palmer 等 1978a
ms_1 (Ames 2)	—	Skorupska 和 Palmer 1978
ms_1 (China)	—	Yee 和 Jian, 1983
ms_1	—	Palmer 等 1992
ms_2	T 259H	Graybosch 等 1984
ms_3 (Washington)	T 273H	Palmer 等 1980
ms_3 (Flanagan)	T 284H	Chauohari 和 Davis, 1977; Graybosch 等 1987
ms_3	—	Palmer 等 1992
ms_4	T 274H	Delannay 和 Palmer, 1982
ms_5	T 277H	Buss, 1983
msp	T 271H	

二、不育系的细胞遗传学基础

结构性的雌雄不育系(MS-FS)St 系列和雌性不育的 ft 系列,由单基因隐性控制。这类不育或是由于花冠组织发育异常,阻止自花或异花受精(Johns 和 Palmer, 1982),或是由于减数分裂期不联会而导致同源染色体配对紊乱(Hadley 和 Starshes, 1964; Palmer, 1974a; Palmer 和 Kaul, 1983)。这种植株有时产生种子可能是由于核重组偶然形成了完整或接近完整的染色体组的配子所致。 fs_1fs_2 结构不育受两对隐性基因控制。在雄性不育的植株上能够形成正常花粉,但由于花蕾结构畸形,阻碍了自花授粉(Johns, 1982)。部分不育的 msp 受单基因隐性控制,在低温时不育性能好(Stelly 等, 1980)。细胞分析表明,这类部分不育系的造孢组织在花药发育的所有时期,即从造孢时期到花粉时期都出现退化,而这种退化与绒毡层组织的退化有关。绒毡层异常典型的早熟空化和/或细胞解体先于生殖细胞退化(Stelly 等, 1982)。

雄性核不育(MS-FF)的 ms_1 系列全部由隐性单基因控制。 ms_1 在同一位点上有 6 个等位突变体,所有的突变体在减数分裂的末期 I 呈现胞质分裂受阻(Albertsen 等,1979;Brim 等,1971;Patil 等,1976 和 Rubaihayo 等,1978),这导致了四核(多核)小孢子(CM)的产生。这些细胞产生孢粉素壁以象有生活力的花粉粒一样的方式吞噬掉贮存物质。一种未知的衬质使得即使花药适当地裂开也不能释放 CM。多核体的小孢子(CM)分化出 Colpi,但这些结构的数量和分布变化很大。CM 在体内和体外产生花粉管,但是否参与释放精子和受精还不清楚(Albertsen 和 Palmer,1978;Skorupska 和 Nauracala,1980;Chen,Alertsen 和 Palmer,1987)。每个 CM 中的四核的命运虽不清楚,但在接近雄性可育小孢子有丝分裂时发现丝分裂。 ms_1 不育株的绒毡层分化和花药壁形成与雄性可育株一样。

ms_2 雄性不育株的生殖细胞总是在四分体阶段退化(Graybosch 等,1984;Graybosch 和 Palmer,1985a)。虽然具有减数分裂的核分裂和胞质分裂,但细胞在组成原基粒棒后退化。花粉壁形成有特征的原基孢粉素沉积物,花粉壁不再进一步分化。小孢子退化,但仍在胼胝质内。成熟的花药包含退化的小孢子,胼胝质不溶解。超微结构的观察(Graybosch 和 Palmer,1985a)表明绒毡层不能正常分化是不育的原因(Graybosch 和 Palmer,1985a)。成熟的绒毡层含有一个大的空泡,几乎无原生质和细胞器,内切向壁不溶解,绒毡层和小孢子一起解体。

ms_3 雄性不育株中,小孢子发生的四分体阶段表现正常,减数分裂无紊乱现象。然而,当小孢子逐渐成熟时出现畸形(Graybosch 和 Palmer,1987),失去所有的原生质,仅剩空的花粉粒。小孢子退化时,绒毡层细胞要么瓦解,要么累积成电子密度高的物质(有孢粉素的染色和荧光性物质)(Nakashima、Horner 和 Palmer,1984)。亚显微结构观察(Graybosch 和 Palmer,1987),四分体后期,雄性不育小孢子的小孢壁由较薄的孢壁内层和较厚的厚顶膜组成,但无囊轴。雄性不育和雄性可育的花药绒毡层相似,但雄性不育绒毡层细胞没有雄性可育绒毡层细胞所具有的内质网结构。

ms_4 雄性不育株的小孢子发生,在减数分裂末期 I 之前与可育株相似,但此后就不同了(Delannay 和 Palmer,1982)。与可育株形成正常四分体,小孢子及花粉粒不同的是,不育株中来自减数分裂的 4 个细胞核聚集在细胞中心,这时胞质并不分裂,而在细胞周围形成一层像正常花粉粒那样的厚壁,结果产生四核(多核)小孢子(CM)。小孢子发育中,内溶物逐渐分解,最终只剩细胞壁物质残留在花药内部,与此同时,绒毡层细胞变成液泡化并膨大。小孢子退化一般发生在药室内壁分化之前。由于胞质分裂不规则,可以看到从不完整的二分体到不规则的四分体之间的所有类型。 ms_4 不育株中的花粉壁形成程度有很大变异。壁可能不出现,由散布的孢粉素累积物代替;也可能有壁,壁由成层的非有机化的孢粉素沉积混合物构成,或包含正常花粉粒的所有层。花粉壁的形成似乎依赖于胞质分裂完成。当无胞质分裂时,花粉壁形成异常。

ms_5, ms_6 雄性不育系尚无完整的细胞学描述。 ms_5 的雄性不育植株种植在无昆虫传粉的情况下可产生一些种子,但如何产生的尚不清楚。

美国 Davis 的细胞质核互作不育系,未作详细的细胞学描述,只提出了不育隐性核基因 r_1r_1 和 r_2r_2 ,如果二者同时存在即产生雄性不育。 R_1R_1 和 R_2R_2 其中之一存在即可恢复

可育。孙寰对他们的质核互作不育系的研究指出(1993,10),产生胞质核互作不育系的 167×035,组合的父本 035 具有染色体易位,母本 167 具有不育的细胞质。167 和 035,以及由其产生的不育系根尖染色体观察,数目均为 40。不育系和同型保持系的花药、花粉壁的扫描电镜和光学显微镜观察结果列入表 2。在不同环境条件下种植该不育系,雄性不育性受环境的影响极小,雌性器官育性正常(孙寰等,1993)。

表 2 不育系、保持系显微观察结果

Table 2 The result of microscopic observation on the male sterile line and pretreatment

观察方法 Observation	前处理方法 Pretreatment	材 料 Material		形态描述 Description
电子显微镜	自然风干	CMS	花药	瘦瘪、表面粗糙、纹理明显
			花粉	花粉粒小而不饱满、形态不规则
		035	花药	饱满、表面光滑、纹理不明显
			花粉	饱满、萌发孔较明显
	临界点干燥	CMS	花药	饱满、表面纹理较明显
		035	花药	饱满、表面纹理不明显
光学显微镜	I ₂ -KI 染色	CMS	花粉	不着色或着浅褐色、内容物收缩或崩溃,但绝大多数花粉粒外壁完整,花粉粒直径 17.15 微米
		035	花粉	着深兰色、饱满、形状规则、可见三个萌发孔、花粉粒直径 21.73 微米

三、大豆雄性不育系在遗传育种中的应用

大豆雌性不育(st 和 ft 系列),由于其很难获得杂交种子,限制了它们在遗传育种中的应用。但由这些不育系产生的活力很差的胚珠常常产生非整倍体或多倍体小苗(Palmer,1974b;1976),这在连锁遗传分析中很有用途,有待于进一步的开发研究和利用。

部分不育的 P₂、msp 等,育性受环境条件的影响而变化,使得人们可以通过控制环境条件而操纵不育/可育性。因此这为研究雄性不育的生化机制提供了极好的工具。msp 等部分不育的细胞学、生物化学和农学的综合研究将会大大增加我们对植物生殖生物学的了解。

在遗传育种中应用最广,用处最大的是 ms 系列雄性核不育系。ms 系列不育系改进了大豆的杂交方式,用昆虫传粉代替了复杂的人工授粉。这使得轮回选择在大豆中得以应用。通过轮回选择,可打破高强度的基因连锁,创造更多的特殊重组类型。迄今,许多大豆育种者已创造出由 ms 系列控制的大豆轮回选择群体(Brim,1961;Fehr 等 1974;余建章等 1986;Carver 等 1986;Timius 等 1991;Rose 等 1992),在提高大豆蛋白质、油分、籽粒大小和产量等方面取得了可喜的进展。此外,雄性不育可以用来促进基因从野生大豆渐渗到栽培种中(May,1986)。Carter 等(1983b)还利用雄性不育系发展了一种促进 MS-FF 性状回归到新的遗传背景中去的方法。不需人工授粉,使一个额外的遗传标记基因与希望基因一起流动几个世代。

自从第一个大豆雄性不育系产生,大豆杂交优势的利用就成为大豆工作者的一个重

要讨论课题。多年来,许多遗传育种者围绕如下三个方面开展了大量工作,1)尽可能提高不育系的异变率;2)配制高杂种优势组合;3)创造整齐一致的具有高产潜力的雄性不育群体作母本。Boerma等(1975),Koellig等(1981)及Carter(1986)利用昆虫在株行间和株行内的移动,研究蜜蜂和切叶蜂密度及大田中雄性不育系的产量,Carter得到不育株种子产量达可育株80%。余建章(1986)利用 ms_1 生产大豆杂交种子。孙寰等将 ms 系列雄性不育系转育到吉林号推广的高产品种中去:吉林20(ms_1)、吉林21号(ms_1)、吉林16号(ms_2)、吉林3号(ms_3)和吉林16号(ms_4)。为大豆杂种优势利用奠定了高一阶的基础。

MS-FF不育系也已在大量的遗传学和细胞学研究中应用。雄性不育可作为连锁分析的标记,由 ms_1 雄性不育株产生的奇特倍染色体数的植株为细胞学研究提供了材料。单倍体和三倍体已被用于产生非整倍体,这在染色体图测定中很有用(Beversdorf和Bingham, 1977;Chen和Palmer, 1985)。单倍体和三倍体中减数分裂染色体配对已有研究(Chen等1982,1985)。单倍体中的二价体、三倍体中的四价体和六价体的出现及两种类型中的次级联会支持了Bernard和Weiss的假说:大豆染色体组通过多倍体化而产生。

应用前景最好的是大豆质、核互作雄性不育系。在杂种优势利用的制种过程中,克服了核不育系需在田间拔除近一半伪杂种的弱点。理论上只要三系配套,就可能会使大豆杂种优势利用成为现实。但自从1985年Davis发现质、核互作不育系以来,这方面的研究和利用尚无新的进展报道。这使得人们对Davis质核互作不育系的有无产生了怀疑(Palmer私人通讯,1993)。孙寰的质、核互作不育系的公开鉴定和报道,又为杂种优势的利用展现了一线光明。孙寰的质、核互作不育系已经得到了具有一年生野生豆性状的细胞质、核互作不育系和同型保持系。现正在和即将开展如下几个方面的工作(孙寰,不育系鉴定工作报告,1993):1)将野生不育系转育成栽培不育系;2)寻找和转育恢复系;3)大规模筛选高优组合;4)昆虫传粉,提高异交率。虽然这条路还很遥远,但从理论上是可行的。

参考文献

- [1] ALBERTSEN, M. C., AND R. G. PALMER. 1978. A comparative light and electron microscope study of microsporogenesis in male-sterile(ms_1) and male-fertile soybeans. *Amer. J. Bot.* 66:253-265
- [2] BERNARD, R. L., AND M. G. WEISS. 1973. Qualitative genetics. In B. E. Caldwell[ed.], *Soybeans: improvement, production and uses*, 117-154. Amer. Soc. Agron., Madison, WI
- [3] BRIM, C. A., AND C. W. STUBER. 1973. Application of genetic male sterility to recurrent selection schemes in soybeans. *Crop Sci.* 15:858-861
- [4] BUNTMAN, D. J., AND H. T. HORNER. 1983. Microsporogenesis of normal and ms_3 mutant soybean. *Scanning Electron Microsc.* /1983/Part II: 913-922
- [5] CARLSON, D. R., AND C. B. WILLIAMS. 1985. Effect of temperature on the expression of male sterility in Partially male-sterile soybean. *Crop Sci.* 25:646-648
- [6] CARTER, T. E., JR., G. BRAN, J. W. BURTON, AND A. L. FONSECA. 1986. Seed yield on field-grown ms_2 male-sterile plants. *Soybean Genet. Newsl.* 13:159-163
- [7] CHAUDHARI, H. K., AND W. H. DAVIS. 1977. A new male-sterile strain in wabash soybeans. *J. Hered.* 68: 266-277

- [8] Davis, W. H., 1985. Route to hybrid soybean production. United States Patent 4, 545, 146
- [9] DELANNAY, X., AND R. G. PALMER. 1982. Genetics and cytology of the ms4 male—sterile soybean. J. Hered. 73; 219—223
- [10] GRAYBOSCH, R. A., R. L. BERNARD, C. R. CREMEENS, AND R. G. PALMER. 1984. Genetic and cytological studies of a male—sterile, female—fertile soybean mutant. J. Hered. 75; 383—388
- [11] —, —, AND —. 1987b. Seed production by male—sterile soybeans in Missouri. Soybean Genet. Newsl. 14; 156—160
- [12] —, AND R. G. PALMER. 1984. Is the ms4 male—sterile mutant partially fertile? Soybean Genet. Newsl. 11; 101—104
- [13] —, AND —. 1987. Analysis of a male—sterile character from *Glycine max* (L.) Merr. CV Wabash (soybean). J. Hered. 76; 66—70
- [14] —, AND —. 1988. Male sterility in Soybean—AN over—view. Amer. J. Bot. 75(1); 144—156
- [15] J. L. Rose, D. G. Butler, M. J. Ryley. 1992. Yield improvement in soybeans using recurrent selection. Australian Journal of Agricultural Research 43(1); 135—144
- [16] NAKASHIMA H., H. T. HORNER, AND R. G. PALMER. 1984. Histological features anthers from normal and ms3 mutant soybean. Crop Sci. 24; 735—739
- [17] 马国荣、刘佑斌和盖钧镒, 1993, 大豆雄性不育突变体 NJ89—1 的发现与表现. 大豆科学(12)2; 172—174
- [18] 余建章, 1986, 大豆的轮回选择. 全国大豆学术讨论会论文, 1—13
- [19] 孙赛, 1993, 获得大豆细胞质不育基因型的研究—技术报告, 油印本
- [20] 孙赛, 1993, 国内外大豆不育系研究对比, 油印本
- [21] C. N. Tinius. 1991. Recurrent selection for seed size in soybean; 1. Response to selection in Replicate Populations. Crop Sci. 31; 1137—1141