



一个大豆雄性不育雌性可育突变体的遗传稳定性及天然异交特性评价

张 湘¹,高华伟^{1,2,3},杨梦园^{1,4},王 俊⁵,张 玉⁶,樊颖伦⁷,苏 欢^{1,8},刘立科¹

(1.聊城大学 生命科学学院,山东 聊城 252059; 2.东北农业大学 大豆生物学省部共建教育部重点实验室,黑龙江 哈尔滨 150030; 3.中国农业科学院 作物科学研究所/农作物基因资源与遗传改良国家重大科学工程/农业部北京大豆生物学重点实验室,北京 100081; 4. 驼人集团,河南 新乡 453400; 5. 长江大学 农学院,湖北 荆州 434025; 6. 山东鑫丰种业股份有限公司,山东 聊城 252400; 7. 聊城大学 农学院,山东 聊城 252059; 8. 聊城市文苑高中,山东 聊城 252000)

摘 要:为了提高大豆品种培育过程中轮回选择的效率,本研究以 1 个大豆雄性不育-雌性可育突变体 $M_4 \sim M_8$ 和 M_{12} 代育性分离群体为材料,分别 5 年在 1 个地点和 1 年在 2 个地点对其育性遗传方式进行分析。同时,以该突变体天然杂交 F_1 单株衍生的 5 个 F_2 群体和 3 个 F_2 衍生的 F_3 群体为材料对育性表型遗传方式和不育株结荚数进行统计分析。结果表明:在 $M_4 \sim M_8$ 和 M_{12} 代群体中,突变性状均为单基因控制的隐性性状;而在天然杂交组合后代群体中,育性表型的遗传因组合和播期不同而异。两个 F_2 群体的育性表现为受单基因控制,且其衍生的 F_3 群体育性在不同播期条件下也表现为受单基因控制;而其它 3 个 F_2 群体则表现为受 2 个基因控制,但其中 1 个群体衍生的 F_3 群体在早播条件下却表现为受单基因控制。基本农田环境下, F_2 群体中不育株结荚数范围为 0~28 个,平均 2.73 个。在不同遗传背景下,不同播期和年际间,不育株结荚数均差异显著。本研究结果能够为该突变体用于大豆轮回选择奠定基础。

关键词:大豆; 雄性不育; 轮回选择; 遗传稳定性; 天然异交率

Assessment of Genetic Stability and Natural Cross Pollination for A Male Sterile-Female Fertile Mutant of Soybean

ZHANG Xiang¹,GAO Hua-wei^{1,2,3},YANG Meng-yuan^{1,4},WANG Jun⁵,ZHANG Yu⁶,FAN Ying-lun⁷,SU Huan^{1,8},LIU Li-ke¹

(1. School of Life Sciences, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China; 2. Key Laboratory of Soybean Biology of Chinese Education Ministry, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 3. Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences/ National Key Facility for Gene Resources and Genetic Improvement/ Key Laboratory of Soybean Biology (Beijing) of the Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China; 4. Henan Tuoren Medical Device Co., Ltd., Xinxiang 453400, China; 5. College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025, China; 6. Shandong Xinfeng Seeds Co., Ltd., Liaocheng 252400, China; 7. College of Agronomy, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China; 8. Wenyuan Senior High school, Liaocheng 252000, China)

Abstract: In order to improve the efficiency of recurrent selection in soybean breeding, genetic stability of a male sterile-female fertile mutant was assessed through five years at one location in populations of M_4 to M_8 segregation populations and one year at two locations in M_{12} segregation populations derived from heterozygous mutant plants. At the same time, natural pollination and genetic characters of the mutant allele under other genetic backgrounds were measured in five F_2 populations which were derived from five naturally pollinated F_1 plants and three F_2 derived F_3 populations. F_2 populations were planted in farmland with normal soil fertility in 2017, and three F_3 populations were planted on three different dates in a field with poor soil fertility in 2019. The results showed that in $M_4 - M_8$ and M_{12} populations, male sterility of this mutant was controlled by one pair of recessive alleles at Liaocheng, Shandong province through six years (from 2011 to 2015 and 2016) and one year at Jingzhou, Hubei province in 2019. In two of five F_2 populations in 2017 and those derived F_3 populations in 2019, the ratios of male fertility to male sterility were both 3:1, indicating the male sterility was controlled by a pair of recessive alleles. In other three F_2 populations, however, the phenotype showed a ratio of 9:7 in 2017 indicating male fertility was controlled by two genes. In two of these three derived F_3 populations in 2019 the phenotype had the same genetic characters through all the planting dates as those in 2017. However, in last one of these three derived F_3 populations the male sterility was controlled by one gene when planted early, while by two genes when planted on the other two dates. In F_2 populations, the pod number per

收稿日期:2019-12-26

基金项目:国家“十三五”重点研发计划(2016YFD0100201-09); 农业部国家作物种质资源保护专项(2015NWB030-05)。

第一作者简介:张湘(1994-),女,硕士,主要从事生化与分子生物学研究。E-mail: 407126358@qq.com。

通讯作者:刘立科(1974-),男,博士,副教授,主要从事作物遗传育种学研究。E-mail: liulike@lcu.edu.cn。

male sterile plants ranged from 0 to 28 with a mean of 2.73 when planted in normal farmland in 2017. Pod number per male sterile plant varied significantly among different naturally pollinated crosses, planting dates, and years. The results in this research would set a solid foundation for soybean recurrent selection in the future.

Keywords: *Glycine max*; Male sterile mutant; Recurrent selection; Genetic stability; Natural cross pollination

轮回选择是拓宽品种培育的遗传基础、创造新种质和实现作物定向遗传改良的有效方法。轮回选择已经广泛用于提高大豆蛋白质含量^[1-5], 低铁耐受性^[6]等。在轮回选择用于大豆群体改良的过程中, 能否获得大量的杂交籽粒是影响轮回选择效果的重要因素^[7]。对于大豆这种自交作物而言, 通常获取杂交种的方法是人工杂交, 但该方法费事费力, 效率低; 而利用细胞核雄性不育-雌性可育系(简称雄性不育系), 通过昆虫授粉则可以简化操作、提高效率^[7]。

目前, 国外已经有至少 11 个大豆雄性不育突变体被发现, 这些突变位点分布于 7 条染色体上^[8]。其中, ms1、ms2 和 ms6 已经广泛地用于国内外的轮回选择和品种培育^[7], 特别是利用 ms6 与控制下胚轴颜色的 w1 连锁的原理, 在早期拔除紫色下胚轴的可育株, 可以提高不育株结荚数^[9]。

育性突变是一个比较容易发现的突变类型, 自发突变的频率范围为 $0 \sim 1.87 \times 10^{-4}$ ^[10]。因此, 国内多个研究通过筛选自发突变或人工诱变, 发现了众多的大豆雄性不育-雌性可育突变体, 其中有一些突变体具有较好的天然异交率^[10-13]。但到目前为止, 除了李莹等^[14]利用自己发现的 5 个雄性不育系进行群体改良外, 尚未有将其它突变体材料用于轮回选择的研究报道。因此, 筛选具有完全自主知识产权的雄性不育-雌性可育材料, 对于促进大豆轮回选择研究、提高育种效率具有重要意义。

冀豆 17 是由河北省农科院粮油作物研究所 Hobbitt 为母本、以早 5241 为父本, 经有性杂交系谱法选育而成的优良大豆品种^[15]。本课题组前期利用甲基磺酸乙酯(EMS)诱变冀豆 17 获得 1 个雄性不育突变体(暂定名 msFF-5053)^[13]。遗传定位结果表明该突变位点与已报道的定位结果不同, 是一个新的突变位点(尚未发表数据)。2015 年田间调查时从两株不育突变体植株上收获了 13 粒疑似天然杂交籽粒, 2016 年获得了 10 个 F₁ 单株, 表型考察表明这些 F₁ 单株均为天然异交籽粒的后代, 说明该雄性不育突变体具有一定的天然异交率, 具有用于大豆轮回选择的潜力。为此, 本研究将探讨该突变体用于轮回选择的可行性, 研究雄性不育表型在年际间、地点间、播期间等多种环境下的遗传稳定性, 同时分析在不同天然杂交组合后代群体中该突变体雄性不育表型的遗传及不育株结荚特性。

1 材料与方法

1.1 材料

雄性不育突变体 5053(msFF-5053)由本实验室在 2008 年利用 EMS 诱变冀豆 17 获得^[13]。由于该雄性不育突变体无法正常结实, 因此利用育性突变位点杂合单株自交后代群体保存该突变体。

1.2 试验设计

1.2.1 msFF-5053 突变体在不同环境下的遗传稳定性分析 年际间的遗传稳定性: 2011-2015 年, 在黄淮海春夏豆生态区的山东省聊城市^[16]正常夏播 msFF-5053 突变体的 M₄~M₈ 代育性分离群体, 行距 50 cm, 株距 10 cm, 行长 2 m。土地为基本农田, 正常肥力水平。成熟期进行表型考察^[17], 统计育性分离株行的育性分离比并进行单株收获。

不同大豆生态区下的遗传稳定性: 2019 年 8 月 3 日在长江中下游春夏豆生态区的湖北荆州^[16]种植 msFF-5053 突变体的 M₁₂ 代育性分离群体。种植方式、表型鉴定同上。

晚播对育性稳定性的影响: 2019 年 8 月 2 日, 在聊城大学校内试验田种植 msFF-5053 的 M₁₂ 代育性分离群体。土地原为林地, 2019 年新开辟为农田, 肥力较差。种植方式、表型鉴定及收获方式同上。

1.2.2 msFF-5053 突变体在不同天然杂交组合后代群体中的遗传和表型分析 育性突变体在不同天然杂交后代群体中的遗传方式: 从 2016 年所收获的 10 个天然杂交 F₁ 单株中选出 5 个单株粒数大于 50 粒的单株衍生 F₂ 群体作为研究材料, 于 2017 年 6 月 27 日在山东省聊城市东昌府区种植, 天然杂交组合编号分别为 P1512、P1513、P1514、P1516、P1517。土地为基本农田, 种植方式、表型鉴定及收获方式同上。

播期对不同组合后代群体育性表型的遗传及不育株结荚数的影响: 受各组合后代 F₂ 群体中可育单株数量和单株结实量的限制, 选取 P1512、P1513 和 P1517 3 个组合 F₂ 群体中的可育单株所结 F₃ 籽粒进行分期播种。在 2019 年的 5 月 19 日和 6 月 18 日分别随机种植各组合后代 F₂ 群体的可育单株约 15~20 个株行, 每个株行种植 30~40 粒; 在 8 月 1 日随机种植 P1512 和 P1513 组合的 F₂ 代可育单株约 10 个株行, 每个株行种植 15 粒左右。试验田在聊

城大学校内,与前述相同,肥力较差。

不同遗传背景对不育株结荚数的影响:在 2017 和 2019 年成熟期,分别对各天然杂交组合后代 F₂ 和 F₃ 群体中不育株结荚数进行统计,利用非参数检验判断 2017 和 2019 年不同组合后代 F₂ 和 F₃ 群体间不育株结荚数的差异是否显著。

1.3 方法

1.3.1 雄性不育株的表型鉴定 鉴定依据:在成熟期,不育株整株呈绿色贪青,叶片深绿不脱落,茎秆粗壮,结有大量未受精的簇生不实小肉荚,完全没有或仅有少数结实荚;而可育植株能够正常成熟,茎秆变黄,荚色由绿变为成熟色,叶色转黄,叶片完全脱落^[10,18]。

1.3.2 遗传和表型数据统计分析 用卡方检测方法检测育性分离群体中可育株与不育株的比值是否符合 3:1 或 9:7 的理论值。卡方值计算方法如下: $\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(|O_i - T_i| - 0.5)^2}{T_i}$,其中 $k=2$, 自由度 $df=1$, O_i 为实际观测值, T_i 为理论值;卡方检验的概率(P)用 Excel 2010 的 CHISQ. TEST 函数计算。

检验计算各个天然杂交组合后代群体中不育株结荚数分布是否符合正态分布,从而判断能否利用方差分析来检验不同处理间不育株结荚数的差异显著性。

若群体中不育株结荚数分布不符合正态分布,则进行非参数秩和分析判断不同处理间不育株结荚数的差异显著性。若差异显著,则随后确定单株不育株结荚数的秩,再进行多重比较^[20]。

1.4 数据分析

用 Excel 2010 软件记录整理原始数据,用 SPSS 19.0 软件的 Shapiro-Wilk 进行正态分布检验,利用 SAS 9.2NPAR1WAY 过程的 Kruskal-Wallis 检验进行非参数秩和分析,利用 GLM 过程用 LSD(least significant difference)方法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 msFF-5053 突变表型年际间和不同生态区中的育性表型遗传稳定性

msFF-5053 突变体的 M₄ ~ M₈ 代育性分离群体在 2011 – 2015 年聊城的夏播数据显示:可育株与不育株的分离比符合 3:1 的单基因遗传规律,该雄性不育的表型是由一对纯合隐性等位基因控制的。2019 年在聊城和荆州对该突变体育性表型遗传稳定性的进一步秋播验证结果显示:M₁₂ 代育性分离群体的育性分离比仍然符合 3:1 单基因遗传规律(表 1)。这些结果表明该突变体的雄性不育表型是由单核基因控制的,在各种环境下均能稳定遗传。

表 1 msFF-5053 突变体在多环境下育性遗传稳定性评价
Table 1 Genetic stability assessment for male sterility of msFF-5053 under multiple environments

年份 Year	群体 Population	种植地点 Location	播期/(月-日) Planting date /(Month-day)	总株数 Total No. of plants	不育株 No. of male sterile plants	卡方值 3:1 Value of χ^2 for 3:1	P 值 P value
2011	M4	聊城	06-22	49	12	0.01	0.98
2012	M5	聊城	06-23	65	18	0.13	0.62
2013	M6	聊城	06-27	384	88	0.78	0.35
2014	M7	聊城	06-24	164	40	0.01	0.86
2015	M8	聊城	06-26	175	49	0.69	0.36
2019	M12	聊城	08-01	305	70	0.58	0.41
2019	M12	荆州	08-03	288	75	0.12	0.68
合计/平均值 Total/Mean				1430	352	0.09	0.74

2.2 不同天然杂交组合后代群体中的育性表型遗传分析

在由 5 个天然杂交组合 F₁ 单株衍生而来的 F₂ 群体中,群体大小为 41 ~ 94 株。成熟期表型考察结果表明,可育植株与不育植株的比值在 P1512 和 P1517 组合 F₂ 群体中呈现 3:1 的单基因控制性状分

离比;但在其它组合后代群体中,可育植株与不育植株的比值并不符合单基因 3:1 分离比,而是符合 9:7 分离比(表 2),表现为受 2 个基因控制的遗传方式,表明在一些群体中,除了本育性突变位点之外,还有其它互作位点的存在。

表2 2017年不同天然杂交组合后代F₂群体的育性表型分析

Table 2 Genetic analysis for sterility in F₂ populations derived from different naturally pollinated F₁ plants in 2017

群体 Population	群体大小 Population size	不育株数 No. of male sterile plants	3:1		9:7	
			χ^2	<i>P</i>	χ^2	<i>P</i>
P1512F ₂	82	23	0.26	0.524	7.59	0.004
P1513F ₂	94	51	41.36	0.000	3.80	0.071
P1514F ₂	41	21	13.67	0.000	0.65	0.335
P1516F ₂	91	45	27.73	0.000	0.98	0.273
P1517F ₂	80	19	0.02	0.796	12.20	0.000

2.3 播期对不同天然杂交组合后代F₃群体育性表型遗传方式的影响

在2019年的前2个播期中,不同组合的后代F₃群体较大,群体大小为291~582株,而在第三个播期,群体则较小,群体大小为98~119株。成熟期育性的表型考察结果表明:在2017年其后代F₂群体育性表型表现为受单基因控制的P1512和P1517组

合,其后代F₃群体在2019年的所有播期条件下仍然表现为单基因控制的遗传方式;而P1513组合的后代F₃群体育性表型在2019年早播时表现为单基因控制的遗传方式,但在后2个播期条件下,育性表型与2017年的F₂群体相同,符合2个基因控制的遗传方式(表3)。

表3 播期对不同天然杂交组合后代F₃群体中育性遗传方式的影响

Table 3 The effect of planting date on sterility segregation in F₃ populations derived from different naturally pollinated crosses in 2019

播期/(年-月-日) Planting date /(Year-month-day)	群体 Population	群体大小 Population size	不育株数 No. of male sterile plants	3:1		9:7	
				χ^2	<i>P</i>	χ^2	<i>P</i>
2019-05-19	P1512F ₃	423	116	1.20	0.25	45.82	0.000
	P1513F ₃	291	78	0.41	0.48	33.96	0.000
	P1517F ₃	582	153	0.45	0.47	72.11	0.000
2019-06-19	P1512F ₃	425	103	0.09	0.67	65.77	0.000
	P1513F ₃	332	135	42.61	0.00	1.29	0.257
	P1517F ₃	388	102	0.28	0.56	48.07	0.000
2019-08-01	P1512F ₃	98	20	0.87	0.29	21.70	0.000
	P1513F ₃	119	49	15.76	0.00	0.32	0.571

2.4 不同播期对F₃群体不育株结实率的影响

2019年分3个播期种植P1512、P1513和P1517组合的后代F₃群体,早期5月19日播种的群体中不育株结荚数范围为0~19个,平均0.90个;中期6月19日播种的范围为0~4个,平均0.36个;而

8月1日晚播的群体中所有不育株结荚数均为0个。非参数秩和检验的结果表明不同播期间的不育株结荚数差异显著($P<0.0001$)。在 $P=0.05$ 水平,不育株结荚数早播和中播显著大于晚播,但早播和中播间差异不显著(表4)。

表4 播期对F₃群体不育株结荚数的影响

Table 4 The effect of planting date on pod number of male sterile plants in F₃ populations

播期/(年-月-日) Planting date /(Year-month-day)	不育株数 No. of male sterile plants	不育株结荚数均值 Mean of pod No. on male sterile plant	不育株结荚数范围 Range of pod No. on male sterile plants	无荚不育株数 No. of male sterile plants without pod	正态性检验概率 <i>P</i> value of Shapiro-Wilktest
2019-05-19	347	0.90 a	0~19	266	0.00
2019-06-18	340	0.36 a	0~4	265	0.00
2019-08-01	69	0.00 b	0~0	69	0.00

不同的小写字母表示在 $P=0.05$ 水平差异显著。下同。
Lowercase means significant difference at $P=0.05$ level. The same below.

2.5 不同天然杂交组合后代群体中的不育株结荚数分析

2017 年不同天然杂交组合后代 F₂ 群体中,平均不育株结荚数为 2.73 个,范围为 1.49 ~ 3.32 个,最少的是 P1514 组合后代群体,最多的是 P1517 组合后代群体。在各组合后代群体中,平均 58.60% 的不育株结荚数为 0。Shapiro-Wilk 检测表明各组合的不育株结荚数均不符合正态分布(表 5)。非参数秩和检验结果表明不同组合的后代 F₂ 群体的不育株结实率差异显著 ($P = 0.006\ 2$)。在 $P = 0.05$ 水平,P1517 组合后代 F₂ 群体的不育株结荚数显著大

于 P1514 组合,而与其它组合差异不显著;其它组合的后代 F₂ 群体的不育株结荚数与 P1514 组合差异不显著(表 5)。2019 年,不同组合的后代 F₃ 群体中,平均不育株结荚数为 0.58 个,范围为 0.41 ~ 0.72 个,不育株结荚数在 3 个组合的后代群体间差异不显著。

P1512、P1513 和 P1517 组合后代 F₂ 群体 2017 年平均每个不育株结荚数为 2.95 个,而其后代 F₃ 群体 2019 年的平均不育株结荚数是 0.58 个,非参数秩和检验结果显示年际间的差异显著 ($P < 0.001$)。

表 5 不同天然杂交组合间不育株结荚数差异显著性的非参数检验
Table 5 Kruskal-Wallis test for pod number of male sterile plants among naturally pollinated crosses

年份 Year	群体 Population	不育株数 No. of male sterile pllant	不育株结荚数均值 Mean of pod No. on male sterile plant	不育株结荚数范围 Range of pod No. on male sterile plants	无荚不育株数 No. of male sterile plants without pod	正态性检验概率值 <i>P</i> value of Shapiro-Wilktest
2017	P1512F ₂	23	2.65 a	0 ~ 8	20	0.00
	P1513F ₂	49	2.98 ab	0 ~ 20	27	0.00
	P1514F ₂	21	1.29 b	0 ~ 11	15	0.00
	P1516F ₂	45	2.93 ab	0 ~ 28	24	0.00
	P1517F ₂	19	3.32 a	0 ~ 13	6	0.01
	合计/平均值 Total/ Mean	157	2.73	0 ~ 20	92	0.00
2019	P1512F ₃	239	0.61 a	0 ~ 19	195	0.00
	P1513F ₃	262	0.41 a	0 ~ 8	206	0.00
	P1517F ₃	255	0.72 a	0 ~ 19	199	0.00
	合计/平均值 Total/ Mean	756	0.58	0 ~ 19	600	0.00

3 讨 论

3.1 msFF5053 雄性不育 - 雌性可育突变体的遗传稳定性

在 2011 - 2015 年和 2019 年共 6 年的时间内,黄淮海春夏豆生态区和长江中下游春夏豆生态区 2 个大豆生态区,常规夏播和秋播 2 个播期多个环境下,该突变体的雄性不育表型均表现为单基因控制的遗传性状,表明在不同环境下均能稳定遗传,这为该突变体在不同生态区的应用奠定了基础。在 2017 年的 F₂ 群体中,P1512 和 P1517 2 个组合的后代群体育性表现为单基因遗传的 3:1 分离,而其它 3 个组合的后代群体育性均符合两对基因控制的 9:7 分离。但当 2019 年早播时,在 2017 年育性表现受两对基因控制的 P1513 组合后代群体,其育性却表现为单基因控制的遗传;而在其它 2 个播期条件

下,其育性仍然表现为受 2 个基因控制的遗传模式。相比之下,原来育性表现为受单基因控制的 P1512 和 P1517 组合后代群体,在 2019 年的各个播期,其育性仍然表现为单基因控制的 3:1 分离。研究表明雄配子发育过程涉及到众多基因和基因互作^[21-24],也有众多的光温敏不育突变体在大豆^[25-26]、水稻^[27]、玉米^[28]、棉花^[29]、甘蓝^[30]、小麦^[31-34]、大麦^[35]、谷子^[36] 中被发现。这就表明在大豆中,光温条件同样是影响雄配子发育的重要因素。在本研究中的一些天然杂交组合后代群体中,可能有光温响应相关基因与本雄性育性突变位点一起参与了对雄配子育性的调节。但在本研究中,尚不清楚是哪个光温响应相关基因参与了此过程,还需进一步的研究去证实。

3.2 影响天然杂交组合后代群体中不育株结荚数的因素

大豆的花具有蜜腺结构,在自然界,蜜蜂、蓟

马、切叶蜂^[37-40]等都是进行大豆传粉的昆虫。因此,利用蜜蜂、切叶蜂可以显著提高大豆不育株的结荚数^[41]。大豆的泌蜜特性受基因型、气候和营养水平等影响^[42-43]。同样,其它研究的结果也表明遗传背景对雄性不育系的结荚数有显著影响^[44-45]。在本研究中,不同组合后代群体中不育株的结荚数差异显著则很可能与泌蜜特性或(和)遗传背景不同有关。而 P1512、P1513 和 P1517 3 个组合的后代群体在年际间的差异则可能与农田的营养水平有关,因为 2019 年聊城大学校内的试验田是新开辟出来的,原为林地,土壤肥力与基本农田差距较大。Graybosch 等^[44]的研究表明播期对不育株结实率有显著影响,因为晚播会导致生育期变短、单株花数变少、花期变短;Roumet 等^[46]利用 ms2 不育系又进一步证明不育株的结荚数与花粉供体的花期长短密切相关。本研究中,早中播材料的结荚数显著高于晚播材料,很可能与晚播导致花期缩短有关。另外,在大豆的生育期内,喷洒农药等管理措施也可能影响传粉昆虫的数量和种类,进而影响不育株的结荚数。但具体是什么原因导致本研究中不同组合后代群体间和播期间不育株结荚数差异显著,尚需进一步研究。

3.3 不育性突变体用于大豆轮回选择的可行性分析

通常,在大豆轮回选择过程中,10 个荚的杂交籽粒就能满足需要^[47]。本研究中,在基本农田种植条件下,不同天然杂交组合后代群体中平均每个不育株结有 2.73 个天然杂交荚,也就是说平均获得 4 个不育株所结的杂交荚即可满足轮回选择的需求。按照在分离群体中不育株占 1/4 的理论频率计算,则只需要种植 30 株即可以 96.3% 的概率保证至少出现 4 株不育株。若没有其它手段可以判断正常可育株的基因型,按照杂合行的正常可育株杂合基因型占 2/3 的比例,则只需要种植 5 株即可以 99.6% 的概率保证至少出现 1 个基因型杂合单株。考虑到正常情况下大多数的大豆单株结实量大于 30 粒,种植 5 个可育单株株行的工作量和成本并不高,与传统的人工杂交相比更加简单高效。若再进一步优化种植方法,增加昆虫传粉的机会则不育株结荚数还可能会增加,所需不育株的数量会更少。因此,该雄性不育突变体具有用于大豆轮回选择的良好潜力。下一步研究将对该不育系突变体的田间种植方案进行优化,以期将来扩展该突变体的应用奠定基础。

4 结 论

冀豆 17 经 EMS 诱变获得的雄性不育 - 雌性可育突变体 (msFF-50503) 的育性是由单个核基因控制的隐性性状,其在本研究中的各种环境下均能稳定遗传。该雄性不育表型在不同的天然杂交组合后代群体中遗传方式不同,在一些后代群体中表现为单基因控制,而在其它组合后代群体中则表现为受 2 个基因的控制。分期播种试验表明,在一些天然杂交组合后代群体中还可能有关响相关基因参与了育性性状的调控。在基本大田环境下,天然杂交组合后代群体中平均每个不育株结有 2.73 个荚。不育株的结荚数在不同天然杂交组合后代群体间、播期间和年际间均差异显著。

致谢:聊城大学生命科学院 2014 级研究生高洁和 2013 级研究生潘晶参与本项目的早期田间种植和调查工作;聊城大学农学院 2017 级本科生刘海涛、宋昕喆,生命科学学院 2016 级本科生刘峻秀、金泽正、杨奉岳参与了本项目 2019 年的大田种植和田间考察。

参考文献

[1] Brim C A, Burton J W. Recurrent selection in soybeans. II. Selection for increased percent protein in seeds[J]. Crop Science, 1979, 19(4): 494-498.

[2] Miller J E, Fehr W R. Direct and indirect recurrent selection for protein in soybeans[J]. Crop Science, 1979, 19(1): 101-106.

[3] Wilcox J R. Increasing seed protein in soybean with eight cycles of recurrent selection[J]. Crop Science, 1998, 38(6): 1536-1540.

[4] Zou C, Wang P, Xu Y. Bulk sample analysis in genetics, genomics and crop improvement[J]. Plant Biotechnology Journal, 2016, 14(10): 1941-1955.

[5] 董全中, 杨兴勇, 张勇, 等. 轮回选择创新高蛋白质含量大豆种质资源[J]. 大豆科学, 2015, 34(6): 927-932. (Dong Q Z, Yang X Y, Zhang Y, et al. Innovation of high protein content germplasm resource in soybean through recurrent selection[J]. Soybean Science, 2015, 34(6): 927-932.)

[6] Prohaska K R, Fehr W R. Recurrent selection for resistance to iron deficiency chlorosis in soybeans[J]. Crop Science, 1981, 21(4): 524-526.

[7] Lewers K S, Palmer R G. Recurrent selection in soybean[J]. Plant Breeding Reviews, 1997, 15: 275-314.

[8] Yang Y, Speth B D, Boonyoo N, et al. Molecular mapping of three male-sterile, female-fertile mutants and generation of a comprehensive map of all known male sterility genes in soybean[J]. Genome, 2014, 57(3): 155-160.

[9] Lewers K S, St Martin S K, Hedges B R, et al. Hybrid soybean seed production: Comparison of three methods[J]. Crop Science,

1996, 36(6): 1560-1567.

[10] 赵团结, 盖钧镒. 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.)

[11] Zhao Q, Tong Y, Yang C, et al. Identification and mapping of a new soybean Male-Sterile gene, mst-M [J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 94.

[12] 李莹, 卫保国, 王志. 三个大豆雄性不育系的发现和研究初报[J]. 华北农学报, 1988, 3(1): 35-38. (Li Y, Wei B G, Wang Z. A primary report on the discovery and study of three male sterile lines[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 1988, 3(1): 35-38.)

[13] 张力伟, 樊颖伦, 牛腾飞, 等. 大豆“冀黄 13”突变体筛选及突变体库的建立[J]. 大豆科学, 2013, 32(1): 33-37. (Zhang L W, Fan Y L, Niu T F, et al. Screening of mutants and construction of mutant population for soybean cultivar ‘Jihuang 13’ [J]. Soybean Science, 2013, 32(1): 33-37.)

[14] 李莹, 李原萍. 大豆隐性雄性不育系的应用及轮回选择[J]. 山西农业科学, 1992, 30(6): 3-6. (Li Y, Li Y P. Application of recessive male sterile mutant in recurrent selection in soybean [J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 1992, 30(6): 3-6.)

[15] 赵青松, 闫龙, 刘兵强, 等. 高产广适优质大豆品种冀豆 17 [J]. 大豆科学, 2015, 34(4): 736-739. (Zhao Q S, Yan L, Liu B Q, et al. Breeding of high-yield widespread and high-quality soybean cultivar Jidou 17 [J]. Soybean Science, 2015, 34(4): 736-739.)

[16] 汪越胜, 盖钧镒. 中国大豆品种生态区划的修正 II. 各区范围及主要品种类型[J]. 应用生态学报, 2002, 13(1): 71-75. (Wang Y S, Gai J Y. Study on the ecological regions of soybean in China II. Ecological environment and representative varieties [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2002, 13(1): 71-75.)

[17] 邱丽娟, 常汝镇. 大豆种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006. (Qiu L J, Chang R Z. Descriptor and data standard for soybean [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2006.)

[18] 李曙光, 赵团结, 盖钧镒. 大豆突变体 NJS-1H 核雄性不育性的细胞学与遗传学分析[J]. 大豆科学, 2010, 29(2): 181-185. (Li S G, Zhao T J, Gai J Y. Cytological and genetical characterization of a nuclear male-sterile soybean mutant NJS-1H [J]. Soybean Science, 2010, 29(2): 181-185.)

[19] 杜荣骞. 生物统计学[M]. 第三版. 北京: 高等教育出版社, 2010: 128. (Du R Q. Biostatistics [M]. 3th ed. Beijing: Higher Education Press, 2010: 128.)

[20] SAS Institute Inc. Base SAS® 9.2 procedures guide: Statistical procedures[M]. 3th ed. UAS: SAS Institute Inc., 2010.

[21] Dennis L, Peacock J. Genes directing flower development in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2019, 31(6): 1192-1193.

[22] Gómez J F, Talle B, Wilson Z A. Anther and pollen development: A conserved developmental pathway [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2015, 57(11): 876-891.

[23] Wang K, Peng X, Ji Y, et al. Gene, protein, and network of male sterility in rice [J]. Frontiers in Plant Science, 2013, 4: 92.

[24] Yu J, Jiang M, Guo C. Crop pollen development under drought: From the phenotype to the mechanism [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(7): 1550.

[25] Stelly D M, Palmer R G. A partially male-sterile mutant line of soybeans, *Glycine max* (L.) Merr.: Characterization of the *msp* phenotype variation [J]. Euphytica, 1980, 29(3): 539-546.

[26] 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. Primary research on photo-thermo sensitive mutant in soybean [J]. Crop Variety Resource, 1991(3): 12.)

[27] 范优荣, 曹晓凤, 张启发. 光温敏雄性不育水稻的研究进展 [J]. 科学通报, 2016, 61(35): 3822-3832. (Fan Y R, Cao X F, Zhang Q F. Progress on photoperiod thermo-sensitive genic male sterile rice [J]. Chinese Science Bulletin, 2016, 61(35): 3822-3832.)

[28] 张勤, 金圣浩, 方芳, 等. 玉米光温敏雄性不育系 cb1208-82 的生理生化代谢研究 [J]. 玉米科学, 2019, 27(3): 48-53. (Zhang Q, Jin S H, Fang F, et al. Physiological and biochemical metabolism studies on the photo-thermo-sensitive male sterile line of maize CB1208-82 [J]. Journal of Maize Sciences, 2019, 27(3): 48-53.)

[29] 王凯辉, 郭宝生, 刘素恩, 等. 棉花光温敏核雄性不育系育性及其杂种优势研究 [J]. 河北农业科学, 2013, 17(3): 55-59. (Wang K H, Guo B S, Liu S E, et al. Study on fertility and heterosis of cotton photo-thermo sensitive genic male sterile lines [J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2013, 17(3): 55-59.)

[30] 葛娟, 郭英芬, 于澄宇, 等. 甘蓝型油菜光、温敏雄性不育系 Huiyou50S 花粉败育的细胞学观察 [J]. 作物学报, 2012, 38(3): 541-548. (Ge J, Guo Y F, Yu C Y, et al. Cytological observation of anther development of photoperiod/thermo-sensitive male sterile line huiyou50S in *Brassica napus* [J]. Acta Agronomica Sinica, 2012, 38(3): 541-548.)

[31] 程旭东, 孙东发, 荣德福. 新型光温敏小麦不育系 337s 的组织结构研究 [J]. 武汉植物学研究, 2004, 21(6): 495-499. (Cheng X D, Sun D F, Rong D F. Cytological characteristics in a new material of male sterile line 337S of wheat (*Triticum aestivum*) [J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 2004, 21(6): 495-499.)

[32] 董普辉, 何蓓如, 王宏娟, 等. 一种普通小麦光温敏不育系的发现及初步研究 [J]. 中国农学通报, 2009, 25(23): 215-219. (Dong P H, He B R, Wang H J, et al. Discovery and preliminary

study of a photo-thermo-sensitive male sterile line in common wheat [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25 (23): 215-219.)

[33] 付庆云, 曹银萍, 李友勇. 小麦光温敏雄性不育的研究和利用进展[J]. 麦类作物学报. 2010, 30(3): 576-580. (Fu Q Y, Cao Y P, Li Y Y. Advanced on studies and applications of photo-thermo-sensitive male sterility in wheat [J]. Journal of Triticeae Crops, 2010, 30(3): 576-580.)

[34] 江红梅, 张立平. 小麦光温敏雄性不育遗传研究进展[J]. 种子, 2009, 28(5): 56-59. (Jiang H M, Zhang L P. Advanced heredity research on photoperiod-temperature male sterility in wheat[J]. Seed, 2009, 28(5): 56-59.)

[35] 何瑞锋, 章志宏. 大麦光温敏雄性不育系的基本特性研究[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 2000, 46(4): 492-494. (He R F, Zhang Z H. Studies on the basic characteristics of photo-thermo-sensitive male sterile line of barley [J]. Journal of Wuhan University (Natural Science Edition), 2000, 46(4): 492-494.)

[36] 赵治海, 崔文生, 杜贵, 等. 谷子光(温)敏不育系 821 选育及其不育性与光、温关系的研究[J]. 中国农业科学, 1996, 49(5): 24-32. (Zhao Z H, Cui W S, Du G, et al. The selection of millet photo (thermo) sensitive sterile line 821 and a study on the relation of sterility to illumination and temperature [J]. Scientia Agricultura Sinica, 1996, 49(5): 24-32.)

[37] 丁德荣, 盖钧镒. 南方地区大豆雄性不育材料的传粉昆虫媒介及其传粉异交结实程度[J]. 大豆科学, 2000, 19(1): 74-79. (Ding D R, Gai J Y. Pollinating insects and natural outcrossing amount of soybean male sterile materials in southern China [J]. Soybean Science, 2000, 19(1): 74-79.)

[38] 王跃强, 王曙明, 赵丽梅, 等. 杂交大豆昆虫传粉及制种技术研究进展[J]. 吉林农业科学, 2008, 33(3): 5-8. (Wang Y Q, Wang S M, Zhao L M, et al. Progress in studies of insect pollinators and seed producing techniques of soybean hybrids [J]. Journal of Jilin Agricultural Sciences, 2008, 33(3): 5-8.)

[39] 徐环李, 杨俊伟, 孙洁茹. 我国野生传粉蜂的研究现状与保护策略[J]. 植物保护学报, 2009, 36(4): 371-376. (Xu H L, Yang J W, Sun J R. Current status on the study of wild bee-pollinators and conservation strategies in China [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2009, 36(4): 371-376.)

[40] 赵丽梅, 孙寰, 马春森, 等. 大豆昆虫传粉研究初探[J]. 大豆科学, 1999, 18(1): 74-77. (Zhao L M, Sun H, Ma C S, et al. Primary research on polination by insect in soybean [J]. Soybean Science, 1999, 18(1): 74-77.)

[41] Koelling P D, Kenworthy W J, Caron D M. Pollination of male-sterile soybeans in caged plots[J]. Crop Science, 1981, 21(4): 559-561.

[42] Robacker D C, Flottum P K, Sammataro D, et al. Effects of climatic and edaphic factors on soybean flowers and on the subsequent attractiveness of the plants to honey bees [J]. Field Crops Research, 1983, 6: 267-278.

[43] 薛运波, 葛英, 李杰鑫. 大豆泌蜜习性的观察和利用[J]. 蜜蜂杂志, 1998(4): 25-26. (Xue Y B, Ge Y, Li J L. Observation and utilization of honey secretion in soybean [J]. Journal of Bee, 1998(4): 25-26.)

[44] Graybosch R A, Palmer R G. Male sterility in soybean-An overview [J]. American Journal of Botany, 1988, 75 (1): 144-156.

[45] 王曙明, 王跃强, 李建平, 等. 人工控制条件下大豆不育系昆虫传粉技术研究[J]. 作物杂志, 2010, 26(3): 113-117. (Wang S M, Wang Y Q, Li J P, et al. Insect-mediated cross-pollination in soybean CMS lines under artificial conditions [J]. Crops, 2010, 26(3): 113-117.)

[46] Roumet P, Magnier I. Estimation of hybrid seed production and efficient pollen flow using insect pollination of male sterile soybeans in caged plots [J]. Euphytica, 1993, 70(1-2): 61-67.

[47] Burton J W, Brim C A. Recurrent selection in soybeans. III. Selection for increased percent oil in seeds [J]. Crop Science, 1981, 21(1): 31-34.