

# 大豆 M 型质核互作雄性不育恢复基因的遗传研究

张磊 黄志平, 李杰坤 张丽亚 胡晨 戴涵和

(安徽省农业科学院作物研究所, 安徽省农作物品质改良重点实验室, 安徽合肥 230031)

**摘要** 用 M 型质核互作雄性不育系 W931A(A)、同型保持系 W931B(B) 及 3 个地理来源不同的恢复系 WR99032(R<sub>1</sub>)、WR0088(R<sub>2</sub>)、WR0108(R<sub>3</sub>) 及其测交后代群体 F<sub>1</sub>(A × B)、F<sub>2</sub>、BC<sub>1a</sub>(A × F<sub>1</sub>)、BC<sub>1b</sub>(F<sub>1</sub> × B)、F<sub>1a</sub>[A × (恢复系 × 恢复系) F<sub>1</sub>]、F<sub>1b</sub>[(恢复系 × 恢复系) F<sub>1</sub> × B] 作为试验材料, 以花粉育性和植株育性指标对不育系的育性恢复特性进行了初步分析。结果表明: 大豆 M 型质核互作雄性不育系属配子体不育, 3 个不同来源恢复系的育性恢复受一对显性主效恢复基因控制, 可能还存在微效修饰基因; 3 个恢复系的细胞质均为可育细胞质; 恢复系 R<sub>1</sub> 与 R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub> 的恢复基因呈非等位性, 恢复系 R<sub>2</sub> 与 R<sub>3</sub> 的恢复基因呈等位性。

**关键词** 大豆; 雄性不育; 恢复基因; 遗传

中图分类号 Q789 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)09-02513-03

## Genetic Study on Soybean Nucleo-cytoplasmic Male Sterile Restore Gene

ZHANG Lei et al (Crop Research Institute of Anhui Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Crop Quality Improvement of Anhui Province, Hefei, Anhui 230031)

**Abstracts** Soybean M type male sterile line W931A with nucleo-cytoplasmic interaction, maintainer line W931B, three restorer lines [WR99032(R<sub>1</sub>), WR0088(R<sub>2</sub>) and WR0108(R<sub>3</sub>)] from different geographical origins, and hybrid combinations [F<sub>1</sub>(A × B), F<sub>2</sub>, BC<sub>1a</sub>(A × F<sub>1</sub>), BC<sub>1b</sub>(F<sub>1</sub> × B), F<sub>1a</sub>(A × F<sub>1</sub>) and F<sub>1b</sub>(F<sub>1</sub> × B)] were studied to compare the fertility. The inheritance of restorer gene was preliminarily analysed with the index: pollen fertility and plant morphology. The results indicated that soybean M type male sterility was gametophytic. The fertility of three different restorer lines was all controlled by one pair of major dominant genes, probable some minor modifier genes. The cytoplasm of three restorer lines was proved to be fertile. It was nonallelic genes between restorer line R<sub>1</sub> and restorer line R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> but allelic genes between restorer line R<sub>2</sub> and restorer line R<sub>3</sub>.

**Key words** Soybean; Male sterility; Restorer genes; Inheritance

杂种优势利用是提高大豆单产的重要途径之一, 大豆杂种的生产应用在很大程度上取决于能否选育出稳定配套的雄性不育系、保持系和恢复系。大豆细胞质雄性不育性最早的报道是在 1985 年, 美国 Davis 通过栽培大豆间杂交获得首例质核互作雄性不育系和保持系<sup>[1]</sup>; 孙寰等(1993) 报道了中国育成的第一个细胞质雄性不育系 OA<sup>[2]</sup>; 盖钧镒(1995) 报道育成 NJCMS1A<sup>[3]</sup>; 李磊等相继育成质核互作雄性不育系<sup>[4-13]</sup>。到目前为止, 大豆上已选育出十几个育性稳定的质核互作雄性不育系, 并实现了三系配套, 吉林省和安徽省农科院先后育成了杂交豆 1 号和杂优豆 1 号杂交大豆, 在世界上率先育成杂交大豆, 使大豆杂种优势的利用成为现实。

M 型杂交大豆经过十多年的研究, 取得显著进展。1997 年实现“三系”配套, 2002 年杂交大豆组合开始参加省级区域试验, 2004 年通过省级品种审定, 育成我国第一个杂交夏大豆。但选育高恢复度的恢复系仍是培育杂交大豆的关键环节, 而选育恢复系的基础是对杂交大豆不育系育性恢复的遗传研究, 此项研究对杂交大豆生产有重要的理论和实践意义。虽然对水稻、小麦、油菜和棉花等作物恢复基因的遗传都有所研究, 但大豆雄性不育恢复基因的遗传研究则少见报道<sup>[16-19]</sup>。

## 1 材料与试验方法

**1.1 试验材料** 大豆 M 型质核互作雄性不育系 W931A(A)、同型保持系 W931B(B) 及 3 个恢复系 WR99032(R<sub>1</sub>)、WR0088(R<sub>2</sub>)、WR0108(R<sub>3</sub>)。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 育性鉴定方法。** 花粉育性鉴定方法: 采用 I<sub>2</sub>-KI 染色

法。在大豆盛花期采摘植株中上部的即将开花的花朵进行 I<sub>2</sub>-KI 染色, 在光学显微镜下(150 ×) 观察花粉的育性。

植株育性鉴定方法: 分为可育株和不育植株。可育株表现为正常结荚成熟, 没有症青株出现; 不育株表现为不结荚或结荚数较少, 植株表现为症青。

**1.2.2 恢复基因遗传模式的研究方法。** 通过杂交、自交和测交分别组配以下世代材料: F<sub>1</sub>(A × R)、F<sub>2</sub>、BC<sub>1a</sub>(A × F<sub>1</sub>)、BC<sub>1b</sub>(F<sub>1</sub> × B), 并进行各世代的花粉育性和植株育性鉴定, 依据育性恢复分离结果, 推断恢复基因的遗传模式。

**1.2.3 恢复基因等位性的测验方法。** 通过杂交和测交分别组配以下世代材料: F<sub>1a</sub>[A × (恢复系 × 恢复系) F<sub>1</sub>]、F<sub>1b</sub>[(恢复系 × 恢复系) F<sub>1</sub> × B], 并进行各组合的花粉育性和植株育性鉴定, 分析 3 个不同来源恢复基因源的遗传等位性, 以明确这 3 种恢复基因源之间的相互关系。

**1.3 种植方式** 所有材料种植于安徽省农科院蒙城综合试验站同一块试验地中, 田间管理一致, 单株种植, 规格为 50 cm × 20 cm, 行长 5 m。

## 2 结果与分析

**2.1 M 型大豆雄性不育系育性恢复基因的遗传模式分析**

**2.1.1 亲本育性表现。** 对花粉育性和植株育性的鉴定结果表明(表 1): 不育系 W931A 的花粉不育率达 98.3%, 植株不育率达 100%, 表明不育系 W931A 的不育性稳定; 3 个恢复系 WR99032、WR0088 和 WR0108 的花粉可育率在 97.5% ~ 100.0%, 植株可育率均达 100%。

**2.1.2 杂种一代(F<sub>1</sub>)的育性表现。** 3 个杂种一代(W931A × WR99032) F<sub>1</sub>、(W931A × WR0088) F<sub>1</sub> 和 (W931A × WR0108) F<sub>1</sub> 的花粉可育率分别为 52.2%、54.5% 和 48.8%; 植株可育株率为 99.6% ~ 100%(表 1)。该结果表明 3 个杂种 F<sub>1</sub> 代的花粉可育率均在 50% 左右, 3 个恢复系的恢复基因均表现为显性性状。

基金项目 国家自然科学基金项目(30370894)。

作者简介 张磊(1956-), 男, 安徽阜阳人, 研究员, 从事大豆杂种优势利用和遗传育种研究。

收稿日期 2006-12-08

表1 不育系、保持系与3个恢复系杂交后代的育性表现

组合	世代	花粉可育率 %	可育株率 %	可育株	不育株	可育/不育
V013A	A	1.7	0	0	816	0/1
V206	B	99.5	100	827	0	1/0
WR99032	R <sub>1</sub>	100.0	100	671	0	1/0
V031A × WR99032	F <sub>1</sub>	52.2	99.6	511	2	255.5/1
V031A × WR99032	F <sub>2</sub>		98.93	463	5	92.6/1
V031A × F <sub>1</sub> (V031A × WR99032)	BC <sub>1a</sub>		98.18	108	2	54.00/1
(V031A × WR99032) F <sub>1</sub> × V206	BC <sub>1b</sub>		50.59	172	168	1.02/1
WR0088	R <sub>2</sub>	97.5	100	734	0	1/0
V031A × WR0088	F <sub>1</sub>	54.5	100	428	0	1/0
V031A × WR0088	F <sub>2</sub>		98.99	393	4	98.25/1
V031A × F <sub>1</sub> (V031A × WR0088)	BC <sub>1a</sub>		97.75	87	2	43.50/1
(V031A × WR0088) F <sub>1</sub> × V206	BC <sub>1b</sub>		49.68	157	159	0.98/1
WR0108	R <sub>3</sub>	99.5	100	685	0	1/0
V031A × WR0108	F <sub>1</sub>	48.8	100	396	0	1/0
V031A × WR0108	F <sub>2</sub>		99.16	118	1	118/1
V031A × F <sub>1</sub> (V031A × WR0108)	BC <sub>1a</sub>		96.19	101	4	25.25/1
(V031A × WR0108) F <sub>1</sub> × V206	BC <sub>1b</sub>		52.20	178	163	1.09/1

2.1.3 分离世代的不育性表现(表1)。3个组合的F<sub>2</sub>、BC<sub>1a</sub>、

BC<sub>1b</sub>世代育性分离的比例,F<sub>2</sub>世代的可育株率在98.93%~99.16%;BC<sub>1a</sub>世代的可育株率在96.19%~98.18%;BC<sub>1b</sub>世代的可育株率在49.68%~52.20%,均没有显著差异。

2.1.4 恢复基因的遗传模式分析。作物细胞质雄性不育遗传模式一般分为孢子体不育和配子体不育。以单基因控制的不育特性为例,孢子体不育的特征表现为:杂种F<sub>1</sub>花粉和植株为全可育,F<sub>2</sub>代有明显的育性分离;而配子体不育的特征表现为:杂种F<sub>1</sub>花粉一半可育,一半败育,植株则全可育,F<sub>2</sub>代植株无育性分离。经花粉染色和田间鉴定分析,该试验3个组合的F<sub>1</sub>世代花粉可育率均为50%左右;从植株育性来看,3个组合的植株可育率为99.6%~100%;3个组合的F<sub>2</sub>和BC<sub>1a</sub>植株可育率均在96.19%以上,无明显的育性分离,而BC<sub>1b</sub>的可育株率均在50%左右,符合一对基因控制配子体不育的特征。其遗传模式为:假定其主效育性恢复基因为R,不育基因为rf,由于配子体不育中rf配子只能通过雌性器官传递给后代,亦即雌配子rf有生活力,而雄配子rf无生活力,因而F<sub>1</sub>雄配子中只有约50%的R配子参与授精,另有50%的rf配子败育;F<sub>2</sub>的核基因型仅有(RR)和(Rrf),且均表现为植株可育;而BC<sub>1a</sub>只有S(Rrf)基因型,表现为植株全可育;BC<sub>1b</sub>含有S(Rrf)和S(rfrf)基因型,表现为50%可育和50%不育。遗传模式见图1。

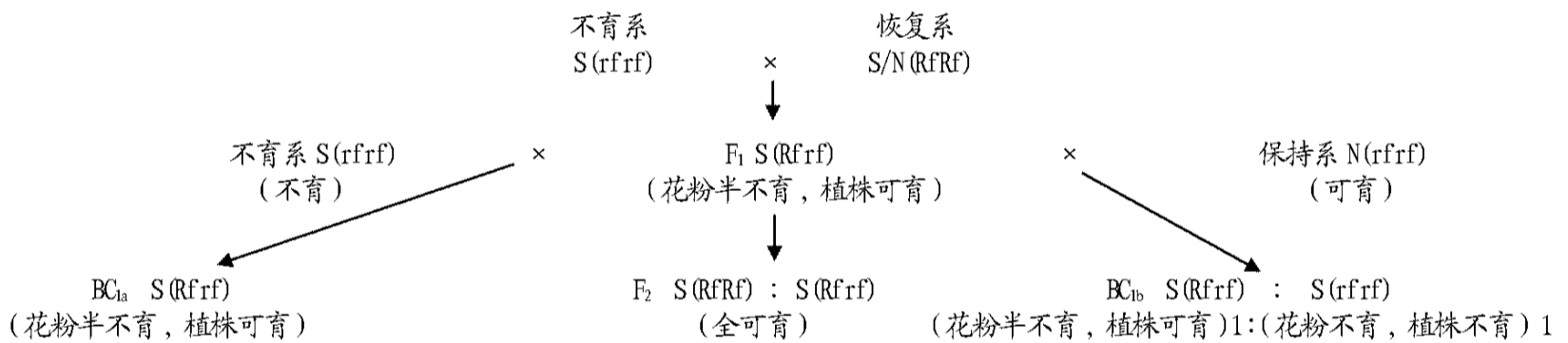


图1 M型大豆质核互作雄性不育的遗传模式

2.1.5 M型大豆雄性不育恢复基因的遗传分析。在配子体不育的基础上,恢复系有一对主效等位基因时,F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>和BC<sub>1a</sub>的基因型是Rrf或RRf,植株表现为全可育。试验结果显示,3个组合的F<sub>2</sub>虽然都几乎100%可育,但也有部分不育株的分离,BC<sub>1b</sub>植株呈现可育与不育为1:1的分离比例。因此,初步认为M型大豆雄性不育的恢复可能是由一对显性主效恢复基因控制,还可能非等位恢复基因和微效修饰基因。

2.2 3个恢复系恢复基因的等位性 上述试验结果初步显示,3个不同来源恢复系的恢复基因均为一对显性主效恢复基因控制,但是这3个恢复系的恢复基因是否处于同一位点,应进行等位性测定。研究表明:(WR99032 × WR0088) F<sub>1</sub>与不育系杂交的三交种(F<sub>1a</sub>)育性分离为15.25:1,有不育株的分离,说明WR99032、WR0088恢复系的恢复基因不在同一个位点上,即这2个恢复系的恢复基因呈非等位性;(WR99032 × WR0108) F<sub>1</sub>与不育系杂交的三交种育性分离为18.14:1,有不育株的分离,说明WR99032和WR0108恢复系的恢复基因也不在同一个位点上,即2个恢复系的恢复基因呈非等位性;而(WR0088 × WR0108) F<sub>1</sub>与不育系杂交的三交

种育性表现为1:0,无不育株的分离,表明WR0088和WR0108恢复系的恢复基因处于同一个位点上,即2个恢复系的恢复基因呈等位性(表2)。

表2 恢复系与恢复系杂交及与保持系杂交后代的育性

组合	世代	可育株数	不育株	可育/不育	等位性
WR99032 × WR0088	F <sub>1</sub>	122	0	1/0	
	F <sub>2</sub>	279	0	1/0	
V031A × F <sub>1</sub>	F <sub>1a</sub>	244	16	15.25/1	不等位
	F <sub>1b</sub>	131	1	1/0	胞质可育
WR99032 × WR0108	F <sub>1</sub>	125	0	1/0	
	F <sub>2</sub>	307	0	1/0	
V031A × F <sub>1</sub>	F <sub>1a</sub>	127	7	18.14/1	不等位
	F <sub>1b</sub>	149	0	1/0	胞质可育
WR0088 × WR0108	F <sub>1</sub>	174	0	1/0	
	F <sub>2</sub>	241	0	1/0	
V031A × F <sub>1</sub>	F <sub>1a</sub>	168	0	1/0	等位
	F <sub>1b</sub>	142	0	1/0	胞质可育

2.3 恢复系的细胞质育性 根据恢复系与保持系杂交后代花期的育性表现,可以判别恢复系的细胞质育性。试验结果显示:WR0088和WR0108与V206杂交及回交后代F<sub>2</sub>代及

BC<sub>1</sub> 代均未出现不育株,因而恢复系 WR0088 和 WR0108 的细胞质是可育细胞质;WR99032 与 V206 杂交和回交后代 F<sub>2</sub> 代与 BC<sub>1</sub> 代中,仅 F<sub>2</sub> 代 217 株中有 1 株不育株,可以认为 WR99032 的细胞质也是可育细胞质(表 3)。同时 3 个恢复系两两杂交,再与保持系杂交的三交种(F<sub>1b</sub>)的育性表现,几乎表现为全可育,也说明 3 个恢复系的细胞质是可育细胞质(表 2)。

表 3 恢复系与保持系杂交后代的育性

组合	世代	可育	不育	可育	不育
WR0088 × V206	F <sub>2</sub>	389	0	1	0
(WR0088 × V206) F <sub>1</sub> × V206	BC <sub>1</sub>	264	0	1	0
WR99032 × V206	F <sub>2</sub>	216	1	1	0
(WR99032 × V206) F <sub>1</sub> × V206	BC <sub>1</sub>	193	0	1	0
WR0108 × V206	F <sub>2</sub>	289	3	1	0
(WR0108 × V206) F <sub>1</sub> × V206	BC <sub>1</sub>	252	0	1	0

### 3 讨论

**3.1 M 型质核互作雄性不育育性恢复指标的确定** 对作物雄性不育恢复性的遗传进行研究必须有一个合理的育性指标,花粉育性和植株育性是主要指标。由于 M 型大豆雄性不育系的花粉粒不能被 I<sub>2</sub>-IK 染色,在光学显微镜下能区分正常花粉和败育花粉,因此碘化钾染色能确定单株的育性,可作为衡量育性的一种指标。不育植株一般都表现为症青晚熟,单株不结荚或结荚较少;而正常可育植株一般都正常成熟落叶,表现出品种固有的成熟色相,在田间较易鉴别。因此,植株的长相也是判定植株育性的指标之一。笔者根据多年对田间植株不育与可育判定的经验,认为只有把花粉染色法与田间植株表现结合起来,才能有效地判定植株的育性,用这一标准来分析恢复基因的遗传特性将更为客观有效。

**3.2 育性恢复的复杂性** 育性恢复是一个非常复杂的问题,这是因为它除与恢复基因有关外,还可能受不育系的遗传背景、修饰基因、核质互作及环境条件的影响<sup>[21-23]</sup>。

对作物雄性不育的育性恢复遗传研究,不同研究者往往采用不同的划分标准来确定不育株和可育株,然后根据分离世代中不育株所占比例来确定基因对数和分析基因作用的方式,育性标准不同必然会得出不同的结论<sup>[16-19]</sup>。该研究表明大豆 M 型质核互作雄性不育表现为配子体不育特征,在 F<sub>2</sub> 代和 BC<sub>1a</sub> 代中不应有不育株出现,也不应有不育株与可育株的分离,但该试验 3 个组合的 F<sub>2</sub> 代和 BC<sub>1a</sub> 代中都出现少量不育株,说明育性恢复的复杂性。BC<sub>1b</sub> 世代中呈现可育与不育为 1:1 的分离比例,也证明质核互作雄性不育恢复基因的遗传是复杂的。

张磊等以中油 89B 的不育细胞质,与 3 个不同的核供体

杂交时,F<sub>1</sub> 均出现大量不育株,与另 2 个核供体杂交时,F<sub>1</sub> 几乎完全可育,初步认为这种现象并不是由核不育基因为显性所致,可能存在一个“修饰抑制”基因,当 RfRf 一对可育基因同时存在时,表现可育,当处在杂合基因型 Rf<sup>-</sup>rf 时,修饰基因的补偿作用就足以抑制其中一个 Rf 的表达,而使其中另一个不育基因 rf 得到表现,核不育基因为隐性,而不是显性<sup>[9-11]</sup>。这一假设通过该试验对其恢复基因的分析得到了证实。与不育基因相对应的恢复基因,除受一对显性主效恢复基因控制外,可能还存在微效修饰基因,正是这种微效修饰基因使不育系的不育性得以较全面恢复。

### 参考文献

- [1] DAMS W H. Route to hybrid soybean production:US,4545146[P]. 1985.
- [2] 孙寰,赵丽梅,黄梅.大豆质核互作不育系研究[J].科学通报,1993,38(16):97-98.
- [3] GAI J Y, CU Z L, JI D F, et al. A report on the nuclear cytoplasmic male sterility from a cross between two soybean cultivars[J]. Soybean Genetics Newsletter, 1995, 22(1):55-58.
- [4] 李磊,杨庆芳,胡亚敏,等.栽培大豆双亲基因型互作型不育材料的发现及其遗传推断[J].安徽农业科学,1995,23(4):304-306.
- [5] 许占友,李磊,常汝镇,等.大豆质核互作雄性不育系核不育基因的遗传分析[J].中国农业科学,1999,32(增刊):1-8.
- [6] 赵丽梅,孙寰,黄梅.大豆细胞质雄性不育系 ZA 的选育和初步研究[J].大豆科学,1998,17(3):268-270.
- [7] SUN H, ZHAO L M, HUANG M. Studies on cytoplasmic nuclear male sterile soybean[J]. Chinese Science Bulletin, 1994, 39(2):175-176.
- [8] 盖钧镒,丁德荣,崔章林,等.大豆质核互作雄性不育系 NJCMS1A 的选育及其特性研究[J].中国农业科学,1999,32(5):23-27.
- [9] 张磊,戴欧和.大豆质核互作不育系 W031A 的选育研究[J].中国农业科学,1997,30(6):90-91.
- [10] 张磊,戴欧和,张丽亚.大豆质核互作雄性不育系 W045A, W048A 的选育[J].大豆科学,1999,18(4):327-330.
- [11] 张磊,戴欧和,黄志平,等.大豆质核互作 M 型雄性不育系的选育及其育性表现[J].中国农业科学,1999,32(4):34-38.
- [12] PALMER R G, GAI JUNI, SUN HUAN, et al. Production and evaluation of hybrid soybean[J]. Part Breeding Reviews, 2001, 21:263-307.
- [13] PENG Y H, YANG G B, YUAN J Z. Genetic analysis of a new type of male sterile soybean[C]// Wild Soybean Research Conference V. Bangkok: Kasetsart University Press, 1997:90.
- [14] 赵丽梅,孙寰,王曙明,等.大豆杂交种“杂交豆 1 号”选育报告[J].中国油料作物学报,2004,26(3):15-17.
- [15] 戴欧和,张磊,黄志平,等.大豆 M 型质核互作雄性不育三系选育方法的研究[J].大豆通报,2001(6):10.
- [16] 腾胜利,申宗坦.水稻胞质不育的恢复基因分析[J].作物学报,1996,22(2):24-28.
- [17] 黄青阳,何予卿,凌杏元,等.3 种水稻细胞质雄性不育系育性遗传的比较[J].中国农业科学,2000,33(3):8-13.
- [18] 詹克慧,范濂,武跃廷,等.小麦 Ae. tauschii 胞质不育系恢复基因的遗传研究[J].华中农学报,1999,14(3):1-4.
- [19] 杨光圣,傅廷栋,马朝艺,等.油菜恢复系细胞质雄性不育恢复基因的筛选与遗传[J].中国农业科学,1996,29(4):17-22.
- [20] 王学德,张天真,潘家驹.棉花细胞质雄性不育系育性恢复遗传恢复基因及其遗传效应[J].中国农业科学,1996,29(5):32-40.
- [21] 孟金陵.植物生殖遗传学[M].北京:科学出版社,1995:23.
- [22] 凌杏元,周培疆,朱英国.植物细胞质雄性不育分子机理研究进展[J].植物学通报,2000,17(4):319-332.
- [23] 孙寰,赵丽梅,王曙明,等.大豆杂种优势利用研究进展[J].中国油料作物学报,2003,25(1):92-96,100.