

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2013)02-0096-04

综 述

二倍体杂种优势马铃薯育种的展望

李颖¹, 李广存², 李灿辉³, 屈冬玉^{1*}, 黄三文^{1*}

(1. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; 2. 山东省农业科学院蔬菜研究所, 山东 济南 250100;
3. 云南师范大学, 云南 昆明 650092)

摘要: 马铃薯育种进程缓慢主要是由马铃薯四倍体遗传特性决定的。高度杂合的四倍体马铃薯中隐性基因表现频率低, 使得很多有害的等位基因被隐藏在四倍体中, 而有利等位基因很难重组到一个四倍体品种中, 这是造成马铃薯杂交育种周期长的一个重要原因。马铃薯无性繁殖有利于保持原品种的优良性, 生育期短; 但储运成本高、容易退化。实生籽利用的优点是储运简便、基本不传播病虫害, 且有利于知识产权保护。与四倍体实生种相比, 二倍体 F_1 育种可以通过不断自交将有害基因剔除掉, 从而获得优良自交系用于 F_1 实生籽生产。随着马铃薯研究的不断发展和马铃薯全基因组测序的基本完成, 近几年二倍体 F_1 实生籽育种成为了国际马铃薯研究的热点。然而, 要实现二倍体实生籽生产, 自交不亲和及其自交衰退是培育自交系的绊脚石。我们正在克隆自交不亲和抑制基因 *Sli*, 并且通过杂交将该基因整合到优良栽培品种中, 为下一步培育出优良二倍体自交系奠定基础。同时我们也正在全基因组水平上挖掘马铃薯自交衰退相关基因区域, 希望能进一步了解自交衰退的遗传机理, 探索一条快速克服自交衰退的分子育种路径。这些工作将有助于建立马铃薯二倍体 F_1 育种体系, 带动马铃薯产业进入新的“绿色革命”。

关键词: 马铃薯; 二倍体自交系; F_1 杂种; 自交不亲和; 自交衰退

Prospects of Diploid Hybrid Breeding in Potato

LI Ying¹, LI Guangcun², LI Canhui³, QU Dongyu^{1*}, HUANG Sanwen^{1*}

(1. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;
2. Institute of Vegetables, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan, Shandong 250100, China;
3. Yunnan Normal University, Kunming, Yunnan 650092, China)

Abstract: Potato breeding process is slow, mainly due to its tetraploid genetic characteristics. It takes large selection programmes on progeny plants derived from crosses between tetraploid potato cultivars to select a clone that has the right balance between unfavourable alleles and compensating alleles at the same or at other loci. The clonal propagation of potato offers important agronomic and genetic advantages. However, clonal propagation has more drawbacks, where true potato seed production can make up for these deficiencies. In order to achieve continuous progress in potato breeding, an alternative system should be developed that is based on the structural removal of unfavourable alleles. Diploid breeding can "purge" the detrimental alleles by constantly selfing to elite inbred lines for F_1 seed production. The availability of genome sequence and re-sequencing leads diploid F_1 breeding to be the hot topic. However, the hurdle in the development of diploid potato inbred lines is self-incompatibility and inbreeding depression. We are working on fine-mapping of an S locus inhibitor gene, and transferring the gene to elite cultivars. In addition, we focus on dissecting the inbreeding depression by re-sequencing doubled haploid population, which would be essential for further genetic study of inbreeding loads in potato. The research will facilitate the setup of the diploid F_1 breeding system in potato that will give birth to the Green Revolution of the potato industry.

Key Words: potato; diploid inbreeding; F_1 hybrid; self-incompatibility; inbreeding depression

收稿日期: 2013-02-22

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31201257), 国家高技术研究发展计划(863计划)(2013AA102603)。

作者简介: 李颖(1980-), 女, 助理研究员, 博士, 从事马铃薯分子遗传育种研究。

* 通信作者(Corresponding author): 屈冬玉, 研究员, 博士, 主要从事马铃薯遗传育种研究, E-mail: qudongyu@caas.cn; 黄三文, 研究员, 博士, 主要从事蔬菜基因组学和分子育种, E-mail: huangsanwen@caas.cn。

国际上马铃薯育种可以追溯到几个世纪前^[1]。我国早在 20 世纪 40 年代就开始了马铃薯品种的选育工作,七十多年来育成了三百多个品种,其中大多数都是通过品种间杂交选育而成^[2],这些品种在生产中发挥了巨大的作用。但整体而言,马铃薯育种进程缓慢,一些品种(如 Russet Burbank 和 Bintje)已经在北美和欧洲种植了上百年,目前仍是该地区的主栽品种^[3]。马铃薯的四倍体遗传特性是其育种进展缓慢的主要原因。生产上应用马铃薯栽培种是高度杂合的四倍体($2n = 4x = 48$),其杂交后代的分离比二倍体作物复杂得多。四倍体含有四套染色体,同一遗传位点上含有四个等位基因,在减数分裂形成配子时,所形成的配子类型较多,进而形成后代的基因型则更加复杂。在传统育种中,对马铃薯数量性状的遗传育种多为表型选择,主要原因是没有有效的分子标记来提高育种效率^[4]。高度杂合的四倍体马铃薯中隐性基因表现频率低,使得很多有害的等位基因被隐藏在四倍体中,这是造成马铃薯杂交育种周期长的一个重要原因。通常情况下,培育一个成熟的优良品种需要 12 年的时间。

目前马铃薯主要通过无性繁殖的块茎作为种薯。无性繁殖有利于保持原品种的优良性,便于栽培管理,生育期短,薯苗在发育的早期就具有较强的生活力,受外界不良影响小,所以较易获得高产。然而,使用薯块生产马铃薯也有很多不尽人意之处。首先是用种量,薯块作为种子用种量很高,一般用种薯 100~150 kg/667 m²,甚至更多,提高了生产成本,更重要的是需要大量留种,贮藏要求高,易腐烂。与此相反,用实生籽(True potato seed)生产马铃薯恰好可以弥补这些缺陷。用种量会大大减少,1 g 种子约有 1 600~2 000 粒。如用种子育苗栽种,有几克种子即可。其次是种薯衰退,这是种薯生产的致命弱点。种薯脱毒、生产无毒种薯是防止马铃薯退化的主要途径,建立在低成本和高能耗基础上的脱毒种薯生产体系必须加以改进。马铃薯实生籽除了可以包衣防病,由种子获得的实生苗基本上是无毒的,是一个经济有效的脱毒方法。第三是种薯运输成本高,种薯连续多年使用会出现严重退化减产,生产上每隔几年就要调入种薯,由于马铃薯用种量大,加之“鲜货”易腐烂等,运输成本高,且非常不便。用实生籽的最大优点之一是耐贮藏,运输、存放简便。最后是实生籽还有助于知识产权保

护。鉴于实生种子繁殖的上述优点,如果能将其大规模用于农业生产,前景广阔。

目前为止,利用实生籽育种尚局限在四倍体水平上,进展缓慢。1968 年中国首先开展用实生籽(True potato seed)生产马铃薯^[5],80 年代成效显著,影响巨大。1978 年,国际马铃薯中心(CIP)开始进行马铃薯实生种子的选育工作。实生种子育种的主要手段是通过四倍体或者二倍体亲本自交。虽然实生种可以表现出很高的一致性和纯合度,却导致明显的产量降低和严重退化。马铃薯栽培种大多是高度杂合的四倍体,因此对四倍体材料进行自交或者杂交远比二倍体要复杂得多。与四倍体相比,二倍体 F₁ 育种可以通过不断自交去有害化,将有害基因剔除掉,从而获得优良自交系用于 F₁ 实生种子生产。曾有研究报道获得了单倍体及双单倍体马铃薯植株^[6-8],并寄望于获得自交纯合材料。然而,至今没有获得具有优异农艺性状的纯合马铃薯的相关报道。自交不亲和(Self-incompatibility)和自交衰退(Inbreeding depression),是培育自交系的绊脚石。

自交不亲和性是指能产生具有正常功能且同期成熟雌雄配子的雌雄同体植物,在自花授粉或相同基因型异花授粉时不能完成受精的现象。常见于雌雄同株植物,是植物在其长期进化过程中形成的有利于异花授粉的一种生殖隔离^[9]。要想开展二倍体 F₁ 实生籽马铃薯育种,需要获得自交亲和的二倍体材料。1998 年, Hosaka 和 Hanneman^[10,11]发现了可以抑制二倍体马铃薯自交不亲和的 *Sli* 基因,经过反复自交得到自交材料^[10]。在自交过程中后代杂合度降低,同时伴随着育性降低、品质低和产量低等问题。这也进一步证明了在马铃薯中存在着严重的自交衰退现象。尽管如此,由于有害隐性基因在不断自交过程中被清除,自交后代的育性被改良了^[12]。遗憾的是,由于当时实验条件和作图群体的选择,没能对 *Sli* 基因的精细定位和克隆进行更深入的研究。之后对该基因的研究前景也没给予足够的重视,该研究还停留在十多年前。随着马铃薯研究的不断进展和马铃薯全基因组测序的基本完成,近几年二倍体 F₁ 实生籽育种又将成为国际马铃薯研究的热点。中国农业科学院蔬菜花卉研究所正在利用 *Sli* 基因的自交材料对该基因进行精细定位,同时通过杂交将 *Sli* 基因整合到优良栽培品种中,为下一步培育出优良二倍体自交系奠定基础。

自交衰退是生物界的普遍现象, 一直被认为是植物界进化的重要动力^[13,14]。自交衰退是指异花授粉植物在进行连续多代自交后, 会出现生理机能的衰退, 表现为植株的生长势、抗病性和抗逆性减弱, 生活力下降, 经济性状退化。自交衰退和杂种优势是同一遗传现象的不同表现形式^[15]。显性(Dominance)是自交衰退和杂种优势现象的基础。如果不存在显性, 就不会有自交衰退, 也不会有杂种优势。原因是自交使群体内纯合体比率增加, 显性度降低。而杂交使群体内杂合体比率增加, 显性度增大。自交衰退有两种遗传形式: 隐性有害突变(Recessive deleterious mutations)和杂合子优势(超显性, Overdominance)。自交后代纯合度较高导致与杂交后代相比的适合度降低, 产生自交衰退, 因此充分了解其基础遗传原理对作物育种有着重要意义。随着近几年二倍体 F_1 实生籽育种又成为国际马铃薯研究的前沿, 了解马铃薯自交衰退的遗传机理和遗传变异特点, 为突破马铃薯育种瓶颈提供重要基础。

2011 年中国农业科学院蔬菜花卉研究所在国际权威学术期刊《Nature》(自然)以封面论文的形式发表了马铃薯全基因组序列图和生物学分析的科研成果^[16]。此项成果的研究对象是加倍的单倍体(Doubled monoploid, DM), 由美国弗吉尼亚理工学院和州立大学的 Veilleux 教授提供; 另一个比对基因组是荷兰的杂合二倍体马铃薯材料(RH)。从两个植株的表现型上, RH 的长势更旺盛。通过比较基因组分析, 发现马铃薯中隐性有害基因的纯合可能是导致生长力衰退的主要原因。由于目前对杂合子基因组分析的计算手段和参考基因组序列有限, 对基于短序列的高杂合基因组拼接和组装技术还需改进。如果对更多单倍体进行重测序, 将提高马铃薯基因组拼接和组装效率。通过对多个同源单倍体基因组数据比较, 可以进一步解析自交衰退的遗传机理, 为实现马铃薯全基因组设计育种清除障碍。

美国弗吉尼亚理工学院和州立大学的 Veilleux 教授研究团队拥有完整的单倍体群体。首个马铃薯全基因组测序材料 DM 就是该群体中的一员。近期, 该群体的亲本材料(二倍杂合体)和多个同源单倍体材料已经在中国农业科学院蔬菜花卉研究所进行重测序。下一步研究工作主要是利用 SOAP2 软件将二倍体杂合基因组测序数据比对到 DM 参照基因组上, 通过统计分析识别与 DM 基因组不同的测序数据;

利用 SOAPdenovo 单独拼接与 DM 不同的测序数据, 并与重复序列区域进行整合, 获得二倍体材料中另外一个单倍型的基因组序列; 将同源单倍体的群体重测序数据与两个单倍型基因组序列进行平行大规模比对, 识别单倍体群体缺失的序列片段, 进而在全基因组水平上挖掘马铃薯自交负荷(Inbreeding load)区域, 希望能进一步了解自交衰退的遗传机理, 全面解密自交衰退的遗传密码。此项研究也将为其他作物自交衰退研究提供方法依据。

马铃薯是世界第四大粮食作物, 对于粮食安全的作用日益突显。我国是世界最大的马铃薯生产国, 目前种植面积已经接近 600 万 hm^2 , 总产量约 900 亿 kg。然而我国马铃薯单产水平刚到 1 000 kg/667 m^2 , 只有先进国家如荷兰的 1/3。马铃薯产业发展的瓶颈是缺乏适合于我国气候条件和栽培方式的优良品种, 对于原产南美的马铃薯这一外来作物遗传资源的研究和利用也特显不足。随着自交衰退遗传密码的即将解密, 马铃薯育种将迎来前所未有的新机遇。自然界中可利用的马铃薯野生种和近缘栽培种约 74% 为二倍体^[17]。通过遗传整合, 野生二倍体的丰富资源可以被充分的挖掘利用, 经过多代自交获得优异表现的纯合植株。马铃薯纯合材料的获得可以使马铃薯实生种籽得到广泛应用, 马铃薯育种、繁种将步入自己的“绿色革命”。未来科学家还可以通过马铃薯纯合材料获得重组自交系、近等基因系和渐渗系^[18]。在其他物种里(如番茄、大麦和玉米等)这些遗传材料在正向遗传学研究中发挥着重要作用^[19-21]。通过全基因组设计育种与常规育种的有机结合, 马铃薯育种家将加速培育具有我国自主知识产权的优良品种。

[参 考 文 献]

- [1] Hawkes J G. Potato breeding in Russia – July, 1956 [J]. Euphytica, 1957, 6: 38–44.
- [2] 屈冬玉, 谢开云, 金黎平, 等. 中国马铃薯产业发展与粮食安全[J]. 中国农业科学, 2005, 38: 358–362.
- [3] Celis C, Scurrah M, Cowgill S, *et al.* Environmental biosafety and transgenic potato in a centre of diversity for this crop [J]. Nature, 2004, 432(7014): 222–225.
- [4] Bradshaw J E, Hackett C A, Pande B, *et al.* QTL mapping of yield, agronomic and quality traits in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) [J]. Theor Appl Genet, 2008, 116(2): 193–211.
- [5] 卢弘斌. 注意提高马铃薯实生种子的质量[J]. 现代农业, 1981(1):

- 28-30.
- [6] De Jong H, Rowe P R. Inbreeding in cultivated diploid potatoes[J]. Potato Research, 1971, 14: 74-83.
- [7] Uijtewaal B A, Jacobsen E, Hermesen J G T. Morphology and vigour of monohaploid potato clones, their corresponding homozygous diploids and tetraploids and their heterozygous diploid parent [J]. Euphytica, 1987, 36(3): 745-753.
- [8] Breukelen E W M, Ramanna M S, Hermesen J G T. Pathenogenetic monohaploids ($2n = 2x = 12$) from *Solanum tuberosum* L. and *S. verrucosum* Schlecht. and the production of homozygous potato diploids [J]. Euphytica, 1977, 26: 263-271.
- [9] Charlesworth D, Vekemans X, Castric V, et al. Plant self-incompatibility systems: a molecular evolutionary perspective [J]. New Phytol, 2005, 168(1): 61-69.
- [10] Hosaka K, Hanneman R. Genetics of self-compatibility in a self-incompatible wild diploid potato species *Solanum chacoense*. 1. Detection of an S locus inhibitor (*Sli*) gene [J]. Euphytica, 1998, 99(3): 191-197.
- [11] Hosaka K, Hanneman R E. Genetics of self-compatibility in a self-incompatible wild diploid potato species *Solanum chacoense*. 2. Localization of an S locus inhibitor (*Sli*) gene on the potato genome using DNA markers [J]. Euphytica, 1998, 103(2): 265-271.
- [12] Phumichai C, Hosaka K. Cryptic improvement for fertility by continuous selfing of diploid potatoes using *Sli* gene [J]. Euphytica, 2006, 149(1-2): 251-258.
- [13] Barrett S C. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-selfing paradigm and beyond [J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2003, 358(1434): 991-1004.
- [14] Darwin C D. The effects of cross and self fertilization in the vegetable kingdom[M]. London, UK: John Murry, 1876.
- [15] Charlesworth D, Willis J H. The genetics of inbreeding depression [J]. Nat Rev Genet, 2009, 10(11): 783-796.
- [16] Xu X, Pan S, Cheng S, et al. Genome sequence and analysis of the tuber crop potato [J]. Nature, 2011, 475(7355): 189-195.
- [17] International Potato Center. The report of the planning conference of the exploration, taxonomy and maintenance of potato germplasm III [C]. International Potato Center, Peru, 1974: 1-194.
- [18] 黄三文, 杜永臣, 屈冬玉, 等. 同源转基因将成为利用野生资源进行作物育种的一种有效手段[J]. 园艺学报, 2006, 33(6): 1397-1400.
- [19] Crow J F. 90 years ago: The beginning of hybrid maize [J]. Genetics, 1980, 148(3): 923-928.
- [20] Fridman E, Carrari F, Liu Y S, et al. Zooming in on a quantitative trait for tomato yield using interspecific introgressions [J]. Science, 2004, 305(5691): 1786-1789.
- [21] Mayer K F, Waugh R, Brown J W, et al. A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome [J]. Nature, 2012, 491(7426): 711-716.

关于征集 2013 年中国马铃薯大会会议论文的通知

为落实 2012 年中国作物学会马铃薯专业委员会学术年会会议纪要精神, 马铃薯专业委员会决定于 2013 年 7 月在重庆巫溪县召开 2013 年中国马铃薯大会, 会议主题为“马铃薯产业与农村区域发展”。为保证本次会议论文集的正常出版, 现提前征集, 望广大马铃薯工作者相互转告。具体投稿方式和要求如下:

1. 论文投稿和版面费的缴纳须在中国马铃薯信息网上进行, 登陆网站后进入“中国马铃薯大会”栏目, 请仔细阅读网页左侧“论文集投稿须知”, 然后进入“2013 年中国马铃薯大会论文集投稿入口”进行操作。如稿件被录用, 请按同样方式进行缴费, 缴费截止日期为 6 月 30 日, 逾期未缴费则视为放弃投稿, 但仍需缴纳审稿费 100 元。

2. 论文必须是反映近年来各地(单位)科研、生产、开发等方面的成果、信息, 内容要新颖, 论点明确, 数据可靠, 图表清晰。具体格式可参照《中国马铃薯》杂志写作范例和征稿细则(见中国马铃薯信息网)。注意: 会议论文投稿不需要撰写英文摘要。

3. 论文截稿日期为 2013 年 5 月 30 日, 来稿文责自负, 编辑有权对稿件进行一定的修改、加工, 请勿一稿多投。注意: 逾期投稿均不予以处理录用。

4. 论文来稿请注明第一作者简介, 包括性别、出生年、职称、从事工作或研究方向等, 还请注明资助基金、课题项目名称及编号, 同时务必提供联系电话。

投稿网址: 中国马铃薯信息网 www.chinapotato.org

联系人: 李赞(0451-55190370); 陆忠诚(0451-55190003)

中国作物学会马铃薯专业委员会