

综 述

2n配子在马铃薯育种中的应用 (续)

屈东钰 程天庆

(中国农科院蔬菜所)

表 1. 筛选的二倍体马铃薯种类中产生2n花粉无性系的频率及物种分布

种 类	引种数量	无性系数量	有5% 2n花粉的引种数量	有5% 2n花粉的无性系数量	有5% 2n花粉无性系的百分数(%)
Series, Commersoniana					
Chacoense	3	100	1	1	2.0
Tarijense	10	170	3	3	1.7
Series, Cuncoolata					
Infundibuliforme	14	232	0	0	0.0
Series Megistacroloha					
Megistacrolobum	11	295	1	3	1.5
Raphanifolium	4	45	0	0	0.0
Series Pinnatisecta					
Cardiophyllum	1	55	1	1	1.8
Series Tuberosa					
Bukasovii	4	70	1	1	1.3
Canasense	8	142	1	2	1.4
Kurtzianum	4	80	0	0	0.0
Microdontum	4	63	0	0	0.0
Group phureja	5	41	5	3	18.2
Sparsipilum	3	39	0	0	0.0
Spegazzinii	11	193	0	0	0.0
Vernei	2	20	0	0	0.0
总 计	90	1489	13	19	...
平 均	...	...	...	...	1.3

(仿 A. A. Quinn, Am. Potato J. Vol. 51:61~21)

四、马铃薯 $2n$ 配子在物种上的分布

减数分裂过程的修饰, 导致 $2n$ 配子的系统发生, 这已在曼陀罗 (*Satina* & *Blakeslee*, 1935)、玉米 (*Rhoades* & *Dempsey*, 1966)及马铃薯上 (*Mok* & *Peloquin*, 1975a) 发现, 从1975年到现在, 许多科学家对马铃薯产生 $2n$ 配子的能力进行了广泛的调查。其中以A.A.quin的工作最出色, 他发现在许多结薯的茄属 (*Solanum*) 种中有 $2n$ 花粉的产生, 它是由 ps 基因控制的。例如在 *Commersoniana* (孔牟松系), *Cuneolata* (楔翼系), *Mgisticacroloba* (曼极斯它系), *Pinnatisecta* (羽裂叶系), *Tuberosa* (马铃薯系) 等均有发现。而在 *S.tuberosum* Group *phureja*, *S.Chacoense*, *S. Group stenotomum* 及 *Phureja* 与栽培种单倍体之间的杂种是 $2n$ 花粉的丰富源泉种 (A.A.quin, 1974) (见表1)。最近的研究表明, $2n$ 配子不仅存在于二倍体种中, 而且存在于四倍体及三倍体中。栽培种Sebago ($2n = 4x = 18$), 在小孢子发生过程中也产生平行纺锤体突变, 基因型是零式 ($pspspsps$) 四倍体遗传。这就证明了如果平行纺锤体参与四倍体起源, ps 基因在某些四倍体栽培种中应当表现出来的假说 (E. W.Souter et al., 1980), 另外也有报道 Kotahdin 的后代和二倍体 *Chacoense* 中也会产生 $2n$ 花粉 (Ehlenfeldt, 1981)。

五、马铃薯 $2n$ 配子的类型

从上面的叙述中得知, 形成 $2n$ 配子的细胞学基础是不同的, 可以推断它们的 $2n$ 配子的遗传效应是不同的, 正如M.S.Ramanna

(1983)所指出的: 在高等植物中, $2n$ 配子

也许来自于各种不同的异常减数分裂, 然只产生两种类型的配子即 FDR (First Divi-

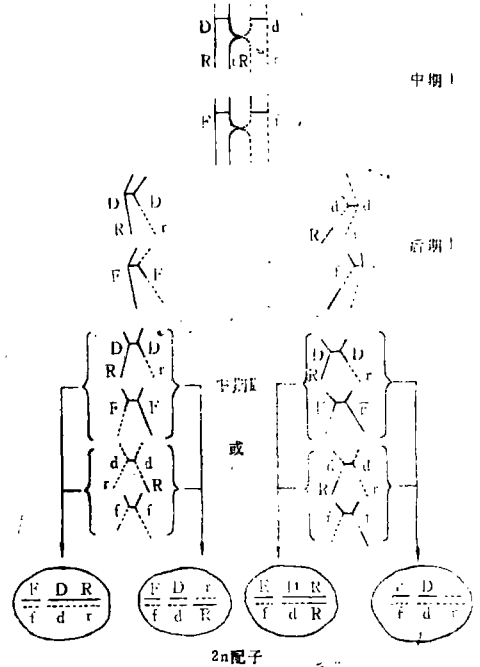


图3. 表示 $2n$ 配子的遗传效应(FDR)

说明: 配子的基因型由位点与着丝点之间的有效交换决定, 在第一次交换与着丝点之间的所有位点在亲本中是杂合的, 在配子中将保持杂合(D和F); 在第一次交换与第二次交换之间杂合位点在配子中保持一定的杂合性(R)。在第一次交换到着丝点的位点, 在所有配对的同源染色体中表现“水平连锁”, 例如F和D, 因此, 这些位点之间的互作会完全传递给后代。说明第一次与第二次交换之间的位点只保50%的杂合性(Rr) (RR, rr 50%)。

sion Restitution, 第一次分裂重组) 和 SDR(Second Division Restitution, 第二次分裂重组)配子。这两种类型之间有一些基本的区别: FDR 配子来源于全套染色体组均等分裂, 类似于有丝分裂, 结果产生的配子都相似或一致于亲本的基因型。SDR 配子来源于第一次减数分裂后重组的结果, 配子会分离。块茎产量 [四倍体 $\times$ 二倍体 (FDR)] 比同样的四倍体与具有SDR $2n$ 花

粉的二倍体杂交的后代产量高40~60% (Mok & Peloquin, 1975b)。这表明, 位点间和位点内之间的互作的重要性, 因为SDR只有40~45%亲本的杂合性传递后代 (Peloquin, 1981), 相反FDR配子可将亲本杂合性的75~80%传递后代, 并且保持大部分上位互作 (见图3)。

六、2n配子的遗传效应

当了解了2n配子的细胞学机制和遗传效应时, 2n配子在马铃薯育种和实生种子利用上的重要性就会得到充分的认识。2n配子包括2n花粉和2n卵, 到目前为止对2n花粉研究较多, 然而很难证实2n卵形成的细胞学模式, 因此2n卵必须基于后代的表现或遗传特性来评价。最近已发现了在二倍体马铃薯中有一个仅仅影响大孢子发生的联会突变 (Iwanaga & Peloquin, 1979), 每一个子房有几个FDR 2n卵是由于联会困难而形成的一类减数分裂产物。这里着重阐述2n花

粉形成的遗传效应。

染色体发生交换的情况不同, 产生的配子的遗传效应也不一样, 在染色体上当着丝点与基因位点接近时, 在基因与着丝点之间不会发生交换。在平行纺锤体基因作用下, 产生两种完全相同基因的配子, 如图4情况I只有Aa类型的2n花粉形成, 换言之, 亲本的杂合性是通过2n花粉传递的。当着丝点与基因位点距离远时, 这时位点与着丝点之间有交换, 且出现平行纺锤体, 结果产生50%的2n花粉是Aa杂合子, 其余的各25%AA或aa (情况II)。如果发生提早的胞质分裂, 随后没有交换 (情况III), 则没有Aa类型的2n花粉形成, 50%是AA纯合子类型, 50%是aa纯合子类型; 当基因位点相距着丝点远时, 可发生一次交换, 则产生两个相同的2n花粉基因型为Aa (情况IV)。由平行纺锤体产生的2n花粉与E DR配子在遗传上是等效的, 而由过早胞质分裂的2n花粉与SDR配子在遗传上是等效的。就一对基

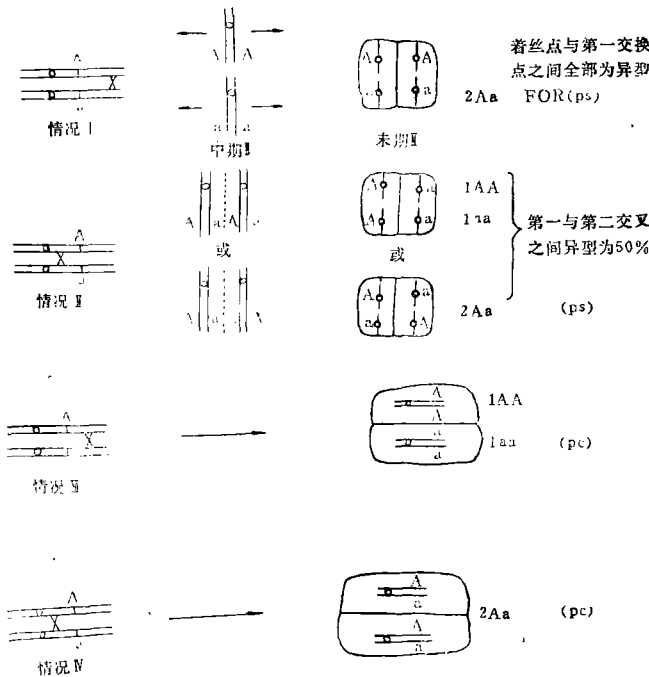


图4. 2n花粉形成的遗传效应 (仿Iwanaga, 1982)

因内的全部位点来说, *ps* 控制形成的 $2n$ 配子能保持全部复等位位点的杂合性(位点内相互作用)和在第一次交换到着丝点之间的全部位点间互作的上位性。这些互作的半数保持在染色体臂上, 第一次交换和第二次交换之间(参见图 3)。FDR 配子传递杂合性的比例是由交换的频率和位置所决定。Howard (1970) 在他的综述中报道, 约有一半二价体具有一次交叉, 其余为二次交叉, 假定每个二价体平均交叉频率(交换频率)是 1.5。交叉在染色体上随机发生, FDR $2n$ 配子的平均杂合性是可以计算的。平均杂合性是一个群体的所有位点在全配子中杂合性的平均水平。通过正常的四倍体遗传, 当基因位点全部是复式(AAaa)时, 平均杂合性有 57~67% 传递到下一代。如果一个杂合的二倍体(Aa)用秋水仙素加倍就可得到相同的遗传结果, 因为这样产生的基因型会是一个双显性的四倍体(AAaa), FDR $2n$ 配子传递给四倍体后代约 80% 的二倍体亲本的基因序列。因此, 如果二倍体亲本是高度杂合的, 就会保持最大的杂合性, 但不论杂合性如何, 产生的配子会高度一致。当用适当的四倍体与之杂交时, 就产生生长势强的四倍体家系。事实上也正是如此: 许多四倍体家系来源于四倍体与二倍体的杂交, 而这里说的二倍体是具有有 $2n$ 配子的 *Phureja* 与 *Tuberosum* 的杂种, 这样的四倍体

生长势强且明显的杂合性能在块茎产量上表现出来 (Mendiburu & Pelopuin, 1971, 1977a; Mok & Peloquin 1975b; Iwanaga, 1985), 几个家系的平均产量显著高于它们的亲本, 而这些家系比高度杂合的亲本之间杂交所希望得到的后代更一致。FDR $2n$ 花粉对获得后代足够的一致性和生长势是非常独特的方式和桥梁, 这为成功地利用实生种子提供了极好材料 (Peloquin, 1981)。

1. 主效基因的传递

为了更清楚地说明 $2n$ 配子的遗传效应, 将 FDR $2n$ 配子和四倍体遗传对四倍体后代传递所希望的显性基因的效率作一比较。假定显性基因 *Y* 控制着马铃薯 *Y* 病毒的抗性, 那么二倍体基因型 *Yy* 和 *YY* 都是免疫的, 而 *yy* 是感病。在四倍体水平 *YYYY*, *YYyy*, *YYyy*, *Yyyy* 都是免疫的, 只有 *yyyy* 是感病的。当将四倍体 *yyyy* 与能产生 FDR $2n$ 配子的二倍体杂交时, 免疫后代对感病后代比率是多少? 这依赖于基因和着丝点之间没有交换, 产生的全部 $2n$ 配子是 *Yy*, 因此产生的全部四倍体后代都是 *Yyyy*, 对 *y* 病毒是免疫的。如果基因离着丝点位置远且在基因和着丝点之间总有一次交换, 这时 $2n$ 配子会包含 *YY* (25%)、*yy* (25%) 和 *Yy* (50%), 于是 75% 的四倍体后代是 *YYyy* 或 *Yyyy*, 两者对 *y* 病毒都免疫。FDR $2n$ 配子对于产生高频率的免疫后代的能力比单式

表 2. 以不同父本与感病四倍体 *yyyy* 杂交后代表现

父 本	基 因 位 置	
	近 着 丝 点 (%)	远 离 着 丝 点 (%)
<i>Yy</i> (FDR)	100 免疫	75
<i>Yyyy</i>	50 免疫	47
<i>YYyy</i>	83 免疫	79
<i>YYYY</i>	100 免疫	96
<i>YYYY</i>	100 免疫	100

(Yyyy) 且与基因位置 (相对于着丝点) 无关的四倍体要好得多, 而且比复式 (YYyy) 好, 除非复式基因离着丝点远。这里FDR 2n 配子产生75%的免疫后代, 一个双显性四倍体产生79%的免疫后代。三显性和四显性四倍体显然比一个具有Yy植株的FDR 2n 配子好, 但是实践上获得三显性或四显性四倍体亲本不多, 因而大多数免疫是与单式或复式有关。通常为了产生高频率的免疫后代, FDR 2n 配子比 4x 免疫系优越 (Iwanaga, 1982) (见表2)。

2. 染色体交换与产生2n配子遗传效应的关系

以 Aa 基因型为例, FDR 在发生交换

时, 产生杂合配子 (Aa) 的频率为 50%, 无交换时为100%。而SDR 在发生交换时, 产生Aa型配子为100%, 无交换时为零。四体遗传 (AAaa) 时, 有一次交换时Aa配子为56%, 无交换时为67%, 依据位点在染色体相对于交叉点的位置不同 (有四种可能出现的位置), 可以得到不同途径形成Aa配子的平均频率 (见表3)。当发生两次交换时, FDR 的配子杂合性高于 SDR 配子 (见表4)。

另外, 正常的杂合子二倍体加倍得到的四倍体相当于复式四倍体, 它与 FDR 产生的2n配子传递杂合性也不一样, 只有 62% Aa配子。

表 3. 不同类型配子在发生交换 (0、1、2次) 传递杂合性情况

发生一次交换	形成配子类型	基因在染色体上的位置				平均
		交叉点的左边	着丝点与交叉点之间	着丝点近处 (右臂)	着丝点远处 (右臂)	
Aa型配子	FDR	50%	100%	100%	100%	88%
	SDR	100%	0	0	0	25%
	四体遗传	56	67	67	67	64%
发生在着丝点 两边的二次	形成配子 类 型	第一次交 换左边	第一次交换与 着丝点之间	第二次交 换与着丝 点之间	第二次交 换右边	平均
Aa型配子	FDR	50	100	100	50	75
	SDR	100	0	0	100	50
	四体遗传	56	67	67	50	62

表 4. 杂合性平均传递率与交叉频率的函数关系

情 况	交叉数/胞母细胞	基 因 型	平均杂合性传递率
I	18	Aa, psp _s	82
II	15	Aa, psp _s sy _s y	85
III	12	Aa, psp _s sy _s y	88
IV	9	Aa, psp _s sy _s y	91
V	6	Aa, psp _s sy _s y	94
VI	3	Aa, psp _s sy _s y	97
VII	0	Aa. psp _s sy _s y	100
四体遗传		AAaa, psp _s	62

3. 联会突变的遗传效应

Koduru & Rao (1981) 报道, 高等植物33个属的126个种中发现了联会突变。在研究的大多数联会突变体中, 都是单个隐性基因控制。马铃薯的4个联会突变体也是单隐性基因遗传。 $\text{syn } 1$, $\text{syn } 2$, $\text{syn } 3$ 已经确定了, 但 $\text{syn } 4$ 是在不同于以前的突变基因的遗传背景中发现的, 所以还没有肯定是其他联会突变基因的等位基因。但是 $\text{syn } 4$ 在育种上传递杂合性的优势是明显的, 这也取决于交换频率, 因此传递杂合性的预期频率可通过计算交叉频率得知。假定正常二倍体马铃薯中有6个二价体具有两次交叉, 6个二价体具有1个交叉, 每个细胞共有18个交叉, 正常联会之后, 通过 ps 得到的 $2n$ 花粉可传递82%左右的亲本杂合性到 $4x$ 后代中去 (见表4情况I), 这个值比正常的复式四倍体中四体遗传传递杂合性要好得多 (62%); 如果没有交换 (情况II) 即完全不联会, 杂合性100%传给后代, 这意味着没有交换而产生的 $2n$ 花粉在遗传上与亲本是等同的, 随着不联会程度的增加 (即交叉减少), 情况II至VI会导致杂合性传递率的增加。 $\text{syn } 4$ 的传递率是多少? Iwanaga (1981) 做了估计, 如果在终变期看到的交叉频率代表真正的交换频率, 在 $\text{syn } 4$ 突变体中可得到97%的传递率, 然而似乎在粗线期是估计交换频率的最关键时期, 这时染色体配对比终变期多, 可能到了双线期和终变期, 有些原来配对染色体不配对, 因此实际的传递率比97%低, 不论怎样, $\text{syn } 1$ 显著提高了传递率。

七、 $2n$ 配子材料的筛选方法

首选可以对众多的材料进行花粉观察, 发现大花粉粒多的品种, 就有可能具有产生 $2n$ 花粉的能力; 但必须对小孢子发育过程做

详细研究, 正如1981年在全美遗传育种学术讨论会上 Peloquin 所回答的“并不是所有的大花粉都是由遗传因素控制的, 也有可能是环境因素所致, 要检查一下花粉母细胞 (PMC) 的减数分裂, 是否有 ps 等基因控制的细胞学现象存在, 最后可用指定的四倍体作母本与初选能产生 $2n$ 花粉的二倍体杂交, 检查能否产生四倍体后代, 同时研究两者的配合力”。

$2n$ 卵的筛选就困难得多, 过去一般用石蜡切片法来研究 $2n$ 卵的发生, 效率低是可想而知的。最近威斯康星大学发明了用一种试剂 (Mayer's hemalum) 染色, 用 Methyl salicylate 冲洗来观察 $2n$ 卵的发育, 但此法还不够成熟 (Iwanaga; 程天庆, 1985), 与 $2n$ 花粉的研究相比落后了许多, 目前只能根据 $2x$ 同 $4x$ 杂交能否产生 $4x$ 来确定二倍体能否产生有效的 $2n$ 卵, 而且 $2n$ 卵多来自 SDR, 所以对于育种来说无多大实际价值, 目前进展不大。

八、 $2n$ 配子在育种上的应用

由于 $2n$ 配子在二倍体马铃薯野生种及杂交种中广泛存在 (前述), 使得马铃薯育种有了一条理想的桥梁通向野生种基因库, 同时对确定各种倍性起源与进化开辟了一条新的研究途径。

J. A. Landeo 在评价马铃薯育种中的 $2n$ 配子方法时认为: 它是一种具有巨大潜力的非常规育种法。

从可集结各种特定的优良性状来看, 二体遗传与四体遗传相比, 二体遗传对完成这一过程更为有利。在改良的群体中, 那些能产生特定类型的 $2n$ 配子无性系被选出, 就能通过它把基因位点的杂合性最大限度地传给四倍体栽培种。而杂合性对于提高马铃薯产

量和杂种优势是非常重要的(Mendoza, 1983)。

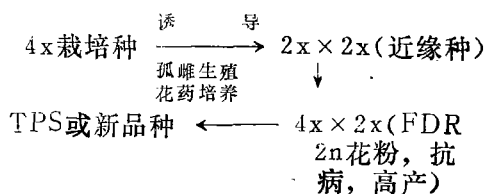
目前, 为突破马铃薯育种的徘徊局面, 有三条不寻常的途径: ①野生和栽培的结薯块的马铃薯种, 具有丰富的有价值的基因, 这在提供专一的优良性状(如: 病虫害抗性)上是非常重要的, 同时利用这些材料可扩大基因背景。②品种的单倍体($2n = 2x = 24$)容易获得和利用(Hougas & Peloquin, 1958), 它们有更简单的遗传模式(二体遗传而不是四体病传)的优势, 更为重要的是将种质从众多的24条染色体中输入到栽培种, 为我们提供了保持遗传多样性的妙法。③导致 $2n$ 配子发生的减数分裂突变, 提供了一个独特而振奋人心的途径, 可用它来增加产量和遗传多样性, 遗传单一正是新品种寿命越来越短的主要原因。

当我们利用实生种子时, 主要的问题是分离问题和自交后代产量的相对降低, 如果用能产生 $2n$ 花粉的二倍体与四倍体交配, 就能基本上解决这个问题。通过这种杂交可以得到遗传上的高度杂合性和表现型上的一致性相结合的 $4x$ 后代(Peloquin, 1983)。

九、 $2n$ 配子在倍性操作 中的作用

许多科学家曾设计转移野生种优良性状的方案, 例如设想将二倍体野生种与栽培种单倍体杂交, 然后用秋水仙素加倍再与栽培种杂交; 但这种方法传递的杂合性是不太理想的。最古老的是将二倍体野生种加倍后与栽培种杂交, 而后再与栽培种回交, 这需要很长时间才能得出结果。目前较为理想的方案是通过 $2n$ 配子将优良特性传给栽培种。首先将四倍体栽培种诱导出单倍体(孤雌生殖或花药培养), 而后与近缘种杂交, 在杂

种后代中选取 $2n$ 配子材料, 并鉴定其农艺性、配合力(一般配合力和特殊配合力)等。用以与优良栽培种(或农家品种)杂交, 选出分离少、产量高、抗病的组合, 作实生种子用或培育新品种。这个过程用简图表示如下:



$2n$ 配子利用需要进一步研究的几个方面:

Iwanaga 提出了将来的研究计划: 当前主要是引入遗传背景好的材料(包括单倍体和 $2n$ 配子发生的材料)。他认为: 第一, 改良 $2x$ 群体, 以得到更高更稳定的 $2n$ 花粉频率。第二, 确定亲本的抗性。第三, 改善无性系的早熟性和薯块特性。

我认为配合力的研究也是非常重要的。分析配合力的组成, 可以知道 $2n$ 配子材料的利用战略, 可以知道 $2n$ 配子材料的利用战略, 如果特殊配合力是主要的, 就可用于TPS; 如果一般配合力是主要的, 就用于新品种选育。在我国, 这方面的基础比较差, 当务之急是引入和筛选 $2n$ 配子材料, 以便迎头赶上。

结 束 语

$2n$ 配子的研究历史虽然并不长, 但进展是很大的, 已为充分利用野生种和实生种子利用提供了广阔前景。为此, 越来越多的科学家对 $2n$ 配子研究感兴趣。可以说, $2n$ 配子传递遗传基因的作用是整体水平的遗传操纵, 因此是方向性的问题, 将为马铃薯育种的飞跃提供遗传基础。