

译 文

马铃薯可育联会消失突变体产生的
第一次分裂重组配子

M. S. Ramanna

(荷兰 Wageningen 农业大学植物育种研究所)

摘 要

已经发现二倍体马铃薯 ($2n=2x=24$) 联会消失突变体可以相当高的频率产生能育的 $2n$ 花粉粒。可以认为这样的 $2n$ 花粉粒是通过整个染色体组均衡分裂产生的, 所以是第一次减数分裂重组 (FDR) 的产物。在联会消失突变体中, 第二次减数分裂重组 (SDR) 配子的染色体数不平衡, 导致其败育, 所以可育的 $2n$ 配子就构成了一个同型的 FDR 配子群体。在 6 个杂交组合的 306 个后代个体中, 发现了 76 个联会消失突变体, 其中有 23 个花粉育性超过了 20%。一些这样可育的突变体已成功地用作父本材料。

几乎所有可育突变体均来自其双亲都可产生 $2n$ 配子的组合。另一种情况是在两个以正常亲本 (只产生 n 花粉) 与 $2n$ 花粉亲本的组合中, 几乎所有突变体或是雄性不育, 或是花粉育性低于 20%。已经发现联会消失是由单隐性基因控制的, 而减数分裂核重组的遗传机制还不清楚。尽管在育种上应用联会消失基因有一定困难, 但还是积极意义的。

序 言

高等植物可以通过多种减数分裂异常来产生 $2n$ 配子, 但 $2n$ 配子的类型却只有两种, 那就是第一次分裂重组 (FDR) 配子和第二次分裂重组 (SDR) 配子。这两类配子间有着根本差异。FDR 配子, 严格地讲, 是在染色体减数 (即后期 I) 之前通过整个染色体组均衡分离产生的。由于这种分离与有丝分裂相似, 所以产生的配子间以及配子与亲本之间是相似或一致的。就是说不存

在配子分离现象; 这就有可能将亲本的有利基因或位点 (即异质性和上位性) 组成完整地保留在 FDR 配子中。而 SDR 配子是通过染色体减数后的单倍体核加倍而产生的。因为 SDR 配子是染色体减数后的产物, 所以配子间存在分离现象, 配子间是异质的, 而配子则是高度纯合的。

进行多倍体作物育种, 如马铃薯 (*Solanum tuberosum*, $2n=4x=48$) 育种, FDR 配子是很有吸引力的, 因为它为从改良的二倍体亲本向四倍体子代传递杂合性和有利基因组合提供了新的可能性。这种可能性在马铃薯

薯育种实践中已得到了验证 (Hanneman和Peloquin, 1969; Mendiburu和Peloquin, 1971; De Tong等, 1981)。已有人提出, 在育种中可将单向或双向有性多倍化作为应用 $2n$ 配子的一种方法 (Mendiburu和Peloquin, 1971, 1977)。此外, 人们还设想在选育可利用植物学种子 (实生种子) 繁殖的品种, 以及诱导马铃薯的无融合生殖等方面利用FDR配子 (Hermesen, 1977; 1980)。

然而, 有吸引力的FDR配子必须满足下列条件: ①必须弄清楚遗传上可转移的FDR机制; ②有可靠的方法将FDR机制转移到理想的无性系中, 否则, 对实际育种工作毫无帮助。

一个广为宣传并声称在马铃薯育种上很有希望的途径就是所谓通过平行纺锤体形成FDR的机制 (Mok和Peloquin, 1975a, b)。这些著者主张, 单隐性基因 ps 使减数分裂异常, 导致在后期II形成平行纺锤体, 因而产生了FDR的等价体。但对于这种减数分裂异常的解释以及这一性状的遗传学还有争议 (Ramanna, 1979; Veilleux和Lauer, 1981; Veilleux等, 1982)。因此, 有必要考虑马铃薯产生FDR配子的其它机制。

在试图建立产生FDR配子的无性系时, 我们发现具有联会消失特性的二倍体马铃薯无性系IJ-17在其小孢子发育的后期I之前, 有整个染色体组进行均衡分离的趋势 (Hermesen和Ramanna, 1981)。这种分离可同Lam (1941) 关于马铃薯、Gustafsson (1935) 关于无融合生殖植物的“拟同型分离”相比。一个值得注意的特征是尽管IJ-17是联会消失的, 但却产生可育的 $2n$ 配子。Okwungwu和Peloquin (1981) 报道了在IJ-17的具有联会消失特征的姊妹系中也产生可育的 $2n$ 配子。从联会消失植物中得到可育的 $2n$ 配子之所以具有诱惑力, 就

是因为①联会消失突变体只通过FDR途径才能产生平衡的 $2n$ 配子; ②一旦产生了SDR配子也会因其染色体不平衡而消失。这意味着由联会消失突变体产生的平衡可育配子构成了FDR配子的同型群体。基于这点, 如果通过适当的基因组合和选择, 就可获得育性适宜的联会消失突变体, 那么也就为应用相对一致的FDR配子群体开创了新的途径。

为了获得可育的联会消失突变体, 我们对IJ-17的姊妹系进行了调查研究, 此外, 对与IJ-17的亲本有关的一些无性系的后代也做了研究。本文报告部分试验结果。

材 料 和 方 法

无性系IJ-17 [曾被Hermesen和Ramanna (1981) 命名为Y-17], IJ-17的两个二倍体亲本无性系 (USW5295.7和USW5337.3) 和USW7589.2均由加拿大弗里德里克顿的H. De Jong博士提供, 其中IJ-17和其双亲均被确认可产生 $2n$ 花粉。曾有报道表明, USW5295.7和USW5337.3均为隐性基因 ps 的纯合体, ps 基因可导致在小孢子发生的后期II形成平行纺锤体 (Mok和Peloquin, 1975)。USW7589.2被认为可产生高频率的 $2n$ 卵 (De Jong私人通信)。这些USW系统的无性系均是在美国威斯康辛的马迪逊, 通过*Solanum phureja*与*S. tuberosum*的双单倍体杂交而来的。无性系772102.37由Jacobsen博士提供, 其亲本为VH³4211×USW5337.3, 而USW5337.3是IJ-17的亲本之一。VH³4211也是 ps 基因的纯合体 (Jacobsen私人通信)。

1980和1981年夏, 在温室种植的材料上做杂交。1981年和1982年对下面6个组合的后代进行细胞学鉴定, 以便检查联会消失突变体。这6个杂交组合是: ①USW5295.7×

USW5337.3 及其反交; ② USW 5295.7 × 772102.37; ③ USW5337.3 × 772102.37; ④ USW7589.2 × 772102.37 及其反交。

取幼嫩花药在丙酸乙醇中固定48小时或稍长一点, 采取常规醋酸洋红压片法研究减数分裂。

用乳石碳酸品红时花粉样本染色, 以估计花粉粒的体积和着色力。通常每周取一次花粉, 将新开的3朵花的花粉混合在一起进行染色。在显微镜分辨最清晰时随机取10或更多个视野(约250~500个花粉粒), 直接计数大小花粉粒的频率。必要时, 用目镜测微尺测花粉粒的直径, 当直径等于或小于 $25\mu\text{m}$ 时则为大花粉(n 花粉)粒, 而大于 $25\mu\text{m}$ 的则为大花粉($2n$ 花粉)粒。

大多数突变体的大小花粉频率的估算至少要依据3个样本, 并求其平均值。

结 果

5个亲本无性系中, 只有USW7589.2的雄配子的减数分裂是明显正常的, 而其它无性系均在雄配子减数分裂的中期II观察到了融合纺锤体发生。本试验所用材料的减数分裂的详细情况已多有报道(Mok和Peloquin, 1975a; Ramanna, 1973; Hermesen 和 Ramanna, 1981)。

本试验对来自6个不同组合的306个子代的减数分裂进行了研究, 其目的是: ①观察确定联会消失突变体的特征, 如果有, 就可把植物分为突变体和正常植株; ②阐明突变体中促进育性的细胞学行为; ③确定核重组是否受遗传控制, 以及控制程度如何。

一般说来, 在前期I不能观察到突变体的迹向, 这是因为全部供试植株在此时同源染色体完全配对。然而, 在某些植株的双线期和终变期可以观察到频率不同的单价体。而这样的植株常常表现为中期I有较高频率的单价体。以中期I染色体配对作为标准,

在306个子代中有76株是突变体植株, 表明是单隐性遗传, 而且全部亲本在突变性状上均为杂合体。对这些突变体的前期初始阶段的重新检查清楚地表明, 在粗线期染色体均正常配对, 在终变期出现单价体。在这些突变体的粗线期和双线期之间, 与正常植株一样, 有一个明显的染色体分散期。这样的时期很容易被误认为是同源染色体的不配对状态。基于这种情况, 对减数分裂前期的早期鉴定有助于避免这种误解。尽管中期I有高频率的单价体, 但因前期I染色体是正常配对的, 所以可认为这些突变体是联会消失的明显例子(见Matsubayashi, 1979)。

在前期I可以观察到正常植株与突变体之间的明显不同。应正常植株相比, 突变体常表现出有相对长的前期I。其根据是制备突变体前期I的片子比正常植株相对容易一些。这也就表明正常植株的前期要比突变体的前期更短促。

通过细胞群的比较就能更明显地显示出正常植株与突变体植株在中期I染色体配对上的差异。在正常植株里, 二价体聚集在一起并表现出中期I的取向, 但在突变体中, 大多数单价体均无方向性。以中期I不配对作为确切区分大多数突变的标准是有一定作用的。但由于下述两个原因, 使其在某些情况下还存在一些困难。首先, 即使有单价体, 但在一个突变体植株中, 不同的花或同一朵花的不同花药, 其表现是不一致的。在这种情况下, 其它辅助标准, 如中期I缺少方向性, 后期I染色体不平衡分离, 以及相对较高程度的不育性均可用作区分突变体的标准。其次, 还有许多情况, 开始鉴定为突变体, 但后来又产生了 n 花粉, 因而是进行了正常的减数分裂。有4个这样的植株被划为正常植株, 除非进一步研究可证明是另外的原因。除了这几个例外情况, 其它植株均以明显的标准而划分为正常株和突变体植株, 不

同组合后代的频率如表 1。

在不同的突变体中, 中期 I 染色体配对的程度也有所不同。不同突变体在期中 I 二价体联合的情况列在表 2 和表 3, 其变化幅度为0.6~8.3。

表 1. 6 个杂交组合的子代中正常植株与联会消失突变体数(正反交分别给出)

杂 交 组 合	代 号	观察植株数	正常植株数	突变体数
1. USW 5337.3×USW 5295.7	CB	60	45	15
2. USW 5295.7×USW 5337.3	BC	66	54	12
3. USW 5295.7×772102.37	BE	62	47	15
4. USW 5337.3×272102.37	CE	16	16	6
5. USW 7589.2×772102.37	DE	60	44	16
6. 772102.37 ×USW7589.2	ED	42	30	12
总 数		306	230	76

表 2. 来自双亲均产生2n花粉的突变体中染色花粉、大花粉百分数及每花粉细胞中二价体数

组 合 (代号)	突变体数	观察细胞数	二价体/细胞	染色花粉 (%)	大花粉 (%)
USW5337.3×USW5295.7 (CB)	9	123	1.8	25.7	67.7
	19	69	4.9	53.9	63.2
	21	100	2.0	2.3	50.0
	28	158	2.2	22.8	97.7
	32	125	1.7	36.5	96.1
	42	121	3.5	34.0	63.5
	44	188	2.2	26.7	77.7
	46	78	1.1	29.9	86.7
	50	100	1.9	27.7	85.1
USW5295.7×USW5337.3 (BC)	67	79	2.0	19.9	95.8
	2	117	1.8	8.3	91.8
	4	142	3.8	7.3	46.4
	7	136	3.9	13.0	36.2
	19	101	2.0	20.2	71.6
	21	131	5.9	52.2	79.8
	53	128	2.6	—	—
	80	140	3.6	75.3	41.9
	88	66	1.2	62.9	99.6
	90	139	1.9	23.1	73.7
	96	154	8.3	8.9	75.0

续 表

组	合	(代号)	突变体数	观察细胞数	二价体/细胞	染色花粉 (%)	大花粉 (%)
USW 5295.7 × 772102.37	(BE)	6	175	3.1	16.6	98.3	
		33	148	3.3	52.9	85.9	
		36	73	2.0	55.4	66.0	
		50	82	1.2	3.7	0.1	
		61	94	2.0	5.8	63.6	
		62	107	2.7	45.9	93.6	
		63	146	2.4	0.0	0.0	
		67	105	1.8	63.1	96.2	
		73	123	2.1	0.0	0.0	
USW5337.3 × 772102.37	(CE)	1	97	1.7	35.7	100.0	
		8	194	3.0	8.5	86.5	
		10	81	1.9	69.7	96.7	
		13	130	2.2	18.4	93.6	
		15	149	2.5	3.9	88.2	
		16	187	2.2	1.2	100.0	

表 3. 来自一亲本产生 n 花粉, 另一亲本产生 $2n$ 花粉的突变体中
染色和大花粉百分数, 每花粉细胞里二价体数

组	台	(代号)	突变体数	观察细胞数	二价体/细胞	染色花粉 (%)	大花粉 (%)
USW 7589·2×772102·37	(DE)	2	92	2.2	0.0	0.0	
		7	198	5.8	0.0	0.0	
		9	100	2.2	0.0	0.0	
		11	104	2.6	0.0	0.0	
		28	138	6.4	0.0	0.0	
		29	94	1.8	0.0	0.0	
		33	91	1.6	8.9	69.6	
		35	97	2.3	0.0	0.0	
772102·37×USW7589·37	(ED)	3*	127	0.6	0.0	0.0	
		4*	157	0.7	0.5	0.0	
		10	91	1.7	2.3	87.5	
		11*	156	1.4	35.6	—	
		13*	126	1.5	0.0	0.0	
		15*	110	2.1	0.0	0.0	
		24	70	1.6	0.0	0.0	
		38	195	2.6	6.3	65.6	

* 1981年观察的突变体

如预料的那样, 因中期 I 染色体不配对, 在大多数突变体中, 后期 I 单价体运动异常已成规则。这种减数分裂的异常现象明显使第二次分裂混乱, 这已为所观察的大多数突变体均表现为高度雄性不育所证实。因此, 在 76 株突变体中, 可着色花粉粒低于 20% (表 2 和表 3) 的有 54 株 (70%), 其中低于 5% 的有 20 株。然而, 在 8 株可育突变体中, 可着色花粉粒均超过 50% (表 2: CB19; BC21, 80, 88; BE33; 36; CE10), 且大部分是代表 $2n$ 花粉的大花粉粒。有时在突变体中也可观察到小花粉粒。这些小花粉粒可能来自一些花药偶尔的正常分裂, 或是残存的非整倍体花粉。

由于亲本不同, 使这些突变体的雄配子育性有明显差异。因此, 来自双亲均产生 $2n$ 配子的突变体就表现出高度的育性 (表 2)。反之, 从亲本之一不产生 $2n$ 花粉 (USW7589·2) 的组合中得到的突变体, 就表现高度不育 (表 3)。

用简单而明确的解释来说明全部突变体的育性是不可能的。原因是所有突变体减数分裂核重组的机制是不同的, 尽管对这些突变体核重组机制可用不同的方式来说明, 但据目前的研究可分为两大类, 一是着丝粒分裂异常, 一是纺锤体形成异常。前者被称为“拟同型分裂”, 而后者为“融合纺锤体形成”。

拟同型分裂的显著特征如下: 单价体在中期 I 达到最大程度的收缩后, 着丝点立即分裂。这种着丝点分裂无疑是提前分离, 也就是发生在后期 I 之前。在一个典型例子中, 正如所预料的那样, 减数分裂以后的时期, 如末期 I、前期 II 和中期 II 均已省略, 如果出现也仅局限于很少很少的细胞里。在适当的片子上, 可以观察到从前期 I 到均衡分离的后期 I 的过渡阶段。在这种均衡分离的后期 I 之前, 赤道区的单价体可能有相近

似的取向, 或者没有方向性。然而, 在这样的突变体中, 最终可产生平衡的二分体和可着色的 $2n$ 花粉粒。

融合纺锤体形成是中期 II 异常的产物。在这种情况下, 第一次分裂的各个时期以及前期 II 均可观察到。此外, 在中期 II 仅有一组染色体定向而不是两组, 这就是该机制的显著特征。突变体的这个特征与我们所观察的另一些植株不同, 而这另一些植株是来自于染色体正常配对, 并产生融合纺锤体的亲本。对此, 早已有过恰当的解释和描述 (Ramanna, 1979)。

虽然上述两种类型, 即拟同型分裂和融合纺锤体形成在一些突变体中单独存在, 但在某些情况下也可同时发生。此外, 在所有突变体中, 是否仅有这两种类型, 或单独, 或共同对核重组起作用还不清楚。

因此, 要确切地将这些突变体划分为上述两种类型的哪一种, 如可能的话, 还需做更详细的细胞学观察。

为了明确亲本无性系减数分裂核重组机制是否受遗传控制, 我们曾对 4 个杂交后代群体就大小花粉粒的分离进行了研究。在这种情况下, 假设大花粉粒的形成是减数分裂核重组的结果。由于花粉粒大小分布是连续的, 所以不能依据所产生的花粉粒大小来明确地划分子代。但是, 可以根据产生大花粉粒的百分数进行分类, 见表 4。如果有控制减数分裂核重组的隐性基因 ps (平行纺锤体), 那么隐纯合体亲本, 如 USW5295·7 和 USW5337·3 之间杂交, 可望得到仅为隐性表现型的子代。这就意味着全部子代都应出现平行纺锤体, 并产生大花粉粒。可是, 在两个其亲本均为 ps 隐性纯合体 (见材料和方法) 杂交组合的后代中, 却有相当数量的植株产生的大花粉粒不足 1% (见表 4 组合 1, 2 和 3)。这些子代植株显然不具备核重组机制, 而假设的 ps 隐性纯合体分离出了正常

表 4. 6个杂交组合的子代(正常+突变体)中产生大花粉粒植株的数目, 根据植株产生大花粉粒的百分数(范围是0~100)进行分组

组	代 号	各 组 植 株 数					
		0.0-0.9	1.0-2.9	3.0-4.9	5.0-9.9	10.0-19.9	20.0-100.0
1.	USW5337.3×USW5295.7 (CB)	13	6	5	7	9	21
2.	USW5295.7×USW5337.3 (BC)	11	13	7	1	8	23
3.	USW5295.7×772102.37 (BE)	5	4	2	5	4	25
4.	USW5337.3×772102.37 (CE)	0	1	1	2	1	11
5.	USW7590.2×772102.37 (DE)	16	3	3	2	6	9
6.	772102.37×USW7589.2 (ED)	7	4	4	1	2	1

植株。

讨 论

本研究结果表明,要得到雄配子有一定育性的联会消失突变体是完全可能的。某些突变体的育性是高度稳定的,可在全部季节里用作亲本(未发表的结果)。

据目前我们得到的相当数量的可育突变体(有23株育性超过20%)及其稳定的育性来看,在育种实践中,这些突变体显然是FDR配子的好资源。

有可靠的理由假定在联会消失突变体中,平衡可育的2n只能通过FDR产生。如果这是真实的,那就意味着几乎全部可育的2n配子都是FDR配子,因而也就构成了一个同质群体。群体的同质性不仅仅是因为突变体只发生FDR,还因为SDR配子,如果产生的话,常常伴随着联会消失,导致染色体数的不平衡而失去功能。然而,在一个突变体中也有可育的SDR配子存在的情况。例如在部分联会消失突变体中偶尔出现正常的后期I,这种恢复作用可产生SDR。在这种情况下,FLR和SDR可在同一突变体中发生。但在联会消失现象已成为规律的突变体中,只产生FDR配子。假定在一个完全联

会消失植物中仅产生FDR配子,还可提出如下问题:这些FDR的相似或一致程度如何?在这种突变体中如果不发生交叉和交换,才可期望全部配子间是一致的。对这些突变体的前期I所做的细胞观察表明,突变体与正常植株在染色体配对上没有差异。因此,很可能在突变体中也存在交叉和交换。表2、3中有关中期I染色体联会的资料已明确了确实有交叉发生,尽管是有限的。因此,这种突变体产生的FDR配子间不一定相同,细胞学也没法证明。Peloquin(1982)提出的关于这种FDR配子可将亲本杂合性100%地传递给子代的假设。应该指出,虽然减少染色体配对可限制重组频率,但事实上并不需要发生重组。在其它植物中,通过对不联会及联会消失突变体的观察可清楚地看到标记性状有很高的重组率(可见Koduru和Rao, 1981)。

如果这种突变体基因是简单遗传就太理想了,就能将这种联会消失及减数分裂核重组性状转移到适宜的无性系中。联会消失表现为由单隐性基因控制(表1)。这与matsubayashi (1979), Okwuogwu和Peloquin (1981)关于马铃薯的报道是一致的。因此,将ds基因转移到适宜的无性系中会很容易的。从细胞学和遗传学的观点看,减数分裂

核重组的过程是复杂的。从细胞学上看, 这种复杂性的原因是所有突变体的核重组并非只由一种减数分裂异常所致。

例如, 着丝粒提前减数分裂就可用不同的方式来解释, 即拟同型分裂(Gustafson, 1935); 由于着丝点提前成熟分裂引起的超前着丝粒行为(Dowrick, 1953); 中期 I 延长(Wagenaar, 1968)。因此, 仅仅依据“平行纺锤体”或“融合纺锤体”的形成来解释是不能使人信服的。从遗传学上看, 由 p_s 这样的单基因控制减数分裂异常的假说是不成立的(表4), 因此应当抛弃。

然而, 没有 p_s 基因的固定遗传并不意味着在杂交子代中就不存在着遗传控制的减数分裂核重组机制。以可产生 $2n$ 花粉在亲本产生大量可育突变体(表2), 与表3结果相比较就表明这两类之间存在遗传差异(见Jacobson, 1980)。但是, 这个观察结果还需要通过大量的研究来验证。不论核重组的遗传模式如何, 通过对联会消失突变体的育性进行不断选择就能获得核重组率增大的基因型。

在小孢子发育过程影响染色体配对的联会消失基因也可能(从逻辑上看)影响大孢

子发育时期的染色体配对。事实上, 这种情况在植物中已有报道(见Koduru和Rao, 1981)。然而, 与此相反, Iwanage和Pelouquin (1979)曾报道在IJ-17的姊妹系中有一个基因仅影响大孢子发育时期的染色体配对(即在小孢子发育过程中不起作用)。但本研究结果以及其它报道(Hermesen和Ramanna, 1981; Okwuagwu和Pelouquin, 1981)均表明, 在IJ-17系统群中, 小孢子发育时期也出现联会消失现象。

尽管联会消失突变体在产生相对同型的FDR配子群体上有一定价值, 但也应当承认, 突变体本身也给其在育种中应用带来了一定限制。首选, 这些突变体大多是不育的, 正因为这个缘故, 使这些突变体并非总是好的亲本。再者, 即便可育, 这些突变体仅产生 $2n$ 配子, 只产生四倍体子代有用, 而对生产二倍体有性子代毫无用处。显然, 为了利用联会消失突变体, 还需要做更多的研究。

译自《Euphytica》, 32 (1983),
P337—350

王凤义 译

肖志敏 吕文河 校

(上接170页)

品质: 干物质含量低, 质地坚实, 蒸煮后不变色。

抗病性: 感晚疫病, 高抗 Y^N , 对瘤肿病免疫。

西瓦(Civa)

品种来源: Bintje × Saskia × Frühmölle × CIV49-901

特征特性: 茎少绿色, 极粗状, 高度分散; 叶大下垂, 浅绿色; 初生小叶大而宽, 叶脉浅; 花序小而少, 花白色。块茎卵圆形, 表皮极光滑, 肉浅黄色; 芽眼浅。块茎芽开始为桶状, 后为茎状, 浅紫红夹杂绿色, 顶尖部大而松散, 密被绒毛。

品质: 干物质含量很低, 质地松

软, 蒸煮后不变色。

抗病性: 感晚疫病, 高抗 Y^N , 对A病毒和瘤肿病免疫。

索尔莫(Colmo)

品种来源: ZPC58-159 × ZPC55-37

特征特性: 茎极少, 粗壮绿色, 早期呈分散状; 叶大下垂, 浅绿色; 初生小叶卵圆形, 叶脉浅; 花序茁壮但数少, 每花序着生花数多, 花红紫色; 块茎短卵圆状, 表皮光滑浅黄色, 肉黄色, 芽眼浅; 块茎芽初为桶状, 后为短茎状, 紫褐色, 上部渐渐变绿, 顶尖为紫红色, 绒毛短而直立。

品质: 干物质含量低, 质地坚实, 煮后不变色。

抗病性: 感晚疫病, 高抗 Y^N 。