

## 以秋茄为例的植物 自然缺绿突变率的计算

厉宁 陈小勇\*

(华东师范大学环境科学系, 上海 200062)

**摘要** 突变是遗传变异的最终来源, 缺绿突变是植物中最易检测的突变类型。尽管对植物缺绿突变的研究尚不多, 但对突变率的计算却存在一些混乱。本文对不同的突变率计算方法及其适用条件进行比较, 并以秋茄 [*Kandelia candel* (L.) Druce] 为例进行说明。若种群以自交为主, 公式  $\mu = QM$  给出的结果比较可信; 在以杂交为主的情况下, 公式  $\mu = Fq$  可能会给出更精确的突变率。为便于比较, 建议统一采用公式  $\mu = QM$ 。

**关键词** 缺绿; 突变率; 计算方法; 秋茄

**On the calculation of spontaneous mutation rates for chlorophyll-deficiency in plants: A case study of mangrove *Kandelia candel*** Li Ning, Chen Xiaoyong (Department of Environmental Science, East China Normal University, Shanghai 200062), *J. Plant Resour. & Environ.* 1999, 8(2): 31~35

Mutation is the ultimate source of genetic variation. Chlorophyll-deficient mutation is one of the most easily-detected mutants in plants. Though mutation rates were detected in few plants, there were some confusions in the calculation methods. In this paper, we compared different methods and their application conditions for the calculation of mutation rate that had been used. Data of mangrove *Kandelia candel* (L.) Druce were used as an example. If the population is selfing-dominated, the equation  $\mu = QM$  may give a exact estimate; whereas the equation  $\mu = Fq$  may give more exact estimate when outcrossing-dominated. It is suggested that the equation  $\mu = QM$  be used for comparability.

**Key words** chlorophyll-deficiency; mutation rate; calculation method; *Kandelia candel* (L.) Druce

遗传变异是物种适应环境变化的基础, 而基因突变则是遗传变异的最终来源, 是自然选择的材料。因此对于物种自然突变率的研究一直是种群遗传学家和进化学家所关心的问题。然而由于突变并不一定存在表现型的变化, 因此有关基因突变的研究除对一些模式生物(如果蝇、大肠杆菌等)研究较多外, 其他生物比较少。

缺绿突变是植物中能导致叶绿素缺乏的一类突变, 据估计核基因组中约有 300 个位点的突变可以导致缺绿表现型<sup>[1]</sup>。这类突变在植物中大多为隐性(目前只发现 1 个位点是显

\* 通讯联系人

厉宁: 女, 1973 年 11 月生, 硕士研究生, 主要从事分子生态学研究。

收稿日期: 1999-02-12

性<sup>[2]</sup>),由于它使突变纯合体表现为缺绿症状,因此是植物中最容易检测的一类突变,也是研究较多的一种自然突变现象<sup>[1,3,4]</sup>。据 Klekowski 初步统计<sup>[1]</sup>,在一年生植物中,已对 10 余种植物的自然缺绿突变率进行了测定,对一些多年生植物的自然缺绿突变率也有研究<sup>[3-7]</sup>。值得注意的是,由于研究者不同,不同植物的缺绿突变率研究中所采用的突变率计算方法也不同,即使是同一研究者,在选择计算方法时也存在一些疑虑<sup>[8]</sup>。

由于不同的计算方法推导时的假设条件有差异,因此,它们适用的范围不同,故采用不同的方法计算的结果也不同,由于这种原因,给测定的自然缺绿突变率的数值带来较大的误差,使得不同研究者测定的结果可比性较差。因此,弄清各种突变率计算方法的适用条件,比较不同方法的优缺点,对于更好地了解植物缺绿突变情况是非常重要的。本文首先从理论上推导植物缺绿突变率的计算方法,并以秋茄 [*Kandelia candel* (L.) Druce] 为例对这些方法进行比较。

## 1 常用的植物缺绿突变率的计算方法

由于植物缺绿突变是植物表现为叶绿素缺乏症状,对于自养的植物来说,是一种致死性突变,同时在植物中大多数缺绿突变是隐性的,因此只有在隐性纯合时才表现为缺绿症状。由于以上一些特点,计算植物缺绿突变率时常用的方法有如下几种:

### 1.1 基于突变-选择平衡时基因频率的推导

由于是隐性致死突变,假设杂合子的适合度不受影响,因此随机交配时,各基因型的频率和适合度为:

基因型	AA	Aa	aa
频率	$p^2$	$2pq$	$q^2$
适合度	1	1	$1-s$

$p$ 、 $q$  分别为正常和缺绿突变基因的频率,  $s$  为选择系数,因此有  $\Delta q = spq^2/(1-sq^2)$ ,当处在突变-选择平衡时,有  $\Delta q = p\mu$

$$\text{即 } p\mu - spq^2/(1-sq^2) = 0$$

在植物中,大多数缺绿突变是隐性突变,因此  $q$  的频率很低,即  $1-sq^2 = 1$ ,故有:

$$p\mu - spq^2 = 0$$

$$\mu = sq^2$$

由于缺绿突变使得突变基因的纯合子缺少叶绿素,不能进行光合作用,因而是致死性的,致死突变中  $s = 1$ ,因此,此时,突变率为:

$$\mu = q^2 \quad (1)$$

也就是说,种群中隐性致死突变基因的频率〔每世代每单元型(haploid)〕就简单地等于每世代产生的隐性致死纯合子比率<sup>[9]</sup>。

上式只有在严格处在突变-选择平衡时才成立,实际上突变-选择平衡永远也不可能达到,但可以计算达到突变-选择平衡一半时所需的时间近似的加以反映,Crow 和 Denniston<sup>[10]</sup>对此作了推导,达到突变-选择平衡一半所需的世代数为:

$$t_{1/2} = 0.693/2q$$

### 1.2 基于近交时突变-选择平衡基因频率的推导

当存在近交时,后代基因型的频率为:

$$P' = p^2 + Fpq \quad Q' = 2pq - 2Fpq \quad R' = q^2 + Fpq$$

由于是隐性致死突变,  $q^2 = 0$ , 突变-选择平衡时, 由于选择而丢失的等位基因频率等于新产生的频率, 故有:  $p\mu = Fpq$

$$\text{即: } \mu = Fq \quad (2)$$

达到突变-选择平衡一半时所需的世代数为:

$$t_{1/2} = 0.693/F$$

### 1.3 基于突变-选择平衡时杂合子频率的推导

在完全自花授粉物种中, 当种群处在突变-选择平衡时, 由于有害等位基因的丧失量等于突变产生的量, 也就是说在种群中, 突变体的比例是恒定的。对于完全自交和隐性致死突变来说, 后代中杂合子的频率为:

$$Q' = [P\mu + (Q/2)] / [1 - (Q/4)] \quad (3)$$

其中  $Q$  是起始种群中杂合子(设基因型为  $Aa$ )的频率,  $P$  是显性纯合子(设为  $AA$ )的频率。则杂合子自交将产生  $1/4$  隐性纯合子( $aa$ )。由于  $aa$  是致死的, 因此在成体种群中只有两种基因型, 即  $AA$  和  $Aa$ , 故有  $P + Q = 1$ , 突变-选择平衡时,  $Q = Q'$ , 即  $Q' - Q = 0$ , 根据(3)式, 有:

$$[(1 - Q)\mu + (Q/2)] / [1 - (Q/4)] - Q = 0$$

$$\text{整理后得: } (Q/2)(1 - Q/2) / (1 - Q) = \mu$$

在植物缺绿这类隐性致死性突变类型中, 杂合子  $Q$  的频率往往是很低的, 在本文所采用的秋茄数据中分别为 0.011 和 0.016(表 1), 取其中较大的值, 则

$$(1 - Q/2) / (1 - Q) = 1.008 = 1$$

$$\text{因此有: } \mu = Q/2$$

$$\text{而每世代每单元型的突变率}^{[6]} \text{则为: } \mu = Q/4 \quad (4)$$

### 1.4 Klekowski 方法

Klekowski 和 Godfrey<sup>[5]</sup>、Lowenfeld 和 Klekowski<sup>[6]</sup> 针对大红树 (*Rhizophora mangle* L.) 自然缺绿突变率的测定得出:

$$\mu = QM \quad (5)$$

其中  $M$  为后代缺绿突变纯合子的比例。根据孟德尔规律, 自然状况下自交率  $S$  是后代中缺绿突变纯合子比例的 4 倍, 即有:  $M = S/4$ , 因此(5)式也可写成  $\mu = QS/4$ 。

Klekowski 方法也是基于种群处在突变-选择平衡这个大前提下, 达到突变-选择平衡一半时所需的世代数也为:  $t_{1/2} = 0.693/F$ 。

## 2 计算结果和讨论

在植物缺绿突变率的计算实例中, 大多数采用的是简单的方法, 即根据 Muller<sup>[9]</sup> 的结论, 每世代每单元型突变率等于缺绿突变纯合子的频率<sup>[1]</sup>, Dellaert<sup>[11]</sup> 在研究 *Arabidopsis* 的突变率时, 采用  $m = m'/f$  的方法计算, 其中  $m$  为突变纯合子的频率,  $m'$  为突变率,  $f = 0.2$ , 该公式即为  $m' = mf$ , 与(2)式基本上是一致的, 其中近交系数为 0.2。其他人还采用其他一些方

法,但均可以归结为以上的1种。

公式(5)实际上是公式(4)的扩展形式,公式(4)假设物种是完全自交,而(5)式则包括了所有的近交类型,当物种完全自交时,即自交率  $S$  为 1,此时(5)和(4)完全相同。若种群是完全自交,且各个体的繁殖力相同时,后代缺绿突变纯合子的数量是成体中杂合子的  $1/4$ ,此时公式(1)和公式(4)也是相等的。

在不同计算公式中,可以看到它们都有一个共同的前提,即假设种群处在突变-选择平衡,然后分别从杂合子基因型频率以及突变基因频率变化考虑加以推导,同时又考虑到随机交配和非随机交配的情况,因此应用这些公式时必需结合物种的具体情况加以分析。

公式(1)对突变-选择平衡的要求比较严格<sup>[4]</sup>,同时缺绿突变基因的频率也要很低。而这两个条件往往又是相互矛盾的,若  $q$  较大,则  $1 - q^2$  与 1 的差异较大,这样计算的  $\mu$  值就会大于实际测得的突变率。若  $q$  较小,则根据 Crow 和 Denniston<sup>[10]</sup>的公式,达到突变-选择平衡一半时所需的世代数就很大,也就是说与突变-选择平衡的前提要求相差较大。其中又关键取决于后者,以秋茄中的数据为例, $q = 0.024$ ,达到突变-选择平衡一半时需要 29 个世代,秋茄一个世代约为 20 年,则需要近 600 年的时间才能达到突变-选择平衡的一半,因此种群建立时间对结果的影响很大。

公式(2)和(5)对这一点的要求就没有公式(1)这么严格,同样根据 Crow 和 Denniston 的公式<sup>[10]</sup>,浮宫和竹塔种群计算所需的世代数分别为 7 和 11 代,远低于公式(1)的所需的世代数。

种群中缺绿突变纯合子的形成主要有两个途径:随机交配和自交。根据 Hardy-Weinberg 平衡,在随机交配情况下,纯合子的频率是等位基因频率的平方,由于自然界中缺绿突变很少见,因此缺绿突变基因的平方是个很小的值,也就是说通过随机交配引起的缺绿突变基因的丢失是很慢的。而在自交植物中,由于杂合子后代有  $1/4$  是缺绿纯合子,因此缺绿突变基因丢失的速度快得多。一般说来,自交植物比远交植物更容易接近突变-选择平衡,也就是说,采用这些公式计算突变率时,自交植物中的结果比远交植物的结果更精确,在远交植物中,测定的自然缺绿突变率往往会低估实际的突变率。

以秋茄的数据对以上各公式的结果进行分析,数据来自参考文献[4]。结果见表 1。

表 1 不同公式计算的两个秋茄种群中自然缺绿突变率(每世代每单元型)

Tab 1 Spontaneous mutation rates (per haploid per generation) for chlorophyll-deficiency of two populations of *Kandelia candel* using different calculation methods

种群 Popula- tion	缺绿杂合子频率 Frequency of heterozygote	后代缺绿突变基因频率 Frequency of mutation alleles in offsprings	自交率 Selfing- rate	近交系数 Inbreeding coefficient	突变率 Mutation rate <sup>1)</sup>			
					1	2	3	4
浮宫 Fugong	0.011 7	0.024 0	0.197	0.098	0.005 76	0.002 35	0.002 93	0.000 59
竹塔 Zhuta	0.017 7	0.023 9	0.129	0.065	0.005 71	0.001 55	0.004 43	0.000 80

<sup>1)</sup>突变率 1、2、3、4 分别是根据公式(1)、(2)、(3)、(5)计算的结果 Results of mutation rates 1, 2, 3 and 4 were calculated with equations of (1), (2), (3) and (5) respectively.

采用不同计算公式得到的结果是不同的,最大和最小的相差一个数量级(表 1),可见差异是相当大的。

由于公式(1)对突变-选择平衡要求很严格,但它达到突变-选择平衡所需的时间却远高于其余公式,并且因此它给出的结果误差最大,它的结果高估了实际的突变率,公式(2)比(1)精确,但公式(2)和(1)是基于后代隐性突变基因频率,而该频率的计算隐含了种群处在 Hardy-Weinberg 平衡这一假设,实际上自然界中,完全符合该平衡的种群是不存在的,因此这一假设给计算结果带来一定的误差,误差大小因与该平衡的符合程度而异,并且带来误差的方向(高估或低估)也不清楚。

公式(4)是在完全自交假设的前提下,而实际上秋茄并不是完全自交,相反是以杂交为主,自交率不到 0.2(表 1),因此根据公式(4)计算的结果要比实际的突变率高。而公式(5)又低估了实际突变率。因此两个秋茄种群的缺绿自然突变率的实际值分别为 0.000 59~0.002 93 和 0.000 80~0.004 43 之间。而公式(2)的计算结果处于这些值的中间。秋茄是以杂交为主的植物<sup>[2]</sup>,不同公式得到的突变率相差较大。在以自交为主的大红树(*Rhizophora mangle* L.)中,采用以上公式得到的结果很相近,尤以公式(5)最好<sup>[8]</sup>。

因此,根据以上分析,若种群以自交为主,以公式(5)给出的结果比较可信,建议使用该公式;在以杂交为主的情况下,公式(2)可能会给出更精确的突变率,但尚待进一步采用数学模型模拟后加以确认。为统一起见,建议在进行缺绿突变率计算时采用公式(5),该公式简单明了,精确度也较高。

### 参 考 文 献

- 1 Klekowski E J. Mutation rates in diploid annuals: are they immutable? *Int J Plant Sci*, 1992, 153: 462~465.
- 2 Evans D A, Paddock E F. Comparison of somatic crossing over frequency in *Nicotiana tabacum* and three crop species. *Can J Genet Cytol*, 1976, 7: 217~222.
- 3 陈小勇,林 鹏. 九龙江口南岸秋茄种群缺绿突变率和自交率. *厦门大学学报(自然科学版)*, 1997, 36: 287~292.
- 4 Chen X Y, Lin P, Lin Y M. Mating system and spontaneous mutation rates for chlorophyll-deficiency in populations of the mangrove *Kandelia candel* (L.) Druce. *Hereditas*, 1996, 125: 47~52.
- 5 Klekowski E J, Godfrey P J. Ageing and mutations in plants. *Nature*, 1989, 340: 389~391.
- 6 Lowenfeld R, Klekowski E J. Mangrove genetics, I. mating system and mutation rates of *Rhizophora mangle* in Florida and San Salvador Island, Bahamas. *Int J Plant Sci*, 1992, 153: 394~399.
- 7 Klekowski E J, Lowenfeld R, Hepler P K. Mangrove genetics, II. Outcrossing and lower spontaneous mutation rates in Puerto Rican *Rhizophora*. *Int J Plant Sci*, 1994, 155: 373~381.
- 8 Klekowski E J. Mutation rates in mangroves and other plants. *Genetica*, 1998, 102/103: 325~331.
- 9 Muller H J. Our load of mutations. *Am J Human Genet*, 1950, 2: 111~176.
- 10 Crow J R, Denniston C. Mutation in human populations. In: Harris H, Hirschhorn K eds. *Advances in Human Genetics*. New York: Plenum, 1986, 59~123.
- 11 Dellaert L M W. Dose response curves after irradiation of *Arabidopsis* seeds: a possible explanation for the saturation in mutant frequency at higher radiation dose. *Environ Exp Bot*, 1980, 20: 309~323.