



# 马铃薯新型栽培种 (*Neo-tuberosum*, *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*)

## 双单倍体产生 $2n$ 配子 突变体的研究(一)

肖增宽 陈伊里 于丽杰 李景华

(东北农学院)

### 摘 要

采用新型栽培种 (*Neo-tuberosum*,  $2n = 48$ ) 为亲本, 以 IVP<sub>35</sub> 作授粉者, 诱发孤雌生殖, 获得了 148 份双单倍体无性系, 从中筛选出能够产生 FDR 型  $2n$  配子无性系 16 份 (纺锤体平行并融合类型 11 份, 不联会突变型 5 份)。

由于双单倍体孕性低或败育, 以入选的 16 份双单倍体直接同 *S. tuberosum* 品系或品种杂交未能成功。

同类型 (A) 入选的双单倍体无性系的系内或系间授粉, 因配子体同型复等位基因作用产生的自交不亲和, 也没能得到实生种子, 而以产生  $2n$  配子的 *S. phureja* 品系的混合花粉授粉, 在 5 个组合中获得 25 个浆果, 共 825 粒杂交种子。

### 前 言

几年来, 我院利用产生 FDR 型  $2n$  配子的 *S. phureja* ( $2n = 24$ ) 的品系和引入的 W<sub>5295.7</sub> ( $2n = 24$ , *S. tuberosum* 双单倍体  $\times$  *S. phureja* 的二倍体杂种) 等材料, 与普通栽培种 (*S. tuberosum*) 及新型栽培种 (*Neo-tuberosum*) 杂交, 测定了它们的配合力, 考察了各种经济性状的表现, 其结果是: 杂种优势表现明显, 杂种后代群体主要经济性状较为整齐一致。但是, 在产量、商品薯率及抗病性等方面均不够理想<sup>[1-4]</sup>。试验结果与国内外报道都表明: *Neo-tuberosum* 的杂种后代, 表现杂种优

势强, 并具有对晚疫病的田间抗性<sup>[3-7]</sup>。据此, 如能利用新型栽培种诱导成双单倍体, 并从中筛选出产生 FDR 型  $2n$  配子的品系, 再与普通栽培种杂交, 其杂种后代可能优于 W<sub>5295.7</sub> 等的杂种后代。这样, 不仅能为常规育种工作提高优良单株入选率, 而且也将为利用实生种子生产种薯, 提供优良的品种资源。

Landeo 等<sup>[7,8]</sup> 虽曾进行过诱导 *S. tuberosum* ssp. *andigena* (原始短日照型) 产生双单倍体。但在世界马铃薯主产区的高纬度地区的国家 (包括中国) 尚少见有关利用适应长日照的 *S. tuberosum* ssp. *andigena* (即新型栽培种 *Neo-tuberosum*) 诱导双单倍体的报道。

## 材料与方 法

诱导孤雌的授粉者为 IVP<sub>35</sub>, 具有纯合的标记基因 BBPP。

供试亲本是经我院多次轮回选择、适应长日照条件的 *Neo-tuberosum* (以符号 A 代表) 的 4 个优良品系: A 2012、A 2016、A 2070 与 A 2086, 另以 *S. tuberosum* 的品种和品系(用符号 T 代表) T 8024、T 4022、T 8073、T 1059 及东农 303 品种作为对照。

为了克服双单倍体实生种子生活力弱, 在一般栽培条件下成苗率低的缺点, 利用改进的基础培养基培养双单倍体实生种子。培养基配方如表 1。出苗后移入细砂盘, 成苗时移入塑料钵于温室育苗, 4 月下旬转到冷床, 5 月下旬定植于田间。

表 2. 利用 IVP35 做授粉者对不同供试亲本诱导孤雌生殖的结果

供试亲本	授粉花数	浆果数	座果率 <sup>1)</sup>	种子总数	无胚点种子 <sup>3)</sup>	结实率 <sup>2)</sup>	无胚点种子/果	无胚点种子/100果	双单倍体数	双单倍体/100果	双单倍体/100朵
A 2012	689	63	9.26	490	375	7.78	5.95	55.10	113	179.4	16.6
A 2016	430	46	10.70	286	240	6.22	5.21	55.74	43	93.5	10.0
A 2070	926	33	3.57	115	88	3.48	2.67	9.53	29	87.9	3.1
A 2086	716	24	3.35	66	29	2.75	1.21	4.05	5	20.8	0.7
平均	638	41.5	6.03	239	183	5.76	4.41	26.6	47.5		
T 8024	1153	59	5.12	252	148	4.27	2.51	12.85	23	39.0	2.0
T 8073	330	4	1.21	13	5	3.25	1.25	1.51	1	25.0	0.3
T 4022	154	7	4.54	11	8	1.57	1.14	5.18	2	28.6	1.3
T 1059	322	15	4.66	25	20	1.67	1.33	6.20	1	6.7	0.3
东农 303	210	11	5.24	37	9	3.36	0.82	4.30	1	9.1	0.5
平均	433.8	19.2	4.43	67.6	38	3.52	1.98	8.77	5.6		

注: 1) 座果率为授粉 100 朵花所得浆果数;  
2) 结实率为每一个浆果内所含有的种子数;  
3) 无胚点种子数为剔除杂种实生苗后的修正值

从表 2 所列的统计数据可以看出, 新型栽培种品系的座果率、结实率及诱导率(双单倍体/100果、双单倍体/100花)的平均值或最高值, 都高于普通栽培种。而且同类型亲本间, 诱导频率差异也较显著, 如新型栽培种 A 2012 和 A 2016 优于 A 2070 和 A 2086, 普通栽培种 T 8024 又优于 T 8073 和东农 303

鉴定 2n 配子的方法为先镜检花粉粒大小, 然后进行花粉母细胞减数分裂观察及确定产生 2n 配子机制和类型分析<sup>(9-12)</sup>。

表 1. 改进的基础培养基配方

化合物	用药量 mg/L	化合物	用药量 mg/L
KNO <sub>3</sub>	475	Na <sub>2</sub> EDTA	9.3
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	412	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	6.7
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	110	蔗糖	1000
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	93	琼脂	6000
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	43	pH	6.0

## 结果与分析

1985 年对上述亲本进行诱导授粉, 1986 年春播种实生种子并对实生苗鉴定, 结果如表 2。

等。由此可见, 诱导孤雌生殖时, 选择适宜的亲本是很必要的。本试验中, 以 A 2012 与 A 2016 表现较好。

通过利用基础培养基培育双单倍性幼苗, 由无胚点种子获得 A 类型苗数共 453 株, T 类型 103 株, 列入表 3。

无胚点种子育的不能成苗, 主要原因

是: 个别种子胚和胚乳发育不良及致死基因影响。另外, 无胚点的也并非都是双单倍体种子, 出现了由 $2n$ 卵孤雌生殖产生的四倍体或因种胚标记性状不明显而漏检的四倍体杂种植株。所以, 必须对实生苗进行倍性鉴定, 剔除非双单倍体植株。

对经鉴定确认为双单倍体的实生苗或株系的主要工作, 则是筛选产生FDR型 $2n$ 配子材料。试验过程中发现, 有的双单倍体株系根本不现蕾。对现蕾开花的株系, 进行了 $2n$ 配子的有无和育性的鉴定, 结果如表4。

表 3. 无胚点种子发芽成活情况

亲本来源	无胚点种子数	发芽数	发芽率%	正常成活苗	成活苗/无胚点种子%
A2012	385	293	76.1	219	56.9
A2016	244	186	76.2	165	67.6
A2070	88	69	78.4	61	69.3
A2086	20	17	58.6	8	27.6
T8024	152	112	73.7	84	55.3
T8073	5	1	20.0	1	20.0
T4022	8	4	50.0	4	50.0
T1059	20	12	60.0	10	50.0
东农303	9	4	44.4	4	44.4

表 4. 双单倍体马铃薯开花情况鉴定

双单倍体的亲本	株系数	现蕾开放数	雄性可孕数	产生 $2n$ 配子株系
A2012	96	41	11	15
A2016	37	21	4	7
A2070	10	3	2	1
A2086	5	2	—	—
T8024	18	6	1	—

然后, 对产生 $2n$ 配子的双单倍体株系, 进行花粉母细胞减数分裂镜检。观察发现, 无论是不同类型亲本间还是同一类型的不同无性系间, 产生 $2n$ 配子的细胞学机制是不一样的。我们观察到表现为联会突变型(Sy-m、图版4)有A2012-1、A2012-9、A2012-53、A2016-25及A2070-7,共5份。此种类型除形成FDR型 $2n$ 配子外, 还可

能由于随染色体在后期I随机不均等分离, 产生非整倍配子(图版5、6、7); 后期II纺锤体平行并融合类型(PS、图版10、11、12)为16份, 即A2012系统的11份, A2016系统的5份。其中两极皆融合的, 产生两个 $2n$ 配子(图版11), 一极融合者则产生一个 $2n$ 配子和两个 $n$ 配子(图版12), 上述的 $2n$ 配子均为FDR类型; 末期I成熟前胞质分裂类型(PC<sub>1</sub>、图版8)3份; 前期II成熟前胞质分裂类型(PC<sub>2</sub>、图版9)3份。这两种类型形成的 $2n$ 配子, 为SDR类型。观察时还发现, 同一花药的不同母细胞间, 形成 $2n$ 花粉的机制也有所不同, 如A2012-76既有PS类型, 也有PC<sub>2</sub>类型, A2016-12也是如此。这表明,  $2n$ 配子形成的细胞学机制, 并非由同一对隐性基因所控制(表5)。

表 5.  $2n$ 配子形成的细胞学机制和 $2n$ 配子的类型

双单倍体株数	Sy-m	PS	PC <sub>1</sub>	PC <sub>2</sub>	$2n$ 配子的类型
D2012-1	+				FDR
D2012-9	+				FDR
D2012-21		+			FDR
D2012-22		+			FDR
D2012-23				+	SDR
D2012-24		+			FDR
D2012-28		+			FDR
D2012-32		+			FDR
D2012-37		+			FDR
D2012-53	+				FDR
D2012-56		+			FDR
D2012-73		+			FDR
D2012-76		+		+	FDR+SDR
D2012-101		+	+		FDR+SDR
D2012-106		+			FDR
D2012-98			+		SDR
D2016-12		+		+	FDR+SDR
D2016-21		+	+		FDR+SDR
D2016-24		+			FDR
D2016-25	+				FDR
D2016-30		+			FDR
D2016-32		+			FDR
D2070-7	+				FDR

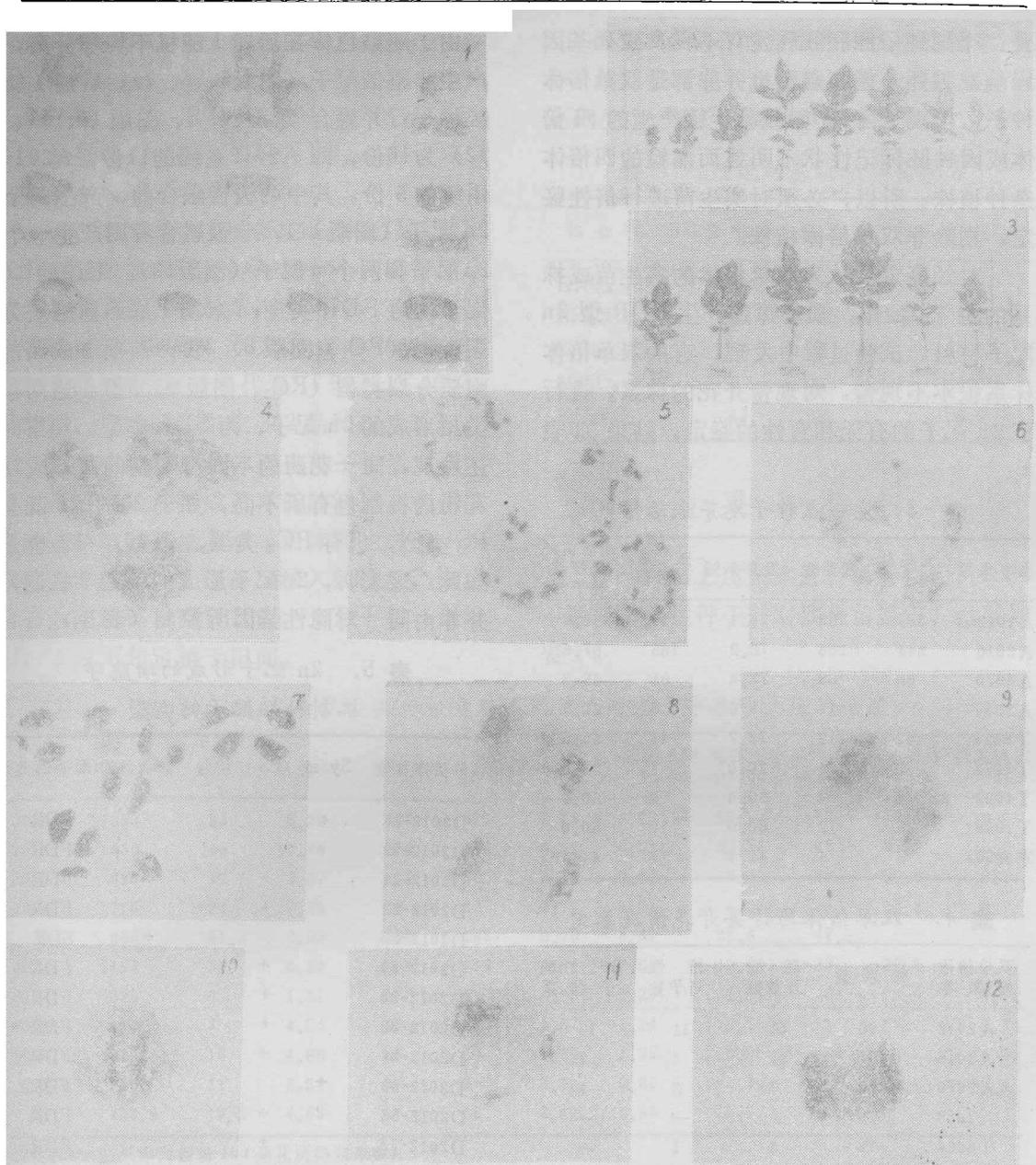


图 马铃薯新型栽培种双单倍体分离与 $2n$ 配子形成的细胞学机制

1. D2012及其双单倍体块茎分离;
- 2,3. D2012与T8024及其双单倍体叶型分离;
4. 不联会突变型(中期I);
5. 不联会型后I不均等分离;
6. 不均等分离后形成多核;
7. 不联会突变型产生的非整倍配子;
8. 末期成熟前胞质分裂( $PC_1$ );
9. 前期II成熟前胞质分裂( $PC_2$ );
10. 后期II纺锤体平行;
11. 末期II纺锤体平行并融合(PS);
12. 两个纺锤体一极融合(三极现象)

我们曾用筛选出的产生FDR型 $2n$ 配子双单倍体与东农303、克863及呼自77-28 ( $2n=48$ )杂交,期望得到 $4x \times 2x$ 杂种。但是,由于育性不良,都没得到浆果。育性鉴定结果表明,最好的株系A2012-22的可育性花粉只有45%左右,其余的均低于30%,直接利用受到了限制。

在上述杂交的同时,对入选的双单倍体株系也进行了育性改良。第一步措施是:利用单系或混系花粉进行系间授粉,先后三次均未得到种子。其原因主要是自交不亲和或花粉育性低。第二步改用产生 $2n$ 花粉的*S. phureja*不同品系的混合花粉授粉,则从5个无性系得到25个浆果,共计825粒种子,可供进一步研究(表6)。

表6. 对产生 $2n$ 配子的*Neo-tuberosum* 双单倍体的改良

母本	父本	浆果数	成熟种子粒数
D2012-9	<i>S. phureja</i>	2	89
D2012-22	<i>S. phureja</i>	8	461
D2012-106	<i>S. phureja</i>	2	54
D2012-16	<i>S. phureja</i>	4	49
D2012-32	<i>S. phureja</i>	9	172

试验过程中,对株型、薯性等也进行了必要的考察。总的来看,双单倍体系间分离幅度较大(图版1、2、3),这便于我们从中选出综合性状较为理想的无性系。

## 结 论

1. 利用 $IVP_{35}$ 作授粉者,诱导新型栽培种,获得了双单倍体,而且诱导频率高于普通栽培种。

2. 不同类型(A或T)及同一类型的不同亲本诱导频率不同。所以,选择优良的诱导亲本是必要的。本试验中以A2012与A2016为好。

3.  $2n$ 配子鉴定结果表明,新型栽培种的双单倍体,可以筛选出产生FDR类型 $2n$ 配子突变系,此次共选出16个无性系。

4. 获得的产生 $2n$ 配子突变系育性低或败育,直接配制 $4x \times 2x$ 杂种未得到实生种子,需加以改良。

5. 由于同型复等位基因作用,入选的A系间授粉未能结实,利用产生 $2n$ 配子的*S. phureja* ( $2n=24$ )品系混合花粉授粉,得到825粒种子,表明此种改良途径是可行的。

## 参 考 文 献

- [1] 李德纯、李景华:普通栽培种与新型栽培种配合力的研究,《东北农学院学报》,1982年,第3期。
- [2] 田兴亚、李景华:马铃薯栽培种四倍体与二倍体杂种配合力的研究,《东北农学院学报》,1982年第3期。
- [3] 肖志敏、李景华:近缘栽培种间杂种优势主要经济性状的配合力分析,东北农学院研究生学位论文。
- [4] 冉毅东、李景华:马铃薯近缘栽培种间杂种育种价值的估计,《马铃薯杂志》,1987年第2期。
- [5] Gkendingin: *Neo-tuberosum* and its potential value in breeding. *Potato Res.* 18(1975), 351-362.
- [6] Tai, De Jong: Analysis of tetraploid-diploid hybrids in potatoes. *American Potato Journal*, 53(1976), 396.
- [7] Landeo J.A.: Breeding potential of group *Andigena* haploid potato. *Potato Abstracts*, Vol. 7(1982), No.1,1
- [8] Landeo and Hanneman: Heterosis and combining ability of *Solanum tuberosum* group *andigena* haploids. *Potato Res.* 25(1982), 227-237.
- [9] Iwanaga, M.: Discovery of a synaptic mutant in potato haploids and its usefulness for potato breeding. *Appl. Genet.* (1984), 63, No. 112, 87-93.
- [10] De La Puente and Peloquin: Haploids of group *andigena*. *Amer. Potato J.* 51(1974), 278.
- [11] Ramanna, M.S. A re-examination of the mechanisms of  $2n$  gamete formation in potato and its implications for breeding. *Euphytica*, 28 (1979), 537-561.
- [12] Ramanna, M.S.: First division restitution gametes through fertile desynaptic mutants of potato. *Euphytica*, 32(1983), 337-350.

STUDY ON  $2n$  GAMETE MUTANTS OF DIHAPLOIDS  
DERIVED FROM *NEO-TUBEROSUM*, *SOLANUM*  
*TUBEROSUM* SSP. *ANDIGENA*

Xiao Zengkuan, Chen Yili, Yu Lijie and Li Jinghua  
(Northeast Agricultural College,  
Harbin, China)

ABSTRACT

One hundred and forty-eight dihaploids were derived from inter-matings between *Neo-tuberosum* clones and IVP35 which is known to be a good dihaploid inducer.

Sixteen  $2n$  gamete mutants, which produce  $2n$  gametes through parallel spindles and asynaptic mutant(11 and 5 mutants, respectively) were studied.

Both male and female fertility of *Andigena* and *Tuberosum* dihaploid were low or sterile. To contrast *Andigena* and *Tuberosum* dihaploid male fertility, *Andigena* dihaploids gave more fertile pollen than *Tuberosum* dihaploids. Five *Andigena* dihaploids ( $2n$  gamete mutant) gave more seed set, when crossed with *phureja* clones ( $2n$  gamete mutant) served as a male.

The seed germination and viability of dihaploid may be increased by means of MS medium culture.

The results indicated that the *Andigena* dihaploids and its  $2n$  gamete mutants will be more useful in the development of potato breeding.

本 刊 启 事

1988年, 本刊将通过邮局发行。邮局代号: 14—167。如错过时间, 仍可直接向本刊编辑部订阅。每期定价 0.80 元, 全年定价 3.20 元。请通过邮局将款寄到: 哈尔滨市香坊区东北农学院马铃薯杂志编辑部。

• 本刊编辑部 •