

中图分类号: S532, S330 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2005)06-0357-05

综 述

体细胞杂交技术在马铃薯遗传育种研究中的应用

袁华玲, 金黎平, 谢开云, 屈冬玉*

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要: 体细胞杂交技术是打破有性杂交不亲和障碍, 将野生种优良性状引入普通栽培种, 丰富马铃薯遗传基础, 创造新种质的有效手段。本文在原生质体的分离融合、融合体的筛选、杂种的鉴定等方面对马铃薯体细胞杂交技术进行综述的基础上, 介绍了近年来马铃薯体细胞杂交技术的研究进展, 并就体细胞杂交技术在马铃薯遗传研究育种上的应用进行了阐述。

关键词: 马铃薯; 体细胞杂交; 遗传育种

我国是马铃薯生产大国, 近年来生产面积和产量逐年上升, 但是生产上所用的马铃薯普通栽培种遗传基础比较狭窄, 存在着抗病抗逆性差、品质性状有待于提高等问题^[1]。在新品种选育过程中, 用遗传基础狭窄的普通栽培种进行种内杂交, 后代的遗传异质性差, 优势不明显, 难以选育出突破性的品种。此外在马铃薯普通栽培种中特别缺乏抗病和抗逆的基因, 因此丰富育种材料的遗传基础, 创造新种质资源是品种选育跨上新台阶的关键。

马铃薯的种质资源十分丰富, 国际马铃薯中心收集的马铃薯种质有 235 个种, 其中 74% 为野生种和近缘种, 在这些野生种和近缘种中存在着许多优良性状, 如抗病虫性、抗逆性, 优良品质等, 将这些基因引入马铃薯普通栽培种中, 丰富马铃薯普通栽培种中的遗传基础, 创造新的种质用于马铃薯品种改良有着重要意义。但是马铃薯普通栽培种是同源四倍体植物, 基因分离复杂, 具有丰富遗传基础的野生种质资源大多数是二倍体, 马铃薯普通栽培种与野生种杂交时存在着杂交不亲和性, 难以成

功, 限制了野生种质资源中优良基因的利用。通过体细胞杂交可以打破有性杂交不亲和障碍, 在近缘的种内或种间, 甚至远缘的科属间产生体细胞杂种, 扩大遗传变异范围。

1 马铃薯体细胞杂交技术的研究

1.1 原生质体的分离及融合

体细胞杂交第一步是分离有活力的原生质体并有效地再生出植株, 在许多的已发表的报道中, 引用较多的是 Shepard 等^[2], Binding 等^[3], Haberlach 等^[4]报道的原生质体分离和培养条件。所用的原生质体起始培养基、愈伤组织形成培养基、以及诱导分化培养基都是 MS、B₅、KM、VKM、V₄₇ 等基本培养基或略加修改, 有研究表明, 对外植体进行黑暗培养前处理有利于提高原生质体的产量, 基因型的不同对原生质体的再生能力有影响^[5]。

在已知的诱导原生质体融合的方法中, 最经常使用的是聚二乙二醇 (PEG) 诱导和电融合。在马铃薯体细胞研究早期, 较多采用 PEG 化学诱导方法进行细胞融合, 由于操作复杂, 技术性要求较高, 目前多采用电融合的方法。

1.2 融合体的筛选

原生质体融合目前还难以达到一对一特异性融合, 融合后的产物包括融合亲本以及同核体、异核体, 有必要通过选择将所需要的异核体筛选出来。已知的很多选择体系在马铃薯异核体的选择上均有

收稿日期: 2005-07-28

作者简介: 袁华玲 (1965-), 女, 博士研究生, 研究方向: 马铃薯体细胞杂交。

基金项目: 国家十五 863 "计划项目 马铃薯高效育种技术及优质高产多抗专用新品种选育" (2004AA241130) 资助; 国家十五 "863" 重大专项 优质抗病马铃薯倍性技术育种与利用" (2002AA207011) 资助。

* 通讯作者: E-mail: potatoif@yahoo.com

应用。对称杂交时大量选择异核体是根据亲本之一具有卡那霉素抗性^[6]、链霉素抗性^[7]、代谢类似物尿嘧啶抗性^[8]以及杂种具有杂交种生长优势等特性^[9]进行的。在进行体细胞不对称杂交时对原生质体进行辐射处理(γ X射线或紫外线), 或用碘乙酸处理(IOA) 可对融合形成的异核体进行筛选。适量的辐射处理(70~1000 Gy) 导致细胞中染色体片断化阻止细胞分裂^[10, 11], IOA 处理原生质体能够使胞质中的酶失活, 抑制胞质生长。对一个亲本进行辐射处理, 而另一个亲本用 IOA 处理, 只有异核体才能正常生长分裂, 通过这种方法可将异核体筛选出来。

流式细胞仪具有单细胞快速筛选、DNA 定量分析的优点, 可利用流式细胞仪进行体细胞杂种的筛选^[12]。但是流式细胞仪对总 DNA 的检测幅度在 8% 左右变动, 不能区分只丢失少量 DNA 的不对称杂种与真正的对称杂种, 因此尽管流式细胞仪测定的 DNA 总量与染色体数相关, 但也只能进行杂种的初步筛选, 为杂种的鉴定提供间接证据^[11]。

1.3 杂种的鉴定

在杂种的鉴定上, 早期仅进行形态方面和细胞染色体数的鉴定, 杂种植株的形态基本呈现中间类型或结合了双亲的性状, 染色体数的变异较大。后来同工酶谱分析也被用来鉴定体细胞杂种^[13, 14]。近年来随着生物技术的发展, 分子标记技术和原位杂交技术被用于杂种的鉴定和精细分析。RAPD 分子标记技术^[15-17]、SSR 分子标记技术^[12, 16]、RFLP 分子标记技术^[16, 18, 19]以及 AFLP 技术等杂种的鉴定上都有应用^[19]。亲缘关系较近的亲本融合体可用半随机 PCR 引物特异地扩增外显子与内含子连接处结合 DNA 序列来鉴定^[20]。也有利用亲本基因型对 DNase1 的敏感性不同来鉴定杂种的报道^[21]。

分子标记技术鉴定杂种具有速度快、效率高的特点, 不仅可对杂种的核基因组的来源进行分析鉴定, 还可以对胞质基因组的来源进行分析鉴定。线粒体和叶绿体鉴定可以通过 RFLP 标记分析线粒体 DNA 和叶绿体 DNA^[21, 22], 或使用胞质特异性探针和引物^[23-25]来鉴定杂种胞质组成。研究表明杂种中不同亲本来源的叶绿体和线粒体存在着不亲和现象, 有随机或偏向性的消减发生, 在 *Solanum tuberosum* 和 *S. sanctae-roseae* 杂种中大多数包含有 *S. tuberosum* 叶绿体和重组后的 *S. tuberosum* 线粒体^[16, 21], 用胞质特异 SSR 引物对 10 个 *S. tuberosum*

+*S. phureja* 体细胞杂交种植株的胞质组成进行分析, 发现 8 株具有 *S. phureja* 叶绿体 DNA, 只有 2 株具有 *S. tuberosum* 叶绿体 DNA。

马铃薯的染色体很小, 很难进行核型分析, 用于其它作物体细胞杂种鉴定的核型分析方法在马铃薯的杂种鉴定上效果不佳, 所以常用其他方法替代如分子标记 AFLP、RAPD^[6]。也可以用原位杂交 GISH 的方法鉴定染色体片断是否在杂种细胞中存在^[6]。

2 体细胞杂交技术在马铃薯遗传改良中的应用

马铃薯体细胞杂交技术在马铃薯遗传改良中应用, 目的是将与马铃薯栽培种杂交不亲和的马铃薯野生种或近缘种的某些优良性状导入到栽培种中, 这可以通过体细胞对称杂交和不对称杂交的方法而达到。此外, 由于所有栽培种马铃薯都是四倍体, 马铃薯育种中一个重要的育种方法—分解育种法是在双单倍体水平上对种质进行改良, 改良后的双单倍体种质需要合成具有两个双单倍体的优良特性, 恢复原来的倍性水平, 这可以通过体细胞对称杂交技术而达到。

2.1 抗病性的转移

利用体细胞杂交技术克服马铃薯野生种和近缘野生种与普通栽培种的生殖障碍, 将野生种和近缘野生种的抗真菌、抗细菌、抗病毒的特性引入普通栽培种, 提高栽培种的抗病性已有不少报道^[15, 16, 18, 22, 26-28]。在野生种 *S. bulbocastanum*^[20]、*S. pinnatisectum*^[22]和 *S. circaefolium*^[27]中存在的晚疫病抗性已通过体细胞杂交技术转移到与栽培种融合的杂种中。通过体细胞杂交技术获得了 *S. stenotomum*+*S. tuberosum*和 *S. phureja*+*S. tuberosum* 的抗青枯病的杂种植株^[12, 16]。此外, 利用体细胞杂交技术融合 *S. tuberosum* 和 *S. brevidens*, 部分体细胞杂种品系对马铃薯软腐病和早疫病均表现良好的抗性^[29]。有研究发现, 植株的抗病程度与亲本基因组的组成密切相关, Laurila^[30]利用体细胞杂交技术融合了 *S. tuberosum* 和 *S. acaule*, 杂种植株依据核基因组来自 *S. acaule* 成分的多少, 表现程度不同的耐环腐病特性。

利用体细胞杂交技术已将二倍体野生种 *S. brevidens* 对马铃薯卷叶病(PLRV)、Y 病毒(PVY)、X 病毒(PVX) 抗性转入到杂种中^[27, 31, 32]。

2.2 抗霜冻性的转移

S. commersonii 是野生种中表现耐低温的一个种, 能够耐-11.5℃, 而栽培种在-3.5℃条件下植株便死亡^[33], 利用体细胞杂交技术形成的 *S. tuberosum* 和 *S. commersonii* 杂种植株比亲本 *S. tuberosum* 抗霜冻^[34, 35]。

2.3 创造雄性不育新种质

马铃薯容易受多种病害侵染, 有些病害是不能通过种子进行传播扩散的, 为了利用这个特性, 有些体细胞杂交的目的是为了创造新的 CMS, 以应用于实生种子生产。Perl^[24]融合了 IOA 处理的 *S. tuberosum* 和 γ 辐射的原生质体 (有 *S. stoloniferum* 胞质), 杂种表现雄性不育。

2.4 利用体细胞杂种组成的多样性进行遗传研究

野生种一般含有较高的糖苷生物碱, 运用传统的杂交或体细胞杂交技术转移野生优良性状的同时常常将高糖苷生物碱这一不利性状转入栽培种中, 利用体细胞杂交技术培育的 *S. tuberosum*(+) *S. brevidens* 杂种植株及杂种花药培养形成的单倍体遗传组成多样性可以进行基因组组成与糖苷生物碱组成比关系的分析^[36, 37]。研究表明, 糖苷生物碱组成与基因组的组成关系密切, 由野生种所附带的高糖苷生物碱这一不利性状可以通过体细胞的再融合被消减。利用体细胞杂交获得的 *S. tuberosum*(+) *S. commersonii* 杂种, 还可以研究低温诱导下的 *S. commersonii* 谷胱甘肽-S 转移酶 (GST) 基因 *Scgst1* 在杂种和亲本中表达与耐冻性之间的关系^[38]。研究表明 *Scgst1* 基因转入 *S. tuberosum* 中不转录, 也不能使 *S. tuberosum* 具有和 *S. commersonii* 一样的耐冻性, 但是在杂种中 *Scgst1* 基因有适度表达, 并且表现中等耐冻性。Valkonen 等用一个对 PVX、PVY、PVA 具有过敏性抗性的普通栽培种品系与具有功能性抗性的能减缓病毒在细胞间移动速度的 *S. brevidens*, 利用体细胞融合技术形成杂种植株, 研究过敏性抗性和功能性抗性表达机制^[39], 研究表明亲本的两个不同抗病毒特性在杂种中均有所表达。

2.5 异附加系获代换系的创制

Dong 等^[40]利用马铃薯栽培种的双单倍体和 *S. brevidens* 的体细胞杂交所获得的可育杂交株, 与马铃薯栽培种的双单倍体回交, 结合 *S. brevidens* 的特征 RAPD 标记和原位杂交技术, 创制了 7 个单染色体异附加系 (染色体 1, 3, 4, 5, 8, 9),

为马铃薯的细胞学研究和 *S. brevidens* 抗性的渐渗转移提供了一个很好的材料。Tek 等^[29]利用体细胞杂交技术融合 *S. tuberosum* 和 *S. brevidens*, 分子标记和细胞学表明获得了 *S. tuberosum* 的 *S. brevidens* 8 号染色体代换系, 研究结果表明, 8 号染色体与马铃薯多种抗性有关。

3 问题和展望

体细胞杂交技术在马铃薯上的应用, 不仅可以打破野生种近缘野生种与普通栽培种之间的生殖障碍, 将马铃薯野生种近缘野生种中抗病虫性、抗病毒性等优良性状引入栽培中, 拓宽马铃薯普通栽培种的遗传基础, 还可以创造有价值的种质资源用于马铃薯遗传的研究。随着细胞生物学技术和分子生物学技术的发展, 体细胞杂交技术体系得到了较好的完善, 流式细胞仪的应用提高了杂种的筛选和鉴定效率, 原位杂交和分子标记技术的应用使人们对杂种基因组组成的了解成为可能, 并提高了杂种鉴定的速度和准确性。但是目前体细胞杂交技术在马铃薯上还存在一些问题:

融合的方法和技术还不够完善, 异源融合的频率不高, 还难以达到一对一的高效融合。还没有建立高效简便的杂种筛选体系。体细胞杂种在遗传上不稳定及大多数育性较低, 因此所获得的杂种在育种上的应用受到限制。今后应加强融合的方法和技术的研究, 提高一对一异源融合效率, 加强高效简便杂种筛选技术体系的研究, 同时还应对融合体核基因与核基因的互作、核基因与胞质基因的互作以及异源胞质基因的互作机理进行研究, 提高融合体的遗传稳定性。

综上所述, 体细胞杂交技术在马铃薯种质资源创新上有着重要地位, 利用体细胞杂交技术结合常规育种技术选育马铃薯新品种, 创造马铃薯有价值的遗传研究材料, 对马铃薯遗传育种工作有着重要的意义, 但是有必要在体细胞融合技术上以及杂种的改良等方面开展进一步的研究工作。

[参 考 文 献]

- [1] 孙慧生. 马铃薯育种学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [2] Shepard J F, R H Totten. Mesophyll cell protoplasts of potato: isolation, proliferation, and plant regeneration [J]. Plant Physiol, 1977, 60: 313-316.

- [3] Binding H, R Nehls, O Schieder, et al. Regeneration of mesophyll protoplasts isolated from dihaploid clones of *Solanum tuberosum* [J]. *Physiol Plant*, 1978, 43: 52- 54.
- [4] Haberlich G T, B A Cohen, M A Baer, et al. Isolation, culture and regeneration of protoplasts from potato and several related *Solanum* species [J]. *Plant Sci*, 1985, 39: 67- 74.
- [5] Wacław O, P Jarosław, Anna. Somatic hybrid of *Solanum tuberosum*- application to genetics and breeding [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2003, 74:1- 13.
- [6] Guri A, L J Dunbar, H Binding. Somatic hybridization between selected *Lycopersicon* and *Solanum* species [J]. *Plant Cell Rep*, 1991, 10: 76- 80.
- [7] Sidorov VA, D P Yevtushenko, A M Shakhovsky, et al. Cybrid production based on mutagenic inactivation of protoplasts and rescuing of mutant plastid in fusion products: potato with a plastom from *S. bulbocastanum* and *S. pinnatisectum* [J]. *Theor Appl Genet*, 1994, 88: 525- 529.
- [8] Gledzie S, W A Keller, G Setterfield. Production and characterization of somatic hybrids between *Solanum melongea* L. and *S. sisymbirifolium* Lam [J]. *Theor Appl Genet*, 1986, 71: 613- 621.
- [9] Polgar Z S, J Preisner, D Dudits, et al. Vigorous growth of fusion products allows highly efficient selection of interspecific potato somatic hybrids: molecular proofs [J]. *Plant Cell Rep*, 1993, 12: 399- 402.
- [10] Xu Y- S, E Pehu. RFLP analysis of asymmetric somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and irradiated *S. brevidens* [J]. *Theor Appl Genet*, 1993, 83: 225- 232.
- [11] Oberwalder B, B Ruob, L Schilde- Rentschler, et al. Asymmetric protoplast fusion between wild and cultivated species of potato (*Solanum* spp.)- detection asymmetric hybrids and genome elimination [J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 94: 1104- 1112.
- [12] Fock I, C Colloniera, J Luisetti, et al. Use of *Solanum stenotomum* for introduction of resistance to bacterial wilt in somatic hybrids of potato [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2001, 39: 899- 908.
- [13] Serraf I, D Shachakra, G Ducreux, et al. Interspecific somatic hybridization in potato by protoplast electrofusion [J]. *Plant Sci*, 1991, 76: 115- 126.
- [14] 司怀军, 戴朝曦. 马铃薯种间体细胞杂种植株的细胞学观察和过氧化物同工酶谱分析 [J]. *马铃薯杂志*, 1998, 12(4): 195- 199.
- [15] Szczerbakowa A, U Maciejewska, E Zimnoch- Guzowska, et al. Somatic hybrids *Solanum nigrum* (+) *S. tuberosum*: morphological assessment and verification of hybridity [J]. *Plant Cell Reports*, 2003, 21: 577- 584.
- [16] Fock I, C Collonnier, A Purwito, et al. Resistance to bacterial wilt in somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *Solanum phureja* [J]. *Plant Sci*, 2000, 160: 165- 176.
- [17] 蔡奎奎, 柳俊, 谢从华. 马铃薯栽培种与野生种叶肉细胞融合及体细胞杂种鉴定 [J]. *园艺学报*, 2004, 31(5): 623- 626.
- [18] Matthew D, J McNicoll, K Harding, et al. 5' Anchored simple- sequence repeat primers are useful for analyzing potato somatic hybrids [J]. *Plant Cell Rep*, 1999, 19: 210- 212.
- [19] Johnson A AT, S M Piovano, V Ravichandrain, et al. Selection of monoplasts for protoplast fusion and generation of intermonoplast somatic hybrids of potato [J]. *Am J Potato Res*, 2001, 78: 19- 29.
- [20] Przetakiewicz J, A Nadolska- Orczyk, W Orczyk. The use of RAPD and semi- random marker to verify somatic hybrids between diploid lines of *Solanum tuberosum* L. [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2002, 7: 671- 676.
- [21] Harding K, S Millam. Analysis of chromatin, nuclear DNA and organelle composition in somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *S. scaberrimum* [J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 101: 939- 947.
- [22] Gressel J, N Cohen, H Binding. Somatic hybridization an atrazine resistant biotype of *Solanum nigrum* with *Solanum tuberosum*. 2. Segregation of plastoms [J]. *Theor Appl Genet*, 1984, 76: 131- 134.
- [23] Sidorov V A, M K Zubko, A A Kuchko, et al. Somatic hybridization in potato: use of γ - irradiated protoplasts of *Solanum pinnatisectum* in genetic reconstruction [J]. *Theor Appl Genet*, 1987, 74: 364- 368.
- [24] Lüssl A, N Adler, R Horn, et al. Chondriome- type characterization of potato: mt α β γ δ and novel plastid- mitochondrial configurations in somatic hybrids [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 1- 10.
- [25] Perl A, D Aviv, E Galun. Protoplasts fusion derived CMS potato cybrids: potential seed- parents for hybrid, true- potato- seeds [J]. *J Hered*, 1990, 81: 438- 442.
- [26] Austin SE, M K Lojkowska, A Ehlenfeldt, et al. Fertile interspecific somatic hybrids of *Solanum*: A novel source of resistance to *Erwinia soft rot* [J]. *Phytopathology*, 1988, 78: 1216- 1200.
- [27] Pehu E, R W Gibson, M G K Jones, et al. Studies on the genetic basis of resistance to potato leaf roll virus, potato virus Y and potato virus X in *Solanum brevidens* using somatic hybrids of *Solanum brevidens* and *Solanum tuberosum* [J]. *Plant Sci*, 1990, 69: 95- 101.
- [28] Mattheij W M, K J Puite. Tetraploid potato hybrids through protoplast fusions and analysis of their performance in the field [J]. *Theor Appl Genet*, 1992, 83: 807- 812.
- [29] Tek A L, W R Stevenson, J P Helgeson, et al. Transfer of tuber soft rot and early blight resistances from *Solanum brevidens* into cultivated potato [J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 249- 254.
- [30] Laurila J, M C Metzler, C A Ishimaru, et al. Infection of plant material derived from *Solanum acaule* with *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*: temperature as a determining factor in immunity of *S. acaule* to bacterial ring rot [J]. *Plant Pathology*, 2003, 52: 496- 499.
- [31] Austin S, M A Baer, J P Helgeson. Transfer of resistance to potato leaf roll virus from *Solanum brevidens* into *Solanum tuberosum* by somatic fusion [J]. *Plant Sci*, 1985, 39: 75- 82.
- [32] Rokka V- M, J P T Valkonen, E Pehu. Production and characterization of haploids derived from somatic hybrids between *Solanum*

中图分类号: S532, S431.13 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2005)06-0361-05

马铃薯纺锤块茎类病毒 PSTVd) 的检测与防治研究进展

吕典秋

(黑龙江省农业科学院植物脱毒苗木研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘 要: 详细阐述了马铃薯类病毒 PSTVd) 鉴定技术的研究进展, 比较了几种鉴定技术(指示植物、往返电泳、核酸斑点杂交及 RT-PCR) 的优缺点, 并对类病毒的防治措施进行了论述。

关键词: 马铃薯纺锤块茎类病毒 PSTVd); 检测; 防治

马铃薯纺锤块茎类病毒(Potato spindle tuber viroid, PSTVd) 是由类病毒(Viroid) 引起的病害。类病毒是已知病原中最小的(246~463 nt)、单链高度结构化的、缺少蛋白外壳的 RNA 分子, 能在受侵染寄主植物中自我复制的环状 ssRNA 小分子。Schultz 和 Folsom^[1] 在关于此病报道中首次指出, 这种病具有传染性。Diener^[2] 首次提出类病毒(Viroid) 的概念。马铃薯纺锤块茎类病毒(PSTVd) 是危

害马铃薯产量和品质的主要病害。据报道, PSTVd 强系减产可达 60%, 弱系减产约 20%~35%^[3], 常造成较大经济损失。马铃薯类病毒是马铃薯种薯检疫规程中的主要检疫对象, 具有广泛的传播途径, 是唯一不能通过茎尖剥离、组织培养汰除而必须通过严格检测汰除的病害。

1 类病毒的鉴定

1.1 指示植物方法

自从马铃薯纺锤块茎类病毒被发现以来, 由于缺少适宜的指示植物和鉴定方法, 因此和同一时期发现的马铃薯病毒病相比, 研究进展相当缓慢。

收稿日期: 2005-05-10

基金项目: 国家科技部基础研究重大项目(2001CC02900)

作者简介: 吕典秋(1973-), 男, 助理研究员, 博士研究生, 主要从事马铃薯病毒、真菌、细菌病害检测及其分子生物学研究。

- brevi-dens and *S. tuberosum* through anther culture [J]. *Plant Sci*, 1995, 112: 85-95.
- [33] Chen H H, P H Li. Characterization of cold acclimation and deacclimation in tuber-bearing *Solanum* species [J]. *Plant Physiol*, 1980, 65: 1146-1148.
- [34] Cardi T, F D'Ambrosio, D Consoli, et al. Production of somatic hybrid between frost-tolerant *Solanum commersonii* and *S. tuberosum*: characterization of hybrid plants [J]. *Theor Appl Genet*, 1993, 99: 819-828.
- [35] Nyman M, S Waara. Characterization of somatic hybrid *Solanum tuberosum* and its frost-tolerant resistance relative *Solanum commersonii* [J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 1127-1132.
- [36] Laurila J, I Laakso, J P T Valkonen, et al. Formation of parental-type and novel glycoalkaloids in somatic hybrids between *Solanum brevidens* and *S. tuberosum* [J]. *Plant Sci*, 1996, 118: 145-165.

- [37] Laurila J, I Laakso, J Larkka, et al. The proportions of glycoalkaloid aglycones are dependent on the genome constitutions of interspecific hybrids between two *Solanum* species (*S. brevidens* and *S. tuberosum*) [J]. *Plant Sci*, 2001, 161: 677-683.
- [38] Seppanen M M, T Cardi, M B Hyökki, et al. Characterization and expression of cold-induced glutathione S-transferase in freezing tolerant *Solanum commersonii*, sensitive *S. tuberosum* and their interspecific somatic hybrids [J]. *Plant Sci*, 2000, 153: 125-133.
- [39] Valkonen J P T, V - M Rokka. Combination and expression of two virus resistance mechanisms in interspecific somatic hybrids of potato [J]. *Plant Sci*, 1998, 131: 85-94.
- [40] Dong F, A L Tek, A B Frasca, et al. Development and characterization of potato-*Solanum brevidens* chromosomal addition/substitution lines [J]. *Cytogenet Genome Res*, 2005, 109: 368-72.