

马铃薯新型栽培种 (Neo-tuberosum)

双单倍体杂种的研究

陈 峰 肖增宽 陈伊里 李景华

(东北农学院)

摘 要

利用马铃薯新型栽培种 (*Neo-tuberosum*, $2n=4x=48$) 的双单倍体 ($2n=2x=24$) 与 *S. phureja* ($2n=2x=24$) 杂交, 克服新型栽培种双单倍体雄性败育获得了成功, 鉴定结果表明, 杂种实生苗绝大多数保持了二倍性 ($2n=2x=24$); 实生苗可育株占总数78.36%。经减数分裂观察, 入选的17个DP优良单株系主要是SDR型 $2n$ 配子。为了选育出FDR型 $2n$ 配子突变系, 加强DP优系中的新型栽培种的遗传成分, 即以D2012-22 (SY-m型) 为母本, 以DP优系为父本配制了回交组合, 得到1000多粒种子, 供进一步研究利用。

1 前 言

1987年, 我们已报道了“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”[1], 结果表明, 由 *Neo-tuberosum* 诱导产生的 $2n$ 配子突变体 ($2n=2x=24$), 均表现雄性败育, 失去了直接利用价值。为了克服其雄性不育缺点, 我们参照 Peloquin (1975) 获得 *S. tuberosum* 双单倍体杂种W529.7的经验[3], 配制了新型栽培种双单倍体 ($2n=2x=24$, 产生 $2n$ 花粉) 与 *S. phureja* ($2n=2x=24$, 产生 $2n$ 花粉) 的杂交组合, 得到了杂交种子。

本次试验是前次报道的继续, 期望从 *Neo-tuberosum* 双单倍体 (简称D) $\times$ *S. phureja* (简称P) 的杂种后代 (简称DP) 中筛选出可育的FDR型的 $2n$ 花粉突变体[4]。现将结果报告如下。

reja (简称P) 的杂种后代 (简称DP) 中筛选出可育的FDR型的 $2n$ 花粉突变体[4]。现将结果报告如下。

2 材料与方法

1988年3月8日, 将下列组合 (简称DP) 的实生种子, 催芽后, 播种于温室的塑料盘中。

A: D2012-9 $\times$ *S. phureja*

B: D2012-15 $\times$ *S. phureja*

C: D2012-22 $\times$ *S. phureja*

D: D2016-12 $\times$ *S. phureja*

F: D2016-32 $\times$ *S. phureja*

4月10日单株栽植于塑料盆内。

5月10日, 利用最下叶片进行鉴定, 即根据叶下表皮气孔保卫细胞中叶绿粒的数目确

定倍性, 选择叶绿粒数目为10~14的双单倍体植株 ($2n=24$)。

5月27日, 将塑料盆中的实生苗移栽田间, 按组合顺序排列, 对每个单株用塑料盆标记, 株行距为25厘米 $\times$ 70厘米。所得双单倍体实生苗数目, DP_A 系统为28株, DP_B 为35株, DP_C 为324株, DP_D 为20株及 DP_E 为5株。田间管理同一般实生苗管理方法。

在现蕾开花期, 用甘油洋红染色法, 进行育性鉴定; 根据花粉粒大小初步鉴定有无 $2n$ 花粉。对产生 $2n$ 花粉植株进一步观察其花粉母细胞减数分裂过程, 判明其产生 $2n$ 花粉的细胞学机制, 同时对生育期间的抗病性等进行调查。

9月15日收获, 并进行单株考种。

1989年4月20日, 将上年收获的入选的优良DP单株, 按株行播种。现蕾开花期, 对花粉育性、 $2n$ 频率等进一步鉴定, 对其中生长势强、抗病性强、产生 $2n$ 花粉频率高的突变系, 配制了回交和杂交组合。

回交组合有:

$D_{2012-22} \times DP_{10}$, $D_{2012-22} \times DP_{29}$,

$D_{2012-22} \times DP_{12}$, $D_{2012-22} \times DP_{32}$,

$D_{2012-22} \times DP_{15}$, $D_{2012-22} \times DP_{34}$ 。

3 结果与分析

前次试验表明, 由 *Neo-tuberosum* (N_{2012} 和 N_{2016} , $2n=4x=48$) 所获得的双单倍体 D_{2012-9} , $D_{2012-15}$, $D_{2012-22}$, $D_{2016-12}$ 及 $D_{2016-32}$ 等, 均表现为花粉败育, 无论是不同双单倍体系间杂交, 还是以其为父本与四倍体的 *S. tuberosum* 杂交, 都未获得杂交种子。

其中 $D_{2012-22}$, 抗病性、株型、结薯习性、薯形, 都较理想, 又是FDR $2n$ 类型, 这些性状符合试验设计要求, 但其最大的弱点是花粉败育, 不能以其为父本进行 $2n \times 2x$ 或 $2x \times 2x$ 的遗传操作。

根据它们的上述特点, 我们设计本试验, 即以 $D_{2012-22}$ 等双单倍体为母本, 利用 *S. phureja* 产生 $2n$ 花粉 (EDR) 的优良品系为父本进行杂交。这种遗传操作, 不仅对育性进行了改良, 同时, 使杂种后代综合了 *Neo-tuberosum* 和 *S. phureja* 两个近缘种的血缘。以期获得基因库更为丰富且产生 $2n$ 配子的 $2n=2x=24$ 的杂种后代。

3.1 DP材料的倍性鉴定结果

由叶下表皮气孔的保卫细胞中叶绿粒数目对DP材料倍性鉴定的结果如表1。

表1 不同DP材料的倍性鉴定结果

组合代表	组 合		杂种株数	不同叶绿粒数的植株数		
	母 本	父 本		≈ 12	≈ 18	≈ 24
A	D_{2012-9}	<i>S. Phureja</i>	33	28	5	0
B	$D_{2012-15}$	<i>S. Phureja</i>	42	35	3	4
C	$D_{2012-22}$	<i>S. Phureja</i>	335	325	5	6
D	$D_{2016-12}$	<i>S. Phureja</i>	21	20	1	
E	$D_{2016-32}$	<i>S. Phureja</i>	8	5		3
总 计			439	413	14	13

从表1可以看出, DP实生苗多数是 $2n=2x=24$ 的类型, 即 $2x \times 2x=2x$, 这对双单倍体育性改良后, 保持双倍体染色体数目

$2n=2x$ 是很重要的。在杂种群体中, 也出现了 $3x$ 或 $4x$ 的类型。 $3x$ 类型是由 $2n$ 卵还是 $2n$ 花粉参与形成的, 有待于进一步研究。 $4x$ 类

型显然是2n卵与2n花粉共同作用的结果, 这对2n卵的开发应用将是一个很好的提示。

3.2 DP材料的育性

用醋酸洋红染色法对花粉育性进行鉴定, 可染花粉百分比大于60%的植株为可育株。对各组合的观察结果如表2。

表2 DP材料育性鉴定结果

组 合	株 数	可育株数	不育株数
A	33	26	7
B	42	25	17
C	335	276	59
D	21	12	9
E	8	5	3
总 计	439	344	95

表2 鉴定结果表明, DP后代绝大部分育性得到了恢复或改良。说明 D2012与 D2016的双单倍体, 因雄配子败育而不能利用, 可使其进一步与*S. phureja*杂交, 在保持其育性的前提下, 改善其育性。

表2 中资料还说明部分后代育性没有恢复或严重退化而被淘汰, 可见, 实生苗分离明显(由于杂交时用的是*S. phureja*混合花粉, 无法深入分析)。

表3 DP单株2n花粉鉴定结果

组合号	鉴定株数	有2n	>5%株数	无2n
A	18	8	2	10
B	27	2	1	25
C	189	89	37	100
D	6	2	0	4
E	3	1	1	2
总 计	243	102	41	141

3.3 2n配子频率与细胞学机制的鉴定

用花粉粒大小判断2n花粉的有无, 计算

2n花粉的百分数。观察花粉母细胞的减数分裂过程, 确定2n花粉的形成的细胞学机制。结果如表3。

从表3 中的统计结果能够看出, 产生低频2n花粉的植株数为102株, 占 $2n = 2x = 24$ 实生苗总株数112的24.76%; 而大于5%的为41株, 占2n花粉植株的28.67%, 占 $2n = 2x = 24$ 株数的10%。由此可见, 出现2n配子突变系的频率还是较高的。

DP后代中, 经鉴定141株未产生2n花粉。而它们的双亲都是产生2n配子频率较高的类型。这表明, 2n配子的形成不是由简单的隐性因子控制的, 基因型和基因间的互作较为复杂。为了得到高频率FDR类型的2n花粉突变体, 对DP材料形成2n配子的细胞学机制单株鉴定结果如表4。

表4 2n频率与形成机制统计结果

材 料	2n花粉频率%	细胞学机制	类 型
A ₁₇	7.0	PC ₁	SDR
A ₁₈	10.0	PC ₁	SDR
C ₂	5.0	PC ₁ , PS	混合型
C ₂₄	15.20	PC ₁	SDR
C ₄₇	10.0	PC ₁	SDR
C ₇₅	18.0	PC ₂	SDR
C ₇₇	16.8	PC ₁	SDR
C ₁₀₂	10.0	PC ₁	SDR
C ₁₂₂	10.5	PC ₁	SDR
C ₁₃₉	19.5	PC ₁ , PS	混合型
C ₁₅₀	13.0	PC ₁	SDR
C ₁₅₁	19.0	PS, PC ₁	混合型
C ₁₇₀	10.0	PC ₁	SDR
C ₁₉₀	13.5	PC ₂	SDR
C ₂₀₀	15.0	PS, PC ₁	混合型
B ₂₆₃	14.5	PC ₁	SDR
C ₂₅₀	15~10	PC ₁	SDR

表4 中17份材料, 大多数产生SDR型的花粉, 产生FDR 2n花粉只有4份且是混合

型,需进一步改良。在上述17份2n频率高的材料中,属DP_C系统的占15份,说明D2012—22是一个优良的亲本。

1988年,由于是实生苗单株,除去鉴定外,每株所得花粉很少,没有进一步配制杂交组合。

3.4 优良DP无性系的鉴定和利用

1989年,将上年入选的优良单株,按株

行播种,共计42个株系。其中DP₁₀(C250)、DP₁₂(C77)、DP₁₅(C139)、DP₂₉(C112)、DP₃₂(C122)及DP₃₄(C109)6份材料,在抗病性、株型、生长势、开花、育性、单株产量等性状表现好,是优良的2n配子突变系。

表5中列出了较优良DP无性系1989年的表现。DP₁₂和DP₃₂花期较早,育性也好,配制的回交组合结果均较好。

表5 DP优良无性系生育调查表

材料名称	现蕾期 日/月	开花期 日/月	花 色	株高 (cm)	抗 病 性	薯 形	结 薯 性	芽眼情况
DP ₁₀	18/6	6/7	白	68.6	健	卵圆	集中	芽眼浅
DP ₁₂	23/6	29/6	紫	72.8	健	卵圆	集中	芽眼浅
DP ₁₅	29/6	8/7	紫	83.2	健	卵圆	集中	芽眼较浅
DP ₂₉	24/6	30/6	紫	75.6	轻卷	长圆	集中	芽眼中
DP ₃₂	18/6	25/6	白	78.7	健	卵圆	集中	芽眼中
DP ₃₄	30/6	8/7	白	76.4	轻花叶	卵圆	集中	芽眼中

对上述6份材料,1989年的2n配子频率及细胞学机制的进一步鉴定与1988年鉴定结果相同,由于缺少FDR类型的突变系,将它们又与D2012—22进行了回交。回交的目的是想在DP系统中,加强*Neo-tuberosum*的血缘;转移FDR类型的细胞学形成机制于DP材料中;分析不同DP无性系对D2012—22育性改良效果;回交后代产生2n配子的频率和机制与DP亲本间的相关分析。

基于上述思想,1989年,配制了回交组合,即以D2012—22为母本,分别用DP₁₀, DP₁₂, DP₁₅, DP₂₉, DP₃₂及DP₃₄6份无性系的花粉授粉。其中3个组合D2012—22×DP₁₂, D2012—22×DP₃₂和D2012—22×DP₂₉得到了回交种子,种子数分别为382粒、746粒和84粒。

在配制回交组合的同时,又配制了杂交组合:*S. tuberosum*×DP,目的是观察*Neo-tuberosum*, *S. phureja*, *S. tuberosum* 3个近缘栽培种的杂种优势如何(2), 2n花粉参

与授精的能力大小,并希望获得遗传基础更丰富的单株,做为新的种质资源或育种材料。各种组合及杂交种子数目如表6。

表6 各组合的杂交种子数目

组 合	母本	父本	杂交种子数目
I	东农303	DP ₁₀	46
II	东农303	DP ₁₂	352
III	东农303	DP ₃₂	46
IV	东农303	DP ₃₄	305
V	S ₄₋₅₋₃₋₆₋₁₋₉₋₁₋₃₇	DP ₁₂	32

4 讨 论

a. 双单倍体杂种(DP)分析结果表明, D2012—22等双单倍体,虽然雄性败育,但雌配子发育和受精能力正常,无论在与*S. phureja*杂交或与DP优系的回交中,都有较高的结实率,这对D2012—22等双单倍体的进

一步改造和利用是较为有利的。

b. D₂₀₁₂₋₂₂的2n频率为30%以上, 而且是SY—m类型, 即FDR类型, 所用的*S. phureja*系也是产生FDR型2n配子的材料, 按理杂交后代全部或绝大多数应为产生FDR型2n配子的突变型, 但结果却不是这样, 绝大多数是SDR类型。这表明, 2n配子形成机制较为复杂, 因子间可能有互作发生。

c. DP优系虽然可产生10%以上的高频2n配子, 但多为SDR类型, 不符合杂种优势的实生种子制种的要求, 仍需进一步改良。我们又制订了回交方案, 即以DP优系为父本。D₂₀₁₂₋₂₂为母本进行回交, 这样, 既可以加强回交后代中新型栽培种的遗传成分, 又可以把D₂₀₁₂₋₂₂FDR型2n配子的遗传因子转移到回交后代中去, 逐步达到原试验设计的要求。

d. 在双单倍体育性改良过程中, 采用的是轮回选择方式, 即利用*S. phureja*混合花粉进行授粉, 这虽然有利于杂交种的获得, 但无法分析不同父本的改良效应。因此, 在回交组合配制时, 采用单一父本花粉授粉, 便于观察分析不同DP无性系对D₂₀₁₂₋₂₂的改良效应。

e. 尽管DP入选优系属SDR类型, 以普通栽培种“东农303”为母本配制了4x×2x杂交组合, 目的是: 综合3个亚种的遗传基因, 期望杂种后代有高优势的优良品系出现。同时, 也可以鉴定DP优系2n花粉参与受精的能力, 从得到的杂交种子来看, DP₁₂, DP₃₂和DP₂₀在4x×2x组合中, 2n花粉均有较高的结实率。

5 结 论

a. 通过本实验的分析, 以*S. phureja*产生2n花粉的优良单株为父本与雄性不育的新型栽培种双单倍体杂交, 进行育性改良的方

法是可行的。杂种后代育性鉴定结果表明, 可育植株占实生苗总数的78.36%。

b. 对17份优良的单株2n配子形成的细胞学机制观察结果表明, 几乎全部属于SDR型, 只有C₂, C₁₃₉与C₂₀₀伴有FDR型产生, 因此, 2n配子类型仍不符合试验设计要求, 需进一步改良。

c. 17份优良单株的2n配子频率都大于5%, 高的可达20%, 就2n配子频率来看, 有利用价值, 可用于4x—2x杂交育种进行选传操作。

d. 从D₂₀₁₂₋₂₂本身的优良的生育表现、抗病性、FDR型2n花粉形成机制、结薯性等, 表明它是一个优良的双单倍体品系, 在育性改良的5个双单倍体中, D₂₀₁₂₋₂₂各方面都表现优良, DP 17份优良单株中, D₂₀₁₂₋₂₂后代占15份。所以D₂₀₁₂₋₂₂是值得进一步研究和利用的优良双倍体无性系。

e. 总结D₂₀₁₂₋₂₂等双单倍体的诱导筛选及育性改良的过程, 结合*S. J. pelioquin*用普通栽培种双单倍体与*S. phureja*杂交, 获得产生2n花粉的W5295.7的经过, 可以看出, 无论是普通栽培种还是新型栽培种诱导获得的双单倍体, 均存在育性不良的问题, 需要用*S. phureja*与之杂交, 在杂交后代中进一步筛选鉴定所需类型。

f. 为了对DP优系的进一步改良, 用D₂₀₁₂₋₂₂为母本, 以DP优良无性系为父本进行回交, 获得了1000多粒种子, 待进一步研究其遗传动向。

参 考 文 献

- 1 肖增宽等, 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). 马铃薯杂志, 1987, 3: 1~5
- 2 肖志敏, 李景华, 马铃薯近缘栽培种间杂种主要经济性状的表现及配合力分析. 马铃薯杂志, 1989, 2: 69~72
- 3 Ross RW et al. Fertility of Hybrids from *Solanum phureja* and Haploid *S. tuberosum* matings.

Europ Potato J. 1964, 7: 81~89

2n Pollen Formation in Dihaploid Potatoes.

4 Mok DWS and Peloquin S J. Three Mechanisms of

Can J Genet Cytol, 1975, 17: 217~225

A STUDY ON HYBRIDS FROM NEO-TUBEROSUM DIHAPLOID × SOLANUM PHUREJA CROSS

Chen Feng, Xiao Zengkuan, Chen Yili and Li Jinghua

(Northeast Agricultural College, Harbin)

ABSTRACT

The hybrids (DP) were produced, using primary *Neo-tuberosum* dihaploids as female and *S. phureja* as male parents. The identification results indicated that most of the hybrid seedlings were diploid and the seedlings with fertile pollen were 78.36% of the seedlings tested. Most of 17 DP excellent clones selected formed 2n pollen by SLR based on meiotic observation. Back crosses were made, using D2012-22 (sy-m type), a primary *Neo-tuberosum* dihaploid as female and the DP excellent clones selected as male parents in order to obtain the clones producing 2n FDR pollen and enhance the genetic component of *Neo-tuberosum* in hybrids. More than 1 000 seeds, which can be used in future studies, were obtained.



《中国马铃薯主要品种彩色图谱》是受农业部全国种子总站的委托编写的, 由内蒙古农科院、内蒙古种子公司、黑龙江种子公司、东北农学院、国际马铃薯中心第八地区中心联合主编, 有全国20多位马铃薯育种栽培专家、种子专家参加编审。该书是我国目前唯一的马铃薯品种图谱专著, 收集了我国生产上广泛推广的国内品种和部分国外品种, 以及经过鉴定即将在生产上推广的新品种, 共计58个。对每个品种, 从品种来源、植物学特征、生物学特性以及栽培要点、适应范围和分布地区等几方面, 作了比较详细的说明, 并配有与文字说明相对照的彩色图片。书末还附有品种性状一览表。本书是我国马铃薯生产和科研工作必备的参考书, 可供从事马铃薯生产、教学和科研工作的人员以及广大农民参考。全书约5万字, 彩色插图69幅, 32开本, 由中国农业出版社出版, 由内蒙古马铃薯研究中心编辑部代售。本书定价16元, 现已开始出版发行, 需要本书者, 请向内蒙古马铃薯研究中心编辑室联系函购。每本加收书价10%的邮资费, 书款请从邮局汇, 注明详细通信地址, 以便邮寄。

地址: 内蒙古呼和浩特内蒙农科院马铃薯研究中心 唐洪明 收