

双单倍体马铃薯染色体加倍的方法

朱明凯 程天庆 高湘玲 宋伯符 吴绍岩 田翠萍

(中国农科院蔬菜研究所)

摘 要

本试验研究了马铃薯双单倍体(双单倍体是由四倍体栽培种花药培养产生的)植株加倍的两种方法。第一种方法:在MS培养基内附加NAA 0.1mg/l,而后加入秋水仙素 0.2mg/l,用马铃薯双单倍体植株切断接种。经过40天培养,获得了加倍的四倍体植株,加倍频率为63.6%。第二种方法:将马铃薯双单倍体植株的茎,接种在含有2.4-D 1mg/l,茶乙酸0.025mg/l,KT 2mg/l的MS培养基上,在产生愈伤组织后诱导出再生四倍体植株,加倍频率为22.3%。

前 言

双单倍体马铃薯加倍的方法,在国内外均很少报道,一般用的方法是在2片子叶之间生长点上放一小棉球,用0.2~0.3%秋水仙素水溶液每日滴1次,每次数滴,连续5天。Swaminathan (1951) 建议把种子放在消毒的培养皿内的秋水仙素——琼脂培养基中。列别杰娃 (1955) 把种子放在用0.5%或0.7%秋水仙素浸湿过的滤纸上使种子发芽,得到了加倍的植株。Pandey (1960)^[1]报道将0.3%的秋水仙素溶液连续3天滴在马铃薯幼苗2片子叶之间的生长点上,可使50%的植株加倍。Kawakami、Matsubayashi (1966)^[1]在开始萌发的马铃薯块芽眼上(1~2mm)放上棉花球,用0.2%秋水仙素溶液每日滴1次,每次滴几滴,连续5天,加倍频率为14%。我们在马铃薯上用的两种加倍方法未见报道。为了在

马铃薯单倍体中找到比较理想有效的加倍方法,使来源于马铃薯花药培养的双单倍体加倍成四倍体,利用已获得的马铃薯胚状体(双单倍体)植株进行了加倍试验。

材 料 和 方 法

材料:选用继代培养1年之久的京丰1号双单倍体的胚状试管苗。

方法:1.以MS为基本培养基,附加NAA 0.1mg/l,另外加入6种不同浓度的秋水仙素(对照不加秋水仙素)。将京丰1号双单倍体胚状体试管苗切段,分别接种到含有各种不同浓度秋水仙素的培养基上。培养室内温度为25~28℃。光照为2500Lux,培养40天后,把成舌的植株转到不含有秋水仙素的正常生长培养基上,待根长出后,利用根尖检查染色体数目。这6种处理分别是:

(1) MS+NAA 0.1mg/l+0.025mg/l
秋水仙素

- (2) MS+NAA 0.1mg/l+0.05mg/l
秋水仙素
- (3) MS+NAA 0.1mg/l+0.1mg/l
秋水仙素
- (4) MS+NAA 0.1mg/l+0.2mg/l
秋水仙素
- (5) MS+NAA 0.1mg/l+0.3mg/l
秋水仙素
- (6) MS+NAA 0.1mg/l+0.4mg/l
秋水仙素

为了查明各种处理的加倍效果, 处理前对马铃薯双单倍体植株进行了根尖染色体数检查。经过检查, 未处理的马铃薯双单倍体植株根尖的染色体数均为 $2n=2x=24$ 。

表 1. 秋水仙素对双单倍体幼苗的加倍效果

方 法	株 数	成活株植数	根 尖 数	细 胞 数 (个)	染 色 体 加 倍 数				
					2x		4x		
					株 数	%	株 数	%	
对照 (处理前)	3.3	33	236	1053	33	100			
秋水仙素浓度 (mg/l)	0.025	50	25	48	34	22	68.0	3	12.0
	0.05	50	33	60	147	28	84.9	5	15.1
	0.1	50	5	57	35	6	100	0	0
	0.2	50	11	69	55	4	36.4	7	63.6
	0.3	50	31	79	260	12	38.8	19	61.2
	0.4	50	24	64	172	15	62.5	9	37.5

从表 1 看出, 以 MS 为基本培养基与 6 种不同浓度的秋水仙素相配合, 除 0.1mg/l 浓度的没有加上倍之外 (与成活株数少有关), 其余均有不同程度的加倍效果, 并且 0.2~0.3mg/l 浓度的加倍率达到 63.6% 和 61.2%。尤其以 0.2% 浓度的加倍率最高, 此后随着秋水仙素浓度的增加, 加倍效果有下降的趋势。

2. 供试的马铃薯双单倍体小苗, 在进行加倍前检查细胞染色体数均为 $2n=2x=4$, 说明在 1 年多的转管培养中, 其倍性是

稳定的。再利用双单倍体植株的茎诱导产生愈伤组织, 促使染色体加倍。试验重复 2 次。以 MS 为基本培养基, 添加 2,4-D 1mg/l、NAA=0.025mg/l, KT 2mg/l 培养 40 天后, 诱导愈伤组织分化再生小植株, 培养室温度为 25~30°C, 光照每日 2500 Lux。

试 验 结 果

1. 在温度、处理时间一致的情况下, 以 MS 为基本培养基和不同浓度的秋水仙素相配合, 分别处理双单倍体植株。加倍效果见表 1。

稳定的。再利用双单倍体植株的茎, 通过诱导产生愈伤组织, 促使染色体加倍^[2]。结果见表 2。

从表 2 两次重复试验的结果来看, 第一次试验共检查 67 株, 染色体 $2n=2x=24$ 的 21 株, 占 31.3%; 非整倍体的 31 株, 占 46.4%; $2n=2x=48$ 的 15 株, 占 22.3%。第二次试验检查 34 株, $2n=2x=24$ 的 19 株, 占 55.9%; 非整倍体的 8 株, 占 23.5%; $2n=4x=48$ 的 7 株, 占 20.6%, 虽然加倍率在 20% 左右, 但仍看到了加倍效果。说明通过

表 2. 马铃薯花培双单倍体植株的茎诱导再生四倍体植株结果

方 法	观察株数	接种茎数 (个)	产生愈伤 组织数 (块)	每愈平均 出苗数 (株)	染 色 体 倍 数						
					2x		非整倍体		4x		
					株 数	%	株 数	%	株 数	%	
对照 (处理前)	33				33	100					
诱导结果	I	67	308	296	7.2	21	31.3	31	46.4	15	22.3
	II	34	170	193	7.1	19	55.9	8	23.5	7	20.6

调整培养基配方, 使双单倍体幼茎再培养而生成愈伤组织自然加倍的频率是较高的。

讨 论

1. 为了使单倍体小苗在试管培养过程加倍, 我们将秋水仙素加入 SM 基本培养基内, 这个方法比较简单易行, 减少了栽培过程中人工加倍的困难, 加倍效果比较理想。我们认为, 此法可以在马铃薯倍性研究上试用和推广。

2. 此方法虽得到较理想的加倍效果。但要考虑浓度和处理时间, 因为不同作物或品种要求的浓度和时间是不同的。初步认为: 在马铃薯加倍上, 采用 0.2~0.3mg/l 秋水仙素的浓度较为适宜。至于处理时间的长短, 因为我们只做了 40 天这一个处理, 究竟处理多长时间合适, 有待进一步研究。

3. 促使单倍体植株加倍成四倍体植

株, 目的在于从中获得纯合的马铃薯品系, 以提供具有理想遗传背景的材料。我们提供的双单倍体幼茎切段, 通过愈伤组织生成四倍体植株, 可能是一个有益的途径。此外, 双单倍体生活力弱, 有性繁殖比较困难, 而加倍后的四倍体则克服了这些弱点 有利于对某些经济性状进行直接或间接的利用。

4. 愈伤组织中的核内有丝分裂频率较高, 再生植株的加倍频率亦应相对提高。我们采用的由双单倍体植株的茎诱导愈伤组织, 再转移到分化培养基上, 使其形成植株, 正是有利于获得高频率的加倍效果。但现有的加倍效果还不够理想, 需进一步研究。

参 考 文 献

[1] [苏]B. B. 赫沃斯托娃, И. М. 雅什娜主编 (唐洪明等译); 《马铃薯遗传》, 149—153页。
[2] 孙立华等; 水稻单倍体植株体细胞的培养诱导二倍体植株, 《遗传》, 1982 (1): 9。

THE METHOD OF DOUBLING CHROMOSOME IN DIHAPLOID OF *SOLANUM TUBEROSUM*

Zhu Mingkai, Cheng Tianqing, Gao Xiangling,
Song Bofu, Wu Shaoyan and Tian Cuiping

(Vegetable Institute, Academy of Agricultural Science, China)

ABSTRACT

Two methods of doubling chromosome in dihaploid (2n=24) developed from anther culture of *S. tuberosum* (2n=48) were studied. First, NAA (continued on P. 4)

马铃薯花药与花粉粒发育的 细胞形态学研究

桂明珠

(东北农学院)

摘 要

为了更有效地通过有性杂交选育优良品种, 本文对马铃薯的雄性器官进行了系统的形态学观察: 1. 马铃薯花药的孢原组织为新月形排列, 成熟花药药室呈马蹄形。花药壁厚薄不均, 药室内壁与中层细胞无明显区分; 绒毡层为腺质型, 其来源有二: 外侧的来源于壁细胞, 内侧的来源于药隔组织, 并常有二型性。2. 马铃薯花药中的造孢细胞产生3~4层时, 进而变成小孢子母细胞。小孢子母细胞的减数分裂为同时型, 四分体多呈四面体型排列, 成熟花粉为2-细胞型。花粉圆球状, 具3孔沟, 花粉较小, 花粉量较大。3. 马铃薯花药的开裂, 以孔裂为主兼部分纵裂。孔口边缘表皮下有纤维层状(即具条纹状加厚的细胞壁)细胞。部分纵裂部位有裂口异形细胞。花药开裂前, 同侧两药室彼此勾通, 有利于散粉。

在马铃薯生产实践中, 利用有性繁殖的实生苗留种, 具有摒除病毒为害, 克服种薯退化的作用^[1]。通过杂交育种创造优良的马铃薯品种, 已成为主要的育种方法。因此, 掌握马铃薯雌、雄性器官的生长发育规律是十分必要的。

关于马铃薯雌、雄性器官的生长发育规律研究资料不多, 迄今国内尚未见系统报道。作者拟将有关马铃薯性器官的发育规律进行比较系统的观察, 为马铃薯生产及其有关科学研究提供依据。本文是对马铃薯雄性器官的研究结果。

材 料 与 方 法

试验于1984~1986年进行。在马铃薯开花期间, 选取大小不同的花蕾为材料, 立即放入卡尔诺(Carnoy's)固定液固定, 经24小时后, 用70%酒精换洗2次, 再放入70%酒精中保存。

采用石蜡切片法, 切片厚度8~12微米, 蕃红-固绿二重滴染和 Ehrlich 氏苏木精染色, 中性胶封片, OLYMPUS 产 BH-2 型研究用显微镜观察并显微照相。

(naphthalene acetic acid) 0.1mg/l and colchicine 0.2mg/l were added to MS medium, on which plant segments of dihaploid were inoculated. After 40 days, plants with chromosomes doubled ($2n=48$) were gained and doubling frequency was 63.6%. Second, stem segments of dihaploid were inoculated on MS medium in which 2,4-D 1mg/l, NAA 0.025mg/l and KT (Kinetin) 2.0mg/l were added. Doubled plants were derived from the callus preformed, and doubling frequency was 22.3%.