

# 自马铃薯二倍体栽培种(*Solanum phureja*) 自交后代中选育诱发高频率 双单倍体授粉者的研究

吕文河 李景华

(东北农学院)

## 摘 要

本试验采用了早春播种, 让其植株在冷凉的气候条件下开花, 并结合蕾期授粉的方法。克服了自交不亲合性, 获得了3000多粒 IVP35 (*S. Phureja*) 的自交种子。

1984年以东农303 (雄性不育) 作被测母本, 用 IVP35 各自交后代作授粉者所作的测交结果表明, 诱发单倍体的隐性基因不只1对, 因为 IVP35 自交后代单株无性系间诱发单倍体的频率有显著差异。

本试验还选育出了优良授粉者 NEA—P16 和 NEA—P19。按100个浆果中产生孤雌生殖的植株来计算, NEA—P16 和 NEA—P19 诱发孤雌生殖的频率分别为 IVP35 的2.66和2.48倍。

与优良授粉者的选育及孤雌生殖有关的问题在本论文中也进行了讨论。

## 前 言

E. B. 伊万诺夫斯卡娅于1939年首次发表了从杂种群体中发现了 *S. tuberosum* 双单倍体的报道<sup>[2]</sup>。Hougas 和 Peloguín (1957) 又利用 *S. phureja* 和普通马铃薯品种卡它丁 (Katahdin) 杂交获得了卡它丁的双单体<sup>[7]</sup>。随后, 许多国家沿用这种方法获得了许多栽培品种的双单倍体作为遗传育种材料。同时, 也选育了诱发双单倍体频率较高的授粉者。如 *Phureja* P1225682 的3个无性系 (1、13 和 22)。为了便于识别

双单倍体, Hermsen等(1973)又把 *Phureja* P1225702 无性系 2 ( $B^{db}dP_p$ ) 与 *Phureja* P1225682 无性系 22 ( $b^{db}dpp$ ) 杂交选育出一系列具有显性纯合胚点基因且诱发力又高的授粉者, 其中以 IVP35 和 IVP48 最为常用。关于 *S. phureja* 具有诱发孤雌生殖产生双单倍体的机能, 一些学者认为是质量遗传的, 涉及到1对或数对隐性基因<sup>[3-6, 8-10, 12]</sup>。本论文研究的主要目的是: 若控制诱发孤雌生殖的隐性基因不止1对, 并在 IVP35 中是杂合的, 就有可能在其自交后代中选育出诱发频率比 IVP35 更高的优良授粉者。

## 材料与方 法

### 一、供试材料来源

本试验所用IVP35是由荷兰的Hermsen等(1973)培育,属于*S. Phureja*。被测母本东农303是本院新育成的品种,属于*S. Tuberosum*,且雄性不育。

### 二、栽培管理条件

由于IVP35具有短日性,为了使它和其自交后代在短日照条件下正常结薯,本试验采用了短光照处理。自出苗后,每天用黑红布遮光12小时。东农303栽培管理水平如一般大田。但为了保证开花和避免落花、落果,加强了水肥管理。

### 三、花粉育性鉴定

本试验采取醋酸洋红鉴定花粉育性,用可染花粉占总花粉粒的百分数来表示。

### 四、试验中材料的编号

1983年把1982年所得的250粒IVP35自交种子播下,出苗161株(出苗率64%)。由于自交效应,分离出一些黄化苗,这样的植株或苗期死亡或不能结薯,收获时结薯株数为128株。贮存1冬后,1984年能播的单株数为102株。我们把它们编成NEA-P<sub>1</sub>至NEA-P<sub>102</sub>并于1984年和东农303杂交。

### 五、植株倍性鉴定

根据种子是否有胚点的杂交种子和无胚点的种子分开。由于种种原因,从无胚点种子得到的植株并非都是双单倍体。可根据叶片气孔保卫细胞中叶绿体的数目测出小苗倍性状态。最后采用植物染色体的常规压片技术对植物体细胞进行染色体观察<sup>(1)</sup>。

## 结果分析

### 一、IVP35(*S. Phureja*)自交种子的获得

IVP35(*S. Phureja*)为2倍体栽培种,具有配子体自交不亲合系统。在一般情况

下,是自交不亲合的。为了获得自交种子,本试验采用了早春温室盆栽。出苗后移至室外冷床,让其在气候冷凉条件下开花,并结合蕾期授粉法来克服自交不亲合性。从表1可以看出,早春播种,让植株在气候冷凉条件下开花,对克服IVP35(*S. Phureja*)的自交不亲合具有重要作用。于6月上旬开花并结合蕾期授粉效果最好。结果率可达11.32%,而7月份开花即使蕾期授粉也不结实。另外,这一点也可以从天然自交这一处理看出,4月17日和4月24日播种的IVP35各产生了1个浆果,而以后所播的IVP35则无天然结实现象。

从表1还可以看出,蕾期授粉对克服IVP35(*S. Phureja*)的自交不亲合也有一定的作用。6月5日~13日给花蕾授粉和给开放花授粉的结实率分别是11.32%和5.08%,而6月15~16日授粉的结果更明显,蕾期授粉的结果率是5.13%,而给开放花授粉则无结果。

表1. 让植株在气候寒冷的条件下开花并结合蕾期授粉对克服IVP35自交不亲合性的效果(1985)

处理	播种期 (月、日)	移出温室 时 (月、日)	授粉时期 (月、日)	授粉 花数	浆果数	结果率 (%)
蕾期授粉	4、17	5、1	6、5-6、13	53	6	11.32
	4、24	5、6	6、15-6、16	39	2	5.13
	4、28*		7、1-7、8	51	0	0
	5、14*		7、10	13	0	0
开放花授粉	4、17	5、1	6、5-6、13	59	3	5.08
	4、24	5、6	6、15-6、16	36	0	0
	4、28*		7、1-7、8	45	0	0
	5、14*		7、10	12	0	0
天然自交	4、17	5、1			1	
	4、24	5、6			1	
	4、28*				0	
	5、14*				0	

\* 直接播于冷床。

从以上分析可以看出,早期播种让植株在气候冷凉条件下开花并结合蕾期授粉,是克服IVP35(*S. Phureja*)自交不亲合的有效方法。用这种方法,我们于1982~1984年获得了3000多粒IVP35的自交种子。

## 二、从 IVP35 自交后代中进行优良授粉者的选育

优良授粉者必须具备 3 个基本条件: 花粉育性高, 具有显性纯合的胚点基因  $B^d B^d P P$ ; 诱发孤雌生殖的能力较高。表 2 所列的结果只是 1984 年于田间的杂交中的一部分。

(一) IVP35 自交后代各无性系花粉的育性及其与结实性的关系

花粉的可育性是优良授粉者的一个必备条件。用酸洋红染色鉴定花粉的育性表明: IVP35 自交后代由于自交效应, 各无性系花粉平均育性 54.42% (变异范围 8.90~90.16%), 要比 IVP35 花粉育性 81.75% 低。但是, 从个别无性系看, 某些无性系的花粉育性可以接近或略高于 IVP35 花粉育性。此外, 从花粉育性和结果率相关系数  $r = 0.0142$  (不显著) 来分析, 花粉的育性只要达到某个值以上, 对于结果率来说并不是一个限制因子。

(二) IVP35 自交后代各无性系的纯合显性胚点标记基因

由于 IVP35 具有显性纯合胚点标记基因  $B^d B^d P P$ ,  $P$  和  $B^d$  是不连锁、互补的 2 个基因。从理论上讲, 它的自交后代也同样具有  $B^d B^d P P$ , 不会出现分离。这一点可以从 IVP35 的自交后代中得以证实, 因为成熟的 IVP35 自交种子全部都带有胚点, 并且从这样的种子长出的植株都有显性遗传标记性状。

(三) IVP35 自交后代各无性系诱发孤雌生殖的频率

在衡量 IVP35 自交后代各无性系诱发孤雌生殖的频率时, 本试验用东农 303 (雄蕊不育) 作同一被测母本, 用杂交后每 100 个浆果中出现孤雌生殖的植株数来表示。从表 2 可以看出, 有些无性系诱发孤雌生殖的能力显著高于对照 IVP35, 而有些无性系诱

发孤雌生殖的能力则显著低于对照 IVP35。这说明, 在授粉者中控制诱发孤雌生殖的隐性基因不只 1 对, 并在 IVP35 中是杂合的。对各无性系的开花量、花粉量、花粉育性以及每 100 个浆果中产生孤雌生殖植株数加以综合考虑以后, NEA-P16 和 NEA-P19 综合性状较 IVP35 好。按每 100 个浆果中产生孤雌生殖的植株数计算, NEA-P16 和 NEA-P19 诱发孤雌生殖能力分别为对照 IVP35 的 2.66 和 2.48 倍。所以, NEA-P16 和 NEA-P19 可以在诱发孤雌生殖的工作中加以利用。

## 讨 论

一、和诱发孤雌生殖过程有关问题的讨论

(一) 某些组合授粉花数偏少的原因

在作测交时, 每个组合授粉的花数不同。这是由于 IVP35 自交后代实生苗结薯个数不同, 加上 *S. Phureja* 无休眠期, 经一冬的贮藏以后, 有很多无性系能插的块茎数只有 1、2 个, 导致被测各无性系的株数不同。另外, 每个无性系的开花量多少及花粉量多少也不一样。这就导致某些组合授粉花数偏少。但是, 从入选的 NEA-P16 和 NEA-P19 来看, 授粉花数超过 100 朵。

(二) 无胚点种子出苗率低的可能原因

在挑选无胚点种子时, 作者只选取了籽粒饱满的种子, 那些在水中漂起的种子和褐色的种子在计数时没计算在内。然而, 无胚点种子出苗率却很低, 只有 26.25% (63/240)。其可能原因是:

1. 种子只有胚乳而无胚。

2. 由于自 4 倍体诱导成为双单倍体使隐性致死和半致死基因暴露。

(三) 从无胚点种子生长出多倍体的原因

根据植株是否带授粉者的显性标记性状

表 2. 东农303和IVP35 (CK) 及其自交后代15个无性系的杂交结果 (1984)

被测母本	授粉者	花粉育性 (%)	授粉花数	浆果数	F/P* (%)	总籽粒数	S/b*	无胚点种子数	无胚点种子/果	带胚点种子出苗数	无胚点种子出苗数	无父本性状植株		有父本性状植株	100个家庭 中孤雌 生殖株 数
												二倍体	四倍体		
东农 303	IVP35(CK)	81.75	858	51	5.94	278	5.45	78	1.53	165	15	8	0	7	15.60
东农 303	NEA-P 2	85.48	224	34	15.18	554	16.29	41	1.21	406	10	0	1	9	2.94
东农 303	NEA-P 7	30.07	191	2	1.05	4	2.00	3	1.50	1	3	1	0	2	50
东农 303	NEA-P 14	34.32	48	3	6.25	58	12.67	8	2.67	18	2	1	0	1	33.33
东农 303	NEA-P 15	64.06	37	3	8.11	13	4.33	5	1.67	4	1	0	0	1	0
东农 303	NEA-P 16	56.88	388	12	3.09	51	4.25	24	2.00	20	6	4	3	1	41.67
东农 303	NEA-P 18	77.96	46	5	10.87	27	5.40	7	1.40	17	2	0	0	2	0
东农 303	NEA-P 19	41.37	233	18	7.73	81	4.50	32	1.78	38	11	3	4	4	38.89
东农 303	NEA-P 20	47.56	67	2	2.99	5	2.50	2	1.00	1	0	0	0	0	0
东农 303	NEA-P 25	8.95	9	1	11.11	2	2.00	1	1.00	1	1	0	1	0	100
东农 303	NEA-P 38	90.16	34	5	14.71	121	24.20	8	1.60	87	3	0	0	3	0
东农 303	NEA-P 41	8.90	13	3	23.08	43	14.33	1	0.33	35	0	0	0	0	0
东农 303	NEA-P 55	85.39	39	7	17.95	107	15.29	17	2.43	66	6	0	4	2	57.14
东农 303	NEA-P 90	62.81	345	4	1.16	23	5.75	6	1.50	16	2	1	1	0	50
东农 303	NEA-P 91	82.22	56	2	3.57	13	6.50	5	2.50	6	1	1	0	0	50
东农 303	NEA-P 99	40.17	22	1	4.55	2	2.00	2	2.00	0	0	0	0	0	0

注: \* F/P (%) 表示授粉一百朵花所得浆果数; S/b表示每一个浆果中种子的粒数。

可以把来源于无胚点种子的多倍体分2种类型。第1种类型是, 植株带有授粉者的显性标记性状, 这些植株可能来源于胚点表达得不清楚和胚发育不完全的杂种。第2种类型是, 植株不带授粉者的任何标记性状, 这些植株形态类似母本东农303, 可能起源于东农303,  $2n(4x)$  卵细胞向孤雌生殖。所以, 在计算诱发孤雌生殖的频率时, 应包括这第2种类型植株。此类型植株的利用价值尚待研究。

(四) 每浆果种子粒数与每100个浆果中出现孤雌生殖植株数的相关

每浆果种子粒数与每100个浆果中出现孤雌生殖植株数的相关系数为 $-0.2900$  (不显著)。说明二者无相关性。授粉后产生的杂种经鉴定绝大多数为4倍体。这样的4倍体杂种是由授粉者产生的 $2n$ 花粉和东农303产生的正常减数的卵细胞受精产生的。因为 $4x \times 2x$ 的杂交组合很难产生 $3x$ 杂种<sup>[11]</sup>, 每个浆果中种子的粒数主要依赖于授粉者产生 $2n$ 花粉的频率<sup>[13]</sup>。所以说, 授粉者诱发孤雌生殖的能力和其产生 $2n$ 花粉的能力无关, 即参与诱发孤雌生殖的是 $n$ 花粉而不是 $2n$ 花粉。

(五) 授粉者中 $2n$ 花粉的频率和结果率

的关系

授粉者中 $2n$ 花粉的频率虽然和诱发孤雌生殖的能力无关, 但是授粉者中有一定频率的 $2n$ 花粉确能提高座果率, 不致于使有孤雌生殖种子的浆果脱落。这点可从本试验中证实, 若把表2中IVP35自交后代各无性系按杂交后每浆果中种子粒数的多少武断划分的话, 每浆果中种子平均粒数多于10的有5个, 少于10的有10个, 它们的平均座果率分别是14.53%、3.59%, 前者是后者的4.05倍。

## 二、在马铃薯单倍体诱导中采用室内花枝水培技术的作用

为了探讨花枝水培技术在马铃薯单倍体诱导中的作用, 我们于1984年用东农303作被测母本, 用IVP35作授粉者, 在同一时期于田间和土豆窖内分别作杂交。从表3可以看出, 窖内杂交的座果率是田间的5.12倍。从诱导频率来看, 田间杂交和采用花枝水培技术杂交每100个浆果中出现孤雌生殖植株数分别为15.69和23.68, 后者为前者的1.51倍。从以上的对比结果可以看出, 采用花枝水培技术可使含有很少几粒种子的浆果不致于脱落, 提高座果率, 有利于孤雌生殖的诱导。

表3. 田间授粉和采用花枝水培技术授粉结果的比较 (1984)

授粉地点	授粉花数	浆果数	F/P* (%)	总籽粒数	S/b*	无胚点种子	无胚点种子/果	带胚点种子出苗数	无胚点种子出苗数	无父本性状植株		有父本性状植株	100个浆果中孤雌生殖植株数
										二倍体	四倍体		
田间	858	51	5.94	278	5.45	78	1.53	165	15	8	0	7	15.69
土豆窖	125	38	30.40	149	3.92	50	1.32	80	16	8	1	7	23.68

注: \*F/P(%)表示授粉100朵花所得浆果数; S/b表示每1个浆果中种子的粒数。

## 参 考 文 献

- [1] Breukelen, E. W. M. Van. pseudogamic production of dihaploids and monploids in *Solanum tuberosum* and some related species. Plant Breeding Abstracts. 1982, P 369.
- [2] Gabert, A. C. et al.: Haploid frequency in *Solanum tuberosum* following  $4x-2x$  mating:

superior "pollinator" and superior seed parents. Plant Breeding Abstracts. 1963, P. 426.

- [3] Gabert, A. C. et al.: Heritability of pollinator effect on haploid frequency in the common potato *Solanum tuberosum* L. Plant Breeding Abstracts. 1964, P. 442.
- [4] Gabert, A. C.: Factors influencing the frequency of haploids in the common potato (*Solanum*

- tuberosum* L.). Plant Breeding Abstracts. 1964 P. 736.
- [5] Hougas, R. W. et al.: haploid plant of the potato variety Katahdin. Nature, 1957, 180: 1209—1210.
- [6] Hougas, R. W. et al.: Haploids of the common potato. J. Hered. 1958, 49: 103—106.
- [7] Hougas, R. W. et al.: Effect of seed-parent and pollinator on frequency of haploids in *Solanum tuberosum*. Crop Sci. 1964, 41: 593—95.
- [8] Hermesen, J. G. et al.: Selection from *Solanum tuberosum* group *Phureja* of genotypes combining highfrequency haploid induction with homozygosity for embryo-spot. Euphytica, 22: 244—259.
- [9] Marks, G. E. The enigma of triploid potatoes. Euphytica. 1966, 15: 258—290.
- [10] Peloquin, S. J. et al.: Haploidy as a new approach to the cytogenetics and breeding of *Solanum tuberosum*. Chromosome Manipulations and Plant Genetics. 1966, 21—28.
- [11] Schroeder, S. H. et al.: Seed set in 4x x 2x crosses as related to 2n pollen frequency. American Potato Journal. 1983, 60: 527—536.

## STUDY ON SELECTING SUPERIOR POLLINATORS FROM SELFING PROGENIES OF *SOLANUM* *PHUREJA* WITH HIGHFREQUENCY OF HAPLOID INDUCTION

Lu wenhe Li jinghua

### ABSTRACT

It is well known that the cultivated diploid *Solanum phureja* is self-incompatibility. In order to overcome the self-incompatibility and obtain inbreeding true seeds from IVP35 (*S. Phureja*), the method of early planting and controlling the plants flowering in cool condition in combination with bud pollination was used in the experiment. The result indicated that this method was effective, more than 3000 inbreeding true seeds had been obtained during 1982—1984 by means of the method.

The results of the test crosses with NEA—P numbers made in 1984 on the cultivar NEA303 (male sterile) suggested that genes involved in haploid induction are more than one pairs of recessive gene, because there are significant difference in frequency of haploid induction among the NEA—P numbers.

The superior pollinators NEA—P16 and NEA—P19 had been selected. According to the number of parthenogenetic plants per 100 berries, the frequency of parthenogenesis induction of NEA—P16 and NEA—P19 was outnumbering IVP35 2.66 and 2.48 to 1.0 respectively.

Some problems related to selecting pollinators with high-frequency haploid induction and parthenogenesis were discussed.