

马铃薯单倍体诱导及在育种中的应用

刘文萍

(黑龙江省农科院生物技术研究中心, 哈尔滨 150086)

摘要: 马铃薯单倍体诱导在马铃薯育种实践中具有重要意义, 它包括孤雌生殖和花药培养等方法。简述了马铃薯单倍体诱导在育种中的应用现状和前景。

关键词: 马铃薯; 单倍体诱导; 育种

中图分类号: S 532.035.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2005)02-0052-03

Potato Haploid in Duction and It Application in Potato Breeding

LIU Wen ping

(Biotechnological Center of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086)

Abstract: Potato haploid induction has significant meaning in potato breeding, It includes parthenogenesis and anther culture methods. In this paper, the auther reviewed that situation and tendency of potato haploid induce in potato breeding.

Key words: potato; haploid induction; breeding

1 概述

马铃薯是同源四倍体, 而且是高度杂合体, 染色体重组频率高, 隐性基因表现频率低, 无论自交、回交都会产生分离, 优良的基因型可经无性繁殖随时固定。大多数重要的经济性状如产量、块茎大小、干物质含量、晚疫病田间抗性、含糖量、炸片颜色、薯条食味等一般受多基因控制, 并易受环境影响。同时, 现有马铃薯品种的遗传基础狭窄, 亲缘关系近, 后代的遗传变异停留在近交水平, 在四倍体上的常规杂交育种很难有大的突破。因此, 根据目前马铃薯育种方向和主要育种目标, 通过诱导获得马铃薯单倍体是马铃薯育种成功的关键^[1, 3]。

2 马铃薯单倍体诱导的意义

自然界的植物多数是二倍体, 其体细胞核中包

含两个相同的染色体组。但有些物种经过染色体的自然或人工加倍, 形成含有多个染色体组的多倍体。如果多倍体的各染色体组来自同一物种, 称为同源多倍体。在作物中无论是二倍体还是多倍体, 其正常配子细胞的染色体数都是体细胞的一半, 经人工诱导可发育成单倍体。通过单倍体途径选育新品种, 有其独特的优点。在马铃薯的遗传育种中, 单倍体诱导更具有显著的作用。

首先, 自然界中可利用的马铃薯野生种和近缘栽培种 75% 左右为二倍体^[2], 由于四倍体与二倍体种间杂交不亲合或杂交后产生不育的三倍体, 很难产生后代, 这就限制了野生种中优良基因在育种中的利用。由 Chase(1963)提出的育种方案, 即将四倍体降为二倍体, 在二倍体水平上进行杂交和选育,

* 收稿日期: 2004-04-03

作者简介: 刘文萍(1963-), 女, 副研究员, 从事植物细胞工程和马铃薯脱毒种薯的研究。Tel: 0451-86676104, E-mail: liuwenping63@163.com

- | | |
|--|--|
| [5] 施培新. 辐照农产品质量标准 and 监督体系建设[J]. 中国食物与营养, 2003, (6): 10-11. | [9] 江涛. 辐照与真空包装联合作用对即食食品货架期的影响[J]. 中国食品卫生杂志, 1996, 11(3): 3-5. |
| [6] 唐年鑫. 辐照畜禽肉类熟食品的工艺研究[J]. 核农学报, 2000, 14(6): 375-379. | [10] 杨宗渠. 低温肉制品辐照保鲜研究[J]. 食品科学, 2001, 22(9): 84-86. |
| [7] 傅俊杰. 调味品辐照灭菌技术的研究[J]. 浙江大学学报, 2000, 26(6): 593-596. | [11] 包建忠. 静态辐照加工产品质量控制[J]. 核农学报, 2002, 16(3): 152-15. |
| [8] 周其昌. 脱水蔬菜辐照灭菌保鲜研究[J]. 核农学通报, 1995, 16(6): 294-296. | [12] 邓钢桥. ⁶⁰ Co- γ 射线辐照对几种植物提取物有效成份的影响[J]. 激光生物学报, 2002, 11(5): 334-337. |

然后再经过染色体加倍, 使杂种恢复到四倍体水平。这种育种方法成功实现了野生种基因向普通栽培种的转育, 从而可以有效的利用野生种资源, 得到产量及其它性状优异的后代。这对于长期在栽培种中选择而使遗传变异相对变小、近交系数增大的马铃薯的遗传研究和品种选育, 具有很重要的意义。单倍体诱导是这种分析育种的前提和关键, 即先将四倍体降为二倍体。

其次, 通过马铃薯单倍体诱导, 从四倍体分离出双单倍体和单倍体, 有可能鉴定出有价值的四倍体的基因型。而利用二倍体或双单倍体进行杂交, 在二倍体水平分离, 可使隐性基因得以充分表达, 减少多基因性状的选择, 从而提高选择效率。

最新研究表明^[3], 复杂的数量性状可剖分为若干离散的孟德尔因子所决定的组分, 任何优良性状通常是一些组分的代表, 并需要用组合累加来巩固。对于品种所必须的优良数量性状要求稳定增长。而在二倍体水平完成杂交积累比四倍体要简单得多, 所需要的实生苗和世代数量也少得多。

对于马铃薯来说, 单倍体诱导还有其特殊的意义。单倍体的诱导和加倍, 能获得纯合的二倍体和四倍体。通过不同纯合四倍体之间的相互杂交, 可以获得不分离的杂种一代实生种子, 使马铃薯杂种优势的利用成为可能, 这对于用实生种子留种以解决品种的退化和种薯的调运, 节约能源和成本具有十分重要的意义。随着分子生物学和基因工程技术的发展, 分子标记、转基因操作、基因定位、基因克隆技术的应用日益广泛, 单倍体诱导技术将为上述研究提供实验材料和研究基础。利用单倍体诱导获得的纯合单倍体或二倍体, 在二倍体水平上操作, 可为分子标记提供可靠的群体, 同时在单倍体上进行基因定位和转基因可能要比在四倍体上容易得多。因此, 单倍体诱导技术在马铃薯的遗传育种和生物技术研究具有重要的理论意义与实践意义。

3 马铃薯单倍体诱导方法

3.1 利用孤雌生殖方法诱导单倍体

孤雌生殖诱导单倍体是利用在二倍体中发现的能产生 $2n$ 配子花粉的诱导者, 通过种间杂交, 诱导四倍体普通栽培种孤雌生殖产生双单倍体。Hougas 和 Peloquin 利用假受精方法首次获得马铃薯双单倍体, 此后 $2n$ 配子优良授粉者的研究和应用, 使大量获得马铃薯的双单倍体成为可能。

研究表明, 不同的四倍体亲本孤雌生殖诱导频率差异较大, 不同孤雌生殖诱导者的诱导频率也显

著不同, 环境条件也极大地影响诱导单倍体的频率^[4]。

在分析育种中, 双单倍体与二倍体野生种或近缘栽培种杂交产生二倍体杂种, 在二倍体水平进行选育和种质改良, 将存在于二倍体中的优良性状转育到普通四倍体栽培种中。其中二倍体种是遗传变异的来源, $2n$ 配子是将这种遗传变异转入四倍体普通栽培种中的桥梁, 而孤雌生殖诱导双单倍体是育种成功的关键。

3.2 利用花药培养方法诱导单倍体

利用花药培养的方法诱导单倍体, 可用于四倍体、二倍体或已经降倍的双单倍体, 获得双单倍体和单倍体。方法是诱导和培养外植体花药经由胚状体途径, 培育出再生幼苗。一般取单核中期到单核后期发育阶段的花药, 经过预处理和材料灭菌, 接种到培养基上进行组织培养。3~4 周后就可以由裂开的花药长出愈伤组织, 接着转移到分化培养基上, 分化出有正常根茎叶的再生植株, 移栽于灭菌的土壤中。

花药培养诱导马铃薯单倍体目的性较强, 方法简单、直接。在培养过程中, 可完成染色体鉴定和加倍等步骤。关键是克服基因型和环境条件对诱导率影响, 提高单倍体植株的再生频率, 从而提高单倍体诱导的效率。

4 马铃薯单倍体诱导在我国育种中应用

我国从 80 年代开始对孤雌生殖诱导单倍体和 $2n$ 配子形成机理进行研究。张家口坝上农科所和中国农科院蔬菜花卉研究所(1996)利用孤雌生殖诱导马铃薯双单倍体, 获得了 125 个双单倍体植株, 经选种场圃综合评价, 选出抗性优良、农艺性状好、产量指标优异、薯形整齐一致的双单倍体 10 份^[4]。中国农科院蔬菜花卉所获得了 HS196、QCE51-51-1 等综合农艺性状优良、 $2n$ 花粉频率高于 20% 的二倍体基因型 20 多份, 通过有性多倍化将 *S. stenotomum*、*S. phureja* 等二倍体种质资源转移到四倍体普通栽培种中, 获得了 TD41-5、TD38-2 等一批抗病、高淀粉的育种材料^[1], 实现了二倍体野生种优良基因向四倍体栽培种的成功转育, 既缩短了马铃薯的育种周期, 又提高了育种目标的选育效率。

我国的细胞工程研究发展较快, 马铃薯的花药培养在 80 年代初期就已经开始, 到目前为止, 关于马铃薯细胞工程诱导单倍体的研究已有不少研究报告。甘肃农大戴朝曦等(1982)以四倍体普通栽培种为材料, 用 MS 附加 2 mg/L 的 NAA、1 mg/L 的 2,

4-D 和 0.5 mg/L 的 KT 以及 0.3% 的活性炭和 5% 马铃薯块茎提取液的培养基培养单核期的花药, 在接种的 20 720 枚花药中, 共诱导出愈伤组织 204 块, 胚状体和胚性细胞团 27 个, 小植株的诱导率为 1.35%^[9]。到目前为止, 已从 30 余个基因型诱导出了大量双单倍体植株, 胚状体的诱导率由过去的千分之几提高到 27% 以上^[9]。朱明凯等(1985)培养早熟四倍体栽培种的花药发现, 以胚状体诱导成苗比愈伤组织诱导成苗率高。从愈伤组织分化出的苗有混倍体、双单倍体和四倍体, 而从胚状体诱导成苗均为双单倍体^[7]。在马铃薯花药培养中, 低温预处理、高温前处理、培养基中添加一定浓度的硝酸银均可提高花药培养再生植株的频率^[8~10]。

我国的华中农大、甘肃农大、中国农科院蔬菜花卉所等先后开展了马铃薯花药培养研究, 大多数都是由普通四倍体栽培种诱导双单倍体植株, 也有一些由双单倍体植株和二倍体野生种诱导一单倍体植株的报道。

戴朝曦等(1998)用已获得的优良双单倍体与南美优良二倍体野生种等进行杂交, 选出优良二倍体杂种, 然后再通过组织培养二步法使染色体加倍, 恢复到四倍体水平, 获得了一些优良品系^[6]。

5 展望

我国是世界上马铃薯生产第一大国, 种植面积为 470 多万 hm^2 , 总产约占世界的 1/5。由于营养丰富, 增产潜力大, 马铃薯的单位面积效益远远高于小麦、大豆等粮食作物, 加之马铃薯用途广泛, 因此在种植业结构调整中占有重要地位^[11]。在过去的 60 多年中, 通过品种改良全国共育成 190 多个新品种^[1], 取得了巨大成就。但由于长期以来强调高产抗病育种, 忽略品质和其它用途育种, 导致各种专用型品种奇缺, 不能满足淀粉加工、快餐食品、鲜薯出口和机械化栽培的需要。专家预测, 到 2010 年甚至到下世纪中叶, 中国马铃薯育种将仍以常规方法为主, 但倍性育种和生物工程育种将越来越受到重视并取得巨大的作用。所以, 在加强杂交育种的同时, 应进一步广泛开展单倍体诱导和倍性育种的研究, 二者有机结合, 快速培育出市场急需的、高水平的专用马铃薯新品种。

参考文献:

- [1] 金黎平, 屈冬玉, 谢开云, 等. 我国马铃薯种质资源和育种技术研究进展[J]. 种子, 2003, 5: 98-100.
- [2] 吕文河, 梁吉利. 马铃薯 4x×2x 杂种无性一代产量及产量性状

的表现[J]. 马铃薯杂志, 1997, 11(3): 138-143.

- [3] 李克莱. 马铃薯育种方法研究进展(一)[J]. 内蒙古大学学报, 2000, 31(3): 333-337.
- [4] 张希近, 庞万福, 高占旺, 等. 孤雌生殖诱导马铃薯双单倍体的遗传操作技术[J]. 杂粮作物, 1997, (4): 33-35.
- [5] 戴朝曦. 用花药培养法诱导马铃薯产生双单倍体植株的研究[J]. 科学通报, 1982, 27(24): 1529-1532.
- [6] 戴朝曦, 冉毅东, 王清, 等. 细胞工程技术在马铃薯育种中应用的研究[J]. 遗传, 1998, 20(增): 39-42.
- [7] 朱明凯, 程天庆, 高湘玲, 等. 早熟马铃薯四倍体栽培种花药诱导成株[J]. 园艺学报, 1985, 12(3): 177-180.
- [8] 戴朝曦, 于品华, 王蒂, 等. 用花药培养法培育马铃薯双单倍体植株的研究 II. 几个因素对诱导结果的影响[J]. 马铃薯, 1985, (1): 15.
- [9] 王蒂, 冉毅东, 戴朝曦. 马铃薯花药培养中高温前处理的作用及不同基因型的反应[J]. 马铃薯杂志, 1990, 4(3): 139-143.
- [10] 冉毅东, 戴朝曦. 马铃薯花药硝酸银对诱导双单倍体及一单倍体的效果[J]. 西北农业学报, 1993, 2(4): 43-47.
- [11] 孙惠生, 杨元军. 中国马铃薯种薯生产[A]. 陈伊里. 中国马铃薯研究与产业开发[C]. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社, 2003: 1-9.

农业信息

黑龙江省农科院玉米研究所高产育种室新品种简介

龙单 27(龙 409)

龙单 27 杂交种在哈尔滨市生育日数 104d 左右, 需活动积温 2 200℃左右; 苗期生长健壮, 发苗较快; 株高 245 cm, 穗位高 100 cm。产量潜力 600 kg/667m² 以上, 比对照品种海玉 4 号增产 15% 以上, 表现出较好的高产稳产性。高抗玉米大、小斑病、丝黑穗病、黑粉病和青枯病, 秆强不倒伏、活秆成熟; 并具有较好的生态适应性和抗逆性、耐瘠性。子粒为中齿型、金黄色, 容重 751g/L, 商品品质好。适合在我省第三积温带种植。

龙单 28

龙单 28 在哈尔滨市从出苗到成熟生育日数 104d 左右, 需活动积温 2 200℃左右; 苗期生长健壮, 发苗较快。该杂交种株高 270cm, 穗位高 75cm; 产量潜力 560 kg/667m² 以上, 比对照品种海玉 4 号增产 10%, 具有较好的高产稳产性, 同时龙单 28 淀粉含量高达 74% 以上, 是早熟高淀粉玉米品种; 子粒为马齿型、黄色, 容重 765 g/L, 商品品质好; 龙单 28 抗玉米大斑病、丝黑穗病, 耐玉米青枯病和黑粉病, 耐旱性较强, 活秆成熟。适合在我省第三积温带种植。

龙青 1 号

龙青 1 号是青贮玉米专用品种。从出苗到青贮玉米采收期(蜡熟期)需有效积温 2 500~2 550℃, 需生育期 115 d 左右; 株高 290 cm, 穗位高 120 cm, 植株茎粗 3.5 cm 左右, 叶片/茎秆比为 65% 以上, 叶片上部上冲, 属半紧凑型品种, 在种植密度 6 万株/hm² 条件下, 生物产量为 80 t/hm² 左右。植株全株风干样品品质分析结果: 粗蛋白 7.78%, 粗脂肪 2.44%, 粗纤维 18.43%, 总糖 8.74%。该组合抗玉米大、小斑病, 高抗丝黑穗病, 青枯病, 在合理种植密度下植株茎秆强壮、不倒伏, 适宜采收期植株全株叶片青绿, 无黄叶, 植株繁茂。适宜种植密度 6 万株/hm² 左右。适合黑龙江省第二积温带作为青贮玉米品种使用。

单位: 黑龙江省农业科学院玉米研究所高产育种室
联系电话: 0451-86681220, 86642896