



3 个马铃薯杂种优良株系的核型及 SSR 分析

张自强¹, 于肖夏¹, 鞠天华², 于卓^{1*}, 蒙美莲¹, 王丹¹, 姜超¹, 崔阔澍¹

(1 内蒙古农业大学 农学院, 呼和浩特 010019; 2 赤峰天泽生物科技有限公司, 内蒙古赤峰 025457)

摘要: 为明确‘费乌瑞它’×‘陇薯 3 号’杂种 F₁ 优良无性株系 A1 和 A3 及‘费乌瑞它’×J07-6 杂种 F₁ 优良无性株系 C2 在染色体及 DNA 水平上的遗传差异, 利用根尖染色体制片技术和 SSR 分子标记技术, 对这 3 个优良株系的核型及 SSR 指纹特征进行分析。结果表明: (1) 株系 A1、A3 和 C2 均为四倍体 (2n=4x=48), 其核型类型分别为 2B、1B 和 1A; 株系 A1 和 A3 核型公式均为 2n=4x=48=36m+12sm, C2 核型公式为 2n=4x=48=48m。(2) 利用筛选出的 10 对 SSR 适宜引物 PCR 扩增得到 50 个多态性位点, 多态性位点百分率为 79.37%。(3) 建立了 3 个马铃薯杂种优良株系及其亲本的 SSR 指纹图, 并以遗传距离(GD 值)0.45 为基准, 将 6 个材料分为 3 类: 母本‘费乌瑞它’、株系 A1 和父本‘陇薯 3 号’聚为一类, 株系 A3 和 C2 聚为另一类, 父本 J07-6 单独列为一类。

关键词: 马铃薯; 杂种优良株系; 染色体; 核型; SSR 分析

中图分类号: Q343.2⁺2; Q346⁺.5 **文献标志码:** A

Karyotype and SSR Analysis of 3 Potato Hybrid Lines

ZHANG Ziqiang¹, YU Xiaoxia¹, JU Tianhua², YU Zhuo^{1*},
MENG Meilian¹, WANG Dan¹, JIANG Chao¹, CUI Kuoshu¹

(1 Agronomy College, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, China; 2 Tianze Bio-Technique Co. Ltd, Chifeng, Inner Mongolia 025457, China)

Abstract: To identify the genetic differences among hybrid lines A1 and A3 derived from a cross of ‘Favorita’×‘Longshu 3’, and hybrid line C2 from a cross of ‘Favorita’×J07-6 in chromosome and DNA level, we analyzed their karyotype and SSR fingerprint characteristics using root tip chromosome technology and SSR molecular marker technology. The result showed that: (1) Hybrid line A1, A3 and C2 were tetraploid (2n=4x=48), with karyotype type of 2B, 1B and 1A, respectively. The karyotype formula of A1 and A3 were 2n=4x=48=36m+12sm and 2n=4x=48=48m, respectively. (2) A total of 50 polymorphic loci were amplified using the 10 suitable SSR primer pairs, accounting for 79.37% of all the amplified loci. (3) The SSR fingerprints of the 3 hybrid lines and their parents were established, which provided a basis for the identification of the hybrid lines and their parents at DNA level. The materials were classified into three categories based on genetic distance(GD) value of 0.45: mother favorite, hybrid line A1 and father ‘Longshu 3’ as a category, hybrid line A3 and C2 as a category, and father J07-6 as a category.

Key words: potato; hybrid lines; chromosome; karyotype; SSR analysis

马铃薯作为重要的粮、菜、饲兼用和工业原料作物, 在中国粮食生产和农村经济发展中占有举足轻重的地位^[1]。目前, 国内外马铃薯新品种选育主要

采用有性杂交方法, 获得杂种实生苗, 进而选择符合目标性状的优良株系用无性繁殖方式固定其杂种优势。内蒙古是中国重要的马铃薯生产基地之一, 目

收稿日期: 2014-03-14; 修改稿收到日期: 2014-05-01

基金项目: 国家科技支撑计划(2012BAD02B05); 内蒙古自然科学基金重大项目(2013ZD03); 内蒙古马铃薯产业发展重大技术集成创新与示范项目(20131706); 国家现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-10-P17)

作者简介: 张自强(1984—), 男, 在读博士研究生, 主要从事马铃薯遗传育种研究。E-mail: hnzhangziqiang@163.com

* 通信作者: 于卓, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事马铃薯及饲用作物遗传育种研究。E-mail: yuzhuo58@sina.com

前生产上栽培品种主要是国内育成品种‘克新 1 号’及国外引进的‘费乌瑞它’、‘夏坡地’,但这些品种退化严重^[2-5]。因此,亟待培育抗病性和适应性强的马铃薯优良品种。近几年来,为选育抗病性强、优质高产且生育期合适的马铃薯新品种,根据生态型差异大、优缺点互补的亲本组配原则,将品质好、早熟、产量及商品薯率高的马铃薯‘费乌瑞它’(Favorita, $2n=4x=48$)作母本,分别以抗黑痣病能力强、适应性广、维生素 C 含量高的日本引进材料 J07-6 ($2n=4x=48$)和抗旱性较强、淀粉含量高的国内育成品种‘陇薯 3 号’(Longshu 3, $2n=4x=48$)^[6-8]作父本,通过人工授粉杂交,成功获得‘费乌瑞它’×‘陇薯 3 号’和‘费乌瑞它’×J07-6 等 2 个杂交组合的杂交种,并经田间选择及 SSR 分子标记鉴定,从‘费乌瑞它’×‘陇薯 3 号’杂种 F₁ 群体中得到 2 个优良株系 A1 和 A3,从‘费乌瑞它’×J07-6 杂种 F₁ 群体中得到 1 个优良株系 C2^[9],关于 3 个优良株系的染色体及 DNA 指纹特征目前尚未见有研究报道。本试验以亲本为对照,拟对这 3 个优良株系的染色体核型及 SSR 指纹特征进行分析,以期马铃薯新品种的育成及其鉴定提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

材料为‘费乌瑞它’×‘陇薯 3 号’的杂交种 F₁ 优良无性株系四代的 A1 和 A3,‘费乌瑞它’×J07-6 杂交种 F₁ 优良无性株系四代 C2,以及亲本‘费乌瑞它’、‘陇薯 3 号’和 J07-6。各材料均由内蒙古农业大学马铃薯育种研究中心提供。

1.2 研究方法

1.2.1 根尖细胞的处理及染色体制片 将各供试材料薯块埋入湿润的细沙中,室温下生根。待侧根长至 2~3 cm 时,选取幼嫩的根尖约 1 cm 放入装有蒸馏水的 10 mL 试管中,置于 0 °C 冰水混合物中处理 24 h。取出根尖放在卡诺液中固定 18~24 h。将固定好的根尖清水洗净后浸入 1 mol/L 盐酸中,60 °C 恒温下解离 10~20 min,根尖清洗后置于 4 °C 冰箱备用。

取 2 mm 左右根尖置于载玻片上,用卡宝品红染色制片,Olympus BX-51 高倍显微镜下观察、统计染色体数目,选择分散相良好的染色体照相。

1.2.2 染色体核型分析 依据李懋学^[10-11]提出的标准,选取 120 个以上染色体分散良好的分裂中期细胞,统计各材料的染色体数目。对具有完整染色

体组($2n=4x=48$)且分散良好的染色体图片测量长臂和短臂长度,并记录有无随体,计算染色体相对长度、平均臂比、核型不对称系数、着丝粒指数、臂比 >2 的比率、最长/最短染色体,按照 Levan 等^[12]提出的标准命名系统和 Stebbins^[13]的核型分类标准进行核型分析。根据染色体相对长度绘制核型模式图,每种材料用 20 个细胞进行核型分析。

1.2.3 DNA 的提取与检测 在苗期剪取各供试马铃薯材料单株的幼嫩叶片,用北京天根生化科技有限公司生产的植物基因组试剂盒提取 DNA,1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 纯度后,稀释至 50 ng/ μ L 置 -20 °C 冰箱中保存备用。

1.2.4 SSR 扩增体系及 PCR 反应程序 扩增反应体系为 10×Buffer 2.0 μ L, Mg²⁺ 2.4 μ L (1.5 mmol·L⁻¹), dNTPs 1.4 μ L (0.225 mmol·L⁻¹), Taq DNA 聚合酶 0.1 μ L, 模板 DNA 1.0 μ L, 引物各 1.0 μ L (0.5 μ mol·L⁻¹), ddH₂O 11.1 μ L。

PCR 反应程序:在 Eppendorf Mastercycler 5331-PCR 仪上,94 °C 预变性 4 min,1 个循环;94 °C 变性 30 s,56 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 90 s,共 34 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min,1 个循环。扩增反应结束后,待 PCR 管冷却至室温,每个反应体系中加入 6.0 μ L 的变性缓冲液,94 °C 变性处理 5 min 后迅速取出冰浴冷却。

1.2.5 聚丙烯酰胺凝胶电泳及银染检测 扩增产物在 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳,上样量为 5 μ L 变性后的扩增产物,电泳约 1.5 h。将胶板用蒸馏水漂洗 1 次,在染色液中银染 15 min,取出蒸馏水中速漂,放入显影溶液中显影,直至条带清晰后用蒸馏水漂洗 2 min,自然风干后扫描^[14]。

1.2.6 SSR 适宜引物筛选 本试验利用 NCBI 网站公布 68 对马铃薯 SSR 特异性引物,委托上海生物工程合成碱基序列,从中选出 PCR 扩增条带清晰、重复性好、多态性丰富的 10 对 SSR 适宜引物用于进一步分析(表 1)。

1.2.7 SSR 多态性位点统计 根据多态性扩增位点的有无统计 SSR 等位基因,采用 0/1 赋值法,即在等位位点上出现条带记为“1”,无条带记为“0”,按片段从大到小的顺序记录,建立“0”、“1”型二元数据矩阵,并计算以下相关遗传系数^[15]:

(1)多态性位点百分率(简称 P) $P = (K/N) \times 100\%$,其中, K 为扩增出的多态性位点数目, N 为扩增出的位点总数。

(2)计算各供试材料的遗传相似系数与遗传距

表 1 SSR 分析所用的引物及其碱基序列

Table 1 Primers and their nucleotide sequences used in SSR analysis

引物名称 Primer name	正向引物 Forward primer	反向引物 Reversed primer
S7	5'-GACTGGCTGACCCTGAACTC-3'	5'-GACAAAATTACAGGAAGTCAAA-3'
S148	5'-CAGCAAAATCAGAACCCG AT-3'	5'-GGATCATCAAATTCACCGCT-3'
S170	5'-CGCAAATCTTCATCCGATTC-3'	5'-TCCGGCGGATAAATACTTGTT-3'
S174	5'-TGAGGGTTTTTCAGAAAGGGA-3'	5'-CATCCTTGCAACAACCTCCT-3'
S184	5'-TCATCACAAACGTGACCCCA-3'	5'-GGGCTTGAATGATGTGAAGCTC-3'
SSR59(4)	5'-TTCGTTGAAGAAGATGATGGT C-3'	5'-CAAAGAGGGCAAGCATCCAAGA-3'
STACCAS	5'-AATTCATGTTTGCGGTACGTC-3'	5'-ATGCAGAAAGATGTCAAAATTGA-3'
st1051	5'-GGTCTCCATTAGCCCTCTGAG-3'	5'-ACATAAATGGATCACACA-3'
STM1049	5'-CTACCAGTTTGTGATTGTGGTG-3'	5'-AGGGACTTTAAT TTGTTGGACG-3'
STM2022	5'-GCGTCAGCGATTTCAGTACTA-3'	5'-TTCAGTCAACTCCTGTTGCG-3'

离,遗传相似系数 $GS = 2N_{ij} / (N_i + N_j)$, 其中, N_{ij} 是指材料 i 和材料 j 共有的片段数目, $N_i + N_j$ 指在 2 个材料中出现的片段数目之和。遗传距离 $GD = 1 - GS$ 。根据类平均聚类法 (UPGMA), 应用 DPS V8.01 软件进行聚类分析^[16]。

2 结果与分析

2.1 3 个杂种株系的根尖细胞染色体数目及核型

3 个马铃薯杂种优良株系及其亲本根尖细胞中, 四倍体细胞比例在 92.42%~95.52% 之间, 占绝对优势, 表明 3 个杂种优良株系均为四倍体, 染色体数目稳定 (表 2)。

各供试材料染色体的基本参数和核型如表 3~4 和图 1 所示。优良株系 A1 的第 4、第 6 和第 12 组染色体为 sm 型, 而优良株系 A3 的第 1、第 4 和第 6 组染色体为 sm 型, 其余均为 m 型染色体, 这与其亲本‘费乌瑞它’和‘陇薯 3 号’的染色体有一定差异, 表明染色体形态发生一定的变异。株系 A3 染色体组相对长度变幅大于其双亲, 在 6.63%~15.97% 之间; 株系 A1 的染色体组相对长度介于双亲之间, 变幅在 5.41%~12.10% 之间。

株系 A1 和 A3 的最长染色体与最短染色体的

比值分别为 2.24 和 2.41, 平均臂比分别为 1.57 和 1.48, 不对称系数分别为 60.82% 和 59.96%, 均高于其亲本。株系 A1 为 2B 核型, 与母本‘费乌瑞它’相同; 而株系 A3 为 1B 核型, 不同于双亲。

杂交组合‘费乌瑞它’×J07-6 的杂种株系 C2 的染色体类型均为 m 型, 与其父本一致。其染色体组相对长度变幅在 6.48%~12.18% 之间, 最长染色体与最短染色体的比值为 1.88, 平均臂比为 1.41, 均介于双亲之间; 不对称系数为 58.52%, 高于双亲。其核型与父本一致, 均为 1A。

2.2 SSR 扩增结果

利用筛选出的 10 对 SSR 引物对 6 个马铃薯材料基因组的 NDA 进行 PCR 扩增, 共得到 63 个条清晰、稳定的 SSR 位点, 平均每个引物扩增出 6.3 个位点, 其中多态性位点 50 个, 多态性位点百分率为 79.37%, 表明供试材料的 SSR 多态性丰富 (表 5)。在 10 对引物中, 以引物 S174 扩增的位点最多, 为 11 个; 引物 S170 扩增的位点最少, 为 4 个。各供试材料的 SSR 指纹图差异明显 (图 2), 每对引物都能将各供试材料清晰地区分开来, 这为马铃薯杂种优良株系的鉴定及新品种育成利用提供了重要的 DNA 分子依据。

表 2 3 个杂种株系及其亲本的根尖染色体数目及倍性

Table 2 Chromosome number and ploidy of the 3 hybrid lines and their parents

材料 Material	观察细胞总数 Cell No.	缺体细胞 Nullisomic (2n=44~47)	四倍体细胞 Tetraploid (2n=4x=48)	四倍体细胞比例 Proportion of tetraploid cells/%	倍性 Ploidy
株系 A1 Hybrid line A1	132	10	122	92.42	四倍体 Tetraploid
株系 A3 Hybrid line A3	140	9	131	93.57	四倍体 Tetraploid
株系 C2 Hybrid line C2	139	11	128	92.09	四倍体 Tetraploid
费乌瑞它 Favorita	134	6	128	95.52	四倍体 Tetraploid
J07-6	129	7	122	94.57	四倍体 Tetraploid
陇薯 3 号 Longshu 3	130	9	121	93.08	四倍体 Tetraploid

表 3 杂种株系及亲本的染色体参数

Table 3 The parameters of the chromosomes of hybrid lines and their parents

材料 Material	序号 No.	相对长度 Relative length/%	臂比 Arm ratio	类型 Type	序号 No.	相对长度 Relative length/%	臂比 Arm ratio	类型 Type
株系 A1 Hybrid line A1	1	5.12+6.98=12.10	1.36	m	7	3.42+4.96=8.38	1.45	m
	2	4.13+6.58=10.71	1.59	m	8	2.97+4.68=7.65	1.58	m
	3	4.54+6.43=10.97	1.42	m	9	2.67+3.89=6.56	1.46	m
	4	2.85+5.99=8.84	2.10	sm	10	2.43+3.52=5.95	1.45	m
	5	3.98+5.97=9.95	1.50	m	11	2.45+3.47=5.92	1.42	m
	6	3.21+5.78=8.99	1.80	sm	12	1.97+3.44=5.41	1.75	sm
株系 A3 Hybrid line A3	1	5.76+10.21=15.97	1.77	sm	7	5.67+6.98=12.65	1.23	m
	2	6.12+9.22=15.34	1.51	m	8	5.57+6.98=12.55	1.25	m
	3	5.64+9.17=14.81	1.63	m	9	3.67+4.97=8.64	1.35	m
	4	4.87+9.24=14.11	1.91	sm	10	2.97+4.48=7.45	1.51	m
	5	5.62+8.53=14.15	1.52	m	11	3.78+3.83=7.61	1.01	m
	6	4.45+7.99=12.44	1.80	sm	12	2.87+3.76=6.63	1.31	m
株系 C2 Hybrid line C2	1	4.76+7.42=12.18	1.56	m	7	3.86+4.57=8.43	1.18	m
	2	4.17+6.45=10.62	1.55	m	8	2.87+4.24=7.11	1.48	m
	3	3.65+5.87=9.52	1.61	m	9	2.67+4.31=6.98	1.61	m
	4	4.32+5.68=10.00	1.31	m	10	3.14+4.23=7.37	1.35	m
	5	4.56+5.67=10.23	1.24	m	11	2.85+3.91=6.76	1.37	m
	6	3.43+4.62=8.05	1.35	m	12	2.75+3.73=6.48	1.23	m
费乌瑞它 Favorita	1	4.48+8.96=13.44	2.00	sm	7	3.42+4.57=7.99	1.34	m
	2	4.24+7.87=12.11	1.85	sm	8	2.57+4.53=7.10	1.76	sm
	3	4.52+6.37=10.89	1.41	m	9	4.12+4.47=8.59	1.08	m
	4	4.95+6.26=11.21	1.26	m	10	3.42+4.26=7.68	1.25	m
	5	3.92+5.67=9.59	1.45	m	11	3.55+3.99=7.54	1.12	m
	6	4.87+5.14=10.01	1.06	m	12	3.37+3.91=7.28	1.16	m
陇薯 3 号 Longshu 3	1	4.03+7.28=11.31	1.81	sm	7	4.05+4.28=8.33	1.06	m
	2	4.56+5.78=10.34	1.27	m	8	3.26+3.98=7.24	1.22	m
	3	4.43+5.26=9.69	1.19	m	9	2.97+3.85=6.82	1.30	m
	4	3.62+5.19=8.81	1.43	m	10	3.42+3.79=7.21	1.11	m
	5	4.17+4.94=9.11	1.18	m	11	2.64+3.62=6.26	1.37	m
	6	2.97+4.45=7.42	1.50	m	12	2.42+3.57=5.99	1.48	m
J07-6	1	4.67+6.21=10.88	1.33	m	7	3.47+4.52=7.99	1.30	m
	2	3.41+5.47=8.88	1.60	m	8	3.86+4.27=8.13	1.11	m
	3	4.41+5.07=9.48	1.22	m	9	3.35+4.26=7.61	1.27	m
	4	3.45+4.77=8.22	1.38	m	10	3.57+4.24=7.81	1.19	m
	5	3.56+4.75=8.31	1.33	m	11	3.52+3.97=7.49	1.13	m
	6	4.18+4.58=8.76	1.10	m	12	3.12+3.57=6.69	1.14	m

表 4 杂种株系及其亲本的核型参数

Table 4 The parameters of the karyotypes of hybrid lines and their parents

材料 Material	核型公式 Karyotype formula	最长/最短 Relative length ratio	平均臂比 Arm ratio	着丝点指数 Centromeric index/%	不对称系数 Asymmetry coefficient/%	核型类型 Karyotype symmetry
株系 A1 Hybrid line A1	2n=4x=48=36m+12sm	2.24	1.57	32.24~42.31	60.82	2B
株系 A3 Hybrid line A3	2n=4x=48=36m+12sm	2.41	1.48	34.51~49.67	59.96	1B
株系 C2 Hybrid line C2	2n=4x=48=48m	1.88	1.41	38.25~45.79	58.52	1A
费乌瑞它 Favorita	2n=4x=48=36m+12sm	2.04	1.43	31.36~48.65	58.44	2B
陇薯 3 号 Longshu 3	2n=4x=48=44m+4sm	1.89	1.33	35.63~48.62	56.83	1A
J07-6	2n=4x=48=48m	1.63	1.25	38.40~47.72	55.54	1A

2.3 遗传距离和聚类分析

6 个材料的遗传距离(GD)在 0.290 3~0.764 7 之间,平均 0.534 2(表 6)。株系 A3 与母本‘费乌瑞它’的 GD 较大,为 0.714 3;而株系 A1 与母本‘费

乌瑞它’的 GD 最小,为 0.290 3。以 GD 值 0.45 为基准,将 6 个马铃薯材料分为 3 类:母本‘费乌瑞它’、株系 A1 和父本‘陇薯 3 号’为一类,株系 A3 和株系 C2 为第二类,父本 J07-6 单独为一类(图 3)。

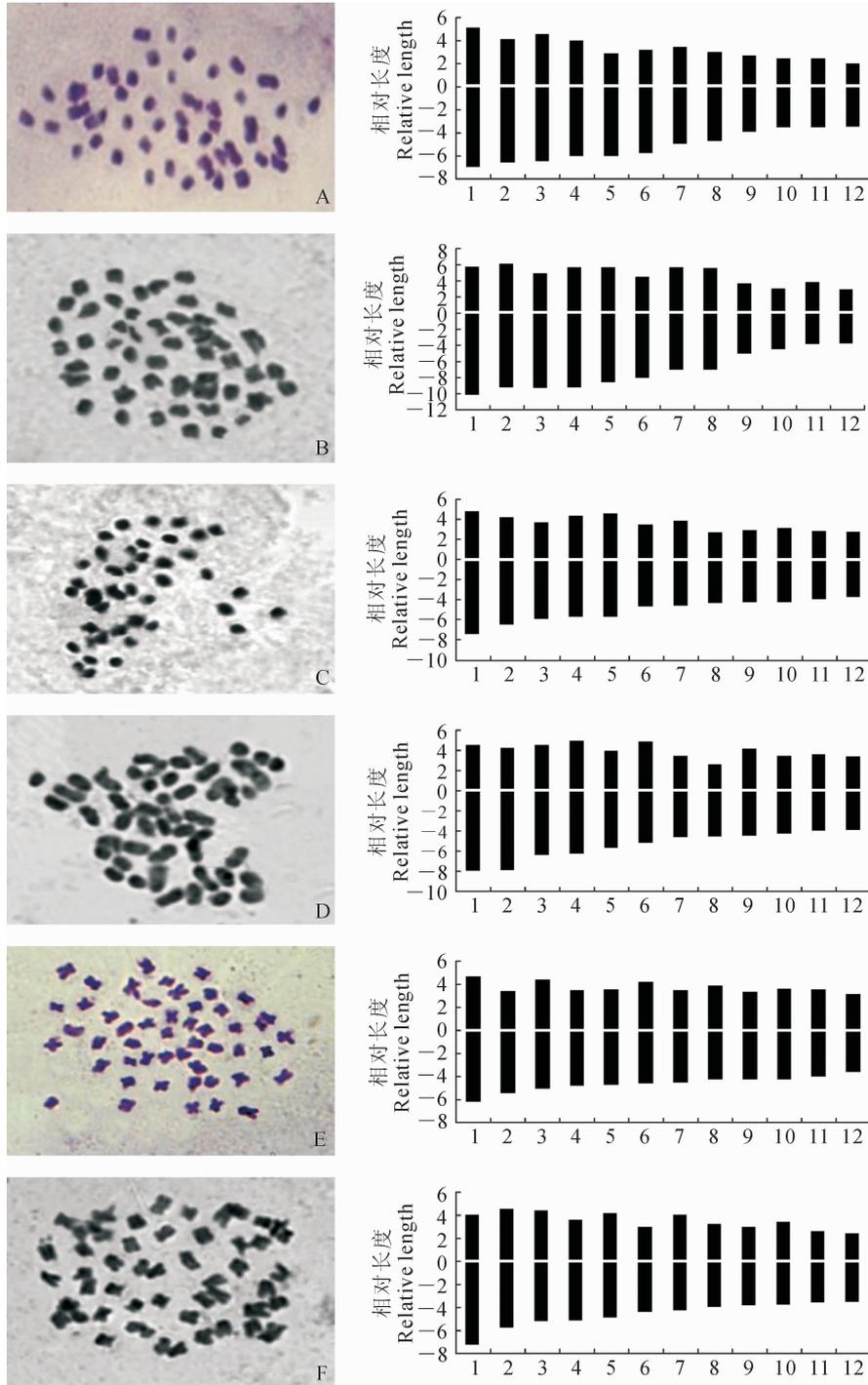


图 1 3 个杂种株系及其亲本根尖细胞染色体及核型模式图(2n=4x=48)

A. 株系 A1; B. 株系 A3; C. 株系 C2; D. 费乌瑞它(♀); E. J07-6(♂); F. 陇薯 3 号(♂)

Fig. 1 The root tip cell chromosomal characteristics and the karyotype ideograms of 3 hybrid lines and their parents(2n=4x=48)

A. Hybrid line A1; B. Hybrid line A3; C. Hybrid line C2; D. Favorita(♀); E. J07-6(♂); F. Longshu 3(♂)

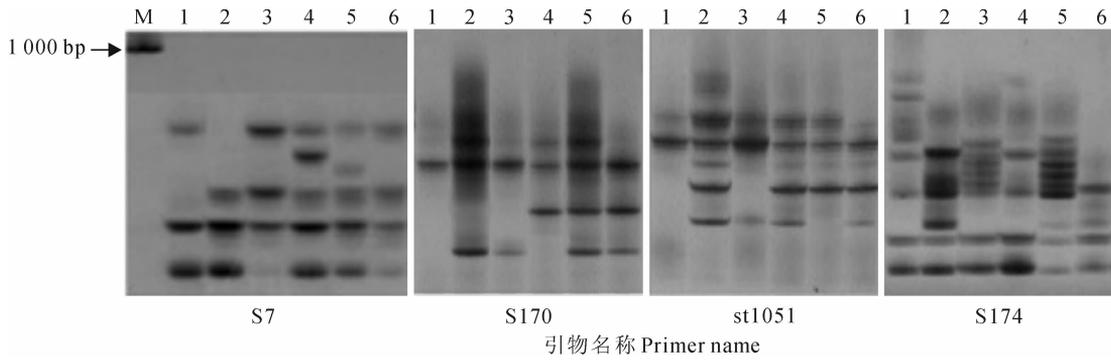


图 2 供试材料部分引物 SSR 扩增结果

M. Marker; 1. 费乌瑞它(♀); 2. J07-6(♂); 3. 陇薯 3 号(♂); 4. 株系 A1; 5. 株系 A3; 6. 株系 C2

Fig. 2 SSR amplification results of tested plants with partial primers

1. Favorita(♀); 2. J07-6(♂); 3. Longshu 3(♂); 4. Hybrid line A1; 5. Hybrid line A3; 6. Hybrid line C2

表 6 供试材料的遗传距离矩阵

Table 6 The genetics distance matrix of tested plants

材料 Material	费乌瑞它 Favorita	株系 A3 Hybrid line A3	陇薯 3 号 Longshu 3	株系 A1 Hybrid line A1	J07-6
株系 A3 Hybrid line A3	0.714 3				
陇薯 3 号 Longshu 3	0.416 7	0.529 4			
株系 A1 Hybrid line A1	0.290 3	0.583 3	0.333 3		
J07-6	0.619 0	0.706 9	0.694 7	0.567 3	
株系 C2 Hybrid line C2	0.500 0	0.411 8	0.400 0	0.481 5	0.764 7

表 5 供试材料的 SSR 引物及扩增结果

Table 5 SSR primers and the amplification results of tested plants

引物名称 Primer name	扩增位点数 No. of amplified loci	多态性位点数 No. of polymorphic loci	多态性位点百分率 Percentage of polymorphic loci/%
S7	6	5	83.33
S148	5	4	80.00
S170	4	3	75.00
st1051	6	5	83.33
S174	11	8	72.72
S184	5	4	80.00
SSR59(4)	7	6	85.71
STACCAS	5	4	80.00
STM1049	6	4	66.67
STM2022	8	7	87.50
总计 Total	63	50	79.37

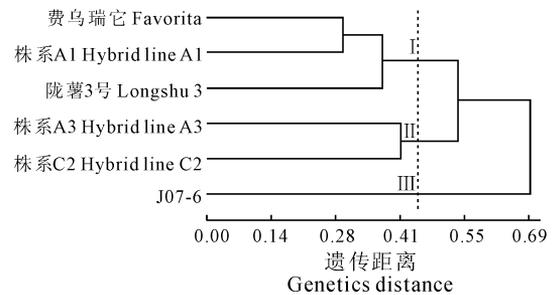


图 3 供试材料的 SSR 聚类

Fig. 3 The dendrogram of tested plants by SSR cluster analysis

3 讨 论

染色体是遗传信息的载体,其结构及数目的变化,是生物进化的主要内容之一,对这些变化趋势与规律进行研究,在理论上和实践上均有重要的意义^[17-19]。每个物种染色体的着丝点位置、长度、随体大小、数目等形态特征是相对稳定的^[20]。本试验对‘费乌瑞它’×‘陇薯 3 号’杂交组合的优良杂种株系

A1 和 A3 及‘费乌瑞它’×J07-6 杂交组合的优良杂种株系 C2 的染色体特征研究显示,株系 A1 的核型类型为 2B 型,呈偏母本遗传;株系 C2 为 1A 型,呈偏父本遗传;株系 A3 的核型类型为 1B,明显不同于其双亲,这表明马铃薯杂种不同株系的染色体结构产生了一定程度的变异。另外,株系 A1 和株系 A3 的核型公式为 $2n=4x=36m+12sm$,与其母本‘费乌瑞它’相同,但三者的 12 条 sm 染色体及 36 条 m 染色体不全在相同的染色体组上。造成以上这些杂种株系染色体变异的原因可能是在配子形成过程中,部分染色体发生交换、易位等结构变异的结果,此点有待深入研究。而这种变异可作为各杂种株系在染色体水平鉴别的依据。

同一作物不同材料在 DNA 水平遗传距离的大小能够体现各材料间亲缘关系的远近,可作为作物杂交育种亲本选配的重要理论依据^[21]。本试验中,母本‘费乌瑞它’与父本‘陇薯 3 号’、J07-6 之间的遗传距离分别为 0.416 7、0.619 0,它们之间遗传差异较大,其杂交种 F₁ 无性系四代的 3 个优良株系间遗传距离也较大,分别为 0.411 8、0.481 5和 0.583 3,这表明亲本间遗传差异大,从其杂交后代选育出符合目标性状优良株系的几率较大。

3 个马铃薯杂种优良株系 A1、株系 A3 和株系 C2 均为四倍体(2n=4x=48),其核型类型分别为

2B、1B 和 1A;株系 A1 和株系 A3 的染色体核型公式均为 2n=4x=48=36m+12sm,株系 C2 的核型公式为 2n=4x=48=48m。

利用筛选出 10 对 SSR 适宜引物 PCR 扩增得到 50 个多态性位点,多态性位点百分率为 79.37%。试验建立了 3 个马铃薯杂种优良株系及其亲本的 SSR 指纹图,可作为杂种优良株系及亲本间在 DNA 水平识别的重要依据。以 GD 值 0.45 为基准,将 6 个材料分为 3 类:母本‘费乌瑞它’、株系 A1 和父本‘陇薯 3 号’为一类,株系 A3 和株系 C2 另为一类,父本 J07-6 单独列为一类。

参考文献:

- [1] 司怀军,王 蒂,张 宁,等. 马铃薯在中国社会主义新农村建设中的作用[C]. 哈尔滨:哈尔滨工程大学出版社,2008:13—15.
- [2] 刘思泱. 6 个彩色马铃薯品种的核型及 ISSR 分析[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2010:1—5.
- [3] ZHANG L L(张丽莉),SU F F(宿飞飞),CHEN Y L(陈伊里),et al. Research on potato germplasm resources and breeding method in China[J]. *Chinese Potato Journal* (中国马铃薯),2007,21(4):223—227(in Chinese).
- [4] XIE C H(谢从华). Potato industry: status and development[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University* (Nat. Sci. Ed.) (华中农业大学学报·自然科学版),2012,97(1):1—4(in Chinese).
- [5] SUI Q J(隋启君),LI X P(李先平),YANG W L(杨万林). Situation analysis of potatoes production in China[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences* (西南农业学报),2008,21(4):182—188(in Chinese).
- [6] 张笑宇. 马铃薯抗黑痣病鉴定体系的建立及其抗病机制研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2012:38—41.
- [7] ZHANG X M(张晓萌),YU X X(于肖夏),et al. Analysis of pollen fertility and chromosome pairing configuration of clones of color potato hybrids F₁[J]. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University* (内蒙古农业大学学报),2013,34(3):24—28(in Chinese).
- [8] LI CH Q(李长青),YU X X(于肖夏),YU ZH(于 卓),et al. Karyotype analysis of atlantic×longshu NO. 6 hybrid lines and their parents[J]. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University* (内蒙古农业大学学报),2013,34(2):26—30(in Chinese).
- [9] ZHANG Z Q(张自强),YU X X(于肖夏),YU ZH(于 卓),et al. Identification of two cross combinations of F₁ *Solanum tuberosum* by SSR molecular marker[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture* (中国生态农业学报),2013,21(11):1411—1415(in Chinese).
- [10] LI M X(李懋学),CHEN R Y(陈瑞阳). A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究),1985,3(4):297—302(in Chinese).
- [11] 李懋学,张赞平. 作物染色体及其研究技术[M]. 北京:中国农业出版社,1996:264—270.
- [12] LEVAN A, FREDGA K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. *Hereditas* (遗传),1964,52:201—220.
- [13] STEBBINS G L. Chromosome evolution in higher plants[M]. London:Edward Arnold LTD,1971:87—90.
- [14] XU SH B(许邵斌),TAO Y F(陶玉芬),YANG ZH Q(杨昭庆),et al. Aimple and rapid methods used for silver staining and gel preservation[J]. *Hereditas* (遗传),2002,24(3):335—336(in Chinese).
- [15] NEI M. Analysis of gene diversity in subdivided populations[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*,1973,70:3321—3323.
- [16] 唐启义,冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京:科学出版社,2002.
- [17] WANG J W(汪劲武),YANG J(杨 继),LI M X(李懋学). Karyotypical study of five species of Chinese dendranthema[J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究),1991,13(4):411—416(in Chinese).
- [18] WANG CH Y(王春彦),LUO F X(罗凤霞),LI Y P(李玉萍),et al. Karyotype analysis of four exotic daffodil cultivars[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.* (西北植物学报),2011,31(8):1577—1581(in Chinese).
- [19] HU F R(胡凤荣),WANG F(王 斐),BAO R L(鲍仁蕾),et al. Pretreatment reagents for *Hyacinthus* root tip and karyotype analysis [J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.* (西北植物学报),2012,32(10):2030—2034(in Chinese).
- [20] YANG T J(杨通静),TAO G(陶 刚),HUANG Y H(黄永会),et al. Karyotype analysis of Atlantic and Favorita potato cultivars[J]. *Guizhou Agricultural Sciences* (贵州农业科学),2012,40(5):29—31(in Chinese).
- [21] LI CH Q(李长青),YU X X(于肖夏),YU ZH(于 卓),et al. Identification of *Solanum tuberosum* hybrids by SSR molecular markers [J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.* (西北植物学报),2012,32(7):1355—1360(in Chinese).