

马铃薯杂种无性株系的 SSR 鉴定及花粉育性和染色体构型分析

王 丹¹, 于肖夏¹, 鞠天华², 于 卓^{1*}, 郝治满¹, 姜 超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: 为明确马铃薯‘MB09’×‘陇薯 7 号’杂种 F₁ 无性株系在 DNA 和细胞遗传学水平上的差异, 该试验以亲本材料为对照, 利用 SSR 分子标记技术对其 20 个优良无性株系(F₁ 无性系一代)的 DNA 指纹特征进行分析, 并采用常规制片镜检方法对已选出的 8 个杂种优良株系(F₁ 无性系二代)的花粉育性及花粉母细胞减数分裂中期 I (PM-CMI) 的染色体配对构型进行了研究, 为马铃薯杂交新品系选育提供分子细胞遗传学依据。结果显示: (1) 试验共筛选出 2 对 SSR 特异引物 C57 和 S25, 通过 PCR 扩增建立了能识别出这 20 个杂种株系及其双亲的 SSR 指纹图。 (2) 杂种优异株系 F₁-1、F₁-2、F₁-7、F₁-11、F₁-13、F₁-14、F₁-15 和 F₁-20 的花粉可育率变幅为 36.73%~87.08%, 并以株系 F₁-7 最高(87.08%), 而且显著超过高亲(83.33%), 说明各优良株系花粉育性有一定差异。 (3) 对 8 个优异株系花粉母细胞的 PM-CMI 观察发现, 各优良株系的染色体配对构型明显不同, 均包括单价体、二价体、三价体和四价体 4 类, 其中二价体构型的比例最高, 其介于 49.13%~82.91% 之间, 其中以株系 F₁-7 的二价体比例最高(82.91%)。该研究明确了 20 个马铃薯杂种优良株系的 SSR 指纹特征和 8 个优异株系的花粉育性及染色体配对构型差异。

关键词: 马铃薯; 杂种株系; SSR 指纹; 花粉育性; 染色体配对构型

中图分类号: Q789; Q343.2

文献标志码: A

SSR Identification of Potato Hybrid Lines and Pollen Fertility and Chromosome Configuration Analysis

WANG Dan¹, YU Xiaoxia¹, JU Tianhua², YU Zhuo^{1*}, HAO Zhiman¹, JIANG Chao¹

(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 differences among hybrid lines from ‘MB09’×‘Longshu 7’ in DNA level and cytogenetical level, we used parent materials as contrast, and analyzed DNA fingerprint characteristic of 20 excellent hybrid lines (F₁ clone generation) with SSR molecular marker technology, and the pollen fertility and chromosome configuration at meiosis metaphase I of pollen mother cells (PM-CMI) of 8 selected outstanding hybrid lines (F₁ clone second generation) with regular slide-preparing technique and microscopy examination method, which could provide for hybrid breeding of excellent potato strains on the basis of the molecular cytology. The result showed that: (1) two suitable SSR primers C57 and S25 were screened for fingerprint establishment, and a SSR fingerprint was obtained by PCR amplification, which could identify 20 hybrid lines and their parents; (2) the pollen fertility rate of hybrid excellent lines 1, 2, 7, 11, 13, 14, 15 and 20 ranged from 36.73% to 87.08% in addition line F₁-7(87.08%) was the highest and significantly

收稿日期: 2015-02-10; 修改稿收到日期: 2015-05-28

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2012BAD02B05); 内蒙古自然科学基金重大项目(2011ZD03)

作者简介: 王 丹(1988—), 女, 在读博士研究生, 主要从事马铃薯遗传育种研究。E-mail: 15849321606@163.com

* 通信作者: 于 卓, 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

higher than the parent(83.33%), which had some differences; (3) chromosome configurations at PMCM I of the 8 hybrid lines were obviously different, which include univalent, bivalent, trivalent and quadrivalent, and the bivalent rate of 8 hybrid excellent lines ranged from 49.13% to 82.91% and line F₁-7 was the highest. The study illustrated SSR fingerprint character for 20 good potato hybrid lines and differences of pollen fertility and chromosome configuration for 8 excellent lines.

Key words: potato; hybrid lines; SSR fingerprint; pollen fertility; chromosome configuration

马铃薯是重要粮、菜、饲兼用作物,也是重要工业和能源原料。其营养价值高,富含淀粉、蛋白质、膳食纤维、维生素、酚类物质及钾、锌、硒、硫等营养元素^[1-3]。随着中国马铃薯产业的迅速发展,专用型

和深加工型马铃薯品种的选育工作倍受重视^[4-6]。内蒙古是中国重要的马铃薯种薯和商品薯生产基地。目前生产上运用的马铃薯品种对水肥条件要求较高,但其田间抗病能力弱,种薯退化周期短,特别是黑痣病、粉痂病、晚疫病等病害危害严重,马铃薯产量损失逐年增大^[7-10]。因此,选育抗病性和适应性强、优质高产马铃薯品种非常必要。

通过分析比对子代与亲本在 DNA 水平上的差异,可为马铃薯优良株系(或品系)选育和鉴定提供分子依据。如李长青等^[11]利用 3 对 SSR 适宜引物建立了 3 个马铃薯杂交组合共 59 个杂种株系的指纹图;甘霖等^[12]利用 ISSR 标记技术成功的鉴定了 4 个马铃薯杂交组合选出的 23 个优良杂种株系。段艳凤等^[13]利用 6 对 SSR 引物将 88 份彩色马铃薯材料一一区分开来。马铃薯杂种株系花粉育性是判断其是否可作为杂交中间材料而进一步利用的重要细胞学依据,一般花粉可育率高于 50% 的杂种材料可作为父本利用,而低于 50% 适于作母本利用^[14]。马铃薯杂种染色体配对行为与花粉育性的高低密切相关,通常二价体频率越高,表明染色体遗传相对稳定,相应的花粉育性亦越高^[15]。

本课题组从美国引进了马铃薯材料‘MB09’(四倍体,2n=4x=48),并在内蒙古呼和浩特和赤峰地区种植观察发现,其产量高,品质好,生育期较短,薯形好,但其抗病性差。国内育成品种‘陇薯 7 号’(四倍体,2n=4x=48)具有抗病性和适应强、淀粉含量高、芽眼浅等优良特性,但生育期较长。为培育出抗病性和抗逆性强、优质高产的马铃薯新品种,我们按照遗传差异较大和优缺点互补的亲本组配原则,用‘MB09’材料作母本,‘陇薯 7 号’作父本,人工去雄授粉杂交,成功获得‘MB09’×‘陇薯 7 号’杂种 F₁ 代共 1 035 个单株材料;通过田间试验观测,从中选出生长健壮、田间抗病性和适应性强的优良株系 20 个(无性系一代),进而对这 20 个杂种株系进行

产量和品质等农艺性状测定分析,选出优异株系 8 个(无性系二代)。本试验采用 SSR 分子标记技术对‘MB09’×‘陇薯 7 号’的 20 个杂种株系进行 DNA 指纹分析,并利用花粉染色镜检及卡宝品红染色体制片方法对其选出的 8 个优异株系的花粉育性及花粉母细胞染色体配对构型进行观察,为进一步马铃薯杂交新品系选育提供分子细胞遗传学依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

材料为马铃薯‘MB09’×‘陇薯 7 号’杂种 F₁ 中选出的优良株系 F₁-1~F₁-20(无性系一代)及从这 20 个株系中选出的株系 F₁-1、F₁-2、F₁-7、F₁-11、F₁-13、F₁-14、F₁-15 和 F₁-20 共 8 个优异株系(无性系二代)和其亲本。8 个杂种株系的田间抗病性均较强,株型、薯型和生长势好,芽眼浅,还原糖含量均很低(鲜薯含量小于 0.1%)。其中株系 F₁-7 为高淀粉株系(22.21%),株系 F₁-2 和 F₁-20 为高蛋白株系(2.73% 和 2.96%),株系 F₁-11 和 F₁-13 均为高产株系(单株平均产量 1.44 kg 和 1.55 kg)。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 SSR 指纹图建立

1.2.1 DNA 提取与纯度检测 在苗期,选取 22 份马铃薯材料的幼嫩叶片,用天根生化科技有限公司生产的植物基因组试剂盒提取 DNA,1.6% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 纯度后,将各材料的 DNA 浓度稀释到 50 ng/μL 左右,置冰箱中保存备用。22 个马铃薯材料的基因组 DNA 电泳条带清晰均匀,

表 1 SSR-PCR 反应体系
Table 1 SSR-PCR reaction system

体系组分 System component	浓度 Concentration	用量 Dosage/μL
超纯水 ddH ₂ O	—	14.11
缓冲液 10×Buffer(Mg ²⁺)	50 μmol/L	2.0
脱氧核苷酸 dNTPs	2.5 mmol/L	1.4
DNA 聚合酶 TaqDNA polymerase	5 U/μL	0.09
上游引物 Forward primer	50 μmol/L	0.7
下游引物 Reverse primer	50 μmol/L	0.7
DNA 模板 DNA template	50 ng/μL	1.0
总体积 The total volume	—	20

表 2 SSR 适宜引物及其碱基序列

Table 2 SSR suitable primers and their nucleotide sequences

引物名称 Primer name	正向引物 Forward primer	反向引物 Reversed primer
C57	5'-GACTGGCTGACCCTGAACTC -3'	5'-GACAAAATTACAGGAAGTGC AAA-3'
S25	5'-GCGAATGACAGGACAAGAGG -3'	5'-TGCCACTGCTACCATAACCA-3'

无拖尾现象,DNA 纯度高,符合 SSR 分析的要求。

1.2.2 SSR-PCR 扩增反应体系及程序 SSR 扩增反应体系详见表 1。反应程序为 95 ℃ 预变性 1 个循环,时间为 4 min;94 ℃ 变性 30 s,56 ℃ 退火 45 s,72 ℃ 延伸 90 s,34 个循环;72 ℃ 延伸 10 min,1 个循环后终止反应^[12]。试验所用 PCR 仪为 Bio-rad T00 Thermal Cycler。

2 结果与分析

2.1 杂种 F₁ 无性株系的 SSR 指纹分析

利用筛选出的 SSR 引物 C57 和 S25 对 20 个杂种株系及其亲本 PCR 扩增结果如图 1 所示。20 个株系的 SSR 指纹图与双亲间均产生互补型条带及新的特征带或缺失型条带,其中引物 C57 扩增出互补型条带及新的特征带的株系为 F₁-1~F₁-3、F₁-5、F₁-7~F₁-20,扩增出缺失型条带的为 F₁-4 和 F₁-6;引物 S25 扩增出互补型条带及新的特征带的株系为 F₁-1、F₁-2、F₁-4~F₁-6、F₁-9~F₁-20,扩增出缺失型条带的为 F₁-3、F₁-7 和 F₁-8。这从 DNA 水平证明它们均为真实的杂种株系。另外,株系 F₁-12 和 F₁-

1.2.3 电泳及银染 对 PCR 扩增产物进行电泳,PAGE 凝胶浓度为 6%,样孔加样量 6 μL,Marker 为 DL100,功率 70 W,电泳时间 1 h。电泳完毕后将胶板放入固定液(蒸馏水 2 L、酒精 200 mL、冰乙酸 20 mL)中固定 15 min,蒸馏水漂洗 3 min,用 1.5% AgNO₃ 溶液染色 15 min 后放入蒸馏水中速漂 5 s,置显影液(蒸馏水 2 L、NaOH 60 g、甲醛 10 mL)中显色 10 min,蒸馏水漂洗,自然晾干后扫描胶板^[14]。

1.2.4 SSR 适宜引物筛选 用亲本及其 20 个杂种 F₁ 无性株系的基因组 DNA 为模板筛选 SSR 适宜引物,试验所用的 40 对 SSR 引物碱基序列来源于 NCBI 网站公布的马铃薯特异性引物,委托上海生工有限公司合成。通过 PCR 扩增从中选出多态性丰富、条带清晰稳定的 2 对 SSR 适宜引物(表 2)。

1.3 花粉育性鉴定

在马铃薯开花盛期,田间随机取亲本及其 8 个优异杂种株系的花药带回室内镜检。在载玻片上用镊子挤压花药,使花粉散出,滴加 1.0% 的醋酸洋红,在 OlympusBX51 的 10×10 倍显微镜下观察并统计可育花粉和不可育花粉数,每份材料观察 50 个视野左右。观察标准:可育花粉染色深、花粉粒较大、饱满、形状有规则;不育花粉染色浅或者没有染上色、花粉空瘪、形状无规则。花粉可育率(%)=(可育花粉粒总数/观察的花粉粒总数)×100%^[15]。

1.4 花粉母细胞减数分裂中期 I (PMCM I) 染色体观察

在马铃薯现蕾初期,取 8 个优异杂种株系及其双亲的幼小花蕾若干,置于装有卡诺液(无水乙醇:冰醋酸=3:1)的广口瓶中,4 ℃ 冰箱中固定 22~24 h 后,用清水洗净放入 70% 酒精中保存备用。制片时,在载玻片上用解剖针将花蕾挑开挤出花药,去除

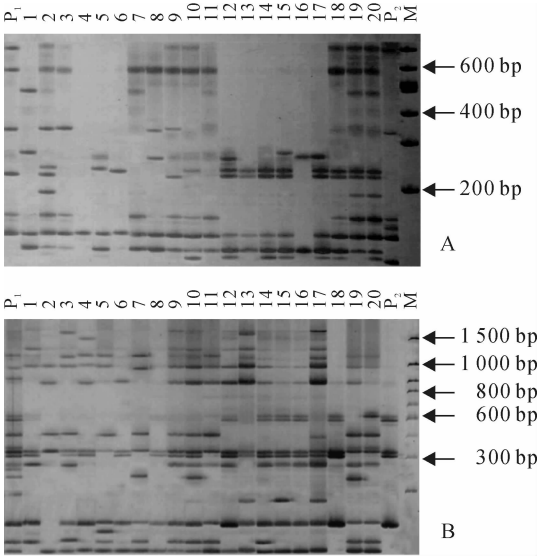


图 1 引物 C57(A)和 S25(B)对‘MB09’×‘陇薯 7 号’杂种 F₁ 无性株系扩增的 SSR 指纹图

M. DL100 DNA;P₁. ‘MB09’;P₂. ‘陇薯 7 号’;
1~20. ‘MB09’×‘陇薯 7 号’杂种 F₁

Fig. 1 SSR fingerprint of F₁ hybrid lines from ‘MB09’× ‘Longshu 7’ amplified by primer C57(A) and S25(B)

M. DL100 DNA;P₁. ‘MB09’;P₂. ‘Longshu 7’;
1—20. F₁ hybrid lines of ‘MB09’× ‘Longshu 7’

17 的 SSR 指纹一致,说明引物 C57 能把 90% 的杂种株系识别出来,而引物 S25 扩增的 SSR 指纹图可将这 20 个株系完全区别开来。由于不同引物在杂种株系间扩增出的 SSR 指纹图不完全相同,因此在马铃薯杂种株系鉴定及 DNA 指纹图建立时最好选用 2 对以上引物。

2.2 杂种 F₁ 优异株系花粉育性差异分析

8 个杂交株系间的花粉可育率不同,株系 F₁-1、F₁-13、F₁-14 间差异不显著,但它们与株系 F₁-2、F₁-7、F₁-15、F₁-20 间均达到极显著差异(图 2 和表 3)。父本‘陇薯 7 号’花粉育性为 83.33%,母本‘MB09’为 20.45%(最低),其中 F₁-7 的花粉育性最高,达 87.08%,且与其母本差异极显著;其余优异株系的花粉可育率变幅为 36.73%~77.78%,介于双亲之间。根据 8 个株系育性程度,在今后的杂种育种中

表 3 8 个杂种株系及其亲本花粉育性
Table 3 The pollen fertility of 8 hybrid lines and their parents

材料 Materials	可育数 Fertility No.	总数 Total	可育率/% Fertility rate
‘MB09’(♀)	900	4 400	20.45 f F
F ₁ -1	3 660	8 280	44.20 d D
F ₁ -2	3 480	5 640	61.70 c C
F ₁ -7	6 975	8 010	87.08 a A
F ₁ -11	5 775	7 425	77.78 b B
F ₁ -13	3 660	8 340	43.88 d D
F ₁ -14	3 540	8 040	44.03 d D
F ₁ -15	2 160	5 880	36.73 e E
F ₁ -20	3 600	6 000	60.00 c C
‘陇薯 7 号’(♂) Longshu 7	7 250	8 700	83.33 a A

注:不同小写、大写字母分别表示在 0.05、0.01 水平差异显著。
Note: The lowercase letters and the capital letters show significant differences at 0.05 and 0.01 level, respectively.

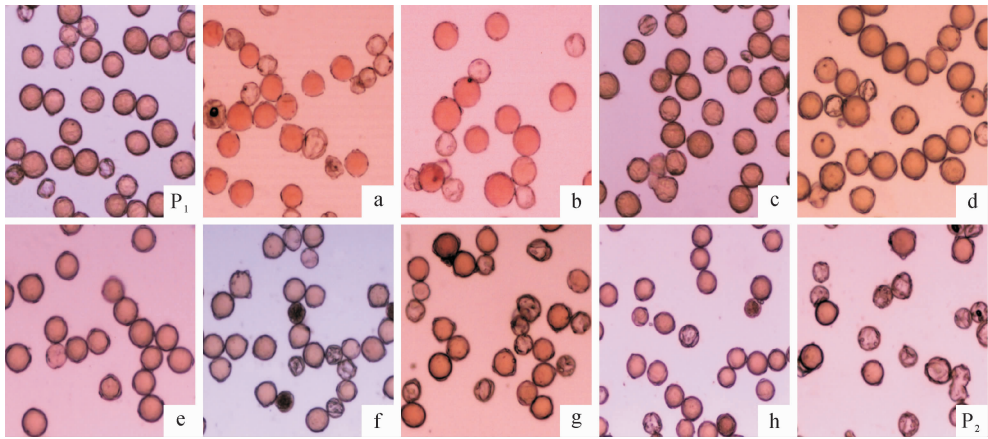


图 2 8 个优异杂种株系及其亲本的花粉育性
P₁. ‘陇薯 7 号’; a. F₁-1; b. F₁-2; c. F₁-7; d. F₁-11; e. F₁-13; f. F₁-14; g. F₁-15; h. F₁-20; P₂. ‘MB09’
Fig. 2 The pollen fertility of 8 excellent hybrid lines and their parents
P₁. ‘Longshu 7’; a. F₁-1; b. F₁-2; c. F₁-7; d. F₁-11; e. F₁-13; f. F₁-14; g. F₁-15; h. F₁-20; P₂. ‘MB09’

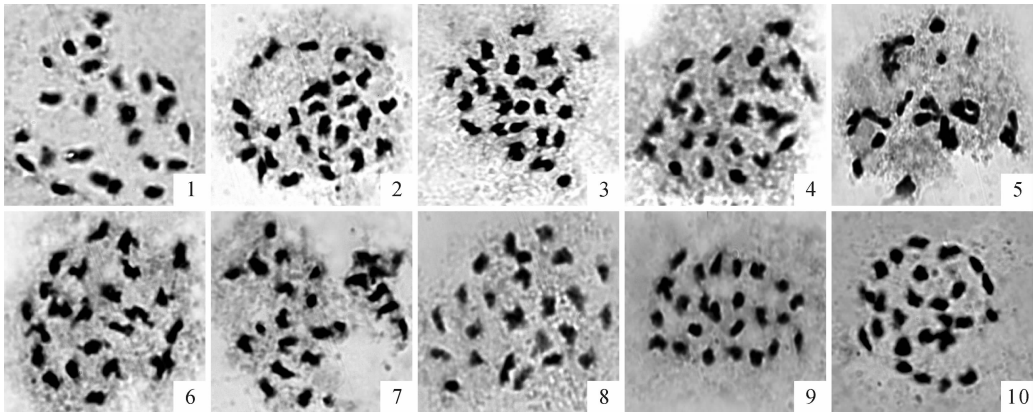


图 3 8 个优异杂种株系及其亲本的 PMCM I 染色体配对行为
1. ‘陇薯 7 号’; 2. F₁-1; 3. F₁-2; 4. F₁-7; 5. F₁-11; 6. F₁-13; 7. F₁-14; 8. F₁-15; 9. F₁-20; 10. ‘MB09’
Fig. 3 The chromosome pairing behavior of 8 excellent hybrid lines and their parents at PMCM I
1. ‘Longshu 7’; 2. F₁-1; 3. F₁-2; 4. F₁-7; 5. F₁-11; 6. F₁-13; 7. F₁-14; 8. F₁-15; 9. F₁-20; 10. ‘MB09’

表 4 8 个杂种株系及亲本花粉母细胞分裂中期 I (PMCM I) 染色体配对构型
Table 4 Chromosome configuration of 8 hybrid lines and their parents at PMCM I

材料 Material	观察细胞数 Cell No.	I	II			III	IV
			环状 Ring	棒状 Rod	总数 Total		
‘MB09’(♀)	147	12.11	1.18	2.75	3.93	3.74	4.21
F ₁ -1	139	4.75	3.92	5.87	9.79	4.98	2.18
F ₁ -2	156	2.01	7.29	4.86	12.78	3.67	2.67
F ₁ -7	171	1.42	10.24	4.39	14.63	1.13	3.48
F ₁ -11	179	1.96	9.43	4.04	13.47	1.85	3.38
F ₁ -13	169	5.67	3.52	5.28	8.80	5.15	2.32
F ₁ -14	178	5.03	3.81	5.72	9.53	5.20	2.08
F ₁ -15	187	7.12	2.21	5.15	7.36	6.31	1.81
F ₁ -20	149	2.36	6.99	4.67	11.66	3.83	2.71
‘陇薯 7 号’(♂) ‘Longshu 7’	154	1.25	9.58	3.94	13.52	0.94	4.42

注: I、II、III、IV 分别表示单价体、二价体、三价体和四价体。

Note: I, II, III and IV show that univalent, bivalent, trivalent and quadrivalent, respectively.

可作为中间材料进一步利用,其中株系 F₁-1、F₁-13、F₁-14 和 F₁-15 适于作母本利用,而株系 F₁-2、F₁-7、F₁-11 和 F₁-20 适宜作父本利用。

2.3 杂种 F₁ 优异株系 PMCM I 染色体构型分析

亲本间的 PMCM I 染色体配对构型差异明显(图 3 和表 4)。其中母本 MB09 的二价体频率较低,且棒状二价体较多,染色体配对构型为 12.11 I + 3.93 II + 3.74 III + 4.21 IV;父本陇薯 7 号的二价体频率较高,且以环状二价体为主,染色体配对构型为 1.25 I + 13.52 II + 0.94 III + 4.42 IV。

与双亲相比,8 个优异杂种株系的染色体配对构型明显不同。株系 F₁-2、F₁-7、F₁-11 和 F₁-20 的二价体频率为 72.38%~82.91%,与父本(80.36%)接近,并以株系 F₁-7(82.91%)最高,且以环状二价体为主,其染色体配对构型分别为 2.01 I + 12.15 II + 3.67 III + 2.67 IV、1.42 I + 14.63 II + 1.13 III + 3.48 IV、1.96 I + 13.47 II + 1.85 III + 3.38 IV 和 2.36 I + 11.66 II + 3.83 III + 2.71 IV;株系 F₁-1、F₁-13、F₁-14 和 F₁-15 的二价体频率为 49.13%~62.18%,介于双亲之间,并均以棒状二价体为主,其染色体配对构型分别为 4.75 I + 9.79 II + 4.98 III + 2.18 IV、5.67 I + 8.80 II + 5.15 III + 2.32 IV、5.03 I + 9.53 II + 5.20 III + 2.08 IV 和 7.12 I + 7.36 II + 6.31 III + 1.81 IV。将该结果进一步与上述花粉育性情况比较表明,二价体频率高的杂种株系,其花粉育性也高,反之则花粉育性低,这为优异杂种株系育性评价利用提供了细胞遗传学依据。

3 讨论

杂种无性株系真实性鉴定是马铃薯新品种选育的重要环节,有研究表明不同的 SSR 引物在马铃薯杂种株系间扩增出的指纹特征不同,可分为‘偏母

型’、‘偏父型’、‘杂种型’和‘双亲互补型’4 种类型,其中‘双亲互补型’是鉴定杂种株系与亲本的最佳类型^[17];李长青等的研究认为,在马铃薯杂种株系 SSR 标记双亲互补的基础上常产生一些缺失或非双亲的新特征带,可看作是双亲互补型的新类型,这可能是在减数分裂过程中同源染色体复制时部分碱基发生基因突变或发生染色体交换和配对引起的^[11,18]。本试验利用筛选出的 2 对 SSR 特异引物 C57 和 S25 对‘MB09’×‘陇薯 7 号’杂种 F₁ 中选出的 20 个优良株系基因组 DNA 扩增的 SSR 指纹图显示,同一杂种株系用不同 SSR 引物扩增出的指纹特征不同,不同杂种株系用同一 SSR 引物扩增出的指纹亦不同,据此认为在马铃薯杂种株系鉴定时,除考虑以上双亲互补型、缺失型和新类型外,还可以结合亲本及其杂种株系的 SSR 指纹差异进行判定,若杂种株系与双亲的 DNA 指纹明显不同,即可将其认定为真实的杂种株系,而引起不同杂种株系间的 DNA 指纹差异的原因还有待深入研究。另外,本试验中用引物 S25 可将 20 个杂种株系及其与亲本完全区别开来,而用引物 C57 只能区分 90%的杂种株系,因此在建立马铃薯杂种株系 DNA 指纹图时应选用 2 对以上 SSR 特异引物。

花粉母细胞的减数分裂过程较为复杂,受到一系列基因的精准控制,不论这些基因中的哪一个发生倒位、断裂等变异,均会导致减数分裂发生异常,细胞内的遗传物质发生变化,最终导致花粉败育^[19]。不少学者在水稻^[20,21]、玉米^[22]、大豆^[23]等作物上的研究表明,花粉败育的主要原因是杂种 F₁ 花粉母细胞减数分裂时,因染色体组来自不同亲本,在染色体组之间出现不平衡现象,如单价体、落后染色体和微核等导致杂种不育,因此在减数分裂时二

价体出现频率越高,其花粉育性越高。本试验对‘MB09’×‘陇薯 7 号’的 8 个优异杂种株系花粉母细胞 PMCM I 染色体构型及其花粉育性观测亦表

明,二价体频率高的株系其花粉育性亦高,这与前人研究结果一致,为马铃薯杂种株系进一步作为杂交中间材料利用提供细胞遗传学依据。

参考文献:

- [1] YANG L H(杨丽辉), MENG M L(蒙美莲), CHEN Y J(陈有君), *et al.* Effects of fertilizers application on yield and quality of potato [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农业通报), 2013, **29**(12): 136—140(in Chinese).
- [2] LI Y SH(李燕山), YAO CH G(姚春光), *et al.* Effects of nitrogen and potassium fertilizer usage and plant density on yield of fresh-food potato new variety Yunshu103 [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences* (安徽农业科学), 2012, **40**(36): 17598—17599(in Chinese).
- [3] DAI X L(戴相林), LIAO W H(廖文华), ZHUO G(卓 嘎), *et al.* Utilization prospects and strategies of potato in tibet [J]. *Chinese Potato Journal* (中国马铃薯), 2014, **28**(1): 57—60(in Chinese).
- [4] YANG H Q(杨红旗), WANG CH M(王春萌). Main restrictive factors and countermeasures of potato industry development in China [J]. *Seed* (种子), 2011, **30**(5): 100—103(in Chinese).
- [5] LIU J(柳 俊). Research status and prospects of potato industry in China [J]. *Journal of Agricultural science and Technology* (中国农业科技导报), 2011, **13**(5): 13—18(in Chinese).
- [6] WEI W(韦 伟), XIIE X Y(谢小燕), LI G P(李桂平), *et al.* Present situation of potato industry and its development countermeasures in tongren prefecture [J]. *Guizhou Agricultural Sciences* (贵州农业科学), 2012, **40**(3): 83—87(in Chinese).
- [7] WANG Y L(王云龙). Situation and prospect of potato industry development in Heilongjiang province [J]. *Chinese Potato Journal* (中国马铃薯), 2014, **28**(3): 185—188(in Chinese).
- [8] ZHANG X R(张晓荣), ZHANG SH Y(张少英), *et al.* Relationship between the activities of defense enzyme system and resistance to phytophthora infestans (Mont.) de bary in potato [J]. *Chinese Potato Journal* (中国马铃薯), 2008, **22**(3): 129—133(in Chinese).
- [9] ZHANG W S(张万松), WANG CH P(王春平), ZHANG A M(张爱民), *et al.* A study on seed quality standard system of crops in domestic and abroad [J]. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2011, **44**(5): 884—897(in Chinese).
- [10] KALENAHALLI N, YOGENDRA D P, KAREEM A M, *et al.* Quantitative resistance in potato leaves to late blight associated with induced hydroxycinnamic acid amides [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2014, **14**(2): 285—298.
- [11] LI CH Q(李长青), YU X X(于肖夏), JU T H(鞠天华), *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): 1 355—1 360(in Chinese).
- [12] GAN L(甘 霖), YU X X(于肖夏), JU T H(鞠天华), *et al.* ISSR identification of clone plants of *Solanum tuberosum* hybrids F₁ [J]. *Bulletin of Botanical Research* (植物研究), 2013, **33**(2): 243—247(in Chinese).
- [13] DUAN Y F(段艳凤), LIU J(刘 杰), *et al.* Construction of fingerprinting and analysis of genetic diversity with SSR markers for eighty-eight approved potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) in China [J]. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2009, **35**(8): 1 451—1 457(in Chinese).
- [14] ZHANG Z Q(张自强). Karyotype and SSR analysis of 3 potato hybrid lines [J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2014, **34**(7): 1 318—1 324(in Chinese).
- [15] YU ZH(于 卓), LIU Y W(刘永伟), *et al.* Study on the agronomic characters and cytogenetics of F₁ hybrids between 11A of *Sorghum bicolor* and 3 kinds of *Sorghum sudanense* [J]. *Acta Prataculturae Sinica* (草业学报), 2006, **15**(1): 90—96(in Chinese).
- [16] FANG Y Y(房永雨), YU X X(于肖夏), *et al.* Analysis of agronomic characteristics and chromosome configuration of new strains of *Sorghum-Sudangrass* of low hydrocyanic acid content [J]. *Acta Prataculturae Sinica* (草业学报), 2012, **21**(2): 162—170(in Chinese).
- [17] LI X H(李晓辉), LI X H(李新海), LI W H(李文华), *et al.* Application of SSR markers in hybrid seed purity test of maize [J]. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2003, **29**(1): 63—68(in Chinese).
- [18] ZHANG Z Q(张自强), YU X X(于肖夏), JU T H(鞠天华), *et al.* [J]. Identification of two cross combinations of F₁ *Solanum tuberosum* by SSR molecular [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture* (中国生态农业学报), 2013, **21**(11): 1 411—1 415(in Chinese).
- [19] GUAN J ZH(关婧竹), LEI J J(雷家军), *et al.* Study on karyotypes of interspecific hybrids from the cross of *Lilium dahuricum* and *Lilium concolor* var. *pulchellum* [J]. *Journal of Jilin Agricultural University* (吉林农业大学学报), 2009, **31**(1): 32—36, 44(in Chinese).
- [20] HE J H(何金华), CHENG X A(程杏安), CHENG ZH X(陈志雄), *et al.* Changes in the pattern of organization of microtubules during meiosis in pollen mother cell of autotetraploid rice [J]. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2010, **36**(10): 1 777—1 785(in Chinese).
- [21] DAI X M(代西梅), HUANG Q C(黄群策), LI G P(李国平), *et al.* Developmental characters of autotetraploid rice pollen [J]. *Chinese Journal Rice Science* (中国水稻科学), 2006, **20**(2): 165—170(in Chinese).
- [22] MAGUIRE M P, RIESS R W, PAREDES A M. Evidence from a maize desynaptic mutant point to a probable role of synaptonemal complex central region components in provision for subsequent chiasma main tenance [J]. *Genome*, 1993, **36**(5): 797—807.
- [23] BIONE N C, PAGLIARINI M S, DE ALMEIDA L A. A new and distinctive male-sterile, female-fertile desynaptic mutant in soybean (*Glycine max*) [J]. *Hereditas*, 2002, **136**(2): 97—103.

(编辑:裴阿卫)