

嫁接对马铃薯种间杂交亲和性的影响及生理调控机制

翟鑫娜 杨佳伟 许春江 祁利潘 田再民 冯琰 尹江 龚学臣

(河北北方学院, 075000, 河北张家口)

摘要 为培育四倍体马铃薯栽培种与二倍体野生种远缘杂交优异新种质, 以冀张薯8号(G8)和冀张薯12号(G12)四倍体栽培种为母本, 以Z1703和Z1701二倍体野生种为父本, 采用预先嫁接再杂交的方法进行组合配制, 分析预先嫁接对马铃薯种间杂交亲和性及内源激素对坐果率的影响。结果表明, 亲本预先嫁接, G8与G12分别与二倍体野生种进行远缘杂交, 杂交后提高了各组合的坐果率和单果结实率, G8×Z1703与对照相比坐果率增加了39.19%, 单果结实数提高了0.13, 突破了0个实生籽, 获得了栽培种与野生种远缘杂交后代。高含量赤霉素(GA₃)和生长素(IAA)有利于坐果, 而较高含量的脱落酸(ABA)抑制坐果, 授粉后2~4d低含量细胞分裂素(ZR)促进坐果, 后期高含量ZR促进坐果。在授粉后6d GA₃含量与坐果率的相关系数高达0.922。表明马铃薯预先嫁接能够提高坐果率, 促进种间杂交亲和性, 内源激素对坐果率具有调控作用。

关键词 马铃薯; 嫁接; 亲和性; 生理机制

马铃薯营养丰富全面, 是继水稻、小麦、玉米之后的世界第四大粮食作物^[1]。马铃薯起源于南美安第斯山脉, 在中国为外来作物, 虽然可以引进和保存, 但与起源地相比种质资源比较有限^[2-3]。我国保存了许多较优良的种质资源, 中国主要有2个种质资源保存库, 分别为黑龙江省农业科学院克山分院和中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 分别保存了约1700份马铃薯地方育成品种(系)和约1500份马铃薯种质资源^[4]。二倍体马铃薯具有丰富的优良性状, 如抗病虫害、优良的品质性状^[5]、抵御不良环境条件等, 这使二倍体成为非常宝贵的种质资源。但与普通栽培种易出现杂交不亲和现象, 限制了在育种的应用, 也是制约马铃薯育种取得突破性进展的关键。

嫁接在植物抗逆性、生长发育、生理特性、物质代谢、果实产量及品质等方面已开展了大量的研究, 促进了植物生理、栽培、育种等方面的发展。为了应用野生种资源优良性状的基因, 选育突破性马铃薯新品种, 利用嫁接技术可克服远缘或近缘间植物有性育种障碍。王成玉等^[6]应用嫁接技术和杂交方法对枸杞和辣椒进行远缘杂交, 培育新型经济作物, 成功获得枸杞辣椒。Bomfim等^[7]通过将母本嫁接在砧木番茄上, 嫁接株的开花数量和坐果率

得到显著提高。马铃薯运用嫁接技术进行育种方面研究较少。祁利潘等^[8]为了研究亲本预先嫁接对马铃薯种间杂交亲和性的影响, 以四倍体高产马铃薯‘冀张薯12号’和‘冀张薯8号’为母本与二倍体高淀粉原始栽培种为父本配制杂交组合, 采取母本预先嫁接于父本的方法, 结果表明嫁接促进坐果及亲和性, 并培育了马铃薯新种质。

此外, 植物激素是植物生长发育进行调控的生物活性物质。它们在细胞生长、组织和器官分化、开花结实、成熟衰老、休眠萌发、植物形态以及组织培养等方面具有重要作用^[9]。目前已研究较深入的植物激素主要包括生长素(IAA)、细胞分裂素(ZR)、赤霉素(GA₃)和脱落酸(ABA)等^[10]。它们的生理效应非常复杂多样, 在调控植物生长发育过程中起着重要作用, 值得进一步进行探讨。本试验为研究亲本预先嫁接对各种间杂交组合亲和性的影响及内源激素对坐果率的调控作用, 创制优良种间杂交后代, 为马铃薯后续育种提供优良的种质资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料及试验地概况

试验材料以G8和G12号四倍体栽培种为母

作者简介: 翟鑫娜, 研究方向为马铃薯育种, E-mail: zhaizhaixinna@163.com

冯琰为通信作者, 研究方向为马铃薯育种, E-mail: fengyanm@sina.com

基金项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系(CARS-09-P05); 河北省重点研发计划项目“马铃薯甘薯现代种业科技创新团队”(21326320D); 河北省马铃薯产业协同创新中心项目; 河北省农业科技成果转化资金项目(21626316D)

收稿日期: 2022-04-10; 修回日期: 2022-05-30; 网络出版日期: 2023-02-16

本，以 Z1703 和 Z1701 二倍体野生种为父本，采用预先嫁接再杂交的方法进行组合配制。试验材料由河北北方学院旱作农业研究中心提供。

试验于河北省张家口市张北县油篓沟乡马铃薯基地进行，该地区降水相对较少，属暖温带大陆性季风气候。马铃薯为张家口市主要经济作物，地理及环境条件适合马铃薯生长。

1.2 试验设计

试验包括对照组与嫁接组。对照组为四倍体母本自身嫁接，嫁接组为异源嫁接（四倍体为母本，二倍体为父本），授粉都为父本花粉，自身嫁接同样按照嫁接步骤操作，保证各组合同样的环境和生长条件。全生育期保持土壤疏松，及时进行灌溉、施肥和病虫害防治等。

1.3 试验方法

1.3.1 嫁接方法 嫁接时要选用生长健壮无病虫害的砧木及接穗，用 75%酒精进行工具消毒避免植株感染造成死亡，在砧木距离地面 2cm 处横切将茎处切断，之后在切口处纵切深约 2cm，接穗削成楔形，切口要平，快速插入砧木缺口，进行劈接，用嫁接夹夹在嫁接部位，植株用塑料盆盖上保温，在嫁接部位和塑料盆内喷施多菌灵。棚内温度在 20℃~25℃，以免光照过强或室外温度过高导致接穗枯死。湿度在 70%~85%较好，嫁接一周内尽量少浇水。嫁接一周后可去掉塑料盆，15d 可去掉夹

子，待植株成活长高后，可再覆土。

1.3.2 杂交授粉 父本马铃薯花粉在授粉前 1d 采集，将雄蕊摘下放到油光纸上，放在阴凉环境，第 2 天，用纸包好雄蕊进行敲打，收集花粉，进行授粉。授粉时间为上午 10:00 最佳。

1.4 指标测定及方法

1.4.1 子房内源激素 在各植株现蕾期、开花期、授粉后 2、4、6d 采用植物激素的酶联免疫吸附测定法（ELISA）^[11]测定植株子房的内源激素，主要包括 GA₃、ZR、IAA、ABA。

1.4.2 马铃薯坐果率及单果结实数 对各组合进行授粉，授粉后挂上吊牌记录日期及授粉数目。果实成熟期统计授粉数，便于最后坐果数及结实数的调查。

1.5 数据处理

采用 Microsoft Excel 2019 和 SPSS 25 进行数据处理和统计分析。

2 结果与分析

2.1 亲本预先嫁接对不同种间杂交组合坐果率的影响

由图 1 可知，2 个组合分别为促进和抑制较为明显的组合，‘G8×Z1703’嫁接处理促进坐果，‘G8×Z1701’嫁接处理抑制坐果。对照组和嫁接组合计 8 个处理（表 1），‘G8×Z1703’嫁接组与



(a) G8×Z1703 对照, (b) G8×Z1703 嫁接; (c) G8×Z1701 对照, (d) G8×Z1701 嫁接
(a) G8×Z1703 control, (b) G8×Z1703 grafting; (c) G8×Z1701 control, (d) G8×Z1701 grafting

图 1 授粉 20d 后不同杂交组合坐果情况

Fig.1 Fruit setting of different hybrid combinations 20 days after pollination

表 1 亲本预先嫁接对各种间杂交组合坐果率的影响

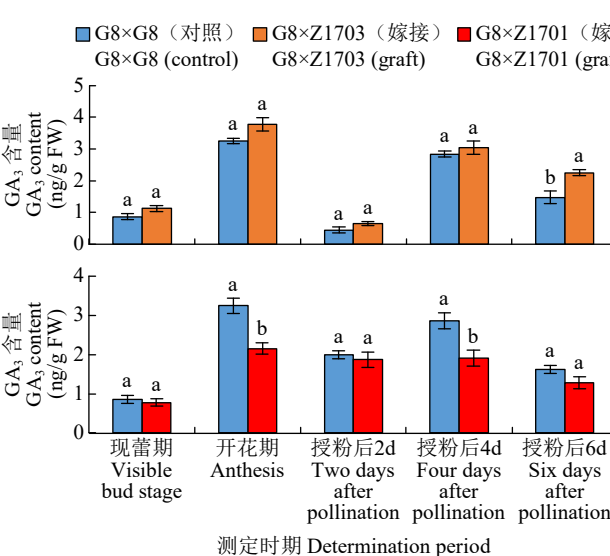
Table 1 Effects of parental pre grafting on fruit setting rate of various inter hybrid combinations

母本 Female parent	父本 Male parent	处理 Treatment	授粉花朵数 Number of pollinated flowers	坐果数 Fruit setting number	坐果率 Fruit setting rate (%)	实生籽数 Number of seeds	单果结实数 Single fruit real number
G8	Z1703	对照	191	13	6.81	0	0.00
		嫁接	100	46	46.00	6	0.13
G8	Z1701	对照	188	36	19.15	12	0.33
		嫁接	112	7	6.25	1	0.14
G12	Z1703	对照	265	27	10.19	9	0.33
		嫁接	108	24	22.22	6	0.25
G12	Z1701	对照	160	10	6.25	2	0.20
		嫁接	154	6	3.90	0	0.00

对照相比坐果率提高了 39.19%，单果结实数提高了 0.13，突破了 0 个实生籽；‘G8×Z1701’嫁接组与对照相比坐果率降低了 12.90%，单果结实数降低了 0.19；‘G12×Z1703’嫁接组与对照相比坐果率促进了 12.03%，单果结实数降低了 0.08；‘G12×Z1701’嫁接组与对照相比坐果率降低了 2.35%，单果结实数降低了 0.20。

2.2 马铃薯内源激素对不同种间杂交组合坐果率的调控作用

2.2.1 GA₃ 对坐果率的调控作用



同一杂交组合同种激素含量后不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$)，下同
After the content of the same hormone in the same hybrid combination, different letters represent significant differences ($P < 0.05$), the same below

图 2 内源激素 GA₃ 在不同种间杂交组合的含量变化

Fig.2 Content changes of endogenous hormone GA₃ in different interspecific hybrid combinations

2.2.2 ZR 对坐果率的调控作用

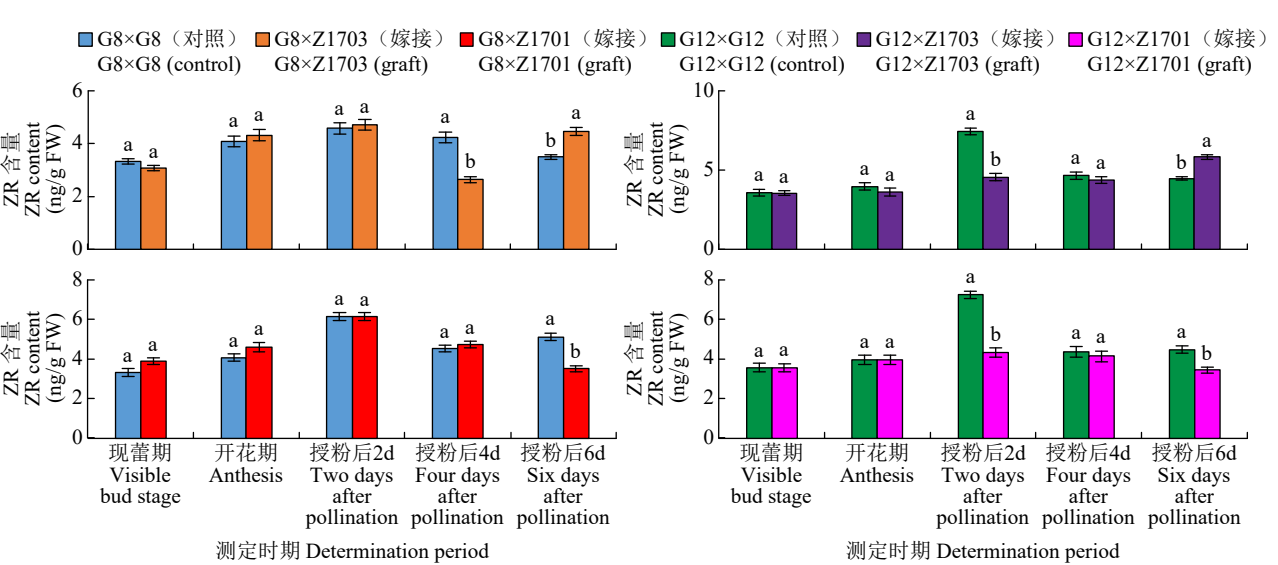


图 3 内源激素 ZR 在不同种间杂交组合的含量变化

Fig.3 Content changes of endogenous hormone ZR in different interspecific hybrid combinations

组合对照组和嫁接组 GA₃ 含量是有差异的。G8 与二倍体各组合 GA₃ 含量从现蕾期到授粉后 6d 变化趋势为上升—下降—上升—下降，呈 M 形，双峰分别在开花期和授粉后 4d。G12 与二倍体各组合 GA₃ 含量从现蕾期到授粉后 6d 变化趋势为上升—下降—上升呈 N 形，双峰分别出现在开花期和授粉后 6d。坐果促进的组合 (G8×Z1703、G12×Z1703) 嫁接组 GA₃ 含量在授粉后都高于对照组；坐果率抑制的组合 (G8×Z1701、G12×Z1701) GA₃ 含量变化则相反。

各组合对照组和嫁接组 ZR 含量存在差异。每个组合的 2 个处理存在 2 种变化趋势,其中坐果率高的呈“升高—下降—上升”的趋势,在授粉后 2d 呈下降趋势,4d 又逐渐上升;而坐果率低的呈“上升—下降”的趋势,在授粉后 2d 呈下降趋势后不再上升。坐果率促进的组合中(G8×Z1703; G12×Z1703)嫁接组 ZR 含量在授粉后 6d 显著高于对照组,坐果率抑制组合中(G8×Z1701; G12×Z1701)嫁接组 ZR 含量在授粉后 6d 显著低于对照组。所有组合授粉后 2~4d ZR 含量呈下降趋势,授粉后 ZR 诱导细胞分裂,使细胞大量增殖,但增殖到一定数量应减少,使子房稳定正常发育,后期随子房的生长发育

增殖。

2.2.3 IAA 对坐果率的调控作用 由图 4 可知,各组合对照组和嫁接组 IAA 含量差异比较显著。G8×Z1703 的嫁接组 IAA 含量从现蕾期到授粉后 6d 都是逐渐升高;而对照组 IAA 含量在授粉后 2d 子房、胚胎生长关键时期下降,在 4d 后又升高。G8×Z1701 的嫁接组 IAA 含量在授粉后 4d 下降;对照组 IAA 含量从现蕾期到授粉后 6d 都是逐渐升高。G12 与二倍体各组合现蕾期到授粉后 6d IAA 含量变化趋势为升高—降低—升高,在授粉后 2d 开始降低,授粉后 4d 有逐渐升高。坐果率促进的组合(G12×Z1703)在授粉后嫁接组 IAA 含量显著

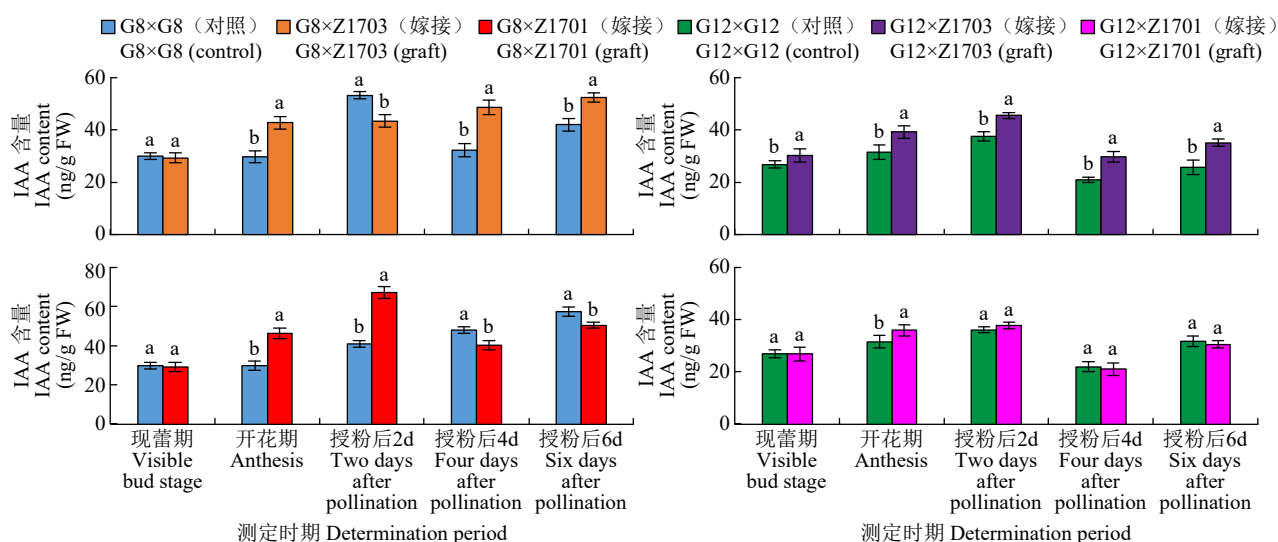


图 4 内源激素 IAA 在不同种间杂交组合的含量变化

Fig.4 Content changes of endogenous hormone IAA in different interspecific hybrid combinations

高于对照组。

2.2.4 ABA 对坐果率的调控作用 由图 5 可知,

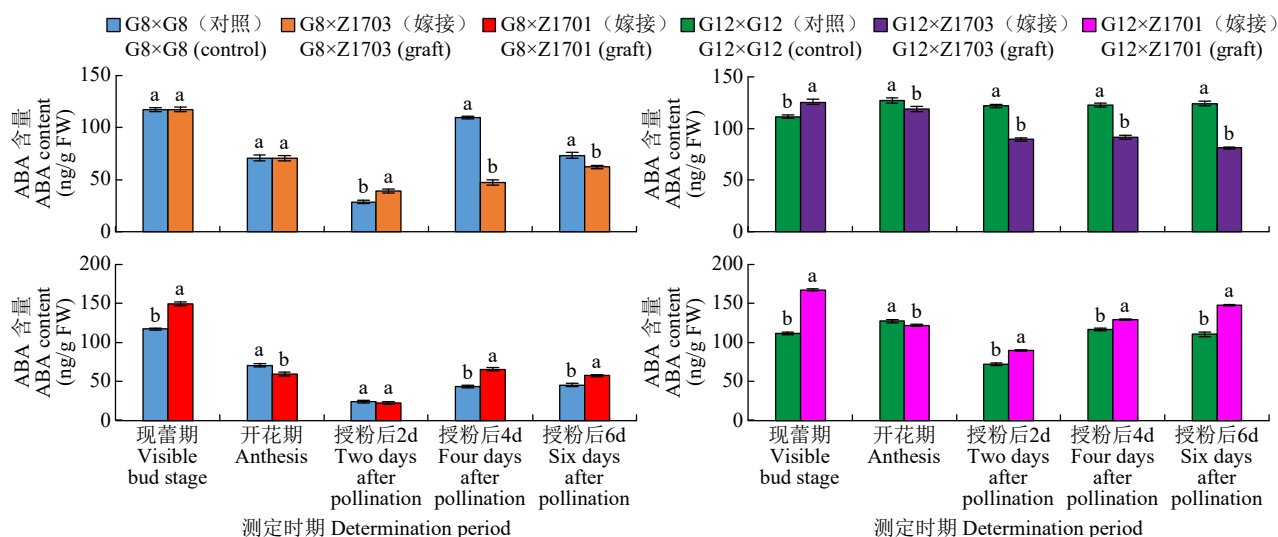


图 5 内源激素 ABA 在不同种间杂交组合的含量变化

Fig.5 Content changes of endogenous hormone ABA in different interspecific hybrid combinations

G8 与二倍体各组合种间杂交现蕾期 ABA 含量较高, 整体趋势为现蕾期到授粉后 2d ABA 含量逐渐降低, 授粉后 2~4d 升高, 4~6d 逐渐降低的趋势。坐果率促进组合 (G8×Z1703) 在授粉后 4、6d 对对照组 ABA 含量显著高于嫁接组, 坐果率抑制的组合 (G8×Z1701) 则相反。G12 与二倍体各组合种间杂交, 各组合对照组从现蕾期到开花期 ABA 含量为上升趋势, 各组合嫁接组从现蕾期到开花期 ABA 含量呈下降趋势。在授粉后坐果率促进组合 (G12×Z1703) 嫁接组 ABA 含量显著低于对照组, 坐果率抑制组合 (G12×Z1701) 则相反。

2.2.5 马铃薯不同生育时期内源激素浓度与坐果率相关性分析 不同时期内源激素含量与坐果率相关性如表 2, GA₃ 含量在现蕾期与坐果率呈显著正相关, 在授粉后 6d 与坐果率呈极显著正相关, 相关系数分别为 0.816 和 0.922; ZR 含量在授粉后 4d 与坐果率呈显著负相关, 相关系数为-0.815。

表 2 内源激素含量和坐果率相关性分析
Table 2 Correlation analysis between endogenous hormone content and fruit setting rate

相关系数 Correlation coefficient	坐果率 Fruit setting rate			
	GA ₃	ZR	IAA	ABA
现蕾期 Budding stage	0.816*	-0.705	0.457	-0.349
开花期 Flowering stage	-0.313	0.086	0.365	-0.302
授粉后 2d Two days after pollination	-0.236	0.306	-0.124	-0.199
授粉后 4d Four days after pollination	0.567	-0.815*	0.660	-0.670
授粉后 6d Six days after pollination	0.922**	0.477	0.487	-0.470

“*”表示在 0.05 水平上相关性显著, “**”表示在 0.01 水平上相关性极显著
“**” means significant correlation at 0.05 level, “***” means extremely significant correlation at 0.01 level

3 讨论

通过嫁接提高作物生产力和产量、增强果实品质和抗病性等的应用较多, 嫁接可以促进甘薯开花结实^[12]。薛金燕等^[13]研究表明, 以栽培种茄与野生种喀西茄进行嫁接后授粉可以提高杂交结果率。本试验表明, 四倍体马铃薯材料作母本, 以二倍体材料作父本, 母本品种预先嫁接在父本材料植株上, 再进行杂交, 可有效促进马铃薯种间杂交坐果率和单果结实数。在后续马铃薯远缘杂交研究时, 可为促进杂交亲和性提供一定依据。有些组合出现不亲和现象, 对照组和嫁接组坐果率和单果结实数都较低, 还有可能出现受精前或受精后障碍。但影响嫁接亲和性的因素很多, 遗传因素是影响嫁接亲和性最关键的 因素, 如亲缘关系^[14]、砧穗内部组织结构

的差异、生理生化的差异^[15]和砧穗生长期长短等。本试验结果可能是亲本预先嫁接提前进行营养物质运输和基因交流, 但有关分子机制研究还需进一步深入研究。

内源激素对植物生长发育开花结实具有调控作用。GA₃ 与植物成花息息相关, 能减少器官脱落, 加速果实生长和发育, 从而提高坐果率^[16]。这与本试验研究结果一致, 高含量的 GA₃ 是促进坐果率的诱导因子, 在授粉后 6d GA₃ 含量与坐果率呈极显著正相关, 相关系数高达 0.922。ZR 具有促进细胞分裂的作用, 果实发育前期的 ZR 可促进果实吸引同化物, 促进幼果的细胞分裂及坐果^[17]。本研究表明, 果实发育后期需要高含量的 ZR 使果实正常生长发育, 但在授粉后 4d 高含量的 ZR 抑制坐果, 为显著负相关, 相关系数为-0.815。研究^[18]表明, IAA 的生理效应与其浓度有关, 低含量的 IAA 促进坐果, 高含量的 IAA 抑制坐果甚至导致植物死亡。本试验中, 坐果率促进组合中 IAA 含量高于坐果率未促进组合, 可能因为本试验组合中 IAA 含量都相对较低。ABA 是生长抑制剂, 可阻碍植物或离体器官的生长发育, 可以造成种子休眠、器官衰老和脱落等过程^[18]。董倩倩等^[19]为了探讨果实与内源激素的关系, 以柑橘为试验材料, 结果表明, 果皮和果柄中较高的 ABA 含量是果实容易掉落的重要原因, 这与本试验研究结果一致。所以, 果实发育阶段内源激素含量的变化调控着植物的结实现象。

4 结论

综上, 马铃薯预先嫁接能够提高坐果率, 促进种间杂交亲和性, 获得栽培种与野生种远缘杂交后代。G8×Z1703 组合可作为苗头材料进行培育。高含量 GA₃、ZR 和 IAA 有利于坐果, 而较高含量的 ABA 抑制坐果。由此可见, 内源激素对坐果率的调控不单取决于某一种激素及其含量的变化, 而是多种内源激素互相协调共同调控。

参考文献

[1] 张艳萍. 引进秘鲁马铃薯种质资源的评价与利用. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.
[2] 邸宏, 陈伊里, 金黎平. 中国马铃薯部分栽培品种遗传多样性的 AFLP 分析. 园艺学报, 2006, 33(6): 1349-1352.
[3] 刘喜才, 张丽娟, 孙邦升, 等. 马铃薯种质资源研究现状与发展对策. 中国马铃薯, 2007(1): 39-41.
[4] 段绍光. 马铃薯种质资源遗传多样性评价和重要性状的遗传分析. 北京: 中国农业科学院, 2017.
[5] Zeka D, Sedlák P, Sedláková V, et al. Phenotype and molecular diversity evaluation of some wild 2n *Solanum* species (super series

- Rotata*). Chilean Journal of Agricultural Research, 2015, 75(2): 356-361.
- [6] 王成玉, 马贵龄. 枸杞和辣椒、茄子的嫁接杂交方法. 中国专利: 101904266B. 2013.
- [7] Bomfim N, Nassar N M A. Development of cassava periclinal chimera may boost production. Genetics & Molecular Research, 2014, 13(1): 819-830.
- [8] 祁利潘, 李越, 冯琰, 等. 嫁接对马铃薯种间杂交亲和性的评价. 分子植物育种, 2022, 20(2): 486-493.
- [9] 岳川, 曾建明, 章志芳, 等. 茶树中植物激素研究进展. 茶叶科学, 2012, 32(5): 382-392.
- [10] 黎家, 李传友. 新中国成立 70 年来植物激素研究进展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49(10): 1227-1281.
- [11] 王珍华. 离体培养大岩桐花被切块花芽分化过程中开花相关基因表达及内源激素的定量分析. 杭州: 杭州师范大学, 2012.
- [12] 马佩勇, 贾赵东, 边小峰, 等. 不同砧木与嫁接方式对甘薯开花结实的影响. 浙江农业学报, 2014, 26(6): 1425-1430.
- [13] 薛金燕, 刘益勇, 吴隽香, 等. 栽培茄 (*Solanum melongena* L.) 与喀西茄 (*Solanum khasianum* C.B.Clarke) F₁ 杂交种的获得与鉴定. 中国蔬菜, 2020(10): 62-67.
- [14] Goldschmidt E.E. Plant grafting: new mechanisms, evolutionary implications. Front Plant, 2014, 5(5): 727.
- [15] Tsipouridis C, Thomidis T. Effect of 14 peach rootstocks on the yield, fruit quality, mortality, girth expansion and resistance to frost damages of May Crest peach variety and their susceptibility on *Phytophthora citrophthora*. Scientia Horticultural, 2005, 103(4): 421-428.
- [16] 葛晓宁, 钟秋平, 罗帅, 等. 外源 GA₃ 对油茶花器官内源激素与坐果率的影响. 林业科学研究, 2020, 33(1): 162-170.
- [17] Fukuda H, Kobayashi H. Dynamic organization of the cytoskeleton during tracheary-element differentiation. Development Growth Differentiation, 1989, 31(1): 9-16.
- [18] 郭宇, 高美玲, 刘秀杰, 等. 西瓜种子不同发育时期内源激素含量变化. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(9): 4154-4161.
- [19] 董倩倩, 龚桂芝, 彭祝春. 柑橘采前落果与果实不同部位内源激素含量关系分析. 植物生理学报, 2018, 54(10): 1569-1575.

Effects of Grafting on Interspecific Hybridization Compatibility of Potato and Its Physiological Regulation Mechanism

Zhai Xinna, Yang Jiawei, Xu Chunjiang, Qi Lipan, Tian Zaimin,
Feng Yan, Yin Jiang, Gong Xuechen

(Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China)

Abstract In order to cultivate excellent new germplasms of distant hybridization between tetraploid potato cultivated varieties and diploid wild varieties, tetraploid cultivated varieties (Jizhangshu 8 and Jizhangshu 12) were used as female parents and diploid wild varieties (Z1703 and Z1701) were used as male parents, the effects of pre grafting on interspecific hybridization compatibility and endogenous hormones on fruit setting rate of potato were analyzed. The results showed that the parents were pregrafted, and Jizhangshu 8 and Jizhangshu 12 were crossed with diploid wild species, respectively. After hybridization, the fruit setting rate and single fruit setting rate of each combination were improved compared with the control, the fruit setting rate of Z1703 increased by 39.19%, the number of single fruit increased by 0.13, broke through 0 seeds, and obtained the offspring of distant hybridization between cultivated and wild species. High content of GA₃ and IAA were conducive to fruit setting, while high content of ABA inhibits fruit setting. Low content of ZR promotes fruit setting 2-4d after pollination, and high content of ZR promotes fruit setting in the later stage. The correlation coefficient between GA₃ content and fruit setting rate was as high as 0.922 six days after pollination. The results showed that potato pre grafting could improve the fruit setting rate and promote interspecific hybridization compatibility, and endogenous hormones could regulate the fruit setting rate.

Key words Potato; Grafting; Affinity; Physiological mechanism