

2n 配子在植物育种和种质创新中利用的研究进展

张新忠¹, 闫立英², 刘国俭¹, 赵永波¹, 常瑞丰¹

(1. 河北省农林科学院昌黎果树研究所, 昌黎 066600

2. 河北科技师范学院园艺系, 昌黎 066600)

摘要: 2n 配子在植物进化过程中起了重要作用, 目前, 自发、诱发 2n 配子已在马铃薯、苜蓿、红三叶草、越桔等作物的育种实践中应用, 并分别获得了良好的效果。本文综述了关于植物 2n 配子的主要研究方向和近期取得的研究结果; 植物自发、诱发 2n 配子在有性多倍化、利用种质资源、传递杂种优势、克服胚乳平衡数障碍、克服自交不亲和、马铃薯实生育种及其他领域应用的优越性和已取得的成果; 国际国内通过轮回选择、2n 花粉机械分离、诱导基因突变及直接诱导 2n 配子等方法提高 2n 配子利用效率的研究进展; 2n 配子育种的应用前景。

关键词: 植物; 2n 配子; 应用; 综述

中图分类号: S6 03 文献标识码: A 文章编号: 1000- 7091(2003) 院庆专辑- 0030- 06

Utilization of 2n Gametes in Plant Breeding and Germplasm Enhancement

ZHANG Xin-zhong¹, YAN Li-ying², LIU Guo-jian¹, ZHAO Yong-bo¹, CHANG Rui-feng¹

(1. Changli Institute of Pomology, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences,

Changli 066600, China; 2. Dept. Hort., Hebei Sci Tech. Teacher's College. Changli 066600, China)

Abstract: The advantages, the prospects of the use of 2n gametes in plant breeding and germplasm enhancement, and the significance of unreduced gametes in plant evolution have been confirmed. Both spontaneous and induced 2n gametes were practically used in breeding programs of potato, red clove, goose berry etc. with admirable result. The aim of this paper is to make an up-to-date review of 2n gametes in 4 subtopics. 1) The general research fields and their recent results; 2) the advances and the achievements of the use of 2n gametes in sexual polyploidization, germplasm utilization, maximizing heterozygosity, overcoming the Endosperm Balance Number barrier, breaking self-incompatibility, breeding for True Potato Seed and some else projects; 3) the recent studies on manipulating the efficiency of 2n gametes through recurrent selection, mechanical separating 2n pollen, induced meiotic mutant or induction of 2n gametes; 4) the prospects of 2n gamete utilization.

Key words: Unreduced gamete; Utilization; Review

目前, 人们可以从分子水平上操作植物的遗传物质, 但育种技术越发达, 反而越显出种质资源的重要性, 所以, 保护和创造遗传多样性受到广泛关注, 如何充分利用现有种质, 创造新种质, 是育种者面临的重要问题。研究表明, 在植物物种的进化过程中, 2n 配子(未减数配子)起了重要作用, 70 年来, 人们充分研究植物减数分裂和 2n 配子, 为了更好地解释植物进化的过程, 也希望利用 2n 配子, 沿着植物

物种产生和发育的自然路线, 经人为操作, 有目的, 有选择地加快这个过程。2n 配子的应用解决了其他育种技术难以解决的问题, 是植物育种方法的有力补充(如马铃薯实生育种); 2n 配子在某些方面的应用效率很高, 是条捷径(如稳定传递杂种优势); 与植物进化的自然规律相符合, 出现突破和创新的机会更多。因而, 2n 配子在植物育种、种质利用和种质创新等方面都有巨大潜力。本文重点综述 2n

收稿日期: 2003- 07- 01

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目(397325, 301341)

作者简介: 张新忠(1966-), 男, 河北平泉人, 副研究员, 博士, 主要从事果树种质资源与遗传育种研究方面的工作。

配子在植物育种和种质创新中应用的经典理论和最新进展。

1 研究概况

1.1 2n 配子的自然发生

高等植物中, 有些物种除进行正常减数分裂产生减数的 n 配子的同时, 产生一定比例的与体细胞染色体数相同的配子, 即 2n 配子。到 1983 年 10 月有文献报道的自然发生 2n 配子的植物有 13 个科 74 个种(或杂种、变种)^[1], 到 1994 年又报道了 20 个种^[2], 近年又发现 25 个种产生自发的 2n 配子(如表 1)。

鉴别可育 2n 雄配子产生的常用证据有: ①正

反杂交后代中出现意外倍性个体; ②花粉粒体积呈现二型分布(Quinn, *et al* 1974); ③小孢子母细胞减数分裂四分体时期出现二分体或三分体。1989 年以后, 有人采用流式细胞仪检测特定基因型 2n 花粉的产生, 这个方法既迅速又准确。2n 胚囊的检测难度很大, 一些物种可以采用正反交后代分析的方法, 根据意外倍性的出现, 判断 2n 胚囊的发生, 另一个方法是对大孢子母细胞减数分裂过程进行观察, 这种检测方法是在 1984 年 Stain- Clearing 制片技术^[33]发表后才变得方便, 真正用作 2n 胚囊检测的有效方法是 1987 年 Jongedij 的酶解压片技术提出之后。

表 1 近年报道的植物 2n 配子自然发生的种

植物种	2n 花粉	2n 卵	未确定	文献
ReferencesActinidia spp.	+	+		Yan <i>et al</i> , 1997
Aegilops longissima × Triticum turgidum	+			Pignone <i>et al</i> , 1987
Allium tuberosum		+		Kojima and Nagato, 1992
Allium spp.			+	Netherlands, 1983
Arachis hypogaea × A. Chacoense	+	+		Murthy and Tiwari, 1987
Asparagus officinalis	+			Camadro, 1992
Avena vaviloviana	+			Katsiotis and Forsberg, 1995
Brassica pekinensis	+	+		刘学岷等, 1996
Cechrus ciliaris		+		Bashaw and Hignight, 1990
Costus speciosus	+			Tyagi, 1988
Cucumis ficifolius	+			Zagorcheva <i>etal</i> , 1987
Glycine tomentella	+	+		Doyle <i>et al</i> , 1986
Gossypium hybrids	+			Sanam' yan, 1985
Hierochloe odorata	+			Ferris <i>et al</i> , 1992
Ipomoea trfida	+	+		Iwanaga <i>et al</i> , 1991
Freyre <i>etal</i>				Freyre <i>et al</i> , 1991
Nicotiana rustica × N. glauca		+		Luneva, 1985
Paspalum notatum		+		Burton and Hanna, 1986
Pennisetum americanum × P. purpureum	+	+		Cheng and Lo, 1987
Pisum sativum	+			Myers <i>et al</i> , 1984
Poa pratensis		+		Meier <i>et al</i> , 1985
Prunus domestica	+			Rassvetaeva, 1982
Prunus fruticosa	+			Mashkina, 1981, 1983
Rhoeo spathacea	+			Velazquez, 1994
Triticum carthlicum × Aegilops squarrosa	+			Fukuda and Sakmoto, 1992
Vitis spp.	+			Zhang <i>et al</i> , 1998 张新忠等 1997
Vitis spp.	+			Martens <i>et al</i> , 1989

1.2 2n 配子产生的细胞遗传学机理

2n 配子产生的细胞遗传学机理是研究较广泛的领域, 不同物种、不同基因型产生 2n 配子的机理有多种。Veilleux^[1]和 Bretagnolle 等^[2]对这方面工

作做了较系统的综述, 包括减数分裂前的加倍、核重组(第一次分裂重组 FDR First division restitution 和第二次分裂重组 SDR Second division restitution)、缺减数分裂的第一次或第二次分裂、细胞质

早分裂,缺第二次细胞质分裂和减数分裂后的融合。依据通过不同异常途径所产生的 2 n 配子的遗传效果,学术界公认把这些细胞遗传学机理归纳为两种方式,即等价于 FDR 方式和等价于 SDR 方式。

关于 2 n 配子产生的细胞遗传学机理的研究一般用细胞学方法,半四联体分析法(Wagean voort and Zimnoch-Guzowska, 1992; Werner, *et al* 等),近年有人试验用 RAPD 标记法(Barcaccia, *et al*, 1994; 1995) 或 RFLP 标记法(Chen, *et al*, 1997) ,效果也较好。

1.3 遗传控制与环境影响

关于 2 n 配子的遗传控制也有大量的研究工

表 2 近年报道的存在影响 2n配子基因的植物种

植物种	基因	符号	文献
Agroticum	Homologous pairing	ph	Wang <i>et al</i> , 1977
Solanum commersonii	Synaptic mutant	sy2	Johnston <i>et al</i> , 1981
Solanum - - -	Synaptic mutant	sy3	Okw uagw u <i>et al</i> , 1981
Solanum - - -	Synaptic mutant	sy4	Iwanaga, 1984

有些基因型同时产生 2 n 花粉和 2 n 卵,但研究发现,2 n 花粉和 2 n 卵的产生是受不同遗传控制的,二者的产生和产量不相关^[3]。

对于一些产生 2 n 配子的物种及已经确认的基因突变体,2 n 配子的产生和产量明显受环境的影响,如极端温度、干旱、日照长度等^[1,3],植物年龄、季节、肥料等也影响 2 n 配子的产量,此外,其他生物如病毒、痠螨的侵染也可导致 2n 配子的产生(Veilleux and Leauer, 1981)。

2 2n 配子在植物育种和种质创新中的应用

2.1 有性多倍化

有性多倍化(Sexual polyploidization) 是自然界植物多倍体形成的主要途径。2 n 配子被发现之后,人为操作的有性多倍化已成为植物种质创新的重要手段。虽然利用微管抑制剂等化学物质进行无性多倍化(Asexual polyploidization) 是一种常用的获得多倍体的方法,但其缺点是同质性增加,造成严重的衰退现象,而且出现嵌合体和混倍体也是很普遍的,还有些植物,如果树作物,以秋水仙素加倍得到多倍体的机会并不多。利用 2n 配子进行有性多倍化恰好克服了这些缺点,表现出巨大优越性^[3~5]。不仅如此,马铃薯 4 x × 2 x 杂交的 4 x 后代表现甚至优于 4 x × 4 x 后代(Qrtiz and Peloguín, 1994; Bu-

作,认为 2 n 配子发生是隐性单基因控制的,但 2 n 配子的产量高低受多基因影响。 Veilleux^[1]列出了 1983 年以前报道的 9 个隐性单基因,其中 sy 基因(Synaptic mutant) 在植物种中存在最广泛, 1981 年^[2]已在 32 个种的植物上有报道。 Bretagnolle^[3]引用大量文献评述了前人的试验结果。近年又研究发现了一些除上述 9 个基因以外的控制 2 n 配子发生的基因(表 2)。

so, 1987)。

亲本之一产生的 2 n 配子进行杂交获得多倍体,称单亲加倍(U nilateral polyploidization) ,亲本双方同时提供 2 n 配子后代得多倍体,称双亲加倍(Bi-lateral polyploidization) 。目前继马铃薯、苜蓿之后,利用 2n 配子进行多倍化在许多种植物上都取得了良好的应用效果或具有很好的应用前景,如鸭趾草(Bretagnolle and Lumaret, 1995)、红三叶草(Parrott, *et al*, 1985)、越桔(Mealos and Ballington, 1988) 和辣椒^[6]等。

2.2 利用有利基因

马铃薯、苜蓿、越桔等作物的栽培种多是四倍体,可利用的种质有限,相应的二倍体野生种中有丰富的抗性基因,通过 2n 配子可很容易地将野生种或半栽培种中的有利基因直接引入栽培种,并可以直接利用于育种或生产^[7],已经取得成功的有马铃薯抗线虫性育种^[8]、抗病性育种(Carputu, *et al*, 1993; Watanabe, *et al*, 1992) 苜蓿抗病性育种(Havey and Maxwell, 1988) 等。

2.3 稳定传递杂合性

理论上 FDR 2 n 配子或等价于 FDR 的 2 n 配子能将亲本杂合性的 80% 以上传递给后代,而 SDR 或等价于 SDR 的 2 n 配子只能传递 40% 的亲本的杂合性(Hermesen, 1984) 。许多育种实践或试验数据与理论估计值基本相符^[9]。 1995 年 Barone 以 RFLP 方法测得马铃薯 FDR 和 SDR 2 n 配子分别

传递 71.4% 和 31.8% 的杂合性, 后来他们又发表了相似结果, 传递杂合性的比例分别为 FDR 72.2%, SDR 34.6% (Barone, 1996)。Qu 和 Hancock 1995 年用 RAPD 法测得越桔 FDR 2n 配子将 70% 的杂合性传递给后代。

当后代最大限度地保持了亲本的杂合性和上位效应时, 可以获得较大程度的杂种优势^[1, 10], 所以, FDR 2n 配子在育种中的应用价值大于 SDR 2n 配子, 而需要得到较大程度同质性的育种, 以利用 SDR 2n 配子较好。

2.4 克服胚乳平衡数障碍

胚乳平衡数 (Endosperm balance number EBN) 是 1980 年 Johnston^[11] 提出的用于说明结薯组马铃薯种间杂交亲合性, 并且这种亲合性由遗传控制的一种假说。体细胞杂交、合子离体培养、低 EBN 亲本预先加倍等方法都可以克服 EBN 障碍, 但这几种方法都不如利用 2n 配子更直接方便, 4EBN × 2EBN 杂交组合中, 如果父本产生 2n 花粉, 则使杂种胚乳 EBN 比值为 4:2, 表现杂交亲合。

以后的研究发现苜蓿、越桔、菜豆、大豆、水稻、南瓜、番茄、饲用豆类、杂草、观赏植物、*Datura stramonium*, 以及 *Avena*, *Impatiens*, 三叶草等植物都存在 EBN 障碍的现象, 并通过试验证明, EBN 障碍是由遗传控制的 (Bamberg, 1994; Camadro, *et al*, 1995; Ehlenfeldt, *et al*, 1998)。育种实践中已成功利用 2n 配子直接获得了不同 EBN 值的种间杂种 (Carputu, *et al*, 1995)。

2.5 克服自交不亲和

自交不亲和现象在许多植物中存在, 尤其果树作物, 利用 2n 花粉可以大大提高自交结实能力。1943 年, Lewis 利用诱发的 2n 花粉获得了西洋梨的自交种子。Zhang (1985) 研究发现金冠苹果的突变体自花结实的原因是产生 2n 花粉。Shidakov 1985 年报道利用诱发 2n 花粉可大大降低几个苹果品种的自交不亲和性, 并提高了 3x 品种的花粉育性。

2.6 马铃薯实生育种

马铃薯的种子不传病毒 (PVY, PLRV), 种子繁殖的生产成本低, 所以育种家对马铃薯种子繁殖很有兴趣, 但存在一些问题。通过 FDR 2n 配子实现其实生育种是可行的, 不仅降低制种成本, 还能保持较高程度的杂种优势, 又使后代具有较好的一致性。试验证明, 实生后代的产量表现说明了利用 2n 配子进行马铃薯实生育种的可行性 (Peloquin, *et al*, 1985; Buso, *et al*, 1988; Concilio, 1987)。

实际应用中, 马铃薯实生繁殖应具有一些条件, 母本应雄性不育或自交不亲和并且不产生 2n 花粉, 还应选择亲本基因型和选配适宜组合^[12]。

2.7 其他应用

自然或人工远缘杂交的障碍是杂种不育, 在马铃薯、小麦育种中经常遇到。利用杂种产生的 2n 配子可以很容易地克服其不育性, 实现有性操作, 除马铃薯、小麦外, 其他作物育种中也有应用。

萝卜与甘蓝的远缘杂种 (*Raphanobrassica*) 是双单倍体, 只能通过 2n 配子获得 F₂ (Matsuzawa, *et al*, 1985), 珍珠稗种间杂种回交过程中也主要依靠 2n 配子的发生 (Zadoo, *et al*, 1986)。2n 配子在非整倍体甜菜 (*Romagosa*, *et al*, 1988)、单倍体桃 (Pooler, *et al*, 1995)、单倍体辣椒^[13] 及其他不育类型的育种应用中也有很大的利用价值。近年研究发现, 番茄与马铃薯的体细胞杂种产生较高比例的 FDR 2n 配子, 为克服其不育性提供了可能^[14]。

3 提高 2n 配子利用效率的研究

不同植物种或同种植物的个体间, 2n 配子产生的频率有很大差异, 如越桔 (Ortiz, *et al*, 1992), 还有报道, 苜蓿同一个体不同花朵产生的 2n 花粉比例变化在 4% ~ 37% 之间, 甚至马铃薯一朵花内不同花药的 2n 花粉比例也有 5.6% ~ 61.7% 的变幅^[3]。2n 配子的发生和产量都是影响其在育种和种质创新中应用效果的指标, 有效地获得或提高 2n 配子的产量是有意义的。

3.1 轮回选择

由于 2n 配子的产生受主基因和微效基因控制, 或者其形成受主基因控制, 产量受微效基因影响, 所以通过轮回选择可以有效地提高 2n 配子的产量。最早 Jacobsen (1980) 在马铃薯上试验, 随后对马铃薯 (Ortiz, *et al*, 1992)、红三叶草 (Parrott, *et al*, 1986) 进行轮回选择试验, 使 2n 花粉含量提高。苜蓿 (Tavoletti, *et al*, 1991) 经 2 代轮回选择, 对于提高 2n 花粉和 2n 卵的发生频率都有效, 到第 3 代和第 4 代, 2n 花粉仍有显著的选择反应, 而 2n 卵的选择反应不再明显^[15]。

3.2 2n 花粉的机械分离

Reddy G M 为获得用于提纯 DNA 用的活花粉, 曾用一组筛子将败育花粉筛出去。1987 年, 荷兰育种家用 15 ~ 52 μm 孔径的筛子对 2x 马铃薯的正常花粉和 2n 花粉进行筛分, 又有报道, 这种方法不影响花粉育性, 对分离 2n 花粉有效, 但不彻

底^[16]。利用筛分法分离其他作物的 2n 花粉效果也较好^[17]。

3.3 诱导减数分裂突变体

利用诱变剂可以使植物种或某个不产生 2n 配子的特定基因型发生基因突变, 在后代中选择产生 2n 配子的减数分裂突变体。EMS (Ethyl methane sulphonate) 是诱导减数分裂基因突变的有效诱变剂, 在辣椒、黑种草 (*Nigella sativa* L.) 和马铃薯等植物上都有利用 EMS 诱发减数分裂突变体的报道, 但所得突变体多数花粉不育。MNU (N-nitroso-N-methylurea) 也有与 EMS 相似的诱变效果 (Grebennikova, 1990)。而利用 280 nm 紫外线处理甜菜花枝 20 min, 在 M₂ 筛选出 2% 的个体, 是产生 2n 花粉的减数分裂突变体 (Seilova, et al, 1985)。γ-射线是诱导减数分裂突变体的另一种有效诱变剂, 用 10 kR 的 γ-射线处理玉米与摩擦禾杂种的种子, 曾获得诱发 2n 配子的显著效果 (Yudin, et al, 1982)。用 γ-射线处理红花 (*Carthamus tinctorius*) 种子, 在 M₂ 中有联会失败突变体 (Desynaptic mutant) (Parsad, et al, 1983), 另有试验报道^[18], 用 15-75kR 的 γ-射线处理红花干种子, 在 M₁ 就有 3 个突变体产生 2n 配子, 并在突变体的 F₁ 中发现了 1 株三倍体。此外, γ-射线和秋水仙素在其他植物上也有应用 (Gordei, et al, 等, 1985)。

3.4 直接诱导 2n 配子

由于 2n 配子的产生和产量受环境的影响明显, 所以利用环境胁迫或诱变剂使植物当代产生 2n 配子是可行的。Veilleux^[1]综述了 1983 年以前关于 2n 配子直接诱导的大量文献, 说明高温、低温、氯仿、秋水仙素及赤霉素等对诱导植物未成熟花芽, 当代产生 2n 配子都有效果。其中秋水仙素对植物减数分裂的作用机理、有效时期和效果已研究得很清楚 (Loidl, 1990), 效果最显著的是甜樱桃 (*Prunus avium*), 秋水仙素处理花枝后, 2n 配子的发生频率可由 3.48% 提高到 55%^[19]。气态的 MNU 对苹果 2x, 3x 品种当代产生 2n 配子的诱导效果也很好 (Shidakov, 1985)。

利用植物减数分裂和 2n 配子产生对环境的敏感性 (Veilleux, et al, 1980), 采用环境胁迫也是诱导 2n 配子产生的有效方法。近期试验证明, 不同作物, 不同基因型对温度胁迫的反应不一样, 一些植物如杂种烟 (*Nicotiana*) (Luneva, 1985)、杂种麦 (Tyankova, 1992)、红三叶草 (Mouset-Declas, et al, 1992) 等在低温下发生高频率的 2n 配子, 而苜蓿

(Barcaccia, 等, 1997) 等 2n 配子发生对高温敏感, 马铃薯 2n 配子发生既可被高温诱导, 又可为低温诱导, 依基因型而异^[20]。依据这一原理, 环境胁迫可以作为诱导植物减数分裂异常 (Veilleux, et al, 1981), 当代获得可育 2n 配子的最有效的方法^[21,22]。

4 应用前景

多倍体和抗性是植物育种的重要目标, 园艺作物, 尤其果树作物的育种周期长, 实用的方法相对少, 所以难度大, 其他作物获得多倍体的有效方法, 如秋水仙素处理等在果树作物中应用, 得到多倍体的机会并不多, 且即使得到, 经济意义也不大。由于 2n 配子是自然界植物多倍体产生的主要途径, 人为利用 2n 配子可以解决其中部分问题, 应用潜力很大。由于 2n 配子在植物种质创新和育种中具有的特殊应用价值和巨大潜力, 加上我国可利用的植物种质非常丰富, 预期加快 2n 配子在我国植物育种和种质利用中的研究工作进度, 必将取得很好效果, 尤其在一些重要的无性繁殖作物如果树、蔬菜、饲料等作物中应用前景会更广阔。

参考文献:

- [1] Veilleux R. Diploid and polyploid gametes in crop plants: Mechanisms of formation and utilization in plant breeding [J]. Plant Breeding Review 1985, 3: 253-288.
- [2] Koduru P R K, Rao M K. Cytogenetics of synaptic mutants in higher plants [J]. Theor Appl Genet, 1981, 59: 197-214.
- [3] Bretagnolle F, Thompson J D. Gametes with the somatic chromosome number: mechanisms of their formation and role in the evolution of autopolyploid plants [J]. New Phytologist, 1995, 129, 1-22.
- [4] McCoy T J, Rowe, D E. Single cross alfalfa (*Medicago sativa* L) hybrids produced via 2n gametes and somatic chromosome doubling: experimental and theoretical comparisons [J]. Theor Appl Genet, 1986, 72: 80-83.
- [5] Tai G C C, De Jong H. A comparison of performance of tetraploid progenies produced by diploid and their vegetatively doubled (tetraploid) counterpart parents [J]. Theor Appl Genet, 1997, 94: 303-308.
- [6] Zhang X Z, Yan L Y, Liu G J, et al. Creating triploid germplasm via 2n gametes in *Capsicum annuum* L [J]. J Hort Sci Biotech, 2003, 78(1): 84-88.
- [7] Adiwilaga K D, Brown C R. Use of 2n pollen producing triploid hybrids to introduce tetraploid Mexican wild

- species germ plasm to cultivated potato gene pool[J] . Theor Appl Genet, 1991, 81: 645– 652.
- [8] Maine M J De, Farrer L A, Phillips M S. Breeding for quantitative resistance to potato cyst nematode(*Globodera pallida*) in tetraploid potatoes using dihaploids and unreduced gametes[J] . Euphytica, 1986, 35: 1001– 1006.
- [9] Hutten R C B, Schippers M G M, Hermesen J G T, *et al* . Comparative performance of FDR and SDR progenies from reciprocal 4x– 2x crosses in potato[J] . Theor Appl Genet, 1994, 89: 545– 550.
- [10] Werner J E, Peloquin S J. Significance of allelic diversity and 2 n gametes for approaching maximum heterozygosity in 4x potatoes[J] . Euphytica, 1991, 58: 21– 29.
- [11] Johnston S A, den Nijs T, Peloquin S J, *et al* . The significance of genic balance to endosperm development in interspecific crosses[J] . Theor Appl Genet, 1980, 57: 5– 7.
- [12] Chulow S A, McNicoll J, Bradshaw J E. Producing commercially attractive, uniform true potato seed progenies: the influence of breeding scheme and parental genotype [J] . Theor Appl Genet, 1995, 90: 519– 525.
- [13] Yan L Y, Zhang X Z, Liu G J. Occurrence of unreduced gametes and ploidy restoration in haploid *Capsicum annuum* L[J] . J Hort Sci Biotech, 2000, 75(2) : 195– 197.
- [14] Jong J H De, Wolters A M A, Kok J M, *et al* . Chromosome pairing and potential for intergeneric recombination in some hypotetraploid somatic hybrids of *Lycopersicon esculentum* (+) *Solanum tuberosum* [J] . Genome, 1993, 36: 1032– 1041.
- [15] Calderini O, Mariani A. Increasing 2 n gamete production in diploid alfalfa by cycles of phenotypic recurrent selection[J] . Euphytica, 1997, 93: 113– 118.
- [16] Eijlander R. Manipulation of the 2 n gametes frequencies in *Solanum pollen* [J] . Euphytica (Supplement), 1988, 45– 50.
- [17] 张新忠, 刘国俭, 闫立英, 等. 用筛分法提纯辣椒、桃、李 2 n 花粉[J] . 华北农学报, 2002, 17(增) : 234– 235.
- [18] Kumar H, Pillai R S N, Singh R B. Induction of unreduced microspore formation in safflower [J] . Egypt J Genet Cyto, 1984, 13: 19– 24.
- [19] Datta A K, Biswas A K. A EMS– induced bushy mutant of *Nigella sativa* L. with desynaptic behaviour of chromosomes[J] . Cytologia, 1985, 50: 335– 543.
- [20] Mchale N A. Phenotypic variation for 2 n pollen in *S. phureja* [J] . Amer Potato J, 1982, 59: 479– 480.
- [21] 张新忠, 刘国俭, 章德明. 热激对李、桃 2 n 花粉产生的影响[J] . 园艺学报, 1998, (3) : 292– 293.
- [22] 张新忠, 刘国俭, 章德明, 热激或低温处理对辣椒 2 n 花粉产量的影响[J] . 华北农学报, 1999, 14(1) : 144.