

## 马铃薯种间体细胞杂种的育性和遗传改良

司怀军 王 蒂

(甘肃农业大学农学院, 甘肃兰州 730070)

**摘 要** 对马铃薯双单倍体品系 81-15 和南美二倍体栽培种 *Solanum phureja* 及二倍体野生种 *Solanum chacoense* 原生质体融合获得的 25 个株系的花粉育性和雌配子育性进行了测定。结果显示, 马铃薯种间体细胞杂种花粉育性与其双亲相比明显降低。81- 15+ *S. phureja* 和 81- 15+ *S. chacoense* 的种间体细胞杂种的花粉育性范围分别为 7. 0% ~ 42. 8% 和 8. 0% ~ 20. 1%, 花粉中小花粉所占的比例明显增加, 最高的可达 36. 0%。对体细胞杂种进行人工辅助自花授粉每个浆果得到的种子数较少, 但用四倍体栽培品种甘农薯 3 号作父本进行授粉时每个浆果得到较多的种子, 最多的可达每个浆果 38. 4 粒, 说明雌配子育性较好。以甘农薯 3 号作父本, 4 个优良的体细胞杂种作母本进行 1 次杂交和 1 次回交, 从回交后代中选育出了 10 个农艺性状优良、块茎性状表现较好、块茎产量高、高淀粉和低还原糖含量的优良株系。这些结果表明, 体细胞融合技术与常规育种技术相结合, 是进行马铃薯遗传改良和选育新品系的有效途径。

**关键词** 马铃薯; 体细胞杂种; 花粉育性; 雌配子育性; 回交改良

**中图分类号:** S532 **文献标识码:** A

## Fertility and Genetic Improvement of Interspecific Somatic Hybrids of Potato

SIHuai-Jun WANG Di

(College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

**Abstract** The pollen viability and female fertility of 25 somatic hybrids obtained by protoplast fusion between a dihaploid of *Solanum tuberosum* strain 81-15 and two diploid species (a South American diploid cultivated species *Solanum phureja* and a diploid wild species *Solanum chacoense*) were investigated. The results indicated that although the fertility of the male gametes of the interspecific somatic hybrid was rather low, as revealed by lower percentages of fertile pollens, higher percentages of small pollens and lower percentages of seed setting after self-pollination, the fertility of the female gametes was much better. The seed setting after pollinated with a commercial variety Gannongshu No. 3 ranged from 7. 5~ 38. 4/fruit, as compared with 0~ 12. 5/fruit, when the somatic hybrids were self-pollinated.

Four better lines of the interspecific somatic hybrids were backcrossed sexually with Gannongshu No. 3 and ten promising lines whose agronomic traits were better than, at least not inferior to, Gannongshu No. 3 were obtained, indicating interspecific somatic hybridization, when combined with traditional breeding method, might be a new approach for the genetic improvement and the development of new cultivars in potato breeding.

**Key words** Potato; Somatic hybrids; Pollen fertility; Female fertility; Backcross improvement

植物体细胞融合技术在马铃薯的品种改良和育种实践中具有重要的意义。应用该技术可以克服有性杂交不亲和、性器官败育等问题, 从而扩大杂交

的范围, 创造新种质。而且还可以获得既有核基因重组, 又有胞质基因重组的高产优质杂种。因而, 是实现基因重组的一条新途径, 是有性杂交的有效

基金项目: 国家 863 计划项目 (2001AA 241132) 和国家自然科学基金资助项目 (39670480)

作者简介: 司怀军 (1971-), 男, 讲师, 主要从事马铃薯生物技术育种的研究。现为华中农业大学在职博士。在研究过程中戴朝曦教授给予了热情指导和帮助, 在此深表谢忱。

Received on (收稿日期): 2001-10-22, Accepted on (接受日期): 2002-05-27

补充。在马铃薯资源中,大多数野生种(约 75%)为二倍体,直接与四倍体栽培品种杂交很难成功,限制了马铃薯野生种优良基因的利用。通过马铃薯优良双单倍体与二倍体野生种的体细胞融合,可将与马铃薯有性杂交难以成功的野生种所具有的优良基因转移到马铃薯栽培种中,从而为利用庞大的马铃薯家族中野生种所具有的丰富优良基因开辟一条新途径。

自从 1980 年 Butenko 等<sup>[1]</sup>首次获得第一株马铃薯体细胞杂种植株以来,已有不少关于马铃薯原生质体融合获得杂种植株的报道<sup>[1~11]</sup>。但直到目前为止,大多数研究仍停留在融合技术及杂种鉴定等方面,缺乏对杂种植株及其后代进一步观察和选育,限制了体细胞杂种植株的实际应用。我们用电融合法在国内首次获得了马铃薯双单倍体品系 81-15 和南美二倍体栽培种 *Solanum phureja* 和二倍体野生种 *Solanum chacoense* 的体细胞杂种植株,对其形态学和农艺性状已作了详细的观察和田间鉴定,并进行了细胞学和同工酶等方面的分析与鉴定<sup>[2, 12, 13]</sup>。而且从中已选择出了一些植株生长势强、块茎产量高、高淀粉和低还原糖含量、具有较强田间抗病虫能力的优良株系,这些优良株系是马铃薯育种非常有价值的中间材料。但由于其商品薯率低、单株块茎数偏多而不能直接应用于马铃薯的生产实践<sup>[14]</sup>。因此,我们在对其育性研究的基础上,用优良四倍体栽培品种进行了回交改良。本文将报道对体细胞杂种进行育性研究和回交改良的结果,为进一步选育新品种提供依据和奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

试验材料为用电融合法获得的马铃薯普通栽培种 *Solanum tuberosum* 双单倍体品系 81-15 ( $2n=2x=24$ ) 和南美二倍体栽培种 *Solanum phureja* ( $2n=2x=24$ ) 及二倍体野生种 *Solanum chacoense* ( $2n=2x=24$ ) 的体细胞杂种植株。杂种植株的来源见文献<sup>[2, 12]</sup>。

### 1.2 花粉活力及花粉粒直径的测定

每一材料随机取至少 50 朵充分成熟并将要开放的花朵,取出花药使花粉散出。将混合后的一部分花粉置于载玻片上,加 1~2 滴 1% 醋酸洋红,混匀,盖上盖玻片,置显微镜下观察统计被染成红色的花粉占整个花粉的比例。每一材料至少观察 300

个花粉粒,同时统计花粉中直径特别小、无正常花粉外壳结构的小花粉占整个花粉的比例。用测微尺随机测量 50 个花粉粒的直径,计算平均值和标准差。

### 1.3 雌配子育性的测定

通过自花授粉和测验种杂交授粉的方法,根据所结种子的情况来确定体细胞杂种的雌配子育性。在开花期,进行人工辅助自花授粉。同时用具有良好天然结实性并能产生大量具有生活力花粉的四倍体栽培品种甘农薯 3 号作父本,进行异花授粉。统计授粉花数形成的浆果数和种子总数,计算出每果的平均种子数。

### 1.4 体细胞杂种的回交改良

试验于 1995~2000 年在甘肃省天祝县马铃薯原种场进行。选用综合性状优良、育性较好的 81-15+*S. phureja* 的体细胞杂种植株 P-1-4 和 P-10-6 以及 81-15+*S. chacoense* 的体细胞杂种植株 C-1-16 和 C-4-2 作母本,以马铃薯四倍体栽培品种甘农薯 3 号作父本。1995 年配制了杂交组合,1996 年将获得的杂交种子按组合种植在温室育苗盘中育苗,然后移栽于大田中,初步选择综合性状较好的株系分组合收获块茎。1997 年将收获的块茎按组合种植,然后以甘农薯 3 号作父本进行回交。1998 年按组合先在温室育苗盘中育苗,然后移栽于大田中,每组合种植 100 株,初步选择综合性状较好的株系分单株收获块茎。1999 年将收获的块茎按单株种植,按综合性状继续进行选择,分株系进行收获。2000 年将上年收获的块茎按株系采用随机区组法种植,3 次重复,每个株系种 2 行,每行 15 株,株距 30 cm,行距 70 cm。栽培管理同一般大田生产。在块茎成熟收获时观察测定薯块皮色、薯形、单株块茎数、单株块茎重、大中薯率(75g)、芽眼深浅。块茎收获 10d 后测定淀粉和还原糖含量。用比重法测定淀粉含量,费林试剂法测定还原糖含量<sup>[15]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 马铃薯种间体细胞杂种的育性

马铃薯原生质体融合获得的种间体细胞杂种的育性与其双亲相比,明显地低于二倍体亲本(表 1)。在两个体细胞杂交组合中,3 个亲本 81-15、*S. phureja*、*S. chacoense* 的花粉育性分别为 90.2%、75.6% 和 50.8%。体细胞杂种的花粉育性明显降

低, 所观察的 15 个 81- 15+ *S. phureja* 体细胞杂种株系花粉育性的范围为 7. 0% ~ 42. 8%, 其中有 5 个株系在整个生育期中由于未形成正常花蕾而没有开花。所观察的 10 个 81- 15+ *S. chacoense* 体细胞杂种株系花粉育性最高的只有 20. 1%, 最低的为 8. 0%, 其中也有 2 个株系没有开花。由表 1 还可以

看出, 所有体细胞杂种的花粉中花粉特别小、无正常花粉外壳结构的小花粉所占的比例明显较高, 最高的可达 36. 0%, 最低的也占 10. 8%, 而亲本最高的也只有 8. 9%。体细胞杂种花粉的直径一般大于二倍体亲本, 并且从花粉粒直径的标准差还可以看出, 体细胞杂种的花粉粒整齐度差。

表 1 马铃薯种间体细胞杂种的育性  
Table 1 Fertility of interspecific somatic hybrids of potato

材料 Material	花粉育性 Pollen fertility			雌配子育性 Female fertility			
	可育花粉 百分数 Percentage of fertile pollen (%)	小花粉 百分数 Percentage of small pollen (%)	花粉直径 Pollens diameter ( $\mu\text{m}$ )	自花授粉 Self pollination		甘农薯 3 号花粉授粉 Pollinated with Gannongshu No. 3	
				授粉花数/浆 果数/种子数 P/F/S <sup>1)</sup>	种子数/果 S/F <sup>2)</sup>	授粉花数/浆 果数/种子数 P/F/S <sup>1)</sup>	种子数/果 S/F <sup>2)</sup>
亲本 Parents							
81-15	90.2	2.1	20.05 ± 2.04	15/13/1017	78.2	-	-
<i>S. phureja</i>	75.6	6.5	22.12 ± 3.20	28/15/840	56.0	-	-
<i>S. chacoense</i>	50.8	8.9	19.56 ± 2.48	22/13/610	46.9	-	-
81-15+ <i>S. phureja</i> 体细胞杂种							
P-1-2	15.5	15.3	25.22 ± 4.82	35/12/64	5.3	40/12/304	25.3
P-1-4	38.9	10.8	19.30 ± 8.25	40/20/164	8.2	48/20/768	38.4
P-2-5	25.6	22.5	26.34 ± 3.46	11/7/13	1.9	24/8/210	26.3
P-2-12	11.4	30.6	23.92 ± 5.38	12/5/15	3.0	30/7/215	30.7
P-8-6	7.0	25.6	28.36 ± 5.47	15/1/0	0	35/8/147	18.4
P-8-14	22.3	34.0	18.80 ± 4.30	30/7/38	5.4	18/6/132	22.0
P-10-6	42.8	14.3	26.25 ± 6.40	22/10/125	12.5	26/12/422	35.2
P-10-12	36.2	17.2	22.03 ± 7.62	18/6/55	9.2	22/8/60	7.5
P-14-2	19.6	24.8	24.14 ± 5.02	25/4/19	4.8	30/4/36	9.0
P-14-6	25.0	28.2	20.58 ± 8.03	30/12/44	3.7	38/10/276	27.6
81-15+ <i>S. chacoense</i> 体细胞杂种							
C-1-1	16.5	24.3	21.35 ± 4.83	30/8/48	6.0	26/8/90	11.3
C-1-6	20.1	15.8	22.60 ± 4.06	12/4/13	3.3	34/10/227	22.7
C-1-16	15.2	30.2	25.81 ± 6.72	15/3/14	4.7	25/8/280	35.0
C-1-23	9.8	36.0	28.43 ± 7.46	15/2/0	0	18/6/75	12.5
C-1-28	11.6	22.7	20.85 ± 5.49	24/5/13	2.6	12/3/25	8.3
C-4-2	16.7	14.2	20.05 ± 3.20	32/8/14	1.8	40/15/267	17.8
C-4-3	8.0	28.5	23.90 ± 6.22	28/5/27	5.4	38/8/194	24.3
C-4-6	18.2	30.4	22.86 ± 6.84	36/7/12	1.7	22/7/201	28.7

Note: 1) P/F/S= Pollinations/Fruits/Seeds 2) S/F: Average seeds per fruit

体细胞杂种植株人工辅助自花授粉时, 得到的种子数较少, 而用具有较好育性的四倍体栽培品种甘农薯 3 号作父本进行杂交授粉时, 得到的种子较多。在 3 个亲本 81- 15、*S. phureja* 和 *S. chacoense* 人工辅助自花授粉时, 每个浆果所结的种子数平均为 78. 2、56. 0 和 46. 9。两个组合 81- 15+ *S. phureja* 和 81- 15+ *S. chacoense* 自花授粉每个浆果所结的种子数变化范围为 0~ 12. 5 和 0~ 6. 0。用甘农薯 3 号作父本进行杂交授粉时, 两个组合的大多

数体细胞杂种植株所结的种了数明显增多, 最多的可达每个浆果 38. 4 粒。由此可以看出, 种间体细胞杂种雄配子(花粉)的育性低, 但雌配子的育性却相对较好。

### 2.2 体细胞杂种的回交改良与后代选育

用 4 个综合性状较好的体细胞杂种植株系作母本, 四倍体优良栽培品种甘农薯 3 号作父本, 经过回交及回交后代的选择与鉴定, 已选育出了几个农艺性状优良、块茎性状表现较好、高淀粉和低还原

糖含量的优良株系(表 2)。与融合亲本及体细胞杂种植株相比, 所选育的几个优良回交后代的单株块茎重明显提高, 单株块茎数适度, 其中株系 PB 22-39 的单株块茎重(1005g) 比其双亲的平均值(384g) 增加了 61. 8%。体细胞杂种回交后代的大中薯率均

大于 70%, 淀粉含量为 14. 8% ~ 17. 8%, 还原糖含量均低于 0. 25%, 芽眼深度中等或浅, 薯形为圆形或椭圆形。由此可以看出, 经过回交选择过程, 体细胞杂种的综合性状得到了明显地改良, 为进一步地选育新品种奠定了基础。

表 2 马铃薯体细胞杂种几个优良回交后代的农艺性状  
Table 2 The agronomic characters of several backcrossed progenies of potato somatic hybrids

材料 Material	薯块皮色 Tuber skin color	薯形 Tuber shape	单株块茎数 Number of tuber/ plant	单株块茎重 Tuber yield (g)/ plant	大中薯率 Marketable tuber perc- entage (%)	芽眼深浅 Tuber eye depth	淀粉含量 Starch content (%)	还原糖含量 Reduced sugar content (%)
亲本 Parent								
81-15	黄色具红斑	卵圆形	5. 2	448	55. 2	中	15. 2	0. 15
<i>S. phureja</i>	紫色	圆形	7. 4	320	46. 6	中	14. 2	0. 32
<i>S. chacoense</i>	黄色	圆形	8. 4	382	40. 8	中	16. 5	0. 10
G <sub>3</sub>	白色	圆形	5. 2	1105	84. 2	浅	16. 2	0. 20
体细胞杂种 Somatic hybrids								
P-1-4	紫色	圆形	6. 8	736	48. 0	中	16. 5	0. 11
P-10-6	黄色	圆形	5. 8	602	52. 4	中	16. 4	0. 18
C-1-16	黄色具紫斑	长椭圆形	9. 2	724	52. 8	中	15. 8	0. 08
C-4-2	黄色	长椭圆形	5. 6	710	58. 6	浅	17. 8	0. 10
回交后代 Backcross progeny								
PB 22-2 (P-1-4 × G <sub>3</sub> ) × G <sub>3</sub>	浅紫	圆形	4. 8	890	80. 5	中	16. 0	0. 22
PB 22-10 (P-1-4 × G <sub>3</sub> ) × G <sub>3</sub>	浅紫	圆形	6. 7	942	78. 4	中	15. 4	0. 15
PB 22-39 (P-1-4 × G <sub>3</sub> ) × G <sub>3</sub>	黄色	圆形	5. 5	1005	85. 0	中	17. 2	0. 10
PB 85-5 (P-10-6 × G <sub>3</sub> ) × G <sub>3</sub>	黄色	圆形	7. 3	850	70. 3	浅	16. 8	0. 25
PB 85-36 (P-10-6 × G <sub>3</sub> ) × G <sub>3</sub>	黄色	圆形	6. 9	932	82. 1	中	15. 3	0. 18
CB03-9 (C-1-16 × G <sub>3</sub> ) × G <sub>3</sub>	白色	椭圆形	5. 8	726	75. 4	中	15. 2	0. 10
CB03-12 (C-1-16 × G <sub>3</sub> ) × G <sub>3</sub>	白色	椭圆形	5. 3	740	74. 0	浅	16. 5	0. 15
CB03-23 (C-1-16 × G <sub>3</sub> ) × G <sub>3</sub>	黄色	长椭圆形	6. 2	923	80. 2	浅	16. 0	0. 20
CB08-7 (C-4-2 × G <sub>3</sub> ) × G <sub>3</sub>	白色	圆形	6. 4	642	78. 6	中	14. 8	0. 15
CB08-32 (C-4-2 × G <sub>3</sub> ) × G <sub>3</sub>	白色	圆形	7. 3	836	72. 8	中	15. 7	0. 19

注: G<sub>3</sub> 代表甘农薯 3 号。 Note: G<sub>3</sub> represents Gannongshu No. 3

### 3 讨论

马铃薯为同源四倍体无性繁殖作物。长期以来, 在马铃薯的育种实践中, 常规育种技术遇到了许多难以解决的问题, 包括高水平的杂合性, 基因分离复杂, 隐性基因表现频率较低, 花粉常常出现不育, 杂交结实较难。此外, 普通栽培种基因库狭窄, 而具有丰富基因资源的野生种质难以与它们进行有性杂交, 因而使外源基因的引进受到很大的限制。近年来发展起来的体细胞融合技术为解决上述问题开辟了一条新途径。在马铃薯体细胞融合的实践过程中, Butenko 等(1980)<sup>[11]</sup> 将栽培品种的原生质体与 *S. chacoense* 的融合获得了抗马铃薯 Y 病毒的杂种植株。此外, 马铃薯与二倍体野生种 *S. brevidense* (抗马铃薯卷叶病毒、Y 病毒和晚疫病)<sup>[4, 5]</sup>、*S.*

*pinnatisectum* (抗马铃薯晚疫病)<sup>[9]</sup>、*S. bulbocastanum* (抗马铃薯晚疫病和线虫)<sup>[3, 6]</sup> 和 *S. circaeifolium* (抗马铃薯晚疫病)<sup>[8]</sup> 等的原生质体融合也获得了杂种植株。在获得双重经济性状的研究中, Mattheij 等(1992)<sup>[7]</sup> 将马铃薯双单倍体品系与 *S. phureja* 的原生质体融合, 从其杂种植株中选出了块茎产量比其亲本高 3 倍的单株。这表明, 运用体细胞融合技术能够获得有性杂交不亲和的种间体细胞杂种, 实现有用性状向马铃薯栽培种的转移。我们通过近十年的研究也表明体细胞融合是利用马铃薯野生种优良基因的一条切实可行的途径<sup>[14]</sup>。

马铃薯种间体细胞杂种能否用于育种实践中, 取决于它们的育性、与栽培品种的可交配性和有益性状的转移。我们所选用的三个融合亲本的育性都比较高, 但由于它们之间亲缘关系较远, 有性杂交

比较困难。在马铃薯常规杂交育种中,利用 *S. phureja* 的优良性状主要是通过 *S. phureja* 与六倍体野生种 *S. demissum* 杂交,获得四倍体杂种,再将其与四倍体栽培种 *S. tuberosum* 继续杂交;或者是将四倍体 *S. tuberosum* 与 *S. phureja* 杂交,利用 *S. phureja* 产生的 2n 配子而获得可育的四倍体杂种。*S. chacoense* 与二倍体种杂交获得的是很少结自交果的二倍体杂种后代;在与四倍体杂交时,常形成 36 个染色体的杂种;预先人工多倍化可提高 *S. chacoense* 与四倍体 *S. tuberosum* 的杂交效果<sup>[16]</sup>。我们获得的马铃薯双单倍体品系 81-15 与 *S. phureja* 和 *S. chacoense* 的种间体细胞杂种,其花粉育性比二倍体亲本的明显降低,人工辅助自花授粉得到的种子数较少,而用四倍体栽培品种给杂种植株授粉时却得到较多的种子。这些结果表明,种间体细胞杂种植株具有较高的雄性不育性,而大孢子发生过程进行得比较正常,雌配子的育性较高。这与 Austin 等(1993)<sup>[3]</sup>的报道基本一致。由于获得的种间体细胞杂种具有较高的雌配子育性,因而可以进一步地作为杂交育种的亲本用于马铃薯的遗传改良。用四倍体栽培品种作父本经过回交选择过程,从回交后代中已选择出了几个综合性状优良、块茎性状表现较好、块茎产量和淀粉含量较高、还原糖含量较低的优良株系。这表明,用回交的方法可以对体细胞杂种进行遗传改良,从而使之能够用于马铃薯品种改良的育种实践中。由此可见,体细胞融合技术与常规育种技术相结合,可以克服常规育种技术的某些局限性,实现马铃薯有益基因的种间转移和基因重组,为选育新品种奠定基础。

## References

- [1] Butenko R, Kuchko A. *Advances in Protoplast Research*, Budapest: Akademiai Kiado Press, 1980, 293~300
- [2] Dai C-X (戴朝曦), Sun S-D (孙顺娣), Li J-H (李继红). Study on the techniques of somatic electrofusion in potato. *Journal of Lanzhou University (Natural Science Edition)* [兰州大学学报(自然科学版)], 1994, 30(suppl): 82~87
- [3] Austin S, Pohman J D, Brown C R, et al. Interspecific somatic hybridization between *Solanum tuberosum* L. and *S. bulbocastanum* Dun. as a means of transferring nematode resistance. *Am Potato J*, 1993, 70: 485~495
- [4] Austin S, Baer M A, Helgeson J P. Transfer of resistance to potato leaf roll virus from *Solanum brevidens* into *Solanum tuberosum* by somatic fusion. *Plant Sci*, 1985, 39: 75~82
- [5] Gibson R W, Jones M G K, Fish N. Resistance to potato leaf roll virus Y in somatic hybrids between dihaploid *Solanum tuberosum* and *S. brevidens*. *Theor Appl Genet*, 1988, 76: 113~117
- [6] Helgeson J P, Pohman J D, Austin S, et al. Somatic hybrids between *Solanum bulbocastanum* and potato: a new source of resistance to late blight. *Theor Appl Genet*, 1998, 96: 738~742
- [7] Mattheij W M, Puite K J. Tetraploid potato hybrids through protoplast fusion and analysis of their performance in the field. *Theor Appl Genet*, 1992, 83: 807~812
- [8] Mattheij W M, Eijlander R, de Koning J R A, et al. Interspecific hybridization between the cultivated potato *Solanum tuberosum* subspecies *tuberosum* L. and the wild species *S. circaeifolium* subsp. *circaeifolium* Bitter exhibiting resistance to *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary and *Globodera pallida* (Stonne) Behrens. *Theor Appl Genet*, 1992, 83: 459~466
- [9] Sidorov V A, Zubko M K, Kuchko A A. Somatic hybridization in potato: use of irradiated protoplast of *Solanum pinnatisectum* in genetic reconstruction. *Theor Appl Genet*, 1987, 74: 363~368
- [10] Thach N Q, Frei U, Wenzel G. Somatic fusion for combining virus resistance in *Solanum tuberosum* L. *Theor Appl Genet*, 1993, 85: 863~867
- [11] Waara S, Pijnacker L, Ferwerda M A, et al. A cytogenetic and phenotypic characterization of somatic hybrid plants obtained after fusion of two different dihaploid clones of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theor Appl Genet*, 1992, 85: 470~479
- [12] Si H-J (司怀军), Dai C-X (戴朝曦). Observations on the morphological and agronomic characters of interspecific somatic hybrid plants in *Solanum*. *Chinese Potato Journal (马铃薯杂志)*, 1997, 11(4): 193~196
- [13] Si H-J (司怀军), Dai C-X (戴朝曦). Cytological observation and peroxidase isoenzyme analysis of interspecific somatic hybrid plants in potato. *Chinese Potato Journal (马铃薯杂志)*, 1998, 12(4): 195~199
- [14] Si H-J (司怀军), Wang D (王蒂), Liu J (柳俊) et al. Identification and application of agronomic characters of somatic hybrids in potato. In: Chen Yili (ed) *Potato Industry and West Development (马铃薯产业与西部开发)*. Harbin: Harbin University of Engineering Press, 2001, 106~110
- [15] Si H-J (司怀军), Dai C-X (戴朝曦), Tian Z-D (田振东) et al. Effect of storage temperature on reducing sugar content in potato tubers. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica (西北农业学报)*, 2001, 10(1): 22~24
- [16] Ross H. *Potato Breeding: Problems and Perspectives*. Berlin, Banburg: Parey, 1986