

文章编号: 1674 - 7054(2010)04 - 0380 - 06

木薯多倍体育种研究进展

赖杭桂, 庄南生

(海南大学 农学院, 海南 儋州 571737)

摘要: 培育木薯多倍体新品种, 对于扩大木薯种植面积, 增加木薯产量具有重要的意义。概述了国内外木薯多倍体的诱导方法和鉴定方法, 并对木薯多倍体研究存在的问题和研究动向进行了分析。

关键词: 木薯; 多倍体; 育种; 进展

中图分类号: S 335.1 **文献标志码:** A

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz), 别名木蕃薯、树薯、树番薯, 多为二倍体, 染色体数目为 $2n = 36$ ^[1], 为大戟科 (Euphorbiaceae) 木薯属 (*Manihot*) 植物, 属内有 98 个种, 木薯是唯一的栽培种^[2]。木薯原产于巴西亚马逊河流域及墨西哥东南部低洼地区, 分布在南美热带、亚热带地区, 是热带地区的第四大农作物, 仅次于水稻、甘蔗和玉米。木薯是世界三大薯类作物之一, 在热带非洲则是主要的粮食作物, 有“地下粮仓”、“淀粉之王”、“特用作物”和“能源作物”之美称^[3]。木薯耐旱、耐贫瘠、耐酸性土壤, 故在干旱和半干旱地区得到较大发展。目前, 我国木薯主要分布在广西、广东、海南、福建等热带、亚热带地区。木薯块根淀粉含量为 20% ~ 40%, 干燥后可高达 80%, 居农作物之首。既可作粮食, 也可作为饲料或工业原料。木薯是热带、亚热带地区近 6 亿人粮食的主要来源; 木薯粗粉、叶片是一种高能量的饲料成分; 木薯淀粉或干片可制酒精、柠檬酸、谷氨酸、赖氨酸、木薯蛋白质、葡萄糖和果糖等, 这些产品是食品、饮料、医药、纺织、造纸等方面的重要工业原料^[4]。近年来, 酒精作为新能源进入燃料市场, 而木薯作为碳水化合物最高的作物, 被认为是制备酒精最合理的原料, 已同玉米、甘蔗共被列为未来生产燃料乙醇的主要材料。在植物中, 多倍体是适应性变化和物种形成的主要机制, 是高等植物染色体进化的显著特征。由于染色体数目加倍, 多倍体个体外形往往较大, 并且对不利的自然条件具有较强的适应能力, 在生物进化与育种上均具有重要意义。一般而言, 多倍体具有植株粗壮、叶片增大、花器官增大、耐贮藏、耐运输等优点, 因此, 多倍体大大增加了其商业价值^[5-7]。王建岭^[8]研究表明: 木薯多倍体表现为木薯植株粗壮、块根增大、叶片变厚、叶色变深, 叶绿素含量和淀粉含量均显著优于二倍体。

目前, 国外研究木薯的科研机构主要有南美洲哥伦比亚国际热带农业中心 (CIAT), 非洲尼日利亚国际热带农业研究所 (IITA) 等; 国内研究木薯的主要科研机构有中国科学院华南植物研究所, 中国热带农业科学院, 广西亚热带作物研究所, 广西农业科学院, 广西植物研究所等。关于木薯的研究主要集中在以下几个方面: 1. 木薯种质资源的收集、保存和分析^[9]; 2. 木薯高产栽培管理^[10]; 3. 木薯杂交育种^[11-12]; 4. 木薯组织培养研究^[13]; 5. 以提高木薯品质和抗性为目的的木薯转基因育种^[14-16]; 6. 木薯工业利用研究^[4, 17]; 7. 木薯多倍体育种^[18-19]。目前木薯品种的选育方法主要还是以常规的杂交育种方法为主。随着木薯在工业生产和人们生活中的广泛应用, 新品种的选育受到了更多的关注。木薯的杂交育种受到气候和时间等因素的限制, 效率较低, 而木薯多倍体育种不受木薯开花授粉的限制, 育种灵活性增大, 因此, 木薯多倍体育种在木薯育种上具有重要意义。现阶段, 木薯多倍体育种研究工作在国内外均开展较少, 为

收稿日期: 2010 - 10 - 08

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (PZS062 - 03)

作者简介: 赖杭桂 (1964 -), 男, 福建上杭人, 海南大学农学院副教授。

方便后续研究工作的顺利开展,笔者查阅国内外相关文献,对木薯多倍体育种的相关工作进行了综述。

1 木薯多倍体的获得

木薯多倍体植株的产生途径可以有自然产生和人工诱导2种。木薯自然发生的多倍体同其他植物一样在无性和有性阶段均可产生,无性阶段是体细胞分裂过程中偶然发生染色体加倍而造成的,而有性阶段则是由于小孢子母细胞或大孢子母细胞在减数分裂过程中不减数产生了 $2n$ 配子。人工诱导多倍体的方法通常包括物理方法、化学方法和生物学方法等。

1.1 自然途径产生多倍体 对筛选木薯自然多倍体的研究,国内外鲜有报道,尼日利亚伊巴丹发现1例由体细胞芽变产生的自然四倍体^[37],而我国目前尚未见有关木薯自然多倍体的报道。植物自然产生多倍体主要起源于3种不同途径:体细胞染色体加倍途径、 $2n$ 配子途径和多精受精途径。体细胞染色体加倍可以发生在普通薄壁细胞、分生组织细胞、幼胚或合子中。普通薄壁细胞和分生组织体细胞加倍常常产生混倍性的嵌合体,而合子或幼胚细胞加倍则导致产生完全的多倍孢子体。多精受精也是自然产生多倍体基因组的一条途径,但目前普遍认为这不是一条主要途径。多精受精是指在受精时2个以上的精子同时进入卵细胞中,这种现象已在向日葵^[20]等很多植物中观察到。

自然界绝大多数多倍体是通过未减数的 $2n$ 配子的融合而产生的。 $2n$ 配子产生原因有:核重组、缺少减数分裂的第1次或第2次分裂、细胞质早分裂、缺少第2次细胞质分裂和减数分裂后的融合^[21]。未减数的雄配子($2n$)与减数的雌配子(n)结合,形成三倍体;三倍体继而产生未减数的雄配子($3n$)与减数的雌配子(n)结合,又可形成四倍体。有时未减数的雄配子($2n$)与未减数的雌配子($2n$)结合,直接形成四倍体^[22],等等。据不完全统计,已在85个属的植物中发现过 $2n$ 配子,故认为这种方式是自然界多倍体形成的普遍方式。

1.2 人工诱导多倍体

1.2.1 物理方法 物理方法主要是用高温、低温、温度骤变、干旱处理、机械创伤、摘心、离心、电离辐射等方法促使染色体数目加倍。但是由于物理方法诱导率低、嵌合率高、危害性大(辐射等)而逐渐被淘汰。

1.2.2 化学方法 与物理方法相比,化学方法具有操作简单、专一性强、诱变率高、诱导后代稳定性好等优点而被广泛采用。可以诱导多倍体的化学药剂很多,如:秋水仙素、吲哚乙酸、苯及其衍生物、有机砷制剂、磺胺剂及其他植物碱、麻醉剂和生长素等数百种^[23-25]。但使用最多、最有效的为秋水仙素。秋水仙素阻碍纺锤丝的形成,使中期染色体不能分裂到2个细胞中,从而导致了细胞中染色体数目的加倍。利用秋水仙素处理分裂旺盛的木薯组织就可以获得理想的多倍体。萌发的木薯种子和生长点是最好的处理材料,常用的方法有浸种法、滴苗法和涂抹法等。Nassar^[18]用棉花浸湿 $\varphi=0.2\%$ 的秋水仙素,并包裹在木薯腋芽周围,处理3次,每次12h,获得了木薯多倍体。王建岭^[8]对木薯化学法诱导多倍体进行了系统的研究,采用田间茎尖涂抹法和萌发芽浸泡法施用不同处理时间和不同浓度的秋水仙素,同样获得了多倍体植株。在大多数植物中,从植物诱变率分析,茎尖涂抹法要优于萌发芽浸泡法,但采用 $\varphi=0.1\%$ 的秋水仙素涂抹木薯茎尖和浸泡木薯萌发芽48h,这2种方法都能获得较满意的处理效果。陈显双^[19]采用活体腋芽生长点秋水仙素处理法,用 $\varphi=0.4\% \sim 0.6\%$ 的秋水仙素处理木薯活体腋芽生长点,经鉴定,成功获得木薯多倍体植株。

1.2.3 组织培养技术诱导法 组织培养技术在植物多倍体选育种工作中是一种十分常用的技术,植物在组织培养过程中会发生一定程度的染色体数目变异,有可能出现多倍体,在培养基中加入2,4-D或者其他植物激素对产生多倍体细胞也可能有利。邓秀新等^[26]在柑桔愈伤组织培养基中加入 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的2,4-D后,多倍体细胞由对照的2.5%提高到26.0%。郭晓红等^[27]在四合木的组织培养,诱导再生植株过程中发生染色体数目变异,获得了较高频率的四倍体变异。

利用成熟的植物组织培养技术结合化学诱导剂的使用,是最近十几年科研工作者采用较多的方法,该方法不仅诱导率高,并可以克服同源多倍体孕性低的缺陷,有极大的发展潜力。用于组织培养和化学处理的植物材料可以有多种选择,愈伤、根状茎、原球茎、丛生芽等都可以利用。王建岭^[8]利用秋水仙素

结合组织培养的技术,进行了木薯多倍体的诱导实验,并用浸泡法和混培法对木薯组培芽和木薯愈伤组织进行研究,结果表明,采用 $\varphi=0.1\%$ 的秋水仙素和短时间处理组培芽(浸泡法2 d、混培法10 d)的成活率和诱变率最高,分别可达50%~60%和20%~30%,浸泡法处理稍优于混培法;采用同样的浓度和时间处理愈伤组织,浸泡法的成活率和诱变率分别为100%和20%,混培法分别为60%和40%。

2 木薯多倍体的鉴定

准确鉴定多倍体是多倍体育种工作中不可或缺的重要环节。植物多倍体的判断和鉴定方法从理论上是依据其外在和内在的特征特性衍生而来的。一般而言,可以以形态观察为基础,结合组织化学、叶绿体计数、细胞学观察染色体数目来确定是否为多倍体。

2.1 形态鉴定法 形态鉴定是初步鉴定多倍体的方法,也是最简单、最直观、最粗放的方法。当细胞核内的染色体加倍以后,常常带来一些形态和生理上的变化,如器官大小的变化和抗性的变化等。观察表明:多倍体的外部形态和二倍体有明显的差异。多倍体的叶片一般较二倍体大而厚,叶形也发生较大变化。木薯多倍体诱导实验表明,木薯多倍体植株生长缓慢,矮化,畸形现象较严重,叶片较厚,叶型发生改变,叶面有褶皱,略有粗糙感,叶色深绿,块根明显增大^[8,18-19,28]。但是,形态鉴别方法不够准确,必须和其他方法结合使用,才能准确判断多倍体。

2.2 细胞学鉴定法 根据气孔大小、气孔保卫细胞长度、气孔保卫细胞中叶绿体数目、气孔密度、花粉粒发芽孔数目、花粉母细胞四分体时的小孢子数及小孢子所含的核仁数等细胞学特征进行多倍体植株的早期判定,这些鉴定方法已经在生产和实验中广泛应用。其中气孔鉴定是最常用的一种方法。气孔的大小随染色体倍性的增加而递增,气孔密度则呈现递减趋势。多倍体气孔“趋大性”鉴定法在多种作物上被证明是有效的。气孔大小、保卫细胞大小和叶绿体数目与倍性成显著正相关,而气孔密度与倍性成负相关。木薯多倍体由于表面粗糙、易碎,撕取表皮较困难,而正常二倍体叶片气孔分布均匀,排列规则,表皮易于撕取。气孔观察表明:多倍体木薯气孔与二倍体气孔形态相似,但有明显增大,部分气孔外形不规则,气孔密度也显著低于二倍体的气孔密度^[8]。

2.3 成分比较法 成分比较法在多倍体鉴定中也是十分常用的方法,由于多倍体染色体组增多的缘故,其相关的物质合成相对于二倍体更活跃。在花卉多倍体育种中可以比较花青素,在果树多倍体育种中可以比较果实含糖量,在稻米多倍体育种中可以比较稻米淀粉含量和比例等等。研究发现,多倍体木薯的块根淀粉含量和叶片叶绿素含量都明显高于二倍体的含量^[8]。

2.4 染色体计数法 染色体计数法是现阶段多倍体鉴定中最常用也最有效的方法,该方法直观、快捷,已成功运用于多种作物的多倍体鉴定。如今染色体制片技术已经成熟,运用该技术不仅可以区别倍性,还可以鉴定细胞的整倍性或非整倍性变异。木薯二倍体植株染色体鉴定结果表明,木薯染色体数目为 $2n=36$ ^[1,8,19]。王建岭系统对木薯染色体制片中的染色试剂进行研究,结果表明改良苯酚品红染液效果明显优于I-K、番红和醋酸洋红染液,采用木薯根尖样品解离13 min能达到最好的效果^[8]。

2.5 流式细胞分析法 流式细胞分析法可以迅速测定细胞核内DNA的含量和细胞核大小,是大范围实验中鉴定倍性最快捷最有效的方法。其原理是用染色剂对细胞进行染色,然后测定样品荧光密度,荧光密度与DNA含量成正比。流式细胞分析法选用材料方便,只要鲜活鲜嫩的活体组织便可。目前,该方法已经得到广泛应用,但在木薯研究中尚未系统地开展对多倍体鉴定的研究。

3 问题与展望

3.1 存在的问题

3.1.1 嵌合体的分离 嵌合体现象在多倍体诱导中是很常见的现象^[29-31],在处理过程中有的细胞染色体加倍1次,有的加倍2次,有的不加倍,这就产生了嵌合体。如加倍的细胞或者组织不能及时被分离出来,那么,这些细胞或者组织最终将会被旺盛生长的未加倍的细胞包围,植株将恢复为处理前的倍性。因此,如何准确并有效地分离嵌合体中的加倍部分,是所有从事多倍体育种工作者面临的重要问题。陈显

双等^[19]在木薯多倍体研究中就发现了嵌合现象,并采用变异枝条多次分离的方法最终得到了变异稳定的木薯多倍体。此方法可以借鉴。

3.1.2 多倍体诱导效率和安全问题 目前,木薯多倍体诱导方法仍以化学诱导法为主,化学诱导法又以秋水仙素诱导为主,诱变的效果虽然不错,但是由于秋水仙素具有独特的化学特性,对植物组织或器官产生较大的危害性^[32-33],故而常常导致诱导过程中较高的死亡率,因此对其处理的时间和浓度要好好地把握,如果时间过长浓度过高则死亡率将大大提高,如果时间过短浓度过低则诱导效果将大大降低,最终将导致诱导效率降低^[34-35]。秋水仙素含有剧毒的致癌物质,在应用过程中如何保证人体的安全和健康,也是必须考虑的问题。同时,秋水仙素昂贵的价格势必会提高生产成本,不利于大规模生产,所以,寻求一种诱变效果较好且价格合理的诱变剂也成为当前研究的热点。

3.1.3 多倍体鉴定的效率 木薯多倍体的准确鉴定仍以染色体数目鉴定为主,但该方法对制片技术要求很高,对处理材料的选取也有较高的要求,因此,在进行染色体观察时,一般选取细胞群体较小的部位进行观察,且以肉眼在显微镜下观察,难免存在误差,尤其在面对较多处理材料时,染色体数目鉴定法效率则更低。流式细胞鉴定法虽然可以解决鉴定效率和材料的问题,但是它不能确定染色体的条数,只能与对照相比以确定倍性变化,同时,流式细胞仪价格昂贵,测试成本较高,也难以大规模推广利用。

3.2 展望

3.2.1 多倍体辅助诱导剂与新型诱导剂能提高木薯多倍体诱导效率 木薯多倍体育种研究比玉米、小麦或其他园艺作物等研究开展较晚,许多研究还处于起步阶段,因此,在研究过程中完全可以借鉴其他作物运用得较成熟的技术和方法,以加快木薯多倍体研究的效率。比如,应用多倍体辅助诱导剂与新型多倍体诱导剂等。二甲基亚砜(DMSO)、吐温、赤霉素等作为辅助药剂,在提高染色体加倍效果上有一定的积极作用。以二甲基亚砜(DMSO)为例,它是运输化学物质进入植物组织的一种载体,在多倍体诱导过程中加入 DMSO 可作为一种助渗剂,能促进化学诱导剂快速进入植物细胞,从而缩短处理时间,减少毒害作用,提高处理效果,促进多倍化。

秋水仙素是一种运用得较成熟的效果较好的多倍体诱导剂,而张兴平^[36]在西瓜染色体加倍的研究中认为秋水仙素并非最佳的加倍诱导剂,实验表明:用低浓度($15 \sim 30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的重氮除草剂(如 Oryzalin)可十分有效地诱导西瓜染色体加倍。该类除草剂对微管蛋白有很高的亲和力,在较低浓度时对微管蛋白的解聚能力更强,加倍频率更高,对植物的毒害作用较小,并且在这些再生植株中不存在嵌合体和植株生长延迟现象。因此,在木薯多倍体研究中也尝试使用这些新型诱导剂,以提高诱导效率。

3.2.2 人工诱导 2n 配子在木薯多倍体育种中的应用 自然多倍体形成的主要途径为 2n 配子途径,而目前在人工多倍体诱导中很少采用。因此,可以效法天然多倍体的形成途径,利用 2n 配子进行植物多倍体育种。深入研究 2n 配子的产生条件、遗传控制机理、选择高产 2n 配子的植物个体并运用到育种中,必将事半功倍,从而推动多倍体育种工作朝着简明、实用方向发展^[22]。

3.2.3 原生质体融合诱导法和胚乳培养法的应用 通过木薯细胞体-体融合或体-配融合获得同源四倍体和同源三倍体,是创造木薯多倍体的又一条新途径。体细胞的原生质体 $2x$,配子的原生质体 $1x$,融合后产生四倍体或三倍体细胞,进而形成四倍体或三倍体植株。实践证明:原生质体融合可以获得多倍体植株,首先通过激光融合、电融合或聚乙二醇(PEG)融合等方法将不同来源的原生质体融合,培养产生愈伤组织,然后进一步诱导分化为杂种植株,获得多倍体。采用胚乳培养法可以获得三倍体植株,但是胚乳组织在胚胎发育过程中是一种高度多倍化的组织,在长期组织培养条件下更容易出现不正常的有丝分裂,导致染色体的变异。胚乳培养法成功的例子不多,但障碍较多,不宜采取。

3.2.4 分子生物学技术在木薯多倍体鉴定中的应用 随着原位杂交技术(FISH)、随机扩增多态性 DNA 技术(RAPD)、限制性片段长度多态性技术(RFLP)及 DNA 扩增片段长度多态性技术(AFLP)的发展,利用分子生物学手段进行多倍体鉴定已成为可能。多倍体的基因组 DNA 可能会由于核苷酸序列发生改变,形成杂交新位点或同源多倍体的等位基因发生漂移,从而表现出多倍性,这些技术为在分子水平上鉴定多倍体提供了全新的思路。

参考文献:

- [1] CARVALHO R, GUERRA M. Cytogenetics of *Manihot esculenta* Crantz (cassava) and eight related species[J]. Hereditas, 2002, 136:159 – 168.
- [2] NASSAR N M A, GRACIANO-RIBEIRO D, GOMES P F, et al. Alterations of reproduction system in a polyploidized cassava interspecific hybrid[J]. Hereditas, 2010, 147:58 – 61.
- [3] NASSAR N M A, ORTIZ R. Cassava improvement: challenges and impacts[J]. J Agric Sci, 2007, 145:163 – 171.
- [4] 冯献, 徐明冉, 詹玲, 等. 木薯生物燃料产业化研究述评[J]. 中国农学通报, 2010, 26(10):375 – 380.
- [5] HUANG H P, GAO S L, CHEN L L. *In vitro* induction and identification of autotetraploids of *Dioscorea zingiberensis*[J]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 2008, 44:448 – 455.
- [6] GU X F, YANG A F, MENG H, et al. *In vitro* induction of tetraploid plants from diploid *Zizyphus jujube* Mill. cv. Zhanhua [J]. Plant Cell Reports, 2005, 24:671 – 676.
- [7] ALLUM J F, BRINGLOE D H, ROBERTS A V. Chromosome doubling in a *Rosa rugosa* Thunb. hybrid by exposure of *in vitro* nodes to oryzalin; the effects of node length, oryzalin concentration and exposure time[J]. Plant Cell Reports, 2007, 26:1977 – 1984.
- [8] 王建岭. 木薯多倍体育种技术研究[D]. 广西大学, 2008.
- [9] NASSAR N M A, VIEIRA C, GRATTAPAGLIA D. Molecular and embryonic evidence of apomixis in cassava interspecific hybrids of *Manihot* spp. [J]. Can. J. Plant. Sci, 1998, 78:348 – 352.
- [10] 左应梅, 陈惠娟, 杨重法, 等. 华南 8 号木薯光响应参数日变化及其主要影响因子[J]. 中国农学通报, 2010, 26(13):371 – 375.
- [11] NASSAR N M A. Development of cassava interspecific hybrids for savanna (cerrado) conditions[J]. J Root Crops, 1995, 22:9 – 17.
- [12] NASSAR N M A, CARVALHO C G, VIERIRA C. Overcoming barriers between cassava *Manihot esculenta* crantz and wild relative *M. pohlüi warwa*[J]. Brazilian J. Genetics, 1996, 19:617 – 620.
- [13] 何婷, 孙月芳, 王亦菲, 等. 优良木薯品种“ND-50”的组织培养[J]. 中国农学通报, 2010, 26(3):52 – 54.
- [14] RAEMAKERS K, SCHREUDER M, SUURS L, et al. Improved cassava starch by antisense inhibition of granule-bound starch synthase I[J]. Molecular Breeding, 2005, 16:163 – 172.
- [15] ZHANG P, JAYNES J M, POTRYKUS I, et al. Transfer and expression of an artificial storage protein (ASP1) Gene in Cassava (*Manihot esculenta* Crantz)[J]. Transgenic Research, 2003, 12:243 – 250.
- [16] ZHANG P, VANDERSCHUREN H, FURRER J, et al. Resistance to cassava mosaic disease in transgenic cassava expressing antisense RNAs targeting virus replication genes[J]. Plant Biotechnology, 2005, 3(4):385 – 397.
- [17] 黄日波, 陈东, 王青艳, 等. 木薯原料生产燃料乙醇[J]. 生物工程学报, 2010, 26(7):888 – 891.
- [18] NASSAR N M A. Chromosome doubling induces apomixis in a cassava x *Manihot anomala* hybrid[J]. Hereditas, 2006, 143:246 – 248.
- [19] 陈显双, 韦丽君, 田益农, 等. 木薯多倍体植株的诱导研究[J]. 热带农业科学, 2008, 28(1):17 – 19.
- [20] VIGFUSSON E. On polyspermy in the sunflower[J]. Hereditas, 1970, 64:1 – 52.
- [21] 段超, 张启翔. 观赏植物远缘杂交和多倍体育种研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(15):6954 – 6956.
- [22] 陶抵辉, 刘明月, 肖君泽, 等. 生物多倍体诱导方法研究进展[J]. 生命科学研究, 2007, 11(4):6 – 13.
- [23] ZHANG Z H, DAI H Y, XIAO M, et al. *In vitro* induction of tetraploids in *Phlox subulata* L. [J]. Euphytica, 2008, 159:59 – 65.
- [24] ZLESACK D C, THILL C A, ANDERSON N O. Trifluralin-mediated polyploidization of *Rosa chinensis* minima (Sims) Voss seedlings[J]. Euphytica, 2005, 141:281 – 290.
- [25] ECKHAUT T G R, WERBROUCK S P O, LEUS L M H, et al. Chemically induced polyploidization in *Spathiphyllum wallisii* Regel through somatic embryogenesis[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2004, 78:241 – 246.
- [26] 邓秀新, 刘功弼. 不同诱变剂对柑橘愈伤组织染色体影响[J]. 湖北农业科学, 1985(3):19 – 21.
- [27] 郭晓红, 慈忠玲, 孙静, 等. 珍惜濒危树种——四合木组织培养过程中的染色体变异[J]. 内蒙古农业大学学报, 2001, 22(1):55 – 59.

- [28] NASSAR N M A. Production of triploid cassava, *Manihot esculenta* Crantz by hybrid diploid gametes [J]. Current Opinion in Environmental Sustainability, 1992, 30:173 – 182.
- [29] MIYASHITA C, ISHIKAWA S, MII M. *In vitro* induction of the amphiploid in interspecific hybrid of blueberry (*Vaccinium corymbosum* × *Vaccinium ashei*) with colchicine treatment[J]. Scientia Horticulturae, 2009, 122:375 – 379.
- [30] ESCANDÓN A S, ALDERETE L M, HAGIWARA J C. *In vitro* polyploidization of *Mecardonia tenella*, a native plant from South America[J]. Scientia Horticulturae, 2007, 115:56 – 61.
- [31] CHEN L L, GAO S L. *In vitro* tetraploid induction and generation of tetraploids from mixoploids in *Astragalus membranaceus* [J]. Scientia Horticulturae, 2007, 112:339 – 344.
- [32] NOTSUKA K, TSURU T, SHIRAISHI M. Induced polyploidy in grapes via *in vitro* chromosome doubling[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2000, 69:543 – 551.
- [33] KUNITAKE H, NAKASHIMA T, MORI K, et al. Somaclonal and chromosomal effects of genotype, ploidy and culture duration in *Asparagus officinalis* L. [J]. Euphytica, 1998, 102:309 – 316.
- [34] LEHRER J M, BRAND M H, LUBELL J D. Induction of tetraploidy in meristematically active seeds of Japanese barberry (*Berberis thunbergii* var. *atropurpurea*) through exposure to colchicine and oryzalin[J]. Scientia Horticulturae, 2008, 119: 67 – 71.
- [35] BOUVIER L, PILLON F R, LESPINASSE Y. Oryzalin as an efficient agent for chromosome doubling of haploid apple shoots *in vitro*[J]. Plant Breeding, 1994, 113:343 – 346.
- [36] 张兴平. 生物技术在西瓜甜瓜遗传改良中的应用[J]. 园艺学年评, 1996, 2: 107 – 129.
- [37] SANG K H, VIJAYA K B, ROBERT A. Spontaneous somatic tetraploids in cassava Japan [J]. J. Breed. 1992, 42: 303 – 308.

Research Progress in Polyploid Breeding of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz)

LAI Hang-gui, ZHUANG Nan-sheng

(College of Agriculture, Hainan University, Danzhou 571737, China)

Abstract: *Manihot esculenta* Crantz is an important food crop and economic crop and cultivating new varieties of cassava polyploid is very important for expanding plant areas and increasing yield. In the paper, the methods of polyploid breeding, the identification of polyploid were reviewed, and the problems and the prospective of cassava polyploid breeding were also discussed.

Key words: *Manihot esculenta* Crantz; polyploid; breeding; research progress