

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2020)03-0129-10

遗传育种

马铃薯不同基因型试管薯形成能力比较及遗传位点分析

杨艳佩^{1,2,3}, 朱才华^{1,2,3}, 柳俊^{1,2,3}, 周俊^{2,3,4*}

(1. 华中农业大学生命科学技术学院, 湖北 武汉 430070; 2. 园艺植物生物学教育部重点实验室, 湖北 武汉 430070; 3. 农业与农村部马铃薯生物学与生物技术重点实验室, 湖北 武汉 430070; 4. 华中农业大学园艺林学学院, 湖北 武汉 430070)

摘要: 因病毒引起的种薯退化是马铃薯生产面临的主要问题之一, 生产脱毒种薯是解决这一问题的主要途径, 而试管薯是脱毒种薯生产的首要环节。然而, 不同基因型马铃薯的试管薯形成能力差异较大, 阻碍了试管薯的应用。比较了4个杂交组合后代共222个基因型材料(*Solanum tuberosum* L.)在短日照(8 h光照/16 h黑暗)诱导条件下的试管薯形成情况。结果显示, 4个组合在结薯方式、结薯时间、结薯率及单薯重等方面均存在显著差异, 表明马铃薯试管薯形成受亲本遗传基础影响十分明显。进一步比较各个组合内不同基因型的试管薯形成情况, 发现组合内差异大于组合间差异, 差异程度也因组合而异。此外, 基于SSR分子标记与试管薯形成性状的相关性分析, 发现4个组合中与结薯时间、结薯率及单薯重相关的遗传位点差异明显。同一性状在不同组合中仅存在个别共有位点, 同一组合中不同性状之间的遗传相关性则因组合而异。结果从群体层面上结合表型和遗传位点, 进一步证实了遗传基础对马铃薯试管薯形成的决定性影响, 为马铃薯新品种培育提供了理论基础。

关键词: 马铃薯; 试管薯形成; 基因型; SSR标记

Evaluation of *in Vitro* Tuberization in Different Genotypes of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Based on Phenotype and Genetic LociYANG Yanpei^{1,2,3}, ZHU Caihua^{1,2,3}, LIU Jun^{1,2,3}, ZHOU Jun^{2,3,4*}

(1. College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China; 2. Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, Wuhan, Hubei 430070, China; 3. Key Laboratory of Potato Biology and Biotechnology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuhan, Hubei 430070, China; 4. College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China)

Abstract: The degeneration caused by viral diseases of the seed potato is the key factor to cause low yield and benefit of potatoes, and it is also the most important constrain of potato production in China. The production of virus-free seed potato based on *in vitro* tuberization has greatly alleviated this problem. But, *in vitro* tuberization of potatoes are totally different among genotypes which limits the use of it. In this study, the microtubers were induced under the short photoperiod (8 h light/16 h dark) from four crosses including 222 genotypes of potato (*Solanum tuberosum* L.). These four crosses showed significant difference in the mode of tuberization, the initialization of tuberization, the percentage of tuberization and the average weight of tubers. Further analyses of the offspring of each cross revealed the greater difference among individual genotypes within a cross than crosses, and the degree of difference varied with cross. In

收稿日期: 2019-09-10

基金项目: 国家现代农业产业技术体系专项(NYCYTX-15); 国家自然科学基金项目(31701482)。

作者简介: 杨艳佩(1992-), 女, 硕士研究生, 从事马铃薯遗传学研究。

*通信作者(Corresponding author): 周俊, 博士后, 主要从事马铃薯分子遗传学研究, E-mail: zhoujun820830@mail.hzau.edu.cn。

addition, the SSR loci associated with tuberization traits were also identified. For the same trait, there were few loci to be shared in different crosses. But among different traits, whether or not there was the same locus to be shared varied in different crosses. All of the results indicate that the *in vitro* tuberization of potatoes is affected obviously by their genetic backgrounds. It provides a theoretical basis for the breeding of new potato varieties.

Key Words: potato; *in vitro* tuberization; genotype; SSR

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)广泛种植于全世界150多个国家和地区,近十年来的世界种植面积维持在1 800万 hm^2 以上^[1],总产量仅次于玉米、水稻和小麦,是世界第四大粮食作物。中国马铃薯种植面积自20世纪90年代以来一直居于世界第一位,目前的种植面积已经超过570万 hm^2 ,总产接近1亿t^[1],成为农业产业结构调整和重点贫困地区精准扶贫的主要支柱产业之一。然而,因病毒引起的种薯退化而导致减产是马铃薯生产面临的主要问题之一,也是中国马铃薯生产的主要制约因素之一^[2,3]。生产脱毒种薯是解决这一问题的主要途径,马铃薯试管薯(Microtubers)在这样的形势下应运而生,并以其特有的优势(易贮易运、生产不受季节限制)成为种薯生产的核心环节^[4]。此外,试管薯在组织结构、生长发育、遗传稳定性等方面与常规块茎并没有本质上的差异^[5],因此已成为马铃薯遗传转化^[6,7]和功能基因研究^[8-10]的模式体系。然而,马铃薯不同基因型的试管薯形成能力差异较大,影响了试管薯的应用。

围绕试管薯形成的研究,早期主要集中在环境(光照、温度)、营养、激素等外因对其的影响上。大量研究结果表明,短日照、低温和高蔗糖浓度是诱导试管薯形成的关键因素^[11-13],其中高蔗糖浓度是试管薯形成的必须条件,短日照和低温促进试管薯形成,长日照和高温则抑制试管薯的形成。与此同时,不同的基因型对环境等诱导条件的反应差异很大,表明遗传基础这一内因也对试管薯的形成至关重要。早在20世纪80年代末90年代初就有研究报道,马铃薯早熟品种在全黑暗条件、8 h光周期诱导条件以及16 h光周期非诱导条件下均能形成试管薯,而中晚熟品种只能在全黑暗和短日照的诱导条件下形成试管薯、特晚熟品种仅在全黑暗条件下形成试管薯。即使是处于相同的诱导条件下,早熟品种的试管薯形成能力也强于晚熟品种,或表现在早

熟品种结薯更早^[14],或表现为早熟品种形成的试管薯更大^[15,16]。上述结果说明基因型在试管薯诱导中起着重要的作用,不同基因型的马铃薯在试管块茎形成能力、形成时间以及块茎的数量和重量等方面都有很大差异。

上述研究多是在少数基因型(品种)中探讨遗传基础对试管薯形成的影响,然而,除了明确基因型差异在很大程度上能影响试管薯形成之外,这种影响是否普遍存在、是否有规律可循等都不清楚。本研究比较了4个杂交组合后代共222个基因型材料在相同诱导条件下的试管薯形成情况,并基于SSR分子标记分析了与结薯时间、结薯率及单薯重等相关的遗传位点,旨在探索基因型影响马铃薯块茎形成的遗传规律及特点,为马铃薯新品种选育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料

本研究所用222个马铃薯基因型材料来源于4个杂交组合391002.14 × 391679.12(D)、393075.54 × 391679.12(E)、393046.7 × 391679.12(F)和393046.7 × 391679.7(K),所有组合均于2001年从国际马铃薯中心(CIP)引进,其系谱号清单见表1。

1.2 试管薯形成表型鉴定

试管苗的扩繁与试管薯的诱导培养方法参考周俊^[17]的描述。试管苗扩繁所用培养基为MS^[18]基础培养基添加4%蔗糖和8 g/L的琼脂(不添加任何激素),培养条件:温度(20 ± 1)℃、光照时间16 h/d、光强2 000 lx。试管薯的诱导方法与试管苗的扩繁方法类似,无菌条件下取上述培养4周的试管苗的第2、3、4节单茎段(去除顶芽),接种于试管薯诱导培养基(MS基础培养基 + 8%蔗糖 + 8 g/L的琼脂 + 0.2%活性炭),置于温度(20 ± 1)℃,光照时间8 h/d条件下培养60 d。

表1 采用的4个杂交组合后代材料系谱号清单
Table 1 List of the clones from four crosses

组合 Cross	母本 Female	父本 Male	系号 Code of clone
D (395019)	391002.14	391679.12	D1-3, D5-8, D11-13, D15, D18, D28, D32, D34, D39, D40, D52, D57, D64, D75, D78, D107, D125(24个基因型)
E (395049)	393075.54	391679.12	E1-12, E14-16, E18-30, E34-39, E46, E49, E50, E52, E54, E55, E58-65, E67, E69, E70-72, E74-77, E81-86, E88-93, E95, E97-100, E105, E108, E109, E113, E117-118, E120, E122, E127-129, E133, E135, E140-141, E143, E144, E146, E148, E154, E157(95个基因型)
F (395046)	393046.7	391679.12	F1, F3-7, F11-15, F17-18, F20-22, F24, F26-27, F32, F34-37, F40-42, F44-45, F47-54, F57-59, F62-76, F78-82, F84, F86, F90, F94, F96, F100, F106-107, F114-115, F117-118, F120-121, F123(75个基因型)
K (395007)	393046.7	391679.7	K1-3, K7-17, K19, K21-22, K24, K26, K29, K31, K36-37, K39, K46-47, K52, K56(28个基因型)

试验设置了3个生物学重复, 每个重复有10盒共90个植株, 最后统计结果以90株平均值为基数。诱导结薯处理约2周之后每隔3 d观察初始匍匐茎形成时间和初始结薯时间。培养60 d后, 取出植株洗净培养基晾干, 记录单株结薯率(每盒结薯株数占存活株数比例, 反应试管薯形成能力)、单株结薯数(每盒结薯个数与存活株数比值, 反应结薯多少的差异)、单薯重(每盒总薯重与结薯数比值, 反应试管薯膨大能力)以及有柄薯比例(每盒所结试管薯中有柄薯所占比例, 反应试管薯形成方式的差异)。数据分析采用SPSS 25.0统计分析软件。

1.3 SSR分子标记扩增及检测

所有材料的DNA抽提都是基于CTAB抽提法^[19], 提取培养4周的试管苗叶片的基因组DNA。研究共计对131对SSR(Single sequence repeats)引物进行了多态性筛选, 引物信息来自于马铃薯基因组数据库(http://solanaceae.plantbiology.msu.edu/pgsc_download.shtml)以及前人的报道^[20-23]。引物序列由上海生工生物技术有限公司合成。

所有引物的PCR反应体系及程序设置参考周俊^[17]的描述。所用PCR仪器包括DNA Engine Tetrad 2 Peltier Thermal Cycler (MJ Research, Inc.) 和TGRADIENT(Biometra), PCR产物的检测采用6%变

性(7 mol/L 尿素)PAGE(聚丙烯酰胺凝胶电泳, Polyacrylamide gel electrophoresis, 19:1)分离, 在DYCZ-20C型DNA序列分析电泳仪(北京市六一仪器厂)上1 000 V恒压电泳2~3 h, 电泳后银染检测^[24]。

引物扩增片段的大小以DNA分子量标准ΦX174 Hae III digest (NEB)和DNA ladder 100为标准, 利用Quantity One® Version 4.6.2 (Universal Hood II, BIO-RAD)中的point-to-point semi-log 回归模型进行估计。针对每个等位位点进行标记的读取与记录, 将群体中扩增出等位基因条带的个体记为“1”, 没有扩增出条带的个体记为“0”, 数据缺失记为“9”。标记的命名包含引物名称(STI、STM或者STG)和位点个数, 如STI049-2表示SSR引物STI049扩增得到的第二条等位条带。基于SPSS 25.0统计分析软件中的方差分析(ANOVA)和非参数检验2种方法, 比较不同标记基因型数量性状均值的差异, 进行标记与表型之间的相关性分析。

2 结果与分析

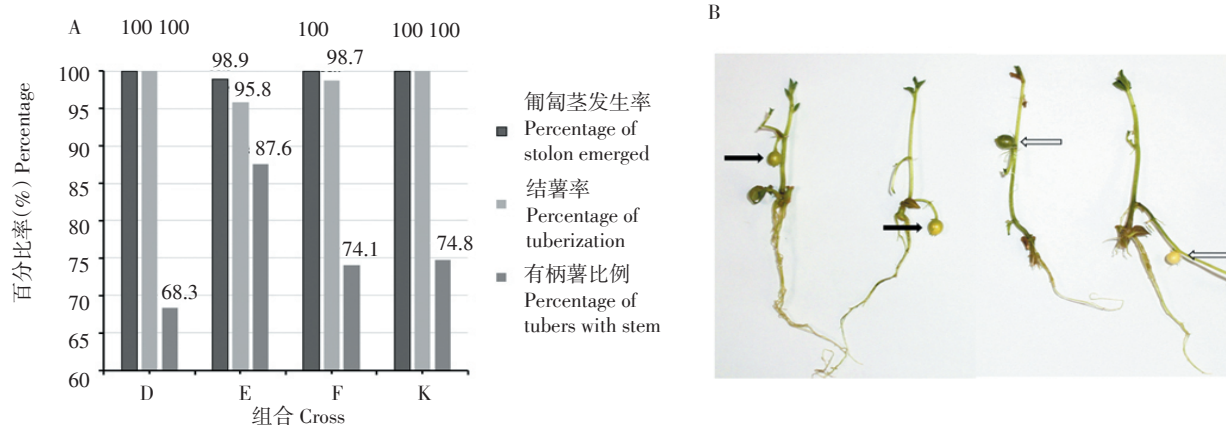
2.1 不同组合试管薯形成能力比较

2.1.1 4个组合的结薯方式存在差异

从匍匐茎发生率和结薯率来看(图1A), 4个组合之间差异不明显, 组合D和K的匍匐茎发生

率和结薯率均达到了100%;组合F匍匐茎发生率为100%,结薯率为98.7%(75个基因型中仅1个没有形成试管薯);组合E匍匐茎发生率为98.9%(95个基因型中仅1个没有形成匍匐茎),结薯率为95.8%(95个基因型中有4个没有形成试管薯)。但是在试管薯形成的过程中,观察到2种不同的结薯方式(图1B)。一种是遵循常规方式,先经过匍匐茎的发生、伸长,然后匍匐茎顶端膨大形成的试管薯,称为有柄薯,如图1B中实心箭头

所示。另一种是不经过匍匐茎的伸长而直接在植株腋芽部位膨大成薯,称为无柄薯,如图1B中空心箭头所示。通过对4个组合有柄薯比例的比较,不难看出4个组合均存在有柄薯和无柄薯2种结薯方式,但是不同组合中2种结薯方式所占的比例差异很大。其中组合E的有柄薯比例最高(87.6%),组合F和K次之(分别是74.1%和74.8%),组合D最低(68.3%),说明结薯方式的差异可能是受到遗传背景的影响。



A列举了4个组合的匍匐茎发生率、结薯率以及有柄薯比例, B展示了2种不同的结薯方式(实心箭头指示有柄薯, 空心箭头指示无柄薯)。

A lists percentage of stolon emerged, tuberization and tubers with stem. B shows two different ways of microtuber formation (solid arrow indicates tuber with stem; hollow arrow indicates tuber without stem).

图1 不同组合的试管薯形成情况及结薯方式

Figure 1 Percentages and different modes of microtuber formation in four crosses

2.1.2 4个组合试管薯形成相关性状的比较

对4个组合在诱导结薯过程中的匍匐茎发生和试管薯形成的变化趋势进行比较,结果表明4个组合的匍匐茎发生变化趋势比较相似(图2A),形成时间均集中在培养2~5周,其中组合F和D的匍匐茎形成比其他2个组合更早更快,但总体差异不明显。4个组合的平均初始匍匐茎形成时间分别为24.6 d (D)、27.4 d (E)、23.6 d (F)和26.4 d (K),除了F与E之间的差异达到显著水平,其他组合之间的差异均不显著(表2)。

与匍匐茎发生的变化趋势类似,组合F和D的试管薯形成仍然早于其他2个组合且形成时间相对集中(图2B)。培养3周时开始有试管薯形成,第4周时组合F和D中结薯基因型比例分别为45%和

33%,第6周时分别达到88%和92%。组合E的试管薯形成明显晚于其他组合,培养5周时其结薯基因型比例仅16%,第6周才达到53%,甚至到第9周还有个别基因型形成试管薯。组合K在各个时间点的结薯基因型比例均居中。4个组合的平均初始结薯时间分别为32.0 d (D)、41.8 d (E)、31.0 d (F)和37.4 d (K),F和D显著早于K,K显著早于E,F、D与E之间的差异达到显著水平(表2)。

表2还展示了块茎形成相关的其他几个重要性状,结果显示不同组合的单株结薯率、单株结薯数以及单薯重性状均存在明显差异。从单株结薯率来看,组合D(75.5%)显著高于组合E(51.3%)、显著高于组合K(39.5%),组合F(63.0%)介于D和E之间并与二者无显著差异。单株结薯数的比较结果与单

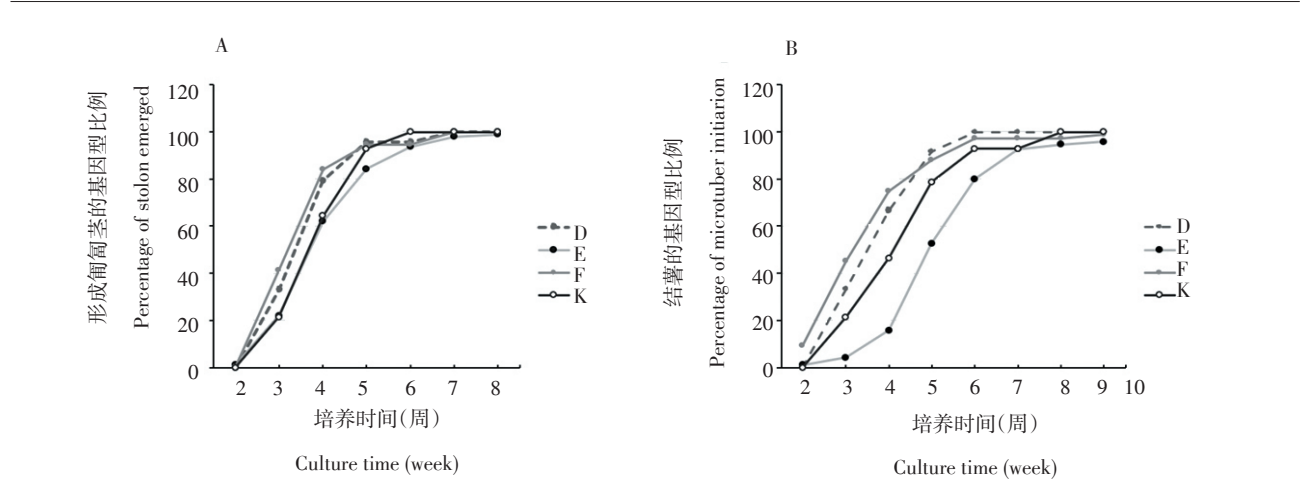


图2 不同组合中匍匐茎发生(A)和试管薯形成(B)的基因型比例递增趋势
Figure 2 Trends of increase in genotypes with stolon emerged (A) and microtuber initiation (B) in four crosses

表2 不同组合所有基因型各性状的平均值及比较
Table 2 Mean values of each cross for various traits

组合 Cross	初始匍匐茎形成时间(d) Days of stolon initiation after induction	初始结薯时间(d) Days of microtuber initiation after induction	单株结薯率(%) Percentage of tuberized plantlet	单株结薯数(个/株) No. of tubers per plantlet (No./plant)	单薯重(mg) Mean tuber weight
D	24.6 ab	32.0 a	75.5 c	0.8 c	86.5 b
E	27.4 b	41.8 c	51.3 b	0.6 b	78.3 b
F	23.6 a	31.0 a	63.0 bc	0.7 bc	52.0 a
K	26.4 ab	37.4 b	39.5 a	0.4 a	58.3 a

注：采用新复极差法进行平均值的多重比较，同列数据后不同小写字母表示差异达到显著水平($P < 0.05$)。
Note: Treatment means followed by different lowercase letter(s) in the same column indicate significant difference at 0.05 level as tested using Duncan's multiple range test.

株结薯率一致，组合D(0.8)显著高于组合E(0.6)、显著高于组合K(0.4)，组合F(0.7)介于D和E之间并与二者无显著差异。在单薯重这一性状上，组合D(86.5 mg)和E(78.3 mg)显著高于组合F(52.0 mg)和K(58.3 mg)。

2.1.3 组合内不同基因型试管薯形成的差异

对4个组合内各个基因型的试管薯形成相关性状进行统计分析和比较，结果显示不同基因型在结薯相关性状上均存在不同程度的差异，其差异程度因组合而异。就匍匐茎和试管薯形成而言，组合E的95个基因型中有1个没有形成匍匐茎、4

个没有结薯，组合F的75个基因型中有1个没有结薯，组合D和K全部形成匍匐茎并结薯。从结薯时间来看，组合D较为集中，最早和最晚结薯的基因型分别是24和48 d结薯；组合K次之(25和60 d)；组合E(16和65 d)和F(17和67 d)的结薯时间分布则差异较大。从单株结薯率来看，也是组合D较为集中(20.31%~100%)，组合E(2.78%~100%)、F(1.26%~100%)、K(1.9%~94.97%)的分布类似，但是组合E(0.03~1.36个/株)和F(0.01~1.52个/株)的单株结薯数的分布差异较组合D(0.20~1.10个/株)和K(0.02~0.95个/株)更大。从单薯重来

表3 四个组合的SSR引物多态性检测结果
Table 3 Polymorphism detection of SSR makers in four crosses

组合 Cross	有多态性 Polymorphism		无多态性 No polymorphism	无扩增产物 No production	汇总 Total
	目标片段 Expected fragment	非目标片段 Unexpected fragment			
D	24	28	25	54	131
E	24	30	65	12	131
F	20	18	30	63	131
K	17	20	39	55	131

看, 组合E(19.6~199.5 mg)的分布差异最大, 其他3个组合D(26.6~139.6 mg)、F(16.5~100.1 mg)、K(23.8~111.7 mg)的分布类似。

2.2 SSR标记与结薯性状的相关分析

选用文献报道的131对SSR引物(分布于马铃薯12条染色体)对4个组合群体进行扩增, 结果显示组合D筛选出24对能扩增出多态性目标片段的SSR引物, 共产生80个多态性标记; 组合E也筛选出24对引物, 共产生114个多态性标记; 组合F筛选出20对引物, 共产生64个多态性标记; 组合K筛选出17对引物, 共产生55个多态性标记(表3)。最终利用这313个多态性标记对4个组合进行结薯性状与标记的相关分析, 结果列于表4。

总体上看, 组合D中与结薯时间相关的标记共计36个, 分布于9条染色体上(1、2、3、4、6、7、8、11和12); 与单株结薯率相关的标记3个, 位于第1、3和7号染色体上; 与单株结薯数相关的标记2个, 位于第1和7号染色体上; 与单薯重相关的标记共计28个, 分布于9条染色体上(1、2、3、4、6、7、8、11和12)。组合E中与结薯时间相关的标记共计13个, 分布于7条染色体上(2、4、6、7、8、11和12); 与单株结薯率相关的标记4个, 位于第7、10和11号染色体上; 与单株结薯数相关的标记2个, 位于第7和11号染色体上; 与单薯重相关的标记共计7个, 位于第2、3、7和11号染色体上。组合F中5个标记与结薯时间相关, 位于第2、3、8和11号染色体上; 4个标记与单株结薯率相关, 位于第5、8和11号染色体上; 1个标记与单株结薯数相关, 位于第11号染色体上; 5个标记与单薯重相

关, 位于第5和8号染色体上。组合K中仅1个标记与结薯时间相关, 位于第9号染色体上; 2个标记同时与单株结薯率、单株结薯数相关, 位于第1和2号染色体上; 3个标记与单薯重相关, 位于第8和11号染色体上。

对各个组合内不同表型间的相关性标记进行比较, 可以看出组合D中与初始结薯时间和单薯重这两个表型相关的标记不仅数目多、相关系数高, 而且二者之间存在很多共有标记。表4显示组合D中与初始结薯时间相关的标记共计36个, 其中21个呈负相关即与结薯时间早相关、15个呈正相关即与结薯时间晚相关; 与单薯重相关的标记共计28个, 其中14个呈正相关、14个呈负相关。二者之间共有标记多达25个, 其中13个标记同时与早结薯以及单薯重更大相关、12个标记同时与晚结薯以及单薯重更小相关。此外, 与单株结薯率相关的3个标记同时也与结薯时间及单薯重相关。然而, 其他3个组合中的结薯时间和单薯重的相关标记之间并不存在交集。

对相同表型在不同组合中的相关标记进行比较, 结果显示同一表型在不同组合中的相关标记差异很大, 仅有3个标记同时与两个组合的某个表型呈显著相关。其中, 标记StI018-1与组合D和F的初始结薯时间均呈极显著相关, 标记StI044-2则与二者的单薯重均呈显著相关; 标记StI024-1与组合D和E的初始结薯时间均呈显著相关, 标记STI018-1则与二者的单薯重均呈显著相关。而同一表型在组合E与F, 以及组合K与其他组合之间均不存在共有标记。

表4 与结薯性状显著相关($P < 0.05$)的SSR标记
 Table 4 Significant markers ($P < 0.05$) associated with *in vitro* tuberization traits

组合 Cross	性状 Trait	标记 Marker	染色体 Chromosome	相关系数 Correlation coefficient	标记 Marker	染色体 Chromosome	相关系数 Correlation coefficient
D	初始结薯时间	STI031-5	1	0.739**	STI013-3	3	-0.758**
		STI031-1	1	0.729**	S130-1	11	-0.725**
		S105-2	1	0.727**	S105-1	1	-0.725**
		STI055-1	4	0.680**	S081-2	8	-0.725**
		S102-3	/	0.621**	S047-1	12	-0.725**
		STI018-1	11	0.621**	S047-2	12	-0.725**
		STI008-4	7	0.569**	S102-2	/	-0.621**
		STI045-1	6	0.521**	STI021-3	6	-0.621**
		S105-4	1	0.513*	STI031-4	1	-0.621**
		S047-5	12	0.504*	STI022-2	8	-0.595**
		STI048-2	8	0.504*	STI009-3	1	-0.569**
		STI013-4	3	0.494*	S047-3	12	-0.504*
		S052-3	7	0.455*	S105-3	1	-0.504*
		S049-2	2	0.417*	STI013-2	3	-0.504*
		STI044-2	8	0.416*	STI031-2	1	-0.504*
					STI048-4	8	-0.504*
					S049-3	2	-0.419*
					STI024-3	2	-0.416*
					STI003-2	8	-0.409*
					STI024-1	2	-0.409*
					STI056-1	2	-0.409*
	单株结薯率	STI009-3	1	0.444*	STI008-4	7	-0.444*
		STI013-3	3	0.423*			
	单株结薯数	STI009-3	1	0.431*	STI008-4	7	-0.431*
		STI013-3	3	0.762**	STI031-5	1	-0.734**
	单薯重	S102-2	/	0.607**	S105-2	1	-0.618**
		STI021-3	6	0.607**	S102-3	/	-0.607**
		STI031-4	1	0.607**	STI018-1	11	-0.607**
		STI024-3	2	0.555**	STI055-1	4	-0.546**
		STI009-3	1	0.533**	STI008-4	7	-0.533**
		S047-1	12	0.530**	S052-3	7	-0.519**
		S047-2	12	0.530**	STI045-1	6	-0.475*
		S081-2	8	0.530**	STI044-2	8	-0.471*
		S105-1	1	0.530**	S105-4	1	-0.470*
		S130-1	11	0.530**	S049-2	2	-0.458*
		STI022-2	8	0.521**	STI018-3	11	-0.444*
		S049-3	2	0.468*	S052-4	7	-0.434*
		STI003-3	8	0.434*	STI031-1	1	-0.431*

续表4

表4 与结薯性状显著相关($P < 0.05$)的SSR标记Table 4 Significant markers ($P < 0.05$) associated with *in vitro* tuberization traits

组合 Cross	性状 Trait	标记 Marker	染色体 Chromosome	相关系数 Correlation coefficient	标记 Marker	染色体 Chromosome	相关系数 Correlation coefficient
E	初始结薯时间	STI064-1	7	0.298**	STI028-5	11	-0.311**
		STI007-4	12	0.294**	STI004-6	6	-0.294**
		STI024-1	2	0.294**	STI004-7	6	-0.294**
		STI027-1	8	0.294**	STI027-4	8	-0.294**
		S093-4	4	0.254*	STI027-5	8	-0.294**
		STI007-5	12	-0.228*	STI029-7	2	-0.294**
	单株结薯率				STI007-1	12	-0.228*
		S101-2	10	0.228*	STI064-2	7	-0.264*
		STI033-2	7	0.222*			
	单株结薯数	STI018-1	11	0.217*			
		STI018-1	11	0.217*	STI064-2	7	-0.270*
	单薯重	STI064-2	7	0.253*	S059-2	2	-0.285**
		STI018-1	11	0.250*	STI033-4	7	-0.283**
		STI005-3	3	0.232*	STI046-3	11	-0.230*
		S052-1	7	0.221*			
F	初始结薯时间	STI018-1	11	0.297**	STI060-2	3	-0.251*
		S106-3	2	-0.289*	S081-1	8	-0.242*
		STI047-3	8	-0.270*			
	单株结薯率	STI048-2	8	0.254*	S148-3	5	-0.315**
		STI044-3	8	0.228*	STI046-1	11	-0.260*
	单株结薯数				STI046-3	11	-0.227*
	单薯重	STI044-3	8	0.266*	S148-3	5	-0.378**
		STI022-1	8	0.262*	STI044-2	8	-0.318**
		STI048-2	8	0.232*			
K	初始结薯时间				STI014-1	9	-0.423*
	单株结薯率	STI024-3	2	-0.401*	STI031-3	1	-0.387*
	单株结薯数	STI024-3	2	-0.402*	STI031-3	1	-0.381*
	单薯重	STI048-3	8	0.414*	STI017-3	11	-0.455*
					STI018-2	11	-0.393*

注: “*”表示相关性达到显著水平($P < 0.05$), “**”表示相关性达到极显著水平($P < 0.01$)。“/”表示染色体位置不唯一。

Note: “*”indicates marker associated with trait at 0.05 level, “**”indicates marker associated with trait at 0.01 level. “/”indicates that position is not unique.

3 讨 论

3.1 遗传基础是影响试管薯形成相关性状的主要因素

试验比较了4个杂交组合后代的试管薯形成相关性状, 结果表明不同组合的试管薯形成受亲本遗传基础影响十分明显。4个组合的初始匍匐茎形成时间差异不大; 组合F和D的初始结薯时间最早, K次之, E最晚; 组合D与F、F与E之间的单株结薯率和结薯数无明显差异, 但D显著高于E且D、F、E均显著高于组合K; 组合D和E的单薯重显著高于F和K。结合4个组合的遗传背景(表1), 即D、E和F具有相同的父本, F和K具有相同的母本, 推测组合E结薯较晚可能是受到其母本的遗传, F、D和E 3个组合结薯能力较强(单株结薯率和结薯数均较高)可能是受到其共有的父本的遗传, 而F和K的试管薯膨大能力较弱, 可能是受到其共有的母本的影响。试验结果表明, 尽管块茎形成易受环境条件的影响, 但从根本上来讲, 主要决定因素是其遗传基础^[25]。此外, 组合内不同基因型之间试管薯形成相关性状的比较结果显示, 同一组合的不同基因型间的试管薯形成能力差异极大。组合F的最早和最晚结薯时间相差达50 d; 组合E中单株结薯率最低为0, 而最高达到100%; 组合E的最大单薯重(199.5 mg)是最小单薯重(19.6 mg)的10.2倍。组合内不同基因型之间的差异甚至大大超过了组合间的差异, 但是其差异程度还是受其遗传基础影响。

3.2 结薯时间和单薯重的关系受到其遗传背景的影响

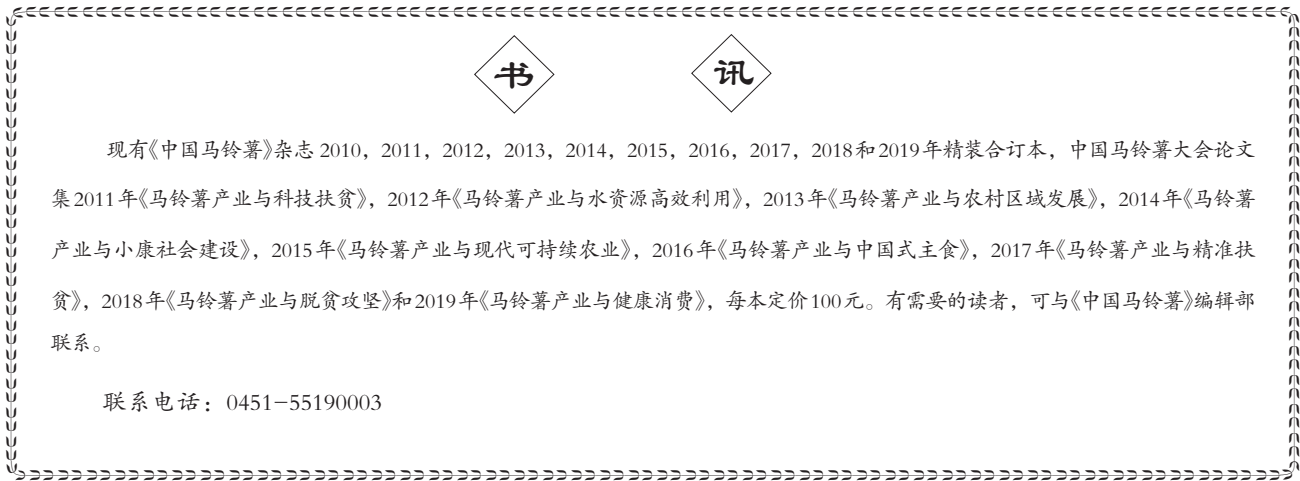
试验结果显示, 组合D中检测到25个标记同时与初始结薯时间及单薯重显著相关, 其中13个标记同时与早结薯以及单薯重更大相关、12个标记同时与晚结薯以及单薯重更小相关, 从遗传学上证明这两个表型在该群体中具有高度相关性。这一结果与前人的研究结果一致, 即相较于结薯晚的晚熟品种, 结薯更早的早熟品种形成的试管薯更大^[15,16], 也有研究利用QTL定位方法证明了平均单薯重与植株熟性之间确实存在相同的遗传调控位点^[26]。然而, 在研究其他3个组合中并没有出现同样的结果, 组合E、F和K均没有检测到同时与结薯时间及单薯重相关的标记。组合F的结薯时间是4个组

合中最早的, 而其单薯重却显著低于组合D、E; 组合E的结薯时间是最晚的, 而其单薯重却显著高于结薯比他早的组合F、K, 从而表明结薯时间与单薯重也可能分别受到完全不同的遗传位点的调控。这一结果也在近期的报道中得到印证, 即不管从表型的相关性(皮尔森相关系数 $r = 0.1 \sim 0.3$), 还是QTL定位结果(分别位于不同的染色体上)来看, 平均单薯重和植株熟性这两个性状都是相互独立的^[27]。基于此不难发现结薯时间与单薯重是否相关很大程度上取决于其遗传基础, 这一结论解释了“结薯早不一定产量高, 而结薯晚也不一定产量低”的现象, 为培育马铃薯新品种奠定了理论基础。

[参 考 文 献]

- [1] FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations [EB/OL]. [2019-09-10]. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- [2] 柳俊. 马铃薯试管块茎的形成机理及块茎形成调控 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2001.
- [3] 谢从华. 马铃薯产业的现状与发展 [J]. 华中农业大学学报: 社会科学版, 2012, 97(1): 1-4.
- [4] Donnelly D J, Coleman W K, Coleman S E. Potato microtuber production and performance: A review [J]. American Journal of Potato Research, 2003, 80(2): 103-115.
- [5] Fernie A R, Willmitzer L. Molecular and biochemical triggers of potato tuber development [J]. Plant Physiology, 2001, 127(2): 1459-1465.
- [6] Ishida B K, Snyder Jr G W, Belknap W R. The use of *in vitro*-grown microtuber discs in *Agrobacterium*-mediated transformation of Russet Burbank and Lemhi Russet potatoes [J]. Plant Cell Reports, 1989, 8(6): 325-328.
- [7] 司怀军, 谢从华, 柳俊. 农杆菌介导的马铃薯试管薯遗传转化体系的优化及反义 class I patatin 基因的导入 [J]. 作物学报, 2003, 29(6): 801-805.
- [8] Ronning C M, Stegalkina S S, Ascenzi R A, et al. Comparative analyses of potato expressed sequence tag libraries [J]. Plant Physiology, 2003, 131(2): 419-429.
- [9] Hannapel D J. A model system of development regulated by the long-distance transport of mRNA [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2010, 52(1): 40-52.

- [10] Inui H, Ogura Y, Kiyosue T. Overexpression of *Arabidopsis thaliana* *lov kwlch repeat protern 2* promotes tuberization in potato (*Solanum tuberosum* cv. May Queen) [J]. FEBS Letters, 2010, 584 (11): 2393–2396.
- [11] Ewing E E, Struik P C. Tuber formation in potato: induction, initiation, and growth [J]. Horticulturay Reviews, 2010, 14(1992): 89–198.
- [12] Khuri S, Moorby J. Investigations into the role of sucrose in potato cv. Estima microtuber production *in vitro* [J]. Annals of Botany (London), 1995, 75(3): 295–303.
- [13] Gopal J, Minocha J L, Dhaliwal H S. Microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Plant Cell Reports, 1998, 17(10): 794–798.
- [14] Lentini Z, Plaisted R L, Earle E D. Use of *in vitro* tuberization as a screening system for potato earliness [J]. American Potato Journal, 1988, 65(8): 488.
- [15] 王春林, 程天庆. 利用试管薯快速繁殖马铃薯 [J]. 马铃薯杂志, 1992, 6(2): 10–12.
- [16] Kostyushina Z S, Chudinova L A. Induced tuber formation in different potato varieties in *in vitro* culture [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1985, 7(1): 3–10.
- [17] 周俊. 马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)试管块茎形成的QTL定位及遗传分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
- [18] Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio – assay with tobacco tissue cultures [J]. Physiologia Plantarum, 1962, 1(3): 473–496.
- [19] Dellaporta S L, Wood J, Hicks J B. A plant DNA miniprep: version II [J]. Plant Molecular Biology Report, 1983, 1(4): 19–21.
- [20] Milbourne D, Meyer R C, Collins A J, *et al.* Isolation, characterisation and mapping of simple sequence repeat loci in potato [J]. Molecular and General Genetics, 1998, 259(3): 233–245.
- [21] Sandbrink J M, Colon L T, Wolters P, *et al.* Two related genotypes of *Solanum microdontum* carry different segregating alleles for field resistance to *Phytophthora infestans* [J]. Molecular Breeding, 2000, 6(2): 215–225.
- [22] Feingold S, Lloyd J, Norero N, *et al.* Mapping and characterization of new EST-derived microsatellites for potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111(3): 456–466.
- [23] Ghislain M, Nunez J, Del Rosario Herrera M, *et al.* Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato [J]. Molecular Breeding, 2009, 23(3): 377–388.
- [24] Han Y C, Teng C Z, Hu Z L, *et al.* An optimal method of DNA silver staining in polyacrylamide gels [J]. Electrophoresis, 2008, 29 (6): 1355–1358.
- [25] 刘玲玲. 光照和培养基类型对马铃薯微型薯诱导结薯的影响 [J]. 黑龙江农业科学, 2004(6): 21–23.
- [26] Manrique-Carpintero N C, Coombs J J, Cui Y H, *et al.* Genetic map and QTL analysis of agronomic traits in a diploid potato population using single nucleotide polymorphism markers [J]. Crop Science, 2015, 55(6): 2566–2579.
- [27] Marand A P, Jansky S H, Gage J L, *et al.* Residual heterozygosity and epistatic interactions underlie the complex genetic architecture of yield in diploid potato [J]. Genetics, 2019, 212(1): 317–322.


 书

讯

现有《中国马铃薯》杂志 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018 和 2019 年精装合订本, 中国马铃薯大会论文集 2011 年《马铃薯产业与科技扶贫》, 2012 年《马铃薯产业与水资源高效利用》, 2013 年《马铃薯产业与农村区域发展》, 2014 年《马铃薯产业与小康社会建设》, 2015 年《马铃薯产业与现代可持续农业》, 2016 年《马铃薯产业与中国式主食》, 2017 年《马铃薯产业与精准扶贫》, 2018 年《马铃薯产业与脱贫攻坚》和 2019 年《马铃薯产业与健康消费》, 每本定价 100 元。有需要的读者, 可与《中国马铃薯》编辑部联系。

联系电话: 0451-55190003