

马铃薯块茎细胞膜热稳定性的配合力与杂种优势分析

曹淑敏, 李 军, 刘喜才, 张文英, 张丽娟

(黑龙江省农业科学院马铃薯研究所, 克山 161606)

摘要: 利用马铃薯栽培种亲本组配的 6×6 完全双列杂交 (包括反交), 对该性状 (以相对热损伤率 RI% 表示) 进行配合力和杂种优势分析。结果表明: ①该性状的一般配合力效应 (GCA), 特殊配合力效应 (SCA) 和反交效应 (R) 均达极显著水平。上述 3 因素相对作用大小南、北马铃薯分别为 3.9:1:1.6 和 2.1:1:0.5, 说明该性状的遗传虽以加性基因效应占一定优势, 但非加性基因效应和反效应也起重要的作用。②此性状受质核互作和 (或) 细胞质的明显影响。③一些杂种 F₁ 的细胞膜热稳定性具有明显的杂种优势, 并存在超亲遗传现象。这将为马铃薯的耐热性遗传改良和杂种优势利用提供依据。

关键词: 马铃薯; 细胞膜热稳定性; 配合力; 杂种优势

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1001-0092 (2002) 04-202-05

1 前 言

近年来随着分子生物学的不断发展, 有关生物

膜理论逐渐完善, 认为生物膜作为有机体的细胞及细胞器与环境之间的一个界面结构, 是逆境最初最直接的接受体, 它既能接受和传递环境信息, 又能对逆境作出反应。因此, 生物膜与有机体的抗逆性有密不可分的关系。事实上, 细胞膜在逆境条件下

收稿日期: 2002-06-03

[3] 贾士荣等. 马铃薯遗传转化及抗菌肽基因的导入. 马铃薯抗菌肽基因工程. 中国农业科技出版社, 1996, 1-14.

[4] 李先平等. 马铃薯抗晚疫病育种研究进展 [J]. 中国马铃薯, 2001, 5: 290-295.

[5] 宋伯符, 谢开云. CIP 的全球晚疫病防治倡议与我国的参与 [J]. 马铃薯杂志, 1997, 11: 51-58.

[6] 李汝刚, 范云六. 表达 Harpin 蛋白的转基因马铃薯降低晚疫病斑生长期 [J]. 中国科学, 1999, 1.

[7] 李汝刚. 表达 Harpin 和 Osmotin 基因的马铃薯植株对晚疫病的抗性分析. 博士学位论文.

[8] 李先平等. 云南马铃薯栽培品种的 RAPD 研究 [C]. 中国马铃薯研究进展. 哈尔滨工程大学出版社, 1999, 250-257.

ANALYSIS OF LATE-BLIGHT RESISTANCE IN TRANSGENIC POTATO EXPRESSING HARPIN_{Ea} GENE

LI Xian-ping¹, HE Yun-kun¹, ZHAO Zhi-jian¹, LI Shu-lian²

(1. Bitotechnology Research Institute of YAAS, Kunming 650223; 2. Plant Protection Institute, Yunna Academy of Agricultural Sciences)

ABSTRACT: Potato commercial cultivar Atlantic was transformed with Harpin_{Ea} gene via *Agrobacterium tumefaciens* mediate gene transfer using leaf disk method. 107 regenerated potato plants were obtained through D³ and D⁴ selection medium. Kanamycin resistance and PCR amplification analysis showed that 59 putative transgenic plants had the Harpin_{Ea} gene, and the transformation ratio was 55.14 percent. The Late-blight resistance of potato putative transgenic plants in laboratory and in field will be tested in the year 2002.

KEY WORDS: Harpin_{Ea} gene; potato late blight; transgenic plants

的稳定性或者说变化反应(例如电解质外渗现象)已广泛用于研究抗冻、抗旱、抗盐和抗污染等植物的不同抗性, 现已被普遍用于作物品种资源筛选。Shanahan 等(1990年)研究表明, 细胞膜热稳定性能较好地反映作物的田间耐热性。本文仅对马铃薯块茎细胞膜热稳定性的遗传规律进行试验研究, 以期耐热或其它抗逆育种提供理论依据。

2 材料与方法

选用6个北方栽培品种, 品种和试验代号依次为克新2号(A₁)、克新3号(A₂)、克新6号(A₃)、克新9号(A₄)、克新10号(A₅)、克新11号(A₆); 6个南方选育的栽培品种(系), 依次为郑77-342(B₁)、郑71-44(B₂)、郑76-2-93(B₃)、南海74-1(B₄)、南海76-3(B₅)、威7754(B₆) (郑代表郑州蔬菜所, 南海代表广东佛山地区农科所, 威代表贵州省威宁地区农科所选育)。分别对其作6×6完全双列杂交(包括正反交)。实生种子收获后, 参照Saadalla等(1990年)的方法于室内作膜热稳定性测定。

首先待实生种子休眠期过后置于15℃暗培养箱中发芽10~14 d, 移入33℃恒温水浴箱中热锻炼48 h, 然后切取心叶近端部2 cm长苗段放入49℃恒温水浴锅中高温处理1 h, 测定电导率T₁ (Coleparmer1481-55型电导仪), 之后在125℃(约0.14 MPa)高压锅中处理15 min, 以杀死全部细胞让电解质全部渗出, 再测定电导率T₂, 最后计算相对热损伤率RI(%) = (T₁/T₂) × 100%表示细胞膜的热稳定性。RI(%)值越低, 表示基因型耐热性超强。RI(%)值经反正弦转换后按Griffing(1956)方法I进行有关统计分析。

3 结果与分析

6个北方亲本及其30个F₁(包括正、反交)和6个南方亲本及其30个F₁的平均相对热损伤率(RI%)列于表1。由表1可以看出: 亲本之间的RI值有明显差异, 南方亲本以郑77-342的RI值最小即膜热稳定性最高, 郑71-44、郑76-2-93和南海74-1次之, 南海76-3和威7754最大; 而北方亲本以克新2号的膜热稳定性最高, 克新3号和克新6号次之, 克新9号、克新10号和克新11号最

低。对南北马铃薯6×6完全双列杂交的基因型方差分析表明, 亲本及其F₁各基因型间RI的差异均达到极显著水平(F=19.31^{**}, 61.64^{**}), 表明它们之间存在真实的遗传差异。

表1 亲本及其F₁(包括反交、下划线)的细胞膜热稳定性大小(RI%)

代号	亲本名称	F ₁					
		x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	
B ₁	郑77-342	27.3	62.0	39.0	60.9	18.8	59.7
			<u>38.4</u>	<u>34.3</u>	<u>29.0</u>	<u>66.3</u>	<u>28.3</u>
B ₂	郑71-44	46.7		64.3	63.3	53.0	70.6
				<u>65.8</u>	<u>54.8</u>	<u>62.0</u>	<u>52.7</u>
B ₃	郑762-93	50.2			65.5	67.4	63.6
					<u>27.6</u>	<u>68.3</u>	<u>48.4</u>
B ₄	南海74-1	50.5				52.8	41.6
						<u>51.5</u>	<u>41.6</u>
B ₅	南海76-3	83.1					47.8
							<u>64.3</u>
B ₆	威7754	83.3					
A ₁	克新2号	52.2	69.6	81.9	73.7	76.9	40.8
			<u>55.2</u>	<u>68.2</u>	<u>75.8</u>	<u>78.1</u>	<u>42.1</u>
A ₂	克新3号	66.3		52.1	78.6	62.3	42.9
				<u>75.2</u>	<u>80.2</u>	<u>78.2</u>	<u>64.4</u>
A ₃	克新6号	73.8			64.9	80.3	67.1
					<u>71.1</u>	<u>72.1</u>	<u>61.1</u>
A ₄	克新9号	80.2				74.6	81.5
						<u>73.8</u>	<u>65.2</u>
A ₅	克新10号	80.6					78.9
							<u>61.9</u>
A ₆	克新11号	82.5					

3.1 配合力分析

从表2看出, 供试南北马铃薯亲本之间的一般配合力效应(GCA), 特殊配合力效应(SCA)和反交效应(R)均达极显著水平。就GCA, SCA和R三者相对作用大小而言, 南北马铃薯亲本材料三者均方之比分别为3.9:1:1.6和2.1:1:0.5, 这说明马铃薯细胞膜热稳定性的遗传同时受加性和

非加性基因效应及反交效应的共同控制, 以加性效应为主。

3.1.1 一般配合力效应

南北 12 个亲体的 GCA 见表 3。其中除 B₃ 和

A₃ 二亲本的 GCA 未达显著水平外, 其余均达极显著水平。从各亲本 GCA 的作用方向看, 较耐热的 4 个南方亲本 (B₁、B₂、B₃、B₄) 和 2 个北方亲本 (A₁、A₂) 中, 除 B₂、B₃ 为正向效应外, 余者均

表 2 6×6 双列杂交方差分析

基因型					配合力				
变异来源	DF	SS	MS	F	变异来源	DF	SS	MS	F
重复	2	53.06	26.53	1.91	GCA	5	1042.16	208.43	45.07**
		<u>7.34</u>	<u>3.67</u>	<u>1.00</u>			<u>559.23</u>	<u>111.85</u>	91.08**
基因型	35	9378.42	267.95	19.31**	SCA	15	801.23	53.45	11.56**
		<u>5369.31</u>	<u>153.41</u>	<u>41.64**</u>			<u>796.47</u>	<u>53.10</u>	<u>43.24**</u>
误差	70	971.14	13.87		R	15	1282.18	85.48	18.48**
		<u>257.88</u>	<u>3.68</u>				<u>434.07</u>	<u>28.94</u>	<u>23.57**</u>
					误差				
					70				
					1.62				
					<u>1.23</u>				

表 3 双列杂交亲本的一般配合力效应 (GCA)、特殊配合力效应 (SCA) 和反交效应 (R, 下划线)

代 号	GCA	SCA/R				
		x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆
B ₁	-7.1991**	3.4046	-2.7481	4.7102*	-3.6370*	-0.8565
		<u>6.9000**</u>	<u>1.4000**</u>	<u>9.3833**</u>	<u>-14.4000**</u>	<u>9.2500**</u>
B ₂	2.1898**		4.4796*	3.6380*	-3.7926*	0.2880
			<u>-0.5167</u>	<u>2.5000</u>	<u>-2.7000</u>	<u>5.3500**</u>
B ₃	0.4426			-2.0982	4.2213*	-1.3315
				<u>11.2167**</u>	<u>-0.3000</u>	<u>4.4167**</u>
B ₄	-2.2991**				-2.4370	-6.9732**
					<u>0.3833</u>	<u>0.0333</u>
B ₅	4.1981**					-5.0204**
						<u>-4.8833**</u>
B ₆	2.6676**					
A ₁	-3.1009**	-10.5241**	0.6593	6.2648**	2.9537**	4.7204**
		<u>4.2500**</u>	<u>4.5833**</u>	<u>-0.6067</u>	<u>-0.3833</u>	<u>-0.3500</u>
A ₂	-1.8176**		-2.0685**	4.7704**	-0.2796	-4.7407**
			<u>-6.9667**</u>	<u>-0.5833</u>	<u>-4.1333**</u>	<u>6.2500**</u>
A ₃	0.5768			-5.0241**	0.2093	-1.0518
				<u>-1.8833*</u>	<u>2.75000*</u>	<u>1.7667*</u>
A ₄	3.5213**				-4.7185**	1.9704**
					<u>0.800</u>	<u>5.333**</u>
A ₅	3.6213					-0.0463
						<u>5.3833**</u>

为负向效应即其加性效应基因提高膜热稳定性。而热敏感的 2 个南方亲本 (B_5 , B_6) 和 4 个北方亲本 (A_3 , A_4 , A_5 , A_6) 中, 除 A_6 为负向效应外, 余者均为正向效应, 即其加性效应基因降低膜热稳定性。上述结果表明, 一般情况下耐热性强的亲本其一般配合力效应也有助于提高 F_1 的耐热性。

3.1.2 特殊配合力效应和反交效应

不同组合间特殊配合力效应存在着明显的差异。表 3 南、北马铃薯材料共 30 个特殊配合力效应值中, 有 18 个达显著或极显著水平, 其中包括正向效应和负向效应各 9 个组合。进一步分析表明, 组合的特殊配合力效应 (包括大小和方向) 与其 F_1 的膜热稳定性表现有较为一致的关系 ($r=0.634^*$, 0.769^{**} $n=15$); 但与双亲的膜热稳定性表现无明确关系。例如, 两个热敏感亲本 B_5 和 B_6 所配组合表现较高的负向特殊配合力效应, 而两个亲本均为耐热品种 (系) 的组合 $B_1 \times B_2$ 表现相反。

30 个反交效应值 (表 3) 中, 也有 18 个达到显著或极显著水平。相关分析证明, 供试亲本所配组合的反效应 (包括大小和方向) 与其对应正、反交 F_1 的 RI 值之差的关系几乎一致 ($r=1.00^{**}$, 0.998^{**} , $n=15$)。最后, 据表 3 南、北各个亲本与其余 5 个亲本所配组合的反交效应值进行分析, 不难发现, 有一些亲本例如郑 77-3-42 (B_1)、威 7754 (B_6)、克新 3 号 (A_2) 和克新 9 号 (A_4) 作母本的几乎所有杂交组合其效应方向 (指增加或降低膜热稳定性) 一致, 说明这些亲本的细胞质对杂种后代耐热性的影响比较明显; 而另一些亲本之间的组合 (如南海 74-1 \times 郑 762-93 和克新 2 号 \times 克新 6 号) 的正反交差异, 则可能受质核互作的影响。

3.2 杂种优势分析

根据杂种 F_1 及其亲本的 RI 值划分组合类型, 南方 6 个亲本组配的 30 个组合中, 有 7 个超高亲组合、7 个超低亲组合和 16 个超中亲组合; 而北方 6 个亲本组配的 30 个组合中, 有 3 个超高亲组合、16 个超低亲组合和 11 个超中亲组合。其中, 从 7 个超低亲南方组合来看, 分别以耐热性较强的品种 (系) 郑 77-3-42、郑 71-44、郑 762-93 和南

海 74-1 作亲本的组合依次有 1, 2 和 3 个, 而双亲均为热敏感品种即威 7754 和南海 76-3 作亲本的良好组合有 2 个 (正反交); 从 16 个超低亲北方组合看, 分别以耐热性较强的品种 (系) 克新 2 号、克新 3 号、克新 6 号的组合依次有 2, 4 和 6 个, 而双亲均为热敏感品种即克新 9 号、克新 10 号和克新 11 号的组合有 5 个 (所有可能组合)。上述分析表明, 杂种 F_1 的膜热稳定性这一性状较普遍地存在“超亲” (使耐热性增强) 遗传现象; 此外, 由于供试南、北马铃薯材料中, 耐热性较差的亲本 (南方为南海 76-3、威 7754、北方有克新 9 号、克新 10 号、克新 11 号) 之间所配正、反交组合几乎均为超低亲组合, 提示人们这一性状可能存在杂种优势。

将南、北马铃薯共 60 个杂交组合的杂种优势 (超中亲优势) 计算结果列于表 4。其中负向优势 (即使膜热稳定性增加) 组合为 33 个, 占 55%, 其优势值变幅 -3.3%~ -65.9%。可以看出, 马铃薯这一性状存在杂种优势, 并且某些组合具有较高的杂种优势, 这对今后通过杂种优势利用途径进行耐热性遗传改良奠定了理论基础。

表 4 细胞膜热稳定性大小的杂种优势 (%)

亲本 (♀/♂)	F_1					
	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆
B_1		+67.6	+0.5	+56.6	-65.9	+8.0
B_2	+3.7		+32.6	+30.2	-18.3	+8.6
B_3	-11.6	+35.7		+29.8	+1.1	-4.8
B_4	-25.5	+12.8	-45.2		-21.0	-37.8
B_5	+20.1	-4.5	+2.4	-23.1		-42.6
B_6	-48.8	-18.9	-27.5	-37.8	-22.7	
A_1		+17.4	+30.0	+11.3	+15.8	-39.5
A_2	-6.9		-25.7	+7.2	-15.2	-42.3
A_3	+8.3	+7.3		-15.7	+4.0	-14.2
A_4	+14.5	+9.4	-7.7		-7.2	+0.1
A_5	+17.6	+6.4	-6.6	-8.2		-3.3
A_6	-37.5	-3.4	-21.9	-19.9	-24.1	

注: 对角交线以下为反交。

4 讨 论

作物抗逆性是一复杂的生物学性状。尽管采用田间直接鉴定的手段来研究描述抗逆性及其遗传规

律比较客观, 但品种生育期的不同、以及有关因子之间的互作或伴随发生(如干旱和高温)也使研究运作变得复杂与困难; 而目前有关抗逆的生理基础研究进展较快, 一些生理性状可以较好地反映抗逆性, 对其进行遗传研究既能揭示抗逆性的一些遗传信息又有助于深化探讨逆境生理知识, 最终使逆境生理研究与育种达到完美的结合。目前普遍认为细胞膜是多胁迫危害的原初反应基地, 对其有关表现进行一定的遗传研究将具有重要的理论与实践价值。

马铃薯生育盛期(7~8月)正是地下块茎膨大阶段, 常是高温干旱昼夜温差不大使块茎膨大减缓造成减产。根据本文研究结果, 加性基因效应在细胞膜热稳定性这一性状的遗传控制中不但起重要作用, 其大小还与亲本品种自身的细胞膜热稳定性这一性状的表现有较一致的关系。因此, 今后有希望采用轮回选择等改良手段, 培育出自身表现良好而一般配合力又高的耐热亲本材料, 提供育种应用。研究结果还表明, 马铃薯耐热性受较复杂的遗

传控制, 尤其是反交效应对该性状的遗传起相当大的作用。故今后开展耐热性遗传改良过程中还应注意对母本的选择。事实上, 迄今对作物的抗逆性, 如抗冻和抗寒等性状的遗传研究中, 经常发现细胞的明显影响。由此推测抗(耐)逆性的遗传可能存在一些共性的基础, 正如植物对各种逆境的生理反应有共同之处, 这在抗逆育种实践中值得引起注意和重视。

参 考 文 献

[1] 马育华编著. 植物育种的数量遗传学基础 [M]. 南京: 江苏科技出版社, 1982.
 [2] 王洪春. 植物生理学通讯, 1981, 6: 72-81.
 [3] 王洪春. 植物生理学通讯, 1985, 1: 60-66.
 [4] Blum A. Plant breeding for stress environments, CRC press Inc., PP. 79-98, Florida.
 [5] Cahalan C & C H Law. Heredity, 1979, 42: 125-132.
 [6] Rawson H M. Field Crop Res, 1986, 14: 197-212.
 [7] Saadalla M M et al. Crop Sci, 1990, 30: 1243-1251.
 [8] Shanahan. J Crop Sci, 1990, 30 (2): 247-251.

STUDIES ON THE COMBINING ABILITY AND HETEROSIS OF CELL MEMBRANE THERMOSTABILITY IN POTATO

CAO Shu-min, LI Jun, LIU Xi-cai, ZHANG Wen-ying, ZHANG Li-juan

(Keshan Potato Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Keshang 161606)

ABSTRACT: The cell membrane themostability is known to be a better physiological parameter for identifying heat-tolerance of potato in the field. In this study two sets of 6×6 complete diallel (including reciprocals), one from six south and another from six north potato cultivars, were used to investigate the combining ability and heterosis of this trait expressed as relative injury (RI%). Results showed that 1) general combining ability (GCA), specific combining ability (SCA) and reciprocal (R) effects were all highly significant, their meansquare ratios being 3.9:1:1.6 and 2.1:1:0.5 for south and north potato respectively, which indicated that non-additive and reciprocal effects were also important in the genetic control of this trait; 2) obviously, cytoplasmic atcion and /or nucleo-cytoplasm interaction existed in this trait; and 3) heterosis of membrane thermostability of some F₁s was remarkable, and the transgressive inheritance of this trait was observed. These findings might be informaive for improving heat-tolerance in pure line potato and hybrid potato breeding programs.

KEY WORDS: potato; membrane; thermostability; combining ability; heterosis