

不同杂交方式对白肋烟烟碱转化率的影响

李宗平

(湖北省烟草科学研究院/中国烟草白肋烟试验站,武汉 430030)

摘要:采用白肋烟 B37 的高烟碱转化品系(HC)和低转化品系(LC)进行正、反杂交试验,分析比较双亲与正、反交 F_1 的烟碱、降烟碱含量及烟碱转化率的平均值、群体分布频率特点和杂种优势的大小。结果表明:低转化材料作母本 F_1 (正交)烟碱含量表现出 24.58% 的正向平均优势,降烟碱和烟碱转化率则为 49.79% 和 57.43% 的负向平均优势;以高转化率材料作母本, F_1 (反交)表现出同样的趋势,但杂种优势小于正交 F_1 。为此认为,雄性不育杂交一代优势利用是选育低烟碱转化、低烟草特有亚硝胺(TSNA)含量新品种的有效方法,其中选择纯合的低烟碱转化品系作杂交母本尤为主要。

关键词:白肋烟;正交;反交;生物碱;转化率;杂种优势

烟草生物碱主要包括烟碱、降烟碱和微量的新烟碱和假木贼碱。降烟碱,亦称去甲基烟碱,可由烟碱脱甲基形成,正常情况下降烟碱含量不超过生物碱总含量的 3.5%。由于降烟碱属仲胺类的降烟碱,在烟叶调制和陈化过程中代谢比较活跃,极易发生亚硝化反应生成烟草特有亚硝胺(TSNA)中具有强致癌作用的 N-亚硝基降烟碱(NNN),从而严重影响到烟叶的安全性和人类健康。同时降烟碱还易于氧化、酰化反应生成麦斯明(α -氧基烟碱)和一系列的酰化降烟碱,直接改变烟叶和烟气化学成分的组成和含量,对烟叶

的香味品质产生不利影响^[1-3]。美国已将降烟碱作为考核新品种的主要指标,并制定了降烟碱含量不超过总生物碱 15% 的标准^[1,3]。普通烟草是纯合双隐性基因型(ctctscscs),不具有烟碱去甲基能力,但在栽培品种的烟株群体中,一些烟株往往会因为基因突变,形成烟碱转化能力,导致烟碱含量显著降低,降烟碱含量大幅增加^[3]。史宏志等^[4]通过对国内不同烟草类型降烟碱及烟碱向降烟碱转化研究后认为,白肋烟降烟碱含量及烟碱转化率较高,问题突出。史宏志等^[5]、李进平等^[6]在对白肋烟鄂烟 1 号烟碱向降烟碱转化的遗传改良研究中发现,母本的 MSB21 和保持系 B21 的

基金项目:湖北省烟草专卖局项目(027Y2011-055)

自始行为,检验报告的效力应当达及同批次全部种子,货值金额计算应包含抽检前已经销售的种子及抽检时现场未销售种子;如为水分等可能受环境、储存方式等因素影响的指标不合格,在无法查清不合格原因的情况下,按照有利于当事人的原则,检验报告的效力仅达及抽样时样品所代表的种子,即此时货值金额计算只能是抽样时确认的种子样本基数。

4 有关种子违法案件货值金额的特别问题

新《种子法》第九十一条规定:违反本法规定,构成犯罪的,依法追究刑事责任。执法人员在办理种子违法案件时,应注意货值金额达到刑事立案标准的应当及时移送司法机关。

与货值金额有关的违法行为有以下 2 种。(1)生产销售伪劣产品罪。伪劣产品尚未销售,货值金额十五万元以上的;伪劣产品销售金额不满五万元,

但将已销售金额乘以三倍后,与尚未销售的伪劣产品货值金额合计十五万元以上的。

(2)非法经营罪。个人非法经营数额在五万元以上,或者违法所得数额在一万元以上的;单位非法经营数额在五十万元以上,或者违法所得数额在十万元以上的;虽未达到上述数额标准,但两年内因同种非法经营行为受过二次以上行政处罚。

参考文献

- [1] 邵小平. 著作权刑事保护研究[D]:上海:华东政法大学,2011
- [2] 唐震. 侵犯商标权刑事犯罪罪量认定思路之把握:基于湖南农民售假被处天价罚金事件所展开的分析[J]. 法律适用,2013(3): 94-98
- [3] 卢勤忠. 关于“两高”知识产权犯罪解释的评析[J]. 知识产权法研究, 2006(1): 58-70

(收稿日期:2017-02-07)

群体中都含有极高比例的转化株,而作为父本的 B37 转化株较少,认为鄂烟 1 号的高转化株比例主要由母本引起。本研究的目的在于通过相同亲本进行正反交测验,分析杂交亲本对其 F_1 生物碱及烟碱转化率的影响,为以降低烟草特有亚硝胺(TSNA)含量为目标的白肋烟新品种选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 P_1 : 白肋烟 B37 低烟碱转化率品系(LC), P_2 : B37 高烟碱转化率品系(HC)。正交 $P_1 \times P_2$ (F_1)和反交 $P_2 \times P_1$ (F_1),共 4 份。

1.2 试验方法

1.2.1 田间试验 2011 年对白肋烟 B37 原种群体进行连续选择 4 代的低烟碱转化株(LC)和高烟碱株(HC)单株选择,2014 年在恩施烟草良种繁殖基地种植性状稳定的 P_1 (LC)、 P_2 (HC)材料,配制正交($P_1 \times P_2$)、反交($P_2 \times P_1$)杂交组合。2015 年进行 P_1 、 P_2 、及正、反交杂交 F_1 等 4 份材料的田间试验,其中 P_1 、 P_2 各种植 60 株,取样 55 株,正、反交杂交 F_1 各种植 30 株,取样 20 株。田间种植方法同白肋烟大面积生产。

1.2.2 转化率诱导鉴定 烟株团棵期取 9~10 叶位(由下至上)烟叶 2 片,样品按 H.Z.Shi 等^[7]的诱导方法进行烟碱转化率化学诱导。即摘取烟叶后,喷施 2-氯乙基磷酸水溶液后保湿晾制,待烟叶变黄后,测定烟叶的烟碱和降烟碱含量。烟碱转化能力用烟碱转化率表示,即降烟碱含量占烟碱和降烟碱含量之和的百分比,可由下式计算。

烟碱转化率(%) = [降烟碱含量 / (烟碱含量 + 降烟碱含量)] × 100

根据烟碱转化率将烟株分为非转化株(烟碱转化率低于 3%)、低转化株(烟碱转化率 3%~20%)、中转化株(烟碱转化率 20%~50%)和高转化株(烟碱转化率大于 50%)^[3]。

1.2.3 生物碱测定 生物碱测定采用气相色谱法。样品经烘干后粉碎,每样品称取 100mg,用三氯甲烷提取生物碱。气相色谱仪为 Agilent-6890,检测器为 FID,具体操作和参数设定按 H.R.Burton 等^[8]的方法进行。

1.2.4 杂种优势分析 杂种优势是指杂交一代的某些性状优于双亲的现象。分为平均优势和超亲优势^[9]。

平均优势,杂种一代(F_1)超过双亲平均值(MP)的百分比。

$$\text{平均优势}(\%) = \frac{F_1 - MP}{MP} \times 100\%$$

超亲优势,杂种一代(F_1)超过其最好亲本(HP)的百分比。

$$\text{超亲优势}(\%) = \frac{F_1 - HP}{HP} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 群体平均生物碱含量及烟碱转化率比较 从表 1 可以看出, P_1 、 P_2 的烟碱、降烟碱含量及烟碱转化率存在较大差异,其中 P_1 (B37LC)烟碱含量较高在 17.08~24.92mg/g 之间,降烟碱含量、烟碱转化率较低,分别在 1.02~1.55 mg/g 和 4.09%~6.68% 之间; P_2 (B37HC)烟碱含量较低在 1.33~12.57mg/g 之间,降烟碱含量、烟碱转化率较高,分别为 6.66~15.55mg/g 和 41.51%~87.56%。正交 F_1 烟碱含量较高为 14.36~19.08mg/g,降烟碱含量、烟碱转化率较低,分别为 1.79~3.45 mg/g 和 9.33%~16.80%;反交 F_1 烟碱含量在 12.11~16.73mg/g 之间,降烟碱含量、烟碱转化率分别在 3.35~5.20 mg/g 和 17.00%~29.08% 之间;正交 F_1 和反交 F_1 的烟碱、降烟碱和烟碱转化率均在 P_1 和 P_2 之间,但均偏向 P_1 ,且正交 F_1 平均烟碱含量高于反交 F_1 ,而降烟碱、烟碱转化率则反交 F_1 高于正交 F_1 (表 2)。

表 1 P_1 、 P_2 生物碱含量及烟碱转化率比较

参数	P_1			P_2		
	烟碱 (mg/g)	降烟碱 (mg/g)	转化率 (%)	烟碱 (mg/g)	降烟碱 (mg/g)	转化率 (%)
平均值	21.40	1.11	4.95	6.43	10.53	62.77
标准差	1.76	0.09	0.57	2.65	2.11	12.65
最小值	17.08	1.02	4.09	1.33	6.66	41.51
最大值	24.92	1.55	6.68	12.57	15.55	87.56
CV (%)	8.23	8.56	11.58	41.12	20.04	20.15

表 2 正、反交 F_1 的生物碱含量及烟碱转化率比较

参数	正交 F_1			反交 F_1		
	烟碱 (mg/g)	降烟碱 (mg/g)	转化率 (%)	烟碱 (mg/g)	降烟碱 (mg/g)	转化率 (%)
平均值	17.34	2.92	14.41	14.63	4.29	22.74
标准差	1.08	0.41	1.79	1.44	0.64	3.40
最小值	14.36	1.79	9.33	12.11	3.35	17.00
最大值	19.08	3.45	16.80	16.73	5.20	29.08
CV (%)	6.22	14.04	12.43	9.82	14.88	14.96

2.2 分布频率分析 进一步分析烟株群体的烟碱、降烟碱含量及烟碱转化率的分布频率,结果如图1~3所示。烟碱含量 P_1 的频率高峰在 23mg/g 位点, P_2 的在 7mg/g, 正交 F_1 在 19mg/g, 反交 F_1 在 15mg/g; 降烟碱则 P_1 的频率高峰在 1.5mg/g, P_2 在 12mg/g, 正交 F_1 在 3.5mg/g, 反交 F_1 在 5mg/g; P_1 的烟碱转化率频率高峰在 4%; P_2 在 70%; 正交 F_1 在 15%; 反交 F_1 在 25%。因此得知,正交 F_1 和反交 F_1 的烟碱、降烟碱和烟碱转化率的频率高峰位点均在 P_1 、 P_2 之间,但均向 P_1 偏移,且以正交 F_1 更明显。

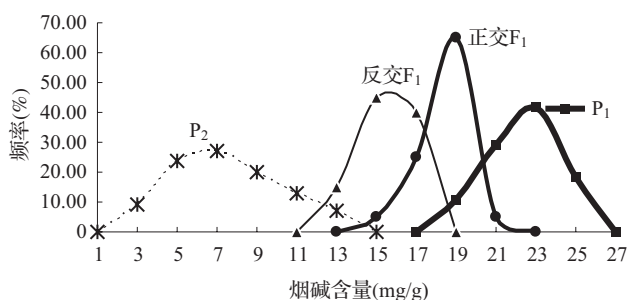


图1 双亲及正反交 F_1 群体烟碱分布频率

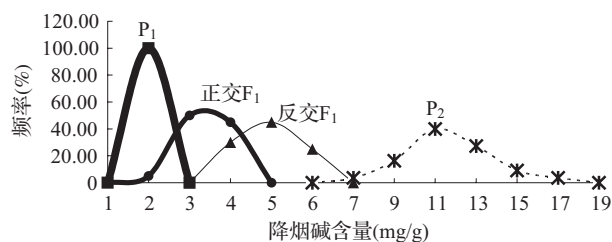


图2 双亲及正反交 F_1 群体降烟碱分布频率

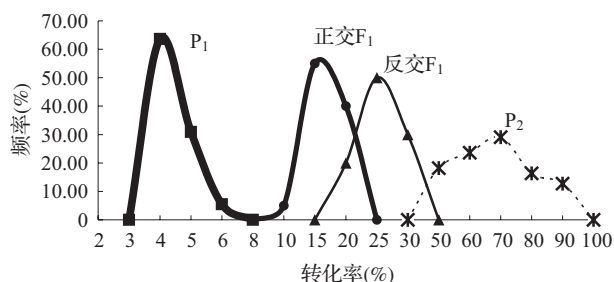


图3 双亲及正反交 F_1 群体烟碱转化率分布频率

2.3 杂种优势分析 在前述平均值比较及分布频率分析的基础上,进一步分析正、反交 F_1 的杂种优势大小。结果表明(表3):正、反交 F_1 的烟碱含量均存在正向的平均优势,且正交 F_1 大于反交 F_1 ;而降烟碱含量、烟碱转化率均表现为负向优势,尤以烟碱转化率的负向优势更明显,且正交 F_1 优势的绝对

值大于反交 F_1 。烟碱、降烟碱及转化率均无超亲杂种优势。

表3 正、反交 F_1 的杂种优势分析

性状	P_1	P_2	正交 F_1	反交 F_1	MP	杂种优势(%)	
						正交	反交
烟碱(mg/g)	21.40	6.43	17.34	14.63	13.92	24.58	5.12
降烟碱(mg/g)	1.11	10.53	2.92	4.29	5.82	-49.79	-26.32
转化率(%)	4.95	62.77	14.41	22.74	33.86	-57.43	-32.86

3 结论与讨论

本研究结果表明,不同烟碱转化率类型的品系杂交,杂交 F_1 的烟碱、降烟碱含量及烟碱转化率均大幅度偏离双亲平均值,其中烟碱含量表现出正向平均优势,降烟碱和烟碱转化率则为负向平均优势。与笔者之前白肋烟生物碱和烟碱转化率的配合力及遗传力的研究结果^[10]基本一致。

目前人们普遍认为栽培品种烟碱含量由2对独立的显性 $Nic1Nic1Nic2Nic2$ 基因控制,鲜叶烟碱含量一般较高,但晾晒和陈化过程中由于存在烟碱向降烟碱转化问题,导致烟碱转化为降烟碱。烟碱转化由显性 $CtCtCsCs$ 基因控制,2个位点均为隐性基因型即 $ctctcs$ 不具备烟碱转化能力^[3-5]。由此推断,同为栽培品种的不同烟碱转化类型品系的烟碱基因型均为 $Nic1Nic1Nic2Nic2$,只是转化率基因型不同,低转化品系的转化率基因型为 $ctctcs$,高转化品系为 $CtCtCsCs$,杂交 F_1 的基因型应是 $CtctCs$,性状表现应为显性,即低烟碱、高降烟碱含量、高转化率,烟碱含量低于双亲平均值为负向杂交优势,降烟碱和转化率大于双亲平均值,具有正向杂种优势,这显然不能解释本研究结果。本研究中的材料为同一品种经人为选择后的不同转化率类型品系,遗传背景除烟碱、降烟碱及转化率外,其他性状应完全一致,从而排除了其他基因的连锁与干扰,但烟碱、降烟碱及转化率的烟株群体分布频率结果表明,高转化亲本 P_2 的转化率在 41.51%~87.56% 之间,平均值 62.77%,据前人研究结果 $ctcs$ 基因型的转化率 3%~9%, $Ctcs$ 基因型 17%~51%, $CtCs$ 基因型 73%~94%^[3] 推测,本研究中的 P_2 可能尚属杂合基因型,且 $Ctctcs$ 存在较大的比例,由于杂交 F_1 基因型中 $ctctcs$ 的大量积累,从而导致降烟碱及转化率的表现型产生负向杂种优势。同时,在本研究中

春大豆闽豆5号高产农艺措施的数学模型分析

刘连生

(福建省大田县农业局, 大田 366100)

摘要:为探讨春大豆闽豆5号高产栽培技术模式,采取二次回归正交旋转组合设计研究了闽豆5号产量与主要栽培因素的数量关系,并建立了产量与主要栽培因子关系的数学模型。在闽西北红黄壤旱地,该品种每 hm^2 产量在9800kg以上的农艺措施:需纯氮141.26~162.99kg、五氧化二磷201.92~266.58kg、氧化钾133.70~163.80kg,种植密度21.38万~22.90万株/ hm^2 。

关键词:大豆;闽豆5号;农艺措施;产量效应

长期以来,福建农民栽培大豆习惯于“种豆一把灰”,特别在闽西北山地红黄壤区,种植大豆管理粗放,不间苗、不中耕、不施肥或少施肥,加上土质酸、粘、瘠、旱特点,导致大豆产量低而不稳,效益较低,影响农民种豆积极性。大豆根据其用途分为粒用大豆和菜用大豆两种类型,由于菜用大豆营养丰

富,含有蛋白质、脂肪、矿物质和人体必需的多种维生素^[1],特别是出口专用型菜用大豆,不仅口感好、外观品质好、商品性好,而且市场前景广阔,备受国内外消费者的欢迎。随着人们生活水平的日益提高及对营养健康食品的高度重视,我国南方菜用大豆消费量不断增长,成为南方豆类蔬菜新的消费热点。福建省处于我国东南部,对外贸易活跃,菜用大豆是主要出口豆类蔬菜之一,自20世纪90年代以来,菜

基金项目:福建省科技重大专项(2015NZ0002-3);福建省公益类基本科研专项(2015R1026-10,2016R1025-6,2016R1025-1)

烟碱、降烟碱及转化率均无超亲杂种优势。由此推断,一是白肋烟烟碱、降烟碱及转化率的遗传主要受微效多基因控制,且基因对数可能不止已知的2对,杂种优势的产生是隐性多基因累加的结果;二是在白肋烟雄性不育杂交一代优势利用过程中, P_1 是纯合的低转化率材料, P_2 只要不是纯合的高转化率材料,均可获得转化率低于双亲平均值的杂交 F_1 ;三是目前划分非、低、中、高转化株,特别是非和高转化株的界定值的合理性有待进一步商榷。

从原理上讲,正交 F_1 和反交 F_1 的基因型应该是完全一致的,但在本研究中发现正交 F_1 的杂种优势大于反交 F_1 的现象,初步推测可能与广泛存在于细胞质中的各种功能酶有关,同时亦排除其他遗传物质参与的可能。

综上所述认为:在白肋烟新品种选育中,充分利用杂交 F_1 具有较大的烟碱含量正向杂交优势、降烟碱和烟碱转化率负向杂交优势的特点,是目前选育低烟碱转化、低TSNA含量新品种的主要途径和方法,其中选择纯合的低或非烟碱转化品系作杂交母本尤为关键。

参考文献

- [1] 左天觉. 烟草的生产、生理和生物化学 [M]. 朱尊权, 译. 上海: 上海远东出版社, 1993: 306-338
- [2] 史宏志, Bush L P, Krauss M. 烟碱向降烟碱转化对烟叶麦斯明和TSNA含量的影响 [J]. 烟草科技, 2004 (10): 27-30
- [3] 史宏志, 张建勋. 烟草生物碱 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2004
- [4] 史宏志, Bush L P, Wang J, 等. 我国不同类型烟叶烟碱向降烟碱转化研究 [J]. 中国烟草科学, 2001, 22 (4): 6-8
- [5] 史宏志, 李进平, Bush L P, 等. 白肋烟杂交种及亲本烟碱转化株的鉴别 [J]. 中国烟草学报, 2005, 11 (4): 28-32
- [6] 李进平, 李宗平, 史宏志, 等. 降低鄂烟1号烟碱向降烟碱转化的遗传改良研究 [J]. 中国烟草学报, 2007, 13 (2): 24-28.
- [7] Shi H Z, Cotterill K, Fannin F F, et al. Identification of nicotine to nornicotine converter plants in burley tobacco[C]//55th Tobacco Science Research Conference, Greensboro, North Carolina, USA, 2001: 55-56
- [8] Burton H R, Bush L P, Djordjevic M V. Influence of temperature and humidity on the accumulation of tobacco-specific nitrosamines in stored burley tobacco[J]. J Agric Food Chem, 1989, 37 (5): 1372-1377
- [9] 佟道儒. 烟草育种学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 141-227
- [10] 李宗平, 李进平, 史宏志, 等. 白肋烟生物碱和烟碱转化率的配合力及遗传力的研究 [J]. 中国烟草学报, 2006, 12 (6): 23-24

(收稿日期: 2017-02-20)