中图分类号：S532　　文献标识码：A　　文章编号：1672－3635(2015)05-0257-06　　遗传育种

马铃薯普通栽培种杂交后代抗寒性分析

寇　爽，涂　卫，赵喜娟，梅文祥，陈　琳，宋波涛*

（华中农业大学园艺林学学院/园艺植物生物学教育部重点实验室/国家蔬菜改良中心华中分中心/湖北省马铃薯工程技术研究中心，湖北　武汉　430070）

摘　要：马铃薯栽培种喜冷凉，但不耐霜冻，几乎无抗寒性。利用苗期抗寒性直接鉴定法，对137个普通栽培种杂交组合的16 068个后代进行-3 ℃抗寒筛选，结果表明，绝大部分杂交后代不耐-3 ℃的低温，平均存活率为2.81%，以存活率大于5%为标准，筛选出相对“抗寒组合”26个，涉及到“抗寒母本”13个和“抗寒父本”7个；然后辅以电导率法测定相应的“抗寒组合”的“抗寒母本”和“抗寒父本”的半致死温度(LT_{50})并与预测的“抗寒亲本”的存活率进行相关性分析，结果表明，经筛选出的“抗寒母本”和“抗寒父本”确实有较低的半致死温度，相关性呈现极显著水平。以此为依据，可将所有杂交组合分为3类，其中双亲定义为“抗寒”的组合，其后代出现抗寒株系的比例远高于平均水平，而亲本均为“敏感”杂交组合，其后代存活率远远低于平均水平，说明抗寒杂交育种时最好选用抗寒双亲，这样获得抗寒后代的可能性较大。

关键词：马铃薯；杂交后代；抗寒性；相关分析

Analysis of Freezing Tolerance on Hybrid Progenies of Potato Cultivars

KOU Shuang, TU Wei, ZHAO Xijuan, MEI Wenxiang, CHEN Lin, SONG Botao*

(College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University/Key Laboratory of Horticultural Plant Biology (HAU), Ministry of Education/National Center for Vegetable Improvement (Central China)/Potato Engineering and Technology Research Center of Hubei Province, Wuhan, Hubei 430070, China)

Abstract: The potato cultivars acclimate to cool or temperate climates, normally without tolerance to frost. In this study, 16 068 hybrids derived from 137 cultivar crosses were screened for their tolerance to -3 ℃ at the seedling stage. Results showed that most hybrids died at -3 ℃, with an average survival rate of 2.81%. If the survival rate criterion was set at 5% or more, in total 26 crosses could be identified, which came from 13 freezing-tolerant female parents and seven freezing-tolerant male parents. Then, the semi-lethal temperature (LT_{50}) of these parents was tested and correlation analysis of these data was made with the predicted survival rate of freezing-tolerant parents. Results showed that these freezing-tolerant male and female parents indeed had low LT_{50} and the correlation was highly significant. Thus, all the crosses were divided into three classes, of which the survival rate of hybrids from freezing-tolerant parents was considerably higher than the average. In contrast, the survival rate of hybrids from freezing-sensitive parents was considerably lower than the average. These results illustrated that it was better to use freezing-tolerant parents to breed potato against frost, which was more likely to harvest freezing-tolerant hybrids.

Key Words: potato; hybrid; freezing tolerance; correlation analysis

收稿日期：2015-09-02

基金项目：国家马铃薯现代农业产业技术体系项目(CARS-10-P06)；国家自然科学基金项目(31501354)。

作者简介：寇爽(1991-)，女，硕士研究生，从事马铃薯抗寒遗传与分子生物学研究。

***通信作者**(Corresponding author)：宋波涛，教授，博士，主要从事马铃薯遗传育种与分子生物学研究，E-mail: songbotao@mail.hzau.edu.cn。

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

马铃薯在中国是仅次于水稻、小麦和玉米的重要粮食作物，栽培面积和产量均居世界首位[1]。然而在马铃薯的栽培过程中，低温胁迫所引起的伤害会给马铃薯生产带来很大的威胁。近几年来，中国南方马铃薯冬作区相继发生了不同程度的低温霜冻，特别是2008年的特大冰雪灾害中南方各地的马铃薯受灾面积达到了40.93万hm^2左右，造成直接经济损失10亿元左右，给马铃薯种植者造成了严重的经济损失[2]。

马铃薯普通栽培种（*Solanum tuberosum*）通常不耐霜冻，魏亮[3]对中国115份主要马铃薯品种进行了抗寒性半致死温度（LT_{50}）鉴定，结果表明，85.3% 的品系的LT_{50}高于−3 ℃，仅有14.7%的品系的LT_{50}在−3.0~−3.5 ℃，且无明显低温驯化能力，这就更进一步说明马铃薯普通栽培种抗寒性较差，且遗传变异不大。而有些野生种马铃薯的耐冻性却远远超过普通栽培种[4-6]，Stone等[7]利用加性-显性模型对*S. commersonii*和*S. cardiophyllum*的F_1代及回交群体的分离后代的非驯化抗寒能力和冷驯化能力进行研究，结果显示这两个性状由相互独立的遗传系统控制，且*S. commersonii*中的抗寒性主要由隐性基因控制；Chen等[8]研究20个不同马铃薯品种间的34个组合的F_1代的抗寒性，发现杂交后代中抗寒亲本遗传组成较高的个体，其抗寒性相对较好，同时研究还表明抗寒性和块茎数、块茎产量、平均单株块茎重量等性状间均没有明显的相关性，由此说明抗寒性和块茎性状是独立遗传的。但关于普通栽培种杂交后代的抗寒性的变异程度及子代与亲本抗寒性关系的报道较少，本研究通过对137个普通栽培种杂交组合后代及其部分亲本的抗寒性鉴定分析，拟探究*S. tuberosum*中抗寒性遗传的特点，为马铃薯抗寒育种提供一定的基础。

1　材料与方法

1.1　试验材料

本试验所用杂交后代薯块是从本实验室2010年杂交后代中选留，包括137个普通栽培种杂交组合的16 068个后代。试验所用的抗性对照‘ACL-27’、敏感对照‘10908-06’和12份抗寒亲本‘郑薯5号’、‘Yukon Gold’、‘Simcoe’、‘川芋早’、‘Cherokee’、‘Raritan’、‘292- 20’、‘N552’、‘Akoka’、‘AC1031’、‘396026’和‘F93102’以及10份随机选取的敏感亲本‘F04024’、‘Norvally’、‘冀张薯8号’、‘Stroma’、‘CS7232- 4’、‘F58050’、‘Lenape’、‘F58059’、‘ND860-2’和‘鄂薯5号’，均来源于本实验室资源库（表1）。

1.2　试验方法

1.2.1　材料种植

用于抗性筛选的杂交组合后代材料种植于5 cm深苗盘中，将薯块（1~5 g）均匀播种在已经垫了2 cm厚的细土苗盘上，然后覆土2 cm左右，浇足水后，置于塑料大棚内，植株长出后用于抗性鉴定。

表1　试验材料

Table 1　Experiment materials

序号 No.	材料 Material	种名 Species	倍性 Ploidy	EBN	序号 No.	材料 Material	种名 Species	倍性 Ploidy	EBN
1	10908-06	*S. tuberosum*	2	2	13	冀张薯8号	*S. tuberosum*	4	4
2	ACL-27	*S. acaule*	4	2	14	N552	*S. tuberosum*	4	4
3	郑薯5号	*S. tuberosum*	4	4	15	Stroma	*S. tuberosum*	4	4
4	Yukon Gold	*S. tuberosum*	4	4	16	396026	*S. tuberosum*	4	4
5	Simcoe	*S. tuberosum*	4	4	17	Akoka	*S. tuberosum*	4	4
6	川芋早	*S. tuberosum*	4	4	18	鄂薯5号	*S. tuberosum*	4	4
7	Cherokee	*S. tuberosum*	4	4	19	CS7232-4	*S. tuberosum*	4	4
8	Raritan	*S. tuberosum*	4	4	20	F58050	*S. tuberosum*	4	4
9	292-20	*S. tuberosum*	4	4	21	Lenape	*S. tuberosum*	4	4
10	F93102	*S. tuberosum*	4	4	22	F58059	*S. tuberosum*	4	4
11	F04024	*S. tuberosum*	4	4	23	AC1031	*S. tuberosum*	4	4
12	Norvally	*S. tuberosum*	4	4	24	ND860-2	*S. tuberosum*	4	4

注：EBN－胚乳平衡数。

Note: EBN- Endosperm balance number.

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

用于LT_{50}测定的亲本及对照来源于实验室保存试管苗，将生长4周左右的试管苗移栽到10 cm×10 cm的塑料钵中(栽培基质为1∶1的营养土和泥炭土)，每份材料种植12钵，每钵2株，置于16 h光照/8 h黑暗、温度为20 ℃/18 ℃、湿度85%、光强为400 μmol/m^2·s的植物培养箱内(Conviron，ATC26，加拿大)生长3~4周后用于LT_{50}测定。

1.2.2　马铃薯普通栽培种杂交后代抗寒性鉴定

当杂交后代的植株长至10 cm左右时，依据涂卫等[9]建立的马铃薯苗期抗寒能力直接评价体系，以抗寒基因型‘ACL-27’、敏感基因型‘10908-06’为对照，对普通栽培种及其杂交后代的抗寒性进行鉴定。鉴定时采用-3 ℃条件下黑暗处理24 h，20 ℃下恢复生长24 h后统计成活株数。

杂交组合的后代存活率是指该组合低温处理后存活株数与低温处理前总株数的百分比；父(母)本后代的存活率是指由该父(母)本所形成的所有杂交组合后代低温处理后的存活株数与所参与组合总株数的百分比。以存活率大于5%作为筛选抗寒组合或抗寒亲本的标准，分别对母本、父本和组合的抗寒性进行分类。为便于描述，将普通栽培种杂交组合的母本抗性、父本抗性及组合抗性分别记为“母抗”、“父抗”及“组合抗”，反之，记为“母感”、“父感”及“组合感”，表格中用“R”和“S”代表“抗”和“感”；“母抗、父抗”组合记为“RR”，“母抗、父感”、“母感、父抗”分别记为“RS、SR”，“母感、父感”组合记为“SS”。

1.2.3　马铃薯普通栽培种杂交亲本非驯化LT_{50}测定

采用涂卫等[9]的测定方法对抗感对照和12份抗寒亲本以及随机选取的10份敏感的杂交亲本进行非驯化LT_{50}测定和数据分析。

2　结果与分析

2.1　马铃薯普通栽培种杂交组合的苗期抗寒性鉴定

依据马铃薯苗期抗寒能力直接评价体系，对由62个母本和37个父本组成的137个栽培种杂交组合的16 068个后代进行了苗期抗寒能力直接鉴定，结果显示，组合后代、母本和父本的存活率在0~5%范围内的个数占总数的80%左右(图1)，表明大部分杂交组合不耐-3 ℃的低温，-3 ℃低温下所有组合的平均存活率为2.81%(451/16 068)。

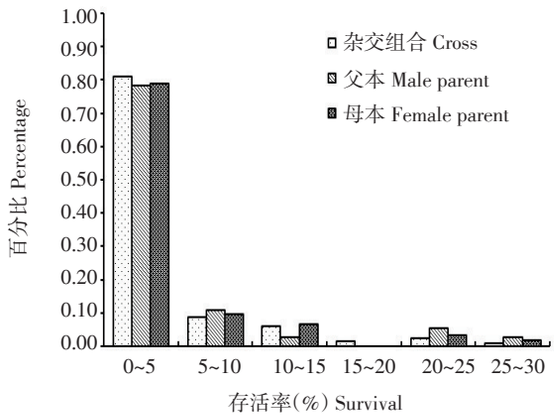

图1　不同存活率的抗寒组合、母本及父本的分布

Figure 1　Distribution of survival rates for crosses, female and male parents

虽然大部分杂交组合不耐-3 ℃低温，但仍有少部分组合后代存活率较高，其中‘2010EM003’的后代存活率最高，达28.26%，另外‘2010FF007’、‘2010EM006’和‘2010FM029’的后代存活率在20%以上，以后代存活率大于5%为标准，共筛选出26个抗寒组合(表2)。

2.2　马铃薯杂交亲本抗寒性

以不同亲本为统计对象，母本‘郑薯5号’、‘Yukon Gold’和‘Simcoe’以及父本‘N552’和‘Raritan’参与组合的后代存活率均达到20%以上，且‘郑薯5号’、‘Yukon Gold’等13个母本和‘N552’、‘Raritan’等7个父本所参与杂交组合的后代存活率大于5%(表3)。

依据上述筛选标准及亲本与后代的抗寒结果，可将137个组合分为3类(图2)：第1类是父本和母本均定义为“抗”的组合(RR)有11个，该类型的组合都表现为“组合抗”，远远高于总体平均数19.0%(26/137)；第2类是父本或母本中只有一个定义为“抗”的组合(RS/SR)，有22个，其中有7个“组合抗”，占该类型31.8%，也高于总体平均数；第3类是父本和母本均定义为“感”的组合(SS)，共有104个，该组合类型中有8个表现为“组合抗”，占该类型7.7%，远远低于总体平均水平。从各组合类型后代单株的总体存活率来看，这三类的平均存活率分别为RR14.35%(161/1 122)、RS/SR3.83%(105/2 738)和SS1.52%(185/12 208)(该类型组合所存活单株数与该组合所有株数比值)。基

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

于上述结果，在抗寒杂交育种时，应首选抗寒双亲，这样获得抗寒后代的概率较大。

2.3　杂交亲本存活率与非驯化LT_{50}的相关性分析

根据马铃薯普通栽培种杂交后代冷冻后的存活率及亲本存活率的结果，选取12个具有较高存活率的亲本与10个较低存活率的亲本，测定其非驯化LT_{50}，结果表明供试的22份亲本材料的非驯化LT_{50}值的范围为-1.72~-3.16 ℃，其中12份抗寒亲本的非驯化LT_{50}值为-1.78~-3.16 ℃，平均值为-2.57 ℃，其中在-2.50~-3.50 ℃的有7个材料，占供试总数的58.33%；对应的10个敏感型亲本的LT_{50}值在-1.72~-2.41 ℃之间，平均值为-2.12 ℃，没有材料的LT_{50}在-2.50~-3.50 ℃区间(图3)。利用这22个杂交亲本的存活率与其对应的非驯化LT_{50}值进行相关分析，结果表明这些亲本材料的存活率与LT_{50}呈极显著直线相关($Y = -0.328\ 8 - 0.179\ 5X$，$R^2 = 0.639\ 5$，$P < 0.01$)，说明$LT_{50}$低的亲本，其后代出现抗寒株系的概率也高，表明马铃薯普通栽培种杂交后代冷冻后的存活率在一定程度上可以有效反映马铃薯亲本抗寒能力(图4)，由此在抗寒杂交育种时，宜选择2个LT_{50}相对较低的亲本，更容易选出抗寒材料。

表2　抗寒的杂交组合

Table 2　Freezing-tolerant hybrid crosses

组合编号 Cross No.	母本 Female	父本 Male	存活率(%) Survival	母本抗寒性 Female freezing resistance	父本抗寒性 Male freezing resistance	组合抗性 Cross freezing resistance
2010EM003	Simcoe	N552	28.26	R	R	R
2010FF007	AC1031	Raritan	22.43	R	R	R
2010EM006	郑薯5号	N552	21.88	R	R	R
2010FM029	Yukon Gold	F02041	20.93	R	S	R
2010FM042	396026	393160-4	19.70	R	R	R
2010FM058	395195.7	393160-4	16.56	R	R	R
2010CH024	D7841-02	06HE08-3	15.00	S	S	R
2010CH058	Superior	CS7232-4	15.00	S	S	R
2010FM037	395011.2	59-5-86	14.71	S	S	R
2010EM005	川芋早	292-20	14.63	R	R	R
2010CH015	Cherokee	F58050	14.58	R	S	R
2010FF017	GT12867-02	F58050	12.73	S	S	R
2010FM051	396038.11	51-5	10.84	S	S	R
2010FF016	F93102	F89050	10.14	R	R	R
2010FM040	395195.7	59-5-86	9.81	R	S	R
2010FM056	396236.2	393160-4	9.68	S	R	R
2010FF003	AC0914	Earlaime	8.97	R	R	R
2010FM038	395195.7	51-5	8.91	R	S	R
2010FM010	AC0914	Akoka	8.85	R	R	R
2010FF004	AC0914	F58050	8.33	R	S	R
2010CH011	AC Belmont	Monola	7.84	S	S	R
2010CH009	AC Belmont	F58089	6.85	S	S	R
2010FM001	06HE08-1	Akoka	6.45	R	R	R
2010CH030	F03011	ND860-2	6.37	R	S	R
08HE065	382204.39-4	393160-4	6.25	R	R	R
2010CH059	Superior	D7841-02	6.19	S	S	R

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表3　杂交亲本

Table 3　Cross parents

序号 No.	亲本 Parent	存活率(%) Survival	非驯化 LT_{50}(℃) Non-acclimated LT_{50}
母本			
1	郑薯5号	21.88	−3.16±0.13
2	Yukon Gold	20.93	−2.93±0.13
3	Simcoe	20.29	−2.91±0.18
4	川芋早	14.63	−2.86±0.28
5	396026	12.04	−2.24±0.07
6	F93102	10.14	−2.50±0.08
7	395195.7	10.08	−
8	AC0914	7.69	−
9	AC1031	6.74	−1.78±0.03
10	06HE08-1	6.45	−
11	382204.39-4	6.25	−
12	Cherokee	5.69	−2.30±0.01
13	F03011	5.25	−
14	鄂薯5号	3.61	−2.48±0.08
15	Norvally	1.00	−2.53±0.11
16	冀张薯8号	0.38	−2.28±011
17	F58059	0.00	−1.88±0.12
18	F04024	0.00	−2.25±0.36
父本			
1	N552	25.64	−2.76±0.09
2	Raritan	22.43	−2.63±0.08
3	292-20	14.63	−2.61±0.28
4	F89050	9.13	−
5	Earlaime	8.97	−
6	393160-4	5.74	−
7	Akoka	5.29	−2.22±0.04
8	CS7232-4	4.39	−2.00±0.08
9	F58050	2.64	−1.96±0.11
10	Lenape	2.34	−2.03±0.04
11	ND860-2	0.00	−1.72±0.09
12	Stroma	0.00	−1.92±0.19

注：表中非驯化LT_{50}结果为平均值±标准差，n=3；−表示缺失数据。

Note: Non-acclimated LT_{50} data in table are mean ± standard deviation. n = 3; − indicates missing data.

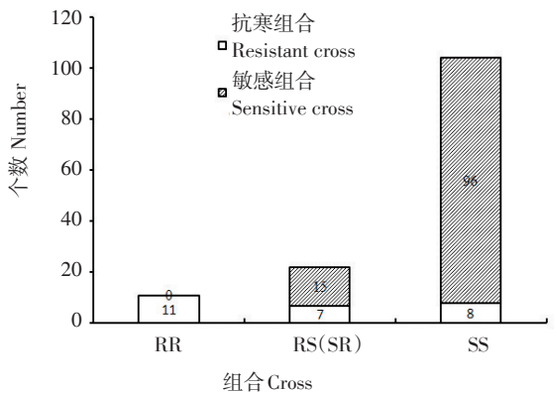

图2　不同类型杂交组合的分布

Figure 2　Distribution of different types of crosses

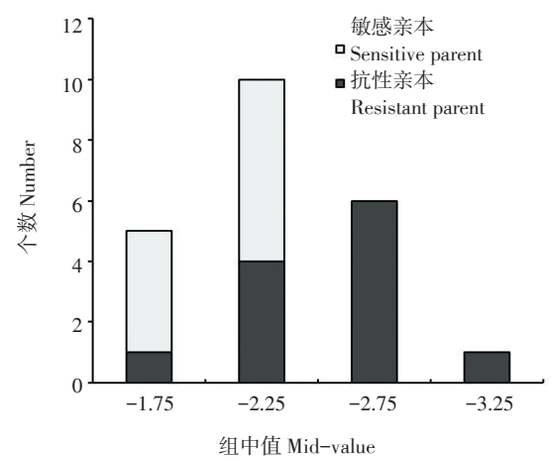

图3　22份亲本材料非驯化LT_{50}分布

Figure 3　Distribution of non-acclimated LT_{50} of twenty-two materials

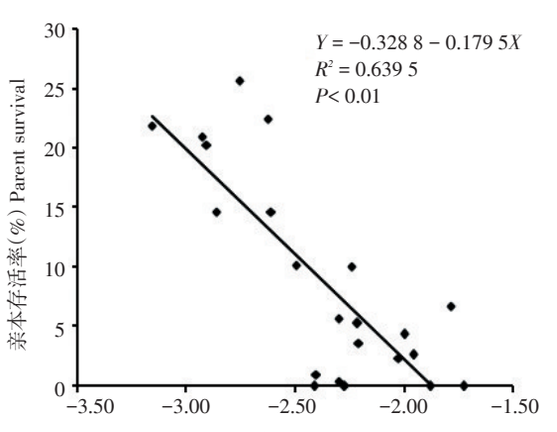

图4　22份杂交亲本非驯化LT_{50}值与存活率结果相关性分析

Figure 4　Correlation analysis between survival rates and non-acclimated LT_{50} for 22 experimental materials

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

3　讨　论

马铃薯抗寒性的遗传和冷驯化能力的遗传较为复杂，普通栽培种的抗寒性几乎不存在遗传变异，仅能忍受适当的冷冻(-3 ℃)，且几乎没有冷驯化能力，然而部分野生种则表现出一系列不同的耐冻水平和冷驯化能力[5,10]。目前在马铃薯抗寒研究中，主要集中在野生种*S. commersonü*上，Stone等[7]通过应用加显性模型对*S. commersonü*种进行分析，结果表明非驯化抗寒性和冷驯化能力这两个性状独立遗传，且受部分隐性基因控制；Chen等[11]对*S. commersonü*和*S. tuberosum*回交群体的进一步研究表明，该野生种中低温的适应性由寡基因控制。进而，Vega等[12]利用RAPD和SSR分子标记技术，以*S. commersonü*和霜冻敏感的*S. cardiophyllum*回交群体为材料，建立了一个全长479.4 cM、包含77个RAPD标记和2个SSR标记的连锁遗传图谱，在第5条染色体上分别定位到了与非驯化抗寒性相关的2个QTLs和与驯化能力相关的2个QTLs，且2个性状是独立遗传控制的。Valverde和Chen[13]利用3个独立群体(F_1，$F_1\times S. commersonü$，$F_1\times S. cardiophytlum$)，对非驯化抗性和驯化抗性的遗传性进行了研究，结果表明加性-显性模型能很好地解释F_1代的非驯化抗性和驯化抗性的变异，且其都具有较高的遗传力(其广义遗传力分别为0.73和0.74)，这为利用*S. commersonü*的非驯化抗性和低温驯化能力改良栽培种的抗寒性提供了较好的理论基础。Chen等[8]从具有不同抗寒性的20个马铃薯不同品种中，选取具有代表性的亲本，获得了34个杂交组合后代，抗寒性鉴定结果表明，部分杂交组合的F_1代抗寒性出现了一定程度的遗传变异，后代的抗寒性与其来自抗寒亲本的遗传物质比例有关，来自耐冻亲本遗传成分越多，后代个体越抗寒。

本研究中对137个马铃薯栽培种杂交组合后代的抗寒性进行了鉴定，结果表明虽然在-3.5 ℃处理时，所有组合后代均表现为不抗寒(数据未显示)，但在-3.0 ℃处理时，后代抗寒性还是出现了一定的分离，其中80%的杂交组合的后代存活率低于5%，但也出现后代存活率较高的组合(图1)。而通过后代存活率的表现来看，亲本均定义为“抗”的组合RR，其后代组合抗性全表现为“抗”；亲本中有一个定义为“抗”的组合，其杂交后代组合抗性出现的比例为31.8%，高于总体平均数(图2)。而进一步对部分亲本的LT_{50}测定结果表明，亲本后代出现抗寒株系的比例与其LT_{50}呈明显负相关(图4)，这些说明在抗寒杂交育种时应选择抗寒性相对较好的材料作为亲本。另外，在亲本都定义为“感”的组合中，其杂交后代中也出现了极少数的抗寒株系，出现这个情况原因可能是本研究中马铃薯杂交亲本为同源四倍体，其遗传为四体遗传，推测在马铃薯栽培种中抗寒可能是由多基因相互作用来控制的复杂性状。

[参 考 文 献]

[1] Food and Agriculture Organization. FAOstat [EB/OL]. (2012-11-01) [2013-11-10]. http://fao.org.com.

[2] 李飞. 野生马铃薯植株苗期耐冻性鉴定及耐冻机理研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.

[3] 魏亮. 中国主要马铃薯品种抗寒性鉴定及抗寒相关基因的表达分析 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2012.

[4] Mastenbroek C. Some experiences in breeding frost-tolerant potatoes [J]. Euphytica, 1956, 5(3): 289-297.

[5] Li P H. Frost killing temperatures of 60 tuber-bearing *Solanum* species [J]. American Potato Journal, 1977, 54(9): 452-456.

[6] Vega S E, Bamberg J B. Screening the US potato collection for frost hardiness [J]. American Potato Journal, 1995, 72(1): 13-21.

[7] Stone J M, Palta J P, Bamberg J B, *et al*. Inheritance of freezing resistance in tuber-bearing *Solanum* species: evidence for independent genetic control of nonacclimated freezing tolerance and cold acclimation capacity [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90(16): 7869-7873.

[8] Chen Y K H, Bamberg J B, Palta J P. Expression of freezing tolerance in the interspecific F_1 and somatic hybrids of potatoes [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1999, 98(6-7): 995-1004.

[9] 涂卫, 赵喜娟, 寇爽, 等. 马铃薯苗期抗寒能力直接评价体系的建立与应用 [J]. 中国马铃薯, 2015(1): 1-8.

[10] Chen H H, Li P H. Characteristics of cold acclimation and deacclimation in tuber-bearing *Solanum* species [J]. Plant Physiol, 1980, 65(6): 1146-1148.

[11] Chen Y K H, Palta J P, Bamberg J B. Freezing tolerance and tuber production in selfed and backcross progenies derived from somatic hybrids between *Solanum tuberosum* L. and *S. commersonii Dun* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1999, 99(1-2): 100-107.

[12] Vega S E, Alfonso H, Jung G, *et al*. Marker-assisted genetic analysis of non-acclimated freezing tolerance and cold acclimation capacity in a backcross *Solanum* population [J]. American Potato Journal, 2003, 80(6): 359-369.

[13] Valverde R, Chen T H H. Genetic analysis of frost hardiness traits in tuber-bearing *Solanum* species [J]. Journal of Plant Biology, 1999, 42(2): 174-180.

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net