

# 马铃薯苗期抗寒能力直接评价体系的建立与应用

涂 卫, 赵喜娟, 寇 爽, 康 黎, 陈 琳, 宋波涛\*

(华中农业大学园艺林学院/华中农业大学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 武汉 430070)

**摘要:** 通过不同温度处理马铃薯苗期植株, 以评价叶片损伤程度为标准, 建立马铃薯苗期抗寒能力的直接评价体系, 并利用该评价体系和电解质渗漏法, 对40份马铃薯材料进行抗寒能力测定和相关分析。结果显示, 两种方法间具有极显著的直线相关关系( $Y = 8.65 + 1.75X$ ,  $r = 0.86$ ,  $P < 0.01$ ), 说明苗期抗寒能力直接评价体系可准确高效地评价马铃薯抗寒能力; 同时也筛选获得了21份具有较好抗寒能力的马铃薯材料, 为后期马铃薯抗寒相关研究和抗寒育种提供了材料保障。

**关键词:** 马铃薯; 抗寒能力; 鉴定体系

## Establishment and Application of Direct Cold-resistance Evaluation System for Potato Seedlings

TU Wei, ZHAO Xijuan, KOU Shuang, KANG Li, CHEN Lin, SONG Botao\*

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

**Abstract:** Direct cold-resistance evaluation system for potato seedlings was established on the experiment of the potato seedlings treated with graded temperature in this research, in which the injury content of the leaves was used as standard. Meanwhile, the electrolyte leakage was used to validate this method. The results of correlation analysis of the direct cold-resistance evaluation system and electrolyte leakage, based on 40 potato varieties, showed that the system was effective and precise ( $Y=8.65 + 1.75X$ ,  $r = 0.86$ ,  $P < 0.01$ ). Meanwhile, 21 varieties were confirmed with cold resistance and would be used in the further breeding for cold resistance.

**Key Words:** potato; cold resistance; evaluation system

低温胁迫是限制马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)地理分布和产量扩大的重要影响因素之一<sup>[1]</sup>, 霜冻伤害会导致马铃薯严重减产甚至绝收, 给马铃薯生产造成重大经济损失。如秘鲁及玻利维亚等高原地区的马铃薯生产, 平均每三年就有约25%种植面积的马铃薯遭受-2℃的低温霜冻危害<sup>[2]</sup>。中国马铃薯的四个主要种植区几乎都会受到霜冻危害, 在苗期易遭受倒春寒, 成熟期则会遭受寒潮

或早霜等。随着中国农业产业结构调整和保障粮食安全的需要, 南方冬闲田区马铃薯种植面积将进一步增加, 但由于马铃薯普通栽培品种并不耐霜冻, 严重影响了马铃薯在该区域的种植, 阻碍着马铃薯产业的健康发展。

目前, 马铃薯抗寒能力的鉴定方法主要有电解质渗漏法<sup>[1,3]</sup>、田间自然霜冻法<sup>[4]</sup>、叶绿素荧光分析法<sup>[5,6]</sup>、形态学鉴定法<sup>[7,8]</sup>等, 这些方法主要利用待测植株在

收稿日期: 2015-01-06

基金项目: 国家马铃薯现代农业产业技术体系(CARS-10-P06); 公益性行业专项(201303007); 黔农科院自主创新科研专项字(2014) 015号。

作者简介: 涂卫(1988-), 男, 硕士研究生, 从事马铃薯遗传育种研究。

\*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。

低温条件下的外部形态、特定的生理生化方面等变化综合分析评价马铃薯的抗寒能力, 其具有外部环境不易控制、测量成本较高、并不是抗寒能力直接评价指标等问题, 导致较难大规模用于评价和筛选抗寒材料。本研究以不同温度处理下马铃薯叶片的受损伤程度为标准, 建立了马铃薯苗期抗寒能力直接评价方法, 并进行了验证, 为马铃薯抗寒材料的大规模筛选和抗寒能力的鉴定提供标准, 从而为马铃薯抗寒育种提供种质基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为来自12个野生种的28份野生材料和9份栽培种材料以及1个杂交组合的3个子代, 共40份材料(表1)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 材料种植

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°C/18°C、湿度85%、光强为400 μmol/m<sup>2</sup>·s的植物培养箱内(Conviron, ATC26, 加拿大)生长3~4周后用于苗期抗寒能力鉴定。相同条件下种植另外16钵用于抗寒性LT<sub>50</sub>测定。

#### 1.2.2 马铃薯苗期抗寒性直接鉴定方法

以实验室前期筛选的抗寒基因型‘ACL-27’、敏感基因型‘10908-06’和中等抗性基因型‘PUR206-1’为试验材料, 对移栽后的试管苗长至3~5片展开叶时(3~4周)进行人工低温处理。设置-1, -2, -3, -3.5和-4°C 5个温度对3个基因型的材料进行处理, 试验设3次生物学重复, 每个重复包括4钵, 其中3钵低温处理, 1钵为非处理作对照。鉴于部分抗寒性材料低温处理后, 虽表现出一定的冻伤症状, 但常温放置一段时间后, 植株仍能恢复正常生长的现象, 为避免低温处理后立即评级带来的试验误差, 本试验采用低温处理后, 将材料置于20°C下

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	ACL-27	<i>S. acaule</i>	4	2	21	HJT349-3	<i>S. hjerthingii</i>	4	2
2	ACI513-5	<i>S. acaule</i>	4	2	22	MGA699-1	<i>S. megistacrolobum</i>	2	2
3	AEM669-4	<i>S. acaule</i> ssp. <i>aemulans</i>	4	2	23	TOR704-5	<i>S. megistacrolobum</i> ssp. <i>toralapanum</i>	2	2
4	ACA1-2	<i>S. acaule</i> f. <i>acaule</i>	4	2	24	TOR705-2	<i>S. megistacrolobum</i> ssp. <i>toralapanum</i>	2	2
5	ACA1-3	<i>S. acaule</i> f. <i>acaule</i>	4	2	25	PUT14-1	<i>S. paucissectum</i>	2	2
6	ALB462-2	<i>S. albicans</i>	6	4	26	PUT14-2	<i>S. paucissectum</i>	2	2
7	ALB464-3	<i>S. albicans</i>	6	4	27	PUT15-1	<i>S. paucissectum</i>	2	2
8	CW2-1	<i>S. berthaultii</i>	2	1	28	IVP-196-2	<i>S. phureja</i>	2	2/1
9	BUK512-3	<i>S. bukasovii</i>	2	2	29	PUR206-1	<i>S. piurana</i>	2	2
10	BUM8-1	<i>S. bukasovii</i> f. <i>multidissectum</i>	2	2	30	7782-17	<i>S. piurana</i> × <i>S. chomatophilum</i>		
11	CHC9701	<i>S. chacoense</i>	2	1	31	7782-24	<i>S. piurana</i> × <i>S. chomatophilum</i>		
12	CHM559-1	<i>S. chomatophilum</i>	2	2	32	7782-27	<i>S. piurana</i> × <i>S. chomatophilum</i>		
13	MLM266-2	<i>S. commersonii</i> ssp. <i>malmeanum</i>	2	1	33	10908-06	<i>S. tuberosum</i>	2	1
14	DMS-11	<i>S. demissum</i>	6	4	34	RH89-039-16	<i>S. tuberosum</i>	2	1
15	DMS264-1	<i>S. demissum</i>	6	4	35	南中552	<i>S. tuberosum</i>	4	2
16	DMS264-5	<i>S. demissum</i>	6	4	36	郑薯5号	<i>S. tuberosum</i>	4	2
17	DMS-27	<i>S. demissum</i>	6	4	37	鄂薯5号	<i>S. tuberosum</i>	4	2
18	DMS343-1	<i>S. demissum</i>	6	4	38	冀张薯8号	<i>S. tuberosum</i>	4	2
19	DMS364-2	<i>S. demissum</i>	6	4	39	华恩1号	<i>S. tuberosum</i>	4	2
20	DMS364-6	<i>S. demissum</i>	6	4	40	川芋早	<i>S. tuberosum</i>	4	2

注: EBN – 胚乳平衡数。

Note: EBN– Endosperm Balance Number.

恢复生长24 h, 根据恢复后的植株状态进行低温冻害损伤评级, 评级标准参照Vega和Bamberg<sup>[4]</sup>的赋值标准, 以下面的冻伤级别评价植株的冻伤程度。0: 没有损伤; 1: 顶部叶片轻微伤害; 2: 少数顶部叶片冻死; 3: 大多数顶部叶片冻死; 4: 所有顶部叶片和叶柄冻死; 5: 所有叶片冻死; 6: 所有叶片及茎秆冻死。计算各试验材料受损程度的伤害指数(DI)。 $DI = (X_0 + X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5 + X_6)/\text{总株数}$ , 式中 $X_0$ ~ $X_6$ 分别代表各损伤等级。

### 1.2.3 马铃薯非驯化抗寒 $LT_{50}$ 测定

试验采用Steffen等<sup>[3]</sup>的测定方法并略作修改, 对试验材料的离体叶片进行低温处理, 具体处理过程如下: 取顶端充分展开叶片用蒸馏水多次冲洗并吸干叶片表面水分, 将叶片放置在带盖的玻璃试管(直径25 mm×150 mm)底部, 叶面朝下, 每管放1片叶, 每个温度点设置3次重复。将试管放入低温水浴锅(Huber, CC-K20, 德国, 液体媒介为体积比1:1的乙二醇和蒸馏水混合物)中。水浴锅的初始温度设为0℃, 保持30 min, 取出3管作为对照; 降到-0.5℃, 再保持30 min; 降温速率为-0.5℃/30 min。温度从-0.5℃降到-1℃并保持30 min时, 在每管中加入一小块冰, 再保持30 min后取样; 温度从-1℃降到-1.5℃并持续1 h, 然后降到-2℃并保持30 min后取样。温度从-2℃降到-3℃, 保持30 min后取样, 每次取3管; 依次类推, 降温直到目标温度, 并分别取样。在每个温度点到达后及时将样品试管取出后放在冰上, 于4℃的低温室中解冻过夜后加入25 mL去离子水, 以220 r/min的转速在室温下震荡1 h。静置后用电导仪(梅特勒, FE30-K, 瑞士)分别测定对照的电导率 $R_0$ 和样品的电导率 $R_1$ ; 沸水浴30 min后测定样品的总电导率 $R_2$ , 每个温度点对应的3次电解

质渗漏率( $R_1-R_0/R_2-R_0$ )的平均值通过Logistic方程拟合, 电解质渗漏率达50%所对应温度为该材料的半致死温度<sup>[9]</sup>。

### 1.3 数据处理

抗寒 $LT_{50}$ 数值模拟采用GraphPad Prism Version 3.02软件, 聚类分析采用统计软件SPSS (IBM SPSS Statistics Version 19.0), 数据处理和作图采用Excel 2010。

## 2 结果与分析

### 2.1 马铃薯苗期抗寒性直接评价体系的建立

以‘ACL-27’、‘10908-06’及‘PUR206-1’为试验材料, 分别在-1, -2, -3, -3.5和-4℃5个温度下进行24 h黑暗处理后于20℃放置1 d(16 h光照/8 h黑暗), 统计植株整体损伤程度。试验结果(表2)表明, -1和-2℃处理后, 3个材料均没有冻伤症状; -3℃处理后, 低温敏感材料‘10908-06’出现一定程度冻伤, ‘ACL-27’和‘PUR206-1’则没有明显的冻伤症状; -3.5℃处理后, ‘ACL-27’轻微冻伤, 表现为抗寒, 而‘PUR206-1’的伤害指数为3.32, 表现出明显伤害, ‘10908-06’则全株均死; -4℃处理后, ‘10908-06’和‘PUR206-1’全株死亡, ‘ACL-27’也表现一定程度的伤害, 冷冻损伤评级为2.17。本试验中冷冻损伤评级结果小于2.00的材料常温恢复后能正常生长, 损伤评级结果在4.00以上的材料恢复常温后枯死或不能正常生长。故在高于-3℃处理时, 选择压较小, 无法区分出材料间的抗寒能力, 而低于-4℃则选择压过大, 也达不到筛选抗寒材料的效果(图1)。基于前人报道马铃薯栽培种抗寒性整体较差的原因, 建议在野生种抗寒资源筛选时选择了-3.5℃处理, 而栽培种及其杂交后代的抗性鉴定时采用-3℃处理较为合适。

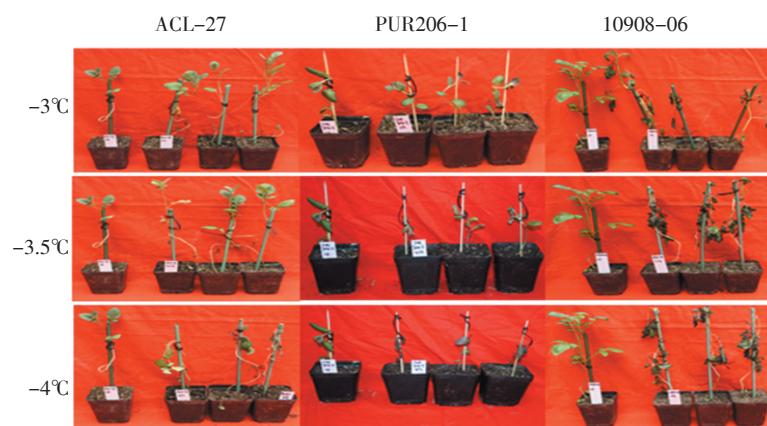
表2 不同抗性材料的霜冻损伤评级

Table 2 Freezing scores of different materials

材料 Material	-1℃处理24 h -1℃ for 24 h	-2℃处理24 h -2℃ for 24 h	-3℃处理24 h -3℃ for 24 h	-3.5℃处理24 h -3.5℃ for 24 h	-4℃处理24 h -4℃ for 24 h
ACL-27	0.00±0.00	0.00±0.00	0.18±0.29	0.83±0.54	2.17±0.94
PUR206-1	0.00±0.00	0.00±0.00	1.17±0.75	3.32±1.88	5.75±0.35
10908-06	0.00±0.00	0.00±0.00	4.72±1.30	5.81±0.36	6.00±0.00

注: 表中数据为平均数±标准差,  $n=3$ 。

Note: Data are the mean ± standard deviation.  $n=3$ .



每个图中最左边为未处理对照。 Leftmost one is the control in each picture.

图1 3个材料不同温度处理后20℃恢复24 h的表型

Figure 1 Different phenotypes of three lines recovered for 24 h under 20°C after different temperature treatments

## 2.2 马铃薯抗寒材料筛选

根据2.1建立的抗寒鉴定标准, 分别以‘ACL-27’和‘10908-06’为抗、感对照, 采用-3.5℃处理温度, 对40份试验材料进行苗期抗寒能力的直接鉴定。结果表明, 以冷冻损伤评级小于2.00为抗寒标准, 共筛选出21份抗寒材料, 占本次试验全部材料的52.5%, 其中包括 *S. acaule* 等8个野生种的18份材料和杂交组合

*S. piurana* × *S. chomatocephalum* 3份材料, 低温处理后这些抗寒材料的植株出现轻微冻伤或没有冻伤, 恢复常温后仍可正常生长; 冷冻损伤评级大于或等于2.00, 且小于4.00的有来源于 *S. megistacrolobum* ssp. *toralapanum* 和 *S. piurana* 的3份中抗材料, 占试验材料的7.5%, 低温处理后的植株虽未完全死亡, 但生长势明显减弱; 而来源于 *S. tuberosum* 等7个种的16份低温敏感材料霜冻损伤评级大于或等于4.00, 占全部实验材料的40.0%, 低温处理后, 其植株表型为几乎全部叶片及茎秆遭受重度冻伤甚至全株死亡, 恢复常温后, 茎秆失水严重甚至干枯。

## 2.3 不同基因型的非驯化LT<sub>50</sub>测定

以抗寒野生种‘ACL-27’与不抗寒栽培种‘10908-06’为对照, 利用电解质渗漏法测定了40份马铃薯材料的非驯化抗寒性, 结果表明, LT<sub>50</sub>分布范围为-1.74~ -5.60℃(表3)。同时对40份材料的LT<sub>50</sub>进行聚类分析, 利用组间联接的聚类方法, 在欧氏距离平方为5.0时, 可将40份马铃薯材料划分为4类(图2)。

第一类为7份高抗寒性材料, 分别是‘ACL-27’、‘ACL513-5’、‘ALB464-3’、‘CHM559-1’、‘AEM669-4’、‘ACA1-3’和‘ALB462-2’7个材料, 这7份材料未驯化的LT<sub>50</sub>值在-4.76~ -5.60℃之间。

第二类为5份抗寒性材料, 分别是‘PUT14-1’、‘MLM266-2’、‘ACA1-2’、‘7782-24’和‘7782-17’5个材料。这5份材料未驯化的LT<sub>50</sub>范围为-4.19~ -4.53℃。

第三类为16份中间抗寒型材料, 主要有‘郑薯5号’、‘DMS364-6’、‘川芋早’、‘10908-06’、‘DMS264-1’、‘TOR705-2’、‘TOR704-5’和‘PUR206-1’等, 这类材料的未驯化的LT<sub>50</sub>值在-2.82~ -3.83℃之间。

第四类为12份敏感型材料, 主要包括‘DMS-11’、‘DMS364-2’、‘南中552’、‘鄂薯5号’、‘冀张薯8号’、‘HJT349-3’、‘CHC9701’、‘RH89-039-16’、‘华恩1号’、‘IVP-196-2’、‘BUK512-3’和‘CW2-1’, 这12份材料的未驯化的LT<sub>50</sub>值在-1.74~ -2.51℃之间。

## 2.4 苗期抗寒能力鉴定结果与非驯化LT<sub>50</sub>的相关性分析

对本研究中苗期抗寒能力体系取得的鉴定结果与40份材料的LT<sub>50</sub>值进行相关性分析, 结果表明这些材料的苗期抗寒鉴定结果与LT<sub>50</sub>呈极显著直线相关( $Y = 8.65 + 1.75X$ ,  $r = 0.86$ ,  $P < 0.01$ ), 表明马铃薯苗期抗寒能力直接鉴定体系是一种有效评价马铃薯抗寒能力的方法(图3a); 但由于LT<sub>50</sub>小

表3 试验材料的霜冻损伤评级及非驯化LT<sub>50</sub>测定

Table 3 Freezing scores of materials and determination of non-acclimated freezing tolerance (NA)

材料 Material	种名 Species	人工冷冻损伤结果 Freezing score	非驯化LT <sub>50</sub> NA
ACL-27	<i>S. acaule</i>	0.83 ± 0.54	-5.60 ± 0.43
ACL513-5	<i>S. acaule</i>	0.61 ± 0.65	-5.37 ± 0.23
AEM669-4	<i>S. acaule</i> ssp. <i>aemulans</i>	1.03 ± 0.69	-4.98 ± 0.27
ACA1-2	<i>S. acaule</i> f. <i>acaule</i>	1.38 ± 0.76	-4.31 ± 0.07
ACA1-3	<i>S. acaule</i> f. <i>acaule</i>	0.44 ± 0.38	-4.87 ± 0.20
ALB462-2	<i>S. albicans</i>	0.11 ± 0.15	-4.76 ± 0.11
ALB464-3	<i>S. albicans</i>	0.22 ± 0.37	-5.23 ± 0.13
CW2-1	<i>S. berthaultii</i>	5.58 ± 0.66	-1.74 ± 0.03
BUK512-3	<i>S. bukasovii</i>	5.59 ± 0.80	-1.76 ± 0.05
BUM8-1	<i>S. bukasovii</i> f. <i>multidissectum</i>	1.05 ± 0.55	-3.25 ± 0.23
CHC9701	<i>S. chacoense</i>	5.36 ± 1.27	-2.21 ± 0.19
CHM559-1	<i>S. chromatophilum</i>	0.71 ± 0.71	-5.22 ± 0.43
MLM266-2	<i>S. commersonii</i> ssp. <i>malmeanum</i>	0.12 ± 0.14	-4.33 ± 0.06
DMS-11	<i>S. demissum</i>	5.30 ± 1.85	-2.51 ± 0.05
DMS264-1	<i>S. demissum</i>	1.65 ± 0.67	-3.28 ± 0.32
DMS264-5	<i>S. demissum</i>	0.49 ± 0.51	-3.81 ± 0.11
DMS-27	<i>S. demissum</i>	1.07 ± 1.33	-3.60 ± 0.43
DMS343-1	<i>S. demissum</i>	1.56 ± 0.80	-3.23 ± 0.06
DMS364-2	<i>S. demissum</i>	4.54 ± 1.47	-2.34 ± 0.05
DMS364-6	<i>S. demissum</i>	4.21 ± 2.17	-2.95 ± 0.07
HJT349-3	<i>S. hertingii</i>	6.00 ± 0.00	-2.23 ± 0.02
MGA699-1	<i>S. megistacrolobum</i>	0.45 ± 0.41	-3.83 ± 0.12
TOR704-5	<i>S. megistacrolobum</i> ssp. <i>toralapanum</i>	2.41 ± 1.32	-3.64 ± 0.12
TOR705-2	<i>S. megistacrolobum</i> ssp. <i>toralapanum</i>	2.70 ± 2.00	-3.18 ± 0.13
PUT14-1	<i>S. paucissectum</i>	0.10 ± 0.14	-4.53 ± 0.10
PUT14-2	<i>S. paucissectum</i>	0.00 ± 0.00	-3.66 ± 0.06
PUT15-1	<i>S. paucissectum</i>	0.00 ± 0.00	-3.44 ± 0.06
IVP-196-2	<i>S. phureja</i>	5.80 ± 0.35	-1.83 ± 0.04
PUR206-1	<i>S. piurana</i>	3.32 ± 1.88	-3.31 ± 0.12
7782-17	<i>S. piurana</i> × <i>S. chromatophilum</i>	0.82 ± 0.64	-4.19 ± 0.15
7782-24	<i>S. piurana</i> × <i>S. chromatophilum</i>	1.09 ± 0.55	-4.21 ± 0.13
7782-27	<i>S. piurana</i> × <i>S. chromatophilum</i>	1.00 ± 0.00	-3.51 ± 0.05
10908-06	<i>S. tuberosum</i>	5.81 ± 0.36	-2.82 ± 0.04
RH89-039-16	<i>S. tuberosum</i>	5.70 ± 0.63	-2.10 ± 0.29
南中552	<i>S. tuberosum</i>	5.37 ± 0.55	-2.33 ± 0.05
郑薯5号	<i>S. tuberosum</i>	4.14 ± 0.41	-3.19 ± 0.10
鄂薯5号	<i>S. tuberosum</i>	5.53 ± 0.33	-2.29 ± 0.03
冀张薯8号	<i>S. tuberosum</i>	5.23 ± 0.21	-2.29 ± 0.01
华恩1号	<i>S. tuberosum</i>	4.92 ± 1.03	-1.95 ± 0.03
川芋早	<i>S. tuberosum</i>	4.35 ± 0.85	-2.84 ± 0.05

注：表中数据为平均数±标准差，n=3。

Note: Data are the mean ± standard deviation. n=3.

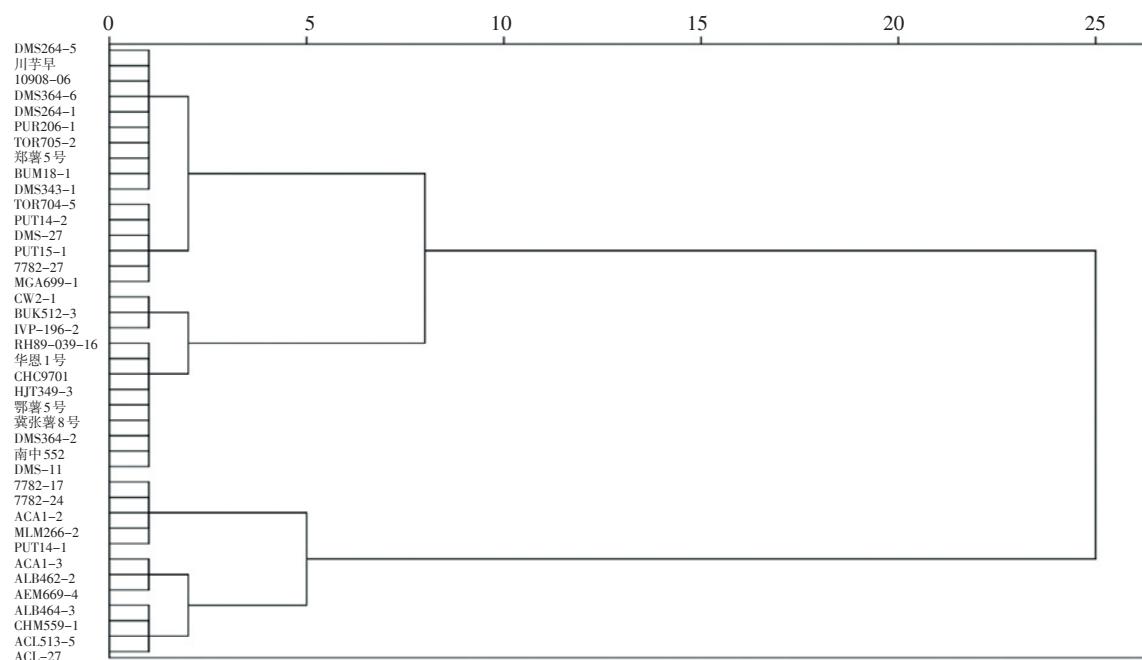
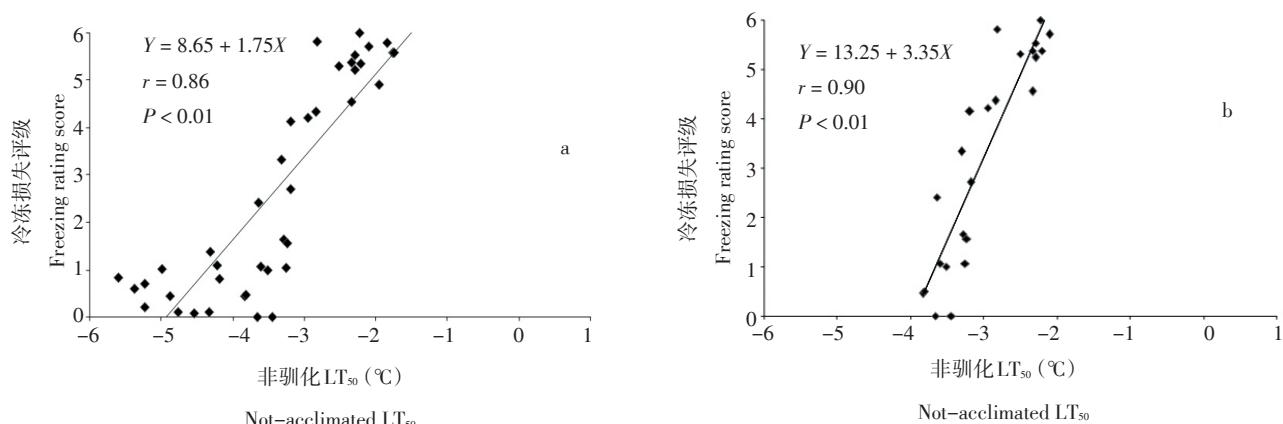
图2 40份试验材料冷驯化前的LT<sub>50</sub>聚类分析Figure 2 Cluster analysis for forty experimental materials' LT<sub>50</sub> before cold acclimation图3 40份(3a)和24份(3b)材料非驯化LT<sub>50</sub>值与人工冷冻损伤结果相关性

Figure 3 Correlation between freezing scores and non-acclimated

freezing tolerance for forty experimental materials (3a) and twenty-four experimental materials (3b)

于-4℃的材料, 苗期抗寒鉴定结果大多数处于0~1之间, 因此, 利用LT<sub>50</sub>大于-4℃而小于-2℃的24份材料苗期抗寒鉴定结果与LT<sub>50</sub>测定结果进行相关性分析, 得到的直线相关关系更为显著( $Y = 13.25 + 3.35X$ ,  $r = 0.90$ ,  $P < 0.01$ ) (图3b)。

### 3 讨论

目前, 对马铃薯材料抗寒能力鉴定的常用方

法主要有电解质渗漏法<sup>[1,3]</sup>和田间自然霜冻鉴定法<sup>[4]</sup>, 电解质渗漏法能对马铃薯材料的抗寒性进行量化, 可以有效的测定马铃薯材料驯化前后的抗寒能力及是否具有驯化能力, 所测得的结果较为准确, 但对仪器设备及其精度都要求较高, 且工作时间和周期较长, 难以在短时间内完成大量材料的抗寒能力鉴定。田间自然霜冻法虽然方便、简单, 且适合大量材料的抗寒性筛选, 但具有严格

的季节限制,且田间处理的温度和时间均无法人为控制,温度过高或过低对马铃薯材料的抗寒性评价都会造成较大出入,很难达到理想的效果。

本研究通过可控温度和时间条件下,对马铃薯苗期植株进行低温处理,建立了马铃薯苗期抗寒能力的直接评价体系,并将该方法与电解质渗透法测定结果进行了比较,两种方法的结果呈现极显著相关,说明该方法具有较高可信度,能用于评价马铃薯材料在低温霜冻环境下的存活情况。同时,由于该体系需要的植株数较少,且结果直观,可用于大量材料的抗寒性筛选,是一种高通量的鉴定马铃薯抗寒能力的理想方法,但由于直接苗期鉴定法只在一个温度点对植株进行处理,使得当马铃薯材料的LT<sub>50</sub>值小于-4℃时,该方法的鉴定结果主要处于0~1之间,无法有效的反映这个区间段内材料的实际抗寒能力。因此,当需要对大量材料进行初步鉴定时,苗期抗寒性直接鉴定法较为合适,而对一些抗寒性较强的材料的具体抗寒程度评价时,LT<sub>50</sub>测定将是更好的选择。此外,马铃薯的抗寒性分为驯化抗寒性和非驯化抗寒性<sup>[10]</sup>,本研究中抗寒能力的直接评价体系是在非驯化条件下探索出来的,没有对试验材料的驯化抗寒性与其驯化LT<sub>50</sub>进行相关分析,因此,该方法在驯化抗寒性鉴定方面还有待进一步完善。

马铃薯普通栽培种(*S. tuberosum*)几乎不存在抗寒性,仅能忍受适当的冷冻(LT<sub>50</sub>=-3℃),然而几个野生种则表现出一系列不同的耐冻水平<sup>[11-13]</sup>。

本研究通过电解质渗透法和直接评价体系对40份马铃薯材料进行了抗寒能力测定,结果显示,*S. acaule*、*S. albicans*、*S. commersonii* ssp. *malmeanum*等5个种具有较强的抗寒性;*S. piurana*、*S. demissum*、*S. megistacrolobum*等8个种均表现为中等抗寒;*S. tuberosum*、*S. phureja*、*S. hirtetingii*等7个种表现为几乎不抗寒,这与前人的研究结果一致<sup>[4,11-13]</sup>,而且进一步LT<sub>50</sub>测定,获得了这些材料的具体抗寒能力,从中筛选得到了一批具有较强抗寒能力的马铃薯材料,为后期的抗寒育种提供了材料基础。

#### 【参考文献】

- [1] Chen Y K, Bamberg J B, Palta J P. Expression of freezing tolerance in the interspecific F1 and somatic hybrids of potatoes [J]. Theoretical and applied genetics, 1999, 98(6-7): 995-1004.
- [2] Hijmans R J. Estimating frost risk in potato production on the Altiplano using interpolated climate data: CIP Program Report [R]. Lima: International Potato Center, 1999: 373-380.
- [3] Steffen K L, Arora R, Palta J P. Relative sensitivity of photosynthesis and respiration to freeze-thaw stress in herbaceous species importance of realistic freeze-thaw protocols [J]. Plant Physiol, 1989, 89:1372-1379.
- [4] Vega S E, Bamberg J B. Screening the US potato collection for frost hardiness [J]. American Potato Journal, 1995, 72: 13-21.
- [5] Greaves J A, Wilson J M. Assessment of the frost sensitivity of wild and cultivated potato species by chlorophyll fluorescence analysis [J]. Potato Research, 1987, 30(3): 381-395.
- [6] Sundbom E, Strand M, Hallgren J E. Temperature-induced fluorescence changes: a screening method for frost tolerance of potato (*Solanum* sp.) [J]. Plant Physiol, 1982, 70: 1299-1302.
- [7] Palta J P, Li P H. Frost hardiness in relation to leaf anatomy and natural distribution of several *Solanum* species [J]. Crop Sci, 1979, 19: 665-671.
- [8] Tiwari S P, Sukamuran N P, Khushu C L. Path-coefficient analysis of leaf-anatomical characters affecting frost injury in potato [J]. Plant Breeding, 1986, 97(3): 272-274.
- [9] Rohde P, Hincha D K, Heyer A G. Heterosis in the freezing tolerance of crosses between two *Arabidopsis thaliana* accessions (Columbia-0 and C24) that show differences in non-acclimated and acclimated freezing tolerance [J]. The Plant Journal, 2004, 38 (5):790-799.
- [10] 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: 7869-7873.
- [11] Ross R W, Rowe P R. Frost resistance among the *Solanum* species in the IR-1 potato collection [J]. American Potato Journal, 1965, 42(7): 177-185.
- [12] Li P H. Frost killing temperatures of 60 tuber-bearing *Solanum* species [J]. American Potato Journal, 1977, 54(9): 452-456.
- [13] 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.