

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2008)05-0261-05

冻害对马铃薯块茎生活力的影响及其快速检测

林 熊, 王吉生, 朱明全, 邹 雪, 王西瑶*

(四川农业大学农学院马铃薯研究开发中心, 四川 雅安 625014)

摘 要: 为探讨冻害对马铃薯块茎生活力的影响及其快速检测方法, 试验设置了 5℃、0℃、-5℃、-10℃ 四个温度梯度, 在每个温度下设置 1 d、2 d、4 d、8 d 四个时间梯度, 对坝薯 9 号和坝薯 10 号两个品种马铃薯块茎进行处理, 用红墨水法和氯化三苯基四氮唑 (TTC) 法检测处理后块茎的生活力, 并对处理后的块茎作发芽试验。结果表明, 马铃薯块茎生活力用红墨水法和 TTC 法检测都是可行的, TTC 法比红墨水法更灵敏。0℃ 下放置 4 d 及 -5℃ 下放置 1 d 时, 用红墨水法可以检测到马铃薯薯块红色开始明显加深, 马铃薯块茎生活力明显下降; 而在 0℃ 下放置 2 d 及 -5℃ 下放置 1 d 时, 用 TTC 法检测到马铃薯薯块红色开始明显变浅, 马铃薯块茎生活力明显下降。发芽试验结果表明, 用红墨水法和 TTC 法检测估测的发芽率与实际发芽率之间无显著差异, 并观察到冻害明显抑制马铃薯根的生长。

关键词: 冻害; 马铃薯; 生活力; 快速检测

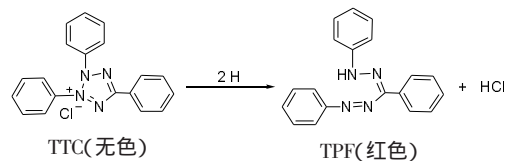
马铃薯在冬季运输和贮藏过程中, 容易受到冻害。受过冻害的种薯因生活力下降, 用于生产, 将会严重影响产量。马铃薯受冻害后, 初期外观上可能无明显症状, 随后因易感染病菌, 发生软腐等病害^[1], 继而引起腐烂。为了减小由于冻害造成种薯生活力降低带来的减产风险, 有必要对马铃薯的生活力作快速检测。

目前快速测定植物组织生活力的方法很多^[2], 有 TTC 法、靛红染色法、红墨水染色法等, 其中, 红墨水法和 TTC 法是应用较普遍的两种方法。

红墨水法的原理是利用植物活细胞的原生质膜具有选择透性, 染料分子(红墨水)不能透过, 因而不能将植物组织染色。而死的植物组织由于其细胞膜结构被破坏, 选择透性丧失, 故染料分子便能透过膜进入细胞内, 将植物组织染色, 根据植物组织的染色情况就可以鉴定植物组织的生活力^[3]。

TTC 法测定技术于 1942 年由德国学者莱康 (Lakon) 提出^[4], 以后逐渐为世界各国所采用。TTC

法原理: 氯化三苯基四氮唑(TTC)是标准的氧化还原电位为 80mV 的氧化还原色素, 溶于水中成为无色, 但是还原后生成不溶于水而呈红色的三苯甲腓 (TPF)。有生活力的植物组织呼吸作用产生的 NADH 能还原 TTC, 生成红色的 TPF, 将植物组织染成红色; 无生活力的植物组织没有呼吸代谢活动, 不能还原 TTC, 所以种子不着色^[5]。反应如下:



利用 TTC 法和红墨水法对种子^[6, 7]、根系、花粉生活力的测定已有报道, 但是用这两种方法对马铃薯块茎生活力的测定还未见报道。本试验采用红墨水法和 TTC 法对经过冻害处理的马铃薯块茎的生活力检测, 并结合发芽试验, 以验证这两种方法检测马铃薯块茎生活力的可行性, 同时探索冻害对马铃薯生活力的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试马铃薯材料

坝薯 9 号、坝薯 10 号(已在常温下贮藏 2 个

收稿日期: 2008-07-21

基金项目: 四川省科技厅马铃薯优质高产关键技术研究产业化示范项目(05NG001-021-2)。

作者简介: 林熊(1984-), 男, 硕士研究生, 主要从事马铃薯栽培与生理研究。

* 通讯作者: E-mail: wxyrtl@163.com

月)各 160 个,要求薯块大小相近,无伤痕,无虫害,无病斑,未受过冻害。

1.1.2 试验药品

氯化三苯基四氮唑(TTC);红墨水。

1.1.3 试验仪器

冰箱,恒温箱,照相机,天平,容量瓶,烧杯,苗盆。

1.2 方法

1.2.1 材料处理

设计 5℃(对照)、0℃、-5℃、-10℃四个温度,分别记为 A₁、A₂、A₃、A₄,每个温度下设 1 d、2 d、4 d、8 d 四个时间梯度,分别记为 B₁、B₂、B₃、B₄,每个处理各选 10 个马铃薯分装到作好标记的尼龙网袋中。

1.2.2 试剂配制

红墨水配制:将市售红岩牌红墨水(主要成分是红色有机染料,树胶,防腐剂,防冻剂及少量抗氧化剂)配制成 5% 的红墨水。

TTC 的配制:称取 10 g TTC 定容到 2 000 mL 容量瓶中,配制成 0.5% 的 TTC 溶液,并用广泛性试纸调 pH 值至中性。

1.2.3 生活力检测

将经过处理的马铃薯,沿芽眼处切成厚约 0.5cm 的薄片,每个马铃薯切两片,共切 20 片,其中的 10 片用红墨水法检测其活力,余下的 10 片用 TTC 法检测其活力。切片后余下的薯块用于发芽试验。

红墨水法:将切好的马铃薯片浸入 5% 的红墨水中(以淹没薯块为度)处理 6~8 min,然后用自来水冲洗马铃薯片表面附着的染料,至洗液无色为止。马铃薯有活力的部分不会被染成红色,而失去活力的薯块会被染成红色,红色越淡,马铃薯活力越强。在整个薯片上,凡是有一个芽眼及其周围未被染成红色,一律记为有生活力薯片;反之,所有的芽眼处都被染成红色,均记为无生活力薯片。

TTC 法:将切好的马铃薯片浸入 0.5% 的 TTC 溶液中(以淹没薯块为度),然后放置在 30℃ 的恒温箱中 80~120 min。马铃薯有活力的部分将会呈现红色,红色越浓,马铃薯活力越强。在整个薯片上,只要有任何一个芽眼处及其附近变成红色,一律记为有生活力薯片;相反,没有一个芽眼处

变成红色,一律记为无生活力薯片。

1.2.4 发芽试验

在苗盘中铺上 3~5 cm 厚的湿润河沙,河沙湿度要求以用手捏不出水为度,将经过活力检测后余下的马铃薯块茎平铺在河沙上,顶芽芽眼处向上,然后再铺上一薄层湿润河沙,置于 20℃ 的生长室中,记录发芽情况。

2 结果与分析

2.1 红墨水法检测结果

5℃ 是马铃薯的适宜贮藏温度,设为对照。在此温度下,不同的时间对马铃薯的影响无明显差异,均未被红墨水染成红色;随着温度降低,时间延长,薯片被红墨水染色逐渐明显并加深;从 0℃ 处理 4 d 以及 -5℃ 处理 1 d 开始,出现明显红色,显示马铃薯开始受到冻害,生活力变弱;在 -10℃ 处理的各个时间段马铃薯均被染成深红色,显示全部失去生活力(图 1、2)。

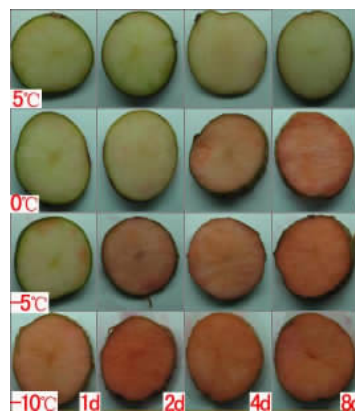


图 1 红墨水法检测坝薯 9 号生活力

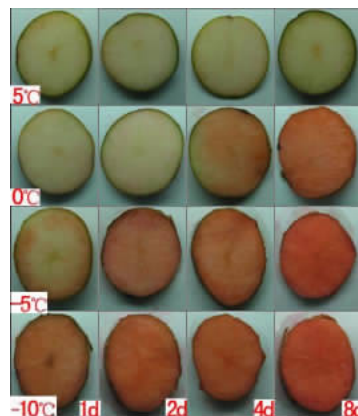


图 2 红墨水法检测坝薯 10 号生活力

2.2 TTC 法检测结果

经 5℃处理的全部都变成了红色, 可知他们全部都有生活力; 随着温度降低, 时间延长, 薯片被 TTC 染成的红色逐渐消退并消失; 从 0℃处理 2 d 及 -5℃处理 1 d 起, 马铃薯的颜色与对照比就开始变浅, 显示马铃薯开始受到冻害, 生活力变弱; -10℃处理的全部都没有被变成红色, 显示马铃薯受冻害程度深, 全部失去生活力(图 3、图 4)。0℃处理 2 d 时 TTC 法显示出红墨水未能显示的颜色变化, 能更灵敏地检测到马铃薯开始受到冻害。

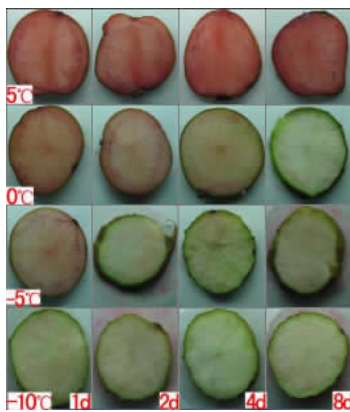


图 3 TTC 法检测坝薯 9 号生活力

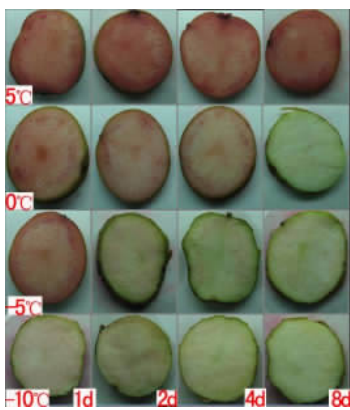


图 4 TTC 法检测坝薯 10 号生活力

2.3 两个品种在同一检测方法中的比较

由表 1 可以看出, 在 0℃下处理 2、4 d 和 -5℃处理 1 d, 坝薯 9 号比坝薯 10 号都多一片被染成红色, 即少一片有生活力的薯片。而在其余温度和时间处理的马铃薯经检测, 有活力的薯片相同。坝薯 9 号与坝薯 10 号在 -10℃的温度下处理, 全部失去活力, 在 0℃和 -5℃下处理的部分失去活力, 两个品种的整个受冻趋势相同。

表 1 红墨水法检测结果

处理组合	有生活力的薯块数(片)	
	坝薯 9 号	坝薯 10 号
A ₁ B ₁	10	10
A ₁ B ₂	10	10
A ₁ B ₃	10	10
A ₁ B ₄	10	10
A ₂ B ₁	10	10
A ₂ B ₂	6	7
A ₂ B ₃	3	4
A ₂ B ₄	0	0
A ₃ B ₁	4	5
A ₃ B ₂	0	0
A ₃ B ₃	0	0
A ₃ B ₄	0	0
A ₄ B ₁	0	0
A ₄ B ₂	0	0
A ₄ B ₃	0	0
A ₄ B ₄	0	0

由表 2 知, 用红墨水法和 TTC 法检测, 表现出马铃薯薯块活力强弱不同, 但经过两种方法检测有生活力的马铃薯薯块数是相同的。用 TTC 法检测, 也是在 0℃下处理 2 d、4 d 和 -5℃处理 1 d, 坝薯 9 号变成红色的比坝薯 10 号少一片, 即具有生活力的薯片少一片。

表 2 TTC 法检测结果

处理组合	有生活力的薯块数(片)	
	坝薯 9 号	坝薯 10 号
A ₁ B ₁	10	10
A ₁ B ₂	10	10
A ₁ B ₃	10	10
A ₁ B ₄	10	10
A ₂ B ₁	10	10
A ₂ B ₂	6	7
A ₂ B ₃	3	4
A ₂ B ₄	0	0
A ₃ B ₁	4	5
A ₃ B ₂	0	0
A ₃ B ₃	0	0
A ₃ B ₄	0	0
A ₄ B ₁	0	0
A ₄ B ₂	0	0
A ₄ B ₃	0	0
A ₄ B ₄	0	0

采用新复极差法测验后知，坝薯 9 号与坝薯 10 号有生活力的薯片数之间无显著差异，但是经过 -5℃ 处理 1 d 和 0℃ 处理 4 d 的马铃薯片数与对照存在显著差异，说明马铃薯生活力严重受到低温的影响。

2.4 两种检测方法在同一品种中的比较

由表 1，表 2 知道，相同的品种，分别采用红墨水法和 TTC 法这两种不同的方法检测，其检测结果相同。而且可以粗略估计被检测马铃薯的发芽率，发芽率估测值见表 3。

表 3 马铃薯发芽率估测

处理组合	发芽率(%)	
	坝薯 9 号	坝薯 10 号
A ₁ B ₁	100	100
A ₁ B ₂	100	100
A ₁ B ₃	100	100
A ₁ B ₄	100	100
A ₂ B ₁	100	100
A ₂ B ₂	60	70
A ₂ B ₃	30	40
A ₂ B ₄	0	0
A ₃ B ₁	40	50
A ₃ B ₂	0	0
A ₃ B ₃	0	0
A ₃ B ₄	0	0
A ₄ B ₁	0	0
A ₄ B ₂	0	0
A ₄ B ₃	0	0
A ₄ B ₄	0	0

2.5 发芽试验结果

每天观察 1 次，发现 5 d 后，5℃(对照)处理的马铃薯率先发出幼芽。0℃和 -5℃处理后有活力的马铃薯 9 d 后开始发芽，说明低温严重影响了马铃薯的发芽势。0℃、-5℃和 -10℃处理后失去活力的马铃薯，据受冻程度不同先后腐烂，并发出恶臭。据发芽试验观察，坝薯 9 号和坝薯 10 号两个品种出芽时间相同，无差异，并由实际出芽情况统计得到马铃薯实际出芽率，见表 4。

由表 4，可知，实际的发芽率与红墨水法和 TTC 法检测估测值相比偏低。经显著性检验后知，实际发芽率与估测值之间不存在显著差异。故验证

了用红墨水法和 TTC 法检测马铃薯生活力的方法是可行的。

表 4 马铃薯发芽率统计

处理组合	发芽率(%)	
	坝薯 9 号	坝薯 10 号
A ₁ B ₁	100	100
A ₁ B ₂	100	100
A ₁ B ₃	100	100
A ₁ B ₄	100	100
A ₂ B ₁	100	100
A ₂ B ₂	55	70
A ₂ B ₃	25	40
A ₂ B ₄	0	0
A ₃ B ₁	35	45
A ₃ B ₂	0	0
A ₃ B ₃	0	0
A ₃ B ₄	0	0
A ₄ B ₁	0	0
A ₄ B ₂	0	0
A ₄ B ₃	0	0
A ₄ B ₄	0	0

低温不仅影响生活力，对马铃薯的发根能力也有很大影响，由图 5 和图 6 可知，对照 5℃处理的马铃薯根多而长，表现出很强的生长势。受过冻害的马铃薯根少且不同的冻害温度和时间对马铃薯的影响不同，根长与根数随温度的降低、时间的延长而减少。

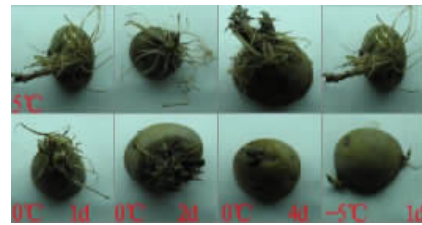


图 5 坝薯 9 号发芽情况对照



图 6 坝薯 10 号发芽情况对照

3 讨 论

国内外已有对马铃薯耐霜冻的研究成果,包括马铃薯霜冻害机理、耐冻性鉴定、耐冻性遗传和 QTL 定位以及提高耐冻性的有效措施等方面^[8]。冻害对马铃薯块茎活力的影响及其快速检测方法未见报道。本文首次提出红墨水法和 TTC 法快速检测受冻马铃薯生活力都是可行的,且这两种方法不受马铃薯品种的差异限制。

通过不同低温与时间处理对马铃薯块茎活力影响的检测,使我们更加清楚地认识到马铃薯所能承受冻害的温度范围和时间范围。在此范围对马铃薯进行耐冻锻炼,可以提高抗冻性。同时,该研究可为马铃薯抗冻生理与分子机制、马铃薯抗冻基因工程等进一步的深入探讨奠定基础。

由于冻害对马铃薯的生长势有很大的影响,且植株抗病性差^[9],我们在实际种植生产时应该采取适当措施,种植前应当作催芽处理,早发芽,发壮芽,加快生根速度,提高发芽势,稳住产量,以免由于冻害的影响而降低了产量。

TTC 法与红墨水法各有所长,TTC 法灵敏度要略高,检测更加精确,但 TTC 有毒性,使用时应

该带上塑料手套,且废液需要倒入指定地方;红墨水法灵敏度虽不如 TTC,但红墨水便宜,购买、使用方便。所以普通农户进行马铃薯生活力检测建议采用红墨水法,而对于专业的农技人员则建议使用 TTC 法。

[参 考 文 献]

- [1] 范士杰. 冻害后马铃薯管理措施 [J]. 农家之友, 2008, (3): 16.
- [2] 彭子模. 不同种子生活力快速测定方法的比较研究[J]. 新疆师范大学学报, 1997, 16(3): 16-20.
- [3] 张振宗. 大麦种子发芽率的快速测定方法-红墨水染色法[J]. 大麦科学, 1995(3): 39.
- [4] 颜启传. 种子检验的原理和技术[M]. 北京: 农业出版社, 1992.
- [5] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 四川科学技术出版社, 2003.
- [6] 马爱玲, 王新明, 孙德江. 种子生活力的快速测定法[J]. 中国种业, 2002(5): 24.
- [7] 盛海平, 汪为民, 刘华开, 等. 水稻种子生活力四唑测定值与发芽率间的相关性[J]. 种子, 2000, 108(2): 30-31.
- [8] 李飞, 金黎平. 马铃薯耐霜冻研究进展[J]. 贵州农业科学, 2007, 35(4): 140-142.
- [9] 黄有惠, 张家森, 马海艳. 早春马铃薯的冻害与补救[J]. 中国马铃薯, 2004, 18(3): 168.

Effects of Cold Injury on Potato Vitality and Its Rapid Detection

Lin Xiong, Wang Jisheng, Zhu Mingquan, Zou Xue, Wang Xiyao

(Potato Research and Development Center, College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Yaan, Sichuan 625014, China)

Abstract: Four temperature gradients, 5°C, 0°C, -5°C and -10°C, and four time gradients, 1 d, 2 d, 4 d and 8 d, under each temperature regime were set to study the effect of cold injury on the tuber of two varieties, Bashu 9 and Bashu 10, and its rapid detection method. In addition, sprout test was made on tubers treated by the two methods. Both methods were feasible for the detection of cold injury of potato tubers, but TTC was more sensitive than the red ink method. When potato chips were treated by the red ink, the red color of potato tuber deepened obviously under 0°C for 4 d or -5°C for 1 d, and the potato tuber vitality was declined. When potato chips were treated by TTC, the red color faded away under 0°C for 2 d or -5°C for 1 d, and the potato tuber vitality was declined. No significant difference was found between the sprouting percentage estimated by the red ink and TTC methods and the one from sprout test. It was also found that root system was inhibited by cold temperatures.

Key Words: cold injury; potato; vitality; rapid detection