

## 研究报告 Original Papers

## 二倍体马铃薯耐盐品种鉴定的生理指标测定

张景云<sup>1,3</sup>, 繆南生<sup>1</sup>, 白雅梅<sup>2</sup>, 赵萍<sup>1</sup>, 李文霞<sup>3</sup>, 吕文河<sup>3,\*</sup><sup>1</sup>江西省农业科学院蔬菜花卉研究所, 南昌330200; <sup>2</sup>东北农业大学资源与环境学院, 哈尔滨150030; <sup>3</sup>东北农业大学农学院, 哈尔滨150030

**摘要:** 以不同耐盐性的二倍体马铃薯富利亚(*Solanum phureja*, PHU)和窄刀薯(*S. stenotomum*, STN)杂种(PHU-STN)无性系为材料, 在离体条件下用0 (对照)、10、20、30 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl进行胁迫处理, 测定试管苗叶的电导率、丙二醛和脯氨酸含量, 结果表明, 随着盐浓度的升高, 这3个生理指标的相对值均逐渐升高, 耐盐性不同的二倍体马铃薯差异极显著。表明电导率、丙二醛和脯氨酸含量可以作为二倍体马铃薯耐盐性鉴定的生理指标。

**关键词:** 二倍体; 马铃薯; 盐胁迫; 生理指标

## Measurement of Physiological Index for Identification of Salt-Tolerant Diploid Potatoes

ZHANG Jing-Yun<sup>1,3</sup>, MIAO Nan-Sheng<sup>1</sup>, BAI Ya-Mei<sup>2</sup>, ZHAO Ping<sup>1</sup>, LI Wen-Xia<sup>3</sup>, LÜ Wen-He<sup>3,\*</sup><sup>1</sup>Institute of Vegetable and Flower, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, China; <sup>2</sup>College of Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; <sup>3</sup>College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

**Abstract:** Diploid potato *Solanum phureja* (PHU) and *S. stenotomum* (STN) hybrids (PHU-STN) with different salt resistances were subject *in vitro* to 0 (control), 10, 20 and 30 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl stress, and electric conductivity, and malondialdehyde (MDA) and proline contents were measured. The results indicated that the three physiological indices increased gradually with an increase in salt concentration, and diploid potatoes with different salt tolerances differed significantly in the three physiological indices. Therefore, electric conductivity, and MDA and proline contents could be used as physiological indices for identification of salt-tolerant diploid clones.

**Key words:** diploid; potato; salt stress; physiological index

近年来, 全球面临的人口、环境、资源问题日趋严重, 土地沙漠化、水土流失和盐碱化呈逐步加重的趋势。开发和利用盐碱地资源是进一步挖掘农业发展潜力、解决人口和环境压力的重要出路, 而选用和推广耐盐植物是改良和利用大面积盐碱土壤最经济和快捷的措施之一。因此, 研究植物的耐盐性及其生理指标具有重要的理论和现实意义。

植物受到盐胁迫后会引引起一系列生长和生理变化。目前, 有关马铃薯耐盐性生理的研究多集中在四倍体栽培种(*Solanum tuberosum* L.) (张俊莲等2002; 崔焱森等2007; 张瑞玖2007), 而对二倍体马铃薯耐盐性的生理指标研究较少。马铃薯原始二倍体栽培种富利亚(*S. phureja*, PHU)和窄刀薯(*S. stenotomum*, STN)可能是四倍体栽培种的祖先, 至今在南

美仍有栽培, 它们在许多性状上存在着丰富的遗传变异(Gautney和Haynes 1983; Wolters和Collins 1995; Haynes和Christ 1999; 赵明辉2005; 李霞2009; 于萌2010), 是改良现有马铃薯的宝贵资源材料。但是, 至今尚无利用这两个种进行耐盐生理研究的报道。

本研究以不同耐盐性的二倍体马铃薯富利亚和窄刀薯杂种(PHU-STN)为试验材料, 测定NaCl胁迫下的相对电导率、丙二醛(malondialdehyde, MDA)及脯氨酸含量, 探究与耐盐性相关的生理指标, 以期为马铃薯耐盐资源的筛选和培育提供理论依据。

收稿 2013-04-14 修定 2013-07-04

资助 “十一五”国家“863”项目(2006AA100107)。

\* 通讯作者(E-mail: whlu@neau.edu.cn; Tel: 0451-55191763)。

## 材料与amp;方法

### 1 材料

通过芽长、芽鲜重、芽干重、根长、根鲜重、根干重6项生长参数从45份二倍体马铃薯富利亚(*S. phureja*, PHU)和窄刀薯(*S. stenotomum*, STN)杂种(PHU-STN)无性系试管苗中筛选出耐盐、中耐盐、感盐无性系各5份,以此为试验材料(表1)(张景云等2013)。根据Khrais等(1998)的研究结果,选用四倍体马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)‘Bintje’为耐盐对照品种,‘Mainechip’为感盐对照品种。

表1 不同耐盐性的二倍体马铃薯无性系及编号

Table 1 Diploid potato hybrid clones with different salt tolerances and their codes

不同耐盐组	无性系名称	编号
耐性组	472-1	T1
	267-1	T2
	89-2-1	T3
	188-1	T4
	566-1	T5
中耐盐组	592-3	M1
	412-1	M2
	474-1	M3
	292-1	M4
	301-1	M5
感盐组	354-1	S1
	507-1	S2
	270-2	S3
	9-3	S4
	138-1	S5

### 2 方法

#### 2.1 基础苗的培养

取二倍体马铃薯脱毒试管苗,将其切成带1片叶的小茎段,插入装有MS培养基的100 mL三角瓶中(每瓶装培养基40 mL),每瓶插10个茎段,置于温度(25±2)℃、光照强度25~37.5 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>、光照时间16 h·d<sup>-1</sup>的条件下培养。

#### 2.2 生理指标的测定

取20 d苗龄的试管苗,剪取带1个叶、长约1 cm的茎段,分别插入含有0(对照)、10、20、30 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl的MS培养基中(100 mL三角瓶中装培养基40 mL),每瓶插10个茎段,培养条件同2.1。

试验采用完全随机设计,3次重复。28 d后取材,测定各项生理指标。

**2.2.1 电导率的测定** 用6~8 mm的打孔器将叶片切割成大小一致的叶块,每个处理取30片,分别装入3支洁净的刻度试管中,每管放10片,加入10 mL的去离子水,抽气,使叶片沉入水下,试管置室温下保持1 h,充分混匀。采用DDS-11A型电导仪测定测其初电导值;然后,用试管盖塞封口,置沸水浴中10 min,冷却,摇匀,测其终电导值(郝再彬等2002)。

**2.2.2 丙二醛含量的测定** 参照郝再彬等(2002)的方法并略加改动。准确称取0.50 g叶片,加入10%三氯乙酸,研磨成匀浆,取5 mL移至离心管中,2 414.88×g离心10 min,吸取2 mL提取液,再加入2 mL 0.6%硫代巴比妥酸,在沸水中煮沸15 min,取出冷却,2 414.88×g离心10 min,测定450、532和600 nm下的OD值,计算丙二醛含量。

**2.2.3 脯氨酸含量的测定** 取剪碎混合的叶片0.20~0.50 g,放入大试管中,加入5 mL 3%磺基水杨酸溶液,加盖玻璃球,于沸水浴中浸提10 min。取出试管,待冷却至室温后,吸取上清液2 mL,加入2 mL冰乙酸和3 mL显色液,于沸水浴中加热40 min,取出冷却后加入5 mL甲苯充分震荡,以萃取红色物质。静止待分层后吸取甲苯层,在520 nm下进行比色(郝再彬等2002)。

### 3 数据分析

原始数据的整理采用Microsoft Excel (Office 2003)软件完成;方差分析及差异显著性测验采用DPS软件(唐启义2010),按照Gomez和Gomez(1984)的方法进行组间(between-group comparison)和组内(within-group comparison)比较。各生理指标的相对值(%)=(X<sub>s</sub>/X<sub>c</sub>)×100%,其中X<sub>s</sub>为所测指标在盐胁迫下3次重复的平均值,X<sub>c</sub>为所测指标在对照条件下的平均值,利用相对值进行数据分析。

## 实验结果

### 1 盐胁迫对二倍体马铃薯叶片电导率的影响

相对电导率反映细胞膜透性的大小,而细胞膜透性又直接反映植物细胞对细胞内环境的稳定能力和对外界环境的适应和抵御能力,是抗渗透胁迫的主要生理指标之一;采用相对电导率法测定质膜透性,相对电导率越大,膜透性越大,质膜

受损伤的程度越高。各材料在10、20、30 mmol·L<sup>-1</sup>盐胁迫后叶片电导率差异均极显著; 不同耐盐组间在10、20、30 mmol·L<sup>-1</sup>盐胁迫后叶片电导率差异均极显著; 耐盐组组内除在10和30

mmol·L<sup>-1</sup>、中耐盐组组内除在30 mmol·L<sup>-1</sup>盐胁迫后差异不显著外, 其他各项差异均极显著, 说明组内个别材料之间的电导率对盐胁迫的反应有一定差异(表2)。

表2 PHU-STN二倍体马铃薯和四倍体对照在不同浓度盐胁迫下叶片电导率的方差分析

Table 2 Analysis of variance on leaf electric conductivity for PHU-STN clones and tetraploid control varieties under different levels of salt stress

变异来源	df	MS			F	
		10 mmol·L <sup>-1</sup>	20 mmol·L <sup>-1</sup>	30 mmol·L <sup>-1</sup>	0.05	0.01
17份材料间	16	597.28**	2 054.50**	4 126.13**	1.95	2.58
二倍体与四倍体	1	80.74	337.79**	242.68**	4.13	7.44
‘Bintje’与‘Mainechip’	1	0.80	114.21	3.29	4.13	7.44
不同耐盐组间	2	3 726.94**	12 997.01**	3 0631.50**	3.28	5.29
耐盐组内	4	21.20	294.62**	31.30	2.65	3.93
中耐盐组内	4	284.32**	199.20**	107.02	2.65	3.93
感盐组内	4	199.73**	1 112.66**	988.97**	2.65	3.93
误差	34	44.29	15.80	44.38		
总计	50					

\*\*差异达1%显著水平。

盐胁迫后, 四倍体和二倍体马铃薯的叶片电导率均随着盐浓度升高呈上升趋势, 并且均高于对照(相对值均大于100)。感盐组和中耐盐组电导率相对值升高的幅度高于耐盐组, 这说明感盐组

和中耐盐组的叶片质膜伤害程度高于耐盐组, 相对电导率的数值与植株的表型性状基本一致。应该注意的是, 在一定盐浓度条件下, 个别组的相对电导率有相互重叠的现象(表3)。

表3 不同浓度盐胁迫下四倍体对照及二倍体马铃薯的叶片电导率

Table 3 Leaf electric conductivity of tetraploid control varieties and diploid potato groups under different levels of salt stress

品种或组	电导率相对值/%		
	10 mmol·L <sup>-1</sup>	20 mmol·L <sup>-1</sup>	30 mmol·L <sup>-1</sup>
‘Bintje’	129.08 <sup>Aa</sup>	154.57 <sup>Aa</sup>	185.90 <sup>Aa</sup>
‘Mainechip’	128.35 <sup>Aa</sup>	163.30 <sup>Aa</sup>	184.42 <sup>Aa</sup>
耐盐组	114.91 <sup>Bb</sup> (111.02~117.93)	129.20 <sup>Cc</sup> (118.01~142.99)	150.14 <sup>Cc</sup> (145.99~153.45)
中耐盐组	116.54 <sup>Bb</sup> (104.36~130.97)	139.19 <sup>Bb</sup> (130.12~150.97)	185.77 <sup>Bb</sup> (180.69~195.39)
感盐组	142.99 <sup>Aa</sup> (132.88~151.64)	184.44 <sup>Aa</sup> (158.10~206.52)	239.88 <sup>Aa</sup> (216.01~265.93)

采用新复极差法进行差异显著性测验, ‘Bintje’和‘Mainechip’之间进行比较, 耐盐组、中耐盐组、感盐组之间进行比较。小写字母表示5%显著水平, 大写字母表示1%显著水平; 括号内数值为极差。表5和表7同此。

## 2 盐胁迫对二倍体马铃薯叶中丙二醛含量的影响

丙二醛是植物在遭受逆境伤害时发生膜脂过氧化的产物, 在叶片衰老过程中不断积累, 通常可以用丙二醛的含量衡量细胞膜的氧化程度和植物对逆境反应的强弱, 也常用来表示膜脂过氧化程度及膜结构的损伤程度。各材料在10、20、30 mmol·L<sup>-1</sup>盐胁迫下丙二醛的含量差异均极显著; 耐

盐程度不同的2个四倍体品种间及二倍体不同耐盐组间丙二醛含量差异显著或极显著, 说明在受盐胁迫后其膜脂过氧化程度有区别; 在10、20、30 mmol·L<sup>-1</sup>盐胁迫下各组的组内变异均差异极显著, 表明组内材料之间的膜脂过氧化程度也有差异(表4)。

盐胁迫后, 四倍体和二倍体马铃薯的丙二醛

表4 PHU-STN二倍体马铃薯和四倍体对照在不同浓度盐胁迫下丙二醛含量的方差分析

Table 4 Analysis of variance on malondialdehyde content for PHU-STN clones and tetraploid control varieties under different levels of salt stress

变异来源	df	MS			F	
		10 mmol·L <sup>-1</sup>	20 mmol·L <sup>-1</sup>	30 mmol·L <sup>-1</sup>	0.05	0.01
17份材料间	16	3 056.69**	7 673.12**	9 999.74**	1.95	2.58
二倍体与四倍体	1	2.46	1 367.43**	4 447.54**	4.13	7.44
‘Bintje’与‘Mainechip’	1	210.45*	325.89**	3 410.48**	4.13	7.44
不同耐盐组间	2	13 207.85**	33 809.74**	33 646.04**	3.28	5.29
耐盐组内	4	498.17**	660.75**	3 865.35**	2.65	3.93
中耐盐组内	4	1 537.88**	2 467.58**	8 582.03**	2.65	3.93
感盐组内	4	3 533.56**	10 235.94**	8 764.08**	2.65	3.93
误差	34	34.02	37.26	216.38		
总计	50					

\*\*差异达1%显著水平; \*差异达5%显著水平。

含量均随着盐浓度的升高而升高, 并且均高于对照(相对值均大于100), 这说明NaCl胁迫导致马铃薯叶片活性氧累积, 加速了膜脂过氧化。相同浓度下, 二倍体马铃薯不同耐盐组间的叶片中丙二醛含量存在差异, 感盐组和中耐盐组丙二醛含量相

对值升高的幅度高于耐盐组, 这说明感盐组和中耐盐组的膜脂过氧化程度高于耐盐组, 且丙二醛含量的数值与植株的表型性状基本一致。同电导率的变化相似, 二倍体马铃薯耐盐程度不同的组在相同浓度的盐胁迫下极差也有相互重叠的现象(表5)。

表5 不同浓度盐胁迫下四倍体对照及二倍体马铃薯的丙二醛含量

Table 5 Malondialdehyde content of tetraploid control varieties and diploid potato groups under different levels of salt stress

品种或组	丙二醛含量相对值/%		
	10 mmol·L <sup>-1</sup>	20 mmol·L <sup>-1</sup>	30 mmol·L <sup>-1</sup>
‘Bintje’	149.81 <sup>Ab</sup>	201.93 <sup>Bb</sup>	238.77 <sup>Bb</sup>
‘Mainechip’	161.66 <sup>Aa</sup>	216.67 <sup>Aa</sup>	286.45 <sup>Aa</sup>
耐盐组	126.53 <sup>Cc</sup> (116.77~148.34)	145.15 <sup>Cc</sup> (130.79~168.35)	184.71 <sup>Cc</sup> (141.45~223.60)
中耐盐组	152.87 <sup>Bb</sup> (129.43~178.73)	194.45 <sup>Bb</sup> (156.83~235.81)	236.91 <sup>Bb</sup> (188.15~299.56)
感盐组	185.76 <sup>Aa</sup> (156.35~244.75)	240.08 <sup>Aa</sup> (199.94~340.20)	279.26 <sup>Aa</sup> (224.91~369.78)

### 3 盐胁迫对二倍体马铃薯叶中脯氨酸含量的影响

脯氨酸是一种重要的渗透调节物质和抗氧化物质。在10、20、30 mmol·L<sup>-1</sup>盐浓度下各材料的脯氨酸含量差异均极显著; 耐盐程度不同的2个四倍体品种间在20和30 mmol·L<sup>-1</sup>盐浓度下差异显著, 二倍体马铃薯不同耐盐组间在3种盐浓度下差异极显著, 说明受盐胁迫后其渗透调节能力有差别; 组内变异除感盐组在10 mmol·L<sup>-1</sup>时差异不显著外, 其他各项在10、20、30 mmol·L<sup>-1</sup>盐胁迫下差异均显著或极显著(表6)。

盐胁迫后, 四倍体和二倍体马铃薯的脯氨酸含量均随着盐浓度的升高呈升高趋势, 并且均高

于对照(相对值均大于100)。相同浓度下, 二倍体马铃薯耐盐性不同的3个组叶中脯氨酸含量的相对值存在差异, 感盐组和中耐盐组的升高幅度低于耐盐组, 这说明感盐组和中耐盐组的渗透调节能力低于耐盐组, 脯氨酸含量的数值与植株的表型性状基本一致。另外, 二倍体马铃薯耐盐程度不同的组在相同浓度的盐胁迫下极差有相互重叠的现象(表7)。

## 讨 论

通过预备试验确定30 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl胁迫下感盐马铃薯试管苗生长受到严重抑制, 但不会造成



表6 PHU-STN二倍体马铃薯和四倍体对照在不同浓度盐胁迫下叶片脯氨酸含量的方差分析

Table 6 Analysis of variance on proline content for PHU-STN clones and tetraploid control varieties under different levels of salt stress

变异来源	df	MS			F	
		10 mmol·L <sup>-1</sup>	20 mmol·L <sup>-1</sup>	30 mmol·L <sup>-1</sup>	0.05	0.01
17份材料间	16	3.44**	15.03**	20.24**	1.95	2.58
二倍体与四倍体	1	3.76**	14.74**	25.49**	4.13	7.44
‘Bintje’与‘Mainechip’	1	0.13	2.04*	1.73*	4.13	7.44
不同耐盐组间	2	10.85**	61.68**	73.30**	3.28	5.29
耐盐组内	4	5.06**	15.08**	22.47**	2.65	3.93
中耐盐组内	4	1.37*	2.65**	8.84**	2.65	3.93
感盐组内	4	0.93	7.37**	6.22**	2.65	3.93
误差	34	0.45	0.42	0.26		
总计	50					

\*\*差异达1%显著水平; \*差异达5%显著水平。

表7 不同浓度盐胁迫下四倍体对照及二倍体马铃薯的脯氨酸含量

Table 7 Proline content of tetraploid control varieties and diploid potato groups under different levels of salt stress

品种或组	脯氨酸含量相对值/%		
	10 mmol·L <sup>-1</sup>	20 mmol·L <sup>-1</sup>	30 mmol·L <sup>-1</sup>
‘Bintje’	100.86 <sup>Aa</sup>	102.73 <sup>Ab</sup>	107.03 <sup>Ab</sup>
‘Mainechip’	101.15 <sup>Aa</sup>	103.90 <sup>Aa</sup>	108.10 <sup>Aa</sup>
耐盐组	102.83 <sup>Aa</sup> (101.17~104.73)	107.31 <sup>Aa</sup> (105.78~108.20)	112.09 <sup>Aa</sup> (108.74~113.45)
中耐盐组	101.41 <sup>Bb</sup> (100.72~102.03)	104.04 <sup>Bb</sup> (102.88~105.20)	109.51 <sup>Bb</sup> (106.87~111.60)
感盐组	101.30 <sup>Bb</sup> (100.57~102.45)	103.60 <sup>Cc</sup> (101.09~105.09)	107.69 <sup>Cc</sup> (106.15~109.17)

死亡, 故30 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl是一个临界浓度。因此, 本研究设置4个盐浓度水平0 (对照)、10、20、30 mmol·L<sup>-1</sup>, 以明确不同浓度盐胁迫对马铃薯试管苗的影响。

研究发现, 在盐胁迫下二倍体马铃薯组内各无性系的生理指标存在显著或极显著差异, 这说明组内的个别材料对盐胁迫的生理反应可能会不一致。

孟长军(2007)研究了不同浓度盐胁迫对樱桃番茄的影响, 结果表明, 随着盐浓度的升高相对电导率和丙二醛含量随之升高; 崔焱森等(2007)对马铃薯的研究也得出类似的结果。本研究中试管苗经盐胁迫后, 丙二醛含量和相对电导率均随盐浓度的升高呈逐渐升高的趋势, 这与前人的研究结果相一致。王军伟(2008)研究了不同浓度盐胁迫对菠菜生理生化特性的影响, 结果表明, 随着盐胁迫浓度的升高脯氨酸含量均有不同程度的增加, 而且抗盐品种的增加幅度高于盐敏感品种; 张俊

莲等(2002)对马铃薯的研究也得出了类似的结果。本研究中试管苗的脯氨酸含量随盐浓度的升高呈逐渐升高的趋势, 耐盐无性系升高的幅度高于感盐无性系, 二倍体马铃薯不同耐盐组间差异极显著; 这与前人的研究结果相一致。

总之, 电导率、丙二醛和脯氨酸含量在二倍体马铃薯不同耐盐组间的差异均极显著, 且与植株性状表型基本一致, 因此认为这3项生理指标可用来鉴定二倍体马铃薯的耐盐性。

### 参考文献

- 崔焱森, 张俊莲, 李学才, 王蒂, 黄鹏, 王丽, 杜喜梅(2007). 马铃薯试管苗对盐胁迫的生理反应. 中国马铃薯, 21 (1): 1~5
- 郝再彬, 苍晶, 徐仲(2002). 植物生理实验技术. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 185~192
- 李霞(2009). 二倍体马铃薯富利和窄刀属杂种后代花药培养[学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学
- 孟长军(2007). 盐胁迫下樱桃番茄苗期生理生化特性的研究[学位论文]. 杨凌: 西北农林科技大学
- 唐启义(2010). DPS数据处理系统. 第2版. 北京: 科学出版社, 77~79

- 王军伟(2008). 菠菜(*Spinacia oleracea* L.)品种间耐盐性差异及生理生化特性研究[学位论文]. 泰安: 山东农业大学
- 于萌(2010). 富利亚和窄刀薯杂种农艺性状和品质性状分析[学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学
- 张景云, 缪南生, 白雅梅, 朱珊, 吕文河(2013). 二倍体马铃薯耐盐材料的离体筛选. 中国农学通报, 29 (4): 62~75
- 张俊莲, 陈勇胜, 武季玲, 王蒂, 张国彬, 权冬玲(2002). 盐胁迫下马铃薯耐盐相关生理指标变化的研究. 中国马铃薯, 16 (6): 323~327
- 张瑞玖(2007). NaCl胁迫下马铃薯生理生化特性及氮素调控研究[学位论文]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学
- 赵明辉(2005). 马铃薯二倍体杂种群体主要性状的遗传分析[学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学
- Gautney TL, Haynes FL (1983). Recurrent selection for heat tolerance in diploid potatoes (*Solanum tuberosum* subsp. *phureja* and *stenotomum*). Am Potato J, 60: 537~545
- Gomez KA, Gomez AA (1984). Statistical Procedure for Agricultural Research. 2nd ed. New York: John Willey and Sons
- Haynes KG, Christ BJ (1999). Heritability of resistance to foliar late blight in a diploid hybrid potato population of *Solanum phureja*×*Solanum stenotomum*. Plant Breeding, 118: 431~434
- Khrais T, Leclerc Y, Donnelly DJ (1998). Relative salinity tolerance of potato cultivars assessed by *in vitro* screening. Am J Potato Res, 75 (5): 207~210
- Wolters PJCC, Collins WW (1995). Estimation of genetic parameters for resistance to *Erwinia* soft rot, specific gravity, and calcium concentration in diploid potatoes. Crop Sci, 35: 1346~1352