

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2009)01-0019-03

## 甘露醇预处理对马铃薯花药愈伤诱导率和褐化率的影响

刘 辉, 卢翠华\*, 邱 宏, 石 瑛, 张丽莉, 赵 欣

(东北农业大学农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘 要:** 采用西北果和鲁引 1 号马铃薯品种为试验材料, 研究甘露醇预处理不同时间对马铃薯花药褐化率及愈伤诱导率的影响。结果表明: 接种前花药用  $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的甘露醇溶液预处理, 褐化率明显降低。但随着处理时间的增加, 褐化率变化不大, 愈伤诱导率则先升高后降低。不同的材料达到诱导率最高值和褐化率最低值的预处理天数为 2 d。

**关键词:** 马铃薯; 花药培养; 甘露醇预处理; 愈伤诱导率; 褐化率

马铃薯是同源四倍体植物, 基因分离复杂, 隐性基因的表现频率低, 遗传背景狭窄, 在四倍体水平上进行的常规育种, 效率较低<sup>[1]</sup>。通过花药培养,

获得双单倍体材料, 可以利用双单倍体和具有丰富基因资源的二倍体野生种杂交, 从而有效地利用野生种质资源。因此, 花药培养在马铃薯的遗传育种研究中具有重要的理论与现实意义。

马铃薯花药培养研究始于上世纪 80 年代, Dunwell 等<sup>[2]</sup>从马铃薯四倍体栽培种花药培养中获得了一株双单倍体。我国上世纪 80~90 年代对此研究较多, 甘肃农业大学戴朝曦<sup>[3]</sup>以马铃薯四倍体普通

收稿日期: 2008-04-15

基金项目: 黑龙江省科技攻关计划项目(GB07B104)。

作者简介: 刘辉(1982-), 男, 硕士研究生, 主要从事马铃薯遗传育种研究。

\* 通讯作者: Email: cuihualu2000@yahoo.com.cn

## The Effect of Preparation Conditions on Quality Characteristics of Potato Starch

Zhang Qiqi, Sun Xinmiao, Shi Ying, Chen Yili

(College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

**Abstract:** The effects of water source and homogenate time on starch quality of potato were studied using cvs. Kexin 12 and Jinshu 11 as materials in order to optimize the parameters for starch extraction. The homogenate time had little impact on gelatinization temperature, temperature at peak viscosity, peak viscosity, disaggregation point, and setback value, but water used played an important role in the performance of above mentioned quality index. Distilled water and deionized water produced better quality potato starch than tap water did. No regular pattern was found for the amylose percentage when various water and homogenate time treatments were used. It is suggested that the high quality water, at least distilled water, should be used when small amount of starch is prepared in laboratory in order to get representative data.

**Key Words:** potato starch; preparation; water quality; homogenate time

栽培种为材料, 诱导出了双单倍体植株。花药培养已成为生物学科中研究的重要内容之一, 并且广泛应用于植物遗传育种<sup>[4]</sup>。国内外在水稻、大麦、马铃薯等作物上的研究表明, 花药培养中愈伤组织的诱导率受植物基因型、培养基、花药发育时期和植物激素配比和预处理等因素的影响<sup>[5,6]</sup>。接种前用甘露醇对花药进行适当预处理, 可以极大的提高花药培养的效率。李文泽等<sup>[7]</sup>发现, 甘露醇预处理比低温预处理和对照能明显地提高大麦花粉存活频率; 甘露醇预处理能明显提高大麦花药培养愈伤组织诱导率、绿苗分化率及绿苗产量。

试验探索了不同的甘露醇预处理时间对马铃薯花药愈伤组织形成的影响, 旨在提高愈伤组织诱导率和降低褐化率, 建立高效的马铃薯花药培养试验体系。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

试验材料为西北果和鲁引 1 号马铃薯品种, 由黑龙江省农业科学院克山马铃薯研究所和大兴安岭地区农业科学研究所提供。试验于 2008 年在东北农业大学农学院马铃薯研究室进行。

### 1.2 试验方法

选取小孢子发育单核靠边期的花蕾, 将采集的花蕾用自来水冲洗 10~20 min, 70%的酒精灭菌 30 s, 0.1%HgCl<sub>2</sub> 消毒 10 min, 无菌水冲洗 4~5 次, 取出花药放在 40 g·L<sup>-1</sup>的甘露醇预处理液中, 处理时间分别为 0、2、4、6 d。预处理后用无菌滤纸吸干花药表面多余的液体, 接种于 MS 基本培养基, 附加 0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA、1 mg·L<sup>-1</sup> 2, 4-D、0.5 mg·L<sup>-1</sup> KT、6%蔗糖、0.7%的琼脂及其它附加物质, pH 为 5.8。接种密度为每 100 mL 的三角瓶 40 个花药, 每处理接 5 瓶。培养温度 25℃, 诱导期为黑暗培养。

接种后 30 d 统计愈伤组织诱导率和褐化率。

$$\text{愈伤组织诱导率}(\%) = \frac{\text{形成愈伤组织的花药数}}{\text{接种花药数}} \times 100\%$$

$$\text{褐化率}(\%) = \frac{\text{褐化的花药数}}{\text{接种花药数}} \times 100\%$$

利用 *F* 检验对愈伤诱导率和褐化率进行差异

显著性分析, 新复极差法进行多重比较。显著水平为 0.05。

## 2 结果与分析

### 2.1 甘露醇预处理对愈伤组织诱导的影响

试验材料西北果和鲁引 1 号经过甘露醇预处理, 预处理 2 d 时, 愈伤诱导率达到最高, 与预处理 4 d、6 d 和对照相比差异显著; 预处理 4 d 愈伤诱导率显著高于预处理 6 d, 但与对照相比差异不显著。不同的材料, 预处理时间 2 d 时愈伤组织诱导率达到最大值为 5.0%和 9.0%。预处理 4d 的诱导率下降到 2.0%和 3.0%, 到了 6 d 诱导率达到了处理中的最低值到 0(表 1)。

表 1 甘露醇预处理对花药愈伤组织诱导的影响

| 基因型    | 甘露醇预处理时间(d) | 接种数 (个) | 愈伤组织数 (个) | 诱导率 (%) |
|--------|-------------|---------|-----------|---------|
| 西北果    | 0           | 200     | 3         | 1.5bc   |
|        | 2           | 200     | 10        | 5.0a    |
|        | 4           | 200     | 4         | 2.0b    |
|        | 6           | 200     | 0         | 0c      |
| 鲁引 1 号 | 0           | 200     | 5         | 2.5bc   |
|        | 2           | 200     | 18        | 9.0a    |
|        | 4           | 200     | 6         | 3.0b    |
|        | 6           | 200     | 0         | 0c      |

### 2.2 甘露醇预处理对褐化率的影响

试验材料西北果和鲁引 1 号经过甘露醇预处理, 处理 2 d 时, 褐化率达到最低, 与对照相比差异显著; 但与预处理 4 d 和 6 d 的褐化率相比差异不显著。甘露醇预处理后, 褐化率明显地降低, 但

表 2 甘露醇预处理对花药褐化率的影响

| 基因型    | 甘露醇预处理时间(d) | 接种数 (个) | 褐化数 (个) | 褐化率 (%) |
|--------|-------------|---------|---------|---------|
| 西北果    | 0           | 200     | 200     | 100a    |
|        | 2           | 200     | 72      | 36.0b   |
|        | 4           | 200     | 73      | 36.5b   |
|        | 6           | 200     | 75      | 37.5b   |
| 鲁引 1 号 | 0           | 200     | 200     | 100a    |
|        | 2           | 200     | 40      | 20.0b   |
|        | 4           | 200     | 43      | 21.5b   |
|        | 6           | 200     | 45      | 22.5b   |

随着预处理时间的增加,褐化率变化不大。两份材料经甘露醇预处理 2 d 后,褐化率达到最低分别为 36.0%和 20.0%。随着处理时间的增加,褐化率略有上升,但差异不显著,处理 6 d 时褐化率分别为 37.5%和 22.5%(表 2)。

### 3 讨 论

甘露醇预处理有利于花药培养的研究在禾本科作物中已有报道<sup>[8]</sup>。甘露醇预处理能明显提高花粉粒存活率和质量,有利于进一步分裂形成胚状体和愈伤组织。黄斌<sup>[9]</sup>的研究结果表明,与蔗糖等渗透压的甘露醇不能取代蔗糖的作用。这一点大多数学者已达成一致。对甘露醇预处理的作用机理目前主要存在两种观点:一种认为甘露醇的作用是给予小孢子一个适当的渗透压,这对维持小孢子的活性是必需的;另一种观点认为甘露醇预处理的主要作用是导致小孢子短时间的营养饥饿,从而使小孢子改变其发育方向,引起小孢子对花药进行预处理对提高胚状体诱导频率有很好的效果,不同作物所用的处理方法不同<sup>[10]</sup>。本试验研究表明,与未经甘露醇预处理的花药对照相比,甘露醇处理对提高马铃薯花药培养愈伤诱导率的作用差异是显著的,对于降低马铃薯花药培养褐化率的影响也是显著的,但随着时间的增加变化不大,这种处理方法不仅降低花

药的褐化率,也有利于花药愈伤组织的形成。

### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] 卢翠华, 梁彦涛, 石瑛, 等. 四倍体马铃薯的花药培养[M]//陈伊里, 屈冬玉. 马铃薯产业与东北振兴. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社, 2005.
- [ 2 ] Dunwell J M, Sunderland U. Anther culture of *Solanum tuberosum*[J]. Euphytica, 1973, 22: 317-320.
- [ 3 ] 戴朝曦. 用花药培养法诱导马铃薯产生双单倍体植株的研究[J]. 科学通报, 1982, 27(24): 152-154.
- [ 4 ] 王纪芳, 金波. 蔬菜组织培养[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1983.
- [ 5 ] 郭向荣. 甘露醇预处理方式、方法对大麦花粉植株再生的影响[J]. 农业生物技术学报, 1999, 7(4): 76-80.
- [ 6 ] 梁彦涛, 邱宏, 卢翠华, 等. 马铃薯花药培养影响因素的研究[J]. 东北农业大学学报, 2006, 37(5): 604-609.
- [ 7 ] 李文泽, 胡含. 大麦花药培养中甘露醇预处理作用的研究[J]. 莱阳农学院学报, 1991, 8(4): 252-256.
- [ 8 ] 赵爱菊, 高增玉, 李亚军. 禾谷类作物的小孢子培养[J]. 河北农业科学, 2008, 12(4): 73-74.
- [ 9 ] 黄斌. 大麦花药培养中若干因素对愈伤组织形成的影响[J]. 植物生理学报, 1984, 12: 403-405.
- [ 10 ] 李文泽, 宋子红, 景健康, 等. 在大麦花药——花粉培养中甘露醇预处理机理的研究[J]. 科学通报, 1995(10): 36-39.

## The Effect of Mannitol Pretreatment on the Percentage of Callus Formation and Callus Browning in Potato Anther Culture

Liu Hui, Lu Cuihua, Di Hong, Shi Ying, Zhang Lili, Zhao Xin

(College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

**Abstract:** The effects of mannitol pretreatment on the percentage of callus formation and callus browning in anther culture were studied using the potato cultivars Sebago and Favorita as donor plants. The callus browning percentage was obviously decreased by pretreatment of mannitol at 40 g·L<sup>-1</sup> before inoculation for 2 days, but it was changed little with increase in treatment time. The callus formation percentage was increased at first and then decreased by mannitol pretreatment. The maximum the callus percentage and minimum browning percentage were reached by mannitol pretreatment for two days in these two cultivars.

**Key Words:** potato; anther culture; mannitol pretreatment; callus percentage; browning percentage