

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2007)05-0271-04

## 马铃薯匍匐茎生长不同阶段淀粉酶活力比较研究

姚新灵, 李卓亚, 柳金凤, 贾惠萍, 丁海麦, 狄建军

(宁夏大学生命科学学院, 宁夏 银川 750021)

**摘要:** 测定匍匐茎内淀粉酶活力是否存在及其变化是鉴定马铃薯匍匐茎内是否有淀粉合成发生的途径之一。本研究以不同成熟期马铃薯品种、不同生长时期匍匐茎为试验材料, 测定其淀粉酶活力。数据分析表明: 早熟品种匍匐茎较早表现较高淀粉酶的活性, 其后随着匍匐茎的生长逐渐平稳或下降, 晚熟品种匍匐茎较晚出现淀粉酶的活性, 其后随着匍匐茎的生长逐渐升高; 就同一成熟期品种而言, 从匍匐茎基部至顶端其淀粉酶活力逐渐上升; 研究结果表明, 匍匐茎生长期间其内部存在淀粉的生物合成, 不同成熟期品种匍匐茎生长不同时期和不同部位淀粉酶活力存在差异。

**关键词:** 匍匐茎; 淀粉酶活力; 生长阶段; 马铃薯

马铃薯淀粉因其直链淀粉含量低、直链和支链分子聚合度高, 被广泛应用于食品、建筑、石油开

采和其它领域<sup>[1]</sup>。马铃薯块茎发育有匍匐茎发生、块茎膨大和淀粉积累三个重要过程。大量研究已表明, 匍匐茎伸长与块茎膨大密切相关, 又受不同外界条件和激素调控的影响, 同时块茎淀粉含量的高低与叶片、匍匐茎等器官的形态解剖结构、生理代谢指标等均有着密切的关系<sup>[2]</sup>。蒙美莲<sup>[3]</sup>研究指出,

收稿日期: 2007-03-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30160010)

作者简介: 姚新灵(1963-), 男, 副教授, 硕士生导师, 主要从事生物化学与分子生物学研究。

## Genetic Diversity of Potato Cultivars Revealed by RAPD and AFLP Markers

Li Fengyun<sup>1</sup>, Sheng Wanmin<sup>1</sup>, Liu Zhaojun<sup>2</sup>, Tian Guokui<sup>1</sup>, Li Qingquan<sup>1</sup>, Wang Lichun<sup>1</sup>

(1. Potato Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Keshan, Heilongjiang 161606, China;

2. Biology Research Center, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086, China)

**Abstract:** The RAPD and AFLP were used to study the genetic diversity of 19 potato cultivars. In RAPD, the genetic distance of 19 potato cultivars was between 0.1707-0.7222, with average value being 0.3917. AFLP analysis indicated that the genetic distance of 19 potato cultivars was between 0.2091-0.7679, with average value being 0.4811. The two methods are both suitable to analyze the genetic diversity of potato cultivars. However, RAPD is more preferred to analyze the sibship of potato cultivars due to its simple technique and low cost. This study also demonstrates that AFLP fingerprinting has higher resolution and the AFLP is more suitable to reveal the difference of potato cultivars.

**Key Words:** potato; RAPD; AFLP; cluster analysis; genetic diversity

叶片组织结构、叶绿素含量、叶绿体超微结构及叶柄长度与块茎淀粉含量均有相关性; 门福义等<sup>[4]</sup>研究指出, 马铃薯匍匐茎维管束横切面面积占匍匐茎横切面的百分比与块茎淀粉含量呈正相关。目前对于马铃薯匍匐茎淀粉酶的活性变化与马铃薯的匍匐茎生长关系研究在国内还未见报道。本文对不同品种、生长时期块茎匍匐茎中淀粉酶的活性力进行研究, 进一步为衡量马铃薯产量、评价马铃薯品种提供理论参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

早熟品种宁薯 8 号, 中熟品种宁薯 10 号, 晚熟品种 8708-60 号为本实验室保存; 赤霉素、柠檬酸、DNS 为进口试剂; UV-2102PC 型紫外可见分光光度计(尤尼柯上海仪器有限公司), 高速冷冻离心机(意大利 ALC 公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 匍匐茎的获取

用赤霉素打破马铃薯块茎休眠, 待马铃薯块茎长出匍匐茎后, 每隔 1 周从块茎上取下一株完整的匍匐茎, 从距块茎近端、中端、远端各取匍匐茎 0.5 g。

#### 1.2.2 马铃薯淀粉酶液的提取

将所取的匍匐茎置于预冷的研钵中, 加 2 mL 预冷的  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  柠檬酸溶液 ( $\text{pH}=5.6$ ) 和少量石英砂研磨, 将匀浆移入 7 mL 的离心管中, 再分别用 1 mL 的  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  柠檬酸缓冲液 ( $\text{pH}=5.6$ ) 冲洗 2 次, 于 4 °C 下以  $15\,000 \times g$  离心 15 min, 上清液转移入另一个 5 mL 离心管中, 作为酶提取液备用。

#### 1.2.3 淀粉酶活力测定的方法

参照生物化学家实验原理和方法<sup>[5]</sup>, 取马铃薯块茎 1 g, 置于  $2 \text{ mL } 0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{pH}=5.6$  的柠檬酸缓冲液中常温下研磨, 研碎后加 200  $\mu\text{L}$  酶提取液于 40 °C 水浴中保温 30 min, 立即加入 1.5 mL 的 DNS 试剂终止反应, 于波长 520 nm 下测吸光值, 根据标准曲线换算淀粉酶活力。淀粉酶活力以每克鲜重匍匐茎酶提取液在反应体系中 30 min 产生的麦芽糖的毫克数计量; 即麦芽糖  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 30 \text{ min} = (\text{C 组麦芽糖 } \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1} - \text{B 组麦芽糖 } \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}) \times \text{样品稀释倍数/样品重 g} \times 30 \text{ min}$ 。

### 1.2.4 标准曲线的制作

取 25 mL 的刻度试管 7 支, 按表 1 操作。

表 1 标准曲线的制作方法 (mL)

试 剂	管 号						
	0	1	2	3	4	5	6
麦芽糖标准液	0	0.2	0.6	1.0	1.4	1.8	2.0
蒸馏水	2	1.8	1.4	1.0	0.6	0.2	0
3,5-二硝基水杨酸溶液	2	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0

注: 置沸水浴中准确煮沸 5 min 取出冷却, 各管用蒸馏水稀释至 25 mL 处。

用分光光度计在 520 nm 波长下进行比色, 记录光密度值, 重复三次取其平均值, 以光密度为纵坐标, 以麦芽糖含量为横坐标绘制标准曲线。

## 2 结果与分析

### 2.1 匍匐茎淀粉酶活力测定结果

马铃薯早、中、晚品种匍匐茎不同部位按照 1.2.3 方法, 520 nm 吸光值通过标准曲线换算, 测得淀粉酶活力(见表 2)。表 2 结果表明, 不同品种不同生长时期匍匐茎内存在淀粉酶, 其活力呈现不同变化趋势。

表 2 匍匐茎淀粉酶活力测定结果

生长时间	部位	早	中	晚
T <sub>1</sub>	D <sub>1</sub>	1.431	5.130	1.585
	D <sub>2</sub>	2.074	6.376	1.686
	D <sub>3</sub>	3.059	7.924	2.080
T <sub>2</sub>	D <sub>1</sub>	1.933	4.607	1.939
	D <sub>2</sub>	2.416	5.733	2.158
	D <sub>3</sub>	3.542	7.382	2.526
T <sub>3</sub>	D <sub>1</sub>	2.436	4.346	2.249
	D <sub>2</sub>	3.079	5.452	2.424
	D <sub>3</sub>	4.145	7.000	2.892
T <sub>4</sub>	D <sub>1</sub>	2.355	2.476	3.172
	D <sub>2</sub>	3.000	4.125	3.642
	D <sub>3</sub>	4.024	5.472	4.300
T <sub>5</sub>	D <sub>1</sub>	2.134	1.833	4.326
	D <sub>2</sub>	2.757	3.481	4.889
	D <sub>3</sub>	3.803	4.607	6.135

注: T: 表示测定时间, T<sub>1</sub>~T<sub>5</sub> 代表马铃薯打破休眠长出匍匐茎后第 1-7 d, 第 8-15 d, 第 16-23 d, 第 24-31 d, 第 32-39 d; D: 表示取样部位距离块茎的距离。

## 2.2 不同品种、不同生长时期匍匐茎淀粉酶活力比较

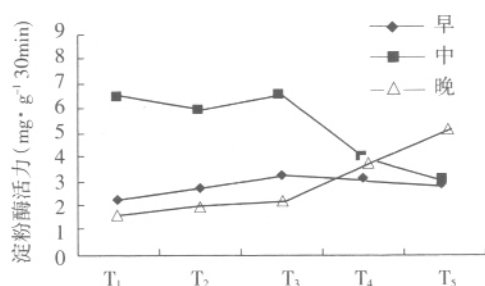
淀粉酶活力测定结果分析如表 3、4 所示, 不同品种马铃薯在匍匐茎伸长生长过程中淀粉酶活力差异达极显著 ( $P<0.01$ ), 如图 1 所示, 中熟品种在  $T_1$ - $T_3$  阶段显著高于早熟和晚熟品种,  $T_4$ - $T_5$  阶段各品种间无显著差异 ( $P<0.01$ ); 早熟品种萌发初期匍匐茎淀粉酶处于活跃状态, 在 16~23 d 间淀粉酶活力达到最高峰值, 而后随着匍匐茎的生长淀粉酶活力逐渐降低; 中熟品种在匍匐茎萌发起始淀粉酶活力达最高, 而后淀粉酶活力随着匍匐茎的生长而降低。晚熟品种在匍匐茎萌发起始阶段淀粉酶活力最低, 其后淀粉酶活力随着匍匐茎的生长而升高。

表 3 不同取样部位与不同品种间的方差分析

变异来源	DF	SS	MS	F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
部位间	3	158.896	52.965	45.231**	2.80	4.22
品种间	2	43.860	21.93	18.728**	3.19	5.08
距离×品种	6	7.026	1.17	0.747	2.29	3.20
误差	48	75.201	1.567			
总变异	59	284.983				

表 4 不同生长时期与不同取样部位间的方差分析

变异来源	DF	SS	MS	F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
生长阶段间	4	5.412	1.353	23.328**	2.58	3.78
品种间	2	43.859	21.930	378.103**	3.21	5.12
距离×品种	8	0.464	0.058	0.011	2.16	2.95
误差	45	232.350	5.163			
总变异	59	282.085				



注: T: 表示测定时间,  $T_1$ - $T_5$  代表马铃薯破休眠长出匍匐茎后第 1~7 d, 第 8~15 d, 第 16~23 d, 第 24~31 d, 第 32~39 d; D: 表示取样部位距离块茎的距离。

图 1 不同品种匍匐茎在不同生长时期淀粉酶活力变化

不同取样部位淀粉酶活力差异达极显著 ( $P<0.01$ ), 取样部位距离块茎的距离越远, 其淀粉酶活力越高, 即越靠近生长顶端淀粉酶活力越高, 如图 2 所示。

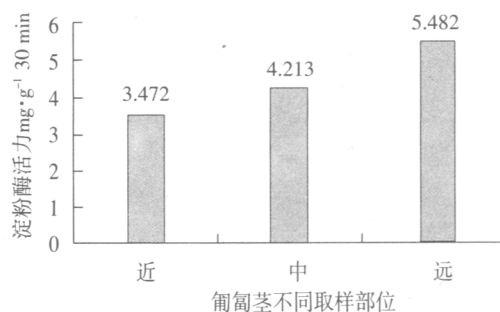


图 2 马铃薯匍匐茎不同取样部位淀粉酶活力

各品种不同生长时期淀粉酶活力差异达极显著 ( $P<0.01$ ), 其中, 中熟品种匍匐茎在形成的 1~23 d 阶段淀粉酶活力显著高于其后阶段 ( $P<0.01$ ); 与中熟品种相反, 晚熟品种匍匐茎在形成的 1~23 d 阶段淀粉酶活力显著低于其后阶段 ( $P<0.01$ ); 早熟品种匍匐茎在生长各阶段淀粉酶活力介于中熟和晚熟品种之间, 且其在生长各阶段淀粉酶活力差异不显著 ( $P<0.01$ ), 如图 1、3 所示。

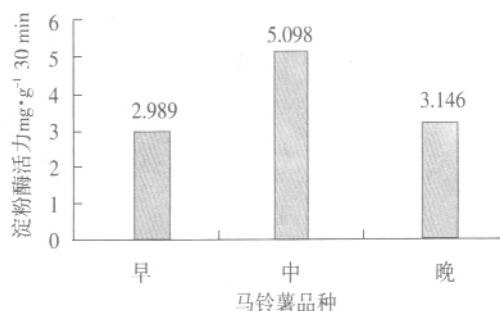


图 3 不同品种马铃薯匍匐茎淀粉酶活力

## 3 讨论

淀粉酶的生化作用主要是分解淀粉提供能量。本试验的测定结果表明: 在匍匐茎伸长生长过程中, 不同品种马铃薯, 淀粉酶活力具有显著的差异。早熟品种的酶活性随匍匐茎的伸长生长呈先增强后降低的趋势, 表明早熟品种匍匐茎生长到一定阶段, 其淀粉含量最高, 酶活性最大, 随着生长周期的延长, 完成了对匍匐茎生长所需的能量, 以后

淀粉的合成逐渐占主导地位, 则淀粉酶活力有下降的趋势。中熟品种随着匍匐茎的生长酶活性下降, 表明匍匐茎已经完成需要能量的生长期, 处于淀粉积累的过程, 因此淀粉酶活力逐渐降低。晚熟品种则恰恰相反, 酶活性呈上升的趋势, 表明淀粉酶正在将淀粉降解为糖供匍匐茎生长的能量所需, 匍匐茎处于生长旺盛时期。

马铃薯块茎的形成伴随着淀粉积累。块茎是匍匐茎顶端膨大的变态器官, 也是匍匐茎生长的营养来源。马铃薯植株上块茎的大小分布受多种因素影响, 但是匍匐茎的形成和发育是起决定性作用的, 它的数量、位置、发生时间及生长情况都将决定随后块茎的膨大和发育<sup>[9]</sup>。在匍匐茎顶端细胞生长需要能量时, 块茎中的淀粉被降解为蔗糖运输到匍匐茎顶端, 以供其生长能量所需, 形成淀粉积累, 此时则体现了匍匐茎距离块茎最远端为新陈代谢最旺盛的部位, 也是需要能量最高的部位。因此, 距块

茎最远端的部位淀粉酶活力最大。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] 姚新灵, 丁向真. 内源淀粉特性比较研究[J]. 世界科技与发展, 2001, 23(3): 48- 51.
- [ 2 ] Vreugdenhil D, Struik P C. An integrated view of the hormonal regulation of tuber formation in potato (*Solanum tuberosum*) [J]. *Physiol Plant*, 1989(75): 525- 531.
- [ 3 ] 蒙美莲. 马铃薯高淀粉生理基础的研究——叶片组织结构与淀粉积累的相关性[J]. 马铃薯杂志, 1999, 13(3): 136- 141.
- [ 4 ] 门福义, 郭淑敏, 刘梦芸, 等. 马铃薯高淀粉生理基础的研究——块茎淀粉含量与植株若干生理特性[J]. 马铃薯杂志, 1993, 7(1): 1- 6.
- [ 5 ] 张慧茹. 生物化学实验原理和方法[M]. 银川: 宁夏人民教育出版社, 1999: 121- 123.
- [ 6 ] Struik P C, Vreugdenhil D, Haverkort A T, et al. Possible mechanisms of size hierarchy among tuber on one stem of a potato (*Solanum tuberosum* L) plant[J]. *Potato Res*, 1991, 34: 187- 203.

## Comparison on Amylase Activities within Stolons of Different Potatoes

Yao Xinling, Li Zhuoya, Liu Jinfeng, Jia Huiping, Ding Haimai, Di Jianjun

( School of Life Science, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China)

**Abstract:** To screen whether there is starch synthesis within stolon before occurrence of tuberization, one way to do so is to check amylase activities during stolon growing. In this study, stolons from various varieties at the various growing stage were collected. Amylase activities within the stolons were measured. Data analysis showed that amylase activity in the early- maturing varieties occurred relatively earlier than others, and then kept stable or went down slowly. Amylase activity in the late- maturing variety appeared relatively later than others, then increasingly went up. Amylase activity gradually increased from the bottom to top of the stolon. As a result we conclude that amylase activity and its changes within stolons indicated that there is indeed starch biosynthesis within stolon. In addition, changes of amylase activity during stolon growing stages showed the mature- date of variety specific.

**Key Words:** stolon; amylase activities; growing stage; potato