

马铃薯炸片颜色分析及相关的分子标记研究进展

孔德男¹, 陈伊里¹, 金黎平²

(1. 东北农业大学, 哈尔滨 150030; 2. 中国农科院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要:人们评价薯片质量优劣的主要指标是薯片颜色的深浅。它受遗传、贮藏条件和加工工艺等因素的影响, 其中遗传因素起主导作用。本文在详尽论述影响颜色变化因素的作用机理的同时, 还比较总结了各研究所得结论之间存在的异同, 并专门就分子标记技术在选育炸片专用型品种的育种工作中所起到的作用进行了探讨。

关键词:马铃薯; 炸片颜色; 还原糖; 分子标记

中图分类号:S532

文献标识码:A

文章编号:1672-3635(2003)06-357-04

马铃薯作为休闲食品的消费量不断增长, 其中, 薯片以其食用方便、口感适宜和营养时尚的特点深受消费者尤其是年轻人的青睐。但是由于适于马铃薯炸片的品种专用性很强以及我国在专用型品种供应上的欠缺, 导致我国油炸薯片的生产发展缓慢。面对潜力巨大的薯片市场需求和国内专用型品种供应上的矛盾, 作为马铃薯育种工作的科研工作者既面临着令人欣喜的发展机遇, 也面临着选育炸片专用型品种的迫切需要。

1 炸片型品种的性状要求

19 世纪中叶, 北美就开始了马铃薯炸片加工, 炸片品种经过 120 多年的选育, 其炸片品质也有显著的改善, 目前世界上使用较多的炸片品种主要为 Atlantic(大西洋)、Snowden(斯诺登)、Norchip(诺切普)等, 日本主要使用“丰白”品种。一般要求加工型马铃薯品种和其它所有食用品种一样都应具有高产、抗病性强、抗逆性强、成熟期适中、耐贮运等性状^[1]。

炸片加工对块茎品质的要求: (1) 薯形: 薯块圆厚, 呈圆球形(由于薯片生产呈现大规模机械化生产, 为适应机械的要求和尽量减少边角料, 也有

人提出薯形为扁圆较好), 薯块大小以薯中央直径 50 ~ 76 mm、质量 100 ~ 180 g 为宜。(2) 薯皮薯肉: 表皮光滑且较薄, 颜色为乳黄色或黄棕色, 薯肉颜色为白色或乳白色。(3) 芽眼: 要求浅而少, 分布均匀, 不宜有芽缘及颜色。(4) 薯块的干物质含量和比重: 干物质一般应占 20% ~ 24%, 干物质含量较高可减少炸片内的含油量, 提高炸片的质量和产量。生产上一般采用测定比重来算出干物质含量, 炸片品种的比重要求高于 1.08。(5) 薯块还原糖含量: 还原糖含量愈低, 炸片的颜色愈好(愈浅), 理想的炸片品种的还原糖含量应为鲜重的 0.1%, 上限不宜超过 0.33%。(6) 薯块要求生长均匀, 无内外部缺陷、无空心、无开裂, 收获时无机械伤(切割、碰撞等)、无绿薯、无感病、无腐烂^[2,3]。

2 影响炸片颜色因素的分析

炸片颜色是人们对薯片品质好坏最直观的判别, 是评价马铃薯炸片品质优劣的主要指标^[4]。因此, 针对马铃薯炸片颜色展开的研究便具有重要意义。影响马铃薯炸片颜色的主要因素可以分为以下几类: ① 遗传因素; ② 贮藏条件; ③ 加工工艺及其它。

2.1 遗传因素

遗传因素是影响马铃薯炸片颜色的主要内因。Marquea 等(1986) 在马铃薯油炸过程中对马铃薯炸片颜色的形成进行研究认为, 还原糖含量的增加导致炸片颜色变深^[5], 而且还原糖和氨基酸两者同时

收稿日期: 2003-10-10

基金项目: 国家 863 计划 2001AA241133 资助项目。

作者简介: 孔德男(1979-), 男, 东北农业大学作物遗传育种硕士

研究生

参与了炸片颜色的形成, 还原糖含量是炸片颜色变化的一个限制性因素。薯片在油炸过程中, 还原糖与氮化合物的 α -氨基酸会发生“美拉德反应”(Maillard Reaction), 使薯片变为棕褐色。反应方程式为:



不同品种的还原糖含量不同, 遗传因素决定了块茎中还原糖含量的多少。

鉴定和选育一个品种是否适合进行炸片的主要考察指标就是还原糖含量的高低。因此可以说, 对炸片颜色进行改善的主攻方向和根本应放在遗传因素的研究上。同时, 它还制约和影响贮藏及加工过程中的颜色变化。

Loiselle 等 (1990) 利用不完全双列分析法对 8 个适于加工炸片的亲本材料, 进行炸片颜色遗传组成分析, 发现影响炸片颜色的遗传组成可分为“炸片综合加工能力”、“炸片颜色遗传稳定性”。炸片综合加工能力是最重要的遗传组成, 它能解释 75% 的炸片颜色初始遗传变异, 炸片颜色的遗传稳定性能解释 12% 的炸片颜色初始遗传变异。配合力对前两个成分和炸片颜色初始遗传变异都有影响, 炸片综合加工能力的遗传性主要受一般配合力的影响, 而遗传互作对于炸片颜色遗传稳定性更为重要^[6]。因此, 不能仅根据双亲的表现来推测后代炸片颜色的遗传稳定性, 在育种过程中, 必须先进行炸片综合加工能力的筛选, 在此基础上, 再按炸片颜色遗传稳定性进行筛选。江杰等 (2000) 利用二倍体进行遗传分析表明, 亲本炸片颜色差异明显的群体, 其颜色变异幅度和变异系数比亲本炸片颜色相近的群体的变异系数和变异幅度大, 说明炸片颜色的变异是由双亲的基因型决定的; 通过试验还得出, 炸片颜色值呈偏态分布, 炸片颜色遗传至少有两个以上的基因控制^[7]。Thill 等 (1994) 根据经典遗传学理论, 在二倍体水平上提出 3 个位点假说, 这 3 个位点即能控制炸片颜色的逆转, 也能影响到贮藏期间颜色的变化^[8]。Acctino (1973) 认为炸片颜色是高度遗传的, 并从二倍体水平上用传统遗传学方法提出炸片颜色受两个主效基因控制^[9]。

从以上的研究结论中可以发现, 控制炸片颜色的遗传位点 (基因) 至少是两个或两个以上。虽然

具体数目不能确定, 但是这对进一步的进行遗传分析和分子标记辅助选择 (MAS) 具有指导借鉴作用。

2.2 贮藏条件

每年 1~3 月份, 是马铃薯生产的淡季, 加工原料短缺, 因此为解决原料紧缺的问题, 块茎贮藏便成为马铃薯生产管理的重要环节。通常在贮藏过程中, 由于腐烂、发芽引起的损失占原料的 30%, 而低温贮藏则会导致马铃薯块茎内还原糖含量显著增加、加工品质变差。因此出现了低温贮藏与品质下降之间的矛盾。

贮藏时间的长短和贮藏温度两者之间的协调是关键的控制因素。石瑛等^[10] (2002) 对 13 个马铃薯品种的块茎在收获后的还原糖含量进行测定的结果表明: 各个品种块茎还原糖含量在收获后第一次测定时, 一般为最低, 经过一段时间的室温下回暖, 大部分品种表现为块茎还原糖含量比刚从贮藏窖中取出的低温贮藏的块茎还原糖含量低。屈冬玉等 (1996) 研究表明, 冷贮导致块茎中还原糖含量大幅提高, 色泽指数显著增大; 而回暖后, 还原糖含量下降, 色泽指数变小, 但不同的品种经不同的处理时间回暖效果不一^[11]。王合理 (1998) 测定了两个马铃薯品种在 4 °C 和 10 °C 低温贮藏条件下块茎的还原糖含量。其中品种 1 在 4 °C 和 10 °C 条件下, 还原糖含量变化差异不大, 品种 2 在 4 °C 下还原糖含量远远高于 10 °C 的处理。结果表明: 两个品种在低温条件下糖代谢机理不同^[12]。国外的许多研究显示, 10 °C 以下低温贮藏会导致还原糖含量增加, 10~12 °C 直接贮藏或回暖的还原糖含量会明显降低; 回暖的时间延长一些, 炸片的颜色也相应的有所改变, 时间长短一般为 8 d 或 8 d 以上较好。

综上所述, 国内外的研究得到的结论基本一致, 均是回暖有利于还原糖含量下降, 低温导致含量增加, 并且在诸多的研究中均提到了一点, 就是不同的品种对回暖处理的感受程度不同, 还原糖变化程度也不同, 可能是淀粉-糖转化机制存在差异。因此, 在选育适宜炸片的品种过程中, 不仅要选择还原糖含量低的, 而且要考察贮藏期间还原糖对回暖处理的敏感度, 保证经贮藏后的原料符合加工的标准, 提供低还原糖含量的马铃薯原材料。

2.3 加工工艺及其它

谢智明等 (1992) 对马铃薯炸片加工工艺中几个主要的参数进行研究, 油炸温度和油的种类对炸片颜色影响较大, 而切片厚度对炸片颜色影响较小。油炸温度在 160~180 °C 之间较合适, 一般趋向于 160 °C 左右; 油炸的时间不宜过长, 通常在 2~3 min, 主要是依据切片厚度而定; 油的种类以色泽浅的植物油如棕榈油为好, 研究表明氢化油与精炼油 1:1 配比较适宜^[13]。

除加工工艺外, 其它如在栽培过程中的氮肥施用量、土壤湿度, 块茎周围的二氧化碳和氧气的浓度, 以及落叶期的早晚等对炸片颜色也有影响。Roe 等 (1990) 对施用不同水平氮肥的马铃薯进行研究, 发现随着施用氮肥量的增加, 块茎中还原糖和自由氨基酸的含量均增加, 结果导致炸片颜色质量的下降^[14]; Kushman 等 (1959) 报道生长在高湿度的土壤中的马铃薯, 因土壤的通气性低, 而引起二氧化碳在马铃薯块茎中积累, 最终影响炸片的颜色。而且在中、高二氧化碳浓度结合低浓度的氧能引起炸片颜色变黑^[15]; Jewell 等 (1989) 研究认为, 早期落叶距收获期 0~10 d 会导致块茎中有较高浓度的还原糖积累, 而落叶期较晚能使块茎中还原糖水平保持最低, 且炸片颜色最淡^[16]。

从以上可以得知, 影响马铃薯炸片颜色变化的因素很多, 在育种过程中不仅要考虑遗传因素对其的影响, 更应兼顾除遗传因素以外的生产、贮藏和加工等其他因素的制约, 要综合考虑才能选育出符合产运贮销一体化的市场要求的品种。

3 相关的分子标记研究进展

马铃薯普通栽培种是高度杂合的的四倍体 ($2n=4x=48$), 利用常规的方法育种选育炸片品质和其它性状均优良的品种存在一定的难度, 随着分子生物学技术的发展, 人们有意识的将生物技术与常规方法相结合, 其中分子标记在马铃薯遗传育种中的应用更为人们所重视。它在马铃薯目的基因的标记、遗传图谱的构建和种质资源的研究等方面起到重要的作用, 为马铃薯遗传育种的辅助选择、性状遗传机制的研究和基因的定位分离奠定了基础^[17,18]。

分子标记技术有助于从 DNA 水平上寻找与炸片颜色连锁的遗传标记。Douches (1994) 利用二倍体群体进行炸片试验, 得到的炸片颜色变化范围

2~8, 平均为 5.5, 结合同工酶、RFLP 和 RAPD 三种遗传标记对控制炸片颜色的基因进行标记定位, 结果发现同一个同工酶位点和 12 个 RAPDs 与炸片颜色连锁, 6 个位点决定炸片颜色, 其中两个在染色体 2, 一个在染色体 4, 两个在染色体 5, 一个在染色体 10^[19]。Gounaris 等 (1993) 对低还原糖积累和高还原糖积累的两类品种进行线粒体 DNA 片段模式比较发现, 低还原糖积累品种的线粒体 DNA 片段模式有一额外的 3.7 kb 片段, 这在高还原糖积累品种的线粒体中没有发现, 而一个 4.2 kb 的线粒体 DNA 片段只在高还原糖积累的品种中出现, 而且这种差异是母性遗传所致^[20]。但是, 这两个片段是否存在相关性还不清楚, 也就不能说还原糖积累是由线粒体基因单独控制的。

由此可见, 马铃薯炸片颜色的遗传变异程度、控制基因的数目以及基因所在位置还不很确定, 但是, 从以上所有的研究中可以总结出的共同点是: 控制马铃薯炸片颜色的基因至少为两个或两个以上。根据炸片颜色是连续变异的数量性状的这一特点, 用单基因的效率来处理这些性状, 将复杂数量性状分解为单一的遗传组份, 用分子标记的技术对数量性状基因位点 (QTL) 作图, 找到与其紧密连锁的分子标记, 并将数量性状基因绘在连锁图上。QTL 定位就是采用类似单基因定位的方法将 QTL 定位在遗传图谱上, 确定 QTL 与遗传标记间的距离 (以重组率表示)^[21,22]。目前, 近等基因系分析法 (Near Isogenic Lines—NIL) 和群体分组分析法 (Bulked Segregant Analysis—BSA) 是对 QTL 进行快速标记和定位的有效方法^[23]。其中 BSA 能够克服一些作物很难获得近等基因系的限制 (比如马铃薯), 将分离群体中的个体依据被研究的目标性状分成差异极端显著的两组 (阴性一、阳性十), 每组群体中许多个体的 DNA 等量混合形成两个相应的 DNA 池 (比如抗病性状就可分为抗病池和感病池), 两个池之间的差异理论上主要就在目标基因区。利用此法鉴定与相关性状连锁的分子标记时, 所构建的 DNA 池的大小是评价标记及连锁度客观真实性的一个关键因素。Chuchill 等曾提出 DNA 池的大小主要取决与目的基因区域的标记位点的多少, 若密度较大, 如 0.16 cM/标记, 则个体数可以为 5 个, 若密度较小, 如 2.56 cM/标记, 则需要多达 40 个个体^[24]。江杰等 (2000)

认为, 选取炸片颜色最好和最差的 10 个单株, 构成阴性和阳性 DNA 池较为合理^[25]。

虽然影响马铃薯炸片颜色的因素比较复杂, 但可以肯定的是遗传因素起主要的作用。因此, 改善炸片颜色应以遗传研究为主攻方向。将分子标记与常规育种方法相结合, 利用 RAPD、SSR、AFLP 等方法寻找到与炸片颜色 QTL 相连锁的标记, 并定位于基因图谱上, 也就是利用已建立的基因图谱进行标记与 QTL 的连锁分析, 进而通过选择这些标记达到选择 QTL 的目的, 即所谓的标记辅助选择 (Marker assistant selection, MAS)^[26~28]。

4 结 语

目前马铃薯专用型品种的选育工作受到广泛关注, 尤其是适合于炸片的专用型品种。因此, 与之相关的基础性的研究也相继展开。这些研究不仅包括对影响颜色变化机理的生理生化方面的研究、传统的育种策略研究, 还包括了以生物技术 (如分子标记、转基因等) 为辅助手段与常规育种方法相结合的综合育种方法。如果能以经典遗传学理论和数量遗传学理论为依据, 结合分子标记的连锁遗传分析, 最终确定控制炸片颜色变化的基因数目和相对位置, 最终将复杂的数量性状剖分为若干离散的孟德尔因子所决定的组分, 进而确定其在染色体上的位置及其与其他基因的关系, 对其进行定位, 这将对品种的选育工作起到有益的前瞻性的指导作用。

参 考 文 献

- [1] 谢智明, 姚裕琪, 梁德霖. 马铃薯适于炸片品种及主要加工工艺参数德研究 [J]. 马铃薯杂志, 1992, 6 (4): 212—217.
- [2] 牛志敏, 兰青义. 马铃薯炸条、炸片资源材料筛选 [J]. 中国马铃薯, 2001, 15 (3): 156—157.
- [3] 魏明, 刘卫民. 影响马铃薯炸片品质的因素 [J]. 云南农业科技, 2001, 4: 11—13.
- [4] da Pereira A S. Inheritance patterns of reducing sugars in potato tubers after storage at 12°C and 4°C followed by reconditioning [J]. American Potato Journal, 1993, 70: 71—76.
- [5] da Pereira A S. Quality and stability potato chips. Horticultura Brasileira, 1997, 15 (1): 62—65.
- [6] Loiselle F, Tai, G C C, Christie, B R. Genetic components of chip color evaluated after harvest, cold storage and reconditioning [J]. American Potato Journal, 1998, 75: 27—36.
- [7] 江杰. 二倍体马铃薯炸片颜色的遗传分析及 RAPD 标记 [D]. 2000, 6.
- [8] Thill C A, Peloquin S J. A breeding method for accelerated development of cold chipping clones in potato. Euphytica, 1995, 84: 73—80.
- [9] Acetino P L. Inheritance of the potato chip color at the diploid and tetraploid levels of ploidy. University of Wisconsin—Madison [9], 1973, 62.
- [10] 石瑛, 秦昕, 卢翠华, 等. 不同马铃薯品种贮藏期间还原糖及干物质变化 [J]. 中国马铃薯, 2002, 16 (1): 16—18.
- [11] 屈冬玉, 纪颖彪, 杨宏富, 等. 筛选适应于低温贮藏的马铃薯加工品种 [J]. 马铃薯杂志, 1996, 10 (1): 13—16.
- [12] 王合理. 低温对马铃薯块茎呼吸及糖代谢的影响 [J]. 马铃薯杂志, 1999, 13 (3): 133—135.
- [13] 谢智明, 姚裕琪, 梁德霖. 马铃薯适于炸片品种及主要加工工艺参数德研究 [J]. 马铃薯杂志, 1992, 6 (4): 212—217.
- [14] Roe M A. Role of reducing sugars and amino acids in fry color of chips from potatoes grown under different nitrogen regimes. J Sci Agric, 1990, 52: 207—252.
- [15] Kushman L J, Hruschka, H W. The effect of wet soil and carbon dioxide on potato chip color and sugar content [J]. American Potato Journal, 1959, 36: 450—456.
- [16] Jewell John, Simon Johnson. The influence of defoliation date and harvest interval on the quality of potato for French fry production. Potato Research, 1989, 32: 431—438.
- [17] 戴朝曦. 生物工程技术在马铃薯遗传育种研究中的应用 [J]. 马铃薯杂志, 1991, 5 (3): 161—166.
- [18] 罗林广, 王新望, 罗绍春. 分子标记及其在作物遗传育种中的应用 [J]. 江西农学报, 1997, 9 (1): 45—54.
- [19] Douches D S, Freyre, R. Identification of genetic factors influencing chip color in diploid potato [J]. American Potato Journal, 1994, 71: 581—590.
- [20] Gounaris Y. Comparison of restriction patterns of mitochondrial DNA from low and high sugar accumulating cultivars. J Plant Physiology, 1993, 141: 423—427.
- [21] 李宏. 数量性状基因座 (QTL) 定位的研究进展 [J]. 渝州大学学报, 2002, 19 (3): 8—13.
- [22] 刘会英, 张琴, 张沅. 标记与 QTL 不完全连锁下标记辅助选择下的相对效率 [J]. 科学通报, 2001, 46 (15): 1268—1273.
- [23] 张小明, 李春寿, 叶胜海. 混合分组分析法在作物基因定位上的研究进展 [J]. 上海农业学报, 2002, 18 (3): 24—27.
- [24] Churchill M R. Isolation, characterization and mapping of SSR loci in potato. Mol Gen Genet, 1998, 259: 233—245.
- [25] 江杰, 屈冬玉, 金黎平, 等. 马铃薯炸片颜色的研究进展 [J]. 马铃薯杂志, 1999, 13 (3): 175—181.
- [26] 裴德翠. AFLP—DNA 指纹分析的有力手段 [M]. 微生物学免疫学进展, 2003, 30 (3): 66—70.
- [27] 杨文鹏. DNA 分子标记及其在遗传育种中的应用 [J]. 种子, 1997, 2: 30—35.
- [28] 任军, 黄路生. 扩增片段长度多态技术及其在遗传分析中的技术 [J]. 中国农学通报, 1998, 14 (3): 7—10.