

中图分类号: S532; S332.9 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2012)02-0108-07

综 述

马铃薯抗低温糖化育种研究进展

吴艳倩¹, 徐建飞², 马丽娜¹, 金黎平^{2*}, 王凤义^{1*}

(1. 东北农业大学农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要: 马铃薯块茎储藏期间的低温环境可导致块茎的糖化, 进而影响马铃薯炸片和炸条品质, 培育抗低温糖化的马铃薯品种对于改良种质资源有着重要的意义。然而, 低温糖化产生的生理学机制是一个很复杂的过程, 近年国内外研究者在马铃薯低温糖化育种上取得了很大的成就, 具体包括在低温糖化生理研究机制方面、育种材料的改良方面、传统育种和基因工程育种等方面, 本文对这些显著成就进行综述, 希望为马铃薯抗低温糖化育种提供参考。

关键词: 马铃薯; 低温糖化; 种质资源; 育种; 基因工程

Advance in Potato Breeding for Resistance to Cold-induced Sweetening

WU Yanqian¹, XU Jianfei², MA Lina¹, JIN Liping^{2*}, WANG Fengyi^{1*}

(1. College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China;

2. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Cold-induced sweetening (CIS) caused by sugar accumulated in tubers during storage at low temperatures can result in a poor-quality of chipping and French fries. Thus, it is important to improve potato breeding on CIS tolerance. However, physiological mechanism of CIS is a complicated progress, which is not very clear yet. In this paper, we reviewed the achievements of potato breeding for CIS tolerance, which contained researches of physiological mechanism of CIS, improvements of potato germplasm resource, achievements of traditional potato breeding and genetic engineering assisted breeding in recent years, and we hope to give helpful information to other breeders who worked on CIP breeding.

Key Words: potato; cold-induced sweetening; germplasm resource; breeding, genetic engineering

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是茄科茄属一年生双子叶植物, 以块茎作为食用器官, 是总产量和栽培面积仅次于小麦、水稻的世界第三大粮食作物^[1]。其加工产品薯条和薯片风靡全球, 同时加工用马铃薯也是提高马铃薯附加值的重要途径。

马铃薯块茎低温糖化(Cold-induced sweetening), 指低于 10℃贮藏条件下导致块茎中的淀粉加速转化为还原糖的过程, 即块茎在低温条件下贮藏还原糖含量增加的现象。对于加工用马铃薯来说, 块茎在

低温条件下储藏时产生的低温糖化反应, 直接结果就是导致炸片和炸条颜色变深, 严重影响其加工品质, 因此, 改良现有品种, 培育抗低温糖化的马铃薯品种具有很重要的意义。

1 马铃薯低温糖化及其原因

马铃薯低温糖化本质上是一种有益于块茎细胞抵御低温损害的防御机制, 低温条件下马铃薯块茎中细胞内淀粉降解和还原糖积累是一种抗逆反应的表现。

收稿日期: 2011-12-28

基金项目: 农业部薯类作物生物学与遗传育种重点实验室和现代农业产业技术体系专项(CARS-10)。

作者简介: 吴艳倩(1986-), 女, 蒙族, 硕士, 研究方向为作物遗传育种。

* 通信作者(Corresponding author): 金黎平, 研究员, 主要从事蔬菜遗传育种研究, E-mail: jinlp@mail.caas.net.cn; 王凤义, 教授, 主要从事马铃薯遗传育种与栽培生理的研究, E-mail: fywang@neau.edu.cn。

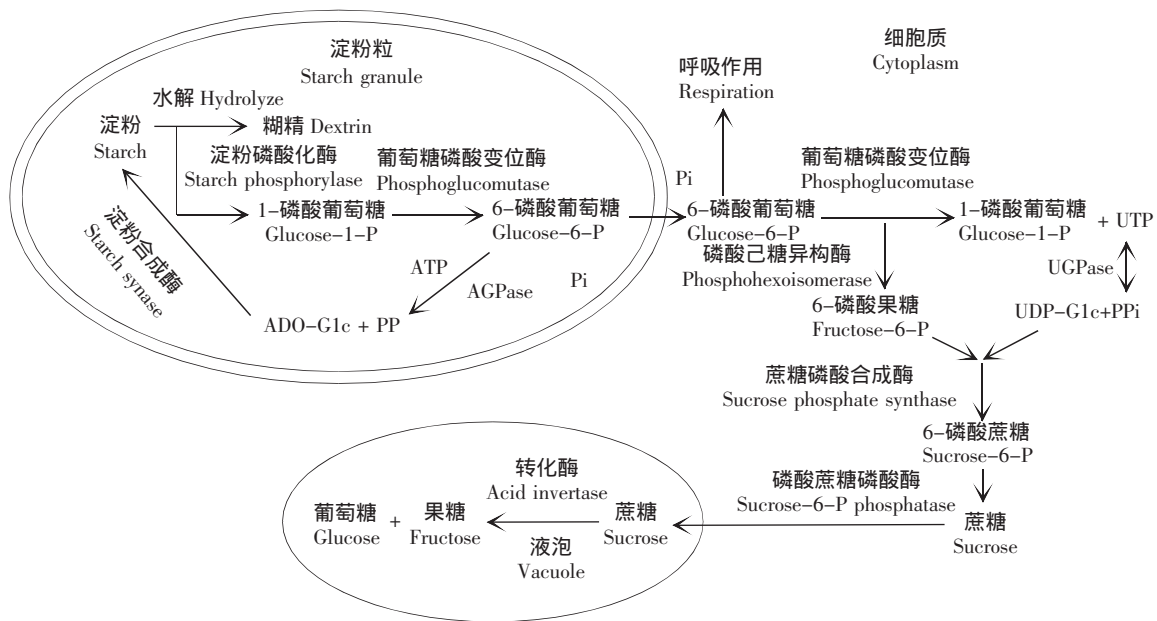


图1 马铃薯块茎碳水化合物循环

Figure 1 Carbohydrate pathway associated with cold-induced sweetening in potato tubers

1.1 低温糖化过程中碳水化合物代谢相关酶的活性变化

马铃薯碳水化和物代谢过程复杂, 涉及的酶有多种(图1)。腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(ADP-glucose pyrophosphorylase, AGPase)由不同基因编码的大、小亚基组成, 小亚基主要调控其活性^[2]。AGPase 催化 1-磷酸葡萄糖(Glucose-1-P, G-1-P)生成腺苷二磷酸葡萄糖(ADP-glucose, ADP-Glc), 其反应过程需要消耗 ATP 并放出焦磷酸(PPi)^[3]。ADP-Glc 是淀粉合成酶的底物, 在冷胁迫下, 细胞生物体膜选择通透性功能遭到破坏, 活性被抑制, 使基质内的一些离子特别是无机磷(Pi)从发生渗漏的液泡膜渗透到细胞质最后运输到淀粉体内, 由于无机磷对AGPase的催化活性有抑制作用^[4], 从而抑制了AGPase介导的淀粉再合成作用, 同时又促进淀粉磷酸化酶(Starch phosphorylase, SP)活性, 加速淀粉降解, 最终造成还原糖的积累。

尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(UDP-glucose pyrophosphorylase, UGPase)是催化低温糖化第一步的酶, 正反催化 UTP 和 G-1-P 合成尿苷二磷酸葡萄糖(UDP-glucose, UDP-Glc)和焦磷酸(Pyrophosphoric acid, PPi)。UGPase 还和淀粉粒中的 AGPase 偶联, 参与淀粉造粉粒的形成。UDP-Glc是植物体内合成多糖的间接或直接前体, 作为蔗糖的供体参与植物细胞内的各种反应。试验表明在 4℃条件下储存的

马铃薯块茎里 UGPase 的 mRNA 含量稳定上升^[5]。在低温胁迫下马铃薯块茎细胞质内的 UDP-Glc 与 6-磷酸果糖(Fructose-6-P, Fru-6-P)经磷酸蔗糖合成酶(Sucrose phosphate synthase, SPS)催化形成 6-磷酸蔗糖(Sucrose-6-P, Suc-6-P), 最终导致蔗糖转化出的还原糖的大量积累, 因为 Suc-6-P 的积累为磷酸蔗糖磷酸酶(Sucrose-6-phosphate phosphatase, SPP)脱磷酸产生自由态蔗糖提供了充足的底物。

转化酶(Invertase, Inv), 又称蔗糖转化酶, 在植物细胞内分 3 种形式存在, 可分为中性(或碱性)转化酶、液泡转化酶和胞壁转化酶。液泡转化酶和胞壁转化酶统称酸性转化酶, 中性转化酶是可溶性酶位于细胞质中。在低温些条件下, 马铃薯块茎中的酸性转化酶催化蔗糖分解成大量的葡萄糖和果糖, 因此, 转化酶是马铃薯块茎低温糖化的关键酶。

1.2 淀粉粒结构的变化

马铃薯块茎富含淀粉, 在自然界中淀粉可以看成是葡萄糖的一种储藏方式。马铃薯块茎内淀粉由支链淀粉与直链淀粉组成, 分别构成淀粉粒的结晶区与无定型区, 结晶区的稳定性由于氢键数较多而相对稳定, 前者为热敏型, 后者为酶敏型。淀粉由酸或酶水解为葡萄糖: 淀粉 > 糊精 > 麦芽糖 > 葡萄糖, 与淀粉分解相关的酶有淀粉磷酸化酶(L型与H型)、α-淀粉酶、β-淀粉酶, 而在马铃薯低温糖化中, 淀粉的分解大多认为直链淀粉水解是次要作用,

因为在低温储藏后没有找到麦芽糖上升的证据, 而观察得到首先积累的是蔗糖^[6-7]。同样有试验证明, 易低温糖化马铃薯品种的块茎淀粉粒结构中无定型区较多, 结构不稳定^[8]。

1.3 呼吸作用的减弱

淀粉经酶解产生的磷酸葡萄糖可以通过 1-磷酸葡萄糖变位酶和磷酸己糖异构酶的催化作用生成磷酸果糖, 参与糖酵解过程, 进而参与组织的呼吸作用释放能量。在磷酸葡萄糖的浓度相对低的时候, 磷酸葡萄糖进入呼吸链的方向进行, 然而马铃薯块茎在低温条件下, 由于淀粉的酶解水平增加以及 AGPase 催化合成淀粉的途径受到抑制, G-1-P 的浓度大幅度上升, 最终导致 UDPase 催化产生蔗糖合成的中间底物 UDPG^[9], 而相对的呼吸作用受到了抑制。

2 马铃薯抗低温糖化种质资源

2.1 马铃薯育种材料获取

马铃薯不是起源于我国的作物, 迄今只有近 400 年的栽培历史^[10], 种质资源的收集主要依靠国外引进和国内种质资源的创新, 所以我国资源库内保存的资源主要以四倍体普通栽培种为主。四倍体马铃薯($2n = 4x = 48$)的四倍体遗传和高度杂合以及其近交退化导致对马铃薯进行分子遗传分析十分困难, 并无法形成纯合的自交后代。在自然界中马铃薯大多以二倍体形式存在, 在结块茎马铃薯种中, 二倍体种约占 74%^[11], 野生二倍体马铃薯种有很多优良品质如高干物质含量、低还原糖含量、耐低温糖化等优良的加工品质性状^[12], 寻找和利用以及导入野生二倍体马铃薯中的耐低温糖化基因^[13-14]到现有四倍体栽培种中, 是品种资源改良与创新的重要途径之一。

然而, 二倍体野生种和四倍体栽培种间存在杂交不育, 为了使父母本胚乳平衡数的比值相同, 人们利用秋水仙素进行染色体加倍, 从而使胚乳平衡数达到适合的比例, 或者使四倍体进行孤雌生殖, 获得远缘杂交品种, 这又丰富了杂交亲本的间的差异数量和差异广泛程度。2009 年, Jansky 等^[15]利用超抗低温的野生二倍体 *S. raphanifolium* 与普通栽培种诱导产生的双单倍体杂交, 获得了三个优质的育种亲本材料。

二倍体马铃薯($2n = 4x = 24$)遗传背景相对简单,

这样就方便了进行基因定位, 大多将四倍体马铃薯诱导产生高度自交不亲合的二倍体作为父母本^[16-18], 产生 F₁ 分离世代来进行连锁图谱的构建。2010 年, 石伟平^[19]在二倍体水平上, 利用低温储藏后还原糖较低的 *S. berthaultii* 为父本与含有 *S. phureja*、*S. vernei*、*Katahdin* 血统的二倍体材料杂交建立马铃薯遗传分离群体, 群体中还原糖含量在低温储藏后存在明显的遗传分离, 而且变异范围超出亲本材料, 是很好的构建连锁图谱的分离群体。

2.2 马铃薯育种材料的种类

在薯块种类上, 运用马铃薯微型薯和试管薯进行抗低温糖化鉴定, 这种表现型鉴定的方法有节省成本的优点, 因为试管薯、微型薯生产全来自试管苗, 比直接种植微型薯到田间再进行鉴定减少了一季繁殖的时间, 同时也节约了种植成本。2002 年, Xiong 等^[20]研究发现, 微型薯进行马铃薯块茎低温糖化时, 其葡萄糖含量高于田间收获的块茎和试管薯, 但是田间收获的马铃薯块茎在低温处理下其葡萄糖含量与微型薯和试管薯关联度很高, 而在低温处理后试管薯和微型薯的蔗糖含量与田间收获的马铃薯块茎关联度很高, 但是总糖含量关联度不高。微型薯作为鉴定材料可省去很多时间和成本, 但是在某些数量性状鉴定上也不能全部运用。

3 马铃薯抗低温糖化传统育种

马铃薯低温糖化育种的常规育种手段包括: 引种、杂交育种。由于中国不是马铃薯的起源地, 引进国外的种质资源或品种, 直接种植驯化, 形成适合当地气候种植的栽培品种是早期育种的主要手段。国内的抗低温糖化育种起步较晚, 利用杂交育种也取得了一定的成果, 2006 年, 东北农业大学的石瑛等^[21]利用常规育种, 培育了一批抗低温糖化的育种材料。2008 年, 孙清华^[22]通过杂交获得 25 个抗低温糖化无性系材料, 但由于传统育种周期长, 效率相对较低, 至今没有育成品种。

国外马铃薯抗低温糖化育种有很多成果, 俄罗斯获得如拉民斯基、有效、波洛尼兹基几个亲本材料, 在 3℃ 条件下贮藏后, 温度升至 8℃, 还原糖含量基本不变。以拉民斯基为亲本之一的杂种后代中有 20% 的后代抗低温糖化^[23]。2011 年, Jansky 等^[24]利用二倍体野生种 *S. raphanifolium* 资源将抗低温糖化的基因导入到了 5 个四倍体无性系中, 并通过 7

年的田间种植证明其对低温糖化的抗性稳定一致, 无性系 M1 的薯块为白色、圆形、且较小, 但有较高的单株结薯数; 无性系 M2 薯块为黄褐色、圆形, 此无性系为全同胞家系; 无性系 M3 薯块为黄褐色、长条形; 无性系 M4 薯块为白光、圆形, 有着中等大小的薯块和中等的单株结薯数; 无性系 M5 薯块为白色、圆形、轻微起皮, 薯块大小和单株结薯数适中。这五个无性系都有较高的块茎比重, 父母本的亲本配合力较高, 并且在二倍体野生种质资源特性保存最高的无性系(M1、M2、M3)低温储藏后的炸片颜色最浅, 这些都是较好的低温糖化育种资源。美国育种家利用常规方式, 也取得了一定的成绩, 近两年育成的抗低温糖化马铃薯品种有 Premier Russet、Clearwater Russet、White Pearl、Dakota Pearl、Ivory Crisp、DakotaDiamond^[25-30]。

4 基因工程技术在抗低温糖化育种上的应用

随着植物基因组学的发展以及马铃薯全基因组测序的完成, 利用分子标记技术构建遗传图谱并对低温糖化相关 QTL 进行定位, 进而开展分子辅助育种, 将有助于显著提高育种效率, 加快马铃薯优良新品种的选育进程。同时, 将基因工程技术应用到马铃薯上克隆马铃薯抗低温糖化基因, 也有很广泛的应用。生物技术应用流程大多是定位、分离、导入马铃薯抗低温糖化基因到综合表现好的现有品种中, 改良现有的加工品种的综合表现。

4.1 抗低温糖化基因或 QTLs 定位和克隆

多年来在进行马铃薯低温糖化相关 QTL 定位工作一直处在初步定位以及功能图谱的建立阶段。2001年, Chen 等^[31]利用 69 个基因型组成的群体建立了一个与碳水化合物相关的 RFLP 功能图谱, 这些位点与低温糖化有很高的关联。2008 年, Li 等^[32]利用 SSCP、SSR、SCAR 标记构架了马铃薯分子连锁图谱, 并且将糖分代谢和转运、炸片相关候选基因定位到第 II、III、V、VII、VIII、X、XI 号染色体上, 发现大部分影响马铃薯收获后炸片颜色的相关等位基因与马铃薯低温储藏后影响炸片颜色相关等位基因相同。其中 10 个等位基因共同解释了收获后炸片颜色变异的 39.7%, 8 个等位基因共同解释了低温储藏后炸片颜色变异的 49.0%。2010 年, 单友蛟等^[33]利用父母本经低温储藏后还原糖差异明显的两个材料做为父母本构建了马铃薯 SSR 分子遗传图

谱, 虽然没有对低温糖化性状进行 QTL 定位, 但对二倍体马铃薯单株结薯数、单株产量、单个块茎重、块茎比重和炸片颜色进行 QTL 定位及遗传效应研究, 本实验室将利用这个群体继续对低温糖化相关 QTL 进行定位。2011 年, Baldwin 等^[34]利用早期测定的性状数据构建连锁图谱, 证明 *EC2.7.7.9* 和 *EC2.7.7.9* 是两个与马铃薯低温糖化相关的基因, 这表明生物技术在这个信息高速传递的年代, 育种家可以利用不同时期的不同实验室的数据, 进行相互合作。

马铃薯为同源四倍体植物, 在对数量性状相关基因进行分子和功能描述时应考虑到马铃薯杂交特性带来的基因漂移的作用。2010 年, Astrid 等^[35]利用数据库中 5 个马铃薯转化酶的全长 cDNA 片段设计出引物, 并结合 3 个四倍体群体和 3 个二倍体群体, 其中包括一个二倍体马铃薯低温糖化的 QTL 作图群体进行 SNP 位点分析^[36], 发现了很多与低温糖化相关的新 SNP 位点, 并证明 5 个转化酶在不同群体中以及相互之间有先天的变异与差异, 这种变异来自马铃薯先天的杂交特性, 这一发现为弄清马铃薯转化酶基因的遗传特征做出很大贡献。

但到目前为止, 进行马铃薯低温糖化相关基因的图位克隆的还没有进行报道。以往构建连锁图谱的群体大部分都是二倍体杂交产生 F1 代群体或者四倍体回交群体, 然而新的作图方法, 连锁不平衡作图能利用具有广泛基因型的群体材料作为作图群体。2009 年, Karolina 等^[37]利用此类型的两个群体定位了田间抗马铃薯晚疫病的相关基因, 发现编码丙烯氧化合成酶相关基因位点与晚疫性抗病性相关, 解释 50% 的变异, 这也给马铃薯低温糖化相关基因定位提供了新的思路。

马铃薯抗低温糖化能力存在剂量效应(Dosage effects)。马铃薯 QTL 定位只能找到与相关性状连锁的分子标记, 但马铃薯作为同源四倍体, 其等位剂量效应(Allele-dosage effects)应当在决定表型差异上起到更大的作用, 在茄科作物中, 已经发现了许多基因具有等位剂量效应, 包括一些发育过程的重要调节基因, 如番茄果实大小基因 *fw2.2*^[38]。高分辨 DNA 熔解(High-resolution DNA melting, HRM)技术是进行马铃薯图位克隆的新方法, 通过此技术进行的候选基因分析相比常规的 PCR 方法能提供更多的信息, 尤其是在剂量效应分析上。2010 年, Koeyer

等^[39]正在利用 HRM 技术研究了 AGPase 候选基因与低温糖化数量性状位点间的关系, 并证明此技术有很好的应用性。

利用 DNA 分子标记进行马铃薯低温糖化相关性状和相关基因的遗传效应分析还是一个较新的尝试。在植物遗传学的研究方面, 马铃薯栽培种作为四体遗传的作物, 其遗传变异非常复杂。传统研究方式集中在配置不同父母本的杂交组合, 最后进行遗传效应研究大多处在配置杂交组合, 检测遗传效应, 并将数量性状表型的总效应和总方差分解为基因型 (Genotype)、环境 (Environment)、加性 (Additive)、显性 (Dominant)、上位性 (Epistasis) 和多效性 (Pleiotropy) 等不同的效应分量, 并在此基础上估计了遗传率 (h_N^2) 和遗传相关等参数^[40]。2010 年, Li 等^[41]利用一个由 243 个个体组成的群体, 分析了此群体马铃薯低温糖化候选基因和相关数量性状的双向上位效应, 为马铃薯作图群体数据的后续利用提供了一个全新的出发点。

4.2 利用基因沉默抑制低温糖化

抑制相关基因的表达, 是马铃薯低温糖化基因克隆常用的手段, 抑制对象主要集中在糖化过程中关键的几个酶上, 在低温胁迫下, 马铃薯中糖分积累与代谢相关酶活性的改变有很大的关系。AGPase、UGPase、蔗糖合成酶 (Sucrose synthase, SuSy) 的活性和还原糖成分含量成负相关^[42], 而存在液泡中的转化酶 Acid Inv 和 Alkaline Inv 的活性与块茎还原糖含量成正相关^[43-44]。

对酸性转化酶基因的研究至今为止还不是非常全面, 目前发现的相关基因有 6 个 (4 个细胞壁转化酶基因, 2 个液泡转化酶基因)^[45]。2007 年, 郭志鸿等^[46]应用 ihpRNA 介导基因沉默的方法, 通过对酸性转化酶沉默获得抗低温糖化的马铃薯育种材料。同年, 张迟^[47]证明低温导致的块茎还原糖积累可能主要来自于蔗糖分解途径, 而不是淀粉降解。2010 年, Bhaskar 等^[48]证明抑制液泡转化酶可以抑制马铃薯低温糖化, 并培育出转基因植株。2011 年, Liu 等^[45]抑制液泡转化酶 StvacINV1 的表达抑制马铃薯低温储存后还原糖的含量上升。转化酶抑制基因在其他植物中都有发现包括烟草、拟南芥、甘薯、大豆、玉米、水稻和番茄^[49-55], 但并没有文献报道在马铃薯中完全的克隆出来。2011 年, Brummell 等^[56]将抑制液泡转化酶基因表达的基因 *INH1* 和 *INH2* 导入到

马铃薯中, 发现对块茎的低温糖化有抑制作用, 编码蛋白与同为茄属的烟草液泡转化酶编码的蛋白相似性很高。马铃薯低温糖化在糖分转化上、运输上、基因表达上都是复杂过程, 在低温胁迫下, 植物通过很多方式调控其基因的表达从而调节体内的糖分含量。调控单个基因的表达的机制共有三个: 可变转录起始、选择性剪接的外显子、可变翻译起始^[57-59]。在抗低温糖化的马铃薯中经常会观察到增加的 RNA 剪接活动, 这很可能是解释低温糖化现象以及克隆低温糖化相关基因的又一个途径。

以往的研究表明, 控制 UDPase 的基因在一个特定的物种中只存在一个^[60]。例如, 人类基因组中只有一个控制合成 UDPase 的基因, 这表明会有两个不同的 mRNA 产生^[61], 在二倍体水稻^[62]和粘液菌^[63]中有两个控制合成 UGPase 等位基因而在四倍体的马铃薯中, 在每一个染色体组的基因组中第 11 条染色体上都会有一个 UDPase 基因, 从这个角度说, 控制合成 UDPase 的基因在马铃薯有可能有 4 个结构不同的等位基因存在一个基因位点上^[64]。2008 年, Gupta 等^[65]发现两个与编码 UDPase 相关的基因 *UDP5* 和 *UDP6*, 这两个基因很可能是来自一个基因位点的两个等位基因, 因为编码他们的基因差异微小。来自抗低温糖化品种 Snowden 的 *UDP5* 基因和来自不抗低温糖化品种 Norchip 的 *UDP3* 基因差异只表现在 5 个单核苷酸水平上, 然而与酶反应底物 Glc-1-p 的关系却有着差异。这些发现都为成功的研究低温糖化机理以及培育抗低温糖化马铃薯品种打下基础。

2006 年, 宋波涛^[66]克隆了与 AGPase 相关的基因, 并证明低温储藏后的薯块中其表达水平影响了贮藏期间块茎的 AGPase 酶活性, 进而调控了块茎还原糖的累积, 对改良块茎抗低温糖化性状具有显著的效果。

SPP 是催化合成蔗糖的关键酶, 催化磷酸蔗糖转化为蔗糖。当糖酵解受抑制以及磷酸已糖积累后, 通过蔗糖磷酸合成酶可以形成大量磷酸蔗糖, 很多人猜测丰富的蔗糖合成的底物可能是蔗糖积累的关键, 然而 2008 年, Chen 等^[67]用反义 RNA 技术沉默了 SPP 的表达, 但结果发现低温胁迫下蔗糖含量依然高于极限值的 5 倍。这表明, SPP 可能在低温糖化中的作用很小, 目前克隆和转化此基因的研究较少。

5 问题与展望

马铃薯的低温糖化的代谢调控方式一直被前人研究^[68], 但由于其是一个复杂的生理生化过程, 都没有可靠的定论, 并且还原糖的含量除了由基因型决定外还由其他因素决定, 如与生长的环境^[6, 69]、收获时期、收获成熟度相关, 致使马铃薯抗低温糖化育种没有飞跃的发展

在方法上, 构建连锁图谱是现在进行 QTL 定位的主要方法, 但是它也有一定缺点: (1) 需要构建作图群体花费时间; (2) 进行 QTL 分析时, 那些在双亲间没有显著的差异但是却控制着数量性状的基因很容易被忽视, 微效基因容易被忽视。

基因工程技术的应用主要集中在几个与低温糖化相关酶调控的研究上, 不同实验室研究范围的重叠性很高, 并且低温糖化的机理研究与基因克隆经常是同步进行研究, 导致机理不明的情况下做出错误的判断。部分的调控相应酶的基因来自其他物种, 即使是来自相近科属的物种, 也会导致转基因隐患, 虽能取得科研成果, 应用阶段会遇到各种审批上的困难。

问题的存在留给育种家很多提高的空间, 不同育种家之间的信息可以互相交流, 共享育种材料, 生理生化机理研究的结果以及性状的测定可以结合到分子辅助育种中, 进而进行基因的精细定位以及克隆。随着马铃薯全基因组测定的完成, 围绕全基因组进行低温糖化的图位克隆的方法方便了育种家的工作。育种家可以利用根据功能基因开发出来的、产生变异对目标的表型有很明显影响的多态性分子标记, 也可以根据已知序列的 cDNA 片段氨基酸序列设计出引物, 结合表型评价数据, 对目标性状和基因序列信息进行连锁不平衡的关联分析, 从而找到证明候选基因的可用性。

[参 考 文 献]

- [1] Bhaskar P B, Venkateshwaran V, Jiang J, et al. Agrobacterium-mediated transient gene expression and silencing: a rapid tool for functional gene assay in potato [J]. PLoS ONE, 2009, 4(6): 5812.
- [2] Slattery C J, Kavakli I H, Okita T W. Engineering starch for increased quantity and quality [J]. Trends in Plant Science, 2000: 291–298.
- [3] Tuncel A, Kavakli I H, Keskin O. Structure prediction of potato large subunit ADP – glucose pyrophosphorylase [J]. BIOCOMP, 2006: 315–321.
- [4] Ballicora M A, Laughlin M J, Fu Y B, et al. ADP glucose from potato tuber. Significance of the N – terminal of the small subunit for catalytic properties and heat stability [J]. Plant Physiology, 1995, 109, 245–251.
- [5] Zrenner R, Willmitzer L, Sonnewald U. Analysis of the expression of potato uridinediphosphate – glucose pyrophosphorylase and its inhibition by antisense RNA [J]. Planta, 1993, 190(2): 347–252.
- [6] Morell S, Rees T A. Control of the hexose content of potato tubers [J]. Phytochemistry, 1986, 25: 1073–1076.
- [7] Mares D J, Sowokinos J R, Hawker J S. Carbohydrate metabolism in developing potato tubers [J]. Potato Physiology, 1985: 279–327.
- [8] Leazkowiat M J, Yada R Y, Coffin R H, et al. Starch geletinization cold temperature –sweetening resistant potatoes [J]. J food sci, 1990, 50(5): 1388–1340.
- [9] Sowokinos J R, Spychalla J P, Desborough S L. Pyrophosphorylases in *Solanum tuberosum* (IV. purification, tissue localization, and physicochemical properties of UDP-glucose pyrophosphorylase) [J]. American Society of Plant Biologists, 1993, 100(3): 1073–1080.
- [10] 李军. 马铃薯种质资源收集、保存、鉴定与利用[C]. 中国农业科学院 2005 年多年生和无性繁殖作物种植资源共享试点研讨会, 2005.
- [11] Hawkes J G. The potato: evolution, biodiversity and genetic resource [J]. Oxford: Belhaven Press, 1990: 198–211.
- [12] Sliwka J H, Jakuczun R, Lebecka W, et al. Tagging QTLs for late blight resistance and plant maturity from diploid wild relatives *Solanum verrucosum* and *S. microdontum* in a cultivated potato (*S. tuberosum*) background [J]. Theor Appl Genet, 2007, 115(1): 101–112.
- [13] Hayes R J, Thill C A. Introgression of cold (4°C) chipping from 2x (2 endosperm balance number) potato species into 4x (4 EBN) cultivated potato using sexual polyploidization [J]. American Journal of Potato Research, 2002, 79: 421–431.
- [14] Oltmans S M, Novy R G. Identification of potato (*Solanum tuberosum* L.) haploid × wild species hybrids with the capacity to cold-chip [J]. American Journal of Potato Research, 2002, 79: 263–268.
- [15] Jansky S H, Hanneman R E, Hamernik A J. Introgression of wild species germplasm with extreme resistance to cold sweetening into the cultivated potato [J]. Crop Science, 2009, 49(2): 529–542.
- [16] Collins A, Milbourne D, Ramsay L, et al. QTL for field resistance to late blight in potato are strongly correlated with maturity and vigour [J]. Molecular Breeding, 1999, 5: 387–398.
- [17] Ross H. Potato breeding: problems and perspectives. Advances in plant breeding [J]. J Plant Breeding Supplement, 1986(13): 1–132.
- [18] Van-Eck H J, Jacobs J M E, Stam P, et al. Multiple alleles for tuber shape in diploid potato detected by qualitative and quantitative genetic analysis using RFLPs [J]. Genetics Society of America, 1994, 137: 303–309.
- [19] 石伟平. 二倍体马铃薯遗传群体的构建和抗低温糖化分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- [20] Xiong X, Tai G C C, Seabrook J E A. Effectiveness of selection for quality traits during the early stage in the potato breeding population [J]. Plant Breed, 2002, 121(5): 441–444.
- [21] 石瑛, 张庆娜, 张立波, 等. 马铃薯新型栽培种后代低还原糖材

- 料的筛选与评价[J]. 中国马铃薯, 2006, 20(2): 73-77.
- [22] 孙清华. 马铃薯杂交组合加工性状及亲本配合力评价[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2008.
- [23] 金光辉, 盛万民, 刘文萍, 等. 获取最新俄罗斯马铃薯育种的研究概况[J]. 中国马铃薯, 2003, 17(3): 191-192.
- [24] Jansky S H, Hamernik A, Bethke P C. Germplasm release: tetraploid clones with resistance to cold-induced sweetening [J]. American Journal of Potato Research, 2011, 88(3): 218-225.
- [25] Thompson A L, Farnsworth B L, Secor G A, et al. Dakota crisp: a new high-yielding, cold-chipping potato cultivar with tablestock potential [J]. American Journal of Potato Research, 2007, 84: 477-486.
- [26] Novy R G, Whitworth J L, Stark J C, et al. Clearwater Russet: a dual-purpose potato cultivar with cold sweetening resistance, high protein content, and low incidence of external defects and sugar ends [J]. American Journal of Potato Research, 2010, 87: 458-471.
- [27] Novy R G, Whitworth J L, Stark J C, et al. Premier Russet: a dualpurpose, potato cultivar with significant resistance to low temperature sweetening during long-term storage [J]. American Journal of Potato Research, 2008, 85: 198-209.
- [28] Groza H I, Bowen B D, Stevenson W R, et al. White Pearl—a chipping potato variety with high level of resistance to cold sweetening [J]. American Journal of Potato Research, 2006, 83: 259-267.
- [29] Thompson A L, Novy R G, Farnsworth B L, et al. Dakota Pearl: an attractive, bright white-skinned, cold-chipping cultivar with table stock potential [J]. American Journal of Potato Research, 2006, 82: 481-488.
- [30] Love S L, Mosley A R, Novy R, et al. Ivory Crisp: a potato variety with high tuber solids and cold chipping ability [J]. American Journal of Potato Research, 2003, 80: 207-213.
- [31] Chen X, Salamini F, Gebhardt C. A potato molecular function map for carbohydrate metabolism and transport [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001: 102, 284-295.
- [32] Li L, Strahwald J, Hofferbert H R, et al. Natural DNA variation at candidate loci is associated with potato chip color, tuber starch content, yield and starch yield [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2008, 116: 1167-1181.
- [33] 单友蛟, 刘杰, 卞春松, 等. 马铃薯 SSR 遗传连锁图谱构建及 3 个重要农艺性状 QTLs 定位[J]. 中国蔬菜, 2010, 18: 10-14.
- [34] Baldwin S J, Dodds K G, Auvray B, et al. Association mapping of cold-induced sweetening in potato using historical phenotypic data [J]. Annals of Applied Biology, 2011, 158: 248-256.
- [35] Astrid M D, Sebastian M, Li L, et al. Natural diversity of potato (*Solanum tuberosum*) invertases [J]. Plant Biology, 2010, 10: 271.
- [36] Menendez C M, Ritter E, Schäfer-Pregl R, et al. Cold sweetening in diploid potato: mapping quantitative trait loci and candidate genes [J]. Genetics, 2002, 162(3): 1423-1434.
- [37] Karolina P M, Benjamin S, Ute A, et al. Single nucleotide polymorphisms in the allene oxide synthase 2 gene are associated with field resistance to late blight in populations of tetraploid potato cultivars [J]. Genetics Society of America, 2009, 181: 1115-1127.
- [38] Frary A, Nesbitt T C, Frary A, et al. *Fw2.2*: a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit [J]. Science, 2000, 289: 85-88.
- [39] Koeyer D D, Douglass K, Murphy A, et al. Application of high-resolution DNA melting for genotyping and variant scanning of diploid and autotetraploid potato [J]. Molecular Breeding, 2010, 25: 67-90.
- [40] 张建华. 马铃薯块茎损伤评价技术研究及损伤变色性状的遗传分析[D]. 北京: 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 2008.
- [41] Li L, Gebhardt C. Statistical epistasis between candidate gene alleles for complex tuber traits in an association mapping population of tetraploid potato [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2010, 121: 1303-1310.
- [42] Cheng S, Su Z, Liu J, et al. Effects of variation in activities of starch-sugar metabolic enzymes on reducing sugar accumulation and processing quality of potato tubers [J]. Agricultural Sciences in China, 2004, 3(7): 519-526.
- [43] 成善汉, 谢从华, 柳俊. 马铃薯块茎低温糖化机理及转化酶抑制子基因的克隆与功能鉴定[D]. 上海: 中国科学院上海冶金研究所, 2000.
- [44] 成娟, 张金文, 王蒂. 低温条件下转 *AcInv* 反义基因马铃薯品系的干物质、淀粉和还原含量变化[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42: 651-656.
- [45] Liu X, Zhang C, Ou Y, et al. Systematic analysis of potato acid invertase genes reveals that a cold-responsive member, *StvacINV1*, regulates cold-induced sweetening of tubers [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2011, 286(2): 109-118.
- [46] 郭志鸿, 张金文, 王蒂, 等. 利用 *ihp* RNA 介导的基因沉默培育抗冷糖化马铃薯[J]. 西北植物学报, 2007, 27(3): 479-484.
- [47] 张迟. 抑制马铃薯 Acid Invertase 基因表达对块茎淀粉-代谢的影响研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
- [48] Bhaskar P B, Wu L, Busse J S, et al. Suppression of the vacuolar invertase gene prevents cold-induced sweetening in potato [J]. Plant Physiology, 2010, 154 (2): 939.
- [49] Greiner S, Krausgrill S, Rausch T. Cloning of a tobacco apoplasmic invertase inhibitor—proof of function of the recombinant protein and expression analysis during plant development [J]. Plant Physiology, 1998, 116: 733-742.
- [50] Bate N J, Niu X P, Wang Y W, et al. An invertase inhibitor from maize localizes to the embryo surrounding region during early kernel development [J]. Plant Physiology, 2004, 134: 246-254.
- [51] Greiner S, Rausch T, Sonnewald U, et al. Ectopic expression of a tobacco invertase inhibitor homolog prevents cold induced sweetening of potato tubers [J]. Nature Biotechnology, 1999, 17: 708-711.
- [52] Jin Y, Ni D A, Ruan Y L. Post translational elevation of cell wall invertase activity by silencing its inhibitor in tomato delays leaf senescence and increases seed weight and fruit hexose levels [J]. The Plant Cell, 2009, 21: 2072-2089.
- [53] Link M, Rausch T, Greiner S. In *Arabidopsis thaliana*, the invertase inhibitors *AtCNI1* and 2 exhibit distinct target enzyme specificities and expression profiles [J]. Federation of European Biochemical Societies Letters, 2004, 573: 105-109.
- [54] Rausch T, Greiner S. Plant protein inhibitors of invertases [J]. Bioc-

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2012)02-0115-06

产业开发

2000~2009 年世界马铃薯生产状况分析

吴秋云, 黄科, 宋勇, 何长征, 刘明月, 熊兴耀*

(湖南农业大学园艺园林学院; 湖南省马铃薯工程技术研究中心; 作物种质创新与资源利用国家重点实验室, 湖南长沙 410128)

摘要: 根据世界粮农组织(FAO)数据, 对 2000~2009 年全球及各洲马铃薯主要生产国播种面积、总产、单产以及生产价格等方面做了分析。结果表明, 从 2000~2009 年, 全球马铃薯播种面积呈下降趋势, 其中欧洲面积下降最多, 种植大国中国、俄罗斯及印度的播种面积占世界的 45% 左右; 五大洲马铃薯单产最高是大洋洲, 其次是美洲、欧洲、亚洲, 非洲, 单产高的国家荷兰、美国、法国及德国等达 40 t/hm² 以上; 过去 10 年世界马铃薯总产变化不大, 但亚洲与欧洲总产排名发生变化, 亚洲由总产第二上升到第一, 欧洲总产降至第二, 其它各洲总产排名依次为美洲、非洲及大洋洲。中国总产最高, 其次是俄罗斯、印度、乌克兰、美国等。世界马铃薯生产价格主要在 100~300 美元/t 波动, 且生产价格呈现不同程度的上升趋势。

关键词: 马铃薯; 面积; 总产; 单产; 生产价格; 分析; 世界

收稿日期: 2011-06-03

基金项目: 农业部马铃薯产业技术体系(CARS-10-P19); 湖南省自然科学基金项目(11JJ3035); 湖南省教育厅项目(11B063)。

作者简介: 吴秋云(1972-), 女, 硕士, 副研究员, 主要从事作物栽培生理研究。

* 通信作者(Corresponding author): 熊兴耀, 教授, 博导, 主要从事马铃薯栽培生理研究, E-mail: xiongxingyao@126.com。

- himicaet Biophysica Acta, 2004: 253-261.
- [55] Reca I B, Brutus A, Villard C, et al. Molecular cloning, expression and characterization of a novel invertase inhibitor from tomato (*Solanum lycopersicum*) and its use to purify a vacuolar invertase [J]. Biochimie, 2008, 90: 1611-1623.
- [56] Brummell D A, Harris J C, Zhang H B, et al. Induction of vacuolar invertase inhibitor mRNA in potato tubers contributes to cold-induced sweetening resistance and includes spliced hybrid mRNA variants [J]. Journal of Experimental Botany, 2006: 1-16.
- [57] Tanaka T, Koyanagi K O, Itoh T. Highly diversified molecular evolution of downstream transcription start sites in rice and arabidopsis [J]. Plant Physiology, 2010, 149: 1316-1324.
- [58] Reddy A S N. Alternative splicing of pre-messenger RNAs in plants in the genomic era [J]. Annual Review of Plant Biology, 2007, 58: 267-294.
- [59] Wamboldt Y, Mohammed S, Elowsky C, et al. Participation of leaky ribosome scanning in protein dual targeting by alternative translation initiation in higher plants [J]. The Plant Cell, 2009, 21: 157-167.
- [60] Eimert K, Volland P, Kilian A, et al. Cloning and characterization of several cDNAs from UDP-glucose pyrophosphorylase from barley (*Hordeum vulgare*) tissues [J]. Gene, 1996, 170: 227-32.
- [61] Geisler M, Wilczynska M, Karpinski S, et al. Toward a blueprint for UDP-glucose pyrophosphorylase structure/function properties: homology-modeling analyses [J]. Plant Molecular Biology, 2004, 56: 783-94.
- [62] Chen R, Zhao X, Shao Z, et al. Rice UDP-glucose pyrophosphorylase is essential for pollen callose deposition and its cosuppression results in a new type of thermosensitive genic male sterility [J]. Plant Cell, 2007, 19: 847-61.
- [63] Bishop J D, Moon B C, Harrow F, et al. A second UDP-glucose pyrophosphorylase is required for differentiation and development in *Dictyostelium discoideum* [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2002, 277: 32430-32437.
- [64] Kleczkowski L A, Geisler M, Ciereszko I, et al. UDP-glucose pyrophosphorylase— an old protein with new tricks [J]. Plant Physiology, 2004, 134: 912-8.
- [65] Gupta S K, Sowokinos J R, Hahn I S. Regulation of UDP-glucose pyrophosphorylase isozyme UGP5 associated with cold-sweetening resistance in potatoes [J]. Journal of Plant Physiology, 2008, 165: 679-690.
- [66] 宋波涛. 马铃薯腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶小亚基基因的克隆与功能研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- [67] Chen S, Hajirezaei M R, Zanor M I, et al. RNA interference-mediated repression of sucrose-phosphatase in transgenic potato tubers (*Solanum tuberosum*) strongly affects the hexose-to-sucrose ratio upon cold storage with only minor effects on total soluble carbohydrate accumulation [J]. Plant Cell Environ, 2008, 31(1): 165-76.
- [68] 杨瑞环, 刘殿林, 哈玉洁. 蔬菜转基因研究的现状与展望[J]. 天津农业科学, 2001, 7(3): 12-15.
- [69] Blenkinsop R W, Copp L J, Yada R Y, et al. A proposed role for the anaerobic pathway during low-temperature sweetening in tubers of *Solanum tuberosum* [J]. Physiol Plant, 2003, 118: 206-212.