

综 述

马铃薯块茎特异蛋白 Patatin 研究进展^{*}

李灿辉 王 军 龙维彪

(云南师范大学生命科学系 昆明 650031)

顾名思义,马铃薯块茎特异蛋白是特异性地存在于马铃薯块茎中的一组糖蛋白。它们的分子量约为 40KD,具有相同的免疫特性;在英文中常把这一组糖蛋白称为 Patatin^[1,2]。Patatin 含量占块茎总可溶性蛋白含量的 40%左右^[3,4];与一般的贮藏蛋白不同,它还具有酶活性^[5~8]。迄今为止,所有供试的不同基因型马铃薯栽培品种(*S. tuberosum*、*S. andigena* *S. phureja* 等)的块茎中均发现该组糖蛋白的存在^[9];如此大量且具有酶活性的蛋白质通常仅在块茎发生和形成过程中才特异性的出现和累积,其生理功能引起了人们的研究兴趣^[4,9~16]。另外,Patatin 的营养价值很高^[17,18],易于分离和纯化,便于在分子水平上对其进行操作和研究^[9]。因此,近年来,国外许多学者对它进行了较广泛和深入的研究和报道,极大地丰富了我们在分子水平上对马铃薯作物的认识。本文拟对此方面的研究进展作简要综述。

1 Patatin 的类型、含量与分布

Racusen 和 Foote(1980)^[1]利用 DEAE-纤维素和 Con A Sepharos 层析手段,首次从成熟马铃薯块茎中分离到该组糖蛋白,并称之为 Patatin。Park 等(1983)^[2]发现,从不同

品种的马铃薯块茎中分离出的 Patatin 具有相同的免疫特性,N-末端氨基酸序列高度同源,SDS-pAGE 显示其分子量约为 40KD;但在非变性电泳和等电聚焦电泳条件下,可解离成系列谱带。对其 cDNA、编码基因、mRNA 及其体外翻译产物分析证实,Patatin 按其编码基因 5'非编码区有无 22bp 插入序列,可分为两种类型,即类型 I 基因(无 22bp 插入序列)编码产物和类型 II 基因(有 22bp 插入序列)编码产物;它们的 mRNA 大小相似,体外翻译产物相同,可能具有相同的合成前体;但因分布或翻译后加工的不同,导致它们在分子量和免疫性方面稍有差异^[19~20]。其中,类型 I 基因编码的 Patatin 即为俗称的块茎特异蛋白,通常仅在块茎发生和形成过程中才特异性地出现和累积,占块茎总可溶性蛋白含量的 40%左右^[4]。而类型 II 基因编码的 Patatin 仅为块茎特异蛋白含量的百分之一或千分之一^[21];在根和叶中也有痕量存在^[23,24]。

在正常生长发育的马铃薯植株的根茎叶中,一般检测不到块茎特异蛋白;然而,一旦马铃薯植株上块茎即将发生,块茎特异蛋白 Patatin 即开始特异性地出现在块茎即将发生的部位(侧芽或匍匐茎顶端将膨大增生区域);并伴随着块茎的发育与长大而逐渐累积,至块茎成熟时为止^[4,10,15,25]。成熟块茎休眠期间,Patatin 含量甚少变化^[26];块茎萌发

* 国家自然科学基金资助项目

收稿日期:1998-07-25

之后, 块茎内含量逐渐下降, 至母薯临近死亡时含量极低; 而在块茎正常萌发的芽条中, 含量也极低^[27,28]。不能形成块茎的野生马铃薯品种中检测不到块茎特异蛋白的存在^[29]。类型 II 基因编码的 Patatin 在块茎、根和叶片中有微量存在^[23,24]。此外, 在幼嫩的花器官中亦含有类似于 Patatin 的蛋白质^[30,31]。

免疫组化定位分析^[32]及利用 Patatin 类型 I 和类型 II 基因的启动子分别与报道基因 (β GUB) 构建成嵌合基因在转基因马铃薯植株中的表达分析^[23,25,33]表明, 成熟块茎中, 块茎特异蛋白 Patatin 主要分布于块茎髓部富含淀粉粒的薄壁细胞的液泡内; 胞浆中含量很低, 胞壁及胞间自由空间含量极微; 胞内其它细胞器(叶绿体, 线粒体和细胞核)中没有块茎特异蛋白 Patatin 存在。而类型 II 基因编码的 Patatin 则分布于块茎周皮, 维管束和木栓形成层(尤其是芽眼周围)及根部维管束周围(尤其是根冠和侧根发生部位)和叶片维管束远轴端韧皮部。

2 Patatin 的性质和可能的生理功能

多数学者从块茎特异蛋白 Patatin 的含量推测, 认为它主要是一种贮藏蛋白, 为芽条的萌发提供氮源^[9]。然后, Racusen(1984, 1986)报道, 采用亲和层析或等电聚焦方法分离到的 Patatin(或 Patatin 异构物)具有酯酰基水解酶(Lipid acyl hydrolase, LAH)和酯酶(Esterase)活性^[7,8]。Rosahl 等(1987)^[5]和 Andrews 等(1988)^[6]利用转基因方法将 Patatin 编码基因或其 cDNA 转入烟草或杆状病毒系统中表达, 进一步证实了 Patatin 具有酯酶、LAH 和酰基转移酶(Acyltransferase)活性; 它主要作用于磷脂、单酰甘油酯和对硝基苯脂肪酸酯, 亦可中度作用于半乳

糖酯; 但对 2-酰和 3-酰甘油酯则无明显的催化活性。

在块茎中含有如此大量的酶, 其生理功能却至今仍然不清楚。据推测, Patatin 的 LAH 活性可能在块茎从休眠状态过渡到营养生长过程中起作用^[6]。它也可能与块茎对病虫害或机械损伤的响应有关^[34]。因为, Patatin 主要分布于液泡中, 与底物相互隔离而未能表现出酶活性; 然而, 一旦因病虫害或机械损伤而被释放出来, 则可迅速催化膜脂降解, 产生木栓和具毒性的腊质^[8]; 或通过作用于其底物而使之释放出一种已知的植物抗毒素(Phytoalexin)合成所需的前体物质(花生四烯酸)^[5]。Racusen(1984)^[8]和 Bevan 等(1986)^[35]推测, Patatin 中可能只有部分组分具有 LAH 活性。Nap 等(1992)^[23]则根据 Patatin 类型 I 和类型 II 基因的表达调控模式及分布特点推测, 类型 I 基因编码的块茎特异蛋白可能主要起贮藏蛋白作用, 而类型 II 基因编码 Patatin 则可能起酶作用。Strickland 等(1995)^[36]的研究表明, Patatin 的 LAH 活性可抑制 *Diabrotica larval* 幼虫的正常生长和发育。除此之外, 有关 Patatin 的生理功能仍缺乏深入的实验证据。

3 Patatin 编码基因的结构分析及演化

Patatin 为多基因簇编码, 根据 RFLP 和脉冲电泳分析, Patatin 多基因簇位于第八条染色体末端, 长约 1.4 百万碱基对的 DNA 片段上, 呈不连续排列^[37]。每个单倍体基因组约含 16~18 个编码基因, 典型的四倍体栽培品种约含 64~72 个基因拷贝^[22]。业已分离到的 Patatin 基因长度约为 4Kb, 具有高度同源的编码区, 都含有 6 个内含子; 外显子与内含子的边界为典型的 5'GT/3'AG^[20,35]。

根据其 5' 非翻译区有无 22bp 插入序列, 将其分类型 I 基因(无 22bp 插入序列)和类型 II 基因(有 22bp 插入序列)两大类型^[19~21,38]。类型 I 和类型 II 基因的 5' 端从转录起始位点至 -87bp 区域的同源性达 95% 以上^[39]。该保守区域内包含了 CAAT 盒、TATA 盒和一个类似于核心增强子(Core enhancer)的序列^[25,38,40]。在 -87bp 上游区域, 两大类型基因间同源性较差^[38,39]; 然而, 类型 II 启动子的远上游端存在与类型 I 启动子序列同源的片段^[24]。在终止码(TAA)之后约 40bp 处有 AATAAA 序列^[20,35]。类型 II 基因的内含子序列与类型 I 基因内含子之间有很大不同^[22]。同一类型基因中, 除了编码区域高度同源之外, 也存在内含子长度不同的差异; 因而, 每一类型基因尚可进一步分为一系列亚类^[9]。一般认为, 类型 II 基因的拷贝数等于或大于类型 I 基因的拷贝数, 但其中多数为假基因^[20,22]。

Mignery (1988)^[38]等报道, 类型 I 基因内含子比类型 II 基因内含子保守; 并推测类型 II 基因可能是 Patatin 基因簇的古老形式, 而类型 I 基因则为新近演化的产物。Twell (1988)^[22]等分离到的 LPOT 6 基因既含有类型 I 基因 5' 端的特异序列, 也有类型 II 基因的 22bp 插入序列; 证明中间过度类型的存在。在不能形成块茎的野生马铃薯种中, 存在 Patatin 类型 I 基因, 却不能将其诱导表达^[29]。而大多数墨西哥双二倍体品种中, Patatin 含量较低; 其中, 至少有二个能结薯的品种, 其 Patatin 类型 I 基因不具备蔗糖诱导表达的特点^[9]。此外, Ganal 等 (1991)^[37]对马铃薯基因组进行精细作图分析时发现, 类型 I 基因的特异性启动子片段位于第三条染色体上。这似乎证实了类型 I 基因是由类型 II 基因通过重组排列而产生的观点。

4 Patatin 基因的表达及其调控

业以证实, 马铃薯块茎特异蛋白 Patatin 基因(类型 I 基因)的表达主要受植株发育阶段和光(尤其是光合产物, 蔗糖)的调控, 其表达具有块茎特异性; 但在离体培养的叶片, 或去除侧芽的离体培养茎段和叶柄中, 它可以被高浓度蔗糖所诱导而表达^[4,33,41~45]。Hannapel 等 (1985)^[16]曾报道, GA₃ 特异性地抑制块茎特异蛋白 Patatin 等主要贮藏蛋白的生物合成。Liu 等 (1991)^[24]和 Pena-Cortes 等 (1992)^[42]后来的研究结果则表明, 已知的植物生长物质(包括 GA₃ 和 JA)不能诱导块茎特异蛋白基因的表达。Bohac 等 (1988)报道, 在高浓度蔗糖和激动素诱导结薯条件下, 高温可降低块茎中 Patatin 的含量, 对高温敏感的品种下降幅度最大^[13]。Wheeler 等 (1988)^[14]的实验结果表明, 短日照、高光强处理有利于 Patatin 的大量累积。Hannapel (1991)^[11]对早、中和晚熟的马铃薯品种在相同的栽培管理条件下植株各器官内块茎特异蛋白的含量分析表明, 适应当地自然及气候条件的早、中熟品种, 其植株的地上茎叶中无块茎特异蛋白(早熟)或含量极低(中熟); 而适应性差的晚熟品种, 可在植株上直接形成地上气生块茎, 茎秆中块茎特异蛋白的含量占总可溶性蛋白含量的 0.02%~1.0%, 其块茎产量则为最低。

在研究 Patatin 基因的表达调控方式时证实, 类型 I 基因的表达主要在转录水平受调控^[42,46]。Rocha-Sosa 等 (1989)^[47]对类型 I 基因(B33)启动子序列分析表明, 长度为 1.5Kb 的启动子片段足以指导该基因进行正常的块茎特异性表达和蔗糖诱导表达; 其中, 与其表达调控有关的典型结构可能有两种, 一是 208bp 正向重复序列; 依据该正向

重复序列的分布, 可将 B³³ 启动子区域划分为四个组件 (Modulate): 即第一组件 (- 339bp 至 + 18bp), 第二组件 (- 736bp 至 - 339bp), 第三组件 (- 930bp 至 - 736bp) 和第四组件 (- 1512bp 至 - 951bp)。二是富含 AT 的 37bp 序列; 在 1.5Kb 启动子区域, 其三次重复出现。Jefferson 等 (1990)^[46] 报道, 类型 I 基因启动子的 - 119 至 - 369bp 区域存在决定蔗糖诱导反应和块茎特异性表达的顺式调节元件 (Cis-regulatory elements); 在 - 369bp 至 - 3500bp 之间可能存在多个类似于增强子功能的数量元件, 它们不仅起到提高类型 I 基因在块茎中特异性表达的水平, 还增强了其对蔗糖诱导的响应; 在 - 151bp 至 - 224bp 和 - 471bp 至 - 579bp 之间有二个保守性重复序列。Liu 等 (1990)^[43] 进一步对类型 I 基因启动子进行不同片段长度的缺失和构建分析, 表明决定类型 I 基因块茎特异性表达的顺式调节元件位于 - 195bp 至 - 103bp 之间, 其中含有一个保守的 37bp 富含 AT 序列; 决定蔗糖诱导表达的顺式调节元件应位于 - 228bp 下游; 类型 I 基因启动子区域可能不存在典型的增强子。但含有三个正调节元件 (Positive regulatory element), 分别位于第一、第二和第四组件内^[47]。这表明, Patatin 类型 I 基因启动子最少由二类顺式调节元件组成; 其一为 5' 远上游端负责高水平表达的数量元件; 其二为临近编码区负责块茎特异性表达和蔗糖诱导表达的质量元件^[48]。此外 Liu 等 (1990)^[43] 推测, 富含 AT 序列可能是核蛋白因子 (Nuclear protein factors, NPFs) 的结合位点。1992 年, Holdsworth 等^[49] 从马铃薯块茎中分离并克隆到 TATA 盒结合蛋白 (TATA-binding protein, TBP) 及其 cDNA, 并证明, 它可以与 Patatin 类型 I 基因启动子呈高度专一性结合; 表明该 TBP 可能属于核蛋白因子。Kim 等 (1994)^[49] 利用电泳迁移变动分析

(EMSA) 和 DNase I 足迹分析发现, 临近转录起始位点的启动子区域尚可区分出四个功能域: 分别为 D 盒 (- 65bp 至 - 51bp); M 盒 (- 108bp 至 - 94bp), K 盒 (- 132bp 至 - 117bp) 和 W 盒 (- 179bp 至 - 157bp); 它们都可以在不同程度上与核蛋白因子结合; 其中, 与 D 盒和 M 盒竞争性结合的是同一个核蛋白因子, 且 D 盒和 M 盒极有可能是光反应元件 (Light-response element); 此外, 与类型 I 基因启动子相应区域结合的 NPFs 同样具有块茎特异性并可被蔗糖所诱导表达。由此可见, 类型 I 基因表达受顺式调节元件与反式作用因子相互作用的调控。但有关反式作用因子的定性研究和深入调控机仍有待于探索。

类型 II 基因的表达和调控研究报道较少, 仅知其表达具有细胞类型特异性, 且不能为蔗糖所诱导^[23, 24, 50]。此外, Koster-Topfer 等 (1990)^[51] 发现, 类型 II 基因 (PGT 3) 启动子区域存在类似于转座子 (Transposon-like) 的元件与该基因表达失活有关。Liu 等 (1991) 发现, 类型 II 基因启动子区域 - 600bp 至 - 980bp 序列不仅起到减弱该基因在块茎薄壁组织中表达的作用, 还决定着该基因在块茎韧皮部中的特异性表达^[24]。从类型 I 和类型 II 基因表达调控模式的不同推知, 类型 II 基因与类型 I 基因启动区域应有较大的结构差异^[23, 43, 46]。但是, 此表达调控模式的不同并非归因于 22bp 插入序列的有无, 两大类型基因启动子在 - 87bp 上游区域的明显差异才可能是它们表达调控模式不同的真正原因^[23]。

5 块茎特异蛋白 Patatin 作为研究马铃薯块茎形成的生化标志

从进化的角度而言, 能形成块茎的马铃薯

薯种(品种)是一个新近演化产生的种群(群体)^[52,53]。而 Patatin 类型 I 基因的演化分析揭示,它的产生及表达调控模式的形成与块茎形成直接相关;已知影响马铃薯块茎形成的一些因子,如光(光周期、光质、光强)、光合产物(蔗糖)、温度等^[54~57],都影响类型 I 基因的表达或生物合成(见上文)。近来, Jackson 等^[58], Leclerc 等^[59]和我们^[60]的研究结果表明,已知的植物生长物质并不是决定块茎形成的主要因子,它们中的任何一个均非所谓的马铃薯块茎形成刺激信号;外源生长物质不能替代光周期(如 SD)的诱导结薯作用,在长日照低光强条件下,它们不能诱导 Patatin 的生物合成和累积。此结果与类型 I 基因表达调控模式结果基本相符^[42,60]。此外,钙离子及钙信使系统可能主要通过控制蔗糖的累积或分配方向来实现其调控或参与调控马铃薯块茎的形成(未发表资料)。在蔗糖诱导相关基因表达的过程中,蛋白磷酸酶 1 和 2A 起信号介导的作用^[61]。而蛋白磷酸酶和激酶参与了块茎形成的调控^[62]。尽管如此,在块茎形态器官的发生及形成与块茎特异蛋白和淀粉的累积之间还缺乏内在必然联系的确切证据^[4,29,63,64]。但是,在正常生长发育的马铃薯植株中,块茎特异蛋白总是在块茎形态发生之前 1~3d 即出现在块茎将发生的部位,随之其它贮藏蛋白和淀粉也累积于该部位^[4,10,28]。据此,许多学者把它作为研究块茎形成的可靠生化标志^[9]。借助于此可靠的生化标志,将有利于在分子水平上深入研究和阐明马铃薯块茎形成的机理。

参 考 文 献

- 1 Racusen D and M Foote. A major soluble glycoprotein of potato tubers. *J Food Biochem*, 1980, 4: 43~52
- 2 Park W D, C Blackwood, G A Mignery et al. Analysis of the heterogeneity of the 40000 molecular weight tuber glycoprotein of potatoes, by immunological methods

- and by NH₂-terminal sequence analysis. *Plant Physiol*, 1983, 71: 156~160
- 3 Paiva E, R M Lister, W D Park. Comparison of the protein in axillary bud tubers and underground stolon tubers in potato. *Am Potato J*, 1982, 59:425~433
 - 4 Paiva E, R M Lister, W D Park. Induction and accumulation of major tuber proteins of potato in stems and petioles. *Plant Physiol*, 1983, 71:161~168
 - 5 Andrews D L, B Beames, M D Summers and W D Park. Characterization of the lipid acyl hydrolase activity of the major potato (*Solanum tuberosum*) tuber protein, patatin, by cloning and abundant expression in a baculovirus vector. *Biochem J*, 1988, 252:199~206
 - 6 Rosahl S, J Schell and L Willmitzer. Expression of a tuber-specific storage protein in transgenic tobacco plants; demonstration of an esterase activity. *The EMBO J*, 1987, 6 (5):1155~1159
 - 7 Racusen D. Lipid acyl¹ hydrolase of patatin. *Can J Bot*, 1984, 62:1640~1144
 - 8 Racusen D. Esterase specificity of patatin from two potato cultivars. *Can J Bot*, 1986, 64:2104~2106
 - 9 Park W D. Molecular approaches to tuberization in potato. In: M E Vayda and W D Park (eds), *The Molecular and Cellular Biology of the Potato*, CAB International, Wallingford, 1990, 43~56
 - 10 Hannapel D J. Characterization of the early events of potato tuber development. *Physiol Plant*, 1991a, 83: 568~573
 - 11 Hannapel D J. Distribution of potato tuber proteins during development. *Am Potato J*, 1991b, 68:179~190
 - 12 Nowak J, Colborue D. *In vitro* tuberization and tuber proteins as indicators of heat stress tolerance in potato. *Am Potato J*, 1989, 66(1):35~45
 - 13 Bohac J R, Miller J C Jr, Borque J E. Tuberization response of potato to high temperatures in tissue culture system. *Am Potato J*, 1988, 65:471
 - 14 Wheeler R M, Hannapel D J, Tibbitts T W. Comparison of axillary bud growth and patatin accumulation in potato leaf cuttings as assays for tuber induction. *Annals of Botany*, 1988, 62(1):25~30
 - 15 Park W D, Hannapel D J, Mignery G A et al. Molecular approaches to the study of the major tuber proteins. In: Paul L. (ed.), *Potato Physiology*, 1985, 261~278

- 16 Hannapel D J, J C Miller Jr, W D Park. Regulation of potato tuber protein accumulation by gibberellic acid. *Plant Physiol*, 1985, 78:700~703
- 17 Kosier T, Desborough S. Isolation of some predominant tuber proteins of potato. *Plant Physiol*, 1981, 92(516)
- 18 Boulter D, Harvey P J. Accumulation, structure and utilisation of tuber storage proteins with particular reference to *Dioscorea rotundata*. *Physiologie Vegetable*, 1985, 23(1):61~74
- 19 Mignery G A, Pikaard C S, Hannapel D J, W D Park. Isolation and sequence analysis of cDNA for the major potato tuber protein, patatin. *Nucleic Acids Res*, 1984, 12(21):7987~8000
- 20 Pikaard C S, G A Mignery, D P Ma et al. Sequence of two apparent pseudogenes of the major potato tuber protein, patatin. *Nucleic Acids Res*, 1986, 14(13):5564~5566
- 21 Pikaard C S, J S Brusca, D J Hannapel, W D Park. The two classes of genes for the major potato tuber protein, patatin, are differentially expressed in tubers and roots. *Nucleic Acids Res*, 1987, 15(5):1979~1994
- 22 Twell D and G Ooms. Structural diversity of the patatin gene family in potato cv. Desiree. *Mol Gen Genet*, 1988, 212:325~336
- 23 Nap J P, W G Dirkse, J Louwerse et al. Analysis of the region in between two closed linked patatin genes: class II promoter activity in tuber, root and leaf. *Plant Mol Biol*, 1992, 20:683~694
- 24 Liu X Y, M Rocha-Sosa, S Hummel et al. A detailed study of the regulation of the two classes of patatin genes in *Solanum tuberosum* L. *Plant Mol Biol*, 1991, 17:1139~1154
- 25 Hendriks T, D Vreugdenhil and W J Stiekema. Patatin and four serine proteinase inhibitor genes are differentially expressed during potato tuber development. *Plant Mol Biol*, 1991, 17:385~394
- 26 Racusen D. Occurrence of patatin during growth and storage of potato tubers. *Can J Bot*, 1983, 61:370~373
- 27 Li C H and Wang Jun. Distribution of patatin in potato (*Solanum tuberosum* L.) plant. In: Liu Q C and Kokobu T (eds), *Proceedings of the 1st Chinese Japanese Symposium on Sweetpotato and Potato*, Beijing Agricultural University Press, 1995, 306~311
- 28 李灿辉, 王军. 马铃薯块茎形成的生化标志—patatin. 陈伊里主编, 中国马铃薯学术研讨文集, 1996, 123~127
- 29 Hannapel D J. Differential expression of potato tuber protein genes. *Plant Physiol*, 1990, 94(3):919~925
- 30 Vancanneyt G, Sonnewald U, Hofgen R et al. Expression of a patatin-like protein in the anthers of potato and sweet pepper flower. *Plant Cell*, 1989, 1:533~543
- 31 Hofgen R and Willmitzer L. Biochemical and genetic analysis of different patatin isoforms expressed in various organs of potato (*Solanum tuberosum*). *Plant Science*, Limerick, 1990, 66(2):221~230
- 32 Sonnewald U, D Studer, M Rocha-Sosa, L Willmitzer. Immunocytochemical location of patatin, the major glycoprotein in potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers. *Planta*, 1989, 178:176~183
- 33 Wenzler H C, G A Mignery, L M Fisher and W D Park. Analysis of a chimeric class I patatin-GUS gene in transgenic potato plants: High-level expression in tubers and sucrose-inducible expression in cultured leaf and stem explants. *Plant Mol Biol*, 1989, 12:41~50
- 34 Sonnewald U, A Sturm, M J Chrispeels and L Willmitzer. Targeting and glycosylation of patatin the major potato tuber protein in leaves of transgenic tobacco. *Planta*, 1989, 179:171~180
- 35 Bevan M, R Barker, A Goldsbrough et al. The structure and transcription start site of a major potato tuber protein gene. *Nucleic Acids Res*, 1986, 14(11):4625~4638
- 36 Strickland J A, G L Orr and T A Walsh. Inhibition of *Diabrotica larval* growth by patatin, the lipid acyl hydrolase from potato tubers. *Plant Physiol*, 1995, 109:667~674
- 37 Ganai M W, Bonierbale M W, Roeder M S et al. Genetic and physical mapping of the patatin genes in potato and tomato. *Mol Gen Genet*, 1991, 225(3):501~509
- 38 Mignery G A, Pikaard C S, W D Park. Molecular characterization of the patatin multigene family of potato. *Gene*, 1988, 62(1):27~44
- 39 Rosal S, Schmidt R, Schell J et al. Isolation and characterization of a gene from *Solanum tuberosum* en-

- coding patatin, the major storage protein of potato tubers. *Mol Gen Genet*, 1986, 203:214~220
- 40 Twell D and G Ooms. The 5' flanking DNA of a patatin gene directs tuber specific expression of a chimeric gene in potato. *plant Mol Bio*¹, 1987, 9:345~375
- 41 Park W D, Mignery G W, Belknap W R. Use of the patatin promoter to direct the expression of foreign genes to tubers in transgenic potato plants. *Am Potato J*, 1988, 65 (8):495
- 42 Pena-Cortes H, X Y Liu, J S Serrano et al. Factors affecting gene expression of patatin and proteinase-inhibitor II gene families in detached potato leaves: Implications for their co-expression in developing tubers. *Planta*, 1992, 186:495~502
- 43 Liu X Y, S Prat, L Willmitzer, W B Frommer. Cis regulatory elements directing tuber-specific and sucrose-inducible expression of a chimeric class I patatin promoter/GUS-gene fusion. *Mol Gen Genet*, 1990, 223:401~406
- 44 Prat S, W B Frommer, R Hofgen et al. Gene expression during tuber development in potato plants. *FEBS Letters*, 1990, 268 (2):334~338
- 45 Wenzler H C, G A Mignery, L M Fisher and W D Park. Sucrose-regulated expression of a chimeric potato tuber gene in leaves of transgenic tobacco plants. *Plant Mol Biol*, 1989, 13, 347~354
- 46 Jefferson R, A Goldbrough and M Bevan. Transcriptional regulation of a patatin¹ gene in potato. *Plant Mol Biol*, 1990, 14, 995~1006
- 47 Rocha-Sosa M, Sonnawald U, Frommer W B et al. Both developmental and metabolic signals activate the promoter of a class I patatin gene. *EMBO J*, 1989, 8:23~29
- 48 Kim S Y, G D May and W D Park. Nuclear protein factors binding to a class I patatin promoter region are tuber-specific and sucrose-inducible. *Plant Mol Biol*, 1994, 26:603~615
- 49 Holdsworth M J, C Grierson, W Schuch and M Bevan. DNA-binding properties of cloned TATA-binding protein from potato. *Plant Mol Biol*, 1992, 19:455~464
- 50 Koster-Topfer M, Formmer W B, Rocha-Sosa M et al. A class II patatin promoter is under developmental control in both transgenic potato and tobacco plants. *Mol Gen Genet*, 1989, 219 (3):390~396
- 51 Koster-Topfer M, Frommer W B, Rocha-Sosa M, Willmitzer L. Presence of a transposon-like element in the promoter region of an inactive patatin gene in *Solanum tuberosum* L. *Plant Mol Biol*, 1990, 14 (2):239~247
- 52 Brown C R. Modern evolution of the cultivated potato gene pool. In: M E Vayda, W D Park (eds), *The Molecular and Cellular Biology of the Potato*, CAB International, 1990, 1~11
- 53 Plaisted R L, Bonierbale M W, Yencho G C et al. potato improvement by traditional breeding and opportunities for new technologies. In: W R Belknap, M E Vayda, W D Park (eds), *The Molecular and Cellular Biology of the Potato* (2nd edition). CAB International, 1994, 1~20
- 54 Ewing E E. Induction of tuberization in potato. In: M E Vayda and W D Park (eds), *The Molecular and Cellular Biology of the Potato*, 1990, 25~41
- 55 Li C H and Wang J. The influence of light intensity on *in vitro* tuberization of potato (*solanum tuberosum* L.). In: *Potato and Sweetpotato Research in China*, CAAS and CIP, 1991, 78~83
- 56 李灿辉. 云南师范大学硕士研究生毕业论文, 1991
- 57 李灿辉, 龙维彪. 马铃薯块茎形成机理研究. *马铃薯杂志*, 1997, 3:182~185
- 58 Jackson S D and Willmitzer L. Jasmonic acid spraying does not induce tuberization in short-day-requiring potato species kept in non-inducing conditions. *Planta*, 1994, 194:155~159
- 59 Leclerc Y, Donnelly D J, Seabrook. Microtuberization of layered shoots and nodal cuttings of potato: The influence of growth regulators and incubation periods. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1994, 37:113~120
- 60 Visser R G E, D Vreugdenhil, T Hendriks and E Jacobsen. Gene expression and carbohydrate content during stolon to tuber transition in potatoes (*solanum tuberosum*). *Physiol Plant*, 1994, 90:285~292
- 61 Takeda S, S Mano, M-a Ohto et al. Inhibitors of protein phosphatases 1 and 2A block the sugar-inducible gene expression in plants. *Plant Physiol*, 1994, 106:567~574
- 62 Uiloo R M, G C Mac Intosh, M Melchiorre et al. Protein kinase activity in different stages of potato

病害防治

网室中脱毒小薯青枯病的发生和防治

朱国庆 罗晓玲

(四川凉山州西昌农科所 西昌 615000)

王成华

(四川凉山州农业局 西昌 615000)

1 前言

马铃薯细菌性青枯病是由青枯假单胞杆菌 (*Pseudomonas solanacearum* E F Smith), 引起的一种侵染性病害。此病于本世纪初已在某些国家和地区发生, 我国在 60 年代中期有反映, 由于看法不一直至 1979 年才统一了认识。

2 分布和危害

调查报告表明, 马铃薯青枯病发生很普遍, 以前只在平坝区或是城郊蔬菜区的马铃薯上发生和危害, 而今已逐渐危害到海拔较高的山区, 纬度较高的北方马铃薯主要产区, 更严重的是在脱毒薯繁殖地中发现 (四川昭觉县)。到了 1997 年在马铃薯脱毒小薯种薯生产的防虫网室中发现病株 (当时请有关专家确诊是青枯病后所有种薯进行处理)。使“九五”规划第二年, 做为粮食增产措施之一

的脱毒马铃薯遭受断代的威胁, 造成的直接经济损失当时无法作出准确估计, 以至于影响凉山州脱贫致富进程。

为了进一步了解贮藏期脱毒种薯发病率, 于 1997 年 5 月调查 1~5 月份收获的 8 个品种发病率为 9.2%~57.0%, 而 6 月份收获的品种以第二次检出的烂薯为基准, 发病率达 17.9%~31.5%, 6 月份收获种薯进行控温诱发试验 (8 月份调查) 发病率达 57.0%~70.5%, 其中从网室中收获的各品种的马铃薯块茎, 在贮藏过程中还在继续腐烂和传染, 个别品种发病率达 91.1% 以上。

3 症状和诊断

在网室中进行无土栽培脱毒苗生产脱毒小薯, 茎叶症状表现明显, 叶片整株萎蔫, 发育延缓, 叶色由浓绿变褐, 叶缘卷曲最后枯死, 整株拔除根系完好。开始, 一盘扦插苗中只有一、两株表现萎蔫, 如不认真进行剪尖扦插, 一盘扦插苗的所有叶片可能很快萎

收稿日期: 1998-06-23

(*Solanum tuberosum* L.) microtuberization. Plant Cell Reports, 1997, 16: 426~429

63 Desire S, J P Couillerot, J L Hilbert et al. Protein changes in *Solanum tuberosum* during *in vitro* tuberization of nodal cuttings. Plant Physiol Biochem,

1995, 33 (3): 303~310

64 Hofgen R and Willmitzer L. Transgenic potato plants depleted for the major tuber protein patatin via expression of antisense RNA. Plant Science, 1992, 87: 45~54