

# 国际马铃薯中心为改良马铃薯在组织培养与遗传工程方面的协作研究

John H. Dodds

从国际马铃薯中心 (CIP) 创建那天起, 就制定了一项与其它机构协作研究的策略, 其宗旨就在于利用每个机构的相对优势去从事改良马铃薯的研究。这类共同研究协定已经使得本中心事半功倍地达到了目的。在过去的几年中, 有几项类似的共同研究协议已经被国际马铃薯中心沿用到新的研究领域, 例如: 植物组织培养和遗传工程。

国际马铃薯中心已经从事了多年植物生物技术的工作, 事实上有许多这类工作在其它的机构中被认为是生物技术的研究, 而在本中心的组织培养实验室中只是日常工作的一部分而已。这里还应当包括有种质 (germplasm) 的保存和分发经过病原鉴定的试管苗材料 (Schildt, Rentschler, Schmiediche 1984; Tovar 等1985)。

近年来国际马铃薯中心在组织培养和遗传工程的研究中与世界各地的许多研究机构共同地发展许多新的, 令人兴奋的领域。一些这样的研究活动仍然还停留在初期阶段, 而且尚需要若干年的发展才能将之用于大田的实践中去。然而, 阐明这类研究如何进展, 国际马铃薯中心的目的是什么, 这类研究如何帮助国际马铃薯中心当前的研究计划与各国马铃薯研究项目等等是极为重要的。在某些情况下, 即使生物技术本身不能直接用于国家项目, 但用这些生物技术改良的种质对育种以及为国家项目提供新的改良材料来说也是至关重要的。

过去五年里, 在利马的中心总部和土耳其、智利、委内瑞拉等十四个国家和其它农业研究机构的协作举办了有关植物生物技术如组织培养等方面的培训班。

## 1 遗传工程

在与美国的 Louisiana 州立大学的生物化学系的 Jesse, Jaynes 博士的协作中, 国际马铃薯中心已开展了一项将合成基因插入到马铃薯植株中去的研究。在这个项目中我们用土壤浓杆菌 (*Agrobacterium*) 的质粒作载体 (Espinoza et; 1986, 1987) 这个基因传递系统已经在世界上一些实验室得到应用, 其中包括有欧洲的, 美国的, 巴西的, 墨西哥的和印度的, 这项研究主要是通过合成蛋白质, 特别是氨基酸的增加达到提高马铃薯的营养价值的目的, 合成蛋白是由合成基因产生的, 这种合成基因是由 Jaynes 博士的实验室里的一种机器所合成的。

通过这个协作研究, 国际马铃薯中心已经成功地将合成基因插到马铃薯植株中, 并且已证明这一基因被复制并产生了相应的信使分子 (RNA) (mRNA), 然后通过 RNA 在植物体内被转录出相应的合成蛋白质。这个合成基因研究项目证明国际马铃薯中心的技术已将遗传工程基因转入到马铃薯植株中。这些遗传工程植物推广在给各国家马铃

薯项目之前, 尚需做许多研究工作, 并制定一些相应的法定标准。

在这个合成蛋白质基因成功的基础上, 国际马铃薯中心正引导人们注意一种可能性, 即应用遗传工程方法把对病虫害的抗性输入植株中。通过协作关系网, 国际马铃薯中心希望这种遗传工程使马铃薯作物以插入某基因顺序的方式来干扰病毒和类病毒体的复制, 从而来对抗它们的侵染。用这一方法应能使马铃薯在病害侵染引起退化之前, 在田间生长更多的代数。国际马铃薯中心主要兴趣是愿得到抗马铃薯纺锤块茎类病毒(PSTV)和抗马铃薯卷叶病毒(PLRV)的植株。

国际马铃薯中心也试图去“工程”对抗由细菌, 如 *Pseudomonas* 和 *Erwinia*, 所引起的病害。为从事这类实验, 我们使用一些被纯化了的基因而且这些基因具有编码抗菌活性的蛋白之能力。对于抗细菌病害所采用的遗传工程方法, 能培育出兼抗 *Erwinia* 和 *Pseudomonas* 病害的无性系, 而且又没改变其本身所具有的主要农业性状。

## 2 原生质融合

原生质可谓一种被酶消化而去掉坚实细胞壁的“裸体”植物细胞。由于细胞壁的缺失造成了原生质融合在一起的可能性, 从而才产生了杂种, 而且这一杂种往往不能由常规性育种所产生。这项技术具有在性不亲合的品种之间产生杂种的潜在能力, 这种思想已被组织培养专家们讨论了10年, 可迄今为止, 尚未产生出1个使农学家们满意的融合体。

在与以色列 Weizmann 研究所的 Esro Galun 教授的协作中, 国际马铃薯中心以不同的目的、不同的方法制订了马铃薯细胞融合的计划项目。这个计划是将1种基因型的核

转移到另外1种基因型细胞质中(供体—受体方法)。这项技术已经有效地证明了可转移细胞质的特征, 尤其是转移了烟草细胞质的雌性不孕性(Galan 等人, 1981, 1983), 我们希望同样的技术也用于马铃薯研究中。在图3(略)中描述了供体—受体方法的基本原理。2个原生质融合的结果是其中1个品系的核基因组被移植到另1个品系的细胞质基因组中。这项技术应当使我们制造出具有雌性不孕性的雌性亲本系。从而在无须去雄的雌性植株上产生纯系马铃薯杂种。

## 3 花药培养

从花粉粒再生出单倍体植株是组织培养史上的1个奇迹。在国际马铃薯中心与意大利核研究机构(CNR Nuclear Research Agency), ENEA 的 Andrea Sonnino 博士协作研究项目中, 正在研究为什么有些马铃薯的基因型易于得到双单倍体而其它的基因型就不可以, 这种特性被称之为组织培养能力(TCA)(Sonnino 1981; Wenzel 和 Vhrig 1981)。这种能力已被证明是受遗传控制的, 而且这个特性可以从1个基因型转变成另外1个基因型。这种组织培养再生能力在控制组织培养再生的其它方面也表现出来, 例如: 从叶和茎这类体细胞组织培养的再生能力。许多实验, 包括从组织培养分离块上再生出的马铃薯的胚。例如, 在遗传工程的实验中, 胚通常都是从叶托再生出来的。在国际马铃薯中心的许多实验, 都支持了育种与遗传系的工作, 从叶柄片断再出来, 染色体都会被加倍, 例如, 从三倍体到六倍体。包括有助于我们发展常规细胞和组织培养技术的, 更为详细的再生作用机制的知识, 对于国际马铃薯中心的组织培养室的许多日常工作来说是非常重要的。

## 4 离体遗传的稳定性

采用组织培养法产生的所谓体细胞无性系变异(以染色体发生变化的体细胞再生组织诱导出的遗传变异)已经引起了人们的关注,用组织培养法进行马铃薯种质资源的繁殖和保存过程中表现出极为稳定的遗传特性。在与北爱尔兰的Rothamstead实验站的Michael Jones博士的协作中,国际马铃薯中心正在研究离体法的遗传稳定性。广泛采用离体方法进行繁殖和再生的马铃薯植株,现在正用各种方法进行测定,目的是确定组织培养材料中体细胞突变的水平。

许多生物化学方法,常规的和非常规的都可被用于观察明显和微小的遗传变化。若用形态学分析可能看不出什么变化,若用精细的生物化学法分析就可能看出微小的变化了。采用电泳方法分析马铃薯块茎中可溶性蛋白,图1(略)电泳图谱中显示出的带状清晰可见,并可观察到微小的变化。

## 5 病原体的消除

在国际马铃薯中心和大多数国家项目中常用的消除病原体的方法是热处理,即将整株植物在36℃下维持1周或者6周,然后再进行分生组织的剥离和培养。在同美国Wisconsin大学的Stephen Slack博士的协作中,国际马铃薯中心正开展1种离体热疗法和化疗法,试管苗用于种质的采集,汰毒的小植株可能被病毒污染,试管苗可用化学疗法(Virazole)和热疗法在试管里联合

处理,在用热疗法时可将之放入加热的小室中。芽尖和分生组织被切割,培养和加上标志,从Wisconsin得到的结果证明这一方法对于彻底消除病毒是极为有效的方法。国际马铃薯中心所采用的这一方法使得我们增加了无病毒材料的数量。因此,国际马铃薯中心将迅速地为我国育种和种子项目提供更多的材料。

## 6 结语

国际马铃薯中心在组织培养和遗传工程方面正在发展并不断地开展众多的研究计划,它们当中有些已为国际马铃薯中心的日常工作提供了信息和方法。这些方法通过国际马铃薯中心的总部和各地的培训班将这一技术转让给许多国家项目中。这些项目当中,有些还需进行中间试验(3~5年),它们尚需进一步地去改进和发展后才能将技术和改良的种质提供给各国项目。这些项目中有少数技术是复杂的,需要更长的时间(5~8年),但毕竟产生出重要的改良了的种质。在这些领域中的合作研究使国际马铃薯中心与新技术保持最新的联系,并且使CIP将这些技术加快转让给国家项目成为可能。在研究项目进展很快的领域,与世界各地的专家合作能使国际马铃薯中心以极为有效的方式去援助各个国家项目。

译自《International Potato Center》  
1987, 15(1):

王兴伟译 宋伯蔚校