

马铃薯块茎淀粉性状调控功能基因研究进展

李结平¹, 尉晨晖^{1,2}, 于晓刚³, 姜波³, 刘秩汝³, 李辉³,
敖翔³, 王景顺³, 秋萍³, 石瑛²

(1. 国际马铃薯中心亚太中心(中国), 北京 100200; 2. 东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030;
3. 呼伦贝尔市农牧科学研究院, 内蒙古·呼伦贝尔 021000)

摘要: 淀粉是人类饮食中碳水化合物的首要来源, 对保障生命发挥重要作用。已知的作物淀粉积累机制研究集中于谷类和豆科作物种子。马铃薯作为重要主粮作物之一, 其收获器官——块茎由茎变态而成, 其淀粉积累机制可能存在差异。因此, 为了深入马铃薯块茎淀粉积累机制的研究, 迫切需进行系统性的调研, 了解马铃薯淀粉调控功能基因的最新研究进展。详细列举了近年国内外与马铃薯淀粉调控相关并功能验证的基因研究结果, 比较了转基因、编辑材料的表型变化差异, 明确了功能基因影响淀粉的具体性状; 结合已有模式植物淀粉调控网络, 以淀粉合成和淀粉降解两个阶段对功能基因进行划分, 构建马铃薯块茎淀粉积累可能的分子调控机制图, 确定具有基因工程应用潜力的基因, 同时, 对当前马铃薯淀粉功能基因研究及应用进行问题分析和展望, 旨在为特定淀粉性状改良的基因工程应用提供参考。

关键词: 马铃薯淀粉; 淀粉合成; 淀粉降解; 调控基因; 基因工程应用

中图分类号: S532 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-9369(2026)02-0147-16

李结平, 尉晨晖, 于晓刚, 等. 马铃薯块茎淀粉性状调控功能基因研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2026, 57(2): 147-162. DOI: 10.19720/j.cnki.issn.1005-9369.2026.02.014.

Li Jieping, Wei Chenhui, Yu Xiaogang, et al. Research progress on functional genes regulating starch traits in potato tubers[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2026, 57(2): 147-162. (in Chinese with English abstract) DOI: 10.19720/j.cnki.issn.1005-9369.2026.02.014.

Research progress on functional genes regulating starch traits in potato tubers/LI Jieping¹, WEI Chenhui^{1,2}, YU Xiaogang³, JIANG Bo³, LIU Zhiru³, LI Hui³, AO Xiang³, WANG Jingshun³, QIU Ping³, SHI Ying²(1. International Potato Center (CIP) China Center for Asia-Pacific(CCCAP), Beijing 100200, China; 2. College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 3. Hulunbuir Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Hailar District, Hulunbuir City, Hulunbuir Inner Mongolia 021000, China)

Abstract: Starch is the primary source of carbohydrates in the human diet and plays a crucial role in sustaining life. Current researches on crops' starch accumulation mechanisms have primarily focused on the seeds of cereal and legume crops. As an important staple food crop, potato produces tubers—its harvested organs—which are modified stems, and their starch accumulation mechanisms may differ significantly. Therefore, it is imperative to conduct a systematic review and summarize the latest advances in functional genes regulating starch metabolism in potatoes. This review comprehensively

基金项目: 内蒙古自治区科技计划项目(2024KJHZ0010); 国家自然科学基金国际(地区)合作与交流项目(32361143517)。

第一作者简介: 李结平(1983-), 男, 研究员, 博士, 研究方向为马铃薯品质分子遗传及育种。E-mail: j.li@cgiar.org。

compiled recent research findings from the past years on functionally validated genes involved in potato starch regulation both domestically and internationally. It compared phenotypic variations in transgenic/gene edited materials, clarified the specific starch traits influenced by these functional genes, and categorized the genes into two stages—starch synthesis and starch degradation—based on existing regulatory networks in model plants. Furthermore, it proposed a potential molecular regulatory framework for starch accumulation in potato tubers, identified genes with potential applications in genetic engineering, and provided an analysis of current challenges and future prospects in the study and application of functional starch-related genes in potatoes. This review aimed to provide guidances for the application of genetic engineering in modifying specific starch traits.

Key words: potato starch; starch synthesis; starch degradation; regulatory genes; gene engineering application

马铃薯作为高价值主粮作物，品种丰富，用途广泛，可同时用于鲜食和加工。马铃薯是人类重要的碳水来源，也为人类提供大量的蛋白、维生素、酚类物质和金属元素(包含磷、钾和钙)等多种营养物质^[1]。马铃薯的淀粉和其他营养成分，影响马铃薯的品质和下游加工产品。

淀粉是马铃薯中最主要的碳水化合物，在许多食品和非食品行业中有商业化应用。马铃薯淀粉大量应用于薯泥、薯条、薯片等产品的加工。它也是重要的工业原料，可应用于高档纸品的生产^[2]。据统计，2024年，全球天然马铃薯淀粉产量约430万t^[3]。而马铃薯收获器官——块茎，由茎变态而成，完全不同于谷物的种子形成方式，其淀粉形成具有特殊机制^[4]。关于作物淀粉形成机制的研究大部分集中于谷物和豆类作物的种子^[5-7]，尤其是水稻、玉米、小麦等禾本科植物的胚乳^[8-9]。对于马铃薯块茎的研究相对较少，缺乏系统化的总结，块茎特异淀粉积累的系统调控网络尚未完

整构建。这限制了学者对其独特形成机制的深入理解和后续的淀粉精准改良。因此，了解马铃薯的淀粉功能基因研究的最新成果，总结其淀粉积累的分子机制网络图具有重要意义。本综述对近年关于马铃薯淀粉含量和品质调控及功能验证基因的研究成果进行了整理，详细列举了基因改变后马铃薯淀粉的具体性状变化结果。一方面，有助于构建马铃薯淀粉积累的基因调控网络；另一方面，用于协助基因工程改良马铃薯淀粉浓度和品质的基因工程育种。

1 植物淀粉积累的主要过程

植物淀粉的最终积累量主要与两个过程相关：合成途径与降解途径。高等植物淀粉在质体中合成，承担淀粉生产的主要贮藏器官质体称为淀粉体^[10]，而叶绿体(光合碳固定)^[11-12]、油料种子质体(脂肪酸生物合成)^[13-14]，以及胡萝卜等根部的有色体(类胡萝卜素生物合成)均可合成淀粉^[15-16](见图1)。



图1 淀粉合成细胞器

Fig. 1 Organelles for starch synthesis

1.1 淀粉合成步骤与相关酶

淀粉是以葡萄糖(C₆H₁₂O₆)为单体的多聚化合物。葡萄糖单体以2种方式连接——1,4-糖苷键

和1,6-糖苷键(见图2)，组合形成直链淀粉(Amylose)和支链淀粉(Amylopectin)^[17-18]。α-直链淀粉由α-1,4-糖苷键连接D-葡萄糖组成，支链淀粉

中的线性键是 α -1, 4-糖苷键、分支键是 α -1, 6-糖苷键^[19-20]。

淀粉生物合成步骤相对简单, 主要分为3个步

骤, 涉及3种关键酶: ADP葡萄糖焦磷酸化酶(AG-Pase; EC 2.7.7.27)、淀粉合酶(EC 2.4.1.21)和淀粉分支酶(EC 2.4.1.18)具体见图3。

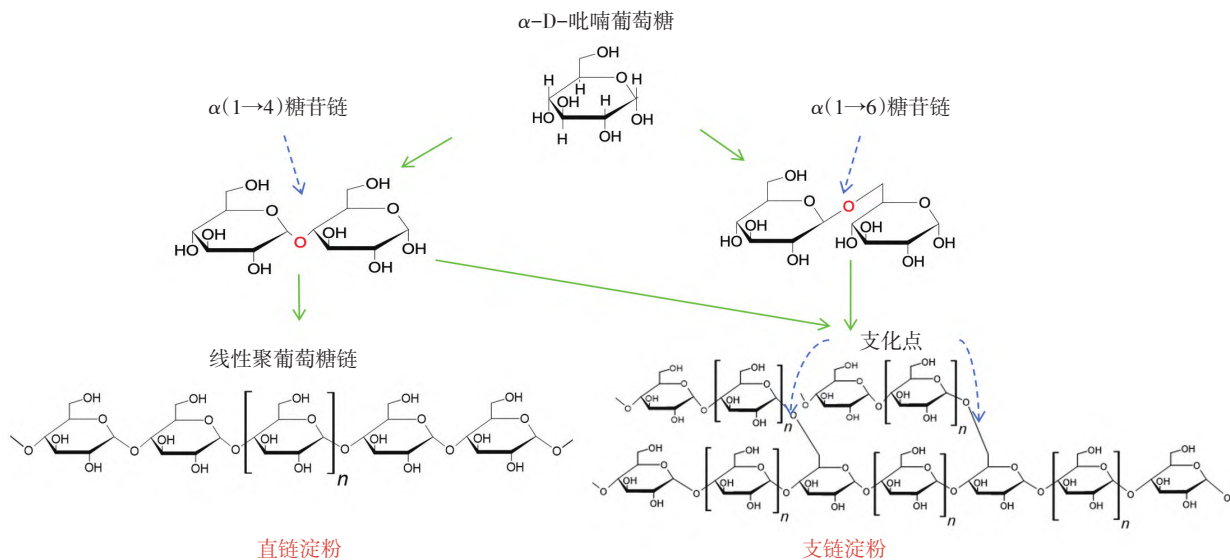


图2 葡萄糖单体合成淀粉的方式

Fig. 2 Modes of starch synthesis from glucose monomers

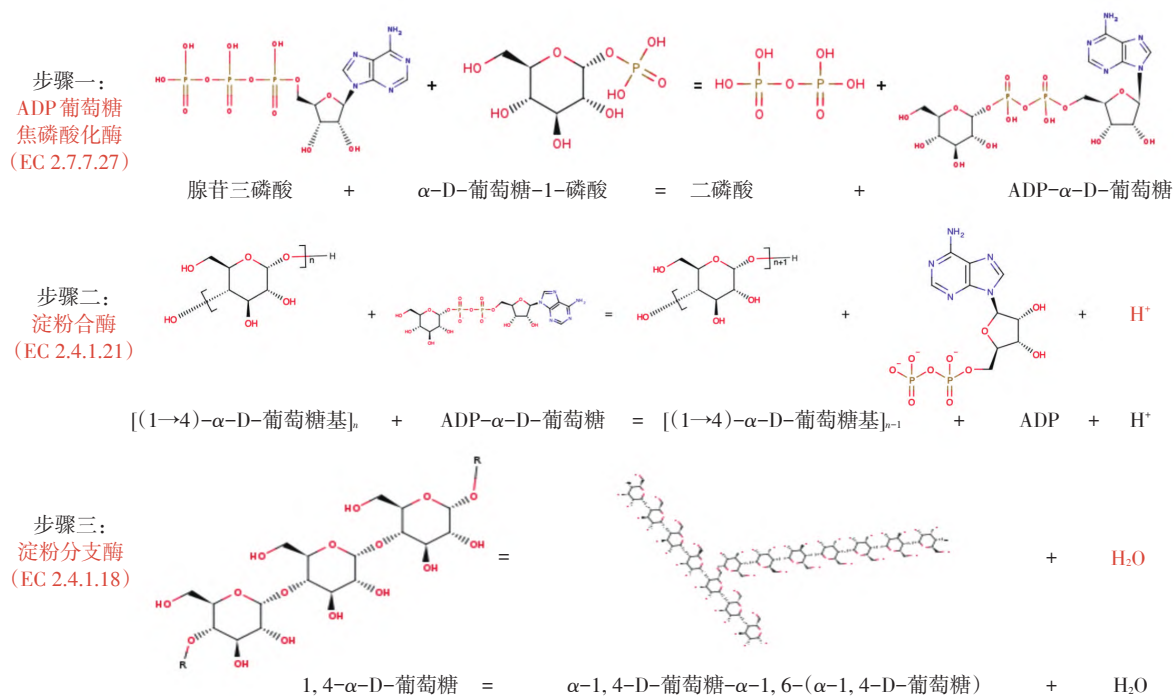


图3 淀粉合成的3种关键酶及反应方程式

Fig. 3 Three key enzymes and reaction equations of starch synthesis

淀粉链合成的起始由葡萄糖-1-磷酸和ATP在AGPase作用下生成淀粉合成底物腺苷二磷酸葡萄糖

(ADP-葡萄糖)。AGPase催化反应产生的焦磷酸被无机碱性焦磷酸酶清除, 植物中该酶存在于光

合与非光合组织的质体中(见图3、4)^[21-23]。

焦磷酸的清除过程有效推动AGPase反应平衡向合成ADP和葡萄糖的方向移动。在叶绿体内,ATP可来源于光合作用,葡萄糖-1-磷酸由还原性戊糖磷酸途径提供原料(见图4),后者通过磷酸葡萄糖异构酶(EC 5.3.1.9)作用产生,催化葡萄糖-6-磷酸(G6P)与果糖-6-磷酸(F6P)之间的可逆转化,反应需要Mg²⁺参与,同时具有催化D-葡萄糖

糖-6-磷酸α-β异构的功能^[24-26]。此外,磷酸葡萄糖变位酶(EC 5.4.2.2)催化葡萄糖-6-磷酸与葡萄糖-1-磷酸的可逆转化(见图4中的PGM)^[27];与之不同,在非光合质体中,ATP需通过ADP/ATP转运蛋白从细胞质特异性输入^[28](见图4)。葡萄糖-1-磷酸既可直接从细胞质输入,也可由质体内的葡萄糖-6-磷酸经质体磷酸葡萄糖变位酶催化转化而来。

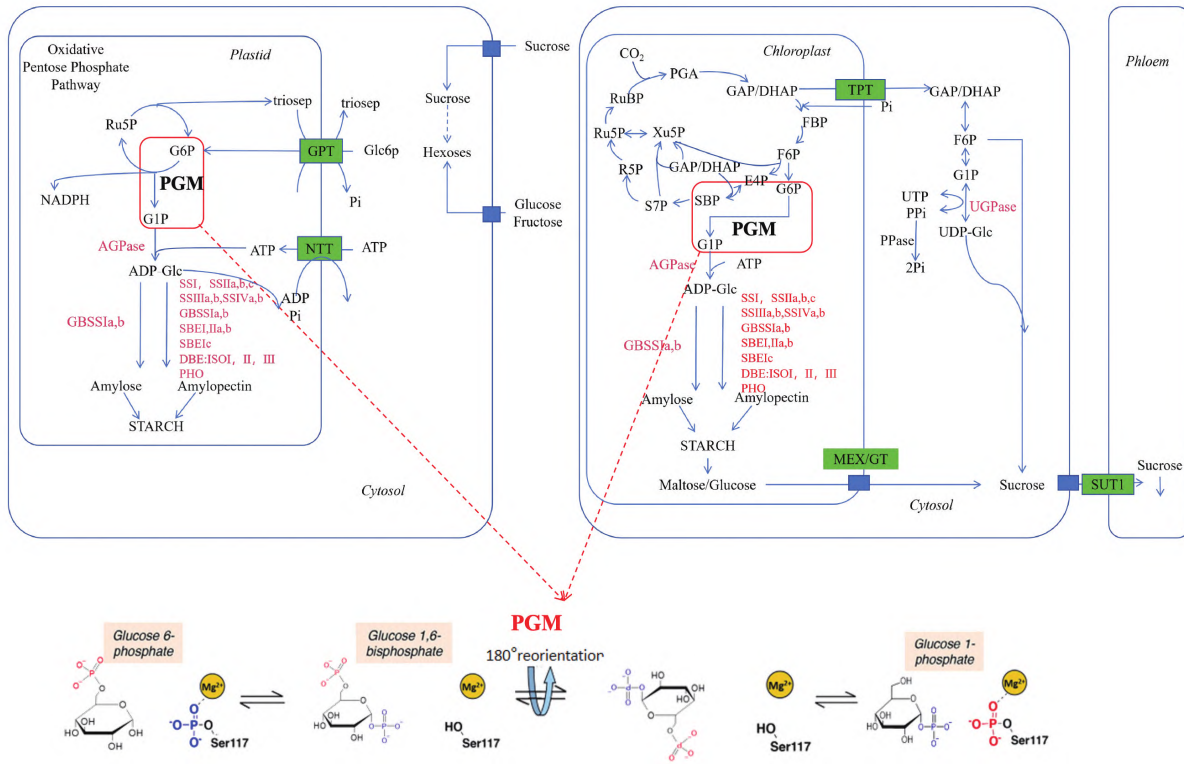


图4 光合质体和非光合质体淀粉合成的通路

Fig. 4 Pathways of starch synthesis in photosynthetic and non-photosynthetic plastids

淀粉合成的第二个关键步骤是葡萄糖基部分,通过淀粉合酶(ADP-葡萄糖:[1→4]-α-D-葡聚糖4-α-D-葡萄糖基转移酶;EC 2.4.1.21)转移到已存在的葡聚糖链上,催化ADP-葡萄糖的葡萄糖基与葡聚糖链非还原端之间形成α(1,4)-糖苷键,同时释放ADP。淀粉合酶以直链淀粉和支链淀粉为底物,高等植物的淀粉合酶由5种基因编码,分别为GBSS、SSI、SSII、SSIII和SSIV,其中,GBSS与淀粉颗粒紧密地结合,负责直链淀粉合成^[29-31]。其他SS异构体(通常命名为可溶性SS)产生支链淀粉链,每个SS在支链淀粉合成中占比不同,且发挥不同作用^[32-33]。SSI、SSII和SSIII类群分

别负责短链、中链和长链的延伸^[34-38]。

第三个关键步骤是淀粉分支酶(SBE)催化形成淀粉聚合物中的α-1,6分支,该酶首先水解链内某个α-1,4-糖苷键,随后在断裂葡聚糖链的非还原端与另一个葡萄糖残基(可能来自被水解的链段)之间形成α-1,6-糖苷键(见图3、4)。

1.2 淀粉降解步骤与相关酶

淀粉降解过程包括可溶性葡聚糖的释放、可溶性和线性葡聚糖的代谢、麦芽糖代谢3个阶段(见图5)。

第一阶段,两类酶与淀粉结合并调节淀粉的磷酸盐含量,促进葡聚糖释放。其中,磷酸转移

酶为GWD(葡聚糖-水双激酶; ATP: α -1, 4-葡聚糖, 水磷酸转移酶; EC: 2.7.9.4)和PWD(磷酸葡聚糖, 水双激酶; ATP: 磷酸- α -1, 4-葡聚糖, 水磷酸转移酶; EC: 2.7.9.5), 磷酸酶为磷酸葡聚糖磷酸酶(PGP)。其中, GWD催化ATP上的 β -磷酸盐(β -磷酸基团)向支链淀粉葡萄糖基C3或C6位转移。PWD对C3位置的葡萄糖基单元进行磷酸化^[39], 磷酸酶去除这些磷酸基团。

第二阶段, 可溶性和线性葡聚糖的代谢主要由 β -淀粉酶(β -淀粉酶, α -1, 4-葡聚糖麦芽糖水解酶; EC: 3.2.1.2)完成, 从链中暴露的非还原末端释放麦芽糖。 β -淀粉酶无法水解 α -1, 6分支点, 也不能直接作用于其邻近点, 完全降解需通过脱支

酶(DBE)活性水解分支点。DBEs(ISA1/ISA2)降解产生短麦芽寡糖释放到质体基质^[40-41]。 β -淀粉酶可作用的最短麦芽寡糖是麦芽四糖。 α -淀粉酶水解淀粉颗粒表面或颗粒内部通道中暴露的聚合物 α -1, 4糖苷键, 释放出可溶性葡聚糖, 这些葡聚糖将成为进一步降解的底物(萌发的禾谷类种子胚乳)^[42]。

第三阶段, 淀粉降解过程中形成的麦芽三烯在D-酶(歧化酶, D-酶, 4- α -葡萄糖基转移酶; EC 2.4.1.25)作用下将一个麦芽糖基团从麦芽三烯转移到另一个葡聚糖, 产生葡萄糖和一个较长的葡聚糖, 后者通过 β -淀粉酶进一步降解。麦芽糖代谢在D酶2作用下降解成葡萄糖。

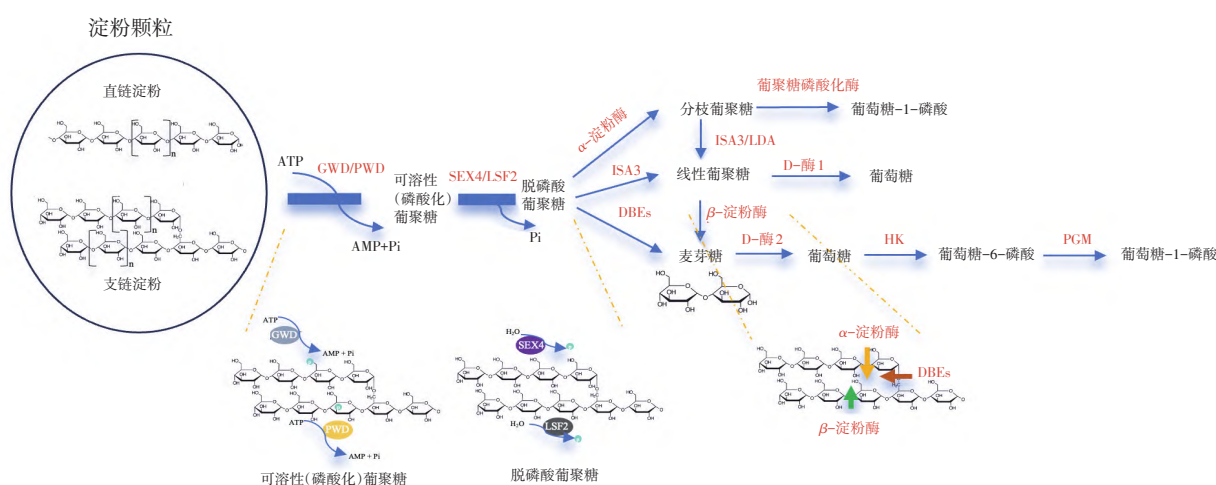


图5 植物淀粉降解代谢通路示意图

Fig. 5 Schematic diagram of starch degradation metabolism pathway in plants

2 参与马铃薯淀粉积累的功能基因

2.1 马铃薯淀粉合成途径的关键基因

2.1.1 GBSS调控直链淀粉的形成

GBSS利用可溶性麦芽低聚糖为底物, 形成直链产物。在高等植物中, GBSS结构较为保守, 在已存在的支链淀粉基础上, 进一步延长链条, 形成直链淀粉。直链淀粉的形成使得淀粉结构更加致密, 提高碳储存的效率^[43]。在马铃薯材料Desiree中同时敲除GBSS的4个等位基因(位点信息: 5'T GTTGACAAGGGTGTGAAT3'), 使块茎中的直链淀粉含量将仅占3%, 而野生型直链淀粉含量为27%^[44]。SBE和GBSS不同组合敲除材料的淀粉表型发生变化。在SBE1完全敲除及SBEII 3个等位

位点敲除的突变材料的遗传背景下, GBSS完全敲除材料的直链淀粉含量为49%。而在3个基因4个位点均被敲除的情况下, 不同突变体的直链淀粉含量则为10%~20%。Larichev et al.^[45]使用Nevsky和Udacha品种, 创制GBSS的CRISPR/Cas9编辑材料。Abeuova et al.^[46]使用Astanalyk、Tokhtar和Aksor 3个品种, 也创制了GBSS的CRISPR/Cas9编辑材料, 在不同遗传背景下, 突变体植株表现出不同的突变表型, 其中, Akt4-19第一个靶点和第二个靶位点的4个等位基因全部突变, 第三个靶位点4个位点等位基因也全部突变, 突变体植株表现出直链淀粉显著降低的表型。Ali et al.^[47]在Desiree背景下, 对GBSS进行CRISPR/Cas9基因编辑, 产生1个或3个等位基因编辑的编辑材料, 通过碘染色

检测,编辑材料表现出直链淀粉显著降低的表型。

2.1.2 SBEI和SBEII调控支链淀粉的形成

在Desiree背景下,SBEI和SBEII基因编辑的群3中,SBEI和SBEII基因的4个等位基因均被编辑,直链淀粉含量为98%。在SBEI的4个等位基因完全编辑的群1、SBEI完全编辑和SBEII 2~3个等位基因发生编辑的群2中,直链淀粉含量与对照组相同,均为25%。而RNAi系T-2012中的直链淀粉含量为40%。在群3中,无支链淀粉,且不同长度的直链上无分枝,其淀粉颗粒受到的影响最大,该群中的块茎产量、大小和干物质质量均显著降低^[46]。突变体虽形成淀粉颗粒,但以低序的晶体结构形式存在。群1的淀粉颗粒与野生型相似,呈椭圆形,但在核心处略有塌陷,群2中塌陷现象更为显著。群3则呈现为球型多裂的表型,其产量是对照材料的60%~80%,块茎变得小而长,且主薯上产生较多萌芽。在极性光照下,群3中的淀粉颗粒未出现十字交叉结构,野生对照中则易出现。此外,群3植株在生长15周后,植株生物量高于其他2个群。群3生长10周的叶片经碘染色法检测发现未被染色,表明在正常光照条件下,叶片中暂态淀粉合成不足。而群1、群2、T2012和野生型不同,均表现出预期的黑暗条件下叶片暂态淀粉缺失的表型^[48]。

Harris和Warren以Desiree为背景,使用农杆菌介导的CRISPR/Cas9基因编辑技术,成功产生3种SBEI和SBEII突变体:第一种为SBEI和SBEII双缺失突变体;第二种为SBEII缺失和SBEI下调突变体;第三种为SBEII下调突变体^[49]。对于2种均缺失的突变体(系4-44),其淀粉颗粒表型为正常大小(约41.7 μm),呈现塌陷和裂纹的形态,淀粉中的分枝下降50%。而两株SBEII缺失和SBEI下调的材料(系212-36和系227-25)淀粉颗粒大小正常(41.7 μm),均无塌陷和裂纹,淀粉分枝分别下降9%和16%。仅SBEII下调的系230-51淀粉颗粒大小正常(50.3 μm),未出现塌陷和裂纹,淀粉分枝下降18%。在系4-44的天然形态下,53.4%是结晶晶体,经糊化处理后,晶体态下降至6.9%,回生处理7 d后继续下降至5.9%,高于其他系。经7 d回生处理,3种突变体的淀粉比野生型消化更少。其中,2个基因缺失的材料系4-44糊化焓最低;但加热后,系4-44的糊化焓显著高于野生型,其最高点糊化焓是71.65[0.03] °C,而野生型是63.62

[0.04] °C。在糊化18 h回生后,系4-44与野生型无显著差异。经7 d回生处理,系4-44糊化最高温显著高于野生型。在自然形态下,系230-51的结晶度最高。系4-44消化率为3.50[0.41]%,是所有材料中最易被消化的。系230-51、系212-36和系227-25的消化率也显著高于野生材料^[49]。

在Desiree背景下,通过RNAi方式下调淀粉降解相关基因GWD1和淀粉合成关键基因SBEI,产生2个sbe1单突系、3个gwd1单突系和2个双突系。在SBEI下调材料中,淀粉的G6P含量是野生型的两倍,而GWD1下调材料中G6P含量极低。双突变体中G6P含量显著低于野生型,但高于gwd1系中的G6P含量,直链淀粉含量增加。在所有gwd1系中,直链淀粉含量增加。在sbe1系中,直链淀粉含量低于gwd1系中的含量。gwd1系淀粉中的直链淀粉含量低于野生型和sbe1系。同时下调GWD1和SBEI后,材料中的直链淀粉显著高于其他系。sbe1系相对野生材料,在7~12间的聚合链(DP)有轻微减少,在聚合链13~21间增加;gwd1系大于20的聚合链下降,在8~17间增加。对于双突体系材料,在DP6-7、DP11-15和DP17-24间呈下降趋势,DP8-9和DP42-53间呈增加趋势。在突变体sbe1系和gwd1系中,未发现明显的淀粉颗粒形态差异,但在双突变体中,多聚的淀粉颗粒数量相对较少。在2个sbe1突变体中,淀粉黏度的峰值和谷值高于其他材料。gwd1突变体、sbe1/gwd1双突变体表现出峰值和谷值较低,其中,sbe1/gwd1双突变体的黏度峰值和谷值最低。崩解度或最终黏度无差异,但所有sbe1品系的回缩度均低于野生型对照。gwd1突变体的淀粉糊化温度增加幅度高于双突变体^[50]。

2.1.3 PTST2和SS5影响淀粉颗粒的起始和形态

基因PTST2和SS4,是淀粉颗粒合成起始的重要基因^[51]。PTST蛋白是质体蛋白,其N端具有卷曲螺旋结构域,C端具有碳水化合物结合模块(CBM),在直链淀粉合成中发挥重要作用,其作用机制是定位淀粉颗粒上的GBSS^[52]。与PTST互作的蛋白有两个:类囊体相关核基质附着区结合丝状蛋白1(MFP1)和类肌球蛋白叶绿体蛋白(MRC)。其中,MRC蛋白包含长的卷曲螺旋结构域和未知结构域^[53]。在马铃薯中,PTST2有2个同源基因:PTST2a和PTST2b,其中,PTST2b在块茎中表达,

而MRC仅在叶中表达, 块茎中不表达。使用Clearwater Russet的转基因材料表明, 过表达MRC导致皱缩淀粉颗粒形成, 并产生多个淀粉起始点。沉默*PTST2b*基因导致产生显著的近球形淀粉颗粒, 且每个颗粒均起源于单个中心起始点。在*PTST2b*突变体中, 未观察到淀粉颗粒数量变化, 每株淀粉含量和块茎产量也无变化。而MRC过表达后, 淀粉含量和块茎产量均显著降低。在*PTST2b*突变材料中, 圆形淀粉颗粒糊化特性完全改变, 拥有更高的峰值和最终黏度。在一些MRC过表达植株中, 淀粉颗粒变小, 其中, 20%~50%颗粒属于小颗粒(小于2 μm 和 2~7 μm), 而12%~45%颗粒属于中大颗粒(7~15、15~50、大于50 μm), 且淀粉颗粒形状不规则。在*PTST2b*突变材料中, 淀粉颗粒拥有更高的表面值, 在颗粒外周有交叉中心, 称为脐, 有时形成多个交叉。在MRC过表达植株中, 与对照植株类似, 多类颗粒具有单个偏离的中心点, 但很大一部分不规则的颗粒有多个交叉中心。*PTST2b*是正常颗粒形状形成所必需的, 其突变体中球形颗粒的形成是由于丢失了异向生长特性所致。在过表达MRC的材料中, 不规则的淀粉颗粒更多, 这主要是由于产生了更多的起始位点。与野生型相比, *ptst2b*突变体和MRC过表达材料的直链淀粉显著增加。此外, 支链淀粉长度分布也有微小改变: *ptst2b*突变体中DP为9~12链条比例更高, MRC过表达材料中DP大于15的长链比例更高。MRC过表达材料的单株块茎数与对照组相似, 但块茎质量仅有对照材料的一半, 且含水量和淀粉含量均显著低于对照组。

使用双单倍体马铃薯AC142作为遗传材料, 通过CRISPR/Cas9技术对淀粉合成的关键基因*SS5*进行基因编辑, 获得在5'-UTR双等位基因纯合敲除的两个突变体系^[54]。在盆栽试验中, 突变体材料长势与野生型差异显著。突变体材料在叶绿体产生较少的淀粉颗粒, 在夜间叶片淀粉降解减弱, 突变体有额外的淀粉颗粒起始, 形成更多支链淀粉颗粒, 块茎中形成更多的小淀粉颗粒, 淀粉起始的改变引起薯质量和淀粉积累降低。突变体产生的试管块茎比对照材料小, 两个突变材料质量相对对照材料分别减少20.2%和19.9%; 同时, 突变体块茎中的可溶性糖含量低于对照组; 这表明*SS5*是块茎膨大和淀粉积累的关键基因。突变后,

淀粉颗粒的椭圆形和平滑的边缘形状无改变。突变体材料中的淀粉颗粒主要分布在较小颗粒区间(0.2~15.3 μm), 而野生型主要分布在较大颗粒区间(0.2~25.2 μm)。因此, 突变体中的平均有效直径变小。此外, 突变体还表现出更高的淀粉直/支比。*ss5*突变体淀粉颗粒的起始糊化温度、峰值糊化温度和终止糊化温度均显著低于野生型。野生型的淀粉体中通常仅含有单个淀粉颗粒, 而突变体中一些淀粉体中含有多个淀粉粒, 变异数量为2~6个。这些结果表明*StSS5*是控制单个淀粉颗粒形成的关键基因。

2.1.4 转录因子对淀粉合成的调控

AP2/ERF类转录因子*StERF75*抑制马铃薯淀粉合成^[55]。在Desiree背景下过表达该转录因子后, 淀粉含量减少4.6%~10.4%。而直链淀粉含量不变, 表明淀粉含量减少是由支链淀粉含量降低引起的。此外, 过表达后蛋白含量也存在显著差异。对比过表达材料块茎淀粉的黏度特性发现, 其谷值黏度和最终黏度与野生型相似, 而峰值黏度略微高于对照材料。此外, 链长为6~16的多聚糖在过表达植株中显著降低。链长为17~38和45~60的多聚糖在过表达植株中则显著增加。在*StERF75*过表达植株中, 淀粉起始温度(T_0)、峰值温度(T_p)、终止温度(T_c)及焓变值(ΔH)均高于野生型。其中, *StERF75*-OE2株系的 T_p 和 T_c 值显著高于野生型。*StERF75*与*Isoamylase1.1 (ISA1.1)*启动子中的元件ATCTA作用, 抑制*ISA1.1*表达, *StNF-YC1*也参与其中。

李紫玉^[56]研究发现, 马铃薯NAC-f亚族转录因子*StNAC033*, 通过抑制*StSS4*等淀粉合成基因和*StBAM9*淀粉酶淀粉分解相关基因的表达, 抑制淀粉降解, 过表达植株表现出夜间瞬态淀粉降解被抑制的表型。

WRKY家族IIc组转录因子*StWRKY23*, 直接靶向淀粉合成途径的*StSBE2.1*, 并与组蛋白去乙酰化酶等蛋白互作, 参与表观遗传修饰调控淀粉合成。RNAi干扰*StWRKY23*会抑制块茎膨大、降低块茎质量, 提高淀粉含量。

2.2 淀粉降解途径的关键基因

2.2.1 非催化淀粉结合蛋白ESV1和LESV

*ESV1*和*LESV*编码非催化淀粉结合蛋白, 其中, *ESV1*通过调节淀粉颗粒表面的葡聚糖结构,

影响2种与淀粉降解相关的激酶—— α -葡聚糖水双激酶(GWD)和磷酸葡聚糖水双激酶(PWD),进而影响淀粉降解。LESV可结合到不同类型的葡聚糖^[60],影响GWD的磷酸化活性。ESV1和LESV共同作用,降低GWD活性,影响其下游反应。ESV1和LESV并不影响双激酶的自磷酸化过程。ESV1和LESV结合改变B型麦芽糊精表面葡聚糖的结构,影响后续酶的识别与作用效率,并影响淀粉合成的酶活性。在Desiree背景下,编辑LESV和ESV1后, *esv1*突变体无影响,但*lesv*突变体颗粒直径显著减小。在突变体中,50%颗粒直径在4~5 μm ,而野生型仅有13%颗粒直径在该范围内。突变体中,不仅观察到微小颗粒,还观察到非典型结构,表现为融合的小颗粒聚集体,或形成深裂隙的复合结构。超声波和SDS清洗处理均无法将聚合物分离。此外,部分小颗粒呈现出带有锐利边缘的平坦表面。两基因突变对植株长势、淀粉和植物多聚糖的含量均无影响。椭球体圆度在突变体系中显著降低,由野生型中的0.87下降至0.83。*lesv*中的淀粉磷酸化比率显著增加至19%~28%,主要是由于O-6-磷酸化富集,O-3-磷酸化含量未改变。在*esv1*突变体中,磷酸化水平有微小增加,为18%~20%。通常情况下,*lesv*突变体水解48 h后,其水解率为26%,而野生型材料的水解率仅17%,同比增加53%。突变后并未影响淀粉的超分结构,晶体结构经Wide Angle X-ray Scattering(WAXS)测定及分析,结果表明所有材料的淀粉均呈B型,其特征衍射峰出现在 $2\theta=7.4^\circ$ 位置^[61]。

2.2.2 淀粉磷酸化酶Pho1a的作用

在马铃薯Desiree背景下,使用CRISPR/Cas9进行基因编辑淀粉磷酸化酶Pho1a(EC 2.4.1.1)获得3种类型的突变体,分成3个群,分别为全敲除(FKO)、移码突变(IFM)和包含野生型突变(WTA)。突变后的植株株高、生长速度与野生型相似。FKO突变体材料每穴产生的块茎产量显著高于野生型,但其中大部分(30%~60%)是小型薯,FKO和IFM中的单位块茎质量低于野生型,但平均干物质含量与野生型相似。大部分敲除事件的块茎数量是野生型的2~4倍。不同敲除事件每穴块茎数为30~64枚,而野生型为9枚。FKO和IFA中多数敲除事件产生更长的块茎,部分敲除事件中产生高比例的圆形块茎。FKO和IFM中的质体含

有更多的淀粉颗粒,其中,小颗粒数量高达80%,而WTA和野生型材料中为30%~60%。FKO和IFM块茎中的淀粉体均包含小淀粉颗粒,而WTA和野生型材料仅在表皮附近的淀粉体中包含小淀粉颗粒,且FKO和IFM中的颗粒更圆。

5个FKO事件中,有4个事件的淀粉含量比对照材料略低。突变材料的淀粉含量为13.8%~16.3%,而野生型材料为17.1%。FKO直链淀粉含量比野生型低,为14.1%~16.2%,而野生型和WTA的直链淀粉含量为21.2%~21.6%。且突变后不阻止块茎的低温糖化^[62]。

2.2.3 液泡膜糖转运蛋白TST1和TST3.1

液泡膜糖转运蛋白1(TST1)将过量的糖贮藏至库器官质体,或者转运至液泡过程中^[63],调控块茎低温贮藏后的糖积累。在低温糖化敏感型品种鄂马铃薯3号(E3)遗传背景下,通过RNAi方式抑制StTST1表达后,显著降低各贮藏阶段(包括贮藏后0、15、30和60 d)的块茎中果糖和葡萄糖含量。而突变体材料在贮藏15 d后,蔗糖含量显著增高;在贮藏30、60 d后,突变体材料与野生型材料的蔗糖含量无显著差异。各贮藏阶段的块茎加工后,丙烯酰胺含量均显著降低。在低温贮藏60 d后,突变体材料生产的薯片比对照组油炸后颜色浅,与贮藏0 d材料相比,颜色仅有细微变深。此外,突变体材料的植株生长并未受影响,其株高、茎粗、叶面积和单株产量均与野生型接近,两者萌发时间也相同。抑制StTST1后,可降低块茎中的ABA含量,改变块茎的淀粉代谢途径。

液泡膜糖转运蛋白3.1(StTST3.1)影响马铃薯暂态淀粉周转和植株生长^[64]。在马铃薯品种鄂马铃薯3号E3材料背景下,通过RNAi抑制其表达后,叶绿体中包含较大的淀粉颗粒,夜间淀粉的降解速率显著降低,但每天的淀粉积累较野生型更高。在叶片器官中,无论白天淀粉的积累和黑夜淀粉的降解,突变体均比野生型低。在6 h光照处理的叶片中,突变体中的蔗糖和己糖类含量显著低于野生型。突变体叶片中的叶绿素含量,特别是叶绿素b含量也显著降低。StTST3.1沉默植株表现出明显的萎黄现象,在8 h短日照条件下,这些沉默植株呈现出萎黄与矮化的表型。盆栽试验表明,突变体在8 h光周期生长条件下生长受阻,叶片

浅绿, 株高、茎粗、单株块茎产量和单株块茎数量, 均显著低于野生型 E3 植株。突变后, 不影响块茎低温贮藏后的可溶性糖性状(包括蔗糖、葡萄糖和果糖, 麦芽糖含量无变化), 但突变体材料的叶绿体呈现出不规则形状。同时, 内部堆叠的基粒类囊体数量减少, 叶绿体通常体积更大, 且淀粉颗粒更大。转录组分析表明, StTST3.1 调控淀粉合酶(SS2 和 SS6)及葡聚糖水双激酶(GWD)。

2.2.4 调控淀粉降解过程的转录因子基因

热激转录因子 StHSFA2 通过直接结合并激活 *StBAM1* 和 *StUGPase2* 等淀粉降解关键基因, 促进淀粉向还原糖转化。其沉默转基因株系在低温贮

藏后, 还原糖和丙烯酰胺含量维持低水平, 油炸品质显著改善^[57]。

ABA 信号通路下游的转录因子 ScAREB2, 通过结合 *ScBAM3.1* 启动子上调其表达, 增强淀粉颗粒降解, 产生更多的蔗糖、葡萄糖和果糖^[59]。分别过表达 *ScAREB2* 和 *ScBAM3.1* 的转基因植株均呈蔗糖、葡萄糖和果糖含量增加的表型。

2.3 已验证的马铃薯淀粉积累相关功能基因转基因材料淀粉性状

分析近年遗传转化验证的马铃薯淀粉相关基因(见表1), 发现淀粉表型变化与基因功能、遗传背景存在明确关联。

表1 近年已验证的马铃薯淀粉调控功能基因

Table 1 Identified functional genes involved in potato starch regulation in last years

基因 Gene	遗传背景 Genetic background	靶点序列信息 Target sequence	突变等位基因 Mutant allele	表型变化 Phenotype change	参考文献 References
	Desiree	5'TGTTGACAAGGG TGTGAAT3'	-	<i>gbss</i> 突变体的直链淀粉含量为3%, 而野生型则为27%	[44]
<i>GBSS</i>	Astanalyk、 Tokhtar、Aksor	5'CCTTGTACAG ATAGACTCAGG3'; 5'TACTAAGGTAAC ACCCAAGATGG3'; 5'GGGCTGTAAACA AGCTTGATGGG3'	品系 AsT4-7 突变等位基因随世代递减, T1 代4个、T2 代3个、T3 代2个; 品系 ToT4-21 和 Akt4-19 各世代均保持4个突变等位基因(T1~T3 代均为4个)	突变品系 Akt4-19 显著降低直链淀粉含量	[46]
	Desiree	5'GACAAGAAGATC CCTTTGATTGG3'	1个或3个突变等位基因	基因编辑品系的支链淀粉含量显著增加	[47]
		-	-19;-4;-3;0/-93;-23; -17;+153(SBE I)/-1;0; +104(SBE II)	直链淀粉含量49%	
		-	-3;-2;-2;+1/-93;-23; -17;+153(SBE I)/-1;0; +104(SBE II)	直链淀粉含量约19%	
<i>GBSS</i> (<i>SBE</i> 突变体背景)	Desiree	-	-37;-7;-5;-3/-93;-23; -17;+153(SBE I)/-1;0; +104(SBE II)	直链淀粉含量约10%	[44]
		-	-5;-4;-2;+1/-93;-23; -17;+153(SBE I)/-1;0; +104(SBE II)	直链淀粉含量约18%	
		-	-5;-5;-1;-1/-93;-23; -17;+153(SBE I)/-1;0; +104(SBE II)	直链淀粉含量20%	
		-	-	仅当 <i>SBE1</i> 与所有 <i>SBE2</i> 基因功能完全缺失时, 才可实现直链淀粉的极端积累, 但严重影响淀粉结构与块茎农艺性状	[48]
淀粉分支酶 I 和 II(<i>SBE1</i> 和 <i>SBEII</i>)	Desiree	其中一份材料缺失 <i>SBE1</i> 和 <i>SBE2</i> , 两份材料缺失 <i>SBE2</i> , 且 <i>SBE1</i> 表达量降低, 另一份材料仅出现 <i>SBE2</i> 表达量降低。	4个品系均为 <i>sh1</i> 和 <i>sh2</i> 双等位基因突变	7 d 回生后, 所有 <i>SBE</i> 突变系的淀粉消化性均低于野生型。其中, 系4-44天然消化率最强; 系230-51天然结晶度最高。4个突变品系的天然消化率均显著高于野生型	[49]

表1(续)

基因 Gene	遗传背景 Genetic background	靶点序列信息 Target sequence	突变等位基因 Mutant allele	表型变化 Phenotype change	参考文献 References
<i>SBE1/GWD1</i>	Desiree	RNAi	构建 <i>StSBE1</i> 与 <i>StGWD1</i> 单/双干扰载体	<i>SBE1</i> 突变: G6P 加倍, 直链淀粉最低、黏度最高 <i>GWD1</i> 突变: G6P 极低, 直链淀粉升高, 糊化温度上升 双突变: G6P 与直链淀粉均最高, 糊化温度再升, 黏度低于 <i>GWD1</i> , 颗粒多裂瓣, 三者链长分布均改变	[50]
<i>PTST2b</i> 类肌球蛋白叶绿体蛋白基因复合系统 (<i>MRC</i>)	Clearwater Russet	<i>MRC</i> 过表达/ <i>PTST2b</i> 沉默品系	<i>MRC</i> 过表达品系	<i>StPTST2b</i> 沉默: 淀粉颗粒球形, 短链多, 黏度好, 产量不变 <i>MRC</i> 过表达: 颗粒小且不规则, 长链多, 产量下降 共同点: 直链淀粉略降, 两者均改变颗粒形态(前者更圆, 后者不规则)	[51]
淀粉合酶(SS)	双单倍体马铃薯 AC142	5'TGTTCGGAGAGTTGCATG3'	在 <i>StSS5</i> 基因 5'非翻译区内获得的两个杂合双等位基因突变体	叶片: 淀粉颗粒减少, 夜间降解慢 块茎: 淀粉粒过多、复合化、鲜质量与淀粉积累下降 微型薯偏小, 可溶性糖降低	[54]
淀粉磷酸化酶 (<i>Pho1a</i>)	Desiree	5'GCTGTTGCAAA GAATGCCTT3'	-	FKO 与 IFM 突变体中, 块茎淀粉粒偏小, 直链淀粉含量均显著下降。低温贮藏后, FKO 突变体蔗糖含量翻倍	[62]
<i>LESV</i> 与 <i>ESV1</i> 基因 (<i>ESV1</i> : 早期饥饿响应蛋白 1; <i>LESV</i> : 类早期饥饿响应蛋白 1)	Desiree	<i>LESV</i> : 5'GGAGTGGCAT GAGAAATGGT3' <i>ESV1</i> : 5'GCAGTGATGG TACCTTAGAA3'	-	<i>ESV1</i> 突变: 仅磷酸基微降 <i>LESV</i> 突变: 颗粒变小、磷酸化增加、水解加快 53% 双突变: 对植株生长与淀粉无影响	[61]
AP2/ERF 转录因子 <i>StERF75</i>		<i>StERF75</i> 过表达	-	过表达 <i>StERF75</i> 导致块茎总淀粉含量降低, 并改变块茎淀粉的理化特性	[55]
液泡膜糖转运蛋白 1 (<i>StTST1</i>)	鄂马铃薯 3 号(E3)	<i>StTST1</i> -RNAi	-	<i>StTST1</i> 沉默株: 块茎还原糖与薯片丙烯酰胺减少, 低温贮藏色泽更浅, 淀粉代谢转向“合成增强、降解减弱”	[53]
液泡膜糖转运蛋白 <i>StTST3.1</i>	鄂马铃薯 3 号(E3)	<i>StTST3.1</i> -RNAi	-	<i>StTST3.1</i> 沉默导致叶片淀粉颗粒变大, 夜间降解减慢, 淀粉周转率降低。光照后叶片糖含量下降, 叶绿素(尤其是叶绿素 b)减少	[64]
<i>StNAC033</i>	鄂马铃薯 3 号(E3)	过表达	-	超量株系在夜间抑制瞬时淀粉的消耗, 叶片中淀粉过量积累, 过表达系下调了 <i>SS4</i> 等淀粉合成基因、 <i>BAM9</i> 淀粉酶淀粉降解相关基因的表达, 抑制淀粉降解, 同时上调 <i>SWEET</i> 等转运基因表达, 影响蔗糖转运利用	[56]

表1(续)

基因 Gene	遗传背景 Genetic background	靶点序列信息 Target sequence	突变等位基因 Mutant allele	表型变化 Phenotype change	参考文献 References
<i>ScAREB2</i> 和 <i>ScBAM3.1</i>	鄂马铃薯 3号(E3)	<i>ScAREB2</i> 和 <i>ScBAM3.1</i> 过表达	-	超量表达 <i>ScAREB2</i> 通过上调 β -淀粉酶 <i>BAM3.1</i> 的表达增加淀粉颗粒的催化降 解, 增加糖类积累; <i>ScAREB2</i> 超量表 达和 <i>ScBAM3.1</i> 超量表达转基因株系均 提高蔗糖、葡萄糖和果糖含量, 植株 高度、单株结薯数、单株薯质量和薯 块的形态方面无变化	[59]
<i>StWRKY23</i>	鄂马铃薯 3号(E3)	RNAi	-	<i>StWRKY23</i> 干扰转基因株抑制块茎膨 大, 降低块茎质量, 提高淀粉含量。 <i>StWRKY23</i> 直接靶向淀粉合成途径中 的 <i>StSBE2.1</i> 表达调节淀粉合成, 也可 与组蛋白去乙酰化酶等蛋白互作参与 组蛋白乙酰化修饰的表观遗传调节淀 粉合成代谢	[58]
<i>StHSFA2</i>	鄂马铃薯 3号(E3)	RNAi	-	RNAi 系低温贮藏后的还原糖和丙烯酰 胺含量维持较低水平, <i>StHSFA2</i> 通过 直接结合并激活 <i>StBAM1</i> 和 <i>StUGPase2</i> 等淀粉降解关键基因的启动子, 促进 淀粉向还原糖的转化	[57]

淀粉合成途径中, 淀粉合酶GBSS、淀粉分支酶(SBEI, SBEII)、淀粉合酶(SS)研究比较充分, 特别是GBSS的RNAi和基因编辑材料, 不同遗传背景, 包括Desiree^[43, 45], Astanalyk、Tokhtar、Aksor^[44]和SBE突变的背景, 试验材料均表现出直链淀粉含量降低的表型, 敲除的等位基因数量与直链淀粉含量多数成反比, 4个等位基因完全敲除直链淀粉比例最低。但在相同的Desiree背景下, 淀粉分支酶(SBEI、SBEII)编辑后研究结果不同, Zhao et al.^[48]研究中, SBEI和SBEII均完全编辑群3中直链淀粉含量为98%, 且淀粉颗粒、产量等农艺性状受影响, 而Harris et al.^[49]研究表明, 两基因完全编辑(系4-44)表现出淀粉中的分枝下降50%, 但淀粉颗粒未受影响。可能原因是编辑位点不同, 影响编辑后的酶活性, 亦可能是转化事件的个体差异性所致。相同的原因, 不同突变组合在不同研究中也表现出结果差异, 如Zhao et al.^[48]研究中, 基因不同突变体组合, 直链淀粉含量无变化, 与野生型相同。但是在Harris et al.^[49]研究中, SBE单个编辑中, 支链淀粉含量均下降。随支链淀粉含量降低, 消化率增加, 两基因完全编辑(系4-44)材料表现出最易消化的结果。在葡聚水双激酶1(GWD1)突变的背景下, SBE1突变体直链淀粉含量最高, 单个突变, 直链淀粉含量增加, 表

明SBE1与GWD1功能冗余地调控支链淀粉形成。淀粉合酶(SS)的编辑发生在非编译区内, 改变淀粉结构性状, 主要是淀粉粒变化; 如发生在编译区内, 可能淀粉结构性状和加工性状改变更明显。PTST2b突变后, 直链淀粉比例出现下降, 淀粉颗粒变圆。MRC过表达, 直链淀粉下降, 同时淀粉颗粒变小。这些基因均影响淀粉结构、直支比性状。

淀粉降解过程中, 淀粉磷酸化酶(Pho1a)突变后, 直链淀粉比例降低, 淀粉颗粒形状发生变化, 相对野生型更小。但与淀粉合成途径机制不同, 可能原因是降解过程受到干扰。LESV与ESV1的突变影响淀粉颗粒, 对淀粉和产量均无影响。StTST1和StTST3.1突变后, 淀粉降解的下游反应受到影响, 均与液泡和糖类运输相关, 表明其间接参与淀粉积累过程。

转录因子StERF75、StNAC033、ScAREB2、StWRKY23和StHSFA2的转基因材料中淀粉或糖含量发生变化, 表明其参与淀粉积累过程。因为转录因子的功能特征, 调控的下游基因具有多样性, 较难鉴定是否参与淀粉积累的特定过程, 如StNAC033既调控SS4等淀粉合成基因又调控BAM9淀粉酶淀粉降解相关基因。StERF75抑制马铃薯淀粉合成^[55]; StWRKY23通过靶向*StSBE2.1*

参与合成过程^[58]；ScAREB2、StHSA2和StWRK-Y23，分别调控*ScBAM3.1*、*StBAM1*和*StSBE2.1*，其中*ScBAM3.1*得到过表达材料的验证，其他靶向基因均未作转基因验证，转录因子的调控均可能存在其他路径。

3 马铃薯块茎淀粉积累的分子调控途径及淀粉性状改良的潜在靶标基因

3.1 马铃薯块茎淀粉积累的分子调控途径

综合近年淀粉功能基因的研究，筛选并总结改变基因产生淀粉表型变化的研究结果，构建马铃薯淀粉积累的调控网络(见图6)。

在淀粉合成途径中，ADP葡萄糖焦磷酸化酶(AGPase; EC 2.7.7.27)催化G1P和ATP形成ADP-Glucose。以ADP-Glucose为底物，淀粉合酶GBSS基因调控马铃薯直链淀粉形成，淀粉分支酶SBEI和SBEII基因调控支链淀粉形成，两者共同协调马铃薯淀粉中直链和支链淀粉比例，并影响淀粉糊化性状。SBE在完全突变后块茎的大小和干物质含量发生改变。PTST2b、MRC通过协助GBSS发挥作用，调控直链淀粉形成。SS5基因是块茎膨大和淀

粉积累的关键基因，也是马铃薯单个淀粉颗粒起始发生的关键基因。GWD可能通过调控SS2或者SS3参与支链淀粉合成。StNAC033可能通过抑制SS4参与淀粉合成。

淀粉降解途径中，非催化性淀粉结合蛋白ESV1和LESV，影响α-葡聚糖水双激酶(GWD)和磷酸葡聚糖水双激酶(PWD)的磷酸化过程，最终影响马铃薯淀粉颗粒结构。AP2、ERF类转录因子StERF75可能通过调控ISAI.1参与调控马铃薯淀粉的去磷酸化过程，影响淀粉黏度性状。

Pho1a促使淀粉降解产生G1P，影响块茎的形状、大小和数量。液泡膜糖转运蛋白1(TST1)参与淀粉降解产生蔗糖，并运送至液泡的过程；该蛋白突变后不影响植物长势，但可改善长期贮藏后糖化的负面影响。而另一个液泡膜糖转运蛋白3.1(TST3.1)可能通过调控淀粉合酶(SS2和SS6)及葡聚糖水双激酶(GWD)影响马铃薯叶片的暂态淀粉周转，突变后，植株的生长及产量均发生改变^[64]。转录因子ScAREB2和StHSA2，分别激活*ScBAM3.1*和*StBAM1*表达，促进淀粉降解成糖类。转录因子StNAC03抑制*StBAM9*使叶片的淀粉积累。

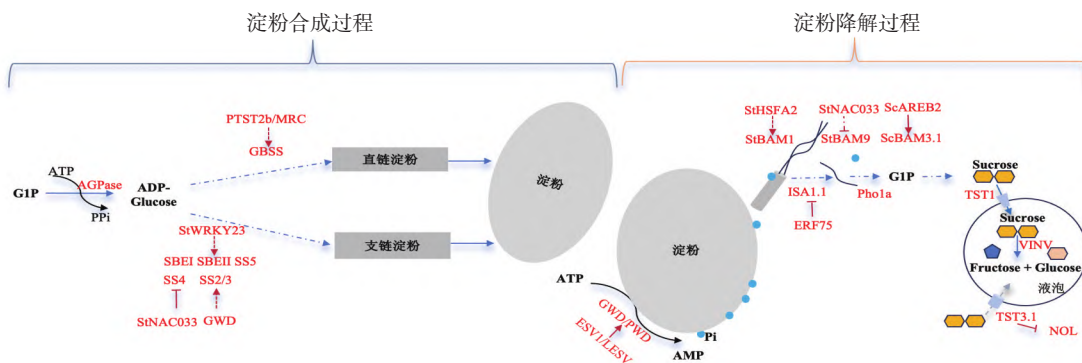


图6 马铃薯块茎中淀粉积累基因调控路径

Fig. 6 Gene regulatory pathway of starch accumulation in potato tubers

3.2 定向改良淀粉性状的潜在基因

根据淀粉性状需求，可通过编辑GBSS基因提高支链淀粉比例或实现全部为支链淀粉，且保持产量不降低。编辑SBEI和SBEII基因，可提高直链淀粉比例最高达到98%，但块茎产量可能显著降低。编辑淀粉磷酸化酶Pho1a后，块茎产量增加，小型薯数量也增加。编辑液泡膜糖转运蛋白1(TST1)和StHSA2后，显著降低低温糖化产生的果糖和葡萄糖，以及油炸加工产生的丙烯酰胺含

量。其他转录因子因为调控下游基因较多，对淀粉性状的具体改良尚不清晰，基因工程上改良的应用还需更多研究。

4 总结与展望

马铃薯作为人类的第三大主粮作物和重要的加工原料作物，其最主要碳水化合物——淀粉的研究对人类粮食安全及食品加工业发展具有重大意义。近年来，克隆到一批淀粉合成和降解途径的

重要功能基因,包括酶类,如淀粉合成途径中淀粉合酶(*SS*)、淀粉分支酶(*SBE*)等基因,参与降解的淀粉磷酸化酶(*Pho1a*),及其他基因,如响应蛋白*LESV*与*ESVI*基因、*PTST2*基因等。

本研究经检索发现近20个相关基因得到功能验证。对功能验证的转基因材料表型整理,完成以下3个任务:①整理新验证的基因(等位突变体),形成马铃薯淀粉积累分子调控网络;②详细比较每个基因的转基因(基因编辑)材料的淀粉性状;③发现*GBSS*、*SBEI*、*SBEII*、*Pho1a*、*TST1*和*StHSFA2*可作为马铃薯淀粉特定性状改良的潜在基因。

从目前研究进展看,为更好地应用基因工程改良马铃薯的淀粉性状,需从以下3个方面开展研究。

① 构建并完善马铃薯淀粉积累的分子调控网络

马铃薯*GBSS*的*SBE*等经典的淀粉合成基因,不同课题组创制不同背景、不同等位变异的材料,具体功能研究更详细,可为改良提供更多的参考。但目前仅有几个重要节点基因开展功能验证研究。相比拟南芥、水稻淀粉积累的分子调控网络,马铃薯淀粉分子调控网络解析不够,需通过解析淀粉代谢及源库分配等过程,挖掘淀粉积累的调控节点上下游基因等方法构建块茎淀粉积累的分子调控网络。目前,需从构建马铃薯淀粉分子调控网络图角度开展马铃薯淀粉基因的功能验证,特别是转录因子上下游基因研究,如本研究列出的5个转录因子中,仅*ScAREB2*的靶向基因*ScBAM3.1*有转基因验证,其他转录因子的下游淀粉调控基因均未验证,需以转录因子为切入点,构建淀粉积累调控网络。同时充分利用多样的马铃薯野生种质资源挖掘优良自然变异和克隆新基因。野生马铃薯淀粉含量通常变异丰富,表明自然群体中存在淀粉含量相关的优良变异,通过全基因组关联等分析技术,挖掘自然界优良等位变异,有利于功能基因定位和分子标记开发。如何利用快速发展的多组学技术,如表型组、基因组,并将人工智能、机器学习等智能算法引入,增加分析的准度和精度值得思考。

② 紧密结合应用需求,深入研究马铃薯淀粉性状

淀粉作为工业原料,其特性要求因下游产业和不同产品(如薯片、薯条、增稠剂等)而异。因

此,需针对性地研究淀粉不同性状以满足多元化应用场景需求。如高淀粉量和特殊淀粉颗粒可提升薯片、薯条的酥脆口感;低还原糖含量可提升产品加工稳定性;高直链淀粉含量(大于50%)可增强成膜性和耐降解性;高支链淀粉则具有更好的糊化稳定性和黏性,适用于生产增稠剂、稳定剂;淀粉分子高磷酸化修饰可增加抗性淀粉,有助于减缓人体血糖上升,调节肠道菌群、预防肥胖。需深入研究淀粉结构等性状,对已创制的淀粉突变体进行全面、多维度性状调查,国外团队开展了淀粉性状的详细调查,如*GBSS*、*SBE*等转基因的材料淀粉参数调查比较充分,涵盖糊化温度、淀粉黏度、链长、颗粒大小等多项指标,育种家与加工应用领域科学家合作比较紧密。相比之下,国内研究,可能是由于研究方向侧重不同,主要集中于特定基因的功能,如转录因子对淀粉含量、糖类积累、耐寒性的影响,对淀粉多维度性状的系统调查有待加强。未来需要强化对马铃薯材料淀粉性状的评估,以全面理解功能基因对具体淀粉指标的影响,更好地服务于基因工程的定向改良。

③ 加强基因工程技术的支撑

随着基因编辑在长片段导入、碱基替换等系列精确编辑技术上的突破,对目标基因的操作将不仅是敲除式的基因编辑,还可增强目标表达量,并创制优良等位变异的基因编辑材料。针对马铃薯栽培种基因组杂合且无性繁殖的特性,需发展无外源DNA的基因编辑体系技术。当前基于原生质体再生的基因编辑技术或基因枪导入RNP等技术尚不成熟。因此,亟须建立适用于主栽马铃薯品种的无外源DNA基因编辑技术,以期在编辑当代(第0代)编辑目标位点,获得理想的淀粉性状,同时保持原有品种的优良种性。

总之,近年马铃薯淀粉调控功能基因的梳理表明,以*GBSS*和*SBE*系列基因为代表的经典调控基因进入了多遗传背景、不同突变位点的深入研究阶段,同时验证了一批与淀粉调控相关的功能基因,包括*LESV*、*ESVI*、*Pho1a*、*TST1*和*StHSFA2*等基因。但仍需依靠多组学数据分析等研究方法完善淀粉分子调控网络,完成候选基因功能验证。同时,需加强对新材料淀粉的多维度性状系统调查研究。根据市场需求,采用无外源DNA基

因编辑技术等先进基因工程技术对马铃薯淀粉性状进行定向改良。

[参 考 文 献]

- [1] 曾凡逵, 许丹, 刘刚. 马铃薯营养综述[J]. 中国马铃薯, 2015, 29(4): 233-243.
- [2] 潘明. 马铃薯淀粉和玉米淀粉的特性及其应用比较[J]. 中国马铃薯, 2001, 15(4): 222-226.
- [3] IMARC Group. Potato starch market report by category (native starch, modified starch, sweeteners), application (food applications, industrial applications), and region 2025-2033[R]. IMARC Services Pvt. Ltd, 2025.
- [4] Thorbjørnsen T, Asp T, Jørgensen K, et al. Starch biosynthesis from triose-phosphate in transgenic potato tubers expressing plastidic fructose-1, 6-bisphosphatase[J]. *Planta*, 2002, 214(4): 616-624.
- [5] Yan H G, Zhang W W, Wang Y H, et al. Rice LIKE EARLY STARVATION1 cooperates with FLOURY ENDOSPERM6 to modulate starch biosynthesis and endosperm development[J]. *The Plant Cell*, 2024, 36(5): 1892-1912.
- [6] Chen L, Wu C Y, Li Q Z, et al. ZmSSRP1, transactivated by OPAQUE11, positively regulates starch biosynthesis in maize endosperm[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2025, 23(9): 3770-3782.
- [7] Chen J C, Zhao L, Li H R, et al. Nuclear factor-Y-polycomb repressive complex2 dynamically orchestrates starch and seed storage protein biosynthesis in wheat[J]. *The Plant Cell*, 2024, 36(11): 4786-4803.
- [8] Liu G, Zhang R, Wu Z, et al. TaDL interacts with TaB3 and TaNF-YB1 to synergistically regulate the starch synthesis and grain quality in bread wheat[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2025, 67(2): 355-374.
- [9] Fan Y, Xue L, Shang M, et al. Natural allelic variation of NAC transcription factor 22 regulates starch biosynthesis and properties in sweetpotato[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2025, 67(7): 1879-1894.
- [10] Wischmann B, Hamborg Nielsen T, Lindberg Møller B. *In vitro* biosynthesis of phosphorylated starch in intact potato Amyloplasts [J]. *Plant Physiology*, 1999, 119(2): 455-462.
- [11] Heutinck A J M, Camenisch S, Fischer-Stettler M, et al. Branched oligosaccharides cause atypical starch granule initiation in *Arabidopsis* chloroplasts[J]. *Plant Physiology*, 2025, 197(2). DOI: 10.1093/plphys/kiaf002.
- [12] Sharma M, Abt M R, Eicke S, et al. MFP1 defines the subchloroplast location of starch granule initiation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2024, 121(3). DOI: 10.1073/pnas.2309666121.
- [13] Umnajkitikom K, Boonchuen P, Senavongse R, et al. Transcriptomics and starch biosynthesis analysis in leaves and developing seeds of mung bean provide a basis for genetic engineering of starch composition and seed quality[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 15. DOI: 10.3389/fpls.2024.1332150.
- [14] Fünfgeld M M F F, Wang W, Ishihara H, et al. Sucrose synthases are not involved in starch synthesis in *Arabidopsis* leaves[J]. *Nature Plants*, 2022, 8(5): 574-582.
- [15] Kang F, Rawsthorne S. Starch and fatty acid synthesis in plastids from developing embryos of oilseed rape (*Brassica napus* L.) [J]. *The Plant Journal*, 1994, 6(6): 795-805.
- [16] Egea I, Barsan C, Bian W, et al. Chromoplast differentiation: Current status and perspectives[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2010, 51(10): 1601-1611.
- [17] Pérez S, Bertoft E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review[J]. *Starch-Stärke*, 2010, 62(8): 389-420.
- [18] 韩文芳, 林亲录, 赵思明, 等. 直链淀粉和支链淀粉分子结构研究进展[J]. *食品科学*, 2020, 41(13): 267-275.
- [19] Dong J, Bai Y, Fan R, et al. Exploring a GtfB-type 4, 6- α -glucanotransferase to synthesize the (α 1 \rightarrow 6) linkages in linear chain and branching points from amylose and enhance the functional property of granular corn starches[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2024, 72(4): 2287-2299.
- [20] Chen C J, Zhu F. Structure of branched subunits in the amylopectins of starches varying in polymorphism[J]. *ACS Food Science & Technology*, 2024, 4(12): 3025-3035.
- [21] Andersson M, Turesson H, Arrivault S, et al. Inhibition of plastid PPase and NTT leads to major changes in starch and tuber formation in potato[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(8): 1913-1924.
- [22] Gross P, Rees T A. Alkaline inorganic pyrophosphatase and starch synthesis in amyloplasts[J]. *Planta*, 1986, 167(1): 140-145.
- [23] Ballicora M A, Iglesias A A, Preiss J. ADP-glucose pyrophosphorylase: A regulatory enzyme for plant starch synthesis[J]. *Photosynthesis Research*, 2004, 79(1): 1-24.
- [24] Sekiguchi T, Yoshida K, Wakabayashi K I, et al. Proton gradient

- across the chloroplast thylakoid membrane governs the redox regulatory function of ATP synthase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2024, 300(9). DOI:10.1016/j.jbc.2024.107659.
- [25] Achari A, Marshall S E, Muirhead H, et al. Glucose-6-phosphate isomerase[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 1981, 293(1063): 145-157.
- [26] Graham Solomons J T, Zimmerly E M, Burns S, et al. The crystal structure of mouse phosphoglucose isomerase at 1.6 Å resolution and its complex with glucose 6-phosphate reveals the catalytic mechanism of sugar ring opening[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2004, 342(3): 847-860.
- [27] 李晓屿, 李玉花, 李晗, 等. 植物葡萄糖磷酸变位酶的研究进展[J]. *植物生理学报*, 2015, 51(5): 617-622.
- [28] Lin H J, Huang J, Li T M, et al. Structure and mechanism of the plastid/parasite ATP/ADP translocator[J]. *Nature*, 2025, 641(8063): 797-804.
- [29] 张峰, 蒋德安, 翁晓燕. 淀粉合酶的酶学与分子生物学研究进展[J]. *植物学通报*, 2001, 18(2): 177-182.
- [30] Wang H X, Wu Y L, Zhang Y D, et al. CRISPR/Cas9-based mutagenesis of starch biosynthetic genes in sweet potato (*Ipomoea batatas*) for the improvement of starch quality[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(19). DOI: 10.3390/ijms20194702.
- [31] Gao Z Y, Zeng D L, Cui X, et al. Map-based cloning of the ALK gene, which controls the gelatinization temperature of rice[J]. *Science China (Life Sciences)*, 2003, 46(6): 661-668.
- [32] Xu Y, Zhao Y, Wang X, et al. Incorporation of parental phenotypic data into multi-omic models improves prediction of yield-related traits in hybrid rice[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(2): 261-272.
- [33] Hawkins E, Chen J W, Watson-Lazowski A, et al. STARCH SYNTHASE 4 is required for normal starch granule initiation in amyloplasts of wheat endosperm[J]. *New Phytologist*, 2021, 230(6): 2371-2386.
- [34] Crofts N, Sugimoto K, Oitome N F, et al. Differences in specificity and compensatory functions among three major starch synthases determine the structure of amylopectin in rice endosperm[J]. *Plant Molecular Biology*, 2017, 94(4/5): 399-417.
- [35] Szydlowski N, Ragel P, Hennen-Bierwagen T A, et al. Integrated functions among multiple starch synthases determine both amylopectin chain length and branch linkage location in Arabidopsis leaf starch[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(13): 4547-4559.
- [36] Fahy B, Gonzalez O, Savva G M, et al. Loss of starch synthase II-Ia changes starch molecular structure and granule morphology in grains of hexaploid bread wheat[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1). DOI: 10.1038/s41598-022-14995-0.
- [37] Zhang X L, Myers A M, James M G. Mutations affecting starch synthase III in *Arabidopsis* alter leaf starch structure and increase the rate of starch synthesis[J]. *Plant Physiology*, 2005, 138(2): 663-674.
- [38] Ying Y N, Deng B W, Zhang L, et al. Multi-omics analyses reveal mechanism for high resistant starch formation in an indica rice SSIIIa mutant[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2025, 347. DOI:10.1016/j.carbpol.2024.122708.
- [39] Ritte G, Heydenreich M, Mahlow S, et al. Phosphorylation of C6- and C3-positions of glucosyl residues in starch is catalysed by distinct dikinases[J]. *FEBS Letters*, 2006, 580(20): 4872-4876.
- [40] Delatte T, Umhang M, Trevisan M, et al. Evidence for distinct mechanisms of starch granule breakdown in plants[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(17): 12050-12059.
- [41] Zeeman S C, Delatte T, Messerli G, et al. Starch breakdown: Recent discoveries suggest distinct pathways and novel mechanisms[J]. *Functional Plant Biology*, 2007, 34(6): 465-473.
- [42] Damaris R N, Lin Z Y, Yang P F, et al. The rice alpha-amylase, conserved regulator of seed maturation and germination[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(2). DOI: 10.3390/ijms20020450.
- [43] Zeeman S C, Kossmann J, Smith A M. Starch: Its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61(1): 209-234.
- [44] Jayarathna S, Hofvander P, Péter-Szabó Z, et al. *GBSS* mutations in an *SBE* mutated background restore the potato starch granule morphology and produce ordered granules despite differences to native molecular structure[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2024, 331. DOI:10.1016/j.carbpol.2024.121860.
- [45] Larichev K, Sergeeva E, Karetnikov D, et al. Development of CRISPR/Cas9-based genome editing constructs for Nevsky and Udacha potato cultivars[C]//Processing of 13th International Multiconference on "Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology"-BGRS/SB-2022 on 04-08 of July 2022 in Novosibirsk, Russia, Novosibirsk, Russia, 2022.
- [46] Abeuova L, Kali B, Tussipkan D, et al. CRISPR/Cas9-mediated multiple guide RNA-targeted mutagenesis in the potato[J]. *Trans-*

- genic Research, 2023, 32(5): 383–397.
- [47] Ali N M, Rashed M A, Atta A H, et al. Increasing of amylopectin starch content in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) using CRISPR/Cas9 system[J]. Research Square, 2023. DOI: 10.21203/rs.3.rs-2563820/v1.
- [48] Zhao X, Jayarathna S, Turesson H, et al. Amylose starch with no detectable branching developed through DNA-free CRISPR-Cas9 mediated mutagenesis of two starch branching enzymes in potato[J]. Scientific Reports, 2021, 11(1). DOI: 10.1038/s41598-021-83462-z.
- [49] Harris H C, Warren F J. The impact of Cas9-mediated mutagenesis of genes encoding potato starch-branching enzymes on starch structural properties and in vitro digestibility[J]. Carbohydrate Polymers, 2024, 345. DOI: 10.1016/j.carbpol.2024.122561.
- [50] Adegbaaju M S, Gouws N, van der Vyver C, et al. Simultaneous repression of GLUCAN WATER DIKINASE 1 and STARCH BRANCHING ENZYME 1 in potato tubers leads to starch with increased amylose and novel industrial properties[J]. Biotechnology Journal, 2025, 20(6). DOI: 10.1002/biot.70051.
- [51] Hochmuth A, Carswell M, Rowland A, et al. Distinct effects of PTST2b and MRC on starch granule morphogenesis in potato tubers[J]. Plant Biotechnology Journal, 2025, 23(2): 412–429.
- [52] Seung D, Soyk S, Coiro M, et al. PROTEIN TARGETING TO STARCH is required for localising GRANULE-BOUND STARCH SYNTHASE to starch granules and for normal amylose synthesis in *Arabidopsis*[J]. PLoS Biology, 2015, 13(2). DOI: 10.1371/journal.pbio.1002080.
- [53] Seung D, Schreier T B, Bürgy L, et al. Two plastidial coiled-coil proteins are essential for normal starch granule initiation in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2018, 30(7): 1523–1542.
- [54] Hu S T, Song L J, Yi X P, et al. Potato STARCH SYNTHASE 5 is critical for simple starch granule initiation in amyloplasts and tuber development[J]. The Plant Journal, 2025, 122(4). DOI: 10.1111/tpj.70206.
- [55] Ai J, Yang M, Zou J, et al. The transcription factor StERF75 negatively regulates starch biosynthesis by targeting isoamylase in potato[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 321. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2025.146118.
- [56] 李紫玉. StNAC033 调控马铃薯碳源分配的功能研究[D]. 重庆: 西南大学, 2024.
- [57] 崔广臻. 热激转录因子 StHSFA2 调控马铃薯低温糖化的分子机制研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2025.
- [58] 孙辉. 转录因子 StWRKY23 在马铃薯块茎发育和淀粉合成代谢中的功能研究[D]. 重庆: 西南大学, 2023.
- [59] 刘田田. ABA 介导淀粉和糖代谢在马铃薯抗寒中的作用及机制解析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2023.
- [60] Singh A, Compart J, AL-Rawi S A, et al. LIKE EARLY STARVATION 1 alters the glucan structures at the starch granule surface and thereby influences the action of both starch-synthesizing and starch-degrading enzymes[J]. The Plant Journal, 2022, 111(3): 819–835.
- [61] Locquet C, Berti M, Bray F, et al. LIKE EARLY STARVATION is involved in the regulation of starch initiation in potato (*Solanum tuberosum* cv. Désirée) tubers[J]. BioRxiv, 2026. DOI: 10.1093/jxb/eraf506.
- [62] Sharma S, Friberg M, Vogel P, et al. *Pho1a* (plastid starch phosphorylase) is duplicated and essential for normal starch granule phenotype in tubers of *Solanum tuberosum* L.[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14. DOI: 10.3389/fpls.2023.1220973.
- [63] Liu T F, Kawochar M A, Begum S, et al. Potato tonoplast sugar transporter 1 controls tuber sugar accumulation during postharvest cold storage[J]. Horticulture Research, 2023, 10(4): 200–210.
- [64] Liu T F, Kawochar M A, Liu S X, et al. Suppression of the tonoplast sugar transporter, *StTST3. 1*, affects transitory starch turnover and plant growth in potato[J]. The Plant Journal, 2023, 113(2): 342–356.
- [65] Simon I, Persky Z, Avital A, et al. Foliar application of dsRNA targeting endogenous potato (*Solanum tuberosum*) isoamylase genes *ISA1*, *ISA2*, and *ISA3* confers transgenic phenotype[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(1). DOI: 10.3390/ijms24010190.