

生物技术在蔬菜育种上的应用现状及研究方向

赵开平,周雪梅,唐有万,刘再兰

(成都市农林科学研究院 园艺所,四川 成都 610041)

【摘要】从细胞工程、分子标记等方面概述了生物技术在蔬菜育种中的研究现状,简要分析了生物技术在蔬菜育种中的应用前景,并提出了我国目前生物技术在蔬菜育种中的研究方向。

【关键词】生物技术;蔬菜育种;前景;研究方向

【中图分类号】S630.3 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1673-1891(2008)04-0015-03

菜篮子工程的科技进步和经济发展,使蔬菜育种工作面临新的挑战,为了适应社会经济的发展和产业结构的调整,满足蔬菜市场流通和消费者的需要,亟待提高蔬菜育种技术,更新育种方法,缩短育种年限,更多更快更好地培育出蔬菜新品种。从20世纪70年代开始以细胞工程和基因工程为主体的现代生物技术应用作物品种改良,把育种技术从宏观水平提高到微观水平,为菜篮子工程开辟了一条品种改良新途径。生物技术应用蔬菜育种,是生物技术与常规育种的有机结合,具有创造变异多、育种目的性强、育种时间缩短、后代选择稳定等优点,为培育高产、高抗、多抗、品质优良的新品种提供了科学的手段。本文就生物技术在蔬菜育种工作中的应用现状和研究方向进行评述。

1 应用现状

1.1 细胞工程在蔬菜育种上的应用

细胞工程是以细胞为基本单位,在离体条件下进行培养、繁殖或人为地使细胞的某些生物学特性按人们的意志发生改变,从而改良生物品种和创造新品种,加速动物和植物个体的繁殖,或获得某些有用的物质的过程。在蔬菜育种技术方面主要有植物离体培养、花药培养、原生质体培养、人工种子等几个方面。

1.1.1 植物离体培养技术

植物离体培养包括胚胎培养、器官培养、组织或愈伤组织培养、细胞培养和原生质体培养等,是目前植物细胞、组织培养中应用最多、最有效的一种快速生产脱毒种苗的手段。其主要用于扩大变异范围、加速亲本材料的纯化、加速无性繁殖、获得脱毒苗、种质资源试管保存等。在蔬菜上已成功运用离体培养技术的国家有中、日、美、法、英、荷等10多个国家和地区。涉及的蔬菜品种有茄科的番茄、马铃薯、辣椒、茄子、甜椒等;十字花科的结球甘蓝、花椰菜、青花菜、花茎甘蓝、孢子甘蓝、芥菜、大白

菜、小白菜、萝卜等;伞形花科的胡萝卜、芹菜、香菜等;葫芦科的黄瓜、西葫芦、甜瓜等;豆科的菜豆、豌豆等;菊科的茼蒿、苦苣等;石蒜科的洋葱、韭菜、大蒜等几十种作物。在我国马铃薯、大蒜、姜等无性繁殖蔬菜茎尖脱毒快繁方面,已经形成了可靠的技术体系和可行的良繁体系,其中应用最成功、最广的是马铃薯脱毒、利用微型薯繁殖无病毒原种等。

1.1.2 花药培养技术

花药培养是在无菌条件下取出充满花粉的花药,置于适宜培养基上培养,由花粉再分化出植物的方法。花粉与植物体的其它部位不同,染色体仅为体细胞的一半,故由其所分化的植物,其体细胞也是单倍体。从杂种的花粉再分化出的植物体进行加倍处理,可直接得到遗传上稳定的二倍体植物。此项技术从1964年印度学者Guha和Maheshwari成功地将毛叶曼陀罗的成熟花药离体培养获得单倍体植株以来,得到了快速发展。离体花药在培养条件下可经器官发生途径或胚胎发生途径分别产生单倍体植株,最早的花药培养再生单倍体植株是经胚状体途径形成的,蔬菜中辣椒、茄子、大白菜等植株较易形成花粉胚,而芦笋、番茄等多经器官发生途径形成单倍体植株。我国于1970年开始在单倍体育种方面进行研究,目前已有40种以上植物的花粉或花药发育成单倍体植株,主要集中在十字花科的结球白菜羽衣甘蓝、芜菁和萝卜、茄科(辣椒、马铃薯)和葫芦科的黄瓜,其中辣椒、甜菜、白菜等的单倍体植物为我国首创。

1.1.3 原生质体培养与体细胞杂交技术

原生质体培养与体细胞杂交育种原生质体培养是细胞工程的核心内容,在植物快速繁殖、远缘遗传重组、转移基因尤其是多基因控制性状,以及在创造新类型及品种改良上具有广阔的应用前景。1960年,英国Cooking首先从番茄茎尖细胞分

离到原生质体,同时也是世界上首先分离到植物的原生质体。至今蔬菜作物可供作原生质体分离,培养、植株再生、细胞融合等试验的已有14个科的几十种作物,已获得体细胞杂种蔬菜有马铃薯+番茄、白菜+甘蓝、萝卜+油菜,以及胡萝卜+香芹等。我国科学家在蔬菜原生质体培养与融合领域内也取得很大的进展,先后由原生质体培养而获得再生植株的蔬菜品种有紫红萝卜、黄瓜、甘蓝、芥菜和胡萝卜等。

体细胞杂交,为克服植物有性杂交不亲和性、打破物种之间的生殖隔离、扩大遗传变异等提供了一种有效手段。自1972年获得世界上第一个植物体细胞杂种烟草细胞以来,至今体细胞杂交已应用于蔬菜育种并取得了一些成果,如“马铃薯×番茄”、“甘蓝×白菜”、“胡萝卜×香芹”等。我国学者在原生质体融合方面做了很多工作,侯喜林等利用原生质体融合技术获得了不结球白菜胞质杂种。司家刚等采用原生质体非对称融合技术获得了胡萝卜种内胞质杂种。连勇等应用原生质体电融合技术获得了茄子近缘野生种与栽培种的种间体细胞融合四倍体再生植株。李省印等得到能再生出菌丝体和子实体的平菇种内杂交株,其中选育出的“优生1号”品系,适应性强、优质、丰产、耐热。

1.1.4 人工种子

人工种子的成功不再需要每年配制杂交种,其“种皮”和“人工胚乳”可加入种子发芽生长必需的营养物质和抗病虫害、除草剂等特殊物质。利用体细胞培养诱导体细胞胚的发生代替种子进行田间播种,在蔬菜杂种优势的利用上前景诱人。我国从1987年开始将人工种子研究纳入国家高新技术发展计划项目,先后在胡萝卜、苜蓿、芹菜等蔬菜的开发应用上获得了阶段性成果,汤绍虎等以蕹菜小叶品种带芽节段为繁殖体,用质量分数4%的海藻酸钠包裹制作了人工种子;沈颖等以甘蓝下胚轴为外植体诱导再生植株,并制作人工种子,为孢子甘蓝及人工种子制作的推广应用奠定了基础。

1.2 分子标记技术在蔬菜育种上的应用

遗传标记是基因型特殊的、易于识别的表现形式。分子标记技术的出现,使植物育种中的“间接选择”成为可能,大大提高遗传分析的准确性和选育种的有效性,因而在遗传育种领域愈来愈受到重视,将二者有机结合是今后育种工作的趋势。分子标记包括同工酶标记和DNA标记。

1.2.1 同工酶标记

自70年代以来,同工酶作为一种直接的基因产

物,在作物遗传育种中得到广泛的应用,相对于形态性状标记,它具有一些独特的优点。首先它受环境因素影响较小,表现出相对的稳定性;其次多种同工酶可以在种子或幼苗中表达,有利于进行早期鉴定。通过比较不同同工酶酶谱带型的差异,对许多蔬菜作物的亲缘进化关系如西瓜、马铃薯、萝卜、大白菜、花菜、茄子等进行了研究。

由于等位基因同工酶受共显性等位基因控制,杂种表现互补型酶谱或杂种型酶谱,因此该技术适用于杂种纯度检测,目前已对甘蓝、大白菜、黄瓜、西瓜、番茄等多种蔬菜进行了纯度鉴定。

1.2.2 DNA分子标记

DNA分子标记是指电泳后能以一定的方法检测到的反映基因组某种变异特征的DNA片段。这种DNA片段可以通过限制性内切酶切割,PCR扩增或两者结合起来获得。因此,DNA标记主要包括三大类:

第一大类是基于DNA分子杂交的方法,主要指限制性片段长度多态性,即RFLP。

第二大类是基于PCR技术的DNA扩增方法。它又分为两类,一是使用随机引物进行扩增,主要指随机扩增多态性DNA技术;另一类标记是采用特定引物或引物对扩增的标记,主要有SCAR、STS、微卫星DNA等。

第三大类是PCR与酶切相结合的方法,主要指AFLP和CAPS两类。因为生物各种性状的差异主要是遗传物质DNA的差异造成,

因而通过DNA分子标记可以直接检测基因组的遗传变异,它更能准确揭示同一物种内不同种、变种、品种、品系间个体的差异。DNA作为分子标记可以避免用形态和同工酶检测遗传变异所固有的许多问题和倾向,它具有以下特点:(1)较高的可靠性,因为DNA标记直接检测遗传物质DNA,几乎不受环境因素、取样部位和发育阶段的影响,不影响目的基因的表达,与不良性状无必然的连锁。(2)DNA标记在数量上几乎没有限制。(3)很多分子标记表现为共显性,能鉴别纯合基因型与杂合基因型,提供完整的遗传信息,因此,DNA分析技术不仅广泛应用于遗传图谱构建、基因定位等方面,而且在作物种质资源研究中也具有重要意义,被认为是鉴别品种、品系及分析种质资源遗传多样性的有力工具。

目前已对番茄、莴苣、辣椒、甘蓝、胡萝卜等多种蔬菜作物构建了饱和或部分饱和的RFLP遗传图谱。Landry等曾发现一个RFLP位点与抗霜霉病基

因是紧密连锁,此外,与番茄的抗烟草花叶病毒基因,抗枯萎病基因,控制株型的基因(sp),影响果实成熟的基因(u)连锁的RFLP位点也先后被发现。在种质资源研究方面,它在芸薹属、茄科等蔬菜作物的物种起源与进化研究中曾发挥了很大作用。另外,在甜瓜、甘蓝等蔬菜不同品种之间的亲缘关系研究也有报道。在种质资源亲缘关系研究中也有关键的成绩,如芸薹属及其相邻基因组,不同地域来源的芥菜、番茄、葱属、黄瓜等。目前已从分子水平对大白菜、芥菜、花椰菜、西瓜、番茄等品种(杂种)进行了快速鉴定,在标记辅助育种方面,RAPD技术更以其丰富的多态性和操作的简便性深受研究者的青睐,已构建了甘蓝、番茄、胡萝卜、莴苣、辣椒等的遗传图谱,发现多个连锁分子标记如:与番茄抗TMV基因连锁;与西瓜抗枯萎病基因连锁;与西瓜野生种质资源耐冷性基因连锁;与甘蓝雄性不育基因连锁的RAPD标记等等,利用这些连锁标记,能大大提高育种过程中的选择效率,减少不必要的人力和物力。

2 应用前景

生物技术育种与常规育种手段相比,有明显的优越性。第一,常规育种从整体水平,主要通过杂交育种来改良品种;生物技术则深入到细胞水平、亚细胞水平(包括细胞核、细胞器),特别是基因水平来改造生物的本性。第二,常规育种盲目性很大,方向性不定;生物技术则使定向改造生物有机体的目标得以逐步实现。生物技术研究越是接近分子水平对生物体的改造就越接近定向性。第三,生物技术扩大了育种的范围,打破了种间的杂交障碍。由于发现最高等生物的细胞或原生质体与最低等生物(如细菌)的原生质体均能实现细胞水平杂交或融合;而所有生物的基因都具有基本相同的遗传密码,这样就有可能将多种多样的、存在于高等生物直至低等生物的种质库中的各种基因加以分离并重组在一起,扩大了物种杂交的范围、物种变异的频率和人类支配自然界的能力。利用生物技术能有效地提高育种效率、节约成本,在杂优利用和抗病、抗虫、抗逆境育种以及种质资源研究及保存方面都有其独特的效果,如果与传统育种方式相结合,将会有广阔的应用前景。

3 研究方向

注释及参考文献:

- [1]向太和,杨剑波,吴家道.我国农作物生物技术育种研究现状和展望[J].安徽农业科学,1994,22(2):104-107.
- [2]赵莉,姚碧蕊.生物技术在蔬菜育种上的应用[J].种子世界,2003,11:1-3.

生物技术的发展为蔬菜育种研究提供了新的手段。总体上来讲我国在生物技术理论、应用方面虽然起步较晚但发展很快,与世界先进水平的差距不是很大。尽管如此,为更好地将生物技术应用到蔬菜育种上,还应该加强以下工作。

3.1 进一步研究和利用原生质体培养及细胞融合技术

目前我国蔬菜育种中特异优良种质资源的缺乏是一个亟待解决的问题。而远缘杂交可为抗逆、抗病、抗虫等特异资源的创新提供一个有效的途径。但是,远缘杂交很难成功。通过原生质体和体细胞融合技术可以克服生殖障碍,实现遗传物质的交流。

3.2 加强分子标记技术的应用

分子标记辅助育种在国外已得到较系统的研究和利用,但在我国遗传研究中的应用还刚刚起步。在今后工作中应尽快将这项技术应用于育种实践。研究的重点方向是:利用分子标记技术绘制遗传图谱;提出快速、准确地鉴别一代杂种纯度的方法;对通过远缘杂交导入的外源基因进行检测;对蔬菜的主要质量性状基因和数量性状基因进行标记。

3.3 加强花药、小孢子培养的研究

扩大小孢子培养的作物种类,除了芸薹属外,在茄果类、瓜类作物中也要建立和完善小孢子培养技术;探讨打破小孢子培养中基因型限制的方法,提高诱导效率。

3.4 深化植物基因工程研究

我国在植物基因工程研究方面已取得了令人瞩目的成就,但与国外相比某些方面还存在不足,如目前已分离目的基因100多个,而我国自己分离的较少,重要的目的基因绝大多数依赖进口,我们应该充分利用国内巨大的种质资源,在目的基因上占有一席之地。

另外,我国在转基因蔬菜的应用方面稍显不足。国外已有几十种转基因作物在生产上推广应用,特别是美国,自1994年推出全球第一个商业化转基因植物——耐贮番茄品种以来,转基因作物的应用发展很快,而在我国部分成果还处于实验室阶段,真正应用的数量很少。基因工程的应用工作有待于进一步加强。

\therefore 存在 $\xi_n \in (0, \xi_{n-1})$ 使 $H^{(n)}(\xi_n) = 0$.
 又 $\therefore H^{(n)}(0) = 0$.
 \therefore 存在 $\xi \in (0, \xi_n) \subset (0, a)$ 使 $H^{(n+1)}(\xi) = f^{(n+1)}(\xi) + \alpha = 0$. 即为所证.

注释及参考文献:

[1] 华东师范大学数学系. 数学分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.

Auxiliary Function's Role in the Prove Title

HU Cheng-jun

(Department of Basic Course, Shashi University, Jingzhou, Hubei 434000)

Abstract: This paper analyses the basic method of using auxiliary functions to prove the value in the type of differential equation.

Key words: Proof; Auxiliary function

(上接 17 页)

[3] 孙振久. 日本生物技术在蔬菜作物育种上的应用[J]. 陕西农业科学, 1993(6): 34-35.
 [4] 侯喜林, 曹寿椿, 余建明. 原生质体融合获得不结球白菜胞质杂种[J]. 园艺学报, 2001, 28(6): 532-537.
 [5] 司家刚, 朱德蔚, 杜永成, 等. 原生质体非对称融合获得胡萝卜种内胞质杂种[J]. 园艺学报, 2002, 29(2): 128-132.
 [6] 雷建军. 利用生物技术发展重庆蔬菜高新技术产业[J]. 西南园艺, 2000, 28(1): 19-20.
 [7] 连勇, 刘富中, 冯东昕, 等. 应用原生质融合技术获得茄子种间体细胞杂种[J]. 园艺学报, 2004, 31(1): 39-42.
 [8] 李省印, 李孟楼, 胡彩霞, 等. 平菇种内原生质体分离与融和杂交技术研究[J]. 生物技术通报, 2004(11): 580-583.
 [9] 汪社英, 蒋学波. 生物技术与蔬菜品种的改良[J]. 安徽师范大学学报(自然科学版), 2000, 23(2): 188-189.
 [10] 乔爱民, 张继栋, 尹彩霞, 等. 生物技术与我国蔬菜育种[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2008, 21(2): 63-71.
 [11] 高柳谦治[日]. 生物技术在蔬菜育种中应用的现状与展望[J]. 北京农业科学, 1990, 2: 38-40.
 [12] 严智燕, 张瑞香. 生物技术在育种中的应用[J]. 安徽农学通报, 2008, 14(11): 93-96.
 [13] 汤绍虎, 孙敏. 蕹菜人工种子研究[J]. 园艺学报, 1994, 21(1): 71-75.
 [14] 沈颖, 徐程, 张铭. 抱子甘蓝组织培养及人工种子研究[J]. 中国蔬菜, 2005(7): 12-14.

The Applied Status Quo and Research Direction of Biotechnology in Vegetable Breeding

ZHAO Kai-ping, ZHOU Xue-mei, TANG You-wang, LIU Zai-lan

(Horticulture Institute of Chengdu Agriculture and Forestry Science, Chengdu, Sichuan 610041)

Abstract: This paper summarized the status quo of biotechnology in vegetable breeding from such aspects as cell engineering, molecular markers and so on; briefly analyzed the applied prospects, and put forward the research of China's current biotechnology in vegetable breeding.

Key words: Biotechnology; Vegetable breeding; Prospects; Research Direction