

DOI: 10.13376/j.cbils/2016105

文章编号: 1004-0374(2016)07-0807-10

木薯综合育种理论探讨

陈松笔¹, 安飞飞¹, 张振文¹, 叶剑秋¹, 欧文军¹, 肖鑫辉¹, 李开绵^{2*}

(1 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业部木薯种质资源保护与利用重点实验室, 儋州 571737; 2 中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海口 571101)

摘要: 木薯在我国作为生物质能源、工业淀粉原料和潜在的粮食资源是热区最重要的经济作物之一。由于木薯遗传高度杂合和有性子代严重分离等不利因素导致育种周期长, 育种进展缓慢。针对木薯育种面临的挑战, 现提出综合育种的对策, 并详细阐述木薯综合育种所需条件和流程以及发展前景, 为缩短木薯育种年限和提高育种效率提供新思路。

关键词: 木薯; 综合育种; 策略; 条件; 流程

中图分类号: S335 **文献标志码:** A

Theoretical consideration of cassava integrated breeding

CHEN Song-Bi¹, AN Fei-Fei¹, ZHANG Zhen-Wen¹, YE Jian-Qiu¹, OU Wen-Jun¹, XIAO Xin-Hui¹, LI Kai-Mian^{2*}

(1 Key Laboratory of Ministry of Agriculture for Germplasm Resources Conservation and Utilization of Cassava, Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou 571737, China; 2 Institute of Topical Bioscience and Biotechnology, CATAS, Haikou 571101, China)

Abstract: In China, cassava (*Manihot esculenta* Crantz) mainly provides the raw materials to produce industrial starch and biofuel and is used as a potential food crop. It is also one of the most important cash crops in tropical areas. The breeding progress of cassava is slow because of its heterozygous genetic makeup and sexual progenies with severe separation, which makes it time consuming to breed efficiently. Based on these challenges, we developed the strategy of an integrated breeding for cassava genetic improvement. The necessary conditions, workflow and prospects for cassava integrated breeding were elaborated in the present study.

Key words: cassava; integrated breeding; strategy; conditions; workflow

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 具有比较高的光、热和水资源利用率, 单位面积生物能产量几乎高于其他所有的栽培作物, 且具有抗旱、耐瘠薄、适应性广、块根淀粉率高等特性, 可利用荒山、荒地、沙土地等边缘地开展木薯种植, 做到“不与粮争地”, 符合我国生物能源与粮食生产和谐发展的长期战略, 有利于保障国家粮食安全^[1]。在国际热带农业中心(International Center for Tropical Agriculture, CIAT)及国际热带农业研究所(International Institute of Tropical Agriculture, IITA)的推动下, 许多国家和地区的木薯遗传改良工作取得长足进展。通过与 CIAT 长达 30 年的合作, 中国热带农业科学院和广西亚热带作物研究所分别选育出国审华南系列和桂热系列高产

高淀粉木薯新品种; 泰国农业部罗勇大田作物研究中心泰国农业大学(Kasetsart University, KU)选育了 Rayong 及 KU 系列新品种。近年来, 在比尔·梅琳达·盖茨基金会(Bill & Melinda Gates Foundation)等资助下, 通过“HarvestPlus Program”项目, 发

收稿日期: 2016-01-03; 修回日期: 2016-03-01

基金项目: NSFC-CGIAR 国际合作重点项目(3136-1140366); 2012年海南省创新创业人才启动基金; 中国热带农业科学院科技攻关专题(1630032015005); 海南省自然科学基金项目(20153053); 国家“973”重点基础性研究项目(2010CB126606); 国家现代木薯产业技术体系建设专项资金(CARS-12)

*通信作者: E-mail: likaimian@sohu.com

掘微量营养元素的互作关系,利用育种和施肥方法提高木薯块根中微量元素,如硒和碘含量,从而增加木薯产品的铁、锌和维生素A含量,改善其营养品质^[2];还通过“BioCassava Plus”项目,利用现代生物技术提高非洲人民的健康水平,借助基因工程方法提高木薯营养品质(如铁、锌、蛋白质、维生素A和E),通过该项目延长木薯货架期,使木薯块根氰化物含量降低到安全食用水平,增强抗病病毒病的能力^[3]。CIAT和CATAS等通过发掘多个与抗病和抗虫相关的分子标记,建立了分子标记辅助育种技术。此外,美国和中国已经完成野生木薯和栽培木薯的全基因组测序工作,为木薯分子育种和品种改良提供强大的技术支撑平台^[4-5]。基于高通量测序技术的一批重要分子标记,如EST-SSR及SNPs得到开发和利用,为木薯物理图谱构建、分子标记和重要基因发掘以及基因工程育种提供了捷径^[6-8]。在基因功能发掘方面,原位PCR研究发现木薯生氰糖苷合成关键酶CYP79D1和CYP71E7与两个尿苷二磷酸葡萄糖转移酶UGT85K4和UGT85K5在皮层、木质部和韧皮部薄壁组织共表达,显示生氰糖苷可能在防御反应和氮同化微调方面发挥作用^[9]。microRNA对木薯冷胁迫和淀粉合成有潜在的调控作用^[10-11]。在基因工程创制新种质方面,通过“BioCassava Plus”项目创制的高蛋白并富集维生素A原及高铁、高锌的转基因木薯已开展了田间中试试验,未来重点在非洲开展研究和推广^[3,12-13],还获得RNAi介导的抗褐条病毒转基因木薯种质^[14]。通过RNAi沉默印尼木薯品种Adira4的*GBSSI*基因,获得的糯性木薯24个株系在印尼开展田间试验,其中10个株系的产量与对照没有显著差异,但其块根的糯性淀粉是番茄酱成分醋酸淀粉酯的重要原料^[15]。

虽然在木薯创新种质和选育种方面国内外均取得一定研究进展,但由于木薯基因组高度杂合,每kb(kilo-base)含有3.4~3.8个SNV(single-nucleotide variation,单核苷酸变异),高于竹子(1.0 SNVs/kb)、桃树(1.5 SNVs/kb)和杨树(2.6 SNVs/kb)等植物^[5]。采用传统杂交育种耗时长,转基因育种目标性强,通过该方法已创制出许多新种质,但不容易被种植农户接受,推广难度大,后期农艺性状稳定性也还有待验证,因此,短时间内很难得到加工企业急需的优良专业化木薯品种。如何提出一种新的育种理论,指导传统的经验育种向定向高效化发展是摆在许多育种学家面前的难题。为解决这个难题,2011

年12月2~5日在海口召开的由国家自然科学基金委员会(National Natural Science Foundation of China, NSFC)和CIAT联合主办的NSFC-CIAT热带作物研讨会上,李开绵研究员第一次提出木薯综合育种(cassava integrated breeding)的概念。2012年10月25~28日由中国热带作物学会热带薯类专委会主办的第一届热带薯类专委会学术交流会暨第六期木薯生物技术与功能基因组学研讨会上,李开绵研究员阐述了木薯综合育种的条件及高效整合、资源共享和组织协调的策略。然而,对综合育种,许多专家有不同的理解。张凤鑫等^[16-17]认为,棉花综合育种是将多抗选择、相互交配、分裂交配和轮回选择法融为一体,从而释放出许多有利的潜在变异,扩大育种群体的遗传变异幅度,产生出超越亲本的新类型,实现育成品种的多抗、优质和丰产等综合效应;而张志雄等^[18]认为,综合育种技术体系是根据作物遗传育种基因重组、突变与纯合的理论,将水稻常规杂交育种、诱变育种和花药培养等技术结合,使创造变异与快速稳定变异得到较好的结合;王家银等^[19]和张志雄等^[20-21]尝试建立以花药技术为主的综合育种技术体系,将创造变异、稳定变异、选择变异融为一体。张洪熙^[22]认为,水稻综合育种目标是:(1)不仅产量要有突破,而且品质、抗性、适应性等方面要有全面的整体性超越;(2)能高效利用自然资源,减少化肥、农药投入,实现产出与生态环境的和谐协调;(3)适应轻型化、机械化作业要求,高度抗倒,自我生长调节能力强。实现产量、优质、抗逆、适应性以及与环境和谐性等方面整体性的超越,取得更好的社会、经济和生态效益。上述所提出的作物综合育种的核心就是加强杂种优势利用,通过多种作物育种技术的融通,实现传统育种技术与现代生物技术的有机结合,从而创制出优异的新种质。Utsumi等^[23]提出木薯综合育种是要联合全世界木薯研究团队,建立一个综合功能基因组平台,这个平台将提供:(1)木薯(KU50、MEcu72he MPer417-003)全长cDNA序列;(2)二代测序的ESTs;(3)达到国际标准的整合木薯数据库;(4)含有超过3万个基因的木薯微阵列;(5)木薯遗传转化系统等。通过国家“973”项目“重要热带作物木薯品种改良的基础研究(2010CB126600)”第六子课题“木薯分子育种技术集成与种质创新(2010CB-126606,主持人李开绵研究员)”和国家木薯产业技术体系,实施分子综合育种,必将大幅度提高木薯育种理论和技术水平,使传统的经验育

种向定向高效化发展。笔者综合前人的研究成果, 开展木薯综合育种的理论探讨, 详细阐述综合育种面临的主要挑战、所需条件和流程以及发展前景, 为缩短木薯育种年限和提高育种效率提供新思路。

1 木薯育种面临的主要挑战

我国木薯种业面临的主要挑战为种质资源匮乏, 直链淀粉/支链淀粉类型少, 抗寒能力不高, 木薯采后腐烂严重等^[24]。2015年9月, 国家木薯产业技术体系专家在海口召开的“中国木薯栽培技术发展策略研讨会”上提出目前我国选育的品种除具备高产稳产外, 还需要具备易机械化收获、矮化密植、富含类胡萝卜素和蛋白质及食用风味好等特性^[25]。目前木薯传统育种工作主要集中在 CIAT 和 IITA 等国际性研究机构, 虽然在抗非洲花叶病毒、白粉虱、枯萎病, 以及淀粉组成和产量提升等方面的研究取得了一定进展。然而, 由于木薯遗传上具有高度杂合、花粉育性不高、结子率低、有性子代严重分离等特性以及抗性基因资源相对贫乏和育种周期长等不利因素, 传统育种进展缓慢^[1]。木薯产业化面临的最大瓶颈是采后腐烂, 即木薯收获后必须在 3 d 内加工, 否则木薯会发生采后生理衰变, 导致块根褐化及腐烂, 影响加工性能, 为淀粉加工企业带来很大压力。目前每年由于采后腐烂导致的损失在 10% 以上^[1]。而限制木薯生长和产量的因素, 在非洲及印度半岛目前主要是花叶病 (CMD) 及褐条病毒病 (CBSVD), 东南亚及我国尚未有这 2 种病毒侵染的报道。木薯是热带作物, 对低温耐性较差, 我国木薯种植主要集中在华南地区, 可分布到长江流域。20 世纪 50、60 年代曾在秦岭以南地区推广, 但由于易在秋末至初春受到低温冷害的影响, 木薯种植未能大面积向北推广。解决木薯不耐低温问题, 可延长木薯的生长期, 提高产量, 同时, 使木薯种植区域北扩, 满足我国木薯加工企业和能源工业对原材料的需求^[1]。

2 木薯综合育种条件

2.1 收集保存一定规模的种质资源

一切具有某些种质或基因、可供育种及相关研究利用的各种生物类型称为种质资源, 也称遗传资源或基因资源。种质资源是人类利用植物的遗传变异选育新品种的主要材料来源, 是提高作物单产和品质改良的关键, 是开展育种工作和农业产业发展的物质基础。广泛收集保存木薯种质资源可为木薯

育种提供多样化的亲本, 加速木薯品种改良进程。CIAT 拥有世界上最大的种质资源圃 (库), 自 1973 年以来, 它收集和保存了世界 141 个国家传统的、新培育的和野生的植物资源, 目前已保存了 6 000 多份木薯种质, 其中核心种质 600 份。中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所 (CATAS-TCGRI) 选育的华南 5 号木薯是我国唯一一个被 CIAT 收集保存的木薯栽培品种。木薯是 CIAT 在种质资源收集保存、鉴定评价、育种栽培及采后加工方面研究非常广泛而又深入的一种作物; CIAT 的木薯研究水平在世界上处于领先地位, 它主要为亚洲和非洲地区提供优异的木薯种质资源和高产优质的木薯品种, 如高类胡萝卜素、耐采后腐烂、抗白粉虱、高直链或高支链的木薯种质^[21]。CATAS-TCGRI 自从 1985 年与 CIAT 开始合作以来, 共引进 CIAT 木薯种质 900 多份, 其中核心种质 535 份, 在这个基础上, CATAS-TCGRI 建立了国家木薯种质资源圃, 占世界木薯核心种质的 80% 以上, 成为 CIAT 在亚洲的木薯种质资源备份库。巴西位于热带南美洲, 是许多热带种质资源的起源中心, 拥有木薯近缘种 80 个 (占世界总资源的 81.6%), 特别是木薯珍稀种质资源, 包括高淀粉率 (达到 40%) 种质及糖木薯、矮化木薯、粉红木薯、深黄木薯 (高类胡萝卜素)、抗病木薯、抗寒木薯和野生木薯种质资源等^[26]。2012 年, CATAS-TCGRI 与巴西国家农牧研究院 (Embrapa) 签署种质资源引进协议, 引进以上珍稀及抗逆木薯种质资源脱毒组培苗 50 多份, 杂交种子 1 000 多粒, 极大丰富了我国木薯种质资源的遗传多样性, 有利于加快耐低温、高产、优质木薯新品种的选育和改良工作。

2.2 创制一定数量的育种中间材料

为选育株型好、生物量大、收获指数高的高产优质抗逆性强木薯新品种, 需选用优良种质作骨干亲本进行杂交配组, 创制遗传背景丰富的杂种后代群体, 通过鉴定评价选育出符合育种目标的新品种。在选育种中, 主要利用遗传背景丰富, 高产且具有某些重要经济性状的中材料作亲本进行杂交配组, 因为以此类中材料作亲本的组合, 其杂种后代群体变异幅度较大, 有利性状变异类型比较多, 对改良品种的重要经济性状, 提高入选机率, 加快育种进程起到重要作用。CATAS-TCGRI 已创制育种中间材料 5 000 多份, 并对其的遗传多样性进行鉴定评价^[27]。从木薯栽培种和橡胶木薯 (*Manihot glaziovii* Müller-Argoviensis) 种间杂交的中间材料中

选育出抗 CMD 的种质^[28]。利用优良木薯骨干亲本、中间育种材料及 CIAT 的选育种技术, CATAS-TCGRI 选育出具有我国知识产权的华南 6068、华南 124、华南 8013、华南 8002、华南 5 号、华南 6 号、华南 7 号、华南 8 号、华南 9 号、华南 10 号、华南 11 号、华南 12 号和华南 13 号共 13 个高产优质的华南系列木薯新品种, 这些新品种最高产量可达 90 t/hm² 以上, 平均产量 30~45 t/hm², 远高于世界平均水平, 新品种推广面积累计超过 0.11 亿 hm², 获得了显著的经济效益和社会效益。尤其是华南 5 号在柬埔寨等东南亚国家累计推广面积超过 20 万 hm², 目前柬埔寨主推 2015 年审定的品种华南 13 号, 其中柬埔寨 PPM 公司已发展种植达 0.67 万 hm²。

2.3 具备较为成熟的分子辅助育种技术

木薯传统育种主要根据形态标记、细胞标记和生化标记进行选择, 这 3 种标记都是基因表达的结果, 是对基因的间接反映。传统标记数目小, 多态性差、容易受环境条件影响, 很难排除环境因素对作物性状的影响, 育种周期长、选择效率低。分子标记是以个体间遗传物质内核苷酸序列变异为基础的遗传标记, 是 DNA 水平遗传变异的直接反映^[29]。分子标记辅助育种是利用与目标性状基因紧密连锁的遗传标记, 对目标性状进行跟踪选择的一项育种技术。该方法不仅克服了环境因素的影响, 而且可缩短育种年限, 提高育种效率, 加快育种进程。为选育抗 CMD 木薯品种提供依据, Akano 等^[28]利用 BSA (bulk segregant analysis) 方法首次发现与木薯抗 CMD 基因连锁的 SSR 标记 SSRY28, 目前已经广泛运用于非洲和南美洲木薯抗 CMD 的分子标记辅助育种。Lokko 等^[30]采用 SSR 和 AFLP 方法, 从抗感 CMD 基因池中筛选到与抗 CMD 基因连锁的 SSR 标记 SSRY28-180、SSRY106-207 和 AFLP 标记 E-ACC/M-CTC-225, 这些标记可解释的表型变异分别为 57.41%、35.59% 和 22.5%。Okogbenin 等^[31]利用 530 个 SSR 标记, 从尼日利亚 200 个木薯种质中筛选出抗 CMD 的 2 个品种 TMS 97/2205 和 TMS 98/0505 及抗 CMD 基因连锁分子标记 NS198, 为选育高抗 CMD 木薯新种质提供理论依据。为了确立木薯改良策略, 选育高 β -胡萝卜素品种, Ferreira 等^[32]采用 RAPD 分子标记方法分析 Embrapa 木薯基因库中 30 个橙黄木薯的遗传变异, 不同品种间最大的遗传距离为 31.7%, 不同品种块根 β -胡萝卜素含量范围为 0.63~15.51 mg/g, 且 β -胡萝卜素含量的高低与薯肉颜色呈正相关。利用

SRAP 分子标记构建木薯品种的 DNA 指纹图谱, 用于木薯的分子辅助育种和品种分类及鉴定^[33]。王萍等^[34]利用 SSR 分子标记研究非近交亲本抗褐斑病的文昌红心和中感亲本华南 6 号杂交获得的分离群体 184 个株系, 共检测到 15 个与木薯褐斑病抗性相关的 QTL, 贡献率在 9.61%~64.81%。为寻找与木薯茎叶鲜重、块根鲜重、株高、开花、块根数和叶片叶绿素含量紧密关联的分子标记, 何静等^[35]利用 145 对 SRAP 引物和 132 对 EST-SSR 引物对 19 个木薯栽培品种进行多位点的扫描分析, 通过关联分析软件将标记与这些栽培品种的以上农艺性状进行关联, 共检测到 29 个与块根数、鲜重和开花等性状相关联的位点。为研究中国现有木薯种质资源遗传多样性特点, 韦祖生等^[36]采用 49 对 EST-SSR 引物对 76 份木薯材料进行遗传多样性分析。齐兰等^[33]采用 SRAP 分子标记对 134 份木薯种质资源进行的遗传多样性分析, 为我国进一步引进木薯优良资源以及优异木薯基因资源挖掘和育种利用提供了理论借鉴。Fregene 等^[37]利用 132 个 RFLP 标记、30 个 RAPD 标记、3 个 SSR 标记和 3 个同工酶标记构建一张基于 90 个株系的 F₁ 代遗传连锁图谱, 该图谱含 20 个连锁群, 覆盖木薯基因组的 60%。而 Okogbenin 等^[38]构建 F₂ 代 268 个株系的遗传连锁图谱, 该图谱含 22 个连锁群和 100 个 SSR 标记, 这两种图谱存在共用的 47 对 SSR 位点。目前我国构建了较为完整的木薯分子遗传图谱, 包括 355 个 SSR、EST-SSR、AFLP 和 SRAP 等标记, 覆盖 18 个连锁群, 总遗传图距达到 1707.9 cM。木薯新型分子标记 EST-SSR、SNP 的开发将实现规模化, 分子标记与功能基因的结合将使得育种利用变得更加简单和实用。CATAS-TCGRI、CATAS 的热带生物技术研究所与中科院合作通过对野生品种 W14 [*M. esculenta* subsp. *flabellifolia* (Pohl) Ciferri] 和高产栽培品种 KU50 等进行比较基因组测序的方法, 开发出数百万个全基因组分子标记^[5], 为分子标记辅助育种提供了工具。

2.4 构建较为完善的遗传转化平台

基因工程是利用现代生物技术, 将人们期望的目标基因, 经过人工分离、重组后, 导入并整合到木薯基因组, 或对目标基因进行加工、沉默、敲除等方法技术处理, 从而改善木薯原有的性状或赋予其新的优良性状。利用该技术可快速实现木薯品质的定向改良, 加快木薯种质创新, 将对整个木薯产业体系的发展起到重要的推动作用^[39]。这一过程的

实现要有一个较为完善的遗传转化平台, 包括外源基因克隆、表达载体构建、遗传转化和再生体系建立、遗传转化体筛选、遗传稳定性分析和回交转育等。建立离体植株再生体系是实现木薯遗传转化的首要条件, 目前主要通过以脆性胚性愈伤组织进行体细胞胚胎发生和体细胞胚子叶进行芽器官发生为主要植株再生途径, 利用模式品种如 MCo122 和 TMS60444 等已建立了相对成熟的遗传转化和再生体系, 成功培育转 *ipt* 基因木薯新种质^[40]。转 *ipt* 基因木薯叶片可自我调节细胞分裂素的含量, 延缓木薯叶片衰老, 增加生物产量。利用农杆菌介导法在木薯品种 Col2215 中反义表达 *CYP79D1* 和 *CYP79D2* 基因, 转基因木薯叶片中的亚麻苦苷含量比对照减少 34%~94%^[41]。利用小分子 RNA 干扰技术沉默淀粉合成酶基因 *GBSSI* 的表达获得一系列直链淀粉与支链淀粉含量发生变化的木薯新种质, 为拓宽木薯淀粉的工业应用提供了全新的思路^[42]。Xu 等^[43-44]通过双表达 *MeCu/ZnSOD* 和 *MeAPX2* 基因或 *MeCu/ZnSOD* 和 *MeCAT1* 基因, 均显著提高木薯的抗氧化和冷胁迫能力。利用我国自主选育的高产高淀粉木薯品种华南 8 号等开展体细胞胚胎和器官发生^[45-47]、胚性悬浮培养及遗传转化基础性研究工作, 获得 *AGPase*^[48] 和 *SBEI*^[49] 等转基因木薯植株。

2.5 建立较为完备的生物信息学数据库

木薯功能基因组学研究发展迅速, 与逆境相关的转录因子 *CBF* 基因及其启动子、与淀粉合成相关的基因, 包括 *GBSSI*、*SBEI*、*SBEII* 及与淀粉磷酸化相关的基因 *GWD* 得到了克隆并进行了功能验证, 可应用于木薯的抗逆境、淀粉品质遗传改良。构建了覆盖 2 万条表达序列的 Agilent Cassava Oligo 4x44K Microarray, 并对木薯块根形成及逆境处理涉及的基因表达谱学进行了研究, 鉴定出一系列的关键基因。对木薯苗期发育及胁迫相关 miRNA 进行了分析和鉴定, 发现了多个新的 miRNA。利用 T-DNA 插入突变和化学物理诱变技术构建木薯突变体库^[50-51], 构建未来木薯功能基因发掘的重要资源与工具。Yang 等^[52]利用基因芯片技术研究了木薯贮藏根发育过程的基因表达谱, 首次解析了木薯块根形成及淀粉富集的机制。在木薯遗传转化技术不断优化基础上, 通过干扰 *GBSSI* 的转录表达, 获得了糯性木薯^[42,53-54]。在分子辅助育种方面, 利用 EST-SSR 技术对 F1 群体进行分子标记的多态性分析^[55]。陈松笔团队开展木薯华南 8 号叶茎、不定根和块根的蛋白质组学研究, 揭示不同组织差异蛋白

质群承担不同的生物学功能^[56], 还研究蛋白质组学在选育高光效、高淀粉积累、高蛋白质和高类胡萝卜素及抗逆木薯种质的应用^[25]。郭建春团队对木薯非胚性与胚性组织的蛋白表达差异进行了初步分析^[57], 分析了体胚发生过程中酯酶和淀粉酶同工酶的变化^[58]。Wang 等^[5]报道利用高通量测序技术开展木薯野生种 W14 与栽培品种 KU50 比较基因组学研究, 完成了 W14 和 KU50 的全基因组草图, 证实了木薯基因组的高杂合度, 发现野生种和栽培种分别含有 34 483 和 38 845 个基因, 注释了碳流、淀粉积累和氢氰酸合成代谢通路关键基因的生物学功能, 并开发出数百万个全基因组分子标记。这些全基因组数据为木薯基础生物学、基因发掘和全基因组辅助育种提供一个重要平台。

2.6 具有广泛而深入的国际合作基础

木薯综合育种是一个系统工程, 它涉及到团队群间的协同合作与相互配合。广泛与深入的国际合作使我国木薯育种团队有机会接触最新的国际木薯育种科研项目, 参与顶尖的国际育种科研团队, 对改善育种科研环境及跟踪国际最新木薯育种研究动向有很重要意义。CATAS 木薯研究团队与 CIAT 木薯团队有长达 30 多年的合作, 合作范围包括木薯核心和优良种质资源引进与交换、传统和分子育种知识及技术培训、科研人员互访及科研项目联合申报。目前获批的联合申报 NSFC-CGIAR 国际合作与交流项目有 3 项, 总经费 703 万。通过 2007 年 CATAS 与 Embrapa 签署的合作谅解备忘录, 与木薯资深分子生物学家和遗传学家 Luiz JCB Carvalho 教授团队合作, 双方合作范围包括木薯种质资源引进与交换协议签署、木薯全基因组测序、联合申请项目和发表论文、科技人员互访、联合筹建平台和联合培养博士后等。通过合作交流, 引进巴西的野生和栽培木薯种质资源, 如糖木薯、矮化木薯和粉红木薯等特异种质, 极大地丰富了我国木薯种质资源的遗传多样性。通过中英非项目合作, 与英国格林威治大学自然资源研究所及乌干达木薯创新研究所合作, 开展木薯抗花叶病和褐条病育种工作。通过中刚示范中心, 选育出 2 个抗花叶病的木薯种质 K265 和 I93^[59]。至今为止, 已经和 CIAT、Embrapa、IITA、泰国农业大学、美国夏威夷大学、英国格林威治大学等 15 个国家的科研单位开展持续和深入的合作关系, 引进国外特异木薯种质, 补充我国育种中间材料, 扩大我国木薯种质资源遗传距离, 为木薯综合育种提供丰富的种质资源和先进育种

技术。

3 木薯综合育种流程

3.1 高效整合、资源共享和组织协调

详见图 1。

3.1.1 高效整合

木薯传统育种、诱变育种和生物育种各有优缺点，通过高效整合国内外育种方法的研究成果，将各种育种技术相互交叉、渗透和融合，取长补短，形成综合或组合性强的育种技术^[18]，如整合国内外木薯花药培养^[60]、辐射育种^[61-62]和体细胞培养等基础研究和传统杂交育种成果，开展杂交-花药培养、杂交-辐射-花药培养、辐射-体细胞培养和

雄性不育-孤雌生殖等多种育种途径，可加快育种进程，提高育种效率，尤其是花药培养，能创造农艺性状优良、育种价值高的材料。

3.1.2 资源共享

由于大部分作物信息资源的术语没有按照语义标准进行标注，不同的生物数据库使用不同的语义，导致查准率低，查询冗余度高和查询遗漏，难以实现有效的知识共享，使研究者浪费大量的时间和精力在搜索信息上。CGIAR 下属的国际生物多样性中心、国际玉米和小麦改良中心、国际马铃薯中心、国际半干旱热带作物研究所、IITA 和国际水稻研究所联合开发全球挑战计划的作物本体论来建立综合育种平台，将各种作物表现型和基因型数据库的术

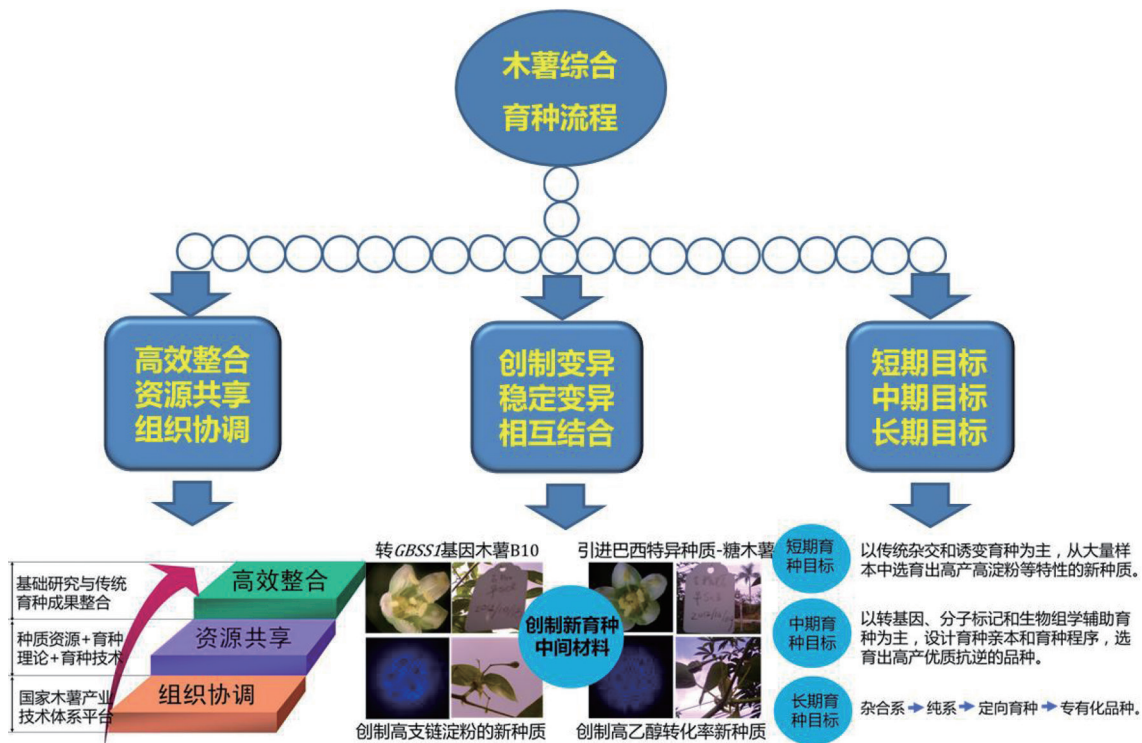


图1 木薯综合育种流程

语规范统一，使用标准化词汇来整合各种作物的生物学数据，有效实现生物数据共享。目前已构建了基于本体论的木薯、鹰嘴豆、菜豆、花生、玉米、香蕉、马铃薯、水稻、高粱和小麦生物学数据库。综合育种平台的目的是通过整合和功能展示的方式向育种工作者提供先进技术、育种材料和相关信息及服务，这将有助于发展中国家改进作物育种效率和较易接受分子育种技术^[63]。

3.1.3 组织协调

通过建立国家木薯产业技术体系，全面组织协调木薯产业建设，制定木薯行业发展规划，组织实施木薯行业科技计划，组织协调实验室的研究及各实验站的成果示范转化工作，组织召开木薯行业科技发展战略会议，协调开展国内外木薯科技的交流与合作。国家木薯产业技术体系设有 10 个功能实验室和 10 个综合试验站。10 个功能实验室包括种

质资源评价、分子辅助育种、转基因育种、种苗繁育、害虫防控、病害防控、土壤与肥料、栽培管理、采后处理与加工、新产品开发与利用。根据我国木薯产业的区域和产品市场特点,在广西桂林、北海、武鸣、梧州和广东广州、海南白沙、云南保山、福建三明、江西南昌、湖南长沙 10 个木薯主要优势区域分别建设综合试验站,开展木薯产业综合集成技术的试验、示范和推广,培训技术推广人员,开展技术服务,调查、收集农户生产存在的实际问题与技术需求信息。通过建立国家木薯产业体系,科研工作分工明确,有效配合、避免重复研究、自我封闭和恶性竞争,提高木薯综合育种效率^[64]。

3.2 使创制变异与稳定变异得到较好结合

3.2.1 寻找变异种质资源,创制育种中间材料

诱变育种是利用理化因素诱发变异,再通过选择育成新品种的方法,它在创造或改变单基因控制的特殊性状方面具有独特的优势。诱变技术可以产生许多突变的基因,为植物新品种选育提供丰富的突变体材料;通过形态学、细胞学、离体培养、生理生化和分子标记对突变体进行鉴定分离和筛选,是获得有益变异的重要途径^[65]。采用 γ -射线辐射木薯种子,种子发芽长成植株后,自花授粉,筛选出小淀粉颗粒的木薯突变体,该突变体淀粉颗粒直径为 5.8 μm ,是正常木薯淀粉颗粒直径的 1/3;直链淀粉含量 30.1%,高于正常木薯直链淀粉含量的 19.8%,研究表明,该突变体缺失淀粉分支酶^[61]。Ceballos 等^[62]筛选出块根不含直链淀粉的木薯突变体,分析显示该突变体缺失 GBSS。Carvalho 等^[66]在亚马逊河流域发现了 27 个糖木薯突变体,其中 CAS36.1 突变体游离糖含量是木薯商业品种的 100 倍以上,水溶性和非水溶性 α -多聚葡萄糖结构分析显示该突变体具有糖原状的淀粉,蛋白质印迹分析显示 ADPG 焦磷酸化酶 (AGPase) 和 SBE 及相对应的蛋白质在淀粉合成通路中失活,基因表达分析显示缺少 SBE 的转录本。Carvalho 等^[67]从块根有色体全蛋白质方面分析深黄木薯变种的特点,揭示在有色体中与木薯块根蛋白质含量偶联的 5 个蛋白质,包括 HSP18.1、HSP21、HSP17.4、HSP17.6 和 Or 蛋白。An 等^[68]利用蛋白质组学方法揭示木薯四倍体叶片光合作用和防御系统及氢氰酸代谢相关的蛋白质均上调表达,从而提高木薯四倍体的抗逆能力。

3.2.2 使创制的变异与稳定变异较好结合

在木薯分子育种方面,Ihemere 等^[69]通过调节

淀粉合成通路的关键性蛋白酶 AGPase 的活性来提高木薯块根淀粉的积累,通过转基因方法成功提高 AGPase 的活性,发现 AGPase 高表达的木薯块根生物量是对照的 2.6 倍。为充分利用数据库和计算机模拟技术,极大地提高作物育种效率,荷兰科学家 Peleman 和 van der Voort^[70]提出分子设计育种概念,而后经众多科学家补充完善逐步形成一个技术体系。与传统育种和分子育种方法相比,作物分子设计育种首先在计算机上模拟实施,考虑的因素更多、更周全,因而所选用的亲本组合、选择途径更有效,更能满足育种的需要。目前分子设计育种在水稻、小麦等作物上已经开始实施。创建木薯大数据库,利用分子育种技术,研究控制目标性状的基因在不同目标环境群体下的表达形式,聚合存在于不同材料中的有利基因,使创制的变异与稳定变异得到较好的结合,建立和完善多基因组分子设计育种的理论和技术体系,为木薯产业提供具有高产、优质、耐逆和低毒性状的新品种。

3.2.3 形成短期、中期和长期育种目标相结合的木薯综合育种理论体系

20 世纪 90 年代前我国木薯的育种目标主要是选育高产、高淀粉、低氢氰酸、早熟抗风和易收获品种。90 年代后,育种目标主要为工业用木薯品种,如高支链淀粉专用型、燃料乙醇专用型、营养食品加工型、高蛋白饲料型和抗旱、耐贫瘠盐碱地型品种^[71],主要采用的选育种途径为引种和常规杂交育种,诱变育种和生物技术育种作为选育种的辅助手段显得越来越重要。然而,仅仅依靠以上选育种途径,很难在短时间内选育出木薯加工企业所需要的专用型品种。如何通过综合育种,使木薯育种向高深方向发展,缩短育种年限和加速良种区域化,木薯工业用特点突出,已经形成了面向多元化市场的木薯综合利用,初步具备能源化、主食化、特用化、效益化和国际化的特点,主要存在问题包括木薯种植面积小、产值低、加工企业多和原料缺口大等。我国木薯种质资源收集保存、鉴定评价和杂交选育种处于国际先进水平,在木薯生物组研究方面处于国际领先水平,在木薯转基因创新种质方面成就突出,木薯营养诊断、间套种、轮作栽培技术应用广泛,在木薯食品加工、酒精制造、变性淀粉和木薯废弃物利用方面成绩显著。根据这些特点,选定综合育种的路线,确定长期目标,把其具体化和可操作化,就形成了中期目标和短期目标。综合育种的长期育种目标根据产业要求选育专用化品种,达到定向育

种目的。把长期目标分解形成中期育种目标,以转基因、分子标记和生物组学辅助育种为主,设计育种亲本和育种程序,选育出高产优质抗逆的品种,短期育种目标是以传统杂交和诱变育种为主,从大量样本中选育出高产高淀粉的品种,形成短期、中期和长期相结合的木薯综合育种理论体系。

4 木薯综合育种展望

木薯作为我国《可再生能源中长期发展规划》中强调的重要能源植物,担负着年产50万吨燃料乙醇的任务,也是我国非粮淀粉型能源植物的首选之一^[1]。“十二五”期末,国内木薯产业发展开始呈现食品化、能源化、特用化、效益化和国际化趋势,尤其是木薯产业科技的“国际化”已逐渐成为我国现代农业“走出去”和国家农业科技外交的重要支撑。通过国家产业技术体系的有效推动,形成多技术整合、多学科协作、多优性集成的木薯综合育种体系,选育出具有我国知识产权的优良专用化品种,抢占国际木薯种业的龙头地位,实现我国木薯育种事业的全面超越。

[参 考 文 献]

- [1] 张鹏. 能源木薯种质资源面临的问题与解决策略. 生物产业技术, 2008, (5): 25-30
- [2] Lyons GH, Stangoulis JC, Graham RD. Exploiting micronutrient interaction to optimize biofortification programs: the case for inclusion of selenium and iodine in the *HarvestPlus* program. *Nutr Rev*, 2004, 62: 247-52
- [3] Sayre R, Beeching J, Cahoon E, et al. The BioCassava Plus Program: biofortification of cassava for sub-Saharan Africa. *Annu Rev Plant Biol*, 2011, 62: 251-72
- [4] Prochnik S, Marri PR, Desany B, et al. The cassava genome: current progress, future directions. *Trop Plant Biol*, 2012, 5: 88-94
- [5] Wang W, Feng B, Xiao J, et al. Cassava genome from a wild ancestor to cultivated varieties. *Nat Commun*, 2014, 5: 5110
- [6] Sraphet S, Boonchanawiwat A, Thanyasiriwat T, et al. SSR and EST-SSR-based genetic linkage map of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Theor Appl Genet*, 2011, 122: 1161-70
- [7] Whankaew S, Poopear S, Kanjanawattanawong S, et al. A genome scan for quantitative trait loci affecting cyanogenic potential of cassava root in an outbred population. *BMC Genomics*, 2011, 12: 266
- [8] Ferguson ME, Hearne SJ, Close TJ, et al. Identification, validation and high-throughput genotyping of transcribed gene SNPs in cassava. *Theor Appl Genet*, 2011, 124: 685-95
- [9] Kannangara R, Motawia MS, Hansen NK, et al. Characterization and expression profile of two UDP-glucosyltransferases, UGT85K4 and UGT85K5, catalyzing the last step in cyanogenic glucoside biosynthesis in cassava. *Plant J*, 2011, 68: 287-301
- [10] Zeng C, Chen Z, Xia J, et al. Chilling acclimation provides immunity to stress by altering regulatory networks and inducing genes with protective functions in cassava. *BMC Plant Biol*, 2014, 14: 207
- [11] Chen X, Xia J, Xia Z, et al. Potential functions of microRNAs in starch metabolism and development revealed by miRNA transcriptome profiling of cassava cultivars and their wild progenitor. *BMC Plant Biol*, 2015, 15: 33
- [12] Abhary M, Siritunga D, Stevens G, et al. Transgenic biofortification of the starchy staple cassava (*Manihot esculenta*) generates a novel sink for protein. *PLoS One*, 2011, 6: e16256
- [13] Narayanan NN, Ihemere U, Ellery C, et al. Overexpression of hydroxynitrile lyase in cassava roots elevates protein and free amino acids while reducing residual cyanogen levels. *PLoS One*, 2011, 6: e21996
- [14] Yadav J, Ogwok E, Wagaba H, et al. RNAi mediated resistance to cassava brown streak Uganda virus in transgenic cassava. *Mol Plant Pathol*, 2011, 12: 677-87
- [15] Koehorst-van Putten HJ, Sudarmonowati E, Herman M, et al. Field testing and exploitation of genetically modified cassava with low-amylose or amylose-free starch in Indonesia. *Transgenic Res*, 2012, 21: 39-50
- [16] 张凤鑫, 蒋新河, 梅选明. 棉花综合育种的群体改良法研究. 西南农业大学学报, 1990, 12: 451-6
- [17] 张凤鑫, 蒋新河, 王榆宁, 等. 棉花综合育种的联合水平选择法研究. 西南农业大学学报, 1990, 12: 446-50
- [18] 张志雄, 向跃武, 王家银, 等. 水稻综合育种技术的设计与进展. 西南农业大学学报, 1993, 15: 466-70
- [19] 王家银, 张志雄, 向跃武, 等. 综合育种技术在杂交水稻恢复系选育上的效果. 西南农业大学学报, 1994, 7: 17-21
- [20] 张志雄, 向跃武, 张安中, 等. 花药培养为主体的杂交稻综合育种技术的建立及应用. 西南农业学报, 1998, 11: 64-7
- [21] 张志雄, 向跃武, 张安中, 等. 水稻综合育种技术及在杂交稻育种中的应用研究. 中国农业科学, 1998, 31: 76-8
- [22] 张洪熙. 综合育种 全面超越 重点突破——水稻品种选育有关问题的思考. 江苏农业科学, 2000, 4: 5-7
- [23] Utsumi Y, Sakurai T, Utsumi C, et al. An integrated platform for the advancement of molecular breeding of cassava [C]// Howeler RH. Sustainable cassava production in Asia for multiple uses and for multiple markets. Proceedings of the Ninth Regional Workshop Held in Nanning, Guangxi, China PR. 2015: 116-23
- [24] 张鹏, 安冬, 马秋香, 等. 木薯分子育种中若干基本科学问题的思考与研究进展. 中国科学C辑: 生命科学, 2013, 43: 1082-9
- [25] 陈松笔, 安飞飞, 朱文丽, 等. 蛋白质组学在木薯育种中的应用. 生物技术通报, 2015, 31: 18-26
- [26] 刘建玲, 陈松笔, 周峰, 等. 赴哥伦比亚和巴西考察热带农业报告. 中国热带农业, 2011, (6): 31-3
- [27] 薛月寒, 吴文婧, 叶剑秋, 等. 木薯种质的遗传多样性评价及高产种质初级筛选. 植物遗传资源学报, 2014, 15:

- 74-83
- [28] Akano O, Dixon O, Mba C, et al. Genetic mapping of a dominant gene conferring resistance to cassava mosaic disease. *Theor Appl Genet*, 2002, 105: 521-5
- [29] 黄映萍. DNA分子标记研究进展. 中山大学研究生学刊: 自然科学医学版, 2010, 31: 27-36
- [30] Lokko Y, Danquah EY, Offei SK, et al. Molecular markers associated with a new source of resistance to the cassava mosaic disease. *Afr J Biotechnol*, 2005, 4: 873-81
- [31] Okogbenin E, Egesi CN, Olasanmi B, et al. Molecular marker analysis and validation of resistance to cassava mosaic disease in elite cassava genotypes in Nigeria. *Crop Sci*, 2012, 52: 2576-86
- [32] Ferreira CF, Alves E, Pestana KN, et al. Molecular characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) with yellow-orange roots for β -carotene improvement. *Crop Breed Appl Biotechnol*, 2008, 8: 23-9
- [33] 齐兰, 王文泉, 张振文, 等. 利用 SRAP 标记构建18个木薯品种的 DNA 指纹图谱. *作物学报*, 2010, 36: 1642-8
- [34] 王萍, 李杰, 付瑜华, 等. 利用非近交亲本间杂交 F1 群体对木薯褐斑病田间抗性的 QTL 分析. *热带亚热带植物学报*, 2007, 15: 191-7
- [35] 何静, 王文泉, 郑永清, 等. 木薯栽培品种农艺性状与分子标记的关联分析. *热带作物学报*, 2010, 31: 693-700
- [36] 韦祖生, 夏志强, 李开绵, 等. 木薯种质库遗传多样性的 EST-SSR 标记. *热带作物学报*, 2008, 29: 304-9
- [37] Fregene M, Angel F, Gomez R, et al. A molecular genetic map of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 431-41
- [38] Okogbenin E, Marin JA, Fregene MA. An SSR-based molecular genetic map of cassava. *Euphytica*, 2006, 147: 433-40
- [39] 张鹏. 我国薯类基础研究的动态与展望. *生物技术通报*, 2015, 31: 65-71
- [40] 李洪清, 李美茹, 刘鸿先, 等. 木薯抗叶片早衰的基因工程育种. *中国科学院研究生院学报*, 2000, 17: 74-80
- [41] Siritunga D, Sayre RT. Generation of cyanogen-free transgenic cassava. *Planta*, 2003, 217: 367-73
- [42] Zhao SS, Dufour D, Sánchez T, et al. Development of waxy cassava with different biological and physico-chemical characteristics of starches for industrial applications. *Biotechnol Bioeng*, 2011, 108: 1925-35
- [43] Xu J, Yang J, Duan X, et al. Increased expression of native cytosolic Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase improves tolerance to oxidative and chilling stresses in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *BMC Plant Biol*, 2014, 14: 208
- [44] Xu J, Duan X, Yang J, et al. Coupled expression of Cu/Zn-superoxide dismutase and catalase in cassava improves tolerance against cold and drought stresses. *Plant Signal Behav*, 2013, 8: e24525
- [45] 朱文丽, 莫饶, 李开绵, 等. 激素对木薯体细胞胚胎发生与植株再生的影响. *热带作物学报*, 2010, 31: 621-5
- [46] 姚庆荣, 郭运玲, 郭安平, 等. 木薯基因工程育种研究现状与展望. *安徽农业科学*, 2007, 35: 1636-7, 1648
- [47] 朱文丽, 李开绵, 陈松笔. 木薯微茎尖离体培养. *热带作物学报*, 2015, 36: 316-20
- [48] 郭运玲, 姚庆荣, 孔华, 等. *AGPase*基因转化木薯获得转基因植株的研究. *热带作物学报*, 2011, 32: 2274-7
- [49] 郭运玲, 孔华, 尹奇, 等. 木薯淀粉分支酶 *SBEI* 反义基因遗传转化木薯的研究. *中国农学通报*, 2013, 29: 149-54
- [50] 徐名, 路铁刚. 植物诱变技术的研究进展. *生物技术进展*, 2011, 1: 90-7
- [51] 江树业. 水稻突变群体的构建及功能基因组学. *分子植物育种*, 2003, 1: 137-50
- [52] Yang J, An D, Zhang P. Expression profiling of cassava storage roots reveals an active process of glycolysis/gluconeogenesis. *J Integr Plant Biol*, 2011, 53: 193-211
- [53] 方佳敏, 刘佳, 唐克轩, 等. 根癌农杆菌介导的木薯遗传转化条件的优化. *热带作物学报*, 2011, 32: 1697-703
- [54] Liu J, Zheng Q, Ma Q, et al. Cassava genetic transformation and its application in breeding. *J Integr Plant Biol*, 2011, 53: 552-69
- [55] 孙湘来, 陈新, 文明富, 等. 基于 EST-SSR 的木薯分子标记遗传连锁图谱的构建. *中国农学通报*, 2011, 27: 231-6
- [56] Li K, Zhu W, Zeng K, et al. Proteome characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) somatic embryos, plantlets and tuberous roots. *Proteome Sci*, 2010, 8: 1-12
- [57] 段瑞军, 符少萍, 王静, 等. 木薯非胚性与胚性组织蛋白质双向电泳差异初步分析. *热带作物学报*, 2011, 32: 673-8
- [58] 赖桂柱, 李瑞梅, 王静, 等. 华南5号和华南6号木薯体胚发生过程中酯酶和淀粉酶同工酶分析. *热带作物学报*, 2011, 32: 1201-5
- [59] 薛茂富, 朱文丽, 李开绵, 等. 刚果(布)耐花叶病高产木薯品种筛选研究. *热带作物学报*, 2015, 36: 1779-84
- [60] Perera PIP, Ordoñez CA, Becerra Lopez-Lavalle LA, et al. A milestone in the doubled haploid pathway of cassava. a milestone in the doubled haploid pathway of cassava (*Manihot esculenta* Crantz): cellular and molecular assessment of anther-derived structures. *Protoplasma*, 2014, 251: 233-46
- [61] Ceballos H, Sánchez T, Denyer K, et al. Induction and identification of a small-granule, high-amylose mutant in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *J Agric Food Chem*, 2008, 56: 7215-22
- [62] Ceballos H, Sanchez T, Morante N, et al. Discovery of an amylose-free starch mutant in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *J Agric Food Chem*, 2007, 55: 7469-76
- [63] Shrestha R, Matteis L, Skofic M, et al. Bridging the phenotypic and genetic data useful for integrated breeding through a data annotation using the crop ontology developed by the crop communities of practice. *Front Physiol*, 2012, 3: 326
- [64] Li K, Zhang Z, Lu X, et al. The Chinese cassava agrotechnology research system (CCARS) [C]// Howeler RH. Sustainable Cassava Production in Asia for Multiple Uses and for Multiple Markets. Proceedings of the Ninth Regional Workshop Held in Nanning, Guangxi, China PR. 2015. CIAT-Asia office, 26-33
- [65] 韦祖生, 李开绵. 作物诱变育种及突变体鉴定与筛选研究进展. *江西农业学报*, 2007, 19: 38-41
- [66] Carvalho LJ, de Souza CR, de Mattos Cascardo JC, et al. Identification and characterization of a novel cassava

- (*Manihot esculenta* Crantz) clone with high free sugar content and novel starch. *Plant Mol Biol*, 2004, 56: 643-59
- [67] Carvalho LJ, Lippolis J, Chen S, et al. Characterization of carotenoid-protein complexes and gene expression analysis associated with carotenoid sequestration in pigmented cassava (*Manihot esculenta* Crantz) storage root. *Open Biochem J*, 2012, 6: 116-30
- [68] An F, Fan J, Li J, et al. Comparison of leaf proteomes of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivar NZ199 diploid and autotetraploid genotypes. *PLoS One*, 2014, 9: e85991
- [69] Ihemere U, Arias-Garzon D, Lawrence S, et al. Genetic modification of cassava for enhanced starch production. *Plant Biotechnol J*, 2006, 4: 453-65
- [70] Peleman JD, van der Voort JR. Breeding by design. *Trends Plant Sci*, 2003, 8: 330-4
- [71] 叶剑秋. 我国木薯选育种进展. *热带农业科学*, 2009, 29: 115-9