

栝楼遗传育种及种质鉴定的研究进展

张洁, 周立人^{1*}, 李德庆² (1. 安徽农业大学遗传教研室, 安徽合肥230036; 2. 安徽省天柱山野葫芦开发公司, 安徽潜山246300)

摘要 概述栝楼遗传育种及种质鉴定的研究现状, 提出应当加强分子生物学在这两方面的应用, 从而促进栝楼市场的健康发展, 实现栝楼资源的可持续利用。

关键词 栝楼; 遗传育种; 种质鉴定

中图分类号 S603.2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)23-6223-02

Research Advance in Genetic Breeding and Species Identification of *Tichosanthes kirilowii* Maxim
ZHANG Jie et al (Genetics Section of Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036)

Abstract In this paper the present situation of genetic breeding and species identification of *Tichosanthes kirilowii* Maxim was introduced and that the application of molecular biology research in this two fields should be strengthened was put forward so that the healthy development of *Tichosanthes kirilowii* Maxim would be promoted and the sustainable utilization of *Tichosanthes kirilowii* Maxim resources would be realized.

Key words *Tichosanthes kirilowii* Maxim; Genetic breeding; Species identification

栝楼(*Tichosanthes kirilowii* Maxim) 是葫芦科栝楼属的一种药用植物, 多年生草质藤本, 分布于东亚及澳大利亚北部, 国内主要分布在安徽、山东、河南等地。栝楼的根、果实、种子具有较高的药用价值。栝楼的根俗称天花粉, 含有核糖体失活蛋白——天花粉蛋白, 临床上已经被用于治疗肿瘤、葡萄胎、艾滋病等。栝楼的果实在治疗心血管疾病方面也有特效。栝楼的种子中药名为栝楼仁, 富含脂类物质和蛋白质。《本草纲目》记载栝楼仁具有润肺止咳滑肠之功效, 瓜蒌子以其独特的风味和保健作用已经成为消费市场的新宠。当前, 栝楼市场上同名异物, 同物异名的情况十分普遍, 种子品质参差不齐, 在一定程度上影响了农民种植栝楼的积极性。笔者对栝楼的遗传育种、种质鉴定研究进行概述, 以期使栝楼的优良品种得到保护、资源实现可持续利用。

1 栝楼的遗传育种

目前栝楼的遗传育种工作和研究比较滞后。这可能与栝楼既可以有性繁殖又可以无性繁殖有关。生产上人们通常采用分根繁殖法, 此法操作简单, 但因为栝楼种子萌发困难, 所以出苗率低。章晓波等(1998) 通过种子萌发试验提出栝楼种子的休眠是由种皮引起的强迫休眠, 浸种不当会引发二次休眠^[1]。分根繁殖虽然有一定的优点, 但是效益比较低, 难以满足生产需要。通过在安徽省潜山县调研得知, 当地的天柱山野葫芦开发有限公司通过⁶⁰Co 辐照块根, 筛选出1个突变品系, 该品系第2年产量达2 250 kg/hm², 品系果实多为圆形, 果皮常有花纹, 容易鉴别。通过实地考察发现, 辐照筛选的品系并没有达到完全的抗病效果, 单个果实还不大, 因此需要深入诱变筛选。另有报道, 用一定浓度的秋水仙素处理党参种子可以获得四倍体变异株, 植株具有多方面的优良品质, 但是用秋水仙素处理栝楼种子获得多倍体还未见报道。

传统的育种方法如系选、杂交、回交, 由于周期长、效率低制约了新品种的选育。利用分子生物学研究手段如RAPD技术(Random amplified polymorphic DNA), 可以对近等位基因系进行基因定位, 检测轮回亲本和近等位基因系随机扩增出

的多态性。将两者的差异作为分子标记, 再借助于其他分子生物学手段如RFLP等, 即可定位目的基因。ISSR(Inter-simple sequence repeat) 标记技术凭借其稳定性高, 多态性好已经在小麦遗传作图、基因定位等方面得到了广泛运用。Amiraju等(2001) 用ISSR标记找到了7个与小麦籽粒QTL连锁的分子标记^[2]。找到的合适分子标记可以直接用于辅助育种(Molecule marker assisted selection, MAS), 这样能显著提高选择和评价的效率。分子生物学技术不仅能辅助育种, 还能追踪外源导入基因, 检测杂交种子的遗传纯合度。王鸣刚等(2003) 以不同西瓜杂交种及亲本自交系为材料, 利用RAPD技术鉴定西瓜杂种纯度及种质, 筛选出的引物OPA10、OPA13、OPH18可用于杂种纯度的鉴定^[3]。目前, 栝楼分子辅助育种方面的研究还甚少。

2 栝楼的种质鉴定

栝楼有野生种和栽培种之分, 受环境的影响出现了多种变异类型, 因而栝楼的种质鉴定对于品种识别及资源保护有着重要的意义。当今的种质鉴定以经典形态学为主, 辅以细胞学、孢粉学、组织学、生化标记及分子生物学手段。

2.1 经典形态学研究 形态学在物种的系统分类中起着举足轻重的作用, 而目前种质鉴定也以形态学为主。同一种植物由于环境的影响, 其形态特征往往会发生变化。因此, 仅以形态学作为种质鉴定的方法不科学, 也容易引起争议。

2.2 细胞学研究 栝楼染色体基数为X=11, 国外已报道了该属11个种的染色体数目。黄璐琦等(1994) 报道了栝楼属8种植物染色体数目, 并指出随着染色体倍数的提高, 染色体大小呈明显递减趋势^[4]。染色体计数只能区分染色体数有明显差别的种, 即单倍体、二倍体、三倍体等, 其鉴定手段也比较单一。而对栝楼属下的带型分析及原位杂交也未有人涉及。

2.3 孢粉学和组织学研究 黄璐琦等(1999) 利用光学显微镜及扫描式电子显微镜观察了国外栝楼属的31种及1变种的花粉形态特征, 认为花粉研究为属下划分提供了依据^[5]。乐崇熙等(1999) 对18种栝楼皮进行了显微组织上的鉴定, 发现各种栝楼皮外果皮的毛茸、大纤维、石细胞环厚度等有区别, 可用于真伪栝楼皮的鉴定^[6]。黄璐琦等(1999) 显微观察了栝楼属31个种和3变种植物种皮的组织结构, 认为从种皮

作者简介 张洁(1983-), 女, 江苏扬州人, 硕士研究生, 研究方向: 植物细胞与分子育种。* 通讯作者。

收稿日期 2006-09-12

特征上对属下划分进行修改具有合理性^[5]。由于植物的形态、组织、器官结构是植物与环境条件互作的结果,因而以此为标准进行系统分类和种质鉴定不能令人完全信服。

2.4 生化大分子标记研究 于凤池等(2003)对栝楼雌雄株不同器官进行了过氧化物酶同工酶活性测试及电泳分析,表明雌雄株中的酶活性有差异^[7],而利用生化大分子标记进行栝楼种质鉴定的研究目前还没有报道。这与生化大分子标记检测位点少,易受到环境、取材部位影响,稳定性不高有一定关系。

2.5 分子生物学研究 随着分子生物学的迅猛发展,基于PCR的新的DNA指纹技术陆续出现,如RAPD,AFLP,SSR,ISSR等。由于分子生物学技术是直接DNA水平上进行检测,不受环境条件、取材部位的影响,因而为栝楼的种质鉴定提供了更客观、更可靠的方法。程中平等(2002)对寿星桃种质资源进行RAPD分析,运用特殊谱带建立了寿星桃的分子检索表并统计了扩增的特殊位点,提出了重点保存的寿星桃种质^[8],这为栝楼的种质鉴定及栝楼种质资源数据库的建立提供了很好的思路和方法。黄璐琦等(1999)利用RAPD技术从7个引物中筛选出3个能明显鉴别仁栝楼、糖栝楼、地栝楼的引物^[9]。王敏等(1999)选择了9个扩增多态性好的引物对仁栝楼糖栝楼和牛心栝楼的DNA进行RAPD扩增,分析结果表明牛心栝楼在遗传表现上更接近于仁栝楼^[10]。Fernandez等(2002)从10个引物中筛选出4个能区别出16个来自不同国家大麦品种的引物^[11]。殷冬梅等(2003)对栽培种与花生野生种的杂交后代DNA进行RAPD扩增,结果表明,从60个随机引物中能筛选出27个具有多态性的引物,其中一个引物能检测到来自野生种DNA的特异片段^[12]。吴敏生(2000)等用4个AFLP(Amplified fragment length polymorphisms)引物研究了17个玉米优良自交系,扩增出145条谱带,对AFLP数据聚类分析表明AFLP技术可以用于玉米自交系的遗传多样性研究^[13]。由此可见,AFLP技术在研究栝楼种质资源多样性方面也应该具有重要的作用。

3 展望

栝楼遗传育种工作者在充分认识了分子辅助育种的重要性、实用性和开创性的同时,应当把传统育种方法与之有效地结合,加速良种繁育,解决产量和病虫害问题。当前,由于对栝楼种质资源的评价、保护工作不力,导致栝楼市场混乱,野生栝楼资源日渐衰竭。因此急需找到一套快速灵敏准确的种质鉴定方法。分子生物学技术,特别是DNA指纹技术的建立是栝楼资源研究方法上的重大突破,为栝楼种质资源的鉴定开辟了一条新途径。总之,分子生物学研究在栝楼遗传育种及种质鉴定方面的应用必将有力地推动栝楼生产质量管理规范(GAP)制定的进程,保证栝楼质量的安全、有效、稳定、可控,使栝楼走向国门,走向世界。

参考文献

- [1] 章晓波,王昌初.栝楼种子发芽特性的研究[J].种子,1998(2):17-19.
- [2] AMIRAJU J S, DHOLAKI A B B, SANIRA D K, et al. Identification of inter simple sequence repeat (ISSR) markers associated with seed size in wheat [J]. Theor Appl Genet, 2001, 102: 726-732.
- [3] 王鸣刚,谢放,祁小玲.利用RAPD方法鉴定西瓜杂种纯度的研究[J].厦门大学学报,2003,42(1):112-116.
- [4] 黄璐琦,乐崇熙.栝楼属8种植物的染色体数目[J].云南植物研究,1994,16(1):95-96.
- [5] 黄璐琦,乐崇熙,杨滨,等.栝楼属的系统学研究[J].江西中医学院学报,1999,11(2):76-77.
- [6] 乐崇熙,冯学锋,黄璐琦,等.18种栝楼皮组织学研究[J].中国中药杂志,1999,24(11):646-650.
- [7] 于凤迟,孙耕子,袁高峰,等.栝楼性别分化特异大分子标记物研究[J].浙江农业学报,2003,15(6):332-335.
- [8] 程中平,陈志伟,胡春根,等.寿星桃种质资源的RAPD分析[J].北京农业大学学报,2002,24(3):74-77.
- [9] 黄璐琦,王敏,杨滨.栝楼农家品种苗期的分子标识鉴定[J].中国药学杂志,1999,34(9):642.
- [10] 王敏,黄璐琦,付桂芳.栝楼三个农家品种间亲缘近似关系的RAPD分析[J].中国中药杂志,1999,24(6):336-337.
- [11] FERNANDEZ M E, FIGUEROA A M, BENTO C. The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism genotype identification and genetic diversity among barley cultivars with known origin [J]. Theor Appl Genet, 2002, 104: 845-851.
- [12] 殷冬梅,张新友,汤丰收,等.花生属野生种质的RAPD鉴定[J].河南农业科学,2003(11):15-16.
- [13] 吴敏生,王守才,戴景瑞.AFLP分子标记在玉米优良自交系优势群划分中的应用[J].作物学报,2000,26(1):9-13.