

# 牡丹种质资源遗传多样性研究进展

郭大龙

(河南科技大学 林学院, 河南 洛阳 471003)

**摘要:** 种质资源是现代育种和生物技术研究的物质基础。牡丹种质资源的研究为探讨牡丹的起源、进化、分类、育种和资源利用提供科学依据。通过对牡丹种质资源概况的介绍, 综述牡丹形态学、细胞学及 DNA 分子标记等几方面种质资源遗传多样性的研究进展, 探讨牡丹种质资源遗传多样性的研究现状及尚需解决的问题, 并就进一步开展牡丹种质资源的研究进行了分析。

**关键词:** 牡丹; 种质资源; 遗传多样性

**中图分类号:** S 685.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)09-0061-05

牡丹(*Paeonia Suffruticosa* Andr.) 为芍药科(*Paeoniaceae*) 芍药属(*Paeonia* L.) 牡丹组(*Sect. Mouton* DC.) 多年生落叶灌木。别名: 鹿韭、木芍药、花王、洛阳王、富贵花、谷雨花。牡丹, 是中国固有的特产花卉, 有数千年的自然生长和两千多年的人工栽培历史。现在栽培区域遍及全国各地。其花大、形美、色艳、香浓, 为历代人们所称颂, 具有很高的观赏和药用价值, 根据最新的牡丹分类系统, 牡丹组共有 8 个种, 其中 3 种有 2 个亚种, 分布于河南、甘肃、陕西、山西、安徽、湖北、四川、云南和西藏等 9 个省区<sup>[1]</sup>。

中国是全部牡丹种类的原产地和原生多样性中心, 是品种起源、演化和发展的中心, 遗传资源十分丰富, 在系统演化、生物多样性保护和栽培牡丹品种培育和改良等一系列研究中具有重要的价值。牡丹栽培历史悠久, 在长期的驯化栽培、自然和人工选择下, 形成了丰富的遗传变异, 再加上牡丹能以多种方式繁殖, 使得其遗传关系模糊不清。到目前为止, 对牡丹组植物的亲缘关系和遗传多样性仍然缺乏完整的了解<sup>[2]</sup>。现就牡丹种质资源遗传多样性研究的相关情况作一总结, 以利于进一步开展牡丹种质资源分子系统学研究。

## 1 牡丹种质资源概况

中国是牡丹的故乡, 种质资源十分丰富, 牡丹组植物几乎全部原产我国, 成为世界牡丹野生种类最主要的分布中心和原产地。我国牡丹野生种质资源丰富, 牡丹组所有各种(含亚种、变种、变型)在我国均有分布, 是大多数种类的唯一原产地。而且经过长期的自然选择和

人工选育, 培育出了众多的牡丹栽培品种, 种质资源十分丰富。中国牡丹野生种的数量一直没有定论, 一方面因为新种在不断发现, 另一方面因为一些种的分类地位在随时更新<sup>[3]</sup>。近几年, 植物形态学、解剖学、细胞核型分析及分子生物学技术的发展, 为牡丹植物的分类和鉴定提供了重要依据。

洪德元等<sup>[4]</sup>在前人研究的基础上, 通过大量的野外考察和分析, 对牡丹的种类开展了全面的研究, 查清了牡丹组的地理分布范围, 整理了牡丹分类和命名方面的混乱, 对芍药属牡丹的分类进行了全面、系统的修订, 将牡丹组分为 8 个种, 其中 3 个种各包含 2 个亚种, 另有 2 个杂种, 牡丹组植物根据其花盘质地和形成的不同可分为 2 个亚组: ①革质花盘亚组(*Subsect. Vaginatae* F.C. Stern): 包括牡丹(1a 牡丹(原亚种) *Paeonia suffruticosa* Andrews subsp. *suffruticosa* 1b 银屏牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andrews subsp. *yinpingmudan* D. Y Hong, K. Y. Pan et Z. W. Xie); 矮牡丹(*P. suffruticosa* Andrews. var. *spontanea* Rehd or *P. jishanensis* T. Hong et W. Z. Zhao)、卵叶牡丹(*P. qiu* Y. L. Pei et D. Y. Hong)、紫斑牡丹(原亚种 *P. rockii* (S. G. Haw et L. A. Lauener) T. Hong et J. J. Li subsp. *rockii*, Sb 太白山紫斑牡丹 *P. rockii* (S.G. Haw et L. A. Lauener) T. Hong et J. J. Li subsp. *taibaishanica* D. Y. Hong)、杨山牡丹(凤丹, *P. ostii* T. Hong et J. X. Zhang)、四川牡丹(原亚种 *P. decomposita* Hand. -Mazz. Subsp. *decomposita* bb 圆裂四川牡丹 *P. decomposita* Hand. -Mazz. subsp. *rotundiloba* D. Y Hong; )等野生种。②肉质花盘亚组(*Subsect. Delavayanae* F.C. Stern): 包括滇牡丹(*P. delavayi* Franch.)、大花黄牡丹(*P. ludlowii* D. Y. Hong)等野生种(中国牡丹全书)。其中四川牡丹(*P. decomposita*) 和紫斑牡丹(*P. rockii*) 各含 2 个亚种, 2 个杂种是保康牡丹 *P. baokangensis* Z. L. Dai et T. Hong(*P.*

作者简介: 郭大龙(1978-), 男, 湖北郧县人, 副教授, 博士, 研究方向: 种质资源。E-mail: guodalong@mail.haust.edu.cn.

基金项目: 河南科技大学人才科学研究基金资助项目(06-38)。

收稿日期: 2007-05-30

rockii and *P. qiui*) 和延安牡丹 *P. yananensis* T. Hong et M. R. Li (*P. rockii* and *P. jishanensis*)。

中国牡丹经过约 1 500 多年的自然选择与人工栽培, 形成具有不同花瓣颜色、数目、花型和叶型的栽培品种近 1 500 个, 栽培遍布全国各主要城市。按分布现已形成了 4 个主要的品种群<sup>[5]</sup>: 中原牡丹品种群、西北牡丹品种群(甘肃、陕西、青海和宁夏等省)、江南牡丹品种群(安徽、浙江、江苏、上海等省地)和西南牡丹品种群(四川省)。其它还有一些小型的品种群如延安牡丹品种群、鄂西(保康)牡丹品种群等。其中, 以河南洛阳、山东菏泽为栽培中心的中原牡丹形成历史最久, 园艺化最早, 品种最多, 是中国牡丹最大的栽培品种群, 也是全国各地牡丹精品的荟萃。对全国乃至世界各地栽培牡丹有着深刻的影响。在中国牡丹栽培发展的同时, 日、英、法、美等国早就进行着牡丹的引种和杂交育种工作, 目前已形成各具特色的牡丹品种群<sup>[6]</sup>。

日本现有牡丹品种 300 余个, 其中约 200 个为日本培育的品种。其中有一个特殊的品种—寒牡丹 (*P. suffruticosa* var. *hiberniflora* Maino), 可以不需要特殊管理就能在冬季露地气温较低条件下正常生长并开花, 目前为日本特有, 这对于世界各地牡丹抗寒育种具有重要意义。

以英国和法国为代表的欧洲牡丹品种群, 与中国牡丹完全相同, 是在欧洲气候条件下中国牡丹改良的产物。法国 Lemoine 系牡丹品种群主要由紫牡丹与黄牡丹以及矮牡丹的原始品种参与杂交培育形成的黄色系的杂种后代群体。

美国 Saunders 系牡丹品种群主要由紫牡丹和黄牡丹及大花黄牡丹以及日本牡丹品种杂交而培育出的, 花色以墨紫色系和黄色系为主。

牡丹品种通常根据花型和花色进行品种分类。按花色分为十种: 黄色、绿色、白色、粉色、蓝色、红色、紫红色、紫色、墨紫色、复色, 是应用最早、最普通且较直观的方法, 具有较强的使用性。王莲英提出了系、群、类、型、品种五级分类系统<sup>[7]</sup>。目前这一标准已得到学术界的公认。

中国牡丹种质资源的收集和保存主要有菏泽和洛阳的中原品种群资源圃; 甘肃省兰州市的西北牡丹品种群资源圃; 四川省彭州市的西南牡丹品种群资源圃; 安徽省铜陵市江南牡丹品种群资源圃; 还有全国各地的生产和科研单位搜集和保存的其他牡丹种质资源。

## 2 牡丹遗传多样性研究

目前牡丹组植物的遗传多样性研究主要是形态学、细胞学和分子生物学手段。

### 2.1 形态学研究

Zhou 等<sup>[8]</sup>对芍药属牡丹组全部野生种 40 个居群进行了基于形态学证据的系统学分析。分别构建了在 25 个形态学性状基础上的所有研究类群的距离树(UPG-

MA, NJ)和最大简约树(MP)。在由形态和细胞学关系都很近的 5 个种(牡丹 *P. suffruticosa*、矮牡丹 *P. jishanensis*、卵叶牡丹 *P. qiui*、紫斑牡丹 *P. rockii* 和凤丹 *P. ostii*)构成的分支内部在距离树(UPGMA 和 NJ)中, 每个种的所有居群都首先形成 1 个单系类群, 然后才与其他种的居群相聚。牡丹、滇牡丹和凤丹的全部群体未能形成一个单系群。

袁涛等<sup>[9]</sup>应用花粉形态和植株的外部形态特征数据进行了聚类分析(UPGMA), 结果显示 5 个种被明显地区分, 其中卵叶牡丹与矮牡丹亲缘关系最近, 其余依次为杨山牡丹与紫斑牡丹, 四川牡丹与其它各种亲缘关系较远。延安牡丹性状介于矮牡丹与紫斑牡丹之间。

袁涛和王莲英<sup>[10]</sup>重点观察了中国栽培牡丹在种级水平上的分类性状, 略去花型、瓣形、重瓣性等观赏性状, 结合已有的工作和历史文献, 认为中国栽培牡丹起源于矮牡丹、紫斑牡丹、杨山牡丹、卵叶牡丹, ‘凤丹’系列品种直接起源于杨山牡丹, 少数传统西北品种直接起源于紫斑牡丹, 中国栽培牡丹及其瓣基紫斑主要来源于杂交。

### 2.2 细胞学研究

李懋学等<sup>[11]</sup>首先报道了中原牡丹传统的老品种三倍体的‘首案红’核型公式、花粉母细胞减数分裂过程, 发现分裂极不同步, 染色体配对复杂。随后王莲英等<sup>[12]</sup>、张赞平等<sup>[13]</sup>、于玲等<sup>[14]</sup>分别对中原品种、江南品种和西北品种的染色体数目、核型、C 带及花粉母细胞等方面进行了一系列的研究和报道。他们研究发现, 无论是中原、西南品种还是西北品种在染色体数目上基本是二倍体。

侯小改等<sup>[15]</sup>综述了中国牡丹的染色体研究现状及进展, 着重介绍了中国牡丹野生种及栽培种的染色体数目、核型、Giemsa C 带、银染带等研究成果。成仿云<sup>[16]</sup>对紫斑牡丹的花粉发育过程研究发现紫斑牡丹的花粉具有二型性: 正常花粉和异常花粉, 异常花粉只有少数(不超过 1%), 可朝着形成孢子体的方向发展。韩莉等<sup>[17]</sup>观察了牡丹小孢子的发生过程与雄配子体的发育过程, 发现牡丹花药壁为基本型, 花粉母细胞减数分裂为同时壁; 成熟花粉为 2 细胞型。

### 2.3 蛋白质标记

于玲等<sup>[18]</sup>用 SDS—聚丙烯酰胺凝胶电泳技术研究 6 个牡丹野生原种的蛋白质谱带, 用排序法对蛋白质谱带间相似性进行了定量分析, 结果显示紫斑牡丹、四川牡丹、矮牡丹间存在一定亲缘关系, 黄牡丹与狭叶牡丹(滇牡丹)间也有较近亲缘关系, 大花黄牡丹与其它 5 个种间关系较远。

### 2.4 RAPD 标记

Hosoki 等<sup>[19]</sup>对日本和中国的 19 个栽培牡丹品种的亲缘关系进行了 RAPD 分析, 供试品种聚类后被分为 4 组, 但与经典的叶型和花型的分类不太一致。邹喻苹

等<sup>[20]</sup>用 RAPD 分析了牡丹组种内和种间遗传关系, 使用材料包括 7 种 15 个居群 59 个供试样品。用 UPGMA 法构建树系图表明每个种的所有个体都能各自聚为一支, 种内相似性系数 0.60~0.90, 参试的 7 个种能很好地分开, 与洪德元等(1999)根据形态性状对该组所做的分类处理基本相符; 各种间的聚类分支关系与肉质花盘和革质花盘亚组相对应, 并认为 RAPD 技术用于牡丹的基因组分析是灵敏而有效的工具。

陈向明等<sup>[21]</sup>对 7 种花色系的 35 个牡丹栽培品种进行 RAPD 分析, 34 个随机引物共扩增出 418 个位点, 其中 337 个(80.62%)多态位点表明受试品种间丰富的遗传多态性。同一花色的不同品种间和不同花色系间都存在较大的遗传多态性, 不同花色系间多态性位点频率大小依次排序为蓝色系>黄色系>深红色系>黑色系>白色系>绿色系>红色系; 利用 UPGMA 软件进行聚类分析, 35 个品种被分为 5 个遗传聚类组, 除红色系外, 其它 6 种花色与遗传聚类组的划分无必然相关性。来源相同花色一致的牡丹品种之间亲缘关系相对较近, 但产地来源对牡丹品种的亲缘关系的影响比花色更为突出。孟丽和郑国生<sup>[22]</sup>利用 RAPD 技术对芍药属牡丹组的 11 个野生牡丹类群和 12 个栽培牡丹品种间的亲缘关系进行了研究。对扩增结果进行 UPGMA 聚类分析表明, 革质花盘亚组的野生类群与栽培品种聚为一类, 革质花盘亚组各野生种与栽培品种间的亲缘关系都比较近。5 个野生种与栽培牡丹间亲缘关系从近到远依次为: 杨山牡丹、四川牡丹、卵叶牡丹、紫斑牡丹和矮牡丹。

苏雪等<sup>[23]</sup>应用 RAPD 技术对甘肃栽培紫斑牡丹品种的分类进行了初步研究。筛选出 10 个随机引物在 16 个品种中共扩增出 120 个位点, 其中 114 个位点呈多态性 4 个位点具品种专一性。根同一品种不同个体间与不同品种间在遗传距离上无明显差异, 暗示在甘肃栽培牡丹品种中可能存在同物异名和同名异物。结果表明, RAPD 技术能够克服传统上根据形态学性状对品种进行分类的缺点, 可用于牡丹栽培品种的鉴定。

## 2.5 ISSR 标记

索志立等<sup>[24]</sup>以杨山牡丹作母本, 分别以牡丹品种赵粉和紫二乔作父本, 进行人工杂交, 获得了杂交后代。利用 ISSR 标记技术构建的亲子代 DNA 指纹图谱显示, 在杂交后代中检测到了分别来自双亲的特征带。建立起来的专用于牡丹研究的 ISSR 标记技术方法可以用于牡丹杂交种的苗期快速鉴定。索志立等<sup>[25]</sup>以紫斑牡丹作母本(♀), 分别以 3 个牡丹品种‘海棠争润’、‘胭脂红’和‘盛丹炉’作父本(♂), 进行人工杂交, 获得了杂交后代。利用 ISSR 标记技术构建的亲子代 DNA 指纹图谱显示, 在杂交后代中检测到了分别来自双亲的特征带, 因而在 DNA 水平上证实了花瓣基部带紫斑的栽培

牡丹品种杂交起源的可能性。杨淑达等<sup>[26]</sup>应用 ISSR 标记对中国西南地区特有植物滇牡丹(*Paonia delavayi*)的遗传多样性进行了研究。从 100 个引物中筛选出 10 个用于正式扩增, 在取自 16 个自然居群和 1 个迁地保护居群的 511 个个体中, 检测到 92 个多态位点, 结果表明, 滇牡丹遗传多样性水平较高, 居群间遗传分化较大。

Suo 等<sup>[27]</sup>以牡丹叶部 12 个形态特征结合 ISSR 标记对牡丹进行品种鉴定。研究结果表明, ISSR 标记分析和叶形态特征数量分类的研究结果之间有相同之处, 但也存在差异, 遗传关系的划分与花型和花色之间没有发现相关性。王佳等<sup>[28]</sup>以“凤丹”(*P. ostii*)基因组 DNA 为模板, 采用正交试验设计方法, 研究牡丹 ISSR 反应体系的影响因素, 建立了适合牡丹的 ISSR 反应体系及程序。索志立<sup>[29]</sup>在对已知的 ISSR 引物的筛选未获得良好的 PCR 扩增结果上, 报道牡丹鉴定用 ISSR 引物的设计与开发新途径。

## 2.6 AFLP 标记

周兴文等<sup>[30]</sup>采用改进的 SDS 方法, 从牡丹成熟叶片中提取基因组 DNA, 所得 DNA 样品的 A260/A280 值在 1.7~1.8 之间, 琼脂糖凝胶电泳主带清晰, DNA 纯度高、较少降解、不含酶反应抑制剂, 可被 MseI 和 PstI 两种限制性内切酶完全酶切。通过酶切连接、预扩增、选择性扩增、银染等试验过程, 成功建立了牡丹品种 AFLP 银染反应体系, 得到了清晰的指纹图谱, 对扩增结果进行聚类分析, 得到了 23 个牡丹品种的聚类分析图。

侯小改等<sup>[31, 32]</sup>利用荧光标记 AFLP 技术, 采用 8 对 M+3 和 P+3 引物组合对 30 份牡丹栽培品种进行了总基因组 DNA 水平上的多态性检测。对 4 个牡丹野生种和 26 个矮化及高大品种间的亲缘关系进行了分析, 共获得 1133 条可统计的条带, 其中 948 条呈多态性, 多态性带百分率达 84%。揭示了牡丹组植物丰富的遗传多样性。8 组引物在 30 个品种中检测到数目不等的品种特异带型, 这些品种的特异带型对供试牡丹品种具有一定的鉴别价值。8 对引物能将 30 个牡丹品种完全区分开, 聚类分析结果表明多数来源地相同的牡丹种质表现出较为密切的亲缘关系。聚类结果表明: 在受试的 4 个牡丹野生种中, 与栽培牡丹亲缘关系从近到远依次为: 杨山牡丹、矮牡丹、紫斑牡丹和卵叶牡丹; 矮牡丹和卵叶牡丹有较近的亲缘关系。牡丹品种间的聚类结果表明, 部分矮化品种、高大品种分别相聚, 而一些矮化与高大品种也相聚, 不同相似系数的遗传聚类划分与株高间并没有完全一致的关系, 但在其他性状相差不大时, 株高相近的品种间亲缘关系相对较近。刘萍等<sup>[33]</sup>利用 AFLP 技术对 30 个牡丹品种的遗传多样性进行了研究。用 3 对引物组合进行选择性的扩增, 共产生 151 个位点, 其中 96 个为多态性位点, 占 63.5%, 其中 2 个受试品种产生了特异

性位点。聚类分析结果显示,遗传距离0.25,将30个牡丹品种划分为5个聚类组,与传统分类结果基本一致。

## 2.7 序列分析

Sang, et al<sup>[34]</sup>对芍药11个被认为是非杂种起源的Adh基因(Alcohol dehydrogenase genes)进行了序列分析,结果发现Adh1B只存在于牡丹组中,进一步的分子变化速率的测定表明在芍药属中灌木的牡丹组内的进化速率比其他组进化速率相对较慢。Tank, et al<sup>[35]</sup>对芍药属13个种的19份材料核编码叶绿体表达的GPAT基因克隆和测序,利用简约性分析建立的GPAT基因的系统发育关系,为种间演化关系提供了新证据;证明了低拷贝基因的内含子对低分类等级近缘类群间关系的研究能提供特别有用的信息。由于序列分析主要应用在芍药组的研究上,因此,对于牡丹组所提供的信息非常有限。

赵宣等<sup>[36]</sup>对采自15个野生居群,代表牡丹组全部8个野生种的15份材料的GPAT基因片段(外显子5和6之间2 kb的内含子)进行了PCR-RFLP分析,并对代表牡丹组全部8个野生种的9份材料进行了测序。根据12个限制性内切酶的PCR-RFLP数据,建立了牡丹组种间亲缘关系网络树。该基因树所显示的牡丹组种间关系与根据形态学<sup>[1]</sup>证据提出的牡丹组的种间关系基本吻合。滇牡丹和大花黄牡丹聚成一支,而其余6个种聚成另一支,结果显示银屏牡丹与凤丹的亲缘关系密切,矮牡丹和卵叶牡丹的亲缘关系很近。紫斑牡丹和四川牡丹的关系有待更进一步的研究。

## 3 展望

中国牡丹种质资源种类齐全,数量众多,但是目前对其利用的还较少,收集、整理和保存工作还需进一步加强,尤其是种质资源的整理和评价,离体超低温保存工作应是今后的工作方向。

目前对牡丹组植物遗传多样性的研究主要集中在形态特征、细胞学特征,RAPD技术、ISSR技术、AFLP技术和基因序列分析等方面。与其他物种相比,所采用的分子标记技术有限,研究手段还比较滞后,应开发更多更实用的牡丹分子标记技术,构建牡丹遗传图谱,进行目的基因的分离与克隆,研究基因的表达与调控。

牡丹种质资源遗传多样性研究由于不同研究所用的材料不完全相同,所获结果并不完全一致,对其遗传多样性的了解也有限。牡丹组不同种或者品种群间的相互关系,栽培牡丹的起源途径和方式等尚未完全明了,有待进一步的研究。可利用多种分子标记技术,对中国牡丹组植物资源进行亲缘关系和遗传背景的研究,建立核心种质库,开发优良性状基因的分子标记。

## 参考文献

[1] Zhou Z Q. Taxonomy, Geographic Distribution and Ecological Habitats

of Tree Peonies [J]. Genet Res Crop Evol. 2006 53: 11-22.

[2] 周志钦,潘开玉,洪德元.牡丹组野生种间亲缘关系和栽培牡丹起源研究进展[J].园艺学报,2003 30(6): 751-757.

[3] Hong D Y, Pan K Y, Yu H. Taxonomy of the *Paeonia delavayi* complex (Paeoniaceae) [J]. Ann Missouri Bot Gard. 1998 85: 554-564.

[4] 洪德元,潘开玉.芍药属牡丹组的分类历史和分类处理[J].植物分类学报,1999, 37(4): 351-368.

[5] 李嘉珏.中国牡丹与芍药[M].北京:中国林业出版社,1999.

[6] 成仿云,李嘉珏.中国牡丹的输出及其在国外的发展[J].西北师范大学学报(自然科学版).1998, 34(1): 109-116.

[7] 王莲英.中国牡丹品种图志[M].北京:中国林业出版社,1997.

[8] Zhou Z Q, Pan K Y, Hong D Y. Phylogenetic analyses of *Paeonia* section Moutan (tree peonies, Paeoniaceae) based on morphological data [J]. Acta Phyto Sinica 2003, 41: 436-446.

[9] 袁涛,王莲英.几个牡丹野生种的花粉形态及其演化、分类的探讨[J].北京林业大学学报,1999 21(1): 17-21.

[10] 袁涛,王莲英.中国栽培牡丹起源的形态分析[J].山东林业科技,2004(6): 5-7.

[11] 李懋学,张效方.三倍体牡丹的细胞遗传学观察[J].遗传,1982(5): 19-21.

[12] 王莲英,刘淑敏,秦魁杰,等.牡丹及其栽培品系的染色体组型[J].北京林学院学报,1983(1): 63-70.

[13] 张赞平,张益民.栽培牡丹的染色体数目和核型变异[J].河南农业大学学报,1989 23(1): 48-52.

[14] 于玲,何丽霞,李嘉珏.甘肃紫斑牡丹与中原牡丹类群染色体的比较研究[J].园艺学报,1997, 24(1): 79-83.

[15] 侯小改,段春燕,刘素云,等.中国牡丹染色体研究进展[J].中国农学通报,2006(2): 317-319.

[16] 成仿云.紫斑牡丹的花药发育和小孢子发生[J].西北植物学报,2000, 20(1): 129-134.

[17] 韩莉,孔兰静.牡丹小孢子发生与雄配子体发育的超微结构研究[J].西北植物学报,2003(1): 116-123.

[18] 于玲,何丽霞.牡丹野生种间蛋白质谱带的比较研究[J].园艺学报,1998, 25(1): 99-101.

[19] Hosoki T, Kimura D, Hasegawa R, et al. Comparative study of Chinese tree peony cultivars by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis [J]. Sci Hort. 1997, 70: 67-72.

[20] 邹喻苹,蔡美琳,王子平.芍药属牡丹组的系统学研究——基于RAPD分析[J].植物分类学报,1999(37): 220-227.

[21] 陈向明,郑国生,孟丽.不同花色牡丹品种亲缘关系的RAPD-PCR分析[J].中国农业科学,2002(35): 546-551.

[22] 孟丽,郑国生.部分野生与栽培牡丹种质资源亲缘关系的RAPD研究[J].林业科学,2004, 40(5): 111-115.

[23] 苏雪,张辉,董莉娜,等.应用RAPD技术对甘肃栽培牡丹品种的分类鉴定研究[J].西北植物学报,2006(4): 48-53.

[24] 索志立,周世良,张会金,等.杨山牡丹和牡丹种间杂交后代的DNA分子证据[J].林业科学研究,2004(6): 17-22.

[25] 索志立,张会金,张治明,等.紫斑牡丹与牡丹种间杂交后代的DNA分子证据[J].云南植物研究,2005(1): 43-49.

[26] 杨淑达,施苏华,龚洵,等.滇牡丹遗传多样性的ISSR分析[J].生物多样性,2005(2): 19-25.

[27] Suo Z L, Li W Y, Yao J, Zhang H J, et al. Applicability of leaf morphology and intersimple sequence repeat markers in classification of tree peony (Paeoniaceae) cultivars [J]. HortScience. 2005 40(2): 329-334.

[28] 王佳,胡永红,张启翔.牡丹ISSR-PCR反应体系正交优化设计

# 大白菜应用小孢子培养应注意的问题

轩正英

(塔里木大学 植物科技学院, 新疆 阿拉尔 843300)

**摘 要:**综述了白菜育种中应用游离小孢子培养技术所应注意的基因型和供体植株的选择、挑选合适大小的花蕾、植株再生以及移栽技术、倍性鉴定等问题,以便提高该技术在白菜育种工作中利用的成功率和效率。

**关键词:**大白菜;游离小孢子;培养技术

中图分类号: S 634. 103. 6 文献标识码: A 文章编号: 1001—0009(2007)09—0065—02

大白菜属于异花授粉作物,其杂种优势十分明显。近年来,常规育种的不足在实际工作中日渐明显,因此,各国学者开始寻找育种的新途径、新方法。游离小孢子培养技术是近年来兴起的一门加快育种进程的新方法。它具有单细胞、单倍体和较高胚胎发生率及较高同步性等特点,通过这种途径可以迅速获得纯合亲本系统,大大加快育种进程。因此,该技术近几年被广大育种工作者广泛利用。但仍有一些方面需要进一步改进和提高,育种工作中利用小孢子培养技术应注意以下问题。

## 1 选择合适的材料

不同基因型材料的出胚率差异很大。近年来,虽然在胚状体诱导技术上有了很大的进步,但基因型对小孢子出胚率还有着决定性的影响。有些材料很容易得到胚状体,而有些材料出胚率特别低或者不能出胚。一般来说选用南方早熟品种和卵圆品种出胚率较高,而北方品种出胚率很低或不能出胚。张凤兰等<sup>[1]</sup>提出用出胚率高的品种和不易出胚品种杂交,用其后代来进行游离

小孢子培养,从而提高不易出胚品种的出胚率。目前利用游离小孢子培养技术还不能达到想要什么材料就能获得什么材料的地步,还需要进一步研究出胚的机理以及提高出胚率的方法。

## 2 植株状态

植株状态对出胚率有很大的影响。一般健壮植株上的小孢子活力好,成活率高,而老弱病的母体植株的成胚率明显低于健壮植株。申书兴<sup>[2]</sup>研究表明,在植株处于初花期过后末花期以前这段时间采集适宜花蕾,并配合实施连续摘除将开花花蕾,可明显提高大白菜小孢子胚胎发生率。这可能与花蕾发育有较充足的营养供给,从而花蕾内小孢子发育同步性和细胞生理活性得到提高有关。

## 3 小孢子发育时期对胚状体发生的影响

小孢子发育时期对胚状体发生率有直接影响。一般用花蕾长度、花瓣长/花药等确定小孢子发育时期。曹鸣庆<sup>[3]</sup>等研究了大白菜蕾长与小孢子发育进程的关系。当蕾长为 2.0~2.5 mm 时,小孢子胚发生率最高,此时小孢子处于单核中期至单核靠边期。因此,严格挑选适宜时期的小孢子是能否培养成功的关键问题之一。在实际进行操作的时候,应该严格进行镜检来确定合适

作者简介:轩正英(1979-),女,讲师,硕士,主要从事蔬菜遗传育种方面的研究工作。  
收稿日期:2007—05—08

[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(24): 6465-6466.

[29] 索志立. 牡丹品种鉴定用 ISSR 引物的筛选与开发 [J]. 生物技术通报, 2006(183): 342-346.

[30] 周兴文, 杨秋生, 李永华. 牡丹基因组 AFLP 银染反应体系的建立和优化 [J]. 河南农业大学学报, 2006(6): 34-38.

[31] 侯小改, 尹伟伦, 李嘉珏, 等. 牡丹矮化品种亲缘关系的 AFLP 分析 [J]. 北京林业大学学报, 2006(5): 73-77.

[32] 侯小改, 尹伟伦, 李嘉珏, 等. 部分牡丹品种遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 中国农业科学, 2006, 39(8): 1709-1715.

[33] 刘萍, 王子成, 尚富德. 河南部分牡丹品种遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 园艺学报, 2006(6): 199-202.

[34] Sang T, Donoghue M J, Zhang D. Evolution of alcohol dehydrogenase genes in peonies (Paeonia): phylogenetic relationships of putative nonhybrid species. Mol Biol Evol. 1997, 14: 994-1007.

[35] Tank D C, Sang T. Phylogenetic utility of the glycerol-3-phosphate acyltransferase gene: evolution and implications in Paeonia (Paeoniaceae) [J]. Mol Phylogenet Evol 2001, 19(3): 421-429.

[36] 赵宣, 周志钦, 林启冰, 等. 芍药属牡丹组 (Paeonia sect. Moutan) 种间关系的分子证据: GPAT 基因的 PCR-RFLP 和序列分析 [J]. 植物分类学报, 2004, 42 (3): 236-244.