

## 2020 年度河南省科学技术杰出贡献奖候选项目

候选人基本情况					
姓名	张晓伟	职称	研究员	从事专业	蔬菜
工作单位	河南省农业科学院园艺研究所				
提名者	河南省农业科学院				
<p><b>提名意见：</b>张晓伟研究员长期从事十字花科等蔬菜育种研究，在大白菜、甘蓝遗传育种方面取得了突出成绩。先后承担了多项国家及省部级重大、重点项目，是国家大宗蔬菜产业技术体系豫北综合试验站站长、农业部黄淮地区蔬菜科学观测实验站（河南）站长、河南省叶类蔬菜工程技术研究中心。主持育成通过国家和省审（鉴）定的大白菜、甘蓝等品种 10 多个。新品种累计推广应用 700 多万亩，新增蔬菜产量 35 亿公斤，新增效益 17.7 亿元。获省级以上成果奖励 5 项，其中主持完成的成果“大白菜游离小孢子培养技术体系的创建及其应用”获得 2006 年度国家科技进步二等奖。发表论文 90 多篇。先后被评为中原学者、“百千万人才工程”国家级人选、全国农业科研杰出人才、河南省优秀专家、河南省杰出专业技术人才，享受国务院政府特殊津贴。带领的团队先后被评为河南省创新型科技团队、河南省优秀创新型科技团队、农业部农业科研杰出人才及其创新团队。提名该同志为河南省科学技术杰出贡献奖</p>					
候选人的科学技术成就和贡献					
<p>张晓伟研究员长期从事十字花科等蔬菜育种研究，在大白菜、甘蓝遗传育种方面取得了突出成绩。先后承担了多项国家及省部级重大、重点项目 20 余项，是国家大宗蔬菜产业技术体系豫北综合试验站站长、农业部黄淮地区蔬菜科学观测实验站（河南）站长、河南省叶类蔬菜工程技术研究中心。主持育成通过国家和省审（鉴）定的大白菜、甘蓝等品种 10 多个。新品种累计推广应用 700 多万亩，新增蔬菜产量 35 亿公斤，新增效益 18 亿元。获省级以上成果奖励 5 项，其中主持完成的成果“大白菜游离小孢子培养技术体系的创建及其应用”获得国家科技进步二等奖。发表论文 90 多篇。</p> <p>（一） 创建了大白菜、甘蓝等十字花科蔬菜小孢子培养高效育种体系</p>					

1、创建了大白菜游离小孢子培养育种体系，实现了育种纯系的规模化生产

主持完成的“大白菜游离小孢子培养技术体系的创建及其应用”项目，被以方智远院士为首的鉴定专家组鉴定为“成果水平居国内领先水平，并达到国际先进水平”，并获得 2006 年度国家科技进步二等奖。

大白菜是原产于我国的重要蔬菜作物。因其产量高、风味佳，富含多种营养元素，深受人们喜爱，其种植面积及产量均居各类蔬菜之首位。随着生活水平的提高，人们对大白菜的需求是品种类型多样化、生产供应周年化。因此，对育种工作者提出了更高的要求。但是，传统的育种方法存在着突出问题是：种质资源匮乏、育种周期太长（育成一个品种至少需要 10-12 年），因此导致育种效率不高。游离小孢子培养技术是解决上述问题的有效途径。该技术具有获得纯系快（1-2 年）、后代选择范围广、纯系纯度 100% 的特点，因此成为众多学者研究的热点。然而，由于游离小孢子培养存在着胚状体诱导率低、再生成苗率低、移栽成活率低等技术难题。总体上，从胚状体诱导到获得纯系的比率不到 20%，许多单位仅仅处于研究阶段，尚未作为一种实用的育种手段。更未见利用该技术育成新品种的报道。

在本人带领下，历经多年的系统研究，创建了大白菜高效小孢子培养技术体系，实现了纯系材料的规模化生产，并育成春、夏、秋播系列新品种。

该项目从大白菜游离小孢子培养的基础理论研究入手，依据小孢子发育的细胞形态学变化特点，提出了选择合适培养材料的可靠方法。对影响培养效果的关键因素（温度预处理，培养基，添加物，培养方法等）进行对比分析，优化了技术方法，接种基因型 527 个，诱导成功基因型 431 个，总诱导基因型成功率 81.7%。共诱导胚状体 34000 枚，再生植株 20000 余株（丛）。实现了纯系材料的工厂化生产，获得纯系 1.3 万余份。

在小孢子成胚方面，通过细胞形态观察发现，处于单核晚期至双核早期的小孢子为圆球形，此时为最佳接种时期。通过小孢子预处理温度与处理时间研究，筛选出小孢子诱导成胚状体的最佳温度与处理时间为 35℃ 处理 24h。诱导培养基优化试验表明，在 NLN-13 培养基中添加活性炭可显著提高胚状体的数量和质量，其诱导率可提高 2-12 倍。通过静置培养和振荡培养（65rpm）比较发现，振荡培养提高了胚状体的质量，其发育程度比静置培养提早 2-3 天。在胚状体的再生成苗方面，通过在继代培养基中添加活性炭、提高琼脂浓度等措施，可使再生成苗率提高到 80%；通过对大白菜小孢子植株的倍性分析，得到其自然加倍率较高的结果，但不同基因型的加倍率不同（30-87%）。针对重点及出胚量少的基因型，采取先鉴定后加倍的办法，加倍率可提高到 80% 以上；探索出高成活率的简易移栽方法：不经驯化，直接移入大田营养钵中，移栽成活率可达 95%。简化了程序，节约了成本。

利用小孢子培养技术每年创造 1000-1500 个双单倍体纯系，经农艺性状鉴定，初选 100-150 个较好材料，较好的满足了育种对亲本材

料的需求。从广泛分离的群体中，选择性状特异的优系大量淘汰性状有缺陷、抗病性不强的材料，按结球类型、熟性等归类，获得了类型各异的材料。采用该方法可在 1-2 年内获得大量优良自交不亲和材料，比利用传统方法选育自交系缩短 4-6 年，在 10 年内获得纯系 13192 份，选配杂交组合 4584 个，审定品种 13 个，品种类型分布广包括春、夏、秋不同播种季节，早中晚熟配套。从结球类型上看有叠抱型、合抱型和拧抱型品种。育成了 13 个不同类型的品种，7 个通过国家审定或鉴定。利用该技术创建了大白菜 DH 作图群体 3 个，其最大群体的 DH 数量达 752 个，已利用 YF05 群体构建 AFLP 分子图谱 1 张。

## 2、创建了甘蓝小孢子培养育种体系

甘蓝为世界性的蔬菜作物，在我国种植面积位居前 10 位。针对甘蓝生产中存在的品种易抽薹、易裂球、抗性差等问题，广泛利用国内外甘蓝遗传资源，系统开展了小孢子培养技术、优异种质创制、新品种选育研究。获得大批双单倍体纯系，创建大量优异新种质，高效育成了不同类型新品种 6 个，均通过国家鉴定，均具有优质、丰产、抗病、适应性强等特点。

1) 建立了游离小孢子培养技术体系。通过选取适期小孢子，高温预处理，优化培养基，添加活性炭，振荡培养等建立了甘蓝游离小孢子培养体系。累计接种基因型 521 份次，基因型诱导成功率达到 76.9%，获得胚状体 7245 枚，获得纯系材料 2000 余份，实现了纯系材料的规模化创制。首次采用组织破碎仪取代手工研磨提取小孢子，探索出不同花蕾数的最佳破碎时间和频率，提高功效 3 倍以上。采用这一体系获得纯系材料仅需 1-2 年，比传统方法缩短 4-5 年，总育种周期缩短约一半。

2) 创制了一批优异新种质。针对获得的大量甘蓝纯系，进行表型鉴定、分子标记筛选，育成优异新种质 115 份。包括耐抽薹材料 31 份，耐裂球材料 12 份，抗病毒病、霜霉病、黑腐病等材料 63 份，细胞质雄性不育材料 6 份；新种质类型多样，在结球类型上包括圆球型、平头型和牛心型，为新品种选育奠定了基础。经田间鉴定和配合力测定，育成高配合力优良亲本 9 个，是新品种的核心技术。研究了甘蓝重要性状的遗传特点，利用 RT-PCR 和转基因方法对甘蓝 Ogura 胞质雄性不育系进行了研究，揭示了 orf138 基因是发生线粒体同源异型转化的决定因素。利用特异性引物研究了甘蓝种质资源的自交不亲和 S 单元型，为避免杂交组合配制中出现杂交不结实情况提供了分子依据。

### (二) 育成了系列新品种，产生了显著的社会经济效益

利用小孢子培养高效育种技术，创制了大批双单倍体纯系，经过严格筛选与鉴定，创制出优异新种质，配制杂交组合近万个，育成大白菜、甘蓝新品种 10 多个，推广应用 700 多万亩，创造了显著的社会经济效益。主持的“甘蓝小孢子培养技术创新与新品种选育”获得 2018 年度河南省科技进步二等奖。

育成大白菜新品种 12 个，分别为豫新 1 号、豫新 2 号、豫新 3 号、豫新 4 号、豫新 5 号、豫新 50、豫新 55、豫新 58、豫新 60、新绿

2号、豫园50和豫早1号，分别通过国家和省级品种审（鉴）定。新品种类型多、综合经济性状优良。参加国家和河南省区试，产量分别居区试组第一、二位，抗病毒、霜霉、黑斑、黑腐等四种主要病害，软叶率均超过50%。有3个获得国家新品种后补助。其中豫新5号为早熟品种，可春秋两季种植；豫新50、豫新55、豫园50、豫早1号耐热、早熟，适宜夏季种植；豫新58、豫新60、豫新3号为早熟品种；豫新1号、豫新2号、豫新4号和新绿2号为中晚熟品种，适宜秋季种植。育成的品种新品种先后在河南、河北、山东等大白菜主产省份推广，累计推广面积530多万亩，新增产量约30亿公斤，新增产值12.7亿元。

主持育成6个不同类型甘蓝优良新品种，均具有丰产、优质、抗病、适应性强等突出特点，均通过国家和河南省审（鉴）定。春播3个（豫生1号、豫生早熟牛心、豫甘1号），秋播3个（豫生4号、豫甘3号、豫甘5号）。“豫生早熟牛心”和“豫甘1号”，早熟、耐抽薹、品质优；优质品种“豫甘5号”，Vc含量达60.9mg/100g鲜重；优质抗病品种“豫生4号”，耐裂球、叶球脆嫩、口感甜，可溶性总糖高达5.0%；高产品种“豫甘3号”，产量居国家秋早熟组区试第1位，比对照增产18.5%。豫生4号获得2009年国家农业科技成果转化资金资助。新品种自育成以来，先后推广到河南、河北、陕西、山西、湖北、安徽、江苏等省份。累计推广面积236.9万亩，新增产量9.45亿kg，新增产值5.0亿元。

### （三）促进了行业科技进步

以小孢子培养为主的高效育种体系的建立，解决了大白菜、甘蓝育种中亲本材料创制慢的瓶颈问题，显著地缩短了育种周期，提高了育种效率；该技术已应用于其他十字花科蔬菜上，获得成功。围绕研究内容，发表论文50多篇，对于构建技术平台、实现高效育种起到重要作用。

利用技术优势，先后为国内30多家单位提供技术和技术培训，对我国十字花科蔬菜育种整体水平提高起到一定的推动作用；目前该技术已经成为许多育种单位普遍应用的常规技术。

创建的DH作图群体为开展遗传图谱绘制、基因定位、分子标记辅助育种奠定了基础。

### （四）近5年主要工作与贡献

近年来重点围绕大白菜、甘蓝等蔬菜优质、抗病、耐逆等育种研究，特别在分子生物学研究方面并取得新突破。主持承担了国家重点研发计划（秋白菜育种）、国家大宗蔬菜产业技术体系豫北综合试验站、农业科研杰出人才及创新团队、中原千人计划—中原学者、河南省优秀创新团队等项目，还是农业部黄淮地区蔬菜科学观测实验站站长、河南省叶类蔬菜产业技术创新战略联盟理事长。

针对大白菜根肿病抗性开展了系统研究，取得突破性进展。通过分析抗感根肿病大白菜DH系在根肿菌侵染后的基因表达差异，揭示

了可能导致感病植株根部膨大的分子机制是在致病因子（PbBSMT, PbGH3）作用下，植物体 DNA 复制紊乱、激素代谢失衡等，从而导致感病植株根部膨大。在大白菜根肿菌 *pro1* 基因的 CAPS 标记开发上，通过对采集自 6 省市 8 个地点的根肿菌 *pro1* 基因进行 PCR 扩增、测序及序列分析，得出 8 个不同地点的根肿菌 *pro1* 基因序列之间存在 85 处 SNP 变异，并将 8 个根肿菌分为 3 种类型，开发两个 CAPS 标记，表明原阳根肿菌可能为一个新的生理小种。利用抗、感根肿病自交系 ECD01-1\*Y510-1 构建 BCF1、BCF2 群体，利用 BSA-seq 将 ECD01-1 中的 CR 基因初步定位于 A8 上，抗病候选基因位于 A8 染色体上部物理距离为 0.45-1.95Mb 的区间内，命名为 *Crr5*。对 3 个 RLK 结构基因开发 KASP-SNP 标记，构建遗传图谱，将 *Crr5* 基因定位在 200kb 区间。

对大白菜高代自交系的 13 个 S 单元型进行了重复鉴定，并选取部分新高代自交系进行 S 单元型测序，初步对甘蓝高代自交系进行了 S 单元型检测及测序。完成了耐抽薹新基因 *Vin3* 的精细定位，利用 BSA-Seq 技术对 YW81×R16-11 的 F2 群体进行基因定位，将耐抽薹基因定位在 A02 染色体上 2.7-6.9 Mb 的候选区间。开发 34 对多态性 KASP-SNP 标记，构建遗传图谱，将其定位于 BL10（5.54 Mb）和 KBr12（5.96 Mb）之间。

期间，完善了甘蓝小孢子培养高效育种技术，2018 年获得河南省科技进步二等奖。授权国家发明专利 2 件：一种细胞质雄性不育早熟大白菜种质材料的选育方法（201710170589.3）、一种大白菜根肿病菌的保存方法（20150353116.8）；授权植物新品种权 2 件：豫早 0901 大白菜（CNA20141342.5）、豫新 9 号大白菜（CNA20152063.9）。培育抗根肿病大白菜新品种（系）4 个（HNCR1-4）、培育高品质大白菜新品种 2 个（桔红心 1 号、桔红心 2 号）。

在团队建设方面，注重培养人才，发挥团队合力。作为河南农业大学、郑州大学硕士生导师，先后指导培养硕士研究生 10 余人。作为蔬菜生物育种团队带头人，善于发挥团队优势，采取了多项措施，鼓励青年科技人才脱颖而出。带领的团队先后被评为河南省优秀创新型科技团队（2014）、农业部农业科研杰出人才及其创新团队（2015 年）。

#### 附：代表性成果

- 1) 大白菜游离小孢子培养技术体系的创建及其应用，2006 国家科技进步二等奖（第 1 完成人）
- 2) 甘蓝游离小孢子培养技术创新与新品种选育，2018 河南省科技进步二等奖（第 1 完成人）
- 3) 反季节大白菜新品种豫早 1 号、豫园 50 的选育及应用，2005 河南省科技进步二等奖（第 1 完成人）
- 4) 细胞工程育成大白菜新品种豫白菜 7 号、11 号，1999 河南省科技进步二等奖（第 2 完成人）