



木薯育种现状及发展趋势

陈松笔^{1,2}, 蔡杰^{1,2}, 安飞飞^{1,2}, 朱文丽¹, 罗秀芹^{1,2}, 薛晶晶^{1,2}, 薛茂富¹, 李汉丰¹,
韦卓文¹, 黄三文^{1,2*}, 李开绵^{1,2*}

1. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 热带作物生物育种全国重点实验室, 海口 571101;

2. 中国热带农业科学院三亚研究院, 三亚 572000

* 联系人, E-mail: huangsanwen@caas.cn; likaimian@sohu.com

收稿日期: 2024-08-26; 接受日期: 2024-09-25; 网络版发表日期: 2024-10-15

国家重点研发计划(批准号: 2023YFD1200201)、中央级科研事业单位基本科研业务费专项(批准号: 1630032022007)和国家自然科学基金(批准号: 31871687)资助

摘要 木薯原产热带美洲, 是世界热区重要的粮食作物, 也是世界近十亿人的食粮. 然而木薯基因组高度杂合、后代分离严重, 定向选育难度大、育种周期长, 这些因素严重制约着木薯产业的发展. 因此, 缩短育种周期、定向选育出木薯优良品种是当今育种工作的重点. 近年来, 随着测序技术的发展以及多组学、基因编辑、遗传转化等核心技术在育种中的应用, 木薯育种工作取得了重大突破. 本文综述了木薯育种的最新进展, 包括木薯种质资源重要农艺性状评价已从传统表型评价发展到表型与基因型的精准评价、木薯参考基因组的组装与注释及关键性状基因资源的发掘、木薯现代育种策略的发展等. 此外, 本文还讨论了今后木薯育种的研究方向, 这将对推动木薯产业发展、服务国家“一带一路”倡议, 以及解决世界热区粮食安全和饲料有效供给具有重要意义.

关键词 木薯育种, 种质资源, 采后生理腐烂, 花叶病, 褐条病, 基因编辑

木薯(*Manihot esculenta* Crantz)为大戟科木薯属植物, 广泛种植于尼日利亚、泰国、巴西、印度尼西亚、刚果(布)等100多个发展中国家或地区, 是全球第六大粮食作物, 同时也是第三大能量来源. 木薯为世界热区包括非洲、拉丁美洲在内的近10亿人口提供必需的膳食能量, 在全球小农经济和粮食安全中发挥着核心作用.

木薯块根是碳水化合物的主要储存器官, 淀粉占干物质含量高达85%以上, 比水稻高40%, 比玉米高25%. 在我国, 木薯作为淀粉工业、生物质量能源与畜禽饲料的重要原料, 其高产稳产对于保障粮食安全、工业淀粉的进口替代物、畜禽饲料和生物质能源方面

起着重要作用^[1]. 此外, 木薯耐旱耐贫瘠, 作为一种适应气候变化的作物, 其重要性随着人口增长而增加. 但是, 木薯产量和品质的提升面临着生物和非生物胁迫以及有限育种技术的挑战, 如木薯块根采后生理腐烂(Post-harvest physiological deterioration, PPD)每年导致亚洲、拉丁美洲与加勒比海地区、非洲的木薯产量损失分别达8%、10%、29%^[2]; 木薯花叶病(Cassava mosaic disease, CMD)和褐条病(Cassava brown streak disease, CBS)等严重影响着世界热区粮食安全与小农生计. 迄今为止, 耐贮品种的缺乏仍然是导致鲜薯货架期短的主要因素, 尽管欧美一些国家可以通过采

引用格式: 陈松笔, 蔡杰, 安飞飞, 等. 木薯育种现状及发展趋势. 中国科学: 生命科学, 2024, 54: 1833–1842

Chen S B, Cai J, An F F, et al. Current status and development trend of cassava breeding (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2024, 54: 1833–1842, doi: 10.1360/SSV-2024-0256

用蜡封延长鲜薯货架期,但成本高,难以推广。国际热带农业研究所(International Institute of Tropical Agriculture, IITA)与中国热带农业科学院等已研发出高抗CMD与CBSD的品种,但耐贮多抗的突破性品种仍然缺乏,因此研发高产优质、耐贮多抗品种是提高木薯产量和品质的最佳途径。本文从全球视角分析当今木薯育种存在的瓶颈,对木薯种质资源精准评价和生物育种现状进行综述,并对育种研究方向与发展趋势进行展望,以期为木薯高产、优质、多抗新种质和新品种的创制提供理论参考。

1 木薯育种问题分析

木薯及其野生近缘种起源于中美洲加勒比地区和南美洲亚马孙河流域南部边缘地区,形态学证据表明木薯是从巴西东北部至墨西哥的广泛地区被驯化为栽培种的。木薯栽培种只有1个,其他均为野生近缘种或野生种^[3,4]。木薯在遗传上具有基因组高度杂合、有性子代严重分离、育种周期长与自交衰退等特性,此外还存在木薯种质资源本底不清、抗性基因资源相对贫乏、野生资源利用不高等问题,致使木薯传统育种工作效率低、耗时长,平均育成一个品种至少需要9~10年。而选育高抗CMD与CBSD等的优良品种,因病毒的不断变化与进化,需对品种的抗性进行频繁评估,确保其能承受病原体进化带来的压力^[5],导致选育抗病木薯品种耗时更长,故而通过传统育种方法创制高产、优质兼高抗的突破性木薯品种难度极大。近年来随着测序技术的不断发展与分子标记技术的不断完善,基于这些技术的现代育种方法,如分子标记辅助选择,结合全基因组选择、全基因组设计育种及基因编辑技术等,大大加速了耐PPD及CMD、CBSD等多抗木薯新种质的创制^[5]。此外,木薯参考基因组的组装与注释,特别是对木薯单倍型基因组的解析,为木薯基因组杂合性解析及优质抗病木薯品种的选育提供了重要思路^[6]。但由于木薯功能基因挖掘难度大、遗传转化体系受基因型限制及耗时长等不利因素,定向创制、选育优良性状种质仍然充满挑战。

2 木薯种质资源精准评价

木薯属包括98个种,其中有80个种分布在巴西,17

个种分布在墨西哥^[2]。全球木薯种质资源保存量为13832份,主要集中在南美洲、中非、西非、东南亚地区的9个国家^[7]。从事木薯种质资源保存评价、创新利用研究的权威机构有国际生物多样性中心与国际热带农业中心联盟(The Alliance of Bioversity International and the International Center for Tropical Agriculture, Alliance Bioversity & CIAT)、巴西国家农业研究院(Brazilian Agricultural Research Corporation, Embrapa)与IITA等。Alliance Bioversity & CIAT拥有全球最大的木薯种质资源圃(库),收集和保存世界141个国家传统的以及新培育的栽培种5577份、野生种386份,资源保存量居世界之首^[7];还鉴定评价了木薯种质资源的重要经济性状,如糯性淀粉含量和CBSD抗性,并对种质资源群体进行基因分型,发掘出一批优异基因资源可用于木薯育种改良。Kanaabi等人(2023)利用近红外光谱方法结合机器学习算法评价了不同木薯品种的氢氰酸含量,该方法快速、准确、可靠,需要的样品量小,准确率可达到99.6%^[8]。木薯种质资源丰富的国家如巴西、哥伦比亚等构建了国家主导的种质资源管理体系,加强了木薯种质资源保存、评价和共享技术体系的建设。然而世界热区多为发展中国家,热带作物科技投入和研究水平总体偏低,木薯种质资源收集量虽大,但由于本底不清、关键性状基因缺乏及育种效率低的问题,导致木薯抗逆、品质等关键性状的种质资源没有被充分发掘和利用。

我国非木薯原产地,19世纪初到南洋谋生的商人把木薯传入我国华南地区,由此开始我国的木薯种质资源鉴定评价、栽培及育种研究。自“十五”以来,已探明我国木薯地理分布和富集程度,建成国家木薯种质资源圃,保存国内外种质资源3000多份。对种质资源进行高通量精准评价,以及发掘育种需求的优异种质和关键基因已成为热带作物种质资源研究的重点方向。2019~2022年,中国热带农业科学院以块根淀粉含量、氰化物含量、 β -胡萝卜素含量、抗性(低温、PPD、花叶病)和叶片平均净光合速率等表型数据构建了木薯种质资源品质表型组精准评价模型,选出品质综合指标优良的木薯种质18份,可作为优良骨干亲本材料用于木薯育种^[9,10];结合种质资源基因型数据,鉴定出23个农艺性状的53个位点,发现9个候选基因与7个关键农艺性状显著相关,发掘出与木薯淀粉合成、细菌性枯萎病形成与调控相关的关键基因^[11],获

得503个SNP位点, 构建了368份木薯种质指纹图谱, 可作为木薯种质分子身份证的二维码, 为创制的新种质提供知识产权保护. 同时, 海南大学联合中国热带农业科学院等多家单位构建了热带作物资源数据库网站 (<http://www.tropical-resources.org.cn/>), 收录了木薯基因组、重测序、GWAS分析数据, 为木薯种质资源评价从传统表型评价发展到表型组-基因型精准评价提供了重要平台.

3 木薯基因组的注释与重要农艺性状关键基因的发掘

木薯基因组(2n=36)具有高度杂合特征, 对木薯育种具有至关重要的意义. 通过对基因组的解析, 可明确控制重要农艺性状的基因位点, 使得有针对性地选育优良品种成为可能. 中国热带农业科学院牵头绘制了木薯KU50和SC205基因组图谱, 构建了18对同源染色体高质量单体型基因组图谱, 鉴定出24128个双等位基因, 为通过分子设计育种改良木薯品质提供了优异基因资源^[12,13]; 美国加利福尼亚大学等提供了高质量的木薯AM560-2基因组精细图谱, 其中97% 的基因被锚定在染色体上^[14]; 广西壮族自治区农业科学院等构建了木薯新选048的两个单倍型基因组和一个较为完整的端粒到端粒无间隙参考基因组^[15]; 瑞典农业科学大学与IITA等解析了非洲木薯品种TMEB117的两个单体型基因组, 预测出超过45000个基因模型^[6]. 这些参考基因组的相继注释为木薯基因组杂合性解析及优质抗病木薯品种选育提供了重要基因组信息.

以木薯为热带模式作物, 目前已发掘出与产量、淀粉高效积累、开花特性、生氰糖苷、耐PPD、抗旱与耐寒及花叶病抗性等相关代谢途径的重要转录因子

与功能基因(表1^[16-33]), 揭示了热带作物高生物积累与抗逆的分子机制. *MeTIR1*基因第一个外显子中存在的G/T突变是调控木薯淀粉含量的功能性SNP位点, 通过超表达和RNAi实验证明*MeTIR1*基因在调控淀粉含量上发挥重要作用, 可用于提高木薯淀粉含量的遗传改良^[11]. 木薯开花是进行有性繁殖和育种的关键, 通过人工授粉或自然授粉, 可实现不同木薯品种间的基因交流, 从而培育出具有更优良性状的品种. 然而, 许多种质在自然条件下不开花或需要开花的时间较长. Odipio等人通过编辑*MeFT1*基因, 在21天内可诱导木薯栽培种 60444 开花, 而对照开花时间为90天. 花分生组织特征基因表达的升高有助于早期开花, 实验证明*MeFT1*通过上调下游花分生组织特征基因*MeAP1*、*MeSOC1*和*MeLFY*来缩短木薯开花时间^[18]. An等人发现MePOD12一方面通过清除ROS, 另一方面与MeCAD15互作, 影响木质素合成, 进而延缓木薯块根PPD发生^[26]. An等人通过使*MebHLH72*和*MebHLH114*基因沉默, 发现其参与调控PPD代谢途径^[24]. 对PPD过程中大量积累的类黄酮物质进行发掘, 功能验证后发现*MeCHS*基因与类黄酮合成及PPD抗性呈正相关, *MeANR*基因与花青素合成及PPD抗性呈负相关^[27]. 低温相关基因*MebHLH18*通过增加POD水平缓解因低温导致的叶片脱落, 进而提高木薯对低温的耐受性^[29]. 谷氧还蛋白GRXs对于植物响应环境变化后的活性氧内稳态至关重要, Guo等人揭示*MeGRXC3*基因通过调节干旱和ABA诱导的气孔关闭, 负调控木薯的干旱耐受机理^[30]. 与其他木薯品种相比, TMEB117对非洲木薯花叶病毒(African cassava mosaic virus, ACMV)感染的敏感性更高, 从一个来自西非的木薯地方品种中发现*CMD2*抗病基因对木薯CMD具有较高的抗性^[32,33](表1), 可为后续研究病毒抗性机制(包括表观遗传变异

表 1 木薯重要经济性状关键基因发掘

Table 1 Exploration of key genes for important economic traits in cassava

木薯重要经济性状	关键基因
产量、淀粉积累与开花习性	<i>MeAGP</i> ^[16] , <i>MeGBSSI</i> ^[17] , <i>MeTIR1</i> ^[11] , <i>MeFT1</i> ^[18] , <i>MeAP1</i> ^[18] , <i>MeSOC1</i> ^[18] , <i>MeLFY</i> ^[18] , <i>Me14-3-3II</i> ^[19] , <i>MeChID</i> ^[20] , <i>MeCWINV3</i> ^[21]
生氰糖苷(亚麻苦苷、百脉根苷)	<i>MeCGTRI</i> ^[22] , <i>CYP79D1</i> ^[23] , <i>CYP79D2</i> ^[23] , <i>MebHLH72</i> ^[24] , <i>MebHLH114</i> ^[24] , <i>CYP71E7/11</i> ^[25] , <i>UGT85K5</i> ^[25]
耐采后生理腐烂	<i>MePOD12</i> ^[26] , <i>MeCAD15</i> ^[26] , <i>MebHLH72</i> ^[24] , <i>MebHLH114</i> ^[24] , <i>MeCHS</i> ^[27] , <i>MeANR</i> ^[27] , <i>MeSCL33</i> ^[28]
寒冷、干旱等非生物胁迫	<i>MebHLH18</i> ^[29] , <i>MeGRXC3</i> ^[30] , <i>MeBADH1</i> ^[31]
花叶病胁迫	<i>CMD2</i> ^[32,33]

和小RNA表达)提供参考^[6]。Zou等人开发出一种遗传算法程序,可有效获得其核心SNP构建指纹图谱,用来区分木薯等不同物种中的所有种质资源^[34]。此外,结合人工智能建立基于高光谱的自动化高通量表型鉴定平台,以及利用多维度组学和大数据分析建立群体光合作用反应模型,可挖掘调控群体光合作用的关键基因,并明确其分子和生理调控网络,最终服务于木薯全基因组设计育种。

4 木薯育种研究进展

4.1 常规育种

常规育种主要依靠对自然变异的选择与杂交育种等手段,在自然变异选择中,精选产量品质优、抗病虫害能力强、营养含量高及对各种环境条件适应性强等性状的木薯单株作为杂交育种的亲本材料,通过控制授粉时间与方式,将亲本的优良性状整合到后代中,同时还要对后代植株的生长状况、产量、品质、抗性等进行综合评估。

常规育种还包括倍性育种与诱变育种,这两种育种方式在一定程度上丰富了木薯的遗传多样性,如中国热带农业科学院利用倍性育种方法选育出一系列木薯多倍体种质,如华南8号、南植199四倍体等。该四倍体抗逆性较强,但与二倍体相比,产量略有下降^[35]。Alliance Bioversity & CIAT木薯团队利用 α -射线照射木薯幼苗,获得上万份突变材料,经过13年资源评价,分别筛选出直链淀粉超过30%和支链淀粉高达100%的优异突变株5G160-13和AM206-5^[36,37],这些材料为选育出优质品种提供了可能。严华兵等人认为木薯常规育种策略包括资源引进与系统选育,杂交与实生种选育、种间杂交、多倍体育种与诱变育种等^[38]。利用常规育种方法,我国已经选育出木薯品种73个,包括华南系列国审木薯品种22个、桂热系列木薯品种14个、桂木薯系列品种11个等。在我国“十三五”与“十四五”期间,木薯逐步走向粮饲化。木薯块根中含有有毒化合物氰苷,因此块根氰苷含量高低成为衡量木薯品种是否符合作为食用的重要参数。国际食品法典委员会标准规定,块根薯肉鲜重氰苷含量<50 mg/kg的品种可作为食用木薯^[4]。由于不同木薯品种块根在氰化合物含量上差异显著^[39,40],因此在选育食用木薯品种时,要选择氰苷含量低的亲本进行杂交选育种。中国热带

农业科学院选育出华南101、华南102、华南6068、华南9号、华南14号等优良食用木薯品种,其中华南9号也称蛋黄木薯,是我国至今推广面积最大的食用木薯品种。

目前,常规育种仍然是木薯选育种最重要的方法。在提升常规育种精准度与潜力方面,Alliance Bioversity & CIAT结合木薯遗传多样性、育种周期、强度与精准度等构建木薯品种选育种公式,评估新型常规育种技术的潜力,使选育出的木薯品种能更好地适应不同行业的需求^[41],如为饲料工业创制出高蛋白木薯品种,为淀粉工业选育出高直链/支链淀粉特性的品种^[36,37]。此外,基于亚洲有800多万农民种植木薯,Alliance Bioversity & CIAT与IITA、澳大利亚国际农业研究中心(Australian Centre for International Agricultural Research, ACIAR)及亚洲国家农业研究机构(National Agricultural Research Institutes)合作,1983年起在亚洲发起木薯育种研究计划,通过品种适应性试验及优良品种示范推广,使亚洲木薯平均单产从1996年的13.0吨/公顷提升到2016年的21.3吨/公顷,产生了显著的经济效益^[42]。近年来由ACIAR资助,Alliance Bioversity & CIAT科学家Jonathan Newby博士牵头的“在东南亚大陆针对木薯病害研发的可持续解决方案”项目,大量引进Alliance Bioversity & CIAT与IITA高产抗病木薯品种,如引进IITA选育的高抗斯里兰卡花叶病木薯品种TMEB419,在越南西宁省开展大规模的木薯抗病育种杂交试验,提升了越南等东南亚国家的木薯选育种水平,解决了东南亚木薯斯里兰卡花叶病的难题。在非洲如喀麦隆,木薯常规育种工作者主要基于产量和抗病方面的潜力选育新品种,这些品种虽已在喀麦隆广泛种植,但还没达到预期目标产量,主要原因是没有考虑农户种植木薯品种的互补性^[43]。此外,开花仍然是木薯常规育种的瓶颈问题。2022年Hyde和Setter阐明光周期、温度及其相互作用对开花时间和花发育时间的影响,发现长日照光周期对加速开花影响很大^[44]。若将光周期延长与修剪相结合,诱导早期开花与增加种子产量,特别是晚开花的木薯种质,可以使开花时间从6~7个月缩短到3~4个月,解决了木薯开花的难题,加快了木薯育种进程^[45]。

4.2 现代育种

缩短育种周期与提高育种效率一直是木薯育种研

究的焦点, 将基因组育种技术等引入常规育种能很好地解决这个问题. 2000~2010年间, Alliance Bioversity & CIAT构建了15000份木薯F₁代单株, 利用7年时间创制出具有较高价值的木薯无性系25株. 2010~2020年引入回交技术, 使木薯育种时间缩短至6年. 2020年后引进木薯开花诱导与全基因组预测技术, 筛选F₁代单株从15000份减少到400份, 育种时间缩短至5年. 全基因组选择育种不仅减少了育种工作量, 而且使育种变得更加精准^[41]. 2023年, da Conceição等人提出另一种缩短常规育种周期的方法, 即改变木薯选择方案, 包括增加试验数量从无性系比试验(Clonal evaluation trial)阶段开始、早期合并基因型-环境的随机效应交互作用、消除初步产量阶段(Preliminary yield trial), 使育种周期从9~11年缩短到3~5年^[46].

关于木薯育种策略有过诸多阐述, 如Alliance Bioversity & CIAT提出木薯现代育种计划^[41,47], 陈松笔等人把蛋白质组学引用木薯育种计划^[48], 提出木薯综合育种对策、所需条件和流程图^[49], Carvalho和陈松笔提出利用种质资源遗传多样性, 结合基因组、转录组、蛋白质组和代谢组等多组学方法提升木薯块根产量和品质^[3], 这些育种策略都为利用生物技术进行木薯遗传改良提供了参考.

随着科技的飞速发展, 作物育种迈入了现代化的进程, 现代育种技术为木薯品种改良与优化提供了更强大的工具. 木薯现代育种策略主要包括种质资源表型与基因型精准评价及优异种质与基因资源发掘、基因组与资源精准评价数据库构建、分子标记开发、全基因组选择与设计育种及基因编辑等. 现代育种结合传统育种技术, 借助大数据和人工智能, 对海量的木薯育种数据进行分析与预测, 为育种方案的制定提供科学依据, 达到聚合众多优异基因、创制突破性品种、缩短育种周期和实现定向育种的目的(图1).

分子标记辅助育种是现代育种技术的重要手段, 通过识别与特定性状相关的基因标记, 能够更有效地定向选择具有目标性状的材料, 从而更快、更精确地选育新品种. Hu等人获得1313775个木薯高质量SNPs, 为木薯分子标记辅助选择提供了重要的SNP标记和候选基因目录^[11]. 但是在实际木薯育种中, 这些与产量、品质及抗逆性状相关的SNP标记尚未用于标记辅助选择, 主要是由于缺乏标记在不同遗传背景的有用信息. 为克服这一瓶颈, Ige等人利用竞争性等位基因特异性

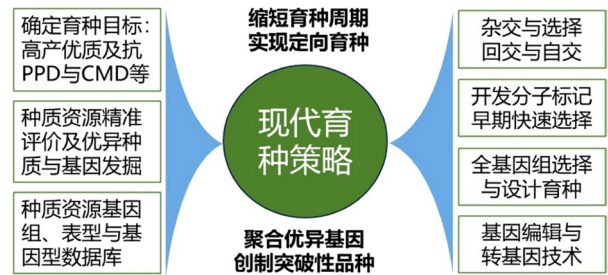


图1 木薯现代育种策略

Figure 1 Modern breeding strategies for cassava

PCR(KASP)-SNP标记预测木薯类胡萝卜素含量和干物率, 这种方法能有效地区分标记基因型类别, 在育种群体中可通过块根黄色强度推断出的预测类胡萝卜素含量与观察到的类胡萝卜素含量之间存在高度相关性^[50]. 基因组选择(Genomic selection)具有快速改良种群和品种的功能, 该技术已在非洲乌干达木薯育种中实施, 用以加速木薯抗病毒(CMD、CBSD)和高产无性系的选育^[51]. Ocampo等人利用信息性SNP标记对来自越南的1570份木薯种质进行分析, 揭示其遗传多样性和种群结构, 为高产抗病品种的创制提供了优异骨干亲本^[52]. 为加快木薯育种进程, 分子标记、全基因组关联研究和基因组选择已被纳入育种工作中, 并将与生物强化及气候适应能力相结合, 作为未来改良多营养作物的一种方法^[53].

中国热带农业科学院利用传统杂交与蛋白质组学辅助育种技术, 结合PPD表型数据, 培育出粮饲兼用、耐PPD的新品种华南14号, 可延长鲜薯货架期15天^[54]. 运用综合育种策略, 结合抗性评价表型数据及螨害病情指数, 培育出首个高抗朱砂叶螨、高产高淀粉含量的新品种华南13号, 成为服务“一带一路”沿线国家的粮饲化主推品种^[54]. 利用穿梭育种技术, 在中国援刚果(布)农业技术示范中心基地华南8号自然杂交群体中, 筛选出高产高抗花叶病品系ZMI93, 病情指数为零, 保证了木薯粮饲化原料的供应与品质^[54]. 随着计算机科学的发展, 大数据与人工智能技术也越来越多地应用于木薯育种中. Covarrubias-Pazarán等人开发出一个用于改进木薯等作物育种计划的软件^[55]; Morales等人构建了一个综合性育种管理和分析的数字生态系统, 可用于木薯全基因组设计育种, 目前也已被木薯以外的数十种作物和项目使用^[56].

在过去十年中, CRISPR/Cas系统为植物遗传改良带来了突破, 促进了特异性和有针对性的木薯品种改良^[57], 如淀粉改良^[17]、营养增强^[58]、氰苷减少^[23]、采后生理腐烂抑制^[24,26,27,59,60]、非生物胁迫响应^[28,29]及抗细菌性枯萎病^[61]等方面。中国热带农业科学院郭建春团队建立了我国木薯主栽品种华南8号的高效基因编辑体系^[62], 实现了对木薯基因组单靶点、双靶点、多靶点及启动子的编辑, 建立了木薯基因编辑突变体库, 为木薯的定向遗传改良提供了极大空间。但是, 由于木薯遗传转化体系受基因型的影响, 目前还尚未有利用基因编辑培育出生产上能应用的木薯品种。

5 木薯育种未来的研究方向

5.1 加强木薯野生资源重要抗性基因的发掘利用, 提升木薯育种水平

遗传基础狭窄是木薯改良工作的瓶颈。木薯栽培种是经过长时间的驯化而来, 在驯化过程中, 一些优异基因资源逐渐丢失导致遗传多样性降低。在长期自然进化过程中, 野生木薯逐渐适应各种复杂环境, 积累了大量独特的基因, 如抗逆、抗病虫基因等优质基因。对栽培种与野生橡胶木薯(*M. glaziovii*)的基因组进行解析及对268份非洲木薯种质基因分型发现, 木薯栽培种作为一种无性繁殖作物, 特别容易受到病原体和生物胁迫的影响, 而野生资源对病原体与非生物胁迫有较高的抗性^[14]。对野生资源抗性基因进行发掘与利用, 如通过杂交与选育及基因编辑等手段, 可以将这些优良性状整合到现有品种中, 为培育出具有抗逆性强、适应性广的木薯新品种提供宝贵的遗传材料。例如Alliance Bioversity & CIAT利用野生木薯近缘种*M. flavelifolia*和栽培种杂交^[63], 得到的F₁代与野生木薯近缘种*M. walkerae*杂交, 获得耐PPD木薯新种质; *M. flavelifolia*和栽培种杂交的F₁代与野生木薯近缘种*M. tristisand*和*M. flavelifolia*杂交, 获得高蛋白质木薯新种质, 从而加速木薯优良品种的育种进程。

5.2 利用基因编辑与遗传转化体系, 加快木薯定向育种进展

CRISPR/Cas9编辑技术已在木薯上得到广泛应用, 但基因编辑后转化效率不高。多个科研团队通过挖掘不同特性的CRISPR/Cas系统(如不同物种来源的

CRISPR/Cas9或多种CRISPR/Cas12家族), 以及针对现有系统的改造提升(如各种高保真或者高效版本的CRISPR/Cas), 有效拓宽了基因组的可编辑范围、降低了脱靶效应、提升了编辑效率和精度, 从而为木薯定向育种提供了更好的选择^[57]。随着全基因组测序技术的出现, 木薯有了足够的序列数据^[11~15]。结合基因编辑技术, 通过在特定基因组位点诱导可遗传的靶向突变, 可以精确改变木薯基因组。不仅设计针对一个特定的基因组序列, 还可以设计多基因编辑, 同时靶向多个基因组位点^[64]。虽然基因组编辑工具可通过改良作物基因型来提高作物产量和品质, 但基因转化是否成功依赖于是否能将成功DNA导入细胞和转基因植物的再生^[64~66], 这是制约基因编辑技术推广和应用的瓶颈。农杆菌介导木薯模式品种TMS60444的遗传转化是以胚性愈伤组织作为靶组织, 通过农杆菌整合转基因和基因编辑工具, 也是木薯基因功能验证最常用的手段^[67]。Wang等人利用农杆菌菌株LBA4404介导的木薯SC8高效遗传转化系统^[62], 将*GBSSI*基因作为编辑目标, 获得无直链木薯淀粉, 其在加工业方面的功能优于未修饰(含直链淀粉)的木薯淀粉。南方科技大学朱健康团队开发了“切-浸-芽”转化系统, 成功用于*IbGBSSI*、*IbSBEI*和*IbSBEII*基因的编辑, 转化了包括橡胶草、甘薯、臭椿、多肉植物等。通过编辑植物烯去饱和酶基因, 证实了该转化系统在多个物种中进行基因编辑的有效性^[68,69], 为木薯基因工程提供了借鉴, 也为木薯定向育种奠定了基础。

5.3 打破木薯育种自交衰退障碍, 破解木薯种子繁殖瓶颈

木薯是无性繁殖作物, 主要以种茎繁殖, 但种茎越冬贮存与运输成本耗费极大, 而且长期无性繁殖会产生有害氨基酸, 使得有害等位基因数量增加26%。由于木薯基因组重组的限制, 有害突变不能被有效清除, 增加了优良品种选育的难度^[70]。为解决这个问题, Zhang等人(2024)提出近亲本杂交木薯育种思路, 即通过实施基于回交的性状渐渗有效清除有害突变, 系统地探索和利用杂种优势来达到品种改良的目的^[47]。黄三文团队利用基因编辑技术, 通过使用靶向S-RNase前两个外显子的双sgRNA系统来克服马铃薯的自交不亲和性, 将马铃薯育种从缓慢、非累积模式转变为快速迭代模式, 解决了马铃薯基因组中有害突变的历史积累

阻碍了优秀自交系和杂交种的发展问题,使杂交马铃薯育种从无性繁殖的四倍体转变为种子繁殖的二倍体,这是作物育种史上的一项重大创新^[71~73]。黄三文提出,无性繁殖作物“有性化”是作物育种的新方向,为实现无性繁殖作物改造成为种子繁殖作物开辟了新路径^[74]。借鉴杂交马铃薯全基因组设计育种的理论和技术,一方面可进行木薯全基因组重测序、有害突变预测及自交群体遗传分析来解析木薯自交衰退的遗传基础,构建杂交木薯基因组设计育种技术体系,从而实

现种子繁殖替代种茎繁殖。另一方面可对木薯自交系群体重测序,利用全基因组偏分离分析和表型评价来定位影响自交衰退效应的有害突变,打破有害突变和优异等位基因之间的连锁,阐明木薯自交衰退的遗传机制。通过培育木薯优良自交系,设计杂交组合使有害突变保持杂合状态,以期获得具有杂种优势的F₁代杂交种,能够突破种茎贮存和长距离运输成本耗费的瓶颈、提升热带作物育种效率(缩短育种周期至3~5年),创制优异新种质,推动木薯产业的可持续发展。

参考文献

- 1 Amelework A B, Bairu M W. Advances in genetic analysis and breeding of cassava (*Manihot esculenta* Crantz): A review. *Plants*, 2022, 11: 1617
- 2 An F, Xue J, Wei Z, et al. The relationship between α -mannosidase and postharvest physiological deterioration in cassava tuberous root (in Chinese). *Jiangsu Agric Sci*, 2022, 50: 165–169 [安飞飞, 薛晶晶, 韦卓文, 等. α -甘露糖苷酶与木薯块根采后生理变质的关系. *江苏农业科学*, 2022, 50: 165–169]
- 3 Carvalho L J C B, Chen S. Genetic resources, evaluation, application and breeding of cassava crop (in Chinese). *Chin J Tropical Crops*, 2020, 41: 1968–1978 [Carvalho L J C B, 陈松笔. 木薯作物遗传资源、生物技术与育种. *热带作物学报*, 2020, 41: 1968–1978]
- 4 Chen S, Luo X, Xue J, et al. Cassava (in Chinese). Beijing: China Agricultural Press, 2023. 4–17 [陈松笔, 罗秀芹, 薛晶晶, 等. 木薯. 北京: 中国农业出版社, 2023. 4–17]
- 5 Ntui V O, Tripathi J N, Kariuki S M, et al. Cassava molecular genetics and genomics for enhanced resistance to diseases and pests. *Mol Plant Pathol*, 2024, 25: e13402
- 6 Landi M, Shah T, Falquet L, et al. Haplotype-resolved genome of heterozygous African cassava cultivar TMEB117 (*Manihot esculenta*). *Sci Data*, 2023, 10: 887
- 7 Kongsil P, Ceballos H, Siriwan W, et al. Cassava breeding and cultivation challenges in Thailand: Past, present, and future perspectives. *Plants*, 2024, 13: 1899
- 8 Kanaabi M, Namakula F B, Nuwamanya E, et al. Rapid analysis of hydrogen cyanide in fresh cassava roots using NIRS and machine learning algorithms: Meeting end user demand for low cyanogenic cassava. *Plant Genome*, 2024, 17: e20403
- 9 Chen S, Li K, Luo X, et al. Accurate Evaluation Maps of the Phenotypes for Cassava Germplasm Resources (in Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2022. 151–153 [陈松笔, 李开绵, 罗秀芹, 等. 木薯种质资源表型精准评价图谱. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2022. 151–153]
- 10 Chen S, Cai J, An F, et al. Accurate evaluation model and construction method of the quality phenotype group for cassava germplasm resources (in Chinese). China Patent 10738643.0. 2022 October 21. [陈松笔, 蔡杰, 安飞飞, 等. 木薯种质资源品质表型组精准评价模型及构建方法. 中国专利10738643.0. 2022-10-21]
- 11 Hu W, Ji C, Liang Z, et al. Resequencing of 388 cassava accessions identifies valuable loci and selection for variation in heterozygosity. *Genome Biol*, 2021, 22: 316
- 12 Wang W, Feng B, Xiao J, et al. Cassava genome from a wild ancestor to cultivated varieties. *Nat Commun*, 2014, 5: 5110
- 13 Hu W, Ji C, Shi H, et al. Allele-defined genome reveals biallelic differentiation during cassava evolution. *Mol Plant*, 2021, 14: 851–854
- 14 Bredeson J V, Lyons J B, Prochnik S E, et al. Sequencing wild and cultivated cassava and related species reveals extensive interspecific hybridization and genetic diversity. *Nat Biotechnol*, 2016, 34: 562–570
- 15 Xu X D, Zhao R P, Xiao L, et al. Telomere-to-telomere assembly of cassava genome reveals the evolution of cassava and divergence of allelic expression. *Horticulture Res*, 2023, 10: uhad200
- 16 Tuncel A, Okita T W. Improving starch yield in cereals by over-expression of ADPglucose pyrophosphorylase: Expectations and unanticipated outcomes. *Plant Sci*, 2013, 211: 52–60

- 17 Bull S E, Seung D, Chanez C, et al. Accelerated ex situ breeding of *GBSS*- and *PTST1*-edited cassava for modified starch. *Sci Adv*, 2018, 4: eaat6086
- 18 Odipio J, Getu B, Chauhan R D, et al. Transgenic overexpression of endogenous FLOWERING LOCUS T-like gene MeFT1 produces early flowering in cassava. *PLoS ONE*, 2020, 15: e0227199
- 19 Pan R, Wang Y, An F, et al. Genome-wide identification and characterization of 14-3-3 gene family related to negative regulation of starch accumulation in storage root of *Manihot esculenta*. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1184903
- 20 Yang X, Cai J, Xue J, et al. Magnesium chelatase subunit D is not only required for chlorophyll biosynthesis and photosynthesis, but also affecting starch accumulation in *Manihot esculenta* Crantz. *BMC Plant Biol*, 2023, 23: 258
- 21 Yan W, Wu X, Li Y, et al. Cell wall invertase 3 affects cassava productivity via regulating sugar allocation from source to sink. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 541
- 22 Lieberman S E, Gueorguieva G A, Gill B K, et al. Transporter editing in cassava indicates local production of cyanogenic glucosides in, and export from, cassava roots. *Plant Biotechnol J*, 2024, 22: 790–792
- 23 Gomez M A, Berkoff K C, Gill B K, et al. CRISPR-Cas9-mediated knockout of *CYP79D1* and *CYP79D2* in cassava attenuates toxic cyanogen production. *Front Plant Sci*, 2023, 13: 1079254
- 24 An F, Xiao X, Chen T, et al. Systematic analysis of bHLH transcription factors in cassava uncovers their roles in postharvest physiological deterioration and cyanogenic glycosides biosynthesis. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 901128
- 25 Schmidt F B, Cho S K, Olsen C E, et al. Diurnal regulation of cyanogenic glucoside biosynthesis and endogenous turnover in cassava. *Plant Direct*, 2018, 2: e00038
- 26 An F, Xue J, Luo X, et al. MePOD12 participates the regulation to postharvest physiological deterioration by ROS scavenging and lignin accumulation in cassava tuberous roots. *Postharvest Biol Tech*, 2024, 207: 112609
- 27 An F, Cui M, Chen T, et al. Flavonoid accumulation modulates the responses of cassava tuberous roots to postharvest physiological deterioration. *Postharvest Biol Tec*, 2023, 198:11 2254
- 28 Gu J, Ma X, Ma Q, et al. RNA splicing modulates the postharvest physiological deterioration of cassava storage root. *Plant Physiol*, 2024, 196: 461–478
- 29 Liao W, Cai J, Xu H, et al. The transcription factor MebHLH18 in cassava functions in decreasing low temperature-induced leaf abscission to promote low-temperature tolerance. *Front Plant Sci*, 2023, 13: 1101821
- 30 Guo X, Yu X, Xu Z, et al. CC-type glutaredoxin, MeGRXC3, associates with catalases and negatively regulates drought tolerance in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Plant Biotechnol J*, 2022, 20: 2389–2405
- 31 Feng R J, Ren M Y, Lu L F, et al. Involvement of abscisic acid-responsive element-binding factors in cassava (*Manihot esculenta*) dehydration stress response. *Sci Rep*, 2019, 9: 12661
- 32 Sheat S, Winter S. Developing broad-spectrum resistance in cassava against viruses causing the cassava mosaic and the cassava brown streak diseases. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1042701
- 33 Sessou A F, Kahia J W, Hougue J A, et al. *In vitro* propagation of three mosaic disease resistant cassava cultivars. *BMC Biotechnol*, 2020, 20: 51
- 34 Zou M, Jiang S, Wang F, et al. Feature compression applications of genetic algorithm. *Front Genet*, 2022, 13: 757524
- 35 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
- 36 Ceballos H, Sánchez T, Morante N, et al. Discovery of an amylose-free starch mutant in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *J Agric Food Chem*, 2007, 55: 7469–7476
- 37 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: 7215–7222
- 38 Yan H, Ye J, Li K. Progress of Cassava breeding in China (in Chinese). *Chin Agric Sci Bull*, 2015, 31: 63–70 [严华兵, 叶剑秋, 李开绵. 中国木薯育种研究进展. *中国农学通报*, 2015, 31: 63–70]
- 39 Gu B, Yao Q, Li K, et al. Change in physicochemical traits of cassava roots and starches associated with genotypes and environmental factors. *Starch Stärke*, 2013, 65: 253–263
- 40 Ospina M A, Tran T, Pizarro M, et al. Content and distribution of cyanogenic compounds in cassava roots and leaves in association with

- physiological age. *J Sci Food Agric*, 2024, 104: 4851–4859
- 41 Ceballos H, Hershey C, Iglesias C, et al. Fifty years of a public cassava breeding program: Evolution of breeding objectives, methods, and decision-making processes. *Theor Appl Genet*, 2021, 134: 2335–2353
 - 42 Malik A I, Kongsil P, Nguyn V A, et al. Cassava breeding and agronomy in Asia: 50 years of history and future directions. *Breed Sci*, 2020, 70: 145–166
 - 43 Takam Tchuenté H N, Fongang Fouepe G H, Mbwentchou Yao D C, et al. Varietal diversity as a lever for cassava variety development: exploring varietal complementarities in Cameroon. *J Sci Food Agric*, 2024, 104: 4808–4817
 - 44 Hyde P T, Setter T L. Long-day photoperiod and cool temperature induce flowering in cassava: Expression of signaling genes. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 973206
 - 45 Rodrmguez E P B, Morante N, Salazar S, et al. Flower-inducing technology facilitates speed breeding in cassava. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1172056
 - 46 Conceição L V, Cortes D F M, Klauser D, et al. New protocol for rapid cassava multiplication in field conditions: A perspective on speed breeding. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1258101
 - 47 Zhang C X, Holley C R, Egesi C C N, et al. Towards transforming cassava breeding: Harnessing inbred-parent-based hybrid breeding strategies. *T*, 2024, 3: 0
 - 48 Chen S, An F, Zhu W, et al. Application of proteomics in cassava breeding (in Chinese). *Biotechnol Bull*, 2015, 31: 18–26 [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]
 - 49 Chen S, An F, Zhang Z, et al. Theoretical consideration of cassava integrated breeding (in Chinese). *Chin Bull Life Sci*, 2016, 28: 807–816 [陈松笔, 安飞飞, 张振文, 等. 木薯综合育种. *生命科学*, 2016, 28: 807–816]
 - 50 Ige A D, Olasanmi B, Bauchet G J, et al. Validation of KASP-SNP markers in cassava germplasm for marker-assisted selection of increased carotenoid content and dry matter content. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 1016170
 - 51 Ozimati A A, Esuma W, Manze F, et al. Utility of Ugandan genomic selection cassava breeding populations for prediction of cassava viral disease resistance and yield in West African clones. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 1018156
 - 52 Ocampo J, Ovalle T, Labarta R, et al. DNA fingerprinting reveals varietal composition of Vietnamese cassava germplasm (*Manihot esculenta* Crantz) from farmers' field and genebank collections. *Plant Mol Biol*, 2022, 109: 215–232
 - 53 Labuschagne M. Biofortification to improve food security. *Emerging Top Life Sci*, 2023, 7: 219–227
 - 54 Li K, Chen S, Ou W, et al. R&D and integrated application of key technologies in cassava food and feeding industry (in Chinese). Hainan Provincial Science and Technology Progress Special Prize. The people's government of Hainan province. 2022 [李开绵, 陈松笔, 欧文军, 等. 木薯粮饲化产业关键技术研发与集成应用. 海南省科技进步特等奖. 海南省人民政府. 2022]
 - 55 Covarrubias-Pazarán G, Gebeyehu Z, Gemenet D, et al. Breeding schemes: what are they, how to formalize them, and how to improve them? *Front Plant Sci*, 2022, 12: 791859
 - 56 Morales N, Ogonna A C, Ellerbrock B J, et al. Breedbase: A digital ecosystem for modern plant breeding. *G3 Genes/Genomes/Genet*, 2022, 12: jkac078
 - 57 Sharma K K, Palakolanu S R, Bhattacharya J, et al. CRISPR for accelerating genetic gains in under-utilized crops of the drylands: Progress and prospects. *Front Genet*, 2022, 13: 999207
 - 58 Narayanan N, Beyene G, Chauhan R D, et al. Biofortification of field-grown cassava by engineering expression of an iron transporter and ferritin. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 144–151
 - 59 Ma Q, Xu J, Feng Y, et al. Knockdown of p-coumaroyl shikimate/quinic 3'-hydroxylase delays the occurrence of post-harvest physiological deterioration in cassava storage roots. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 9231
 - 60 Ma Y, Xue M, Zhang X, et al. Genome-wide analysis of the metallothionein gene family in cassava reveals its role in response to physiological stress through the regulation of reactive oxygen species. *BMC Plant Biol*, 2023, 23: 227
 - 61 Veley K M, Elliott K, Jensen G, et al. Improving cassava bacterial blight resistance by editing the epigenome. *Nat Commun*, 2023, 14: 10.1038
 - 62 Wang Y J, Lu X H, Zhen X H, et al. A transformation and genome editing system for cassava cultivar SC8. *Genes*, 2022, 13: 1650
 - 63 Ceballos H, Fregene M, Lentini Z, et al. Development and identification of high-value cassava clones. *Acta Horti*, 2006, 63–70
 - 64 Bekalu Z E, Panting M, Bæksted Holme I, et al. Opportunities and challenges of *in vitro* tissue culture systems in the era of crop genome editing. *Int J Mol Sci*, 2023, 24: 11920

- 65 Altpeter F, Baisakh N, Beachy R, et al. Particle bombardment and the genetic enhancement of crops: Myths and realities. *Mol Breed*, 2005, 15, 305-327
- 66 Horsch RB, Fry JE, Hoffmann NL, et al. A simple and general method for transferring genes into plants. *Science*, 1985, 227, 1229-1231
- 67 Segatto R, Jones T, Stretch D, et al. *Agrobacterium* -mediated Genetic Transformation of Cassava. *Curr Protocols*, 2022, 2: e620
- 68 Cao X, Xie H, Song M, et al. Cut-dip-budding delivery system enables genetic modifications in plants without tissue culture. *Innovation (Camb)*, 2022, 4, 100345
- 69 Lu J, Li S, Deng S, et al. A method of genetic transformation and gene editing of succulents without tissue culture. *Plant Biotechnol J*, 2024, 22: 1981-1988
- 70 Ramu P, Esuma W, Kawuki R, et al. Cassava haplotype map highlights fixation of deleterious mutations during clonal propagation. *Nat Genet*, 2017, 49: 959-963
- 71 Zhang C, Yang Z, Tang D, et al. Genome design of hybrid potato. *Cell*, 2021, 184: 3873-3883.e12
- 72 Zhou Q, Tang D, Huang W, et al. Haplotype-resolved genome analyses of a heterozygous diploid potato. *Nat Genet*, 2020, 52: 1018-1023
- 73 Wu Y, Li D, Hu Y, et al. Phylogenomic discovery of deleterious mutations facilitates hybrid potato breeding. *Cell*, 2023, 186: 2313-2328.e15
- 74 Huang S. Strengthening the fundamental research on breeding of asexually propagated crops for a reliable supply of food and other key agricultural products for China (in Chinese). *Chin Sci Foundation*, 2024, 38: 365-367 [黄三文. 强化无性繁殖作物育种基础研究 保障国家粮食和重要农产品稳定安全供给. *中国科学基金*, 2024, 38: 365-367]

Current status and development trend of cassava breeding

CHEN SongBi^{1,2}, CAI Jie^{1,2}, AN FeiFei^{1,2}, ZHU WenLi¹, LUO XiuQin^{1,2}, XUE JingJing^{1,2},
XUE MaoFu¹, LI HanFeng¹, WEI ZhuoWen¹, HUANG SanWen^{1,2} & LI KaiMian^{1,2}

¹National Key Laboratory for Tropical Crop Breeding, Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Key Laboratory of Ministry of Agriculture for Germplasm Resources Conservation and Utilization of Cassava, Haikou 571101, China;

²Sanya Research Institute of Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Sanya 572000, China

Cassava, which originates from tropical America, serves as a staple food for nearly one billion people globally. However, the cassava genome is highly heterozygous, which leads to significant offspring segregation, difficulties in targeted breeding, and an extended breeding cycle. These factors in turn seriously restrict the development of cassava industry. Therefore, it is urgent to shorten the breeding cycle and create excellent accessions for cassava breeders. In recent years, with the development of sequencing technology and the applications of multi-omics, gene editing, and genetic transformation, huge breakthroughs have been made in cassava breeding. From the global perspective, we discussed the recent progresses in cassava breeding, including the changes in the evaluation of important agronomic traits in cassava germplasm resources from traditional phenotypic evaluation to accurate evaluation of phenotype and genotype, the assembly & annotation of cassava reference genomes and the discovery of elite genes with key traits, and the development trend of cassava breeding from traditional to modern breeding. We also discussed the future directions for cassava breeding, which is of great significance for promoting the cassava industry, serving the National “Belt and Road” initiative, and resolving the issues of food security and effective supply of feed in tropical regions worldwide.

cassava breeding, germplasm resources, post-harvest physiological deterioration, cassava mosaic disease, cassava brown streak disease, gene editing

doi: 10.1360/SSV-2024-0256