

综 述

芸薹属作物重要农艺性状分子标记研究进展^{*}

李柱刚¹, 崔崇士², 马荣才³, 曹鸣庆³

(1. 黑龙江省农科院生物技术中心, 哈尔滨 150086; 2. 东北农业大学园艺学院, 哈尔滨 150030; 3. 北京农业生物技术研究中心, 北京 100089)

摘要: 综述了近年来芸薹属作物一些重要农作物农艺性状的分子标记进展情况, 如抗病基因的分子标记、芸薹属生殖相关和芥子油苷有关的基因标记以及其它农艺性状的分子标记。

关键词: 农艺性状; 芸薹属; 分子标记

中图分类号: S 634. 5; Q 78 文献标识码: A 文章编号: 1002—2767(2005)01—0042—04

Advance in Molecular Markers of Important Agronomy Characters on *Brassica*

LI Zhu-gang¹, CUI Chong-shi², MA Rong-cai³, CAO Ming-qing³

(1. Biotechnology Research Centre of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086; 2. College of Horticultural Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150030; 3. Beijing AgroBiotechnology Research Center, Beijing 100089)

Abstract: This paper summarized the recent advance of the molecular markers of important agronomy characters in *Brassica*, such as resistance diseases, related procreation, glucosinolates and other agronomy characters.

Key words: agronomy characters; *Brassica*; molecular markers

0 引言

芸薹属(*Brassica*)属于十字花科(*Cruciferae*), 其中许多是重要的蔬菜、油料、饲料作物和调味品^[1], 同时世界四大油料作物(大豆、向日葵、油菜、花生)之一的油菜也属于芸薹属。1988年, Song等人及Figdore等人开辟了芸薹属植物分子标记研究的新领域^[2]。经过近20年的研究, 分子标记在芸薹属作物中得到了广泛的应用。

1 芸薹属作物抗病基因的分子标记

1.1 抗黑胫病基因的分子标记

加拿大萨斯喀彻温农业和农产品研究中心在甘蓝型油菜Cresor品种找到了两个相近的RAPD标记, 并且转换成ASA标记, 能更好地区分抗、感材料^[3]。1999年, 该中心的Rimmer等人将甘蓝型油

菜成熟期和子叶期都抗黑胫病的基因定位在甘蓝型油菜LG6上, 子叶期抗性基因的RFLP标记为wg8g3、wg2a11和tg2b4, 两个AFLP标记位于RFLP和抗性基因之间, 两个成熟期的RAPD标记也和子叶期的抗性标记相连锁^[4]。Chevre等人利用RAPD标记区分对黑胫病的抗、感的甘蓝型油菜和芥菜的重组品系^[5], Barret等又将上述的RAPD标记转变为共显性的RFLP标记^[6]。Plieske等^[7]用RFLP标记将抗黑胫病的基因定位在甘蓝型油菜LG6上, 并指出可以通过种间杂交的途径获得对黑胫病的抗性。Struss等^[8]发展了4个RFLP标记和3个AFLP标记, 并找到了位于RFLP和AFLP之间的STS标记, 获得了对黑胫病防御反应的EST。Yu等^[9]找到了抗黑胫病的两个位点LepR1和

^{*} 收稿日期: 2004—11—09

第一作者简介: 李柱刚(1972—), 男, 黑龙江省庆安县人, 从事作物遗传改良及戊肝疫苗番茄生物反应器研制研究。通讯作者: Tel: 0451—86661820; E-mail: lizhugang@163.com

LepR2, 其中 *LepR1* 对 PG2、PG3 和 PG4 的抗性为显性单基因, 而 *LepR2* 对 PG2 和 PG3 的抗性为不完全显性。

1.2 抗根肿病基因的分子标记

根肿病由真菌病害 *Plasmodiophora brassicae* 引起, 它休眠的孢子可以在土壤中残留至少 7 年。^[10] Landry 等^[11] 将 *B. napus* 的抗根肿病基因定为 3 个 QTL, 分别位于 LG2 和 LG6, 而 Grandclement 等^[12] 将甘蓝的抗性基因定为 2 个 QTL。Hirai 等^[13] 利用 RAPD 标记将抗大白菜根肿基因定位在一个芸薹连锁图的 LG2 和 LG3 上, Kuginuki 等^[14] 利用芜菁 DH 群体, 找到三个抗根肿病的 RAPD 标记 RA12-75A、WE22B 和 WE49B。Mastsumoto 等^[15] 将大白菜抗根肿病的主效基因定位于 DH 群体的 LG3, 两个 RFLP 标记与其距离分别为 3 cM 和 12 cM。Voorrips 等^[16] 则将甘蓝抗根肿病的基因划分为 2 个 QTLs, 分别命名为 pb-3 和 pb-4。Kikuchi 等^[17] 也已将芜菁抗根肿病的 RAPD 标记转化 STS 标记。

1.3 抗黑腐病基因的分子标记

黑腐病由病原菌 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 引起, 属细菌性病害^[18-19]。Camargo 等人^[20] 将甘蓝苗期抗黑腐病的 QTL 定位在 LG1、LG2、LG3、LG9 上, 成株期定位在 LG1、LG9 上。

1.4 抗白锈病基因的分子标记

Maria 等^[21] 利用 RAPD 技术将抗白锈病的基因定位在甘蓝型油菜 LG6 和 LG9 上, 这两个位点也同时抗黑胥病。Ferreira 等^[22] 发现对甘蓝型油菜白锈病的抗性为单基因, 并定位在 LG9 上, RFLP 标记距离该基因为 12.9 cM, Kole 等^[23] 则在甘蓝型油菜上找到两个抗白锈病的 RFLP 标记。Somers 等^[24] 利用 ASAs (Allele specific amplicons) 区分 *Brassica napus* 抗、感白锈病的材料, 以便进行分子标记辅助育种。Franke 等^[25] 在 *Brassica juncea* 的 F₂ 群体找到单基因显性的抗性位点。Tanhuanp 等^[26] 在 *Brassica rapa* ssp. *oleifera* 上找到了 PCR 标记, 其产物片段大小为 500 bp, 而 Prabhu 等^[27] 也在 *Brassica juncea* 的 DH 群体上, 找到了两个 RAPD 抗性标记。

2 芸薹属生殖相关和芥子油苷有关的基因标记

2.1 开花和春化基因的分子标记

Quijada 等^[28] 将芜菁和甘蓝中一些与开花有关

的基因同拟南芥进行同源性比较, 结果发现芜菁中与开花有关的三个连锁群和拟南芥的 V 染色体的顶端有很大的共线性, 而这个区域包含拟南芥几个重要的开花基因, 如 FLC。他们已经从芜菁和甘蓝中克隆了三个 FLC 的同源基因。Kim 等从大白菜的 cDNA 文库中分离出了三个与花粉有关的基因, 这将对进一步阐明雄性不育和自交不亲和的机理提供素材。Ferreira^[29] 利用 RFLP 将 *Brassica napus* 控制春化反应的主要位点 ACA1 定位在 LG9, Osborn 等^[30] 将 *Brassica rapa* 控制春化开花时间定为 2 个 QTL, 它也与 *Brassica napus* 控制春化的位点相符合, 指出甘蓝型油菜的春化基因来源于 *Brassica rapa*。Kole 等^[23] 利用重组近交系的 RFLP 连锁图谱, 将 *Brassica rapa* 的春化基因定位在 LG2 和 LG8 上, 而冻性品种的春化基因定位在 LG9 上。Hirai 等^[13] 将大白菜一个早开花的基因定位在一个连锁群上, 但控制晚抽薹的基因没有发现。

2.2 自交不亲和性的分子标记

Brassica 雌蕊 S-一位点主要包含两类基因: 一个是编码分泌型糖蛋白的 *SLG* (S locus glycoprotein) 基因, 另一类为编码受体激酶的 *SRK* (S locus recept kinase)^[31]; 雄蕊的 S 基因编码半胱氨酸富集蛋白 *SCR* (S locus cystein rich protein)^[32]。Boyes 等^[33] 曾经可以利用脉冲凝胶电泳区分 S6 和 S2 的 *SLG* (S Locus Glycoprotein) 及 *SRK* (S Receptor Kinase), 但他们试图标记这两个基因却失败了。1996 年, Cheung^[34] 在 *Brassica napus* 的 DH 群体上, 找到了 SI 基因的单显性标记位点。目前, 甘蓝在雌蕊和雄蕊中控制自交不亲和反应的基因都被克隆。由于自交不亲和基因的高度多态性, 不同 S-基因序列特异的 PCR 技术已经被广泛应用于芸薹属各个品种的 S-基因型鉴定。

2.3 育性恢复基因及雄性不育基因分子标记

Jean 等^[35] 在 *Brassica napus* 的连锁群体上找到了育性恢复基因的 RFLP 和 RAPD 标记, Delourme 等^[36] 在 *Brassica napus* 上找到了与 CMS 有关的育性恢复基因 *Rfo*, 王俊霞对甘蓝型油菜 Pol CMS 育性恢复基因进行了图谱定位, 初步将 *Rfo* 基因定位到 Tentonico 等所构建的图谱的 LG2 上, 并且发展了该基因的两个 SCAR 标记^[37]。Wu 等^[38] 构建了 *Brassica napus* 二元载体大片段插入文库, 从中分离到两个 *Ogura* CMS 育性恢复基因标记。Hansen 等^[39] 雄性不育基因的显性 RAPD 标记, 对 *Brassica napus* 进行标记辅助选择育种。我

国的王晓武等^[40, 41]将一个控制甘蓝的显性不育基因用 RAPD、SCAR 进行了标记。

2.4 与芥子油苷有关的基因标记

芥子油苷与甘蓝的品质有直接的关系, 人食用高葡萄糖异硫氰苷的甘蓝后, 降低人的消化能力, 也会对身体的器官产生损害^[42]。Genyil^[13]等将甘蓝中控制芥子油苷形成基因划分为 3 个连锁群, 2001 年他们将其中的 2 个主要基因转化成 SCAR 和 CAPS 标记。

2.5 其它农艺性状的分子标记

Upadhayay 等^[43]用 RFLP 对 *Brassica napus* 黄种皮颜色进行了标记, 同年, Kole 等^[23]也对黄种皮颜色进行了 RFLP 标记, 他们将这个性状定位在 LG5 上。Farnham 等^[44]指明 *Brassica oleracea* 对霜霉病的抗性为两对互补的显性基因控制, 并找到了一个与其共分离的 RAPD 标记, 还有利用 *Brassica napus* DH 作图群体筛选到了抗 TuMV 的单基因的分子标记, 利用 RAPD 标记评估 *Brassica napus* F1 的杂种率, 并将其转化为 SCAR 标记。Foisset^[45]等找到一个与 *Brassica napus* 矮化基因 Bzh 相连锁的 RAPD 标记, Barret 等^[6]又将其转化为 SCAR 标记。落花是影响以榨油为主的油菜产量的一个主要因素, Mongkolpom 等^[46]寻找到了与抗落花有关的 RAPD 和 SCAR 标记。

在形态标记方面, 刘忠松等^[47]甘蓝型油菜无蜡粉的显性基因进行了染色体定位。Lan 等^[48]*Brassica oleracea* 的结球性状的数量位点进行了比较作图分析, 发现 8 个位点与甘蓝的结球性状有关。还有对下胚轴的有无, 根的伸展性, 以及叶毛等性状进行标记的^[49]。

综上所述, 我们可以清楚地知道芸薹属作物农艺性状被标记的情况, 也为我们在芸薹属的研究中提供了借鉴。甘蓝型油菜是国际上研究比较透彻的一个芸薹属作物, 这对我们研究原产于中国的大白菜的研究提供了参考, 为挖掘我国拥有自主知识产权的大白菜重要基因提供了一个很好的窗口。

参考文献:

- [1] Lim Y P, Bang J W, Hur Y K, et al. Application of BAC library for Chinese cabbage genome research [C]. Plant & Animal Genome IX Conference 2001, 13-17.
- [2] 卢钢, 曹家树, 陈杭. 芸薹属植物分子标记技术和基因组研究进展[J]. 园艺学报, 1999, 26(6): 384—390.
- [3] Dion Y, Gugel RK, Rakow GF, et al. RFLP mapping of resistance to the blackleg disease[causal agent, *Leptosphaeria maculans*(Desm.) Cas et de Notl. in canola (*Brassica napus* L.)

[J]. TAG, 1995, 91: 1190-1194.

- [4] Rimmer S R, Borhan M H, Zhu B, et al. Mapping resistance genes in *Brassica napus* to *Leptosphaeria maculans* [C]. Canberra.: Proceeding of the 10th international Rapeseed congress, 1999.
- [5] Chevre A M, Barret P. Selection of stable *Brassica napus*—*B. juncea* recombinant lines resistant to black (*Leptosphaeria maculans*) 1. Identification of molecular markers, chromosomal and genomic origin of the introgression [J]. TAG, 1997, 95: 1104-1111.
- [6] Barret P B. A rapeseed FAE1 gene is linked to the E1 locus associated with variation in the content of erucic acid [J]. TAG, 1998, 96: 177—186.
- [7] Plieske J, Struss D., R9 bhelen G. Inheritance of resistance derived from the B—genome of *Brassica* against *Phoma ligama* in rapeseed and the development of molecular markers [J]. TAG, 1998, 97: 929-936.
- [8] Struss D, Plieske JG. Development of STS markers linked to blackleg resistance genes of B genome for marker assisted selection in oilseed rapeseed [C]. Plant & Animal Genome VIII Conference, 2000, 9-12.
- [9] Yu F, Rimmer S R. Identification of two loci in *Brassica napus* for resistance to *Leptosphaeria maculans* [C]. Plant & Animal Genome X Conference, 2002, 12-16.
- [10] Voorrips R E. *Plasmodiophora brassicae*: Aspect of pathogenesis and resistance in *Brassica oleracea* [J]. Euphytica, 1995, 83: 139-146.
- [11] Landry B S. A genetic map of *Brassica oleracea* based on RFLP markers detected with expressed DNA sequence and mapping of resistance genes to race 2 of *Plasmodiophora brassicae* Woron [J]. Genome, 1992, 35: 409-420.
- [12] Grandclement C F, Laurent F, Thomas G. Detection and analysis of QTLs based RAPD markers for polygenic resistance to *Plasmodiophora brassicae* Woron in *Brassica oleracea* [J]. TAG, 1996, 93: 86-90.
- [13] Hirai M, Ajsaka H, Kuginuki Y, et al. Utilization of DNA polymorphism in vegetable breeding [J]. Symposium of the 75th anniversary of Japanese Society for Horticultural, 1998, 67(6): 1186-1188.
- [14] Kuginuki Y, Ajsaka H. RAPD markers linked to a clubroot—resistance locus in *Brassica rapa* L [J]. Euphytica, 1997, 98: 149-154.
- [15] Mastsumoto E, Yasui C. Linkage analysis of RFLP markers for clubroot—resistance and pigmentation in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) [J]. Euphytica, 1998, 104: 79-86.
- [16] Voorrips R E, Jongerius M C, Kanne H J. Mapping of two genes for resistance to clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) in a population of doubled haploid lines of *Brassica oleracea* by means of RFLP and AFLP markers [J]. TAG, 1997, 94: 75-82.
- [17] Kikuchi M., H. Ajsaka, Y. Kugi nuki et al. Conversion of RAPD markers for a clubroot resistance gene of *Brassica rapa* into sequence—tagged sites (STSs) [J]. Breed. Sci. 1999, 49(2): 83.

- [18] Manzanares Dauleux MJ, Delourme R, Glory P, et al. Isolate-specific resistance to clubroot in *Brassica napus* is expressed at high or partial level[J]. *Cruciferae Newsletter* 2000, 22: 57-58.
- [19] Westman A L, Dickson M H. Disease reaction to *Alternaria brassicicola* and *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in *Brassica nigra* and other weedy crucifers[J]. *Cruciferae Newsletter*, 2000, 22: 87-88.
- [20] Camargo W Y, Champagne G. Mapping of quantitative trait loci controlling resistance of *Brassica oleracea* to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*[J]. *Phytopathology*, 1995, 85(10): 1296-1300.
- [21] Maria C A, Karla A A. Genetic mapping of ISOZYME, RAPD AND SSR loci in *Brassica napus*[C]. *Plant & Animal Genome V Conference*, 1997. 12-16.
- [22] Ferreira ME, Williams PH, Osborn TC. Mapping of a locus controlling resistance to *Albugo candida* in *Brassica napus* using molecular markers[J]. *Phytopath*, 1995, 85: 218-220.
- [23] Kole C, Kole P. RFLP Mapping of *Brassica rapa* Using Recombinant Inbred Lines[C]. *Plant Genome IV Conference*, 1996.
- [24] Somers D. Developing marker-assisted breeding for quality and disease resistance traits in *Brassica* oilseeds[C]. *Canberra: Proceeding of the 10th international Rapeseed congress*, 1999.
- [25] Franke C, Potts D A, Males D R. The development and genetic of white rust (*Albugo candida*) race 2v-resistance canola quality *Brassica juncea*[C]. *Canberra: Proceeding of the 10th international Rapeseed congress*, 1999.
- [26] Tanhuanpaa, Vilkki J. Tagging of locus for resistance to *Albugo candida* in *Brassica rapa* ssp. *oleifera*[C]. *Canberra: Proceeding of the 10th international Rapeseed congress*, 1999.
- [27] Prabhu K V, Somer D J. Molecular markers linked to white rust resistance in mustard *Brassica juncea*[J]. *TAG*, 1998, 97: 865-870.
- [28] Quijada P, Schranz E M, Osborn T C. Multiple FLC homologs in *Brassica* correspond with major QTL for flowering time[C]. *Plant & Animal Genome IX Conference*, 2001. 13-17.
- [29] Ferreira ME, Satagopan J, Yandell BS, et al. Mapping loci controlling vernalization requirement and flowering time in *Brassica napus*[J]. *TAG*, 1995, 90: 727-732.
- [30] Osborn T, Kole C. Comparison of Vernalization Responsive Flowering Time Genes in *Brassica rapa*, *B. napus* and *Arabidopsis thaliana*[C]. *Plant Genome IV Conference*, 1996.
- [31] 崔海洋, 赖钊, 薛勇彪. 值得的十五年—从 SLG 到 SCR/SPH1[J]. *植物学报*, 2001, 43(1): 1-5.
- [32] Schopfer C R, Nasrallah M E, Nasrallah J B. The male determinant of Self-Incompatibility in *Brassica*[J]. *Science*, 1999, 286: 1697-1700.
- [33] Boyes D Cand, June B. Physical linkage of the SLG and SRK genes at the self-incompatibility locus of *Brassica oleracea*[C]. *Plant Genome I Conference*, 1992.
- [34] Cheung, W. Y., Landry, B. S. Current status of genome mapping in the Cruciferae[M]. In *Genome Mapping in Plants*, A. H. Paterson, ed (Landes Bioscience Press, Austin TX), pp. 1996. 193-210.
- [35] Jean M, Gregory G. Mapping of the "restoration of fertility" gene for polycytoplasmic male sterility in canola[C]. *Plant Genome I Conference*, 1992.
- [36] Deburme R, Bouchereau N. Identification of RAPD markers linked to fertility restorer gene for the Ogura radish cytoplasmic male sterility of rapeseed (*Brassica napus* L.)[J]. *TAG*, 1994, 88: 741-748.
- [37] 王俊鑫, 杨圣光, 傅廷栋. 甘蓝型油菜 Pol CMS 育性恢复基因图谱定位[J]. *云南大学学报(自然科学版)*, 1999, 21: 38.
- [38] Wu, Y., Tulsieram, L., Rothstein, S. J.. Identification and characterization of a putative light-harvesting chlorophyll a/b-binding protein gene encoded at a fertility restorer locus for the Ogura CMS in *Brassica napus* L.[J]. *Theoretical and Applied Genetics* 2000. 477: 1-8.
- [39] Hansen M, Hallden C. Marker-assisted selection of restored male-fertile *Brassica napus* plants using a set of dominant RAPD marker[J]. *Molecular Breeding*, 1997, 3: 449-456.
- [40] 王晓武, 方智远, 孙培田, 等. 甘蓝显性雄性不育基因的延长随机引物扩增 DNA(ERPAD)标记[J]. *园艺学报*, 1999, 26(1): 23-27.
- [41] 王晓武, 方智远, 孙培田, 等. 一个用于甘蓝显性雄性不育基因转育的 SCAR 标记[J]. *园艺学报*, 2000, 27(2): 143-144.
- [42] Wathelet J P, Mabon N, Madier M. Determination of glucosinolates in rapeseed improvement of the official HPLC ISO method (precision and speed)[C]. *Canberra: Proceeding of the 10th international Rapeseed congress*, 1999.
- [43] Upadhayay A, Mohapatra T, Pai RA, et al. Molecular mapping and character tagging in mustard (*Brassica juncea*) 2. Association of RFLP markers with seed coat colour and quantitative traits[J]. *Jour Plant Biochem & Biotech* 1996, 5: 17-22.
- [44] Famham M W, Wang M. Towards mapping genes for downy mildew resistance in *Brassica oleracea*[C]. *Plant & Animal Genome IX Conference* 2001. 13-17.
- [45] Foisset N, Jourden C. A *Brassica napus* genetic map and targeted mapping of genes controlling oligogenic traits[C]. *Plant Genome IV Conference* 1996.
- [46] Mongkolporn O, Pang E C K. Evaluation of SCAR markers for shatter resistance in *Brassica*[C]. *Canberra: Australia Proceeding of the 10th international Rapeseed congress*, 1999.
- [47] 刘忠松, 官春云, 陈社员, 等. 甘蓝型油菜显性无蜡粉基因的染色体组定位[J]. *湖南农业大学学报*, 2000, 26(3): 183-184.
- [48] Lan T H, Paterson A H. Comparative mapping of quantitative trait loci sculpting the curd of *Brassica oleracea*[J]. *Genetics*, 2000, 155: 1927-1954.
- [49] 刘公社, 赵泓, 刘杰, 等. 分子标记技术及其在芸薹属植物研究中的应用[J]. *植物学通报*, 1998, 2: 67-72.