

植物分子育种的后代选择与利用

王晓丹¹, 王黎明², 焦少杰², 姜艳喜², 苏德峰², 严洪冬², 孙广全²

(1. 黑龙江省兰西县农业技术推广中心, 黑龙江兰西 151500; 2. 黑龙江省农业科学院作物育种研究所, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要: 植物分子育种是在分子水平上进行的作物遗传育种, 在多种作物上已取得令人瞩目的成就。分子育种可引起后代的多种变异, 在对后代进行选择时, 应根据具体品种、具体目标性状, 不仅对后代进行形态上的选择, 还应对内在的品质及生理特性进行选择, 同时结合分子标记辅助育种对后代进行选择利用。

关键词: 分子育种; 后代; 选择; 利用

中图分类号: S336 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2009)04-0007-03

Selection and Utilization of the Progenies of Plant's Molecular Breeding

WANG Xiao-dan¹, WANG Li-ming², JIAO Shao-jie², JIANG Yan-xi², SU De-feng², YAN Hong-dong², SUN Guang-quan²

(1. Lanxi Agricultural Technology Extension Center of Heilongjiang Province, Lanxi, Heilongjiang 151500; 2. Crop Breeding Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: Plant's molecular breeding is a method of genetic breeding on molecular level. This method has made significant achievement on many crops. There will be various variations in the progenies. The selection should be according to the detailed variety and objective characters, not only on the morphological variations, but also on the internal and physiological ones. Moreover, it should be associated with molecular marker-assisted breeding.

Key words: molecular breeding; progeny; selection; utilization

植物分子育种是在分子水平上进行的作物遗传育种, 其目的旨在通过导入有用的外源基因(DNA 片段或重组质粒)获得转基因植物, 进而有目的地改造生物、创造新品种, 并达到相应性状指标的要求^[1]。是继自然选择、杂交育种、远缘杂交之后, 建立在 DNA 分子操作基础上的又一新的育种途径。从 20 世纪 80 年代首例转基因植物诞生至今 20 多年来, 农业生物技术已发展成为高新科技中发展最快的领域之一。已有 100 多种植物获得外源基因的遗传转化, 其中在抗虫、抗病、抗除草剂、抗逆、品质改良、创造雄性不育、延缓果实成熟和保鲜以及与育种相关的 DNA 分子标记辅助选择研究等方面, 均获得了快速的发展和重要的突破。一批由生物技术改良的大豆、棉花、水稻、小麦、玉米、油菜、番茄、苜蓿等作物已经或将要陆续进入市场^[2-6]。预计在未来的 20~30 a 内, 随着植物分子育种技术的

发展、普及和推广, 必将在农业生产上展示更加广阔的应用前景。

1 分子育种的 后代变异特点

1.1 变异的随机性

以供体外源总 DNA 进行导入, 供体 DNA 在受体细胞内的命运是随机的, 大部分供体 DNA 片段被受体细胞分解, 侥幸保存下来的 DNA 片段也并非都能整合到受体基因组中。而整合到受体基因组中的 DNA 片段既可能是一个完整的基因, 也很可能是一个片段重复顺序或基因的一部分, 它们或参与受体基因组调控, 或影响受体基因表达。因而, 后代中某个变异性状的出现有很大的随机性^[7,8]。

1.2 变异的广泛性

许多研究表明 导入后代在各个性状上都可能产生变异, 从形态特征(包括根、茎、叶、种子、果实的形态)、解剖结构到生理特性(包括光合特性、抗病性、抗逆性)以及品质性状(如蛋白质含量、纤维长度)等, 变异范围极其广泛^[2,9]。

收稿日期: 2009-01-06

第一作者简介: 王晓丹(1965-) 女, 黑龙江省兰西县人, 学士, 高级农艺师, 从事农业技术推广。E-mail: lxnyzhongxin@163.com.

1.3 供体性状的表现

导入后代通常带有供体的某些性状,如特殊的色素、野生性状等。尽管有些供体性状,如某些野生性的表达直接利用价值不大,但却为育种提供了新的种质资源,具有很大的潜在利用价值。

1.4 变异的意外性

在目前常用的育种方法中,如有性杂交及辐射育种不可能出现的变异,在外源 DNA 导入中常会出现。此类变异将在新种质的选育中发挥巨大的作用。

2 变异后代的遗传稳定性

外源基因能否与受体植物染色体基因组稳定整合并稳定表达是基因转移成功与否的关键,对转基因植物的应用前景有重要的影响,是必须予以关注的问题。在农业生产中要求导入的外源基因要高水平地表达所需要的农艺性状,并且在当代和子代都能稳定遗传。一般而言,外源基因一旦转移成功,由它编码的性状将按孟德尔遗传方式遗传下去,然而在许多情况下,外源基因整合进受体植物的基因组后,其表达及稳定性与外源基因的失活与沉默有关。无论采用何种转化方法,外源基因与受体染色体基因组的整合主要是随机插入,少数情况下也涉及到同源重组。分子水平的研究揭示,转基因表达的不稳定性是由于转基因的失活或丢失所致。其原因是多方面的,可能在减数分裂过程中丢失;或因外源 DNA 整合在细胞质基因组中,在细胞分裂过程中逐渐减弱或丢失;或外源基因诱发致死、半致死突变;或外源 DNA 的插入引起基因组重排、丢失;或外源 DNA 的共抑制效应使基因失活。影响外源基因稳定表达的因素主要有遗传、环境以及外源 DNA 的特性等^[9]。

3 变异后代的利用

获得性状变异的方法很多,利用植物分子育种技术只是转移基因的一种方法。由于受体是整体植株内的活细胞,所以省去了组织培养等一系列手续,操作简便,因而被广大育种工作者接受。从育种角度来看,获得变异只是第一步,其后的工作更加艰巨且更富有挑战性,对变异后代进行合理有效的选育将体现分子育种的价值所在。

外源 DNA 导入后代变异的特点总的来说是分离世代短、稳定快,一般在 D₂ 代分离较大,可能出现较多的类型;D₃ 代以后分离较小,大部分性状趋于稳定,也可能出现稳定的材料;D₄ 代大部分材料可以稳定^[11]。在以往对导入后代和稳定世代的认识上,认为所有的导入材料都能很快稳定。实际上,有的材料分离世代也很长,有的甚至达 6~7 代才稳定。产生这种现象的原因是多方面的,可能是由于被整合的外源 DNA 片段需要经过多代调整,使其内部结构趋于合理,也可能是

由于其它的原因。因此,在对后代进行选择时应根据不同品种的变异特点进行不同的选择。

一般将有利于育种目标要求的性状变异称为正向变异,如早熟、丰产性好、品质优良、抗逆性强等;反之,不利于育种目标要求的,称为负向变异。在转化后代中,正向与负向变异是同时存在的,有时正向变异多于负向变异,有时负向多于正向,这在很大程度上取决于供、受体的选择。负向变异增加了育种工作的难度,但只要认真选择供体与受体亲本,通过定向选择来控制变异的方向,育成符合育种目标的新品种是完全可能的。

在传统的育种方法中(如辐射育种)会出现单一的性状变异,它是由于辐射后基因突变产生的。但在外源 DNA 转化后代中,有时形态特征并没有改变,但某项生理特性及品质性状却产生了变异^[12],因此,在外源 DNA 转化后代中,单一性状变异与多个性状变异是并存的,在后代选择上应尤其注意。形态变异是直观的,容易辨别,而生理变异及品质性状变异则要通过一定的分析才能知道,这就要求在对后代选择时,不仅对变异进行形态上的选择,更应注意对内在的品质及生理特性进行选择,使二者有机结合,才能在育种中取得主动地位。

进行分子育种时,有时要求转化后代产生定向变异,即将某一目的性状进行转化,如抗病性、抗逆性等。通常是以抗性材料为供体、不具有抗性的材料为受体进行外源 DNA 的导入,然后在转化后代中进行相应的抗性鉴定,以筛选带有目的性状的材料。但在育种实践中,多数情况下的变异后代同时带有一些非目的性状的变异,这些非目的性状可能是有益的,也可能是无益的,甚至是有害的,且目的性状与其它性状连锁出现的可能性更大,在这种情况下,选择是困难的,需要进一步改良,但它却为育种提供了新的种质,因而也是有价值的。

4 分子标记辅助育种

在植物育种工作中,对目标性状的选择是最为重要的环节之一,采用有效的选择手段可以大大提高选择的效率和可靠性,特别是对于一些目标性状只出现在生长发育后期的植物而言,选用不受发育时期限制的选择方法显得更为重要。由于分子标记是直接针对基因型的识别,并且不受个体发育时期的限制,因此,可借助分子标记对目标性状的基因型进行选择^[13]。

分子标记辅助育种与通过表现型间接对基因型进行选择的传统育种方法比较,不受环境影响,不受等位基因显隐性关系干扰,结果可靠。此外,它对目标基因的转移可在育种早期进行选择,从而大大缩短了育种周期,与常规育种相比可提高育种效率达到 2~3 倍,具有明显的优越性。目前分子标记辅助育种已成为植

物分子育种的一个重要组成部分^[14-15]。

长期以来,回交育种中还有一个尚未解决的问题,即目的基因与不利基因的连锁。在这种情况下,回交不仅导入了目的基因,而且与目的基因连锁的其它不利基因也被同时转移,这种现象称为连锁累赘。利用标记辅助的回交选择不受所转移性状类型的约束,而且还可避免或显著降低连锁累赘的影响,对隐性性状进行不间断回交,从而加速获得含有目的基因纯合体的速率。

随着分子标记技术的迅速发展,对以 DNA 多态性为基础的分子标记辅助育种技术的研究也不断深入,并在植物遗传育种中得到了一些成功的运用。近年来,国内外学者采用植物分子标记辅助选择的技术在作物的抗病、抗虫、产量、品质、抗旱性以及数量性状等方面所进行的应用研究取得了可喜的进展^[16-18],为解决有关复杂性状的选择问题带来了希望。

参考文献:

- [1] 周光宇,翁坚,龚蓁蓁.农业分子育种——授粉后外源 DNA 导入植物的技术[J].中国农业科学,1988,21(3):1-6.
- [2] 丁国华,池春玉,史芝文.农业分子育种中外源 DNA 导入技术的研究与发展[J].生物学教学,2000,25(11):2-3.
- [3] 李梅芳,周开达.水稻生物技术育种[M].北京:中国农业科学出版社,2001:259-260.
- [4] 翁坚,沈慰芬,王自芬,等.外源 DNA 导入棉花的分子验证[J].生物化学与生物物理学学报,1984,16(3):325-326.
- [5] 王黎明.外源 DNA 导入高粱及其后代的 RAPD 分子验证[J].中国农学通报,2002,18(3):19-21.

- [6] Hamilton C M, Frary A, Lewis G et al. Stable transfer of intact high molecular weight DNA into plant chromosomes[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93: 9975-9979.
- [7] 龚蓁蓁,沈慰芬,周光宇,等.授粉后外源 DNA 导入植物技术——DNA 通过花粉管通道进入胚囊[J].中国科学(B 辑),1988(6):611-614.
- [8] 周光宇,龚蓁蓁,王自芬,等.远缘杂交的分子基础——DNA 片段杂交假说的一个论证[J].遗传学报,1979,6(4):405-413.
- [9] de Blok M, Herrera-Estrella L, van Montagu M, et al. Expression of foreign genes in regenerated plants and their progeny[J]. EMBO J, 1984, 3: 1681-1689.
- [10] 陈启锋,陈璋,林学健,等.论 DNA 直接导入植物——一项育种新途径的建立与评述[J].福建农学院学报,1993,22(1):1-11.
- [11] 周光宇.从生物化学的角度探讨远缘杂交的理论[J].中国农业科学,1978(2):16-20.
- [12] 郭光荣.人工诱变与外源 DNA 直接导入相结合创造遗传变异的探讨[J].作物研究,1994,8(2):15.
- [13] 梁明山,曾宇,周翔,等.遗传标记及其在作物品种鉴定中的应用[J].植物学通报,2001,18(3):257-265.
- [14] 方宣钧,吴为人,唐纪良.作物 DNA 标记辅助育种[M].北京:科学出版社,2001:76.
- [15] Neuhaus G, G Spangenberg. Plant transformation by microinjection techniques[J]. Physiol. Plant, 1990, 79: 213-217.
- [16] 王志林,赵树进,吴新荣.分子标记技术及其发展[J].生命的化学,2001,21(4):39-42.
- [17] Herrera-Estrella L, M de Blok, Messens E, et al. Chimeric genes as dominant selectable markers in plant cells[J]. EMBO J, 1983, 2: 987-995.
- [18] Horsch R B, Fraley R T, Rogers S G, et al. Inheritance of functional foreign genes in plants[J]. Science, 1984, 223: 496-498.

超级稻

超级稻从广义来说,是在各个主要性状方面如产量、米质、抗性等均显著超过现有品种(组合)的水平;从狭义来说,是指在抗性和米质与对照品种(组合)相仿的基础上,产量有大幅度提高的新品种(组合)。现阶段的超级稻是指狭义的概念,即超高产水稻。随着我国水稻矮化育种和杂种优势利用的深入,在矮化基础上寻求产量的突破需要构建理想的株型并与强杂种优势利用相结合,研究单产大幅提高、品质优良、抗性较强的新型水稻品种这就是超级稻现阶段的特定涵义。

超级稻品种有籼稻型,亦有粳稻型的。有杂交稻组合,亦有常规品种。超级稻品种的特点分蘖适中、剑叶挺直、植株矮中求高、茎秆坚韧抗倒、穗大粒多的形态特征。同时,具有光合效率高、根系活力强、源库流协调的生理机能,具有高产、优质、抗逆、抗病性状聚合的遗传基础。

超级稻计划又叫水稻超高产育种计划,最早由日本人于 1980 年提出,中国超级稻计划始于 1996 年,起步虽晚却进展迅速,由袁隆平院士提出的,经过专家的讨论研究确定我国超级稻育种的一、二、三期目标。第一期育种目标到 2000 年产量达到 $10\ 500\ \text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$;第二期育种目标到 2005 年达到 $12\ 000\ \text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$;第三期育种目标到 2010 年达到 $13\ 500\ \text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 。通过国内水稻育种和栽培专家的努力,第一、二期育种目标已如期实现。“世界杂交水稻之父”袁隆平表示,他有信心在 2010 年实现超级稻 $13\ 500\ \text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 的第三期目标,确保粮食安全,实现超级稻一季产量 $13\ 500\ \text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$,早稻 $9\ 750\ \text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$,晚稻 $10\ 500\ \text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 。

超级稻计划的“姊妹计划”——“水稻基因组测序和重要农艺性状功能基因组研究”。这一计划在 2001 年 9 月启动,全面开展超级杂交稻的基因研究,在分子层面探索超级稻的秘密,确保中国水稻高产优质持续创新的能力。

超级稻研究,将有助于我国最终形成“少种、多收、高效、环境友好”的水稻生产新格局,达到促进农业结构调整、提高稻作产出与投入比、合理利用自然资源、减少环境污染和增加稻农经济收入的目的。