

植物异源单体附加系鉴定方法研究

马 兰

(黑龙江省农业科学院 大庆分院,黑龙江 大庆 163316)

摘要:植物异源单体附加系是利用外源基因进行品种改良和基因组研究的重要材料。综合阐明了形态标记、细胞学标记、生化标记、分子标记和原位杂交技术在鉴定植物异源单体附加系中的作用,并对各种技术的优缺点进行了综合比较。

关键词:植物异源单体附加系;形态标记;细胞学标记;生化标记;分子标记;原位杂交

中图分类号:Q943

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2010)04-0005-02

植物异源单体附加系(Monosomic Alien Addition Lines, MAALs)是通过物种间杂交及回交等手段,将2个亲缘关系较远物种中一物种的1条染色体附加到另一物种中而形成的。人们最早发现MAALs是在1924年,Leighty等^[1]通过小麦与黑麦的远缘杂交获得了带有毛颈的小麦-黑麦5R异附加系。目前,已在马铃薯、水稻、甜菜、番茄、大葱、小麦和燕麦等作物中创建了整套的MAALs。随着MAALs种类和数量的不断增加,如何对MAALs进行准确鉴定就显得十分重要。MAALs的鉴定主要是确定外源染色体的存在,可通过形态标记、细胞学标记、生化标记、分子标记和原位杂交等方法对外源染色体进行追踪。

1 形态标记

外源染色体的存在,使得MAALs表现出与整倍体不同的形态特征。形态标记可以利用与外源遗传物质相关的植株外部形态特征,如株高、穗

重等对外源遗传物质进行鉴定。该方法简便、直观、可靠,能够筛选出涉及不同外源染色体的异附加植株,一直是外源染色体鉴定的初步手段和首要依据。但是形态标记又具有数目有限、多态性差、受季节及环境的影响大等缺点。因此,多与其它标记共同使用。周仲华等^[2]以叶片形态为标记,与分子检测相结合,成功鉴定了索马里棉单体附加系。

2 细胞学标记

细胞学标记通常包括有核型分析和带型分析2种,是染色体鉴定的传统方法。核型分析通过对根尖体细胞染色体计数、形态特征观察和花粉母细胞减数分裂中期I染色体配对行为分析等,研究供试材料的染色体数目和结构变异,实现对外源染色体的初步鉴定。王长有等^[3]利用染色体计数成功区分了普通小麦与披碱草衍生后代中的MAALs。刘炜等^[4]通过花粉母细胞减数分裂观察,对大白菜-甘蓝异附加系染色体数目进行鉴定。随着流式细胞仪的诞生,在染色体大小和碱基比例适当的情况下,可运用流式细胞技术识别外源染色体。然而染色体核型分析却无法确定附加的染色体具体为哪一条。染色体分带技术则能

收稿日期:2010-01-25

作者简介:马兰(1980-),女,黑龙江省五常市人,硕士,研究实习员,从事作物育种研究。E-mail: malan042999@163.com。

Application and Verification of Exogenous DNA Introduction in Crop Breeding

WU Li-li

(Jiamusi Branch of Heilongjiang Academy Agricultural Sciences, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: The way of exogenous DNA introduction, application examples and the methods of verification after the exogenous DNA introduced in to plants were major introduced.

Key words: exogenous DNA introduction; breeding; verification

够根据同一物种中染色体带型的多态性和稳定性将染色体区分开来,当外源供体与受体亲本的染色体具有不同的带型时,染色体分带技术就可以根据其带型特征,准确检测出导入受体亲本背景中的外源染色体是哪一条。在 MAALs 鉴定中较为常用的为 C-带和 N-带。目前已经可以利用 C-分带成功区分小麦的 21 条染色体,N-分带则可对其中的 16 条进行识别^[6]。染色体分带技术具有带型稳定、结果可靠等优点,但操作繁琐,且不能对无特异性带型或特异性带型不明显的染色体进行鉴别。

3 生化标记

生化标记是以基因的表达产物-蛋白为主的一类标记,主要包括同工酶标记和种子贮藏蛋白 2 种。这些蛋白的组成由遗传物质决定,不受环境影响,其组分上的差异直接反映出基因型的不同,因而可作为品种的“生化指纹”。同工酶是基因表达的产物,在整个基因组中具有固定的分布^[6]。同工酶谱则是基因表达的一种表型,具有遗传上的稳定性和多态性,其差异的产生是由决定酶蛋白本身的基因差异造成的,是鉴定 MAALs 的主要生化标记。同工酶谱带与基因位点直接相关,大约 25% 的位点具有多态性,因此该技术已成为一种十分有效的遗传标记方法。Chetelat^[7]等利用同工酶谱对番茄-MAALs 进行了成功鉴定。同工酶标记在鉴定 MAALs 方面的应用仅次于分子标记。蛋白质电泳产生指纹图谱简便快速,而且分辨率高、重复性强,所以被研究者广泛采用。但由于标记数量有限、特异性高、每种同工酶标记都需特殊的显色方法和技术,这些都限制了生化标记在 MAALs 检测上的应用。

4 分子标记

分子标记是伴随着分子遗传学和分子生物学的发展而诞生的一类新的遗传标记。RFLPs、RAPDs、AFLPs、SSRs 等在鉴别 MAALs 中的外源染色体上得到了广泛的应用。与其它遗传标记相比,分子标记在鉴定 MAALs 中具有以下优点:表现稳定,多态性以 DNA 形式表现,不受环境条件和基因互作影响;数量多,遍及整个基因组;多态性高;对目标性状的表达无不良影响。张伟等^[8]筛选得到区分簇毛麦 1V 到 7V 染色体的 7 个 SSR 标记。虽然分子标记在识别外源遗传物质方面具有很多优势,但是每种分子标记又都存在自身的缺点。例如:AFLP 步骤复杂繁琐、工作量大;RAPD 重复性差,为显性标记等。

5 原位杂交技术

原位杂交技术(ISH)是细胞遗传学与现代分

子遗传学结合的产物。其中的荧光原位杂交(FISH)和基因组原位杂交(GISH)可用于鉴定 MAALs。GISH 直接以基因组总 DNA 为探针,无需对探针进行预先处理,对外源染色体的鉴定方便、有效;不仅能够在细胞分裂的不同时期检测到外源染色体,而且还可以准确检测出外源染色体的数目,在识别 MAALs 上显示出独特的优势。蓝伟侦等^[9]通过 GISH 确定栽培稻基因组中附加了一条野生稻染色体第 8 号染色体。FISH 是以荧光染料作为标记,通过对免疫信号的检测实现对外源染色体的鉴定。戈岩等^[10]利用 GISH 和 FISH 进一步对甜菜附加系中的 M14 进行分析,得到了与细胞学、形态学鉴定一致的结果。魏文辉等^[11]利用 GISH 分析表明甘蓝-白芥 MAALs 中的 18 条染色体来自于甘蓝,附加的 1 条来自白芥。但是 ISH 技术又具有复杂、成本高、难以大规模推广等缺点。

综上,每种遗传标记都有其自身的优缺点。而单一的鉴定方法往往无法实现对外源染色体的精确识别。因而,为了保证试验结果的可靠性,研究人员多采用 2 种或 2 种以上方法相互印证、取长补短共同完成对 MAALs 的鉴定。

参考文献:

- [1] Leighty C E, Taylor J W. "Hairy neck" wheat segregates from wheat-rye hybrids[J]. J Agris Re, 1924, 28: 576.
- [2] 周仲华, 余萍, 刘光辉, 等. 索马里棉异源单体附加系的形态及分子特征研究[J]. 科学通报, 2004, 49(3): 558-562.
- [3] 王长有, 李小忠, 吉万全. 普通小麦与衍生后代的细胞遗传学和形态学研究[J]. 麦类作物学报, 2003, 23(4): 5-9.
- [4] 刘炜, 申书兴, 王彦华, 等. 大白菜-甘蓝异附加系的获得与鉴定[J]. 园艺学报, 2008, 35(2): 207-212.
- [5] 温海霞, 陶澜, 戴秀梅. 植物染色体 C-显带技术及其在小麦育种中的应用研究进展[J]. 种子, 2002(3): 40-41.
- [6] 葛颂. 酶电泳资料 and 系统与进化植物学研究综述[J]. 武汉植物学研究, 1994, 12(1): 71-83.
- [7] Chetelat R T, Rick C M, Cisneros P. Identification, transmission, and cytological behavior of *Solanum lycopersicoides* Dun. monosomic alien addition lines in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) [J]. Genome, 1998, 41: 40-50.
- [8] 张伟, 高安礼, 周波, 等. 筛选利用小麦微卫星标记追踪簇毛麦各条染色体[J]. 遗传学报, 2006, 33(3): 236-243.
- [9] 蓝伟侦, 李刚, 何光存, 等. 一个药用野生稻异源单体附加系在减数分裂时期的 GISH 分析鉴定[J]. 中南民族大学学报, 200, 25(1): 28-31.
- [10] 戈岩, 何光存, 王志伟, 等. 无融合生殖甜菜 M14 的 GISH 和 BAC-FISH 研究[J]. 中国科学(C 辑: 生命科学), 2007, 37(2): 209-216.
- [11] 魏文辉, 张苏锋, 李均, 等. 白芥×甘蓝 F₁ 代及 BC₁ 代单体异附加系的 GISH 分析[J]. 科学通报, 2006, 51(21): 2490-2494.

QTL 技术在水稻耐盐育种上的应用

谢树鹏¹, 李俊峰², 张广彬¹, 聂守军¹, 高世伟¹, 刘立超¹

(1. 黑龙江省农业科学院 绥化分院, 黑龙江 绥化 152052; 2. 延寿县种子管理站, 黑龙江 延寿 150700)

摘要:介绍了利用分子标记 QTL 定位的原理和方法以及该方法在目前水稻研究中应用的进展。主要对耐盐数量性状基因座(QTL)技术在水稻育种中的应用进行了综述。为寒地耐盐水稻育种提出建议。

关键词:分子标记辅助选择; 数量性状基因座位; 水稻; 耐盐; 育种

中图分类号:S511.035.3

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2010)04-0007-04

土壤盐渍化是农业生产面临的严峻问题, 近 50% 的灌溉种植耕地和全球 20% 的土地都不同程度地受到盐渍化威胁。耕地的盐渍化是抑制农作物生长, 造成农作物减产最严重的非生物胁迫之一。据不完全统计, 世界上的盐渍化土地面积超过 10 亿 hm^2 , 其中, 我国的盐渍土地面积达到了 1 亿 hm^2 。而在我国的现有耕地中, 至少有 800 万 hm^2 的土地因为施肥和灌溉不当, 增加土壤中盐分积累, 导致不同程度地降低了农作物的产量。虽然人口增长, 工业发展, 使耕地面积逐渐减少, 但是盐渍化土地的改良和利用已经得到各方面的极大重视; 除了通过暗管排水处理外, 耐盐水稻品种的选育和利用将是盐渍化土地改良的一个重要研究方向。盐渍化土地改良结合耐盐水稻品种栽培技术, 对于盐渍化土地利用和提高水稻生物产量、增加稻农收入及提高社会效益和经济

效益将起到积极作用。传统的个体选择方法是对符合高产育种目标的农艺性状进行直接选择, 即选择的是个体表现型而不是基因型。一般而言, 这种方法对质量性状的选择是有效的; 对数量性状的选择, 由于存在一因多效、多因一效、调控基因以及修饰基因等作用, 个体的表现型与基因型存在较大差异, 因而通过田间表型性状进行个体选择的准确性较差。而利用分子标记辅助选择技术可弥补传统选择技术准确率低的缺点, 并可加快育种进程。该文综述了 QTL 技术在水稻耐盐育种上的应用概况。

1 数量性状基因座技术原理和方法

1.1 QTL 技术原理

分析分子标记与目标性状 QTL 之间的连锁关系实质就是分子标记 QTL 的主要原理。通过计算 QTL 与分子标记之间的交换率, 来确定 QTL 的具体位置, 即利用已知的分子标记来标记未知座位的 QTL。该技术的理论根据是 Morgan 的连锁遗传规律; 使用的工具是具有高度多态性的分子标记; 以分子标记基因型是 QTL 定位方法为主要依据, 对分离群体中的个体进行分组, 通

收稿日期: 2009-12-28

基金项目: 农业部 948 资助项目(2006-G1)

第一作者简介: 谢树鹏(1980-), 男, 黑龙江省鸡西市人, 学士, 研究实习员, 从事水稻育种研究。Email: xsp-1125@163.com。

Study on Identification Methods of Foreign Monosomic Alien Addition Lines in Plant

MA Lan

(Daqing Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Daqing, Heilongjiang 163311)

Abstract: Monosomic alien addition lines are important materials to improve varieties and study genome with foreign chromosomes. The advantages and defects of morphological markers, cytological markers, biochemical markers, molecular markers and in situ hybridization were described.

Key words: foreign monosomic alien addition lines in plant; morphological markers; cytological markers; biochemical markers; molecular markers; in situ hybridization