

荞麦分子遗传学研究进展

黎瑞源¹, 石桃雄², 刘筱嘉³, 陈庆富²

(1. 贵州师范大学 贵州省信息与计算机科学重点实验室, 贵州 贵阳 550001; 2. 贵州师范大学 荞麦产业技术研究中心, 贵州 贵阳 550001; 3. 番禺出入境检验检疫局, 广州 番禺 510006)

摘要:近年来生物技术使荞麦的分子遗传学研究取得了长足的进步,为进一步对荞麦分子遗传学进行研究,从种间亲缘关系、种质资源遗传多样性、遗传图谱构建、农艺性状及相关基因定位、基因克隆及功能研究、基因组测序等6个方面对荞麦分子遗传学研究进展进行了综述,提出了荞麦分子遗传研究中存在的问题,并对其发展趋势进行了展望。

关键词:荞麦; 分子标记; 遗传图谱; 基因克隆

中图分类号: S512

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2014)11-0151-06

荞麦 (*Fagopyrum* Miller) 是双子叶蓼科 (*Polygonaceae*) 植物,起源于我国西南部,栽培历史悠久,在世界上分布广泛,遍及亚洲和欧洲一些国家。荞麦属约有 23 个种,可分为两个组,即大粒组,含普通荞麦 (甜荞, *F. esculentum*)、苦荞 (*F. tataricum*) 及金荞麦 (*F. cymosum*) 等 7 个种;小粒组,含 *F. gracilipes*, *F. leptopodium*, *F. urophyllum* 等 16 个种^[1-3]。其中以一年生栽培

种甜荞麦、苦荞麦和多年生金荞麦复合物在农业生产及经济开发中最为重要,研究也最为广泛。

荞麦是集营养、保健和医疗为一体的作物,被称为“三降食品”,倍受人们青睐,具有较高的研究和开发价值。已往国内外学者对荞麦的研究主要集中在营养价值评价、生理特性研究、药用保健功能分析和产品加工等方面。近年来不断发展和完善的生物技术为荞麦的遗传学研究开辟了新的路径,提供了新的手段。该文概述了荞麦在分子标记、遗传图谱的构建、基因定位、功能蛋白基因的克隆和基因组测序等方面的研究进展,提出了荞麦分子遗传研究中存在的问题及今后研究的重点,以期为进一步研究苦荞麦的分子遗传学提供一定的参考。

1 分子标记与亲缘关系的研究

随着分子标记在荞麦属植物研究中的兴起,

收稿日期: 2014-06-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31460280); 贵州省科技厅科学技术基金资助项目 (黔科合 J 字 [2013] 2213, 黔科合 JZ 字 [2014] 2011 号); 贵州师范大学博士基金资助项目 (11904-05032130025)

第一作者简介: 黎瑞源 (1980-), 男, 广西壮族自治区阳朔县人, 博士, 讲师, 从事生物信息学研究。E-mail: liruiyuan@live.cn。

通讯作者: 石桃雄 (1980-), 女, 副教授, 从事植物遗传育种研究。E-mail: shitaoxiong@126.com。

Research on Teaching Reform for Mechanical Basic Course of Chemical Equipment of Forestry Chemical Engineering

WU Hai-tang, ZHENG Ji-lu, YANG Fang-xia, ZHANG Qiang, ZHANG Jun-hua

(College of Forestry, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: In order to satisfy the demand of the modern forest chemical industry, and cultivate professional talents, according to the trends of development and training aims of forestry chemical engineering specialty, combined with the features of mechanical basic course of chemical equipment, several aspects of teaching reform in mechanical basic course of chemical equipment were explored, such as optimizing the teaching content, innovating the teaching methods and improving the assessment system. In special, new research achievements, modern teaching methods and flexible teaching assessment system were integrated into practical teaching, the innovation capabilities of students were improved and good teaching effects were obtained.

Key words: mechanical basis of chemical equipment; forestry chemical engineering; teaching reform

普通荞麦、苦荞麦和金荞麦 3 个种之间的亲缘关系得到了进一步确定。任翠娟等以 10 个随机引物对荞麦属 11 个种(含大粒组 7 个种,小粒组 4 个种)共 50 份资源的系统遗传关系进行了 RAPD 分析,结果表明,大野荞和毛野荞麦分别与甜荞麦和苦荞麦的亲缘关系较近,支持它们的分别是甜荞麦和苦荞麦祖先种的假说^[4]。Tsuji 等利用 AFLP 标记揭示了野生和栽培苦荞麦居群之间的系统发育关系:栽培苦荞麦很可能起源于中国云南西北部或西藏东部的野生苦荞^[5]。Konishi 等利用 AFLP 对甜荞麦的 7 个栽培居群和 8 个野生居群的遗传关系进行了分析,结果表明,栽培甜荞麦的祖先种是位于三江领域的野生荞麦^[6]。Sharma 和 Jana 利用 RAPD 标记阐述了荞麦属 14 个种和 2 个亚种的 28 份材料的系统发育关系,结果与同功酶、RFLP 等标记研究结果一致,即栽培苦荞麦与野生苦荞麦亲缘关系较近,其次是与巨荞麦;栽培甜荞麦则起源于野生甜荞麦^[7]。王莉花等利用 RAPD 标记对云南荞麦资源的 9 个种、1 个变种、2 个亚种的 26 份材料的亲缘关系的研究表明,金荞与普通荞麦的亲缘关系比与苦荞麦的更近^[8],这一结果与杨小艳等^[9]对川西北 10 份荞麦材料的 RAPD 标记和同工酶的研究结论一致,也支持了 Steward^[10]形态学研究的结果。

2 分子标记与遗传多样性的研究

利用分子标记评价荞麦属植物遗传多样性的工作已经逐步开展,国内外广泛使用的分子标记多为 AFLP、RAPD、SSR 和 ISSR 标记。这些标记技术的使用,初步揭示了荞麦种质资源遗传变异与地理分布的关系,地方品种、改良品种及其之间的遗传差异程度。

利用 AFLP^[11]及 RAPD 标记^[6,12-13]对不同地理生态区的荞麦种质资源遗传多样性的研究,揭示甜荞、苦荞和金荞麦的遗传多样性均与其地理分布表现出明显的相关性;而采用 ISSR^[14]、RAPD^[6,8,16-18]、AFLP^[19]和 SSR 标记^[20]对中国不同地区苦荞麦种质资源的遗传多样性研究表明,苦荞麦品种间存在一定的遗传多样性,来自不同省份的改良品种在遗传上有较高的相似性,但贵州地方品种、湖北地方品种和云南地方品种之间有明显的遗传差异。

许瑾等利用 RAPD 技术对 9 个荞麦品种 DNA 指纹图谱的研究表明,苦荞麦的品种间遗传多样性水平高于甜荞麦,但品种内变异大大低于

甜荞,这可能与甜荞麦的异花授粉、自交不亲和性有关^[21]。这一结论支持了 Wang 等荞麦种子蛋白多样性的研究结果,即甜荞麦的等位同工酶变异率大于苦荞麦^[22]。此外,通过 RAPD^[13]和 ISSR 标记^[23]对不同地理生态区的野生金荞麦居群遗传多样性的研究表明,金荞麦种内具有较高的遗传多样性,遗传变异主要存在于居群内部。

3 遗传图谱构建

近年来随着分子生物学和生物信息学的迅猛发展,尤其是模式植物和主要农作物基因组信息的大量公布和各种分子标记技术的成熟运用,国内外对荞麦的遗传图谱构建和农艺性状基因定位研究的报道也逐渐增多,但大多都集中在甜荞麦和野生荞麦。Ohnishi 和 Ohta 以 70 份形态突变系的甜荞麦为群体,绘制世界上第 1 个荞麦的遗传图谱,该图谱包含 30 个形态学标记和 7 个同工酶标记,7 个连锁群^[24]。Yasui 等以甜荞麦及其野生近缘种(*F. homotropicum*)杂交产生的 85 个 F₂单株为作图群体,构建了甜荞麦及其野生种 AFLP 连锁图。两图谱都含有 8 个连锁群,其中甜荞麦图谱包含 223 个 AFLP 标记,总长度为 508.3 cM;野生种包含 211 个 AFLP 标记,总长度为 548.9 cM^[25]。Konishi 等以 *F. esculentum*ssp. × *F. esculentum*ssp. *ancestral* 杂交产生的 80 个 F₁单株为作图群体,利用 AFLP 和 SSR 标记构建了甜荞麦的遗传连锁图谱,父母本均含有 12 个连锁群,其中,母本含 131 个标记(54 个 SSR 和 77 个 AFLP),遗传距离为 911.3 cM;父本含 71 个标记(37 个 SSR 和 34 个 AFLP),遗传距离为 909.0 cM^[26]。Pan 等以异长型自交不亲和品种 Soban 与野生型自交亲和品种 Homo 杂交产生的 225 个 F₂分离群体为作图群体,构建了一张甜荞麦的连锁图谱,该图谱包含 87 个 RAPD 标记,12 个 STS 标记,4 个种子蛋白亚基标记及 3 个形态等位基因,图谱总长 655.2 cM^[27]。岳鹏以自交可育的甜荞麦 Lorena-3 与 Homo 杂交获得的 F₂分离群体为研究对象,构建了自交可育甜荞 RAPD 麦和 STS 的遗传标记连锁图谱,该图谱包含有 71 个 DNA 分子标记位点,由 7 个连锁群组成,总长度为 515.5 cM^[28],为培育自交可育的荞麦新品种奠定理论基础。此外,Li 等首次利用原位 PCR 技术和 16S、4.5S、psbA 引物成功区分了 5 对染色体^[29],为甜荞染色体物理图谱的建立奠定了基础。

相对于甜荞麦而言,苦荞麦为严格的自花授粉作物,花蕊小,杂交以构建子代群体的难度较大,因此苦荞麦的图谱构建研究方面国内外鲜有报道。王耀文等以滇宁一号与野苦荞麦杂交得到的 136 个 F_2 株系为作图群体,构建了由 37 个 SRAP 标记、1 个 SSR 标记,10 个连锁群组成的连锁图,该图谱总长 725.1 cM,标记间最大图距为 46.6 cM^[30]。这是第一张苦荞麦遗传连锁图谱,为苦荞麦产量其相关性状 QTLs 定位、综合利用苦荞麦相关研究信息奠定了基础。

4 重要农艺性状及相关基因的研究

落粒是造成荞麦严重减产的主要因素之一。在以花柱异长自交不亲和的普通荞麦为材料的研究表明,落粒性由单基因显性控制^[18,24,27]。而以自交可育的野生甜荞麦及普通荞麦纯系为材料的研究表明,落粒性是由 2 对以上显性互补基因控制^[31-33]。目前,通过遗传作图已将落粒性形态标记定位于第一连锁群^[26-27,34]。此外,Matsui 等通过 F_2 群体的遗传作图,找到了 2 个与 *Sht1* 紧密连锁的 AFLP 标记,并将其转化为 STS 标记^[31]。岳鹏等研究表明落粒基因 *Sht1* 和 *Sht2* 分别与标记 S1182-1160 和 S1182-1048 紧密连锁^[33]。这些标记为分子辅助选育高产品种提供了依据。

花柱异长导致的自交不亲和性,是普通荞麦育种的一个重大障碍。研究表明,甜荞麦的花柱异长可能受单显基因或是一组紧密连锁的基因控制,其中短花柱是由杂合基因型(Ss)决定的,而长花柱类型是由隐性纯合基因型(ss)控制的^[27,35-36]。Chen 等利用栽培甜荞麦与花柱同长自交可育的野生甜荞麦进行杂交,获得了大量的花柱同长自交可育纯系材料^[37],为普通荞麦高产品种的改良和杂交荞麦产业开发研究提供新材料和新途径。Yasui 等通过短花柱及长花柱基因型花序转录组差异表达基因的比较分析,鉴定了短花柱的候选基因 *S-ELF3*,该基因只在短花柱基因型中表达,短花柱 *S-ELF3* 缺失突变体表现为长花柱^[38],从而揭示了花柱异常的分子机理。

综合前人研究可知,在普通荞麦农艺性状研究中,花药大小(正常、小)、瘦果棱形状(圆、尖)、花被片正面颜色(粉红、白)、主茎木质化表现出单显基因遗传模式,且各形态性状均表现为独立遗传^[18,27-28]。

5 基因克隆和功能研究

黄酮是荞麦的主要药用成分。近年来,大量

黄酮生物合成代谢途径的重要结构基因及转录调控因子的克隆和功能验证,对高黄酮含量苦荞麦品种选育具有重要的理论和实践意义。由于基因组序列信息的缺乏,同源克隆、RACE 和 RT-PCR 技术已成为荞麦重要基因克隆和功能分析的主要方法。

采用同源克隆或 RACE 法,研究者先从苦荞麦、甜荞麦及金荞麦中获得了查尔酮合成酶(*CHS*)基因的 cDNA 全长和完整的开放性阅读框(ORF),由序列比对可知,苦荞麦、甜荞麦及金荞麦 *CHS* 亲缘关系较近,与其它双子叶植物有共同的起源^[39-42]。甜荞和苦荞 *CHS* 基因间丰富的单碱基多态性可能是二者种子中类黄酮含量差异的重要原因之一^[43]。马婧等采用 RACE 结合 cDNA 文库筛选的方法,首次从金荞麦 cDNA 文库中克隆了 *MYBP1* 基因(*FdMYBP1*),*FdMYBP1* 基因编码 1 个长 256 个氨基酸的蛋白质,具有 MYB 同源基因的典型特征,可能在金荞麦类黄酮代谢途径中起作用^[44]。雒晓鹏等利用同源克隆技术获得了金荞查尔酮异构酶基因(*FdCHI*)的 cDNA 序列。*FdCHI* 在金荞麦花、叶和茎的表达与总黄酮量变化趋势一致,表明这些组织中其表达可能与金荞麦总黄酮的合成和积累密切相关^[45]。马婧等通过简并 PCR 结合 RACE 的方法,获得了金荞麦无色花色素还原酶基因 *FdLAR*。基因表达分析表明,*FdLAR* 基因的表达量与类黄酮积累之间的关系在营养生长和生殖生长阶段呈现出不同的变化趋势,据此推测该基因可能在金荞麦类黄酮次生代谢产物积累中起作用^[46]。

荞麦营养丰富,但由于荞麦中含有的过敏性成分可在一些接触人群中产生哮喘、鼻炎、荨麻疹和皮炎等多种过敏症状。日本和韩国学者先后从甜荞麦中分离获得分子量不等的过敏蛋白^[47-49],并普遍认为 22~24 kD 蛋白是荞麦中的主要过敏蛋白^[50]。Wang 等首次从中国黑苦荞麦中纯化出一种 IgE 结合活性较强的 22 kD 的球蛋白 TB22^[51]。赵小珍等以苦荞麦为材料,利用 RT-PCR 和 5'-RACE 等方法扩增,首次克隆获得苦荞麦中的主要过敏蛋白基因 *TBb*,此蛋白与甜荞麦过敏性贮藏蛋白及豆球类蛋白的同源性达到 90%^[52]。王岚等采用基因克隆技术构建重组表达载体 pET-28a-TBa,实现了苦荞麦过敏蛋白 TBa 在原核细胞中的高效表达。表达产物与荞

麦过敏病人血清中的 IgE 有特异性的结合^[53]。

6 基因组测序

随着测序技术的发展及测序成本的降低,高通量转录谱测序也开始引入到荞麦研究领域。Logacheva 等基于 454 高通量测序对甜荞麦和苦荞麦花序转录组进行了从头组装和分析,拼接得到甜荞麦和苦荞麦 Contig 序列均有 25 000 条,测序深度为 7.5~8.2×,获得的 Contig 序列为荞麦属 SSR 标记的开发提供了序列信息,并通过差异表达基因的分析掘了甜荞麦和苦荞麦花序特有的基因^[54],这一研究填补了荞麦基因组研究的空白。石桃雄等基于 Hiseq2000 测序平台对普通荞麦的种子转录谱进行测序,通过拼接最终获得 54 947 条转录本(transcript)和 36 133 个独立基因(unigene),在 2 226 个独立基因中发现了 2 666 个 SSR 位点,并对开发 SSR 分子标记进行验证^[55],该研究不仅丰富了普通荞麦(*F. esculentum* Moench)的序列信息,也为荞麦属植物遗传多样性分析、遗传图谱构建及品种鉴定提供丰富稳定的分子标记。

7 存在问题及前景展望

综上所述,近年来荞麦分子遗传研究取得了长足进步,但与同水稻、玉米、小麦和油菜等大宗农作物相比仍存在较大差距。目前存在的主要问题有:(1)至今尚未建立荞麦的核心种质,制约了荞麦争议品种的鉴定、新品种的审定与保护等方面工作的开展。(2)缺乏构建遗传分离群体的有效方法,制约了高密度遗传图谱的构建、重要性状关键基因的定位和克隆及基因组测序等遗传学研究方面的研究发展。(3)尚未构建出一套高效稳定的标记系统,缺乏高密度遗传图谱,且目前构建的连锁群尚未与染色体建立一一对应从而制约了荞麦基因组学的研究。(4)在荞麦数据整合利用上,尚未成立一个像 maizeDB(玉米数据库:<http://www.maizegdb.org/>)和 SNG(茄科物种基因组协作网络:<http://solgenomics.net/>)等的国际组织和行业网站,造成荞麦遗传学研究缺乏全面的组织、协调和规划,导致荞麦基因组测序推进困难,限制了以新一代测序技术为代表的新技术的应用;另外,由于一个统一的数据保存和交换中心的缺失,而造成数据资源的分散和检索服务的缺乏,限制了数据资源的高效利用。鉴于此,今后需从 5 个方面进行研究,才能使荞麦在分子遗传

学方面的研究取得突破性进展。

第一,以国际荞麦大会和国内荞麦产业体系等为基础,建立广泛的协作网络,在保证权益的前提下,充分共享和利用国内外各研究单位的种质资源,建立公共种质资源库、荞麦协作研究网站(www.BuckwheatGenome.net)和数据库系统以规划、协调和组织国内外荞麦研究的方向和计划,成为荞麦遗传学和基因组学数据的共享的基础,为关联分析、遗传分析和荞麦属各物种参考基因组序列的构建等研究提供基础材料。

第二,利用已有的荞麦转录组和基因组序列,开发 SSR 标记,并结合已有的 SSR、AFLP 等标记,分析荞麦公共种质资源库的遗传多样性,并结合落粒性、结实率和黄酮含量等重要农艺性状差异,分别构建 RIL 等可多次利用的遗传分离群体,为高密度遗传图谱构建、重要基因定位和克隆奠定群体基础。整理分析构建的遗传分析群体,根据亲本的遗传多样性和构成群体的株系数目选出荞麦各物种的参考群体。此外,针对苦荞麦等物种杂交工作难以开展的问题,研究和优化苦荞麦杂交技术,争取从根本上解决难以构建苦荞麦遗传分离群体的难题。

第三,基于 Illumina 和 Pacbio 等新一代测序技术,对参考群体的亲本进行基因组从头测序以构建相应荞麦物种的基因组参考序列,对种质资源库的其它荞麦株系进行 RAD 测序或基因组重测序、转录组测序以构建荞麦物种的遗传变异谱和表达谱,为彻底解决荞麦遗传学研究缺乏基础序列和难以获得基因全长序列等难题。

第四,基于测序数据,构建荞麦属物种通用及各物种特异的 SNP 标记集,并进一步设计成 SNP 芯片或标记扩增子组(applicome)将为荞麦的遗传学研究、分子育种及品种纯度和真实度的检测提供一套高效、稳定和低成本的标记系统,为高密度遗传图谱构建、重要性状功能基因的定位提供标记基础。

第五,比较基因组学是研究物种基因组进化和挖掘基因组功能元件的一个重要手段,而高密度遗传图谱的构建和参考基因组序列的获取,为开展荞麦属比较基因组学研究提供了便利。开展荞麦比较基因组学研究不仅能解析荞麦属物种基因组的形成历程和进化关系,还能挖掘荞麦属物种的特有基因组功能片段,这些都有助于荞麦功能基因的挖掘和利用。

荞麦协作网络的成立、基因组参考序列和变异谱的获得、基因表达谱和基于芯片或标记扩增子组标记系统的建立,将为荞麦遗传学研究和现代分子育种体系的建立奠定坚实的基础。

参考文献:

- [1] Chen Q F. A study of resources of *Fagopyrum*(Polygonaceae) native to China[J]. Botanical Journal Linnean Society, 1999a, 130: 54-65.
- [2] Chen Q F. Wide hybridization among *Fagopyrum*(Polygonaceae) species native to China[J]. Botanical Journal Linnean Society, 1999b, 131: 177-185.
- [3] 陈庆富. 荞麦属植物科学[M]. 北京: 科学出版社, 2012.
- [4] 任翠娟, 陈庆富. 荞麦属(*Fagopyrum* Mill)植物资源的RAPD研究[J]. 种子, 2009, 28(11): 37-44.
- [5] Tsuji K, Ohnishi O. Phylogenetic relationships among wild and cultivated tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) populations revealed by AFLP analyses[J]. Genes and Genetic Systems, 2001, 76(1): 47-52.
- [6] Sharma T R, Jana S. Species relationships in *Fagopyrum* revealed by PCR-based DNA fingerprinting[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 105(2-3): 306-312.
- [7] Konishi T, Iwata H, Yashiro K, et al. Development and characterization of microsatellite markers for common buckwheat[J]. Breeding Science, 2006, 56: 277-285.
- [8] 王莉花, 殷富有, 刘继梅, 等. 利用 RAPD 分析云南野生荞麦资源的多样性和亲缘关系[J]. 分子植物育种, 2004, 2(6): 807-815.
- [9] 杨小艳, 陈惠, 邵继荣, 等. 川西北荞麦种间亲缘关系初步研究[J]. 西北植物学报, 2007, 27(9): 1752-1758.
- [10] Steward AN. The polygonae of eastern Asia[J]. Contrib. Gray Herb. Harv. Univ., 1930, 88: 1-129.
- [11] 侯雅君, 张宗文, 吴斌, 等. 苦荞种质资源 AFLP 标记遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2009, 42(12): 4166-4174.
- [12] Senthikumar R, Bisht I S, Bhat K V. Diversity in buckwheat (*Fagopyrum* spp.) landrace populations from north-western Indian Himalayas[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2008, 55: 287-302.
- [13] 张春平, 何平, 胡世俊, 等. 药用金荞麦遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(6): 660-663.
- [14] 赵丽娟, 张宗文, 黎裕, 等. 苦荞种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 植物遗传资源学报, 2006, 7(2): 159-164.
- [15] 高帆, 张宗文, 吴斌. 中国苦荞 SSR 分子标记体系构建及其在遗传多样性分析中的应用[J]. 中国农业科学, 2012, 45(6): 1042-1053.
- [16] Kump B, Javomirsk. Genetic diversity and relationships among cultivated and wild accessions of tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) as revealed by RAPD markers[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2002, 49(6): 565-572.
- [17] 谭萍, 王玉株, 李红宁, 等. 十种栽培苦荞麦的随机扩增多态性 DNA (RAPD) 研究[J]. 种子, 2006, 25(7): 46-49.
- [18] 邓林琼, 张奎, 黄凯丰, 等. 甜荞和苦荞品种遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(15): 8895-8898.
- [19] Zhang Z W, Zhao L J, Ramantatha V, et al. Assessment of genetic diversity of tartary buckwheat collection in China using AFLP markers[A]. In: Chai Y, Zhang ZW eds. Proceedings of the 10th International Symposium on Buckwheat, Advances in Buckwheat Research[C]. Yangling: Northwest A and F University Press, 2007: 68-75.
- [20] 莫日更朝格图, 王鹏科, 高金锋, 等. 苦荞地方种质资源的遗传多样性分析[J]. 西北植物学报, 2010, 30(2): 255-261.
- [21] 许瑾, 周小梅, 范玲娟, 等. 荞麦 RAPD 指纹图谱的建立及在品种鉴定中的应用[J]. 山西大学学报: 自然科学版, 2006, 29(2): 194-197.
- [22] Wang Z H, Zhan G Z, Lin R F. Seed protein diversity of buckwheat in China. Current advances in buckwheat research [M]. Japan: Shinshu University Press, 1995: 411-417.
- [23] 张春平, 何平, 何俊星, 等. ISSR 分子标记对金荞麦 8 个野生居群的遗传多样性分析[J]. 中草药, 2010, 41(9): 1519-1522.
- [24] Ohnishi O. Non-shattering habit gene (*sh1*), chlorophyll deficient and other detrimental genes concealed in natural populations of the wild ancestor of common buckwheat[J]. *Fagopyrum*, 1999, 16: 23-28.
- [25] Yasuo Y, Wang Y, Ohnishi O, et al. Amplified fragment length polymorphism linkage analysis of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) and its wild self-pollinated relative *Fagopyrum homotropicum* [J]. Genome, 2004, 47: 345-351.
- [26] Konishi T, Ohnishi O. A linkage map of common buckwheat based on microsatellite and AFLP markers [J]. *Fagopyrum*, 2006, 23: 1-6.
- [27] Pan S J, Chen Q F. Genetic mapping of common buckwheat using DNA, protein and morphological markers[J]. Hereditas, 2010, 147: 27-33.
- [28] 岳鹏. 普通荞麦自交可育 F₂ 遗传群体构建及其遗传标记图谱研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2012.
- [29] Li F L, Zeller F J, Huang K F, et al. Improvement of fluorescent chromosome in situ PCR and its application in the phylogeny of the genus *Fagopyrum* Mill. using nuclear genes of chloroplast origin (cpDNA) [J]. Plant Systematics and Evolution, 2013, 299(9): 1679-1691.
- [30] 王耀文, 夏楠, 韩瑞霞, 等. 苦荞 SSR-PCR 反应体系的优化及引物筛选[J]. 贵州农业科学, 2011, 39(4): 4-8.
- [31] Matsui K, Tetsuka T, Hara T. Two independent gene loci controlling non-brittle pedicel in buckwheat[J]. Euphytica, 2003, 134: 203-208.
- [32] Wang Y J, Rachael S G, Clayton C. Inheritance of seed shattering in interspecific hybrids between *Fagopyrum esculentum* and *F. homotropicum* [J]. Crop Science, 2005, 45: 693-697.
- [33] 岳鹏, 黄凯丰, 陈庆富. 普通荞麦落粒性、尖果和红色茎秆的遗传规律研究[J]. 河南农业科学, 2012, 41(1): 28-31.

- [34] Yasuo Y, Wang Y, Ohnishi O, et al. Amplified fragment length polymorphism linkage analysis of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) and its wild self-pollinated relative *Fagopyrum homotropicum* [J]. Genome, 2004, 47: 345-351.
- [35] Sharma K D, Boyes, J W. Modified incompatibility of buckwheat following irradiation [J]. Canadian Journal Botany, 1961, 39: 1241-1246.
- [36] Woo S H, Adachi T, Jong S K, et al. Inheritance of self-incompatibility and flower morphology in an inter-specific buckwheat hybrid [J]. Canadian Journal Plant Science, 1999, 79: 483-490.
- [37] Chen Q F. A Study of isozyme, and interspecific hybridization on big-achene group of buckwheat species (*Fagopyrum*, *Polygonaceae*) [J]. Crop Sciences, 2004, 44: 1511-1518.
- [38] Yasui Y, Mori M, Aii J, et al. S-Locus Early Flowering 3 is exclusively present in the genomes of short-styled buckwheat plants that exhibit heteromorphic self-incompatibility [J]. PLOS ONE, 2012, 7(2): e31264.
- [39] 高帆, 张宗文, 李艳琴, 等. 苦荞中查尔酮合成酶基因 (*CHS*) 的克隆. [J]. 中国农学通报, 2011, 27(21): 207-214.
- [40] Liu K, Hu Y H, Wang G, et al. Cloning and analysis of a chalcone synthase gene from *Fagopyrum tataricum* [J]. Agricultural Science and Technology, 2012, 13(4): 708-710, 726.
- [41] 李成磊, 张晓伟, 吴琦, 等. 甜荞查尔酮合成酶基因 *Chs* 的克隆及序列分析 [J]. 广西植物, 2011, 31(3): 383-387.
- [42] 蒙华, 李成磊, 吴琦, 等. 金荞麦查尔酮合成酶基因 *CHS* 的克隆及序列分析 [J]. 草业科学, 2010, 19(3): 162-169.
- [43] 张艳, 柴岩, 冯佰利, 等. 苦荞和甜荞查尔酮合成酶基因的克隆及序列比较 [J]. 西北植物学报, 2008, 28(3): 447-451.
- [44] 马婧, 祝钦珑, 郭铁英, 等. 金荞麦 MYB 转录因子基因 *Fd-MYBP1* 的克隆及分子特征分析 [J]. 中国中药杂志 (A1), 2009, 34(17): 2155-2159.
- [45] 雒晓鹏, 白悦辰, 高飞, 等. 金荞麦查尔酮异构酶的基因克隆及其花期表达与黄酮量分析 [J]. 中草药, 2013, 40(11): 1481-1485.
- [46] 马婧, 王斌, 代银, 等. 金荞麦无色花色素还原酶基因 *Fd-LAR* 的克隆和表达分析 [J]. 药理学, 2012, 47(7): 953-961.
- [47] Ufisu A, Kondo Y. Identification of a major allergen of buckwheat seeds by immunoblotting methods [J]. Allergy Clin Immunol News, 1994, 6: 151-155.
- [48] Kondo Y, Urisa A, Wada E, et al. Allergen analysis of buckwheat by the immunoblotting method [J]. Arerugi, 1993, 42(2): 142-148.
- [49] Nair A, Adachi T. Immunodetection and characterization of allergenic proteins in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) [J]. Plant Biotechnology, 1999, 16: 219-224.
- [50] Wang Z H, Wang L, Chang W J. Cloning, expression, and identification of immunological activity of an allergenic protein in tartary buckwheat [J]. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 2006, 70: 1195-1199.
- [51] Wang Z H, Zhang Z, Wieslander G, et al. Purification and some properties of the protein with 22 kD in tartary buckwheat [J]. Fagopyrum, 2000, 17: 441-444.
- [52] 赵小珍, 张政, 景巍, 等. 苦荞麦主要过敏蛋白 N 端基因片段的克隆及序列分析 [J]. 食品科学, 2006, 27(10): 41-44.
- [53] 王岚, 李玉英, 蔡桂红, 等. 重组苦荞麦过敏蛋白 TBa 的原核表达及其免疫活性鉴定 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2006, 22(4): 308-312.
- [54] Logacheva M D, Kasianov A S, Vinogradov D V, et al. De-novo sequencing and characterization of floral transcriptome in two species of buckwheat (*Fagopyrum*) [J]. BMC Genomics, 2011, 12: 30.
- [55] 石桃雄, 黎瑞源, 郭菊卉, 等. 普通荞麦种子转录谱 EST-SSR 标记的开发 [J]. 贵州农业科学, 2014, 42(3): 1-5.

Progress on Molecular Genetics of *Fagopyrum* Miller

LI Rui-yuan¹, SHI Tao-xiong², LIU Xiao-jia³, CHEN Qing-fu²

(1. Research Center of Buckwheat Industry Technology, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001; 2. Key Laboratory of Information and Computing Science Guizhou Province, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001; 3. Panyu Entry-exit Inspection and Quarantine, Panyu, Guangzhou 510006)

Abstract: In recent years, the developing and perfecting biotechnology make certain research progress in buckwheat, for the further study on molecular genetics of *Fagopyrum* Miller, recent advances of interspecific relationship, genetic diversity, genetic map construction, gene cloning and function, and genome sequencing were reviewed, the problems were proposed and the preliminary discussion on development trend was made.

Key words: *Fagopyrum* Miller; molecular marker; gene map; gene cloning