

分子育种和标记辅助选择



2005年4月第一次印刷

Pocket Ks是知识手册系列，它收集了作物生物技术产品及其相关资料，以便随时查阅。本知识手册由全球作物生物技术知识中心编写
(<http://www.isaaa.org/kc>)。
如需了解更多信息，请联系农业生物技术应用国际服务组织 (ISAAA)
SEAsiaCenter c/o IRRRI, DAPO Box
7777, 马尼拉, 菲律宾
电话: +63 2 845 0563
传真: +63 2 845 0606
电子邮箱: knowledge.center@isaaa.org

培育一个新品种一般来讲需要花费几乎25年的时间，而今，生物技术的应用将这一时间缩短至7-10年。标记辅助选择 (MAS) 是这些技术中的一个，它使科学家对植物性状的选择变得既快又容易。

分子捷径

能将一个植物与另一植物区分开来的是植物的遗传编码物质——DNA，DNA被压缩于一对染色体上（遗传物质链），它们分别来自于双亲。控制植物性状的基因位于每一条染色体的特定区段。总之，植物的所有基因构成了它的基因组。

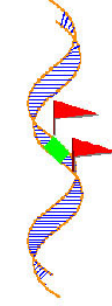
一些性状，例如花色可能被单基因控制。而别的复杂性状，像作物产量或淀粉含量等可能被多基因控制。传统上，植物育种家一般依靠自己对植物的表型性状判断来进行选择。这样的选育方式存在一定的困难，并容易受到环境因素的影响且代价昂贵——无论在培育新品种本身方面还是从经济角度方面考虑，都使农民遭受损失。

作为一个捷径，现在育种家开始使用标记辅助选择 (MAS)。科学家可以使用分子或遗传标记来鉴别特定的基因。这些标记是一段组成DNA的核酸序列。标记被定位在接近于目标基因的区段并能够与目标基因一起遗传到下一代 (图1)。由于标记与基因在同一染色体上的位置非常接近，他们能够连在一起遗传给下一代，这被称作“遗传连锁”。它帮助科学家可以预测出植物中是否拥有目的基因。如果研究者能够找到与基因紧密连锁的标记，也意味着找到了基因本身。

为了了解标记在染色体上的位置以及它们与特定基因的距离，科学家绘制了“遗传连锁图谱”。该图谱显示标记和基因的位置以及它们与已知基因之间的距离。在植物育种的一个世代，科学家就可以绘制出详细的图谱。

使用精细遗传图谱和对植物DNA的分子结构的详细了解，研究者使用很少量的植物组织甚至幼苗就可以进行分析。植物组织被分析完毕，科学家就知道在幼苗中是否含有想要的基因。如果未含目的基因，就可以转移精力分析另外的幼苗，直至最后所分析的植物都是包含有目的基因的植物。

应当被注意的是，标记辅助选择的分子育种的使用范围与基因工程或改良相比而言存在些许不同：1) 它是在作物本身含有目的基因的前提下工作



"The green section indicates the presence of a desirable gene in an organisms' genetic code that is associated with two genetic markers (red flags)."

图1. 分子/遗传标记

来源: <http://www.usda-ars-beaumont.tamu.edu/dblhelix.jpg>

的；2) 它不能被有效用于长世代作物（例如柑橘类植物）；3) 它不能被有效用于无性繁殖的作物，因为它们是不育的（其主要包括山药、香蕉、车前草、甜马铃薯和木薯）。

Korzun, V. 2003. Molecular markers and their applications in cereals breeding. A paper presented during the FAO international workshop on "Marker assisted selection: A fast track to increase genetic gain in plant and animal breeding?". 17-18 October 2003, Turin, Italy.

Grube, R.C., Radwanski, E.r., Jahn, M. 2000. Comparative genetics of disease resistance within the Solanaceae. Genetics 155: 873-887.

FAO 2002 Crop Biotechnology: A working paper for administrators and policy makers in sub-Saharan Africa. Kitch, L., Koch, M., and Sitthole-Nang, I.

Barone, A. 2003. Molecular marker-assisted selection for resistance to pathogens in tomato. A paper presented during the FAO international workshop on "Marker assisted selection: A fast track to increase genetic gain in plant and animal breeding?". 17-18 October 2003, Turin, Italy.

Agbiotech Infosource. Canada. (http://www.agwest.sk.ca/sabc_bioinfo.shtml)
Ag-West Biotech Inc. 1998. Marker assisted selection: Fast track to new crop varieties.

参考资料

<http://www.igri.cgiar.org/training/unit10-1-4/Glossary.pdf>

<http://www.ostp.gov/html/plantgenome/abstract.html>

<http://usda-ars-beaumont.tamu.edu/dblhelix.jpg>

分子标记

几种标记系统已经被发展并被应用于作物领域。其中有限制性片段长度多态性（RFLPs），随机扩增片段多态性（RAPDs），序列标签位点（STS），扩增片段长度多态性（AFLPs），简单重复序列（SSRs）或微卫星序列和单核苷酸多态性（SNPs）。表1列出了这几种标记系统的优点和缺点。

表1. 最常用的几种分子标记的技术特点比较（Korzum, 2003）

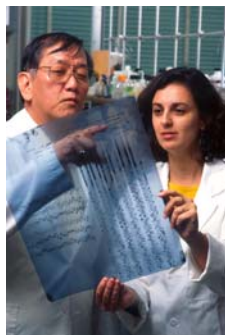
特征	RFLPs	RAPDs	AFLPs	SSRs	SNPs
DNA用量 (μg)	10	0.02	0.5-1.0	0.05	0.05
DNA质量要求	高	高	中等	中等	高
是否依赖PCR	不	是	是	是	是
检测基因座位数	1.0-3.0	1.5-50	20-100	1.0-3.0	1.0
难易程度	不容易	容易	容易	容易	容易
可操作性	低	中等	中等	高	高
可靠性	高	不可靠	高	高	高
开发成本	低	低	中等	高	高
分析成本	高	低	中等	低	低

这些分子技术被广泛应用于鉴别物种之间在DNA序列上的不同。它们将野生种质中所包含的新的和想要的性状整合到优良品种中并创造出新的遗传变异。RFLP标记基本上适用于所有作物，AFLPs和SSRs由于其检测以及操作相对容易，已成为当前最常用的分子标记技术。随着基因组研究的逐步深入，基因序列以及基因功能信息得以增加，使得SNPs成为热门的新兴技术。

运用分子标记进行作物遗传研究

这些分子标记在作物遗传研究中的应用主要有以下几个方面：

- 了解遗传变异以及种质特征
- 基因型的鉴定和指纹分析
- 群体间、自交系间以及育种材料间的遗传距离的估算
- 对单基因和数量性状位点（QTL）的检测
- 分子标记辅助选择
- 候选基因序列的鉴定



分子标记辅助选择在西红柿抗病中的应用

在西红柿栽培生产上一个重要的限制因素就是由大量的诸如病毒、细菌、真菌以及线虫等病原体引起的产量严重下降。农民利用农药以及栽培抗病品种的方式来防治。传统育种尽管在改善西红柿抗性上取得了重要的效果，但是其在杂交、回交以及选择目标抗病后代过程中的费时费力使得其难以应对新的病原小种的变化。

目前，分子标记已经在西红柿育种中得到了广泛应用，40多个主效抗病基因已经被定位、克隆或测序（Grube等，2000）。基因的定位使得通过标记辅助选择聚合抗性基因成为可能。目前，利用标记辅助选择进行西红柿育种已经获得了具有针对一种或多种病原菌特殊抗性的品种。

术语

AFLP: 扩增片段长度多态性。在检测DNA多态性方面具有很高的灵敏度。基因组DNA在经过限制性内切酶切割后，对酶切片经PCR选择性扩增来显示其多态性。

遗传图谱: 由遗传座位间共同遗传频率决定的位点在染色上的相对位置图。

连锁图谱: 基因在染色体上的相对位置图。在染色体上距离较近的基因倾向于共同遗传，称作连锁。

微卫星: 在整个基因组中大量存在的由非常短的DNA基序（1-10个碱基对）串联重复而成。又称作简单序列重复（SSR）、简单串联重复或简单重复序列。

单基因性状（孟德尔性状）: 由单一基因位点控制的一种性状。

核酸: 在所有的生物细胞中存在的能够储存并传递遗传信息的分子。包括两个重要的类型：DNA（脱氧核糖核酸），主要存在于细胞核中以及RNA（核糖核酸），主要存在于细胞质中。

PCR: 聚合酶链式反应。是一种使用热稳定的聚合酶和合适的引物对目标DNA区段大量扩增的方法。

多态性: 特殊的基因和标记在不同个体间的可检测的差异。

RAPD: 随机扩增DNA多态性。是一种广泛应用的利用随机引物PCR扩增未知DNA区段的技术。

RFLP: 限制性片段长度多态性。基因组DNA用特定的限制性酶切后产生的不同长度的变化（限制性内切酶能识别特殊的DNA序列，并在这些序列位点上切断DNA分子，这些特殊DNA序列长度一般为4-6个碱基，通常叫做限制性位点）

SNP: 单核苷酸多态性，在基因组DNA序列中普遍存在这种细微差异，常被用来在家系和物种中进行遗传跟踪。

QTL: 数量性状基因座。影响一类可测量的或可计算的性状的特殊基因位点。这些性状受多基因控制，并易受环境影响，如株高（需要用尺子量）和体重（需要用称称量）。

数量性状: 表型呈连续变化的性状。