

水稻分子标记辅助育种及其前景*

向珣朝^{**},^{***} 李平^{**},^{****} 王世全^{**} 马炳田^{**} 周开达^{**}

(* 四川农业大学水稻研究所 四川温江 611130 ** 西南科技大学 四川绵阳 621000)

摘要 总结了水稻分子标记辅助育种的主要内容,其技术体系和研究进展被详细地加以介绍。同时,根据其发展趋势也介绍了水稻分子标记辅助育种的前景。

分子标记辅助育种或称分子标记辅助选择,是通过分析与目标基因紧密连锁的分子标记的基因型而进行育种的一种方法,从而达到提高育种效率之目的。近年来,由于分子生物学和分子遗传学的快速发展,特别是水稻基因组精细图的绘就,一些新分子标记的开发,使水稻分子标记辅助育种进展很快,一些相关的技术体系得到建立和完善,一些研究领域也取得了丰硕的成果,本文就此作一综述。

一、分子标记辅助育种的技术体系

1. 分子标记的种类及其特点

(1) 基于 DNA-DNA 杂交的 DNA 标记 它主要包括 RFLP (restriction fragment length polymorphism) 标记和 VNTR (variable number of tandem repeats) 标记。这类标记是利用限制性内切酶酶解不同生物体的 DNA 分子后,用同位素或非同位素标记的随机基因组克隆、cDNA 克隆、微卫星或小卫星序列等作为探针进行 DNA 分子杂交,通过放射自显影或非同位素显色技术来揭示 DNA 的多态性。VNTR 多态性是由重复序列数目的差异性而产生的。RFLP 多态性主要是由于 DNA 序列中单碱基的替换、DNA 片段的插入、缺失、易位和倒位等引起,它也是发现最早,应用广泛,具有代表性的 DNA 标记技术,很多作物包括水稻的第一张分子标记图谱都是由 RFLP 标记构建的。

(2) 基于 PCR 技术的 DNA 标记 它又可以分为两大类:一类是随机引物的 PCR 标记:RAPD (random amplified polymorphic DNA) 标记、DAF (DNA amplification fingerprinting) 标记、AP-PCR (arbitrarily primed PCR) 标记、ISSR (inter-simple sequence repeats) 标记;另一类是特异引物的 PCR 标记:SSR (simple sequence repeats) 标记、SCAR (sequence characterized amplified region) 标记、STS (sequence-tagged site) 标记、RGA (resistance gene

analogs) 标记。其中应用较多的是 RAPD 标记、SSR 标记,其次是 ISSR 标记和 STS 标记。RAPD 标记由于对 DNA 的需要量极少,对 DNA 的质量要求不高,操作也简单易行,RAPD 引物的种属特异性较小,可用于不同生物的基因组分析;但该标记为显性遗传,实验结果的可重复性也较差,只能用于多态性检测的初筛。SSR 标记其多态性是基于基本单元重复次数的变异,而这种变异在生物群体中又大量存在,故其多态性十分丰富;另外 SSR 标记为共显性遗传,操作简便又稳定可靠,在水稻等作物上使用越来越广泛,随着 SSR 标记的大量开发和 SSR 标记分子图谱的逐步饱和,将取代 RFLP 标记。

(3) 基于限制性酶切和 PCR 的 DNA 标记 主要有 AFLP (amplified fragment length polymorphism) 标记和 CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) 标记。AFLP 标记是综合 RFLP 和 RAPD 的优点由 Zabeau et al (1993) 发明的一项 DNA 指纹技术。它是先将样品 DNA 用限制性内切酶进行酶切,再对其酶切片段有选择地进行扩增,然后检测其多态性,但 AFLP 需使用同位素或非同位素标记引物,相对比较费时和耗财。CAPS 标记是特异引物 PCR 与限制性酶切相结合而产生的,实际上是一些特异 PCR 标记(如 SCAR 和 STS)的延伸。

(4) 基于单个核苷酸多态性的 DNA 标记 - SNP (single nucleotide polymorphism) 标记。SNP 在大多数基因组中存在较高的频率,其多态性仅有两个等位基因的差异,故其最大的杂合度为 50%,尽管单一的 SNP 所提供的信息量远小于现在常用的遗传标记,但 SNP 数量丰富,可进行自动化检测。

2. 分子标记辅助选择的基本原理

分子标记辅助选择就是利用目标基因与分子标

* 基金项目:国家 863 计划资助项目;国家转基因植物研究与产业化专项资助项目(J2000-B-011);四川省“九五”生物技术公关项目。

**** 通讯作者。E-mail:liping@cngk.com

记之间的紧密连锁关系进行间接选择。如果目标基因与某个分子标记紧密连锁,那么通过对分子标记基因型的检测,就能获知目标基因的基因型。因此,借助分子标记对目标性状基因型进行的选择,称为标记辅助选择(marker assisted selection, MAS)。它不受其他基因效应和环境因素的影响,是对目标性状的分子水平上的一种选择,故选择结果十分可靠,同时又可避免等位基因间显隐性关系的干扰,并且可在育种早代完成,从而大大缩短育种周期。由于育种目标和材料的不同,则育种程序也会存在差异,因此,在不同的育种程序中分子标记辅助选择的具体方法也有不同。

(1) 系谱法育种中的 MAS 系谱法育种是目前水稻品种改良中最常用的育种技术。由于目标性状可分为质量性状和数量性状,故对其进行的 MAS 又可分为两类:质量性状和数量性状。

1) 质量性状的 MAS

当目标性状为质量性状时,对其选择通常在 F_2 代开始,其选择效果取决于该分子标记与目标基因的重组频率和它们之间的连锁关系的相引或相斥关系。分子标记与目标基因的距离愈近,则选择的可靠性愈大。例如,水稻半矮秆基因 S_d-1 与 RFLP 标记 RG220、RG109 紧密连锁,根据分子标记的纯合型植株到 F_6 仍表现矮秆,且 S_d-1 与分子标记之间无重组^[1]。此外,应用位于目标基因两侧的 2 个分子标记同时对该性状进行选择可大大提高选择效率。对目标基因的选择也称为前景选择(foreground selection),不论其显隐性如何,一旦选定该位点上基因纯合的植株,在随后世代中目标性状就不再分离,无需再逐代分析和检测;对基因组中除了目标基因之外的其他部分(即遗传背景)的选择,称为背景选择(background selection)^[2],它涉及到了整个基因组。这就要求所用的选择标记能覆盖全基因组,即必须有一张完整的分子标记连锁图谱。

2) 数量性状的 MAS

当目标性状为数量性状时,由于每个 QTL 对表型值的贡献率较小,还没有哪个数量性状的全部 QTLs 被精确地定位出来,因此就无法对数量性状进行全面 MAS;另外,上位性效应也可能会影响选择的效果,使选育结果不符合预期目标;再者,不同的数量性状间可能存在遗传相关,故对数量性状进行 MAS 难度要大得多,对其研究还主要局限于理论上,育种上应用较少。其理论研究结果一般分为四种选择方法。a. 表型值选择:即把表型值看作基

因型值的一个近似值,把表型值选择看作一种近似的基因型值选择。由于基因型值中,只有加性效应才能真实地遗传下去,故只有对基因型值中的加性成分进行选择才是有效的。b. 标记值选择:尽管直接依据个体的加性效应值进行选择,能提高选择效率,但从初级定位通常无法检测出全部的 QTLs 并准确地估计出它们的效应值,故估计的个体加性效应值只是一个近似值。要得到个体加性效应的精确估值,就必须进行 QTL 的精细定位,这又是一个庞大的系统工程,需经长期的努力才可能完成。故目前利用分子标记只能做到近似的依据加性效应值的选择。标记值是个体加性效应值的一个近似值,其近似程度取决于那些筛选出的标记所能解释的加性遗传方差占总的加性遗传方差的比例。以个体标记值为依据的选择称为标记值选择。c. 指数选择:由于表型值和标记值都是加性效应的近似值,两者都含有加性效应的部分信息,且这些信息彼此不完全重叠,故将两者的信息综合起来,构建一个选择指数,作为选择的依据,则可望获得更高的选择效率。用选择指数作为选择依据,就称为指数选择。d. 基因型选择:基因型值是基因型表达的产物,不同的基因型可能产生相同的基因型值,即一种基因型值可能对应于多种基因型,故从基因型到基因型值存在着遗传信息的简并或丢失。所以,更有效的选择方法是直接依据个体的基因型进行选择,这就称之为基因型选择。它是对每个目标 QTL 利用其两侧相邻标记或单个紧密连锁的标记进行选择,其原理和方法与质量性状相似,这也才符合最初提出的 MAS 概念^[3]。基因型选择和基因型值(以表型值、标记值或选择指数作为基因型值的近似值)选择的基本规律相似,除了在 QTL 数目很多效应相等的情况下基因型选择表现较优之外,在其他情况下,两种方法的效果差不多^[4]。

(2) 回交育种的 MAS 回交育种主要是改良优异亲本中的个别缺陷。利用与目标性状紧密连锁的分子标记可在早期筛选分离群体中含目标基因的植株。不论目标基因是显性还是隐性都不再需要每隔 1-2 代测交确认目标基因的存在与否。同时,还可显著地减少连锁累赘,大大加快育种进程,改进育种效果。

(3) 全基因组选择 由于分离后代的染色体是来自双亲同源染色体的 DNA 嵌合体,故在对品种进行改良时不仅要考虑目标基因,而且要考虑整个基因组的遗传组成。在每一次选择目标基因时,

都希望基因组的其他部分尽可能与有利亲本一致。高密度的分子标记图谱可同时确定一个个体在几百乃至几千个基因座位上分子标记的基因型,如此众多的标记在基因型上能较完善地反映该个体基因型的遗传组成。利用基于分子标记的图示基因型(Graphical genotype)分析方法可进行全基因组选择,即在基因组各染色体上选取多个标记,检测后代各标记的基因型,选择具有最佳基因组合的单株^[5]。

二、分子标记辅助育种的研究进展

进行 MAS,必须满足以下 3 个前提:(1)建立尽量饱和的分子标记图谱,即“框架图谱”。因为真正的基因将定位于这个图谱上,在比较不同种的染色体组成时可以此为基础。同时建立饱和的分子图谱也是对目标基因进行精细定位的前提。(2)把目标基因定位于分子图谱上,或称为“基因标记(gene tagging)”,即建立目标基因与分子标记的连锁关系。一般认为如果目标基因位于两个距离在 15-20cM 以下的分子标记之间,这两个标记便可用于育种项目^[6]。为了确保 MAS 的准确性,比较理想的是在两侧找到与目标基因紧密连锁的标记,与基因的遗传距离小于 5cM^[7]。(3)检测的自动化。由于 MAS 要求对育种群体进行大规模检测,因此就必须要求检测方法要简单、快速、低成本、准确可靠和自动化。从前述的分子标记种类来看,基于 PCR 的 SSR 标记最具有优势和发展潜力。因此,MAS 的研究相对于基因定位就显得滞后多了。此外,定位研究群体与育种应用群体脱节,定位群体与育种群体的目标基因与标记基因之间的遗传距离不一致,这些都给 MAS 的应用增加了很多的困难。

尽管如此,目前有关质量性状的 MAS 在理论上已趋于成熟,技术上也已达到可应用的水平,取得了一定的成功。在数量性状的应用方面,MAS 的理论还不十分成熟,但仍然取得一定进展。

1. 主基因的回交转移和聚合

(1) 抗白叶枯病基因的转移和聚合 Xa21 是一个来自长药野生稻(*Oryza longistaminta*)的广谱高抗白叶枯病的主基因。薛庆中等以含有 Xa21 的 IRBB21 为供体亲本,通过回交并应用 MAS 成功地将 Xa21 转入到优良籼型恢复系上选育出了抗白叶枯病的水稻恢复系。他们对杂交后代的 243 个品系进行 PCR 分子标记检测,从中筛选出纯合抗性系

46 个,进一步对这 46 个纯合抗性系进行人工接种鉴定,结果发现 43 株为纯合抗病,准确率高达 93.5% 以上^[8]。Singh 等利用 MAS 成功地将 3 个抗白叶枯病基因 Xa-5、Xa-13、Xa-21 聚合到籼型栽培品种 PR106 中^[9]。Huang 等利用 MAS 成功地将 4 个抗白叶枯病基因 Xa-4、Xa-5、Xa-13、Xa-21 聚合到 IRBB60 品系中^[10]。Chen 等利用 MAS,将 Xa21 成功转入明恢 63,含 Xa21 的明恢 63 及其配制的杂种汕优 63 在无病害胁迫时与未转 Xa21 的一样。但在重病条件下,含 Xa21 的明恢 63 与对照相比在粒重、结实率上显著增加;含 Xa21 的汕优 63 与对照相比在穗粒数、粒重和产量方面显著增加^[11]。曹立勇等利用 MAS,育成带 Xa-21 的两个杂交水稻恢复系 R8006 和 R1176,所配组合中优 6 号,中优 1176 在中国南方稻区及多个省级区试中表现抗病、优质、高产,具有较广的商业开发潜力^[12]。

(2) 抗稻瘟病基因的转移和聚合 李仕贵等应用与稻瘟病抗性基因 *Pe-d(t)* 紧密连锁的微卫星标记 RM262 对含有该抗病基因的品种地谷与感病品种江南香糯和 8987 的 F2 群体进行 MAS 选择,结果发现应用该标记的抗性纯合和杂合带型选择抗性植株的准确率可达 98% 以上^[13]。Hitaalmani 等将分别位于 11、6 和 12 染色体的 3 个抗稻瘟病基因 *Pi1*、*Piz-5* 和 *Pita* 进行了精细定位并发现了与其紧密连锁的 RFLP 标记并运用该标记对 3 个基因进行了聚合。针对 *Piz-5* 基因还发现了 1 个基于 PCR 的 SAP (Sequence Amplified Polymorphism) 标记。他们发现含聚合基因材料的抗性优于含单个基因材料的抗性。通过 MAS,一些聚合抗稻瘟病基因系正在被培育成农艺性状优异的水稻新品种^[14]。

(3) 抗虫基因的转移 Katiyar 等利用分离体分组混合分析法(Bulked segregant analysis,BSA)研究了对 4 种遗传型的亚洲水稻瘿蚜(*Orseolia oryzae* Wood-Mason) 都有抗性的中国水稻品种 Duokang #1 所具有的简单显性基因 Gm-6(t)。他们将 Gm-6(t) 精细定位在第 4 染色体 RFLP 标记 RG214 和 RG476 之间,该基因距这两个标记的距离分别为 1.0cM 和 2.3cM。他们同时开发出为该基因转入明恢 63 和 IR50404 基于 PCR 的 MAS 试剂盒。这将使抗水稻瘿蚜基因更快地导入到中国杂交水稻中^[15]。王春明等以综合性状好但对黑尾叶蝉(*Nephotettix cincticeps* Uhler) 敏感的品种台中 65 作为轮回亲本,与抗性品种 DV85 连续回交,进行抗叶蝉性状的回交转育。将抗黑尾叶蝉基因 Grh2 两

侧的 PFLP 标记 C189 和 G1465 成功地转换为在亲本间具有多态性的 CAPS 标记。在进行表型选择的同时,利用 CAPS 标记对 BC₆F₂ 进行 MAS,选育出具有台中 65 的遗传背景且携带纯合 Grh2 基因的个体,为聚合抗叶蝉基因培育新品种打下了基础^[16]。

(4) 与水稻产量和品质有关基因的定位和转移

Jia 等将近年发现的反温敏雄性不育系 J207S (与正常的温敏雄性不育系相比有相反的表型)通过遗传分析发现其不育性是由单隐性基因控制并命名为 rtms1。通过 AFLP 技术结合 BSA, AFLP 标记 Rev1 和 Rev7 与该基因紧密连锁,其重组率分别为 3.8% 和 7.7%。现在,rtms1 被定位于 RM239 和 RG257 之间,其遗传距离分别为 3.6cM 和 4.0cM。与此同时,他们将紧密连锁的 AFLP 标记 Rev1 (距 rtms1 4.2cM)测序并转换成了 SCAR 标记,为 rtms1 基因的 MAS 提供了方便^[17]。Lorieux 等研究水稻的香味遗传后认为水稻产生香味是由一个单隐性基因负责^[18]。这个单隐性香味基因 (fgr) 位于第 8 染色体,与 RFLP 标记 RG28 连锁,其遗传距离为 4.5cM^[19]。Garland 等将 RG28 转换成基于 PCR 的共显性标记,3 个微卫星标记在靠近 RG28 的地方进行了遗传作图。这些 PCR 标记在 fgr 位点上从非香味等位基因群体中鉴别香味基因时将十分有用,并为香味的 MAS 打下了一定基础^[20]。

为了给评估和利用非洲地方栽培稻 (*Oryza glaberrima*) 的潜力提供工具,Lorieux 等绘制出基于 PCR 标记——SSRs 和 STSs 的种间 (*O. glaberrima* × *O. sativa*) 遗传连锁图谱。很多性状的主效基因和 QTL 被定位。通过与以前发表的籼粳交遗传图谱相比较,发现了它们之间的一致性和差异性,这为利用非洲水稻资源进行 MAS 和 QTL 定位及种间有利基因的转移等都提供了帮助^[21]。苯达松敏感致死基因 (ben) 作为一种化学致死标记在杂交稻制种过程中有特殊的意义。向太和等利用与 ben 紧密连锁的 SCAR 标记 (SCAR/G18/883) 对田间以农林 8 号 m 为 ben 基因供体转育的后代进行 PCR 检测,由于 SCAR/G18/890 与 Ben (苯达松抗性基因), SCAR/G18/304/333 与 ben 或 Ben 紧密连锁,且 SCAR/G18/304/333 是共显性标记,会同时扩增出 304bp 和 333bp 的标记特征带,利用这些标记不仅能鉴别出转育的材料是否含有 ben 基因,而且能区别它是含苯 ben 基因的纯合体还是杂合体。SCAR 标记的 MAS 能有效地指导田间选育,加速育种进程^[22]。

2. QTL 的回交转移和聚合

(1) 与抗旱性有关的 QTLs 的定位和回交转移

Shen 等利用 IR64/Azucena 培育的 DH (doubled-haploid) 群体来鉴定影响有关根参数的 QTLs,然后通过 MAS 去转移 Azucena 中分别位于染色体 1、2、7、9 上的 QTLs 进入 IR64。在目标区内的标记位点上根据表型严格选择回交后代至 BC₃F₂。这样,定选 29 个 BC₂F₃ 近等基因系 (near-isogenic Lines, NILs)。在重复试验中,并与 IR64 目标根性状和三个非目标性状进行了比较。通过 MAS 组成的 NILs 由于根系系统得到改良将促进其在水限环境生长时根系进一步深扎,抵御干旱环境^[23]。Zhang 等利用群体定位了与渗透调节和根性状等抗旱有关的 QTLs 41 个,由 315 个 DNA 标记组成。一些根性状的多数 QTLs 位于第 4 染色体。他们的工作将有助于通过 MAS 把抗旱 QTLs 聚合到优良品系中,用于大田生产^[24]。

Ali 等利用 IR58821-23-B-1-2-1 和 IR52561-UBN-1-1-2 组成的重组自交系 (recombinant inbred lines, RILs) 和 RFLP 和 AFLP 标记,定位了总根数、穿透根数、根穿透指数等 5 个根性状的 QTLs。2022cM 长的遗传连锁图被构建,它由 303 个 AFLP 和 96 个 RFLP 标记组成,平均标记覆盖距离为 5.0cM。通过区间定位,这 5 个根性状检测到 28 个 QTLs,它们分别位于 1、2、3、4、6、7、10 和 11 染色体上。大多数等位基因来自于抗旱优异的亲本 IR58821-23-B-1-2-1。在抗旱育种中,这些 QTLs 可通过 MAS 转移和聚合^[25]。

(2) 与控制抽穗期有关的 QTLs 的转移和聚合

Lin 等利用 MAS 培育出三个 NILs,其差异仅在于单个、具体的 QTLs——Hd1、Hd2 和 Hd3 上,这三个 NILs 在 Nipponbare 遗传背景下都包含来自于供体亲本 kasalath 目标 QTLs 的染色体区段。为分析这些 QTLs 的上位性作用,通过 MAS,他们也培育出 4 个聚合了 3 个 QTLs 中的 2 个或 3 个都聚合在一起的 QTL-NILs。结果显示,来自于 kasalath 的 Hd3 并不单独影响光周期的敏感性,但当它与来自于 Nipponbare 的 Hd1 和 Hd2 在一起时能增强后两者的表达^[26]。

Monna 等利用来自 Nipponbare 和 Kasalath 改进的回交后代的大分离群体对 Hd3 进行了高分辨率的连锁定位。为决定 Hd3 的基因型,他们也在自然条件和短日条件下对后代进行了测定,结果显示,两个紧密连锁的位点 Hd3a 和 Hd3b 在 Hd3 区被鉴

定。利用 MAS、Hd3a 和 Hd3b 的 NILs 也被选择出来。Hd3a 和 Hd3b 的遗传方式为加性。就 Hd3a 和 Hd3b 的 NILs 进行日长反应分析显示: Kasalath 等位基因在 Hd3a 位点, 在短日条件下促进抽穗, 而在 Hd3b 位点, 在长日和自然大田条件下则延迟抽穗^[27]。

(3) 其他 QTLs 的定位和转移 Fukuoka 等利用 Nipponhare(中感、低海拔)和 Owanhatamochi(抗、高海拔)的 F₄ 后代个体及 RFLP 和 SSRs 标记分析日本高海拔水稻对稻瘟病的大田抗性。结果 2 个 QTLs 在第 4 染色体, 一个 QTL 在 9 和 12 染色体上被检出。利用感病品种 Aichiasahi 作轮回亲本, 为转移主效 QTLs 培育出回交后代系。结果抗性基因 Pi21 被定位在第 4 染色体, 是一个单隐性基因, 位于 RFLP 标记 G271 和 G317 之间, 遗传距离分别为 5.0cM 和 8.5cM。为提高大田抗性, 利用 MAS 可进行回交转移^[28]。

Reddy 等通过温敏雄性不育系(TGMS)ID24 和 SA2 杂交的遗传研究显示在低温条件下, TGMS 分离表达出不同的育性水平, 其后代的绝大多数表现出超亲分离, 这是因为大量的单位点 QTLs 和它们之间上位性作用的结果。为鉴定与 TGMS 紧密连锁的分子标记, 他们通过 BSA 利用了能产生多态性的 RAPD、AFLP 和微卫星标记。开发出 STS 标记-TS200, 它对 TGMS 能产生共显性多态性。微卫星标记 RM257 与在 SA2 中的 TGMS 连锁, 遗传距离为 6.2cM, 它能产生共显性多态性, 有 145bp(不育)和 132bp(可育)两条带。位于 TGMS 两边的标记 TS200 和 RM257 不管是单独还是一起使用都有利于 MAS 的进行^[29]。

(4) 主效 QTL 的 MAS 策略 Tanksley 等提出的新的分子育种策略中把 QTL 分析进程与品种选育过程结合起来, 即回交高世代 QTL 分析(advanced backcross QTL, AB-QTL), 应受到重视^[30]。利用此方法, 可把综合性状差的种质资源中的有价值基因座位揭示出来, 同时, 把它们转移到优良的栽培品系中, 达到改良之目的。李德军等利用此法成功地将江西东乡野生稻中位于第 2 和第 11 染色体上的 2 个高产 QTLs 转移到桂朝 2 号中, 它们分别使桂朝 2 号单株产量增加 25.9% 和 23.2%^[31]。

三、水稻分子标记辅助育种的前景

1. MAS 一旦与常规育种紧密结合, 其潜在的

巨大优势将得到充分发挥。我国水稻常规育种经验丰富, 水平高, 队伍庞大, 推广品种(组合)的更新速度快。对 MAS 来说, 只有受体材料的高起点, 才有 MAS 育成品种的高价值。通过分子标记辅助育种工作者与实力雄厚的育种单位合作, 相互取长补短, 必将使分子标记辅助育种的品种直接在生产上发挥重要作用, 而不仅仅是中间材料。

2. 为实现水稻育种目标的“超高产、优质、多抗”, 一方面随着外源基因在水稻中遗传转化的增多, 另一方面水稻育种中以培育杂交水稻为主, 因此通过 MAS, 聚合转基因育种将发挥越来越大的作用。应用高效、大规模的水稻转基因技术体系, 将优质、高产、多抗的基因分别转入优良的保持系(B)和恢复系(R)中。对一些不易转化的 B 和 R, 可通过一些易转化的材料先转化再通过 MAS 回交转移到目标 B 和 R 中。将转基因 B 通过 MAS 培育成不育系(A), 将不同的 A 和不同的 R 配组, 将得到很多理想的杂交水稻新组合, 用于大面积生产。

3. 数量性状的 MAS 中, 由于基因型值 MAS 必须对加性基因型值进行估计, 非加性效应和环境效应必然会对估值产生影响; 而基因型的 MAS 可以避免非加性效应和环境效应的影响, 其主要影响因素仅在于 QTL 定位的精度。故在已有部分 QTLs 被定位的情况下, 将基因型选择与依据基因型值选择相结合的方法要比单纯依基因型值的方法更有效, 且已定位的 QTL 越多, 其效果就愈好。因此, 二者相结合的方法将是今后数量性状 MAS 的主要发展方向^[4]。

4. 由于作物育种目标的大多数重要性状都是数量性状, 而目前许多数量性状还未被完整地精细定位。因此随着一大批有识之士对 QTL 理论研究的逐步深入和许多 QTLs 被精细定位, 必将极大推动 MAS 在 QTL 改良和聚合中的应用。

参 考 文 献

- [1] Cho Y. G., Eun MY, McCouch SR et al., 1994, *Theor Appl Genet*, **89**: 54 - 59.
- [2] Hospital F, charcosset A, 1997, *Genetics*, **147**: 1469 - 1485.
- [3] 方宜钧、吴为人、唐纪良, 2001, 作物 DNA 标记辅助育种, 科学出版社, 57 - 79.
- [4] 吴为人、周元昌、李维明, 2002, 科学通报, **47**: 1408 - 1411.
- [5] 陆朝福、朱立煌, 1995, 生物技术进展, **15**: 11 - 17.
- [6] 黎裕, <http://icgr.caas.net.cn/973>.
- [7] 郑康乐、黄宁, 1997, 遗传, **19**: 40 - 44.

- [8] 薛庆中、张能义、熊兆飞等, 1998, 浙江农业大学学报, **24**: 581 - 582.
- [9] Sigh S, Sidhu JS, Huang N et al., 2001, *Theor Appl Genet*, **102**: 1011 - 1015.
- [10] Huang N, Angeles ER, Domingo J et al., 1997, *Theor Appl Genet*, **95**: 313 - 320.
- [11] Chen S, Lin XH, Xu CG et al., 2000, *Crop Science*, **40**: 239 - 244.
- [12] 曹立勇、庄杰云、占小登等, 2003, 中国水稻科学, **17**: 184 - 186.
- [13] 李仕贵、王玉平、李平等, 1999, 生物技术在水稻育种上的应用研究, 中国农业科技出版社, 201 - 205.
- [14] Hittalmani S, Parco A, Mew TV et al., 2000, *Theor Appl Genet*, **100**: 1121 - 1128.
- [15] Katiyar SK, Tan Y, Huang B et al., 2001, *Theor Appl Genet*, **103**: 953 - 961.
- [16] 王春明、安井秀、吉村醇等, 2003, 中国农业科学, **36**: 237 - 241.
- [17] Jia JH, Zhang DS, Li CY et al., 2001, *Theor Appl Genet*, **103**: 607 - 612.
- [18] Torieux M, Petrov M, Huang N et al., 1996, *Theor Appl Genet*, **93**: 1145 - 1151.
- [19] Ahn SN, Bollich CN, Tanksley SD, 1992, *Theor Appl Genet*, **84**: 825 - 828.
- [20] Garland S, Lewin L, Blakeney A et al., 2000, *Theor Appl Genet*, **101**: 364 - 371.
- [21] Lorieux M, Ndjiondjop MN, Ghesquiere A, 2000, *Theor Appl Genet*, **100**: 593 - 601.
- [22] 向太和、杨剑波、杨前进等, 2003, 中国水稻科学, **17**: 113 - 117.
- [23] Shen L, Courtois B, McNally KL et al., 2001, *Theor Appl Genet*, **103**: 75 - 83.
- [24] Zhang J, Zheng HG, Aarti A et al., 2001, *Theor Appl Genet*, **103**: 19 - 29.
- [25] Ali ML, Pathan MS, Zhang J et al., 2000, *Theor Appl Genet*, **101**: 0756 - 0766.
- [26] Lin HX, Yamamoto T, SaSaki T et al., 2000, *Theor Appl Genet*, **101**: 1021 - 1028.
- [27] Monna L, Lin H, Kojima S et al., 2002, *Theor Appl Genet*, **104**: 772 - 778.
- [28] Fukuoka S, Okuno K, 2001, *Theor Appl Genet*, **103**: 185 - 190.
- [29] Reddy OUK, Siddiq EA, Sarma NP et al., 2000, *Theor Appl Genet*, **100**: 0794 - 0801.
- [30] Tanksley SD, Nelson JC, 1996, *Theor Appl Genet*, **92**: 191 - 203.
- [31] 李德军、孙传清、付永彩等, 2002, 科学通报, **47**: 854 - 858.

高等植物合子离体培养研究进展

李爱贞 田惠桥*

(厦门大学生命科学学院 厦门 361005)

摘要 合子是高等植物个体发育的第一个细胞, 在研究植物个体发育机理中有着不可替代的位置。植物体内合子细胞分裂并以胚胎发生方式形成新个体的特征在植物生物工程应用中独具特色。随着离体受精技术的发展和合子分离技术的改进, 已从多种植物中得到了人工合子和从体内直接分离出了合子。合子离体培养系统的建立为研究高等植物个体发育最初阶段的合子激活机理提供了条件, 也为探索利用合子胚胎发生的特征进行植物基因工程打下了基础。另外, 探索异种植物间人工杂种合子的培养也是进行远缘杂交的新尝试。

高等植物的卵细胞位于雌配子体胚囊中, 而胚囊又位于孢子体组织的胚珠和子房中。传粉后, 花粉管经花柱长入胚珠, 进入胚囊, 释放出两个精细胞, 其中一个与卵细胞融合形成合子, 另一个与中央细胞融合产生胚乳。合子是高等植物个体发育的第一个细胞, 是植物个体发育的起点。然而, 由于卵细胞和合子位于体细胞组织层层包围中, 形成了对高等植物合子发育机理研究的障碍。过去 30 年中对高等植物受精前、后的卵细胞做了大量的超微结构观察, 获得了一些有关这方面的信息。但通过切片进行超微结构的观察具有很大的局限性, 对合子发

育过程中的一些短暂和关键性的变化很难了解。而且用于观察超微结构的细胞是经过固定的死细胞, 显示细胞生命活动的很多分子生物学实验难以进行。迄今为止, 我们对高等植物合子激活过程还了解很少。在生产应用方面, 传统的育种方法费工费时并受到广泛的受精不亲和的限制。应用细胞工程和基因工程可克服植物间的不亲和问题, 但可育植株的再生仍有许多困难需要克服。近年来, 随着离体受精技术的发展, 已有多种植物的卵细胞和合子

* 通讯作者。E-mail: hqtian@xmu.edu.cn