

利用基因图谱改良马铃薯

——利用分子生物学工具扩大国际马铃薯

中心 (CIP) 遗传资源的应用

在国际马铃薯中心的常规育种技术不断促进马铃薯生产并被广泛应用的同时, 遗传资源学家和育种专家对分子生物学工具的用途也日益重视起来。

例如, 利用诸如限制性片段长度多态性 (RFLP) 等更为灵敏的生化方法, 我们可以更精确地确定特定基因型的遗传结构。因此, 通过充分鉴定种质资源的特征特性可以使其对育种专家更为有用。由于可以尽可能广泛地保存种质资源, 我们就可以得到有关样品遗传组成的更全面的知识。此外, 一些特殊的用途还包括: 分析样品的遗传变异、确定基因型的“指纹图谱”、鉴别重复收集的样品以及组成核心样品。

1 遗传图谱

早在经典遗传学创立初期, 科学家们就已经理解了基因连锁的概念。一些基因库有时也利用标识 (酶类) 来分析和绘制基因连锁图, 这些连锁图可以通过细胞学的染色体显带技术看到。当分子生物学发展到本世纪 80 年代, 科学家们发明了许多新的技术用于绘制随机 DNA 片段图谱, 或者克隆染色体组序列来绘制基因连锁图或 RFLP 图谱。这些图谱给遗传资源学家和植物育种学家在广泛应用遗传资源方面开创了新的起点。目前正在对许多重要的作物如马铃薯、甘薯、水稻、玉米、小麦、甘蔗、番茄、辣椒和茄子进行 RFLP 图谱分析。这一工作

在作物进化和生物系统学方面开创了许多令人感兴趣的研究领域 (Bonierbale 等), 如高干物质番茄的选育 (Paterson 等)。

2 用于系统发育分析的 RFLP 标识

许多科学家利用 RFLP 连锁图标识对系统发育树进行了研究, 并取得令人关注的结果。此外, 还对一些作物的物种, 如结块茎的茄属种 (Bonierbale 等, 1989; Debener 等, 1990); 芸藿属种 (Song 等, 1988); 兵豆属种 (Havey 和 Muehlbauer, 1989) 进行了初步的研究。利用有限数目的标识和酶类相对易于弄清系统发育的遗传。马铃薯的该项工作已由 Bonierbale 等 (1988) 和 Debener 等 (1990) 完成。图 1 是对一些茄属种和番茄的系统发育研究的结果。这类研究极大地丰富; 我们对于遗传资源及其相互关系的了解。

3 核心样品的概念

“核心样品”代表了特别重要的性状或普遍遗传变异的流动样品。RFLP 技术非常有助于从全部样品中选取有代表的遗传变异。选定“核心样品”后, 有关材料可长期保存。

“核心样品” (一般只占全部样品的 10% 或更少) 具有以下几方面的优点: ①繁殖种子; ②在其它基因库贮存备用种子; ③满足如国家农业研究系统 (NARS) 等用户的需求; ④确定汰除病原的重点; ⑤评价引进材料的价值。

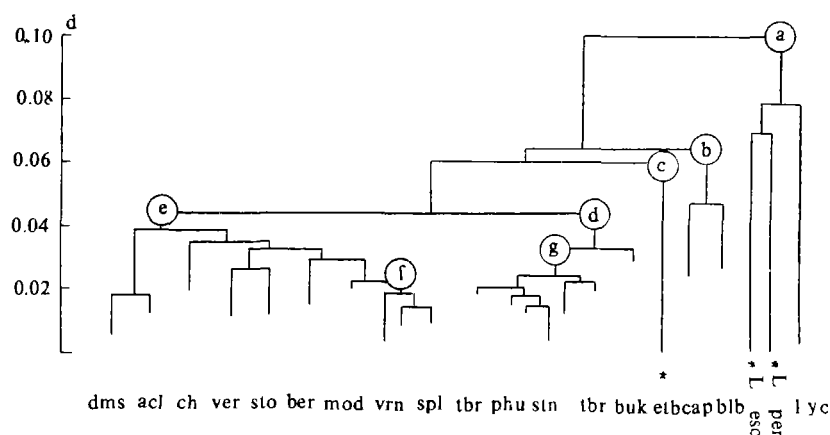


图 1 基于 18 个茄属种和 2 个番茄属种的全部 RFLP 片段获得的遗传距离(d)估计值的系统树图

图中采用标准物种缩写

4 种质资源

遗传资源在保存生物多样性以及为植物改良工作提供基础材料方面具有关键作用。对一些主要的作物物种而言, 遗传资源在作物改良工作中的作用不可低估。然而利用远缘杂交引入新性状需要较长的时间, 并且这是一个很复杂的过程 (Tanksley 等, 1989; Zeven 等, 1983)。这种复杂性通常是由于不利性状的连锁造成的, 这些不利性状应通过持续的回交工作被除去。RFLP 标识在监测期望性状的逐渐引入方面, 极大地提高了其效率。

通过精心应用这些新的方法, 育种学家可以更好地利用遗传多样性的财富。应用诸如 RFLP 技术还具有其它一些优点: ①无需后代测验即可确定基因型; ②基于基因型而非表现型收集, 筛选和选择; ③监测数量遗传性状; ④使多倍体作物的育种工作较为便利, 因为多倍体作物的选择效率低, 且比二倍体作物需要更大的群体、更多的劳力以及后勤保障, 在实生苗阶段即可进行研究而无需等到若干年后育成株性状。

5 CIP 的 RFLP 工作

通过对全世界从事马铃薯生物技术工作的科学家们进行了一次非正常的调查之后, CIP 开始了 RFLP 研究工作 (Dodds 和 Horton, 1989)。目前的工作包括与如下几个研究单位进行的马铃薯合作研究或协议研究项目: ①美国 Cornell 大学, 基础技术研究以及抗病毒病和抗虫性状的基因定位; ②日本 Kobe 大学, 抗病毒病和农艺性状的基因定位; ③美国 Michigan 州立大学, 加工品质性状的基因定位; ④德国 Max Planck 研究所, 野生种的生物系统学及性状研究, 以及抗晚疫病性状的基因定位; ⑤英国 Rothamsted, 检测遗传资源保存过程中的体细胞变异; ⑥美国 Washington 州立大学, 监测野生种基因逐渐引入栽培马铃薯基因库的情况。

CIP 总部的研究工作始于 1990 年, 当时我们采用通过合作或协议研究项目而得到的成熟技术。目前我们主要开展以下两方面的工作: ①从 DNA 多态形和制约马铃薯生产的因素入手, 调查可利用的亲本基因型;

②对一些制约马铃薯生产的主要的抗性基因进行基因定位。

目前正在调查二倍体马铃薯种质资源抗青枯病以及抗一些病毒病的 DNA 多态形。在 CIP 已经建立了 RFLP 技术, 并且试图采用非放射性标识探针, 现已选定了两个群体用于抗细菌病、病毒病以及 PSTV 的基因定位。

作为 CIP 基因库工作的一部分, 现已开展了一项向一些合作研究组织转送 DNA 样品的小规模项目。一旦这个体系确定, 通过合作项目分发 DNA 样品将十分便利。

6 分子生物学持续的需要以及未来的用处

在马铃薯中, 分子生物学新技术将十分有用, 这是因为: ①马铃薯是四倍体作物, 并且具有四倍体以及四倍体遗传特性。由于四倍体的分离比二倍体复杂, 因此即使对简

单遗传性状的选择也十分困难; ②许多育种目标性状都是数量性状且存在强烈的基因型与环境的互作, 这就使这些性状的表达十分复杂; ③遗传标识物的数量不够, 因此它们在育种中的作用十分有限; ④采用常规的细胞遗传学方法鉴别单个染色体十分困难, 并且也很难在杂交中监测期望基因的逐渐引入。

将来, 应用聚合酶链反应 (PCR) 合成的随机扩增的多态形 DNA (RAPD) 可以简化和完善 RFLP 技术。综合使用这些技术调查有用的基因, 监测这些基因的渐渗过程, 合成这些基因以及通过转化或其它的基因转移方法将这些合成的基因转移到期望的马铃薯基因型中 (Dodds 和 Watanabe, 1990)。

(古锋摘译)

《作物研究》1993 年征订启事

《作物研究》系湖南省作物学会主办的作物科技期刊, 它立足湖南, 面向全国。主要报道作物科技新成果, 新技术和各类信息。主要栏目有: 作物专论, 研究报告, 试验简报, 技术推广, 生产意见, 问题讨论, 信息窗等。是各级农业科技人员, 农业院校师生, 农技推广人员和广大种植业者的良师益友。

《作物研究》为季刊, 每季末月 10 出版, 国内统一刊号 CN43-1110/S, 16 开, 48 页。每期定价 1.00 元, 全年 4.00 元。本刊为自办发行, 欲订阅者, 请直接汇款至长沙市东郊湖南农学院《作物研究》编辑部, 邮政编码 410128。