

# 分子标记辅助选择概述

雍 军

(甘肃省临洮县农业技术推广中心, 甘肃 临洮 743000)

**摘要:** 概述了在标记辅助选择(MAS)中主要应用的DNA标记特点及类型, MAS成功应用的前提条件、基本优势以及在作物育种中的应用状况及限制因素。

**关键词:** 分子标记; 标记辅助选择; MAS; 作物育种

**中图分类号:** Q78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2013)06-0047-03

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2013.06.020](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2013.06.020)

农作物育种和栽培新技术的发展使产量发生了翻天覆地的变化, 但农作物生长环境及其相关的微生物、虫害等经常变化, 如真菌和虫害变异使作物失去抗性, 荒漠的开垦种植改变了作物生长环境, 加之消费者喜好和适口性的变化、全球人口的增长等, 使作物育种者面临新品种改良的挑战。与产量稳定和持续性相关的性状将是作物育种的聚焦点, 这些性状主要包括持久抗病性、非生物耐压性及营养和水分利用效率等。在育种方法上, 除充分利用传统育种技术改良作物产量外, 生物技术也得到了广泛重视。DNA标记技术是生物技术的一个重要方面, DNA标记辅助选择(Marker-assisted Selection, MAS)会大大地提高选择的准确性和选择效率。MAS是随着现代分子生物学技术的迅速发展而产生的新技术, 它可以从分子水平上快速准确地分析个体的遗传组成, 从而实现对基因型的直接选择, 为抗病、丰产作物新品种选育注入新的活力。

## 1 在MAS中主要应用的DNA标记特点及类型

### 1.1 特点

在MAS中应用DNA需要考虑5个方面, 即标记的可靠性、标记的数量和质量、标记分析的技术程序、标记的多态性水平和标记使用费用<sup>[1-2]</sup>。

**1.1.1 标记的可靠性** 使用的标记应该紧密连锁于目标位点, 遗传距离小于5 cm, 侧翼或基因内标记的应用会大大提高标记预测表型的可靠性。

**1.1.2 标记的质和量** 有些标记需要高质量和一

定数量的DNA, 这种DNA在常规程序下难以获得, 这在一定程度上也提高了标记应用的费用。

**1.1.3 标记的技术程序** 简单化的操作程序是较为理想的, 便于高通量实施, 可明显提高育种效率。

**1.1.4 标记的多态性水平** 理想的标记应该是高多态性的, 在不同基因型之间存在明显的差别, 尤其对核心育种材料更是如此。

**1.1.5 标记应用费用** 所应用标记的应该是高效率、低费用, 使MAS的操作性更强。

### 1.2 类型

简单重复序列(SSR)或微卫星是主要农作物中广泛应用的标记方法, 重复性好, 共显性、可遗传、相对简单便宜, 且具高多态性。SSR标记的唯一缺点是要跑聚丙烯酰胺电泳, 尽管多个标记可以同时筛选, 但获得的信息是单位点的。SSR标记也需要一定的时间和费用, 在一些孤生作物中, 大量的SSR标记构建高密度遗传图谱也是不可行的。序列标签位点(STS)、序列特征扩增区域(SCAR)、单个核苷酸多态性(SNP)均来自特异性DNA标记序列(如RFLP), 连锁于相关性状基因和数量性状(QTL), 在MAS中应用极端有效<sup>[3-5]</sup>。

## 2 MAS成功应用的前提条件

作物相关性状特异高效分子标记是MAS操作的关键基础。MAS成功与否主要决定于准确定位QTL/主效基因的多态性标记遗传图谱、标记与QTL/基因间的紧密连锁程度、标记和基因组间有一定的重组率等<sup>[6]</sup>。MAS涉及基因辅助选择(包括利用标记

收稿日期: 2013-04-17

作者简介: 雍 军(1968—), 男, 甘肃临洮人, 农艺师, 主要从事农业技术推广工作。联系电话: (0)13119328542。

[2] 许文娟, 侯立白, 贾 燕. 农村区域发展专业实践教学体系的构建与实践 [J]. 高等农业教育, 2005(7): 55-57.

[3] 崔永福, 王贵彦, 段巍巍, 等. 加强实践教学培养新农村建设技能型管理人才——农村区域发展专业实践

教学改革探索[J]. 河北农业大学学报(农林教育版), 2007(12): 118-121.

[4] 赵小文, 杨祁峰. 现代农业技术及其经济性分析 [J]. 甘肃农业科技, 2007(2): 32-34.

(本文责编: 王建连)

定位目标基因的位置,寻找最友好型环境)、连锁不平衡MAS和连锁平衡MAS,后者是植物MAS中最富挑战性的。MAS的最终目标是寻找最感兴趣的等位变异基因和从分离群体中选择最理想的个体,这些个体以植物部分或全基因组等位组成为基础。

连锁于基因和QTL的众多DNA标记被报道<sup>[7]</sup>。从前认为来自初步定位的QTL标记可以直接应用于MAS,近年来认为初步定位的QTL的进一步肯定、验证和精细定位是有必要的<sup>[8]</sup>。虽然有一些例子证实有些初步定位的QTL标记是准确的,但因受诸多因素如取样的偏差等,QTL的位置和效应是不准确的<sup>[9]</sup>,理想的QTL验证是必要的。QTL的验证是指确认QTL在不同遗传背景下是有效的<sup>[8]</sup>,另外的标记实验是指在10 cm的窗口跨度间或QTL侧翼(在不同基因型中单个标记的多态性很有限)的标记工具箱或组合鉴定的涉入或把现有标记转化成为更为简单的鉴定方法。一旦一个与可靠性表型性状紧密连锁的标记被鉴定,这个标记就可应用于MAS。

但MAS的成功与否,也需要大田育种者和分子标记应用者相互了解沟通,最终默契合作。作物新品种选育涉及分子生物学、作物育种学、生物学和田间选种经验等知识,只有将其中涉及的各个环节和问题妥善解决,熟练操作MAS实验室技术和了解田间理想农艺性状植株选择标准非常有必要,也是MAS和传统育种结合培育优良农作物新品种的重要保证。

### 3 MAS选择的基本优势

传统作物育种主要基于杂交分离后代优良个体的表型选择,育种时间长(育成1个新品种,需要8~12 a的时间),而且也存在一定的缺陷,如基于表型选择方法,部分目标个体在多代选择中易于丢失,选择的盲目性较大,效率低;有些新品系往往在选育期间淘汰,新品系的推广难以保证。如抗条锈病小麦新品种的选育,从亲本的选择到一个新品系的获得,需要8 a以上的时间,最初抗病的材料因条锈菌生理小种变异,使其失去抗性而在推广之前已失去利用价值。有些性状难以通过表型性状选择,如选育材料的品质(面筋强度、颜色和质地等),只有通过一定的化学实验才能确定其品质优劣。隐性基因控制的性状,即使纯合基因型材料在田间辨认也存在一定的难度。因此,育种家极端感兴趣使选择过程高效化的新技术,并对MAS成为加速作物后代选择的有效工具已达成共识。

MAS比传统表型选择更直接,且节省时间和资源。在小麦抗虫育种中难以度量的典型性状是孢囊线虫和根结线虫的抗性<sup>[10~11]</sup>,其次就是品质

性状,需要昂贵的筛选程序。MAS选择能在苗期进行,尤其是对于生殖阶段表达的农艺性状非常有用,通过苗期选择对不想要的基因型可以尽早淘汰,缩小后代群体的规模。如水稻先育苗,后移栽在稻田,可利用分子标记对水稻的抗病性等性状进行分析,以淘汰不理想的个体,对水稻进行选择移栽等。MAS还被应用于单株选择。应用传统选择方法选择大部分性状,由于受环境影响单株的选择是不可靠的,植株性状是建立在基因型基础上,通过MAS可以选择单株,而传统选择方法对纯合体和杂合体不能区分。

以上MAS的优势能被育种工作者利用,可加快育种进程,目标基因型能被高效选择,有些性状能被快速跟踪,促进品系快速发展和推广<sup>[12]</sup>。标记辅助选择可作为表型选择的替代品应用,允许在淡季进行选种圃的选择,使选择更为高效,每年度可种植多代<sup>[13]</sup>。MAS的另一优点是缩小试验材料的群体规模,MAS选择后淘汰一部分材料,使小规模温室或田间试验成为可能。考虑到MAS的优势明显超过传统育种,几乎不会有人讨论标记不必要应用或更为有效,尽管标记在时间、经费和资源上需要可观的投入。对许多性状已经存在有效的表型选择,而且大群体选择花费较少,而当进行全基因组扫描、遗传控制被了解时,这些性状也能被选择。

## 4 MAS在作物育种中的应用状况及限制因素

### 4.1 MAS在作物育种中的应用状况

随着分子标记的快速发展,MAS在作物育种中的应用和成效更为明显。DNA标记在作物育种中的应用途径主要涉及种质资源的鉴定评价、重要农艺性状基因的标记定位和辅助选择、目标基因回交辅助选择、基因聚合、野生种基因转移跟踪、早代选择等方面。MAS应用的一个早期例子是Rakszegi等成功的从匈牙利品种Bankuti 1201中将谷蛋白基因转入一个新品系<sup>[14]</sup>。回交育种中成功的一个例子是将野生种抗病单基因转入栽培种,目的是减少连锁累赘<sup>[15]</sup>。另一个例子在印度和尼泊尔利用分子标记辅助选择改良雨养农业区水稻品种的耐旱性<sup>[16]</sup>。因科学、社会和经济等因素的限制,不同国家不同作物对MAS的应用程度不同<sup>[17]</sup>。应用水平与国家的经济实力有一定的关系,而与项目支持力度、基础设施和专业技术人员的比例直接关联。低水平经济国家仍然维持于常规育种阶段,高水平经济国家的情况也不尽相同。不同作物之间MAS的应用也存在很大的差异,水稻、玉米和小麦中应用较为广泛,而热带作物、豆类和小米等应用较为有限。

## 4.2 MAS在作物育种中的限制因素

MAS的应用受多方面因素影响,但必须要强调的是除了有效的科学和经济因素延误和阻止MAS的发展外,人力资源和重要农艺性状标记的有效性在一定程度上也限制了MAS的快速应用。分子育种工作者和常规育种人员之间缺乏交流,相互不了解和熟悉其工作的必要性,导致具备条件的单位不需要进行MAS操作,而专门进行基础研究;需要进行MAS技术的单位,不了解相应的标记应用程序,且缺少进行MAS操作的相关仪器设施。另外,农作物重要农艺性状标记的数量和有效性阻止了MAS的快速发展,如正式命名的小麦抗条锈病基因/QTL标记已超过53/135个<sup>[18]</sup>,除Yr18、Yr9、Yr26等基因的连锁标记,可应用于相应基因的辅助选择外,其余基因的标记很难在其辅助选择中应用。直到目前为止,尽管MAS在品种发展方面的冲击较小,但MAS的选择效率和潜力,品系的选育采用常规育种与MAS相结合,以分子标记选择代替表型选择或结合表型选择是今后作物育种的趋势。

## 5 结语

相对于传统育种, MAS优势很明显, MAS能极大地提高作物育种效率,但MAS与育种程序结合是必须的,需要强调的是MAS始终只能是育种的辅助选择手段。作物相关性状特异高效分子标记是其MAS操作的关键基础, MAS成功与否主要决定于相关性状QTL/主效基因的多态性标记在不同遗传背景材料中的可重复性、操作技术的熟练程度等。到目前为止, MAS在品种发展方面的作用较小。将重要分子标记辅助选择计划列入育种日程,可加快优异农作物新品种选育进程,提高育种效率。

## 参考文献:

- [1] WITCOMBE J R, VIRK D S. Number of crosses and population size for participatory and classical plant breeding [J]. *Euphytica*, 2001, 122: 451-462.
- [2] MOHLER V, SINGRUN C. General considerations: marker-assisted selection: Molecular marker systems (eds H. Lorz & G. Wenzel), [J]. *Biotechnology in agriculture and forestry*, 2004, 55: 305-317.
- [3] SHAN X, BLAKE T K, TALBERT L E. Conversion of AFLP markers to sequence-specific PCR markers in barley and wheat [J]. *Theor. Appl. Genet.*, 1999, 98: 1072-1078.
- [4] SANCHEZ A C, BRA, D S, HUANG N, *et al.* Sequence tagged site marker-assisted selection for three bacterial blight resistance genes in rice [J]. *Crop Sci.*, 2000, 40: 792-797.
- [5] SHARP P J. Validation of molecular markers for wheat breeding [J]. *Aust. J. Agric. Res.*, 2001, 52: 1357-1366.
- [6] IBITOYE D O, P E AKIN-IDOWU. Marker-assisted-selection (MAS): A fast track to increase genetic gain in horticultural crop breeding [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2010, 9(52): 8889-8895.
- [7] FRANZIA E, TACCONI G, CROSATTI C, *et al.* Marker assisted selection in crop plants [J]. *Plant Cell Tissue Org.*, 2005, 82: 317-342.
- [8] LANGRIDGE P, LAGUDAH E, HOLTON T, *et al.* Trends in genetic and genome analyses in wheat: a review [J]. *Aust. J. Agric. Res.*, 2001, 52: 1043-1077.
- [9] MELCHINGER A E, UTZ H F, SCHON C C. Quantitative trait locus (QTL) mapping using different testers and independent population samples in maize reveals low power of QTL detection and large bias in estimates of QTL effects [J]. *Genetics*, 1998, 149: 383-403.
- [10] EAGLES H, BARIANA H, OGBONNAYA F, *et al.* Implementation of markers in Australian wheat breeding [J]. *Aust. J. Agric. Res.*, 2001, 52: 1349-1356.
- [11] ZWART R S, THOMPSON J P, GODWIN I D. Genetic analysis of resistance to root-lesion nematode (*Pratylenchus thornei*) in wheat [J]. *Plant Breed*, 2004, 123: 209-212.
- [12] Morris M, Dreher K, Ribaut J. *et al.* Money matters (II): costs of maize inbred line conversion schemes at CIMMYT using conventional and marker-assisted selection [J]. *Mol. Breed*, 2003, 11: 235-247.
- [13] RIBAUT J M, HOISINGTON D. Marker-assisted selection: new tools and strategies [J]. *Trends Plant Sci.*, 1998, 3: 236-239.
- [14] RAKSZEGI M, LA'NG L, BEDO Z. Development of wheat genotypes for organic farming using classical and molecular marker assisted selection techniques (o'koló'gi-ai gazda'lkoda'sra alkalmas bu'za genotí'pusok szelekció'ja molekula'rias e's hagyoma'nyos nemesít'essel). In: Bedo Z, Kovács G (eds) *Organic breeding and farming of cereals* [M]. Hungarian: Agroinform Publishing House, 2006: 79-85.
- [15] WERNER K, FRIEDT W, ORDON F. Strategies for pyramiding resistance genes against the barley yellow mosaic virus complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2) [J]. *Mol. Breed*, 2005, 16: 45-55
- [16] STEELE KA, VIRK DS, PRASAD SC, *et al.* Combining PPB and marker-assisted selection: strategies and experiences with rice [J]. *Crop Sci.*, 2004, 44: 1560-1571.
- [17] RIBAUT J M, MC DE VICENTE, X DELANNAY. Molecular breeding in developing countries: challenges and perspectives [J]. *Plant Biology*, 2010, 13: 1-6.
- [18] 任妍. 普通小麦抗条锈病基因分子定位 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.

(本文责编: 杨杰)