

与苹果农艺性状相关联的 DNA 分子标记研究进展

成 钢, 卢 华 英

(山西农业大学园艺学院 太谷 030801)

摘 要:就 DNA 分子标记在苹果抗性、矮化、果实色泽、酸度几个农艺性状上的研究进展进行了综述, 以期对苹果遗传育种提供参考。

关键词: 苹果; 农艺性状; 分子标记

中图分类号: S 661.1; S 603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)07-0068-03

苹果 (*Malus domestica* Mill) 是世界重要水果之一, 在我国加入世贸组织以来, 其产业竞争更加激烈, 对其品质有了更高的要求, 因此, 培育优质、高产、高抗的苹果品种是当前乃至将来苹果育种面临的重要课题。但果树生命周期长, 树体高大, 且大多数是高度杂合类型, 遗传复杂, 许多重要的经济性状是受多基因控制的数量性状, 这就决定了果树育种周期长, 效率低, 难度大, 然而建立在 DNA 水平之上的分子标记技术的出现为果树遗传育种开辟了一条新的途径。

1 抗黑星病

苹果黑星病是由真菌 *Venturiainaequalis* 引起的在苹果生产上较为严重的病害。生产上抗菌素等药物的大量使用, 不但严重污染环境, 而且导致病原菌抗性的产生。因此, 将抗病基因导入栽培品种就成为现代苹果育种的一个主要目标。

1994 年, Gianfranceschi 等就试图用 RAPD 技术寻找与 Vf 连锁的分子标记。Koller 等 (1994) 报道了与 Vf 紧密连锁的两个 RAPD 标记: OPM18/900、OPU1/400, 它们与 Vf 的重组值分别为 10.6% 和 19.7%。后来, Yang 等发表了第一个苹果抗黑星病基因的 DNA 分子标记 OPD20/600。Yang 等 (1997) 研究报道表明, 标记 OPK16/1300 与 Vf 的连锁距离为 4.3 cM。后来, 他们又筛选到与 Vf 更近的标记 OPAR4/1400, 二者之间的连锁距离仅为 3.6 cM。已报道 Vf 基因的 RAPD 标记有很多, 如 OPA15/900、OPAM19/2200、OPAL07/580、OPC09/900、OPC08/1100、OPAB19/1430、S5/2500、B505/1700、S29/1150、P198/750 和 B398/480 等。但 RAPD 标记的可靠性、稳定性较差, 但随着分子标记不断的发展, 不少学者正在努力将 RAPD 标记转化为 SSR、SCAR 等稳定性较好的标记技术。董艳玲等 (2005)

对苹果黑星病菌 SSR 反应体系进行了优化研究, 这就为以后的研究工作奠定了一定的基础。

2 抗蚜虫

蚜虫 *Dyscaphisdevectora* 是危害苹果生产的一种害虫, 它对苹果产业的发展造成很大的影响。寻找蚜虫的抗性资源, 并且在苹果育种中加以应用, 是很好的措施。Roche 等 (1997) 用 *D.devectora* 的易感品种 Prima (sd1sd1) 和抗性品种 Fiesta (Sd1sd1) 的杂交群体为试材进行分析, 找到了 3 个与 Sd1 紧密连锁的 RFLP 标记 (MC064a、2B12a 和 MC029b)。它们的连锁距离在 2 cM 以内。另外, 还找到了 4 个 RAPD 标记, 它们与 Sd1 的连锁距离在 13~16 cM 之间。RFLP 标记较复杂, 在后来的研究中又将 2B12a 转化成 SCAR 标记, 并在抗性类型上得到成功的验证。

3 抗白粉病

苹果白粉病是由子囊菌纲的 *Podosphaera leucotricha* 引起的严重病害, 其危害程度类似于苹果黑星病。因此, 抗白粉病苹果品种的选育也是当今苹果育种的主要目标之一。Markussen 等 (1995) 用 RAPD 结合 BSA 法, 找到 7 个与 Pli 基因连锁的标记。其中最近的 OPAT20/450 和 OPD2/1000 分布在 Pli 位点的两侧, 它们与 Pli 基因的连锁距离分别为 4.5 和 5.0 cM。

4 耐盐性

在盐碱地或由于施肥不当引起的盐化土壤中, 苹果的生长发育受到很大限制, 并且影响到果实品质和产量, 因此, 对苹果耐盐性进行研究是很有必要的。孙宁等 (2004) 对由诱变获得的苹果砧木 78-48 耐盐变异细胞系再生植株进行多代盐筛选, 获得耐盐性稳定的突变体。并对突变体进行了 RAPD 分析, 153 个引物中有 36 个引物扩增出多态性, 证明突变体在基因上发生了变化, 为耐盐突变体的真实性提供了证据。

5 矮化

目前, 果树生产栽培密植矮化是一种较为先进高端

第一作者简介: 成钢 (1982-), 男, 山西长治人, 在读硕士研究生, 主要研究方向为果树设施栽培, E-mail: cgtg1982@163.com。

收稿日期: 2007-03-05

的生产技术,而苹果柱型性状是适于矮化密植的重要质量性状之一。柱型性状最早是来自旭苹果的一个突变 Wijcik McIntosh。这种树型可抑制侧生中长枝的发生和树体的高度,促进短枝的萌发因而特别适合于高密度栽植。Wijcik McIntosh 的这些特点使它成为培育树型更加紧凑品种的一个重要资源。

田义轲等(2003)以短枝富士×舞姿的 F₁ 群体(共 106 株)为试材,利用 RAPD 技术,结合集群分类分析法,进行了苹果柱型基因(Co)连锁的分子标记研究,获得了与 Co 基因连锁的 RAPD 标记 S1065-437,该标记与 Co 位点的连锁距离为 8.66 cM。朱元娣等(2003)以普通型苹果品种‘富士’和柱型苹果‘舞姿’以及其杂交后代的柱型与非柱型实生苗为试材,获得了 35 个 ISSR 标记,其中 33 个标记呈现 1:1 分离,可用于苹果柱型基因的遗传分析。王彩虹等(2002)将苹果柱型基因的一个 AFLP 标记成功地转换成了简单实用的 SCAR 标记。此外,还发现了 1 个显性矮化主基因 DW。毕晓颖等(2002)获得 DW 的 RAPD 标记 OPE15-1001,距离仅为 0.69 cM。张开春等(1999)获得 2 个 DW 基因连锁的 RAPD 标记 F04-800 和 F03-1150,且与 DW 基因的连锁距离分别是 14.0 cM 和 25.5 cM。

6 果实色泽

果实色泽既是果实品质优劣的一个重要部分,同时也是苹果育种工作中的一个关键性状。Cheng (1996)等用 Rome Beautywhite Angle 的分离群体为试材,发现了与红色性状相关的两个片段和与黄色性状相关的两个片段。赵静等(2006)对与苹果果皮红色性状相关的 RAPD 分子标记进行了研究,共获得 4 个 RAPD 标记,期间采用了双标记组合分析方案,在很大程度上提高了标记的准确性。

7 果实酸度

果实的品质包括外在品质和内在品质,果实酸度是内在品质之一,是育种工作中不可忽视的指标之一。姚玉新等(2006)以 91 株‘东光’和‘富士’的正反交 F₁ 代群体为试材,测定了成熟果实可滴定酸含量和果实不同发育阶段苹果酸含量的变化,从表型上分析了苹果酸的遗传规律。并且筛选出一个与果实酸/低酸性状连锁的 SSR 标记 SDY085,遗传距离为 8.89 cM,通过表型分析和标记分析都表明苹果果实酸/低酸性状由一对主效基因 Ma/ma 控制,并且 Ma 对 ma 为完全显性,而酸个体中苹果酸的连续分布则是加性多基因作用的结果。

8 结语

DNA 标记技术对重要的经济性状进行标记,有助于加快育种进程,提高育种效率,节省资源,然而在苹果研究上应用的分子标记种类还不够,许多标记需要进一

步的研究与开发,避免使用一种标记的缺陷。在以后的研究工作中应积极寻找与经济性状紧密连锁的分子标记;注重质量性状研究,加强 QTL 作图;加快育种研究步伐,努力缩短与其它作物研究间的差距。此外,mRNA 差异显示技术可以用来获得某些重要性状的 cDNA 标记,进而克隆目的基因,这为果树性状分子标记的获得及应用提供了值得重视的新途径。

参考文献

[1] 王玖瑞,刘孟军.果树重要性状的 DNA 标记研究进展[J].生物技术,2003,13(6): 57.

[2] 赵静,田义轲,王彩虹,等.与苹果果皮红色性状相关的 RAPD 分子标记的筛选[J].果树学报,2006,23(2): 165-168.

[3] 田义轲,王彩虹,张继封,等.一个与苹果柱型基因 Co 连锁的 RAPD 标记[J].西北植物学报,2003,23(12): 2176-2179.

[4] 朱元娣,李光晨,李春雨,等.苹果柱型基因的 ISSR 分子标记研究[J].园艺学报,2003,30(5): 505-510.

[5] 王彩虹,王倩,戴洪义,等.苹果柱型基因 Co 的一个 AFLP 标记的 SCAR 转换[J].园艺学报,2002,29(2): 100-104.

[6] 孙宁,孙建设,李增裕.苹果砧木耐盐突变体的筛选鉴定及 RAPD 分析[J].河北农业大学学报,2004,27(5): 37-40.

[7] 董艳玲,胡小平,杨家荣,等.苹果黑星病菌 SSR 反应体系的优化[J].西北植物学报,2005,25(6): 1148-1152.

[8] 姚玉新,翟衡,赵玲玲,等.苹果果实酸/低酸性状的 SSR 分析[J].园艺学报,2006,33(2): 244-248.

[9] 王彩虹,束怀瑞.利用分子标记研究苹果资源与基因组的进展[J].果树学报,2001,18(2): 104-109.

[10] 刘遵春,包东娥,张传来. RAPD 技术及其在果树研究上的应用[J].河南科技学院学报(自然科学版),2005,25(3): 50-62.

[11] 张桂霞,陈静,王文江,等. AFLP 技术及其在果树上的应用研究进展[J].河北农业大学学报,2003,26(增刊): 60-63.

[12] Gianfranceschi L,McDemott J M,Seglias N et al. Towards a marker assisted breeding for resistance against apple scab[J]. Euphytica,1994,77: 93-96.

[13] Yang H Y, Kutiger J. Identification of an RAPD marker linked to the Vf gene for scab resistance in apples[J]. Plant Breed,1994,112: 323-329.

[14] Yang H Y, Korban S S, Krger J, et al. The use of a modified bulk segregant analysis to identify a molecular marker linked to a scab resistance gene in apple[J]. Euphytica,1997,94: 175-182.

[15] Yang H Y, Korban S S. A randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers tightly linked to the scab resistance gene Vf in apple[J]. J Amer Soc Hort,1997,1(1): 47-52.

[16] Cheng F S, Weeden N F, Brown S K. Identification of codominant RAPD markers tightly linked to fruit skin color in apple[J]. The Appl Genet,1996,93: 222-227.

[17] 毕晓颖,吴禄平,安利佳.一个苹果属显性矮生主基因 DW 连锁的 RAPD 标记[J].园艺学报,2002,29(1): 1-4.

[18] Markuse N T, Kruger J, Schmidt H. Identification of PCR-based markers linked to the powdery-mildew-Resistance gene pld from malus robusta. In cultivated apple[J]. Plant Breeding,1995,114: 530-534.

[19] Roche P, Alston F H, Maliepaard C. RFLP and RAPD markers linked to the voss leaf curling aphid resistance gene(scl1) in apple[J]. Theor Appl Genet,1997,94: 528-533.

豆科甘草属植物研究进展

孔 红, 闫训友, 史振霞

(河北省廊坊师范学院生命科学院, 065000)

摘 要: 对甘草属植物分类学、生理学及资源开发利用三方面的研究进行了综述, 并在此基础上, 提出了今后的研究方向。

关键词: 甘草属; 分类学; 生理学; 植物资源; 开发利用

中图分类号: S 541⁺.9 **文献标识码:** A

文章编号: 1001-0009(2007)07-0070-03

豆科(Leguminosae)甘草属(*Glycyrrhiza*)植物为多年生草本, 分布在北纬 37°~47°, 东经 73°~125°之间, 跨纬度 10°, 经度 52°。地理分布跨度较大, 垂直分布在海拔 250~1 400 m 之间, 主要产地在中亚、北美及东欧, 尤以中亚及地中海沿岸为分布中心。我国地处甘草分布中心地带, 集中分布于东北、华北和西北各省区, 以新疆、内蒙古、宁夏和甘肃为中心产区^[1]。甘草属植物药用历史悠久, 是最常用的中草药材之一, 有“十方九草”之称^[2]; 还可防风固沙, 保持水土, 是维护干旱地区生态环境的重要植物; 此外, 还具有饲用、绿肥等作用, 作为添加剂在食品和日用化工等行业也被广泛应用^[3-5]。由于甘草属植物具有以上重要的经济价值, 因此, 有关该属的研究非常广泛, 现就其研究现状加以综述。

1 甘草属植物分类学研究进展

第一作者简介: 孔红(1964-), 女, 教授, 硕士, 主要从事植物学研究, E-mail: tssy_kh@sina.com。

基金项目: 廊坊师范学院科学研究资助项目(1S200505)。

收稿日期: 2007-02-12

1.1 经典分类

甘草属由林奈于 1737 年在《植物属志》中正式命名, 并记载了 3 种。到 20 世纪初期, 又有 4 种相继发表。自 20 世纪中叶以来, 随着甘草属种类的增多, 逐渐开展了有关分类系统的研究。1954 年, 前苏联植物学家瓦西里琴科将苏联分布的 12 种划分为 5 组: Sect. I Bucharica, Sect. II Glabra, Sect. III Aspera, Sect. IV Uralensis, Sect. V Echinata。1955 年, 克鲁甘诺娃根据甘草属植物的根和根茎是否味甜, 划分为 2 组: Sect. I Euglycyrrhiza 和 Sect. II Pseudoglycyrrhiza。我国学者对甘草属的系统分类也进行了深入研究。1963 年, 李沛琼根据荚果是否膨胀及膨胀的程度、根和根茎是否含甘草糖分为 3 组: Sect. I Glycyrrhiza, Sect. II Glycyrrhizapsis 和 Sect. III Meristotropis。1993 年, 李学禹根据甘草属植物的根、根茎是否有甘草甜素(Glycyrrhizin)、甘草酸(Glycyrrhizic acid)或甘草次酸类(Glycyrrhizic acid)化合物与子房内胚珠数目和荚果内种子数、荚果长短等进行了系统分类, 将其划分为 2 组: Sect. I Glycyrrhiza 和 Sect. II Aglycyrrhizin, 5 系, 共计 29 种, 6 变种, 其中我国产 17~18 种, 3 变种^[6], 但杨昌友对此分类及一些新种提出异议^[7]。1998 年出版的《中国植物志》第 24 卷第 2 分册, 记载全世界甘草属约有 20 种, 我国分布 8 种^[1]。

1.2 细胞学研究

文献报道甘草属植物的染色体数目均为 $2n=16^{[8-13]}$ 。核型分析报道较少, 刘丽莎等报道乌拉尔甘草的染色体核型组成具 1 对中部着丝点染色体, 7 对端着丝点染色体^[11]。孔红等报道 2 种甘草的染色体核型均由中部着丝点染色体组成, 为较原始的核型类型^[12]。较为系统的研究是李学禹对国产甘草属 11 种、1 变种作了染色体核型分析, 核型组成都以中部和近中部着丝粒染色体为主, 但没有任何两种的染色体核型完全相同^[13]。史荣刚对上述核型进行了数量分析, 并结合形态学和生态学, 发现核型在种内不同居群之间的分化有时比种间更显著, 因而不应作为确定种的主要依据^[14]。

Molecular Markers and Its Application of Agronomic Trait Gene on Apple Trees

CHENG Gang, LU Huaying

(College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801)

Abstract: The application of molecular marker on the apple has already got great achievements. This paper mainly summarized the DNA molecular marker on apple resistance, dwarfism, color and acidity of fruits, in order to looking forward to providing references for apple's breeding.

Key words: Apple; Agronomic trait; Molecular markers