

·学科进展·

稻麦玉米重要基因的鉴定、发掘和 高效率利用途径研究

秦发兰 张启发

(华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室,武汉 430070)

[摘要] 针对我国粮食生产的国家目标,应用基因组研究的最新成果,集中探讨与水稻、小麦、玉米3大作物改良密切相关的杂种优势的遗传基础,上位性遗传效应,基因效应与环境互作,重要基因的比较基因组分析等重大科学问题。

[关键词] 基因组研究,育种

1 立项背景

进入新的世纪,我国的农业和粮食生产面临的挑战十分严峻。有研究预测,到2030年我国将出现人口高峰,达16亿之多。而国际政治、经济和农业生产的形势及各种其他条件都决定了中国人必须养活自己,为达到这一目的,在未来的30年内我国粮食产量必须增加60%—80%。国内外的统计资料一致表明,品种改良在作物增产作用中的贡献率一般占40%以上,因此提高产量的根本途径在于品种改良,而突破性新品种育成的关键在于优异种质的成功利用。

水稻、小麦和玉米是我国主要粮食作物,种植面积占全国粮食作物总面积的近75%,产量超过全国粮食总产的85%。然而,近十几年来,这些主要作物的产量潜力均出现了徘徊局面,新育成品种虽然数量不少,但产量水平无明显突破。作物育种界一致认为,造成这一局面的主要原因是由于传统方法对新种质的发掘和利用的效率较低,在育种工作中新种质的利用较少。

2 国内外研究现状及发展趋势

2.1 稻麦玉米基因组研究现状

自80年代后期以来,美国、欧洲、日本及我国先后开展了农作物基因图谱的研究,各大作物的分子

标记连锁图相继面世^[1]。以水稻为例,1994年底,美国康奈尔大学和日本水稻基因图谱研究组同时发表了他们各自构建的分子标记遗传连锁图,其分子标记的总数共有2000余个,覆盖水稻基因组的总长度约为1600cm,即水稻基因组平均每厘米上就有了1个以上的分子标记。北美、西欧和设在墨西哥的国际玉米小麦改良中心都相继开展了小麦、玉米基因组研究,进展十分迅速。如美国UMC玉米基因组研究组至1997年所构建的连锁图上分子标记总数达2839个,覆盖玉米基因组1880cm。与此同时,国际上还建立了一系列的分子标记技术、基因克隆技术,一批重要的农艺性状基因已被定位与标记,已有10余个作物重要的基因被克隆。

我国在“八五”期间也实施了水稻基因组计划,并取得了较大的进展。几年来已有几张分子标记连锁图问世,并定位了30多个重要基因,对一些组织特异表达的cDNA开展了测序工作,构建了大片段基因组文库,并制作了全基因组物理图^[2]。我国科学家还应用分子标记鉴定种质资源^[3,4],剖析杂种优势的遗传学基础研究^[5,6],取得了一批在国际上有一定影响的重要成果。此外,在国家“863”、自然科学基金等项目的资助下,“八五”期间我国也已开展小麦、玉米的重要农艺性状基因标记、遗传作图、种质资源的遗传多样性分析等方面的研究,并取得了较好的成绩。但是,由于资助范围及资助强度的

* 国家自然科学基金“九五”重大项目。
本文于1999年5月7日收到。

限制,研究工作比较分散,规模太小。这一局面不仅与我国的小麦、玉米生产在世界上的地位不相称,也与这2种作物在我国粮食生产中的重要地位不符,严重限制了这2大作物的科学研究和品种改良的进展。

2.2 基因组研究对作物遗传改良的潜在影响

(1) 数量性状遗传学基础的剖析

作物品种改良所涉及的性状大都是遗传基础十分复杂的数量性状。基因组研究所带来的一个重要进展是对数量性状的遗传基础的剖析和数量性状位点(QTL)的定位提供了手段^[7]。在水稻、玉米、小麦等主要作物中,已有大量的关于应用分子标记作QTL定位和数量性状遗传分析的报道。QTL能够在基因组中被分别定位的事实,向人们展示了可以通过对单个QTL的操作来改良诸如产量、品质等复杂的数量性状的前景^[8]。

水稻研究的最新结果表明,上位性效应广泛存在于基因组中,在数量性状的表达中起着重要作用^[6,9]。而上位性的存在,则往往使基于单个位点的QTL分析得出不准确甚至完全错误的信息^[6]。因此,在数量性状遗传基础的研究中应对上位性效应引起足够的重视。

(2) 杂种优势的遗传基础的阐明

由于杂种优势的利用在作物改良中的极端重要性,其遗传基础的研究长期以来一直受到高度重视。本世纪初曾提出了关于杂种优势的“显性假说”和“超显性假说”^[10,11]。其后几十年中,虽有不少学者倾向于一种或他种学说^[12],然而真正能对这些假说进行检验的实验数据的获得则是近年随着分子标记应用于QTL研究之后的事情。Stubber等人^[13]的玉米研究结果认为超显性效应在杂种优势的形成中有着重要作用,Xiao等人^[14]对水稻亚种间组合的研究结果认为显性效应是杂种优势的主要遗传基础。最近我国学者在对强优势水稻杂交组合“珍汕97/明恢63”的研究中则检测到大量上位性效应的存在,并据此认为上位性效应在杂种优势形成中起着主要作用^[6]。

虽然结果不尽一致,但这些研究表明的一个共同的事实是,分子标记的确能为揭示杂种优势的遗传基础提供方法和途径。进一步的研究应致力于恰当的实验设计的应用和发展恰当的统计分析模型,以阐明杂种优势的遗传基础。其中应充分重视上位性遗传效应。

(3) 基因效应与环境互作的认识

基因型与环境的互作是影响品种适应性的主要因素,半个多世纪以来在植物育种界受到普遍关注^[15]。在过去的几十年中虽然作了大量研究,但所得到的结果充其量也只能对单个品种的适应性作出评价,而对于影响品种适应性的基因效应却一无所知。近年国际国内应用分子标记对多年多点实验群体研究的数据已可看出的确存在与环境显著互作的基因位点即QTL^[6,16],表明应用分子标记分析将有可能揭示品种适应性的遗传基础并鉴别与环境互作的基因位点。然而,由于方法上的限制,已有研究尚未能对各种基因效应与环境的关系进行恰当的分析。而且对多年多点田间实验作分子标记分析的研究结果目前还不多见。因此,对各种基因效应与环境互作的程度和方式至今还知之甚少。

(4) 重要基因的鉴定、发掘和分子标记定位

作物品种产量潜力的一个重要限制因素是病虫害和逆境影响。据统计,在水稻、小麦、玉米等主要作物中,因病虫害所造成的减产常年达15%—20%左右。随着生态环境的恶化,各种不利环境条件对产量的影响越来越成为突出问题。以南方稻区为例,红壤和长期使用化肥所造成的土壤酸性加重,亚铁和铝的毒害,使得一些优良品种难以发挥其应有的产量潜力。

近年来,国内外在应用分子标记研究作物的抗病虫和逆境方面做了大量的工作,我国科学工作者在稻、麦、玉米方面都鉴定和定位了一批抗(耐)性强、利用价值大的优良基因,还找到了与其中一些基因紧密连锁的分子标记,为这些作物高效率定向改良创造了条件。迅速合理有效地利用这些基因,将有可能在近期内提高我国作物品种对病虫和逆境的抗(耐)性水平,促进产量潜力的发挥。

(5) 分子标记辅助选择育种

在应用研究方面,作物基因组研究带来的一个重大进展是提出了一种新的育种方法-分子标记辅助选择育种。该方法能够克服传统育种方法周期长、效率低、预见性差的缺点,是育种方法上的一个重大突破,国际上目前在抗病基因转移、品质改良等方面均有成功的例子。美国一些种子公司在玉米中采用分子标记辅助选择已培育出了很多育种材料。国际玉米小麦研究中心正在采用分子标记辅助选择开展玉米耐旱、抗虫性状的种质改良。在水稻中,日本、国际水稻所正在运用分子标记辅助选择转移抗病基因。我国科学工作者在水稻中也已开展了应用分子标记辅助选择改良杂交稻白叶枯病抗性的研究

工作。预计在今后的2—3年中会有对主基因改良的品种应用于生产。总体看来,对主基因进行辅助选择的技术条件现已完全成熟^[17]。进一步研究的重点应是加强优异种质资源的发掘、鉴定与定位,以使得分子标记辅助选择技术在作物改良中发挥广泛的作用。

但是对于诸如产量、品质等遗传基础比较复杂的性状如何进行分子标记辅助选择,目前尚无可操作性较好的方法。要使得农作物品种改良的理论、方法和效率产生一个大的飞跃,必须加强对QTL分析结果和基因组研究成果的综合利用的研究。

(6)不同作物种、属间基因组结构与功能的比较分析

近年来植物基因组研究的一个重要发现是水稻、小麦、玉米等禾谷类作物基因组间的高度同源性^[18—20]。禾谷植物基因组在染色体许多大片段乃至一些染色体臂上都存在基因排列的共线性(colinearity),此外在许多区段上还存在局部同源性(synteny)^[21]。一种禾谷植物几乎所有的染色体片段均可在其他禾谷中找到同源片段。这一发现对这些作物的连锁图绘制,基因鉴定、定位与分离克隆均具有重要的意义,使得不同作物的基因组研究相互促进,紧密联系,研究结果可以共享。禾谷类植物基因组的这种高度相似性和同源性使得这些植物基因组的研究在很大程度上已跨越了作物种、属的界限。1995年,美国及欧洲在水稻基因组计划、小麦基因组计划、玉米基因组计划的基础上,实施了禾本科作物的基因组计划,并且在短短的2年时间内取得了重大进展。

进一步需要了解的还有与育种有关的如高产、抗病、抗虫、抗逆等重要基因在不同作物基因组中分布的相似性。根据目前对基因效应的认识,还希望知道与诸如上位性、环境互作等重要效应有关的基因位点的分布情况。这些信息的获得无论是对基因组结构与功能的理解,还是对作物品种改良的实践均有重要意义。

2.3 数量性状基因的定位方法和统计模型

Lander等人^[22]提出的区间定位(interval mapping)的方法及其制作的向全世界免费提供的分析软件,使得全面地利用高密度分子标记连锁图进行数量性状基因位点(QTL)的定位成为可能。近年来,很多学者又对QTL定位方法提出了各种改进^[23]。这些定位方法发展连同许多高密度分子标记连锁图的问世大大地促进了QTL定位的研究进

展。在水稻、小麦、玉米等作物中,已有一大批数量性状基因被定位到连锁图上。

现有各种定位方法的一个共同问题是这些方法均是基于简单的数量性状遗传模型(即加性-显性模型),并假定基因间独立遗传。然而,近来的研究结果表明,在数量性状的遗传中普遍存在基因间的互作,即上位性效应。此外,很早人们就知道作物品种存在基因型与环境的互作,根据近年应用分子标记的研究结果,又有理由相信能够找到与环境互作的QTL。但是,目前的方法和模型尚不允许对这些复杂的遗传现象进行剖析。因此,对QTL定位方法和模型,还必须加强研究,以使其能较好地描述这些复杂现象的遗传本质。

3 预期研究成果展望

(1)杂种优势的遗传学基础。我国在水稻方面现有工作基础目前已处于国际学科前沿。我们今后的研究可望比较透彻地阐明杂种优势的遗传学基础,从而使我国在这一学科领域比较全面地进入国际学科前沿。

(2)上位性遗传效应。我国现有工作基础也已处于国际学科前沿。我们今后的研究将允许在3大作物中检验上位性遗传效应。水稻研究还将允许对多位点互作的高阶上位性进行检验。这将有望使我国在这一方面的研究比较全面地处于国际学科前沿。

(3)基因效应与环境互作。本研究所规划的联合田间试验,无论是规模还是深度在应用分子标记作数量性状定位研究中在国际上均是空前的,这一研究所获得的结果将在国际上这一领域的研究中有着开创性的意义。

(4)3个作物基因组、QTL和遗传效应的综合比较。目前国际上尚无而且短期间也不可能有关于不同作物种、属间QTL及其他遗传效应(如上位性、基因与环境互作等)综合比较的研究工作的报道,本研究将获得的结果可能在国际上具有开创性意义。

(5)所研究的定位方法和统计分析模型将对国际上现有方法和模型有重要发展。

(6)研究所发掘、鉴定出的一些优良抗性基因将会在相应的育种工作中有重要应用前景。

上述研究成果的获得将大大地加强人们对一些与作物改良直接相关的重大遗传学问题的认识,在此基础上,提出应用分子技术高效率进行作物品种改良的策略和方法,推动品种改良中生物技术与常

规技术的紧密结合,从而全面提高我国作物育种水平。

参 考 文 献

- [1] O'Brien S J. Genetic Maps. Book 6, Plants. Cold Spring Harbor Lab. Press. 1993.
- [2] Hong G, Qian Y, Tao Q et al. A 120 kilobase resolution contig map of the rice genome. *DNA Sequence*. 1997, **7**:319—335.
- [3] Yang G P, Saghai Maroof, M A, Xu C G et al. Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice. *Mol. Gen. Genet*, 1994, **245**:187—194.
- [4] Liu K D, Yang G P, Zhu S H et al. Extraordinarily polymorphic ribosomal DNA in wild and cultivated rice. *Genome*, 1996, **39**:1109—1116.
- [5] Zhang Q, Saghai Maroof M A, Yang G P et al. Relationship between molecular marker polymorphism and hybrid performance in rice. In: Khush G S. ed. *Proceedings of the 3rd International Rice Genetics Symposium*. Manila: Philippines, 1995, 317—326.
- [6] Yu S B, Li J X, Xu C G et al. Importance of epistasis as the genetic basis of heterosis in an elite rice hybrid. *Proc. Natl. Acad. USA*, 1997, **94**:9226—9231.
- [7] Paterson A H, Lander E S, Hewitt J D et al. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. *Nature*, 1988, **335**:721—726.
- [8] Tanksley S D. Mapping polygenes. *Annu. Rev. Genet*, 1993, **27**:205—233.
- [9] Li Z, Pinson S R M, Park W D et al. Epistasis for three grain yield components in rice (*Oryza sativa* L.). *Genetics*, 1997, **145**:453—465.
- [10] Devenport C B. Degeneration albinism and inbreeding. *Sicence*, 1908, **28**:454—455.
- [11] Shull G H. The composition of a field of maize. *Am. Breed. Assoc.* 1908, **4**:298—301.
- [12] Shinha S K, Khama R. Physiological, biochemical, and genetic basis of heterosis. *Adv. Agron*, 1975, **27**:123—124.
- [13] Stuber C W, Lincoln S E, Wolff D W et al. Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from elite maize inbred lines using molecular markers. *Genetics*, 1992, **132**:823—839.
- [14] Xiao J, Li J, Yuan L et al. Dominance is the major genetic basis of heterosis in rice as revealed by QTL analysis using molecular markers. *Genetics*, 1995, **140**:745—754.
- [15] Allard R W, Bradshaw A D. Implications of genotype - environmental interactions in applied plant breeding. *Crop. Sci.*, 1964, **4**:503—508.
- [16] Tinker N A, Mather D E, Rossnagel B G et al. Regions of the genome that affect agronomic performance in towrow barely. *Crop. Sci.*, 1996, **36**:1053—1062.
- [17] Zhieng K, Huang N, Bennet J et al. PCR-based marker-assisted selection in rice breeding. *IRRI Discussion Paper Series*, 1995, No. 12. IRRI.
- [18] Ahn S, Tanksley S D. Comparative linkage maps of the rice and maize genomes. *Proc. Natl. Acad. USA*, 1993, **90**:7980—7984.
- [19] Moore G, Devos K M, Wang Z et al. Grasses, line up and form a circle. *Current Biology*, 1995a, **5**:737—739.
- [20] Moore G, Foote T, Helentjaris T et al. Was there a single ancestral cereal chromosome? *Trends Genet*, 1995b, **11**:81—82.
- [21] Saghai Maroof M A, Yang G P, Maughan R M et al. Analysis of the barley and rice genomes by comparative RFLP Linkage mapping. *Theor. Appl. Genet*, 1996, **92**:541—551.
- [22] Lander E S, Botstein D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*, 1989, **121**:185—199.
- [23] Zeng Z B. Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics*, 1994, **136**:1457—1468.

STUDIES ON THE APPROACHES TO IDENTIFICATION, EXPLOITATION AND HIGHLY EFFICIENT UTILIZATION OF IMPORTANT GENES IN RICE, WHEAT AND MAIZE

Qin Falan Zhang Qifa

(National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

Abstract The project discussed in this paper: (1) to enhance the understanding of genetic basis of high yielding, good quality and strong heterosis of rice, wheat and corn, making use of the latest developments in plant genome research; (2) to assess the comparative distribution of genes for disease resistance and agronomic traits in different crop species; (3) to evaluate the extent and modes of QTL by environment interactions and determine the genetic basis of varietal stability; (4) to identify and map new disease resistance genes; (5) to develop new varieties by marker assisted selection and also to develop technical approaches to marker assisted selection of quantitative traits; (6) to develop new statistical models and new methods for gene mapping which will meet the needs of this project.

Key words genetics, breeding, germplasm