

陈美霞, 祁建民, 刘伟, 等. 麻类作物分子育种的研究现状与展望 [J]. 福建农业学报, 2012, 27 (7): 780—786.

CHEN M-X, QI J-M, LIU W, et al. Research Status and Prospect of Molecular Breeding of the Bast-fiber Crops [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 27 (7): 780—786.

## 麻类作物分子育种的研究现状与展望

陈美霞<sup>1,2</sup>, 祁建民<sup>1</sup>, 刘伟<sup>1,2</sup>, 徐建堂<sup>1</sup>, 祁伟<sup>1</sup>, 李爱青<sup>3</sup>, 栗建光<sup>4</sup>, 陶爱芬<sup>1</sup>, 牛小平<sup>1</sup>

(1. 福建农林大学作物遗传育种与综合利用省部共建教育部重点实验室, 福建 福州 350002; 2. 宁德师范学院, 福建 宁德 352100; 3. 安徽农业大学, 安徽 合肥 230001; 4. 中国农业科学院麻类研究所, 湖南 长沙 410205)

**摘要:** 麻类作物资源的保护和开发利用的成功依赖于对基因库资源遗传变异的数量、分布及其进化关系充分的了解和掌握。传统的研究方法有很大局限性, 分子标记的出现弥补了传统方法的不足, 成为现代科学的研究的有利工具。目前关于麻类作物的遗传背景知识相对有限, 但是对于作物育种又是必需的。一张高密度的遗传连锁图谱可以用于重要性状定位、重要基因克隆、比较基因组学研究和分子标记辅助育种。本文系统地论述了利用分子标记技术在6种麻类作物包括红麻、黄麻、亚麻、苎麻、大麻、剑麻的遗传连锁图谱构建及基因定位、分子标记辅助育种方面的研究进展。

**关键词:** 麻类作物; 遗传连锁图谱构建; QTL定位; 分子标记辅助育种; 现状与展望

中图分类号: S 563.4

文献标识码: A

### Research Status and Prospect of Molecular Breeding of the Bast-fiber Crops

CHEN Mei-xia<sup>1,2</sup>, QI Jian-min<sup>1</sup>, LIU Wei<sup>1,2</sup>, XU Jian-tang<sup>1</sup>, QI Wei<sup>1</sup>, LI Ai-qing<sup>3</sup>, SU Jian-guang<sup>4</sup>, TAO Ai-fen<sup>1</sup>, NIU Xiao-ping<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Ministry of Education for Genetics, Breeding and Multiple Utilization of Crops, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2. Ningde Normal University, Ningde, Fujian 350002, China; 3. Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230001, China; 4. The Bast Fiber Crops Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410205, China)

**Abstract:** Protection, exploitation and application of the bast-fiber resources depends on full understanding and mastery of the gene pools of quantitative genetic variation, distribution and their evolutionary relationships. Molecular marker technique is not influenced by environmental factors and can test DNA from any growth stage, thus it has become a modern scientific research tool which can make up for the shortcomings of those quite limiting traditional methods. Currently, our knowledge about genetics of bast-fiber crop is very limited, but it is important for breeding these plants. A Highly saturated genetic linkage map would provide a solid basis for quantitative trait loci (QTL) mapping, positional gene cloning, comparative genomics studies and marker-assisted selection. In this article, we've given a systematic description of application of the molecular marker techniques, on genetic linkage map construction, QTL mapping and marker-assisted selection of kenaf, jute, flax, ramie, hemp and sisal.

**Key words:** Bast-fiber plant; genetic linkage map construction; quantitative trait loci (QTL) mapping; marker-assisted selection; status and prospect

麻类作物是极具特色的经济作物, 为我国继粮食、棉花、油料作物、蔬菜之后的第5大作物群体。作为经济作物种植的主要麻类作物包含苎麻、

亚麻、黄麻、红麻、剑麻、大麻。传统的遗传研究主要依据植物学性状、生理生化性状分析。这种常规的研究方法周期长, 选择和分析位点有限, 工作

收稿日期: 2012-05-11 初稿; 2012-06-21 修改稿

作者简介: 陈美霞 (1983—), 女, 讲师, 研究方向: 黄/红麻遗传育种 (E-mail: cmx\_101019@163.com)

通讯作者: 祁建民 (1948—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 作物遗传育种研究、生化与分子生物学 (E-mail: qijm863@163.com)

基金项目: 国家麻类产业技术体系建设项目 (nycytx-19-512); 国家自然科学基金项目 (3100073); 福建省麻类种质资源共享创新平台建设项目 (2010N2002)

量大, 准确性低, 可信度小, 说服力不强, 限制了麻类种质资源的开发和利用。20世纪80年代中期, 随着分子生物学理论与技术的飞速发展, 建立了以遗传物质DNA为基础的新型遗传标记体系—分子标记, 为作物遗传育种工作带来了新的研究工具, 对我国麻类作物资源的有效合理保护和利用、新品种的培育有着重要的理论指导和实践意义。

目前, 我国麻类育种工作存在基础薄弱, 基因资源利用、品质鉴定、病害鉴定手段落后等问题, 从而使育种工作难以有新的突破。从分子遗传学角度来看, 表型的差异归根到底还是基因型的差异, 即在DNA序列上的差异。对这些基因组序列差异的比较研究为植物系统与植物进化提供了最直接的依据。由于根据表现型性状分析和描述植物遗传多样性的传统方法和技术, 很容易受到环境条件难以控制等原因的影响, 研究结论往往缺乏可量化指标或者是良好的重复性, 从而导致不易应用于实践工作。因此, 找到一种稳定可靠、可量化的生物化学评价指标, 是当前亟待解决的问题。随着分子生物学的发展以及在麻类作物上的深入研究应用, 利用AFLP、RAPD、ISSR、SRAP等分子标记技术不仅可以发现遗传型间不同差异的标记带, 还可通过分离群体的遗传分析用于遗传转化的特征带, 也可进一步用于测序发掘新基因, 为目的基因的遗传操作等提供应用研究基础。本文主要论述利用各种分子标记技术构建麻类作物的遗传连锁图谱及重要性状、基因定位与分子标记辅助育种方面的国内外应用现状。

## 1 遗传图谱构建及 QTL 定位

遗传图谱也就是所说的连锁图谱, 指的是以遗传标记(已知性状的基因或特定DNA序列)间重组频率为基础的1条染色体或基因为位点的相对位置线性排列, 是该物种各个染色体的图谱, 显示了各个遗传标记的相对位置。目前遗传连锁图已经是遗传学家进行生物体基因组结构乃至功能分析的强有力的工具。1980年人类遗传学家Botstein等<sup>[1]</sup>首次提出利用RFLP标记构建遗传图谱的设想。1987年Donis-Keller等<sup>[2]</sup>利用RFLP标记构建了第1张人类分子标记连锁图谱, 开创了人类利用DNA分子标记进行遗传分析及绘制图谱的先河。随着分子遗传学的发展, 利用各种分子标记, 目前基本各个物种都已经构建了自己的遗传连锁图谱, 而且主要农作物经过对不同作图群体构建的图谱进行了整合, 已经拥有了高密度的遗传连锁图谱。

高密度的遗传图谱有效地应用于QTL定位、标记辅助选择、比较基因组学、图位克隆重要性状基因的研究中。最早采用分子标记遗传图谱研究数量性状并定位QTL的是Paterson<sup>[3]</sup>, 在番茄的一个种间回交群体中定位了6个与番茄果重有关的QTLs、4个影响可溶性固化物的QTLs、5个与水果的pH相关的QTLs。随后Lander等<sup>[4]</sup>发表了关于QTL作图的论文, 使人们认识到以DNA标记为基础的遗传作图, 可以用于在自然群体或实验群体中进行QTL定位, 同时这篇文章也被认为是QTL作图领域的起点。随后对控制数量性状的位点的研究逐渐成为现代遗传学的热点之一, 许多学者对不同作物群体中许多重要经济和农艺性状进行QTL定位。目前QTL的定位已经取得了一定进展, 许多重要经济性状位点QTL已经被成功地定位并与分子标记进行了相关的连锁分析。各种麻类作物也相继开展了这方面的研究。

### 1.1 红麻遗传连锁图谱构建及 QTL 定位

相对来说红麻遗传连锁图谱构建的研究是比较落后的, 迄今为止只有祁建民课题组进行了这方面的研究。陈美霞等<sup>[5]</sup>以半野生种Ga42(源自加纳)和栽培种阿联红麻(源自埃及)杂交产生F<sub>2</sub>代分离群体作为作图群体, 初步构建了首张红麻遗传连锁图谱, 该图谱总长为1336.6 cM, 包括108个位点, 标记之间的平均间距为17.82 cM。张广庆等<sup>[6]</sup>继续利用这个群体进一步加密该图谱, 最终构建的图谱总长2108.9 cM, 包括134个位点, 20个连锁群, 标记之间的平均间距为15.7 cM。徐建堂、陈美霞等<sup>[7]</sup>利用福建农林大学育成的高产优质抗病新品种福红992和来自埃及的阿联红麻杂交产生的F<sub>2</sub>代分离群体作为试验材料, 比较RAPD单引物与双引物的扩增效果, 结果表明RAPD双引物可以应用于红麻遗传连锁图谱构建。陈美霞等<sup>[8-9]</sup>随后基于SRAP、ISSR、标准RAPD、RAPD双引物几种复合分子标记技术构建了1张分布较均匀、密度较高的红麻遗传连锁图谱, 该图谱全长4924.8 cM, 由26个连锁群组成, 包含307个标记位点、标记间平均距离为16.04 cM。在此基础上将红麻常用的叶柄色、叶形、花冠大小、花冠形状、后期茎色5个用来分类的质量性状一次性定位在该图谱上, 结果表明, 后期茎色基因与叶柄色基因连锁, 存在紧密的连锁关系, 其遗传距离为2.8 cM, 定位于第5条连锁群; 花冠大小与花冠形状这2个基因之间也存在一定的连锁关系, 其遗传距离为14.7 cM, 定位于第6条连锁群, 叶型与

花冠大小和花冠形状的遗传距离分别为 38.2 cM 与 23.5 cM，虽然都定位于第 6 条连锁群，但是是否存在连锁关系有待进一步研究。陈美霞等<sup>[10]</sup>还首次将红麻的产量性状进行了初步 QTL 定位研究，结果表明在两地定位了 2 个株高 QTLs、2 个茎粗 QTLs、2 个节数 QTLs、1 个单株鲜皮重 QTL、2 个单株干皮重 QTL 和 2 个种子千粒重 QTL。

### 1.2 黄麻遗传连锁图谱构建及 QTL 定位

Sultana 等<sup>[11]</sup>用黄麻 O-9897（对寒冷敏感的栽培种）和 Acc. 1805（对寒冷不敏感的栽培种）构建的 F<sub>2</sub> 代为作图群体，利用 8 个 ISSR 分子标记初步构建了第 1 张黄麻种内遗传连锁图谱，全长 87.3 cM，标记之间的平均间距为 8.73 cM，包括 3 个连锁群，长度 4.8~52.9 cM。Haque 等<sup>[12]</sup>以 O-9897 和 No. 1805 为亲本构建的 F<sub>2</sub> 后代为作图群体，用 40 个多态性的 RAPD 位点构建了第 2 张长果种黄麻，全长 463.7 cM，标记之间的平均间距为 19.6 cM，包括 18 个连锁群，其中 15 个连锁群上仅包括 1 个位点，剩下的 3 个连锁群上分别有 2、11 和 12 个位点，连锁群的长度 15.9~241.7 cM。Keka 等<sup>[13]</sup>以 O-7/95（抗螨虫品种）与 O-72（容易感染螨虫品种）为亲本构建了包含有 35 个个体的 F<sub>2</sub> 群体，利用 43 个 SSR 标记和 1 个表型标记（M-11）对亲本进行筛选，有 10 个多态性 SSR 标记，对群体进行扩增构建连锁图谱，LG1 由 M-54 和 M-63 组成，间距为 23.5 cM，LG2 由 M-66 和 M-11 组成，间距为 37.7 cM，剩下的 7 个标记组成的连锁群全长 479.5 cM。M-66 与抗螨虫的基因相连锁，总共检测到 7 株植株是抗螨虫的，其中 6 株基因检测的结果与表型一致，很遗憾并没有检测到相关的 QTL。后来 Ghosh 等<sup>[14]</sup>利用这个家系将群体扩大到 150 个后代，用 88 个 SSR 标记对 2 亲本进行筛选，仅有 21 个多态性标记，利用这些标记对群体进行扩增，构建的图谱包括 5 个连锁群。其中 J-170 与 HK-89 和 HK64 结合达到了 100% 的选择效率，说明这几个标记应该是与抗螨虫的基因相连锁的。Mir 等<sup>[15]</sup>以 JRC-412 和 CIM-036 为亲本构建了包含 67 个 F<sub>2</sub> 后代的作图群体，利用 9 个 RAPD 和 SCAR 标记构建的遗传图谱全长 628.4 cM，标记之间的平均间距为 28 cM。陈晖等<sup>[16]</sup>以甜麻（黄麻野生种）和宽叶长果（黄麻栽培种）为杂交亲本，构建了 187 个 F<sub>2</sub> 单株作为作图群体，利用 513 对 SRAP 引物和 3 个形态学标记来构建黄麻遗传连锁图谱，有 122 个 SRAP 多态性标记位点和 3 个形态学标记，图谱全长 2

231.9 cM，包含 10 个连锁群，每个连锁群有 2~38 个标记位点，2 个标记间平均间距为 17.86 cM。陈燕萍<sup>[17]</sup>以印度圆果黄麻品种新选 1 号和中国圆果黄麻品种琼粤青杂交产生的 185 株 F<sub>2</sub> 代分离群体作为作图群体，进行遗传连锁构建，结果得到 1 张由 SRAP、ISSR、RAPD 双引物标记和 2 个形态标记的 125 个标记位点的国际首张圆果黄麻遗传连锁图。该图谱分为 10 个连锁群，总长为 2 166.3 cM，标记位点平均间距为 17.33 cM。

### 1.3 亚麻遗传连锁图谱构建及 QTL 定位

亚麻在这方面的研究是最早也是最全面、完整的。Spielmeyer 等<sup>[18]</sup>构建了第 1 张亚麻遗传连锁图谱，以多胚的、低亚油酸的 CRZY8/RA91 和澳大利亚栽培种 Glenelg 为亲本构建的 DH 群体，利用 RFLP 技术构建的图谱，总长大约 1 400 cM，213 个多态性标记分布在 18 个连锁群上，标记之间的平均距离为 10 cM。定位了 2 个与抗镰刀霉枯萎病相关的 QTL，并将与亚麻抗锈病紧密连锁的 AFLP 标记也整合到了图谱中。Oh 等<sup>[19]</sup>以 2 个不同的栽培种 CI1303 和 Stormont Cirrus 构建 F<sub>2</sub> 群体，利用 20 个 RFLP 和 520 个 RAPD 标记构建了第 2 张图谱，总长大约 1 000 cM，94 个标记（13 个 RFLP、80 个 RAPD 和 1 个 STS 标记）分布在 15 个连锁群上，标记之间的平均距离为 10.6 cM。Cloutier 等<sup>[20]</sup>构建了第 3 张亚麻遗传图谱，以 SP2047（黄色种皮，含有 2%~4% 的亚麻酸）和 UGG5-5（棕色种皮，含有 63%~66% 的亚麻酸）构建的 DH 群体，利用 114 个 EST-SSR 标记、5 个 SNP 标记、5 个基因（fad2A, fad2B, fad3A, fad3B and dgat1）和 1 个形态学标记（种皮色）构建了亚麻的遗传连锁图谱，这也是首张主要采用 SSR 标记构建的亚麻遗传图谱，结果表明可以有效地应用于对脂肪酸组成成分的 QTL 定位。图谱总长 833.8 cM，113 个标记（103 SSRs, 5 SNPs, 4 genes namely fad2A, fad2B, fad3A, dgat1 and seed coat color）分布在 24 个连锁群上，标记之间的平均距离为 7.3 cM。检测到与 PAL 相关的 QTL 定位到 LG9，解释的平均表型变异值为 42%；与 IOD 相关的 2 个大的 QTLs 分别定位在 LG7、LG16，解释的平均表型效应值为 29% 和 13%；与 LIO 相关的 2 个 QTL 定位在 LG7 和 LG16，解释的平均表型效应值为 34% 和 20%；与 LIN 相关的 2 个 QTL 定位在 LG7 和 LG16，解释的平均表型效应值都为 25%。与种皮色相关的定位在 LG22，解释的平均表型效应值为 72%~

79%。其他麻类作物在这方面的研究还未见报道。

## 2 分子标记辅助育种

选择是育种中最重要的环节之一,传统育种方法是通过表现型间接对基因型进行选择,这种选择方法存在周期长、效率低等缺点,最有效的选择方法应是直接依据个体基因型进行选择。早在20世纪80年代,人们已经认识到遗传标记在作物遗传育种中的潜在价值,即作为辅助选择的手段,来减少育种过程中的盲目性,提高选择效率,但因当时可供应用的遗传标记有限,一直未能得到广泛而有效的利用,分子标记的出现为这种直接选择提供了可能。借助分子标记达到对目标性状基因型选择的方法称为分子标记辅助选择MAS,这也是分子标记技术目前最有价值的实际应用部分。利用分子标记辅助选择不仅可提高工作效率,加快选育进程,而且可实现基因聚合、减少基因渗入时的连锁累赘等其他传统选育方法难以实现的目标。应用标记辅助育种,理论上只要回交3代就可以选到理想的材料。因此,可以加快育种速度,提高选择效率,特别是对多基因位点控制的许多重要农艺性状的准确选择很有利。

目前黄/红麻、苎麻、剑麻等方面的研究还比较落后,有的还没有这方面的研究报道,只有亚麻与大麻的研究比较全面系统。亚麻在抗病方面国外很早就有了系统全面的报道,而大麻主要集中在性别研究方面。

(1) 红麻只有在不育基因方面有了初步的研究报道,李辉等<sup>[21]</sup>利用中国农业科学院麻类研究所红麻育种课题组在海南发现的不育株AT-1作母本分别与15-4、04KI做杂交,再用父本回交4次,从中选育出2个高度不育的不育系,结合BSA法构建了近等基因池-不育池和可育池,最终从91条ISSR引物中筛选到1条引物U859可以在不育池和可育池中稳定地扩增出差异性条带,通过对单株的鉴定表明该引物是与雄性不育基因连锁的标记,今后将其转化成SCAR标记可以为红麻不育系的辅助育种奠定基础。

(2) 螨虫在孟加拉国对黄麻的影响非常大,培育一些抗病的品种对扩大黄麻栽培生产来说具有重要意义。Keka等<sup>[13]</sup>以抗病品种O-7/95和感病品种O-72为亲本建立了1个35个个体的F<sub>2</sub>群体,通过用10个SSR标记和1个形态学标记(M-11)分析,发现标记M-66与螨虫抗病性相连锁,这个标记对于今后抗螨虫的黄麻品系的MAS育种具有

潜力。

(3) Lawrence<sup>[22]</sup>、Anderson等<sup>[23]</sup>分别利用转座子标签法克隆了亚麻抗锈病基因L6和M。1999年Hausmer等还报道了亚麻抗锈病基因L2、L6、L11、M3的分子标记<sup>[24-25]</sup>。王世全等<sup>[26]</sup>通过500个RAPD标记对6个抗不同锈病生理小种的亚麻近等基因系进行分析,获得了2个稳定的特异指纹带,将其克隆入质粒载体,经过序列分析,获得了2条特异指纹带的DNA序列。薄天岳等<sup>[27]</sup>用520条RAPD引物对含有亚麻抗锈病基因M4的近等基因系NM4及其轮回亲本Bison进行分析,其中引物OPA18可以在NM4材料中稳定的扩增出特异的DNA片段。用F<sub>2</sub>分离群体进行连锁性分析表明此标记与M4基因紧密连锁,遗传距离为2.1cM,将此标记回收、克隆、测序之后成功地转化为SCAR标记,更加方便地用于M4抗锈病基因的分子检测。该作者<sup>[28]</sup>利用BSA-AFLP法进行分析,经过分离群体验证,其中1对引物与抗枯萎病基因相连锁,遗传距离为5.2cM,将这个基因暂定名为FuJ7(t),成功地将此标记转化为SCAR标记,为今后亚麻抗枯萎病分子标记育种奠定基础。张晓平等<sup>[29]</sup>在筛选出有显著耐渍差异亚麻材料的基础上,获得了耐渍与不耐渍材料杂交的F<sub>2</sub>代分离群体,采用BSA-RAPD法筛选出3个引物能够扩增到稳定的多态性差异条带。其中引物S1377在两亲本及抗、感基因池中均能扩增出1条大小为800bp的稳定的差异条带,命名为S1377-800。后来通过群体后代验证,初步证明S1377-800是与亚麻耐渍基因紧密连锁的RAPD标记。高凤云等<sup>[30]</sup>利用252条RAPD引物从1对遗传背景相似的可育和不育亚麻杂交的F<sub>1</sub>代中找到了2条引物,分别得到1个与显性核不育的雄性基因相关的RAPD标记,记为S62-500和S135-350。

(4) 丁明忠等<sup>[31]</sup>从100条ISSR引物中筛选到了1个与苎麻雄性不育相关的分子标记U835,扩增的条带仅存在于可育亲本中,随后将其成功地转化为SCAR标记,可以快速地鉴定单株的育性,从而降低了选择的工作量,节约了时间,提高了选择效率。这个苎麻雄性不育特有的分子标记,可以用于苎麻雄性不育分子标记辅助选择。

(5) Sakamoto等<sup>[32]</sup>用15个随机引物扩增得到500bp和700bp左右的2条差异带,后来经过验证只有730bp的可以作为雄性特异带,将其命名为MADCI(male-associated DNA sequence in *Cannabis sativa*)；Mandolino等<sup>[33-34]</sup>得到1条

400 bp 的 RAPD 雄性特异带, 成功地将它转化为 SCAR 标记, 后来对大麻雌雄的 BSA 进行 AFLP 分析, 表明大麻雄性染色体的存在。陈其军等<sup>[35]</sup>在 30 多个 RAPD 引物中, 筛选得到 1 条约 2.5 kb 的雄性多态性片段, 并根据序列分析结果将其转化为 SCAR 标记。Flachowsky 等<sup>[36]</sup>应用 BSA-AFLP 检测到 2 个雌雄异株大麻中性别特异性条带, 试验了 39 个引物组合, 其中有 20 个得到了 1~3 个雄性特有的条带, 这是有关 AFLP 技术在大麻上的应用及其在检测这个种性别专一性标记上的成功应用的首次报道。Peil 等<sup>[37]</sup>通过 AFLP 标记来分析 X 和 Y 性别染色体的结构, 发现 5 个标记存在于 2 条性染色体上, 和雄性后代存在一定的连锁关系。2 个标记仅仅跟雄性 Y 染色体上的标记相连锁。通过性染色体重组 AFLP 分析发现性染色体上存在一个假常染色体区, 性染色体其他区域也表明 Y 染色体跟 X 染色体一样也存在少量重组。Moliterni 等<sup>[38]</sup>在大麻第 4 节叶子出现时采用 cDNA-AFLP 技术对大麻性别遗传表达进行比较并建立了雄性特异的 SCAR-PCR 标记的技术, 从而可以通过 PCR 扩增在早期快速鉴别大麻的性别。这些 SCAR 标记可应用于早期快速鉴定大麻性别, 筛选大麻的全雌和全雄品系, 建立深入研究性别表达与环境相互关系的实验体系, 也可用于研究大麻的种系发生。Rode 等<sup>[39]</sup>首次将 SSR 标记应用在大麻性别染色体的研究上。

### 3 展望

通过常规育种来提高麻类作物的产量、品质、抗性等方面局限性已经逐步显现, 因此利用基因工程手段可以为麻类育种提供新途径。国内外已有不少转基因麻类作物研究的成功报道。曹德菊等<sup>[40]</sup>利用花粉管通道法将外源抗除草剂的 bar 基因导入红麻, 结果表明子房注射法较柱头滴加法有着更高的转化效率。1993 年 Dusi 等<sup>[41]</sup>首次报道根癌农杆菌介导苎麻的遗传转化。孔华等<sup>[42]</sup>、易自力等<sup>[43]</sup>、汪波等<sup>[44]</sup>报道了根癌农杆菌介导的苎麻遗传转化方法, 成功地将外源基因整合到苎麻中。马雄风等<sup>[45]</sup>在苎麻 1 号的下胚轴高频再生体系的基础上, 将 CryIA 和 CpTI 高效杀虫基因转化到苎麻主栽品种中, 建立的遗传转化体系利用潜力大大增加。官本贺等<sup>[46]</sup>利用基因枪法将上述双价抗虫基因导入中苎 1 号子叶愈伤组织中, 最终获得 4 株阳性转基因植株, 作为一种苎麻遗传转化的新方法, 为建立苎麻基因枪转化体系奠定了基础。亚麻在这方面的

研究也居多, Wijayanto 等<sup>[47]</sup>利用基因枪介导法成功地进行了亚麻基因的转化。McHughen 等<sup>[48]</sup>、Dong 等<sup>[49]</sup>以不同部位材料作为受体, 利用农杆菌介导转化获得转基因植株。刘燕等<sup>[50]</sup>利用花粉管通道法将外源总 DNA 导入亚麻, 王玉富等<sup>[51]</sup>以幼苗的下胚轴为外植体, 采用农杆菌介导法进行转抗除草剂 Basta 的目的基因和 GUSINT 基因植株的再生及生根培养的研究, 初步建立起了根癌农杆菌介导法的转基因系统。康庆华<sup>[52]</sup>利用该法将 Basta 目的基因 Bar 导入亚麻中, 抗性筛选试验成功地获得了不同抗性的植株和种子。

Islam 和 Mir<sup>[53-54]</sup>从长果种黄麻中开发了 SSR 标记, 通过对黄麻基因组测序开发了 EST 序列, 据报道孟加拉国科学家穆克素杜尔·阿拉姆领导的一个科研小组已经完成了对黄麻的全基因组测序, 将会极大地推动黄麻特异性标记的开发与利用。Cloutier 等<sup>[55]</sup>从亚麻中开发了 248 对 EST-SSR 引物, 而且目前在亚麻基因组计划的支柱下 (Total Utilization Flax Genomics project, TUFGEN <http://www.tufgen.ca>), 通过测序大量的 EST 序列和 BAC 末端测序来继续开发特异性引物, 国内部分学者也相继开发了部分亚麻 EST-SSR 和 SSR 引物。相对来说红麻在这方面的研究就落后了很多。总体来说麻类作物中亚麻分子标记的研究较为成熟, 其次是苎麻, 而黄麻、红麻与大麻研究的较少, 剑麻在这方面的研究相对来说是最为落后的。在麻类作物分子标记方面, 国外对亚麻、大麻研究较多, 国内对黄麻、红麻、苎麻研究较多。在研究内容上有关重要农艺性状的分子标记研究较少, 在某种程度上制约了分子标记在麻类作物上的应用, 黄麻、红麻、苎麻主要集中在品种之间亲缘关系的鉴定, 大麻主要用分子标记进行性别上的研究。尽管麻类作物在分子生物学方面的研究起步比较晚、基础偏差, 但近几年也取得了可喜的进步, 相信这些新技术结合传统育种技术一定能大大加快我国麻类作物的育种进程, 促进麻类产业的发展。随着国家公益性麻类行业专项与国家麻类产业体系的启动, 以及国家产业政策的扶持, 我国麻类产业发展迎来了新的良好机遇, 必将呈现快速发展的态势!

### 参考文献:

- [1] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism [J]. Am J Hum Genet, 1980,

- 32 (3): 314—331.
- [2] DONIS-KELLER H, GREEN P, HELMS C, et al. A genetic linkage map of the human genome [J]. *Cell*, 1987, 51 (2): 319—337.
- [3] 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 [J]. *Nature*, 1988, 335 (20): 721—726.
- [4] LANDER E S, BOTSTEIN D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps [J]. *Genetics*, 1989, 121 (1): 185—199.
- [5] 陈美霞, 张广庆, 祁建民, 等. 红麻 SRAP 和 ISSR 遗传连锁图构建的初步研究 [J]. 中国麻业科学, 2008, 30(3): 121—127.
- [6] ZHANG G Q, QI J M, ZHANG X C, et al. A genetic linkage map of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) based on SRAP, ISSR and RAPD markers [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2011, 10 (9): 101—105.
- [7] 徐建堂, 陈美霞, 谢增荣, 等. RAPD 双引物在构建红麻连锁图谱中的应用研究 [J]. 武汉植物学研究, 2010, 28 (6): 666—672.
- [8] CHEN M X, WEI C L, QI J M, et al. Genetic linkage map construction for kenaf using SRAP, ISSR and RAPD markers [J]. *Plant Breed*, 2011, 130 (6): 679—687.
- [9] 陈美霞, 祁建民, 危成林, 等. 红麻 5 个质量性状在遗传连锁图谱中的初步定位 [J]. 作物学报, 2011, 37 (1): 165—169.
- [10] 陈美霞, 祁建民, 方平平, 等. 红麻 6 个重要产量性状的 QTL 定位 [J]. 中国农业科学, 2011, 44 (5): 874—883.
- [11] SULTANA N, KHAN H, ASHRAF N, et al. Construction of an intraspecific linkage map of jute [J]. *Asian J Plant Sci*, 2006, 5 (5): 758—762.
- [12] HAQUE S, ASHRAF N, BEGUM S, et al. Construction of genetic map of jute (*Corchorus olitorius* L.) based on RAPD markers [J]. *Plant Tissue Cult & Biotech*, 2008, 18 (2): 165—172.
- [13] KEKA S I, SHAMSUZZAMAN M, PAHLOAN M U, et al. Identifying simple sequence repeat (SSR) marker linked to mite tolerance in jute species [J]. *Bangladesh J Bot*, 2008, 37 (2): 161—171.
- [14] GHOSH A, SHARMIN S, ISLAM S, et al. SSR markers linked to mite (*Polyphagotarsonemus latus* Banks) resistance in jute (*Corchorus olitorius* L.) [J]. *Czech J Genet Plant Breed*, 2010, 46 (2): 64—74.
- [15] MIR J I, ROY A, GHOSH S K, et al. Development of linkage map in F2 population of selected parents with respect to Macrophomina phaseolina resistance trait using screened polymorphic RAPD and developed SCAR markers of jute [J]. *Arch Phytopathol Plant Protection*, 2011, 44 (7): 671—683.
- [16] 陈晖, 陈美霞, 陶爱芬, 等. 红麻 6 个重要产量性状的 QTL 定位 [J]. 中国农业科学, 2011, 44 (12): 2422—2430.
- [17] 陈燕萍. 应用复合分子标记构建圆果黄麻遗传连锁图谱的研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2010.
- [18] SPIELMEYER W, GREEN A G, BITTINICH D, et al. Identification of quantitative trait loci contributing to Fusarium wilt resistance on an AFLP linkage map of flax (*Linum usitatissimum*) [J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 97 (4): 633—641.
- [19] OH T J, GORMAN M, CULLIS C A. RFLP and RAPD mapping in flax (*Linum usitatissimum*) [J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 101 (4): 590—593.
- [20] CLOUTIER S, RAGUPATHY R, NIU Z X, et al. SSR-based linkage map of flax (*Linum usitatissimum* L.) and mapping of QTLs underlying fatty acid composition traits [J]. *Molecular Breed*, 2010, DOI 10.1007/s11032—010—9494—1.
- [21] 李辉, 李德芳, 陈安国, 等. 红麻雄性不育系的选育和不育基因的 ISSR 分子标记 [J]. 中国农学通报, 2008, 24 (8): 80—83.
- [22] LAWRENCE G J, FINNEGAN E J, AYLiffe M A, et al. The *L6* gene for flax rust resistance is related to the *Arabidopsis* bacterial resistance gene *PRS2* and the tobacco viral resistance gene *N* [J]. *Plant Cell*, 1995, 7 (8): 1195—1206.
- [23] ANDERSON P A, LAWRENCE G J, MORRISH B C, et al. Inactivation of the flax rust resistance gene *M* associated with loss of a repeated unit within the leucine-rich repeat coding region [J]. *Plant Cell*, 1997, 9 (4): 641—651.
- [24] HAUSNER G, RASHID K Y, KENASCHUK E O, et al. The development of codominant PCR/RFLP based markers for the flax rust-resistance alleles of the *L* locus [J]. *Genome*, 1999, 42 (1): 1—8.
- [25] HAUSNER G, RASHID K Y, KENASCHUK E O, et al. The identification of a cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) marker for the flax rust resistance gene *M3* [J]. *Can J Plant Pathol*, 1999, 21 (2): 187—192.
- [26] 王世全, 薄天岳, 樊晓燕, 等. 亚麻抗锈病近等基因系 RAPD 特异指纹带的克隆分析 [J]. 西南农业学报, 2002, 15 (3): 82—84.
- [27] 薄天岳, 叶华智, 王世全, 等. 亚麻抗锈病基因 *M4* 的特异分子标记 [J]. 遗传学报, 2002, 29 (10): 922—927.
- [28] 薄天岳, 叶华智, 李晓兵, 等. 亚麻抗枯萎病基因 *FUJ7* (*t*) 的分子标记 [J]. 中国农业科学, 2003, 36 (3): 287—291.
- [29] 张晓平, 薛召东, 邱财生, 等. 利用 RAPD-BSA 法筛选亚麻耐渍基因的分子标记 [J]. 中国麻业科学, 2007, 29 (5): 290—294.
- [30] 高凤云, 张辉, 斯钦巴特尔. 亚麻显性雄性核不育基因的 RAPD 标记 [J]. 华北农业学报, 2007, 22 (1): 129—131.
- [31] 丁明忠, 潘光堂, 张中华, 等. 用 ISSR 分析四川苎麻品种 (系) 间的遗传关系及雄性不育分子标记的建立 [J]. 核农学报, 2008, 22 (2): 183—187.
- [32] SAKAMOTO K, SHIMOMURA K, KOMEDA Y, et al. A male-associated DNA sequence in a dioecious plant, *Cannabis sativa* L [J]. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36 (8): 1549—1554.
- [33] MANDOLINO G, CARBONI A, FORAPANI S, et al. Identification of DNA markers linked to the male sex in

- dioecious hemp (*Cannabis sativa* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 98 (1): 86—92.
- [34] MANDOLINO G, CARBONI A, BAGATTA M, et al. Occurrence and frequency of putatively Y chromosome linked DNA markers in *Cannabis sativa* L [J]. *Euphytica*, 2002, 126 (2): 211—218.
- [35] 陈其军, 韩玉珍, 傅永福, 等. 大麻性别的 RAPD 和 SCAR 分子标记 [J]. 植物生理学报, 2001, 27 (2): 173—178.
- [36] FLACHOWSKY H, SCHUMANN E, WEBER W E, et al. Application of AFLP for the detection of sex-specific markers in hemp [J]. *Plant Breed*, 2001, 120 (4): 305—309.
- [37] PEIL A, FLACHOWSKY H, SCHUMANN E, et al. Sex-linked AFLP markers indicate a pseudoautosomal region in hemp (*Cannabis sativa* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107 (1): 102—109.
- [38] MOLITERNI V M C, CATTIVELLI L, RANALLI P, et al. The sexual differentiation of *Cannabis sativa* L.: A morphological and molecular study. *Euphytica*, 2004, 140 (1—2): 95—106.
- [39] RODE J, IN-CHOL K, SAAL B, et al. Sex-linked SSR markers in hemp [J]. *Plant Breed*, 2005, 124(2): 167—170.
- [40] 曹德菊, 程备久, 徐明照, 等. 花粉管法将外源除草剂基因导入红麻的有效方法及参数研究 [J]. 中国麻作, 2000, 22 (1): 1—6.
- [41] DUSI D M A, DUBALD M, DE ALMEIDA E R P, et al. Transgenic plants of ramie (*Boehmeria nivea* Gaud.) obtained by *Agrobacterium* mediated transformation [J]. *Plant Cell Rep*, 1993, 12 (11): 625—628.
- [42] 孔华, 郭安平, 张霄云, 等. 芒麻遗传转化再生体系的建立 [J]. 分子植物育种, 2006, 4 (2): 233—237.
- [43] 易自立, 李祥, 蒋建雄, 等. 芒麻再生体系的建立及抗虫转基因芒麻的获得 [J]. 中国麻业, 2006, 28 (2): 61—66.
- [44] 汪波, 彭定祥, 孙珍夏, 等. 根癌农杆菌介导芒麻转绿色荧光蛋白 (GFP) 基因植株再生 [J]. 作物学报, 2007, 33 (10): 1606—1610.
- [45] 马雄风, 喻春明, 唐守伟, 等. 根癌农杆菌介导的转双价抗虫基因 (*CryIA+CpTI*) 芒麻 [J]. 作物学报, 2010, 36 (5): 788—793.
- [46] 宫本贺, 熊和平, 马雄风, 等. 基因枪介导法转化芒麻获得转基因植株的研究 [J]. 作物杂志, 2010, (1): 87—90.
- [47] WIJAYANTO T, MCHUGHEN A. Genetic transformation of *Linum* by particle bombardment [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 1999, 35 (6): 3—11.
- [48] MCHUGHEN A, HOLM F A. Transgenic flax with environmentally and agronomically sustainable attributes [J]. *Transgenic Res*, 1995, 4 (1): 3—11.
- [49] DONG J Z, MCHUGHEN A. An improved procedure for production of transgenic flax plants using *Agrobacterium tumefaciens* [J]. *Plant Sci*, 1993, 88 (1): 61—71.
- [50] 刘燕, 王玉富, 关凤芝, 等. 亚麻外源 DNA 导入的适宜时期与方法的研究 [J]. 中国麻作, 1997, 19 (3): 13—15.
- [51] 王玉富, 周思君, 刘燕, 等. 亚麻转基因植株的再生及生根培养的研究 [J]. 中国麻作, 2000, 22 (3): 25—27.
- [52] 康庆华. 亚麻转基因中抗生素应用效果的研究 [J]. 中国麻业, 2005, 27 (2): 94—97.
- [53] ISLAM A S, TALIAFERRO M, LEE C T, et al. Preliminary progress in jute (*Corchorus species*) genome analysis [J]. *Plant Tissue Cult & Biotech*, 2005, 15 (2): 145—156.
- [54] MIR R R, BANERJEE S, DAS M, et al. Development and characterization of large-scale simple sequence repeats in jute [J]. *Crop Sci*, 2009, 49 (5): 1687—1694.
- [55] CLOUTIER S, NIU Z X, DATLA R, et al. Development and analysis of EST-SSRs for flax (*Linum usitatissimum* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 2009, 119 (1): 53—63.

(责任编辑: 柯文辉)