

油菜数量性状 QTL 定位研究进展

王俊生^{1,2},董育红²,张改生¹,李殿荣²,王 灏²,田建华²

(1 西北农林科技大学 陕西省作物杂种优势研究与利用重点实验室,陕西 杨凌 712100;

2 陕西省杂交油菜研究中心,国家油料作物改良分中心,陕西 大荔 715105)

【摘 要】 【目的】为从分子水平理解油菜主要数量性状的遗传规律。【方法】对近年来油菜遗传图谱构建以及主要数量性状的 QTL 进展进行了综述。【结果】分子标记种类、数量、比例、作图群体和作图方法等是影响遗传图谱质量的关键因素;油菜上一些较高质量的遗传图谱为其数量性状的初步定位奠定了基础,但还需要不同研究者的相互协作,最终形成统一的高质量遗传图谱;概括并比较了近年来油菜主要品质性状、产量性状及其他性状 QTL 定位的最新结果,为加快油菜育种提供了分子遗传理论依据;阐明了油菜数量性状 QTL 定位的现状、问题及可能的解决方法。【结论】构建统一的、高质量的油菜遗传图谱,以更好地定位油菜的重要数量性状等,加快实现重要性状的标记辅助选择和对主效基因的克隆,最终育成优良品种,是当前和未来的主要目标。

【关键词】 甘蓝型油菜;QTL 定位;遗传图谱

【中图分类号】 S565.403.2 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-9387(2008)11-0135-08

Research advances in QTL of oilseed rape (*Brassica napus* L.)

WANG Jun-sheng^{1,2}, DONG Yu-hong², ZHANG Gai-sheng¹,
LI Dian-rong², WANG Hao², TIAN Jian-hua²

(1 Key Laboratory of Crop Heterosis of Shaanxi Province, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Hybrid Rapeseed Research Center of Shaanxi Province, Shaanxi Rapeseed Branch of National Centre
for Oil Crops Genetic Improvement, Dali, Shaanxi 715105, China

Abstract: 【Objective】 The study was done to understand intrinsic genetic law on molecular level for the main quantitative characters in oilseed rape. 【Method】 The current advance was reviewed of genetic linkage map and mapping quantitative trait loci (QTL) for main quantitative traits in oilseed rape. 【Result】 The types, numbers and proportion of molecular marker, population and methodology of QTL mapping et al were the key factors for constructing genetic map. The existing genetic maps with high-quality established the base of QTL in oilseed rape, but it was indispensable to construct a consensus and high-quality genetic map through cooperation between different researchers. The latest results of QTL for yield characters, quality characters and others in oilseed rape were summarized and compared, which provide molecular genetic theory for accelerating rapeseed breeding. And the current situations and problems and resolutions in the field were discussed. 【Conclusion】 How to construct a high quality genetic map in oilseed rape to better locate QTL for important quantitative traits, to accelerate QTL marker assisted selection and the cloning of the main genes of important quantitative traits for the breeding of excellent variety finally, is the main target now and in the future.

* [收稿日期] 2007-12-04
[基金项目] 国家“973”项目“油菜籽油脂形成的分子生物学机制及其代谢调控”(2006CB 101600/07)
[作者简介] 王俊生(1970—),男,陕西蒲城人,助理研究员,博士,主要从事油菜遗传育种研究。E-mail: wjs0099@163.com
[通讯作者] 张改生(1951—),男,陕西周至人,教授,博士生导师,主要从事小麦遗传育种研究。E-mail: zhanggsh@public.xa.sn.cn

Key words: *Brassica napus* L.; QTL location; genetic mapping

遗传连锁图谱(Genetic linkage map)是指以染色体重组交换率为相对长度单位,以遗传标记为主体构成的染色体线状连锁图谱。分子标记遗传连锁图的构建,是数量性状基因定位的基础,而高密度的分子标记连锁图是基因精细定位和物理图谱构建的基础,也是以图谱为基础的基因克隆和分子标记辅助选择育种的基础^[1]。图谱上的分子标记对评估资源的遗传多样性和品种间遗传关系,执行最佳育种战略具有重要作用。甘蓝型油菜是世界上栽培面积最大的油菜类型,是植物油的主要来源之一。油菜许多重要产量性状和品质性状均受多基因控制,具有复杂的遗传表现。自 20 世纪 90 年代以来,油菜育种家和数量遗传研究者相继构建了一些油菜的遗传图谱,并对油菜许多农艺性状和品质性状进行了定位分析,已有一些标记应用于辅助选择育种,且已取得了较好的成效。为进一步加快油菜遗传图谱的构建,现就这方面的研究进展进行了综述,以期从分子水平理解这些重要数量性状的遗传规律提供参考,并为油菜的分子辅助育种提供理论依据。

1 油菜遗传图谱中常用分子标记及其主要特点

高质量的分子遗传图谱,是研究基因遗传和变异规律、定位和克隆数量性状位点以及标记辅助选择育种的有效工具,也是生物系统学、物种进化和分类等研究的有效手段。而标记类型是影响遗传图谱质量的主要因素之一,结合使用扩增基因组不同区域的分子标记,有助于减轻图谱标记分布的不均匀程度。

较早发表的芸薹属连锁图谱多为 RFLPs 分子标记,但 RFLPs 技术的试验过程复杂费时,不易在育种实践中应用。之后,以 DNA 多聚酶链式反应(PCR)为基础发展的随机扩增多态性 DNA(Random amplified polymorphic DNA, RAPD)、简单重复序列多态性(Simple sequence repeat polymorphism, SSR)等标记,由于多态性高而得到了迅速发展。但 RAPD 标记由于重复性较差,难以转化为有效的 SSR 标记,因而在应用中受到较大限制^[2]。而扩增片段长度多态性技术(Amplified fragment length polymorphism, AFLP),能极大地丰富指纹图谱的多态性,且具有很高的可重复性,比 RAPD 可靠,是一种强大稳定快速高效的分子标记技术。

因此, AFLP 和 SSR 等一起被认为是构建“饱和”图谱的有力工具^[3]。但 SSR 标记在基因组内的分布不是随机的,大部分位于非表达区。相反,目前已有多种能有效扩增基因编码区的标记,例如 COS(Conserved orthologue set)^[4]、ESTP(Expressed sequence tag polymorphism)^[5]、ACGM(Amplified consensus genetic marker)^[6]、SRAP(Sequence Related amplified polymorphism)和 TRAP(Target region amplified polymorphism)标记等,其中 SRAP 和 TRAP 标记操作简单、多态性产率高,在图谱构建方面更为有效,因而最近有些研究者结合以前使用的一些标记,同时将新开发的 SRAP 和 TRAP 标记整合到油菜的连锁图谱中,提高了图谱的标记密度^[7-12]。

2 作图群体的选择和作图方法的改进

作图群体分为临时性分离群体、永久性分离群体和自然群体 3 大类。临时性分离群体主要是单交组合产生的 F_2 和由其衍生的 F_3 、 F_4 家系及各种回交群体,特点是群体内个体的基因型不同,且是杂合的,不利于多年多点的定位研究;油菜永久性分离群体主要指重组自交系(Recombinant inbred line, RIL)和双单倍体系(Doubled haploid line, DHL),特点是系内基因型纯合一致,系间基因型不同,还有回交自交系(Backcross inbred line, BIL)及近等基因系(Near isogenic line, NIL),特点是染色体仅几个甚至 1 个区段有差异,适合于 QTL 的精确定位;自然群体利用现有的各种品系,包含信息量大,不需专门构建。近年来,油菜作图研究中多利用双单倍体群体和 F_2 群体,也有利用回交群体和重组自交系群体的,利用自然群体的较少。

在数量遗传学家的不断努力下,数量性状作图方法从最早的单标记回归法发展到近年来的区间作图法(IM)、复合区间作图法(CIM)^[13]以及多区间作图法(MIM)^[14],使得作图效率、精度和定位复杂数量性状的能力不断提高。目前,植物上应用较多的是区间作图法、复合区间作图法和多区间作图法,其中 MIM 法可同时利用多个标记区间进行多个 QTL 作图。另外,朱军^[15]提出的基于混合线性模型的复合区间作图方法,为有效定位具有上位性和基因型×环境互作效应的 QTL 提供了有力工具,而且采用混合线性模型随机效应的无偏预测方法,结合区

间作图法或复合区间作图法,还能定位在特定发育阶段表达的 QTL。目前,油菜数量性状 QTL 定位的分析多数采用 IM、CIM 和 MIM 法。

3 甘蓝型油菜遗传图谱的构建

在众多甘蓝型油菜遗传图谱中, Parkin 等^[16]于 1995 年利用 RFLPs 标记构建的图谱,被公认为是标准的甘蓝型油菜图谱; Lombard 等^[17]于 2001 年发展了一个比较饱和的甘蓝型油菜遗传图谱,整合了总共 992 个不同类型的标记(RAPD、RFLP、AFLP、同工酶),几乎覆盖了油菜全基因组 19 个连锁群,全长 2 429 cM,基本达到了饱和。

近来,一些学者将各自开发的 SSR 标记都定位到油菜遗传图谱中^[9,18-20],使得图谱上的标记大大增加。例如 Qiu 等^[20]利用一个油菜 TNDH 作图群体构建的甘蓝型遗传图谱中,19 个连锁群覆盖基因组总长 1 685 cM,平均间距 7.2 cM; Jin 等^[9]构建的遗传连锁图谱中的 19 个连锁群(39.5~109.2 cM),仅覆盖了基因组总长 1 248.5 cM,标记间平均距离为 4.16 cM,推测图谱较短的原因可能是利用了较多的 SRAP 和 TRAP 标记(共占标记总数的 70.6%),因为这些标记难以检测到着丝粒和端粒附近分布较少基因的区域,可能使得所构建的连锁图谱缩短或出现连锁群断开现象。

2007 年以来, Li 等^[10]、Sun 等^[12]、蔡长春等^[21]和 Fu 等^[22]均发表了各自构建的遗传图谱,其中 Li 等^[10]构建的遗传图谱包括 142 个 SRAP 标记、163 个功能标记、160 个 SSR 标记和 117 个 AFLP 标记,共覆盖了基因组全长 2 054.51 cM,标记的平均间距为 3.53 cM,并以 SSR 标记为锚定标记,与国际标准图谱进行了初步对应,是一个相对饱和的图谱;而 Sun 等^[12]将利用 1 634 个引物组合发展的 13 551 个 SRAP 标记定位到 19 个连锁群中,形成了一张超高密度的遗传图谱,覆盖基因组全长 1 604.8 cM,标记密度为 8.45 个 SRAP/cM,即 100 kb 的物理距离内就有 1 个 SRAP 标记,其中 4 个 A 基因组的连锁群中均包含了 800 多个 SRAP 标记,3 个 C 基因组的连锁群均包括了 1 000 多个 SRAP 标记,尽管未能覆盖油菜基因组全长,但这是目前油菜上的一个超高密度分子标记连锁图谱,为甘蓝型油菜数量性状的定位和基因克隆研究奠定了基础。

通过构建油菜遗传图谱和对其数量性状的定位分析,人们初步获得了一些重要性状的 QTL 数量、位置和位点间的互作信息等,但不同学者构建的遗

传图谱总长、多态位点数、标记种类及间距等多数存在较大差异,很难形成一致结论。因而,如何将这些遗传图谱统一起来,形成一个完整一致的覆盖全基因组的遗传图谱,供育种学家共同利用,以获得对数量性状遗传的统一认识,还有待于进一步深入研究。

4 甘蓝型油菜数量性状的研究进展

近年来,随着分子生物技术、数量遗传学以及计算机技术的迅速发展,加上一些新的研究方法、理论和相应软件的不断开发,使分析复杂数量性状的单个 QTL 效应和 QTL 间的上位性互作,以及 QTL 与环境的互作已经成为可能,并在不同作物的许多重要性状研究上得到了应用,较好地解释了复杂数量性状表型变异以及性状间相关的原因。

在油菜有关数量性状 QTL 定位的报道中,以品质性状和主要产量性状较多,有关抗病性、生育期相关性状、生理性状的报道较少。品质性状以含油量性状和脂肪酸组分的报道较多,因为在双低(低芥酸,低硫甾)高产育种目标突破之后,以提高含油量及改良脂肪酸组分来满足人类对各种健康植物油的需求为目的的育种目标,成为油菜育种的主要方向。通过对含油量等品质性状的 QTL 定位,可为从分子水平理解这些性状的遗传、杂种优势机理及其互作提供理论依据,并为在育种中应用分子标记辅助选择和主效 QTL 的图位克隆奠定基础。

4.1 籽粒品质性状的 QTL 研究

4.1.1 含油量 目前,在有关含油量性状的定位报道中,由于定位群体的质量、标记种类和数量等因素的不同,而未能获得一致的结果。如刘列钊等^[23]利用包括 132 个 $F_{2,3}$ 家系的群体,对饼粕蛋白质含量、皮壳率、皮壳含油量、千粒重及种子含油量 5 个性状进行了 QTL 分析,共检测到 13 个 QTL,其中有 1 个与千粒重相关的 QTL,解释了其表型变异的 18.7%;有 5 个与饼粕蛋白质含量相关的 QTL,解释了其表型变异的为 7.8%~14.4%;有 3 个与皮壳率相关的 QTL,解释了其表型变异的 26.5%~32.8%;有与皮壳含油量相关的 3 个 QTL(位于 N8、N13 和 N20)及与种子含油量相关的 1 个 QTL(位于 N21),解释了其表型变异的 8.3%~14.1%。而 Jin 等^[9]对 188 个重组自交系群体的含油量和皮壳率进行了定位研究,得到了 7 个与含油量相关的 QTL(N_4 上 2 个, N_7 上 1 个, N_{11} 上 2 个, N_{16} 和 N_{17} 上各 1 个),解释了其总表型变异率的 50.57%(单位点遗传贡献率为 3.73%~10.46%);得到了 4 个

与皮壳率有关的 QTL(分别位于 N10 和 N13 上),解释了总表型变异的 25.03%(单位点遗传贡献率为 4.89~6.84%),其中用到了 TRAP 标记,并在该标记鉴定的多态性位点中,检测到 1 个与皮壳含油率有关的 QTL。Nesi 等^[24]利用“Darmor-bzh×Yudal”组合,构建了 445 个 DH 群体,获得了 14 个与含油量有关的 QTL,其中 5 个可以重复检测到,位于 N1 和 N5 上的 2 个主效 QTL 解释了总变异的 6%~13%,其结果表明,聚合不同位点上的有利 QTL 来增加含油量是可能的。然而,张洁夫等^[11]用 1 个组合(APL01/M083)的 BC1F1 为作图群体,获得了 5 个与含油量相关的 QTL,解释总表型变异的 49.88%(分别解释 5.21%~18.12%),其中 qOC13-1 的效应值较大,属主效基因位点,这一结果与以前的定位结论不同(以前没有获得含油量的主效 QTL);其余 4 个 QTL 的效应值相对较小,可作为多基因位点,该结论与其对含油量的遗传分析结论基本吻合。

以上有关含油量性状的 QTL 分析,很少涉及 QTL 之间的互作和 QTL 与环境的互作,这不利于揭示含油量性状的真正遗传规律。Zhao 等^[25]报道了具有加性、上位性及其与环境互作效应的含油量 QTL 定位,得到了 8 个具有加性效应的含油量 QTL 和 9 对具有加加上位性的互作位点,总共解释含油量变异的 80%,并对单个 QTL 的加性、上位性及其与环境的互作效应进行了估计。

油菜种子含油量是由不同的脂肪酸组分等共同组成的,因而一些研究者将含油量与其组分性状在同一作图群体中进行同时定位,期望从分子水平揭示含油量性状和组分的关系。如 Qiu 等^[20]用 TN-DH 群体获得了 7 个含油量 QTL,但其效应值均较小,共解释性状变异的 55%,其中连锁在 N1、N8 和 N13 连锁群上的 QTL 与控制芥酸含量的 QTL 一致,很好地解释了高芥酸材料绝大多数具有较高含油量的现象^[26-27]。

4.1.2 基于含油量和蛋白质及其他产量性状 高含油量、高蛋白质以及高产育种是油菜育种的主要方向,因而从分子水平分析含油量、蛋白质和产量性状的互作,揭示其内在的遗传和互作方式,有利于通过表型进行间接选择,从而达到品质性状与农艺性状的共同遗传获得。如 Gül^[26]鉴定出 6 个油菜种子含油量 QTL,其中 4 个表现出与蛋白质含量 QTL 紧密连锁,在 3 个位点中增加含油量的等位基因与减少蛋白质含量的等位基因处于相引相中,解释了

两个性状之间的负相关,另外 2 个 QTL 和 1 个蛋白质含量的 QTL 处在独立的连锁群中。Zhao 等^[28]将分析条件遗传效应的统计程序和 QTL 作图方法相结合,评价了蛋白质含量、植株发育性状以及产量组分等性状对种子含油量的遗传影响,认为非条件作图检测到的 9 个含油量 QTL 中的 5 个,以及 9 个互作位点中的 8 个在蛋白质条件作图时未表现出显著效应,推测这些 QTL 和互作位点代表了涉及蛋白质合成的基因,并且对含油量具有直接效应,或者是控制蛋白质和含油量合成底物分解的基因;其中 1 个 QTL 和互作位点在条件作图时效应仍然显著,推测非条件作图时的另 8 个 QTL 和互作位点可能控制蛋白质含量的遗传;条件作图时还检测到 2 个效应很小的 QTL,其可能是独立于蛋白质含量之外而影响含油量的基因,这种基因对同时选育高蛋白和高含油量是特别有利的。

Gül^[26]和 Zhao 等^[28]均证明种子含油量和蛋白质含量紧密连锁,其负相关是由于两者在生物化学合成途径中竞争同一底物,这与前人的研究结论相符合。Zhao 等^[28]也证明,有 3 个控制含油量的 QTL 可能涉及含油量和角果粒数的互作,因而允许含油量和单株粒数的同时提高;而含油量与单粒重及灌浆期相关不显著,与开花时间和开花期均呈遗传正相关,但在条件作图分析中,未能得到明显的分子方面证据。以上结论对指导油菜高含油量、高蛋白质以及高产育种具有非常重要的意义。

4.1.3 芥酸含量和其他脂肪酸组分 Qiu 等^[20]得到了 4 个控制芥酸含量的 QTL,其中 2 个(分别位于 N₈、N₁₃ 上)分别解释了群体总变异的 45% 和 30%,认为 N₁ 上控制芥酸含量的 QTL 是微效修饰因子,其结果与 Howell 等^[29]1996 年在一个回交群体上鉴定的 2 个基因 *eru1* 和 *eru2* 相对应,也与 Thormann 等^[30]在另 1 个 DH 群体(Major/Steller 的后代)上获得的 2 个 QTL 一致^[20]。但 Burns 等^[27]仅证明了连锁群 N₈ 上的 *eru1* 基因,未能证明连锁群 N₁₃ 上的 *eru2* 基因,其获得的另外 2 个芥酸 QTL 分别位于 N₃ 和 N₁₈ 上。而 Parkin 等^[31]认为,在 N₁、N₈ 和 N₁₃ 上,控制芥酸含量的 QTL,位于基因组上表现相似的或部分有同源关系的区域,也与拟南芥 4 号染色体长臂上的同源位置一致^[32],从而获得了对甘蓝型油菜芥酸含量遗传的统一认识,即其由 2 对主基因和微效多基因控制。而 Liu 等^[33]用甘蓝型油菜品种 Quantum(黄花、低芥酸)和人工合成的甘蓝型油菜品系 No. 2127-17(白花、高芥酸)为

亲本建立的 DH 群体,仅得到 1 个主效 QTL,解释了约 82% 的芥酸表型变异,这可能与控制芥酸含量的基因不是来自于甘蓝型油菜有关。

种子高油酸、低亚麻酸和高亚油酸含量,是当前油菜品质育种的重要指标之一。2000 年以前,就有关于低亚麻酸、油酸、亚油酸等标记和定位的分析,使人们获得了一些关于脂肪酸组分遗传的基本认识,但还远远不能揭示肪酸组分合成的复杂体系。Burn 等^[27]于 2003 年对油菜的含油量和脂肪酸组分进行了全面的 QTL 分析,基本表明了控制脂肪酸组分合成的复杂基因网络体系。

由于油菜脂肪酸组分多而复杂,其合成过程相互协调、相互作用,处于脂肪酸和碳水化合物合成和分解代谢的复杂网络之中,这就为研究者带来更艰巨的挑战。因而发展新的技术手段,研究发育进程中各个脂肪酸组分的积累和相关基因的时空表达相关性,才能进一步使人们真正了解脂肪酸的合成过程,给品质育种以方向性的指导。

4.2 产量和产量组成性状

目前,有关油菜产量及其组分的 QTL 作图较少^[8,10,28,34-35]。其中易斌等^[35]检测到与产量及其相关性状有关的 17 个 QTL,其中包括与单株产量有关的 3 个分别位于第 3、第 4 和第 15 连锁群的 QTL,共解释了 26.60% 的表型变异,得出一因多效或者相关的 QTL 之间紧密连锁是性状相关的遗传基础;张书芬等^[8]对单株粒重及其构成因素进行了 QTL 定位和上位性分析,共检测到 16 个 QTL,分布在 9 个连锁群上,其中第 6 和第 13 连锁群最多,均有 3 个,控制产量性状的 3 个 QTL 分别位于第 9、12 和 13 连锁群上,分别解释产量变异的 7.45%、7.13% 和 7.08%,没有明显的主效基因;但该研究发现,产量构成性状存在主效 QTL,共检测到 26 对影响产量构成性状的上位性互作 QTL,因此认为上位性是甘蓝型油菜产量性状杂种优势的重要遗传基础。

Li 等^[10]利用构建的遗传图谱对 12 个与产量相关的性状进行了定位研究,共获得了 133 个 QTL,多数 QTL 汇集成簇,尤其在 N₂、N₇ 连锁群上;获得了 4 个在不同(武汉和津门)地点表现稳定的 QTL,控制单株产量的 10 个 QTL 有 8 个与角果粒数、单株角果数和千粒重相关,另外涉及 45 个功能标记(包含 39 个 EST 标记)与 12 个性状的 QTL 连锁,提供了十分有用的甘蓝型油菜的农艺性状分子标记,为相关性状分子标记的辅助选择提供了基础。

4.3 抗病和抗逆等性状

抗病和抗逆性育种始终是油菜育种的重点,甘蓝型油菜抗病资源的匮乏以及对抗病机理认识的缺乏,是限制抗病育种步伐的主要因素,因而一些研究者从分子水平对油菜抗病和抗逆性进行了研究。如 kole 等^[36]对油菜抗白锈病基因进行了研究;刘春林等^[37]和 Zhao 等^[38]分别进行了油菜抗菌核病的定位分析和遗传关联分析;Manzanares 等^[39]利用一个 DH 群体鉴定了油菜根瘤病抗性基因并进行了作图分析,得到了 1 个定位在 LG4 连锁群上的主效 QTL 和几个微效 QTL;而 Susanne 等^[40]利用 151 个 DH 系群体,获得了 6 个不同抗根瘤病基因的 QTL,其中位于 A 基因组的 2 个为主效 QTL,位于 C 基因组的是微效 QTL;Pilet 等^[41-42]鉴定了冬性甘蓝型油菜的黑胥病和田间抗叶斑病;Wang 等^[43]获得了 7 个与抗黑胥病基因密切有关的 SRAP 标记并进行了序列测定,从中选定了一些固定为 SRAP 标记的 BAC 克隆。

对发育性状、生理性状和特别性状的 QTL 定位分析,也具有一定的理论和实际意义。例如对控制油菜越冬存活率、适应性抗寒性、非适应性抗寒性^[36]、开花时间、油菜开花期和灌浆期等性状^[28]都进行了 QTL 定位;Xu 等^[44]对油菜硼高效基因进行了作图分析;Samija 等^[45]对油菜中植物类固醇含量进行了定位,获得了 3 个不同连锁群上的 QTL,可解释总变异的 59.8%。

无花瓣油菜品种被认为是一种减轻菌核病的有利形态性状,是国内外油菜育种学家选择的目标之一。张洁夫等^[46]在对油菜无花瓣性状的 QTL 定位中,获得了 4 个与无花瓣性状相关的 QTL,2 个主效 QTL QAP8 和 QAP15 分别解释花瓣总变异的 21.96%~30.94%,可用于无花瓣性状的标记辅助选择;其余 2 个 QTL 为修饰基因位点,分别位于不同的连锁群上。Chen 等^[47]也获得了控制无花瓣缺失基因 *WHB*,位于 LG4 连锁群,两者结果不同,这可能是由于引起花瓣性状缺失的基因自身位点不同所致,但这些均在一定程度上揭示了无花瓣性状的遗传表现,在主效 QTL 两侧的标记可以用于辅助选择育种。

5 油菜 QTL 的应用概况和存在问题

5.1 油菜 QTL 的应用

目前,应用 F₂、BCn、RIL 和 DH 等初级群体对 QTL 进行定位的精度,还不足以将数量性状确切地

分解成单个孟德尔因子,难以对 QTL 进行准确的效应估计和可靠的 MAS,更难以对 QTL 进行克隆与分离。对油菜数量性状研究的应用,主要是标记利用及对外来基因导入的检测。将外来优良基因渗入到骨干亲本中,可以进一步提高产量。如 Butruille 等^[48-49]通过冬性品种“Ceres”与当家品种“Mar-noo”和“Westar”的 1~2 次回交,建成了 2 个自交系回交群体 IBLs,在后代群体中得到了 2 个来自 Ce-res 的增加产量性状的 QTL(HSY3 和 HSY14)。Quijada 等^[34,50]利用分子手段,测定了冬性和春性油菜杂交后代中冬油菜的遗传贡献,认为将冬油菜中的优良基因导入春卡诺拉油菜从而增加产量,是提高春油菜产量的有效途径之一。Zou 等^[51]利用 QTL 定位,鉴定了甘蓝型油菜和白菜型油菜杂交后代中白菜型油菜基因组贡献的数量性状贡献率,为从分子水平理解甘蓝型油菜亚基因组间的杂种优势奠定了基础。

5.2 存在问题

尽管已经对油菜品质、产量以及抗病性等数量性状进行了 QTL 分析,也得到了一些数量性状主效 QTL 在图谱上的位置,但目前应用于分子辅助育种的 QTL 仍比较少^[52-53],且尚未见到对油菜数量性状有关的主效 QTL 图位克隆成功的报道。其主要原因有二:一是数量性状基因表达非常复杂,用现有作图方法对 QTL 的定位能力尚十分有限,难以获得 QTL 的精确位置;二是传统的克隆方法过于复杂和困难。

目前对甘蓝型油菜 QTL 的定位研究,均是基于数量性状的最终表型值,缺少对其发育过程中的动态 QTL 定位分析,而作物复杂数量性状的最终表现,是众多基因在特定遗传背景和环境互作下的累加表达结果^[52],因此有必要对某些数量性状进行 QTL 动态定位以及效应分析,加深对数量性状发育遗传规律的了解,为数量性状的改良提供较为详细的理论依据。

目前,构建的油菜遗传图谱尚不一致,对同一性状的定位结果差异较大,这可能是因为:①作图群体质量的差异(群体种类和信息量);②标记种类、数量及其比例的差异;③作图方法、参数设置以及对定位性状测试准确度和精确度的差异。因而,在对目标性状作图时,首先应选择目标性状差异很大的亲本,构建包含较大遗传变异信息的群体^[54],其次选用不同种类的分子标记以及合适的标记比例,而且有必要优先利用以前利用的标记,以便不同学者对遗传

图谱的整合以及对同一性状定位结果的比较;尽可能构建永久性群体,以便不同学者之间共同研究、相互验证和进行多年多点的 QTL 定位分析,鉴定出在不同年份、不同环境中稳定表达且便于在实践中应用的 QTL。QTL 定位的最终目的,是在育种中利用分子标记辅助选择和分离克隆主效基因,因而有必要利用育种骨干亲本构建作图群体,以便于获得在育种上应用的 QTL,但注意同时应兼顾作图群体的信息量。

目前油菜的 QTL 研究,主要以籽粒品质性状、产量性状和抗病性状为主,对生理性状如光合速率、叶绿素含量、呼吸作用等性状的定位分析较少,也缺少对产量影响较大的根系性状的定位分析,这主要是由于这些性状的测量比较困难,或者易受环境因素的影响,而且对这些性状的遗传表现鲜有研究,未能引起油菜遗传育种学家的足够重视。

针对连锁分析定位的缺陷和实施的困难性,最近发展的基于 LD(Linkage disequilibrium)的关联分析(Association analysis),正越来越多地应用于植物数量性状的遗传研究,并显示出广阔的应用前景^[55],该方法具有以下优越性:(1)花费时间少。一般以现有的自然群体为材料,无需构建专门的作图群体;(2)广度大。可同时检测同一座位的多个等位基因;(3)精度高。可达到单基因的水平^[55-56],所以更容易实现精细作图的目标,并可针对特定候选基因提供大量的信息。

综上所述,应结合连锁分析和关联分析的优点,从不同层面对油菜数量性状进行定位研究,加快其数量性状基因的鉴定和分离克隆,为深入认识油菜数量性状的遗传规律和分子生物学基础,最终为加快油菜的遗传改良奠定基础。

【参考文献】

[1] 齐晓花,张明方.芸薹属作物分子连锁图及 QTL 研究进展[J].分子植物育种,2004,2(5):704-712.
Qi X H,Zhang M F.The research progress on molecular linkage map and QTL mapping in *Brassica* crops [J].Molecular Plant Breeding,2004,2(5):704-712.(in Chinese)
[2] Pradhan A K,Gupta V,Mukhopadhyay A,et al.A high-density linkage map in *Brassica juncea* using AFLP and RFLP markers [J].Theoretical and Applied Genetics,2003,106:607-614.
[3] 卢 钢,曹家树,陈 杭.芸薹属植物分子标记技术和基因组研究进展[J].园艺学报,1999,26(6):384-390.
Lu G,Cao J S,Chen H.Progress of study on molecular markers and genome of the genus *Brassica*—A review [J].Acta Horticultural Sinica,1999,26(6):384-390.(in Chinese)

- [4] Fulton T M, Van der Hoeven R, Eannetta N T, et al. Identification analysis and utilization of conserved ortholog set markers for comparative genomics in higher plants [J]. The Plant Cell, 2002, 14: 1457-1467.
- [5] Harry D E, Temesgen B, Neale D B. Codominant PCR-based markers for *Pinus taeda* developed from mapped cDNA clones [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1998, 97: 327-336.
- [6] Brunel D, Froger N, Pelletier G. Development of amplified consensus genetic markers (ACGM) in *Brassica napus* from *Arabidopsis thaliana* sequence of known biological function [J]. Genome, 1999, 42: 387-402.
- [7] Piquemal J, Cinquin E, Couton F, et al. Construction of an oilseed rape (*Brassica napus* L.) genetic map with SSR markers [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111: 1514-1523.
- [8] 张书芬, 傅廷栋, 朱家成, 等. 甘蓝型油菜产量及其构成因素的 QTL 定位与分析 [J]. 作物学报, 2006, 32(8): 1135-1142.
Zhang S F, Fu T D, Zhu J C, et al. QTL mapping and epistasis analysis for yield and its components in *Brassica napus* L. [J]. Acta Agronomica Sinica, 2006, 32(8): 1135-1142. (in Chinese)
- [9] Jin M Y, Li J N, Fu F Y, et al. QTL Analysis of the oil content and the hull content in *Brassica napus* L. [J]. Agricultural Sciences in China, 2007, 6(4): 414-421.
- [10] Li Y Y, Shen J X, Wang T H, et al. QTL analysis of yield-related traits and their association with functional markers in *Brassica napus* L. [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 2007, 58(8): 759-766.
- [11] 张洁夫, 戚存扣, 浦惠明, 等. 甘蓝型油菜含油量的遗传与 QTL 定位 [J]. 作物学报, 2007, 33(9): 1495-1501.
Zhang J F, Qi C K, Pu H M, et al. Inheritance and QTL identification of oil content in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(9): 1495-1501. (in Chinese)
- [12] Sun Z D, Wang Z N, Tu J X, et al. An ultradense genetic recombination map for *Brassica napus*, consisting of 13551 SRAP markers [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2007, 114(8): 1305-1317.
- [13] Zeng Z B. Theoretical basis for separation of multiple linked gene effects in mapping of quantitative traits loci [J]. Proc Natl Acad Sci, 1993, 90(23): 10972-10976.
- [14] Kao C H, Zeng Z B, Robert D. Multiple interval mapping for quantitative trait loci [J]. Genetics, 1999, 152: 1203-1216.
- [15] 朱 军. 运用混合线性模型定位复杂数量性状基因的方法 [J]. 浙江大学学报: 工学版, 1999, 33(3): 327-335.
Zhu J. Mixed model approaches of mapping genes for complex quantitative traits [J]. Journal of Zhejiang University: Engineering Science, 1999, 33(3): 327-335. (in Chinese)
- [16] Parkin I A P, Sharpe A G, Keith D J, et al. Identification of the A and C genomes of amphidiploid *Brassica napus* (oilseed rape) [J]. Genome, 1995, 38(36): 1122-1231.
- [17] Lombard V, Delourme R A. Consensus linkage map for rapeseed (*Brassica napus* L.): construction and integration of three individual maps from DH population [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103(4): 491-507.
- [18] Lydiate D, Sharpe A. Aligning genetic maps of *Brassica napus* using microsatellite markers [C]//Books of Abstracts. The XI Conference of International Plant and Animal Genome. San Diego, CA, USA, 2003: 473.
- [19] Lowe A J, Moule C, Trick M, et al. Efficient large-scale development of microsatellites for marker and mapping applications in *Brassica* crop species [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108: 1103-1112.
- [20] Qiu D, Morgan C, Shi J, et al. A comparative linkage map of oilseed rape and its use for QTL analysis of seed oil and erucic acid content [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 114: 67-80.
- [21] 蔡长春, 傅廷栋, 陈宝元, 等. 甘蓝型油菜遗传图谱的构建及开花期的 QTL 分析 [J]. 中国油料作物学报, 2007, 29(1): 1-8.
Cai C C, Fu T D, Chen B Y, et al. Construction of a genetic linkage map and its use for QTL analysis of flowering time in *Brassica napus* L. [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2007, 29(1): 1-8. (in Chinese)
- [22] Fu F Y, Li J N. A molecular genetic linkage map in recombinant inbred lines of *Brassica napus* L. using SSR and SRAP markers [C]//Fu T D, Guan C Y. The 12th International Rapeseed Congress. II. Sustainable development in cruciferous oilseed crops production. Wuhan: Science Press USA Inc, 2007: 289-291.
- [23] 刘列钊, 林 呐, 谌 利, 等. 甘蓝型油菜 5 个重要性状的 QTL 分析 [J]. 农业技术生物学报, 2006, 14(5): 747-751.
Liu L Z, Lin N, Chen L, et al. QTL Analysis of 5 important traits in *Brassica napus*. [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2006, 14(5): 747-751. (in Chinese)
- [24] Nesi N, Bellamy A, Clout V, et al. Revealing for oil content in oilseed rape by combining genetics and expression [C]//Fu T D, Guan C Y. The 12th International Rapeseed Congress. Wuhan: Science Press USA Inc, 2007: 99.
- [25] Zhao J, Becker H C, Zhang D, et al. Oil content in an European and Chinese rapeseed population: QTL with additive and epistatic effects and their genotype-environment interactions [J]. Crop Science, 2005, 45: 51-59.
- [26] Gül M K. QTL-Kartierung und analyse von QTL and Stickstoff interaktionen beim Winterraps (*Brassica napus* L.) [D]. Germany: Universitaet Gottingen, 2002.
- [27] Burns M J, Barnes S R, Bowman J G, et al. QTL analysis of an intervarietal set of substitution lines in *Brassica napus*. I. Seed oil content and fatty acid composition [J]. Heredity, 2003, 90: 39-48.
- [28] Zhao J, Heiko C, Becker, et al. Conditional QTL mapping of oil content in rapeseed with respect to protein content and traits related to plant development and grain yield [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 113: 33-38.
- [29] Howell P M, Marshall D F, Lydiate D J. Towards developing intervarietal substitution lines in *Brassica napus* using marker-assisted selection [J]. Genome, 1996, 39: 348-358.

- [30] Thormann C E, Romero J, Mentet J, et al. Mapping loci controlling the concentration of erucic and linolenic acids in seed oil of *Brassica napus* L. [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 93: 282-286.
- [31] Parkin I A P, Sharpe A G, Lydiat D J. Patterns of genome duplication within the *Brassica napus* genome [J]. Genome, 2003, 46: 291-303.
- [32] Parkin I A P, Gulden S M, Sharpe A G, et al. Segmental structure of the *Brassica napus* genome based on comparative analysis with *Arabidopsis thaliana* [J]. Genetics, 2005, 171: 765-781.
- [33] Liu X P, Tu J X, Liu Z W, et al. Construction of a molecular marker linkage map and its use for QTL analysis of erucic acid content in *Brassica napus* L. [J]. Acta Agronomica Sinica, 2005, 31(3): 275-282.
- [34] Quijada P A, Ivan J, Maureira, et al. Confirmation of QTL controlling seed yield in spring canola (*Brassica napus* L.) hybrids [J]. Molecular Breeding, 2004, 13: 193-200.
- [35] 易 斌, 陈 伟, 马朝芝, 等. 甘蓝型油菜产量及相关性状的 QTL 分析 [J]. 作物学报, 2006, 32(5): 676-682.
- Yi B, Chen W, Ma C Z, et al. Mapping of quantitative trait loci for yield and yield components in *Brassica napus* L. [J]. Acta Agronomica Sinica, 2006, 32(5): 676-682. (in Chinese)
- [36] Kole C, Thormann C E, Karlsson B H. Comparative mapping of loci controlling winter survival and related traits in oilseed *Brassica rapa* and *B. napus* [J]. Molecular Breeding, 2002, (9): 201-210.
- [37] 刘春林, 官春云, 李 桢, 等. 油菜分子标记图谱构建及抗菌核病性状的 QTL 定位 [J]. 遗传学报, 2000, 27(10): 918-924.
- Liu C L, Guan C Y, Li X, et al. Construction of Linkage map and mapping resistance gene of sclerotinia sclerotiorum in *Brassica napus* [J]. Acta Genetica Sinica, 2000, 27(10): 918-924. (in Chinese)
- [38] Zhao J W, Meng J J. Genetic analysis of loci associated with partial resistance to Sclerotinia sclerotiorum in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 106(4): 759-764.
- [39] Manzanares-Dauleux M J, Delourme R, Baron F, et al. Mapping of one major gene and of QTLs involved in resistance to clubroot in *Brassica napus* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 101: 885-891.
- [40] Susanne W, Elke D, Martin F, et al. Genetic mapping of clubroot resistance genes in oilseed rape [C]//Fu T D, Guan C Y. The 12th international rapeseed congress. II. Sustainable development in cruciferous oilseed crops production. Wuhan: Science Press USA Inc, 2007: 30-33.
- [41] Pilet M L, Delourme R, Foisset N, et al. Identification of QTL involved in field resistance to light leaf spot (*Pyrenopeziza brassicae*) and blackleg resistance (*Leptosphaeria maculans*) in winter rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1998, 97(3): 398-406.
- [42] Pilet M L, Duplan G, Archipiano H, et al. Stability of QTL for field resistance to blackleg across two genetic backgrounds in oilseed rape [J]. Crop Science, 2001, 41: 197-205.
- [43] Wang Z N, Sun Z D, Li G Y, et al. Fine mapping and cloning of the LepR3 blackleg (*Leptosphaeria maculans*) resistance gene in "Surpass 400" [C]//Fu T D, Guan C Y, Ed. The 12th international rapeseed congress. II. Sustainable development in cruciferous oilseed crops production. Wuhan: Science Press USA Inc, 2007: 226-228.
- [44] Xu F S, Wang Y H, Meng J. Mapping boron efficiency gene(s) in *Brassica napus* using RFLP and AFLP markers [J]. Plant Breeding, 2001, 120(4): 319-324.
- [45] Samija A, Wolfgang E, Heiko C, et al. QTL analysis of phytosterol content in rapeseed (*Brassica napus* L.) [C]//Fu T D, Guan C Y. The 12th international rapeseed congress. I. Sustainable crops production-Genetics and breeding. Wuhan: Science Press USA Inc, 2007: 247-250.
- [46] 张洁夫, 戚存扣, 栗根义, 等. 甘蓝型油菜遗传图谱构建与无花瓣性状 QTL 定位 [J]. 作物学报, 2007, 33(8): 1246-1254.
- Zhang J F, Qi C K, Li G Y, et al. Genetic map construction and apetalousness QTLs identification in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(8): 1246-1254. (in Chinese)
- [47] Chen B Y, Wu X M, Lu G Y, et al. Inheritance of two rapeseed mutants with apetalous flowers and molecular mapping of the genes controlling petal-loss traits in *Brassica napus* L. [C]//Fu T D, Guan C Y, Ed. The 12th international rapeseed congress I Sustainable Crops Production. Wuhan: Science Press USA Inc, 2007: 313-315.
- [48] Butruille D V, Guries R P, Osborn T C. Increasing yield of spring oilseed rape hybrids (*Brassica napus* L.) through introgression of winter germplasm [J]. Crop Science, 1999, 39: 1491-1496.
- [49] Butruille D V, Guries R P, Osborn T C. Linkage analysis of molecular markers and quantitative traits loci in populations of inbred backcross lines of *Brassica napus* L. [J]. Genetics, 1999, 153: 949-964.
- [50] Quijada P A, Udall J A, Lambert B, et al. Quantitative trait analysis of seed yield and other complex traits in hybrid spring rapeseed (*Brassica napus* L.): identification of genomic regions from winter germplasm [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 113(3): 549-561.
- [51] Zou J, Gong H H, Fu D H, et al. Increasing of heterosis between sub-genomic by polymerizing interspecific genetic components (*B. rapa* and *B. carinata*) in new sub-genomic variety of oilseed rape [C]//Fu T D, Guan C Y. The 12th international rapeseed congress. I. Sustainable crops production-Genetics and breeding. Wuhan: Science Press USA Inc, 2007: 5.
- [52] 张小明, 叶胜海, 鲍根良, 等. 作物数量性状发育遗传的研究进展 [J]. 浙江农业学报, 2003, 15(4): 268-272.
- Zhang X M, Ye S H, Bao G L, et al. Advance on the developmental genetics of quantity trait in crop [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2003, 15(4): 268-272. (in Chinese)